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

ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA EXTRAKTŮ ZELENÉHO ČAJE
ANTIOXIDANT ACTIVITY OF GREEN TEA EXTRACTS

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE — **Michal Šedý**
AUTHOR

VEDOUCÍ PRÁCE — **RNDr. Mária Veselá, Ph.D.**
SUPERVISOR

BRNO 2018

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
FAKULTA CHEMICKÁ

Zadání bakalářské práce

Číslo práce:	FCH-BAK1293/2017
Ústav:	Ústav chemie potravin a biotechnologií
Student:	**Michal Šedý**
Studijní program:	Chemie a technologie potravin
Studijní obor:	Biotechnologie
Vedoucí práce:	**RNDr. Mária Veselá, Ph.D.**
Akademický rok:	2017/18

Název bakalářské práce:

Antioxidační aktivita extraktů zeleného čaje

Zadání bakalářské práce:

1. Popište historii čaje.
2. Vypracujte rešerši na téma antioxidační látky zeleného čaje a jeho bioaktivních látkách v něm přítomné.
3. Připravte extrakty z čajů a analyzujte obsah vybraných látek metodou UV–VIS spektrometrie.
4. Naměřená data vyhodnoťte.

Termín odevzdání bakalářské práce: 21.5.2018

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

Michal Šedý student(ka)	RNDr. Mária Veselá, Ph.D. vedoucí práce	prof. RNDr. Ivana Márová, CSc. vedoucí ústavu

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

V Brně dne 31.1.2018

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce se zaměřuje na antioxidační a biologicky aktivní látky přítomné v extraktech zeleného čaje. Zelený čaj je bohatým zdrojem antioxidantů a již v minulosti byl považován za léčivý nápoj. Řada látek obsažená v extraktech zeleného čaje vykazuje silné antioxidační účinky. V teoretické části se tato práce zabývá historií a výrobou čaje. Dále se zaměřuje na popis nejhojněji zastoupených antioxidačních a bioaktivních látek v čaji. V experimentální části byly vybrány tři vzorky zeleného čaje z obchodního řetězce, které byly dále analyzovány vybranými metodami UV-VIS spektrometrie a následně porovnány.

ABSTRACT

This bachelor thesis focuses on antioxidant and biological active compounds present in green tea extracts. Green tea is a rich source of antioxidants and it has been considered a medicinal beverage in the past. Series of compounds contained in green tea extracts exhibits strong antioxidant effects. The theoretical part of this thesis deals with the history and production process of tea. It also focuses on the description of the most abundant antioxidant and bioactive substances in tea. Three green tea samples from the retail chain were selected in the experimental section, which were further analysed by selected UV-VIS spectrometry methods and then compared.

KLÍČOVÁ SLOVA

Zelený čaj, antioxidační aktivita, antioxidanty, polyfenoly, katechiny, Camellia Sinensis, UV-VIS spektrometrie, zdraví

KEY WORDS

Green tea, antioxidant activity, antioxidants, polyphenols, catechins, Camellia Sinensis, UV-VIS spectrometry, health

ŠEDÝ, M. *Antioxidační aktivita extraktů zeleného čaje.* Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2018. 34 s. Vedoucí bakalářské práce RNDr. Mária Veselá, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citoval. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT b Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

…….

podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Chtěl bych poděkovat vedoucí mojí bakalářské práce RNDr. Márii Veselé, Ph.D. za odborné vedení a cenné rady při vzniku této práce.

OBSAH

1 ÚVOD 7
2 TEORETICKÁ ČÁST 8
2.1 Historie 8
2.2 Obecně o čaji 9
2.2.1 Čajovník 9
2.2.2 Čajovník čínský 10
2.2.3 Druhy čaje 11
2.2.3.1 Fermentace versus oxidace 11
2.2.4 Výroba čaje 11
2.2.4.1 Černý čaj 12
2.2.4.2 Zelený čaj 12
2.2.4.3 Oolong 12
2.2.4.4 Bílý čaj 13
2.3 Antioxidanty 13
2.4 Bioaktivní látky přítomné v čaji 13
2.4.1 Polyfenoly 13
2.4.2 Flavonoidy 13
2.4.2.1 Flavanoly 14
2.4.2.2 Flavonoly 15
2.4.3 Fenolové kyseliny 15
2.4.4 Methylxantiny 15
2.4.4.1 Kofein 16
2.5 Spektrofotometrie 17
2.5.1 Stanovení celkové antioxidační aktivity metodou ABTS 18
3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST 19
3.1 Seznam použitých přístrojů 19
3.2 Seznam použitých chemikálií 19
3.3 Analyzované vzorky čajů 19
3.4 Příprava vzorků 21
3.5 Stanovení celkových polyfenolů 21
3.5.1 Kalibrační křivka 21
3.5.2 Příprava vzorků 22

3.6 Stanovení celkových flavonoidů 22
3.6.1 Kalibrační křivka 22
3.6.2 Příprava vzorků 23
3.7 Stanovení celkové antioxidační aktivity 23
3.7.1 Kalibrační rovnice 23
3.7.2 Příprava vzorků 23
4 VÝSLEDKY A DISKUZE 24
4.1 Stanovení celkových polyfenolů 24
4.1.1 Zahřívaný nálev 24
4.1.2 Studený nálev 25
4.2 Stanovení celkových flavonoidů 25
4.2.1 Horký nálev 25
4.2.2 Studený nálev 26
4.3 Stanovení celkové antioxidační aktivity 27
4.3.1 Horký nálev 27
4.3.2 Studený nálev 28
4.4 Souhrnný přehled 29
5 ZÁVĚR 30
6 ZDROJE 31
7 POUŽITÉ ZKRATKY 34

1 ÚVOD

Čaj, tradiční nápoj známý lidstvu již po tisíciletí. Jedná se o aromatický nápoj běžně připravovaný louhováním nebo vařením listů rostliny *Camellia sinensis*. Nejstarší zmínka o čaji pochází ze staré čínské legendy z období 2700-2800 let před naším letopočtem. Tato legenda pojednává o císaři jménem Šen-nung, kterému náhodně spadl lístek čaje do jeho kotlíku s vroucí vodou. Díky této příhodě objevil jeho léčivé účinky.

V současnosti je čaj druhým nejvíce konzumovaným nápojem na světě, hned po vodě. Zelený čaj obsahuje spoustu zdraví prospěšných látek, z nichž jsou nejvýznamnější flavanoly neboli katechiny. Tyto látky jsou známé svými antioxidačními účinky, kterými snižují tvorbu volných radikálů, a tím brání oxidačnímu stresu. V poslední době se zelený čaj stal také předmětem mnoha výzkumů zabývajících se prevencí nejrůznějších onemocnění jako například různé typy rakovin, neurodegenerativních nebo kardiovaskulárních onemocnění.

Tato bakalářská práce si klade za cíl podat základní informace o historii a výrobě čaje, dále se soustředí na obsah antioxidačních a bioaktivních látek v čajových extraktech. V experimentální části jsou vybrány 3 vzorky čaje, ze kterých jsou připraveny extrakty, které jsou následně analyzovány vybranými metodami UV-VIS spektrometrie.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Historie

Za pravlast čaje je považována Čína, přestože je těžké určit, kde se začal čaj poprvé popíjet. Prvně se čaj používal jako lék a byl zařazen mezi byliny. Až později se stal samostatnou kapitolou dějin i života lidí. Nejstarší archeologický nález čaje byl objeven v hrobce čínského císaře Jing Di z dynastie Chan, který zemřel v roce 141 př. n. l.. Tento císař byl velikým milovníkem čaje, a tak se rozhodl, že se s ním nechá pohřbít, aby si jeho chuť mohl vychutnat i v následujícím životě. Další zmínka o čaji se datuje okolo roku 350, v němž se badatel a básník Kuo-Po´ zmiňuje pod názvem Kiu o čaji. Uvádí, že nápoj se připravuje z lístků vařením. Tyto údaje přijalo mnoho autorů čajové historie za nejstarší věrohodný záznam o čaji. Dlouhou dobu byl čaj jen záležitostí čínského dvora. Tehdejší příprava se však značně lišila od dnešní – listy byly trhány a lisovány do placek, které se sušily, až zčervenaly, přidala se cibule a zázvor a po povaření se teprve tento čaj – lék podával. [1] [2]

V 7. století už začíná čaj pronikat i do lidových vrstev společnosti a jsou zakládány první čajovny. Rok 780 se stává velice důležitým v čajové kultuře, a to vydáním první samostatné knihy o čaji, kterou napsal čínský čajový odborník Lu-Yu. Jmenuje se Ch´a-Ching a stala se svatým písmem všech milovníků čaje. Popisuje místo původního výskytu čaje, uvádí různé druhy čaje, jeho přípravu a účinky. Dále píše o různých ceremoniálech při přípravě a o všem, co s čajem souvisí. Autor je dodnes uctíván jako bůh obchodníků s čajem. V té době se také začíná měnit způsob přípravy čaje. Surovinou je stále lisovaná placka, avšak lehce pražená a rozemletá na prach. Jsou zavrženy kořenící přísady a upřednostňuje se jemná chuť nápoje. Dokonce podle Lu-Yu je důležité, aby voda byla pramenitá a čerstvá. Konzumace čaje se začala značně rozšiřovat, takže roku 780 zavedla vláda na čaj daň. [3]

Nejstarší tištěná zpráva o čaji v Evropě je z roku 1559, kdy benátský spisovatel Giovanni Battista Ramusio ve své knize Cesty a putování uveřejnil popis čaje. Prvním Evropanem, který osobně ochutnal čaj a napsal o jeho chuti, byl portugalský jezuita Gaspar da Cruz v roce 1560. První čaj přivezly do Evropy (do Lisabonu) portugalské obchodní lodě, později je následovaly lodě holandské (ty vozily čaj mimo Holandsko také do Francie a baltských zemí). Tak se konečně čaj dostal do Evropy. V té době měla Alžběta I. život ještě před sebou a Rembrandtovi bylo teprve 6 let. V polovině 17. století byly Holandsko a Francie na prvních místech ve spotřebě čaje. Z roku 1680 pochází první zmínka o přidávání mléka do čaje. V té době se v Holandsku objevují první restaurace nabízející čaj. Počínaje rokem 1850 začínají Holanďané obchodovat i s Amerikou. První čaj přivezl americkým (přesněji holandským) kolonistům Peter Stuyvesant do tehdejšího New Amsterodamu, dnešního New Yorku. Tehdy tito holandští usedlíci vypili více čaje než celá Anglie. Ta byla totiž poslední ze 3 námořních mocností, která začala obchodovat s Čínou a Východní Indií. [3]

Do Anglie první vzorky čaje dorazily někdy mezi léty 1652 a 1654. Čaj se stal velmi rychle natolik populární, že brzy vytlačil anglické pivo jako národní nápoj. Britové jsou dodnes největšími dovozci a spotřebiteli čaje (kolem 5 kg na osobu ročně). Čaj byl velmi oblíbený v amerických koloniích a pro potvrzení svého statutu přísného koloniálního vládce uvalila

britská vláda na čaj clo (spolu s několika dalšími předměty). Výsledkem byl bojkot spotřeby čaje kolonisty, kteří začali používat náhrady, zejména kávu. Tento bojkot se stal startovacím bodem pro revoluci a 16. prosince 1773 skupina kolonistů převlečených za indiány přepadla tři anglické lodě a vysypali celý náklad (342 beden čaje) do Bostonského zálivu. Incident známý v americké historii jako tzv. "Bostonské pití čaje" spolu s odvetou britské vlády pomohl podnítit americkou buržoazní revoluci. [3]

Carské Rusko se s čajem poprvé seznámilo v roce 1618, když tehdejší car dostal darem několik beden od čínského velvyslance v Moskvě. Ale teprve asi o 70 let později začaly do Číny pro čaj cestovat karavany. Cesta trvala více než 16 měsíců a absolvovalo ji 200–300 velbloudů. Z toho je zřejmé, že čaj si mohli dopřát jen velmi bohatí. Cena čaje klesla teprve po smrti Kateřiny Veliké. Ten se tak postupně stával národním nápojem, který Rusům vyhovoval: byl silný, horký a povzbuzující. Čaj velmi zlevnila transsibiřská magistrála postavená v roce 1900. I když Říjnová revoluce v roce 1918 zásadním způsobem změnila ruskou společnost, čaj zůstal (i s vodkou) stále národním nápojem. Prostřednictvím Ruska jsme čaj poznali také my. Tradice čaje v této zemi však není zdaleka tak dlouhá, jak by nasvědčovala společná hranice tohoto státu s Čínou. Mnoho obyvatel této země si čaj oblíbilo a začalo se tradovat přísloví: Tam, kde mají dobrý čaj, pije se méně vodka. [3]

V Indii, která byla dlouhou dobu anglickou kolonií, se skutečný zájem o čaj objevil až v 19. století. Dnes se za nejkvalitnější a nejdražší čaj považuje čaj z oblasti Darjeeling. Na Cejlonu se začalo s pěstováním čaje tak trochu nešťastnou náhodou. Oblíbený zde byl především kávovník, který se zde kvůli rzi, jež zničila plantáže, nedal dále pěstovat. Na tomto ostrově se čaj cení podle nadmořské výšky, ve které roste. Nejkvalitnější čaj pochází z výšek okolo 2000 m.n.m. Platí zde pravidlo, že v čím větší nadmořské výšce čaj roste, tím je vyšší jeho cena. Čaj je nápoj, který nás provází každodenním životem a mnoha lidem se možná proto zdá všední a obyčejný. Je téměř neuvěřitelné, že se v Evropě objevil teprve před několika sty lety. Z nápoje nejbohatších se během staletí stal nápoj, který si zamiluje téměř každý. [3]

2.2 Obecně o čaji

2.2.1 Čajovník

Rod čajovník, Camellia, zahrnuje kromě C. Sinensis 50 druhů stálezelených subtropických stromů či keřů, jejichž příbuzenské vztahy se v současné době intenzivně studují. Většina druhů v přírodě dorůstá od 2 do 15 metrů (v kultuře se však pěstují kolem výšky 1,2 metru). Nejstarší rostliny dosahují 80 a více let. Velké bílé květy vyrůstají z úžlabí listů po 2-3. Rostliny se rozmnožují lesklými hnědými semeny, která jsou umístěna v trojpouzdrých tobolkách. Listy mají čajovníky střídavé, tmavě zelené s pilovitým okrajem a spodní stranou pokrytou jemnými bílými chlupy, které dávají mladým listům stříbřitý vzhled. Právě listy jsou hlavním produktem, který dělá z čajovníku hospodářsky významnou rostlinu. [4]

Rod Camellia pojmenoval Carl Linné po brněnském rodáku Jiřím Josefu Kamelovi, který působil na Filipínách a popsal květenu ostrova Luzon. [4]

Pro výrobu čaje se používá pouze čajovník čínský.

2.2.2 Čajovník čínský

Pěstitelé dělí čajovník čínský do tří hlavních skupin, tzv. džátů: čínský, ásámský a indočínský. Čajovníky džátů se od sebe liší jednak morfologicky a fyziologicky, např. snášenlivostí k mrazu, ale také obsaženými látkami. Na obrázku 1 můžeme vidět kresbu čajovníku čínského.

Čínský džát zahrnuje čajovníky subtropického klimatu, které jsou mrazuvzdorné. Snášejí mráz až −10 °C (pod sněhem např. na Krymu snese však až −24 °C). Květy těchto čajovníků jsou samosprašné. Jsou keřovité a dorůstají výšky 3 až 6 m. Listy jsou menší 4-7 cm dlouhé a čaj z nich je velmi kvalitní, nejkvalitnější však z první sklizně.

Ásamský džát tvoří tropické čajovníky, které vyžadují vysoké teploty. Dorůstají do výšky až 20 m, mají úzké, špičaté ozubené lístky dlouhé 15-20 cm. Již při −4 °C dochází k poškození rostlin. Květy mají tyto rostliny cizosprašné. Listy jsou 15-200 cm dlouhé a čaj má nižší kvalitu než z čínského džátu.

Indočínský džát tvoří malá skupina čajovníků menšího vzrůstu, do 5 metrů, s listy kolem 15 cm a na podzim červenajícími.

Pěstují se také kříženci všech džátů, kteří poskytují větší výnosy, ale nedosahují takové kvality jako čaje z původních skupin. [4]

Obrázek 1 *Camellia sinensis [5]*

2.2.3 Druhy čaje

Existuje celá škála kritérií, podle kterých můžeme čaj rozdělit. Podle země původu, plantáže, nadmořské výšky, doby sklizně a podobně. Nejznámější rozlišení je na čaj černý (v Číně a Japonsku bývá označován podle barvy nálevu jako červený), zelený, oolong (též částečně oxidovaný, žlutozelený nebo modrozelený) a bílý. Mimoto se lze setkat i s čajem žlutým. Jedná se však o spornou kategorii – tímto názvem bývají označovány tzv. císařské čaje (žlutá je barva čínských císařů), což je tradiční název pro nejlepší kvalitu čajů odváděných císařskému dvoru jako daň. Někteří znalci uvádějí, že se jedná o zelený čaj, jenž je při pozvolném sušení ještě dodatečně oxidován. Dále není možné pominout jedinečný Pu-erh, který se někdy řadí do kategorie tzv. tmavých čajů. [6]

Rozlišení čaje podle barvy nálevu úzce souvisí se způsobem, jakým jsou lístky po natrhání zpracovány. Hlavní rozdíl tkví v tom, zda v čajových listech proběhne proces oxidace, v mnoha publikacích nesprávně označovaný jako fermentace. Nejběžnější čajové nálevy můžeme vidět na obrázku 2. [6]

Obrázek 2 *Různé druhy čajových nálevů [7]*

2.2.3.1 Fermentace versus oxidace

Fermentace znamená kvašení, což je proces, který v čaji neprobíhá. Ve skutečnosti se jedná o oxidaci polyfenolů, která vede k chemickým změnám v čajových lístcích a způsobuje jejich tmavnutí. Černý, zelený, částečně oxidovaný a tmavý čaj se liší způsobem i dobou oxidace. [6]

2.2.4 Výroba čaje

Pro výrobu čajů se používá dvou, tří, v případě výroby oolongů či čaje typu Pchu-er až pěti lístků přilehlých k výhonku. Výhonek (pupen) se označuje jako tip a bývá porostlý bílým chmýřím. K výhonku přiléhá první čajový lístek, orange pekoe, ze kterého je nejkvalitnější a chuťově nejvýraznější čaj, druhý lístek pekoe už poskytuje čaj střední jakosti a zbylé tři lístky pekoe souchong, souchong a congou patří k nižším třídám. Na jakostní černé a zelené čaje se

uštipuje jen výhonek a první dva lístky, poeticky nazývané dva lístky a srdíčko. Na nejlepší čaje se uštipuje pouze výhonek a přilehlý lístek. Na dobrý oolong a Pu-ehr se dá použít všech pěti lístků.

Výhonek (tip) je velmi ceněný. Kvalita černého čaje se měří mimo jiné množstvím tipsů, které obsahuje. Ve velkoobchodním i maloobchodním styku se používá zkratkových termínů, ze kterých lze vyčíst, jaké druhy lístků čaj obsahuje. [6]

2.2.4.1 Černý čaj

Je oxidován nejvíce. Přes polovinu jeho polyfenolů je zoxidováno. Obsahuje tedy jak okysličené, tak neokysličené (přírodní) polyfenoly. Ty okysličené vytvářejí chuť, barvu a aroma černého čaje, zatímco přírodní polyfenoly dodávají nápoji charakteristickou trpkost, která stimuluje činnost slinných žláz a zahání žízeň.

Po natrhání a vytřídění jsou čajové lístky v tenkých vrstvách rozprostřeny na sušicí plata, jež by měla být rozložena na čerstvém vzduchu, nejlépe ve stínu. Po několika hodinách (většinou deseti až dvaceti) listy zavadnou, změknou a mohou být poměrně snadno svinuty do ruliček. Dříve se svinovaly výhradně ručně – mezi dlaněmi či klouzavými pohyby rukou přímo na platech. Dnes se zavadlé listy dopraví do rolovacího stroje, kde se třicet až šedesát minut válejí a svinují. Při tomto procesu jsou narušeny buněčné membrány a přírodní polyfenoly se dostávají do styku se vzdušným kyslíkem a enzymem polyfenolázou, který proces oxidace katalyzuje. Právě v této chvíli dochází v čajových lístcích k nezvratným chemickým změnám, jejichž výsledkem je černý čaj.

Svinuté lístky rozložené na platech ve vrstvách čtyři až deset centimetrů vysokých se nechávají oxidovat dvě i více hodin při teplotě kolem 28 až 33 °C. Čím déle, tím je čaj tmavší, avšak ztratí něco ze své charakteristické trpké chuti. Oxidace je zastavena prudkým zahřátím listů, buď na sušičkách v moderních pásových provozech, nebo pražením ve velkých pánvích a dalšími způsoby dle použité technologie a místních zvyků. Pak se čaj dosušuje, zbavuje se stonků, nečistot a roztřídí se podle velikosti lístků. [6]

2.2.4.2 Zelený čaj

Procesem oxidace vůbec neprochází, a zachovává si tak všechny přírodní polyfenoly. Po otrhání se čajové lístky nechají nanejvýše dvě hodiny ve stínu zavadnout, nebo se začnou ihned zpracovávat. Záleží na místních zvyklostech a druhu čaje. Oxidaci je zabráněno opražením na pánvi (nejčastější metoda používaná v Číně), propařováním (jež se používá u japonských čajů) nebo pečením. Poté se lístky tvarují a suší, obvykle několikrát za sebou. Staleté zkušenosti s výrobou zeleného čaje v Číně a Japonsku daly vzniknout mnoha charakteristickým podobám čajových lístků, ať už je to proslulý Gunpowder (Čču čcha) ve tvaru říčních perel, jenž Evropanům připadal jako střelný prach, nebo spirálovitě se kroutící vlásky čaje Pi luo čchun. [6]

2.2.4.3 Oolong

Je částečně oxidovaný čaj. Sběr lístků na jeho výrobu musí proběhnout v okamžiku jejich plné zralosti, aby čajový nálev získal svou pověstnou vyváženou chuť. Na rozdíl od ostatních

čajů se nasbírané čajové lístky nechávají zavadnout na přímém slunci. Pak jsou nasypány do velkých a vzdušných otočných válců spletených z bambusu, kde jsou přetřásány tak dlouho, až se na povrchu lístků rozruší buněčné membrány a čaj začne oxidovat. Jedinečnost této metody spočívá v tom, že oxidace zasahuje pouze okraje čajových lístků a zbytek neporušené buněčné struktury si zachovává přírodní polyfenoly. Ve chvíli, kdy okraje lístků začnou červenat, je oxidace přerušena sušením. Částečně oxidované čaje se suší za vyšších teplot, což se projevuje v jejich někdy až připečené chuti. [6]

2.2.4.4 Bílý čaj

Nepanuje všeobecná shoda na definici bílého čaje. Většina definic se ale shoduje v tom, že lístky bílého čaje nejsou svinovány ani oxidovány, výsledkem je jemnější a sladší chuť než u zelených nebo tradičních černých čajů. [6]

2.3 Antioxidanty

Jsou látky, které zabraňují oxidaci jiných molekul a tím chrání buňky před poškozením reaktivními radikály, které vznikají v těle za normálních podmínek. Tyto radikály jsou velmi nestabilní a poškozují nukleové kyseliny, proteiny, lipidy v buněčných membránách a plazmové lipoproteiny. To může zapříčinit vznik rakoviny, aterosklerózy nebo autoimunitního onemocnění.

Vznikají při běžných metabolických procesech a také působením ionizujícího záření včetně slunečního. Také některé ionty kovů například Cu^{+}, Co^{2+}, Ni^{2+}, Fe^{2+} můžou neenzymaticky reagovat s kyslíkem nebo peroxidem vodíku za tvorby hydroxylových radikálů. V živých organismech jsou nejvíce poškozující volné radikály kyslíku zejména superoxidový $O_2^{\bullet}$, hydroxylový $HO^{\bullet}$ a hydroperoxylový $HO_2^{\bullet}$ radikál. [8]

2.4 Bioaktivní látky přítomné v čaji

Jsou definovány jako látky mající účinek na živé organismy. [9]

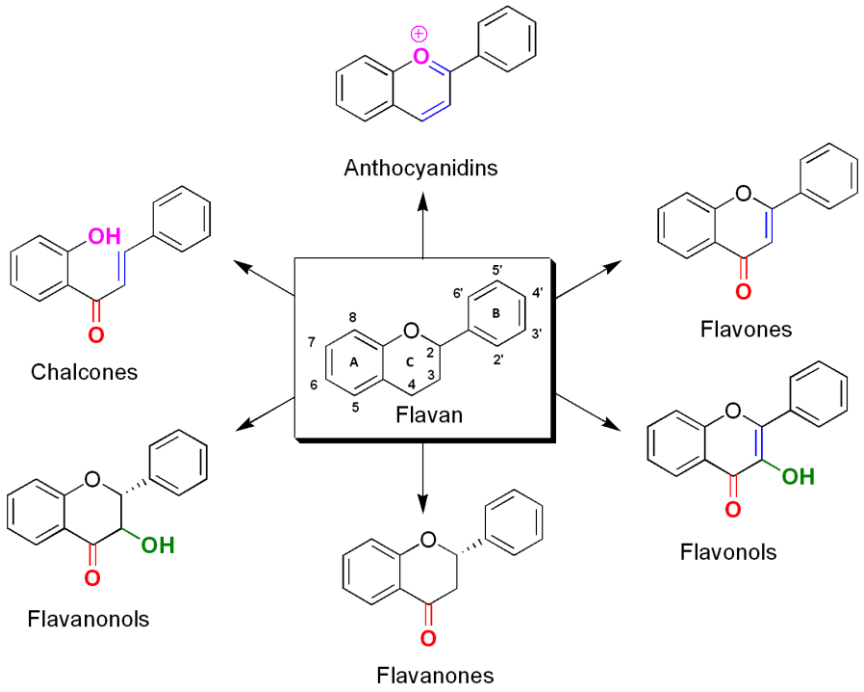
2.4.1 Polyfenoly

Jsou charakterizovány přítomností více než jedné fenolové jednotky nebo stavebního bloku v molekule. Představují jednu z nejpočetnějších a nejvíce rozšířených skupin přírodních produktů z říše rostlin. Získaly si velikou pozornost mezi vědci, výživovými specialisty a konzumenty díky jejich příznivým zdravotním účinkům. Mnoho výzkumů podporuje jejich roli v prevenci degenerativních onemocnění, rakovině, kardiovaskulárních onemocnění a neurodegenerativních onemocnění. Jsou také silnými antioxidanty. [10]

2.4.2 Flavonoidy

Jsou fenolické látky, které náleží mezi rostlinné sekundární metabolity. Řadíme je mezi polyfenoly. Hrají roli v celé řadě biologických aktivit rostlin. Řada z nich je zodpovědná za jejich zbarvení a aroma. Také fungují jako ochrana rostlin před UV zářením, fytopatogeny a jako signální molekuly při nodulaci. V současné době jich je známo více než 6000. [11]

Jejich základní struktura je tvořena 15 uhlíky, které sestávají z dvou aromatických jader, spojených třemi uhlíky, jak můžeme vidět na obrázku 3. Tato konfigurace bývá často označována jako C6-C3-C6. Flavonoidy se dále rozdělují do několika podskupin v závislosti na tom, k jakému atomu uhlíku se připojuje aromatický kruh B. V případě, že je kruh B napojen na 3 pozici kruhu C, hovoříme o isoflavonech, v případě 4 pozice o neoflavonech. Flavonoidy s napojeným kruhem B v pozici 2 se dále rozdělují podle struktury kruhu C na flavanony, flavanoly nebo katechiny, flavonony, flavonoly, flavony, anthokyany a chalkony. [10] [12]



Obrázek 3 *Struktura flavonoidů [13]*

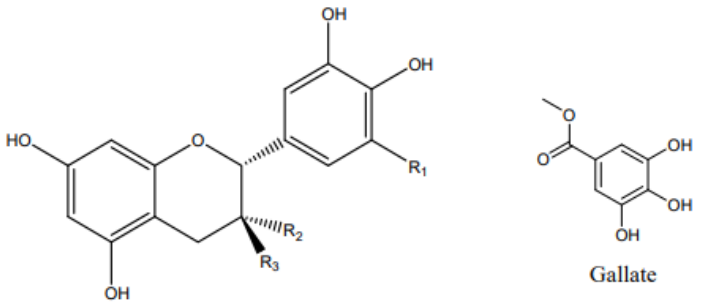
Flavonoidy jsou spojeny s širokým spektrem příznivých účinků na zdraví a jsou nepostradatelnými složky v celé škále nutraceutických, farmaceutických, medicínských a kosmetických aplikací. Především díky jejich antioxidačním, protizánětlivým, protimutagenním a protirakovinným účinkům. [14]

2.4.2.1 Flavanoly

Jsou ze všech flavonoidů nejhojněji zastoupeny v zeleném čaji. Tvoří až 70 % jeho celkového fenolického složení. Některé studie také naznačují, že jsou zodpovědné až za 92 % jeho celkové antioxidační aktivity. Na obrázku 4 jsou uvedeny nejběžněji se vyskytující flavanoly v čaji. [12]

Nejvyšší antioxidační aktivitu vykazují estery flavanolů s kyselinou gallovou. [12]

Největší zastoupení z flavanolů v čaji zaujímá EGCG. Ukázalo se, že má nejvyšší chemopreventivní schopnosti u rakovinných buněk tlustého střeva ze všech polyfenolů v zeleném čaji. Jeho antiproliferační účinky byly dokonce vyšší než u 5-fluorouraclilu, který se používá jako cytostatikum při léčbě rakoviny tlustého střeva. [15]



Flavan-3-ol	R_1	R_2	R_3
(+)-Catechin (C)	H	H	OH
(+)-Catechin-3-gallate (CG)	H	H	Gallate
(-)-Epicatechin (EC)	H	OH	H
(-)-Epicatechin-3-gallate (ECG)	H	Gallate	H
(-)-Epigallocatechin (EGC)	OH	OH	H
(-)-Epigallocatechin-3-gallate (EGCG)	OH	Gallate	H
(+)-Gallocatechin (GC)	OH	H	OH
(+)-Gallocatechin-3-gallate (GCG)	OH	H	Gallate

Obrázek 4 *Flavanoly v čaji [16]*

2.4.2.2 Flavonoly

Další významná skupina flavonoidů přítomná v zeleném čaji. Jde především o kemferol, kvercetin, myricetin a jejich glykosidy. Významně přispívají k trpké chuti čajových nálevů. [12] [17]

U kemferolu byly zjištěny protirakovinné účinky. Ukázalo se, že je schopný bránit růstu zhoubných nádorových buněk a jejich schopnosti metastázovat. Dieta bohatá na kemferol snižuje pravděpodobnost vzniku rakoviny žaludku. [18]

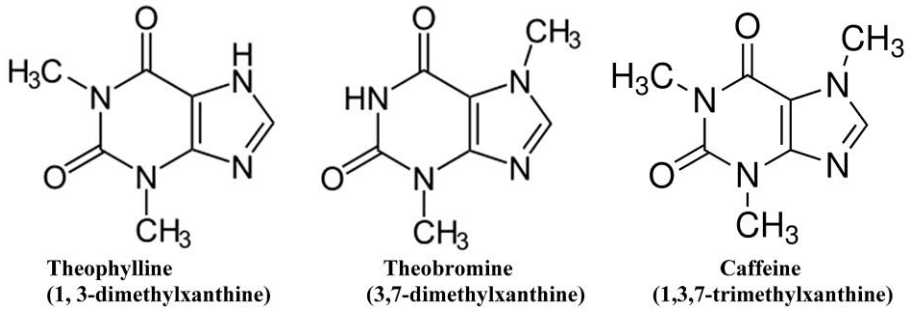
Příjem kemferolu, kvercetinu a myricetinu snižuje riziko rakoviny slinivky břišní u kuřáků. [19]

2.4.3 Fenolové kyseliny

Jsou zastoupeny v zeleném čaji v menší míře. Jde především o gallovou, p-kumarovou a chinovou kyselinu a jejich deriváty. [12]

2.4.4 Methylxantiny

Jsou sloučeniny odvozené od xantinu methylací. Jejich struktura je znázorněna na obrázku 5. Největší zastoupení z methylxantinů v čaji zaujímá kofein, dále theobromin a theofylin.



Obrázek 5 *Methylxantiny [20]*

2.4.4.1 Kofein

Je hořká, bílá krystalická látka, patří mezi xantinové alkaloidy. Setkáváme se s ním především v kávových bobech a listech čajovníku. Řadí se mezi psychoaktivní stimulační drogu, která stimuluje centrální nervový systém. V lidském těle je asi 99 % absorbováno během trávení v průběhu prvních 45 minut. Pokud se do těla dostane v podobě nápojů, probíhá absorpce v GIT a je distribuován pomocí tělních tekutin. Kofein je v těle téměř úplně zmetabolizován, pouze 3 % a méně je vyloučeno v nezměněné podobě. Samotný metabolismus kofeinu probíhá v játrech. Podílí se na něm mnoho enzymatických systémů, především enzymy cytochromu P450, N-acetyltransferáza, xantinooxidáza. Demethylací a oxidací vznikají 3 nejdůležitější metabolity:

- paraxantin (70-80 %), má podobné účinky jako kofein,
- theobromin (7-8 %),
- theofylin (7-8 %). [21]

Mechanismů účinků kofeinu je několik:

- **Inhibice fosfodiesterázy:** Kofein inhibuje fosfodiesterázu (enzym, který katalyzuje hydrolýzu cAMP), což vede ke zvýšení koncentrace cAMP. Tím kofein nepřímo ovlivňuje regulaci cAMP-dependentních proteinových kináz, které jsou zodpovědné za regulaci glykogenu, cukrů a metabolismu lipidů. Aktivací hormon-citlivých lipáz dochází ke zvýšené lipolýze, která se projeví zvýšením plazmatických hladin volných mastných kyselin a glycerolu. Dochází rovněž ke zvýšenému uvolňování katecholaminů. [22]
- **Antagonismus adenosinových receptorů:** Velký vliv na behaviorální a kognitivní funkce. Kofein se nespecificky váže na adenosinové receptory. Buňky jsou pak vůči adenosinu "slepé". Pokud se naváže adenosin na své receptory, působí jako inhibitor nervových signálů, což vede k ospalosti, malátnosti a zapříčiňuje usínání. Dále adenosin dilatuje krevní cévy mozku. Navázáním kofeinu a paraxantinu na adenosinové receptory dochází k opačným reakcím: zrychlení nervových signálů, pocit bdělosti a konstrikce mozkových cév. [23]

Kofein je světově nejvíce konzumovanou psychoaktivní drogou. Ve spojených státech jeho konzumace činí 87 % mezi dospělými a dětmi. [24]

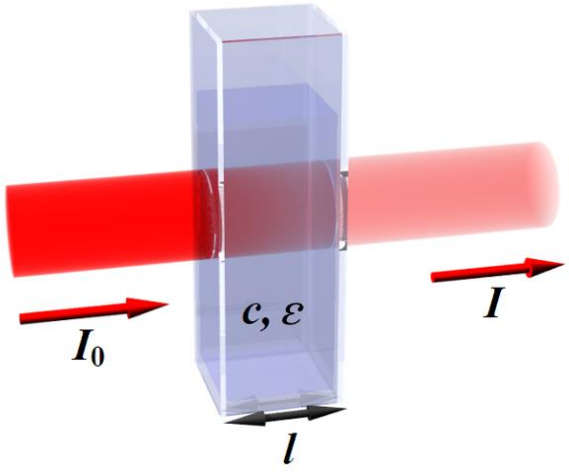
2.5 Spektrofotometrie

Je analytická metoda, která využívá absorpci elektromagnetického záření látkami v oblasti ultrafialového a viditelného spektra. Za absorpci elektromagnetického záření jsou zodpovědné valenční elektrony, které při přechodu z jedné energetické hladiny do druhé pohlcují elektromagnetické záření o vlnové délce odpovídající rozdílu energií obou elektronových hladin. Pokud absorbované záření leží ve viditelné části spektra, bude se lidskému oku látka jevit barevná a bude mít barvu doplňkovou k barvě absorbovaného světla. Míra, jakou látka pohlcuje světlo různých vlnových délek závisí na struktuře sloučeniny. Množství světla určité vlnové délky, které pohltí např. látka rozpuštěná v roztoku, závisí na koncentraci látky.

Množství světla určité vlnové délky, které prošlo vzorkem, popisuje veličina transmitance, která je definována jako

$$T = \frac{I}{I_0}$$

kde T je transmitance, I je intenzita světla, které prošlo vzorkem, I_0 je intenzita světla, které do vzorku vstoupilo, což je znázorněno na obrázku 6.



Obrázek 6 *Absorpce světla [25]*

V praxi by nebylo vhodné měřit přesně obě intenzity, které jsou kromě vlastností vzorku ovlivněny i absorpcí a odrazem světla na stěnách kyvety a v optice fotometru, prostředím, v němž probíhá měření atd. Proto se obvykle měří transmitance relativně vzhledem ke slepému vzorku. Transmitance je pak definována vztahem

$$T = \frac{I_v}{I_b}$$

kde I je intenzita světla, které prošlo vzorkem, I_b je intenzita světla, které prošlo slepým vzorkem. Dekadickým logaritmem převrácené hodnoty transmitance je absorbance:

$$A = \log\frac{1}{T} = \log\frac{I_b}{I_v}$$

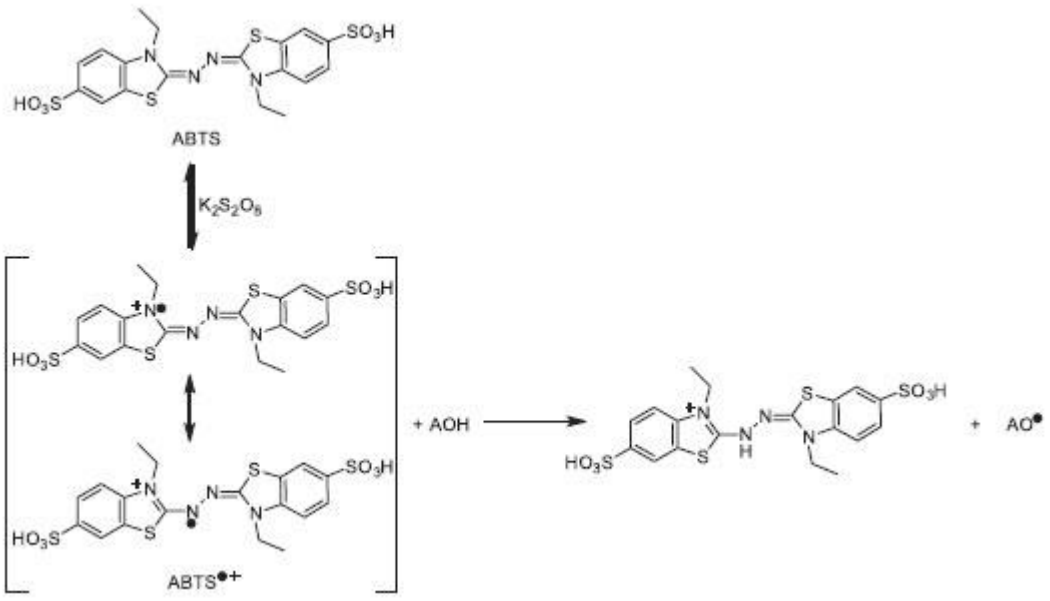
pro kterou dále platí

$$A = \varepsilon \cdot l \cdot c$$

kde ε je molární dekadický absorpční koeficient, l je délka kyvety, c je koncentrace. Tento vztah se označuje jako Labertův-Beerův zákon a platí pro zředěné roztoky látek, v nichž nedochází k vzájemnému ovlivňování rozpuštěných částic, jimiž prochází monochromatické záření. Praktickou výhodou Lambert-Beerova zákona je, že absorbance je přímo úměrná koncentraci absorbující látky. [26]

2.5.1 Stanovení celkové antioxidační aktivity metodou ABTS

Metoda spočívá v hodnocení schopnosti vzorku zhášet kation-radikál $ABTS^{\bullet+}$. Je také označována jako metoda TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity), protože výsledná antiradikálová aktivita vzorku je srovnávána s antiradikálovou aktivitou syntetické standardní látky – derivátu vitaminu E s názvem Trolox (kyselina 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová). Kation-radikál $ABTS^{\bullet+}$ se nejčastěji připravuje oxidací ABTS s peroxodisíranem draselným. Radikál $ABTS^{\bullet+}$ je modrý a absorbuje světlo vlnové délky 734 nm, při reakci s antioxidanty je redukován zpět na svou bezbarvou formu ABTS. Tyto reakce jsou schematicky znázorněny na obrázku 7. [27]



Obrázek 7 *Oxidace ABTS a jeho reakce s antioxidantem [27]*

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Seznam použitých přístrojů

Spektrofotometr – UV/VIS HELIOS DELTA – Thermospectronic, Anglie

Vortex – Reax Top, Heidoplh, Nemecko

Laboratorní váhy – KERN, EMB, spol. s. r. o., Kyjov

Mikropipety Biohit Proline

Stojan na zkumavky

Odměrné a běžné laboratorní sklo

3.2 Seznam použitých chemikálií

Destilovaná voda

Ethanol 96% (VWR)

Folin-Ciocaltauovo činidlo (Sigma–Aldrich Chemie GmbH)

Uhličitan sodný (LACHEMA)

Kyselina gallová (PENTA)

Dusitan sodný (PENTA)

Katechin (LACHEMA)

Chlorid hlinitý (PENTA)

Hydroxid sodný (LACHEMA)

3.3 Analyzované vzorky čajů

Na analýzu fenolických látek a antioxidační aktivity byly vybrány tři vzorky zelených čajů z obchodního řetězce.

1 TEEKANNE Green Tea

- Složení: 100 % zelený čaj
- Firma: TEEKANNE Česká Republika

Obrázek 8 *TEEKANNE Green Tea [28]*

2 Sir Winston

- Složení: 100 % zelený čaj
- Firma: TEEKANNE Česká republika

Obrázek 9 *Sir Winston [29]*

3 Gunpowder

- Složení: 100 % zelený čaj
- Firma: Jemča

Obrázek 10 *Gunpowder [30]*

3.4 Příprava vzorků

Příprava horkého výluhu

Do kádinky bylo naváženo 10 g vzorku čaje a vzorek byl zalit 100 ml vroucí destilované vody. Poté bylo postupně odebíráno po 1 ml vzorku v časových intervalech 5, 10, 15, 20, 40 a 80 min. Vzorky byly uchovány v mrazničce.

Příprava studeného výluhu

Do kádinky bylo naváženo 10 g vzorku čaje a vzorek byl zalit 100 ml destilované vody o laboratorní teplotě. Poté bylo postupně odebíráno po 1 ml vzorku v časových intervalech 5, 10, 15, 20, 40 a 80 min. Vzorky byly uchovány v mrazničce.

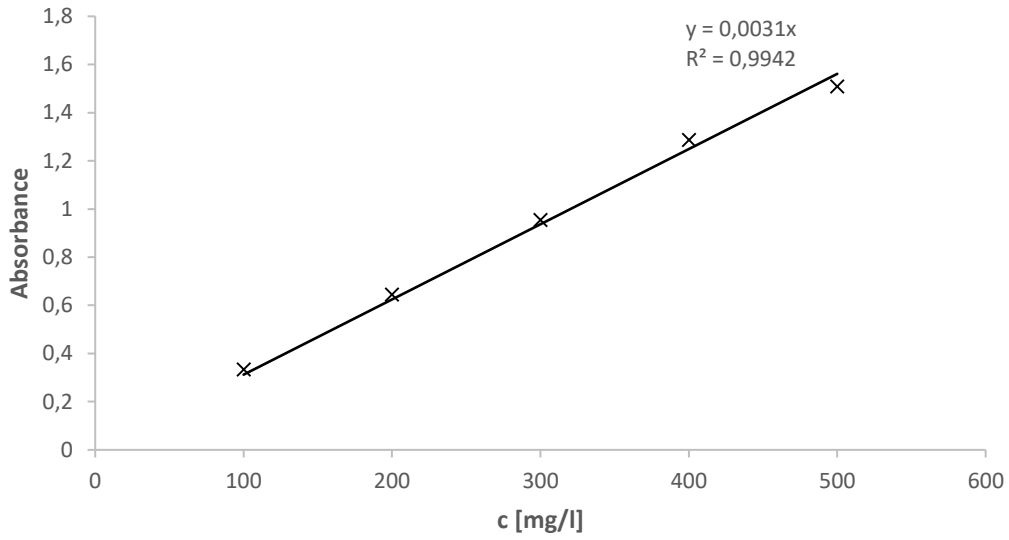
3.5 Stanovení celkových polyfenolů

Chemikálie: Folin-Ciocaltauovo činidlo, nasycený roztok uhličitanu sodného, 5% roztok dusitanu sodného, 10% roztok chloridu hlinitého, 1 M roztok hydroxidu sodného a 1 $g \cdot l^{-1}$ roztok kyseliny gallové

Stanovení obsahu celkových polyfenolů bylo prováděno spektrofotometrickou metodou s Folin-Ciocaltauovým činidlem.

3.5.1 Kalibrační křivka

Rozpuštěním navážky krystalické kyseliny gallové v destilované vodě byl připraven roztok o koncentraci 1000 $mg \cdot l^{-1}$. Postupným ředěním byla připravena řada kalibračních roztoků o koncentracích 100, 200, 300, 400 a 500 $mg \cdot l^{-1}$. Absorbance byla měřená při λ=750 nm.



Obrázek 11 *Kalibrační křivka kyseliny gallové*

3.5.2 Příprava vzorků

Do zkumavky bylo napipetováno vždy 1 ml zředěného Folin-Ciocaltauova činidla, 1 ml destilované vody a 100 µl vzorku. Roztok ve zkumavkách byl promíchán a ponechán stát. Po pěti minutách bylo do každé zkumavky k roztoku přidáno po 1 ml nasyceného roztoku uhličitanu sodného a opět vše dobře promícháno. Po 15 minutách byla změřena absorbance pomocí UV/VIS spektrofotometru při λ = 750 nm proti slepému vzorku (kde namísto 100 µl vzorku bylo použito 100 µl destilované vody).

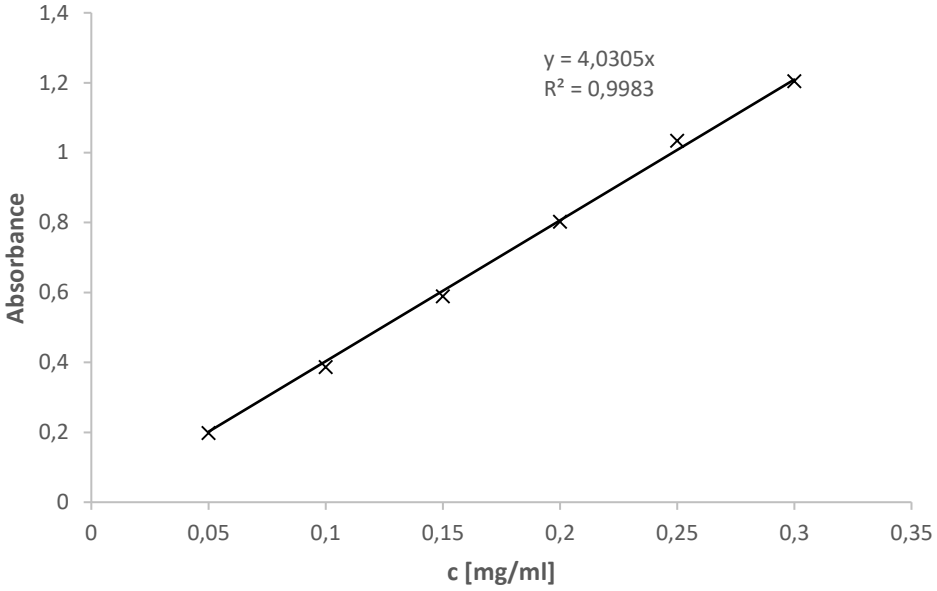
3.6 Stanovení celkových flavonoidů

Chemikálie: 5% roztok dusitanu sodného, 10% roztok chloridu hlinitého, 1 mol·l^{-1} hydroxid sodný a 1 g·l^{-1} roztok katechinu

Stanovení celkového množství flavonoidů bylo provedeno spektrofotometrickou metodou reakcí s hlinitou solí a dusitanem.

3.6.1 Kalibrační křivka

Rozpuštěním katechinu v destilované vodě byl připraven roztok o koncentraci 1000 mg·l^{-1}. Ředěním byly připraveny roztoky o koncentracích 50, 100, 150, 200, 250 a 300 mg·l^{-1}. Absorbance byla měřená při λ=510 nm.



Obrázek 12 *Kalibrační křivka katechinu*

3.6.2 Příprava vzorků

Do zkumavky bylo napipetováno 0,5 ml extraktu vzorku, 1,5 ml destilované vody a 0,2 ml 5% roztoku dusitanu sodného. Roztok ve zkumavkách byl důkladně promíchán a ponechán stát 5 minut. Poté se do zkumavek přidalo 0,2 ml 10% roztoku chloridu hlinitého, opět bylo vše řádně promícháno a ponecháno stát 5 minut. Nakonec bylo přidáno 1,5 ml roztoku hydroxidu sodného a 1 ml destilované vody. Po 15 minutách byly vzorky analyzovány pomocí UV/VIS spektrofotometru při vlnové délce 510 nm.

3.7 Stanovení celkové antioxidační aktivity

Chemikálie: roztok $ABTS^{\bullet+}$, ethanol

Stanovení celkové antioxidační aktivity bylo provedeno metodou ABTS.

3.7.1 Kalibrační rovnice

Pro výpočet byla použita kalibrační rovnice troloxu $A = 0{,}00138913 \cdot c$. [31]

3.7.2 Příprava vzorků

Zásobní roztok $ABTS^{\bullet+}$ byl před použitím zředěn ethanolem na absorbanci 0,7 +/- 0,02 při 734 nm (měřeno proti ethanolu). Do kyvety bylo napipetováno 1 ml zředěného roztoku $ABTS^{\bullet+}$ a 10 µl destilované vody, poté byla ihned změřena absorbance v čase 0 (A_t=0). Do další kyvety bylo napipetováno 1 ml zředěného roztoku $ABTS^{\bullet+}$ a přidáno 10 µl vzorku. Vzorek byl promíchán a ponechán ve tmě. Pokles absorbance byl změřen v 10. minutě. Pro výpočet absorbance vzorku byla použita rovnice $A = A_0 - A_{10}$.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

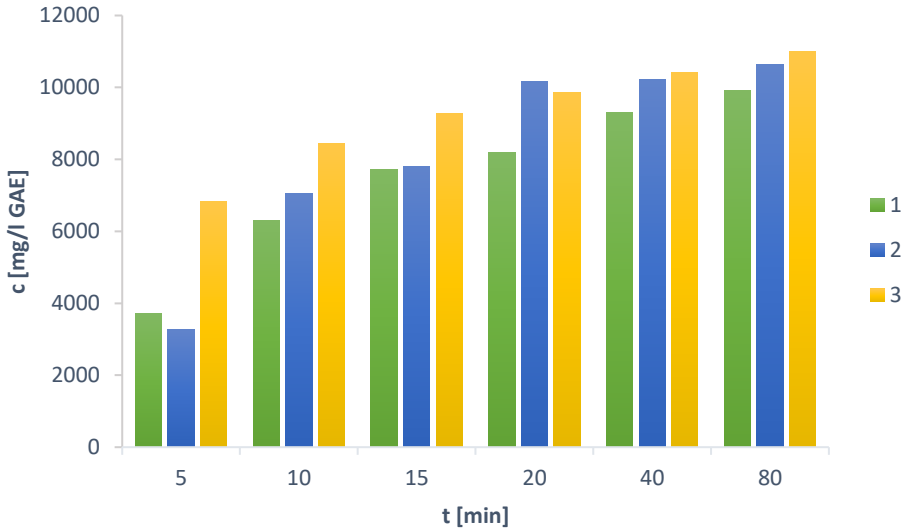
4.1 Stanovení celkových polyfenolů

4.1.1 Zahřívaný nálev

Hodnoty koncentrace polyfenolických látek pro všechny tři vzorky jsou uvedeny v tabulce 1. Na obrázku 13 můžeme vidět porovnání koncentrace polyfenolických látek v jednotlivých vzorcích v daných časových odběrech vzorků. Z obrázku 13 vyplývá, že nejvíce polyfenolických látek 10 987 mg·l $^{-1}$ GAE bylo obsaženo ve vzorku čaje č. 3, přičemž rozdíl mezi vzorky č. 1,2 a vzorkem č. 3 byl nejvyšší v 5. minutě extrakce. Rozdíl se postupně zmenšoval až do 80. minuty, kde všechny vzorky čaje měly podobný obsah polyfenolických látek. Nejnižší obsah polyfenolických látek 3 258 mg·l $^{-1}$ GAE byl naměřen ve vzorku č. 2 v 5. minutě extrakce.

Tabulka 1 *Stanovení polyfenolů v zahřívaném nálevu*

Vzorek č. 1				Vzorek č. 2				Vzorek č. 3			
Čas [min]	A [-]	c [mg·l $^{-1}$]	Ředění [-]	Čas [min]	A [-]	c [mg·l $^{-1}$]	Ředění [-]	Čas [min]	A [-]	c [mg·l $^{-1}$]	Ředění [-]
5	0,578	3729	1/20	5	0,505	3258	1/20	5	1,058	6826	1/20
10	0,978	6310	1/20	10	1,092	7045	1/20	10	1,308	8439	1/20
15	1,197	7723	1/20	15	1,210	7806	1/20	15	1,439	9284	1/20
20	1,268	8181	1/20	20	1,577	10174	1/20	20	1,529	9865	1/20
40	1,440	9290	1/20	40	1,585	10226	1/20	40	1,614	10413	1/20
80	1,535	9903	1/20	80	1,651	10652	1/20	80	1,703	10987	1/20



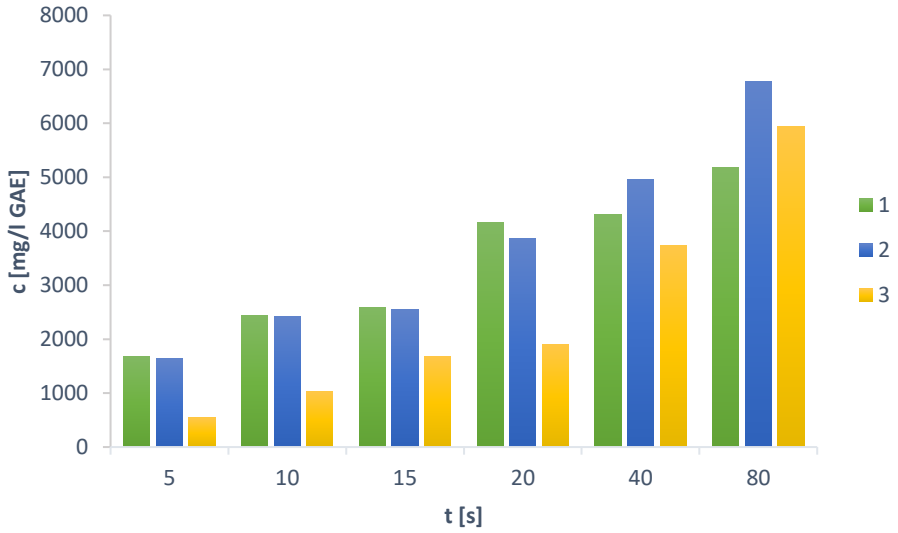
Obrázek 13 *Obsah celkových polyfenolů v zahřívaném nálevu*

4.1.2 Studený nálev

Pro studený nálev jsou hodnoty koncentrací v jednotlivých vzorcíchy uvedeny v tabulce 2. Na obrázku 14 můžeme vidět porovnání koncentrace polyfenolických látek v jednotlivých vzorcích v daných časových odběrech vzorků. Z obrázku 14 vyplývá, že situace v 5. minutě je zcela opačná, než je tomu v případě horkého nálevu. Nejvyšší hodnotu 6 774 $mg \cdot l^{-1}$ GAE dosáhl vzorek č. 2 v 80. minutě. Nejnižší hodnoty 542 $mg \cdot l^{-1}$ GAE dosáhl vzorek č. 3 v 5. minutě extrakce.

Tabulka 2 *Stanovení polyfenolů ve studeném nálevu*

Vzorek č. 1				Vzorek č. 2				Vzorek č. 3			
Čas [min]	A [-]	c [$mg \cdot l^{-1}$]	Ředění [-]	Čas [min]	A [-]	c [$mg \cdot l^{-1}$]	Ředění [-]	Čas [min]	A [-]	c [$mg \cdot l^{-1}$]	Ředění [-]
5	0,259	1671	1/20	5	0,253	1632	1/20	5	0,084	542	1/20
10	0,379	2445	1/20	10	0,375	2419	1/20	10	0,159	1026	1/20
15	0,4	2581	1/20	15	0,395	2548	1/20	15	0,261	1684	1/20
20	0,645	4161	1/20	20	0,6	3871	1/20	20	0,296	1910	1/20
40	0,668	4310	1/20	40	0,768	4955	1/20	40	0,58	3742	1/20
80	0,803	5181	1/20	80	1,05	6774	1/20	80	0,922	5948	1/20



Obrázek 14 *Obsah celkových polyfenolů ve studeném nálevu*

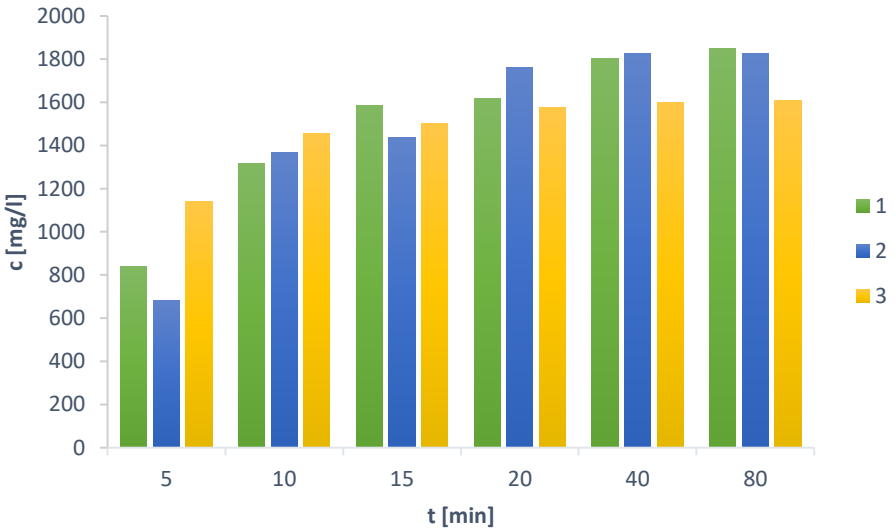
4.2 Stanovení celkových flavonoidů

4.2.1 Horký nálev

Výsledky stanovení flavonoidů jsou uvedeny v tabulce 3. Na obrázku 15 můžeme vidět grafické znázornění výsledků, které mají obdobný průběh, jako v případě stanovení celkových polyfenolů. Nejvyšší hodnota koncetrace flavonoidů 1 850 $mg \cdot l^{-1}$ CE byla dosažena ve vzorku č. 1 v 80. minutě extrakce, přičemž hodnota koncentrace ve vzorku č. 2 se téměř nelišila. Nejnižší hodnota koncentrace 680 $mg \cdot l^{-1}$ CE byla naměřena ve vzorku č. 2 v 5. minutě extrakce.

Tabulka 3 *Stanovení flavonoidů v horkém nálevu*

Vzorek č. 1				Vzorek č. 2				Vzorek č. 3			
Čas [min]	A [-]	c [mg·l $^{-1}$]	Ředění [-]	Čas [min]	A [-]	c [mg·l $^{-1}$]	Ředění [-]	Čas [min]	A [-]	c [mg·l $^{-1}$]	Ředění [-]
5	0,673	841	1/5	5	0,544	680	1/5	5	0,914	1143	1/5
10	1,055	1319	1/5	10	1,095	1369	1/5	10	1,166	1458	1/5
15	1,267	1584	1/5	15	1,149	1436	1/5	15	1,200	1500	1/5
20	1,293	1616	1/5	20	1,410	1763	1/5	20	1,260	1575	1/5
40	1,443	1804	1/5	40	1,460	1825	1/5	40	1,280	1600	1/5
80	1,480	1850	1/5	80	1,460	1825	1/5	80	1,285	1606	1/5



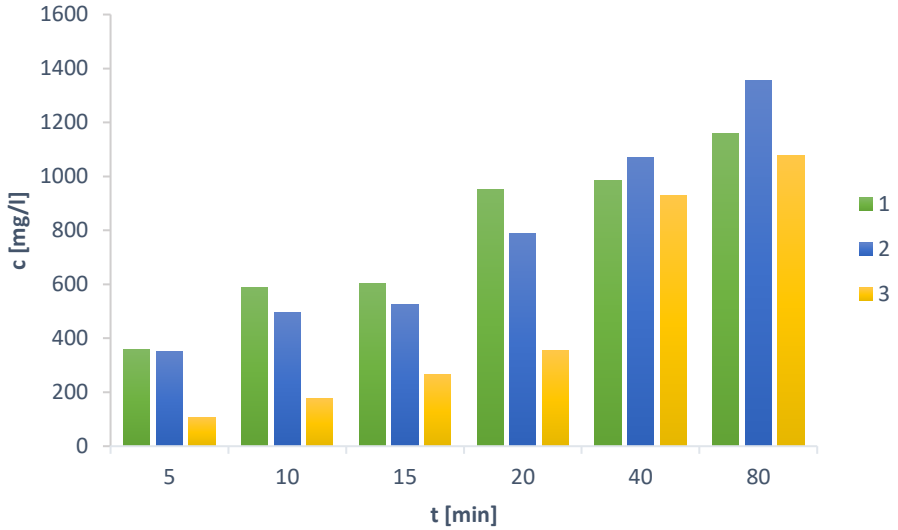
Obrázek 15 *Obsah flavonoidů v horkém nálevu*

4.2.2 Studený nálev

Hodnoty koncentrací flavonoidů v jednotlivých vzorcích jsou uvedeny v tabulce 4. Na obrázku 16 může vidět jejich grafické znázornění. Situace je zde obdobná jako v případě studeného nálevu u stanovení celkových polyfenolů. Nejvyšší hodnota koncentrace flavonoidů 1 354 mg·l $^{-1}$ CE byla zjištěna ve vzorku č. 2 a to v 80. minutě. Nejnižší hodnota 108 mg·l $^{-1}$ CE pak byla naměřena ve vzorku č. 1 v 5. minutě.

Tabulka 4 *Stanovení flavonoidů ve studeném nálevu*

Vzorek č. 1				Vzorek č. 2				Vzorek č. 3			
Čas [min]	A [-]	c [mg·l^{-1}]	Ředění [-]	Čas [min]	A [-]	c [mg·l^{-1}]	Ředění [-]	Čas [min]	A [-]	c [mg·l^{-1}]	Ředění [-]
5	0,287	359	1/5	5	0,28	350	1/5	5	0,086	108	1/5
10	0,471	589	1/5	10	0,396	495	1/5	10	0,14	175	1/5
15	0,482	603	1/5	15	0,42	525	1/5	15	0,212	265	1/5
20	0,762	953	1/5	20	0,631	789	1/5	20	0,284	355	1/5
40	0,788	985	1/5	40	0,857	1071	1/5	40	0,743	929	1/5
80	0,927	1159	1/5	80	1,083	1354	1/5	80	0,861	1076	1/5



Obrázek 16 *Obsah flavonoidů ve studeném nálevu*

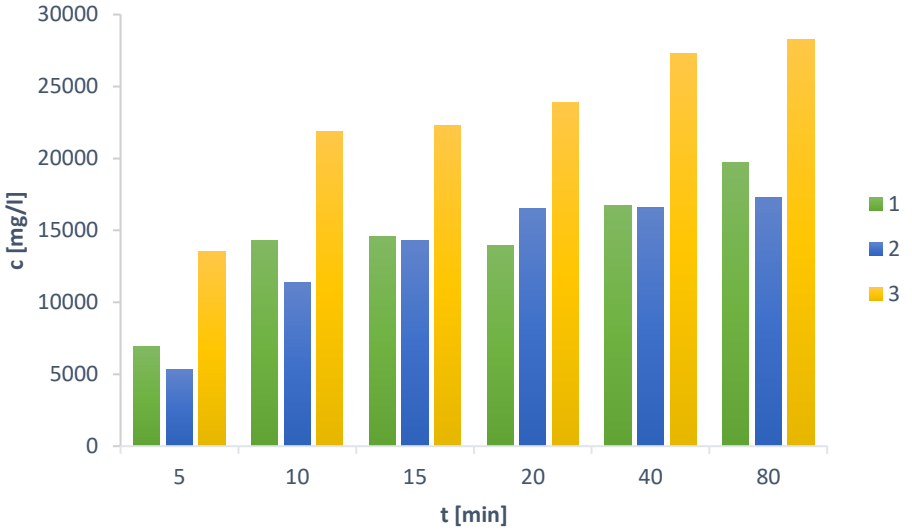
4.3 Stanovení celkové antioxidační aktivity

4.3.1 Horký nálev

V tabulce 5 jsou znázorněny výsledky stanovení celkové antioxidační aktivity. Z výsledků vyplývá, že nejvyšší antioxidační aktivita byla naměřena u vzorku č. 3 a to ve všech časech odběru, přičemž nejvyšší hodnoty 28 277 mg·l^{-1} TEAC dosáhla v 80. minutě. Zbývající dva vzorky vykazovaly obdobnou antioxidační aktivitu. Nejnižší hodnota 5327 mg·l^{-1} TEAC byla naměřena ve vzorku č. 2 v 5. minutě extrakce.

Tabulka 5 *Stanovení celkové antioxidační aktivity v horkém nálevu*

Vzorek č. 1				Vzorek č. 2				Vzorek č. 3			
Čas [min]	A [-]	c [mg·l^{-1}]	Ředění [-]	Čas [min]	A [-]	c [mg·l^{-1}]	Ředění [-]	Čas [min]	A [-]	c [mg·l^{-1}]	Ředění [-]
5	0,479	6896	1/20	5	0,37	5327	1/20	5	0,47	13534	1/40
10	0,496	14282	1/40	10	0,394	11345	1/40	10	0,38	21884	1/80
15	0,505	14541	1/40	15	0,497	14311	1/40	15	0,387	22287	1/80
20	0,485	13966	1/40	20	0,573	16500	1/40	20	0,415	23900	1/80
40	0,58	16701	1/40	40	0,575	16557	1/40	40	0,474	27298	1/80
80	0,684	19696	1/40	80	0,6	17277	1/40	80	0,491	28277	1/80



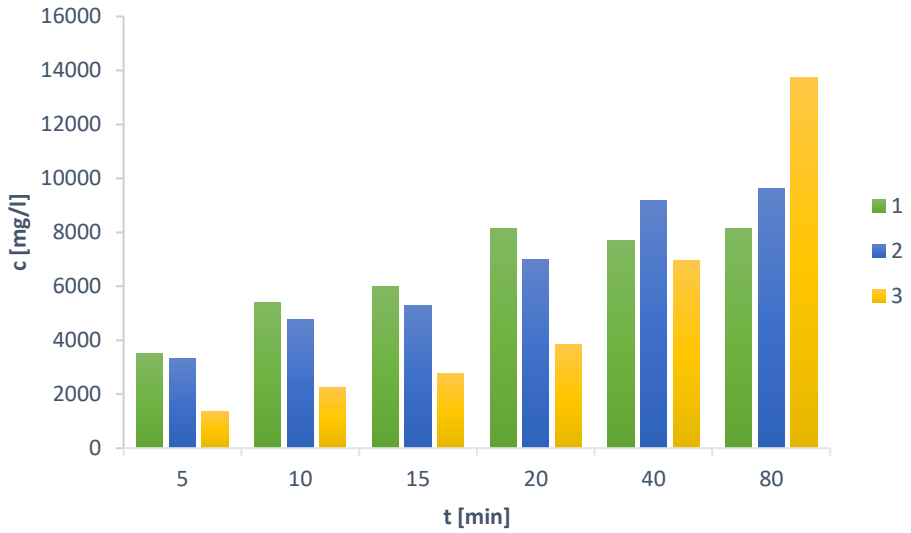
Obrázek 17 *Celková antioxidační aktivita*

4.3.2 Studený nálev

Výsledky jsou opět znázorněny v tabulce 6. Na obrázku 18 vidíme, že vzorek č. 3 dosáhl nejnižší hodnoty 1 368 mg·l^{-1} TEAC v 5. minutě, která ale dále rostla až do 80. minuty, kde naopak dosáhl nejvyšší hodnoty 13 735 mg·l^{-1} TEAC mezi testovanými vzorky.

Tabulka 6 *Stanovení celkové antioxidační aktivity ve studeném nálevu*

Vzorek č. 1				Vzorek č. 2				Vzorek č. 3			
Čas [min]	A [-]	c [mg·l^{-1}]	Ředění [-]	Čas [min]	A [-]	c [mg·l^{-1}]	Ředění [-]	Čas [min]	A [-]	c [mg·l^{-1}]	Ředění [-]
5	0,245	3527	1/20	5	0,230	3311	1/20	5	0,095	1368	1/20
10	0,376	5413	1/20	10	0,332	4780	1/20	10	0,156	2246	1/20
15	0,416	5989	1/20	15	0,368	5298	1/20	15	0,193	2779	1/20
20	0,565	8135	1/20	20	0,487	7012	1/20	20	0,267	3844	1/20
40	0,535	7703	1/20	40	0,637	9171	1/20	40	0,482	6940	1/20
80	0,566	8149	1/40	80	0,669	9632	1/40	80	0,477	13735	1/40



Obrázek 18 *Celková antioxidační aktivita*

4.4 Souhrnný přehled

V tabulce 7 jsou uvedeny nejvyšší a nejnižší naměřené hodnoty celkového obsahu polyfenolů, flavonoidů a antioxidační aktivity ve zkoumaných vzorcích čaje.

Tabulka 7 *Souhrnný přehled*

			Vzorek č. 1		Vzorek č. 2		Vzorek č. 3	
			Čas [min]	c [mg·l^{-1}]	Čas [min]	c [mg·l^{-1}]	Čas [min]	c [mg·l^{-1}]
Obsah polyfenolů	Horký nálev	Nejvyšší	80	9903	80	10652	80	10987
		Nejnižší	5	3729	5	3258	5	6826
	Studený nálev	Nejvyšší	80	5181	80	6774	80	5948
		Nejnižší	5	1671	5	1632	5	542
Obsah Flavonoidů	Horký nálev	Nejvyšší	80	1850	80	1825	80	1606
		Nejnižší	5	841	5	680	5	1143
	Studený nálev	Nejvyšší	80	1159	80	1354	80	1076
		Nejnižší	5	359	5	350	5	108
Antioxidační aktivita	Horký nálev	Nejvyšší	80	19696	80	17277	80	28277
		Nejnižší	5	6896	5	5327	5	13534
	Studený nálev	Nejvyšší	80	8149	80	9632	80	13735
		Nejnižší	5	3527	5	3311	5	1368

5 ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo popsání historie čaje a vypracování literární rešerše na téma antioxidační látky zeleného čaje a bioaktivní látky v něm přítomné. Tato práce se soustředila především na polyfenolické látky, protože jsou v čajovém nálevu zastoupeny nejhojněji. Dále byly vybrány 3 vzorky zeleného čaje z komerčního obchodu, ze kterých byly připraveny extrakty, které byly následně analyzovány vybranými metodami UV-VIS spektrometrie.

Nejvyšší hodnota antioxidační aktivity 28 277 $mg \cdot l^{-1}$ TEAC byla naměřena u vzorku čaje č. 3, a to v případě horkého nálevu v 80. minutě extrakce. Nejvyšší hodnota obsahu celkových polyfenolů činila 10 987 $mg \cdot l^{-1}$ GAE, opět u vzorku čaje č. 3 v 80. minutě extrakce. Nejvyšší hodnota obsahu celkových flavonoidů 1 850 $mg \cdot l^{-1}$ CE byla naměřena u vzorku čaje č. 1 v 80. minutě extrakce. Nejvyšší nárůst antioxidační aktivity byl pozorován v 5. a 10. minutě extrakce v případě horkého nálevu u všech vzorků. Je zajímavé, že vzorek č. 3 dosáhl v případě horkého nálevu v 5. minutě nejvyšší antioxidační aktivity, a v případě studeného nálevu nejnižší antioxidační aktivity mezi všemi vzorky. Tento rozdíl by se dal vysvětlit rozdílným zastoupením jednotlivých polyfenolických látek ve zkoumaných vzorcích čaje.

6 ZDROJE

[1] Archaeologists discover world's oldest tea buried with ancient Chinese emperor. In: *The Independent* [online]. 2016 [cit. 2018-05-03]. Dostupné z: https://www.independent.co.uk/news/science/archaeology/archaeologists-discover-worlds-oldest-tea-buried-with-ancient-chinese-emperor-a6805171.html

[2] Historie čaje. In: *Mix-Tee* [online]. b.r. [cit. 2018-05-03]. Dostupné z: https://www.mixtee.cz/rs/historie-caje/

[3] MARY LOU HEISS AND ROBERT J. HEISS., . *The story of tea a cultural history and drinking guide*. Unabridged. Berkeley, Calif: Ten Speed Press, 2007. ISBN 9781607741725.

[4] O čajovníku. *Botanika*. 2014, **2014**(1), 19. ISSN 2336-2243.

[5] Spices, their nature and growth, the vanilla bean, a talk on tea. In: *Wikipedia* [online]. b.r. [cit. 2018-03-28]. Dostupné z: https://www.flickr.com/photos/internetarchivebookimages/14577609298/

[6] THOMOVÁ, Soňa, Zdeněk THOMA a Michal THOMA. *Příběh čaje*. Vyd. 1. Praha: Argo, 2002. ISBN 80-7203-447-2.

[7] *Tea leaf* [online]. b.r. [cit. 2018-03-28]. Dostupné z: https://tealeafco.com/pages/tea-types

[8] MURRAY, Robert. *Harperova ilustrovaná biochemie*. 5. české vyd., 1. v nakl. Galén. Praha: Galén, 2012. ISBN 978-80-7262-907-7.

[9] GUAADAOUI, Abdelkarim, Soumaya BENAICHA, Naima ELMAJDOUB, Mohammed BELLAOUI a Abdellah HAMAL. What is a Bioactive Compound? A Combined Definition for a Preliminary Consensus. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*. 2014, **2014**(3), 174-179. DOI: 10.11648/j.ijnfs.20140303.16. ISSN 2327-2716.

[10] TSAO, Rong. Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients*. 2010, **2**(12), 1231-1246. DOI: 10.3390/nu2121231. ISSN 2072-6643. Dostupné také z: http://www.mdpi.com/2072-6643/2/12/1231/

[11] FALCONE FERREYRA, María, Sebastián RIUS a Paula CASATI. Flavonoids: biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications. *Frontiers in Plant Science*. 2012, **3**, -. DOI: 10.3389/fpls.2012.00222. ISSN 1664-462X. Dostupné také z: http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2012.00222/abstract

[12] LORENZO, José a Paulo MUNEKATA. Phenolic compounds of green tea: Health benefits and technological application in food. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* [online]. 2016, **6**(8), 709-719 [cit. 2017-11-29]. DOI: 10.1016/j.apjtb.2016.06.010. ISSN 22211691. Dostupné z: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2221169116300272

[13] Flavonoids. In: *Natural Products* [online]. b.r. [cit. 2018-03-28]. Dostupné z: http://en.naturalproducts.wiki/flavonoids

[14] PANCHE, A., A. DIWAN a S. CHANDRA. Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science* [online]. 2016, **5**, - [cit. 2018-03-29]. DOI: 10.1017/jns.2016.41. ISSN 2048-6790. Dostupné z: http://www.journals.cambridge.org/abstract_S2048679016000410

[15] DU, Guang-Jian, Zhiyu ZHANG, Xiao-Dong WEN, Chunhao YU, Tyler CALWAY, Chun-Su YUAN a Chong-Zhi WANG. Epigallocatechin Gallate (EGCG) Is the Most Effective Cancer Chemopreventive Polyphenol in Green Tea. *Nutrients* [online]. 2012, **4**(11), 1679-1691 [cit. 2018-04-05]. DOI: 10.3390/nu4111679. ISSN 2072-6643. Dostupné z: http://www.mdpi.com/2072-6643/4/11/1679

[16] BHAGWAT, S.A., D.B. HAYTOWITZ a J.M. HOLDEN. *USDA database for the flavonoid content of selected foods, release 3* [online]. b.r. [cit. 2018-04-04]. Dostupné z: http://www.ars.usda.gov/Services/docs.htm?docid=6231

[17] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin*. Vyd. 2. upr. Tábor: OSSIS, 2002. ISBN 80-866-5902-X.

[18] M. CALDERON-MONTANO, J., E. BURGOS-MORON, C. PEREZ-GUERRERO a M. LOPEZ-LAZARO. A Review on the Dietary Flavonoid Kaempferol. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry* [online]. 2011, **11**(4), 298-344 [cit. 2018-04-04]. DOI: 10.2174/13895711795305335. ISSN 13895575. Dostupné z: http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1389-5575&volume=11&issue=4&spage=298

[19] NOTHLINGS, U., S. MURPHY, L. WILKENS, B. HENDERSON a L. KOLONEL. Flavonols and Pancreatic Cancer Risk: The Multiethnic Cohort Study. *American Journal of Epidemiology* [online]. 2007, **166**(8), 924-931 [cit. 2018-04-04]. DOI: 10.1093/aje/kwm172. ISSN 0002-9262. Dostupné z: https://academic.oup.com/aje/article-lookup/doi/10.1093/aje/kwm172

[20] The chemical structure of naturally occurring methylxanthines. In: *Figshare* [online]. b.r. [cit. 2018-04-10]. Dostupné z: https://figshare.com/articles/_The_chemical_structure_of_naturally_occurring_methylxanthines_/199454

[21] THORN, Caroline, Eleni AKLILLU, Ellen MCDONAGH, Teri KLEIN a Russ ALTMAN. PharmGKB summary. *Pharmacogenetics and Genomics* [online]. 2012, , 1- [cit. 2018-04-13]. DOI: 10.1097/FPC.0b013e3283505d5e. ISSN 1744-6872. Dostupné z: http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=01213011-900000000-99643

[22] FISONE, G., A. BORGKVIST a A. USIELLO. Caffeine as a psychomotor stimulant: mechanism of action. *Cellular and Molecular Life Sciences (CMLS)* [online]. 2004,

61(7-8), 857-872 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.1007/s00018-003-3269-3. ISSN 1420-682X. Dostupné z: http://link.springer.com/10.1007/s00018-003-3269-3

[23] RIBEIRO, Joaquim, Ana SEBASTIãO, Rodrigo CUNHA a Alexandre DE MENDONçA. Caffeine and Adenosine. *Journal of Alzheimer's Disease* [online]. 2010, **20**(1), 3-15 [cit. 2018-04-14]. DOI: 10.3233/JAD-2010-1379. ISSN 18758908. Dostupné z: http://www.medra.org/servlet/aliasResolver?alias=iospress&doi=10.3233/JAD-2010-1379

[24] FRARY, Carol, Rachel JOHNSON a Min WANG. Food sources and intakes of caffeine in the diets of persons in the United States. *Journal of the American Dietetic Association* [online]. 2005, **105**(1), 110-113 [cit. 2018-04-15]. DOI: 10.1016/j.jada.2004.10.027. ISSN 00028223. Dostupné z: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S000282230401702X

[25] Absorpce světla. In: *Wikiskripta* [online]. b.r. [cit. 2018-05-03]. Dostupné z: https://www.wikiskripta.eu/w/Soubor:Beer_lambert1.png

[26] ZÁRUBA, Kamil. *Analytická chemie*. Vydání první. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2016. ISBN 978-80-7080-950-1.

[27] OLIVEIRA, Sandro, Glalci SOUZA, Camila ECKERT et al. Evaluation of antiradical assays used in determining the antioxidant capacity of pure compounds and plant extracts. *Química Nova* [online]. 2014, **37**(3), - [cit. 2018-04-19]. DOI: 10.5935/0100-4042.20140076. ISSN 0100-4042. Dostupné z: http://www.gnresearch.org/doi/10.5935/0100-4042.20140076

[28] TEEKANNE Green Tea. In: *TEEKANNE* [online]. b.r. [cit. 2018-04-20]. Dostupné z: http://www.teekanne.cz/shop/zeleny-caj/344-zeleny-caj-5901086000333

[29] Sir Winston. In: *Lékarna AGEL* [online]. b.r. [cit. 2018-04-20]. Dostupné z: https://www.lekarnaagel.cz/sir-winston-highland-green-tea-ns20x175g~z3347565.html

[30] JEMČA Zelený sypaný čaj Gunpowder. In: *Heureka* [online]. b.r. [cit. 2018-04-20]. Dostupné z: https://caje.heureka.cz/jemca-zeleny-sypany-caj-gunpowder-75-g/?s=6

[31] MÁROVÁ, Ivana a Dana VRÁNOVÁ. *Praktikum z biochemie - pracovní sešit*. Brno: FCH VUT v Brně, 2016.

7 POUŽITÉ ZKRATKY

GIT	gastrointestinální trakt
GAE	gallic acid equivalent
CE	catechin equivalent
TEAC	trolox equivalent antioxidant capacity
Trolox	kyselina 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová
ABTS	2,2´-azinobis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonová kyselina)