

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky



**Česká zemědělská
univerzita v Praze**

**Vliv extraktu ze zelených kávových bobů na redukci
hmotnosti**

Diplomová práce

Bc. Veronika Jelínková

Výživa a potraviny

prof. Ing. Lenka Kouřimská, Ph.D.

© 2021 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vliv extraktu ze zelených kávových bobů na redukci hmotnosti" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího a konzultanta diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 26. 4. 2021

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Josefu Soukupovi za jeho ochotu a čas věnovaný mé práci, za odpovědi na mé dotazy a pomoc s realizací výzkumu. Dále mé vedoucí práce prof. Ing. Lence Kouřimské za vedení a odborné rady. Také bych ráda poděkovala za spolupráci všem účastníkům experimentální části této práce, kteří se zodpovědně zhostili dodržování pravidel výzkumu i v této nepříznivé době. V neposlední řadě děkuji mé rodině, která mě podporovala nejen při psaní závěrečné práce, ale během celého mého studia.

Vliv extraktu ze zelených kávových bobů na redukci hmotnosti

Souhrn

Zelená kávová zrna a extrakty z nich jsou bohatým zdrojem přirozených antioxidantů a řady významných rostlinných biomolekul. S ohledem na jejich mechanismy působení a slibné farmakologické účinky potvrzené mnoha studii, se otevírá prostor pro využití zelené kávy jako nutraceutika, s potenciálním přínosem nejen při snaze o redukci tělesné hmotnosti.

Teoretická část práce je na základě prostudování dostupné odborné literatury věnována podrobnému přehledu chemického složení zeleného kávového zrna, účinkům některých obsažených látek, zejména chlorogenové kyseliny a přehledu publikovaných studií zabývajících se mechanismy působení.

Cílem této práce bylo posoudit vliv perorálního užívání extraktu ze zelené kávy (GCBE) na tělesné složení. Druhá část práce se věnuje praktickému provedení zaslepené placebem kontrolované křížové studie. 12 zdravých jedinců ve věku 21–54 let, s průměrnou tělesnou hmotností $82,71 \pm 11,97$ kg a průměrným indexem tělesné hmotnosti (BMI) $27,89 \pm 3,62$ kg/m² bylo náhodně rozděleno do dvou stejně velkých skupin. Intervenční skupina užívala extrakt ze zelené kávy (400 mg CGA) a kontrolní skupina užívala placebo. Křížový design výzkumu spočíval ve dvou intervenčních obdobích (trvajících 6 týdnů), mezi nimiž byla 1 týden pauza. Účastníci obou skupin užívali 1 tobolku denně a současně dodržovali pestrý stravovací režim odpovídající vyrovnané energetické bilanci.

Po prvních 6 týdnech intervence bylo u skupiny užívající účinnou látku pozorováno průměrné snížení hmotnosti o $2,02 \pm 1,28$ kg (2,5 %) ($p = 0,012$) ve srovnání s kontrolní skupinou, ve které redukce tělesné hmotnosti dosáhla $0,50 \pm 0,83$ kg (0,6 %) ($p = 0,200$). Změny celkového množství tělesného tuku byly $-1,55 \pm 0,46$ kg ($p = 0,033$) pro intervenční skupinu vs. $-0,87 \pm 1,28$ kg ($p = 0,190$) pro placebo. Pro zhodnocení změn množství viscerálního tuku nebylo k dispozici adekvátní technické vybavení, proto lze vliv konzumace účinné látky na tyto parametry posuzovat pouze orientačně na základě hodnot celkového množství tuku v oblasti trupu, které bylo možné na zařízení InBody 270 změřit. Výsledné hodnoty byly statisticky významné pouze u intervenční skupiny, $-0,92 \pm 0,35$ kg tuku ($p = 0,001$).

Vzhledem k pandemické situaci, nouzovému stavu a zpřísňujícím se vládním opatřením omezujícím volný pohyb osob, nebylo v rámci bezpečnosti a technické náročnosti možné uskutečnit plánovaný design studie a zajistit tak odpovídající podmínky i pro druhou část výzkumu.

Výsledky první části poukazují na potenciální účinky užívání extraktu zelené kávy související se změnou tělesného složení u zdravých jedinců s vyváženým energetickým příjmem bez zásahu do jejich pohybového režimu. K potvrzení věrohodnosti těchto výsledků je zapotřebí shromáždit relevantnější data na základě širšího výzkumného vzorku a dodržet design křížové studie.

Klíčová slova: zelená káva, kofein, chlorogenová kyselina, extrakt ze zelených kávových bobů, redukce hmotnosti

Effects of green coffee bean extract on the weight loss

Summary

Green coffee beans and extracts from them are a rich source of natural antioxidants and a number of beneficial plant biomolecules. The use of green coffee as a nutraceutical is confirmed by many studies. Mechanism of action and promising pharmacological effects bring potential benefits not only in the effort to reduce body weight.

The theoretical part of this thesis focused on the information about current available literature and provides a detailed overview of the chemical composition of green coffee beans, the effects of some substances, especially chlorogenic acid, as well as an overview of published studies describing mechanisms of action.

The purpose of the study was to examine the effect of green coffee bean extract (GCBE) consumption on body composition. The practical part deals with the implementation of a randomized, blinded, placebo-controlled, clinical crossover trial. Twelve healthy individuals aged 21–54 years, with a mean body weight of 82.71 ± 11.97 kg and a mean body mass index (BMI) of 27.89 ± 3.62 kg / m², were randomly divided into two equal groups. The intervention group consumed green coffee extract (400 mg CGA) while control group took placebo. The cross-design of the research was consisted of two intervention periods (lasting 6 weeks), between which there was a 1-week break. Each volunteer took 1 capsule of GCBE or placebo daily. Both groups were advised to follow an energy balanced diet.

After the first 6 weeks of intervention, GCBE supplementation significantly reduced weight MD: -2.02 ± 1.28 kg (2.5 %) ($p = 0.012$) compared to the control group, in which the weight loss reached MD: -0.50 ± 0.83 kg (0.6 %) ($p = 0.200$). Total body fat decreased significantly within the GCBE group MD: -1.55 ± 0.46 kg ($p = 0.033$) compared to placebo group MD: -0.87 ± 1.28 kg ($p = 0.190$). Technical equipment (InBody 270) was not available to measure visceral fat values, so the effect of GCBE consumption on this parameter was evaluated approximately from the amount of total body fat. The values were statistically significant only in the intervention group MD: -0.92 ± 0.35 kg fat ($p = 0.001$).

Due to the pandemic situation, the state of emergency and the tightening of government measures restricting the free movement of persons, it was not possible to carry out the planned design of the study. The same conditions for the second phase of the research were not possible to ensure because of safety and technical equipment.

To sum up, the results of the first phase point to the potential effects of green coffee extract consumption associated with a body composition changes in healthy individuals with the energy balanced diet without interference in level of physical activity. To confirm the credibility of these results, it is necessary to collect more relevant data based on a larger sample and to keep the design of the crossover study.

Keywords: green coffee, caffeine, chlorogenic acid, green coffee bean extract (GCBE), weight loss

Obsah

1 Úvod	8
2 Vědecká hypotéza a cíle práce	9
2.1 Cíl práce	9
2.2 Hypotéza	9
3 Literární rešerše.....	10
3.1 Káva.....	10
3.1.1 Historie a původ.....	10
3.1.2 Pěstování.....	10
3.1.3 Druhy kávovníku	12
3.1.3.1 Kávovník arabský.....	13
3.1.3.2 Kávovník statný.....	13
3.1.3.3 Kávovník liberijský	13
3.1.4 Technologie sklizně a zpracování kávových zrn.....	14
3.1.4.1 Sklizeň kávových třešní.....	14
3.1.4.2 Odstranění dužiny.....	15
3.1.4.3 Vývoz zrna a transport	16
3.2 Chemické složení kávového zrna	17
3.2.1 Polysacharidy, sacharóza a další redukující cukry	18
3.2.2 Proteiny a aminokyseliny	18
3.2.3 Lipidy.....	18
3.2.4 Minerální látky.....	18
3.2.5 Fenolové sloučeniny v kávě.....	19
3.2.5.1 Význam a vlastnosti	19
3.2.5.2 Využití fenolových sloučenin.....	19
3.2.6 Další sloučeniny.....	20
3.3 Chlorogenové kyseliny (CGA)	21
3.3.1 Deriváty chlorogenových kyselin a jejich izomery	21
3.3.2 Kafeoylchinová kyselina (3-CQA/5-CQA).....	23
3.3.3 Obsah chlorogenových kyselin v zelených kávových zrnech	23
3.3.4 Metabolismus a biologická dostupnost chlorogenových kyselin	24
3.3.4.1 Absorpce v lidském těle	24
3.3.4.2 Bioaktivní metabolity	26
3.3.5 Účinky chlorogenových kyselin	26
3.3.6 Působení na lidský organismus.....	27
3.4 Rešerše studií prokazující účinky zelené kávy a jejích složek	29

3.4.1	Antioxidační účinky.....	29
3.4.2	Účinky na kardiovaskulární systém.....	30
3.4.2.1	Antihypertenzní účinky	30
3.4.3	Účinky na metabolismus glukózy a lipidů.....	31
3.4.3.1	Interakce s metabolismem glukózy	32
3.4.3.2	Interakce s metabolismem lipidů.....	33
3.4.4	Stimulační a neuroprotektivní účinky.....	34
3.4.5	Další účinky	34
3.5	Extrakt ze zelených kávových zrn a redukce tělesné hmotnosti.....	34
3.5.1	Mechanismus účinku	35
3.5.2	Studie na zvířecím modelu	36
3.5.3	Klinické studie	37
3.6	Měření tělesného složení	38
4	Metodika	39
4.1	Účastníci.....	39
4.2	Design experimentu.....	40
4.3	Přípravek	41
4.4	Měření antropometrických parametrů a tělesného složení.....	41
4.5	Statistická analýza.....	42
5	Výsledky	43
6	Diskuze	45
7	Závěr.....	48
8	Literatura.....	49
9	Seznam použitých zkratk a symbolů	61
10	Samostatné přílohy	I

1 Úvod

Za každým kávovým zrnkem si lze představit jak namáhavou ruční práci mnoha stovek až tisíců lidí, tak i množství tělu prospěšných látek. Co si ale většina z nás představí, je aromatický nápoj tmavé barvy působící na náš organismus povzbudivě či relaxačně v závislosti na okamžiku, kdy si jej vychutnáváme.

Šálky tohoto velmi oblíbeného nápoje, připraveného z různě kvalitních zrn z celého světa, konzumují mnozí z nás takřka denně. Co nás doslova nenechává klidnými, je účinnost látek v kávě obsažených. Kávová zrna v různých podobách, stupních zralosti a zpracování jsou předmětem mnoha výzkumů. Stále více se hovoří o různých zdravotních benefitech, které konzumace kávy přináší (Poole et al. 2017).

Spolu s opěvováním možných pozitivních účinků však přibývá také mnoho diskusí a spekulací o nepříznivém působení (Butt & Sultan 2011). Jedno je jisté, popularizace vědeckých poznatků s sebou přináší určité výhody, ale zároveň i otevírá cestu pro vznik mýtů nebo polopравd, které už není tak jednoduché odhalit. Často se určité poznatky zvětčují nebo poupravují do takových podob, aby působily zajímavě především na trhu. Některé účinky na lidské zdraví jsou bohužel odbornými výzkumy nejednoznačně potvrzeny a zůstávají nadále velmi diskutovány, zároveň ale podněcují ke vzniku další experimentální činnosti (Ludwig et al. 2014).

Současná statistická data ukazují přímý vzestup prevalence a incidence nadváhy či obezity v celosvětovém měřítku. Toto multifaktoriální onemocnění, již není otázkou pouze rozvinutých zemí, nýbrž rapidně roste i počet případů v zemích třetího světa. Alarmující trend s sebou přináší velký zájem hledat bezpečné a účinné cesty, jak napomáhat v boji proti obezitě. Snahou je nejen redukovat tělesnou hmotnost, ale i předejít zvýšenému riziku přidružených komplikací a onemocnění, které zásadně ovlivňují zdraví jedince a snižují kvalitu jeho života nebo jej zkracují (Seidell & Halberstadt 2015).

Na trhu nalezneme nespočet přípravků, napomáhajících redukcii tělesné hmotnosti s různým mechanismem působení. Nejčastěji fungují na principu zvýšení celkové rychlosti metabolismu, snížení vstřebávání makroživin během trávení či ovlivnění chuti k jídlu (Stohs & Badmaev 2016). Mezi tyto látky patří i extrakt ze zelených kávových bobů, který je díky vysokému obsahu bioaktivních sloučenin zodpovědný za mnoho zdraví prospěšných terapeutických účinků (Tajik et al. 2017).

Vzhledem k mechanismům působení různých sloučenin obsažených v zeleném kávovém zrnku, majícím vliv například na metabolismus glukózy a lipidů, lze předpokládat vliv i na změnu vybraných parametrů složení těla. Polyfenoly v zelené kávě podle mnoha tvrzení zabraňují nebo zlepšují průběh nemoci spojené s oxidačním stresem a s ním přidruženými komplikacemi. Existuje mnoho důkazů, že mají vliv na složky metabolického syndromu, jako jsou obezita, diabetes 2. typu nebo ateroskleróza (Sarriá et al. 2016).

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

2.1 Cíl práce

Cílem práce bylo poskytnout teoretický přehled dané problematiky a zhodnocení stávající odborné literatury na toto téma.

V praktické části pak byl zkoumán vliv suplementace extraktu ze zelených kávových bobů u jedinců, kteří dodržovali stejný či velmi podobný stravovací a pohybový režim.

2.2 Hypotéza

Jedinci užívající extrakt ze zelených kávových bobů budou mít nižší procento podkožního a viscerálního tuku oproti placebo.

3 Literární rešerše

3.1 Káva

Cesta kávy od rostlinky po šálek kávy je obrovským celosvětovým byznysem. Podle tvrzení Organizace pro výživu a zemědělství (FAO) při OSN z roku 2006 byla kávovníková zrna na čtvrtém místě v tabulce nejobchodovanějších zemědělských komodit. Podle Světové organizace pro kávu (ICO) vzrostla celková produkce kávy mezi roky 2019 a 2020 o 6,4 %. Světová spotřeba kávy za poslední 4 roky se dle ukazatele složené roční míry růstu zvýšila o 1,1 %. Data z roku 2020 také ukazují, že mezi největší evropské konzumenty kávy patří severské země. V přepočtu na jednoho obyvatele připadá na každého obyvatele Finska, Švédska, Norska a Dánska více než 10 kg spotřebovaných kávových zrn za jeden kalendářní rok (ICO 2020).

3.1.1 Historie a původ

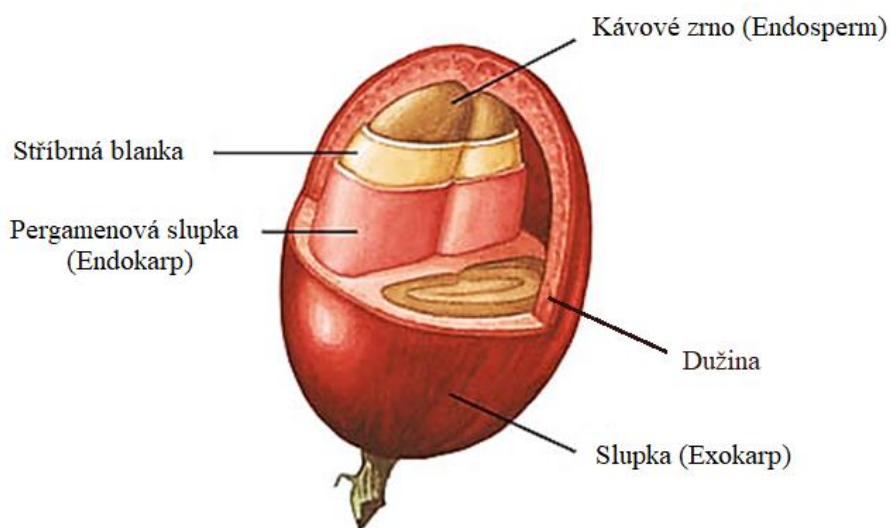
Doposud není jisté, kdy se příběh kávy začal psát. Existuje mnoho legend, které původ kávovníku, jeho plodů a počátky konzumace kávy objasňují. Kávovník jako takový je známý již několik tisíciletí a za původní oblastí výskytu se považuje území Etiopie ve východní Africe. Pouze v Etiopii a Jemenu je totiž možné najít divoce rostoucí kávovníky v přirozeném prostředí. Odtud zřejmě započalo rozšiřování sazenic. Díky kočovným kmenům obchodníků či migrujícím domorodcům se tak káva, kávovníky a pití černého nápoje rozšířily dál až do všech koutů světa (Davies Veselá 2018). Za klíčový rozvoj éry kávovníkových plantáží se považuje expanze na Arabský poloostrov ve 13. až 14. století. Distribuce kávy byla toho času velmi pečlivě kontrolována a vývoz zelené rostliny byl přísně zakázán. Až kolem roku 1600 se díky Holanďanům dostala káva do Indie a v roce 1615 se benátský kupci zasloužili o její rozšíření do Evropy. Americký kontinent si na kávu počkal až do roku 1668. O pár let později v roce 1699 se káva objevuje také v Indonésii. Za největší expanzi pěstování kávy je považováno rozlehlé zakládání kávovníkových plantáží v Brazílii v roce 1830 (Augustín 2016; Davies Veselá 2018). Díky své poloze a environmentálním podmínkám, vhodným k pěstování této plodiny, si i v současnosti Brazílie udržuje prvenství mezi celosvětovými producenty kávy (ICO 2020).

3.1.2 Pěstování

Coffea neboli kávovník je bíle kvetoucí ovocný strom z čeledi *Rubiaceae* (mořenovitě) nesoucí červené či fialové plody. Taxonomické zařazení kávovníku je uvedeno v Tabulce 1. Z botanického hlediska se jedná o peckovinu. Na rozdíl od ostatních plodů tohoto ovocného druhu se kávové třešně nepěstují pro svou dužinu, nýbrž pro svá semena. Kávová zrna, uložená pod tuhou slupkou (pergamen) a nasládlým dužnatým oplodím, jsou tedy pecky „kávových třešní“ (Obrázek 1) (Easto & Willhoff 2018). Kávovník je také jedna z mála rostlin, na kterých můžeme pozorovat bílé vonící květy a současně i zrající bobule o průměru přibližně 1,5 cm. Podle druhu a odrůdy mohou kávovníky dosahovat výšky 3–15 metrů, přičemž se běžně zařezávají na výšku kolem 2–2,5 m pro usnadnění ruční sklizně (Belitz et al. 2009).

Tabulka 1: Taxonomické zařazení kávovníku

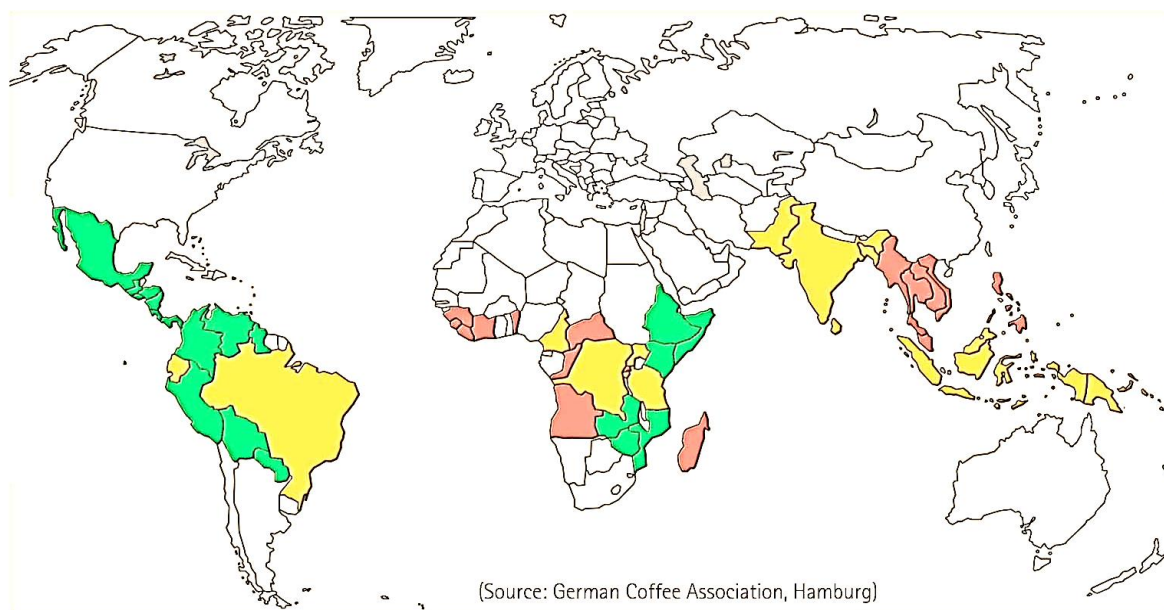
Říše	Rostliny (<i>Plantae</i>)
Podříše	Cévnaté rostliny (<i>Tracheobionta</i>)
Oddělení	Krytosemenné (<i>Magnoliophyta</i>)
Třída	Dvouděložné (<i>Dicotyledoneae</i>)
Podtřída	<i>Asteridae</i>
Řád	Hořcotvaré (<i>Gentianales</i>)
Čeleď	Mořenovité (<i>Rubiaceae</i>)
Rod	Kávovník (<i>Coffea</i>)



Obrázek 1: Plod kávovníku („kávová třešeň“)

(zdroj obrázku: <https://banua.sk/svet-kavy/zaujímavosti-o-kave/salka-kavy-to-je-70-kavovych-zrn>)

Obecně lze říct, že kávovníky rostou v tropických a subtropických oblastech mezi obratníkem Raka a Kozoroha, v tzv. kávovém pásmu (viz Obrázek 2). Káva se zde pěstuje ve více než 50 zemích (Easto & Willhoff 2018).



■ 100 % Robusta ■ 100 % Arabica ■ 100 % Robusta Et Arabica

Obrázek 2: Oblasti pěstování kávy–tzv. kávový pás
(zdroj obrázku: <https://www.amoracoffee.com/the-coffee-belt/>)

Rostlina kávovníku dospívá a postupně začíná přinášet úrodu po 3–5 letech od výsadby v závislosti na druhu (Davies Veselá 2018). Maximálního výnosu je dosaženo po 10–15 letech (Belitz et al. 2009). Výnosy jednoho kávovníku jsou dle výzkumů National Coffee Association zhruba 4,5 kg třešní, což odpovídá přibližně 1 kg zelených kávových zrn. Pražením se hmotnost zrn snižuje, proto ve výsledku množství pražené kávy z jednoho kávovníku činní méně než 1 kg za rok (Easto & Willhoff 2018). Produktivita jednoho stromu se odhaduje na 30–40 let, přičemž životnost rostliny i více než 100 let. Na kávových plantážích dochází k náhradě starých rostlin asi po 30 letech, kdy potřebu omlazování signalizují nižší výnosy (Augustín 2016).

Všeobecné dělení kávovníkových zrn dle geografického původu (Augustín 2016):

- africká a arabská zrna (výrazné chuťové vlastnosti)
- zrna z oblasti Indonésie (bohatá chuť, těžší tělo)
- zrna ze Střední a Jižní Ameriky (lehká a rozmanitá chuť)
- zrna z jiných oblastí (zrna z Galapág či Havajských ostrovů)

3.1.3 Druhy kávovníku

Stejně jako chmelu nebo vinné révy, tak i kávovníků, v současnosti existuje velké množství jak druhů, tak i variet, lišících se technologickými, chemickými a senzorickými vlastnostmi. Ačkoliv je v dnešní době identifikováno již více než 100 druhů, tak k hospodářsky významným, a současně i k hojně pěstovaným patří pouze dva, a to kávovník arabský (*Coffea arabica*) a kávovník statný (*Coffea canephora*). Tyto dva druhy jsou běžně známé pod označením Arabika a Robusta. K dalším méně hospodářsky významným zástupcům patří kávovník liberijský, úzkolistý nebo kávovník šari (Augustín 2016; Easto & Willhoff 2018).

3.1.3.1 Kávovník arabský

Ze zrn druhu *Coffea arabica* se připravují ty nejlepší kávy světa, díky její jemné ovocné chuti s kyselým náznakem, malou hořkostí a v neposlední řadě i jemným aroma. Nejčastější a nejvýnosnější pěstitelské oblasti tohoto rodu se nachází ve Střední a Jižní Americe. Ideální teplota je 15–24 °C a doba zrání 9–11 měsíců. Arabice se daří ve vyšších nadmořských výškách mezi 600–2500 m. n. m. V současné době známe asi 600 druhů odrůd kávovníku arabského, z nichž se na trhu vyskytují především dvě nejznámější variety *Coffea arabica varietata typica* a *Coffea arabica varietata bourbon* (Thorn 2000; Davies Veselá 2018).

3.1.3.2 Kávovník statný

Druhým nejčastěji pěstovaným kávovníkem je *Coffea canephora*. Produkční oblasti tohoto druhu jsou v západní a střední Africe, jihovýchodní Asii a v menší míře i v Brazílii. Rostlina tohoto druhu dobře snáší teploty 24–30 °C, je tedy vhodná k pěstování i v nižších nadmořských výškách kolem 200–600 m. n. m. Dozrává v porovnání s předchozím rodem *Coffea arabica* v kratším čase. Je také odolnější vůči chorobám a škůdcům a vůči nepříznivým klimatickým podmínkám. Ve srovnání s druhy arabských kávovníků poskytuje tento strom kávovníková zrna horší kvality, vnímáno dle významnější hořkosti, aroma a vyšší koncentrace kofeinu v šálku, a proto je levnější. Robusta je oblíbená především ve Francii, Itálii nebo Anglii (Augustín 2016; Davies Veselá 2018).

Keře nebo stromy *Coffea arabica* produkují zhruba 65 % celosvětového objemu kávových zrn. Vedle toho *Coffea canephora* se podílí asi z 30–35 %. Podíl produkce kávových zrn se zvyšuje ve prospěch *Coffea canephora*, neboť jeho pěstováním se dosahují větší výnosy a oproti kávovníku arabskému jsou méně náročné na pěstování a odolnější proti onemocněním (Augustín 2016).

Extrakt ze zelených fazolí (GCBE) se skládá z nepražených kávových zrn a obsahuje vyšší množství bioaktivních fytochemikálií, než je tomu u obvyklé pražené kávy, která se obvykle konzumuje (Sarriá et al. 2016). Studie potvrdily silnou závislost složení extraktu na vlastnostech a aktivitě látek obsažených v zelených fazolích (Masek et al. 2020). Antioxidační kapacita kávy koreluje s obsahem polyfenolových látek (Masek et al. 2020), na druhé straně vysoký obsah kofeinu snižuje použitelnost těchto výtažků, a to díky známým stimulačním účinkům na nervový systém (Babova et al. 2016). Analýza některých látek v extraktech z různých druhů zelených kávových zrn od Babova et al. (2016) odhalila vždy vyšší obsah kofeinu v druzích *Coffea canephora*, zatímco *Coffea arabica* (Keňa) vykazovala vyšší obsah chlorogenových kyselin a zároveň nižší obsah kofeinu. Podle autorů se proto zdá být *C. arabica* z Keni nejvhodnějším zdrojem zelené kávy pro nutraceutické účely.

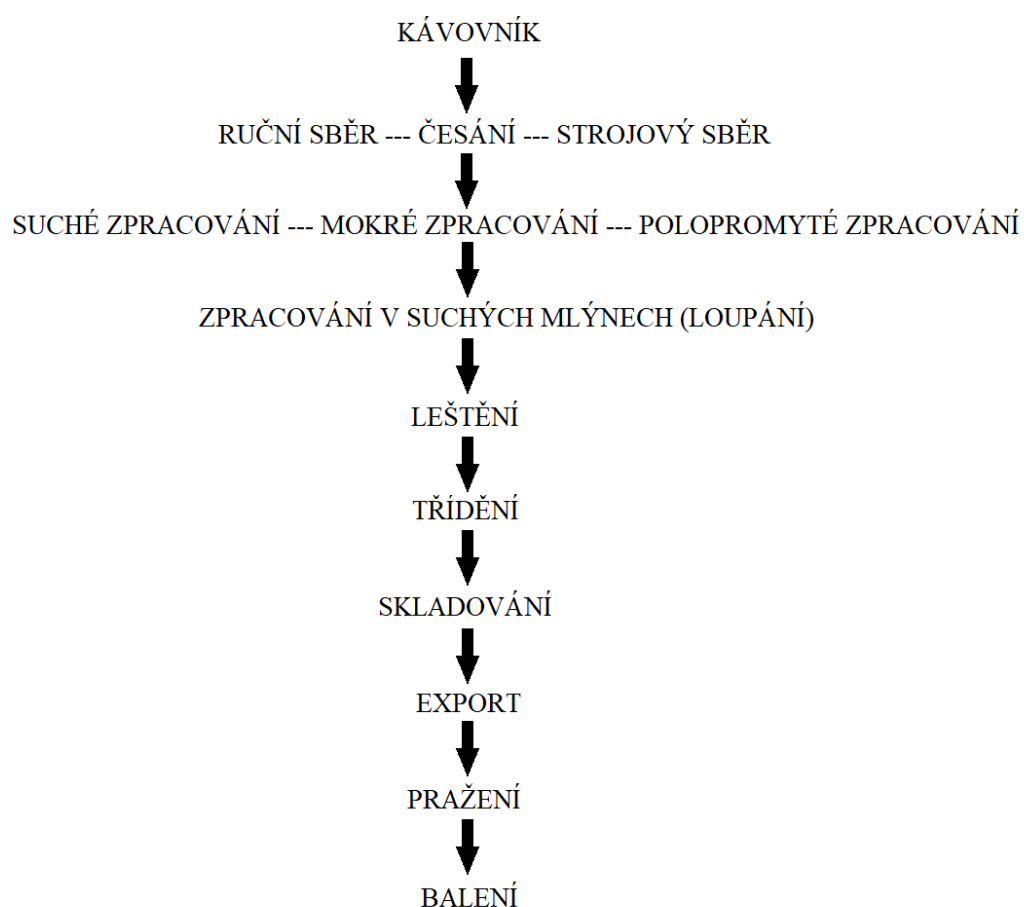
3.1.3.3 Kávovník liberijský

Kávovník tohoto druhu dorůstá výšky až 18 metrů. Jeho květy, listy i samotné plody dorůstají větší velikosti než u druhů předchozích, z tohoto důvodu lze Liberiku snadno rozlišit již na první pohled. Při dozrávání přechází zabarvení plodů z tmavě červeného až do fialového.

Pro své charakteristické aroma a chuť a současně i slabší kvalitu obsažených látek jsou značně neatraktivní a poptávka na trhu je nízká, proto se pěstují jen okrajově pouze v oblastech Libérie, Konga a Pobřeží Slonoviny (Thorn 2000; Augustín 2016).

3.1.4 Technologie sklizně a zpracování kávových zrn

S celosvětově vzrůstající spotřebou kávy, a tím i velkou poptávkou docházelo k rozšiřování pěstování kávovníků a zakládání kávovníkových plantáží všude tam, kde to z klimatických podmínek bylo alespoň trochu možné. Nicméně i přes rozrůstající se mechanizaci je sklizeň kávy stále z velké části namáhavým procesem zahrnující manuální lidskou činnost (Augustín 2016). Schéma technologického procesu zpracování kávy je uvedeno na Obrázku 3.



Obrázek 1: Schéma zpracování kávy (vlastní tvorba)

3.1.4.1 Sklizeň kávových třešní

Ruční sběr (picking)

Ruční sběr je možné uskutečnit pouze v období optimální zralosti kávových třešní a existují dvě možnosti jejich sklizně. První je ruční sběr tzv. pásovou technikou, kdy se celá úroda sklízí jedním přechodem sběračů po plantáži. Druhým způsobem je tzv. výběrová technika, vyžadující několik přechodů přes kávovníkovou plantáž v rozmezí 8–10 dnů. Při tomto způsobu jsou sklizeny jen dokonale zralé červeně zbarvené třešně (Augustín 2016).

Výběrový sběr je ekonomicky náročnější než první způsob a je proto je využíván především jen u sklizně Arabik. Kávové bobule sbírané ručně jsou dražší, ale kvalitnější (Davies Veselá 2018).

Výhodou ručního sběru je jeho šetrnost, nedochází k poškození kávovníků ani zelených částí rostliny. Zamezuje také sběru nezralých plodů, které po utržení již nedozrají nebo jinak poškozených či napadených plodů, které by mohly výslednou úrodu pokazit (Thorn 2000).

Stírání, opadávání a setřásání (stripping)

Při této metodě sběrači strhávají veškeré plody po celé délce větve kávovníku a sypou do předem připravených košů nebo na rozprostřená plátna. Tento způsob je typický pro Brazílii. Je sice rychlejší, ale k rostlinám není zcela šetrný. Do košů se navíc dostávají veškeré plody – zralé, nezralé i poškozené. Takto sklizené plody navíc v dalším kroku vyžadují časově náročné třídění (Davies Veselá 2018).

Mechanizovaný sběr (strojový)

Tento způsob je možný pouze na kávovníkových plantážích v nižších nadmořských výškách, kde je rovná zem. Speciální kombajn projíždí plantáž a z keřů nebo stromků sklízí za pomoci uzpůsobených radlic všechny kávovníkové bobule i s listy a shromažďuje je v násypníku. Následně je nutné sklizeň přebrat a odstranit kontaminující části. Výsledky jsou podobné jako při ručním strippingu, ale sklizeň je rychlejší. Tento způsob sklizně je také ekonomicky nejvýhodnější, ale není ke kávovníkům vůbec šetrný (Davies Veselá 2018). I přesto je využíván i mezi malými i středními farmami, produkující velmi kvalitní zrna. Třídící práce jsou totiž zajišťovány moderní technikou a jsou automatizované. Farmářům tento způsob sklizně zajišťuje nižší náklady a nezávislost na sezónní pracovní síle (Augustín 2016).

3.1.4.2 Odstranění dužiny

Kávovníkové bobule jsou zpracovány bezprostředně po sklizni. Je nutné oddělit zelená kávová zrna od třešňové dužiny. Tento krok má zároveň výrazný vliv jak na chuť, tak na cenu kávových zrn. Obecně jsou známy tři způsoby izolace kávových zrn: suchou cestou, mokrou cestou a polo-promývanou metodou. Uvedené způsoby zpracování se liší technikou i energetickou náročností (Easto & Willhoff 2018).

Suchý způsob zpracování (natural, dry-processed)

Někdy je popisován jako přírodní způsob. Před vynalezením loupacích strojů se jednalo o jedinou metodu zpracování. Kávové třešně se v tomto případě nejdříve propláchnou proudem vody a zbaví nečistot na povrchu. Dále se pak suší vcelku na betonových nádvořích nebo lůžkách přibližně po dobu 2 týdnů. Seschlé oplodí je následně oddělováno strojově. Při této metodě má chuť obsažená v dužině plodu možnost proniknout do zrna. Tento proces vyžaduje spoustu energie a času, jelikož vlhké prostředí mezi vrstvami kávových třešní je ideální pro mikrobiální růst (Moldvaer 2016; Easto & Willhoff 2018).

Mokrý způsob zpracování (fully washed, wet-processed)

Při této metodě se k oddělení dužiny od zrna používá voda. Kávové třešně jsou vloženy do loupacího stroje, který odstraní vnější slupku. Je důležité, aby k oloupaní došlo do 24 hodin od sklizně. Poté se oloupané bobule přesunou do nádob s vodou, ve kterých se nechávají fermentovat různě dlouhou dobu, většinou od 12–72 hodin. Množství použité vody a doba fermentace je odlišná v každém regionu i u jednotlivých pěstitelů. Fermentací se naruší oplodí zrna a zbytky dužiny se pak lehce odstraní spláchnutím vodou. Takto očištěná zrna se následně nechávají sušit na slunci nebo v sušárnách 4–10 dní (Moldvaer 2016; Easto & Willhoff 2018).

Polo-promývaný způsob zpracování (semi-washed)

Kolébkou této metody je Brazílie, odkud se rozšířila po Střední Americe, kde se nazývá *miel* neboli med. Začátek procesu je shodný jako u mokrého způsobu zpracování. Po odstranění slupky v loupacích strojích se nechávají bobule sušit i s neporušenými kusy dužiny na venkovních nádvořích nebo lůžkách ve vrstvách 2,5–5 cm a pravidelně se prohazují. Takto se suší v závislosti na klimatu 7–12 dní. Káva zpracovaná tímto způsobem si nese některé vlastnosti shodné se suchou metodou a jiné vlastnosti shodné s mokrou metodou zpracování (Moldvaer 2016; Easto & Willhoff 2018).

Zpracování v suchém mlýnu

Třebaže počátek zpracování je u každé metody odlišný, vždy se jedná o přípravu kávových zrn na závěrečnou fázi loupání. Nejdříve však následuje pauza 1–2 měsíce, při které si zrna odpočinou. Pokud by se rovnou vyvážela, mohla by mít po upražení nádech jako čerstvá tráva (Davies Veselá 2018).

Před exportem se zrna ve zbylých obalových vrstvách (pergamenu) převážejí do mlýnů, kde se zbylé oplodí odstraní na speciálních loupacích zařízeních. Zrna jsou pomocí pásových dopravníků dále tříděna buď ručně nebo strojově a to na základě defektů, velikosti a/nebo barvy (Moldvaer 2016).

3.1.4.3 Vývoz zrna a transport

Zelená kávová zrna se posuzují kromě vzhledu, barevnosti, velikosti a tvrdosti i podle množství poškozených zrn, cizorodých příměsí, zápachů, přítomností škůdců a kontaminací mikroskopickými houbami. Dále jsou pak označována jakostním stupněm vyjadřující množství nalezených defektů (Augustín 2016).

Následně jsou kávová zrna zabalena do 60 kg pytlů a připravena pro transport. I při přepravě je kávové zrno vystaveno mnoha rizikům a nebezpečím. Patří mezi ně například kontaminace mikroskopickými houbami a jejich sekundárními metabolity (aflatoxiny, ochratoxiny) nebo hnilobnými bakteriemi. Vlhké prostředí může mít vliv na senzorické vlastnosti zrn a později i na chuť či aroma připravované kávy (Davies Veselá 2018). Augustín (2016) ve své knize uvádí, že správně zpracovaná a uskladněná zelená kávová zrna vydrží do pražení i 10 let.

3.2 Chemické složení kávového zrna

Chemické složení zelené kávy nelze kvantitativně vyjádřit s uspokojivou přesností, jelikož závisí na mnoha faktorech, mezi které patří druh a odrůda rostlin kávovníku, stupeň zrání, zemědělské postupy, klimatické faktory, podmínky zpracování a skladování (Rostagno et al. 2015). Kávová zrnka jsou složena přibližně ze 70 % z celulózy, která v sobě ukrývá různé látky jako jsou voda, bílkoviny, sacharidy, cukry, tuky, kyseliny a aromatické látky (Davies Veselá 2018). Orientační obsah chemických látek, vztažených na hmotnostní procenta, je uveden v Tabulce 2.

Tabulka 2: Chemické složení zelených kávových zrn^{a, b} (Belitz et al. 2009)

Složka	<i>C. arabica</i>	<i>C. canephora</i>	Sloučeniny
<i>Rozpustné sacharidy</i>	9,0–12,5	6,0–11,5	
Monosacharidy	0,2–0,5		Fruktóza, glukóza, galaktóza, arabinóza
Oligosacharidy	6,0–9,0	3,0–7,0	Sacharóza, rafinóza, stachyóza
Polysacharidy	3,0–4,0		Polymery galaktózy, manózy, arabinózy, glukózy
<i>Ner rozpustné sacharidy</i>	46,0–53,0	34,0–44,0	
Hemicelulóza	5–10	3–4	Polymery galaktózy, arabinózy, manózy
Celulóza, β(1–4)manan	41–43	32–40	
<i>Kyseliny a fenoly</i>	8,8–12,2	8,4–14,4	
Těkavé kyseliny	0,1		Octová, mravenčí, máslová k.
Netěkavé kyseliny	2,0–2,9	1,3–2,2	Citronová, mléčná, chinová k.
Chlorogenové kyseliny ^c	6,7–9,2	7,1–12,1	Mono-, dikafeoyl- a feruloychinová kyselina
Lignin	1,0–3,0		
<i>Lipidy</i>	15,0–18,0	8,0–12,0	Kafestol, kahweol
Vosky	0,2–0,3		
Oleje	7,7–17,7		Estery palmitové a linolové kyseliny
<i>Dusíkaté sloučeniny</i>	11,0–15,0		
Volné AMK	0,2–0,8		Glu, Asp, Asp-NH ₂
Bílkoviny	8,5–12,0		
Kofein	0,8–1,4	1,7–4,0	Stopy theobrominu a theofylinu
Trigonelin	0,6–1,2	0,3–0,9	
<i>Minerální látky</i>	3,0–5,4		K, Ca, P, Fe, Mg

^a Obsah v hmotnostních %

^b Obsah vody surové kávy: 7–13 %

^c Hlavní složky: kafeoylchinová kyselina (*C. arabica* 3,0–5,6 %; *C. canephora* 4,4–6,6 %).

3.2.1 Polysacharidy, sacharóza a další redukující cukry

V rámci sušiny zeleného kávového zrna připadá téměř polovina hmotnosti na polysacharidy (Bradbury & Halliday 1990). Podíl polysacharidů v kávových zrnech se pohybuje v rozmezí 34–54 % sušiny viz Tabulka 2 (Belitz et al. 2009) a je zastoupen převážně třemi polymery: arabinogalaktan, manan a celulóza (Wei & Tanokura 2015a).

K nejvíce zastoupeným disacharidům v zeleném kávovém zrně patří sacharóza. Je prekurzorem řady sloučenin, včetně furanů, aldehydů a karboxylových kyselin, které mají vliv na sensorické vlastnosti kávového nápoje po pražení. Sacharóza je jedním z hlavních zdrojů volně redukujících cukrů, účastnících se Maillardovy reakce, Streckerovy reakce a karamelizace během procesu pražení kávových zrn (Wei & Tanokura 2015a).

3.2.2 Proteiny a aminokyseliny

Proteiny, peptidy a volné aminokyseliny zelených kávových zrn představují přibližně 8–12 % hmotnosti sušiny (Belitz et al. 2009) a jsou potencionálními dusíkatými prekurzory kávové příchuti. Vývoj kávového aroma a hnědé zbarvení jsou v zásadě důsledky Maillardovy reakce, jenž je iniciována interakcí karbonylové skupiny redukujícího cukru spolu s volnou aminoskupinou aminokyselin, peptidu nebo proteinu. Po kondenzačních reakcích jsou produkovány hnědé dusíkaté polymery zvané melanoidiny (Wei & Tanokura 2015a).

V zelených kávových zrnech bylo izolováno množství peptidů v rozmezí 0,4–0,6 % sušiny (Ludwig et al. 2000). Arnold et al. (1994) uvádí, že v extraktech ze zelených kávových zrn bylo detekováno 29 druhů volných aminokyselin. Množství aminokyselin se liší mezi surovými zrny stejného druhu, ale i různého zeměpisného původu. Proto mohou být považovány za indikátory geografického původu kávových zrn (Wei et al. 2012a).

3.2.3 Lipidy

Obsah lipidů v zelených zrnech Arabiky se pohybuje v rozmezí asi 15–18 % sušiny, zatímco zrna Robusty obsahují menší množství, přibližně 8–12 % sušiny viz Tabulka 2 (Belitz et al. 2009). Většina z nich se nachází v endospermu, jen malé množství je umístěno na povrchu jako kávový vosk (Wei & Tanokura 2015a). Lipidy jsou zastoupeny převážně z řady triacylglycerolů (TAG), sterolů a tokoferolů, typických pro běžně konzumované rostlinné oleje. Kávový olej navíc obsahuje diterpeny z rodiny kaurenů (kafestol a kahweol) v poměrovém množství vyšším než 20 % celkových lipidů (Speer & Kölling-Speer 2006).

3.2.4 Minerální látky

V kávě bylo identifikováno 27 minerálních látek, z toho jsou významně zastoupeny prvky jako např. draslík, hořčík, vápník, železo, fosfor, mangan, nikl a měď (Şemen et al. 2017). Také v případě minerálních látek je jejich obsah vyšší v Robustě než v Arabice. Jejich množství je také vyšší u suchého procesu zpracování než u mokrého procesu (Clarke & Vitzthum 2008).

Přestože je obsah kovových prvků v kávě přibližně 3–5,4 % sušiny viz Tabulka 2, tak se zdá být jejich zastoupení dobrým indikátorem pravosti kávy. Minerální složení je totiž charakteristické vzhledem ke kultivaci, původu pěstebních půd a enviromentálním podmínkám (Wei & Tanokura 2015a).

3.2.5 Fenolové sloučeniny v kávě

3.2.5.1 Význam a vlastnosti

Polyfenoly, kam zařazujeme fenolové kyseliny, patří k nejrozšířenějším bioaktivním sloučeninám s oxidačně redukčními účinky v lidské stravě. Nacházejí se převážně v rostlinných produktech a nápojích pocházejících z rostlin, jako je víno, čaj nebo káva (Slanina & Táborská 2004). Jejich příjem ve stravě se odhaduje přibližně na 1 000 mg/den, což odpovídá výrazně vyššímu množství než je u přijímaných antioxidačních vitaminů, kam řadíme tokoferoly, karoteny nebo askorbovou kyselinu (Scalbert & Williamson 2000).

Káva je považována za jeden z nejbohatších zdrojů fenolových látek v západní stravě. Nejvíce zastoupenými fenolovými sloučeninami v kávě jsou chlorogenové kyseliny (Clifford 2000). V současné době bylo v zelených kávových zrnech identifikováno až 72 zástupců chlorogenových kyselin (Clifford et al. 2017). Mají na svědomí mnoho zdraví prospěšných terapeutických účinků jako antihypertenzní (Kozuma et al. 2005; Zhao et al. 2012), antibakteriální (Bajko et al. 2016), protizánětlivé (dos Santos et al. 2006; Almeida et al. 2006) a antioxidační (Madhava Naidu et al. 2008; Shahidi & Chandrasekara 2010). Obsah CGA v kávových zrnech se liší podle genů, druhů, stavu živin v půdě, stupně zralosti a procesu zpracování jako je dekofeinizace nebo pražení (Clifford & Jarvis 1988; Ky et al. 2001; Alonso-Salces et al. 2009).

3.2.5.2 Využití fenolových sloučenin

Fenolové sloučeniny si v poslední době získaly značnou pozornost díky praktickým biologickým a farmakologickým vlastnostem. Mnoho literárních pramenů spojuje spotřebu polyfenolů se sníženým rizikem určitých chronických onemocnění, ke kterým patří diabetes mellitus 2. typu, steatóza jater, některé druhy rakoviny, kognitivní dysfunkce a kardiovaskulární onemocnění (Sies 2010; Naveed et al. 2018). Vysoká pozornost je věnována fenolovým sloučeninám také z důvodu slibných protizánětlivých a antioxidačních účinků (Bakuradze et al. 2011; Fidrianny et al. 2016; Santana-Gálvez et al. 2017).

S rostoucím znepokojením ohledně nezdravých důsledků používání různých chemických konzervantů v potravinářském průmyslu se také více upíná pozornost směrem k látkám přirozeně se vyskytujícím v rostlinách. Fenolové kyseliny tak vykazují potenciál stát se přírodní ochranou látkou potravin, která by mohla nahradit doposud používané syntetické sloučeniny (Martillanes et al. 2017).

3.2.6 Další sloučeniny

Kombinací dvourozměrných spekter NMR bylo v extraktu ze zelené kávy identifikováno 16 hlavních ve vodě rozpustných sloučenin, patří mezi ně např. octová kyselina, kofein, cholin, citronová kyselina, L-glutamová kyselina, L-alanin, L-asparagin, L-glutamová kyselina, chinová kyselina, jablečná kyselina, myo-inositol a trigonellin.(Wei & Tanokura 2015a).

Kofein

Chemický název pro kofein je 1,3,7-trimethylxanthin a jedná se o alkaloid s purinovým jádrem. Patří ke nejznámějším biologicky aktivním látkám v kávě (Nawrot et al. 2003). Funguje jako antagonist adenosinu a stimuluje centrální nervový systém (Ribeiro & Sebastião 2010). Dále má diuretický účinek, způsobuje vazokonstrikci a relaxaci hladké svaloviny a stimulaci myokardu (Zhang et al. 2005). Obsah kofeinu v zeleném kávovém zrně se liší dle druhu rostliny (Ky et al. 2001; Silvarolla et al. 2004), ale během zrání se jeho obsah nemění (Clifford & Kazi 1987). Robusta má obecně vyšší obsah kofeinu, průměrně obsahuje 2,2–2,8 %, zatímco Arabika 0,6–1,2 % (Franca et al. 2005; Belay et al. 2008).

Trigonellin

Jinak řečeno N-methylnikotinová kyselina, se nachází v zeleném kávovém zrně v množství přibližně 0,6 % (viz Tabulka 2) a její obsah je také závislý na druhu kávovníku, ovšem na rozdíl od kofeinu je její obsah u Robusty nižší, než je u Arabiky. Může se tak použít jako indikátorová sloučenina k rozlišení druhů kávových zrn (Wei et al. 2012a). Během procesu pražení kávových zrn se až 50 % trigonellinu rozkládá na N-methylpyridinium a nikotinovou kyselinu (Belitz et al. 2009; Wei et al. 2012b). Důležitost trigonellinu souvisí s jeho výživovými aspekty. Působí anti-diabeticky díky snižování glukózy v séru a zvýšení inzulinové senzitivity (Zhou et al. 2012).

Organické kyseliny

Citronová, jablečná, chinová a octová kyselina byly detekovány pomocí metody NMR ve směsi extraktu ze zelených kávových zrn (Wei et al. 2012a). I zde je pozorován rozdíl hladin organických kyselin v závislosti na druhu kávovníku. Vyšší hladiny citronové a jablečné kyseliny v Arabice jsou oceňovány v souvislosti s jejich senzoryckými vlastnostmi. Při degustačních zkouškách Arabik je obvykle hodnocena jejich kyselost, u Robusty tento degustační parametr obvykle chybí (Wei & Tanokura 2015a). Chinová kyselina patří mezi dominantní kyseliny obsažené v zelených kávových zrnech a je současně produktem odbourávání chlorogenových kyselin. Právě rozklad chlorogenových kyselin lze použít jako index stupně pražení (Wei & Tanokura 2015b).

Vitamin E

Vitamin E souhrnně označuje strukturně příbuzné sloučeniny – tokoferoly a tokotrienoly, které lze v kávě nalézt. Má silný antioxidační, protizánětlivý a antikarcinogenní účinek (Ju et al. 2010).

Diterpeny – kawheol a kafestol

Kafestol a kahweol jsou degradovány během procesu pražení. Vzhledem k tomu, že derivát 16-O-methylkafestol se nachází pouze v Robustě (0,6–1,8 g/kg sušiny zeleného kávového zrna), je vhodným indikátorem pro detekci míchání Arabiky s kávou Robusta (Belitz et al. 2009). Bioaktivní účinky těchto sloučenin vykazují v *in vitro* experimentech antikarcinogenní vlastnosti a dokážou stimulovat intracelulárních antioxidační obranné mechanismy (Cavin et al. 2002).

3.3 Chlorogenové kyseliny (CGA)

Chlorogenové kyseliny jsou skupina sekundárních fenolových metabolitů, které jsou produkovány určitými rostlinnými druhy. V lidské stravě tyto fytochemické látky přijímáme nejen součástí kávy, ale i konzumací čaje, kakaa, některých bobulovitých ovocí, citrusových plodů, jablek, hrušek (Clifford 2000; Naveed et al. 2018) nebo brambor (Slanina & Táborská 2004). Jsou považovány za antioxidační činidla a podílí se tak mimo jiné i na neutralizaci volných radikálů v lidském těle (Jeszka-Skowron et al. 2016).

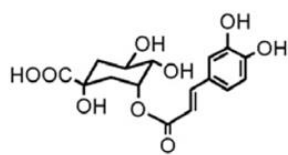
První zmínka o chlorogenových kyselinách je z roku 1867, kdy autoři Robiquet a Boutron publikovali článek, ve kterém popisují výzkum fyziologicky aktivních látek v kávě a izolovaných látek se zelenými pigmenty, které obsahovaly chlorid ferulový (Robiquet & Boutron 1837). Přibližně 100 let poté Fischer a Dangschat odvodili strukturu CGA jako konjugát kávové kyseliny a chinové kyseliny (Martínez & Clifford 2000).

Z chemického hlediska se jedná o sloučeniny, tvořené esterifikací chinové kyseliny a derivátů skořicových kyselin. Pod zkratkou CGA je často označována její nejběžnější forma, a to kafeoylchinová kyselina (5-CQA) (Clifford 2000).

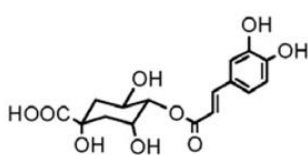
Mezi hydroxyskořicové kyseliny, jenž se váží na chinovou kyselinu za vzniku řady konjugovaných struktur, patří kávová kyselina (3,4-dihydroxyskořicová), ferulová kyselina (3-metoxi-4-hydroxyskořicová) nebo p-kumarová kyselina (4-hydroxyskořicová). Chlorogenové kyseliny můžeme rozdělit dle povahy a počtu skořicových substituentů a jejich esterifikační polohy v cyklohexanovém kruhu chinové kyseliny. Kromě toho existuje pro každou podskupinu i několik izomerních forem (Clifford 2000; Clifford et al. 2003).

3.3.1 Deriváty chlorogenových kyselin a jejich izomery

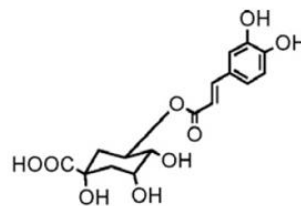
Termín CGA avšak nesouvisí pouze s neznámější kafeoylchinovou kyselinou (5-CQA, nesprávně 3-CQA), ale s celou řadou dalších představitelů nacházejících se v zelených kávových zrnech (Obrázek 4). Patří mezi ně: kafeoylchinová kyselina (CQA) a její tři hlavní izomery (3-CQA; neochlorogenová k.; 4-CQA, krypto-chlorogenová k. a 5-CQA); feruloylchinová kyselina (FQA) a její izomery (3-, 4- a 5-FQA); dikafeoylchinová kyselina (diCQA) s třemi izomery (3,4-diCQA; 3,5-diCQA; 4,5-diCQA); p-kumaroylchinová kyselina se třemi izomery (3-, 4- a 5-pCoQA) (Clifford et al. 2003; Farah & Donangelo 2006). Kromě výše uvedených káva též obsahuje laktony kafeoylchinové kyseliny (CQAL) (Del Rio et al. 2010; Kremr et al. 2016).



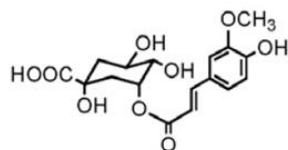
3-*O*-kafeoylchinová kyselina
(3-CQA)



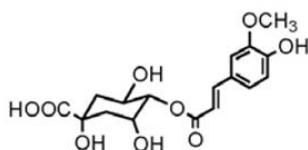
4-*O*-kafeoylchinová kyselina
(4-CQA)



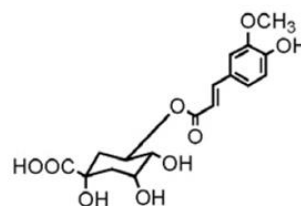
5-*O*-kafeoylchinová kyselina
(5-CQA)



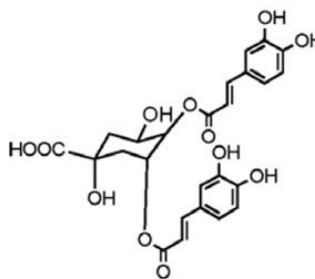
3-*O*-feruloylchinová kyselina
(3-FQA)



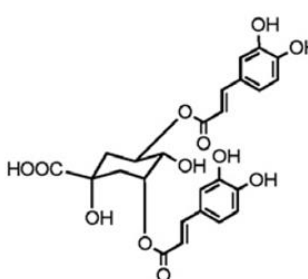
4-*O*-feruloylchinová kyselina
(4-FQA)



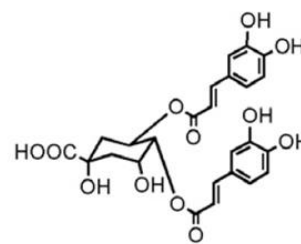
5-*O*-feruloylchinová kyselina
(5-FQA)



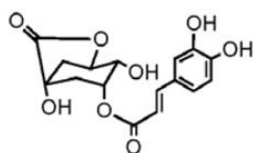
3,4-*O*-dikafeoylchinová kyselina
(3,4-diCQA)



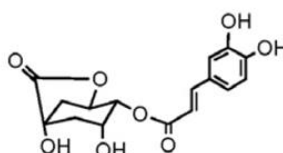
3,5-*O*-dikafeoylchinová kyselina
(3,5-diCQA)



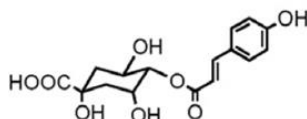
4,5-*O*-dikafeoylchinová kyselina
(4,5-diCQA)



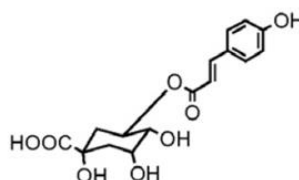
lakton 3-*O*-kafeoylchinové kyseliny



lakton 4-*O*-kafeoylchinové kyseliny



4-*O-p*-kumaroylchinová kyselina
(4-*p*-CoQA)



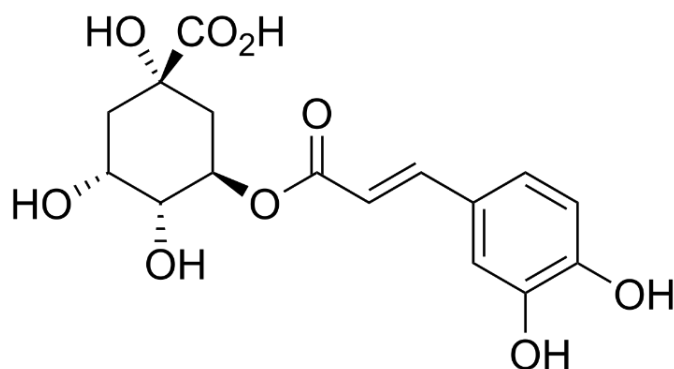
5-*O-p*-kumaroylchinová kyselina
(5-*p*-CoQA)

Obrázek 2: Struktura chlorogenových kyselin nacházejících se v kávě
(přepřacováno dle Del Rio et al. 2010)

3.3.2 Kafeoylchinová kyselina (3-CQA/5-CQA)

Pro přehled v označení je nutné zmínit, že v roce 1976 Mezinárodní unie aplikované chemie (IUPAC) obrátila pořadí číslování atomů na kruhu chinové kyseliny a navrhla chlorogenovou kyselinu (tehdy 3-CQA) jako 5-CQA, avšak stále je publikováno mnoho studií, článků či jiných online zdrojů, kde je použito zastaralé číslování nebo použitý systém číslování není uveden vůbec, což může být mnohdy velmi zavádějící (Kremr et al. 2016).

Kafeoylchinová kyselina (CQA) (Obrázek 5) je jedna z nejznámějších polyfenolů nacházející se v zeleném kávovém zrně a zároveň jednou z nejhojněji zastoupených polyfenolových sloučenin v lidské stravě, konzumovaných ve formě nápoje (Naveed et al. 2018). Tato fytochemická látka patří mezi skupinu sekundárních fenolových metabolitů produkovaných určitými rostlinnými druhy (Clifford 2000). V současné době lze CQA a její deriváty najít mimo jiné v doplňcích stravy na hubnutí.



Obrázek 3: Kyselina kafeoylchinová (CQA)

Různé kávové extrakty často obsahují různé zastoupení CGA avšak nejvíce dostupný izomer v zelených kávových zrnech je 5-CQA v množství kolem 10 g/100 g. Podíl tohoto izomeru je 76–84 % ze všech chlorogenových kyselin (Farah & Donangelo 2006; Perrone et al. 2010).

3.3.3 Obsah chlorogenových kyselin v zelených kávových zrnech

Celkový obsah CGA v zelených kávových zrnech se mění dle genetických druhů, stupně zralosti a v menší míře i volbou agrotechnologických postupů, vlivem půdy a podnebí (Farah et al. 2005). Při procesu pražení kávových zrn se toto procento významně snižuje v závislosti na době a teplotě pražení (Narita & Inouye 2015a; Rostagno et al. 2015). Proces pražení má za následek snížení jejího obsahu o 30–70 % (Moon et al. 2009). Denní příjem CGA konzumenty kávy se odhaduje na 0,5–1,0 g, zatímco kávoví abstinenti konzumují obvykle \leq 100 mg/den (Clifford 2000; Rostagno et al. 2015).

Obsah chlorogenových kyselin se u Arabik pohybuje v rozmezí 3,40–7,24 % hmotnosti sušiny a 5,17–14,4 % u Robusty (Clifford & Jarvis 1988; Anthony et al. 1993; Ky et al. 2001; Farah et al. 2006a; Farah & Donangelo 2006; Alonso-Salces et al. 2009), přičemž některé hybridy vykazují střední hodnoty (Farah et al. 2005; Narita & Inouye 2015a). S ohledem na

organoleptické vlastnosti běžně konzumovaného nápoje vítězí káva rodu Arabika. Při nižších koncentracích (50 mg/l) má hořkou chuť, ale při vyšších koncentracích (1 g/l) chuť kyselou (Garg 2016). Ve studii (Farah et al. 2006b) byla zpozorována korelace mezi obsahem CGA a kvalitou kávy.

Za zmínku také stojí káva bez kofeinu, jenž je v západních zemích široce konzumována zejména ze zdravotních důvodů, zahrnuje 10 % celosvětového trhu s kávou (Silvarolla et al. 2004). Výsledky výzkumu (Farah et al. 2006a) poukazují na vyšší obsah CGA u zelených kávových zrn bez kofeinu než mají běžná zelená kávová zrna stejného druhu (*C. arabica*). Vyšší hladiny jsou zřejmě důsledkem koncentračního účinku během dekofeinizace. V Tabulce 3 můžeme pozorovat hodnoty celkových CGA, CQA a FQA v jednotlivých typech kávy.

Tabulka 3: Fenolové kyseliny obsažené v různých typech kávy (Farah & Donangelo 2006)

Typ kávy	CQA ^a	FQA ^b	diCQA ^c	Celkové množství CGA ^d
Zelená káva	3,26–7,66	0,19–1,43	0,45–2,31	4,10–11,30
Pražená káva	0,38–3,23	0,06–0,34	0,03–0,24	0,47–2,66
Káva bez kofeinu	5,19–6,14	0,32–0,45	0,61–0,77	6,13–7,47
Instantní káva	0,63–5,28	0,06–1,16	0,03–0,53	0,72–6,97
Instantní káva bez kofeinu	3,33–4,73	0,60–0,84	0,17–0,28	4,10–5,85

Obsah v sušině: v g/100 g

^a kafeoylchinové kyseliny (3-CQA; 4-CQA; 5-CQA)

^b feruloylchinové kyseliny (3-FQA; 4-FQA; 5-FQA)

^c dikafeoylchinové kyseliny (3,4-diCQA; 3,5-diCQA; 4,5-diCQA)

^d chlorogenové kyseliny (CQA, diCQA a FQA)

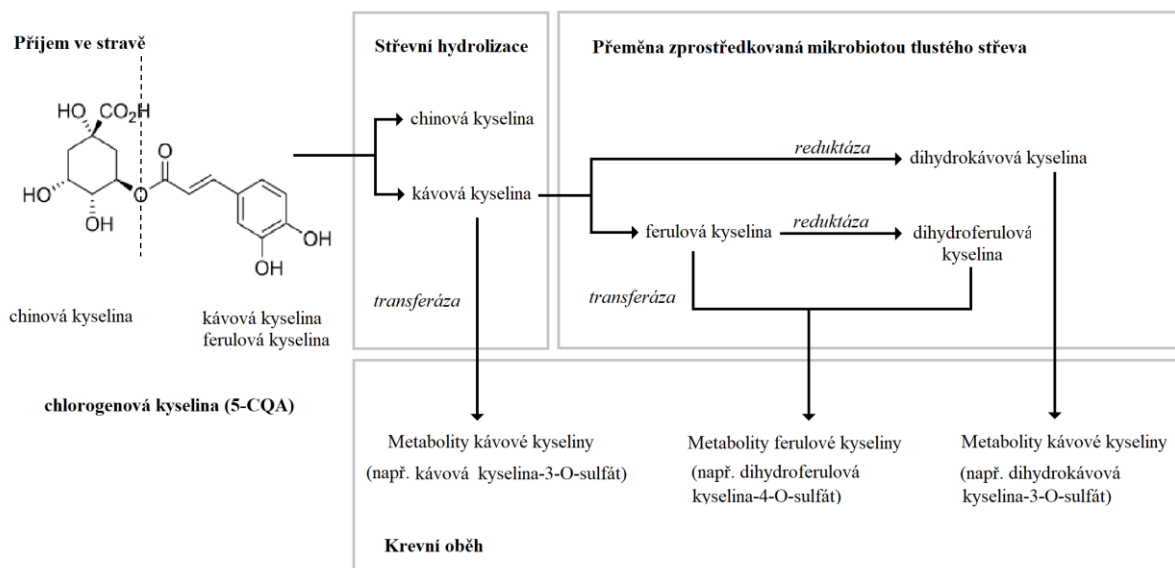
3.3.4 Metabolismus a biologická dostupnost chlorogenových kyselin

Převážná většina studií týkající se chlorogenových kyselin byla prováděna s použitím kávy z důvodu vysokého obsahu této sloučeniny (přibližně 400 $\mu\text{mol}/200 \text{ ml}$ šálku kávy) (Stalmach et al. 2009, 2014). Studií a článků popisujících katabolismus kávových chlorogenových kyselin u lidských subjektů je poměrně málo a v některých případech si dokonce odporují (Del Rio et al. 2010).

3.3.4.1 Absorpce v lidském těle

Přibližně jedna třetina množství chlorogenových kyselin přijímaných v nápojích či potravinách je za fyziologických podmínek absorbována v tenkém střevě (Olthof et al. 2001). Toto množství lze změřit ve formě 5-CQA, 4-CQA a 3-CQA za pomoci vysokoúčinné kapalinové chromatografie (Farah et al. 2008). Zbývající dvě třetiny množství se dostávají do tlustého střeva. Ze 78 % se jedná o původní sloučeninu a zbylých 22 % je tvořeno jejími metabolity (Stalmach et al. 2010). V tlustém střevě jsou pak CGA a jejich metabolity hydrolyzovány esterázami produkovanými střevní mikrobiotou (*Escherichia coli*,

Bifidobacterium lactis a *Lactobacillus gasseri*) (Couteau et al. 2001). Metabolity jsou poté distribuovány do krevního oběhu viz Obrázek 6 (Olthof et al. 2003).



Obrázek 4: Hlavní metabolická cesta chlorogenové kyseliny (5-CQA)
(přepřacováno dle Zhao et al. 2012)

Metabolity fenolů přijímaných ve stravě mají nižší antioxidační aktivitu než jejich původní sloučeniny, proto může být jejich podíl na antioxidační aktivitě *in vivo* nižší, než se očekávalo z testů *in vitro* (Olthof et al. 2003).

Mezi novější a podrobnější studie osudu CGA po konzumaci patří výzkum Stalmach et al. (2010). Autoři dosáhli překvapivých výsledků při porovnání resorpce polyfenolů u zdravých jedinců a jedinců s ileostomií. Metodika zahrnovala analýzu pomocí HPLC-MS2 a získaná data nasvědčují o intenzivním metabolismu CGA v lidském těle před jejich absorpcí, která může u různých metabolitů probíhat v tenkém nebo tlustém střevě (Stalmach et al. 2009, 2010).

Z výsledků dalších studií, zabývajících se biologickou dostupností chlorogenové kyseliny v moči, ileální tekutině nebo krevní plazmě, lze poukázat na závislost metabolismu fenolů na době průchodu gastrointestinálním traktem a jejich vstřebávání v tenkém střevě (Erk et al. 2012; Stalmach et al. 2014). Jiné studie považují mikrobiální degradaci sloučenin v tenkém střevě za minimální a poukazují zejména na klíčovou roli tlustého střeva v biologické dostupnosti fenolových sloučenin z kávy (Renouf et al. 2014). Tyto nesrovnalosti lze pravděpodobně připsat odlišnému počtu subjektů studií či rozdílům v metodice (Nabavi et al. 2017).

Metabolismus CGA probíhá u lidí zejména ve střevních endoteliálních buňkách a jaterních buňkách (Kern et al. 2003). Stalmach et al. (2010) uvádí výrazně vyšší procento metabolitů chlorogenové kyseliny vyloučené močí u jedinců s intaktním tlustým střevem (29±4 %) oproti jedincům s narušenou mikrobiální rovnováhou (8±1 %). Což poukazuje na význam tlustého střeva v biologické dostupnosti stravou přijatých chlorogenových kyselin. Jejich katabolity rovněž mohou mít dopad jednak na zdraví tlustého střeva i na jeho mikrobiotu (Del Rio et al. 2010).

Biologická dostupnost a biotransformace chlorogenových kyselin z kávových nápojů může být ovšem ovlivněna i různými faktory, které souvisí se současně přijímanými potravinami. Například tuk přidávaný do kávy v podobě mléčné smetany může ovlivnit dostupnost zvýšením koncentrace CGA (Tagliazucchi et al. 2012; Stalmach et al. 2014). Trávení a biologická dostupnost CGA tak zůstává nejasná a představuje zajímavou oblast pro další výzkum.

3.3.4.2 Bioaktivní metabolity

Mezi hlavní metabolity CGA patří ferulová kyselina, izoferulinová kyselina a kávová kyselina, jejichž metabolity jsou zkoumány v oběhovém systému po pravidelné konzumaci CGA, kávy nebo extraktů ze zelené kávy (Naveed et al. 2018).

Vznikají v tenkém střevě, kde se štěpí chinová kyselina z ferulochinové kyseliny (FQA) a kafeoylchinové kyseliny (CQA) a za pomoci biochemických pochodů se následně uvolňuje kávová a ferulová kyselina. Tlusté střevo hraje významnou roli při přeměně kávové a ferulové kyseliny na dihydroferulovou a dyhydrokávovou kyselinu a je zodpovědné za její absorpci do krevního řečiště (Del Rio et al. 2010; Naveed et al. 2018). Kávová kyselina, hlavní metabolit CGA, vykazuje stejně jako ostatní fenolové deriváty důležitou antioxidační aktivitu (Marković & Tošović 2016).

Nedostatek kvantitativních údajů o metabolitech těchto sloučenin brání spolehlivému vyhodnocení potenciálních biologických účinků (Olthof et al. 2003). Biologická dostupnost u lidí je nadále kontroverzní téma a využití a vylučování chlorogenových kyselin není doposud přesvědčivě objasněno a je předmětem mnoha výzkumů (Olthof et al. 2003; Nabavi et al. 2017).

3.3.5 Účinky chlorogenových kyselin

Fyziologický účinek kávy na člověka se u jednotlivců liší a závisí na kvalitě konzumované kávy a jejímu množství. Spekuluje se, že CGA v kávě mohou hrát zásadní roli v léčbě mnoha poruch jako je steatóza jater, diabetes mellitus 2. typu nebo napomáhat v boji proti kardiovaskulárním onemocněním či obezitě (Naveed et al. 2018), jenž patří mezi etiologické faktory rozvoje metabolického syndromu (METS). Různé cesty a jejich potenciální interakce při vzniku onemocnění jsou znázorněny na Obrázku 7.

Klinické studie, pokusy na zvířatech a buněčných kulturách posledních desetiletí prokázaly, že rostlinné polyfenoly mají příznivý vliv na lidské zdraví. Zejména kafeoylchinová kyselina (CQA) a její deriváty patří k důležitým biologicky aktivním látkám, které vykazují mnoho užitečných vlastností, kam spadá antioxidační, antibakteriální, anti-karcinogenní aktivita spolu s hypoglykemickými a hypotenzivními účinky (Tajik et al. 2017).

Velmi cenné protizánětlivé a antioxidační účinky byly potvrzeny mnoha vědeckými studiemi *in vitro* nebo na zvířecím modelu (Yun et al. 2012). Jiné výsledky nasvědčují, že CGA mohou ovlivňovat metabolismus glukózy a lipidů (Zhang et al. 2011). Byly taktéž prokázány antidiabetické (Meng et al. 2013), antiobezitní (Shimoda et al. 2006; Cho et al. 2010), antilipidemické účinky (Cho et al. 2010; Ong et al. 2013; Choi et al. 2016a), včetně účinků zlepšující inzulínovou rezistenci (Ho et al. 2012; Song et al. 2014; Ma et al. 2015).

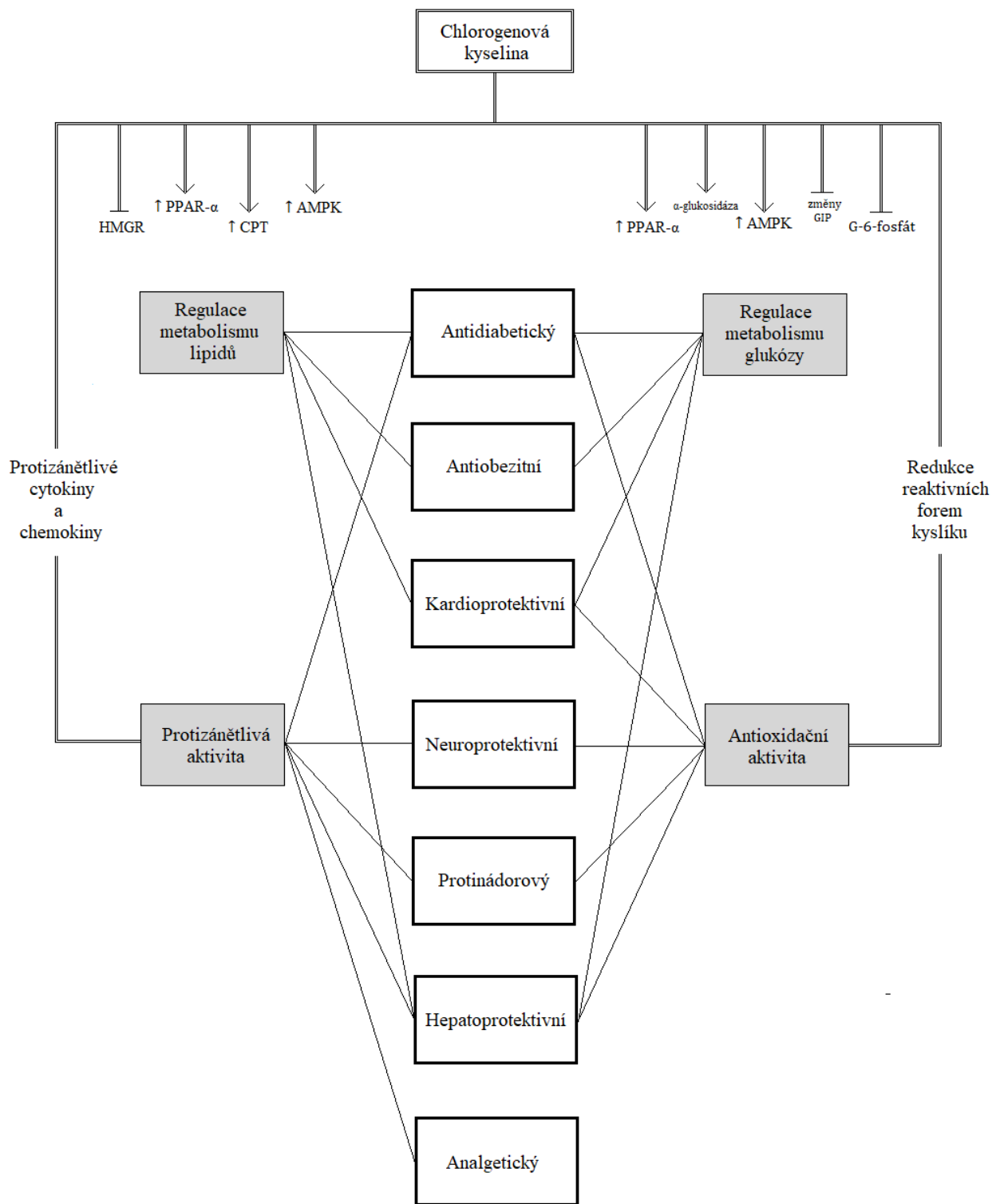
Kromě toho CGA účinkují proti hepatotoxickým vlivům způsobeným lipopolysacharidy nebo chemickými látkami (Shi et al. 2013), napomáhají inhibici pankreatické α -amylázy (Narita

& Inouye 2011, 2015b), inhibici pankreatické lipázy (Narita et al. 2012) a zvýšení postprandiálního využití tuků (Ota et al. 2010). Ve studii Wan et al. (2013) bylo u zvířecího modelu trpícího hypercholesterolemií prokázáno snížení plazmatické koncentrace lipoproteinů o nízké hustotě (LDL) a zvýšení plazmatické koncentrace lipoproteinů o vysoké hustotě (HDL).

3.3.6 Působení na lidský organismus

Pozornost studií se v posledních letech upíná směrem ke klinickým a vědeckým experimentům na lidech. Některé studie přináší prokazatelné výsledky ve snížení krevního tlaku (Kozuma et al. 2005; Watanabe et al. 2006; Zhao et al. 2012; Mubarak et al. 2012; Revuelta-Iniesta & Al-Dujaili 2014; Onakpoya et al. 2015; Rodrigo et al. 2016) a postprandiální absorpci glukózy (Thom 2007; Iwai et al. 2012). Ukazuje se, že CGA jsou schopny modulovat metabolismus glukózy a lipidů (Song et al. 2014; Choi et al. 2016a; Sarriá et al. 2018) a prokázat tak antidiabetické účinky (Ong et al. 2012; Varghese et al. 2014; Zuñiga et al. 2017). Mají vliv i na další etiologické faktory vzniku METS včetně inzulínové rezistence (Ho et al. 2012; Sarriá et al. 2018) a lipidového profilu (Ong et al. 2013; Ding et al. 2020). Nabízí se také potenciál zelené kávy v obraně proti neurodegenerativním onemocněním (Varghese et al. 2014; Nabavi et al. 2017; Socała et al. 2020). Předpokládané mechanismy působení CGA, jejich účinky na fyziologické systémy organismu a na zdraví jsou zobrazeny na Obrázku 7.

Důkazy některých vědeckých studií naznačují rovněž hypotenzivní účinky po orálním podání metabolitů CGA jimiž jsou ferulová kyselina (FA) a kávová kyselina (CA) (Huang et al. 2004). Nelze také opomenout, že dříve zmíněné vlastnosti souvisejí i s dalšími bioaktivními sloučeninami kávové matrice jako je kofein, teofylin, teobromin, kafestol, kahweol, trigonellin a tokoferoly (Franca et al. 2005; Gómez-Ruiz et al. 2007; Zhou et al. 2012; Jeszka-Skowron et al. 2016).



Obrázek 5: Předpokládané mechanismy působení CGA a jejich účinky na fyziologické systémy a na zdraví (přepřacováno dle Tajik et al. 2017)

Vysvětlivky: HMGR3 – hydroxy-3-methylglutaryl koenzym A reductáza, CPT – karnitinpalmytoyltransferáza, G-6-P – glukóza-6-fosfát, AMPK – aktivovaná protein kináza, GIP – glukózo dependentní inzulinotropní peptid, PPAR- α – peroxizomový proliferátorem aktivovaný receptor- α .

3.4 Rešerše studií prokazující účinky zelené kávy a jejích složek

Oxidační stres v podobě reaktivních forem kyslíku (ROS) v akumulované tukové tkáni se nabízí jako časný iniciátor metabolického syndromu úzce souvisejícího s obezitou (Furukawa et al. 2004; Santana-Gálvez et al. 2017), který je definován jako skupina vzájemně propojených rizikových faktorů predisponujících k rozvoji kardiovaskulárního onemocnění a diabetu mellitu 2. typu (Roshan et al. 2018). Mezi základní rizikové faktory, považované za součásti METS patří: centrální obezita, hyperglykémie, hypertenze, zvýšení TAG v séru a snížení HDL cholesterolu (Grundt Scott M. et al. 2005).

Z důvodu neexistující jednotné léčby metabolického syndromu a zároveň riziku vedlejších účinků dostupných chemických léčiv, vzrostl zájem o hledání přírodní látky nápomocné při léčbě tohoto multifaktoriálního onemocnění (Santana-Gálvez et al. 2017; Venkatakrisnan et al. 2019). Káva je jedním z nejvíce konzumovaných nápojů po celém světě a existuje stále více důkazů pramenících z epidemiologických studií, kde spotřeba kávy koreluje s nižším rizikem rozvoje METS (Shang et al. 2016) a diabetem 2. typu (Meng et al. 2013). Jako nejsilnější kandidát naznačující pozitivní účinek nekofeinových kávových sloučenin na redukci hmotnosti se zdá být CGA (Thom 2007). Existuje několik mechanismů souvisejících s antioxidačními a protizánětlivými vlastnostmi CGA, které se snaží objasnit pozitivními účinky na metabolický syndrom (Santana-Gálvez et al. 2017). Pro tyto účely byly na trh uvedeny různé kávové extrakty ze zelených bobů bohaté na CGA bez kofeinu (Dellalibera et al. 2006).

Údaje týkající se dopadů GCBE na jednotlivé faktory METS jsou poměrně nekonzistentní. Většina předchozích studií byla provedena na zvířecím modelu a hodnotila zejména účinky CGA než dopady GCBE. Intervenční studie týkající se GCBE jsou vzácné a vykazují jistá omezení jako je absence randomizace, zaslepení, kontrola placebem nebo krátké trvání či nízký počet subjektů.

3.4.1 Antioxidační účinky

Chlorogenové kyseliny jsou nejpočetnější polyfenolové látky v zelené kávě a jsou tak zodpovědné za podstatnou část kávových antioxidantů (Belay 2011). Antioxidační aktivita kafeoylchinových kyselin (3-, 4-, 5-CQA) je podobná α -tokoferolu a askorbové kyselině a zřejmě souvisí s jejich elektrochemickými vlastnostmi. Izomery dikafeoylchinové kyseliny (3,4-; 3,5- a 4,5-diCQA) ze zelených kávových zrn mají lepší antioxidační účinky než izomery kafeoylchinové kyseliny (Iwai et al. 2004).

CGA patří mezi sloučeniny schopné navázat (chelatovat) přechodné kovy, jako je Fe^{2+} , aby zachytily volné radikály a přerušily jejich řetězové reakce (Upadhyay & Rao 2013). Kromě toho mohou bránit oxidaci lipoproteinů o nízké hustotě indukované různými činidly (Laranjinha et al. 1994) a zabránit poškození DNA *in vitro* (Cinkilic et al. 2013). Hlavní zástupce v kávě 5-CQA je z výsledků různých studií schopný neutralizovat volné radikály a chránit DNA před poškozením způsobeným oxidačním stresem (Xu et al. 2012; Liang & Kitts 2016).

I přes vysokou antioxidační aktivitu kávy nebo její schopnosti regulovat antioxidační enzymy, včetně dalších zdravotně prospěšných atributů, je důležité zmínit, že CGA z kávy nebo

káva sama o sobě nemůže nahradit příjem antioxidantů z jiných potravin, jelikož každá potravina má svou vlastní specifickou bioaktivitu (Farah & de Paula Lima 2019).

3.4.2 Účinky na kardiovaskulární systém

Je známo, že polyfenolové látky snižují riziko kardiovaskulárních onemocnění, která představují obrovský zdravotní problém s vysokým socioekonomickým dopadem na celém světě (Hooper et al. 2008; Sies 2010). V západní stravě je hlavním zdrojem fenolových a hydroxyskořicových kyselin právě káva (Tresserra-Rimbau et al. 2015). Účinkům kávy, jakožto běžně konzumovaného nápoje, byl věnován značný výzkum, ale pouze několik málo studií (zejména *in vitro*, na buňkách a na zvířecím modelu) svou pozornost směřovalo na specifické účinky její hlavní fenolové sloučeniny, chlorogenové kyseliny.

Některé z provedených studií ukázaly, že CGA má potencionální kardioprotektivní účinky prostřednictvím antioxidačních mechanismů, které zmírňují škody způsobené reaktivními formy kyslíku (Rodrigo et al. 2016). Mezi další účinky patří zlepšení funkce endotelu, inhibicí oxidace lipoproteinů a zvýšenou biologickou dostupností oxidu dusnatého (Sies 2010). Autoři poukazují na důležitost rozvoje výzkumu dlouhodobých účinků konzumace chlorogenových kyselin z kávy u lidí, zejména pak u jedinců s kardiovaskulárními chorobami (Sies 2010; Tresserra-Rimbau et al. 2015).

In vitro antioxidační vlastnosti CGA, hlavního polyfenolu obsaženého v kávě naznačují, že jsou způsobené fenolovými skupinami, které mohou odstraňovat radikály přenosem protonů. Některé ze studií dokazují, že CGA a kávová kyselina mohou inhibovat oxidaci LDL a VLDL, které jsou hlavními nosiči cholesterolu a triglyceridů (Laranjinha et al. 1994; Nardini et al. 1995). Jelikož polyfenolové látky v kávě mohou inhibovat oxidaci aterogenních lipoproteinů *in vitro*, je logické se domnívat, že podobné vlastnosti lze pozorovat *in vivo*. CGA poskytují účinnější ochranu před oxidací než antioxidační vitamíny a galová kyselina, avšak oproti jiným polyfenolovým látkám, jako je katechin, kvercetin nebo kávová kyselina, mají nižší aktivitu (Tresserra-Rimbau et al. 2015).

Dihydrokávová kyselina (metabolit kávové kyseliny kvantifikovaný v lidské plazmě po požití CGA) je také zodpovědná za ochranu lidských endoteliálních buněk před oxidací pomocí vychytávání reaktivních forem kyslíku (Huang et al. 2004).

3.4.2.1 Antihypertenzní účinky

Vysoký krevní tlak (hypertenze) je celosvětově považován za hlavní rizikový faktor při rozvoji kardiovaskulárních onemocnění (Rodrigo et al. 2016). Doposud byla věnována značná pozornost účinkům kávového nápoje na lidské zdraví, je však zapotřebí více klinických studií zaměřených na polyfenoly v kávě, spíše než na komplexní nápoj, aby se zjistilo, které složky kávy jsou prospěšné více a které méně.

V tomto ohledu provedli (Watanabe et al. 2006) placebem kontrolovanou, randomizovanou klinickou studii s 28 subjekty s mírnou esenciální hypertenzí. Účastníci byli léčeni buď CGA (140 mg/den) z extraktu ze zelených kávových zrn nebo placebem. Systolický i diastolický krevní tlak se významně snížil během intervenčního období pouze ve skupině konzumující CGA, z čehož vyplývá, že CGA by se mohla stát účinnou a bezpečnou terapií

u pacientů s mírnou hypertenzí. Žádný rozdíl v indexu tělesné hmotnosti ani tepové frekvenci nebyl mezi skupinami nalezen.

V klinické studii Kozuma et al. (2005) se vzorkem celkem 117 mírně hypertenzních mužů, přinesla konzumace 93 a 185 mg extraktu ze zelených kávových bobů snížení systolického i diastolického tlaku po 4 týdnech ve srovnání s kontrolní skupinou užívající placebo. Zřejmě nízká dávka GCBE nezpůsobila významné zlepšení lipidového profilu.

V randomizované, dvojitě zaslepené, placebem kontrolované studii se autoři Mubarak et al. (2012) zabývali akutními účinky CGA na krevní tlak, endoteliální funkci a stav oxidu dusnatého (NO) po podání množství 400 mg CGA, což odpovídá přibližně 2 šálkům kávy. U 23 subjektů (zdravých mužů a žen) pozorovali významné snížení systolického a diastolického tlaku ve srovnání s kontrolní skupinou. Markery stavu NO a funkce endotelu nebyly významně ovlivněny. Pro podporu závěrů je zřejmě zapotřebí více studií s větším množstvím subjektů včetně jedinců s kardiovaskulárními potížemi, ale již prokázané vlastnosti by se mohly stát základem pro podporu důležité adjuvantní terapie při léčbě esenciální hypertenze.

3.4.3 Účinky na metabolismus glukózy a lipidů

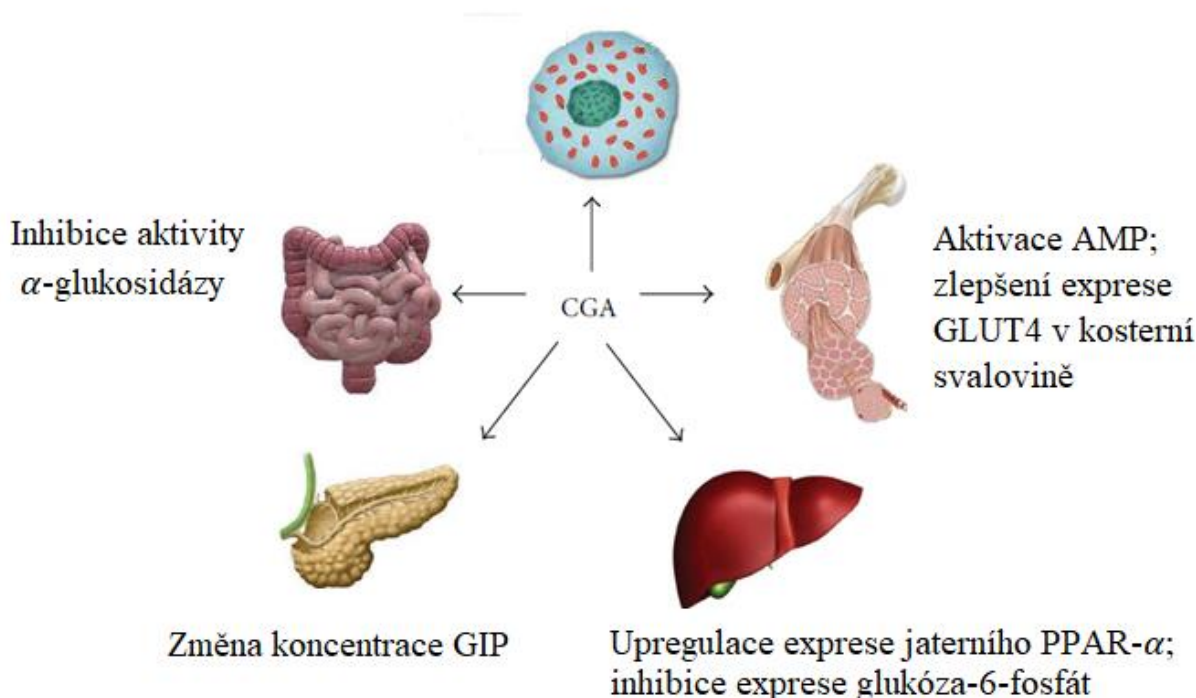
Vnitrobuněčná metabolická homeostáza glukózy a lipidů je velmi důležitá pro udržení základních životních pochodů buňky i organismu. Z hlediska cytologie jsou intracelulární poruchy metabolismu glukózy a lipidů základem různých metabolických onemocnění. Tyto poruchy velmi úzce souvisejí s výskytem cukrovky 2. typu, obezity, jaterní steatózy, rakoviny a srdečně-cévním onemocněním (Kopelman 2000).

Komplikace metabolických poruch glukózy a lipidů s sebou přináší významnou zátěž pro všechny systémy zdravotní péče na celém světě. Léčebně-terapeutické možnosti, jako je inzulin nebo antidiabetika, jsou sice účinným farmakologickým prostředkem, ale jsou rovněž spojené s nežádoucími vedlejšími účinky (Scheen 2005). Zejména v poslední době se zdůrazňuje role aplikace CGA ve vztahu k metabolismu glukózy a lipidů na poli biologických i lékařských věd (Meng et al. 2013) a jejich potenciální využití při snížení rizika metabolického syndromu (Santana-Gálvez et al. 2017).

Předpokládané mechanismy působení (Obrázek 8) (Meng et al. 2013):

- zdokonalení buněčných mechanismů,
- inhibice aktivity α -glukosidázy,
- změna koncentrací gastrického inhibičního polypeptidu a GIP (Johnston et al. 2003)
- aktivace AMPK (aktivovaná protein kináza) a zlepšení exprese glukózového transportéru typu 4 (GLUT4) v kosterní svalovině (Ong et al. 2012, 2013; Vasileva et al. 2020),
- upregulace exprese jaterního PPAR- α (Zhang et al. 2011) a inhibice exprese glukóza-6-fosfát (Henry-Vitrac et al. 2010; Zhao et al. 2015).

Zdokonalení buněčných mechanismů



Obrázek 6: Předpokládaný mechanismus působení chlorogenové kyseliny regulující metabolismus glukózy a lipidů (přepřacováno dle Meng et al. 2013)

3.4.3.1 Interakce s metabolismem glukózy

Existuje několik studií, týkajících se účinků extraktu ze zelené kávy na regulaci hladiny cukru v krvi. Výsledky metaanalýzy Chen et al. (2020) potvrzují, že podávání GCBE významně zlepšuje hladiny glukózy v krvi na lačno. Podrobnější analýzy zahrnutých studií zdůrazňují významné zlepšení hladin inzulínu, pokud je GCBE doplňován v dávkách ≥ 400 mg/den.

Studie na zvířecím modelu

Autoři Narita a Inouye (2012, 2015b) se zabývali výzkumem inhibice prasečí pankreatické amylázy. Použili devět druhů CGA ze zelených kávových zrn (CQA, FQA a diCQA). Ukázalo se, že extrakty ze zelené kávy bez kofeinu (EDGCB), obsahující přibližně 40 % CGA, 0,003 % kofeinu a 0,2 % tuku, potlačily postprandiální zvýšení krevní glukózy u potkanů. Optimální účinek byl pozorován při užívání EDGCB před příjmem sacharidů (sacharóza, maltóza, glukóza, rozpustný škrob).

Klinické studie

Cílem studie Iwai et al. (2012) bylo posoudit antihyperglykemické účinky extraktu ze zelených kávových zrn bez kofeinu (EDGCB). Navzdory potenciálním vlastnostem přisuzovaným této látce při testování na zvířecích modelech, je jen málo známo o jejím působení v rámci klinických studií. Dle výsledků zmíněné studie byly významně sníženy hladiny glukózy v plazmě při podávání dávek 100 mg a 300 mg EDGCB a současném požití

200 g sacharidů. Výsledky byly zřejmě zejména u subjektů s vysokou glykemickou odpovědí. V průběhu experimentu autoři nezaznamenali významné rozdíly v plazmatických inzulinových profilech. Tato zjištění poukazují na extrakt ze zelených kávových bobů bez kofeinu, jako na sloučeninu se schopností snižovat riziko vývoje diabetu 2. typu.

Pravidelná konzumace kávy bez kofeinu obsahující vysoký obsah CGA významně snížila riziko onemocnění cukrovkou 2. typu (Huxley et al. 2009). Bassoli et al. (2008) analyzovali účinky CGA na produkci glukózy v játrech, hladinu glukózy v krvi a glukózovou toleranci. Bylo zjištěno, že CGA skutečně způsobila snížení maxima plazmatické glukózy v orálním glukózovém testu tolerance, pravděpodobně omezením absorpce glukózy střevy, což nasvědčuje možné roli CGA jako látky zprostředkovávající snížení glykémie a tím snížení rizika rozvoje cukrovky 2. typu (Bassoli et al. 2008). Účinnost CGA se zdá být srovnatelná s některými antidiabetiky, kromě toho neindukuje obezitu a nemá vedlejší účinky (Meng et al. 2013). Okamžité účinky CGA na glukózovou toleranci byly zkoumány u mužů s nadváhou po orálním testu glukózové tolerance (OGTT). Výsledky uvádí, že konzumace kávy bez kofeinu obohacené o 1 g chlorogenové kyseliny a 500 mg trigonelinu měla na svědomí zlepšení inzulinové odpovědi a plazmatickou glukózu nalačno (van Dijk et al. 2009).

Nezaslepená a nerandomizovaná klinická studie na patnácti zdravých subjektech (muži i ženy) užívajících 3× denně 200 mg GCBE bez kofeinu po dobu 40 dnů naznačovala sníženou postprandiální glykémii a úbytek hmotnosti přibližně o 1,36 kg (bez dietního a pohybového zásahu) (Blum et al. 2007).

3.4.3.2 Interakce s metabolismem lipidů

Studie na zvířecím modelu

Studie Choi et al. (2016) zkoumala účinky příjmu 50, 100 nebo 200 mg/kg extraktu zelené kávy u obézních myší po dobu 6 týdnů, které byly krmeny stravou vysoce bohatou na tuky. Bylo pozorováno významné snížení přírůstku tělesné hmotnosti, tukové hmoty, glukózy, TAG, LDL a celkového cholesterolu a významné zvýšení HDL cholesterolu u skupiny konzumující 100 a 200 mg/kg GCBE spolu s vysokotučnou stravou ve srovnání s kontrolní skupinou konzumující pouze vysokotučnou stravu.

Klinické studie

Účelem studie Salamat et al. (2019) bylo posoudit účinek konzumace GCBE na oxidovaný LDL cholesterol (OX-LDL) v séru a celkovou antioxidační kapacitu u pacientů s dyslipidemií. 70 účastníků mužského pohlaví ve věku 30–55 let přijímalo denně 800 mg GCBE nebo placebo po dobu 8 týdnů. Výsledky ukázaly významné snížení OX-LDL a významné zvýšení celkové antioxidační kapacity u intervenční skupiny oproti kontrolní skupině s placebem. Sami autoři ale uvádí, že pro ověření věrohodnosti jsou zapotřebí další studie.

V randomizované klinické studii bylo autory Shahmohammadi et al. (2019) zjištěno významné snížení sérových hladin triglyceridů, celkového cholesterolu a volných mastných kyselin u jedinců s nealkoholickou steatózou jater (NAFLD) po konzumaci GCBE 400 mg/den po dobu 8 týdnů ve srovnání se skupinou s placebem. 24 pacientům s NAFLD bylo podáváno

denně 400 mg GCBE po dobu 8 týdnů i ve studii Hossienbadi et al. z roku 2020. Výsledky taktéž poukázaly na zlepšení lipidového profilu a indexu BMI.

3.4.4 Stimulační a neuroprotektivní účinky

Zatímco se mnoho studií zaměřuje na kofein jako neuroprotektivní bioaktivní sloučeninu působící proti neurodegenerativním poruchám (Maia & Mendonça 2002), nelze přičítat příznivé účinky konzumace kávy jen a pouze němu (Camfield et al. 2013). Chlorogenové kyseliny jsou v tomto ohledu také důležitou aktivní složkou kávy (Socala et al. 2020). Tato polyfenolová látka vykazuje mimo jiné i neuroprotektivní účinky ve studiích *in vitro* a *in vivo*, a díky tomu se výzkum přínosů její konzumace nadále rozvíjí. Existují pouze předběžné údaje o možných příznivých účincích kyseliny chlorogenové na kognitivní funkce u lidí. Přesný mechanismus či mechanismy související s neuroprotektivními účinky nebyly doposud jasně stanoveny, ačkoli se v literatuře dočteme slibných výsledků (Nabavi et al. 2017).

3.4.5 Další účinky

Literární zdroje ukazují, že CGA uplatňuje své protizánětlivé účinky tím, že je schopna silně inhibovat produkci některých z mediátorů, jako jsou TNF- α , interleukin-6 a interleukin-1 β (Kotyczka et al. 2011). Mezi další vlastnosti CGA patří antimikrobiální aktivita (Lou et al. 2011; Bajko et al. 2016), protizánětlivé, analgetické a antipyretické (dos Santos et al. 2006) a antineoplastické účinky (Rao et al. 1992).

3.5 Extrakt ze zelených kávových zrn a redukce tělesné hmotnosti

Prevalence i incidence obezity v posledních letech velmi rychle stoupá a stává se celosvětovým problémem. Obezita je definována jako nadměrná akumulace tělesného tuku a ovlivňuje nejen tělesné sebepojetí, ale je příčinou zvýšeného rizika chronických onemocnění, včetně rozvoje hypertenze, inzulinové rezistence, cukrovky a kardiovaskulárních onemocnění (Hruby & Hu 2015). Regulace tělesné hmotnosti proto bývá jedním z hlavních a dlouhodobých cílů při dosažení zdravého životního stylu zejména u lidí s obezitou a je důležité hledat bezpečné a efektivní cesty, jak tělesnou hmotnost řídit.

Při léčbě obezity se v současnosti využívá kromě behaviorální terapie i farmakologické i chirurgické léčby (Fujioka 2002; Kushner 2014), avšak vysoké náklady a potencionální nepříznivé účinky většiny léků vedou obézní jedince ke zkoušení nejrůznějších funkčních potravin a nutraceutik (Venkatakrisnan et al. 2019; Nijhawan & Behl 2020). Nicméně ukazuje se, že racionální strava sama o sobě obsahuje mnoho složek, které mohou svým působením zabránit rozvoji nadváhy či obezity. Kalorický deficit je ale stále považován za primární mechanismus redukce tělesné hmotnosti (Varady 2011).

Průmysl vyrábějící doplňky stravy roste a přináší velké množství pomocníků při hubnutí neboli tzv. „spalovače tuků“. Mezi přirozeně se vyskytující termogenní složky rostlin patří například kofein nebo efedrin, které mají mimo jiné stimulační účinky na centrální nervový systém včetně přidružených nepříznivých kardiovaskulárních účinků. V posledních letech si

získal významnou popularitu extrakt ze zelené kávy (GCBE), který spolu s p-synefrinem (extrakt z hořkého pomeranče), kapsaicinem nebo forskolinem patří mezi nestimulační termogenní látky (Stohs & Badmaev 2016).

3.5.1 Mechanismus účinku

Pro objasnění mechanismu působení je využíváno především experimentů na zvířecím modelu, které nepřináší vždy zcela uspokojivé výsledky. Jednou z teorií je, že zelená káva zvyšuje energetický metabolismus a snižuje lipogenezi díky sterol regulačnímu prvku vázajícímu protein (SREBP-1c) a podobným molekulám potlačujícím akumulaci tělesného tuku (Murase et al. 2011).

Jiné vědecké teorie hlásí, že přírodní látky nacházející se v zelené kávě zabraňují přibývání na váze a hromadění tuku inhibicí vstřebávání tuků a zvýšením jejich metabolismu v játrech (Shimoda et al. 2006; Meng et al. 2013) nebo mohou snižovat kalorický vstup díky inhibici α -amylázy (Narita & Inouye 2015b).

Suplementace kávových polyfenolů může být taktéž efektivní v redukci tělesné hmotnosti a viscerálního tuku díky inhibici makrofágů infiltrujících se do tukových tkání (Murase et al. 2011).

Ve studii *in vitro* autorů Henry-Vitrac et al. (2010) byla prokázána inhibice hydrolýzy glukóza-6-fosfatázy v neporušených mikrozomech lidských jater z důvodu GCBE. Glukóza-6-fosfatáza existuje primárně v játrech a katalyzuje konečný krok v glukoneogenezi a glykogenolýze. Inhibicí tohoto enzymu zelenou kávou podporujeme redukci hmotnosti, ale i antidiabetické účinky díky snížení produkce glukózy játry.

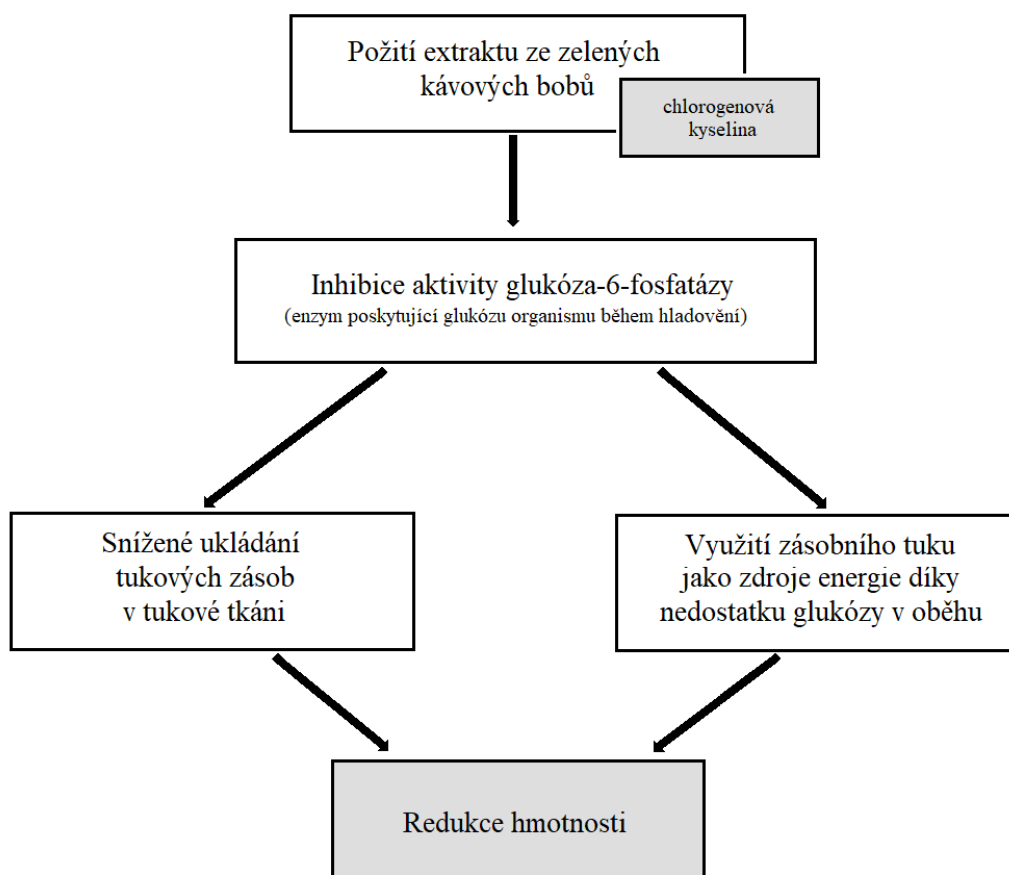
Chlorogenová kyselina může být podle Cho et al. (2010) schopna vyvolat úbytek tělesného tuku působením jako agonista PPAR- α a zvýšením produkovaného tělesného tepla. Může také snižovat množení nových tukových buněk prostřednictvím svých antioxidačních účinků (Hsu, 2006).

Tanaka et al. (2009) ve své studii na krysách popisují výsledky naznačující antiobezitní a hypotriglyceridemické vlastnosti GCBE. Uvádí domnělý mechanismus, přinejmenším částečně vyvolaný potlačením lipogeneze a zrychlením lipolýzy.

Lipolytickou aktivitu, související s metabolismem adipocytů, odhalil také Flanagan et al. (2013) ve své studii s komerčním přípravkem Svetol® (extrakt ze zelených kávových bobů bez kofeinu s vysokým obsahem CGA). Aktivace lipolytické aktivity v tukové tkáni podle něj vede k uvolnění volných mastných kyselin a glycerolu při současném snížení objemu buněk adipocytů.

Obecně lze říct, že mechanismy působení GCBE a jeho sloučenin proti obezitě s velkou pravděpodobností souvisí s metabolismem glukózy (viz Obrázek 9). Zabráněním uvolnění glukózy z jater inhibicí aktivity glukóza-6-fosfatázy a současně omezením absorpce glukózy v tenkém střevě inhibicí glukóza-6-fosfát translokázy dochází ke snížení hladiny glukózy v krevním oběhu, a je tak snížena potřeba aktivity inzulínu. Druhým zdrojem energie po omezení dostupnosti glukózy se jeví tukové zásoby. V důsledku menší aktivity inzulínu nedochází k ukládání tukových zásob a dochází ke katabolismu dosavadní tukové tkáně

jako zdroje energie. Tento navrhovaný mechanismus působení je ověřen skutečností, že CGA jsou detekovány v tenkém střevě (Johnston et al. 2003; Naveed et al. 2018).



Obrázek 7: Chlorogenová kyselina: mechanismus účinku (Naveed et al. 2018)

3.5.2 Studie na zvířecím modelu

Byly pozorovány změny hmotnosti u krys, které byly rozděleny do 4 intervenčních skupin. Každá ze skupin měla odlišný dietní režim (normální strava, stravu s vysokým obsahem tuků, strava s vysokým obsahem tuků spolu s 0,02 % CA anebo CGA). Výsledky odhalily pokles hmotnosti o 16 % u skupiny konzumující stravu s vysokým obsahem tuku spolu s CGA oproti skupině konzumující pouze stravu bohatou na tuky (Cho, 2010).

Výsledky studie Shimoda et al. (2006) naznačují pravděpodobné účinky GCBE proti přírůstku hmotnosti a akumulaci tuků díky inhibici absorpce tuků a aktivaci jejich metabolismu v játrech. Předpokládá se, že kofein potlačuje vstřebávání tuků, zatímco CGA se částečně podílí na snížení hladiny triglyceridů v játrech a může zvýšit aktivitu karnitinpalmytoyltransferázy u myši po podávání GCBE.

Podle výzkumu Songa et al. (2014) extrakt ze zrnkové kávy bez kofeinu při minimální účinné dávce 0,3 % krmné stravy významně snížil akumulaci viscerálního tukového polštáře a zlepšil rezistenci na inzulin u myši krmených vysokotučnou stravou. Autoři tak navrhují, že kafeoylchinová kyselina spolu s dalšími polyfenoly z extraktu mohou mít aditivní účinek na

snížení přírůstku tělesné hmotnosti a zvýšení citlivosti na inzulin. GCBE bez kofeinu by se tak podle autorů mohl stát terapeutickým nástrojem, který předchází obezitě nebo METS.

3.5.3 Klinické studie

Thom et al. (2007) ve své studii upozoroval významné snížení tělesné hmotnosti u subjektů s nadváhou (BMI 27–32 kg/m²) oproti kontrolní skupině. U experimentální skupiny konzumující kávu obohacenou o extrakt ze zelené kávy (11 g/den) došlo po 12 týdnech intervence k redukci tělesné hmotnosti o 5,4 kg. Pokles tělesné hmotnosti u kontrolní skupiny konzumující instantní kávu bez extraktu byl 1,7 kg.

Příznivé účinky CGA na tělesnou hmotnost u zdravých dospělých s nadváhou byly pozorovány také ve studii Dellalibera et al. (2006). Studie podobného designu přinesla výsledky snížení váhy o přibližně 5 kg ve srovnání s kontrolní skupinou, kde došlo ke snížení o 2,45 kg. Účinnou látkou byl v tomto případě komerční přípravek Svetol®. Dle poskytnutých informací nebyl deklarován střet zájmů.

Bakuradze et al. (2011) publikoval studii, kde příjem pražené kávy obohacené o složky zelených kávových zrn s vyšším podílem CGA (CGA 580 mg/l) významně ovlivnil tělesnou hmotnost. Výsledky odhalily snížení jak váhy, tak i snížení oxidačního poškození.

V další randomizované studii autorů Kotyczka et al. (2011) bylo podávána káva bohatá na CGA (CGA: 4,5 mmol/l) u 30 zdravých dobrovolníků. Z výsledků bylo zjištěno, že tělesná hmotnost se významně nezměnila. Tyto výsledky můžeme přisoudit krátké době intervence, která trvala pouze 4 týdny, což lze v porovnání s předchozími studiemi považovat za krátkou dobu.

Zkřížená studie Revuelta-Iniesta & Al-Dujaili (2014) porovnávala vliv konzumace zelené nebo pražené černé kávy v množství 40 g/den u 18 zdravých subjektů po dobu 2 týdnů bez změn v energetickém příjmu v průběhu intervence. Významný pokles byl pozorován u systolického krevního tlaku, tělesné hmotnosti a BMI u skupiny se zelenou kávu ve srovnání se skupinou konzumující běžnou praženou kávu. U obou skupin se snížil diastolický tlak, obvod pasu a množství viscerálního tuku.

Review Tajik et al. (2017) uvádí ještě studii Vinson et al. (2012), která upozorovala dramatický efekt ve srovnání s předchozími výzkumy. Úbytek tělesné hmotnosti činil zhruba 8 kg neboli více než 10 % původní tělesné hmotnosti. Článek byl stažen v říjnu 2014 americkými sponzory, neboť nebylo možné potvrdit platnost studie provedené v Indii.

Autoři Roshan et al. (2018) se zaměřili na provedení placebem kontrolované klinické studie k objasnění účinků GCBE na antropometrické indexy, glykémii, inzulinovou rezistenci, krevní tlak, lipidový profil a chuť k jídlu u pacientů s metabolickým syndromem. Intervenční dávka byla stanovena na 400 mg GCBE po dobu 8 týdnů. Výsledky naznačují významné snížení systolického krevního tlaku a hladiny glukózy v krvi nalačno. Skóre chuti k jídlu vykazovala významný pokles u jednotlivců užívající GCBE. Snížení hmotnosti a BMI v intervenční skupině bylo téměř dvakrát větší než ve skupině s placebem, ale tato nesrovnalost byla označena za okrajově významnou. Pokud se jedná o glykovaný hemoglobin a parametry lipidového profilu, nebyl pozorován žádný významný rozdíl mezi oběma skupinami. Obecně lze říct, že konzumace extraktu ze zelené kávy měla zmírňující účinek na některé faktory metabolického syndromu.

3.6 Měření tělesného složení

Bioelektrická impedanční analýza (BIA) je neinvazivní a relativně levná metoda hodnocení složení těla člověka, která nevyžaduje vysoký stupeň technických dovedností. Vedle toho se jedná o jednu z nejspolehlivějších metod analýzy složení lidského těla. Díky těmto vlastnostem se BIA stala běžnou metodou hodnocení v různých klinických nebo fitness podmínkách (Heyward & Wagner 2004).

Metoda BIA odhaduje složení těla vysláním slabého elektrického proudění do těla a na základě jeho odporu (bioelektrická impedance) vyhodnocuje. Beztuková hmota má vysoký obsah vody a elektrolytů, díky čemuž je tato tkáň vysoce vodivá s nízkým odporem. Tuková tkáň obsahuje málo vody a elektrolytů, což z ní činí špatný vodič s vysokou odolností a snižuje schopnost prostupu elektrického proudění (Lohman et al. 2005).

Při použití analyzátorů BIA s kontaktní elektrodou se měří tělesné složení, jako je procento tělesného tuku a množství beztukové hmoty je automaticky vypočítáno pomocí předprogramovaných predikčních rovnic (Kyle et al. 2004a). Tyto patentované rovnice kombinují měřenou impedanci s dalšími informacemi, jako je výška, tělesná hmotnost, pohlaví, věk a typ těla, aby bylo možné na jejich základě odhadnout hodnoty složení těla (Heyward & Wagner 2004).

Předchozí výzkum ukázal, že na impedanci mají vliv faktory, které způsobují změny tělesných tekutin nebo elektrolytů (Kushner et al. 1996). Za účelem kontroly zadržování tekutin a zlepšení přesnosti měření byly před použitím technologie BIA doporučeny specifické pokyny pro předběžné testování. Například se doporučuje, aby se klienti před hodnocením vyhýbali jídlu, pití, náročným fyzické aktivitě a užívání diuretik (Kyle et al. 2004b). Kromě toho je doporučeno, aby ženy nebyly testovány, pokud mají pocit, že zadržují vodu během menstruačního cyklu (Heyward & Wagner 2004).

4 Metodika

Praktická část této diplomové práce byla pro ověření pravdivosti hypotéz navržena jako randomizovaná, dvojitě zaslepená, placebem kontrolovaná, cross-over studie. Náhodně vybraní jedinci byli prověřeni dotazníkem, aby byly zjištěny informace o jejich zdravotním stavu, osobní anamnéze, stravovacích návycích a pohybové aktivitě (viz Příloha I). Následně byli seznámeni s pravidly měření, užívání doplňku a byli instruováni ohledně dodržování protokolu experimentu.

4.1 Účastníci

Experimentální části práce se zúčastnilo celkem 14 dospělých jedinců ve věku 21–54 let. Byli náhodně vybráni z dobrovolníků se zájmem o účast v experimentu, oslovených v rámci sociálních sítí. Jejich BMI bylo v rozmezí 18,5–35 kg/m² a nebyla u nich diagnostikována žádná z metabolických poruch. Charakteristika výzkumného souboru je uvedena v Tabulce 4.

Jedinci, kteří splňovali kritéria vyloučení (podávání inzulínu pro kontrolu hladiny glukózy v krvi, hypo- nebo hypertyreóza, nadměrná rutinní konzumace kávy, těhotenství, kojení, užívání kortikosteroidů, hormonální substituční léčba, užívání dalších doplňků pro hubnutí za posledních 6 měsíců a během studie, bariatrický chirurgický zákrok v minulosti nebo přísné redukční diety na hubnutí v posledních 6 měsících, rakovina, selhání orgánů, kardiostimulátor, cerebrovaskulární příhoda či jiné kognitivní choroby nebo jiná onemocnění, která by znemožňovala dodržení pravidel experimentu) nebyli do výzkumu přijati. Z výzkumu byli vyřazeni také ti, kteří upozorovali jakékoliv nepříjemné či negativní účinky při konzumaci doplňků v průběhu výzkumu nebo jim dodržování protokolu výzkumu bylo ze zdravotních nebo jiných důvodů znemožněno.

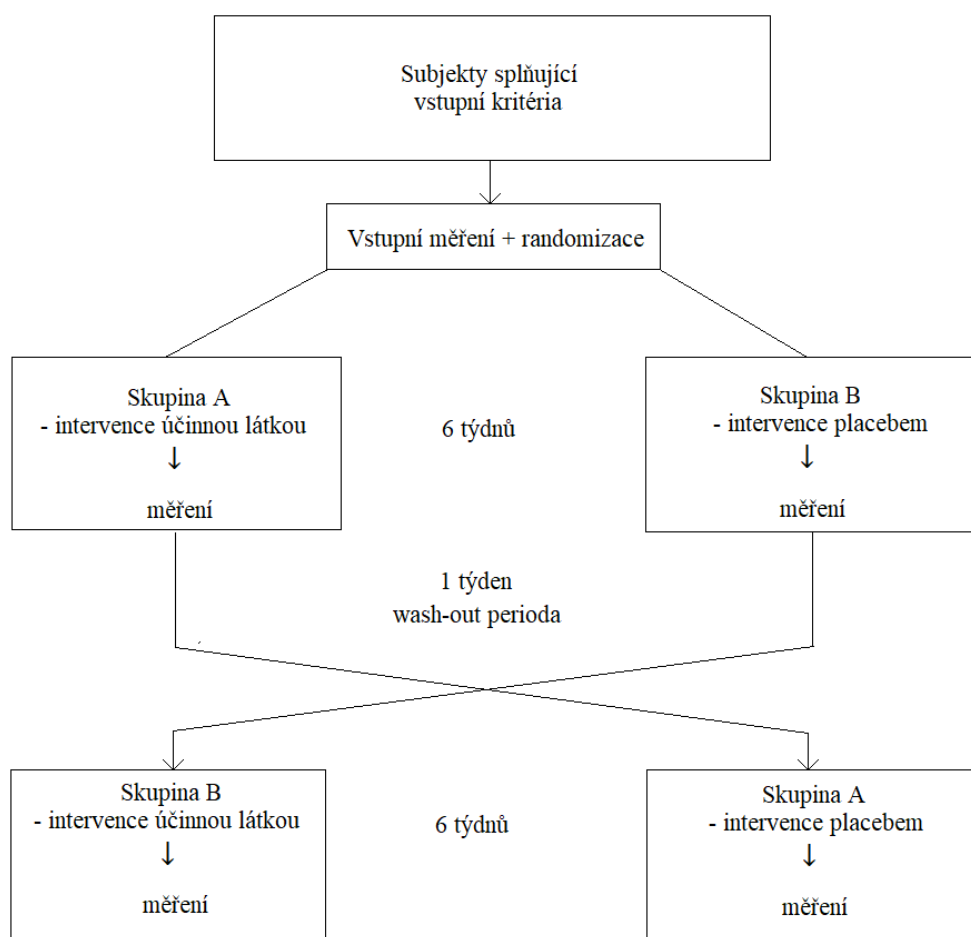
Tabulka 4 Základní charakteristika celého souboru (n = 14)

Parametr	Průměrné hodnoty a směrodatné odchylky
Pohlaví, n (%)	
žena	9 (64,3 %)
muž	5 (35,7 %)
Věk (roky)	31,07 ± 12,26
Tělesná výška (cm)	172,14 ± 8,88
Iniciální tělesná hmotnost (kg)	82,05 ± 10,82
Iniciální BMI (kg/m ²)	27,70 ± 3,25
Iniciální tuková složka (%)	31,30 ± 9,05
Iniciální tuková složka (kg)	25,78 ± 8,72
Iniciální tuková složka v oblasti trupu (kg)	13,76 ± 4,45

4.2 Design experimentu

Celková délka výzkumu byla stanovena na 13 týdnů a byla rozdělena do dvou 6týdenních intervenčních fází. Na konci první fáze byla zařazena 1týdenní tzv. wash-out pauza bez užívání doplňků, po které následovala druhá fáze. Diagram experimentu je znázorněn na Obrázku 10. Všichni účastníci byli pečlivě seznámeni s jeho průběhem a svou účast potvrdili podpisem informovaného souhlasu, jehož vzor je součástí práce (viz Příloha II a III). Studie byla dvojitě zaslepená nezúčastněnou osobou až do jejího konce a použité přípravky byly pečlivě označeny pro pozdější vyhodnocení.

Účastníci byli rozděleni podle pohlaví a náhodně přiděleni do jedné ze dvou skupin. Skupina A užívala extrakt ze zelených kávových bobů během první fáze (1.–6. týden) a placebo během druhé fáze (7.–13. týden). Skupina B užívala placebo během první fáze (1.–6. týden) a během druhé fáze (7.–13. týden) extrakt ze zelených kávových bobů (viz Obrázek 10).



Obrázek 8: Diagram experimentu (vlastní tvorba)

Ani jedna ze skupin nebyla v kalorickém deficitu či nadbytku. Všichni účastníci byli na začátku experimentu zváženi na váze měřící tělesné složení, alespoň 3 hodiny bez jídla a 2 hodiny bez pití. Kontrolní vážení probíhalo za stejných podmínek pravidelně po dobu

13 týdnů, vždy ve stejnou denní dobu. Hodnocena byla tělesná hmotnost, BMI a celkové množství tělesného tuku, dále pak svalová hmota, tělesná voda a další ukazatele.

Každý účastník, bez ohledu na to, k jaké skupině patřil, užíval 1 tobolku (s účinnou látkou nebo placebo) jedenkrát denně ráno současně se snídaní po dobu 2 × 6 týdnů. Množství užívaného doplňku pro první část experimentu (42 tobolek) bylo oběma skupinám předáno během randomizace na začátku výzkumu. Doplňky pro druhou část výzkumu byly předány na začátku 7. týdne.

Všichni účastníci byli instruováni, aby výrazně neměnili své stravovací zvyklosti, pokud jejich váha stagnuje. Byli také požádáni, aby nekonzumovali neobvykle velké množství nápojů obsahující kofein nebo doplňky stravy s kofeinem či jinými termogenními látkami.

Každému jedinci byl individuálně na začátku intervence vypočítán vyrovnaný energetický příjem odpovídající jeho váze, tělesnému složení a životnímu stylu, kterým se měl během experimentu řídit. Byl mu také poskytnut stravovací plán, který pomohl směřovat k dodržování správných stravovacích návyků a zadaných cílů.

Dále byl každý účastník instruován, aby případnou fyzickou aktivitu nad rámec jeho běžného životního stylu adekvátně doplnil vhodně zvolenými potravinami, abychom zamezili zkreslení výsledků vlivem výrazné záporné energetické bilance. Podíl makronutrientů ve stravovacím doporučení ku celkovému příjmu energie byl: 50 % sacharidů, 20 % bílkovin, 30 % tuků.

4.3 Přípravek

Zelená káva CGA (Salvia Paradise s.r.o., Zaječov, Česká republika), doplněk stravy ve složení: 100% standardizovaný extrakt ze zelené kávy *Coffea arabica*. Extrakt je standardizován na obsah chlorogenové kyseliny v množství 400 mg v 1 tobolce (informace dostupné z obalu přípravku). Placebo (větvené esenciální aminokyseliny) v množství 360 mg vzhledově podobné tobolkám s účinnou látkou. Přípravek BCAA 2:1:1 (Pearl of Health SE, Praha, Česká republika).

4.4 Měření antropometrických parametrů a tělesného složení

Tělesná výška byla měřena na začátku výzkumu naboso s přesností na 1 cm pomocí metru připevněného ke zdi. Tělesná hmotnost s přesností na 0,1 kg a tělesné složení (% tuku, tuk v oblasti jednotlivých částí těla, tělesná voda, svalová a kostní hmota) bylo měřeno pomocí bioelektrické impedanční analýzy za použití přístroje In Body 270 (Biospace Co., Ltd., Korea).

Měření bylo prováděno pravidelně jednou za 14 dní po dobu 13 týdnů, ve stejnou denní dobu za stejných podmínek. Byla dodržována pravidla spočívající v: 3 hodiny bez jídla a 2 hodiny bez pití před samotným měřením.

Index tělesné hmotnosti byl vypočítán pomocí standardní rovnice: $BMI (kg/m^2) = \text{hmotnosti v kg} / (\text{výška v m})^2$. Všechna nashromážděná data byla bezpečně a anonymně uchována.

4.5 Statistická analýza

Kvantitativní proměnné jsou uvedeny jako průměry \pm směrodatné odchylky ($n = 6$ pro kontrolní skupinu a $n = 6$ pro intervenční skupinu). Výsledky v rámci jednotlivých skupin byly vypočítány na základě parametrického párového t-testu. Pro porovnání výsledků mezi jednotlivými skupinami bylo použito neparametrického Mann-Whitneyova U testu. Pro hodnocení velikosti efektu mezi dvěma nezávislými proměnnými bylo použito výpočtu koeficientu Cohenova d (Cohen 1988). Běžně používané hodnocení velikosti koeficientu d je uvedeno v Tabulce 5. Statistické analýzy byly provedeny za pomoci softwaru Statistica CZ, verze 12.0 (StatSoft). Hladina významnosti byla stanovena na 0,05, p -hodnoty $<0,05$ byly považovány za statisticky významné.

Tabulka 5: Rozpětí absolutní hodnoty Cohenova d a jejich slovní označení (Cohen 1988)

Interval	Slovní označení
$\leq (0,2-0,5)$	malý efekt
$< (0,5-0,8)$	střední efekt
0,8 a vyšší	velký efekt

5 Výsledky

Do experimentální části této diplomové práce výzkumu bylo přijato celkem 14 účastníků (8 žen a 4 muži). Podle protokolu dokončilo první část výzkumu 12 osob (6 ze skupiny A a 6 ze skupiny B). Důvodem, proč nebyly zahrnuty výsledky dvou jedinců (1 muž a 1 žena), bylo prodělání onemocnění COVID-19, což významně ovlivnilo výsledky.

Průměrný věk subjektů účastnících se studie ($n = 12$) byl $30,08 \pm 11,65$ let a průměrný index tělesné hmotnosti $27,89 \pm 3,46$ kg/m². Základní charakteristika jednotlivých skupin na začátku experimentu je uvedena v Příloze IV. Snášenlivost užívaných doplňků byla v obou skupinách stejně dobrá a nikdo z účastníků nepozoroval žádné vedlejší účinky, které by mohly souviset užíváním daných látek.

Míra pohybové aktivity účastníků obou skupin se dle poskytnutých informací významně nelišila v průběhu studie. Cílená fyzická aktivita se pohybovala na nízké až střední úrovni. Předpokládá se, že příjem energie byl po celou dobu dodržován tak, aby odpovídal vyvážené energetické bilanci.

Změny antropometrických parametrů a složení těla

Jak je uvedeno v Tabulce 6, analýza výsledků ukázala, že po 6 týdnech užívání účinné látky se tělesná hmotnost významně snížila ve srovnání s výchozí hodnotou. Kromě poklesu tělesné hmotnosti o $-2,02 \pm 1,28$ kg došlo k významnému snížení i množství tělesného tuku o $-1,55 \pm 0,46$ kg, respektive o $-1,08 \pm 0,91$ %. Orientační hodnocení úrovně viscerálního tuku na základě parametru množství tuku v oblasti trupu ukázala rovněž statisticky významné výsledky u skupiny užívající extrakt ze zelené kávy. Snížení tělesné hmotnosti mělo za následek i významné rozdíly co se týče hodnot BMI. Mezi skupinami byl statisticky významný rozdíl ve srovnání změn tělesné hmotnosti a tím i BMI. Jiné parametry neprokázaly významné rozdíly ve výsledcích intervenční a kontrolní skupiny.

Velikost efektu (dle koeficientu Cohena d) na tělesnou hmotnost, BMI a orientační množství viscerálního tuku je dle vypočítaných hodnot velká. Střední efekt měla intervence na změny množství tělesného tuku vyjádřené v kilogramech, malý pak na stejný parametr vyjádřený v %. Efekt na změny svalové tkáně nebyl pozorován žádný.

Druhou fází výzkumu nebylo bohužel z důvodu protiepidemických opatření realizovat a výsledky nejsou tudíž k dispozici.

Tabulka 6: Výsledky měření: závislé proměnné obou skupin před a po 1. fázi výzkumu a jejich změny (data jsou uvedena jako průměrné hodnoty a jejich směrodatné odchylky, velikost efektu a jeho 95% interval spolehlivosti)

Parametry	Začátek	6. týden	p*	Změny	p**	Cohenovo <i>d</i> ***	95% CI***
Hmotnost (kg)							
GCBE	83,12 ± 13,45	81,10 ± 12,69	0,012	-2,02 ± 1,28			
placebo	82,30 ± 11,58	81,80 ± 11,59	0,200	-0,50 ± 0,83	0,045	-1,41	2,56; 1,09
BMI							
GCBE	28,02 ± 4,70	27,33 ± 4,33	0,014	-0,68 ± 0,45			
placebo	27,77 ± 2,58	27,60 ± 2,54	0,175	-0,17 ± 0,26	0,044	-1,39	1,64; 1,14
Tělesný tuk (%)							
GCBE	32,10 ± 11,97	31,02 ± 12,62	0,033	-1,08 ± 0,91			
placebo	31,52 ± 6,81	30,78 ± 7,92	0,358	-0,73 ± 1,78	0,748	-0,25	1,02; -0,52
Tělesný tuk (kg)							
GCBE	27,05 ± 10,80	25,50 ± 10,67	0,001	-1,55 ± 0,46			
placebo	25,82 ± 5,94	24,95 ± 6,20	0,190	-0,87 ± 1,28	0,471	-0,71	1,31; 0,10
Tělesný tuk–oblast trupu (kg)							
GCBE	13,72 ± 5,85	12,80 ± 5,66	0,001	-0,92 ± 0,35			
placebo	14,22 ± 3,79	13,98 ± 4,02	0,433	-0,23 ± 0,67	0,128	-1,29	1,64; 0,94
Svalová tkáň (kg)							
GCBE	31,57 ± 7,57	31,50 ± 7,81	0,871	-0,07 ± 0,96			
placebo	30,50 ± 7,00	30,70 ± 7,69	0,680	-0,20 ± 1,12	0,810	-0,12	0,69; -0,44

* p-hodnota pro párový t-test

** p-hodnota pro Mann-Whitneyův U test

*** Cohenovo *d* pro velikost efektu a jeho interval spolehlivosti na hladině 95%

Statisticky významné rozdíly jsou označeny tučně.

6 Diskuze

Obezita je výsledkem dlouhodobé pozitivní energetické bilance v důsledku nadměrného příjmu energie převyšující energetický výdej. Projevuje se jako nadměrná akumulace tělesného tuku, což se odráží ve zvýšení indexu tělesné hmotnosti. S výjimkou závažného neuroendokrinního onemocnění je patologický problém nadměrného zmnožení tukové tkáně většinou způsoben životním stylem. Racionální strava s důrazem na kvalitu surovin, v odpovídajícím množství v kombinaci s pohybovou aktivitou je zásadním předpokladem pro úspěšné redukování hmotnosti (Fock & Khoo 2013).

Změna životního stylu s cílem dosažení požadované hmotnosti mnohdy není jednoduchou záležitostí a vyžaduje silnou vůli a odhodlání. Mnoho jedinců ve svých pokusech selhává z různých důvodů. V důsledku toho existuje velký zájem o doplňky stravy, které by mohly usnadnit výdej kalorií, mít vliv na sytost a podporovat tak hubnutí. Široká škála látek pocházejících z rostlin nabízí velký potenciál v pomoci při redukci hmotnosti (Nijhawan & Behl 2020).

Nástroje pro zvládání obezity, jako je kofein, efedrin, kapsaicin nebo zelený čaj, byly navrženy pro hubnutí a udržení požadované hmotnosti díky jejich termogenními účinkům, tj. mohou zvyšovat energetický výdej a zároveň mohou/nemusí stimulovat CNS (Diepvens et al. 2007). Zatímco efedrin je na seznamu zakázaných látek Světovou antidopingovou agenturou (WADA), kofein je nejvíce konzumovaným stimulantem na světě (Docherty 2008). Zelená káva, jako zástupce termogenní látky bez stimulačních účinků, se díky své vysoké koncentraci fenolových kyselin, ukazuje jako slibná bylinná sloučenina pro potenciální prevenci a léčbu nadváhy a obezity (Pimpley et al. 2020).

Blahodárné účinky zelené kávy jsou přičítány přítomnosti chlorogenových kyselin, které mají na svědomí snížení a zpomalení absorpce glukózy v tenkém střevě (Simon et al. 2000). Ve studiích na zvířecím modelu vykazují prokazatelné účinky jako je zvýšení citlivosti na inzulín a tolerance glukózy, podpora metabolismu lipidů (Cho et al. 2010). CGA dále snižují absorpci tuků inhibicí aktivity pankreatické lipázy (Henry-Vitrac et al. 2010) a zvyšují oxidaci mastných kyselin, inhibují lipogenezi a snižují akumulaci tělesného tuku díky regulaci genů souvisejících s adipogenezí (Shimoda et al. 2006; Meng et al. 2013; Choi et al. 2016b; Maki et al. 2017). Díky synergickému účinku mezi kofeinem a kyselinou chlorogenovou v zelené kávě bylo prokázáno, že GCBE potlačuje přírůstek hmotnosti lépe než izolovaná chlorogenová kyselina nebo kofein (Zheng et al. 2014).

Předpokládaný klinický výzkum byl proveden za účelem zkoumání účinků perorálního požití extraktu ze zelených kávových bobů. Dávka GCBE použitá v této studii poskytla 400 mg CGA/den. Toto množství lze v běžné stravě dosáhnout konzumací kávy. Odhaduje se, že běžní konzumenti kávy mohou denně přijímat 0,5–1,0 g CGA (Clifford 2000).

Výsledky poukazují, že užívání zelené kávy u zdravých jedinců bez metabolického onemocnění po dobu 6 týdnů mělo významný vliv na snížení tělesné hmotnosti u intervenční skupiny ve srovnání s kontrolní skupinou. Bylo pozorováno i významné snížení týkající se parametru množství tělesného tuku v oblasti trupu orientačně odpovídající množství viscerálního tuku v porovnání s počátečními hodnotami. Kromě toho měl úbytek hmotnosti vliv i na snížení BMI.

Příznivé účinky GCE na snížení tělesné hmotnosti v tomto výzkumu jsou v souladu s výsledky některých předchozích klinických studií (Dellalibera et al. 2006; Roshan et al. 2018; Fasihi et al. 2019; Hosseinabadi et al. 2020). Alhamhany a Alssady (2018) ve své studii uvádí pouze významný pokles BMI, avšak vzhledem k tomu, že BMI se počítá pomocí výšky a hmotnosti, tak lze logicky předpokládat že pokud klesá hmotnost, klesá i BMI.

Pokud jde o změny množství tělesného tuku, ty byly zkoumány studii (Park et al. 2010; Kim et al. 2012; Gómez-Juaristi et al. 2018). Účinky suplementace GCE na procento tělesného tuku však nedosáhly významného výsledku. Periferní úbytek tuku může nastat dříve než úbytek viscerálního tuku ((Molarius & Seidell 1998), proto se zdá být přínosnější analyzovat segmentální hodnocení složení těla, aby bylo lépe identifikovatelné co ke snížení tělesné hmotnosti přispívá. Zároveň nelze nezmínit i studie, které nemají významné výsledky (Kozuma et al. 2005; Park et al. 2010; Kim et al. 2012; Lopez-Garcia et al. 2014).

Haidari et al. (2017) uvádí významné snížení váhy u žen s BMI > 25 o 4,84 kg po 8 týdnech užívání 400 mg GCE obsahující 180 mg CGA. Významnější výsledek v porovnání s předešlými studii spočíval zřejmě v dodržování nízkokalorické diety spolu s užíváním účinné látky. Studie Thom et al. (2007) a Al-Dujaili et al. (2016) i přes potenciální výsledky potvrzující snížení tělesné hmotnosti, vykazují metodické omezení. Ve svém výzkumu použili jako placebo přípravek s kofeinem, což jako potenciálně aktivní komparátor mohlo významně ovlivnit výsledky.

Nedostatek údajů, nekonzistentní metodologie a nízká kvalita aktuálně dostupných studií omezují přesvědčivost účinků GCBE na tělesné složení. Závěry metaanalýzy Asbaghi et al. (2020) jako celek sice připisují příznivé účinky suplementace GCBE při snižování tělesné hmotnosti, BMI a obvodů pasu. Na druhou stranu neprokázaly žádný významný vliv na procento tělesného tuku. Množství CGA v přípravcích se pohybovalo od 57 do 500 mg/den. Na základě jejich zjištění se zdá, že konzumace nízkých dávek GCE (<400 mg / d) po dlouhou dobu (≥ 8 týdnů) je účinnější než vysoké dávky užívané v krátké době.

Naše výsledky $-2,02 \pm 1,28$ kg ($p < 0,05$) jsou překvapivě lepší než je průměr výsledků 15 studií zahrnutých v této metaanalýze $-1,23$, 95% CI: $-1,64$, $-0,82$ kg, $p < 0,001$. Autoři rovněž svůj výsledek porovnávají s efektem léčivého přípravku Orlistat, což je inhibitor intestinální lipázy podporující snížení tělesné hmotnosti (Henness & Perry 2006). Metaanalýza Sahebkar et al. (2017) zahrnující 33 studií o efektivitě tohoto přípravku došla k závěru, že průměrná ztráta hmotnosti lidí užívající tento lék je $-2,12$ 95% CI: $-2,51$, $-1,74$, $p < 0,001$). GCBE se zdá být jako efektivnější a bezpečnější alternativa pro snižování tělesné hmotnosti a centrální obezity.

K objasnění dlouhodobých účinků a bezpečnosti suplementace GCBE na úbytek hmotnosti jsou ale zapotřebí rozsáhlejší klinické studie. Přestože žádný z účastníků uvedených studií neohlásil žádné vedlejší účinky po konzumaci vysokých dávek GCBE, nelze automaticky tvrdit, že je suplementace bez rizika obzvlášť u jedinců trpící chronickým onemocněním.

Limitace studie

Ovlivnění výsledků při realizaci výzkumu může nastat z mnoha příčin, v tomto případě lze považovat za pravděpodobné chyby technického vybavení (odchylka měřicího přístroje), chybějící zaslepení, malý počet účastníků, nerovnoměrnost pohlaví, věkové omezení, rozdílná

míra fyzické aktivity, chybějící konzistence energetického příjmu, velikost účinné dávky, nadprůměrná habituální konzumace kávy a rozdílná biologická dostupnost.

Námi provedený výzkum nese celou řadu nedostatků. Druhou fází pokusu nebylo možné z důvodu protiepidemických opatření zrealizovat. Dalším možným zádrhelem se zdá být malá velikost vzorku provedeného experimentu, která zvyšuje možnost falešně pozitivních výsledků. Technické vlastnosti měřicího přístroje a nemožnost měřit viscerální tuk s uspokojivou přesností se jeví také jako další významná nedostatečnost.

Výzkumný soubor nebyl v našem případě rovnoměrně zastoupen oběma pohlavími. Nesrovnalosti mohou nastat při interpretaci výsledků studií, kde je zastoupení převážně žen, neboť jejich tělesná váha může být ovlivněna menstruačním cyklem v souvislosti s nadměrným zadržováním vody. Vstupní a výstupní měření uskutečněné v odlišné fázi cyklu ženy může být zkresleno. Ačkoliv byli dobrovolníci požádáni, aby neměnili stravovací režim a zachovali si podobnou míru fyzické aktivity v celém průběhu studie, nečekaná událost, nemoc nebo jiné důvody mohou zavedenou rutinu kdykoliv ovlivnit. Pokud je věkové rozpětí výzkumného souboru omezeno, ztěžuje to extrapolaci na obecnou populaci nebo její specifickou část. Délka studie je dalším parametrem, který znesnadňuje odhad dlouhodobé účinnosti a bezpečnosti zkoumané látky.

V neposlední řadě je nutné zmínit i možné nevýhody cross-overové studie, které by mohly nastat v případě dodržení původního designu výzkumu. Příliš dlouhý carry-over efekt (přenos léčebného efektu z první fáze i po jeho vysazení do druhé fáze) nebo pořadí podání zkoumané látky mohou mít vliv na účinky a tím i na výsledky (Curtin et al. 2002).

Návrhy pro budoucí výzkum

Pokud by tento výzkum probíhal znovu, bylo by přínosné se zaměřit na velikost výzkumného souboru (větší počet účastníků, rovnoměrně rozložení pohlaví a věku). Volba lepšího technického vybavení pro měření viscerálního tuku je taktéž nezanedbatelným požadavkem. Zařazení měření antropometrického parametru obvodu pasu (WC), případně poměr pasu k bokům (WHR), by mohlo napomáhat lepší interpretaci výsledků. Pro přehlednost v dodržování stravovacího režimu by bylo vhodné zařadit pravidelné vyhodnocování za účelem kontroly případných odchylek. Jednalo by se o vyplnění 3denního nutričního recallu při zahájení, během výzkumu a na konci výzkumu. Vzhledem k rozsáhlým vlastnostem účinné látky je na zvážení, zda nezařadit do studie i měření dalších neinvazivních (měření krevního tlaku) nebo invazivních parametrů (glykémie, lipidový profil).

7 Závěr

Hlavním účelem této práce bylo posoudit účinnost extraktu ze zelených kávových zrn jako doplňku pro redukci tělesné hmotnosti a změnu složení těla. Vzhledem k situaci nebylo možné uskutečnit výzkum v rozsahu, který byl původně navržen. Vládní opatření vyhlášená v rámci nouzového stavu vlivem probíhající pandemie znemožnila provedení měření a ovlivnila možnosti zúčastněných osob v rámci praktické části. Výsledky druhé fáze výzkumu chybí a jejich porovnání s první fází tak nebylo umožněno.

Byla provedena první část plánované křížové studie, tedy pouze randomizovaná paralelní klinická studie se stejným cílem. Výsledky zrealizovaného výzkumu odhalily statisticky významné rozdíly ve změně parametrů jako je celková tělesná hmotnosti a BMI mezi skupinou A a skupinou B. Významný efekt užívání doplňků na změny celkového množství tuku nebo množství tuku v oblasti trupu nebyly prokázány.

Na základě těchto výsledků byla zamítnuta hypotéza, která předpokládala významný vliv užívání extraktu ze zelených kávových bobů na snížení procenta podkožního a viscerálního tuku oproti placebo. Důvodem může být ne příliš velká přesnost měřicího nástroje, nedodržení vyvážené energetické bilance u dobrovolníků nebo neúčinnost podávané látky. Vzhledem k většímu zastoupení žen ve výzkumném souboru lze předpokládat i zkreslení výsledků z důvodu měření v odlišných fázích menstruačního cyklu.

Prokázaná statistická významnost je pouze mírná a klinický význam je proto nejistý stejně jako v některých předešlých studiích. Užívání účinné látky sice pomohlo subjektům ve snížení jejich hmotnosti, ale pro přesné objasnění účinku látky a splnění stanovených cílů je nutné celý výzkum opakovat ještě jednou a dodržet navržený design studie.

8 Literatura

- Alhamhany NN, Alassady EH. 2018. Does green coffee has a positive effect on body mass index and lipid profile in a sample of obese people. *J. Pharm. Sci.* **10**:4.
- Almeida AAP, Farah A, Silva DAM, Nunan EA, Glória MBA. 2006. Antibacterial activity of coffee extracts and selected coffee chemical compounds against enterobacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **54**:8738–8743.
- Alonso-Salces RM, Serra F, Reniero F, HÉberger Ká. 2009. Botanical and Geographical Characterization of Green Coffee (*Coffea arabica* and *Coffea canephora*): Chemometric Evaluation of Phenolic and Methylxanthine Contents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **57**:4224–4235.
- Anthony F, Clifford MN, Noiro M. 1993. Biochemical diversity in the genus *Coffea* L.: chlorogenic acids, caffeine and mozambioside contents. *Genetic Resources and Crop Evolution* **40**:61–70.
- Asbaghi O, Sadeghian M, Rahmani S, Mardani M, Khodadost M, Maleki V, Pirouzi A, Talebi S, Sadeghi O. 2020. The effect of green coffee extract supplementation on anthropometric measures in adults: A comprehensive systematic review and dose-response meta-analysis of randomized clinical trials. *Complementary Therapies in Medicine* **51**:102424.
- Augustín J. 2016. U kávy o kávě a kávovinách. Jota, Brno.
- Babova O, Occhipinti A, Maffei ME. 2016. Chemical partitioning and antioxidant capacity of green coffee (*Coffea arabica* and *Coffea canephora*) of different geographical origin. *Phytochemistry* **123**:33–39.
- Bajko E, Kalinowska M, Borowski P, Siergiejczyk L, Lewandowski W. 2016. 5-O-Caffeoylquinic acid: A spectroscopic study and biological screening for antimicrobial activity. *LWT - Food Science and Technology* **65**:471–479.
- Bakuradze T et al. 2011. Antioxidant-rich coffee reduces DNA damage, elevates glutathione status and contributes to weight control: results from an intervention study. *Molecular Nutrition & Food Research* **55**:793–797.
- Bassoli BK, Cassolla P, Borba-Murad GR, Constantin J, Salgueiro-Pagadigorria CL, Bazotte RB, da Silva RS dos SF, de Souza HM. 2008. Chlorogenic acid reduces the plasma glucose peak in the oral glucose tolerance test: effects on hepatic glucose release and glycaemia. *Cell Biochemistry and Function* **26**:320–328.
- Belay A. 2011. Some biochemical compounds in coffee beans and methods developed for their analysis. *International Journal of the Physical Sciences* **9**:6373–6378.
- Belay A, Ture K, Redi M, Asfaw A. 2008. Measurement of Caffeine in Coffee Beans with UV/Vis Spectrometer. *Food Chemistry* **108**:310–315.
- Belitz H-D, Grosch W, Schieberle P. 2009. *Food Chemistry*, 4th edition. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- Blum J, Lemaire B, Lafay S. 2007. Effect of a green decaffeinated coffee extract on glycemia: A pilot prospective clinical study. *Nutrafoods* **6**:13–17.
- Bradbury AGW, Halliday DJ. 1990. Chemical structures of green coffee bean polysaccharides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **38**:389–392.

- Butt MS, Sultan MT. 2011. Coffee and its Consumption: Benefits and Risks. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **51**:363–373.
- Camfield DA, Silber BY, Scholey AB, Nolidin K, Goh A, Stough C. 2013. A Randomised Placebo-Controlled Trial to Differentiate the Acute Cognitive and Mood Effects of Chlorogenic Acid from Decaffeinated Coffee. *PLOS ONE* **8** (e82897) DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0082897>.
- Cavin C, Holzhaeuser D, Scharf G, Constable A, Huber WW, Schilter B. 2002. Cafestol and kahweol, two coffee specific diterpenes with anticarcinogenic activity. *Food and Chemical Toxicology* **40**:1155–1163.
- Chen Y, Zhao Y, Wang Y, Nazary-Vannani A, Clark CCT, Macit MS, Khani V, Zhang Y. 2020. The influence of green coffee bean extract supplementation on blood glucose levels: A systematic review and dose–response meta-analysis of randomized controlled trials. *Phytotherapy Research* **34**:2159–2169.
- Cho A-S, Jeon S-M, Kim M-J, Yeo J, Seo K-I, Choi M-S, Lee M-K. 2010. Chlorogenic acid exhibits anti-obesity property and improves lipid metabolism in high-fat diet-induced-obese mice. *Food and Chemical Toxicology* **48**:937–943.
- Choi B-K, Park S-B, Lee D-R, Lee HJ, Jin Y-Y, Yang SH, Suh J-W. 2016a. Green coffee bean extract improves obesity by decreasing body fat in high-fat diet-induced obese mice. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* **9**:635–643.
- Choi B-K, Park S-B, Lee D-R, Lee HJ, Jin Y-Y, Yang SH, Suh J-W. 2016b. Green coffee bean extract improves obesity by decreasing body fat in high-fat diet-induced obese mice. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* **9**:635–643.
- Cinkilic N, Cetintas SK, Zorlu T, Vatan O, Yilmaz D, Cavas T, Tunc S, Ozkan L, Bilaloglu R. 2013. Radioprotection by two phenolic compounds: chlorogenic and quinic acid, on X-ray induced DNA damage in human blood lymphocytes in vitro. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association* **53**:359–363.
- Clarke R, Vitzthum OG. 2008. *Coffee: Recent Developments*. John Wiley & Sons.
- Clifford MN. 2000. Chlorogenic acids and other cinnamates – nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **80**:1033–1043.
- Clifford MN, Jaganath IB, Ludwig IA, Crozier A. 2017. Chlorogenic acids and the acyl-quinic acids: Discovery, biosynthesis, bioavailability and bioactivity. *Natural Product Reports* **34**:1391–1421.
- Clifford MN, Jarvis T. 1988. The chlorogenic acids content of green robusta coffee beans as a possible index of geographic origin. *Food Chemistry* **29**:291–298.
- Clifford MN, Johnston KL, Knight S, Kuhnert N. 2003. Hierarchical Scheme for LC-MSn Identification of Chlorogenic Acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**:2900–2911.
- Clifford MN, Kazi T. 1987. The influence of coffee bean maturity on the content of chlorogenic acids, caffeine and trigonelline. *Food Chemistry* **26**:59–69.
- Cohen J. 1988. *Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences* 2nd edition. Routledge, Hillsdale, N.J.

- Couteau D, McCartney AL, Gibson GR, Williamson G, Faulds CB. 2001. Isolation and characterization of human colonic bacteria able to hydrolyse chlorogenic acid. *Journal of Applied Microbiology* **90**:873–881.
- Curtin F, Elbourne D, Altman DG. 2002. Meta-analysis combining parallel and cross-over clinical trials. III: The issue of carry-over. *Statistics in Medicine* **21**:2161–2173.
- Davies Veselá P. 2018. *Velká kniha o kávě*. Smart Press, Praha.
- Del Rio D, Stalmach A, Calani L, Crozier A. 2010. Bioavailability of Coffee Chlorogenic Acids and Green Tea Flavan-3-ols. *Nutrients* **2**:820–833.
- Dellalibera O, Lemaire B, Lafay S. 2006. Le Svetol®, un extrait de café vert décaféiné, induit une perte de poids et augmente le ratio masse maigre sur masse grasse chez des volontaires en surcharge pondérale. *Phytothérapie* **4**:194–197.
- Diepvens K, Westerterp KR, Westerterp-Plantenga MS. 2007. Obesity and thermogenesis related to the consumption of caffeine, ephedrine, capsaicin, and green tea. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* **292**:R77–R85.
- Ding F et al. 2020. The effects of green coffee bean extract supplementation on lipid profile in humans: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* **30**:1–10.
- Docherty JR. 2008. Pharmacology of stimulants prohibited by the World Anti-Doping Agency (WADA). *British Journal of Pharmacology* **154**:606–622.
- dos Santos MD, Almeida MC, Lopes NP, de Souza GEP. 2006. Evaluation of the anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of the natural polyphenol chlorogenic acid. *Biological & Pharmaceutical Bulletin* **29**:2236–2240.
- Easto J, Willhoff A. 2018. *Manuál pro milovníka kávy: jak si doma připravit tu nejlepší craft kávu*. Grada Publishing, Praha.
- Erk T, Williamson G, Renouf M, Marmet C, Steiling H, Dionisi F, Barron D, Melcher R, Richling E. 2012. Dose-dependent absorption of chlorogenic acids in the small intestine assessed by coffee consumption in ileostomists. *Molecular Nutrition & Food Research* **56**:1488–1500.
- Farah A, de Paula Lima J. 2019. Consumption of Chlorogenic Acids through Coffee and Health Implications. *Beverages* **5**:11.
- Farah A, de Paulis T, Moreira DP, Trugo LC, Martin PR. 2006a. Chlorogenic Acids and Lactones in Regular and Water-Decaffeinated Arabica Coffees. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **54**:374–381.
- Farah A, de Paulis T, Trugo LC, Martin PR. 2005. Effect of Roasting on the Formation of Chlorogenic Acid Lactones in Coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53**:1505–1513.
- Farah A, Donangelo C. 2006. Phenolic compounds in coffee. *Braz. Brazilian Journal of Plant Physiology* **18**.
- Farah A, Monteiro M, Donangelo CM, Lafay S. 2008. Chlorogenic Acids from Green Coffee Extract are Highly Bioavailable in Humans. *The Journal of Nutrition* **138**:2309–2315.
- Farah A, Monteiro MC, Calado V, Franca AS, Trugo LC. 2006b. Correlation between cup quality and chemical attributes of Brazilian coffee. *Food Chemistry* **98**:373–380.

- Fasihi M, Yousefi M, Safaiyan A, Mousavi Mele M, Rostami M, Barzegar A. 2019. Effects of green coffee extract supplementation on level of chemerin, malondialdehyde, nutritional and metabolic status in patients with metabolic syndrome. *Nutrition & Food Science* **50**:21–33.
- Fidrianny I, Annisa, Ruslan K. 2016. Antioxidant activities of arabica green coffee from three regions using ABTS and DPPH assays. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* **9**:189–193.
- Fock KM, Khoo J. 2013. Diet and exercise in management of obesity and overweight. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* **28**:59–63.
- Franca AS, Mendonça JCF, Oliveira SD. 2005. Composition of green and roasted coffees of different cup qualities. *LWT - Food Science and Technology* **38**:709–715.
- Fujioka K. 2002. Management of Obesity as a Chronic Disease: Nonpharmacologic, Pharmacologic, and Surgical Options. *Obesity Research* **10**:116–123.
- Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, Nakayama O, Makishima M, Matsuda M, Shimomura I. 2004. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *The Journal of Clinical Investigation* **114**:1752–1761.
- Garg SK. 2016. Chapter 47 - Green Coffee Bean. Pages 653–667 in R. C. Gupta, editor. *Nutraceuticals*. Academic Press, Boston.
- Gómez-Juaristi M, Martínez-López S, Sarria B, Bravo L, Mateos R. 2018. Bioavailability of hydroxycinnamates in an instant green/roasted coffee blend in humans. Identification of novel colonic metabolites. *Food & Function* **9**:331–343.
- Gómez-Ruiz JÁ, Leake DS, Ames JM. 2007. In Vitro Antioxidant Activity of Coffee Compounds and Their Metabolites. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55**:6962–6969.
- Grundy Scott M. et al. 2005. Diagnosis and Management of the Metabolic Syndrome. *Circulation* **112**:2735–2752.
- Heness S, Perry CM. 2006. Orlistat. *Drugs* **66**:1625–1656.
- Henry-Vitrac C, Ibarra A, Roller M, Mérillon J-M, Vitrac X. 2010. Contribution of Chlorogenic Acids to the Inhibition of Human Hepatic Glucose-6-phosphatase Activity in Vitro by Svetol, a Standardized Decaffeinated Green Coffee Extract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58**:4141–4144.
- Heyward V, Wagner D. 2004. *Applied Body Composition Assessment - 2nd edition*. Human Kinetics, Champaign, IL.
- Ho L, Varghese M, Wang J, Zhao W, Chen F, Knable LA, Ferruzzi M, Pasinetti GM. 2012. Dietary supplementation with decaffeinated green coffee improves diet-induced insulin resistance and brain energy metabolism in mice. *Nutritional Neuroscience* **15**:37–45.
- Hooper L, Kroon PA, Rimm EB, Cohn JS, Harvey I, Le Cornu KA, Ryder JJ, Hall WL, Cassidy A. 2008. Flavonoids, flavonoid-rich foods, and cardiovascular risk: a meta-analysis of randomized controlled trials. *The American Journal of Clinical Nutrition* **88**:38–50.
- Hosseiniabadi S, Rafrat M, Asghari S, Asghari-Jafarabadi M, Vojouhi S. 2020. Effect of green coffee extract supplementation on serum adiponectin concentration and lipid profile in

- patients with non-alcoholic fatty liver disease: A randomized, controlled trial. *Complementary Therapies in Medicine* **49**:102290.
- Hruby A, Hu FB. 2015. The Epidemiology of Obesity: A Big Picture. *Pharmacoeconomics* **33**:673–689.
- Huang J, de Paulis T, May JM. 2004. Antioxidant effects of dihydrocaffeic acid in human EA.hy926 endothelial cells. *The Journal of Nutritional Biochemistry* **15**:722–729.
- Huxley R, Lee CMY, Barzi F, Timmermeister L, Czernichow S, Perkovic V, Grobbee DE, Batty D, Woodward M. 2009. Coffee, decaffeinated coffee, and tea consumption in relation to incident type 2 diabetes mellitus: a systematic review with meta-analysis. *Archives of Internal Medicine* **169**:2053–2063.
- International Coffee Organization. 2020. Trade Statistics Tables—Coffee production by exporting countries. ICO, London. Available from http://www.ico.org/trade_statistics.asp?section=Statistics (accessed April 3, 2021).
- Iwai K, Kishimoto N, Kakino Y, Mochida K, Fujita T. 2004. In Vitro Antioxidative Effects and Tyrosinase Inhibitory Activities of Seven Hydroxycinnamoyl Derivatives in Green Coffee Beans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **52**:4893–4898.
- Iwai K, Narita Y, Fukunaga T, Nakagiri O, Kamiya T, Ikeguchi M, Kikuchi Y. 2012. Study on the Postprandial Glucose Responses to a Chlorogenic Acid-Rich Extract of Decaffeinated Green Coffee Beans in Rats and Healthy Human Subjects. *Food Science and Technology Research* **18**:849–860.
- Jeszka-Skowron M, Sentkowska A, Pyrzyńska K, De Peña MP. 2016. Chlorogenic acids, caffeine content and antioxidant properties of green coffee extracts: influence of green coffee bean preparation. *European Food Research and Technology* **242**:1403–1409.
- Johnston KL, Clifford MN, Morgan LM. 2003. Coffee acutely modifies gastrointestinal hormone secretion and glucose tolerance in humans: glycemic effects of chlorogenic acid and caffeine. *The American Journal of Clinical Nutrition* **78**:728–733.
- Ju J, Picinich SC, Yang Z, Zhao Y, Suh N, Kong A-N, Yang CS. 2010. Cancer-preventive activities of tocopherols and tocotrienols. *Carcinogenesis* **31**:533–542.
- Kern SM, Bennett RN, Needs PW, Mellon FA, Kroon PA, Garcia-Conesa M-T. 2003. Characterization of Metabolites of Hydroxycinnamates in the in Vitro Model of Human Small Intestinal Epithelium Caco-2 Cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**:7884–7891.
- Kim T-S, Yang W-S, Park S-I, Lee S-P, Kang M-H, Lee J-H, Park I-B, Park H-J, Murai H, Okada T. 2012. Effect of Green Coffee Bean Extract Supplementation on Body Fat Reduction in Mildly Obese Women. *Journal of the Korean Society of Food Culture* **27**:407–413.
- Kopelman PG. 2000. Obesity as a medical problem. *Nature* **404**:635–643.
- Kotyczka C, Boettler U, Lang R, Stiebitz H, Bytof G, Lantz I, Hofmann T, Marko D, Somoza V. 2011. Dark roast coffee is more effective than light roast coffee in reducing body weight, and in restoring red blood cell vitamin E and glutathione concentrations in healthy volunteers. *Molecular Nutrition & Food Research* **55**:1582–1586.
- Kozuma K, Tsuchiya S, Kohori J, Hase T, Tokimitsu I. 2005. Antihypertensive effect of green coffee bean extract on mildly hypertensive subjects. *Hypertension Research: Official Journal of the Japanese Society of Hypertension* **28**:711–718.

- Kremr D, Bajer T, Bajerová P, Surmová S, Ventura K, Kremr D, Bajer T, Bajerová P, Surmová S, Ventura K. 2016. Unremitting problems with chlorogenic acid Nomenclature: A review. *Química Nova* **39**:530–533. SBQ.
- Kushner RF. 2014. Weight Loss Strategies for Treatment of Obesity. *Progress in Cardiovascular Diseases* **56**:465–472.
- Kushner RF, Gudivaka R, Schoeller DA. 1996. Clinical characteristics influencing bioelectrical impedance analysis measurements. *The American Journal of Clinical Nutrition* **64**:423S–427S.
- Ky C-L, Louarn J, Dussert S, Guyot B, Hamon S, Noirot M. 2001. Caffeine, trigonelline, chlorogenic acids and sucrose diversity in wild *Coffea arabica* L. and *C. canephora* P. accessions. *Food Chemistry* **75**:223–230.
- Kyle UG et al. 2004a. Bioelectrical impedance analysis—part I: review of principles and methods. *Clinical Nutrition* **23**:1226–1243.
- Kyle UG et al. 2004b. Bioelectrical impedance analysis—part II: utilization in clinical practice. *Clinical Nutrition* **23**:1430–1453.
- Laranjinha JAN, Almeida LM, Madeira VMC. 1994. Reactivity of dietary phenolic acids with peroxy radicals: Antioxidant activity upon low density lipoprotein peroxidation. *Biochemical Pharmacology* **48**:487–494.
- Liang N, Kitts DD. 2016. Role of Chlorogenic Acids in Controlling Oxidative and Inflammatory Stress Conditions. *Nutrients* **8**:16.
- Lohman T, Going SB, Wang Z. 2005. Human Body Composition. *Human Kinetics*.
- Lopez-Garcia E, Guallar-Castillon P, Leon-Muñoz L, Graciani A, Rodriguez-Artalejo F. 2014. Coffee consumption and health-related quality of life. *Clinical Nutrition (Edinburgh, Scotland)* **33**:143–149.
- Lou Z, Wang H, Zhu S, Ma C, Wang Z. 2011. Antibacterial Activity and Mechanism of Action of Chlorogenic Acid. *Journal of Food Science* **76**:398–403.
- Ludwig E, Lipke U, Raczek U, Jäger A. 2000. Investigations of peptides and proteases in green coffee beans. *European Food Research and Technology* **211**:111–116.
- Ludwig IA, N. Clifford M, J. Lean ME, Ashihara H, Crozier A. 2014. Coffee: biochemistry and potential impact on health. *Food & Function* **5**:1695–1717.
- Ma Y, Gao M, Liu D. 2015. Chlorogenic acid improves high fat diet-induced hepatic steatosis and insulin resistance in mice. *Pharmaceutical Research* **32**:1200–1209.
- Madhava Naidu M, Sulochanamma G, Sampathu SR, Srinivas P. 2008. Studies on extraction and antioxidant potential of green coffee. *Food Chemistry* **107**:377–384.
- Maia L, Mendonça AD. 2002. Does caffeine intake protect from Alzheimer's disease? *European Journal of Neurology* **9**:377–382.
- Maki C, Funakoshi-Tago M, Aoyagi R, Ueda F, Kimura M, Kobata K, Tago K, Tamura H. 2017. Coffee extract inhibits adipogenesis in 3T3-L1 preadipocytes by interrupting insulin signaling through the downregulation of IRS1. *PLoS ONE* **12** (e0173264) DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173264>.
- Marković S, Tošović J. 2016. Comparative study of the antioxidative activities of caffeoylquinic and caffeic acids. *Food Chemistry* **210**:585–592.

- Martillanes S, Rocha Pimienta J, Cabrera-Bañegil M, Martín-Vertedor D, Delgado J. 2017. Application of Phenolic Compounds for Food Preservation: Food Additive and Active Packaging. IntechOpen, Rijeka.
- Martínez JRR, Clifford MN. 2000. Coffee Pulp Polyphenols: An Overview. Pages 507–515 in T. Sera, C. R. Soccol, A. Pandey, and S. Roussos, editors. *Coffee Biotechnology and Quality: Proceedings of the 3rd International Seminar on Biotechnology in the Coffee Agro-Industry*, Londrina, Brazil. Springer Netherlands, Dordrecht.
- Masek A, Latos-Brozio M, Kałużna-Czaplińska J, Rosiak A, Chrzescijanska E. 2020. Antioxidant Properties of Green Coffee Extract. *Forests* **11**:557.
- Meng S, Cao J, Feng Q, Peng J, Hu Y. 2013. Roles of Chlorogenic Acid on Regulating Glucose and Lipids Metabolism: A Review. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine: eCAM* (801457) DOI: <http://doi.org/10.1155/2013/801457>.
- Molarius A, Seidell JC. 1998. Selection of anthropometric indicators for classification of abdominal fatness— a critical review. *International Journal of Obesity* **22**:719–727.
- Moldvaer A. 2016. *Kávové opojení*. Euromedia, Praha.
- Moon J-K, Yoo HS, Shibamoto T. 2009. Role of Roasting Conditions in the Level of Chlorogenic Acid Content in Coffee Beans: Correlation with Coffee Acidity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **57**:5365–5369.
- Mubarak A, Bondonno CP, Liu AH, Considine MJ, Rich L, Mas E, Croft KD, Hodgson JM. 2012. Acute Effects of Chlorogenic Acid on Nitric Oxide Status, Endothelial Function, and Blood Pressure in Healthy Volunteers: A Randomized Trial. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **60**:9130–9136.
- Murase T, Misawa K, Minegishi Y, Aoki M, Ominami H, Suzuki Y, Shibuya Y, Hase T. 2011. Coffee polyphenols suppress diet-induced body fat accumulation by downregulating SREBP-1c and related molecules in C57BL/6J mice. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism* **300**:122-133.
- Nabavi SF, Tejada S, Setzer WN, Gortzi O, Sureda A, Braidy N, Daglia M, Manayi A, Nabavi SM. 2017. Chlorogenic Acid and Mental Diseases: From Chemistry to Medicine. *Current Neuropharmacology* **15**:471–479.
- Nardini M, D'Aquino M, Tomassi G, Gentili V, Di Felice M, Scaccini C. 1995. Inhibition of human low-density lipoprotein oxidation by caffeic acid and other hydroxycinnamic acid derivatives. *Free Radical Biology and Medicine* **19**:541–552.
- Narita Y, Inouye K. 2011. Inhibitory effects of chlorogenic acids from green coffee beans and cinnamate derivatives on the activity of porcine pancreas α -amylase isozyme I. *Food Chemistry* **127**:1532–1539.
- Narita Y, Inouye K. 2015a. Chapter 21 - Chlorogenic Acids from Coffee. Pages 189–199 in V. R. Preedy, editor. *Coffee in Health and Disease Prevention*. Academic Press, San Diego.
- Narita Y, Inouye K. 2015b. Chapter 84 - Inhibition of Porcine Pancreas α -Amylase by Chlorogenic Acids from Green Coffee Beans and Cinnamic Acid Derivatives: A Focus on Kinetic. Pages 757–763 in V. R. Preedy, editor. *Coffee in Health and Disease Prevention*. Academic Press, San Diego.

- Narita Y, Iwai K, Fukanga T, Nakagiri O. 2012. Inhibitory Activity of Chlorogenic Acids in Decaffeinated Green Coffee Beans against Porcine Pancreas Lipase and Effect of a Decaffeinated Green Coffee Bean Extract on an Emulsion of Olive Oil. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* **76**:2329–2331.
- Naveed M et al. 2018. Chlorogenic acid (CGA): A pharmacological review and call for further research. *Biomedicine & Pharmacotherapy* **97**:67–74.
- Nawrot P, Jordan S, Eastwood J, Rotstein J, Hugenholtz A, Feeley M. 2003. Effects of caffeine on human health. *Food Additives and Contaminants* **20**:1–30.
- Nijhawan P, Behl T. 2020. Nutraceuticals in the management of obesity. *Obesity Medicine* **17**:100168.
- Olthof MR, Hollman PCH, Buijsman MNCP, van Amelsvoort JMM, Katan MB. 2003. Chlorogenic acid, quercetin-3-rutinoside and black tea phenols are extensively metabolized in humans. *The Journal of Nutrition* **133**:1806–1814.
- Olthof MR, Hollman PCH, Katan MB. 2001. Chlorogenic Acid and Caffeic Acid Are Absorbed in Humans. *The Journal of Nutrition* **131**:66–71.
- Onakpoya IJ, Spencer EA, Thompson MJ, Heneghan CJ. 2015. The effect of chlorogenic acid on blood pressure: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Journal of Human Hypertension* **29**:77–81.
- Ong KW, Hsu A, Tan BKH. 2012. Chlorogenic Acid Stimulates Glucose Transport in Skeletal Muscle via AMPK Activation: A Contributor to the Beneficial Effects of Coffee on Diabetes. *PLoS ONE* 7 (e32718) DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032718>.
- Ong KW, Hsu A, Tan BKH. 2013. Anti-diabetic and anti-lipidemic effects of chlorogenic acid are mediated by ampk activation. *Biochemical Pharmacology* **85**:1341–1351.
- Ota N, Soga S, Murase T, Shimotoyodome A, Hase T. 2010. Consumption of Coffee Polyphenols Increases Fat Utilization in Humans. *Journal of Health Science* **56**:745–751.
- Park JY, Kim JY, Lee SP, Lee JH. 2010. The Effect of Green Coffee Bean Extract Supplementation on Body Fat Reduction in Overweight/Obese Women. *Korean Journal of Nutrition* **43**:374–381.
- Perrone D, Donangelo R, Donangelo CM, Farah A. 2010. Modeling Weight Loss and Chlorogenic Acids Content in Coffee during Roasting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58**:12238–12243.
- Pimpley V, Patil S, Srinivasan K, Desai N, Murthy PS. 2020. The chemistry of chlorogenic acid from green coffee and its role in attenuation of obesity and diabetes. *Preparative Biochemistry & Biotechnology* **50**:969–978.
- Poole R, Kennedy OJ, Roderick P, Fallowfield JA, Hayes PC, Parkes J. 2017. Coffee consumption and health: umbrella review of meta-analyses of multiple health outcomes. *BMJ* **359**:j5024.
- Rao CV, Desai D, Kaul B, Amin S, Reddy BS. 1992. Effect of caffeic acid esters on carcinogen-induced mutagenicity and human colon adenocarcinoma cell growth. *Chemico-Biological Interactions* **84**:277–290.
- Renouf M, Marmet C, Giuffrida F, Lepage M, Barron D, Beaumont M, Williamson G, Dionisi F. 2014. Dose-response plasma appearance of coffee chlorogenic and phenolic acids in adults. *Molecular Nutrition & Food Research* **58**:301–309.

- Revuelta-Iniesta R, Al-Dujaili E a. S. 2014. Consumption of Green Coffee Reduces Blood Pressure and Body Composition by Influencing 11 β -HSD1 Enzyme Activity in Healthy Individuals: A Pilot Crossover Study Using Green and Black Coffee. *Hindawi* (ID 482704) DOI: <https://doi.org/10.1155/2014/482704>.
- Ribeiro JA, Sebastião AM. 2010. Caffeine and Adenosine. *Journal of Alzheimer's Disease* **20**:3–15.
- Robiquet PJ, Boutron AC. 1837. Ueber den Kaffee. *Annalen der Pharmacie* **23**:93–95.
- Rodrigo R, Laiz JY, Internationals O. 2016. Beneficial Effects of Chlorogenic Acids on Essential Hypertension. *International Journal of Food and Nutritional Science* **3**:213–217.
- Roshan H, Nikpayam O, Sedaghat M, Sohrab G. 2018. Effects of green coffee extract supplementation on anthropometric indices, glycaemic control, blood pressure, lipid profile, insulin resistance and appetite in patients with the metabolic syndrome: a randomised clinical trial. *British Journal of Nutrition* **119**:250–258.
- Rostagno MA, Celeghini RMS, Debien ICN, Nogueira GC, Meireles MAA. 2015. Chapter 15 - Phenolic Compounds in Coffee Compared to Other Beverages. Pages 137–142 in V. R. Preedy, editor. *Coffee in Health and Disease Prevention*. Academic Press, San Diego.
- Salamat S, Sharif SS, Nazary-Vanani A, Kord-Varkaneh H, Clark CCT, Mohammadshahi M. 2019. The effect of green coffee extract supplementation on serum oxidized LDL cholesterol and total antioxidant capacity in patients with dyslipidemia: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *European Journal of Integrative Medicine* **28**:109–113.
- Santana-Gálvez J, Cisneros-Zevallos L, Jacobo-Velázquez DA. 2017. Chlorogenic Acid: Recent Advances on Its Dual Role as a Food Additive and a Nutraceutical against Metabolic Syndrome. *Molecules* (PMID 28245635) DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules22030358>.
- Sarriá B, Martínez-López S, Mateos R, Bravo-Clemente L. 2016. Long-term consumption of a green/roasted coffee blend positively affects glucose metabolism and insulin resistance in humans. *Food Research International* **89**:1023–1028.
- Sarriá B, Martínez-López S, Sierra-Cinos JL, García-Diz L, Mateos R, Bravo-Clemente L. 2018. Regularly consuming a green/roasted coffee blend reduces the risk of metabolic syndrome. *European Journal of Nutrition* **57**:269–278.
- Scalbert A, Williamson G. 2000. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *The Journal of Nutrition* **130**:2073S–85S.
- Scheen AJ. 2005. Drug Interactions of Clinical Importance with Antihyperglycaemic Agents. *Drug Safety* **28**:601–631.
- Seidell JC, Halberstadt J. 2015. The Global Burden of Obesity and the Challenges of Prevention. *Annals of Nutrition and Metabolism* **66**:7–12.
- Şemen S, Mercan S, Yayla M, Açıkkol M. 2017. Elemental composition of green coffee and its contribution to dietary intake. *Food Chemistry* **215**:92–100.
- Shahidi F, Chandrasekara A. 2010. Hydroxycinnamates and their in vitro and in vivo antioxidant activities. *Phytochemistry Reviews* **9**:147–170.

- Shang F, Li X, Jiang X. 2016. Coffee consumption and risk of the metabolic syndrome: A meta-analysis. *Diabetes & Metabolism* **42**:80–87.
- Shi H, Dong L, Jiang J, Zhao J, Zhao G, Dang X, Lu X, Jia M. 2013. Chlorogenic acid reduces liver inflammation and fibrosis through inhibition of toll-like receptor 4 signaling pathway. *Toxicology* **303**:107–114.
- Shimoda H, Seki E, Aitani M. 2006. Inhibitory effect of green coffee bean extract on fat accumulation and body weight gain in mice. *BMC Complementary and Alternative Medicine* **6**:9.
- Sies H. 2010. Polyphenols and health: Update and perspectives. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **501**:2–5.
- Silvarolla MB, Mazzafera P, Fazuoli LC. 2004. A naturally decaffeinated arabica coffee. *Nature* **429**:826–826.
- Simon C, Herling AW, Preibisch G, Burger HJ. 2000. Upregulation of hepatic glucose 6-phosphatase gene expression in rats treated with an inhibitor of glucose-6-phosphate translocase. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **373**:418–428.
- Slanina J, Táborská E. 2004. Příjem, biologická dostupnost a metabolismus rostlinných polyfenolů u člověka **98**:239–254. Available from <https://www.muni.cz/vyzkum/publikace/557050> (accessed February 6, 2021).
- Socala K, Szopa A, Serefko A, Poleszak E, Wlaz P. 2020. Neuroprotective Effects of Coffee Bioactive Compounds: A Review. *International Journal of Molecular Sciences* **22**.
- Song SJ, Choi S, Park T. 2014, April 10. Decaffeinated Green Coffee Bean Extract Attenuates Diet-Induced Obesity and Insulin Resistance in Mice. *Hindawi* (ID 718379) DOI: <https://doi.org/10.1155/2014/718379>.
- Speer K, Kölling-Speer I. 2006. The lipid fraction of the coffee bean. *Brazilian Journal of Plant Physiology* **18**:201–216.
- Stalmach A, Mullen W, Barron D, Uchida K, Yokota T, Cavin C, Steiling H, Williamson G, Crozier A. 2009. Metabolite profiling of hydroxycinnamate derivatives in plasma and urine after the ingestion of coffee by humans: identification of biomarkers of coffee consumption. *Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals* **37**:1749–1758.
- Stalmach A, Steiling H, Williamson G, Crozier A. 2010. Bioavailability of chlorogenic acids following acute ingestion of coffee by humans with an ileostomy. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **501**:98–105.
- Stalmach A, Williamson G, Crozier A. 2014. Impact of dose on the bioavailability of coffee chlorogenic acids in humans. *Food & Function* **5**:1727–1737.
- Stohs SJ, Badmaev V. 2016. A Review of Natural Stimulant and Non-stimulant Thermogenic Agents. *Phytotherapy Research* **30**:732–740.
- Tagliacucchi D, Helal A, Verzelli E, Conte A. 2012. The type and concentration of milk increase the in vitro bioaccessibility of coffee chlorogenic acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **60**:11056–11064.
- Tajik N, Tajik M, Mack I, Enck P. 2017. The potential effects of chlorogenic acid, the main phenolic components in coffee, on health: a comprehensive review of the literature. *European Journal of Nutrition* **56**:2215–2244.

- Thom E. 2007. The Effect of Chlorogenic Acid Enriched Coffee on Glucose Absorption in Healthy Volunteers and Its Effect on Body Mass When Used Long-term in Overweight and Obese People. *Journal of International Medical Research* **35**:900–908.
- Thorn J. 2000. *Káva: příručka pro labužníky*. Fortuna Print, Praha.
- Tresserra-Rimbau A, Medina-Remón A, Estruch R, Lamuela-Raventós RM. 2015. Chapter 42 - Coffee Polyphenols and High Cardiovascular Risk Parameters. Pages 387–394 in V. R. Preedy, editor. *Coffee in Health and Disease Prevention*. Academic Press, San Diego.
- Upadhyay R, Rao LJM. 2013. An Outlook on Chlorogenic Acids—Occurrence, Chemistry, Technology, and Biological Activities. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **53**:968–984.
- Varady KA. 2011. Intermittent versus daily calorie restriction: which diet regimen is more effective for weight loss? *Obesity Reviews* **12**:e593–e601.
- Varghese M, Ho L, Wang J, Zhao W, Levine S, Ono K, Mannino S, Pasinetti GM. 2014. Green coffee as a novel agent for Alzheimer’s disease prevention by attenuating diabetes. *Translational Neuroscience* **5**:111–116.
- Vasileva LV, Savova MS, Amirova KM, Balcheva-Sivenova Z, Ferrante C, Orlando G, Wabitsch M, Georgiev MI. 2020. Caffeic and Chlorogenic Acids Synergistically Activate Browning Program in Human Adipocytes: Implications of AMPK- and PPAR-Mediated Pathways. *International Journal of Molecular Sciences* **21**:9740.
- Venkatakrisnan K, Chiu H-F, Wang C-K. 2019. Extensive review of popular functional foods and nutraceuticals against obesity and its related complications with a special focus on randomized clinical trials. *Food & Function* **10**:2313–2329.
- Watanabe T, Arai Y, Mitsui Y, Kusaura T, Okawa W, Kajihara Y, Saito I. 2006. The Blood Pressure-Lowering Effect and Safety of Chlorogenic Acid from Green Coffee Bean Extract in Essential Hypertension. *Clinical and Experimental Hypertension* **28**:439–449.
- Wei F, Furihata K, Koda M, Hu F, Kato R, Miyakawa T, Tanokura M. 2012a. ¹³C NMR-Based Metabolomics for the Classification of Green Coffee Beans According to Variety and Origin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **60**:10118–10125.
- Wei F, Furihata K, Koda M, Hu F, Miyakawa T, Tanokura M. 2012b. Roasting Process of Coffee Beans as Studied by Nuclear Magnetic Resonance: Time Course of Changes in Composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **60**:1005–1012.
- Wei F, Tanokura M. 2015a. Chapter 17 - Organic Compounds in Green Coffee Beans. Pages 149–162 in V. R. Preedy, editor. *Coffee in Health and Disease Prevention*. Academic Press, San Diego.
- Wei F, Tanokura M. 2015b. Chapter 10 - Chemical Changes in the Components of Coffee Beans during Roasting. Pages 83–91 in V. R. Preedy, editor. *Coffee in Health and Disease Prevention*. Academic Press, San Diego.
- Xu J-G, Hu Q-P, Liu Y. 2012. Antioxidant and DNA-protective activities of chlorogenic acid isomers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **60**:11625–11630.
- Yun N, Kang J-W, Lee S-M. 2012. Protective effects of chlorogenic acid against ischemia/reperfusion injury in rat liver: molecular evidence of its antioxidant and anti-inflammatory properties. *The Journal of Nutritional Biochemistry* **23**:1249–1255.

- Zhang L, Chang C, Liu Y, Chen Z. 2011. [Effect of chlorogenic acid on disordered glucose and lipid metabolism in db/db mice and its mechanism]. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao. Acta Academiae Medicinae Sinicae* **33**:281–286.
- Zhang Q-L, Lian H-Z, Wang W-H, Chen H-Y. 2005. Separation of caffeine and theophylline in poly(dimethylsiloxane) microchannel electrophoresis with electrochemical detection. *Journal of Chromatography A* **1098**:172–176.
- Zhao Y, Wang J, Balleve O, Luo H, Zhang W. 2012. Antihypertensive effects and mechanisms of chlorogenic acids. *Hypertension Research* **35**:370–374.
- Zhao Y, Wu K, Zheng J, Zuo R, Li D. 2015. Association of coffee drinking with all-cause mortality: a systematic review and meta-analysis. *Public Health Nutrition* **18**:1282–1291.
- Zhou J, Chan L, Zhou S. 2012. Trigonelline: a plant alkaloid with therapeutic potential for diabetes and central nervous system disease. *Current Medicinal Chemistry* **19**:3523–3531.
- Zuñiga LY, Aceves-de la Mora MCA, González-Ortiz M, Ramos-Núñez JL, Martínez-Abundis E. 2017. Effect of Chlorogenic Acid Administration on Glycemic Control, Insulin Secretion, and Insulin Sensitivity in Patients with Impaired Glucose Tolerance. *Journal of Medicinal Food* **21**:469–473.

9 Seznam použitých zkratek a symbolů

AMPK	aktivovaná protein kináza
BIA	bioelektrická impedanční analýza
BMI	index tělesné hmotnosti
CQAL	laktony kafeoylchinové kyseliny
CFQA	kafeoylferuloylchinové kyseliny
CGA	chlorogenové kyseliny
CPT	karnitinpalmytoyltransferáza
CQA	kafeoylchinová kyselina
diCQA	dikafeoylchinová kyselina
DNA	deoxyribonukleová kyselina
EDGCB	extrakt ze zelené kávy bez kofeinu
FAO	Organizace pro výživu a zemědělství
FCQA	feruloylkafeoylchinové kyseliny
FQA	feruloylchinová kyselina
G-6-P	glukóza-6-fosfát
GCBE	green coffee bean extract, extrakt ze zelených kávových bobů
GIP	glukózo dependentní inzulinotropní peptid
GLUT4	glukózový transportér typu 4
HDL	lipoprotein o vysoké hustotě
HPLC-MS2	vysokoúčinná kapalinová chromatografie s tandemovou hmotnostní detekcí
HMGR3	hydroxy-3-methylglutaryl koenzym A reduktáza
ICO	Mezinárodní organizace kávy
IUPAC	Mezinárodní unie aplikované chemie
LDL	lipoprotein o nízké hustotě
MD	průměrný absolutní rozdíl
METS	metabolický syndrom
NAFLD	nealkoholové ztučnění jater
NMR	nukleární magnetická resonance
OGTT	orální test glukózové tolerance
OSN	Organizace spojených národů
OX-LDL	oxidovaný lipoprotein o nízké hustotě
pCoQA	p-kumaroylchionové kyseliny
PPAR- α	receptor- α aktivovaný proliferátorem peroxizomu
ROS	reaktivní formy kyslíku
SD	směrodatná odchylka
SREB-1c	sterol regulační prvek vázající protein
TAG	triacylglyceroly
TNF- α	faktor nádorové nekrózy
VLDL	lipoprotein o velmi nízké hustotě
WC	obvod pasu
WHR	poměr obvodu pasu a boků

10 Samostatné přílohy

Příloha I: Vstupní dotazník (Jelínková, 2021)

Vstupní dotazník

Jméno a příjmení:

Věk:

Tělesná výška:

Tělesná hmotnost:

Máte nějaká zdravotní omezení nebo léčíte se s něčím? (metabolická onemocnění–diabetes mellitus / poruchy štítné žlázy–hypothyreóza nebo hyperthyreóza /onkologická léčba/ hormonální substituční léčba/alergie atd.)

Jste těhotná / kojíte / máte kardiostimulátor/ užíváte kortikosteroidy / podáváte si inzulin / užíváte nějaké léky napomáhající redukci tělesné hmotnosti?

Užíváte pravidelně nějaké jiné léky? Pokud ano, jaké?

Máte nějaké zkušenosti s přípravky na podporu redukce hmotnosti? Pokud ano s jakými?

Konzumujete nápoje s obsahem kofeinu (káva, černý/zelený čaj, energetické nápoje, colové nápoje atd.) nebo jiné přípravky či doplňky stravy s kofeinem. Pokud ano, jaké a jak často?

Kolik jídel konzumujete denně?

Následujete některý z alternativních výživových směrů (vegetariánství, veganství atd.)?

Věnujete se pravidelně nějaké fyzické aktivitě? Jak často a co je to za aktivitu?

Příloha II: Vzor informovaného souhlasu (strana 1) (Jelínková 2021)

Česká zemědělská univerzita v Praze
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů
Kamýčká 129, 165 00 Praha 6 - Suchbát

INFORMOVANÝ SOUHLAS

Vážený pane, vážená paní,

v souladu se Všeobecnou deklarací lidských práv, zákonem č. 101/2000 Sb., o ochraně osobních údajů a o změně některých zákonů, ve znění pozdějších předpisů a dalšími obecně závaznými právními předpisy (*jakož jsou zejména Helsinská deklarace, přijatá 18. Světovým zdravotnickým shromážděním v roce 1964 ve znění pozdějších změn (Fortaleza, Brazílie, 2013); Zákon o zdravotních službách a podmínkách jejich poskytování (zejména ustanovení § 28 odst. 1 zákona č. 372/2011 Sb.) a Úmluva o lidských právech a biomedicíně č. 96/2001, jsou-li aplikovatelné*), Vás žádám o souhlas s Vaší účastí ve výzkumném projektu v rámci diplomové práce na FAPPZ ČZU s názvem „**Vliv extraktu ze zelených kávových bobů na redukci hmotnosti**“, prováděné na FAPPZ ČZU.

1. Cílem této diplomové práce je zhodnotit vliv suplementace extraktu ze zelených kávových bobů u jedinců, dodržujících stejný či velmi podobný stravovací režim a pohybový režim. *Náhodně vybraní jedinci budou rozděleni do 2 skupin: a) skupina, která bude užívat extrakt ze zelených kávových bobů, b) skupina, která bude užívat placebo. Ani jedna ze skupin nebude v kalorickém deficitu či nadbytku. Studie bude dvojitě zaslepená. Jedinci z jedné skupiny budou užívat 6 týdnů doplněk stravy a druhí placebo a po 1 týdnu vysazení se skupiny prohodí na dalších 6 týdnů.*
2. Účastníci výzkumu budou před testováním zváženi na váze měřící různé parametry tělesného složení, alespoň 3h bez jídla a 2h bez pití. Vážení bude probíhat opakovaně ve stejné denní době po dobu 13 týdnů. Hodnoceno bude celkové tělesné složení – zejména podkožní tuk, viscerální tuk, dále pak svalová hmota, voda a další ukazatele.
3. Všechny použité metody budou neinvazivní, tedy bez porušení kožního krytu, měření je bezpečné a bezbolestné, rizika prováděného výzkumu nebudou větší než běžně očekávaná u daných měření. Účastníci budou poučeni o všech postupech měření. Měření bude probíhat na Fakultě agrobiologie a přírodních potravinových zdrojů, za pomoci přístroje InBody pod dohledem pověřené osoby. Součástí testování bude vyplnění dotazníku, ve kterém zodpovíte otázky, týkající se vašeho zdravotního stavu. Celé testování Vám zabere asi 15 minut.
4. Do projektu nemůžete být zařazen/a, pokud máte kardiostimulátor nebo trpíte vážným metabolickým nebo jiným onemocněním.
5. Primárním přínosem práce je zjištění, do jaké míry je zodpovědná za redukci tělesné hmotnosti suplementace přípravku pocházejícího ze zelených kávových bobů. Užívání přípravku nepředstavuje pro zdravého jedince žádné riziko.
6. Vaše účast v projektu je dobrovolná a nebude finančně ohodnocená.
7. Výsledky měření budou statisticky zpracovány a získaná data budou využita pro účely obhajoby diplomové práce, případně publikována v odborných časopisech, monografiích, prezentována na konferencích nebo budou využita při další výzkumné práci na FAPPZ ČZU.
8. Veškerá získaná data budou bezpečně uchována v anonymní podobě a v maximální možné míře chráněna před zneužitím. Neanonymizované údaje budou bezpečně uchovány na heslem zajištěném počítači v uzamčeném prostoru.

Příloha III: Vzor informovaného souhlasu (strana 2) (Jelínková 2021)

Česká zemědělská univerzita v Praze
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů
Kamýčká 129, 165 00 Praha 6 - Suchdol

9. S celkovými výsledky a závěry výzkumného projektu se můžete seznámit v mé diplomové práci, která bude dostupná v repozitáři závěrečných prací České zemědělské univerzity, který je veřejně přístupný na webových stránkách informačního systému České zemědělské univerzity (www.is.czu.cz) nebo na e-mail adrese: jelinkovav.cz@gmail.com

Jméno a příjmení předkladatele a hlavního řešitele:

Bc. Veronika Jelínková

Podpis:

Jméno a příjmení osoby, která provedla poučení:

Bc. Veronika Jelínková

Podpis:

Prohlašuji a svým níže uvedeným vlastnoručním podpisem potvrzuji, že dobrovolně souhlasím s účastí ve výše uvedeném projektu a že jsem měl(a) možnost si řádně a v dostatečném čase zvážit všechny relevantní informace o výzkumu, zeptat se na vše podstatné týkající se účasti ve výzkumu a že jsem dostal(a) jasné a srozumitelné odpovědi na své dotazy. Byl(a) jsem poučen(a) o právu odmítnout účast ve výzkumném projektu.

Místo: učebna A20, FAPPZ ČZU

Datum:

.....
Jméno a příjmení účastníka:

.....
Podpis:

Příloha IV: Základní charakteristika účastníků jednotlivých skupin na začátku experimentu (průměrné hodnoty a směrodatné odchylky)

Proměnné	Skupina A (n = 6)	Skupina B (n = 6)
Pohlaví, n (%)		
žena	4 (66,7 %)	4 (66,7 %)
muž	2 (33,3 %)	2 (33,3 %)
Věk (roky)	28,00 ± 11,69	32,17 ± 11,23
Tělesná výška (cm)	172,50 ± 8,28	172,00 ± 10,25
Iniciální tělesná hmotnost (kg)	83,12 ± 12,28	82,30 ± 10,57
Iniciální BMI (kg/m ²)	28,02 ± 4,29	27,77 ± 2,36
Iniciální tuková složka (%)	32,10 ± 11,97	31,52 ± 6,81
Iniciální tuková složka (kg)	27,05 ± 11,83	25,82 ± 6,50
Iniciální tuková složka v oblasti trupu (kg)	13,72 ± 5,85	14,22 ± 3,79
PAL, n (%)		
nízká	3 (50 %)	4 (66,7 %)
střední	3 (50 %)	2 (33,3 %)
vysoká	0 (0 %)	0 (0 %)

PAL: úroveň fyzické aktivity