

# Vliv tvrdosti vody na obsah polyfenolů a vitamínu C v matcha čajích

Bc. Barbora Kadavá, DiS.

---

Diplomová práce  
2023



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

Akademický rok: 2022/2023

# ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Barbora Kadavá, DiS.**  
Osobní číslo: **T21702**  
Studijní program: **N0721A210004 Technologie potravin**  
Forma studia: **Kombinovaná**  
Téma práce: **Vliv tvrdosti vody na obsah polyfenolů a vitamínu C v matcha čajích**

## Zásady pro vypracování

### I. Teoretická část

Složení čajů matcha se zaměřením na bioaktivní látky.

Vliv tvrdosti vody na přípravu čajů.

Zdravotní benefity konzumace matcha čaje.

### II. Praktická část

Stanovení obsahu polyfenolů a vitamínu C v nálevech.

Vyhodnocení naměřených dat v závislosti na tvrdosti vody.

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

Seznam doporučené literatury:

- [1] KOCHMAN, Joanna, Karolina JAKUBCZYK, Justyna ANTONIEWICZ, Honorata MRUK a Katarzyna JANDA. Health Benefits and Chemical Composition of Matcha Green Tea: A Review. *Molecules* [online]. 2021, 26(1) [cit. 2022-05-31]. ISSN 1420-3049
- [2] CABRERA, Mica, Faizah TAHER, Alendre LLANTADA, Quyen DO, Tyeshia SAPP a Monika SOMMERHALTER. Effect of Water Hardness on Catechin and Caffeine Content in Green Tea Infusions. *Molecules* [online]. 2021, 26(12) [cit. 2022-05-31]. ISSN 1420-3049
- [3] WYROSTEK, Jakub a Radosław KOWALSKI. The Effect of Water Mineralization on the Extraction of Active Compounds from Selected Herbs and on the Antioxidant Properties of the Obtained Brews. *Foods* [online]. 2021, 10(6) [cit. 2022-05-31]. ISSN 2304-8158

Vedoucí diplomové práce: **Mgr. Martina Bučková, Ph.D.**  
Ústav analýzy a chemie potravin

Datum zadání diplomové práce: **31. prosince 2022**

Termín odevzdání diplomové práce: **12. května 2023**

L.S.

---

**prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.**  
děkan

---

**Ing. Robert Gál, Ph.D.**  
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 20. února 2023

## **PROHLÁŠENÍ AUTORA DIPLOMOVÉ PRÁCE**

Beru na vědomí, že:

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

### **Prohlašuji,**

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

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....  
podpis studenta

## **ABSTRAKT**

Teoretická část diplomové práce se zabývá složením a výrobou čaje s bližším zaměřením na čínské a japonské čaje matcha a na obsah jejich bioaktivních látek. Dále jsou zde zahrnuty informace o pitné vodě a přírodních minerálních vodách. Praktická část cílí na vliv, který má koncentrace minerálních prvků přítomných ve vodě na obsah polyfenolů, vitamínu C a na barvu infuze čaje. V těchto aspektech a z hlediska organoleptických vlastností mezi sebou byla porovnána čínská a japonská matcha.

Klíčová slova: matcha, polyfenoly, vitamin C, mineralizace vod

## **ABSTRACT**

The theoretical part of the thesis deals with the composition and production of tea with a closer focus on Chinese and Japanese matcha teas and the content of their bioactive substances. It also includes information on drinking water and natural mineral waters. The practical part focuses on the effect that the concentration of mineral elements present in water has on the content of polyphenols, vitamin C and the color of tea infusion. In these aspects and in terms of organoleptic properties, Chinese and Japanese matcha were compared with each other.

Keywords: matcha, polyphenols, vitamin C, water mineralization

Ráda bych zde poděkovala vedoucí diplomové práce paní Mgr. Martině Bučkové, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady, ochotu a za čas, který mi věnovala při řešení dané problematiky. Dále bych ráda poděkovala pracovníkům UACHP za pomoc při práci v laboratoři a UTP za umožnění změření barevné změny a také pracovníkům UIOŽP za možnost pořídit snímky prášku matcha pod mikroskopem.

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

# OBSAH

<b>ÚVOD.....</b>	<b>9</b>
<b>I TEORETICKÁ ČÁST .....</b>	<b>10</b>
<b>1 ČAJ .....</b>	<b>11</b>
1.1 SLOŽENÍ, VÝROBA A PŘÍPRAVA ČAJE .....	11
1.2 DRUHY ČAJE.....	13
1.3 MATCHA .....	14
1.3.1 Dějiny čaje matcha .....	14
1.3.2 Výroba čaje matcha .....	15
1.3.3 Obsahové látky a zdravotní účinky matcha čaje .....	17
<b>2 POLYFENOLY .....</b>	<b>20</b>
2.1 DĚLENÍ POLYFENOLŮ .....	20
2.2 METODY STANOVENÍ POLYFENOLŮ .....	23
2.3 ÚČINKY POLYFENOLŮ NA LIDSKÝ ORGANISMUS .....	25
<b>3 VITAMIN C .....</b>	<b>26</b>
3.1 STRUKTURA, STABILITA A FYZIOLOGIE.....	26
3.2 METODY STANOVENÍ VITAMINU C .....	27
3.3 VITAMIN C V POTRAVINÁCH.....	28
<b>4 VODA .....</b>	<b>29</b>
4.1 PITNÁ VODA .....	29
4.2 MINERÁLNÍ VODY .....	30
<b>II PRAKTICKÁ ČÁST .....</b>	<b>33</b>
<b>5 CÍL PRÁCE .....</b>	<b>34</b>
<b>6 MATERIÁL A METODIKA .....</b>	<b>35</b>
6.1 CHARAKTERISTIKA VZORKŮ.....	35
6.2 POUŽITÉ PŘÍSTROJE A POMŮCKY.....	36
6.3 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE.....	36
6.4 STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU POLYFENOLŮ .....	37
6.5 STANOVENÍ KYSELINY ASKORBOVÉ.....	38
6.6 STANOVENÍ OBSAHU VLHKOSTI A SUŠINY .....	39
6.7 STANOVENÍ MINERÁLNÍCH PRVKŮ POMOCÍ ICP-MS.....	40
6.8 MĚŘENÍ VODIVOSTI.....	41
6.9 KOLORIMETRICKÉ STANOVENÍ .....	41
<b>7 VÝSLEDKY A DISKUZE.....</b>	<b>43</b>
7.1 VÝSLEDKY ZÁKLADNÍ ANALÝZY VZORKŮ .....	43

7.1.1	Výsledky stanovení obsahu vlhkosti.....	44
7.1.2	Výsledky měření vodivosti vod .....	45
7.2	VÝSLEDKY STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU POLYFENOLŮ.....	46
7.3	VÝSLEDKY STANOVENÍ KYSELINY ASKORBOVÉ.....	50
7.4	VÝSLEDKY STANOVENÍ MINERÁLNÍCH PRVKŮ POMOCÍ ICP-MS.....	56
7.5	VÝSLEDKY MĚŘENÍ BAREVNÝCH ZMĚN KOLORIMETRICKY .....	62
<b>8</b>	<b>VÝSLEDKY SENZORICKÉHO HODNOCENÍ.....</b>	<b>67</b>
	<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>69</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>	<b>71</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....</b>	<b>78</b>
	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ A GRAFŮ .....</b>	<b>79</b>
	<b>SEZNAM TABULEK.....</b>	<b>81</b>
	<b>SEZNAM PŘÍLOH.....</b>	<b>82</b>



## ÚVOD

Čaj je po vodě druhým nejkonzumovanějším nápojem na světě. Oblíbený je pro svoji charakteristickou chuť, vůni a obsahové látky, které mají pozitivní vliv na lidské zdraví. Je známo mnoho druhů čaje, všechny však pochází ze stejné rostliny čajovníku (*Camellia sinensis*).

Jedním z druhů je čaj matcha, na který se tato diplomová práce zaměřila. Matcha je druh zeleného čaje, který vzniká sušením a mletím čajových lístků na jemný prášek. Obsahuje bioaktivní látky, jako například polyfenoly, L-theanin a kofein, které ovlivňují kognitivní funkce. Obsah těchto látek závisí na druhu čaje a jeho množství, dále pak na teplotě a době luhování. Přítomné polyfenoly se podílí na chuti a aroma čaje. Na trhu se můžeme setkat s matcha čaji vyrobenými v Japonsku a vyrobenými v Číně. Japonská metoda zastínování, používaná při pěstování čaje, vede k narušení schopnosti fotosyntézy a k vytvoření většího množství L-theaninu a brání tak vzniku tříslovin, které způsobují trpkou chuť čaje. Zastínění čajovníku během období jeho růstu podporuje procesy syntézy a akumulace biologicky aktivních sloučenin.

S ohledem na odlišnou technologii pěstování a zpracování čaje jsou v této práci stanoveny a hodnoceny vybrané obsahové látky a vliv koncentrace minerálních prvků obsažených ve vodách, se kterými byla čajová infuze připravována. Právě výběr vhodné vody je pro přípravu čaje klíčový a významně ovlivňuje kvalitu výsledného nápoje. Diplomová práce je zaměřena na stanovení změn celkového obsahu polyfenolů a vitamínu C, výsledky doplňuje také sledování barevných změn matcha nápojů a senzorická analýza.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 ČAJ

Všechny čaje pochází z čajovníku *Camellia sinensis*, který se vyskytuje ve třech variantách, čínské, assámské a indické. Čajovník čínský je keř, který dorůstá výšky 2–3 m. Čajovník assámský může být až desetkrát vyšší. Čajové plantáže se nejčastěji nachází v Číně, Japonsku, Indii, ve Vietnamu, na Srí-Lance, ale také v zemích Afriky či Jižní Ameriky [1].

Dle Vyhlášky Ministerstva zemědělství zákona o potravinách a tabákových výrobcích se čajem rozumí výrobek rostlinného původu sloužící k přípravě nápoje určeného k přímé spotřebě nebo jako nápoj, který je z tohoto výrobku připravený [2].

### 1.1 Složení, výroba a příprava čaje

Čaj je druhým nejkonsumovanějším nápojem na světě. K obsahovým látkám patří katechinové polyfenoly, které tvoří až 30 % suché hmotnosti. Tyto látky mají rozhodující vliv na chuť a barvu čaje [5]. Díky bioaktivním složkám, ke kterým lze zařadit kofein, L-theanin, polyfenoly a flavonoidy má čaj mnoho farmakologických a fyziologických účinků [3]. Obsažené pryskyřičné látky se podílí na chuti a nepřímo i na vůni čaje. Čaj je trvalá plantážní plodina pěstovaná v monokultuře poskytující příznivé podmínky pro různé škůdce. Kromě obsahových látek se tak v čaji často vyskytují také cizí látky, mezi které lze zařadit herbicidy, insekticidy, fungicidy a další. Stopy těchto látek se dostávají i do hotového čaje a mohou ovlivnit i výslednou chuť a aroma [4]. Mezi cizí látky lze též zařadit i různé rostlinné vosky a oleje, které se používají při výrobě zelených a částečně fermentovaných čajů [5].

Nejjednodušším způsobem výroby čaje je sušení čajových listů na slunci. Pro komerční výrobu čaje se však používá daleko složitějších operací, které se různě kombinují. Postup výroby tak zahrnuje následující kroky:

- Sklizeň
- Zavadnutí listů
- Formování listů – rolování, granulování
- Fermentace (oxidace polyfenolů)
- Vyhrátí listů s opatrností vůči fermentačním enzymům
- Vyhrátí (panfiring) pro různou intenzitu aroma a chuti

- Sušení
- Třídění dle jakosti listu

Při výrobě různých typů čaje se některé z těchto kroků vynechávají nebo se při výrobním procesu mění jejich pořadí [5].

Pro přípravu čaje existuje celá řada doporučení. Mezi základní patří výběr vhodného nádobí. Doporučováno je vyhnout se kontaktu s kovem (hliník, nerez apod.) a naopak zvolit kvalitní porcelán, bambusové sítko či nylonovou sítku a pro manipulaci dřevěné, popřípadě porcelánové lžičky [5;6]. Teplota vody a délka louhování je pro každý druh čaje odlišná. Černý čaj by měl být v ideálním případě zaléván vodou o teplotě 90–95 °C. Pro přípravu je vhodné zvolit spíše sypané čaje vyrobené z celých, zavadnutých listů než nadrcené listy v čajových sáčcích. Doba louhování, která má největší vliv na chuť a barvu čaje, by neměla přesáhnout 1–2 minuty, aby došlo k vytvoření maximálního antioxidačního potenciálu. Stejně jsou na tom také čaje zelené a bílé, avšak s tím rozdílem, že je zde vhodné pro přípravu zvolit nižší teplotu vody. Pro zelené čaje 70–75 °C a při zalévání bílých čajů by teplota neměla být vyšší než 70 °C [1;7].

Na kvalitě hotového čaje se ve velké míře podílí také jakost vody. U pitné vody z vodovodu, která je v domácnostech pro přípravu používána nejčastěji, hraje velkou roli její tvrdost. Příliš tvrdá voda, určena obsahem vápníku a hořčíku (nad 50 mg/l), se projevuje ztmavnutím a ztupěním barvy čaje bez jiskry. Dále takový čaj postrádá říznost a chuť může být méně výrazná s menší svíravostí, což mohou někteří konzumenti hodnotit kladně. Naopak při použití destilované vody je čaj světlejší, než jsme zvyklí a aroma může být obohaceno o zvláštní, nové a nezvyklé tóny (např. vůně připomínající pelargonie). Již nepatrné množství železa a jiných těžkých kovů ve vodě způsobuje tupost barvy a v některých případech se na povrchu čaje dokonce vytváří povlaky. Další složky pitné vody, které ovlivňují výslednou kvalitu čaje jsou chlór a ozón, používané ve stopových množstvích k dezinfekci vody. Tyto příměsi reagují velice rychle s některými vonnými látkami (např. muskatel), čímž poté vznikají produkty bez vůně, které poškozují aromatický profil čaje. K přípravě čaje se nejlépe hodí voda s obsahem vápníku a hořčíku do 10 mg/l, bez železa a s celkovou mineralizací přibližně 100 mg/l nebo nižší. Použitá voda by měla mít pH nižší než 6, tedy spíše kyselejší. Zásadité vody s vyšším pH způsobují ztmavnutí čaje a ztrátu jeho typické chuti [5;6].

## 1.2 Druhy čaje

Existuje mnoho druhů čajů, které se od sebe liší způsobem zpracování a podle toho, kde se pěstují. V čínské oblasti Fu-tien se například pěstuje bílý čaj, který je známý pro svoji lahodnou chuť. Zvláštní proces fermentace, který je používán na Tchaj-wanu zase dává vzniknout jedinečnému čaji oolong [10]. Základní klasifikace čajů je podle jejich původu – čínské, indické, cejlonské, japonské a další. Nejpoužívanější je pak dělení podle způsobu výroby, kdy je lze rozdělit na černé, zelené, bílé, žluté, částečně fermentované typu oolong a jiné [5]. Rozmanitost chutí je dána tím, kde se rostlina pěstuje. Ovlivněna je tedy zeměpisnou oblastí, půdou, nadmořskou výškou i typem podnebí. Vlastnosti čaje jsou pak určeny tím, co se s lístky děje po jejich nasbírání [1].

### Čínské zelené čaje

Čínských zelených čajů je nepřehledné množství. Rozdělit je lze podle několika kritérií. Oblíbené je v Číně dělení podle tvaru listu. Existuje tak tvar listu spirálovitý, zploštělý, jehlicovitý, páskovitý nebo list ve formě květu. Tvar a vzhled listů jsou důsledkem způsobu výroby zelených čajů, a to hlavně způsobem vyhřívání, které způsobí destrukci fermentačních enzymů. Čaj se zploštělým listem je obvykle vyhříván v kotli, na jehož stěnu, která je lehce naolejovaná rostlinným olejem, se čaj přitlačuje. Jehlicovité listy jsou zase jeden po druhém stáčený a nechávají se padat na pánev wok, kde se teplem fixuje jejich tvar. Důležitá je také barva a případné ochmýření listu. Hladký, občas mastně lesklý list tmavozelené až smaragdové barvy vypovídá o vyhřátí horkou parou. Jemné, lehce ochmýřené listy s barvou světle zelenou až žlutou ukazují na použití metody vyhřátí suchým teplem. Čaje se také označují podle provincií, kde byly vyrobeny. Mezi čínské typy zeleného čaje patří například Gunpowder, Dračí studna (Long Jing), Yunnan Silver Tip [5].

### Japonské zelené čaje

Většina čajových plantáží se v Japonsku nachází v oblasti Shizouka. Vyrábí se zde takřka jen čaj zelené. Sklizeň ve velké míře probíhá strojově, což se však nevyrovná ruční sklizni provedené kvalifikovaným personálem. Sklizené listy se spařují horkou parou, předběžně se rolují, suší a vzniklý polotovar Arocha se prodává specializovaným výrobcům, kteří z něj vyrábí běžné čaje. Výjimečně se pro zpracování čaje používá čínská

metoda suchého tepla. Japonskou zvláštností je zastíňování rostlin po určitou dobu před sklizní z důvodu ovlivnění složení čaje (viz. kap. 1.3.2) [5;6].

Japonské zelené čaje mají oproti ostatním zeleným čajům poněkud odlišný chuťový a vonný profil, kde obvykle dominují zelené tóny, které připomínají vůni i barvou mořské řasy. U japonských čajů platí pravidlo, že čím je list tmavěji zelený, tím je také kvalitnější. Aromatický posun čaje k mořským řasám je způsoben látkami jako dimetylsulfid, kadinen či různými deriváty hexenalu. Obsah těchto látek je důvod, proč se pro luhování japonských zelených čajů doporučují nižší teploty vody, kolem 70 °C. Nižší teplota luhování způsobí pouze mírné uvolnění dimetylsulfidu, který je v čaji klíčovým vonným prostředkem a který má při slabých koncentracích svěží, květinovou vůni. Naopak vysoké koncentrace vůni negativně ovlivňují a mohou připomínat vůni vařené zeleniny (např. chřestu). Mezi japonské typy čaje patří Bancha, Sencha, Gyokuro a čajové speciality jako Kokeicha, Kukicha a Matcha [5;8].

### 1.3 Matcha

Slovo matcha lze doslovně přeložit jako šlehaný čaj. Čajový obřad, při kterém se matcha připravuje se nazývá čanojú (chanoyu). Matcha se dělí na dva druhy – koicha (hustý čaj) a usucha (řídký čaj). Původně se připravoval pouze typ koicha, později se s rozvojem čajových obřadů vyvinula usucha, která je více preferovaná dodnes. Je to lehký napěněný čaj a obsahuje více kofeinu než čaj luhovaný. Technicky řečeno je matcha spíše suspenzí a nikoliv nálevem [9].

#### 1.3.1 Dějiny čaje matcha

První zmínky o čaji matcha pochází z Číny, kde se běžně pil už od 8. století. Ke vzniku došlo rozšířením tradice běžného zpracování čaje, kdy se napařený a vysušený čaj lisoval do cihel. Následný proces výroby čaje matcha ovlivnili čínští mniši. Z cihel odlámali kousky čaje a v hmoždíři je rozemleli na jemný prášek, který pak v misce rozmíchali s horkou vodou. Míchání umletých čajových lístků se stalo součástí každodenního zen-buddhistického obřadu [10].

V Japonsku se matcha poprvé objevila ve 12. století spolu s buddhisty vracejícími se z Číny. Značnou oblibu měla nejprve mezi mnichy, kteří ji pili během meditací, aby zůstali bdělí. V 16. století se pak matcha rozšířila i mezi ostatní obyvatele Japonska [9]. Zatímco Číňané začali preferovat jiné čaje, jako např. pu-erh, oolong nebo černý čaj, v Japonsku obliba zeleného čaje matcha rostla a stala se nedílnou součástí

života Japonců. To je také důvod, proč je matcha v současnosti spojována spíše s Japonskem než s Čínou. Díky značné oblibě vznikl pro přípravu čaje tradiční japonský čajový obřad (čanoju), během kterého se používá několik nástrojů, které se souhrnně nazývají dogu. Nejdůležitějšími z nich jsou bambusová metlička (časen), čajová lžička (čašaku) a čajová miska (čawan), které jsou zobrazeny na Obrázku č.1 [6;10].



Obrázek č. 1: Pomůcky pro čajový rituál, Barbora Kadavá

### 1.3.2 Výroba čaje matcha

Matcha je druh práškového zeleného čaje (*Camellia sinensis*). Začátkem dubna začínají na keřích čajovníku rašit pupeny, a právě v tomto období se čajovníková pole téměř úplně zastíní. Pro zastínění se používají dva typy – tana, který se používá pro rozlehlé komerční plantáže, kde jeho funkce spočívá v konstrukci, na které jsou nataženy sítě a která je postavená po celé ploše pole. Druhý typ džikagise používají spíše drobní pěstitelé, kteří čajovník zakryjí velkým kusem látky nebo podle tradiční metody bambusovými rohožemi, aby byly listy chráněny před nadměrným slunečním zářením. Proces zastínování vede k narušení schopnosti fotosyntézy, což vede k vytvoření většího množství L-theaninu a brání vzniku tříslovin, jež způsobují trpkou chuť čaje [10;11]. Zastínění čajovníku během období jeho růstu podporuje také procesy syntézy a akumulace biologicky aktivních sloučenin jimiž jsou kromě zmíněného L-theaninu také kofein, chlorofyl a různé typy katechinů [11]. Po sklizni se v továrně natrhané listy napaří

při velmi vysoké teplotě tak, aby se zastavil fermentační či oxidační proces a tím se zachovala atraktivní zelená barva. Napařování trvá pouze 20 vteřin. Poté se lístky vysuší, čímž se sníží jejich vlhkost. Tato fáze se nazývá arača (v japonštině „hrubý čaj“). Další zpracování probíhá odstraněním stonků, žilek a dalších nechtěných částí. Funguje to tedy tak, že se listy prosejí, protřídí a v separátoru barev se odstraní všechny lístky, které nejsou jasně zelené. V této fázi, označované jako tenča, se stanoví jakostní třída a pomocí kamenného mlýna s žulovými kameny se umele jemný prášek – matcha. Mletí probíhá za přísných podmínek s nízkou, stabilní teplotou, nulovou vlhkostí a bez přístupu světla, a to z důvodu zachování jasně zelené barvy a čerstvosti. Tato výroba je ekonomicky náročná, a tak často vznikají levnější náhražky, které lze spíše než matchou, nazývat zeleným práškovým čajem. Rozdílů ve výrobě japonského čaje matcha a čínského je několik. Japonská matcha se pěstuje ve stínu. Při výrobě se používá napařování lístků, které mají jasně zelenou barvu. Výsledný produkt je pak také jasně zelený, bez svíravé chuti. Oproti tomu čínská matcha se většinou nepěstuje ve stínu a barva lístků je hnědá až žlutá. Lístky se při výrobě praží na pánvi wok a výsledný produkt v šálku je nahnědlý s hořkou chutí. Barvy prášků čaje matcha lze také porovnat na Obrázku č. 2. Matcha se kromě Číny a Japonska vyrábí například i v Keni, kde se mele z listů bílého čaje nebo v Jihoafrické republice, kde vzniká z čaje rooibos. Označení matcha tak nemá jasně dané parametry [6;10;12].





Obrázek č. 2: Matcha prášek vyrobený v Číně (vlevo) a v Japonsku (vpravo), Barbora Kadavá

### 1.3.3 Obsahové látky a zdravotní účinky matcha čaje

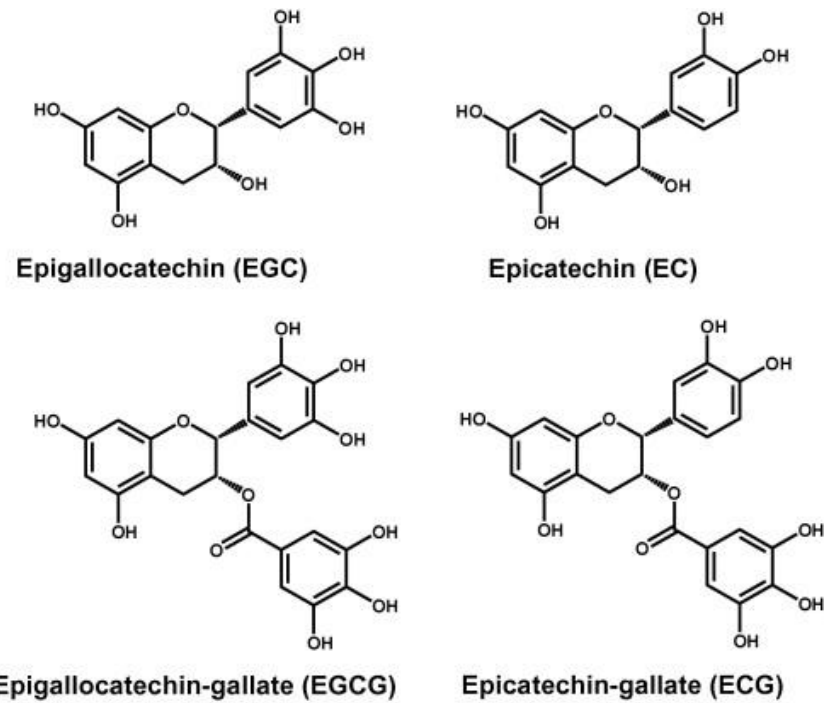
Pěstování keřů ve stínu podporuje tvorbu aminokyselin a chlorofylu. Důležitá aminokyselina vyskytující se v čaji se nazývá L-theanin [10]. L-theanin je unikátní chuťová složka s karamelovou příchutí, která zmírňuje hořkost kofeinu. Jako sekundární metabolit v čaji je L-theanin hlavním zdrojem čajové chuti. Může být také využíván jako jeden z ukazatelů pro odhad čerstvosti čaje. Kromě toho má mnoho zdraví prospěšných účinků, mezi které lze zařadit antioxidační, protizánětlivé, neuroprotektivní a protirakovinné účinky. Prevence kardiovaskulárních onemocnění, ochrana jater, ledvin a imunitní regulační účinky jsou pak také neméně významnými přínosy této bioaktivní sloučeniny. Díky své chuti a rozmanitým zdravotním přínosům má L-theanin široké uplatnění, například jako přísada do nápojů nebo doplňků stravy [13]. Dle studie japonských vědců, kteří se mimo jiné zabývali vlivem čaje matcha na snížení stresu, byl rozdíl v obsahu L-theaninu u japonského matcha čaje (21–34 mg/g) a matcha čaje pocházejícího z jiných zemí (4–16 mg/g) [14].

Kofein je základní složkou čaje a podílí se na jeho výrazné chuti. Obsah je ovlivněn odrůdou čaje a jeho hladina souvisí také s dobou sklizně a stářím listů – čím starší listy, tím je obsah kofeinu nižší. Prášková matcha má ve srovnání se zeleným čajem poměrně vysoký obsah kofeinu – jeho obsah se pohybuje v rozmezí 19–44 mg/g. V zeleném čaji je obsah kofeinu mezi 11–25 mg/g. Pro srovnání, většina kávových zrn obsahuje 10–12 mg

kofeinu/g zrn. Účinky kofeinu mají antioxidační potenciál, podporují neutralizaci reaktivních forem kyslíku a zvyšují aktivitu antioxidačních enzymů a celkovou hladinu glutathionu. V pravidelných dávkách může kofein snížit přetrvávající oxidační stres a také rizika onemocnění, která jsou způsobena volnými radikály. Kofein pomáhá také inhibovat sekreci prozánětlivých cytokinů, což prokazuje protizánětlivé účinky [11]. Kofein má proti L-theaninu silný antagonistický účinek [14].

Obsažený chlorofyl propůjčuje lístkům, a i výslednému produktu jasnou, zelenou barvu a také společně s jeho deriváty vykazují silnou antioxidační a protizánětlivou aktivitu [10;11]. Zdravotní přínosy zeleného čaje vyplývají z přítomnosti přírodních antioxidantů, jakými jsou polyfenoly, které představují širokou škálu sloučenin tvořících až 30 % suché hmotnosti zeleného čaje. Polyfenoly jsou považovány za výjimečně silné antioxidanty, s účinky srovnatelnými s vlivem vitamínu C, karotenem a tokoferolem [11]. Vysoký podíl polyfenolů je díky šetrnému procesu zpracování matcha čaje zachován ve své nejreaktivnější podobě. Mezi ty nejúčinnější patří epigalokatechingalát (EGCG), epigalokatechin (EGC), epikatechingalát (ECG), epichatechin (EC) a katechin (C) [15], jejichž struktura je uvedena na Obrázku č. 3. Antioxidační aktivita katechinů má schopnost neutralizovat volné radikály a posilovat detoxikační aktivitu enzymů, včetně glutathionperoxidázy, katalázy a glutathionreduktázy. Katechiny mají větší antioxidační kapacitu než glutathion, vitamín C a flavonoidy, což svědčí o jejich klíčové roli při udržování buněčné redoxní homeostázy [11]. Extrakty zeleného čaje chrání vitamin E před oxidací. Vitamin E je antioxidant rozpustný v tucích a díky tomu, že neutralizuje volné radikály napadající LDL-cholesterol, hraje významnou roli v prevenci srdečních chorob [16;17]. Obsah rutinu, který patří mezi polyfenolové sloučeniny, má také silný antioxidační a protizánětlivý účinek. Jeho synergická interakce s kyselinou askorbovou zvyšuje ochranné účinky obou látek v kardiovaskulárním systému a posiluje krevní cévy. Má také antidiabetické vlastnosti, čímž předchází riziku onemocnění diabetem [11]. Další obsaženou látkou v matcha čaji je kvercetin. Kvercetin je fytochemikálie s antioxidační a neuroprotektivní aktivitou, která normalizuje metabolismus sacharidů tím, že inhibuje absorpci glukózy z gastrointestinálního traktu a reguluje sekreci inzulínu se zlepšením citlivosti na inzulín ve tkáních. Kombinace kvercetinu s EGCG zvyšuje antikarcinogenní účinky. Studie dále potvrzují pozitivní vliv čaje matcha na duševní pohodu, kdy obsahové látky L-theanin s argininem snižují stres. Jak již bylo uvedeno přítomný kofein a také EGCG působí na L-theanin antagonisticky [14]. Množství zdraví prospěšných účinných

látek obsažených v čajových nápojích závisí na druhu čaje, množství čajových lístků na porci, teplotě a době louhování [11].



Obrázek č. 3: Struktura čtyř hlavních katechinů v zeleném čaji [18]

## 2 POLYFENOLY

Polyfenoly neboli polyfenolické sloučeniny jsou látky obsahující ve své molekule dvě nebo více hydroxylových skupin navázaných na aromatické jádro. V přirozeném prostředí plní různé funkce a jsou zastoupeny skoro ve všech rostlinách [19]. Jsou nedílnou součástí stravy zvířat a lidí, neboť se jedná o produkty sekundárního metabolismu rostlin. Polyfenoly vznikají biogenetickým způsobem, a to dvěma hlavními syntetickými cestami – šikimátovou, kde je meziproduktem metabolické dráhy tzv. šikimát a acetátovou [20].

V rostlinách plní polyfenolické sloučeniny různé funkce, mezi které patří mechanická výztuha těla rostlin, ochrana rostlinných organismů před UV zářením, patogeny či projevy oxidačního stresu, fungují také jako molekuly signální, nebo plní ochrannou funkci před konzumenty [19].

Dříve byly polyfenoly považovány za škodlivé pro organismus, a to zejména z důvodu schopnosti vázat se na makromolekuly, kterými jsou například trávicí enzymy, sacharidy nebo proteiny. Postupně však došlo k poznání pozitivních antioxidačních účinků polyfenolů a jejich významu v prevenci nemocí, jejichž vznik souvisí s oxidačním stresem [20].

### 2.1 Dělení polyfenolů

Polyfenolické sloučeniny se dělí dle chemické struktury. Lze je rozdělit do tříd, kde některé sloučeniny jsou jednoduché – tvořeny jedním aromatickým kruhem a jiné naopak vysoce polycyklické [20]. Za základní dělení těchto sloučenin je možno považovat dělení na nonflavonoidy (s jedním aromatickým kruhem) a flavonoidy (polycyklické) [21]. Polyfenoly se dále mohou dělit do skupin podle počtu aromatických kruhů a způsobu vazby mezi nimi na fenolové kyseliny, flavonoidy, stilbeny a lignany [22].

Přírodní polyfenoly se vyskytují v konjugované formě se sacharidovými jednotkami, což mohou být monosacharidy, disacharidy nebo oligosacharidy. Nejčastěji připojeným sacharidem je glukóza. Kromě sacharidů jsou možné také vazby s aminy, lipidy, karboxylovými či organickými kyselinami nebo s jinými fenoly [20].

#### Fenolové kyseliny

Fenolové kyseliny lze rozdělit do dvou základních tříd. První třídou jsou deriváty kyseliny benzoové, kam se řadí hydrolyzované taniny a kyseliny ellagová a gallová.

Do druhé třídy patří deriváty kyseliny skořicové, kterými jsou kyselina kávová, ferulová, chlorogenová, sinapová a p-kumarová [22].

Deriváty kyseliny benzoové (hydroxybenzoové kyseliny) se běžně vyskytují v bobulovinách s červeným barvivem (např. ostružiny, maliny, jahody) a v různých typech ořechů. Mezi další potraviny rostlinného původu s výskytem této kyseliny patří také fialově zbarvené druhy cibule či černá ředkev. Významným zdrojem kyseliny gallové je rostlina čajovníku (*Camellia sinensis*) [23].

Deriváty kyseliny skořicové se nacházejí ve svrchních vrstvách ovoce. Nejrozšířenějším derivátem této kyseliny je kyselina kávová, jejímž esterem je kyselina chlorogenová, která se vyskytuje kromě ovoce ještě v zelenině a v kávě. Významným zdrojem kyseliny chlorogenové, jsou pak brambory, na kterých lze pozorovat, jak vlivem tepelné úpravy fenolové kyseliny degradují. Ke zdrojům patří také obiloviny, kde má největší zastoupení kyselina ferulová [22].

Základní třídy fenolových kyselin se vyskytují ve volné i v esterifikované formě. Deriváty fenolových kyselin vykazují antioxidační účinky [24].

## Flavonoidy

Flavonoidy jsou nejvýznamnější skupinou polyfenolů. Vyskytují se nejčastěji jako glykosidy, méně často pak v podobě volných látek a lze je také uvádět coby nezávislou skupinu rostlinných barviv. Ve své molekule obsahují dvě benzoová jádra, která jsou spojena tříuhlíkovým řetězcem [24]. Flavonoidy se dělí dle základní struktury na šest podtříd. Podtřídy flavonoidů jsou: flavonoly, flavony, isoflavony, flavanony, anthokyanidiny a flavanoly, do nichž se řadí katechiny a proanthokyanidiny. Flavonoly a flavony tvoří žluté rostlinné pigmenty [22].

Hlavními zástupci flavonoidů jsou flavonoly. Shromažďují se ve vnějších částech rostlinných tkání. Jejich syntéza v rostlině je stimulována fotosyntetickými procesy. Mezi nejbohatší zdroje flavonolů patří česnek, brokolice, pórek, jablka a borůvky [25]. Flavonoly jako takové se dělí na dva typy – glykosidy a aglykony. Nejznámějším glykosidem je rutin (nosič trpké chuti), mezi zástupce aglykonů patří kvercetin, kemferol, isorhamnetin a myricetin [24]. Kemferol se hojně vyskytuje v čaji, brokolici, jahodách a fazolích a prokazatelně působí při regulaci rakovinných buněk. Jeho obsah je v černém čaji přibližně 1,7 mg/100 ml. Kvercetin snižuje krevní tlak a potlačuje zánětlivé reakce. Obsah kvercetinu v černém čaji je kolem 2,5 mg/100 ml nápoje [26]. Bohatým zdrojem rutinu je pak čaj matcha, jehož obsah se zde pohybuje kolem 1500 mg/l. Pro porovnání,

nálev ze zeleného čaje obsahuje přibližně 37 mg/l, tedy několikanásobně méně než matcha. Matchu lze tedy označit jako zdroj rutinu a ve srovnání s ostatními rostlinnými zdroji zaujímá velmi vysoké postavení [27].

Flavanoly se vyskytují v podobě monomerů (tzv. katechinů) a v podobě polymerů (tzv. proanthokyanidinů), které se rovněž nazývají taniny. Katechiny se nacházejí zejména v čokoládě a v zeleném čaji, což jsou jejich nejbohatší zdroje [22]. Šálek čaje připravený z 2,5 g čajových lístků obsahuje 240–320 mg katechinů. Hlavními účinnými látkami katechinového typu v zeleném čaji jsou epigalokatechin galát (EGCG), epigalokatechin (EGC), epikatechin galát (EKG) a epikatechin (EC) [28]. Obsahově je v matchy nejvíce zastoupen EGCG 48,44–59,34 mg/g, EKG 9,96–25,41 mg/g, EGC 8,40–14,86 mg/g a nejméně EC 2,50–4,26 mg/g [14]. Katechiny se nachází také v meruňkách, třešních, broskvích, jablcích nebo ve fazolích, červeném víně či v jablečném moštu, který prošel alkoholovým kvašením. Monomerické flavanoly velmi snadno oxidují. Právě to je důvodem, proč černý čaj – kvůli fermentaci – není tak výrazným zdrojem katechinů. Díky oxidaci ovšem vznikají komplexnější kondenzované polyfenoly, tearubigeny a teaflaviny [22].

Taniny jsou vysoce polymerizované sloučeniny [20]. Nazývají se také flavolany či proanthokyanidiny. Velmi často se lze setkat také s pojmem třísloviny. Jejich struktura je různá, jedná se tak o dimery, polymery a oligomery flavonoidních látek [29]. Jsou to vysoce hydroxylované molekuly, které ve spojení se sacharidy a proteiny mohou tvořit nerozpustné komplexy. Právě díky této schopnosti ve spojení s proteiny ve slinách člověka vytvářejí svíravou chuť ovoce a některých nápojů – trpkost. Jako příklady ovoce lze uvést broskve, různé bobuloviny, hrušky, jablka, vinnou révu, granátové jablko a jiné. Z nápojů je možné zmínit džusy a mošty ze jmenovaného ovoce a dále víno, pivo a čaj [22]. Taniny jsou velmi významné při chuťovém vnímání potravin. Nežádoucí jsou v nedozrálém ovoci, a naopak žádoucí jsou v chuti červeného vína, piva, čaje nebo kávy [24]. U ovoce se podíl taninů mění v závislosti na dozrání ovoce. S dosažením zralosti se jejich výskyt rapidně snižuje k nule. Taniny ovlivňují i hořkou chuť čokolády [22]. Obsah taninů v zeleném čaji se pohybuje kolem 50 mg/l [30].

Výrazná chuť taninů hraje roli při obraně rostlin proti konzumentům (nezávisle na řádu). Trpká chuť může zvířata od konzumace odradit, což se projevuje zejména u mladých výhonů stromků, které jsou takto chráněny proti okusu [29].

## Stilbeny

Stilbeny se strukturou podobají flavonoidům. Mohou se vyskytovat ve volné formě, nebo ve formě glykosidů. V organismu rostlin hrají svou úlohu jako chemická odpověď organismu na stres, jsou sekundárními metabolity s antimikrobními vlastnostmi (tzv. fytoalexiny). V lidské stravě se vyskytují pouze v malém množství, a to konkrétně v červeném víně, kde se nachází v podobě stilbenů s názvem resveratrol [22;31].

## Lignany

Lignany se řadí do skupiny fytoestrogenů, tedy látek schopných navázat se na estrogenové receptory podobně jako je tomu u isoflavonů. V lidské stravě rovněž nemají velké zastoupení, neboť se vyskytují zejména ve slupkách různých semen. Nejbohatším zdrojem je semeno lnu setého (*Linum usitatissimum*), lněné semínko obsahuje přibližně 294,21 mg/100 g lignanu [32;33]. Lignany se nachází také v čaji, kde je jejich obsah podobný v čaji černém i zeleném 0,0392–0,0771 mg/100 g nápoje. Zdravotní přínosy lignanů jsou např. snížení rizika srdečního onemocnění, symptomů menopauzy, osteoporózy a rakoviny prsu [33].

## 2.2 Metody stanovení polyfenolů

Metody stanovení polyfenolů lze rozdělit na metody pro stanovení celkového obsahu polyfenolů a na metody stanovující pouze určitou skupinu, popřípadě jednotlivé fenolické látky. K stanovení celkového obsahu polyfenolů (Total Phenolic Content) lze využít spektrofotometrických metod s činidlem Folin-Ciocalteu, Folin-Denis či test Pruskou modří, jehož stanovení je založeno na redukcí železitých iontů na železnaté. Pro detekci určitých skupin nebo jednotlivých druhů fenolických látek lze použít chromatografické metody. Pro stanovení katechinů či proanthokyanidinů je možné využít také upraveného vanilinového testu [34;35].

### 2.2.1 Spektrofotometrické metody

#### Metoda s činidlem Folin-Ciocalteu

Metoda je založená na chemické redukcí činidla, které je tvořeno směsí kyseliny fosforečno-wolframové ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) a kyseliny fosforečno-molybdenové ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ). Využívá se zejména ke stanovení celkového obsahu polyfenolů. Fenoly, které jsou přítomné ve vzorku, se v zásaditém prostředí oxidují Folin-Ciocalteu činidlem. Princip je

založen na barevné změně při reakci polyfenolů s činidlem, které je původně bezbarvé, popřípadě může být žluté. Po oxidaci fenolů proběhne redukce kyselin na polymerní komplex – směs modrých oxidů wolframu ( $W_8O_{23}$ ) a molybdenu ( $Mo_8O_{23}$ ). Vzniklé modré zbarvení absorbuje v oblasti vlnové délky  $\lambda=765$  nm a je úměrné celkovému množství původně přítomných fenolových sloučenin. Výsledek je vyjádřen jako ekvivalent kyseliny gallové. Folin-Ciocalteu činidlo reaguje s většinou redukcí schopných molekul, například i s kyselinou askorbovou, která je zmíněna v následující kapitole. Právě reakce s redukcí schopnými molekulami je důvod, proč celkový obsah polyfenolů koreluje s metodami pro stanovení antioxidační aktivity [36;37].

## 2.2.2 Chromatografické metody

### Tenkvrstvá chromatografie

Tenkvrstvá chromatografie (TLC – Thin Layer Chromatography) je separační metoda využívající tenkou vrstvu silikagelových desek. Slouží k rychlé, finančně nenáročné izolaci a identifikaci polyfenolů např. ve víně. Analýza se obvykle provádí pomocí skenování TLC destiček za použití UV záření při vlnových délkách 250–260 nm a 350–365 nm [35].

### Vysokoúčinná kapalinová chromatografie

Metoda HCLP (High Performance Liquid Chromatography) neboli vysokoúčinná kapalinová chromatografie je rovněž separační technika, při které dochází k rozdělení směsi látek mezi stacionární (nepohyblivou) a mobilní fázi (pohyblivou), kterou tvoří kapalina. Vzorky jsou dávkovány do mobilní fáze, která následně unáší jednotlivé složky na kolonu, kde dochází k opakovanému ustanovení rovnováhy mezi stacionární a mobilní fází a také k separaci analytů podle fyzikálně-chemických vlastností. K vyhodnocení lze využít UV-VIS spektrofotometr, fluorescenční, refraktometrický či vodivostní detektor [34].

### Plynová chromatografie

Plynová chromatografie (GC – Gas Chromatography) je separační metoda, kde mobilní fázi tvoří interní plyn. Stacionární fáze je zpravidla tvořena tenkou vrstvou viskózní kapaliny, která se nanáší na vnitřní povrch kapilární kolony. Složky s nižší afinitou jsou pohyblivější, tím dochází k separaci jednotlivých složek. Pro vyhodnocení je zde možné využít detektory plamenově ionizační, hmotnostně spektrometrické nebo detektor elektronového záchytu [35].



### 2.3 Účinky polyfenolů na lidský organismus

Jak již bylo ve výčtu polyfenolů naznačeno, jejich účinků na lidský organismus je celá řada. Hovořit lze o biologických účincích antioxidantních, estrogenních, angiogenních, protizánětlivých, antimutagenních, antikarcinogenních, imunomodulačních a účincích na endoteliální funkce. Polyfenoly mají na lidský organismus vliv v podobě antioxidantu čili látky, která z organismu odstraňuje vysoce reaktivní kyslíkové radikály, což v důsledku ovlivňuje proces stárnutí organismu a tlumí projevy kardiovaskulárních chorob, projevy onemocnění trávicího traktu, zánětlivé procesy v organismu nebo potlačují škodlivé účinky karcinogenních látek [38;39].

Estrogenní účinky některých polyfenolů (např. lignany nebo isoflavony) spočívají v jejich schopnosti navazovat se na estrogenové receptory, což může organismus člověka vyhodnotit jako zvýšenou tvorbu potřebného estrogenu, nač tělo dále reaguje. Velký význam má výzkum těchto fytohormonů na vznik rakoviny prsních žláz nebo rozvoji osteoporózy, což jsou projevy častější v období klimakteria. Z tohoto důvodu jsou dnes starším ženám doporučovány doplňky stravy, jejichž účinnou látkou jsou právě fytohormony [29].

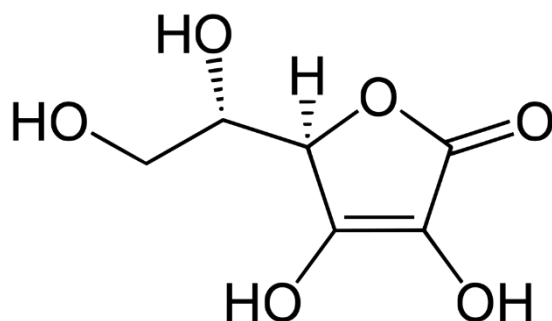
Polyfenoly také posilují imunitní systém (imunomodulační funkce) a díky výše zmíněným vlastnostem a procesu iniciace tvorby oxidu dusného v organismu přispívají k antihypertenzivním, vasoprotektivním a vasodilatačním účinkům. Pozitivně ovlivňují jednovrstevný epitel lymfatických a krevních cév, potažmo srdce s čímž souvisí jejich vliv na endoteliální a angiogenní funkce v organismu [22;40].

Matcha je bohatým zdrojem flavonoidů, zejména rutinu. Rutin je sloučenina, která působí antioxidantně, a kromě toho pomáhá utěšňovat krevní cévy, má protizánětlivé vlastnosti a podporuje imunitní systém. Zpomaluje také oxidaci vitamínu C, z tohoto důvodu jsou vyráběny doplňky stravy, které obsahují kombinaci těchto dvou složek [27].

### 3 VITAMIN C

#### 3.1 Struktura, stabilita a fyziologie

Základní biologicky aktivní složkou je kyselina askorbová, jejíž vzorec je uveden na Obrázku č. 4. Nachází se ve čtyřech stereoisomerech, kde aktivitu vitamínu C vykazuje pouze kyselina L-askorbová. Sumární vzorec této kyseliny je  $C_6H_8O_6$  s molární hmotností  $176,13 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$  a bodem tání  $190 \text{ }^\circ\text{C}$ . Kyselina askorbová je bílý krystalický prášek a řadí se mezi ve vodě rozpustné vitaminy [35].



Obrázek č. 4: Strukturní vzorec kyseliny askorbové [35]

Vitamin C označuje celý reverzibilní oxidačně-redukční systém, do kterého se kromě kyseliny L-askorbové řadí také produkty jedno či dvouelektronové oxidace. Tyto sloučeniny se ve fyziologickém pH vyskytují jako anionty. Nejvýznamnější reakcí vitamínu C je autooxidace, tedy oxidace vzdušným kyslíkem, která je zodpovědná za ztrátu vitamínu C v potravinách během skladování nebo zpracování. Důležitým faktorem je závislost na pH prostředí, kdy v kyselém prostředí probíhá reakce pomalu, a naopak s rostoucí zásaditostí oxidace roste. Kyselina askorbová je sloučenina velice labilní, kdy k jejím ztrátám dochází různými způsoby. Nejvíce se vitamin C ztrácí výluhem a oxidací. Při absenci vzdušného kyslíku jsou ztráty způsobeny kyselinami katalyzovanou degradací. Nejstabilnější je kyselina askorbová v kyselém prostředí. Faktorů, které ovlivňují její množství je několik, mezi ty nejvýznamnější patří teplota, pH či množství přítomného kyslíku [35;41].

Vitamin C působí jako antioxidant. Většina živočichů má schopnost si jej samo syntetizovat, pouze lidé, morčata a lidoopi musí hledat zdroje v potravě. Vitamin C hraje důležitou roli při tvorbě vaziva a kolagenu, který je potřebný pro růst organismu a nápravu poškozených vazivových tkání, čímž přispívá k rychlejšímu hojení ran. Souvisí také s pevností stěn krevních cév, kůže a kostí. Jeho spotřeba vzrůstá při dlouhodobém stresu.

Doporučená denní dávka pro dospělého člověka se uvádí 75 mg. Při běžném příjmu vitamínu z potravy má organismus omezenou schopnost vstřebat celou dávku přes střevní stěnu. Zvýšené dávky vitamínu C se doporučují, např. pro posílení imunity po chemoterapeutické léčbě, při náporu stresu nebo pro podporu udržení kolagenu v podkoží. Pro takové doplnění vitamínu v těle je vhodné podání infuzní formy [41;42].

### 3.2 Metody stanovení vitamínu C

Obsah vitamínu C ve vzorcích lze stanovit jako součet kyseliny L(+) askorbové a dehydro L(+) askorbové [43]. Vzhledem k odlišným vlastnostem těchto dvou kyselin je výběr vhodné metody, která by stanovila přesné hodnoty často složitý. Problém je také v citlivosti a stabilitě obou kyselin [44].

#### Stanovení metodou HPLC

Kyselina dehydroaskorbová se redukuje na kyselinu askorbovou a celkový obsah se následně stanoví pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie s UV detekcí při vlnové délce 265 nm. Spojením chromatografické separace s různými typy detektorů je HPLC metoda o poznání specifičtější než jiné metody. Metody kapalinové chromatografie umožňují společné stanovení kyseliny askorbové, isoaskorbové včetně jejich dehydroforem [43;45].

#### UV detekce

Kyselina askorbová absorbuje UV záření v závislosti na pH v rozmezí vlnových délek 245–265 nm. Absorpční maximum kyseliny dehydroaskorbové se nachází při vlnové délce 185 nm, při vlnových délkách nad 220 nm se jeho hodnota snižuje. Z tohoto důvodu se při společném stanovení jako první stanoví kyselina askorbová, poté se provede redukce kyseliny dehydroaskorbové, a nakonec se stanoví celkový obsah vitamínu C [45].

#### Titrační metody

Mezi titrační metody, které jsou využívány nejčastěji, patří reakce kyseliny askorbové s 2,6-dichlorfenolindofenolem v kyselém prostředí. Při tomto stanovení se kyselina askorbová oxiduje na kyselinu dehydroaskorbovou, modře zbarvený 2,6-dichlorfenolindofenol se redukuje na bezbarvou bázi [46]. Další možností je jodometrické stanovení kyseliny askorbové, kdy se rovněž v kyselém prostředí kyselina askorbová oxiduje na kyselinu dehydroaskorbovou. Odměrným roztokem je zde roztok jodu [44].

Metody pro stanovení vitamínu C se neustále zdokonalují. V současnosti k nim dále patří enzymatické metody, spektrofotometrické metody či fluorometrie [44].

### 3.3 Vitamin C v potravinách

Vitamin C je jednou z obsahových látek čaje. Jeho množství je závislé na druhu zpracování, kde ke ztrátám dochází především vlivem tepelného namáhání. Přirozená hladina kyseliny askorbové je v čajových listech nízká. Výzkum ukazuje, že při zpracování suroviny dochází mezi čerstvým listem a hotovým čajem ke ztrátám až 90 % [47]. Matcha infuze je jako zdroj vitamínu C nejbohatší. Průměrný obsah je zde v rozsahu 33–45 mg/l v závislosti na typu produktu a jeho původu [27]. V čaji reaguje kyselina askorbová s přítomnými katechiny za vzniku stabilních sekundárních polyfenolů [18].

Vitamin C se snadno ničí při skladování, při vaření a dalších kulinárních úpravách, a to z důvodu přechodu kyseliny askorbové na kyselinu dehydroaskorbovou, která snadno otevírá laktonový kruh, což má za následek ztrátu biologické aktivity. Rozklad vitamínu urychlují také enzymy a stopy kovů z nádobí což znamená, že ztráty nastávají již při zpracování rostlinného materiálu [41]. Kyselina askorbová má kvůli svým vlastnostem, kdy působí jako vitamin, antioxidant či chelatační činidlo, široké uplatnění v potravinářském průmyslu. Lze ji použít jako aditivum v konzervářské a kvasné technologii a také v technologii masa či tuků. Přidává se k ovocným džusům nebo k mrazírensky skladovanému ovoci jako případná ochrana před nežádoucími změnami vyvolanými oxidací při skladování a zpracování. Při loupání a krájení ovoce a zeleniny ji lze využít jako inhibitor reakcí enzymového hnědnutí. Přídavek kyseliny askorbové k masu a k masným výrobkům společně s dusitanovými solemi zkvalitňuje výrobu a případně zkracuje dobu uzení a stabilizuje barvu hotových výrobků [35].

Nejbohatším zdrojem vitamínu C je čerstvé ovoce a zelenina. Vysoký obsah lze nalézt v černém rybízu, paprice nebo kadeřavé petrželi. Jeho množství je však závislé na vegetačních podmínkách během růstu, stupni zralosti a posklizňovém opracování. Z živočišných potravin lze za zdroj vitamínu C uvést pouze játra. Další potraviny jsou jako zdroj vitamínu zanedbatelné [35].

## 4 VODA

Voda je důležitou složkou lidské stravy. Používá se k přípravě různých jídel a pokrmů včetně nápojů, kterými mohou být nálevy čaje, kávy nebo bylin. Složení vod a úroveň jejich mineralizace je pro člověka zdrojem důležitých minerálních látek a také ovlivňuje organoleptické vlastnosti vody. Minerální vody jsou podzemní vody, které se od běžně dostupných vodovodních vod liší nepřítomností kontaminantů a stabilním obsahem minerálních látek. V závislosti na koncentraci jednotlivých prvků mohou mít takové vody nižší nebo vyšší stupeň mineralizace. Léčivé, vysoce mineralizované vody se vyznačují vysokým obsahem rozpuštěných solí či plynů, které jsou zodpovědné za specifické, zdraví prospěšné vlastnosti [48].

### 4.1 Pitná voda

Zákon 258/2000 Sb. o ochraně veřejného zdraví definuje jako pitnou vodu, veškerou vodu v původním stavu nebo po úpravě, která je určena k pití, vaření, přípravě jídel a nápojů a dále jako vodu, která je používána v potravinářství, k péči o tělo a k čištění předmětů, které svým určením přichází do styku s potravinami nebo lidským tělem. Hygienické požadavky na zdravotní nezávadnost a čistotu pitné vody stanovují hygienické limity mikrobiologických, biologických, fyzikálních, chemických a organoleptických ukazatelů, které jsou upraveny prováděcím právním předpisem. Za pitnou vodu se nepovažují přírodní léčivé zdroje a přírodní minerální vody [49].

Tvrdost vody není jednotně definovaná, zpravidla se však jedná o obsah všech vícemocných kationtů kovů alkalických zemin ve vodě. Zejména jde o obsah  $\text{Ca}^{2+}$  a  $\text{Mg}^{2+}$ , kdy množství těchto dvou prvků rozhoduje o tvrdosti vody. Tvrdost vody ovlivňuje její využití jako pitné i užitkové vody. Je zdrojem vodního kamene, působí na chuťové vlastnosti vody a negativní vliv má také na pokožku těla. Tvrdost vody může být přechodná nebo trvalá. Přechodnou tvrdost lze odstranit varem, trvalou nikoliv. Jednotkou tvrdosti vody je mmol/l. Limitní hodnoty pro koncentraci vápníku a hořčíku jsou dle platné legislativy dány pouze jako doporučené hodnoty, což znamená, že se jedná o doporučené mezní hodnoty, které stanovují optimální rozmezí daného ukazatele. Ve vyhlášce č. 252/2004 Sb. upravující požadavky na pitnou a teplou vodu je pro součet vápníku a hořčíku uvedena doporučovaná hodnota 2,0–3,5 mmol/l [50;51]. Rozpětí koncentrace vápenatých a hořečnatých iontů ve vodě je uvedeno v Tabulce č.1.

Tabulka č. 1: Meze tvrdosti vody [52]

Voda	c (Ca <sup>2+</sup> +Mg <sup>2+</sup> ) mmol/l
Velmi měkká	<0,7
Měkká	0,7–1,25
Středně tvrdá	1,26–2,5
Tvrdá	2,51–3,75
Velmi tvrdá	>3,76

## 4.2 Minerální vody

Vznik minerálních vod a jejich složení je podmíněno řadou činitelů, mezi které se řadí charakter a původ vody, vlastnosti hornin či sycení vody plynem. Nejdůležitějším faktorem ovlivňujícím vznik, kvalitu a vlastnosti vody je interakce mezi podzemní vodou a horninou [53]. Zdrojem přírodní minerální vody je přirozeně se vyskytující podzemní voda o původní čistotě a stálém složení. Z hlediska výživy má fyziologické účinky, které jsou dány obsahem minerálních látek a stopových prvků, které umožňují použití vody jako potravin a také k výrobě balených minerálních vod [54]. Minerální voda vhodná pro léčebné využití je voda, která splňuje alespoň jednu z uvedených podmínek, a sice obsah rozpuštěných pevných látek musí být nejméně 1 g/l, nebo musí obsahovat minimálně 1 g/l rozpuštěného CO<sub>2</sub> či jiného pro zdraví významného chemického prvku, nebo která má u vývěru přirozenou teplotu vyšší než 20 °C. Podmínky splní také minerální voda s radioaktivitou radonu nad 1,5 kBq/l [55].

Vyhláška č. 275/2004 Sb. o balených vodách definuje rozdíl mezi balenou minerální vodou a vodou pramenitou, kde se balenou přírodní minerální vodou rozumí výrobek získaný ze zdroje přírodní minerální vody, o kterém bylo vydáno osvědčení. Podzemní zdroje přírodní minerální vody jsou schvalovány Ministerstvem zdravotnictví. Balená pramenitá voda je výrobek z kvalitní vody z chráněného podzemního zdroje. Při výrobě pramenité vody je možné používat úpravy, které vodu zbavují např. železa nebo sloučenin síry. Vodu lze filtrovat nebo upravovat vhněním vzduchu s přídavkem ozonu. Pramenitá voda je oproti minerálním vodám, vhodná pro každodenní konzumaci [56].

Vyhláška č. 423/2001 Sb. Ministerstva zdravotnictví, kterou se stanoví hodnocení přírodních léčivých zdrojů a zdrojů přírodních minerálních vod rozděluje a hodnotí přírodní minerální vody dle:

- mineralizace s obsahem rozpuštěných pevných látek na minerální vody:
  1. velmi slabě mineralizované s obsahem látek do 50 mg/l
  2. slabě mineralizované 50–500 mg/l
  3. středně mineralizované 500–1500 mg/l
  4. silně mineralizované 500–5000 mg/l
  5. velmi silně mineralizované s obsahem látek vyšším než 5g/l
- obsahu rozpuštěných plynů na vody:
  1. uhlíčitě nad 1 g CO<sub>2</sub>/l vody
  2. sírné nad 2 mg titrovatelné síry na litr vody
  3. jodové nad 5 mg jodidů na litr vody
  4. ostatní, např. se zvýšeným množstvím fluoridů
- hodnoty pH na:
  1. silně kyselé – s pH pod 3,5
  2. silně alkalické – s pH nad 8,5

Další kritéria, podle kterých lze minerální vody klasifikovat jsou teplota vody u vývěru, osmotický tlak nebo na základě radioaktivity [55].

#### 4.2.1 Zdravotní účinky minerálních vod

Prameny minerálních vod se staly základem léčebného lázeňství po celém světě. Do pitného režimu je vhodné zařadit pouze omezené množství středně a silně mineralizovaných vod. Doporučované denní množství konzumace středně mineralizovaných vod je 500 ml. Mezi vody podléhající tomuto doporučení patří Magnesia, Korunní nebo Mattoni. Pro silně mineralizované vody je doporučovaná denní dávka ještě nižší, 300 ml. Při dlouhodobém překračování tohoto množství hrozí díky vysokému obsahu sodíku hypertenze či poruchy acidobazické rovnováhy. Pro léčebné účely je pití silně mineralizovaných vod využíváno zejména ke zlepšení peristaltiky střev

nebo pro diuretické účinky. Některé silně mineralizované vody jsou doporučovány také při onemocnění žaludku nebo při zánětech dýchacích cest [57].

Minerální vody se zvýšeným obsahem hořčíku mohou být využívány u gynekologicko-porodnických patologií, např. při premenstruačním syndromu či klimakteriu. Minerální vody se síranem hořečnatým podporují funkci střev a jsou vhodné zejména pro osoby trpící zácpami. Vysoký obsah hořčíku také podporuje relaxaci Oddiho svěrače a umožňuje proudění žluči, čímž zlepšuje činnost žlučových cest [58].

Hydrogenuhličitanové železnaté vody mají důležité hemopoetické vlastnosti. Jsou indikovány při anémii z nedostatku železa, a právě při léčbě anémie jsou doporučovány také těhotným ženám. Biologická dostupnost železa v této vodě je velmi vysoká díky přítomnosti dalších stopových prvků, kterými jsou měď, zinek, mangan, lithium a hliník. Minerální vody se zvýšeným obsahem vápníku jsou zase důležitým dietním zdrojem vápníku a měly by být uznávány jako nízkokalorické výživové doplňky vápníku s příznivými účinky na mineralizaci kostí [58].



## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

## 5 CÍL PRÁCE

Cílem této diplomové práce bylo popsat vliv tvrdosti vody použité pro přípravu infuzí matcha čajů na celkový obsah polyfenolů a vitamínu C ve výluhu tohoto čaje. Za tímto účelem byly stanoveny tyto dílčí cíle:

- Stanovení celkového obsahu polyfenolů a vitamínu C v připravených vzorcích
- Stanovení obsahu vápenatých a hořečnatých iontů jako ukazatelů tvrdosti vody.
- Porovnání výsledků pro dvě teploty přípravy čaje
- Porovnání výsledků pro dva druhy matcha čaje s rozdílnou technologií výroby
- Korelace výsledků s obsahem vápenatých a hořečnatých iontů a také s vodivostí vody jako souhrnného ukazatele mineralizace vody
- Sledování barevných změn čajového výluhu v souvislosti s rozdílnou mineralizací vody a v čase
- Senzorické posouzení vybraných vzorků matcha čaje

## 6 MATERIÁL A METODIKA

### 6.1 Charakteristika vzorků

Pro stanovení jednotlivých parametrů byly použity vzorky čaje Bio Matcha Tea Imperial, vypěstovaném v japonské oblasti Shizuoka. Tento čaj byl zabalen v jednotlivých neprůsvitných sáčcích po dvou gramech s celkovou hmotností balení 25 g a s číslem šarže 0734. Cena za 100 g byla 798 Kč. Distributorem je firma Kyosun s.r.o., Trmická 1, Praha 9. Druhý vzorek čaje MATCHA NATURAL byl vypěstován a vyroben v Číně, konkrétní oblast nebyla uvedena. Obal, ve kterém byl čaj zakoupen je rovněž z neprůsvitného materiálu zabraňujícím přístupu světla a vzduchu. Obsah balení byl 100 g s číslem šarže L400254. Cena za 100 g byla 145 Kč. Distributorem je firma Zdraví z přírody, s.r.o., Chmelnická 194, Zlín.

Mezi měřeními byly vzorky čaje skladovány při laboratorní teplotě 22 °C, v uzavřených obalech, bez přístupu světla.

Pro přípravu infuzí bylo použito sedm druhů různě mineralizovaných vod:

- Redestilovaná voda, výrobce: Aqua Osmotic, Tišnov
- Přírodní minerální voda Korunní dekarbonovaná, výrobce: Karlovarská Korunní s.r.o., Stráž nad Ohří.
- Rajec pramenitá voda kojenecká, výrobce: KOFOLA a.s., Krnov.
- Magnesia přírodní minerální voda dekarbonovaná, středně mineralizovaná, výrobce: Mattoni 1873 a.s., Karlovy Vary.
- Mariánskolázeňský Rudolfův pramen, výrobce: BHMW TRADE s.r.o., Mariánské Lázně.
- Přírodní minerální voda Gernerka magnézium a kalcium neperlivá, výrobce: ST. NICOLAUS-trade CZ. a.s., Brno.
- Pitná voda – Vodárna Zlín a.s., ÚV Klečůvka.

Příprava vzorků pro daná měření probíhala vždy stejným způsobem. Do kádinky o objemu 100 ml bylo naváženo 0,5 g vzorku s přesností 0,0001 g. Tyto navážky byly postupně zalévány jednotlivými vodami o objemu 50 ml a o teplotě 60 °C a 80 °C.

Po zalití byly vzorky 10 minut míchány na elektromagnetické míchačce a následně přefiltrovány přes filtrační papír KA1.

## 6.2 Použité přístroje a pomůcky

Měření obsahu polyfenolů

- UV/VIS spektrofotometr Lambda 25, program Wavelength (Perkin Elmer, USA)

Měření ky seliny askorbové

- Chromatograf UltiMate 3000 RS (Dionex, USA), mikrofiltr 0,45  $\mu\text{m}$ , PTFE (Supelco, USA)

Měření vodivosti

- Conductivity meter FEP30, FiveEasyPlus<sup>TM</sup> (Mettler-Toledo AG, Switzerland)

Kolorimetrické stanovení

- UltraScan Pro, software EasyMatchQC (HunterLab, USA)

Měření minerálních prvků

- ICP-MS Scientific iCAP Q (Thermo Fisher Scientific, USA)

Pro vážení byly použity analytické váhy Voyager PRO VP214C (Ohaus corporation, USA), pro přípravu vzorků rychlovarná konvice s nastavitelnou teplotou ohřevu ETA Isabela (ETA a.s., ČR), laboratorní magnetická míchačka, filtrační papír KA 1 (Papírna Perštejn s.r.o., ČR), mikrofiltr o velikosti 0,45  $\mu\text{m}$ , stojan na nálevky, běžné laboratorní sklo (kádinky, nálevky, odměrný válec atd.) a plastová lžička. Dále byla použita elektrická sušárna Venticell 111 (BMT, Medical Technology s.r.o., ČR), pH metr EDGE<sup>®</sup>pH (HANNA Instruments s.r.o., ČR) a mikroskop Olympus CX41 s digitální kamerou DP73 (Olympus, Japonsko).

## 6.3 Použité chemikálie

Použity byly chemikálie analytické čistoty.

- Folin-Ciocalteu činidlo – směs  $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ ,  $\text{H}_3\text{PMO}_{12}\text{O}_{40}$  (Sigma Aldrich, Německo)
- Uhličitan sodný (Lachema, ČR)
- Kyselina gallová (Acros Organics, Belgie)

- Kyselina sírová (Lachema, ČR)
- Kyselina dusičná 67% (Analytika spol. s.r.o., ČR)
- Škrobový maz (IPL Laboratorní potřeby a zařízení, ČR)
- Roztok jodu o koncentraci  $0,005 \text{ mol.l}^{-1}$  (IPL Laboratorní potřeby a zařízení, ČR)
- Methanol (Penta, ČR)
- Kyselina fosforečná (Penta, ČR)
- Conductivity Standard  $12.88 \text{ mS/cm}$  (Mettler-Toledo s.r.o., Švýcarsko)
- Ultračistá voda (Purelab Classic Elga, Labwater/VWS Ltd., UK)
- Destilovaná voda (Aqua Osmotic, ČR)

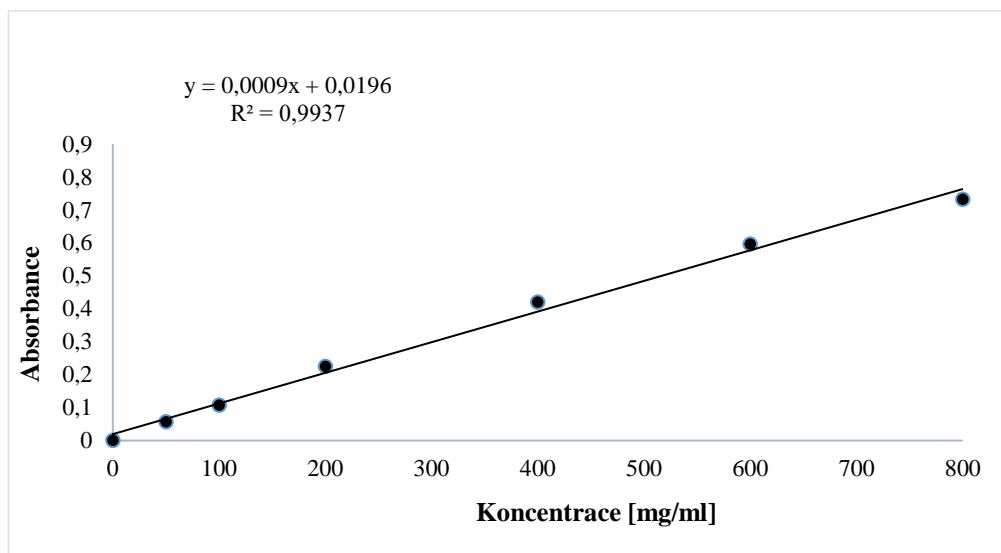
## 6.4 Stanovení celkového obsahu polyfenolů

K stanovení celkového obsahu polyfenolů byla zvolena spektrofotometrická metoda s pomocí činidla Folin-Ciocalteu – TPC (Total Phenolic Content). Princip metody uveden v kapitole 3.2.1. Celkový obsah polyfenolů byl stanoven ve filtrátech vzorků čajů. Nejprve se odměrná baňka o objemu 10 ml naplnila přibližně 5 ml destilované vody, poté bylo přidáno 100  $\mu\text{l}$  vzorku a 500  $\mu\text{l}$  Folin-Ciocalteu činidla. K reakční směsi bylo dále přidáno 1,5 ml 20% uhličitanu sodného ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ). Poté se odměrná baňka doplnila po rysku destilovanou vodou. Každý vzorek byl takto připraven dvakrát. Stejně probíhala i příprava slepého vzorku – blanku, do kterého nebyl přidán extrakt vzorku. Měření absorbance proběhlo po uplynutí reakční doby, tedy 30 minut od přidavku vzorku. Každý vzorek byl ve spektrofotometru změřen čtyřikrát. Výsledné hodnoty byly zprůměrovány. Absorbance byla měřena při vlnové délce 765 nm proti slepému vzorku – blanku. Jako standard byl použit roztok kyseliny gallové. Výsledek byl vyjádřen v miligramech kyseliny gallové na litr roztoku (GAE).

### 6.4.1 Kalibrační křivka kyseliny gallové

Pro sestavení kalibrační křivky (Graf. č.1) byl použit roztok kyseliny gallové o koncentraci  $4000 \text{ mg.l}^{-1}$ . Zředěním zásobního roztoku kyseliny gallové byly připraveny jednotlivé roztoky s koncentrací 50, 100, 200, 400, 600, 800  $\text{mg.l}^{-1}$ . Příprava reakčních směsí a měření absorbance bylo provedeno stejným způsobem jako u extraktů vzorku,

avšak tyto vzorky byly nahrazeny kalibračními roztoky. Celková koncentrace polyfenolů byla vypočítána z regresní rovnice kalibrační křivky v závislosti koncentrace kyseliny gallové na hodnotě absorbance. Obsah polyfenolů, byl vyjádřen jako ekvivalent standardu kyseliny gallové.



Graf č. 1: Celkový obsah polyfenolů – kalibrační křivka kyseliny gallové

## 6.5 Stanovení kyseliny askorbové

Z důvodu nízkých koncentrací kyseliny askorbové ve vzorcích byly použity dvě metody měření: jodometrická titrace a metoda HPLC-UV/VIS.

### 6.5.1 Stanovení kyseliny askorbové jodometricky

Principem jodometrické titrace je oxidace kyseliny askorbové jodem na kyselinu dehydroaskorbovou. Jako odměrný roztok byl použit roztok jodu o koncentraci  $0,005 \text{ mol.l}^{-1}$ , jako indikátor se použil škrobový maz.

Do titrační baňky bylo pipetováno 30 ml čerstvě přefiltrovaného roztoku čaje. Poté se přidalo 5 ml 15%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  a stejný objem škrobového mazu. Takto upravený vzorek se začal ihned titrovat roztokem jodu do modrého zbarvení.

Pro vyhodnocení obsahu vitamínu C byl použit následující vzorec [ $\text{mol.l}^{-1}$ ] :

$$c_I = \frac{V_{I_2} \cdot c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) \cdot 10}{0,1 \cdot 25} \cdot 0,005$$

$V_{I_2}$  ... spotřeba roztoku  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  při koncentraci jodu  $0,005 \text{ mol.l}^{-1}$

Hmotnost vitamínu C [mg]:

$$m_{KA} = c_I \cdot V_I \cdot M_{KA}$$

$c_I$  ... koncentrace odměrného roztoku jodu [ $\text{mol.l}^{-1}$ ]

$V_I$  ... spotřeba odměrného roztoku jodu [ml]

$M_{KA}$  ... molární hmotnost kyseliny askorbové ( $M_{KA}=176,13 \text{ g.mol}^{-1}$ )

### 6.5.2 Stanovení kyseliny askorbové metodou HPLC-UV/VIS

K stanovení kyseliny askorbové metodou HPLC-UV/VIS byl použit čerstvě přefiltrovaný roztok čaje, který se smíchal s extrakční směsí ( $\text{CH}_3\text{OH} : \text{H}_3\text{PO}_4 : \text{rH}_2\text{O}$  v poměru 99 : 0,5 : 0,5). Vzorek byl znovu přefiltrován pomocí injekční stříkačky a stříkačkového jednorázového mikrofiltru do uzavíratelné skleněné vialky o objemu 2 ml. Vialka se vzorkem se vložila do nástřikové části zařízení. Chromatograf si pro analýzu automaticky dávkuje objem 20  $\mu\text{l}$ . Použita byla kolona Dionex Acclaim C 8 s rozměry 150 mm x 2,1 mm; 5  $\mu\text{m}$ . Teplota kolony byla 25 °C. Pro mobilní fázi byla použita extrakční směs. Signál byl měřen detektorem DAD při vlnové délce 254 nm. Čas pro retenci kyseliny askorbové je přibližně 1,98 min. Celkový čas pro stanovení byl 15 minut. Každý vzorek byl změřen třikrát.

Obsah kyseliny askorbové ve vzorku byl určen odečtem plochy píku a přepočtem z rovnice kalibrační křivky pro kyselinu askorbovou, která byla připravena v rozsahu 20 až 100  $\mu\text{g/ml}$ .

### 6.6 Stanovení obsahu vlhkosti a sušiny

V rámci základní chemické analýzy byl v obou vzorcích stanoven obsah vlhkosti, který se stanovil jako hmotnostní úbytek po vysušení vzorku. Vzorky čaje se vážily na analytických vahách s přesností 0,0001 g. Dva gramy od každého druhu se navážily do vysušených a předem zvážených hliníkových vysoušeček a nechaly se vysušit v sušárně při teplotě 102 °C po dobu 180 minut. Po odpaření vlhkosti se vzorek nechal vychladnout v exsikátoru a znovu se zvažil. Díky rozdílu v hmotnosti před a po sušení se stanovil obsah vlhkosti, ze kterého se vypočítal obsah sušiny. Výsledek je průměr ze tří po sobě jdoucích měření.

Vzorec pro výpočet obsahu vlhkosti [%]:

$$W = \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} \cdot 100$$

W ... obsah vlhkosti

$m_1$  ... hmotnost prázdné vysoušečky [g]

$m_2$  ... hmotnost vysoušečky se vzorkem před sušením [g]

$m_3$  ... hmotnost vysoušečky se vzorkem po sušení [g]

Vzorec pro výpočet obsahu sušiny [%]:

$$S_{\xi} = 100 - V$$

$S_{\xi}$  ... obsah sušiny [%]

V ... obsah vody [%]

## 6.7 Stanovení minerálních prvků pomocí ICP-MS

Stanovení proběhlo pomocí metody ICP-MS (Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry), ThermoScientific iCAP Q na bázi kvadrupólového analyzátoru (ThermoScientific, USA) s technologií QCell (CCT – Collision Cell Technology). Jedná se o metodu hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem, která je určena ke stanovení stopového množství téměř všech prvků v analyzovaném vzorku. Pro tuto technologii bylo využito helia jako kolizního plynu, který umožňuje rozpad molekulárních asociátů. Indukčně vázané plazma působí jako zdroj kladně nabitých částic (např.  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Pb}^+$ ). V hmotnostním analyzátoru pak také dochází k separaci iontů podle poměru náboje a hmotnosti a následnému vyhodnocení. Parametry měření byly nastaveny na výkon 1550 W, hloubku vzorkování 5 mm, průtok chladícího plynu 0,014,0 l/min, průtok pomocného plynu 0,8 l/min, průtok zmlžovacího plynu 1,015 l/min, průtokovou rychlost helia 4,1 ml/min, rychlost zmlžovače 40 otáček za minutu a na teplotu uvnitř komory 2,7 °C [59;60]. Do plastové zkumavky se odebralo 100 ml vzorku vody, ke které se přidaly 2 ml ultračisté  $\text{HNO}_3$ . Poté byly vzorky nastříkány do ICP-MS. Kalibračních standardů byly připraveny dvě sady:  $^9\text{Be}$ ,  $^{66}\text{Zn}$ ,  $^{63}\text{Cu}$ ,  $^{60}\text{Ni}$ ,  $^{27}\text{Al}$ ,  $^{24}\text{Mg}$ ,  $^{59}\text{Co}$ ,  $^7\text{Li}$ ,  $^{45}\text{Sc}$ ,  $^{107}\text{Ag}$ ,  $^{55}\text{Mn}$ ,  $^{88}\text{Sr}$ ,  $^{137}\text{Ba}$ ,  $^{205}\text{Tl}$ ,  $^{209}\text{Bi}$ ,  $^{140}\text{Ce}$ ,  $^{133}\text{Cs}$ ,  $^{165}\text{Ho}$ ,  $^{181}\text{Ta}$ ,  $^{159}\text{Tb}$ ,  $^{238}\text{U}$ ,  $^{89}\text{Y}$  v koncentraci 3–35  $\mu\text{g/l}$ . Druhá sada s koncentrací 0,5–1,0  $\mu\text{g/l}$  byla  $^{75}\text{As}$ ,  $^{44}\text{Ca}$ ,  $^{111}\text{Cd}$ ,  $^{52}\text{Cr}$ ,  $^{57}\text{Fe}$ ,  $^{202}\text{Hg}$ ,  $^{39}\text{K}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,



$^{23}\text{Na}$ ,  $^{208}\text{Pb}$ ,  $^{77}\text{Se}$ ,  $^{118}\text{Sn}$  a  $^{41}\text{Ti}$ . Použit byl ladící roztok Tune 8 (Analytika Jena). Referenční certifikovaný materiál použit nebyl.

## 6.8 Měření vodivosti

Měrná elektrická vodivost představuje schopnost kapaliny vést elektrický proud. Tato vodivost je převrácenou hodnotou elektrického odporu. Hodnota vodivosti se odvíjí od množství obsažených iontů v roztoku, včetně jejich pohyblivosti. Čím více tedy kapalina obsahuje iontů, tím je vodivější. Jednotkou vodivosti je siemens [S] [61].

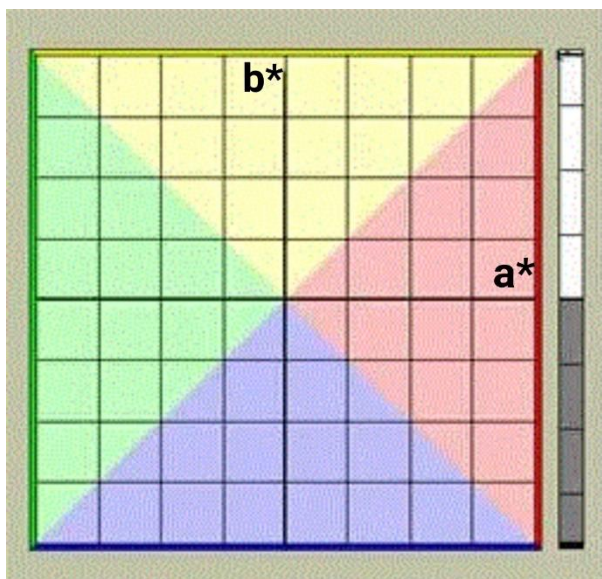
Stanovení vodivosti bylo použito jako doplňková metoda pro charakterizaci vod použitých při přípravě matcha infuzí. Pro analýzu vodivosti byla použita elektroanalytická metoda konduktometrie. Tato metoda je založena na měření vodivosti elektrolytů ve vodě. K měření byl použit konduktometr FEP 30 od značky Mettler Toledo s vodivostním rozsahem 0,01  $\mu\text{S}/\text{cm}$  až 500  $\text{mS}/\text{cm}$ . Pro kalibraci byl zvolen certifikovaný standard 12,88  $\text{mS}/\text{cm}$  od téže značky. Kromě vodivosti byla na stejném zařízení u vzorků čistých vod změřena i hodnota TDS (total dissolved solid) čili obsah rozpuštěných pevných látek. Toto měření umožnilo zjistit hodnotu celkové mineralizace. Hodnota TDS se udává v jednotkách  $\text{mg}/\text{l}$  nebo také jako ppm (parts per milion).

Do kádinky o objemu 100 ml byly postupně nalévány jednotlivé vzorky vod. Poté co se sonda konduktometru ponořila do tekutiny, proběhlo samotné měření. Každý vzorek byl změřen třikrát. Měření probíhalo při laboratorní teplotě 22 °C.

## 6.9 Kolorimetrické stanovení

K měření barevnosti byl použit stolní spektrofotometr UltraScan PRO. Rozsah přístroje je 350–1050 nm s optickým rozlišením 5 nm. Zařízení má rozšířený rozsah vlnových délek blízkého infračerveného a ultrafialového záření. Lze jej použít pro měření neprůhledných pevných látek, pro čiré kapaliny i pro průhledné filmy. UltraScan PRO stanoví odrážející i procházející barvy, spektrální odrazivost, spektrální propustnost i prostupný zákal. Vyhodnocení výsledků měření probíhá pomocí softwaru EasyMatch QC, kde dochází k vyhodnocení barvy vzorku pomocí tří barevných souřadnic  $a^*$ ,  $b^*$  a  $L^*$ , které jsou zobrazeny ve třech osách (viz. Obrázek č. 5). Souřadnice  $a^*$  udává červenou a zelenou barvu, souřadnice  $b^*$  udává žlutou a modrou barvu a souřadnice  $L^*$  vyjadřuje jas (stupeň šedé). Posouvání hodnot na ose  $a^*$  odpovídá přechodu ze zelené v záporné části

osy do červené v kladné oblasti a posouvání hodnot na ose  $b^*$  odpovídá přechodu z modré v záporné části osy do žluté v kladné části osy. [62].



Obrázek č. 5: Barevná škála softwaru EasyMatch QC [62]

Přefiltrované roztoky infuzí čaje matcha byly proměřovány ve 20 ml kyvetách. Každý vzorek byl změřen třikrát za sebou s tím, že po každém měření se kyveta obrátila na druhou stranu. Vzorky byly měřeny v časových intervalech 60 a 180 minut od přípravy vzorků, mezi měřeními byly uchovávány v temnu. Dle získaných hodnot  $L^*$  pro světlost a hodnot barevných koordinátů, byla následně vypočítána hodnota pro zelenou barvu  $G^*$ .

Vzorec pro výpočet zelené barvy:

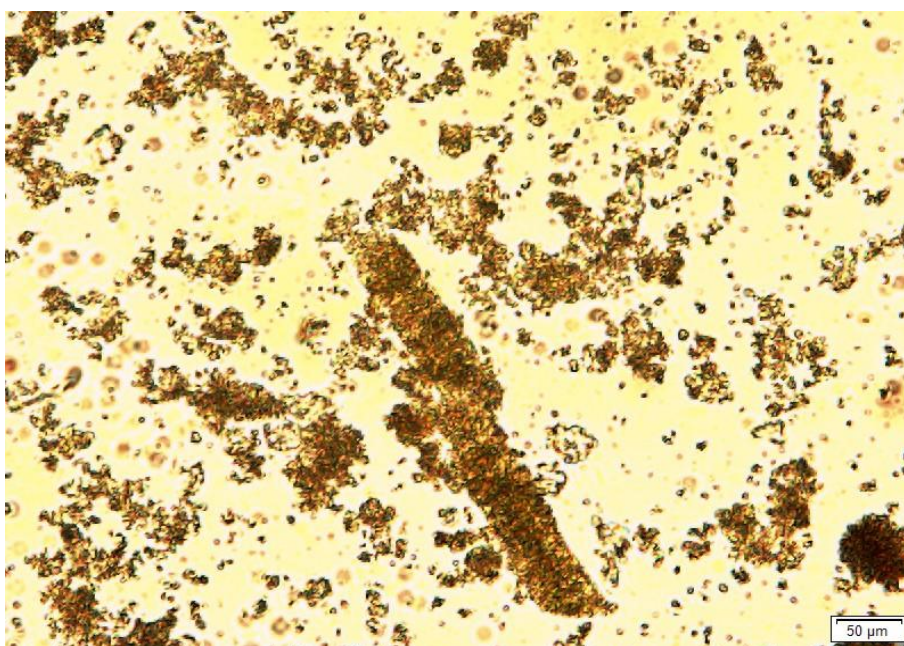
$$G^* = \frac{a^*}{b^*} \cdot 100$$

## 7 VÝSLEDKY A DISKUZE

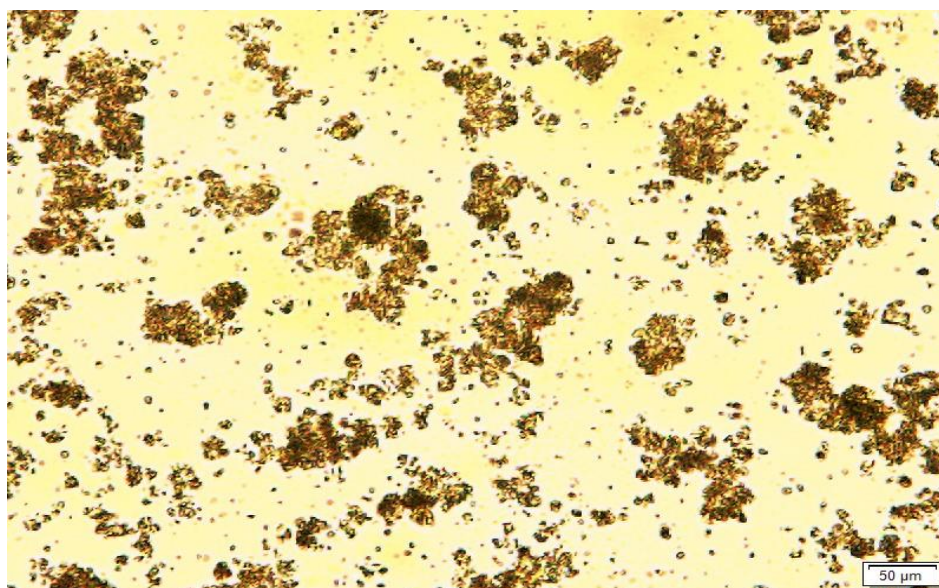
### 7.1 Výsledky základní analýzy vzorků

V rámci základní analýzy byl čínský i japonský vzorek matcha čaje hodnocen pod mikroskopem při zvětšení 200x. Na Obrázku č. 6 a 7 jsou patrné rozdíly mezi oběma druhy. Čínská matcha měla větší a hrubší zrnka. Rozdíl byl také v barvě, kde u čínského čaje byly patrné hnědé pigmenty. Japonská matcha měla zrnka menší a po zvětšení obrazu se jevil prášek více homogenní než u čínského čaje, kde často objevovaly větší kousky.

Obrázek č. 6: Čínský čaj matcha při mikroskopickém zvětšení



Obrázek č. 7: Japonský čaj matcha při mikroskopickém zvětšení



Stanovení obsahu vlhkosti, sušiny a pH proběhlo u jednotlivých vzorků dle metodik zmíněných v kapitole 6. Výsledky stanovení jsou uvedeny v Tabulce č. 2 a 3.

Druhy použitých matcha čajů – čínský a japonský, výsledné pH nijak zásadně neovlivnily. Změny bylo možné zaznamenat při použití jednotlivých druhů minerálních vod. Obsah minerálních prvků tedy mírně ovlivnil výsledné pH. Nejnižší, a tedy nejkyselější pH 6 měla destilovaná voda, naopak nejvyšší, nejzásaditější hodnoty pH 7–8 měly nejvíce mineralizované vody Gemerka, Magnesia a mariánskolázeňský Rudolfův pramen. Pitná voda měla v průměru pH 6,7. Hodnota pH je důležitým faktorem při extrakci fenolických látek. Nízké hodnoty pH extrakčního roztoku mohou zabránit oxidaci fenolických látek. Lze je však eliminovat chelatací s kovovými ionty. Katechiny přítomné v nálevu jsou v kyselém prostředí relativně stabilní, ale v alkalickém prostředí se stávají vysoce nestabilními a snadno rozložitelnými [48]. Hodnoty pH pitných i balených vod jsou dané Vyhláškou 252/2004 Sb., která stanoví hygienické požadavky na pitnou vodu a Vyhláškou 275/2004 Sb., upravující požadavky pro balené vody [51;56].

Tabulka č. 2: pH čajových infuzí po filtraci

	<b>Čínská matcha</b>	<b>Japonská matcha</b>
<b>Destilovaná voda</b>	6,12	6,24
<b>Korunní</b>	7,03	7,08
<b>Rajec</b>	6,86	6,99
<b>Magnesia</b>	7,38	7,44
<b>Rudolfův pramen</b>	7,29	7,67
<b>Gemerka</b>	7,39	7,68
<b>Pitná voda</b>	6,53	6,79

### 7.1.1 Výsledky stanovení obsahu vlhkosti

Stanovení vlhkosti bylo změřeno jako hmotnostní úbytek po vysušení vzorku a s ohledem na tuto hodnotu se dále vypočítal i obsah sušiny. U vzorku pocházejícího z Číny byla vlhkost 5,1 %, sušina byla tedy 94,9 %. Matcha čaj z Japonska měl vlhkost nižší – 4,4 %, obsah sušiny byl 95,6 %. Nižší obsah vlhkosti japonského čaje mohl být dán kvalitnějším zpracováním a také způsobem balení, které u tohoto vzorku bylo po jednotlivých porcích po 2 g, zatímco obsah 100 g čaje z Číny byl v jednom sáčku. Při manipulaci s čajem během jednotlivých měření se tak vlhkost mohla zvýšit. Dle Vyhlášky Ministerstva zemědělství 330/1997 Sb. by úbytek hmotnosti černého čaje po vysušení

při 103 °C měl být nejvýše 10 hmotnostních %. Toto kritérium splňovaly oba druhy čaje. Limit pro zelený čaj ve vyhlášce není stanoven [2]. Změnit by to měl návrh vyhlášky o požadavcích na čaj, kávu a kávoviny, kde má být zahrnuta i úprava a způsob označení „Matcha tea“ [63].

### 7.1.2 Výsledky měření vodivosti vod

Výsledky vodivosti uvedené v Tabulce č. 3 jsou průměrem ze tří po sobě jdoucích hodnot  $\pm$  směrodatná odchylka (SD). Nejnižší hodnotu vodivosti a obsah TDS (obsah rozpuštěných pevných látek) dosáhla dle očekávání destilovaná voda, s hodnotami 1,2  $\mu\text{S}/\text{cm}$  a 0,6 mg/l. Kojenecká voda Rajec měla srovnatelné hodnoty s pitnou vodou. Nejvyšších hodnot bylo naměřeno u minerální vody Gemerka se zvýšeným obsahem hořčíku a vápníku. Zde byla naměřená vodivost 2 570  $\mu\text{S}/\text{cm}$  a obsah TDS 1 285 mg/l. Porovnáním měření, kde na svých stránkách Vodovody a kanalizace Zlín, a.s., (konkrétně Úpravna vody Klečůvka, která je jedním ze zdrojů pitné vody ve Zlíně) uvádí hodnotu konduktivity 351  $\mu\text{S}/\text{cm}$ , bylo zjištěno, že námi naměřená hodnota 482  $\mu\text{S}/\text{cm}$  byla vyšší. Minerální voda Korunní na svých webových stránkách uvádí hodnotu TDS 466 mg/l, námi změřená hodnota 338 mg/l byla nižší. Největší rozdíl v naměřených hodnotách byl u minerální vody Gemerka, kde výrobce na obalu uvádí výtah z chemické analýzy ze dne 26.5.2021, kdy byl obsah rozpuštěných pevných látek 2018 mg/l. Měřením byla získána hodnota 1285 mg/l. Vodivost vod, které byly použity pro přípravu matcha infuzí, se pohybovala v rozmezí od 1,2  $\mu\text{S}$  až po 2570  $\mu\text{S}$  v případě nejvíce mineralizované vody Gemerka. Hodnoty vodivosti vody korelují s množstvím rozpuštěných látek a mohou být tedy použity jako nepřímý ukazatel mineralizace vod.

Faktor, který silně ovlivňuje vodivost je teplota. Obecně platí, že zvýšení teploty způsobí tepelné buzení atomů čímž se za současného zvýšení rezistivity sníží vodivost [64].

Tabulka č. 3: Hodnoty vodivosti a TDS použitých vod $\pm$ SD

	<b>Vodivost [<math>\mu</math>S/cm]<math>\pm</math>SD</b>	<b>TDS [mg/l]<math>\pm</math>SD</b>
<b>Destilovaná v.</b>	1,2 $\pm$ 0,1	0,6 $\pm$ 0,1
<b>Korunní</b>	675 $\pm$ 1	338 $\pm$ 1
<b>Rajec</b>	464 $\pm$ 2	232 $\pm$ 1
<b>Magnesia</b>	1030 $\pm$ 5	515 $\pm$ 2
<b>Rudolfův p.</b>	2083 $\pm$ 6	1042 $\pm$ 2
<b>Gemerka</b>	2570 $\pm$ 6	1285 $\pm$ 1
<b>Pitná voda</b>	482 $\pm$ 2	241 $\pm$ 1

## 7.2 Výsledky stanovení celkového obsahu polyfenolů

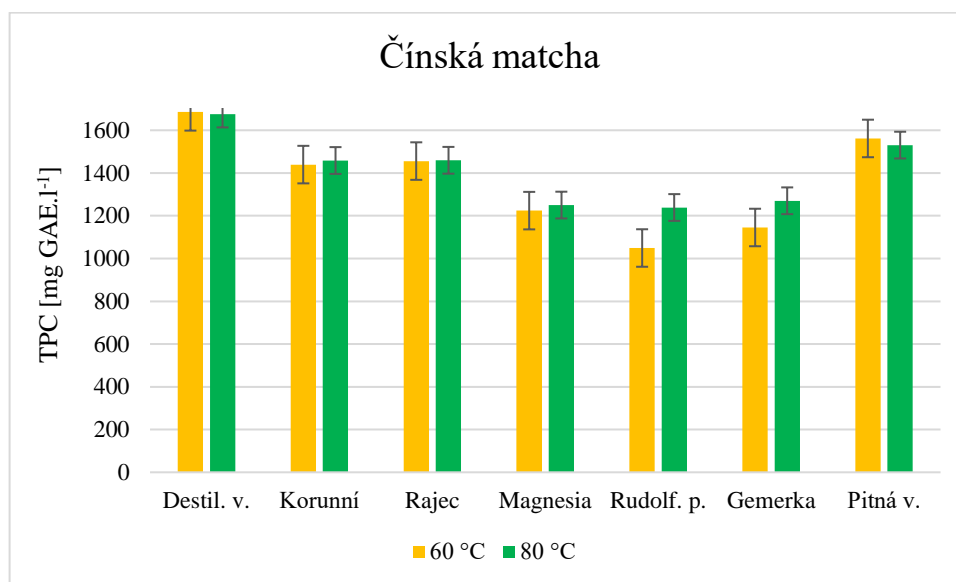
Celkový obsah polyfenolů byl stanoven metodou s Folin-Ciocalteu činidlem. Použity byly dva druhy matcha čaje – čínský (vyrobený v Číně) a japonský (vyrobený v Japonsku). Roztoky byly připraveny ze sedmi druhů vod o rozdílné tvrdosti dle postupu uvedeného v kapitole 6.1. Zjištěné hodnoty byly přepočítány na standard kyseliny gallové a byly vyjádřeny jako ekvivalent kyseliny gallové v miligramech na litr vzorku.

### 7.2.1 Porovnání celkového obsahu polyfenolů u vzorků čaje matcha při různé teplotě extrakce

Vzorky byly připraveny pomocí extrakce ve vodě o teplotě 60 °C a 80 °C. V tabulce č. 4 jsou uvedeny průměrné výsledky ze čtyř po sobě jdoucích měření  $\pm$  směrodatná odchylka (SD). Hodnoty polyfenolů byly vyjádřeny jako ekvivalent kyseliny gallové na litr filtrátů (mg GAE/l).

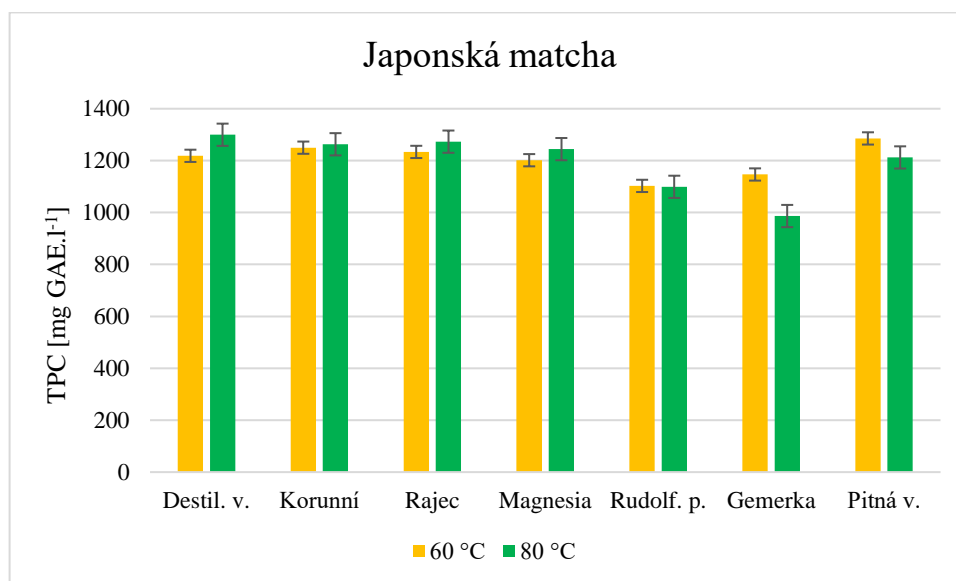
Tabulka č. 4: Celkový obsah polyfenolů ve filtrátech matcha čajů [mg GAE/l]±SD

	Čínská matcha		Japonská matcha	
	60 °C	80 °C	60 °C	80 °C
<b>Destilovaná voda</b>	1686±35	1676±2	1219±20	1300±26
<b>Korunní</b>	1440±24	1459±18	1250±8	1263±9
<b>Rajec</b>	1456±2	1460±5	1234±19	1273±9
<b>Magnesia</b>	1224±17	1250±11	1202±18	1244±11
<b>Rudolfův pramen</b>	1049±4	1239±9	1103±21	1099±11
<b>Gemerka</b>	1145±3	1270±10	1147±19	987±3
<b>Pitná voda</b>	1562±10	1531±2	1286±17	1212±9

Graf č. 2: Celkový obsah polyfenolů ve filtrátu matcha čaje z Číny [mg GAE.l<sup>-1</sup>]

Z Grafu č. 2 lze vyčíst, že tvrdost vody poměrně výrazně ovlivnila obsah polyfenolů, které se při přípravě nápoje vylouhovaly do vody. V případě čínského matcha čaje bylo nejvyšší množství 1686 mg GAE.l<sup>-1</sup> při teplotě 60 °C zjištěno v roztoku destilované vody, naopak nejnižší množství 1049 mg GAE.l<sup>-1</sup> při stejné teplotě bylo v silně mineralizované vodě Rudolfův pramen. Rozdíl v obsahu polyfenolů mezi těmito dvěma vzorky byl 637 mg GAE.l<sup>-1</sup>. Další zkoumané vzorky závislost polyfenolů na obsahu minerálních látek ve vodě potvrdily. Z výsledků lze tedy říci, že čím více minerálních prvků voda obsahuje, tím menší je obsah polyfenolů. Rozdíl v teplotě vody 60 a 80 °C při přípravě čajového nápoje se v měřených hodnotách TPC významně neprojevil.

Vzorky japonského čaje, s vodami o různé koncentraci rozpuštěných iontů, měly výsledný obsah polyfenolů v užším intervalu (Graf č. 3). S výjimkou Rudolfova pramene a Gemerky se hodnoty pohybovaly v rozmezí 1200–1300 mg GAE.l<sup>-1</sup>. Pro zachování nejvyššího množství polyfenolů 1300 mg GAE.l<sup>-1</sup> se jako nejvhodnější projevilo použití destilované vody o teplotě 80 °C. Naopak nejnižší obsah 987 mg GAE.l<sup>-1</sup> měla japonská matcha v kombinaci s minerální vodou Gemerka při teplotě 80 °C.



Graf č. 3: Celkový obsah polyfenolů ve filtrátu matcha čaje z Japonska [mg GAE.l<sup>-1</sup>]

Při porovnání dvou druhů čajů dosáhla vyšších hodnot polyfenolů, které za daných podmínek přešly do filtrátu, tedy do kapalně fáze, matcha čínská. Výsledek mohl být ovlivněn zastíněním čajových keřů, které inhibuje syntézu polyfenolů a který se používá při výrobě čaje japonského [11]. Teplota vody neměla na obsah polyfenolů vliv s výjimkou vody Gemerka.

Polyfenoly v zeleném čaji matcha jsou tvořeny převážně katechiny, mezi které patří EGCG, EGC, ECG a EC. Katechiny v zeleném čaji ovlivňuje více faktorů, z tohoto důvodu mohou mezi studiemi vypovídající o jejich obsahu vzniknout rozpory. Jsou známy tři chemické procesy, které ovlivňují chemickou stabilitu katechinů. Patří mezi ně autooxidace následovaná polymerací, epimerizace a hydrolyza. Oxidační proces katechinů v matcha čaji je označován jako autooxidace, která je výraznější v alkalickém prostředí. Ke změnám jsou EGCG a EGC citlivější než EC a ECG. Prvním krokem autooxidace je tvorba radikálů s následnou polymerací, která vytváří hnědé pigmenty. Proces autooxidace/polymerace spojuje rozpad EGCG a EGC se spektrálními změnami UV/VIS



spektroskopie [65]. Tento proces měl zásadní vliv na infuze matcha připravené z tvrdé vody. Změny jsou dále uvedeny v kapitole 7.5. EGCG je v roztoku zeleného čaje vysoce náchylný k degradaci. Jeho stabilitu však zvyšuje přítomnost vitamínu C [66].

Čajovníky se původně pěstovaly v tropických lesích, kde je stromy chránily před nadměrným světlem. V současné době se čajové rostliny pěstují na odkrytých čajových plantážích, kde dostávají více slunečního světla. Zvýšené vystavení světlu může vést k fotoindukovanému stresu a k fotoinhibici. Intenzivní sluneční záření snižuje v čajových lístcích fotosyntetickou aktivitu. Pro zvýšení kvality čaje používá většina pěstitelů zastínění čajovníků jako součást svých pěstitelských postupů a tím zároveň snižují spotřebu energie. Zastínění je jednou z agronomických praktik, které se používají při pěstování čajovníků pro výrobu matcha nebo jiných zelených čajů. Snížení intenzity světla během růstu čajových rostlin ovlivní složky čajových pupat související s kvalitou a zároveň klesne obsah polyfenolů v celé rostlině, čímž se zvýrazní chuť zeleného čaje. Obsah katechinů se tedy v listech čajovníku při použití zastínění sníží [67]. Toto zjištění vysvětluje důvod nižšího obsahu polyfenolů u výsledků japonského matcha čaje, pro jehož výrobu se metoda zastínění používá.

Složení pitné vody a vod s vysokým stupněm mineralizace, které zahrnují velké množství rozpuštěných minerálních solí (zejména vápenaté a hořečnaté soli) a hydrogenuhličitanových iontů mohou inhibovat proces extrakce a vstupovat do reakcí s polyfenolickými sloučeninami obsaženými v rostlinách [48]. Minerální soli pak mohou ovlivnit účinnost extrakce mnoha způsoby. Buněčné stěny rostlin obsahují polysacharid pektin, který snadno vytváří komplexy s  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  a dalšími kovovými ionty. Příjem vápníku čajovými lístky prostřednictvím komplexace s pektinem snižuje účinnost extrakce. Vysoký obsah minerálních iontů může změnit strukturu vody za vzniku větších shluků, které jsou méně účinné při extrakci molekul z listu zeleného čaje. Zvýšený zákal a sedimentace v čajových nálevech bohatých na vápník jsou většinou způsobeny kombinací iontů vápníku s anionty organických kyselin jako je například oxalát. Velmi tvrdá voda je s ohledem na konečnou výtěžnost katechinů pro přípravu zeleného čaje vhodná nejméně. Vysoký obsah hydrogenuhličitanů v tvrdé vodě vede k vytváření alkalických nálevů zeleného čaje. Při těchto podmínkách jsou EGC a EGCG nestabilní a náchylné k autooxidaci s následnou polymerací na hnědé pigmenty. Vysoké hladiny minerálních solí mohou urychlit proces degradace a snížit účinnost extrakce bioaktivních molekul z čajových lístků. Zelený čaj připravený z pitné vody nebo minerální vody balené

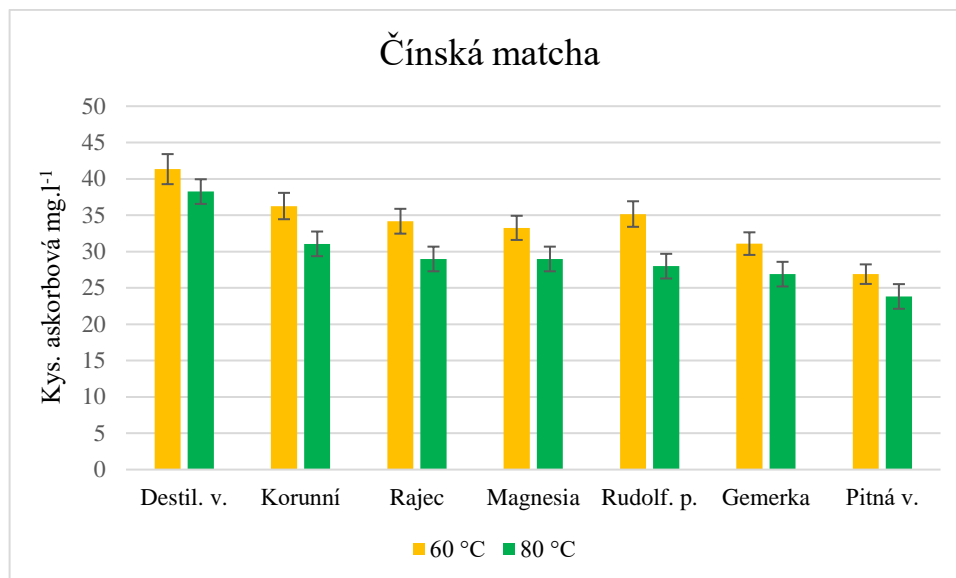
má celkově nižší obsah polyfenolů než čaj připravený s destilovanou vodou [65]. Toto zjištění bylo naměřenými hodnotami potvrzeno.

### 7.3 Výsledky stanovení kyseliny askorbové

První použitou metodou pro stanovení kyseliny askorbové bylo jodometrické stanovení s přidávkem 15% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a škrobového mazu. Titrace vzorku proběhla při obou teplotách vždy třikrát. Z důvodu lability vitamínu C byla zkrácena doba přípravy, konkrétně míchání na elektromagnetické míchačce se zkrátilo na 3 minuty. Pro přípravu extraktu bylo použito dvojnásobné množství, tzn. 1 g navážky sušiny byl zalit 100 ml jednotlivých druhů vod. Množství bylo zvýšeno z důvodu rychlejší manipulace při filtraci vzorků. Výsledky jsou uvedeny v tabulkách jako průměrná hodnota ze tří po sobě jdoucích měření ± směrodatná odchylka (SD).

Tabulka č. 5: Výsledky měření kyseliny askorbové jodometricky – čínská matcha [mg/l] ±SD

	Čínská matcha	
	60 °C	80 °C
<b>Destilovaná voda</b>	41,34±0,21	38,25±0,14
<b>Korunní</b>	36,26±0,19	31,06±0,17
<b>Rajec</b>	34,17±0,16	28,98±0,14
<b>Magnesia</b>	33,26±0,24	28,98±0,17
<b>Rudolfův pramen</b>	35,16±0,11	27,99±0,15
<b>Gemerka</b>	31,09±0,22	26,89±0,14
<b>Pitná voda</b>	26,89±0,17	23,82±0,18



Graf č. 4: Obsah vitamínu C ve vzorcích čínského matcha čaje

Z výsledných hodnot, které jsou uvedeny v tabulce č. 5 a graficky znázorněny v Grafu č. 4 je patrné, že s rostoucí teplotou se obsah vitamínu C snížil. Jak již bylo uvedeno v kapitole 3, kyselina askorbová patří mezi nestabilní prvky, které se vlivem prostředí snadno ničí. Teplota určuje pohyb molekul v potravinách. Čím je teplota vyšší, tím více atomů a molekul se pohybuje. Díky tomu roste pravděpodobnost, že se molekuly vzájemně setkají a budou reagovat. Vyšší teplota často vede k vyšší reakční rychlosti, což je také případ oxidace vitamínu C [68].

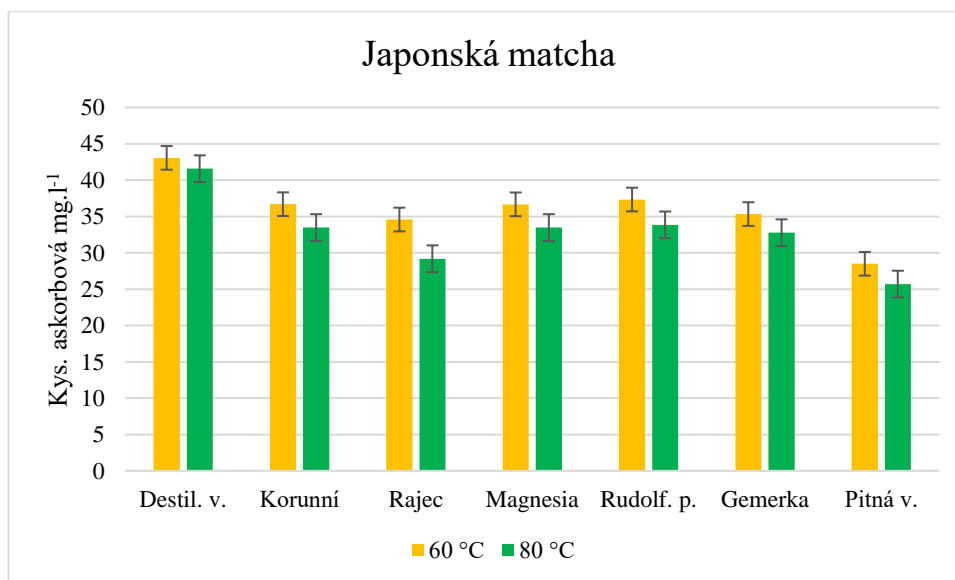
Tak jako u stanovení polyfenolů, tak i zde se jako nejvhodněji zvolenou vodou, pro zachování nejvyššího množství vitamínu C ukázala demineralizovaná voda. Při teplotě 60 °C bylo zjištěno množství 41,34 mg/l. Nejhůře se pak projevila voda pitná, kde došlo ke ztrátám kyseliny askorbové téměř o polovinu. Výsledná hodnota byla při 60 °C 26,89 mg/l. Z výsledků je patrné, že obsah minerálních prvků ve vodě ovlivnil hodnotu vitamínu C v matcha čaji. Voda s vysokým obsahem vápníku a hořčíku obvykle není pro přípravu čaje vhodná. Vysoké hladiny rozpuštěných iontů snižují schopnost extrakce některých látek [69]. Zelený čaj připravený s destilovanou vodou vykazuje vyšší hodnoty kyseliny askorbové než příprava s pitnou vodou z kohoutku. To by mohlo být způsobeno nižší fixací vápníku v listech. Vodné roztoky s nižší mineralizací jsou v podpoře výtažků z listů zeleného čaje účinnější [70].

Hodnoty vitamínu C u japonského matcha čaje se nacházely dle mineralizace a teploty vody v rozmezí 43,06–25,69 mg/l (Tabulka č. 6). Nejvyšší naměřený obsah byl

opět u destilované vody při teplotě 60 °C. Ve všech případech hodnota kyseliny askorbové klesla s použitím vyšší teploty vody 80 °C. V porovnání s čínským matcha čajem zde byly naměřeny vyšší hodnoty vitamínu C, což může být dáno šetrnějším zpracováním suroviny, jak bylo uvedeno v kapitole 1.3.2. Vitamin C působí protektivně na anthokyanidiny a další biologicky aktivní látky, působí jako inhibitor oxidační degradace [71]. Výsledky měření jsou graficky znázorněny v Grafu č. 5.

Tabulka č. 6: Výsledky měření kyseliny askorbové jodometricky – japonská matcha [mg/l] ±SD

	Japonská matcha	
	60 °C	80 °C
<b>Destilovaná voda</b>	43,06±0,15	41,57±0,20
<b>Korunní</b>	36,69±0,10	33,47±0,15
<b>Rajec</b>	34,58±0,21	29,18±0,11
<b>Magnesia</b>	36,67±0,23	33,47±0,17
<b>Rudolfův pramen</b>	37,33±0,19	33,84±0,11
<b>Gemerka</b>	35,33±0,14	32,76±0,22
<b>Pitná voda</b>	28,49±0,11	25,69±0,19



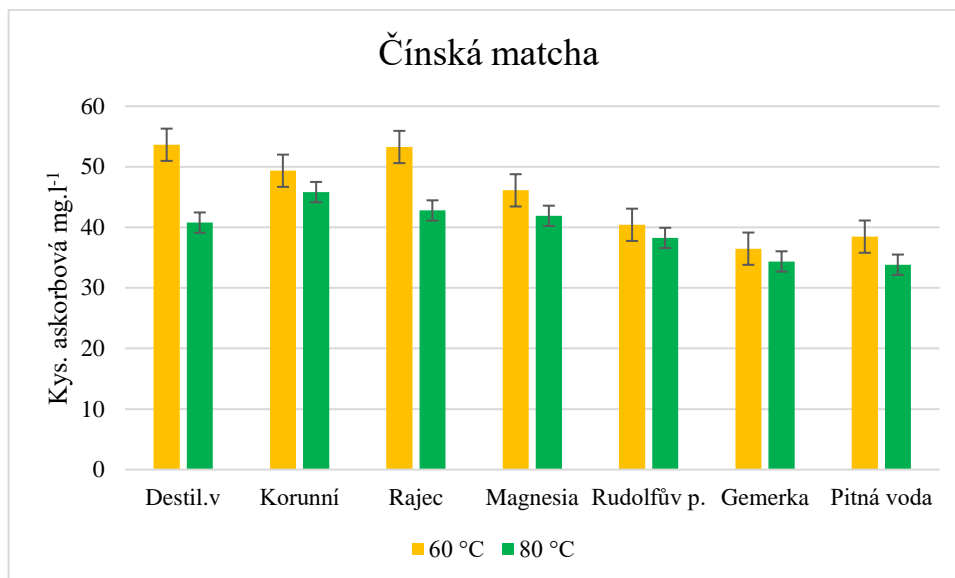
Graf č. 5: Obsah vitamínu C ve vzorcích japonského matcha čaje

Druhou použitou metodou pro stanovení obsahu vitamínu C bylo HPLC-UV/VIS. Přefiltrovaný vzorek byl vyhodnocen v chromatografu. Výsledkem byl pík, jehož plocha je přímo úměrná obsahu vitamínu C ve vzorku.

Pomocí HPLC-UV/VIS byly u čínského vzorku čaje zjištěny vyšší hodnoty kyseliny askorbové než u titrační metody. Výsledné hodnoty zde byly v rozmezí 53,6–34,4 mg/l. Nejvyšší množství 53,6 mg/l bylo zjištěno u destilované vody při teplotě zalití 60 °C. Také u dalších vzorků došlo se zvýšením teploty ke snížení obsahu vitamínu C. Výsledné hodnoty měření jsou uvedeny v Tabulce č. 7 a graficky znázorněny v Grafu č. 6.

Tabulka č. 7: Výsledky měření kyseliny askorbové metodou HPLC-UV/VIS – čínská matcha [mg/l]  $\pm$ SD

	Čínská matcha	
	60 °C	80 °C
<b>Destilovaná voda</b>	53,6 $\pm$ 2,2	40,8 $\pm$ 3,1
<b>Korunní</b>	49,3 $\pm$ 1,7	45,8 $\pm$ 4,3
<b>Rajec</b>	53,3 $\pm$ 2,6	42,8 $\pm$ 2,3
<b>Magnesia</b>	46,1 $\pm$ 2,4	41,9 $\pm$ 3,7
<b>Rudolfův pramen</b>	40,4 $\pm$ 3,8	38,0 $\pm$ 2,5
<b>Gemerka</b>	36,5 $\pm$ 4,2	34,4 $\pm$ 3,4
<b>Pitná voda</b>	38,5 $\pm$ 1,9	33,8 $\pm$ 3,5

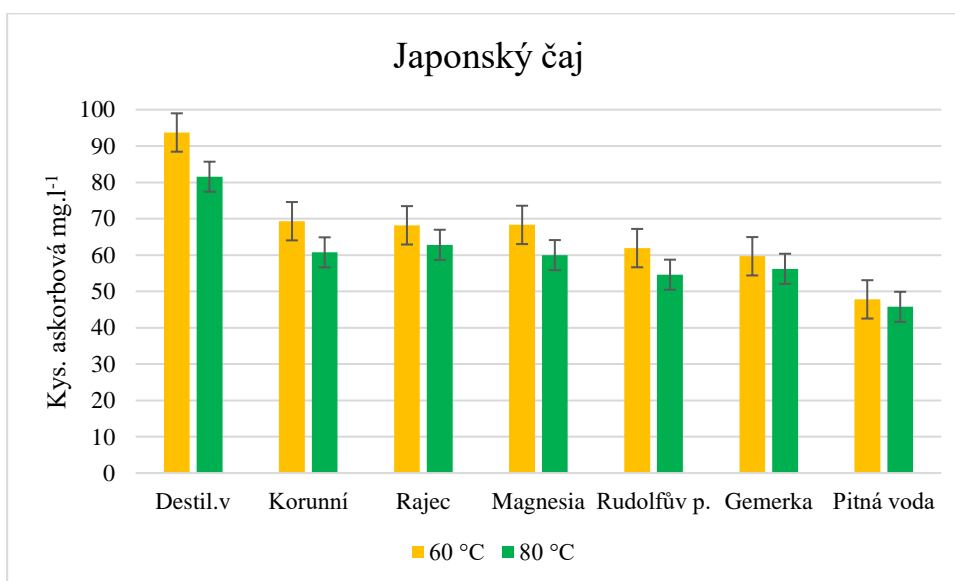


Graf č. 6: Obsah vitamínu C ve vzorcích stanovený metodou HPLC-UV/VIS – čínská matcha

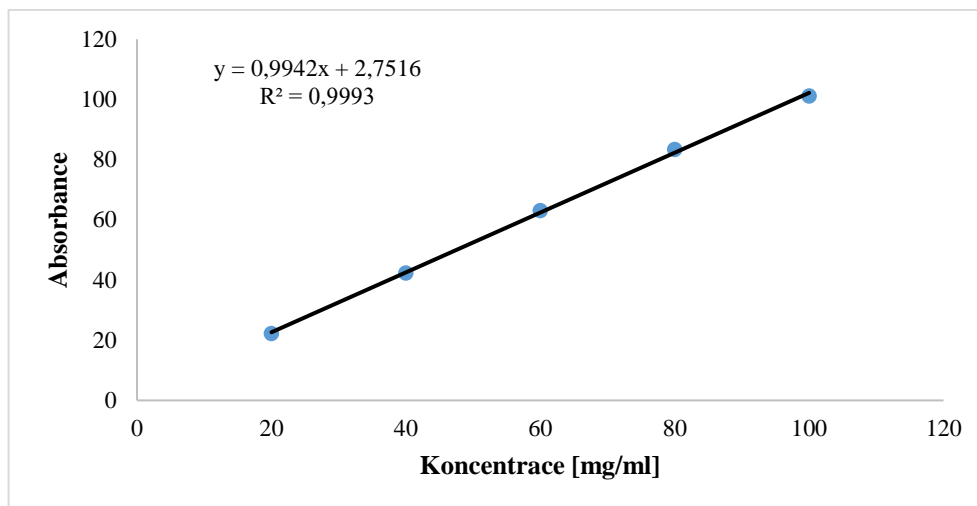
Výsledné hodnoty vitamínu C japonského matcha čaje byly opět vyšší než u měření pomocí titrační metody. Rozmezí zjištěných hodnot bylo 93,7–45,8 mg/l (Tabulka č. 8). Nejvyšší hodnoty 93,7 mg/l zde bylo naměřeno u matcha čaje v kombinaci s destilovanou vodou o teplotě 60 °C. Vlivem vyšší teploty 80 °C se obsah kyseliny askorbové u všech vzorků snížil. Výsledky měření jsou graficky znázorněny v Grafu č. 7. Kalibrační křivka zobrazující závislost absorbance na koncentraci kyseliny askorbové je uvedena v Grafu č. 8.

Tabulka č. 8: Výsledky měření kyseliny askorbové metodou HPLC/UV-VIS – japonská matcha [mg/l]  $\pm$ SD

	Japonská matcha	
	60 °C	80 °C
<b>Destilovaná voda</b>	93,7 $\pm$ 4,1	81,5 $\pm$ 2,4
<b>Korunní</b>	69,3 $\pm$ 3,4	60,7 $\pm$ 3,6
<b>Rajec</b>	68,2 $\pm$ 2,5	62,8 $\pm$ 4,4
<b>Magnesia</b>	68,3 $\pm$ 4,4	60,0 $\pm$ 2,3
<b>Rudolfův pramen</b>	61,9 $\pm$ 1,2	54,6 $\pm$ 4,1
<b>Gemerka</b>	59,7 $\pm$ 3,1	56,2 $\pm$ 4,7
<b>Pitná voda</b>	47,8 $\pm$ 2,8	45,8 $\pm$ 2,2



Graf č. 7: Obsah vitamínu C ve vzorcích stanovený metodou HPLC-UV/VIS – japonská matcha



Graf č. 8: Kalibrační křivka – závislost absorpce na koncentraci kyseliny askorbové

Při porovnání obou metod, stanovení jodometrickou titrací a stanovení pomocí HPLC-UV/VIS, byly naměřeny odpovídající hodnoty obsahu vitamínu C. U jodometrického stanovení se hodnoty nacházely v rozmezí 41,3–23,8 mg/l u čínského matcha čaje a 43,1–25,7 mg/l u čaje japonského. Podobné hodnoty uvádí také studie K. Jakubczyk, kde bylo titrací 2,6-dichlorfenolindofenolem, jejíž princip je uveden v kapitole 3.2., stanoveno množství vitamínu C v rozmezí 44,3–32,3 mg/l. Výsledný obsah byl rovněž ovlivněn druhem použitého matcha čaje a teplotou vody při přípravě [27].

#### 7.4 Výsledky stanovení minerálních prvků pomocí ICP-MS

Obsah minerálních prvků, které se podílí na tvrdosti použitých různě mineralizovaných vod byl stanoven pomocí metody ICP-MS a následně použit pro zjištění možné korelace vybraných prvků s celkovým obsahem polyfenolů ve filtrátu matcha čaje (Tabulka č. 9). Hodnoty pro obsah vápníku byly při měření ICP-MS zatíženy chybou z důvodu interferencí, proto nemohly být tyto hodnoty použity pro vyjádření obsahu  $\text{Ca}^{2+}$  iontů ve vodách. V Tabulce č. 9 jsou proto uvedeny hodnoty, které uvádí distributoři vod. Tyto hodnoty  $\text{Ca}^{2+}$  iontů pak byly použity i pro následnou korelaci. U destilované vody byly použity pouze hodnoty naměřené pomocí ICP-MS. Pro porovnání je v Tabulce č. 10 uvedeno množství rozpuštěných iontů udávané dodavateli použitých vod.



Tabulka č. 9: Obsah vybraných prvků ve vodách použitých pro přípravu čaje

	Na <sup>+</sup> [mg/l]	Mg <sup>2+</sup> [mg/l]	Ca <sup>2+</sup> [mg/l]*
<b>Destil. v.</b>	0,10	0,12	0,01
<b>Korunní</b>	31,53	62,75	65,2
<b>Rajec</b>	2,33	65,09	88,6
<b>Magnesia</b>	2,81	251,72	37,4
<b>Rudolf. p</b>	8,66	206,87	282,0
<b>Gemerka</b>	33,48	310,96	430,0
<b>Pitná v.</b>	14,91	47,48	49,8

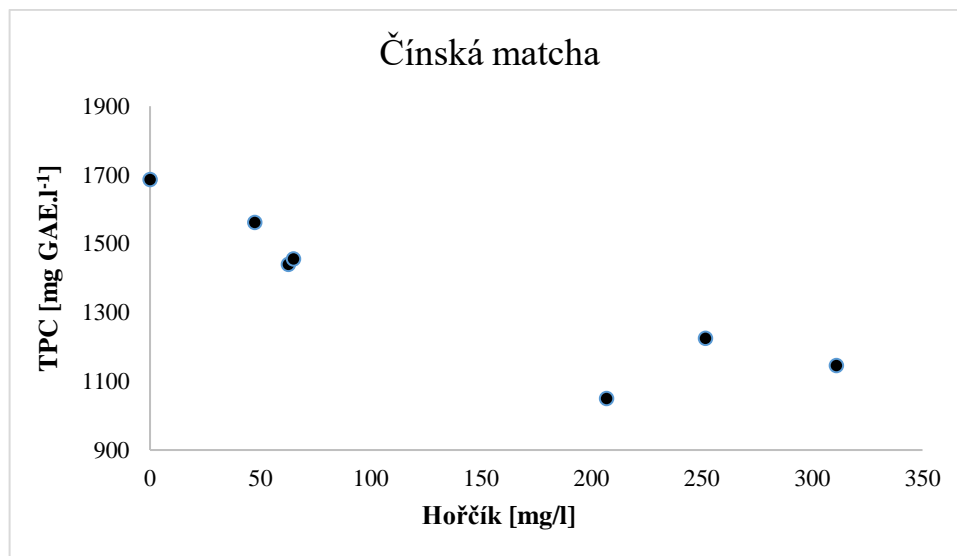
\* Jedná se o hodnoty udávané distributory vody

Tabulka č. 10: Obsah vybraných prvků ve vodách použitých pro přípravu čaje uváděný výrobcí

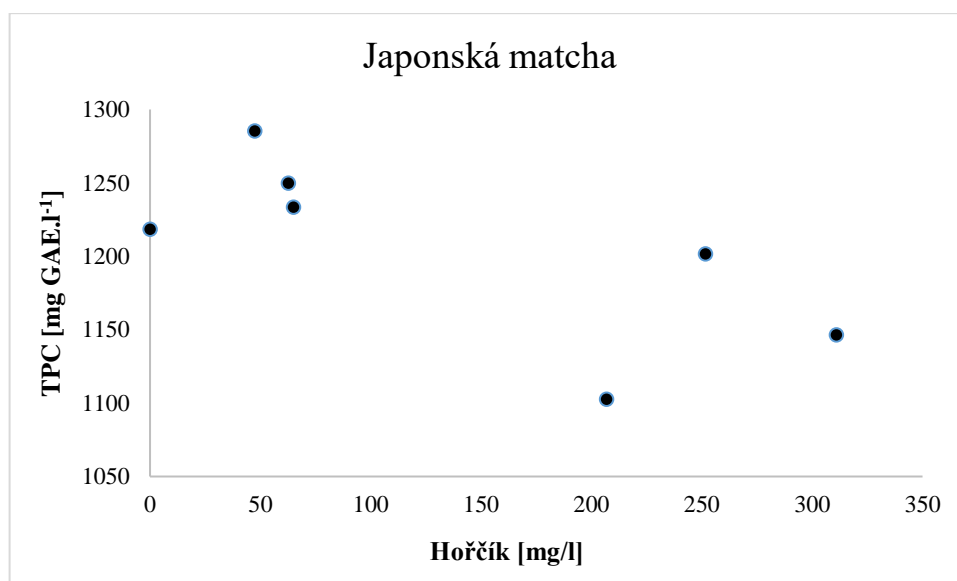
	Na <sup>+</sup> [mg/l]	Mg <sup>2+</sup> [mg/l]	Ca <sup>2+</sup> [mg/l]
<b>Destil. v.</b>	0,10	0,12	0,01
<b>Korunní</b>	61,6	22,0	65,2
<b>Rajec</b>	3,1	17,8	88,6
<b>Magnesia</b>	5,20	172,0	35,70
<b>Rudolf. p</b>	86,1	138,0	282,0
<b>Gemerka</b>	104,0	123,0	430,0
<b>Pitná v.</b>	- <sup>**</sup>	9,6	49,8

\*\* údaj výrobcem nebyl uveden

U čínského i u japonského vzorku čaje byl sledován vliv obsahu hořčičku ve vodě na celkový obsah polyfenolů, které přešly do vodné fáze čínského a japonského matcha čaje. Výsledek korelace uveden v grafech č. 9 a 10.

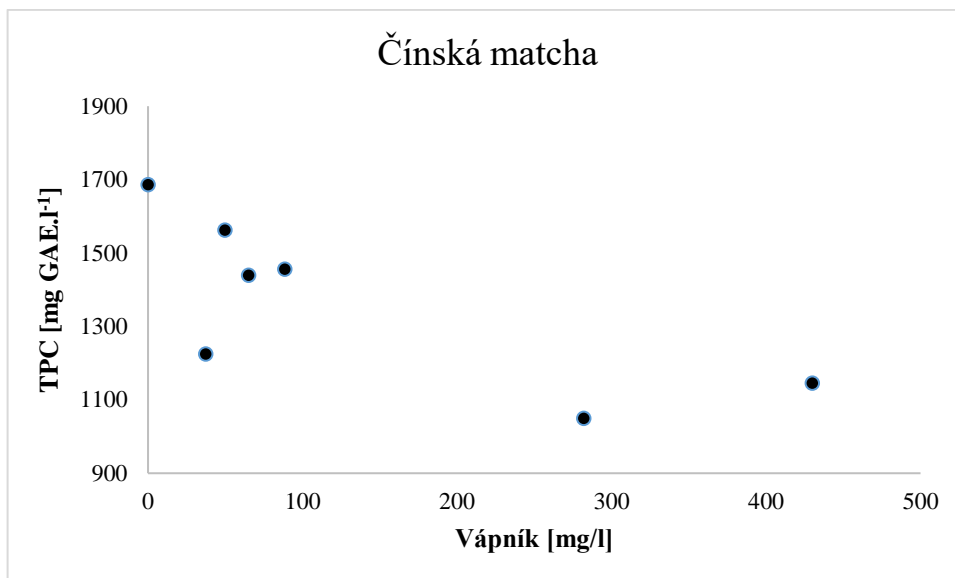


Graf č. 9: Vliv obsahu hořčíku ve vodě na celkový obsah polyfenolů, ve vodné fázi čínského matcha čaje

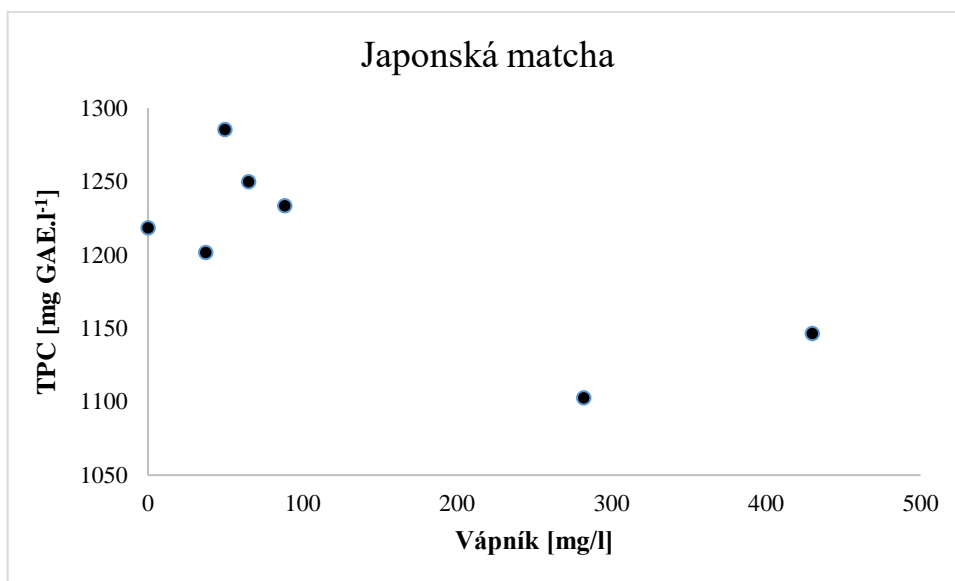


Graf č. 10: Vliv obsahu hořčíku ve vodě na celkový obsah polyfenolů ve vodné fázi japonského matcha čaje

Tak jako u hořčíku ani u vápníku nebyla zjištěna lineární závislost mezi obsahem vápníku a celkovým obsahem polyfenolů. Graficky znázorněno v grafech č. 11 a 12.

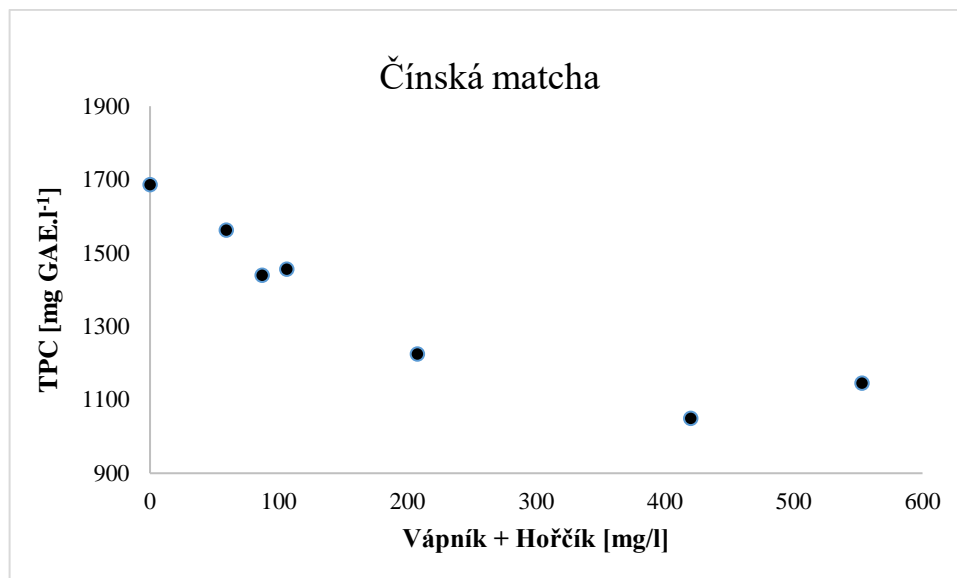


Graf č. 11: Vliv obsahu vápníku ve vodě na celkový obsah polyfenolů ve výluhu čínského matcha čaje

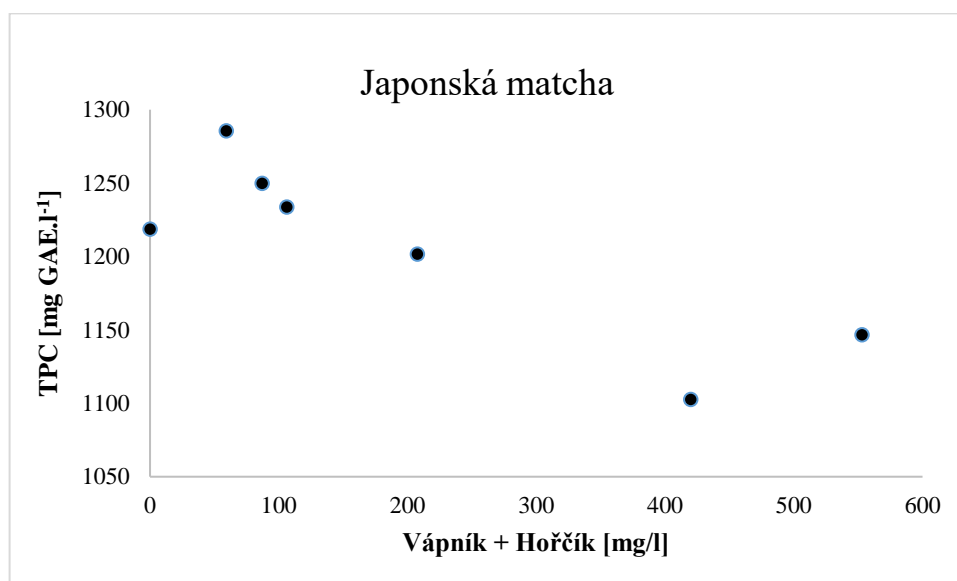


Graf č. 12: Vliv obsahu vápníku ve vodě na celkový obsah polyfenolů ve výluhu japonského matcha čaje

Celková tvrdost vody, vyjádřena jako součet iontů hořčíku a vápníku ovlivnila množství vyluhovaných polyfenolů způsobem, který je diskutován v kapitole 7.2. To znamená, že s rostoucím obsahem těchto iontů ve vodě, byl stanoven nižší obsah polyfenolů v nápoji. Tato závislost je výraznější v případě čínského čaje, ale nemá lineární charakter. Vliv obsahu iontů hořčíku a vápníku v součtu je graficky zobrazen v grafech č. 13 a 14.



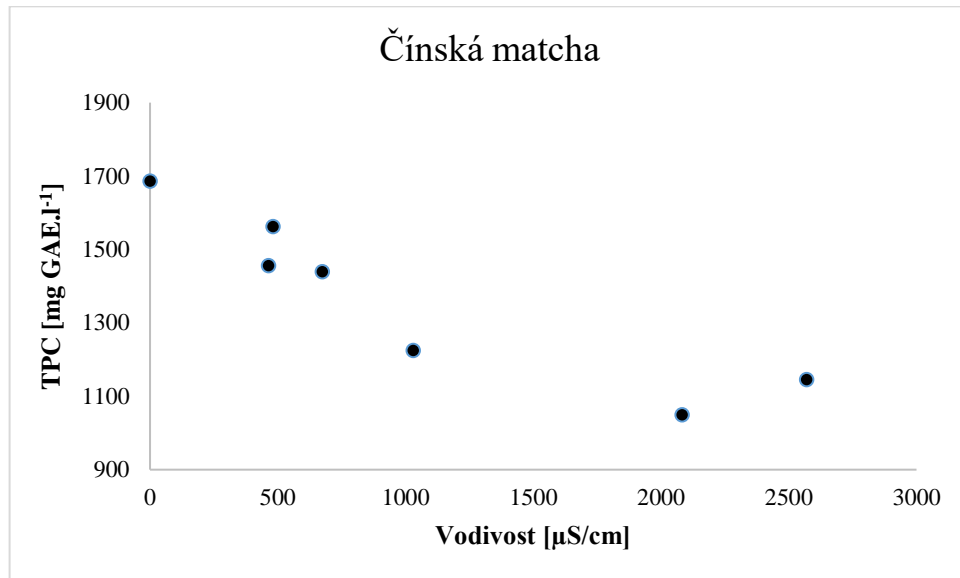
Graf č. 13: Vliv obsahu vápníku a hořčíku ve vodě na celkový obsah polyfenolů ve výluhu čínské matchy



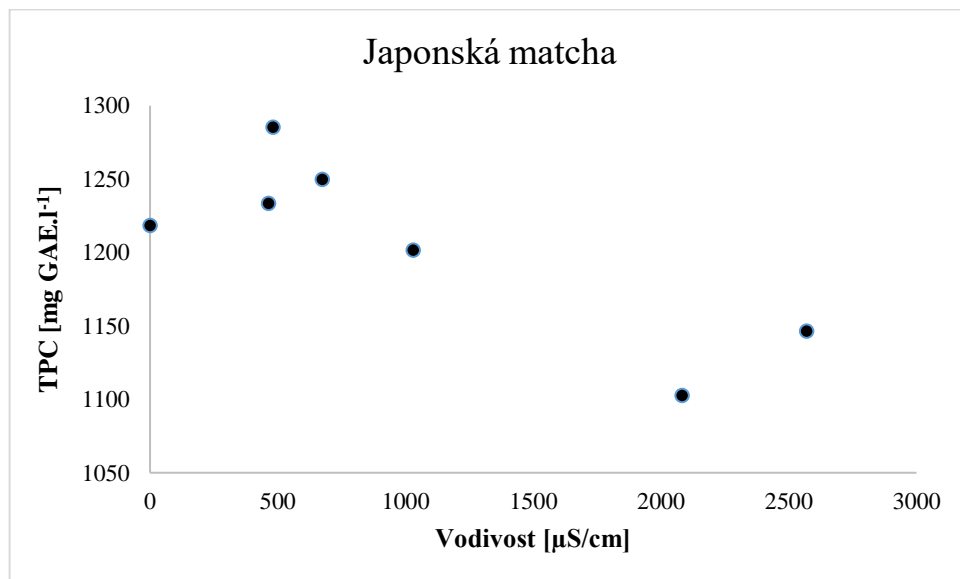
Graf č. 14: Vliv obsahu vápníku a hořčíku ve vodě na celkový obsah polyfenolů ve výluhu japonské matchy

Na hodnotě vodivosti se podílí kromě iontů hořčíku a vápníku také další rozpuštěné látky. Jedná se tedy o jakýsi souborný ukazatel, který je ovlivněn celkovým množstvím rozpuštěných látek ve vodě. Jsou zde tedy zahrnuty i vlivy, které se do vyjádření tzv. tvrdosti vody nepromítly. Závislost mezi naměřenou vodivostí vody a množstvím vyluhovaných polyfenolů zobrazuje Graf č. 15 pro čínský čaj matcha a Graf č. 16 pro japonský čaj matcha. Závislost nemá lineární charakter. U vod s nižší vodivostí, a tedy

nižším obsahem TDS došlo k vyššímu vyluhování polyfenolů. Tento trend se opět výrazněji projevil u čínské matchy.



Graf č. 15: Vliv vodivosti vody na celkový obsah polyfenolů, který přešel do vodné fáze čínského čaje



Graf č. 16: Vliv vodivosti vody na celkový obsah polyfenolů, který přešel do vodné fáze japonského čaje

## 7.5 Výsledky měření barevných změn kolorimetricky

Výsledky měření byly hodnoceny na základě spektrofotometrického stanovení pomocí přístroje UltraScanPRO. Získané hodnoty byly určeny pomocí barevné škály datové tabulky (viz. Obrázek č. 5: Barevná škála softwaru EasyMatch PRO), kde  $L^*$  představuje hodnoty pro světlost,  $a^*$  a  $b^*$  jsou barevné koordináty.

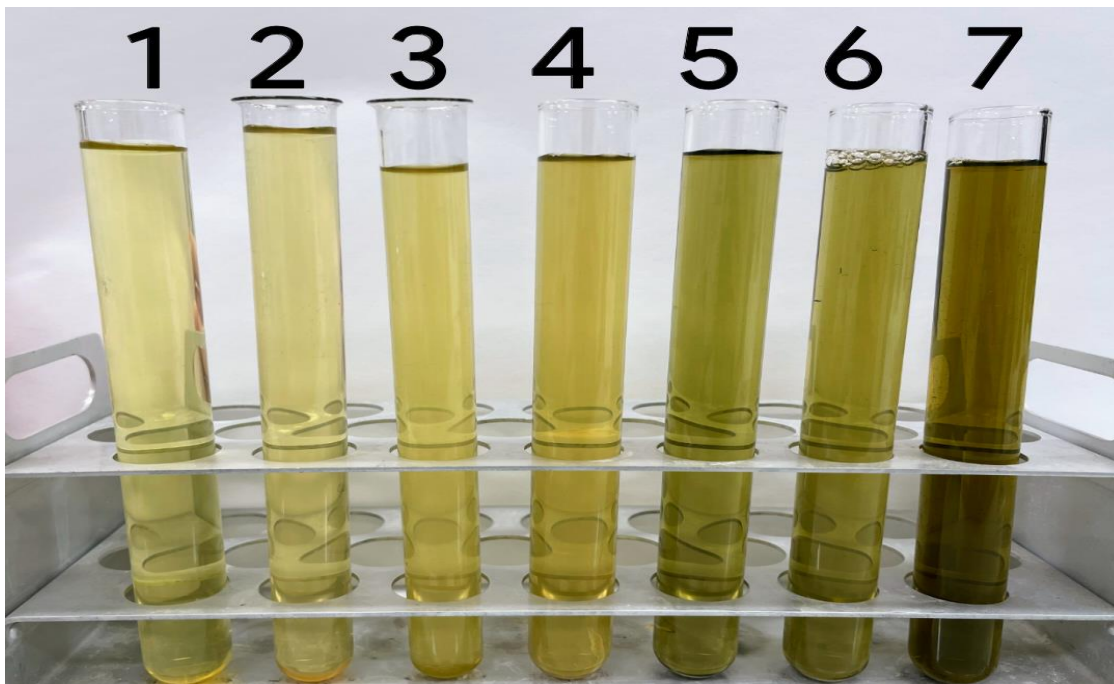
V tabulce č. 11 jsou zaznamenány průměrné hodnoty měření čínského čaje matcha. Vzorky byly měřeny po uplynutí 60 minut od přípravy a následně po 180 minutách při uchování roztoku v temnu.

U všech vzorků minerálních vod s čajem bylo možné zaznamenat, že s přibývajícím časem se měnila jejich světlost  $L^*$ . Rozdíl hodnot stanovených po 60 a po 180 minutách uveden jako  $\Delta L^*$ ,  $\Delta a^*$  a  $\Delta b^*$  (Tabulka č. 11). Nejmenší rozdíl, a tudíž nejvyšší stabilitu barev vykazoval čaj při použití destilované vody. Naopak největší rozdíl byl u Rudolfova pramene, kde čaj ztmavl nejvíce a od prvního měření byl nejtmaším vzorkem. Výraznější změny byly také u Gemerky a Magnesie. Rudolfův pramen je také jediný vzorek, kde se souřadnice barevnosti  $a^*$  po 180 minutách přesunula na ose od záporných hodnot zelené barvy, kterou měla většina vzorků, ke kladným hodnotám barvy červené. Barevné koordináty  $a^*$  a  $b^*$  se pak s přibývajícím časem posouvaly většinou stejným směrem. V případě  $a^*$  od zelené k červené barvě a u  $b^*$  se objevovalo silnější žluté zbarvení. Výjimkou je opět Magnesia a Gemerka, kde se souřadnice barevnosti  $b^*$  posunuly opačným směrem od žluté k modré barvě. V případě Magnesie však velmi nepatrně. Barvy filtrátu čínského matcha čaje po 180 minutách od přípravy zobrazuje Obrázek č. 8.

Tabulka č. 11: Změny barvy a jasu filtrátu čínského čaje matcha v čase

	$L^*$		$\Delta L^*$	$a^*$		$\Delta a^*$	$b^*$		$\Delta b^*$
	60	180		60	180		60	180	
<b>Destil. v.</b>	92,6	91,3	-1,3	-7,6	-7,3	0,3	32,7	33,0	0,3
<b>Korunní</b>	80,9	76,1	-4,8	-2,2	-1,0	1,2	43,3	45,4	2,1
<b>Rajec</b>	82,6	79,4	-3,2	-3,7	-2,2	1,5	38,6	40,6	2,0
<b>Magnesia</b>	85,5	77,7	-7,8	-6,5	-6,3	0,2	45,9	45,6	-0,3
<b>Rudolf. p.</b>	75,2	56,9	-18,3	-4,6	1,94	6,54	48,4	51,4	3,0
<b>Gemerka</b>	79,9	71,4	-8,5	-3,6	-2,7	0,9	46,3	45,8	-0,5
<b>Pitná v.</b>	88,8	86,2	-2,6	-4,7	-3,4	1,3	33,6	35,4	1,8

Obrázek č. 8: Barvy filtrátu čínského čaje matcha po 180 minutách od přípravy, autor: Barbora Kadavá



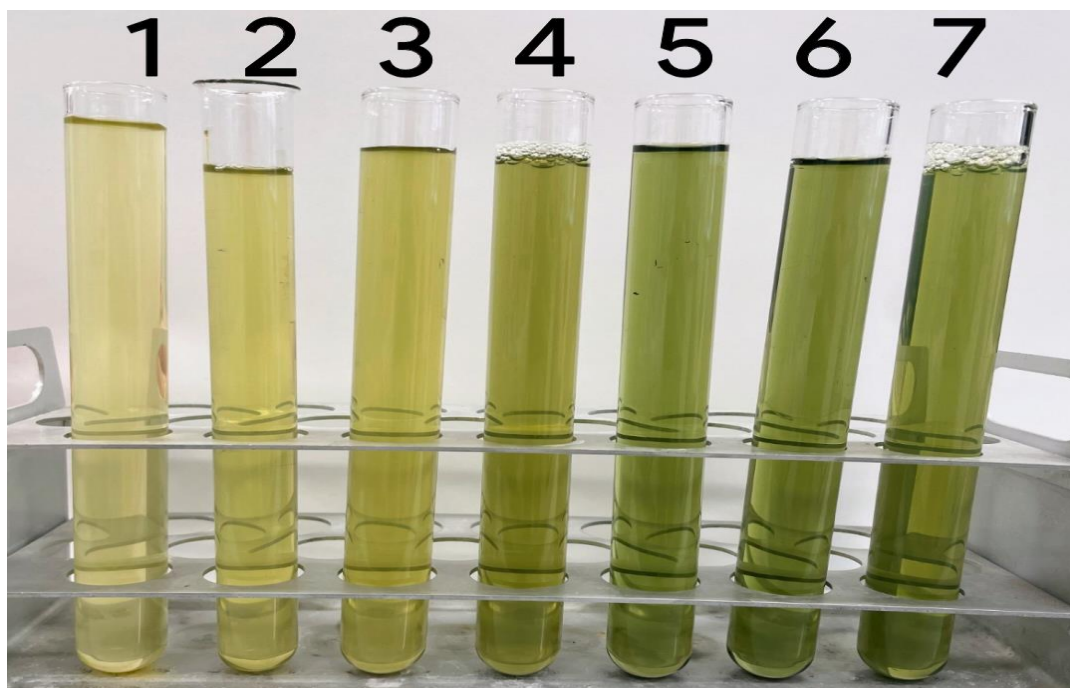
1 destilovaná voda, 2 pitná voda, 3 Rajec, 4 Korunní, 5 Magnesia, 6 Gemerka, 7 Rudolfův pramen

Japonský matcha čaj, který byl zalit jednotlivými druhy vod s postupem času také ztmavl (Obrázek č. 9). Nejvýrazněji se zde projevila minerální voda Korunní, která se na ose světlosti  $L^*$  posunula o více než deset jednotek. Výraznější ztmavnutí bylo také u Rudolfova pramene, Gemerky a Magnesie. Barevné koordináty  $a^*$  se zde pohybovaly výrazněji v záporných hodnotách zelené barvy. S přibývajícím časem se vzorky demineralizované a pitné vody, Rajce a Gemerky posunuly na ose souřadnice barevnosti  $a^*$  ze zelené barvy k modré. Naopak Korunní, Magnesia a Rudolfův pramen se posunuly směrem k výraznějšímu zbarvení zelené. U souřadnice  $b^*$  se Korunní, Rajec a pitná voda posunuly k výraznějšímu zbarvení žluté barvy. Vzorky Magnesie a Gemerky se na této ose téměř nezměnily a pouze demineralizovaná voda se posunula k modrému zbarvení. Výsledky změny barvy, jasů a rozdíl hodnot stanovených po 60 a po 180 minutách uvedeny v Tabulce č. 12. Rozdíl hodnot označen  $\Delta L^*$ ,  $\Delta a^*$  a  $\Delta b^*$ .

Tabulka č. 12: Změny barvy a jasu filtrátu japonského čaje matcha v čase

	L*		$\Delta L^*$	a*		$\Delta a^*$	b*		$\Delta b^*$
	60	180		60	180		60	180	
<b>Destil. v.</b>	82,4	79,3	-3,1	-3,8	-3,4	0,4	26,0	24,5	-1,5
<b>Korunní</b>	81,6	70,9	-10,7	-4,8	-5,1	-0,3	41,4	42,4	1,0
<b>Rajec</b>	79	71,9	-7,1	-2,7	-2,0	0,7	38,6	41,5	2,9
<b>Magnesia</b>	85,6	77,2	-8,4	-9,6	-11,3	-1,7	38,9	38,9	0,0
<b>Rudolf. p.</b>	85,9	76,3	-9,6	-10,4	-11,3	-0,9	40,5	39,7	-0,8
<b>Gemerka</b>	81,4	72,5	-8,9	-7,7	-7,4	0,3	42,4	42,6	0,2
<b>Pitná v.</b>	82,0	78,9	-3,1	-3,5	-2,5	1,0	36,7	39,0	2,3

Obrázek č. 9: Barvy japonského čaje matcha po 180 minutách od přípravy, autor: Barbora Kadavá



1 destilovaná voda, 2 pitná voda, 3 Rajec, 4 Korunní, 5 Rudolfův pramen, 6 Magnesia, 7 Gemerka

Japonský čaj ztmavil u všech vzorků výrazněji, než tomu bylo u čínského matcha čaje. V destilované vodě byla hodnota světlosti  $L^*$  od začátku měření o poznání tmavší než u prvně zmíněného matcha tea. Naopak Rudolfův pramen byl v kombinaci s japonským čajem světlejší. Barevné koordináty  $a^*$  se u japonského čaje pohybovaly ve výraznějším zeleném zbarvení, kdežto čínský čaj měl blíže ke kladným hodnotám červené barvy. Žluté zbarvení na ose souřadnice barevnosti  $b^*$  se u obou vzorků

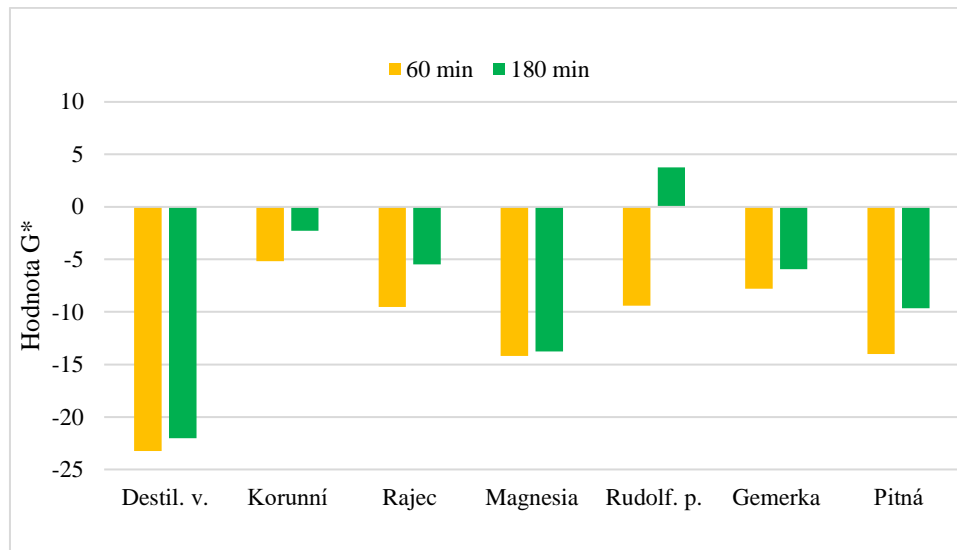


pohybovalo přibližně ve stejných hodnotách. Výjimkou byla destilovaná voda a Magnesia, kde se žluté pigmenty čínského čaje projevíly o poznání silněji než u čaje japonského.

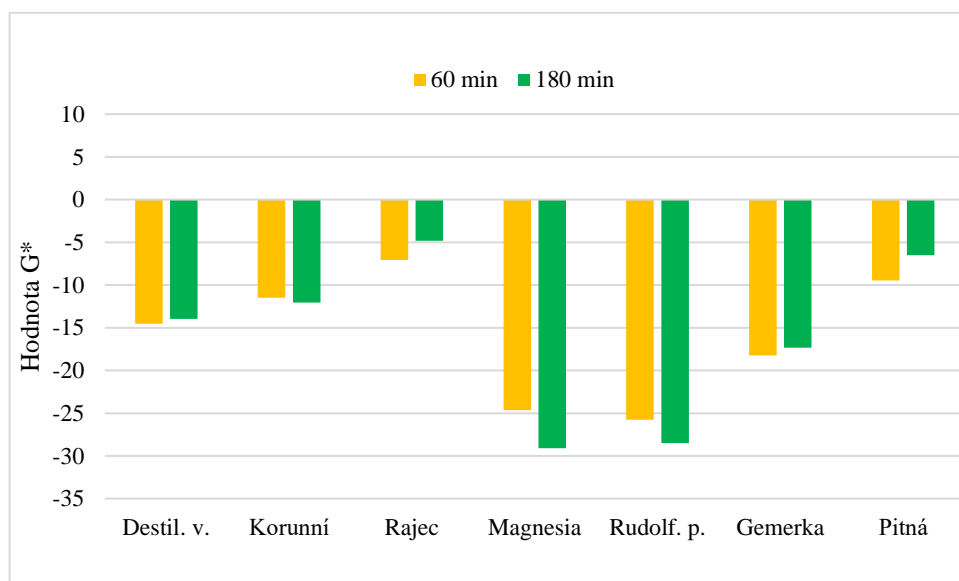
Změřené hodnoty dokazují, jak čaj s přibývajícím časem tmavnul. U vod s nižším obsahem rozpuštěných iontů, tedy u destilované vody či kojenecké vody Rajec, byly barevné změny v čase ve všech parametrech méně výrazné. Naopak nejvyšší rozdíly v světlosti barvy i u barevných koordinátů \*a a \*b byly zaznamenány u silně mineralizovaných vod Gemerka a Rudolfův pramen.

Barva matcha čaje je jeden z nejdůležitějších faktorů, které se podílí na kvalitě produktu. Pokles barvy souvisí s kvalitativními charakteristikami produktu. Snížené hodnoty zelené barvy jsou spojeny s úbytkem chlorofylu, který se snadno zničí působením různých stresových faktorů. Tepelný stres vyvolá ztrátu makromolekul, včetně chlorofylu určujícího zelenou barvu čaje a způsobí stárnutí tkání. Zvýšení teploty vede také k narušení rovnováhy mezi reaktivními formami kyslíku a aktivitou enzymu, který tento kyslík eliminuje. V důsledku toho dochází k akumulaci reaktivní formy kyslíku a nerovnováha pak poškozuje strukturu a funkci chloroplastů, což vede ke snížení obsahu chlorofylu [72]. Ke snížení barvy chlorofylu dochází také vlivem iontů hořčíku, které jsou ve chlorofylové složce odděleny a chlorofyl se pak stává feofytinem [73]. Uvádí se, že epikatechin a katechin mají tendenci mít při záhřevu žlutou barvu, zatímco epigalokatechingalát (v matcha čaji nejvíce zastoupený) má tendenci oxidovat do červena [72]. Obsah vápenatých iontů ve vodě ovlivňuje barvu čajového nálevu, usazování čaje a tvorbu zákalu. Zvýšené hodnoty vápníku tak přispívají k zákalu a tmavší barvě čaje [11]. Toto tvrzení se pro námi připravené vzorky potvrdilo.

V Grafu č. 17 a 18 lze porovnat hodnoty zelené barvy a její vývoj v závislosti na čase. Z výsledků vyplývá, že japonská matcha obsahovala zeleného pigmentu více než čínská. S přibývajícím časem docházelo u čínského čaje k úbytku barviva což se kromě dvou výjimek, u Korunní a Rudolfova pramene projevilo i u japonského. Vzorek čínského čaje vykazoval nejnižší hodnotu zelené barvy -23,3 v kombinaci s destilovanou vodou 60 minut od přípravy vzorku. U japonského matcha čaje byla nejnižší hodnota -29,1 zjištěna v kombinaci s minerální vodou Magnesia po uplynutí 180 minutu od přípravy. Záporná hodnota označuje, že měl tento vzorek nejtmavší odstín zelené barvy.



Graf č. 17: Vývoj hodnot zelené barvy u čínského čaje



Graf č. 18: Vývoj hodnot zelené barvy u japonského čaje

## 8 VÝSLEDKY SENZORICKÉHO HODNOCENÍ

Senzorické hodnocení bylo provedeno pro hodnocení barvy, chuti, vůně a celkovou chutnost vzorku. Pro analýzu byly použity dva druhy matcha čaje – čínský a japonský v kombinaci s destilovanou a pitnou vodou a minerálními vodami Korunní a Rudolfův pramen vždy o teplotě 60 °C. Jednotlivé čajové infuze byly připraveny z 1 g matcha čaje a ze 100 ml vody. Příprava probíhala podle pravidel japonského čajového ceremoniálu a infuze byla podávána v čínských porcelánových šálcích (chabei) (Obrázek č. 10). Do sensorického hodnocení se zapojilo celkem 20 respondentů ve věku 31–69 let, 10 žen a 10 mužů.

Senzorická analýza proběhla formou dotazníkového šetření. Úvodní část dotazníku zahrnovala zjištění věku a pohlaví respondenta. Následovalo posouzení vůně vzorku, kdy respondent na stupnici 1–5 zvolil intenzitu vůně (1-nevýrazná vůně, 5-velmi intenzivní vůně) a následně z vybraných možností zatrhl vůni, které se vzorku matcha čaje podobala nejvíce, popřípadě slovy vepsal vůni, která v možnostech nebyla uvedena. Stejným způsobem probíhalo zjištění barvy, chuti, a nakonec zhodnocení celkové chutnosti vzorku, které bylo hodnoceno pouze pomocí číselné stupnice. Vzor dotazníku uveden v Příloze P I.

Po zpracování dotazníků byl vyhodnocen jako celkově nejchutnější vzorek, vzorek japonského matcha čaje v kombinaci s destilovanou vodou. Tuto kombinaci jako nejchutnější zvolilo celkem 16 respondentů. Vůně nejčastěji připomínala trávu a barva zde byla označena jako zelená a v 5 případech jako smaragdová. Chuť byla příjemně zemitá. Vzorek čínského matcha čaje v kombinaci s Rudolfovým pramenem byl naopak hodnocen jako nejméně chutný. Vůně ve 13 případech připomínala rybinu. Barvu respondenti hodnotily nejčastěji jako hnědozelenou a chuť svíravou a hořkou. Minerální voda Korunní v kombinaci s čínským čajem byla 14 respondenty zvolena jako spíše nepříjemná, kdy na stupnici pro celkovou chutnost zvolili číslo 2. Vůně byla hodnocena jako kovová a barva jako žlutozelená. Chuť byla trpká a svíravá. Kombinace Korunní s japonským čajem byla na stupnici chutnosti nejčastěji hodnocena číslem 3. Vůně připomínala trávu a barva byla nejčastěji označena jako zelená. Pitná voda, s oběma druhy matcha čaje, byla po destilované vodě označena za druhou nejvíce chutnou a na stupnici chutnosti bylo v 18 případech zatrženo číslo 4, tedy příjemná chutnost. Vůně byla v obou případech cítit po trávě. Rozdíl byl v barvě, kdy čínská matcha byla hodnocena jako žlutozelená až hnědozelená a japonská jako zelená s vysokou intenzitou zbarvení. Chuť čínského čaje byla hodnocena jako zemitá a trpká, japonský chutnal po trávě.

Senzorická kvalita byla ovlivněna typem vody, především kvůli rozdílům v rozpuštěných iontech. Rozdíly v obsahu minerálních látek přímo ovlivňují chuť a vůni vody. Balené vody jsou mnohými vnímány tak, že chutnají lépe a obsahují méně nečistot [74]. Chuťové vlastnosti pitné vody jsou z velké části určovány kationty ( $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ), zatímco anionty ( $Cl^-$ ,  $NO_3^-$ ) mají tendenci modifikovat chuťovou intenzitu. Minerály v pitné vodě jsou přítomny v hladinách jako prahové hodnoty a jsou tedy slabě vnímatelné. Při hodnocení těchto prahových hodnot je třeba brát v úvahu, že detekce prahových hodnot chuti se mohou lišit pro kationty a pro anionty. Prahové hodnoty mezi lidmi se pak mohou značně lišit v důsledku stravovacích návyků, genetických variací, pohlaví, věku a zdravotních podmínek [75]. Pigmenty rozpustné ve vodě, jako jsou flavonoly, antokyany, flavanony a flavanoly, jsou hlavními sloučeninami, které přispívají k barvě čajových nálevů. Destilovaná voda má velmi nízký obsah iontů, což může být prospěšné pro stabilitu ve vodě rozpustných pigmentů. Lze tedy říci, že typ vody ovlivnil sensorické vlastnosti infuzí matcha čaje v souladu s faktory ovlivňujícími sensorickou kvalitu, které byly v této diplomové práci popsány [76].



Obrázek č. 10: Vzorky čínského matcha čaje pro sensorickou analýzu, Barbora Kadavá

## ZÁVĚR

Diplomová práce zkoumala vliv tvrdosti vody na celkový obsah polyfenolů a vitamínu C v infuzi matcha čaje.

Stanovení minerálních prvků v různě mineralizovaných vodách proběhlo pomocí metody ICP-MS. Toto stanovení však bylo ovlivněno nepřesností měření. Závislost mezi celkovým obsahem polyfenolů a minerálními prvky, které určují tvrdost vody, tedy mezi  $\text{Ca}^{2+}$  a  $\text{Mg}^{2+}$  ionty, neměla lineární charakter. Stejně tomu bylo také u závislosti mezi celkovým obsahem polyfenolů a vodivostí různě mineralizovaných vod.

Tvrdost vody ovlivnila celkový obsah polyfenolů. Zejména u čínského matcha čaje, kde se obsah polyfenolů pohyboval mezi 1145 a 1686 mg/l, byl vliv tvrdosti vody nejpatrnější. U japonského matcha čaje byly zjištěné hodnoty 1103–1300 mg/l stabilnější a v rozsahu se příliš nelišily. U obou druhů čajů se pro zachování nejvyššího obsahu polyfenolů ve výluhu jevila nejlépe destilovaná voda, která obsahovala pouze stopové množství minerálních prvků. Se zvyšující se mineralizací vod naopak obsah polyfenolů klesal. Teplota vody 60 °C a 80 °C, při přípravě matcha čaje, se na obsahu polyfenolů neprojevila.

Kyselina askorbová, stanovená pomocí jodometrické titrace, dosáhla vyšších hodnot u vzorku matcha čaje vyrobeného v Japonsku 26–43 mg/l, u čínského čaje byly hodnoty nižší 24–41 mg/l. Na obsah vitamínu C ve výsledné infuzi měla vliv teplota vody při přípravě čaje. Ve všech případech došlo se zvýšením teploty na 80 °C k úbytku vitamínu C. Projevila se zde také tvrdost vody, kdy nejvyššího obsahu kyseliny askorbové bylo dosaženo, stejně jako u polyfenolů, při použití destilované vody.

Při kolorimetrickém stanovení došlo s přibývajícím časem u všech vzorků ke změně světlosti čajové infuze. Největší rozdíl byl u nejvíce mineralizovaných vod. Japonský matcha čaj tmavěl výrazněji než matcha čínská. U čínského čaje se barevné koordináty s přibývajícím časem pohybovaly od zelené barvy k červené a výrazně se projevilo také žluté zbarvení. Barevné koordináty u japonského matcha čaje se s rostoucím časem posunuly od zelené barvy k modré nebo v některých případech k výraznější zelené. Lze tedy říci, že obsah minerálních prvků ve vodě ovlivnil barvu čajové infuze.

Zjištěné hodnoty podpořily teorii o zpracování čaje, kdy se vlivem šetrnějšího zpracování japonského matcha čaje zachovalo více vitamínu C než u čínského a kdy

vlivem techniky zastiňování, aplikované při pěstování japonských čajů, dochází ke snížení počtu některých obsahových látek, jako například polyfenolů.

Senzorická analýza vyhodnotila japonskou matchu v kombinaci s destilovanou vodou za nejvíce chutnou a potvrdila tak výsledky z předchozích stanovení, které vyhodnotily nejméně mineralizovanou vodu jako nejvhodnější pro zachování obsahových látek a celkově pro přípravu čaje.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

1. GASCOYNE Kevin. *Tea: history, terroirs, varieties*, 2018. ISBN 9780228100270.
2. Vyhláška č. 330/1997 Sb., kterou se provádí zákon č. 110/1997 Sb, o potravinách a tabákových výrobcích. In: *Zákony pro lidi* [online]. AION CS, 2010-2023 [cit. 2023-03-24]. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/1997-330>
3. SAEED M. et al., *Green tea (Camellia sinensis) and l-theanine: Medicinal values and beneficial applications in humans-A comprehensive review*. Biomed Pharmacother. 2017 (95) s. 1260-1275. doi: 10.1016/j.biopha.2017.09.024. PMID: 28938517.
4. SAEED M. et al., *Green tea (Camellia sinensis) and l-theanine: Medicinal values and beneficial applications in humans-A comprehensive review*. Biomed Pharmacother. 2017 (95) s. 1260-1275. doi: 10.1016/j.biopha.2017.09.024. PMID: 28938517.
5. VALTER, Karel. *Vše o čaji pro čajomily*. Praha: Granit, 2016. ISBN 978-80-7296-101-6.
6. GAYLARD, Linda. *Čajové opojení*. Praha, 2017. ISBN 978-80-7549-282-1
7. LANGLEY E. *Antioxidant potential of green and black tea determined using the ferric reducing power (FRAP) assay*. Food Science & Nutrition. 2000. 51(3) s. 181-8. doi: 10.1080/09637480050029683. PMID: 10945114.
8. ZHAI X., et al., *Formation of dimethyl sulfide from the decomposition of S-methylmethionine in tea (Camellia sinensis) during manufacturing process and infusion brewing*. Food Res Int. 2022. 16(2) doi: 10.1016/j.foodres.2022.112106. PMID: 36461406.
9. D'OFFAY, Timothy. *Tajemství domácí čajovny: recepty se sypaným čajem, které si snadno připravíte doma*. Brno: CPress, 2018. ISBN 978-80-264-1953-2.
10. CHEADLE, Louise a Nick KILBY. *Knih o čaji matcha: vše, co jste o tomto úžasném zeleném superčaji chtěli vědět*. Praha: Euromedia, 2017. Esence. ISBN 978-80-7549-284-5.
11. KOCHMAN J, Jakubczyk K, Antoniewicz J, Mruk H, Janda K. *Health Benefits and Chemical Composition of Matcha Green Tea: A Review*. Molecules. 2020. 26(1) doi: 10.3390/molecules26010085. PMID: 33375458.

12. LUO Y. et al., *Variations of main quality components of matcha from different regions in the Chinese market*. *Front Nutr.* 2023. 9(10) doi: 10.3389/fnut.2023.1153983. PMID: 36969824.
13. LI My, Liu H.Y., Wu D.T., et al., *L-Theanine: A Unique Functional Amino Acid in Tea (Camellia sinensis L.) With Multiple Health Benefits and Food Applications*. *Front Nutr.* 2022, 4(9), doi: 10.3389/fnut.2022.853846. PMID: 35445053.
14. UNNO K, Furushima D, Hamamoto S et al., *Stress-Reducing Function of Matcha Green Tea in Animal Experiments and Clinical Trials*. *Nutrients.* 2018, 10(10). doi: 10.3390/nu10101468. PMID: 30308973.
15. MUSIAL C, Kuban-Jankowska A, Gorska-Ponikowska M: *Beneficial Properties of Green Tea Catechins.*, *Int Mol Sci*, 2020; 21(5):1744. doi: 10.3390/ijms21051744.
16. MITSCHER, Lester A. a Victoria DOLBY TOEWS. *Kniha o zeleném čaji: čínský pramen mláde: jak pomocí zeleného čaje předcházet rakovině a zpomalovat stárnutí*. Praha: ZEMS, 2006. ISBN 80-903305-9-2.
17. LOBO V, Patil A, Phatak A, Chandra N. *Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health*. *Pharmacogn Rev.* 2010, 4(8), s. 118-26. doi: 10.4103/0973-7847.70902. PMID: 22228951.
18. PETERS C. M, Green R. J, Janle E. M, Ferruzzi M. G. *Formulation with ascorbic acid and sucrose modulates catechin bioavailability from green tea*. *Food Res Int.* 2010. 43(1) s. 95-102. doi: 10.1016/j.foodres.2009.08.016. PMID: 20161530.
19. RECHNER, A. R. et al. *The metabolic fate of dietary polyphenols in humans*. *Free Radical Biology and Medicine*. Amsterdam: Elsevier, 2002. 33(2) ISSN 0891-5849.
20. BRAVO, L. *Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance*, *Nutrition Reviews.* 56(11) Oxford: Oxford University Press, 1998. ISSN 0029-6643.
21. MIRANDA; J. et al. *Potential Application of Non-flavonoid Phenolics in Diabetes*. *Current Medicinal Chemistry.* 22(1) Sharjah: Bentham Science Publishers, 2015. ISSN 0929-8673.
22. MANACH, C. et al. *Polyphenols: food sources and bioavailability*. *American Journal of Clinical Nutrition.* 79(5) Rockville: ASN, 2004. ISSN 0002-9165



23. KING. A; YOUNG, G. *Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals*. Journal of the American Dietetic Association. 99(2) Chicago: ADA, 1999. ISSN 1878-3570.
24. LACHMAN, J. et al. *Antioxidační komplex bioflavonoidů a askorbové kyseliny v jablkách*, Chemické listy. 94(9) Praha: ČSCh, 2000. ISSN 1803-2389.
25. VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. *Chemie potravin 2*. 3. vydání. Tábor: OSSIS, 2009. ISBN 978-80-86659-15-2.
26. DABEEK W. M., Marra M. V. *Dietary Quercetin and Kaempferol: Bioavailability and Potential Cardiovascular-Related Bioactivity in Humans*. Nutrients. 2019 11(10). doi: 10.3390/nu11102288. PMID: 31557798.
27. JAKUBCZYK K, Kochman J, Kwiatkowska A, Kałduńska J, Dec K, Kawczuga D, Janda K. *Antioxidant Properties and Nutritional Composition of Matcha Green Tea*. Foods. 2020. 9(4) doi: 10.3390/foods9040483. PMID: 32290537.
28. OHISHI T, Fukutomi R, Shoji Y, Goto S, Isemura M. *The Beneficial Effects of Principal Polyphenols from Green Tea, Coffee, Wine, and Curry on Obesity*. Molecules. 2021 Jan 26(2). doi: 10.3390/molecules26020453. PMID: 33467101.
29. MAZUR, W. *Phytoestrogen content in foods*, Bailliere's Clinical Endocrinology and Metabolism. 12(4) London: Bailliere Tindall, 1998. ISSN 0950-351X.
30. LIMA M.B. et al., *Turbidimetric and photometric determination of total tannins in tea using a micro-flow-batch analyzer*. Talanta. 2012. 15(88) s. 717-723. doi: 10.1016/j.talanta.2011.11.076. PMID: 22265564.
31. STRAKA, I. *Výskyt polyfenolů v ovoci a zelenině*, Kvalita potravin. 6(2) Šumperk: Qualifood, 2006. ISSN 1213-6859.
32. ŠMIDRKAL, J. et al. *Resveratrol*, Chemické listy. 95(10) Praha: ČSCh, 2001. ISSN 1803-2389.
33. RODRÍGUEZ-GARCÍA C. et al., *Naturally Lignan-Rich Foods: A Dietary Tool for Health Promotion?* Molecules. 2019, 24(5). doi: 10.3390/molecules24050917. PMID: 30845651.
34. STALIKAS, Constantine D. *Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids*. Journal of separation science, 2007, 30(18) s. 3268-3295. doi: 10.1002/jssc.200700261. PMID: 18069740.
35. VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. *Chemie potravin 1*. 3. vydání. Tábor: OSSIS, 2009. ISBN 978-80-86659-16-9.

36. NUNZIA Cicco et al. *A reproducible, rapid and inexpensive Folin–Ciocalteu micro-method in determining phenolics of plant methanol extracts*, Microchemical Journal. Volume 91, Issue 1, 2009, s. 107-110, ISSN 0026-265X.
37. SHAHIDI, F., Naczki, M., *Phenolics in food and nutraceuticals*. Boca Raton: CRC Press, 2004, ISBN 1-58716-138-9.
38. ŠTÍPEK, S. et al. *Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a v nemoci*. Praha: Grada, 2000. ISBN 80-7169-704-4.
39. STOCLET et al. *Vascular protection by dietary polyphenols*, European Journal of Pharmacology. 500 (1-3) Amsterdam: Elsevier, 2004. ISSN 1879-0712.
40. KUPINA S, Fields C, Roman M. C, Brunelle S. L. *Determination of Total Phenolic Content Using the Folin-C Assay: Single-Laboratory Validation*, 2018. 101(5), s. 1466-1472. doi: 10.5740/jaoacint.18-0031. PMID: 29895350.
41. JOPP, Andreas. *Vitaminy a stopové prvky pro zdraví*. Praha: Eminent, 2014. ISBN 978-80-7281-489-3.
42. KLADENSKÝ, Jiří. *Vliv vitamínu, minerálů a stopových prvků na lidské zdraví s podrobnějším zaměřením na urogenitální systém*. Praktické lékařství. 2017 (2), s. 58-62. ISSN 1801-2434.
43. eAGRI: *Stanovení obsahu vitamínu C metodou HPLC*. [online]. [cit. 2023-03-29]. Dostupné z: [https://eagri.cz/public/web/file/246808/\\_10260.\\_1\\_Stanoveni\\_obsahu\\_vitamínu\\_C\\_metodou\\_HPLC.pdf](https://eagri.cz/public/web/file/246808/_10260._1_Stanoveni_obsahu_vitamínu_C_metodou_HPLC.pdf)
44. NOVÁKOVÁ L. et al., *HPLC methods for simultaneous determination of ascorbic and dehydroascorbic acids*. Trends in Analytical Chemistry, 2008, 27(10), s. 942–958. ISSN 0165M9936.
45. GIOIA M.G, Andreatta P, Boschetti S, Gatti R. *Development and validation of a liquid chromatographic method for the determination of ascorbic acid, dehydroascorbic acid and acetaminophen in pharmaceuticals*. J Pharm Biomed Anal. 2008. 48(2) s. 331-339. doi: 10.1016/j.jpba.2008.01.026.
46. ARYA S.P., M Mahajan, P Jain. *Non-spectrophotometric methods for the determination of Vitamin C*, Analytica Chimica Acta, Issue 1, 2000, s. 1-14, ISSN 0003-2670. [doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)00909-0](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)00909-0).
47. BELOUS, O. Platonova, N., *Content of Vitamin C and Ruthin in Krasnodar Tea*. Green Reports. 2020. (1). s. 1-4. 10.36686/Ariviyal. GR.2020.01.02.007.

48. WYROSTEK J, Kowalski R. *The Effect of Water Mineralization on the Extraction of Active Compounds from Selected Herbs and on the Antioxidant Properties of the Obtained Brews*. *Foods*. 2021 10(6) doi: 10.3390/foods10061227. PMID: 34071300.
49. Zákon č. 258/2000 Sb. Zákon o ochraně veřejného zdraví. In: *Zákony pro lidi* [online]. AION CS, 2010-2023 [cit. 2023-04-2]. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2000-258>
50. PIVOKONSKÝ, Martin. *Úprava pitné vody*. [Praha]: Středisko společných činností AV ČR, 2019. Věda kolem nás. ISBN 978-80-270-6000-9.
51. Vyhláška č. 252/2004 Sb., kterou se stanoví hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu. In: *Zákony pro lidi* [online]. AION CS, 2010-2023 [cit. 2023-03-29]. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/1997-330>
52. Pražské vodovody a kanalizace. [online]. [cit. 2023-03-04]. Dostupné z: <https://www.pvk.cz/vse-o-vode/pitna-voda/>
53. JANOŠKA, Martin. *Minerální prameny v Čechách, na Moravě a ve Slezsku*. Praha: Academia, 2011. ISBN 978-80-200-1615-7.
54. Zákon č. 164/2001 Sb., o přírodních léčivých zdrojích, zdrojích přírodních minerálních vod a přírodních léčebných lázních. In: *Zákony pro lidi* [online]. AION CS, 2010-2023 [cit. 2023-04-04]. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2001-164>
55. Vyhláška č. 423/2001 Sb., kterou se stanoví způsob a rozsah hodnocení přírodních léčivých zdrojů a zdrojů přírodních minerálních vod. In: *Zákony pro lidi* [online]. AION CS, 2010-2023 [cit. 2023-04-04]. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2001-423>
56. Vyhláška č. 275/2004 Sb., o požadavcích na jakost a zdravotní nezávadnost balených vod. In: *Zákony pro lidi* [online]. AION CS, 2010-2023 [cit. 2023-04-04]. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2004-275>
57. POTUŽÁK, Miloš. *Minerální vody ve výživě a terapii*. *Praktické lékařství*. 2011(5), s. 242-244. ISSN 2788-1709.
58. QUATTRINI S, Pampaloni B, Brandi M. L. *Natural mineral waters: chemical characteristics and health effects*. *Clin Cases Miner Bone Metab*. 2016. 13(3), s. 173-180. doi: 10.11138/ccmbm/2016.13.3.173. PMC5318167.
59. MIHALJEVIČ, Martin. *Využití hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem v geochemii*. *Chemické listy*. 2004, 98, s. 123-130. ISSN 1803-2389.

60. SUMCZYNSKI, Daniela et al., *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, s. 386-392. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.05.061.
61. WASYLUK, Rostislav. Elektrotechnologie pro školu a praxi. Praha: Scientia, 2004. ISBN 80-7183-306-1.
62. Internetové stránky přístroje HunterLab. [online]. [cit. 2023-04-01]. Dostupné z: [www.hunterlab.com/en/products/benchttop-spectrophotometers/ultra-scan-pro](http://www.hunterlab.com/en/products/benchttop-spectrophotometers/ultra-scan-pro)
63. eAGRI. *Návrh vyhlášky o požadavcích na čaj, kávu a kávoviny*. [online]. [cit. 2023-03-27] Dostupné z: [https://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/pripravovana-legislativa/navrhy-vyhlassek-pripravovane-mze/\\_prezentace\\_cz\\_mze\\_legislativa\\_pripravovana-legislativa\\_navrhy-vyhlassek-pripravovane-mze\\_navrh-vyhlascky-kavoviny.html](https://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/pripravovana-legislativa/navrhy-vyhlassek-pripravovane-mze/_prezentace_cz_mze_legislativa_pripravovana-legislativa_navrhy-vyhlassek-pripravovane-mze_navrh-vyhlascky-kavoviny.html)
64. KIM J. M, et al., *Effect of storage temperature on the antioxidant activity and catechins stability of Matcha (Camellia sinensis)*. Food Science Biotechnol. 2020. 29(9) s.1261-1271. doi: 10.1007/s10068-020-00772-0.
65. CABRERA M. et al. *Effect of Water Hardness on Catechin and Caffeine Content in Green Tea Infusions*. Molecules. 2021. 26(12) doi: 10.3390/molecules26123485. PMID: 34201178.
66. RAHMAN, Alief, Purwanto, Djoko Isnaeni. *The Effect of Vitamin C Addition on Epigallocatechin Gallate (EGCG) Stability in Green Tea Solution*. JURNAL FARMASI DAN ILMU KEFARMASIAN INDONESIA. 2020. 6. 62. 10.20473/jfiki.v6i22019.62-68.
67. CHEN X, Ye K, Xu Y, Zhao Y, Zhao D. *Effect of Shading on the Morphological, Physiological, and Biochemical Characteristics as Well as the Transcriptome of Matcha Green Tea*. Int J Mol Sci. 2022. 23(22) doi: 10.3390/ijms232214169. PMID: 36430647.
68. SAPEI Lanny, Lie Hwa. *Study on the Kinetics of Vitamin C Degradation in Fresh Strawberry Juices*, Procedia Chemistry, 2014, 9, s. 62-68, ISSN 1876-6196, <https://doi.org/10.1016/j.proche.2014.05.008>.
69. FRANKS M. et al., *The Influence of Water Composition on Flavor and Nutrient Extraction in Green and Black Tea*. Nutrients. 2019. 11(1) doi: 10.3390/nu11010080. PMID: 30609818.

70. HUANG, Wen-Ying et al., *Effects of Water Solutions on Extracting Green Tea Leaves*. The Scientific World Journal. 2013. 368350. 10.1155/2013/368350.
71. HERBIG A. L, Renard C. M. *Factors that impact the stability of vitamin C at intermediate temperatures in a food matrix*. Food Chemistry. 2017. (1). s. 444-451. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.10.012. Epub 2016 Oct 4. PMID: 27855924.
72. LI X. et al., *Determination of Chlorophyll and Pheophytin in Green Tea Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy*. Molecules. 2018 Apr 23(5) doi: 10.3390/molecules23051010.
73. FRANKS M. et al., *The Influence of Water Composition on Flavor and Nutrient Extraction in Green and Black Tea*. Nutrients. 2019 Jan 11(1) doi: 10.3390/nu11010080.
74. DIDUCH M, Polkowska Z, Namieśnik J. *Chemical quality of bottled waters: a review*. J Food Sci. 2011. 76(9) doi: 10.1111/j.1750-3841.2011.02386.x. PMID: 22416719.
75. MONIQUE H. Vingerhoeds, Mariska A. et al., *Sensory quality of drinking water produced by reverse osmosis membrane filtration followed by remineralisation*, Water Research, 2016. (94) s. 42-51, ISSN 0043-1354.
76. ZHANG H, et al., *Effect of water quality on the main components in Fuding white tea infusions*. J Food Sci Technol. 2017 54(5) s. 1206-1211. doi: 10.1007/s13197-017-2571-2. PMID: 28416871.

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

C	katechin
EC	epikatechin
ECG	epikatechingalát
EGC	epigalokatechin
EGCG	epigalokatechingalát
TPC	celkový obsah polyfenolů
TDS	obsah rozpuštěných pevných látek

**SEZNAM OBRÁZKŮ A GRAFŮ**

Obrázek 1: Pomůcky pro čajový rituál	16
Obrázek 2: Matcha prášek vyrobený v Číně (vlevo) a v Japonsku (vpravo)	18
Obrázek 3: Struktura čtyř hlavních katechinů v zeleném čaji	20
Obrázek 4: Strukturní vzorec kyseliny askorbové	27
Obrázek 5: Barvená škála softwaru EasyMatch QC	43
Obrázek 6: Čínský čaj matcha při mikroskopickém zvětšení	44
Obrázek 7: Japonský čaj matcha při mikroskopickém zvětšení	44
Obrázek 8: Barvy filtrátu čínského čaje matcha po 180 minutách od přípravy	63
Obrázek 9: Barvy filtrátu japonského čaje matcha po 180 minutách od přípravy	64
Obrázek 10: Vzorky čínského matcha čaje pro senzorickou analýzu	68
Graf 1: Celkový obsah polyfenolů – kalibrační křivka kyseliny gallové	39
Graf 2: Celkový obsah polyfenolů ve filtrátu matcha čaje z Číny	48
Graf 3: Celkový obsah polyfenolů ve filtrátu matcha čaje z Japonska	49
Graf 4: Obsah vitamínu C ve vzorcích čínského matcha čaje	52
Graf 5: Obsah vitamínu C ve vzorcích japonského matcha čaje	53
Graf 6: Obsah vitamínu C ve vzorcích stanovený metodou HPLC-UV/VIS – čínská matcha	54
Graf 7: Obsah vitamínu C ve vzorcích stanovený metodou HPLC-UV/VIS – japonská matcha	55
Graf 8: Kalibrační křivka – závislost absorpance na koncentraci kyseliny gallové	56
Graf 9: Vliv obsahu hořčíku ve vodě na celkový obsah polyfenolů ve vodné fázi čínského matcha čaje	58
Graf 10: Vliv obsahu hořčíku ve vodě na celkový obsah polyfenolů ve vodné fázi japonského matcha čaje	58
Graf 11: Vliv obsahu vápníku ve vodě na celkový obsah polyfenolů ve výluhu čínského matcha čaje	59
Graf 12: Vliv obsahu vápníku ve vodě na celkový obsah polyfenolů ve výluhu japonského matcha čaje	59
Graf 13: Vliv obsahu vápníku a hořčíku ve vodě na celkový obsah polyfenolů ve výluhu čínské matchy	60
Graf 14: Vliv obsahu vápníku a hořčíku ve vodě na celkový obsah polyfenolů ve výluhu japonské matchy	60

---

Graf 15: Vliv vodivosti vody na celkový obsah polyfenolů, který přešel do vodné fáze čínského čaje	61
Graf 16: Vliv vodivosti vody na celkový obsah polyfenolů, který přešel do vodné fáze japonského čaje	61
Graf 17: Vývoj hodnot zelené barvy u čínského čaje	66
Graf 18: Vývoj hodnot zelené barvy u japonského čaje	66



**SEZNAM TABULEK**

Tabulka 1: Meze tvrdosti vody	31
Tabulka 2: pH čajových infuzí po filtraci	45
Tabulka 3: Hodnoty vodivosti a TDS	47
Tabulka 4: Celkový obsah polyfenolů ve filtrátech matcha čajů	48
Tabulka 5: Výsledky měření kyseliny askorbové jodometricky – čínská matcha	51
Tabulka 6: Výsledky měření kyseliny askorbové jodometricky – japonská matcha	53
Tabulka 7: Výsledky měření kyseliny askorbové metodou HPLC-UV/VIS – čínská matcha	54
Tabulka 8: Výsledky měření kyseliny askorbové metodou HPLC-UV/VIS – japonská matcha	55
Tabulka 9: Obsah vybraných prvků ve vodách použitých pro přípravu čaje	57
Tabulka 10: Obsah vybraných prvků ve vodách použitých pro přípravu čaje uváděný výrobcí	57
Tabulka 11: Změny barvy a jasů filtrátu čínského čaje matcha v čase	62
Tabulka 12: Změny barvy a jasů filtrátu japonského čaje matcha v čase	64

## SEZNAM PŘÍLOH

Příloha P I: Dotazník pro sensorické hodnocení čaje Matcha

# PŘÍLOHA P I: DOTAZNÍK

## Dotazník pro senzorické hodnocení čaje Matcha

Vzorek č.:

Datum:

Pohlaví:

Věk:

### Vůně

Určete intenzitu vůní a celkovou příjemnost vůně předloženého čaje Matcha na stupnici 1-5, kde nejnižší hodnota znamená nevýraznou vůni (1) a nejvyšší hodnota vůni velmi intenzivní (5).

**1**  
Nevýrazná vůně

**2**

**3**

**4**

**5**  
Velmi intenzivní vůně

bylinná

kovová

trávová po seně

prázdná

plesnivá

jiná\* .....

### Barva

Zatrhněte odstín barvy a určete intenzitu barvy na stupnici 1-5, kde 1 znamená nepřítomnost barvy a 5 znamená velmi intenzivní barvu.

**1**  
Nepřítomnost barvy

**2**

**3**

**4**

**5**  
Velmi intenzivní barva

žlutá

hnědožlutá

červená

červenohnědá

žlutozelená

zelená

hnědozelená

hnědá

jiná\* .....

## Chuť

Určete intenzitu chuti a celkovou příjemnost chuti čaje Matcha na stupnici 1-5, kde nejnižší hodnota znamená nulovou intenzitu chuti (1) a nejvyšší hodnota maximální intenzitu chuti (5).

1	2	3	4	5
Nulová intenzita chuti				Maximální intenzita chuti
<input type="checkbox"/> nasládlá		<input type="checkbox"/> svíravá		<input type="checkbox"/> hořká
<input type="checkbox"/> trpká		<input type="checkbox"/> kovová		<input type="checkbox"/> trávová po seně
<input type="checkbox"/> prázdná		<input type="checkbox"/> zemitá		<input type="checkbox"/> hnilobná
<input type="checkbox"/> jiná* .....				

## Celková chutnost

Zhodnoťte celkovou chutnost (příjemnost vůně a chuti) čaje Matcha na stupnici 1-5, kde nejnižší hodnota (1) znamená nepříjemnou chutnost a nejvyšší hodnota (5) znamená velmi příjemnou chutnost. Zakroužkujte.

1	2	3	4	5
Nepříjemná chutnost				Velmi příjemná chutnost

\* Při výběru této možnosti prosím popište