

Vliv stravitelnosti na uvolňování polyfenolických látek z matrice matcha čaje

Bc. Anna Kadlčíková

Diplomová práce
2025



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

Akademický rok: 2024/2025

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení:	Bc. Anna Kadlčíková
Osobní číslo:	T23468
Studijní program:	N0721A210004 Technologie potravin
Forma studia:	Kombinovaná
Téma práce:	Vliv stravitelnosti na uvolňování polyfenolických látek z matrice matcha čaje

Zásady pro vypracování

I. Teoretická část

Charakterizovat rostlinu čajovníku čínského a jeho pěstování, podrobněji popsat pěstování čajovníku pro výrobu matcha čaje.

Charakterizovat polyfenolické látky matcha čaje s důrazem na jejich případnou využitelnost při procesu trávení.

II. Experimentální část

Provést stravitelnost matcha čaje v podmínkách *in vitro* s jeho následným vlivem na uvolňování volných a vázaných polyfenolů z matrice čajového listu. Využít metody spektrofotometrické a metodu kapalinové chromatografie.

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

Seznam doporučené literatury:

- [1] SHAHIDI, Fereidoon a AMBIGAIPALAN, Priyatharini. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. Online. *Journal of Functional Foods*. 2015, roč. 18, s. 820–897. ISSN 17564646.
- [2] KOLÁČKOVÁ, Tereza; SUMCZYNSKI, Daniela; MINAŘÍK, Antonín; YALÇIN, Erkan a ORSAVOVÁ, Jana. The Effect of In Vitro Digestion on Matcha Tea (*Camellia sinensis*) Active Components and Antioxidant Activity. Online. *Antioxidants*. 2022, roč. 11, č. 5. ISSN 2076-3921.
- [3] YE, Jian-Hui; FANG, Qi-Ting; ZENG, Lin; LIU, Ru-Yi; LU, Lu et al. A comprehensive review of matcha: production, food application, potential health benefits, and gastrointestinal fate of main phenolics. Online. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. S. 1–22. ISSN 1040-8398.
- [4] PHUAH, Yi Qian; CHANG, Sui Kiat; NG, Wen Jie; LAM, Ming Quan a EE, Kah Yaw. A review on matcha: Chemical composition, health benefits, with insights on its quality control by applying chemometrics and multi-omics. Online. *Food Research International*. 2023, roč. 170. ISSN 09639969.

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

Datum zadání diplomové práce: **1. ledna 2025**
Termín odevzdání diplomové práce: **9. května 2025**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Robert Gál, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 14. února 2025

PROHLÁŠENÍ AUTORA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že

- odevzdáním diplomové práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb., v platném znění bez ohledu na výsledek obhajoby;
- diplomová práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a bude dostupná k nahlédnutí;
- jedno vyhotovení diplomové práce v listinné podobě bude ponecháno Univerzitě Tomáše Bati ve Zlíně k uložení;
- 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 mohu užít své dílo – diplomovou práci – nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování diplomové práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem diplomové práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá; neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji, že

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

Ve Zlíně, dne

.....
podpis autora

ABSTRAKT

Teoretická část diplomové práce se zaměřuje na charakteristiku čajovníku čínského (*Camellia sinensis*) z botanického a taxonomického hlediska s důrazem na jeho vhodné pěstování a způsob zpracování čajových listů pro výrobu matcha čaje. Dále je popsáno chemické složení matcha čajů se zvláštním zaměřením na fenolické látky a jejich následnou využitelnost při procesu trávení. Praktická část práce byla zaměřena na sledování vlivu gastrického a intestinálního trávení simulovaného v laboratorních podmínkách na uvolňování volných a vázaných forem polyfenolických látek z matrice matcha čajů. Stanovení obsahu celkových polyfenolů (TPC) bylo provedeno Folin-Ciocalteuovou metodou a analýza polyfenolického profilu prostřednictvím HPLC. Získané výsledky byly využity k výpočtu retenčních faktorů, které udávají zbytkové procentuální zastoupení fenolických sloučenin v nestrávených podílech po *in vitro* trávení. Výsledky ukazují, že po žaludeční fázi došlo k vyššímu poklesu obsahu TPC ve srovnání s intestinální fází, přičemž snadněji se během trávení uvolňovaly vázané frakce polyfenolů. Z polyfenolického profilu matcha čajů se po gastrickém trávení jevila jako nejhůře stravitelná volná forma kyseliny gallové a z vázaných frakcí vykazovala nejvyšší retenční faktor kyselina *trans*-2-hydroxyskořicová. Po simulaci gastrointestinálního trávení byla stanovena nejvyšší hodnota retence u volného kaempferolu a z vázaných forem se nejhůře uvolňoval kvercetin.

Klíčová slova: *Camellia sinensis*, matcha čaj, *in vitro* stravitelnost, volné a vázané fenolické látky, Folin-Ciocalteuova metoda, HPLC

ABSTRACT

The theoretical part of the thesis focuses on the characteristics of the Chinese tea tree (*Camellia sinensis*) from the botanical and taxonomic perspective, with an emphasis on its appropriate cultivation and the processing of tea leaves for the production of matcha tea. Furthermore, the chemical composition of matcha teas is described, with special focus on phenolic compounds and their subsequent utilization in the digestion process. The practical part of the thesis was aimed at monitoring the effect of gastric and intestinal digestion simulated by *in vitro* technique on the release of free and bound forms of polyphenolic compounds from matcha tea matrix. The total phenolic content (TPC) was determined using the Folin-Ciocalteu method, and analysis of polyphenolic profile by HPLC. The results obtained were used to calculate retention factors, which indicate the residual percentage of phenolic compounds in the undigested parts after *in vitro* digestion. The results show that there was a higher decrease in TPC content after the gastric phase compared to the intestinal phase, with the bound fractions of polyphenols being more easily released during digestion. Of the polyphenolic profile of matcha teas, the free form of gallic acid appeared to be the most difficult to digest after gastric digestion, and of the bound fractions, *trans*-2-hydroxycinnamic acid had the highest retention factor. After simulation of gastrointestinal digestion, the highest retention value was determined for free kaempferol and quercetin was the most poorly released among the bound forms.

Keywords: *Camellia sinensis*, matcha tea, *in vitro* digestibility, free and bound phenolic compounds, Folin-Ciocalteu method, HPLC

Ráda bych upřímně poděkovala doc. Ing. Daniele Sumczynski, Ph.D., za její odborné vedení, podporu a ochotu, kterou mi po celou dobu zpracování této diplomové práce věnovala. Její cenné rady a vstřícný přístup pro mě byly velkým přínosem.

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

OBSAH

ÚVOD.....	10
I TEORETICKÁ ČÁST.....	11
1 CHARAKTERIZACE ČAJOVNÍKU.....	12
1.1 PRODUKCE ČAJE.....	13
1.2 PĚSTOVÁNÍ ČAJOVNÍKU.....	13
1.3 PĚSTOVÁNÍ ČAJOVNÍKU PRO VÝROBU ČAJE MATCHA.....	16
1.4 LEGISLATIVNÍ POŽADAVKY.....	18
2.1 BÍLKOVINY A AMINOKYSELINY.....	20
2.2 LIPIDY A MASTNÉ KYSELINY.....	21
2.3 VLÁKNINA A NÍZKOMOLEKULÁRNÍ SACHARIDY.....	21
2.4 ORGANICKÉ KYSELINY.....	22
2.5 SAPONINY.....	22
2.6 METYLYXANTINOVÉ ALKALOIDY.....	22
2.7 ROSTLINNÉ PIGMENTY.....	23
2.8 VITAMÍNY.....	24
2.9 MINERÁLNÍ LÁTKY.....	24
3 FENOLICKÉ LÁTKY.....	25
3.1 FENOLICKÉ LÁTKY ČAJE.....	26
3.1.1 Fenolické kyseliny.....	27
3.1.2 Flavanoly.....	27
3.1.3 Flavonoly.....	28
3.2 STRAVITELNOST POLYFENOLICKÝCH LÁTEK.....	29
3.2.1 Orální fáze.....	30
3.2.2 Gastrická fáze.....	30
3.2.3 Intestinální fáze.....	31
3.2.4 Kolonická fáze.....	31
II PRAKTICKÁ ČÁST.....	33
4 CÍL PRÁCE.....	34
5 METODIKA.....	35
5.1 CHARAKTERISTIKA VZORKŮ.....	35
5.2 STANOVENÍ OBSAHU SUŠINY.....	35
5.3 STANOVENÍ STRAVITELNOSTI <i>IN VITRO</i> A PŘÍPRAVA NESTRÁVENÉHO PODÍLU.....	36
5.4 EXTRAKCE VOLNÝCH A VÁZANÝCH POLYFENOLICKÝCH LÁTEK.....	38
5.5 STANOVENÍ OBSAHU CELKOVÝCH POLYFENOLICKÝCH LÁTEK.....	39
5.6 STANOVENÍ POLYFENOLICKÉHO PROFILU METODOU HPLC.....	40

5.7	STATISTICKÉ VYHODNOCENÍ	41
6	VÝSLEDKY A DISKUZE	42
6.1	VÝSLEDKY STANOVENÍ STRAVITELNOSTI A OBSAHU SUŠINY VE VZORCÍCH	42
6.2	VÝSLEDKY STANOVENÍ OBSAHU CELKOVÝCH POLYFENOLICKÝCH LÁTEK	43
6.2.1	Vliv stravitelnosti na obsah celkových polyfenolických látek	45
6.3	VÝSLEDKY STANOVENÍ POLYFENOLICKÉHO PROFILU METODOU HPLC	48
6.3.1	Vliv stravitelnosti na uvolňování fenolických látek z matrice matcha čaje	55
	ZÁVĚR.....	62
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	65
	SEZNAM OBRÁZKŮ	77
	SEZNAM TABULEK.....	78
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	79
	SEZNAM PŘÍLOH.....	80

ÚVOD

Matcha čaj je tradiční japonský nápoj, jehož příprava spočívá v rozemletí listů rostliny *Camellia sinensis* na jemný prášek. V posledních letech si získal celosvětovou popularitu nejen díky své charakteristické chuti a výrazné zelené barvě, ale rovněž kvůli vysokému obsahu zdraví prospěšných bioaktivních látek. I když se jedná o formu zeleného čaje, obsah některých složek se může oproti běžným zeleným čajům výrazně lišit v důsledku specifické technologie. Tento rozdíl je dán zejména charakteristickou metodou pěstování čajovníku pro výrobu matcha čaje a rovněž jedinečným postupem zpracování. Uvedený proces pěstování má zásadní vliv na syntézu bioaktivních sloučenin, především pozitivně působí na intenzivnější produkci chlorofylu a L-theaninu v rostlině čajovníku a zároveň snižuje akumulaci fenolických antioxidantů v čajových listech, což příznivě ovlivňuje senzorickou a chemickou kvalitu výsledného čajového produktu. Vzhledem k tomu, že se čaj matcha konzumuje v podobě jemného prášku, jsou tělem přijímány i nerozpustné složky, které by se při přípravě běžného čajového nálevu do výluhu nevyextrahovaly. Tímto se potencionálně zvyšuje nutriční a fyziologický účinek zmíněného práškového typu zeleného čaje.

Zvláštní pozornost je v souvislosti s matchou věnována především obsahu polyfenolických sloučenin, jenž vnikají v rostlinách vlivem sekundárního metabolismu. Polyfenolické látky jsou díky své chemické struktuře považovány za účinné antioxidanty, které přispívají ke snížení oxidačního stresu. Oxidační stres je spojován s rizikem rozvoje celé řady civilizačních chorob, včetně kardiovaskulárních onemocnění. Konzumace potravin rostlinného původu bohatých na polyfenolické sloučeniny je proto často spojována s preventivními účinky na lidské zdraví. V rostlinných tkáních se fenolické antioxidanty vyskytují v několika různých formách, proto je tato diplomová práce zaměřena nejen na sledování vlivu stravitelnosti na uvolňování volných forem polyfenolických sloučenin z matrice matcha čaje, ale rovněž na posouzení stravitelnosti polyfenolů vázaných na složky buněčných stěn. Pro stanovení procentuálního zastoupení polyfenolů v nestrávených podílech matcha čajů po simulaci *in vitro* trávení byla využita spektrofotometrická metoda a analýza metodou HPLC.

I TEORETICKÁ ČÁST

1 CHARAKTERIZACE ČAJOVNÍKU

Čajovník čínský (*Camellia sinensis*) je druh čajovníku, který je převážně určen k výrobě různých druhů čajů, jehož botanická klasifikace je popsána dle příslušné taxonomie v bodech níže (Hilal a Engelhardt, 2007).

- říše: rostliny,
- podříše: cévnaté rostliny,
- nadoddělení: semenné rostliny,
- oddělení: krytosemenné rostliny,
- třída: nižší dvouděložné rostliny,
- řád: vřesovcovité,
- čeleď: čajovníkovité,
- rod: *Camellia*,
- druh: *Camellia sinensis* (Shrivastava et al., 2018; Namita et al., 2012).

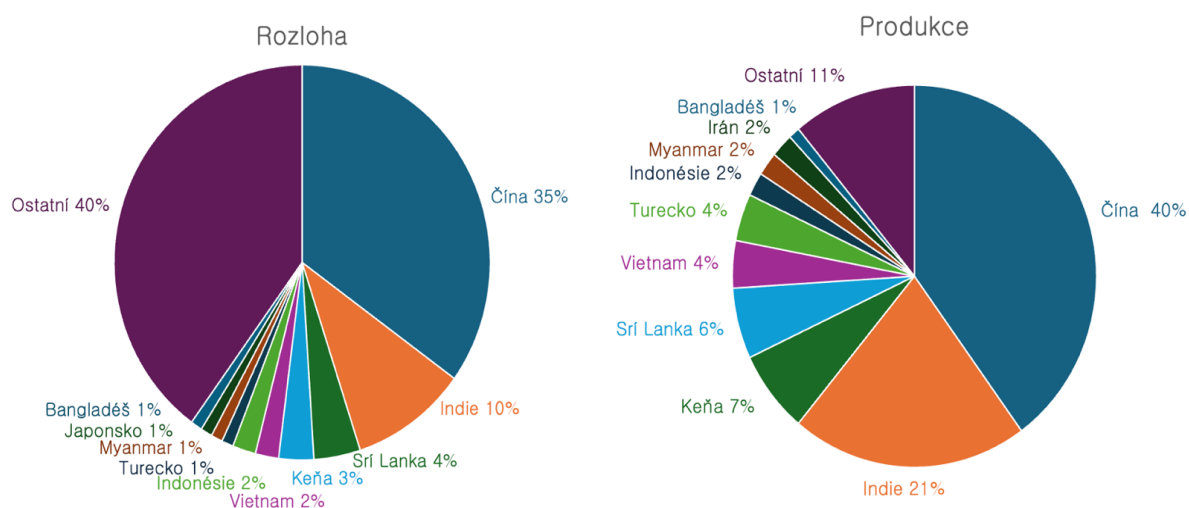
Dále lze rozlišovat z botanického hlediska dvě zásadní odrůdy čajovníku čínského, první z nich se nazývá *Camellia sinensis* var. *sinensis* (čajovník čínský) a tou druhou je *Camellia sinensis* var. *assamica* (čajovník asámský). Obě výše uvedené odrůdy jsou nepostradatelnou součástí čajové produkce (Hilal a Engelhardt, 2007).

Camellia sinensis var. *sinensis* pochází z jižní a jihovýchodní Asie, především z Číny (Namita et al., 2012). Jedná se o zelený keř menšího vzrůstu, s několika stonky a velmi silným kořenem. Listy čajovníku čínského jsou z morfologického hlediska kožovité, tvrdé, matné, tmavě zeleně zbarvené a nabývají menších rozměrů, na jejichž okrajích jsou znatelné vroubky (Wachira et al., 2013; Namita et al., 2012; Hilal, 2017).

Camellia sinensis var. *assamica* je původem ze severní Indie, konkrétně z oblasti Asamu (Shrivastava et al., 2018). Čajovník asámský je vysoký strom dosahující výšky až 15 m. Listy mají špičatý tvar, bez vroubků na okrajích, jsou lesklé, tenké, světle zeleně zbarvené a dorůstají větších rozměrů (Wachira et al., 2013; Hilal, 2017). *Camellia sinensis* var. *assamica* je charakterizována jako rychle rostoucí rostlina a ideální podmínky pro růst nachází v tropickém nebo subtropickém podnebí, zatímco *Camellia sinensis* var. *sinensis* se přizpůsobí i chladnějším podmínkám (Wachira et al., 2013).

1.1 Produkce čaje

Čaj je jedním z nejoblíbenějších nápojů a jeho konzumace je rozšířena po celém světě. V Asii se s oblibou konzumuje spíše zelený čaj, který ve světovém měřítku produkce činí okolo 15 %, zatímco v Evropě a Severní Americe převládá konzumace černého čaje, který je zároveň nejrozšířenějším čajovým produktem a zaujímá přibližně 75 % celkové čajové produkce na světě. *Camellia sinensis* je bezesporu nejrozšířenějším rostlinným zdrojem pro produkci čaje a Čína je jeho hlavním producentem a pěstitelem na světě. Podílí se přibližně na 40 % produkce a plocha plantáží zahrnuje okolo 35 % celosvětové rozlohy čajových plantáží. Další státy podílející se na produkci a pěstování čaje jsou vyobrazeny na Obrázku 1 níže (Zhang et al., 2019).



Obrázek 1 Rozloha plantáží a produkce čaje ve světě, upraveno dle (Zhang et al., 2019)

Následujícím významným producentem čaje je Indie, v celosvětové produkci čaje zaujímá 21 % a rozloha plantáží činí přibližně 10 %. Nedílnou součástí tohoto odvětví jsou také další země jako je Keňa, Srí Lanka, Vietnam atd. (Zhang et al., 2019).

Podstatným producentem matcha čaje je bezpochyby Japonsko. Ročně se zde produkuje cca 3 000 tun japonské matchi, což činí okolo 0,06 % celkové produkce čaje na světě. Na tuzemském trhu se prodá celkem 85–90 % každoroční výroby (Cheadle a Kilby, 2017).

1.2 Pěstování čajovníku

Čajovník rodu *Camellia sinensis* pochází ze subtropických a tropických oblastí, nicméně se do jisté míry dokáže přizpůsobit klimatickým podmínkám prostředí a odlišné kvalitě úrodných půd (Hajiboland, 2017). Optimální teplota v průběhu vegetačního období je

přibližně 18–30 °C, přičemž odolává i extrémním teplotám od -16 do 40 °C (Zhang et al., 2020). Čajovník lze pěstovat také v různých nadmořských výškách, od hladiny moře až po 2200 m nad mořem, přičemž se mohou vyskytovat až ve výšce 3000 m nad mořem. (Hajiboland, 2017; Ahmed a Stepp, 2013). Vyšší nadmořské výšky pro pěstování čajovníku jsou úzce spjaty s vyšší kvalitou čajového produktu (Ahmed a Stepp, 2013). Ideální pro pěstování čajovníku je tedy teplé a vlhké podnebí s ročními srážkami v rozmezí 2500–3000 mm (Zhang et al., 2020; Hajiboland, 2017). Při pěstování čajovníku je také důležité složení a vlastnosti úrodné půdy, čímž je zejména pH půdy, jehož optimum se pohybuje v rozmezí 4,5 až 5,5 a dále také celkové odvodnění a okysličení půdy (Zhang et al., 2020; Hajiboland, 2017). Vhodné složení úrodné půdy se skládá přibližně ze 40 % písku, 40 % hlíny a 20 % jílu. Tento poměr složek umožňuje vodě dobře odtékat, ale zároveň poskytuje dostatečné množství základních živin, které jsou nezbytnou součástí zdravého růstu a v ideálním případě by měla mít úrodná půdní vrstva hloubku přesahující 50 cm (Hajiboland, 2017; Shrivastava et al., 2018).

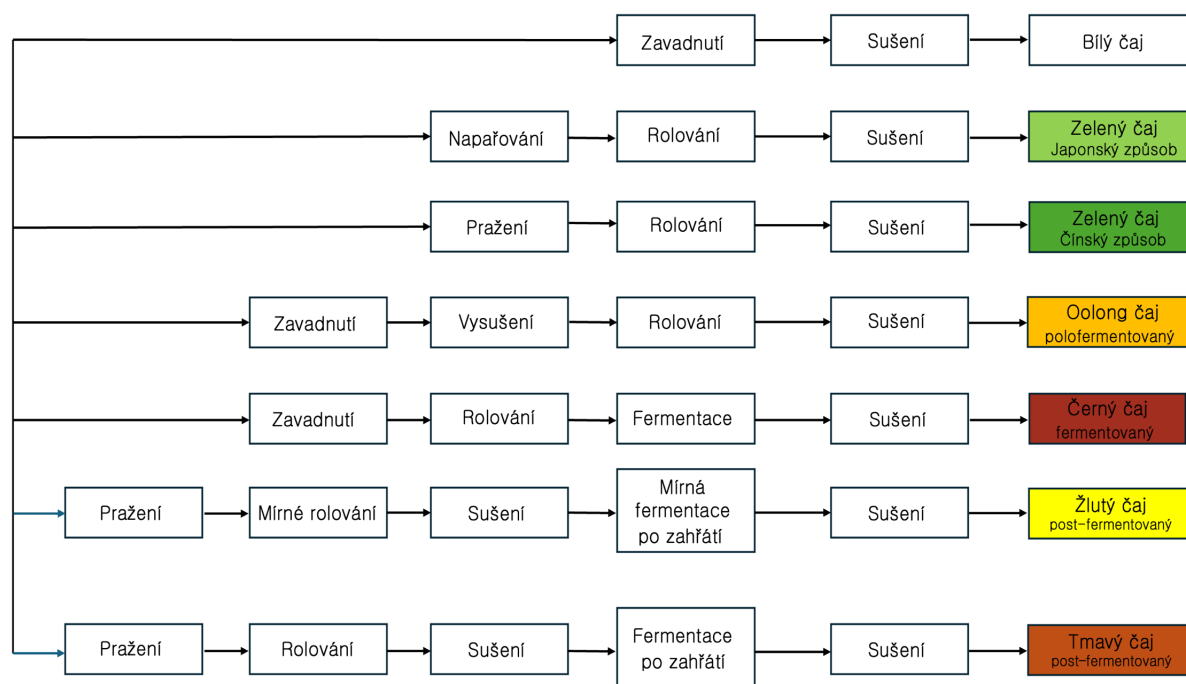
V průběhu vegetačního období čajovníku lze rozlišovat tři fáze růstu. První fáze v období od konce března do začátku května, v této fázi rostou tzv. jarní výhonky a bývá zpravidla nejvýnosnější. Druhá fáze probíhá od začátku června do začátku července. Poslední růstová fáze nastává od poloviny července do října (Shrivastava et al., 2018). Pěstované keře čajovníku je vhodné pravidelně zastříhávat, ideálně v intervalech čtyř až pěti let, čímž se udržuje rostlina v dobrém zdravotním stavu a zároveň se zlepšují podmínky pro efektivní sklizeň čajových lístků. Čajovník je úrodný po dobu 50 až 70 let, nicméně se zpravidla po padesáti letech úrodnost snižuje. Z tohoto důvodu jsou starší keře následně nahrazeny novými (Hilal, 2017). Nové keře jsou vysázeny v ochranných podmínkách kontrolovaných školek po dobu dvou až čtyř let, v tomto období se nesklízají a jsou označeny za nezralé, jakmile čajovníky dozrají, jsou přesazeny na pole (Ahmed a Stepp, 2013).

Sklizeň a zpracování čajových listů

Sklizeň se zpravidla provádí ručně, či za pomoci nože nebo nůžek, klasifikovanými pracovníky využívající metodu selektivního sběru čajových listů (Abhiram, 2024). Pro výrobu kvalitních čajů se ideálně sbírá vrcholový pupen a první dva až tři listy. Přednostně se sbírají mladé listy, které jsou světlé zeleně zbarvené a s přibývajícím stářím barva listů tmavne. Stáří listů má přímý vliv na kvalitu a chemické složení výsledného čajového produktu (Namita et al., 2012). Sklizeň lze realizovat i za pomoci mechanických strojů, které značně zvyšují efektivitu a produktivitu sběru a zároveň snižují nároky na lidskou pracovní

sílu. Je ale nutno podotknout, že většina mechanických strojů pracuje na principu neselektivního sběru a jsou tedy vhodnější pro kvantitativní produkci čajů, nikoliv kvalitativní. V průběhu mechanického sklizení může také dojít k poškození listů, což vede ke snížení kvality čajových listů. Lze využít i selektivní mechanické stroje, které umožní identifikovat a sklízet mladé listy (Abhiram, 2024). Jednotlivé sklizňové období se v různých pěstitelských zemích lehce liší, ale většinou se jedná o jarní, letní a podzimní sklizeň. Čajové lístky v období jara mají zpravidla nejvyšší kvalitu. Uvádí se i období dešťů, tzv. monzunové období, v této fázi se čajové listy převážně nesklízají kvůli nízké kvalitě, jež se projeví na chuti konečného čaje (Ahmed a Stepp, 2013).

Po sklizni následují procesy zpracování čerstvých čajových listů, které se významně liší podle vyráběného druhu čajového produktu. Černé čaje a čaje oolong jsou během zpracování podrobeny celkové nebo částečné fermentaci, respektive oxidaci, jež přispívá k charakteristické barvě a chuti zmíněných čajů (Najman et al., 2023). Bílé a zelené čaje jsou zcela nefermentované (Devkota et al., 2021). Dalšími druhy je žlutý čaj a čaj tmavý neboli pu-erh, jež jsou v průběhu zpracování vystaveny mírné či celkové fermentaci po zahřátí a následně jsou označovány za post-fermentované čaje (Hilal, 2017). Na Obrázku 2 jsou schematicky znázorněny jednotlivé procesy zpracování čajových listů dle příslušného výsledného čajového produktu (Hilal, 2017).



Obrázek 2 Dílčí procesy zpracování čajových listů, upraveno dle (Hilal, 2017)

Příprava zeleného čaje může probíhat buď japonským, nebo čínským způsobem. Obě metody zahrnují proces rolování a sušení, nicméně se liší v procesu tepelného ošetření známém jako fixace. Čínský způsob přípravy zeleného čaje spočívá v pražení čajových listů na suché pánvi, která je vystavena intenzivnímu zdroji tepla a teplota fixace se pohybuje okolo 300–350 °C, zatímco při japonském způsobu jsou čajové listy spařeny proudem horké páry o teplotě kolem 100 °C. V průběhu tepelného ošetření se vypaří přibližně 40 % vody z čajových listů. Fixací je docílena inaktivace enzymů, především polyfenoloxidáz, jež následně zabrání procesu oxidace, který je u výroby zeleného čaje nežádoucí a zároveň je zachována jemná chuť a zelená barva čaje. Při japonském způsobu je zpravidla zachován vyšší obsah polyfenolických látek než u metody využívající proces pražení (Hilal, 2017; Ahmed a Stepp, 2013).

Zelený čaj se vyskytuje v mnoha formulacích, které vycházejí z tradic čínských a japonských kultur. Jednotlivé typy zelených čajů jsou pěstovány či zpracovány dle odlišné technologie (Ahmed a Stepp, 2013). K zajímavým japonským druhům zeleného čaje bezpochyby patří matcha. Jedná se o zelený čaj v jemné práškové formě získaný roztřením celých čajových listů. Matcha má analogické složení jako běžný zelený čaj, nicméně obsah některých bioaktivních látek je v matchi mnohem vyšší (Phuah et al., 2023). Tradičně se matcha využívá při japonských ceremoniálech, dnes se její konzumace stává populární po celém světě (Shrivastava et al., 2018).

1.3 Pěstování čajovníku pro výrobu čaje matcha

Pěstování čajovníku pro výrobu matcha čaje se v jistých ohledech odlišuje od pěstování čajovníku pro ostatní druhy čaje. Pro přípravu čaje matcha se čajovníky pěstují ve stínu, zatímco pěstování čajovníku pro výrobu např. černého, zeleného, oolong anebo bílého čaje nikoliv (Devkota et al., 2021). Čajové plantáže bývají zpravidla zastíněny po dobu 14–21 dní před sklizní, a to až z 90 % celkové plochy, přičemž k zastínění se využívá různých materiálů (Devkota et al., 2021; Ye et al., 2024). Běžně se využívá černá stínící síť, nicméně tradiční metoda zahrnuje využití bambusových nebo rákosových rohoží, čímž se docílí dostatečné ochrany čajových listů před intenzivním dopadem slunečního záření (Jakubczyk et al., 2024; Najman et al., 2023; Ye et al., 2024). Ačkoli sluneční záření hraje zásadní roli ve vývoji a růstu čajovníků, žádoucí je pokles intenzity UVB záření dopadající na čajové listy, čímž příznivě ovlivňuje regulaci biosyntézy flavonoidů, theaninu a chlorofylu obsažených v rostlině čajovníku (Ye et al., 2024). Způsob zastínění má tedy pozitivní vliv

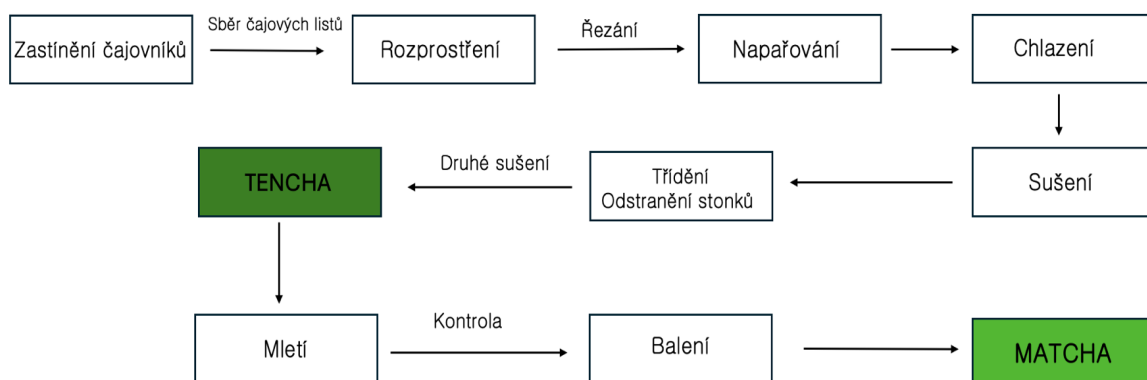
na produkci bioaktivních látek, které jsou zodpovědné za charakteristickou barvu a chuť matcha čaje (Najman et al., 2023).

Hnojení zastupuje velmi důležitý krok při pěstování čajovníku pro produkci matcha čaje, čímž přispívá k celkové výnosnosti čajovníku a kvalitě listů. Aplikace hnojiv značně podporuje chuť umami a napomáhá ke snížení hořkosti a trpkosti čajových listů, jenž jsou žádoucími vlastnostmi pro výrobu kvalitní matchi. Organická hnojiva se aplikují při prvotní výsadbě čajovníků, dusíkatá hnojiva se zpravidla využívají každoročně na přelomu září a října, zatímco chemická hnojiva lze aplikovat přibližně měsíc před jarní sklizní. Výše zmíněné typy hnojiv mají odlišný vliv na podporu produkce aminokyselin v rostlině (Ye et al., 2024).

Sklizeň a zpracování čajových listů pro výrobu čaje matcha

Sběr čajových listů pro následnou výrobu matcha čaje lze shrnout do tří fází. První sklizeň se nazývá tzv. ichibancha („první čaj“) a trvá od konce dubna do začátku května. Po jarní sklizni následuje sběr na přelomu června a července, jež je označován za druhou sklizeň. Třetí a zároveň poslední sklizeň je realizována v měsíci srpnu. Čajové listy sklizené v různé fázi sklizně mají zpravidla odlišné kvalitativní a organoleptické vlastnosti (Najman et al., 2023; Jakubczyk et al., 2024; Jakubczyk et al., 2022).

Po sklizni následuje proces zpracování, jež se významně odlišuje od procesu výroby běžného zeleného čaje. Výrobu matcha čaje lze rozdělit do dvou hlavních částí. Výsledkem první části, jakožto zpracování čerstvých čajových listů, je čaj tencha, ze kterého se v druhé části pomocí procesu zjemnění (mletím) připraví čaj matcha. Proces výroby matcha čaje je vyobrazen na Obrázku 3 (Ye et al., 2024).



Obrázek 3 Schéma výroby čaje matcha, upraveno dle (Ye et al., 2024)

V první fázi procesu jsou čerstvé čajové listy rozprostřeny, nasekány a následně jsou podrobeny fixaci za použití páry o teplotě okolo 95 °C po dobu 20–45 sekund, čímž se zabrání oxidaci (Phuah et al., 2023; Ye et al., 2024; Xu et al., 2016). K napařování lze využít pásový pařák, rotační pařák nebo perforovaný buben. Po zchlazení se čajové listy částečně vysuší pomocí teploty cca 55 °C po dobu 30 minut, čímž se získá tzv. „aracha“ neboli surový čaj. Při sušení lze využít metodu sušení ve vakuu, sušení horkým vzduchem, sušení v mikrovlnné troubě nebo mikrovlnné vakuové sušení, jenž je považováno za nejúčinnější metodu ze všech výše uvedených. Následně se u surového čaje provede třídění dle zabarvení, tvaru a velikosti čajových listů a rovněž se odstraní nežádoucí části listů, především jsou odstraněny stonky a žilky. Po dosušení již vzniká čaj tencha (Ye et al., 2024; Phuah et al., 2023; Xu et al., 2016).

V druhé fázi je připravený čaj tencha podroben procesu mletí, čímž se docílí rozemletí čajových listů na jemný a hladký prášek. Mletí tenchi je jeden z klíčových kroků celé výroby, jenž následně ovlivňuje fyzikálně-chemické a senzorické vlastnosti výsledného čaje matcha (Ye et al., 2024). Tradičně se pro mletí tenchi využívalo kamenných mlýnů, nicméně se od tohoto způsobu zpracování odstupuje z důvodu omezené kapacity zpracování (Jiang et al., 2023). Dnes se v průmyslové výrobě využívá elektrických kamenných mlýnů, kulových mlýnů, které jsou v současnosti nejvíce využívány či mlýnů využívající intenzivní proud vzduchu k rozmělnění čajových listů. Každý proces mletí z výše uvedených pracuje na jiném principu a výsledná matcha se podstatně liší v morfologii povrchu, obsahu některých složek a ve velikosti částic, přičemž pomocí proudového mletí se získá čajový prášek o nejmenší velikosti částic (Ye et al., 2024; Jiang et al., 2023). Takto zpracovaná matcha je dále podrobena kontrole a následně vakuově balena (Phuah et al., 2023).

1.4 Legislativní požadavky

Primárním závazným legislativním předpisem v České republice je Vyhláška č. 187/2023 Sb., ze dne 12. června 2023, o požadavcích na čaj, kávu a kávoviny, nahrazuje předešlou vyhlášku č. 330/1996 Sb. Tato vyhláška vymezuje pojmy, například definuje zelený čaj jako čaj pravý, ve kterém neproběhla při zpracování oxidace. Matcha čaj je dle vyhlášky charakterizován jako zelený čaj původem z Japonska, jehož příprava spočívá v rozemletí sušených nejmladších čajových lístků čaje pravého na jemný prášek. Dále upravuje způsob poskytování informací o čaji, kávě a kávovinách a zároveň poskytuje klasifikaci produktů na druhy, skupiny a podskupiny, vymezuje požadavky na smyslovou, fyzikální a chemickou

jakost čaje mezi než spadá procentuální obsah popela, vlhkosti a ztráta hmotnosti sušením při 103 °C. Specifikuje přípustné záporné hmotnostní odchylky balení čaje a určuje minimální technologické požadavky (Vyhláška č. 187/2023 Sb.). Nadřazeným právním předpisem je Zákon č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích v platném znění, který mimo jiné doplňuje požadavky vyhlášky na označování balených potravin (Zákon č. 110/1997 Sb.). Normativní dokumenty mají v tomto ohledu pouze doporučující charakter, nicméně jsou velmi užitečnými nezávaznými předpisy. Například norma ČSN 58 0112 popisuje vhodné metody zkoušení čaje, norma ČSN ISO 1575 určuje postup stanovení celkového popela a norma ČSN ISO 1573 vymezuje stanovení ztráty sušením při 103 °C (ČSN 58 0112; ČSN ISO 1575; ČSN ISO 1573).

2 CHEMICKÉ SLOŽENÍ MATCHA ČAJE

Je zřejmé, že chemické složení čajů je velice variabilní v závislosti na mnoha faktorech, jimiž jsou klimatické podmínky, způsob pěstování, typ půd, nadmořská výška, období sklizně, způsob sběru, třídění a zpracování čajových listů, proces sušení a podmínky skladování. Různorodost chemického složení významně ovlivňuje senzorické vlastnosti výsledného čajového produktu. Obsah kofeinu, polyfenolických látek a aminokyselin jsou hlavními ukazateli kvality čaje (Muhammed et al., 2013).

Čaj matcha obsahuje přibližně 30–40 % rozpustných látek, zbylé většinové procentuální zastoupení představují nerozpustné složky, do nichž lze zařadit lipofilní vitamíny a pigmenty, ve vodě nerozpustnou vlákninu a bílkoviny. Mezi rozpustné látky patří hydrofilní vitamíny a vláknina, aminokyseliny, kofein, saponiny, polyfenolické a minerální látky (Sokary et al., 2023). Jelikož se matcha konzumuje ve formě suspenze, nikoliv v podobě extraktu, jsou tělem přijímány i nerozpustné složky (Zhou et al., 2024). Nové poznatky o chemickém složení a zdravotních přínosech čaje matcha zvyšují atraktivitu pro spotřebitele, potravinářský průmysl i pro oblast výroby doplňků stravy (Kika et al., 2024).

2.1 Bílkoviny a aminokyseliny

Procentuální zastoupení bílkovin v matchi se nachází v rozmezí 20–35 %, z čehož přibližně 4 % tvoří rozpustné bílkoviny (Koláčková et al., 2020b; Zhou et al., 2024). K vyššímu obsahu bílkovin v konečném produktu přispívá metoda zastínění, která se aplikuje při pěstování čajovníku pro výrobu matcha čaje (Manikharda et al., 2023).

Výzkum zaměřený na analýzu volných a vázaných aminokyselin v čaji matcha ukazuje, že obsah vázaných aminokyselin podstatně převažuje nad zastoupením aminokyselin ve volné formě. L-theanin zaujímá nejvyšší zastoupení z volných aminokyselin v čaji matcha, dosahující koncentrace až 18,5 mg/g (Koláčková et al., 2020b). L-theanin je typickou aminokyselinou obsaženou v čajových listech a také jedním z ukazatelů kvality matcha čaje, jehož koncentrace by měla být vyšší než 17 mg/g (Phuah et al., 2023). Vzniká syntézou kyseliny glutamové a etylaminu, přičemž jeho obsah se zvyšuje s úrovní zastínění. Biosyntéza probíhá v kořenech a prostřednictvím cévního systému je transportován do čajových listů (Ye et al., 2024). Z vázaných aminokyselin představuje významný podíl kyselina glutamová, jejíž koncentrace se pohybuje v rozmezí 15,4–35,8 mg/g. Společně s L-theaninem přispívá k typické umami chuti matchi. Za limitující aminokyseliny v matcha čaji jsou považovány isoleucin a threonin (Koláčková et al., 2020b).

2.2 Lipidy a mastné kyseliny

Lipidy a mastné kyseliny jsou prekurzory sensoricky aktivních látek, které se podílejí na chuti a vůni čaje. Čerstvé čajové listy obsahují příslušné skupiny lipidů v tomto pořadí: glykolipidy > neutrální lipidy > fosfolipidy (Zheng et al., 2016). Celkový obsah lipidů v čaji matcha se pohybuje v rozmezí 4,1–8,2 % (Koláčková et al., 2020a). Nenasycené mastné kyseliny jsou zastoupeny ve vyšším podílu (83 %) než nasycené, které tvoří cca 17 % celkového obsahu tuku (Kika et al., 2024). Mezi nenasycenými mastnými kyselinami má nejvyšší zastoupení α -linolenová kyselina s podílem 65,4 %. Kyselina α -linolenová je esenciální mastnou kyselinou zařazenou mezi ω -3 nenasycené mastné kyseliny, jejíž konzumace v potravě pozitivně působí na oběhový systém. Lipidový profil rovněž odhalil přítomnost dvou typů nasycených mastných kyselin – kyselina palmitová byla zastoupena 15,4 %, zatímco kyselina stearová tvořila jen 1,3 % (Kika et al., 2024).

2.3 Vláknina a nízkomolekulární sacharidy

Vláknina je souhrnné označení pro stavební složky buněčných stěn rostlin, především polysacharidové povahy. Klasifikace vlákniny je založena na její rozpustnosti na ve vodě rozpustnou (pektin, gumy a slizy) a nerozpustnou: celulóza, některé hemicelulózy a lignin, jehož polymerní struktura je tvořena fenylypropanovými jednotkami a nejedná se tak o polysacharid, ale fenolickou látku (Dhingra et al., 2012). Dostatečný příjem vlákniny ve stravě značně ovlivňuje zdravotní stav člověka a souvisí se snížením rizika kardiovaskulárních onemocnění, nadváhy a obezity, s prevencí chronických onemocnění a dále například pozitivně působí na normální funkci střev. Je obecně známo, že pro většinu populace je obtížné přijímat v potravě i minimální doporučený denní příjem vlákniny, který činí cca 25–35 g (Kika et al., 2024; Dhingra et al., 2012). Matcha je významným zdrojem vlákniny, jejíž zastoupení představuje 48,4–56,1 g/100 g. Kvalita matcha čaje je také spjata s obsahem rozpustné vlákniny, nicméně bylo zjištěno, že matcha obsahuje převažující množství nerozpustné vlákniny v rozmezí 86,0–94,1 % celkového obsahu vlákniny, zbylé procentuální zastoupení připadá na rozpustnou vlákninu (Kika et al., 2024; Huang et al., 2024).

Celkový obsah rozpustných nízkomolekulárních sacharidů v matchi, stanovený antronovou kalorimetrickou metodou, se pohybuje v rozmezí 2,98–4,04 mg/g a je vyjádřen v ekvivalentu glukózy (Hu et al., 2024). V nativních vzorcích matcha čaje je patrný obsah disacharidu trehalózy a monosacharidů L-arabinózy, L-rhamnózy a D-glukózy (Nekvapil et

al., 2024). V jiné studii byl zjištěn také obsah sacharózy, maltózy a rafinózy v nižších koncentracích (Huang et al., 2024).

2.4 Organické kyseliny

Čajové listy jsou bohaté na organické kyseliny, jakožto meziprodukty metabolismu sacharidů. Zastínění čajových listů před sklizní výrazně snižuje obsah kyseliny chinové a jantarové, přičemž koncentrace kyseliny citrónové a jablečné se zvýší. Kyselina citrónová společně se šťavelovou kyselinou jsou ukazateli vyšší kvality čajových produktů (Nekvapil et al., 2024; Chen et al., 2023). Organické kyseliny v matcha čaji byly stanoveny v tomto pořadí: citrónová (do 44,8 mg/g) > jablečná (do 32,2 mg/g) > šťavelová (do 4,46 mg/g) ≥ jantarová (do 4,44 mg/g) (Nekvapil et al., 2024). Různé druhy čajových produktů mají odlišné koncentrace organických kyselin, obsah je totiž závislý i na postupu zpracování čajových listů. Například černý čaj, jenž je při zpracování podroben celkové oxidaci, bude mít vyšší zastoupení zmíněných organických kyselin (Chen et al., 2023; Nekvapil et al., 2024).

2.5 Saponiny

Saponiny jsou bioaktivními sekundárními metabolity rostlin, jejichž chemická struktura zahrnuje hydrofilní cukernatou jednotku připojenou na lipofilní steroidní nebo triterpenoidní části (Cheok et al., 2014). Jsou obsaženy ve všech částech rostliny, včetně listů a hrají zásadní roli při ochraně rostliny před infekcí mikrobiálními patogeny a napadnutím hmyzími parazity. Saponiny přítomné v čajových listech jsou známé jako foliatheosaponiny. V zeleném čaji bylo identifikováno více než 40 druhů saponinů. Japonské zelené čaje jsou známy vyšším obsahem těchto sloučenin, které mají pozitivní účinky na lidské zdraví, včetně antioxidačních, protizánětlivých a antibakteriálních vlastností. Čajové saponiny se využívají také jako přírodní povrchově aktivní látky, jejichž amfifilní charakter umožňuje snižovat povrchové napětí. Díky tomu vykazují pěnotvorné, emulgační, dispergační a smáčecí vlastnosti (Yu a He, 2018; Fan et al., 2021).

2.6 Metylxantinové alkaloidy

Kofein je přírodním metyloxantinovým alkaloidem a je obsažen ve více než 60 rostlinách včetně čajovníku (Jankech et al., 2019). Je jednou z nejužívanějších látek se stimulačním účinkem na centrální nervovou soustavu a po perorálním užití se rychle vstřebává. Distribuce se uskutečňuje ve většině tkání, včetně mozku, jeho metabolismus probíhá v játrech a

vylučován je ledvinami. Průměrná denní spotřeba kofeinu u dospělého člověka se pohybuje okolo 37–319 mg (Ősz et al., 2022). Vyšší dávky kofeinu však mají negativní vliv na lidské zdraví (Jankech et al., 2019). Při nadměrné či dlouhodobé konzumaci může kofein vyvolat závislost, poruchy spánku, migrény a další nežádoucí účinky na lidský organismus (Saimaiti et al., 2023). Obecně čaj matcha obsahuje 18,9–44,4 mg/g kofeinu (Koláčková et al., 2020a). Theofylin a theobromin jsou dalšími zástupci metylxantinových alkaloidů. V matchi je jejich obsah zanedbatelný, vyšší koncentrace jsou zaznamenány u jiných druhů čajů. Koncentrace kofeinu, celkově metylxantinových alkaloidů, závisí na stáří čajových listů, odrůdě, klimatických podmínkách i způsobu zpracování (Jankech et al., 2019; Koláčková et al., 2020a).

2.7 Rostlinné pigmenty

Chlorofyly jsou velmi důležitými lipofilními bioorganickými sloučeninami, jenž se významně podílí na metabolismu čajových listů a celkově na fyziologii rostlin (Delpino-Rius et al., 2018; Phuah et al., 2023). V rostlinných tkáních se převážně vyskytují dva typy chlorofylu – chlorofyl *a* a chlorofyl *b*, přičemž zastoupení chlorofylu *a* bývá zpravidla vyšší (Phuah et al., 2023). Výzkum zaměřen na stanovení obsahu chlorofylu v různých čajích uvádí, že celkový obsah chlorofylu v matcha čaji dosahuje hodnoty 3,58 mg/g a v porovnání s ostatními analyzovanými vzorky vykazuje nejvyšší koncentraci (Delpino-Rius et al., 2018). Další studie věnována podrobné analýze matchi ukázala, že obsah chlorofylu *a* dosahuje hodnoty až 4,32 mg/g, přičemž koncentrace chlorofylu *b* je mnohem nižší (2,73 mg/g) (Koláčková et al., 2020a). Je potvrzeno, že proces zastínění čajovníku v průběhu pěstování příznivě ovlivňuje tvorbu chlorofylu a dalších rostlinných pigmentů a zásadně zvýrazňuje chuť, aroma a zlepšuje kvalitu barvy čaje (Chen et al., 2021).

Karotenoidy jsou další skupinou rostlinných pigmentů obsažených v čajových listech, jež se dále klasifikují dle chemické struktury na dvě kategorie: uhlovodíky známé jako karoteny a jejich kyslíkaté deriváty nazývané xantofyly (Namitha a Negi, 2010). Jedná se o bioaktivní látky, které se vlivem teploty mění na těkavé složky. Jsou to tedy prekurzory primárních aromatických sloučenin, které následně zlepšují chuť, vůni a mají i patrný vliv na barvu výsledné matchi (Jiang et al., 2024; Wang et al., 2022). Aroma matcha čaje závisí převážně na teplotě fixace a sušení v procesu výroby. Nedostatečné sušení inhibuje přeměnu karotenoidů na aromatické látky, zatímco nadměrné sušení má vliv na jakost a zelenou barvu čaje matcha (Jiang et al., 2024).

2.8 Vitamíny

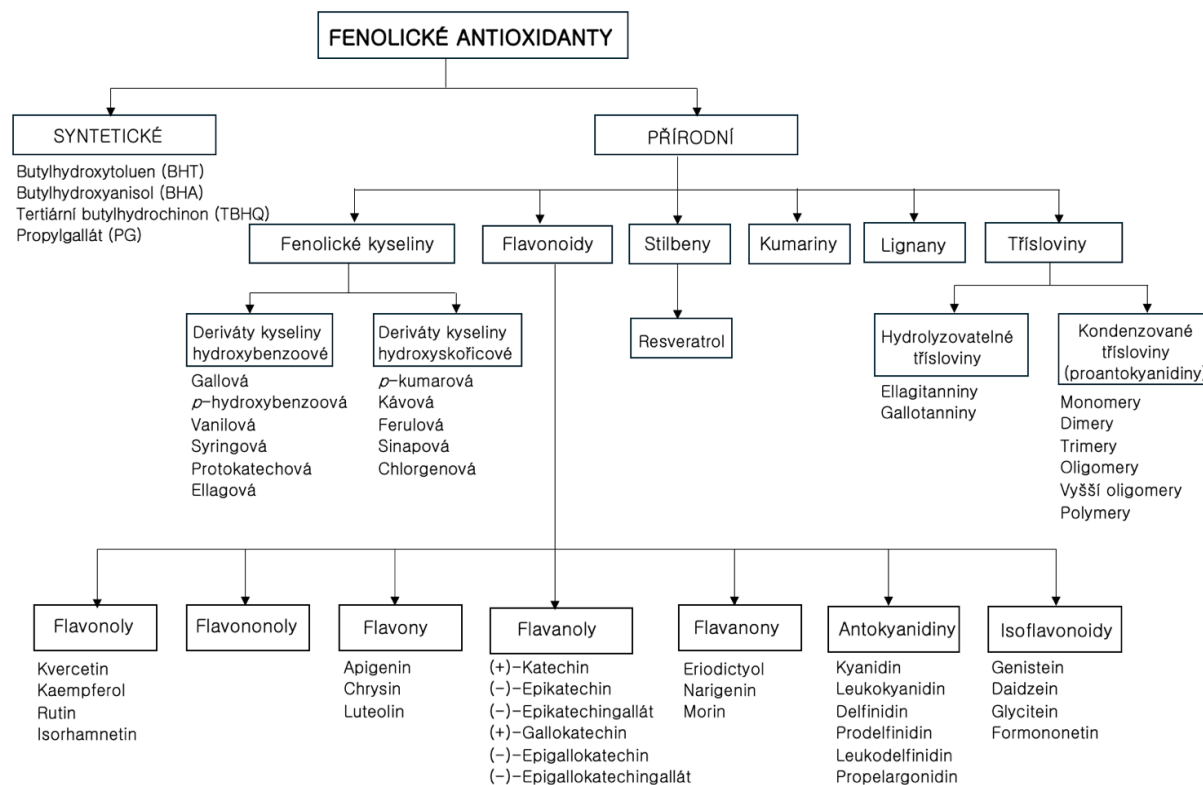
Vitamíny jsou organickými esenciálními sloučeninami široce rozšířenými v přirozených zdrojích potravy. Vitamíny se dělí do dvou kategorií: rozpustné v tucích (A, D, E, K) a rozpustné ve vodě (C a B-komplex), jejichž biochemické a fyziologické funkce jsou značně rozdílné (Ball, 2004; Akram et al., 2020). Matcha obsahuje lipofilní vitamín E a hydrofilní vitamíny skupiny B a C, jejichž celkové množství činí cca 5 % čajové sušiny (Phuah et al., 2023). Studie zabývající se analýzou vitamínu C v matcha čaji v závislosti na teplotách nálevu ukazuje, že se zvyšující se teplotou klesá koncentrace vitamínu C, což je v souladu s tvrzením, že vitamín C je nestabilní a při vyšších teplotách snadněji degraduje (Jakubczyk et al., 2020; Ball, 2004). Obsah vitamínu C v matchi dosahuje hodnoty až 3,92 mg/g (Koláčková et al., 2020a). Koncentrace je závislá především na období sklizně, způsobu pěstování a procesu zpracování (Jakubczyk et al., 2024). Společně s vitamínem E se vyznačují antioxidační aktivitou, snižují oxidační stres a příznivě působí na funkci imunitního systému organismu (Akram et al., 2020).

2.9 Minerální látky

Minerální prvky jsou přijímány ze stravy a značně ovlivňují řadu biochemických pochodů v lidském těle. Na základě potřeb organismu je lze rozdělit na makroprvky, mikroprvky a stopové prvky. Do skupiny makroprvků patří sodík, vápník, fosfor, hořčík a draslík, jejichž průměrná denní potřeba je vyšší než 100 mg/den, přičemž příjem mikroprvků (železo, zinek) a stopových prvků (mangan, měď, chrom, selen atd.) by neměl přesáhnout hranici 100 mg/den, ve vyšších dávkách mohou být totiž toxické pro zdraví (Akram et al., 2020). Minerální látky (popeloviny) v čaji matcha zaujímají přibližně 5 % sušiny čaje (Phuah et al., 2023). Studie zaměřená na analýzu prvků v čajích matcha stanovila obsah prvků v tomto pořadí: K (do 4,73 mg/g) > P (do 4,18 mg/g) > Ca (do 2,65 mg/g) > Mg (do 2,40 mg/g) > Na (do 185,0 µg/g) > Fe (do 115,0 µg/g) > Zn (do 73,0 µg/g) > Mn (do 68,4 µg/g) > Cu (do 25,3 µg/g). Je tedy zřejmé, že matcha obsahuje významné množství minerálních a stopových prvků, nicméně koncentrace selenu a chromu je zde zanedbatelně nízká (Koláčková et al., 2020b).

3 FENOLICKÉ LÁTKY

Přírodní polyfenoly představují širokou skupinu sekundárních metabolitů rostlin s podstatnou biologickou aktivitou, jejichž syntéza probíhá primárně jako obranný mechanismus rostlin proti škodlivému účinku UV záření a působení škůdců (Rana et al., 2022). Mohou vznikat různými biochemickými cestami, nicméně hlavním prekurzorem jejich tvorby je kyselina šikimová. Polyfenoly jsou charakterizovány jako hydrofilní látky obsahující alespoň jedno aromatické jádro s jednou nebo více hydroxylovými skupinami, přičemž přírodní fenolické sloučeniny se liší svou strukturou od jednoduchých nízkomolekulárních látek až po složité kondenzované třísloviny s vysokou molekulovou hmotností (Bertelli et al., 2021; Rocchetti et al., 2022). V potravinářském průmyslu se využívají i syntetické fenolické sloučeniny, jakožto přídatné látky, jenž se záměrně přidávají do potravin za účelem oddálení oxidace lipidů během zpracování a skladování. Polyfenoly jsou tedy v zásadě rozděleny do dvou základních skupin: syntetické a přírodní, přičemž přírodní fenolické látky se dále dělí z hlediska chemické struktury na dílčí kategorie (Shahidi a Ambigaipalan, 2015). Na Obrázku 5 níže je vyobrazena podrobná klasifikace fenolických antioxidantů.



Obrázek 4 Klasifikace fenolických antioxidantů, upraveno dle (Shahidi a Ambigaipalan, 2015)

Fenolické sloučeniny se vyznačují významnou antioxidační aktivitou a v lidské stravě jsou obsaženy především v ovoci, zelenině, obilovinách a nápojích rostlinného původu, mezi něž patří například červené víno, káva a čaj. Obsah zmíněných látek má zásadní vliv na organoleptické vlastnosti potravin, mohou se projevovat hořkou a trpkou chutí, ovlivňovat barvu, vůni a pozitivně přispívat k oxidační stabilitě potravin (Bié et al., 2023).

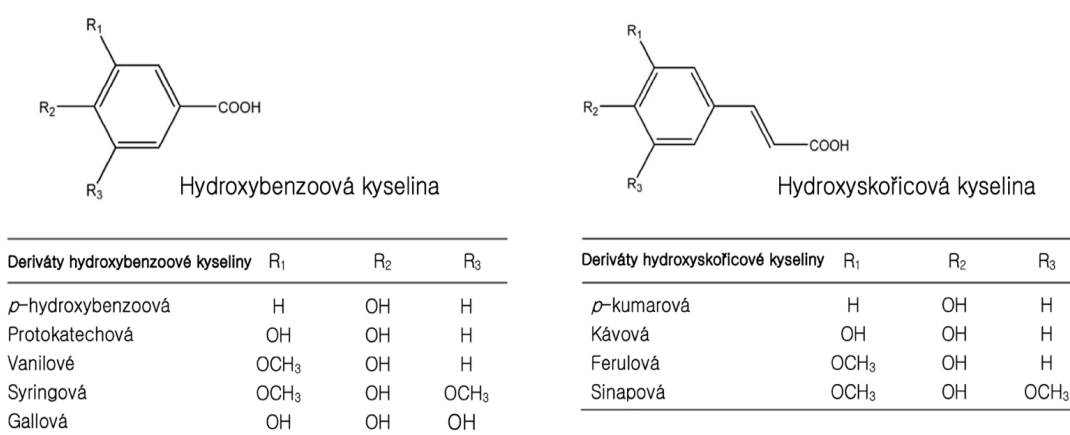
Přírodní polyfenoly se v rostlinných materiálech vyskytují převážně ve třech základních formách: volné, konjugované a vázané. Konjugované polyfenoly zahrnují zejména glykosidy, v nichž je fenolická sloučenina navázána na cukernou část. Aglykon, tedy volná forma polyfenolu, vzniká po odštěpení sacharidové složky. Vázané polyfenoly mohou být kovalentně či nekovalentně spojeny s nerozpustnými makromolekulami, čímž je například celulóza, hemicelulóza a strukturní proteiny. Na základě rozpustnosti lze považovat volné a konjugované formy za rozpustné ve vodě, jenž jsou převážně lokalizovány ve vakuolách rostlinných buněk, nicméně vázané polyfenoly, které jsou součástí buněčných stěn rostlin, jsou charakterizovány jako nerozpustné (Ye et al., 2024; Rocchetti et al., 2022; Shahidi a Yeo, 2016; Das et al., 2020).

3.1 Fenolické látky čaje

Fenolické látky mohou dosahovat hodnoty až 30 % sušiny čajových listů (Hilal, 2017). Klíčovými polyfenoly v čajových listech jsou flavanoly, jejichž koncentrace klesá v závislosti na úrovni zpracování. Černý čaj je nejvíce technologicky zpracovaný, což vede k nižší koncentraci zmíněných polyfenolů. V průběhu oxidace dochází totiž k přeměně jednoduchých polyfenolických látek na vysokomolekulární polymerní fenolické sloučeniny, známé jako teaflaviny a tearubiginy (Heber et al., 2014). Ačkoli mají běžné zelené čaje a matcha čaje téměř totožný polyfenolický profil, liší se koncentracemi jednotlivých sloučenin, jenž je výrazně ovlivněno způsobem zastínění, který snižuje akumulaci těchto látek v čajových listech (Ye et al., 2024). Forma konzumace matcha čaje umožňuje přijímat i vázané formy polyfenolů, čímž rozšiřuje jejich biologickou dostupnost a zvyšuje potencionální zdravotní účinky zmíněných sloučenin (Zhou et al., 2024; Ye et al., 2024). Kromě výše uvedených flavanolů obsahují čajové listy i další fenolické sloučeniny, jimiž jsou zejména fenolické kyseliny a flavonoly (Lorenzo a Muneakata, 2016). Dále jsou blíže popsány jednotlivé skupiny fenolických látek, které jsou obsaženy v zelených čajích, respektive v čajích matcha.

3.1.1 Fenolické kyseliny

Fenolické kyseliny tvoří specifickou skupinu přírodních polyfenolů, které se na základě své chemické struktury klasifikují do dvou základních kategorií: deriváty kyseliny hydroxyskořicové a deriváty kyseliny hydroxybenzoové, jejichž zastoupení v zelených čajích je zpravidla minoritní v porovnání s flavanoly. Fenolické kyseliny se vyskytují v čajových listech buď ve formě aglykonů, vázané na buněčnou stěnu nebo konjugované, a to převážně v podobě esterů (Das et al., 2020; Bié et al., 2023; Lorenzo a Munekata, 2016). Matcha čaj obsahuje především kyselinu gallovou, *p*-hydroxybenzoovou, protokatechovou, ellagovou, jenž jsou deriváty kyseliny hydroxybenzoové. Z derivátů kyseliny hydroxyskořicové se v matchi vyskytuje například kyselina kávová, ferulová, sinapová a chlorogenová kyselina, jenž vzniká esterifikací kyseliny kávové a chinové (Devkota et al., 2021; Bié et al., 2023). Chemická struktura výše zmíněných fenolických kyselin je znázorněna na Obrázku 5.



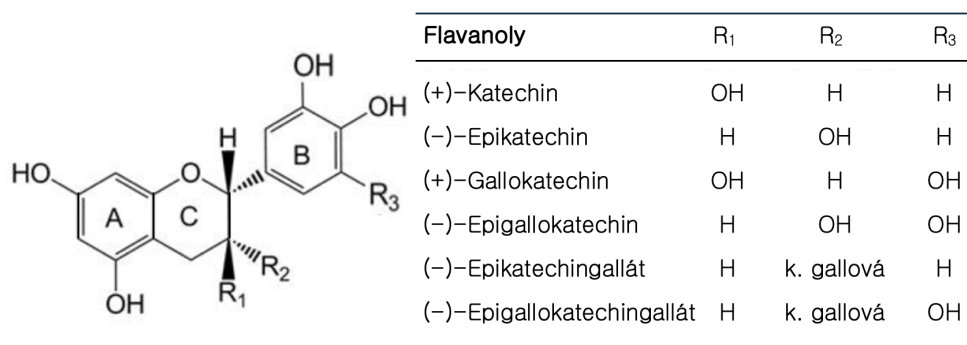
Obrázek 5 Chemická struktura fenolických kyselin, upraveno dle (Shahidi a Ambigaipalan, 2015)

Různé substituční skupiny na aromatickém jádře ovlivňují stabilizaci fenolických kyselin, což má přímý vliv na jejich schopnost vychytávat nebo zhášet volné radikály. Tato variabilita v substituentech je zásadní pro rozdílnou antioxidační aktivitu zmíněných sloučenin (Shahidi a Ambigaipalan, 2015). Mimo antioxidační potenciál vykazují také protizánětlivé, hypoglykemické a neuroprotektivní účinky (Kochman et al., 2021).

3.1.2 Flavanoly

Flavanoly, známé jako katechiny, jsou majoritní skupinou polyfenolických látek obsažených v listech *Camellia sinensis* a tvoří více než 70 % celkového obsahu polyfenolických látek

v zelených čajích (Rasouli et al., 2017; Lorenzo a Munekata, 2016). Čajové listy obsahují převážně volné formy katechinů, avšak v menší míře se vyskytují také ve formě konjugované nebo vázané na složky buněčných stěn (Das et al., 2020). Skupina flavanolů je zodpovědná za více než 92 % antioxidačního potenciálu zelených čajů, přičemž nejvíce dominantním katechinem ve složení je epigallokatechingallát (EGCG). Jeho antioxidační aktivita je nejvýraznější v porovnání s ostatními katechiny díky své chemické struktuře, která zahrnuje až osm hydroxylových funkčních skupin, čímž výrazně přispívá k lepší schopnosti vychytávat volné radikály (Lorenzo a Munekata, 2016; He et al., 2021). Zelené čaje obsahují i další významné zástupce flavanolů, jejichž chemická struktura je vyobrazena na Obrázku 6 níže.



Obrázek 6 Chemická struktura flavanolů, upraveno dle (Hilal, 2017)

Katechiny představují klíčové biologicky aktivní látky zelených čajů, které jsou spojovány s řadou zdravotně prospěšných účinků. Mají podpůrný efekt na regulaci krevního tlaku, schopnost snižovat hladinu cholesterolu a cukru v krvi a mají pozitivní vliv na metabolismus lipidů. Celkově tedy podporují snížení rizika vzniku kardiovaskulárních onemocnění, diabetu 2. typu a osteoporózy (Cheadle a Kilby, 2017).

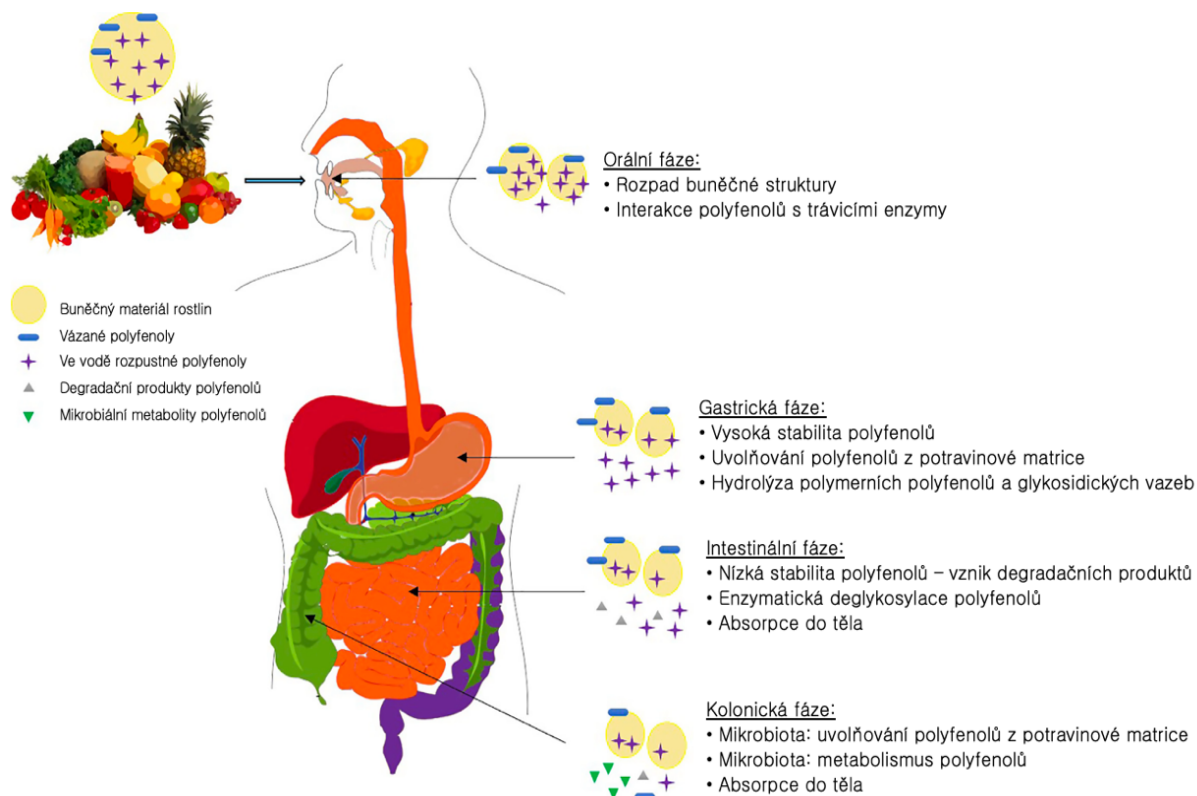
3.1.3 Flavonoly

Flavonoly jsou další důležitou kategorií flavonoidů, jež se společně z výše uvedenými skupinami podílí na polyfenolickém profilu zelených čajů (Lorenzo a Munekata, 2016). Mezi hlavní představitele patří kaempferol, kvercetin a myricetin, jejichž chemická struktura se liší na základě počtu hydroxylových funkčních skupin (He et al., 2021). Flavonoly se vyskytují v rostlinných zdrojích nejen v podobě aglykonů, ale také ve formě glykosidů, přičemž sacharidová část je poněkud variabilní, může být tvořena například glukózou, galaktózou a ramnózou nebo jejich kombinací (Lorenzo a Munekata, 2016).

Nejvýznamnějším glykosidem matcha čaje je glykosid kvercetinu, známý jako rutin, jehož cukernatá část je tvořena právě kombinací ramnózy a glukózy. Jeho systematické označení je kvercetin-3-O-rutinosid (Rasouli et al., 2017). Rutin je známý svým antioxidačním a protizánětlivým potenciálem a spolu s vitamínem C působí synergicky, což podporuje zpevnění cévních stěn a celkově pozitivně působí na kardiovaskulární systém (Kochman et al., 2021).

3.2 Stravitelnost polyfenolických látek

Po konzumaci potravin bohatých na polyfenoly jsou tyto sloučeniny vystaveny specifickým fyzikálně-chemickým podmínkám jednotlivých fází trávicího traktu, které zásadně ovlivňují jejich osud při procesu trávení, který zahrnuje především uvolnění polyfenolických látek z potravinové matrice, jejich následnou absorpci nebo degradaci a metabolismus. Po vstřebání zažívacím ústrojím dochází k rozsáhlým metabolickým pochodům za vzniku metabolitů, které mohou vykazovat nižší či vyšší antioxidační aktivity než výchozí sloučeniny (Ketnawa et al., 2022). Obrázek 7 schematicky znázorňuje průchod polyfenolických sloučenin a děje v jednotlivých fázích trávicího traktu (Nagar et al., 2020).



Obrázek 7 Osud polyfenolů v trávicím traktu, upraveno dle (Nagar et al., 2020)

3.2.1 Orální fáze

Ústní dutina je počáteční fází trávicího systému, kde dochází především k mechanickému rozmělnění potravy a prvotnímu kontaktu se slinami. Mechanické narušení buněčné struktury umožňuje pouze částečné uvolnění polyfenolů, což může nepatrně ovlivnit jejich následnou absorpci v segmentech trávicího ústrojí (Nagar et al., 2020). Biologická dostupnost může být také ovlivněna interakcemi polyfenolických látek se slinnými proteiny (např. mucin) nebo ústní mikrobiotou. Některé flavonoidy mohou být v neutrálním pH prostředí ústní dutiny nestabilní, přičemž flavonolové glykosidy vykazují vyšší stabilitu než flavanoly. Nálev ze zeleného čaje si po stravitelnosti simulované *in vitro* v dutině ústní zachoval více než 3/4 procentuálního zastoupení flavanolů, jenž bylo nejspíše ovlivněno krátkou dobou expozice čajového nálevu v dutině ústní. Primární fenolické sloučeniny matcha čaje vykazují tedy určitou stabilitu v biochemických podmínkách orální fáze (Ye et al., 2024).

3.2.2 Gastrická fáze

Mechanicky rozmělněná potrava v orální fázi je dále peristalticky transportována do žaludku. Vlivem peristaltických vln a kyselého pH prostředí žaludku je potravina přeměněna na chymus a dochází tedy k fyzikálně-chemickému rozkladu rozžvýkané potravy (Velderrain-Rodríguez et al., 2014). V gastrické fázi nastává na základě výše uvedených faktorů a také díky působení tzv. žaludečních enzymů (pepsin, tyrosin a chymotrypsin) uvolňování polyfenolických látek z potravinové matrice, především jsou uvolněny sloučeniny s nízkým počtem vazeb a/nebo se slabými interakcemi mezi matricí potravy (Ketnawa et al., 2022; Velderrain-Rodríguez et al., 2014). Kyselé pH žaludeční šťávy také částečně ovlivňuje transformaci zmíněných sloučenin, čímž dochází k hydrolýze polymerních polyfenolů za vzniku polyfenolických sloučenin o nižší molekulové hmotnosti a ke štěpení sacharidových složek navázaných na fenolické látky. Aglykony a glykosidy flavonoidů jsou v žaludečním prostředí poměrně stabilní, přičemž mohou být v této fázi uvolněny z potravinové matrice, ale jejich absorpce bude probíhat z velké části až v segmentech tenkého střeva. Nicméně některé fenolické sloučeniny se mohou v menší míře v žaludečním prostředí vstřebávat, převážně jsou absorbovány uvolněné nízkomolekulární fenolické kyseliny (Nagar et al., 2020; Velderrain-Rodríguez et al., 2014).

3.2.3 Intestinální fáze

Po vyprázdnění žaludku je chymus distribuován do tenkého střeva, konkrétně do oblasti nazývané dvanáctník. Zde nastává přeměna kyselého pH žaludečního obsahu na mírně alkalické vlivem neutralizace střevní šťávou, v němž jsou polyfenolické látky nestabilní a může docházet ke vzniku degradačních produktů. Většina fenolických antioxidantů, které se dostanou do krevního řečiště se vstřebávají právě v tenkém střevě, respektive v duodenu a jejunu (Nagar et al., 2020; Velderrain-Rodríguez et al., 2014). Nezbytným fyziologickým požadavkem při procesu trávení v intestinální fázi je také nepochybně působení pankreatických enzymů (lipáza, proteáza a amyláza), jenž se podílejí na hydrolýze a degradaci makronutrientů, čímž jsou následně snáze uvolněny polyfenolické látky z matrice potravin a stávají se tak biologicky dostupnějšími (Ketnawa et al., 2022). Vstřebatelnost je podmíněna nejen mírou uvolnění z potravinové matrice, ale také povahou molekulární struktury zmíněných sloučenin, čímž je například molekulová hmotnost, stupeň polymerace, charakter glykosidové části a hydrofobicita molekuly (Velderrain-Rodríguez et al., 2014).

Polyfenolické sloučeniny procházejí ze střevního lumen do epitelových buněk tenkého střeva (enterocytů) různými mechanismy, které závisí na charakteru dané sloučeniny. Aglykony, jenž vykazují vyšší lipofilitu, se snadněji vstřebávají do enterocytů pasivní difuzí ve srovnání s jejich příslušnými glykosidy (Ketnawa et al., 2022; Velderrain-Rodríguez et al., 2014; Williamson et al., 2018). Ačkoli katechiny se vyskytují převážně v aglykonové formě, jejich biologická dostupnost je značně ovlivněna hydrofilní povahou molekul, zvláště u galloyl-katechinů (Ye et al., 2024). U glykosidů fenolických látek se předpokládá, že dochází k enzymatické deglykosylaci, prostřednictvím laktázové chlorizinhydrolázy, jenž je lokalizována na povrchu enterocytů. Tento enzym vykazuje substrátovou specifitu pro flavoniodní O-glykosidy, což vede k oddělení cukerné části od aglykonu, který pak může být vstřebán již zmíněnou pasivní difuzí. Druhá možnost zahrnuje transport glykosidů polyfenolů přes buněčnou membránu pomocí glukózového transportéru závislého na sodíku. Po vstřebání se v enterocytech za účasti enzymu cytosolové β -glukosidázy odštěpí sacharidová složka (Ye et al., 2024; Nagar et al., 2020; Velderrain-Rodríguez et al., 2014; Williamson et al., 2018).

3.2.4 Kolonická fáze

Po trávení v tenkém střevě se nadměrné množství polyfenolů a nestrávený podíl dostává do tlustého střeva. V kolonické fázi jsou uvedené sloučeniny vystaveny působení střevních

mikroorganismů. Antimikrobiální aktivita polyfenolů může pozitivně ovlivňovat modulaci střevní mikrobioty, ale zároveň enzymy produkované bakteriemi tlustého střeva katalyzují metabolické pochody polyfenolických látek (Ye et al, 2024; Velderrain-Rodríguez et al., 2014). Dochází tedy k přeměně polyfenolů na nízkomolekulární metabolity, jež jsou snáze absorbovány bariérou tlustého střeva než jejich výchozí prekurzory. Nestrávený podíl je následně vylučován z těla v podobě stolice (Nagar et al., 2020).

II PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍL PRÁCE

Cílem teoretické části bylo charakterizovat rostlinu čajovníku čínského se zaměřením na jeho pěstování a podrobněji popsat pěstování čajovníku pro výrobu čaje matcha. Následně bylo cílem blíže specifikovat polyfenolické látky, které se vyskytují v matcha čaji a poukázat na jejich případnou využitelnost při procesu trávení.

Primárním cílem v praktické části bylo provést simulaci trávení matcha čaje v podmínkách *in vitro* a následně byl pozorován vliv stravitelnosti na uvolňování volných a vázaných forem polyfenolických látek z matrice čajového listu za využití spektrofotometrické metody na určení obsahu celkových polyfenolů a za použití metody HPLC na identifikaci příslušných sloučenin z polyfenolického profilu čaje matcha.

5 METODIKA

5.1 Charakteristika vzorků

Pro měření byly využity čtyři vysoce kvalitní prášky matcha vyrobené z listů *Camellia sinensis*.

Vzorek 1: organický matcha prášek značky Iswari, původem z Japonska.

Vzorek 2: 100% prášek matcha čaje značky Imbio, původem z Číny.

Vzorek 3: 100% BIO matcha prášek značky Natu, původem z Japonska.

Vzorek 4: prémiový 100% organický matcha prášek značky Allnature, původem z Číny.



Obrázek 8 Komerční balení použitých matcha čajů, zdroj: vlastní

Všechny vybrané vzorky matcha čajů byly zakoupeny na tuzemském trhu s datem expirace v roce 2025 a byly skladovány v souladu s pokyny výrobce uvedenými na originálních obalech. To znamená, že byly uchovávány v původním balení (70–250 g) na suchém a tmném místě bez intenzivního dopadu slunečního záření při teplotě 23 ± 2 °C.

5.2 Stanovení obsahu sušiny

Stanovení obsahu sušiny ve vzorcích matcha čajů bylo provedeno podle normy ČSN ISO 1573, která vymezuje postup pro stanovení ztráty hmotnosti sušením čajových produktů. Nejdříve byl navážen 1 g vzorku s přesností na čtyři desetinná místa na analytických vahách (AFA 210 LC, Schoeller, ČR) do hliníkových misek, které byly předem zváženy a vysušené v sušárně (Venticell 111 Comfort, BTM a.s., Brno, ČR) při teplotě 103 ± 2 °C po dobu 1

hodiny. Následně byly misky se vzorky umístěny do sušárny a podrobeny procesu sušení po dobu 6 hodin při teplotě 103 ± 2 °C. Poté byly hliníkové misky již s vysušenými vzorky vloženy do exikátoru a po zchladnutí na laboratorní teplotu opětovně zváženy na analytických vahách. Pro každý vzorek byly provedeny tři stanovení a výsledkem je jejich aritmetický průměr.

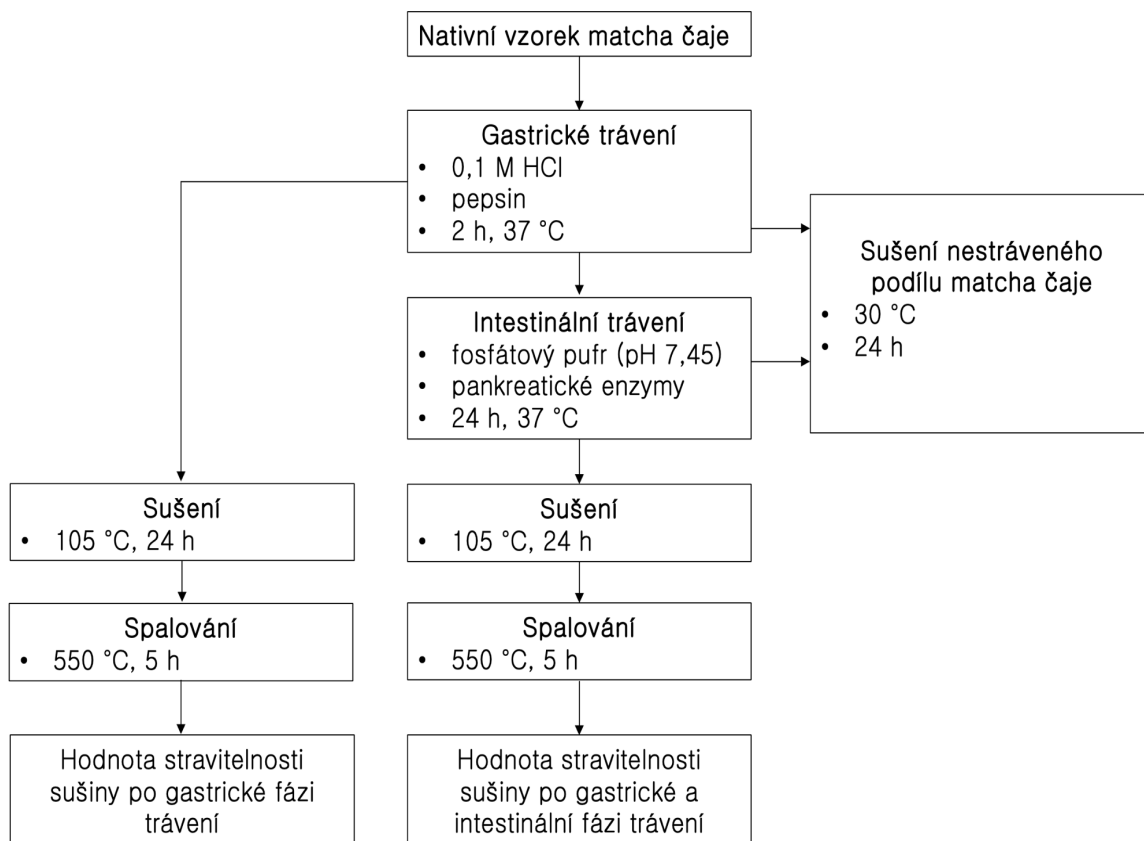
Hodnoty obsahu sušiny v % byly vypočteny dle vzorce níže (1):

$$S = \frac{m_2 - m_1}{m_v} \cdot 100 \quad (1)$$

kde: S (obsah sušiny ve vzorku, %), m_v (hmotnost vzorku, g), m_1 (hmotnost prázdné vysušené misky, g), m_2 (hmotnost misky se vzorkem po vysušení, g).

5.3 Stanovení stravitelnosti *in vitro* a příprava nestráveného podílu

Pro stanovení hodnot stravitelnosti vybraných matcha čajů bylo simulováno gastrické a následně intestinální prostředí v laboratorních podmínkách v inkubátoru Daisy^{II} (Aknom Technology, Makedon, New York, USA). Schéma postupu stanovení stravitelnosti *in vitro* je znázorněno na Obrázku 9 níže (Nekvapil et al., 2024).



Obrázek 9 Schéma postupu stravitelnosti *in vitro*, upraveno dle (Nekvapil et al., 2024)

Prvním krokem bylo navážít 0,25 g vzorku na analytických vahách do trávicích sáčků typu F57 (Aknom Technology, Makedon, New York, USA), které byly následně zataveny prostřednictvím pulzní svářečky (KF-200H, Penta Servis, Holice, ČR). Při simulaci gastrických podmínek byly připravené vzorky umístěny do inkubační lahve, do které bylo přidáno 1,7 l roztoku kyseliny chlorovodíkové (Penta s.r.o, Praha, ČR) o koncentraci 0,1 mol/l obsahující 0,63 g pepsinu o aktivitě 2000 FIP-U/g (Carl Roth, Karlsruhe, Německo) a následně byla vložena do inkubátoru Daisy^{II}. V těchto podmínkách byly vzorky inkubovány při teplotě 37 °C po dobu 2 hodin a následně promyty redestilovanou vodou. Pro stanovení hodnot stravitelnosti v žaludečních podmínkách bylo trávení ukončeno v této fázi a část vzorků tedy nebyla vystavena trávení v podmínkách tenkého střeva (Nekvapil et al., 2024).

Pro modelaci intestinálních podmínek byly již natrávené vzorky znovu vloženy do inkubační láhve, do které byl tentokrát přidán vodný roztok fosfátového pufru (pH 7,45) o objemu 1,7 l, jehož příprava zahrnovala rozpuštění 32,49g Na₂HPO₄·12 H₂O (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA) a 3,07g KH₂PO₄ (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA) v redestilované vodě a přidání 3,0 g směsi pankreatických enzymů o aktivitě amylolytické 7500 FIP-U/g, proteázové 350 FIP-U/g a lipázové 6000 FIP-U/g (Merck, Darmstadt, Německo). Takto připravená inkubační láhev byla podruhé umístěna do inkubátoru a v tomto prostředí byly vzorky inkubovány při teplotě 37 °C po dobu 24 hodin a poté znovu promyty redestilovanou vodou. Sáčky se vzorky, jež byly podrobeny procesu trávení v obou fázích nebo jen v žaludeční podmínkách, byly umístěny do sušárny a vystaveny teplotě 105 °C po dobu 24 hodin. Po vysušení byly sáčky se vzorky vloženy do exikátoru a po zchladnutí na laboratorní teplotu zváženy na analytických vahách. Poslední krok zahrnoval spálení trávicích sáčků obsahující zbytky matcha čaje v muflonové peci (LM112.10, Veb Elektro, Berlín, Německo) při teplotě 550 °C po dobu 5 hodin. Následně byly sáčky se vzorky vloženy do exikátoru a poté zváženy na analytických vahách (Nekvapil et al., 2024).

Hodnoty stravitelnosti sušiny v % byly vypočteny dle vzorců níže (2)–(6):

$$DMD = 100 - \frac{100 \cdot DMR}{m_2 \cdot DM} \quad (2)$$

$$DMR = m_3 - m_1 \cdot c_1 \quad (3)$$

$$DM = \frac{S \cdot m_v}{100} \quad (4)$$

$$c_1 = \frac{m_s}{m_1} \quad (5)$$

$$c_2 = \frac{m_p}{m_1} \quad (6)$$

kde: DMD (hodnota stravitelnosti sušiny, %), DMR (hmotnost vzorku bez trávicího sáčku po inkubaci a vysušení, g), DM (hmotnost sušiny vzorku, g), S (obsah sušiny ve vzorku, %), m_v (hmotnost vzorku pro stanovení obsahu sušiny, g), c_1 (korekce hmotnosti sáčku po inkubaci, g), c_2 (korekce hmotnosti sáčku po spálení, g), m_s (hmotnost sáčku po inkubaci a vysušení, g), m_p (hmotnost popela prázdného sáčku, g), m_1 (hmotnost prázdného sáčku, g), m_2 (hmotnost vzorku, g), m_3 (hmotnost sáčku se vzorkem po inkubaci a vysušení, g).

Příprava nestráveného podílu matcha čajů probíhala analogicky, jak je uvedeno výše, nicméně v posledním kroku byly vzorky vysušeny po dobu 24 hodin při teplotě 30 °C, nikoli při 105 °C, a to z důvodu nízké stability fenolických látek při teplotách nad 40 °C (Nekvapil et al., 2024).

5.4 Extrakce volných a vázaných polyfenolických látek

Příprava extraktů obsahující volné frakce polyfenolických látek byla provedena podle Kotásková et al. (2016) s mírnou modifikací vzhledem k charakteru vzorků. Nejprve bylo naváženo po 0,1 g nativního vzorku na analytických vahách do eppendorfek o objemu 5 ml. Následně bylo k naváženému vzorku přidáno 5 ml 80 % metanolu (Penta s.r.o, Praha, ČR). Takto připravené vzorky k extrakci byly umístěny do ultrazvukové lázně (PS 04000A, Notus-Powersonic s.r.o., Slovenská republika) po dobu 1 hodiny. Vzniklé extrakty byly následně odstředěny při 22 300xg po dobu 10 minut pomocí centrifugy (DLAB D 3024, HPST s.r.o., ČR). Po odstředění byly vzniklé supernatanty odebrány do čistých eppendorf zkumavek a zbylé sedimenty byly následně využity pro extrakci vázaných frakcí polyfenolických látek.

Postup při extrakci vázaných polyfenolů byl také proveden dle Kotásková et al. (2016) s minoritní modifikací. K získaným zbytkům vzorků matcha čaje po předešlé extrakci volných polyfenolů bylo přidáno 5 ml NaOH (Penta s.r.o., Praha, ČR) o koncentraci 0,1 mol/l. Vzorky připravené tímto způsobem byly následně podrobeny hydrolýze v ultrazvukové lázni po dobu 2 hodin. Po uplynutí doby hydrolýzy byly vzniklé výluhy odstředěny a odděleny analogicky jak při přípravě extraktů volných frakcí. Oddělené supernatanty byly následně okyseleny pomocí kyseliny chlorovodíkové (Penta s.r.o., Praha, ČR) o koncentraci 6 mol/l. Kyselá reakce byla sledována prostřednictvím lakmusového papírku.

Dle postupů uvedených výše byly obdobně extrahovány také nestrávené podíly vzorků matcha čajů po žaludeční fázi i po gastrickém a intestinálním trávení. Extrakty jak volných, tak i vázaných frakcí polyfenolů, nativních i nestrávených podílů vzorků byly následně využity pro stanovení obsahu celkových polyfenolických látek i pro stanovení polyfenolického profilu.

5.5 Stanovení obsahu celkových polyfenolických látek

Stanovení obsahu celkových polyfenolů ve vzorku bylo provedeno dle Koláčková et al. (2020a) s mírnou modifikací. Nejprve byl připraven slepý pokus tzv. blank. K přípravě blanku bylo nutno odpipetovat 5 ml redestilované vody do odměrné baňky o objemu 10 ml, do níž bylo přidáno 0,5 ml Folin-Ciocalteuova činidla (Sigma-Aldrich, Praha, ČR) a 1,5 ml předem připraveného 20% roztoku Na_2CO_3 (Penta s.r.o, Praha, ČR). Odměrná baňka byla následně doplněna redestilovanou vodou po rysku. Takto připravený blank byl jako první proměřen na jednopaprskovém VIS spektrofotometru (WPA S1200, Biochrom, Cambridge, UK) při vlnové délce 765 nm.

Příprava vzorků pro vlastní měření byla provedena obdobně jak u přípravy slepého pokusu s tím rozdílem, že do odměrných baněk bylo již přidáno konkrétní množství extraktu vzorku, jejichž příprava je uvedena v kapitole 5.4. Dávkovaný objem extraktů byl stanoven experimentálně a lišil se v závislosti na povaze výluhu. Následně byla přidána všechna výše uvedená činidla a poté byla odměrná baňka doplněna redestilovanou vodou po rysku. Po 30 minutách byla změřena absorbance na VIS spektrofotometru při vlnové délce 765 nm. Jednotlivé obsahy celkových polyfenolických látek v nativních vzorcích i v nestrávených podílech po simulaci trávení *in vitro* jsou uvedeny v ekvivalentech kyseliny gallové a byly vypočteny z lineární regrese kalibrační přímky, jež byla sestavena dle postupu uvedeného níže.

Při postupu sestavení kalibrační křivky byla nejprve připravena kalibrační řada roztoků kyseliny gallové (Sigma-Aldrich, Praha, ČR), jakožto standardu v koncentracích 50, 100, 200, 400, 600 a 800 mg/l. Příprava referenčních vzorků pro měření byla provedena obdobně, nicméně místo extraktu vzorku bylo přidáno 0,1 ml roztoku standardu. Po proměření všech vzorků připravených z kalibrační řady při vlnové délce 765 nm prostřednictvím VIS spektrometru byla sestavena kalibrační křivka v závislosti absorbance na koncentraci kyseliny gallové.

Z obsahů celkových polyfenolických látek u vzorků nativních, nestrávených podílů a z hodnot stravitelnosti byly následně vypočteny příslušné retenční faktory (RF), jenž určují kolik % polyfenolů nebylo uvolněno z matrice matcha čaje po simulaci trávení v podmínkách *in vitro*.

Hodnoty retenčních faktorů v % byly vypočteny dle vzorce níže (7):

$$RF = \frac{TPC_{NP} \cdot (100 - DMD)}{TPC_{NV}} \quad (7)$$

kde: RF (retenční faktor, %); DMD (hodnota stravitelnosti sušiny, %); TPC_{NP} (obsah celkových polyfenolů v nestráveném podílu matcha čaje, mg GAE/g); TPC_{NV} (obsah celkových polyfenolů v nativním vzorku matcha čaje, mg GAE/g).

5.6 Stanovení polyfenolického profilu metodou HPLC

Pro stanovení polyfenolického profilu metodou HPLC bylo nutno připravené extrakty vzorků, jejichž příprava je uvedena v kapitole 5.4, před vlastním stanovením přefiltrovat do vialek přes syringe filtr (Chromservis s.r.o., Praha, ČR) s nylonovou membránou o velikosti pórů 0,22 μm . Vzorky připravené tímto způsobem byly následně zavedeny na kapalinový chromatograf (Koláčková et al., 2022).

Polyfenolický profil byl stanoven pomocí HPLC systému Dionex Ultimate 3000 opatřeného stejnojmenným detektorem s diodovým polem typu DAD-3000RS (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA). Chromatografická separace byla realizována prostřednictvím kolony Kinetex C18 (150 $\times$ 4,6 mm; 2,6 μm) (Phenomenex, Torrance, Kalifornie, USA). Jednotlivé analýzy byly provedeny v režimu gradientové eluce za použití mobilní fáze A, která byla tvořena redestilovanou vodou a kyselinou octovou v poměru 99:1 a mobilní fáze B, jejíž příprava zahrnovala smíchání redestilované vody, acetonitrilu a kyseliny octové v poměru 67:31:1. Gradientová eluce byla naprogramována následovně: od 0 do 10 minut pokles mobilní fáze A na 80 %; od 10 do 16 minut pokles A na 60 %; od 16 do 20 minut pokles A na 50 %; od 20 do 25 minut pokles A na 30 %; od 25 do 40 minut zvýšení A na 90 % a následně bylo 90 % A konstantní od 40 do 45 minut. Na kolonu bylo dávkováno 10 μl vzorku a délka jedné analýzy trvala po dobu 45 minut při konstantní teplotě kolony (30 $^{\circ}\text{C}$). Během analýz byla průtoková rychlost udržována konstantní na hodnotě 1,0 ml/min. Výsledné chromatogramy byly vyhodnocovány při vlnové délce 275 nm za použití softwaru Chromeleon™ 7.2 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA).

Jednotlivé analyty byly identifikovány dle retenčních časů příslušných standardů (Koláčková et al., 2022), jejichž kalibrace nebyla předem provedena.

Z obsahů jednotlivých analytů u nativních vzorků, nestrávených podílů a za využití hodnot stravitelnosti sušiny byly následně analogicky vypočteny hodnoty RF dle vzorce (6) uvedeného v kapitole 5.5.

5.7 Statistické vyhodnocení

K statistickému vyhodnocení experimentálních dat byl zvolen parametrický Studentův t -test, provedený při hladině významnosti 0,05. Cílem testu bylo ověření statisticky významných rozdílů mezi středními hodnotami.

6 VÝSLEDKY A DISKUZE

6.1 Výsledky stanovení stravitelnosti a obsahu sušiny ve vzorcích

Stanovení obsahu sušiny ve vzorcích bylo provedeno dle metodiky sepsané v kapitole 5.2. Stanovení stravitelnosti sušiny (DMD) simulované v laboratorních podmínkách po gastrickém trávení (GT) a po gastrointestinálním trávení (GIT) bylo realizováno dle metodiky uvedené v kapitole 5.3. V Tabulce 1 níže jsou zaznamenány získané hodnoty stravitelnosti sušiny a obsahu sušiny ve vzorcích.

Tabulka 1 Hodnoty stravitelnosti sušiny a obsah sušiny ve vzorcích

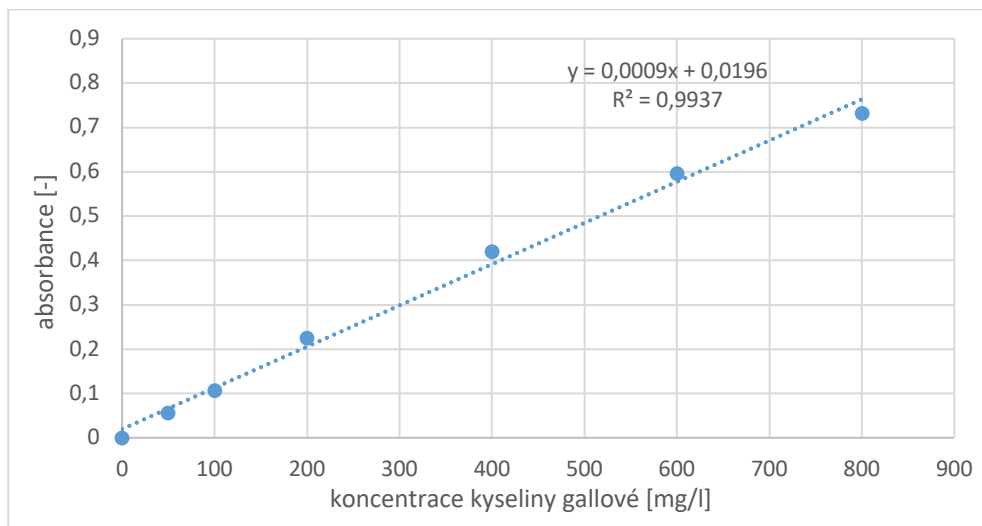
Název vzorku	Obsah sušiny [%]	DMD [%]	
		GT	GIT
Iswari	95,3±0,1 ^{a,b}	64,5±2,2 ^{a,b}	83,7±2,0 ^a
Imbio	95,4±0,1 ^a	67,3±2,0 ^b	83,7±2,0 ^a
Natu	95,1±0,1 ^b	58,1±1,3 ^c	82,4±1,1 ^a
Allnature	95,8±0,1 ^c	64,4±0,9 ^a	84,7±1,0 ^a

Výsledky stanovení jsou zapsány jako aritmetický průměr ± SD (n=3). Výsledky ve sloupcích se stejnými písmennými indexy se mezi sebou statisticky významně neliší ($p \geq 0,05$). Výsledky ve sloupcích s odlišnými písmennými indexy mezi sebou vykazují statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$).

Obsah sušiny ve vzorcích matcha čajů byl ve všech případech vyšší než 95 %. Vyhláška č. 187/2023 Sb. stanovuje, že při procesu sušení zeleného čaje při 103 °C nesmí ztráta hmotnosti přesáhnout 10 %. Naměřené výsledky obsahu sušiny jsou tedy v souladu s kritériem uvedeného právního předpisu. Hodnoty stravitelnosti sušiny matcha čajů se po gastrickém trávení pohybovaly od 58,1 % do 67,3 %. Nejnižší hodnota stravitelnosti sušiny po GT byla zaznamenána u vzorku matcha čaje Natu (58,1 %), a naopak nejvyšší hodnota byla prokázána u vzorku Imbio (67,3 %). Dle Tabulky 1 je zřejmé, že hodnoty stravitelnosti sušiny po gastrointestinálním trávení byly u všech vzorků vyšší než 82 %. Podle Sumczynski et al. (2015) hodnoty stravitelnosti sušiny různých druhů obilných vloček dosahovaly až 80,7 %. Dle další studie byla hodnota DMD celozrnné mouky stanovena na 86,5 % (Kotásková et al., 2016). Stravitelnost potravin je ovlivněna obsahem vlákniny, která ji zpravidla snižuje. Naopak tepelné a mechanické zpracování potravin zvyšuje dostupnost živin a tím podporuje jejich stravitelnost (Sumczynski et al, 2015).

6.2 Výsledky stanovení obsahu celkových polyfenolických látek

Stanovení obsahu celkových polyfenolických látek ve vzorcích matcha čajů bylo provedeno dle metodiky uvedené v kapitole 5.5. Nejprve byla sestrojena kalibrační křivka a rovnice lineární regrese dále sloužila k výpočtu obsahu celkových polyfenolů (TPC) v nativních vzorcích a nestrávených podílech po simulaci *in vitro* trávení. Na Obrázku 10 je vyobrazena kalibrační křivka v závislosti absorbance na koncentraci kyseliny gallové.



Obrázek 10 Kalibrační křivka kyseliny gallové pro stanovení TPC ve vzorcích

V Tabulce 2 níže jsou zaznamenány obsahy celkových polyfenolů v nativních vzorcích pro volné a vázané frakce a dále je uveden součet zmíněných frakcí jako celkové TPC v příslušných matcha čajích. Výsledky jsou prezentovány v ekvivalentu kyseliny gallové.

Tabulka 2 Výsledky obsahu TPC v nativních vzorcích

	TPC volné frakce	TPC vázané frakce	TPC celkové
Název vzorku	[mg GAE/g]	[mg GAE/g]	[mg GAE/g]
Iswari	57,7±4,2 ^a	29,3±1,5 ^a	87,0±4,5 ^a
Imbio	34,6±2,0 ^b	11,3±0,3 ^b	45,9±2,1 ^b
Natu	43,9±2,5 ^c	18,0±0,7 ^c	61,9±2,6 ^c
Allnature	90,1±2,7 ^d	24,0±1,2 ^d	114±3 ^d

Výsledky stanovení jsou zapsány jako aritmetický průměr ± SD (n=4–8). Výsledky ve sloupcích se stejnými písmennými indexy se mezi sebou statisticky významně neliší ($p \geq 0,05$). Výsledky ve sloupcích s odlišnými písmennými indexy mezi sebou vykazují statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$).

Vyšší množství TPC bylo zaznamenáno u extraktů obsahující volné frakce polyfenolů v porovnání s výluhy vázaných frakcí, jejichž koncentrace byly stanoveny následovně: Allnature (90,1 mg GAE/g) > Iswari (57,7 mg GAE/g) > Natu (43,9 mg GAE/g) > Imbio (34,6 mg GAE/g). Podle Najman et al. (2023) se obsah celkových polyfenolů v extraktech volných frakcí fenolických látek matcha čaje pohybuje v rozmezí 137–191 mg GAE/g a dle Koláčková et al. (2020a) dosahuje obsah TPC hodnoty až 273 mg GAE/g. Naopak podle Jiang et al. (2023) byl stanoven obsah TPC ve vzorcích matcha čajů nižší (13,8 až 14,3 mg GAE/g). Naměření obsahu TPC nelze zcela porovnat s hodnotami uvedenými v literárních zdrojích, obsah celkových polyfenolů v extraktu je totiž závislý na mnoha faktorech, které jsou dále blíže popsány. V extraktech vázaných frakcí polyfenolů bylo zjištěno nejvyšší množství u vzorku Iswari (29,3 mg GAE/g) a naopak nejnižší obsah byl stanoven u matcha čaje značky Imbio (11,3 mg GAE/g). Studie zabývající se analýzou rozpustných a nerozpustných frakcí polyfenolických sloučenin běžného zeleného čaje uvádí, že obsah TPC byl vyšší po ultrazvukové extrakci u výluhů obsahující volné frakce v porovnání s vázanými (Das et al., 2020), což je v souladu i s našimi získanými výsledky. Vzhledem k nedostatečnému množství studií věnovaných analýze vázaných polyfenolů v matcha čaji nelze naměřené hodnoty dostatečně porovnat. Nejvyšší celkové TPC ve vzorcích bylo naměřeno u vzorku matcha čaje Allnature (114 mg GAE/g) a nejnižší množství vykazoval matcha čaj značky Imbio (45,9 mg GAE/g).

Zásadní vliv na obsah TPC v extraktu má především aplikovaný metodický postup extrakce, čímž je zejména charakter použitého rozpouštědla, teplota, doba extrakce a následně samotný postup při vlastním stanovení. Studie zabývající se stanovením obsahu TPC ve vzorcích matcha čajů v závislosti na použitém rozpouštědle uvádí vyšší naměřené množství TPC u vzorků extrahovaných v 80% methanolu v porovnání s extrakcí v redestilované vodě (Koláčková et al., 2020a). Jedním z dalších faktorů, které mohou negativně ovlivnit obsah TPC v matcha čaji je podle Zaiter et al. (2016) proces mletí tenchi na matcha čaj, tudíž nižší naměřené hodnoty mohou být teoreticky ovlivněny zmíněným procesem. Jakubczyk et al. (2024) uvádí, že období sběru čajových listů, způsob pěstování a země původu matcha čaje může mít také vliv na obsah TPC ve vzorcích. Bylo zjištěno, že vyšší obsah TPC byl naměřen u vzorku matcha čaje, jehož sklizeň byla realizována na jaře v porovnání s letní sklizní (Jakubczyk et al., 2024). Další faktor, který snižuje obsah TPC v matchi jsou podmínky skladování, nepříznivý vliv má zejména vyšší teplota a delší doba skladování (Kim et al., 2020). Studie Meyer et al. (2023) uvádí obsah TPC ve vzorcích matcha čajů nižší ve srovnání

s běžnými zelenými čaji, což je v souladu s tvrzením, že způsob zastínění snižuje akumulaci polyfenolů v čajových listech a zároveň nižší obsah polyfenolických sloučenin pozitivně přispívá k typické jemné chuti matcha čaje. Hodnota TPC v čajích je také závislá na míře zpracování čajových listů, obsah TPC v zelených čajích je podstatně vyšší v porovnání s čaji černými (Zhao et al., 2019). Mezi potraviny bohaté na polyfenoly jsou řazeny i obiloviny, nicméně bylo zjištěno, že obsah TPC v tradičních, celozrnných i bezlepkových obilovinách je až 100krát nižší než v čaji matcha (Kotásková et al., 2016; Sumczynski et al., 2015; Koubová et al., 2018). Ovoce a zelenina představují další skupiny potravin s vysokým obsahem polyfenolů, avšak obsah TPC je v porovnání s čajem matcha 10krát až 100krát nižší v závislosti na konkrétním druhu zmíněných potravin (Naeem et al., 2022; George et al., 2022).

6.2.1 Vliv stravitelnosti na obsah celkových polyfenolických látek

V Tabulce 3 jsou zaznamenány naměřené hodnoty obsahu TPC volných a vázaných frakcí v nestrávených podílech po žaludečním trávení a gastrointestinálním trávení. Postup přípravy nestráveného podílu matcha čaje je uveden v kapitole 5.3 a stanovení obsahu TPC Folin-Ciocalteuovou metodou bylo provedeno podle metodiky v kapitole 5.5.

Tabulka 3 Výsledky obsahu TPC v nestrávených podílech po GT a GIT

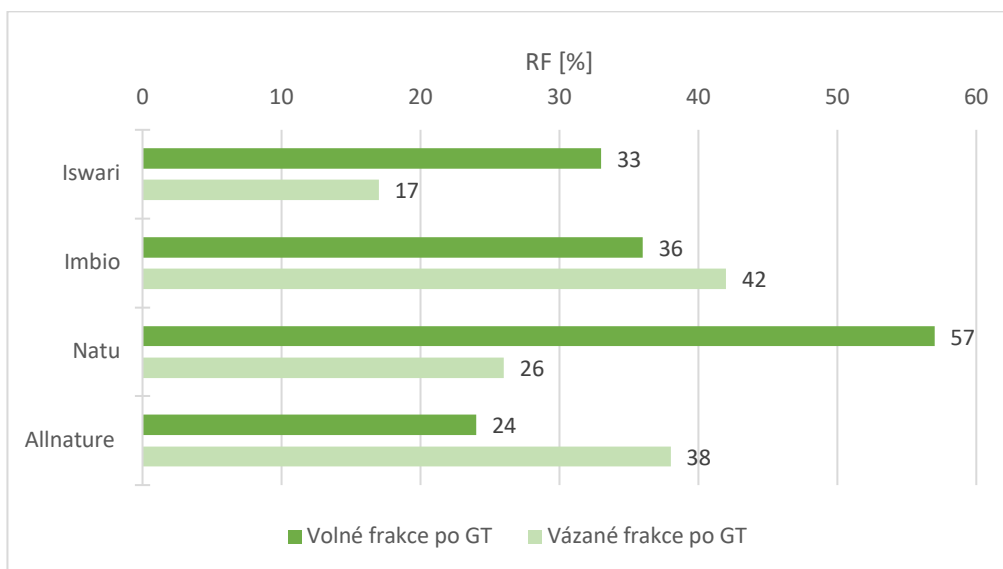
Název vzorku	Gastrické trávení		Gastrické a intestinální trávení	
	volné frakce [mg GAE/g]	vázané frakce [mg GAE/g]	volné frakce [mg GAE/g]	vázané frakce [mg GAE/g]
Iswari	53,7±0,4 ^a	13,8±0,2 ^a	90,3±1,1 ^a	8,56±0,07 ^a
Imbio	38,3±0,7 ^b	14,6±1,2 ^a	57,7±1,1 ^b	16,5±0,1 ^b
Natu	60,2±0,6 ^c	11,1±0,8 ^b	104±1 ^c	4,03±0,30 ^c
Allnature	60,6±1,2 ^c	25,9±0,3 ^c	86,0±0,9 ^d	28,7±0,4 ^d

Výsledky stanovení jsou zapsány jako aritmetický průměr ± SD (n=4-8). Výsledky ve sloupcích se stejnými písmennými indexy se mezi sebou statisticky významně neliší ($p \geq 0,05$). Výsledky ve sloupcích s odlišnými písmennými indexy mezi sebou vykazují statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$).

Získané výsledky obsahu TPC (Tabulka 3) byly využity pro výpočet retenčních faktorů (RF), které udávají kolik % obsahu TPC zůstalo v nestráveném podílu matcha čaje po GT a po GIT. Výpočet RF byl proveden dle vzorce (7). Do výpočtu RF byly rovněž použity

koncentrace TPC v nativních vzorcích a hodnoty stravitelnosti sušiny (DMD) pro jednotlivé vzorky a fáze trávení, jež jsou uvedeny v Tabulce 1.

Obrázek 11 graficky znázorňuje RF příslušných vzorků matcha čajů v extraktech volných a vázaných frakcí po GT. Žaludeční fáze je významným segmentem trávicího ústrojí, kde dochází k značnému uvolňování polyfenolů z potravinové matrice (Ye et al., 2024). Z Obrázku 11 je zřejmé, že u vzorku matcha čaje Imbio a Allnature původem z Číny se v gastrické fázi lépe uvolňovaly z matrice matcha čaje volné polyfenoly než ty ve vázaných frakcích, a naopak u japonských matcha čajů značky Iswari a Natu se fenolické látky z volné frakce uvolňovaly hůře. Nejvyšší hodnotu RF u volných frakcí polyfenolů vykazoval vzorek Natu s hodnotou 57 %. Jedním z možných vysvětlení vyšší hodnoty retence může být i nižší hodnota stravitelnosti sušiny tohoto vzorku po simulovaném gastrickém trávení. U vzorku Allnature matcha čaje byl vypočten nejnižší RF z čehož vyplývá, že až 76 % volných frakcí polyfenolů se uvolnilo z matrice matcha čaje v žaludku a mohou být teoreticky využity v gastrické fázi trávicího traktu. Co se týče vázaných frakcí polyfenolů, nejlépe se po žaludečním trávení uvolňovaly z matrice polyfenoly matcha čaje Iswari s hodnotou RF 17 % a nejvyšší obsah zůstal navázaný v nestráveném zbytku matcha čaje Imbio (42 %).

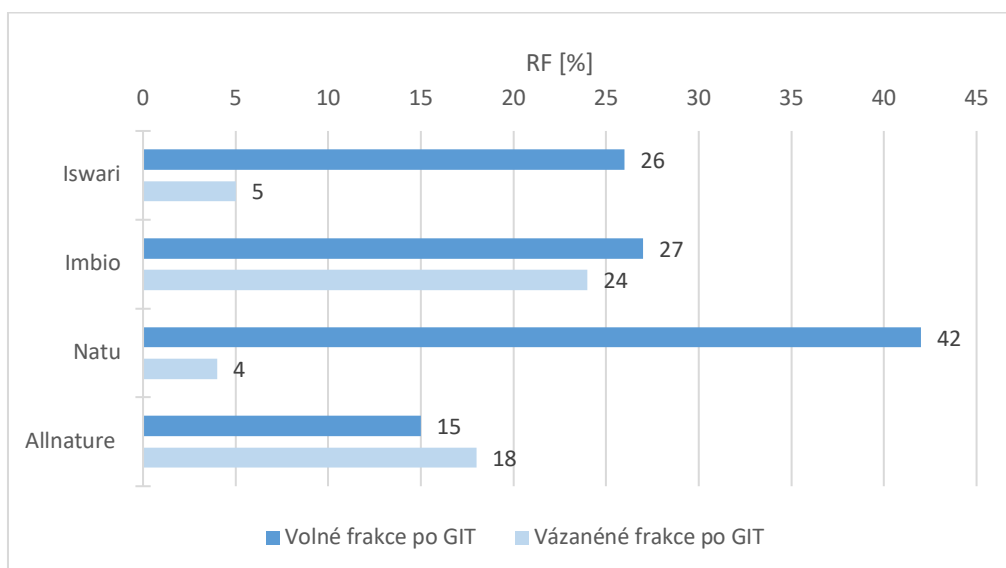


Obrázek 11 Hodnoty retenčních faktorů pro TPC po GT

Nižší hodnoty retence u vázaných polyfenolů mohou souviset se skutečností, že při procesu trávení v gastrické fázi dochází za působení enzymu pepsinu k prvotnímu štěpení bílkovin, což může následně pozitivně ovlivnit uvolnění navázaných fenolických sloučenin. Polyfenoly jsou po uvolnění z matrice v žaludečním prostředí téměř stabilní, tudíž v tomto segmentu trávicího traktu nedochází k jejich významné degradaci ani absorpci a stávají se

potencionálně biologicky dostupnými pro následující fáze trávicího ústrojí (Nagar et al., 2020).

Obrázek 12 graficky znázorňuje procentuální zastoupení polyfenolů v nestrávených podílech po gastrointestinálním trávení simulované v laboratorních podmínkách. Nejvyšší retence v extraktech volných forem polyfenolů byla zaznamenána u vzorku Natu s hodnotou RF 42 %. Ve srovnání s retencí po gastrické fázi trávení (57 %) se během simulace podmínek tenkého střeva uvolnilo dalších 15 % fenolických sloučenin uvedeného vzorku. Nejnižší RF byl stanoven u vzorku matcha Allnature (15 %). Lépe se v intestinální fázi uvolňovaly z matrice matcha čaje vázané formy polyfenolů, přičemž nejnižší hodnoty RF vykazovaly vzorky japonských matcha čajů značky Natu (4 %) a Iswari (5 %), z čehož lze usuzovat, že teoreticky více než 95 % vázaných frakcí polyfenolů jsou u těchto vzorků potencionálně dostupné při procesu trávení v tenkém střevě.



Obrázek 12 Hodnoty retenčních faktorů pro TPC po GIT

Tenké střevo vzhledem ke své fyziologii umožňuje nejen uvolnění polyfenolických látek z potravinové matrice a jejich následnou absorpci, ale také se vlivem neutrálního až lehce alkalického pH mohou některé fenolické sloučeniny přeměnit na degradační produkty (Nagar et al., 2020). Nestrávený zbytek matcha čaje s obsahem neuvolněných polyfenolů prochází dále trávicím traktem do tlustého střeva, kde dochází k rozsáhlým metabolickým změnám fenolických látek vlivem střevní mikroflóry (Ye et al., 2024). Studie Rusak et al. (2021) zaměřena na hodnocení míry uvolnění volných polyfenolů z matrice matcha a sencha čajů během simulovaného *in vitro* trávení se podle jejich výsledků polyfenolické sloučeniny více uvolňovaly v žaludečních podmínkách v porovnání se simulovanou intestinální fází,

což je v souladu i s našimi získanými výsledky, nicméně získané výsledky vázaných frakcí fenolických sloučenin matcha čaje po simulaci trávení nelze porovnat s dalšími literárními zdroji, jelikož studie s uvedenou problematikou nejsou dosud k dispozici.

6.3 Výsledky stanovení polyfenolického profilu metodou HPLC

Analýza 19 různých polyfenolických sloučenin v nativních vzorcích matcha čajů byla provedena dle metodiky uvedené v kapitole 5.6. Jednotlivé polyfenoly jsou rozděleny v tabulkách podle příslušných nadřazených skupin. V Tabulce 4 jsou uvedeny stanovené koncentrace flavonoidů v nativních vzorcích pro volné a vázané formy.

Tabulka 4 Koncentrace flavonoidů v nativních vzorcích

Flavonoidy		Nativní vzorky		
Volné frakce [µg/g]	Iswari	Imbio	Natu	Allnature
epigallokatechin	19 852±751 ^a	15 555±5 ^b	20 549±231 ^a	15 171±101 ^c
epikatechin	5 529±2 ^a	3 016±3 ^b	4 674±1 ^c	6 023±2 ^d
katechin	87,4±0,4 ^a	190±1 ^b	50,4±2,4 ^c	231±12 ^d
rutin	1 312±4 ^a	1 916±3 ^b	2 340±2 ^c	1 609±1 ^d
kaempferol	6,70±0,57 ^a	13,2±0,8 ^b	2,01±0,03 ^c	10,4±1,3 ^d
kvercetin	112±1 ^a	11,8±0,6 ^b	16,2±0,7 ^c	150±2 ^d
Flavonoidy		Nativní vzorky		
Vázané frakce [µg/g]	Iswari	Imbio	Natu	Allnature
epigallokatechin	79,7±2,0 ^a	N.D.	N.D.	178±1 ^b
epikatechin	515±1 ^a	13,8±0,1 ^b	88,1±0,7 ^c	33,6±0,9 ^d
katechin	369±1 ^a	30,5±0,1 ^b	131±1 ^c	175±1 ^d
rutin	981±3 ^a	357±2 ^b	882±1 ^c	607±1 ^d
kaempferol	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
kvercetin	16,9±0,2 ^a	N.D.	1,63±0,13 ^b	7,44±0,35 ^c

Výsledky stanovení jsou zapsány jako aritmetický průměr ± SD (n=4). Výsledky v řádcích se stejnými písmennými indexy se mezi sebou statisticky významně neliší ($p \geq 0,05$). Výsledky v řádcích s odlišnými písmennými indexy mezi sebou vykazují statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$). LOQ: epigallokatechin, kaempferol 0,1 µg/g.

Flavanoly, podskupina flavonoidů, jsou primárními fenolickými antioxidanty, jež jsou obsaženy v listech *Camellia sinensis* (Kochman et al., 2021). Oligomerní flavan-3-oly vykazují kardioprotektivní účinky a mohou přispět ke snížení hladiny cholesterolu v krvi a ochraně LDL (lipoproteinů s nízkou hodnotou) před oxidativní transformací na škodlivé formy (Luo et al., 2022). Ze skupiny flavanolů byly analyzovány epigallokatechin, epikatechin a katechin. Nejvyšší koncentrace byla zaznamenána u epigallokatechinu ve volné formě v rozmezí 15,2 až 20,6 mg/g. Tento analyt vykazoval nejvyšší koncentraci ze všech stanovovaných polyfenolických sloučenin. Ve studii Li et al. (2021) byl obsah epigallokatechinu v čínské matchi stanoven 20,9 mg/g. Podle studie Meyer et al. (2023) koncentrace zmíněného analytu ve vzorcích ceremoniálních matcha čajů se hodnoty pohybovaly v rozmezí 17,9 až 26,2 mg/g. V analyzovaných vzorcích volných frakcí bylo stanoveno vyšší zastoupení epigallokatechinu v japonských matcha čajích než v čajích čínského původu. V extraktech vázaných forem polyfenolů bylo naměřeno podstatně nižší množství uvedeného analytu, jehož koncentrace se pohybovala v rozmezí 79,7–178 µg/g.

Nejvyšší koncentrace volných frakcí epikatechinu byla stanovena u vzorku Allnature s hodnotou 6,02 mg/g a nejnižší koncentraci vykazoval vzorek Imbio (3,02 mg/g). Podle Unno et al. (2018) koncentrace volných frakcí epikatechinu ve vzorcích matcha čajů dosahovala hodnoty až 6,75 mg/g. Nejvyšší koncentrace v extraktech vázaných forem byla naměřena u vzorku Iswari s hodnotou 551 µg/g. Z Tabulky 4 je zřejmé, že epikatechin a epigallokatechin se v matcha čajích vyskytují více ve volné formě.

Katechin vykazoval nižší koncentrace v porovnání s ostatními analyzovanými flavanoly. Volná forma katechinu se v nejvyšší koncentraci vyskytovala v matchi Allnature (231 µg/g). Zhou et al. (2021) uvádí stanovenou koncentraci katechinu v matcha čaji 800 µg/g. V japonských matcha čajích Iswari a Natu se katechin vyskytoval ve vyšším zastoupení ve vázané formě než ve volných frakcích s hodnotami 369 µg/g a 131 µg/g.

Flavonoly jsou další poměrně významnou skupinou flavonoidů, z nichž byly analyzovány rutin, kaempferol a kvercetin. Rutin byl ve vzorcích zastoupen ve vyšších koncentracích v porovnání s kvercetinem a kaempferolem, jehož nejvyšší obsah byl zjištěn ve volné formě u vzorku Natu (2,32 mg/g). Podle Koláčkové et al. (2020a) byly koncentrace rutinu ve volné formě v matcha čajích stanoveny v rozmezí 0,57 až 2,87 mg/g. Vázané frakce rutinu byly ze všech analyzovaných vázaných flavonoidů nejvíce zastoupeny, přičemž nejvyšší obsah byl stanoven u japonských čajů Iswari (981 µg/g) a Natu (882 µg/g). Rutin je silným

antioxidantem a má rovněž antidiabetické vlastnosti, které mohou potencionálně přispět k prevenci patologických stavů souvisejících s diabetem (Kochman et al. 2021).

Kvercetin vykazoval nižší koncentrace v extraktech vázaných frakcí ve srovnání s volnými, přičemž nejvyšší obsah volných forem byl určen u vzorku Allnature (150 µg/g) a nejnižší byl stanoven u matcha čaje Imbio s hodnotou 11,8 µg/g. Vázaný kvercetin byl ve vzorcích určen v rozmezí 1,63 až 16,90 µg/g. Kvercetin představuje fytochemickou látku vykazující antioxidační a neuroprotektivní účinky. Kromě těchto vlastností bylo prokázáno, že se podílí na regulaci metabolismu sacharidů prostřednictvím inhibice absorpce glukózy v gastrointestinálním traktu (Kochman et al., 2021).

Kaempferol byl detekován jen ve volných formách, přičemž jeho obsah byl naměřen v rozmezí 2,01 až 13,2 µg/g. Dle Sayuti et al. (2021) byl ve vzorku matcha čaje obsah kaempferolu určen 20 µg/g. Další studie uvádí rozmezí 4,20–32,0 µg/g (Koláčková et al., 2020a).

Fenolické kyseliny představují podstatnou skupinu přírodních antioxidantů, jejichž chemická struktura je poněkud jednodušší než v případě flavonoidů (Shahidi a Ambigaipalan, 2015). Stanovené fenolické kyseliny byly rozděleny do tabulek dle příslušných podskupin. V Tabulce 5 jsou zaznamenány stanovené koncentrace pro dílčí fenolické kyseliny v nativních vzorcích, konkrétně pro deriváty kyseliny hydroxybenzoové. Z uvedené podskupiny byly analyzovány kyseliny: gallová, protokatechová, *p*-hydroxybenzoová, vanilová, ellagová a etylester kyseliny protokatechové.

Tabulka 5 Koncentrace derivátů kyseliny hydroxybenzoové v nativních vzorcích

Deriváty k. hydroxybenzoové		Nativní vzorky		
Volné frakce [µg/g]	Iswari	Imbio	Natu	Allnature
k. gallová	32,4±1,2 ^a	40,5±0,5 ^b	121±1 ^c	60,7±0,6 ^d
k. protokatechová	46,3±0,7 ^a	35,9±0,2 ^b	39,1±2,3 ^b	48,6±1,8 ^a
k. <i>p</i> -hydroxybenzoová	2,40±0,24 ^a	17,9±0,9 ^b	13,1±0,4 ^c	35,9±0,5 ^d
k. vanilová	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
k. ellagová	51,8±4,0 ^a	56,2±0,4 ^a	88,5±0,6 ^b	61,9±0,6 ^c
etylester k. protokatechové	468±8 ^a	177±5 ^b	661±1 ^c	744±1 ^d

Deriváty k. hydroxybenzoové		Nativní vzorky		
Vázané frakce [µg/g]	Iswari	Imbio	Natu	Allnature
k. gallová	1 477±1 ^a	3 243±32 ^b	615±1 ^c	2 971±7 ^d
k. protokatechová	66,7±0,8 ^a	4,65±0,23 ^b	11,8±0,1 ^c	14,6±0,9 ^d
k. <i>p</i> -hydroxybenzoová	277±3 ^a	193±1 ^b	203±1 ^c	252±2 ^d
k. vanilová	2,81±0,3 ^a	2,51±0,15 ^a	3,26±0,69 ^a	1,94±0,03 ^c
k. ellagová	80,7±0,4 ^a	43,4±0,2 ^b	66,3±0,1 ^c	40,6±0,4 ^d
etyler k. protokatechové	283±3 ^a	79,5±1,9 ^b	276±3 ^a	190±6 ^c

Výsledky stanovení jsou zapsány jako aritmetický průměr ± SD (n=4). Výsledky v řádcích se stejnými písmennými indexy se mezi sebou statisticky významně neliší ($p \geq 0,05$). Výsledky v řádcích s odlišnými písmennými indexy mezi sebou vykazují statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$). LOQ: kyselina vanilová 0,02 µg/g.

Kyselina gallová je významnou fenolickou sloučeninou, jenž se hojně vyskytuje v různých rostlinách včetně čajovníku. Vyznačuje se podstatnou antioxidační aktivitou, protizánětlivými a antibakteriálními vlastnostmi, přičemž její biosyntéza v rostlinných tkáních je závislá zejména na expozici UV záření, výskytu mikrobiální infekce a dalších environmentálních stresorech (Hadidi et al., 2024). Volné frakce kyseliny gallové byly zaznamenány u všech vzorků, přičemž nejvyšší zastoupení zmíněné kyseliny vykazoval vzorek Natu s hodnotou 121 µg/g. Nižší koncentrace byla zaznamenána u matcha čaje Iswari 32,4 µg/g. Dle Koláčkové et al. (2022) se koncentrace kyseliny gallové pohybovala v rozmezí 37,9 až 91,1 µg/g. Podstatně vyšší obsah byl naměřen ve vázaných frakcích než ve volných formách, jejichž koncentrace byly stanoveny následovně: Imbio (3,24 mg/g) > Allnature (2,97 mg/g) > Iswari (1,48 mg/g) > Natu (0,62 mg/g). Vázané formy kyseliny gallové dosahovaly nejvyšších koncentrací napříč všemi analyzovanými fenolickými kyselinami z uvedené podskupiny. Podle Das et al. (2020) činil obsah kyseliny gallové ve vázané formě po ultrazvukové extrakci zeleného čaje 1,57 mg/g.

Mezi biologické vlastnosti kyseliny protokatechové patří především protizánětlivé účinky, má pozitivní vliv na funkci kardiovaskulárního systému a rovněž přispívá k ochraně jater před toxickým působením škodlivých látek (Rashmi a Negi, 2020). Uvedená kyselina byla ve volných formách stanovena nejvíce ve vzorku Allnature a Iswari (48,6 a 46,3 µg/g). Podle Koláčkové et al. (2022) byl obsah zmíněné kyseliny ve vzorcích matcha čajů stanoven v rozmezí 24,9 až 54,1 µg/g. Příslušný etylester byl ve vzorcích přítomen ve vyšších

hodnotách než samotná kyselina, jež nejvyšší koncentraci vykazovaly vzorky Allnature a Natu s koncentracemi 744 a 661 $\mu\text{g/g}$. Zastoupení dané kyseliny ve vázaných frakcích bylo zaznamenáno v rozmezí 4,65 až 66,7 $\mu\text{g/g}$. Vázaný etylester kyseliny protokatechové byl stanoven ve vzorcích také ve vyšších koncentracích, přičemž nejvyšší obsah byl určen u japonských matcha čajů Iswari a Natu s hodnotami 283 a 276 $\mu\text{g/g}$. Etylester kyseliny protokatechové vzniká esterifikací příslušné kyseliny s etanolem, jehož chemická struktura zahrnuje dva hydroxylové substituenty a jednu esterovou skupinu spojenou s benzenovým jádrem.

Kyselina *p*-hydroxybenzoová byla přítomna ve vyšším množství ve vázané formě, jejíž koncentrace se pohybovaly v rozmezí 193–277 $\mu\text{g/g}$, přičemž nejvyšší koncentrace byla zaznamenána u vzorku matcha čaje Iswari (277 $\mu\text{g/g}$), který naopak ve volných formách zmíněné kyseliny vykazoval nejnižší detekci (2,4 $\mu\text{g/g}$) ze všech analyzovaných vzorků. Nejvyšší obsah volných frakcí kyseliny *p*-hydroxybenzoové byly naměřeny u vzorku Allnature s hodnotou 35,9 $\mu\text{g/g}$. Ve studii Koláčkové et al. (2022) je obsah zmíněné kyseliny uveden v rozmezí 12,9 až 14,9 $\mu\text{g/g}$.

Zastoupení kyseliny vanilové ve vzorcích bylo zcela minoritní a její koncentrace byly ze všech stanovovaných analytů neměřeny v nejnižších hodnotách. Volná kyselina vanilová nebyla v žádném ze vzorků matcha čajů detekována a ve vázaných frakcích se její obsah pohyboval v rozmezí 1,94 až 3,26 $\mu\text{g/g}$. Čajové listy jsou tedy poměrně nepodstatných zdrojem kyseliny vanilové, významně vysoké koncentrace byly zaznamenány například v kořenech čínské byliny *Angelica sinensis*. Další potraviny rostlinného původu, jenž obsahují značné množství kyseliny vanilové jsou zejména určité druhy ovoce (Kiokias et al., 2020).

Ellagová kyselina má poněkud složitější strukturu než fenolické kyseliny uvedené výše, je tvořena spojením dvou molekul kyseliny gallové do dimerické struktury (Evtyugin et al., 2020). Je přítomna nejen v zeleném čaji, ale i například v celé řadě druhů bobulovitého ovoce (Kaczmarek-Szczepańska et al., 2023). Kyselina ellagová má antioxidační, antibakteriální a antivirové účinky a je prokázáno, že pozitivně působí proti chronickému onemocnění slinivky břišní (Rashmi a Negi, 2020). Volná forma kyseliny ellagové byla naměřena v rozmezí 51,8 až 88,5 $\mu\text{g/g}$, přičemž pouze u vzorku Iswari byla stanovena ve větším množství ve vázaných frakcích s hodnotou 80,7 $\mu\text{g/g}$, u ostatních matcha čajů byl obsah vyšší ve volných formách.

V Tabulce 6 níže jsou uvedeny dílčí koncentrace pro volné a vázané formy derivátů hydroxyskořicové kyseliny detekované v nativních vzorcích matcha čajů. Z této podskupiny fenolických kyselin byly stanoveny následující analyty: kyselina neochlorogenová, kávová, *trans-p*-kumarová, ferulová, sinapová, *trans*-2-hydroxyskořicová a kyselina *trans*-skořicová.

Tabulka 6 Koncentrace derivátů kyseliny hydroxyskořicové v nativních vzorcích

Deriváty k. hydroxyskořicové		Nativní vzorky		
Volné frakce [µg/g]	Iswari	Imbio	Natu	Allnature
k. neochlorogenová	23,1±0,2 ^a	55,2±0,6 ^b	2,64±0,22 ^c	26,6±0,1 ^d
k. kávová	2 681±138 ^a	2 671±174 ^a	5 098±22 ^b	5 179±71 ^b
k. <i>trans-p</i> -kumarová	19,6±0,3 ^a	8,57±0,11 ^b	32,1±0,1 ^c	13,3±0,2 ^d
k. ferulová	37,7±0,6 ^a	31,2±0,9 ^b	65,7±4,8 ^c	40,5±0,1 ^d
k. sinapová	79,8±2,6 ^a	8,03±0,68 ^b	13,6±0,1 ^c	1 559±20 ^d
k. <i>trans</i> -2-hydroxyskořicová	4,83±0,75 ^a	5,75±0,20 ^a	1,96±0,23 ^b	20,0±0,7 ^c
k. <i>trans</i> -skořicová	1,21±0,18 ^a	1,62±0,11 ^b	2,88±0,43 ^c	6,11±0,63 ^d
Deriváty k. hydroxyskořicové		Nativní vzorky		
Vázané frakce [µg/g]	Iswari	Imbio	Natu	Allnature
k. neochlorogenová	7,46±0,42 ^a	14,9±1 ^b	7,41±0,14 ^a	51,7±0,7 ^c
k. kávová	1 557±4 ^a	1 652±3 ^b	2 353±243 ^c	2 125±97 ^c
k. <i>trans-p</i> -kumarová	174±1 ^a	123±1 ^b	95,8±0,6 ^c	108±13 ^{b,c}
k. ferulová	55,4±0,1 ^a	17,6±0,1 ^b	48,9±0,3 ^c	18,5±0,8 ^b
k. sinapová	15,4±0,8 ^a	8,41±0,28 ^b	13,6±0,1 ^c	11,6±0,3 ^d
k. <i>trans</i> -2-hydroxyskořicová	2,25±0,33 ^a	N.D.	0,19±0,01 ^b	3,80±0,32 ^c
k. <i>trans</i> -skořicová	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

Výsledky stanovení jsou zapsány jako aritmetický průměr ± SD (n=4). Výsledky v řádcích se stejnými písmennými indexy se mezi sebou statisticky významně neliší ($p \geq 0,05$). Výsledky v řádcích s odlišnými písmennými indexy mezi sebou vykazují statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$). LOQ: *trans*-2-hydroxyskořicová, *trans*-skořicová 0,1 µg/g.

Neochlorogenová kyselina představuje izomer kyseliny chlorogenové, jenž vzniká esterifikací kyseliny D-(-)-chinové kyseliny s kyselinou kávovou (Navarro-Orcajada et al., 2021). Volná kyselina neochlorogenová byla v nativních vzorcích stanovena následovně: Imbio (55,2 µg/g) > Allnature (26,6 µg/g) > Iswari (23,1 µg/g) > Natu (2,64 µg/g). Studie Koláčková et al. (2022) uvádí hodnoty koncentrace volné neochlorogenové kyseliny v matcha čajích v rozmezí 12,5 až 27,0 µg/g. V extraktech vázaných frakcí byl nejvyšší obsah naměřen u vzorku Allnature s hodnotou 51,7 µg/g. Nejnižší množství uvedené kyseliny ve vázané formě vykazoval vzorek japonského matcha čaje značky Natu (7,41 µg/g).

Kyselina kávová je derivátem kyseliny hydroxyskořicové, jejíž chemická struktura zahrnuje dva hydroxylové substituenty navázané na aromatickém jádře (Shahidi a Ambigaipalan, 2015). Zmíněná kyselina byla napříč všemi analyzovanými fenolickými kyselinami nejvíce zastoupena ve složení zkoušených matcha čajů. Nejvyšší hodnoty volné formy kyseliny byly naměřeny ve vzorcích Allnature a Natu (5,18 mg/g a 5,10 mg/g). Vázané frakce zmíněné kyseliny byly v matcha čajích stanoveny v tomto pořadí: Natu (2,35 mg/g) > Allnature (2,13 mg/g) > Imbio (1,65 mg/g) > Iswari (1,56 mg/g). Kyselina kávová vykazuje širokou škálu bioaktivních vlastností, mezi něž nepochybně patří významná antioxidační aktivita a protizánětlivý, neuroprotektivní a imunomodulační potenciál. Kromě čajových listů se tento antioxidant nachází také v kávě a mnoha druzích ovoce, zeleniny a obilovin (Alam et al., 2022).

Kyselina *trans-p*-kumarová byla detekována ve větším zastoupení v extraktech vázaných frakcí, přičemž nejvyšší obsah byl stanoven ve vzorku Iswari (174 µg/g) a nejnižší koncentrace byla zaznamenána v matcha čaji značky Natu (95,8 µg/g). Studie Das et al. (2020) uvádí koncentraci vázané formy kyseliny *trans-p*-kumarové ve vzorku zeleného čaje po ultrazvukové extrakci 114 µg/g. Podstatně nižší zastoupení uvedené kyseliny bylo naměřeno ve vyluzích obsahující volné formy, jejichž obsah se pohyboval v rozmezí 8,57 až 32,1 µg/g. Podle Koláčkové et al. (2022) nejvyšší koncentrace volné formy kyseliny *trans-p*-kumarové ve vzorcích matcha čajů dosahovala hodnoty 13,9 µg/g.

Kyselina ferulová je derivátem kyseliny hydroxyskořicové, přičemž její chemickou strukturu tvoří aromatické jádro s navázanou hydroxylovou a methoxylovou skupinou (Shahidi a Ambigaipalan, 2015). Jedná se o fenolický antioxidant, který vykazuje určité protizánětlivé a antibakteriální vlastnosti (Rashmi a Negi, 2020). Volná ferulová kyselina byla ve vzorcích stanovena v tomto pořadí: Natu (65,7 µg/g) > Allnature (40,5 µg/g) > Iswari

(37,7 µg/g) > Imbio (31,2 µg/g). Ve vázaných formách byla daná kyselina naměřena ve vyšším množství ve srovnání s volnými frakcemi jen u vzorku Iswari s koncentrací 55,4 µg/g, ostatní vzorky vykazovaly vyšší obsah v extraktech volných forem.

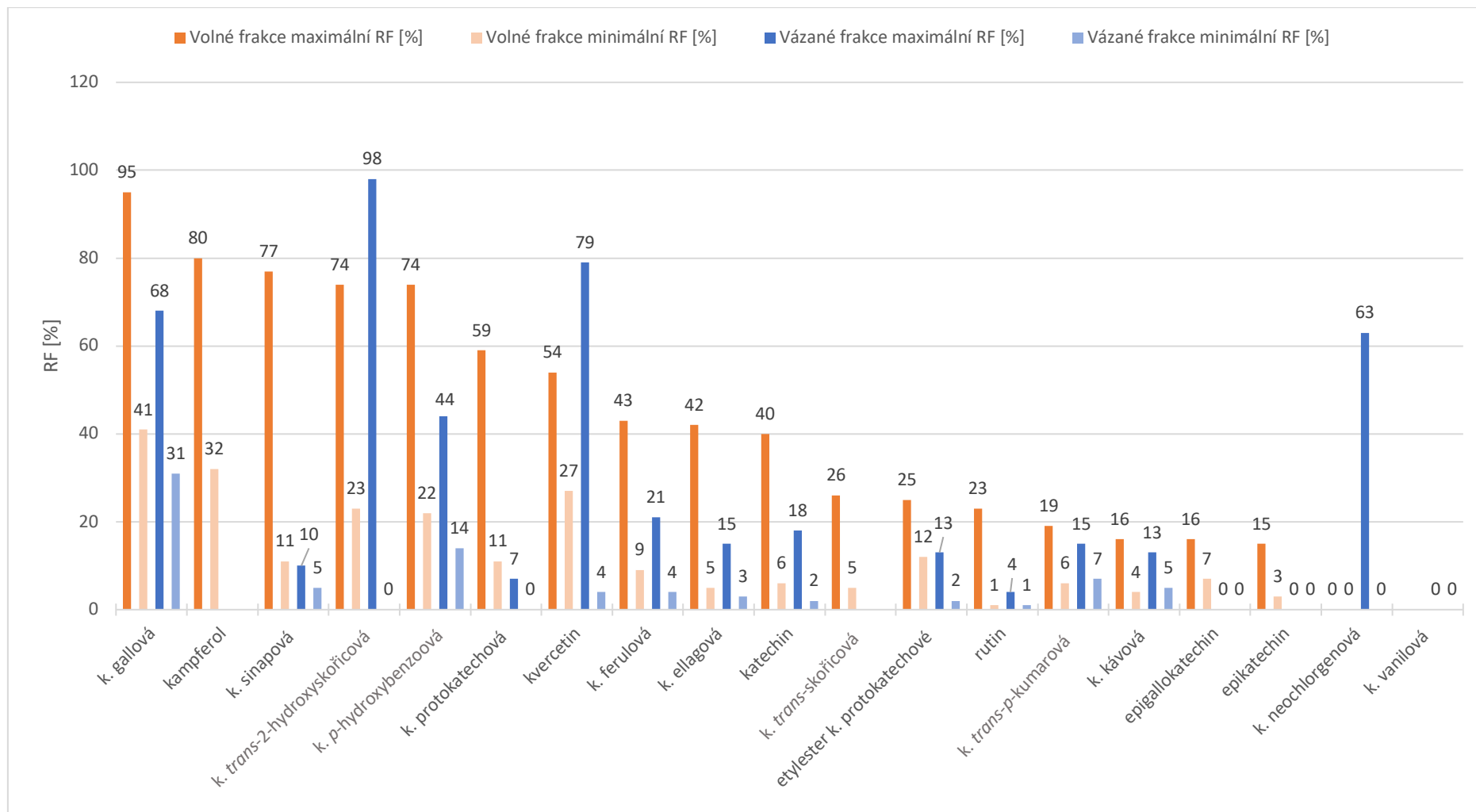
Sinapová kyselina je vysoce rozšířenou fenolickou kyselinou v rostlinné říši, jejíž antioxidační aktivita je srovnatelná s kyselinou kávovou, a naopak vykazuje vyšší antioxidační potenciál než kyselina ferulová. Mezi další biologické účinky kyseliny sinapové patří antibakteriální a protizánětlivé vlastnosti a rovněž byl zaznamenán možný anxiolytický efekt (Nićiforović a Abramović, 2014). Mezi analyzovanými vzorky matcha čajů v extraktech volných frakcí byla zaznamenána určitá variabilita v koncentracích kyseliny sinapové. Nejvyšší koncentraci uvedené kyseliny vykazoval vzorek čínského matcha čaje Allnature s hodnotou 1,56 mg/g. Ostatní vzorky obsahovaly volnou kyselinu sinapovou v podstatně nižších hodnotách v rozmezí 8,03 až 79,8 µg/g. Vázané formy zmíněné kyseliny dosahovaly nižších hodnot koncentrací, které byly určeny v rozmezí 8,41 až 15,4 µg/g, přičemž nejvyšší koncentrace byla zaznamenána u japonského matcha čaje Iswari (15,4 µg/g).

Kyselina *trans*-2-hydroxyskořicová byla ve volných frakcích stanovena v rozmezí 1,96 až 20,0 µg/g, přičemž nejnížší hodnotu vykazoval vzorek japonského matcha čaje Natu (1,96 µg/g) a nejvyšší obsah byl zaznamenán u vzorku Allnature (20,0 µg/g). Vázaná kyselina *trans*-2-hydroxyskořicová byla naměřena ještě v nižších hodnotách než ve volných formách, a to v rozmezí 0,19 až 3,80 µg/g, přičemž u vzorku čínského matcha čaje Imbio nebyla vůbec detekována.

Kyselina *trans*-skořicová byla zaznamenána jen ve volné formě, jejíž nejvyšší koncentrace byla naměřena u vzorku Allnature s hodnotou 6,11 µg/g, a naopak nejnížší obsah byl detekován v japonské matchi značky Iswari (1,21 µg/g).

6.3.1 Vliv stravitelnosti na uvolňování fenolických látek z matrice matcha čaje

Koncentrace jednotlivých fenolických antioxidantů v nestrávených podílech po simulovaném GT a GIT jsou uvedeny v přílohách I až VI. Na základě koncentrací sledovaných sloučenin v nestrávených podílech po GT a po GIT a obsahu polyfenolických látek v nativních vzorcích byly za využití příslušných hodnot stravitelnosti vypočteny hodnoty retence podle vzorce (7). Hodnoty stravitelnosti jsou uvedeny v tabulce 1. Obrázek 13 graficky znázorňuje maximální a minimální RF pro dílčí fenolické sloučeniny po *in vitro* žaludečním trávení.



Obrázek 13 Maximální a minimální hodnoty retenčních faktorů pro jednotlivé polyfenoly po GT

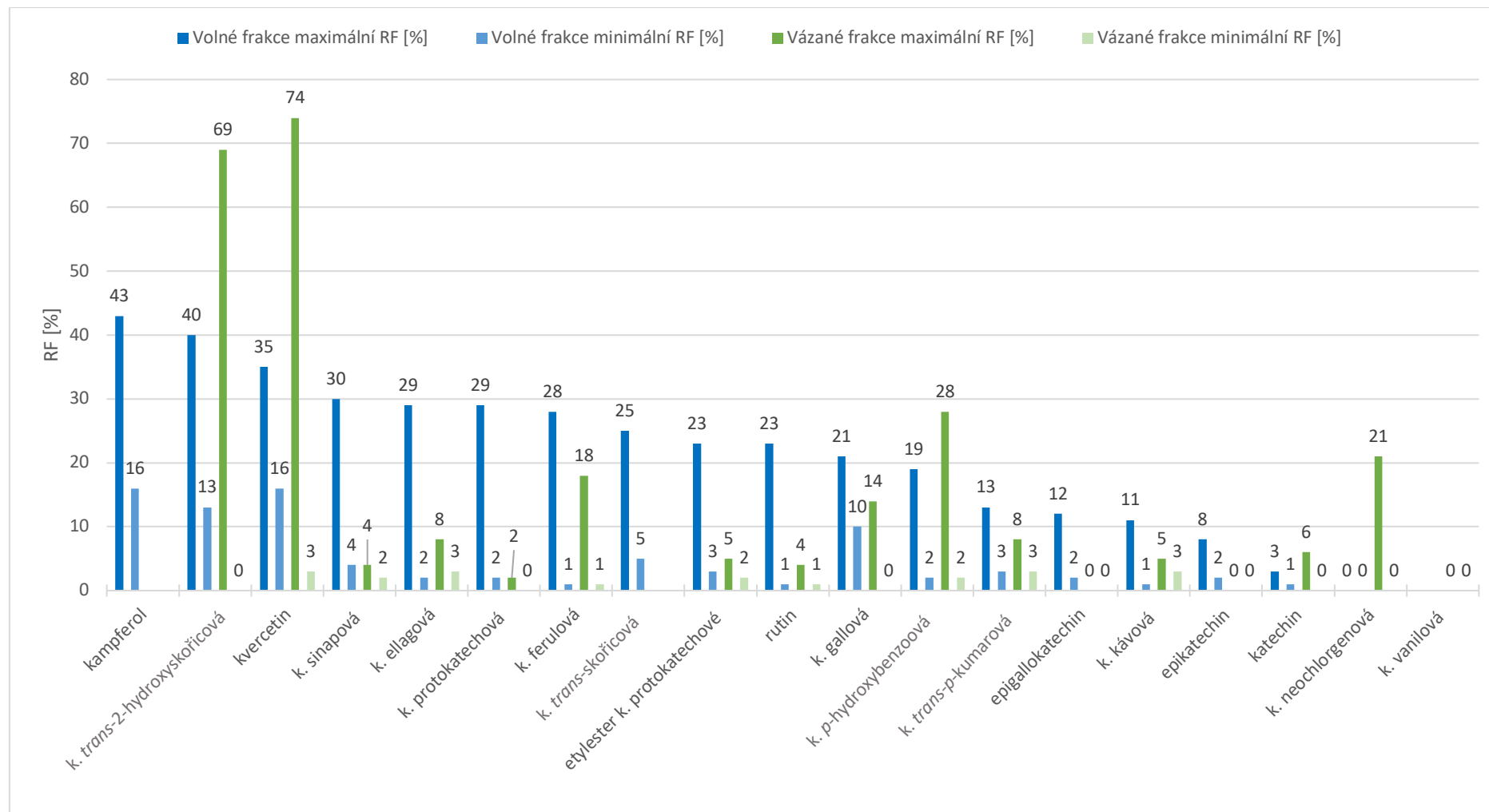
Nejvyšší hodnotu retence z analyzovaných fenolických kyselin vykazovala kyselina gallová ve volné frakci s RF 95 %, tudíž analyzovaný vzorek matcha čaje Iswari uvolnil v žaludečních podmínkách pouze 5 % zmíněného analytu. Minimální RF pro uvedenou kyselinu byl zaznamenán ve vzorku Natu s hodnotou retence 41 %. Ze skupiny flavonoidů byl zjištěn nejvyšší RF u kaempferolu s hodnotou retence 80 % u vzorku matcha čaje značky Natu a minimální procentuální zastoupení v nestráveném podílu bylo naměřeno u vzorku Imbio a Allnature, jejichž RF činil 32 %. Velmi příznivě se v gastrických podmínkách uvolňovaly volné frakce epikatechinu, jehož nejvyšší RF byl stanoven u vzorku Natu s hodnotou 15 % a minimální retenci vykazoval vzorek Imbio (3 %) u něhož se z matrice uvolnilo až 97 % zmíněného flavanolu. Epigallokatechin a kyselina kávová byly v nativních vzorcích přítomny ve vysokých koncentracích a bylo zjištěno, že proces trávení v žaludečních podmínkách příznivě působí na uvolňování těchto analytů z matrice. Volný epigallokatechin vykazoval nejvyšší hodnotu retence u vzorku Natu (16 %) a naopak minimální RF byl naměřen u matcha čaje Iswari s hodnotou 7 %. Z uvedených hodnot RF je zřejmé, že při gastrické digesti se uvolnilo více než 84 % volného epigallokatechinu ze vzorků matcha čajů. Kyselina kávová vykazovala srovnatelný maximální RF s epigallokatechinem, jenž byl naměřen rovněž u vzorku Natu s hodnotou 16 %. Absence detekce volné kyseliny neochlorogenové v nestrávených podílech po simulaci gastrické fáze trávení naznačuje její celkové uvolnění z matrice matcha čajů do žaludečního prostředí, čímž se jeví jako potenciálně biologicky dostupná v trávicím traktu.

Z vázaných forem polyfenolů byla nejhůře stravitelná kyselina *trans*-2-hydroxyskořicová, jenž byla v nestráveném podílu matcha čaje Imbio přítomna po žaludečním trávení z 98 %, přičemž zcela nulový RF uvedeného analytu byl stanoven u netráveného zbytku vzorku Natu. Nejhůře stravitelné ze skupiny flavonoidů byly vázané formy kvercetinu, jenž se v žaludečním prostředí uvolnily ze vzorku Natu pouze z 21 %, zatímco u japonského matcha čaje značky Iswari dosáhlo uvolnění tohoto flavanolu hodnoty až 94 %. Celková nejnižší hodnota retence napříč všemi analyzovanými vázanými formami fenolických sloučenin byla stanovena u kyseliny vanilové, jenž se až ze 100 % uvolnila ze všech zkoušených matcha čajů při žaludečním trávení a je potenciálně využitelná v segmentech trávicího ústrojí, nicméně koncentrace v nativních vzorcích byla zcela minoritní. Nulový RF byl také zaznamenán u vázaných forem epikatechinu a epigallokatechinu, jenž po gastrickém trávení nebyly detekovány v žádném z analyzovaných vzorků matcha čajů, lze tedy předpokládat, že byly kompletně uvolněny z potravinové matrice. Z Obrázku 13 je zřejmé, že z matrice matcha čajů se lépe uvolňovaly vázané formy polyfenolů oproti volným frakcím. Vyšší

hodnoty retence volných forem mohou souviset s předpokladem, že při procesu trávení v gastrické fázi mohlo vlivem žaludečních podmínek dojít k přeměně vázaných forem na volné a následně mohly být snáze izolovány v podmínkách extrakce pro volné formy polyfenolů. Přejít z vázaných polyfenolů do žaludečního prostředí souvisí především s charakterem vazebné interakce fenolických sloučenin s nerozpustnou složkou buněčných stěn čajového listu. Všechny RF po gastrickém trávení pro jednotlivé fenolické látky napříč všemi analyzovanými matcha čaji jsou uvedeny v příloze VII.

Jak již bylo zmíněno, fenolické látky po uvolnění z matrice jsou téměř stabilní v pH žaludečního prostředí, tudíž vykazují podstatnou antioxidační aktivitu, která může být velmi užitečná při konzumaci masných výrobků nebo potravin s vysokým obsahem tuku. Bylo prokázáno, že čajové katechiny dokážou inhibovat peroxidaci lipidů, k níž dochází právě v žaludečním prostředí. Tento účinek je zprostředkován jejich schopností vychytávat reaktivní škodlivé karbonylové sloučeniny, které vznikají v důsledku pokročilé oxidace lipidů. Fenolické antioxidanty uvolněné v gastrické fázi rovněž přispívají k prevenci a podpoře hojení žaludečních vředů a mohou mít příznivý účinek na zdravotní problémy vyvolané infekcí *Helicobacter pylori* (Jakobek a Blesso, 2024).

Na Obrázku 14 jsou graficky znázorněny maximální a minimální retenční faktory pro dílčí analyzované fenolické sloučeniny po *in vitro* simulaci gastrointestinálního trávení. Po simulaci GIT se jevil jako nejhůře stravitelný kaempferol ve volné formě, jehož maximální RF byl zjištěn u vzorku nestráveného zbytku matcha čaje Natu, který činil hodnotu 43 %, nicméně v porovnání s hodnotou retence po gastrickém trávení u totožného vzorku se vlivem podmínek tenkého střeva uvolnilo z matrice dalších 37 % kaempferolu. Z fenolických kyselin byla po GIT nejhůře stravitelná volná forma kyseliny *trans*-2-hydroxyskořicové, jejíž hodnota retence v nestráveném zbytku matcha čaje Natu byla stanovena na 40 %, zatímco minimální RF zmíněné kyseliny byl naměřen u vzorku čínského matcha čaje Imbio s hodnotou 13 %. Nejnižší RF byl zaznamenán u volných frakcí katechinu, jenž se hodnoty retence pohybovaly v rozmezí 1 až 3 %. Po gastrickém trávení byl u vzorku Natu zaznamenán RF s hodnotou 40 % a po simulovaných podmínkách tenkého střeva se uvolnilo dalších 38 % uvedeného flavanolu. Kyselina *trans*-2-hydroxyskořicová byla u vzorku Imbio rovněž zaznamenána ve vysokých hodnotách RF i ve své vázané formě napříč všemi analyzovanými fenolickými kyselinami. Maximální retence byla zaznamenána s hodnotou RF 69 %, přičemž ve srovnání s RF tohoto analytu po gastrickém trávení se uvolnilo z matrice matcha čaje značky Imbio dalších 29 % *trans*-2-hydroxyskořicové kyseliny.



Obrázek 14 Maximální a minimální hodnoty retenčních faktorů pro jednotlivé polyfenoly po GIT

Ze skupiny analyzovaných flavonoidů se nejhůře uvolňovaly vázané formy kvercetinu, jehož maximální RF v nestráveném podílu vzorku Natu činil 74 % po GIT, ve srovnání s hodnotou retence po gastrické fázi trávení se vlivem střevních podmínek uvolnilo pouze 5 % daného flavonolu. Největší rozdíl mezi hodnotami retence ve vázaných frakcích po GT a GIT vykazovala kyselina gallová, jenž se vlivem intestinálních podmínek uvolnilo u vzorku Allnature 54 % zmíněné fenolické kyseliny. Další významný rozdíl mezi hodnotami retence po jednotlivých fázích trávení byl zaznamenán u kyseliny neochlorogenové, jíž se v intestinálním prostředí uvolnilo dalších 46 %. Všechny RF po gastrickém a následně intestinálním trávení pro jednotlivé fenolické látky napříč všemi analyzovanými matcha čaji jsou uvedeny v příloze VIII.

Uvolnění fenolických látek z matrice matcha čaje zlepšuje jejich následnou biologickou dostupnost v segmentech trávicího traktu, ačkoli pH prostředí tenkého střeva je poněkud nepříznivé z hlediska stability polyfenolických sloučenin, což může vést k jejich následné degradaci. Nicméně tenké střevo je rovněž podstatnou oblastí, v níž může docházet k absorpci fenolických antioxidantů, jenž je významně ovlivněna charakterem chemické struktury zmíněných sloučenin (Nagar et al., 2020). Například volné formy rutinu byly po simulaci gastrointestinálního trávení v nestrávených podílech přítomny v rozmezí 1 až 23 % a vázané frakce zmíněného flavonolu byly uvolněny až z 99 % z matrice matcha čaje. Fyziologie tenkého střeva neumožňuje absorpci glykosidů, jejíž cukernatá složka je tvořena právě ramnózou. Přestože bylo pozorováno relativně vysoké procentuální uvolnění rutinu v žaludeční i intestinální fázi trávení, rutin může být potencionálně využit až v segmentech tlustého střeva. Zde dochází vlivem střevní mikrobioty k deglykosylaci rutinu a následně je aglykonová část metabolizována na jednodušší fenolické kyseliny, které mohou být dále vstřebány prostřednictvím bariéry tlustého střeva (Nagar et al., 2020; Williamson et al., 2018; Velderrain-Rodríguez et al., 2014).

Ve fázi trávení probíhající v tenkém střevě mohou fenolické sloučeniny, jejich degradační produkty a metabolity přispívat k udržení funkce střevní bariéry. Dále mohou vykazovat příznivé účinky při celiakii a mohou podstatně přispět k prevenci hyperglykémie i hypercholesterolémie (Jakobek a Blesso, 2024).

ZÁVĚR

Předložená diplomová práce byla zaměřena na stanovení obsahu fenolických látek v čajích matcha s důrazem na jejich uvolňování při procesu trávení.

V teoretické části byla charakterizována rostlina *Camellia sinensis* se zaměřením na způsob jejího pěstování, přičemž zvláštní pozornost byla věnována metodě pěstování čajovníku a zpracování čajových listů pro výrobu matcha čaje. Dále byly popsány hlavní skupiny sloučenin z chemického složení matcha čaje s důrazem na fenolické látky. V závěru teoretické části byl přiblížen osud polyfenolů během průchodu trávicím traktem.

Praktická část byla věnována analýze čtyř vzorků matcha čajů, u nichž byl stanoven obsah sušiny, obsah celkových polyfenolů a byla provedena podrobná analýza fenolického profilu s ohledem na zastoupení volných a vázaných frakcí zmíněných sloučenin v nativních vzorcích a ve vzorcích nestrávených podílů po simulovaném *in vitro* gastrickém trávení a gastrointestinálním trávení. Dále byly určeny příslušné retenční faktory za využití hodnot stravitelnosti sušiny pro jednotlivé fáze trávení, které udávají procentuální zastoupení zmíněných látek v nestrávených zbytcích matcha čajů po simulaci *in vitro* trávení.

Obsah sušiny byl stanoven u všech nativních vzorků přes 95 %, což je v souladu s kritériem uvedeným ve vyhlášce č. 187/2023 Sb. Hodnoty stravitelnosti sušiny matcha čajů po gastrickém trávení byly určeny v rozmezí 58,1 až 67,3 % a po gastrointestinálním trávení byly hodnoty stravitelnosti sušiny u všech vzorků vyšší než 82 %.

Vyšší obsah celkových polyfenolů byl zaznamenán u extraktů obsahující volné formy ve srovnání s výluhy vázaných frakcí fenolických látek. Celkové nejvyšší zastoupení obsahu TPC bylo stanoveno u nativního vzorku matcha čaje značky Allnature s hodnotou 114 mg GAE/g. Po simulaci žaludečních podmínek byl pokles obsahu celkových polyfenolů vyšší ve srovnání s uvolňováním polyfenolických látek v intestinální fázi, přičemž snáze se během simulovaného *in vitro* trávení uvolňovaly fenoly z vázaných frakcí.

V polyfenolickém profilu matcha čajů byl ve volných frakcích dominantní epigallokatechin, jehož koncentrace dosahovala hodnoty až 20,6 mg/g. Nejvyšší obsah v extraktech vázaných frakcí byl zaznamenán u kyseliny kávové, jejíž koncentrace se ve vzorcích matcha čajů pohybovala v rozmezí 1,56 až 2,35 mg/g.

V nestrávených podílech matcha čajů po simulaci žaludeční fáze trávení vykazovala volná forma kyseliny gallové nejvyšší retenční faktor, přičemž její hodnota dosahovala až 95 %,

což naznačuje její podstatnou odolnost vůči žaludečním podmínkám. Naopak nejnížší retenci vykazovala kyselina neochlorogenová, která se z matrice uvolnila ze 100 %. Mezi nejméně stravitelné fenolické antioxidanty po gastrické fázi trávení ve vázané formě patřila kyselina *trans*-2-hydroxyskořicová, která byla v nestráveném zbytku detekována až z 98 %. Naproti tomu vázané formy kyseliny vanilové, epikatechinu a epigallokatechinu byly z matrice uvolněny zcela, což naznačuje jejich potencionálně vysokou biologickou dostupnost po této fázi trávení.

Po simulaci gastrointestinálního trávení dosáhl nejvyššího retenčního faktoru kaempferol, a to hodnoty až 43 %. Nejnížší retence byla zaznamenána u volného katechinu, kde se RF pohyboval v rozmezí 1 až 3 %. Mezi vázanými polyfenoly byl nejhůře uvolňovaným analytem kvercetin, jehož retenční faktor po gastrointestinálním trávení činil až 74 %, naopak vázaná kyselina protokatechová byla nejlépe stravitelná, jenž se z matrice matcha čaje uvolnila až ze 100 %.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

ABHIRAM, Gunaratnam, 2024. The Evolution of Tea Harvesting: A Comprehensive Review of Machinery and Technological Advancements. Online. *Journal of Biosystems Engineering*. ISSN 1738-1266. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s42853-024-00238-9>.

AHMED, Selen a STEPP, John Richard, 2013. Green Tea. Online. *Tea in Health and Disease Prevention*. Elsevier, s. 19-31. ISBN 9780123849373. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384937-3.00002-1>.

AKRAM, Muhammad; MUNIR, Naveed; DANIYAL, Muhammad; EGBUNA, Chukwuebuka; GĂMAN, Mihnea-Alexandru et al., 2020. Vitamins and Minerals: Types, Sources and their Functions. Online. EGBUNA, Chukwuebuka a DABLE TUPAS, Genevieve (ed.). *Functional Foods and Nutraceuticals*. Cham: Springer International Publishing, s. 149-172. ISBN 978-3-030-42318-6. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/978-3-030-42319-3_9.

ALAM, Manzar; AHMED, Sarfraz; ELASBALI, Abdelbaset Mohamed; ADNAN, Mohd; ALAM, Shoaib et al., 2022. Therapeutic Implications of Caffeic Acid in Cancer and Neurological Diseases. Online. *Frontiers in Oncology*. 2022-3-10, roč. 12. ISSN 2234-943X. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.860508>.

BALL, G. F. M., 2004. *Vitamins: their role in the human body*. Ames, Iowa: Blackwell Science. ISBN 0-632-06478-1.

BERTELLI, Alberto; BIAGI, Marco; CORSINI, Maddalena; BAINI, Giulia; CAPPELLUCCI, Giorgio et al., 2021. Polyphenols: From Theory to Practice. Online. *Foods*. Roč. 10, č. 11. ISSN 2304-8158. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/foods10112595>.

BIÉ, Joaquim; SEPODES, Bruno; FERNANDES, Pedro C. B. a RIBEIRO, Maria H. L., 2023. Polyphenols in Health and Disease: Gut Microbiota, Bioaccessibility, and Bioavailability. Online. *Compounds*. Roč. 3, č. 1, s. 40-72. ISSN 2673-6918. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/compounds3010005>.

ČSN 58 0112. *Metody zkoušení čaje*. Praha: Úřad pro normalizaci a měření, 1969.

ČSN ISO 1573. *Čaj – Stanovení ztráty hmotnosti sušením při 103 °C*. Praha: Český normalizační institut, 2003.

ČSN ISO 1575. *Čaj – Stanovení celkového popela*. Praha: Český normalizační institut, 1996.

DAS, Protiva Rani; ISLAM, Md. Tabibul; LEE, Seon-Hye; LEE, Min-Ki; KIM, Jung-Bong et al., 2020. UPLC-DAD-QToF/MS analysis of green tea phenolic metabolites in their free, esterified, glycosylated, and cell wall-bound forms by ultra-sonication, agitation, and conventional extraction techniques. Online. *LWT*. Roč. 127. ISSN 00236438. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109440>.

DELPINO-RIUS, Antoni; COSOVANU, Diana; ERAS, Jordi; VILARÓ, Francesca; BALCELLS, Mercè et al., 2018. A fast and reliable ultrahigh-performance liquid chromatography method to assess the fate of chlorophylls in teas and processed vegetable foodstuff. Online. *Journal of Chromatography A*. Roč. 1568, s. 69-79. ISSN 00219673. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.07.016>.

DEVKOTA, Hari Prasad; GAIRE, Bhakta Prasad; HORI, Kengo; SUBEDI, Latita; ADHIKARI-DEVKOTA, Anjana et al., 2021. The science of matcha: Bioactive compounds, analytical techniques and biological properties. Online. *Trends in Food Science & Technology*. Roč. 118, s. 735-743. ISSN 09242244. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.10.021>.

DHINGRA, Devinder; MICHAEL, Mona; RAJPUT, Hradesh a PATIL, R. T., 2012. Dietary fibre in foods: a review. Online. *Journal of Food Science and Technology*. Roč. 49, č. 3, s. 255-266. ISSN 0022-1155. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0365-5>.

NAGAR, Eden Eran; OKUN, Zoya a SHPIGELMAN, Avi, 2020. Digestive fate of polyphenols: updated view of the influence of chemical structure and the presence of cell wall material. Online. *Current Opinion in Food Science*. Roč. 31, s. 38-46. ISSN 22147993. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.10.009>.

EVTYUGIN, Dmitry D.; MAGINA, Sandra a EVTUGUIN, Dmitry V., 2020. Recent Advances in the Production and Applications of Ellagic Acid and Its Derivatives. A Review. Online. *Molecules*. Roč. 25, č. 12. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules25122745>.

FAN, Limao; HE, Yufeng; XU, Yujie; LI, Penghui; ZHANG, Jinsong et al., 2021. Triterpenoid saponins in tea (*Camellia sinensis*) plants: biosynthetic gene expression, content variations, chemical identification and cytotoxicity. Online. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 2021-04-03, roč. 72, č. 3, s. 308-323. ISSN 0963-7486. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/09637486.2020.1798891>.

GEORGE, Jenson; EDWARDS, David; PUN, Sharon; WILLIAMS, David a DJAENI, Mohamad, 2022. Evaluation of Antioxidant Capacity (ABTS and CUPRAC) and Total Phenolic Content (Folin-Ciocalteu) Assays of Selected Fruit, Vegetables, and Spices. Online. *International Journal of Food Science*. 2022-11-30, roč. 2022, s. 1-18. ISSN 2314-5765. Dostupné z: <https://doi.org/10.1155/2022/2581470>.

HADIDI, Milad; LIÑÁN-ATERO, Rafael; TARAHI, Mohammad; CHRISTODOULOU, Marios C. a AGHABABAEI, Fatemeh, 2024. The Potential Health Benefits of Gallic Acid: Therapeutic and Food Applications. Online. *Antioxidants*. Roč. 13, č. 8. ISSN 2076-3921. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/antiox13081001>.

HAJIBOLAND, Roghieh, 2017. Environmental and nutritional requirements for tea cultivation. Online. *Folia Horticulturae*. 2017-12-20, roč. 29, č. 2, s. 199-220. ISSN 2083-5965. Dostupné z: <https://doi.org/10.1515/fhort-2017-0019>

HE, Hua-Feng; WEI, Kang; YIN, Junfeng a YE, Yang, 2021. Insight into Tea Flavonoids: Composition and Chemistry. Online. *Food Reviews International*. 2021-11-17, roč. 37, č. 8, s. 812-823. ISSN 8755-9129. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/87559129.2020.1721530>.

HEBER, David; ZHANG, Yanjun; YANG, Jieping; MA, Janice E.; HENNING, Susanne M. et al., 2014. Green Tea, Black Tea, and Oolong Tea Polyphenols Reduce Visceral Fat and Inflammation in Mice Fed High-Fat, High-Sucrose Obesogenic Diets. Online. *The Journal of Nutrition*. roč. 144, č. 9, s. 1385-1393. ISSN 00223166. Dostupné z: <https://doi.org/10.3945/jn.114.191007>.

HILAL, Y. a ENGELHARDT, U., 2007. Characterisation of white tea – Comparison to green and black tea. Online. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*. Roč. 2, č. 4, s. 414-421. ISSN 1661-5751. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00003-007-0250-3>.

HILAL, Y., 2017. Morphology, Manufacturing, Types, Composition and Medicinal Properties of Tea (*Camellia sinensis*). Online. *Journal of Basic and Applied Plant Sciences*, 2017, roč. 1, č. 2. Dostupné z: https://www.academia.edu/33991571/Morphology_Manufacturing_Types_Composition_and_Medicinal_Properties_of_Tea_Camellia_sinensis.

HU, Yan; YU, Huahao; SONG, Xinbei; CHEN, Wei; DING, Lejia et al., 2024. Comprehensive assessment of matcha qualities and visualization of constituents using hyperspectral imaging technology. Online. *Food Research International*. Roč. 196. ISSN 09639969. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.115110>.

HUANG, Nanhuan; RUAN, Long; ZHANG, Jing; WANG, Yongsheng; SHEN, Qiang et al., 2024. Improved physicochemical and functional properties of dietary fiber from matcha fermented by *Trichoderma viride*. Online. *Food Chemistry*. Roč. 460. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.140784>.

CHEADLE, Louise a KILBY, Nick, 2017. Kniha o čaji matcha: vše, co jste o tomto úžasném zeleném superčaji chtěli vědět. Esence. Praha: Euromedia. ISBN 978-80-7549-284-5.

CHEN, Hongbo; YU, Fei; KANG, Jiaxin; LI, Qiao; WARUSAWITHARANA, Hasitha Kalhari et al., 2023. Quality Chemistry, Physiological Functions, and Health Benefits of Organic Acids from Tea (*Camellia sinensis*). Online. *Molecules*. Roč. 28, č. 5. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules28052339>.

CHEN, Jiaming; WU, Shuhua; DONG, Fang; LI, Jianlong; ZENG, Lanting et al., 2021. Mechanism Underlying the Shading-Induced Chlorophyll Accumulation in Tea Leaves. Online. *Frontiers in Plant Science*. 2021-12-2, roč. 12. ISSN 1664-462X. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.779819>.

CHEOK, Choon Yoong; SALMAN, Hanaa Abdel Karim a SULAIMAN, Rabiha, 2014. Extraction and quantification of saponins: A review. Online. *Food Research International*. Roč. 59, s. 16-40. ISSN 09639969. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.01.057>.

JAKOBEK, Lidija a BLESSO, Christopher, 2024. Beneficial effects of phenolic compounds vs metabolites and catabolites: native phenolic compounds vs metabolites and catabolites. Online. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2024-10-02, roč. 64, č. 25, s. 9113-9131. ISSN 1040-8398. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/10408398.2023.2208218>.

JAKUBCZYK, Karolina; KOCHMAN, Joanna; KWIATKOWSKA, Aleksandra; KAŁDUŃSKA, Justyna; DEC, Karolina et al., 2020. Antioxidant Properties and Nutritional Composition of Matcha Green Tea. Online. *Foods*. Roč. 9, č. 4. ISSN 2304-8158. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/foods9040483>.

JAKUBCZYK, Karolina; LIGENZA, Alicja; GUTOWSKA, Izabela a JANDAMILCZAREK, Katarzyna, 2022. Fluoride Content of Matcha Tea Depending on Leaf Harvest Time and Brewing Conditions. Online. *Nutrients*. Roč. 14, č. 12. ISSN 2072-6643. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/nu14122550>.

JAKUBCZYK, Karolina; SZYMCHYKOWSKA, Kinga; KIKI, Joanna; JANDAMILCZAREK, Katarzyna; PALMA, Joanna et al., 2024. Exploring the Influence of Origin, Harvest Time, and Cultivation Method on Antioxidant Capacity and Bioactive Compounds of Matcha Teas. Online. *Foods*. Roč. 13, č. 8. ISSN 2304-8158. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/foods13081270>.

JANKECH, Timotej; MALIAROVÁ, Mária a MARTINKA, Nicholas, 2019. Determination of methylxanthines in tea samples by HPLC method. Online. *Nova Biotechnologica et Chimica*. 2019-12-01, roč. 18, č. 2, s. 124-132. ISSN 1339-004X. Dostupné z: <https://doi.org/10.2478/nbec-2019-0015>.

JIANG, Deyu; DENG, Lizhen; DAI, Taotao; LIANG, Ruihong; LIU, Wei et al., 2023. Stirred media mill: A novel efficient technology for improving the physicochemical properties and aroma of matcha. Online. *Powder Technology*. Roč. 427. ISSN 00325910. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2023.118783>.

JIANG, Yu; ZAREEF, Muhammad; LIU, Lihua a OUYANG, Qin, 2024. Monitoring of carotenoids changes during the matcha drying process using a portable developed spectral analytical system. Online. *Journal of Food Composition and Analysis*. Roč. 125. ISSN 08891575. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105849>.

KACZMAREK-SZCZEPAŃSKA, Beata; GRABSKA-ZIELIŃSKA, Sylwia a MICHALSKA-SIONKOWSKA, Marta, 2023. The Application of Phenolic Acids in The Obtainment of Packaging Materials Based on Polymers—A Review. Online. *Foods*. Roč. 12, č. 6. ISSN 2304-8158. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/foods12061343>.

KETNAWA, Sunantha; REGINIO JR., Florencio Collado; THUENGTUNG, Sukanya a OGAWA, Yukiharu, 2022. Changes in bioactive compounds and antioxidant activity of plant-based foods by gastrointestinal digestion: a review. Online. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2022-06-23, roč. 62, č. 17, s. 4684-4705. ISSN 1040-8398. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1878100>.

KIKI, Joanna; JAKUBCZYK, Karolina; LIGENZA, Alicja; MACIEJEWSKA-MARKIEWICZ, Dominika; SZYMCHYKOWSKA, Kinga et al., 2024. Matcha Green Tea: Chemical Composition, Phenolic Acids, Caffeine and Fatty Acid Profile. Online. *Foods*. Roč. 13, č. 8. ISSN 2304-8158. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/foods13081167>.

- KIM, Jong Min; KANG, Jin Yong; PARK, Seon Kyeong; HAN, Hye Ju; LEE, Kyo-Yeon et al., 2020. Effect of storage temperature on the antioxidant activity and catechins stability of Matcha (*Camellia sinensis*). Online. *Food Science and Biotechnology*. Roč. 29, č. 9, s. 1261-1271. ISSN 1226-7708. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s10068-020-00772-0>.
- KIOKIAS, Sotirios; PROESTOS, Charalampos a OREOPOULOU, Vassiliki, 2020. Phenolic Acids of Plant Origin—A Review on Their Antioxidant Activity In Vitro (O/W Emulsion Systems) Along with Their in Vivo Health Biochemical Properties. Online. *Foods*. Roč. 9, č. 4. ISSN 2304-8158. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/foods9040534>.
- KOCHMAN, Joanna; JAKUBCZYK, Karolina; ANTONIEWICZ, Justyna; MRUK, Honorata a JANDA, Katarzyna, 2021. Health Benefits and Chemical Composition of Matcha Green Tea: A Review. Online. *Molecules*. Roč. 26, č. 1. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules26010085>.
- KOLÁČKOVÁ, Tereza; KOLOFIKOVÁ, Kateřina; SYTAŘOVÁ, Irena; SNOPEK, Lukáš; SUMCZYNSKI, Daniela et al., 2020a. Matcha Tea: Analysis of Nutritional Composition, Phenolics and Antioxidant Activity. Online. *Plant Foods for Human Nutrition*. Roč. 75, č. 1, s. 48-53. ISSN 0921-9668. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s11130-019-00777-z>.
- KOLÁČKOVÁ, Tereza; SUMCZYNSKI, Daniela; MINAŘÍK, Antonín; YALÇIN, Erkan a ORSAVOVÁ, Jana, 2022. The Effect of In Vitro Digestion on Matcha Tea (*Camellia sinensis*) Active Components and Antioxidant Activity. Online. *Antioxidants*. Roč. 11, č. 5. ISSN 2076-3921. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/antiox11050889>.
- KOLÁČKOVÁ, Tereza; SUMCZYNSKI, Daniela; ZÁLEŠÁKOVÁ, Ludmila; ŠENKÁROVÁ, Lenka; ORSAVOVÁ, Jana et al., 2020b. Free and bound amino acids, minerals and trace elements in matcha (*Camellia sinensis* L.): A nutritional evaluation. Online. *Journal of Food Composition and Analysis*. Roč. 92. ISSN 08891575. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103581>
- KOTÁSKOVÁ, Eva; SUMCZYNSKI, Daniela; MLČEK, Jiří a VALÁŠEK, Pavel, 2016. Determination of free and bound phenolics using HPLC-DAD, antioxidant activity and in vitro digestibility of *Eragrostis tef*. Online. *Journal of Food Composition and Analysis*. Roč. 46, s. 15-21. ISSN 08891575. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2015.11.001>.

- KOUBOVÁ, Eva; MRÁZKOVÁ, Martina; SUMCZYNSKI, Daniela a ORSAVOVÁ, Jana, 2018. In vitro digestibility, free and bound phenolic profiles and antioxidant activity of thermally treated *Eragrostis tef* L. Online. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. Roč. 98, č. 8, s. 3014-3021. ISSN 0022-5142. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/jsfa.8800>.
- LI, Bang-Yan; LI, Hang-Yu; ZHOU, Dan-Dan; HUANG, Si-Yu; LUO, Min et al., 2021. Effects of Different Green Tea Extracts on Chronic Alcohol Induced-Fatty Liver Disease by Ameliorating Oxidative Stress and Inflammation in Mice. Online. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Roč. 2021, č. 1. ISSN 1942-0900. Dostupné z: <https://doi.org/10.1155/2021/5188205>.
- LORENZO, José Manuel a MUNEKATA, Paulo Eduardo Sichetti, 2016. Phenolic compounds of green tea: Health benefits and technological application in food. Online. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. Roč. 6, č. 8, s. 709-719. ISSN 22211691. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2016.06.010>.
- LUO, Yu; JIAN, Yuqing; LIU, Yingkai; JIANG, Sai; MUHAMMAD, Daniyal et al., 2022. Flavanols from Nature: A Phytochemistry and Biological Activity Review. Online. *Molecules*. Roč. 27, č. 3. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules27030719>.
- MANIKHARDA; SHOFI, Veny Elfionna; BETARI, Benedicta Khrisnarestri a SUPRIYADI, 2023. Effect shading intensity on color, chemical composition, and sensory evaluation of green tea (*Camelia sinensis* var *Assamica*). Online. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*. Roč. 22, č. 7, s. 407-412. ISSN 1658077X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2023.03.006>.
- MEYER, Bailey R.; WHITE, Haley M.; MCCORMACK, Jared D. a NIEMEYER, Emily D., 2023. Catechin Composition, Phenolic Content, and Antioxidant Properties of Commercially-Available Bagged, Gunpowder, and Matcha Green Teas. Online. *Plant Foods for Human Nutrition*. Roč. 78, č. 4, s. 662-669. ISSN 0921-9668. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s11130-023-01121-2>.
- MUHAMMAD, Adnan; ASIF, Ahmed; ANWAAR, Ahmed; NAUMAN, Khalid; IMRAN, Hayat et al, 2013. Chemical composition and sensory evaluation of tea (*Camellia sinensis*) commercialized in Pakistan. Online. *Pakistan Journal of Botany*. č. 45(3), s. 901-907. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/236980458_Chemical_composition_and_sensory_evaluation_of_tea_Camellia_sinensis_commercialized_in_Pakistan.

NAEEM, Usman; ARSHAD, Muhammad Umair.; SAEED, Farhan a IMRAN, Ali, 2022. Extraction and characterization of polyphenols from fruits and vegetable waste through green extraction technologies with special reference to antioxidant profile. Online. *Journal of Food Processing and Preservation*. Roč. 46, č. 10. ISSN 0145-8892. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/jfpp.16807>.

NAJMAN, Katarzyna; SADOWSKA, Anna; WOLIŃSKA, Monika; STARCZEWSKA, Katarzyna a BUCZAK, Krzysztof, 2023. The Content of Bioactive Compounds and Technological Properties of Matcha Green Tea and Its Application in the Design of Functional Beverages. Online. *Molecules*. Roč. 28, č. 20. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules28207018>.

NAMITA, Parmar; MUKESH, Rawat. a VIJAY, Kumar J., 2012. Camellia Sinensis (Green Tea): A Review. Online. *Global Journal of Pharmacology*. č. 6, s. 52-59. ISSN 1992-0075. Dostupné z: https://www.academia.edu/40106188/Camellia_Sinensis_Green_Tea_A_Review.

NAMITHA, K. K. a NEGI, P. S., 2010. Chemistry and Biotechnology of Carotenoids. Online. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2010-09-02, roč. 50, č. 8, s. 728-760. ISSN 1040-8398. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.499811>.

NAVARRO-ORCAJADA, Silvia; MATENCIO, Adrián; VICENTE-HERRERO, Cristina; GARCÍA-CARMONA, Francisco a LÓPEZ-NICOLÁS, José Manuel, 2021. Study of the fluorescence and interaction between cyclodextrins and neochlorogenic acid, in comparison with chlorogenic acid. Online. *Scientific Reports*. Roč. 11, č. 1. ISSN 2045-2322. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82915-9>.

NEKVAPIL, Jiří; SUMCZYNSKI, Daniela; SALEK, Richardos Nikolaos a BUČKOVÁ, Martina, 2024. The Release of Organic Acids and Low Molecular Weight Carbohydrates from Matcha Tea After In Vitro Digestion. Online. *Nutrients*. Roč. 16, č. 23. ISSN 2072-6643. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/nu16234058>.

NIĆIFOROVIĆ, Neda a ABRAMOVIĆ, Helena, 2014. Sinapic Acid and Its Derivatives: Natural Sources and Bioactivity. Online. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. Roč. 13, č. 1, s. 34-51. ISSN 1541-4337. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12041>.

ŐSZ, Bianca-Eugenia; JÎTCĂ, George; ȘTEFĂNESCU, Ruxandra-Emilia; PUȘCAȘ, Amalia; TERO-VESCAN, Amelia et al., 2022. Caffeine and Its Antioxidant Properties—It Is All about Dose and Source. Online. *International Journal of Molecular Sciences*. Roč. 23, č. 21. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms232113074>.

PHUAH, Yi Qian; CHANG, Sui Kiat; NG, Wen Jie; LAM, Ming Quan a EE, Kah Yaw, 2023. A review on matcha: Chemical composition, health benefits, with insights on its quality control by applying chemometrics and multi-omics. Online. *Food Research International*. Roč. 170. ISSN 09639969. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113007>.

RANA, Ananya; SAMTIYA, Mrinal; DHEWA, Tejpal; MISHRA, Vijendra a ALUKO, Rotimi E., 2022. Health benefits of polyphenols: A concise review. Online. *Journal of Food Biochemistry*. Roč. 46, č. 10. ISSN 0145-8884. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/jfbc.14264>.

RASHMI, Havalli Bommegowda a NEGI, Pradeep Singh, 2020. Phenolic acids from vegetables: A review on processing stability and health benefits. Online. *Food Research International*. Roč. 136. ISSN 09639969. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109298>.

RASOULI, Hassan; FARZAEI, Mohammad Hosein a KHODARAHMI, Reza, 2017. Polyphenols and their benefits: A review. Online. *International Journal of Food Properties*. 2017-08-04, s. 1-42. ISSN 1094 2912. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1354017>.

ROCCHETTI, Gabriele; GREGORIO, Rosa Perez; LORENZO, Jose M.; BARBA, Francisco J.; OLIVEIRA, Paula García et al., 2022. Functional implications of bound phenolic compounds and phenolics–food interaction: A review. Online. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. Roč. 21, č. 2, s. 811-842. ISSN 1541-4337. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12921>.

SAIMAITI, Adila; ZHOU, Dan-Dan; LI, Jiahui; XIONG, Ruo-Gu; GAN, Ren-You et al., 2023. Dietary sources, health benefits, and risks of caffeine. Online. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2023-11-17, roč. 63, č. 29, s. 9648-9666. ISSN 1040-8398. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2074362>.

SAYUTI, Nor Hafiza; KAMARUDIN, Ammar Akram; SAAD, Norazalina; AB. RAZAK, Nor Asma a MOHD ESA, Norhaizan, 2021. Optimized green extraction conditions of matcha green tea (*Camellia sinensis*) using central composite design for maximal polyphenol and antioxidant contents. Online. *BioResources*. 2021-2-1, roč. 16, č. 2, s. 3255-3271. ISSN 19302126. Dostupné z: <https://doi.org/10.15376/biores.16.2.3255-3271>.

SHAHIDI, Fereidoon a AMBIGAIPALAN, Priyatharini, 2015. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. Online. *Journal of Functional Foods*. Roč. 18, s. 820-897. ISSN 17564646. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.018>.

SHAHIDI, Fereidoon a YEO, JuDong, 2016. Insoluble-Bound Phenolics in Food. Online. *Molecules*. Roč. 21, č. 9. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules21091216>.

SHRIVASTAVA, Rishi Raj; PATERIYA, Pradeep a SINGH, Mahendra, 2018. Green tea - A short review. Online. Č. 3(2), s. 12-21. ISSN 2456-7345. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/325390328_Green_tea_-A_short_review.

SOKARY, Sara; AL-ASMAKH, Maha; ZAKARIA, Zain a BAWADI, Hiba, 2023. The therapeutic potential of matcha tea: A critical review on human and animal studies. Online. *Current Research in Food Science*. Roč. 6. ISSN 26659271. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2022.11.015>.

SUMCZYNSKI, Daniela; BUBELOVA, Zuzana; SNEYD, Jan; ERB-WEBER, Susanne a MLCEK, Jiri, 2015. Total phenolics, flavonoids, antioxidant activity, crude fibre and digestibility in non-traditional wheat flakes and muesli. Online. *Food Chemistry*. Roč. 174, s. 319-325. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.065>.

UNNO, Keiko; FURUSHIMA, Daisuke; HAMAMOTO, Shingo; IGUCHI, Kazuaki; YAMADA, Hiroshi et al., 2018. Stress-Reducing Function of Matcha Green Tea in Animal Experiments and Clinical Trials. Online. *Nutrients*. Roč. 10, č. 10. ISSN 2072-6643. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/nu10101468>.

VELDERRAIN-RODRÍGUEZ, G. R.; PALAFOX-CARLOS, H.; WALL-MEDRANO, A.; AYALA-ZAVALA, J. F.; CHEN, C-Y. O. et al., 2014. Phenolic compounds: their journey after intake. Online. *Food Funct*. Roč. 5, č. 2, s. 189-197. ISSN 2042-6496. Dostupné z: <https://doi.org/10.1039/C3FO60361J>.

Vyhláška č. 187/2013 Sb., o čaji, kávě a kávovinách. In: *Sbírka zákonů České republiky*. 2023, částka 92. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2023-187>.

WACHIRA, F.N.; KAMUNYA, S.; KARORI, S.; CHALO, R. a MARITIM, T., 2013. The Tea Plants. Online. In: *Tea in Health and Disease Prevention*. Elsevier, s. 3-17. ISBN 9780123849373. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384937-3.00001-X>.

WANG, Huajie; OUYANG, Wen; YU, Yaya; WANG, Jinjin; YUAN, Haibo et al., 2022. Analysis of non-volatile and volatile metabolites reveals the influence of second-drying heat transfer methods on green tea quality. Online. *Food Chemistry: X*. Roč. 14. ISSN 25901575. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100354>.

WILLIAMSON, Gary; KAY, Colin D. a CROZIER, Alan, 2018. The Bioavailability, Transport, and Bioactivity of Dietary Flavonoids: A Review from a Historical Perspective. Online. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. Roč. 17, č. 5, s. 1054-1112. ISSN 1541-4337. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12351>.

XU, Ping; YING, Le; HONG, Gaojie a WANG, Yuefei, 2016. The effects of the aqueous extract and residue of Matcha on the antioxidant status and lipid and glucose levels in mice fed a high-fat diet. Online. *Food & Function*. Roč. 7, č. 1, s. 294-300. ISSN 2042-6496. Dostupné z: <https://doi.org/10.1039/C5FO00828J>.

YE, Jian-Hui; FANG, Qi-Ting; ZENG, Lin; LIU, Ru-Yi; LU, Lu et al., 2024. A comprehensive review of matcha: production, food application, potential health benefits, and gastrointestinal fate of main phenolics. Online. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2024-08-28, roč. 64, č. 22, s. 7959-7980. ISSN 1040-8398. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/10408398.2023.2194419>.

YU, Xiao-Lan a HE, Yong, 2018. Development of a Rapid and Simple Method for Preparing Tea-Leaf Saponins and Investigation on Their Surface Tension Differences Compared with Tea-Seed Saponins. Online. *Molecules*. Roč. 23, č. 7. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules23071796>.

ZAITER, Ali; BECKER, Loïc; KARAM, Marie-Céleste a DICKO, Amadou, 2016. Effect of particle size on antioxidant activity and catechin content of green tea powders. Online. *Journal of Food Science and Technology*. Roč. 53, č. 4, s. 2025-2032. ISSN 0022-1155. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2201-4>.

Zákon č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích, ve znění pozdějších předpisů. In: *Sbírka zákonů České republiky*. 1997, částka 39. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/1997-110>.

ZHANG, Liang; HO, Chi-Tang; ZHOU, Jie; SANTOS, Jânio Sousa; ARMSTRONG, Lorene et al., 2019. Chemistry and Biological Activities of Processed *Camellia sinensis* Teas: A Comprehensive Review. Online. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. Roč. 18, č. 5, s. 1474-1495. ISSN 1541-4337. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12479>

ZHANG, Qianwen; LI, Tongyin; WANG, Qiushuang; LECOMPTE, Judson; HARKESS, Richard L. et al., 2020. Screening Tea Cultivars for Novel Climates: Plant Growth and Leaf Quality of *Camellia sinensis* Cultivars Grown in Mississippi, United States. Online. *Frontiers in Plant Science*. 2020-3-13, roč. 11. ISSN 1664-462X. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00280>.

ZHAO, Cai-Ning; TANG, Guo-Yi; CAO, Shi-Yu; XU, Xiao-Yu; GAN, Ren-You et al., 2019. Phenolic Profiles and Antioxidant Activities of 30 Tea Infusions from Green, Black, Oolong, White, Yellow and Dark Teas. Online. *Antioxidants*. Roč. 8, č. 7. ISSN 2076-3921. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/antiox8070215>.

ZHENG, Xin-Qiang; LI, Qing-Sheng; XIANG, Li-Ping a LIANG, Yue-Rong, 2016. Recent Advances in Volatiles of Teas. Online. *Molecules*. Roč. 21, č. 3. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules21030338>.

ZHOU, Jihong; DING, Lejia; CHEN, Wei; TAN, Yanliang; XIE, Dengchao et al., 2024. Matcha and exercise synergy: Elucidating mechanisms and central signaling pathways modulating glycolipid metabolism in high-fat diet-induced obese mice. Online. *Food Frontiers*. Roč. 5, č. 6, s. 2766-2781. ISSN 2643-8429. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/fft2.465>.

ZHOU, Jihong; YU, Yueer; DING, Lejia; XU, Ping a WANG, Yuefei, 2021. Matcha Green Tea Alleviates Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in High-Fat Diet-Induced Obese Mice by Regulating Lipid Metabolism and Inflammatory Responses. Online. *Nutrients*. Roč. 13, č. 6. ISSN 2072-6643. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/nu13061950>.

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Rozloha plantáží a produkce čaje ve světě, upraveno dle (Zhang et al., 2019) .	13
Obrázek 2 Dílčí procesy zpracování čajových listů, upraveno dle (Hilal, 2017)	15
Obrázek 3 Schéma výroby čaje matcha, upraveno dle (Ye et al., 2024)	17
Obrázek 4 Klasifikace fenolických antioxidantů, upraveno dle (Shahidi a Ambigaipalan, 2015)	25
Obrázek 5 Chemická struktura fenolických kyselin, upraveno dle (Shahidi a Ambigaipalan, 2015)	27
Obrázek 6 Chemická struktura flavanolů, upraveno dle (Hilal, 2017)	28
Obrázek 7 Osud polyfenolů v trávicím traktu, upraveno dle (Nagar et al., 2020)	29
Obrázek 8 Komerční balení použitých matcha čajů, zdroj: vlastní	35
Obrázek 9 Schéma postupu stravitelnosti <i>in vitro</i> , upraveno dle (Nekvapil et al., 2024) ...	36
Obrázek 10 Kalibrační křivka kyseliny gallové pro stanovení TPC ve vzorcích	43
Obrázek 11 Hodnoty retenčních faktorů pro TPC po GT	46
Obrázek 12 Hodnoty retenčních faktorů pro TPC po GIT	47
Obrázek 13 Maximální a minimální hodnoty retenčních faktorů pro jednotlivé polyfenoly po GT	56
Obrázek 14 Maximální a minimální hodnoty retenčních faktorů pro jednotlivé polyfenoly po GIT	59

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Hodnoty stravitelnosti sušiny a obsah sušiny ve vzorcích.....	42
Tabulka 2 Výsledky obsahu TPC v nativních vzorcích.....	43
Tabulka 3 Výsledky obsahu TPC v nestrávených podílech po GT a GIT	45
Tabulka 4 Koncentrace flavonoidů v nativních vzorcích	48
Tabulka 5 Koncentrace derivátů kyseliny hydroxybenzoové v nativních vzorcích	50
Tabulka 6 Koncentrace derivátů kyseliny hydroxyskořicové v nativních vzorcích	53

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

EGCG Epigallokatechingallát

TPC Total Phenolic Content, Celkový obsah polyfenolických látek

GAE Gallic Acid Equivalents, Ekvivalent kyseliny gallové

N.D. Nedetekováno

GT Gastrické trávení

GIT Gastrointestinální trávení

RF Retenční faktor

DMD Hodnota stravitelnosti sušiny

HPLC High-Performance Liquid Chromatography, Vysokoúčinná kapalinová chromatografie

ČSN Česká technická norma

ISO International Organization for Standardization, Mezinárodní organizace pro normalizaci

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha P I: Koncentrace flavonoidů v nestrávených podílech po GT

Příloha P II: Koncentrace flavonoidů v nestrávených podílech po GIT

Příloha P III: Koncentrace derivátů kys. hydroxybenzoové v nestrávených podílech po GT

Příloha P IV: Koncentrace derivátů kys. hydroxybenzoové v nestrávených podílech po GIT

Příloha P V: Koncentrace derivátů kys. hydroxyskořicové v nestrávených podílech po GT

Příloha P VI: Koncentrace derivátů kys. hydroxyskořicové v nestrávených podílech po GIT

Příloha P VII: Retenční faktory po gastrickém trávení pro všechny analyty

Příloha P VIII: Retenční faktory po gastrointestinálním trávení pro všechny analyty

PŘÍLOHA P I: KONCENTRACE FLAVONOIDŮ V NESTRÁVENÝCH PODÍLECH PO GT

Flavonoidy		Nestrávený podíl po GT		
Volné frakce [µg/g]	Iswari	Imbio	Natu	Allnature
epigallokatechin	3 691±74 ^a	5 212±222 ^b	8 068±16 ^c	3 384±36 ^d
epikatechin	754±3 ^a	239±13 ^b	1 632±27 ^c	1 217±1 ^d
katechin	40,0±2,0 ^a	36,3±0,2 ^b	47,7±0,2 ^c	111±1 ^d
rutin	603±1 ^a	401±1 ^b	1 328±3 ^c	707±4 ^d
kaempferol	6,56±0,46 ^a	12,9±0,7 ^b	3,82±0,33 ^c	9,22±0,43 ^d
kvercetin	112±1 ^a	13,7±0,1 ^b	20,7±0,7 ^c	114±1 ^a
Flavonoidy		Nestrávený podíl po GT		
Vázané frakce [µg/g]	Iswari	Imbio	Natu	Allnature
epigallokatechin	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
epikatechin	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
katechin	18,1±0,3 ^a	16,6±0,1 ^b	8,67±1,05 ^c	52,2±1,0 ^d
rutin	97,3±2,6 ^a	133±1 ^b	179±1 ^c	217±1 ^d
kaempferol	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
kvercetin	1,90±0,19 ^a	N.D.	13,07±0,24 ^b	7,52±0,12 ^c

Výsledky stanovení jsou zapsány jako aritmetický průměr ± SD (n=4). Výsledky v řádcích se stejnými písmennými indexy se mezi sebou statisticky významně neliší ($p \geq 0,05$). Výsledky v řádcích s odlišnými písmennými indexy mezi sebou vykazují statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$). LOQ: epigallokatechin, epikatechin 0,1 µg/g, kaempferol 0,2 µg/g.

PŘÍLOHA P II: KONCENTRACE FLAVONOIDŮ V NESTRÁVENÝCH PODÍLECH PO GIT

Flavonoidy		Nestrávený podíl po GIT		
Volné frakce [µg/g]	Iswari	Imbio	Natu	Allnature
epigallokatechin	4 611±53 ^a	11 512±256 ^b	2 442±26 ^c	1 672±11 ^d
epikatechin	826±1 ^a	439±1 ^b	578±1 ^c	3 283±2 ^d
katechin	15,7±0,1 ^a	17,4±8,4 ^a	6,03±0,06 ^b	31,4±0,1 ^c
rutin	233±18 ^a	155±1 ^b	3 119±2 ^c	1 339±1 ^d
kampferol	12,3±0,6 ^a	19,1±0,5 ^b	4,92±0,60 ^c	11,0±0,3 ^d
kvercetin	240±5 ^a	20,7±0,6 ^b	14,8±1,0 ^c	191±3 ^d
Flavonoidy		Nestrávený podíl po GIT		
Vázané frakce [µg/g]	Iswari	Imbio	Natu	Allnature
epigallokatechin	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
epikatechin	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
katechin	N.D.	10,7±0,1 ^a	N.D.	N.D.
rutin	68,6±0,2 ^a	94,9±0,1 ^b	140±1 ^c	105±1 ^d
kaempferol	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
kvercetin	3,12±0,18 ^a	N.D.	6,87±0,03 ^c	9,15±0,13 ^d

Výsledky stanovení jsou zapsány jako aritmetický průměr ± SD (n=4). Výsledky v řádcích se stejnými písmennými indexy se mezi sebou statisticky významně neliší ($p \geq 0,05$). Výsledky v řádcích s odlišnými písmennými indexy mezi sebou vykazují statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$). LOQ: epigallokatechin, epikatechin, katechin 0,1 µg/g, kaempferol, kvercetin 0,2 µg/g.

PŘÍLOHA P III: KONCENTRACE DERIVÁTŮ KYS. HYDROXY-BENZOOVÉ V NESTRÁVENÝCH PODÍLECH PO GT

Deriváty kyseliny hydroxybenzoové		Nestrávený podíl po GT		
Volné frakce [µg/g]	Iswari	Imbio	Natu	Allnature
k. gallová	87,0±1,0 ^a	99,4±0,7 ^b	118±1 ^c	120±6 ^c
k. protokatechová	75,3±1,9 ^a	42,4±0,5 ^b	30,1±0,5 ^c	14,6±1,3 ^d
k. <i>p</i> -hydroxybenzoová	5,01±0,01 ^a	27,7±0,8 ^b	6,78±0,65 ^c	36,5±0,5 ^d
k. vanilová	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
k. ellagová	23,7±1,8 ^a	8,05±0,01 ^b	88,9±0,5 ^c	34,2±1,1 ^d
etylester k. protokatechové	169±2 ^a	62,6±1,8 ^b	389±4 ^c	295±6 ^d
Deriváty kyseliny hydroxybenzoové		Nestrávený podíl po GT		
Vázané frakce [µg/g]	Iswari	Imbio	Natu	Allnature
k. gallová	1 658±1 ^a	3 118±52 ^b	959±1 ^c	5 712±82 ^d
k. protokatechová	0,69±0,06 ^a	0,96±0,06 ^b	1,27±0,06 ^c	0,66±0,05 ^a
k. <i>p</i> -hydroxybenzoová	112±1 ^a	202±1 ^b	131±1 ^c	311±10 ^d
k. vanilová	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
k. ellagová	7,45±0,19 ^a	7,28±0,24 ^a	24,1±0,4 ^b	16,2±0,4 ^c
etylester k. protokatechové	15,7±0,5 ^a	16,3±0,4 ^a	31,8±1,5 ^b	71,3±0,5 ^c

Výsledky stanovení jsou zapsány jako aritmetický průměr ± SD (n=4). Výsledky v řádcích se stejnými písmennými indexy se mezi sebou statisticky významně neliší ($p \geq 0,05$). Výsledky v řádcích s odlišnými písmennými indexy mezi sebou vykazují statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$). LOQ: kyselina vanilová 0,02 µg/g.

PŘÍLOHA P IV: KONCENTRACE DERIVÁTŮ KYS. HYDROXY-BENZOOVÉ V NESTRÁVENÝCH PODÍLECH PO GIT

Deriváty kyseliny hydroxybenzoové		Nestrávený podíl po GIT		
Volné frakce [µg/g]	Iswari	Imbio	Natu	Allnature
k. gallová	41,8±0,9 ^a	38,7±1,2 ^b	114±1 ^c	39,8±0,6 ^b
k. protokatechová	8,03±0,58 ^a	4,51±0,60 ^b	63,6±0,5 ^c	40,5±0,9 ^d
k. <i>p</i> -hydroxybenzoová	2,83±0,19 ^a	7,33±0,36 ^b	2,73±0,11 ^a	4,67±0,08 ^c
k. vanilová	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
k. ellagová	16,9±0,1 ^a	6,51±0,04 ^b	147±1 ^c	80,5±1,2 ^d
etyléster k. protokatechové	89,1±1,5 ^a	30,8±0,7 ^b	876±13 ^c	578±13 ^d
Deriváty kyseliny hydroxybenzoové		Nestrávený podíl po GIT		
Vázané frakce [µg/g]	Iswari	Imbio	Natu	Allnature
k. gallová	31,9±2,3 ^a	2 851±1 ^b	5,13±0,66 ^c	2 707±5 ^d
k. protokatechová	N.D.	0,49±0,01 ^a	N.D.	N.D.
k. <i>p</i> -hydroxybenzoová	34,0±2,1 ^a	333±1 ^b	24,5±0,3 ^c	341±24 ^b
k. vanilová	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
k. ellagová	14,7±0,2 ^a	8,78±0,07 ^b	18,2±0,8 ^c	105±1 ^d
etyléster k. protokatechové	29,5±0,7 ^a	16,0±0,2 ^b	36,6±0,1 ^c	61,2±0,2 ^d

Výsledky stanovení jsou zapsány jako aritmetický průměr ± SD (n=4). Výsledky v řádcích se stejnými písmennými indexy se mezi sebou statisticky významně neliší ($p \geq 0,05$). Výsledky v řádcích s odlišnými písmennými indexy mezi sebou vykazují statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$). LOQ: kyselina vanilová 0,02 µg/g.

PŘÍLOHA P V: KONCENTRACE DERIVÁTŮ KYS. HYDROXY-SKOŘICOVÉ V NESTRÁVENÝCH PODÍLECH PO GT

Deriváty kyseliny hydroxyskořicové		Nestrávený podíl po GT		
Volné frakce [µg/g]	Iswari	Imbio	Natu	Allnature
k. neochlorogenová	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
k. kávová	1 094±25 ^a	363±6 ^b	1 941±27 ^c	1 978±19 ^c
k. <i>trans-p</i> -kumarová	5,16±0,13 ^a	1,45±0,04 ^b	14,5±0,1 ^c	5,18±0,12 ^a
k. ferulová	22,4±0,9 ^a	8,33±0,21 ^b	67,9±0,4 ^c	17,5±0,3 ^d
k. sinapová	174±3 ^a	2,63±0,41 ^b	5,59±0,12 ^c	1 588±40 ^d
k. <i>trans</i> -2-hydroxyskořicová	10,1±0,7 ^a	4,04±0,11 ^b	3,13±0,30 ^c	20,4±1,4 ^d
k. <i>trans</i> -skořicová	0,90±0,05 ^a	0,63±0,03 ^b	1,02±0,05 ^c	0,78±0,10 ^a
Deriváty kyseliny hydroxyskořicové		Nestrávený podíl po GT		
Vázané frakce [µg/g]	Iswari	Imbio	Natu	Allnature
k. neochlorogenová	N.D.	21,4±0,1 ^a	11,1±0,1 ^b	N.D.
k. kávová	241±2 ^a	367±1 ^b	364±12 ^b	747±12 ^c
k. <i>trans-p</i> -kumarová	36,0±2,1 ^a	35,6±1,7 ^b	30,0±0,6 ^c	45,0±0,5 ^d
k. ferulová	5,86±0,14 ^a	4,21±0,12 ^b	13,2±0,2 ^c	11,0±0,4 ^d
k. sinapová	2,38±0,26 ^a	2,51±0,25 ^a	1,75±0,09 ^b	2,72±0,44 ^a
k. <i>trans</i> -2-hydroxyskořicová	1,95±0,34 ^a	N.D.	N.D.	7,10±0,07 ^b
k. <i>trans</i> -skořicová	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

Výsledky stanovení jsou zapsány jako aritmetický průměr ± SD (n=4). Výsledky v řádcích se stejnými písmennými indexy se mezi sebou statisticky významně neliší ($p \geq 0,05$). Výsledky v řádcích s odlišnými písmennými indexy mezi sebou vykazují statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$). LOQ: kyselina neochlorogenová, *trans*-2-hydroxyskořicová, *trans*-skořicová 0,1 µg/g.

PŘÍLOHA P VI: KONCENTRACE DERIVÁTŮ KYS. HYDROXY-SKOŘICOVÉ V NESTRÁVENÝCH PODÍLECH PO GIT

Deriváty kyseliny hydroxyskořicové		Nestrávený podíl po GIT		
Volné frakce [µg/g]	Iswari	Imbio	Natu	Allnature
k. neochlorogenová	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
k. kávová	298±4 ^a	199±1 ^b	545±4 ^c	3 676±11 ^d
k. <i>trans-p</i> -kumarová	4,83±0,09 ^a	1,42±0,05 ^b	4,80±0,03 ^a	11,5±0,4 ^c
k. ferulová	9,64±0,43 ^a	2,75±0,08 ^b	105±2 ^c	29,4±0,4 ^d
k. sinapová	147±1 ^a	5,76±0,05 ^b	3,22±0,45 ^c	1 429±3 ^d
k. <i>trans</i> -2-hydroxyskořicová	11,6±0,8 ^a	4,69±0,18 ^b	4,50±0,29 ^b	30,9±1,0 ^c
k. <i>trans</i> -skořicová	1,88±0,08 ^a	0,64±0,05 ^b	2,19±0,06 ^c	2,06±0,01 ^d
Deriváty kyseliny hydroxyskořicové		Nestrávený podíl po GIT		
Vázané frakce [µg/g]	Iswari	Imbio	Natu	Allnature
k. neochlorogenová	N.D.	N.D.	8,72±0,47 ^a	N.D.
k. kávová	353±11 ^a	279±2 ^b	650±34 ^c	567±15 ^d
k. <i>trans-p</i> -kumarová	31,5±0,3 ^a	29,9±0,1 ^b	16,0±0,1 ^c	58,1±0,3 ^d
k. ferulová	6,70±0,06 ^a	3,50±0,02 ^b	10,4±0,3 ^c	22,0±0,9 ^d
k. sinapová	2,52±0,07 ^a	1,23±0,03 ^b	1,95±0,08 ^c	3,25±0,29 ^d
k. <i>trans</i> -2-hydroxyskořicová	N.D.	N.D.	N.D.	3,62±0,15 ^a
k. <i>trans</i> -skořicová	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

Výsledky stanovení jsou zapsány jako aritmetický průměr ± SD (n=4). Výsledky v řádcích se stejnými písmennými indexy se mezi sebou statisticky významně neliší ($p \geq 0,05$). Výsledky v řádcích s odlišnými písmennými indexy mezi sebou vykazují statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$). LOQ: kyselina neochlorogenová, *trans*-2-hydroxyskořicová, *trans*-skořicová 0,1 µg/g.

PŘÍLOHA P VII: RETENČNÍ FAKTORY PO GASTRICKÉM TRÁVENÍ PRO VŠECHNY ANALYTY

Retenční faktory po gastrickém trávení [%]									
Volné frakce	1	2	3	4	Vázané frakce	1	2	3	4
EGC	7	11	16	8	EGC	0	–	–	0
EC	5	3	15	7	EC	0	0	0	0
C	16	6	40	17	C	2	18	3	11
R	16	7	24	16	R	4	12	9	13
K	35	32	80	32	K	–	–	–	–
Q	36	38	54	27	Q	4	–	79	36
GA	95	80	41	70	GA	40	31	65	68
PA	59	39	32	11	PA	0	7	5	2
<i>p</i> -hBA	74	51	22	36	<i>p</i> -hBA	14	34	27	44
VA	–	–	–	–	VA	0	0	0	0
EA	16	5	42	20	EA	3	5	15	14
PAEE	13	12	25	14	PAEE	2	7	5	13
NeoChA	0	0	0	0	NeoChA	0	46	63	0
CA	14	4	16	14	CA	5	7	6	13
<i>trans-p</i> -CuA	9	6	19	14	<i>trans-p</i> -CA	7	9	13	15
FA	21	9	43	15	FA	4	8	11	21
SA	77	11	17	36	SA	5	10	5	8
<i>trans</i> -2-hCA	74	23	67	36	<i>trans</i> -2-hCA	31	98	0	67
<i>trans</i> -CA	26	13	15	5	<i>trans</i> -CA	–	–	–	–

1 – Iswari, 2 – Imbio, 3 – Natu, 4 – Allnature, EGC – epigallokatechin, EC – epikatechin, C – katechin, R – rutin, K – kaempferol, Q – kvercetin, GA – k. gallová, PA – k. protokatechivá, *p*-hBA – k. *p*-hydroxybenzoová, VA – k. vanilová, EA – k. ellagová, PAEE – etylester k. protokatechové, NeoChA – k. neochlorogenová, CA – k. kávová, *trans*-*p*-CuA – k. *trans*-*p*-kumarová, FA – k. ferulová, SA – k. sinapová, *trans*-2-hCA – k. *trans*-2-hydroxyskořicová, *trans*-CA – k. *trans*-skořicová.

PŘÍLOHA P VIII: RETENČNÍ FAKTORY PO GASTRO-INTESTINÁLNÍM TRÁVENÍ PRO VŠECHNY ANALYTY

Retenční faktory po gastrointestinálním trávení [%]									
Volné frakce	1	2	3	4	Vázané frakce	1	2	3	4
EGC	4	12	2	2	EGC	0	–	–	0
EC	2	2	2	8	EC	0	0	0	0
C	3	1	2	2	C	0	6	0	0
R	3	1	23	13	R	1	4	3	3
K	30	24	43	16	K	–	–	–	–
Q	35	29	16	19	Q	3	–	74	19
GA	21	16	17	10	GA	<1	14	0	<1
PA	3	2	29	13	PA	0	2	0	0
<i>p</i> -hBA	19	7	4	2	<i>p</i> -hBA	2	28	2	21
VA	–	–	–	–	VA	0	0	0	0
EA	5	2	29	20	EA	3	3	5	8
PAEE	3	3	23	12	PAEE	2	3	2	5
NeoChA	0	0	0	0	NeoChA	0	0	21	0
CA	2	1	2	11	CA	4	3	5	4
<i>trans-p</i> -CuA	4	3	3	13	<i>trans-p</i> -CuA	3	4	3	8
FA	4	1	28	11	FA	2	3	4	18
SA	30	12	4	14	SA	3	2	3	4
<i>trans</i> -2-hCA	39	13	40	24	<i>trans</i> -2-hCA	0	69	0	15
<i>trans</i> -CA	25	6	13	5	<i>trans</i> -CA	–	–	–	–

1 – Iswari, 2 – Imbio, 3 – Natu, 4 – Allnature, EGC – epigallokatechin, EC – epikatechin, C – katechin, R – rutin, K – kaempferol, Q – kvercetin, GA – k. gallová, PA – k. protokatechivá, *p*-hBA – k. *p*-hydroxybenzoová, VA – k. vanilová, EA – k. ellagová, PAEE – etylester k. protokatechové, NeoChA – k. neochlorogenová, CA – k. kávová, *trans-p*-CuA – k. *trans-p*-kumarová, FA – k. ferulová, SA – k. sinapová, *trans*-2-hCA – k. *trans*-2-hydroxyskořicová, *trans*-CA – k. *trans*-skořicová.