



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

STANOVENÍ VYBRANÝCH FENOLICKÝCH A TĚKAVÝCH LÁTEK V ČAJI A V ČAJOVÉM NÁLEVU

DETERMINATION OF SELECTED PHENOLIC AND VOLATILE SUBSTANCES IN TEA AND TEA INFUSION

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Kristýna Stará

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.

BRNO 2022

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1724/2021 Akademický rok: 2021/22
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Studentka: **Bc. Kristýna Stará**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Potravinářská chemie a biotechnologie
Vedoucí práce: **doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.**

Název diplomové práce:

Stanovení vybraných fenolických a těkavých látek v čaji a v čajovém nálevu

Zadání diplomové práce:

1. Zpracujte literární rešerši k studované problematice
2. Provedte analýzu fenolických a těkavých látek v různých druzích čaje pomocí HPLC a GC
3. Zpracujte a vyhodnoťte naměřená data, prozkoumejte rozdíly mezi analyzovanými vzorky čajů z hlediska typu čaje a geografického původu.

Termín odevzdání diplomové práce: 13.5.2022:

Diplomová práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu.
Toto zadání je součástí diplomové práce.

Bc. Kristýna Stará
studentka

doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2022

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
děkan

ABSTRAKT

Tato diplomová práce se zabývá stanovením fenolických a těkavých látek v čajích a čajových nálevech. Práce srovnává čaje na základě jejich technologie výroby a země původu. Fenolické látky byly stanoveny metodou LC/MS. Fenolické látky byly rozděleny na katechiny a ostatní látky. V methanolových extraktech obsahovaly zelené čaje vyšší koncentrace katechinů než černé čaje. Ze skupiny katechinů byla nejvyšší koncentrace zjištěna u epigalokatechin galátu v zeleném čaji, a to 7,96 mg/g. Černé čaje obsahovaly nejvíce kyseliny galové ze zkoumaných čajů. Nejvyšší obsah kyseliny galové u černých čajů byl stanoven 1,84 mg/g.

Čajové nálevy byly připraveny dle klasických postupů typických pro jednotlivý druh čaje. V nálevech byly koncentrace všech látek vyšší u černých čajů. V nálevech ze zelených čajů nebyly detekovány některé látky jako galokatechin galát, kvercetin, kyselina kumarová a kaempferol.

Těkavé látky byly analyzovány metodou HS-SPME-GC-MS. Identifikací těkavých látek v sypaném čaji bylo charakterizováno aroma čaje. Pro černé čaje bylo charakterizováno bohaté květinové a sladké aroma. V zelených čajích šlo spíše o svěží a trávové aroma. Látkami, vyskytujícími se ve všech čajích, byly linalool, linalyl anthranilát a α -Terpinyl acetát.

KLÍČOVÁ SLOVA

čaj, fenolické látky, těkavé látky, kapalinová chromatografie, plynová chromatografie

ABSTRACT

This diploma thesis deals with the determination of phenolic substances and volatile substances in teas and tea infusions. The work compares teas based on their production technology and country of origin. Phenolic substances were determined by LC / MS. Phenolic substances were divided into catechins and other substances. In methanol extracts, green teas contained higher concentrations of catechins than black teas. From the group of catechins, the highest concentration was found for epigallocatechin gallate in green tea, namely 7,96 mg / g. Black teas contained the most gallic acid of the studied teas. The highest content of gallic acid in black teas was set at 1,84 mg / g.

Tea infusions were prepared according to the classic procedures typical for each type of tea. In the infusions, the concentrations of all substances were higher in black teas. Some substances such as gallocatechin gallate, quercetin, coumaric acid and kaempferol were not detected in the infusions of green tea.

Volatiles were analyzed by HS-SPME-GC-MS. The aroma of the tea was characterized by the identification of volatile substances in tea leaves. The black teas were characterized by a rich floral and sweet aroma. The green teas were more of a fresh and grassy aroma. The substances linalool, linalyl anthranilate and α -Terpinyl acetate were found in all teas.

KEYWORDS

tea, phenolic substances, volatile substances, liquid chromatography, gas chromatography

STARÁ, Kristýna. *Stanovení vybraných fenolických a těkavých látek v čaji a v čajovém nálevu*. Brno, 2022. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/139243>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Pavel Diviš.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....
Bc. Kristýna Stará

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala panu doc. Ing. Pavlu Divišovi, Ph.D. za pomoc, rady a vedení této diplomové práce. Dále bych ráda poděkovala své rodině a nejbližším za podporu během zpracování práce i během studia.

OBSAH

1	ÚVOD	8
2	TEORETICKÁ ČÁST	9
2.1	Druhy čajů	10
2.1.1	Bílý čaj	10
2.1.1.1	Charakteristika bílého čaje	10
2.1.1.2	Technologie výroby bílého čaje	11
2.1.1.3	Chemické složení bílého čaje	11
2.1.2	Zelený čaj	12
2.1.2.1	Charakteristika zeleného čaje	12
2.1.2.2	Technologie výroby zeleného čaje	12
2.1.2.3	Chemické složení zeleného čaje	13
2.1.3	Žlutý čaj	14
2.1.3.1	Charakteristika	14
2.1.3.2	Technologie výroby	14
2.1.3.3	Obsažené látky	15
2.1.4	Čaj oolong	16
2.1.4.1	Charakteristika	16
2.1.4.2	Technologie výroby	16
2.1.4.3	Obsažené látky	17
2.1.5	Černý čaj	18
2.1.5.1	Charakteristika	18
2.1.5.2	Technologie výroby	18
2.1.5.3	Obsažené látky	19
2.1.6	Tmavý čaj (Pchu-er)	19
2.1.6.1	Charakteristika	19
2.1.6.2	Technologie výroby	20
2.1.6.3	Obsažené látky	21
2.2	Zdravotní benefity čaje	22
2.3	Fenolické látky	23
3	PRAKTICKÁ ČÁST	26
3.1	Použité chemikálie, přístroje a materiál	26
3.1.1	Chemikálie	26
3.1.1.1	Standardy fenolických látek	26
3.1.1.2	Ostatní	26

3.1.2	Přístroje	26
3.1.3	Materiál	27
3.2	Stanovení fenolických látek v čajových extraktech.....	27
3.3	Stanovení fenolických látek v čajovém nálevu.....	28
3.4	Analýza těkavých látek v čaji	28
4	VÝSLEDKY A DISKUSE	29
4.1	Stanovení fenolických látek v čajových methanolových extraktech	30
4.2	Stanovení fenolických látek v čajovém nálevu.....	41
4.3	Analýza těkavých látek	47
6	ZÁVĚR	55
7	SEZNAM LITERATURY	56
8	SEZNAM POUŽÍTÝCH ZKRATEK.....	61
9	PŘÍLOHY	62

1 ÚVOD

Čaje jsou po vodě nejčastěji konzumovaným nápojem po celém světě. I proto je zkoumáno složení čajů z hlediska pozitivního či negativního vlivu na zdraví člověka. Tato práce se konkrétně zabývá fenolickými látkami v čajích. Fenolické látky jsou sekundární metabolity rostlin. V rostlinách se tvoří vlivem vnějšího (oxidačního) stresu a jsou zkoumány za účelem antioxidačních účinků v lidském těle. Antioxidační látky chrání tělo před oxidačním stresem. Tyto látky si většinou naše tělo neumí samo syntetizovat, a proto je důležité přijímat tyto látky ve stravě.

Cílem této práce je analýza fenolických látek v čajích a srovnání jejich obsahu v jednotlivých druzích čajů dle jejich technologického postupu výroby a případně dle oblasti pěstování. V práci jsou teoreticky popsány technologie výroby jednotlivých druhů čajů a látky v nich obsažené. Dále jsou uvedeny zdravotní benefity čajů a rozdělení fenolických látek. Následně je zde experimentálně stanoveno množství fenolických látek v methanolových extraktech čajů a čajových nálevech. Obsahy fenolických látek v jednotlivých vzorcích jsou srovnány dle druhu čaje. Srovnávány jsou zelené, černé a některé speciální druhy čajů. Čajové nálevy jsou připraveny klasickým postupem pro daný druh čaje. Proto jsou zde uvedeny i reálné příjmy jednotlivých stanovovaných látek na šálek čaje.

Kromě analýzy fenolických látek byla provedena i analýza těkavých látek v čajích. Tato analýza byla využita k charakterizaci aromatického profilu sypaných čajů.

2 TEORETICKÁ ČÁST

Čaj je nápoj s osvěžujícími účinky, konzumovaný po celém světě. Jedná se o nálev z lístků čajovníku. Je spolu s vodou nejčastějším nápojem ve světě. Pochází z Číny, v 9. století se dostal do Japonska a v 19. století do zbytku světa [1].

Čajovník čínský, latinsky *Camellia sinensis*, je subtropickou rostlinou pocházející z Číny. Jde o stálezelený keř odolný vůči chladu. Dále se botanicky rozlišuje asámská skupina čajovníků pocházející z Indie, latinsky *Camellia assamica*. Tyto dva druhy se postupně křížily a nyní už se pěstují různé hybridy čajovníků. Čajovník se pěstuje v Asii, Africe, Jižní Americe, Austrálii a malé množství v Evropě. Kvalitu a chuť čaje ovlivňují mimo dalšího i oblast a podmínky pěstování [1][2][3][3].



Obrázek 1: Čajovník čínský [4]

Z rostliny se používají lístky a pupeny na výrobu čaje, výjimečně se využívají semena na lisování oleje. Sklízí se nejmladší část větviček nazývaná fleš. Jde o vrcholový pupen a jeden nebo několik listů. Plantáž se sklízí v průměru 4krát ročně. Počet sklizní závisí na oblasti pěstování. V některých oblastech se čaj sklízí po celý rok. Doba sklizně ovlivňuje chuť a aroma čaje. Jeho kvalitu podmiňuje počet sklizených listů z keře [1].

Jak je již výše zmíněno, pěstuje se čaj na mnoha místech světa. Různé oblasti mají různé charakteristiky čajů. Dle oblastí se rozlišují i různé druhy.

V Číně se čajovníky pěstují ve všech provinciích ve středu a na jihu země. Nejlepší čaje pochází z oblastí ve výšce 1000-2500 m n.m. Vyrábí se zde převážně čaje zelené. Černé čaje jsou tu většinou jen na vývoz. Obecně zde mají čaje velmi aromatickou a měkkou chuť. Známymi druhy jsou například Čen mej neboli vzácné obočí a Ču čcha neboli střelný prach. Čen mej je zelený čaj se svěží, mírně bylinnou vůní a světle žlutým nálevem. Čuč cha je také zelený čaj, u kterého jsou lístky svinuty do kuliček a po spaření se rozvinou. Má svěží bylinnou chuť a žlutozelený nálev.

Další asijskou oblastí je Tchaj-wan. Ve středu země se pěstují převážně černé čaje. Specialitou této oblasti je čaj oolong. Co se týče zeleného čaje, můžeme zde najít druhy jako Sencha a oba zmíněné Čínské čaje.

Nejlepší podmínky pro pěstování čaje v Japonsku jsou v oblastech ostrovů Šikoku, Kjúšú a jih Honšú. Pěstuje se zde převážně zelený čaj. Černý čaj se sem dováží. Zelené čaje pocházející z Japonska mají v chuti i vůni svěží trávový tón. Známymi druhy jsou například Sencha a Bancha. Sencha je nejoblíbenějším čajem. Lísty se zpracovávají ihned po sběru. Sklizeň i zpracování se provádí mechanicky. Z tohoto druhu se rozemletím

na prach vyrábí slavný čaj Matcha. Bancha má vysoký obsah tříslovin a málo kofeinu. Sbírají se starší a větší listy. Má žlutozelený nálev a nasládlou, kořeněnou vůni.

Indie zaštiťuje třetinu světové sklizně čaje. Produkuje se zde nejkvalitnější čaj. Nejznámějšími čaji jsou černý Ásam a Darjeeling. Darjeeling se pěstuje na jižních svazích Himalájí a považuje se za šampaňské mezi čaji. Má světlý nálev a jemnou květinovou chuť. Ásam se pěstuje v oblasti kolem Brahmaputry. Dle času sběru může mít svěží květinovou až silnou kořeněnou chuť.

Na Srí lance jsou obzvlášť příznivé podmínky pro pěstování. Oblasti se zde dělí na low grown, medium grown a high grown. Nejznámějšími druhy jsou černé čaje Dimbula a Nuwara Eliya. Dimbula je vysokohorský druh s bylinnou, kořeněnou a silnou chutí a lehkou citrusovou vůní. Nuwara Eliya má svěží bylinnou chuť a sbírá se po celý rok.

V Nepálu se používá ortodoxní metoda zpracování. Chuť a charakter zdejších čajů je podobný Darjeelingu.

V Africe se nejčastěji pro zpracování čaje používá metoda CTC a čaj je určen převážně pro směsi do sáčkových čajů. Pěstuje se například ve státech Keňa, Burundi, Kamerun, Tanzanie nebo Mosambik [1][48].

2.1 Druhy čajů

Čaje lze základně třídit dle technologie zpracování čajových listů na bílý, zelený, žlutý, oolong, černý a Pchu-er, dle velikosti listů na čaj listový, zlomkový, drť a prach. Dále se čaje dělí dle kvality dalších parametrů. Obvyklé jsou směsi různých druhů čajů. Známostou směsí je například English Breakfast.

2.1.1 Bílý čaj



Obrázek 2: Bílý čaj sypaný, nálev [5]

2.1.1.1 Charakteristika bílého čaje

Tento druh byl v Číně po dlouhou dobu určen pouze císaři a byl považován za zázračný nápoj, prodlužující život. Proslulý je stále zejména v Číně, nicméně rozšířený je i po světě [1]. Bílý čaj je lehce fermentovaný čaj vyráběný zejména v provincii Fujian v Číně. Nálev má jemnou umami a sladkou chuť, světle zelenou až žlutou barvu a svěží květinové aroma [6]. Vůně se nejvíce podobá čerstvému čaji.

2.1.1.2 Technologie výroby bílého čaje

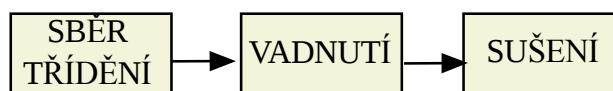
Výroba je nejjednodušší ze všech druhů čaje. Zahrnuje pouze prodloužené vadnutí a sušení. Vyrábí se pouze z pupenu a prvního lístku čajovníku [7]. Sklízí se pouze jednou ročně, a to brzy na jaře [8].

Během růstu mohou být pupeny chráněny před slunečním zářením. Tím se zabrání tvorbě chlorofylu a mladé lístky a pupeny mají bílý vzhled [7]. Sběr probíhá před úplným otevřením poupatek, což umožňuje uchování nejvyšší hladiny antioxidantů a nejnižší hladiny kofeinu [9].

Po sklizni jsou listy rozprostřeny na bambusová síta a provětrány, aby se listy dehydratovaly. To zvyšuje propustnost membrány a enzymatickou aktivitu. Podporuje pomalou hydrolýzu a oxidaci obsahu listů.

Proces vadnutí je prodloužen na asi 48 hodin. Zavadnutí probíhá ve vnitřních prostorech při 21-24 °C a relativní vlhkosti vzduchu 65-82 %. [8]. Má dominantní roli při vytváření charakteristické chuti. Po vadnutí jsou listy zašlé, barva šedozelená a mají zkroucený tvar. Obsah vody je snížen na 27 % [6]. Při prodlouženém procesu vadnutí dochází k mírné fermentaci pomocí polyfenoloxidáz a peroxidáz [9].

Po zavadnutí se lístky rovnou suší. Sušení probíhá při 60 °C po dobu 2 hodin [8].



Obrázek 3: Schéma výroby bílého čaje

2.1.1.3 Chemické složení bílého čaje

Chemické složení usušených lístků a následně i nálevu se pohybuje mezi zeleným a černým čajem. Studie uvedly, že má bílý čaj nejvíce alaninu, argininu, isoleucinu, leucinu, fenylalaninu, serinu a theaninu. Ve srovnání se zeleným čajem má bílý čaj více kyseliny galové, theobrominu, epigalokatechinu, kofeinu a epikatechin galátu. Nižší obsah theofilinu, katechinu a epikatechinu [9].

S dobou vadnutí se vlivem peroxidáz a polyfenoloxidáz snižuje obsah katechinů a zvyšuje obsah theaflavinu [6]. Katechiny jsou hlavní sloučeniny odpovídající za antioxidační aktivitu čajového nálevu. Obecně má bílý čaj nižší hladiny katechinů než zelený čaj. Methylované katechiny jsou přirozeně přítomny v čajových listech. Dle studie mají vyšší antialergické a antihypertenzní účinky než katechiny. Epikatechin 3-O-(3-O-methylgalát) a epigalokatechin 3-methylgalát vykazovaly nejvyšší obsah v bílém čaji. Methylované katechiny jsou spotřebovány během fermentačního procesu. Předpokladem je i methylace katechinů během prodlouženého vadnutí bílého čaje.

Theaflavin, theaflavin-3-galát a theaflavin-3,3'-digalát byly v bílém čaji přítomny ve vysokých koncentracích kvůli mírné fermentaci, ale v mnohem nižších koncentracích než v čaji černém. Theasinensiny a prokyanidiny jsou dimerní katechiny. Rozdíly koncentrací v různých druzích čajů nejsou příliš zkoumány. Theasinensiny jsou nejméně obsaženy v zeleném čaji, vyšší koncentraci má bílý čaj a nejvyšší černý čaj. Vznikají fermentací. Prokyanidiny (B1, B2, B3, B5, C1) mají opačný trend než theasinensiny. K jejich spotřebě dochází během vadnutí a fermentace.

Dalšími hlavními fenolovými složkami jsou flavonolové a flavonové glykosidy. Mají silnou antioxidační aktivitu a potenciální přínosy pro kardiovaskulární systém. Glykosidy kaempferolu byly v největším množství přítomny u bílého čaje. Kvercetinové

a myricetinové glykosidy jsou v relativně vysokém obsahu v bílém, o něco nižším v zeleném čaji. Hlavními flavonoly jsou kvercetin, kaempferol, myricetin. Způsobují andstringentní chuť [9].

Aromatické složky bílého čaje nebyly zatím příliš zkoumány. Obsah těkavých alkoholových látek je však vyšší než v zelených a černých čajích. Těkavé látky jsou odvozeny od mastných kyselin, aminokyselin, terpenů a karotenoidů. V čerstvých listech jsou těkavé látky vázané glykosidicky. Hlavní těkavé sloučeniny bílého čaje jsou: hexanal, (E)-2-hexenal, benzaldehyd, benzenacetaldehyd, (E)-gerandiol, fenylethanol, linalool a jeho oxidy, beta-myrcen. Během sušení těkavé látky nevykazují příliš velké rozdíly od zelených listů v důsledku nízké teploty sušení bílého čaje [6].

Koncentrace volných aminokyselin, zejména aromatických prekursorových aminokyselin se během vadnutí zvýšila. To je zřejmě následkem degradace proteinů. Oproti tomu ale koncentrace theaninu klesla, to může být způsobeno tím, že utržené lístky už nejsou schopny theaniny doplňovat z kořenů. Zvýšení koncentrace aminokyselin následně přispívá k aromatickému profilu čaje a obohacení jeho chuti a vůně [11].

2.1.2 Zelený čaj



Obrázek 4: Zelený čaj sypaný, nálev [12]

2.1.2.1 Charakteristika zeleného čaje

Dříve byl oblíbený zejména v Číně, Japonsku a na Taiwanu. V Posledním století se ale stal i oblíbeným i v Evropě. Tím, že čaj při zpracování nepodléhá oxidaci, má nálev světle zelenou až žlutou barvu. Má jemnou vůni připomínající seno. Lísty jsou zelené a pevné. Chuť je jemná s nahořklým tónem. Pro kvalitní zelené čaje se používají pouze první dva lístky a výhonek [2]. Zahrnuje asi 20 % světové produkce čajů [13].

2.1.2.2 Technologie výroby zeleného čaje

Cílem výroby zeleného čaje je zachování listových katechinů. Výroba zahrnuje sklizeň, zavadnutí, inaktivaci enzymů (fixace), rolování a sušení [14].

Aroma čaje se začíná tvořit už během sběru díky enzymatickým reakcím. Lísty by se ale během sběru neměly více poškodit, aby nezačala fermentace.

Fixace je prvním a nejkritičtější postupem, kdy se zelený čaj zahřívá na vysoké teploty, aby se odstranila část vnitřní vlhkosti, deaktivovala se enzymová aktivita, uvolnil se zelený plyn a vznikla chuť zeleného čaje. V Japonsku je fixace prováděna napařováním lístků v rotujících válcích. Optimalizace napařování je složitá, protože se vlastnosti posklizňových lístků liší v závislosti na podmínkách pěstování a sezóně

sběru. K napařování se používá válcový bubnový napařovač. Výhodou napařování oproti pražení je menší ztráta těkavých látek. V Číně a Indii je k fixaci používáno rychlé pražení na pánvích. Během pražení dochází k úniku těkavých látek a vzniku kaštanového praženého aroma. V průběhu fixace zeleného čaje dochází k různým chemickým reakcím, včetně polymerace polyfenolů, oxidace aminokyselin a degradace pigmentů. Během fixace tedy dochází i k fyzickým změnám lístků jako je tvar, barva a struktura.

Následné rolování neboli kroucení listů zlepšuje konečný vzhled čaje.

Sušení se provádí vzduchem o vysoké teplotě až 90 °C a snižuje se jeho vlhkost na asi 3 %. Během sušení se lístky načechrávají a obračejí [14].



Obrázek 5: Schéma výroby zeleného čaje

2.1.2.3 Chemické složení zeleného čaje

Složením se zelený čaj podobá čerstvým čajovým listům.

Koncentrace katechinů je závislá na stáří listů. Listový pupen a první list jsou na katechiny nejbohatší. Jde o bezbarvé, adstringentní, ve vodě rozpustné látky. Nejvíce zastoupenými katechiny jsou katechin, galokatechin, epikatechin, epigalokatechin, epikatechin galát a epigalokatechin galát [9]. Jsou snadno oxidovatelné. Proto jsou čajovými antioxidanty. Bylo zjištěno, že vychytávací účinky extraktů zeleného čaje aktivních kyslíkových radikálů jsou vyšší než účinky kyseliny askorbové nebo tokoferolu. Struktura polyfenolů zeleného čaje obsahuje aktivní hydroxylové vodíky, které ukončují řetězovou reakci volných radikálů. U hydroxylových radikálů nejsou katechiny tolik aktivní [14].

Asi polovinu celkového obsahu aminokyselin zahrnuje theanin. Jde o derivát glutaminu. Dle studie jeho přítomnost v zeleném čaji koreluje s kvalitou čaje [14].

Volné těkavé alkoholy se tvoří hydrolýzou glykosidů aromatických a terpenových alkoholů již při sklizni. Další aromatické látky se tvoří při konečném sušení. Zelený čaj obsahuje asi 200 těkavých látek, z toho je asi 30 důležitých pro jeho aroma [7]. Jsou důležité zejména: benzaldehyd, benzylalkohol, cyklohexanon, geraniol, hexenyl hexanoát, linalool, nerolidol, fenylethanol, theaspiron [14].

2.1.3 Žlutý čaj



Obrázek 6: Žlutý čaj sypaný, nálev [15]

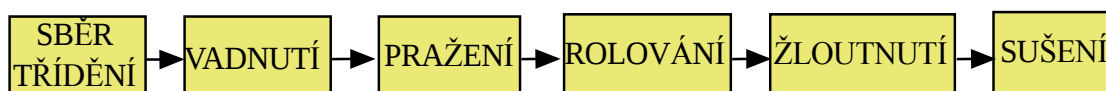
2.1.3.1 Charakteristika

Jde o nejméně známý druh čaje. Populární je momentálně nejvíce v Číně. Pěstuje se zejména v provinciích Hunan, Anhui, Sichuan a Zhejiang [16]. Je to lehce fermentovaný čaj. Má žluté lístky po usušení, žlutý nálev i žluté lístky po louhování. Oproti zelenému čaji má více svěží a jemnou chuť, chybí travnatý nádech a čaj je sladší [17].

2.1.3.2 Technologie výroby

Postup zpracování je odlišný od ostatních druhů čaje. Nejvíce se podobá výrobě čaje zeleného s přidáním kroku, který se nazývá žloutnutí. Jde o kombinaci termochemických reakcí a exogenních enzymů.

Výroba tedy zahrnuje tyto procesy. Nejdříve probíhá vadnutí, kde se odpaří přebytečná voda. Následuje fixace pomocí pražení. Tento proces snižuje aktivitu enzymů polyfenoloxidáz. Fixace je důležitá pro tvorbu jemné chuti a žluté barvy. Následuje rolování. Zde se umožní interakce mízy listů s vnějším prostředím. U některých druhů žlutého čaje se rolování vynechává. Na řadu přichází žloutnutí někdy nazývané „uzavřené žloutnutí“. Lísty jsou zde zabaleny a na určitou dobu odloženy. V důsledku zahřívání a působení mikroorganismů dochází k chemickým změnám čaje [17]. Žloutnutí probíhá za zvýšené teploty a vlhkosti. Jde o teplotu asi 35-40 °C a vlhkost 80 %. Na žloutnutí se spolupodílejí extracelulární enzymy přítomných mikroorganismů. Během žloutnutí přechází barva lístků ze zelené na žlutou. Dále se mění chuť. Tato je jemnější a sladší než u zeleného čaje [16]. Poslední fází je sušení, kdy se sníží obsah vody pod 6 %. Sušení se provádí působením tepla buď pečením nebo pražením. Teplota je obvykle okolo 80 °C, což je méně než u ostatních druhů čaje. Obvykle se začíná nižší teplotou, která se zvyšuje. Částečně zde tak ještě probíhá proces žloutnutí [17].



Obrázek 7: Schéma výroby žlutého čaje

2.1.3.3 Obsažené látky

Charakteristické látky se tvoří během výroby, zejména během procesu žloutnutí. Zahřívání způsobuje autooxidaci a izomeraci polyfenolů, částečnou hydroxylaci škrobu a částečný rozklad bílkovin. Dále také způsobuje částečnou degradaci chlorofylu. Během žloutnutí dochází k degradaci chlorofylu na feoforbidy a feofytiny [17]. U žlutého čaje je chuť sladší a jemnější než u čaje zeleného. To je způsobeno zejména poklesem katechinů a dalších polyfenolových látek a degradací aminokyselin [16].

Celkový obsah polyfenolů je srovnatelný s polyfenoly v zeleném čaji. To je způsobeno fixací, kdy se deaktivují polyfenoloxidázy a peroxidázy. Během žloutnutí se sice snížil obsah katechinů, ale vytvořily se katechiny nové. Hlavními polyfenoly ve žlutém čaji jsou katechiny, flavonové a flavanové glykosidy, anthokyanidiny, fenolové kyseliny a depsidy. Katechiny tvoří asi 60-80 % polyfenolů. Obsah EGCG je ve žlutém čaji nižší než v zeleném. Žlutý čaj naopak obsahuje až 10x více kyseliny galové. Ta vzniká při procesu žloutnutí a je silným antioxidantem. Esterové katechiny jsou oxidovány a hydrolyzovány na komplexní sloučeniny jako je např. kyselina galová, theaflaviny a thearubiginy. Žlutý čaj má téměř stejný obsah theaflavinů jako bílý a oolong čaj a vyšší obsah než zelený čaj. Ty vznikají oxidací katechinů a způsobují červenooranžovou barvu [17]. Nízký obsah galátových katechinů koreloval s nízkou hořkostí a svíravostí nálevu [16]. Díky přítomným polyfenolům má žlutý čaj nejsilnější antioxidační aktivitu ze všech druhů čajů. Dále mají i antimikrobiální účinky. Tyto účinky pozitivně korelovaly s množstvím polyfenolů. Testování a inhibice proběhly na *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* a *Bacillus cereus* [17]. Sekundárními metabolity polyfenolů jsou flavonoidy. Ty mají antioxidační, protizánětlivé a antivirové účinky a dále regulační účinky na imunitní systém [16].

Z alkaloidů obsahují v sušině asi 2-4 % kofeinu, 0,05 % theobrominu a 0,002 % theofylinu [17].

Volné aminokyseliny tvoří asi 1-4 % sušiny. Proteiny jsou během žloutnutí hydrolyzovány na volné aminokyseliny [16]. Ve žlutém čaji bylo zjištěno 18 aminokyselin. Nejvyšší koncentrace byly u theaninu, kyseliny glutamové a glycinu. Způsobují čerstvou chuť žlutého čaje [17]. Zejména glutamát a theanin způsobují chuť umami v čaji.

Sladkou chuť způsobuje přítomná sacharóza a laktóza [16]. Dále čaj obsahuje vysoké množství polysacharidů.

Svěží a sladké aroma čaje způsobují těkavé látky. Hlavními těkavými složkami žlutého čaje jsou benzylalkohol a dimethylsulfid. Jsou zde těkavé složky s vůní růže, kadidla a dřeva. Jde zejména o alkoholy, aldehydy a ethery [17].

2.1.4 Čaj oolong



Obrázek 8: Oolong sypaný, nálev [18]

2.1.4.1 Charakteristika

Jde o polofermentovaný čaj, zahrnující asi 2 % světové spotřeby čajů [19]. Jeho vlastnosti jsou podobné částečně černému a částečně zelenému čaji. Vyrábí se zejména v Tchaj-wanu a jižní Číně. Má květinovou vůni a jemné vlastnosti. Jednotlivé druhy čaje se mohou lišit z důvodu odlišného stupně fermentace [20].

2.1.4.2 Technologie výroby

Výroba se skládá ze sklizně, zavadnutí, několik opakujících se fází třepání a fermentace, pražení (fixace), rolování a sušení.

Zavadnutí čerstvých lístků snižuje obsah vody a semipermeabilitu membrán, to umožňuje katechinům, uloženým ve vakuolách, vytékat do cytoplazmy a přijít tak do kontaktu s oxidázami. Už zde tedy začíná fermentace. Vadnutí zahrnuje dvě fáze: sluneční a vnitřní vadnutí. Ve sluneční fázi se ztrácí vlhkost a UV záření podporuje genovou expresi intracelulárních hydrolytických enzymů beta-primeverosidázy a beta-glukosidázy, které hydrolyzují prekursorů těkavých organických sloučenin, které jsou jinak přítomné v glykosidické formě.

Proces vadnutí se pak přesouvá do vnitřních prostor. Zde se lístky v intervalech třikrát až pětkrát protřepávají. Každý interval trvá asi 2 hodiny a závisí na teplotě a obsahu vody v listech. Během protřepávání se mění vůně lístků. Po protřepání v klidové fázi prekursorů těkavých organických aromatických látek podléhají oxidaci a hydrolýze. Doba fermentace je celkově asi 6-10 hodin [20] a čaj je oxidován z 10-80 % [13].

Dle procesu pražení pak můžeme čaje oolong dále dělit na tzv. slabě a silně vonící. Slabě vonící mají lehké květinové aroma, svěží a jemná chuť se sladkou dochutí. Pražení probíhá pomalu na mírném ohni (105-115 °C). Silně vonící pak mají výraznější ovocné a pražené aroma, jemnější a hladší chuť se silnější sladkou dochutí. Použito je zde nejprve rychlé pražení při vysoké teplotě (130-135 °C) a následné pomalé pražení nad mírným ohněm. Pražení má klíčovou roli pro charakteristický chemický profil čaje. Pražením se snižuje svíravost a zvyšuje sladká dochuť. Hořkost se nemění. Obohacuje se aroma čaje. Klesá květinové aroma a narůstá pražené aroma. Barva lístků i nálevu tmavne. Jas a zelenost nálevu se snižuje, žlutost se zvyšuje [21].



Obrázek 9: Schéma výroby čaje oolong

2.1.4.3 Obsažené látky

Chemickým složením se čaj oolong, stejně jako bílý čaj, pohybuje mezi zeleným a černým čajem. Vznikají však i jiné látky, které jsou popsány níže. Obecně složení závisí na míře oxidace a pražení. S delší dobou fermentace se zvyšuje sladká chuť, intenzita květinové vůně a obsah theaflavinů. Naopak se snižuje množství galátových katechinů. Hlavními chuťově aktivními sloučeninami jsou zde katechiny, theaflavin, kofein a flavonové glykosidy [22].

Během fermentace vznikají nové dimerní a oligomerní polyfenoly, které nenajdeme v zeleném ani černém čaji. Jde například o theasinensiny. Oproti černému čaji má vyšší obsah katechinů a menší obsah polymerních polyfenolů [19]. Dle studie má intenzita hořkosti pozitivní korelaci s koncentrací katechinů a adstringentní chuť pozitivní korelaci s koncentrací flavonoidů [22].

Během vadnutí probíhá hydrolýza terpenalkoholových glykosidů, ze kterých vznikají terpenové alkoholy. Také dochází k oxidaci karotenoidů a lipidů. Z nich vznikají laktony, ketony a enoly. Dalšími těkavými látkami jsou gerandiol, linalool a jeho oxidy a fenylethylalkohol. Tyto dávají čaji květinovou vůni. Pro travnatou vůni jsou to zejména cis-3-hexenal, trans-2-hexenal a 2,4-hexandien. Protřepáváním a následnou fermentací se snižuje travnatá a zvyšuje květinová vůně [20]. Dalšími charakteristickými těkavými sloučeninami jsou indol, jasmínový lakton a (E)-nerolidol. Pražení při nižší teplotě se aromatické látky téměř nemění. Pražením při vysoké teplotě se jejich obsah snižuje.

Aminokyseliny mají pozitivní vliv na chuť nálevu. L-theanin zmírňuje hořkost a svíravost, zvyšuje chuť umami a sladkost. Kyselina L-glutamová zvyšuje umami chuť. Volné aminokyseliny jsou citlivé na neenzymatické reakce jako jsou Maillardova reakce a Streckerova degradace, které probíhají během pražení. Produktem těchto reakcí vznikají z aminokyselin, cukrů a pektinů nové látky. Jde zejména o pyraziny, pyrroly a furany [21].

2.1.5 Černý čaj



Obrázek 10: Černý čaj sypaný, nálev [23]

2.1.5.1 Charakteristika

Jde o nejoblíbenější druh čaje v Evropě. Zahrnuje až 78 % světové spotřeby čaje. Oxidací látek získává svoji charakteristickou barvu, chuť i vůni. Má červenooranžový nálev [19].

2.1.5.2 Technologie výroby

Technologie zahrnuje sklizeň, vadnutí, rolování, fermentaci a sušení listů.

Trhání lístků se provádí převážně ručně. Většinou se sbírají pupeny a první dva listy. Pokud se sklízí strojově, berou se i hrubší listy a celková hladina katechinů je tak nižší.

Následuje vadnutí, které snižuje vlhkost listů a ty jsou pak lépe zpracovatelné rolováním [14]. Zavadání se provádí na drátěných platech, pod která se vhání teplý vzduch. Lístky ztrácí asi 30 % vlhkosti. Listy po této fázi zůstávají zelené [1].

Rolování narušuje buněčnou strukturu a iniciuje oxidaci. Umožňuje kontaktu šťávy listů se vzduchem. Rozlišujeme dva postupy výroby čaje. Jde o ortodoxní a CTC výrobu. Rozdíl spočívá ve způsobu rolování. U CTC výroby se lístky drtí, trhají a rolují na malé kousky stejné velikosti. Tyto malé úlomky mají velký povrch a umožňují tak rychlou a intenzivní oxidaci. Zavadnutí, rolování a trhání lístků u CTC výroby se provádí opakovaně, tedy třikrát až čtyřikrát. Tato výroba čaje se používá zejména pro výrobu sáčkového čaje. Ortodoxní černý čaj se vyrábí svinováním lístků bez většího poškození struktury [24]. K rolování u ortodoxní výroby se využívají jednoduché stroje tzv. rollery [25].

Oxidace probíhá asi 45-90 minut v závislosti na teplotě. Teplota je mezi 20 °C a 30 °C. Je nutná vysoká vlhkost vzduchu a dostatečný přístup kyslíku [14]. Oxidace probíhá díky endogenním enzymům. Jde o listovou polyfenoloxidázu a peroxidázu. Během oxidace se mění barva a vůně listů. Vznikají barevné theaflaviny a thearubiginy a lístky získávají hnědou až měděnou barvu.

Výroba čaje je ukončena sušením fermentovaných lístků [24]. Oxidace je sušením zastavena. Suší se ohřátým vzduchem o teplotě 85 °C po dobu asi 20 minut.



Obrázek 11: Schéma výroby černého čaje

2.1.5.3 Obsažené látky

Během fermentace podléhají katechiny enzymaticky katalyzované oxidaci a polymeraci. To vede k přeměně většiny katechinů na oligomery theaflaviny a polymery thearubiginy. Hlavními theaflaviny jsou: theaflavin, theaflavin-3-galát, theaflaviny-3'-galát a theaflavin-3,3'-digalát [19]. Vznikají dvoukrokově. Nejprve probíhá oxidace katechinů za vzniku chinonů. Jde o enzymatickou katalýzu polyfenoloxidázou a peroxidázou. Ve druhém kroku chinony polymerizují. To se děje nukleofilní adiční reakcí. Vznikají katechinony. Ty následně oxidují na theaflaviny [26]. Tyto způsobují červenou až hnědou barvu nálevu a svíravou chuť čaje [13]. Významně přispívají k barvě a chuti černého čaje [14]. Jsou považovány za ukazatele kvality černého čaje [26]. Theaflaviny jsou v zastoupení asi 10 % z celkových čajových flavonoidů [19]. Při prodloužení fermentace se jejich hladina dále snižuje [14]. Thearubiginy jsou v zastoupení asi 50-60 % z celkových čajových flavonoidů [19]. Jejich vznik není objasněn tak dobře jako u theaflavinů. Mají červenohnědou barvu. Snadno tvoří nerozpustné komplexy s kofeinem. Jsou primárně zodpovědné za takzvané „krémování“ při ochlazení horkého černého čaje. Původních neoxidovaných katechinů v čaji zůstává asi 5-10 % z původního množství [14].

Tmavnutí lístků se děje také z důvodu přeměny chlorofylu na feofytiny a feoforbidy. V černém čaji bylo identifikováno asi 600 těkavých látek, z nich je asi 41 významných pro aroma čaje [9]. Hlavními látkami aromatu černého čaje jsou: benzylalkohol, geraniol, hexenyl hexanoát, cis-jasmon, linalool, methyl salicylát, nerolidol, fenylacetaldehyd, fenylethanol, terpineol [14].

2.1.6 Tmavý čaj (Pchu-er)



Obrázek 12: Pu erh lisovaný, nálev [27]

2.1.6.1 Charakteristika

Tmavý čaj se vyrábí speciální mikrobiální postfermentací. Vyráběn je převážně v Číně, původně v provincii Yunnan. Díky jeho specifickým senzorickým vlastnostem a zdravotním benefitům se mu dostává pozornosti po celém světě. Rozlišujeme různé druhy tmavého čaje dle techniky zpracování a geografického původu. Nejčastější jsou druhy Pu-erh a čaj Fu, který bývá vstlačený do cihly. Dalšími méně známými druhy jsou například Kangzhuan, Liubao a Qingzhuan [28]. Barva usušených lístků je tmavě kaštanová, barva nálevu oranžovo-červená. Čaj má díky mikrobiální postfermentaci staré a zatuchlé aroma a jemnou, sladkou chuť s málo výraznou hořkostí a svíravostí [29].

2.1.6.2 Technologie výroby

Výroba tmavého se skládá ze dvou částí. Nejdříve je vyroben surový tmavý čaj, který následně podléhá postfermentaci. Surový tmavý čaj bývá v Číně často vyráběn z listů čajovníku *Camellia assamica*. Výroba je podobná jako u zeleného čaje. Zahrnuje sběr, vadnutí, fixaci, rolování, sušení lístků na slunci a nakonec lisování. Po lisování vzniká surový tmavý čaj nebo také „zelený“ čaj. Tento se následně vlhčí a dává na hromady k postfermentaci [30].

Mikrobiální postfermentace je klíčovým krokem ve výrobě tmavého čaje. Mikroorganismy pochází z čaje, vzduchu, vody nebo výroby. Rozlišujeme dva typy výroby tmavého čaje. Tradičním způsobem postfermentace je skladování surového tmavého čaje na hromadách po několik let. Obvykle se jedná o více než pět let. Předpokládá se, že se kvalita zvyšuje s dobou skladování. Další možností je fermentace za kontrolovaných podmínek, vysoké vlhkosti a teploty. To umožňuje získat zralý tmavý čaj za kratší dobu [31]. Přesný proces postfermentace zatím není objasněn.

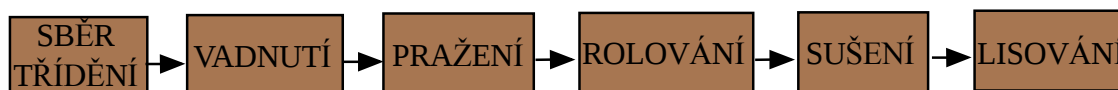
Fermentace probíhá na hromadách ve vlhkých podmínkách. Doba fermentace i teplota jsou u různých druhů různé. Teplota se pohybuje mezi 40 °C a 50 °C. Cihlový čaj Fu, cihlový čaj Hei, čaj Qianliang a čaj Tianjian se nechávají na hromadách asi 12-24 hodin. Čaj Pu-erh, Liupao čaj, Qing cihlový čaj a Kang cihlový čaj mají delší dobu fermentace. Během fermentace se hromady protřepávají, aby se zabránilo přehřátí. V průběhu se také mění mikrobiální složení.

Čaj Pu-erh je nejvíce prozkoumaný. Nejvíce zastoupeným organismem tohoto druhu čaje je plíseňový rod *Aspergillus*. Nejdominantnějším druhem je pak druh *Aspergillus niger*, který je označován jako bezpečný podle GRAS. Dále byly během fermentace objeveny i některé bakteriální rody. Konkrétně byly přítomné rody *Pseudomonas*, *Bacillus* a *Brevibacterium*.

Cihlový čaj Fu má nejsložitější postup postfermentace ze všech tmavých čajů. Tento proces se nazývá „kvetení“. Vytváří se během něj zlatavě hnědé skvrny uvnitř slisovaného čaje [29]. Tyto skvrny jsou způsobeny růstem houby *Aspergillus cristatum* (dříve také *Eurotium cristatum*).

Konečným krokem výroby je sušení zralého tmavého čaje [30].

Tmavý čaj je vyráběn více spontánní než řízenou postfermentací. Kvalita tmavého čaje je tedy ovlivněna rozmanitostí a strukturou mikroorganismů. To vede také k otázce bezpečnosti tmavého čaje. Během svého výrobního procesu je čaj snadno kontaminován i patogenními mikroorganismy [29].



Obrázek 13: Schéma výroby surového tmavého čaje



Obrázek 14: Schéma výroby zralého tmavého čaje

2.1.6.3 Obsažené látky

Hlavní vliv na chemický a senzorický profil čaje má mikrobiální postfermentace. Během této fáze prochází mnoho složek biochemickými změnami. Jsou to zejména katechiny, fenolové kyseliny a flavonoidy s jejich glykosidy. Často jsou vzniklé látky zdraví prospěšné a biologicky aktivní [28].

V čaji jsou přítomné základní katechiny jako v zeleném čaji. Jejich koncentrace je však nižší. Po mikrobiální fermentaci bylo zjištěno množství katechinů ve zralém čaji Pu-erh nižší o více než 70 %. Hladiny EGCG a ECG jsou sníženy na téměř nedetekovatelné množství a hladiny GA se významně zvyšují. Studie ukazují, že změny galátových katechinů (EGCG, GCG, ECG a CG) a negalátových katechinů [EGC, EC, (+)-katechin a GC] však nejsou konzistentní. Galátové katechiny jsou důsledně degradovány během mikrobiální fermentace, zatímco hladiny negalátových katechinů a kyseliny galové se zvyšují nebo zůstávají nezměněny v rané fázi fermentace a poté klesají až do konce fermentačního procesu. Během hydrolýzy katechinů se uvolňují negalátové katechiny, kyselina galová a jednoduché fenolové kyseliny. Bylo zjištěno, že stejné kyseliny vznikají také během biotransformace katechinů střevní mikroflórou [29].

Ve tmavém čaji byli identifikovány podobné hladiny celkových katechinů jako v černém čaji. Produkty oxidace katechinů, theaflaviny a thearubiginy, byly však u tmavého čaje nedetekovatelné [31].

Vznikají zde také některé nové deriváty katechinů. Byly nalezeny například purieny A a purieny B. Dále se zvyšuje množství theabrowninu a fenolové kyseliny. Řada reakcí, včetně degradace, oxidace, kondenzace, strukturální modifikace, methylace a glykosylace, je katalyzována mikrobiálními exoenzymy nebo se vyskytuje v důsledku mikrobiálního metabolismu.

Charakteristickými látkami tmavého čaje jsou theabrowniny. Jde o červenohnědé až hnědé, ve vodě rozpustné, makromolekulární pigmenty. Jsou složeny z řady sloučenin včetně fenolických látek, alkaloidů, polysacharidů, proteinů a aminokyselin. Jejich hmotnost se pohybuje mezi 4 kDa a 100 kDa. O jejich vzniku není mnoho známo. Čajové polyfenoly, hlavně katechiny, se nejprve oxidují na chinony. Chinony jsou dále oxidovány a polymerovány na theaflaviny a thearubiginy. Tyto jsou nakonec oxidovány a polymerovány s jinými látkami (např. polysacharidy, proteiny a kofeinem) za vzniku theabrowninů. Chinony lze však přímo oxidovat a polymerovat na theabrowniny bez konverze na meziprodukty theaflaviny a thearubiginy.

Významný příspěvek k chuti čajového nálevu mají flavonoly a flavony. Dávají mu svíravost a hořkost. Mohou i významně zvyšovat hořkost kofeinu. Ve tmavém čaji se flavonoly a flavony odbourávají mikrobiální fermentací. Studie ukázala jejich pokles ve zralém čaji Pu-erh přibližně o 65 % oproti surovému tmavému čaji.

Ve tmavém čaji byli také zjištěny některé statiny, které jsou v čaji jinak nezvyklé. Byl nalezen například lovastatin a simvastatin.

Celkový obsah aminokyselin se mikrobiální fermentací snižuje. Studie ukázala, že obsah theaninu klesl asi o 94 % a tryptofanu asi o 20 %. Naopak obsah alaninu, argininu a isoleucinu vzrostl. Tyto změny významně ovlivňují chuť tmavého čaje. Během mikrobiální fermentace podléhají aminokyseliny různým složitým reakcím za tvorby těkavých aldehydů. Jde například o Maillardovu reakci. Zároveň ale podléhají peptidy a proteiny degradaci a vznikají tak další volné aminokyseliny.

Aroma tmavého čaje se od ostatních druhů významně liší. Tento druh má „zatuchlé“ aroma. Toto aroma je primárně způsobeno skupinou těkavých methoxyfenolových

sloučenin. Jde například o 1,2-dimethoxybenzen, 1,2,3-trimethoxybenzen, 1,2,3-trimethoxy-5-methylbenzen [29]. Nejhojněji zastoupenou těkavou složkou je kyselina hexadekanová. Dále významně přispívají k aromatu tmavého čaje terpenoidy. Hojně zastoupeny jsou například α -terpineol, α -ionon, β -ionon, linalool a oxidy linaloolu [30]. Hlavním alkaloidem je kofein. Přispívá k hořké chuti nálevu. Studie ukázaly, že se obsah kofeinu během mikrobiální fermentace snižuje. Jeho hladina je po fermentaci u zralého čaje Pu-erh přibližně o 30 % nižší než u surového tmavého čaje. Hlavními degradačními produkty kofeinu jsou theofylin a 3-methylxanthin. Jejich hladiny jsou tedy po mikrobiální fermentaci zvýšeny. [29].

2.2 Zdravotní benefity čaje

Zelený čaj je velkým zdrojem antioxidantů. Jedná se zejména o polyfenoly. Mnoho studií potvrdilo aktivitu EGCG pohlcující volné radikály in vitro a in vivo. Bylo zjištěno, že čajové katechiny jsou lepšími antioxidanty než vitamíny C a E, tokoferol a karoten. Antioxidační aktivita čajových polyfenolů není způsobena pouze jejich schopností vychytávat superoxidy, ale také zvýšenou aktivitou některých detoxikačních enzymů jako je glutathionperoxidáza, glutathionreduktáza, glutathion-S-transferáza, kataláza a chininreduktáza v tenkém střevě, játrech a plicích. Antioxidační vlastnosti čaje mohou zabránit ateroskleróze [32].

Polyfenoly přítomné v čaji mohou, jako silné antioxidanty, hrát důležitou roli v prevenci rakoviny. Snižují poškození DNA v buňce. To může aktivovat rakovinu vedoucí k malignímu onemocnění. Mnoho studií potvrdilo, že polyfenoly ze zeleného a černého čaje působí v mnoha bodech na rakovinné buňky. Regulují růst rakovinných buněk, jejich přežití a metastázu, dále také regulují účinky na DNA, RNA a hladiny proteinů. Polyfenoly zeleného čaje inhibují angiogenezi a metastázy a indukují zastavení růstu a apoptózu prostřednictvím regulace více signálních drah [33].

Zelený čaj je také prospěšný pro kardiovaskulární systém. Snižuje hladinu cholesterolu a zabraňuje shlukování krevních destiček. Klinická studie ukázala, že pět porcí černého čaje denně snížilo u dospělých s mírnou hypercholesterolemií lipoprotein s nízkou hustotou (LDL) o 11,1 % a celkový cholesterol o 6,5 %. Předpokládá se, že důvodem je potenciální schopnost čaje omezit vstřebávání cholesterolu ve střevech. Studie také zjistila, že pravidelná konzumace čaje snižuje riziko vzniku vysokého tlaku [34][35].

Theofylin v čaji se používá k prevenci respiračních onemocnění, jako je sípání, dušnost a potíže s dýcháním způsobené astmatem, chronickou bronchitidou, rozedmou plic a dalšími plicními chorobami. Uvolňuje a otevírá dýchací cesty v plicích, což usnadňuje dýchání.

Čaj se zejména v Číně používá jako domácí lék na popáleniny, rány a otoky. Obklad ze zeleného čaje zmírňuje svědění a zánět při bodnutí hmyzem, obklad zastavuje krvácení. Taniny a flavonoidy čaje mají antiseptické vlastnosti. Taniny mají také protizánětlivé účinky. Složky zeleného čaje mohou být užitečné lokálně pro podporu regenerace kůže, hojení ran nebo léčbu určitých epitelálních stavů, jako jsou afty, lupénka a aktinická keratóza. EGCG nebo směs hlavních polyfenolů zeleného čaje v určitých koncentracích stimulovaly stárnoucí keratinocyty k syntéze DNA, případně k obnovení buněčného dělení [32].

Protože zelený čaj obsahuje adstringentní taninové sloučeniny, může zmírnit zažívací potíže, průjem a další formy gastrointestinální dysfunkce. Čaje s antibakteriálními, antioxidačními, antiseptickými a detoxikačními vlastnostmi jsou velmi účinné při léčbě

infekční úplavice a také při zmírňování zánětlivého onemocnění střev. Díky tomu je čaj užitečný jako domácí lék na různé zažívací potíže.

Studie na zvířatech odhalily, že zelený čaj může mít vlastnosti, které brání rozvoji diabetu 1. typu a zpomalují progresi, jakmile se rozvine. Čajové polyfenoly snižují hladinu glukózy v séru inhibicí aktivity enzymu štěpícího škrob, amylázy. Čaj inhibuje jak slinnou, tak střevní amylázu. V důsledku toho se škrob odbourává pomaleji a náhlý vzestup glukózy v séru je minimalizován.

Čajovníky extrahují fluor z půdy, který se pak hromadí v listech. Čaj je proto velmi bohatým zdrojem fluoru a jeden šálek čaje může obsahovat 0,3 mg až 0,5 mg fluoridu. Ten má silnou vazebnou schopnost k částicám skloviny na povrchu zubu, což zabraňuje vzniku zubního kazu. Ex vivo klinické studie na lidech naznačily, že pravidelné pití čaje může snížit výskyt a závažnost zubního kazu.

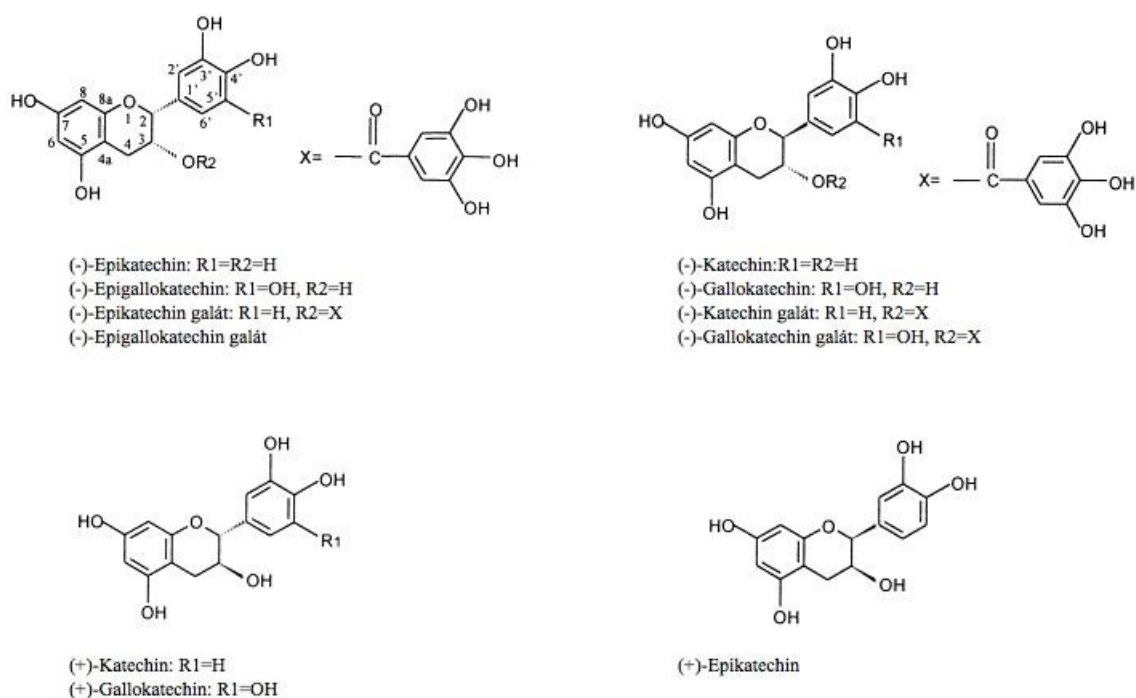
Bylo prokázáno, že čajový extrakt má virocidní aktivitu proti dětské obrně, chřipce a viru herpes simplex. Katechin ze zeleného čaje má antimikrobiální a antivirové účinky proti řadě infekčních agens [32].

2.3 Fenolické látky

Fenolické látky jsou polyhydroxylované sloučeniny. Jde o významné sekundární metabolity rostlin [36]. Jejich tvorba v rostlinách je zvýšena vlivem vnějšího stresu jako je ultrafialové záření, chlad, sucho nebo patogenní infekce [37]. Vyskytují se ve vnějších částech rostlin, zejména v listech a květech.

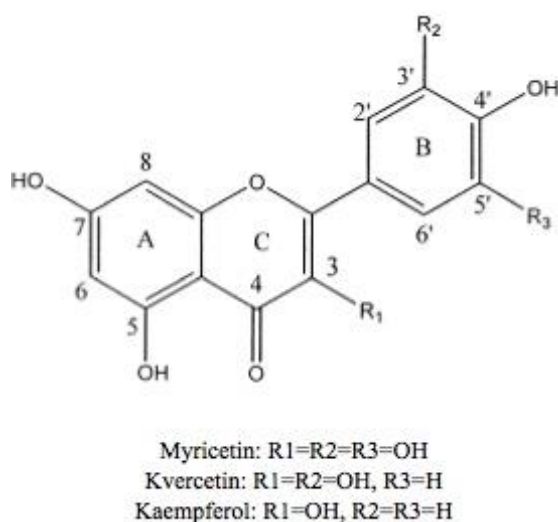
Dělí se na základě struktury, která je velmi rozmanitá. Jde o jednoduché fenoly až po polymerní taniny. Základních dělení fenolických látek je na flavonoidy a fenolové kyseliny. Flavonoidy se dále dělí na antokyanidy, flavanoly, flavony, flavonoly, flavanony a isoflavonoidy. Flavonoidy se v rostlinách vyskytují nejčastěji ve formě glykosidů. Výjimkou jsou flavanoly, také nazývané katechiny [36].

V čaji jsou obsaženy zejména flavanoly a flavonoly. flavanoly neboli katechiny zahrnují až 20-30 % sušiny zeleného čaje. Jsou to bezbarvé, ve vodě rozpustné látky. Způsobují hořkost s svíravost čajového nálevu [38]. Katechiny obsažené v čajích jsou katechin, epikatechin, galokatechin, epigalokatechin, katechin galát, epikatechin galát, galokatechin galát, epigalokatechin galát, prokyanidin C1, prokyanidin B1 a theasinensin C [39].



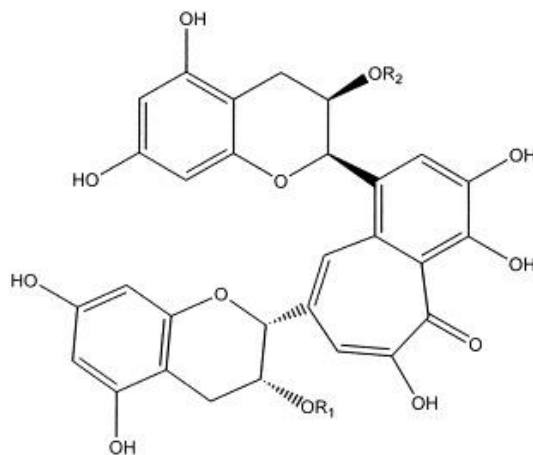
Obrázek 15: Vzorce vybraných katechinů

Flavonoly jsou v čajích, jak je zmíněno výše, přítomny ve formě glykosidů. Cukerné části glykosidů se skládají nejčastěji z glukózy, rhamanózy, galaktózy, arabinózy a fruktózy [38]. V čajových listech jsou nejvíce zastoupeny kvercetin, kaempferol a myricetin. Mezi flavonolové glykosidy se řadí například astragalin a rutin [39]. Glykosidicky nevázané flavonoly se v čajovém nálevu nenacházejí ve vysokých množstvích. To je způsobeno jejich špatnou rozpustností ve vodě.



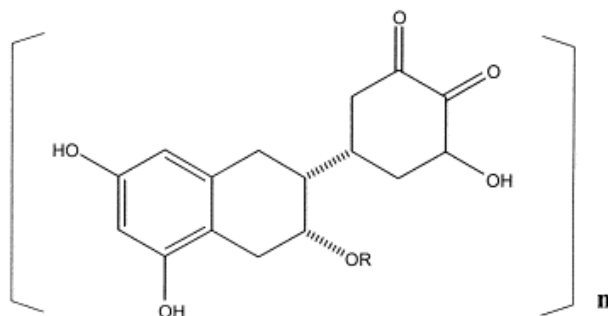
Obrázek 16: Vzorce vybraných flavonolů

Z fenolických sloučenin jsou v čaji přítomny dále pigmenty. Jde o theaflaviny a thearubiginy. Theaflaviny vznikají reakcí katechinových chinonů a gallokatechinu. Hlavními theaflaviny v čaji jsou theaflavin, theaflavin 3-galát, theaflavin 3'-galát a theaflavin 3,3'-digalát. Vznik thearubiginů není zatím objasněn. Obsah theaflavinů v černém čaji je asi 0,3-2 % sušiny a thearubiginů 10-20 % sušiny.



Theaflavin: R1=R2=H
 Theaflavin 3-galát: R1=galát, R2=H
 Theaflavin 3'-galát: R1=H, R2=galát
 Theaflavin 3,3'-digalát: R1=R2=galát

Obrázek 17: Vzorce vybraných theaflavinů



Obrázek 18: Vzorec thearubiginů

V nižších koncentracích se v čaji nacházejí i fenolové kyseliny [38]. Mezi tyto kyseliny patří například kyselina galová, kyselina ellagová, kyselina chlorogenová, theogallin, pyrogallová kyselina, kyselina kumarová, kyselina kávová, kyselina ferulová a kyselina skořicová [39].

Pro stanovení celkových polyfenolů se využívá Folin-Ciocalteuova testu. Pro kvalitativní i kvantitativní stanovení jednotlivých fenolických látek je často využívána vysokoúčinná kapalinová chromatografie. Pro analýzu je časté použití kolon s reverzní fází. Jako eluční mobilní fáze jsou využívány methanolové a acetonitrilové roztoky. Nejčastěji jsou využívány UV detektory nebo detektory s diodovým polem, dále také elektrochemické, fluorimetrické nebo chemiluminiscenční detektory [38].

3 PRAKTICKÁ ČÁST

3.1 Použité chemikálie, přístroje a materiál

3.1.1 Chemikálie

3.1.1.1 *Standardy fenolických látek*

Rutin hydrát, ≥ 94 %, Sigma Aldrich
p-Kumarová kyselina, ≥ 98 %, Fluka
(+)-Katechin hydrát, ≥ 98 %, Sigma Aldrich
(-)-Epigallocatechin galát, ≥ 95 %, Sigma Aldrich
Kvercetin dihydrát, ≥ 98 %, Sigma Aldrich
(-)-Epikatechin, ≥ 98 %, Sigma Aldrich
(-)-Galokatechin galát, ≥ 98 %, Sigma Aldrich
(-)-Epikatechin galát, ≥ 98 %, Sigma Aldrich
(-)-Galokatechin, ≥ 98 %, Sigma Aldrich
Protokatechová kyselina, ≥ 98 %, HWI Group
Kyselina kávová, ≥ 98 %, Sigma Aldrich
Kyselina galová, ≥ 98 %, Sigma Aldrich
Kaempferol, ≥ 98 %, Fluka

3.1.1.2 *Ostatní*

Methanol, $\geq 99,9$ %, Fisher chemical
Kyselina mravenčí, 99-100 %, VWR Chemicals
Voda LC-MS, Fisher chemical

3.1.2 Přístroje

Míchačka magnetická RO 10, IKA
Analytické váhy, Sartorius
Mikropipety, Thermo Fisher Scientific
Analýza LCMS:

Soustava LC/MSD Series, 1260 Infinity EL5D, Agilent InfinityLab
Kolona, Kinetex, 5 μm , EVO C18, LC, 250x4,6 mm

Analýza HC-SPME-GC:

Plynový chromatograf TraceTM 1310 se split/splitless injektorem, Thermo Fisher Scientific
Kapilární kolona TG-WaxMS (30 m $\times$ 0,25 mm $\times$ 0,5 μm)
Hmotnostní detektor ISQTM LT Single Quadrupole, Thermo Fisher Scientific

3.1.3 Materiál

Tabulka 1: Seznam použitých vzorků čaje

Název	Druh čaje	Země původu	Označení v práci
Ceylon gunpowder	Zelený	Srí Lanka	Z1
Bancha	Zelený	Japonsko	Z2
China gunpowder	Zelený	Čína	Z3
Lung Ching - Dračí studna	Zelený	Čína	Z4
Bio Yunnan green	Zelený	Čína	Z5
Ceylon OPA	Zelený	Srí Lanka	Z6
China Yunnan	Černý	Čína	Č1
Earl grey	Černý	Srí Lanka	Č2
Ceylon Nuwara Eliya	Černý	Srí Lanka	Č3
Bio Gruzie Ozurgeti	Černý	Gruzie	Č4
Assam Nahorhabi	Černý	Indie	Č5
Assam CTC	Černý	Indie	Č6
Tie Kuan Yin - Železná bohyně milosrdenství	Oolong	Čína	O1
Ceylon Oolong	Oolong	Srí Lanka	O2
Pu-Erh	Tmavý	Čína	SP1
Pu-Erh Power	Tmavý	neuvedena	SP2
Rooibos Massai	Rooibos	neuvedena	SP3
Bio Jpan Kukicha	Zelený	Japonsko	SP4

Všechny použité vzorky čajů pochází od prodejce Čaj a káva Michal s.r.o.

3.2 Stanovení fenolických látek v čajových extraktech

Vzorky čaje byly podle potřeby nadrceny. Do kádinky byla převedena navážka čaje 1 g a bylo přidáno 10 ml směsi vody pro LC analýzu a methanolu v poměru 1:1. Extrakce probíhala po dobu 30 minut za stálého míchání. Extrakt byl přefiltrován. Do vialek byl extrakt zředěn výše zmíněnou směsí methanolu a vody v poměru 1:1.

Analýza vzorků byla provedena na koloně Kinetex EVO C18 o rozměrech 250x4,6 mm a zrnitosti 5 µm. Kolona byla vyhřívána na 35 °C. Eluce probíhala gradientově. Mobilní fáze byla složena z 1% kyseliny mravenčí a methanolu. Poměrové složení mobilní fáze v průběhu gradientové eluce je uvedeno v Tabulce 2. Průtok mobilní fáze byl 1 ml/min. Nástřik vzorku byl v objemu 5 µl. Detekce byla pomocí hmotnostního spektrometru s teplotou plynu 325 °C a napětím kapiláry 3500 V. průtok plynu byl 10 l/min.

Tabulka 2: Složení mobilní fáze v průběhu analýzy LC/MS

t [min]	HCOOH 1% [%]	Methanol [%]
0	90	10
2,5	90	10
20	10	90
20,01	50	50
25	50	50
25,01	90	10

Za stejných podmínek byla provedena kalibrace. Pro kalibraci byly využity standardy epigalokatechin galátu, galokatechin galátu, katechinu, epikatechinu, kyseliny kumarové a galové, kvercetin, rutin, kaempferol, kyseliny protokatechové, epikatechin galátu, galokatechinu a kyseliny kávové.

3.3 Stanovení fenolických látek v čajovém nálevu

Navážka 5,5 g čaje byla převedena do čajového sítka v kádince. Pro čaj rooibos byla navážka 2 g. Bylo přidáno 175 ml horké vody. Pro japonské zelené čaje (Bancha) byla teplota vody 65 °C a délka extrakce 30 s. Pro ostatní zelené čaje byla teplota vody 75 °C a délka extrakce 30 s. Pro čaj oolong byla použita teplota vody 85 °C a délka extrakce 1,5 minuty. Pro černé čaje byla teplota vody 100 °C a délka extrakce 2 minuty. Pro tmavé čaje byla teplota vody 95 °C a délka extrakce 2 minuty. Pro čaj rooibos byla teplota vody 100 °C a délka extrakce 4 minuty [40]. Extrakt byl přefiltrován do vialek.

Analýza vzorků metodou HPLC byla provedena za stejných podmínek jako výše zmíněná analýza fenolických látek v čajových extraktech.

3.4 Analýza těkavých látek v čaji

Příprava vzorků pro analýzu těkavých látek

Vzorky čajů byly podle potřeby nadrceny. Do vialek pro analýzu GC bylo naváženo 200 mg vzorku.

Identifikace vzorků byla provedena metodou headspace mikroextrakce na pevnou fázi ve spojení s plynovou chromatografií s hmotnostní detekcí (HS-SPME-GC-MS).

Podmínky SPME extrakce:

- Doba extrakce: 20 minut, doba inkubace: 10 minut
- Agitátor: zapnutý 5 sekund, vypnutý 60 sekund, teplota 40 °C

Podmínky analýzy:

- Teplota injektoru: 230 °C
- Doba desorpce: 20 minut
- Dávkování: splitless, ventil uzavřen 10 minut
- Nosný plyn: helium s průtokem 1 ml/min
- Teplotní program: 40 °C výdrž 1 minutu, vzestupný gradient 5 °C/min, do 220 °C výdrž 12 minut
- Celková doba analýzy: 55 minut
- Hmotnostní detektor:
 - mód: EI, teplota iontového zdroje 200 °C, skenovací rozsah: 30-370 amu, začátek skenování: 5,5 min, rychlost skenování: 0,2 s

4 VÝSLEDKY A DISKUSE

Analyzovanými vzorky byly sypané čaje. Pro základní mezidruhové srovnání bylo vybráno 6 zelených a 6 černých čajů, pocházejících z různých zemí. Dále byly pro analýzu vybrány dva čaje oolong a speciální čaje jako pu erh, rooibos a kukicha. Jelikož jsou u čajů oolong možné různé stupně oxidace, byly vybrány čaje s nižším a vyšším stupněm oxidace. Jelikož jsou čaje pu erh hůře sehnatelné, jeden druh byl zvolen ve směsi s květy a ovocem. Kukicha je druh zeleného japonského čaje, který se skládá nejen z lístků, ale i stonků a řapíků, které se běžně vyhazují [41]. Rooibos není pravým čajem. Lístky pro přípravu tohoto nápoje se získávají z keře *Aspalathus Linearis* neboli Čajovce kapského. K vzorkům byl zařazen kvůli jeho údajné antioxidační aktivitě způsobené fenolickými látkami podobnými jako u čaje pravého [42].

Ve vzorcích byly analyzovány vybrané druhy fenolických látek a následně byly čaje srovnány mezidruhově a porovnány se speciálními čaji. Dále byly čaje srovnány dle oblasti pěstování. Proběhla i analýza těkavých látek, která pomohla k charakterizaci sypaného čaje.

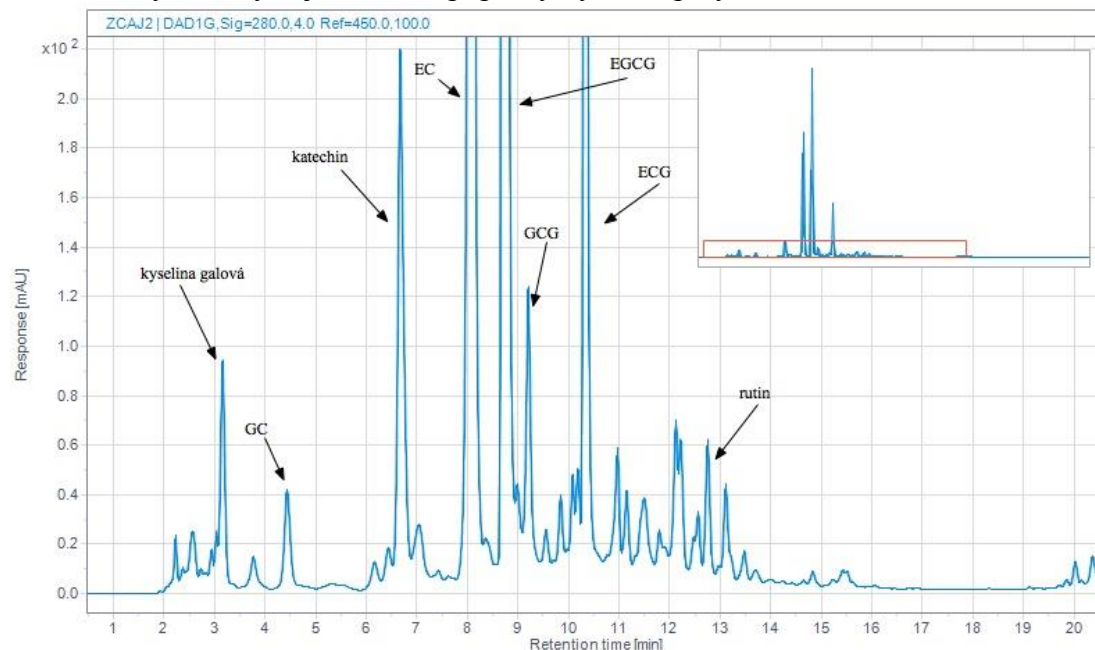
4.1 Stanovení fenolických látek v čajových methanolových extraktech

Fenolické látky byly analyzovány výše zmíněnou metodou LC/MS a data byla následně vyhodnocena pomocí softwaru pro identifikaci látek. Standardy byly nejprve samostatně analyzovány pro zjištění jejich retenčního času a hmotnostního spektra. Tyto informace pro jednotlivé analyty jsou uvedeny v Tabulce 3.

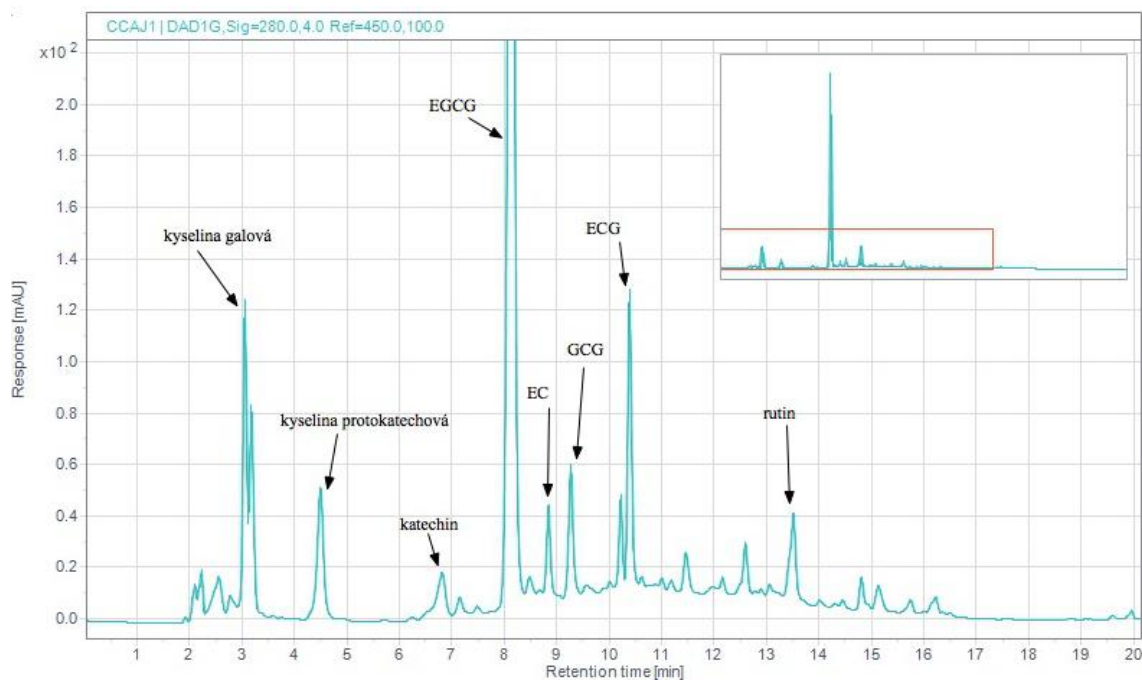
Tabulka 3: Retenční časy a hmotnostní spektra analyzovaných látek

Látka	Rt [min]	m/z [-]
EGCG	9	457,1
GCG	9,8	457,169
Katechin	6,8	288,9
EC	8,7	288,9
ECG	10,3	441,1
GCG	4	305
Kyselina kumarová	9,9	118,9
Kyselina galová	3	168,9
Kvercetin	14,6	301
Rutin	12,7	609,1
Kaempferol	15,99	285
Kyselina protokatechová	4,4	108,9
Kyselina kávová	8,1	178,9

Na Obrázku 19 a Obrázku 20 jsou uvedeny chromatogramy methanolových extraktů čajů. Jde o zelený a černý čaj. Jsou zde popsány vybrané píky.



Obrázek 19: Chromatogram zeleného čaje Bancha



Obrázek 20: Chromatogram černého čaje China Yunnan

Obsah fenolických látek v čajích byl stanoven duplicitně. Odchylka mezi měřeními činila méně než 10 %. Stejnou metodou byly provedeny kalibrace s využitím jednotlivých standardů. Kalibrační křivky i s regresními rovnicemi a regresním koeficientem jsou uvedeny v příloze této diplomové práce. Pomocí regresních rovnic byly vypočítány koncentrace jednotlivých fenolických látek v čajovém extraktu. Pro výpočet koncentrací byly použity výšky píků. Koncentrace fenolických látek byla následně přepočtena na mg na g sypaného čaje.

Tabulka 4: Obsah vybraných katechinů v methanolových extraktech čaje [mg/g]

Vzorek	Označení vzorku	EGCG	GCG	Katechin	EC	ECG	GC
Ceylon gunpowder	Z1	7,51	0,476	0,325	0,477	2,215	1,29
Bancha	Z2	7,74	0,437	0,245	0,623	2,14	1,03
China gunpowder	Z3	6,98	0,499	0,263	0,414	2,02	0,736
Dračí studna	Z4	6,84	1,57	0,340	0,280	2,15	0,991
Bio Yunnan green	Z5	1,14	n.d.	0,511	1,19	1,65	0,0669
Ceylon OPA	Z6	7,96	0,389	0,544	0,662	2,35	1,57
China Yunnan	Č1	0,684	n.d.	0,117	0,0791	1,05	0,0179
Earl grey	Č2	4,29	n.d.	0,312	0,394	1,81	0,180
Ceylon Nuwara Eliya	Č3	6,69	0,0574	0,723	0,560	2,25	0,926
Bio Gruzie Ozurgeti	Č4	0,149	n.d.	0,0016	n.d.	0,111	0,0043
Assam Nahorhabi	Č5	4,86	n.d.	0,519	0,356	1,86	0,251
Assam CTC	Č6	1,24	n.d.	0,0439	n.d.	0,500	0,0289
Železná bohyně milosrdenství	O1	6,86	0,203	0,320	0,828	1,86	0,968
Ceylon Oolong	O2	6,76	0,710	0,475	0,366	2,17	1,32
Pu-Erh	SP1	0,958	n.d.	0,151	0,472	0,674	0,0952
Pu-Erh Power	SP2	0,0620	n.d.	0,0532	0,0144	0,0279	0,0537
Rooibos Massai	SP3	0,0426	n.d.	0,0158	n.d.	0,0005	n.d.
Bio Japan Kukicha	SP4	7,43	0,272	0,410	0,798	1,82	0,795

n.d. – látka nebyla detekována

Tabulka 5: Obsah ostatních vybraných flavonoidů a fenolových kyselin v methanolovém extraktu čaje [mg/g]

Vzorek	Označení vzorku	Kyselina kumarová	Kyselina galová	Kvercetin	Rutin	Kampferol	Kyselina protocatechová	Kyselina kávová
Ceylon gunpowder	Z1	0,0133	3,92	0,138	0,561	0,281	0,148	0,345
Bancha	Z2	n.d.	0,0973	n.d.	0,451	n.d.	0,0032	0,0135
China gunpowder	Z3	0,0014	0,509	n.d.	0,298	0,0007	0,0155	0,0464
Dračí studna	Z4	n.d.	0,531	n.d.	0,247	0,0025	0,0063	0,0449
Bio Yunnan green	Z5	0,0102	1,11	0,0100	0,667	0,0503	0,0678	0,105
Ceylon OPA	Z6	0,0025	0,997	0,0721	1,12	0,0406	0,257	0,189
China Yunnan	Č1	0,0098	0,958	n.d.	0,337	0,0377	0,0396	0,0427
Earl grey	Č2	n.d.	1,42	n.d.	0,649	0,0752	0,0192	0,148
Ceylon Nuwara Eliya	Č3	n.d.	1,16	n.d.	0,912	0,0546	0,0151	2,51
Bio Gruzie Ozurgeti	Č4	0,0092	0,489	n.d.	0,0714	n.d.	0,0411	n.d.
Assam Nahorhabi	Č5	0,0069	1,84	n.d.	0,313	0,110	0,0141	0,0598
Assam CTC	Č6	0,0071	0,951	n.d.	0,384	0,0369	0,0279	0,0738
Železná bohyně milosrdenství	O1	n.d.	0,0683	n.d.	0,459	n.d.	0,0052	0,0128
Ceylon Oolong	O2	0,0022	0,976	0,0072	0,719	0,0395	0,0654	0,178
Pu-Erh	SP1	0,0030	1,54	0,0389	0,179	0,0858	0,0892	0,0396
Pu-Erh Power	SP2	n.d.	1,30	0,0200	0,208	0,0658	0,0582	0,125
Rooibos Massai	SP3	0,129	0,0184	0,0686	0,585	n.d.	0,115	0,0176
Bio Japan Kukicha	SP4	n.d.	0,118	n.d.	0,246	n.d.	0,0093	0,0319

n.d. – látka nebyla detekována

Z Tabulky 4 a Tabulky 5 výše je znatelný vyšší obsah většiny katechinů u zelených čajů a čajů oolong oproti fermentovaným černým čajům.

V práci [43] o změnách aminokyselin, katechinů, alkaloidů a kyseliny galové v různých druzích čajů, byla prováděna extrakce čajů podobným způsobem jako v této diplomové práci. Místo míchačky byla použita ultrasonická lázeň. Koncentrace katechinů [43] jsou vyšší než koncentrace stanovené v této diplomové práci. To může být způsobeno intenzitou míchání při extrakci. Dále také dobou skladování vzorků před samotnou analýzou, kdy mohlo dojít k oxidaci některých látek. Trend poklesu katechinů u černých čajů oproti zeleným čajům [43] koreluje s touto diplomovou prací. V literatuře uvedená koncentrace EGCG [43] činí u zeleného čaje průměrně 27,9 mg/g u černého čaje 4,67 mg/g. Kyselina galová má potom opačný trend. U zelených čajů činí její koncentrace 0,1 mg/g a u černých čajů 0,76 mg/g.

Výsledky této diplomové práce potvrdily předpoklad vyššího obsahu katechinů u zelených čajů a vyššího obsahu rozkladných produktů, zde kyseliny galové, v černých čajích. Fermentace tedy zřejmě způsobila rozklad katechinů u černých čajů [43].

U ostatních flavonoidů a fenolových kyselin není viditelný rozdíl mezi jednotlivými druhy čajů s výjimkou výše zmíněné kyseliny galové a kvercetinu, který v černých čajích nebyl identifikovaný vůbec. Koncentrace kvercetinu a kaempferolu byly v čajích téměř zanedbatelné oproti obsahu rutinu. To bylo zřejmě způsobeno tím, že jsou kvercetin a kaempferol flavonoly, které se v nevázané formě v čajích téměř nevyskytují. Nejčastěji se vyskytují v glykosidicky vázané formě, kterou je například rutin.

Při srovnání stejných druhů čaje se výrazně odlišují bio čaje, jak u zelených, tak u černých čajů. Tyto vzorky (Z5 a Č4) vykazovaly výrazně nižší obsah katechinů a kyseliny galové proti ostatním vzorkům stejného druhu. Dále byl zjištěn nižší obsah katechinů a kyseliny galové u vzorku Assam CTC (Č6), který pochází ze stejné oblasti jako Assam Nahorhabi (Č5), ale prochází jiným způsobem zpracování. U tohoto vzorku zřejmě došlo k intenzivnější fermentaci vlivem technologického postupu, při kterém jsou lístky více nadrceny a mačkány. S množstvím katechinů koreluje i barva nálevů. Při srovnání vzorků Č6, kde je nejnižší obsah katechinů a Č3, kde je nejvyšší obsah katechinů ze všech černých čajů, je patrná výrazně tmavší barva nálevu u vzorku Č6. To koreluje s předpokladem, že se z katechinů následně tvoří čajová barviva theaflaviny a thearubiginy.



Obrázek 21: Srovnání nálevů černých čajů vzorků Č6 (vlevo) a Č3 (vpravo)

V případě ostatních speciálních čajů bylo pro analýzu k dispozici jen malé množství vzorků. U čajů oolong byly analyzovány dva vzorky. Vzorek železná bohyně milosrdenství měl mít dle prodejce nižší stupeň fermentace oproti vzorku Ceylon oolong. Toto potvrzují i Obrázek 22 a Obrázek 23, na kterých jsou vyfoceny oba druhy čajů v sypané formě a ve formě nálevů. Jsou zde patrné rozdíly v barvách. Vzorek železná bohyně milosrdenství (na obrázcích vlevo) má zelenější lístky a světlejší nálev než ceylon oolong. Obsah katechinů ve vzorku O1 by tedy měl být o něco vyšší než u vzorku O2. Vyšší obsah je však pouze u EGCG a EC. To může být způsobeno například malým rozdílem ve stupni fermentace, odlišnou oblastí pěstování či různým kultivarem rostliny. Oba vzorky jsou obsahem katechinů podobné spíše zeleným čajům. Na ostatní flavonoidy a fenolové kyseliny je výrazně bohatší vzorek O2. U vzorku O1 nebyly některé analyty vůbec detekovány. Konkrétně to byly kyselina kumarová, kvercetin a kaempferol. To může být způsobeno tvorbou nových látek během fermentace.



Obrázek 22: Srovnání sypaných čajů oolong železná bohyně milosrdenství (vlevo) a ceylon oolong (vpravo)



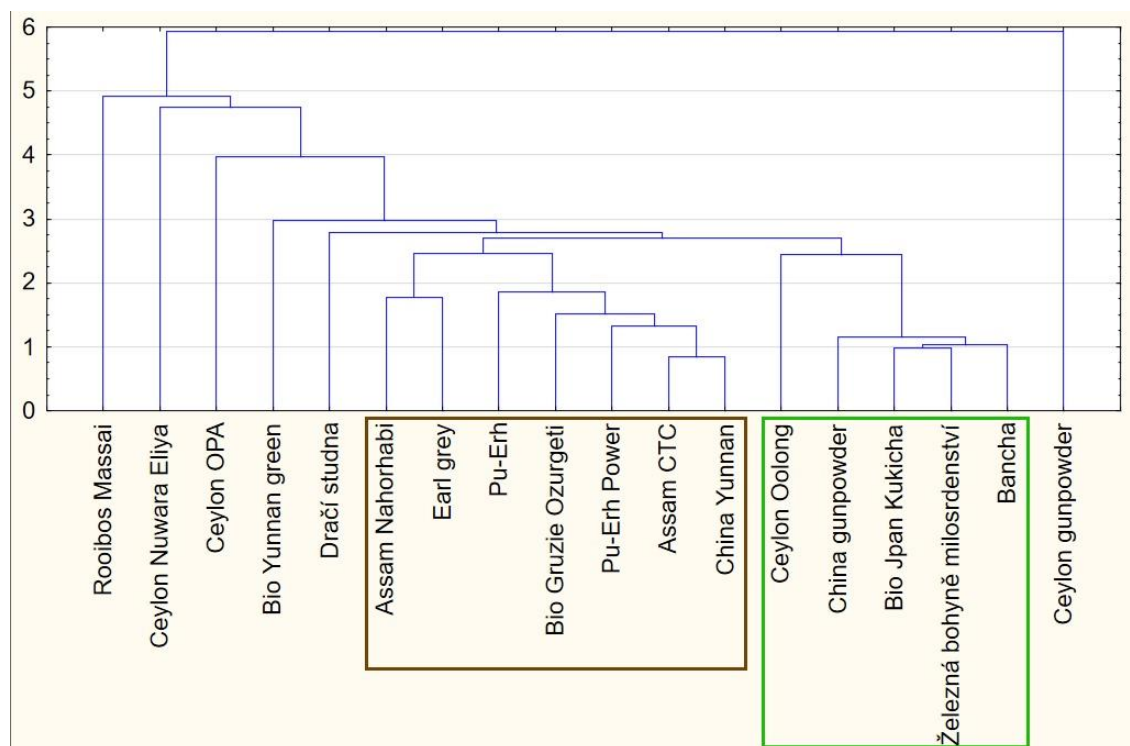
Obrázek 23: Srovnání nálevů čajů oolong železná bohyně milosrdenství (vlevo) a ceylon oolong (vpravo)

Dalšími speciálními čaji byly tmavé čaje Pu erh. Jeden vzorek (Pu erh, SP1) byl čistý a druhý vzorek (Pu erh power, SP2) byl ve směsi s ovocem a čajem maté, který není vyrobený z čajovníku a neobsahuje velké množství fenolických látek. Zřejmě z tohoto důvodu byly obsahy všech měřených látek, vyjma rutinu a kyseliny kávové, nižší než u vzorku SP1. Obsahem katechinů byl vzorek SP1 spíše podobný černým čajům. Zajímavý je obsah flavonolů ve vzorku SP1. Obsah kvercetinu a kaempferolu je vyšší než u většiny ostatních vzorků. Naopak obsah rutinu je nižší než u ostatních vzorků. To mohlo být způsobeno odlišným způsobem fermentace černých a tmavých čajů, kdy mohlo dojít k rozkladu glykosidicky vázaných flavonolů.

Čaj rooibos, vyráběný z čajovníku kapského obsahoval oproti pravým čajům velmi malá množství katechinů i kyseliny galové. Naopak vykazoval výrazně vyšší množství kyseliny kumarové, kyseliny protokatechové a kvercetinu. Japonský zelený čaj kukicha (SP4) se obsahem katechinů velmi podobal zeleným čajům. V případě katechinu a EC dokonce obsahoval více těchto látek. Obsahem ostatních flavonoidů a fenolových kyselin byl tento čaj spíše méně výrazný oproti ostatním druhům čajů.

Zjištěné koncentrace fenolických látek u zkoumaných čajů byly zpracovány pomocí statistické analýzy. Pro analýzy bylo nutné data standardizovat. Byla provedena shluková analýza pro rozdělení čajů do skupin na základě jejich podobnosti. Dále byla provedena analýza hlavních komponent (PCA), která je popsána níže.

Na Obrázku 24 je uveden dendrogram, získaný shlukovou analýzou. Jsou zde barevně vyznačené dvě rozlišené skupiny čajů. Skupina označená hnědou barvou obsahuje 5 ze 6 měřených vzorků černého čaje a oba vzorky speciálních čajů Pu erh. Jejich podobnost v rámci technologického zpracování čaje spočívá v úplné fermentaci. Druhá skupina vzorků, označená zelenou barvou, obsahuje dva vzorky zeleného čaje, oba vzorky čaje oolong a speciální japonský čaj kukicha. Jejich podobnost v rámci technologického zpracování je v nízkém nebo žádném stupni fermentace. Ostatní vzorky byly více či méně odlehle od uvedených dvou skupin.



Obrázek 24: Dendrogram shlukové analýzy methanolových extraktů čajů

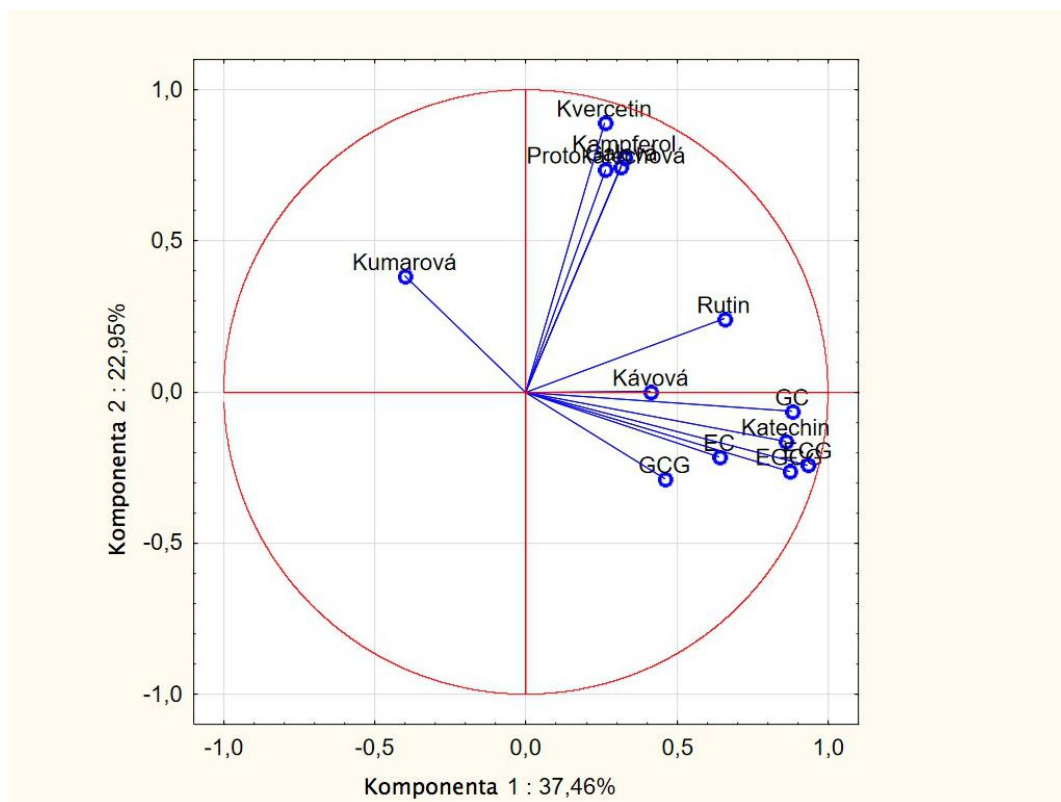
Tabulka 6: Hodnoty hlavních komponent methanolových extraktů čajů

Číslo komponenty	Eigenvalue	Variabilita [%]	Kumulativní eigenvalue	Kumulativní variabilita [%]
1	4,87007	37,46	4,87006	37,46
2	2,98404	22,95	7,85410	60,42
3	1,53989	11,85	9,39400	72,26
4	1,51965	11,69	10,91364	83,95
5	0,87309	6,72	11,78673	90,67
6	0,49330	3,79	12,27993	94,46
7	0,29372	2,26	12,57365	96,72
8	0,25552	1,97	12,82917	98,69
9	0,11342	0,87	12,94260	99,56
10	0,04048	0,31	12,98307	99,87
11	0,01428	0,11	12,99735	99,98
12	0,00211	0,02	12,99947	99,99
13	0,00053	0,004	13,00000	100,00

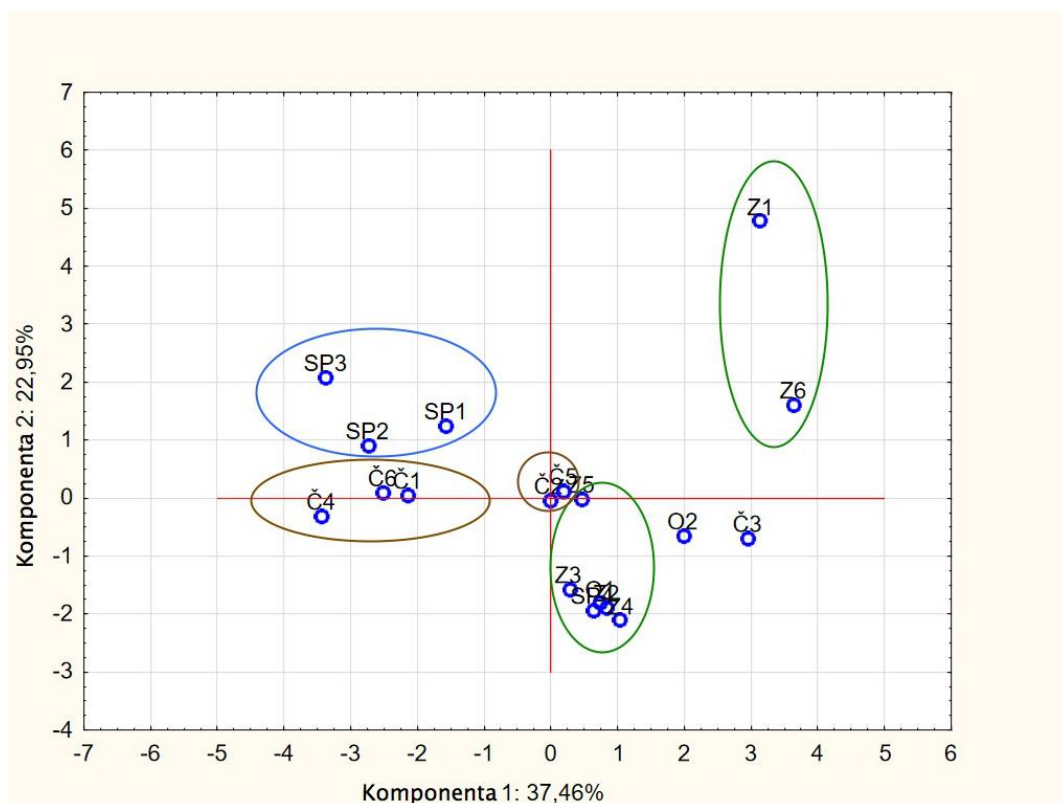
V Tabulce 6 jsou uvedeny hodnoty hlavních komponent. Významnou měrou se proměnné promítly do čtyř komponent. Pro další práci byly vybrány komponenty 1 a 2, které zahrnovaly více než 50 % variability vzorků.

V grafu na Obrázek 25 je vidět rozdělení proměnných do roviny kvadrantů komponenty 1 a komponenty 2. V kvadrantu 4 jsou zahrnuty všechny katechiny. Ve druhém kvadrantu jsou ostatní flavonoidy a fenolové kyseliny s výjimkou kyseliny kávové, která je na pomezí 2 a 4 kvadrantu a kyseliny kumarové, která je v kvadrantu 1. Na Obrázku 26 je znázorněna projekce vzorků čajů do roviny komponent 1 a 2. Druhé odlišení do skupin zde není výrazné. Vzorky zelených čajů 1 a 6 jsou v pozitivní korelaci s komponentou 1 i 2, vyznačují se tedy vysokým obsahem jak katechinů, tak ostatních fenolických látek. Zbytek zelených čajů leží ve 4. kvadrantu, tedy v pozitivní korelaci s katechiny. To opět potvrzuje literatura [14], dle které by v zelených čajích měl být vyšší obsah katechinů než v černých čajích. V černých čajích jsou katechiny z části rozloženy na produkty, kterými jsou i kyseliny [26]. Z tohoto důvodu jsou skupiny vzorků černých čajů, mimo vzorek 3, zobrazeny ve středu grafu nebo v záporné korelaci s komponentou 1 a na pomezí záporné a kladné korelace s komponentou 2.

Oba vzorky čajů oolong vykazovaly podobnou korelaci jako vzorky zelených čajů. Nachází se ve 4 kvadrantu, který se vyznačuje vysokým obsahem katechinů a nízkým obsahem kyselin a ostatních flavonoidů. Speciální čaje jsou v 1. kvadrantu, což odpovídá vysokému obsahu kyselin a ostatních flavonoidů. Jde o čaje Pu erh a rooibos. Naopak speciální čaj kukicha je v kvadrantu 4, což je pravděpodobně způsobeno jeho technologií výroby, která je stejná jako u zelených čajů [41].

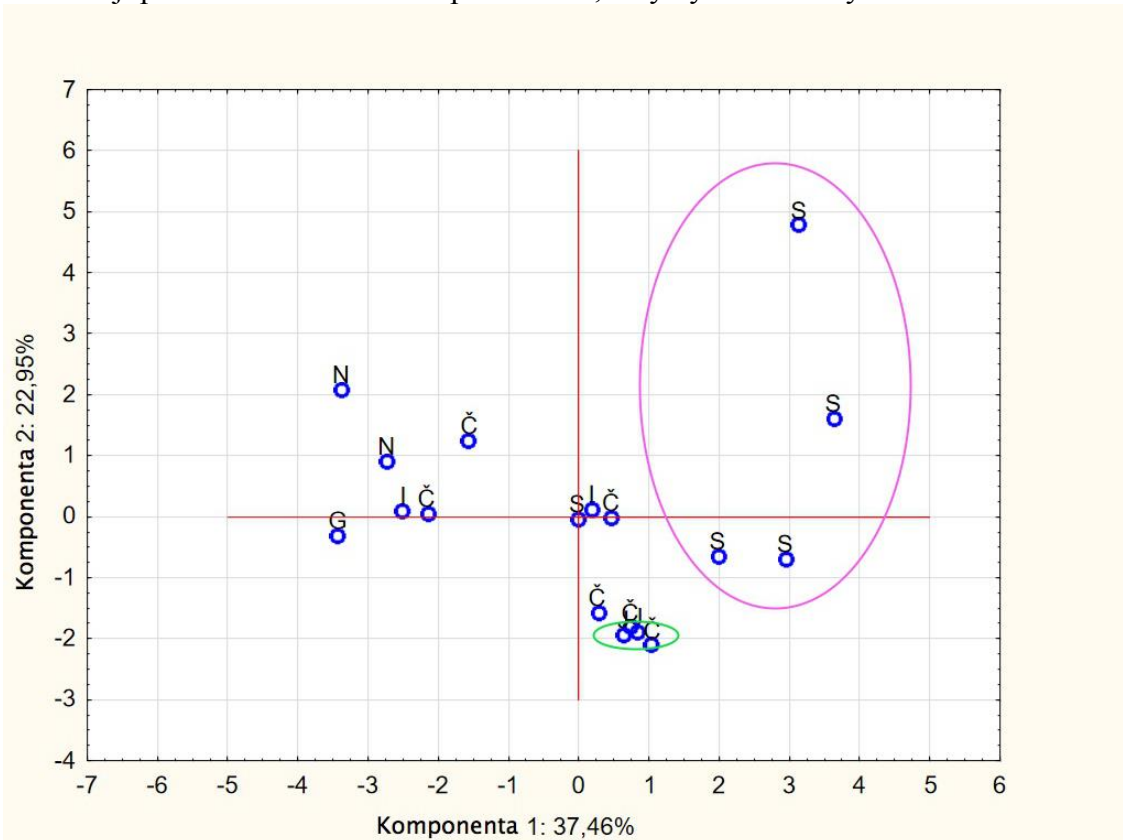


Obrázek 25: Rozptylový graf proměnných pro komponenty 1 a 2



Obrázek 26: Projekce vzorků čaje dle druhů do roviny komponent 1 a 2

Na Obrázku 27 je znázorněna závislost komponent 1 a 2, zahrnujících údaje o geografickém původu vzorků. Pro toto rozdělení bylo k dispozici poměrně malé množství vzorků. Analýzou byly odlišitelné pouze dvě skupiny vzorků. Nejlépe rozlišenou skupinou jsou vzorky pocházející z Japonska, což je zelený čaj bancha a speciální zelený čaj kukicha. Toto rozdělení souvisí s odlišnou technologií zelených čajů v Japonsku a v ostatních zemích [14]. Tyto čaje vykazují pozitivní korelaci s komponentou 1, což značí vysoký obsah katechinů. Výroba těchto čajů je vyráběna šetrnou cestou a nedochází tak k rozkladu katechinů [14]. Druhou odlišenou skupinou byly čaje ze Srí lanky. Jde o vzorky zelených čajů, černého čaje i čaje oolong. Tyto čaje mají pozitivní korelaci s komponentou 1. Dále jsou částečně odlišené i indické černé čaje, které mají pozitivní korelaci s komponentou 2, tedy vyšší obsah kyselin.



Obrázek 27: Projekce vzorků čaje do roviny komponent 1 a 2 podle geografického původu

4.2 Stanovení fenolických látek v čajovém nálevu

Pro analýzu fenolických látek v čajovém nálevu byly připraveny obvyklým způsobem šálky čaje. Byl použit způsob přípravy z knihy Čajové opojení [40], kde byly uvedeny časy extrakce i teploty vody pro extrakci jednotlivých druhů čaje. Čajové nálevy byly měřeny výše uvedenou metodou pomocí LC/MS. Měření bylo provedeno jedenkrát. Ve výpočtech bylo vycházeno z výšek píků.

V Tabulce 7 a Tabulce 8 jsou uvedeny obsahy katechinů a ostatních flavonoidů a fenolových kyselin. Obsah látek je uveden v mg na šálek, což je zde 175 ml, při použití 5,5 g sypaného čaje. Výjimkou je vzorek Rooibos massai u kterého byly pro přípravu čajového nálevu použity 2 g sypaného čaje.

Obecně lze říci, že u nálevů zelených čajů byl obsah všech látek výrazně nižší než u nálevů černých čajů. To je pravděpodobně způsobeno odlišnou teplotou a dobou extrakce. Poměrové srovnání vodných a methanolových extraktů jednotlivých vzorků víceméně koreluje. Výrazně nejnižší koncentrace všech měřených látek obsahovaly opět bio čaje. Ačkoli byly oba vzorky nálevů čajů oolong připraveny stejným způsobem, vzorek O2 má výrazně vyšší obsah všech látek oproti vzorku O1.

Lze tedy říci, že konzumací jednoho šálku zeleného čaje získáme 1,65 – 238,71 mg katechinů. Konzumací šálku černého čaje můžeme získat až 0,05 - 1280 mg katechinů.

Tabulka 7: Obsah vybraných katechinů v čajovém nálevu [mg/šálek]

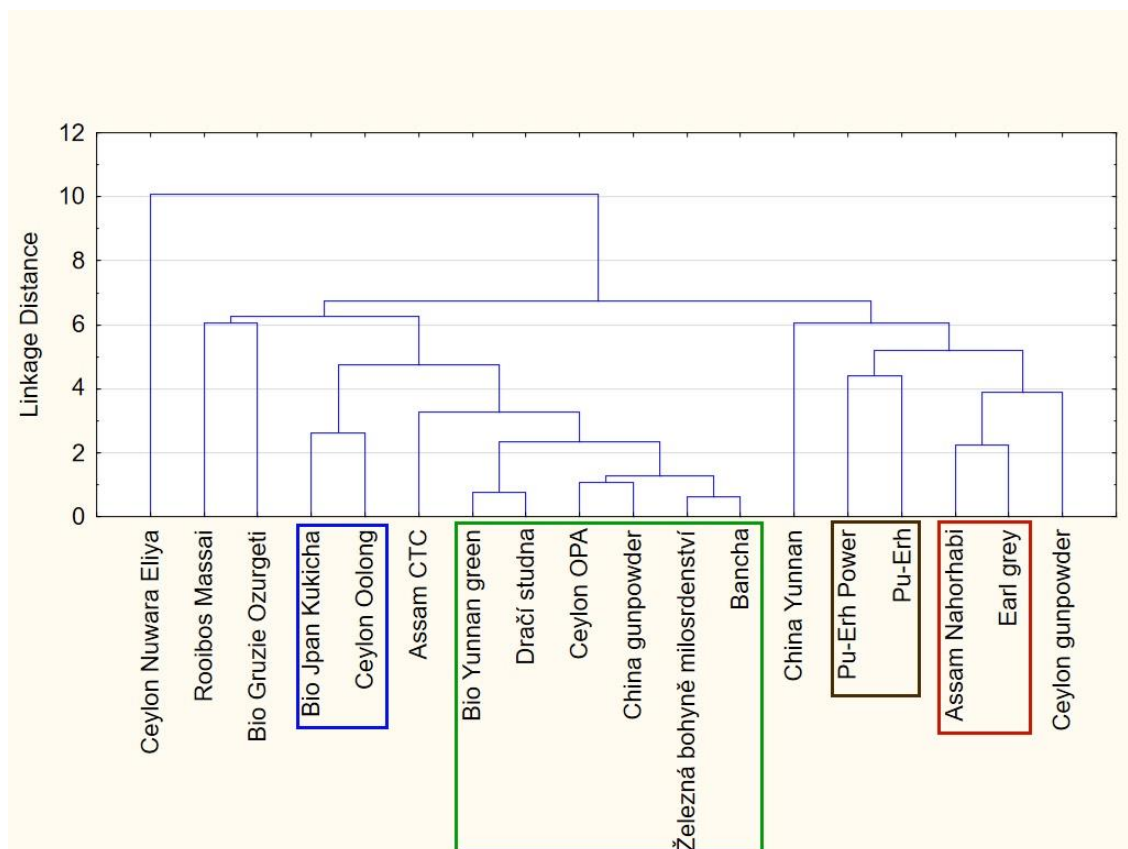
Vzorek	Označení vzorku	EGCG	GCG	Katechin	EC	ECG	GC
Ceylon gunpowder	Z1	11,6	n.d.	31,8	239	4,11	34,8
Bancha	Z2	23,1	n.d.	22,9	202	16,9	32,2
China gunpowder	Z3	23,9	n.d.	22,9	119	29,9	1,89
Dračí studna	Z4	2,33	n.d.	16,9	37,9	8,04	n.d.
Bio Yunnan green	Z5	1,65	n.d.	5,18	n.d.	n.d.	n.d.
Ceylon OPA	Z6	10,9	n.d.	36,6	162	27,4	3,56
China Yunnan	Č1	7,04	n.d.	5,91	n.d.	14,6	0,0464
Earl grey	Č2	245	n.d.	38,1	92,4	149	22,1
Ceylon Nuwara Eliya	Č3	1280	12,5	112	194	339	139
Bio Gruzie Ozurgeti	Č4	3,97	381	n.d.	n.d.	1,06	n.d.
Assam Nahorhabi	Č5	319	n.d.	72,7	109	193	33,5
Assam CTC	Č6	62,5	n.d.	1,69	n.d.	12,1	4,79
Železná bohyně milosrdenství	O1	7,20	n.d.	37,4	199	20,6	20,2
Ceylon Oolong	O2	351	25,0	64,6	228	135	115
Pu-Erh	SP1	6,29	n.d.	29,9	49,8	33,3	7,53
Pu-Erh Power	SP2	6,06	n.d.	12,6	n.d.	0,129	8,18
Rooibos Massai	SP3	5,53	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Bio Japan Kukicha	SP4	204	n.d.	44,1	314	42,3	62,5

Tabulka 8: Obsah ostatních flavonoidů a fenolových kyselin v čajovém nálevu [mg/šálek]

Vzorek	Označení vzorku	Kyselina kumarová	Kyselina galová	Kvercetin	Rutin	Kampferol	Kyselina protocatechová	Kyselina kávová
Ceylon gunpowder	Z1	3,03	324	n.d.	2,25	14,9	6,19	14,9
Bancha	Z2	n.d.	7,66	n.d.	2,22	n.d.	n.d.	n.d.
China gunpowder	Z3	n.d.	26,2	n.d.	0,345	n.d.	0,203	0,724
Dračí studna	Z4	n.d.	5,99	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Bio Yunnan green	Z5	n.d.	1,76	n.d.	8,32	n.d.	2,59	2,49
Ceylon OPA	Z6	n.d.	25,6	n.d.	13,6	n.d.	3,74	7,49
China Yunnan	Č1	n.d.	224	0,481	36,1	6,56	6,49	7,06
Earl grey	Č2	n.d.	404	n.d.	87,7	21,4	3,48	25,3
Ceylon Nuwara Eliya	Č3	n.d.	383	n.d.	118	19,7	2,08	37,4
Bio Gruzie Ozurgeti	Č4	n.d.	154	n.d.	6,38	0,798	9,19	n.d.
Assam Nahorhabi	Č5	n.d.	468	n.d.	40,4	26,7	2,59	11,1
Assam CTC	Č6	n.d.	259	n.d.	46,0	9,51	4,13	13,3
Železná bohyně milosrdenství	O1	n.d.	10,9	n.d.	8,89	n.d.	n.d.	n.d.
Ceylon Oolong	O2	n.d.	103	n.d.	33,9	n.d.	5,13	14,1
Pu-Erh	SP1	0,578	443	n.d.	33,4	24,6	23,8	8,31
Pu-Erh Power	SP2	n.d.	309	n.d.	84,6	13,6	11,6	57,3
Rooibos Massai	SP3	8,16	3,44	n.d.	39,8	n.d.	7,49	2,06
Bio Jpan Kukicha	SP4	n.d.	13,3	n.d.	3,03	n.d.	0,0534	1,26

n.d. – látka nebyla detekována

Výše uvedené koncentrace sledovaných látek byly zpracovány statistickou analýzou. Nejprve bylo nutné data standardizovat. Byla provedena shluková analýza pro rozdělení do skupin na základě podobnosti a analýza hlavních komponent. Obě analýzy jsou dále více rozvedeny.



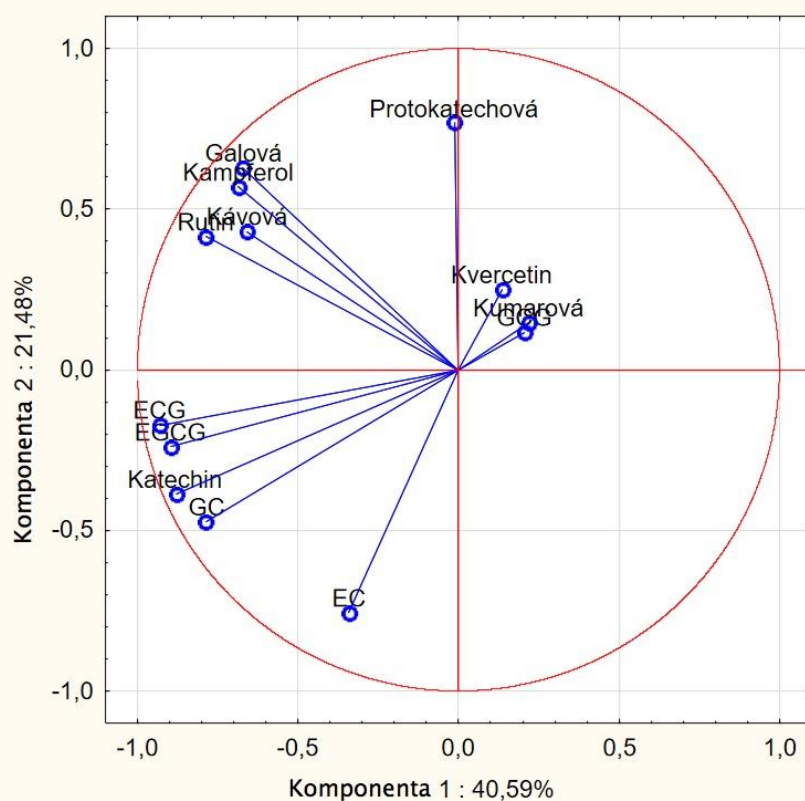
Obrázek 28: Dendrogram vzorků čajových nálevů

V dendrogramu na Obrázku 28 je zobrazena podobnost jednotlivých vzorků čajového nálevu. Oproti methanolovým extraktům jsou zde vzorky rozděleny do více skupin. Podobnost je zde zejména u zelených čajů, kde je skupina 5 ze 6 vzorků zelených čajů (na obrázku vyznačeno zeleně). Oddělen je zde zelený čaj ceylon gunpowder stejně jako u methanolových extraktů. Jednu z největších podobností zde mají ve skupině zelených čajů vzorky Bio Yunnan green a Dračí studna, které pochází z Číny. Další skupinu tvoří vzorky černých čajů Assam Nahorhabi a Earl grey (v obrázku červeně). Dále pak zelený speciální čaj kukicha se vzorkem Ceylon oolong (v obrázku modře) a tmavé čaje pu erh (v obrázku hnědá barva). U černých čajů nebyla nalezena příliš velká shoda. To potvrzuje i druhá analýza.

Tabulka 9: Hodnoty hlavních komponent vzorků čajových nálevů

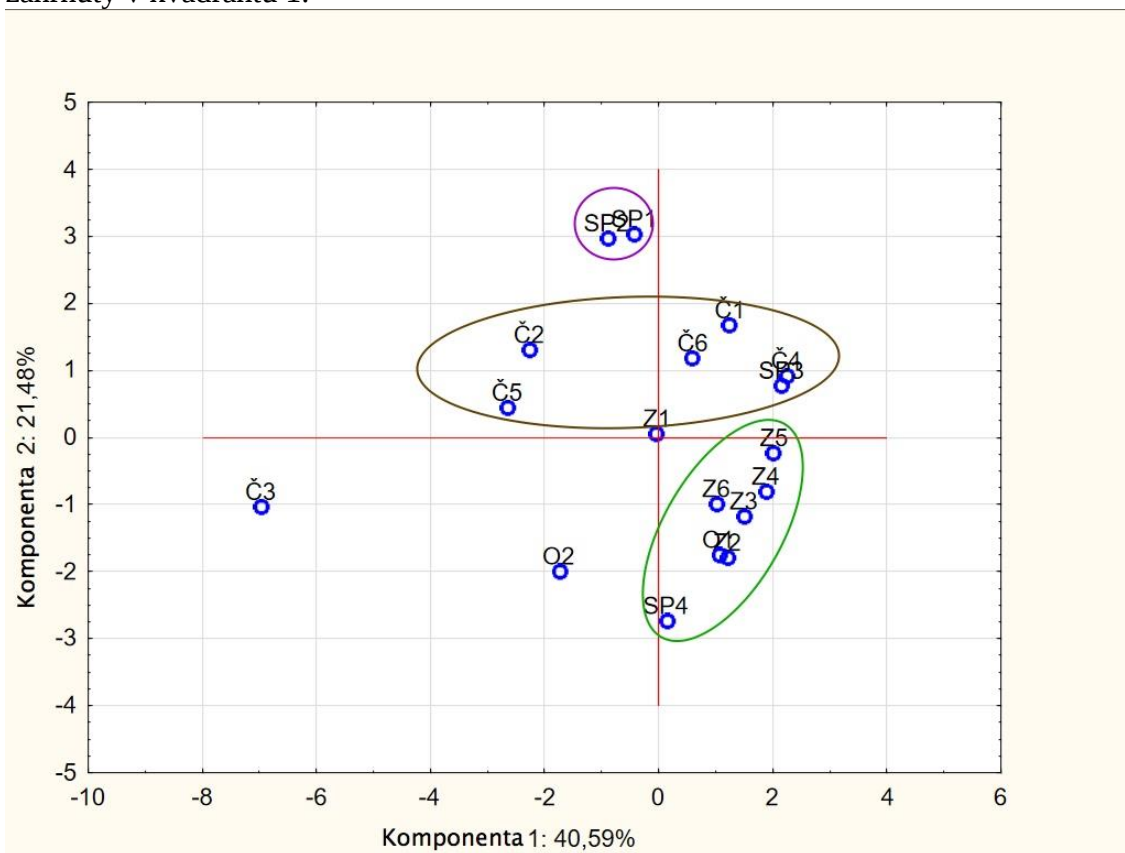
Číslo komponenty	Eigenvalue	Variabilita [%]	Kumulativní eigenvalue	Kumulativní variabilita [%]
1	5,27643	40,59	5,27643	40,59
2	2,79196	21,48	8,06839	62,06
3	1,13252	8,71	9,20091	70,78
4	1,10858	8,53	10,30949	79,30
5	0,90878	6,99	11,21827	86,29
6	0,77162	5,93	11,98989	92,23
7	0,52811	4,06	12,51780	96,29
8	0,28671	2,21	12,80471	98,49
9	0,07856	0,60	12,88326	99,10
10	0,06510	0,50	12,94836	99,60
11	0,04106	0,32	12,98942	99,92
12	0,00595	0,05	12,99537	99,96
13	0,00463	0,04	13,00000	100,00

Tabulka 9 uvádí hodnoty hlavních komponent. Významnou měrou se proměnné promítly do čtyř komponent. Pro další práci byly vybrány komponenty 1 a 2, které zahrnují více než 60 % variability vzorků.



Obrázek 29: Rozptylový graf proměnných v rovině komponent 1 a 2

V grafu na Obrázku 29 je vidět promítnutí proměnných do roviny komponent 1 a 2. V kvadrantu 3 jsou zastoupeny všechny analyzované katechiny vyjma GCG. Fenolové kyseliny, mimo kyseliny kumarové, která ve většině vzorcích nebyla identifikována, jsou zahrnuty v kvadrantu 1.



Obrázek 30: Projekce vzorků dle druhu čaje do roviny komponent 1 a 2

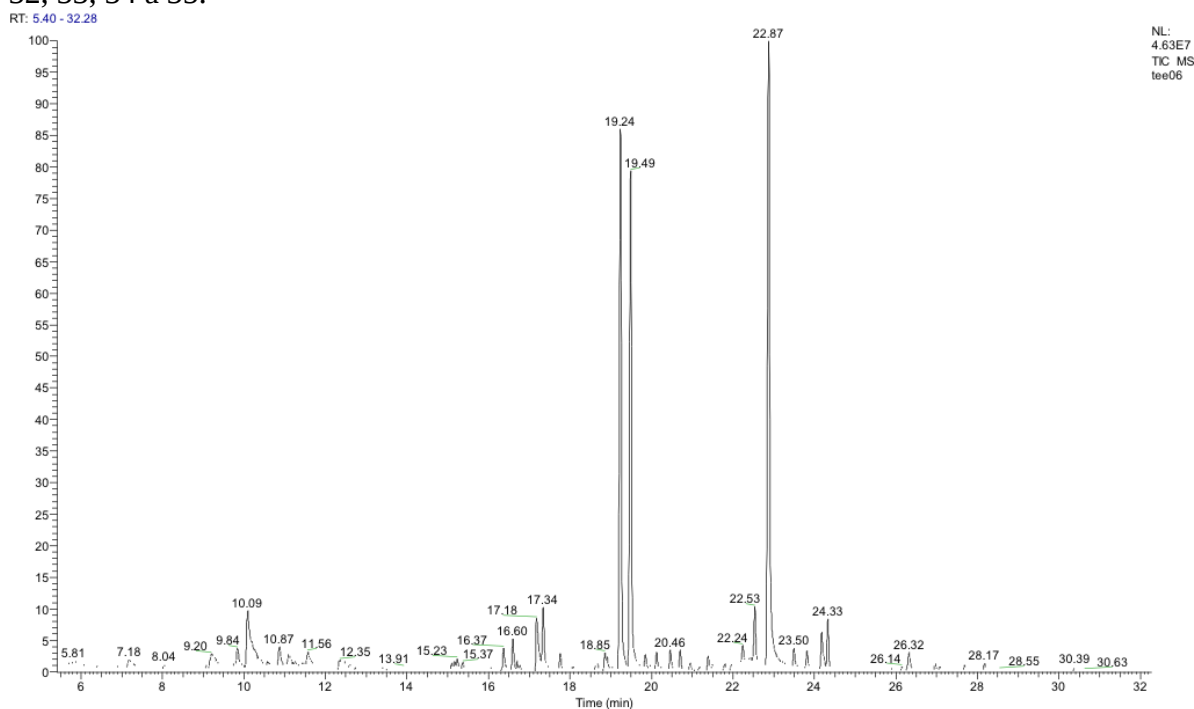
Na Obrázku 30 je vidět projekce vzorků do jednotlivých kvadrantů v rovině komponent 1 a 2. Zobrazeny jsou zde druhy čajů. Oddělenou skupinu zde tvoří zelené čaje. Výjimkou je, stejně jako u shlukové analýzy, vzorek Z1, tedy Ceylon gunpowder. Tato skupina leží v kvadrantu 4, což koreluje s nižším obsahem katechinů, ale téměř žádným obsahem fenolových kyselin. Ve stejném kvadrantu je i speciální japonský zelený čaj kukicha (SP4), což souhlasí s jeho způsobem přípravy, která je stejná jako u zelených čajů.

Malou skupinou jsou zde tmavé čaje Pu erh, které jsou zobrazeny v 1. kvadrantu. To poukazuje na jejich relativně vysokou koncentraci ostatních flavonoidů a fenolových kyselin, zejména kyseliny protokatechové.

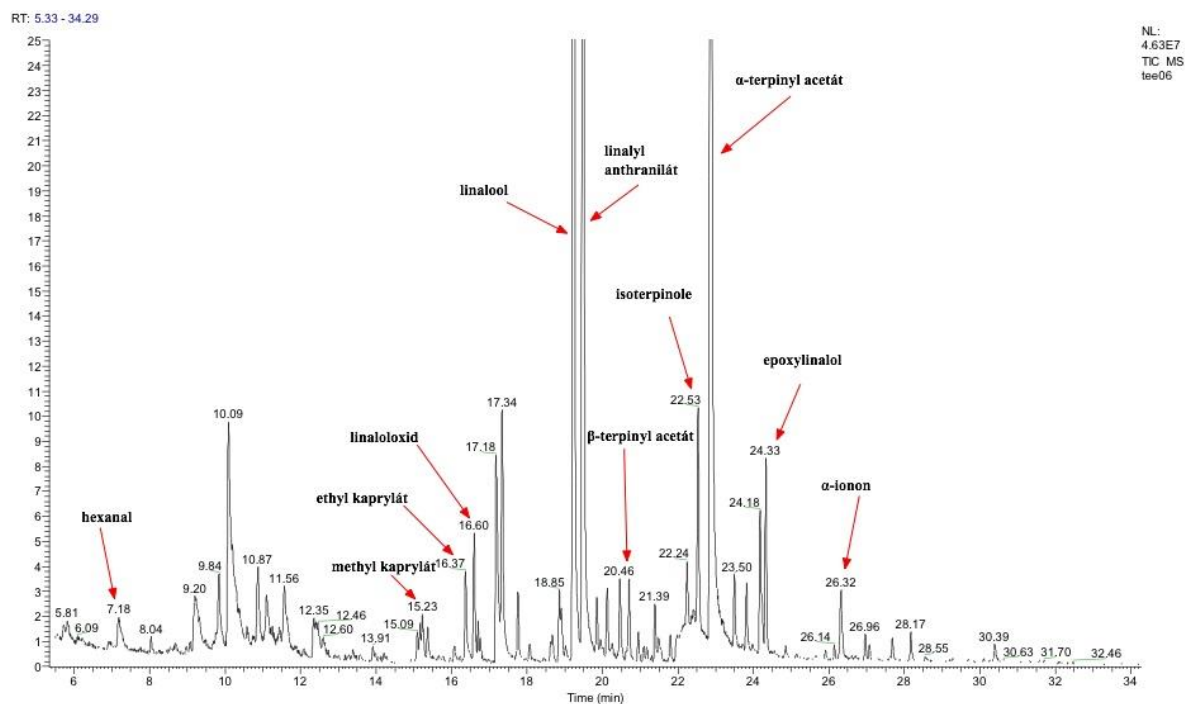
Černé čaje jsou vyobrazeny v kvadrantech 1 a 2. Vzorky černých čajů Č2 a Č5 obsahují nejvyšší množství fenolových kyselin a ostatních flavonoidů. Vzorky Č1, Č4 a Č6 obsahují velmi malá množství katechinů. Vzorek Č3 obsahuje nejvíce katechinů ze všech vzorků čajů. Speciální čaj rooibos (SP3) je zde množstvím látek nejvíce podobný bio černému čaju (Č4). Jde o čaj s nejnižším naměřeným množstvím všech látek.

4.3 Analýza těkavých látek

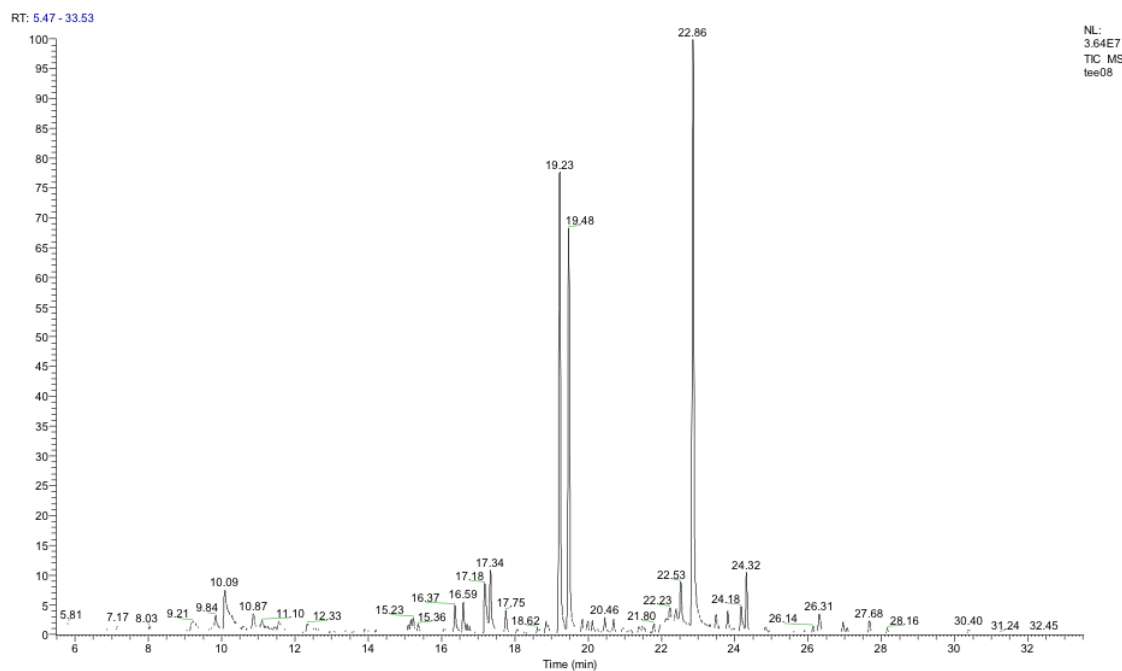
U všech druhů zelených, černých i speciálních čajů byla provedena analýza těkavých látek metodou HS-SPME-GC-MS. Identifikace jednotlivých látek byla provedena pomocí softwaru pro identifikaci látek. Látky identifikované v černých a zelených čajích jsou uvedeny v Tabulce 10 a Tabulce 11. Ukázky chromatogramů jsou vidět na Obrázcích 32, 33, 34 a 35.



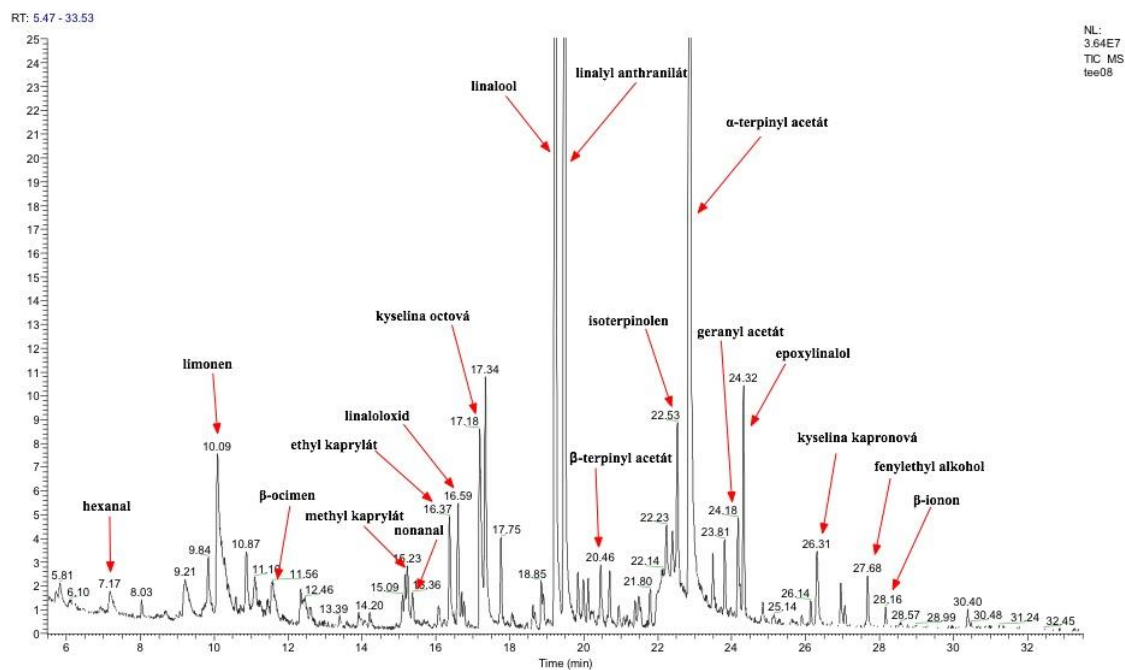
Obrázek 32: Chromatogram zeleného čaje Ceylon gunpowder



Obrázek 33: Chromatogram zeleného čaje Ceylon gunpowder s vyznačenými píky, přibliženo



Obrázek 34: Chromatogram černého čaje China Yunnan



Obrázek 35: Chromatogram černého čaje China Yunnan s vyznačenými píky, přibliženo

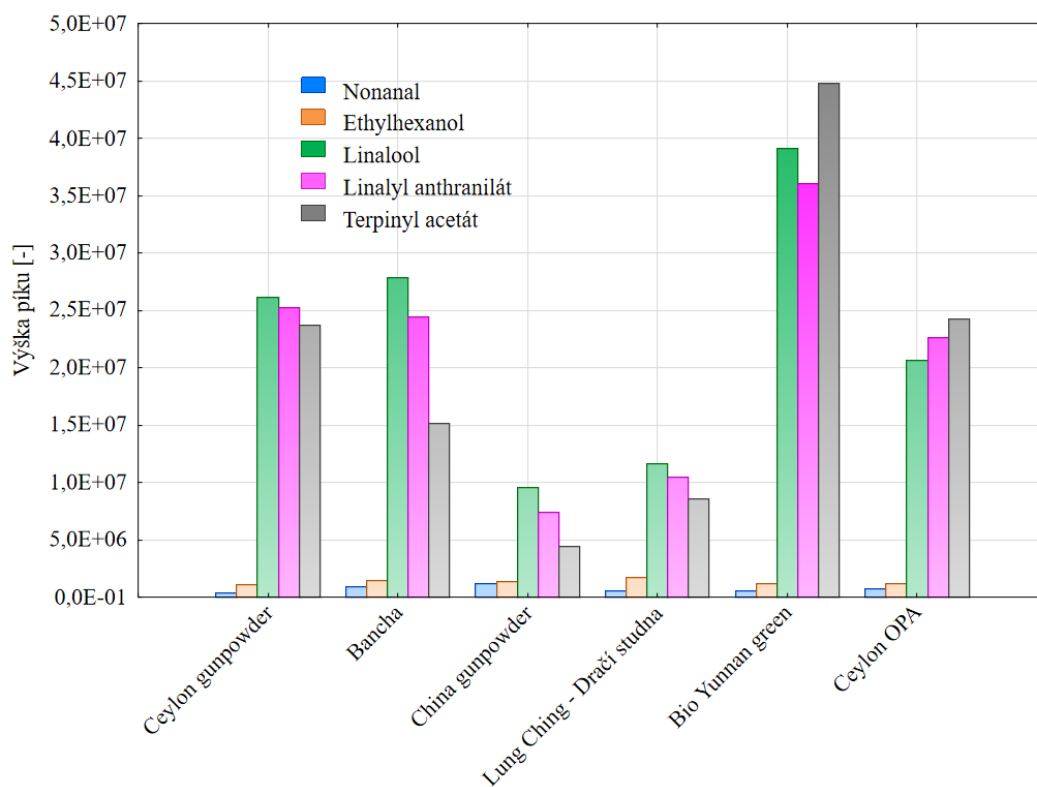
Tabulka 10: Těkavé látky identifikované v černých čajích

Název	Rt [min]	Název	Rt [min]
Hexanal	7,18	Methyl 8-methyl-nonanoát	20,39
1-Penten-3-ol	9,07	β -Terpinyl acetát	20,46
D-Limonen	10,1	2-Methyl-6-hepten-1-ol	20,69
(E)-2-Hexenal	10,72	Hotrienol	20,8
β -Ocimen	11,57	β -Cyklocitral	21,17
Farnesan	12,33	β -Terpineol	21,3
cis-2-Pentenol	13,39	Ethyl kaprát	21,38
Sulcaton	13,9	Kyselina máselná	21,44
3,4-Dimethyl-1-pentanol	14,2	Folion	21,8
3-Hexenol	15,09	Neodihydrokarveol	22,23
Methyl kaprylát	15,23	Isoterpinolen	22,53
Nonanal	15,36	Nerol acetát	23,51
Ethyl kaprylát	16,37	Kyselina valerová	23,97
cis-Linaloloxid	16,59	Geranyl acetát	24,19
1-Okten-3-ol	16,75	Epoxylinol	24,32
Kyselina octová	17,18	Methyl salicylát	24,84
Ethylhexanol	17,75	Anetol	25,89
Ethyl β -hydroxybutyrát	18,61	cis-Karveol	25,94
Dihydrolinalool	18,85	Nerol	26,14
Benzaldehyd	18,9	Kyselina kapronová	26,3
Isopulegol acetát	19,05	4-Methyl-2-fenyl-1,3-dioxolan	26,27
Linalool	19,23	N-Ethylsukcinimid	27,06
Linalyl anthranilát	19,48	Fenylethyl alkohol	27,68
α -Terpinyl acetát	19,96	(E)- β -Ionon	28,16
2,3-Butandiol	19,99	2,6-Dimethyl-1,7-oktadien-3,6-diol	31,8

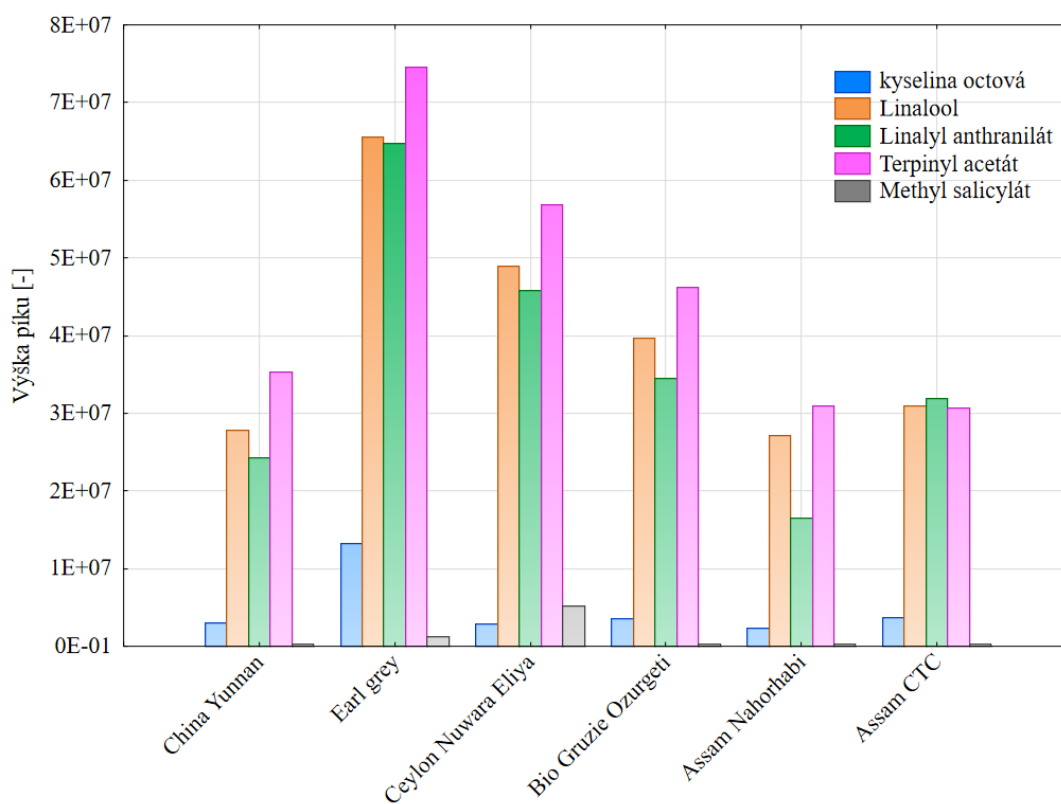
Tabulka 11: Těkavé látky identifikované v zelených čajích

Název	Rt [min]	Název	Rt [min]
Hexanal	7,18	Ethyl kaprát	21,39
1-Penten-3-ol	9,08	Folion	21,8
1-Pentanol	11,46	Diethyl sukcinát	22,4
cis-2-Pentenol	13,39	Isoterpinolen	22,53
(Z)-2-Heptenal	13,58	α -Terpinyl acetát	22,86
Sulcaton	13,91	Allyl 2-ethyl butyrát	23,09
Methyl kaprylát	15,23	Kyselina valerová	23,97
Nonanal	15,36	Epoxylinolol	24,32
Ethyl kaprylát	16,37	(E)-4-Oxohex-2-enal	24,49
cis-Linaloloxid	16,6	Methyl salicylát	24,85
1-Okten-3-ol	16,76	Nerol	26,14
Kyselina octová	17,21	Kyselina kapronová	26,31
Ethylhexanol	17,75	α -Ionon	26,32
Dihydrolinalool	18,84	3-Hydroxy-2,2,4-trimethylpentyl ester isobutanové kyseliny	26,6
Benzaldehyd	18,91	N-Ethylsukcinimid	27,07
Linalool	19,23	Fenylethyl alkohol	27,68
Linalyl anthranilát	19,48	3-Methyl-hexanová kyselina	28,54
2,3-Butandiol	19,99	3,7,11-Trimethyl-3-hydroxy-6,10-dodekadien-1-yl acetát	30,07
β -Terpinyl acetát	20,46	Olivetol	32,45
β -Cyklocitral	21,18	4,5,7,7a-Tetrahydro-4,4,7a-trimethyl-2(6H)benzofuranon	36,06

Většina těchto látek nebyla přítomna ve všech vzorcích. Ve všech vzorcích zeleného čaje byly nalezeny tyto látky: nonanal, ethylhexanol, linalool, linalyl anthranilát a α -Terpinyl acetát. Ve všech vzorcích černých čajů byly nalezeny tyto látky: kyselina octová, linalool, linalyl anthranilát, α -Terpinyl acetát a methyl salicylát. Z těchto látek byly linalool, linalyl anthranilát a α -Terpinyl acetát přítomny i ve všech vzorcích speciálních čajů. Ethylhexanol, přítomný ve všech zelených čajích, byl identifikován také ve vzorcích speciálních čajů Bio japan kukicha a Železná bohyně milosrdenství, což poukazuje na jejich podobnost se zelenými čaji. S černými čaji měly podobnost oba čaje oolong. Byla v nich identifikována kyselina octová, methyl salicylát a ethyl kaprylát, stejně jako v 5 vzorcích černých čajů.



Obrázek 36: Histogram poměru těkavých látek v zelených čajích



Obrázek 37: Histogram poměru těkavých látek v černých čajích

V grafech na Obrázku 36 a Obrázku 37 výše jsou znázorněny velikosti odezvy látek přítomných ve všech černých a zelených čajích. Je zde srovnána pouze velikost odezvy chromatografu, jelikož byla u těkavých látek provedena pouze kvalitativní analýza. Kvantitativní analýza je tak pouze orientační.

U černých čajů byla nejvyšší odezva u α -Terpinyl acetátu, dále linaloolu a linalyl anthranilátu. Toto neplatí pro poslední vzorek černého čaje, který byl vyroben metodou CTC oproti ostatním vzorkům vyrobeným ortodoxní metodou. U vzorků zelených čajů byly míry odezvy výrazně rozmanitější než u černých čajů. V prvních čtyřech vzorcích byla nejvyšší odezva u linaloolu, dále linalyl anthranilátu a α -Terpinyl acetátu. Ve vzorku zeleného čaje Bio Yunnan green byla zaznamenána největší odezva výše zmíněných sloučenin.

Z nejčastěji identifikovaných látek dává čaji linalool a jeho deriváty a linalyl anthranilát květinovou vůni [44], α -Terpinyl acetát vůni po kardamonu [45].

V Tabulce 10 pro černé čaje je uvedeno 50 identifikovaných látek a v Tabulce 11 pro zelené čaje je uvedeno 40 identifikovaných látek. To potvrzuje práce [14], podle které by černé čaje měly obsahovat více těkavých látek než čaje zelené. Tyto látky totiž ve velkém počtu vznikají během fermentace čaje. Pouze část z nich má vliv na aroma a chuť čajového nálevu. V Tabulce 12 jsou uvedeny některé látky identifikované v této diplomové práci spolu s jejich charakteristickou vůní [46].

Tabulka 12: Charakteristické vůně vybraných těkavých látek zelených a černých čajů [47]

Sloučenina	Vůně
Hexanal	trávová, zelená, čerstvá
D-Limonen	citrusová, citronová, pomerančová, zelená
(E)-2-Hexenal	trávová, bylinková
β -Ocimen	teplá, květová, bylinková, sladká
Farnesan	dřevitý, zelená, květová, bylinková
cis-2-Pentenol	zelená, kovová, ovocná
nonanal	květová, zelená, citronová
cis-Linaloloxid	sladká, květová, krémová
1-Okten-3-ol	zemitá, zelená, olejová, houbová
Benzaldehyd	mandlová, ovocná, třešňová
Linalool	květová, sladká, hroznová, dřevitá
Linalyl anthranilát	ovocná, sladká, hroznová
Hotrienol	čerstvá, květová, ovocná
β -Terpineol	mírná, květová
Geranyl acetát	růže, sladká, medová
Nerol	květová, zelená, citrusová, dřevitá
Fenylethyl alkohol	květová, růže
(E)- β -Ionon	květová, fialková

Všechny látky uvedené v Tabulce 12 byly identifikovány v černých čajích. Z toho by se dalo říci, že bylo u černých čajů potvrzeno bohaté aroma. Z těchto látek byly v černých čajích nejvíce zastoupeny linalool a linalyl anthranilát, což značí sladkou, květinovou, ovocnou až dřevitou vůni. V zelených čajích byla identifikována jen asi polovina látek uvedených v této tabulce. Jde zejména o látky mající trávové, zelené a citrusové aroma. Z látek s květinovou vůní jsou to linaloloxid, linalool a linalyl anthranilát. Z toho lze usoudit, že se zelené čaje vyznačují spíše čerstvou, trávovou až citrusovou vůní.

6 ZÁVĚR

Cílem této práce bylo analyzovat fenolické látky v čajových methanolových a vodných extraktech a stanovit jejich množství. Dalším cílem bylo analyzovat těkavé látky v sypaných čajích. Na základě analyzovaných látek bylo záměrem srovnat čaje podle jejich technologie výroby a země původu.

Podle obsahu látek v methanolovém extraktu se čaje podařilo rozdělit do kategorií podle zpracování čaje. Zelené čaje obsahovaly vyšší koncentraci katechinů, zatímco černé čaje vyšší koncentraci kyseliny galové.

Rozdělení čajů podle geografického původu nebylo úspěšné, především díky malému počtu vzorků z jednotlivých oblastí. Odděleny od sebe byly čaje pocházející z Japonska a ze Srí Lanky.

U čajových nálevů byly obsahy fenolických látek ovlivněny způsobem přípravy čaje. Nálevy černých čajů obsahovaly více fenolických látek než nálevy ze zelených čajů, a to i přesto, že sypané zelené čaje obsahují více fenolických látek. Menší účinnost extrakce fenolických látek ze zelených čajů souvisí se zkrácenou dobou louhování a s použitím vody s nižší teplotou pro zalití čajů.

Analýzou těkavých látek byl získán přehled o aromatickém profilu jednotlivých druhů čajů. Černé čaje obecně obsahovaly více aromatických látek a měly spíše sladké a květinové aroma. Aroma zelených čajů bylo spíše svěží a trávové.

7 SEZNAM LITERATURY

- [1] WACHENDORF, Viola von. Čaj [online]. Praha: Slovart, 2007 [cit. 2021-5-6]. ISBN 978-80-7209-922-1. Dostupné z: <https://dnnt.mzk.cz/view/uuid:05f5b090-3061-11ea-a83e-005056827e51?page=uuid:537d08b7-af00-49a7-a82d-199f90b5e104>
- [2] ARCIMOVIČOVÁ, Jana. Vůně čaje [online]. Benešov: Start, 1998 [cit. 2021-5-6]. ISBN 80-902005-9-1. Dostupné z: <https://dnnt.mzk.cz/view/uuid:ed2c02c0-d23d-11e4-8565-005056827e52?page=uuid:9922eb20-ee59-11e4-b834-005056827e51>
- [3] VALÍČEK, Pavel. *Užitkové rostliny tropů a subtropů* [online]. Vyd. 2., upr. a dopl. Praha: Academia, 2002 [cit. 2021-6-28]. ISBN 80-200-0939-6. Dostupné z: <https://dnnt.mzk.cz/view/uuid:edb276a0-aac6-11e4-a7a2-005056827e51?page=uuid:c8afb70-cdb2-11e4-b880-005056825209>
- [4] Čaj - Camellia sinensis. *Salvia Paradise Shop* [online]. 2022 [cit. 2022-04-07]. Dostupné z: https://www.salviaparadise.cz/herbar-rostlin-caj-camellia-sinensis-c-736_922.html
- [5] Shou Mei - Čaj dlouhověkosti 1 kg. In: *Oxalis* [online]. Oxalis [cit. 2022-04-10]. Dostupné z: https://oxalis.cz/cs/bile-a-kvetouci-caje/shou-mei-caj-dlouhovekosti-1-kg-8594045065008-1468.htm/?id_category=28
- [6] ZHOU, Cheng-zhe, Chen ZHU, Xiao-zhen LI, et al. Transcriptome and phytochemical analyses reveal the roles of characteristic metabolites in the taste formation of white tea during the withering process. *Journal of Integrative Agriculture* [online]. 2022, 21(3), 862-877 [cit. 2022-02-23]. ISSN 20953119. Dostupné z: doi:10.1016/S2095-3119(21)63785-1
- [7] MENET, Marie-Claude, Shengmin SANG, Chung S. YANG, Chi-Tang HO a Robert T. ROSEN. Analysis of Theaflavins and Thearubigins from Black Tea Extract by MALDI-TOF Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2004, 52(9), 2455-2461 [cit. 2022-02-28]. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf035427e
- [8] CHEN, Qinciao, Jiang SHI, Bing MU, Zhen CHEN, Weidong DAI a Zhi LIN. Metabolomics combined with proteomics provides a novel interpretation of the changes in nonvolatile compounds during white tea processing. *Food Chemistry* [online]. 2020, 332 [cit. 2022-02-28]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2020.127412
- [9] SHARANGI, A.B. Medicinal and therapeutic potentialities of tea (*Camellia sinensis* L.) – A review. *Food Research International* [online]. 2009, 42(5-6), 529-535 [cit. 2022-02-28]. ISSN 09639969. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodres.2009.01.007
- [10] DAI, Weidong, Dongchao XIE, Meiling LU, et al. Characterization of white tea metabolome: Comparison against green and black tea by a nontargeted metabolomics approach. *Food Research International* [online]. 2017, 96, 40-45 [cit. 2022-02-23]. ISSN 09639969. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodres.2017.03.028
- [11] CHEN, Qinciao, Yin ZHU, Weidong DAI, et al. Aroma formation and dynamic changes during white tea processing. *Food Chemistry* [online]. 2019, 274, 915-924 [cit. 2022-02-23]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2018.09.072

- [12] Bancha Arashiyama 1 kg. In: *Oxalis* [online]. Oxalis [cit. 2022-04-10]. Dostupné z: https://oxalis.cz/cs/japonsko/bancha-arashiyama-1-kg-8595218020541-383.htm/?id_category=155
- [13] WEERAWATANAKORN, Monthana, Wei-Lun HUNG, Min-Hsiung PAN, Shiming LI, Daxiang LI, Xiaochun WAN a Chi-Tang HO. Chemistry and health beneficial effects of oolong tea and theasinensins. *Food Science and Human Wellness* [online]. 2015, **4**(4), 133-146 [cit. 2022-02-05]. ISSN 22134530. Dostupné z: doi:10.1016/j.fshw.2015.10.002
- [14] GRAHAM, Harold N. Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry. *Preventive Medicine* [online]. 1992, **21**(3), 334-350 [cit. 2022-02-09]. ISSN 00917435. Dostupné z: doi:10.1016/0091-7435(92)90041-F
- [15] Yellow Tea Huang Xiao Tea 1 kg. In: *Oxalis* [online]. Oxalis [cit. 2022-04-10]. Dostupné z: https://oxalis.cz/cs/zlute-caje/yellow-tea-huang-xiao-tea-1-kg-8594045061345-1964.htm/?id_category=146
- [16] WEI, Yuming, Tiehan LI, Shanshan XU, Tiancheng NI, Wei-Wei DENG a Jingming NING. The profile of dynamic changes in yellow tea quality and chemical composition during yellowing process. *LWT* [online]. 2021, **139** [cit. 2021-11-16]. ISSN 00236438. Dostupné z: doi: 10.1016/j.lwt.2020.110792
- [17] XU, Jingyi, Mei WANG, Jianping ZHAO, Yan-Hong WANG, Qian TANG a Ikhlal A. KHAN. Yellow tea (*Camellia sinensis* L .), a promising Chinese tea: Processing, chemical constituents and health benefits. *Food Research International* [online]. 2018, **107**, 567-577 [cit. 2021-11-24]. ISSN 09639969. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodres.2018.01.063
- [18] Formosa Oolong 1 kg. In: *Oxalis* [online]. Oxalis [cit. 2022-04-10]. Dostupné z: https://oxalis.cz/cs/oolong-caje/formosa-oolong-1-kg-8594045063325-1512.htm/?id_category=48
- [19] ZHANG, Hua, Ruili QI a Yoshinori MINE. The impact of oolong and black tea polyphenols on human health. *Food Bioscience* [online]. 2019, **29**, 55-61 [cit. 2022-02-05]. ISSN 22124292. Dostupné z: doi:10.1016/j.fbio.2019.03.009
- [20] LIN, Shu-Yen, Li-Chiao LO, Iou-Zen CHEN a Po-An CHEN. Effect of shaking process on correlations between catechins and volatiles in oolong tea. *Journal of Food and Drug Analysis* [online]. 2016, **24**(3), 500-507 [cit. 2022-02-10]. ISSN 10219498. Dostupné z: doi:10.1016/j.jfda.2016.01.011
- [21] CAO, Qing-Qing, Yan-Qing FU, Jie-Qiong WANG, Liang ZHANG, Fang WANG, Jun-Feng YIN a Yong-Quan XU. Sensory and chemical characteristics of Tieguanyin oolong tea after roasting. *Food Chemistry: X* [online]. 2021, **12** [cit. 2022-02-24]. ISSN 25901575. Dostupné z: doi:10.1016/j.fochx.2021.100178
- [22] LIU, Pan-Pan, Jun-Feng YIN, Gen-Sheng CHEN, Fang WANG a Yong-Quan XU. Flavor characteristics and chemical compositions of oolong tea processed using different semi-fermentation times. *Journal of Food Science and Technology* [online]. 2018, **55**(3), 1185-1195 [cit. 2022-02-13]. ISSN 0022-1155. Dostupné z: doi:10.1007/s13197-018-3034-0
- [23] Ceylon OP Dimbula Uduwela 40 g. In: *Oxalis* [online]. Oxalis [cit. 2022-04-10]. Dostupné z: https://oxalis.cz/cs/ceylon/ceylon-op-dimbula-uduwela-40-g-8595218031080-164.htm/?id_category=57
- [24] JOSHI, Robin a Ashu GULATI. Fractionation and identification of minor and aroma-active constituents in Kangra orthodox black tea. *Food Chemistry* [online].

- 2015, **167**, 290-298 [cit. 2022-03-01]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2014.06.112
- [25] KADLEC, Pavel, Karel MELZOCH a Michal VOLDŘICH. *Přehled tradičních potravinářských výrob: technologie potravin* [online]. Ostrava: Key Publishing, 2012 [cit. 2021-6-30]. Monografie (Key Publishing). ISBN ISBN978-80-7418-145-0. Dostupné z: <https://dnnt.mzk.cz/view/uuid:45e27ff0-c971-11e9-af5a-005056827e51?page=uuid:1fbf2b15-e28b-4ea7-94fb-2a326d7655b6>
- [26] LI, Shiming, Chih-Yu LO, Min-Hsiung PAN, Ching-Shu LAI a Chi-Tang HO. Black tea: chemical analysis and stability. *Food Funct* [online]. 2013, **4**(1), 10-18 [cit. 2022-02-06]. ISSN 2042-6496. Dostupné z: doi:10.1039/C2FO30093A
- [27] Pu-Erh Mini Tuocha 60 g. In: *Oxalis* [online]. Oxalis [cit. 2022-04-10]. Dostupné z: https://oxalis.cz/cs/pu-erh-caj/pu-erh-mini-tuocha-60-g-8595218075602-190.htm/?id_category=37
- [28] XIAO, Yu, Cheng HE, Yulian CHEN, et al. UPLC–QQQ–MS/MS-based widely targeted metabolomic analysis reveals the effect of solid-state fermentation with *Eurotium cristatum* on the dynamic changes in the metabolite profile of dark tea. *Food Chemistry* [online]. 2022, **378** [cit. 2022-03-02]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2021.131999
- [29] ZHU, Ming-zhi, Na LI, Fang ZHOU, et al. Microbial bioconversion of the chemical components in dark tea. *Food Chemistry* [online]. 2020, **312** [cit. 2022-03-03]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2019.126043
- [30] LIN, Fang-Jun, Xin-Lin WEI, Hong-Yan LIU, et al. State-of-the-art review of dark tea: From chemistry to health benefits. *Trends in Food Science & Technology* [online]. 2021, **109**, 126-138 [cit. 2022-03-04]. ISSN 09242244. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2021.01.030
- [31] ZHANG, Liang, Zheng-zhu ZHANG, Yi-bin ZHOU, Tie-jun LING a Xiao-chun WAN. Chinese dark teas: Postfermentation, chemistry and biological activities. *Food Research International* [online]. 2013, **53**(2), 600-607 [cit. 2022-03-03]. ISSN 09639969. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodres.2013.01.016
- [32] SHARANGI, A.B. Medicinal and therapeutic potentialities of tea (*Camellia sinensis* L.) – A review. *Food Research International* [online]. 2009, **42**(5-6), 529-535 [cit. 2022-03-14]. ISSN 09639969. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodres.2009.01.007
- [33] INOUE, Manami, Kazuo TAJIMA, Mitsuhiro MIZUTANI, et al. Regular consumption of green tea and the risk of breast cancer recurrence: follow-up study from the Hospital-based Epidemiologic Research Program at Aichi Cancer Center (HERPACC), Japan. *Cancer Letters* [online]. 2001, **167**(2), 175-182 [cit. 2022-03-14]. ISSN 03043835. Dostupné z: doi:10.1016/S0304-3835(01)00486-4
- [34] DAVIES, Michael J., Joseph T. JUDD, David J. BAER, et al. Black Tea Consumption Reduces Total and LDL Cholesterol in Mildly Hypercholesterolemic Adults. *The Journal of Nutrition* [online]. 2003, **133**(10), 3298S-3302S [cit. 2022-03-14]. ISSN 0022-3166. Dostupné z: doi:10.1093/jn/133.10.3298S
- [35] YANG, Yi-Ching, Feng-Hwa LU, Jin-Shang WU, Chih-Hsing WU a Chih-Jen CHANG. The Protective Effect of Habitual Tea Consumption on Hypertension. *Archives of Internal Medicine* [online]. 2004, **164**(14) [cit. 2022-03-14]. ISSN 0003-9926. Dostupné z: doi:10.1001/archinte.164.14.1534

- [36] AHERNE, S.Aisling a Nora M O'BRIEN. Dietary flavonols: chemistry, food content, and metabolism. *Nutrition* [online]. 2002, **18**(1), 75-81 [cit. 2022-03-30]. ISSN 08999007. Dostupné z: doi:10.1016/S0899-9007(01)00695-5
- [37] MAJUMDER, Anusha, Sunil KANTI MONDAL, Samyabrata MUKHOTY, Sagar BAG, Anupam MONDAL, Yasmin BEGUM, Kalpna SHARMA a Avishek BANIK. Virtual screening and docking analysis of novel ligands for selective enhancement of tea (*Camellia sinensis*) flavonoids. *Food Chemistry: X* [online]. 2022, **13** [cit. 2022-04-07]. ISSN 25901575. Dostupné z: doi:10.1016/j.fochx.2022.100212
- [38] WANG, Huaifu, Gordon J PROVAN a Keith HELLIWELL. Tea flavonoids: their functions, utilisation and analysis. *Trends in Food Science & Technology* [online]. 2000, **11**(4-5), 152-160 [cit. 2022-04-01]. ISSN 09242244. Dostupné z: doi:10.1016/S0924-2244(00)00061-3
- [39] TANG, Chen, Tianyang GUO, Zhanxin ZHANG, Ping YANG a Huanlu SONG. Rapid visualized characterization of phenolic taste compounds in tea extract by high-performance thin-layer chromatography coupled to desorption electrospray ionization mass spectrometry [online]. 2021, **355** [cit. 2022-03-30]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2021.129555
- [40] GAYLARD, Linda. *Čajové opojení*. Praha: Euromedia, 2017. Esence. ISBN 978-80-7549-282-1.
- [41] KOMES, Draženka, Dunja HORŽIĆ, Ana BELŠČAK, Karin Kovačević GANIĆ a Ivana VULIĆ. Green tea preparation and its influence on the content of bioactive compounds. *Food Research International* [online]. 2010, **43**(1), 167-176 [cit. 2022-04-27]. ISSN 09639969. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodres.2009.09.022
- [42] JAGANYI, Deogratiua a Peter J. WHEELER. Rooibos tea: equilibrium and extraction kinetics of aspalathin. *Food Chemistry* [online]. 2003, **83**(1), 121-126 [cit. 2022-04-27]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/S0308-8146(03)00065-7
- [43] JIANG, Hao, Feng YU, Li QIN, Na ZHANG, Qiong CAO, Wilfried SCHWAB, Daxiang LI a Chuankui SONG. Dynamic change in amino acids, catechins, alkaloids, and gallic acid in six types of tea processed from the same batch of fresh tea (*Camellia sinensis* L.) leaves. *Journal of Food Composition and Analysis* [online]. 2019, **77**, 28-38 [cit. 2021-10-16]. ISSN 08891575. Dostupné z: doi: 10.1016/j.jfca.2019.01.005
- [44] CHEN, Xiaohua, Dejing CHEN, Hai JIANG, et al. Aroma characterization of Hanzhong black tea (*Camellia sinensis*) using solid phase extraction coupled with gas chromatography–mass spectrometry and olfactometry and sensory analysis [online]. 2019, **274**, 130-136 [cit. 2022-05-02]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2018.08.124
- [45] DEBABHUTI, Nilava, Swarnali NEOGI, Sumani MUKHERJEE, et al. Development of QCM sensor to detect α -terpinyl acetate in cardamom. *Sensors and Actuators A: Physical* [online]. 2021, **319** [cit. 2022-05-02]. ISSN 09244247. Dostupné z: doi:10.1016/j.sna.2020.112521
- [46] YANG, Yanqin, Hongkai ZHU, Jiayu CHEN, et al. Characterization of the key aroma compounds in black teas with different aroma types by using gas chromatography electronic nose, gas chromatography-ion mobility spectrometry,

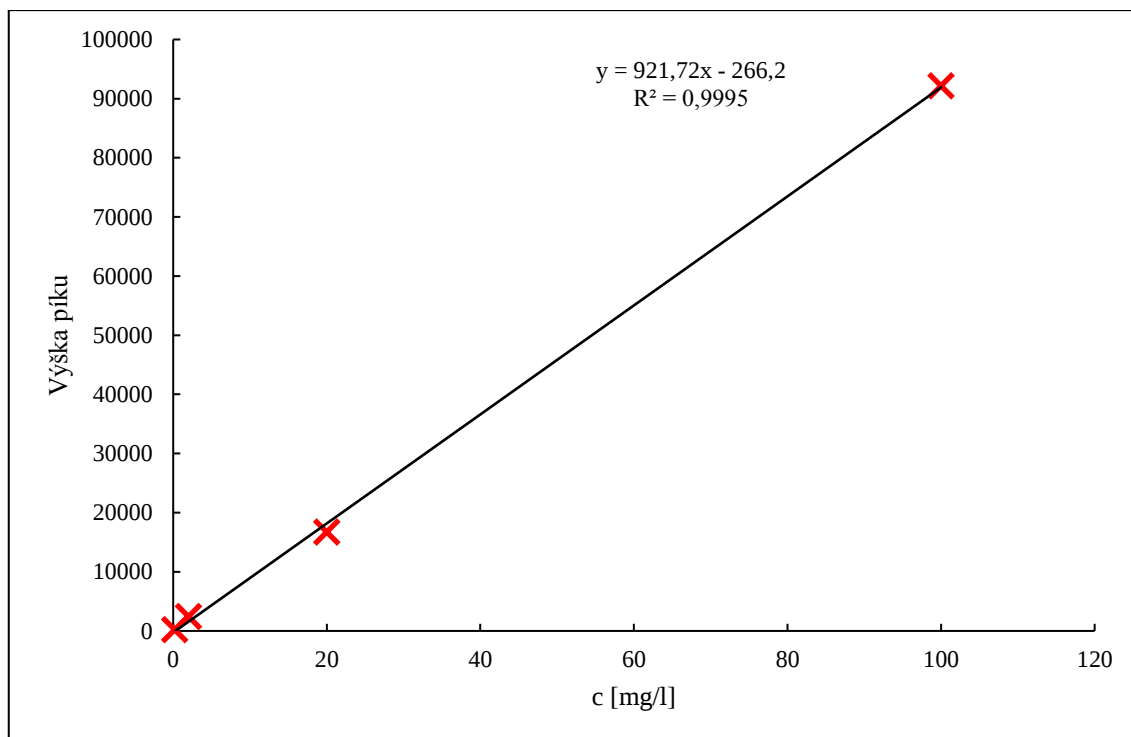
- and odor activity value analysis. *LWT* [online]. 2022, (376) [cit. 2022-05-03]. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2022.113492
- [47] GUO, Xiangyang, Chi-Tang HO, Wilfried SCHWAB a Xiaochun WAN. Aroma profiles of green tea made with fresh tea leaves plucked in summer. *Food Chemistry* [online]. 2021, **363** [cit. 2022-05-03]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2021.130328
- [48] VALTER, Karel. *Vše o čaji pro čajomily* [online]. 6., dopl. a přeprac. vyd. Praha: Granit, 2010 [cit. 2021-5-6]. ISBN 978-80-7296-072-9.
- [49] *Zelený čaj: [pohoda pro tělo i duši]* [online]. Praha: Svojtka & Co., 2003 [cit. 2021-5-6]. Malá knihovnička zdraví. ISBN 80-723-7651-9. Dostupné z: <https://dnnt.mzk.cz/view/uuid:1b05e6c0-b61b-11e2-b6da-005056827e52?page=uuid:ad581f70-c6b5-11e2-8c63-5ef3fc9ae867>
- [50] KRAJČOVÁ, Jitka. *Zbožiznalství* [online]. Vyd. 3. Praha: Vysoká škola hotelová v Praze 8, 2005 [cit. 2021-6-28]. ISBN 978-80-86578-51-4. Dostupné z: <https://dnnt.mzk.cz/view/uuid:7e7098c0-1e30-11e5-b642-005056827e51?page=uuid:898a9840-26f6-11e5-855a-5ef3fc9ae867>
- [51] SULTANA, Tahira, Guenther STECHER, Robert MAYER, Lukas TROJER, Muhammad Nasimullah QURESHI, Gudrun ABEL, Michael POPP a Guenther Karl BONN. Quality Assessment and Quantitative Analysis of Flavonoids from Tea Samples of Different Origins by HPLC-DAD-ESI-MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2008, **56**(10), 3444-3453 [cit. 2021-10-8]. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf703625r
- [52] CHENG, Zhe, Zhifa ZHANG, Yu HAN, et al. A review on anti-cancer effect of green tea catechins. *Journal of Functional Foods* [online]. 2020, **74** [cit. 2021-10-16]. ISSN 17564646. Dostupné z: doi: 10.1016/j.jff.2020.104172
- [53] TAO, Wuqun, Zhiguang ZHOU, Bin ZHAO a Tongyu WEI. Simultaneous determination of eight catechins and four theaflavins in green, black and oolong tea using new HPLC–MS–MS method. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* [online]. 2016, **131**, 140-145 [cit. 2021-10-16]. ISSN 07317085. Dostupné z: doi: 10.1016/j.jpba.2016.08.020
- [54] YU, Zhenming, Yinyin LIAO, Lanting ZENG, Fang DONG, Naoharu WATANABE a Ziyin YANG. Transformation of catechins into theaflavins by upregulation of CsPPO3 in preharvest tea (*Camellia sinensis*) leaves exposed to shading treatment. *Food Research International* [online]. 2020, **129** [cit. 2021-10-16]. ISSN 09639969. Dostupné z: doi: 10.1016/j.foodres.2019.108842
- [55] ZHANG, Qunfeng, Si WU, Yan LI, et al. Characterization of three different classes of non-fermented teas using untargeted metabolomics. *Food Research International* [online]. 2019, **121**, 697-704 [cit. 2021-12-08]. ISSN 09639969. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodres.2018.12.042
- [56] KILMARTIN, Paul a Chyong HSU. Characterisation of polyphenols in green, oolong, and black teas, and in coffee, using cyclic voltammetry. *Food Chemistry* [online]. 2003, **82**(4), 501-512 [cit. 2022-02-05]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/S0308-8146(03)00066-9

8 SEZNAM POUŽÍTÝCH ZKRATEK

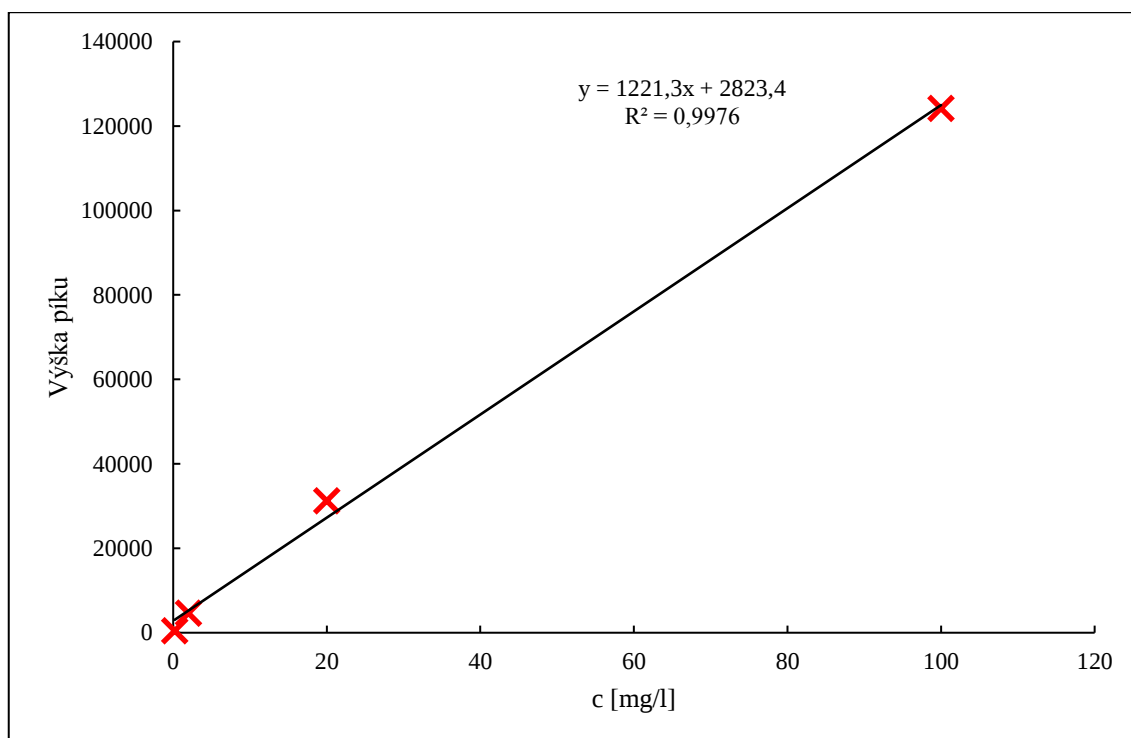
EGCG	epigalokatechin galát
ECG	epikatechin galát
EC	epikatechin
GC	galokatechin
GCG	galokatechin galát
CTC	crushing, tearing, curling (drcení, trhání, rolování)
GRAS	generally recognized as safe (všeobecně považovaný za bezpečný)
LC	liquid chromatography (kapalinová chromatografie)
MS	mass spektrometry (hmotnostní spektrometrie)

9 PŘÍLOHY

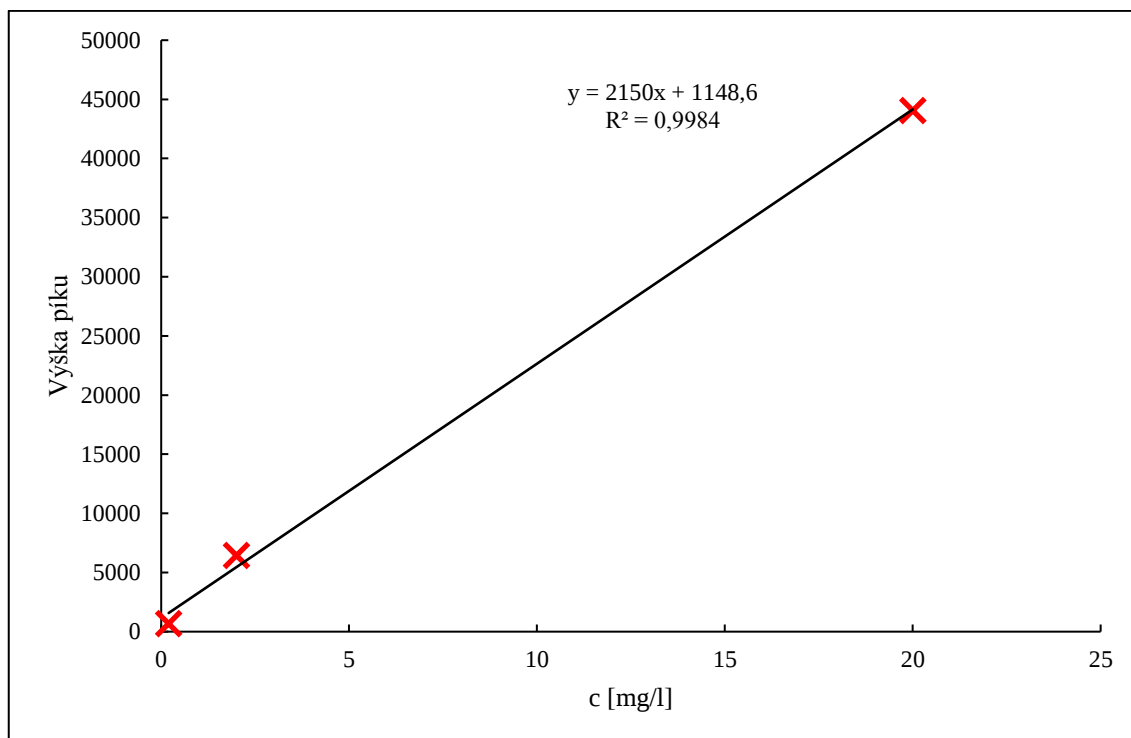
Příloha 1: Kalibrační závislost epigalokatechin galátu



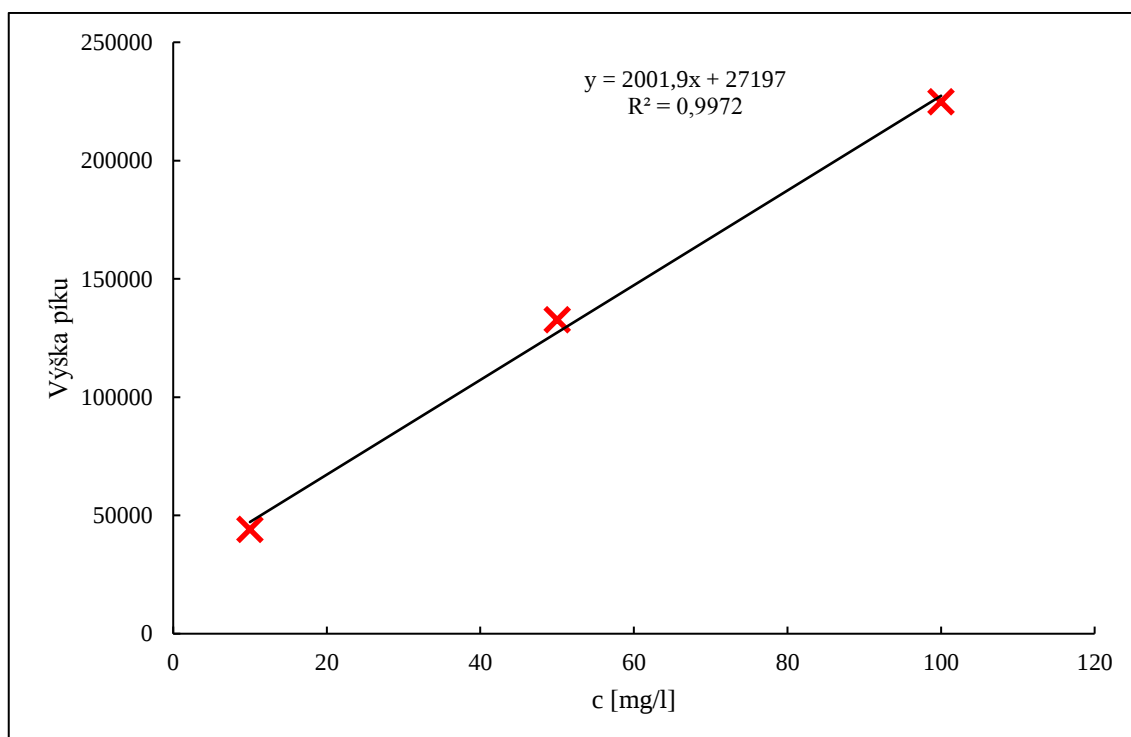
Příloha 2: Kalibrační závislost galokatechin galátu



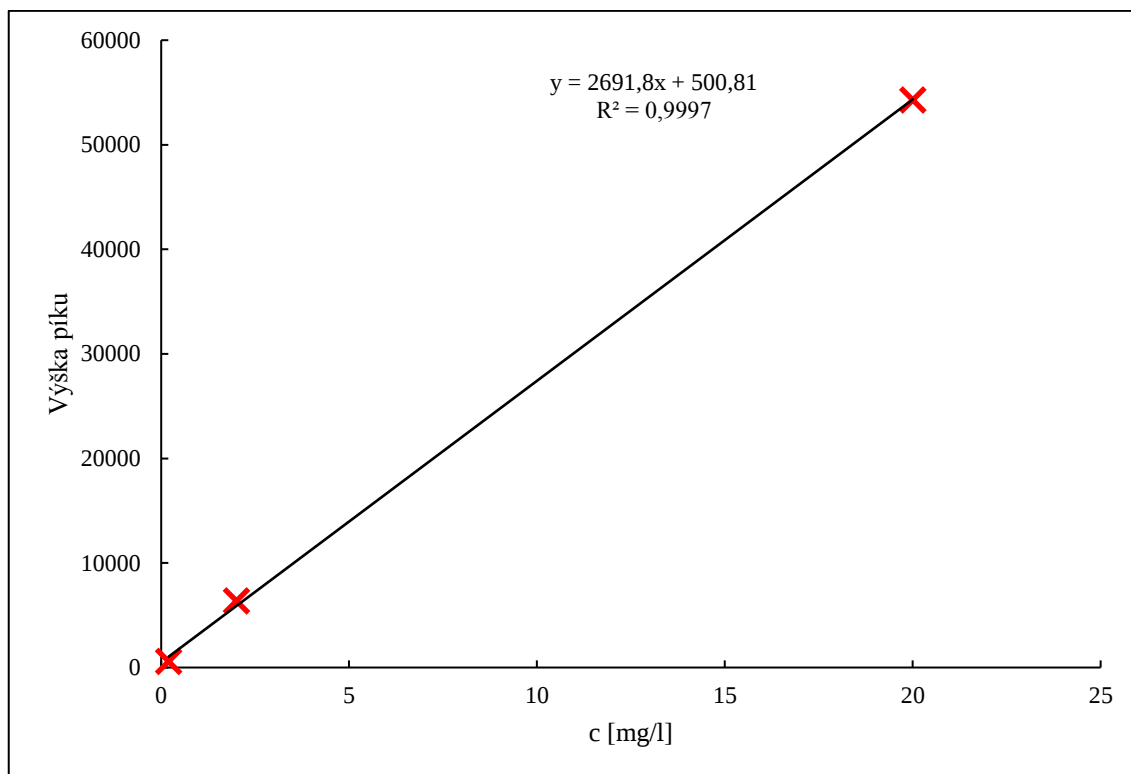
Příloha 3: Kalibrační závislost katechinu



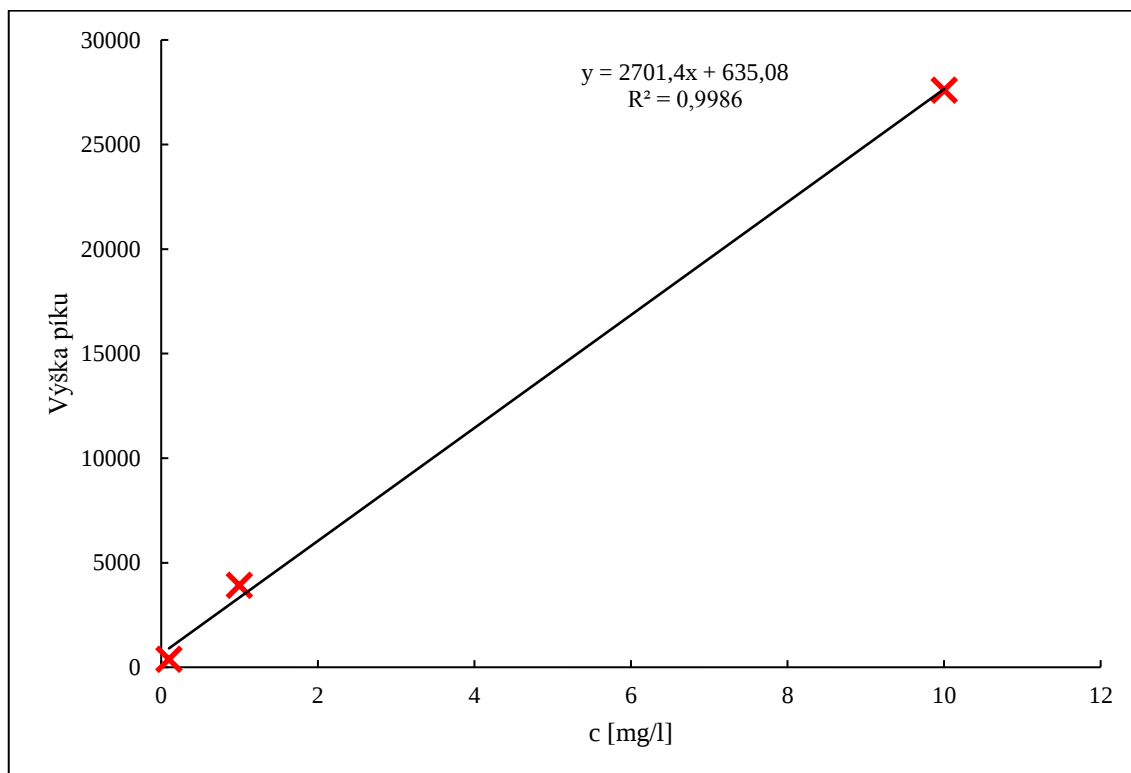
Příloha 4: Kalibrační závislost epikatechinu



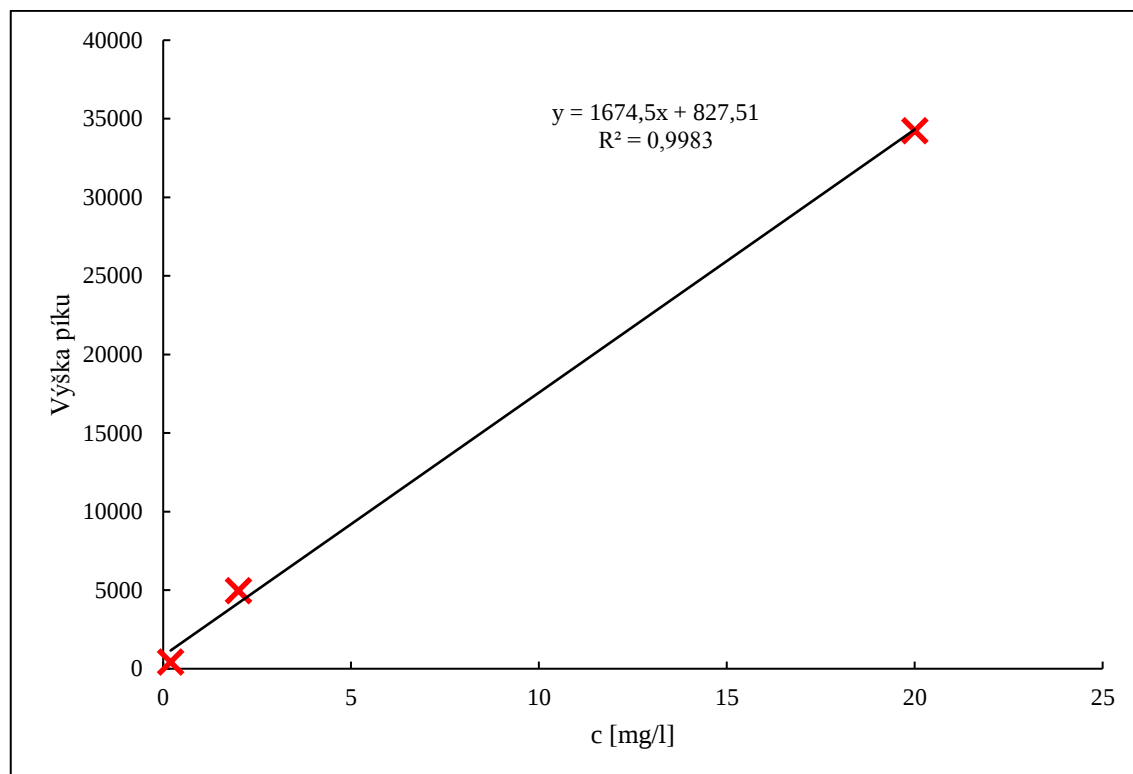
Příloha 5: Kalibrační závislost epikatechin galátu



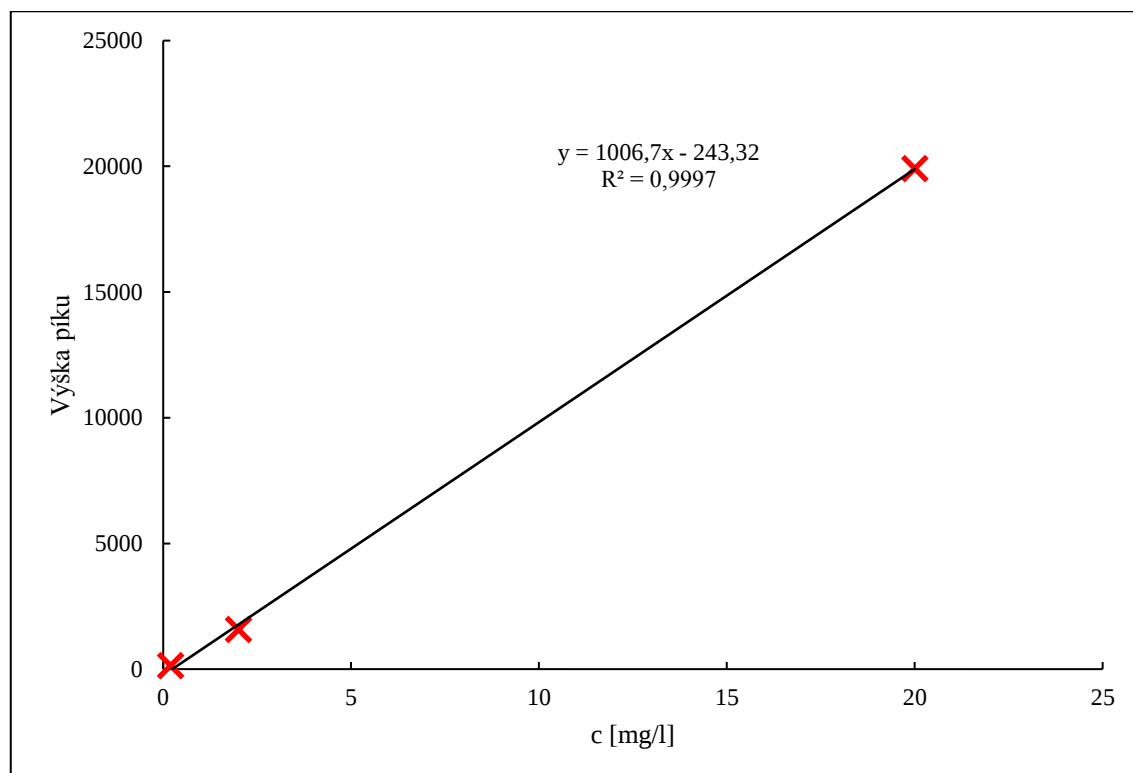
Příloha 6: Kalibrační závislost galokatechinu



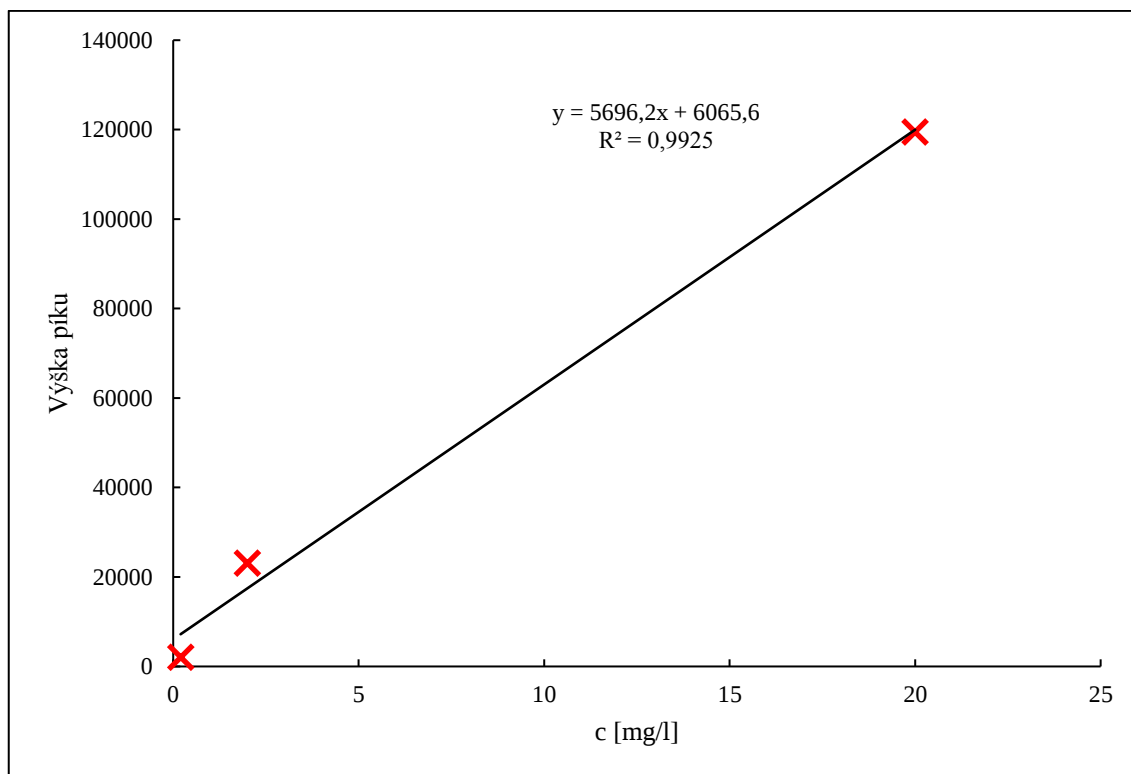
Příloha 7: Kalibrační závislost kyseliny kumarové



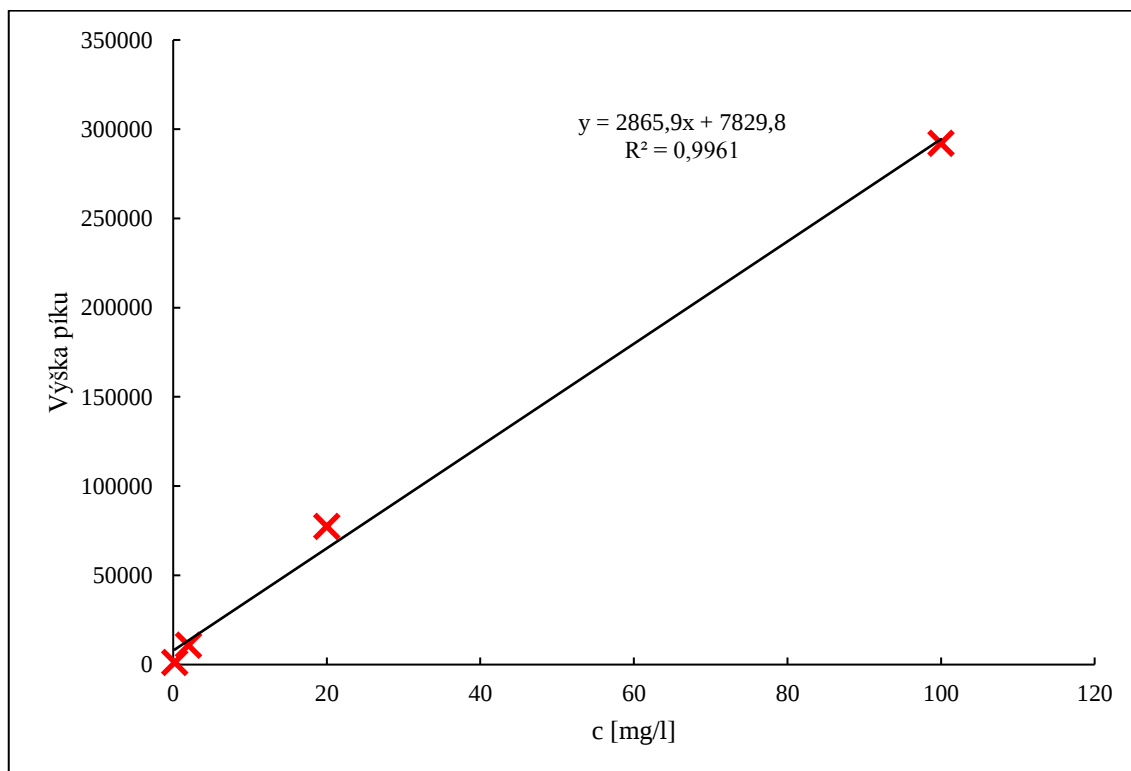
Příloha 8: Kalibrační závislost kyseliny galové



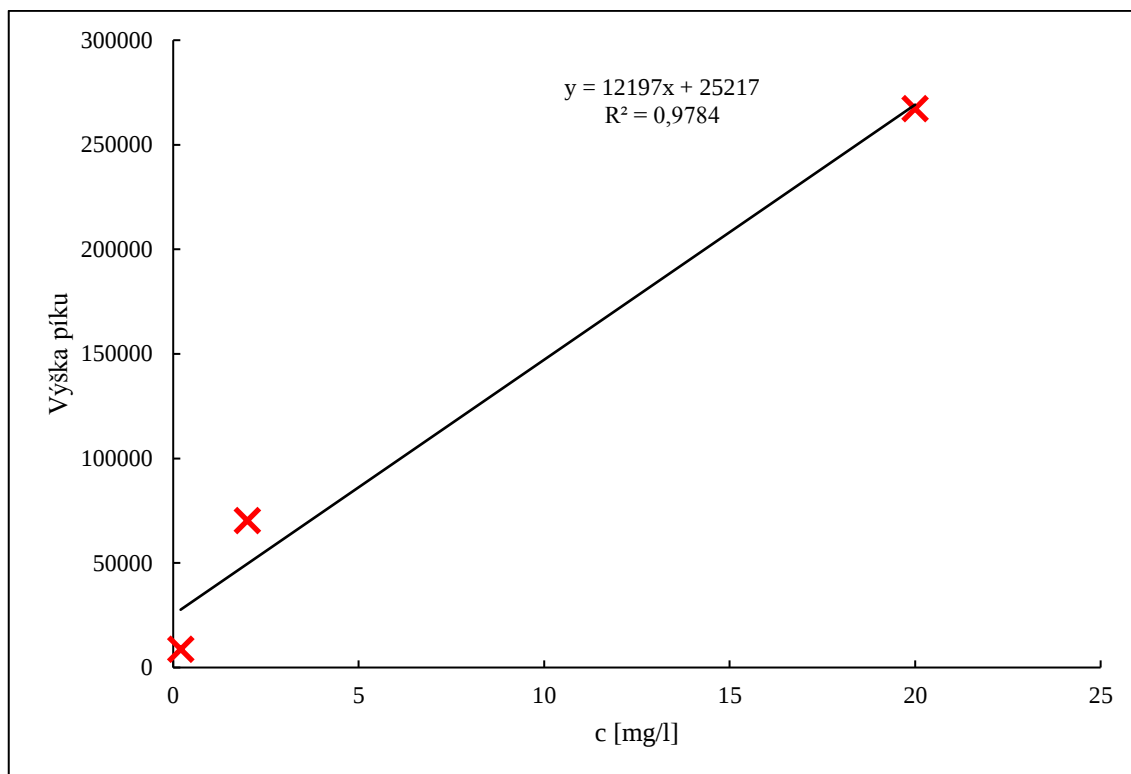
Příloha 9: Kalibrační závislost kvercetinu



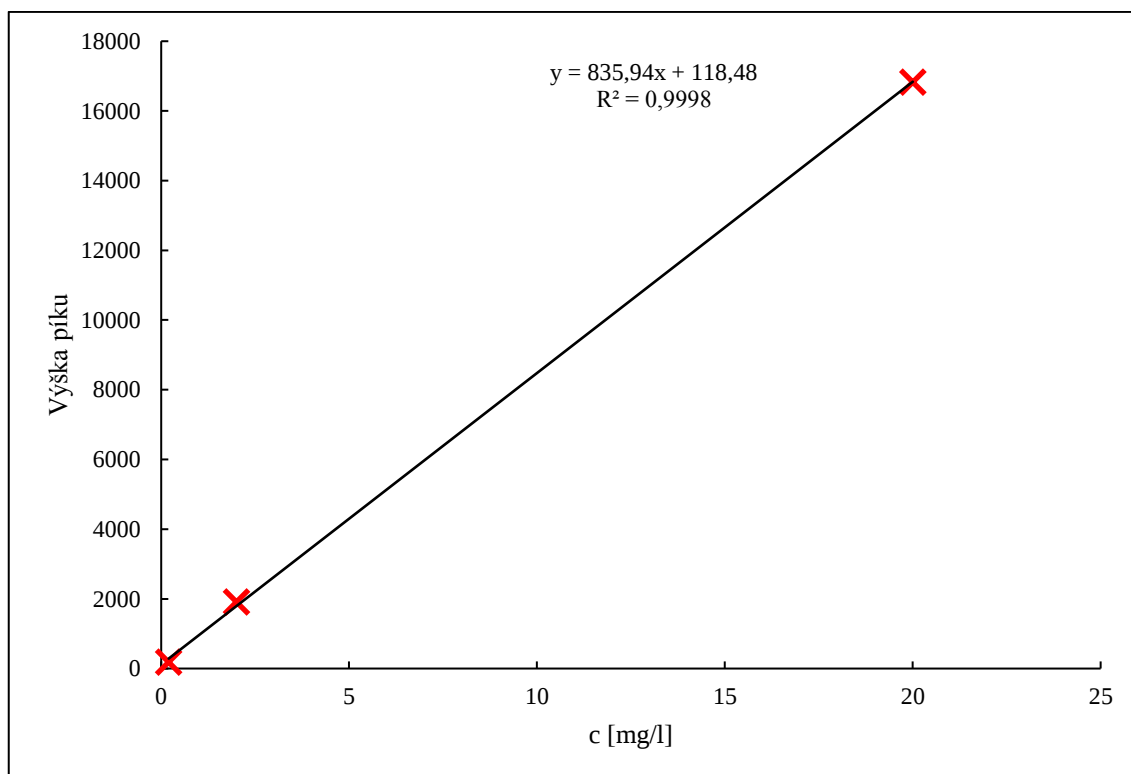
Příloha 10: Kalibrační závislost rutinu



Příloha 11: Kalibrační závislost kaempferolu



Příloha 12: Kalibrační závislost kyseliny protokatechové



Příloha 13: Kalibrační závislost kyseliny kávové

