

Disertační práce

**OBSAH BIOLOGICKY AKTIVNÍCH LÁTEK
V MATCHA ČAJÍCH A JEJICH STANOVENÍ
V PRŮBĚHU PŘÍPRAVY**

**DETERMINATION OF THE CONTENT OF BIOLOGICALLY
ACTIVE SUBSTANCES IN MATCHA TEA AND THEIR
DETERMINATION DURING PREPARATION**

Autor: **Ing. Tereza Koláčková**

Studijní program: Chemie a technologie potravin (P29201)

Studijní obor: Technologie potravin (2901V013)

Školitel: doc. Ing. Daniela Sumczynski, Ph.D.

Oponenti: prof. RNDr. Leona Buňková, Ph.D.
doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.
doc. Ing. Libor Červenka, Ph.D.

Zlín, 2023

Tereza Koláčková

Klíčová slova: matcha, *Camellia sinensis*, nutriční analýza, biologicky aktivní látky, polyfenoly, alkaloidy, antioxidační aktivita, HPLC, ICP-MS, *in vitro* stravitelnost

Key words: matcha, *Camellia sinensis*, nutritional analysis, biological active substances, phenolics, alkaloids, antioxidant activity, HPLC, ICP-MS, *in vitro* digestibility

Práce je dostupná v Knihovně UTB ve Zlíně.

Tato disertační práce byla spolufinancována z projektů Interní grantové agentury Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně A/FT/2017/006, IGA/FT/2018/006, IGA/FT/2019/004, IGA/FT/2020/010.

Poděkování:

Chtěla bych velmi poděkovat mé vedoucí doc. Ing. Daniele Sumczynski, Ph.D. za cenné rady, odborné vedení disertační práce a také za trpělivost, ochotu a podporu hlavně při dokončování této práce. Dále děkuji Ing. Lence Fojtíkové za rady, strávený čas a pomoc při práci v laboratořích. Také děkuji firmě Oxalis spol. s r.o. za spolupráci a poskytnuté vzorky pro tuto disertační práci. Dále velký dík patří mé mamince a mým nejbližším za vynaloženou podporu a trpělivost při mém studiu, a hlavně při dokončování disertační práce.

„Tea with us became more than an idealization of the form of drinking; it is a religion of the art of life.“

- Okakura's The Book of Tea

ABSTRAKT

Odrůda, podmínky pěstování, sběr a technologie zpracování listů ovlivňuje celkovou kvalitu čajových lístků a konečného nálevu. Disertační práce se zaměřuje na stanovení obsahu základních nutričních a biologicky aktivních látek v práškovém matcha čaji a jeho výluzích a také po jeho *in vitro* stravitelnosti. Nejhojněji zastoupenou volnou aminokyselinou v matcha čaji je L-theanin, limitujícími aminokyselinami byly isoleucin a threonin a aminokyselinové skóre matcha proteinu je 38,4 %. Obsah hrubé bílkoviny byl stanoven v koncentracích od 20,3 % do 35,0 %. Obsah chlorofylů *a* a *b* se pohybuje od 1,10 do 4,32 mg.g⁻¹ a 0,46 do 2,73 mg.g⁻¹, koncentrace kofeinu, theofylinu a theobrominu byly stanoveny v rozmezí od 14,1 do 34,4 mg.g⁻¹, od 8,06 do 19,4 μg.g⁻¹ a od 0,14 do 0,27 mg.g⁻¹. Mezi nejhojněji zastoupené prvky matcha čaje se řadí K, Mg, Mn, Ca, Fe a Zn. Matcha čaj je výzavným přispěvatelem k RDA hodnotám pro Mn a Cu. Vyšší teplota luhování má pozitivní vliv na vyšší vyluhování kofeinu, delší doba luhování měla za následek vyšší obsah TPC a TFC v nálevu matcha a tím také vyšší hodnotu antioxidační aktivity. Nejvíce zastoupenými polyfenolickými látkami matcha čaje jsou flavonoidy EGCG (až 16900 μg.g⁻¹), EC (až 14500 μg.g⁻¹), EGC (až 5390 μg.g⁻¹), ECG (až 1790 μg.g⁻¹) a rutin (až 1590 μg.g⁻¹); nejvíce zastoupenými fenolickými kyselinami jsou kyseliny chlorogenová (až 3920 μg.g⁻¹), sinapová (až 592 μg.g⁻¹), protokatechinová (až 291 μg.g⁻¹), ellagová (až 246 μg.g⁻¹) a gallová (až 184 μg.g⁻¹). Stravitelnost matcha čaje se pohybuje u DMD od 55,9 do 69,8 % a u OMD od 59,4 do 71,3 %. Nejvyšší hodnoty retence po procesu simulace trávení práškové formy matcha čaje byly naměřeny u kyseliny ferulové a katechinu (až 84 %), kyseliny ellagové (až 80%), kyseliny kávové a epigallokatechinu (až 76%) a z alkaloidů u kofeinu (až 13 %).

ABSTRACT

The variety, growing conditions, harvesting and leaf processing technology affect the overall quality of the tea leaves and the final infusion. The dissertation focuses on determining the content of basic nutritional and biologically active substances in powdered matcha tea and its extracts, as well as its *in vitro* digestibility. The most abundant free amino acid in matcha tea is L-theanine, the limiting amino acids were isoleucine and threonine, and the amino acid score of matcha protein is 40,2 %. Crude protein content was determined in concentrations from 20,3 % to 35,0 %. The content of chlorophylls *a* and *b* varies from 1,10 to 4,32 mg.g⁻¹ and 0,46 to 2,73 mg.g⁻¹, the concentrations of caffeine, theophylline and theobromine were determined in the range of caffeine from 14,1 to 34,4 mg.g⁻¹, theophylline from 8,06 to 19,4 µg.g⁻¹ and theobromine from 0,14 to 0,27 mg.g⁻¹. The most abundant elements in matcha tea include K, Mg, Mn, Ca, Fe and Zn. Matcha tea is a significant contributor to the RDA values for Mn and Cu. A higher brewing temperature has a positive effect on higher caffeine leaching, a longer brewing time resulted in a higher TPC and TFC content in the matcha brew and thus also a higher value of antioxidant activity. The most represented polyphenolic substances in matcha tea are the flavonoids EGCG (up to 16900 µg.g⁻¹), EC (up to 14500 µg.g⁻¹), EGC (up to 5390 µg.g⁻¹), ECG (up to 1790 µg.g⁻¹) and rutin (up to 1590 µg.g⁻¹); and the most represented phenolic acids are chlorogenic acid (up to 3920 µg.g⁻¹), sinapic acid (up to 592 µg.g⁻¹), protocatechinic acid (up to 291 µg.g⁻¹), ellagic acid (up to 246 µg.g⁻¹) and gallic acid (up to 184 µg.g⁻¹). The digestibility of matcha tea ranges from 55,9 to 69,8 % for DMD and from 59,4 to 71,3 % for OMD. The highest retention values after the process of simulating the digestion of the powdered form of matcha tea were measured for ferulic acid and catechin (up to 84 %), ellagic acid (up to 80 %), caffeic acid and epigallocatechin (up to 76 %) and of alkaloids for caffeine (up to 13 %).

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY	12
1.1 ČAJOVNÍK CAMELLIA SINENSIS	12
1.1.1 Legislativní požadavky na čaj	12
1.1.2 Konzumace zeleného čaje	13
1.2 PĚSTOVÁNÍ ČAJOVNÍKU	13
1.2.1 Pěstování čajovníku pro výrobu matcha čaje	14
1.2.3 Sklizeň čajových lístků pro výrobu matcha	16
1.2.4 Zpracování lístků na výrobu matcha čaje.....	16
1.3 OZNAČOVÁNÍ ČAJE V OBLASTI KVALITATIVNÍCH UKAZATELŮ.....	17
1.4 NUTRIČNÍ A BIOLOGICKY AKTIVNÍ LÁTKY ZELENÝCH ČAJŮ	18
1.4.1 Základní nutriční znaky zelených čajů.....	18
1.4.2 Biologicky aktivní látky zelených čajů	19
2 CÍL DISERTAČNÍ PRÁCE	25
II PRAKTICKÁ ČÁST	27
3 ZVOLENÉ METODY ZPRACOVÁNÍ	28
3.1 POUŽITÉ VZORKY MATCHA ČAJŮ	28
3.2 PŘÍPRAVA VZORKŮ	28
3.2.1 Prášková forma matcha čaje.....	29
3.2.2 Příprava výluhů matcha čaje	29
3.2.3 Příprava ledových matcha čajů	29
3.2.4 Příprava nestráveného podílu	30
3.3 STANOVENÍ SUŠINY	31
3.4 STANOVENÍ POPELA.....	32
3.5 STANOVENÍ DUSÍKU S NÁSLEDNÝM PŘEPOČTEM NA OBSAH HRUBÉ BÍLKOVINY	32

3.6	STANOVENÍ OBSAHU LIPIDŮ	32
3.7	STANOVENÍ HRUBÉ A NEUTRÁLNĚ-DETERGENTNÍ VLÁKNINY	32
3.8	STANOVENÍ STRAVITELNOSTI TECHNIKOU <i>IN VITRO</i>	33
3.9	STANOVENÍ CELKOVÝCH POLYFENOLŮ SPEKTOFOTOMETRICKY	34
3.10	STANOVENÍ CELKOVÝCH FLAVONOIDŮ SPEKTOFOTOMETRICKY	34
3.11	STANOVENÍ CHLOROFYLŮ SPEKTOFOTOMETRICKY	34
3.12	STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY	35
3.12.1	Metoda se zhášením radikálu ABTS	35
3.12.2	Metoda se zhášením radikálu DPPH	35
3.12.3	Stanovení antioxidační aktivity chemiluminiscencí (PCL)	35
3.13	STANOVENÍ VITAMINU C POMOCÍ HPLC	36
3.14	STANOVENÍ POLYFENOLICKÝCH KYSELIN POMOCÍ HPLC	36
3.15	STANOVENÍ VOLNÝCH AMINOKYSELIN POMOCÍ IEC	37
3.16	STANOVENÍ VÁZANÝCH AMINOKYSELIN POMOCÍ IEC	38
3.17	STANOVENÍ KOFEINU, L-THEANINU, THEOBROMINU A THEOFYLINU POMOCÍ HPLC-UV	39
3.18	STANOVENÍ MINERÁLNÍCH A STOPOVÝCH PRVKŮ METODOU ICP-MS	40
3.18.1	Mineralizace vzorku	40
3.18.2	ICP-MS instrumentace	40
3.18.3	Kalibrace a přesnost měření	40
3.19	STANOVENÍ VYBRANÝCH MINERÁLNÍCH A STOPOVÝCH PRVKŮ POMOCÍ AAS	41
3.20	METODA SKENOVACÍ ELEKTRONOVÉ MIKROSKOPIE (SEM)	42
3.21	VÝPOČTY PŘÍNOSU KONZUMACE MATCHA ČAJE K REFERENČNÍM HODNOTÁM ESENCIÁLNÍCH AMINOKYSELIN A ESENCIÁLNÍCH A TOXICKÝCH PRVKŮ	42
3.22	STATISTIKA	43
4	VYBRANÉ DOSAŽENÉ VÝSLEDKY PRÁCE	44
4.1	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST I – NURTRIČNÍ ANALÝZA PRÁŠKOVÉ FORMY MATCHA ČAJE	44
4.1.1	Výsledky stanovení základních nutričních parametrů	44
4.1.2	Stanovení vitamínu C a chlorofylů <i>a</i> a <i>b</i>	47

4.1.3	Výsledky stanovení kofeinu.....	48
4.1.4	Stanovení minerálních a stopových prvků pomocí ICP-MS.....	49
4.1.5	Toxické prvky	51
4.1.6	Příspěvek matcha čaje k hodnotám, RDA, AI, PTWI a PTMI	55
4.1.7	Stanovení volných a vázaných aminokyselin	56
4.1.8	Nutriční evaluace matcha čaje	62
4.2	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST II – STANOVENÍ BIOLOGICKY AKTIVNÍCH LÁTEK VE VODNÝCH A METHANOLOVÝCH VÝLUŽÍCH MATCHA ČAJŮ	63
4.2.1	Stanovení celkových flavonoidů, polyfenolů a antioxidační aktivity	63
4.2.2	Stanovení fenolického profilu pomocí HPLC.....	65
4.3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST III – STANOVENÍ BIOLOGICKY AKTIVNÍCH LÁTEK VE VYBRANÝCH LEDOVÝCH MATCHA ČAJÍCH.....	72
4.3.1	Stanovení kofeinu, theobrominu, theofylinu a L-theaninu	72
4.3.2	Stanovení antioxidační aktivity (ABTS, DPPH, PCL) a celkových polyfenolů a flavonoidů v ledových matcha čajích.....	74
4.3.3	Stanovení fenolického profilu pomocí HPLC.....	76
4.3.4	Stanovení minerálních a stopových prvků metodou AAS	83
4.4	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST IV – STANOVENÍ VYBRANÝCH NUTRIČNÍCH A BIOLOGICKY AKTIVNÍCH LÁTEK V NESTRÁVENÉM PODÍLU MATCHA ČAJE PO PROCESU SIMULACE TRÁVENÍ PROCESEM <i>IN VITRO</i>	86
4.4.1	Stanovení sušiny, popela a stravitelnosti	86
4.4.2	Vliv stravitelnosti na uvolňování polyfenolických látek	87
4.4.3	Vliv stravitelnosti na uvolňování xantinových alkaloidů a L-theaninu	92
4.4.4	Stanovení minerálních a stopových prvků v nestrávené části matcha čajů	95
4.4.5	Výsledky měření antioxidační aktivity	97
4.4.6	Skenovací elektronová mikroskopie (SEM)	102
5	PŘÍNOS PRO VĚDU A PRAXI.....	104
6	ZÁVĚR.....	105

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	108
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	126
SEZNAM OBRÁZKŮ	128
SEZNAM TABULEK.....	129
7 PUBLIKAČNÍ AKTIVITY AUTORA.....	149
8 ODBORNÝ ŽIVOTOPIS AUTORA.....	151

ÚVOD

Čajovník rodu *Camellia* je nejstarší kulturní rostlinou světa a svůj původ má v Číně. Pro tamní obyvatele je čaj více než jen nápoj. Japonsko společně s Čínou ovládá 20 % jeho světové konzumace. Čaj je jedním z nejoblíbenějších nápojů hlavně díky své chuti a podpůrným zdravotním účinkům (Topuz et al., 2014).

Získává se z rostliny známé jako *Camellia sinensis* (L.O. Kuntze). Čajovníky jsou stále zelené rostliny rodu *Camellia*, čeledi čajovníkovité (*Theaceae*). Pěstují se dva druhy, a to *Camellia sinensis* L. (pěstovaná spíše v horských oblastech) a *Camellia assamica* L. (pěstovaná v teplejších, spíše tropických oblastech).

Výroba zeleného, oolong a černého čaje se liší hlavně v kroku fermentace. V případě výroby černého čaje je fermentace nezbytná a obsahuje čtyři technologické kroky, a to zavadání, svinování, fermentaci a sušení (Wachendorfová, 2007; Liu et al., 2015). Výroba zeleného čaje nezahrnuje proces fermentace, takže si čaj ponechává zelenou barvu. Čajové lístky jsou brzy po sklizni napařovány vysokou teplotou, aby se inaktivovaly enzymy. Dále následuje proces válcování a sušení (Hilal, 2017). Zelený čaj obsahuje mnoho cenných látek jako jsou polyfenoly (flavonoidy, zejména pak katechiny), alkaloidy (kofein, theobromin, theofylin), barviva (chlorofyly, karotenoidy), dále aminokyseliny (zejména L-theanin), lipidy, polysacharidy, vitamin C a minerální a stopové prvky. Flavonoidy mají antioxidační, protizánětlivé, antialergické a antimikrobiální účinky, dále mohou být zodpovědné za prevenci rakoviny, cukrovky či obezity (Bhutia Pemba et al., 2015; Namita et al., 2012; Saeed et al., 2017; Roshanak et al., 2016). Pití zeleného čaje je spojeno se snížením hladiny glukózy, triglyceridů a celkové hladiny cholesterolu, snížením rizika srdečních ischemických chorob a hraje důležitou roli jako antioxidant (Yamabe et al., 2009; Komes et al., 2010; Xu et al., 2016). Nadměrná konzumace zeleného čaje může mít také negativní důsledky pro konzumenta. Pokud se překročí limit konzumace kofeinu, může ve vyšší míře způsobovat třes rukou, bolesti hlavy, nevolnost či bušení srdce (Hilal, 2017; Ravikumar, 2014).

Matcha čaj, pěstovaný za podmínek zastíňování, jsou drcené čajové lístky, mleté na nejjemnější prášek (řádově jednotky μm). Tento prášek je jako nápoj připravován ve vodě, tudíž jsou konzumovány i jeho lístky, nejen klasický výluh (Weiss a Anderton, 2003). Proto je tato disertační práce zaměřena na stanovení základních nutričních a biologicky aktivních látek čajových listů a nálevů, v závislosti na technologii přípravy, a také na jeho *in vitro* stravitelnosti a analýzu BAL také po stravitelnosti *in vitro*.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

1.1 Čajovník *Camellia sinensis*

Camellia sinensis L. je stále zelený, 1–2 m vysoký keř, rostoucí převážně v Číně, Tibetu, Indii a Japonsku. Listy jsou kožovité s matným povrchem, 4–15 cm dlouhé, 2–5 cm široké, silné a mají tupý konec. Mladé lístky jsou hladké a mají krátké bílé chloupky na spodní straně. Tyto se sklízí přednostně pro výrobu jemnějšího a kvalitnějšího čaje. Rozdílné stáří listů určuje kvalitu budoucího nápoje i jeho chemické složení. Čím jsou lístky starší, tím více tmavnou a chloupky se vytrácí. Druh *Camellia sinensis* má také stříbřitě šedé, hedvábné pupeny, květy jsou žluto-bílé o průměru 2–4 cm se 7–8 okvětními lístky. Při výrobě kvalitnějšího čaje jsou nejdříve sklizeny pupeny a první 2–3 mladé listy pro další zpracování (Hilal, 2017; Namita et al., 2012; Wachendorfová, 2007).

Camellia sinensis var. *assamica* je strom vysoký 10–15 m, vyskytující se převážně v Severovýchodní Indii (Ásám) a vyžaduje teplé podnebí. Čajovníkové lístky se mohou sklízet až po třech letech, kdy má strom svůj konečný tvar. Odrůda je známá hlavně pro výrobu černého čaje (Hilal, 2017; Namita et al., 2012; Wachendorfová, 2007).

Tzv. „divoký čaj“ pochází z odrůdy *Camellia taliensis* W.W. Smith. Je to stálezelený strom, asi 10–20 m vysoký. Nachází se v západní a jihozápadní subtropické oblasti Yunnanu v Číně (1500–2400 m n. m.) (Zhao et al., 2014; Gao et al., 2008).

Semena *Camellia sinensis* a *Camellia oleifera* mohou být lisována na čajový olej. Tento olej je nasládlý, kořeněný a neměl by být zaměňován s tea-tree olejem, který se používá pro lékařské a kosmetické účely a pochází z listů australské rostliny *Melaleuca alternifolia* L. (Namita et al., 2012; Carson et al., 2006).

1.1.1 Legislativní požadavky na čaj

Definice čaje v ČR stanovuje Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 330/1997. Vyhláška definuje čaj pravý, jako čaj vyrobený z výhonků, listů, pupenů, nebo jemných částí zdřevnatělých stonků čajovníku *Camellia sinensis* (Linnaeus) O. Kunze, popřípadě jejich kombinací. Dále rozděluje pravý čaj na zelený, polofermentovaný a černý dle technologie zpracování. Zeleným čajem se rozumí čaj pravý, ve kterém neproběhla fermentace, čajem polofermentovaným (oolongem) čaj pravý, ve kterém proběhla částečná fermentace a čajem černým čaj pravý, ve kterém proběhla plná fermentace. Vyhláška dále upravuje chemické

a fyzikální požadavky na jakost čaje, mezi nimiž jsou obsah celkového popela, vlhkosti, vodního extraktu a úbytku hmotnosti sušením při 103 °C (Vyhláška č. 330/1997 Sb.).

1.1.2 Konzumace zeleného čaje

Čína je největším producentem a konzumentem zeleného čaje, podílí se 78 % na celosvětové produkci zeleného čaje a 88 % na celosvětovém vývozu zeleného čaje. Japonsko je druhým největším spotřebitelem zeleného čaje. Dále se čaj pěstuje hodně v Indii (Wachendorfová, 2007; Ercisli et al., 2009). Masivní expanze je výsledkem povědomí spotřebitelů o zdraví, rychlého rozvoje bylinných čajových nápojů a veřejného zájmu o organické, specializované prémiové čaje v zemích, které nemají dlouhou tradici v konzumaci čaje. V následujících letech se očekává nárůst nejen v Asii, kde je spotřeba čaje nejvyšší, ale také v Evropě a Severní Americe (FAO, 2022). Polsko, ve srovnání se středomořskými zeměmi, představuje vysokou spotřebu s průměrným denním příjmem 525 ml čajového nápoje. Přibližně 97 % polské populace konzumuje alespoň jeden šálek denně, což z čaje činí významného přispěvatele k příjmu polyfenolů ve stravě (Grosso et al., 2014; Sielicka-Różyńska et al., 2020; Ho et al., 2008). Od roku 2000 do roku 2005 vzrostla spotřeba zeleného čaje na 41 % v Asijských zemích a Tichomoří. Jeho roční spotřeba na obyvatele byla do roku 2005 pouze 0,52 kg. Světová produkce a spotřeba čaje se za poslední desetiletí zvýšila o 4,5 % a dosáhla 5,7 milionů tun v roce 2016. Do roku 2022 se zvýšila o 2,5 % v zemích produkujících čaj. Drobní pěstitelé se účastní ze 60 % světové produkce. V roce 2020 během pandemie COVID-19 se zvýšila konzumace čaje v domácích podmínkách na úkor čajoven či restaurací (FAO, 2022).

1.2 Pěstování čajovníku

Podmínky pěstování čajovníku a zpracování jeho listů rozhodují o kvalitě a chuti čaje. Optimální teplota pro růst je 18–28 °C a dostatečný sluneční svit. Na kvalitu má vliv také odrůda.

Čaje vyšší jakosti se často sklízí ručně, ale i mechanickými nůžkami či strojově. V tradičních oblastech se čaje stále sbírají ručně, kdy sběrač sklídí denně 30 až 35 kg čerstvých listů. Doba sklizně závisí na oblasti pěstování a na odlišném podnebí. V Indii, např. v oblasti Darjeelingu, se sklízí čaj jen čtyřikrát ročně, v jiných oblastech se může sklízet celoročně (Srí Lanka, Sumatra) (Wachendorfová, 2007; Ercisli et al., 2009).

Camellia sinensis L. je vytrvalá rostlina, která preferuje teplé a vlhké podnebí se spoustou srážek, rozptýlené světlo a slabou kyselou a dobře odvodněnou půdu. Dobře pěstované čajovníky poskytují vysoce kvalitní čajové výhonky, které se

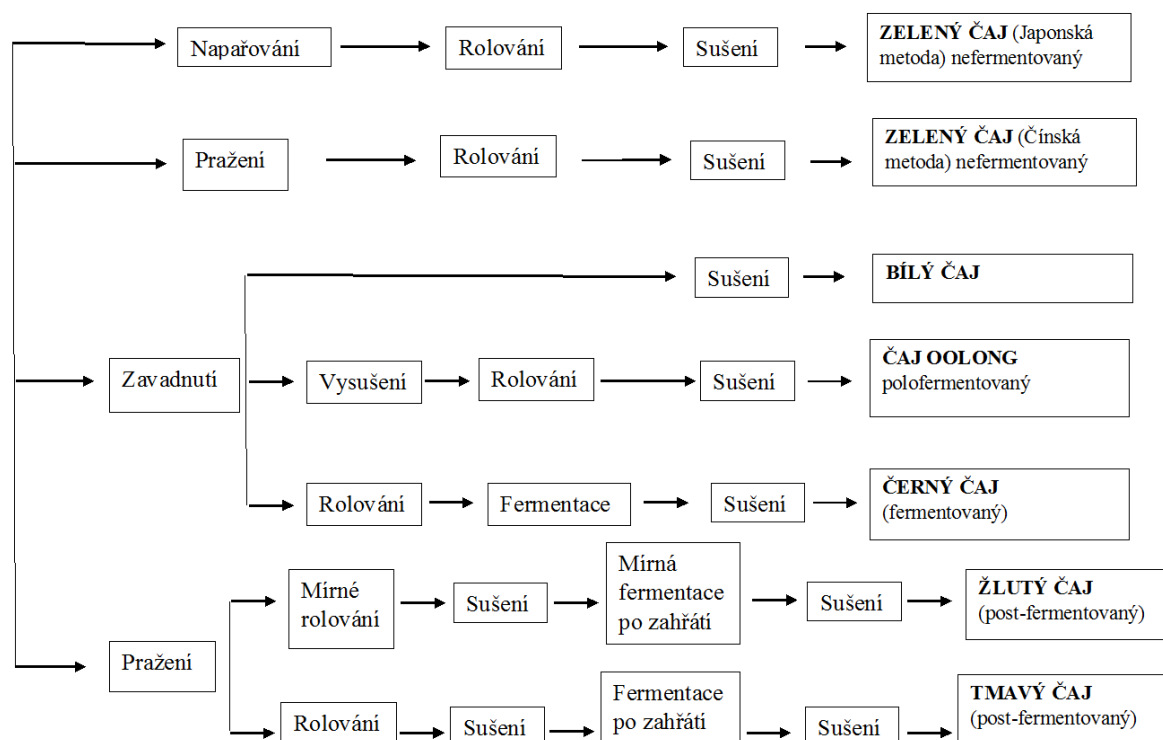
kvalitativně liší čajovými kultivary a podmínkami pěstování, jako jsou typ půdy, nadmořská výška a podnebí. Čajový keř ovšem v zimním období zastavuje růst, aby se vyrovnal s nízkými teplotami, a od října do února střeďává živiny z půdy v kořenech. Na jaře se tyto živiny přenesou do nově rašících pupenů. Čaj sklizený na jaře se vyznačuje bohatou chutí a vyšším obsahem živin. Čínský idiom říká: „Vyšší hora přináší vyšší výnosy kvalitního čaje.“ To naznačuje, že horské podmínky jsou optimální pro růst čajovníků, zejména pro růst vysoce kvalitního čaje (Zhang et al., 2017; ECA, 2016).

1.2.1 Pěstování čajovníku pro výrobu matcha čaje

Matcha je vysoce kvalitní čaj, který se získává díky náročnému procesu pěstování a dalšího zpracování. Pro výrobu matcha čaje jsou čajovníky zastiňovány již z jara (v polovině dubna), jakmile vyraší nové pupeny, hustou tkaninou zabraňující slunečnímu svitu působit na listy. Zastiňování probíhá po dobu tří až čtyř týdnů před sklizní, a to až z 90 % po dobu 20 dnů, což zvyšuje budoucí kvalitu čaje (Dietz et al., 2017). Plantáž se zakryje rákosovými nebo bambusovými rohožemi (tradiční metoda) či plachtami. Ve velkopěstírnách jsou užívány konstrukce postavené kolem keřů, a pomocí nich jsou zastíněny sítěmi, které propustí jen 10 % slunečního svitu. Tento způsob se nazývá tana. Malopěstitelé používají postup zvaný džikagise – tento je jednodušší, protože je látka přehozena přímo přes keře čajovníku (Heiss, 2016). Dopad slunečních paprsků na čajové plantáže je tedy snížen na 60 až 75 %. Zamezení přístupu světla způsobí, že se v lístcích zvýší obsah chlorofylu (lístky jsou tmavší), sníží se koncentrace tříslovin a nálev bude mít sladší, ale méně výraznou chuť. Zhruba po deseti dnech, kdy jsou plantáže zastíněny rákosem, se přidá vrstva slámy. Dojde k dalšímu omezení slunečních paprsků na více než 90 %. Rostlina ke svému růstu potřebuje světlo a jeho nedostatek přinutí lístky růst za světlem, takže jsou delší, tenčí a mají jasně zelenou barvu. Díky speciální kultivační metodě zastiňováním jsou čajové listy zvláště bohaté na antioxidační sloučeniny. V průběhu zastiňování jsou rostliny schopny produkovat vyšší množství kofeinu a aminokyselin (zvláště L-theaninu) a dalších bioaktivních sloučenin včetně chlorofylu, odpovědných za jedinečnou, nehořkou chuť a charakteristickou zářivou barvu matchi. Zároveň klesá množství katechinů, které mají trpkou a svíravou chuť. Díky vysokému množství chlorofylu a L-theaninu je matcha vysoce ceněna pro svou kvalitu a je považována za nejaromatičtější zelený čaj (Kochman et al., 2021; Sielicka-Różyńska et al., 2020; ECA, 2016; Okakura, 2000; Pettigrew, 2001; Kaneko et al., 2006; Heiss, 2016).

1.2.2 Zpracování čajovníkových listů

Klasifikování čajových listů může být provedeno několika způsoby: dle barvy hotových listů, dle barvy čajového výluhu, dle technologie zpracování apod. Dle čínského způsobu klasifikace se čaje podle způsobu technologického zpracování dělí na: zelený, žlutý, bílý, oolong, čaj černý a tmavý čaj (Pu-erh) (Obr. 1). Japonský systém klasifikuje pravý čaj s ohledem na způsob zpracování do tří skupin: nefermentovaný, polofermentovaný (oolong) a fermentovaný čaj (Hilal, 2017).



Obr. 1: Stručné schéma jednotlivých kroků výroby u různých druhů čajů (upraveno dle Hilal, 2017)

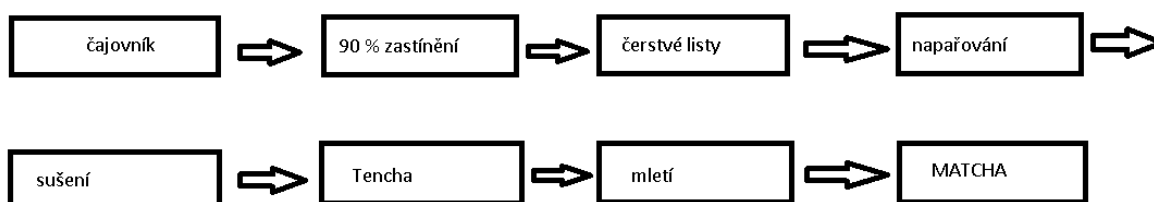
Zelený čaj je nefermentovaný druh s převážně flavan-3-oly (katechiny, proanthokyanidiny, theaflaviny) přispívající k antioxidační kapacitě a utváření sensorických vlastností. Počáteční rychlé a šetrné zahřátí čerstvých lístků degraduje polyfenoloxidázy a zabraňuje tak přeměně flavanolů na tmavé polyfenolické sloučeniny typické pro černý čaj. Konečná podoba zeleného čaje (celý list, drcený nebo práškový) závisí na konkrétní vyráběné variantě (Cabrera et al., 2003; Sielicka-Różyńska et al., 2020). Při výrobě zeleného čaje se nepoužívá oxidační proces, tudíž si zelený čaj udržuje jemnou chuť a zelenou barvu. Brzy po sklizni jsou deaktivovány polyfenoloxidázy a chlorofyláza vysokými teplotami, aby se zabránilo fermentaci. Inaktivované enzymy

nerozkládají chlorofyl, takže si čaj udrží zelenou barvu. Existují dva způsoby napařování, čínský a japonský. U japonského způsobu se využívá teploty kolem 100 °C a je využíváno napařování parou, u čínského způsobu se používá pražení s teplotami kolem 300–350 °C. Listy jsou dále válcovány ručně či mechanicky, aby se uvolnily šťávy v listech, které mají vliv na chuť čajů. Následuje proces sušení, zvyšující trvanlivost, protože zpomaluje či zastavuje růst mikroorganismů a zabraňuje biochemickým reakcím, jež by mohly změnit organoleptické vlastnosti (Hilal, 2017; Hilal a Engelhardt, 2007; Bhutia Phemba et al., 2015; Roshanak et al., 2016).

1.2.3 Sklizeň čajových lístků pro výrobu matcha

Na začátku května začíná sklizeň čajových lístků na výrobu matcha. Jsou sbírány nejměkčí a nejčerstvější lístky – ručně či mechanicky. Na sběr listů mechanickým způsobem se používají buď přenosné obráběcí stroje, které obsluhuje jedna nebo dvě osoby, samopojízdné vozy a stroje, které se pohybují po kolejích. Nejvíce jsou využívány samopojízdné vozíky z důvodu časové úspory. Čím více lístek přijal slunečního svitu tím je delší a větší. Sklizeň můžeme rozlišit na dva druhy, a to na sběr k výrobě gyokuro a sběr na výrobu matcha. Sběr pro výrobu gyokuro je prováděn na jaře, těsně před sběrem suroviny na matcha čaj. Dochází při něm ke sklizni pouze poupat, případně prvního lístku pod pupětem. Pro výrobu matcha čaje se sklízí poupě spolu se třemi dalšími lístky. Při ručním sběru jsou sbírány pouze pupen a dva vrchní lístky, což zaručuje vysokou kvalitu matcha čaje (Okakura, 2000; Pettigrew, 2001; Kaneko et al., 2006; ECA, 2016; Heiss, 2016).

1.2.4 Zpracování lístků na výrobu matcha čaje



Obr. 2: Technologické kroky pro výrobu matcha čaje

Výroba matcha čaje pokrývá pouze 0,6 % z celkové produkce pěstování čajových lístků. I když je jeho spotřeba ve srovnání k čaji sencha malá, má matcha historicky v Japonsku velmi důležité postavení v kultuře. Pro výrobu matcha čaje se listy spaří, suší a melou (Juneja et al., 2013). Sbírané lístky pro výrobu

matcha čaje jsou přepraveny do továrny, kde se 30 s napařují, aby se zabránilo oxidaci a lístky si zachovaly svou chuť, barvu a vůni. Poté dochází k prvnímu sušení, kdy list je vysoušen pomocí několika za sebou sestavených válců asi 6 m vysokých, v jejichž spodní části jsou větráky, a díky nim se listy čajovníku oddělí od sebe a zbaví nadbytečné vlhkosti, ochladí se a usuší až na konečné 3 % vlhkosti. Dopravníkem se listy přesunují do pece, v této fázi musí být zcela usušené, neboť i drobná vlhkost by mohla být příčinou samovznícení listu, protože je v peci teplota 150 °C. Nejprve jsou listy na nejspodnějším pásu v peci, nejbližší teplotě 150 °C po dobu 2–3 minut. Na to jsou větráky posunuty na vrchní pás, kde zůstávají asi 8 minut při teplotě 100 °C a potom klesají opět dolů asi na 10 minut. Po tomto primárním sušení se získá surová tencha, dochází k odstranění žilek a stonků a surovina je sekána na malé kousky, které jsou opět sušeny na surovinu nazývanou čaj tencha. Nasekané lístky (tencha) jsou namlety na nejjemnější prášek ve speciálních mlýnech ze žulových kamenů (brusírny). Výsledným produktem je matcha prášek se světle zelenou barvou a kombinací typické zelené čajové hořké a umami chuti. Při tradiční přípravě se čajový prášek přeleje vodou o teplotě 70–80 °C a ve speciální nádobě vyšlehá bambusovou metličkou do pěny (Okakura, 2000; Pettigrew, 2001; Kaneko et al., 2006; Juneja et al., 2013; Heiss, 2016).

1.3 Označování čaje v oblasti kvalitativních ukazatelů

Kvalita čaje mnohdy závisí na jeho původu, podnebí a nadmořské výšce pěstování, půdních podmínkách a ošetřování čajovníku (hnojení, prořezávání, postřiky), technice sběru (strojově či ručně), období sběru a na způsobu zpracování (sušení, fermentace). Mimo legislativní požadavky (kapitola 1.1.1) se pro označení různých úrovní „kvalit“ čaje v rámci obchodování rozeznávají čtyři základní skupiny. Každá skupina je dále rozdělena do několika kategorií: celé listy (whole leaf), zlomky (brokens), drť (fannings) a prach (dust). Fannings and dust (jemné, nejméně kvalitní čaje bez celých lístků či výhonků), dále pak broken (čaj rozdrcen v drtičce na menší kousky) mají obvyklé použití pro čaje střední třídy a jsou většinou připraveny pro účely balení do čajových sáčků. Například, kvalita listu pro celolistvové čaje může být označena zkratkou SFTGFOP – super fine tippy golden flowery orange pekoe, což je čaj s velkým podílem výhonků (silver tips), často původem z vysokohorských čajovníků, zpracovaný z nejkvalitnějších lístků; naproti tomu označení PS – pekoe souchong – značí čaj z méně kvalitních lístků nepříliš vysoké kvality. Kvalita listu pro čaje drcené může být označena například jako FTGFBOP – fine tippy golden flowery broken orange pekoe nebo BP – broken pekoe. Podobně pro kvalitu listu čaje práškovité či drťovité konzistence lze použít například označení FTGFOPF – fine tippy golden flowery orange pekoe fannings. Dále se pro označení mohou použít další

zkratky již zmiňované výše jako FF – first flush, první sklizeň a SF – second flush, druhá sklizeň apod. (Ho et al., 2008; Oppliger, 2000; Polechońska et al., 2015).

1.4 Nutriční a biologicky aktivní látky zelených čajů

Chemické složení čajových listů významně závisí na klimatických podmínkách a postupech pěstování, složení půdy, nadmořské výšce, době sklizení, třídění, zpracování, skladování a sušení, dále také například na technikách extrakce, použitých rozpouštědlech atd. Existuje přímá závislost mezi kvalitou čaje a obsahem aminokyselin, kofeinu a polyfenolů v čajových lístcích, stejně tak obsah popela může být kvalitativním znakem pro uchovatelnost čaje (Muhammad et al., 2013). Chemická analýza pupenů a listů sklizených na jaře odhalila obecně vyšší koncentraci aminokyselin a aromatických sloučenin, ale nižší hladiny celkových polyfenolů a kofeinu než v čajových listech sklizených na podzim (Liu et al., 2015). Mezi hlavní biologicky aktivní látky obsažené v čajích patří polyfenoly, alkaloidy, aminokyseliny, chlorofyl, minerální a stopové prvky a vitaminy (Nawab et al., 2015; Bhutia Pemba et al., 2015; Cabrera et al., 2003).

Zelený čaj má díky bioaktivním složkám, včetně kofeinu, L-theaninu, polyfenolů (z řad flavonoidů), mnoho farmakologických a fyziologických funkcí. Byly studovány účinky antimutagenní, antikarcinogenní, hypocholesterolemické, antibakteriální, antioxidační a antialergenní, které mohou pomoci při snižování hladiny cholesterolu a cukru, snížit riziko oxidačního stresu a kardiovaskulárních chorob a může stimulovat detoxikační procesy (Cooper, 2011; Aman et al., 2013; Saeed et al., 2017; Sielicka-Różyńska et al., 2020).

1.4.1 Základní nutriční znaky zelených čajů

1.4.1.1 Vlhkost

Obsah vlhkosti čaje je rozhodující pro jeho kvalitu během skladování. Měl by se pohybovat v rozmezí od 2,5 do 6,5 %. Čaje s nižší vlhkostí než 2,5 % mohou vykazovat tzv. „zakouřenou chuť“. Při expedování čaje by měla být jeho vlhkost kolem 3 % (Yao et al., 2006; Muhammad et al., 2013). Dle Vyhlášky č. 330/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, pro čaj, kávu a kávoviny není stanoven požadavek vlhkosti pro čaje pravé, mezi které je zařazen čaj matcha (Vyhláška č. 330/1997 Sb). Pro specifikaci částí čajovníku, které jsou vhodné pro přípravu zeleného čaje a chemické požadavky na zelený čaj, dle kterých se dá určit, že čaj byl vyroben v souladu se správnou výrobní praxí existuje ISO norma ES ISO 11287:2012. Tato mezinárodní norma rovněž specifikuje zelený čaj, obecné a chemické požadavky, požadavky na balení a označování zeleného čaje v nádobách (ISO 11287:2012).

1.4.1.2 Popel

Obsah popela je významným parametrem kvality. Nižší obsah popela může být způsoben falšováním. Hraniční hodnota v obsahu popele, která by měla být kontrolována, je navržena pod 5,54 %, aby mohl být udržen pozitivní vztah mezi obsahem popela a kvalitou čajových listů během skladování. Vyhláška 330/1997 Sb. stanovuje obsah celkového popele nejvýše 8 % pouze pro čaj černý (Muhammad et al., 2013; Rehman et al., 2002; Vyhláška č. 330/1997 Sb).

1.4.1.3 Cukry

Volné cukry tvoří 4–5 % hmotnosti suchých čajových lístků. Jejich profil se skládá z glukózy, fruktózy, sacharózy, rafinózy a stachyózy. Monosacharidy a disacharidy přispívají k nasládlé chuti čajového nálevu. Polysacharidy přítomné v čajovém výluhu či listech lze rozdělit na hemicelulózy, celulózu a další extrahovatelné polysacharidy. Některé výzkumy ukázaly, že polysacharidy extrahované z vyrobeného čaje vykazovaly klesající účinek na hladinu glukózy v krvi (Zhen, 2002).

1.4.1.4 Lipidy

Lipidy, z nich zejména jejich stavební složky mastné kyseliny, hrají významnou roli ve vývoji aroma. Lipidy jsou sloučeniny s biochemickým a potravinářsko-chemickým významem. Lipidy se během zpracování a skladování potravin mění zahříváním nebo oxidací atd., což má za následek ztrátu mastných kyselin, hnědnutí a tvorbu sloučenin hořké chuti nebo těkavých sloučenin a tyto změny mají vliv na kvalitu potravin související zejména s chutí. Čajové listy jsou bohaté na linolovou, myristovou, laurovou, stearovou, palmitovou a olejovou kyselinu, které jsou estericky navázané na molekuly glycerolu. Glykolipidové komplexy, které jsou bohaté na kyselinu γ -linolenovou, jsou nejhojnějšími komplexy lipidové povahy v listech čerstvého čaje. Fosfolipidy, mající vysoký podíl kyselin linolové, palmitové a olejové, jsou v čaji zastoupeny méně. Obsah tuku v zelených čajích bývá vyšší, než u čajů černých a pohybuje se v rozmezí od 1,02 do 2,15 % (Zheng et al., 2016; Muhammad et al., 2013; Anan, 1983).

1.4.2 Biologicky aktivní látky zelených čajů

1.4.2.1 Volné aminokyseliny

Volné aminokyseliny jsou sensoricky aktivní sloučeniny v čaji, které ovlivňují kvalitu chuti, vůně a barvy. Aminokyseliny se podílejí na tvorbě aroma při zpracování čaje, protože aminokyseliny se přeměňují na těkavé aldehydy a další produkty a tvoří čajové aroma. Navíc některé aminokyseliny samy o sobě mají určitou vůni a patří mezi nejdůležitější složky, které přispívají ke kvalitě čaje.

Vyšší obsah volných aminokyselin je provázen organoleptickými vlastnostmi, mezi které patří tzv. umami chuť. Tato chuť pramení z přítomnosti L-theaninu a kyseliny glutamové. Dále ji mohou ovlivnit také kyselina asparagová spolu s glutamovou, které mají synergický účinek s threoninem a také přispívají k chuti umami (Jiang et al., 2019). L-Theanin může ulevit hořkosti a svíravosti samotného čaje díky jeho svěží vůni a karamelovému aroma a je hlavní složkou, která v čaji vytváří sladkost a má ochranné účinky při prevenci neuroporuch (Khan a Mukhtar, 2013). Nejhojněji zastoupenou volnou aminokyselinou je již zmíněný L-theanin, který má antagonistický účinek na stimulační vliv kofeinu (Dietz et al., 2017; Unno et al., 2018; Kakuda et al., 2014). Vyváženost složek jako je L-theanin, kofein a katechin (kterého matcha, ve srovnání s klasickými zelenými čaji, obsahuje více) určuje kvalitu zeleného čaje (Unno et al., 2018; Weiss a Anderton, 2003).

Alanin a kyselina glutamová mají květinové aroma. Serin a tyrosin mají charakteristické aroma vína. Volné aminokyseliny jako L-theanin, glutamin a kyselina glutamová jsou zodpovědné za výraznou umami chuť čaje, které dodávají čaji pikantní a svěží chuť, a tryptofan a fenylalanin přispívají k intenzitě hořké a svíravé chuti čaje. Obsah a množství volných aminokyselin hraje klíčovou roli pro určení kvality chutě. Volné aminokyseliny jsou důležité pro zlepšení kvality čaje a mají antioxidační (histidin a leucin) a podpůrné zdravotní benefity (Li et al., 2018; Li et al., 2021). Vázané aminokyseliny jsou součástí čajových proteinů s vlastním nutričním významem (Zhu a Wang, 2016).

Kombinace L-theaninu a kofeinu může zvýšit soustředění, bdělost a ostražitost ve vyšší míře než použití jedné ze sloučenin samostatně, navíc zmírňuje stres (Kochman et al., 2021). L-theanin představuje v čaji více než 50 % z volných aminokyselin, dále se zde vyskytují hlavně arginin a γ -aminomáselná kyselina (GABA). Zejména japonské čaje vyšší kvality obsahují vyšší množství právě jmenovaných aminokyselin ve volné formě. Obecně se v čajích vyskytují volné aminokyseliny zhruba kolem 1,0 až 5,5 %. K chuti umami přispívají, mimo výše uvedené, i kyselina gallová, sukcinát disodný a polyfenol theogallin (Kaneko et al., 2006; Jiang et al., 2019). Zelený čaj obsahuje méně než 0,1 % GABA, po anaerobním ošetření čerstvých zelených listů se její koncentrace zvyšuje. Anaerobním ošetřením se rozumí uchovávání čajových listů pod plyny (N_2 , CO_2). Tento čaj se nazývá gabaron. Čajové lístky obsahují i další volné aminokyseliny jako alanin, glutamin, serin a asparagin. Mezi složky aminokyselin dodávající čaji hořkost patří i arginin a alanin (Saeed et al., 2017; Horie a Kohata, 2000; Hakamata, 1990).

1.4.2.2 Polyfenolické látky

Polyfenoly jsou považovány za výjimečně silné antioxidanty a v čaji jsou zodpovědné za jeho antioxidační aktivitu. Spolu s kofeinem jsou hlavními

složkami čaje. Čisté katechiny a fenolové kyseliny obsažené v čaji jsou silnější antioxidanty než vitamíny C a E a než jako β -karoten. Fenolické antioxidanty hrají významnou roli v ochraně lidského těla před oxidačním stresem, který je spouštěn nerovnováhou mezi tvorbou reagenčních forem kyslíku a jejich eliminací, a v oddálení několika chronických onemocnění (Xu et al., 2016). Polyfenolické sloučeniny v zeleném čaji zastupují především fenolové kyseliny a flavonoidy.

25–35 % sušiny zelených čajových listů je tvořeno fenolickými kyselinami (deriváty kyselin hydroxybenzoové a hydroxyskořicové) a flavonoidy (flavony, flavonoly, isoflavony, flavanony, flavanonoly, flavanoly a anthokyanidiny) (Saeed et al., 2017). Dále mezi hojně zastoupené polyfenoly čajů patří ligniny a taniny (hydrolyzované a kondenzované trísloviny) (Shahidy a Ambigaipalan, 2015; Saeed et al., 2017).

Fenolové kyseliny jsou sekundární rostlinné metabolity, které se kromě neuroprotektivních a hypoglykemických účinků vyznačují vysokým antioxidačním a protizánětlivým potenciálem. Bylo také popsáno, že inhibují růst rakovinných buněk a zabraňují metastázám. Některé fenolové kyseliny mohou modulací metabolismu lipidů a sacharidů podporovat regulaci metabolických poruch. Jednou z nejběžnějších sloučenin z této skupiny nacházející se v potravinách je kyselina chlorogenová (Kochman et al., 2021; Koláčková et al., 2020a; Shahidi a Ambigaipalan, 2015). Nejznámějšími deriváty kyseliny hydroxybenzoové vyskytujícími se v čajových listech jsou kyseliny gallová, *p*-hydroxybenzoová, protokatechinová a ellagová. Deriváty kyseliny hydroxyskořicové, nacházející se v čajích, jsou kyseliny kávová, ferulová, sinapová a chlorogenová (Shahidi a Ambigaipalan, 2015).

Deriváty flavonoidů se základní strukturou, obecně známé jako katechiny s *o*-fenyl-benzopyranem, tvoří přibližně 18 až 36 % ze sušiny čajů (Yan et al., 2020).

Tab.1 Složení japonských druhů čajů (Juneja et al., 2013)

Druhy čaje	Sencha	Matcha	Gyokuro	Bancha	Oolong	Černý
Složky						
Polyfenoly [%]	14,7	6,5	13,4	12,5	16,0	-
Kofein [%]	2,87	3,85	3,10	2,02	2,34	-
Theanin [mg.100 g ⁻¹]	1280	2260	2650	-	588	-
Volné aminokyseliny [mg.100 g ⁻¹]	2700	5800	2730	770	993	-
celkový N [%]	5,48	6,36	5,48	3,83	3,43	-

Vitamin B ₁ [mg.100 g ⁻¹]	0,35	0,60	0,37	0,25	0,13	0,10
Vitamin B ₂ [mg.100 g ⁻¹]	1,40	1,35	1,34	1,40	0,86	0,80
Vitamin C [mg.100 g ⁻¹]	250	60	257	150	43	32
Vitamin B ₃ [mg.100 g ⁻¹]	4,0	4,0	4,1	5,4	5,7	10

Je známo, že čajové polyfenoly přispívají k barvě a chuti čajů. Epikatechiny jsou hlavními sloučeninami v zeleném čaji, přispívající svou charakteristickou barvou a chutí, ovšem ne v matcha čajích. Zde hraje hlavní roli chlorofyl ve své výrazné jasně zelené barvě. Naproti tomu thearubiginy a theaflaviny v černém čaji – oxidační produkty vzniklé fermentací, přispívají k barvě a chuti černých čajů (Gardner et al., 2007; Reeves a kol., 1987; Juneja et al., 2013). Flavonoidy zahrnují flavonoly (kvercetin, kaempferol), flavony (rutin) a dále flavanoly (neboli katechiny). Nefermentované čaje, zelený a bílý, obsahují převážně flavonoly a flavanoly (Muhammad et al., 2013; Aladag et al., 2009; Shahidi a Ambigaipalan, 2015). Katechiny se nacházejí ve zvláště vysoké koncentraci v čajích, zejména nefermentovaných zelených a bílých odrůd (Shahidi a Ambigaipalan, 2015). Katechiny mohou být obsaženy v sušině listů až ze 30 % a hrají důležitou roli v chuti čaje (hořkost, trpkost) (Namita et al., 2012; Aladag et al., 2009; Shahidi a Ambigaipalan, 2015). Významnými katechiny zelených čajů jsou EGCG (epigallokatechin-3-gallát), EGC (epigallokatechin), EC (epikatechin), ECG (epikatechin-3-gallát) a C (katechin) (Dietz et al., 2017).

Během fermentace čajových listů při výrobě černého čaje jsou katechiny oxidovány oxidoreduktázami v reakcích enzymového hnědnutí na příslušné *o*-chinony. Ty kondenzují s dalšími přítomnými katechiny na barevné pigmenty černého čaje – flobafeny, theaflaviny a thearubiginy. Asi 20 % flavonoidů čajových listů při fermentaci přechází na nerozpustné sloučeniny, které zůstávají při přípravě nálevu ve zbytcích čajových listů (Velíšek a Hajšlová, 2009). Obsah katechinů je důležitým parametrem pro stanovení jeho kvality. Katechiny získané z čaje vykazují vynikající antioxidační aktivitu díky své schopnosti neutralizovat volné radikály a zvyšovat detoxikační aktivitu enzymů, včetně glutathionperoxidázy, katalázy a glutathionreduktázy (Kochamn et al., 2021). Grzesik et al. (2018) uvedli, že katechiny mají větší antioxidační kapacitu než glutathion, vitamín C a flavonoidy, což svědčí o jejich klíčové roli při udržování buněčné redoxní homeostázy (Kochman et al., 2021). Z mnoha polyfenolických sloučenin nacházejících se v potravinových komoditách, bylo zjištěno, že katechiny, a to zejména ty, které se nacházejí v zelených čajích, mají antimutagenní a protinádorové vlastnosti a mohou mít profylaktické účinky proti hypertenzi (Goto et al., 1996). Patří mezi silné antioxidanty a mají antimikrobiální vlastnosti (Namita et al., 2012; Shahidi a Ambigaipalan, 2015; Aladag et al., 2009).

1.4.2.3 *Alkaloidy*

Matcha má ve srovnání s jinými zelenými čaji poměrně vysoký obsah kofeinu, což mu dodává jedinečné aroma a chuť (Kochman et al., 2021). Kofein (1,3,7-trimethylxanthin či methyltheobromin), je rostlinný, ve vodě rozpustný alkaloid, bez zápachu, obsažený v nápojích jako čaj, káva, kakao či maté. Obsah kofeinu v čaji je ovlivňován různými faktory jako oblast pěstování, její nadmořská výška, environmentální podmínky a druh čajovníku. Vyšší obsah kofeinu je prokázán zejména u mladých pupenů a listů v porovnání se zralými listy. Čaje bílé, zelené a černé obsahují více kofeinu (3–5 % v sušině) než pražená káva (1,0–1,5 % v sušině). Při použití 2,5 g čaje zalitého 200 ml vody obsahuje šálek čaje přibližně 60 mg kofeinu (Goto et al., 1996; Hilal, 2017). Listy čerstvého čaje obsahují dále theofylin (0,02–0,04 %) a theobromin (0,15–0,20 %). Významný je povzbuzující účinek kofeinu na centrální nervový systém díky interakci kofeinu s receptory nervových buněk mozku (Hilal, 2017).

1.4.2.4 *Vitaminy*

Zelený čaj obsahuje vitaminy C, E a K. Vitamin E jako významný antioxidant se prakticky neextrahuje do nálevu, tudíž konzumace zeleného čaje matcha dává předpoklad k jeho využití z listů (Horie a Kohata, 2000; Islam a Ebihara, 2012). Dalším vitamínem přítomným v zelených listech je vitamin K, který se v čajových listech vyskytuje v množství od 120 do 625 $\mu\text{g}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ (Reto et al., 2007). Zelené a oolong čaje jsou relativně dobrými zdroji vitamínu C (Namita et al., 2012). Ve vysoce kvalitních zelených čajích dosahuje obsah vitamínu C až 0,5 % sušiny. Kvůli výrobnímu procesu, zahrnujícímu kroky fermentace, je obsah všech vitamínů v černých čajích nižší než v zelených, zejména to platí o termolabilním vitamínu C (Hilal, 2017).

1.4.2.5 *Minerální prvky*

Obsah minerálních a stopových prvků v listech čajovníku a ve výsledném výluhu čaje závisí na mnoha faktorech, jako jsou geografické umístění, hnojení, technologie zpracování čajových listů, doba a teplota louhování apod. Čajové listy obsahují cca 4–9 % anorganické hmoty. Dostupnost minerálních prvků závisí na jejich množství v listech, rozpustnosti prvků (ta je dána jeho chemickou formou), době potřebné pro proces louhování, teplotě louhování, pH a také na přítomnosti antagonistů, jako např. kyseliny taninové a samotných taninů, katechinů apod. Na prvky můžeme pohlížet na základě účinnosti jejich extrakce v horké vodě jako na: vysoce extrahovatelné z více než 55 % (Cl, Br, K, Rb, Cs, Na), středně extrahovatelné z 20 až 55 % (Co, S, Zn) a na špatně extrahovatelné méně než z 20 % (Mg, Mn, Fe, La, B, Al, Ca) (Islam a Ebihara, 2012). Čajové listy obsahují ve vyšším množství K, Mn, Cr, Ni a Zn (Ercisli et al., 2009). Významný je obsah fluoru, jehož koncentrace v čajových listech se odvíjí od pH půdy. Jeho obsah

v čajovém nápoji je hojně diskutován v souvislosti s prevencí vzniku zubního kazu (Hilal, 2017). Stopové toxické prvky se v čajových listech liší hlavně dle země původu. Čajovníky mají vysokou schopnost akumulace Al v čajových listech, to je pro něj typické. Čím je list starší, tím je obsah Al vyšší (Karak a Bhagat, 2010).

1.4.2.6 Barviva

Rostlinné pigmenty dodávají listům jejich barvu a jsou zodpovědné za absorpci světla pro fotosyntézu. V čerstvých čajových listcích jsou dvě hlavní skupiny pigmentů: chlorofyly a karotenoidy. Tyto pigmenty kondenzují během vadnutí a oxidace, což způsobuje jejich ztmavnutí. Během oxidace se zelené chlorofyly rozkládají a stávají se hnědo-černými pigmenty známými jako feofytiny. Tato degradace vede k tmavému vzhledu hotových oxidovaných čajů (Preedy, 2012; Gebely, 2023). Barva čajového výluhu je přímým „ztělesněním“ organoleptické kvality čaje, určuje předběžné hodnocení jeho kvality a hraje významnou roli u spotřebitele. U zelených čajů jsou nejvýznamnější lipofilní tetrapyrrolová chlorofylová barviva, chlorofyl *a* a *b*. Chlorofyl je v zeleném čaji obsažen zhruba z 0,5 %. Chlorofyláza hraje klíčovou roli v kroku degradace chlorofylu v katalýze jeho hydrolýzy na feoforbidity. Aktivita chlorofylázy může být zachována i po zahřátí během zpracování listů (Suzuki a Shioi, 2003). Vznik feoforbidity se potom může projevit nahnědlým odstínem výluhů. Nejen, že jsou chlorofylová barviva nositeli zeleného odstínu barvy, ale vykazují také antioxidační aktivitu. Bylo zjištěno, že feofytiny (cyklické tetrapyrroly vznikající odnětím atomu Mg^{2+} ze skeletu chlorofylů při fermentaci a lze je pozorovat i vizuálně změnou barvy ze zelené na našedlou) mají silné potlačující účinky při tumorigenezi. Naopak nadměrný příjem feoforbidity *a*, odvozeného od chlorofylu *a*, se podílí na dermatitidě (Muhammad et al., 2013; Saeed et al., 2017).

Čajové karotenoidy, další pigmentová skupina nacházející se v čajových listech, lze dělit do dvou menších skupin: oranžové karoteny a žluté xantofyly. Během zpracování se karotenoidy rozkládají na mnoho derivátů, které mají chuťové senzorycké vlastnosti. Nejdůležitější a nejrozšířenější z těchto sloučenin je damascenon, který propůjčuje sladkost hotovému čaji (Preedy, 2012; Gebely, 2023). Při zpracování zelených čajových listů dochází například k přeměně violaxanthinu na auroxanthin, který je jeho izomerem. V čajových listech bylo detekováno pět hlavních xantofylových barviv, a to neoxanthin, violaxanthin, antheraxanthin, zeaxanthin a lutein, a ze zástupců karotenů potom β -karoten (Suzuki a Shioi, 2003; Zheng et al., 2016).

Dalšími barvivy čajových listů jsou theaflaviny a thearubiginy. Jsou to červená a červenohnědá barviva vznikající oxidační kondenzací katechinů. Tyto sloučeniny se vyskytují hlavně v černých čajích, nikoli v zelených (Horie a Kohata, 2000).

2 CÍL DISERTAČNÍ PRÁCE

Cílem disertační práce je stanovení obsahu základních nutričních látek a biologicky aktivních látek u vzorků matcha čajů, a to nejen v prášku, ale i v připravených výluzích, ledových čajích a také po simulaci procesu trávení v podmínkách *in vitro*.

Dílčí cíle s jednotlivými stanoveními:

a) Stanovení nutričních a biologicky aktivních látek u matcha čajů v práškové formě (**experimentální část I**):

- stanovení obsahu vlhkosti, popela, hrubé bílkoviny a lipidů, stanovení hrubé a neutrálně-detergentní vlákniny, *in vitro* stravitelnosti,
- stanovení chlorofylu *a* a *b* a celkového chlorofylu spektrofotometricky,
- stanovení prvkového složení pomocí ICP-MS,
- stanovení obsahu volných a vázaných aminokyselin,
- stanovení vitamínu C pomocí HPLC,
- stanovení kofeinu pomocí HPLC.

b) Stanovení biologicky aktivních látek v připravených vodných a methanolových výluzích matcha čajů (**experimentální část II**):

- stanovení antioxidační aktivity spektrofotometricky metodami se zhášením radikálů ABTS a DPPH,
- stanovení obsahu celkových polyfenolů a flavonoidů spektrofotometricky,
- stanovení fenolického profilu pomocí HPLC.

c) Stanovení biologicky aktivních látek ve vybraných ledových matcha čajích (**experimentální část III**):

- stanovení antioxidační aktivity spektrofotometricky metodami se zhášením radikálů ABTS a DPPH, stanovení antioxidační aktivity chemiluminiscenční metodou PCL,
- stanovení obsahu celkových polyfenolů a flavonoidů spektrofotometricky,
- stanovení kofeinu, L-theaninu, theobrominu a theofylinu pomocí HPLC,
- stanovení fenolického profilu metodou HPLC,
- stanovení minerálních a stopových prvků metodou AAS,

d) stanovení vybraných biologicky aktivních látek v nestráveném podílu matcha čajů po procesu simulace trávení procesem *in vitro* (**experimentální část IV**):

- stanovení sušiny, popela a stravitelnosti,
- stanovení antioxidační aktivity spektrofotometricky metodami se zhášením radikálů ABTS a DPPH, stanovení antioxidační aktivity chemiluminiscenční metodou PCL,
- stanovení kofeinu, L-theaninu, theobrominu a theofylinu pomocí HPLC,
- stanovení fenolického profilu metodou HPLC,
- stanovení minerálních a stopových prvků metodou AAS,
- použití skenové elektronové mikroskopie (SEM).

II. PRAKTICKÁ ČÁST

3 ZVOLENÉ METODY ZPRACOVÁNÍ

3.1 Použité vzorky matcha čajů

K analýzám byly použity vzorky matcha čajů různých zemí původu (Japonsko, Čína, Korea). Vzorky byly zakupovány ve specializovaných obchodech s prodejem čajů nebo v lékárnách. Čtyři vzorky byly dodány firmou Oxalis, spol. s r.o., se kterou se v rámci disertační práce spolupracovalo. Vzorky byly uchovávány v klimatizované laboratoři při 23 ± 2 °C a bez přístupu slunečního záření. Balení matcha čajů bylo různorodé – od jednoporcových balení (2 g) až po 1000 g.

Tab. 2 Charakteristika analyzovaných vzorků

Vzorky	Označení	Země původu	Balení [g]
Bio matcha Shao Xing*	Shao Xing	Čína	100
Bio matcha Jeju*	Jeju	Korea	100
Bio matcha Hisui*	Hisui	Japonsko	100
Bio matcha Asagiri*	Asagiri	Japonsko	100
100% Organic green Matcha tea	Khoisan	Japonsko	30
Organic Japanese matcha tea No. 82	Whittard	Japonsko	30
Mo Cha Fen	Mo Cha Fen	Japonsko	100
Matcha Japonsko	Don Matcha	Japonsko	30
Bio Matcha Tea	Bio matcha	Japonsko	30x2
Bio original matcha tea	Royal pharma	Japonsko	20x2
Matcha tea Focus No. 10	Kissa	Japonsko	30
Matcha premium	Moya	Japonsko	30
Premium Japan bio matcha	Japan bio	Japonsko	1000
Premium matcha tea	Allnature	Čína	250
Bio matcha tea	Wolfberry	Čína	200

* Vzorky poskytl firma Oxalis, spol. s r.o.

3.2 Příprava vzorků

Pro dané experimenty a následné analýzy byly vzorky matcha čajů připravovány individuálně.

3.2.1 Prášková forma matcha čaje

Vzorky matcha čajů v práškové podobě byly přímo váženy na analytických vahách s přesností na 0,1 mg. U těchto vzorků bylo provedeno stanovení základních nutričních hodnot (sušina, celkový popel, hrubá bílkovina a celkové lipidy), dále stanovení stravitelnosti v podmínkách *in vitro*, hrubé a neutrálně-detergentní vlákniny, chlorofylu *a* a *b*, vitamínu C, kofeinu, stopových a minerálních prvků a obsahu volných a vázaných aminokyselin.

3.2.2 Příprava výluhů matcha čaje

Pro přípravu nápoje byly vzorky matcha čajů naváženy na analytických vahách s přesností na 0,1 mg a zality destilovanou vodou o teplotě 70 °C a míchány na magnetickém míchadle po dobu 5 minut. Dále byly vzorky filtrovány přes filtrační papír a následně přes nylonový filtr (13 mm; 0,45 μm). U těchto vzorků bylo provedeno stanovení vyluhovaných celkových polyfenolů a flavonoidů, antioxidační aktivity metodami s ABTS a DPPH a fenolického profilu pomocí HPLC.

Další přípravou pro extrakci v methanolu byly vzorky matcha čajů naváženy na analytických vahách s přesností na 0,1 mg a zality 80% methanolem a míchány na magnetickém míchadle po dobu 5 minut. Dále byly vzorky filtrovány přes filtrační papír a následně přes nylonový filtr (13 mm; 0,45 μm). U těchto vzorků bylo provedeno stanovení polyfenolických kyselin pomocí HPLC, celkových polyfenolů, flavonoidů a antioxidační aktivity metodami se zhášením radikálů ABTS a DPPH.

3.2.3 Příprava ledových matcha čajů

Byly provedeny různé způsoby přípravy ice-tea matcha extraktů vzorků (Tab. 3). U ledových čajů byly provedeny 3 metody s přidavkem ledu, rozdílnou teplotou vody, navázkou vzorku a dobou luhování. Konečný objem byl 250 ml. Následně byl každý vzorek filtrován přes skládaný papírový filtr KA4 (Smith Filters, UK). Takto připravené vzorky byly dále použity pro stanovení antioxidační aktivity (s ABTS, s DPPH, PCL), celkových polyfenolů a flavonoidů, kofeinu, L-theaninu, theobrominu, theofylinu, fenolického profilu, minerálních a stopových prvků.

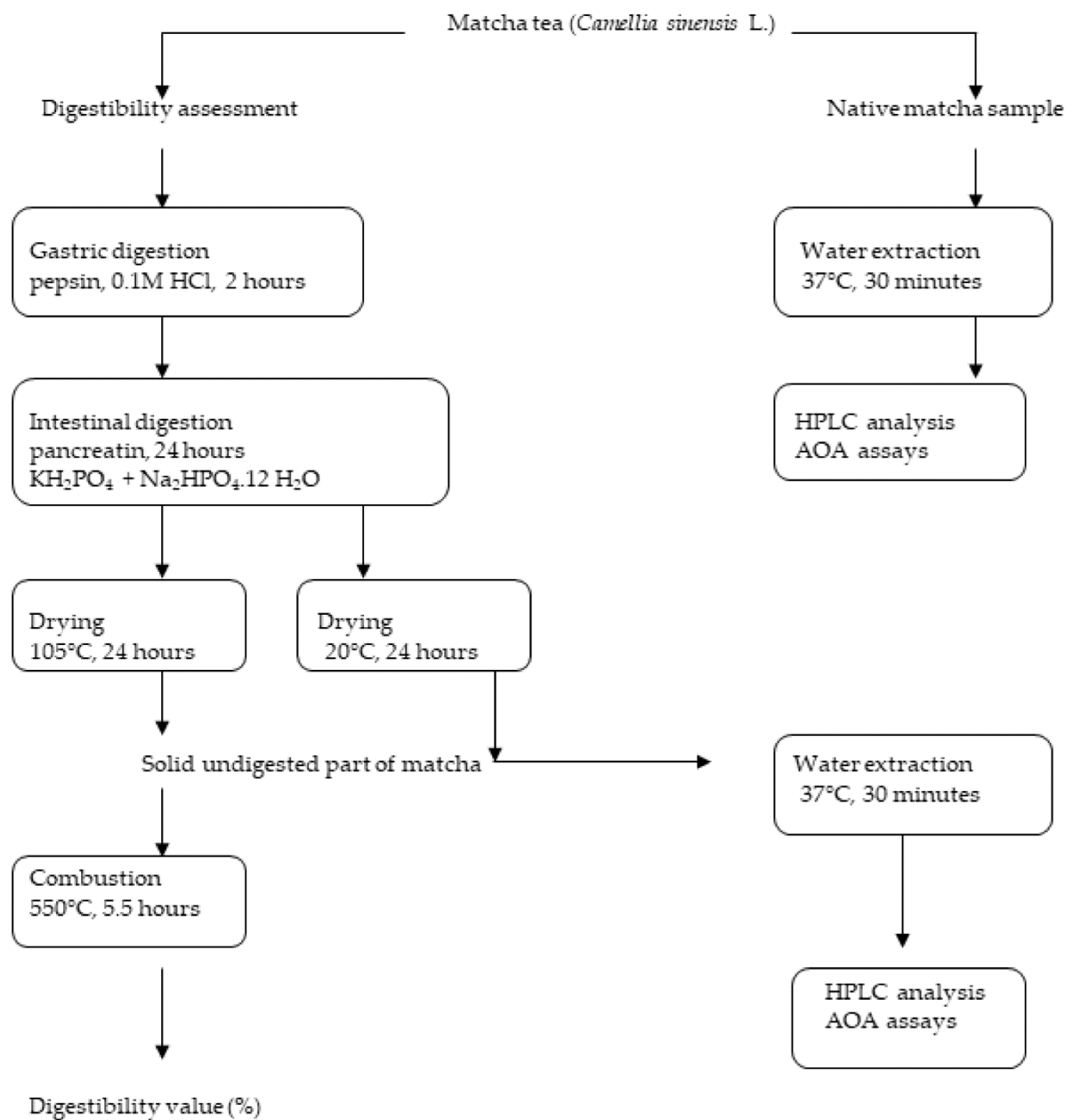
Pozn.: Pokud byly připravovány vzorky pro následnou prvkovou analýzu pomocí ICP-MS nebo AAS, vždy byla použita voda nebo led v ultrapure kvalitě (18.2 MΩcm) (Purelab Classic Elga system, Labwater/VWS, London, UK), vzorek nebyl připravován ve skle a nebyl v kontaktu s kovy. Byly použity plastové materiály.

Tab. 3 Příprava ledových matcha čajů

Metoda	Navážka vzorku [g]	Objem vody [ml]	Teplota [°C]	Navážka ledu [g]	Doba luhování
1	2,00	150	70	100	5 minut
2	2,00	150	20	100	5 minut
3	2,00	150	20	100	12 hodin v lednici při 8 °C

3.2.4 Příprava nestráveného podílu

Příprava nestravitelného podílu probíhala stejným postupem, jako je popsáno v kapitole 3.8. Příprava nestráveného podílu vzorku byla ukončena procesem sušení v sušárně, a to při max. 20 °C po dobu 24 hodin. Dále se pokračovalo dle schématu uvedeného na Obr. 3. Bylo provedeno stanovení antioxidační aktivity, stanovení kofeinu, L-theaninu, theobrominu a theofylinu, stanovení fenolického profilu a byla použita skenová elektronová mikroskopie (Koláčková et al., 2022).



Obr. 3: Schéma experimentu analýzy nestráveného a nativního podílu matcha čaje *in vitro* (Koláčková et. al., 2022)

3.3 Stanovení sušiny

5 g práškového vzorku s přesností na 0,1 mg bylo naváženo do předsušeného kelímku. Vzorky byly sušeny 6 hodin v sušárně při 103 ± 2 °C. Po vychladnutí se miska zvažila na analytických vahách. Stanovení probíhalo vždy ve třech opakováních pro každý vzorek. Byla použita norma ČSN ISO 1572.

3.4 Stanovení popela

Do předem vyžíhaných a zvážených porcelánových kelímků bylo naváženo 5 g práškového vzorku s přesností na 0,1 mg. Vzorky se pálily 5,5 hodiny při teplotě 550 ± 20 °C. Poté byly kelímky vychlazeny v exsikátoru a následně zváženy. Stanovení probíhalo vždy ve třech opakováních pro každý vzorek. Pro stanovení celkového popela bylo využito normy ČSN ISO 1575.

3.5 Stanovení dusíku s následným přepočtem na obsah hrubé

bílkoviny

Pro stanovení obsahu celkového dusíku s přepočtem na obsah hrubé bílkoviny byla použita metoda dle Kjeldahla s mineralizací vzorku mokrou cestou a následnou destilací amoniaku po přidavku nadbytku 30 hm.% NaOH. Amoniak byl jímán do 2 hm.% roztoku kyseliny borité a vzorek se titroval $0,025 \text{ mol.l}^{-1}$ H_2SO_4 . Výsledný obsah dusíku byl následně násoben přepočítávacím faktorem (6,25) a vyjádřen jako hrubá bílkovina. Byla použita norma ČSN EN ISO 20483.

3.6 Stanovení obsahu lipidů

Celkový obsah lipidů v práškové formě matcha čajů byl stanovován pomocí metody dle Soxhleta s hexanem jako extrakčním činidlem. Extrakce probíhala na zařízení Soxtherm Gerhard po dobu 2 hodin a 22 minut. Z rozdílu hmotnosti extrakčních baněk před a po extrakci byl vypočítán obsah celkových lipidů.

3.7 Stanovení hrubé a neutrálně-detergentní vlákniny

Při stanovení hrubé vlákniny (CF, crude fibre) bylo nejprve naváženo 0,5 g (s přesností na 0,1 mg) práškového vzorku matcha čaje do filtračních sáčků (typ F57, Ankom Technology, USA). Jeden prázdný sáček byl zataven a použit pro korekci. Dále byly sáčky umístěny do přístroje Ankom Fibre (Ankom Technology, USA) do nějž byly nality 2 l $0,1275 \text{ mol.l}^{-1}$ H_2SO_4 a bylo zapnuto míchání a ohřev na 100 °C po dobu 45 minut. Po uplynutí 45 minut byla kyselina vypuštěna a vzorky byly několikrát promyty 2 l horké destilované vody a poté byly do přístroje dávkovány 2 l NaOH o koncentraci $0,313 \text{ mol.l}^{-1}$ a opět byl spuštěn program po dobu 45 minut a následovalo propláchnutí destilovanou vodou. Následně se sáčky nechaly ponořené v acetonu po dobu 3 minut a byly vysušeny v sušárně při 105 °C po dobu 4 hodin. Po vysušení se nechaly vychladnout v exsikátoru a byly zváženy. Nakonec se sáčky, které byly vloženy do předem vyžíhaných a zvážených kelímků, nechaly spálit v muflové peci při 550 °C po dobu 5,5 hodiny. Po ochlazení v exsikátoru byl obsah kelímku zvážen (Sumczynski et al., 2015a).

Neutrálně-detergentní vláknina (NDF, neutral-detergent fibre) byla stanovena pomocí neutrálně-detergentního činidla. Suchý koncentrát neutrálního detergentního roztoku (120 g) od Ankom Technology (obsahující laurylsulfát sodný, disodnou EDTA, boritan sodný, hydrogenfosforečnan sodný) byl smíchán s 20 ml triethylenglykolu a poté rozpuštěn v destilované vodě a upraven na objem 2 l (pH 6,9–7,1). Následně bylo připraveno neutrálně-detergentní činidlo přidáním 20 g siřičitanu sodného a 4 ml α -amylázy. Filtrační sáčky F57 byly promývány v acetonu po dobu 3 minut a poté ponechány při cca 20 °C, aby se odpařil zbytek acetonu. Prázdné filtrační sáčky byly označeny pomocí textilního pera a poté zváženy (m_1). Dále bylo 0,5 g vzorku prášku matcha naváženo do filtračního sáčku (m_2) a poté ihned uzavřeno. Jeden filtrační sáček byl uzavřený prázdný a sloužil jako korekční sáček. Zatavené sáčky se vzorky byly vloženy do speciálního hnízda umístěného do analyzátoru vlákniny a dovnitř byl přidán roztok neutrálního činidla. Analyzátor vlákniny byl uzavřen a bylo provedeno míchání. Teplota zahřívání byla nastavena na 100 °C a hydrolýza probíhala po dobu 75 minut. Po této době byl roztok vypuštěn a hnízdo se vzorky bylo znovu třikrát promyto směsí 2 l horké destilované vody a 4 ml amylázy. Dále bylo provedeno poslední propláchnutí studenou destilovanou vodou pro ochlazení sáčků. Během každého opětovného mytí se hnízdo 5 minut míchalo. Poté byly sáčky vloženy do acetonu na 3 minuty a vysušeny pomocí filtračního papíru a ponechány při cca 20 °C, aby se odpařil aceton. Uzavřené sáčky byly vloženy do pece a udržovány při 105 °C po dobu 4 hodin. Dále byly sáčky zváženy (m_3). Nakonec byly všechny spáleny v muflové peci při 550 °C po dobu 5,5 hodiny a po ochlazení v exsikátoru byly zváženy (m_4) (Koláčková et al., 2020a). Neutrálně-detergentní a hrubá vláknina byla vypočtena dle Koláčková et al. (2020a).

3.8 Stanovení stravitelnosti technikou *in vitro*

Do suchých a zvážených filtračních sáčků (F 57, Ankom Technology, USA) vypraných v acetonu bylo naváženo 0,25 g prášku čaje s přesností na 0,1 mg. Sáčky se vzorky byly dále zataveny a umístěny spolu s prázdným sáčkem do inkubační lahve. Do ní bylo přidáno 1,7 l roztoku HCl (0,1 mol.l⁻¹), který byl předem vytemperovaný na 40 °C, a byly přidány 3 g pepsinu. Lahev se umístila do inkubátoru (Daisy^{II}, Ankom Technology, New York, USA) a inkubace probíhala 4 hodiny. Následně byly sáčky důkladně promyty destilovanou vodou. Pro další inkubační roztok bylo použito 1,7 l fosfátového pufru (pH 7,45), připravený navážením 3,09 g KH₂PO₄ a 32,49 g Na₂HPO₄·12 H₂O. Do pufru byly přidány 3 g pankreatinu s propláchnutými sáčky. Po uplynulé inkubační době 24 hodin byly sáčky promyty redestilovanou vodou a vysušeny v sušárně při 103 °C po dobu 24 hodin, umístěny v exsikátoru a zváženy. Nakonec byly sáčky spáleny v muflové peci při 550 °C po dobu 5,5 hodin a po vychladnutí opět zváženy

(Mišurcová, 2008; Koláčková, 2020a). Stravitelnost byla vypočtena podle vzorců Koláčková et al. (2021).

3.9 Stanovení celkových polyfenolů spektrofotometricky

Obsah celkových polyfenolů byl stanoven metodou s pomocí Folin-Ciocalteuho činidla. Do 10ml odměrné baňky bylo pipetováno 5 ml destilované vody, dále bylo přidáno 100 μ l extraktu vzorku čaje, 0,5 ml Folin-Ciocalteuova činidla a nakonec 1,5 ml 20% uhličitanu sodného. Vzorek se ponechal 30 minut reagovat a posléze byla změřena jeho absorbance při 765 nm. Celkový obsah polyfenolů byl vypočítán pomocí rovnice lineární regrese. Výsledky byly vyjádřeny jako ekvivalentní množství mg kyseliny gallové na 1 g vzorku (Cicoo et al., 2009).

3.10 Stanovení celkových flavonoidů spektrofotometricky

Obsah celkových flavonoidů byl stanoven spektrofotometricky pomocí tvorby barevného komplexu s chloridem hlinitým. Do zkumavky se pipetovalo 8,5 ml 20% etanolu, přidalo se 0,85 ml extraktu vzorku čaje, dále 0,375 ml 0,5 mol.l⁻¹ NaNO₂ a směs se nechala reagovat po dobu 5 minut. Po uplynutí této doby se přidalo 0,375 ml 0,3 mol.l⁻¹ AlCl₃.6H₂O a směs se nechala reagovat dalších 5 minut. Nakonec bylo přidáno 2,5 ml 1 mol.l⁻¹ NaOH a po 10 minutách se vzorky proměřily při 506 nm oproti etanolu jako blanku. Vyhodnocení se provedlo metodou kalibrační křivky na standard rutin a výsledky byly vyjádřeny jako ekvivalentní množství mg rutinu na 1 g vzorku (Kotásková et al., 2016a).

3.11 Stanovení chlorofylů spektrofotometricky

Bylo odváženo 0,05 g práškového vzorku s přesností na 0,1 mg, který se rozetřel ve třecí misce s 20 ml 80% acetonu spolu s CaCO₃ (na špičku lžičky) pro zabránění tvorby feofytinu. Směs se nechala 15 minut stát v temnu. Poté byla zfiltrována přes filtrační papír smočený 80% acetonem. Extrakt byl převeden do 25ml odměrné baňky a doplněn 80% acetonem po rysku. Měřila se absorbance extraktu při vlnových délkách 649 a 665 nm oproti 80% acetonu jako blanku. Na základě vzorců 1 až 3 (Vernon, 1960) byl vypočten obsah chlorofylů *a* a *b* i celkový chlorofyl:

$$\text{Chl } a \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = 11.63 (A_{665}) - 2.39 (A_{649}) \quad (1)$$

$$\text{Chl } b \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = 20.11 (A_{649}) - 5.18 (A_{665}) \quad (2)$$

$$\text{Celkový chl} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = 6.45 (A_{665}) + 17.72 (A_{649}) \quad (3)$$

3.12 Stanovení antioxidační aktivity

3.12.1 Metoda se zhášením radikálu ABTS

Pomocí metody s ABTS (2,2'-azinobis-(3-etyl-2,3-dihydrobenzotiazol-6-sulfonátu) dochází ke zhášení kationtu-radikálu ABTS, který byl vyroben reakcí ABTS s peroxodisíranem draselným o koncentraci $0,06 \text{ mol.l}^{-1}$ a ponechán generaci po dobu 16 hodin bez přístupu světla. Octanový pufr se připravil smícháním $0,2 \text{ mol.l}^{-1} \text{ CH}_3\text{COONa}$ a $0,2 \text{ mol.l}^{-1} \text{ CH}_3\text{COOH}$. Octanový pufr o pH 4,3 byl smíchán se vzniklým radikálem ABTS v poměru 39:1. Takto připravená reakční směs byla spektrofotometricky proměřena při vlnové délce 734 nm. Jako blank byl použit octanový pufr. Do zkumavky se odpipetovalo 12 ml reakční směsi a 150 μl extraktu vzorku. Směs se ponechala reagovat po dobu 30 minut v temnu. Po uplynutí 30 minut byla změřena absorbance na spektrofotometru Lambda 25 při vlnové délce 734 nm. Úbytek absorbance byl přepočten na % inaktivace. Z kalibrační závislosti % inaktivace na koncentraci troloxu byla vypočtena antioxidační aktivita, vyjádřená jako mg troloxu na 1 g vzorku (Sumczynski et al., 2015b).

3.12.2 Metoda se zhášením radikálu DPPH

Zásobní roztok se připravil rozpuštěním 24 mg DPPH (1,1-difeny-2-((2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl)) ve 100 ml metanolu. Z takto získaného zásobního roztoku DPPH se připravil roztok pracovní, kdy bylo smícháno 10 ml zásobního roztoku a 45 ml metanolu. Následně se pracovní roztok spektrofotometricky proměřil proti metanolu jako blanku při vlnové délce 515 nm. Při vlastním měření vzorků bylo pipetováno do zkumavky vždy 8,55 ml pracovního roztoku DPPH a 450 μl extraktu vzorku. Vzorek byl ponechán 60 minut v temnu a následně se spektrofotometricky proměřila absorbance při vlnové délce 515 nm. Úbytek absorbance byl přepočten na % inaktivace a pomocí rovnice lineární regrese byla antioxidační aktivita přepočítána na ekvivalentní množství mg troloxu na 1 g vzorku (Ferri et al., 2013).

3.12.3 Stanovení antioxidační aktivity chemiluminiscencí (PCL)

Metoda PCL patří mezi fotochemiluminiscenční metody. Byla stanovena antioxidační aktivita ve vodě rozpustných antioxidantů (ACW) a v tučných rozpustných (ACL). Pro ACW byla jako standard použita kyselina L-askorbová (AAE) a pro ACL standard troloxu (TE). Výsledky byly vyhodnoceny pomocí kalibračních křivek (Příloha P I) a vyjádřeny pro ACW v mg ekvivalentu AAE.g^{-1} ledového matcha čaje, který byl připraven dle metod uvedených v kap. 3.2.3 a nestrávené části matcha čajů připravených dle kap. 3.2.4. Pro ACL byly výsledky vyjádřeny v mg ekvivalentu troloxu TE.g^{-1} v prášku matcha čaje. Pro získ

lipofilních antioxidantů a následné stanovení hodnoty ACL byla použita extrakce 0,2 g matcha prášku po dobu 5 minut v 25 ml 80% metanolu. Takto připravené vzorky byly proměřeny na zařízení Photochem Analytik Jena AG (Jena, Německo) (Besco et al., 2007).

3.13 Stanovení vitamínu C pomocí HPLC

Izolace pro následné stanovení vitamínu C probíhala extrakcí 5 g matcha čaje v 25 ml extrakční směsi o složení metanol, kyselina fosforečná a redestilovaná voda v poměru 99,0: 0,5:0,5 pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC). Vzorky byly třepány po dobu 15 minut ve tmavých lékovkách a dále filtrovány přes nylonový filtr (13 mm, 0,45 μm). Vitamin C byl stanovován na chromatografu Dionex Ultimate 3000 s detektorem DAD – Diode Array Detector - (Thermo Scientific Inc., USA) a použitím kolony Dionex Acclaim C8 (150 x 2,1 mm; 5 μm , Thermo Scientific, MA, USA). Nástřik na kolonu byl v množství 20 μl , průtok 0,8 ml.min⁻¹ a teplota kolony byla 25 °C. Mobilní fáze byla stejná jako extrakční směs, byla použita izokratická eluce. Vyhodnocení probíhalo při 254 nm, byl použit program LC Chromeleon™ 7.2 Chromatography Data System (Thermo Scientific, MA, USA). Chromatogram byl zaznamenán s lineárními odezvami DAD v kalibračním rozsahu 5–200 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ s korelačním koeficientem přesahujícím hodnotu 0,9983. Vitamin C byl identifikován pomocí retenčního času a metody standardního přídatku (Rop et al., 2010).

3.14 Stanovení polyfenolických kyselin pomocí HPLC

Připravené extrakty vzorků dle kap. 3.2.2 (vodné i methanoloové) se nastříkávaly na kolonu v množství 10 μl , s dobou analýzy 45 minut, při teplotě kolony 30 °C. Mobilní fázi A byla voda a kyselina octová v poměru 99:1, mobilní fázi B pak voda, acetonitril a kyselina octová v poměru 67:32:1. Eluce probíhala gradientově, a to následovně: 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). Analýza probíhala pomocí HPLC Dionex Ultimate 3000, průtok mobilní fáze byl 1 ml.min⁻¹, typ kolony Phenomenex Kinetex C18 (150 x 4,6 mm; 2,6 μm). Vlnová délka detekce byla 275 nm. Pro vyhodnocování měřených výsledků byl použit program LC Chromeleon™ 7.2 (Kotásková et al., 2016b). Chromatogramy byly zaznamenány s lineárními odezvami DAD v kalibračním rozsahu 1–120 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ s korelačními koeficienty přesahujícími hodnotu 0,9975. Polyfenolické látky byly identifikovány pomocí retenčního času a metody standardního přídatku.

3.15 Stanovení volných aminokyselin pomocí IEC

Pro stanovení volných aminokyselin (AMK) byly naváženy 0,4 g vzorku matcha prášku do tmavých lékovek. K navážce byly přidány 4 ml 0,6 mol.l⁻¹ HClO₄ a vzorky byly třepány po dobu 30 minut a centrifugovány při 12300 x g (Velocity 13 μ; Dynamica Scientific Ltd., Newport Pagnell, UK) po dobu 3 minut. Supernatant byl přelit do 10ml odměrné baňky. K sedimentu ve zkumavce bylo přidáno 2,5 ml 0,6 mol.l⁻¹ kyseliny chloristé, vzorek byl opět třepán na třepačce 20 minut a odstředěn. Druhý supernatant byl přilít k prvnímu supernatantu do 10ml odměrné baňky a k sedimentu bylo znovu přidáno 2,5 ml 0,6 mol.l⁻¹ kyseliny chloristé a postup se opakoval. Poté byla 10ml odměrná baňka doplněna 0,6 mol.l⁻¹ HClO₄ po rysku. Z takto připravené odměrné baňky byl vzorek odpipetován do ependorfeku a odstředěn opět při 12300 x g po dobu 5 minut. Nakonec byl roztok extraktu zředěn pufrům citronanu lithného (chemické složení pufrů je uvedeno v Tab. 4.). Takto připravené vzorky byly bezprostředně před analýzou přefiltrovány přes stříkačkový filtr s porozitou 0,45 μm do vialek a dávkovány do chromatografického systému (Pachlová et al., 2011).

Volné aminokyseliny byly stanovovány technikou iontoměničové chromatografie (IEC). 100 μl vzorku ředěného pufrům bylo nastříknuto do automatického analyzátoru aminokyselin AAA400 (Ingos, Praha, ČR) vybaveného kolonou 150 x 3,7 mm naplněnou iontoměničem Polymer AAA. Vzorky byly eluovány postupně citrátovými pufrými za následné post-kolonové derivatizace ninhydrinem. Detekce probíhala spektrofotometricky, při vlnové délce 570 nm. Volné aminokyseliny byly eluovány podle následujícího programu: 0–2 min pufr A, 2–46 min pufr B, 46–83 min pufr C, 83–101 min pufr D, 101–162 min pufr E (Buňková et al., 2009).

Tab. 4 Složení jednotlivých pufrů použitých pro analýzu volných AMK pro konečný objem 1 l

Činidlo	A	B	C	D	E	Nanášející pufr
Monohdrát kyseliny citronové [g]	9,56	10,2	10,1	9,50	8,96	-
Citronan lithný [g]	2,08	3,24	6,25	15,5	50,0	9,50
LiCl [g]	6,68	7,01	12,00	7,01	28,3	-
NaN ₃ [g]	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
HCl [ml]	-	-	-	-	-	8,50
Thiodiglykol [ml]	2,50	2,50	2,50	-	-	5,00

A, B, C, D, E – jednotlivé pufrы.

3.16 Stanovení vázaných aminokyselin pomocí IEC

Pro stanovení vázaných AMK byla použita kyselá a oxidativně kyselá hydrolyza vzorků. Bylo naváženo po 0,05 g práškového vzorku, který byl smíchán s 15 ml 6 mol.l⁻¹ HCl a propláchnut Ar po dobu 30 sekund ve vialkách. Dále byly vialky umístěny do termobloku pro hydrolyzu při 117 °C po dobu 23 hodin. Po hydrolyze se vialky ochladily, HCl se odpařila (Labicom, Olomouc, ČR) a zbytek se zředil pufrém citronanu sodného o pH 2,2. Ke stanovení metioninu a cysteinu byl použit proces oxidativně-kyselé hydrolyzy. Bylo naváženo opět po 0,5 g vzorku. Vzorky byly podrobeny 16-ti hodinové oxidaci v lednici směsí 15 ml 30% H₂O₂ a 85% HCOOH. Poté bylo ke vzorku přidáno 50 ml 6 mol.l⁻¹ HCl a vzorky byly umístěny do olejové lázně, kde byla prováděna oxidativní hydrolyza při teplotě 118 °C po dobu 23 hodin. Následně byly vzorky přeneseny do 250ml odměrné baňky s použitím 0,1 mol.l⁻¹ HCl. Bylo odstraněno 25 ml tohoto objemu a zbytek objemu byl odpařen. Odparek byl znovu rozpuštěn v redestilované vodě, znovu odpařen a poté kvantitativně převeden s pufrém citrátu sodného o pH 2,2 do 25ml odměrné baňky. AMK byly stanoveny pomocí IEC s postkolonovou derivatizací ninhydrinem. Jejich separace byla provedena pomocí analyzátoru AAA400 se spektrofotometrickou detekcí při vlnových délkách 440 nm pro prolin a 570 nm pro ostatní AMK. Množství 100 μl vzorku v nanášejícím pufru bylo nastříknuto do analyzátoru vybaveného kolonou 370 x 3,7 mm naplněnou iontoměničem Ostion LG ANG. Analyty byly eluovány podle programu: 0–5 min

pufr A, 5–32 min pufr B, 32–44 min pufr C, 44–75 min pufr D. Složení jednotlivých citrátových pufrů je zobrazeno v Tab. 5 (Buňka et al., 2009).

Tab. 5 Složení jednotlivých pufrů použitých pro analýzu vázaných AMK pro konečný objem 1 l

Činidlo	A	B	C	D	Nanášejí pufr
Monohydrát kyseliny citronové [g]	11,11	10,00	7,53	-	14,00
Dihydrát citrátu sodného [g]	4,04	5,60	9,06	19,60	-
NaCl [g]	9,29	8,36	18,00	52,60	11,50
H ₃ BO ₃ [g]	-	-	-	2,05	-
NaN ₃ [g]	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
NaOH [g]	-	-	-	0,50	-
Thiodiglykol [ml]	2,50	2,50	2,50	-	5,00

A, B, C, D – jednotlivé pufrы.

3.17 Stanovení kofeinu, L-theaninu, theobrominu a theofylinu pomocí HPLC-UV

Vzorky matcha čajů byly připravovány dle kapitoly 3.2. Připravené ledové čaje (kap. 3.2.3) pak byly filtrovány přes nylonový filtr (13 mm, 0,45 μm) a nastříkovány do chromatografu Dionex Ultimate 3000. Stanovení obsahu kofeinu, L-theaninu, theobrominu a theofylinu v ledových matcha čajích probíhalo na koloně Phenomenex Kinetex EVO 18 (150 mm x 4,6 mm; 5 μm) pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie s UV detekcí (HPLC-UV). Mobilní fáze sestávala ze dvou složek. Fáze A byla tvořena směsí vody a 0,05% H₃PO₄ a mobilní fází B byl acetonitril. Eluce probíhala gradientově: 0–6 minut (100 % A), 6–7 minut (100 % A), 7–18 minut (100 % A), 18–33 minut (95 % A), 33–43 minut (80 % A), 43–44 minut (80–100 % A), 44–53 minut (100 % A), 53–54 minut (100 % A). Injekční objem byl 10 μl, teplota kolony byla nastavena na 30 °C, průtok mobilní fáze byl proměnlivý v rozsahu 0,5–0,8 ml.min⁻¹ a doba analýzy byla 54 minut. Měření byla vyhodnocována při vlnových délkách 210 nm pro L-theanin a 275 nm pro theobromin, kofein a theofylin. K vyhodnocení naměřených

výsledků byl použit program LC Chromeleon™ 7.2 (Boros et al., 2016). Vyhodnocení probíhalo na základě kalibračních křivek sestavených pro každý analyt pomocí generace rovnice lineární regrese, kdy korelační koeficienty pro dané analyty byly vždy nad 0,9925. Analyty byly identifikovány na základě retenčního času a s použitím metody standardního přídatku.

3.18 Stanovení minerálních a stopových prvků metodou ICP-MS

3.18.1 Mineralizace vzorku

Prášek matcha čaje byl navážen (0,20 g) do teflonových nádobek s přídatkem 7 ml 67% ultrapure HNO₃ a 1 ml 30% ultrapure H₂O₂. Pro rozklad se použil mikrovlnný systém Milestone Ethos One (Soriso, Itálie). Byl použit program pro čajové listy s následujícími parametry: 1500 W při 200 °C po dobu 15 minut náběh a výdrž taktéž 1500 W při 200 °C po dobu 15 minut. Zmineralizovaný vzorek se doplnil v plastové zkumavce na objem 25 ml pomocí ultrapure H₂O.

Stejným postupem byl mineralizován vzorek nestráveného podílu, který byl připraven digescí technikou *in vitro*.

3.18.2 ICP-MS instrumentace

Analýza se prováděla pomocí hmotnostního spektrometru s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) ThermoScientific iCAP Q na bázi kvadrupólového analyzátoru (ThermoScientific, USA) vybaveného technologií QCell (CCT – Collision Cell Technology). Jako kolizní plyn bylo použito hélíum, k odstranění nežádoucích molekulárních iontů rozlišením jejich kinetické energie. Technologie QCell vyniká krátkou dobou analýzy, flexibilitou a spolehlivostí. Nastavení konkrétních pracovních parametrů bylo následující: výkon 1550 W, hloubka vzorkování 5 mm, průtok chladicího plynu 14,0 l.min⁻¹, průtok pomocného plynu 0,8 l.min⁻¹, průtok zmlžovacího plynu 1,015 l.min⁻¹, průtoková rychlost He 4,1 ml.min⁻¹, rychlost zmlžovače 40,00 ot.min⁻¹ a teplota uvnitř komory 2,7 °C (Koubová et al., 2018; Sumczynski et al., 2018).

3.18.3 Kalibrace a přesnost měření

Kalibrační standardní série byly připraveny ve dvou sadách s očekávaným koncentračním rozsahem ve vzorcích: vysoká koncentrační řada standardů (19 prvků): ⁹Be, ⁶⁶Zn, ⁶³Cu, ⁶⁰Ni, ²⁷Al, ⁷¹Ga, ²⁴Mg, ⁵⁹Co, ⁷Li, ¹⁰⁷Ag, ⁵⁵Mn, ⁸⁸Sr, ¹³⁷Ba, ²⁰⁵Tl, ¹⁴⁰Ce, ¹³³Cs, ¹⁶⁵Ho, ¹⁸¹Ta a ²³⁸U v koncentraci 3–35 µg.l⁻¹ a nižší koncentrační standardní řada (13 prvků): ⁷⁵As, ⁴⁴Ca, ¹¹¹Cd, ⁵²Cr, ⁵⁷Fe, ²⁰²Hg, ³⁹K, ³¹P, ²³Na, ²⁰⁸Pb, ⁷⁷Se, ¹¹⁸Sn a ⁴⁸Ti v koncentraci 0,5–1,0 µg.l⁻¹. Jako vnitřního standardu bylo užito rhodia (¹⁰³Rh) v koncentraci 10–100 µg.l⁻¹. Byly použity

certifikované referenční materiály ze zelených řas Metranal® 8 (Analytica Ltd., Jílové, ČR), NIST Rýžová mouka 1568b (Národní ústav pro normalizaci a technologii, zakoupené v Analytica Ltd., Praha, ČR), čajové listy (INCT-TL-1, Institut of Nuclear Chemistry and Technology, Polsko) a Lišejník (IAEA-336, International Atomic Energy Agency, Rakousko) viz Příloha P II. Certifikované materiály byly připraveny stejným způsobem, jako probíhala mineralizace prášku matcha čaje.

3.19 Stanovení vybraných minerálních a stopových prvků pomocí

AAS

Vzorky práškových matcha čajů byly podrobeny mineralizaci dle kapitoly 3.18.1. Takto připravené vzorky byly nastříkovány do AAS (Atomová Absorpční Spektrometrie) (ContrAA 800 (Analytik Jena AG, Německo). Obsahy minerálních a stopových prvků byly měřeny v práškové formě čaje matcha a netravitelných částech vzorků matcha. Rovněž bylo provedeno stanovení prvků ve vzorcích ledového čaje. Vybrané prvky byly identifikovány pomocí atomového absorpčního spektrometru ContrAA 800 se zdrojem kontinua s vysokým rozlišením (Analytik Jena AG, Jena, Německo) vybaveného xenonovou lampou. Elektrotermická atomizace byla použita při stanovení Cd a Pb v grafitové kyvetě s detekcí při 228,8018 a 283,3060 nm. Koncentrační rozsahy kalibračních roztoků pro Cd a Pb byly 5–10 $\mu\text{g.l}^{-1}$ a 12,5–50,0 $\mu\text{g.l}^{-1}$. Ostatní minerální a stopové prvky (Na, Mg, K, Ca, Mn, Fe, Zn a Se) byly podrobeny atomizaci v plamenu acetylen-vzduch. Podmínky AAS jsou prezentovány v Tabulce 6. Všechny kalibrační standardní roztoky byly připraveny s použitím 1 g.l^{-1} primárních certifikovaných standardních roztoků (Analytika, Brno, CZ). Správnost byla ověřena pomocí certifikovaných referenčních materiálů (CRM) čajových lístků INCT-TL-1 (Ústav jaderné chemie a technologie, Polsko) a lišejníku (Mezinárodní agentura pro atomovou energii (Vídeň, Rakousko). Digesce těchto materiálů byla provedena stejným rozkladným postupem jako u práškového čaje matcha (Welz, 2005). Výťažnosti stanovovaných prvků se pohybovaly mezi 88 a 109 %. Vzorky ledových čajů (Japan Bio, Allnature, Wolfberry) byly připraveny dle kapitoly 3.2.3. Takto připravené vzorky byly nastříkovány do AAS.

Tab. 6 Podmínky měření na AAS

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

3.20 Metoda skenovací elektronové mikroskopie (SEM)

Vzorek práškového čaje matcha byl nalepen na uhlíkovou pásku na hliníkovém terči. Nepřipojené částice prášku byly odstraněny proudem stlačeného suchého vzduchu. Připojené fragmenty byly zkoumány pomocí SEM (Phenom Pro, Phenom-World BV, Thermo Fisher Scientific, Eindhoven, Nizozemsko). Vzorky prášku byly analyzovány při urychlovacím napětí 10 kV v režimu zpětně odražených elektronů s úrovněmi zvětšení 1500x, 3500x a 10000x. Měření, která byla prováděna na vzorcích bez předchozí metalizace, byla dokončena pomocí držáku umožňujícího redukci nábojů na polymerních materiálech (Koláčková et al., 2022).

3.21 Výpočty přínosu konzumace matcha čaje k referenčním hodnotám esenciálních aminokyselin a esenciálních a toxických prvků

Naměřená data týkající se obsahu vázaných AMK byla dále zpracována a použita k výpočtu hodnot aminokyselinového skóre (AAS), indexu esenciálních aminokyselin (EAAI) a k vyhodnocení limitující aminokyseliny (LAA) v proteinech matcha čaje. Limitujícími aminokyselinami byly stanoveny

esenciální aminokyseliny v bílkovině matcha čaje, které vykazovaly největší rozdíl v hodnotě aminokyselinového skóre z aminokyselinového složení standardního proteinu. Dále byly vypočítány příspěvky konzumace matcha čaje k hodnotám referenčního příjmu (RDA) pro jednotlivé esenciální aminokyseliny a také histidin a cystein v Příloze P III (Friedman, 1996; WHO, 2007).

Z dat naměřených pomocí techniky ICP-MS byly následně spočítány teoretické příspěvky matcha čaje k hodnotám navrženým IOM (Institute of Medicine), a to k referenčnímu doporučenému příjmu (RDA) nebo adekvátního příjmu (AI) pro esenciální prvky a příspěvky toxických prvků k hodnotám dočasných tolerovatelných týdenních či měsíčních příjmů (PTWI, PTMI). Porce matcha čaje byla zvolena 5 g (přibližně dva šálky čaje matcha denně), věková kategorie 31–50 let, váha ženy 65 kg, váha muže 80 kg (WHO, 2006; WHO, 2007).

3.22 Statistika

Naměřené výsledky jsou vyjádřeny jako střední hodnota v sušině vzorku \pm směrodatná odchylka. Výsledky byly vyhodnoceny na hladině významnosti 5 % a zpracovány dle programu StatK25. Pro statistické vyhodnocení se použil Dean Dixonův test (Q-test), jež vylučuje odlehlý výsledek, Shapirův-Wilkův test pro zjištění normality, parametrický Studentův *t*-test srovnávající střední hodnoty dvou nezávislých souborů, dále neparametrický Wilcoxonův test srovnávající střední hodnoty dvou nezávislých souborů a Tukeyův test pro mnohonásobné porovnávání. Pro zjištění lineární závislosti mezi dvěma veličinami byl použit Pearsonův koeficient (Buňka et al., 2008; Kříž et al., 2007).

4 VYBRANÉ DOSAŽENÉ VÝSLEDKY PRÁCE

4.1 Experimentální část I – nutriční analýza práškové formy matcha čaje

4.1.1 Výsledky stanovení základních nutričních parametrů

Výsledky stanovení vybraných nutričních parametrů jsou prezentovány v Tab. 7. Při stanovení sušiny v matcha čajích se její obsah pohyboval v rozmezí 95,2 až 97,5 %. Podle platného nařízení by množství sušiny pro zelený čaj nemělo být nižší než 90 %. Vyšší vlhkost může poukazovat na špatné technologické zpracování a špatné podmínky pro uchovávání a skladování, tedy celkovou kvalitu čaje (Vyhláška č. 330/ 1997 Sb.).

Obsah popela se signifikantně lišil vyjma vzorků Khoisan a Bio matcha. Pohyboval se v rozmezí od 5,23 do 8,73 %. Dle ISO 11287 (2012) je u zeleného čaje minimální a maximální obsah popela, jako ukazatele minerálních látek, stanoven na 4 a 8 %. Z naměřených výsledků tuto maximální hodnotu překročily tři vzorky. Norma udávající obsah popela pro matcha čaje není. Nicméně, pro udržení dobré kvality čaje někteří autoři vědeckých studií doporučují jeho obsah nižší než 5,54 % (Topuz et al., 2014; Rehman et al., 2002).

V listech zelených čajů se obsah hrubé bílkoviny pohybuje obvykle mezi 1–2 % (Muhammad et al., 2013). Z naměřených dat je vidět, že matcha čaje obsahují 10x vyšší hodnoty v obsahu bílkovin. To je přisuzováno jejímu pěstování pomocí zastiňování, kdy se čajovníku nastaví stresové podmínky, které mají vliv na metabolické dráhy. Díky vyššímu obsahu hrubé bílkoviny v matcha čaji, který se konzumuje celý ve formě připravené suspenze, bylo zajímavé stanovit profil nejen volných, ale také vázaných aminokyselin (dále Kap. 4.1.7). Obsah bílkovin v zelených čajích není udán žádnou normou.

Koncentrace lipidů se v matcha čajích pohybovaly od 4,12 do 8,23 %. Výrobci či distributoři matcha čajů poskytují přibližnou hodnotu obsahu lipidů kolem 5 %. Je to asi 3–5x více než v listech klasického zeleného čaje (Muhammad et al., 2013). Oxidační stabilita je důležitým parametrem určujícím kvalitu čaje. Poskytuje také informace o dlouhodobé stabilitě přirozeně obsažených antioxidantů a tím o stabilitě produktu.

Tab. 7 Výsledky stanovení nutričních parametrů

Matcha	Sušina [%]	Popel [%]	Hrubá bílkovina [%]	Lipidy [%]
Shao Xing	97,1±0,4 ^a	8,32±0,1 ^a	29,3±0,3 ^a	5,71±0,2 ^a
Jeju	97,0±0,4 ^a	8,73±0,2 ^b	25,0±0,2 ^b	6,53±0,2 ^b
Hisui	97,2±0,4 ^a	7,81±0,1 ^c	26,5±0,2 ^c	6,16±0,1 ^{c,g}
Asagiri	97,5±0,2 ^a	8,12±0,2 ^d	35,0±0,3 ^d	6,25±0,1 ^c
Khoisan	95,6±0,2 ^b	5,91±0,1 ^e	22,3±0,7 ^e	6,68±0,1 ^b
Whittard	96,9±0,4 ^a	6,55±0,2 ^f	34,6±0,2 ^d	6,53±0,2 ^b
Mo Cha Fen	95,8±0,3 ^b	5,23±0,1 ^g	20,3±0,3 ^f	4,12±0,1 ^d
Don Matcha	96,3±0,4 ^{a,b}	5,60±0,1 ^h	27,3±0,1 ^g	7,10±0,1 ^e
Bio Matcha	96,8±0,5 ^{a,b}	6,01±0,1 ^e	25,2±0,5 ^b	8,23±0,2 ^f
Royal Pharma	96,2±0,4 ^{a,b}	5,44±0,1 ⁱ	26,3±0,3 ^c	6,01±0,1 ^g
Kissa	95,2±0,3 ^b	6,72±0,1 ^j	34,7±0,7 ^d	6,25±0,1 ^c
Moya	95,4±0,3 ^b	7,19±0,2 ^k	28,9±0,5 ^a	6,23±0,3 ^c
Japan Bio tea	97,3±0,4 ^a	5,23±0,03 ^a		
Allnature	96,4±0,3 ^b	4,73±0,05 ^b		
Wolfberry	96,2±0,4 ^b	4,58±0,04 ^c		

Výsledky jsou prezentovány jako střední hodnota ± SD v sušině (n=3). Číselné hodnoty ve sloupcích se stejnými horními písmennými indexy se významně neliší ($p \geq 0,05$), zatímco hodnoty s různými horními indexy vykazují statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$).

Tab. 8 uvádí výsledky stanovení *in vitro* stravitelnosti práškové formy vzorku, která byla vyjádřena jako hodnota stravitelnosti sušiny (DMD) a organické hmoty (OMD). DMD hodnoty se pohybovaly v rozmezí od 55,9 do 69,8 % a stravitelnost OMD od 59,4 do 71,3 %. Údaje z výzkumu, které hodnotí stravitelnost čajových listů, jsou omezené. Nízké hodnoty stravitelnosti jsou doprovázeny vyššími obsahy vlákniny, a to jak CF, tak i NDF. Zajímavou skutečností je spíše nízká pozitivní korelace mezi vysokým obsahem bílkovin a

stravitelností v matcha čajích ($r=0,2995$) (Koláčková et al., 2020a). Je obecně známo, že vyšší množství vlákniny má vliv na snižování stravitelnosti. Rehman et al. (2002) vysvětlili, že stravitelnost proteinů byla výrazně snížena, pokud byly do stravy zahrnuty taniny, protože tyto snižují sekreci enzymů v tenkém střevě a také inhibují amylázy a glukosidázy (Zhang et al., 2018).

Obsah CF, který je prezentován celulórou a ligninem, se pohyboval v rozmezí od 10,7 do 17,5 %. Jelikož použitá metoda stanovení CF umožňuje stanovit pouze celulóru a lignin (nerozpustné hemicelulózy pronikají ze sáčku ven), byla proto také stanovena NDF vláknina. Její obsah byl naměřen v rozmezí 30,7–42,8 %. Topuz et al. (2014) zaznamenal obsah CF v listech zelených čajů do 10,7 % a uvedl, že obsah CF je výrazně ovlivněn faktory, jako jsou doba rašení pupenů a úroveň zastínění. Obsah CF je vyšší zároveň s vyššími dávkami použitého hnojiva (Venkatesan a Ganapathy, 2004). Šmiechovska a Dmowski (2006) poté upřesnili, že obsah hrubé vlákniny by neměl být vyšší než 16,5 % za účelem udržení vysoké kvality čaje během jeho skladování. Tato hodnota byla překročena pouze u jednoho vzorku.

Tab. 8 Výsledky stanovení vlákniny a stravitelnosti technikou *in vitro*

Vzorky	CF	NDF	DMD	OMD
	[%]	[%]	[%]	[%]
Shao Xing	11,6±0,2 ^a	37,3±0,3 ^a	61,2±0,5 ^a	64,9±0,5 ^a
Jeju	16,1±0,3 ^b	41,3±0,4 ^b	55,9±0,4 ^b	59,4±0,4 ^b
Hisui	17,5±0,3 ^c	42,8±0,4 ^c	56,3±0,4 ^b	60,0±0,5 ^b
Asagiri	13,0±0,2 ^d	37,7±0,3 ^{a,g}	59,2±0,6 ^c	62,8±0,4 ^c
Khoisan	16,4±0,3 ^b	40,7±0,4 ^b	56,1±0,5 ^b	59,9±0,4 ^b
Whittard	12,6±0,1 ^e	36,0±0,3 ^d	66,0±0,5 ^d	69,7±0,4 ^d
Mo Cha Fen	13,4±0,1 ^f	30,7±0,4 ^e	63,2±0,3 ^e	65,8±0,4 ^e
Don Matcha	12,4±0,2 ^e	35,3±0,4 ^f	60,7±0,4 ^a	63,7±0,5 ^f
Bio Matcha	12,5±0,3 ^e	34,6±0,4 ^g	61,2±0,4 ^a	64,5±0,4 ^a
Royal Pharma	11,9±0,2 ^{a,h}	32,6±0,2 ^h	65,1±0,5 ^f	68,3±0,4 ^g
Kissa	10,7±0,2 ^g	35,8±0,3 ^f	62,4±0,5 ^g	64,8±0,5 ^a
Moya	12,0±0,1 ^h	37,9±0,2 ^g	58,7±0,4 ^c	60,4±0,4 ^b
Japan Bio tea			67,2±0,3 ^a	68,7±0,1 ^a
Allnature			69,3±0,3 ^b	70,8±0,4 ^b
Wolfberry			69,8±0,5 ^b	71,3±0,5 ^b

Výsledky jsou prezentovány jako střední hodnota ± SD v sušině (n=3). Číselné hodnoty ve sloupcích se stejnými horními indexy se významně neliší ($p \geq 0,05$), zatímco hodnoty s různými horními indexy vykazují statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$).

4.1.2 Stanovení vitamínu C a chlorofylů *a* a *b*

Hodnoty obsahu vitamínu C jsou zobrazeny v Tab. 9, chromatogram pro ilustraci je uveden v Příloze P IV. Jeho koncentrace se pohybovala od 1,63 do 3,98 mg.g⁻¹. Park et al. (2005) zaznamenali vitamin C v zeleném čaji od 1,35 do 1,53 mg.g⁻¹. Jak je vidět z našich výsledků, čaj matcha obsahoval více než dvakrát vyšší hladiny vitamínu C. Velký důraz je kladen na zachování zelené barvy listů čaje matcha. Odhaduje se, že asi 4,09 mg.g⁻¹ chlorofyl *a* a 1,42 mg.g⁻¹ chlorofylu

b jsou v matcha čajích (Kohata et al., 1998a), zatímco průměrný celkový obsah chlorofylu v obyčejném zeleném čaji je v množství 1,20 mg.g⁻¹ (Loranty et al., 2010). Z výsledků je patrné, že obsah chlorofylu *a* a *b* se pohybuje v rozmezí 1,10–4,32 a 0,46– 2,73 mg.g⁻¹. Nízké koncentrace chlorofylu *a* mohou pocházet z nevhodného výrobního procesu protože chlorofyl *a* mohl být snížen teplem snadněji (Kohata et al., 1998b).

Tab. 9 Výsledky stanovení chlyrofylů a vitamínu C v matcha čajích

Vzorky	Chlorofyl <i>a</i> [mg.g ⁻¹]	Chlorofyl <i>b</i> [mg.g ⁻¹]	Celkový chlorofyl [mg.g ⁻¹]	Vitamin C [mg.g ⁻¹]
Shao Xing	2,64 ± 0,03 ^a	1,42 ± 0,04 ^a	4,06 ± 0,04 ^a	3,92 ± 0,20 ^a
Jeju	3,21 ± 0,01 ^b	2,13 ± 0,03 ^b	5,34 ± 0,02 ^b	2,72 ± 0,15 ^b
Hisui	3,74 ± 0,02 ^c	2,54 ± 0,04 ^c	6,28 ± 0,03 ^c	3,32 ± 0,10 ^{c,f,g}
Asagiri	4,32 ± 0,03 ^d	2,73 ± 0,04 ^d	7,05 ± 0,04 ^d	3,54 ± 0,10 ^{d,f}
Khoisan	1,10 ± 0,02 ^e	0,46 ± 0,02 ^e	1,56 ± 0,02 ^e	2,56 ± 0,13 ^e
Whittard	3,23 ± 0,04 ^b	1,73 ± 0,02 ^f	4,96 ± 0,03 ^f	2,86 ± 0,12 ^b
Mo Cha Fen	1,47 ± 0,02 ^f	0,56 ± 0,01 ^g	2,03 ± 0,02 ^g	3,46 ± 0,05 ^f
Don Matcha	2,61 ± 0,04 ^a	1,41 ± 0,02 ^a	4,02 ± 0,03 ^a	3,25 ± 0,10 ^{g,h}
Bio Matcha	3,94 ± 0,04 ^g	1,63 ± 0,02 ^h	5,57 ± 0,02 ^h	3,19 ± 0,10 ^h
Royal Pharma	1,75 ± 0,02 ^h	0,63 ± 0,02 ⁱ	2,38 ± 0,02 ⁱ	3,98 ± 0,05 ^a
Kissa	2,37 ± 0,04 ⁱ	1,13 ± 0,04 ^j	3,50 ± 0,04 ^j	1,95 ± 0,05 ⁱ
Moya	2,42 ± 0,03 ⁱ	1,24 ± 0,02 ^k	3,66 ± 0,03 ^k	1,63 ± 0,05 ^j

Výsledky jsou uvedeny jako průměr ± SD v sušině vzorku (n=5). Průměry ve sloupci s alespoň jedním identickým horním indexem se významně neliší ($p \geq 0,05$), zatímco průměry s různými horními indexy vykazují významný rozdíl ($p < 0,05$)

4.1.3 Výsledky stanovení kofeinu

Koncentrace kofeinu ve vybraných matcha čajích je prezentována v Tab. 10, chromatogram je uveden v Příloze P IV. Byla zaznamenána v širokém rozmezí, od 14,4 do 34,1 mg.g⁻¹. Literární údaje udávají obsah kofeinu v matcha čajích v širokém rozmezí, a to mezi 18,9 a 44,4 mg.g⁻¹. Nízký obsah kofeinu lze

připsat například použití starších čajových listů. Dále jeho obsah závisí na odlišných klimatických podmínkách, kde čajovník roste, odrůdě, způsobu napařování apod. (Unno et al., 2018; Muhammad et al., 2013; Čížková et al., 2008).

Kofein je methylxanthin a je jedním z nejrozšířenějších psychostimulantů, který pomáhá stimulovat kognitivní funkce (Fredholm a kol., 1999; Nehlig a kol., 1992). Zatímco mechanismus účinku kofeinu není plně objasněn, předpokládá se, že kofein uplatňuje většinu svých účinků jako antagonistu adenosinu. Má se za to, že antagonistické účinky kofeinu na receptor A2A inhibují adenosin v modulaci uvolňování GABA, což následně podporuje pocity bdělosti (Fredholm et al., 1999). Spotřeba kofeinu je také spojována se zvýšenou aktivitou norepinefrinu, serotoninu a dopaminu (Fredholm et al., 1999; Chesivoir a Grant, 2022).

Tab. 10 Výsledky stanovení kofeinu v matcha čajích

Matcha	Kofein	Matcha	Kofein
	[mg.g⁻¹]		[mg.g⁻¹]
Shao Xing	23,8±0,3 ^a	Mo Cha Fen	21,5±0,4 ^f
Jeju	25,9±0,4 ^b	Don Matcha	19,6±0,5 ^g
Hisui	28,1±0,4 ^c	Bio Matcha	18,4±0,4 ^h
Asagiri	28,6±0,3 ^c	Royal Pharma	14,4±0,4 ^d
Khoisan	15,0±0,4 ^d	Kissa	33,9±0,3 ^e
Whittard	34,1±0,4 ^e	Moya	33,0±0,5 ⁱ

Výsledky jsou uvedeny jako střední hodnota ± SD v sušině vzorku (n=5). Číselné hodnoty v rámci obou sloupců s alespoň jedním identickým horním indexem se statisticky výrazně neliší ($p \geq 0,05$), zatímco hodnoty s odlišnými horními indexy vykazují statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$).

4.1.4 Stanovení minerálních a stopových prvků pomocí ICP-MS

Všeobecně se obsah prvků v rostlinných surovinách připisuje podmínkám prostředí (klimatické, půdní) a výrobním procesům (Erdemir, 2018; Koch et al., 2018). Mezi hlavní prvky obsažené v čajích patří Al, Ca, K, Mg, Mn, Na, P a S, které jsou přítomny obvykle v μg koncentracích na gram čaje. Některé prvky jako např. B, Ba, Co, Cr, Cu, Fe, Ni, Rb, Sr, Ti a Zn nejsou v koncentracích μg , ale spíše ng.g^{-1} . Koncentrace toxických prvků (As, Cd, Hg a Pb) jsou obvykle nízké

a jejich obsahy se mohou u různých druhů čajů lišit (Szymczycha-Madeja et al., 2015). Černé čaje mají vyšší obsah stopových prvků a obsahují vyšší koncentrace kovů, a to díky procesu jejich výroby (Brzezicha-Cirocka et al., 2016a).

Obsahy minerálních a stopových prvků, řádově se vyskytujících v μg v 1 g vzorku čaje, jsou uvedeny v Tab. 11, výskyty prvků řádově odpovídající ng jsou prezentovány v Tab. 12. Obsah sodíku u dvou vzorků dosáhl hodnoty $185 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, což je o 50 % více, než bylo publikováno ve studii Koch et al. (2018). Sodík ovlivňuje krevní tlak a reguluje rovnováhu vody v těle (Derun, 2014). Ve vysokých koncentracích byl stanoven hořčík (až do $2400 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), což je v souladu s další publikovanou studií (Erdemir et al., 2018). Jeho nedostatek může způsobovat svalovou slabost a nervové poruchy (Derun, 2014). Vyšších koncentračních hodnot v matcha čajích dosáhl fosfor (až $4180 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Kromě zpevnování kostí hraje fosfor důležitou roli i v transportu buněčné energie. Draslík, který působí jako regulátor v osmotické rovnováze buněk a reguluje pozitivně srdeční rytmus (Derun, 2014), je uváděn jako nejvíce zastoupený prvek v zelených čajích s průměrnou koncentrací $16\text{--}25 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (Koch et al., 2018). Obsah draslíku v analyzovaných vzorcích se pohyboval pod uvedeným rozmezím. Naopak obsah vápníku v matcha čajích dosáhl $2650 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, a to souhlasí s literárními údaji (Koch et al., 2018). Nižší koncentrační zastoupení v porovnání s vápníkem má mangan. Hodnoty jeho koncentrací byly od $17,1$ do $68,4 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Námi naměřené hodnoty koncentrací pro tento prvek byly nižší v porovnání se studií Brzezicha-Cirocka et al. (2016b), kde byl obsah manganu až $1380 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Mangan se podílí na tvorbě kostí a působí jako aktivátor enzymových komplexů. V hemových bílkovinách je detekována většina železa jako základního prvku pro tvorbu červených krvinek (Derun, 2014). Množství dostupného železa z rostlin je ovšem nízké v důsledku přítomnosti kyseliny fytové jako jeho antagonisty. Obsah železa v zelených čajích byl stanoven v rozmezí od $63,6$ do $150 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (Szymczycha-Madeja et al., 2015), u matcha čaje byl jeho obsah $138\text{--}172 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (Koch et al., 2018), což se shoduje s výsledky našeho měření. Měď a zinek spolu metabolicky spolupracují, a to tak, že při nadměrné spotřebě zinku dochází ke snížení koncentrace mědi v lidském těle. Nedostatek zinku může způsobovat vypadávání vlasů a snižovat hojení ran. Například Koch et al. (2018) stanovil obsah zinku v matcha čajích 3x nižší, než bylo naměřeno v této práci. Zdá se, že v matcha čajích jsou i v porovnání s čaji černými vyšší koncentrace mědi. Obsah mědi ve vzorcích matcha čajů dosahoval $25,3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, v černém čaji byl jeho obsah o něco nižší, dosáhl $19,4 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (Brzezicha-Cirocka et al., 2016a; Szymczycha-Madeja et al., 2015). V metabolismu glukózy hraje významnou úlohu chrom (Derun, 2014), selen působí zase jako významný buněčný antioxidant. Obsah chromu v matchi byl mezi $2,12$ až $21,1 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$, koncentrace selenu nepřesáhla hodnotu $17,6 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$.

4.1.5 Toxické prvky

Toxické prvky jako Pb, As, Cd, Hg, Al, Ni a Sn mohou pronikat do rostliny díky znečištění životního prostředí, prostřednictvím kořenového systému z půdy nebo z povrchové kontaminace listů (Dalipi et al., 2018). Těžké kovy mají nepříznivé zdravotní účinky na lidský organizmus, např. vykazují cytotoxicitu, oxidační stres, endokrinní disrupci či mitochondriální dysfunkci. Některé toxické prvky v lidském těle se mohou akumulovat a způsobit dlouhodobé poškození organismu (Schwalfenberg et al., 2013). Neurotoxita by mohla být spojena s potenciální toxicitou hliníku. Přestože mnoho výzkumů poukázalo na souvislost mezi Alzheimerovou chorobou a hliníkem, nebyl dosud nalezen přímý vztah. Jelikož je *Camellia sinensis* jednou z rostlin, ve kterých může být silně akumulován hliník, je tento prvek v ní monitorován (Street et al., 2006). Nejnižší a nejvyšší koncentrace hliníku v čajích matcha byly 5,42 a 113 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Ve srovnání se zeleným čajem klasickým je jeho obsah v matcha čajích několikanásobně vyšší (Szymczycha-Madeja et al., 2015). Otázkou je, zda-li jeho akumulaci v rostlině napomáhá zastiňování, což je jedna z hypotéz, která by měla být vědecky podložena. Kadmium je považováno za nefrotoxin, a proto by mělo být taktéž monitorováno (WHO, 2013). S arsenem patří mezi významné kontaminanty, které se do čajů dostávají přes různé přísady, případně hnojiva (Milani et al., 2016). Koncentrace kadmia u matcha čajů byla stanovena do 1,52 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$, přičemž jiná studie dokládá jeho obsah až 2,6 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ (Koch et al., 2018). Koncentrace arsenu se pohybovaly v rozmezí 14,2 až 31,5 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$. Množství cínu bylo stanoveno do 1,51 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$. Literární údaje analyzující obsah cínu v matcha čajích jsou vzácné. Hodnoty cínu stanovené u různých druhů čajů se pohybovaly až do hodnot 47,6 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (Lagad et al., 2013). Hromadění cínu v tkáních je poněkud omezené vzhledem k jeho pohybu zažívacím traktem. Cín však může způsobit akutní obtíže gastrointestinálního traktu (WHO, 2006). Mezi příznaky nadměrného příjmu rtuti patří neurologická a kardiovaskulární onemocnění. Nejvyšší koncentrace Hg naměřená u našich vzorků dosahovala hodnoty 2,63 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$. Schwalfenberg et al. (2013) analyzoval rtuť v čajových listech a v nálevech. V nálevu nebyla přítomnost rtuti detekována, ovšem v čajových listech byla zjištěna koncentrace rtuti až 20 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$. Zdá se tedy, že rtuť je v listu vázána tak, že se obtížně dostává do čajového výluhu. Hodnoty koncentrací olova byly stanoveny jen u dvou vzorků čajů matcha nad 1 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$. Olovo v nejvyšší míře postihuje nervovou soustavu. I nikl patří mezi karcinogenní kovy a přispívá k iniciaci epigenetické alterace. Koch et al. (2018) stanovil koncentraci niklu v matcha čajích řádově v $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, v naší práci byly stanoveny nižší obsahy, řádově $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$. Údaje o hladinách příjmu prvků získaných z matchi ve stravě jsou omezené. Při hodnocení úrovně příjmu matcha ve stravě je třeba vzít v úvahu mnoho faktorů, jako je proces vyluhování, stravitelnost a biologická dostupnost minerálů, protože matcha je konzumována jako všechny části listů (Dalipi et al., 2018; Koláčková et al., 2020).

Tab. 11 Výsledky stanovení obsahu minerálních a stopových prvků v matcha čajích pomocí ICP-MS [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]

Prvek	Mo Cha Fen	Whittard	Shao Xing	Asagiri	Bio Matcha	Jeju	Don Matcha	Royal Pharma
^{23}Na	130±2 ^a	160±8 ^b	135±2 ^c	125±2 ^d	161±3 ^b	185±2 ^e	131±2 ^a	185±1 ^e
^{24}Mg	1890±20 ^a	2290±20 ^b	1850±20 ^c	1760±10 ^d	2400±30 ^e	2090±20 ^f	2080±30 ^f	2090±20 ^f
^{27}Al	9,11±0,10 ^a	5,42±0,12 ^b	11,5±0,1 ^c	12,1±0,1 ^d	113±1 ^e	10,8±0,1 ^f	9,11±0,20 ^a	10,8±0,1 ^f
^{31}P	3850±20 ^a	4070±20 ^b	4160±30 ^c	3740±30 ^d	4040±20 ^b	3740±30 ^d	3770±20 ^d	3740±30 ^d
^{39}K	2970±20 ^a	4150±30 ^b	4290±30 ^c	2750±20 ^d	2970±10 ^a	4190±30 ^b	2980±20 ^a	4190±30 ^b
^{44}Ca	1980±20 ^a	1650±20 ^b	2090±10 ^c	2310±20 ^d	2640±20 ^e	2650±20 ^e	1760±20 ^f	2650±30 ^e
^{55}Mn	40,1±1,0 ^a	59,7±2,1 ^b	68,4±2,4 ^c	17,1±1,0 ^d	19,1±1,2 ^e	23,5±1,0 ^f	17,8±1,2 ^d	24,6±1,1 ^f
^{57}Fe	89,4±1,5 ^a	87,5±1,4 ^a	94,1±2,8 ^b	112±3 ^c	96,4±2,5 ^b	115±2 ^c	83,6±1,5 ^d	87,5±1,8 ^a
^{63}Cu	19,6±1,2 ^a	6,21±0,20 ^b	6,12±0,10 ^b	23,6±2,0 ^{c,d}	22,9±0,6 ^c	20,1±1,0 ^a	25,3±1,0 ^d	6,69±0,20 ^f
^{66}Zn	68,5±1,5 ^a	21,5±0,5 ^b	23,5±0,6 ^c	73,0±1,4 ^d	34,7±1,1 ^e	24,7±0,3 ^f	68,5±1,8 ^a	38,7±1,0 ^g
^{137}Ba	4,42±0,08 ^a	4,40±0,10 ^a	2,21±0,10 ^b	7,02±0,10 ^c	3,84±0,10 ^d	5,33±0,10 ^e	2,22±0,1 ^b	4,41±0,1 ^a

Výsledky jsou uvedeny jako střední hodnota ± SD v sušině (n=5). Hodnoty v řádku s alespoň jedním identickým horním indexem se významně neliší ($p \geq 0,05$), zatímco hodnoty s různým horním indexem vykazují statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$).

Tab. 12 Výsledky stanovení obsahu stopových prvků v matcha čajích pomocí ICP-MS [ng.g⁻¹]

Prvek	Mo Cha Fen	Whittard	Shao Xing	Asagiri	Bio Matcha	Jeju	Don Matcha	Royal Pharma
⁷ Li	15,4±0,3 ^a	24,8±1,0 ^b	31,6±1,5 ^c	39,1±0,5 ^d	34,3±1,0 ^e	19,6±1,0 ^f	34,7±0,3 ^e	19,6±1,0 ^f
⁹ Be	12,2±0,4 ^a	3,80±0,10 ^b	15,5±0,2 ^c	5,30±0,10 ^d	2,40±0,08 ^e	12,2±0,1 ^a	6,21±0,11 ^f	12,2±0,20 ^a
⁴⁸ Ti	771±10 ^a	421±8 ^b	621±6 ^c	658±9 ^d	459±10 ^e	663±7 ^f	370±10 ^g	380±6 ^f
⁵² Cr	10,9±0,3 ^a	5,60±0,10 ^b	18,9±0,1 ^c	21,1±0,5 ^d	4,80±0,10 ^e	20,3±0,2 ^f	9,61±0,20 ^g	7,93±0,20 ^j
⁵⁹ Co	32,6±1,0 ^a	30,4±1,0 ^b	31,6±0,8 ^a	22,3±0,5 ^c	31,8±1,1 ^a	29,0±0,5 ^d	35,5±1,0 ^e	23,7±1,2 ^c
⁶⁰ Ni	268±3 ^a	205±2 ^b	326±2 ^c	228±2 ^d	366±4 ^e	296±4 ^f	343±2 ^g	281±3 ⁱ
⁷¹ Ga	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
⁷⁵ As	30,1±1,0 ^a	31,5±1,2 ^a	31,2±0,4 ^a	24,2±0,4 ^b	14,2±0,3 ^c	30,0±1,3 ^a	21,2±0,7 ^d	28,0±0,5 ^e
⁷⁷ Se	12,5±0,2 ^a	17,6±0,3 ^b	8,92±0,12 ^c	15,9±0,3 ^d	16,3±0,3 ^d	14,3±0,4 ^e	8,83±0,20 ^f	10,2±0,2 ^h
⁸⁸ Sr	233±2 ^a	288±2 ^b	195±2 ^c	255±3 ^d	388±2 ^e	194±2 ^c	205±3 ^f	408±5 ^g
¹⁰⁷ Ag	17,3±0,5 ^a	14,2±0,3 ^b	25,6±1,0 ^c	30,4±0,5 ^d	31,4±0,4 ^e	18,2±0,5 ^f	25,8±0,4 ^c	23,8±0,4 ^h
¹¹¹ Cd	1,31±0,10 ^a	1,12±0,10 ^b	1,03±0,10 ^c	1,41±0,10 ^a	1,52±0,10 ^d	1,11±0,10 ^b	1,03±0,02 ^c	1,11±0,10 ^b
¹¹⁸ Sn	1,12±0,10 ^a	0,81±0,10 ^b	0,62±0,10 ^c	0,62±0,08 ^c	0,53±0,10 ^{c.e}	1,51±0,10 ^d	0,42±0,03 ^e	1,10±0,10 ^a

¹³³ Cs	27,4±1,1 ^a	22,8±0,4 ^b	27,6±0,1 ^a	36,5±1,5 ^c	38,9±1,0 ^d	27,6±0,3 ^a	54,3±0,4 ^e	25,1±0,2 ^f
¹⁴⁰ Ce	21,4±0,3 ^a	43,8±1,0 ^b	37,5±1,2 ^c	41,3±0,9 ^d	44,6±1,4 ^e	36,9±1,0 ^c	25,6±0,3 ^f	22,3±0,4 ^h
¹⁶⁵ Ho	0,92±0,10 ^a	0,91±0,10 ^a	1,32±0,10 ^b	1,63±0,11 ^{c,e}	1,01±0,11 ^d	1,52±0,05 ^c	1,54±0,02 ^c	2,22±0,04 ^f
¹⁸¹ Ta	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
²⁰² Hg	1,32±0,10 ^a	1,41±0,10 ^a	2,14±0,05 ^b	1,71±0,10 ^c	1,72±0,10 ^c	1,31±0,10 ^a	2,63±0,10 ^d	1,50±0,10 ^e
²⁰⁵ Tl	1,01±0,10 ^a	2,23±0,10 ^b	2,03±0,10 ^c	1,02±0,10 ^a	1,21±0,10 ^d	2,20±0,10 ^b	1,90±0,05 ^{c,e}	1,81±0,10 ^e
²⁰⁸ Pb	1,82±0,10 ^a	ND	0,07±0,01 ^b	0,05±0,01 ^c	0,07±0,01 ^b	ND	1,04±0,05 ^d	ND
²³⁸ U	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

Výsledky jsou uvedeny jako střední hodnota ± SD v sušině (n=5). Hodnoty v řádku s alespoň jedním identickým horním indexem se významně neliší ($p \geq 0,05$), zatímco hodnoty s různým horním indexem vykazují statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$). ND – nebyl detekován, limit detekce: Ga, Ta, Pb, U < 0,01 µg.l⁻¹.

4.1.6 Příspěvek matcha čaje k hodnotám, RDA, AI, PTWI a PTMI

Příspěvky konzumace matcha čaje v denní dávce 5 g k hodnotám RDA (Referenční hodnota příjmu), AI (Adekvátní příjem), PTWI (Prozatímní tolerovaný týdenní příjem) a PTMI (Prozatímní tolerovaný týdenní příjem) byl vypočteny pro dospělé osoby ve věku 31–50 let a váhou 65 a 80 kg (výsledky jsou vedeny v Příloze P V. Je vidět, že matcha přispívá zanedbatelně k AI Na, K a Cr a k RDA Se a Ca. To by mělo být aplikováno v doporučeních pro spotřebitele jako přínos pro získání méně než 0,1 % hodnoty AI Na k prevenci hypertenze. Naproti tomu poskytuje vysoké množství Mn a Cu. Tento výzkum ukázal, že matcha přispívá k AI nebo RDA u žen v následujícím pořadí: Mn (až 19 %)>Cu (až 14 %)>Zn (až 5 %)>Mg (až 4 %) >Fe (až 3,2 %)>P (až 3,0 %) a Ca (až 1,3 %); a pro muže: Mn (až 15 %)>Cu (až 14 %)>Fe (až 7,3 %)>Mg \approx P \approx Zn (vše do 3 %)>a Ca (až 1,3 %). Potvrzuje se, že matcha je cenným zdrojem Mn (Yin et al., 2015). Infuze zeleného čaje byly významným zdrojem Mn, protože konzumace jednoho šálku mohla přispět až 1/3 denní potřeby Mn (až 5–32 % RDA) (Koch et al., 2018). Koch et al., 2018 tvrdili, že zelené čaje jsou důležitým zdrojem Cr; to však nebylo v této studii prokázáno.

Příspěvek matcha k příjmu Al, Sn a Hg byl vypočten jako týdenní příjem na základě PTWI; a jeho příspěvek k Cd byl vypočten jako měsíční příjem na základě PTMI stanoveného JECFA (FAO/WHO, 2006, 2011a, 2011b, 2013), když byla velikost porce nastavena na 5 g denně. Hodnoty PTWI a PTMI jsou uvedeny v Příloze P V. Odhadovaný příspěvek čaje matcha k PTWI pro Al je pod 0,5 % u mužů a 0,6 % u žen; jeho příspěvek k PTMI pro Cd je méně než 0,1 % jak u mužů, tak u žen. Co se týče Hg a Sn, PTWI je nižší než 0,03 % pro muže i ženy. PTWI (nebo PTMI) vyjadřuje riziko dlouhodobé expozice kontaminantům, které se mohou hromadit v lidském těle.

4.1.7 Stanovení volných a vázaných aminokyselin

Celkový obsah volných AMK v matcha čajích je uveden v Tab. 13 (výsledky vyjádřené v $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ jsou v Příloze P VI. Bohužel nebylo možné vždy provést srovnání literárních údajů na základě obsahu AMK kvůli omezeným studiím obsažených bílkovin v čaji matcha. Výsledky stanovení obsahu jak volných, tak i vázaných aminokyselin, mohou být ovlivněny několika faktory, jako jsou charakteristiky rostoucího prostředí (půda, podnebí, zeměpisná oblast), zastíňování, období sklizně a odrůda kultivaru (Jiang et al., 2019; Horanni a Engelhardt, 2013). Je zřejmé, že byly zjištěny značné rozdíly v kompozici volných AMK. Nejhojněji se vyskytovanou volnou AMK byl L-theanin, který se zde vyskytoval v 16–69 % ($73,2\text{--}457 \text{ mg}\cdot 10^{-1} \text{ g N}$) z celkového součtu TFAA (total free amino acids). To není zcela v souladu se studií Wang et al. (2000), kteří stanovili koncentrace L-theaninu v zelených čajích nad 50 % z hodnot TFAA. Například vzorky Shao Xing a Harmony byly pod touto hranicí. Jelikož L-theanin se podílí na ochraně listů před slunečním zářením, je jeho koncentrace nižší u matcha čajů pěstovaných ve stínu než u jiných čajů pěstovaných na přímém slunečním světle. Dále hraje významnou roli při inhibici neurotransmiteru GABA (Zhu et al., 2016). Umami chuť zeleného čaje pochází z přítomnosti a symbiotického působení L-theaninu a kyseliny glutamové. Přítomnost vyšší koncentrace Asp a Glu, jež působí synergicky s Thr, taktéž přispívají k chuti umami (Jiang et al., 2019). Je třeba zdůraznit, že nízké koncentrace L-theaninu v Shao Xing korespondovaly s nedetekovatelností Ala, výjimkou byl vzorek Asagiri. Může to souviset s napařováním čerstvých listů během zpracování čaje matcha, protože Wang et al. (2000) deklaroval obsah Ala pouze ve fermentovaných čajích.

Ve vyšších koncentracích byly také jako volné AMK detekovány Glu (od 10,1 do $41,3 \text{ mg}\cdot 10^{-1} \text{ g N}$), GABA (od 1,61 do $38,6 \text{ mg}\cdot 10^{-1} \text{ g N}$), Ser (od 2,00 μg do $30,4 \text{ mg}\cdot 10^{-1} \text{ g N}$), Asp (od 8,42 do $20,9 \text{ mg}\cdot 10^{-1} \text{ g N}$), Thr (od 1,00 μg do $56,5 \text{ mg}\cdot 10^{-1} \text{ g N}$) a Met (od 1,00 μg do $44,7 \text{ mg}\cdot 10^{-1} \text{ g N}$), což koresponduje se studií Das et al. (2019). Prémiové vzorky byly bohaté na Ile a ornithin, i když Jiang et al. (2019) zjistili nižší koncentrace ornithinu v zelených čajích (méně než $0,03 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$). Ornithin, neproteinogenní volná AMK, zmírňuje únavu zvýšením účinnosti spotřeby energie a podporuje vylučování amoniaku. Bylo proto navrženo, že ornithin lze brát jako doplněk stravy v případě fyzické únavy (Sugino et al., 2008).

V Tab. 14 jsou uvedeny koncentrace vázaných AMK v čajích matcha (výsledky vyjádřené v $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ jsou v Příloze P VII. Publikované výsledky diskutující vázané AMK v matcha čajích jsou omezeny, podobně jako u jiných druhů čajových listů. Výsledky této studie ukázaly, že nejhojněji se vyskytujícími vázanými AMK byly Glu (od 0,47 do $0,68 \text{ g}\cdot 10^{-1} \text{ g N}$), Asp (od 0,31 do $0,42 \text{ g}\cdot 10^{-1}$

¹ g N), Leu (od 0,28 do 0,37 g.16⁻¹ g N), Lys (od 0,23 do 0,32 g.16⁻¹ g N), Arg (od 0,19 do 0,30 g.16⁻¹ g N) a Val (od 0,19 do 0,27 g.16⁻¹ g N). Naproti tomu byly stanoveny nejnižší koncentrace Met a Cys (0,09–0,12 a 0,07–0,09 g.16⁻¹ g N).

Tab. 13 Koncentrace volných aminokyselin analyzovaných v matcha čajích pomocí iontoměničové chromatografie (IEC)

Analyt [mg.16⁻¹g N]	Mo Cha Fen	Whittard	Shao Xing	Asagiri	Harmony	Jeju	Don Matcha	Royal Pharma
Asp	20,9±0,2 ^a	11,6±0,02 ^b	15,2±0,3 ^{c,g}	13,6±0,3 ^d	11,7±0,03 ^b	14,5±0,3 ^e	12,4±0,2 ^f	8,42±0,10 ^h
Glu	37,9±0,4 ^a	18,1±0,2 ^b	30,9±0,4 ^c	28,0±0,2 ^d	18,4±0,3 ^b	22,0±0,4 ^e	10,1±0,2 ^f	19,6±0,3 ^e
hPro	3,38±0,05 ^a	2,35±0,10 ^b	1,71±0,12 ^c	1,25±0,10 ^d	2,73±0,05 ^e	2,75±0,10 ^e	2,96±0,15 ^e	2,72±0,10 ^e
Ser	9,85±0,09 ^a	18,6±0,2 ^b	7,04±0,10 ^c	9,82±0,15 ^a	10,2±0,3 ^a	15,3±0,4 ^d	30,4±0,4 ^e	ND
Gly	2,77±0,05 ^a	4,34±0,10 ^b	1,28±0,10 ^c	1,07±0,05 ^d	2,73±0,07 ^a	2,25±0,04 ^e	ND	10,1±0,1 ^g
His	7,38±0,20 ^a	8,49±0,20 ^b	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Arg	4,92±0,10 ^a	ND	ND	2,14±0,10 ^b	8,18±0,20 ^c	7,75±0,20 ^d	28,9±0,3 ^e	ND
Thr	9,23±0,10 ^a	9,93±0,20 ^b	6,83±0,10 ^c	2,32±0,10 ^d	8,43±0,20 ^e	8,00±0,30 ^e	6,18±0,25 ^f	2,72±0,10 ^h
GABA	6,46±0,20 ^a	5,96±0,30 ^b	9,81±0,30 ^c	1,61±0,10 ^d	4,71±0,30 ^e	4,00±0,20 ^f	3,71±0,20 ^g	4,62±0,20 ^e
Ala	13,9±0,20 ^a	0,54±0,05 ^b	ND	3,21±0,15 ^c	1,98±0,10 ^d	18,0±0,20 ^e	14,6±0,20 ^f	2,99±0,10 ^c
Pro	1,85±0,10 ^a	2,17±0,10 ^b	2,13±0,10 ^b	ND	26,3±0,30 ^c	ND	1,73±0,20 ^a	39,4±0,30 ^f

L-Theanin	166±5 ^a	280±10 ^b	73,0±5 ^c	94,6±4 ^d	156±5 ^e	345±10 ^f	457±12 ^g	272±5 ^b
Tyr	3,38±0,05 ^a	4,15±0,05 ^b	2,56±0,14 ^c	1,07±0,10 ^d	2,98±0,15 ^e	3,50±0,25 ^a	6,42±0,12 ^f	ND
Cys	2,46±0,11 ^a	ND	ND	2,50±0,10 ^a	2,73±0,10 ^b	2,25±0,12 ^c	1,98±0,20 ^d	ND
Val	2,46±0,10 ^a	4,34±0,15 ^b	2,99±0,15 ^c	0,71±0,10 ^d	14,1±0,3 ^e	3,00±0,20 ^c	4,94±0,25 ^f	2,17±0,12 ^h
Met	2,46±0,10 ^a	34,9±0,3 ^b	15,4±0,3 ^c	10,5±0,2 ^d	5,21±0,20 ^e	34,3±0,3 ^{f,b}	44,7±0,3 ^g	ND
Phe	0,31±0,05 ^a	ND	0,64±0,06 ^b	ND	3,97±0,12 ^c	ND	ND	34,8±0,3 ^e
Ile	2,77±0,03 ^a	5,60±0,10 ^b	1,92±0,10 ^c	ND	ND	ND	6,18±0,22 ^d	2,72±0,3 ^a
Lys	2,46±0,10 ^a	5,78±0,20 ^b	2,77±0,17 ^c	1,96±0,11 ^d	97,2±0,6 ^e	8,00±0,20 ^f	9,14±0,30 ^g	29,9±0,4 ^h
Leu	2,77±0,10 ^a	5,24±0,07 ^b	2,13±0,03 ^c	1,61±0,10 ^d	3,47±0,20 ^e	4,50±0,14 ^f	9,63±0,22 ^g	3,26±0,10 ^e
Ornithine	2,77±0,12 ^a	4,34±0,22 ^b	3,63±0,16 ^c	ND	ND	ND	9,88±0,23 ^d	2,99±0,10 ^g
Trp	4,31±0,23 ^a	5,96±0,21 ^b	4,48±0,21 ^a	ND	ND	5,25±0,20 ^c	7,66±0,17 ^d	ND
Met+Cys	4,92±0,11 ^a	34,9±0,3 ^b	15,4±0,3 ^c	13,0±0,2 ^d	7,94±0,20 ^e	36,6±0,30 ^f	46,7±0,3 ^g	ND
Phe+Tyr	3,69±0,05 ^a	4,15±0,05 ^b	3,20±0,12 ^c	1,07±0,10 ^d	6,95±0,14 ^e	3,50±0,25 ^{a,c}	6,42±0,12 ^f	34,8±0,03 ^h
EAAAs	26,8±0,3 ^a	71,8±0,5 ^{b,h}	37,2±0,4 ^c	17,1±0,3 ^d	132±7 ^e	63,1±5,0 ^f	88,4±6,0 ^g	75,6±4,0 ^h
NEAAs	284±4 ^a	360±8 ^{b,h}	147±5 ^c	159±4 ^d	249±6 ^e	437±9 ^f	580±10 ^g	362±4 ^h
TFAAs	311±5 ^a	432±10 ^{b,i}	184±5 ^c	176±4 ^d	381±7 ^e	500±10 ^f	668±12 ^g	438±5 ^h

Výsledky jsou uvedeny v suché hmotnosti jako průměr \pm SD, $n=5$ (střední hodnota z pěti měření). Průměry v rámci řádku s alespoň jedním identickým horním indexem se významně neliší ($p \geq 0,05$), zatímco průměry s různými horními indexy vykazují významný rozdíl ($p < 0,05$). hPro – hydroxyprolin, GABA – kyselina γ -amino-n-máselná, EAA – esenciální aminokyseliny, NEAA – neesenciální aminokyseliny, TFAA – celkové volné aminokyseliny. LOQ: hPro, Gly, His, Thr, Pro, Tyr, Val, Met, Phe, Ile, Lys, ornithin, Trp – 1,0 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$; Ser, Arg, Ala, Cys – 2,0 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.

Tab. 14 Koncentrace vázaných aminokyselin analyzovaných v matcha čajích pomocí IEC

Analyt	Mo Cha Fen	Whittard	Shao Xing	Asagiri	Harmony	Jeju	Don Matcha	Royal Pharma
[mg.16 ⁻¹ g N]								
Asp	0,31 \pm 0,02 ^a	0,37 \pm 0,03 ^b	0,40 \pm 0,05 ^{b,c}	0,37 \pm 0,04 ^b	0,39 \pm 0,06 ^{b,c}	0,42 \pm 0,04 ^c	0,40 \pm 0,06 ^c	0,40 \pm 0,05 ^c
Thr	0,15 \pm 0,02 ^{a,b}	0,15 \pm 0,02 ^{a,b}	0,16 \pm 0,03 ^{a,c}	0,14 \pm 0,02 ^b	0,18 \pm 0,02 ^{c,d}	0,17 \pm 0,03 ^c	0,17 \pm 0,02 ^c	0,18 \pm 0,02 ^d
Ser	0,16 \pm 0,03 ^{a,b}	0,15 \pm 0,02 ^{a,c}	0,17 \pm 0,03 ^{b,d}	0,14 \pm 0,02 ^c	0,18 \pm 0,03 ^d	0,18 \pm 0,02 ^d	0,16 \pm 0,02 ^{a,b}	0,18 \pm 0,02 ^d
Glu	0,47 \pm 0,04 ^a	0,62 \pm 0,04 ^{b,e}	0,58 \pm 0,03 ^{c,e}	0,64 \pm 0,05 ^b	0,58 \pm 0,04 ^{c,e}	0,68 \pm 0,03 ^d	0,60 \pm 0,06 ^e	0,52 \pm 0,06 ^f
Pro	0,18 \pm 0,02 ^{a,c}	0,16 \pm 0,04 ^b	0,18 \pm 0,02 ^{a,c}	0,16 \pm 0,03 ^b	0,18 \pm 0,03 ^{a,c}	0,19 \pm 0,02 ^c	0,18 \pm 0,03 ^c	0,19 \pm 0,03 ^c
Gly	0,18 \pm 0,01 ^a	0,18 \pm 0,02 ^a	0,21 \pm 0,01 ^b	0,19 \pm 0,03 ^a	0,22 \pm 0,03 ^{b,c}	0,23 \pm 0,02 ^{c,d}	0,22 \pm 0,03 ^{b,c}	0,22 \pm 0,03 ^{b,c}
Ala	0,18 \pm 0,02 ^a	0,19 \pm 0,02 ^a	0,21 \pm 0,01 ^b	0,19 \pm 0,02 ^a	0,23 \pm 0,01 ^{c,d}	0,23 \pm 0,03 ^{b,c,d}	0,22 \pm 0,03 ^{b,c,d}	0,22 \pm 0,02 ^{b,c}
Val	0,19 \pm 0,03 ^{a,d}	0,20 \pm 0,03 ^{a,d}	0,23 \pm 0,01 ^{b,d}	0,22 \pm 0,04 ^{a,b,d}	0,24 \pm 0,03 ^{b,c}	0,25 \pm 0,03 ^{c,e}	0,25 \pm 0,02 ^{c,e}	0,24 \pm 0,03 ^{b,c}
Ile	0,15 \pm 0,03 ^a	0,18 \pm 0,03 ^{a,b}	0,18 \pm 0,02 ^{a,b}	0,16 \pm 0,02 ^a	0,18 \pm 0,02 ^{a,b}	0,18 \pm 0,02 ^{a,b}	0,19 \pm 0,03 ^{b,c}	0,18 \pm 0,02 ^{a,b}

Leu	0,28±0,03 ^a	0,28±0,03 ^a	0,32±0,03 ^{a,b}	0,29±0,03 ^{a,b}	0,33±0,2 ^b	0,34±0,05 ^b	0,34±0,04 ^b	0,36±0,06 ^{c,d}
Tyr	0,12±0,01 ^{a,b}	0,11±0,01 ^a	0,13±0,02 ^{a,b}	0,11±0,01 ^a	0,14±0,02 ^b	0,12±0,01 ^{a,b}	0,14±0,01 ^b	0,13±0,02 ^{a,b}
Phe	0,19±0,02 ^a	0,18±0,02 ^a	0,20±0,02 ^{a,b}	0,19±0,03 ^a	0,22±0,02 ^{b,c}	0,22±0,02 ^{b,c}	0,22±0,01 ^{b,c}	0,22±0,01 ^{b,c}
His	0,08±0,01 ^a	0,09±0,01 ^{a,b}	0,10±0,01 ^{b,c}	0,09±0,01 ^{a,b}	0,11±0,10 ^{c,d}	0,11±0,01 ^{c,d}	0,10±0,02 ^{b,c}	0,11±0,01 ^{c,d}
Lys	0,23±0,03 ^a	0,26±0,03 ^a	0,30±0,04 ^{b,c}	0,26±0,02 ^a	0,29±0,02 ^b	0,30±0,02 ^{b,c}	0,30±0,02 ^{b,c}	0,28±0,03 ^{a,b,c}
Arg	0,19±0,02 ^a	0,26±0,02 ^{b,c}	0,29±0,05 ^{b,d}	0,29±0,04 ^{b,d}	0,28±0,03 ^{b,d}	0,29±0,04 ^{b,d}	0,26±0,04 ^{b,c}	0,27±0,04 ^b
CysH	0,08±0,01 ^{a,b}	0,07±0,02 ^a	0,08±0,01 ^{a,b}	0,07±0,01 ^a	0,08±0,01 ^{a,b}	0,08±0,02 ^{a,b}	0,07±0,01 ^a	0,09±0,02 ^{a,b}
MetS	0,10±0,02 ^a	0,10±0,01 ^a	0,11±0,02 ^{a,b}	0,09±0,02 ^a	0,11±0,01 ^{a,b}	0,11±0,02 ^{a,b}	0,11±0,02 ^{a,b}	0,11±0,02 ^{a,b}
Met+Cys	0,18±0,02 ^a	0,17±0,01 ^{a,b}	0,19±0,02 ^{a,c}	0,16±0,01 ^b	0,19±0,01 ^{a,c}	0,19±0,02 ^{a,c}	0,18±0,02 ^a	0,20±0,02 ^c
Phe+Tyr	0,31±0,02 ^{a,c}	0,29±0,02 ^a	0,33±0,02 ^{b,c}	0,30±0,01 ^{a,c}	0,36±0,03 ^{b,d}	0,34±0,02 ^{b,c}	0,36±0,02 ^{b,d}	0,35±0,02 ^d
EAAAs	1,29±0,03 ^a	1,35±0,03 ^b	1,50±0,04 ^c	1,35±0,04 ^b	1,55±0,03 ^{c,d}	1,56±0,04 ^{c,d}	1,58±0,03 ^d	1,57±0,04 ^d
NEAAAs	1,95±0,04 ^a	2,20±0,04 ^b	2,25±0,05 ^b	2,25±0,03 ^b	2,39±0,03 ^c	2,47±0,04 ^d	2,35±0,03 ^c	2,33±0,04 ^c
TBAAAs	3,24±0,04 ^a	3,55±0,04 ^b	3,85±0,05 ^c	3,60±0,04 ^{b,e}	3,94±0,03 ^d	4,02±0,04 ^d	3,93±0,03 ^d	3,90±0,04 ^d
AAS (%)	30,4±0,5 ^a	31,8±0,4 ^b	34,9±0,4 ^c	30,9±0,3 ^a	37,9±0,5 ^d	36,8±0,5 ^e	38,4±0,6 ^d	37,0±0,5 ^e
EAAI (%)	4,30±0,03 ^a	4,50±0,04 ^b	5,00±0,04 ^c	4,40±0,03 ^d	5,40±0,05 ^e	5,20±0,06 ^f	5,40±0,05 ^e	5,20±0,05 ^f
LAA	Ile	Thr	Thr	Thr	Ile	Ile	Thr	Thr

Výsledky jsou uvedeny v sušině vzorku jako průměr \pm SD, $n=5$ (střední hodnota z pěti měření). Průměry v rámci řádku s alespoň jedním identickým horním indexem se významně neliší ($p \geq 0,05$), zatímco průměry s různými horními indexy vykazují významný rozdíl ($p < 0,05$). EAAs – esenciální aminokyseliny, NEAAs – neesenciální aminokyseliny, TBAAs – celkové vázané aminokyseliny, AAS – aminokyselinové skóre, EAAI – index esenciálních aminokyselin, LAA – limitující aminokyseliny.

4.1.8 Nutriční evaluace matcha čaje

AAS a EAAI byly vypočítány ze získaných dat součtu volných i vázaných koncentrací AMK (Tab. 14). AAS ukazuje účinnost, s jakou absorbovaný strávený dusík může splnit nezbytný požadavek na AMK na bezpečné úrovni příjmu bílkovin. Toho je dosaženo porovnáním obsahu esenciálních AMK v proteinu s jejich navrženými hodnotami (WHO/FAO/UNU, 2007). Vzorek Don Matcha vykazoval nejvyšší hodnotu AAS (38,4 %) a také nejvyšší hodnotu indexu EAAI (5,4 %) spolu se vzorkem Harmony. Naopak nejnižší hodnoty pro AAS a EAAI byly stanoveny ve vzorku Mo Cha Fen (30,4, respektive 4,3 %). Jelikož údaje, které hodnotí AAS pro protein v matcha čajích jsou limitovány, byly tyto výsledky v práci srovnány např. s hodnotami AAS pro fazole (84 %), čočku (62 %), pšeničný lepek (26 %), slunečnicový protein (39 %) a celozrnnou pšenici (44 %) (FAO, 1991; Koláčková et al., 2020b). Obecně je sirná AMK Met považována za limitující AMK luštěnin podobně jako Lys a Trp v obilovinách (WHO/FAO/UNU, 2007). Jako limitujícími esenciálními AMK v matcha čajích dle AAS byly Ile a Thr.

Příloha P VIII shrnuje příspěvky k jednotlivým hodnotám RDA pro esenciální aminokyseliny. Je zřejmé, že individuální příspěvky aminokyselin k RDA jsou spíše nízké, i když je důležité vzít v úvahu skutečnost, že denní dávka čaje matcha je pouze 5 g. Nejvyšší denní příjem Cys může dosáhnout 8 a 7 % RDA pro ženy a muže, v daném pořadí. Výsledky ukazují, že matcha přispívá k RDA pro ženy i muže v následujícím pořadí: Cys > Met, Met+Cys > Phe+Tyr a Thr>His, Ile, Lys a Val > Leu. Cys hraje podstatnou roli v buňce homeostázy jako meziprodukt při syntéze proteinů a při produkci GSH (glutathionu), taurinu a H₂S. Buněčná signalizace je ovlivněna denním příjmem sirných aminokyselin prostřednictvím modulace intracelulárního množství cysteinu a cystinu, stejně jako cystein/cystin redoxní stav, v postprandiálním období. Proto v posledním desetiletí roste zájem o použití Cys ke zlepšení zdraví u lidí (Yin et al., 2015).

4.2 Experimentální část II – stanovení biologicky aktivních látek ve vodných a methanolových výluzích matcha čajů

4.2.1 Stanovení celkových flavonoidů, polyfenolů a antioxidační aktivity

Matcha čaj je připravován ve vodě ve formě „našlehaného“ prášku, takže se tento čaj konzumuje celý, tzn. ve formě listů i s nálevem (Weiss a Anderton, 2003). Mimo polyfenoly uvolněné do nálevu se musí také počítat s tím, že ty, které zůstanou vázané v listech naše tělo dokáže taktéž teoreticky využít v průběhu procesu trávení. V laboratorních experimentech se tento proces simuluje pomocí extrakce BAL do methanolu, což bylo provedeno i v našem experimentu. Této problematice se věnuje následně i experimentální část IV disertační práce, kde je proces trávení simulován v podmínkách *in vitro* a byly stanovovány retenční faktory pro vybrané BAL. Stejně jako u obsahu kofeinu, také zde byly jednotlivé obsahy měřených veličin přepočteny na gram čajové hmoty, která byla použita k přípravě výluhu. Jak je vidět v Tab. 15, obsahy celkových flavonoidů (TFC) a polyfenolů (TPC) se pohybovaly v rozmezí od 52,8 do 83,1 mg RE.g⁻¹ a od 64,4 do 93,9 mg GAE.g⁻¹ čaje. Hodnoty TPC a TFC významně korelovaly s hodnotami antioxidačních aktivit (AOA) ve vodných extraktech matcha čajů viz. Příloha P IX (Koláčková et al., 2020a). Polyfenoly matcha čaje mohou zvýšit biologickou aktivitu glutathionperoxidázy a superoxidismutázy, čímž mají významný potenciál v ochraně proti oxidačnímu poškození buněk lidského organismu (Bhutia Pemba et al., 2015).

Tab. 15 Výsledky stanovení celkových flavonoidů, polyfenolů a antioxidační aktivity ve vodném výluhu

Matcha	TFC [mg RE.g ⁻¹]	TPC [mg GAE.g ⁻¹]	AOA ABTS [mg TE.g ⁻¹]	AOA DPPH [mg TE.g ⁻¹]
Shao Xing	59,7±0,4 ^a	72,0±1,0 ^a	262±2 ^a	180±5 ^a
Jeju	54,1±0,5 ^{b,h}	79,3±1,0 ^{b,g}	256±2 ^b	169±2 ^b
Hisui	60,9±0,5 ^c	69,6±1,0 ^c	296±3 ^c	192±5 ^c
Asagiri	52,8±0,4 ^d	78,4±0,7 ^b	285±2 ^d	171±2 ^b
Khoisan	64,1±0,4 ^e	75,8±0,7 ^d	288±4 ^d	184±5 ^a
Whittard	68,4±0,6 ^f	84,1±2,0 ^e	319±2 ^e	212±2 ^d
Mo Cha Fen	76,7±0,7 ^g	93,0±1,0 ^f	378±5 ^f	231±4 ^e
Don Matcha	83,1±0,7 ^h	93,9±1,0 ^f	382±5 ^f	229±3 ^e
Bio Matcha	75,5±0,5 ⁱ	84,3±2,0 ^e	329±4 ^g	216±2 ^f
Royal Pharma	77,5±0,6 ^g	80,3±1,0 ^g	346±2 ^h	216±3 ^f
Kissa	54,9±0,5 ^b	72,3±0,6 ^a	277±5 ⁱ	179±3 ^a
Moya	53,9±0,2 ^h	64,4±1,0 ^h	246±3 ^j	193±4 ^c

Výsledky jsou uvedeny jako střední hodnota ± SD v sušině (n=5). Hodnoty ve sloupci s alespoň jedním identickým horním indexem se významně neliší ($p \geq 0,05$), zatímco výsledky s různými horními indexy vykazují statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$). ABTS – 2,2'-azino-bis(3-etyl-2,3-dihydrobenzothiazol-6-sulfonát), DPPH – 1,1-difenyl-2-((2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl), RE – ekvivalent rutinu, GAE – ekvivalent kyseliny gallové, TE – ekvivalent troloxu.

Vzhledem k tomu, že se matcha připravuje ve vodě, čajový prášek se sám tráví. Pro získání relevantnějších údajů o množstvích fenolických látek dostupných po jeho digesci byly vzorky extrahovány do 80% methanolu (Weiss a Anderton, 2003). Jak je vidět v Tab. 16, obsahy TFC i TPC byly vyšší, pokud byl použit proces extrakce methanolem. V methanolových extraktech byly koncentrace TFC a TPC stanoveny v rozmezí 99–139 mg RE/g a 169–273 mg GAE/g. Tato studie potvrdila, že hodnoty TPC a TFC významně korelovaly s antioxidační aktivitou ve vodných i methanolových roztocích (r nad 0,7103) (Příloha P IX). Polyfenoly

v čaji matcha prokázaly mnohem silnější míru zachycování než vitamín C, což je v souladu se studií Bhutia Pemba et al. (2015).

Tab. 16 Výsledky stanovení celkových flavonoidů, polyfenolů a antioxidační aktivity v 80% methanolovém výluhu

Matcha	TFC [mg RE.g ⁻¹]	TPC [mg GAE.g ⁻¹]	AOA ABTS [mg TE.g ⁻¹]	AOA DPPH [mg TE.g ⁻¹]
Shao Xing	139±2 ^a	255±2 ^a	368±4 ^a	346±2 ^a
Jeju	126±3 ^b	252±3 ^{a,d,g}	332±2 ^b	336±2 ^b
Hisui	138±1 ^a	222±4 ^b	358±3 ^c	343±2 ^a
Asagiri	139±1 ^a	232±3 ^c	358±2 ^c	331±3 ^c
Khoisan	110±3 ^c	248±5 ^{d,e,g}	316±4 ^d	301±3 ^{d,f}
Whittard	110±2 ^c	259±5 ^a	319±5 ^d	308±4 ^e
Mo Cha Fen	116±3 ^d	241±5 ^{e,g}	319±2 ^d	301±3 ^{d,f}
Don Matcha	119±4 ^d	273±3 ^f	317±5 ^d	302±4 ^{d,e,f}
Bio Matcha	109±4 ^c	220±5 ^b	315±2 ^d	306±5 ^{d,e}
Royal Pharma	101±3 ^e	246±4 ^g	318±3 ^d	304±5 ^{d,e,f}
Kissa	102±3 ^e	202±5 ^h	316±4 ^d	297±4 ^f
Moya	99±4 ^e	169±4 ⁱ	306±3 ^e	288±6 ^g

Výsledky jsou uvedeny jako střední hodnota ± SD v sušině (n=5). Hodnoty ve sloupci s alespoň jedním identickým horním indexem se významně neliší ($p \geq 0,05$), zatímco výsledky s různými horními indexy vykazují statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$).

ABTS – 2,2'-azino-bis(3-etyl-2,3-dihydrobenzothiazol-6-sulfonát), DPPH – 1,1-difenyl-2-((2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl), RE – ekvivalent rutinu, GAE – ekvivalent kyseliny gallové, TE – ekvivalent troloxu.

4.2.2 Stanovení fenolického profilu pomocí HPLC

Koncentrace fenolických látek závisí na podmínkách pěstování jako jsou intenzita světla, teplota a faktory ovlivněné podnebím (Jeszka-Skowron et al., 2015). Zelený čaj obsahuje pět hlavních flavonoidů: katechin, epikatechin,

epikatechin-3-gallát, epigallokatechin a epigallokatechin gallát (Nishitani a Sagesaka, 2004; Reto et al., 2007; Dietz et al., 2017). Protože předchozí jmenované jsou v oblasti analýzy matcha čajů dostatečně zdokumentovány, dále byly v práci stanovovány hlavně rutin, kvercetin a kaempferol. Výsledné chromatogramy stanovení fenolických kyselin ve vodné i methanolové extrakci jsou uvedeny v Příloze PX. Množství čajové hmoty použité na dané množství vody má zásadní význam, stejně jako teplota a doba luhování. Množství polyfenolických látek v matcha čajích tak bylo opět přepočteno na gram použitého práškového vzorku. Matcha se pěstuje z 90 % zastíněná (Topuz et al., 2014). V důsledku toho se očekává, že množství dostupných fenolů v matcha čajích bude v odlišných koncentracích ve srovnání s klasickými zelenými čaji. Jak je uvedeno v Tab.17, obsah rutinu dosahoval širokých rozpětí koncentrací (361 až 1590 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), kaempferol byl detekován v množství 1,72 až 16,2 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ a koncentrace kvercetinu v rozmezí 10,5 až 84,9 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.

Tab. 17 Výsledky stanovení koncentrací rutinu, kaempferolu a kvercetinu ve vodném výluhu

Flavonoidy	Rutin	Kaempferol	Kvercetin
[$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]			
Shao Xing	1190±15 ^a	4,61±0,1 ^a	13,3±0,2 ^a
Jeju	787±10 ^b	12,7±0,3 ^b	10,5±0,3 ^b
Hisui	662±10 ^c	7,22±0,2 ^c	12,6±0,2 ^c
Asagiri	827±10 ^d	16,2±0,3 ^d	12,4±0,3 ^c
Khoisan	937±12 ^e	10,6±0,3 ^e	83,5±2,0 ^d
Whittard	998±10 ^f	7,23±0,2 ^c	84,9±2,0 ^d
Mo Cha Fen	361±10 ^g	8,55±0,2 ^f	74,8±2,0 ^e
Don Matcha	386±10 ^h	4,47±0,1 ^g	15,9±0,4 ^f
Bio Matcha	989±14 ^f	1,72±0,1 ^h	55,1±1,0 ^g
Royal Pharma	1180±12 ^a	5,62±0,2 ⁱ	46,1±1,0 ^h
Kissa	1590±15 ⁱ	8,47±0,3 ^f	24,4±1,2 ⁱ
Moya	1170±12 ^a	6,94±0,2 ^c	23,6±1,0 ⁱ

Výsledky jsou uvedeny jako střední hodnota \pm SD v sušině (n=5). Hodnoty ve sloupci s alespoň jedním identickým horním indexem se významně neliší ($p \geq 0,05$), zatímco výsledky s odlišnými horními indexy vykazují statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$).

Tab. 18 Výsledky stanovení koncentrací rutinu, kaempferolu a kvercetinu v 80% methanolovém výluhu

Flavonoidy [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]	Rutin	Kaempferol	Kvercetin
Shao Xing	1230 \pm 10 ^a	5,2 \pm 0,1 ^a	17,1 \pm 0,2 ^a
Jeju	1130 \pm 10 ^b	13,4 \pm 0,2 ^b	17,2 \pm 0,2 ^a
Hisui	1880 \pm 20 ^c	7,2 \pm 0,2 ^c	8,4 \pm 0,3 ^b
Asagiri	1210 \pm 10 ^d	17,4 \pm 0,2 ^d	16,9 \pm 0,3 ^a
Khoisan	1710 \pm 15 ^e	12,8 \pm 0,3 ^e	10,4 \pm 0,2 ^c
Whittard	1720 \pm 10 ^e	20,4 \pm 0,5 ^f	15,1 \pm 0,3 ^d
Mo Cha Fen	570 \pm 4 ^f	9,8 \pm 0,1 ^g	13,2 \pm 0,2 ^e
Don Matcha	686 \pm 9 ^g	32,0 \pm 1,0 ^h	15,2 \pm 0,3 ^d
Bio Matcha	1900 \pm 20 ^c	4,2 \pm 0,1 ⁱ	15,4 \pm 0,3 ^d
Royal Pharma	2210 \pm 20 ^h	9,9 \pm 0,2 ^g	14,1 \pm 0,3 ^f
Kissa	2870 \pm 20 ⁱ	14,5 \pm 0,2 ^j	11,0 \pm 0,2 ^g
Moya	2160 \pm 15 ^j	14,7 \pm 0,3 ^j	11,3 \pm 0,2 ^g

Výsledky jsou uvedeny jako průměr \pm SD v sušině (n=5). Znamená ve sloupci s alespoň jedním identickým horní index se významně neliší ($p \geq 0,05$), zatímco průměry s různými horními indexy vykazují významný rozdíl ($p < 0,05$)

Údaje z literatury dosud nepopsaly dostatečně koncentrace fenolických kyselin v matcha čajích. Nishitani a Sagesaka (2004) publikovali koncentraci kyseliny chlorogenové kolem 170 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, kyselina gallová byla zaznamenána v mnoha druhích čajů v širokém koncentračním rozmezí od 40 do 6700 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (Cabrera et al., 2003). Jeszka-Skowron et al. (2015) zase uvedli, že kyselina gallová dominuje hlavně v černých čajích. Profily jednotlivých fenolických kyselin v matcha čajích jsou uvedeny v Tab. 19. Jako dominantní byla detekována kyselina chlorogenová

(2640–3920 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), následovaly kyseliny sinapová (až 592 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), protokatechinová (až 291 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), ellagová (79,4–246 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), gallová (39,4–184 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), *p*-hydroxybenzoová (až 167 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), dále kyseliny ferulová (5,63–158 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) a kávová (9,35–82,2 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Pokud se jedná o jednotlivé fenolické kyseliny, hlavními přispěvateli k antioxidační aktivitě byly kyseliny ellagová > protokatechinová > chlorogenová > ferulová > a *p*-hydroxybenzoová. Zdá se, že kyselina gallová, kávová a sinapová nebyly hlavními významnými přispěvateli antioxidační aktivity (Příloha P IX). V případě procesů extrakce v 80% methanolu se zdá, že významnými přispěvateli k antioxidační aktivitě jsou kyseliny chlorogenová > kávová > a *p*-hydroxybenzoová. Je zřejmé, že kyselina gallová, protokatechinová, ferulová, sinapová a ellagová nevykazovaly pozitivní korelace s hodnotami antioxidační aktivity.

Teoretické korelace neodrážejí všechny reakce v zažívacím traktu, protože fenoly se konzumují jako glykosidy a enzymatická aktivita a přítomnost dalších potravinových látek může mít vliv i na jejich interakce jako je např. jejich antioxidační aktivita.

Tab. 19 Výsledky stanovení koncentrací fenolických kyselin ve vodném extraktu

Kyseliny [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]	GA	PA	<i>p</i>-HBA	ChlA	CA	FA	SA	EA
Shao Xing	184,0 \pm 3,0 ^a	53,8 \pm 1,0 ^a	17,0 \pm 0,5 ^a	2910 \pm 20 ^a	68,2 \pm 2,0 ^a	29,4 \pm 1,0 ^a	463,0 \pm 5,0 ^a	79,4 \pm 2,5 ^a
Jeju	63,9 \pm 1,0 ^b	56,7 \pm 2,0 ^b	13,5 \pm 0,3 ^b	2790 \pm 20 ^b	22,6 \pm 1,0 ^b	6,21 \pm 0,2 ^b	240,0 \pm 3,0 ^b	86,0 \pm 2,5 ^b
Hisui	89,6 \pm 1,0 ^c	68,7 \pm 1,0 ^c	14,2 \pm 0,3 ^c	3800 \pm 10 ^c	13,5 \pm 0,3 ^c	15,1 \pm 0,2 ^c	247,0 \pm 5,0 ^b	94,7 \pm 3,0 ^c
Asagiri	118,0 \pm 3,0 ^d	46,1 \pm 2,0 ^d	33,0 \pm 1,0 ^d	3350 \pm 20 ^d	9,35 \pm 0,1 ^d	5,63 \pm 0,2 ^d	218,0 \pm 3,0 ^c	93,0 \pm 2,0 ^{c,e}
Khoisan	89,4 \pm 1,0 ^c	190,0 \pm 4,0 ^{e,k}	89,7 \pm 2,0 ^e	3560 \pm 10 ^e	68,3 \pm 2,0 ^a	158,0 \pm 2,0 ^e	592,0 \pm 5,0 ^d	101,0 \pm 2,0 ^d
Whittard	116,0 \pm 1,0 ^d	278,0 \pm 4,0 ^f	158,0 \pm 2,0 ^f	3920 \pm 20 ^f	76,1 \pm 2,0 ^e	21,8 \pm 0,5 ^f	502,0 \pm 6,0 ^e	90,6 \pm 1,0 ^e
Mo Cha Fen	100,0 \pm 2,0 ^e	291,0 \pm 5,0 ^g	126,0 \pm 1,0 ^g	3350 \pm 20 ^d	38,2 \pm 0,5 ^f	52,2 \pm 1,0 ^g	96,0 \pm 1,0 ^f	246,0 \pm 2,0 ^f
Don Matcha	39,4 \pm 0,5 ^f	187,0 \pm 4,0 ^{e,j,k}	80,0 \pm 2,0 ^h	3210 \pm 20 ^g	43,0 \pm 1,0 ^g	112,0 \pm 3,0 ^h	89,2 \pm 1,0 ^g	200,0 \pm 3,0 ^g
Bio Matcha	42,1 \pm 1,0 ^g	161,0 \pm 3,0 ^h	70,6 \pm 2,0 ⁱ	2930 \pm 10 ^h	45,2 \pm 1,0 ^h	171,0 \pm 4,0 ⁱ	495,0 \pm 4,0 ^e	127,0 \pm 2,0 ^h
Royal Pharma	106,0 \pm 2,0 ^h	180,0 \pm 4,0 ^{i,j,k}	28,5 \pm 0,5 ^j	3900 \pm 10 ⁱ	27,2 \pm 2,0 ⁱ	64,1 \pm 2,0 ^j	536,0 \pm 5,0 ^h	168,0 \pm 2,0 ⁱ
Kissa	137,0 \pm 2,0 ⁱ	181,0 \pm 5,0 ^{i,k}	167,0 \pm 1,0 ^k	2700 \pm 20 ^j	78,3 \pm 1,0 ^j	51,8 \pm 1,5 ^g	483,0 \pm 5,0 ⁱ	101,0 \pm 3,0 ^d
Moya	83,5 \pm 2,0 ^j	183,0 \pm 5,0 ^k	155,0 \pm 3,0 ^f	2640 \pm 20 ^k	82,2 \pm 2,0 ^k	58,6 \pm 2,0 ^k	342,0 \pm 3,0 ^j	122,0 \pm 2,0 ^j

Výsledky jsou uvedeny jako střední hodnota \pm SD v sušině (n=5). Hodnoty ve sloupci s alespoň jedním identickým horním indexem se významně neliší ($p \geq 0,05$), zatímco hodnoty s různými horními indexy vykazují statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$). GA – kyselina gallová, PA – protocatechinová kyselina, *p*-HBA – *p*-hydroxybenzoová kyselina, ChIA – kyselina chlorogenová, CA – kyselina kávová, FA – kyselina ferulová, SA – kyselina sinapová, EA – kyselina ellagová.

Tab. 20 Výsledky stanovení koncentrací fenolických kyselin v 80% metanolovém extraktu

Kyseliny [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]	GA	PA	<i>p</i>-HBA	ChIA	CA	FA	SA	EA
Shao Xing	50,0 \pm 0,2 ^a	82,0 \pm 3,0 ^a	81,6 \pm 3,0 ^a	4570 \pm 20 ^a	162,0 \pm 4,0 ^a	102,0 \pm 4,0 ^a	482,0 \pm 5,0 ^a	58,5 \pm 2,0 ^a
Jeju	70,5 \pm 0,2 ^b	54,4 \pm 2,0 ^b	116,0 \pm 4,0 ^b	4450 \pm 20 ^b	193,0 \pm 5,0 ^b	86,8 \pm 3,0 ^b	446,0 \pm 4,0 ^b	46,1 \pm 1,0 ^b
Hisui	190,2 \pm 1,0 ^c	92,6 \pm 3,0 ^c	189,0 \pm 5,0 ^c	4520 \pm 30 ^c	223,0 \pm 5,0 ^c	127,0 \pm 3,0 ^c	911,0 \pm 5,0 ^c	49,6 \pm 1,5 ^c
Asagiri	150,0 \pm 0,5 ^d	60,0 \pm 1,0 ^d	185,0 \pm 5,0 ^c	4800 \pm 20 ^d	191,0 \pm 5,0 ^b	46,1 \pm 1,0 ^d	443,0 \pm 5,0 ^b	38,1 \pm 1,0 ^d
Khoisan	183,0 \pm 3,0 ^e	207,0 \pm 2,0 ^e	9,7 \pm 0,2 ^d	3950 \pm 10 ^e	141,0 \pm 3,0 ^d	180,0 \pm 3,0 ^e	836,0 \pm 6,0 ^d	119,0 \pm 2,0 ^e
Whittard	83,0 \pm 2,0 ^f	180,0 \pm 2,0 ^f	243,0 \pm 3,0 ^e	3800 \pm 20 ^f	54,3 \pm 1,5 ^e	45,5 \pm 1,0 ^d	841,0 \pm 7,0 ^d	150,0 \pm 3,0 ^f
Mo Cha Fen	202,0 \pm 3,0 ^g	223,0 \pm 2,0 ^g	150,0 \pm 5,0 ^f	3110 \pm 20 ^g	61,4 \pm 1,5 ^f	216,0 \pm 2,0 ^f	104,0 \pm 2,0 ^e	371,0 \pm 4,0 ^g
Don Matcha	90,9 \pm 3,0 ^h	299,0 \pm 3,0 ^h	29,6 \pm 1,0 ^g	3200 \pm 20 ^h	88,6 \pm 1,0 ^g	273,0 \pm 2,0 ^g	128,0 \pm 2,0 ^f	312,0 \pm 3,0 ^h
Bio Matcha	113,0 \pm 2,0 ⁱ	294,0 \pm 3,0 ^h	35,1 \pm 1,0 ^h	3460 \pm 30 ⁱ	89,2 \pm 1,0 ^g	219,0 \pm 3,0 ^f	1400,0 \pm 10 ^g	227,0 \pm 3,0 ⁱ
Royal Pharma	45,4 \pm 1,0 ^j	194,0 \pm 2,0 ⁱ	44,2 \pm 1,5 ⁱ	3510 \pm 10 ^j	76,7 \pm 1,5 ^h	289,0 \pm 3,0 ^h	802,0 \pm 6,0 ^h	270,0 \pm 2,0 ^j

Kissa	423,0±5,0 ^k	134,0±1,0 ^j	46,5±2,0 ^{ij}	3180±20 ^k	13,3±0,2 ⁱ	189,0±4,0 ⁱ	616,0±8,0 ⁱ	142,0±3,0 ^k
Moya	323,0±4,0 ^l	121,0±1,0 ^k	48,0±1,0 ^j	3040±20 ^l	29,8±0,5 ^j	190,0±3,0 ⁱ	457,0±6,0 ^j	191,0±3,0 ^l

Výsledky jsou uvedeny jako střední hodnota ± SD v sušině (n=5). Hodnoty ve sloupci s alespoň jedním identickým horním indexem se významně neliší ($p \geq 0,05$), zatímco hodnoty s různými horními indexy vykazují statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$). GA – kyselina gallová, PA – protokatechinová kyselina, *p*-HBA – *p*-hydroxybenzoová kyselina, ChlA – kyselina chlorogenová, CA – kyselina kávová, FA – kyselina ferulová, SA – kyselina sinapová, EA – kyselina ellagová.

4.3 Experimentální část III – stanovení biologicky aktivních látek ve vybraných ledových matcha čajích

4.3.1 Stanovení kofeinu, theobrominu, theofylinu a L-theaninu

Kofein je základní složkou čajových nápojů a je zodpovědný za jejich výraznou a žádoucí chuť. Zároveň je to silný antioxidant zvyšující antioxidační potenciál nápoje (Kochman et al., 2021). Jeho hladina může souviset s dobou sklizně a stářím listů – čím starší listy, tím nižší obsah kofeinu. Obsah kofeinu také závisí na odrůdě čaje, povětrnostních podmínkách během vegetace a také na způsobu vaření. Matcha má ve srovnání s jinými zelenými čaji poměrně vysoký obsah kofeinu, což mu dodává jedinečné aroma a chuť. Obsah kofeinu v zelených čajích se pohybuje v rozmezí 11,3–24,67 mg.g⁻¹ (Čížková et al., 2008), zatímco v matchi se pohybuje mezi 18,9 a 44,4 mg.g⁻¹. Pro srovnání, většina kávových zrn obsahuje 10,0–12,0 mg kofeinu/g (Koláčková et al., 2020a; Kochman et al., 2021). Nejvyšší námi stanovené hodnoty kofeinu (Tab. 21) vykazovala metoda 1 při vyluhování 5 min, 70°C, až 18,1 mg.g⁻¹. Kofein tak byl více vyluhován při použití vyšší teploty.

Poměrně vysoký obsah L-theaninu v čaji matcha je zodpovědný za jeho jedinečnou nehořkou chuť a v kombinaci s kofeinem poskytuje chuťový vjem umami charakteristický pro tento druh čaje. Kombinace L-theaninu a kofeinu může zvýšit koncentraci, bdělost a účinnost ve vyšší míře než použití jedné ze sloučenin samostatně, navíc zmírňuje stres (Kochman et al., 2021). Podle Kaneko et al. (2006) je obsah L-theaninu v čajových nálevech matcha 6,1 mg/l, zatímco Unno et al. (2018) našli ve vzorcích čaje matcha až 44,6 mg.g⁻¹ této sloučeniny.

Z výsledků stanovení theobrominu a theofylinu je očividné, že nejvyšší hodnoty koncentrací byly vyluhovány při metodách 2 a 3. To znamená, a potvrzuje to i literatura, že tyto aktivní látky jsou lépe luhovatelné a stabilnější při nižších teplotách (Friedman et al., 2005).

Tab. 21 Výsledky stanovení obsahu kofeinu, theobrominu, theofylinu a L-theaninu

Vzorek	Kofein [mg.g ⁻¹]		
	Metoda 1	Metoda 2	Metoda 3
Japan bio matcha	18,1±0,2 ^{a,A}	15,6 ± 0,5 ^{b,A}	17,0 ± 0,1 ^{c,A}
Allnature	14,5±0,7 ^{a,B}	14,0 ± 0,1 ^{a,B}	14,5 ± 0,3 ^{a,B}
Wolfberry	15,8±0,1 ^{a,C}	14,6 ± 0,5 ^{b,B}	15,4 ± 0,2 ^{a,C}
Vzorek	L-theanin [mg.g ⁻¹]		
	Metoda 1	Metoda 2	Metoda 3
Japan bio matcha	6,41± 0,02 ^{a,A}	10,3 ± 0,1 ^{b,A}	6,40 ± 0,10 ^{a,A}
Allnature	4,48 ± 0,15 ^{a,B}	4,70 ± 0,14 ^{a,B}	4,66 ± 0,10 ^{a,B}
Wolfberry	4,61 ± 0,01 ^{a,B}	4,19 ± 0,15 ^{a,B}	4,46 ± 0,09 ^{a,B}
Vzorek	Theobromin [mg.g ⁻¹]		
	Metoda 1	Metoda 2	Metoda 3
Japan bio matcha	0,13 ± 0,01 ^{a,A}	0,14 ± 0,1 ^{a,A}	0,14 ± 0,01 ^{a,A}
Allnature	0,26 ± 0,01 ^{a,B}	0,28 ± 0,01 ^{a,B}	0,27 ± 0,01 ^{a,B}
Wolfberry	0,22 ± 0,01 ^{a,B}	0,22 ± 0,01 ^{a,B}	0,22 ± 0,01 ^{a,B}
Vzorek	Theofylin [µg.g ⁻¹]		
	Metoda 1	Metoda 2	Metoda 3
Japan bio matcha	4,47 ± 0,02 ^{a,A}	7,82 ± 0,1 ^{b,A}	8,70 ± 0,10 ^{c,A}
Allnature	20,7 ± 0,15 ^{a,B}	18,9 ± 0,14 ^{b,B}	13,3 ± 0,10 ^{c,B}
Wolfberry	18,5 ± 0,01 ^{a,C}	12,5 ± 0,15 ^{b,C}	14,5 ± 0,09 ^{c,C}

Výsledky jsou uvedeny jako průměr ± SD, n=5 (průměrná hodnota z pěti měření) v sušíně vzorku. Průměry v rámci řádků s alespoň jedním identickým malým horním indexem (v případě metod vyluhování) se významně neliší ($p \geq 0,05$), zatímco řádky s různými malými horními indexy vykazují významný rozdíl ($p < 0,05$). Průměry ve sloupci s alespoň jedním identickým horním indexem velkým písmenem (v případě jednotlivých vzorků) se významně neliší

($p \geq 0,05$), zatímco sloupce s různým horním indexem velkým písmenem vykazují významný rozdíl ($p < 0,05$).

4.3.2 Stanovení antioxidační aktivity (ABTS, DPPH, PCL) a celkových polyfenolů a flavonoidů v ledových matcha čajích

Výsledky stanovení antioxidačních aktivit pro metody se zhášením radikálů DPPH a ABTS a také PCL metody jsou zapsány do Tab. 22. Výsledky stanovení antioxidačních aktivit jsou uvedeny v ekvivalentech troloxu (mg TE.g^{-1}). Provedenou analýzou s ABTS bylo zjištěno, že antioxidační aktivita u ledových matcha čajů je nejvyšší u přípravy 3 metodou. Z hlediska hodnot AOA lze tuto metodu přípravy doporučit. Při stanovení s použitím DPPH vyšla jako výhodnější metoda 1. Záleží tedy na zhášeném radikálu. V současné době nejsou v literatuře moc dostupná data o měření AOA u ledových matcha čajů. Hodnoty s využitím radikálů ABTS a DPPH korelují se studií Farooq a Seghal (2018).

Jak je vidět v Tab. 22, obsahy TFC i TPC byly vyšší, pokud byla použita metoda 3. Jedná se o metody, kdy bylo využito extrakce ve vodě 20 °C a 12 hodin luhování v lednici. Tudíž se můžeme domnívat, že na obsah celkových polyfenolů a flavonoidů má vliv vyluhovatelnost, a tím souvisí i možnost vyšší redukce volných radikálů.

Metodou PCL je stanovena AOA ve vodě rozpustných antioxidantů (ACW) a v tučích rozpustných antioxidantů (ACL). Při stanovení AOA metodou PCL byla vhodnější metoda 1 s vyšší AOA.

Tab. 22 Výsledky antioxidační aktivity a celkových polyfenolů a flavonoidů

Vzorek	ABTS [mg TE.g ⁻¹]		
	Metoda 1	Metoda 2	Metoda 3
Japan bio matcha	40,6 ± 0,2 ^{a,A}	29,1 ± 0,7 ^{b,A}	48,3 ± 0,9 ^{c,A}
Allnature	42,6 ± 0,8 ^{a,B}	37,0 ± 0,9 ^{b,B}	52,7 ± 1,4 ^{c,B}
Wolfberry	34,4 ± 0,9 ^{a,C}	28,0 ± 0,6 ^{b,A}	42,7 ± 0,9 ^{c,C}

Vzorek	DPPH [mg TE.g ⁻¹]		
	Metoda 1	Metoda 2	Metoda 3
Japan bio matcha	351 ± 18 ^{a,A}	239 ± 8 ^{b,A}	160 ± 6 ^{c,A}
Allnature	335 ± 16 ^{a,B}	285 ± 8 ^{b,B}	175 ± 4 ^{c,B}
Wolfberry	307 ± 10 ^{a,C}	289 ± 9 ^{b,B}	179 ± 4 ^{c,B}

Vzorek	TPC [mg GAE.g ⁻¹]		
	Metoda 1	Metoda 2	Metoda 3
Japan bio matcha	83,6 ± 3,2 ^{a,A}	86,7 ± 2,5 ^{b,A}	90,8 ± 2,8 ^{c,A}
Allnature	74,9 ± 1,2 ^{a,B}	79,1 ± 3,2 ^{b,B}	78,3 ± 3,2 ^{b,B}
Wolfberry	72,2 ± 1,1 ^{a,C}	72,0 ± 1,3 ^{a,C}	78,3 ± 2,6 ^{b,B}

Vzorek	TFC [mg RE.g ⁻¹]		
	Metoda 1	Metoda 2	Metoda 3
Japan bio matcha	57,3 ± 1,5 ^{a,A}	52,0 ± 1,6 ^{b,A}	61,5 ± 2,3 ^{c,A}
Allnature	50,4 ± 1,7 ^{a,B}	49,3 ± 1,2 ^{a,B}	49,7 ± 1,2 ^{a,B}
Wolfberry	43,2 ± 1,1 ^{a,C}	46,6 ± 1,3 ^{b,C}	47,4 ± 1,4 ^{b,C}

Vzorek	ACW + ACL [mg TE.g ⁻¹]		
	Metoda 1	Metoda 2	Metoda 3
Japan bio matcha	484 ± 12 ^{a,A}	467 ± 10 ^{b,A}	433 ± 9 ^{c,A}
Allnature	449 ± 9 ^{a,B}	438 ± 8 ^{b,B}	475 ± 12 ^{c,B}

Wolfberry	465 ± 10 ^{a,C}	464 ± 9 ^{a,C}	452 ± 8 ^{b,C}
-----------	-------------------------	------------------------	------------------------

Výsledky jsou uvedeny jako průměr ± SD, n=5 (průměrná hodnota z pěti měření) v sušině vzorku. Průměry v rámci řádků s alespoň jedním identickým malým horním indexem (v případě metod vyluhování) se významně neliší ($p \geq 0,05$), zatímco řádky s různými malými horními indexy vykazují významný rozdíl ($p < 0,05$). Průměry ve sloupci s alespoň jedním identickým horním indexem velkým písmenem (v případě jednotlivých vzorků) se významně neliší ($p \geq 0,05$), zatímco sloupce s různým horním indexem velkým písmenem vykazují významný rozdíl ($p < 0,05$). ABTS – 2,2'-azinobis(3-ethylbenzo-thiazolin-6-sulfonová kyselina), DPPH – 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl, TE – ekvivalent troloxu, TPC – celkový obsah polyfenolů, GAE – ekvivalent kyseliny gallové, TFC – celkový obsah flavonoidů, RE – ekvivalent rutinu, ACW – antioxidační kapacita sloučenin rozpustných ve vodě, AA – kyselina askorbová, ACL – antioxidační kapacita sloučenin rozpustných v tucích.

4.3.3 Stanovení fenolického profilu pomocí HPLC

Polyfenolické sloučeniny v zeleném čaji obsahují především flavonoidy, flavanoly, fenolové kyseliny a příbuzné látky. Čajové polyfenoly jsou deriváty flavonoidů se základní strukturou, obecně známé jako katechiny, s a-fenylbenzopyranem, který tvoří přibližně 18 až 36 % suché hmotnosti čajů (Yan et al., 2020). Fenolické antioxidanty hrají významnou roli v ochraně lidského těla před oxidačním stresem, který je spouštěn nerovnováhou mezi tvorbou reagenčních forem kyslíku a jejich eliminací, a v oddálení několika chronických onemocnění (Xu et al., 2012). Již mnoho studií prokázalo, že zelený čaj obsahuje nejvíce katechinů.

Nejvíce zastoupeným katechinem napříč všemi třemi metodami byl EGC (Tab. 23A a 23B). Při metodě 1 byl stanoven jeho nejvyšší obsah 4760 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, což se můžeme domnívat, že EGC je lépe vyluhovatelný při vyšší teplotě. Epigallocatechin gallát je nejhojnější katechin zeleného čaje, proto je uznáván jako hlavní aktivní složka v zeleném čaji (Kim et al. 2016). Následoval EC 202–266 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ a dále rutin až 81,5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Celkově metoda 1 vykazovala vyšší výsledky pro koncentrace vyluhovaných fenolických látek. Tyto výsledky korespondují se studií Sayuti et al. (2021), kde bylo stanoveno taktéž nejvíce EGC při použití extrakce při 80 °C. Jako dominantní byla detekována při metodě 1 kyselina chlorogenová (1420–1780 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), což koresponduje i s výsledky ve vodných a methanolových extraktech. Následovaly kyseliny ellagová (až 214 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) při metodě 3, sinapová (až 55,4 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) metoda 1, neochlorogenová (až 25,4 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), gallová (39,4–184 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Použití vícenásobné extrakce vede k nižšímu výtěžku TPC a TFC (Astill et al., 2001).

Jak si můžeme dále všimnout v tabulkách 23A a 23B u vzorků Allnature a Wolfberry byly hodnoty fenolických kyselin naopak vyšší v metodách 2 a 3 a to u kyseliny gallové. Dalším parametrem je tedy samotný vzorek matcha čaje a jeho kvalita.

Tab. 23A Výsledky jednotlivých koncentrací fenolických kyselin a flavonoidů v ledových čajích matcha v metodách 1 a 2

Kyseliny [μg,g ⁻¹]	Metoda 1			Metoda 2		
	Japan bio matcha	Allnature	Wolfberry	Japan bio matcha	Allnature	Wolfberry
GA	8,94 ± 0,13 ^{a,A}	16,0 ± 1,2 ^{b,A}	14,6 ± 0,2 ^{c,A}	8,57 ± 0,20 ^{a,A}	16,1 ± 0,5 ^{b,A}	14,8 ± 1,2 ^{c,A}
3,4-dhBA	13,9 ± 0,1 ^{a,A}	25,0 ± 0,6 ^{b,A}	20,3 ± 0,5 ^{c,A}	12,9 ± 0,6 ^{a,A}	25,0 ± 2,4 ^{b,A}	19,7 ± 2,0 ^{c,A}
VA	0,44 ± 0,01 ^{a,A}	0,76 ± 0,01 ^{b,A}	0,98 ± 0,02 ^{c,A}	0,43 ± 0,01 ^{a,A}	0,66 ± 0,01 ^{b,A}	0,78 ± 0,02 ^{b,A}
SA	0,50 ± 0,01 ^{a,A}	0,12 ± 0,01 ^{b,A}	0,15 ± 0,01 ^{b,A}	0,52 ± 0,01 ^{a,A}	0,24 ± 0,01 ^{b,B}	0,20 ± 0,01 ^{b,A}
PAEE	5,48 ± 0,05 ^{a,A}	3,35 ± 0,02 ^{b,A}	3,63 ± 0,03 ^{c,A}	4,32 ± 0,13 ^{a,B}	3,30 ± 0,05 ^{b,A}	3,24 ± 0,05 ^{b,B}
EA	204 ± 5 ^{a,A}	168 ± 10 ^{b,A}	176 ± 5 ^{c,A}	201 ± 8 ^{a,A}	150 ± 5 ^{b,B}	157 ± 3 ^{c,B}
4-hBA	5,57 ± 0,03 ^{a,A}	9,73 ± 0,18 ^{b,A}	9,37 ± 0,42 ^{b,A}	4,90 ± 0,15 ^{a,B}	9,84 ± 0,50 ^{b,A}	9,18 ± 0,50 ^{b,A}
<i>trans-p</i> -CA	4,45 ± 0,03 ^{a,A}	3,18 ± 0,02 ^{b,A}	3,23 ± 0,20 ^{b,A}	3,17 ± 0,11 ^{a,B}	2,79 ± 0,05 ^{a,B}	2,72 ± 0,08 ^{a,B}
CA	1,19 ± 0,01 ^{a,A}	1,11 ± 0,01 ^{a,A}	1,17 ± 0,01 ^{a,A}	0,86 ± 0,01 ^{a,B}	1,14 ± 0,02 ^{b,A}	0,98 ± 0,02 ^{a,b,A,B}
FA	7,96 ± 0,35 ^{a,A}	3,47 ± 0,10 ^{b,A}	4,68 ± 0,12 ^{c,A}	5,38 ± 0,15 ^{a,B}	3,80 ± 0,10 ^{b,A}	3,56 ± 0,15 ^{b,B}

SiA	55,4 ± 1,8 ^{a,A}	35,9 ± 0,8 ^{b,A}	44,2 ± 1,5 ^{c,A}	42,7 ± 2,0 ^{a,B}	35,7 ± 3,5 ^{b,A}	34,1 ± 3,0 ^{b,B}
ChA	1780 ± 18 ^{a,A}	1420 ± 52 ^{b,A}	1520 ± 17 ^{c,A}	1600 ± 18 ^{a,B}	1387 ± 12 ^{b,B}	1420 ± 20 ^{c,B}
NeoChA	25,4 ± 0,8 ^{a,A}	11,8 ± 0,9 ^{b,A}	13,0 ± 0,5 ^{c,A}	24,2 ± 1,3 ^{a,A}	10,9 ± 0,9 ^{b,B}	12,5 ± 1,0 ^{c,A}
CiA	5,38 ± 0,10 ^{a,A}	5,84 ± 0,15 ^{a,b,A}	6,35 ± 0,13 ^{b,A}	4,38 ± 0,13 ^{a,B}	5,43 ± 0,20 ^{b,A,B}	5,05 ± 0,11 ^{b,B}
Flavonoidy						
EGC	4760 ± 55 ^{a,A}	3540 ± 25 ^{b,A}	4130 ± 50 ^{c,A}	4070 ± 30 ^{a,B}	3970 ± 25 ^{b,B}	3920 ± 28 ^{c,B}
C	1,79 ± 0,02 ^{a,A}	1,19 ± 0,01 ^{b,A}	1,36 ± 0,01 ^{b,A}	8,34 ± 0,15 ^{a,B}	12,9 ± 0,1 ^{b,B}	7,23 ± 0,30 ^{c,B}
EC	266 ± 10 ^{a,A}	202 ± 15 ^{b,A}	227 ± 13 ^{c,A}	239 ± 15 ^{a,B}	222 ± 18 ^{b,B}	222 ± 15 ^{b,B}
R	81,5 ± 2,5 ^{a,A}	32,5 ± 2,5 ^{b,A}	45,2 ± 2,0 ^{c,A}	57,5 ± 3,5 ^{a,B}	38,4 ± 2,5 ^{b,B}	36,8 ± 2,0 ^{b,B}
Q	10,2±0,3 ^{a,A}	8,74±0,20 ^{b,A}	8,46±0,15 ^{b,A}	7,28±0,20 ^{a,B}	6,23± 0,30 ^{b,B}	6,45± 0,25 ^{b,B}

Výsledky jsou uvedeny jako průměr ± SD, n=5 (průměrná hodnota z pěti měření). Průměry v rámci řádků s alespoň jedním shodným malým horním indexem (v případě jednotlivých metod vyluhování) se významně neliší ($p \geq 0,05$), zatímco řádky s různými malými horními indexy vykazují významný rozdíl ($p < 0,05$). Průměry ve sloupci s alespoň jedním identickým horním indexem velkým písmenem (v případě každého vzorku zvlášť) se významně neliší ($p \geq 0,05$), zatímco sloupce s různým horním indexem velkým písmenem vykazují významný rozdíl ($p < 0,05$). GA – kyselina gallová, 3,4-dhBA – kyselina 3,4 dihydroxybenzoová, VA – kyselina vanilová, SA – kyselina syringová, PAEE – ethylester kyseliny

protokatechinové, EA – kyselina ellagová, 4-hBA – kyselina 4-hydroxybenzoová, *trans-p*-CA – kyselina *trans-p*-kumarová, CA – kyselina kávová, FA – kyselina ferulová, SiA – kyselina sinapová, ChA – kyselina chlorogenová, NeoChA – kyselina neochlorogenová, CiA – kyselina skořicová, EGC – epigallocatechin, C – katechin, EC – epikatechin, R – rutin, Q – kvercetin.

Tab. 24B Výsledky jednotlivých koncentrací fenolických kyselin a flavonoidů v ledových čajích matcha v metodě 3

Kyseliny [$\mu\text{g},\text{g}^{-1}$]	Metoda 3		
	Japan bio matcha	Allnature	Wolfberry
GA	$8,49 \pm 0,25^{\text{a,A}}$	$17,4 \pm 0,3^{\text{b,B}}$	$18,9 \pm 0,4^{\text{c,B}}$
3,4-dhBA	$13,0 \pm 1,3^{\text{a,A}}$	$24,4 \pm 1,8^{\text{b,A}}$	$19,5 \pm 1,2^{\text{c,A}}$
VA	$0,47 \pm 0,01^{\text{a,A}}$	$0,68 \pm 0,01^{\text{a,b,A}}$	$0,84 \pm 0,01^{\text{b,A}}$
SA	$0,65 \pm 0,01^{\text{a,A}}$	$0,15 \pm 0,01^{\text{b,A}}$	$0,16 \pm 0,01^{\text{b,A}}$
PAEE	$4,54 \pm 0,02^{\text{a,B}}$	$2,51 \pm 0,01^{\text{b,B}}$	$2,95 \pm 0,01^{\text{c,B}}$
EA	$214 \pm 4^{\text{a,B}}$	$153 \pm 2^{\text{b,B}}$	$154 \pm 3^{\text{b,B}}$
4-hBA	$5,48 \pm 0,20^{\text{a,A}}$	$9,42 \pm 0,53^{\text{b,A}}$	$9,36 \pm 0,45^{\text{b,A}}$
<i>trans-p</i> -CA	$3,20 \pm 0,09^{\text{a,b,B}}$	$3,41 \pm 0,05^{\text{a,A}}$	$2,89 \pm 0,02^{\text{b,B}}$

CA	$0,99 \pm 0,01^{a,B}$	$0,85 \pm 0,01^{a,B}$	$0,90 \pm 0,01^{a,B}$
FA	$5,38 \pm 0,12^{a,B}$	$3,34 \pm 0,10^{b,A}$	$3,63 \pm 0,08^{b,B}$
SiA	$42,8 \pm 2,5^{a,B}$	$33,9 \pm 1,9^{b,A}$	$34,6 \pm 1,8^{b,B}$
ChA	$1620 \pm 16^{a,C}$	$1390 \pm 12^{b,B}$	$1470 \pm 15^{c,C}$
NeoChA	$23,8 \pm 1,2^{a,A}$	$10,1 \pm 0,8^{b,B}$	$12,3 \pm 0,9^{c,A}$
CiA	$4,28 \pm 0,10^{a,B}$	$5,04 \pm 0,12^{b,B}$	$5,33 \pm 0,15^{b,B}$
Flavonoidy			
EGC	$4387 \pm 32^{a,C}$	$3966 \pm 29^{b,B}$	$3952 \pm 25^{c,C}$
C	$1,25 \pm 0,01^{a,C}$	$2,55 \pm 0,01^{b,C}$	$2,05 \pm 0,01^{c,C}$
EC	$223 \pm 13^{a,C}$	$216 \pm 10^{b,B}$	$212 \pm 9^{b,C}$
R	$58,6 \pm 2,8^{a,B}$	$33,8 \pm 1,8^{b,A}$	$34,6 \pm 2,0^{b,B}$
Q	$6,98 \pm 0,23^{a,C}$	$6,39 \pm 0,21^{a,B}$	$6,77 \pm 0,20^{a,B}$

Výsledky jsou uvedeny jako průměr \pm SD, n=5 (průměrná hodnota z pěti měření). Průměry v rámci řádků s alespoň jedním shodným malým horním indexem (v případě jednotlivých metod vyluhování) se významně neliší ($p \geq 0,05$), zatímco řádky s různými malými horními indexy vykazují

významný rozdíl ($p < 0,05$). Průměry ve sloupci s alespoň jedním identickým horním indexem velkým písmenem (v případě každého vzorku zvlášť) se významně neliší ($p \geq 0,05$), zatímco sloupce s různým horním indexem velkým písmenem vykazují významný rozdíl ($p < 0,05$). GA – kyselina gallová, 3,4-dhBA – kyselina 3,4 dihydroxybenzoová, VA – kyselina vanilová, SA – kyselina syringová, PAEE – ethylester kyseliny protocatechinové, EA – kyselina ellagová, 4-hBA – kyselina 4-hydroxybenzoová, *trans-p*-CA – kyselina *trans-p*-kumarová, CA – kyselina kávová, FA – kyselina ferulová, SiA – kyselina sinapová, ChA – kyselina chlorogenová, NeoChA – kyselina neochlorogenová, CiA – kyselina skořicová, EGC – epigallocatechin, C – katechin, EC – epikatechin, R – rutin, Q – kvercetin.

4.3.4 Stanovení minerálních a stopových prvků metodou AAS

Vzhledem k tomu, že data zkoumající vyluhovatelnost prvků v ledových čajích matcha jsou vzácná, lze tyto výsledky porovnat s výzkumem Brzezicha-Cirocka et al. (2016), kde při aplikaci horké vody (100 °C) a doby louhování pět minut na lístky zeleného čaje se vyluhovatelnost prvků pohybovala v tomto pořadí: K (54,2–66,3 %), Mg (26,8–40,0 %), P (22,5–40,1 %), Mn (24,2–31,4 %) a Fe (7,85–13,4 %). Podle Brzezicha-Cirocka et al. (2016) se procento vyluhování Na z lístků zeleného čaje pohybovalo v rozmezí 15,1–43,7 %. V této studii byl faktor vyluhování Na z matchi do roztoků ledových čajů relativně nízký, maximálně 18 % u metody 3. Naopak procenta vyluhování pro K a Mg byla 93 a 85 % u metod 2 a 1 (Tab. 24). Výsledky této studie by mohly být porovnány s výzkumem Dambiec et al. (2013), kde byl K extrahován do infuze v největší míře, což kontrastovalo s nejnižším procentem luhování Na. Nižší a srovnatelné procento vyluhování v ledových čajích bylo zaznamenáno pro Se, Fe a Mn (37, 21 a 19 % v metodě 3, v tomto pořadí). Podle literatury byly čajové nálevy charakterizovány nízkým obsahem Cd, což je v souladu se studií publikovanou Karak a Bhagat (2010). Nízké vyluhování Fe se vysvětluje tvorbou málo rozpustných komplexů. Kyselina třísllová, taniny a srážení chelátů s kovovými ionty také snižují koncentrace kovů v nálevech (Brzezicha-Cirocka et al., 2016). Koncentrace kyseliny třísllové, fytové a taninu v ledovém čaji matcha by měly být vyhodnoceny, protože tyto hodnoty korelují s faktory vyluhování, aby bylo možné posoudit procento vyluhování konkrétních prvků do nálevů. Dále některé prvky přenášené do nálevů závisí na tom, zda sloučenina je slabě vázána na organickou matici nebo je v roztoku méně rozpustná (Dalipi et al., 2018). Hodnoty účinnosti extrakce jsou ovlivněny dalšími faktory jako je pH, teplota vody, doba extrakce a iontová síla.

Tab. 25 Výsledky obsahu minerálních a stopových prvků v ledových čajích matcha a jejich vyluhovatelnost

Prvky v matcha čajích	Metoda	Japan bio tea	Allnature	Wolfberry	Vyluhovatelnost
Na [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]	1	2,59±0,04 ^{a,A}	3,35±0,05 ^{b,A}	1,95±0,05 ^{c,A}	6–13
	2	2,92±0,03 ^{a,B}	2,24±0,04 ^{b,B}	2,89±0,04 ^{a,B}	7–15
	3	3,61±0,05 ^{a,C}	2,60±0,04 ^{b,C}	2,96±0,03 ^{c,C}	9–18
Mg [$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$]	1	2,27±0,02 ^{a,A}	1,78±0,04 ^{b,A}	1,64±0,02 ^{c,A}	81–85
	2	1,97±0,03 ^{a,B}	1,37±0,02 ^{b,B}	1,45±0,02 ^{c,B}	62–74
	3	2,03±0,05 ^{a,C}	1,44±0,04 ^{b,C}	1,58±0,04 ^{c,C}	65–81
K [$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$]	1	8,42±0,10 ^{a,A}	8,55±0,10 ^{b,A}	8,40±0,08 ^{a,A}	87–90
	2	8,68±0,12 ^{a,B}	8,40±0,10 ^{b,B}	8,73±0,12 ^{a,B}	87–93
	3	8,80±0,10 ^{a,C}	7,99±0,11 ^{b,C}	8,43±0,10 ^{c,A}	83–91
Ca [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]	1	640±5 ^{a,A}	572±5 ^{b,A}	525±10 ^{c,A}	84–85
	2	515±5 ^{a,B}	515±7 ^{a,B}	490±5 ^{b,B}	68–80
	3	630±10 ^{a,C}	530±10 ^{b,C}	480±5 ^{c,C}	78–83
Fe [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]	1	10,0±0,1 ^{a,A}	15,0±0,2 ^{b,A}	15,2±0,2 ^{b,A}	7–14
	2	10,0±0,1 ^{a,A}	20,0±0,3 ^{b,B}	20,0±0,2 ^{b,B}	9–14
	3	15,0±0,2 ^{a,B}	10,5±0,2 ^{b,C}	15,0±0,2 ^{a,A}	5–21
Mn [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]	1	250±10 ^{a,A}	170±5 ^{b,A}	180±8 ^{c,A}	11–22
	2	240±7 ^{a,A}	223±10 ^{b,B}	225±6 ^{b,B}	14–21

	3	220±8 ^{a,B}	224±8 ^{a,B}	182±4 ^{b,A}	12–19
Zn [µg.g ⁻¹]	1	10,1±0,1 ^{a,A}	15,0±0,2 ^{b,A}	15,2±0,2 ^{b,A}	34–50
	2	20,4±0,2 ^{a,B}	15,2±0,4 ^{b,A}	19,5±0,3 ^{c,B}	37–68
	3	15,2±0,3 ^{a,C}	10,6±0,2 ^{b,B}	10,4±0,3 ^{b,C}	26–51
Se [µg.g ⁻¹]	1	0,20±0,02 ^{a,A}	0,41±0,03 ^{b,A}	0,42±0,02 ^{b,A}	6–13
	2	0,80±0,05 ^{a,B}	0,75±0,03 ^{b,B}	0,52±0,02 ^{c,B}	16–24
	3	1,10±0,10 ^{a,C}	1,25±0,12 ^{b,C}	1,20±0,07 ^{a,b,C}	33–37
Cd [µg.g ⁻¹]	1	<1,00	<1,00	<1,00	
	2	<1,00	<1,00	<1,00	
	3	<1,00	<1,00	<1,00	
Pb [µg.g ⁻¹]	1	<1,00	<1,00	<1,00	
	2	<1,00	<1,00	<1,00	
	3	<1,00	<1,00	<1,00	
Hg [ng.g ⁻¹]	1	120±5 ^{a,A}	154±5 ^{b,A}	166±6 ^{c,A}	40–50
	2	110±3 ^{a,B}	132±4 ^{b,B}	145±5 ^{c,B}	36–46
	3	123±4 ^{a,A}	153±6 ^{b,A}	170±5 ^{c,A}	41–51

Výsledky jsou uvedeny v sušině jako průměr ± SD, n=6 (průměr ze šesti měření). Průměry v rámci řádku s alespoň jedním identickým malým horním indexem (v případě jednotlivých vzorků) se významně neliší ($p \geq 0,05$), zatímco čáry s různými malými horními indexy vykazují významný rozdíl ($p < 0,05$). Průměry ve sloupci s alespoň jedním identickým horním indexem velkým písmenem (v případě metod vyluhování) se významně neliší ($p \geq 0,05$), zatímco sloupce s různým horním indexem velkým písmenem vykazují významný rozdíl ($p < 0,05$). LOQ: Cd a Pb 1,00 µg.g⁻¹.

4.4 Experimentální část IV – stanovení vybraných nutričních a biologicky aktivních látek v nestráveném podílu matcha čaje po procesu simulace trávení procesem *in vitro*

4.4.1 Stanovení sušiny, popela a stravitelnosti

Obsah sušiny a popela a hodnoty stravitelnosti technikou *in vitro* čajů matcha jsou uvedeny v Tab. 25. Obsah sušiny se pohyboval od 95,4 do 96,9 %. Podle Vyhlášky 330/1997 Sb. by obsah vlhkosti zeleného čaje neměl překročit 10 %. Pokud jde o obsah popela, ISO 11287 stanovuje minimální a maximální obsah popela na 4 a 8 %. Obsah popela v této studii kolísal mezi 4,64 a 4,99 %. Topuz et al. (2014) uvedl pozitivní vztah mezi kvalitou zeleného čaje a množstvím popela a navrhl, že u kvalitního čaje by obsah popela měl tvořit méně než 5,54 %. Obsah sušiny a popele bylo nutno stanovit pro vlastní výpočet hodnot stravitelnosti.

I když jsou údaje hodnotící hodnoty stravitelnosti čajů matcha vzácné, jsou tyto výsledky srovnatelné se studií Koláčková et al. (2020a), kde jsou uvedeny hodnoty stravitelnosti čajů matcha od 59,4 do 69,7 %. Je známo, že nízké hodnoty stravitelnosti pozitivně korelují s vysokým obsahem vlákniny. Vysoký obsah vlákniny navíc snižuje stravitelnost bílkovin a škrobu. Bylo také popsáno, že hodnoty stravitelnosti bílkovin významně snižují taniny (Rehman et al., 2002).

Tab. 26 Obsah sušiny a popele a hodnoty stravitelnosti *in vitro* čajů matcha

Matcha	Sušina	Popel	Stravitelnost
	[%]	[%]	[%]
JT	96,9±0,3 ^a	4,99±0,05 ^a	65,8±0,3 ^a
AT	96,2±0,3 ^a	4,85±0,05 ^b	64,9±0,5 ^b
WT	95,4±0,4 ^b	4,64±0,05 ^c	61,2±0,4 ^c

Všechny výsledky jsou uvedeny jako průměr ± SD, n=3. Průměry ve sloupci s alespoň jedním identickým malým horním indexem se významně neliší ($p \geq 0,05$). JT – japonský bio čaj, AT – čaj Allnature, WT – Wolfberry čaj.

Významným parametrem, který byl v této části studie stanovován byl tzv. faktor retence (RF, %). Faktor retence udává, jaké množství analytu zůstává stále

zachyceno v nestráveném podílu vzorku po jeho digesci technikou *in vitro*. Faktor retence RF je vyjádřen v % a vypočítá se dle následujícího vzorce:

$$RF = \frac{CA_{\text{nestrávený podíl}} \times (100 - \text{stravitelnost})}{CA_{\text{nativní forma}}} \quad (4)$$

kde CA je koncentrace analytu v nestráveném podílu vzorku a nativní formě vzorku.

4.4.2 Vliv stravitelnosti na uvolňování polyfenolických látek

Koncentrace fenolických kyselin a flavonoidů stanovené v nativní a nestrávené formě práškových matcha čajů jsou uvedeny v Tab. 26. Z fenolických kyselin měla ve vzorcích nativního čaje matcha nejvyšší podíl kyselina chlorogenová (2090–2460 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), následovaná kyselinami ellagovou (181–236 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), sinapovou (63,7–85,1 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), gallovou (37,9–91,1 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), skořicovou (23,6–67,4 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) a protokatechinovou (24,9–54,1 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Kyseliny gallová a chlorogenová se obecně nacházejí jako hlavní fenolové kyseliny v zelených čajích (He et al., 2015; Damiani et al., 2014). Nejvyšších koncentrací však dosahovaly flavonoidy epigallokatechin-3-gallát (EGCG), epikatechin (EC), epigallokatechin (EGC) a epikatechin-3-gallát (ECG) v rozmezí 7610–16 900, 5140–14500, 4210–5390 a 1520–1790 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, v daném pořadí. Rozsah koncentrací rutinu byl vyšší než u katechinu (Tab. 26). Je známo, že katechin je náchylný k degradaci v důsledku několika faktorů jako jsou hodnota pH, teplota, koncentrace kyslíku a antioxidantů, přítomnost kovových iontů atd. (Kim et al., 2020). Koncentrace epikatechinu v zelených čajích byly naměřeny v rozmezí 4,29–8,61 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ při extrakci vodou při 80 °C po dobu 20 minut (He et al., 2015). Navíc obsah epigallokatechinu a zejména katechinu v listech čajovníku z mladých výhonků pěstovaných ve stínu byl nižší. Bylo také prokázáno, že hladiny epikatechinu se zvyšovaly směrem od pupenu po druhý list (Song et al., 2012; Horie a Sumikawa, 2017). Koncentrace katechinu je vysoce ovlivněna i různými podmínkami skladování (Kim et al., 2020).

Protože matcha čaj je konzumován ve formě suspenze, tzn. jako nálev s listy, je nezbytné vědět nejen to, kolik polyfenolických a jiných biologicky aktivních látek se uvolní do nálevu, ale také kolik těchto látek zůstane ještě přístupno při a po procesu trávení právě ze samotných listů. Proto byl připraven nestrávený podíl matcha čaje, který byl dále analyzován stejně jako nativní forma prášku matcha. Jednotlivé koncentrace polyfenolových sloučenin naměřené po *in vitro* digesci v nestrávených částech listů matcha čaje byly použity pro výpočet faktoru retence (RF, %) sloučenin (Tab. 26). Z výsledků je vidět, že kyseliny ferulová, ellagová

a kávová byly v této studii nejméně uvolněnými fenolickými kyselinami. Jejich faktory retence byly vysoké, a to 84, 80 a 76 %. Zdá se, že kyselina protokatechinová, 4-hydroxybenzoová, nechlorogenová a ethylester protokatechinové kyseliny jsou potenciálně dostupnějšími sloučeninami v lidském trávicím traktu. Vzhledem k nedostatku studií týkajících se biologické dostupnosti jednotlivých fenolických sloučenin analyzovaných v čaji matcha, ať už v nativní nebo nestrávené části, bylo velmi obtížné porovnat výsledky získané v této studii s jinými zjištěními. Se zaměřením na obiloviny Sęczyk et al. (2021) publikoval nejvyšší a nejnižší hodnoty biologické dostupnosti u kyseliny *p*-kumarové (až 93 %) a kyseliny gallové (24 %), Drawbridge et al. (2021) popsal nižší náchylnost kyseliny vanilové k degradaci během trávení v porovnání s kyselinami sinapovou a *p*-kumarovou. V nestrávené části vzorků čaje matcha zůstalo pouze max. 9 % neuvolněné kyseliny vanilové. Teoreticky by kyselina vanilová mohla být k dispozici pro vstřebání z lidského trávicího traktu z více než 90 %. Jeho biologická dostupnost ze zrn ječmene byla 85 % (Drawbridge et al., 2021).

Tab. 27 Fenolické kyseliny a flavonoidy stanovené v nativních a nestrávených částech čajů matcha [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]

Fenolické kyseliny	Nativní JT	Nativní AT	Nativní WT	Nestrávený JT	Nestrávený AT	Nestrávený WT	RF [%]
GA	60,4±2,0 ^a	37,9±0,3 ^b	91,1±1,0 ^c	8,11±0,20 ^A	19,7±0,5 ^B	19,5±0,5 ^B	5–18
PA	43,2±2,0 ^a	54,1±1,0 ^b	24,9±1,0 ^c	0,25±0,02 ^A	0,31±0,02 ^B	0,12±0,0 ^C	<1
VA	2,58±0,10 ^a	1,47±0,05 ^b	1,31±0,03 ^c	0,51±0,02 ^A	0,36±0,02 ^B	0,22±0,01 ^C	7–9
SA	4,34±0,06 ^a	1,98±0,04 ^b	4,36±0,05 ^a	1,38±0,05 ^A	1,24±0,02 ^B	1,29±0,02 ^C	11–22
PAEE	9,22±0,30 ^a	8,80±0,12 ^b	4,26±0,13 ^c	0,06±0,01 ^A	0,05±0,01 ^A	0,10±0,01 ^B	<1
EA	236±5 ^a	184±5 ^b	181±4 ^b	452±10 ^A	401±7 ^B	359±7 ^C	66–80
4-hBA	12,9±0,1 ^a	13,3±0,2 ^b	14,6±0,2 ^c	0,14±0,01 ^A	0,14±0,01 ^A	0,17±0,01 ^B	<1
<i>trans-p</i> -CA	9,11±0,04 ^a	13,9±0,3 ^b	13,3±0,2 ^c	2,57±0,10 ^A	5,35±0,20 ^B	4,23±0,10 ^C	10–13
CA	2,31±0,10 ^a	2,46±0,12 ^b	4,09±0,20 ^c	5,12±0,10 ^A	5,26±0,03 ^B	7,17±0,10 ^C	68–76
FA	12,7±0,2 ^a	14,4±0,2 ^b	12,6±0,3 ^a	25,6±0,5 ^A	32,9±0,6 ^B	27,2±0,2 ^C	69–84
SiA	63,7±1,1 ^b	65,4±2,0 ^b	85,1±2,5 ^a	24,8±0,2 ^A	21,0±0,1 ^C	26,7±0,3 ^A	11–13
ChA	2310±50 ^a	2460±40 ^b	2090±40 ^c	512±10 ^A	526±7 ^B	517±10 ^A	7–10

NeoChA	27,0±0,5 ^a	12,5±0,3 ^b	14,4±0,2 ^c	0,60±0,02 ^A	0,12±0,01 ^B	0,52±0,05 ^C	1–3
<i>o</i> -CA	6,33±0,20 ^a	6,80±0,03 ^b	7,00±0,10 ^b	ND	ND	ND	–
CiA	67,4±2,0 ^a	23,6±1,0 ^b	60,7±1,2 ^c	26,5±1,0 ^A	12,5±0,4 ^B	35,2±0,7 ^C	14–23
T-PAs	2870±50 ^a	2900±40 ^a	2610±40 ^b	1060±20 ^A	1030±10 ^B	1000±10 ^C	12–15
Flavonoidy	Nativní JT	Nativní AT	Nativní WT	Nestrávený JT	Nestrávený AT	Nestrávený WT	RF [%]
EGC	5390±50 ^a	4210±40 ^b	4850±40 ^c	15,0±0,4 ^A	12,6±0,2 ^B	14,1±0,1 ^C	68–76
C	10,2±0,5 ^a	23,1±1,2 ^b	17,8±0,5 ^c	1,01±0,02 ^A	1,30±0,05 ^B	1,95±0,05 ^C	69–84
EC	8940±40 ^a	14500±100 ^b	5140±30 ^c	650±10 ^A	320±10 ^B	160±10 ^C	11–13
EGCG	15300±100 ^a	7610±50 ^b	16900±100 ^c	51,6±0,4 ^A	28,9±0,6 ^B	44,8±0,3 ^C	7–10
ECG	1640±40 ^a	1790±40 ^b	1520±40 ^c	ND	ND	ND	1–3
R	303±10 ^a	479±20 ^b	356±15 ^c	725±10 ^A	1060±30 ^B	746±10 ^C	–
Q	11,0±0,3 ^a	9,22±0,12 ^b	8,02±0,20 ^c	25,0±0,5 ^A	16,1±0,3 ^B	15,2±0,3 ^C	14–23
T-FLs	31600±150 ^a	28600±150 ^b	28800±140 ^c	1470±10 ^A	1440±30 ^B	982±10 ^C	12–15
Total Phe	34500±150 ^a	31500±150 ^b	31400±100 ^c	2530±20 ^A	2470±30 ^B	1980±20 ^C	

Všechny výsledky jsou uvedeny v sušině jako průměr \pm SD, n=5 (průměr z pěti měření). Průměry v řádku s alespoň jedním shodným malým horním indexem (nativní matcha) se významně neliší ($p \geq 0,05$), průměry v řádku s alespoň jedním shodným velkým horním indexem (nestrávené části matcha) se významně neliší ($p \geq 0,05$). JT – Japonský bio čaj, AT – Allnature čaj, WT – Wolfberry čaj, RF – Retenční faktor, GA – kyselina gallová, PA – kyselina protokatechinová, VA – kyselina vanilová, SA – kyselina syringová, PAEE – ethylester kyseliny protokatechinové, EA – kyselina ellagová, 4-hBA – kyselina 4-hydroxybenzoová, *trans-p*-CA – kyselina *trans-p*-kumarová, CA – kyselina kávová, FA – kyselina ferulová, SiA – kyselina sinapová, ChA – kyselina chlorogenová, NeoChA – kyselina neochlorogenová, *o*-CA – kyselina *o*-kumarová, CiA – kyselina skořicová, EGC – epigallocatechin, C – katechin, EC – epikatechin, EGCG – epigallocatechin-3-gallát, ECG – epikatechin-3-gallát, R – rutin, Q – kvercetin, T-Pas – celkové fenolové kyseliny, T-FLs – celkové flavonoidy, Total Phe – celkové jednotlivé fenoly. LOQ: kvercetin 0,02 g.g⁻¹, epikatechin-3-gallát 1,00 g.g⁻¹

Nejméně potenciálně stravitelnými/uvolňovanými flavonoidy byly v naší studii rutin a kvercetin, naopak nejlépe potenciálně stravitelným flavonoidem byl epigallokatechin (EGC) následovaný epigallokatechin-3-gallátem (EGCG), epikatechinem (EC) a katechinem (C) (Tab. 26). Je třeba poznamenat, že kyselina *o*-kumarová a epikatechin-3-gallát nebyly detekovány v nestrávených částech čajů matcha. Lze pouze předpokládat, že mohou být zcela uvolněny z matrice čajových lístků a mohou být absorbovány zažívacím traktem nebo naopak zcela zdegradovaly při procesu trávení. Tento předpoklad podporuje i studie Dai et al. (2020), která potvrdila nízkou stabilitu EGCG v tenkém střevě a navrhla jeho suplementaci prostřednictvím nanočástic ke zlepšení biologické dostupnosti. Je obecně známo, že biologická dostupnost polyfenolů a dalších biologicky aktivních sloučenin je velmi důležitá. Vzhledem k jejich biologickému významu mají interakce látek s polyfenoly v potravinové matrici velmi složitou povahu. Během trávení mnoho biochemických (přítomnost enzymů, elektrolytů) a fyzikálně-chemických (pH, teplota) faktorů ovlivňuje jejich uvolňování z potravinové matrice (Sęczyk et al., 2021). Biologická dostupnost katechinů ze zeleného čaje byla pozitivně ovlivněna přidáním β -laktoglobulinu mléka z důvodu snížení interakce protein-katechin (Qie et al., 2021). Pro přípravu zeleného čaje je používáno louhování horkou (70–80 °C) a studenou vodou (25 °C). Rozhodující význam na uvolňování polyfenolů z matrice čajových listů má nejen teplota a množství vody, ale také množství čaje samotného. Kromě toho existují další faktory, které je třeba vzít v úvahu, jako je doba louhování, velikost částic atd. Kromě toho je fytochemické složení čaje ovlivněno podmínkami kultivace, jako jsou zemědělské postupy, umístění, kultivar, životní cyklus čajových lístků, trvanlivost při skladování atd. (Venditti et al., 2010; Farooq a Seghal, 2018).

Zelené čaje byly rozsáhle studovány na obsah flavonoidů, fenolických kyselin a antioxidační aktivitu (Venditti et al., 2010; Jakubczyk et al., 2020; Fu et al., 2020), ale existuje jen málo údajů o nestrávené části čaje matcha. Podle této studie se potvrdilo, že jak některé flavonoidy, tak fenolické kyseliny stále zůstaly v nestrávené části čaje matcha a mohly by tak přecházet až do tlustého střeva.

4.4.3 Vliv stravitelnosti na uvolňování xantinových alkaloidů a L-theaninu

Koncentrace kofeinu, theobrominu, theofylinu a L-theaninu v nativních a nestrávených částech čajů matcha jsou uvedeny v Tab. 27. Kofein byl přítomen v nejvyšší koncentraci, a to v rozmezí od 14,1 do 16,1 mg.g⁻¹, zatímco theofylin vykazoval nejnižší koncentraci (v rozmezí 8,06–19,4 μ g.g⁻¹). Koncentrace kofeinu vyluhované do ledových matcha čajů byly významně ovlivněny teplotou vody. Vysoké teploty louhování dávají vyšší výtěžnost kofeinu. Velmi důležitým faktorem je také stáří zelených listů, protože mladé listy obsahují vyšší obsah kofeinu ve srovnání se starými listy (Reto et al., 2007; Song et al., 2012; Venditti

et al., 2010). L-theanin, identifikovaný jako hlavní volná neesenciální aminokyselina v zeleném čaji, se podílí na chuti umami zelených čajů (Das et al., 2019). Pokud jde o vzorky nativního čaje matcha, obsah L-theaninu se pohyboval mezi 4,22–9,85 mg.g⁻¹ a poměr kofein/L-theanin byl mezi 1,63–3,43. Vyšší hodnotu L-theaninu ve vzorku japonského bio čaje (9,85 mg.g⁻¹) lze přičíst technologii zastiňování, která umožnila syntézu vysokého množství L-theaninu i kofeinu (Jakubczyk et al., 2020; Sano et al., 2018; Adhikary a Mahdal, 2017). Přestože interakce mezi kofeinem a L-theaninem není zatím blíže definována, lze konstatovat, že vzorky s nižším poměrem kofein/L-theanin mají méně výrazný stimulační účinek (Boros et al., 2016). Vysoký obsah L-theaninu a kofeinu a nízký obsah katechinu mají za následek prohloubení umami chuti čaje (Jakubczyk et al., 2020). Friedman et al. (2005) zaznamenali koncentrace theobrominu v listech zeleného čaje v rozmezí 0,04–1,90 mg.g⁻¹, pokud byly listy vyluhovány horkou vodou 95 °C po dobu 10 minut. Hladiny theobrominu naměřené v této studii byly srovnatelné s uvedeným výzkumem, i když zde byla technika luhování za studena. Kromě toho Friedman et al. (2005) publikovali, že průměrný obsah theobrominu byl přibližně na 1/10 obsahu kofeinu, což nebylo v této studii potvrzeno. Podobně Azevedo et al. (2019) naměřili obsah theobrominu v zeleném čaji mezi 3,95–8,39 mg.g⁻¹, když byly listy extrahovány při 80 °C po dobu 3 minut. Existují omezené údaje týkající se extrakce theobrominu za studena. Variabilita hladin kofeinu mezi vzorky byla významně menší než u hladin theofylinu (8,06–19,4 µg.g⁻¹). Theofylin, který je ve stopovém množství obsažen v čajích, má podobný fyziologický účinek jako kofein (De Paula Lima a Farah, 2019). Extrémně vysoké množství theofylinu (až 1,99 mg.g⁻¹) bylo detekováno v zeleném čaji Sullulah pocházejícího z Indie (Sharma et al., 2005).

Výsledky ukázaly, že v nestrávených částech vzorků čaje matcha byla detekována nízká množství kofeinu a stopová koncentrace L-theaninu. Nejvyšší retenci v matici matcha čajových listů měl kofein, a to 13 %. Theobromin a theofylin nebyly detekovány v nestrávených částech matcha prášku. Mohly tak být zcela uvolněny a absorbovány následně trávicím traktem, nebo podlehly degradaci při procesu trávení. Vzhledem k omezeným údajům věnovaným stravitelnosti a biologické dostupnosti alkaloidů z čaje matcha je složité porovnávat výsledky získané v této studii.

Tab. 28 Xantinové alkaloidy a L-theanin stanovené v nativní a nestrávené části čaje matcha

Sloučenina	Nativní JT	Nativní AT	Nativní WT	Nestrávená			RF
				JT	AT	WT	
[mg·g ⁻¹]							
Kofein	16,1±0,3 ^a	14,1±0,2 ^c	15,3±0,1 ^b	5,26±0,12 ^A	3,66±0,10 ^B	4,99±0,15 ^C	9–13
L-theanin	9,85±0,10 ^a	4,22±0,05 ^c	4,46±0,10 ^b	0,15±0,01 ^A	0,09±0,01 ^B	ND	<1
Theobromin	0,14±0,02 ^c	0,27±0,02 ^a	0,23±0,02 ^b	ND	ND	ND	–
[μg·g ⁻¹]							
Theofylin	8,06±0,15 ^c	19,4±0,2 ^a	13,0±0,2 ^c	ND	ND	ND	–
Poměr kofein/ L-theanin	1,63	3,34	3,34				

Všechny výsledky jsou uvedeny v sušině jako průměr ± SD, n=5 (průměr z pěti měření). Výsledky v rámci a řádek s alespoň jedním identickým malým horním indexem (v případě nativní matcha) se významně neliší ($p \geq 0,05$), znamená v rámci řádku s alespoň jedním identickým horním indexem velkým (v případě nestrávené části matcha) do se významně neliší ($p \geq 0,05$). JT – Japonský bio čaj, AT – čaj Allnature, WT – Wolfberry čaj, RF – retenční faktor. LOQ: L-theanin a theobromin 0,05 μg·g⁻¹, theofylin 0,02 μg·g⁻¹.

4.4.4 Stanovení minerálních a stopových prvků v nestrávené části matcha čajů

Koncentrace prvků v listech odráží enviromentální podmínky včetně růstové fáze, složení půdy, hnojení a postupy zpracování (Erdemir, 2018; Karak a Bhagat, 2010; Koch et al., 2018; Brzezicha-Cirocka et al., 2016b). Vzhledem k tomu, že se konzumují všechny části listů čaje matcha, je třeba při hodnocení jeho dietetického příjmu vzít v úvahu mnoho faktorů, včetně procesů luhování minerálních a stopových prvků, stravitelnosti a biologické dostupnosti (Koláčková et al., 2020b; Dalipi et al., 2018). Pro hodnocení obsahu minerálních a stopových prvků v nestravitelných částech matcha prášku bylo provedeno stanovení prvků před a po stravitelnosti *in vitro*. Hodnoty obsahu minerálních a stopových prvků zjištěné v práškové formě vzorků matcha a jejich nestravitelné části jsou uvedeny v Tab. 28. Koncentrace Na v matcha prášku byly $30,5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, což bylo mnohem méně než $123 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ publikované Kochem et al. (2018) a $160 \mu\text{g}/\text{g}$ předložený Yüksel et al. (2017). Obsah K ($9,38\text{--}9,71 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$) v matcha je vyšší než hodnota Mg ($2,68 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$), zatímco hodnota Mg je vyšší než Mn ($1,96\text{--}1,55 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$). Výsledky výzkumu ukazují, že obsah K v matcha může dosáhnout $10,7 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (Koch et al., 2018). U zelených čajů byly zaznamenány koncentrace Mn až $1,4 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (Szymczycha-Madeja et al., 2015), což je v souladu s naší studií ($1,16\text{--}1,55 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$). Tato studie ukazuje vysoké obsahy Mg, což je v souladu s výsledky publikovanými Koch et al. (2018) a Erdemir (2018). Potenciálně toxické prvky, jako je Pb, Cd a Hg, pocházející ze znečištění životního prostředí, se mohou hromadit v listech a dále pokračovat do lidského organismu. Cd je považováno za nefrotoxin a Pb je škodlivé pro nervový systém (Dalipi et al., 2018). Je třeba zdůraznit, že koncentrace Cd a Pb byly pod jejich LOQ. Literární údaje o hodnotách Hg v matcha jsou omezené. Kabata-Pendias (2010) nicméně identifikoval rozsah koncentrace Hg v čajových listech od $34,0\text{--}46,0 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$.

Tab. 29 Stanovení minerálních a stopových prvků před strávením a v nestrávené části matcha čajů

Prvky v matcha čajích	Japan bio tea	Allnature	Wolfberry	Prvky v nestrávené části matcha	Japan bio tea	Allnature	Wolfberry	RF [%]
Na [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]	20,0 \pm 0,1 ^a	30,1 \pm 0,2 ^b	30,5 \pm 0,2 ^c	Na ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	5,01 \pm 0,04 ^a	6,63 \pm 0,05 ^b	6,40 \pm 0,03 ^c	8–9
Mg [$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$]	2,68 \pm 0,08 ^a	2,21 \pm 0,05 ^b	1,96 \pm 0,04 ^c	Mg ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	0,50 \pm 0,03 ^a	0,41 \pm 0,03 ^b	0,84 \pm 0,02 ^c	6–17
K [$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$]	9,71 \pm 0,20 ^a	9,63 \pm 0,10 ^b	9,38 \pm 0,12 ^c	K ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	1,02 \pm 0,05 ^a	0,96 \pm 0,05 ^a	0,88 \pm 0,04 ^b	3–4
Ca [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]	760 \pm 20 ^a	680 \pm 12 ^b	615 \pm 10 ^a	Ca ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	87,2 \pm 1,2 ^a	80,3 \pm 1,0 ^b	85,2 \pm 1,2 ^a	4–5
Fe [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]	70,0 \pm 1,0 ^a	220 \pm 5 ^b	165 \pm 5 ^c	Fe ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	35,4 \pm 1,5 ^a	120 \pm 5 ^b	90,1 \pm 2,0 ^c	17–21
Mn [$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$]	1,16 \pm 0,01 ^a	1,55 \pm 0,03 ^b	1,50 \pm 0,10 ^b	Mn ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	200 \pm 20 ^a	220 \pm 10 ^b	205 \pm 10 ^a	5–6
Zn [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]	30,0 \pm 0,1 ^a	40,5 \pm 0,2 ^b	30,4 \pm 0,2 ^b	Zn ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	17,4 \pm 0,3 ^a	20,0 \pm 0,3 ^b	18,9 \pm 0,4 ^c	17–24
Se [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]	3,33 \pm 0,10 ^a	3,37 \pm 0,10 ^a	3,32 \pm 0,10 ^a	Se ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	2,57 \pm 0,10 ^a	2,70 \pm 0,04 ^b	2,61 \pm 0,10 ^a	26–31
Cd [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]	<1,00	<1,00	<1,00	Cd ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	<1,00	<1,00	<1,00	–
Pb [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]	<1,00	<1,00	<1,00	Pb ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	<1,00	<1,00	<1,00	–
Hg [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]	240 \pm 1,10 ^a	310 \pm 20 ^b	410 \pm 30 ^a	Hg ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	36,1 \pm 0,3 ^a	38,4 \pm 1,0 ^b	40,8 \pm 1,0 ^c	3–5

Výsledky jsou uvedeny v sušině jako průměr \pm SD, n=6 (průměr ze šesti měření). Výsledky na řádku s alespoň jedním identickým horním indexem se neliší významně ($p \geq 0,05$), zatímco průměry s různými horními indexy vykazují významný rozdíl ($p < 0,05$). LOQ: Cd a Pb 1,00 $\mu\text{g}/\text{g}$. RF–Retenční faktor.

Je obecně známo, že biologická dostupnost prvků hraje důležitou roli (Dalipi et al., 2018). Protože matcha nálev obsahuje všechny části listů, je důležité hlídat vyluhování jednotlivých prvků nejen do nálevu, ale i jejich obsah v listech a nestráveném podílu. Údaje o množství minerálních a stopových prvků v nestravitelných částech matchi jsou rovněž omezené. Tento výzkum ukázal, že koncentrace prvků v nestravitelných částech matchi klesaly v následujícím pořadí: $K > Mg > Mn > Fe \geq Ca > Zn > Na > Se > Hg$. Je důležité vzít v úvahu, že zbytkové obsahy jednotlivých prvků v nestravitelných částech matchi závisí na schopnosti vyluhování a trávení lidským traktem a také na jejich původních koncentracích v práškové formě před stravitelností. Rozdíly ve výsledných obsazích minerálních a stopových prvků silně odrážejí geografický původ vzorků čaje a podmínky jejich pěstování (Brzezicha-Cirocka et al., 2016).

4.4.5 Výsledky měření antioxidační aktivity

Vliv stravitelnosti *in vitro* na hodnoty antioxidační aktivity je uveden v Tab. 29. Infuze čaje matcha připraveného studenou cestou mají významný antioxidační potenciál. Nejvyšší hodnoty AOA byly naměřeny jak pro nativní, tak pro nestravitelnou část u vzorku čaje Wolfberry, a to při zhášení radikálů ABTS i DPPH. Pokud jde o metodu stanovení AOA pomocí PCL, hodnoty ACW ve vodě rozpustných antioxidantů byly mezi 194–209 a 1,10–1,33 mg AAE.g⁻¹ pro nativní a nestravitelné části matcha. Podobně se hodnoty ACL pohybovaly v rozmezí 162–179 a 6,25–7,12 mg TE.g⁻¹. Pro vyhodnocení antioxidační kapacity jako parametru IAC (integral antioxidant capacity) byla měřena aktivita ve vodě rozpustných sloučenin (ACW) také v ekvivalentech troloxu. Výsledky ukázaly, že ve vodě rozpustné antioxidanty čaje matcha (ACW) vykazují vyšší hodnoty antioxidační aktivity v případě nativních vzorků matcha. Co se týče nestráveného zbytku čajových listů, vyšší hodnoty antioxidační aktivity vykazovala frakce ACL antioxidantů (antioxidantů lipofilních). Celkové hodnoty IAC nativního čaje matcha dosáhly 467 mg TE.g⁻¹, v případě nestravitelné části 12,7 mg TE.g⁻¹. Tyto výsledky potvrdily, že biologicky aktivní látky zůstaly ještě vázány v nestráveném podílu listů a mohou tak vykazovat ještě zbytkovou hodnotu antioxidační aktivity. Při vyhodnocení všech metod stanovujících antioxidační aktivitu byly po simulaci procesu trávení *in vitro* ještě vázány antioxidanty, se zbytkovou 4% antioxidační aktivitou oproti nativní formě čajového prášku. Antioxidační vlastnosti jsou ovlivněny mnoha faktory, jako je doba louhování, teplota louhování a výtěžnost během extrakce čajových sloučenin, a nelze je přesně popsat pouze jednou metodou. Bylo potvrzeno, že použití nižších extrakčních teplot v kombinaci s delší dobou extrakce může zvýšit antioxidační aktivitu tím, že se chrání specifické fenolické frakce rostlinného materiálu (Jakubczyk et al., 2020; Damiani et al., 2014; Venditti et al., 2010). Vzhledem k

nedostatku dat poskytujících informace o účincích *in vitro* gastrointestinálního trávení na fenolické látky, xantinové alkaloidy, L-theanin a antioxidační aktivitu vzorků čaje matcha je obtížné porovnávat získané hodnoty s již publikovanými studiemi. Protože antioxidanty jsou rozpustné buď ve vodě nebo v tucích, výzkum v potravinářském průmyslu zaznamenal rostoucí zájem o test antioxidační aktivity pomocí PCL. Výsledky získané z PCL navíc mohou být vyjádřeny jako IAC parametr, což představuje souhrn antioxidačních kapacit hydrofilních a lipofilních antioxidantů. Některé z nich totiž mají svůj vlastní biologický účinek buď v hydrofilních nebo lipofilních tělesných kompartmentech tělních buněk či orgánů (Besco et al., 2007). Obecně platí, že vyšší hodnoty ACW v ovoci a čajích jsou obvykle připisovány vysokému obsahu kyseliny askorbové, katechinů a dalších flavonoidů a aminokyselin, zatímco tokoferoly, tokotrienoly, karotenoidy jsou hlavními přispěvateli k hodnotě ACL. Vzhledem k tomu, že v čajích matcha byl naměřen nejen vyšší obsah polyfenolových kyselin a flavonoidů, ale také vitamínu C a chlorofylu (Koláčková et al., 2020a), lze předpokládat, že i tyto biologicky aktivní látky přispívají k hodnotám ACW a ACL.

Tab. 30 Hodnoty antioxidační aktivity (AOA) stanovené v nativní a nestrávené části čajů matcha

Antioxidační aktivita	Nativní JT	Nativní AT	Nativní WT	Nestrávený JT	Nestrávený AT	Nestrávený WT	RF [%]
ABTS [mg TE.g ⁻¹]	187±10 ^a	249±5 ^b	305±12 ^c	10,5±0,2 ^A -94%	3,82±0,15 ^B -98%	13,4±0,3 ^C -96%	1–2
DPPH [mg TE.g ⁻¹]	121±4 ^a	134±5 ^b	176±10 ^c	7,00±0,20 ^A -94%	3,14±0,05 ^B -98%	8,89±0,20 ^C -95%	1–2
ACW [mg AAE.g ⁻¹]	202±7 ^a	194±6 ^b	209±7 ^c	1,26±0,03 ^A -99%	1,10±0,01 ^B -99%	1,33±0,03 ^C -99%	0,2
ACW [mg TE.g ⁻¹]	288±9 ^a	276±7 ^b	293±10 ^a	5,55±0,15 ^A -98%	4,97±0,12 ^B -98%	5,67±0,14 ^A -98%	1
ACL [mg TE.g ⁻¹]	179±5 ^a	162±7 ^b	169±6 ^c	7,12±0,20 ^A -96%	6,47±0,20 ^B -96%	6,25±0,30 ^C -96%	1
IAC [mg TE.g ⁻¹]	467±10 ^a	438±10 ^b	462±12 ^c	12,7±0,3 ^A -97%	11,4±0,2 ^B -97%	11,9±0,3 ^C -97%	1

Všechny výsledky jsou uvedeny jako průměry v sušině ± SD, n=5 (průměr z pěti měření). Průměry v rámci řádku s alespoň jedním shodným malým horním indexem (v případě nativní matchi) se významně neliší ($p \geq 0,05$), průměry v řádku s alespoň jedním shodným velkým horním indexem (v případě nestrávené části matcha) se neliší se významně liší ($p \geq 0,05$). Pokles hodnot antioxidační aktivity po zpracování gastrointestinálním traktem

je uveden v procentech (příklad výpočtu: $100 - ((10,5/187) \times 100)$). JT – japonský bio čaj, AT – čaj Allnature, WT – čaj Wolfberry, ABTS – antioxidační aktivita měřená pomocí radikálu 2,2'-azinobis(3-ethylbenzo-thiazolin-6-sulfonové kyseliny), DPPH – antioxidační aktivita měřená pomocí 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyllový radikál, ACW – antioxidační kapacita ve vodě rozpustných sloučenin, ACL – antioxidační kapacita sloučenin rozpustných v tucích, TE – ekvivalent Trolox, AAE – ekvivalent kyseliny askorbové, IAC – integrální antioxidační kapacita, RF – Retenční faktor.

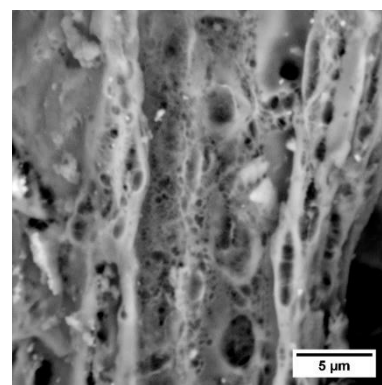
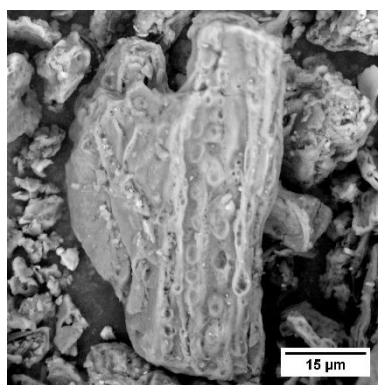
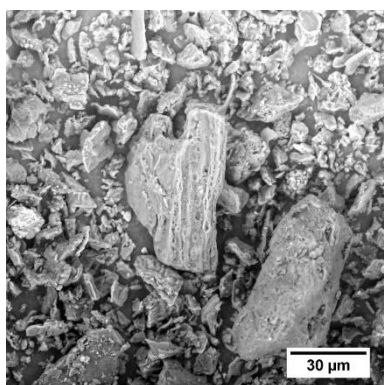
Všechny testy antioxidační aktivity použité v této studii využívají svůj vlastní mechanismus chemické reakce (Besco et al., 2007). Je známo, že fenolické látky, zejména katechiny v zelených čajích, mají antioxidační vlastnosti (Reto et al., 2007; Jakubczyk et al., 2020; Kim et al., 2020; Esposto et al., 2021). Existuje však málo informací o příspěvku jednotlivých fenolických látek k jejich celkové antioxidační aktivitě v nestrávené části čaje matcha po metodě trávení simulované *in vitro*. Každá fenolická sloučenina vykonává odlišnou aktivitu v závislosti na počtu aromatických a hydroxylových skupin a jejich distribuci v jejich molekulách a je ovlivněna chemickou formou, na kterou jsou vázány. Typ interakce velmi závisí na modelovém systému a podmínkách analýzy (např. *in vivo* nebo *in vitro* štěpení, biologické dostupnosti, teplotě, typu extraktu). Určité polyfenoly v testovaných potravinových matricích by mohly být spotřebovány jako glykosidy a současně mohou být přítomny další faktory, jako je enzymová aktivita, trávicí faktory a další potraviny, které zároveň ovlivňují interakce. (Koláčková et al., 2020a; Heo et al., 2007; Reber et al., 2011). Pokud jde o metody se zhášením radikálů ABTS a DPPH zdá se, že hlavními přispěvateli k antioxidační aktivitě v nativní formě čaje matcha jsou kyseliny 4-hydroxybenzoová > kávová > sinapová > *o*-kumarová > gallová > katechin > epigallokatechin-3-gallát > rutin a kyselina syringová. Pokud jde o nestrávenou část vzorků matcha, mezi hlavní přispěvatele k antioxidační aktivitě se řadí kyseliny sinapová > skořicová > ethylester kyseliny protokatechinové > neochlorogenová > epigallokatechin-3-gallát > 4-hydroxybenzoová > kávová > epigallokatechin > katechin a kyselina syringová. Tyto výsledky lze porovnat s naší předchozí studií Koláčkové et al. (2020a) uvádějící kyseliny ellagovou, protokatechinovou, chlorogenovou a *p*-hydroxybenzoovou jako hlavní přispěvatele k hodnotám antioxidační aktivity ve vzorcích nativního čaje matcha. Pokud jde o antioxidanty rozpustné ve vodě (ACW) u nativních vzorků, hlavními přispěvateli k hodnotám antioxidační aktivity jsou kyseliny gallová, syringová a skořicová, epigallokatechin, sinapová, kávová, 4-hydroxybenzoová a neochlorogenová. Epigallokatechin, neochlorogenová, ellagová, skořicová, vanilová, syringová, epigallokatechin-3-gallát a kvercetin se zdají být silnými antioxidanty v lipofilní frakci (ACL) nativních vzorků. Z hlediska nestrávené části čajových listů se na hodnotách ACW podílejí především kyseliny skořicová a neochlorogenová, epigallokatechin-3-gallát, epigallokatechin, ethylester kyseliny protokatechinové a kyseliny syringová a 4-hydroxybenzoová. Podobně co se týče hydrofobních antioxidantů (ACL) v nestrávených částech listů matcha čaje, pořadí významných poskytovatelů antioxidační aktivity je následující: epikatechin > kvercetin > kyseliny ellagová > vanilová > syringová > epigallokatechin > epigallokatechin-3-gallát. Přestože teoretické korelace naznačují přítomnost polyfenolických látek, které by mohly přispívat k hodnotám

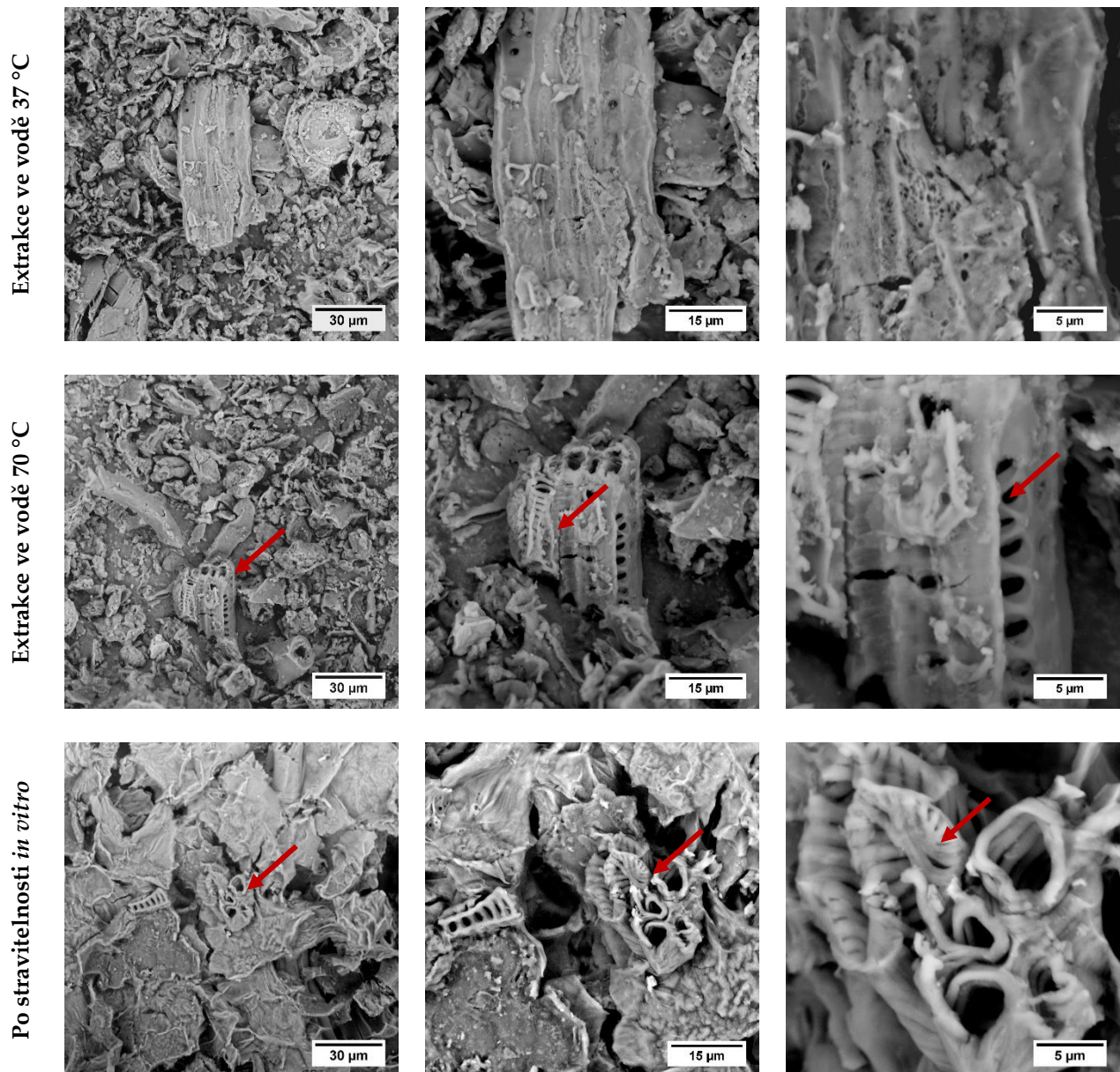
antioxidační aktivity nestrávených čajových lístků, musíme vzít v úvahu, že hodnota zbytkové antioxidační aktivity nestrávené části je velmi nízká (Tab. 29).

4.4.6 Skenovací elektronová mikroskopie (SEM)

SEM snímky nativního čajového prášku matcha (první řada shora), vodního extraktu při 37 °C (druhá řada shora), vodního extraktu při 70 °C (třetí řada shora) a čaje matcha po *in vitro* trávení (čtvrtý řádek shora) získané při úrovních zvětšení 1500x (první sloupec), 3500x (druhý sloupec) a 10000x (třetí sloupec) jsou znázorněny na Obr. 4. Vzhledem k tomu, že nebyla pozorována žádná významná degradace (či změny ve struktuře povrchu listů) u nativního prášku matcha a prášku po extrakci vodou při 37 °C, byl připraven i prášek, který se předtím vyextrahoval při teplotě 70 °C. Podobné rozkladné procesy vedoucí ke vzniku specifických struktur označených červenými šipkami byly tak pozorovány jen u prášku po extrakci vodou při 70 °C a po procesu trávení *in vitro*. (Obr. 4). Pomocí SEM tak lze pozorovat povrch čaje matcha a následně i třeba vliv velikosti částic na extrakční procesy nebo *in vitro* trávení. Výzkum týkající se vlivu velikosti částic čaje matcha na stravitelnost a biologickou dostupnost polyfenolových sloučenin je nedostatečný. Shu et al. (2019) však uvedl, že velikosti částic listů zeleného čaje (hodnoty D50 byly 564, 75 a 35 μm) významně ovlivnily hodnoty biologické dostupnosti polyfenolových sloučenin (zejména katechinového flavonoidu) po simulaci *in vitro* trávení. Biodostupnost polyfenolových sloučenin se výrazně zvýšila se snížením velikosti částic. Tento jev byl dán do spojitosti s vyšší degradací (rozrušením) celulózy a hemicelulóz během procesu mletí. Podobné předpoklady by mohly být učiněny pro vzorky čaje matcha v dalším výzkumu (Koláčková et al., 2022).

Nativní matcha čaj





Obr. 4: SEM snímky nativního čajového prášku matcha (první řada shora), vodného extraktu při 37 °C (druhá řada shora), vodného extraktu při 70 °C (třetí řada shora) a čaje matcha po *in vitro* digesci (čtvrtý řádek shora) získané při úrovních zvětšení 1500x (první sloupec), 3500x (druhý sloupec) a 10000x (třetí sloupec)

5 PŘÍNOS PRO VĚDU A PRAXI

Matcha čaj je unikátní v konzumaci celých částí čajových lístků společně s nálevem. Pro svou unikátnost konzumace je práce zaměřená na analýzu nutričních a biologicky aktivních látek, a to nejen v samotném prášku – nativní formě matcha čaje, ale jejich stanovení probíhalo i ve vodném výluhu. Dále byly využity tři odlišné metody výroby ledových matcha čajů, u kterých taktéž probíhaly analýzy. Dále byla matcha analyzována před a po strávení *in vitro*.

Přínosy disertační práce pro vědu a praxi:

- validace metod pro stanovení L-theaninu, theobrominu a theofylinu na HPLC,
- validace stanovení vitamínu C v matrici matcha čaje na HPLC,
- nastavení podmínek pro mikrovlnný rozklad matcha čajů pro následné stanovení minerálních a stopových prvků pomocí ICP-MS,
- díky této studii byly sepsány bakalářské a diplomové práce na téma matcha čajů,
- nové poznatky a data dosud neuvěřených analýz v matcha čajích zejména uvolňování analytů po stravitelnosti byly publikovány v časopisech s vysokou hodnotou impakt faktoru
- aplikace stanovení faktorů retence po simulaci procesu trávení v podmínkách *in vitro* pro další potravinové matrice v rámci analýz na UACHP (UTB ve Zlíně)
- spolupráce s firmou Oxalis, spol. s r. o. a získání vzorků pro disertační práci.

6 ZÁVĚR

Disertační práce se zabývá výrobou matcha čaje a charakteristikou jeho obsažených nutričních a biologicky aktivních látek. Samotná analýza probíhala ve čtyřech oddělených experimentálních částech, kdy byl analyzován prášek matcha čaje, připravené výluhy matcha čaje, ledové matcha čaje a byl analyzován i nestrávený podíl po simulaci trávení v podmínkách *in vitro*. Ve vzorcích matcha čajů bylo stanovováno základní nutriční složení, hrubá a neutrálně-detergentní vláknina, stravitelnost *in vitro*, vitamin C, obsah vybraných alkaloidů jako kofeinu, theofylinu a theobrominu, obsah chlorofylů *a* a *b*, stanovení minerálních a stopových prvků, volných a vázaných aminokyselin. Dále byly stanoveny celkové flavonoidy, polyfenoly a polyfenolický profil, hodnoty antioxidačních aktivit. Součástí práce byla teoretická evaluace příspěvků konzumace matcha čaje k referenčním hodnotám příjmu pro esenciální aminokyseliny a minerální a stopové prvky. Nově byla aplikována simulace procesu trávení v žaludku a tenkém střevu v podmínkách *in vitro*, kdy byl evaluaován tzv. retenční faktor představující množství analytu, který zůstává stále navázán v nestráveném podílu vzorku.

Obsah popele, reprezentující obsah minerálních látek, se u matcha čajů pohyboval v rozmezí 4,58 až 8,32 %. Matcha čaje, ve srovnání s listy klasických zelených čajů, obsahují vysoké koncentrace bílkovin, a to až 35 %. Prášková forma matcha čaje je bohatá na podíl lipidů, který může přesahovat i 5 %, což je nutno zohlednit při samotném balení a skladování z důvodu potenciálního žluknutí (hlavně oxidačního). Co se týká obsahu hrubé a neutrálně-detergentní vlákniny, tyto se pohybovaly v rozmezí od 10,7 do 17,5 % a od 30,7 do 42,8 % v daném pořadí. Hodnoty stravitelnosti organické hmoty vzorku byly naměřeny v rozsahu od 59,4 do 71,3 %. V porovnání s klasicky pěstovanými listy zeleného čaje má matcha čaj vyšší obsah chlorofylu *a* i *b*, a obsahuje téměř dvakrát vyšší

hladinu vitamínu C. Dle výsledků měření se jeví, že chlorofyl *b* je silnějším přispěvatelem k antioxidační aktivitě než chlorofyl *a*. Díky technice zastiňování mají matcha čaje i vyšší obsah kofeinu (až 34,1 mg.g⁻¹). Čaj matcha je bohatý na prvky Mg, P, K, Ca, Fe, Zn, Mn a Cu. Konzumace 5 g matcha čaje denně pro věkovou kategorii žen a mužů ve věku 31–50 let přispívá k hodnotám RDA nebo AI v následujícím pořadí: Mn (15 a 19 %) > Cu > Fe > Mg a Mn > Cu > Zn > Mg (do 3 %). Z hlediska příspěvku konzumace matcha čaje k prozatímním hodnotám příjmu toxických prvků (PTWI a PTMI) pro váhovou kategorii žena 65 kg a muž 80 kg bylo zjištěno, že čaj matcha nepředstavuje žádné zdravotní riziko. L-theanin následovaný Glu, GABA, Thr a Met byly nejhojněji zastoupenými volnými aminokyselinami, mezi nejvíce zastoupené vázané aminokyseliny matcha čaje se řadí Glu, Asp, Leu, Lys, Arg, a Val. Jako limitující aminokyseliny byly vyhodnoceny Ile a Thr, aminokyselinové skóre proteinu matchi dosahuje 38,4 % a index esenciálních aminokyselin 5,4 %. Hodnota aminokyselinového skóre matchi se blíží slunečnicovému proteinu (39 %).

Z důvodu simulace procesu trávení byly mimo vodné extrakty pro stanovení polyfenolů analyzovány i metanolické extrakty, u kterých byly naměřeny vyšší obsahy celkových polyfenolů (169–273 mg GAE.g⁻¹) i flavonoidů (99–139 mg RE.g⁻¹), které korespondovaly s vyššími hodnotami antioxidačních aktivit měřením s pomocí zhašení radikálů ABTS a DPPH. Mezi nejhojněji zastoupené polyfenolické kyseliny matcha čajů se řadí kyseliny chlorogenová, sinapová, ellagová a gallová, přičemž řádově daleko vyšších koncentrací dosahují katechiny.

Pro simulaci cold brewing techniky byly zvoleny tři metody přípravy ledových čajů. V návaznosti na stanovení vyluhovatelnosti kofeinu, theofylinu, theobrominu a L-theaninu při cold brewing technice byly nejlépe vyhodnoceny metody přípravy při extrakci 12 h v lednici a při teplotě 70 °C po dobu 5 minut s přidavkem ledu. V případě celkových polyfenolů a polyfenolického profilu,

byla jako nejlepší extrakční technika vyhodnocena teplota extrakce 70 °C po dobu 5 minut s následným přidavkem ledu. Výsledky stanovení jsou v korelaci s hodnotami antioxidačních aktivit. Analyzované ledové matcha čaje jsou bohaté na prvky Mg, K a Mn, přičemž nejlépe byly vyluhovatelné prvky Se, Zn a Fe.

Analýzou nestráveného podílu vzorku po simulaci procesu trávení v podmínkách *in vitro* společně s provedenou analýzou stravitelnosti a také analýzou nativní formy vzorku matcha čaje byly evaluovány retenční faktory pro jednotlivé analyty polyfenolických látek a alkaloidů. Kyseliny ferulová, ellagová a kávová byly nejvíce zadržovány v matici čajových listů s hodnotami retence 84, 80 a 76 %, naopak kyseliny protokatechinová, 4-hydroxybenzoová, nechlorogenová a ethylester protokatechinové kyseliny jsou velmi dobře uvolněny v průběhu trávení. Nestrávený podíl matcha listů po procesu trávení má již velmi nízkou hodnotu antioxidační aktivity, a to pouze do 6 %. Z alkaloidů zůstal po procesu simulace trávení v nestráveném podílu vázán prakticky pouze kofein, a to z 9–13 %. Výsledky měření ukazují, že nestrávený podíl (který přechází dále do tlustého střeva) po simulaci trávení v žaludku a tenkém střevu obsahuje ještě stále vázané polyfenolické látky a nese si i nízkou hodnotu antioxidační aktivity.

Z dosažených výsledků lze shrnout, že matcha čaje mají vysokou antioxidační aktivitu a jsou zdrojem chlorofylu, polyfenolů zejména z řady katechinů, kofeinu, L-theaninu, minerálních a stopových prvků, mají vysoký obsah bílkovin. Matcha čaj lze doporučit ke konzumaci ve formě nápoje, jak teplého, tak i ve formě ledových čajů. V dnešní době se matcha čaje používají také jako ochucující surovinové složky do mnoha potravin a její využití v gastronomii je na vzestupu.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

ADHIKARY, R., a MANDAL, V. L-theanine: A potential multifaceted natural bioactive amide as health supplement. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2017, 7(9), p. 842–848. ISSN 22211691. Dostupné z: doi:10.1016/j.apjtb.2017.08.005

ALADAG, H., ERCISLI, S., YESIL, D. Z., GOMEZ, A., a YESIL, M. Antifungal activity of green tea leaves (*Camellia sinensis* L.) sampled in different harvest time. *Pharmacognosy Magazine*. 2009, 5(20), p. 437–440. Dostupné z: http://www.phcog.com/temp/PhcogMag520437-5574466_152904.pdf

ANAN, T. The Lipids of Tea. *Jarq-japan Agricultural Research Quarterly*. Japan, 1983, 16(4), p. 253–257. Dostupné z: https://www.jircas.go.jp/sites/default/files/publication/jarq/16-4-253-257_0.pdf

ASTILL, C., BIRCH, M.R., DACOMBE, C., HUMPHREY, P.G., a MARTIN, P.T. Factors affecting the caffeine and polyphenol contents of black and green tea infusions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2001, 49(11) p. 5340–5347. Dostupné z: DOI: 10.1021/jf010759+

AZEVEDO, R., S., A., TEIXEIRA B., S., SAUTHIER M., C., da S., SANTANA M., V., A., DOS SANTOS W., N., L., a SANTANA D.. de A. Multivariate analysis of the composition of bioactive in tea of the species *Camellia sinensis*. *Food Chemistry*. 2019, 273, p. 39–44. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2018.04.030

BESCO, E., BRACCIOLI, E., VERTUANI, S., ZIOSI P., BRAZZO, F., BRUNI, R., SACCHETTI, G., a MANFREDINI, S. The use of photochemiluminescence for the measurement of the integral antioxidant capacity of baobab products. *Food Chemistry*. 2007, 102(4), p. 1352–1356. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2006.05.067

BHUTIA-PEMBA, H., SHARANGI, A., B., LEPCHA, R., a TAMANG, D. Bioactive compounds and antioxidant properties of tea: Status, global research and potentialities. *Journal of Tea Science Research*. 2015, 5(7), p. 1–13. ISSN 1927-6494. Dostupné z: <https://doi: 10.5376/2015.05.0011>.

BOROS, K., JEDLINSZKI N., a CSUPOR, D. Theanine and Caffeine content of infusions prepared from commercial tea samples. *Pharmacognosy Magazine*. 2016, 12(45). DOI: 10.4103/0973-1296.176061. ISSN 0973-1296. Dostupné z: <http://www.phcog.com/text.asp?2016/12/45/75/176061>

BRZEZICHA-CIROCKA, J., GREMBECKA, a M., SZEFER, P. Analytical assessment of bio- and toxic elements distribution in pu-erh and fruit teas in view

of chemometric approach. *Biological Trace Element Research*. 2016a, 174(1), p. 240–250. ISSN 0163-4984. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s12011-016-0669-4>

BRZEZICHA-CIROCKA, J., GREMBECKA, M., a SZEFER, P. Monitoring of essential and heavy metals in green tea from different geographical origins. *Environmental Monitoring and Assessment*. 2016b, 188(3). ISSN 0167-6369. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s10661-016-5157-y>

BUŇKA, F., HRABĚ, J., a VOSPĚL, B. Senzorická analýza potravin I. 1. vyd. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2008, 146 p. ISBN 978-80-7318-628-9

BUŇKA, F., KŘÍŽ, O., VELIČKOVÁ, A., BUŇKOVÁ, L., a KRÁČMAR, S. Effect of acid hydrolysis time on amino acid determination in casein and processed cheeses with different fat content. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2009, 22, p. 224–232. Dostupné z: <https://doi:10.1016/j.jfca.2008.10.023>

BUŇKOVÁ, L., BUŇKA, F., HLOBILOVÁ, M., VAŇÁTKOVÁ, Z., NOVÁKOVÁ, D., a DRÁB, V. Tyramine production of technological important strains of *Lactobacillus*, *Lactococcus* and *Streptococcus*. *European Food Research and Technology*. 2009, 229, p. 533–538. Dostupné z: <https://doi:10.1007/s00217-009-1075-3>

CABRERA, C., GIMÉNEZ R., a LÓPEZ, M., C. Determination of tea components with antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003, 51(15), p. 4427–4435. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf0300801>

CAI, Z.-Y., LI, X.-M., LIANG, J.-P., Xiang, L.-P., Wang, K.-R., Shi, Y.-L., Yang, R., Shi, M., Ye, J.-H., Lu, J.-L., Zheng, X.-Q., a Liang Y.-R. Bioavailability of Tea Catechins and Its Improvement. *Molecules*. 2018, 23(9). ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules23092346

CARSON, C., F., HAMMER, K., A., a RILEY, T., V. Melaleuca alternifolia (Tea tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. *Clinical Microbiology Reviews*. 2006, 19(1), p. 50–62. ISSN 0893-8512. Dostupné z: <https://CMR.asm.org/content/19/1/50>

CICCO, N., LANORTE, T., M., PARAGGIO, M., VIGGIANO, M., a LATTANZIO, V. A reproducible, rapid and inexpensive Folin-Ciocalteu micro-method in determining phenolics of plant metanol extracts. *Microchemical Journal*. 2009, 91(1), p. 107–110. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2008.08.011>

ČÍŽKOVÁ, H., VOLDŘICH, M., MLEJNECKÁ, J., a KVASNIČKA, F. Authenticity evaluation of tea-based products. *Czech Journal of Food Sciences*. 2008, 26, p. 259–267. Dostupné z: <https://doi.org/10.17221/10/2008-CJFS>

ČSN EN ISO 20483. Obiloviny a luštěniny – Stanovení obsahu dusíku a výpočet obsahu dusíkatých látek – Kjeldahlova metoda. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2014. Třídící znak (461401)

ČSN ISO 1572. Čaj- Příprava mletého vzorku o známém obsahu sušiny. Praha: Český normalizační institut, 1996. Třídící znak (58 0411)

ČSN ISO 1575. Čaj – Stanovení celkového popela. Praha: Český normalizační institut, 1996. Třídící znak (58 0414)

DAI, W., RUAN, Ch., ZHANG, Y., WANG, J., HAN, J., SHAO, Z., SUN Y., a LIANG, J. Bioavailability enhancement of EGCG by structural modification and nano-delivery: A review. *Journal of Functional Foods*. 2020, 65. ISSN 17564646. Dostupné z: [doi:10.1016/j.jff.2019.103732](https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103732)

DALIPI, R., BORGESE, L., TSUJI, K., BONTEMPI, E., a DEPERO, L., E. Elemental analysis of teas, herbs and their infusions by means of total reflection X-ray fluorescence. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2018, 67, p. 128–134. ISSN 08891575. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889157518300103>

DAMBIEC, M., POLECHOŃSKA, L., KLINK, A. Levels of essential and non-essential elements in black teas commercialized in Poland and their transfer to tea infusion. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2013, 31, p. 62–66. Dostupné z: [doi:10.1016/J.JFCA.2013.03.006](https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2013.03.006)

DAMIANI, E., BACCHETTI, T., PADELLA, L., TIANO, L., a CARLONI, P. Antioxidant activity of different white teas: Comparison of hot and cold tea infusions. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2014, 33(1), p. 59–66. ISSN 08891575. Dostupné z: [doi:10.1016/j.jfca.2013.09.010](https://doi.org/10.1016/j.jfca.2013.09.010)

DAS, P., R., KIM, Y., HONG S.-J., a EUN, J.-B. Profiling of volatile and non-phenolic metabolites—Amino acids, organic acids, and sugars of green tea extracts obtained by different extraction techniques. *Food Chemistry*. 2019, 296, p. 69–77. ISSN 03088146. Dostupné z: [doi:10.1016/j.foodchem.2019.05.194](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.194)

DRAWBRIDGE, P., C., APEA-BAH, F., SILVEIRA-HORNUNG P., a BETA, T. Bioaccessibility of phenolic acids in Canadian hullless barley varieties. *Food Chemistry*. 2021, 358. ISSN 03088146. Dostupné z: [doi:10.1016/j.foodchem.2021.129905](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129905)

DERUN, E., M. Determination of essential mineral concentrations in some turkish teas and the effect of lemon addition. *Food Science and Biotechnology*. 2014, 23(3), p. 671–675. ISSN 1226-7708. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s10068-014-0091-7>

DIETZ, Ch., DEKKER, M., a PIQUERAS-FISZMAN, B. An intervention study on the effect of matcha tea, in drink and snack bar formats, on mood and cognitive performance. *Food Research International*. 2017, 99, p. 72–83. ISSN 09639969. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996917301941>

ECA.CZ. Matcha je kouzelný nápoj! Jak vzniká? – Část 1–3. 2016. Dostupné z: <https://www.tea-legends.cz/druhy-caje/matcha/>

EINAX, J., W., KONIECZKA, P., a NAMIEŚNIK, J. Quality assurance and quality control in the analytical chemical laboratory. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2019, 411(1), p. 5–6. ISSN 1618-2642. Dostupné z: [doi:10.1007/s00216-018-1461-4](https://doi.org/10.1007/s00216-018-1461-4)

ERCISLI, S., ORHAN, E., OZDEMIR, O., SENGUL, M., a GUNGOR, N. Seasonal variation of total phenolic, antioxidant activity, plant nutritional elements, and fatty acids in tea leaves (*Camellia sinensis* var. *sinensis* clone Derepazari 7) grown in Turkey. *Pharmaceutical Biology*. 2009, 46(10–11), p. 683–687. ISSN 1388-0209. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/13880200802215818>

ERDEMIR, U., S. Contribution of tea (*Camellia sinensis* L.) to recommended daily intake of Mg, Mn, and Fe: An *in vitro* bioaccessibility assessment. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2018, 69, p. 71–77. ISSN 08891575. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889157518300450>

ESPOSTO, S., VENEZIANI, G., TATICCHI, A., URBANI, S., SELVAGGINI, R., SORDINI, B., DAIDONE, L., GIRONI, G., a SERVILI, M. Chemical Composition, Antioxidant Activity, and Sensory Characterization of Commercial Pomegranate Juices. *Antioxidants*. 2021, 10(9). ISSN 2076-3921. Dostupné z: [doi:10.3390/antiox10091381](https://doi.org/10.3390/antiox10091381)

FAO food and nutrition paper No. 51. Protein quality evaluation. *Report of the Joint FAO/WHO. Expert Consultation on Protein Quality Evaluation*, Rome, Italy 1991. Dostupné z: [35978-02317b979a686a57aa4593304ffc17f06.pdf](https://www.fao.org/3/cc0238en/cc0238en.pdf)

FAO International tea market: market situation, prospects and emerging issues. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*, 2022. Dostupné z: <https://www.fao.org/3/cc0238en/cc0238en.pdf>

FAROOQ, S., a SEHGAL, A. Antioxidant Activity of Different Forms of Green Tea: Loose Leaf, Bagged and Matcha. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*. 2018,6(1), p. 35–40. ISSN 2347467X. Dostupné z: doi:10.12944/CRNFSJ.6.1.04

FERRI, M., GIANOTTI, A., a TASSONI, A. Optimisation of assay conditions for the determination of antioxidant capacity and polyphenols in cereal food components. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2013, 30(2), p. 94–101. ISSN 08891575. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2013.02.004>

FREDHOLM, B., B., BÄTTIG, K., HOLMÉN, J., NEHLIG, A., a ZVARTAU E., E. Actions of caffeine in the brain with special reference to factors that contribute to its widespread use. *Pharmacological Reviews*. 1999, 51(1), p. 83–133. PMID: 10049999.

FRIEDMAN, M. Nutritional Value of Proteins from Different Food Sources. A Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1996, 44(1), p. 6–29. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf9400167

FRIEDMAN, M., KIM, S.-Y., LEE, S.-J., HAN, G.-P., HAN, J.-S., LEE, K.-R., a KOZUKUE, N. Distribution of Catechins, Theaflavins, Caffeine, and Theobromine in 77 Teas Consumed in the United States. *Journal of Food Science*. 2005, 70(9), p. C550–C559. ISSN 00221147. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2621.2005.tb08304.x

FU, Y.-Q., WANG, J.-Q., CHEN, J.-X., WANG, F., YIN, J.-F., ZENG, L., SHI, J., a XU, Y.-Q. Effect of baking on the flavor stability of green tea beverages. *Food Chemistry*. 2020, 331. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2020.127258

FUKUKITA, Y. *Tea Cult of Japan: An Aesthetic Pastime*. Routledge. Routledge, 2014. ISBN 9780415654340. Dostupné z: <https://terebess.hu/english/fukukita.html>

GAO, D.-F., ZHANG, Y.-J., YANG, Ch.-R., CHEN, K.-K., a JIANG, H.-J. Phenolic antioxidants from green tea produced from *Camellia taliensis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008, 56(16), p. 7517–7521. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf800878m>

GARDNER, E., J., RUXTON, C., H., S., a LEEDS, A., R. Black tea – helpful or harmful? A review of the evidence. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2007, 61(1), p. 3–18. ISSN 0954-3007. Dostupné z: doi:10.1038/sj.ejcn.1602489

GEBELY, T. Tea Epicure: Chemical Compounds in Tea. *Tea Epicure*. Dostupné z: <https://teaepicure.com/tea-chemistry/>

GOTO, T., YOSHIDA, Y., KISO, M., a NAGASHIMA, H. Simultaneous analysis of individual catechins and caffeine in green tea. *Journal of Chromatography A*. 1996, 749(1–2), p. 295–299. ISSN 00219673. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0021967396004566>

GRZESIK, M., NAPARŁO, K., BARTOSZ, G., a SADOWSKA-BARTOSZ, I. Antioxidant properties of catechins: Comparison with other antioxidants. *Food Chemistry*. 2018, 241, p. 480–492. ISSN 03088146. Dostupné z: [doi:10.1016/j.foodchem.2017.08.117](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.117)

HAKAMATA, K. Anaerobically treated tea and its hypotensive effects. *Japan Agricultural Research Quarterly*. 1990, 24(2), p. 105–110. Dostupné z: https://www.jircas.go.jp/sites/default/files/publication/jarq/24-2-105-110_0.pdf

HE, X., LI, J., ZHAO, W., LIU, R., ZHANG L., a KONG, X. Chemical fingerprint analysis for quality control and identification of Ziyang green tea by HPLC. *Food Chemistry*. 2015, 171, p. 405–411. ISSN 03088146. Dostupné z: [doi:10.1016/j.foodchem.2014.09.026](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.026)

HEISS, M., L. The Gossamer Tea Powder od Japan. 2016. Dostupné z: <http://archive.globalteahut.org/article/707>

HEO, H., J., KIM, Y., J., CHUNG, D., a KIM, D.-O. Antioxidant capacities of individual and combined phenolics in a model system. *Food Chemistry*. 2007, 104(1), p. 87–92. ISSN 03088146. Dostupné z: [doi:10.1016/j.foodchem.2006.11.002](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.11.002)

HILAL, Y., a ENGELHARDT, U. Characterisation of white tea – Comparison to green and black tea. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*. 2007, 2(4), p. 414–421. ISSN 1661-5751. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00003-007-0250-3>

HILAL, Y. Morphology, manufacturing, types, composition and medicinal properties of tea (*Camellia sinensis*). *Journal of Basic and Applied Plant Sciences*. 2017, 1(2), p. 1–10. ISSN 2574-3449. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/333668163_Open_Access_Review_Article_Morphology_Manufacturing_Types_Composition_and_Medicinal_Properties_of_Tea_Camellia_sinensis

HO, CH-T., LIN, J.-K., a SHAHIDI, F. *Tea and tea products: Chemistry and Health-Promoting Properties*. 1. vyd. CRC Press, 2008. 320 s. ISBN 9780429117831

HORANNI, R., a ENGELHARDT, U., H. Determination of amino acids in white, green, black, oolong, pu-erh teas and tea products. *Journal of Food*

Composition and Analysis. 2013, 31(1), p. 94–100. ISSN 08891575. Dostupné z: doi:10.1016/j.jfca.2013.03.005

HORIE, H., a KOHATA K. Analysis of tea components by high-performance liquid chromatography and high-performance capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*. 2000, 881(1-2), p. 425–438. ISSN 00219673. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002196739901345X>

HORIE, H., EMA, K., a SUMIKAWA, O. Chemical components of matcha and powdered green tea. *Journal of Cookery Science of Japan*. 2017, 50, p. 182–188. Dostupné z: https://www.jstage.jst.go.jp/article/cookeryscience/50/5/50_182/_pdf

CHESIVOIR, E., K., a GRANT, J., E. Examining the effects of caffeine consumption on the severity of body-focused repetitive behaviors. *Psychiatry Research Communications*. 2022, 2(4). ISSN 27725987. Dostupné z: doi:10.1016/j.psycom.2022.100090

ISO 11287. Green tea. Definition and basic requirements. *International Organization for Standardization*, 2011. Geneva, Switzerland.

ISLAM, M., A., a EBIHARA, M. Elemental characterization of Japanese green tea leaves and tea infusion residue by neutron-induced prompt and delayed gamma-ray analysis. *Arabian Journal of Chemistry*. 2012, 10, p. 677–682. ISSN 18785352. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S187853521200264X>

JAKUBCZYK, K., KOCHMAN, J., KWIATKOWSKA, A., KAŁDUŃSKA, J., DEC, K., KAWCZUGA, D., a JANDA, K. Antioxidant Properties and Nutritional Composition of Matcha Green Tea. *Foods*. 2020, 9(4). ISSN 2304-8158. Dostupné z: doi:10.3390/foods9040483

JIANG, H., YU, F., QIN, L., ZHANG, N., CAO, Q., SCHWAB, W., LI, D., a SONG, Ch. Dynamic change in amino acids, catechins, alkaloids, and gallic acid in six types of tea processed from the same batch of fresh tea (*Camellia sinensis* L.) leaves. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2019, 77, p. 28–38. ISSN 08891575. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889157518309207>

JESZKA-SKOWRON, M., KRAWCZYK, M., a ZGOŁA-GRZEŚKOWIAK, A. Determination of antioxidant activity, rutin, quercetin, phenolic acids and trace elements in tea infusions: Influence of citric acid addition on extraction of metals. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2015, 40, p. 70–77. ISSN 08891575. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889157515000290>

JUNEJA, L., R., KAPOOR, M., P., OKUBO, T., a RAO, T. *Green Tea Polyphenols*. ed. CRC Press, 2013. ISBN 9781439847893. Dostupné z: doi:10.1201/b14878

KABATA-PENDIAS, A. *Trace Elements in Soils and Plants*. 4th ed. CRC Press Taylor & Francis Group. Boca Raton, USA, 2010. ISBN 9780429192036.

KAKUDA, T., NOZAWA, A., UNNO, T., OKAMURA, N., a OKAI O. Inhibiting effects of theanine on caffeine stimulation evaluated by EEG in the rat. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2014, 64(2), p. 287–293. ISSN 0916-8451. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1271/bbb.64.287>

KANEKO, S., KUMAZAWA, K., MASUDA, H., HENZE, A., a HOFMANN, T. Molecular and sensory studies on the umami taste of Japanese green tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2006, 54(7), p. 2688–2694. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf0525232>

KARAK, T., a BHAGAT R., M. Trace elements in tea leaves, made tea and tea infusion: A review. *Food Research International*. 2010, 43(9), p. 2234–2252. ISSN 09639969. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996910002917>

KHAN, N., a MUKHTAR, H. Tea and Health: Studies in Humans. *Current Pharmaceutical Design*. 2013, 19(34), p. 6141–6147. ISSN 13816128. Dostupné z: doi:10.2174/1381612811319340008

KIM, J., M., KANG, J., Y., PARK, S., K., HAN, H., J., LEE, K.-Y., KIM, A.-N., KIM, J.-CH., CHOI, S.-G., a HEO, H., J. Effect of storage temperature on the antioxidant activity and catechins stability of Matcha (*Camellia sinensis*). *Food Science and Biotechnology*. 2020, 29(9), p. 1261–1271. ISSN 1226-7708. Dostupné z: doi:10.1007/s10068-020-00772-0

KOHATA, K., HANADA, K., HORIE, H. High performance liquid chromatographic determination of pheophorbide-a and its related chlorophyll derivatives in tea leaves. *Food Science and Technology International*, Tokyo. 1998a, 4, p. 80–84. Dostupné z: <https://doi.org/10.3136/fsti9596t9798.4.80>

KOHATA, K., HANADA, K., YAMAUCHI, Y., HORIE, H. Pheophorbide a content and chlorophyllase activity in green tea. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. 1998b, 62, p. 1660–1663. Dostupné z: <https://doi.org/10.1271/bbb.62.1660>

KOCH, W., KUKULA-KOCH, W., KOMSTA, Ł., MARZEC, Z., SZWERC, W., a GŁOWNIAK, K. Green tea quality evaluation based on its catechins and metals composition in combination with chemometric analysis. *Molecules*.

2018, 23(7). ISSN 1420-3049. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/1420-3049/23/7/1689>

KOCHMAN, J., JAKUBCZYK, K., ANTONIEWICZ, J., MRUK, H., a JANDA, K. Health Benefits and Chemical Composition of Matcha Green Tea: A Review. *Molecules*. 2021, 26(1). ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules26010085

KOLÁČKOVÁ, T., KOLOFIKOVÁ, K., SYTAŘOVÁ, I., SNOPEK, L., SUMCZYNSKI, D., a ORSAVOVÁ, J. Matcha tea: Analysis of nutritional composition, phenolics and antioxidant activity. *Plant Foods for Human Nutrition*. 2020a, 75(1), p. 48–53. ISSN 0921-9668. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s11130-019-00777-z>

KOLÁČKOVÁ, T., SUMCZYNSKI, D., ZÁLEŠÁKOVÁ, L., ŠENKÁROVÁ, L., ORSAVOVÁ, J., a LANCOVÁ, N. Free and bound amino acids, minerals and trace elements in matcha (*Camellia sinensis* L.): A nutritional evaluation. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2020b, 92. ISSN 08891575. Dostupné z: doi:10.1016/j.jfca.2020.103581

KOLÁČKOVÁ, T., SUMCZYNSKI, D., BEDNAŘÍK, V., VINTER, Š., ORSAVOVÁ, J., a KOLOFIKOVÁ, K. Mineral and trace element composition after digestion and leaching into matcha ice tea infusions (*Camellia sinensis* L.). *Journal of Food Composition and Analysis*. 2021, 97. ISSN 08891575. Dostupné z: doi:10.1016/j.jfca.2020.103792

KOLÁČKOVÁ, T., SUMCZYNSKI, D., MINAŘÍK, A., ERKAN, Y., a ORSAVOVÁ, J. The effect of *In Vitro* Digestion on Matcha Tea (*Camellia sinensis*) Active components and Antioxidant Activity. *Antioxidants*. 2022, 11(5). Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/antiox11050889>

KOTÁSKOVÁ, E., SUMCZYNSKI, D., MLČEK, J., a VALÁŠEK P. Determination of free and bound phenolics using HPLC-DAD, antioxidant activity and *in vitro* digestibility of *Eragrostis tef*. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2016a, 46, p. 15–21. ISSN 08891575. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889157515002343>

KOTÁSKOVÁ, E., SUMCZYNSKI, D., MLČEK, J., a VALÁŠEK, P. Determination of free and bound phenolics using HPLC-DAD, antioxidant activity and *in vitro* digestibility of *Eragrostis tef*. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2016b, 46, p. 15–21. ISSN 08891575. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889157515002343>

KOUBOVÁ, E., SUMCZYNSKI, D., ŠENKÁROVÁ, L., ORSAVOVÁ, J., a FIŠERA, M. Dietary intakes of minerals, essential and toxic trace elements for

adults from *Eragrostis tef* L: A nutritional assessment. *Nutrients*. 2018, 10(4). ISSN 2072-6643. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/2072-6643/10/4/479>

KŘÍŽ, O., BUŇKA, F., a HRABĚ, J. Senzorická analýza potravin II. Statistické metody. 1. vyd. Zlín: *Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně*, 2007, 127 s. IBSN 978-80-7318-494-0

LAGAD, R., A., ALAMELU, D., LASKAR, A., H., RAI, V., K., SINGH, S., K., a AGGARWAL, S., K. Isotope signature study of the tea samples produced at four different regions in India. *Analytical Methods*. 2013, 5(6). ISSN 1759-9660. Dostupné z: [doi:10.1039/c3ay26142e](https://doi.org/10.1039/c3ay26142e)

LI, J., MA, J., LI, Q., FAN, S., FAN, L., MA, H., ZHANG, Y., a ZHENG, L. Determination of 35 Free Amino Acids in Tea Using Ultra-Performance Liquid Chromatography Coupled With Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Frontiers in Nutrition*. 2021, 8. ISSN 2296-861X. Dostupné z: [doi:10.3389/fnut.2021.767801](https://doi.org/10.3389/fnut.2021.767801)

LI, M., LI, D., TAI, Y., GU, CH., SONG, Y., JIAO, W., NING, J., WEI, CH., GU, X., HO, CH.-T., HAJANO, J. U. D, a WAN, X. Determination of free amino acids in tea by a novel method of reversed-phase high performance liquid chromatography applying 6-Aminoquinolyl-N-Hydroxysuccinimidyl carbamate reagent. *Journal of Food Science and Technology*. 2018, 55(10), p. 4276–4286. ISSN 0022-1155. Dostupné z: [doi:10.1007/s13197-018-3366-9](https://doi.org/10.1007/s13197-018-3366-9)

LIMA, J., de P., a FARAH, A. Methylxanthines in stimulant foods and beverages commonly consumed in Brazil. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2019, 78, p. 75–85. ISSN 08891575. Dostupné z: [doi:10.1016/j.jfca.2019.02.001](https://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.02.001)

LIU, M., TIAN, H.-L., WU, J.-H., CANG, R.-R., WANG, R.-X., QI, X.-H., XU, Q., a CHEN, X.-H. Relationship between gene expression and the accumulation of catechin during spring and autumn in tea plants (*Camellia sinensis* L.). *Horticulture Research*. 2015, 2(1). ISSN 2052-7276. Dostupné z: <http://www.nature.com/articles/hortres201511>

LORANTY, A., REMBIAŁKOWSKA, E., ROSA, E.A.S., BENNET, R.N. Identification, quantification and availability of carotenoids and chlorophylls in fruit, herb and medicinal teas. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2010, 23, p. 432–441. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/jf030158d>

MILANI, R., F., MORGANO, M., A., a CADORE, S. Trace elements in *Camellia sinensis* marketed in southeastern Brazil: Extraction from tea leaves to beverages and dietary exposure. *LWT - Food Science and Technology*. 2016, 68, p. 491–498. ISSN 00236438. Dostupné z: [doi:10.1016/j.lwt.2015.12.041](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.12.041)

MIŠURCOVÁ, L. Nové nutriční aspekty a využití mořských řas a sladkovodních řas ve výživě člověka. Zlín, 2008. *Disertační práce*. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická. Vedoucí práce prof. Ing. Stanislav Kráčmar, DrSc. Dostupné z: https://portal2.utb.cz/portal/studium/prohlizeni.html?pc_pagenavigationalstate=H4sIAAAAAAAAAAGNgYGBkYDEyNjEXZmQAsTmKSxJLUr1TK8E8EV1LIyNjY3MjA2MzC1MTc3N TA0MzoAwDANmLQdE4AAAA

MUHAMMAD, A., ASIF, A., ANWAAR, A., NAUMAN, K., IMRAN, H., a IFTIKHAR, A. Chemical composition and sensory evaluation of tea (*Camellia sinensis*) commercialized in Pakistan. *Pakistan Journal of Botany*. 2013, 45, p. 901–907. Dostupné z: <http://www.pakbs.org/pjbot/PDFs/45%283%29/24.pdf>

NAMITA, P., MUKESH, R., a VIJAY, J. K. *Camellia sinensis* (Green tea): A review. *Global Journal of Pharmacology*. 2012, 6(2), p. 52–59. ISSN 1992-0075. Dostupné z: https://www.academia.edu/37122079/Camellia_Sinensis_Green_Tea_A_Review

NAWAB, A., a FAROOQ, N. Review on green tea constituents and its negative effects. *The Pharma Innovation Journal*. 2015, 4(1), p. 21–24. ISSN 2277-7695. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/321700917_Review_on_green_tea_constituents_and_its_negative_effects

NEHLIG, A., DAVAL, J.-L., a DEBRY, G. Caffeine and the central nervous system: mechanisms of action, biochemical, metabolic and psychostimulant effects. *Brain Research Reviews*. 1992, 17(2), p. 139–170. ISSN 01650173. Dostupné z: [doi:10.1016/0165-0173\(92\)90012-B](https://doi.org/10.1016/0165-0173(92)90012-B)

NISHITANI, E., a SAGESAKA, Y., M. Simultaneous determination of catechins, caffeine and other phenolic compounds in tea using new HPLC method. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2004, 17(5), p. 675–685. ISSN 08891575. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889157503001479>

OKAKURA, K. *Kniha o čaji*. 1. vyd. Přeložila Dita HORÁKOVÁ. Praha: Brody, 2000. 92 s. Východní řada. ISBN 80-86112-12-8

OPPLIGER, P. *Nová kniha o zeleném čaji*. Přeložila Romana Barfussová. 1. vydání. Praha: Pragma, 2000. 80 s. ISBN 80-7205-758-8

PACHLOVÁ, V., BUŇKA, F., BUŇKOVÁ, L., WEISEROVÁ, E., BUDINSKÝ, P., ŽALUDEK, M., a KRÁČMAR, S. The effect of three different ripening/storage conditions on the distribution of selected parameters in individual parts of Dutch-type cheese. *International Journal of Food Science and*

Technology. 2011, 46, p. 101–108. Dostupné z: <https://doi:10.1111/j.1365-2621.2010.02460.x>

PARK, J.H., BACK, C.N., a KIM, J.K. Recommendation of packing method to delay the quality decline of green tea powder stored at room temperature. *Korean Journal of Horticultural Science & Technology*. 2005, 23(4), p. 499–506. Dostupné z: <https://doi.org/10.3746/jkfn.2009.38.1.083>

PETTIGREW, J. *Čaj: Průvodce pro znalce*. 1. Vyd. Přeložila Lenka Svobodová. Praha: Slovart, 2001. 192 s. ISBN 80-7209-212-x

POLECHOŇSKA, L., DAMBIEC, M., KLINK, A., a RUDECKI, A. Concentrations and solubility of selected trace metals in leaf and bagged black teas commercialized in Poland. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2015, 23(3), p. 486–492. ISSN 10219498. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1021949814001604>

PREEDY, R. V. *Tea in Health and Disease Prevention*. London: Academic Press, 2012, 1612 s. ISBN 0123849373; 383

QIE, X., WU, Y., CHEN, Y., LIU, CH., ZENG, M., QIN, F., WANG, Z., CHEN, J., a HE, Z. Competitive interactions among tea catechins, proteins, and digestive enzymes modulate in vitro protein digestibility, catechin bioaccessibility, and antioxidant activity of milk tea beverage model systems. *Food Research International*. 2021, 140. ISSN 09639969. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodres.2020.110050

REBER, J., D., EGGETT, D., L., a PARKER, T., L. Antioxidant capacity interactions and a chemical/structural model of phenolic compounds found in strawberries. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 2011, 62(5), p. 445–452. ISSN 0963-7486. Dostupné z: doi:10.3109/09637486.2010.549115

REEVES, S., G., OWUOR, P., O., a OTHIENO, C., O. The Biochemistry of Black Tea Manufacture. *Tropical Science*. 1987, 27, p. 131-133

REHMAN, S. U., ALMAS, K., SHAHZADI, N., BHATTI, N., a SALEEM, A. Effect of time and temperature on infusion of tannins from commercial brands of tea. *International Journal of Agricultural and Biology*. 2002, 4, p. 285–287. Dostupné z: http://www.fspublishers.org/published_papers/46716_.pdf

RETO, M., FIGUEIRA, M., E., FILIPE, H., M., a ALMEIDA C., M., M. Analysis of vitamin K in green tea leaves and infusions by SPME–GC–FID. *Food Chemistry*. 2007, 100(1), p. 405–411. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814605007892>

ROP, O., ŘEZNÍČEK, V., VALŠÍKOVÁ, M., JURIKOVÁ, T., MLČEK, J., a KRAMÁŘOVÁ, D. Antioxidant properties of European cranberry bush fruit (*Viburnum opulus* var. *edule*). *Molecules*. 2010, 15, p. 4467–4477. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules15064467>

ROSHANAK, S., RAHIMMALEK, M., a GOLI, S., A., H. Evaluation of seven different drying treatments in respect to total flavonoid, phenolic, vitamin C content, chlorophyll, antioxidant activity and color of green tea (*Camellia sinensis* or *C. assamica*) leaves. *Journal of Food Science and Technology*. 2016, 53(1), p. 721–729. ISSN 0022-1155. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s13197-015-2030-x>

SAEED, M., NAVEED, M., ARIF, M. KAKAR, M., U., MANZOOR, R., EL-HACK, M., E., A., ALAGAWANY, M., TIWARI, R., KHANDIA, R., MUNJAL, A., KARTHIK, K., DHAMA, K., IQBAL, H., M., N., DADAR, M., a SUN, CH. Green tea (*Camellia sinensis*) and L-theanine: Medicinal values and beneficial applications in humans - A comprehensive review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2017, 95, p. 1260–1275. ISSN 07533322. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0753332217336569>

SANO, T., HORIE, H., MATSUNAGA, A., a HIRONO, Y. Effect of shading intensity on morphological and color traits and on chemical components of new tea (*Camellia sinensis* L.) shoots under direct covering cultivation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2018, 98(15), p. 5666–5676. ISSN 00225142. Dostupné z: [doi:10.1002/jsfa.9112](https://doi.org/10.1002/jsfa.9112)

SAYUTI, N., KAMARUDIN, A., SAAD, N., RAZAK, AB., a MOHD ESA, N. Optimized green extraction conditions of matcha green tea (*Camellia sinensis*) using central composite design for maximal polyphenol and antioxidant contents. *BioResources*. 2021, 16(2), p. 3255–3271. Dostupné z: [doi:10.15376/biores.16.2.3255-3271](https://doi.org/10.15376/biores.16.2.3255-3271)

SHAHIDI, F., a AMBIGAIPALAN, P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. *Journal of Functional Foods*. 2015, 18, p. 820–897. ISSN 17564646. Dostupné z: [doi:10.1016/j.jff.2015.06.018](https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.018)

SHARMA, V., GULATI, A., RAVINDRANATH, S., D., a KUMAR, V. A simple and convenient method for analysis of tea biochemicals by reverse phase HPLC. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2005, 18(6), p. 583–594. ISSN 08891575. Dostupné z: [doi:10.1016/j.jfca.2004.02.015](https://doi.org/10.1016/j.jfca.2004.02.015)

SCHWALFENBERG, G., GENUIS, S., a J., RODUSHKIN, I. The benefits and risks of consuming brewed tea: Beware of toxic element contamination. *Journal*

of Toxicology. 2013, 2013, p. 1–8. ISSN 1687-8191. Dostupné z: <http://www.hindawi.com/journals/jt/2013/370460/>)

SIELICKA-RÓŻYŃSKA, M., ISIK, E., a SZULC, J. Comparison of phenolic content and antioxidant activity of matcha, green leaf and white leaf tea infusions. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 2020, 26(6), p. 1309–1314. Dostupné z: doi: 10.1002/ejlt.201300356

SEŃCZYK, Ł., SUGIER, D., ŚWIECA M., a GAWLIK-DZIKI, U. The effect of in vitro digestion, food matrix, and hydrothermal treatment on the potential bioaccessibility of selected phenolic compounds. *Food Chemistry*. 2021, 344. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2020.128581

SHU, Y., LI, J., YANG, X., DONG X., a WANG, X. Effect of particle size on the bioaccessibility of polyphenols and polysaccharides in green tea powder and its antioxidant activity after simulated human digestion. *Journal of Food Science and Technology*. 2019, 56(3), p. 1127–1133. ISSN 0022-1155. Dostupné z: doi:10.1007/s13197-019-03573-4

ŚMIECHOWSKA, M., a DMOWSKI P. Crude fibre as a parameter in the quality evaluation of tea. *Food Chemistry*. 2006, 94(3), p. 366–368. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814604008593>

SONG, R., KELMAN, D., JOHNS K., L., a WRIGHT, A., D. Correlation between leaf age, shade levels, and characteristic beneficial natural constituents of tea (*Camellia sinensis*) grown in Hawaii. *Food Chemistry*. 2012, 133(3), p. 707–714. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2012.01.078

STEFANELLO, N., SPANEVELLO, R. R., PASSAMONTI, S., PORCIÚNCULA, L., BONAN, C. D., OLABIYI, A. A., TEIXEIRA da ROCHA, J. B., ASSMANN, C. E., MORSCH, V. M., a SCHETINGER, M. R. C. Coffee, Caffeine, Chlorogenic Acid, and the Purinergic System. *Food and Chemical Toxicology*. 2019, 123, p. 298–313. Dostupné z: doi: 10.1016/j.fct.2018.10.005

STREET, R., SZÁKOVÁ, J., DRÁBEK, O., a MLÁDKOVÁ, L. The status of micronutrients (Cu, Fe, Mn, Zn) in tea and tea infusions in selected samples imported to the Czech Republic. *Czech Journal of Food Sciences*. 2006, 24(2), p. 62–71. Dostupné z: <http://www.agriculturejournals.cz/web/cjfs.htm?volume=24&firstPage=62&type=publishedArticle>

SUGINO, T., SHIRAI, T., KAJIMOTO, Y., a KAJIMOTO, O. L-Ornithine supplementation attenuates physical fatigue in healthy volunteers by modulating

lipid and amino acid metabolism. *Nutrition Research*. 2008, 28(11), p. 738–743. ISSN 02715317. Dostupné z: doi:10.1016/j.nutres.2008.08.008

SUMCZYNSKI, D., BUBELOVÁ, Z., a FIŠERA, M. Determination of chemical, insoluble dietary fibre, neutral-detergent fibre and *in vitro* digestibility in rice types commercialized in Czech markets. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2015a, 40, p. 8–13. ISSN 08891575. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889157515000216>

SUMCZYNSKI, D., BUBELOVA, Z., SNEYD, J., ERB-WEBER, S., a MLCEK J. Total phenolics, flavonoids, antioxidant activity, crude fibre and digestibility in non-traditional wheat flakes and muesli. *Food Chemistry*. 2015b, 174, p. 319–325. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814614017944>

SUMCZYNSKI, D., KOUBOVÁ, E., ŠENKÁROVÁ, L., a ORSAVOVÁ J. Rice flakes produced from commercial wild rice: Chemical compositions, vitamin B compounds, mineral and trace element contents and their dietary intake evaluation. *Food Chemistry*. 2018, 264, p. 386–392. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814618308586>

SUZUKI, Y., a SHIOI Y. Identification of chlorophylls and carotenoids in major teas by high-performance liquid chromatography with photodiode array detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003, 51(18), p. 5307–5314. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf030158d>

SZÁKOVÁ, J., KOLIHOVÁ, D., MIHOLOVÁ, D., a MADER, P. Single-purpose atomic absorption spectrometer AMA-254 for mercury determination and its performance in analysis of agricultural and environmental materials. *Chemical Papers*. 2004, 58, p. 311–315. Dostupné z: szak.dvi (chempap.org)

SZYMCZYCHA-MADEJA, A., WELNA, M., a POHL, P. Determination of essential and non-essential elements in green and black teas by FAAS and ICP OES simplified – multivariate classification of different tea products. *Microchemical Journal*. 2015, 121, p. 122–129. ISSN 0026265X. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0026265X1500034X>

TAKEO, T. Green and semi-fermented teas. In: WILLSON, K. C. a M. N. CLIFFORD, ed. *Tea*. Dordrecht: Springer Netherlands, 1992, p. 413–457. ISBN 978-94-010-5027-2. Dostupné z: doi:10.1007/978-94-011-2326-6_13

TOPUZ, A., DINCER, G., TORUN, M., TONTUL, M., TONTUL, İ., SAHIN-NADEEM, H., HAZNEDAR, A., a OZDEMIR, F. Physico-chemical properties of Turkish green tea powder: effects of shooting period, shading, and clone.

Turkish Journal of Agriculture and Forestry. 2014, 38, p. 233–241. Dostupné z: <https://doi.org/10.3906/tar-1307-17>

UNNO, K., FURUSHIMA D., HAMAMOTO, S., IGUCHI K., YAMADA H., MORITA A., HORIE H., a NAKAMURA Y. Stress-reducing function of matcha green tea in animal experiments and clinical trials. *Nutrients*. 2018, 10(1468). ISSN 2072-6643. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/2072-6643/10/10/1468>

VELÍŠEK, J., a HAJŠLOVÁ J. *Chemie potravin*. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009. 1204 s. ISBN 978-80-86659-16-9

VENDITTI, E., BACCHETTI, T., TIANO, L., CARLONI, P., GRECI, L., a DAMIANI, E. Hot vs. cold water steeping of different teas: Do they affect antioxidant activity?. *Food Chemistry*. 2010, 119(4), p. 1597–1604. ISSN 03088146. Dostupné z: [doi:10.1016/j.foodchem.2009.09.049](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.09.049)

VENKATESAN, S., a GANAPATHY M.N.K. Impact of nitrogen and potassium fertiliser application on quality of CTC teas. *Food Chemistry*. 2004, 84(3), p. 325–328. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814603002152>

VERNON, L., P. Spectrophotometric Determination of Chlorophylls and Pheophytins in Plant Extracts. *Analytical chemistry*. Utah, 1960, 32(9), p. 1144–1150.

Vyhláška č. 330/1997 Sb. Vyhláška Ministerstva zemědělství, kterou se provádí §18 písm. a), d), j) a k) zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, pro čaj, kávu a kávoviny. *Zákonyprolidi.cz*. 1997. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/1997-330>

WACHENDORFOVÁ, V. *Čaj*. Přeložila Dagmar Eisenmannová. 1. vydání. Praha: Slovart, 2007. 96 s. ISBN 978-80-7209-922-1

WANG, H., HELLIWELL, K., YOU X. Isocratic elution system for the determination of catechins, caffeine and gallic acid in green tea using HPLC. *Food Chemistry*. 2000, 68(1), p. 115–121. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030881469900179X>

WEISS, J., D., ANDERTON, R., CH. Determination of catechins in matcha green tea by micellar electrokinetic chromatography. *Journal of Chromatography A*. 2003, 1011(1-2), p. 173–180. ISSN 00219673. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967303011336>

WELZ, B. High-resolution continuum source AAS: the better way to perform atomic absorption spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2005, 381(1), p. 69–71. ISSN 1618-2642. Dostupné z: doi:10.1007/s00216-004-2891-8

WHO. *Evaluation of certain food additives and contaminants*. Technical Report Series No. 983. Seventy-seventh report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 2013. Geneva, Switzerland

WHO. *Evaluation of certain food contaminants*. Technical Report Series No. 930. Sixty-fourth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 2006. Geneva, Switzerland

WHO technical report series No. 935. Protein and amino acid requirements in human nutrition. Report of the Joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation, 2007. Geneva, Switzerland

XU, P., YING, L., HONG, G., a WANG, Y. The effects of the aqueous extract and residue of matcha on the antioxidant status and lipid and glucose levels in mice fed a high-fat diet. *Food & Function*. 2016, 7(1), p. 294–300. ISSN 2042-6496. Dostupné z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C5FO00828J>

XU, P., BAO, J., GAO, J., ZHOU, T., a WANG, Y. Optimization of extraction of phenolic antioxidants from tea (*Camellia sinensis* L.) fruit peel biomass using response surface methodology. *BioResource*. 2012, 7(2), p. 2431–2443. Dostupné z: DOI: 10.15376/biores.7.2.2431-2443

YAN, Z., ZHONG, Y., DUAN, Y., CHEN, Q., a LI, F. Antioxidant mechanism of tea polyphenols and its impact on health benefits. *Animal Nutrition*. 2020, 6(2), p. 115–123. ISSN 24056545. Dostupné z: doi:10.1016/j.aninu.2020.01.001

YIN, J., REN, W., YANG, G., DUAN, J., HUANG, X., FANG, R., LI, Ch., LI, T., YIN, Y., HOU, Y., KIM, S.W. a WU, G. L-cysteine metabolism and its nutritional implications. *Molecular Nutrition & Food Research*. 2015, 60, p. 134–146. Dostupné z: DOI:10.1002/mnfr.201500031

YÜKSEL, A.K., YÜKSEL, M., a ŞAT, I.G. Determination of certain physicochemical characteristics and sensory properties of green tea powder (matcha) added ice creams and detection of their organic acid and mineral contents. *Gida*. 2017, 42, p. 116–126. Dostupné z: doi: 10.15237/gida.GD16072

ZHANG, L., TAI, Y., WANG, Y., MENG, Q., YANG, Y., ZHANG, S., YANG, H., ZHANG, Z., LI, D., a WAN, X. The proposed biosynthesis of procyanidins by the comparative chemical analysis of five *Camellia* species using LC-MS. *Scientific Reports*. 2017, 7(1). ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/srep46131

ZHANG, H., JIANG, Y., PAN, J., LV, Y., LIU, J., ZHANG, S., a ZHU, Y. Effect of tea products on the *in vitro* enzymatic digestibility of starch. *Food Chemistry*. 2018, 243, p. 345–350. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030881461731614X>

ZHAO, D.-W., YANG, J.-B., YANG, S.-X., KATO, K., a LUO, J.-P. Genetic diversity and domestication origin of tea plant *Camellia taliensis* (*Theaceae*) as revealed by microsatellite markers. *BMC Plant Biology*. 2014, 14(1). ISSN 1471-2229. Dostupné z: <http://bmcplantbiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2229-14-14>

ZHEN, Y.-S., ed. *Tea*. CRC Press, 2002. ISBN 9781134481361. Dostupné z: doi:10.1201/b12659

ZHENG, X.-Q., LI, Q.-S., XIANG, L.-P., a LIANG, Y.-R. Recent advances in volatiles of teas. *Molecules*. 2016, 21(3). ISSN 1420-3049. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/1420-3049/21/3/338>

ZHU, K., a WANG, W. Green tea polyphenol EGCG suppresses osteosarcoma cell growth through upregulating miR-1. *Tumor Biology*. 2016, 37(4), p. 4373–4382. ISSN 1010-4283. Dostupné z: doi:10.1007/s13277-015-4187-3

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AAA	Automatic Amino Acid Analyzer (Automatický analyzátor aminokyselin)
AAE	Ascorbic Acid Equivalents (Ekvivalenty kyseliny L-askorbové)
AAS	Atomic Absorption Spectrometry (Atomová absorpční spektrometrie)
AAS	Amino Acid Score (Aminokyselinové skóre)
ABTS	2,2'-azinobis (3-etyl-2,3-dihydrobenzotiazol-6-sulfonát)
ACL	Antioxidative Capacity of the Lipid (Antioxidační aktivita v tučích rozpustných antioxidantů)
ACW	Antioxidative Capacity of the Water (Antioxidační aktivita ve vodě rozpustných antioxidantů)
AI	Adequate Intake (Adekvátní příjem)
AMK	Aminokyselina
AOA	Antioxidační aktivita
BAL	Biologicky aktivní látky
C	Catechin (Katechin)
CF	Crude Fiber (Hrubá vláknina)
DAD	Diode Array Detector (Detektor diodového pole)
DMD	Dry-matter digestibility (stravitelnost sušiny vzorku)
DPPH	1,1-difeny1-2-((2,4,6- trinitrofenyl)hydrazyl)
EAAI	Essential Amino Acid Index (Index esenciálních aminokyselin)
EC	Epikatechin
ECG	Epikatechin-3-gallát
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic Acid (kyselina ethylendiamintetraoctová)
EGC	Epigallokatechin,

EGCG	Epigallokatechin-3-gallát,
GABA	γ -Aminobutyric acid (Kyselina γ -aminomáselná)
GAE	Gallic Acid Equivalent (ekvivalent kyseliny gallové)
HPLC- UV	High-Performance Liquid Chromatography (Vysokoúčinná kapalinová chromatografie) s UV detekcí
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography (Vysokoúčinná kapalinová chromatografie)
IEC	Ion-Exchange Chromatography (Iontoměničová chromatografie)
LAA	Limiting Amino Acid (Limitující aminokyselina)
NDF	Neutral-Detergent Fiber (Neutrálně-detergentní vláknina)
OMD	Organic-Matter Digestibility (stravitelnost organické hmoty vzorku)
PCL	Fotochemiluminiscenční metoda
PTMI	Provisional Tolerable Monthly Intake (Prozatímní tolerovaný měsíční příjem)
PTWI	Provisional Tolerable Weekly Intake (Prozatímní tolerovaný týdenní příjem)
RDA	Recommended Dietary Allowance (Referenční hodnota příjmu)
RE	Rutin ekvivalent
SEM	Scanning Electron Microscope (Skenovací elektronová mikroskopie)
TE	Trolox
TFAA	Total Free Amino Acid (obsah celkových volných aminokyselin)
TFC	Total Flavonoid Content (Celkový obsah flavonoidů)
TPC	Total Phenolic Content (Celkový obsah polyfenolů)

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1: Stručné schéma jednotlivých kroků výroby u různých druhů čajů (upraveno dle Hilal, 2017).....	15
Obr. 2: Technologické kroky pro výrobu matcha čaje	16
Obr. 3: Schéma experimentu analýzy nestráveného a nativního podílu matcha čaje <i>in vitro</i> (Koláčková et. al., 2022)	31
Obr. 4: SEM snímky nativního čajového prášku matcha (první řada shora), vodného extraktu při 37 °C (druhá řada shora), vodného extraktu při 70 °C (třetí řada shora) a čaje matcha po <i>in vitro</i> digesci (čtvrtý řádek shora) získané při úrovních zvětšení 1500x (první sloupec), 3500x (druhý sloupec) a 10000x (třetí sloupec).....	103

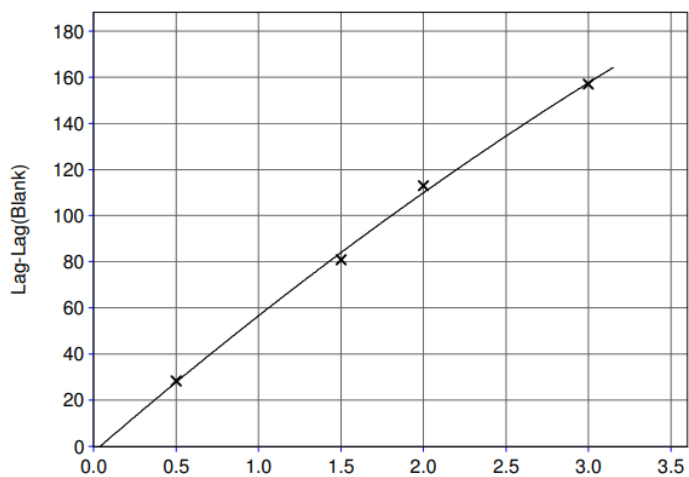
SEZNAM TABULEK

Tab.1 Složení japonských druhů čajů (Juneja et al., 2013)	21
Tab. 2 Charakteristika analyzovaných vzorků	28
Tab. 3 Příprava ledových matcha čajů.....	30
Tab. 4 Složení jednotlivých pufrů použitých pro analýzu volných AMK pro konečný objem 1 l.....	38
Tab. 5 Složení jednotlivých pufrů použitých pro analýzu vázaných AMK pro konečný objem 1 l.....	39
Tab. 6 Podmínky měření na AAS.....	42
Tab. 7 Výsledky stanovení nutričních parametrů.....	45
Tab. 8 Výsledky stanovení vlákniny a stravitelnosti technikou <i>in vitro</i>	47
Tab. 9 Výsledky stanovení chlyrofylů a vitamínu C v matcha čajích.....	48
Tab. 10 Výsledky stanovení kofeinu v matcha čajích.....	49
Tab. 11 Výsledky stanovení obsahu minerálních a stopových prvků v matcha čajích pomocí ICP-MS [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]	52
Tab. 12 Výsledky stanovení obsahu stopových prvků v matcha čajích pomocí ICP-MS [$\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$]	53
Tab. 13 Koncentrace volných aminokyselin analyzovaných v matcha čajích pomocí iontoměničové chromatografie (IEC).....	57
Tab. 14 Koncentrace vázaných aminokyselin analyzovaných v matcha čajích pomocí IEC	59
Tab. 15 Výsledky stanovení celkových flavonoidů, polyfenolů a antioxidační aktivity ve vodném výluhu.....	64
Tab. 16 Výsledky stanovení celkových flavonoidů, polyfenolů a antioxidační aktivity v 80% methanolovém výluhu	65
Tab. 17 Výsledky stanovení koncentrací rutinu, kaempferolu a kvercetinu ve vodném výluhu	66
Tab. 18 Výsledky stanovení koncentrací rutinu, kaempferolu a kvercetinu v 80% methanolovém výluhu	67
Tab. 19 Výsledky stanovení koncentrací fenolických kyselin ve vodném extraktu	69
Tab. 20 Výsledky stanovení koncentrací fenolických kyselin v 80% metanolovém extraktu	70
Tab. 21 Výsledky stanovení obsahu kofeinu, theobrominu, theofylinu a L-theaninu.....	73

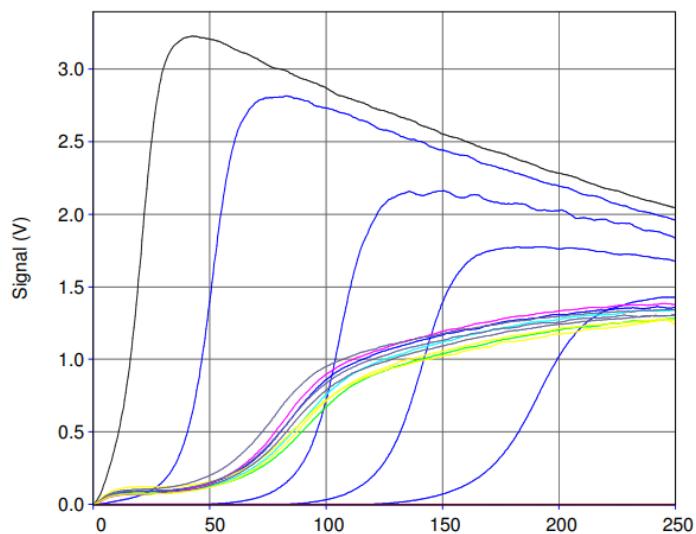
Tab. 22 Výsledky antioxidační aktivity a celkových polyfenolů a flavonoidů.....	75
Tab. 23A Výsledky jednotlivých koncentrací fenolických kyselin a flavonoidů v ledových čajích matcha v metodách 1 a 2	78
Tab. 23B Výsledky jednotlivých koncentrací fenolických kyselin a flavonoidů v ledových čajích matcha v metodě 3	80
Tab. 24 Výsledky obsahu minerálních a stopových prvků v ledových čajích matcha a jejich vyluhovatelnost	84
Tab. 25 Obsah sušiny a popele a hodnoty stravitelnosti <i>in vitro</i> čajů matcha.....	86
Tab. 26 Fenolické kyseliny a flavonoidy stanovené v nativních a nestrávených částech čajů matcha [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]	89
Tab. 27 Xantinové alkaloidy a L-theanin stanovené v nativní a nestrávené části čaje matcha	94
Tab. 28 Stanovení minerálních a stopových prvků před strávením a v nestrávené části matcha čajů.....	96
Tab. 29 Hodnoty antioxidační aktivity (AOA) stanovené v nativní a nestrávené části čajů matcha	99

PŘÍLOHY

PŘÍLOHA PI: KALIBRACE PRO STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY POMOCÍ PCL



$Y(X) = -2.85653 \cdot X^2 + 61.90941 \cdot X - 2.49032$
 $sy0 = 4.5430, R^2 = 0.9930$



**PŘÍLOHA P II: VÝSLEDNÉ HODNOTY CERTIFIKOVANÝCH
MATERIÁLŮ MĚŘENÝCH POMOCÍ ICP-MS**

Referenční materiál	Prvky	Analyzované hodnoty^a	Referenční hodnoty^{a,b}	Výtěžnost [%]
Metranal ® Zelená řasa	As	40±1	41±3	97,6
	Ca	1362±20	1380±80	98,7
	Cd	0,024±0,003	0,023±0,004	104,3
	Co	18,1±1,0	18,0±1,6	100,6
	Cu	33,1±1,1	34,0±1,6	97,4
	Fe	287±10	290±20	99,0
	Hg	0,018±0,020	0,017±0,010	105,9
	Mg	1593±25	1580±12	100,8
	Mn	42,3±2,8	43,0±3,4	98,4
	Ni	0,82±0,20	0,80±0,10	102,5
	Pb	0,22±0,04	0,21±0,01	104,8
	Zn	37±2	38±3	97,4
NIST 568b Rýžová mouka	Al	4,23 ± 0,27	4,21 ± 0,34	100,5
	As	0,289 ± 0,021	0,285 ± 0,014	101,4
	Cd	0,0222 ± 0,0008	0,0224 ± 0,0013	99,1
	Co	0,0179 ± 0,0007	0,0177 ± 0,0005	101,1
	Cu	2,31 ± 0,10	2,35 ± 0,16	98,3
	Fe	7,28 ± 0,25	7,42 ± 0,44	98,1
	Hg	0,00575 ± 0,00027	0,00591 ± 0,00036	97,3
	K	1245 ± 14	1282 ± 11	97,1

	Mg	539 ± 9	559 ± 10	96,4
	Mn	19,5 ± 1,6	19,2 ± 1,8	101,6
	Na	6,61 ± 0,14	6,74 ± 0,19	98,1
	P	1550 ± 35	1530 ± 40	101,3
	Pb	0,0083 ± 0,0040	0,0080 ± 0,0030	103,8
	Se	0,359 ± 0,015	0,365 ± 0,029	98,4
	Sn	0,005 ± 0,002	0,005 ± 0,001	100,0
	Zn	19,35 ± 0,16	19,42 ± 0,26	99,6
Čajové lístky (INC-TL-1)	Al	2240 ± 15	2290 ± 28	97,8
	Ca	5805 ± 25	5820 ± 52	99,7
	K	1650 ± 80	1700 ± 120	97,1
	Mg	2160 ± 20	2240 ± 17	96,4
	Mn	1525 ± 10	1570 ± 11	97,1
	Ba	44,5 ± 1,2	43,2 ± 3,9	103,0
	Cr	1,85 ± 0,14	1,91 ± 0,22	96,9
	Cs	3,55 ± 0,14	3,61 ± 0,37	98,3
	Cu	20,2 ± 0,7	20,4 ± 1,5	99,0
	Na	23,5 ± 2,7	24,7 ± 3,2	95,1
	Ni	6,16 ± 0,41	6,12 ± 0,52	100,7
	Pb	1,75 ± 0,22	1,78 ± 0,24	98,3
	Sr	20,5 ± 0,9	20,8 ± 1,7	98,6
	Zn	34,4 ± 1,9	34,7 ± 2,7	99,1
	As	0,101 ± 0,017	0,106 ± 0,021	95,2
	Cd	0,0301 ± 0,0050	0,0302 ± 0,0040	99,7
	Ce	0,794 ± 0,057	0,790 ± 0,076	100,5

	Co	0,390 ± 0,040	0,387 ± 0,042	100,8
	Hg	0,00488 ± 0,00055	0,00492 ± 0,00074	99,2
	Tl	0,0624 ± 0,0051	0,0628 ± 0,0054	99,4
Lišejník (IAEA-336)	As	0,65±0,04	0,63 ± 0,08	103,2
	Ba	6,1±0,9	6,4 ± 1,1	95,3
	Ce	1,32±0,08	1,28 ± 0,17	103,1
	Co	0,31±0,04	0,29 ± 0,05	106,8
	Cs	0,107±0,015	0,110 ± 0,013	97,2
	Cu	3,4±0,07	3,6 ± 0,5	94,4
	Fe	445±25	430 ± 50	103,5
	Hg	0,19±0,02	0,20 ± 0,04	95,0
	K	1795±120	1840 ± 200	97,6
	Mn	60,5±3	63 ± 7	96,0
	Na	337±20	320 ± 40	105,3
	Se	0,23±0,04	0,22 ± 0,04	104,5
	Sr	8,9±1,0	9,3 ± 1,1	95,7
	Zn	31,1±2,4	30,4 ± 3,4	102,3

^a Průměr (střední hodnota z pěti měření) ± standardní odchylka

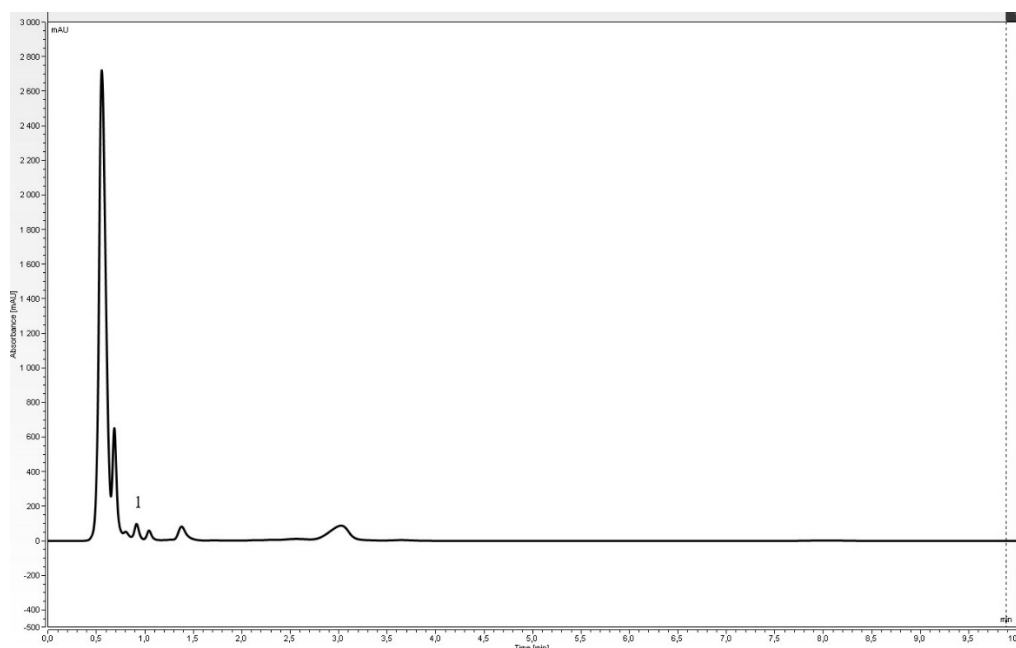
^b Interval spolehlivosti 95 %

**PŘÍLOHA P III: JEDNOTLIVÉ HODNOTY RDA A SLOŽENÍ
STANDARDNÍHO PROTEINU PODLE WHO/FAO/UNU (2007)**

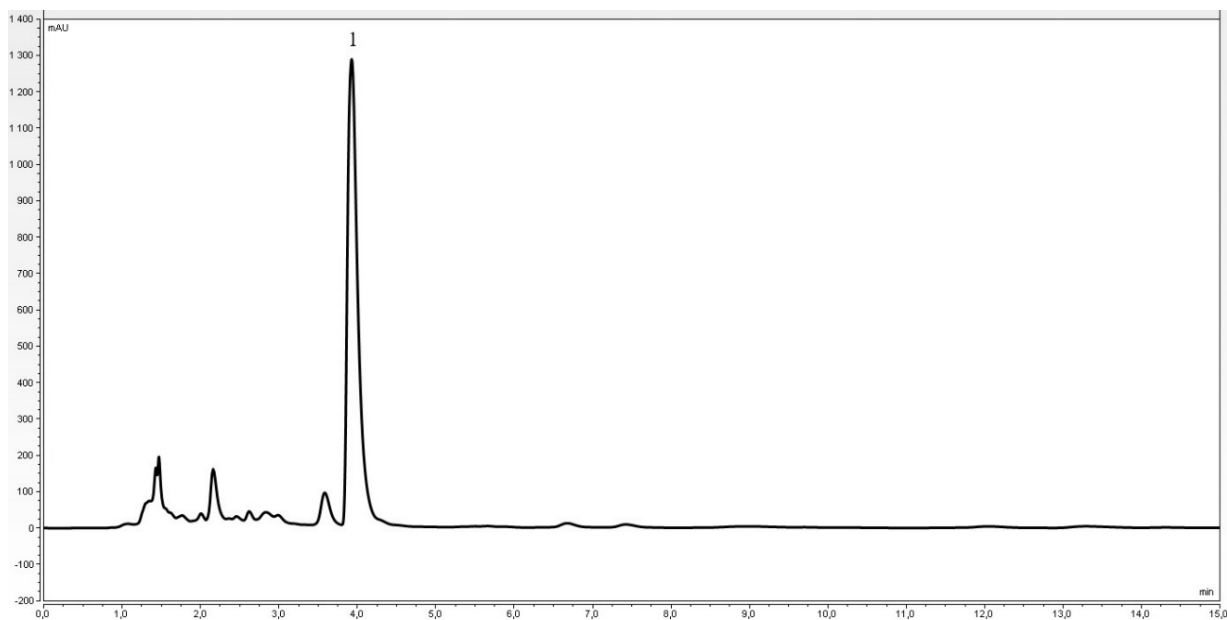
Aminokyselina	Aktuální hodnoty RDA pro dospělé [mg.kg⁻¹ za den]	Standardní složení bílkovin [g.16⁻¹ g N]
His	10	-
Ile	20	4,0
Leu	39	7,0
Lys	30	5,4
Met + Cys	15	3,5
Met	10	-
Cys	4	-
Phe + Tyr	25	6,1
Thr	15	4,0
Trp	4	1,0
Val	26	5,0
Celkové nezbytné aminokyseliny	184	36,0

RDA – doporučená denní dávka.

PŘÍLOHA P IV: CHROMATOGRAM VITAMINU C A KOFEINU



HPLC chromatogram analýzy vitamínu C v čaji matcha „Whittard“ 1 – Vitamin C
(0,88 min, detekce při vlnové délce 254 nm)



HPLC chromatogram analýzy kofeinu v čaji matcha „Whittard“ 1 – Kofein
(3,98 min, detekce při vlnové délce 280 nm)

PŘÍLOHA P V: OBRÁZEK STANOVENÍ DENNÍCH PŘÍJMŮ MINERÁLNÍCH A STOPOVÝCH PRVKŮ V MATCHA ČAJÍCH

Daily intake estimations for essential minerals and trace elements in matcha.

Analyte	Range µg/g	Daily intake mg/day	RDA or AI* (F) mg/day	RDA or AI* (M) mg/day	RDA or AI* (F) %	RDA or AI* (M) %
Mg	1760–2400	8.8–12.0	320	420	3.0–4.0	2.0–3.0
P	3740–4180	18.7–20.9	700	700	2.7–3.0	2.7–3.0
K	2750–4730	13.8–23.7	4700*	4700*	0.3–0.5*	0.3–0.5*
Ca	1650–2650	8.3–13.3	1000	1000	0.8–1.3	0.8–1.3
Na	124–185	0.6–0.9	1500*	1500*	< 0.1*	< 0.1*
Mn	17.1–68.4	0.09–0.34	1.8*	2.3*	5.0–19.0*	4.0–15.0*
Fe	83.6–115.0	0.42–0.58	18	8	2.3–3.2	5.3–7.3
Cu	6.21–25.3	0.03–0.13	0.9	0.9	3.3–14.0	3.3–14.0
Zn	21.5–73.0	0.11–0.37	8	11	1.0–5.0	1.0–3.0
Cr	0.0021–0.0210	0.00001–0.00010	0.025*	0.035*	0.1–0.4*	0.1–0.3*
Se	0.0078–0.0176	0.00005–0.00009	0.055	0.055	0.1–0.2	0.1–0.2

RDA – Recommended daily allowance is written in ordinary type without an asterisk; AI* – Adequate intake is followed by an asterisk (*), M – male 31–50 years old, F – female 31–50 years old. A daily serving size of matcha tea was set to 5 g.

Intake estimations for toxic elements in matcha.

Analyte	Range µg/g	Daily intake µg/day	Weekly/Monthly* intake µg	PTWI, PTMI* µg/kg	PTWI, PTMI* (F, 65 kg) %	PTWI, PTMI* (M, 80 kg) %
Al	5.42–113.0	27.1–565.0	190–791	2000	0.2–0.6	0.1–0.5
Cd	0.0010–0.0015	0.005–0.008	0.15–0.24	25*	< 0.1*	< 0.1*
Sn	0.0004–0.0015	0.002–0.008	0.014–0.056	14000	< 0.01	< 0.01
Hg	0.0013–0.0026	0.006–0.013	0.042–0.091	4	< 0.03	< 0.02

PTWI – Provisional tolerable weekly intake, PTMI – Provisional tolerable monthly intake is followed by an asterisk (*), F – female, 65 kg, M – male, 80 kg. A daily serving size of matcha tea was set to 5 g.

KOLÁČKOVÁ, T., SUMCZYNSKI, D., ZÁLEŠÁKOVÁ, L., ŠENKÁROVÁ, L., ORSAVOVÁ, J., a LANCZOVÁ, N. Free and bound amino acids, minerals and trace elements in matcha (*Camellia sinensis* L.): A nutritional evaluation. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2020b, 92. ISSN 08891575. Dostupné z: doi:10.1016/j.jfca.2020.103581

PŘÍLOHA P VI: KONCENTRACE VOLNÝCH AMK ANALYZOVANÝCH V MATCHA POMOCÍ IEC

Analyt [mg.g ⁻¹]	Mo Cha Fen	Whittard	Shao Xing	Asagiri	Harmony	Jeju	Don Matcha	Royal Pharma
Asp	0,68±0,02 ^{a,b}	0,64±0,04 ^a	0,71±0,05 ^{b,c}	0,76±0,05 ^c	0,47±0,04 ^d	0,58±0,04 ^e	0,50±0,05 ^f	0,31±0,07 ^g
Glu	1,23±0,10 ^a	1,00±0,05 ^b	1,45±0,10 ^{c,h}	1,57±0,03 ^d	0,74±0,05 ^e	0,88±0,07 ^f	0,41±0,05 ^g	0,72±0,05 ^e
hPro	0,11±0,02 ^{a,d}	0,13±0,02 ^a	0,08±0,01 ^b	0,07±0,01 ^b	0,11±0,01 ^{a,d}	0,11±0,01 ^{a,d}	0,12±0,01 ^a	0,10±0,01 ^d
Ser	0,32±0,02 ^a	1,03±0,02 ^b	0,33±0,02 ^a	0,55±0,02 ^c	0,41±0,03 ^d	0,61±0,05 ^c	1,23±0,10 ^e	ND
Gly	0,09±0,01 ^a	0,24±0,02 ^b	0,06±0,01 ^c	0,06±0,01 ^c	0,11±0,01 ^d	0,09±0,01 ^a	ND	0,37±0,05 ^e
His	0,24±0,02 ^a	0,47±0,03 ^b	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Arg	0,16±0,02 ^a	ND	ND	0,12±0,01 ^b	0,33±0,05 ^c	0,31±0,04 ^c	1,17±0,10 ^d	ND
Thr	0,30±0,05 ^{a,d}	0,55±0,05 ^b	0,32±0,07 ^{a,d}	0,13±0,01 ^c	0,34±0,06 ^a	0,32±0,04 ^a	0,25±0,03 ^d	0,10±0,01 ^f
GABA	0,21±0,02 ^a	0,33±0,02 ^b	0,46±0,05 ^c	0,09±0,01 ^d	0,19±0,02 ^a	0,16±0,01 ^e	0,15±0,02 ^e	0,17±0,02 ^e
Ala	0,45±0,07 ^a	0,03±0,01 ^b	ND	0,18±0,02 ^c	0,08±0,01 ^d	0,72±0,06 ^e	0,59±0,04 ^f	0,11±0,01 ^g
Pro	0,06±0,01 ^a	0,12±0,01 ^b	0,10±0,01 ^c	ND	1,06±0,10 ^d	ND	0,07±0,01 ^a	1,45±0,07 ^g
Theanine	5,42±0,20 ^a	15,5±0,30 ^b	3,42±0,20 ^c	5,30±0,20 ^a	6,28±0,30 ^d	13,8±0,30 ^e	18,5±0,20 ^f	10,0±0,05 ^h
Tyr	0,11±0,01 ^a	0,23±0,01 ^b	0,12±0,01 ^a	0,06±0,01 ^c	0,12±0,01 ^a	0,14±0,01 ^d	0,26±0,03 ^e	ND
Cys	0,08±0,01 ^a	ND	ND	0,14±0,01 ^b	0,11±0,01 ^c	0,09±0,01 ^a	0,08±0,01 ^a	ND

Val	0,08±0,01 ^a	0,24±0,03 ^b	0,14±0,02 ^c	0,04±0,01 ^d	0,57±0,05 ^e	0,12±0,02 ^c	0,20±0,02 ^f	0,08±0,01 ^a
Met	0,08±0,01 ^a	1,93±0,10 ^b	0,72±0,08 ^c	0,59±0,06 ^d	0,21±0,02 ^e	1,37±0,05 ^f	1,81±0,10 ^b	ND
Phe	< 0,01	ND	0,03±0,01 ^a	ND	0,16±0,01 ^b	ND	ND	1,28±0,10 ^d
Ile	0,09±0,01 ^a	0,31±0,03 ^b	0,09±0,01 ^a	ND	ND	ND	0,25±0,04 ^c	0,10±0,01 ^a
Lys	0,08±0,01 ^a	0,32±0,05 ^b	0,13±0,01 ^c	0,11±0,01 ^d	3,92±0,20 ^e	0,32±0,04 ^b	0,37±0,05 ^f	1,10±0,07 ^h
Leu	0,09±0,01 ^a	0,29±0,04 ^b	0,10±0,01 ^a	0,09±0,01 ^a	0,14±0,01 ^c	0,18±0,01 ^d	0,39±0,05 ^e	0,12±0,01 ^g
Ornithine	0,09±0,01 ^a	0,24±0,04 ^b	0,17±0,02 ^c	ND	ND	ND	0,40±0,05 ^d	0,11±0,02 ^g
Trp	0,14±0,02 ^a	0,33±0,04 ^b	0,21±0,04 ^c	ND	ND	0,21±0,02 ^c	0,31±0,07 ^b	ND
Met+Cys	0,16±0,02 ^a	1,93±0,10 ^b	0,72±0,07 ^c	0,73±0,08 ^c	0,32±0,04 ^d	1,46±0,10 ^e	1,89±0,10 ^b	ND
Phe+Tyr	0,12±0,01 ^a	0,23±0,02 ^b	0,15±0,01 ^c	0,06±0,01 ^d	0,28±0,02 ^e	0,14±0,01 ^c	0,26±0,03 ^e	1,28±0,10 ^h
EAAAs	0,70±0,1 ^a	3,97±0,2 ^b	1,74±0,05 ^c	0,96±0,10 ^d	5,34±0,20 ^e	2,52±0,20 ^f	3,58±0,10 ^g	1,68±0,10 ^c
NEAAs	9,40±0,20 ^a	19,9±0,2 ^b	6,90±0,10 ^c	8,90±0,20 ^d	10,1±0,3 ^e	17,5±0,3 ^f	23,5±0,2 ^g	14,4±0,1 ^j
TFAAs	10,1±0,2 ^a	23,9±0,2 ^b	8,64±0,10 ^c	9,86±0,20 ^a	15,4±0,3 ^d	20,0±0,3 ^e	27,1±0,2 ^f	16,1±0,1 ⁱ

Výsledky jsou uvedeny v suché hmotnosti jako průměr ± SD, n=5 (střední hodnota z pěti měření). Průměry v rámci řádku s alespoň jedním identickým horním indexem se významně neliší ($p \geq 0,05$), zatímco průměry s různými horními indexy vykazují významný rozdíl ($p < 0,05$). EAA – esenciální aminokyseliny, NEAA – neesenciální aminokyseliny, TBAAs – celkové vázané aminokyseliny.

PŘÍLOHA P VII: KONCENTRACE VÁZANÝCH AMK ANALYZOVANÝCH V MATCHA POMOCÍ IEC

Analyt [mg.g ⁻¹]	Mo Cha Fen	Whittard	Shao Xing	Asagiri	Harmony	Jeju	Don Matcha	Royal Pharma
Asp	9,92±0,14 ^a	20,6±0,2 ^b	18,8±0,2 ^c	20,5±0,2 ^b	15,8±0,2 ^d	16,8±0,3 ^e	16,0±0,3 ^d	14,9±0,2 ^g
Thr	4,73±0,03 ^a	8,46±0,12 ^b	7,49±0,2 ^c	7,81±0,10 ^d	7,20±0,12 ^e	6,94±0,2 ^f	6,76±0,14 ^{f,h}	6,61±0,10 ^h
Ser	5,06±0,04 ^a	8,57±0,04 ^b	7,79±0,3 ^c	7,95±0,13 ^c	7,21±0,05 ^d	7,01±0,02 ^e	6,49±0,12 ^f	6,48±0,12 ^f
Glu	15,4±0,11 ^a	34,4±0,06 ^b	27,2±0,2 ^c	35,8±0,2 ^d	23,3±0,1 ^e	27,3±0,2 ^c	24,1±0,2 ^f	19,1±0,2 ^h
Pro	5,81±0,05 ^a	8,97±0,10 ^b	8,44±0,05 ^c	9,08±0,20 ^b	7,31±0,11 ^d	7,77±0,10 ^e	7,33±0,10 ^d	6,93±0,10 ^h
Gly	5,70±0,04 ^a	10,0±0,2 ^b	9,62±0,12 ^c	10,5±0,2 ^d	8,77±0,07 ^e	9,06±0,12 ^f	8,90±0,11 ^{e,f}	8,07±0,05 ^h
Ala	5,91±0,12 ^a	10,6±0,1 ^b	9,77±0,11 ^c	10,8±0,3 ^b	9,18±0,09 ^d	9,07±0,07 ^d	9,08±0,20 ^d	7,96±0,07 ^e
Val	6,28±0,10 ^a	11,3±0,2 ^b	10,8±0,2 ^c	12,2±0,2 ^d	9,55±0,12 ^e	10,0±0,1 ^f	10,2±0,1 ^f	8,72±0,10 ⁱ
Ile	4,86±0,04 ^a	9,89±0,2 ^b	8,67±0,12 ^c	8,97±0,2 ^d	7,35±0,15 ^e	7,29±0,10 ^e	7,53±0,03 ^f	6,71±0,10 ^h
Leu	8,98±0,07 ^a	15,3±0,2 ^b	14,9±0,3 ^b	16,1±0,3 ^c	13,5±0,2 ^d	13,5±0,2 ^d	13,9±0,2 ^e	13,3±0,2 ^d
Tyr	3,87±0,04 ^a	6,26±0,20 ^b	5,87±0,16 ^c	6,37±0,11 ^b	5,46±0,11 ^d	4,93±0,10 ^e	5,78±0,20 ^c	4,73±0,05 ^g
Phe	6,01±0,11 ^a	10,2±0,1 ^b	9,59±0,10 ^c	10,5±0,2 ^b	8,82±0,10 ^d	8,84±0,13 ^d	9,00±0,12 ^d	7,98±0,04 ^f
His	2,72±0,02 ^a	5,01±0,10 ^b	4,69±0,15 ^c	5,00±0,20 ^b	4,55±0,10 ^c	4,28±0,08 ^d	4,05±0,10 ^e	4,00±0,10 ^e
Lys	7,41±0,03 ^a	14,4±0,1 ^b	14,0±0,2 ^c	14,5±0,2 ^b	11,7±0,3 ^d	11,8±0,2 ^d	12,1±0,2 ^d	10,2±0,10 ^g

Arg	6,01±0,10 ^a	14,4±0,2 ^b	13,6±0,2 ^c	16,1±0,3 ^d	11,2±0,2 ^e	11,5±0,2 ^e	10,7±0,2 ^f	9,94±0,25 ^h
CysH	2,75±0,05 ^a	3,77±0,02 ^b	3,84±0,12 ^b	4,01±0,04 ^c	3,29±0,10 ^d	3,24±0,05 ^d	3,00±0,04 ^e	3,18±0,03 ^d
MetS	3,28±0,03 ^a	5,49±0,03 ^b	5,22±0,04 ^c	4,99±0,10 ^d	4,32±0,08 ^e	4,33±0,10 ^e	4,33±0,06 ^e	4,15±0,05 ^g
Met+Cys	6,03±0,04 ^a	9,26±0,03 ^b	9,06±0,10 ^c	9,00±0,06 ^c	7,61±0,10 ^d	7,57±0,07 ^d	7,33±0,05 ^e	7,33±0,04 ^e
Phe+Tyr	9,88±0,06 ^a	16,5±0,2 ^b	15,5±0,2 ^c	16,9±0,2 ^d	14,3±0,1 ^e	13,8±0,1 ^f	14,8±0,2 ^g	12,7±0,1 ^j
EAA _s	41,6±1,0 ^a	75,0±1,0 ^b	70,7±1,0 ^c	75,1±1,0 ^b	62,4±1,0 ^d	62,7±1,0 ^d	63,8±1,0 ^d	57,7±1,0 ^f
NEAA _s	63,4±1,0 ^a	123,0±1,0 ^b	109,0±1,0 ^c	126,0±1,0 ^d	96,6±1,0 ^e	101,0±1,0 ^f	95,2±1,0 ^e	85,3±1,0 ^g
TBAA _s	105±1 ^a	198±1 ^b	180±1 ^c	201±1 ^d	159±1 ^e	164±1 ^f	159±1 ^e	143±1 ^h

Výsledky jsou uvedeny v suché hmotnosti jako průměr ± SD, n=5 (střední hodnota z pěti měření). Průměry v rámci řádku s alespoň jedním identickým horním indexem se významně neliší ($p \geq 0,05$), zatímco průměry s různými horními indexy vykazují významný rozdíl ($p < 0,05$). EAA – esenciální aminokyseliny, NEAA – neesenciální aminokyseliny, TBAA – celkové vázané aminokyseliny.

**PŘÍLOHA P VIII: OBRÁZEK DENNÍ ODHADY PŘÍJMU
ESENCIÁLNÍCH AMK, HYSTIDINU A CYSTEINU V MATCHA
ČAJÍCH**

Daily intake estimations for the essential amino acids, histidin and cystein in matcha.

Analyte	Range (mg/g)	Daily intake (mg/day)	RDA (mg/kg)	RDA (%) F, 65 kg	RDA (%) M, 80 kg
His	2.96–5.48	14.8–27.4	10	2–4	2–3
Ile	4.95–10.20	24.8–51.0	20	2–4	2–3
Leu	9.07–16.20	45.4–81.0	39	2–3	1–3
Lys	7.49–15.62	37.5–78.1	30	2–4	1–3
Met + Cys	6.12–11.57	30.6–57.9	15	3–6	3–5
Met	3.29–7.42	16.5–37.1	10	3–6	2–5
Cys	2.83–4.15	14.2–20.8	4	6–8	4–7
Phe + Tyr	10.00–16.93	50.0–84.7	25	3–5	3–4
Thr	5.03–9.01	25.2–45.1	15	3–5	2–4
Val	6.36–12.24	31.8–61.2	26	2–4	2–3

RDA – Recommended daily allowance according to WHO/FAO/UN (2007), F – female, 65 kg, M – male, 80 kg. A daily serving size of matcha tea was set to 5 g.

KOLÁČKOVÁ, T., SUMCZYNSKI, D., ZÁLEŠÁKOVÁ, L., ŠENKÁROVÁ, L., ORSAVOVÁ, J., a LANCZOVÁ, N. Free and bound amino acids, minerals and trace elements in matcha (*Camellia sinensis* L.): A nutritional evaluation. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2020b, 92. ISSN 08891575. Dostupné z: doi:10.1016/j.jfca.2020.103581

PŘÍLOHA P IX: KORELACE MĚŘENÝCH VELIČIN

<i>r</i>	Popel	Hrubá bílkovina	Lipidy	CF	NDF
DMD	0.5215	0.2995	0.1830	0.7305	0.8336
OMD	0.4747	0.3003	0.1428	0.6442	0.7691
	Kofein	Vitamin C	Chlorofyl <i>a</i>	Chlorofyl <i>b</i>	Celkový chlorofyl
Vodný výluh ABTS	0.5017	0.4768	0.2189	0.3308	0.2711
Vodný výluh DPPH	0.3813	0.3841	0.2640	0.4303	0.3404
80% methanol ABTS	0.1806	0.4869	0.4847	0.6319	0.5567
80% methanol DPPH	0.0819	0.5133	0.5297	0.6791	0.6033
	Vodný výluh TFC	Vodný výluh TPC			
Vodný výluh ABTS	0.9315	0.8687			
Vodný výluh DPPH	0.9254	0.7103			

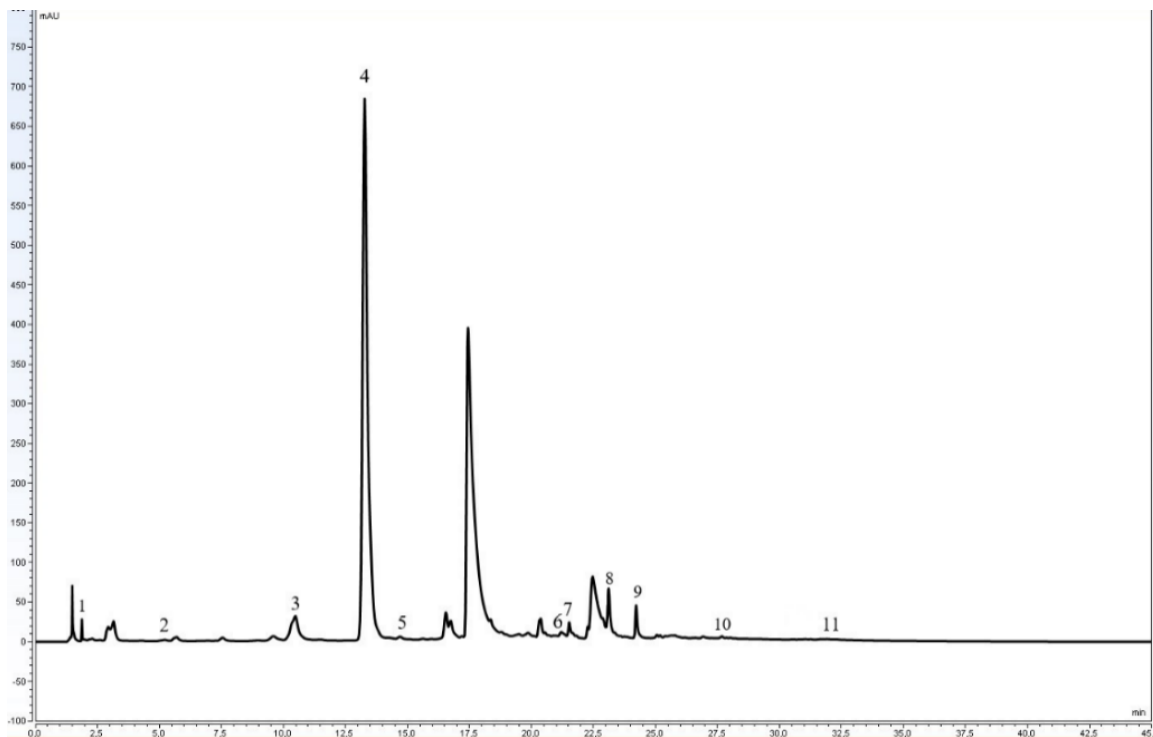
	80%	80%
	Methanol	Methanol
	TFC	TPC
80% methanol ABTS	0.9054	0.8786
80% methanol DPPH	0.9089	0.9187

r – Pearsonův korelační koeficient, CF – Hrubá vláknina, NDF-Neutrálně-detergentní vláknina, ABTS – antioxidační aktivita měřená pomocí 2,2'-azinobis(3-ethylbenzo-thiazolin-6-sulfonové kyseliny), DPPH – měřená antioxidační aktivita pomocí 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl, TFC – Celkový obsah flavonoidů, TPC – celkový obsah polyfenolů.

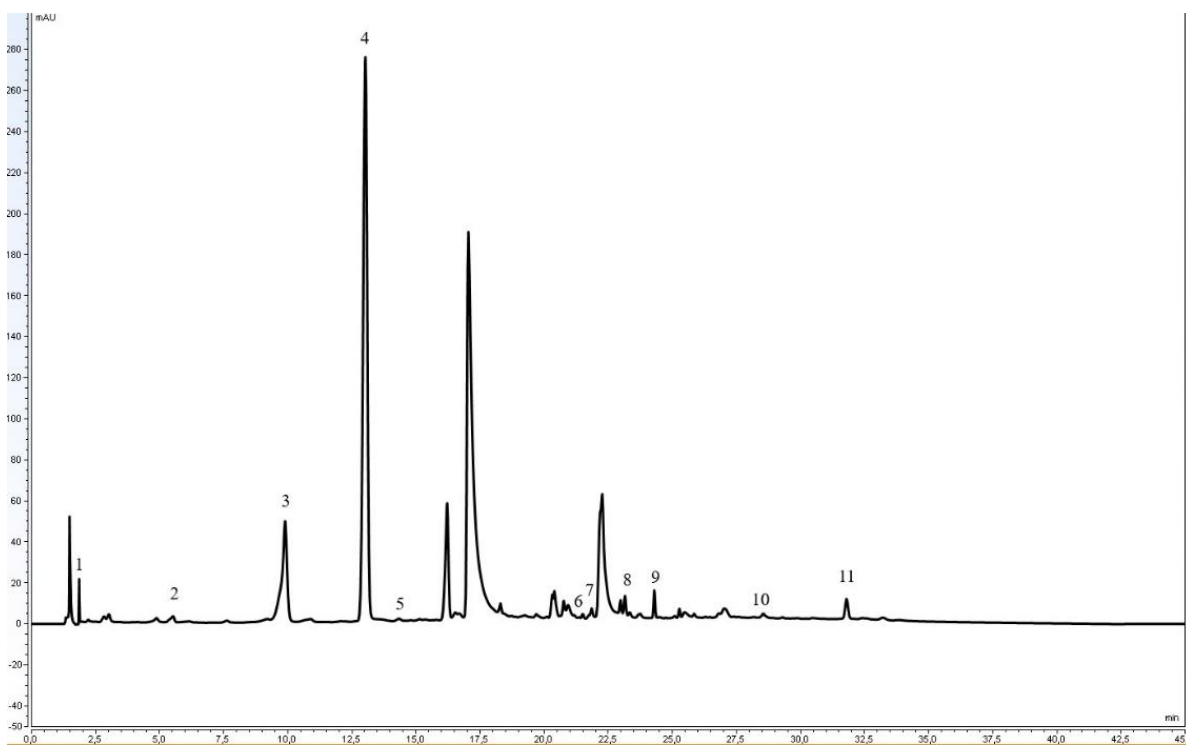
Parametr <i>r</i>	TFC	TPC	ABTS	DPPH	TFC	TPC	ABTS	DPPH
	Vodný výluh				80% methanolový výluh			
rutin	- 0.4639	- 0.6468	- 0.5852	- 0.4576	- 0.5355	- 0.6258	- 0.2669	- 0.4135
kaempferol	- 0.6069	- 0.1414	- 0.3719	- 0.6220	- 0.1102	0.3076	- 0.2950	- 0.3030
quercetin	0.4505	0.3802	0.4047	0.4764	0.3035	0.5025	0.2414	0.3600
	Vodný výluh				80% methanolový výluh			
GA	*	- 0.4063	- 0.3742	- 0.4039	*	- 0.6525	- 0.6320	- 0.8468
PA	*	0.5347	0.6210	0.7317	*	0.2405	- 0.6374	- 0.5510
<i>p</i> -HBA	*	0.0483	0.0863	0.2800	*	0.1640	0.4496	0.4678
ChlA	*	0.2610	0.4639	0.3517	*	0.3064	0.8680	0.8994
CA	*	- 0.2628	- 0.2556	0.0129	*	0.3282	0.7918	0.9008
FA	*	0.2668	0.3460	0.4029	*	- 0.0738	- 0.5913	- 0.5874
SA	*	- 0.4036	- 0.3247	- 0.2074	*	- 0.1899	- 0.0686	0.0236
EA	*	0.6999	0.8367	0.8210	*	0.0819	- 0.6640	- 0.6266

r – Pearsonův korelační koeficient, TFC – Celkový obsah flavonoidů, TPC – celkový obsah polyfenolů, ABTS – antioxidační aktivita měřená pomocí 2,2'-azinobis(3-ethylbenzo-thiazolin-6-sulfonové kyseliny), DPPH – měřená antioxidační aktivita pomocí 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl, GA – kyselina gallová, PA – kyselina protokatechinová, *p*-HBA – kyselina *p*-hydroxybenzoová, ChlA – kyselina chlorogenová, CA – kyselina kávová, FA – kyselina ferulová, SA – kyselina sinapová, EA – kyselina ellagová

PŘÍLOHA P X: CHROMATOGRAMY STANOVENÍ FENOLICKÝCH KYSELIN VE VÝLUŽÍCH POMOCÍ HPLC



Chromatogram stanovení fenolických kyselin v matcha čaji “Whittard” v 80% methanolovém výluhu. (vlnová délka 275 nm) 1 – Kyselina gallová (1,98 min), 2 – Kyselina protokatechinová (5,15 min), 3 – *p*-hydroxybenzoic kyselina (10,51), 4 – Kyselina chlorogenová (13,61 min), 5 – Kyselina kávová (14,81 min), 6 – Kyselina ferulová (21,02 min), 7 – Kyselina sinapová (21,99 min), 8 Kyselina ellagová (23,25 min), 9 – Rutin (24,11 min), 10 – Kaempferol (27,97 min), 11 – Quercetin (31,84 min)



Chromatogram stanovení fenolických kyselin v matcha čaji “Whittard” ve vodném výluhu. (vlnová délka 275 nm) 1 – Kyselina gallová (1,99 min), 2 – Kyselina protokatechinová (5,13 min), 3 – *p*-hydroxybenzoová kyselina (10,48), 4 – Kyselina chlorogenová (13,65 min), 5 – Kyselina kávová (14,87 min), 6 – Kyselina ferulová (21,05 min), 7 – Kyselina sinapová (22,04 min), 8 – Kyselina ellagová (23,20 min), 9 – Rutin (24,10 min), 10 – Kaempferol (27,97 min), 11 – Quercetin (31,82 min)

7 PUBLIKAČNÍ AKTIVITY AUTORA

KOLÁČKOVÁ, T., SUMCZYNSKI, D., ZÁLEŠÁKOVÁ, L., ŠENKÁROVÁ, L., ORSAVOVÁ, J., LANCZOVÁ, N. Free and bound amino acids, minerals and trace elements in matcha (*Camellia sinensis* L.): A nutritional evaluation. *Journal of Food Composition and Analysis*. **2020**, 92, 103581. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103581>

KOLÁČKOVÁ, T., KOLOFIKOVÁ, K., SYTAŘOVÁ, I., SNOPEK, L., SUMCZYNSKI, D., ORSAVOVÁ, J. Matcha tea: Analysis of nutritional composition, phenolics and antioxidant activity. *Plant Foods for Human Nutrition*. **2020**, 75(1), 48–53. Dostupné z: doi: 10.1007/s11130-019-00777-z

KOLÁČKOVÁ, T., SUMCZYNSKI, D., BEDNAŘÍK, V., VINTER, Š., ORSAVOVÁ, J., a KOLOFIKOVÁ, K. Mineral and trace element composition after digestion and leaching into matcha ice tea infusions (*Camellia sinensis* L.). *Journal of Food Composition and Analysis*. **2021**, 97, 103792. Dostupné z: doi:10.1016/j.jfca.2020.103792

KOLÁČKOVÁ, T., SUMCZYNSKI, D., MINAŘÍK, A., ERKAN, Y., A ORSAVOVÁ, J. The effect of *In Vitro* Digestion on Matcha Tea (*Camellia sinensis*) Active components and Antioxidant Activity. *Antioxidants*. **2022**, 11(5), 889. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/antiox11050889>

MÍŠKOVÁ, Z., LORENCOVÁ, E., SALEK, R.N., KOLÁČKOVÁ, T., TRÁVNÍKOVÁ, L., REJDLOVÁ, A., BUŇKOVÁ, L., BUŇKA, F. Occurrence of biogenic amines in wines from the central european region (zone B) and evaluation of their safety. *Foods*. **2023**, 12 (9), 1835. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/foods12091835>

Užitný vzor:

SUMCZYNSKI, D., ŠTASTNÁ, K., BUREŠOVÁ, I., **KOLÁČKOVÁ, T.** Směs na výrobu sušenek a trvanlivého pečiva s přidavkem nutraceutických surovin. CZ 33 013, **2019**, Užitný vzor.

Konferenční příspěvek:

KOLÁČKOVÁ, T., SUMCZYNSKI, D. Stanovení kofeinu v čajích metodou HPLC. **2018**, Czech Chemical Society Symposium Series. 70. sjezd

českých a slovenských chemických společností, Zlín, 16(5), 417 s. ISSN 2336-7202

Konference:

Účast s přednáškou na 70. Sjezdu českých a slovenských chemických společností, 9. – 12. 9. 2018, Zlín. Stanovení kofeinu v čajích metodou HPLC

8 ODBORNÝ ŽIVOTOPIS AUTORA

OSOBNÍ ÚDAJE

Jméno a příjmení: Ing. Tereza Koláčková
Datum narození: 01. 07. 1991
Adresa: Za Divadlem 4, 602 00, Brno
Telefon: +420 702 666 295
E-mail: kolackova@utb.cz

VZDĚLÁNÍ

09/2006 – 06/2010 ISŠ Slavkov u Brna, Hotelnictví a turismus
09/2010 – 06/2013 Bakalářské studium, Chemie a technologie potravin –
specializace gastronomické technologie
Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Technologická fakulta
09/2013 – 06/2016 Magisterské studium, Chemie a technologie potravin
Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Technologická fakulta
09/2014 – 06/2015 Program ERASMUS⁺, School of Agriculture
Polytechnic Institute of Beja, Beja, Portugalsko
2015 Certifikovaný interní auditor – ISO 9001, HACCP, IFS
KONFIRM, spol. s r. o., Zlín
05/2017 – 07/2017 Praktická stáž, ERASMUS⁺
Polytechnic Institute of Beja, CEBAL, Beja, Portugalsko
09/2016 – současnost Doktorské studium, Technologie potravin
Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Technologická fakulta

ŘEŠENÉ PROJEKTY

2017	IGA/FT/2017/006	Stanovení obsahů biologicky aktivních látek v rostlinných produktech a sledování jejich změn vlivem technologického zpracování (člen řešitelského týmu)
2018	IGA/FT/2018/006	Stanovení nutričních znaků rostlinných surovinových komponent (řešitel)
2019	IGA/FT/2019/004	Analýza nutričních hodnot a bioaktivních látek v netradičních surovinových komponentech a výrobcích z nich (člen řešitelského týmu)
2020	IGA/FT/2020/010	Nutriční znaky netradičních surovinových komponent (člen řešitelského týmu)

