

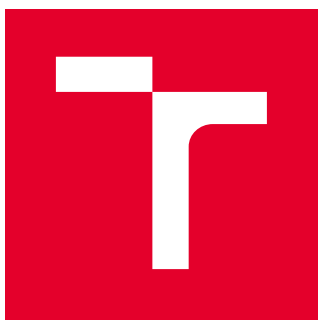
VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

Fakulta chemická

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Brno, 2020

Kristina Procházková



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

VLIV BARISTICKÉHO ZPRACOVÁNÍ KÁVY NA CHEMICKÉ SLOŽENÍ ZÍSKANÉHO NÁPOJE

INFLUENCE OF COFFEE MAKING PROCESS ON CHEMICAL COMPOSITION OF BREWED COFFEE

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Kristina Procházková

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.

BRNO 2020

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1583/2019 Akademický rok: 2019/20
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Studentka: **Kristina Procházková**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Potravinářská chemie
Vedoucí práce: **doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.**

Název bakalářské práce:

Vliv baristického zpracování kávy na chemické složení získaného nápoje

Zadání bakalářské práce:

1. Vypracování teoretické části práce
2. Analýza vzorků kávy pomocí technik ICP–OES, HPLC a UV–VIS
3. Zpracování naměřených výsledků, diskuse výsledků práce

Termín odevzdání bakalářské práce: 22.5.2020:

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

Kristina Procházková
student(ka)

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

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2020

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce se zabývá vlivem baristických příprav kávy na chemické složení získaného nápoje. V teoretické části se věnuje také pěstování, technologii zpracování kávy a chemickému složení kávových zrn. V rámci experimentální části byly proměřeny vzorky kávy espresso, vzorky připravené z moka konvičky, metodou flip-drip, filtrováním kávy, technikou french-press, přípravou ve vacuum potu a vzorek turecké kávy. Vzorky byly připraveny dle baristické příručky a s upravenými poměry vody a kávy tak, aby se daly metody mezi sebou srovnat. Tato práce se zaměřuje na stanovení obsahu kofeinu a akrylamidu pomocí kapalinové chromatografie, validací metody HPLC, stanovení celkových fenolických látek pomocí Folin-Ciocalteuova reagentu, stanovení organických kyselin pomocí iontové chromatografie, stanovení vybraných makro a mikro prvků pomocí optické emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem a analýzu aromatických látek s využitím plynové chromatografie. Na základě zpracovaných výsledků a porovnaných metod bylo prokázáno, že největší vliv na obsah kofeinu, akrylamidu, organických kyselin a celkových fenolických látek měla moka konvička, na obsah aromatických látek měla největší vliv metoda flip-drip a vacuum pot. V baristicky připravených nápojích byla koncentrace kofeinu nejvyšší u metody flip-drip a to 3689 mg/l, koncentrace akrylamidu 25,4 mg/l u metody stejné. U celkových fenolických látek byla nejvyšší hodnota ($c = 5,23$ g/l) naměřena u moka konvičky. Obsah minerálních látek byl sledován v kávových zrnech a v připraveném nápoji - espresso. Nejvíce zastoupeným prvkem byl draslík. Koncentrace draslíku v kávových zrnech byla 577 mg/l z 1g zmineralizovaného vzorku, v připravené kávě espresso pak byla koncentrace draslíku 2461 mg/l. Největší obsah organických kyselin byl zaznamenán v nápoji připraveném v moka konvičce, z vybraných kyselin měla největší zastoupení kyselina jantarová s koncentrací 599,8 mg/l. Největší obsah aromatických látek byl zaznamenán v kávě z moka konvičky a z flip-dripu. Nejvíce zastoupenou aromatickou látkou v připravené kávě byl furfuryl alkohol.

KLÍČOVÁ SLOVA

Baristické metody, káva, kofein, fenolické látky, minerální látky, aromatické látky, organické kyseliny, HPLC, GC, IC, ICP-OES, TPC

ABSTRACT

This bachelor thesis deals with the influence of baristic coffee preparations on the chemical composition of the obtained beverage. Teoretical part of this thesis focuses on coffee growing, processing technology and the chemical composition of coffee beans. In the experimental part were measured samples of espresso coffee, samples prepared by moca pot, flip-drip method, filtrated coffee, samples prepared by french-press technique, vacuum pot samples and boiled coffee. The samples were prepared according to the baristic techniques at first and later with adjusted water and amount of coffee so these methods could be compared with each other. This work focuses on the determination of caffeine and acrylamide content by liquid chromatography, validation of HPLC method, determination of total phenolic content by Folin-Ciocalteu reagent, determination of organic acids by ion chromatography, determination of selected macro and micro elements by inductively coupled plasma in optical emission spectrometry and analysis of aromatic substances using gas chromatography. Based on the processed results and compared methods, it was shown that the moca pot had the greatest influence on the content of caffeine, acrylamide, organic acids and total phenolic substances, and the flip-drip with vacuum pot method had the greatest influence on the content of aromatic substances. From a baristic point of view the highest concentration of caffeine was 3689 mg/l in coffee based on flip-drip method, and concentration of acrylamide was 25,4 mg/l in the coffee based on the same method. The highest value of total phenolic content was determined in moka pot to $c = 5,23$ g/l. Regarding the mineral representation, the mineral decomposition of coffee beans and espresso were compared, and the highest values were reached by potassium, namely the concentration was 577 mg/l per 1 g of mineralized sample, in the cup of espresso the potassium concentration was 2461 mg/l. The highest content of organic acids was determined in the beverage prepared by moca pot, in terms of selected acids, the largest representation had the succinic acid with the concentration 599,8 mg/l. The highest content of aromatic substances was found in coffee from a moca pot and in coffee by flip-drip method. The biggest part was made by furfuryl alcohol.

KEYWORDS

Brewing methods, coffee, caffeine, phenolic content, mineral content, aromatic compounds, organic acids, HPLC, GC, IC, ICP-OES, TPC

PROCHÁZKOVÁ, Kristina. *Vliv baristického zpracování kávy na chemické složení získaného nápoje*. Brno, 2020, 77 s. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce: doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci na téma „Vliv baristického zpracování kávy na chemické složení získaného nápoje“ jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou všechny citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce.

Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že v souvislosti s vytvořením této bakalářské práce jsem neporušila autorská práva třetích osob, zejména jsem nezasáhla nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a/nebo majetkových a jsem si plně vědoma následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č. 40/2009 Sb.

Brno

.....

podpis autorky

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala mému vedoucímu bakalářské práce panu doc. Ing. Pavlu Divišovi, Ph.D. a konzultantům Ing. Jakobovi Křikalovi a Ing. Lence Punčochářové za odborné vedení, konzultace, ochotu, trpělivost a podnětné návrhy k práci. Dále má slova díky patřit i rodině a partnerovi za podporu a trpělivost během psaní této práce.

Obsah

1	ÚVOD	13
2	TEORETICKÁ ČÁST	14
2.1	Obecná charakteristika kávovníku	14
2.1.1	Robusta	15
2.1.2	Arabica	15
2.2	Technologie zpracování kávy	16
2.2.1	Zpracování suchou cestou	17
2.2.2	Zpracování mokrou cestou	17
2.2.3	Sušení	17
2.2.4	Finální úprava kávy	18
2.2.5	Třídění a přebírání	18
2.2.6	Přeprava kávy	18
2.2.7	Pražení	19
2.3	Chemické složení kávy	19
2.3.1	Kofein	20
2.3.2	Akrylamid	21
2.3.3	Fenolické látky	22
2.3.4	Prvkové zastoupení	22
2.3.5	Organické kyseliny	23
2.3.6	Aromatický profil kávy	24
2.4	Přehled baristických metod	26
2.4.1	Turecká káva	26
2.4.2	Espresso	27
2.4.3	Moka	28
2.4.4	Flip-drip (Neapolská káva)	28
2.4.5	Filtrovaná káva	29
2.4.6	French press	30
2.4.7	Vacuum pot (Vacuum)	31
2.5	Přehled instrumentálních metod pro analýzu kávy	32
2.5.1	Kapalinová chromatografie	32
2.5.2	Iontová chromatografie	33
2.5.3	Plynová chromatografie	33
2.5.4	Optická emisní spektrometrie v indukčně vázaném plazmatu	34
2.5.5	Stanovení celkových fenolických látek	34

3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	35
3.1	Charakteristika vybrané kávy	35
3.2	Příprava vzorků kávy pomocí vybraných metod	36
3.2.1	Turecká káva	36
3.2.2	Espresso	36
3.2.3	Moka	37
3.2.4	Flip-drip	37
3.2.5	Filtrovaná káva	37
3.2.6	French press	37
3.2.7	Vacuum	37
3.2.8	Přehled přípravy vzorků:	38
3.3	Stanovení kofeinu pomocí HPLC	39
3.3.1	Použité chemikálie	39
3.3.2	Použité laboratorní vybavení	39
3.3.3	Podmínky metody	39
3.3.4	Pracovní postup	39
3.3.5	Validace metody	40
3.4	Stanovení celkových fenolických látek pomocí FC reagentu	42
3.4.1	Přístroje a pomůcky	42
3.4.2	Chemikálie a reagenty	42
3.4.3	Podmínky extrakce	43
3.4.4	Pracovní postup	43
3.4.5	Zpracování výsledků	43
3.5	Elementární analýza kávy pomocí ICP-OES	44
3.5.1	Chemikálie	44
3.5.2	Pomůcky a přístroje	44
3.5.3	Podmínky metody	45
3.5.4	Podmínky pro mikrovlnou mineralizaci	46
3.5.5	Postup práce	46
3.5.6	Zpracování výsledků	47
3.6	Stanovení organických kyselin pomocí IC	47
3.6.1	Podmínky metody	47
3.6.2	Zpracování výsledků	47
3.7	Stanovení aromatických látek pomocí HS-SPME-GC-MS	47
3.7.1	Pracovní pomůcky	47
3.7.2	Plyny	48
3.7.3	Přístroje	48
3.7.4	Podmínky GC-MS analýzy	48
3.7.5	Příprava vzorku	48

3.7.6	Zpracování výsledků	48
4	Výsledky a diskuze	49
4.1	Stanovení množství kofeinu a akrylamidu pomocí HPLC-DAD	49
4.1.1	Validace	49
4.1.2	Analýza reálných vzorků kávy	54
4.2	Stanovení celkových fenolických látek	57
4.3	Stanovení vybraných makro prvků a mikro prvků	59
4.4	Stanovení vybraných organických kyselin	61
4.5	Stanovení aromatických látek	65
	Závěr	71
	Literatura	72
	Seznam zkratk	76
A	Obsah příloženého CD	77

Seznam obrázků

2.1	Morfologie kávového zrna.	14
2.2	Zrna rozdílných odrůd káv.	15
2.3	Schéma technologie zpracování kávy.	16
2.4	Rozdíl mezi zrny zpracovanými mokrou a suchou cestou. [6]	18
2.5	Stupně pražení kávy. [7]	20
2.6	Chemická struktura kofeinu.	20
2.7	Vznik akrylamidu během Maillardovy reakce [13].	21
2.8	Streckerova degradace aminokyselin	25
2.9	Vybrané aromatické struktury nacházející se v kávě.	26
2.10	Kávovar na přípravu espressa.	27
2.11	Moka konvička na přípravu kávy.	28
2.12	Neapolský kávovar.	29
2.13	Mechanismus clever dripper.	30
2.14	French press na přípravu kávy.	31
2.15	Vacuum pot na přípravu kávy.	32
3.1	Informace o kávě.	35
3.2	Zrna a namletý vzorek vybrané kávy.	36
4.1	Chromatogram vzorku a spiku při 270 nm.	49
4.2	Kalibrační závislost standardu kofeinu pro 260, 270 a 280 nm.	51
4.3	Vliv změn parametrů na plochu píku.	51
4.4	Vliv změn parametrů na koncentraci.	52
4.5	Vliv změn parametrů na retenční čas.	52
4.6	Vliv změn parametrů na tailing faktor.	53
4.7	Vliv změn parametrů na teoretická patra.	54
4.8	Porovnání množství kofeinu ve vzorcích kávy připravených baristic- kými metodami a v upraveném poměru.	55
4.9	Porovnání množství akrylamidu ve vzorcích kávy připravených baris- tickými metodami a v upraveném poměru.	56
4.10	Kalibrační křivka stanovení celkových polyfenolů [g/l].	57
4.11	Srovnání obsahu polyfenolických látek [g] na 100g kávy připravených baristickými metodami a při upravení poměrů.	58
4.12	Množství makro prvků [mg] na 1 g kávy v kávě a espressu.	60
4.13	Množství mikro prvků [mg] na 1 g kávy v kávě a espressu.	60
4.14	Obsah kyseliny citronové v kávě připravené různými baristickými me- todami a pomocí upravených poměrů.	62
4.15	Grafické znázornění vlivu baristických metod na množství organic- kých kyselin.	63

4.16 Grafické znázornění vlivu upravených metod na množství organických kyselin.	64
4.17 Ukázka chromatogramu vzorku kávy espresso.	67
4.18 Zastoupení vybraných aromatických látek v baristicky připravené kávě.	68
4.19 Vliv metod s upravenými poměry na zastoupení aromátů ve vzorku. .	68

Seznam tabulek

2.1	Porovnání podmínek a obsahu kávy Arabica a Robusta	16
3.1	Baristicky připravené kávy	38
3.2	Změna poměru káva/voda	38
3.3	Zvolený gradient pro metodu měření kofeinu.	40
3.4	Variace parametrů pro stanovení robustnosti.	41
3.5	Kombinace jednotlivých parametrů.	42
3.6	Standardy kalibračních roztoků.	44
3.7	Technické specifikace.	45
3.8	Podmínky metody pro makro a mikro prvky.	45
3.9	Měření vlnové délky jednotlivých prvků.	46
3.10	Podmínky pro přípravu vzorku.	46
4.1	Výtěžnost kofeinu.	50
4.2	Limit detekce a kvantifikace kofeinu.	50
4.3	Koncentrace kofeinu ve vzorcích kávy.	54
4.4	Koncentrace akrylamidu v jednotlivých vzorcích kávy.	56
4.5	Koncentrace celkového obsahu fenolických látek.	58
4.6	Zastoupení makro a mikro prvků v kávě a v espresso.	59
4.7	Koncentrace organických kyselin v baristicky připravené kávě.	62
4.8	Koncentrace organických kyselin v kávě s upravenými poměry přípravy.	63
4.9	Hodnoty pH vzorku a celkové množství kyselin.	64
4.10	Procentuální zastoupení vybraných aromátů v kávě dle baristických metod.	66
4.11	Procentuální zastoupení vybraných aromatických látek v kávě s upravenými poměry.	69

1 ÚVOD

Káva je nápoj z upražených a rozemletých semen plodů kávovníku konzumován po mnoha staletí a to po celém světě. Ne nadarmo je druhou nejobchodovanější komoditou na světě. Do produkce kávy je po celém světě zapojeno přibližně 25 milionů farmářů, a to z padesáti zemí světa. Z dospělé populace konzumuje kávu asi 80 % jedinců, a to průměrně 1-2 šálky, což odpovídá 200 mg kofeinu na osobu za den. Na celém světě se tak vypije více než 2,5 miliardy šálků kávy denně a kofein se stává nejrozšířenějším stimulantem na světě [1].

Objevení kávy se datuje kolem roku 800 našeho letopočtu, kdy pastýři pozorovali, jaký efekt má kofein poté, co kávová zrna pozřely pasoucí se kozy. Místní mnich pak vyzkoušel nápoj, do kterého přidal kávová zrna a když po tomto nápoji nemohl spát, zrodil se první šálek kávy [1].

Většina konzumentů pije kávu hlavně z důvodu opojných účinků, což má na svědomí kofein, látka v kávě obsažená. Kofein se řadí mezi xanthinové alkaloidy a díky jeho hořké chuti je to jedna z hlavních látek přispívající na sensorický profil kávy. Mezi nejběžnější zdroje patří kávová zrna, kakaové boby, cola ořechy, čajové lístky, lístky maté a quarana. I přes rozvíjející se škálu nových energetických nápojů většina populace stále preferuje šálek lahodné kávy. Kromě přípravy v domácím prostředí není jediné kavárny, hospody, baru, kde by nedělali kávu. V dnešní době se tak poměrně rozšiřuje povědomí o mnoha specifických přípravách kávy, každý typ vám nabídne úplně nový zážitek a jednotlivé baristické přípravy dokáží konzumenta překvapit odlišným sensorickým profilem.

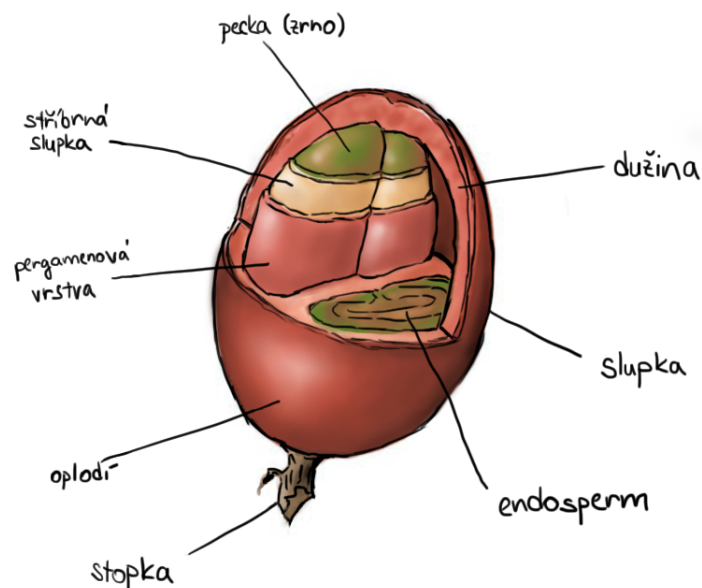
Každý způsob přípravy má jiný vliv na chemické složení a byť se jedná stále o stejnou kávu, v rámci této práce se dozvíte, jaký vliv mají jednotlivé metody přípravy na obsah kofeinu, celkové polyfenolické látky, aromatický profil, organické kyseliny a minerální látky. Na základě těchto dat pak byly jednotlivé metody porovnány, a to hlavně jakožto zdroj informací o širokém spektru chemického složení pro případného konzumenta.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Obecná charakteristika kávovníku

Kávovník (*Coffea*) je rostlina z čeledi mořenovité, která pochází z horských oblastí Etiopie a dorůstá výšky 5–6 m. Jedná se o stále zelený keř s eliptickým tvarem listů o velikosti až 15 cm. V úžlabí listů rostou ve svazečcích bílé květy, ze kterých se 6–9 měsíců po odkvětu vytvoří kulaté či oválné plody podobající se velikosti třešni. Peckovice má nejprve zelenou barvu, v průběhu dozrávání ale mění svůj odstín přes žlutou, červenou až do fialové. Uvnitř plodů se nacházejí jedno až dvě semena, zakryta několika obalovými vrstvami, dužinou a vnější slupkou, s typickou podélnou rýhou, což je znázorněno na obr. 2.1 [2] [3].

Kávovník je pěstován především v hornatých krajinách Asie, Afriky, Indonésie, Střední a Jižní Ameriky, neboť vyžaduje teplé a vlhké podnebí se stálými teplotami mezi 18–22 °C. Rod *Coffea* zahrnuje kolem padesáti druhů, z nichž se pouze kávovník arabský (*Coffea arabica*) se svými odrůdami, kávovník liberijský (*Coffea liberica*) a kávovník statný (*Coffea canephora*), jinak také zvaný Robusta, pěstují v průmyslovém měřítku [2].



Obr. 2.1: Morfologie kávového zrna.

2.1.1 Robusta

Kávovník statný, tedy ve světě známý pod názvem Robusta, potřebuje pro svůj růst větší množství srážek, větší teplotu, rostlina je vyšší a ve volné přírodě podstatně odolnější (tabulka 2.1). Nejzásadnějším rozdílem je ale to, že Robusta obsahuje přibližně dvojnásobnou koncentraci kofeinu a kyseliny chlorogenové, díky čemuž má rostlina insekticidní účinky a přirozenou ochranu před vnějšími vlivy. Robusta nedosahuje takových kvalit, zrna jsou menší a mají 2–3x větší obsah kofeinu oproti Arabice. V současné době představuje sklizeň této kávy cca 25 % světové produkce, podíl se ale stále zvyšuje [4].

2.1.2 Arabica

Kávovník arabský, známý pod jménem Arabica, naproti tomu obsahuje téměř o 60 % více lipidů a téměř dvojnásobek cukrů než Robusta. Sacharidy pak hrají důležitou roli v procesu pražení při vytváření charakteristických sloučenin, z čehož vyplývá, že zrna kávy Arabica obsahují po upražení více aromaticky aktivních látek a hotový nápoj je posléze i sensoricky atraktivnější pro konzumenta. Dále se pak v Arabice vyskytuje více ovocných a květinových tónů, vyznačuje se především nápadnou a výraznou kyselou chutí. [3] [4].

Většina světové produkce kávy (cca 75 %) jsou typy Arabica, ale pouze jedna pětina z vypěstovaného množství spadá do kategorie kvalitních zrn. Zbytek zrn vykazuje určité vady (rozdrcené tělo, nedozrálé plody, velikost zrn) a tudíž spadá do nižších tříd kvality [2].



Obr. 2.2: Zrna rozdílných odrůd kávy.

Ačkoli Arabica a Robusta může vypadat velmi podobně (viz obr. 2.2), je zde množství rozdílů, které významně rozlišují tyto dva populární druhy kávy (tabulka 2.1).

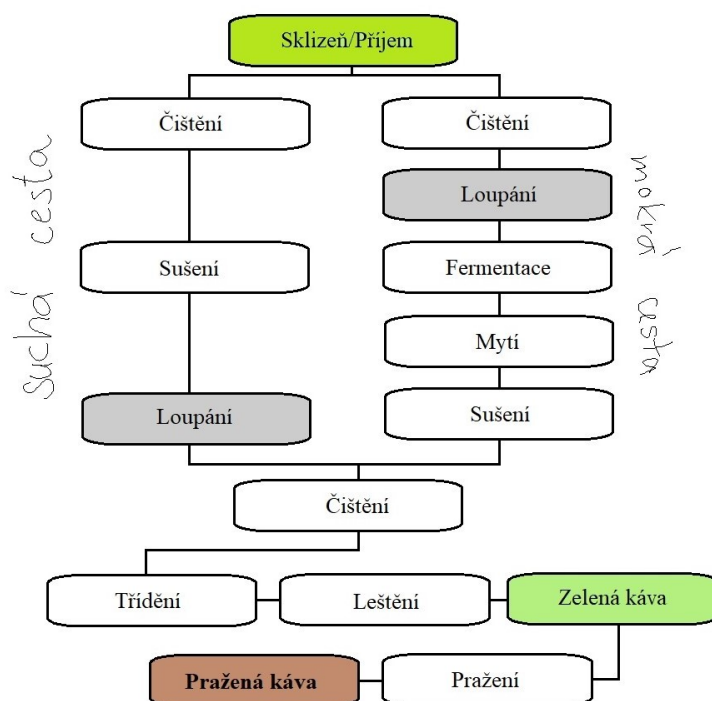
Tab. 2.1: Porovnání podmínek a obsahu kávy Arabica a Robusta

	Arabica	Robusta
Nadmořská výška (m)	600–2 200	0–800
Množství srážek (mm)	1 200–2 200	2 200–3 000
Teplota růstu (°C)	15–24	18–36
kofein (%)	1,2	2,2
kyselina chlorogenová (%)	5,5–8,0	7,0–10,0

2.2 Technologie zpracování kávy

Plody kávovníku (bobule) obsahují dvě zrnka s podélnou rýhou obalená slupkou. Cílem je očistit zrna od slupky, odstranit dužinu a zabránit tak vlhkosti, aby nedocházelo k zahnívání a nežádoucím fermentacím.

K přípravě kávových zrn na pražení existují dvě metody, které mají vliv na kvalitu a cenu kávy. Nejlevnější postup je suché zpracování používané u zrn s nižší jakostí, zatímco kvalitnější zrna podstupují zpracování mokrou cestou. Technologie praní zrn je aplikována především na kávu Arabica, kromě Brazílie, a Etiopie, a jiných zemí s nedostatkem vody, kde je více rozšířeno zpracování suché [5].



Obr. 2.3: Schéma technologie zpracování kávy.

2.2.1 Zpracování suchou cestou

Při suchém postupu zpracování se sklizené plody rozprostírají na rohožích, či podlahách na slunci a v pravidelných časových intervalech se prohrabávají tak, aby došlo k poklesu vlhkosti na zhruba 12 %. Tento proces trvá cca čtyři týdny až dokud vnější slupka nezmění barvu na tmavohnědou. Pokud bobule příliš vyschnou, zrna budou poškozená, nestejně velká, při nedostatečném vyschnutí jsou zase rychle napadána plísněmi. Dostatečně suchá zrna se poznají typickým zachrastěním ve své slupce, taková zrna jsou připravena k loupání (luštění) [5].

2.2.2 Zpracování mokrou cestou

Mokrý postup zpracování vyžaduje vyšší náklady a svědomitost, kávová zrna jsou ale méně poškozená a mnohem kvalitnější. Hlavním rozdílem je, že při mokrému zpracování se odstraňuje oplodí bobule. To se provádí na loupacím stroji, který oplodí odtrhne, nebo rozdrť. Aby byla zrna co nejkvalitnější a zrna se dobře loupala, musí být operace provedena co nejrychleji po sklizni, ideálně nejpozději do 12 hodin po ní [5].

Vnější slupka a dužnaté oplodí se smývá vodou, semena zůstávají v osemení. Než se dostávají zrna do další fáze zpracování, je potřeba je protřídit od nezralých, sešchlých, nebo příliš lehkých, což se provádí pomocí mycích kanálků. Větší a těžší zrna klesají ke dnu, zatímco ta lehčí jsou vodou unášena dál. Dalším stupněm mokrého zpracování je fermentace neboli kvašení, při němž enzymy naruší zbývající lepkavou vrstvu, která pokrývá pergamenovou slupku semen. Semena se nechávají fermentovat tak dlouho, dokud vrstva nepřestane být lepkavá a povrch nezdrsne (12–36 hodin). U této metody je velice důležité kontrolovat kvalitu, jelikož i jediné zrnko by mohlo zkazit celou várku kávy. Vše se tedy kontroluje a pravidelně čistí, aby nedošlo ke kontaminaci [5].

2.2.3 Sušení

Zrna zpracována mokrou cestou ještě mají pergamenový obal a stále ještě obsahují asi 50 % vlhkosti, což je třeba snížit na požadovaných 11 %. Sušení může probíhat buď na betonových sušících plochách, sušících stolech na slunci nebo v sušících strojích pomocí horkého vzduchu. V tomto stavu, kdy mají ještě pergamenovou vrstvu, ale jsou dostatečně suchá, se zrna skladují až do doby bezprostředně před exportem [5].



Obr. 2.4: Rozdíl mezi zrny zpracovanými mokrou a suchou cestou. [6]

2.2.4 Finální úprava kávy

Další fází, kterou kávová zrna projdou, je loupání či luštění, což znamená odstranění suché dužiny ze zrn nepraných a odstranění pergamenové slupky ze zrn praných. U zrn praných je tato slupka podstatně odolnější a je třeba použít různé loupací stroje – buď na principu tření a odírání, nebo nárazové stroje [5].

Aby se zcela odstranila stříbrná blanka a uhladil povrch, tak jsou po oloupaní zrna leštěna. Vrchní drsná vrstva se zjemňuje, káva se zušlechťuje a získává příjemný lesk [5].

2.2.5 Třídění a přebírání

Kávová zrna se třídí nejprve podle velikosti a posléze podle tloušťky. Všechna zrna (kromě výjimek jako jsou okrouhlá válcovitá perlová zrna a nadměrně velká zrna) mají přibližně stejnou velikost a tvar – na jedné straně zploštělá, na druhé oválná, tvarem delší než širší. Velikost kávy se určuje na stupnici od 10 do 20, některé země používají dokonce stupnici založenou na latině (například velikost AA). Na konec se zrna přebírají od závadných kusů, jako jsou zrna shnilá, svraštělá, nedozrálá, či černá. Přebírání probíhá gravimetrickými separátory, tlakem vzduchu, či ručně [5].

2.2.6 Přeprava kávy

Každý rok se vyrábí mezi 5 až 6 miliony tun zelené surové kávy, což znamená dlouhou cestu, než se káva dostane ke svému spotřebiteli. Dnes se využívá k dopravě široké spektrum různých prostředků, nejběžnější je letecká doprava, dále pak lodní, železniční, či doprava nákladními auty. Káva se přepravuje v pytlích, které pojmu

60 kg kávy. Na lodích se průměrně veze takových pytlů 250, dá se tedy říci, že odhadem se dopravou kávy do celého světa zabývá asi 2200 lodí [5].

2.2.7 Pražení

Nejdůležitějším krokem, alespoň tedy pro konzumenta, je pražení kávy. Bez toho by pití tohoto nápoje nebylo takovým požitekem. Díky vysokým teplotám dochází k chemickým reakcím, které mají výrazný vliv na senzorický profil kávy. Káva podstupuje několikero typů reakcí, jako jsou Maillardovy reakce a Streckerova degradace aminokyselin, mění se barva zrn, na povrch vystupují aromatické oleje. Zároveň se rozvolňuje celá struktura, zrnو ztrácí i zbytek vody, což je doprovázeno typickým lupnutím rýhy na zrnو. Jestliže jsou zrna pražena při nižší teplotě, nevystupují aromatické oleje na povrch a káva získává ‚rozmazanou‘ chuť. Naopak pokud je káva pražena na příliš vysokou teplotu, nebo moc dlouho, nápoj chutná slabě a spáleně [5].

Stupně pražení

Pro různé metody přípravy kávy jsou typická jinak pražená zrna a aby si konzument mohl zakoupit přesně tu kávu co požaduje, či preferuje, bylo vytvořeno několik označení pro různé stupně pražení [5]. Stupně pražení se dělí obvykle na následující:

- Světlé pražení: bledé nebo skořicové pražení
- Střední pražení: americké, snídaňové pražení
- Silné pražení: světlé francouzské, vídeňské pražení
- Dvojitě pražení: kontinentální, francouzské pražení
- Italské pražení: pražení na espresso

2.3 Chemické složení kávy

Kromě kofeinu (a jiných purinových derivátů xanthinu) obsahuje káva dalších více než 1 000 chemických látek, mezi které patří široké spektrum antioxidantů, fenolických látek, organických kyselin, aromátů, heterocyklických látek, sacharidů, bílkovin, lipidů a minerálů [8].

Co se týče nutričního hlediska, na 100 g mleté kávy spadá dle tabelovaných hodnot průměrně 15 g bílkovin, 60 g sacharidů (většina z toho jsou cukry – přibližně 45 %), 15 g tuků a to odpovídá necelým 400 kcal. Na jedno espresso lungo jsou hodnoty samozřejmě nižší, díky metodice přípravy nalezneme v nápoji pouze cca 12 kcal, 0,6 g bílkovin a 0,2 g tuku, cukr téměř žádný (pod 0,1 g na šálek espressa) [9].

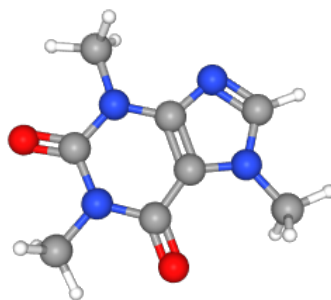


Obr. 2.5: Stupně pražení kávy. [7]

2.3.1 Kofein

Kofein (na obrázku 2.6), chemickým názvem 1,3,7-trimethylxanthin ($C_8H_{10}N_4O_2$), je pevná látka bez barvy a zápachu, která při 178 °C sublimuje. Teplota tání tohoto alkaloidu byla stanovena na 238 °C.

Kofein je v dnešní době součástí mnoha potravin, nápojů, doplňků stravy i léčiv běžně prodávaných v obchodech. Jedná se o alkaloid, přirozeně se vyskytující v čajových lístcích, zrnkové kávě, kakaových bobech a v mnoha dalších rostlinách. Pro svou charakteristicky hořkou chuť a účinky se používá jako aditivum do potravin [10].



Obr. 2.6: Chemická struktura kofeinu.

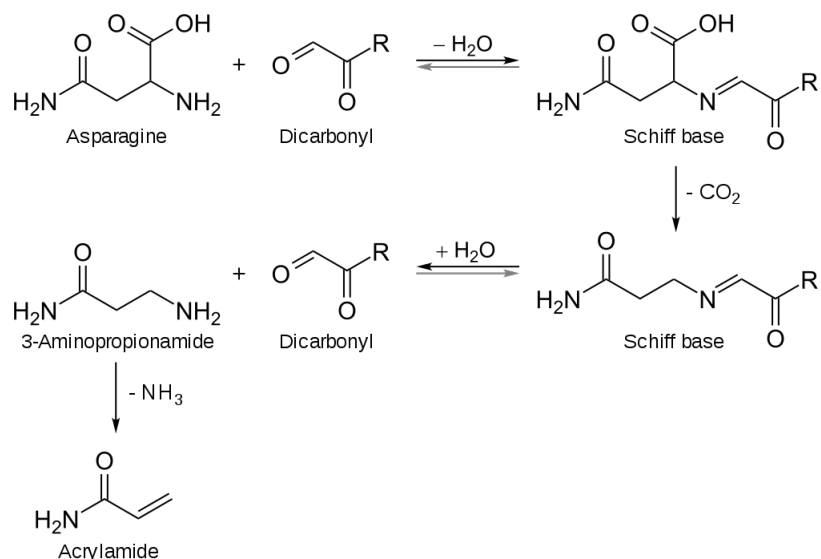
Oblíbenost užívání potravin s obsahem kofeinu vyplývá především z jeho stimulačních účinků, které se projevují poklesem únavy, zlepšením koncentrace, nálady

a zvýšením pracovní výkonnosti. Hlavní účinek kofeinu spočívá v blokádě receptorů pro přirozenou látku adenosin, pomocí které tělo řídí aktivitu tkání. Kofein působí jako antagonist adenosinu, vyvolává kontrakce cév, čímž zvyšuje krevní tlak. Navíc má schopnost ještě zpomalovat resorpci sodíku v ledvinách, což má v kombinaci těchto dvou účinků za následek zvýšenou produkci moči. Při dlouhodobém užívání kofeinu však může dojít k toleranci na tuto látku, nebo až návyku, a po vysazení až k abstinčním příznakům [10] [11].

V evropských zemích byla průměrná spotřeba kofeinu u dospělých stanovena na 3,5 mg/kg/den, což odpovídá 3–5 šálkům kávy denně. Obsah kofeinu se ale liší rozdílnou přípravou nápoje. Pokud vezmeme v úvahu konzumaci správně připraveného espressa, v jednom šálku nalezneme 30–50 mg kofeinu [8].

2.3.2 Akrylamid

Akrylamid je toxická látka vyskytující se v potravinách bohaté na karbohydráty. Díky svým neurotoxickým a potenciálně karcinogenním účinkům představuje zdravotní riziko pro lidský organismus. Vzniká během pražení kávy jakožto produkt Maillardových reakcí, kde dochází za zvýšené teploty k reakci mezi aminokyselinami a redukujícími cukry. Zde se jedná přesněji tedy o produkt reakce mezi asparaginem a redukujícími cukry. Akrylamid se začíná formovat hned v první fázi pražení a se zvyšující teplotou, dobou pražení a snižujícím se množstvím asparaginu se snižuje i množství akrylamidu. Káva Robusta obsahuje oproti Arabice větší množství akrylamidu, a to pravděpodobně z důvodu většího obsahu asparaginu [12].



Obr. 2.7: Vznik akrylamidu během Maillardovy reakce [13].

2.3.3 Fenolické látky

Fenolické látky představují širokou skupinu sloučenin s více než osmi tisíci různými deriváty. Jsou to sekundární metabolity rostlin hojně se vyskytující v ovoci, zelenině, obilovinách, luštěninách, ale i v nápojích jako je káva, čaj a víno. Dělíme je na čtyři skupiny (fenolické kyseliny, flavonoidy, stilbeny a lignany) v závislosti na počtu aromatických kruhů a způsobu vazeb mezi jednotlivými cykly [14] [15].

Polyfenoly disponují vysokým antioxidačním potenciálem, díky čemuž tvoří nejvýznamnější skupinu antioxidantů. Ty jsou pro náš lidský organismus podstatné hlavně z hlediska jejich příznivého vlivu na volné radikály. Jejich hlavním úkolem je chránit buněčné membrány, genetickou informaci a tím i preventivně působit jako ochrana před vznikem mutací způsobující rakovinu. V rostlinách mají dále vliv na ochranu proti infekcím, UV záření, patogeny a z hlediska sensoriky také na chuť a barvu. Mezi hlavní antioxidanty patří vitamíny (E, C), karotenoidy, minerální látky a právě fenolické látky [15].

V kávě jsou pro nás nejvíce podstatné právě fenolické kyseliny. Ty můžeme dále dělit podle chemické struktury na deriváty kyseliny benzoové (kyselina ellagová, gallová, hydrolyzované taniny) a deriváty kyseliny skořicové (kyselina kávová, chlorogenová, fumarová, ...). Fenolické kyseliny se v potravinách mohou vyskytovat ve formě barviv, čímž se taktéž podílejí na jejich sensorickém profilu. Celkový denní příjem fenolických látek je odhadnut na 1–2 g, konzumace kávy tedy tvoří průměrně až 64 % celkového příjmu antioxidantů v naší stravě [14] [15].

2.3.4 Prvkové zastoupení

V jednom šálku kávy naleznete široké spektrum látek. Kromě složitých organických struktur se v kávě hojně vyskytují i základní minerální látky, které mají svým množstvím vliv na nutriční hodnotu kávy. Zastoupení jednotlivých elementů se liší v závislosti na odrůdě kávy a zemi, ze které káva pochází, takže je možno pomocí prvkové analýzy určit původ kávových zrn. V kávě nás zajímají především prvky důležité pro náš metabolismus, což je například vápník, fosfor, draslík, hořčík, mangan, železo, zinek, nebo měď [16].

Vápník a fosfor jsou základem pro stavbu pevných a zdravých kostí. Nejbohatším zdrojem vápníku v potravinách je mléko a mléčné výrobky, vysokým obsahem vápníku se ale mohou pochlubit i další potraviny, jako jsou rostlinná semena (mák, lněná semínka, ...), ryby, luštěniny, zelenina, tofu [17] [18].

Draslík zastává v organismu funkci korekce krevního tlaku, jedná se o důležitý minerál při svalovém stahu, zapřičiňuje správný chod centrální nervové soustavy a slouží také jako lék na alergie. Pro správnou funkci svalů je zapotřebí také sodík, ten je hojně zastoupen v ovoci, zelenině, ale třeba také v soli [18].

Pro správnou funkci metabolických drah je třeba udržovat potřebnou hladinu hořčíku. Působí preventivně proti křečovým žilám, přispívá ke zdravému chrupu, pomáhá zachovat správnou hladinu cholesterolu, působí preventivně proti ledvinovým a žlučnickovým kamenům, dokonce i proti infarktu. Je to tedy mnoha účelový prvek, obsažen v nejedné domácnosti (většinou spolu se zinkem na zdravé vlasy, nehty) [9].

Železo je pro nás podstatné hlavně z důvodu tvorby nových červených krvinek, ve kterých je navázán kationt kovu železa v tetrapyrrolovém jádře (hemu). Železo je potřeba dodávat v potravě, lidský organismus není schopen si jej syntetizovat sám. Významné množství železa nalezneme v hovězím mase, játrech, obilovinách, luštěninách a zelenině (špenátu například) [18].

Kromě původu kávových zrn se dá také sledovat rozdílné množství minerálních látek dle typu přípravy kávy. Oproti mikrovlnnému rozkladu zrn se v espressu nachází všechny elementy v menším množství, u hořčíku a manganu jsou tyto hodnoty dokonce až dvojnásobně menší. Výjimku ale tvoří vápník a zinek, kterého můžete v šálku espressa nalézt dokonce i o trochu více, a to z důvodu použití minerální vody na přípravu kávy. Oproti jiným baristickým metodám se espresso poměrně liší, největší rozdíly v obsahu mikroprvků má káva připravena přes aeropress, u makroprvků jsou pak znatelnější rozdíly hodnot u kávy filtrované a kávy připravené přes french press [19].

2.3.5 Organické kyseliny

Kyselost kávy je dána různým poměrem jednotlivých kyselin obsažených v kávě a stupněm pražení kávy. Kyselost je jedna ze základních vlastností kávy a její intenzita je při hodnocení kávy velmi důležitá. Nejvýznamnější a nejvíce zastoupené kyseliny v kávě jsou fenolické kyseliny (viz polyfenoly). Tyto kyseliny se převážně nacházejí v rostlinách ve formě esterů. Chlorogenové kyseliny jsou v sušině zelené kávy obsaženy z 5,5–8 % v Arabice, a z 9–10 % v Robustě [20].

Mezi převládající těkavé organické kyseliny patří mravenčí a octová, z netěkavých pak kyselina mléčná a vinná. Ve stopovém množství je zastoupena i kyselina jablečná a jantarová. Obsah těchto kyselin se ale liší, a to nejen s typem původu kávy, ale i s typem přípravy kávy [20].

Druhou nejvíce zastoupenou kyselinou v kávě je kyselina citronová. V zelené kávě se nachází v rozmezí 1,2 % v arabice a 0,9 % v robustě. Během pražení je její množství sníženo na polovinu a vznikají degradační produkty, tudíž dle jejího obsahu můžeme posoudit stupeň pražení kávy. Nadměrné množství kyseliny citronové naopak snižuje kvalitu kávy a její chuť [20] [21].

Kyselina citrónová je trikarboxylová kyselina, jež se přirozeně nachází v citrusových plodech. V potravinářství se kyselina citrónová používá jako konzervační látka nebo také jako dochucovací látka u nápojů (označována také jako E 330). Soli kovů se používají jako zdroj minerálů při dietách, či onemocnění [22].

Dikarboxylová kyselina jablečná je přítomna v ovoci, konkrétněji v jablkách a v nezralých plodech (se zralostí koncentrace klesá). Je přidávána do potravin s označením E 296, kde je spojována zejména s trpkou a kyselou chutí [23].

Kyselina jantarová je dalším představitelem dikarboxylových kyselin v kávě. Také se vyskytuje v ovoci, víně, cukrové řepě a vzniká v Krebsově cyklu ze sukcinyl-CoA pomocí enzymu sukcinyl-CoA-syntetázy. Ve víně je obsažena jako vedlejší produkt metabolismu kvasinek během alkoholové fermentace [24].

Kyselina mléčná je jednoduchá karboxylová kyselina obsažena v mléce, sýrech a kyselém zelí, a to hlavně jakožto koncový produkt mléčného kvašení. Díky svým antiseptickým vlastnostem se využívá v mase, v ústních vodách a jako prostředek k ošetření vlasů. Setkáváme se s ní také v lidském těle při silové zátěži, kdy jsou energetické nároky příliš vysoké, laktát se tvoří rychleji, než se stíhá odbourávat a jeho koncentrace ve svalech tak stoupá. Při dostatečném množství kyslíku se odbourává oxidací na pyruvát, který pokračuje do Krebsova cyklu [25].

Kyselina octová je další z řady jednoduchých karboxylových kyselin s typickým zápachem. Její vodný roztok o koncentraci 8 % se nazývá ocet. Je jednou z nejvýznamnějších průmyslových organických kyselin, a to hlavně jako surovina pro výrobu čistých organických sloučenin (například výroba vinylacetátu na tvorbu polyvinylacetátu). Dále se využívá jako významné rozpouštědlo a čistič [26].

Kyselina mravenčí je nejjednodušší karboxylová kyselina. Na vzduchu má dýmové vlastnosti, je ostře páchnoucí s leptavými účinky. Těchto účinků se využívá například při leptání bradavic, odvápnění kůže v koželužství, či jako čisticí prostředek. V přírodě se vyskytuje například v jedu včel a v kopřivách [27].

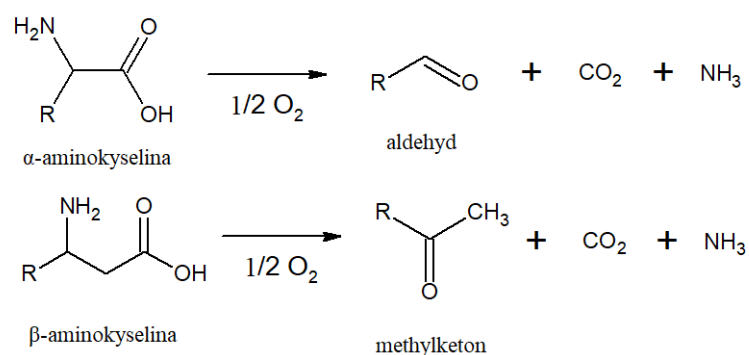
2.3.6 Aromatický profil kávy

Káva obsahuje velké množství nutričních látek, ale pro běžné konzumenty je podstatnější spíše sensorický profil. Hlavním atributem kávy je, jak nám káva voní a chutná, tedy slaná, sladká, kyselá a hořká chuť. Dokonce i káva instantní obsahuje složky zodpovědné za stimulaci našich chuťových pohárků, velkým rozdílem je ale to, že postrádá většinu aromatických těkavých sloučenin, což způsobuje dramatický pokles v chuti kávy [28] [29].

Kávové aroma vnímáme dvěma různými mechanismy. Prvním z nich je vnímání nazálně, tedy transport aroma přímo přes nosní sliznici. Druhá metodika se zaměřuje

na vnímání retronazální, tedy u kávy, která je již v ústech, nebo byla právě spolknuta, se sleduje aroma těkavých sloučenin vznášející se nahoru do nosního průchodu [29].

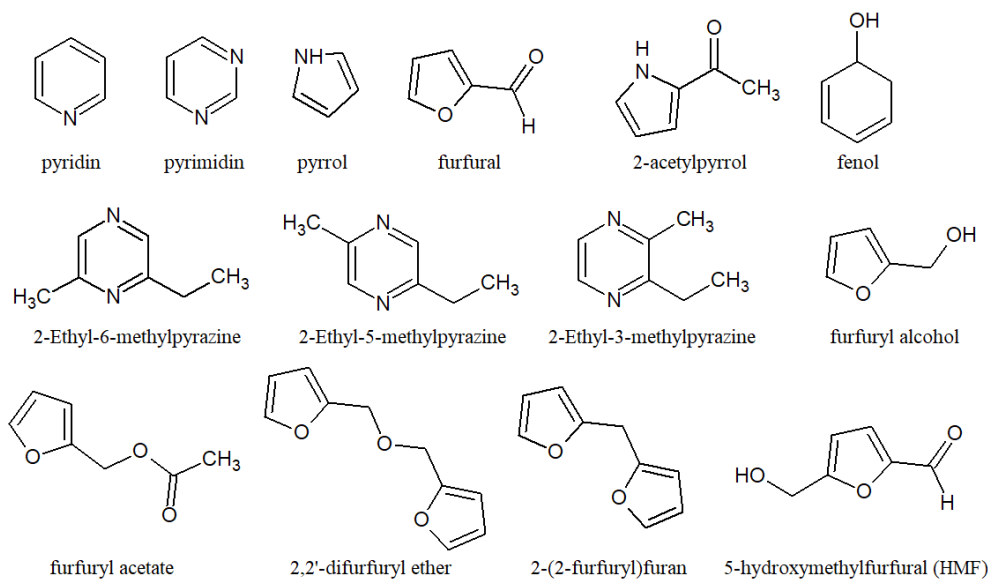
Většina těchto látek vzniká během pražení, a to z polysacharidů, které se podílejí na Maillardových reakcích. Produkty Maillardových reakcí (princip viz. obr. 2.7) způsobují typické zabarvení kávového zrna po upražení. Další z významných reakcí je pak Streckerova degradace aminokyselin, zejména degradace aminokyselin síry, hydroxyaminokyselin a prolinu, degradace cukrů, fenolových kyselin a interakce mezi jednotlivými produkty [29].



Obr. 2.8: Streckerova degradace aminokyselin

Do dlouhého seznamu chemických sloučenin, kterým vděčíme za typické aroma kávy, řadíme alifatické sloučeniny (včetně karbonylových), alicyklické sloučeniny, ketony, aromatické sloučeniny s benzenovým jádrem, fenolické látky, velkou řadu heterocyklů, furany, hydroxyfurany, pyrroly, diaziny, různorodé deriváty pyrazinů, indolů, thiofenů, thiazolů a oxazolů [29].

Mezi nejčastěji vyskytující se látky se řadí furany, které díky tomu, že jsou produktem pyrolýzy cukru, odpovídají karamelovému aroma kávy. Nejvýznamnějším zástupcem je furfuryl alkohol, a to právě se svou praženou sladkou karamelovou chutí. Deriváty pyrazinů se mohou pochlubit zemitou příchutí, některé navíc ještě chutí pražených ořechů, typičtější jsou ale spíše u kávy Robusta. Na aromatickém profilu se podílí také pyridin a pyrimidin, těmto derivátům diazinu náleží senná travnatá příchut s oříškovým nádechem. Deriváty furfuralu dodávají kávě zase chuť pražených mandlí, fenolické látky typickou hořkou chuť [30] [31].



Obr. 2.9: Vybrané aromatické struktury nacházející se v kávě.

V malém množství se nachází v kávě také hydroxymethylfurfural, který se v potravinářství používá jako aditivum, či jako součást potravinářských barviv. V kávě vzniká během pražení jakožto produkt Maillardových reakcí, dále jej můžete nalézt v pečivu, tepelně zpracovaném mléce, nebo dokonce i v medu [30].

2.4 Přehled baristických metod

Příprava kávy v dnešní době už není jen o zalití hrnku vodou a rychlé konzumaci, sloužící jako hlavní zdroj ranního probuzení. Dnes je káva považována za umění, či dokonce za sport. Pravidelné klání v kávovém umu už dnes nemůže překvapit žádného baristu a Česká republika má nejednoho velmi schopného kávového znalce a baristu. Spoustu z nich naleznete i jako zaměstnance v místních kavárnách, a tak se čím dál více rozšiřuje povědomí o kvalitní kávě. V běžné kavárně v téměř každém městě vás tak už nemůže překvapit nadstandardní nabídka různých příprav kávy. Kromě klasického espressa, či cappuccina můžete ochutnat také kávu filtrovanou, kávu z moka konviček, velmi populární metodu french pressu, ale i novější metodu přípravy přes Vacuum pot, či Flip-drip, zvaná také Neapolitanská káva.

2.4.1 Turecká káva

Tato metoda je nejstarší ze všech možných příprav kávy a stále ještě široce využívána v oblasti severní Evropy, přesněji ve Skandinávské oblasti, a to právě díky jednodu-

ché přípravě a nízké ceně. Principem je jednoduše zalít kávu vařící vodou a ponechat extrahovat. Kávová zrna se neodstraňují, během konzumace zůstávají stále na dně nápoje, chuť je tedy velmi hořká a intenzivní.[32].

2.4.2 Espresso

Termínem espresso je myšlen šálek o přesně jedné porci, tedy 7 g kávy v malém objemu, v sytém hnědém odstínu s jemnou krémovou stále držící pěnou na povrchu, připraven pomocí vřelé vody přetlačené přes středně hrubě namletá zrna o tlaku 9 barů. Pokud jsou zrna dobře namleta, 30 ml nápoje by nemělo zabrat více než 30 s. Takový nápoj by měl mít koncentrovanou dlouhotrvající chuť a intenzivní aroma [32].

Díky rychlé přípravě je to jedna z nejrozšířenějších kávových metodik v kavárenském průmyslu. Velmi oblíbené jsou také verze espressa s upraveným množstvím vody (ristretto, lungo, ...), či s našlehaným mlékem (cappuccino, latté, ...).



Obr. 2.10: Kávovar na přípravu espressa.

2.4.3 Moka

Jednoduchá Moka je proslulá hliníková, či nerezová konvička rozšířená po většině italských domácností, v dnešní době již k dostání v téměř každém kávovém obchodě i v naší zemi. Skládá se ze tří částí – kulatá, nebo osmiúhelníková podstava, jež slouží jako zásobník vody, kovový filtr na kávu a vrchní část sloužící na samotnou přípravu a výsledný nápoj. Principem této metody je uvést vodu ve spodní části k varu, vytvořit dostatečný tlak vodní parou tak, aby se vařící voda dostala až do sítka s namletými kávovými zrnky. Stále se zvyšující tlak pak dostává již hotový nápoj přes tenkou kapiláru až do vrchní části konvičky [32].

Nápoj připravený přes Moka konvičku získává na popularitě právě díky velmi intenzivní chuti a silnému aroma, díky vyššímu tlaku a vyšší teplotě vody se tak jedná o nejintenzivnější metodu přípravy kávy v rámci sensorického profilu nápoje.



Obr. 2.11: Moka konvička na přípravu kávy.

2.4.4 Flip-drip (Neapolská káva)

Jak již napovídá název, tato Neapolská káva má tradici již od 17. století, a to právě v Neapoli jako tamní tradiční způsob přípravy kávy. Více používaný je ale název Flip-drip, tedy v překladu ‚Otoč-odkap‘. Celý nástroj se skládá ze tří hlavních částí – dvě

cylindrické konvice jsou postaveny proti sobě (vrchní dnem vzhůru), jedna slouží na hotový nápoj, druhá na vodu a mezi nimi je vloženo sítko na středně hrubě namletou kávu [32].

Hlavní charakteristika této metody je to, že spodní konvice je naplněna vodou, je přivedena k varu a jakmile začnou zkondenzované vodní páry kapat z kontrolního otvoru ven, konvice je otočena dnem vzhůru a vlivem gravitace vroucí voda vyextrahuje z kávových zrn výsledný nápoj do druhé části přístroje. Káva připravena tímto způsobem je sice slabší, než připravena z Moka konvice, nicméně má i přesto poměrně intenzivní aroma a dokáže do nápoje dostat onu pro kávu typickou hořkost [32].



Obr. 2.12: Neapolský kávovar.

2.4.5 Filtrovaná káva

Káva filtrovaná, nebo také nazývaná překapávaná, je jedna z nejrozšířenějších metod po celém světě. Filtrovanou kávu si dnes můžete připravit hned přes několik komerčně dostupných přístrojů pod názvy jako jsou například Clever Dripper, V60, Dripper, Chemex, a to přes filtrační papíry, nebo plátěná sítká. Káva je připravena velmi jednoduše pomocí filtrace působením pouze gravitační síly. Principem této

metody je pomalou filtrací získat kávu s lehkým aromatem a tělem, jelikož nedochází k úplné extrakci všech aromatických látek. Pokud je káva dobře připravena, nápoj má čistou barvu [32].

Pro tento experiment byl vybrán mechanismus Clever Dripper v kombinaci s papírovými kávovými filtry, který má funkci zadržení nápoje na tak dlouhou dobu, jakou si konzument zvolí – káva je přefiltrována až v ten moment, kdy je Dripper postaven na hrneček a tím je spuštěn vnitřní pojistný ventil. Tato metoda umožňuje tedy konzumentovi libovolnou dobu extrakce a tím i zvýšení intenzity získaného nápoje [32].



Obr. 2.13: Mechanismus clever dripper.

2.4.6 French press

Již od roku 1852 byl ve světě znám systém filtru s pístem na tlačení známý právě pod jménem French Press, nebo také Plunger Pot. Tato konvička používaná častokrát nejen na kávu, ale i na čaje, dostala svého obdivu právě díky své eleganci, praktičnosti a jednoduchému použití. Skládá se ze tří částí: skleněné tělo sloužící na samotnou extrakci, víko s nalévací hubicí a otvorem pro píst a samotný píst s kovovým sítkem (většinou opatřené ještě pružinkou). Principiálně se tedy jedná o filtrovanou kávu,

ale zrnka kávy jsou od extraktu oddělena manuálně pomocí mechanického stlačení pístu [32].

Pokud připravujeme kávu filtrováním přes filtrační papír, zachytí se v něm kávové oleje a káva tak ztrácí chuťovou kvalitu. V moka konvičce zase díky varu dojde k jemnému spaření, které opět může negativně ovlivnit chuť. French press žádnou z těchto negativních vlastností nemá – káva se luhuje na volno a vytváří plnou a krémovou chuť. Nálev není úplně očištěn od jemné kávové sedimenty, nicméně díky mechanickému zfiltrování se do kávy dostává více látek a káva má intenzivnější chuť než právě při přípravě kávy filtrované [32].



Obr. 2.14: French press na přípravu kávy.

2.4.7 Vacuum pot (Vacuum)

Systém Vacuum pot, nebo jen Vacuum je relativně novodobý způsob přípravy kávy. Jedná se o poměrně komplikovanější způsob, tato metoda funguje na podobném principu jako moka, voda se ale přetlačuje přes sítko za nižšího tlaku (než je tomu u Moka) a po určitou dobu zůstává v horní části společně s kávou. Až po uplynuté době extrakce je přefiltrována zpět, takže dochází k vyextrahování sensoricky aktivních látek. Navíc plátěné sítko zadrží všechny částice včetně jemného sedimentu,

takže nezakalený nálev získává příjemný a tmavě hnědý sytý odstín [32].

Káva připravena tímto způsobem má výrazné ovocné tóny, je jemnější, ale v chuti bohatší, než je tomu u kávy filtrované a připravené přes french press. Velmi snadno se také upravují poměry kávy a vody a dá se velice jednoduše připravit v té stejné konvici káva o mnohonásobně intenzivnější chuti.



Obr. 2.15: Vacuum pot na přípravu kávy.

2.5 Přehled instrumentálních metod pro analýzu kávy

2.5.1 Kapalinová chromatografie

Chromatografie je analytická fyzikálně-chemická separační metoda. Využívá distribuce látek mezi mobilní (pohyblivou) a stacionární (nepohyblivou) fází. Chromatografie se dělí dle několika hledisek: podle povahy mobilní fáze (plynová, kapalinová), způsobu provedení (kolonová, plošná), principu separace (rozdělovací, adsorpční, iontově výměnná, gelová) [33].

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) se využívá k separaci různých druhů látek. Separace probíhá v separační koloně, která obsahuje stacionární fázi (sorbent) a mobilní fázi (eluent). Vzorek je nesen mobilní fází kolonou a jednotlivé složky vzorku se separují podle své afinity ke stacionární a mobilní fázi. Doba, kterou separovaný vzorek setrvává v koloně, závisí na velikosti interakcí a určuje pořadí, v němž se složky vzorku eluují. Čím větší je interakce se stacionární fází, tím větší má složka retenční čas a tím později je eluována z kolony. Analyty eluovány z kolony jsou detekovány a výsledkem chromatografické separace je eluční křivka, tzv: pík. Eluční křivka vyjadřuje závislost odezvy detektoru na čase nebo objemu vyluované mobilní fáze. Eluční čas či objem daného analytu se pak porovnává s elučním časem a objemem standardu měřených za stejných podmínek [33].

2.5.2 Iontová chromatografie

Iontová chromatografie je separační metoda, při které dochází k interakcím analytu iontové povahy s povrchem stacionární fáze, který nese oproti analytu opačný náboj. Je to tedy metoda vhodná k rychlému stanovení aniontů, nebo kationtů ve směsi. Dělíme ji na aniontovou a kationtovou. Mobilní fází bývá nejčastěji voda, pro kationtovou IC se používají jako mobilní fáze silné minerální kyseliny. Ideálním spojením s IC bývá vodivostní detektor, nebo další alternativou může být ještě hmotnostní detektor (např. IC-ICP/MS) [33].

2.5.3 Plynová chromatografie

Plynová chromatografie je typ separační metody, kde se oddělují vzorky na základě rozdílné afinity ke stacionární fázi. Oproti kapalinové chromatografii je hlavní rozdíl v mobilní fázi, která je u GC ve formě plynu. Je vhodná pro vzorky, které mohou být převedeny do plynné fáze, aniž by došlo k jejich rozkladu. Vzorky jsou unášeny plynem přes kolonu se stacionární fází, kde dochází k interakci. Detekovány jsou látky již v separovaném stavu, dle intenzity signálu určíme kvantitativní zastoupení složek [33].

V tandemové technice GC-MS se využívá dvou hlavních stavebních bloků – plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie. V této kombinaci je MS použit jako detektor. Hmotnostní spektrometr funguje na principu zionizování chemických sloučenin, které na základě poměru náboje a hmotnosti odděluje v analyzátoru elektromagnetického pole. Jednotlivé ionty jsou pak detekovány a zpracovány. Kromě kvantitativní funkce zjištění množství vzorku ve směsi má MS i funkci kvalitativní, a to identifikaci neznámých látek, určování izotopového složení prvků v molekule a stanovení struktury sloučeniny. Z GC vychází vzorek již v separovaném stavu, takže systém MS zachytává, ionizuje, urychluje a detekuje sloučeniny zvlášť. Díky

zkombinování těchto dvou technik stačí pouze malé množství vzorku na analýzu, a i přesto jsou výsledky velmi přesné [33].

2.5.4 Optická emisní spektrometrie v indukčně vázaném plazmatu

Optická emisní spektrometrie (OES) je metoda založená na uvedení molekul vzorku v kapalném stavu do aerosolu, ten se pomocí indukčně vázané plazmy (ICP) o teplotách 6 000 – 10 000 K odpaří, dochází k atomizaci a excitaci valenčních elektronů přítomných atomů do vyšších energetických hladin. Protože excitovaný stav atomu je nestabilní, vrací se vybuzené elektrony zpět na své původní energetické hladiny a přitom emitují záření o přesně definované vlnové délce, určené energetickým rozdílem obou hladin.

Emitované záření je poté vedeno na monochromátor, který selektuje zachycené světelné záření podle jeho vlnových délek, takto selektované fotony dopadají na fotocitlivý detektor a ten je dle intenzity záření převede na elektrický signál. Intenzita signálu odpovídající charakteristické vlnové délce pak odpovídá množství prvku přítomného v analyzovaném roztoku [34].

2.5.5 Stanovení celkových fenolických látek

Tato metoda měření polyfenolických látek (PF) pomocí Folin-Ciocalteuova reagentu (FC) je známa už od 50. let 20. století. Většina polyfenolických látek se vyjadřuje jako ekvivalent kyseliny gallové, která je zde využívána jako standard. Principem je oxidačně-redukční reakce, při níž v alkalickém prostředí oxidují fenolové sloučeniny a současně se redukuje fosfowolframovo-fosfomolybdenový komplex za vzniku modrého zbarvení. Intenzita modrého zbarvení je měřena spektrofotometricky [37].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Charakteristika vybrané kávy

Pro sérii těchto experimentů byla vybrána káva Premium od firmy Caffé Mauro. Caffé Mauro je jedna z historických značek kávy na italském trhu. V roce 1949 ji v Kalábrii založil Demetria Mauro. V roce 1997 společnost Caffé Mauro vybuďovala jednu z nejmodernějších a technicky nejvyspělejších továren v Evropě, takže zde vyprodukuje až 3000 kg kávy denně. Se značkou Caffé Mauro je možno se potkat v mnoha zemích Evropské unie a také v USA, Rusku, a dokonce i v Austrálii.

Tato káva je směsí Arabicy a Robusty, a to v poměru 50:50. Oblíbené Arabiky z Brazílie a Střední Ameriky jsou doplněny asijskými Robustami z Indických plan-táží. Káva se vyznačuje příjemnou vyváženou chutí jižní Itálie a hustou cremou.

Káva je pražena na stupeň medium (dle stupnice 2.5 odstín 13/14 - 'light/dark french'), vyznačuje se silným a bohatým tělem, a deklarovanou hodnotou kofeinu 1,5 %. Káva by neměla být příliš výrazná, jemné květinové a ovocné tóny doplňuje příjemný nádech čokolády a koření. Pro vybrané metodiky byla káva namleta na střední stupeň hrubosti.



Ob. 3.1: Informace o kávě.



Obr. 3.2: Zrna a namletý vzorek vybrané kávy.

3.2 Příprava vzorků kávy pomocí vybraných metod

Každá z těchto metod má svůj baristický způsob přípravy, dle kterého by měla být káva připravována ve všech vybraných kavárnách na světě. Pro veškerý soubor vzorků na tato měření byly použity postupy ze stejné baristické příručky [32].

3.2.1 Turecká káva

Na přípravu vařené tzv. turecké kávy byla použita pouze varná konvice a hrneček na samotný nápoj. Do nádoby bylo vsypáno 8 g kávy, zalito 200 ml vroucí vody a ponecháno k extrakci po dobu deseti minut. Po uplynutí dané doby byla extrakce ukončena přefiltrováním vzorku do zkumavek. Takto byly připraveny tři vzorky kávy.

3.2.2 Espresso

K přípravě espresa je potřeba mít k dispozici kávovar s pákou, či zautomatizovaný přístroj schopný tlaku 9 barů. Do páky bylo naplněno 7 g kávy, zarovnáno, upěchováno a vloženo do přístroje. Po zapnutí přístroje byl jímán nápoj po dobu cca 20–30 s, což odpovídalo objemu 30 ml. Voda tlačena přes pákový mechanismus by neměla mít více než 92 °C. Takto byly připraveny tři vzorky.

3.2.3 Moka

Pro přípravu kávy z Moka konvičky bylo do spodní části konvičky nalito 50 ml vody, zásobník byl naplněn a zarovnan 7 g kávy, vše bylo dostatečně utěsněno a vloženo na vařič, kde byla spodní část konvičky zahřívána až na bod varu. Kontakt mezi kávou a vodou by neměl být delší, než 2 minuty, nicméně velmi záleží na použitém typu vařiče (ideální je plynový sporák a zahřívát konvičku přímo na ohni). Perkolace je ukončena po přetečení veškeré vody přes kapiláru. Takto byly připraveny tři vzorky.

3.2.4 Flip-drip

Na přípravu nápoje metodou Flip-drip bylo do spodní konvice nalito 50 ml vody, do této části bylo vloženo kovové sítko, zásobník byl naplněn a zarovnan 6 g kávy a ponechán na vařiči po dosažení bodu varu. Jakmile z pojistného otvoru začala kapat voda byla konvice otočena dnem vzhůru a vlivem gravitace překapala voda z vrchní konvice do spodní přes sítko s kávou. Extrakce je ukončena, jakmile překape veškerá voda z vrchní konvice (celá příprava by neměla zabrat více, než 4 minuty). Touto metodou byly připraveny tři vzorky.

3.2.5 Filtrovaná káva

Pro přípravu filtrované kávy byl využit mechanismus nesoucí název Clever Dripper (obrázek 2.13) a kávový filtrační papír velikosti 4. Do filtru bylo nasypáno 7 g kávy a ta byla zalita 125 ml vroucí vody. Po uplynutí 4 minut byla káva zfiltrována spuštěním pojistného mechanismu. Takto byly připraveny tři vzorky.

3.2.6 French press

Na přípravu vzorků pomocí tohoto přístroje bylo do skleněné nádoby french pressu nasypáno 7 g kávy a ta byla zalita vroucí vodou o objemu 125 ml. Po uplynutí 4 minut byl stlačen píst na víku konvičky, a to až na dno konvice, kde došlo odfiltrování kávy od extraktu. Káva byla z konvice slita do zkumavek na vzorky. Takto byly připraveny tři vzorky.

3.2.7 Vacuum

Nejprve byla do spodní části (baňky s kulatým dnem) nalita voda o objemu 180 ml, poté bylo nasazeno těsnění a vložena větší skleněná nádoba s plátěno-kovovým sítkem na dně. Na sítko bylo nasypáno 7 g kávy, nádoba byla utěsněna a pod baňku byl umístěn kahan. Jakmile byla v baňce veškerá voda ohřáta, vlivem tlaku byla vytlačena do vrchní části konvice, kde byla smíšena s kávou. Za stálého míchání byl

udržován ohřev po dobu 2 minut od počátku extrakce. Po uplynutí extrakční doby byl ohřev přerušen a vlivem snížení tlaku byla káva z vrchní části přefiltrována zpět do spodní části konvičky. Touto metodou byly připraveny tři vzorky.

3.2.8 Přehled přípravy vzorků:

Tato baristická příprava vzorků (1. – 21.) byla následně ještě upravena a to tak, aby se daly připravené nápoje mezi sebou srovnat a porovnat tak mezi sebou čistě jen jednotlivé metody a jejich vliv na chemické složení. Pro následující vzorky (22. – 42.) byly tedy upraveny poměry, a to mezi objemem vody a množstvím kávy tak, jak to jen zvolený přístroj dovolil. Postup přípravy těchto vzorků byl stejný jako v případě přípravy dle baristických metod.

Tab. 3.1: Baristicky připravené kávy

Index vzorku	způsob	m [g]	V [ml]	t [min]	poměr m/V
1	espresso	7	30	-	0,23
2	moka	7	50	-	0,14
3	flip-drip	6	50	-	0,12
4	filter	7	125	4 – 6	0,06
5	french press	7	125	4	0,06
6	vacuum	7	180	8	0,04
7	turek	8	200	10	0,04

Tab. 3.2: Změna poměru káva/voda

Index vzorku	způsob	m [g]	V [ml]	t [min]	poměr m/V
8	espresso	7	30	-	0,23
9	moka	12	50	-	0,24
10	flip-drip	12	50	-	0,24
11	filter	12	50	4 – 6	0,24
12	french press	12	50	4	0,24
13	vacuum	21	50	5	0,23
14	turek	15	65	10	0,23

3.3 Stanovení kofeinu pomocí HPLC

3.3.1 Použité chemikálie

- Standard kofeinu (99%), (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)
- Acetonitril (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)
- Acetonitril (VWR, Pensylvánie, USA)
- Ethanol
- Deionizovaná voda

3.3.2 Použité laboratorní vybavení

- Kapalinový chromatograf 1260 Infinity (Agilent Technologies, USA)
- Detektor diodové pole 1260 Infinity DAD (Agilent Technologies, USA)
- Kolona Kinetex EVO C18 (150x4,6 mm; 2,6 μm) (Phenomenex, USA)
- Kolona Kinetex XB-C18 (150 x 4,6 mm; 2,6 μm) (Phenomenex, USA)
- Analytické váhy (Sartorius, Hamburg, Německo)
- Automatické pipety (ThermoFisher Scientific)
- Stříkačky a stříkačkové membránové filtry (pórovitost 0,45 μm)
- Laboratorní sklo
- Skleněné vialky se zátkami
- Špachtle a lodička

3.3.3 Podmínky metody

- název přístroje: Agilent 1260 Infinity
- kolona: Kinetex EVO C18 (150x4,6 mm; 2,6 μm)
- mobilní fáze: $H_2O:ACN$ (90:10)
- průtok: 0,6 ml/min
- objem nástřiku: 5 μl
- teplota kolony: 30 °C
- detektor: DAD ($\lambda = 220, 260, 270, 280 \text{ nm}$)

3.3.4 Pracovní postup

Pro stanovení těch správných podmínek a získání vzorků o příslušné koncentraci do kalibrační křivky bylo potřeba nachystat roztoky standardů o příslušných koncentracích. Byl připraven zásobní roztok standardu kofeinu o koncentraci 1 g/l, ze kterého byly postupným ředěním připraveny kalibrační roztoky o koncentracích 1; 10; 50 a 100 mg/l ke zjištění míry odezvy pro vlnové délky $\lambda = 260, 270, 280 \text{ nm}$. Na základě

těchto dat závislosti plochy píku na koncentraci byly sestrojeny tři kalibrační křivky a vybrána ideální vlnová délka, při které byl kofein absorbován nejlépe.

Pro změření akrylamidu byl dle stejného postupu přichystán zásobní roztok a kalibrační křivky o stejné koncentraci, množství akrylamidu ve vzorku bylo detekováno při vlnové délce 220 nm.

Retenční čas kofeinu se pohyboval okolo 7,31 min a jelikož při měření reálného vzorku došlo k eluci i jiných látek jako například fenolických kyselin, z důvodu časové náročnosti (eluce trvala přes 45 min) bylo zapotřebí nastavit gradientní eluci (tabulka 3.3). Na základě dostupné literatury a ideálního retenčního času byla po sérii měření zvolena mobilní fáze o složení H_2O : ACN (90:10).

Tab. 3.3: Zvolený gradient pro metodu měření kofeinu.

t (min)	H ₂ O (%)	ACN (%)
0	90	10
9	90	10
11	60	40
25	60	40
27	90	10

3.3.5 Validace metody

Validace je proces, při kterém je hodnocena vhodnost použití dané metody, tedy že metoda bude trvale poskytovat stejné výsledky dané specifikaci. Do validačních parametrů se potom řadí linearita, LOD, LOQ, robustnost, přesnost a správnost [35].

Linearita kalibrační křivky

Byla vytvořena řada kalibračních roztoků o koncentraci 1; 10; 50 a 100 mg/l, které byly proměřeny při všech vlnových délkách.

LOD/LOQ

Na stanovení meze detekce a meze kvantifikace byl použit roztok standardu o koncentraci $c = 1$ mg/l, který byl měřen při všech vlnových délkách. Stanovení bylo provedeno v deseti měřeních.

Výtěžnost (Recovery)

Recovery, neboli výtěžnost, je metoda na zjištění návratnosti materiálu, který byl přidán do původní matrice neboli blanku. Provádí se pomocí reálného vzorku a spiku. Pro naši metodu byl použit standard o koncentraci 100 mg/l. Měření bylo provedeno ve všech vlnových délkách.

Robustnost

Principem robustnosti je porovnat některé parametry metody s hodnotami obměněnými daných parametrů. Ty jsou mezi sebou vhodně kombinovány v tabulce 3.5, a výsledné data jsou podrobeny sérii výpočtů, na základě kterých se určí, zda je daný parametr robustní.

Robustnost metody byla vyhodnocována pro koncentraci standardního roztoku 25 mg/l. V tabulce 3.4 jsou uvedeny původní parametry a k nim vytvořené variace, jako je například změna složení a výrobce mobilní fáze, teploty kolony, kolona, objem nástřiku, atd.

Tab. 3.4: Variace parametrů pro stanovení robustnosti.

	pův.	var.	původní	variace
složení MF (ACN:H ₂ O)	A	a	10:90	8:92
výrobce MF	B	b	Sigma Aldrich	VWR
teplota kolony	C	c	30 °C	33 °C
průtok MF	D	d	0,6 ml/min	0,7 ml/min
objem nástřiku	E	e	5 µl	6 µl
detekce	F	f	260	262
			270	272
			280	282
kolona	G	g	EVO C18	XB-C18

Příprava a měření reálných vzorků

Reálné vzorky připravené kávy nebyly nijak dále upravovány, byly připraveny podle baristických metod (dle kapitoly 3.2.8) a pouze přefiltrovány (membránový filtr) a 50x naředěny. Vzorky byly proměřeny při všech vlnových délkách. Pro zajímavost byl ještě proměřen akrylamid při vlnové délce 220 nm.

Tab. 3.5: Kombinace jednotlivých parametrů.

Parametr	Kombinace parametrů							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Složení mobilní fáze	A	A	A	A	a	a	a	a
Výrobce mobilní fáze	B	B	b	b	B	B	b	b
Průtok mobilní fáze	C	c	C	c	C	c	C	c
Teplota na koloně	D	D	d	d	d	d	D	D
Objem nástřiku	E	e	E	e	e	E	e	E
Detekce	F	f	f	F	F	f	f	F
Kolona	G	g	g	G	g	G	G	g
Výsledek	s	t	u	v	w	x	y	z

Zpracování výsledků

Výsledky měření jsou ve formě signálu měření absorbance z detektoru DAD na čase. Každý pík v grafu tak znázorňuje jeden typ analytu a množství analytu je úměrné ploše pod píkem. Pík kofeinu v každém vzorku se zintegruje, dostaneme plochu píku pro jednotlivé koncentrace a z té pak jednoduše pomocí směrnice kalibrační křivky získáme hodnotu našeho neznámého vzorku, tedy hodnotu množství kofeinu a akrylamidu. Výsledky byly zpracovány pomocí programu Microsoft Excel.

3.4 Stanovení celkových fenolických látek pomocí FC reagentu

3.4.1 Přístroje a pomůcky

- Spektrofotometr Helios alpha (Unicam)
- Skleněné kyvety (optická délka 1 cm)
- Automatické pipety (ThermoFisher Scientific)
- Magnetická míchačka
- Stříkačky a stříkačkové membránové filtry (pórovitost 0,45 μm)
- Laboratorní sklo

3.4.2 Chemikálie a reagenty

- 10x MQ H_2O ředěný roztok Folin-Ciocalteuova (FC) činidla, (Sigma-Aldrich s.r.o.)

- 7,5 wt.% roztok Na_2CO_3 (Erba Lachema s.r.o.)
- Kyselina gallová pro kalibraci (Sigma-Aldrich s.r.o.)
- Ethanol
- Destilovaná voda

3.4.3 Podmínky extrakce

- vzorek kávy: Caffé Mauro
- m/V = 3 g kávy/25 ml rozpouštědla
- 400 ot/min na magnetické míchačce
- $\lambda = 765$ nm
- t = 120 min
- rozpouštědlo: EtOH: H_2O (80:20)

3.4.4 Pracovní postup

Bylo připraveno pět kalibračních roztoků s rozdílnými rozpouštědly (kombinace ethanol a voda) o vzrůstající koncentraci ethanolu (H_2O , H_2O :EtOH v poměrech 40:60, 60:40, 80:20 a EtOH). Poté byly vzorky mleté kávy o hmotnosti 3 g extrahovány pěti rozdílnými rozpouštědly. Na základě nejlepší výtěžnosti na zvolené rozpouštědlo byla vybrána ideální směs ethanolu a vody, která byla použita na měření kávových extraktů.

Dle podmínek extrakce bylo provedeno pět extrakcí kávy. Před samotným stanovením celkových polyfenolů byly extrakty kávy přefiltrovány přes mikrofiltr s velikostí pórů 0,45 μ m. Pro samotnou analýzu všech vzorků byl ve zkumavce smíchán 1 ml roztoku FC s 1 ml H_2O a přidáno 100 μ l vzorku. Po 5 min byl přidán 1 ml roztoku Na_2CO_3 a po promíchání byla směs ponechána v temnu po dobu 30 min. Poté byla změřena absorbance při $\lambda = 765$ nm proti reakční směsi (místo vzorku 100 μ l vody). Stejným způsobem byly proměřeny i reálné vzorky kávy připravené dle baristických metod.

3.4.5 Zpracování výsledků

Každý vzorek extraktu kávy (1. – 42.) byl proměřen třikrát, výsledné hodnoty byly zprůměrovány a vypočtena směrodatná odchylka. Výpočet celkového obsahu polyfenolických látek byl proveden pomocí kalibrační křivky na standard kyseliny gallové. Výsledky byly zpracovány pomocí programu Microsoft Excel.

3.5 Elementární analýza kávy pomocí ICP-OES

3.5.1 Chemikálie

- Peroxid vodíku 30 % (Sigma-Aldrich, Inc.)
- Kyselina dusičná 67% analpure (PENTA s.r.o.)
- Deionizovaná voda
- Standardy kalibračních roztoků (tabulka 3.6)

Tab. 3.6: Standardy kalibračních roztoků.

standard	c [mg/l]	přesnost [mg/l]	matrice	firma
P	1 000	± 2	0,05% H_2SO_4	ČMI
Mg	1 000	± 2	2% HNO_3	SIM
Ca	10 000	± 20	2% HNO_3	ANALYTIKA, s.r.o.
Na	10 000	± 20	2% HNO_3	ANALYTIKA, s.r.o.
K	10 000	± 20	2% HNO_3	ANALYTIKA, s.r.o.
směs mikro prvků	1 000	± 2	10% HNO_3	ČMI

3.5.2 Pomůcky a přístroje

- Laboratorní sklo
- Jednotka pro přípravu ultračisté deionizované vody ELGA, PURELAB® Classic
- Analytické laboratorní váhy Kern & Sohn GmbH, typ ABJ 80-4M
- Vysokoúčinná mikrovlnná jednotka mls 1200 mega
- Mikropipeta HAMILTON, GASTIGHT®
- Peristaltické čerpadlo KrosFlo Research I Peristaltic Pump, Model 900-1613
- Optický emisní spektrometr s indukčně vázaným plazmatem Ultima 2, HORIBA Scientific

3.5.3 Podmínky metody

Tab. 3.7: Technické specifikace.

Generátor	rádiová frekvence 40,68 MHz.
Chladicí systém	typ GenCo pro chlazení generátoru a cívky
Odsávání	přímé napojení na plazmovou komoru
Čerpadlo	3-kanálová peristaltická pumpa
Mlžná komora	cyklonová, zmlžovač typu Meinhard
Plazma	průměr vstříkovací trysky 3 mm plně demontovatelný hořák
Optický systém	termoregulovatelný ohnisková vzdálenost 1 m optická mřížka s rozlišením 2 400 g/mm optické rozlišení <5 pm pro 160–320 nm a <10 pm pro 320–800 nm
Vlnová délka	160–800 nm
Detekce	Dual PMT s HDD® systémem
Příslušenství	zvlhčovač argonu, autosampler AS-500

Tab. 3.8: Podmínky metody pro makro a mikro prvky.

	Mikroprvky	Makroprvky	
otáčky čerpadla	16 ot/min	16 ot/min	
pracovní plyny	Stínící plyn	0,22 l/min	0,615 l/min
	Plazmový plyn	13,6 l/min	13,6 l/min
	Pomocný plyn	0,216 l/min	0,216 l/min
Průtok na zmlžovači	0,84 ml	0,84 ml	
Tlak na zmlžovači	2,97 bar	2,97 bar	
Příkon	1300 W	1200 W	

Tab. 3.9: Měřené vlnové délky jednotlivých prvků.

Makro prvky	P	Mg	Ca	Na	K
λ [nm]	214,914	285,213	393,366	588,995	766,490
Mikro prvky	Zn	Mn	Fe	Cu	
λ [nm]	206,191	257,610	259,940	327,396	

3.5.4 Podmínky pro mikrovlnou mineralizaci

- poměr látek na mineralizaci – 1 g kávy : 3 ml HNO_3 : 1 ml H_2O_2 (30%)
- nastavení metody dle tabulky 3.10

Tab. 3.10: Podmínky pro přípravu vzorku.

Krok	Čas [s]	Příkon [W]
1	120	250
2	120	0
3	120	250
4	300	500
Ventilace	300	0

3.5.5 Postup práce

Pro mineralizaci vzorku byl navážen 1 g kávy, poté byly přidány 3 ml kyseliny dusičné a 1 ml peroxidu vodíku. Takto připravené vzorky byly vloženy do teflonové patrony a vloženy do mikrovlnného aparátu. Připraveny byly tři vzorky kávy a jeden slepý vzorek, který simuloval matrici vzorku a omezil se tak vliv interferencí.

Poté byla připravena kalibrační řada na makro prvky (P, K, Mg, Ca, Na) o koncentraci 0; 25; 50; 100 mg/l a kalibrační řada na mikro prvky (Cu, Zn, Mn, Fe) o koncentracích 0; 0,25; 0,5; 1 mg/l. Vzorky zmineralizované kávy byly pouze naředěny na výsledný objem 25 ml a proměřeny.

Pro srovnání byly připraveny ještě tři vzorky espressa a podrobeny stejné analýze. Na toto měření byly připraveny nové sady kalibračních řad o stejných koncentracích s vodou jakožto slepým vzorkem. Vzorek espressa nebyl nijak upravován, pouze zfiltrován.

3.5.6 Zpracování výsledků

Na základě proměřených dat standardů makro a mikro prvků byly vytvořeny kalibrační křivky, dle kterých byla provedena kvantifikace vzorku. Analýza byla provedena ve třech paralelních měření pro každý vzorek. Výsledky byly zpracovány pomocí programu Microsoft Excel.

3.6 Stanovení organických kyselin pomocí IC

Organické kyseliny byly stanoveny pomocí iontového chromatografu s vodivostním detektorem. Jako mobilní fáze byla použita 0,5 mmol/l kyselina sírová s 15 % acetonu. Nastavení přístroje je uvedeno v kapitole 3.6.1. Dále byly ještě proměřeny hodnoty pH pomocí kombinované pH elektrody a srovnány s množstvím organických kyselin.

3.6.1 Podmínky metody

- název přístroje Metrohm 850
- Doba analýzy 30 min
- Kolona Methrosep Organic Acid - 250/7.8
- Průtok 5 ml/min
- Tlak 6,85 Mpa
- Teplota 30 °C

3.6.2 Zpracování výsledků

Výstupem přístroje je signál zaznamenaný do grafu závislosti vodivosti ($\mu\text{S}/\text{cm}$) na čase. Plocha píku je úměrná množství analytu ve vzorku. Vyhodnocení bylo provedeno pomocí poměru plochy píku standardu jednotlivých kyselin vůči ploše píků ve vzorku kávy. Analýza byla provedena ve třech paralelních měřeních. Výsledky byly zpracovány pomocí programu Microsoft Excel.

3.7 Stanovení aromatických látek pomocí HS-SPME-GC-MS

3.7.1 Pracovní pomůcky

- SPME vlákno DVB/CAR/PDMS 50/30 μm , Supelco, Bellefonte, Pennsylvania, USA

- Vialky o objemu 10 ml se šroubovacím magnetickým uzávěrem

3.7.2 Plyny

- Helium, čistota 4.8, v tlakové lahvi s redukčním ventilem (SIAD, Česká republika)

3.7.3 Přístroje

- Plynový chromatograf Trace™ 1310 se split/splitless injektorem (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)
- Hmotnostní detektor ISQ™ LT Single Quadrupole (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)
- Knihovna spekter NIST/EPA/NIH, Verze 2.0 (Gaithersburg, Maryland, USA)

3.7.4 Podmínky GC-MS analýzy

- Kapilární kolona TG-WaxMS (30 m x 0,25 mm x 0,5 µm)
- Teplota injektoru (desorpce) 240 °C
- Doba desorpce 20 minut
- Dávkování splitless, ventil uzavřen 10 minut
- Hloubka ponoření vlákna do injektoru 40 mm
- Nosný plyn helium, průtok 1 ml/min
- Teplotní program 40 °C s výdrží 1 min., vzestupný gradient 5 °C/min. do 220 °C s výdrží 22 min., celková doba analýzy 60 min
- Hmotnostní detektor v módu EI, energie ionizačních elektronů 70 eV, teplota iontového zdroje 200 °C, skenovací rozsah m/z 30–370 amu, rychlost skenování 0,2 s

3.7.5 Příprava vzorku

Vzorek kávy nebyl nijak upravován, ředěn ani filtrován. Koncentrovaný vzorek kávy byl po vychlazení na laboratorní teplotu vložen přímo do vialky a podroben analýze.

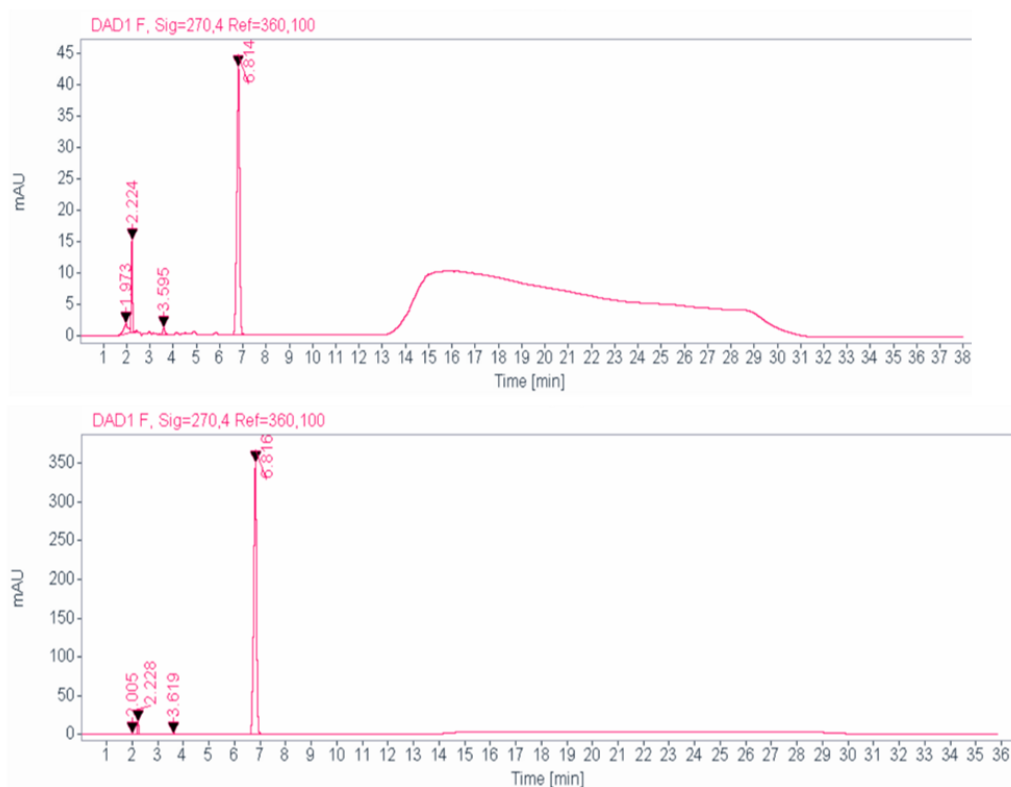
3.7.6 Zpracování výsledků

Identifikace jednotlivých látek byla provedena na základě hmotnostních spekter pomocí dostupné knihovny. Jednotlivé látky byly vyjádřeny na základě kvantity za použití ploch píků příslušného chromatogramu. Kvantifikace byla provedena pomocí programu Microsoft Excel.

4 Výsledky a diskuze

4.1 Stanovení množství kofeinu a akrylamidu pomocí HPLC-DAD

Na základě proměřených dat extraktu kávy a dodáním známé koncentrace standardu kofeinu (100 mg/l), tzv. spike, byl identifikován pík kofeinu a podle retenčního času i ověřena autenticita píku. Pík extraktu kávy s retenčním časem $t = 6,814$ min odpovídá naspíkeovanému vzorku v čase $t = 6,816$ min (grafy na obrázku 4.1).



Obr. 4.1: Chromatogram vzorku a spíku při 270 nm.

4.1.1 Validace

Dle výsledků (obrázek 4.2) lze vidět, že metoda poskytla všechny tři kalibrační křivky s koeficientem determinace vyšším, než je 0,999 a tím tedy splnila podmínky linearity. Směrnice vypovídá o citlivosti metody, takže čím vyšší je koeficient k ($y=kx+q$), tím citlivější metoda je. Na základě této informace je nejcitlivější měření při 270 nm, tato vlnová délka tedy byla zvolena i pro reálné vzorky kávy.

Hodnoty výtěžnosti kofeinu (tabulka 4.1) byly při všech vlnových délkách stanoveny nad 98 %.

LOD neboli limit detekce je nejnižší koncentrace, kterou je detektor schopen zachytit. Limit detekce se vypočítá jako trojnásobek podílu směrodatné odchylky šumu a směrnici kalibrační křivky. LOQ neboli limit kvantifikace je mez stanovení a detekování sledované látky. Limit kvantifikace se vypočítá jako desetinásobek podílu směrodatné odchylky šumu a směrnici kalibrační křivky. Z hodnot je patrné, že mez detekce testovaných látek se liší v závislosti s vlnovou délkou, nejnižších hodnot dosahují u vlnové délky 270 nm. Hodnoty spolu korelují, je tedy patrné, že dle výsledků v tabulce 4.2 je ideální vlnová délka 270 nm, pro kterou byly vypočteny hodnoty všech reálných vzorků.

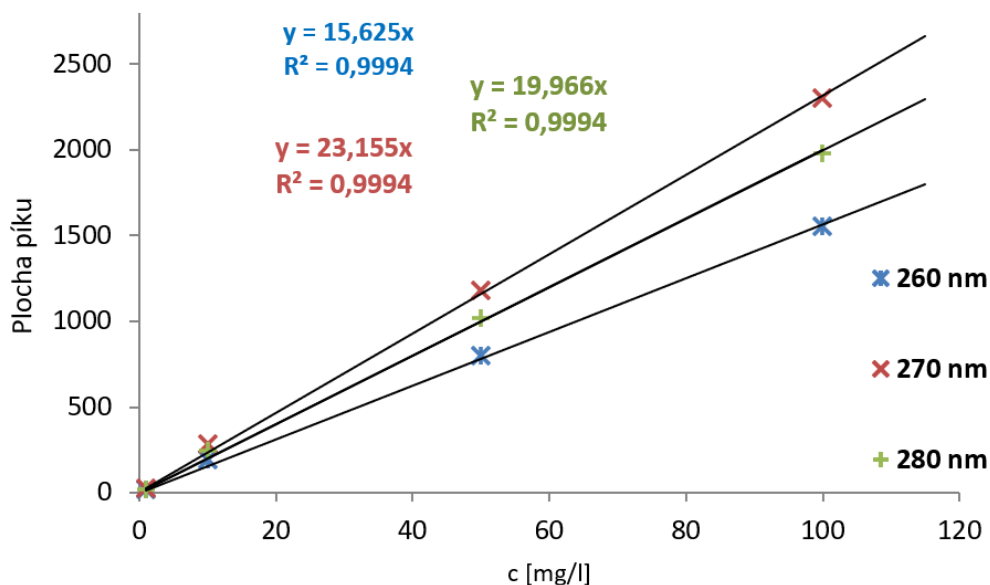
Pro stanovení robustnosti této metody byly využity proměnné parametry – složení mobilní fáze, výrobce mobilní fáze, teplota termostatu kolony, průtok mobilní fáze, objem nástřiku, detekce a kolona. Bylo využito osm kombinací těchto parametrů, což je znázorněno v tabulce 3.5. Vyhodnocení robustnosti bylo provedeno pomocí sledování vlivu standardizovaného efektu na stanovení koncentrace standardu, plochy píku, počtu teoretických pater, tailing faktoru a retenčního času. Studentův koeficient (2,3646) byl zvolen pro 7 stupňů volnosti a hladinu významnosti (alfa) 0,05. Standardizovaný efekt byl vypočítán dle dostupné literatury [35], jeho hodnoty jsou shrnuty v tabulce.

Tab. 4.1: Výtěžnost kofeinu.

		A [-]	c [mg/l]	recovery [%]
260 nm	blank	247,993	15,872	98,29
	spike	1799,072	115,142	
270 nm	blank	367,208	15,859	98,36
	spike	2667,490	115,203	
280 nm	blank	317,119	15,883	98,34
	spike	2300,280	115,210	

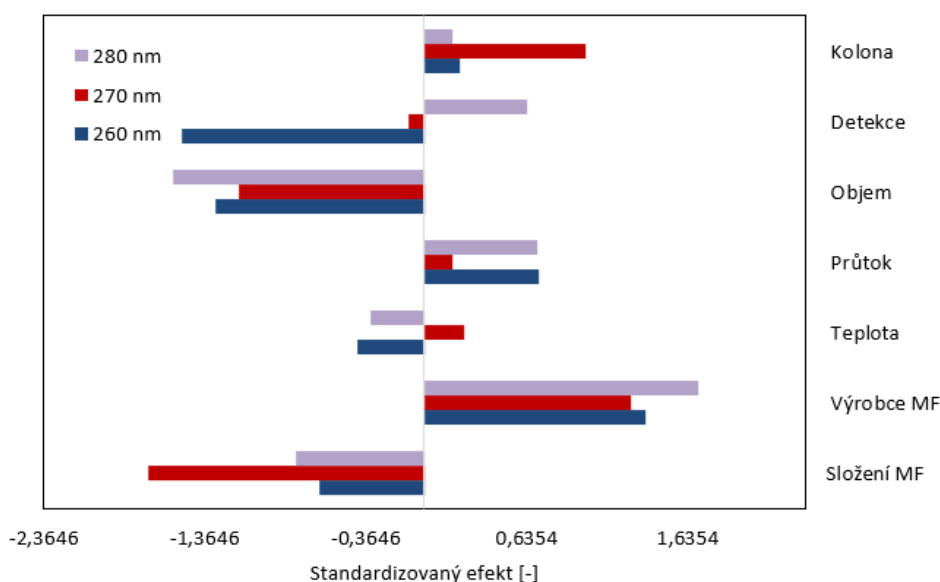
Tab. 4.2: Limit detekce a kvantifikace kofeinu.

λ [nm]	260	270	280
LOD [mg/l]	0,0125	0,0039	0,0121
LOQ [mg/l]	0,0417	0,0129	0,0402

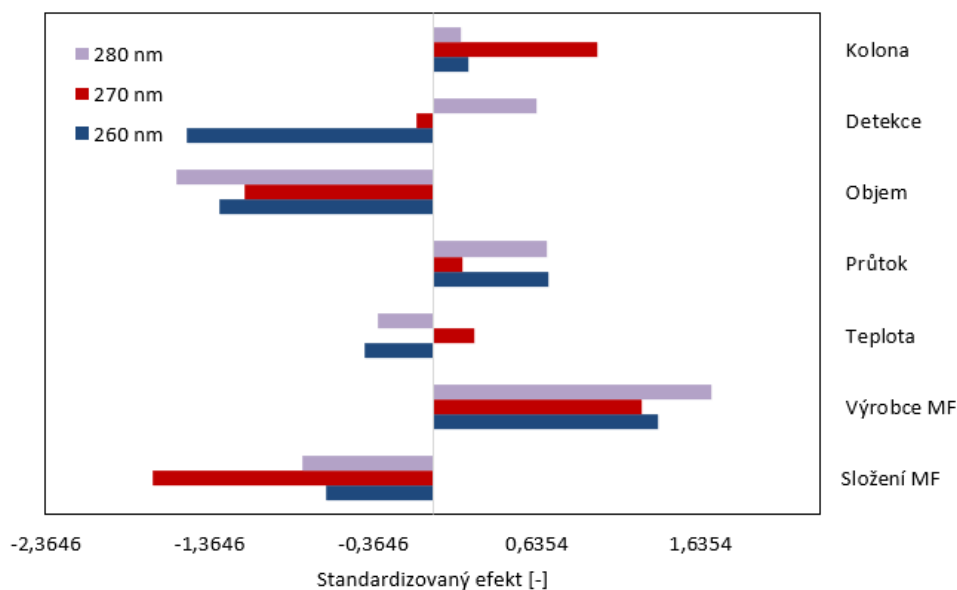


Obr. 4.2: Kalibrační závislost standardu kofeinu pro 260, 270 a 280 nm.

Výsledky prokázaly, že žádný z daných parametrů nemá statistický význam na plochu píku dané metody. Z obrázku 4.3 je patrné, že největší vliv měla změna složení mobilní fáze a to při vlnové délce 270 nm. Nicméně žádná hodnota standardizovaného efektu nepřesahuje hodnotu studentova koeficientu (2,3646), můžeme tedy říci, že metoda je robustní.

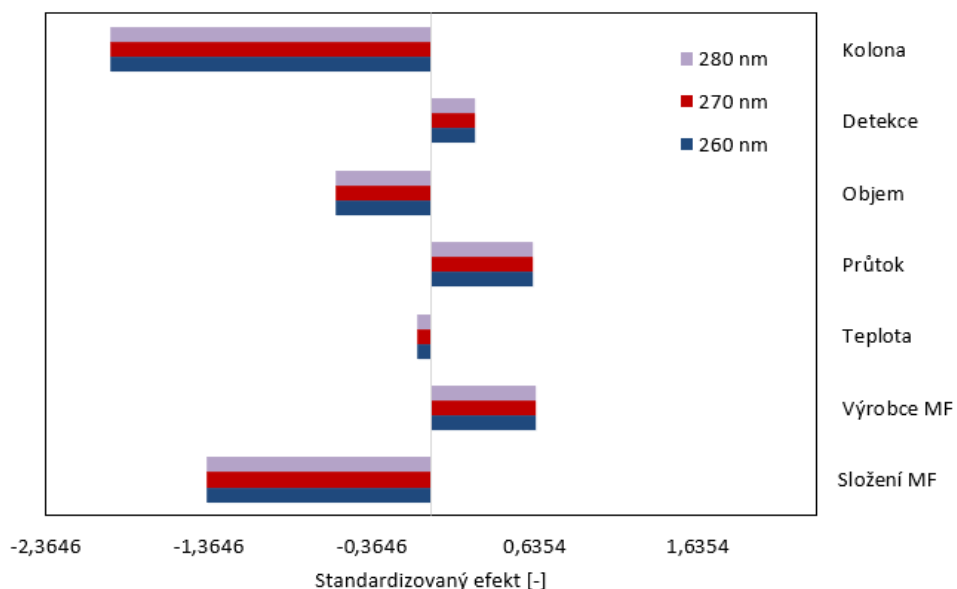


Obr. 4.3: Vliv změn parametrů na plochu píku.



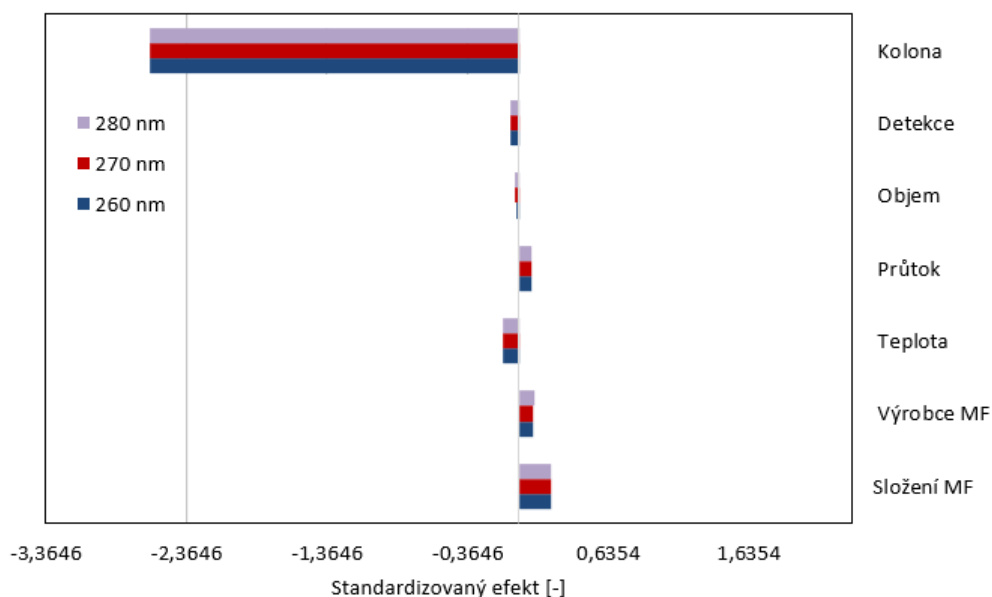
Obr. 4.4: Vliv změn parametrů na koncentraci.

Na retenční čas měla největší vliv změna kolony, což je způsobeno rozdílným uspořádáním částic náplně kolon stacionární fáze. Parametry ale nepřesáhly hodnotu studentova koeficientu a nejsou statisticky významné. Zvýšení retenčního času bylo předpokládáno, jelikož výrobce deklaruje zvýšení rychlosti metody o 30 % při použití kolony EVO-C18.



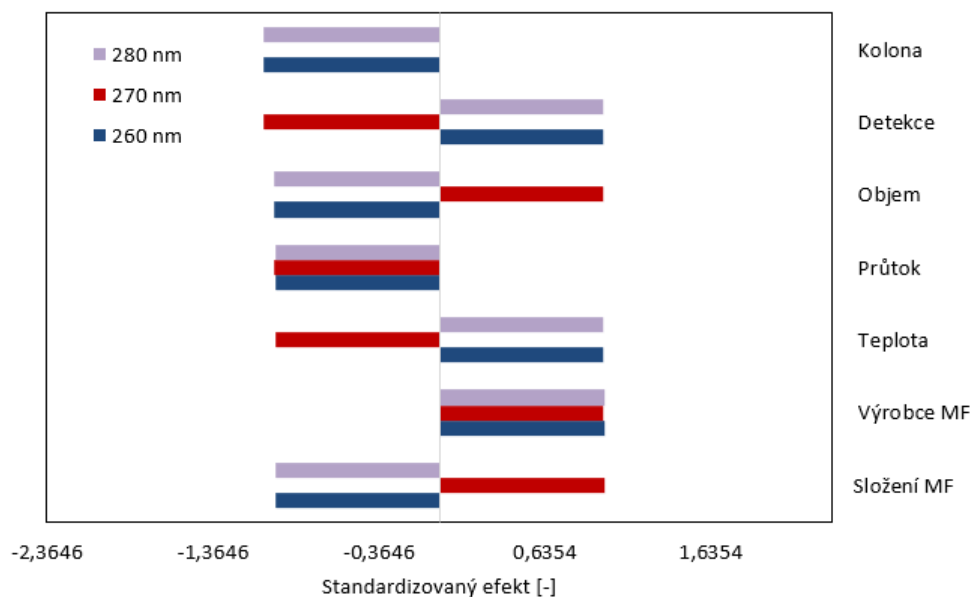
Obr. 4.5: Vliv změn parametrů na retenční čas.

Jediný statisticky významný vliv na sledované parametry má změna kolony a to na tailing faktor. Přestože byla zvolena kolona se stacionární fází typu C18, z důvodu jiné morfologie částic došlo k výraznému snížení hodnoty tailing faktoru u kolony XB-C18 a standardizovaný efekt přesáhl hodnotu studentova koeficientu 2,3646 (obrázek 4.6). Z hlediska tailingu píků je tedy výběr správné kolony kritickým parametrem a je třeba dbát na zvolení takové stacionární fáze, která bude pro danou metodu vhodná.



Obr. 4.6: Vliv změn parametrů na tailing faktor.

Posledním sledovaným parametrem byl vliv na teoretická patra, které jsou vyobrazeny na obrázku 4.7. Žádný z parametrů neměl statisticky významný vliv na teoretická patra, nicméně žádná hodnota nepřesáhla studentův koeficient (2,3646) a tím pádem jsou parametry bez problémů robustní.



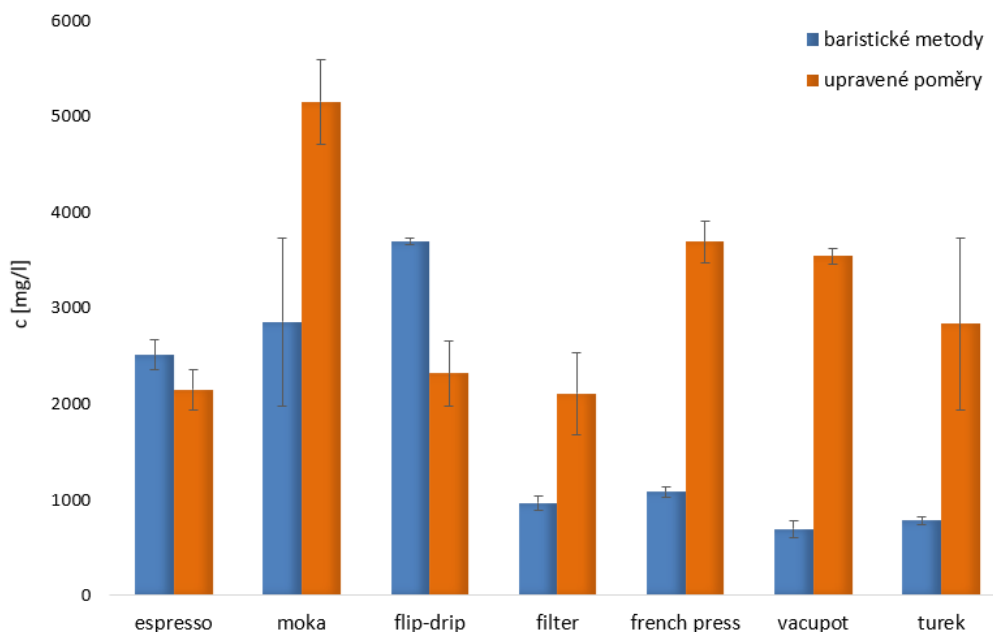
Obr. 4.7: Vliv změn parametrů na teoretická patra.

4.1.2 Analýza reálných vzorků kávy

Analýza vzorků probíhala pro jeden druh kávy a byla zpracována sedmi rozdílnými způsoby přípravy. Tyto metody byly určeny na základě baristické příručky, tedy tak, jako by byla káva připravena v kavárně. Druhá část měření obsahovala ty stejné metody, ale s upravenými poměry, tak aby mohly být mezi sebou porovnány. U každého vzorku byla provedena tři opakování, dohromady tedy byla analýza provedena pro 42 různých vzorků kávy. Výsledné koncentrace kofeinu a akrylamidu byly vypočteny pomocí kalibrační křivky. Hodnoty odchylky byly stanoveny pomocí směrodatné odchylky.

Tab. 4.3: Koncentrace kofeinu ve vzorcích kávy.

		směrodatná odchylka	c [mg/l]	m [mg]		směrodatná odchylka	c [mg/l]
espresso	1	157,3	2502	75,1	8	209,4	2142
moka	2	877,7	2849	142,5	9	439,5	5142
flip-drip	3	34,9	3689	184,5	10	339,3	2308
filter	4	79,5	957	119,6	11	426,9	2099
french	5	56,5	1073	134,1	12	222,0	3682
vacuum	6	89,4	691	124,3	13	85,1	3533
turek	7	41,5	779	155,7	14	891,4	2825



Obr. 4.8: Porovnání množství kofeinu ve vzorcích kávy připravených baristickými metodami a v upraveném poměru.

Káva připravená jednotlivými baristickými postupy, tedy tak jak by si ji konzument dal v kavárně, obsahuje poměrně rozdílné koncentrace kofeinu. I přes nejkratší dobu extrakce kávy s vodou vykazuje espresso poměrně vysokou koncentraci kofeinu a to 2502 mg/l, v přepočtu se hodnota pohybuje kolem 70 - 75 mg kofeinu na jeden šálek espressa. Největší obsah kofeinu byl zaznamenán v kávě připravené pomocí neapolitanské konvičky, zde koncentrace kofeinu dosahovala až 3689 mg/l (přibližně 185 mg na objem připraveného nápoje). I přesto, že z důvodu dlouhodobé extrakce za vysoké teploty a vyššího tlaku bylo očekáváno vyšší množství obsahu kofeinu ve vacuum potu, byla zde koncentrace kofeinu stanovena na pouhých 691 mg/l (přibližně 125 mg na objem nápoje).

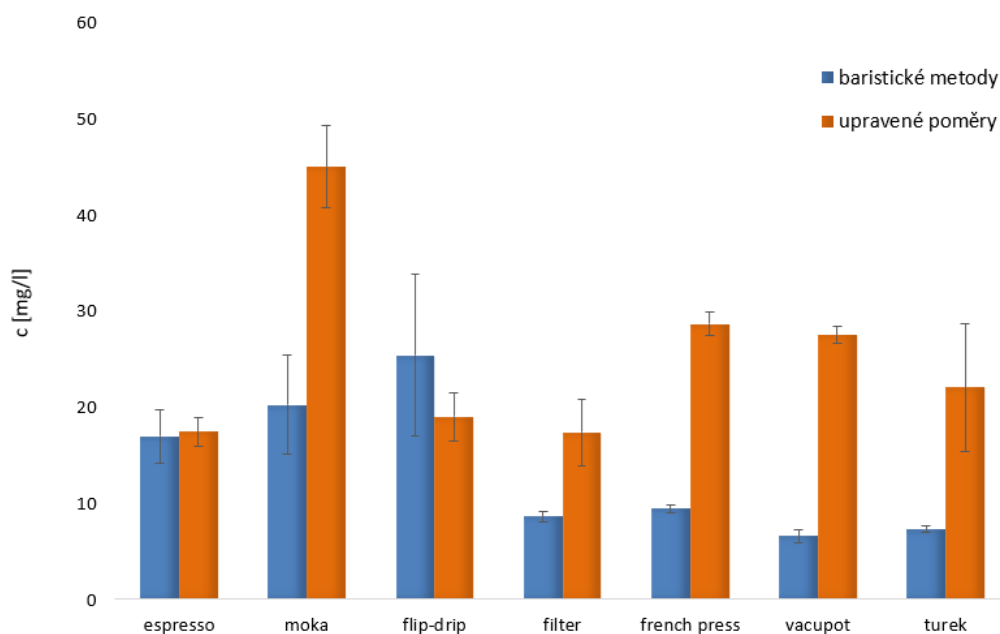
Pomocí upravených poměrů jsme stanovili nejvyšší koncentraci kofeinu v kávě připravené pomocí moka konvičky. Opakovatelnost nebyla příliš vysoká, nicméně i tak vychází z hlediska obsahu kofeinu tento způsob přípravy jako nejintenzivnější. Díky tomuto srovnání můžeme říci, že nejvyšší vliv na extrakci kofeinu do kávy má právě vysoký tlak (u espressa, moka konvičky, vacuum potu), vysoká teplota (moka) a doba extrakce (turek). I přes podobný princip přípravy filtrované kávy a kávy připravené přes french press lze vidět, že v upraveném poměru vody a kávy (ve prospěch kávy) má výrazný vliv aplikace síly na mechanismus sítka.

Dle literatury se obsah kofeinu v espressu pohybuje kolem 30 - 100 mg na šálek

espresso. Vyšší obsah kofeinu stanovený v kávě připravené různými způsoby v rámci této bakalářské práce může být z důvodu zastoupení kávy Robusty ve vstupní surovině, obsah tak odpovídá poměru kávy Robusta:Arabica (50:50). Například ve filtrované kávě by se měl obsah kofeinu pohybovat od 80–130 mg kofeinu v Arabice a od 140–200 mg kofeinu v Robustě, naměřené výsledky (cca 120 mg kofeinu) tedy odpovídají předpokladům použité vstupní suroviny - pražené kávy ze které byly připravovány nápoje [36].

Tab. 4.4: Koncentrace akrylamidu v jednotlivých vzorcích kávy.

		směrodatná odchylka	c [mg/l]	m [µg]		směrodatná odchylka	c [mg/l]
espresso	1	2,74	16,9	2,5	8	1,50	17,4
moka	2	5,18	20,2	3,0	9	4,25	45,0
flip-drip	3	8,42	25,4	2,7	10	2,47	19,0
filter	4	0,53	8,6	1,3	11	3,47	17,4
french	5	0,43	9,4	1,4	12	1,24	28,6
vacuum	6	0,64	6,5	1,0	13	0,90	27,5
turek	7	0,35	7,3	1,4	14	6,68	22,1



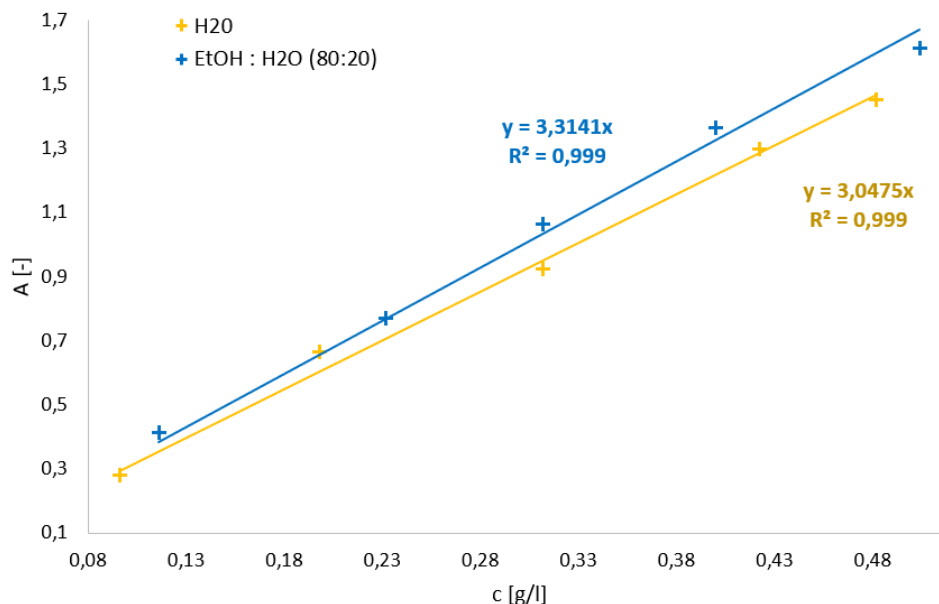
Obr. 4.9: Porovnání množství akrylamidu ve vzorcích kávy připravených baristickými metodami a v upraveném poměru.

Obsah akrylamidu koreluje s hodnotami obsahu kofeinu, nejvyšší obsah akrylamidu byl naměřen v kávě připravené z konvičky flip-drip ($c = 25,4 \text{ mg/l}$), nejnižší ve vacuum potu ($c = 6,5 \text{ mg/l}$). Dle hodnot v tabulce 4.4 můžeme konstatovat, že jeden šálek kávy připravený neapolskou metodou obsahuje $2,74 \text{ } \mu\text{g}$ akrylamidu, což odpovídá $456 \text{ } \mu\text{g}$ akrylamidu na 1 kg kávy. Dle literatury se v pražené kávě nachází přibližně $300\text{-}500 \text{ } \mu\text{g}$ na 1 kg pražené kávy, obsah akrylamidu se liší v závislosti na použití kávy Robusta, či Arabica a na stupni pražení kávy [13]. Nejvyšší povolený obsah akrylamidu v kávě je podle vyhlášky Komise (EU) 2017/2158 do $400 \text{ } \mu\text{g}$ na 1 kg pražené kávy. V závislosti na vlastnostech směsi a pražení může káva obsahovat i vyšší obsah akrylamidu, v těchto případech by měl dodavatel poskytnout odůvodnění.

Na základě naměřených dat lze usoudit, že největší vliv na extrakci akrylamidu do kávy má opět vysoký tlak a teplota, naopak u jemnějších metod s delším časovým úsekem nejsou podmínky pro extrakci vhodné.

4.2 Stanovení celkových fenolických látek

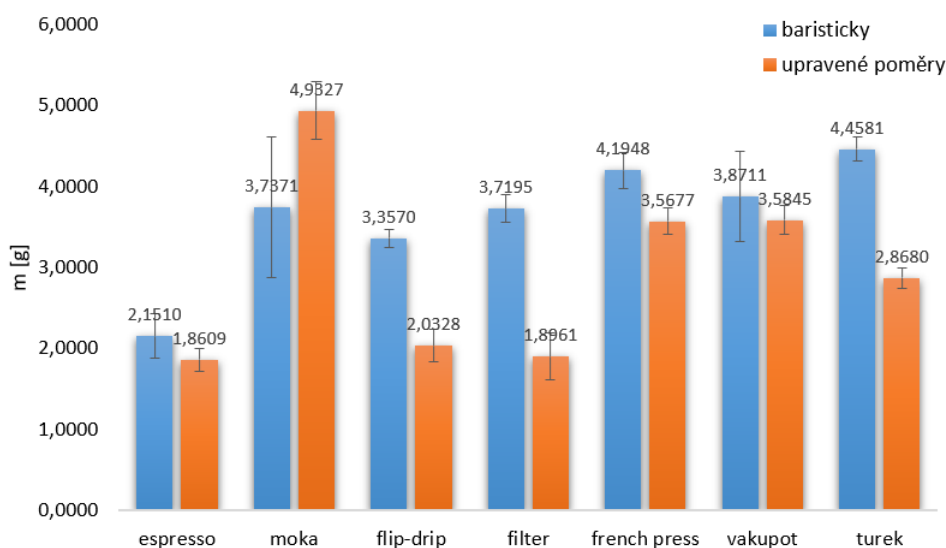
Stanovení CFL bylo provedeno pomocí kalibrační křivky jako ekvivalent kyseliny gallové. Pro výpočet obsahu celkových polyfenolů v kávových extraktech byla použita kalibrační křivka s rozpouštědlem EtOH:H₂O (80:20), pro připravené vzorky kávy kalibrace vodná.



Obr. 4.10: Kalibrační křivka stanovení celkových polyfenolů [g/l].

Tab. 4.5: Koncentrace celkového obsahu fenolických látek.

název vzorku		směr. odchylka	c [g/l]	m CFL [g] na 100 g		směr. odchylka	c [g/l]	m CFL [g] na 100 g
espresso	1	0,2697	4,75	2,15	8	0,1402	4,34	1,86
moka	2	0,8692	5,23	3,74	9	0,3518	11,84	4,93
flip-drip	3	0,1090	4,03	3,36	10	0,1985	4,88	2,03
filter	4	0,1703	2,08	3,72	11	0,2871	4,55	1,90
french	5	0,2233	2,35	4,20	12	0,1645	8,56	3,57
vacuum	6	0,5537	1,51	3,87	13	0,1723	8,37	3,59
turek	7	0,1504	1,78	4,46	14	0,1240	6,62	2,87
extrakt		0,1896	2,82	2,34				



Obr. 4.11: Srovnání obsahu polyfenolických látek [g] na 100g kávy připravených baristickými metodami a při upravení poměrů.

Pomocí FC reagentu byly analyzovány vzorky extraktů kávy a stanoveno množství CFL na průměrnou hodnotu 2,34 g na 100 g kávy. Na základě dostupné literatury se hodnoty CFL pohybují kolem 5 g na 100 g kávy [14], takže z těchto dat usuzujeme, že vstupní surovina má poměrně nízký obsah fenolických látek. Při přípravě káv baristickými metodami byl nejvyšší obsah CFL stanoven v turecké kávě, a to 4,46 g na 100 g kávy z důvodu dlouhodobé extrakce kávy. Méně CFL v porovnání s tureckou kávou obsahovala káva připravená v moka konvičce, nejnižší koncentrace

CFL byla naměřena u espressa (2,15 g na 100 g kávy) a to pravděpodobně z důvodu rychlé extrakce. Na základě výsledků lze usoudit, že největší vliv na CFL má vyšší tlak a doba kontaktu vody se zrny kávy. Významné odchylky můžeme pozorovat u kávy filtrované oproti french press metodě (vzorky 11 a 12 v tabulce 4.11). Odchylky způsobuje pravděpodobně vliv filtru, nebo má mechanismus sítky výraznější vliv na extrakci PF u upraveného poměru kávy a vody. Celkově lze říci, že metoda na stanovení CFL není příliš robustní co se týče změny poměrů, kromě moka konvičky vychází množství CFL na 100 g kávy ve všech metodách hůř.

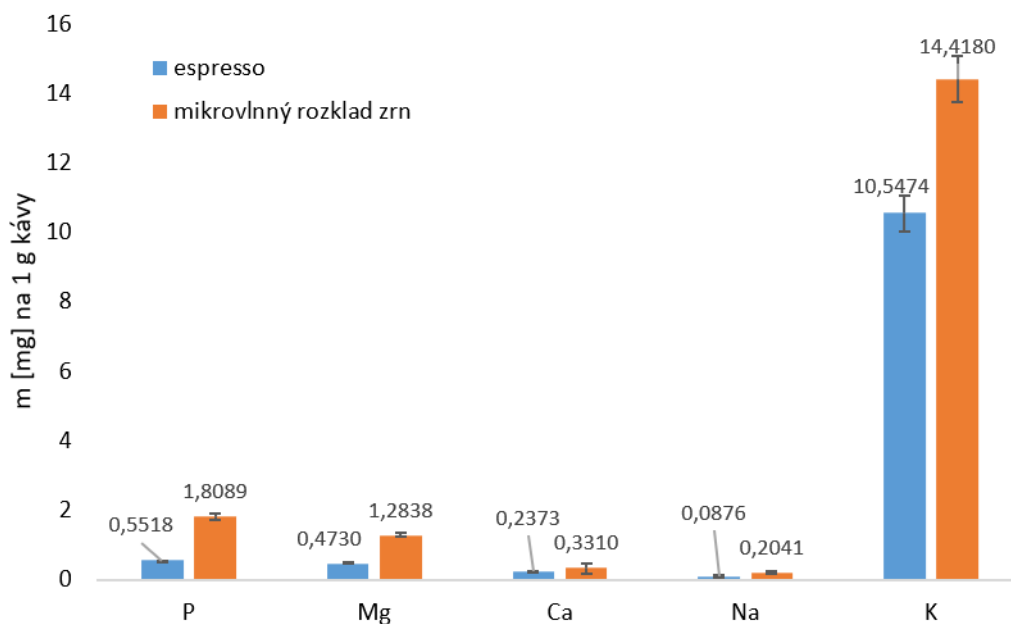
4.3 Stanovení vybraných makro prvků a mikro prvků

Vyhodnocení množství vybraných mikro a makro prvků bylo provedeno pomocí kalibračních křivek a to pro každý prvek zvlášť. Pro vzorek espressa byla vytvořena nová sada kalibrací s vodou jakožto slepým vzorkem. Grafické znázornění kalibračních křivek se nachází v příloženém souboru *ICP-OES.xlsx* na CD této práce.

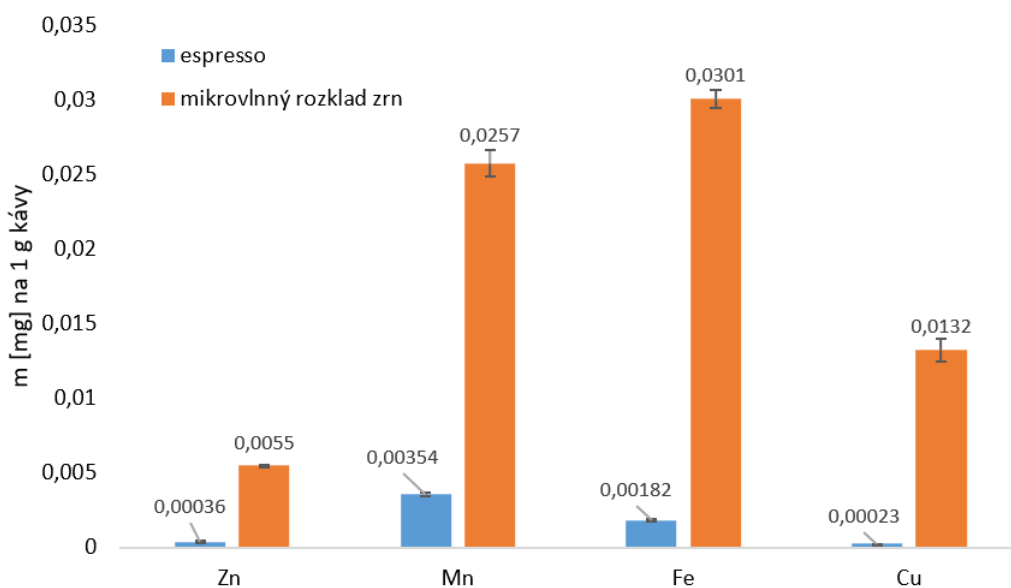
Tab. 4.6: Zastoupení makro a mikro prvků v kávě a v espressu.

káva mletá	P	Mg	Ca	Na	K
c [mg/l]	72	51	13	8	577
mg na 1g kávy	1,81	1,28	0,33	0,20	14,42
směr. odchylka [mg/l]	0,10	0,06	0,15	0,03	0,66
espresso					
c [mg/l]	129	110	55	20	2461
mg na 1g kávy	0,55	0,47	0,24	0,09	10,55
m [mg] na šálek	3,9	3,3	1,7	0,6	73,8
směr. odchylka [μ g/l]	6,18	16,60	8,95	34,26	507,29

káva mletá	Zn	Mn	Fe	Cu
c [mg/l]	0,2	1,0	1,2	0,5
m [μ g] na 1g kávy	5,46	25,73	30,07	13,21
směr. odchylka [μ g/l]	0,08	0,90	0,59	0,76
espresso				
c [mg/l]	0,083	0,83	0,43	0,053
m [μ g] na 1g kávy	0,357	3,54	1,82	0,226
m [μ g] na šálek	2,5	24,8	12,8	1,6
směr. odchylka [μ g/l]	0,05	0,11	0,10	0,01



Obr. 4.12: Množství makro prvků [mg] na 1 g kávy v kávě a espresso.



Obr. 4.13: Množství mikro prvků [mg] na 1 g kávy v kávě a espresso.

Nejvíce zastoupeným majoritním prvkem je draslík a to s koncentrací 577 mg/l, po přepočtu na navážku kávy 14,418 mg na 1 g kávy. Ostatní makroprvky jsou obsaženy spíše v řádu desítek mg/l, nejméně je tomu pak u sodíku ($c = 8$ mg/l). Literatura uvádí, že pražená káva patří mezi potraviny s velmi vysokým obsahem

draslíku, obsah draslíku v pražené kávě by se měl pohybovat okolo 18 000 - 20 000 mg draslíku na 1 kg kávy. Káva použitá v této bakalářské práci obsahuje nižší množství draslíku v porovnání s literaturou a to průměrně 14 418 mg draslíku z důvodu směsi káv z různých oblastí světa (množství se mění v závislosti na oblasti pěstování) [38]. I přesto, že káva má schopnost absorbovat minerální látky z použité vody na přípravu kávy, espresso vykazuje i tak menší obsah draslíku než v zrnkové kávě. Obsah draslíku v jednom šálku espressa byl stanoven na 74 mg, což odpovídá asi 20 % doporučené denní dávky draslíku [19].

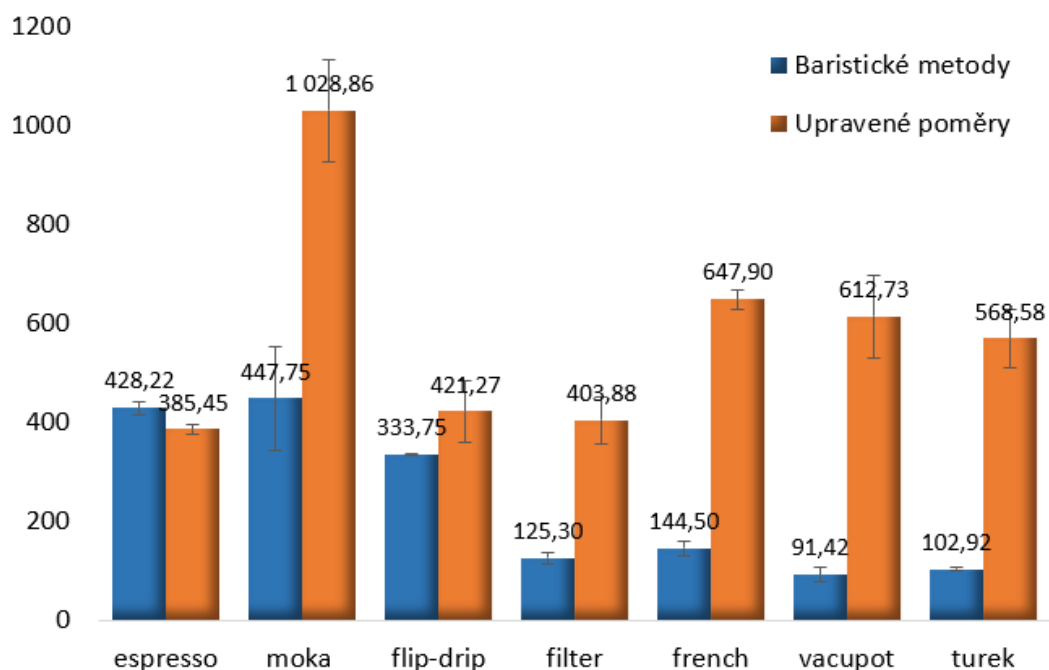
Co se týče mikro prvků, byly vybrány čtyři zástupci prvků důležitých pro metabolismus lidského těla. Nejvyšší koncentraci v kávě mělo železo s koncentrací 1,203 mg/l, nejmenší zinek o koncentraci 0,219 mg/l. Nižší množství vybraných prvků v espressu může být způsobeno nedostatečnou extrakcí z kávových zrn, u měření mikro prvků bylo zaznamenáno vyluhování pouze 6 % z celkového obsahu mikroprvků v zrnkové kávě do nápoje. Lze tedy vidět, že většinové množství mikro prvků zůstává v kávovém lógru, transport mikro prvků ze zrn do extraktu ovlivňuje především nižší afinita k látkám, které do nápoje prochází.

Kromě draslíku by se dle literatury v kávě mělo nacházet také 1,44 mg/g Ca, 2,13 mg/g Mg, 2,15 mg/g P, 0,084 mg/g Na, 0,01 mg/g Zn, 0,048 mg/g Fe, 0,005 mg/g Cu a 0,017 mg/g Mn [19]. Dle výsledků v tabulce 4.6 a 4.3 výsledky přibližně korelují s literaturou, odlišné hodnoty jsou pravděpodobně způsobeny rozdílem ve vstupní surovině pro přípravu kávy.

4.4 Stanovení vybraných organických kyselin

Pomocí metody iontové chromatografie byla stanovena koncentrace kyseliny citrónové, jablečná, jantarová, mléčná, mravenčí a octová ve vzorcích kávy. Koncentrace organických kyselin v kávě připravené různými baristickými způsoby a metodami s upravenými poměry jsou ukázány na příkladu kyseliny citrónové na obrázku 4.14. Ostatní grafy jsou uvedeny v příloženém souboru *IC.xlsx* na CD této práce.

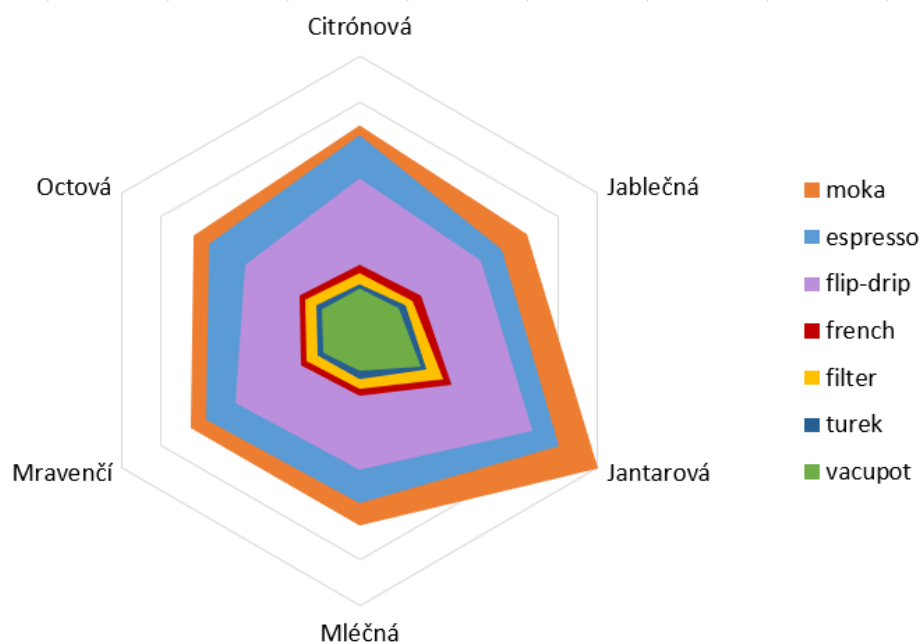
Celkové zastoupení kyselin a jejich porovnání mezi jednotlivými baristickými metodami je znázorněno na obrázku 4.15, vliv jednotlivých metod je pak vyobrazen na obrázku 4.16.



Obr. 4.14: Obsah kyseliny citronové v kávě připravené různými baristickými metodami a pomocí upravených poměrů.

Tab. 4.7: Koncentrace organických kyselin v baristicky připravené kávě.

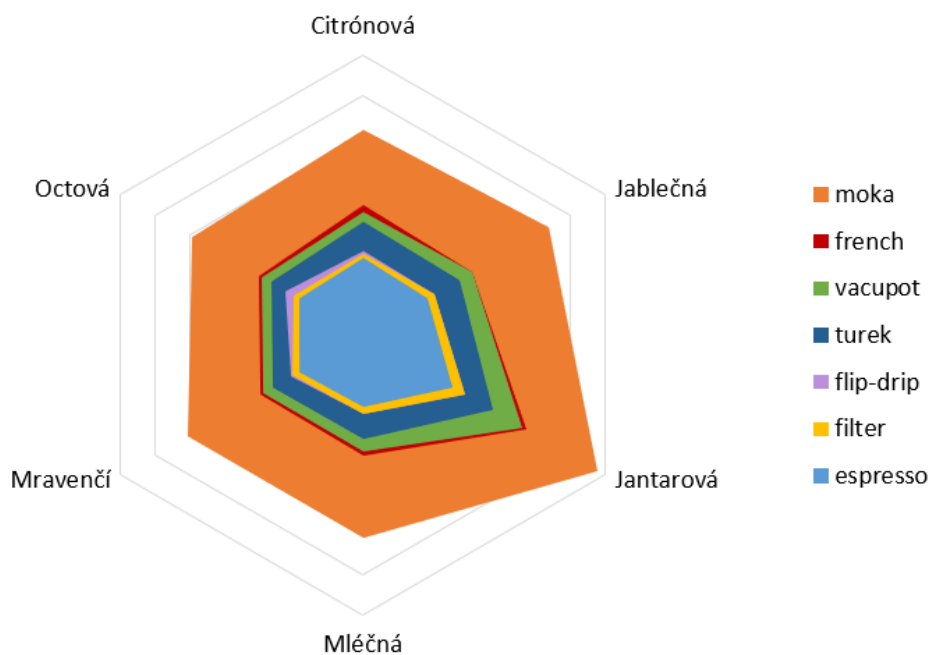
	kyselina	citrónová	jablečná	jantarová	mléčná	mravenčí	octová
espresso	c [mg/l]	428,2	357,1	503,4	376,9	385,9	381,6
	smoch	13,71	24,74	18,81	38,10	39,89	27,39
moka	c [mg/l]	447,8	420,8	599,8	424,6	425,6	418,7
	smoch	105,52	106,09	157,53	120,20	113,71	120,14
flip drip	c [mg/l]	333,8	307,1	435,5	303,8	314,6	290,2
	smoch	2,33	7,48	3,80	8,52	7,27	1,00
filter	c [mg/l]	125,3	133,4	211,3	127,0	133,2	135,7
	smoch	10,32	8,62	7,94	6,94	7,44	10,98
french press	c [mg/l]	144,5	153,1	232,1	142,9	147,6	152,0
	smoch	13,38	9,02	20,83	9,18	10,14	13,98
vacuum	c [mg/l]	91,4	97,6	153,5	88,1	92,2	95,8
	smoch	14,51	13,52	23,74	12,94	14,13	15,73
turek	c [mg/l]	102,9	115,0	169,7	104,3	107,2	110,1
	smoch	3,92	6,65	8,83	6,74	6,86	5,65



Obr. 4.15: Grafické znázornění vlivu baristických metod na množství organických kyselin.

Tab. 4.8: Koncentrace organických kyselin v kávě s upravenými poměry přípravy.

	kyselina	citrónová	jablečná	jantarová	mléčná	mravenčí	octová
espresso	c [mg/l]	385,5	375,0	518,1	358,1	366,8	368,8
	smoch	8,64	17,16	28,29	19,29	14,46	11,37
moka	c [mg/l]	1028,9	1074,9	1357,9	1011,9	1007,7	984,1
	smoch	102,29	192,71	128,19	169,01	195,47	178,50
flip drip	c [mg/l]	421,3	416,7	592,3	396,4	416,6	443,2
	smoch	61,54	74,41	97,98	70,49	75,27	60,57
filter	c [mg/l]	403,9	416,1	588,8	390,7	403,0	401,7
	smoch	46,73	35,12	86,01	40,67	33,78	49,93
french press	c [mg/l]	647,9	633,4	941,1	600,8	589,1	596,8
	smoch	19,81	30,31	21,63	12,13	8,64	16,96
vacuum	c [mg/l]	612,7	627,2	920,6	581,1	578,8	580,5
	smoch	84,24	64,16	52,61	37,13	39,59	40,84
turek	c [mg/l]	568,6	554,9	750,8	521,7	520,6	530,6
	smoch	60,47	48,75	217,49	21,25	20,35	28,43



Obr. 4.16: Grafické znázornění vlivu upravených metod na množství organických kyselin.

Tab. 4.9: Hodnoty pH vzorku a celkové množství kyselin.

	Baristické metody		Upravené poměry	
	c [mg/l]	pH	c [mg/l]	pH
espresso	2433,1	5,37	2372,3	5,36
moka	2737,2	5,41	6465,3	5,39
flip-drip	1984,9	5,32	2686,4	5,21
filter	865,9	5,67	2604,2	5,39
french	972,1	5,63	4009,1	5,40
vacupot	618,5	5,97	3901,0	5,37
turek	709,2	5,59	3447,1	5,46

Na základě tabulky 4.7 a grafu 4.15 můžeme říci, že nejvyšší obsah kyselin obsahuje káva připravená pomocí moka konvičky a espresso, jejich extrakce je tedy závislá na vyšší teplotě a tlaku. Dle literatury se průměrný obsah kyseliny citronové v kávě pohybuje kolem 460 mg/l, čemuž odpovídá káva z moka konvičky (447,8 mg/l). Koncentrace kyseliny octové by se měla pohybovat kolem 225 mg/l (v této BP 418,7 mg/l), kyselina mléčná by měla dosahovat koncentrace až 300 mg/l (v této BP 424,6 mg/l), kyselina jablečná 137 mg/l (v této BP 420,8 mg/l) [39]. Rozdílné

koncentrace organických kyselin ve vzorcích v porovnání s literaturou jsou způsobeny směsí dvou odrůd kávy, typem pražení kávy a technologií zpracování zrn. Nejvyšší úroveň kyselosti mají kávy promyté a to z důvodu fermentace ve vodě a brzkého odstranění kávové dužiny.

I přesto, že se v literatuře udává majoritní podíl kyseliny citrónové a kyseliny jablečné [39], zde v této práci byla stanovena nejvyšší koncentrace v kávě u kyseliny jantarové. Pomocí moka konvičky byla stanovena koncentrace kyseliny jantarové 599,8 mg/l, nejméně je pak právě kyseliny jablečné a to v koncentraci 420,8 mg/l. Nejnižší obsah všech stanovených kyselin se objevil ve vzorku z vacuum potu, zde byla koncentrace kyselin kolem 100 mg/l, nejvyšší koncentraci měla opět kyselina jantarová o koncentraci 153,5 mg/l.

Při upravených poměrech kávy a vody, tak aby se daly metody spolu srovnat, můžeme pozorovat vysoký nárůst kyselin v moka konvičce, zde se dostaly hodnoty kyselin až na koncentraci kolem 1000 mg/l, u kyseliny jantarové až 1357,9 mg/l. Trend zastoupení jednotlivých kyselin zůstává přibližně stejný, hlavní změnou je ale pořadí vlivu přípravy kávy. Vyšší teploty, aplikovaná síla na píst sítko a delší doby extrakce mají výrazný vliv na množství kyselin, nejhorších výsledků tak dosahuje espresso, filter a flip-drip. Dle literatury jsou ideální podmínky pro extrakci 94 °C, extrakce po dobu 5 min a jemně namletá káva (čím větší plocha částic, tím lepší extrakce), což se potvrdilo u Moka konvičky, kde je stálá vysoká teplota po celou dobu extrakce [39].

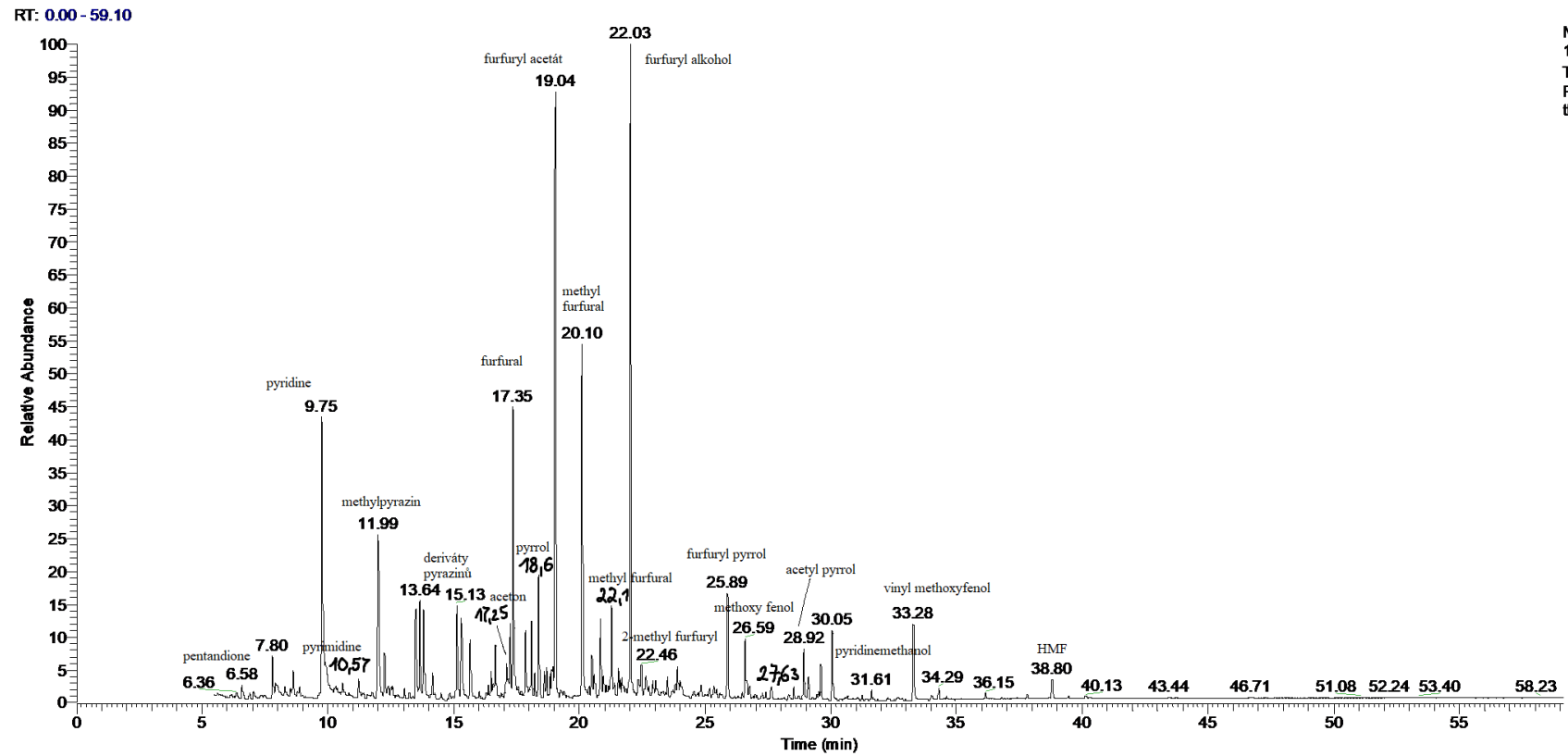
Nejvyšší koncentraci organických kyselin sice obsahuje káva připravená přes moka konvičku, nicméně největší hodnotu kyselosti, tedy nejnižší pH má konvička flip-drip (5,32). Stanvené kyseliny v této práci totiž nejsou jediné, které se ve vzorku nacházejí. Káva má celkem třicet různých významných kyselin, které mohou dále snížit celkovou hodnotu pH kávy. Dalším důvodem může být ještě neúplná disociace karboxylových kyselin, hodnota pH totiž závisí na schopnosti disociace molekul v roztoku.

4.5 Stanovení aromatických látek

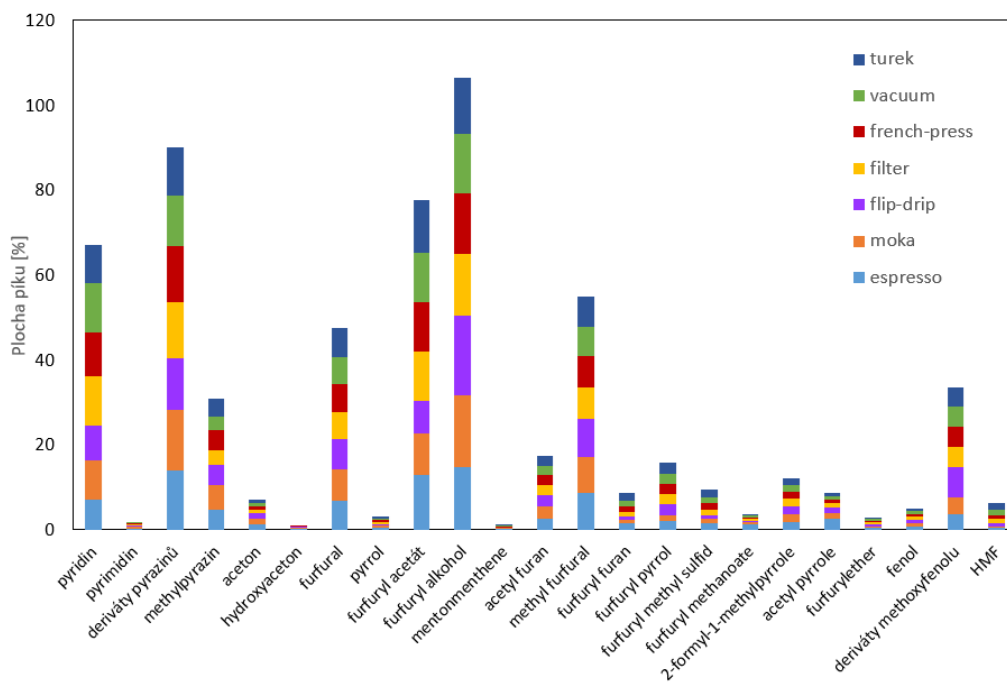
Pomocí plynové chromatografie byly analyzovány připravené vzorky kávy, a dle dostupné knihovny byly z chromatogramu (ukázka na obrázku 4.17) vybrány nejpravděpodobnější látky k daným retenčním časům. V jednom vzorku kávy se nachází více než 60 různých aromatických látek, zde byly do souhrnu (tabulka 4.10) vybrány senzoricky významné a nejvíce zastoupené sloučeniny.

Tab. 4.10: Procentuální zastoupení vybraných aromátů v kávě dle baristických metod.

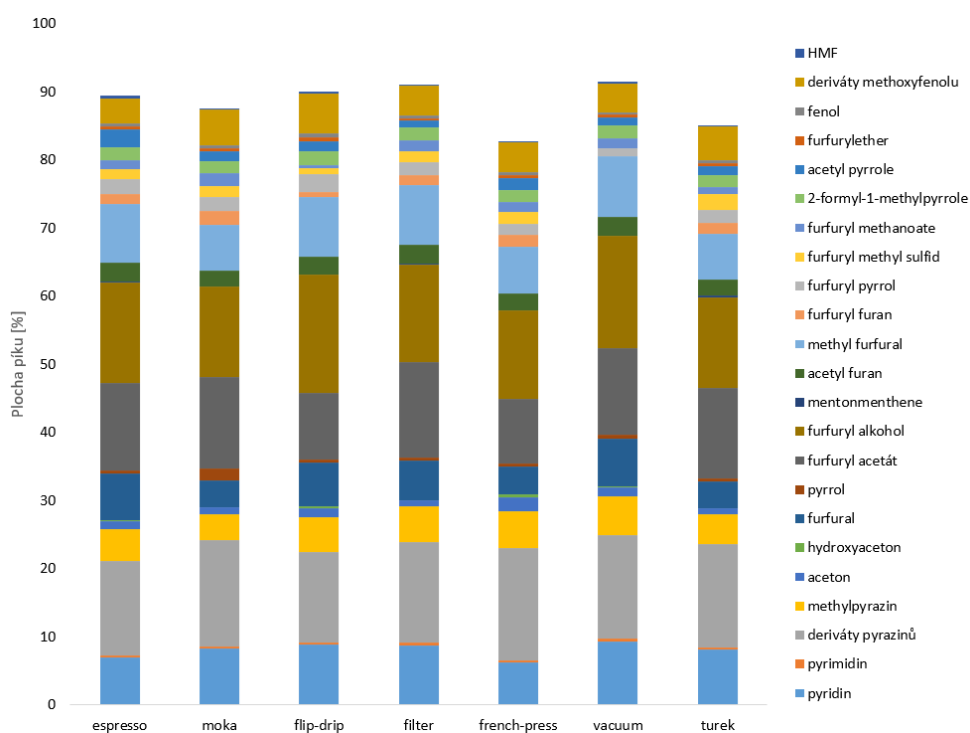
	espresso	moka	flip-drip	filter	french	vacu	turek
pyridin	7	9,4	8,09	11,58	10,43	11,63	8,76
pyrimidin	0,25	0,42	0,23	0,27	0,25	0,23	-
deriváty pyrazinů	13,94	14,35	12,1	13,27	13,06	12,03	11,27
methylpyrazin	4,58	5,95	4,73	3,4	4,84	2,99	4,3
aceton	1,16	1,37	1,29	0,85	0,78	0,78	0,76
hydroxyaceton	0,2	0,26	0,19	-	0,11	-	-
furfural	6,81	7,39	7,03	6,48	6,57	6,36	6,87
pyrrol	0,5	0,45	0,31	0,55	0,46	0,41	0,49
furfuryl acetát	12,81	9,72	7,69	11,79	11,66	11,58	12,45
furfuryl alkohol	14,72	16,9	18,63	14,58	14,4	13,88	13,36
mentonmenthene	0,23	0,15	-	0,15	0,19	0,17	0,17
acetyl furan	2,67	2,78	2,6	2,4	2,34	2,2	2,4
methyl furfural	8,7	8,48	8,87	7,38	7,44	6,94	7,15
furfuryl furan	1,43	0,86	0,83	1,09	1,35	1,14	1,87
furfuryl pyrrol	2,11	1,2	2,81	2,22	2,39	2,32	2,75
furfurylmethylsulfid	1,54	0,92	0,96	1,32	1,57	1,3	1,94
furfurylmethanoate	1,31	0,43	0,31	0,55	0,26	0,41	0,27
formylmethylpyrrol	1,88	1,76	1,96	1,66	1,61	1,61	1,58
acetyl pyrrole	2,67	1,15	1,48	0,94	0,86	0,78	0,81
furfurylether	0,43	0,25	0,63	0,38	0,4	0,39	0,4
fenol	0,71	0,68	0,94	0,68	0,69	0,66	0,59
methoxyfenoly	3,65	3,89	7,1	4,74	4,8	4,76	4,54
HMF	0,47	0,34	0,82	0,84	0,82	1,4	1,49



Obr. 4.17: Ukázka chromatogramu vzorku kávy espresso.



Obr. 4.18: Zastoupení vybraných aromatických látek v baristicky připravené kávě.



Obr. 4.19: Vliv metod s upravenými poměry na zastoupení aromátů ve vzorku.

Tab. 4.11: Procentuální zastoupení vybraných aromatických látek v kávě s upravenými poměry.

	espresso	moka	flip-drip	filter	french	vacu	turek
pyridin	7	8,3	8,86	8,71	6,2	9,34	8,13
pyrimidin	0,25	0,21	0,35	0,38	0,32	0,38	0,28
deriváty pyrazinů	13,94	15,7	13,24	14,82	16,52	15,16	15,21
methylpyrazin	4,58	3,85	5,07	5,18	5,43	5,71	4,34
aceton	1,16	0,95	1,33	0,98	1,96	1,27	0,88
hydroxyaceton	0,2	-	0,24	-	0,48	0,25	-
furfural	6,81	3,92	6,56	5,75	4,08	6,96	3,9
pyrrol	0,5	1,78	0,43	0,46	0,44	0,53	0,46
furfuryl acetát	12,81	13,35	9,7	14,03	9,56	12,8	13,26
furfuryl alkohol	14,72	13,34	17,37	14,31	12,97	16,46	13,36
mentonmenthene	0,23	-	-	0,2	-	-	0,26
acetyl furan	2,67	2,31	2,58	2,76	2,44	2,8	2,34
methyl furfural	8,7	6,78	8,81	8,74	6,86	8,87	6,69
furfuryl furan	1,43	1,99	0,71	1,41	1,69	-	1,62
furfuryl pyrrol	2,11	2,02	2,66	1,92	1,71	1,2	1,93
furfurylmethylsulfid	1,54	1,7	0,88	1,63	1,76	-	2,36
furfurylmethanoate	1,31	1,78	0,39	1,58	1,4	1,43	1,01
formylmethylpyrrol	1,88	1,83	2,04	1,94	1,74	1,87	1,79
acetyl pyrrole	2,67	1,4	1,48	0,92	1,76	1,26	1,21
furfurylether	0,43	0,45	0,62	0,4	0,47	0,3	0,49
fenol	0,71	0,91	0,95	0,61	0,89	0,74	0,86
methoxyfenoly	3,65	5,3	5,81	4,33	4,28	4,29	4,9
HMF	0,47	0,12	0,28	0,25	0,05	0,26	0,09

Dle srovnání jednotlivých aromatických látek na obrázku 4.18 a v tabulce 4.10 je patrné, že největší zastoupení má furfuryl alkohol, furfuryl acetát a součet všech derivátů pyrazinů a to ve všech typech způsobu přípravy. Mezi procentuálním obsahem látek jsou mírné rozdíly, nicméně trend zastoupení zůstává zachován i po upravení poměrů kávy a vody. Furfuryl alkohol byl detekován v nejvyšším množství v kávě připravené ve flip-drip konvičce (18,63 %) a moka konvičce (16,9 %) pravděpodobně z důvodu napaření kávových zrn před samotnou extrakcí. Dle literatury by měl být nejvíce zastoupen právě furfuryl acetát a furfuryl alkohol, což souhlasí s výsledky získanými v této BP [40]. Methylpyrazin a furfural by měly být zastoupeny také ve větším množství, obsah se ale liší v závislosti na pražení kávy (čím méně pražená káva, tím větší obsah).

Při srovnání metod mezi sebou se obsah aromatických látek v kávě příliš neliší, největší rozdíl tvoří vacuum pot, kde se množství aromatických látek výrazně změnilo oproti baristické metodě (z nejmenšího množství po největší). Mnohem více většiny aromatických látek dostaly z kávy upravené poměry a káva získala zajímavější profil i po sensorické stránce. Celkově je pak nejméně těchto aromatických látek v nápoji připraveném technikou french-press.

Hydroxymethylfurfural (HMF) jakožto potenciální karcinogen je v pražené kávě obsažen v množství 300 - 2900 mg HMF na kg kávy, jako limitní hranice pro posouzení zdravotního rizika byla stanovena hodnota 8,57 mg HMF/den u osob s vysokou spotřebou [41]. Do nápoje se dostává (dle obrázku 4.18) jen malé množství HMF (průměrně 0,88 %), nejvíce pak bylo detekováno v turecké kávě (1,49 %). Z výsledků lze usoudit, že metoda přípravy kávy nemá významný vliv na obsah HMF v připravené kávě.

Závěr

Cílem této práce bylo analyzovat vzorky káv připravené rozdílnými baristickými metodami pomocí techniky HPLC, GC, IC, ICP-OES a MAS v UV-VIS oblasti.

Teoretická část práce se zaměřuje na obecné znalosti pěstování rozdílných odrůd kávovníku, technologií zpracování kávy, ale také na známé metody baristických příprav kávy. Druhá část teoretické práce se zaměřuje na chemické složení kávy a popisuje vybrané sloučeniny, které byly posléze v rámci experimentální části analyzovány. Na závěr teoretické části jsou popsány principy analytických metod, které byly v rámci této práce využity.

V experimentální části bylo cílem nejprve podrobit metodu HPLC validaci a posléze určit v reálných vzorcích baristicky připravené kávy množství kofeinu a akrylamidu, proměřit a zjistit celkový obsah fenolických látek pomocí MAS, provést kvantitativní analýzu makro a mikro prvků pomocí techniky ICP-OES, stanovit vybrané organické kyseliny pomocí iontové chromatografie a stanovit procentuální zastoupení aromatických látek pomocí plynové chromatografie.

Na základě proměřených dat můžeme říci, že na obsah sledovaných látek v kávě má vliv zvýšení teploty, tlaku a doby extrakce, takže ve většině měření byla ve velké výhodě káva připravená přes moka konvičku. Z hlediska časové a uživatelské náročnosti byla nejvýhodnější příprava espressa, nicméně pokud je konzument ochoten věnovat přípravě své kávy čas, je z hlediska obsahu sledovaných látek výhodnější vybrat jinou metodu přípravy. Naopak navzdory komplexní přípravě byl stanoven nízký obsah veškerých sledovaných látek v kávě z vaccum konvičky. Metoda přípravy má poměrně vysoký potenciál a dle výsledků můžeme říci, že je výhodnější konzumace s upravenými poměry oproti klasické baristické přípravě.

Po porovnání výsledků lze říci, že obsah sledovaných látek v kávě byl v porovnání s literaturou odlišný, na chemické složení má tedy vliv příliš mnoho aspektů a do budoucna je pro jednotlivé metody vhodné proměřit více proměnných u jednotlivých baristických příprav. Dále by se tato práce dala rozšířit o pozitivní a negativní vliv použité metody přípravy kávy na antioxidační aktivitu kávy a více se zaměřit na vliv různého pražení, druhu kávy, metody zpracování a rozdílný původ zrn.

Literatura

- [1] *Zajímavosti o kávě*. Gourmet káva [online]. [cit. 2020-07-18]. Dostupné z: <<https://www.gourmetkava.cz/cs/17-zajimavosti-o-kave-106>>
- [2] H.-D. BELITZ: *Food Chemistry*. 2009, 4th. Springer, ISBN 978-3-540-69934-7.
- [3] VESELÁ, Petra: *Velká kniha o kávě*. 2018. Česká Republika: Smart Press. ISBN 978-80-88244-05-9.
- [4] *Differences between Arabica and Robusta Coffee*. Coffee Chemistry [online]. [cit. 2020-05-10]. Dostupné z: <<https://www.coffeechemistry.com/general/agronomy/differences-arabica-and-robusta-coffee>>
- [5] *Technologie zpracování kávy*. Kávovník [online]. [cit. 2020-07-18]. Dostupné z: <<https://www.kavovnik.cz/clanky/technologie-zpracovani-kavy/>>
- [6] *Proces pražení*. REPA, The spare parts group [online]. [cit. 2020-07-18]. Dostupné z: <https://www.lfspareparts724.cz/proces_pra%C5%BEen%C3%AD>
- [7] *Stupně pražení kávy*. Coffee dream [online]. [cit. 2020-07-18]. Dostupné z: <https://www.coffeedream.cz/STUPNE-PRAZENI-KAVY-a3_4.htm>
- [8] CHOU, KH a LN BELL: *Caffeine content of prepackaged national-brand and private-label carbonated beverages*. J Food Sci. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2007.00414.x.
- [9] *Káva černá, pražená, mletá*. Kalorické tabulky [online]. [cit. 2020-07-01]. Dostupné z: <<https://www.kaloricketabulky.cz/potraviny/kava-espresso>>
- [10] *Caffeine*. Pubchem [online]. [cit. 2020-06-25]. Dostupné z: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Caffeine>>
- [11] KENNY, Dianna T.: *Caffeine*. 2011. The Psychology of Music Performance Anxiety. Oxford University Press, s. 225. ISBN 978-0-19-958614-1.
- [12] M. Beatriz P. P. Oliveira, Cristina M. D. Soares a Rita C. Alves: *Acrylamide in Coffee: Influence of Processing - Chapter 69*. 2015. Processing and Impact on Active Components in Food. Academic Press, 575-582. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-404699-3.00069-X>. ISBN 978-0-12-404699-3.

- [13] GÖKMEN, Vural: *Acrylamide in Food: Analysis, content and potential health effects*. 2016. Elsevier. ISBN 978-0-12-802832-2.
- [14] KRÓL, Katarzyna, Magdalena GANTNER, Aleksandra TATARAK a Ewelina HALLMANN: *The content of polyphenols in coffee beans as roasting, origin and storage effect*. *European Food Research and Technology* [online]. November 2019, 246, pages 33–39 (2020) [cit. 2020-07-01]. DOI: 10.1007/s00003-007-0247-y. Dostupné z: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s00217-019-03388-9>>
- [15] RAWEL, H.M. a S.E. KULLINGS: *Nutritional contribution of coffee, cacao and tea phenolics to human health*. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit* [online]. November 2007, 2(4):399-406 [cit. 2020-07-01]. DOI: 10.1007/s00003-007-0247-y. Dostupné z: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s00003-007-0247-y>>
- [16] JAROŠOVÁ, M., David MILDE a Martin KUBA: *Elemental analysis of coffee: A comparison of ICP-MS and AAS methods* [online]. [cit. 2020-07-01]. DOI: 10.17221/399/2013-CJFS. Dostupné z: <https://www.researchgate.net/publication/288806043_Elemental_analysis_of_coffee_A_comparison_of_ICP-MS_and_AAS_methods>
- [17] *Mléko*. Bezpečnost potravin [online]. [cit. 2020-07-01]. Dostupné z: <<https://www.bezpecnostpotravin.cz/>>
- [18] D. L. Nelson and M. C. Cox, W. H. Freeman & Co.: *Lehninger: principles of biochemistry*. 2004. New York, 1119 pp (plus 17 pp glossary), ISBN 0-7167-4339-6.
- [19] Janda, K.; Jakubczyk, K.; Baranowska-Bosiacka, I.; Kapczuk, P.; Kochman, J.; Rębacz-Marón, E.; Gutowska, I. *Mineral Composition and Antioxidant Potential of Coffee Beverages Depending on the Brewing Method*. *Foods* 2020, 9, 121
- [20] Balzer H.H.: *Acids in Coffee*. 2001. S. 18 – 32. In: Clarke C.J., Vitztum O. G. (ed), *Coffee: recent Developements*. MPG Books Ltd, Bodmin, 257s.
- [21] Rivera: *J. Organic Acid Analysis of Kenya SL 28 and Other Cultivars*. SCI Technical Papers, 1997, 5-9
- [22] Greenfield, Heather: *Food Composition Data: Production, Management and Use*. Southgate, D.A.T. (2003). Rome: FAO. p. 146. ISBN 9789251049495.

- [23] *Malic acid*. Pubchem [online]. [cit. 2020-07-01]. Dostupné z: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Malic-acid>>
- [24] *Succinic acid*. Pubchem [online]. [cit. 2020-07-01]. Dostupné z: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1110>>
- [25] H. Benninga: *A History of Lactic Acid Making: A Chapter in the History of Biotechnology*. 1990. Volume 11 of Chemists and Chemistry. Springer, ISBN 0792306252/9780792306252
- [26] *Acetic acid*. Pubchem [online]. [cit. 2020-07-01]. Dostupné z: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Acetic-acid>>
- [27] *Formic acid*. Pubchem [online]. [cit. 2020-07-01]. Dostupné z: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Formic-acid>>
- [28] Clarke, R. J.: *The Flavour of Coffee*. In Dev. Food Science. 3 B. 1986. 1-47.
- [29] *Coffee Chemistry: Coffee Aroma*. Coffeeresearch.org [online]. [cit. 2020-07-01]. Dostupné z: <<http://www.coffeeresearch.org/science/aromamain.htm>>
- [30] FLAMENT, Ivon: *Coffee Flavor Chemistry*. 2001. England: Wiley. ISBN 978-0-471-72038-6.
- [31] YI-FANG CHU: *Coffee*. 2012. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell. ISBN 0470958782.
- [32] BAZZARA, Franco a Mauro BAZZARA: *Coffee Tasting*. 2014. Italy: Planet Coffee Srl. ISBN 9788890368318 / 8890368314.
- [33] SOMMER, Lumír: *Základy analytické chemie II.*. 1998. Brno: VUTIUM. ISBN 80-214-1742-0.
- [34] NĚMCOVÁ, Irena, Petr RYCHLOVSKÝ a Ludmila ČERMÁKOVÁ: *Spektrometrické analytické metody*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 1997-1998, 2 sv. ISBN 80-718-4365-2.
- [35] Karageorgou, E., & Samanidou, V.: *Spektrometrické analytické metody*. (2014). Youden test application in robustness assays during method validation. Journal of Chromatography A, 1353, 131–139. doi:10.1016/j.chroma.2014.01.050
- [36] *Přehled druhů kávy*. Coffee spot [online]. In: . [cit. 2020-07-18]. Dostupné z: <<https://www.coffeespot.cz/druhy-kavy-espresso>>
- [37] Stratil, P., Kuban, V. & Fojtova, J.: *Comparison of the phenolic content and total antioxidant activity in wines as determined by spectrophotometric methods*. (2008).Czech Journal of Food Sciences, 26(4), 242-253.

- [38] *On-line databáze složení potravin ČR*. Verze 4.13. In: Centrum pro databázi složení potravin ČR. Ústav zemědělské ekonomiky a informací a Výzkumný ústav potravinářský Praha [online]. 2013 [cit. 2020-07-18]. Dostupné z: <<http://www.nutridatabaze.cz/>>
- [39] *Coffee Chemistry: Coffee Acidity*. Coffeeresearch.org [online]. [cit. 2020-07-22]. Dostupné z: <<http://www.coffeeresearch.org/science/sourmain.htm>>
- [40] RYCHLÁ, Aneta: *Analýza markerů pro charakterizaci kávy*. 2013. Olomouc. Bakalářská práce. Katedra analytické chemie, Přírodovědecká fakulta UP. Vedoucí práce Doc. RNDr. Petr Barták, Ph. D.
- [41] Arribas-Lorenzo G, Morales FJ.: *E Estimation of dietary intake of 5-hydroxymethylfurfural and related substances from coffee to Spanish population*. Food Chem Toxicol. 2010;48(2):644-649. doi:10.1016/j.fct.2009.11.046

Seznam zkratek

ACN	Acetonitril
CFL	Celkové fenolické látky
ČMI	Český Metrologický Institut
DAD	Diode array detector (detektor diodového pole)
EtOH	Ethanol
FC	Folin-Ciocalteu
GC	Gas Chromatography (plynová chromatografie)
HMF	Hydroxymethylfurfural
HPLC	High-performance Liquid Chromatography (vysokoučinná kapalinová chromatografie)
HS-SPME-GC-MS	Headspace Solid-phase Microextraction coupled to gas chromatography–mass spectrometry (mikroextrakce tuhou fází v kombinaci s plynovou chromatografií a hmotnostním spektrometrem)
IC	Ion Chromatography (iontová chromatografie)
ICP	Inductively Coupled Plasma (indukčně vázané plazma)
ICP-OES	Inductively Coupled Plasma with Optical Emission Spectroscopy (indukčně vázané plazma v optickém emisním spektrofotometru)
LOD	limit of detection (limit detekce)
LOQ	limit of quantification (limit kvantifikace)
MAS	Molekulová absorpční spektrometrie
MS	Mass Spectrometry (hmotnostní spektrometrie)
OES	Optical Emission Spectroscopy (optický emisní spektrofotometr)
SIM	Slovak Institute of Metrology

A Obsah přiloženého CD

/	kořenový adresář přiloženého CD
├	export z měření.....exportované data z měřících přístrojů
│	├ GC..... exportované data z plynové chromatografie
│	│ └ grafy.doc.....chromatogramy jednotlivých káv
│	│ └ kafe 1.xlsx.....výčet všech aromatických látek
│	│ └ ...
│	│ └ kafe 14.xlsx.....výčet všech aromatických látek
│	├ HPLC..... exportované data z kapalinové chromatografie
│	│ └ 2019-11-26_kofein_LOD.pdf.....exportovaná data pro měření LOD
│	│ └ 2019-11-27_akrylamid_cal.pdf..... kalibrace na měření akrylamidu
│	│ └ 2020_0602_vzorcky_kofein_AA.xlsx....exportované data reálných vzorků
│	│ └ 2020-06-02_robustnost_I.pdf . exportovaná data pro měření robustnosti
│	│ └ ...
│	│ └ 2020-06-02_robustnost_VIII.pdf exportovaná data pro měření robustnosti
│	├ IC.....exportované data z iontové chromatografie
│	│ └ IC_kava.pdf exportovaná data standardů kyselin
│	│ └ ...
│	│ └ IC_kava 42.pdf chromatogram reálného vzorku
│	│ └ IC_summary.pdf exportovaná data všech vzorků kávy
├	obrazové přílohy..... fotografie
│	└ student-desky.pdf
├	výpočty..... soubory s výpočty
│	└ GC_vyhodnocení.xlsx.....celkové vyhodnocení všech aromatických látek
│	└ HPLC.xlsx..... veškeré výpočty a grafy pro metodu HPLC
│	└ IC.xlsx..... veškeré výpočty a grafy pro metodu IC
│	└ ICP-OES.xlsx.....veškeré výpočty a grafy pro metodu ICP-OES
│	└ polyfenoly.xlsx veškeré výpočty a grafy pro stanovení CFL
│	└ robustnost_kofein.xlsx...veškeré výpočty pro stanovení robustnosti HPLC
└	2020_BP_Prochazkova_Kristina_203880.pdf pdf soubor bakalářské práce