

Význam a stanovení antioxidantů v čaji

Bc. Kateřina Zehnalová

Diplomová práce
2010



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav biochemie a analýzy potravin

akademický rok: 2009/2010

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Kateřina ZEHNALOVÁ**
Osobní číslo: **T08839**
Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**

Téma práce: **Význam a stanovení antioxidantů v čaji**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Obecný význam antioxidantů.
2. Charakteristika čajů.
3. Zdravotní účinky zeleného čaje.
4. Stanovení antioxidantů.

II. Praktická část

1. Příprava vybraných vzorků.
2. Metody stanovení antioxidantů v čaji.



Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: tištěná/elektronická

Seznam odborné literatury:

- [1] Jordán, V., Hemzalová, M. Antioxidanty zázračné zbraně, vitamíny, aminokyseliny, stopové prvky, minerály a jejich využití pro zdravý život. Brno: Jota, 2001. 145 s.
- [2] Pokorný, J. Yanishlieva, N. Gordon, M. Antioxidants in food-particular applications. Woodhead publishing, 2001. 380 s.
- [3] Jain, N. K. Siddiqi, M. A. Weissburger, J.H. Protective effects of tea on human body. CABI, 2006.
- [4] Wachendorfová, V. Čaj. Praha: Slovart, 2007. 96 s.

Vedoucí diplomové práce:

doc. Ing. Miroslav Fišera, CSc.
Ústav biochemie a analýzy potravin

Datum zadání diplomové práce:

4. ledna 2010

Termín odevzdání diplomové práce:


19. května 2010

Ve Zlíně dne 8. dubna 2010



doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan




prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.
ředitel ústavu

ABSTRAKT

Cílem této diplomové práce bylo stanovení antioxidantů v čajích. Antioxidanty jsou důležité látky mající schopnost eliminovat působení volných radikálů, které poškozují tkáň organismu, jsou příčinou vzniku různých onemocnění a stárnutí organismu. Antioxidanty byly stanovovány v černém, bílém a zeleném čaji. V práci je také zmíněno technologické zpracování jednotlivých čajů a jejich příznivé účinky na zdraví člověka. Stanovení bylo provedeno pomocí vysoce účinné kapalinové chromatografie HPLC s elektrochemickým detektorem ECD. Poté byla vyzkoušena metoda HPLC UV/MS.

Klíčová slova: antioxidanty, černý čaj, bílý čaj, oolong, zelený čaj, HPLC, Coulochem III, ECD

ABSTRACT

The aim of this thesis is the determination of antioxidants in the tea. Antioxidants are important substances that have the ability to eliminate free toxic radicals, which damage the body tissue, are the cause of various diseases and aging. Antioxidants are measured in black, white and green tea. The paper also mentioned the processing of tea and its beneficial effects on human health. The assay was performed using high performance liquid chromatography HPLC with electrochemical detector. Next was tried method HPLC UV/MS.

Keywords: antioxidants, black tea, white tea, green tea, epigallocatechingallate, HPLC, Coulochem III, ECD

Poděkování patří vedoucímu mé diplomové práce, panu doc. Ing. Miroslavu Fišerovi, CSc. za odborné vedení při tvorbě diplomové práce. Velké díky patří také Ing. Daniele Kramářové, Ph.D., která mi poskytla svůj čas a cenné rady při tvorbě praktické části diplomové práce.

Motto:

„Učený člověk má své bohatství vždy v sobě. “

„Homo ductus in se semper divitias habet. “

Phaedrus

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

Příjmení a jméno: ZEHNALOVÁ KATEŘINA.....

Obor: THERP.....

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 13.5.2010.....

Kateřina Zehnalová.....

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydávajíc zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jim dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlídí k vyšší výdělku dosaženému školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 ANTIOXIDANTY	12
1.1 VÝZNAM ANTIOXIDANTŮ.....	12
1.2 DĚLENÍ ANTIOXIDANTŮ	13
1.2.1 Vitamin C – Kyselina L-askorbová.....	13
1.2.2 Vitamin E – Tokoferol	15
1.2.3 Vitamin A, karotenoidy, β -karoten.....	16
1.2.4 Flavonoidy.....	17
1.2.5 Minerální látky	18
1.2.6 Koenzym Q ₁₀	20
1.2.7 Kyselina α -lipoová	21
1.3 VOLNÉ RADIKÁLY	22
2 ČAJ	24
2.1 ROZDĚLENÍ ČAJŮ	24
2.2 ČAJE PRAVÉ.....	24
2.2.1 Čajovník	25
2.2.2 Černý čaj.....	27
2.2.3 Bílý čaj	29
2.2.4 Oolong.....	29
2.3 BYLINNÉ ČAJE	30
2.3.1 Čajové směsi léčivých bylin.....	30
2.3.2 Bylinné čaje jednodruhové.....	31
2.4 OVOCNÉ ČAJE.....	32
2.4.1 Ovocné čajové směsi.....	32
2.4.2 Ovocné čaje jednodruhové.....	33
3 ZELENÝ ČAJ	34
3.1 VÝROBA ZELENÉHO ČAJE	34
3.2 OBSAH POLYFENOLŮ	37
3.2.1 Epigalokatechingalát EGCG	38
3.2.2 Účinky zeleného čaje na zdraví.....	39
4 STANOVENÍ ANTIOXIDANTŮ METODOU HPLC-ECD	43
4.1 VYSOCEÚČINNÁ KAPALINOVÁ CHROMATOGRFIE.....	43
4.1.1 Schéma kapalinová chromatografie	44
4.2 DETEKTOR ESA COULOCHEM III.....	46
II PRAKTICKÁ ČÁST	48
5 METODIKA	49

5.1	POUŽITÉ CHEMIKÁLIE, PŘÍSTROJE A POMŮCKY.....	49
5.2	VZORKY K ANALÝZE	50
5.3	METODY.....	51
5.3.1	Příprava vzorků	51
5.3.2	Optimalizace stanovení antioxidantů metodou RP-HPLC-ECD	51
5.4	SESTROJENÍ KALIBRAČNÍCH KŘIVEK JEDNOTLIVÝCH STANDARDŮ	52
5.5	STANOVENÍ ANTIOXIDANTŮ METODOU RP-HPLC-ECD.....	53
6	VÝSLEDKY A DISKUZE	54
6.1	OPTIMALIZACE STANOVENÍ ANTIOXIDANTŮ METODOU RP-HPLC-ECD.....	54
6.2	VÝSLEDKY MĚŘENÍ KALIBRAČNÍ KŘIVKY	59
6.2.1	Kalibrační křivka pro standard katechinu	59
6.2.2	Kalibrační křivka pro standard epigalokatechinu.....	61
6.2.3	Kalibrační křivka pro standard kyseliny gallové.....	62
6.2.4	Kalibrační křivka pro standard epikatechin.....	63
6.2.5	Kalibrační křivka pro standard theofylin.....	64
6.3	VÝSLEDKY MĚŘENÍ ANTIOXIDANTŮ VE VZORCÍCH ČAJŮ	65
6.3.1	Statistické zpracování výsledků měření antioxidantů ve vzorcích čajů	65
6.3.2	Vzorek č. 1. Zelený čaj, TEEKANNE	65
6.3.3	Vzorek č. 2. Černý čaj, TEEKANNE.....	67
6.3.4	Vzorek č. 3. Bílý čaj, TEEKANNE.....	68
6.3.5	Vzorek č. 4. Zelený čaj Darjeeling.....	70
6.3.6	Vzorek č. 5. Černý čaj Darjeeling	71
6.3.7	Vzorek č. 6. Bílý čaj Darjeeling.....	73
6.3.8	Vzorek č. 7. Zelený čaj, Valdemar Grešík	75
6.3.9	Vzorek č. 8. Černý čaj, Valdemar Grešík.....	76
6.4	STANOVENÍ ANTIOXIDANTŮ METODOU HPLC UV/MS.....	80
6.4.1	Srovnání chromatogramu vzorku zeleného čaje, Valdemar Grešík s výsledky uvedenými v literatuře	84
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	87
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	91
	SEZNAM TABULEK.....	94
	SEZNAM GRAFŮ	96
	SEZNAM PŘÍLOH.....	97

ÚVOD

Antioxidanty jsou látky, jež organismus využívá ke své ochraně proti nebezpečným účinkům volných radikálů. Lidský organismus je vybaven antioxidantním systémem, ten zahrnuje endogenní antioxidanty. K jejich tvorbě a funkci jsou potřebné některé minerální látky, vitamíny a další látky. Mezi endogenní antioxidanty patří antioxidantní enzymy. Antioxidanty, které lidský organismus nedokáže syntetizovat nazýváme exogenní antioxidanty. Mezi tyto řadíme vitamíny A, E, C, β -karoten a karotenoidy, flavonoidy, koenzym Q₁₀, kyselinu α -lipoovou a některé minerální látky.

Řada antioxidantů je obsažena v čaji. Čaj je po vodě druhým nejoblíbenějším nápojem na světě. Všechny pravé čaje pocházejí z rostliny čajovníku *Camellia sinensis*. Pravé čaje lze rozdělit do několika skupin podle způsobu fermentace čajových lístků. Černý čaj je plně fermentovaný, oolong polofermentovaný, žlutý čaj fermentován jemně, bílý čaj je velmi slabě fermentován a lístky zeleného čaje nejsou fermentovány vůbec. Jestliže je nálev, výluh nebo odvar připraven z jiné rostliny než je čajovník, mluvíme o bylinných nebo ovocných čajích. Bylinné a ovocné čaje mohou být připraveny z jednoho druhu byliny či ovoce nebo ze směsi. Pravé čaje i čaje ovocné a bylinné mají určitý pozitivní vliv na lidské zdraví.

Zelený čaj díky tomu, že není ani částečně fermentován obsahuje nejvíce antioxidantů. Významný je obsah polyfenolů epikatechinu (EC), epikatechingalátu (ECG), epigalokatechinu (EGC), epigalokatechingalátu (EGCG) a katechinu (C). Obsah polyfenolů se podle druhů zeleného čaje může lišit. Právě díky těmto látkám má zelený čaj velice dobré účinky na zdraví. Zelený čaj působí preventivně proti vzniku rakoviny, kardiovaskulárních chorob, infekce, bojuje proti zubnímu kazu a mnoha dalším zdravotním potížím.

Jednou z vhodných metod na stanovení antioxidantů v čajích je HPLC-ECD. Jde o rychlou, fyzikálně-chemickou separační metodu, při které se separované látky dělí mezi dvě nemísitelné fáze. Také použití metody HPLC UV/MS je vhodné.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 ANTIOXIDANTY

Antioxidanty jsou sloučeniny vyskytující se v potravinách, jež mají schopnost oddálit, zpomalit nebo zabránit oxidačním procesům. Jsou využívány k ochraně buněk tkání a orgánů proti molekulám volných radikálů, které jsou tvořeny při normální látkové přeměně. Podílejí se na inaktivaci volných radikálů a odstraňují je z buněk, čímž chrání nejen buňky samotné, ale celý organismus. V podstatě chrání různé sloučeniny, jež jsou součástí tělesných tkání a různých biochemických procesů v organismu před devastacím působením kyslíku. [1, 2, 3, 4]

1.1 Význam antioxidantů

Význam antioxidantů spočívá v zapojení do ochranného systému organismu, kde antioxidanty a celá jejich seskupení navzájem spolupracují. Do systému patří také antioxidační enzymy, kterých však z pravidla není dostatek a pro jejich celkové množství, tvorbu a funkci je nutné určité množství některých vitamínů, minerálů a dalších pomocných látek. K endogenním antioxidantům, které jsou produkovány organismem, mimo jiné patří i enzym kataláza, k jehož tvorbě je nezbytně nutná přítomnost iontů železa. Kataláza rozkládá peroxid vodíku na vodu. Dalším enzymovým antioxidantem je glutathionperoxidáza, pro jehož tvorbu a funkci je potřebný selen, a který odstraňuje intracelulární hydroperoxydy. Mangan, měď a zinek se podílí na tvorbě superoxiddismutázy (SOD), jež neutralizuje superoxid na peroxid vodíku. [1, 2, 5, 6]

Antioxidanty mohou bránit nebo zpomalit oxidaci dvěma způsoby. Buď mohou volné radikály odstranit, v tomto případě jsou sloučeniny označovány jako primární antioxidanty. Nebo využívají mechanismy, které přímo volné radikály neodstraní, a tyto označujeme jako sekundární antioxidanty. Primární antioxidanty zahrnují fenolické sloučeniny jako je tokoferol. Sekundární antioxidanty působí prostřednictvím různých mechanismů, některé váží kovové ionty, odstraňují kyslík, konvertují hydroperoxid, pohlcují UV záření nebo deaktivují singletový kyslík. Sekundární antioxidanty obvykle vykazují antioxidační aktivitu v přítomnosti jiné látky. Např. kyselina citrónová je efektivní pouze v přítomnosti kovových iontů. Redukční činidla jako např. kyselina askorbová, jsou účinná v přítomnosti tokoferolů nebo jiných primárních antioxidantů. [3, 4, 6, 7]

Velký význam má také antioxidační synergismus, jehož podstatou je, že účinky spojených antioxidantů jsou výraznější než prostý součet účinků samostatných antioxidantů. Podle vědeckého výzkumu synergické kombinace antioxidantů přináší větší ochranu. Některé antioxidanty mají schopnost regenerovat jiné antioxidanty, které zneutralizovaly volný radikál a samy se staly slabým volným radikálem. Např. kyselina α -lipoová a pyknogenol regenerují spotřebovaný vitamin C, který má schopnost regenerovat vitamin E. [2, 3, 4]

1.2 Dělení antioxidantů

Některé antioxidanty dokáže organismus produkovat, ale není jich dostatečné množství, proto je třeba další získávat ze stravy. Např. minerální látky samotné nejsou antioxidanty. Některé z nich se stávají složkami antioxidačních enzymů, které jsou vytvářeny organismem a jde tedy o endogenní antioxidanty. V biochemických reakcích sehrávají určité specifické role, jde o enzymy nebo koenzymy. Fungují jako katalyzátory chemických reakcí v těle. Mezi nejvýznamnější endogenní antioxidanty řadíme glutathion. Glutathion je základní antioxidační ochránce buněk lidského těla. Jde o chemickou sloučeninu s nízkým obsahem síry, cysteinu a methioninu, která se pojí s enzymy obsahujícími selen. Mezi endogenní enzymy řadíme i již zmiňovanou katalázu, glutathion peroxidázu a SOD. Lidské tělo dokáže do jisté míry syntetizovat také antioxidační koenzymy jako je nikotinamidadeninukleotid (NADH), koenzym Q₁₀ a kyselinu α -lipoovou. [1, 2]

Větší ochranné působení mají exogenní antioxidanty, do této skupiny můžeme zařadit, vitamín E, vitamin C, vitamin A, β -karoten a karotenoidy, flavonoidy, některé minerální látky, koenzym Q₁₀, kyselinu α -lipoovou. Karotenoidy a flavonoidy představují velmi početnou třídu antioxidantů. Tyto antioxidanty lidský organismus nedokáže syntetizovat, vyjma koenzymu Q₁₀ a kyseliny α -lipoové. [2, 8]

Mezi přírodní zdroje antioxidantů lze zařadit ginkgo bilobu, borovou kůru (pyknogenol), Yuccu a další. Zejména ginkgo biloba a pyknogenol mají významné antioxidační účinky, především účinek na metabolismus oxidu dusnatého. [1, 8]

1.2.1 Vitamin C – Kyselina L-askorbová

Název vitamin C označuje kyselinu L-askorbovou a celý její reverzibilní redoxní systém. Je řazena mezi hydrofilní vitaminy. Základní biologická aktivní sloučenina je kyselina askorbová. Tvoří čtyři stereoizomery, z nichž jen dva vykazují aktivitu a to kyselina

L-askorbová. Je velmi dobře rozpustná ve vodě, snadno dochází k její oxidaci vzdušným kyslíkem na kyselinu dehydroaskorbovou. Kyselina askorbová je velice citlivá na působení světla, tepla a na přítomnost kovů. Tyto faktory stimulují volné radikály.[4, 9]

Kyselina askorbová je nepostradatelný kofaktor enzymů při syntéze kolagenu a při přeměně dopaminu na noradrenalin. Je významným redukčním činidlem, redukuje Fe^{3+} na Fe^{2+} čímž umožňuje vstřebávání železa. [5]

Antioxidační účinek kyseliny askorbové spočívá v redukci anorganických a organických radikálů, jako $\text{O}_2^{\bullet-}$, HO_2^{\bullet} , HO^{\bullet} , hydrofilní RO_2^{\bullet} , NO_2^{\bullet} a reaguje s $^1\text{O}_2$ a HClO . Také regeneruje tokoferolový radikál. Při regeneraci ztrácí elektron a dojde ke změně na semidehydroaskorbát neboli askorbylový radikál, ten je méně reaktivní než výše uvedené radikály. Zpět na kyselinu askorbovou a dehydroaskorbovou se askorbylový radikál regeneruje dehydrogenázou za přítomnosti NADH. Intracelulární ochranné reakce vitamínu C se mohou obrátit proti organismu, pokud jsou železo a měď přítomny v katalytické formě, tedy pokud se přesunou z bezpečných vazeb transportních a skladovacích struktur do komplexů s jinými oxidoredukčně aktivními látkami. Potom kyselina askorbová může redukovat železo a měď na formy, které katalyzují Fentovu reakci a stimuluje oxidační poškození tkání. [4, 5]

V lidském organismu se podílí na stabilizaci imunity a psychiky, pomáhá proti virovým, bakteriálním a infekčním onemocněním i dalším nemocem jako dně, revmatismu, zánětu mozkových blan, záškrtu, zánětu středního ucha, duodenálním vředům a srdečním onemocněním. Zabraňuje nebo dokáže vyléčit otravu chemikáliemi, např. olovem, arsenikem a benzenem. Napomáhá předcházet alergiím, ve velkých dávkách dokonce alergeny přítomné v organismu ničí. Kyselina askorbová má schopnost posilovat pojivovou tkáň, za přítomnosti katalyzátoru vápníku tvoří kolagen. Udržuje pružné stěny cév, hladinu cholesterolu v krvi, podporuje metabolismus tuků, vápníku a vstřebávání železa. [1, 2, 5]

Při nedostatku kyseliny askorbové praskají kapilární cévy, což vede ke vniku krve do tkání. Ke krvácení dochází nejdříve ve střevních stěnách, kostní dřeni, kloubech, může způsobit revmatické bolesti. Pokud praskají cévky v blízkosti kůže, vytvářejí se modřiny. Dalším příznakem nedostatku kyseliny askorbové je katarakta, anémie, měknutí kloubů, slabý imunitní systém, špatné hojení ran, svalová degenerace, poruchy spánku, hemeroidy, záněty

sliznic a další. Avitaminosa způsobuje kurděje, jde o krvácení do vnitřních dutin, vznik vředů. [1, 10]

Mezi nejvýznamnější zdroje vitamínu C patří citrusové ovoce, šípky, černý rybíz, zelená paprika, brambory, chilli papričky, ovocné šťávy, také čerstvé byliny. [1, 2, 9]

Vitaminový obsah v potravinách ovlivňuje podnebí, stupeň zralosti, skladování, teplota a způsob zpracování, konzervování, vaření nebo zmrznutí. Fyziologická potřeba činí 50-80 mg/den, doporučená denní dávka bývá vyšší. [1, 10]

1.2.2 Vitamin E – Tokoferol

Díky izoprenové struktuře lipofilní vitamin, jeden z nejdůležitějších antioxidantů. Mezi tokoferoly jsou řazeny látky odvozeny od tokolu a tokotrienolu. Navzájem se tyto látky liší polohou a počtem metylových skupin. Biologicky nejúčinnější je α -tokoferol, účinnost ostatních tokoferolů klesá v pořadí β , γ a δ -tokoferol. [2, 4, 5, 9]

Tokoferoly jsou rozpustné v tucích a lipofilních rozpouštědlech. Citlivost tokoferolů roste s počtem metylových skupin v molekule tokolu, zároveň však klesá jejich antioxidační účinnost. [4, 9]

Vitamin E se zapojuje do oxidačně-redukčních reakcí a respiračních procesů. Přeměňuje alkylperoxylové radikály LOO^\bullet při peroxidaci lipidů na hydroperoxydy, tím odstraní peroxylové radikály mastných kyselin dříve, než napadnou sousední zdravé lipidy. Tokoferol se při této reakci mění na tokoferolový radikál, je stabilnější než látky, s nimiž tokoferol reaguje. Chrání před oxidací retinol a společně s β -karotenem a koenzymem Q_{10} chrání integritu a strukturu membrán vnitrobuněčných organel a plasmolemy. [5, 9, 10]

Vitamin E brání tvorbě křečových žil, flebitidě, mozkovým a srdečním mrtvicím, protože zabráňuje srážení krve a tvorbě krevních sraženin. Je velice prospěšný při hojení pooperačních ran, spálenin a nefritidy. Výzkumy tvrdí, že brání vzniku rakoviny. Podporuje činnost svalů a nervů, má význam při léčbě Parkinsonovy choroby a Bergerově nemoci. Posiluje oslabený organismus, zvyšuje odolnost proti virovým infekcím, především u starších osob. Obrovský význam má při léčbě ženské neplodnosti, předchází opakovaným potratům a oddaluje klimakterium. V těhotenství je třeba zvýšit příjem vitamínu E, aby se plod zdravě vyvíjel. [1, 2, 10]

Nedostatek tokoferolu ve stravě vede ke vzniku kýly, poruchám zraku, revmatismu. Dochází ke svalové atrofii a dystrofii, klesá výkonnost a oslabuje se koncentrační schopnost. U alergiků klesá citlivost vůči alergenům. U žen může být nedostatek vitamínu E příčinou potratu, těžkého porodu, může dojít k poškození mozku dítěte. Hypovitaminoza u dětí se projevuje depigmentací zubní skloviny, krátkozrakostí, oslepnutím předčasně narozených dětí, anémii a nedostatečnou produkcí hormonů. [1, 10]

Potřebu vitamínu E lze pokrýt především z rostlinných zdrojů jako ořechy, čerstvé pšeničné klíčky, rostlinné oleje lisované za studena, zelená listová zelenina, luštěniny. Z živočišných zdrojů především vaječný žloutek, maso a vnitřnosti. [1, 2, 9]

Doporučená denní dávka vitamínu se zvyšuje se pokud je vyšší příjem nenasycených tuků, pokud je organismus vystaven zvýšenému působení škodlivin, záření nebo fyzické námaze. Dávka může být až 50 mg/den. [10]

1.2.3 Vitamin A, karotenoidy, β -karoten

Retinol a retinal jsou dvě účinné formy vitamínu A, jde o lipofilní vitamin. Retinol obsahuje v molekule β -iononový kruh a pět konjugovaných dvojných vazeb. Čtyři z těchto vazeb mohou vytvářet v postranním řetězci příslušné *cis* a *trans* izomery. Z těchto izomerů je fyziologicky aktivní jen retinol a neoretinol. Karotenoidy jsou přírodní antioxidanty, izoprenové struktury, které jsou řazeny mezi terpeny. Rozdělují se na karoteny a na žluté xantofyly, které obsahují kyslík, např. violoxantin, zeaxantin, fukoxantin a lutein. V potravě bylo dosud objeveno přes šest set karotenoidních barviv, ale lidský organismus je schopen využít pouze šest a to α a β -karoten, lutein, lykopen, kryptoxantin a zeaxantin. α a β -karoten obsahující dva cyklohexenylové kruhy, karoteny γ a δ jen jeden cyklohexenylový kruh. Karoteny jsou považovány za provitaminy vitamínu A. Vitamin A₁ retinol a A₂ dehydroretinol vznikají z některých karotenů. Na syntéze se podílejí hormony štítné žlázy, zinek, železo a tokoferol. [1, 4, 5, 9]

Karotenoidy se zapojují do antioxidační ochrany při odstraňování volných radikálů centrovaných na uhlík a alkylperoxylových radikálů R-O-O[•] v lipidech. Ovšem mechanismus jejich uplatnění je dosud nejasný. Zdá se, že se uplatňují prostřednictvím tokoferolu. Karoteny také zhášejí singletový kyslík, tedy mění excitovanou formu na triplexový kyslík. [9, 10]

Vitamin A podporuje imunitní systém, ochraňuje organismus před infekcemi kůže, sliznic a očních spojivek. Spolu s karoteny je účinný při prevenci rakoviny, při dostatečně vysoké dávce vitaminu A se zvyšuje účinnost chemoterapie. Karotenoidy jsou využívány při léčbě fotosenzibilujících onemocněních např. kopřivce ze slunečního záření. Retinol je nezbytný při tvorbě protilátek, bílých krvinek a rhodopsinu. Podporuje činnost epitelových buněk, růst kostí, vlasů, kůže, zubů a nehtů. Další funkcí je ochrana sliznic pohlavních orgánů před vyschnutím, podpora produkce progesteronu, ten tvoří přirozenou ochranu plodu během těhotenství. Výzkumy nasvědčují, že vitamin A hraje důležitou roli při léčbě cukrovky. Velký význam hraje retinol při zdravém růstu dětí, proto buňky chrupavky potřebují velké množství vitaminu A. [1, 5, 9, 10]

Hypovitaminosa vede k častějším výskytům zánětů sliznic, dásní, k infekcím dýchacích cest. Začínají se lámat nehty, vlasy, kůže rohovatí a vysychá. Dlouhodobý nedostatek může způsobit poškození rohovky, vysychání spojivek a rohovky, což vede k oslepnutí. [1, 9, 10]

Předávkování vitaminem A vede k hypervitaminose. Toxicitě lze zabránit dostatečným množstvím kyseliny askorbové. Ovšem nelze se předávkovat vitaminem A, který získáváme jen ze stravy. Toxicita se projeví krvácením z nosu, bolestmi hlavy, rozmazaným viděním, svěděním a olupováním kůže. Vyskytují se bolesti kloubů, otoky, slabost a zvracení. [1, 9, 10]

Mezi potraviny obsahující vitamin A a karoteny patří žlutě, červeně a oranžově zbarvené ovoce, zeleně zbarvená zelenina, vaječný žloutek, játra, rybí tuk, máslo, plnotučné mléčné výrobky. Absorpce provitaminu závisí na složení potravy, na způsobu přípravy pokrmů, značný význam má přítomnost tuků. Potřeba vitaminu A je asi 1mg/den. [1, 2, 9, 10]

1.2.4 Flavonoidy

Flavonoidy jsou sekundární rostlinné metabolity, jejichž molekula má aromatický charakter, odvozený od 2-fenylchromu. Mezi flavonoidy je zahrnuto tisíce různých sloučenin, jež všechny mají společnou základní strukturu. V přírodě je lze nalézt ve volné formě, ale také glykosidicky vázané. Slouží jako rostlinné barvivo, které filtruje nepříznivé světelné záření o krátkých vlnových délkách. Flavonoidy jsou schopné pracovat v lipofilním i hydrofilním prostředí. [1, 2, 5, 9]

Struktura flavonoidů je vhodná k tvorbě chinoidních struktur, což jim umožňuje snadno předávat elektrony jiným molekulám, jsou tedy výbornými antioxidanty. Flavonoidy mají řadu podobných vlastností, ale liší se v detailech. Z toho plyne jejich rozmanitá biochemická aktivita. Jsou schopné vázat přechodné kovy, indukovat a ovlivňovat některé enzymy, lipoxygenázu a lipoperoxidaci. Jako antioxidanty působí flavonoidy antikancerogenně, protizánětlivě, zasahují do signálního buněčného systému, chelatují železo, čímž také pravděpodobně tlumí oxidační stres tkáně. [2, 5]

Flavonoidy mají význam při léčbě bércových vředů, anémie, vysokého krevního tlaku. Jsou schopné odstranit tuky z krve, zabraňují alergiím, krvácení z nosu, dásní a krvácení pod kůži. Zmírňují sklon k velké krvácivosti, zpevňují žilní stěny. Jsou prospěšné při léčbě hemeroidů, křečových žil a důležité jsou pro ženy užívající hormonální antikoncepci. [1, 2]

Flavonoidy chrání vitamin C před předčasným poškozením, zvyšují jeho účinnost až dvacetinásobně. Mají téměř stejný účinek jako vitamin C, takže pokud v dostatečné míře přijímáme vitamin C, není nutné flavonoidy užívat. [1, 4]

Mezi flavonoidy patří látky jako kvercetin, rutin, hesperidin, daidzein a mnoho dalších, které se vyskytují v mnoha rostlinách. Rutin a hesperidin jsou flavonoidy obsaženy v pohance a v citrusovém ovoci. Kvercetin vykazuje protizánětlivý účinek, zmírňuje alergické reakce dýchacího ústrojí jako je senná rýma a astma. Potlačuje aterosklerotické procesy a zesiluje stěny cév. Největší množství je obsaženo v cibuli a jablkách. [1, 2]

Na flavonoidy je bohaté ovoce a zelenina, především rajčata, brokolice, paprika, salát, bílá dužnina citrusových plodů, šípky a černý rybíz. [1, 4]

1.2.5 Minerální látky

Mezi minerální látky s antioxidační aktivitou jsou řazeny především stopové prvky jako zinek, měď, mangan a selen. Stopové prvky jsou esenciální látky, které plní v organismu řadu funkcí, včetně antioxidační ochrany lidského organismu. [1, 5]

Strukturní a regulační funkci má zinek, plní roli v imunitní odpovědi. V lidském organismu se stává součástí enzymů, např. je součástí SOD. Zinek má mnohostranné účinky, množství onemocnění bylo zmírněno nebo vyléčeno při jeho užívání. Spojení zinku s vitaminem B₆ je nutné při tvorbě testosteronu a spermií. Zinek s vitaminem E je využíván k léčbě neplodnosti. Je účinný při léčbě rýmy a virových onemocnění. Odstraňuje bílé skvrny pod

nehty, poruchy chuťových čidel. Je využíván organismem při syntéze erytrocytů. Velkou roli hraje u diabetiků, jelikož ovlivňuje vylučování inzulínu. Je prokázáno, že zinek snižuje postischemické poškození srdce a po vážném uzavřeném poranění hlavy zlepšuje syntézu proteinů a obnovu neurologických parametrů. Zinek je schopný bránit škodlivému působení toxických látek z ovzduší a z cigaretového kouře. [1, 4, 5, 10]

Deficit zinku způsobuje neplodnost, opožděný tělesný, duševní a pohlavní vývoj. Dochází k pomalému hojení ran, snižuje se odolnost organismu a objevují se poruchy integrity kůže. [1]

Dlouhodobé užívání zinku v dávkách větších než 100 mg za den vede ke snížení LDL cholesterolu v krvi a k oslabení imunitního systému. [1]

Zinek obsahuje většina potravin, především játra, hovězí a skopové maso, telecí maso, plody moře, vaječný žloutek, mléčné výrobky, luštěniny, dýňová semínka a celozrnná mouka. Doporučená denní dávka zinku pro děti je 5 - 10 mg, pro dospělé 15 mg. Těhotným ženám se doporučuje dávka 20 mg a kojícím ženám 25 mg. [1]

V enzymu SOD, ale také v řadě jiných enzymů je zastoupená měď, významná pro integritu pojivové a kostní tkáně. Podílí se na tvorbě hemoglobinu, tvorbě pigmentů a neurotransmiterů. Podporuje imunitní systém a udržuje nízkou hladinu cholesterolu v krvi. V organismu se podílí na zpracování vitamínu C a železa. [1, 4, 5]

Nedostatek mědi se vyskytuje pouze vzácně. Při nedostatku se snižuje vstřebávání železa, což vede ke vzniku anémie. Také se snižuje počet bílých krvinek, mění se barva a kvalita vlasů, zvyšuje se hladina cholesterolu v krvi, vyskytuje se průjem a zvracení. [1, 5]

Závažný nadbytek mědi při orálním užívání nebyl pozorován, ovšem už 10 mg mědi v jedné dávce může vyvolat průjem, zvracení, bolesti svalů a žaludku. U osob pracujících s pesticidy obsahující měď, došlo k poškození funkce jater a ke kómatu. [1, 5]

Mezi přírodní živočišné zdroje mědi lze zařadit i měkkýše, především ústřice, dále mořské ryby, játra, ledvinky, mozeček, hovězí a telecí maso. Z rostlinných zdrojů jsou to paraořechy, kakao, hrách, švestky, zelenou listovou zeleninu, žampiony a pivovarské kvasnice. Doporučená denní dávka pro zdravé jedince je 1 - 1,3 mg. [1, 4]

Před poškozením volnými radikály ochraňuje organismus také mangan. Důležitou funkci plní při tvorbě hormonu tyroxinu, při trávení a správném využití živin z potravy. Reguluje

růst kostí, snižuje dráždivost nervů a udržuje svalové reflexy v normálu. Podporuje činnost některých enzymů a činnost svalů. [1, 4]

Deformity kostí, zmenšený růst, závratě, nesoustředěnost, nepozornost a poruchy paměti jsou příznaky, které nasvědčují nedostatku manganu ve stravě. Nadbytek manganu může vézt k poškození mozku. [1]

Dostatečný přísun manganu z přírodních zdrojů zajistí celozrnné obiloviny, ořechy, čaj, borůvky, luštěniny, pšeničné klíčky, listová zelenina, petržel, hrách, řepa, avokádo a vaječný žloutek. Hladinu manganu v organismu snižuje nadměrná konzumace mléka a masa. Doporučuje se přijímat 1,4 mg manganu denně. [1, 4]

Nejvýznamnějším a nejznámějším stopovým prvkem, který prokazuje přímou antioxidační aktivitu, je selen. Je součástí glutathionperoxidázy, uplatňuje se při tvorbě hormonů štítné žlázy a při syntéze prostaglandinů. Ochraňuje lidský organismus před vznikem rakoviny plic, prostaty, tlustého střeva a před kardiovaskulárními chorobami. Selen se podílí na léčbě chronického únavového syndromu, na hojení ran, podporuje celkovou imunitu a udržuje pružné a mladé tkáně. Zabraňuje tvorbě lupů, mírní návaly horka při menopauze a zajišťuje správnou funkci jater, erytrocytů a leukocytů. Spolu s vitamínem E pozitivně ovlivňuje činnost srdce a působí jako protijed kadmia, rtuti a olova. [1, 5, 10]

Důsledkem deficitu selenu jsou srdeční a cévní choroby, zvýšené riziko vzniku rakoviny, potíže s imunitou, zánětlivé stavy, především vznik kožních zánětů a anémie. [1]

Není možné se předávkovat selenem přijímaným z potravy. Mezi příznaky nadbytku selenu patří deprese, nervozita, nauzea a zvracení, padání vlasů a může se objevit česnekový zápach z úst. [1]

Zdrojem selenu jsou především nerafinované potraviny jako celozrnná mouka, obiloviny, pšeničné klíčky, otruby, ovesné vločky, česnek, rajčata, brokolice, paraořechy, pivovarské kvasnice, vaječný žloutek, plody moře, tuňák, ledvinky, játra a drůbež. Doporučená dávka selenu za den je 0,05-0,2 mg. [1]

1.2.6 Koenzym Q₁₀

Koenzym Q₁₀ je řazen mezi látky nazývané ubichinony, jde o velkou skupinu benzochinonů, tyto se mezi sebou liší délkou lipofilního izoprenového řetězce. Koenzym Q₁₀ je nejrozšířenější u savců. Působí jako přenašeč elektronů v dýchacím řetězci

v mitochondriích. Nachází se ve všech membránách a spolu s vitamínem E tlumí radikálové reakce. Ubichinol také zřejmě napomáhá regeneraci vitamínu E z tokoferolových radikálů, lapá peroxylový a alkoxylový radikál. [1, 2, 5]

Koenzym Q₁₀ posiluje energetický výkon srdce, přirozenou cestou. Někteří lékaři doporučují při léčbě srdečního selhání užívat 300 - 400 mg koenzymu Q₁₀ denně. Největší koncentrace této látky je v orgánech s nejvyšším energetickým požadavkem jako v srdci, játrech a buňkách imunitního systému. Jako významný antioxidant hraje roli v prevenci rakoviny a jiných onemocnění, které jsou spojeny s poškozením volnými radikály. Také je používán ke zvyšování energie a jako potravinový doplněk zabraňující stárnutí. Koenzym Q₁₀ je schopen stabilizovat hladinu krevního cukru u diabetiků, brání vzniku chronického únavového syndromu a zmírňuje alergie. Působí preventivně před tvorbou krevních sraženin, snižuje krevní tlak, mírní bolesti při angině pectoris a omezuje nepravidelnosti tepu. [1, 2, 5]

Nedostatkem koenzymu Q₁₀ jsou nejčastěji postiženi lidé se srdečními chorobami. K okamžitému nedostatku koenzymu vede nedostatečný přísun selenu. [1]

Při nadbytku koenzymu Q₁₀ se výjimečně může objevit průjem, žaludeční nevolnost nebo ztráta chuti k jídlu. Obvykle je dobře snášen i ve vysokých dávkách. [1]

Maso, sardinky, špenát a lískové ořechy jsou potraviny s nejvyšším obsahem koenzymu Q₁₀. [1]

1.2.7 Kyselina α -lipoová

Jde o nasycenou mastnou kyselinu s osmi-uhlíkovým řetězcem. Šestý, sedmý a osmý atom uhlíku tvoří se dvěma atomy síry heterocyklus. U většiny buněk působí kyselina lipoová jako kofaktor pyruvátdehydrogenázového a α -ketoglutarátdehydrogenázového komplexu. Svou antioxidační aktivitu uplatňuje při reakci s alkylperoxylovými radikály RO₂[•], askorbylovými radikály HO[•], NO[•], tokoferylovými radikály O₂^{•-} a HClO. Tokoferylový radikál je regenerován lipoátem přímo nebo nepřímo prostřednictvím askorbátu. V organismu je kyselina α -lipoová přeměněna na kyselinu dihydrolipoovou, která je ještě silnějším antioxidantem. [2, 5, 10]

Kyselina α -lipoová je využívána k léčbě diabetické polyneuropatie, pomáhá stabilizovat a snižovat hladinu krevního cukru. Právě u diabetiků a u osob s aterosklerózou je hladina

kyseliny lipoové snižena, je tedy třeba její zvýšený příjem. Používá se také jako hepatoprotektivum například při otravě muchomůrkou zelenou. [2, 5]

Avitaminosa kyseliny α -lipoové nebyla dosud u vyšších organismů prokázána. [4]

1.3 Volné radikály

V organismu vznikají volné radikály jako vedlejší produkty látkové výměny, plní řadu fyziologicky důležitých funkcí, pokud se jich však z nějaké příčiny tvoří nadměrné množství nebo pokud nejsou rychle likvidovány stávají se nebezpečnými. Mohou ničit všechny látky a tkáně v těle, narušují buněčné membrány. Ničí stavební látky nukleových kyselin, poškozují tedy DNA. Poškozená DNA vede k reprodukci špatné biologické informace. Bývají příčinou vzniku vážných onemocnění. Vlivem volných radikálů je urychlen proces degenerace a stárnutí buněk, dochází k narušení obranyschopnosti organismu. Volné radikály způsobují poškození genetického vybavení buňky, což vede k nastartování složitého procesu nádorového zvratu v buňce. Nejčastěji a nejspíšeji napadají volné radikály tělesné tuky, protože tuky jsou velice náchylné k oxidaci, potom mluvíme o lipidové peroxidaci. [1, 2, 5]

Organismus ovšem k životu volné radikály také potřebuje. Kromě toho, že jsou využívány tělem k ničení bakterií, jsou také potřebné k získávání energie. Mnoho osob je však vystaveno příliš velkému množství volných radikálů, v tomto případě mluvíme o oxidačním stresu. [2]

V organismu dochází ke vzniku reaktivních forem kyslíku a reaktivních forem dusíku, obě látky mají patologický i fyziologický význam. [5]

Tabulka č. 1: Reaktivní formy kyslíku

Reaktivní formy kyslíku	
Volné radikály	Látky, které nejsou volnými radikály
superoxid, O_2^{\bullet}	peroxid vodíku, H_2O_2
hydroxylový radikál, HO^{\bullet}	kyselina chlorná, $HOCl$
peroxyl, ROO^{\bullet}	ozon, O_3
alkoxyl, RO^{\bullet}	singletový kyslík, 1O_2
hydroperoxyl, HO_2^{\bullet}	

Tabulka č. 2: Reaktivní formy dusíku

Reaktivní formy dusíku	
Volné radikály	Látky, které nejsou volnými radikály
oxid dusnatý, NO^\bullet	nitrosyl, NO^+
oxid dusičitý, NO_2^\bullet	nitroxid, NO
	kyselina dusitá, HNO_2
	oxid dusitý, N_2O_3
	oxid dusičitý, N_2O_3
	nitronium, NO_2^+
	peroxynitrit, ONOO
	alkylperoxynitrit, ROONO

Ke vzniku volných radikálů z těchto molekul dochází třemi způsoby.

1. Hemolytickým štěpením kovalentní chemické vazby, kdy každý fragment získá jeden nepárový elektron. K tomuto štěpení je třeba velké množství energie, např. UV záření, ionizující záření nebo vysoká teplota.
2. Redukcí, čili přijetím jednoho elektronu k molekule.
3. Ztrátou elektronu, tzn. oxidací. [5]

Vznik volného radikálu může být iniciací dalších reakcí. Radikály jsou vysoce reaktivní, mají snahu doplnit si párový elektron, jsou schopné rychle se navázat na jinou strukturu, předat nebo odejmout elektron z jiné molekuly. Pokud radikál reaguje s normální molekulou, změní ji na radikál a dojde k propagaci radikálové reakce do okolí. Při reakci dvou radikálů dojde ke spojení nepárových elektronů za vzniku normální molekuly, dojde k ukončení reakce, k tzv. terminaci. [5, 7]

2 ČAJ

Čaj je hned po vodě nejčastějším nápojem na světě, jde o kulturní nápoj. Nejčastěji se připravuje vyluhováním lístků z čajovníku v horké vodě. Čajem se ovšem označují také nálevy, odvary a záparsy z mnoha bylin. [11]

2.1 Rozdělení čajů

Čaje lze rozdělit do tří základních skupin a to na čaje pravé, čaje bylinné a čaje ovocné.

ČAJE PRAVÉ

- Zelený čaj – nefermentovaný
- Bílý čaj – velmi slabě fermentovaný
- Žlutý čaj – jemně fermentovaný
- Oolong – polofermentovaný
- Tmavý čaj – silně fermentovaný
- Černý čaj – plně fermentovaný

Se silnější fermentací se z hlediska zdraví snižuje kvalita čaje. [12]

ČAJE OVOCNÉ

- Ovocné čaje jednodruhové
- Ovocné čajové směsi

ČAJE BYLINNÉ

- Bylinné čaje jednodruhové
- Bylinné čajové směsi [11]

2.2 Čaje pravé

Na rozdíl od bylinných odvarů pocházejí všechny pravé čaje z rostliny čajovníku, *Camellia sinensis*. Čajovník je pravděpodobně nejstarší kulturní rostlinou na světě, doba jeho pěstování dosahuje asi 2500 let. Mezi nejvýznamnější oblasti pěstování čaje patří Čína, Japonsko, Indie, Srí Lanka a další. [11, 13, 14]

2.2.1 Čajovník

Dlouholetým šlechtěním čajovníku planého byla vypěstována dnešní rostlina čajovníku a řada jeho dalších odrůd. Jsou objevovány příbuzné rostliny, které se liší velikostí, a rozdílným množstvím lístků. Botanicky je čajovník zařazen k rodu *Camellia*, čeledi *Theaceas*. Domovem čajovníku je oblast Darjeelingu, Assamu a Číny. Čajovník je keř mající zelené, silně žebrované listy po celý rok, které vyrůstají na krátkých větvičkách. Mladé lístky jsou porostlé jemnými chloupky ze spodní strany listu. Tipy čili nerozvinuté pupeny listů jsou celé pokryté stříbřitě bílými chloupky. Jde o nejcennější část rostliny. Květy čajovníku jsou bílé nebo růžové, mají pět okvětních plátků a příjemně voní, k přípravě nálevu nejsou používány. Nezpracovávají se ani plody čajovníku obsahující olej. Ten se lisuje za studena a používá se k výrobě dresinků a marinád. [11, 12, 13, 15]

Pěstují se dva druhy čajovníku a to čajovník čínský, *Camellia sinensis* a čajovník asámský, *Camellia assamica*. Někteří botanici jsou názoru, že čajovník asámský je planou formou čajovníku čínského. [11, 12]

Camellia sinensis je keřovitá, bohatě kvetoucí rostlina menšího vzrůstu než *Camellia assamica*, bez zastříhávání dorůstá výšky 3 - 4 metrů. Má malé listy, je vhodný k pěstování ve vysokých nadmořských výškách se subtropickým a mírným pásmem, dobře snáší i teploty mírně pod bodem mrazu. Čínský čajovník je nejhojněji pěstován v Číně a na Tchaj-wanu. [11, 15, 16, 17]

Camellia assamica je tropická rostlina stromovitěho vzrůstu. Pokud není ořezáván doroste do výšky 15 - 20 metrů. Je málo kvetoucí a pozdě zrající. Byl objeven v indickém Ásámu v roce 1830. Čajovník asámský vyžaduje teplé podnebí, pěstuje se od nížin až do horských poloh, ve výškách nad 2000 metrů nad mořem. Je nejčastěji pěstován v Indii, na Srí Lance a v některých afrických zemích. [11, 15, 16, 17]



Obrázek č. 1: Čajovník



Obrázek č. 2: Čajová plantáž

Kvalita a chuť čaje je ovlivněna podmínkami při kterých je čajovník pěstován a zpracováván. Čajovník dobře prospívá v různorodých půdních podmínkách, není citlivý na výkyvy teplot, ale vyžaduje dostatečné množství srážek v průběhu celého roku. Nejlepší teplota pro pěstování čajovníku je od 18 do 28 °C. V tropech bývá proti prudkému slunečnímu svitu zastiňován. [11, 15]

Čajovník se rozmnožoval vyséváním semen nebo odnoží. Nyní se vysazují sazenice získané řízkováním matečných rostlin. Po prvním roce se pravidelným zastřihováním zvyšuje počet nových výhonů, keš se tvaruje do šířky a výšky 70 až 100 cm. Rostliny se pravidelně seřezávají tři roky. K prvnímu sběru se přistupuje ve čtvrtém roce po výsadbě, ale list prvotřídní kvality poskytuje čajovník ještě později. Nejvíce cenných složek obsahuje čepel listu, listová žebra jsou chudší a řapík nejchudší. [11, 15, 17]

Nejrozšířenější je pěstování čajovníku v Číně, Indii, na Srí Lance, Tchaj-wanu, v Japonsku, Indonésii, Vietnamu, na Kavkazu, také v zemích Jižní Ameriky a v některých státech v Africe. [15]



Obrázek č. 3: Oblasti pěstování čajovníku

V současné době je známo asi 400 různých látek, které jsou obsaženy v čajovém listě, jsou označovány jako účinné látky. Mezi hlavní účinné látky zeleného, nefermentovaného a neoxidovaného čajového listu patří: kofein, polyfenoly (třísloviny, taniny), flavanoly, flavonidy, theofylin, theobromin, tuk, vosky, saponiny, éterické oleje, karoten, vitaminy C, B₁, B₂, B₅, B₇, B₁₀, B₁₂, E, K, enzymy, železité sloučeniny, K, F, Na, Mg, Ca, Cu, Ni, Zn, stopové prvky a mnoho dalších, z části aromatických sloučenin. [12, 14]

2.2.2 Černý čaj

Číňané nazývají černý čaj čajem červeným. Je mnohem oblíbenějším nápojem než čaj zelený a to především v Evropě a v západních zemích. Výzkumy z poslední doby mluví o antikarcinogenních účincích černého čaje, mechanismus ovšem dosud zůstává nejasný. Nej kvalitnější černé čaje se připravují stejně jako zelené čaje z prvních dvou lístků a výhonku. Černý čaj je plně fermentovaný, což vede k ovlivnění jeho konečné barvy, chutě a aroma. Podle použitého druhu čaje se různí barva nálevu, může být červenohnědý, tmavě hnědý nebo černý. [11, 12, 13, 19, 20]

Po sklizni čajových lístků následuje výroba čaje. Výroba černého čaje se skládá ze čtyř pracovních kroků. Nejdříve dojde k zavádání natrhaných listů a to tak, že čerstvé lístky se rozprostírají na drátěná plata, aby uschly. Zavádání je urychleno ventilátory, ty vhání pod plata teplý vzduch. Doba sušení je asi 12 až 18 hodin. Po této době listy ztratí asi 30 % vlhkosti a stávají se poddajnými. [11, 12, 13]

Po zavadání následuje svinování ještě zelených čajových lístků. Během svinování dojde k narušení buněčné membrány a látky obsažené v buňkách vystupují na nechráněný povrch listu, šťávy zde mohou reagovat s kyslíkem. V současnosti se ke svinování používají stroje s dvěma kovovými deskami, zde se lístky válejí a svinují. V minulosti se lístky svinovaly ručně. [11, 12, 13, 21]

Fermentace je dalším krokem výroby černého čaje. Svinuté čajové lístky se nasypou na stoly a udržují se vlhké po dobu dvou až tří hodin, při teplotě 35 - 40 °C. Během fermentace působí na buněčné šťávy v listech kyslík, jde o biochemickou reakci. Mění se barva listů ze zelené na tmavě hnědou nebo měděnou, listy získávají charakteristické aroma. Na fermentaci závisí také chuť a zlatavá barva hotového nálevu. [11, 12, 13, 21]

Posledním krokem výroby je sušení čajových lístků horkým vzduchem, teplota vzduchu je 85 °C a doba sušení asi 20 minut, aby obsah vody klesl pod 3%. Díky sušení se oxidace zastaví. Během sušení se odpaří zbytková voda, čímž dojde k ustálení změn v čajových lístcích. Při tomto procesu vzniká čajovníkový olej, je složený z přeměněných polyfenolů a dalších odpadních produktů. Dochází ke snížení obsahu tříslovin asi o 10 %. Z hydrofilních polyfenolů, které je schopen organismus vstřebávat vznikají nevstřebatelné ve vodě nerozpustné sloučeniny, patří zde theaflavin a thearubigen. Tyto látky nemají pro organismus žádný význam, ale ovlivňují barvu čajového nálevu. [11, 12, 13, 21]

Při výrobě černého čaje dochází k přeměně především velmi zdraví prospěšných epigalokatechinů. Dojde k znehodnocení vitamínu C, s fermentací tedy mizí léčivý účinek. Obsah kofeinu se fermentací a oxidací mírně zvýší, protože se částečně uvolňuje z vazeb na třísloviny. Volný kofein má vyšší stimulační účinek na organismus. Také množství theobrominu a theofylinu je v černém čaji vyšší než v zeleném. V černém čaji jsou obsaženy aminokyseliny v množství 1 - 2 %, zejména theatin a stopové prvky, draslík, fluor, hliník a mangan. [12]

Pravidelná konzumace černého čaje působí pozitivně na lidské zdraví. Nejnovější vědecké poznatky tvrdí, že pravidelné užívání čaje snižuje riziko srdečního infarktu a vzniku rakoviny. Třísloviny mají protizánětlivý účinek, zklidňují žaludek a střeva, léčí sliznice dýchacích cest při nachlazení, některé polyfenoly zpomalují štěpení škrobu v dutině ústní. Theofylin povzbuzuje krevní oběh a uvolňuje svalové křeče. Tvorbě zubního zabraňuje přítomný fluor. [11, 13]

2.2.3 Bílý čaj

Bílý čaj je nejdražším čajem světa. Jde o čínskou specialitu, původně byl zhotovován pouze v oblasti Kuang-si. Má jemné aroma, bývalo vysoce ceněné a nálev byl označován jako zázračný nápoj prodlužující život. V Číně byl velice dlouho určen pouze pro potřebu císaře. [11, 12, 13]

Pro výrobu bílého čaje se sbírají jen bílé pupeny nebo mladé stříbřité lístky. Sběr se provádí ručně, než se pupeny stačí rozvinout, tedy na jaře. Po sběru se pupeny suší na slunci. Nesmí se zahřívat, lisovat ani svinovat. Pupeny zůstávají zcela zachovány, dodávají čaji jemné květinové aroma. [11, 13]

Na trhu je bílý čaj označován jako Flower Peoke, jde o odkaz na bílé květy peoke, na mladé výhonky a špičky lístků. Z botanického hlediska se ovšem o květy nejedná. [11]

2.2.4 Oolong

Čaje oolong jsou částečně fermentované. Mohou se mezi sebou lišit, protože stupeň fermentace ovlivňuje chuť a aroma. Pochází z Číny nebo z Tchaj-wanu. Tento druh čaje vynalezl podle legendy lovec, který byl odveden lovem a mezitím nechal čajové lístky přes noc volně ležet. Oolong je vyráběn od vlády dynastie Ming. Tvoří přechod mezi černým a zeleným čajem. [11, 12, 19, 20]

Oolongy mají díky částečné fermentaci výraznější chuť než čaj zelený a jemnější chuť než čaj černý. Ve světě se oolong pije nejméně ze všech čajů. Roční spotřeba oolongu nepřesahuje 2 %. [20]

Výroba polofermentovaných čajů je poměrně náročná a nová, byla vyvinuta v polovině 19. století. Sklizené čajové lístky se pokládají na velké kusy látky a vystavují se slunci asi na hodinu, čímž se nastartuje mírná fermentace. Pro lepší fermentaci se u některých oolongů protřásají lístky v bambusových koších, aby došlo k narušení okrajů lístků a začala unikát šťáva. Až okraje lístků začnou červnat, fermentace se zastaví sušením. Listy se suší v bubnech při teplotě 70 °C po dobu 45 minut. Ještě horké lístky jsou obaleny bavlněnou látkou a 20 minut se válčují a hnětou, poté jsou opět sušeny ve vyhřívaném bubnu. U vybraných čajů se celý postup několikrát opakuje. Oxidace se ukončí v okamžiku, kdy střed listu je zelený a okraje černé. Po celém zpracování jsou získány pevné, svinuté lístky. Aby se prodloužila jejich trvanlivost, ještě jednou se zahřívají. [11, 13, 20]

Čaje oolong se dělí do čtyř typů:

Pouchong – čaj je fermentovaný z 12 %, barva je podobná mědi, chuť nálevu je hořkosladká s jemnou ovocnou vůní.

Zhen Cha – fermentace zde probíhá z 30 %, je trvanlivý, čaj je intenzivní ovocné chuti.

So Cha – čajový lístek je pevně svinut a fermentován až z 50 %, nálev má sladké kouřové aroma.

Kao-Shan-Cha – vysokohorský čaj, až ze 30 % fermentovaný, barva nálevu je zlatozelená s jemnou trpkou vůní. [11]

2.3 Bylinné čaje

K výrobě pravého čaje slouží pouze lístky rostliny *Camellia sinensis* nebo lístky jejich poddruhů. Pokud jsou nálevy, výluhy a odvary připraveny z jiných rostlin, jedná se o ovocné nebo bylinné čaje. Až na chybějící obsah kofeinu mohou být rovnocennou náhradou pravých čajů. Mnoho léčivých rostlin je hojně používáno v lidovém léčitelství k léčbě a prevenci lehkých potíží, jako je nachlazení a podobně. [11, 22]

Čaje z léčivých bylin mohou být připraveny ze směsi bylin nebo z jedné byliny. K přípravě bylinných čajů jsou užívány různé části léčivých rostlin, kořen, nať, listy a květy. Nálev se připravuje ze sušených nebo čerstvých bylin. Pokud jsou použity čerstvé byliny, je třeba použít až dvojnásobné množství. Velice důležité je období sběru rostlin. Vhodná je doba, kdy rostliny obsahují nejvíce účinných látek. Sběr neprovádíme v místech, která mohou být znečištěna hnojivy a jinými škodlivými látkami. [23, 24]

2.3.1 Čajové směsi léčivých bylin

Velice oblíbené a nejčastěji používané jsou čajové směsi léčivých bylin. Čajová směs většinou obsahuje jednu hlavní složku určující charakter a zdravotní účinek čaje. Mimo hlavní složku jsou ve směsi pomocné složky, které účinek hlavní složky zesilují a zlepšují chuť čajové směsi. [23, 25]

Na trhu je dostupné obrovské množství bylinných čajových směsí, vzájemně se mohou lišit názvem a složením v závislosti na výrobcu. K nejčastěji používaným směsím patří např. :

Čajová směs na zažívání – nejčastěji složená z fenyklu, anýzu, květů heřmánku, máty perné, kmínu, zeměžluče a květů sléze. Používá se při trávicích potížích jako je bolest žaludku, nadýmání, apod. [22, 25, 26]

Čajová směs při nachlazení – složená z květů lípy, černého bezu a jitrocele. Doporučuje se při nemocech z nachlazení, při zánětech dutiny ústní a horních cest dýchacích, podporuje pocení. [22, 25, 26]

Čajová směs pro diabetiky – obsahuje listy borůvky, ostružiny a šalvěje, fazolové lusky bez semen, kořen lopuchu, lékořice a pampelišky, fenykl. Směs je podpurným prostředkem při léčbě diabetu. [22, 25, 26]

Čajová směs pro choroby močových cest – složená z březového a mědvedicového listu, z natě rdesna ptačího, kopřivy a řebříčku, jehlicového a petrželového kořene a z květu bezu černého. Používá se jako pomocný lék zánětlivých onemocnění močových cest, působí diureticky, antisepticky a uvolňuje křeče hladkého svalstva. [22, 25, 26]

Čajová směs pro ženy – obsahuje nať kontryhele, kopřivy a třezalky, květ hluchavky a měsíčku lékařského. Doporučuje se pít při menstruačních potížích. [25, 26]

Na trhu se vyskytují také další čajové směsi např. pro udržení štíhlé linie, proti poruchám spánku, proti kloubním bolestem, proti žlučovým kaménkům, čajová směs na pročištění krve, směsí podporující tvorbu žluče a jaterní funkci a mnoho dalších. [22, 25, 26]

2.3.2 Bylinné čaje jednodruhové

Velice používané jsou také bylinné čaje jednodruhové. Jednodruhových bylinných čajů je nepřehledné množství. K nejčastěji používaným patří:

Heřmánkový čaj – jeden z nejoblíbenějších. Nálev příjemné chutě a vůně se připravuje z čerstvých nebo sušených květů. Nejvhodnější je podávání na noc. Heřmánek má protizánětlivé a protibakteriální účinky. Vhodné je použití při žaludečních nebo střevních poruchách, při nadýmání. Výluh lze používat k otírání nebo ke koupelím při kožních onemocněních. [11, 22, 27]

Kopřivový čaj – k přípravě používáme hlavně sušené listy, sbírané do června. Nálev je zelené barvy, má mírnou chuť. Nálev obsahuje železo, je tedy vhodný k léčbě anémie. Zmírňuje revmatické bolesti, má diuretické účinky. [11, 26]

Lipový čaj – k přípravě nálevu se používají květy a listeny lípy srdčité nebo lípy velkolisté. Květeny a listeny mají i po usušení příjemnou medovou vůni. Lipový čaj mírní bolesti hlavy, podporuje pocení. Používá se především při onemocnění dýchacích cest. [11, 27]

Mátový čaj – čaj se připravuje z listů nebo z celých sušených rostlin. Čaj má příjemnou, osvěžující chuť. Nálev zklidňuje žaludeční a střevní potíže, nadýmání, nevolnost, působí také proti bolesti hlavy a zmírňuje žaludeční potíže nervového původu. [11, 22, 27]

Fenyklový čaj – nálev sladké chuti připravíme povařením semen fenyklu. Čaj je vhodný k pročištění krve, uvolňuje hleny. Dále jej lze použít při špatném trávení, nadýmání nebo kolikách. [11, 22, 27]

Rooibos – připravuje se z listů africké rostliny *Aspalathus linearis* rostoucí v horách Jižní Afriky. Nálev má výraznou rudou nebo zelenou barvu a příjemnou chuť. Neobsahuje kofein, je tedy velice vhodný pro děti. Má nižší obsah tříslovin. Významný je obsah minerálních látek, zejména železa, hořčíku, manganu, vápníku, draslíku, fosforu a vitamínu C. Čaj má mírně uklidňující účinky, zlepšuje spánek, posiluje imunitu a ulevuje od žaludečních a střevních potíží. [11, 19]

2.4 Ovocné čaje

Ovocné čaje se stejně jako bylinné řadí mezi čaje nepravé. Získávají se ze sušených, rozemletých ovocných plodů a léčivých bylin. Spotřeba ovocných čajů přesahuje spotřebu čajů pravých. Zejména v poslední době jsou velmi žádané v restauračních zařízeních a u dětí. [24, 28]

K dostání jsou vysoce kvalitní ovocné čaje nejrůznějších chutí, zpravidla bývají naporcované v sáčkích nebo sypané. Pro zvýraznění aroma se přidávají sušené části léčivých bylin, např. květy ibišku, listy maliníku, jahodníku nebo ostružiny. [16, 23, 28]

Příprava ovocných čajů je téměř stejná jako příprava čajů pravých. Obvykle se spaří vařící vodou a nechá se krátkou dobu odstát. [28]

2.4.1 Ovocné čajové směsi

Na trhu je dostupné obrovské množství ovocných čajových směsí, vzájemně se mohou lišit názvem a složením, v závislosti na výrobcí. Ovocné čajové směsi jsou složeny ze sušených

plodů nebo fermentovaných částí léčivých rostlin. Mezi nejčastější ovocné komponenty v ovocných čajových směsích patří šípky, borůvky, jablka, rozinky, černý rybíz, višně atd. Také sušené nebo fermentované listy maliníku, ostružiníku, jahodníku, květy růže, ibišku, chrpy a další. Ke zvýraznění aroma čaje se používá citrónová kůra, pomerančová kůra, kokos, vanilka, skořice a mnoho dalších. [16, 23, 25]

Velmi častou základní složkou čajových směsí je ibišek. Dodává čaji červenou barvu, charakteristické nakyslé aroma a ovocnou chuť. [11]

2.4.2 Ovocné čaje jednodruhové

Jednodruhové ovocné čaje jsou vyráběny ze sušených ovocných plodů nebo ze sušených či fermentovaných částí plodových rostlin. Jsou připraveny z jednoho druhu ovoce nebo části plodových rostlin. [11]

Čaj z jablečných slupek – slupky jablek obsahují mnoho aromatických složek, vitaminy, barviva, třísloviny, vosky, minerální látky a další látky, které přecházejí do čajového nálevu příjemné vůně. Tento čaj podporuje dobrý spánek a uklidňuje nervy. [11, 22]

Šípkový čaj – je nejpoužívanějším ovocným čajem, připravuje se ze slupek plodů šípkové růže. Čaj má příjemnou ovocnou nakyslou chuť. Má vysoký obsah vitamínu C, karotenů a vitamínů skupiny B. Je vhodný při nachlazení, posiluje odolnost organismu proti infekčním onemocněním, a doporučuje se při tzv. jarní únavě. [11, 22, 27]

Rybízový čaj – připravený z plodů a listů černého rybízu. Plody obsahují řadu vitamínů, vysoký je zejména obsah vitamínu C. Je vhodné nálev podávat při nachlazení, revmatismu a při infekcích močových cest, jelikož působí diureticky. [22, 23, 25]

Borůvkový čaj – k přípravě se používají usušené plody Brusnice borůvky. Plody borůvky obsahují anthokyanová barviva, třísloviny, vitamin C a organické kyseliny. Třísloviny působí svíravě a mají dezinfekční účinky. Čaj je vhodný při střevních katarrech, zánětech dutiny ústní a hrtanu, je vhodný pro diabetiky. [22, 23, 25]

3 ZELENÝ ČAJ

Zelený čaj patří mezi čaje pravé, získává se z listů čajovníku stejně jako černý a bílý čaj a oolong. Má velice chutnou sladkou a jemně trávovou příchuť, někdy bývá svíravý. Aroma zeleného čaje může být velice intenzivní, se svěžími, nasládlými podtóny. Už dávno je označován bylinným lékem. Čím je čaj kvalitnější, tím více nálevů z něj lze připravit. V Číně je dodnes nejoblíbenějším horkým nápojem, jiný čaj se v Číně nevyráběl až do doby dynastie Ming. Množství druhů zeleného čaje je odhadováno asi na tisíc, přičemž druhy jsou dány oblastí pěstování, klimatickými podmínkami, zpracováním a výběrem lístků. Mezi hlavní producenty zeleného čaje patří Čína a Japonsko. Kvalitními producenty jsou i Tchaj-wan, Srí Lanka, Indie a některé země jihovýchodní Asie.

[29, 30, 31, 32, 33]

3.1 Výroba zeleného čaje

Při výrobě zeleného čaje nedochází k fermentaci ani k oxidaci, aby byly zachovány účinné látky, které jsou v čajových lístcích obsaženy. Pro nejkvalitnější zelené čaje se k výrobě používají pouze první dva listy a výhonek. Nesmí dojít k poškození listů, to by vedlo k nastartování fermentačního procesu. [11, 12]

Mezi znaky výborné kvality zeleného čaje patří svěží vůně připomínající seno. Listy musí být zelené, matně lesklé, pevné a suché. Po spaření je velmi dobře poznat, jestli k výrobě byly použity první dva listy a výhonky nebo obyčejné listy. Lehce lze také ověřit, zda jsou některé listy fermentované, pokud ano mají nepravidelné hnědé skvrny. [11]

Variety zpracování čaje se vzájemně liší v různých zemích, podstata zpracování přesto zůstává stejná. [30]

Fermentační proces je při výrobě zeleného čaje nežádoucí, proto je třeba ho okamžitě po sklizni zastavit zahříváním. V čajové historii se používaly různé metody: sušení na slunci, vaření a sušení teplem, pražení v kulatých kovových pánvích na ohni a napařování. [12]

Dnes jsou používány dvě odlišné metody, využívá se působení páry nebo ohně. Oheň je používán především v Číně, v Japonsku pára. [31]

Schéma výroby zeleného čaje



1. Čajová plantáž

Ruční sklizeň čajových lístků, odvoz do továren.



2. Napařování (Japonský způsob)

Lístky se dopravují do napařovačky, následně jsou zchlazeny.



3. Svinování nebo pražení na pánvích

(Čínský způsob)

Strojové převalování a sušení lístků.



4. Protřepávání a sušení lístků



5. Opakované sušení a svinování

Lístky se podruhé svinují a poté suší.



6. Prodejní podoba

Lístky získaly prodejní podobu.



7. Speciální zpracování čajových lístků

Cílem je jiná podoba lístků, docílíme jí např. nasekáním.



8. Dosušování (pražení)

Užití u zvláštních čajových odrůd, s cílem dosažení jiného aroma.



9. Míchání

Míchání různých odrůd, u zeleného čaje pouze zřídka.



10. Balení



11. Transport



12. Obchodování [12]

Sklizení

Poprvé lze lístky z čajovníku sklízet po 3 - 4 letech. Sklízí se jen z rostlin, které mají svěže zelené listy, z rubu ochmýřené. Jen z těchto rostlin je čaj opravdu kvalitní. Sběr se provádí většinou ručně. Sklízí se jen horní dva listy a listový pupen (fleš), jsou měkké, mají nejsilnější aroma a lze je různě tvarovat. Takovéto sbírání neovlivňuje pouze chuť a aroma čaje, ale na rozdíl od starších listů obsahuje fleš až třikrát více polyfenolů. Během sklizně nesmí dojít k porušení čajových lístků. Když se lístky poškodí, dojde k vytvoření hnědých skvrn, čímž se snižuje kvalita čaje. [12, 20, 30, 33]

Někdy, většinou v Japonsku a Malajsii se lístky sklízí i strojově speciálními stříhacími kombajny. Sklizení sice proběhne rychleji a je objemnější, ale do sběru se dostanou i starší listy. Strojovou sklizni nelze získat vysoce aromatický špičkový čaj. [12, 15, 33]

Podle polohy, počasí a způsobu ošetřování rostlin se sběr provádí až 4x ročně. V průměru poskytne jeden čajovník za rok 200 g čerstvých výhonků. [30, 33]

Napařování a pražení

Napařování patří k tradiční japonské výrobě čaje. Zabraňuje oxidaci listů, po napaření jsou čajové listy poddajné, lépe tvarovatelné. Okamžitě po sklizni jsou lístky ošetřeny horkou parou, po dobu 30 sekund. K napařování se používají bambusové lísky nebo síta, která jsou zavěšená nad vodou. K výrobě se někdy používá otočný napařovací stroj nebo pásové napařování. Tento výrobní proces trvá jednu nebo dvě minuty. [29, 30, 33]

V Číně jsou čajové lístky bezprostředně po sklizni praženy v kovových bubnech nebo na ocelových pánvích zvaných wok. Pánve jsou už po staletí obvykle umístěny přímo nad ohněm. Zde se podrobují žáru po dobu kratší než jedna minuta. Pražení lze provádět také na elektrických pánvích, které jsou schopny udržovat stálou teplotu. [29, 30]

Díky rozdílnému nahřívání mají Čínský a Japonský zelený čaj odlišné aroma hotového čaje. Obě metody zničí přírodní enzymy, které listy obsahují. Enzymy slouží jako katalyzátory chemických reakcí, které by vedly k nastartování fermentačního procesu. Teplota napařování a pražení zabrání oxidaci polyfenolů. [29, 30, 33]

Protřepávání a sušení

Poté co jsou lístky napařeny nebo praženy se důkladně protřepávají. Zkušební pěstitelé přesypávají listy z jedné strany na druhou, přehazují je a obracejí, dokud nejsou lístky rovnoměrně prosušené. Lístky se suší po dobu 8 - 12 hodin. Nejšetrnější je pozvolné sušení na vzduchu, ale čaj se suší i v prostoru, který je vytápěn dřevem. Takový čaj získá lehkou kouřovou chuť. Během sušení se obracejí v pravidelných intervalech, mezi lístky se udržuje určitá vzdálenost. Vysušený čaj má průměrný obsah vlhkosti 3 %, dojde ke stabilizaci aromatických i dalších látek, které jsou v čaji obsaženy. [29, 30, 33]

Svinování

Množství producentů provádí tvarování či svinování lístků pomocí strojů. Čínské čaje vysoké kvality se tvarují ručně, lístky se tvarují do kuliček nebo špičatých jehliček. Kromě přitažlivého vzhledu, tvarováním dosáhneme pomalejšího uvolňování substancí a vůní do vody. Až jsou lístky svinuté, podle velikosti se vytřídí, zváží a balí. [29, 30]

Japonci svinují čajové lístky ručně nebo strojově. Pak dosušují listy do určité míry, tak aby vydržely tlak vyvinutý při strojovém svinování. V průběhu svinování lístky dosychají, následně se odstraní nečistoty, polámané listy a řapíky. Po ručním třídění podle velikosti a tvaru se balí. [29, 30]

3.2 Obsah polyfenolů

Polyfenoly, třísloviny nebo také hořčiny jsou skupina přirozeně se vyskytujících fytochemikálií. Tyto bioaktivní molekuly se vyskytují ve všech pravých čajích a způsobují jejich lehce hořkou, svíravou chuť a charakteristickou vůni. Po požití jsou lidským tělem absorbovány a putují do různých orgánů. Jsou výbornými antioxidanty. [8, 20, 32, 33]

Během zpracování černého čaje se působením kyslíku a enzymatického procesu obsah polyfenolů v listech snižuje na 3 - 10 %. Oxidací nebo kondenzací vznikají větší polyfenolové sloučeniny jako theaflaviny (2 - 6 %) a thearubigeny (20 %), způsobující tmavou barvu a hořkou chuť černého čaje. [8, 20, 33, 34]

Za výraznou chuť, slabší barvu a svíravost zeleného čaje jsou odpovědné nezoxidované polyfenoly. Zelený čaj má tedy výraznější léčivý účinek na organismus než ostatní pravé čaje. Čajový výluh obsahuje tím více tříslovin, čím déle se louhuje. S vyšším obsahem

tříslovin roste také jeho zklidňující účinek, protože jsou protihřáčem povzbuzujícího kofeinu. [20, 33]

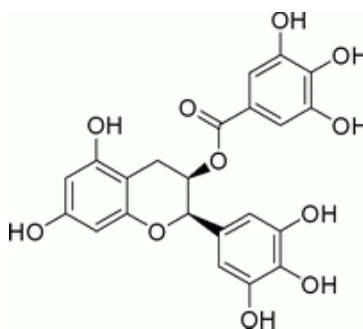
Polyfenoly po zpracování, kterým listy při výrobě zeleného čaje procházejí, tvoří většinu rozpustných pevných látek v zeleném čaji asi 30 %. Hlavní polyfenoly, které se v zeleném čaji vyskytují se souhrnně nazývají katechiny. Patří zde epikatechin (EC), epikatechingalát (ECG), epigalokatechin (EGC), epigalokatechingalát (EGCG), katechin (C). Jejich obsah se může podle druhů zeleného čaje lišit. [8, 20, 33]

Jeden šálek zeleného čaje průměrně obsahuje 142 mg EGCG, 65 mg EGC, 28 mg ECG a 17 mg EC. [8, 20]

3.2.1 Epigalokatechingalát EGCG

EGCG je chemická sloučenina, řadí se mezi katechiny. Je složen ze tří fenolových kruhů, prokazuje velmi silné antioxidační účinky. V zeleném čaji je dominantní složkou, tvoří více než 50 % všech katechinů. [8, 33]

EGCG byl ze zeleného čaje izolován a označen za jeho nejúčinnější látku. Odpovídá za antioxidační aktivitu zeleného čaje ze 32 %. Spolu s EGC a ECG je schopen neutralizovat volné radikály při různých hodnotách pH, kdežto EC a C jsou omezeny na neutrální nebo alkalické prostředí. [8, 20, 33]



Obrázek č. 4: Strukturální vzorec EGCG

Antioxidační aktivita EGCG byla v nejnovějších studiích porovnávána s aktivitou vitamínu E. Studie prokázala, že extrakt ze zeleného čaje byl 200x účinnější než vitamin E. Dr. Harold Graham prokázal, že účinky extraktu ze zeleného čaje při působení na některé aktivní kyslíkové radikály jsou vyšší než účinky vitamínu C a E. Ale výsledky jsou méně příznivé, pokud jde o působení na volné hydroxylové radikály. [20, 33]

Vědci jsou přesvědčeni, že pravidelné popíjení zeleného čaje s EGCG jako hlavní účinnou látkou, je výborná a dostupná prevence vzniku rakoviny. Vědecké pokusy na zvířatech dokazují, že EGCG předchází nádorovému bujení na kůži, brání karcinogenezi v GIT a jiných orgánech. Dokonce léčí už existující nádory ve střevě. [20, 33, 34]

Později bylo díky klinickým pokusům prokázáno, že se protirakovinný účinek EGCG uplatňuje také u lidí. V lidském organismu je schopen bránit vzniku plicních metastáz, inhibuje růst karcinogenních buněk v žaludku, střevě, plicích, játrech a na kůži. Příjem EGCG zmenšuje riziko vzniku karcinomu prsu a zabraňuje případnému zhoršení pooperačních stavů. V neposlední řadě mírní dopad kouření na organismus.

[20, 33, 34, 36]

Polyfenoly chrání před oxidací lipofilní vitamin E, hrající důležitou roli v prevenci srdečních chorob, neutralizuje volné radikály, které poškozují LDL-cholesterol. Jelikož jsou polyfenoly rozpustné ve vodě, nejsou schopny chránit molekulu LDL cholesterolu přímo. Podle vědců existuje domněnka, že polyfenoly obsažené v zeleném čaji mají schopnost proniknout do tekutiny, kterou jsou obklopeny molekuly LDL-cholesterolu. V tomto prostoru zneškodňují volné radikály dříve, než se dostanou k LDL-cholesterolu a poškodí jej. EGCG a ECG díky tohoto mechanismu oddalují čas, kdy je organismus donucen obětovat vitamin E, aby zamezil poškození molekuly LDL-cholesterolu volnými radikály. Tímto mechanismem polyfenoly snižují riziko výskytu kardiovaskulárních chorob. [20, 34, 36, 37]

EGCG dokáže blokovat enzymy v játrech (cytochromové enzymy P450), které aktivují rakovinné buňky a tvoří metastázy. Dále zabraňuje vzniku krevních sraženin, čímž snižuje riziko vzniku infarktu, mrtvice a dalších oběhových potíží. Přispívá ke stabilizaci diabetu. Zabraňuje tvorbě zubního plaku a šíření virových infekcí jako je nachlazení a chřipka, ale také viru HIV. [20, 32, 33, 34, 36, 37]

3.2.2 Účinky zeleného čaje na zdraví

Již před čtyřmi tisíci lety lidé věřili, že zelený čaj dokáže tělo zbavit nemocí a upevnit zdraví. Dnes existuje mnoho důkazů, které pozitivní účinky zeleného čaje na zdraví prokazují. Zelený čaj můžeme bez potíží pít ve větším množství, což umožňuje využít jeho biologickou účinnost naplno. Po systematickém zkoumání účinků zeleného čaje se

potvrdily tyto účinky: snižuje riziko vzniku rakoviny, kardiovaskulárních onemocnění, zlepšuje stav chrupu a pevnost kostí, posiluje imunitní systém, cévy, snižuje obsah cholesterolu, působí diureticky, potlačuje únavu a napětí, stimuluje myšlení, atd. [14, 20, 30, 33, 34, 37]

Rakovina

Nejnebezpečnější nemoc moderního světa. Jde o nekontrolovatelné bujení somatických buněk, výsledkem je vznik nádorů, které ohrožují funkci orgánů. Degeneraci buněk vyvolávají chemikálie jako nitrosaminy, složky cigaretového kouře, radioaktivní záření nebo viry. [20, 32, 33]

Zelený čaj není lékem proti rakovině, která již propukla, ale podporuje její léčbu a působí preventivně proti nádorovým onemocněním. Zelený čaj působí na vzniklý nádor komplexně díky EGCG, flavonoidům a vitaminům, které omezují růst nádoru. Jestliže přijímáme potraviny bohaté na dusičnany a volné radikály, je vhodné popíjet zelený čaj k jídlu. Během dne lze vypít v několika dávkách až jeden litr zeleného čaj. Vitamin C a zinek posilují imunitní systém, EGCG ochraňuje před UV zářením a radioaktivním zářením. Polyfenoly pronikají do genetické výbavy buněk a blokují určité vazby sloučenin, které mohou vyvolat mutace, což vede k potlačení vzniku rakoviny. [14, 20, 32, 33, 37]

Obyvatelé Asie podle vědeckých studií trpí rakovinou méně často, což je způsobeno pitím zeleného čaje. V USA vědci dotazovali 35 369 amerických žen ohledně jejich zdraví, životního stylu včetně pití čaje. 40 % žen pilo čaj minimálně jednou týdně, 20 % každý den a polovina z nich pila dva a více šálků za den. Po osmi letech vědci zjistili, že u žen, které pily čaj se rakovina vyskytovala o 10 % méně často. Vznik rakoviny trávicího traktu se u žen snížil o 70 %, rakoviny močového ústrojí o 40 % než u žen které čaj nepily téměř vůbec. [30, 32]

Kardiovaskulární onemocnění

EGCG, flavonoidy, saponiny a vitamíny zvyšují odolnost srdce vůči těmto onemocněním. Dostatečný přísun těchto látek snižuje riziko výskytu infarktu, protože zabráňují ucpávání cév, které přivádějí krev do srdce a mozku a udržují krev v řídkém stavu. Zelený čaj také působí proti stresu, který může být příčinou srdečních potíží. Pití zeleného čaje je tedy prospěšné při hypertenzi, hypercholesterolemii, angině pectoris a při příznacích srdeční slabosti. [14, 33, 37]

Norští vědci z univerzity v Oslo na základě dat o zdravotním stavu 20 000 norských mužů a žen dokázali, že vyšší konzumace zeleného čaje vede ke snížení hladiny cholesterolu. Muži pijící více než pět šálků čaje denně, měli hladinu cholesterolu o 9,3 mg/dl krve nižší než muži, kteří pili méně než jeden šálek za den. Ženy měly za stejných podmínek hladinu cholesterolu nižší o 5,8 mg/dl krve. [20]

Účinky katechinu ze zeleného čaje prokázal Dr. Hara. Zjistil, že katechin brzdí účinky ACE (angiotensin converting enzym), čímž inhibuje tvorbu angiotensinu 2. Angiotensin 2 je látka obsažena v krvi, která způsobuje zúžení cév a následnou hypertenzi. [15]

Zelený čaj proti zubnímu kazu

Dříve používali Číňané k ústní hygieně pouze zelený čaj, obsahuje fluor a dobře rozpouští tuky a ostatní zbytky jídla. Dodnes Číňané pijí zelený čaj po každém jídle. Kromě zubního kazu zelený čaj účinkuje proti paradentóze a zánětům dutiny ústní a hrtanu. [31, 32, 33, 37]

Na vzniku zubního kazu se podílí bakterie *Streptococcus mutans*, přeměňuje sacharidy na kyseliny, které se stávají součástí zubního plaku. Nejúčinněji působí proti této bakterii EGCG. [14, 33, 37]

Záněty potlačují flavonoidy a vitamin C. Zelený čaj také stimuluje salivaci, sliny v dutině ústní neutralizují agresivní kyseliny. Přítomnost vápníku zvyšuje pevnost zubů a mangan podporuje vstřebávání vápníku. Důležité jsou přírodní sloučeniny fluoru obsažené v zeleném čaji, které chrání a posilují zubní sklovinu, čímž brání tvorbě zubního kazu.

[14, 15, 33, 37]

Infekce

Látky obsažené v zeleném čaji působí protizánětlivě a antibioticky, jsou velice účinné proti bakteriím, virům i plísním. Je vhodné pít zelený čaj při oslabení organismu, chřipkových onemocněních, plísních postihující kůži a při zánětech střev. [14, 33]

Na základě pokusů na zvířatech vědci došli k závěru, že EGCG a ECG posilují aktivitu B-buněk imunitního systému. Polyfenoly také stimulují mikrofégy a T-buňky. [32, 37]

Vědci z Londýnské lékařské fakulty tvrdí, že extrakty ze zeleného čaje mají inhibiční účinky na růst a rozmnožování některých bakterií. Dokonce jsou schopny některé bakterie usmrtit, především bakterie způsobující průjemová onemocnění. Polyfenoly zeleného čaje ovlivňují tyto bakterie: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Salmonella*

typhi, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella flexneri*, *Shigella dysenteriae* a *Clostridium*. [20, 37]

Japonští vědci objevili, že polyfenoly jsou schopny inaktivovat chřipkový virus. Dojde k navázání EGCG na chřipkový vir. EGCG zabrání propuknutí infekce, tím že ovlivní jeho přilnavost k buňkám. [14, 20, 37]

Nejvýznamnější studie týkající se působení zeleného čaje se týkají viru HIV, který způsobuje AIDS. Podle výzkumu EGCG inhibuje činnost reverzní transkriptázy, která stojí za reprodukcí viru HIV. Co se týče prevence AIDS je EGCG nadějnou látkou. [20, 37]

Zelený čaj a děti

Zelený čaj, vzhledem k obsahu kofeinu není příliš vhodný pro děti mladší šesti let. Dětem jsou doporučovány mírnější druhy čajů, např. v Tibetu je dětem podáván tradiční čaj s jačím máslem. [12, 33]

Pro děti školního věku je zelený čaj vhodný, ale neměl by být podáván první nálev s vysokým obsahem kofeinu. Podporuje soustředěnost a myšlení. Čaj lze dětem dochutit medem, pomerančovou nebo jinou ovocnou šťávou, zároveň tak čaj obohatíme o jiné vitaminy a minerály. [12, 33]

4 STANOVENÍ ANTIOXIDANTŮ METODOU HPLC-ECD

Nejpoužívanější metody k vlastnímu stanovení antioxidantů jsou různé varianty kapalinové chromatografie, např. vysoceúčinná kapalinová chromatografie HPLC (High Performance Liquid Chromatography), plynová chromatografie nebo dvourozměrná tenkovrstvá chromatografie. Tyto techniky jsou někdy kombinovány se spektrofotometrickou detekcí. Antioxidanty vyskytující se přirozeně, se nejčastěji stanovují metodou RP-HPLC s UV-VIS nebo ECD detektorem. [6, 38]

4.1 Vysoceúčinná kapalinová chromatografie

Jde o analytickou fyzikálně-chemickou separační metodu. Během chromatografie se látky rozdělují mezi dvě nemísitelné fáze, jedna fáze je pohyblivá (mobilní), druhá fáze je nepohyblivá (stacionární). K rozdělení dochází na základě fyzikálně-chemických interakcí jako je adsorpce, iontová výměna, rozpouštění apod. [39]

Kapalinová chromatografie se nejčastěji používá k separaci netěkavých látek a obtížně těkavých látek. K separaci využívá kapalinová chromatografie různé systémy kapalné či pevné stacionární fáze a kapalnou mobilní fáze. O průběhu analýzy nerozhoduje pouze interakce složek se stacionární fází, ale také s mobilní fází. [39]

Všechny molekuly zkoumané látky několikrát přejdou z mobilní fáze na povrch sorbetu a zpět při průchodu kolonou. Systém musí být neustále v blízkosti rovnovážného stavu, tzn. že počet sorbovaných molekul se téměř rovná počtu desorbovaných molekul. Chromatografická kolona ovšem rovnováhy nikdy nedosáhne, jelikož se jedná o dynamický systém. Čas, který molekula nějaké složky zůstává na povrchu sorbetu je závislý na míře interakce mezi složkou a sorbetem. Zároveň udává pořadí, ve kterém složka opouští kolonu. Čím je míra interakce větší, tím později složka vychází, tzn. tím delší má retenční čas. [39]

Převažující mechanismus separace:

1. Kapalinová adsorpční chromatografie
2. Kapalinová rozdělovací chromatografie
3. Gelová permeační chromatografie
4. Iontově výměnná chromatografie [40]

Metoda HPLC se řadí do sloupcové chromatografie, má široké spektrum využití, je velice rychlá a citlivá. Sloupec obsahuje nepohyblivou (stacionární) část, ta je spojena s matricí a umístěna v kovové koloně. Pohyblivá (mobilní) část prochází kolonou. Průchod mobilní fáze zajišťuje čerpadlo. [41, 42]

Chromatografickou separaci látek na koloně je možné provést těmito technikami:

1. Frontální
2. Vytěšňovací
3. Eluční

V současné době je nejvíce využívaná metoda eluční chromatografie. Při eluční chromatografii je separovaná směs vnesena jednorázově do proudu mobilní fáze. Aby byla separace úspěšná, musí být složka vzorku držena stacionární fází silněji než mobilní fáze. Složky jsou eluovány v pořadí s rostoucí interakcí se stacionární fází. Jednotlivé složky jsou od sebe odděleny mobilní fází. [39, 41, 43]

4.1.1 Schéma kapalinová chromatografie

Systém HPLC je složen ze zásobníku mobilní fáze, pumpy neboli čerpadla, dávkovacího zařízení, separační kolony, detektoru a vyhodnocovacího zařízení. Některé části lze ze systému vyřadit nebo do něj přidat. [43]

Zásobník mobilní fáze

Kapalinový chromatograf nemusí obsahovat jen jeden zásobník mobilní fáze. Pokud jich obsahuje více, je možné naprogramovat změny ve složení výsledné mobilní fáze. Jestliže je složení mobilní fáze stálé, jde o sokratickou eluci. Je-li složení mobilní fáze v průběhu separace měněno, jedná se o gradientovou eluci. [41, 42]

Pumpa (Čerpadlo)

Na kolonu je kapalina čerpána pístovým nebo membránovým čerpadlem. Obě čerpadla pracují tak, že fáze výtlačku a sání na sebe navazují. Pumpa musí zajistit, aby průtok mobilní fáze systémem byl konstantní. Čerpadla by měla být vyrobena z nekorodujících materiálů a materiálů, které nezpůsobí kontaminaci mobilní fáze. [39, 42]

Dávkovací zařízení

Vzorek je dávkován do proudu mobilní fáze přímým nástřikem injekční stříkačkou, pomocí dávkovací smyčky nebo je dávkován pomocí automatického dávkovače. Dávkovací smyčky dovolují dávkovat větší množství vzorku a to až do tlaku 40 MPa. [39, 41]

Separáčn

Výsledek celé analýzy je určen zejména kvalitou kolony a její náplně. Chromatografická kolona je silná kapilára naplněná stacionární fází. Pro metodu HPLC se využívají kolony z nerezavějící oceli, jinak se setkáme také se sklem nebo plastem. Obvyklý vnitřní průměr kolony je asi 4 mm a délka 5-25 cm. Schopnost kolony separovat určité směsi na jednotlivé látky je dána typem stacionární fáze, která je na silikagelovém nosiči. [41, 42]

Pokud pracujeme s metodou HPLC často se setkáme s pojmem normální fáze a reverzní fáze. Pokud jde o normální fáze je mobilní fáze nepolární a stacionární fáze polární. Nejběžněji používanou stacionární fází je alkylamin vázaný na silikagel a mobilní fází organické rozpouštědlo jako je heptan, hexan nebo ethylacetát. V případě použití normální fáze je jako první eluována nejméně polární látka a nejpolárnější látka jako poslední. U chromatografie s reverzními fázemi RP-HPLC (Reversed-phase High Performance Liquid chromatography) je mobilní fáze polární a stacionární fáze nepolární. Nepohyblivá fáze musí být inertní, se vzorky vytváří jen hydrofóbní vazby. Mobilní fází může být voda, vodné roztoky pufrů, methanol, acetonitril, tetrahydrofuran a směsi těchto látek. V tomto případě jsou polární látky eluovány dříve než látky nepolární. [41, 42]

Detektor

V současnosti jsou pro metodu HPLC používány koncentrační detektory, tzn. že poskytují odezvu úměrnou koncentraci látek v eluátu. Detektory lze rozdělit do dvou skupin:

1. Selektivní – odezva je úměrná jen koncentraci analyzované látky v eluátu
2. Univerzální – odezva je úměrná celkové vlastnosti eluentu, tzn. mobilní fázi a analyzované látce [41, 44]

Nejvhodnější detektor pro kapalinovou chromatografii musí splňovat určité parametry. Měl by být schopen detekovat všechny typy látek, poskytnout okamžitou a lineární koncentrační odezvu v širokém koncentračním rozmezí. Citlivost detektoru by měla být vysoká a úroveň

šumu nízká. Ideální detektor odolává změnám tlaku, teploty a průtoku mobilní fáze. Měl by také umožnit použití gradientové eluce a jiných technik. [41, 44]

Nejpoužívanější detektory v praxi jsou spektrofotometrické detektory. Často je také používán fluorescenční detektor. Pro metodu HPLC jsou vhodné refraktometrické a elektrochemické detektory. [40, 41]

Metoda RP-HPLC je velice vhodná pro stanovení antioxidantů. Mobilní fází nejčastěji tvoří acetonitril a voda v různých poměrech. Nejčastěji se volí izokratická a gradientová eluce. [6]

4.2 Detektor ESA Coulochem III

Tento detektor je určen k detekci elektroaktivních látek. Vyznačuje se vysokou citlivostí a vysokým stupněm selektivity. Eluent v elektrochemickém detektoru prochází přes průtokovou kvetu, poskytuje vhodné potenciály a kontroluje proudění. Citlivost ECD detektoru je mnohem lepší než u jiných běžně užívaných režimů detekce pro HPLC (UV absorbance). [45]

Existují tři různé režimy provozu ECD detektoru:

DC režim umožňuje aplikaci konstantního potenciálu během celého analytického měření.

PULZÍ režim umožňuje změnu potenciálu v předem stanovených časech v průběhu analýzy. Tento režim je často využíván pro analýzu alkoholů a sacharidů.

SCAN režim umožňuje průběžnou změnu potenciálu, tak aby byl získán cyklický voltamogram. Tento režim bývá využíván ke stanovení optimálního potenciálu pro detekci. [45]

Princip selektivity ECD spočívá v tom, že pokud jsou z kolony vymývány dvě a více látek, a jestliže mají různý redukční či oxidační potenciál, lze vybrat potenciál tak, že budeme selektivně detekovat jen jednu z těchto látek. ECD využívá dva typy detekce. Pokud jde o amperometrický detektor, eluent teče po povrchu elektrody. U coulochemického detektoru protéká eluent pórovitou grafitovou elektrodou. Takto může detektor poskytnout zvýšenou citlivost. [45, 46]

ECD Coulochem III může obsahovat dvě cely. Standardní analytickou celu model 5010A, která poskytuje potenciál pro oxidaci či redukci vzorků. Cela obsahuje dvě komory, sériově

zapojené. V každé z těchto komor je umístěna pórovitá grafitová coulometrická elektroda a dvojitá referenční elektroda. Ochranná cela model 5020 slouží pro redukované nebo oxidované elektrolyticky aktivní součásti vzorků. Tyto součásti by mohly být přítomny jako nečistoty obsažené v mobilní fázi. Ochranná cela bývá umístěna mezi čerpadlem a nástříkem. [45, 46]



Obrázek č. 5: Detektor ESA Coulochem III

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 METODIKA

Vhodnou metodou pro stanovení antioxidantů v čajích je HPLC s elektrochemickou detekcí nebo s DAD detekcí.

K vlastnímu stanovení antioxidantů v černém, bílém a zeleném čaji byla použita metoda HPLC s elektrochemickým detektorem ECD ESA Coulochem III. Tento detektor je používán pro svou vysokou citlivost a rychlost stanovení.

5.1 Použité chemikálie, přístroje a pomůcky

Chemikálie

- standard epigalokatechinu, výrobce Sigma - Aldrich s.r.o., Praha
- standard katechinu, výrobce Sigma - Aldrich s.r.o., Praha
- standard epikatechinu, výrobce Sigma - Aldrich s.r.o., Praha
- standard kyseliny gallové, výrobce Sigma - Aldrich s.r.o., Praha
- standard theofylinu, výrobce Sigma - Aldrich s.r.o., Praha
- acetonitril pro HPLC, výrobce LACHNER s.r.o., Neratovice
- kyselina triflouroctová 99,5 %, výrobce FISHER SCIENTIFIC s.r.o., Praha
- redestilovaná voda

Standardní laboratorní vybavení:

- předvážky, Kern, SRN
- analytické váhy, Adam Equipment, SCHEDELLER INSTRUMENTS, s.r.o., Praha
- temperovaná vodní lázeň, GFL, SRN
- odstředivka, EBA 20, HETTICH, SRN
- hliníková fólie
- běžné laboratorní sklo a pomůcky

Speciální zařízení

Přístroj pro HPLC:

- pumpa, ESA, USA
- dávkovací ventil analytický smyčkový (dávkovací smyčka o objemu 20 cl, Rheodyne, USA)
- detektor Coulochem III, ESA, USA
- kolona, C 18 Acclaim 120 Å 2,1 x 150 mm, 5 cm, DIONEX CORPORATION, Kanada
- kolona C 18 Ascentis, 15 x 4,6 mm, 5 µm, SUPELCO, USA
- termostat kolony
- guard kolona 5020
- analytická cela 5010A
- PC s vyhodnocovacím programem Clarity

Filtrační aparatura na mobilní fázi, SUPLECO, USA

Filtry 0,2 µl, SUPLECO, USA

Mikrofiltry, 0,46 µm, Cronus filter, Nylon 13 mm x 0,46 µm, UK

Dávkovací stříkačka, GASTIGHT, Švýcarsko

5.2 Vzorky k analýze

Vzorky čajů byly zakoupeny v obchodní síti Oxalis, Tesco a ve specializované prodejně s čaji.

V prodejně Oxalis byly zakoupeny tyto čaje:

1. sypaný černý čaj Darjeeling Gopaldhara FTGFOPI FF, OXALIS. Země původu: Indie. Minimální trvanlivost do 6. 10. 2011.
2. sypaný zelený čaj Darjeeling Green Okryti FTGFOPI, OXALIS. Země původu: Indie. Minimální trvanlivost do 9. 10. 2011.

3. sypaný bílý čaj Darjeeling White Tea, OXALIS. Země původu: Indie. Minimální trvanlivost do: 27. 10. 2011.

V prodejně Tesco byly zakoupeny tyto čaje:

1. černý čaj s příchutí Bergamotové silice, Earl Grey, TEEKANNE. Země původu: není na obale uvedena. Minimální trvanlivost do: 23. 2. 2012

2. zelený čaj , Zen Chai, TEEKANNE. Země původu: není na obale uvedena. Minimální trvanlivost do: 22. 2. 2012

3. bílý čaj, White tea speciality, TEEKANNE. Země původu: není na obale uvedena. Minimální trvanlivost do: 18. 9. 2012

Ve specializované prodejně byly zakoupeny tyto čaje:

1. sypaný pravý černý čaj s vůní a chutí bergamotu, Earl Grey, VALDEMAR GREŠÍK. Země původu: není na obale uvedena. Minimální trvanlivost do: 14. 7. 2011

2. sypaný pravý zelený čaj s vůní a chutí bergamotu, Green Earl Grey, VALDEMAR GREŠÍK. Země původu: není na obale uvedena. Minimální trvanlivost do: 27. 7. 2011

5.3 Metody

5.3.1 Příprava vzorků

S přesností na 0,01 g byl navážen 1 g čajových lístků. Vzorky byly připraveny extrakcí 1 g čajových lístků ve 100 ml vařící vody. Vzorek byl vložen do vodní lázně o teplotě 90 °C po dobu 30 minut. Po vyjmutí z lázně byl vzorek ještě 30 sekund promícháván. 2 ml extraktu byly smíchány s 0,8 ml mobilní fáze a vloženy do odstředivky při 6000 ot/min po dobu 2 minut. Získaný extrakt byl před nástřikem na kolonu zfiltrován přes mikrofiltr o velikosti pórů 0,45 μm a byla provedena zkouška, zda se vzorek nesráží s mobilní fází. Každý vzorek byl měřen pětkrát.

5.3.2 Optimalizace stanovení antioxidantů metodou RP-HPLC-ECD

Byla zkoušena metodika stanovení antioxidantů v čajích a metodika na stanovení standardů. Po nastavení parametrů na detektoru byl na kolonu vstříknut vzorek. Objem dávkovací smyčky byl při každém nástřiku nastaven na 20 μl, průtok byl vždy nastaven na

0,7 ml/min, byla použita kolona C 18 Acclaim 120 Å 2,1 x 150 mm, 5 µm a eluce probíhala izokraticky.

První měření vzorku probíhalo s vloženým napětím $E_1 = 400$ mV, $E_2 = 650$ mV a $G = 750$ mV.

Druhé měření vzorku probíhalo s vloženým napětím $E_1 = 100$ mV, $E_2 = 300$ mV a $G = 750$ mV.

Třetí měření vzorku probíhalo s vloženým napětím $E_1 = 50$ mV, $E_2 = 250$ mV a $G = 750$ mV.

Čtvrté měření vzorku probíhalo s vloženým napětím $E_1 = 250$ mV, $E_2 = 500$ mV a $G = 750$ mV.

První měření standardu **epigalokatechinu, katechinu, epikatechinu a theofylinu** probíhalo s vloženým napětím $E_1 = 300$ mV, $E_2 = 400$ mV a $G = 650$ mV.

Druhé měření standardu **epigalokatechinu, katechinu, epikatechinu a theofylinu** probíhalo s vloženým napětím $E_1 = 400$ mV, $E_2 = 500$ mV a $G = 650$ mV.

Třetí měření standardu **epigalokatechinu, katechinu, epikatechinu a theofylinu** probíhalo s vloženým napětím $E_1 = 700$ mV, $E_2 = 800$ mV a $G = 900$ mV.

5.4 Sestrojení kalibračních křivek jednotlivých standardů

Na základě ověřených parametrů byly kalibrační křivky všech standardů naměřeny na koloně C 18 Acclaim 120 Å 2,1 x 150 mm, 5 µm, byla použita mobilní fáze o složení $H_2O:C_2H_5N:C_2HF_3O_2$ v poměru 95:49,65:0,35 a vloženém napětí $E_1 = 700$ mV, $E_2 = 800$ mV a $G = 900$ mV.

Na analytických vahách bylo s přesností na 0,0001 g naváženo 0,0002 g standardu C, EGC, GA, EC, a theofylinu. Standardy C, EGC, GA a EC byly rozpuštěny v 1ml 20% roztoku acetonitrilu. Výchozí koncentrace roztoků standardů byla $200 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Ze zásobních roztoků byly připraveny dalším ředěním 20% acetonitrem kalibrační roztoky o koncentraci 5, 10, 20, 40 a $80 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Standard theofylinu byl rozpuštěn v 0,2 ml ethanolu a 0,8 ml destilované vody. Výchozí koncentrace byla také $200 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Ředěním směsí ethanolu s destilovanou vodou byl zásobní roztok naředěn na roztoky standardu o koncentraci 5, 10, 20, 40 a $80 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$.

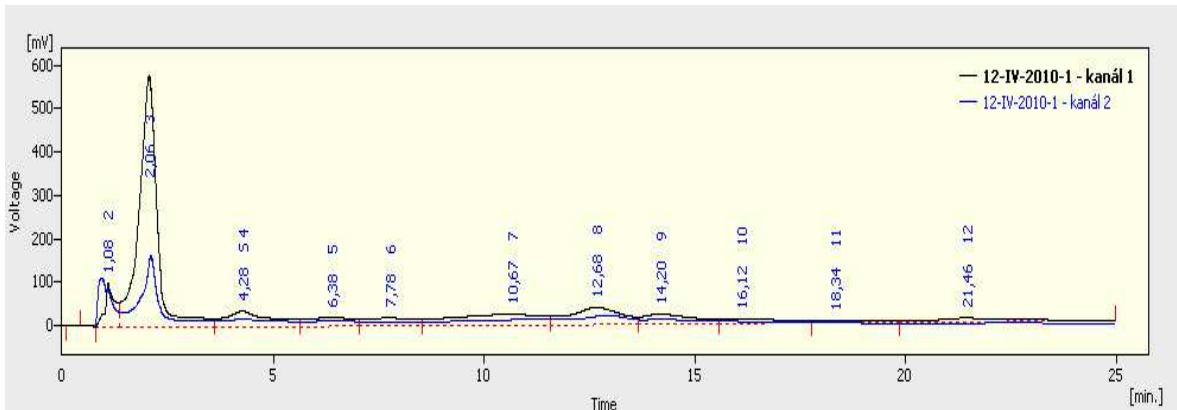
5.5 Stanovení antioxidantů metodou RP-HPLC-ECD

Všechny vzorky byly připraveny podle postupu uvedeného v kapitole 5.3.1. Ke stanovení jednotlivých vzorků byla použita kolona C 18 Acclaim 120 Å 2,1 x 150 mm, 5 µm. Eluce probíhala izokratickým způsobem s mobilní fází H₂O:C₂H₃N:C₂HF₃O₂ v poměru 95:49,65:0,35. Průtok mobilní fáze byl nastaven na 0,7 ml/min, teplota termostatu 30 °C. Vložené napětí mělo hodnoty K₁ = 700 mV, K₂ = 800 mV, G = 900 mV. Z naměřených hodnot bylo podle rovnice přímky kalibračních křivek vypočtena koncentrace jednotlivých antioxidantů obsažených v čaji.

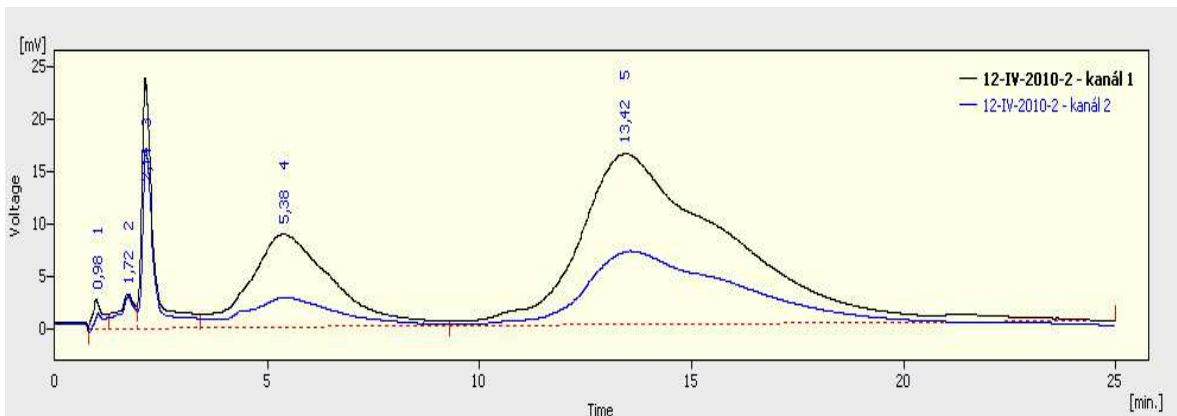
6 VÝSLEDKY A DISKUZE

6.1 Optimalizace stanovení antioxidantů metodou RP-HPLC-ECD

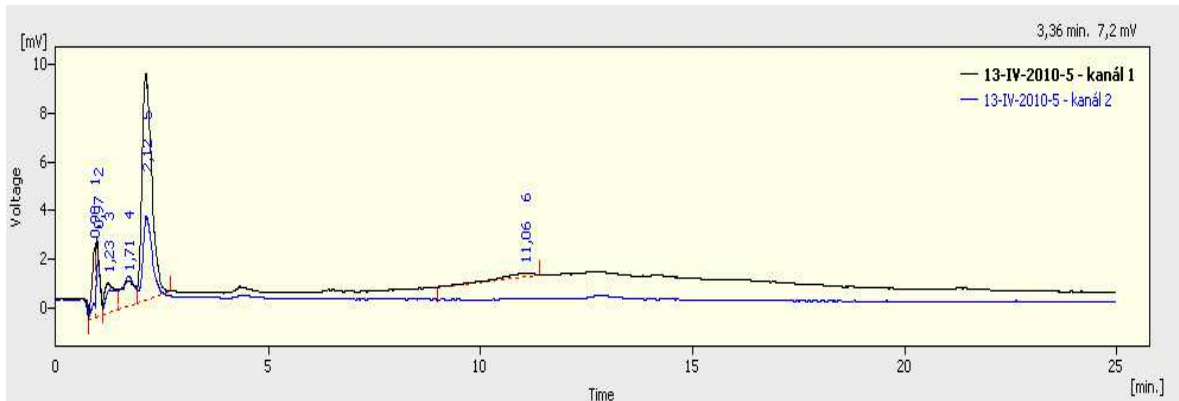
Vzorky byly připraveny podle postupu uvedeného v kapitole 5.3.1. Následně byla provedena analýza metodou RP-HPLC-ECD s podmínkami uvedenými v kapitole 5.3.2.



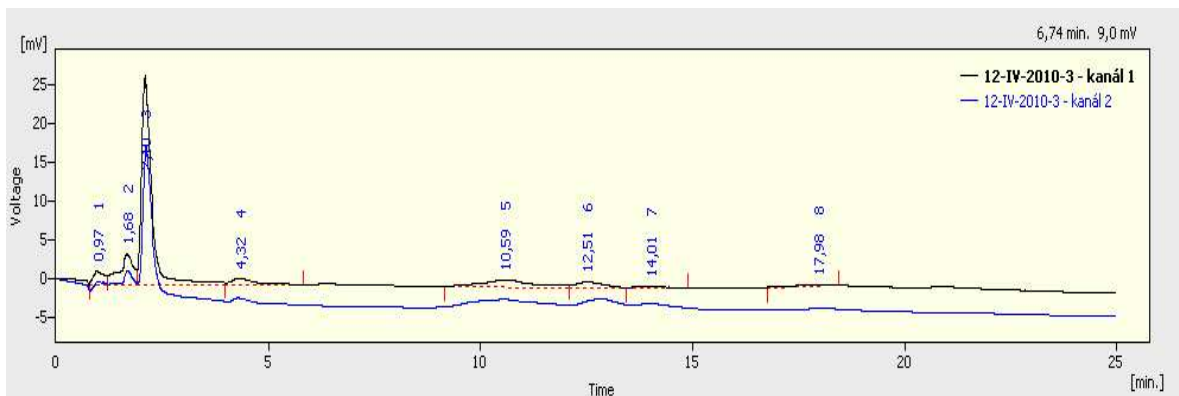
Obrázek č. 6: Chromatogram vzorku čaje při vložení napětí $E_1 = 400$ mV, $E_2 = 650$ mV a $G = 750$ mV



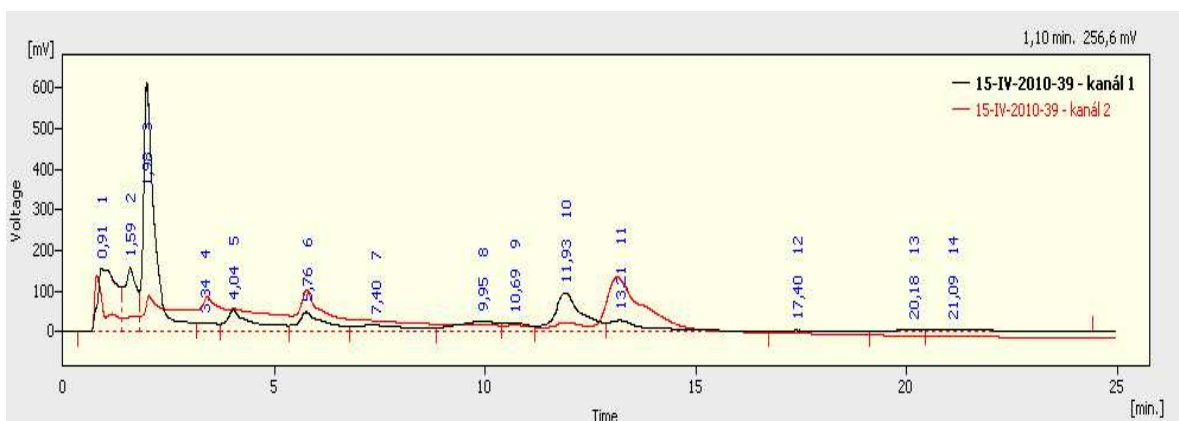
Obrázek č. 7: Chromatogram vzorku čaje při vložení napětí $E_1 = 100$ mV, $E_2 = 300$ mV a $G = 750$ mV



Obrázek č. 8: Chromatogram vzorku čaje při vloženém napětí $E_1 = 50 \text{ mV}$, $E_2 = 250 \text{ mV}$ a $G = 750 \text{ mV}$



Obrázek č.9: Chromatogram vzorku čaje při vloženém napětí $E_1 = 250 \text{ mV}$, $E_2 = 500 \text{ mV}$ a $G = 750 \text{ mV}$

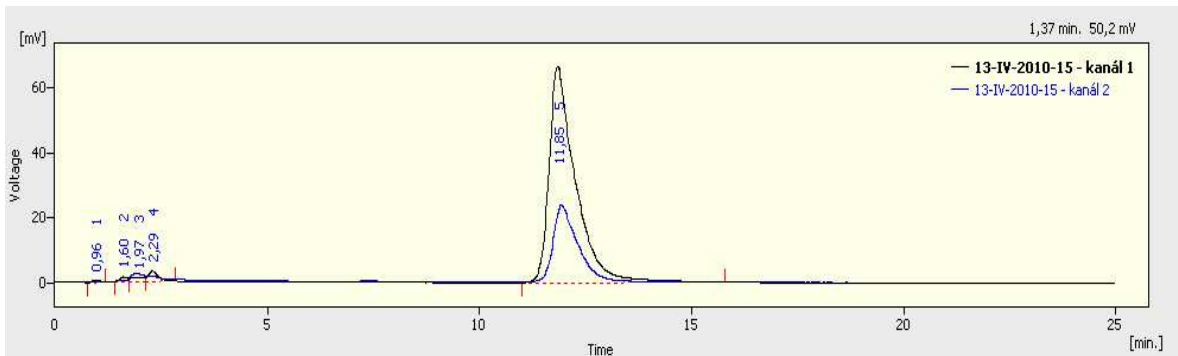


Obrázek č.10: Chromatogram vzorku čaje při vloženém napětí $E_1 = 700 \text{ mV}$, $E_2 = 800 \text{ mV}$ a $G = 900 \text{ mV}$

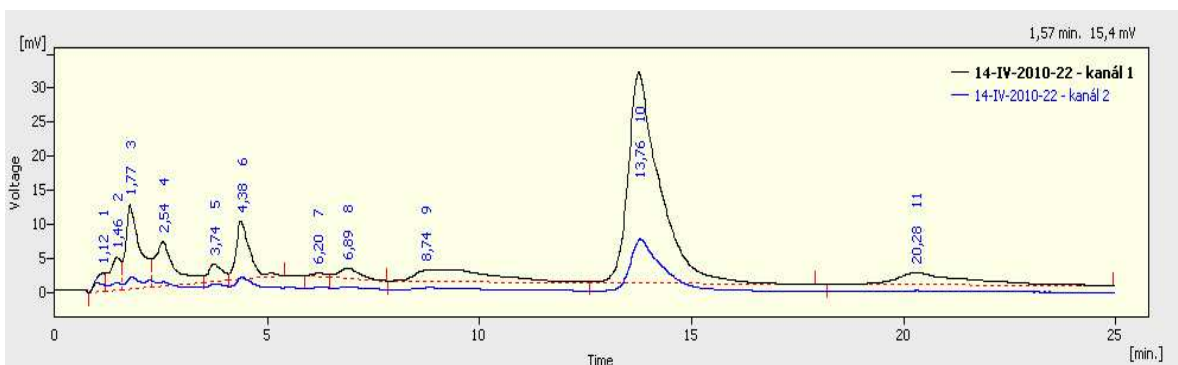
Na základě velikosti a tvaru píků bylo pro stanovení antioxidantů zvoleno jako nejvhodnější napětí $E_1 = 700 \text{ mV}$, $E_2 = 800 \text{ mV}$ a $G = 900 \text{ mV}$.

Standarty byly připraveny podle postupu uvedeného v kapitole 5.4. Následně byla provedena analýza metodou RP-HPLC-ECD s podmínkami uvedenými v kapitole 5.3.2.

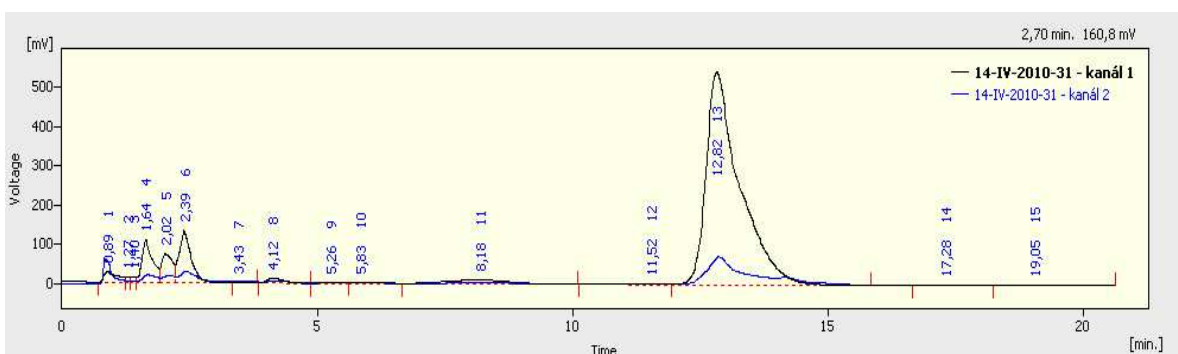
EPIGALOKATECHIN



Obrázek č.11: Chromatogram standardu EGC při vloženém napětí $E_1 = 300$ mV, $E_2 = 400$ mV a $G = 650$ mV



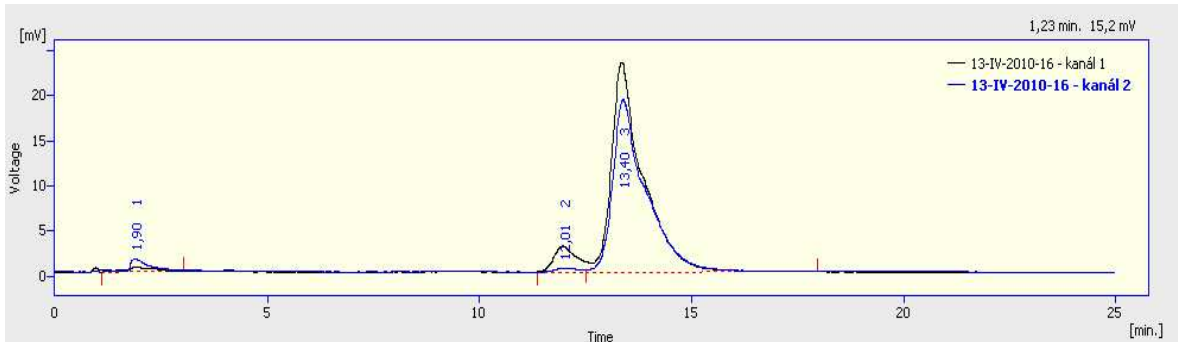
Obrázek č.12: : Chromatogram standardu EGC při vloženém napětí $E_1 = 400$ mV, $E_2 = 500$ mV a $G = 650$ mV



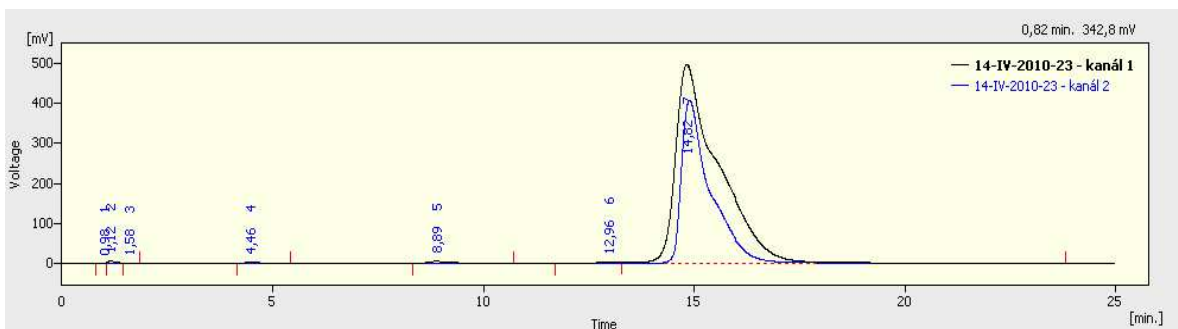
Obrázek č.13: Chromatogram standardu EGC při vloženém napětí $E_1 = 700$ mV, $E_2 = 800$ mV a $G = 900$ mV

Na základě velikosti a tvaru píků bylo pro stanovení EGC zvoleno jako nejlepší napětí $E_1 = 700 \text{ mV}$, $E_2 = 800 \text{ mV}$ a $G = 900 \text{ mV}$.

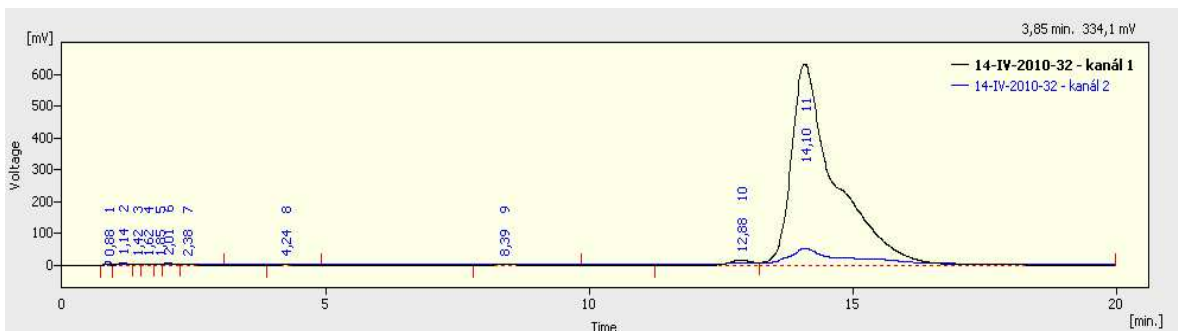
KATECHIN



Obrázek č.14: Chromatogram standardu C při vložení napětí $E_1 = 300 \text{ mV}$, $E_2 = 400 \text{ mV}$ a $G = 650 \text{ mV}$



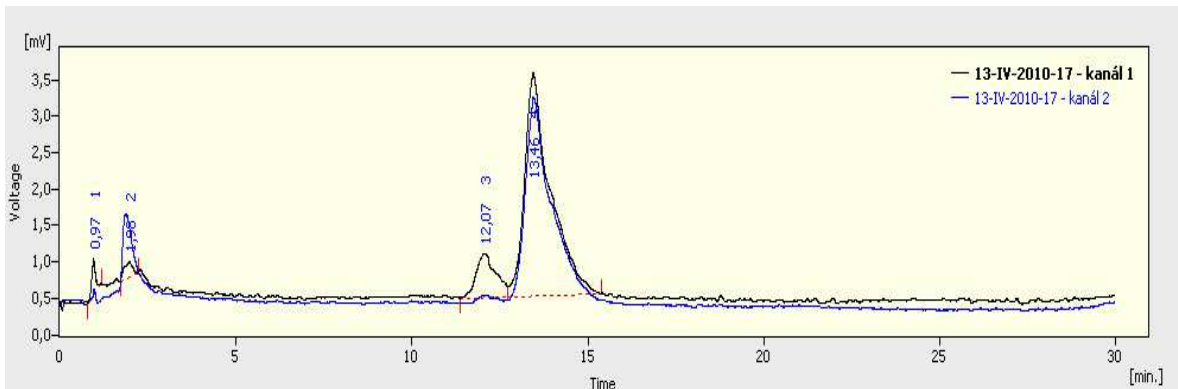
Obrázek č.15: Chromatogram standardu C při vložení napětí $E_1 = 400 \text{ mV}$, $E_2 = 500 \text{ mV}$ a $G = 650 \text{ mV}$



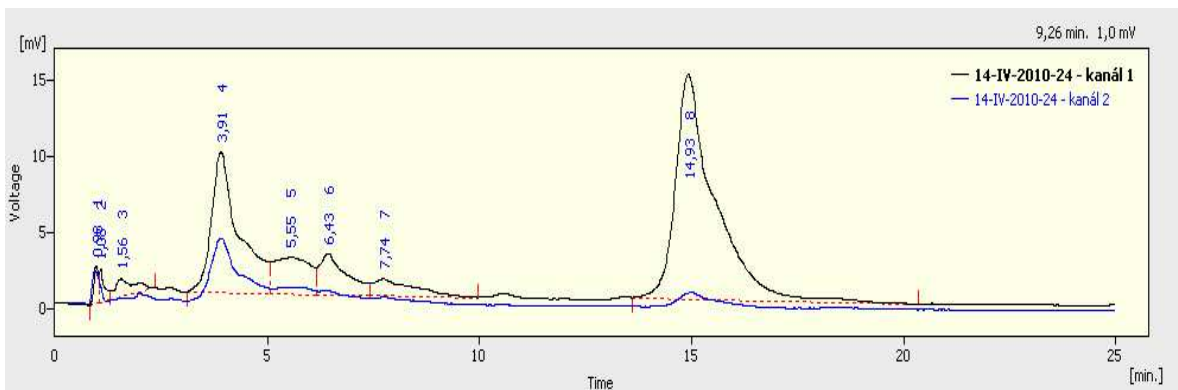
Obrázek č.16: Chromatogram standardu C při vložení napětí $E_1 = 700 \text{ mV}$, $E_2 = 800 \text{ mV}$ a $G = 900 \text{ mV}$

Na základě velikosti a tvaru píků bylo pro stanovení C zvoleno nejvhodnější napětí $E_1 = 700 \text{ mV}$, $E_2 = 800 \text{ mV}$ a $G = 900 \text{ mV}$.

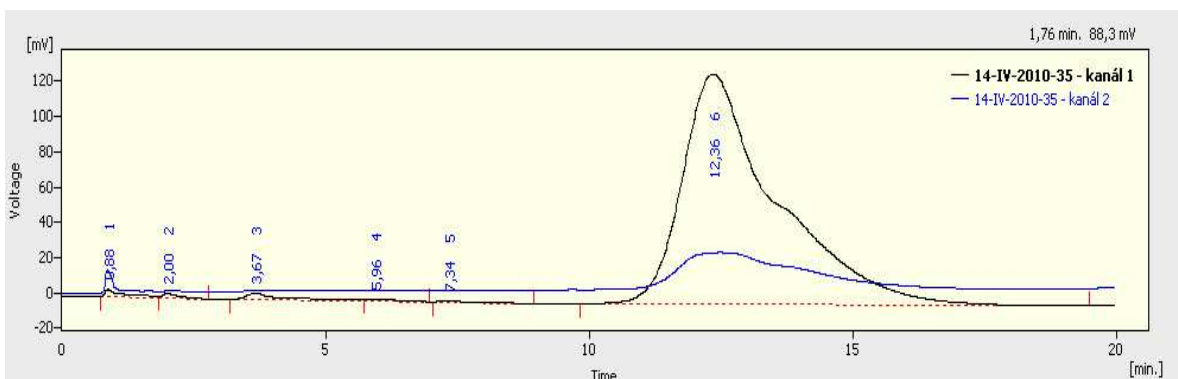
EPIKATECHIN



Obrázek č.17: Chromatogram standardu EC při vloženém napětí $E_1 = 300$ mV, $E_2 = 400$ mV a $G = 650$ mV



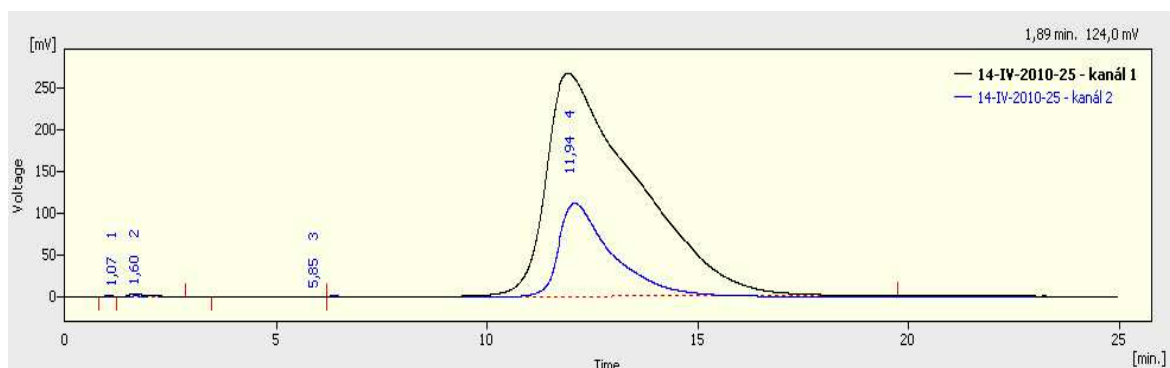
Obrázek č.18: Chromatogram standardu EC při vloženém napětí $E_1 = 400$ mV, $E_2 = 500$ mV a $G = 650$ mV



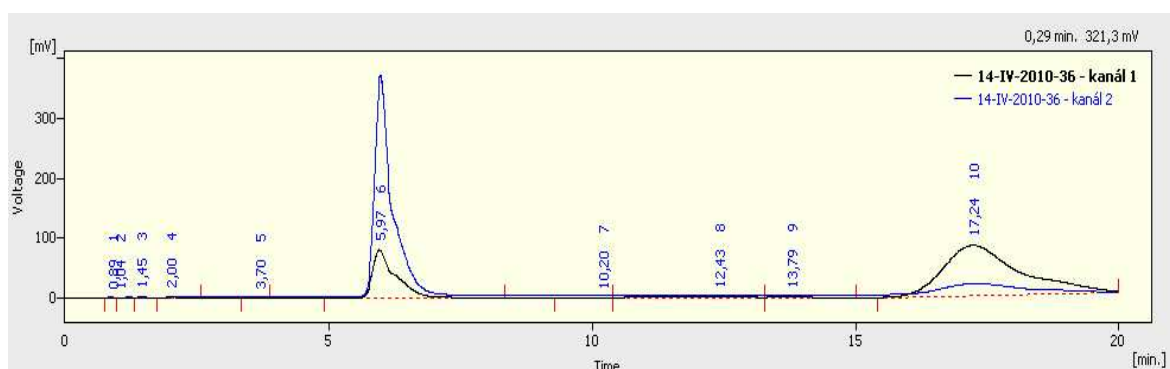
Obrázek č.19: Chromatogram standardu EC při vloženém napětí $E_1 = 700$ mV, $E_2 = 800$ mV a $G = 900$ mV

Na základě velikosti a tvaru píků bylo pro stanovení EC zvoleno jako nejlepší napětí $E_1 = 700$ mV, $E_2 = 800$ mV a $G = 900$ mV.

THEOFYLIN



Obrázek č.20: Chromatogram standardu theofylinu při vloženém napětí $E_1 = 400$ mV, $E_2 = 500$ mV a $G = 650$ m



Obrázek č.21: Chromatogram standardu theofylinu při vloženém napětí $E_1 = 700$ mV, $E_2 = 800$ mV a $G = 900$ m

Při vloženém napětí $E_1 = 400$ mV, $E_2 = 500$ mV a $G = 650$ m se pík theofylinu po páté minutě téměř nezobrazil, takže bylo zvoleno napětí $E_1 = 700$ mV, $E_2 = 800$ mV a $G = 900$ mV.

6.2 Výsledky měření kalibrační křivky

Výsledky všech kalibračních křivek byly naměřeny podle metodiky popsané v kapitole 5.4. Kalibrační křivky byly sestrojeny jako závislost plochy píku (mV.s) na koncentraci standardů ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$).

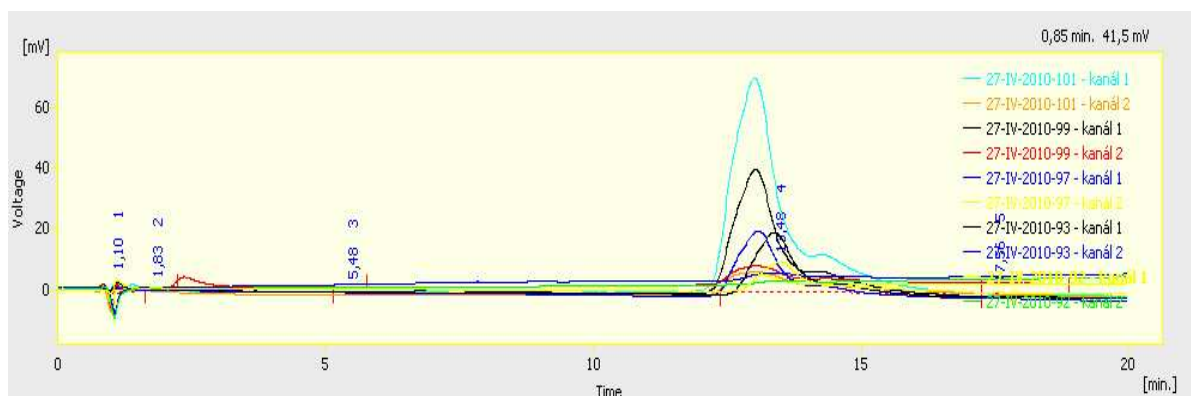
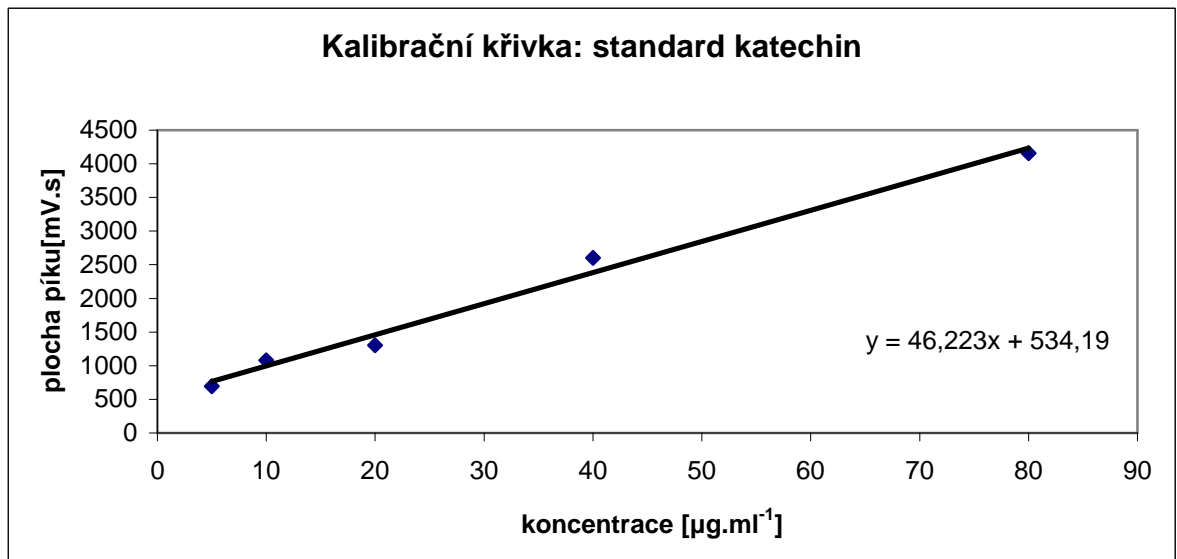
6.2.1 Kalibrační křivka pro standard katechinu

Standard byl připraven a analyzován způsobem, který je popsán v kapitole 5.4.

Tabulka č. 3: Naměřené hodnoty pro sestavení kalibrační křivky standardu C

Koncentrace [$\mu\text{g.ml}^{-1}$]	Plocha píku [mV.s]	Koncentrace [$\mu\text{g.ml}^{-1}$]	Plocha píku [mV.s]
5	696,513	20	1299,245
5	720,267	40	2203,932
5	668,976	40	2820,508
10	1167,976	40	2275,129
10	973,185	80	4266,643
10	1102,468	80	4072,014
20	1225,909	80	4127,838
20	1377,934		

Graf č.1: Kalibrační křivka s rovnicí regrese pro stanovení C metodou HPLC



Obrázek č. 22: Chromatogramy pro sestavení kalibrační křivky C

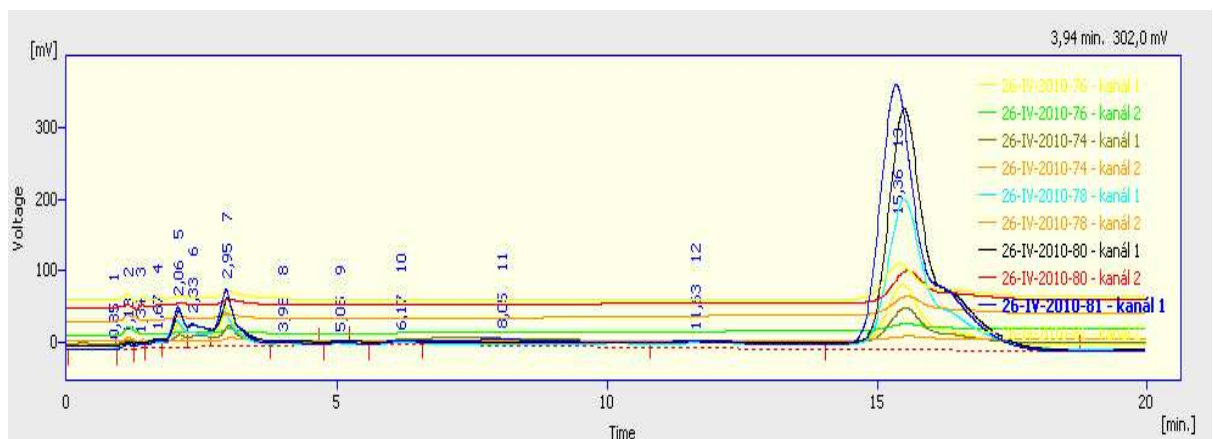
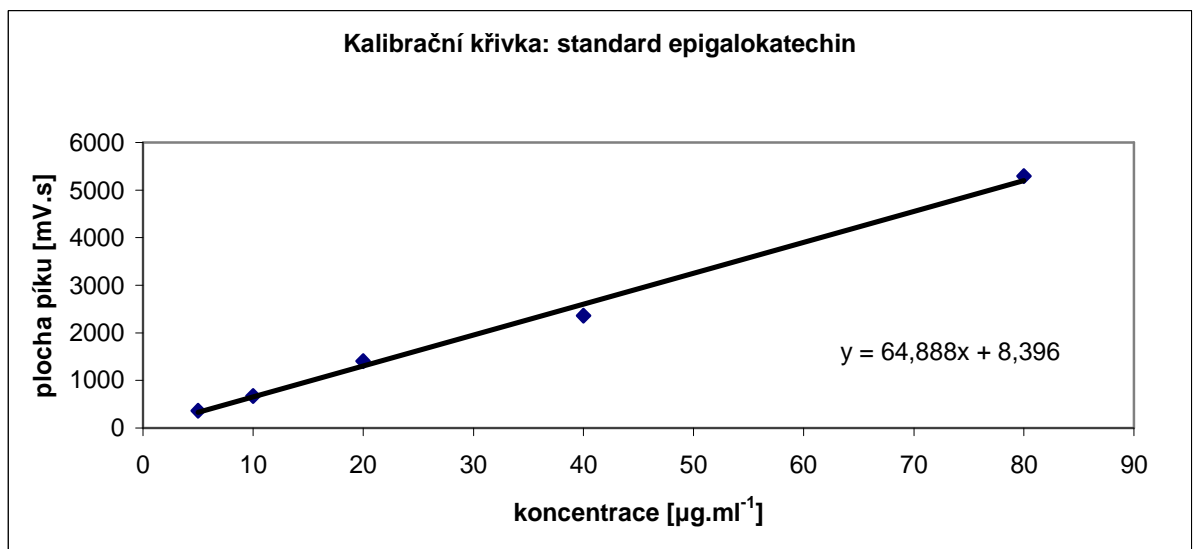
6.2.2 Kalibrační křivka pro standard epigalokatechin

Standard byl připraven a analyzován způsobem, který je popsán v kapitole 5.4.

Tabulka č. 4: Naměřené hodnoty pro sestrojení kalibrační křivky standardu EGC

Koncentrace [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	Plocha píku [mV.s]	Koncentrace [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	Plocha píku [mV.s]
5	452,377	20	1490,698
5	300,037	40	2691,895
5	346,231	40	2111,629
10	714,552	40	2287,342
10	689,213	80	5655,625
10	620,785	80	5087,41
20	1488,393	80	5129,487
20	1233,357		

Graf č. 2: Kalibrační křivka s rovnicí regrese pro stanovení EGC metodou HPLC



Obrázek č. 23: Chromatogramy pro sestrojení kalibrační křivky EGC

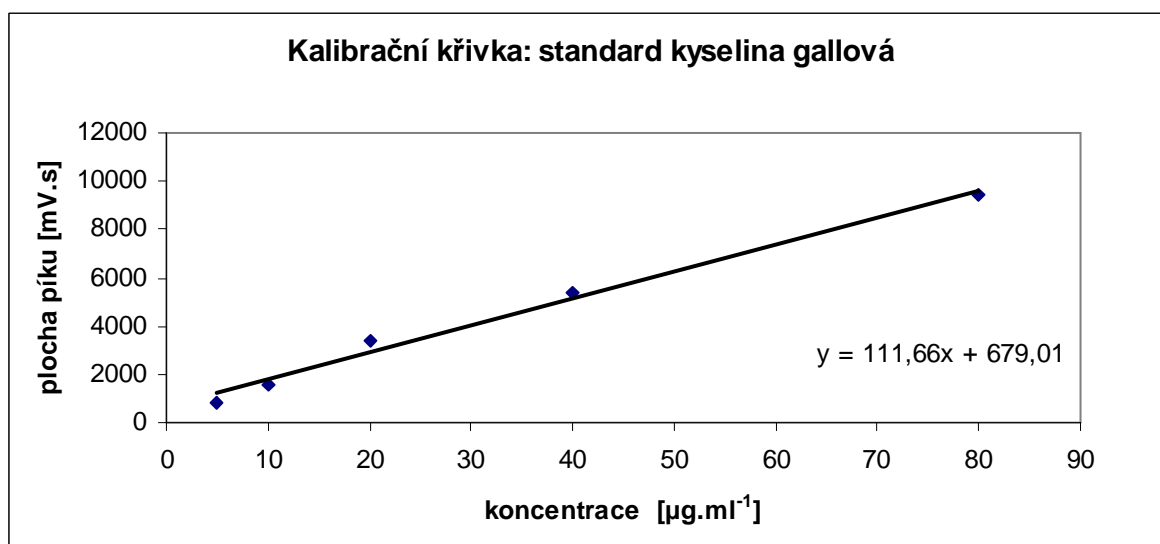
6.2.3 Kalibrační křivka pro standard kyseliny gallové

Standard byl připraven a analyzován způsobem, který je popsán v kapitole 5.4.

Tabulka č. 5: Naměřené hodnoty pro sestavení kalibrační křivky standardu GA

Koncentrace [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	Plocha píku [mV.s]	Koncentrace [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	Plocha píku [mV.s]
5	906,736	20	3386,173
5	839,575	40	5093,832
5	852,753	40	5725,313
10	1507,953	40	5373,937
10	1686,945	80	10413,88
10	1621,893	80	8640,812
20	3771,538	80	9156,274
20	3131,247		

Graf č. 3: Kalibrační křivka s rovnicí regrese pro stanovení GA metodou HPLC



Obrázek č. 24: Chromatogramy pro sestavení kalibrační křivky GA

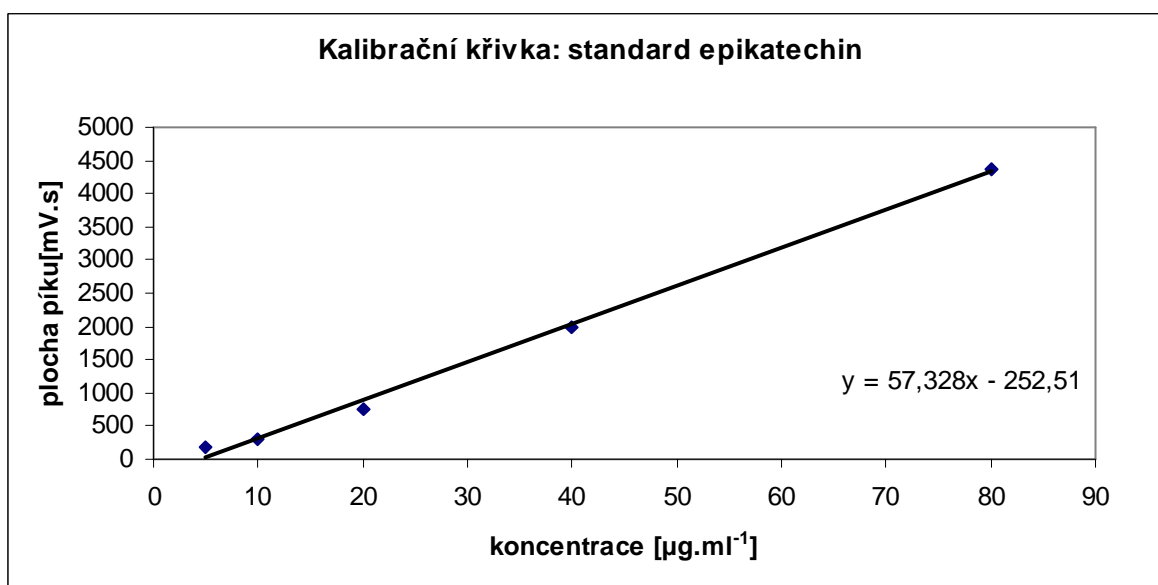
6.2.4 Kalibrační křivka pro standard epikatechin

Standard byl připraven a analyzován způsobem, který je popsán v kapitole 5.4.

Tabulka č. 6: Naměřené hodnoty pro sestavení kalibrační křivky standardu EC

Koncentrace [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	Plocha píku [mV.s]	Koncentrace [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	Plocha píku [mV.s]
5	163,527	20	759,361
5	171,284	40	1952,953
5	166,751	40	1995,876
10	306,013	40	2035,457
10	317,029	80	1952,953
10	321,694	80	1995,876
20	746,891	80	2035,457
20	789,125		

Graf č. 4: Kalibrační křivka s rovnicí regrese pro stanovení EC metodou HPLC



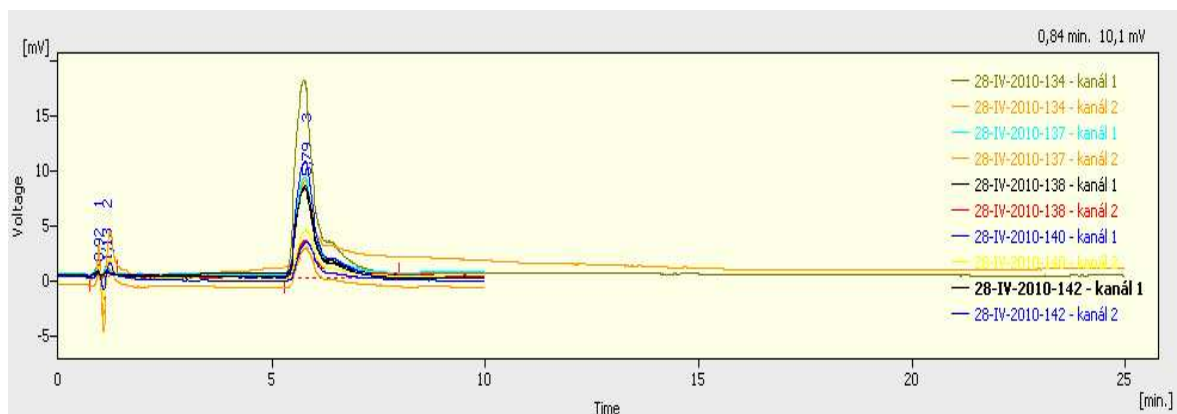
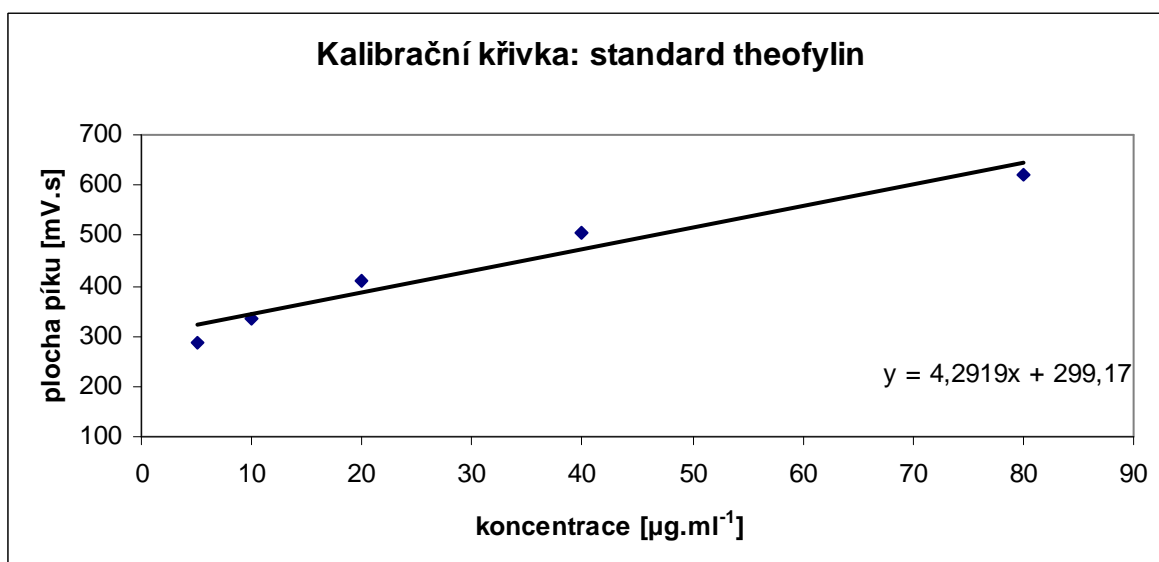
6.2.5 Kalibrační křivka pro standard theofylin

Standard byl připraven a analyzován způsobem, který je popsán v kapitole 5.4.

Tabulka č. 7: Naměřené hodnoty pro sestrojení kalibrační křivky standardu theofylinu

Koncentrace [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	Plocha píku [mV.s]	Koncentrace [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	Plocha píku [mV.s]
5	288,412	20	426,178
5	310,456	40	498,528
5	300,297	40	515,35
10	345,963	40	506,296
10	339,685	80	639,285
10	317,116	80	628,742
20	415,848	80	595,8
20	388,286		

Graf č. 5: Kalibrační křivka s rovnicí regrese pro stanovení theofylinu metodou HPLC



Obrázek č. 25: Chromatogram pro sestrojení kalibrační křivky theofylinu

6.3 Výsledky měření antioxidantů ve vzorcích čajů

Izolace C, EGC, GA, EC a theofylinu byla provedena podle postupu uvedeného v kapitole 5.3.1. Ke stanovení byla použita kolona C 18 Acclaim 120 Å 2,1 x 150 mm, 5 µm a mobilní fáze o složení H₂O:C₂H₃N:C₂HF₃O₂ v poměru 95:49,65:0,35. Každý vzorek byl měřen pětkrát. Obsah antioxidantů v čajích byl vypočten dle kalibrační křivky pro určitý standard a přepočten na 100 g čerstvých čajových lístků.

6.3.1 Statistické zpracování výsledků měření antioxidantů ve vzorcích čajů

Ke statistickému zpracování výsledků byly použity tyto vzorce:

$$\text{Aritmetický průměr, který se nejvíce blíží skutečné hodnotě: } \bar{x} = \sum_{i=1}^n \frac{x_i}{n} \quad (1)$$

$$\text{Směrodatná odchylka pro odhad nahodilých chyb: } s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \left(\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \right)} \quad (2)$$

$$\text{Studentovo rozdělení pro průměrný výsledek ze série paralelních stanovení: } \mu = \bar{x} \pm s.t \quad (3)$$

Průměrný obsah jednotlivých antioxidantů byl vypočten podle vzorce (1). Podle vzorce (2) byl vypočítán odhad směrodatné odchylky. Výpočet skutečného obsahu antioxidantů byl proveden podle vzorce (3), přičemž hodnota Studentova koeficientu t je při hladině významnosti $\alpha = 0,05$ a při čtyřech stupních volnosti 2,78.

6.3.2 Vzorek č. 1. Zelený čaj, TEEKANNE

Tabulka č. 8: Obsah EC v zeleném čaji, TEEKANNE

Plocha píku [mV.s]	Koncentrace [µg.ml ⁻¹]	Koncentrace [mg.100g ⁻¹]	$ x_i - \bar{x} $	$ x_i - \bar{x} ^2$
7673,469	177,528	1,775	0,042	0,00179
7428,362	172,227	1,772	-0,011	0,00012
7542,783	174,701	1,747	0,014	0,00020
7377,995	171,137	1,711	-0,022	0,00047
7363,256	170,818	1,708	-0,025	0,00062
		$\bar{x} = 1,773$		$\Sigma = 0,003$

Obsah EC v zeleném čaji TEEKANNE je $\mu = 1,773 \pm 0,078 \text{ mg.100g}^{-1}$.

Směrodatná odchylka: $s = 0,028 \text{ mg. 100g}^{-1}$

Tabulka č. 9: Obsah EGC v zeleném čaji, TEEKANNE

Plocha píku [mV.s]	Koncentrace [$\mu\text{g.ml}^{-1}$]	Koncentrace [mg.100g^{-1}]	$ x_i - \bar{x} $	$ x_i - \bar{x} ^2$
2928,97	45,009	0,450	0,023	0,000533
2984,37	45,863	0,459	0,032	0,001001
2528,093	38,831	0,388	-0,039	0,001497
2684,825	41,247	0,412	-0,015	0,000211
2783,849	42,773	0,428	0,001	0,000001
$\bar{x} = 0,427$			$\Sigma = 0,003$	

Obsah EGC v zeleném čaji TEEKANNE je $\mu = 0,427 \pm 0,078 \text{ mg.100g}^{-1}$.

Směrodatná odchylka: $s = 0,028 \text{ mg. 100g}^{-1}$

Tabulka č. 10: Obsah GA v zeleném čaji, TEEKANNE

Plocha píku [mV.s]	Koncentrace [$\mu\text{g.ml}^{-1}$]	Koncentrace [mg.100g^{-1}]	$ x_i - \bar{x} $	$ x_i - \bar{x} ^2$
1138,981	4,119	0,041	0,003	0,000010
1133,428	4,070	0,041	0,003	0,000007
1117,583	3,928	0,039	0,001	0,000002
1129,245	4,032	0,040	0,002	0,000005
1008,306	2,949	0,029	-0,009	0,000072
$\bar{x} = 0,038$			$\Sigma = 0,00010$	

Obsah GA v zeleném čaji TEEKANNE je $\mu = 0,038 \pm 0,014 \text{ mg.100g}^{-1}$.

Směrodatná odchylka: $s = 0,005 \text{ mg. 100g}^{-1}$

Tabulka č. 11: Obsah theofylinu v zeleném čaji, TEEKANNE

Plocha píku [mV.s]	Koncentrace [$\mu\text{g.ml}^{-1}$]	Koncentrace [mg.100g^{-1}]	$ x_i - \bar{x} $	$ x_i - \bar{x} ^2$
2169,426	435,764	4,358	0,003	0,0000070
2186,484	439,739	4,397	0,042	0,0017966
2142,026	429,380	4,294	-0,061	0,0037454
2184,43	439,260	4,393	0,038	0,0014138
2159,63	433,482	4,335	-0,020	0,0004074
$\bar{x} = 4,355$			$\Sigma = 0,007$	

Obsah theofylinu v zeleném čaji TEEKANNE je $\mu = 4,355 \pm 0,012 \text{ mg.100g}^{-1}$.

Směrodatná odchylka: $s = 0,043 \text{ mg. 100g}^{-1}$

6.3.3 Vzorek č. 2. Černý čaj, TEEKANNE

Tabulka č. 12: Obsah EGC v černém čaji, TEEKANNE

Plocha píku [mV.s]	Koncentrace [$\mu\text{g.ml}^{-1}$]	Koncentrace [mg.100g^{-1}]	$ x_i - \bar{x} $	$ x_i - \bar{x} ^2$
397,117	5,991	0,060	-0,0001	0,00000001
412,499	6,228	0,062	0,0023	0,00000518
394,372	5,948	0,059	-0,0005	0,00000027
404,567	6,105	0,061	0,0011	0,00000111
387,49	5,842	0,058	-0,0016	0,00000249
$\bar{x} = 0,060$			$\Sigma = 0,0001$	

Obsah EGC v černém čaji TEEKANNE je $\mu = 0,060 \pm 0,006 \text{ mg.100g}^{-1}$.

Směrodatná odchylka: $s = 0,002 \text{ mg. 100g}^{-1}$

Tabulka č. 13: Obsah GA v černém čaji, TEEKANNE

Plocha píku [mV.s]	Koncentrace [$\mu\text{g.ml}^{-1}$]	Koncentrace [mg.100g^{-1}]	$ x_i - \bar{x} $	$ x_i - \bar{x} ^2$
1605,674	8,299	0,083	0,0110	0,00012078
1489,148	7,255	0,073	0,0006	0,00000031
1505,748	7,404	0,074	0,0020	0,00000416
1299,924	5,561	0,056	-0,0164	0,00026871
1493,489	7,294	0,073	0,0009	0,00000089
$\bar{x} = 0,072$			$\Sigma = 0,0003$	

Obsah GA v černém čaji TEEKANNE je $\mu = 0,072 \pm 0,028 \text{ mg.100g}^{-1}$.

Směrodatná odchylka: $s = 0,010 \text{ mg. 100g}^{-1}$

Tabulka č. 14: Obsah EC v černém čaji, TEEKANNE

Plocha píku [mV.s]	Koncentrace [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	Koncentrace [$\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$]	$ x_i - \bar{x} $	$ x_i - \bar{x} ^2$
2043,868	40,057	0,401	0,0096	0,00009155
1985,835	39,045	0,390	-0,0006	0,00000031
1959,054	38,577	0,386	-0,0052	0,00002731
1976,864	38,888	0,389	-0,0021	0,00000449
1984,851	39,027	0,390	-0,0007	0,00000053
$\bar{x} = 0,391$			$\Sigma = 0,0001$	

Obsah EC v černém čaji TEEKANNE je $\mu = 0,391 \pm 0,017 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$.

Směrodatná odchylka: $s = 0,006 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$

Tabulka č. 15: Obsah theofylinu v černém čaji, TEEKANNE

Plocha píku [mV.s]	Koncentrace [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	Koncentrace [$\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$]	$ x_i - \bar{x} $	$ x_i - \bar{x} ^2$
1141,228	196,197	1,962	0,0330	0,00108704
1129,493	193,463	1,935	0,0056	0,00003167
1131,304	193,885	1,939	0,0098	0,00009698
1095,384	185,516	1,855	-0,0738	0,00545308
1137,128	195,242	1,952	0,0234	0,00054837
$\bar{x} = 1,929$			$\Sigma = 0,007$	

Obsah theofylinu v černém čaji TEEKANNE je $\mu = 1,929 \pm 0,117 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$.

Směrodatná odchylka: $s = 0,042 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$

6.3.4 Vzorek č. 3. Bílý čaj, TEEKANNE

Tabulka č. 16: Obsah EGC v bílém čaji, TEEKANNE

Plocha píku [mV.s]	Koncentrace [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	Koncentrace [$\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$]	$ x_i - \bar{x} $	$ x_i - \bar{x} ^2$
2218,95	34,067	0,341	0,0047	0,00002183
2174,927	33,389	0,334	-0,0021	0,00000446
2232,374	34,274	0,343	0,0067	0,00004544
2160,368	33,164	0,332	-0,0044	0,00001897
2157,297	33,117	0,331	-0,0048	0,00002332
$\bar{x} = 0,336$			$\Sigma = 0,0001$	

Obsah EGC v bílém čaji TEEKANNE je $\mu = 0,336 \pm 0,014 \text{ mg.100g}^{-1}$.

Směrodatná odchylka: $s = 0,005 \text{ mg. 100g}^{-1}$

Tabulka č. 17: Obsah GA v bílém čaji, TEEKANNE

Plocha píku [mV.s]	Koncentrace [$\mu\text{g.ml}^{-1}$]	Koncentrace [mg.100g^{-1}]	$ x_i - \bar{x} $	$ x_i - \bar{x} ^2$
2994,186	20,734	0,207	0,0073	0,00005390
2877,274	19,687	0,197	-0,0031	0,00000979
2848,043	19,425	0,194	-0,0057	0,00003302
2883,936	19,747	0,197	-0,0025	0,00000641
2954,092	20,375	0,204	0,0038	0,00001407
$\bar{x} = 0,200$			$\Sigma = 0,0001$	

Obsah GA v bílém čaji TEEKANNE je $\mu = 0,200 \pm 0,014 \text{ mg.100g}^{-1}$.

Směrodatná odchylka: $s = 0,005 \text{ mg. 100g}^{-1}$

Tabulka č. 18: Obsah EC v bílém čaji, TEEKANNE

Plocha píku [mV.s]	Koncentrace [$\mu\text{g.ml}^{-1}$]	Koncentrace [mg.100g^{-1}]	$ x_i - \bar{x} $	$ x_i - \bar{x} ^2$
5192,238	94,975	0,950	0,0318	0,00100830
4986,935	91,394	0,914	-0,0041	0,00001647
4991,823	91,479	0,915	-0,0032	0,00001028
4895,285	89,795	0,898	-0,0200	0,00040181
4973,692	91,163	0,912	-0,0064	0,00004056
$\bar{x} = 0,918$			$\Sigma = 0,001$	

Obsah EC v bílém čaji TEEKANNE je $\mu = 0,918 \pm 0,053 \text{ mg.100g}^{-1}$.

Směrodatná odchylka: $s = 0,019 \text{ mg. 100g}^{-1}$

Tabulka č. 19: Obsah theofylinu v bílém čaji, TEEKANNE

Plocha píku [mV.s]	Koncentrace [$\mu\text{g.ml}^{-1}$]	Koncentrace [mg.100g^{-1}]	$ x_i - \bar{x} $	$ x_i - \bar{x} ^2$
1017,635	167,400	1,674	-0,2160	0,04665505
1147,24	197,598	1,976	0,0860	0,00739222
1184,871	206,366	2,064	0,1737	0,03015680
1075,397	180,859	1,809	-0,0814	0,00662825
1126,906	192,860	1,929	0,0386	0,00148999
$\bar{x} = 1,890$			$\Sigma = 0,092$	

Obsah theofylinu v bílém čaji TEEKANNE je $\mu = 1,890 \pm 0,423 \text{ mg.100g}^{-1}$.

Směrodatná odchylka: $s = 0,152 \text{ mg. 100g}^{-1}$

6.3.5 Vzorek č. 4. Zelený čaj Darjeeling

Tabulka č. 20: Obsah EGC v zeleném čaji Darjeeling

Plocha píku [mV.s]	Koncentrace [$\mu\text{g.ml}^{-1}$]	Koncentrace [mg.100g^{-1}]	$ x_i - \bar{x} $	$ x_i - \bar{x} ^2$
2003,493	30,747	0,307	-0,0145	0,00021119
2158,381	33,134	0,331	0,0093	0,00008720
2141,725	32,877	0,329	0,0068	0,00004585
2083,093	31,974	0,320	-0,0023	0,00000513
2117,476	32,503	0,325	0,0030	0,00000920
$\bar{x} = 0,322$			$\Sigma = 0,0003$	

Obsah EGC v zeleném čaji Darjeeling je $\mu = 0,322 \pm 0,025 \text{ mg.100g}^{-1}$.

Směrodatná odchylka: $s = 0,009 \text{ mg. 100g}^{-1}$

Tabulka č. 21: Obsah GA v zeleném čaji Darjeeling

Plocha píku [mV.s]	Koncentrace [$\mu\text{g.ml}^{-1}$]	Koncentrace [mg.100g^{-1}]	$ x_i - \bar{x} $	$ x_i - \bar{x} ^2$
3570,669	25,897	0,259	0,0120	0,00014328
3385,924	24,242	0,242	-0,0046	0,00002093
3396,081	24,333	0,243	-0,0037	0,00001344
3372,758	24,125	0,241	-0,0058	0,00003311
3461,372	24,918	0,249	0,0022	0,00000476
$\bar{x} = 0,247$			$\Sigma = 0,0002$	

Obsah GA v zeleném čaji Darjeeling je $\mu = 0,247 \pm 0,019 \text{ mg.100g}^{-1}$.

Směrodatná odchylka: $s = 0,007 \text{ mg. 100g}^{-1}$

Tabulka č. 22: Obsah EC v zeleném čaji Darjeeling

Plocha píku [mV.s]	Koncentrace [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	Koncentrace [$\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$]	$ x_i - \bar{x} $	$ x_i - \bar{x} ^2$
9730,755	174,143	1,741	0,0294	0,00086607
9517,643	170,425	1,704	-0,0077	0,00005999
9480,352	169,775	1,698	-0,0142	0,00020306
9591,963	171,722	1,717	0,0052	0,00002724
9497,204	170,069	1,701	-0,0113	0,00012792
$\bar{x} = 1,712$			$\Sigma = 0,001$	

Obsah EC v zeleném čaji Darjeeling je $\mu = 1,712 \pm 0,050 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$.

Směrodatná odchylka: $s = 0,018 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$

Tabulka č. 23: Obsah theofylinu v zeleném čaji Darjeeling

Plocha píku [mV.s]	Koncentrace [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	Koncentrace [$\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$]	$ x_i - \bar{x} $	$ x_i - \bar{x} ^2$
1460,371	270,556	2,706	0,3036	0,09215108
1438,266	265,406	2,654	0,2521	0,06353423
1148,547	197,902	1,979	-0,4230	0,17890931
1296,935	232,476	2,325	-0,0772	0,00596557
1306,276	234,653	2,347	-0,0555	0,00307723
$\bar{x} = 2,402$			$\Sigma = 0,344$	

Obsah theofylinu v zeleném čaji Darjeeling je $\mu = 2,402 \pm 0,815 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$.

Směrodatná odchylka: $s = 0,293 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$

6.3.6 Vzorek č. 5. Černý čaj Darjeeling

Tabulka č. 24: Obsah EGC v černém čaji Darjeeling

Plocha píku [mV.s]	Koncentrace [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	Koncentrace [$\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$]	$ x_i - \bar{x} $	$ x_i - \bar{x} ^2$
1773,012	27,195	0,272	0,0149	0,00022344
1630,420	24,997	0,250	-0,0070	0,00004938
1659,729	25,449	0,254	-0,0025	0,00000630
1586,379	24,319	0,243	-0,0138	0,00019084
1736,162	26,627	0,266	0,0093	0,00008591
$\bar{x} = 0,257$			$\Sigma = 0,001$	

Obsah ECG v zeleném čaji Darjeeling je $\mu = 0,257 \pm 0,033 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$.

Směrodatná odchylka: $s = 0,012 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$

Tabulka č. 25: Obsah GA v černém čaji Darjeeling

Plocha píku [mV.s]	Koncentrace [$\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$]	Koncentrace [$\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$]	$ x_i - \bar{x} $	$ x_i - \bar{x} ^2$
5051,187	39,156	0,392	0,0336	0,00112638
4226,184	31,768	0,318	-0,0403	0,00162600
4468,581	33,938	0,339	-0,0186	0,00034652
4739,274	36,363	0,364	0,0056	0,00003167
4895,478	37,762	0,378	0,0196	0,00038481
$\bar{x} = 0,358$			$\Sigma = 0,004$	

Obsah GA v černém čaji Darjeeling je $\mu = 0,358 \pm 0,083 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$.

Směrodatná odchylka: $s = 0,030 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$

Tabulka č. 26: Obsah EC v černém čaji Darjeeling

Plocha píku [mV.s]	Koncentrace [$\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$]	Koncentrace [$\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$]	$ x_i - \bar{x} $	$ x_i - \bar{x} ^2$
1112,434	23,809	0,238	0,0001	0,00000001
1048,79	22,699	0,227	-0,0110	0,00012118
1191,22	25,184	0,252	0,0138	0,00019146
1083,936	23,312	0,233	-0,0049	0,00002379
1135,212	24,207	0,242	0,0041	0,00001654
$\bar{x} = 0,238$			$\Sigma = 0,0004$	

Obsah EC v černém čaji Darjeeling je $\mu = 0,238 \pm 0,025 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$.

Směrodatná odchylka: $s = 0,009 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$

Tabulka č. 27: Obsah theofylinu v černém čaji Darjeeling

Plocha píku [mV.s]	Koncentrace [$\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$]	Koncentrace [$\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$]	$ x_i - \bar{x} $	$ x_i - \bar{x} ^2$
929,29	146,816	1,468	-0,0888	0,00789238
1006,892	164,897	1,649	0,0920	0,00845872
948,587	151,312	1,513	-0,0439	0,00192524
983,486	159,444	1,594	0,0374	0,00140146
968,045	155,846	1,558	0,0015	0,00000213
$\bar{x} = 1,557$			$\Sigma = 0,020$	

Obsah theofylinu v černém čaji Darjeeling je $\mu = 1,557 \pm 0,195 \text{ mg.100g}^{-1}$.

Směrodatná odchylka: $s = 0,070 \text{ mg. 100g}^{-1}$

6.3.7 Vzorek č. 6. Bílý čaj Darjeeling

Tabulka č. 28: Obsah C v bílém čaji Darjeeling

Plocha píku [mV.s]	Koncentrace [$\mu\text{g.ml}^{-1}$]	Koncentrace [mg.100g^{-1}]	$ x_i - \bar{x} $	$ x_i - \bar{x} ^2$
871,629	30,407	0,304	-0,002	0,000004
907,379	31,181	0,312	0,006	0,000034
894,65	30,905	0,309	0,003	0,000009
875,248	30,486	0,305	-0,001	0,000001
863,921	30,241	0,302	-0,004	0,000013
$\bar{x} = 0,306$			$\Sigma = 0,0001$	

Obsah C v bílém čaji Darjeeling je $\mu = 0,306 \pm 0,011 \text{ mg.100g}^{-1}$.

Směrodatná odchylka: $s = 0,004 \text{ mg. 100g}^{-1}$

Tabulka č. 29: Obsah EGC v bílém čaji Darjeeling

Plocha píku [mV.s]	Koncentrace [$\mu\text{g.ml}^{-1}$]	Koncentrace [mg.100g^{-1}]	$ x_i - \bar{x} $	$ x_i - \bar{x} ^2$
2708,548	41,613	0,416	0,0171	0,00029327
2538,368	38,990	0,390	-0,0091	0,00008284
2692,972	41,372	0,414	0,0147	0,00021681
2584,984	39,708	0,397	-0,0019	0,00000368
2472,275	37,971	0,380	-0,0193	0,00037200
$\bar{x} = 0,399$			$\Sigma = 0,001$	

Obsah EGC v bílém čaji Darjeeling je $\mu = 0,399 \pm 0,044 \text{ mg.100g}^{-1}$.

Směrodatná odchylka: $s = 0,016 \text{ mg. 100g}^{-1}$

Tabulka č. 30: Obsah GA v bílém čaji Darjeeling

Plocha píku [mV.s]	Koncentrace [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	Koncentrace [$\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$]	$ x_i - \bar{x} $	$ x_i - \bar{x} ^2$
3003,95	20,822	0,208	0,0152	0,00023153
2517,356	16,464	0,165	-0,0284	0,00080441
2896,022	19,855	0,199	0,0056	0,00003081
2803,31	19,025	0,190	-0,0028	0,00000758
2937,891	20,230	0,202	0,0093	0,00008649
$\bar{x} = 0,193$			$\sum = 0,001$	

Obsah GA v bílém čaji Darjeeling je $\mu = 0,193 \pm 0,047 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$.

Směrodatná odchylka: $s = 0,017 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$

Tabulka č. 31: Obsah EC v bílém čaji Darjeeling

Plocha píku [mV.s]	Koncentrace [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	Koncentrace [$\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$]	$ x_i - \bar{x} $	$ x_i - \bar{x} ^2$
5923,078	107,724	1,077	0,0532	0,00283425
5275,85	96,434	0,964	-0,0597	0,00355949
5538,237	101,011	1,010	-0,0139	0,00019299
5683,936	103,552	1,036	0,0115	0,00013278
5665,256	103,226	1,032	0,0083	0,00006830
$\bar{x} = 1,024$			$\sum = 0,007$	

Obsah EC v bílém čaji Darjeeling je $\mu = 1,024 \pm 0,114 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$.

Směrodatná odchylka: $s = 0,041 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$

Tabulka č. 32: Obsah theofylinu v bílém čaji Darjeeling

Plocha píku [mV.s]	Koncentrace [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	Koncentrace [$\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$]	$ x_i - \bar{x} $	$ x_i - \bar{x} ^2$
1093,356	185,043	1,850	0,1524	0,02323487
1028,397	169,908	1,699	0,0011	0,00000116
978,577	158,300	1,583	-0,1150	0,01322541
992,37	161,514	1,615	-0,0829	0,00686653
1046,297	174,078	1,741	0,0428	0,00183045
$\bar{x} = 1,698$			$\sum = 0,045$	

Obsah theofylinu v bílém čaji Darjeeling je $\mu = 1,698 \pm 0,295 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$.

Směrodatná odchylka: $s = 0,106 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$

6.3.8 Vzorek č. 7. Zelený čaj, Valdemar Grešík

Tabulka č. 33: Obsah EGC v zeleném čaji, Valdemar Grešík

Plocha píku [mV.s]	Koncentrace [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	Koncentrace [$\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$]	$ x_i - \bar{x} $	$ x_i - \bar{x} ^2$
4182,322	64,325	0,643	0,0453	0,00204764
3875,273	59,593	0,596	-0,0021	0,00000428
3599,339	55,341	0,553	-0,0446	0,00198860
3873,584	59,567	0,596	-0,0023	0,00000543
3902,745	60,016	0,600	0,0022	0,00000469
$\bar{x} = 0,598$			$\Sigma = 0,004$	

Obsah EGC v zeleném čaji, Valdemar Grešík je $\mu = 0,598 \pm 0,089 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$.

Směrodatná odchylka: $s = 0,032 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$

Tabulka č. 34: Obsah GA v zeleném čaji, Valdemar Grešík

Plocha píku [mV.s]	Koncentrace [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	Koncentrace [$\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$]	$ x_i - \bar{x} $	$ x_i - \bar{x} ^2$
7007,571	56,677	0,567	0,0088	0,00007692
6903,207	55,742	0,557	-0,0006	0,00000033
6864,937	55,400	0,554	-0,0040	0,00001603
6976,102	56,395	0,564	0,0060	0,00003543
6795,936	54,782	0,548	-0,0102	0,00010369
$\bar{x} = 0,558$			$\Sigma = 0,0002$	

Obsah GA v zeleném čaji, Valdemar Grešík je $\mu = 0,558 \pm 0,022 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$.

Směrodatná odchylka: $s = 0,008 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$

Tabulka č. 35: Obsah EC v zeleném čaji, Valdemar Grešík

Plocha píku [mV.s]	Koncentrace [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	Koncentrace [$\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$]	$ x_i - \bar{x} $	$ x_i - \bar{x} ^2$
32480,661	570,981	5,710	-0,2592	0,06718197
36466,08	640,500	6,405	0,4360	0,19009691
33753,893	593,190	5,932	-0,0371	0,00137632
32974,397	579,593	5,796	-0,1731	0,02995326
34154,286	600,174	6,002	0,0327	0,00107215
$\bar{x} = 5,969$			$\Sigma = 0,289$	

Obsah EC v zeleném čaji, Valdemar Grešík je $\mu = 5,969 \pm 0,748 \text{ mg.100g}^{-1}$.

Směrodatná odchylka: $s = 0,269 \text{ mg. 100g}^{-1}$

Tabulka č. 36: Obsah theofylinu v zeleném čaji, Valdemar Grešík

Plocha píku [mV.s]	Koncentrace [$\mu\text{g.ml}^{-1}$]	Koncentrace [mg.100g^{-1}]	$ x_i - \bar{x} $	$ x_i - \bar{x} ^2$
5213,195	1144,953	11,450	0,5965	0,35585143
4812,462	1051,584	10,516	-0,3372	0,11367902
4904,374	1072,999	10,730	-0,1230	0,01513169
5152,947	1130,916	11,309	0,4562	0,20807901
4702,482	1025,959	10,260	-0,5934	0,35213939
$\bar{x} = 10,853$			$\Sigma = 1,045$	

Obsah theofylinu v zeleném čaji, Valdemar Grešík je $\mu = 10,853 \pm 1,421 \text{ mg.100g}^{-1}$.

Směrodatná odchylka: $s = 0,511 \text{ mg. 100g}^{-1}$

6.3.9 Vzorek č. 8. Černý čaj, Valdemar Grešík

Tabulka č. 37: Obsah EGC v černém čaji, Valdemar Grešík

Plocha píku [mV.s]	Koncentrace [$\mu\text{g.ml}^{-1}$]	Koncentrace [mg.100g^{-1}]	$ x_i - \bar{x} $	$ x_i - \bar{x} ^2$
244,605	3,640	0,036	-0,0006	0,00000036
228,932	3,399	0,034	-0,0030	0,00000908
268,901	4,015	0,040	0,0031	0,00000990
249,736	3,719	0,037	0,0002	0,00000004
253,649	3,780	0,038	0,0008	0,00000063
$\bar{x} = 0,037$			$\Sigma = 0,0001$	

Obsah EGC v černém čaji, Valdemar Grešík je $\mu = 0,037 \pm 0,006 \text{ mg.100g}^{-1}$.

Směrodatná odchylka: $s = 0,002 \text{ mg. 100g}^{-1}$

Tabulka č. 38: Obsah GA v černém čaji, Valdemar Grešík

Plocha píku [mV.s]	Koncentrace [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	Koncentrace [$\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$]	$ x_i - \bar{x} $	$ x_i - \bar{x} ^2$
11344,555	95,518	0,955	-0,0288	0,00083057
12053,104	101,864	1,019	0,0346	0,00119968
11686,655	98,582	0,986	0,0018	0,00000331
11743,103	99,087	0,991	0,0069	0,00004724
11480,163	96,733	0,967	-0,0167	0,00027805
$\bar{x} = 0,984$			$\Sigma = 0,002$	

Obsah GA v černém čaji, Valdemar Grešík je $\mu = 0,984 \pm 0,067 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$.

Směrodatná odchylka: $s = 0,024 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$

Tabulka č. 39: Obsah EC v černém čaji, Valdemar Grešík

Plocha píku [mV.s]	Koncentrace [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	Koncentrace [$\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$]	$ x_i - \bar{x} $	$ x_i - \bar{x} ^2$
8646,042	155,222	1,552	0,1402	0,01966092
6960,454	125,819	1,258	-0,1538	0,02365685
7439,172	134,170	1,342	-0,0703	0,00494248
7963,077	143,308	1,433	0,0211	0,00044456
8209,634	147,609	1,476	0,0641	0,00410787
$\bar{x} = 1,412$			$\Sigma = 0,053$	

Obsah EC v černém čaji, Valdemar Grešík je $\mu = 1,412 \pm 0,320 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$.

Směrodatná odchylka: $s = 0,115 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$

Tabulka č. 40: Obsah theofylinu v černém čaji, Valdemar Grešík

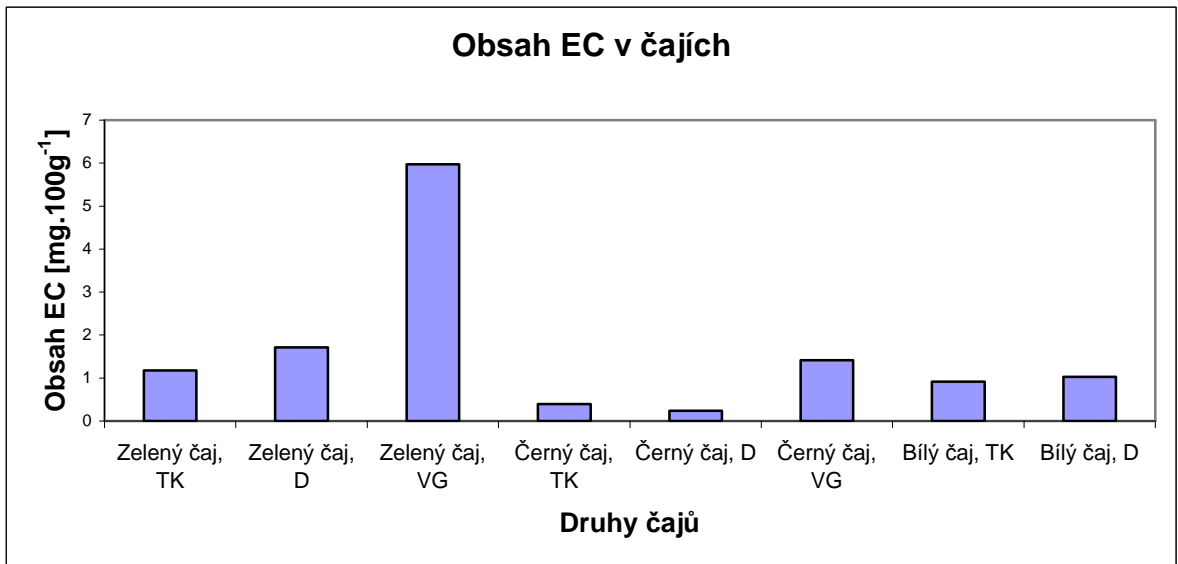
Plocha píku [mV.s]	Koncentrace [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	Koncentrace [$\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$]	$ x_i - \bar{x} $	$ x_i - \bar{x} ^2$
2388,905	486,902	4,869	-0,4750	0,22560532
2878,966	601,085	6,011	0,6668	0,44468671
2621,192	541,024	5,410	0,0662	0,00438808
2583,953	532,348	5,323	-0,0205	0,00042120
2491,704	510,854	5,109	-0,2355	0,05544172
$\bar{x} = 5,344$			$\Sigma = 0,731$	

Obsah theofylinu v černém čaji, Valdemar Grešík je $\mu = 5,344 \pm 1,187 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$.

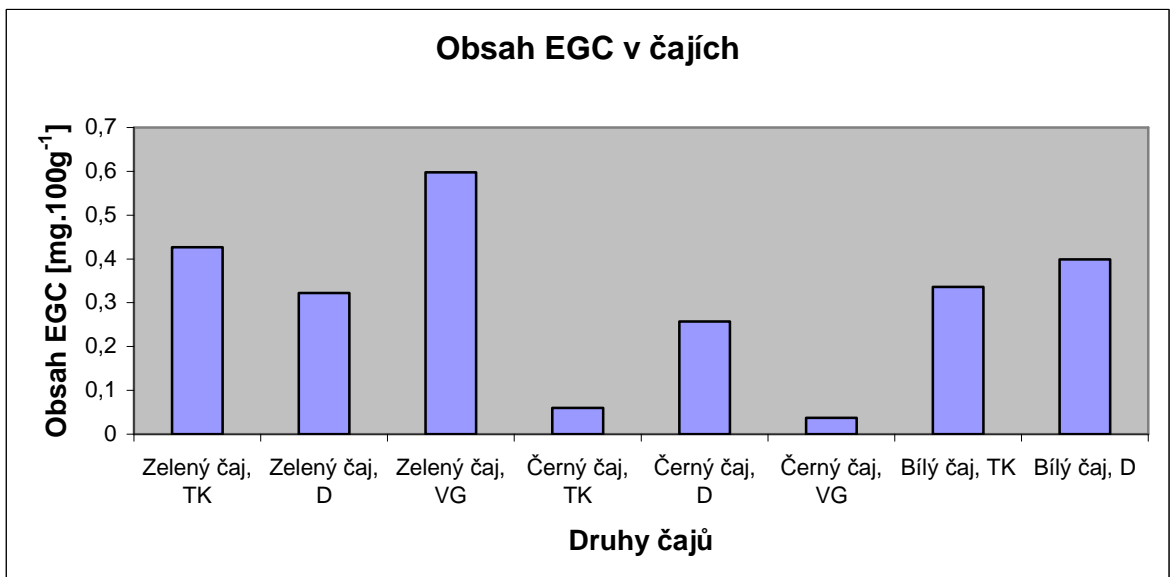
Směrodatná odchylka: $s = 0,427 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$

Katechin byl stanoven pouze u bílého čaje Darjeeling, u ostatních vzorků se neobjevil v retenčním čase standardu katechinu (13, 48 min.) žádný pík, nebo mohlo dojít ke splnutí píků C a EC, protože jejich retenční čas je téměř stejný.

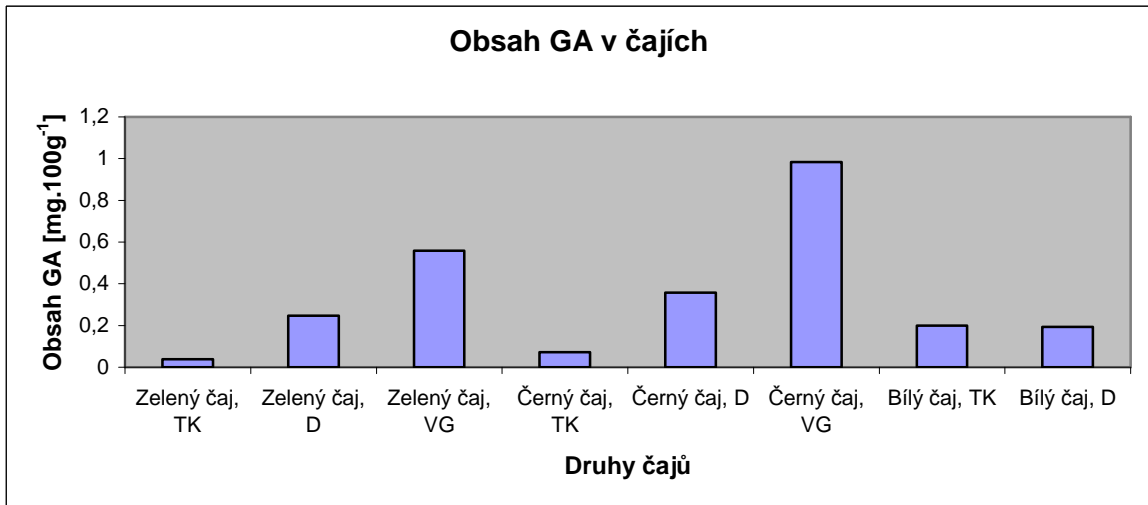
Graf č. 6: Obsah EC v čajích



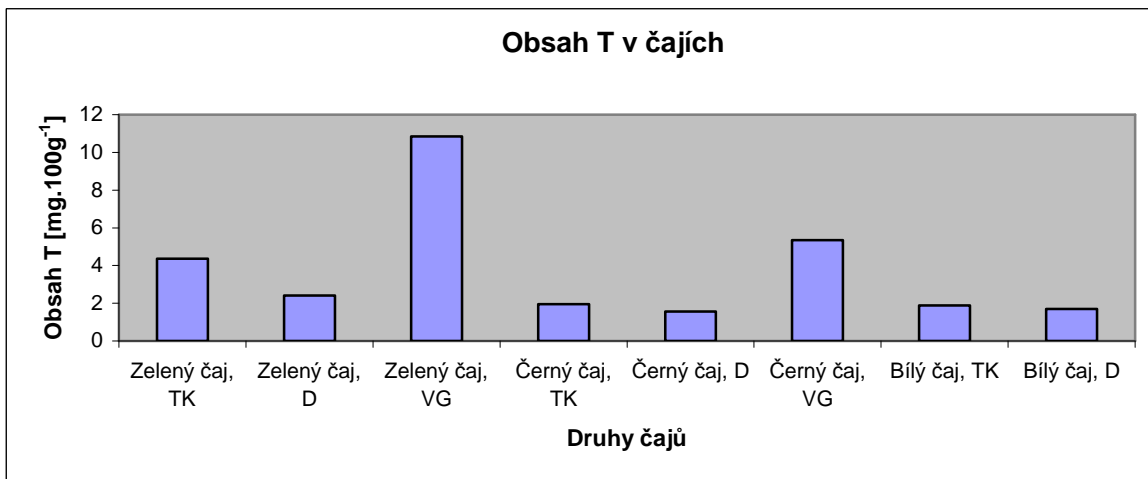
Graf č. 7: Obsah EGC v čajích



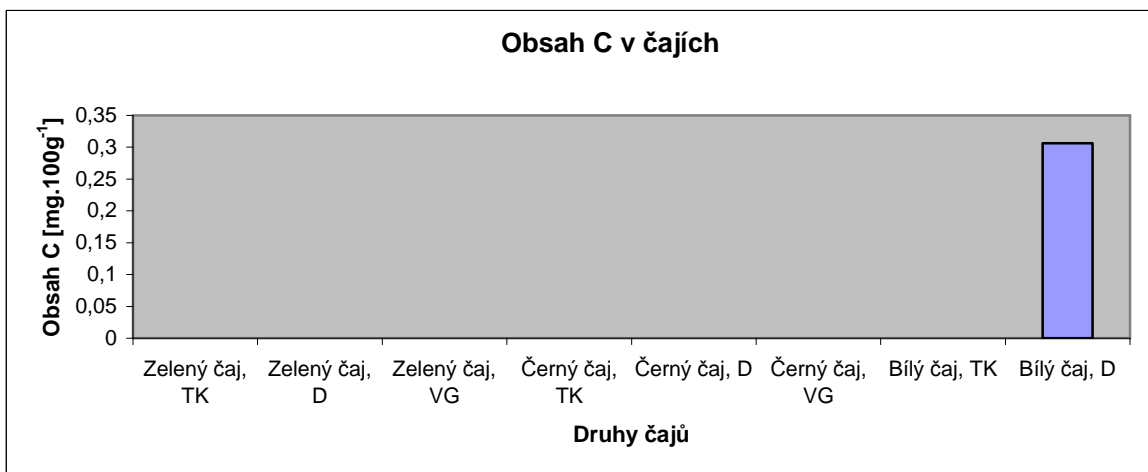
Graf č. 8: Obsah GA v čajích



Graf č. 9: Obsah T v čajích



Graf č.10: Obsah C v čajích

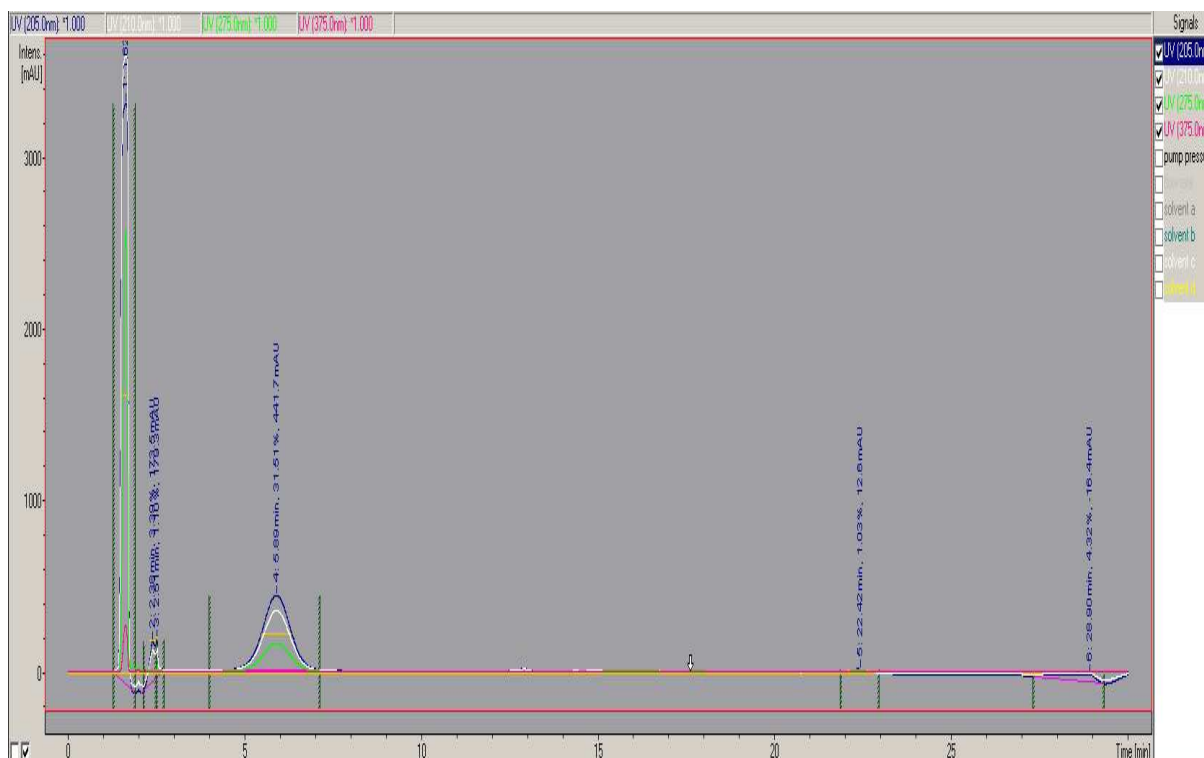


6.4 Stanovení antioxidantů metodou HLPC UV/MS

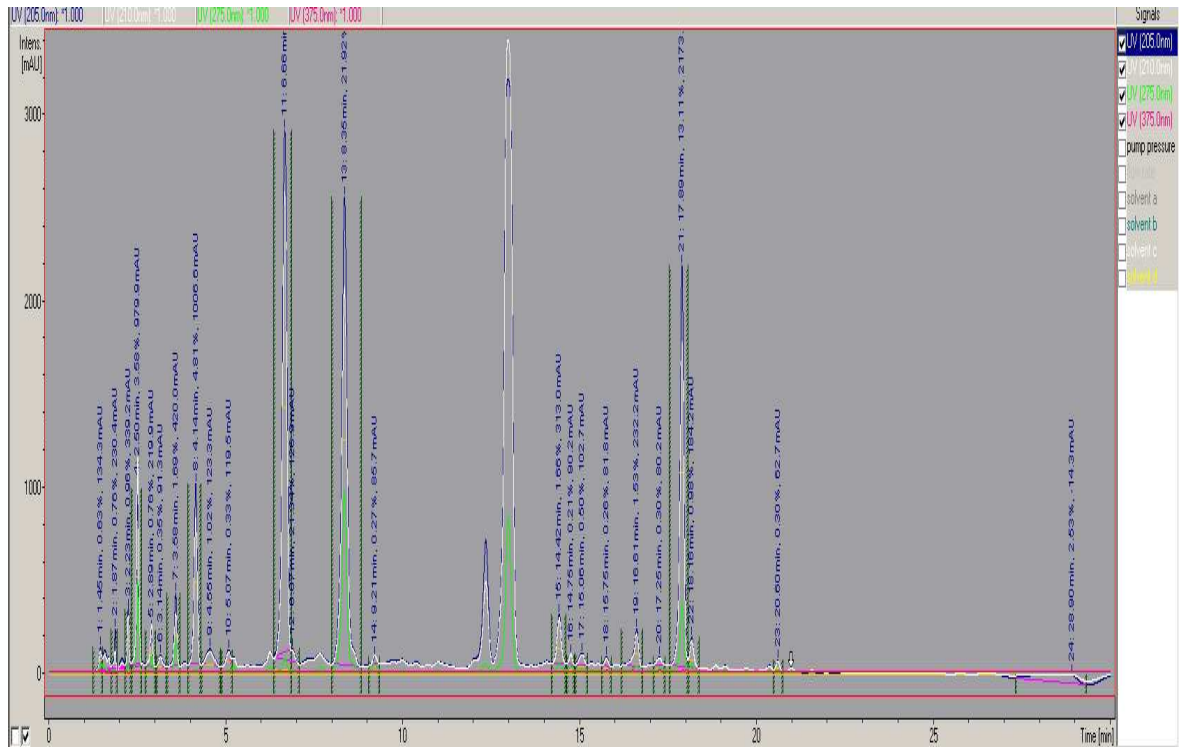
Pro srovnání byla vyzkoušena ke stanovení metoda HPLC UV/MS. Vzorky byly připraveny podle podmínek uvedených v kapitole 5.3.1. Ke stanovení byla použita kolona ASCENTIS C18, 15 x 4,6 mm, 5 μ m, Eluce u této metody probíhala gradientovým způsobem s mobilní fází A ($\text{H}_2\text{O}:\text{C}_2\text{H}_3\text{N}:\text{C}_2\text{HF}_3\text{O}_2$ v poměru 95:49,65:0,35) a mobilní fází B ($\text{H}_2\text{O}:\text{C}_2\text{H}_3\text{N}:\text{C}_2\text{HF}_3\text{O}_2$ v poměru 50:49,75:0,25). Průtok mobilní fáze byl nastaven na 1,0 ml/min, teplota termostatu na 30 °C. Objem dávkovací smyčky byl 10 μ l. Na UV detektoru byly nastaveny tyto vlnové délky: 205 nm, 210 nm, 275 nm a 375 nm.

Průběh gradientové eluce: Eluce startovala s poměrem fází A-B 90:10, fáze B v 10. minutě stoupala na 20%, v 16. minutě na 40%, ve 20. minutě na 50 % a mezi 25. a 27. minutou zpět na 40%. Další nástřik vzorku proběhl po třech minutách, kdy byl poměr fází opět 90:10.

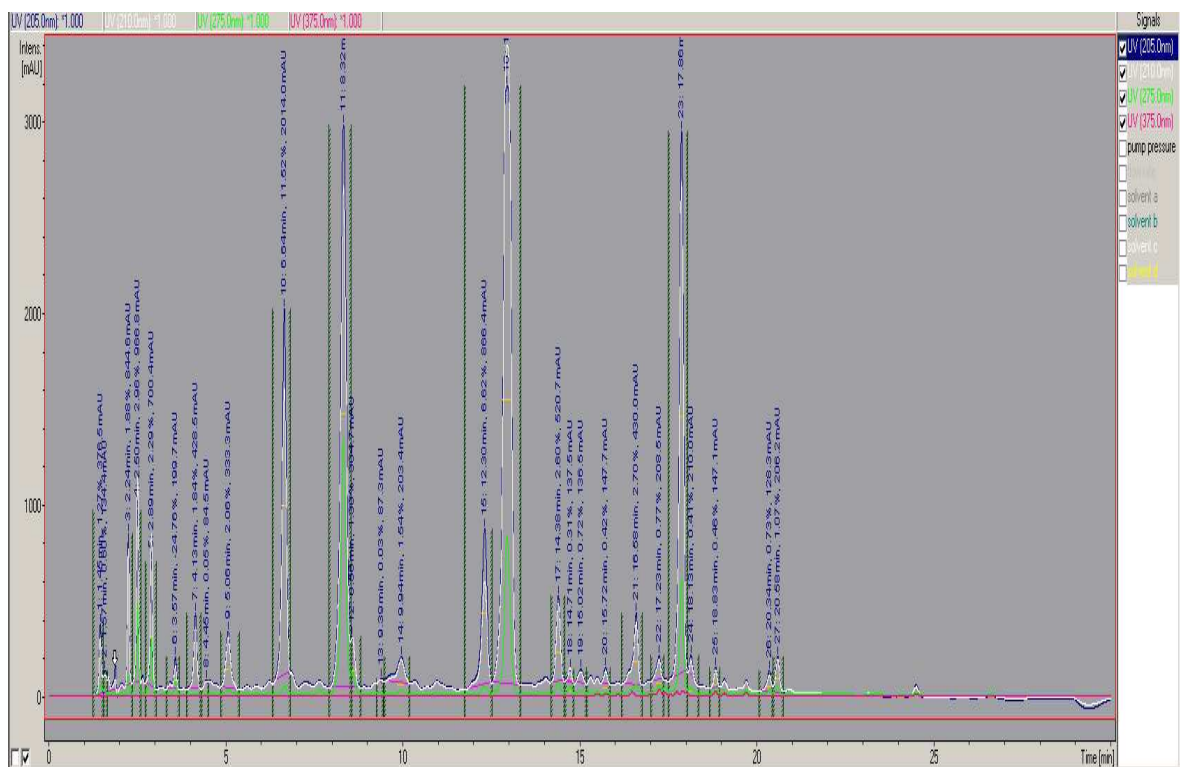
Při použití této metody již nebyly měřeny standardy a sestavovány kalibrační křivky. Jednotlivé píky látek obsažených ve vzorcích byly podle retenčního času porovnány s hodnotami uvedenými v literatuře. Chromatogram sloužící k porovnání retenčních časů standardů je uložen v přílohách, příloha V. [45]



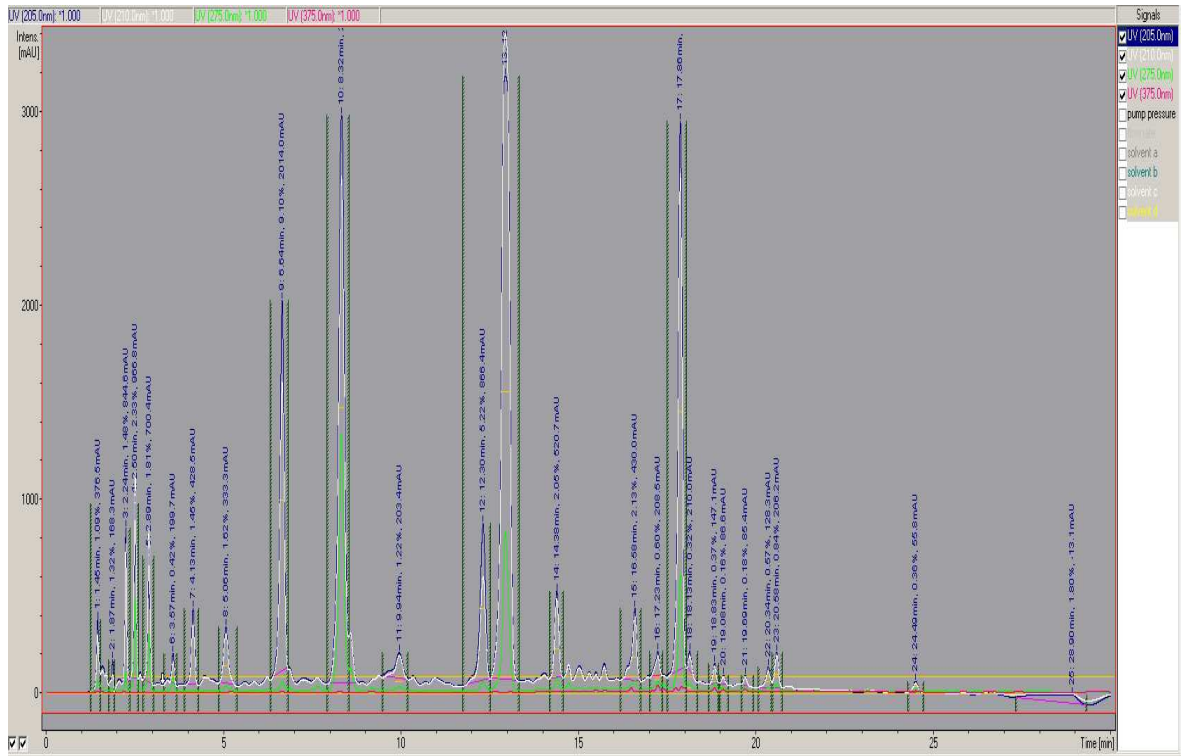
Obrázek č. 26: Chromatogram vzorku zeleného čaje, TEEKANNE



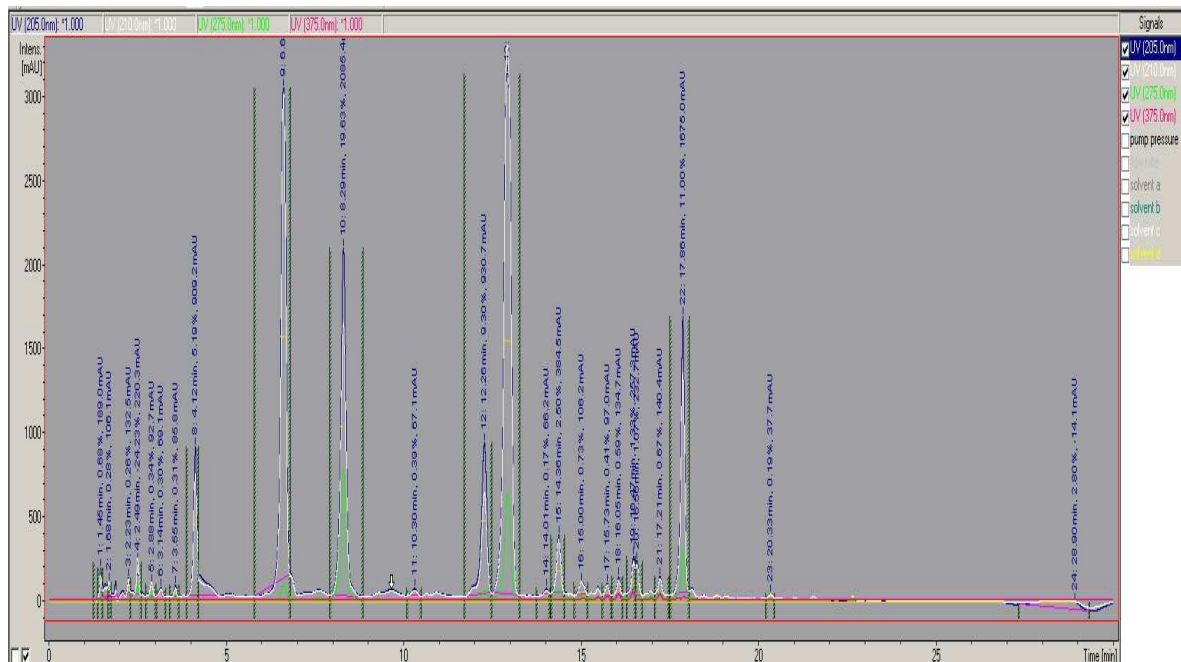
Obrázek č. 29: Chromatogram vzorku zeleného čaje Darjeeling



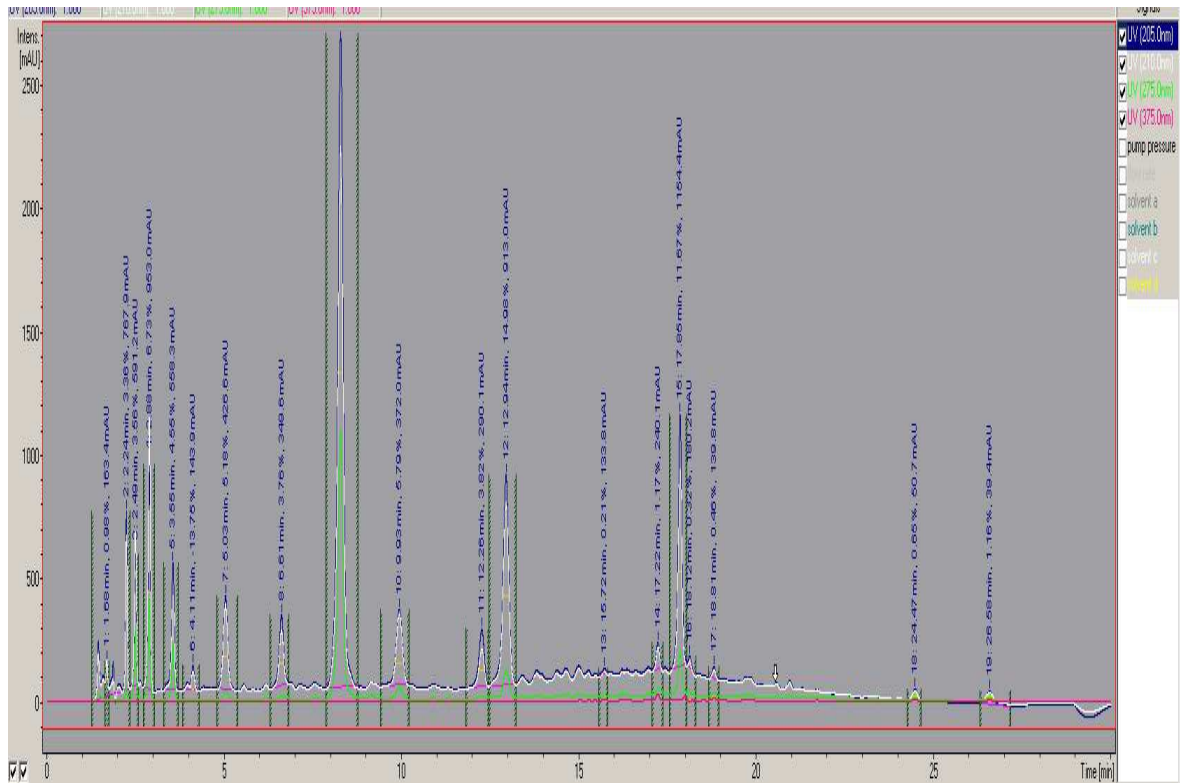
Obrázek č. 30: Chromatogram vzorku černého čaje Darjeeling



Obrázek č. 31: Chromatogram vzorku bílého čaje Darjeeling

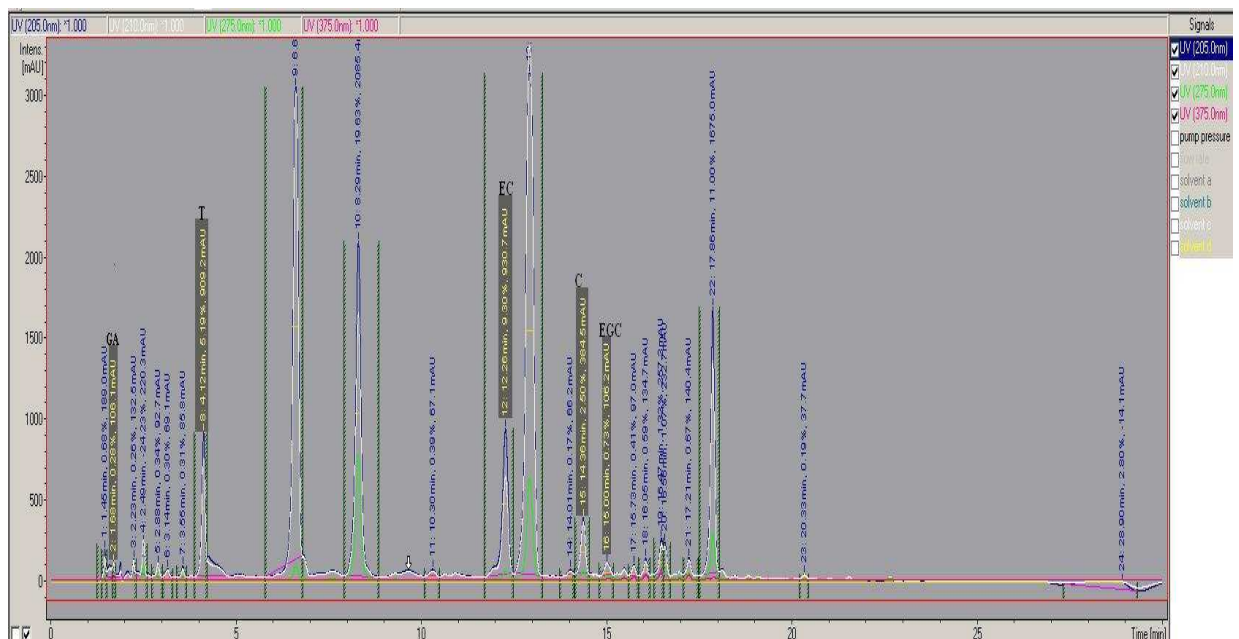


Obrázek č. 32: Chromatogram vzorku zeleného čaje, Valdemar Grešík



Obrázek č. 33: Chromatogram vzorku černého čaje, Valdemar Grešík

6.4.1 Srovnání chromatogramu vzorku zeleného čaje, Valdemar Grešík s výsledky uvedenými v literatuře



Obrázek č.34: Chromatogram vzorku zeleného čaje, Valdemar Grešík s označenými retenčními časy jednotlivých standardů, které byly měřeny.

ZÁVĚR

Cílem této diplomové práce bylo vytvoření vhodné metodiky pro stanovení antioxidantů v čajích a na základě výsledků stanovení nejvýznamnějších látek obsažených v různých typech čajů provést porovnání jejich obsahů. Pro měření byla použita metoda HPLC s elektrochemickou detekcí a následně byla vyzkoušena metoda HPLC – UV/MS.

Před vlastním stanovením C, EC, EGC, GA a theofylinu byla zkoušena různá napětí na elektrochemickém detektoru. Na základě velikosti a tvaru píků bylo pro stanovení antioxidantů zvoleno jako nejvhodnější napětí $E_1 = 700$ mV, $E_2 = 800$ mV a $G = 900$ mV. Jako mobilní fáze byla použita směs $H_2O:C_2H_3N:C_2HF_3O_2$ v poměru 95:49,65:0,35. Průtok mobilní fáze byl 0,7 ml/min, byla použita kolona C 18 Acclaim 120 Å 2,1 x 150 mm, 5 μ m a eluce probíhala izokraticky. S těmito charakteristikami byly naměřeny hodnoty pro sestrojení kalibračních křivek všech standardů.

Vytvořená metodika byla použita pro reálné vzorky zelených, černých a bílých čajů.

Ze zelených čajů nejvíce měřených antioxidantů obsahoval sypaný pravý zelený čaj s vůní a chutí bergamotu, Green Earl Grey, VALDEMAR GREŠÍK, tento čaj obsahoval $5,969 \pm 0,748$ mg.100g⁻¹ EC, $0,598 \pm 0,089$ mg.100g⁻¹ EGC, $0,558 \pm 0,022$ mg.100g⁻¹ GA a $10,853 \pm 1,421$ mg.100g⁻¹ theofylinu. Následoval zelený čaj, Zen Chai, TEEKANNE a sypaný zelený čaj Darjeeling Green Okryti FTGFOPI, OXALIS.

Nejvíce stanovovaných antioxidantů obsahoval sypaný pravý zelený čaj s vůní a chutí bergamotu, Green Earl Grey, VALDEMAR GREŠÍK. Obsah EC v tomto čaji byl $1,412 \pm 0,320$ mg.100g⁻¹, $0,037 \pm 0,006$ mg.100g⁻¹ EGC, $0,984 \pm 0,067$ mg.100g⁻¹ GA a $5,344 \pm 1,187$ mg.100g⁻¹ theofylinu. Po tomto čaji následoval černý čaj s příchutí bergamotové silice, Earl Grey, TEEKANNE a sypaný černý čaj Darjeeling Gopaldhara FTGFOPI FF, OXALIS.

Jedině v sypaném bílém čaji Darjeeling White Tea, OXALIS byl naměřen C. Obsah C byl $0,306 \pm 0,011$ mg.100g⁻¹, obsah EC byl $1,024 \pm 0,114$ mg.100g⁻¹, hodnoty EGC byly $0,399 \pm 0,044$ mg.100g⁻¹, obsah GA byl $0,193 \pm 0,047$ mg.100g⁻¹ a theofylinu $1,698 \pm 0,295$ mg.100g⁻¹.

Při použití metody HPLC UV/MS byly použity dvě mobilní fáze A ($H_2O:C_2H_3N:C_2HF_3O_2$ v poměru 95:49,65:0,35) a B ($H_2O:C_2H_3N:C_2HF_3O_2$ v poměru 50:49,75:0,25). Eluce

probíhala gradientově. Průtok mobilní fáze byl nastaven na 1,0 ml/min, teplota termostatu na 30 °C. Na UV detektoru byly nastaveny tyto vlnové délky: 205 nm, 210 nm, 275 nm a 375 nm. Tato metoda se jeví pro stanovení antioxidantů v čajích vzhledem k její citlivosti a možnosti použití gradientové eluce vhodnější.

Celkově byly hodnoty antioxidantů nejvyšší u zelených čajů, nižší u čajů bílých a nejnižší obsah měly čaje černé, což odpovídá teoretickým představám spojeným s chemismem dějů při jejich výrobě spojené s fermentací.

Tato diplomová práce zahrnuje postup vývoje různých metodik pro stanovení antioxidantů v čajích a na jejím základě bude pokračovat vývoj metodik na stanovení antioxidantů a ostatních biologicky aktivních látek v jiných potravinářských materiálech a surovinách.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] JORDÁN, V., HEMZALOVÁ, M., *Antioxidanty, zázračné zbraně, vitamíny-aminokyseliny-stopové prvky-minerály a jejich využití pro zdravý život*, 1. vyd., Brno: Jota, 2001, 145 s., ISBN 80-7271-156.
- [2] PASSWATER, R. A., *O antioxidantech*; Praha: Pragma, 2002, 94 s., ISBN 80-7205-897-5
- [3] POKORNÝ, J., YANISHLIEVA, N., GORDON, M., *Antioxidants in food-particular applications*, Woodhead Publishing, 2001, 380 s., ISBN 978-1-59124-331-1
- [4] DAVIDEK, J., JANÍČEK, G., POKORNÝ, J. *Chemie potravin*, Praha: SNTL, 1983. 632 s. ISBN 04-815-83
- [5] ŠTÍPEK, S., *Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a v nemoci*, 1. vyd., Praha: Grada publishing s.r.o., 2000, 320 s., ISBN 80-7169-704-4
- [6] PAULOVÁ, H., BOCHOŘÁKOVÁ, H., TÁBORSKÁ, E. *Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek in vivo*, Chemické listy 98, 2004. 174-179 s.
- [7] POSPÍŠIL, J., *Antioxidanty*, 1. vyd.; Praha: Academia, 1968, 274 s., ISBN 509-21-875
- [8] PACKER, L., HIRAMATSU, M., YOSHIKAWA, T., *Antioxidant food supplements in human health*, Hardbound: Academic press, 1999, 511 s., ISBN-13: 978-0-12-543590-1
- [9] ANONYM: *Chemie a analýza potravin*. Dostupný z www:
<http://utb_files.cepac.cz/module/M0028_chemie_a_analyza_potravin>.
- [10] MAROUNEK, M., BŘEZINA, P., ŠIMŮNEK, J. *Fyziologie a hygiena výživy*, 2. vyd. Vyškov, 2003. 148 s. ISBN 80-7231-1006-9
- [11] WACHENDORFOVÁ, V. *Čaj*, Slovart, 2007. 96 s. ISBN 978-80-7209-922-1
- [12] OPPLIGER, P. *Nová kniha o zeleném čaji*, Praha: Pragma, 2000. 80 s. ISBN 80-7205-758-8

- [13] PRATT, N. J., ROSEN, D. *Rádce milovníka čaje*, Praha: Pragma, 1996. 128 s. ISBN 80-7205-672-7
- [14] NARENDER, K. J., SIDDIQI, M., WEISBURGER, J. *Protective effects of Tea on human health*, Valhala, USA, CABI: 2006, 223 s. ISBN-10: 1-84593-112-2
- [15] *Japonský zelený čaj a zdraví*, 1. vyd. Trutnov: T-art, 1999, 27 s. ISBN 80-86301-00-1
- [16] ANONYM: Dostupný z www:
<www.szpi.gov.cz>.
- [17] *Čajový list, výběr z děl věnovaných čaji*, Brno: Santini, 1991, ISBN 80-900952-7-5
- [18] MARTIN, P. *Čaj, čaj, čaj*, 1.vyd. Semily:Glos, 1999. 154 s. ISBN 80-240-1069-0
- [19] YATAHO, D., YUNFEI, W., WUELI, C., *Inhibition of mammalian thioredoxin reductase by black tea and its constituents: Implications for anticancer actions*, Biochemie 91 (2009) 434-444
- [20] MITSCHER, A., L., DOLBY, V., *Kniha o zeleném čaji*, 1.vyd. Praha: Pragma, 2006, 191 s. ISBN 80-7205-153-9
- [21] VALTER, K. *Vše o čaji pro čajomily*, 1.vyd. Praha: Granit s.r.o. 2000, 190 s. ISBN 80-85805-91-X
- [22] DVOŘÁK, P. *Odvary z bylin a jiné nápoje*, 1.vyd. Třebíč: TEMPO, 1999, 111 s.
- [23] BULÁKOVÁ, I., *Léčivé rostliny na naší zahradě*, 1.vyd. Praha: Grada Publishing, 2005, 104 s. ISBN 80-247-1274-1
- [24] JANČA, J., ZENTRICH, J. A., *Herbář léčivých rostlin*, 1.vyd. Praha: Eminent, 1995, 287 s.
- [25] NEBAUER, Š., KLIMEŠ, K., ČERNÁ, L. *Léčivé rostliny II, Sbírané léčivé rostliny*, 1.vyd. Olomouc: Svépomoc, 21986, 190 s.
- [26] HOHNE, A. *Čaje, které léčí a způsobují zázraky*. 1.vyd. Praha: Pragma, 2000, 318 s. ISBN 80-7205-612-3
- [27] NORMANOVÁ, J., EDMONS, G. *Čaje a byliny*. 2.vyd. Slovart, 2004, 39 s. ISBN 80-7209-513-7

- [28] MOTTL, J. *Nápoje, výroba, ošetřování, podávání*. 1.vyd. Praha: Grada Publishing s.r.o. 1996, 112 s. ISBN 80-7169-326-X
- [29] LUECK, W. *Zelený čaj, uzdravující požitek*. 1.vyd. Olomouc: FONTÁNA, 2007, 141 s. ISBN 978-80-7336-413-7
- [30] ROSEN, D. *Rádce milovníka zeleného čaje*. Praha: Pragma , 2000, 139 s. ISBN 80-7205-755-3
- [31] HSIANG-FAN, H., ZERBSTOVÁ, M. *Zelený čaj- Přírodní lék*. Praha: IŽ s.r.o. 2001, 98 s. ISBN 80-240-1953-1
- [32] DOLBY, V. *O zeleném čaji*. Praha: PRAGMA, 2002, 95 s. ISBN 80-7205-892-4
- [33] *Zelený čaj. Pohoda pro tělo i duši*. Malá knihovnička zdraví. 1.vyd. Praha: Svojtka & Co. 2003, ISBN 80-7237-651-9
- [34] KATIYAR, S. K., AFAQ, F., PEREZ, A., MUKHTAR, H. *Green tea polyphenol (-) epigallocatechin-3-gallate treatment of human skin inhibits ultraviolet radiation-induced oxidative stress*. Carcinogenesis, 2001, vol. 22 no. 2, pp. 287-294,
- [35] ST. ONGE, M. P. *Dietary fats, teas, dairy and nuts: potential functional foods for weight control*. The American Journal of Vlinical Nutrition. 2005, 81: 7-15
- [36] ZAVERI, T. N. *Green tea and its polyphenolic catechins: Medicinal uses in cancer and noncancer applications*. Life sciens 78 (2006), 2073-2080
- [37] Mc KAY, L. D., BLUMBERG, J. B. *The role of Tea In Human Health: An Update*. Journal of the American College of Nutrition, 2002, vol. 21. No. 1. 1-13
- [38] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 2*. Tábor: OSSIS, 1999
- [39] KOLEKTIV AUTORŮ, *Instrumentální analýza*, 1. vyd. Praha: SNTL, 1986
- [40] KLOUDA, P., *Moderní analytické metody*. Učebnice základních instrumentálních analytických metod. Nakl. Pavrl Klouda: Ostrava, ISBN 80-902155-0-5
- [41] ANONYM: Dostupný z www:
<<http://www.szpi.gov.cz/>>.

- [42] WILSON, K., WALKER, J., *Principes and techniques of Practice Biochemistry*. 5. edition, Cambridge University Press 2000. ISBN 0-521-65873-X
- [43] ANONYM dostupný z www:
<<http://elchem.kaist.as.kr/vt/chem-ed/sep/lc/hplc.htm> >.
- [44] CHURÁČEK, J. a kol. *Analytická separace látek*. Nakl. Technické literatury: Praha, 1990
- [45] Manuál k detektoru Coulochem III. ESA, MA 01824 – 4171, USA
- [46] ANONYM: Coulochem III. Electrochemical detector. Dostupný z www:
<http://www.esainc.com/products/type/hplc_systems/detectors/coulochem>.
- [47] LEE, B. L., ONG, Ch. N., *Comperative analysis of tea catechins and theaflavins by HPLC and capillary electrophoresis*, Journal of Chromatography A, 881 (200) 439 - 447

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

HPLC	Vysoceúčinná kapalinová chromatografie
ECD	Elektrochemický detektor
EC	Epikatechin
ECG	Epikatechingalát
EGC	Epigalokatechin
EGCG	Epigalokatechingalát
C	Katechin
SOD	Superoxiddismutáza
UV	Ultrafialové záření
NADH	nikotinamiddinukleotid
DNA	Deoxyribonukleová kyseliny
GIT	Gastrointestinální trakt
ACE	Angiotensin converting enzym
HIV	Human immunodeficiency virus(virus lidské imunitní nedostatečnosti)
AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome (syndrom získané imunitní nedostatečnosti)

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek č. 1: Čajovník	26
Obrázek č. 2: Čajová plantáž	26
Obrázek č. 3: Oblasti pěstování čajovníku	27
Obrázek č. 4: Strukturní vzorec EGCG	38
Obrázek č. 5: Detektor ESA Coulochem III	47
Obrázek č. 6: Chromatogram vzorku čaje při vloženém napětí $E_1 = 400$ mV, $E_2 = 650$ mV a $G = 750$ mV	54
Obrázek č. 7: Chromatogram vzorku čaje při vloženém napětí $E_1 = 100$ mV, $E_2 = 300$ mV a $G = 750$ mV	54
Obrázek č. 8: Chromatogram vzorku čaje při vloženém napětí $E_1 = 50$ mV, $E_2 = 250$ mV a $G = 750$ mV	55
Obrázek č.9: Chromatogram vzorku čaje při vloženém napětí $E_1 = 250$ mV, $E_2 = 500$ mV a $G = 750$ mV	55
Obrázek č.10: Chromatogram vzorku čaje při vloženém napětí $E_1 = 700$ mV, $E_2 = 800$ mV a $G = 900$ mV	55
Obrázek č.11: Chromatogram standardu EGC při vloženém napětí $E_1 = 300$ mV, $E_2 = 400$ mV a $G = 650$ mV	56
Obrázek č.12: : Chromatogram standardu EGC při vloženém napětí $E_1 = 400$ mV, $E_2 = 500$ mV a $G = 650$ mV	56
Obrázek č.13: Chromatogram standardu ECG při vloženém napětí $E_1 = 700$ mV, $E_2 = 800$ mV a $G = 900$ mV	56
Obrázek č.14: Chromatogram standardu C při vloženém napětí $E_1 = 300$ mV, $E_2 = 400$ mV a $G = 650$ m	57
Obrázek č.15: Chromatogram standardu C při vloženém napětí $E_1 = 400$ mV, $E_2 = 500$ mV a $G = 650$ mV	57
Obrázek č.16: Chromatogram standardu C při vloženém napětí $E_1 = 700$ mV, $E_2 = 800$ mV a $G = 900$ mV	57
Obrázek č.17: Chromatogram standardu EC při vloženém napětí $E_1 = 300$ mV, $E_2 = 400$ mV a $G = 650$ m	58
Obrázek č.18: Chromatogram standardu EC při vloženém napětí $E_1 = 400$ mV, $E_2 = 500$ mV a $G = 650$ mV	58

Obrázek č.19: Chromatogram standardu EC při vloženém napětí $E_1 = 700$ mV, $E_2 = 800$ mV a $G = 900$ mV	58
Obrázek č.20: Chromatogram standardu theofylinu při vloženém napětí $E_1 = 400$ mV, $E_2 = 500$ mV a $G = 650$ m	59
Obrázek č.21: Chromatogram standardu theofylinu při vloženém napětí $E_1 = 700$ mV, $E_2 = 800$ mV a $G = 900$ m.....	59
Obrázek č. 22: Chromatogramy pro sestavení kalibrační křivky C	60
Obrázek č. 23: Chromatogramy pro sestavení kalibrační křivky EGC	61
Obrázek č. 24: Chromatogramy pro sestavení kalibrační křivky GA	62
Obrázek č. 25: Chromatogram pro sestavení kalibrační křivky theofylinu.....	64
Obrázek č. 26: Chromatogram vzorku zeleného čaje, TEEKANNE.....	80
Obrázek č. 27: Chromatogram vzorku černého čaje, TEEKANNE	81
Obrázek č. 28: Chromatogram vzorku bílého čaje, TEEKANNE	81
Obrázek č. 29: Chromatogram vzorku zeleného čaje Darjeeling	82
Obrázek č. 30: Chromatogram vzorku černého čaje Darjeeling.....	82
Obrázek č. 31: Chromatogram vzorku bílého čaje Darjeeling.....	83
Obrázek č. 32: Chromatogram vzorku zeleného čaje, Valdemar Grešík.....	83
Obrázek č. 33: Chromatogram vzorku černého čaje, Valdemar Grešík	84
Obrázek č.34: Chromatogram vzorku zeleného čaje, Valdemar Grešík s označenými retenčními časy jednotlivých standardů, které byly měřeny.	84
Obrázek č. 35: Green earl grey, zelený čaj, Valdemar Grešík	98
Obrázek č. 36: Black earl grey, černý čaj, Valdemar Grešík	98
Obrázek č. 37: Zelený čaj, Darjeeling Green Okayti, OXALIS.....	99
Obrázek č. 38: Černý čaj, Darjeeling Gopaldhara, OXALIS	99
Obrázek č. 39: Bílý čaj, Darjeeling white tea	100
Obrázek č. 40: Zelený čaj, TEEKANNE	100
Obrázek č. 41: Bílý čaj, TEEKANNE	101
Obrázek č. 42: Černý čaj, TEEKANNE	101
Obrázek č. 43: Chromatogram standardů	102

SEZNAM TABULEK

Tabulka č. 1: Reaktivní formy kyslíku.....	22
Tabulka č. 2: Reaktivní formy dusíku.....	23
Tabulka č. 3: Naměřené hodnoty pro sestrojení kalibrační křivky standardu C	60
Tabulka č. 4: Naměřené hodnoty pro sestrojení kalibrační křivky standardu EGC.....	61
Tabulka č. 5: Naměřené hodnoty pro sestrojení kalibrační křivky standardu GA.....	62
Tabulka č. 6: Naměřené hodnoty pro sestrojení kalibrační křivky standardu EC.....	63
Tabulka č. 7: Naměřené hodnoty pro sestrojení kalibrační křivky standardu theofylinu	64
Tabulka č. 8: Obsah EC v zeleném čaji, TEEKANNE.....	65
Tabulka č. 9: Obsah EGC v zeleném čaji, TEEKANNE.....	66
Tabulka č. 10: Obsah GA v zeleném čaji, TEEKANNE	66
Tabulka č. 11: Obsah theofylinu v zeleném čaji, TEEKANNE.....	66
Tabulka č. 12: Obsah EGC v černém čaji, TEEKANNE.....	67
Tabulka č. 13: Obsah GA v černém čaji, TEEKANNE.....	67
Tabulka č. 14: Obsah EC v černém čaji, TEEKANNE	68
Tabulka č. 15: Obsah theofylinu v černém čaji, TEEKANNE	68
Tabulka č. 16: Obsah EGC v bílém čaji, TEEKANNE	68
Tabulka č. 17: Obsah GA v bílém čaji, TEEKANNE	69
Tabulka č. 18: Obsah EC v bílém čaji, TEEKANNE.....	69
Tabulka č. 19: Obsah theofylinu v bílém čaji, TEEKANNE.....	69
Tabulka č. 20: Obsah EGC v zeleném čaji Darjeeling	70
Tabulka č. 21: Obsah GA v zeleném čaji Darjeeling.....	70
Tabulka č. 22: Obsah EC v zeleném čaji Darjeeling	71
Tabulka č. 23: Obsah theofylinu v zeleném čaji Darjeeling	71
Tabulka č. 24: Obsah EGC v černém čaji Darjeeling	71
Tabulka č. 25: Obsah GA v černém čaji Darjeeling	72
Tabulka č. 26: Obsah EC v černém čaji Darjeeling.....	72
Tabulka č. 27: Obsah theofylinu v černém čaji Darjeeling.....	72
Tabulka č. 28: Obsah C v bílém čaji Darjeeling	73
Tabulka č. 29: Obsah EGC v bílém čaji Darjeeling.....	73
Tabulka č. 30: Obsah GA v bílém čaji Darjeeling.....	74
Tabulka č. 31: Obsah EC v bílém čaji Darjeeling	74

Tabulka č. 32: Obsah theofylinu v bílém čaji Darjeeling	74
Tabulka č. 33: Obsah EGC v zeleném čaji, Valdemar Grešík.....	75
Tabulka č. 34: Obsah GA v zeleném čaji, Valdemar Grešík.....	75
Tabulka č. 35: Obsah EC v zeleném čaji, Valdemar Grešík.....	75
Tabulka č. 36: Obsah theofylinu v zeleném čaji, Valdemar Grešík.....	76
Tabulka č. 37: Obsah EGC v černém čaji, Valdemar Grešík	76
Tabulka č. 38: Obsah GA v černém čaji, Valdemar Grešík.....	77
Tabulka č. 39: Obsah EC v černém čaji, Valdemar Grešík	77
Tabulka č. 40: Obsah theofylinu v černém čaji, Valdemar Grešík	77

SEZNAM GRAFŮ

Graf č.1: Kalibrační křivka s rovnicí regrese pro stanovení C metodou HPLC	60
Graf č. 2: Kalibrační křivka s rovnicí regrese pro stanovení EGC metodou HPLC	61
Graf č. 3: Kalibrační křivka s rovnicí regrese pro stanovení GA metodou HPLC	62
Graf č. 4: Kalibrační křivka s rovnicí regrese pro stanovení EC metodou HPLC	63
Graf č. 5: Kalibrační křivka s rovnicí regrese pro stanovení theofylinu metodou HPLC...	64
Graf č. 6: Obsah EC v čajích	78
Graf č. 7: Obsah EGC v čajích.....	78
Graf č. 8: Obsah GA v čajích.....	79
Graf č. 9: Obsah T v čajích	79
Graf č.10: Obsah C v čajích.....	79

SEZNAM PŘÍLOH

PŘÍLOHA P I: FOTOGRAFIE ANALYZOVANÝCH VZORKŮ

PŘÍLOHA P II: FOTOGRAFIE ANALYZOVANÝCH VZORKŮ

PŘÍLOHA P III: FOTOGRAFIE ANALYZOVANÝCH VZORKŮ

PŘÍLOHA P IV: FOTOGRAFIE ANALYZOVANÝCH VZORKŮ

PŘÍLOHA V: FOTOGRAFIE CHROMATOGRAMU STANDARDŮ

PŘÍLOHA PI: FOTOGRAFIE ANALYZOVANÝCH VZORKŮ



Obrázek č. 35: Green earl grey, zelený čaj, Valdemar Grešík



Obrázek č. 36: Black earl grey, černý čaj, Valdemar Grošík

PŘÍLOHA P II: FOTOGRAFIE ANALYZOVANÝCH VZORKŮ



Obrázek č. 37: Zelený čaj, Darjeeling Green Okayti, OXALIS



Obrázek č. 38: Černý čaj, Darjeeling Gopaldhara, OXALIS

PŘÍLOHA P III: FOTOGRAFIE ANALYZOVANÝCH VZORKŮ



Obrázek č. 39: Bílý čaj, Darjeeling white tea



Obrázek č. 40: Zelený čaj, TEEKANNE

PŘÍLOHA P IV: FOTOGRAFIE ANALYZOVANÝCH VZORKŮ



Obrázek č. 41: Bílý čaj, TEEKANNE

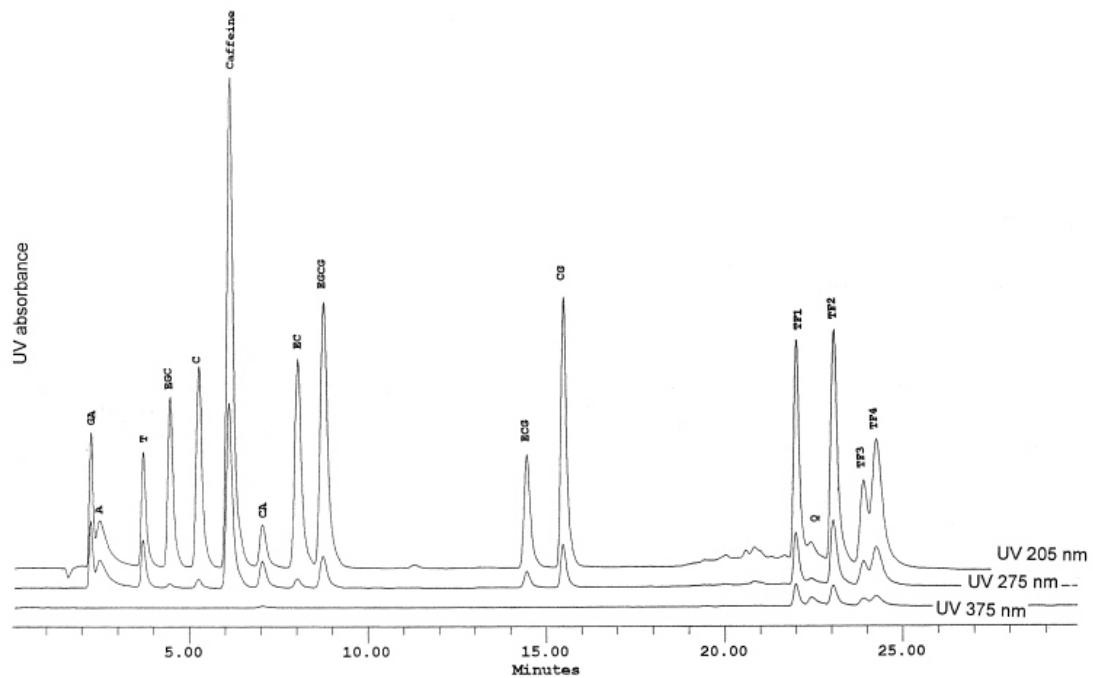


Obrázek č. 42: Černý čaj, TEEKANNE

PŘÍLOHA P V: CHROMATOGRAM STANDARDŮ

442

B.-L. Lee, C.-N. Ong / J. Chromatogr. A 881 (2000) 439–447



Obrázek č. 43: Chromatogram standardů [5]