

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra chemie



Rozdíly ve složení různých typů kávy
Diplomová práce

Bc. Petra Vojtíšková
Kvalita a zpracování zemědělských produktů

Ing. Matyáš Orsák, Ph. D.

© 2021 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Rozdíly ve složení různých typů kávy" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 23.4.2021

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala paní doc. Ing. Aleně Hejtmánkové, CSc. a panu Ing. Matyášovi Orsákovi, Ph.D. za cenné rady a perfektní vedení mé diplomové práce. Ing. Kláře Podhorecké za pomoc s experimentální částí práce a statistickým vyhodnocením a Ing. Marii Eliášové za odbornou konzultaci. Dále kavárnám Milovická Nádražka v Milovicích, Café Nádražka a C'up v Ústí nad Labem, pražírně Yakima v Benátské Vrutici, firmě Sweet Coffee a v neposlední řadě rodině, přátelům a zaměstnancům ZPMVČR Ústí nad Labem, kteří poskytli vzorky kávy pro mou práci.

Rozdíly ve složení různých typů kávy

Souhrn

Káva doprovází lidstvo již několik tisíciletí. Významné množství kofeinu a dalších nutričně cenných látek je oceněno nejen výživovými poradci, ale i sportovci a běžnými konzumenty. Bylo zjištěno a porovnáno množství kofeinu, polyfenolických látek a antioxidační aktivita v různých druzích kávy, které byly připraveny odlišným způsobem. Byly vyhodnoceny rozdíly mezi těmito kávami v závislosti na poměru arabiky a robusty a místu původu.

Obsah kofeinu byl stanoven metodou HPLC. Nejvyšší množství bylo obsaženo v kávě AH Basic Groundcoffé (3056,08 mg.100 g⁻¹), která byla připravena jako espresso a v kávě India (2742,71 mg.100 g⁻¹), která byla připravena jako turecká káva. Obě tyto kávy byly 100% robusty.

Antioxidační aktivita byla měřena jako pokles aktivity DPPH. Nejvyšší pokles byl zaznamenán u kávy espresso Supremo z Columbie (100 % arabika), a to 46,83 %.

Obsah polyfenolických látek byl stanoven pomocí UV spektrofotometru. Nejvíce polyfenolických látek bylo obsaženo v kávě AH Basic Groundcoffé (337,47 mg.100 ml⁻¹) připravená pomocí tlakového kávovaru. Nejvíce polyfenolů v turecké kávě obsahoval tentýž vzorek, ale v menším množství (316,35 mg.100 ml⁻¹).

Porovnáním bylo zjištěno, že ve většině případů se uvedené látky vyskytují ve větší míře, pokud je káva pouze zalita horkou vodou, byť maximální hodnoty byly naměřeny pro espresso. V České republice je turecký způsob přípravy kávy velmi oblíbený, a to zejména u střední a starší generace. I přesto, že je v kávě typu robusta obsaženo více cenných látek, preferována bývá arabika, a to zejména pro její jemnější a sladší chuť.

Klíčová slova: polyfenoly, antioxidační aktivita, kofein, arabika, robusta

Differences in the composition of the different types of coffee

Summary

Coffee has accompanied mankind for several millennia. The significant amount of caffeine and other nutritionally valuable substances is appreciated not only by nutritionists, but also by athletes and ordinary consumers. The amount of caffeine, polyphenolic compounds and antioxidant activity in different types of coffee prepared in different ways have been determined and compared. The differences between these kinds of coffee depending on the ratio of arabica, robusta and the place of their origin were evaluated.

Caffeine content was determined by HPLC method. The highest amount was found in AH Basic Groundcoffé (3056.08 mg.100 g⁻¹), which was prepared as espresso coffee, and in India coffee (2742.71 mg.100 g⁻¹), which was prepared as Turkish coffee. Both these kinds of coffee were 100% robustas.

Antioxidant activity was measured as a decrease in DPPH activity. The highest decrease was observed for the espresso Supremo coffee from Columbia (100% Arabica), namely 46.83%.

The content of polyphenolic compounds was determined by UV spectrophotometer. The highest content of polyphenolic compounds was found in AH Basic Groundcoffé (337.47 mg.100 ml⁻¹) prepared using a pressure coffee machine. The Turkish coffee contained the highest amount of polyphenols in the same sample but in smaller amounts (316.35 mg.100 ml⁻¹).

The comparison showed that in most cases, these substances are present to a greater extent when the coffee is only poured over hot water, although the maximum values were measured for espresso. In the Czech Republic, the Turkish way of preparing coffee is very popular, especially amongst the middle and older generation. Despite the fact that robusta coffee contains more valuable substances, arabica is preferred, especially because of its milder and sweeter taste.

Keywords: polyphenols, antioxidant activity, caffeine, arabica, robusta

Obsah

1	Úvod	8
2	Vědecká hypotéza a cíle práce	9
3	Káva	10
3.1	Coffea arabica	10
3.2	Coffea canephora	10
3.3	Coffea liberica	10
3.4	Rozdíl arabika x robusta	11
3.5	Produkce kávy	11
4	Složení kávy	12
4.1	Lipidy	12
4.2	Proteiny	12
4.3	Sacharidy	12
4.4	Kofein	13
4.5	Nikotinová kyselina	14
4.6	Antioxidanty	14
5	Výroba kávy	16
5.1	Sběr	16
5.2	Zpracování kávových zrn	16
5.3	Pražení	17
5.4	Příprava kávy	18
5.5	Další typy kávy	20
5.6	Požadavky na jakost	21
5.7	Účinky konzumace kávy	21
5.8	Metody stanovení složení kávy	22
6	Materiál a metodika	24
6.2	Vzorky káv	25
6.3	Stanovení obsahu kofeinu	26
6.4	Stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH	26
6.5	Stanovení celkového množství polyfenolických látek	27
6.6	Statistické vyhodnocení	28

7	Výsledky	31
7.1	Obsah kofeinu v kávových nálevech.....	31
7.2	Antioxidační aktivita (AOX) kávových nálevů.....	34
7.3	Celkové množství polyfenolických látek v kávových nálevech	37
8	Diskuze	40
8.1	Stanovení obsahu kofeinu.....	40
8.2	Stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH.....	41
8.3	Stanovení celkového množství polyfenolických látek	42
9	Závěr	43
10	Literatura.....	44
11	Samostatné přílohy	I

1 Úvod

Život na Zemi je doprovázen kávou již několik staletí. Káva byla pravděpodobně objevena v Etiopii kolem roku 800. Odtud se neznámým způsobem rozšířila až do Arábie, kde bylo započato její komerční pěstování (Smith 1985). Název je odvozen z arabského slova „qahva“, jež vyjadřuje slovo víno. Vzhledem k islámské prohibici bylo slovo qahva převzato pro kávu. V dalších jazycích je káva pojmenována názvy kahve, káva, kava, koffie, caffè, cafe, kaffee, coffee či coffea (Jones-Gailani 2017).

Kávový nápoj je konzumenty oblíben pro své stimulační a pozitivní účinky na lidské zdraví. Pravidelným pitím kávy je podle vědců možno zabránit onemocnění jater, cukrovce, rakovině tlustého střeva, Alzheimerově chorobě či rakovině kůže (Cano-Marquina et al. 2013).

Dle statistik bylo v České republice od října 2017 do září 2018 spotřebováno 19 400 tun kávy. Spotřeba v domácnostech klesá, byť jsou zisky navyšovány z důvodu poptávky spotřebitelů po kvalitní kávě. Preferovanými produkty ze strany konzumentů jsou kávy v zrnkové formě, které si mohou namlít dle potřeby těsně před samotnou přípravou nápoje. Velké oblibě se v moderní době těší také káva kapslová, která je velmi snadná na přípravu a lze ji jednoduše skladovat. Průměrná cena zrnkové nebo kapslové kávy byla stanovena na 1192 Kč.kg⁻¹. Polovina celkové spotřeby kávy je tvořena mletou kávou, instantní káva zabírá zhruba čtvrtinu spotřeby (Mediaguru 2019).

Za nejdůležitější složku kávy je považován kofein, alkaloid příznivě působící na nervovou soustavu člověka a srdeční činnost. Díky kofeinu je potlačována únava a podporována bdělost, dále kofein zrychluje srdeční tep, rozšiřuje tepny a uvolňuje svalstvo. Těhotné ženy a osoby se srdečními chorobami jsou těmito účinky kávy ovlivňovány negativně, proto by měly pití kávy omezit. Na rozdíl od ostatních psychoaktivních látek je kofein zcela legalizován a jeho prodej není žádným způsobem omezován. Jako samostatný přípravek je konzumován sportovci pro zvýšení výkonu a povzbuzení před tréninkem (Temple et al. 2017). Požití více než 600 mg kofeinu může být doprovázeno nežádoucím účinkem, mezi které je řazena bolest hlavy, žaludku, úzkost, neklid či podrážděnost (Sicard et al. 1996).

Další velmi důležité látky, které jsou obsaženy v kávových zrnech, jsou polyfenolické látky, které vykazují různě silné antioxidantní účinky. V největším množství je v kávových zrnech obsažena chlorogenová kyselina. Dle intenzivních vědeckých průzkumů je ověřeno, že více polyfenolických látek je obsaženo v kávě robusta než v kávě arabika (Król et al. 2020).

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Cílem práce je stanovení kofeinu, antioxidační aktivity a celkového obsahu polyfenolických látek kávy v závislosti na typu kávy, místě pěstování a způsobu přípravy a následné statistické vyhodnocení případných rozdílů.

Hypotéza 1: Celkový obsah polyfenolických látek, antioxidační aktivita a obsah kofeinu v různých typech kávy se liší.

Hypotéza 2: Celkový obsah polyfenolických látek, antioxidační aktivita a obsah kofeinu je závislý na způsobu přípravy kávy.

3 Káva

3.1 *Coffea arabica*

Kávovník arabský (*Coffea arabica*), jiným názvem kávovník obecný, je tropická rostlina zařazena do čeledi mořenovité (*Rubeaceae*). Původní populace jsou rozšířeny jen vzácně ve vyšších polohách Etiopie, kde byla tato rostlina poprvé objevena. Až v 16. století byl kávovník využíván v Turecku, později v Holandsku, a nakonec v Indonésii. Mezi největší producenty je zařazena Brazílie, Kolumbie, Mexiko, Indie, Pobřeží slonoviny, Indonésie a Etiopie.

Regiony s největšími rozdíly teplot mezi dnem a nocí, ve kterých je ráno tvořena mlha či rosa, jsou pro kávovník nejvhodnější. Tyto oblasti jsou položeny v tropických horách (500 – 1000 m n.m.). Zde je káva nejčastěji pěstována. Výjimečně je káva pěstována také v nížinných oblastech. Kávovník dorůstá do výšky až 6 metrů. Listy jsou tmavozelené, na rubu světlejší, na vrcholku zašpičatělé. Květy jsou seskupeny po 2 až 12 v úžlabí listů (Obr. 1). V zelenožluté, později červenofialové peckovici, jsou ukryta dvě plochá semena s podélnou rýhou. Pokud je v plodu vyvinuto pouze jedno semeno, jeho tvar je kulovitý (Hoskovec 2011).



Obr. 1: Květ kávovníku arabského (*Coffea arabica*)

3.2 *Coffea canephora*

Kávovník statný (*Coffea canephora*) je nížinný keř známý také pod názvem kávovník robusta, který je pěstován v mnoha tropických zemích. Jedná se o větrem opylovanou rostlinu. (Klein et al. 2003). Světová produkce kávovníku statného je zastoupena pouze z 9 % (Kemsley et al. 1995). První plody jsou sklizeny po dvou letech od výsadby. Robusta je řazena mezi lacinější a chuťově méně příjemné kávy, které jsou snadno sehnatelné v běžných obchodech (Veselá 2011).

3.3 *Coffea liberica*

Kávovník liberijský (*Coffea liberica*) je pěstován zejména v Jižní a Střední Americe, Indonésii a Polynésii. Z celkové světové produkce je pěstování kávovníku liberijského zastoupeno pouze 1 %. Silná mohutná dřevina dorůstá výšky až 20 metrů. Semena jsou využívána do směsí z důvodu jejich trpké a hořké chuti (Augustín 2016). Od ostatních kávovníků je výrazně odlišen charakterem listů, délkou řapíku, květenstvím a tvarem a délkou semen (Michel et al. 2007).

3.4 Rozdíl arabika x robusta

Celosvětová produkce je ze 70 % tvořena kávovníkem arabským. V porovnání s robustou je arabika náročnější na pěstování, byť je pěstována v mírných oblastech. V semenech je obsaženo větší množství tuků a vitaminů. Chuť arabiky je plná a bohatá, doprovázena tóny čokolády, květin a koření. Pro robustu je typická hořká, dřevitá až zemitá chuť. Na rozdíl od robusty je množství kofeinu až 3x menší. V robustě bylo zjištěno až 2,7 % kofeinu, v arabice pouze 1,5 %. Pouhým okem může být arabika od robusty rozpoznána podle středové rýhy a tvaru zrna (Obr. 2). Rýha arabiky bývá zakřivena do mírného esíčka, kdežto rýha robusty je rovná. Tvar zrnka arabiky je zpravidla protáhlejší, plošší a v surové podobě je jeho barva světlejší. Posledním faktorem, kterým může být arabika odlišena od robusty je vůně při pražení. Při pražení arabiky je pražírna provoněna borůvkami, při pražení robusty dominují arašídny (Cofeespot pražírna 2019).



Obr. 2: Rozdíl arabika x robusta

3.5 Produkce kávy

3.5.1 Etiopie

V Etiopii je káva pěstována ve vysokých nadmořských výškách na malých plantážích malými farmáři. Ročně jsou zde vyprodukovány 4 miliony pytlů kávy, čímž se Etiopie řadí na 6. místo v produkci kávy. V oblasti Lekempti, Wellega a Gimbi se pěstuje nejlepší káva sladší a plnější chuti. V Yiargacheffe je pěstována jedna z nejlepších káv Etiopie. Má velmi silné citrusové aroma, vyváženou sladkost a květinové rysy. Zemitější káva je pěstována v nejstarší oblasti Harar se suchým a horkým podnebím.

3.5.2 Keňa

V Keni je káva pěstována od 19. století, kdy byla dovezena z Etiopie. Keňská káva je řazena mezi nejvyšší na světě. V chuti jsou nejvíce zastoupeny citrusové a květinové tóny. V zemi je vyprodukováno kolem 1 milionu pytlů za rok. V oblasti Marsabit jsou zdrojem kávy divoce rostoucí kávovníky.

3.5.3 Brazílie

Brazílská káva je více než 150 let řazena mezi největší producenty kávy a je v kávovém průmyslu velmi vyspělá. V zemi je pěstována především arabika, ale jsou místa, kde je

pěstována výhradně robusta, např. v oblasti Espiríto Santo. Oříšky, čokoláda, plná chuť a nízká acidita jsou typickými prvky této kvalitní kávy. Káva z Brazílie je nejčastěji zpracována naturálně.

3.5.4 Honduras

Honduras je největším producentem kávy ve Střední Americe. Kvalita kávy je nepříznivě ovlivněna počasím, neboť sušení kávy je ztěžováno prudkými a častými dešti. V chuti se objevuje ovocný nádech a čokoládové tóny. V oblasti Montecillos jsou vysázeny nejvýše položené plantáže v zemi (www.lazenskakava.cz 2019).

4 Složení kávy

V kávě je obsažena řada významných látek, které jsou prospěšné pro lidský organismus. Poměr těchto složek je ovlivněn druhem i původem kávy a neméně významný je i způsob pražení. Nejdůležitější látkou v kávě je právem označován kofein, který je obsažen v množství 0,5 – 2,6 % a díky jeho pozitivním účinkům na nervový systém je pití kávy celosvětově oblíbeno. Nejvíce jsou v kávě zastoupeny polysacharidy v množství 25–30 %. Zrnko kávy je tvořeno ze 13 % vodou, 13 % tvoří proteiny a 4 % minerální látky. Tuk je v zrně uložen ve velmi malém množství do 0,8 %. Z 10 % je obsažena kávová kyselina, chlorogenová kyselina představuje 4–6 % (Mazzafera 1999, Petriková & Patočka 2006). Kávové kyseliny a kofein jsou zodpovědné za hořkost kávy, množství sacharózy ovlivňuje sladkost finálního nápoje (Komes & Bušić 2014, Perrois et al. 2015).

4.1 Lipidy

Kávový olej je tvořen především triacylglyceroly, estery a nezmýdelnitelnými látkami. Dále jsou zastoupeny volné mastné kyseliny, jejichž přítomností je značně ovlivněno aroma vznikající během pražení. Nejvíce jsou zastoupeny kyseliny linolová a palmitová. V menším množství je v zrně obsažena olejová, stearová, arachidonová a linolenová kyselina. Ochranný obal zrna je tvořen voskem (Ratnyake et al. 1993, Flament & Bessiere-Thomas 2002).

4.2 Proteiny

V bílkovinách kávového zrna jsou nejvíce zastoupeny aminokyseliny leucin, glutamová a aspargová kyselina. Vysokou teplotou pražení jsou bílkoviny degradovány, přesto je možné jejich malé množství v pražené kávě nalézt (Flament & Bessiere-Thomas 2002)

4.3 Sacharidy

Ze sacharidů se v kávě vyskytují manan, celulóza, pektin, heteroglykany nebo arabinoglykany. Během pražení je 30 % celkového obsahu polysacharidů degradováno. Z nízkomolekulárních sacharidů je obsažena fruktóza, glukóza, galaktóza, ribóza nebo manóza (Flament & Bessiere-Thomas 2002, Regdwell & Fisher 2006).

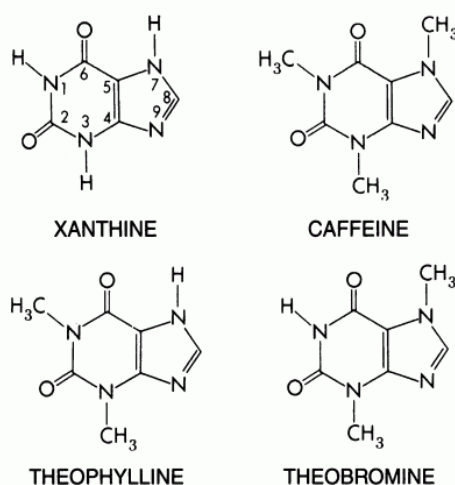
4.4 Kofein

Důležitou složkou kávy je kofein, kterým je stimulován centrální nervový systém. Jedná se o purinový alkaloid (1,3,7-trimethyl xantin), který se chemicky podobá bázím deoxyribonukleové kyseliny (DNA) a ribonukleové kyseliny (RNA) (Steffanelo et al 2019; Renda & De Caterina 2020). Kofein je požíván jako legální psychoaktivní droga téměř ve všech částech světa. Nejčastěji je konzumován ve formě nápoje. Rostlinný produkt je namočen do vody a pomocí infuze horkou vodou nebo extrakcí vodní páry je při vysoké teplotě uvolněn kofein (Renda & De Caterina 2020). Kofein je v čisté sypké formě tvořen jehlicovitými, hedvábně lesklými krystalky. Chuť je lehce nahořklá a zápach není znatelný (Charkovský 2013).

V těle je kofein metabolizován na teobromin, teofylin a paraxantin (Obr. 3). Kofein působí příznivě jako antioxidant, protizánětlivá látka, protinádorová látka, proti Alzheimerově chorobě, diabetu nebo Parkinsonově chorobě. Příjmem kofeinu je zvyšována bdělost. Metabolity kofeinu, teobromin a xantin brání oxidaci lipidů volnými radikály. Nadměrná konzumace kofeinu může mít za následek gastrointestinální poruchy, hypertenzi, nespavost, třes, necitlivost, svalové křeče, bolest hlavy a v horším případě i potrat (Chen 2019).

Některými studiemi byly prokázány účinky zvyšující sportovní aktivitu a výkonnost. Mezi výhody používání kofeinu ve sportovní výživě patří zlepšení svalové vytrvalosti, rychlosti a zvýšení svalové síly. Účinky byly prokázány při požití 3 až 6 mg kofeinu na kilogram lidské hmotnosti. Vyšší dávky mohou být doprovázeny nežádoucími účinky jako jsou svalový třes nebo bolest žaludku. Ideální doba pro konzumaci kofeinu je 60 minut před tréninkem (Guest et al. 2021).

Ve studii Wiebel et al. (2020) byly dobrovolníkům podávány dávky kofeinu v množství 150 mg 3x denně podobu 10 dnů, placebo 3x denně po dobu 10 dnů, dále kofein v množství 150 mg 3x denně 8 dní a následně placebo po dobu dvou dní. Vliv na melatonin nebyl zjištěn. Účastníky studie bylo potvrzeno, že v průběhu vysazení kofeinu pociťovali větší únavu a náchylnost ke spánku. Výzkumem bylo také prokázáno, že spotřeba kofeinu nemá účinky na večerní spánek, ale aktuální bdělost může být regulována.



Obr. 3: Deriváty kofeinu

4.5 Nikotinová kyselina

Nikotinová kyselina je známa pod názvy niacin nebo vitamin B3. Koncentrace této bioaktivní složky v kávových zrnech je relativně malá. Pražením kávy je rozkládán trigonellin a tím je zvyšováno množství nikotinové kyseliny. Denní konzumací kávy je doplněna přibližně jedna třetina minimálního stravovacího požadavku dospělých na vitamin B3. Nikotinovou kyselinou jsou významně ovlivněny metabolické dráhy oxidace, redukce a snižování hladiny cholesterolu. Její přítomností je také zvyšována hladina koncentrace lipoproteinů s vysokou hustotou (HDL) v plazmě, je proto využívána při hyperlipidemii, čímž je snižována progresse aterosklerózy a riziko kardiovaskulárních příhod. Nedostatkem nikotinové kyseliny může být způsobena pelagra, dermatitida, průjem nebo demence (Girma et al. 2020).

4.6 Antioxidanty

Výzkumy v posledních letech bylo potvrzeno, že nadměrná akumulace produktu vznikajících reakcí kyslíku a dusíku v tělní dutině, je hlavní příčinou patologických změn v lidském těle způsobujících nemoci. Tyto látky jsou označeny jako volné radikály, mezi které je zařazen superoxidový anion, hydroxylový radikál nebo hydroperoxylový radikál. Neustálým zvyšováním počtu volných radikálů jsou vytvářeny podmínky pro oxidační stres, při němž jsou radikály transportovány do krevních cév, proteinových molekul, DNA nebo lipidů. Vlastnosti buněčných membrán jsou po útoku radikálů změněny. Narušením vazeb v molekule DNA je poškozen genetický aparát buněk a jsou rozvíjeny rakovinotvorné buňky (Dröge 2002, Radak et al. 2007, Yashin et al. 2013).

Jednou z možností, jak organismus chránit před vlivem exogenních i endogenních volných radikálů, je působení antioxidantů. Antioxidanty jsou molekuly, které jsou-li přítomny v malých koncentracích ve srovnání s látkami, jež by měly chránit, mohou bránit nebo omezovat oxidační destrukci těchto látek (Paulová et al. 2004).

Díky antioxidantům jsou zpomalovány degenerace buněk a poškození tkáně způsobené oxidací vlivem volných radikálů (Youngson 1995). Nejběžnějšími antioxidanty, které jsou běžně přijímány v potravě jsou močová kyselina, koenzym Q nebo glutathion. Mezi další přírodní antioxidanty jsou řazeny vitaminy C, E nebo karotenoidy. Významná skupina antioxidantů je tvořena polyfenolickými sloučeninami. Do této skupiny patří flavonoidy, katechiny a fenolické kyseliny. Člověkem jsou přijímány ze zeleniny, ovoce, čaje, kávy, vína nebo aromatických rostlin. Mnohými studiemi byla zjištěna vyšší antioxidační aktivita fenolických látek obsažených v rostlinách v porovnání s vitaminy. Také byla vědecky prokázána korelace mezi antioxidační aktivitou přírodních látek a prevencí kardiovaskulárních nebo neurologických chorob (Paulová et al. 2004, Salazar-López et al. 2020, Sytařová et al. 2020).

4.6.1 Polyfenolické látky

Nejvíce zastoupeným polyfenolem v kávě je chlorogenová kyselina, která je obsažena především v zelených zrnech kávovníku. Zelená zrna nejsou upražená, ale pouze usušena na slunci. Chlorogenová kyselina je známa jako silný antioxidant, který redukuje oxidační stres. Elektron antioxidantu je přijímán volným radikálem, který je neutralizován a tím je zabráněno

poškození buněk. Radikály jsou přirozeně tvořeny v mitochondriích, proto je žádoucí zajistit dostatek antioxidantů v těle. Mimo antioxidační vlastnosti je chlorogenová kyselina využívána i při redukci hmotnosti, snížení krevního tlaku, jako prevence žlučových kamenů a může být upravena i hladina krevního cukru (Musilová 2018). Polyfenolické látky rovněž ovlivňují oxidaci lipoproteinů o vysoké hustotě (HDL). Díky těmto látkám je hladina HDL udržována ve stabilní hodnotě a zároveň je snižována hladina problematických lipoproteinů a nízké hustotě (LDL) (Shi et al 2007). Zatímco většina polyfenolických látek vstupuje do lidského oběhu skrze žaludeční stěnu, katechiny, flavanoly a flavony se vstřebávají v tenkém střevě. Absorpce polyfenolů je částečně ovlivněna mikrobiálním metabolismem a aktivitou trávicích enzymů (Teng et Chen 2019).

4.6.2 Antioxidační aktivita

Četné studie uvádějí, že nadměrná akumulace produktu vznikajícího reakcí kyslíku a dusíku v tělní dutině, je hlavní příčinou patologických změn v lidském těle způsobujících nemoci. Vlastnosti buněčných membrán jsou po útoku radikálů změněny. Narušením vazeb v molekule DNA je poškozen genetický aparát buněk a jsou rozvíjeny rakovinotvorné buňky (Yashin et al. 2013).

Antioxidační aktivita kávových zrn a kávových nápojů je známa již dlouhou dobu a byla hodnocena pomocí různých detekčních metod. Studiemi bylo potvrzeno, že vysoký obsah polyfenolů hraje důležitou roli v jejich silném antioxidačním účinku. Koncentrace těchto látek je ovlivněna druhem a původem kávových zrn a postupem vaření kávových nápojů. Během pražení jsou fenolové sloučeniny částečně degradovány nebo vázány na polymerní struktury v závislosti na podmínkách pražení. Pozitivní účinky byly prokázány i u chlorogenové kyselině. Po pražení je její antioxidační aktivita zachována (Cämmerer & Kroh 2006).

Výzkumem, který provedli Cheng et al. (2019) bylo prokázáno, že na množství aktivních složek kávových plodů má vliv metoda sušení. V pokusu bylo provedeno sušení při pokojové teplotě, tepelným čerpadlem, mrazem a mikrovlnným zářením ve vakuu. Výzkum byl zaměřen na jedenáct fenolických kyselin, celkový obsah polyfenolů, celkový obsah flavonoidů, antioxidační aktivitu, polyfenol oxidázu, inhibici peroxidace linolové kyseliny, biologickou přístupnost *in vitro* a enzymatickou aktivitu. Nejvhodnější metodou sušení bylo stanovení sušení mikrovlnným zářením ve vakuu, při němž jsou fenolické sloučeniny a biologická aktivita zachovány v největší míře.

5 Výroba kávy

5.1 Sběr

Káva je připravena ke sklizni, pokud jsou plody jasně červené, lesklé a pevné. Obvykle jsou uvnitř plodu ukryta 2 zelená zrnka, která jsou použita pro zpracování kávy. Zrnka je po sklizni třeba co nejrychleji zpracovat, ideálně do 12 hodin od sklizně. Káva je sbírána především ručně. Je to nejstarší, nejkvalitnější a nejhodnotnější způsob sklizně, rovněž ale nejdražší a nejnáročnější. Každý plod je odtrháván samostatně a pouze dokonale zralý. Při sběru jsou vyřazeny nekvalitní, nezralé a poškozené plody. Metoda ručního sběru je k plodům i rostlině velmi šetrná, a proto je zaručena vysoká kvalita kávy. Denně je možné jedním sběračem nashromáždit až 80 kg plodů, které obsahují až 20 kg zrn. Další metodou sběru je česání, při němž je sběračem odtržen celý trs plodů. Rostlina je poškozena, protože nešetrnou manipulací jsou strženy i listy. Plody nejsou roztříděny. Tato metoda je využívána zřídka. Pro sběr kávy může být použit kombajn, kterým je rostlina taktéž poškozována. Kvalita kávy je nejnižší, protože sklizeň může být znehodnocena nemocnými a plísní zasaženými plody. Z ekonomického hlediska je tento typ sběru rychlý a ekonomický (Kamikava 2018).

5.2 Zpracování kávových zrn

5.2.1 Suchý způsob

Metoda suchého zpracování je nejstarší, nejjednodušší a finančně nenáročná. Nejvíce je využívána na plantážích v oblastech s nedostatkem vody. Plody jsou rovnoměrně rozloženy na velké ploše v 5 až 8 cm silné vrstvě a jsou sušeny po dobu 4 týdnů. Během sušení jsou bobule prohazovány a prohrabávány, při nepřízní počasí jsou přikryty plachtami, aby bylo zabráněno vniknutí vlhkosti. Plody jsou usušeny do výsledné vlhkosti 11 až 12 %. Pokud by plody nebyly dokonale usušeny, mohly by být napadeny mikroorganismy nebo infekcí. Naopak přílišným přesušením by bylo způsobeno porušení a prasknutí zrna při loupání. Následnou 20denní fermentací je docíleno karamelové a ovocné aroma (Evangelista et al. 2014).

5.2.2 Mokrý způsob

Následným zpracováním po sklizni jsou zrna zbavena obalových vrstev, které musí být odstraněny do 24 hodin po sběru. Při pozdějším zpracování by byly slupky odděleny obtížněji. Mokřím způsobem jsou zrna zpracována kvalitněji ale o to náročněji. Nevyvinuté či poškozené plody jsou dokonale odděleny od zdravých. Při použití tohoto způsobu zpracování je využito mnoho vody, proto je voda dále recyklována a tím jsou sníženy náklady. Nejprve jsou plody promyty ve speciálních nádržích. Listy, uschlé plody a další části rostliny jsou odděleny. Zralé plody klesají ke dnu. Uvolněné slupky jsou odstraněny proudem vody (Belitz et al 2006).

Druhou fází mokřého způsobu je fermentace, během které je oddělen slizovitý obal kolem zrna. V betonových nádržích je fermentace provedena bakteriemi *Lactobacillus acidophilus* po dobu 12–72 hodin. Fermentací je tvořena mléčná kyselina snižující pH a je vytvořeno kyselé prostředí. Přítomnými enzymy je oddělena slizovitá vrstva. Po fermentaci je v zrnu snížen obsah vody na 50 % sušením horkým vzduchem v sušičkách nebo přirozeně

na slunci, v tomto případě jsou zrna rozprostřena na velké asfaltové nebo betonové ploše a postupně prohrabávána. Betonové plochy jsou využívány častěji, protože vysokou teplotou nedochází ke kontaminaci semen. Z přírodních povrchů je využíván hlavně písek, kterým je absorbována vlhkost, a tím je zabráněno hnilobě. Pro kávu zpracovanou mokrým způsobem je typické ovocné, květinové aroma a kyselejší chuť, která je způsobena fermentačním procesem (Woldensenbet et al. 2014, Augustín 2016).

5.2.3 Polo-promývaný způsob

Během polo-promývaného neboli „medového“ způsobu jsou zrnka tříděna ve vodních lázních jako je tomu v případě mokrého způsobu zpracování a jsou částečně odstraněny obalové vrstvy. Poté jsou zrna usušena na slunci, opět několikrát prohrabána, aby bylo zabráněno vzniku nežádoucích plísní a hnilob. Po sušení je fermentováno torzo obalové vrstvy společně se zkvasitelnými cukry. Káva připravená tímto způsobem je velmi jemná s minimem kyselých tónů. Náklady jsou sníženy použitím menšího množství vody než při mokrému způsobu, proto je tato metoda z ekonomického pohledu výhodná (Veselá 2011).

5.3 Pražení

5.3.1 Proces pražení

Pražení je klíčový proces výroby kávy a je jím ovlivněna výsledná chuť, aroma a kvalita nápoje. Během pražení jsou zelená zrna zahřívána 10 až 15 minut při teplotě 200 až 400° C. Celý proces je prováděn v otáčivém bubnu pražičky, který zajistí stejnoměrné opražení. V 9. minutě pražení je slyšet puknutí, tzv. „first crack“. Od tohoto okamžiku je již káva vhodná ke konzumaci. Následnou dobou pražení po prvním prasknutí jsou ovlivněny vlastnosti kávy. Po 5 až 6 minutách je možné slyšet „second crack“. Při dalším pražení je káva přepálena. Pražení světlé kávy končí s prvním puknutím, pro tuto kávu je typická světlá barva a jemná chuť. Středně pražená káva má výraznější chuť. Středně tmavá káva je upražená při počátku druhého pukání a je pro ni typická mírně hořkosladká chuť a sytá hnědá barva. Nejtmavší káva je výrazně hořká (domacikava.cz 2017).

Pražením se mění složení kávy, zejména množství bílkovin, aminokyselin, redukujících cukrů, sacharózy, chlorogenové kyseliny a vody. Mnohé změny jsou způsobeny Maillardovou reakcí – kondenzací cukrů s volnými aminokyselinami, peptidy nebo proteiny (Yanagimoto et al. 2002, Duarte et al. 2005).

Pokud nebude káva po upražení distribuována jako mletá, měla by být ihned zabalena do balení se zpětným ventilem. Díky tomuto ventilu je umožněn únik vzniklého plynu a je zamezeno kontaminaci z okolí. Balení mohou být sycena dusíkem, díky kterému je zabráněno kontaminaci oxidací nebo žluknutím ze vzdušného kyslíku. Vždy je ale nutno kávu nechat po vypražení „vystárnout“ a „vydechnout“, čímž je zbavena nežádoucích plynů (Kávovník 2007).

5.3.2 Rizika pražení

Během zahřívacích procesů pražení kávy mohou být vytvořeny nežádoucí látky vykazující škodlivé účinky na lidské zdraví. Akrylamid a hydroxymethylfurfural jsou považovány za pravděpodobné nebo potenciálně karcinogenní látky. Akrylamid je tvořen zejména Maillardovou reakcí a je označován za nejdůležitější tepelně indukovaný kontaminant. Vědeckými studiemi byla potvrzena souvislost mezi akrylamidem v potravě a zvýšeným rizikem některých typů rakoviny. Dalšími studiemi byla prokázána změna hydroxymethylfurfuralu *in vivo* na 5-sulfoxymethylfurfural, což je genotoxická sloučenina (Capuano & Fogliano 2011). Dodržením správného technologického postupu by mělo být nadměrnému vzniku těchto látek zabráněno (Bagdonaite & Murkovic 2004).

5.3.3 Vliv na antioxidační aktivitu

Del Castillo et al. (2002) potvrdili, že na kvalitu bioaktivních sloučenin v kávových nápojích má významný vliv především doba pražení. Výsledky zdůraznily, že doba přípravy kávy nebo její původ antioxidační aktivitu příliš neovlivňují. Větší množství polyfenolických sloučenin vykazovala organická káva oproti kávě z konvenčního zemědělství.

Ve studii, kterou provedli Duarte et al. (2005) a Bobková et al. (2020), byl prokázán vliv zpracování a pražení na antioxidační aktivitu kávových zrn. Byla analyzována zrna lehce, středně a silně upražená. Nejvyšší antioxidační aktivitu vykazovala lehce pražená káva. Vyším stupněm pražení byla aktivita snižována. Požitím lehce nebo středně upražené kávy se zvyšuje ochrana buněk před poškozením antioxidačním stresem.

Cílem studie Kwak et al. (2017) byl výzkum vlivu teploty proudícího vzduchu při pražení na antioxidační aktivitu a množství polyfenolických aktivních látek. Pražení bylo provedeno v několika kombinacích teploty (180-200 °C), času (13-17 min). Výsledek byl měřen metodou DPPH, ORAC a celkovým obsahem polyfenolů. Zvýšení teploty a prodloužení doby pražení mělo negativní vliv na výslednou aktivitu polyfenolických látek. Vyšší antioxidační aktivita byla pozorována pro vzorky pražené při teplotě 190-200 °C 15 minut.

5.4 Příprava kávy

Nejčastější metodou přípravy kávy je překapávání, které je preferováno 62 % spotřebitelů. Kávu je možné připravit také pomocí automatických kávovarů jako espresso, kapslovými systémy, v moka konvičkách či „french-press konvičce“ (Brommer et al. 2002).

5.4.1 Espresso

Espresso bývá základem většiny kávových nápojů. Jeho příprava je samozřejmostí každého baristy a je důležité umět připravit lahodné espresso naprosto bez chyby. Důležitou součástí správného espressa je hustá bohatá oříškově zabarvená pěna - „crema“ - vysoká několik milimetrů. Po rozhrnutí lžičkou musí být pěna vrácena do své původní podoby. Hladká crema bez bublinek je znakem dokonalého espressa, které zároveň voní po oříškách, květinách, čokoládě nebo ovoci. Pro espresso je více využívána kvalitnější káva arabika nežli robusta. Plná chuť je dosažena správnou přípravou ze 7 g kávy, temperem – stlačením v páce silou 20 kg,

průtokem 20 až 30 vteřin pod tlakem 9 barů a celkovém objemu 25 až 35 ml. Kvalita je ovlivněna čistotou páky, kávovaru i kvalitou vody. Název espresso je odvozen ze slova „express“, neboli rychle (Veselá 2011).

5.4.2 Turecká káva

Nejběžnější metodou vaření kávy je turecká káva. Mletá káva je přidána do konvičky s vodou a následně přivedena k varu. Vařením je dosaženo vrstvy pěny na povrchu a oddělení sedimentu usazeného na dně konvičky (Caprioli et al. 2015).

Stálíci českých domácností se stal takzvaný „český turek“, kdy je káva zalita vroucí vodou. Je to velmi rychlá a levná metoda, ne však kvalitní. Tímto postupem jsou znehodnoceny cenné látky obsažené v kávových zrnech a také její výjimečná chuť. Káva by se měla správně louhovat maximálně čtyři minuty, delším kontaktem jsou uvolňovány nežádoucí látky mající negativní vliv na náš trávicí systém. Výsledkem je nezdravý nápoj s přebytkem kofeinu a tríslovinami (kavomil.cz 2015).

5.4.3 French press

French press je v poslední době velmi populární. Mletá káva je vložena do válcové konvičky a zalita vroucí vodou. Po pár minutách je stlačen kruhový filtr, který pevně sedí ve válci, dolů až na dno. Skrze filtr prochází nápoj a je filtrován od sedimentu. Při přípravě kávy touto metodou je většina účinných látek převedena do nápoje. Výsledný nápoj je přelit do šálku, přičemž sediment zůstává v konvičce. Chuť takto připravené kávy je velmi silná a výrazná (Caprioli et al. 2015).

5.4.4 Překapávaná káva

Další běžnou technikou je příprava překapávané kávy. Vroucí voda je nalita do nádoby s perforovanou základnou na filtr obsahující mletou kávu. Výsledný nápoj prosakuje filtrem po dobu 5 minut. Tento princip je využíván i automatickými kávovary (Caprioli et al. 2015).

5.4.5 Vietnamská káva

Méně známým typem přípravy je vietnamská káva, která je připravována v hliníkové nádobce zvané „phin“. Na dně nádoby je umístěno sítko, na které jsou nasypány 3 vrchovaté lžičky kvalitní mleté kávy. Druhým sítkem je zakryt obsah nádoby. Do hrnku, ze kterého bude káva konzumována, je nalito kondenzované mléko. Hliníková nádobka je postavena na hrnek a káva je zalita horkou vodou. Nejprve je nalito malé množství vody. Druhým sítkem je celý obsah stlačen. Poté je nádobka doplněna vodou až po okraj. Po dlouhém dokapání je víčko položeno na stůl jako podtácek a na něj je položena nádobka. Takto je káva připravena na konzumaci. Chuť je velmi intenzivní, ale díky kondenzovanému mléku sladká.

5.4.6 Druhy kávových nápojů

- **Espresso** – standardní kávový nápoj o objemu 30 ± 5 ml
- **Ristretto** – nápoj velmi podobný espressu podávány v množství 20 ml, extrakce je kratší nebo stejně dlouhá, ale káva je namleta jemněji
- **Lungo** – espresso dolité horkou vodou v poměru 1:1
- **Americano** – espresso dolité horkou vodou v poměru 1:5, horká voda by měla být dodávána v nádobce zvlášť
- **Macchiato** – espresso s mléčnou pěnou šlehanou vodní parou
- **Café latté** – káva o objemu nejméně 250 ml podávaná s mlékem a mléčnou pěnou
- **Cappuccino** – středně velká káva o objemu 150 až 180 ml s vysokou mléčnou pěnou a sametovou chutí
- **Flat white** – nejpobulárnější káva dnešní doby, která je tvořena dvojitou porcí espressa a mléčnou pěnou, která může být doplněna „latté art“ – obrázek vytvořený speciálním litím mléčné pěny do kávy
- **Vídeňská káva** – správná vídeňská káva je tvořena prodlouženým espressem – lungem a porcí pravé šlehačky
- **Irská káva** – kvalitní irská káva je připravena z filtrované kávy nebo espressa, vyšlehané tekuté pěny ze smetany a 3 až 4 cl kvalitní irské whiskey (Coffeeexperts 2018)

5.5 Další typy kávy

5.5.1 Zelená káva

Zelená káva jsou surová kávová zrna, která nebyla po sklizni upražená. Mnohými studiemi bylo prokázáno, že díky zelené kávě jsou regulovány hypertenze nebo metabolismus glukózy. 5-kávaoylchinovou kyselinou je snižována absorpce glukózy v tenkém střevě (Choi et al. 2016). V zeleném kávovém extraktu je obsažena účinná chlorogenová kyselina, která má pozitivní dopad na metabolismus. Této vlastnosti je využíváno zejména při snižování hmotnosti a odbourávání tuků (Aristina et al 2018). Také Shimoda et al. (2006) ve svém výzkumu potvrdili pozitivní účinky chlorogenové kyseliny v zelených kávových zrnech. Perorálním podáním 100 a 200 mg chlorogenové kyseliny na jeden kilogram hmotnosti po dobu 13 dní bylo dosaženo snížení hmotnosti a objemu viscerálního tuku.

5.5.2 Cibetková káva

Cibetky jsou malí savci z čeledi cibetkovití (*Viverridae*) pocházející z Afriky a Asie. Mimo ovoce, ořechy a hmyz jsou cibetkami konzumovány plody kávovníku. Cibetková káva je vyrobena ze zrn, která byla cibetkami pozřena, trávícími šťávami nakvašena a následně vyloučena z trávícího traktu. Trávícím procesem je kávě dodána ořechová příchuť, která je vysoce ceněna kávovými labužníky. Zrnka jsou sbírána ve volné přírodě na kávových plantážích. Komerční chov cibetek je povolen, ale z hlediska welfare se nejedná o vhodný způsob produkce kávy (Carder et al. 2016).

Ve srovnání se standardní kávou jsou zrnka zbarvena více červeně a celkově jsou tmavší. Trávicími enzymy a působením žaludečních šťáv byly uskutečněny mikrostrukturální změny na povrchu zrna, zvýšená křehkost a ztěžknutí a proteolytickými enzymy bylo způsobeno štěpení proteinů uvnitř zrna. Největší rozdíly byly pozorovány v aroma profilech káv. Pro vyhodnocení pravosti je používán SDS-PAGE test, kterým je elektroforeticky rozlišena modifikace zrn gastrointestinálním systémem (Marcone 2014).

5.6 Požadavky na jakost

Jakost kávových zrn je dána vyhláškou ministerstva zemědělství. Zrna by měla být matný vzhled, vyloučený olej je povolen. Barva by měla být sytě hnědá, vůně typicky kávová, bez zápachů. Pražená bezkofeinová káva by měla obsahovat maximálně 0,1 % kofeinu, pražená zrnková káva by měla obsahovat alespoň 19 % kofeinu. Množství vodního extraktu v sušině by nemělo překročit hranici 5 % vlhkosti.

V roce 2003 byla zrušena norma definující smyslové, mikrobiální, fyzikální a chemické požadavky a rozdělení kávy do kategorií podle jakosti (a,b,c,d). V dnešní době neexistuje žádná norma rozdělující kávu do jakostních skupin, proto se spotřebitel musí spoléhat pouze na informace z obalu, které mohou být mnohdy zavádějící. Z důvodu neexistující normy bývá káva často falšována a mnohdy její cena neodpovídá kvalitě. Jedinou známkou kvality by mohla být známka „výběrová káva“, která je většinou používána v malých pražírkách.

Kvalita pražené kávy bývá hodnocena standardními metodami. Nárůst objemu je zjištěn kádinkovou metodou, kdy je použita 500 ml kádinka a je zjištěno procento nárůstu objemu Δv . Procento ztráty hmotnosti je stanoveno navážením 100 g kávy před a po upražení a následným přepočtem rozdílu těchto hmotností. Vlhkost pražené kávy je stanovena podle normy ISO 11294. Do vysušené navažovací baňky je dáno 5 g ($\pm 0,1$ mg) pražené kávy rozdrcené v třecí misce a ta je umístěna na 4 hodiny do pece při teplotě 103 °C. Poté je navážka znovu zvážena. Popel je stanoven velmi obdobně, 5 g kávy je vysušeno v muflové peci při teplotě 100 °C, která je dále zvýšena na 525 °C. Káva je sušena do získání popela, který je zvlhčen a dosušen ve vodní lázni a topné desce. Následně je opět sušen v muflové peci do konstatní hmotnosti (Bicho et al., 2012).

5.7 Účinky konzumace kávy

Po olejích je káva druhou nejcennější komoditou na světě. Dnes je řazena mezi nejvíce konzumované farmakologické aktivní nápoje. Konzumace kávy se stala běžnou součástí života. V kávě je obsaženo mnoho významných chemických látek, včetně kofeinu, kterým je ovlivněna nervová soustava, dále pak dusíkaté látky, minerální látky a vitaminy (Bae et al. 2014).

Spotřeba bezkofeinové či standardní kávy je spojena se zvyšováním či snižováním rizik řady chronických onemocnění (El-Sohemy 2019). Finskou studií bylo potvrzeno nižší riziko rozvoje Alzheimerovy demence podporované konzumací 2 nebo 3 šálků kávy denně. Tento účinek je vysvětlován jako útlum enzymů obsahujících toxický amyloid kofeinem. Téměř 5 miliónu lidí na světě je postiženo následky cévní mozkové příhody, která je druhou nejčastější příčinou úmrtí populace starší 60 let. Riziko mozkové příhody je snižováno konzumací 4 až 5 šálků kávy denně. Kávě jsou přisuzovány i dietetické účinky. Chuť k jídlu je potlačována

kofeinem a tím je snižován celkový příjem potravy. Kofein je využíván sportovci, využití mastných kyselin a snazší odbourání tuku je podporováno dávkou kofeinu 2 až 4 hodiny před zátěží (Ostřížková 2017).

Dalšími studiemi byla prokázána souvislost mezi konzumací kávy a snížením rizika výskytu diabetes mellitus 2. typu, obezity a rakoviny. Naopak diterpenoidním alkaloidům obsaženým v kávě jsou přisuzovány negativní účinky. Hladina homocysteinu a cholesterolu v séru je těmito látkami zvyšována (Gökçen & Şanlıer 2019).

5.8 Metody stanovení složení kávy

5.8.1 Kofein

Obsah kofeinu v kávě lze stanovit derivační spektrofotometrií druhého a třetího řádu bez separační techniky a činidla. Během této metody je měřena vzdálenost mezi dvěma extrémními hodnotami v derivátovém spektru v roztoku vzorku. Kalibrační křivky jsou zkonstruovány pro rozsah 2,0 až 10,0 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ (Alpdogan et al. 2002).

Velmi jednoduše lze kofein stanovit pomocí mikroextrakce tuhou fází na povrchu tenkého vlákna taveného křemene (SPME). Vlákno je ponořeno do vzorku nápoje po dobu 5 minut. Adsorbovaný kofein je tepelně desorbován v konvenčním injektážním vstupu a koncentrace kofeinu je stanovena pomocí plynové chromatografie s hmotnostním spektrometrem. Detekce kofeinu v jednom vzorku včetně jeho přípravy byla dokončena za 15 minut. Výhodou tohoto stanovení je, že nejsou používána žádná rozpouštědla ani frakcionizace (Hawthorne et al. 1992).

Pro separaci kofeinu byla vyvinuta rychlá a selektivní metoda vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC). Metoda umožňuje současné stanovení několika látek najednou. Detekce je provedena pomocí UV záření při vlnové délce 273 nm. Detekční limity této metody jsou 0,07 - 0,2 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (Srdjenovic et al. 2002, Trugo & Macrae 1984).

5.8.2 Polyfenolické látky

Polyfenoly je možné stanovit kapalinovou chromatografií. Metoda byla validována pro stanovení polyfenolického obsahu až 15 fenolických antioxidantů najednou. Tato skupina polyfenolických látek zahrnuje: flavan, epigallokeatechin, katechin, epigallokeatechin galát, epikatechinepikatechin galát, gallokaetechin, fenolické kyseliny (gallovou kyselinu), hydroxyskořicové kyseliny (chlorogenová kyselina), flavony (apigenin), flavonoly (kaempferol, quercetin a myricetin), a purinové alkaloidy (kofeinový teofylin, teobromin) (Samanidou et al. 2012).

Mehari et al. (2021) stanovili celkové množství polyfenolů spektrofotometricky. Vzorek se smíchán s Folin-Ciocalteuova činidlem a 10% Na_2CO_3 . Absorbance byla měřena při vlnové délce 760 nm. Jako referenční standard byla použita kyselina gallová. Výsledky byly vyjádřeny v miligramech ekvivalentu kyseliny gallové na gram sušiny.

Hidayat et al. (2017) se ve své studii zabývali vývojem chemického senzoru pro detekci polyfenolů v kávě. Suspenze byla připravena uvařením kávového prášku s vodou a zchlazením na přijatelnou teplotu. Polyfenolový senzor pro kávu byl vyvinut imobilizujícím senzorovým

činidlem, roztoky NaIO_4 a MBTH (3-methyl-2,3-dihydrobenzothiazolon-2-hydrazon) na filtrační papír.

5.8.3 Antioxidační aktivita

Pro stanovení antioxidační aktivity jsou využívány různé metody. Mezi nejběžnější patří potlačení tvorby radikálových kationtů 2,2'-azino-di-(3-etylbenzthiazolin sulfát) antioxidantem (ABTS) ve vzorku. Zhašení radikálu ABTS^+ antioxidanty, které se chovají jako donory vodíku, se sleduje spektrofotometricky. Nejčastěji se měří absorbance při vlnové délce 734 nm. Při stanovení musí být přísně dodrženy podmínky, a to teplota reakce 37 °C a přesná inkubační doba. Test byl upraven na mikrotitrační destičku, čímž je umožněna analýza několika vzorků najednou. Hodnoty tohoto testu velmi dobře korelovaly s metodou spektrofotometrické analýzy, proto je test považován za velmi spolehlivý (Gupta et al. 2009, Paulová et al. 2004).

Antioxidační aktivita kávy může být snadno stanovena také pomocí DPPH. Metoda spočívá v reakci testované látky se stabilním radikálem difenylpicrylhydrazylem – DPPH (1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl). Při reakci dochází k redukci radikálu. Reakce je nejčastěji sledována spektrofotometricky. Pokles absorbance při vlnové délce 517 nm se měří buď po uplynutí určitého konstantního času nebo se pracuje v kinetickém režimu (Paulová et al. 2004, Kedare & Singh 2011).

6 Materiál a metodika

6.1.1 Chemikálie

- Deionizovaná voda (odpor = 18,2 MΩ)
- Methanol 100% (Lachner, Česká republika)
- Kyselina L–askorbová (Sigma-Aldrich, USA čistota > 99 %)
- DPPH (Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)
- Folin-Ciocalteu roztok (Penta chemicals, ČR)
- Na₂CO₃ – Lach-ner (ČR)
- Kyselina gallová (CRM) – Fluka analytical (Německo)

6.1.2 Přístroje

- Přístroj pro přípravu superčisté vody, Millipore, (Francie)
- Analytické váhy (Kern&Sohn GmbH, Německo)
- Kávovar Espresso Sencor SES 4010SS nerez (FAST ČR)
- Spektrofotometr Helios GAMA UV
- Chromatografické zařízení Waters e2695 – Separation module (separační modul), Alliance (USA)
- Detektor diodového pole Waters 996 PDA (USA)
- Magnetické míchadlo RET
- Počítač se softwarem Vision, Statistica12, Microsoft Excel

6.1.3 Pomůcky

- Běžné laboratorní sklo
- Injekční stříkačky Luer–slip plastic syringe 3 ml, (SRN)
- PVDF mikrofiltry s porozitou 0,45 μm, Chromservis (Česká republika)
- HPLC vialka 12x32, (2 ml) – VT009M – 1232, Chromservis (Česká republika)
- Automatické pipety (100 μm, 1 ml, 10 ml)
- Kyvety VWR

6.1.4 Chromatografické podmínky

- Typ eluce: gradientová (Tabulka č.1)
- Mobilní fáze A: 0,1% kyselina octová
- Mobilní fáze B: 100% acetonitril
- Teplota kolony: 27 °C
- Doba analýzy: 36 min
- Nástřik: 5 μl
- Detekce: PDA, λ = 280 nm
- Průtok: 0,8 ml/min

- Mikrofiltr: PVDF 0,45 μm
- Deionizovaná voda (odpor = 18,2 M Ω)

6.2 Vzorky káv

K analýze bylo použito 42 vzorků kávy různých značek (Obr. 4), z toho bylo 25 vzorků kávy arabiky, 6 vzorků kávy robusty, 9 vzorků kávy miscely (poměr 80:20, arabika:robusta) a 2 vzorky v jiném poměru arabiky a robusty. Káva byla pěstována v Brazílii, Indii, Etiopii, Columbii, Mexiku, Africe, Asii, u některých vzorků nebyl původ dohledán. Vzorky byly získány z oblíbených kaváren, místní pražírny a domácností. Přehled vzorků je uveden v Příloze č.1.

6.2.1 Příprava vzorků

Menší část vzorků kávy byla dodána již v namleté podobě. Vždy se jednalo o velmi jemné mletí vhodné pro přípravu espressa. Vzorky celých zrn byly namlety elektrickým mlýnkem na kávu s keramickými kameny pro šetrné mletí na nejjemnější hrubost. V laboratoři bylo na analytických vahách naváženo $7 \text{ g} \pm 0,01 \text{ g}$ kávy a v kávovaru připraveno 60 ml espressa, v případě turecké kávy byla mletá káva zalita 60 ml vroucí demineralizované vody. Následně byl každý vzorek přefiltrován mikrofiltrem PVDF 0,45 μm do skleněné kádinky. Připravené vzorky byly připraveny pro následnou analýzu celkového počtu polyfenolů, stanovení antioxidační aktivity a množství kofeinu.



Obr. 4: Vzorky kávy

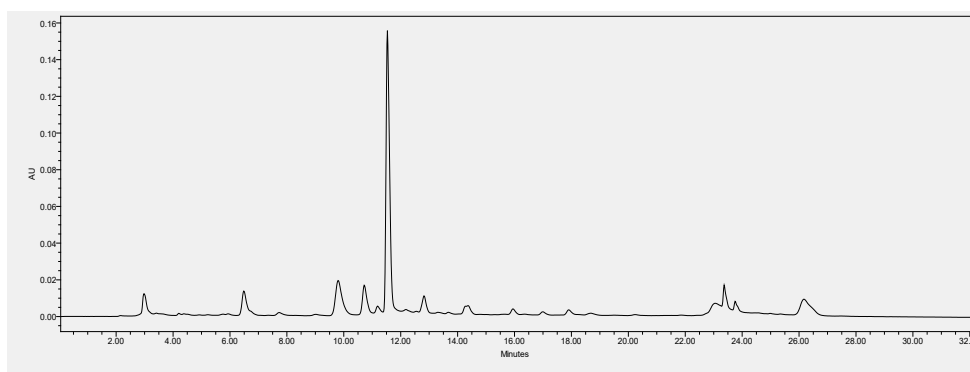
6.3 Stanovení obsahu kofeinu

Stanovení obsahu kofeinu bylo provedeno metodou vysoko-účinné kapalinové chromatografie (HPLC). Z připraveného vzorku kávy byl odebrán 1 ml a doplněn po rysku deionizovanou vodou na objem 25 ml. Z ředěného roztoku byly odebrány 2 ml do skleněné vialky.

Výpočet obsahu kofeinu v analyzovaném vzorku byl proveden z plochy píku pomocí softwaru EMPOWER 2. Příklad chromatogramu vzorku kávy je znázorněn na Obrázku 5. Nejvyšší pík odpovídá chromatogramu kofeinu. Koncentrace kofeinu jsou v softwaru uvedeny v $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$. Získané hodnoty byly přepočítány na koncentraci v $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$.

Tabulka č. 1: Podmínky gradientové eluce

ČAS [min]	PODÍL A [%]	PODÍL B [%]	PRŮTOK [ml.min ⁻¹]	PROFIL KŘIVKY
0.00	90.0	10.0	0.80	
5.00	90.0	10.0	0.80	6
7.00	80.0	20.0	0.80	6
25.0	70.0	30.0	0.80	6
28.0	25.0	75.0	0.80	6
30.0	25.0	0.75	0.80	11
32.0	90.0	0.10	0.80	6
36.0	90.0	0.10	0.80	11



Obr. 5: Chromatograf vzorku 5A (espresso)

6.4 Stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH

Stanovení antioxidační aktivity v kávě bylo provedeno metodou DPPH. Metoda je založena na principu reakce volného radikálu DPPH (2,2-difenyl-1-pikryl-hydrazyl) s antioxidanty obsaženými ve vzorku kávy. Během reakce je změněna barva vzorku z fialové na slabě fialovou až žlutou a dochází k úbytku absorpance. Měření bylo provedeno při vlnové délce 515 nm.

Nejprve byl připraven zásobní roztok z 0,024 g DPPH a 100 ml methanolu. Následně byl připraven pracovní roztok z 10 ml zásobního roztoku a 45 ml methanolu. Byla změřena absorbance, která musí odpovídat hodnotě 0,6. Pokud nebyla absorbance pracovního roztoku přesně 0,6, byl pracovní roztok upraven přesně na požadovanou hodnotu. Pro stanovení antioxidační aktivity kávy byl vzorek kávy naředěn, a to 0,1 ml vzorku bylo doplněno v odměrné baňce po rysku demineralizovanou vodou na objem 50 ml. Z naředěného roztoku bylo odebráno 0,1 ml do skleněné kádinky (Obr. 6). Na magnetické míchačce bylo toto množství vzorku smícháno s 1 ml pracovního roztoku a směs byla minutu míchána. Poté byl připravený vzorek uložen na 10 minut do tmavého prostředí. Následně byla změřena absorbance. Pro jeden vzorek kávy byly provedeny 3 paralelní opakování.

Kalibrační řada byla vytvořena z roztoků askorbové kyseliny o koncentraci 40, 80, 120, 160, 200 mg.l⁻¹. Kontrolní slepý vzorek byl tvořen pouze methanolem. Antioxidační aktivita byla vyjádřena jako pokles absorbance v %, dle vzorce:

$$\frac{A_0 - A}{A_0} * 100$$

A₀ ...absorbance roztoku DPPH (0,6)

A ...absorbance vzorku kávy

Výsledky jsou vyjádřeny jako procentuální úbytek absorbance DPPH.



Obr. 6: Připravený roztok DPPH a vzorku k detekci

6.5 Stanovení celkového množství polyfenolických látek

Stanovení celkového množství polyfenolických látek v kávě bylo provedeno spektrometrickou metodou za pomoci Folin-Ciocalteuova činidla. Do odměrné baňky bylo napipetováno 0,1 ml připraveného vzorku kávy, 0,5 ml Folin – Ciocalteuova činidla a 1,5 ml 20% Na₂CO₃. Poté byl objem doplněn demineralizovanou vodou na 25 ml. Každý vzorek byl takto připraven ve 3 opakováních (Obr. 7). Pro kontrolu byl vytvořen slepý vzorek, který obsahoval pouze demineralizovanou vodu, Folin – Ciocaltauovo činidlo a 20% Na₂CO₃. Vzorky byly proměřeny při vlnové délce 765 nm. Celkové množství polyfenolických látek bylo vypočteno následujícím způsobem:

- 0,1 ml v 25 ml = 0,2 ml v 50 ml kyseliny gallové
- $m \text{ vzorku} / 60 \text{ ml (n)} = \frac{m}{60}$
- množství polyfenolických látek v 1 ml (y) = $\frac{1}{0,2} * x$
- množství polyfenolických látek v 1 g kávy (z) = $\frac{1}{n} * y$
- množství mg/m (60 ml) (a) = $\frac{m}{1} * \frac{z}{1000}$
- celkové množství ve 100 ml = $\frac{100}{60} * a$

m ... navážka vzorku kávy

n ... navážka v 1 ml

x ... koncentrace

y ... množství látek v 1 ml

z ... množství v 1 g kávy

a ... množství v navážce = 60 ml kávy

Výsledek je vyjádřen jako ekvivalent množství gallové kyseliny.



Obr. 7: Připravené vzorky pro detekci polyfenolických látek

6.6 Statistické vyhodnocení

Naměřené hodnoty byly zpracovány v programu Statistica CZ 12.0. Pro samotné zhodnocení byl použit f-test (Příloha č.2) s hladinou významnosti $\alpha = 0,05$ a následně Fischerův LSD test. Hodnocenými faktory byla závislost množství kofeinu na způsobu přípravy a typ kávy, vliv antioxidační aktivity na způsob přípravy a typ kávy a množství celkového obsahu polyfenolických látek na způsob přípravy a typ kávy.

Tabulka č.2: Naměřené hodnoty kofeinu, antioxidační aktivity a polyfenolických látek pro různé druhy káv

Č.	NÁZEV	KOFEIN [mg.100 g ⁻¹]				ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA [%]				POLYFENOLICKÉ LÁTKY [mg.100 ml ⁻¹]			
		Espresso		Turecká káva		Espresso		Turecká káva		Espresso		Turecká káva	
		SD		SD		SD		SD		SD		SD	
1	Eilles Kaffe Selektion	1550,54	15,44	1243,57	34,38	15,72	0,16	25,11	3,63	264,87	16,63	255,15	11,89
2	Vaaldir Doubleshot	888,63	6,78	1208,80	3,61	19,83	0,36	11,33	0,14	186,34	5,14	279,39	22,23
3	Oxalis Brazílie Santos	1743,24	2,93	1325,53	0,39	15,11	1,03	16,94	2,60	231,71	3,40	111,54	4,12
4	Kibingo	1188,34	31,96	1250,41	1,93	35,33	2,03	17,61	1,23	255,35	7,79	243,24	8,63
5	Albert Espresso	1686,01	114,99	1345,04	0,71	15,39	0,21	23,61	1,58	221,45	12,34	240,23	10,96
6	Supremo	688,20	71,20	1258,08	3,91	46,83	9,28	15,92	1,42	218,77	5,10	221,82	12,33
7	Serrano Lavado	1281,28	25,53	1330,80	2,35	29,17	0,24	17,78	1,81	267,11	14,11	224,80	17,29
8	Etiopie Filtre	673,56	11,85	806,98	0,43	21,83	2,24	15,00	2,24	211,75	4,26	231,98	6,52
9	Five Elephant	956,04	48,50	1172,51	0,61	22,00	0,47	12,56	2,13	179,31	1,12	228,11	9,13
10	Honduras Espresso	1140,80	35,17	1231,14	1,37	39,56	5,65	12,00	0,62	275,80	14,94	213,58	10,12
11	Solce Gusto Espresso	2252,74	137,18	1351,52	19,61	20,83	3,42	17,67	1,22	256,25	24,06	160,76	2,42
12	Coffeeholics Suprema	1008,16	4,90	1218,72	21,67	20,78	1,91	20,72	0,34	173,03	11,06	218,03	11,49
13	Albert Keňa	1108,56	0,29	1182,94	0,86	18,00	0,62	24,11	2,45	276,98	7,63	265,63	14,88
14	Polaris	993,46	8,40	1221,67	0,20	22,78	1,04	16,11	2,70	181,34	3,98	242,05	9,40
15	SHG EP Zaphiro	1182,14	3,60	1275,02	32,10	43,11	4,57	17,56	0,75	240,33	2,15	266,91	6,11
16	PATAR - IKEA	1175,75	5,99	1123,15	2,90	26,56	1,96	17,39	0,96	235,33	3,70	229,91	12,11
17	Beansmith Monte Alegre	1268,36	8,37	1555,82	12,40	30,17	1,53	20,94	0,52	241,49	9,82	275,54	13,70
18	Nikaragua Tandem Doubleshot	1232,08	113,67	1240,21	0,59	29,39	2,52	13,44	3,00	262,30	10,76	215,73	10,96
19	Peru Finca Yandel	534,57	39,29	1023,17	1,39	30,06	5,27	15,22	2,44	218,18	3,37	204,55	8,30
20	Oxalis El Salvador	1446,64	3,09	1478,79	25,90	26,22	2,79	23,56	3,06	255,61	4,44	249,31	2,41

21	Noa Noa Tahiti	647,83	1,96	1422,99	2,61	17,44	2,66	12,44	1,23	101,17	4,72	181,04	15,54
22	Tchibo Espresso Milano Style	1031,94	64,14	1211,74	0,00	31,06	0,21	18,83	0,83	198,34	10,71	228,79	2,25
23	Oxalis Pomeranč-Čoko	961,84	3,74	1277,39	0,00	19,56	1,61	19,67	0,67	163,61	2,24	228,61	6,91
24	Caffé Hugo Espresso	1233,79	56,56	1177,09	22,33	18,44	0,64	16,61	3,40	218,90	29,22	185,24	7,85
25	Oxalis Caramel Macchiato	1170,78	0,28	1311,40	2,72	16,94	3,26	18,83	2,97	193,46	9,56	221,80	11,49
26	Eilles Gourmet Café	1127,69	31,79	1584,34	1,50	23,61	0,67	27,61	1,84	221,57	10,57	241,55	7,95
27	House Blend	1159,07	0,87	1479,07	3,05	20,56	0,44	13,78	1,59	178,31	4,08	202,07	17,46
28	Sweetcoffee Cream	1887,17	33,94	2095,45	2,28	19,22	0,28	19,83	0,54	192,76	9,02	215,89	13,40
29	Sweetcoffee Aroma	2079,30	5,06	2093,66	0,64	21,17	0,36	19,17	1,36	216,01	13,16	240,51	6,75
30	Sweetcoffee Royal	2225,00	17,59	1379,29	0,32	20,56	0,75	23,11	0,57	200,36	7,60	230,63	4,69
31	Dalmayr Classic	1215,75	8,44	1335,78	40,04	29,28	1,70	24,06	1,46	241,08	12,50	249,28	9,90
32	Jacobs Aroma Standard	1602,79	35,62	2295,66	0,10	24,83	3,54	24,25	0,75	229,50	8,34	270,35	8,09
33	Jacobs Kronung Crema	905,77	5,87	1648,50	10,90	21,22	1,81	18,39	4,04	222,97	16,85	206,72	5,40
34	Dalmayr Café Crema	1566,58	0,47	1469,43	2,36	26,83	1,98	20,89	4,16	217,57	0,93	238,94	11,39
35	DeLonghi Espresso classic	1961,02	1,64	2093,65	50,12	24,28	0,55	26,28	0,80	225,26	8,28	232,55	9,35
36	Gran Gusto Italia	2366,44	18,30	2306,26	30,89	22,61	0,75	18,78	1,75	201,53	0,33	266,42	14,92
37	India	2214,42	76,62	2742,71	1,62	36,50	1,84	21,61	0,70	244,47	19,01	271,33	7,20
38	Standart Mletý Marila	2020,81	40,70	2673,09	104,32	15,61	1,42	24,67	0,24	243,52	10,72	289,38	8,03
39	AH Basic Groundcoffé	3056,08	7,56	2274,99	48,60	11,56	0,31	27,72	2,93	337,47	6,94	316,35	7,14
40	Tchibo Family	1375,84	30,00	1895,37	33,13	28,17	0,49	22,67	0,59	227,24	17,29	272,01	13,44
41	Casablanca Intense	2021,19	0,04	2206,41	6,38	24,11	0,67	27,78	1,51	246,57	6,52	273,56	6,89
42	Douwe Egberts Paloma	2512,11	85,97	2315,74	0,11	25,67	1,52	27,50	2,36	263,09	16,61	255,01	4,00

7 Výsledky

V kávových výluzích bylo stanoveno množství kofeinu, antioxidační aktivita a celkový obsah polyfenolických látek. Z jednoho vzorku mleté kávy byly připraveny vždy dva paralelní kávové výluhy – turecká káva a espresso. Průměrné hodnoty měření jsou uvedeny v Tabulce č.2, jednotlivé druhy káv jsou odděleny čarou v pořadí arabika, směs, robusta. Výsledky byly nejprve statisticky vyhodnoceny a následně porovnány mezi sebou.

7.1 Obsah kofeinu v kávových nálevech

Obsah kofeinu byl nejprve stanoven v kávových nálevech typu espresso a poté v turecké kávě. Cílem bylo zjistit, zda existuje rozdíl v množství kofeinu v kávovém nálevu připraveném dvěma různými způsoby a dále zda je obsah kofeinu v kávovém nálevu ovlivněn typem kávy a jejím původem. Z Tabulky č. 3 vyplývá, že mezi množstvím kofeinu a způsobem přípravy kávy neexistuje statisticky významný rozdíl. Vyšší množství kofeinu sice obsahovala turecká káva oproti espressu, ale hodnoty naměřené pro stejný druh kávy uvařené v kávovaru nebo pouze s horkou vodou se v průměru významně nelišily. Naopak mezi různými typy kávy statisticky významný rozdíl existuje. Nejvyšší hodnoty byly naměřeny pro kávy typu robusta. Nejméně kofeinu bylo obsaženo v kávách typu arabika.

Tabulka č. 3: Vliv kofeinu na typ kávy a způsobu přípravy

LSD test; proměnná kofein (mg/100ml) (výsledky komplet_opakování1) Homogenní skupiny, alfa = ,05000 Chyba: meziskup. PČ = 1313E2, sv = 156,00						
Č. buňky	způsob přípravy	typ kávy	kofein (mg/100ml) Průměr	1	2	3
1	espresso	arabica	1182,051	****		
4	turecká káva	arabica	1249,176	****		
2	espresso	směs	1645,145		****	
5	turecká káva	směs	1798,283		****	
3	espresso	robusta	2200,079			****
6	turecká káva	robusta	2267,908			****

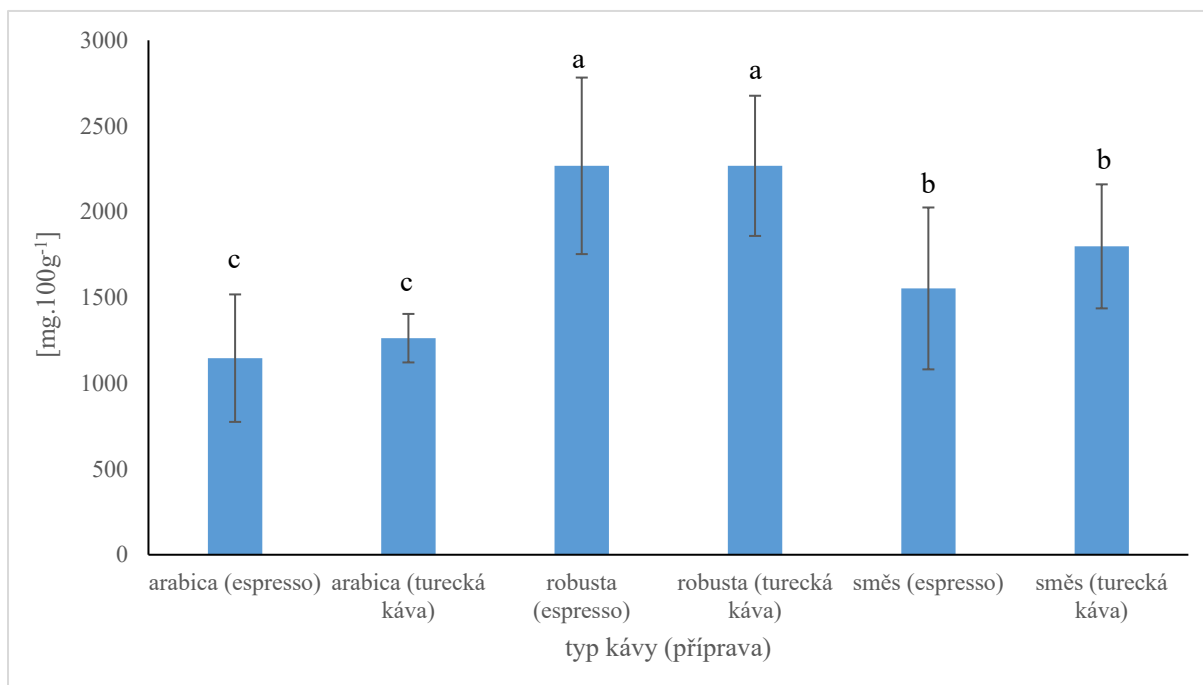
Ve většině vzorků bylo stanoveno větší množství kofeinu, pokud byla mletá káva zalita pouze vroucí vodou. Ve vzorcích č. 13, č. 16, č. 18 a č. 20 byly stanovené obsahy kofeinu v espressu téměř totožné s obsahem kofeinu v tureckých kávách. Nejvyšší obsah kofeinu ($2252,74 \pm 137,18 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) byl zjištěn v kapslové kávě Dolce Gusto připravené jako espresso. Nejméně kofeinu ($534,57 \pm 39,29 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) obsahovala káva Peru Finca Yandel espresso, ve stejné kávě připravené druhým způsobem byl obsah kofeinu dvojnásobný. I mezi kávami se stejným původem byly zaznamenány významné rozdíly, proto nemůžeme jednoznačně říci, že kávy z jednoho místa mají i stejně množství cenných látek, významnou roli hrají pravděpodobně rozdílné způsoby zpracování a skladování.

Nejvyšší obsah kofeinu byl stanoven v kávě Gran Gusto Italia, ve které byla obsažena robusta z 65 %. Obsah kofeinu v této kávě byl stanoven případně espressa $2366,44 \pm 18,30 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ a $2306,26 \pm 26 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ v turecké kávě. Podobné obsahy kofeinu byly stanoveny

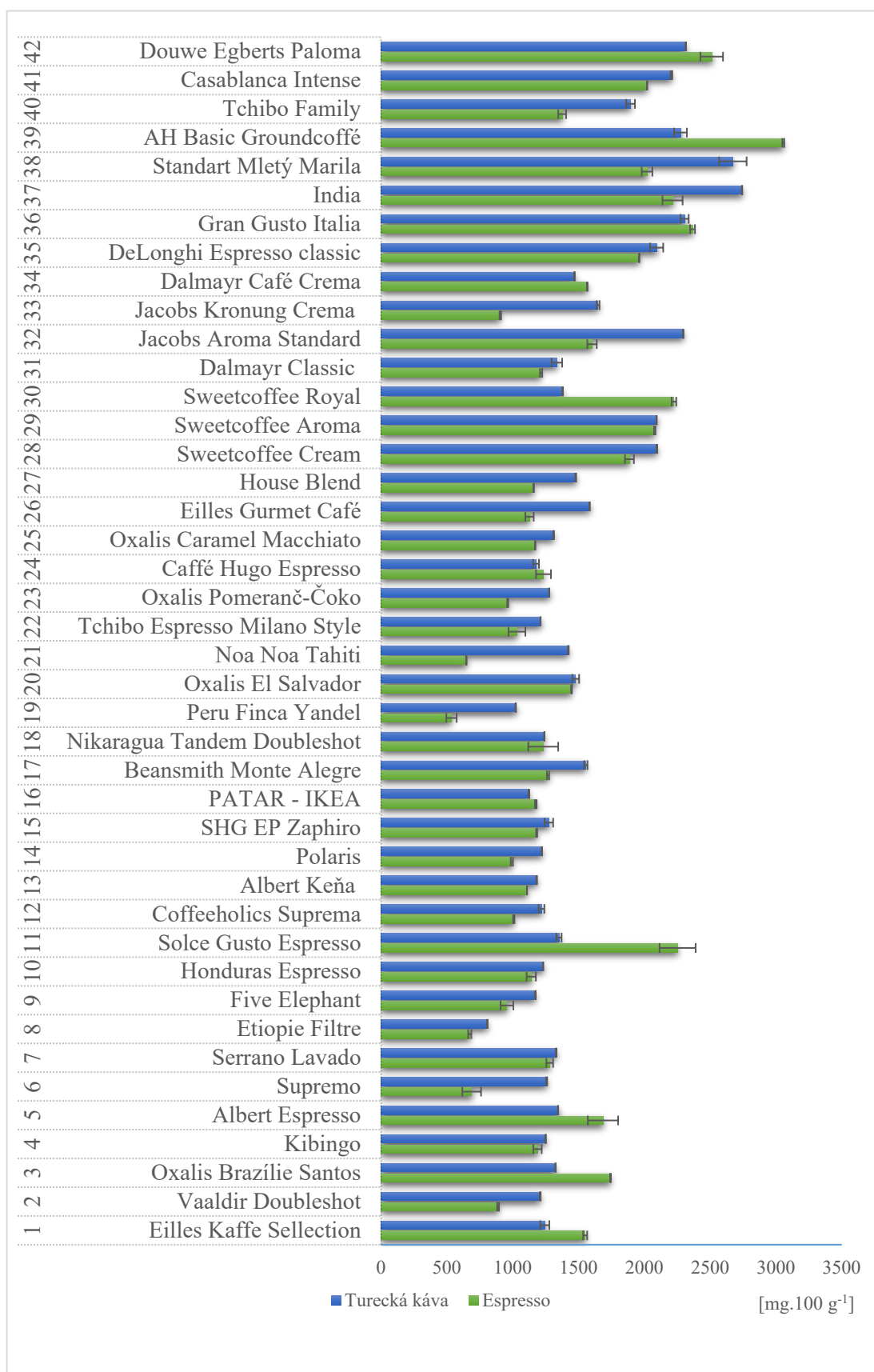
v kávě Sweetcoffee Aroma ($2079,30 \pm 5,06 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) v espressu a ($2093,66 \pm 2,28 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) v turecké kávě. Porovnání obsahu kofeinu ve směsných vzorcích kávy připravené odlišnými způsoby je znázorněno v Grafu č. 1. Oproti kávám typu arabika byly naměřeny ve většině směsných vzorků vyšší hodnoty obsahu kofeinu.

V kávách robusta bylo stanoveno absolutně nejvyšší množství kofeinu. V 5 ze 6 analyzovaných vzorků byl obsah kofeinu vyšší než $2000 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, a to v obou nálevech připravených různým způsobem. U vzorků robusty nebyl dohledán původ, proto není možné porovnat vzorky dle jejich původu. Abnormální množství kofeinu ($3056,08 \pm 7,56 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) bylo obsaženo v kávovém nálevu ze vzorku č. 39 – AH Basic Groundcoffě, který byl připraven s použitím tlakového kávovaru. Vyjma vzorku č. 39 a č. 42 bylo v turecké kávě typu robusta obsaženo více kofeinu než v espressu (Graf č.2).

Graf č. 1: Porovnání průměrného obsahu kofeinu v různých typech kávy



Graf č.2: Porovnání celkového obsahu kofeinu v kávových výluzích



7.2 Antioxidační aktivita (AOX) kávových nálevů

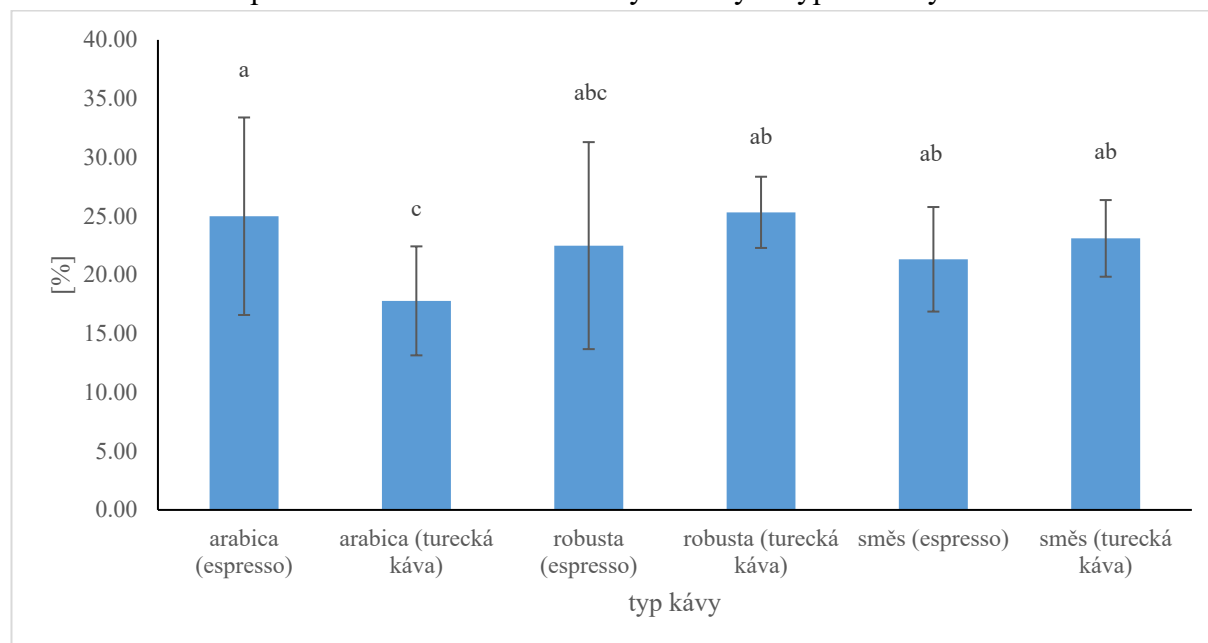
V další části diplomové práce byla měřena antioxidační aktivita, která byla vyhodnocena jako množství inhibovaného radikálu DPPH vyjádřené v %. Cílem bylo prokázat, zda existují rozdíly v antioxidační aktivitě různých typů káv připravených dvěma odlišnými způsoby. Průměrné hodnoty pro jednotlivé typy káv jsou uvedeny v Tabulce č. 4. Pro kávu uvařenou v kávovaru nebyly stanoveny statisticky významné rozdíly. Průměrná antioxidační aktivita espressa se pohybovala v intervalu od 21,78 % do 25,10 %. Nejvyšší průměrná hodnota byla naměřena pro kávu typu arabika. Jediný statisticky významný rozdíl byl zjištěn pro tureckou kávu typu arabika oproti směsím káv a robustě (Graf č.3).

Průměrná hodnota antioxidační aktivity turecké kávy arabiky byla pouze 17,72 % a jedná se o nejnižší naměřenou hodnotu poklesu absorbance radikálu DPPH.

Tabulka č. 4: Vliv antioxidační aktivity na typ a způsob přípravy kávy

LSD test; proměnná antiox. aktvita (%) (výsledky komplet_opakování1) Homogenní skupiny, alfa = ,05000 Chyba: meziskup. PČ = 41,802, sv = 156,00						
Č. buňky	způsob přípravy	typ kávy	antiox. aktvita (%) Průměr	1	2	3
4	turecká káva	arabica	17,71681			****
5	turecká káva	směs	21,32591	****		
3	espresso	robusta	21,77917	****	****	****
2	espresso	směs	23,57591	****	****	
6	turecká káva	robusta	24,86083	****	****	
1	espresso	arabica	25,09553		****	

Graf 3: Porovnání průměrné antioxidační aktivity v různých typech kávy

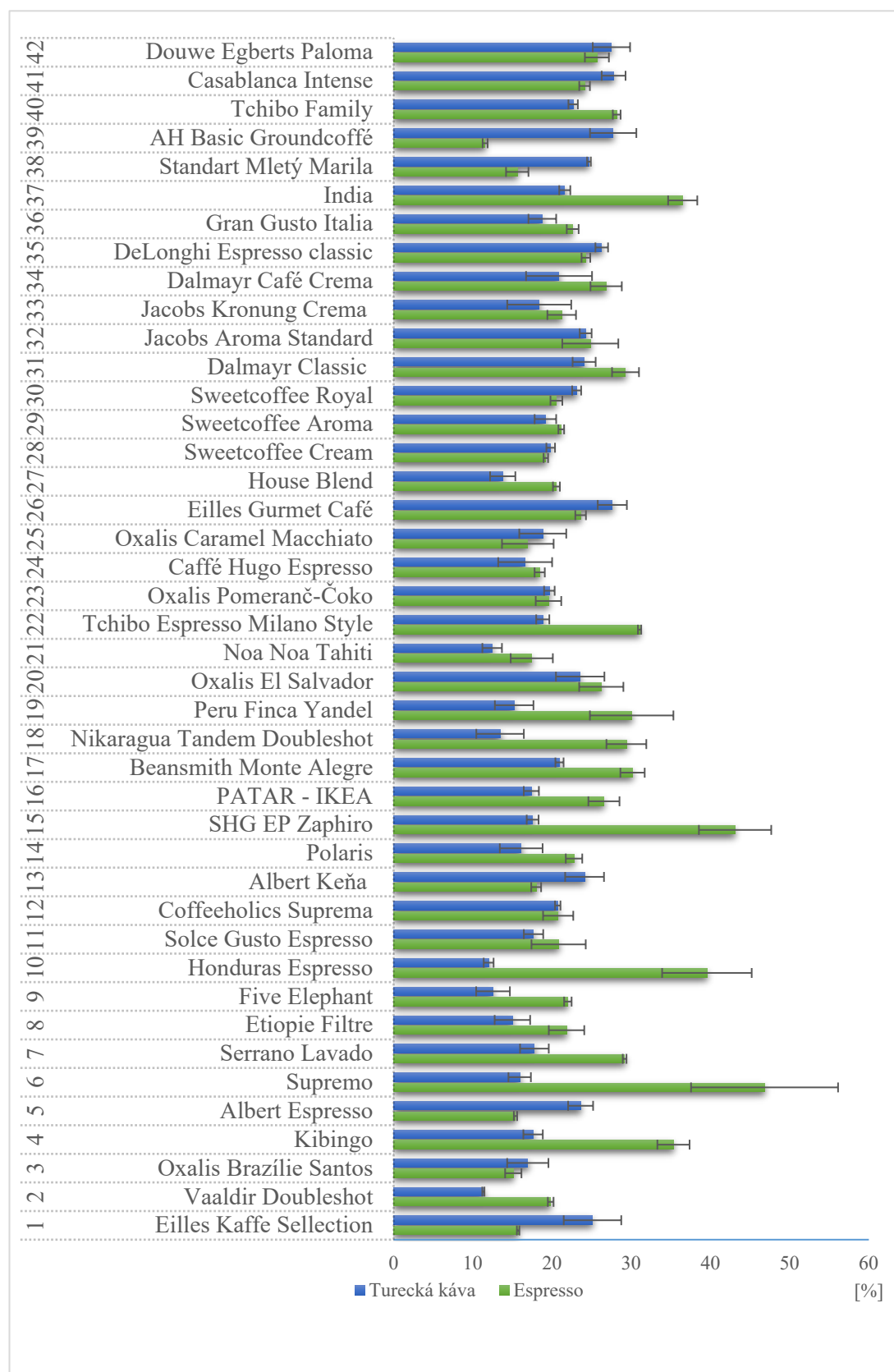


Procenta poklesu absorpance radikálu DPPH v kávových nálevech kávy jsou uvedena v Grafu č. 4. Nejvyšší antioxidační aktivita, tj. nejvyšší pokles absorpance vzorku vzhledem k absorpanci čistého radikálu DPPH, byla zaznamenána v kávě č. 6 ve formě espressa, a to 46,83 %, naopak v nálevu turecké kávy připravené ze stejného vzorku byl pokles jeden z nejnižších. Vzorky arabik č. 1, č.3, č. 5, č. 13 a č. 25 vykazovaly vyšší antioxidační aktivitu po zalití mleté kávy horkou vodou. Ostatní vzorky vykazovaly vyšší antioxidační aktivitu, pokud byly připraveny jako espresso. Téměř totožnou antioxidační aktivitu vykazovaly vzorky aromatizovaných káv Oxalis Pomeranč a Oxalis Karamel.

Ve všech vzorcích směsných káv byla stanovena přibližně stejná antioxidační aktivita pohybující se kolem 20 % v obou případech rozdílného způsobu přípravy kávového nálevu. Vzorky č. 26, č. 30 a č. 35 vykazovaly nižší antioxidační aktivitu v podobě espressa, v kávě č. 32 Jacobs Aroma Standard byla naměřena téměř identická antioxidační aktivita a to 24,83 % v espressu a 24,25 % v turecké kávě. Oproti 100 % arabikám byly naměřené hodnoty antioxidační aktivity ve směsných vzorcích káv v průměru vyšší. Ve vzorcích z jednoho místa původu (Brazílie) byla zjištěna podobná antioxidační aktivita 19–21 % v espressu, a to jak v kávových nálevech připravených ze směsných vzorků, tak káv arabika.

V kávě typu robusta byla zjištěna vyšší antioxidační aktivita v espressu pouze ve 2 z 6 analyzovaných vzorků. Polovina analyzovaných vzorků turecké kávy robusta vykazovala antioxidační aktivitu minimálně 27 %, což je nejvíce ze všech analyzovaných kávových nálevů typu turecká káva, výjimku tvořil pouze vzorek směsné kávy č. 26 obsahující 20 % robusty. Antioxidační aktivita tohoto vzorku byla 27,61 %. Naopak antioxidační aktivita 11,56 % stanovená ve vzorku č. 39 AH Basic Groundcoffě byla absolutně nejnižší v porovnání s ostatními vzorky káv.

Graf č.4: Porovnání celkové antioxidační aktivity v kávových výluzích



7.3 Celkové množství polyfenolických látek v kávových nálevech

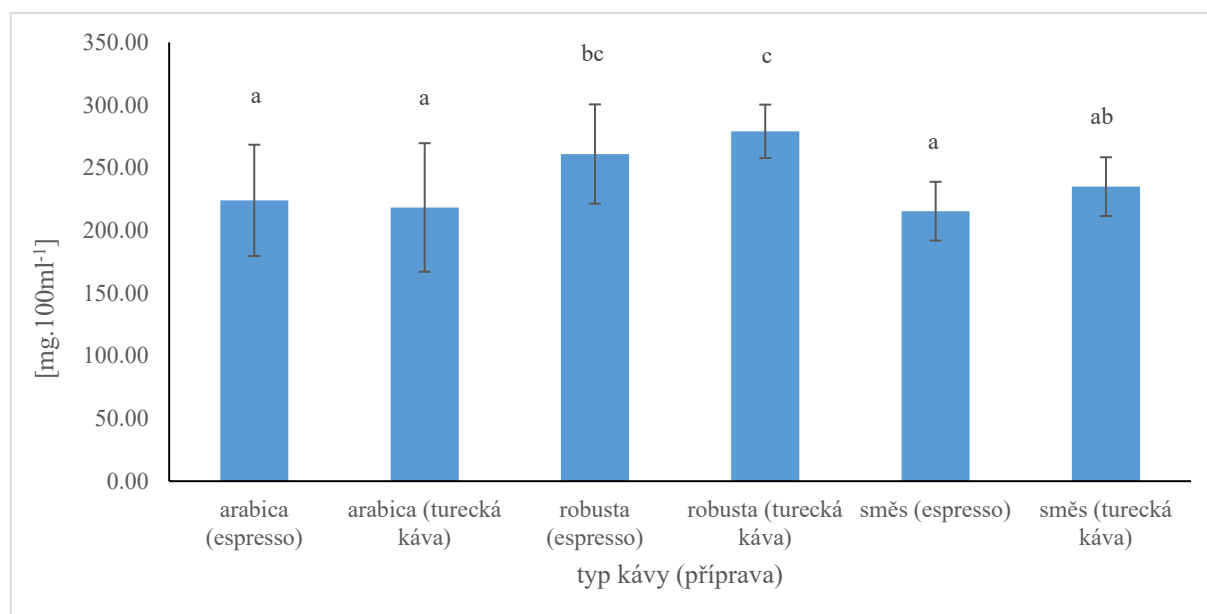
V třetí části diplomové práce byl v kávových nálevech stanoven celkový obsah polyfenolických látek, vyjádřený ve 100 ml kávového nálevu pro snazší porovnání s údaji v literatuře. Statisticky významný rozdíl byl zjištěn pro kávy typu robusta. Nejvyšší hodnoty byly naměřeny pro turecké kávy typu robusta, viz Tabulka č.5. Mezi způsobem přípravy kávy a množstvím celkového obsahu polyfenolů statisticky významný rozdíl neexistuje (Graf č. 5)

Tabulka č. 5: Průměrné hodnoty celkového množství polyfenolických látek

LSD test; proměnná polyfenoly (mg/100 ml) (výsledky komplet_opakování1) Homogenní skupiny, alfa = ,05000 Chyba: meziskup. PČ = 1660,1, sv = 156,00						
Č. buňky	způsob přípravy	typ kávy	polyfenoly (mg/100 ml) Průměr	1	2	3
2	espresso	směs	215,1748	****		
4	turecká káva	arabica	218,8512	****		
1	espresso	arabica	219,7322	****		
5	turecká káva	směs	236,8028	****	****	
3	espresso	robusta	258,9451		****	****
6	turecká káva	robusta	279,4091			****

Hodnoty celkového obsahu polyfenolů v espresso se pohybovaly v intervalu $101,17 \pm 4,72 \text{ mg} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$ až $337,47 \pm 6,94 \text{ mg} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$. V turecké kávě se obsahy celkových polyfenolických látek nacházely v intervalu $111,54 \pm 4,12 \text{ mg} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$ až $316,35 \pm 7,14 \text{ mg} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$.

Graf č.5: Porovnání průměrného obsahu polyfenolických látek v různých typech kávy

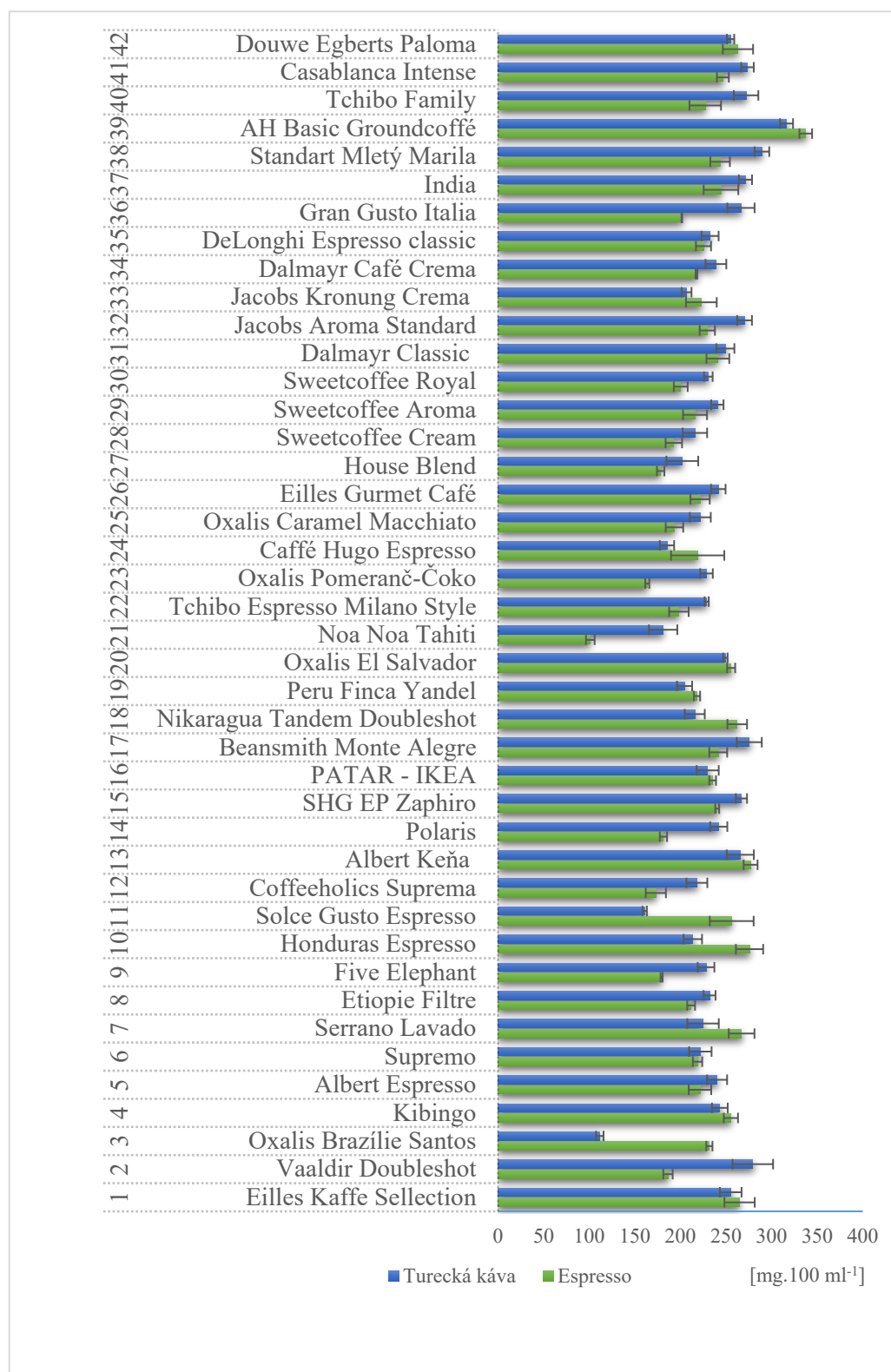


Obsahy polyfenolických látek v jednotlivých vzorcích jsou uvedeny v Grafu č.6. Nejvyšší množství polyfenolů z káv typu arabika byl zjištěn ve vzorku Albert Keňa espresso, a to $276,98 \text{ mg} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$. V nálevech turecké kávy obsahovala nejvíce polyfenolických látek ($279,39 \pm 22,23 \text{ mg} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$) káva Vaaldir Doubleshot z Brazílie. Káva Oxalis z Brazílie obsahovala při stejném typu přípravy pouze $111,54 \text{ mg} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$, opět tedy neplatí, že kávy stejného původu mají stejný obsah polyfenolických látek.

V kávových nálevech ze směsných káv byly pouze ve dvou vzorcích celkové obsahy polyfenolických látek nižší než $200 \text{ mg} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$, oba byly připravené v kávovaru, oproti nálevům z arabiky, v nichž na tuto hodnotu nedosáhlo 8 vzorků z celkového počtu 25. Obsah polyfenolických látek v turecké kávě připravené ze směsných káv nikdy neklesl pod $200 \text{ mg} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$ na rozdíl od nálevů připravených z kávy arabika, mezi nimiž se nacházely 4 vzorky s obsahem nižším, než je uvedená hodnota. Celkově nejvyšší množství polyfenolických látek $270,35 \pm 8,09 \text{ mg} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$ bylo v kávě Jacobs Aroma Standard připravené zalitím vodou. Vyjma vzorku č. 29 bylo vždy větší množství polyfenolických látek obsaženo v turecké kávě nežli v espressu. V kávových výluzích ze 100% arabiky byly zaznamenány větší rozdíly v množství celkových polyfenolů v závislosti na typu přípravy než ve výluzích směsných káv.

V kávových výluzích typu robusta byly stanoveny nejvyšší obsahy celkových polyfenolických látek v espressu i turecké kávě (Příloha č. 3). Káva AH Basic Groundcoffé obsahovala absolutně nejvyšší množství polyfenolických ze všech analyzovaných vzorků. V této kávě bylo nalezeno $337,47 \pm 6,94 \text{ mg} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$ polyfenolických látek v espressu, respektive $316,35 \pm 7,14 \text{ mg} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$ v turecké kávě. Mimo kávu č. 39 a č. 42 bylo množství polyfenolických látek vyšší v nálevech turecké kávy než v espressu.

Graf č.6: Porovnání celkového obsahu polyfenolických látek v kávových výluzích



8 Diskuze

Práce byla zaměřena na stanovení obsahu kofeinu, polyfenolických látek a antioxidační aktivity v různých druzích kávy. Byly analyzovány vzorky typu arabika, robusta a jejich směsi, zejména miscela z 80 % arabiky a 20 % robusty. U vzorků káv bylo sledováno, zda se obsah uvedených látek liší v závislosti na typu kávy a způsobu přípravy.

Nejvyšší obsah kofeinu byl zjištěn v káвах typu robusta, které byly připraveny zalitím mleté kávy horkou vodou. Naopak nejméně kofeinu bylo obsaženo v espresso z Peru a Etiopie. Nejvyšší antioxidační aktivitu prokazovaly kávy připravené jako espresso z arabik původem z oblastí Jižní Ameriky kolem rovníku. Nejnížší antioxidační aktivita byla zaznamenána v turecké kávě připravené z brazilské kávy Doubleshot. Nejvyšší celkový obsah polyfenolů byl stanoven u nejlevnější kávy AH Basic Groundcoffé (100 % robusta) neznámého původu, nejnížší ve vanilkové kávě z Tahiti (100 % arabika).

8.1 Stanovení obsahu kofeinu

Mohhamed et al. (2009) stanovili obsah kofeinu v množství 338 mg.100 g⁻¹ až 5362 mg.100 g⁻¹. Průměrné hodnoty pro kávy typu arabika byly v mém případě 1182,05 mg.100 g⁻¹ pro espresso a 1249,17 mg.100 g⁻¹ v turecké kávě. Ve směsích káv bylo naměřeno průměrně 1645,15 mg.100 g⁻¹, pokud byla káva připravena v kávovaru a 1798,28 mg.100 g⁻¹ v turecké kávě. Nejvyšší hodnoty byly naměřeny pro kávy typu robusta, a to 2200,09 mg.100 g⁻¹ v espresso a 2267,91 mg.100 g⁻¹ v turecké kávě. I přes to jsou hodnoty oproti uvedené studii velmi rozdílné. Panusa et al. (2017) stanovili kofein pomocí plynové chromatografie. Pro kávy arabika bylo naměřeno 1513,2 mg kofeinu ve 100 g kávy.

Analýzou bylo zjištěno, že bohatým zdrojem kofeinu jsou kávy typu robusta. Ve vzorcích káv typu robusta bylo zjištěno až dvojnásobné množství kofeinu oproti kávám typu arabika v obou způsobech přípravy, což potvrzuje i analýza Hečimović et al. (2011), proto lze robustu považovat za bohatší a kvalitnější zdroj kofeinu.

Blauch et Tarka (1983) ve svém výzkumu analyzovali množství kofeinu metodou HPLC v espresso z arabiky v množství 1661,4 mg.100 g⁻¹ a v kávě zalité horkou vodou množství 1526,5 mg.100 g⁻¹. Analyzované množství se může lišit v závislosti na stupni pražení nebo hrubosti mletí kávových zrn. Také Chirfa et al. (2020) se zabývali stanovením kofeinu pomocí metody HPLC. Vzorek kávy arabiky byl vypěstován na slunných plantážích v Etiopii. Porovnána byla zrna nepražená a pražená. Nejnížších hodnot dosahoval vzorek nepražené kávy, ve kterém bylo stanoveno průměrně 600 mg kofeinu na 100 g vzorku. Pražená káva obsahovala až 1800 mg kofeinu na 100 g vzorku. Hodnoty pražené arabiky jsou vyšší než výsledky mého pokusu. Girma et al. (2020) stanovili v kávě arabika z Etiopie pomocí metody HPLC kofein v množství 1734,60 mg. 100g⁻¹. Velmi rozdílné množství kofeinu vypočítali Hall et al. (2018). Kofein byl stanoven pomocí HPLC v 9 vzorcích uvařené kávy. Průměrná hodnota byla 4265,19 g na 100 g vzorku.

Grozier et al. (2011) ve svém výzkumu analyzovali 20 vzorků komerčních káv. Zabývali se stanovením množství kofeinu pomocí HPLC a následných účinků na lidské zdraví. Byly analyzovány vzorky arabiky připravené ve formě espresso. Průměrně bylo v kávě obsaženo

2800 mg.100g⁻¹ kofeinu. Nejméně kofeinu obsahovala káva z kavárny Starbucks v množství 1020 mg.100g⁻¹. Nejvíce obsahovala káva z Patisserie Françoise v množství 6440 mg.100g⁻¹.

Zhang et al. (2013) analyzovaly kofein v kávě typu arabika z Kolumbie, Peru a Etiopie. Vzorky byly zality horkou vodou a množství kofeinu bylo analyzováno pomocí NIR spektrometru. V kávě z Kolumbie byl obsažen kofein v množství 1239,21 mg.100 g⁻¹, což se shoduje s kávou č. 7 – Supremo, která rovněž pochází z Kolumbie. V mé analýze bylo naměřeno 1258,08 mg kofeinu ve 100 g kávy. Vzorek kávy ze Salvadoru obsahoval 1483,50 mg kofeinu ve 100 g. Tento výsledek se též shoduje s výsledkem mého vzorku salvadorské kávy připravené tureckým způsobem. Obsah kofeinu byl naměřen v množství 1478,79 mg.100g⁻¹.

Vzorky č. 27, č. 28, č. 29 a č. 30 byly vypěstovány v Brazílii, i přesto si stanovené obsahy kofeinu nejsou podobné. Opět je tedy patrné, obdobně jako v případě kávy arabika, že mezi obsahem kofeinu v kávě a pěstební lokalitou neexistuje přímá souvislost. Brazílie je však rozlehlá země a káva pěstovaná v různých místech v této zemi, může být vystavena odlišným podmínkám pěstování.

8.2 Stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH

Antioxidační aktivita byla vyjádřena jako množství inhibovaného DPPH. Průměrné hodnoty se pohybovaly v rozmezí od 17 do 25 %. Choi & Koh (2017) také potvrdili, že působením polyfenolických látek jsou potlačovány účinky volných radikálů.

Nejnižší hodnoty byly naměřeny pro turecké kávy arabika. DPPH bylo inhibováno ze 17 %, takový pokles byl zaznamenán i ve studii Geremu et al. (2016). Mubarak et al. (2019) svými studiemi prokázali, že mezi antioxidační aktivitou arabiky a robusty není statisticky významný rozdíl. Mimo jiné sledovali i množství kofeinu a polyfenolických kyselin, čímž chtěli pomoci rozvíjející se produkci kávovníku statného a liberijského oproti nadhodnocenému kávovníku arabskému. Kávovníkem liberijským se zabývali i Insanu et al. (2021). Byť jsem tento typ kávy netestovala, výsledky antioxidační aktivity tohoto typu kávy stanovené metodou poklesu absorbance DPPH jsou srovnatelné. Saeed Alkaltham et al. (2020) se také zabývali inhibicí radikálů DPPH a spektrofotometrickým stanovením při vlnové délce 517 nm. Množství inhibovaného DPPH bylo průměrně 15,74 %. Odžaković et al. (2007) také potvrdili pokles aktivity volných radikálů v kávě. Zabývali se kávami praženými při rozdílné teplotě. Dokázali, že existují rozdíly nejen mezi typy kávy, ale i mezi zrnky s různou intenzitou pražení.

Bobková et al. (2020) ve své studii také inhibovali DPPH polyfenoly přirozeně se vyskytujícími v kávových zrnech. Byly použity vzorky z Etiopie a Kolumbie v různých stupních pražení. Průměrné hodnoty se pohybovaly v rozmezí 21,5 – 30,02 %. Také Khochapong et al. (2021) naměřili pokles DPPH v průměru o 21,6 % pro arabiku.

Ramalakshmi et al. (2008) byl proveden obdobný pokus s kávou pocházející z Indie. Bylo naměřeno 58 % inhibovaného DPPH. Tento výsledek je mnohem vyšší než naměřené hodnoty mých káv. Srovnatelná káva z Indie – vzorek č.35 DeLonghi Espresso Classic měla naměřenou hodnotu v případě espressa 36,5 %.

Nejvyšší množství inhibovaného DPPH bylo zaznamenáno pro kávu Supremo. Naměřená hodnota 46,83 % se téměř shoduje s výzkumem Duarte et al. (2005), kteří do svého pokusu zařadili kávu typu arabika. Vzorku kávy byla naměřena hodnota 43,79 %, ale oproti průměru je znatelně vyšší.

8.3 Stanovení celkového množství polyfenolických látek

Množství polyfenolických látek bylo stanoveno $219,73 \pm 44,02 \text{ mg} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$ pro arabiku espresso a $218,32 \pm 51,26 \text{ mg} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$ pro arabiku jako tureckou kávu. Robusta obsahovala $260,95 \text{ mg} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$ polyfenolických látek v espressu a $279,03 \pm 21,30 \text{ mg} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$ v turecké kávě, která obsahovala nejvyšší celkové množství polyfenolických látek ze všech typů připravených káv. Vignoli et al. (2011) naměřili pro arabiky průměrně $136,63 \text{ mg}$ polyfenolických látek ve 100 ml a pro robusty $173,51 \text{ mg}$ ve 100 ml kávy. Odlišný obsah polyfenolických látek může způsobovat rozdílná vyzrállost nebo pražení kávových zrn. Olechno et al. (2020) stanovili celkové množství polyfenolických látek v kávě arabika a robusta stejnou metodou – pomocí Folin-Ciocalteuova činidla a spektrofotometru. Byly naměřeny hodnoty $221,8 \text{ mg} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$ pro 100% arabiku a $226,9 \text{ mg} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$ pro 100% robustu. Delgrado et al. (2019) ve svém výzkumu použili totožnou metodu. Stanovili $254,6 \text{ mg} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$ polyfenolických látek v kávě typu arabika.

Pujol et al. (2013) analyzovaly celkové množství polyfenolických látek v kávě zalité horkou vodou. Hodnoty byly naměřeny v rozpětí $170\text{--}340 \text{ mg} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$. Tato škála odpovídá naměřeným hodnotám tureckých káv v mém pokusu.

Obsahem polyfenolických látek v kávě arabika a robusta se zabývali i Hečimović et al. (2011). Byla použita káva arabika z Brazílie a káva robusta z Vietnamu. Zatímco pro arabiku byla naměřena hodnota $210,14 \text{ mg} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$, robusta obsahovala $423,75 \text{ mg}$ polyfenolických látek na 100 ml . Oproti mému pokusu jsou tyto hodnoty shodné s arabikami, ale velmi rozdílné pro kávy typu robusta. Pokud bychom porovnali kávu dle místa původu, pak vzorek brazilské kávy č. 3 Oxalis Brazílie Santos obsahoval téměř poloviční celkové množství polyfenolů. V turecké kávě bylo polyfenolických látek obsaženo pouze $111,54 \pm 4,12 \text{ mg} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$.

Celkový obsah polyfenolů v kávě byl zkoumán také Pérez-Hernandéz et al. (2012). Kávové vzorky pocházeli z Francie, Itálie a Mexika. Byly zaznamenány významné rozdíly v množství těchto látek. Fenolické sloučeniny se vyskytovaly v rozmezí $370\text{--}550 \text{ mg} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$. Oproti výsledkům arabik z mého pokusu jsou to velmi rozdílné hodnoty.

9 Závěr

Diplomová práce byla zaměřena na analýzu složení různých druhů kávy. V teoretické části byla zpracována literární rešerše na téma druhy kávovníků, nejvýznamnější producenty kávy, složení kávových zrn, samostatnou výrobu kávy od procesu sběru, sklizně, zpracování až pražení, dále na různé typy přípravy kávy, účinky konzumace kávy a chemickou analýzu. V praktické části bylo stanoveno množství kofeinu, antioxidační aktivita a obsah polyfenolických látek. Kofein byl stanoven pomocí HPLC, antioxidační aktivita byla stanovena metodou DPPH a celkový obsah polyfenolických látek byl stanoven spektrofotometrickou metodou s Folin – Ciocalteuovým činidlem. Cílem práce bylo prokázat, zda je chemické složení kávy ovlivněno způsobem přípravy a typem kávy.

Hypotéza 1: Celkový obsah polyfenolických látek, antioxidační aktivita a obsah kofeinu v různých typech kávy se liší.

- Hypotéza byla potvrzena pro stanovení množství kofeinu. Mezi různými typy kávy byl zjištěn statisticky významný rozdíl.
- Pro stanovení antioxidační aktivity je možné potvrdit hypotézu pouze částečně, protože existuje statisticky významný rozdíl pro kávy typu arabika, který se liší od robusty nebo směsi káv.
- Při stanovení celkového obsahu polyfenolických látek byla hypotéza potvrzena pouze pro kávy typu robusta. Mezi kávami typu arabika a směs nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl.

Hypotéza 2: Celkový obsah polyfenolických látek, antioxidační aktivita a obsah kofeinu je závislý na způsobu přípravy kávy.

- Hypotézu není možné pro stanovení množství kofeinu potvrdit, protože nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly.
- Byl zjištěn statisticky významný rozdíl poklesu absorbance DPPH pro tureckou kávu oproti kávě připravené jako espresso. Hypotézu je možné potvrdit.
- Hypotézu nelze potvrdit. Mezi celkovým množstvím polyfenolických látek a způsobem přípravy kávy nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl.

Rozdíly ve složení jednotlivých druhů káv mohou být způsobeny geografickými a klimatickými podmínkami pěstování, způsobem a šetrností sklizně, kvalitou pražení nebo skladováním. Přínos této práce shledávám především pro širokou veřejnost, která kávu konzumuje díky jejím povzbuzujícím účinkům. Byť je espresso z arabiky považováno za chutnější, z větší části má blahodárnější vliv turecká káva připravená z robusty.

10 Literatura

Bobková A, Orcid I, Hudáček M, Jakabová S, Belej L, Capcarová M, Čurlej J, Bobko M, Árvay J, Jakab I, Čapla J, Demianová A. 2020. The effect of roasting on the total polyphenols and antioxidant activity of coffee. *Journal of Environmental Science and Health. Part B.* 55:495-500

Teng H, Chen L. 2019. Polyphenols and bioavailability: an update. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 13:2040-2051.

Alpdogan G, Karabina K, Sungur S. 2002. Derivative spectrophotometric determination of caffeine in some beverages. *Turkish Journal of Chemistry.* 26:295-302.

Alristina AD, Adi AC, Ismawati R. 2018. The effect of green coffee bean extract on the weight rats with high fat diet. *Health Notions.* 2018. 4:446-449.

Augustín J. 2016. U kávy o kávě a kávovinách. Jota s.r.o. Brno.

Bae JH, Park JH, Im SS, Song, DK. 2014. Coffee and health. *Integrative medicine research.* 3:189-191.

Bagdonaite K, Murkovic M. 2004. Factors affecting the formation of acrylamide in coffee: Benefits and Risks. *Czech Journal of Food Sciences.* 22:22-24

Blauc Joan L, Tarka JR, Stanley M. 1983. HPLC determination of caffeine and theobromine in coffee, tea, and instant hot cocoa mixes. *Journal of Food Science.* 48.3:745-747.

Brommer E, Stratmann B, Quack D. 2011. Environmental impacts of different methods of coffee preparation. *International journal of consumer studies,* 35:212-220.

Cämmerer B, Kroh LW. 2006. Antioxidant activity of coffee brews. *European Food Research and Technology.* 4:469-474.

Cano-Marquina A, Tarín JJ, Cano A. 2013. The impact of coffee on health. *Maturitas* 75:7-21.

Caprioli G, Cortese M, Sagratini G, Vittori S. 2015. The influence of different types of preparation (espresso and brew) on coffee aroma and main bioactive constituents. *International journal of food sciences and nutrition.* 66:505-513.

Capuano E, Fogliano V. 2011. Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural (HMF): A review on metabolism, toxicity, occurrence in food and mitigation strategies. *LWT-food science and technology.* 4:793-810.

Carder G, Proctor H, Schmidt-Burbach J, D’cruze N. 2016. The animal welfare implications of civet coffee tourism in Bali. *Animal Welfare*. 25:199-205.

Coffespot pražírna. 2019. Srovnání zrnkové kávy a robusty. Available from <https://www.coffespot.cz/rozdily-kava-arabica-robusta> (accessed February 2020).

Crozier TW, Stalmach A, Lean ME, Crozier A. 2012. Espresso coffees, caffeine and chlorogenic acid intake: potential health implications. *Food & function*. 3:30-33.

Delgado SR, Arbelaez AFA, Rojano B. 2019. Antioxidant capacity, bioactive compounds in coffee pulp and implementation in the production of infusions. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*. 18:235-248.

Domáci káva. 2017. Stupně pražení kávy. Available from: <https://www.domacikava.cz/stupne-prazeni-kavy/> (accessed February 2020).

Dröge W. 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological review*.

Duarte SMDS, Abreu CMPD, Menezes HCD, Santos MHD, Gouvêa CMCP. 2005. Effect of processing and roasting on the antioxidant activity of coffee brews. *Food Science and Technology*. 2:387-393.

El-Sohemy A. 2019. Coffee and health: what we still don't know. *The American Journal of Clinical Nutrition* 3:489–490.

Evangelista SR, Silva CF, da Cruz Miguel MGP, de Souza Cordeiro C, Pinheiro ACM, Duarte WF, Schwan RF. 2014. Improvement of coffee beverage quality by using selected yeasts strains during the fermentation in dry process. *Food Research International*. 61:183-195.

Flament I, Bessiere-Thomas Y. 2002. *Coffee flavor chemistry*. Wiley. New York.

Girma B, Gure A, Wedajo F. 2020. Influence of Altitude on Caffeine, 5-Caffeoylquinic Acid, and Nicotinic Acid Contents of Arabica Coffee Varieties. *Journal of Chemistry*.

Gökçen BB, Şanlıer N. 2019. Coffee consumption and disease correlations. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 2:336-348.

Gupta R, Sharma M, Lakshmy R, Prabhakaran D, Reddy KS. 2009. Improved method of total antioxidant assay. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*. 46:126-129.

Hall S, Yuen JW, Grant GD. 2018. Bioactive constituents in caffeinated and decaffeinated coffee and their effect on the risk of depression—A comparative constituent analysis study. *Beverages*. 4:79.

Hawthorne SB, Miller DJ, Pawliszyn J, Arthur CL. 1992. Solventless determination of caffeine in beverages using solid-phase microextraction with fused-silica fibers. *Journal of Chromatography A*. 603:185-191.

Hečimovic I et al. 2011. Comparative study of polyphenols and caffeine in different coffee varieties affected by the degree of roasting. *Food chemistry*. 3:991-1000.

Hoskovec L. 2011. COFFEA ARABICA L. – kávovník arabský. Available from <https://botany.cz/cs/coffea-arabica/> (accessed April 2011).

Charkovský V. 2013. Jak na kávu. Vadim Charkovský, Praha.

Chefshop. Znáte základní druhy kávy? Available from: <https://www.chefshop.cz/blog/znate-zakladni-druhy-kavy/> (accessed March 2020).

Chen X. 2019. A review on coffee leaves: Phytochemicals, bioactivities and applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 6:1008-1025.

Cheng K, Dong WJ, Long YZ, Zhao JP, Hu RS, Zhang YJ, Zhu KX. 2019. Evaluation of the impact of different drying methods on the phenolic compounds, antioxidant activity, and in vitro digestion of green coffee beans. *Food Science & Nutrition* 7:1084-1095.

Chirfa G, Merdassa Y, Gure A. 2020. Salting-out Assisted Liquid–Liquid Extraction for Analysis of Caffeine and Nicotinic Acid in Coffee by HPLC–UV/Vis Detector. *Journal of Analysis and Testing*. 4:298-306.

Choi B, Koh E. 2017. Spent coffee as a rich source of antioxidative compounds. *Food science and biotechnology*. 26:921-927

Choi BK, Park SB, Lee DR, Lee HJ, Jin YY, Yang SH, Suh JW. 2016. Green coffee bean extract improves obesity by decreasing body fat in high-fat diet-induced obese mice. *Asian Pacific journal of tropical medicine*. 9:635-643.

Insanu M, Fidrianny I, Imtinan NHH, Kusmardiyani S. 2021. Liberica Coffee (*Coffea liberica* L.) from Three Different Regions: In Vitro Antioxidant Activities.

Jones-Gailani N. 2017. Qahwa and Kleiche: drinking coffee in oral history interviews with Iraqi women in diaspora. *Global Food History*. 3: 84-100.

Kamikava. 2018. Sběr a zpracování kávy. Available from <https://www.kamikava.cz/https/www-kamikava-cz/sber-a-zpracovani-kavy-b1089-htm> (accessed February 2020).

Kávovník. 2007. Pražení kávy. Available from: <https://www.kavovnik.cz/clanky/prazeni-kavy/> (accessed February 2020).

Kedare SB, Singh RP. 2011. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of food science and technology*. 48:412-422.

Kemsley EK, Ruault S, Wilson RH. 1995. Discrimination between *Coffea arabica* and *Coffea canephora* variant robusta beans using infrared spectroscopy. *Food Chemistry*. 3:321-326.

Klein AM, Steffan-Dewenter I, Tschardt T. 2003. Pollination of *Coffea canephora* in relation to local and regional agroforestry management. *Journal of Applied Ecology*. 5:837-845.

Komes D, Bušić A. 2014. Antioxidants in coffee. In: *Processing and impact on antioxidants in beverages*. Academic press. 25-32.

Król K, Gantner M, Tatarak A, Hallmann E. 2020. The content of polyphenols in coffee beans as roasting, origin and storage effect. *European Food Research and Technology*. 246:33-39.

Lázeňská káva. 2019. Producenti kávy. Available from: <https://www.lazenskakava.cz/kde-se-pestuje-kava/> (accessed March 2020).

Marcone MF. 2004. Composition and properties of Indonesian palm civet coffee (Kopi Luwak) and Ethiopian civet coffee. *Food Research International*. 37:901-912.

Mazzafera Paulo. 1999. Chemical composition of defective coffee beans. *Food chemistry*. 64:547-554.

Mediaguru. 2019. Češi se přesouvají k prémiovějším typům kávy. Available from: <https://www.mediaguru.cz/clanky/2019/01/cesi-se-presouvaji-k-premiovjsim-typum-kavy/> (accessed March 2020).

Michel N, Serge H, Valérie P. 2007. Genetic basis of species differentiation between *Coffea liberica* Hiern and *C. canephora* Pierre: analysis of an interspecific cross. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 5:1011-1021.

Musilová M. 2018. Kyselina chlorogenová – součást spalovačů tuků nové generace. Available from <https://www.efia.cz/2018/08/03/kyselina-chlorogenova-soucast-spalovacu-tuku-nove-generace/> (accessed February 2020).

Odžaković B, Džinić N, Kukrić Z, Grujić S. 2016. Effect of roasting degree on the antioxidant activity of different Arabica coffee quality classes. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*. 15:409-417.

Olechno E, Puścion-Jakubik A, Markiewicz-Żukowska R, Socha K. 2020. Impact of Brewing Methods on Total Phenolic Content (TPC) in Various Types of Coffee. *Molecules*. 25:5274.

Ostřížková M. 2017. Kofein a jeho účinky na zdraví: Kolik šálků denně je v pořádku a kdy škodí zdraví? CZECH NEWS CENTER a.s. Available from <https://www.mojezdravi.cz/prirodni-medicina/kofein-a-jeho-ucinky-na-zdravi-kolik-salku-denne-je-v-poradku-a-kdy-skodi-zdravi-2608.html> (accessed January 2020).

Panusa A, Petrucci R, Lavecchia R, Zuurro A. 2017. UHPLC-PDA-ESI-TOF/MS metabolic profiling and antioxidant capacity of arabica and robusta coffee silverskin: Antioxidants vs phytotoxins. *Food Research International*. 99:155-165.

Paulová H, Táborská E. 2004. Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek in vitro. 98:174-179.

Pérez-Hernandés LM et al. 2012. Phenolic characterization, melanoidins, and antioxidant activity of some commercial coffees from *Coffea arabica* and *Coffea canephora*. *Journal of the Mexican Chemical Society*. 4:430-435.

Perrois C, Strickler SR, Mathieu G, Lepelley M, Bedon L, Michaux S, Privat I. 2015. Differential regulation of caffeine metabolism in *Coffea arabica* (Arabica) and *Coffea canephora* (Robusta). *Planta*. 241:179-191.

Petriková V, Patočka J. 2006. Káva očima toxikologa. *Vojenské zdravotnické listy*. 3-4.

Pujol D et al. 2013. The chemical composition of exhausted coffee waste. *Industrial Crops and Products*. 50: 423-429.

Radak Z, Kumagai S, Taylor AW, Naito H, Goto S. 2007. Effects of exercise on brain function: role of free radicals. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*. 32:942-946.

Ramalakshmi K, Kubra IR, Rao L. 2008. Antioxidant potential of low-grade coffee beans. *Food Research International*. 1:96-103.

Ratnayake WMN, Hollywood R, O'grady E, Stavric B. 1993. Lipid content and composition of coffee brews prepared by different methods. *Food and chemical toxicology*. 31:263-269.

Redgwell R, Fischer M. 2006. Coffee carbohydrates. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. 18:165-174.

Renda G, De Caterina R. 2020. Caffeine. Academic Press, Cambridge.

Saeed Alkaltham M, Musa Özcan M, Uslu N, Salamatullah AM, Hayat K. 2020. Effect of microwave and oven roasting methods on total phenol, antioxidant activity, phenolic compounds, and fatty acid compositions of coffee beans. *Journal of Food Processing and Preservation*. 44:e14874.

Salazar-López NJ, López-Rodríguez CV, Hernández-Montoya DA, Campos-Vega R. 2020. Health Benefits of Spent Coffee Grounds. *Food Wastes and By-products: Nutraceutical and Health Potential*. 327-351.

Samanidou V, Tsagiannidis A, Sarakatsianos I. 2012. Simultaneous determination of polyphenols and major purine alkaloids in Greek *Sideritis* species, herbal extracts, green tea, black tea, and coffee by high-performance liquid chromatography-diode array detection. *Journal of separation science*. 35:608-615.

Shi J, Nawaz H, Pohorly J, Mittal G, Kakuda Y, Jiang Y. 2005. Extraction of Polyphenolics from Plant Material for Functional Food – Engineering and Technology. *Food Reviews International* 1:139-166.

Shimoda H, Seki E, Aitani M. 2006. Inhibitory effect of green coffee bean extract on fat accumulation and body weight gain in mice. *BMC complementary and alternative medicine*. 6:9.

Sicard BA, Perault MC, Enslen M, Chauffard F, Vandel B, Tachon P. 1996. The effects of 600 mg of slow release caffeine on mood and alertness. *Aviation, space, and environmental medicine*. 67:859–862.

Smith RF. 1985. A history of coffee. In *Coffee*. Springer, Boston, MA.

Srdjenovic B, Djordjevic-Milic V, Grujic N, Injac R, Lepojevic Z. 2008. Simultaneous HPLC determination of caffeine, theobromine, and theophylline in food, drinks, and herbal products. *Journal of chromatographic science*. 46:144-149.

Stefanello N, Spanevello RM, Passamonti S, Porciúncula L, Bonan CD, Olabiyi AA, Schetinger MRC. 2019. Coffee, caffeine, chlorogenic acid, and the purinergic system. *Food and Chemical Toxicology*. 123:298-313.

Sytařová I, Orsavová J, Snopek L, Mlček J, Byczyński Ł, Mišurcová L. 2020. Impact of phenolic compounds and vitamins C and E on antioxidant activity of sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) berries and leaves of diverse ripening times. *Food chemistry*. 310:125784.

Temple JL, Bernard C, Lipshultz SE, Czachor JD, Westphal JA, Mestre MA. 2017. The safety of ingested caffeine: a comprehensive review. *Frontiers in psychiatry*. 8:80.

Trugo LC, Macrae R. 1984. A study of the effect of roasting on the chlorogenic acid composition of coffee using HPLC. *Food Chemistry*. 3:219-227.

Veselá P. 2011. *Kniha o kávě*. Smart Press, s. r. o., Praha.

Weibel J, Lin YS, Landolt HP, Garbazza C, Kolodyazhniy V, Kistler J, Reichert CF. 2020. Caffeine-dependent changes of sleep-wake regulation: evidence for adaptation after repeated intake. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 99:109851.

Yashin A, Yashin Y, Wang JY, Nemzer B. 2013. Antioxidant and antiradical activity of coffee. *Antioxidants*. 4:230-245.

Youngson R. 1995. *Antioxidanty-cesta ke zdraví*. Jota s.r.o. Praha.

Zhang X et al. 2013. Improvement of near infrared spectroscopic (NIRS) analysis of caffeine in roasted Arabica coffee by variable selection method of stability competitive adaptive reweighted sampling (SCARS). *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 114:350-356.

11 Samostatné přílohy

Příloha č.1: Přehled použitých vzorků káv

ČÍSLO	NÁZEV	MÍSTO PŮVODU	A	R
1	Eilles Kaffe Sollection	Afrika	100%	0%
2	Vaaldir Doubleshot	Brazílie	100%	0%
3	Oxalis Brazílie Santos	Brazílie	100%	0%
4	Kibingo	Burundi	100%	0%
5	Albert Espresso	Celý svět	100%	0%
6	Supremo	Kolumbie	100%	0%
7	Serrano Lavado	Cuba	100%	0%
8	Etiopie Filtre	Etiopie	100%	0%
9	Five Elephant	Guatemala	100%	0%
10	Honduras Espresso	Honduras	100%	0%
11	Solce Gusto Espresso	Jižní amerika	100%	0%
12	Coffeeholics Suprema	Jižní Amreika	100%	0%
13	Albert Keňa	Keňa	100%	0%
14	Polaris	Kolumbie, Etiopie	100%	0%
15	SHG EP Zaphiro	Mexico	100%	0%
16	PATAR - IKEA	Mexico, Peru	100%	0%
17	Beansmith Monte Alegre	Monte Alegre	100%	0%
18	Nikaragua Tandem Doublesho	Nikaragua	100%	0%
19	Peru Finca Yandel	Peru	100%	0%
20	Oxalis El Salvador	Salvador, Bourbon	100%	0%
21	Noa Noa Tahiti	Tahiti	100%	0%
22	Tchibo Espresso Milano Style	–	100%	0%
23	Oxalis Pomeranč-Čoko	–	100%	0%
24	Caffè Hugo Espresso	–	100%	0%
25	Oxalis Caramel Macchiato	–	100%	0%
26	Eilles Gurmet Café	Asie, Afrika	80%	20%
27	House Blend	Brazílie	80%	20%
28	Sweetcoffee Cream	Brazílie	80%	20%
29	Sweetcoffee Aroma	Brazílie	80%	20%
30	Sweetcoffee Royal	Brazílie	80%	20%
31	Dalmyr Classic	–	80%	20%
32	Jacobs Aroma Standard	–	80%	20%
33	Jacobs Kronung Crema	–	80%	20%
34	Dalmyr Café Crema	–	80%	20%
35	DeLonghi Espresso classic	Indie, Kolumbie	60%	40%
36	Gran Gusto Italia	Guatemala	35%	65%
37	India	Indie	0%	100%
38	Standart Mletý Marila	–	0%	100%
39	AH Basic Groundcoffě	–	0%	100%
40	Tchibo Family	–	0%	100%
41	Casablanca Intense	–	0%	100%
42	Douwe Egberts Paloma	–	0%	100%

Příloha č.2: F-test

Závislý proměnné	Test SČ celého modelu vs. SČ reziduí (výsledky komplet_opakování)										
	Vícenás. R	Vícenás. R2	Upravené R2	SČ Model	SV Model	PČ Model	SČ Rezid.	SV Rezid.	PČ Rezid.	F	p
kofein (mg/100ml)	0,727954	0,529917	0,514851	23084104	5	4816821	20477598	156	131266,7	35,17131	0,000000
antiox. aktivita (%)	0,429603	0,184558	0,158422	1476	5	295	6521	156	41,8	7,06147	0,000006
polyfenoly (mg/100 ml)	0,420522	0,176839	0,150456	55635	5	11127	258975	156	1660,1	6,70267	0,000011

Příloha č.3: Grafické vyjádření celkového množství polyfenolů

