

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

Vliv relativní vzdušné vlhkosti na sorpční vlastnosti vzorků Matcha čaje

Diplomová práce

2022

Bc. Vojtěch Zeman

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2021/2022

# ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Vojtěch Zeman**  
Osobní číslo: **C20513**  
Studijní program: **N0531A130030 Hodnocení a analýza potravin**  
Téma práce: **Vliv relativní vzdušné vlhkosti na sorpční vlastnosti vzorků Matcha čaje**  
Zadávající katedra: **Katedra analytické chemie**

## Zásady pro vypracování

1. S využitím databází vědeckých periodik a odborných knih vypracovat přehled o původu Matcha čaje, jeho zpracování, obsahu významných nutričních látek a zhodnotit jeho vliv na zdraví člověka. Zpracovat základní poznatky o sorpci vlhkosti u potravin, mechanismu, matematickému popisu závislosti a metodách měření. Popsat známé souvislosti mezi sorpční izotermou a skelným přechodem (glass transition).
2. Charakterizujte vybrané vzorky pomocí fyzikálních a chemických metod. Experimentálně stanovte sorpční izotermy vzorků Matcha čaje na přístroji DVS Intrinsic při teplotě 25 °C.
3. Výsledky zpracovat s využitím metody nelineární regrese, kriticky zhodnotit získané výsledky s dostupnými daty.

Rozsah pracovní zprávy:  
Rozsah grafických prací:  
Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:  
Podle pokynů vedoucího práce.

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Libor Červenka, Ph.D.**  
Katedra analytické chemie  
Konzultant diplomové práce: **MSc. Sali Muriqi**  
Katedra analytické chemie  
Datum zadání diplomové práce: **7. února 2022**  
Termín odevzdání diplomové práce: **6. května 2022**

L.S.

---

**prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.**  
děkan

---

**prof. Ing. Karel Ventura, CSc.**  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 21. února 2022

Prohlašuji:

Práci s názvem Vliv relativní vzdušné vlhkosti na sorpční vlastnosti vzorků Matcha čaje jsem vypracoval samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byl jsem seznámen s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 1. 5. 2022

Bc. Vojtěch Zeman v. r.

## **PODĚKOVÁNÍ**

Rád bych poděkoval vedoucímu mé diplomové práce panu doc. Ing. Liboru Červenkovi, Ph.D. za vynaložený čas, trpělivost a cenné rady při zpracování této práce. Dále bych chtěl poděkovat panu Ing. Jiřímu Palarčíkovi, Ph.D. za pomoc při vypracování experimentu. Poděkování patří také mé rodině a přátelům za podporu v celém průběhu studia.

## **ANOTACE**

Tato diplomová práce se zabývá vlivem relativní vlhkosti na sorpční vlastnosti čaje Matcha. V teoretické části je popsán způsob technologického zpracování Matcha čaje, jeho chemické složení, které má pozitivní účinky na zdraví a některé parametry určující kvalitu potravin. V experimentální části byly u vzorků Matcha čajů stanoveny sorpční izotermy na přístroji DVS Intrinsic Plus. Pomocí modelu GAB byl pro vzorky Matcha čajů zjištěn obsah vody v monovrstvě v rozsahu 36,39–47,17 mg/g, s využitím modelu MultiFreundlich pak byla vypočtena kritická aktivita vody při adsorpci (0,55–0,68). Pomocí modelu Caurie byla analyzována změna plochy sorpce mezi adsorpcí a desorpcí. U všech vzorků Matcha čajů byl zjištěn nárůst plochy sorpce o 44,53–69,45 %. U vybraných vzorků Matcha čajů byl také nalezen obsah vlhkosti, při kterém nastane skelný přechod (26,73–28,68 %). Byla sledována změna velikosti hystereze pro vybrané vzorky skladované o různé relativní vlhkosti a také během opakujících se adsorpčně-desorpčních cyklů. Byl potvrzen předpoklad, že s rostoucí vlhkostí skladování dochází ke zmenšování hystereze. Zmenšení hystereze na minimum bylo pozorováno již u 2. opakujícího se adsorpčně-desorpčního cyklu. Zvyšující se relativní vlhkost skladování bude mít také za následek zvětšování velikosti částic prášků Matcha čajů. U Matcha prášků a extraktů byla také měřena barevnost v systému CIE  $L^*a^*b^*$ . U vodných Matcha čajových extraktů byl zjištěn celkový obsah fenolických látek, celkový obsah flavonoidů, antioxidační aktivita s využitím DPPH radikálu a antioxidační aktivita metodou FRAP.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Matcha čaj, sorpční izoterma, hystereze, barevnost, antioxidant

## **TITLE**

The effect of relative humidity on moisture sorption properties of Matcha tea samples

## **ANNOTATION**

This diploma thesis deals with the influence of different relative humidity on the sorption properties of Matcha tea. The theoretical part describes the method of technological processing of Matcha tea, its chemical composition, which has positive effects on health and some parameters determining the quality of food. In the experimental part, Matcha tea samples were subjected to sorption analysis using DVS Intrinsic Plus device. Sorption parameters were obtained using the GAB model, where the monolayer moisture content was determined for Matcha tea samples in range from 36.39 to 47.17 mg/g. The critical water activity during adsorption (0.55–0.68) has been evaluated using MultiFreundlich sorption model. The change in sorption area between adsorption and desorption was analyzed using the Caurie model. All samples of Matcha teas showed an increase in sorption area of 44.53–69.45 %. Moisture content, at which a glass transition occurs, was determined using moisture sorption technique (26.73–28.68 %). The change of hysteresis was monitored for selected samples stored at different relative humidity and also during repeated adsorption-desorption cycles. The assumption that the hysteresis decreases with the increase of relative humidity during storage was confirmed. The reduction of hysteresis to a minimum was already observed in the 2<sup>nd</sup> repetitive adsorption-desorption cycle. Increasing the relative humidity during storage resulted in the increase of particle size of Matcha tea powders. The colour of both Matcha powders and infusions was measured in CIE  $L^*a^*b^*$ . The total content of phenolic substances, the total content of flavonoids, antioxidant activity using DPPH radical, and antioxidant activity using the FRAP method were examined in aqueous Matcha tea extracts.

## **KEYWORDS**

Matcha tea, sorption isotherm, hysteresis, colour, antioxidant

# OBSAH

SEZNAM OBRÁZKŮ .....	11
SEZNAM TABULEK .....	13
SEZNAM ZKRATEK .....	14
ÚVOD .....	15
1 TEORETICKÁ ČÁST .....	16
1.1 Čaj .....	16
1.1.1 Čajovník čínský .....	16
1.1.2 Technologie výroby čaje .....	17
1.1.3 Druhy čaje .....	18
1.1.3.1 Černý čaj .....	19
1.1.3.2 Čaj Oolong .....	19
1.1.3.3 Pu-erh .....	19
1.1.3.4 Zelený čaj .....	20
1.2 MATCHA ČAJ .....	20
1.2.1 Charakteristika Matcha čaje .....	20
1.2.2 Technologie výroby Matcha čaje .....	21
1.2.3 Chemické složení .....	21
1.2.3.1 Katechiny .....	22
1.2.3.2 Kofein .....	23
1.2.3.3 Chlorofyl .....	23
1.2.3.4 Theanin .....	24
1.2.3.5 Fenolové kyseliny .....	25
1.2.3.6 Rutin .....	26
1.3 ANTIOXIDANTY .....	26
1.3.1 Oxidační stres .....	26
1.3.2 Metody měření antioxidační aktivity .....	27
1.3.2.1 Metoda DPPH .....	27
1.3.2.2 Metoda FRAP .....	28
1.3.2.3 Metoda TEAC .....	28

1.3.2.4 Metoda ORAC .....	28
1.3.2.5 Metoda CUPRAC .....	28
1.3.2.6 Folin-Chiocalteaův test .....	29
1.3.2.7 Stanovení obsahu flavonoidů .....	29
1.4 Ukazatele kvality potravin .....	30
1.4.1 Obsah vody .....	30
1.4.1.1 Vážkové stanovení sušiny .....	30
1.4.1.2 Metoda podle Karl Fischera .....	31
1.4.2. Aktivita vody .....	31
1.4.3. Sorpční vlastnosti .....	32
1.4.3.1 Hystereze .....	32
1.4.3.2 Skelný přechod .....	33
1.4.3.3 Spékání .....	34
1.4.3.4 Sorpční modely .....	34
1.4.4 Barevnost .....	37
1.4.4.1 Vnímání barev .....	37
1.4.4.2 Hodnocení barevnosti .....	37
1.4.4.3 Barevné prostory .....	38
1.4.5 Distribuce částic .....	38
1.4.6 Smáčivost .....	40
2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	41
2.1 Přístroje .....	41
2.2 Chemikálie .....	41
2.3 Vzorky .....	42
2.4 Příprava vzorků .....	44
2.4.1 Skladování vzorků Matcha čajů .....	44
2.4.2 Příprava čajových extraktů .....	44
2.5 Postupy analýz .....	45
2.5.1 Měření aktivity vody .....	45
2.5.2 Stanovení obsahu sušiny .....	45
2.5.3 Měření barevnosti .....	45

2.5.4 Měření distribuce částic.....	46
2.5.5 Analýza sorpčních vlastností.....	46
2.5.5.1 Analýza experimentálních dat pomocí vybraných sorpčních modelů .....	46
2.5.5.2 Stanovení skelného přechodu metodou RAMP .....	48
2.5.5.3 Sorpční analýza vzorků skladovaných o různé relativní vlhkosti.....	48
2.5.5.4 Sorpční analýza vybraných vzorků pomocí opakujících se adsorpčně-desorpčních cyklů .....	48
2.5.6 Spektrofotometrická analýza .....	49
2.5.6.1 Stanovení celkového obsahu fenolických látek .....	49
2.5.6.2 Stanovení celkového obsahu flavonoidů .....	50
2.5.6.3 Stanovení antioxidační aktivity s využitím DPPH radikálu .....	50
2.5.6.4 Stanovení antioxidační aktivity metodou FRAP .....	51
2.6 Statistické metody .....	51
3 VÝSELDKY A DISKUZE.....	52
3.1 Charakterizace vzorků Matcha čajů .....	52
3.1.1 Měření aktivity vody .....	52
3.1.2 Stanovení obsahu sušiny .....	53
3.1.3 Měření barevnosti.....	53
3.1.4 Měření distribuce částic vybraných vzorků Matcha čajů.....	55
3.2 Analýza sorpčních vlastností vzorků Matcha čajů.....	58
3.2.1 Sorpční analýza základních izoterem .....	58
3.2.2 Stanovení skelného přechodu metodou RAMP.....	64
3.2.3 Sorpční izotermy vzorků skladovaných v podmínkách s různou relativní vlhkostí .....	67
3.2.4 Sorpční analýza vybraných vzorků pomocí opakujících se adsorpčně-desorpčních cyklů .....	70
3.3 Spektrofotometrické analýza vzorků Matcha čajů.....	71
4 ZÁVĚR .....	73
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....	75
SEZNAM PŘÍLOH.....	89

## SEZNAM OBRÁZKŮ

<b>Obrázek 1:</b> Schéma technologického postupu čaje černého, zelného, Oolong a Pu-erh .....	18
<b>Obrázek 2:</b> Čajové katechiny [36].....	22
<b>Obrázek 3:</b> Chemická struktura kofeinu [40].....	23
<b>Obrázek 4:</b> Chemická struktura chlorofylu [43] .....	24
<b>Obrázek 5:</b> Chemická struktura L-theaninu [47].....	25
<b>Obrázek 6:</b> Chemická struktura rutinu [51].....	26
<b>Obrázek 7:</b> Typy sorpčních izoterem [70].....	32
<b>Obrázek 8:</b> Barevné prostory $L^* a^* b^*$ (A) a $L^* C^* H^\circ$ (B) [85].....	38
<b>Obrázek 9:</b> Příklad grafu distribuce velikosti částic [91] .....	39
<b>Obrázek 10:</b> Vzorek Allnature .....	43
<b>Obrázek 11:</b> Vzorek Imbio .....	43
<b>Obrázek 12:</b> Vzorek Iswari .....	43
<b>Obrázek 13:</b> Vzorek Natu.....	43
<b>Obrázek 14:</b> Vzorek Organis.....	43
<b>Obrázek 15:</b> Relativní zastoupení částic vzorků Natu, Imbio a Iswari .....	56
<b>Obrázek 16:</b> Relativní zastoupení částic vzorku Natu skladovaného při různých relativních vlhkostech (RH).....	57
<b>Obrázek 17:</b> Relativní zastoupení částic vzorku Imbio, skladovaného při různých relativních vlhkostech (RH).....	57
<b>Obrázek 18:</b> Relativní zastoupení částic vzorku Iswari, skladovaného při různých relativních vlhkostech (RH).....	58
<b>Obrázek 19:</b> Adsorpční (modře) a desorpční (červeně) izotermy vzorků Matcha čajů A) Allnature, B) Imbio, C) Iswari, D) Natu, E) Organis .....	59
<b>Obrázek 20:</b> Obsah vlhkosti v monovrstvě (červeně) a vícevrstvách (modře) pro vzorek Natu během A) adsorpčního a B) desorpčního procesu .....	62
<b>Obrázek 21:</b> Závislost $\ln 1M$ na $\ln 1 - awaw$ pro výpočet parametrů modelu Caurie při adsorpci pro vzorek Natu .....	64
<b>Obrázek 22:</b> Závislost $dm/dRH$ na relativní vlhkost [%] pro vzorek Natu a nalezený nejnižší bod křivky .....	65
<b>Obrázek 23:</b> Závislost obsahu vlhkosti vzorku Natu na $dRH/dt$ .....	66
<b>Obrázek 24:</b> Sorpční chování vzorku Natu, skladovaného při relativních vlhkostech A) 32,5 % RH; B) 52,9 % RH; C) 75,3 % RH.....	67

<b>Obrázek 25:</b> Fotografie vzorku Natu skladovaného v prostředí relativních vlhkostí A) 32,5 % RH; B) 52,9 % RH; C) 75,3 % RH.....	68
<b>Obrázek 26:</b> Vzhled částic vzorku Natu skladovaného při relativních vlhkostech A) 32,5 % RH; B) 52,9 % RH; C) 75,3 % RH.....	69
<b>Obrázek 27:</b> Sorpční chování vzorku Natu během 3 opakujících se adsorpčně (modře)-desorpčních (červeně) cyklů A) 1. cyklus; B) 2. cyklus; C) 3. cyklus. ....	70

## SEZNAM TABULEK

<b>Tabulka 1:</b> Naměřené hodnoty aktivity vody ( $a_w$ ) vzorků Matcha čajů.....	52
<b>Tabulka 2:</b> Naměřené hodnoty obsahu sušiny (%) ve vzorcích Matcha čajů .....	53
<b>Tabulka 3:</b> Naměřené parametry barevnosti $L^* a^* b^* C^* h^\circ$ Matcha čajů (prášek) v módu RSIN .....	54
<b>Tabulka 4:</b> Naměřené parametry barevnosti $L^* a^* b^* C^* h^\circ$ Matcha čajů (prášek) v módu RSEX .....	54
<b>Tabulka 5:</b> Naměřené parametry barevnosti $L^* a^* b^* C^* h^\circ$ Matcha čajů (nálev).....	54
<b>Tabulka 6:</b> Odhady parametrů modelů GAB, MultiFreundlich a Caurie popisující izotermy vzorků Matcha čajů.....	61
<b>Tabulka 7:</b> Obsah vlhkosti (%), při kterém dojde ke skelnému přechodu u vzorků Matcha čajů.....	66
<b>Tabulka 8:</b> Naměřené hodnoty spektrofotometrické analýzy vzorků Matcha čajů.....	71

## SEZNAM ZKRATEK

AAPH	2,2-azobis-2-amidopropandihydrochloridem
$a_w$	aktivita vody
$a_{wc}$	kritická aktivita vody
BET	model Brunauera, Emmeta a Feller
CTC	crush-tear-curl
CUPRAC	cupric reduction antioxidant capacity
DPPH	2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl
DSC	diferenční skenovací kalorimetrie
EC	epikatechin
ECG	epikatechin 3-O-galát
EGC	epigalokatechin
EGCG	epigalokatechin 3-O-galát
FRAP	ferric reducing antioxidant power
GAB	model Guggenheim-Anderson-deBoer
GABA	kyselina gama-aminomáselná
HAT	přenos vodíkového atomu
KFT	titrace podle Karl-Fischera
NMR	nukleární magnetická rezonance
ORAC	schopnost eliminovat kyslíkové radikály (oxygen radical absorbance capacity)
ROS	reaktivní forma kyslíku
RSEX	bez přímé složky odraženého světla (reflectance specular excluded)
RSIN	s přímou složkou odraženého světla (reflectance specular included)
SET	přenos elektronu
TEAC	antioxidační aktivita vyjádřená v ekvivalentu troloxu (trolox equivalent antioxidant capacity)
TFC	celkový obsah flavonoidů (total flavonoid content)
$T_g$	teplota skelného přechodu
TPC	celkový obsah fenolických látek (total phenolic content)
TPTZ	2,4,6,-tris(2-pyridyl-1,3,5-triazin)
TROLOX	6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová kyselina

## ÚVOD

Matcha čaj je v současnosti velice oblíbeným nápojem. Jedná se o druh zeleného čaje, který je populární nejen díky své nezaměnitelné chuti a vůni, ale také díky pozitivním zdravotním účinkům na lidský organismus. Oproti klasickým druhům zeleného čaje jsou čajovníky na výrobu Matchy částečně pěstovány ve stínu. To má za následek zvýšenou koncentraci některých chemických sloučenin, zejména antioxidantů. Výsledkem technologického zpracování je zelený prášek, který se používá nejen na přípravu klasického čaje, ale také jako přísada do jídel, nápojů a dalších pochutin. Fyzikálně-chemické vlastnosti Matcha prášku tedy mají zásadní vliv na kvalitu výsledného produktu. Znalost sorpce vlhkosti potravin je klíčová pro výběr vhodných skladovacích podmínek. Sorpční vlastnosti ovlivňuje nejen chemické složení produktu, ale také velikost částic. Velice důležitým sorpčním parametrem je také skelný přechod. To je stav, při kterém dochází k přechodu ze skelného stavu do stavu gumového. Přitom dochází ke změně fyzikálních vlastností prášku, které vedou k menší údržnosti potraviny.

Cílem práce je charakterizovat vybrané vzorky Matcha čaje na základě spektrofotometrické analýzy obsahu antioxidantů, barevnosti a velikosti částic. Dále byly experimentálně stanoveny sorpční izotermy a skelný přechod při 25 °C.

# 1 TEORETICKÁ ČÁST

## 1.1 Čaj

Čaj jako takový, je vedle vody druhým nejoblíbenějším nápojem vůbec. Je to nápoj, který konzumuje více než dvě třetiny celosvětové populace [1].

Původem pochází čaj z Číny, kde byl poprvé použit jako lék i nápoj v roce 2737 př.n.l. [2]. Ovšem některé archeologické studie naznačují, že čajový nápoj byl konzumován již v období raného paleolitu. Čaj je tedy také považován za nejstarší nápoj. Již od starověku navíc začal být brán ohled i jeho kulturní a také ekonomický význam. Kromě toho začalo být pití čaje považováno, vzhledem k jeho zdravotním přínosům, za zdraví podporující návyk [3].

I v současnosti je čaj oblíbený nejen díky své jedinečné chuti a vůni, ale také pro mnoho zdravotních přínosů [4]. Celosvětový nárůst spotřeby, a tedy i oblíbenosti souvisí s mnoha vědeckými studiemi *in vivo* i *in vitro*, které jasně prokazují přímý vztah mezi pravidelnou konzumací čaje a snížením rizika vzniku různých druhů onemocnění [5].

Čaj totiž obsahuje mnoho různých zdravotně prospěšných látek, jako jsou polyfenoly, aminokyseliny, kofein, vitamíny a sacharidy. Tyto funkční látky zvyšují odolnost vůči vzniku kardiovaskulárních a neurodegenerativních onemocnění, diabetu 2. typu a napomáhají tvorbě střevní mikroflóry [4]. Kromě již zmíněných sloučenin jsou to také terpenoidy, saponiny, polysacharidy a další fenolické sloučeniny, které se v čaji nachází. Tyto důležité charakteristické „čajové“ sloučeniny určují tedy nejen kvalitu čaje, ale také jeho zdravotní přínosy na lidský organismus [6].

### 1.1.1 Čajovník čínský

Čaj se vyrábí z listů Čajovníku čínského (*Camellia sinensis*) [6]. Jedná se o rostlinu z čeledi čajovníkovité (*Theaceae*) původem z východní až jihovýchodní Asie [7]. Je to hospodářská plodina s celosvětovým významem.

Chemické složení, a tedy i vhodnost zpracování daného druhu čaje se mezi jednotlivými odrůdami čajovníku značně liší. Kromě toho se odrůdy čajovníku liší i v několika morfologických rysech (např. velikost listů) a odolnosti vůči stresu a obecně vnějším podmínkám, jako je chladová tolerance. To mimo jiné ukazuje na rozdílnou genetickou výbavu mezi čajovníky [6]. Právě podle zmíněných morfologických znaků lze tuto rostlinu rozlišit

na odrůdy *Camellia sinensis* var. *sinensis*, což je keř s malými nebo středně velkými listy a *Camellii sinensis* var. *asamica*. To je naopak strom s velkými listy [8].

Během tisíců let, kdy byl čajovník poprvé objeven a později pěstován k výrobě čaje v Číně, se rozšířil do více než 50 zemí v tropických a subtropických oblastech světa [6]. Hlavní požadavky, pro správný růst čajovníků, jsou teplé a vlhké podnebí a dostatek srážek [9]. Mezi největší producenty patří Čína, Indie, Japonsko, Srí Lanka, Thajsko, Vietnam, Indonésie, Keňa a Turecko [4]. Celosvětová produkce pro konzumaci a výzkum se v roce 2019 pohybovala kolem 5,79 milionů tun, což odpovídá ploše zhruba 1 milionu hektaru. Vůbec největší producenti čaje jsou Čína a Indie, jejichž celosvětová produkce tvoří asi 72 %. Tyto 2 země přitom vydělají na exportu přibližně 3 miliardy amerických dolarů [8].

### 1.1.2 Technologie výroby čaje

Chemické složení, smyslová přitažlivost a konečně i samotná funkčnost výsledného čaje vysoce závisí na mnoha faktorech. V první řadě hraje důležitou roli geografický původ, zemědělské postupy a pochopitelně i samotná odrůda čajovníku. Zásadní roli pak hrají i správné výrobní, respektive technologické procesy, které se používají k přípravě různých druhů čaje [7].

Celý technologický postup zahrnuje sklizeň čajových lístků [8]. Čerstvě natrhané čajové lístky jsou následně zpracovány s ohledem na druh výsledného čajového produktu [9]. Po sklizni jsou čajové lístky čištěny, přebírány, částečně nebo úplně sušeny, svinuty a správně skladovány. Hlavní nedílnou součástí celého technologického procesu je stupeň fermentace, podle kterého rozlišujeme čaje nefermentované, polofermentované, fermentované a post-fermentované [8].

Proces fermentace je založen na enzymatické oxidaci endogenními polyfenoloxidázami a peroxidázami polyfenolů, které jsou obsaženy v čajových lístcích. Konkrétně se jedná o flavanoly, které jsou procesem fermentace přeměněny na theaflaviny a thearubiginy. Právě ty jsou zodpovědné za vznik charakteristického aroma a barvy fermentovaných čajů. Celý oxidační proces bývá urychlen pomocí speciálních CTC (crush-tear-curl) strojů, které roztrhají a rozmělní již uschlé čajové lístky. Díky tomu dojde k uvolnění potřebných oxidáz, které mohou daleko lépe reagovat s kyslíkem [9]. Během procesu fermentace dochází k barevné změně čajových lístků, které přechází z původní zelené na oranžovou až červenou [10].

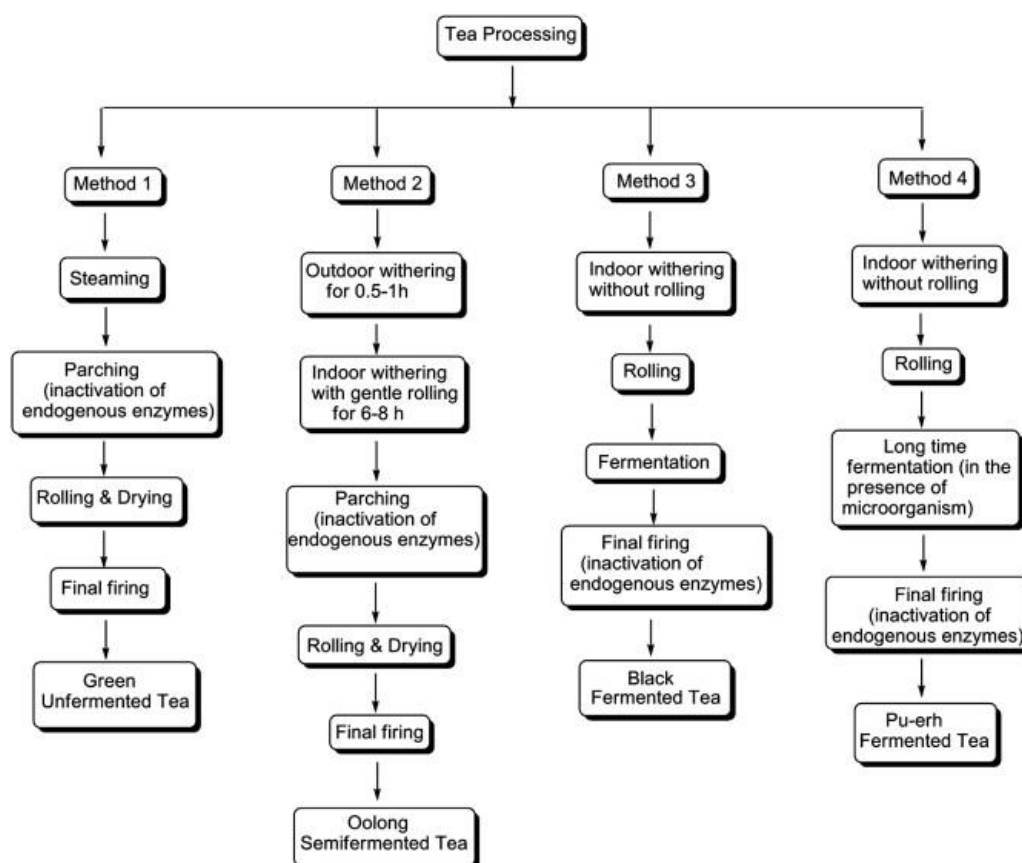
U čajů nefermentovaných je naopak zcela zásadní proces fermentace, který nastává samovolně, zabránit. Musí dojít k inaktivaci endogenních enzymů napařováním

nebo zahříváním oschlých čajových lístků. Metod provedení je více, například napařování na pánvi nebo pražení. Až následně poté mohou být čajové lístky srolvány a sušeny [9].

U post-fermentovaných čajů probíhá proces tzv. hromadné fermentace již deaktivovaných čajových lístků za přirozených nebo kontrolovaných podmínek [11]. Během tohoto procesu dochází k oxidaci polyfenolů za přítomnosti mikroorganismů, ve vlhkém a teplém prostředí. Theaflaviny a thearubiginy jsou dále oxidovány a v kombinaci s polysacharidy, lipidy a dalšími sloučeninami, dochází ke vzniku velkého množství charakteristických polymerů [12].

### 1.1.3 Druhy čaje

Mezi základní druhy čaje, které se liší stupněm fermentace, patří čaj černý, zelený, Oolong a Pu-erh. Typický technologický postup jejich výroby je znázorněn na Obrázku 1.



**Obrázek 1:** Schéma technologického postupu čaje černého, zeleného, Oolong a Pu-erh

### 1.1.3.1 Černý čaj

Mezi ostatními čaji má černý čaj nejdůležitější postavení. Jedná se o fermentovaný typ čaje, který je celosvětově nejkonzumovanější, a tedy i nejprodávanější ze všech druhů čaje. Tvoří asi 75 % celkové světové produkce [10]. V případě nedostatečné fermentace, má černý čaj travnatou vůni s „tenkým“ pocitem v ústech. Naopak přerementování má za následek to, že výsledný čajový nálev je nepříjemně kyselý s nežádoucí vůní. Je tedy zásadní, aby byl proces fermentace zastaven v pravý čas [13].

Klíčovými sloučeninami, které ovlivňují kvalitu černého čaje jsou polyfenoly a katechiny. Jejich koncentrace se během fermentačního procesu snižuje, což vede ke snížení hořkosti a svíravosti. Tato změna koncentrace čajových polyfenolů a katechinů během zpracování tedy vytváří charakteristickou chuť černého čaje [14]. Katechiny jsou přeměněny na theaflaviny a thearubiginy [15].

### 1.1.3.2 Čaj Oolong

Původ čaje Oolong je v Číně, konkrétně z provincie Fu-tien. Od dalších druhů čaje se odlišuje rozdílným způsobem zpracování čajových lístků, konkrétně rozdílným způsobem fermentace. Jedná se totiž o druh polofermentovaného čaje. Čajové lístky jsou oxidovány pouze v rozmezí 10–70 %. To tedy znamená, že stojí někde mezi čajem černým (fermentovaným čajem) a čajem zeleným (čajem nefermentovaným) [16].

Čaj Oolong je konzumován zejména díky své nezaměnitelné a elegantní ovocné až květinové vůni [17]. Tato charakteristická vůně je způsobena především přítomností těkavých sloučenin, jako lanalol, geraniol, nerolidol, benzylalkohol a indol [18].

### 1.1.3.3 Pu-erh

Čaj Pu-erh je druh plně fermentovaného čaje [19]. Vyrábí se z čajových listů čajovníku velkolistého (*Camellia sinensis* var. *asamica*) [20]. Při jeho výrobě je rozhodující proces postfermentace, při kterém jsou čajové listy sušeny na slunci po dobu několik týdnů. To vede k řadě oxidačních, kondenzačních a degradačních reakcí chemických složek čaje. Na rozdíl od procesu fermentace při výrobě černého čaje, který je katalyzován endogenními enzymy v čajových listech, jsou chemické změny při výrobě čaje Pu-erh katalyzovány mikrobiálními enzymy. Složení mikrobiální kultury má tedy značný vliv na vývoj různých chutí a potenciální zdravotní přínosy [21].

Čaj Pu-erh je oblíbený zejména v Číně a některých dalších asijských zemích. Konzumován je především díky své charakteristické chuti a vlastnostem. Zejména se jedná o antimutagenní, antimikrobiální a antioxidační vlastnosti, dále pak hypolipidemické a antiobezitní účinky [19].

#### *1.1.3.4 Zelený čaj*

Zelený čaj je druh nefermentovaného čaje. V celosvětovém měřítku představuje asi 20 % celkové produkce čaje na světě [22]. Jen v samotné Číně tvoří asi 7 % celkové produkce zeleného čaje [23].

Při výrobě zeleného čaje je klíčový krok zpracování napařování čerstvě sklizených čajových listů. Tento krok zajistí ochranu proti fermentaci. Dojde totiž ke zničení enzymů, které jsou zodpovědné za rozklad barevných pigmentů v listech a umožňuje zelenému čaji zachovat si zelenou barvu během následného rolování a sušení. Získá se tedy suchý a stabilní produkt. Dojde k zachování přírodních polyfenolů, které jsou zodpovědně za zdraví prospěšné vlastnosti čaje [24].

Zelený čaj je celosvětově nejrozšířenějším funkčním nápojem. To jsou takové potraviny, které mají potenciální zdravotní přínos, nad rámec obsahu živin, pokud jsou pravidelně konzumovány v určitém množství, jako součást pestré stravy [22]. Jedná se o bohatý zdroj polyfenolů, antioxidantů a minerálů. Tyto kombinace látek mají značný vliv na zdraví. Vyznačují se antineurodegenerativními a antidepresivními účinky. Rovněž snižují tvorbu volných radikálů v těle, které hrají roli při procesu stárnutí organismu. Obecně slouží jako prevence před vznikem různých onemocnění. Navíc zlepšují funkce mozkové činnosti [25].

## **1.2 MATCHA ČAJ**

### **1.2.1 Charakteristika Matcha čaje**

Jedná se o druh jemně mletého zeleného čaje, konkrétně o práškovou formu čaje typu Tencha [26, 27]. Svůj původ má v Číně, konkrétně z období dynastie Tchang [28]. Až později se rozšířil do Japonska, kde se stal tradičním nápojem a začal být používán při tradičním japonském obřadu Sado-Chado.

V současnosti dochází k velkému rozšíření Matchy, a to jak čajového nápoje jako takového, ale používá se také jako přísada do nejrůznějších druhů potravin. Její velká popularita

je dána nejen díky své nezaměnitelné chuti, ale také pro její prokázané zdravotní přínosy [26]. To je způsobeno jedinečným složením bioaktivních sloučenin, které je především dáno charakteristickým způsobem pěstování [29].

### 1.2.2 Technologie výroby Matcha čaje

Matcha čaj se vyrábí z listů rostliny Čajovníku čínského (*Camellia sinensis*) [30]. Čajovníky na výrobu Matcha čaje jsou pěstovány za zcela specifických a mírných klimatických podmínek. Před sklizní jsou totiž rostliny po dobu 3–4 týdnů asi z 90 % zastíněny. To má za následek prodloužení doby zrání a tím zvýšení kvality výsledného produktu [31]. Po sklizni jsou mladé čajové listy zpracovány na zelený prášek. Tento proces zahrnuje několik kroků: napařování, sušení, odstranění stonků a žilek a konečně jemné mletí pomocí kamenných mlýnků [32]. Naopak čajovník na výrobu klasického zeleného čaje je pěstován za normálního slunečního svitu (bez stínu). Sušené lístky se poté extrahují vodou. To jsou 2 hlavní rozdíly mezi čajem Matcha a klasickými druhy zeleného čaje [30].

Použití kamenných mlýnků k výrobě čajových prášků má dlouhou tradici. Poprvé byla tato technika využita v Číně v 11. století. V Japonsku se kamenné mlýnky objevily později, až ve století 14. [33]. Techniky správného mletí, které se využívají při zpracování Matchy, mají zásadní vliv na vlastnosti částic, jako je tvar, velikost, struktura, tekutost a vlastnosti charakteristické pěny. Bylo také dokázáno, že mletí má rovněž vliv na chemické složení, zejména na koncentraci katechinů [26].

### 1.2.3 Chemické složení

Jedná se o unikátní formu čaje. Vyrábí se z celých čajových listů a to znamená, že při pití Matcha čaje a při konzumaci potravin obsahující Matcha prášek, člověk zkonsumuje téměř všechny složky, které obsahuje čajový list, včetně látek ve vodě rozpustných i nerozpustných [28].

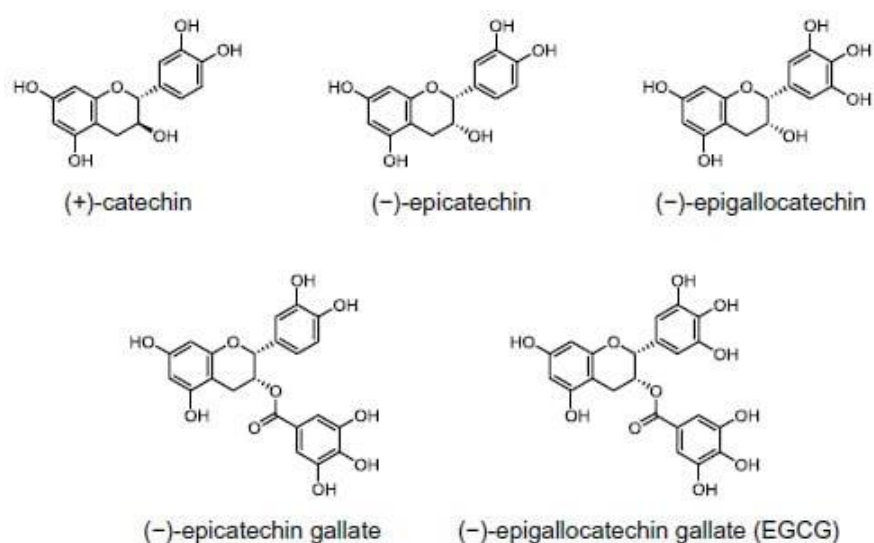
Rozdílný způsob pěstování, zpracování, a také použití celého prášku, nikoli extraktu, má samozřejmě za následek i jiné chemické složení oproti klasickému zelnému čaji. Mezi hlavní biologicky aktivní sloučeniny obsažené v čajových listech patří v první řadě flavonoidy, konkrétně flavany, které jsou také známy jako tzv. čajové katechiny. Mezi tyto látky řadíme epikatechin (EC), epigalokatechin (EGC), epikatechin 3-O-galát (ECG) a epigalokatechin 3-O-galát (EGCG). Mezi další biologicky aktivní sloučeniny patří flavonoly,

(např. kremferol, rutin nebo kvercetin), fenolové kyseliny (protokatechová, galová, kávová, sinapová, ellagová), aminokyseliny (např. L-theanin, kyselina gama-aminomáselná (GABA)), methylxantiny (kofein, theofylin, theobromin), chlorofyl a některé těkavé sloučeniny (např. pentanal, heptanal nebo 2-butanon) [34].

### 1.2.3.1 Katechiny

Nejdůležitějšími polyfenoly, které se nachází v zeleném čaji, jsou katechiny. Tvoří asi 80 % celkových polyfenolů. Vůbec nejrozšířenější bioaktivní polyfenol představuje EGCG, který zaujímá cca 59 % celkových katechinů. Procentuální podíl a vůbec koncentrace EGCG je v Matcha čaji daleko vyšší, v porovnání s klasickým zeleným čajem [31]. Weiss a Anderton (2003) zkoumali hladiny katechinů v Matcha čaji. Konzumace čaje Matcha, tedy požití práškového čaje Matcha, vedla k příjmu až  $137 \times$  více EGCG než u zeleného čaje Chinese Green Tips a třikrát více než u jakéhokoli jiného zaznamenaného vysoce kvalitního zeleného čaje (bez požití čajových lístků) [35].

Obecně EGCG, EGC, ECG a EC jsou hlavní účinné látky katechinového typu, které v čaji nalezneme (Obrázek 2). I v dalších rostlinných produktech jsou zastoupeny v nejvyšším množství. Co se týče jejich zdravotních přínosů, vyznačují se především vynikající antioxidační aktivitou. Mají schopnost neutralizovat volné radikály a zvyšovat detoxikační aktivity enzymů, včetně glutathionperoxidázy, katalázy a glutathionreduktázy [29]. Pro svoje psychobiologické účinky a vysokou koncentraci je EGCG jednou z nejdůležitějších složek Matcha čaje [31].

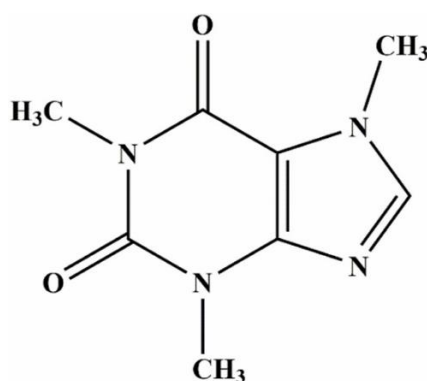


**Obrázek 2:** Čajové katechiny [36]

### 1.2.3.2 Kofein

Kofein (1,3,7-trimethylxanthin) (Obrázek 3) je purinový alkaloid, který se vyznačuje hořkou chutí [37]. Přirozeně se vyskytuje ve více než 60 druzích rostlin. Nejvíce je obsažen v kávových zrnech, čaji a kakau. Dalšími významnými deriváty xanthinu jsou theobromin (3,7- dimethylxanthin) a theofylin (1,3-dimethylxanthin) [38].

Konkrétně u čaje je kofein důležitým ukazatelem kvality čajového nápoje. Jeho přiměřený příjem má pozitivní účinky na zdraví. Má účinky zejména povzbudivé, zmírňuje únavu a má příznivé účinky na nervovou soustavu [39]. Kofein je mimo jiné zodpovědný za výraznou žádoucí chuť čaje. Jeho obsah silně závisí na odrůdě a stáří čajovníku (starší listy obsahují kofeinu méně), době sklizně, povětrnostních podmínkách během vegetace a samozřejmě na způsobu přípravy čaje [29]. Obecně se obsah kofeinu v čaji Matcha pohybuje v rozmezí 18,9–44,4 mg/g sušiny [32]. V pravidelných dávkách může kofein snižovat oxidační stres a tím snižovat riziko onemocnění způsobené volnými radikály. Kromě toho má protizánětlivé účinky [29].



Obrázek 3: Chemická struktura kofeinu [40]

### 1.2.3.3 Chlorofyl

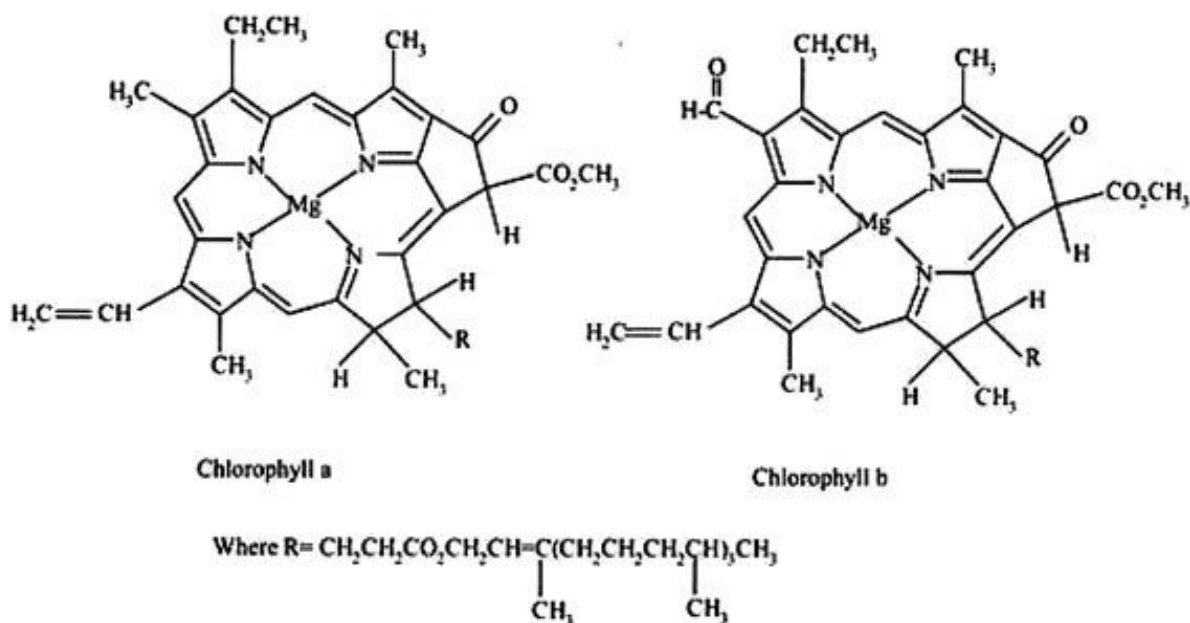
Chlorofyl je zelený lipofilní pigment, který se přirozeně vyskytuje ve všech rostlinách a fotosyntetických organismech. Jeho chemická struktura se skládá z tetrapyrrolového kruhu (hydrofilní část) spojeného s fytolovým koncem (hydrofobní část) a centrálně vázaného iontu hořčíku ( $Mg^{2+}$ ).

Existuje několik přirozeně se vyskytujících typů chlorofylu. Z potravinářského hlediska jsou nejdůležitější chlorofyl *a* a chlorofyl *b*, což jsou nejdůležitější potravinářská barviva (Obrázek 4). Oba pigmenty jsou citlivé na světlo, teplo, enzymy a pH. To má

za následek změnu barvy a tvorbu zřetelných degradačních produktů během zpracování a skladování [41].

Vzhledem ke specifickému způsobu pěstování čajovníků pro výrobu Matcha čaje, se i samotný čaj Matcha vyznačuje zvýšeným obsahem chlorofylu. To má mimo jiné za následek jedinečnou zářivě zelenou barvu Matcha prášku [29].

Ku a kol. (2010) porovnávali obsah bioaktivních látek, včetně chlorofylu, v čajových listech pro výrobu klasického zeleného čaje a čaje typu Tencha. Koncentraci chlorofylu v Tencha typu byla stanovena na 5,65 mg/g. Oproti tomu v čajových listech pro běžný zelený čaj byla nalezena koncentrace 4,33 mg/g. [42]. Pokud jde o jeho vliv na lidský organismus, chlorofyl a jeho další deriváty se vyznačují silnou antioxidační a protizánětlivou aktivitou [29].



**Obrázek 4:** Chemická struktura chlorofylu [43]

#### 1.2.3.4 Theanin

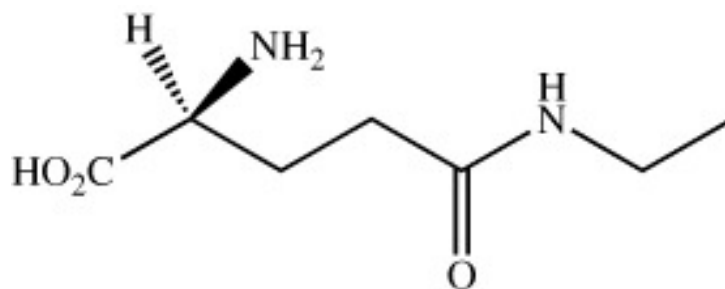
Theanin je typ chirální sloučeniny, která se může vyskytovat ve dvou formách. Jedná se o aminokyselinu a podobně jako ostatní aminokyseliny, se v přírodě přirozeně vyskytuje pouze jeho L-forma (Obrázek 5) [44]. L-theanin je vůbec nejrozšířenější volná aminokyselina v čaji. Jen ona sama tvoří více než 50 % celkových volných aminokyselin. Je to hlavní složka, která je zodpovědná za chuť zeleného čaje a určuje tak jeho kvalitu [45].

Podobně jako u ostatních složek Matcha čaje, má na zvýšené koncentraci L-theaninu zásluhu způsob pěstování čajovníku ve stínu. Vysoký obsah je zodpovědný za nahořklou chuť

Matcha čaj a v kombinaci s kofeinem navíc poskytuje chuťový vjem „umami“, který je pro Matcha čaj charakteristický [29].

Jošitake Baba a kol. (2021) stanovili obsah bioaktivních složek v Matcha čaji, včetně L-theaninu. V průměrně konzumovaném denním množství Matcha čaje (2,0 g) našli koncentraci 50,3 mg L-theaninu [46].

Bylo prokázáno, že L-theanin má plno příznivých účinků na zdraví organismu. Zlepšuje koncentraci a schopnosti učení, podporuje protinádorovou aktivitu a funguje jako prevence různých vaskulárních onemocnění. Snižuje krevní tlak, inhibuje negativní účinky kofeinu, zlepšuje imunitní systém a potlačuje nárůst tělesné hmotnosti a hromadění tuků. Díky těmto schopnostem je L-theanin široce využíván jak v potravinářském, tak ve farmakologickém průmyslu [45].



**Obrázek 5:** Chemická struktura L-theaninu [47]

#### 1.2.3.5 Fenolové kyseliny

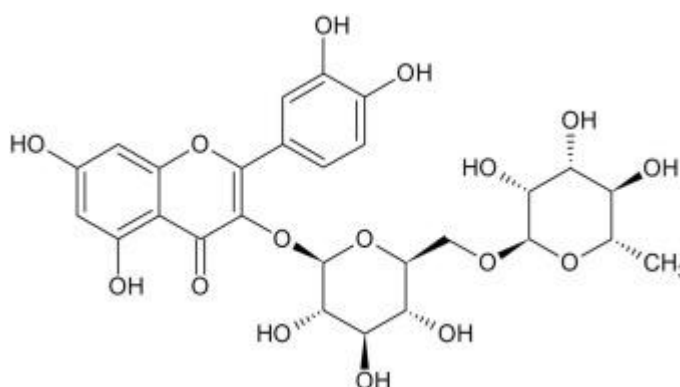
Fenolové kyseliny jsou sekundární metabolity rostlin [48]. Patří do skupiny fenolických sloučenin. Lze je rozdělit do dvou skupin: fenolové kyseliny odvozené od kyseliny hydroxybenzoové a hydroxyskořicové. Nejběžnější deriváty kyseliny hydroxybenzoové jsou kyseliny p-hydroxybenzoová, kyselina galová, protokatechová a vanilová. Hlavními deriváty kyseliny hydroxyskořicové jsou kyselina p-hydroxyskořicová, kyselina kumarová, kávová a ferulová [49].

Fenolové kyseliny se vyznačují mnoha zdravotními a technologickými přínosy. Jsou to především významné antioxidační látky. Mezi jejich další vlastnosti patří protizánětlivé a antikarcinogenní účinky. Z technologického hlediska je důležitá jejich antimikrobiální aktivita, díky které jsou fenolové kyseliny důležité látky s vysokým konzervačním potenciálem [48].

### 1.2.3.6 Rutin

Rutin, jinak kvercetin-3-rutinosid (Obrázek 6) je vůbec jeden z nejrozšířenějších flavonoidů v potravinách rostlinného původu [50]. Jakubczyk a kol. (2020) stanovili obsah rutinu v Matcha čaji. Zjistili koncentraci rutinu 1968,8 mg/l a porovnali ji s koncentrací v pohance (62,30 mg/100 g), která je považovaná za významný zdroj rutinu. Zjistili také zhruba 50krát vyšší obsah rutinu v Matcha čaji než v běžně dostupném zeleném čaji. Z toho plyne, že Matcha čaj, jako nápoj, je vůbec nejvýznamnějším zdrojem rutinu a ve srovnání s ostatními rostlinnými zdroji zaujímá vysoké postavení [27, 29].

Rutin se vyznačuje řadou biochemických a farmakologických aktivit. Má schopnost vychytávat volné radikály a má antikarcinogenní a protizánětlivé účinky. Rovněž se vyznačuje antimikrobiální aktivitou [50]. Jedná se tedy o silný antioxidant, který navíc synergicky interaguje s kyselinou askorbovou a zvyšuje přitom ochranné účinky obou látek. Má navíc antidiabetické vlastnosti, čímž předchází patologickým stavům, které souvisí s cukrovkou [29].



**Obrázek 6:** Chemická struktura rutinu [51]

## 1.3 ANTIOXIDANTY

### 1.3.1 Oxidační stres

V důsledku metabolických dějů a kontaktu s vnějším prostředím dochází v lidském těle k produkci velkého množství volných radikálů. Tyto volné radikály napadají bílkoviny, mastné a nukleové kyseliny. Tím dochází k oxidačnímu poškození buněk, tkání nebo dokonce k mutacím genů. Vysoká koncentrace těchto radikálů může způsobit oxidační stres. Tím dojde k narušení vnitřní oxidačně-redukční rovnováhy, což může mít za následek vznik řady

chronických onemocnění. Volné radikály a tím narušená buněčná redoxní rovnováha bývá spojována se vznikem Alzheimerovy a Parkinsonovy choroby, artritidy, cukrovky, rakoviny, aterosklerózy nebo dalších kardiovaskulárních nemocí [52].

Lidský organismus má schopnost inhibovat působení volných radikálů pomocí regulačních enzymů. Tento regulační mechanismus však není zcela účinný. Je proto nutné přijímat antioxidační sloučeniny, které pomáhají vychytávat volné radikály v těle [53]. Dostatečný příjem antioxidantů je velmi důležitý, zvláště během zvládání různých stresových situací, kdy jsou buňky lidského těla vystaveny nadměrné syntéze reaktivních forem kyslíku. K této syntéze mimo jiné přispívá i nesprávné stravování, fyzická námaha nebo znečištění životního prostředí [27].

### 1.3.2 Metody měření antioxidační aktivity

Metody měření antioxidační aktivity lze v závislosti na reakčním mechanismu rozdělit do dvou kategorií. Metody založené na přenosu vodíkového atomu (HAT), kde vodíkový iont daruje stabilní molekula, čímž umožňuje antioxidantu vychytat reaktivní formy kyslíku (ROS). Druhým typem jsou metody, které jsou založené na přenosu elektronu (SET). To závisí na potenciálu antioxidantu, jenž má schopnost redukovat určité molekuly a sloučeniny přenosem elektronu. Kromě toho existují i kombinace těchto 2 metod [54].

#### 1.3.2.1 Metoda DPPH

Při této metodě se využívá intenzivně fialově zbarvený radikál 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl (DPPH). Po přidání určitého množství antioxidantů (přítomných ve vzorku) do roztoku DPPH a spektrofotometrickém měření, dochází k poklesu měřené absorbance. Nepárový valenční elektron atomu dusíku v DPPH je redukován přijetím atomu vodíku od antioxidační sloučeniny. Tím vzniká hydrazin DPPH-H a dojde ke změně barvy roztoku z fialové na světle žlutou. Tyto redukční vlastnosti antioxidantů lze sledovat poklesem absorbance při vlnové délce cca 515–520 nm.

Metoda DPPH je široce využívána jako zcela rutinní postup pro hodnocení antioxidační aktivity rostlinných extraktů. I přes její výhody, jako je rychlost a jednoduchost provedení, může polarita rozpouštědla, pH a také přítomnost některých sloučenin (přírodní kyseliny, kovové ionty a pigmenty) nepříznivě ovlivnit přesnost při spektrofotometrickém měření [55].

### 1.3.2.2 Metoda FRAP

Metoda FRAP je založená na měření schopnosti antioxidantů redukovat železitý 2,4,6-tripyridyl-s-triazoniový komplex ( $[\text{Fe(III)}-(\text{TPTZ})_2]^{3+}$ ) na intenzivně modře zabarvený železnatý komplex ( $[\text{Fe(II)}-(\text{TPTZ})_2]^{2+}$ ) v kyselém prostředí. Měří se absorbance vzniklého roztoku při vlnové délce 593 nm. Vlivem přítomných antioxidantů dochází k nárůstu absorbance a výsledek se vztáhne k roztoku standardu (např. kyselina askorbová).

Významné omezení této metody je to, že jakákoliv sloučenina s redoxním potenciálem (i bez antioxidačních vlastností) nižším, než má redoxní pár  $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ , může redukovat  $\text{Fe}^{3+}$  na  $\text{Fe}^{2+}$ , což samozřejmě vede k nadhodnocení výsledků. Naopak ne všechny antioxidanty redukují  $\text{Fe}^{3+}$  dostatečně rychle, aby mohlo dojít k pozorování změny absorbance [56].

### 1.3.2.3 Metoda TEAC

TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity) je metoda založená na vychytávání radikálového kationtu ABTS antioxidanty, které jsou přítomné ve vzorku. Tento zeleně zbarvený radikál se vyznačuje maximálními hodnotami absorbance při vlnových délkách 645, 734 a 815 nm. V případě výskytu antioxidačních látek v reakčním médiu dojde k zachycení volného radikálu, odbarvení roztoku a tím snížení absorbance. Pokles absorbance je pak přímo úměrný koncentraci přítomného antioxidantu [57].

### 1.3.2.4 Metoda ORAC

Při metodě ORAC se měří pokles fluorescence fluorescenční molekuly, která detekuje peroxylové radikály generované 2,2-azobis-2-amidopropanidihydrochloridem (AAPH) v důsledku vychytávání volných radikálů antioxidantem. Test se často provádí na komerčně dostupných fluorescenčních destičkách. Pokles fluorescence se odečítá při excitaci/emisi 485/520 nm každou minutu po dobu 35 minut. Jako standard se používají roztoky Troloxu o různých koncentracích [54].

### 1.3.2.5 Metoda CUPRAC

Metoda CUPRAC (Cupric reduction antioxidant capacity) spočívá na schopnosti antioxidantů redukovat  $\text{Cu}^{2+}$  komplex na  $\text{Cu}^+$  komplex obsahující jako ligand 2,9-dimethylthrolin (dmphen). Je to stabilní a rychlá metoda, kdy je redukce komplexu

doprovázena změnou barvy z modré na žlutou. Tvorba komplexu je pozorována při vlnové délce 450 nm. Jelikož má iont  $\text{Cu}^{2+}$  redoxní potenciál nižší než  $\text{Fe}^{3+}$ , je metoda CUPRAC selektivnější než metoda FRAP. CUPRAC se také provádí v neutrálním pH nebo v ethanolu. Lze tedy aplikovat na více antioxidantů s rozdílnou chemickou strukturou a rozpustností ve vodě nebo v tucích [58].

#### *1.3.2.6 Folin-Ciocalteauův test*

Je to test nebo metoda specifická pro kvantifikaci fenolických sloučenin v rostlinných extraktech. V případě přítomnosti fenolických sloučenin dojde za použití Folin-Ciocalteuova činidla ke vzniku modrého komplexu. Dojde k reakci Folin-Ciocalteuova činidla (kyselina fosfomolybdenová a fosfowolframová) s fenolickými sloučeninami přítomnými ve vzorku extraktu. Vzniká chromofor složený z komplexu fosfomolybdenu a fosfowolframu. Reakce probíhá v alkalickém prostředí a intenzita modrého zbarvení je přímo úměrná koncentraci fenolických sloučenin. Mechanismus zbarvení má dvě fáze. V první fázi (0–30 min) dochází ke vzniku modrého zbarvení a ve fázi druhé (30–60 min) barva přechází na tmavě modrou. Absorbance je měřena někde v rozmezí vlnových délek 720–765 nm [59].

#### *1.3.2.7 Stanovení obsahu flavonoidů*

Obsah flavonoidů je důležitý parametr pro hodnocení vzorku potravin a léčivých rostlin. Pro stanovení obsahu flavonoidů lze využít i spektrofotometrické metody, které jsou založené na tvorbě komplexu hliníku. Obecně jsou široce využívané dva různé postupy provedení.

V prvním možném provedení je do roztoku vzorku přidán roztok  $\text{AlCl}_3$  o koncentraci 2–10 % a to v kyselém nebo octanovém prostředí. V některých případech lze použít místo kyseliny nebo octanu pouze methanol s vodou. Vzniklý žlutě zbarvený komplex lze poté identifikovat spektrofotometricky při vlnové délce 404–430 nm. Pro vyjádření výsledků lze využít např. kvercetin, rutin nebo galangin.

Druhou možností provedení je komplexační reakce v přítomnosti  $\text{NaNO}_2$  v alkalickém prostředí. Principem tohoto postupu je nitrace aromatického kruhu. Po přidání  $\text{Al}^{3+}$  dojde k tvorbě žlutého komplexu, který zčervená po přidání  $\text{NaOH}$ . Absorbance je měřena při vlnové délce 510 nm. Jako standardní roztok se využívá katechin [60].

## 1.4 Ukazatele kvality potravin

### 1.4.1 Obsah vody

Vlhkost neboli obsah vody v surovině je parametr, který odráží celkové množství přítomné vody [61]. Stanovení obsahu vody je nejčastější analýzou, která se provádí u potravinářských výrobků. Obsah vody v potravinách má významný vliv na další fyzikální a chemické parametry, které se u potravin stanovují. Hodnocení většiny chemických parametrů je navíc vztaženo na celkový obsah sušiny. Proto je nutné měření obsahu vody v potravinách. Obsah vody také ovlivňuje růst mikroorganismů a enzymatickou aktivitu potravin. To má značný vliv na stabilitu a trvanlivost potravinářských výrobků a surovin [62]. Přitom nejde jen o celkový obsah vody, ale také o její interakce s dalšími složkami v matici [63].

Existují různé metody pro stanovení obsahu vody, respektive určení vlhkosti v potravinářských výrobcích. Lze je rozdělit do 2 kategorií: primární a sekundární metody. Pomocí primárních metod se přímo měří obsah vody v matici. Jsou založeny na separaci vody destilačními nebo sušícími technikami (sušení v troubě, infračerveném nebo mikrovlnném sušení). Řadí se sem také titrace podle Karl Fischera, která je založena na chemické reakci s vodou. Mezi sekundární techniky pak řadíme nukleární magnetickou rezonanci (NMR), infračervenou spektrometrii, denzitometrii, polarimetrii, refraktometrii nebo mikrovlnné techniky, jejichž princip měření je založen na různých vlastnostech souvisejících s obsahem vody. Tyto sekundární metody většinou vyžadují složité kalibrace, specifické pro různé druhy potravin. Všechny metody se vyznačují některými nevýhodami, které souvisí s časovou náročností, technickým vybavením, cenou a různou selektivitou k vodě [64].

#### *1.4.1.1 Vážkové stanovení sušiny*

Klasický přístup stanovení obsahu vody v potravinách spočívá na měření úbytku hmotnosti. Vzorek potravin se zváží, umístí do sušárny, kde se zahřeje na určitou teplotu. To má za následek odpařování vody a úbytek hmotnosti vzorku. Pokud je voda jedinou těkavou složkou vzorku, představuje hmotnostní rozdíl, množství vody v potravine. Alternativou této metody je infračervené sušení pomocí automatických analyzátorů, ve kterých se vzorek zahřívá podstatně rychleji než v běžné sušárně. Výhodou je i to, že nedochází k chybám v důsledku špatné manipulace [65].

#### 1.4.1.2 Metoda podle Karl Fischera

Titrační metoda stanovení obsahu vody podle Karla Fischera (KFT) je založená na redoxní reakci vody, jódu a methylsiřičitanu v přítomnosti organické báze [64]. Jód reaguje s vodou velmi selektivně, což je hlavní výhodou této metody. Další výhodou je i rychlost analýzy, která trvá 1–2 minuty a pak také vysoká přesnost stanovení. Nesporná výhodou této metody je i v podstatě neomezené použití pro potraviny o různém obsahu vody. Samotné vyhodnocení většinou probíhá volumetricky, tedy na základě objemu spotřebovaného činidla. Pro vzorky o velice nízkém obsahu vody (10–50 ppm) se využívá coulometrické vyhodnocení [65].

KFT je nejdůležitější chemická přímá metoda stanovení obsahu vody v potravinářských výrobcích. Její použití jako rutinní metody je však omezeno z důvodu vyšších nákladů v porovnání s běžnými metodami sušení v sušárnách. Obvykle je využívána k účelům kalibrace [62]. Metodu popisuje následující rovnice:



#### 1.4.2. Aktivita vody

Obsah vody jako takový, není spolehlivým ukazatelem degradačních aktivit a mikrobiálního růstu v potravinách. Různé potraviny, které mají sice stejný obsah vody, se mohou výrazně lišit v údržnosti [66]. Velmi důležitým parametrem charakterizující chování vody v potravině je aktivita vody ( $a_w$ ) [61]. Jedná se o důležitý parametr, který určuje stabilitu potravin. Aktivita vody souvisí s rychlostí mikrobiálního růstu a mnoha degradačními reakcemi, které probíhají v potravinách. Používá se proto jako indikátor stability a mikrobiální bezpečnosti [66]. Zároveň se používá jako spolehlivý ukazatel oxidace lipidů a dalších enzymatických i neenzymatických aktivit, které mají vliv na texturu potravinářských produktů [63]. Aktivita vody je definována jako poměr tlaku vody v daném vzorku potraviny ( $p$ ) a tlaku par vody ( $p_0$ ) při stejné teplotě [66].

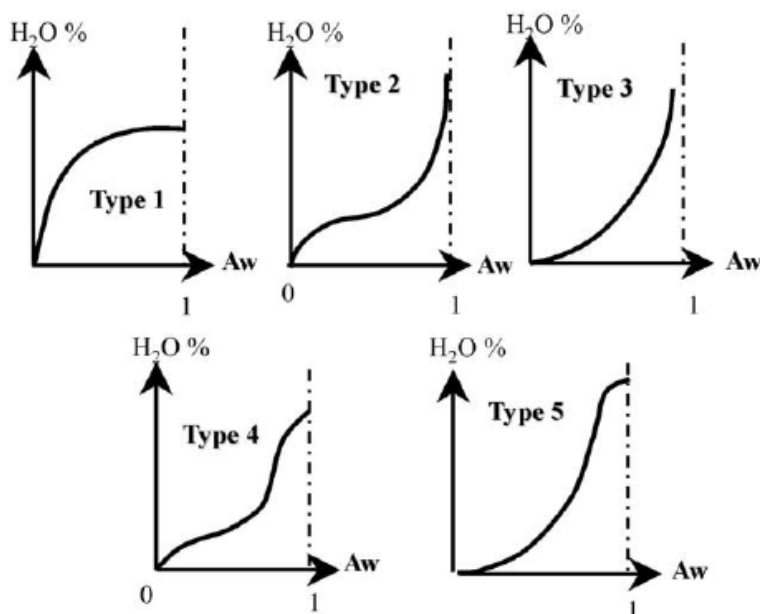
$$a_w = \frac{p}{p_0} \quad (2)$$

Pokud je aktivita vody nízká, dochází k poklesu biochemických reakcí a zastavení růstu mikroorganismů. To má význam při konzervacích potravinářských produktů [61].

### 1.4.3. Sorpční vlastnosti

Vztah mezi rovnovážným obsahem vlhkosti a aktivitou vody ( $a_w$ ) je při konstantní teplotě a za rovnovážných podmínek graficky vyjádřen pomocí izotermických křivek vlhkosti [67]. Tyto sorpční izotermy slouží k hodnocení stability při skladování a vůbec navrhování správného výrobního procesu, například konečného bodu sušení nebo správného výběru přísad do potravin [63].

Máme dva jevy sorpce: adsorpce a desorpce [67]. Tyto adsorpční a desorpční procesy u hygroskopických materiálů se staly předmětem mnoha publikací. Kromě potravinářských produktů se studují například stavební materiály nebo textilie [68]. Samotný tvar sorpčních izoterm může být různý a závisí na typu měřeného produktu a jeho různé afinitě k vodě [69]. Obecně se rozlišuje 5 základních typů izoterm (Obrázek 7):



**Obrázek 7:** Typy sorpčních izoterm [70]

#### 1.4.3.1 Hystereze

Rozdíl mezi hodnotami adsorpce ( $M_{ads}$ ) a desorpce ( $M_{des}$ ), měřený při stejné teplotě, je označován jako sorpční hystereze [68]. Platí tedy rovnice:

$$\text{Hystereze} = H_{a_w} = M_{des} - M_{ads} \quad (3)$$

Vůbec důvod vzniku a existence hystereze je spojen s typem a silou vazeb mezi vodou jako takovou a daným materiálem. Plnění a vyprazdňování kapilár v matrici totiž nemá stejnou kinetiku. To je jeden z hlavních důvodů rozdílu mezi adsorpční a desorpční izotermou. Dalším faktorem je změna struktury některých složek potravin v době, kdy jsou vystaveny různým aktivitám vody.

Existence sorpční hystereze má významné dopady na chemickou a mikrobiální stabilitu potravinářských produktů. Fakt, že obsah vody v potravinách je vyšší při desorpci než při adsorpci (při stejné  $a_w$ ), způsobuje degradaci některých složek potravin. Jako typický příklad lze uvést ztrátu vitamínu C [69].

#### *1.4.3.2 Skelný přechod*

Skelný přechod (glass transition) lze charakterizovat jako fázovou změnu druhého řádu, kterou doprovází termodynamické změny enthalpie, změny dielektrických vlastností a mechanické změny. Je to proces, který lze popsat jako změnu z „tuhého“ stavu do stavu „gumového“, u amorfních materiálů. Tento koncept byl dlouho chápán v oblasti vědy o polymerech. V současnosti však nachází větší uplatnění i v oblasti potravinářství.

Tento fázový přechod má za následek změny v molekulární mobilitě, který je spojen se změnami v kvalitě daného produktu a může vést ke ztrátě stability amorfních potravin o nízké vlhkosti. Potravin, které se nachází v pevném amorfním stavu, zůstávají většinou po dlouhou dobu stabilní. Jakmile však přejdou do stavu gumového, rychlosti všech vnitřních procesů se zvyšují. To znamená ztrátu kvality potravin a snížení doby skladovatelnosti, která se může z původních měsíců zkrátit na týdny, dny nebo i hodiny. Hlavní faktory související se skelným přechodem jsou zvýšená náchylnost k lepivosti, spékání, kolapsu a krystalizaci.

Nejdůležitějším parametrem, který určuje tuto fázovou přeměnu, je teplota skelného přechodu ( $T_g$ ) [71]. Společně s aktivitou vody ji lze použít jako referenční parametr pro charakterizaci, vlastnosti, kvalitu, stabilitu a bezpečnost potravin [72]. Produkt je stabilní, pokud je skladován pod touto teplotou. Molekulární difúze, kdy je potravina v „tuhém“ stavu je velmi pomalá. Poškození v důsledku mikrobiální aktivity a dalších nežádoucích chemických reakcí je podstatně omezeno [63]. Naopak, při teplotách vyšších než  $T_g$ , je i rychlost difúzně řízených reakcí vyšší. Mezi tyto reakce patří například procesy enzymatického a neenzymatického hnědnutí nebo oxidace sloučenin [72].

Nízké hodnoty  $T_g$  v potravinách souvisí s přítomností látek s nízkou molekulovou hmotností. K těmto látkám patří zejména redukující cukry a kyseliny, například kyselina citrónová, fumarová a jablečná. Velice ohroženou skupinou potravin jsou proto různé ovocné prášky. Jako ochrana jsou proto do těchto potravin často přidávány různé vysokomolekulární polymery, např. škrob, arabská guma nebo maltodextrin, které mají za následek zisk prášků s vyššími hodnotami  $T_g$  [73].

Pomocí automatických generátorů sorpčních izoterm je možné pozorovat skelný přechod jako ostrý inflexní bod izotermické křivky během sorpce vody. Teplota skelného přechodu se nejčastěji stanovuje pomocí diferenční skenovací kalorimetrie (DSC). Teplota v komoře kalorimetru se postupně zvyšuje a samotný skelný přechod je vyhodnocen jako skoková změna tepelné kapacity vzorku [71].

#### *1.4.3.3 Spékání*

Jak už bylo zmíněno, jednou z nežádoucích změn u práškových potravin způsobené vlhkostí patří kromě jiného spékání [73]. Na spékání jsou citlivé zejména různé práškové směsi, například směsi koření, které obsahují různě citlivé složky. Některé z nich jsou totiž velmi náchylné na sorpci, zejména pokud jsou vystaveny vyšším relativním vlhkostem [74].

Důvodů vzniku spékání je více. Může například nastat v důsledku Van der Waalsových přitažlivých sil mezi částicemi. Ve většině případů je však způsobené tvorbou kapalných můstků, kdy jsou kapilární síly dostatečně silné a může tak dojít ke vzniku tohoto procesu. Při nižší relativní vlhkosti mají materiály i nižší afinitu k vodě. Naopak nad kritickou relativní vlhkostí vodu adsorbují rychleji. To způsobí tvorbu kapalných můstků a částečné rozpuštění rozpustných složek na povrchu krystalů. Pevnost těchto můstků pak závisí především na kapilárních silách, které lze zvýšit například sušením [75].

#### *4.3.4 Sorpční modely*

Pro popis sorpčních izoterm souvisejících s hodnocením kvality potravin bylo navrženo několik matematických modelů. Některé z nich byly vyvinuty pro teoretický popis adsorpčních mechanismů [76].

Významným modelem, který popisuje sorpční izotermy je model Brunauera, Emmetta a Teller (BET), který je odvozen z adsorpční analýzy. V minulosti býval BET vůbec nejpoužívanější ze všech modelů. Jeho použití je však diskutabilní zvláště s ohledem na aktivitu

vody u měřených objektů. Nejvhodnější je jeho použití u potravin s  $a_w$  v rozmezí 0,4–0,5. Některé studie ale prokázaly, že u některých potravinářských produktů může být tento model použit pro celý rozsah aktivit  $a_w$ . I vzhledem k jednoduchosti je stále k popisu sorpčních izoterem využíván. Model BET popisuje rovnice:

$$M = \frac{a_w M_0 C}{(1 - a_w)(a_w(C - 1) + 1)} \quad (4)$$

$M$  znázorňuje obsah vody a  $M_0$  je obsah vody v monovrstvě (oba většinou vyjádřené v suchém stavu), parametr  $C$  představuje konstantu, kterou lze odhadnout pro danou teplotu [77].

Dalším důležitým modelem je model Guggenheim-Anderson-deBoer (GAB), který je pro potravinářské vzorky ze všech modelů vůbec nejpoužívanější. Je doporučen jako standardní model pro zemědělské a potravinářské produkty v Evropě a USA. Jedná se o nejuniverzálnější model, který lze použít v širokém rozmezí  $a_w$  a navíc pro většinu druhů potravin. Pomocí tohoto modelu lze rovněž vypočítat obsah vody v monovrstvě, což má v potravinářském průmyslu největší význam [78]. Je to dáno vysokou přesností a možností použití v rozmezí  $a_w$  0,1–0,9. [63]. V potravinářském průmyslu je model GAB používán již od 70. let minulého století [79]. Skládá se ze 3 parametrů, jejichž odhad probíhá za použití obvykle dvou proměnných (obsahu vody a aktivity vody) pomocí nelineární regrese a je popsán následující rovnicí:

$$M = \frac{M_0 C K a_w}{[(1 - K a_w)(1 - K a_w + C K a_w)]} \quad (5)$$

kde  $M_0$  představuje obsah vody v monovrstvě,  $C$  je konstanta vztažená k sorpčnímu teplu a  $K$  je faktor související se sorpčním teplem [63].

Dalším modelem, který lze využít k analýze sorpčních vlastností je model Caurie, který lze využít konkrétně k analýze vlastností sorbované vody. Tento model popisuje rovnice:

$$\ln\left(\frac{1}{M}\right) = -\ln(c_d M_0) + \frac{c_d}{M_0} \ln \frac{1 - a_w}{a_w} \quad (6)$$

kde  $c_d$  je hustota sorbované vody (g/ml). [80]

Pro stanovení kritické aktivity vody ( $a_{wc}$ ) lze využít sorpční model MultiFreundlich. Kritická aktivita vody je důležitý sorpční parametr, který udává aktivity vody, při které začne v materiálu převažovat sorpce vody místo do monovrstvy, do vícevrstev. V potravině tak začne převažovat voda volná, což má za následek změnu vlastností a následně možnou degradaci potravin vlivem mikrobiální kontaminace. Adsorpční rovnováha lze popsat Freundlichovou rovnicí následovně:

$$M_m = A a_w^B \quad (7)$$

kde  $M_m$  je vlhkost obsažená v monovrstvě,  $A$  je konstanta a  $B$  je adsorpční exponent monovrstvy

Podobně je to u vícevrstev:

$$M_M = C a_w^D \quad (8)$$

kde tedy  $M_M$  je obsah vlhkosti ve vícevrstvách,  $C$  je konstanta a  $D$  je adsorpční exponent vícevrstev

Celkový obsah vlhkosti  $M$  je pak dán součtem  $M = M_m + M_M$  a platí rovnice MultiFreundlich:

$$M = A a_w^B + C a_w^D \quad (9)$$

Konečná hodnota  $a_{wc}$  se získá vztahem [81]:

$$a_{w,c} = \left(\frac{C}{A}\right)^{1/(B-D)} \quad (10)$$

Rovnice GAB a BET lze obecně považovat za nejúspěšnější modely pro stanovení optimálních podmínek při skladování, zejména pak pro dehydratované potraviny. Mezi další rovnice, které lze použít pro popis sorpčních izoterem patří například rovnice Oswinova, Hendersonova, Halseyova, Chung-Pfostova, Smithova nebo jiné složitější modifikace těchto rovnic [76].

## 1.4.4 Barevnost

### 1.4.4.1 Vnímání barev

Vnímání barev je velmi složitý jev. Barva objektu je odezva na viditelné spektrum světla, které je odraženo nebo vyzářeno sledovaným předmětem. Tento signál dopadá v oku na sítnici, odkud je pomocí optického nervu přenášen do mozku. Až poté dojde k přiřazení barvy daného objektu. Barva tedy není vnitřní vlastností objektu. Změnou zdroje osvětlení, dojde i ke změně barvy. Barevnost pozorovaného předmětu také závisí na úhlech osvětlení a pozorování [82].

### 1.4.4.2 Hodnocení barevnosti

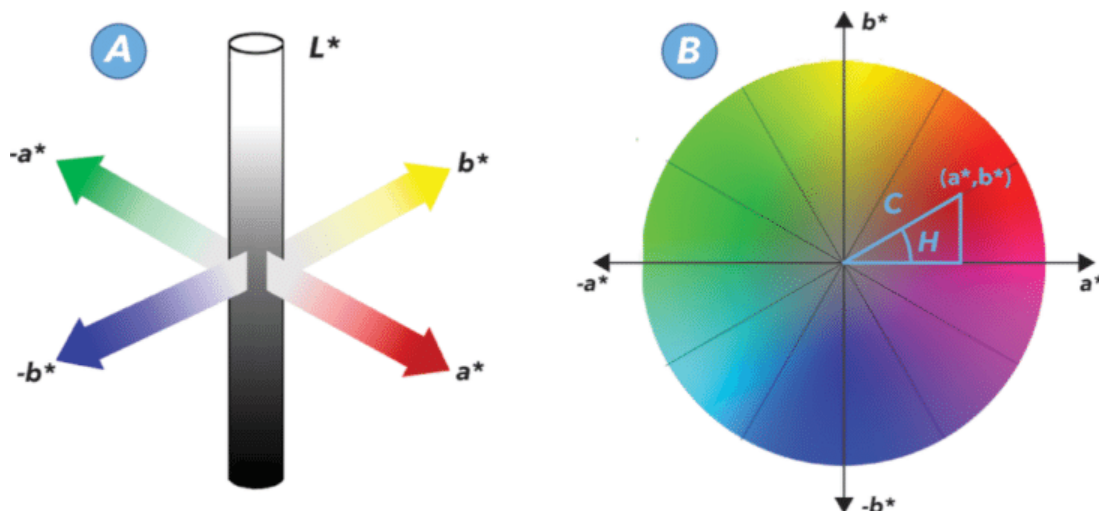
Barva je jednou z důležitých vlastností potravinářských produktů [83]. Jedná se o důležitý senzorický atribut, který úzce souvisí s kvalitativními faktory výrobku, jako je zralost, čerstvost, vhodnost pro použití a bezpečnost požití [82]. Je to také jeden z hlavních faktorů, který ovlivňuje chování spotřebitele při nákupu dané potraviny.

Analýza barev je proto v potravinářském průmyslu široce rozšířená. Může být prováděna buď pomocí lidského oka nebo pomocí přístroje pro měření barevnosti. „Lidská“ kontrola má hned několik omezení. Osoba, která provádí takové hodnocení, musí být speciálně proškolená. Taková kontrola je navíc v porovnání s instrumentálními technikami poměrně zdoluhavá. Hodnocení barevnosti může být i subjektivní a může se u různých osob lišit. Tento nedostatek lze vyřešit použitím různých barevných vzorníků. I tak má analýza barevnosti pomocí speciálních přístrojů značné výhody. Pro měření barevnosti se v potravinářském průmyslu používají kolorimetry a spektrofotometry, jako nejrozšířenější přístroje pro měření barevnosti v potravinářském průmyslu [83].

Jedním ze způsobů hodnocení barvy je měření odrazu (reflektance) světla dopadajícího na sledovaný objekt. Rozeznáváme dva druhy odrazu, a to odraz zrcadlový a difúzní. U většiny objektů dochází k odrazu světla jak zrcadlově, tak difúzně. Spektrofotometry umožňují oba způsoby měření odrazu: RSIN (reflectance specular included) a RSEX (reflectance specular excluded). Pomocí módu RSIN se měří celková reflektance, tedy zrcadlová i difúzní složka. Mód RSEX pak využívá pouze měření difúzní složky odrazu. To má výhodu při hodnocení barvy lesklých předmětů. U matných předmětů bude převažovat spíše složka difúzní. [84]

### 1.4.4.3 Barevné prostory

K vyjádření barevnosti měřených vzorků se využívají tzv. barevné prostory. Rozlišujeme barevný prostor  $L^* a^* b^*$  (Obrázek 8, A) a barevný prostor  $L^* C^* H^\circ$  (Obrázek 8, B)



Obrázek 8: Barevné prostory  $L^* a^* b^*$  (A) a  $L^* C^* H^\circ$  (B) [85]

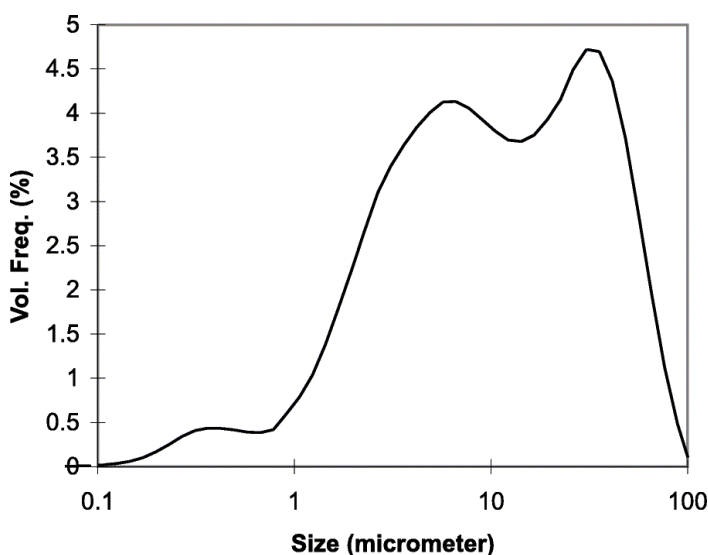
Barevný prostor  $L^* a^* b^*$  představuje kvantitativní vztah barevnosti celkem na 3 osách. Parametr  $L^*$  je znázorněn na svislé ose a nabývá hodnot od 0 (černá) do 100 (bílá). Vyjadřuje tedy světlost daného měřeného objektu. Parametr  $a^*$  hodnotí barevnost od zelené po červenou. Žlutou až modrou barvu pak hodnotí parametr  $b^*$  [86].

U barevného prostoru  $L^* C^* H^\circ$  vyjadřuje parametr  $L^*$ , stejně jako v předešlém případě, světlost objektu. Ze souřadnic  $a^* b^*$  lze odvodit parametr  $C^*$ , který vyjadřuje pestrost barvy a parametr  $H^\circ$ , jenž hodnotí odstín sledované barvy a nabývá hodnot 0–360°. Zmíněný parametr  $C^*$  se zvyšuje se vzdáleností od středové osy  $L^*$  [87].

### 1.4.5 Distribuce částic

Práškové materiály, ať už v potravinářském nebo například farmaceutickém průmyslu se běžně vyrábí za použití různých operací, jako sušení, rozprašování, lyofilizace, mletí nebo granulování. Chování takových práškových materiálů se mění v závislosti nejen na vnějších faktorech, ale i na faktorech vnitřních, jako je morfologie a povrch částic [88]. Důležitým ukazatelem kvality práškových materiálů je tedy tvar a velikost částic. Někdy i malé změny dokáží ovlivnit vlastnosti prášků. [89].

Klíčovou vlastností práškových materiálů je v některých průmyslových oblastech tekutost [88]. Tok prášků je obecně definován jako relativní pohyb jednotlivých částic mezi sousedními částicemi a podél povrchu stěny nádoby. Sama tekutost je poměrně složitá, jelikož ji ovlivňuje mnoho faktorů [90]. Pravděpodobně nejdůležitější vlastnost ovlivňující tekutost je velikost částic. Práškové hmoty s menší velikostí částic, mají vyšší stupeň mezi částicového kontaktu. Dochází k vyššímu působení interaktivních sil v důsledku jejich většího povrchu na jednotku hmotnosti [88]. V případě nepatrného zmenšování částic, například z 80 na 60  $\mu\text{m}$ , většinou nedojde k výrazné změně tekutosti materiálu. Viditelné změny lze ale očekávat při změně velikosti o řád, například ze 100 na 10  $\mu\text{m}$  [89]. Obrázek 9 znázorňuje příklad grafu distribuce velikosti částic, která slouží k hodnocení zastoupení částic v měřeném vzorku.



**Obrázek 9:** Příklad grafu distribuce velikosti částic [91]

Další důležitou vlastností je tvar a povrch částic. Hladké povrchy poskytují velké kontaktní plochy pro interakci mezi částicemi stejného materiálu (koheze) a částicemi různých materiálů (adheze). Mezi částicemi působí různé druhy sil. Vodíkové vazby nebo kapilární síly mají krátký dosah, Van der Waalsovy, elektrostatické a polární interakce mají dosah velký.

Povrchové vlastnosti částic mohou být inherentní, kam se řadí tvar, struktura a složení nebo získané, které přímo souvisí s okolním prostředím, zejména s podmínkami při skladování. V důsledku toho, je nutné sledovat povrchové vlastnosti, včetně interakcí, chemického složení a energetiky práškových materiálů [88].

### 1.4.6 Smáčivost

Vůbec rekonstituce prášků je proces, který hraje významnou roli při průmyslové výrobě a také bývá důležitým kritériem výběru spotřebitele. Celý proces se skládá ze 4 kroků: smáčení, bobtnání, disperze a rozpuštění. Ke smáčení dochází, pokud částice přijdou do kontaktu s kapalinou, v potravinářství nejčastěji s vodou. [92]. Smáčení je kritickým bodem celého procesu. Práškové materiály se špatnou smáčivostí, mají špatnou afinitu k vodě, což způsobuje tvorbu nehydratačních oblastí.

Smáčivost lze hodnotit pomocí různých metod a postupů. Nejjednodušší je proces ponorného smáčení, kdy se měří čas, který je potřeba k tomu, aby se daná hmota prášku zcela ponořila pod hladinu kapaliny. Další postupy, kterými lze hodnotit smáčivost jsou kapilární, kondenzační a rozptylové smáčení [93].

## 2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 2.1 Přístroje

Analytické váhy KERN ABJ 320-4NM	(Kern & Sohn GmbH, Německo)
Laboratorní váhy KERN 440-35N	(Kern & Sohn GmbH, Německo)
Analyzátor vlhkosti KERN DLB 160-3A	(Kern & Sohn GmbH, Německo)
DVS Intrinsic Plus	(Surface Measurement System, PA, USA)
AquaLab TDL Water Activity Meter	(Mettler GROUP, Inc., WA, USA)
Centrifuga Sorvall ST4R Plus-MD	(Thermo Fisher Scientific, Německo)
Spektrofotometr UltraScan VIS	(HunterLAB, VA, USA)
Spektrofotometr UV-VIS Shimadzu UV-2600	(Shimadzu, Japonsko)
Morphologi 4-ID	(Malvern Panalytical, Velká Británie)
Automatické pipety	(VWR International, PA, USA)
Kuchyňský vařič	(ETA, Česká republika)
Laboratorní nádobí	(Fisher Scientific, Česká republika)
Exsikátory	(Siccobohlander GmbH, Německo)
Skenovací elektronový mikroskop TESCAN VEGA3-SBU	(TESCAN, Česká republika)

### 2.2 Chemikálie

Folin-Ciocalteuovo činidlo	(Sigma-Aldrich, MO, USA)
2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl	(Sigma-Aldrich, MO, USA)
2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazin	(Sigma-Aldrich, MO, USA)
Kyselina gallová	(Sigma-Aldrich, MO, USA)
6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová kyselina	(Sigma-Aldrich, MO, USA)
Kvercetin hydrát $\geq 95\%$	(Sigma-Aldrich, MO, USA)
Hexahydrát chloridu hlinitého	(Lach-Ner, s.r.o., Česká republika)

Uhličitan sodný	(J.T. Baker, Nizozemsko)
Kyselina chlorovodíková 35 %	(Lach-Ner, s.r.o., Česká republika)
Octan sodný	(Sigma-Aldrich, MO, USA)
Kyselina octová 99 %	(Lach-Ner, s.r.o., Česká republika)
Hydroxid sodný	(PENTA, s.r.o., Česká republika)
Methanol $\geq$ 99 %	(Honeywell, NC, USA)
Ethanol 96 %	(Lach-Ner, s.r.o., Česká republika)
Chlorid hořečnatý	(PENTA, s.r.o., Česká republika)
Dusičnan hořečnatý	(PENTA, s.r.o., Česká republika)
Chlorid sodný	(PENTA, s.r.o., Česká republika)
Thymol	(Sigma-Aldrich, MO, USA)
Silikagel	(PENTA, s.r.o., Česká republika)
Destilovaná voda	(Univerzita Pardubice, Česká republika)
Redestilovaná voda – MiliQ system	(Merck Milipore, MA, USA)

## 2.3 Vzorky

K analýzám prováděným v této práci, bylo použito 5 druhů Matcha čajů. Konkrétně se jednalo o druhy Allnature, Imbio, Iswari, Natu a Organis. Ve všech případech se jednalo o jemný prášek zelené barvy a charakteristické Matcha čajové vůně (Obrázek 10–14). Všechny vzorky byly zakoupeny v prosinci 2021.



**Obrázek 10:** Vzorek Allnature



**Obrázek 11:** Vzorek Imbio



**Obrázek 12:** Vzorek Iswari



**Obrázek 13:** Vzorek Natu



**Obrázek 14:** Vzorek Organis

## 2.4 Příprava vzorků

### 2.4.1 Skladování vzorků Matcha čajů

Originální vzorky Matcha čajů byly skladovány v temnu v termostatu při teplotě 25 °C. Pro další analýzy byly vzorky skladovány v prostředí o různé relativní vlhkosti (% RH). Vzorky byly skladovány v exsikátoru nad silikagelem (0 % RH). Vybrané vzorky (Imbio, Iswari a Natu) byly také skladovány ve 3 skříňových exsikátorech, kde byly vystaveny určité relativní vlhkosti. Byly použity suspenze solí  $MgCl_2$  (32,5 % RH),  $Mg(NO_3)_2$  (52,9 % RH) a NaCl (75,3 % RH). Do exsikátoru se suspenzí NaCl byla ještě kromě vzorků umístěna miska s thymolem, jako ochrana proti plísním. Vzorky v prostředí solných suspenzí byly před zahájením analýz takto skladovány po dobu 2 měsíců. Byla u nich pravidelně kontrolována aktivita vody a také stav solných suspenzí, které byly v případě vysychání obnoveny.

### 2.4.2 Příprava čajových extraktů

Pro měření barevnosti a spektrofotometrickou analýzu byly připraveny vodné extrakty všech vzorků Matcha čajů. Jednotlivé extrakty byly připraveny stejným způsobem. Bylo naváženo 0,75 g Matcha čajového prášku z originálního balení a zalito 50 ml destilované vody o teplotě 75 °C. Po 10 minutách louhování byly extrakty odstředěny pomocí centrifugy Sorvall ST4R Plus-MD (6000 rpm, 15 minut). Takto odstředěné extrakty byly rozpipetovány do zkumavek a uchovány v mrazícím boxu při teplotě -25° C. Extrakty pro měření barevnosti byly ihned použity k analýze. Celkem bylo připraveno 5 extraktů pro každý vzorek Matcha čaje. Dva byly použity pro spektrofotometrické analýzy a zbylé tři na měření barevnosti.

## 2.5 Postupy analýz

### 2.5.1 Měření aktivity vody

Aktivita vody byla měřena pro všechny vzorky Matcha čajů ihned po otevření originálního balení. Zároveň byla aktivita vody průběžně kontrolována u vzorků skladovaných ve skříňových exsikátorech, v prostředí o různé relativní vlhkosti (viz. kapitola 2.4.1 Skladování vzorků Matcha čajů). Měření aktivity vody bylo provedeno pomocí přístroje AquaLab TDL při 25 °C. Plastové misky se vzorkem byly umístěny do prostoru pro měření. Hodnoty vodní aktivity byly následně odečteny po zvukové signalizaci z displeje přístroje. Měření pro vzorky z originálního balení bylo provedeno ve 4 opakování (N = 4).

### 2.5.2 Stanovení obsahu sušiny

Byl stanoven obsah sušiny pro všechny vzorky Matcha čajů z originálního balení. Měření bylo provedeno pomocí Analyzátoru vlhkosti KERN DLB 160-3A. Malé množství vzorku (0,5–1,0 g) bylo nadávkováno a rozprostřeno po celé ploše vážicí misky. Měření probíhalo při 105 °C do konstantní hmotnosti vzorku. Obsah sušiny byl následně odečten po zvukové signalizaci z displeje přístroje. Pro každý vzorek byla provedena celkem 2 opakovaná měření (N = 2).

### 2.5.3 Měření barevnosti

Byla měřena barevnost Matcha čajových prášků z originálního balení a také barevnost připravených čajových extraktů (viz. kapitola 2.4.2 Příprava čajových extraktů). Měření bylo provedeno pomocí spektrofotometru UltraScan VIS a barevnost byla hodnocena pomocí měření odrazu (reflektance) světla. V případě měření barevnosti čajových prášků, bylo měření provedeno v obou módech, tedy RSIN, který zahrnuje jak složku difúzní, tak zrcadlovou a RSEX, který měří pouze složku difúzní. Přiměřené množství prášku bylo nanášeno na čajový sáček a přitisknuto na prostor určený k měření. Měření extraktů probíhalo pouze v módu RSIN a to v křemenné kyvetě o délce 50 mm. Ve všech případech byly měřeny parametry  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  a  $h^\circ$ , celkem ve 3 opakování (N = 3).

## 2.5.4 Měření distribuce částic

Pro vzorky z originálního balení Matcha čajů Imbio, Iswari a Natu byla změřena distribuce částic. Měřena byla také pro stejné vzorky skladované v prostředí relativních vlhkostí 0 % RH; 52,9 % RH a 75,3 % RH. Měření bylo provedeno pomocí přístroje Morphologi 4-ID. Nepatrné množství vzorku bylo nadávkováno do disperzní komory o objemu 8 mm<sup>3</sup>. Díky přívodu vzduchu došlo k disperzi veškerého vzorku na podložní sklo. Takto dispergované částice přístroj zanalyzoval pomocí mikroskopu. Byl získán celkový počet částic a jejich relativní zastoupení (%) podle velikosti. Velikost částic (μm) byla rozdělena do frakcí 0–5 μm, 5–10 μm, 10–50 μm a > 50 μm. Měření pro vzorky z originálního balení bylo provedeno ve 3 opakování (N = 3). Pro vzorky uchovávané o různé relativní vlhkosti bylo provedeno 1 měření.

## 2.5.5 Analýza sorpčních vlastností

Byly provedeny analýzy sorpčních vlastností vzorků Matcha čajů. Veškeré měření probíhalo pomocí přístroje DVS Intrinsic Plus. Byly analyzovány vzorky Matcha čajů uchovávaných v prostředí o různé relativní vlhkosti. Přiměřené množství vzorku bylo nadávkováno na ultracitlivou mikrováhu (citlivost: 0,1 μg) do prostředí s řízenou vlhkostí atmosféry. Principem všech měření bylo detekování změn hmotnosti vzorku v čase  $dm/dt$  v prostředí 0–85 % rovnovážné relativní vlhkosti při teplotě 25 °C. Požadovaná relativní vlhkost v okolí vzorku je zajištěna pomocí směsi vzduchu a redestilované vody v odpovídajícím poměru a regulátoru hmotnostního průtoku (200 ccm). Změna hmotnosti vzorku byla kontinuálně monitorována každých 30 sekund. Kritická podmínka pro ukončení měření byla nastavena na  $dm/dt < 0,002$  % po dobu 20 minut. Vzorek byl nejdříve vysušen proudem vzduchu (RH < 0.1 %) po dobu 180 min následovaný adsorpcí a desorpcí. V případě opakovaných izoterem proběhla adsorpce desorpce v rozmezí 30–85 % RH ve třech po sobě jdoucích cyklech. Výsledky všech analýz byly vyjádřeny jako závislost obsahu vlhkosti (mg/g) na aktivitě vody ( $a_w$ ).

### 2.5.5.1 Analýza experimentálních dat pomocí vybraných sorpčních modelů

Pro analýzu sorpčních vlastností vzorků Matcha čajů, skladovaných v exsikátoru nad silikagelem (0 % RH), byly použity modely GAB, Caurie a MultiFreundlich. Tyto sorpční modely popisují Rovnice 5, 6 a 9. Vzorek byl vždy nadávkován na mikrováhu a bylo sledováno jeho chování při adsorpčně-desorpčním procesu v rozmezí 0–85 % rovnovážné relativní

vlhkosti. Pro každé měření byla výsledkem sorpční izoterma, vyjádřená jako závislost obsahu vlhkosti (mg/g) na aktivitě vody ( $a_w$ ). Tyto izotermy byly následně podrobeny sorpční analýze pomocí zmíněných modelů.

Pomocí modelu GAB byly získány odhady parametrů  $M_0$ ,  $C$  a  $K$ , a to pomocí nelineárních odhadů. Počáteční odhady parametrů byly:  $M_0 = 45$ ;  $C = 2$ ;  $K = 0,9$ .

Podobně jako pro model GAB, byly parametry  $A$ ,  $B$ ,  $C$ ,  $D$  modelu MultiFreundlich získány pomocí nelineárních odhadů, Počáteční odhady parametrů byly  $A = 260$ ;  $B = 4$ ;  $C = 65$ ;  $D = 0,6$ . Hodnoty kritické aktivity vody ( $a_{wc}$ ) byly poté získány výpočtem podle Rovnice 10.

Pomocí rovnice modelu Caurie byly získány parametry  $M_0$  a  $c_d$ . Byla sestavena lineární křivka jako závislost  $\ln\left(\frac{1}{M}\right)$  na  $\ln\left(\frac{1-a_w}{a_w}\right)$ . Pomocí rovnice přímky byly vypočteny další parametry: plocha sorpce ( $A$ ,  $m^2/g$ ) a počet adsorbovaných monovrstev ( $N$ ), podle následujících vztahů:

$$S = \frac{54,45}{A} \quad (11)$$

$$N = \frac{2}{S} \quad (12)$$

kde  $S$  představuje směrnici dané rovnice přímky.

Byly porovnány jednotlivé parametry mezi všemi vzorky Matcha čajů a také rozdíly hodnot mezi adsorpčním a desorpčním procesem. Pro všechny vzorky pak byla vypočtena změna plochy sorpce mezi adsorpcí a desorpcí ( $A$ , %).

Shodnost experimentálních dat, zjištěných pomocí modelů GAB a MultiFreundlich, byla hodnocena pomocí střední relativní procentuální odchylky ( $E$ , %), konkrétně mezi experimentálním ( $M_{exp}$ ) a předpokládaným ( $M_{pred}$ ) obsahem vlhkosti, podle rovnice:

$$E = \frac{100}{n} \sum_{i=1}^N \frac{|M_{exp} - M_{pred}|}{M_{exp}} \quad (13)$$

### 2.5.5.2 Stanovení skelného přechodu metodou RAMP

Bylo provedena analýza vybraných vzorků Matcha čajů, které byly skladovány v exsikátoru nad silikagelem (0 % RH). Přístroj totiž umožňuje při určité teplotě stanovit obsah vlhkosti, kde u měřeného vzorku dochází ke skelnému přechodu. To je stav, při kterém materiál přechází ze skelného do gumového stavu. To má za následek výrazné zhoršení fyzikálních vlastností a tím významné snížení údržnosti.

Stanovení skelného přechodu bylo provedeno u vzorků Imbio, Iswari a Natu metodou RAMP. Pomocí této metody lze nastavit určitou rychlost přírůstku rovnovážné relativní vlhkosti v okolí vzorku. Pro každý vzorek bylo provedeno několik měření, kdy byla nastavena různá rychlost přírůstku rovnovážné relativní vlhkosti v rozmezí 0–80 %. Konkrétně pro vzorek Natu byly nastaveny rychlosti přírůstku 2, 6, 8 a 10 % RH/hodinu, pro vzorky Imbio a Iswari pak shodně 4, 6, 8 a 10 % RH/hodinu. Pro každý vzorek byla tedy provedena 4 měření, přičemž byla na rozdíl od ostatních analýz proměřována pouze adsorpce. Z naměřených hodnot změny hmotnosti vzorku [%] na RH [%] byl pro každé měření sestrojen graf, jako závislost  $dm/dRH$  na RH [%]. Data byla proložena polynomem 3. stupně a pro nalezení inflexního bodu byla provedena 1. derivace a následné vyřešení kvadratické rovnice nalezen nejnižší bod křivky odpovídající hodnotě RH na ose x. Z takto získaných hodnot byl sestrojen lineární graf závislosti Obsahu vlhkosti [%] na  $dRH/hod$ , kde byl z úseku rovnice přímky zjištěn obsah vlhkosti [%], při kterém u vzorku Matcha čajů dochází ke skelnému přechodu.

### 2.5.5.3 Sorpční analýza vzorků skladovaných o různé relativní vlhkosti

Byla provedena sorpční analýza vzorků Matcha čajů Imbio, Iswari a Natu, které byly po dobu 8 týdnů skladovány v prostředí relativních vlhkostí 32,5 % RH, 52,9 % RH a 75,3 % RH. Malé množství vzorku bylo nadávkováno na mikrováhu přístroje a po desorpci vzorku (180 min, 0 %RH) byl sledován obsah vlhkosti v průběhu adsorpčně-desorpčního procesu, v rozmezí aktivit vody 0–0,85. Byla hodnocena velikost hystereze, tedy rozdíl obsahu vlhkosti [mg/g] mezi adsorpcí a desorpcí ( $H_{ads.} - H_{des.}$ ) při určité aktivitě vody.

### 2.5.5.4 Sorpční analýza vybraných vzorků pomocí opakujících se adsorpčně-desorpčních cyklů

Byla provedena sorpční analýza vzorků Matcha čajů Imbio, Iswari a Natu, které byly skladovány v exsikátoru nad silikagelem (0 % RH). V této analýze byl sledován obsah vlhkosti

vzorku, respektive měnící se velikost hystereze v průběhu 3 na sebe navazujících adsorpčně-desorpčních cyklů. Měření bylo provedeno v rozmezí aktivit vody 0,3–0,85.

## 2.5.6 Spektrofotometrická analýza

Připravené extrakty vzorků Matcha čajů (viz. kapitola 2.4.2 Příprava čajových extraktů) byly podrobeny spektrofotometrické analýze. K měření byl používán spektrofotometr UV-VIS Shimadzu UV-2600. Byl stanoven celkový obsah fenolických látek (TPC), celkový obsah flavonoidů (TFC) a stanovena antioxidační aktivita s využitím DPPH radikálu a antioxidační aktivita metodou FRAP. Měření bylo u všech stanovení provedeno 1 pro každý extrakt. Z každého vzorku byly analyzovány 2 extrakty.

### 2.5.6.1 Stanovení celkového obsahu fenolických látek

Celý pracovní postup byl převzat z diplomové práce Kateřiny Jelínkové (2018) [94], s následnou modifikací: 1,0 ml dvacetkrát naředěného extraktu Matcha čaje byl napipetován do skleněné zkumavky s víčkem. Následně bylo přidáno 6,0 ml destilované vody a 0,5 ml Folin-Ciocalteuova činidla. Takto připravený roztok byl ponechán 5 minut v temnu při laboratorní teplotě. Následně byl do zkumavky napipetován 1,0 ml 5 %  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Zkumavka byla po promíchání ponechána 60 minut v temnu při laboratorní teplotě. Poté byla změřena absorbance při vlnové délce 765 nm. Stejným způsobem byl připraven i slepý pokus, který obsahoval místo extraktu vzorku 1,0 ml extrakčního činidla. Celková koncentrace fenolických látek (TPC) ve vzorcích Matcha čaje byla vypočítána z kalibrační přímky kyseliny gallové (Příloha 1) a výsledky uvedeny jako ekvivalent kyseliny gallové v mg/g sušiny [mg GAE/g] vzorku Matcha čaje.

Kalibrační řada roztoků kyseliny gallové byla připravena ze zásobního roztoku kyseliny gallové o koncentraci 500 mg/l. Tento zásobní roztok byl připraven navážením 0,05 g kyseliny gallové do 100 ml odměrné baňky, která byla doplněna methanolem. Z tohoto zásobního roztoku byly připraveny kalibrační roztoky o koncentracích 25, 50, 75, 100 a 150 mg/l.

### 2.5.6.2 Stanovení celkového obsahu flavonoidů

Pracovní postup byl převzat z práce Peřkal (2014) [60] a následně modifikován. Do skleněné zkumavky s víčkem bylo napipetováno 2,0 ml daného extraktu Matcha čaje. Byl přidán 1,0 ml 2 %  $\text{AlCl}_3$ , 1,0 ml destilované vody, 1,0 ml 1 M HCl a 1,0 ml  $\text{CH}_3\text{COOH}$ . Takto připravený roztok byl promíchán a inkubován 1 minutu v temnu při laboratorní teplotě. Následně byla změřena absorbance při vlnové délce 425 nm. Pro slepý pokus byla místo  $\text{AlCl}_3$  použita destilovaná voda. Celková koncentrace flavonoidů (TFC) byla vypočítána z kalibrační přímky kvercetinu (Příloha 2) a uvedena v mg/g sušiny [mg KE/g] vzorku Matcha čaje.

Kalibrační řada roztoků kvercetinu byla připravena ze zásobního roztoku kvercetinu o koncentraci 500 mg/l. Zásobní roztok byl připraven navážením 0,05 g kvercetinu do 100 ml odměrné baňky, která byla doplněna methanolem. Z tohoto zásobního roztoku byly ředěním připraveny kalibrační roztoky o koncentracích 5, 12, 18, 30, 42 a 60 mg/l.

### 2.5.6.3 Stanovení antioxidační aktivity s využitím DPPH radikálu

Celý postup byl převzat z diplomové práce Lady Jarešové (2018) [95], s následnou modifikací: Do skleněné zkumavky s víčkem bylo napipetováno 300  $\mu\text{l}$  dvacetkrát zředěného extraktu Matcha čaje a 5,0 ml methanolického roztoku DPPH radikálu. Tento roztok byl promíchán a inkubován 10 minut při laboratorní teplotě v temnu. Poté byla měřena absorbance při vlnové délce 517 nm. Pro slepý pokus bylo použito místo extraktu vzorku extrakční činidlo. Pro každý vzorek byla absorbance přepočítána na % inhibice podle Rovnice 14. Antioxidační aktivita vzorků Matcha čaje byla vypočítána z kalibrační přímky Troloxu (Příloha 3). Výsledky byly vyjádřeny jako ekvivalent Troloxu v mg/g sušiny [mg TE/g] vzorku Matcha čaje.

$$I (\%) = \frac{A_{sp} - A_{vz}}{A_{sp}} \cdot 100 \quad (14)$$

$A_{sp}$ .....absorbance slepého pokusu

$A_{vz}$ .....absorbance vzorku

$I (\%)$ .....inhibice

Kalibrační řada roztoků Troloxu byla připravena ze zásobního roztoku Troloxu o koncentraci 500 mg/l. Zásobní roztok byl připraven navážením 0,05 g Troloxu do 100 ml

odměrné baňky, která byla doplněna methanolem. Z tohoto zásobního roztoku byly ředěním připraveny kalibrační roztoky o koncentracích 10, 20, 60, 100, 120, 150 a 200 mg/l.

#### *2.5.6.4 Stanovení antioxidační aktivity metodou FRAP*

Celý pracovní postup byl převzat z diplomové práce Lady Jarešové (2018) [95] s následnou modifikací: Nejprve byla připravena směs, která obsahovala 20 mM FeCl<sub>3</sub>, 10 mM roztok TPTZ ve 40 mM HCl a 0,3 M octanový pufr o pH 3,6. Jednotlivé roztoky byly smíchány v poměru 1:1:10. 3,0 ml této směsi byly napipetovány do skleněné zkumavky s víčkem a bylo přidáno 300 µl padesátkrát zředěného extraktu vzorku Matcha čaje. Takto připravená směs byla inkubována po dobu 45 minut v temnu při laboratorní teplotě. Následně byla změřena absorbance při vlnové délce 593 nm. Slepý pokus obsahoval místo extraktu vzorku destilovanou vodu. Antioxidační aktivita vzorků Matcha čaje byla vypočítána z kalibrační přímky Troloxu (Příloha 4). Výsledky byly vyjádřeny jako ekvivalent Troloxu v mg/g sušiny [mg TE/g] vzorku Matcha čaje.

Kalibrační řada roztoků Troloxu byla připravena ze zásobního roztoku Troloxu o koncentraci 500 mg/l. Zásobní roztok byl připraven navážením 0,05 g Troloxu do 100 ml odměrné baňky, která byla doplněna methanolem. Z tohoto zásobního roztoku byly ředěním připraveny kalibrační roztoky o koncentracích 20, 30, 40, 50 a 60 mg/l.

## **2.6 Statistické metody**

Parametry sorpčních modelů (rovnice 4 a 9) byly získány pomocí nelineárních regrese (Levenberg-Marquardtova metoda). Pro porovnání výsledků spektrofotometrických měření (barevnost, antioxidační aktivita) byla použito párové porovnání pomocí Duncanova testu shodnosti rozpětí. s využitím programu Statistica CZ (v. 12, StatSoft CR, s.r.o., Česká republika). Parametry rovnice 6 byly získány pomocí lineární regrese s využitím programu Excel (Microsoft 365, Microsoft Corporation, WA, USA). V případě použití korelační analýzy byl vypočítán Pearsonův korelační koeficient  $r$ . Statistické analýzy byly provedeny na hladině významnosti  $p = 0,05$ .

## 3 VÝSELDKY A DISKUZE

### 3.1 Charakterizace vzorků Matcha čajů

#### 3.1.1 Měření aktivity vody

Byly naměřeny aktivity vody originálních vzorků Matcha čajů. Výsledky jsou uvedeny v Tabulce 1.

**Tabulka 1:** Naměřené hodnoty aktivity vody ( $a_w$ ) vzorků Matcha čajů

Allnature	$0,294 \pm 0,012^b$
Imbio	$0,269 \pm 0,012^b$
Iswari	$0,266 \pm 0,004^a$
Natu	$0,349 \pm 0,003^c$
Organis	$0,343 \pm 0,004^c$

aritmetický průměr  $\pm$  směrodatná odchylka ( $N = 4$ ); různá písmenka v horním indexu indikují statisticky významný rozdíl v rámci sloupce ( $p < 0.05$ )

Naměřené hodnoty se pohybovaly v rozmezí 0,266–0,349. Nejnižší hodnota aktivity vody byla naměřena pro vzorek Iswari, jehož aktivita vody je ale srovnatelná se vzorkem Imbio. Naopak nejvyšší hodnota byla zjištěna pro vzorek Natu, následovaným vzorkem Organis.

Z hlediska mikrobiálního růstu, která by měla za následek znehodnocení potravin, popřípadě představovala zdravotní riziko, nepředstavují tyto naměřené hodnoty aktivity vody nebezpečí. Udává se, že naprostá většina mikroorganismů neroste v prostředí  $a_w < 0,6$ , a to ani osmofilní kvasinky. Je potřeba ale dodat, že aktivita vody je pouze jedním z faktorů ovlivňující růst mikroorganismů. Dalšími vnitřními faktory, které ovlivňují růst mikroorganismů, jsou např. obsah živin, pH nebo přítomnost konzervačních a přírodních antimikrobiálních látek. Nelze opomenout také vnější faktory, jako teplota prostředí nebo relativní vlhkost skladování [96].

Aktivita vody také souvisí s chemickými reakcemi, které v potravinách probíhají. Poměrně složitá je závislost úrovně aktivity vody na oxidaci lipidů. Úroveň oxidace lipidů se s klesající aktivitou vody postupně snižuje až k hodnotám  $a_w \sim 0,3$ . Dalším snižováním aktivity vody však dochází znovu k nárůstu oxidace lipidů. Dalším příkladem reakcí je např. enzymatické hnědnutí, jehož úroveň roste s rostoucí aktivitou vody. Maxima dosahuje kolem

$a_w = 0,7$  [97]. Dá se tedy znovu konstatovat, že vzhledem k naměřeným hodnotám  $a_w$  Matcha čajových prášků, je riziko vzniku těchto nežádoucích reakcí relativně nízké.

### 3.1.2 Stanovení obsahu sušiny

Byl stanoven obsah sušiny originálních vzorků Matcha čajů. Naměřené hodnoty jsou uvedeny v Tabulce 2. Stanovený obsah sušiny ve vzorcích Matcha čajů se pohyboval v rozmezí 94,0–95,9 %. Nejnížší obsah sušiny byl zjištěn pro vzorek Organis, naopak nejvyšší pro vzorek Imbio.

**Tabulka 2:** Naměřené hodnoty obsahu sušiny (%) ve vzorcích Matcha čajů

Allnature	$94,7 \pm 0,03^a$
Imbio	$95,9 \pm 0,08^c$
Iswari	$94,7 \pm 0,11^a$
Natu	$94,9 \pm 0,07^a$
Organis	$94,0 \pm 0,25^b$

aritmetický průměr  $\pm$  směrodatná odchylka ( $N = 2$ ); různá písmenka v horním indexu indikují statisticky významný rozdíl v rámci sloupce ( $p < 0.05$ )

### 3.1.3 Měření barevnosti

Byla změřena barevnost prášků Matcha čajů a také barevnost připravených čajových extraktů, a to v obou barevných prostorech  $L^*a^*b^*$  a  $L^*C^*h^\circ$ . Tyto parametry byly u prášků měřeny jak pomocí celkové reflektance (v módu RSIN) (Tabulka 3), tak byla hodnocena pouze difúzní složka odrazu (mód RSEX) (Tabulka 4). Pro čajové extrakty bylo měření provedeno pouze v módu RSIN (Tabulka 5).

**Tabulka 3:** Naměřené parametry barevnosti  $L^*$   $a^*$   $b^*$   $C^*$   $h^\circ$  Matcha čajů (prášek) v módu RSIN

	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$C^*$	$h^\circ$
Allnature	64,4 ± 0,35 <sup>d</sup>	-6,1 ± 0,04 <sup>a</sup>	33,1 ± 0,87 <sup>c</sup>	33,7 ± 0,86 <sup>b</sup>	100,4 ± 0,21 <sup>d</sup>
Imbio	63,1 ± 0,09 <sup>c</sup>	-2,5 ± 0,02 <sup>e</sup>	27,6 ± 0,12 <sup>a</sup>	27,7 ± 0,12 <sup>a</sup>	95,2 ± 0,03 <sup>a</sup>
Iswari	57,3 ± 0,02 <sup>a</sup>	-3,1 ± 0,02 <sup>d</sup>	32,7 ± 0,03 <sup>c</sup>	32,8 ± 0,03 <sup>c</sup>	95,4 ± 0,02 <sup>a</sup>
Natu	60,7 ± 0,04 <sup>b</sup>	-4,9 ± 0,02 <sup>c</sup>	33,0 ± 0,09 <sup>c</sup>	33,4 ± 0,08 <sup>bc</sup>	98,4 ± 0,05 <sup>b</sup>
Organis	66,3 ± 0,11 <sup>e</sup>	-5,0 ± 0,03 <sup>b</sup>	28,4 ± 0,24 <sup>b</sup>	28,9 ± 0,24 <sup>a</sup>	99,9 ± 0,13 <sup>c</sup>

aritmetický průměr ± směrodatná odchylka (N = 3), různá písmenka v horním indexu indikují statisticky významný rozdíl v rámci sloupce (p < 0.05)

**Tabulka 4:** Naměřené parametry barevnosti  $L^*$   $a^*$   $b^*$   $C^*$   $h^\circ$  Matcha čajů (prášek) v módu RSEX

	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$C^*$	$h^\circ$
Allnature	64,8 ± 0,09 <sup>d</sup>	-5,5 ± 0,03 <sup>a</sup>	33,2 ± 0,19 <sup>d</sup>	33,6 ± 0,19 <sup>c</sup>	99,4 ± 0,05 <sup>c</sup>
Imbio	61,7 ± 0,33 <sup>c</sup>	-2,1 ± 0,06 <sup>e</sup>	29,4 ± 0,16 <sup>a</sup>	29,5 ± 0,16 <sup>a</sup>	94,0 ± 0,13 <sup>a</sup>
Iswari	56,9 ± 0,38 <sup>a</sup>	-2,4 ± 0,03 <sup>d</sup>	31,8 ± 0,38 <sup>c</sup>	31,9 ± 0,38 <sup>b</sup>	94,3 ± 0,05 <sup>a</sup>
Natu	59,8 ± 0,58 <sup>b</sup>	-4,1 ± 0,14 <sup>c</sup>	33,7 ± 0,81 <sup>d</sup>	33,9 ± 0,82 <sup>c</sup>	97,0 ± 0,15 <sup>b</sup>
Organis	66,2 ± 0,84 <sup>e</sup>	-4,6 ± 0,16 <sup>b</sup>	28,5 ± 0,54 <sup>b</sup>	28,8 ± 0,55 <sup>a</sup>	99,1 ± 0,18 <sup>c</sup>

aritmetický průměr ± směrodatná odchylka (N = 3), různá písmenka v horním indexu indikují statisticky významný rozdíl v rámci sloupce (p < 0.05)

**Tabulka 5:** Naměřené parametry barevnosti  $L^*$   $a^*$   $b^*$   $C^*$   $h^\circ$  Matcha čajů (nálev)

	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$C^*$	$h^\circ$
Allnature	95,9 ± 0,22 <sup>d</sup>	-9,4 ± 0,12 <sup>d</sup>	35,6 ± 0,63 <sup>b</sup>	36,8 ± 0,60 <sup>b</sup>	104,8 ± 0,38 <sup>c</sup>
Imbio	85,5 ± 0,19 <sup>a</sup>	-6,4 ± 0,06 <sup>a</sup>	47,7 ± 0,65 <sup>e</sup>	48,1 ± 0,64 <sup>e</sup>	97,7 ± 0,13 <sup>a</sup>
Iswari	93,0 ± 0,21 <sup>b</sup>	-9,4 ± 0,03 <sup>d</sup>	44,9 ± 1,14 <sup>d</sup>	45,8 ± 1,12 <sup>d</sup>	101,9 ± 0,26 <sup>b</sup>
Natu	93,5 ± 0,60 <sup>b</sup>	-8,4 ± 0,22 <sup>c</sup>	38,7 ± 2,03 <sup>c</sup>	39,6 ± 2,03 <sup>c</sup>	102,3 ± 0,36 <sup>b</sup>
Organis	94,9 ± 0,12 <sup>c</sup>	-6,2 ± 0,07 <sup>b</sup>	29,1 ± 0,39 <sup>a</sup>	29,8 ± 0,39 <sup>a</sup>	102,0 ± 0,14 <sup>b</sup>

aritmetický průměr ± směrodatná odchylka (N = 3), různá písmenka v horním indexu indikují statisticky významný rozdíl v rámci sloupce (p < 0.05)

Při porovnání naměřených parametrů barevnosti pro prášky Matcha čajů byly zjištěny velice podobné hodnoty při měření jak celkové reflektance, tak pouze její difúzní složky. Oba módy měření je tedy možné použít k měření barevnosti prášků Matcha čajů. Je ale zajímavé si povšimnout vyšších směrodatných odchylek téměř u všech naměřených hodnot v módu RSEX. To by přece jen mohlo naznačovat, že k hodnocení reflektance Matcha prášků je vhodnější měřit obě její složky, tedy jak difúzní, tak zrcadlovou.

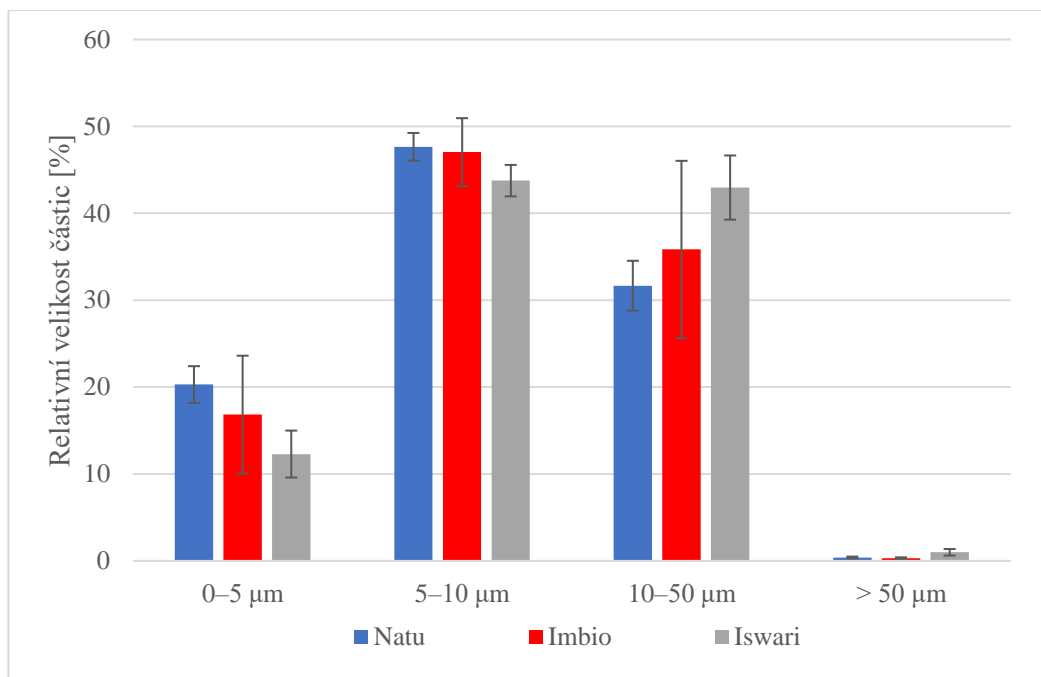
Co se týká samotných parametrů, tak parametr  $L^*$  byl zjištěn v obou módech nejnižší pro vzorek Iswari. Tento vzorek je tedy nejsvětlejší. Naopak jako nejtmavší byl v obou módech stanoven vzorek Organis. Vzhledem k okem viditelné zelené barvě prášků Matcha čajů je vhodné také zhodnotit jejich zelenost, což představuje parametr  $a^*$ . Za nejzelenější můžeme označit vzorek Allnature, což bylo potvrzeno znovu v obou měřených módech. Hodnoty parametru  $h^\circ$ , hodnotící odstín, jsou pro všechny vzorky srovnatelné. Při měření celkové reflektance byly naměřeny v rozmezí  $95,2^\circ$ – $100,4^\circ$ , při měření pouze difúzní složky odrazu pak v rozmezí  $94,0^\circ$ – $99,4^\circ$ .

Co se týká barevnosti odstředěných čajových extraktů, tak jako nejsvětlejší byl zjištěn vzorek Imbio, naopak nejtmavší vzorek Organis. Vzhledem k okem viditelné žluté barvě odstředěných extraktů, je vhodné porovnat jejich žlutost, což představuje parametr  $b^*$ . Nejžlutější byl zjištěn vzorek Imbio, nejméně žlutý pak vzorek Organis, což tedy koresponduje s naměřeným parametrem  $L^*$ . Hodnoty  $h^\circ$  se pohybovaly v rozmezí  $97,7^\circ$ – $104,8^\circ$ .

Zároveň byla provedena korelační analýza mezi naměřenými parametry barevnosti Matcha prášků a čajových extraktů v módu RSIN. Mezi parametry  $L^* a^* b^*$  a  $C^*$  nebyla nalezena významná korelace. U parametru  $h^\circ$  však korelační koeficient  $r$  dosáhl hodnoty 0,755 ( $p < 0,001$ ). Mezi hodnotami  $h^\circ$  pro prášek a vodný extrakt existuje tedy vzájemná souvislost.

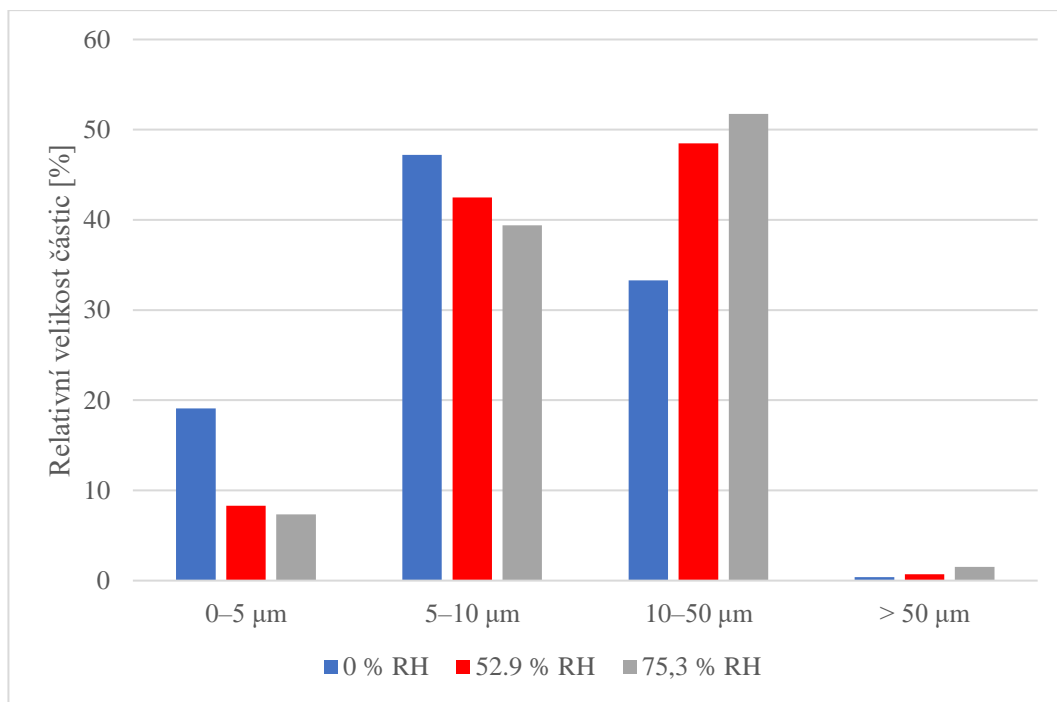
#### 3.1.4 Měření distribuce částic vybraných vzorků Matcha čajů

Byla zjištěna velikost částic vybraných vzorků Matcha čajů. Velikost částic byla rozdělena do frakcí  $0$ – $5 \mu\text{m}$ ,  $5$ – $10 \mu\text{m}$ ,  $10$ – $50 \mu\text{m}$  a  $> 50 \mu\text{m}$ . Byl také zjištěn celkový počet částic prášků Matcha čajů, které byly použity k měření. Z těchto dat byl sestrojen distribuční graf relativního zastoupení velikosti částic pro vzorky Imbio, Iswari a Natu z originálního balení (Obrázek 15). Pro stejné vzorky, ovšem skladované v prostředí o různých relativních vlhkostech byly rovněž sestrojeny distribuční grafy relativního zastoupení částic (Obrázek 16–18).

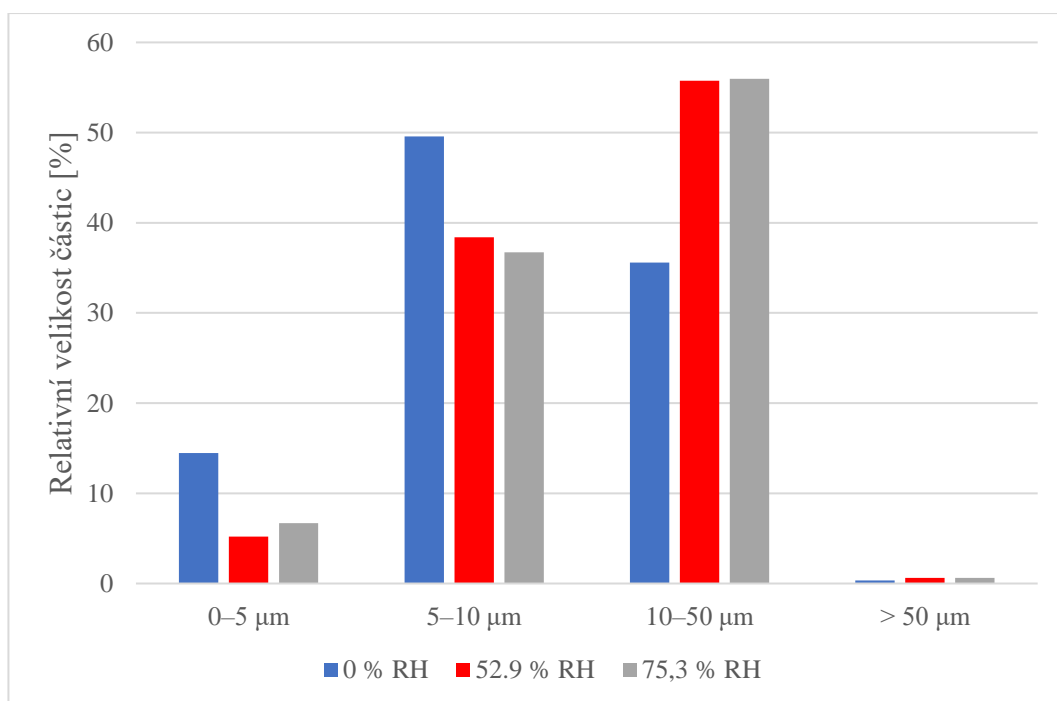


**Obrázek 15:** Relativní zastoupení částic vzorků Natu, Imbio a Iswari

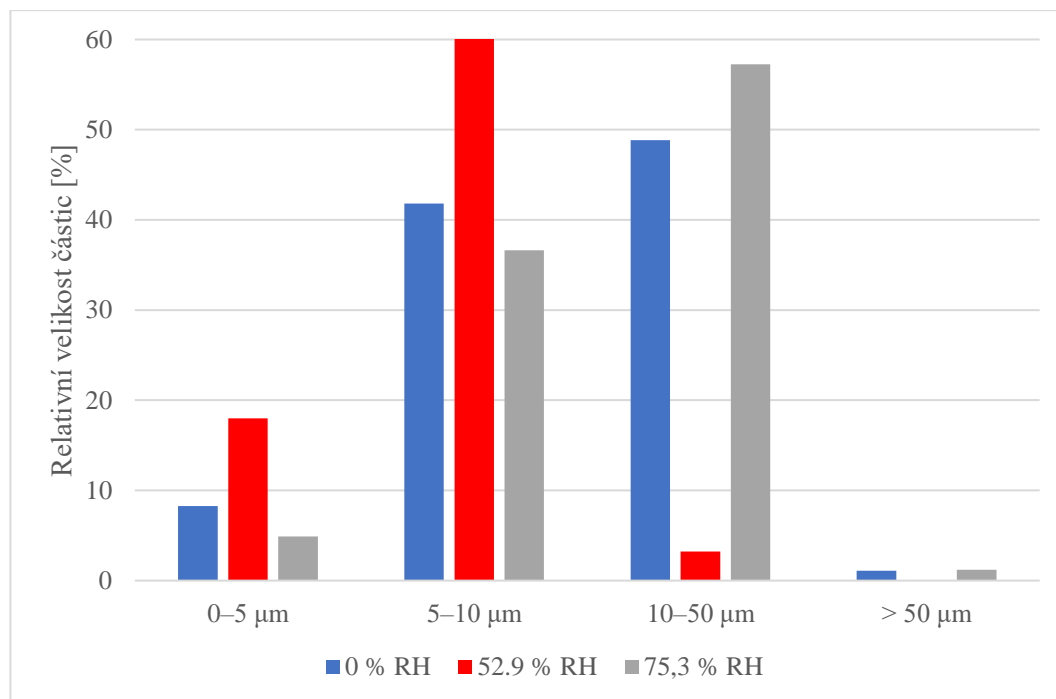
Z Obrázku 15 je patrná jistá podobnost v relativním zastoupení velikosti částic mezi proměřovanými vzorky. Největší množství částic, konkrétně téměř 50 % je zastoupeno ve velikostní frakci 5–10 μm. Mírný posun je zřetelný pro vzorek Iswari, kde se více než 40 % částic nachází taktéž ve frakci 10–50 μm. U všech vzorků bylo rovněž zjištěno pouze minimální zastoupení částic > 50 μm (< 1 %). Je třeba si povšimnout také rozdílných směrodatných odchylek, v podobě chybových úseček, především pro vzorek Imbio ve frakci 10–50 μm, kde hodnota směrodatné odchylky činí asi 20 %. Vůbec rozdílné směrodatné odchylky mezi jednotlivými měřeními v rámci jednoho vzorku mohou být způsobeny nedostatečnou dispergací vzorku, popřípadě překryvem částic na podložním sklu.



**Obrázek 16:** Relativní zastoupení částic vzorku Natu skladovaného při různých relativních vlhkostech (RH)



**Obrázek 17:** Relativní zastoupení částic vzorku Imbio, skladovaného při různých relativních vlhkostech (RH)



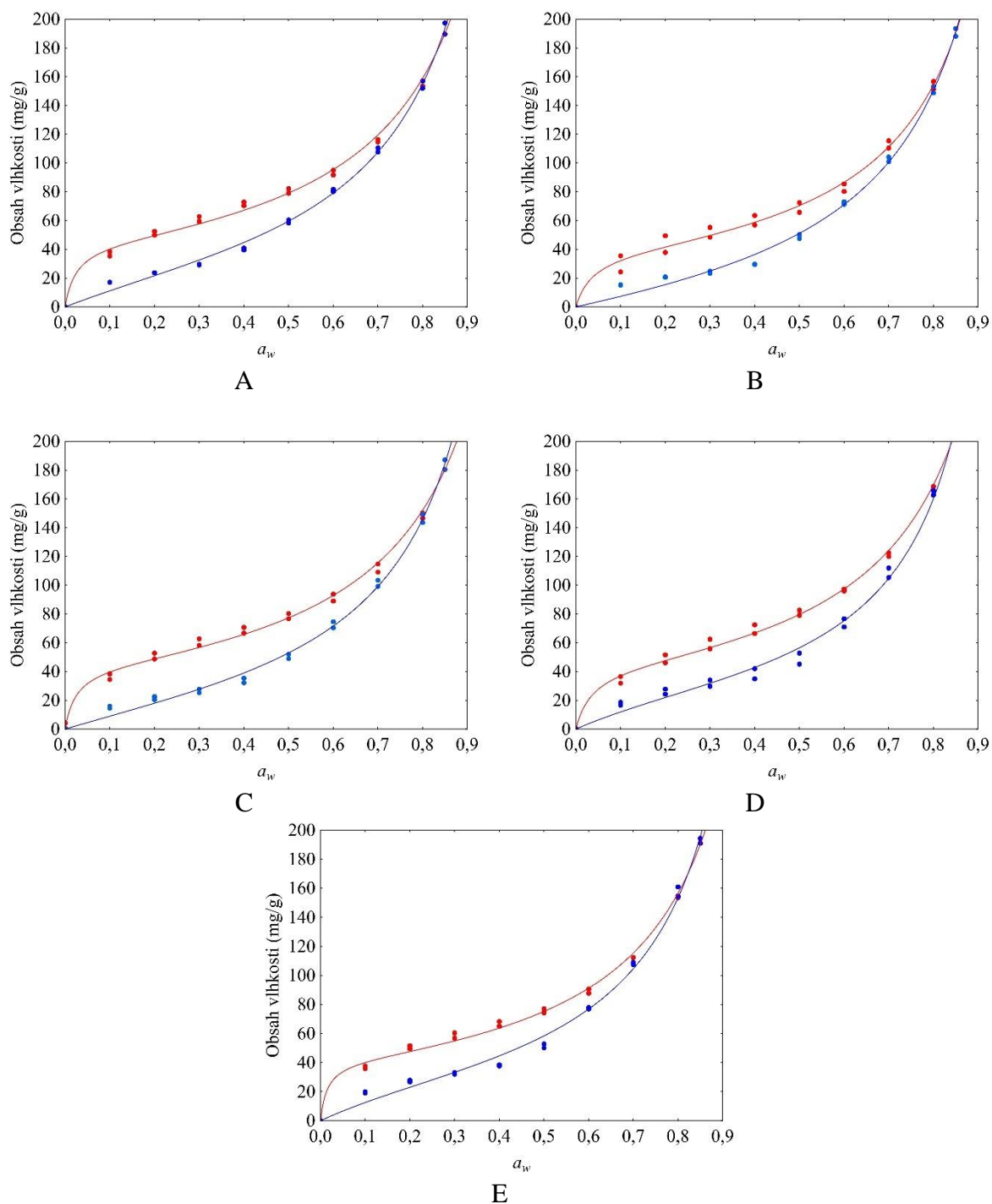
**Obrázek 18:** Relativní zastoupení částic vzorku Iswari, skladovaného při různých relativních vlhkostech (RH)

Z Obrázků 16 a 17 je viditelné, že pro vzorek Natu a Imbio byl potvrzen původní předpoklad, že se zvyšující se relativní vlhkostí skladování, dojde ke zvětšování velikosti částic. Při skladování o relativní vlhkosti 0 % RH, se až 50 % všech částic nachází v frakci 5–10 μm. Naopak skladování při vyšších relativních vlhkostech způsobí zvětšování částic, tedy viditelný posun do frakce 10–50 μm. Je pravděpodobné, že pro vzorek Iswari (Obrázek 18) platí stejný předpoklad, který je patrný porovnáním výsledků měření vzorků skladovaných o relativních vlhkostech 0 % RH a 75,3 % RH, kde je jasně patrný podobný posun jako u předešlých vzorků. Při měření vzorku skladovaného při relativní vlhkosti 52,9 % RH zřejmě došlo k chybě při měření, způsobené špatným nadávkováním vzorku do disperzní komory.

## 3.2 Analýza sorpčních vlastností vzorků Matcha čajů

### 3.2.1 Sorpční analýza základních izoterem

Byly naměřeny sorpční izotermy vzorků Matcha čajů, které byly skladovány v exsikátoru nad silikagelem (0 % RH). Tyto izotermy jsou zobrazeny na Obrázku 19. Měření bylo vždy provedeno ve 2 opakování (N = 2).



**Obrázek 19:** Adsorpční (modře) a desorpční (červeně) izotermy vzorků Matcha čajů A) Allnature, B) Imbio, C) Iswari, D) Natu, E) Organix

Naměřené izotermy se mezi jednotlivými vzorky Matcha čajů nijak neliší. Podle obecných tvarů izoterem, které se rozlišují (viz. Obrázek 7 [70]), se izotermy Matcha čajů

nejvíce blíží 2. typu, zejména je tento tvar patrný z desorpčních křivek. Při adsorpci si lze povšimnout nepatrného nárůstu obsahu vlhkosti v rozmezí aktivit vody 0,1–0,5. U vyšších hodnot aktivit vody ( $a_w > 0,5$ ) dochází při adsorpci k mnohem rychlejšímu nárůstu obsahu vlhkosti až k hodnotám 200 mg/g. To by mohlo naznačovat, že začíná převažovat sorpce vody do vícevrstev, tedy voda volná a potravina je tím pádem mnohem více náchylná k mikrobiálnímu kažení a následné degradaci. Při desorpci je rovnovážný obsah vlhkosti vždy vyšší v téměř celém rozsahu měření (0,1–0,8  $a_w$ ). Tento jev se nazývá hystereze a může být vysvětlen nevratnými změnami v materiálu během adsorpce vlhkosti, jak bylo zjištěno pro materiál bohatý na sacharidy [98, 99].

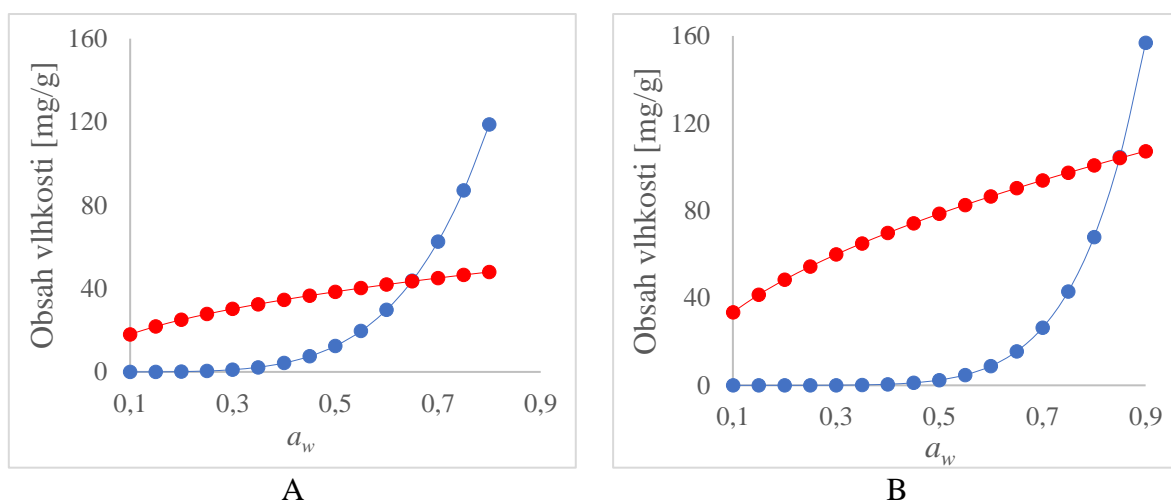
Pomocí rovnic GAB, MultiFreundlich a Caurie byly zjištěny parametry sorpčních izoterem Matcha čajů. Získané odhady parametrů izoterem modelů GAB, MultiFreundlich a Caurie jsou uvedeny v Tabulce 6.

**Tabulka 6:** Odhady parametrů modelů GAB, MultiFreundlich a Caurie popisující izotermy vzorků Matcha čajů

Parametry izoterem	Allnature		Imbio		Iswari		Natu		Organis	
	Adsorpce	Desorpce	Adsorpce	Desorpce	Adsorpce	Desorpce	Adsorpce	Desorpce	Adsorpce	Desorpce
<i>GAB</i>										
$M_0$ (mg/g)	45,06	44,55	47,17	40,47	41,87	44,00	36,39	44,35	39,28	41,13
$C$	2,83	45,76	1,67	33,89	2,33	46,43	3,82	30,10	3,82	73,60
$K$	0,93	0,90	0,93	0,93	0,94	0,89	0,98	0,93	0,95	0,92
$E$ (%)	8,31	4,01	12,94	7,68	10,20	3,96	10,47	3,47	10,32	3,91
<i>MultiFreundlich</i>										
$A$	259,6	308,0	295,7	286,9	267,3	274,3	347,0	331,4	286,7	303,1
$B$	4,20	7,55	3,89	6,22	4,07	7,27	4,80	7,08	3,95	6,83
$C$	65,61	110,9	36,35	96,21	47,05	106,6	53,34	113,4	43,40	98,75
$D$	0,63	0,48	0,38	0,47	0,51	0,47	0,47	0,53	0,33	0,43
$E$ (%)	4,57	2,11	4,38	7,48	3,72	2,93	5,10	3,19	2,89	1,79
$a_{wc}$	0,68	0,87	0,55	0,83	0,61	0,87	0,65	0,85	0,59	0,84
<i>Caurie</i>										
$M_0$ (mg/g)	13,49	20,47	12,42	18,77	12,63	20,46	13,53	19,53	14,02	20,13
$c_d$ (g/ml)	7,07	10,42	6,56	9,61	6,65	10,41	7,09	9,99	7,32	10,27
$A$ (m <sup>2</sup> /g)	83,47	134,3	78,70	121,4	81,21	137,6	83,96	121,4	88,99	133,8
$N$	3,07	4,93	2,89	4,46	2,98	5,05	3,08	4,46	3,27	4,92
$A$ (změna %)	60,90		54,20		69,45		44,53		50,42	

Pomocí modelu GAB byl zjištěn obsah vody v monovrstvě ( $M_0$ ) v průběhu adsorpčně-desorpčních procesů vzorků Matcha čajů. V průběhu adsorpce se obsah vody v monovrstvě pohyboval v rozmezí 36,39–47,17 mg/g vzorku Matcha čajů. Nejvyšší obsah byl zjištěn pro vzorek Imbio, nejmenší pak pro vzorek Natu. V průběhu desorpčního procesu byly zjištěny srovnatelné hodnoty  $M_0$  jako během adsorpce. Pohybovaly se v rozmezí 40,47–44,55 mg/g. Vzhledem k vypočítaným hodnotám procentuální relativní odchylky (E) lze ale konstatovat, že model GAB je pro vzorky Matcha čajů vhodnější použít k hodnocení desorpčního procesu. Byly totiž zjištěny menší procentuální relativní odchylky (E). Například pro vzorek Natu byla zjištěna relativní odchylka 3,47 % při desorpci, oproti tomu při adsorpci 10,47 %. Vůbec u vzorků Imbio, Iswari, Natu a Organis byly hodnoty relativních odchylek  $> 10$  %.

Pomocí zjištěných parametrů modelu MultiFreundlich byla stanovena kritická aktivita vody ( $a_{wc}$ ) (Rovnice 10). Průběh adsorpce a desorpce vody do monovrstvy a vícevrstev u vzorku Natu znázorňuje Obrázek 20. Červená křivka symbolizuje obsah vlhkosti v monovrstvě, modrá pak obsah vlhkosti ve vícevrstvách. Průsečík těchto křivek pak udává onu kritickou aktivitu vody. Grafy popisující tento proces pro další vzorky Matcha čajů jsou uvedeny v Příloze 5.



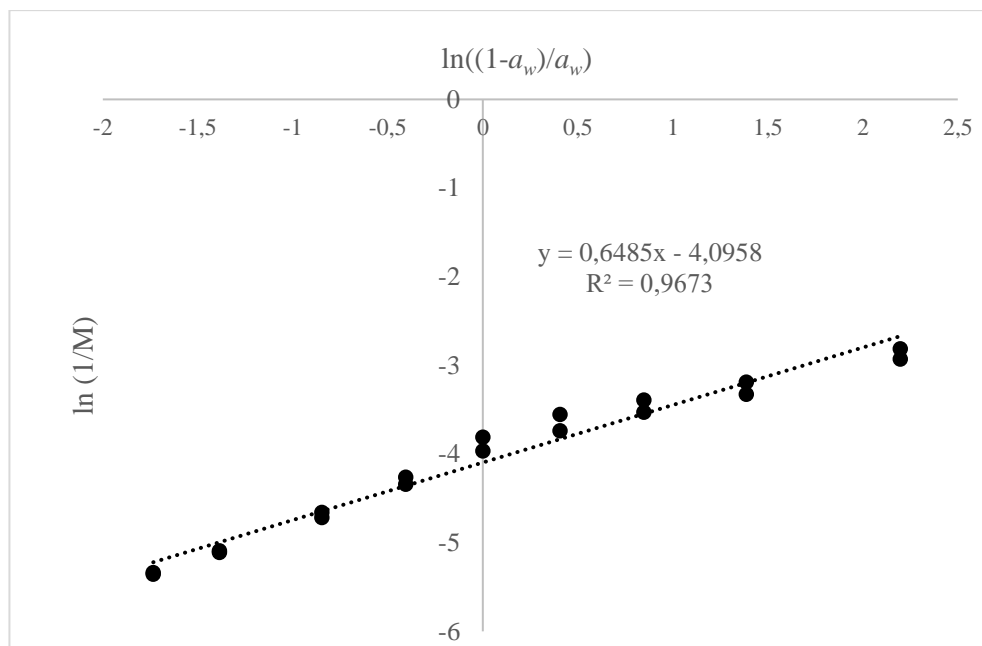
**Obrázek 20:** Obsah vlhkosti v monovrstvě (červeně) a vícevrstvách (modře) pro vzorek Natu během A) adsorpčního a B) desorpčního procesu

Ze získaných grafů popisující sorpci vody do monovrstvy, respektive vícevrstev je patrné, že při adsorpci je obsah vlhkosti ve vzorcích s  $a_w < 0,4$  tvořen převážně vodou adsorbovanou v monovrstvě. Dalším zvyšováním aktivity vody je ale patrný nárůst obsahu vlhkosti ve vícevrstvách. Od hodnoty  $a_w > 0,65$  (pro vzorek Natu) začne dominovat obsah vlhkosti ve vícevrstvách, tedy je zde zvýšené riziko degradace vlivem mikrobiální kontaminace.

Během desorpce je podle daného modelu většina vody v monovrstvě, pro vzorek Natu ( $a_w < 0,85$ ). To ale není pravděpodobné. Zřejmě došlo vlivem sorpce k reorganizaci materiálu, čímž došlo k odhalení některých dalších aktivních center, které váží vody pevnou vazbou.

Hodnoty  $a_{wc}$  se pro všechny vzorky Matcha čajů během adsorpce pohybovaly v rozmezí 0,55–0,68. Nejnižší  $a_{wc}$  byla zjištěna pro vzorek Imbio, nejvyšší pak pro vzorek Allnature. Lze tedy konstatovat, že vzorek Allnature je z hlediska možné rostoucí aktivity vody nestabilnější. Naopak vzorek Imbio je z hlediska možné degradace vlivem sorpce vody a následného kažení vlivem mikrobiální kontaminace nejrizikovější. Jelikož model MultiFreundlich obsahuje celkem 4 parametry, je k hodnocení sorpčních vlastností, v porovnání se 3parametrovým modelem GAB, vhodnější. To bylo potvrzeno nižšími hodnotami procentuálních relativních odchylek (E). Konkrétně byly hodnoty relativních odchylek u všech vzorků během adsorpce i desorpce  $< 10 \%$ .

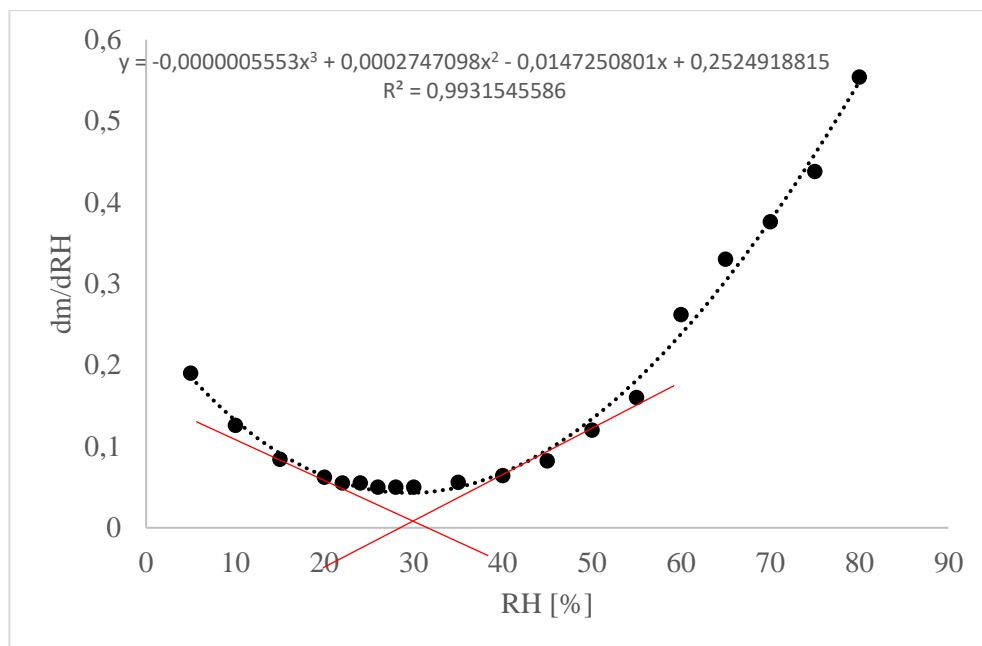
Pomocí modelu Caurie byly zjištěn obsah vlhkosti v monovrstvě  $M_0$  (mg/g), hustota sorbované vody  $c_d$  (g/ml), počet adsorbovaných monovrstev  $N$  a také plocha sorpce  $A$  (m<sup>2</sup>/g). Nejdříve byla sestrojena závislost podle Rovnice 6 (Obrázek 21) a zjištěny hodnoty parametrů  $M_0$  a  $c_d$ . Následně byly z parametrů přímky podle Rovnic 11–12 vypočteny zbylé parametry  $A$  a  $N$ . Mezi vzorky Matcha čajů nebyly zjištěny výrazné rozdíly. Hodnoty se ale v rámci každého vzorku výrazně liší mezi izotermou adsorpce a desorpce. Z těchto naměřených parametrů byla proto sledována změna plochy sorpce ( $A$ , %) mezi adsorpčním a desorpčním procesem každého vzorku. Byly zjištěny změny plochy sorpce v rozmezí 44,53–69,45 %. Nejnižší pro vzorek Natu, nejvyšší pak pro vzorek Iswari.



**Obrázek 21:** Závislost  $\ln\left(\frac{1}{M}\right)$  na  $\ln\left(\frac{1-a_w}{a_w}\right)$  pro výpočet parametrů modelu Caurie při adsorpci pro vzorek Natu

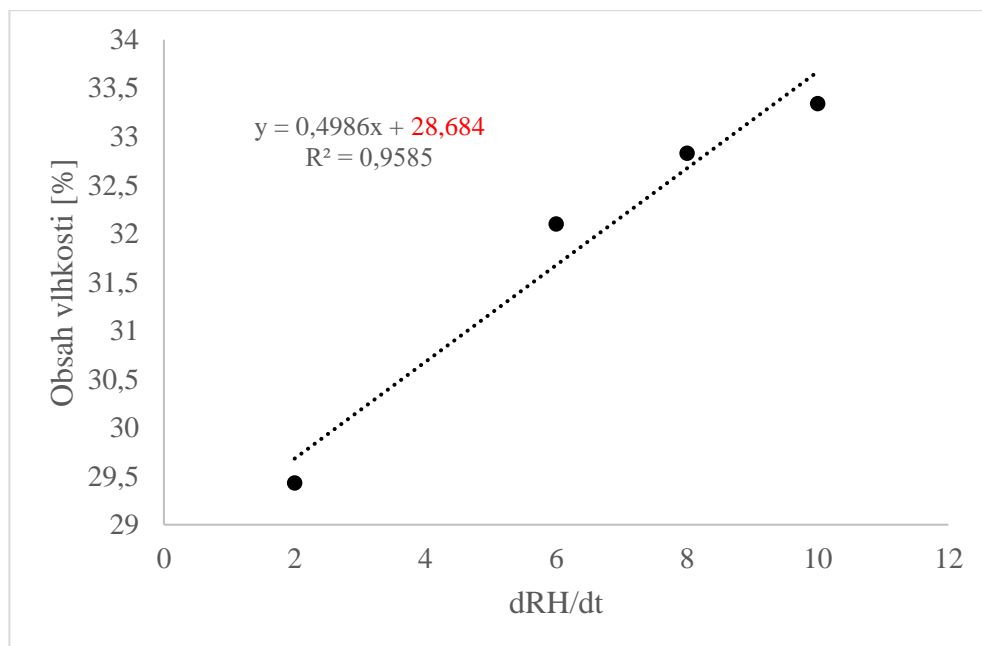
### 3.2.2 Stanovení skelného přechodu metodou RAMP

Metodou RAMP byl u vzorků Imbio, Iswari a Natu, skladovaných v exsikátoru nad silikagelem (0 % RH), stanoven obsah vlhkosti, při kterém dochází ke skelnému přechodu. Příklad nalezení nejnižšího bodu křivky při přírůstku relativní vlhkosti (2 % RH/hodinu) pro vzorek Natu je uveden na Obrázku 22. Tečny slouží ke grafickému znázornění pro nalezení nejnižšího bodu křivky.



**Obrázek 22:** Závislost  $dm/dRH$  na relativní vlhkost [%] pro vzorek Natu a nalezený nejnižší bod křivky

Dále Obrázek 23 vyjadřuje lineární závislost obsahu vlhkosti vzorku Natu na zvyšující se rychlost přírůstku relativní vlhkosti za hodinu. Tato lineární závislost pro vzorek Imbio a Iswari je zobrazena v Příloze 6. Pro vzorek Iswari je lineární závislost, vzhledem k výraznému vychýlení bodu, vyjádřena pouze ze 3 bodů. I přes značnou nepřesnost je patrné, že ke skelnému přechodu dochází při podobném obsahu vlhkosti (při 25 °C) jako u ostatních měřených vzorků Matcha čajů. Porovnáním metody DVS a diferenční skenovací kalorimetrie bylo zjištěno, že výsledky stanovení teploty a vlhkosti skelného přechodu jsou podobné, nicméně metodu DVS lze použít pro odhad obsahu vlhkosti, při kterém dochází ke skelnému přechodu [100, 101].



**Obrázek 23:** Závislost obsahu vlhkosti vzorku Natu na dRH/dt

Obsah vlhkosti [%], při kterém dojde u vzorků Matcha čajů ke skelnému přechodu, vyjadřuje úsek rovnice těchto přímk. Výsledky pro všechny měřené vzorky jsou uvedeny v Tabulce 7.

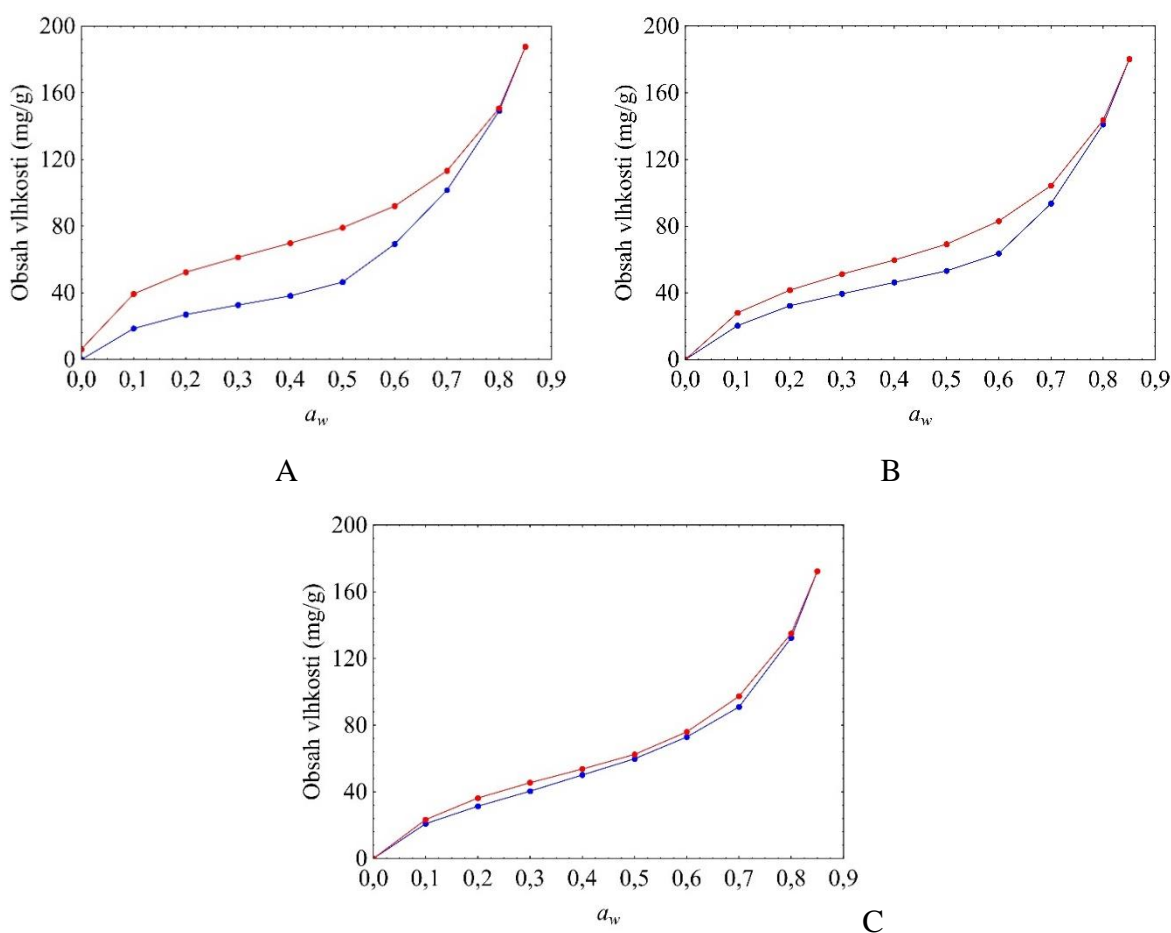
**Tabulka 7:** Obsah vlhkosti (%), při kterém dojde ke skelnému přechodu u vzorků Matcha čajů

	Skelný přechod (obsah vlhkosti %)
Imbio	26,7
Iswari	26,9
Natu	28,7

Nejnižší obsah vlhkosti, při kterém dojde ke skelnému přechodu, a tím snížení údržnosti, byl zjištěn pro vzorek Imbio (26,7 %), naopak nejvyšší pro vzorek Natu (28,7 %). Vzorek Natu lze tedy z hlediska skelného přechodu, braného jako měřítko údržnosti, označit jako nejvíce údržný. Vzhledem k naměřeným hodnotám obsahu vlhkosti, respektive sušiny (Tabulka 2) Matcha čajů z originálního balení je ale jasné, že nepředstavují riziko vzniku skelného přechodu a tím změnu fyzikálních vlastností, které mohou mít nepříznivý vliv na údržnost potraviny.

### 3.2.3 Sorpční izotermy vzorků skladovaných v podmínkách s různou relativní vlhkostí

Byla sledována velikost hystereze během adsorpčně-desorpčního procesu u vzorků Imbio, Iswari a Natu, které byly díky přítomnosti solných suspenzí, vystaveny různé relativní vlhkosti (% RH). Obrázek 24 představuje sorpční chování vzorku Natu při adsorpčně-desorpčním procesu, uchovávaného v prostředí solných suspenzí a)  $\text{MgCl}_2$  (32,5 % RH), b)  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$  (52,9 % RH) a c)  $\text{NaCl}$  (75,3 % RH). V tomto případě představují křivky pouhé spojení experimentální bodů, nejedná se tedy o izotermy. Modře je vyznačen průběh adsorpce, červeně desorpce. Obrázky popisující chování vzorků Imbio a Iswari jsou uvedeny Příloze 7.

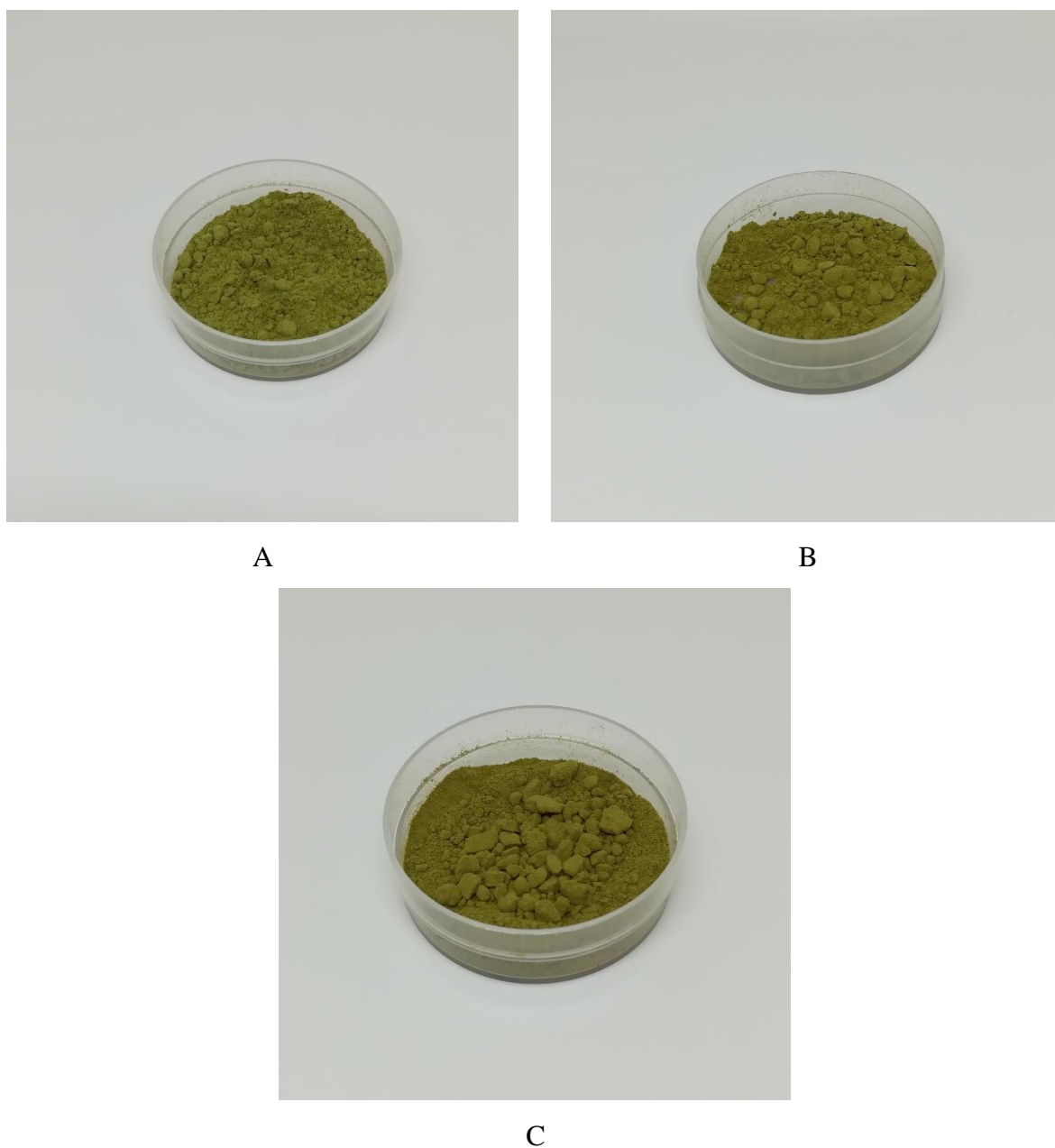


**Obrázek 24:** Sorpční chování vzorku Natu, skladovaného při relativních vlhkostech A) 32,5 % RH; B) 52,9 % RH; C) 75,3 % RH

Z Obrázku 24 je jasně patrné odlišné sorpční chování vzorku Natu, respektive velikost hystereze. Je zřejmé, že se zvyšující se relativní vlhkostí vzduchu, při které je vzorek skladován, dochází ke snižování velikosti hystereze v rozsahu aktivit vody 0,0–0,8. Například při  $a_w = 0,5$

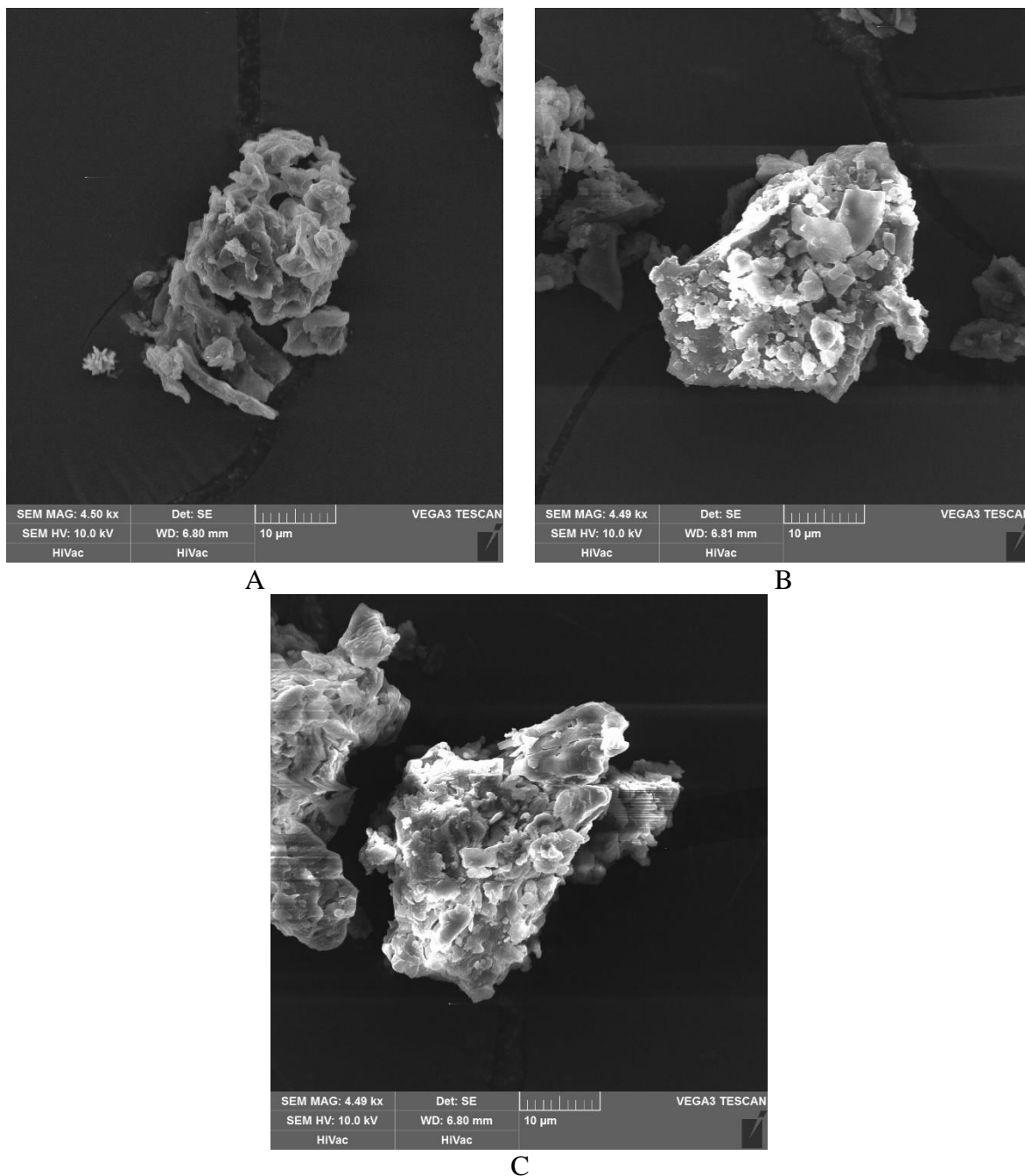
byl pro vzorek Natu zjištěn rozdíl mezi obsahem rovnovážné vlhkosti při adsorpci a desorpci 32,7 mg/g (32,5 % RH), 16 mg/g (52,9 % RH) a 2,6 mg/g (75,3 % RH). Podobné výsledky byly zjištěny i pro vzorky Imbio a Iswari. Je tedy předpoklad, že s dalším zvyšováním relativní vlhkosti, by došlo k dalšímu zmenšování hystereze.

S tímto rozdílným sorpčním chováním souvisí i samotný vzhled vzorků Matcha čajů, který se výrazně liší v závislosti na relativní vlhkosti skladování. Z Obrázku 25 je zřejmá zvyšující se hrudkovitost vzorku Natu s rostoucí relativní vlhkostí skladování. V Příloze 8 jsou pak uvedeny fotografie vzorků Imbio a Iswari, na kterých je zvyšující se hrudkovitost rovněž patrná.



**Obrázek 25:** Fotografie vzorku Natu skladovaného v prostředí relativních vlhkostí A) 32,5 % RH; B) 52,9 % RH; C) 75,3 % RH

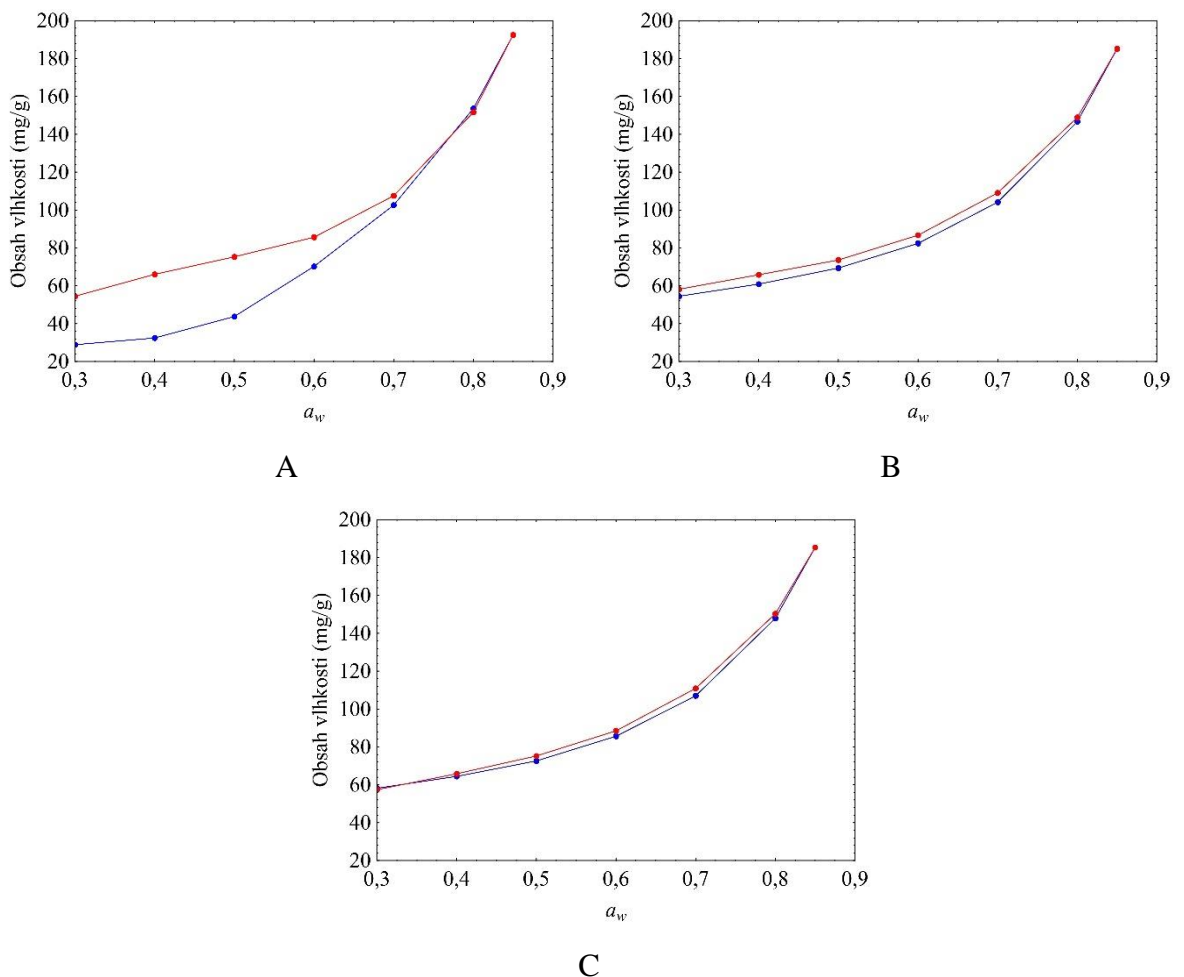
Pomocí skenovacího elektronového mikroskopu TESCAN VEGA 3-SBU byl ještě pro úplnost pozorován detail částic vzorku Natu skladovaného při relativních vlhkostech 32,5 % RH; 52,9 % RH a 75,3 % RH (Obrázek 26). Částice vzorku skladovaného při vlhkosti 32,5 % (Obrázek 26A) vykazuje nesoudržnost, jsou zde viditelné volné prostory. Skladováním při 52,9 a 75,3 % RH jsou částice více kompaktní, soudržné (Obrázek 26B, C).



**Obrázek 26:** Vzhled částic vzorku Natu skladovaného při relativních vlhkostech A) 32,5 % RH; B) 52,9 % RH; C) 75,3 % RH

### 3.2.4 Sorpční analýza vybraných vzorků pomocí opakujících se adsorpčně-desorpčních cyklů

V reálných podmínkách skladování není pravděpodobné dosažení  $RH < 30 \%$  a navíc s konstantní hodnotou po celou dobu skladování. Vlhkost prostředí se může měnit v čase. Proto bylo sledováno sorpční chování při opakujících se adsorpčně-desorpčních cyklech v rozmezí aktivit vody 0,3–0,85 u vzorků Imbio, Iswari a Natu. Obrázek 27 představuje sorpční chování vzorku Natu během tří následně se opakujících se adsorpčně-desorpčních cyklů. Podobně jako v předešlé analýze, představují křivky pouze spojení experimentálních bodů. Modře je vyznačen průběh adsorpce, červeně desorpce. Obrázky popisující chování vzorků Imbio a Iswari jsou uvedeny v Příloze 9.



**Obrázek 27:** Sorpční chování vzorku Natu během 3 opakujících se adsorpčně (modře)-desorpčních (červeně) cyklů A) 1. cyklus; B) 2. cyklus; C) 3. cyklus.

Z Obrázku 27 je jasně patrné výrazné zmenšení velikosti hystereze pro vzorek Natu při opakujících se adsorpčně-desorpčních cyklech. Výrazné snížení hystereze je sledováno v rozmezí aktivit vody 0,3–0,7. Lze říct, že už 2. adsorpčně-desorpční cyklus má za následek snížení hystereze na minimum. Stejně výsledky byly zjištěny i pro vzorky Imbio a Iswari.

### 3.3 Spektrofotometrické analýza vzorků Matcha čajů

Pomocí spektrofotometrických analýz byl ve vodných extraktech vzorků Matcha čajů stanoven celkový obsah fenolických látek (TPC), celkový obsah flavonoidů (TFC), byla stanovena antioxidační aktivita s využitím DPPH radikálu a antioxidační aktivita metodou FRAP. Výsledky analýz jsou uvedeny v Tabulce 8.

**Tabulka 8:** Naměřené hodnoty spektrofotometrické analýzy vzorků Matcha čajů

	TPC [mg GAE/g]	TFC [mg KE/g]	DPPH [mg TE/g]	FRAP [mg TE/g]
Allnature	74,65 ± 4,9 <sup>a</sup>	1,30 ± 0,1 <sup>b</sup>	145,3 ± 7,7 <sup>a</sup>	132,4 ± 1,5 <sup>ab</sup>
Imbio	86,67 ± 3,4 <sup>bc</sup>	1,88 ± 0,1 <sup>c</sup>	192,2 ± 9,9 <sup>b</sup>	127,2 ± 1,9 <sup>a</sup>
Iswari	93,51 ± 8,3 <sup>bc</sup>	1,32 ± 0,2 <sup>b</sup>	188,5 ± 12,8 <sup>b</sup>	145,6 ± 4,2 <sup>b</sup>
Natu	97,52 ± 2,5 <sup>a</sup>	0,69 ± 0,1 <sup>a</sup>	188,5 ± 6,0 <sup>b</sup>	151,9 ± 3,8 <sup>c</sup>
Organis	86,67 ± 5,0 <sup>abc</sup>	0,87 ± 0,1 <sup>a</sup>	188,5 ± 1,03 <sup>b</sup>	141,8 ± 6,0 <sup>b</sup>

TPC, celkový obsah fenolických látek; TFC, celkový obsah flavonoidů; GAE, ekvivalent kyseliny galové; KE, ekvivalent katechinu; TE, ekvivalent troloxu; aritmetický průměr ± směrodatná odchylka (N = 2); různá písmenka v horním indexu indikují statisticky významné rozdíly v rámci sloupce (p < 0,05)

Celkový obsah fenolických látek vyjádřený jako ekvivalent kyseliny galové v mg/g sušiny [mg GAE/g] byl pro vzorky Matcha čajů stanoven v rozmezí 74,65–97,52 mg GAE/g. Nejnižší obsah fenolických látek byl zjištěn u vzorku Allnature, nejvyšší naopak u vzorku Natu. Z fenolových sloučenin, mají v Matcha čaji významné postavení zejména fenolové kyseliny, jako např. kyselina gallová, p-hydroxybenzoová nebo protokatechová. Koláčková a kol. (2020)

ve své práci mimo jiné stanovili celkový obsah fenolových sloučenin ve vodných extraktech vzorků Matcha čajů v rozmezí 64,4–93,9 mg GAE/g [32]. Je zde tedy jistá shoda v dosažených výsledcích.

Celkový obsah flavonoidů vyjádřený jako ekvivalent kvercetinů v mg/g sušiny [mg KE/g] byl pro vzorky Matcha čajů stanoven v rozmezí 0,69–1,88 mg KE/g. Nejnižší obsah flavonoidů byl zjištěn u vzorku Natu, nejvyšší pak u vzorku Imbio.

Antioxidační aktivita byla s využitím DPPH radikálu, vyjádřená jako ekvivalent Troloxu v mg/g sušiny [mg TE/g], pro vzorky Matcha čajů stanovena v rozmezí 145,3–192,2 mg TE/g. Nejnižší antioxidační aktivita byla zjištěna u vzorku Allnature, nejvyšší u vzorku Imbio. Koláčková a kol. (2020) stanovili antioxidační aktivitu pro vzorky Matcha čajů v rozmezí 169–231 mg TE/g [32]. Drobné odchylky ve výsledcích mohou být způsobeny především rozdílnými druhy analyzovaných Matcha čajů, popřípadě odlišným stářím roztoku DPPH radikálu, který byl při analýzách použit.

Antioxidační aktivita metodou FRAP, vyjádřená taktéž v mg TE/g sušiny, byla pro vzorky Matcha čajů zjištěna v rozmezí 127,2–151,9 mg TE/g. Zajímavé je, že nejnižší antioxidační aktivita byla zjištěna pro vzorek Imbio, u kterého byla s využitím DPPH radikálu stanovena antioxidační aktivita nejvyšší. Nejvyšší antioxidační aktivita byla metodou FRAP stanovena pro vzorek Natu. V porovnání s metodou stanovení antioxidační aktivity pomocí DPPH radikálu, byly pro všechny vzorky Matcha čajů, zjištěny nižší hodnoty antioxidační aktivity.

## 4 ZÁVĚR

Úkolem této diplomové práce bylo provést fyzikálně chemické analýzy vzorků Matcha čajů. Hlavním tématem byla charakterizace sorpčních vlastností pomocí sorpčních izoterem a následný výpočet důležitých sorpčních parametrů, které určují kvalitu čajového prášku. Byl sledován průběh sorpčních izoterem, tedy závislost obsahu vlhkosti na měnící se aktivitě vody. Tato závislost byla sledována také u vzorků Matcha čajů skladovaných při různé relativní vlhkosti, která má zásadní vliv na sorpční vlastnosti. Kromě sorpčních vlastností byla u Matcha prášků hodnocena jejich barevnost, respektive byla měřena reflektance světla. Hodnocení probíhalo v obou barevných prostorech  $L^* a^* b^*$  a  $L^* C^* h^\circ$ . Celková reflektance byla také sledována pro připravené čajové extrakty. Vzhledem k mnoha zdravotním přínosům Matcha čaje, byly také pro čajové extrakty provedeny spektrofotometrické analýzy, při kterých byl analyzován celkový obsah fenolických látek (TPC), celkový obsah flavonoidů (TFC) a měřena jejich antioxidační aktivita s využitím DPPH radikálu a metodou FRAP. U vybraných vzorků Matcha čajů byla rovněž provedena analýza distribuce částic.

Parametry sorpčních izoterem byly zjištěny pomocí vybraných sorpčních modelů GAB, MultiFreundlich a Caurie. Pomocí modelu GAB byl zjištěn obsah vody v monovrstvě  $M_0$ , a to při adsorpci a desorpci. Naměřené hodnoty byly pro všechny vzorky srovnatelné a pohybovaly se v rozmezí 36,39–47,17 mg/g. Pomocí modelu MultiFreundlich byla stanovena kritická aktivita vody, tedy aktivita vody, při které ve vzorku začne převažovat sorpce do vícevrstev, což vede k rychlejší degradaci vlivem mikrobiální aktivity. Při adsorpci byla kritická aktivita vody stanovena v rozmezí 0,55–0,68 pro jednotlivé vzorky. Modelem Caurie byla mimo jiné analyzována změna plochy sorpce (A, %) mezi adsorpčním a desorpčním procesem. Podle předpokladů došlo u všech vzorků při desorpci k výraznému nárůstu plochy sorpce a to o 44,53–69,45 %. Metodou RAMP byl stanoven obsah vlhkosti u vzorků, při kterém dojde ke skelnému přechodu, tedy přeměně ze skelného do gumového stavu, což vede ke významné ztrátě kvality a údržnosti potraviny. Tento obsah vlhkosti byl stanoven pouze u vybraných vzorků Matcha čajů (26,7–28,7 %). Mění se velikost hystereze byla u vybraných vzorků sledována při opakujících se adsorpčně-desorpčních cyklech a také při měnící se relativní vlhkosti skladování. Bylo zjištěno, že už druhý adsorpčně-desorpční cyklus má za následek téměř úplné vymizení hystereze, zároveň bylo zjištěno, že hystereze se zmenšuje se zvyšující se relativní vlhkostí skladování.

Měřením barevnosti Matcha prášků byly porovnány parametry naměřené pomocí celkové reflektance s hodnotami reflektance pouze její difúzní složky. Byly zjištěny podobné

hodnoty, ovšem velikost směrodatných odchylek naznačuje, že pro měření barevnosti Matcha prášků je výhodnější měření celkové reflektance. Byla rovněž zjištěna významná korelace mezi parametry odstínu ( $h^\circ$ ) pro Matcha prášky a čajové extrakty.

Analýzou distribuce částic vybraných vzorků z originálních balení, nebyly zjištěny významné rozdíly ve velikosti. Téměř 50 % všech částic bylo zjištěno ve frakci 5–10  $\mu\text{m}$ . Byla také hodnocena změna velikosti částic při skladování o různých relativních vlhkostech. U vzorků byl potvrzen předpoklad, že se zvyšující se relativní vlhkostí skladování, dochází k nepatrnému nárůstu velikosti částic. Ta je způsobená bobtnáním částic, která souvisí s viditelnou rostoucí hrudkovitostí prášků.

Celkový obsah fenolických látek (TPC) v čajových extraktech byl zjištěn v rozmezí 64,4–93,9 mg GAE/g sušiny. Celkový obsah flavonoidů (TFC) pak 0,69–1,88 mg KE/g sušiny. Naměřená antioxidační aktivita s využitím DPPH radikálu se pohybovala pro jednotlivé vzorky v rozmezí 145,3–192,2 mg TE/g sušina, metodou FRAP pak v rozmezí 127,2–151,9 mg TE/g sušiny.

## SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] BANSAL, Sumit, Shivani CHOUDHARY, Manu SHARMA, Suthar Sharad KUMAR, Sandeep LOHAN, Varun BHARDWAJ, Navneet SYAN a Saras JYOTI. Tea: A Native Source of Antimicrobial Agents. *Food Research International*. 2013, **53**(2), 568-584. DOI: 10.1016/j.foodres.2013.01.032
- [2] PRASANTH, Mani, Bhagavathi SIVAMARUTHI, Chaiyavat CHAIYASUT a Tewin TENCOMNAO. A Review of the Role of Green Tea (*Camellia sinensis*) in Antiphotaging, Stress Resistance, Neuroprotection, and Autophagy. *Nutrients*. 2019, **11**(2). DOI: 10.3390/nu11020474
- [3] SANLIER, Nevin, Buşra Basar GOKCEN a Mehmet ALTUĞ. Tea Consumption and Disease Correlations. 2018, **78**, 95-106. DOI: 10.1016/j.tifs.2018.05.026
- [4] CHEN, Dan, Yu DING, Guijie CHEN, Yi SUN, Xiaoxiong ZENG a Hong YE. Components Identification and Nutritional Value Exploration of Tea (*Camellia sinensis L.*) Flower Extract: Evidence for functional food. *Food Research International*. 2020, **132**. DOI: 10.1016/j.foodres.2020.109100
- [5] SANTOS, Jânio S., Carolina T.P. DEOLINDO, Jessica F. HOFFMANN, et al. Optimized *Camellia sinensis var. sinensis*, *Ilex paraguariensis*, and *Aspalathus Linearis* Blend Presents High Antioxidant and Antiproliferative Activities in a Beverage Model. *Food Chemistry*. 2018, **254**, 348-358. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.02.021
- [6] XIA, En-Hua, Wei TONG, Qiong WU, Shu WEI, Jian ZHAO, Zheng-Zhu ZHANG, Chao-Ling WEI a Xiao-Chun WAN. Tea Plant Genomics: Achievements, Challenges and Perspectives. *Horticulture Research*. 2020, **7**(1). DOI: 10.1038/s41438-019-0225-4
- [7] GRANATO, Daniel, Raymond GREVINK, Acácio A. F. ZIELINSKI, Domingos S. NUNES a Saskia M. VAN RUTH. Analytical Strategy Coupled with Response Surface Methodology To Maximize the Extraction of Antioxidants from Ternary Mixtures of Green, Yellow, and Red Teas ( *Camellia sinensis var. sinensis* ). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2014, **62**(42), 10283-10296. DOI: 10.1021/jf504480f

- [8] GONÇALVES BORTOLINI, Débora, Charles WINDSON ISIDORO HAMINIUK, Alessandra CRISTINA PEDRO, Isabela DE ANDRADE ARRUDA FERNANDES a Giselle MARIA MACIEL. Processing, Chemical Signature and Food Industry Applications of *Camellia sinensis* teas: An overview. *Food Chemistry*: X. 2021, **12**. DOI: 10.1016/j.fochx.2021.100160
- [9] CARLONI, Patricia, Luca TIANO, Lucia PADELLA, Tiziana BACCHETTI, Chisomo CUSTOMU, Alexander KAY a Elisabetta DAMIANI. Antioxidant Activity of White, Green and Black Tea Obtained from the Same Tea Cultivar. *Food Research International*. 2013, **53**(2), 900-908. DOI: 10.1016/j.foodres.2012.07.057
- [10] CHEN, Qincao, Yin ZHU, Yafang LIU, Yang LIU, Chunwang DONG, Zhi LIN a Jie TENG. Black tea aroma formation during the fermentation period. *Food Chemistry*. 2022, **374**. DOI: 10.1016/j.foodchem.2021.131640
- [11] CAO, Luting, Xuemei GUO, Guangjin LIU, Yuelin SONG, Chi-Tang HO, Ruyan HOU, Liang ZHANG a Xiaochun WAN. A Comparative Analysis for the Volatile Compounds of Various Chinese Dark Teas Using Combinatory Metabolomics and Fungal Solid-state Fermentation. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2018, **26**(1), 112-123. DOI: 10.1016/j.jfda.2016.11.020
- [12] HU, Simin, Xiaolei LI, Chuangchuang GAO, Xianyu MENG, Mingchao LI, Yuqian LI, Tianrui XU a Qian HAO. Detection of Composition of Functional Component Theabrownins in Pu-erh Tea by Degradation Method. *Food Science and Human Wellness*. 2022, **11**(3), 643-647. DOI: 10.1016/j.fshw.2021.12.021
- [13] JIN, Ge, Yu-jie WANG, Menghui LI, Tiehan LI, Wen-jing HUANG, Luqing LI, Wei-Wei DENG a Jingming NING. Rapid and Real-Time Detection of Black Tea Fermentation Quality by Using an Inexpensive Data Fusion System. *Food Chemistry*. 2021, **358**. DOI: 10.1016/j.foodchem.2021.129815

- [14] WANG, Yujie, Luqing LI, Ying LIU, Qingqing CUI, Jingming NING a Zhengzhu ZHANG. Enhanced Quality Monitoring During Black Tea Processing by the Fusion of NIRS and Computer Vision. *Journal of Food Engineering*. 2021, **304**. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2021.110599
- [15] ZHANG, Hua, Ruili QI a Yoshinori MINE. The Impact of Oolong and Black Tea Polyphenols on Human Health. *Food Bioscience*. 2019, **29**, 55-61. DOI: 10.1016/j.fbio.2019.03.009
- [16] WANG, Shuzhen, Ting ZENG, Shuang ZHAO, et al. Multifunctional Health-Promoting Effects of Oolong Tea and its Products. *Food Science and Human Wellness*. 2022, **11**(3), 512-523. DOI: 10.1016/j.fshw.2021.12.009
- [17] ZENG, Lanting, Xiaochen ZHOU, Xinguo SU a Ziyin YANG. Chinese Oolong Tea: An Aromatic Beverage Produced Under Multiple Stresses. 2020, **106**, 242-253. DOI: 10.1016/j.tifs.2020.10.001
- [18] HU, Ci-Jie, Da LI, Yi-Xiao MA, Wei ZHANG, Chen LIN, Xin-Qiang ZHENG, Yue-Rong LIANG a Jian-Liang LU. Formation Mechanism of the Oolong Tea Characteristic Aroma During Bruising and Withering Treatment. *Food Chemistry*. 2018, **269**, 202-211. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.07.016
- [19] LEE, L.K. a K.Y. FOO. Recent Advances on the Beneficial Use and Health Implications of Pu-Erh Tea. *Food Research International*. 2013, **53**(2), 619-628. DOI: 10.1016/j.foodres.2013.02.036
- [20] LV, Hai-peng, Ying-jun ZHANG, Zhi LIN a Yue-rong LIANG. Processing and Chemical Constituents of Pu-erh Tea: A review. *Food Research International*. 2013, **53**(2), 608-618. DOI: 10.1016/j.foodres.2013.02.043
- [21] MA, Yan, Shuangmei DUAN, Donglian ZHANG, Xiaoqin SU, Dongying ZHANG, Caiyou LV a Ming ZHAO. Microbial Succession and the Dynamics of Chemical Compounds during the Solid-State Fermentation of Pu-erh Tea. *Applied Sciences*. 2017, **7**(2). DOI: 10.3390/app7020166

- [22] MAZUR, Marta, Artnora NDOKAJ, Maciej JEDLINSKI, Roman ARDAN, Sabina BIETOLINI a Livia OTTOLENGHI. Impact of Green Tea (*Camellia Sinensis*) on Periodontitis and Caries. Systematic review and meta-analysis. *Japanese Dental Science Review*. 2021, **57**, 1-11. DOI: 10.1016/j.jdsr.2020.11.003
- [23] JIANG, Hui, Weidong XU a Quansheng CHEN. Determination of Tea Polyphenols in Green Tea by Homemade Color Sensitive Sensor Combined with Multivariate Analysis. *Food Chemistry*. 2020, **319**. DOI: 10.1016/j.foodchem.2020.126584
- [24] CHACKO, Sabu M, Priya T THAMBI, Ramadasan KUTTAN a Ikuo NISHIGAKI. Beneficial Effects of Green Tea: A literature review. *Chinese Medicine*. 2010, **5**(1). DOI: 10.1186/1749-8546-5-13
- [25] PAKSHIR, K., Z. MIRSHEKARI, H. NOURAEI, Z. ZARESHAHRABADI, K. ZOMORODIAN, H. KHODADADI a A. HADAEGH. Mycotoxins Detection and Fungal Contamination in Black and Green Tea by HPLC-Based Method. *Journal of Toxicology*. 2020, **2020**, 1-7. DOI: 10.1155/2020/2456210
- [26] HUANG, Yunle, Rui Min Vivian GOH, Aileen PUA, et al. Effect of Three Milling Processes (cyclone-, bead- and stone-millings) on the Quality of Matcha: Physical Properties, Taste and Aroma. *Food Chemistry*. 2022, **372**. DOI: 10.1016/j.foodchem.2021.131202
- [27] JAKUBCZYK, Karolina, Joanna KOCHMAN, Aleksandra KWIATKOWSKA, Justyna KAŁDUŃSKA, Karolina DEC, Dorota KAWCZUGA a Katarzyna JANDA. Antioxidant Properties and Nutritional Composition of Matcha Green Tea. *Foods*. 2020, **9**(4). DOI: 10.3390/foods9040483
- [28] XU, Ping, Le YING, Gaojie HONG a Yuefei WANG. The Effects of the Aqueous Extract and Residue of Matcha on the Antioxidant Status and Lipid and Glucose Levels in Mice Fed a High-Fat Diet. 2016, **7**(1), 294-300. DOI: 10.1039/C5FO00828J
- [29] KOCHMAN, Joanna, Karolina JAKUBCZYK, Justyna ANTONIEWICZ, Honorata MRUK a Katarzyna JANDA. Health Benefits and Chemical Composition of Matcha Green Tea: A Review. *Molecules*. 2021, **26**(1). DOI: 10.3390/molecules26010085

- [30] KURAUCHI, Yuki, Hari Prasad DEVKOTA, Kengo HORI, Yuiko NISHIHARA, Akinori HISATSUNE, Takahiro SEKI a Hiroshi KATSUKI. Anxiolytic Activities of Matcha Tea Powder, Extracts, and Fractions in Mice: Contribution of Dopamine D1 Receptor- and Serotonin 5-HT1A Receptor-Mediated Mechanisms. *Journal of Functional Foods*. 2019, **59**, 301-308. DOI: 10.1016/j.jff.2019.05.046
- [31] DIETZ, Christina, Matthijs DEKKER a Betina PIQUERAS-FISZMAN. An Intervention Study on the Effect of Matcha Tea, in Drink and Snack Bar Formats, on Mood and Cognitive Performance. *Food Research International*. 2017, **99**, 72-83. ISSN 09639969. DOI: 10.1016/j.foodres.2017.05.002
- [32] KOLÁČKOVÁ, Tereza, Kateřina KOLOFIKOVÁ, Irena SYTAŘOVÁ, Lukáš SNOPEK, Daniela SUMCZYNSKI a Jana ORSAVOVÁ. Matcha Tea: Analysis of Nutritional Composition, Phenolics and Antioxidant Activity. *Plant Foods for Human Nutrition*. 2020, **75**(1), 48-53. DOI: 10.1007/s11130-019-00777-z
- [33] FUJIOKA, Kouki, Takeo IWAMOTO, Hidekazu SHIMA, et al. The Powdering Process with a Set of Ceramic Mills for Green Tea Promoted Catechin Extraction and the ROS Inhibition Effect. *Molecules*. 2016, **21**(4). DOI: 10.3390/molecules21040474
- [34] DEVKOTA, Hari Prasad, Bhakta Prasad GAIRE, Kengo HORI, et al. The Science of Matcha: Bioactive Compounds, Analytical Techniques and Biological Properties. 2021, **118**, 735-743. DOI: 10.1016/j.tifs.2021.10.021
- [35] WEISS, David J. a Christopher R. ANDERTON. Determination of Catechins in Matcha Green Tea by Micellar Electrokinetic Chromatography. *Journal of Chromatography A*. 2003, **1011**(1-2), 173-180. DOI: 10.1016/S0021-9673(03)01133-6
- [36] ISEMURA, Mamoru, Noriyuki MIYOSHI, Monira PERVIN, Takuji SUZUKI, Keiko UNNO a Yoriyuki NAKAMURA. Green tea catechins for well-being and therapy: prospects and opportunities. *Botanics: Targets and Therapy*. DOI:10.2147/BTAT.S91784

- [37] MUNYENDO, Leah M., Daniel M. NJOROGE, Eddy E. OWAGA a Beatrice MUGENDI. Coffee Phytochemicals and Post-Harvest Handling—A Complex and Delicate Balance. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2021, **102**. DOI: 10.1016/j.jfca.2021.103995
- [38] HOSEINI, Marziyeh, Stefania COCCO, Cristiano CASUCCI, Valeria CARDELLI a Giuseppe CORTI. Coffee by-Products Derived Resources. A review. *Biomass and Bioenergy*. 2021, **148**. DOI: 10.1016/j.biombioe.2021.106009
- [39] SHAO, Jianbin a Yiping ZHANG. Determination of Caffeine Content in Tea Beverages. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2019, **330**(4). DOI: 10.1088/1755-1315/330/4/042056
- [40] MITRA, Sayantani, Nabanita NASKAR, Kalpita GHOSH, Aparna DUTTA, Susanta LAHIRI, Punarbasu CHAUDHURI a Abhijit SAHA. Studies on Radiation Stability of Natural Caffeine. *Applied Radiation and Isotopes*. 2022, **183**. DOI: 10.1016/j.apradiso.2022.110148
- [41] MANZOOR, Mehnaza, Jagmohan SINGH, Adil GANI a Nairah NOOR. Valorization of Natural Colors as Health-promoting Bioactive Compounds: Phytochemical Profile, Extraction Techniques, and Pharmacological Perspectives. *Food Chemistry*. 2021, **362**. DOI: 10.1016/j.foodchem.2021.13014
- [42] KU, Kang Mo, Jung Nam CHOI, Jiyoung KIM, Jeong Kee KIM, Lang Gook YOO, Sang Jun LEE, Young-Shick HONG a Choong Hwan LEE. Metabolomics Analysis Reveals the Compositional Differences of Shade Grown Tea (*Camellia sinensis* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2010, **58**(1), 418-426. DOI: 10.1021/jf902929h
- [43] KABIR, Fahmid, Syed Nazmus SAKIB a Nafisa MATIN. Stability Study of Natural Green Dye Based DSSC. *Optik*. 2019, **181**, 458-464. DOI: 10.1016/j.ijleo.2018.12.077
- [44] WANG, Liwen, Margaret BRENNAN, Shiming LI, Hui ZHAO, Klaus W. LANGE a Charles BRENNAN. How Does the Tea L-Theanine Buffer Stress and Anxiety. *Food Science and Human Wellness*. 2022, **11**(3), 467-475. DOI: 10.1016/j.fshw.2021.12.004

- [45] MU, Wanmeng, Tao ZHANG a Bo JIANG. An Overview of Biological Production of L-Theanine. *Biotechnology Advances*. 2015, **33**(3-4), 335-342. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2015.04.004
- [46] BABA, Yoshitake, Toshiyuki KANEKO a Takanobu TAKIHARA. Matcha Consumption Maintains Attentional Function Following a Mild Acute Psychological Stress without Affecting a Feeling of Fatigue: A Randomized Placebo-controlled Study in Young Adults. *Nutrition Research*. 2021, **88**, 44-52. DOI: 10.1016/j.nutres.2020.12.024
- [47] VUONG, Quan V, Michael C BOWYER a Paul D ROACH. L-Theanine: Properties, Synthesis and Isolation from Tea. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2011, **91**(11), 1931-1939. DOI: 10.1002/jsfa.4373
- [48] BIAŁECKA-FLORJAŃCZYK, Ewa, Agata FABISZEWSKA a Bartłomiej ZIENIUK. Phenolic Acids Derivatives - Biotechnological Methods of Synthesis and Bioactivity. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 2019, **19**(14), 1098-1113. DOI: 10.2174/1389201020666181217142051
- [49] DE ARAÚJO, Fábio Fernandes, David DE PAULO FARIAS, Iramaia Angélica NERINUMA a Glaucia Maria PASTORE. Polyphenols and their Applications: An Approach in Food Chemistry and Innovation Potential. *Food Chemistry*. 2021, **338**. DOI: 10.1016/j.foodchem.2020.127535
- [50] HAN, Yongmoon. Rutin has Therapeutic Effect on Septic Arthritis Caused by *Candida Albicans*. *International Immunopharmacology*. 2009, **9**(2), 207-211. DOI: 10.1016/j.intimp.2008.11.002
- [51] SEMWAL, Ravindra, Sunil Kumar JOSHI, Ruchi Badoni SEMWAL a Deepak Kumar SEMWAL. Health Benefits and Limitations of Rutin - A natural Flavonoid with High Nutraceutical Value. *Phytochemistry Letters*. 2021, **46**, 119-128. DOI: 10.1016/j.phytol.2021.10.006

- [52] LI, Sen, Guowei CHEN, Chao ZHANG, Man WU, Shuyan WU a Qing LIU. Research Progress of Natural Antioxidants in Foods for the Treatment of Diseases. *Food Science and Human Wellness*. 2014, **3**(3-4), 110-116. DOI: 10.1016/j.fshw.2014.11.002
- [53] MARTINS, Alessandro C., Lais BUKMAN, Alexandro M.M. VARGAS, Érica O. BARIZÃO, Juliana C.G. MORAES, Jesuí V. VISENTAINER a Vitor C. ALMEIDA. The Antioxidant Activity of Teas Measured by the FRAP Method Adapted to the FIA System: Optimising the Conditions Using the Response Surface Methodology. *Food Chemistry*. 2013, **138**(1), 574-580. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.10.143
- [54] SIDDEEG, Azhari, Nora M. ALKEHAYEZ, Hind A. ABU-HIAMED, Ekram A. AL-SANEA a Ammar M. AL-FARGA. Mode of Action and Determination of Antioxidant Activity in the Dietary Sources: An overview. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2021, **28**(3), 1633-1644. DOI: 10.1016/j.sjbs.2020.11.064
- [55] CHEN, Xing, Li LIANG a Cong HAN. Borate Suppresses the Scavenging Activity of Gallic acid and Plant Polyphenol Extracts on DPPH Radical: A Potential Interference to DPPH Assay. *LWT*. 2020, **131**. DOI: 10.1016/j.lwt.2020.109769
- [56] MAGALHÃES, Luís M., Marcela A. SEGUNDO, Salette REIS a José L.F.C. LIMA. Methodological Aspects about in Vitro Evaluation of Antioxidant Properties. *Analytica Chimica Acta*. 2008, **613**(1), 1-19. DOI: 10.1016/j.aca.2008.02.047
- [57] ZULUETA, Ana, Maria J. ESTEVE a Ana FRÍGOLA. ORAC and TEAC Assays Comparison to Measure the Antioxidant Capacity of Food Products. *Food Chemistry*. 2009, **114**(1), 310-316. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.09.033
- [58] MARCHI, Rafael C., Isabele A.S. CAMPOS, Vinicius T. SANTANA a Rose M. CARLOS. Chemical Implications and Considerations on Techniques Used to Assess the in Vitro Antioxidant Activity of Coordination Compounds. *Coordination Chemistry Reviews*. 2022, **451**. DOI: 10.1016/j.ccr.2021.214275

- [59] MIKOŁAJCZAK, Natalia, Małgorzata TAŃSKA a Dorota OGRODOWSKA. Phenolic Compounds in Plant Oils: A Review of Composition, Analytical Methods, and Effect on Oxidative Stability. 2021, **113**, 110-138. DOI: 10.1016/j.tifs.2021.04.046
- [60] PEKAL, Anna a Krystyna PYRZYNSKA. Evaluation of Aluminium Complexation Reaction for Flavonoid Content Assay. *Food Analytical Methods*. 2014, **7(9)**, 1776-1782. DOI:10.1007/s12161-014-9814-x
- [61] LAZOUK, Melha-Amel, Raphaëlle SAVOIRE, Alaa KADDOUR, Jérémie CASTELLO, Jean-Louis LANOISELLÉ, Elisabeth VAN HECKE a Brigitte THOMASSET. Oilseeds Sorption Isotherms, Mechanical Properties and Pressing: Global View of Water Impact. *Journal of Food Engineering*. 2015, **153**, 73-80. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2014.12.008
- [62] MENDONÇA, Juliana C.F., Adriana S. FRANCA a Leandro S. OLIVEIRA. A Comparative Evaluation of Methodologies for Water Content Determination in Green coffee. *LWT - Food Science and Technology*. 2007, **40(7)**, 1300-1303. DOI: 10.1016/j.lwt.2006.08.013
- [63] SABLANI, S.S., S. KASAPIS a M.S. RAHMAN. Evaluating Water Activity and Glass Transition Concepts for Food Stability. *Journal of Food Engineering*. 2007, **78(1)**, 266-271. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2005.09.025
- [64] HĂDĂRUGĂ, Daniel I., Corina I. COSTESCU, Laura CORPAȘ, Nicoleta G. HĂDĂRUGĂ a Heinz-Dieter ISENGARD. Differentiation of Rye and Wheat Flour as Well as Mixtures by Using the Kinetics of Karl Fischer Water Titration. *Food Chemistry*. 2016, **195**, 49-55. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.08.124
- [65] DE CARO, Cosimo A., Albert AICHERT a Christian M. WALTER. Efficient, Precise and Fast Water Determination by the Karl Fischer Titration. *Food Control*. 2001, **12(7)**, 431-436. DOI: 10.1016/S0956-7135(01)00020-2

- [66] OZBEKOVA, Zhyldyzai a Asylbek KULMYRZAEV. Study of Moisture Content and Water Activity of Rice Using Fluorescence Spectroscopy and Multivariate Analysis. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2019, **223**. DOI: 10.1016/j.saa.2019.117357
- [67] TEJADA-ORTIGOZA, Viridiana, Luis Eduardo GARCIA-AMEZQUITA, Vinicio SERMENT-MORENO, J. Antonio TORRES a Jorge WELTI-CHANES. Moisture Sorption Isotherms of High Pressure Treated Fruit Peels Used as Dietary Fiber Sources. 2017, **43**, 45-53. DOI: 10.1016/j.ifset.2017.07.023
- [68] BHOURI, N., N. BHOURI, A. HOUNGAN, S. BENNASRALLAH a P. PERRE. Comparison Between Sorption Isotherms of Non-ironed and Steam-ironed Plain Weave Fabrics. *Applied Thermal Engineering*. 2017, **126**, 429-435. DOI: 10.1016/j.applthermaleng.2017.07.179
- [69] MATHLOUTHI, Mohamed. Water Content, Water Activity, Water Structure and the Stability of Foodstuffs. *Food Control*. 2001, **12**(7), 409-417. DOI: 10.1016/S0956-7135(01)00032-9
- [70] MATHLOUTHI, M a B ROGÉ. Water Vapour Sorption Isotherms and the Caking of Food Powders. *Food Chemistry* [online]. 2003, **82**(1), 61-7. DOI:10.1016/S0308-8146(02)00534-4
- [71] CARTER, Brady P. a Shelly J. SCHMIDT. Developments in Glass Transition Determination in Foods Using Moisture Sorption Isotherms. *Food Chemistry*. 2012, **132**(4), 1693-1698. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.06.022
- [72] MOSQUERA, L.H., G. MORAGA a N. MARTÍNEZ-NAVARRETE. Critical Water Activity and Critical Water Content of Freeze-dried Strawberry Powder as Affected by Maltodextrin and Arabic Gum. *Food Research International*. 2012, **47**(2), 201-206. DOI: 10.1016/j.foodres.2011.05.019

- [73] STĘPIEŃ, Anna, Mariusz WITCZAK a Teresa WITCZAK. Sorption Properties, Glass Transition and State Diagrams for Pumpkin Powders Containing Maltodextrins. *LWT*. 2020, **134**. DOI: 10.1016/j.lwt.2020.110192
- [74] FITZPATRICK, J.J. a I. BREMENKAMP. Investigation of the Effect of Time on the Humidity Caking of Food Powder Binary Mixes Using a Cake Strength Tester and Visual Techniques. *Journal of Food Engineering*. 2019, **263**, 195-203. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2019.06.02
- [75] FITZPATRICK, J.J., N. DESCAMPS, K. O'MEARA, C. JONES, D. WALSH a M. SPITERE. Comparing the Caking Behaviours of Skim Milk Powder, Amorphous Maltodextrin and Crystalline Common Salt. *Powder Technology*. 2010, **204**(1), 131-137. DOI: 10.1016/j.powtec.2010.07.029
- [76] YAN, Zhengyong, Maria J. SOUSA-GALLAGHER a Fernanda A.R. OLIVEIRA. Sorption Isotherms and Moisture Sorption Hysteresis of Intermediate Moisture Content Banana. *Journal of Food Engineering*. 2008, **86**(3), 342-348. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2007.10.009
- [77] STAUDT, P.B., C.P. KECHINSKI, I.C. TESSARO, L.D.F. MARCZAK, R. DE P. SOARES a N.S.M. CARDOZO. A New Method for Predicting Sorption Isotherms at Different Temperatures Using the BET Model. *Journal of Food Engineering*. 2013, **114**(1), 139-145. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2012.07.016
- [78] ZHANG, Lida, Patrick M. GRACE a Da-Wen SUN. A New Theoretical Model for Moisture Sorption Isotherms and its Application in Deriving a Hygroscopicity Index for Food Products. *Journal of Food Engineering*. 2022, **315**. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2021.110817
- [79] ROBERTSON, Gordon L. a Dong Sun LEE. Comparison of Linear and GAB Isotherms for Estimating the Shelf Life of Low Moisture Foods Packaged in Plastic Films. *Journal of Food Engineering*. 2021, **291**. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2020.110317

- [80] CAURIE, M. DERIVATION OF FULL RANGE MOISTURE SORPTION ISOTHERMS. *Water Activity: Influences on Food Quality* [online]. Elsevier, 1981, 1981, 63-87. DOI:10.1016/B978-0-12-591350-8.50008-5
- [81] HOYOS-LEYVA, J.D., E. AGAMA-ACEVEDO, L.A. BELLO-PEREZ, E.J. VERNON-CARTER a J. ALVAREZ-RAMIREZ. Assessing the structural stability of gluten-free snacks with different dietary fiber contents from adsorption isotherms. *LWT* [online]. 2016, **73**, 576-583. DOI: 10.1016/j.lwt.2016.06.042
- [82] WU, Di a Da-Wen SUN. Colour Measurements by Computer Vision for Food Quality Control – A review. 2013, **29**(1), 5-20. DOI: 10.1016/j.tifs.2012.08.004
- [83] MINZ, Prashant Saurabh a Charanjiv Singh SAINI. RGB Camera-based Image Technique for Color Measurement of Flavored Milk. *Measurement: Food*. 2021, **4**. DOI: 10.1016/j.meafoo.2021.100012
- [84] HLOUŠKOVÁ, Tereza. *Chemické a fyzikální vlastnosti lipového sirupu* [online]. Pardubice, 2021. Diplomová práce. Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická.
- [85] DELAZIO, Alexandra, Ali ISRAR a Roberta L. KLATZKY. Cross-modal correspondence between vibrations and colors. *2017 IEEE World Haptics Conference (WHC)*. IEEE, 2017, 2017, 219-224. DOI: 10.1109/WHC.2017.7989904
- [86] LY, Bao Chau K., Ethan B. DYER, Jessica L. FEIG, Anna L. CHIEN a Sandra DEL BINO. Research Techniques Made Simple: Cutaneous Colorimetry. *Journal of Investigative Dermatology*. 2020, **140**(1), 3-12.e1. DOI: 10.1016/j.jid.2019.11.003
- [87] Hunt, R.W.G., Pointer M.R.: *Measuring the Colour*, 4th edition, 2011, John Wiley & Sons, Ltd., Chichester, UK. ISBN: 978-1-119-97537-3
- [88] CHÁVEZ MONTES, B.E., J.M. MARTÍNEZ-ALEJO, H. LOZANO-PEREZ, J.C. GUMY, D. ZEMLYANOV a M.T. CARVAJAL. A Surface Characterization Platform Approach to Study Flowability of Food Powders. *Powder Technology*. 2019, **357**, 269-280. DOI: 10.1016/j.powtec.2019.08.072

- [89] FITZPATRICK, J.J, T IQBAL, C DELANEY, T TWOMEY a M.K KEOGH. Effect of Powder Properties and Storage Conditions on the Flowability of Milk Powders with Different fat Contents. *Journal of Food Engineering*. 2004, **64**(4), 435-444. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2003.11.011
- [90] MITRA, Hrishikesh, Heartwin A. PUSHPADASS, Magdaline Eljeeva Emerald FRANKLIN, R.P. Kingsly AMBROSE, Chinmay GHOROI a Surendra Nath BATTULA. Influence of Moisture Content on the Flow Properties of Basundi Mix. *Powder Technology*. 2017, **312**, 133-143. DOI: 10.1016/j.powtec.2017.02.039
- [91] SERVAIS, Colin, Richard JONES a Ian ROBERTS. The Influence of Particle Size Distribution on the Processing of Food. *Journal of Food Engineering*. 2002, **51**(3), 201-208. DOI: 10.1016/S0260-8774(01)00056-5
- [92] FOURNAISE, Tristan, Claire GAIANI a Jérémy PETIT. Descriptive Modelling of Food Powders Reconstitution Kinetics Followed by Laser Granulometry. *Chemical Engineering Science*. 2022, **252**. DOI: 10.1016/j.ces.2022.117440
- [93] JI, Junfu, John FITZPATRICK, Kevin CRONIN, Abina CREAN a Song MIAO. Assessment of Measurement Characteristics for Rehydration of Milk Protein Based Powders. *Food Hydrocolloids*. 2016, **54**, 151-161. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2015.09.027
- [94] JELÍNKOVÁ, Kateřina. *Vliv přísadků karobového prášku na antioxidační vlastnosti muffinů* [online]. Pardubice, 2018. Diplomová práce. Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická.
- [95] JAREŠOVÁ, Lada. *Náhrada pestré stravy a antioxidační vlastnosti* [online]. Pardubice, 2018. Diplomová práce. Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická.
- [96] Man, C. M. Dominic. (2015). *Shelf Life (2nd Edition) - 2.2.1.5 Water Activity Value (aw)*. John Wiley & Sons. Dostupné také z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt011BJFW8/shelf-life-2nd-edition/water-activity-value>

[97] Berk, Zeki. (2018). Food Process Engineering and Technology (3rd Edition) - 1.8.1 The Glassy State in Foods. Elsevier. Dostupné také z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt011Q1811/food-process-engineering/glassy-state-in-foods>

[98] SALMÉN, Lennart a Per A. LARSSON. On the origin of sorption hysteresis in cellulosic materials. *Carbohydrate Polymers* . 2018, **182**, 15-20. DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.11.005

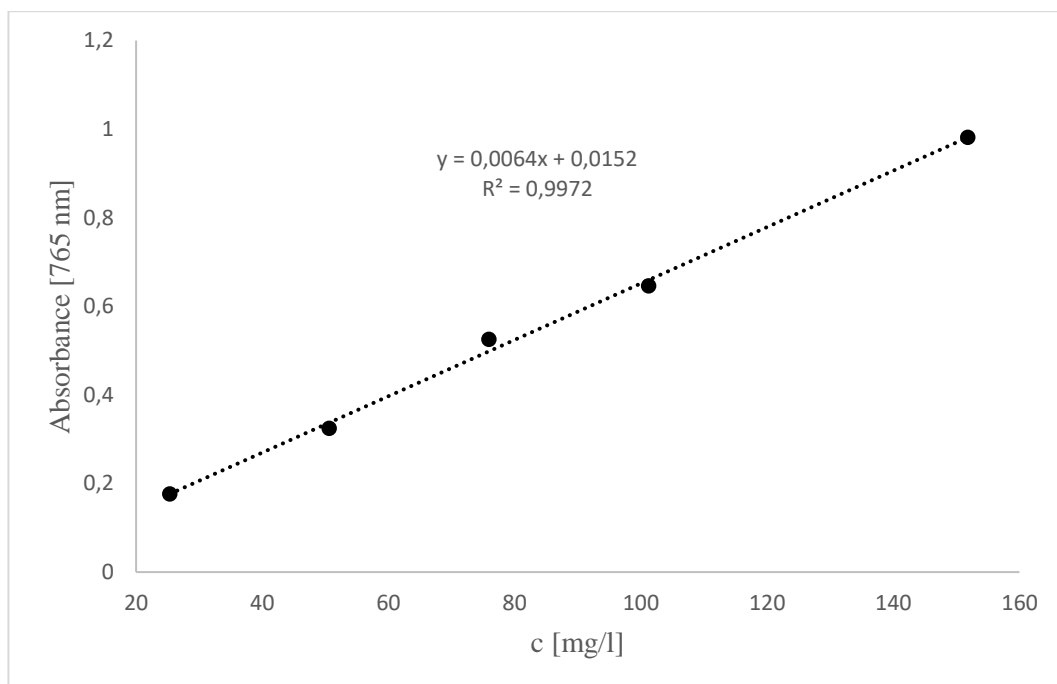
[99] GETAHUN, Eshetu, Nigus GABBIYE, Mulugeta A. DELELE, Solomon W. FANTA, Mekonnen Gebreslasie GEBREHIWOT a Maarten VANIERSCHOT. Effect of maturity on the moisture sorption isotherm of chili pepper (Mareko Fana variety). *Heliyon*. 2020, **6**(8) DOI: 10.1016/j.heliyon.2020.e04608

[100] DOMIAN, Ewa, Anna BRYNDA-KOPYTOWSKA, Jolanta CIEŚLA a Ewa OSTROWSKA-LIGEŻA. Effect of the type of carbohydrate on the DVS critical relative humidity in spray-dried fat-filled pea protein-based powders: Comparison with monolayer coverage and T<sub>g</sub> values. *Food Hydrocolloids*. 2017, **73**, 335-343 DOI: 10.1016/j.foodhyd.2017.07.011

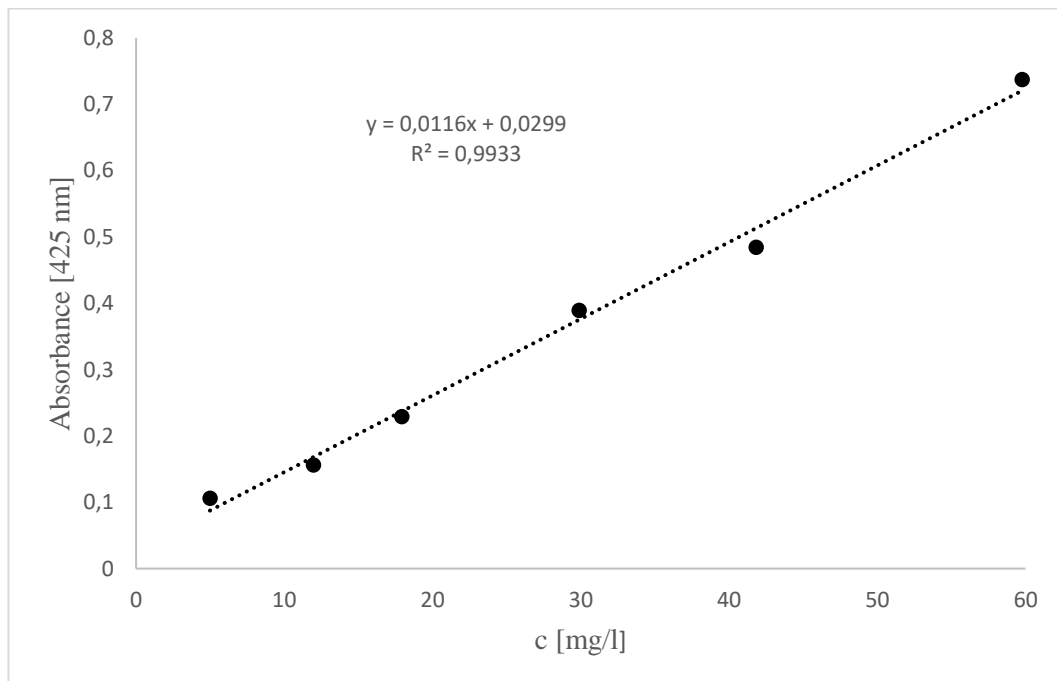
[101] WANG, Zun, Suwimol CHOCKCHAIWASDEE, John ASHTON, Zhongxiang FANG a Costas E. STATHOPOULOS. Study on glass transition of whole-grain wheat biscuit using Dynamic Vapor Sorption, Differential Scanning Calorimetry, and texture and color analysis. *LWT*. 2021, **150**. DOI: 10.1016/j.lwt.2021.111969

## SEZNAM PŘÍLOH

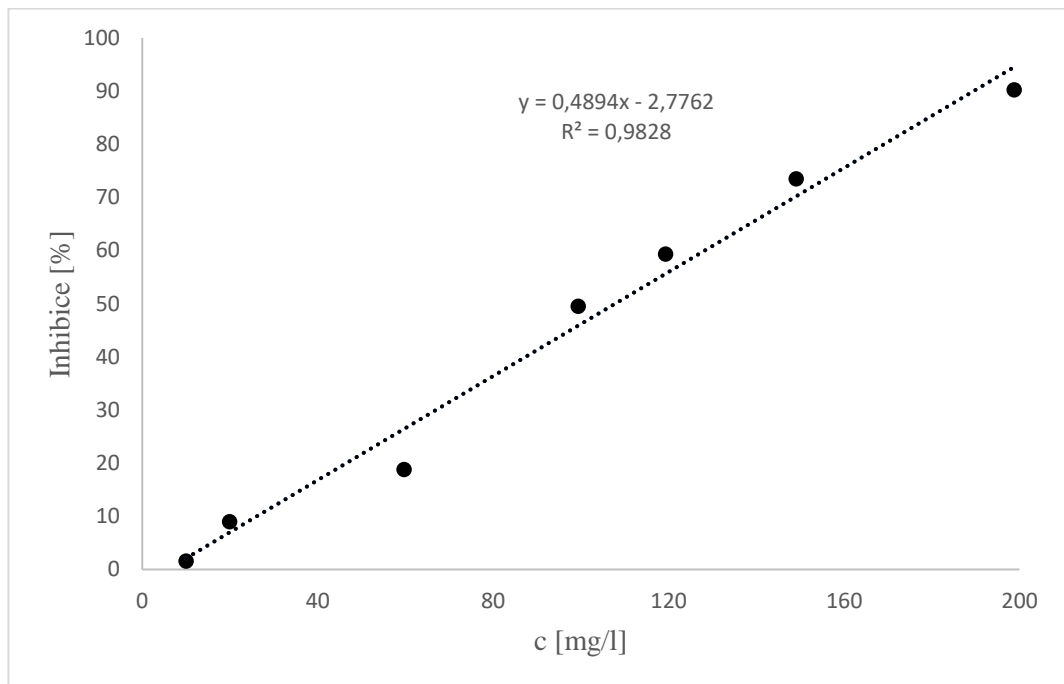
**Příloha 1:** Kalibrační křivka kyseliny gallové pro stanovení celkového obsahu fenolických látek



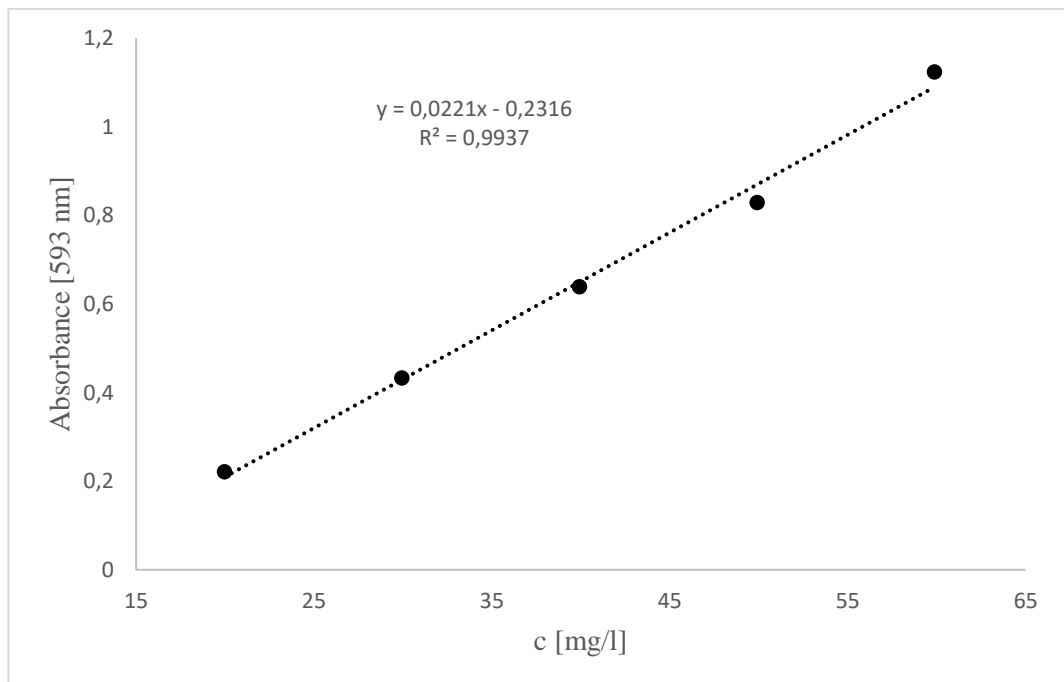
**Příloha 2:** Kalibrační křivka kvercetinu pro stanovení celkového obsahu flavonoidů



**Příloha 3:** Kalibrační křivka Troloxu pro stanovení antioxidační aktivity s využitím DPPH radikálu

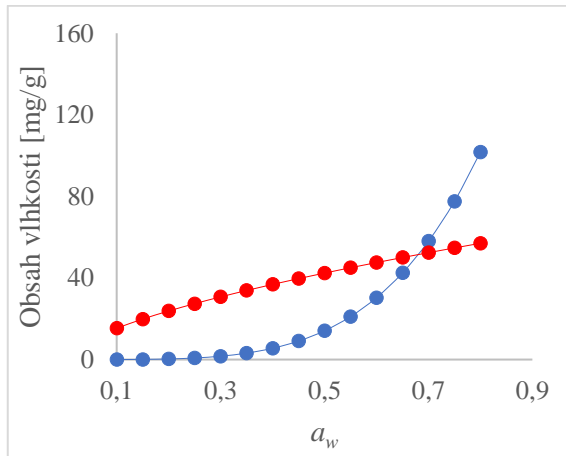


**Příloha 4:** Kalibrační křivka Troloxu pro stanovení antioxidační aktivity metodou FRAP

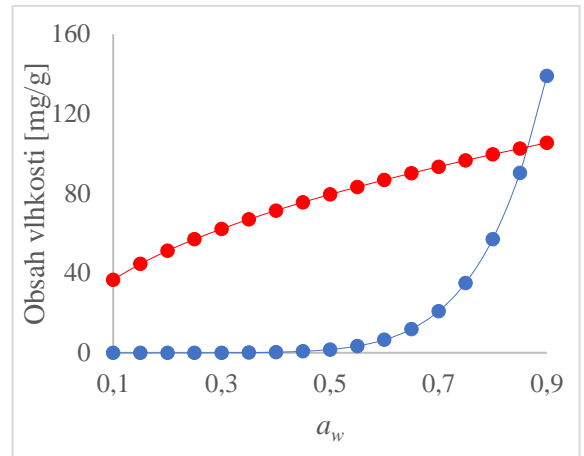


**Příloha 5:** Obsah vlhkosti v monovrstvě (červeně) a vícevrstvách (modře) pro vzorky 1) Allnature; 2) Imbio; 3) Iswari; 4) Organis během A) adsorpce a B) desorpce

1) Allnature

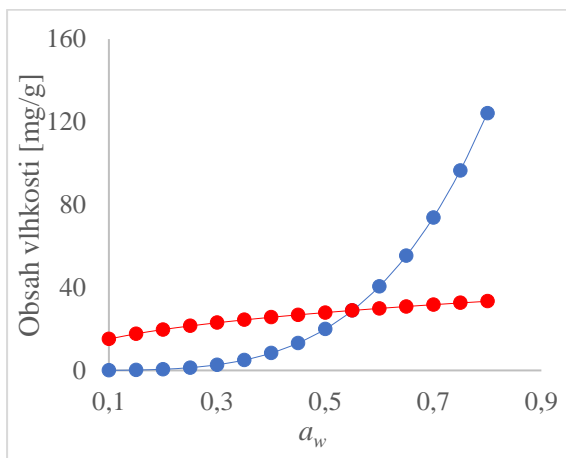


A

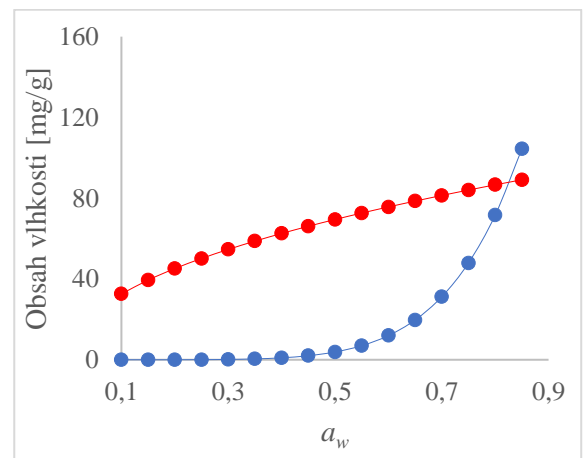


B

2) Imbio

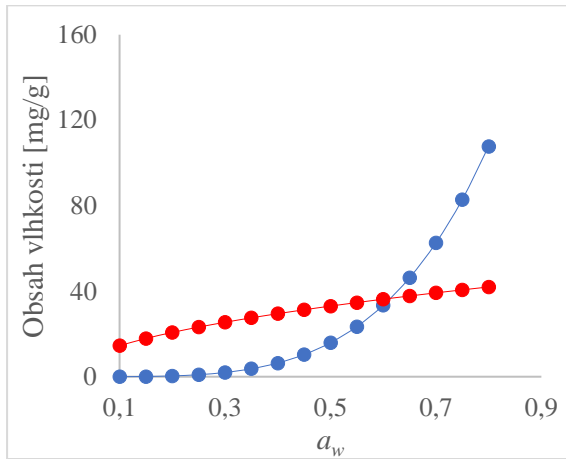


A

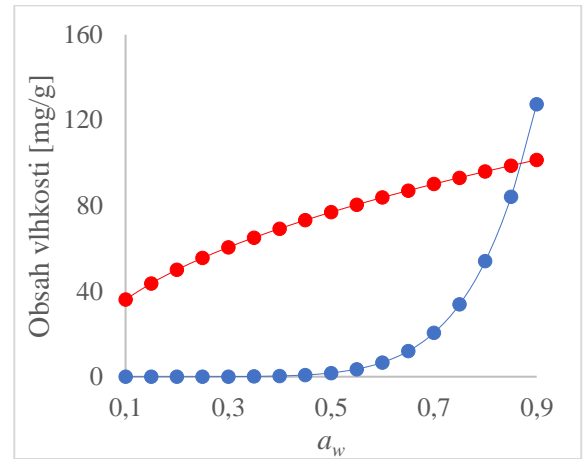


B

### 3) Iswari

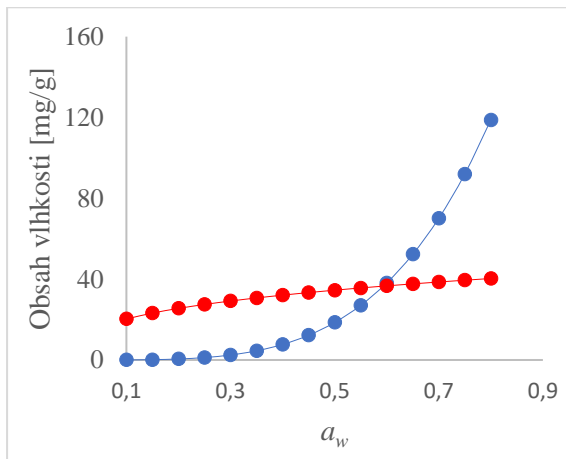


A

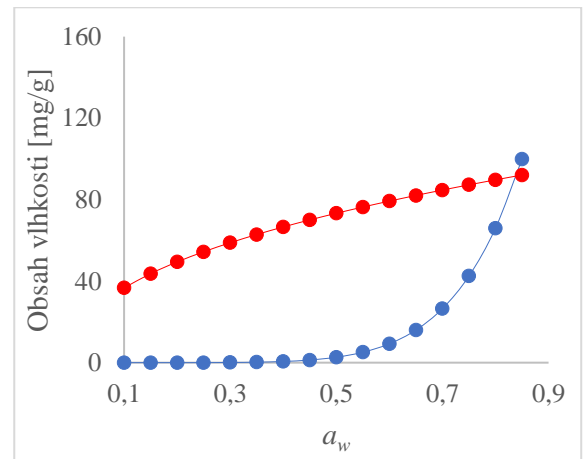


B

### 4) Organik



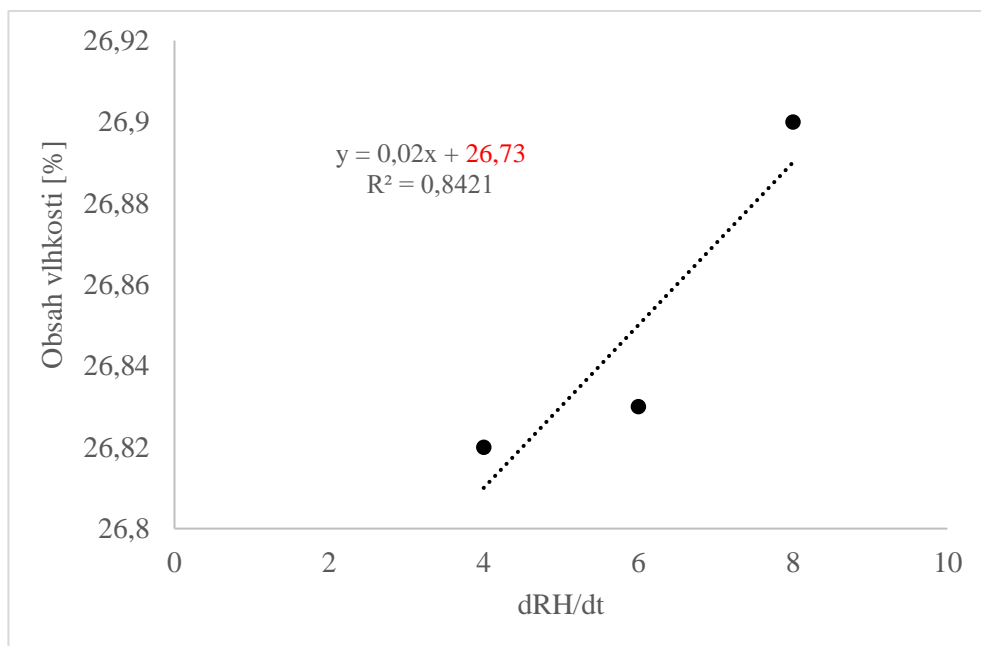
A



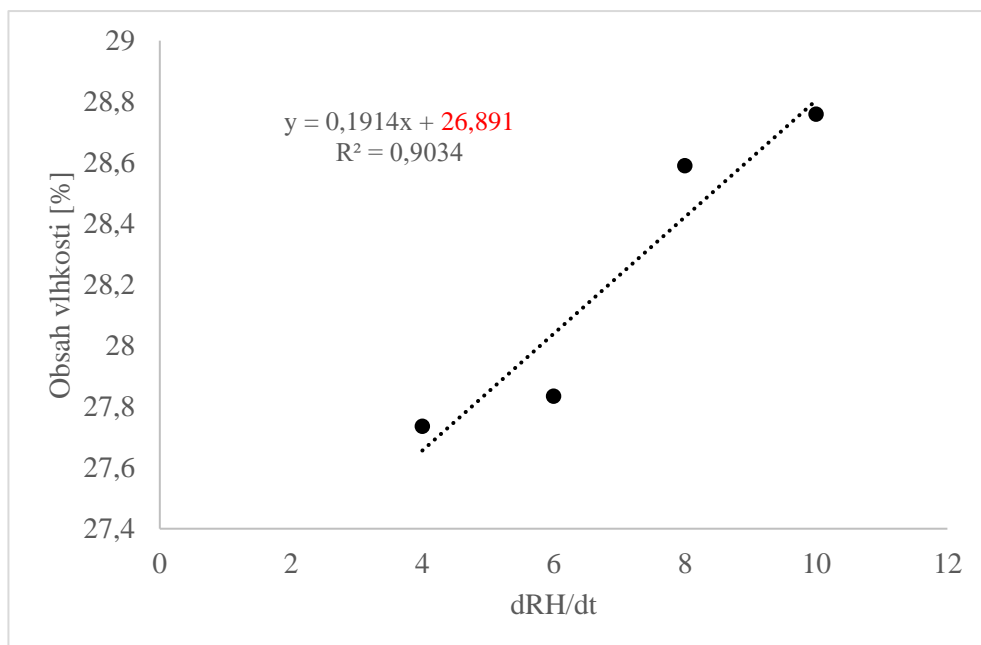
B

**Příloha 6: Závinnost obsahu vlhkosti vzorků 1) Imbio 2) Iswari na dRH/dt**

1) Imbio



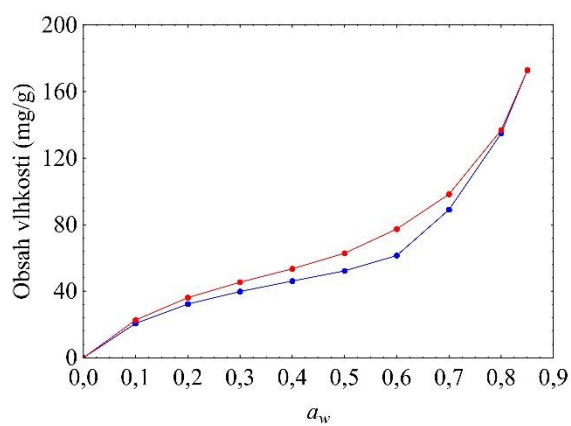
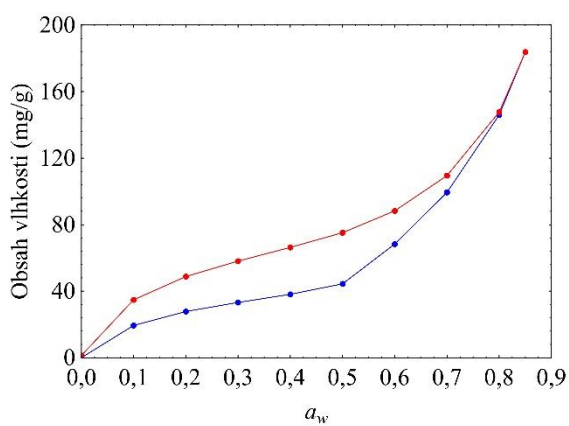
2) Iswari



**Příloha 7: Sorpční chování vzorků 1) Imbio; 2) Iswari skladovaných při relativních vlhkostech**

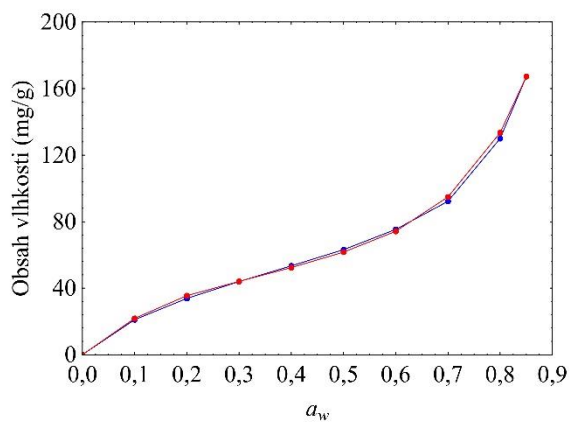
A) 32,5 % RH; B) 52,9 % RH; C) 75,3 % RH

1) Imbio



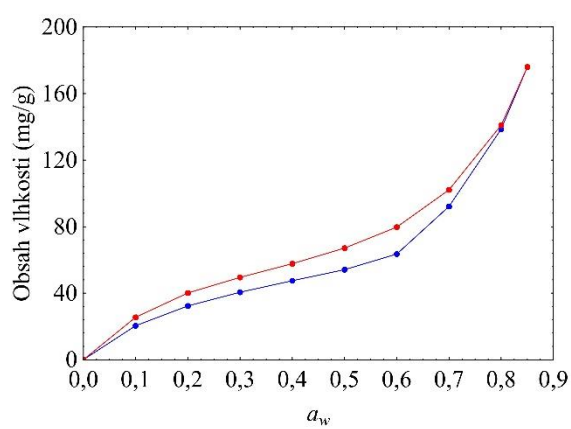
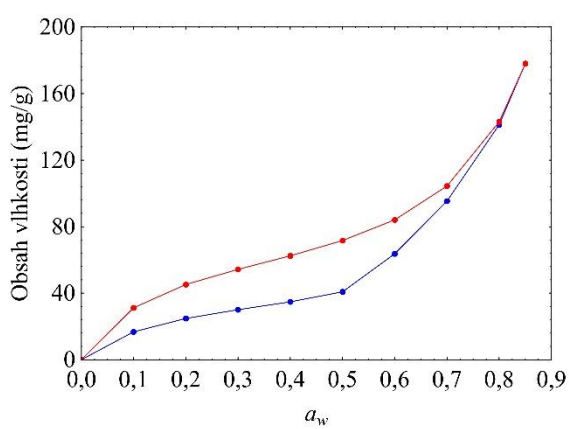
A

B



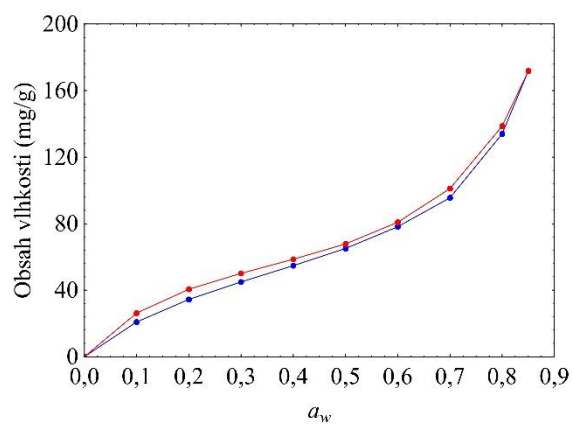
C

2) Iswari



A

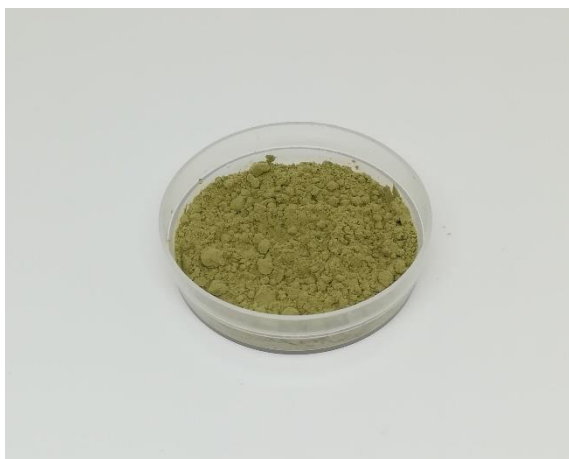
B



C

**Příloha 8:** Fotografie vzorků 1) Imbio; 2) Iswari skladovaných v prostředí relativních vlhkostí  
 A) 32,5 % RH; B) 52,9 % RH; C) 75,3 % RH

1) Imbio



A



B



C

2) Iswari



A



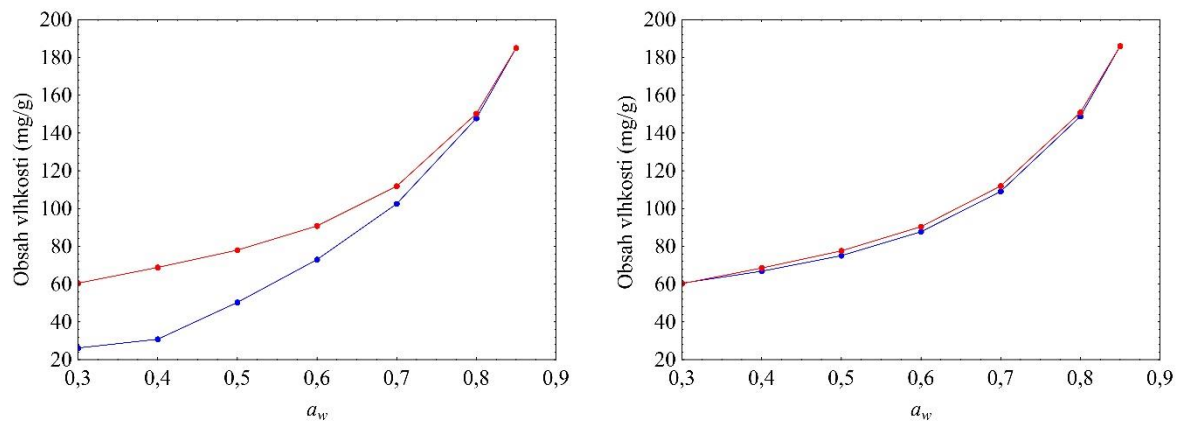
B



C

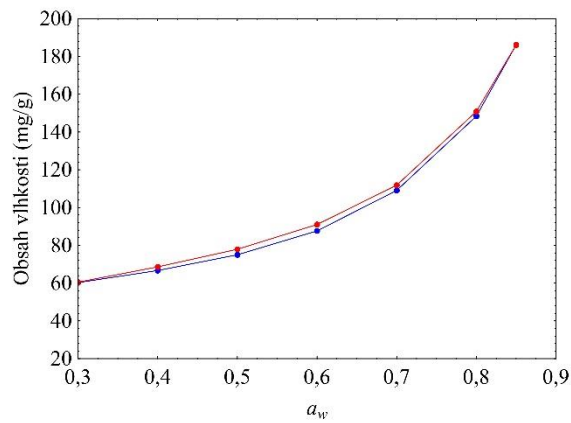
**Příloha 9:** Sorpční chování vzorků 1) Imbio; 2) Iswari během 3 opakujících se adsorpčně (modře)-desorpčních (červeně) cyklů A) 1. cyklus; B) 2. cyklus; C) 3. cyklus

1) Imbio



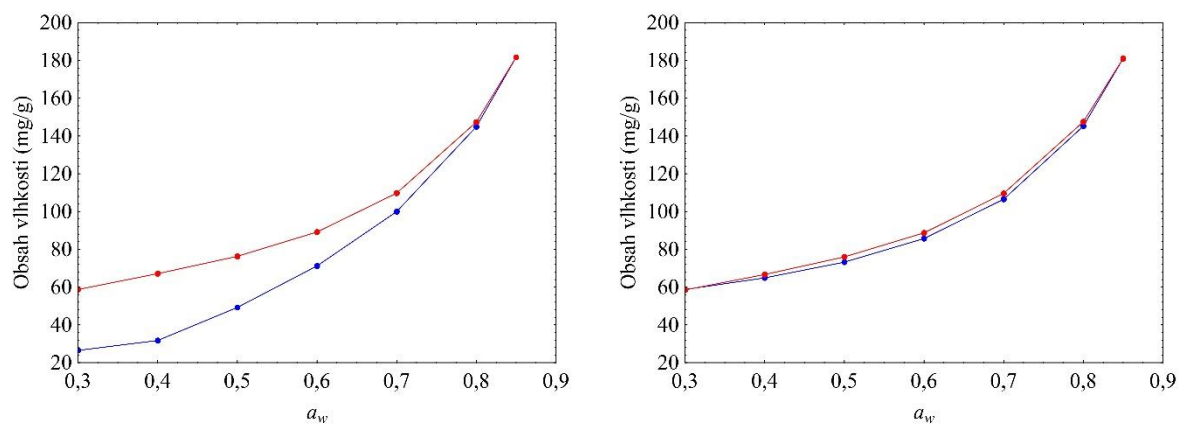
A

B



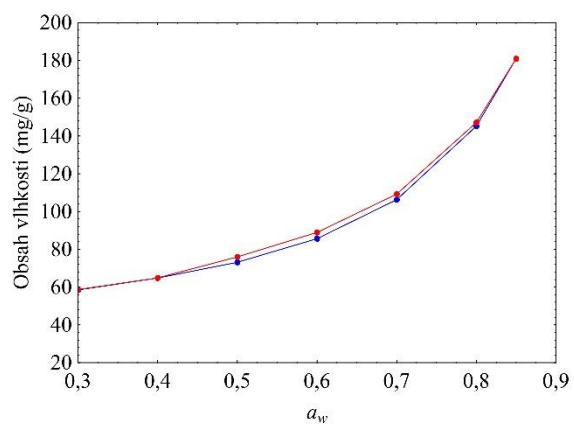
C

2) Iswari



A

B



C