

# **Antioxidační vlastnosti a obsah polyfenolických látek v kávách z různých oblastí světa**

Bc. Romana Bajerová

---

Diplomová práce  
2020



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

Akademický rok: 2019/2020

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE (projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Romana Bajerová**  
Osobní číslo: **T18365**  
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Technologie potravin**  
Forma studia: **Kombinovaná**  
Téma práce: **Antioxidační vlastnosti a obsah polyfenolických látek v kávách z různých oblastí světa**

### Zásady pro vypracování

#### I. Teoretická část

1. Botanický původ kávy a oblasti pěstování.
2. Výroba kávy.
3. Chemické složení kávových zrn.
4. Metody stanovení antioxidační aktivity, stanovení kofeinu, TPC.
5. Konzumace kávy a její vliv na zdraví člověka.

#### II. Praktická část

1. Metodika stanovení, měřicí přístroje a chemikálie.
2. Výsledky a diskuze, závěry práce.

Forma zpracování diplomové práce: **Tištěná/elektronická**

**Seznam doporučené literatury:**

- [1] CROZIER, Alan, Hiroshi ASHIHARA a F. A. TOMÁS-BARBERÁN. Teas, cocoa and coffee: plant secondary metabolites and health. Chichester: Wiley-Blackwell, 2012, 1 online zdroj (x, 252 s.). DOI: 978-1-4443-4709-8. Dostupné také z: <http://onlinelibrary.wiley.com/book/10.1002/9781444347098>.
- [2] CHU, Yi-Fang. Coffee: emerging health effects and disease prevention. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell/IFT Press, 2012, 1 online zdroj (xxiv, 324 s.). IFT Press series. DOI: 978-1-119-94989-3. Dostupné také z: <http://onlinelibrary.wiley.com/book/10.1002/9781119949893>.
- [3] DAVIES VESELÁ, Petra. Velká kniha o kávě. Praha: Smart Press, 2018, 319 s. ISBN 978-80-88244-05-9.
- [4] FARAH, Adriana and DONANGELO, Carmen Marino. Phenolic compounds in coffee. Braz. J. Plant Physiol. [online]. 2006, vol.18, n.1 [cited 2019-06-27], pp.23-36.

Vedoucí diplomové práce: **doc. Mgr. Barbora Lapčíková, Ph.D.**  
Ústav technologie potravin

Datum zadání diplomové práce: **17. února 2020**

Termín odevzdání diplomové práce: **15. května 2020**

L.S.

---

**prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.**  
děkan

---

**doc. RNDr. Iva Burešová, Ph.D.**  
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 17. února 2020

## **PROHLÁŠENÍ AUTORA DIPLOMOVÉ PRÁCE**

Beru na vědomí, že:

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

### **Prohlašuji,**

- že jsem na diplomové práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně dne: 15. 5. 2020

Romana Bajerová

.....  
Podpis studenta

## **ABSTRAKT**

Předložená diplomová práce je zaměřena na antioxidační vlastnosti a obsah kofeinu v kávách z různých oblastí světa. Kávové nápoje byly připraveny různými typy přípravy (espresso, moka konvička, frenchpress, instantní káva). V kávových nápojích se pomocí radikálu DPPH stanovovala antioxidační aktivita. Reakcí s Folin-Ciocalteuovým činidlem byl stanoven obsah celkových polyfenolů. Analýzou HPLC byl stanoven obsah kofeinu a teofylinu. U všech analýz byl pozorován rozdíl stanovované vlastnosti v závislosti na typu přípravy a druhu kávy. Dosažené výsledky byly statisticky vyhodnoceny dle ANOVA. Diplomovou práci uzavírá sensorická analýza, kde byly vzorky seřazeny dle preference a statisticky vyhodnoceny.

Klíčová slova: káva, kofein, antioxidační aktivita, polyfenoly

## **ABSTRACT**

The submitted diploma thesis is focused on the antioxidant properties and caffeine content in coffees from different parts of the world. Coffee drinks were prepared with different types of preparation (espresso, moka pot, french press, instant coffee). Antioxidant activity was determined in coffee beverages using the DPPH radical. The content of total polyphenols was determined by reaction with Folin-Ciocalteu reagent. Caffeine and theophylline content were determined by HPLC analysis. In all analyzes, a difference in the determined property was observed depending on the type of preparation and the type of coffee. The achieved results were statistically evaluated according to ANOVA. The diploma thesis concludes with sensory analysis, where the samples were sorted according to preference and statistically evaluated.

Keywords: coffee, caffeine, antioxidant activity, polyphenols

Ráda bych touto cestou poděkovala paní doc. Mgr. Barboře Lapčíkové, Ph.D. za možnost zpracování diplomové práce pod jejím vedením a všechny rady udělené při práci v laboratoři i sepisování práce. Dále děkuji za pomoc v laboratoři panu Ing. Tomáši Valentovi, Ph. D., paní doc. Ing. Daniele Sumczynski, Ph. D. a paní Ing. Lence Fojtíkové za analýzu HPLC a paní Ing. Zuzaně Lazárkové, Ph. D. za rady při zpracování senzorické analýzy.

Na závěr děkuji rodině a příteli za neustálou podporu a dodání pozitivní energie.

# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>10</b>
<b>I TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>11</b>
<b>1 BOTANICKÝ PŮVOD KÁVY A OBLASTI PĚSTOVÁNÍ</b> .....	<b>12</b>
1.1 PŮVOD KÁVY.....	12
1.1.1 Kávovník.....	12
1.1.2 Druhy kávovníků.....	15
1.1.3 Oblasti pěstování.....	17
<b>2 VÝROBA KÁVY</b> .....	<b>19</b>
2.1 SBĚR KÁVOVÝCH BOBULÍ.....	19
2.2 ZPRACOVÁNÍ KÁVOVÝCH BOBULÍ.....	19
2.2.1 Suchá metoda.....	19
2.2.2 Mokrý metoda.....	20
2.2.3 Polosuchá metoda.....	20
2.3 SUŠENÍ KÁVOVÝCH ZRN.....	21
2.4 LOUPÁNÍ A LEŠTĚNÍ KÁVOVÝCH ZRN.....	21
2.5 TŘÍDĚNÍ.....	21
2.6 PRAŽENÍ KÁVOVÝCH ZRN.....	22
2.6.1 Stupně pražení.....	23
2.7 KÁVOVÉ SMĚSI.....	25
2.8 MLETÍ KÁVOVÝCH ZRN, BALENÍ A SKLADOVÁNÍ.....	25
2.9 INSTANTNÍ KÁVA.....	26
<b>3 CHEMICKÉ SLOŽENÍ KÁVY</b> .....	<b>28</b>
3.1 KOFEIN.....	29
3.2 POLYFENOLYA KYSELINY.....	30
3.3 POLYSACHARIDY.....	31
3.4 PROTEINY.....	31
3.5 LIPIDY.....	32
3.6 MINERÁLY A VITAMÍNY.....	33
<b>4 METODY STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY, STANOVENÍ KOFEINU, OBSAH POLYFENOLICKÝCH LÁTEK</b> .....	<b>34</b>
4.1 ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA.....	34
4.1.1 ORAC (oxygen radical absorption capacity).....	34
4.1.2 TRAP (total radical trapping antioxidant parameter).....	35
4.1.3 ABTS (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazol-6-sulfonát).....	35
4.1.4 TEAC (troloxequivalent antioxidant capacity).....	35
4.1.5 DPPH (2,2-difenyl-1-picrylhydrazyl).....	35
4.1.6 FRAP (ferric reducing antioxidant power).....	36
4.2 STANOVENÍ KOFEINU.....	36
4.3 CELKOVÝ OBSAH POLYFENOLICKÝCH LÁTEK.....	37
<b>5 KONZUMACE KÁVY A JEJÍ VLIV NA ZDRAVÍ ČLOVĚKA</b> .....	<b>38</b>

5.1	VLIV NA ZDRAVÍ ČLOVĚKA .....	38
5.1.1	Kardiovaskulární choroby .....	38
5.1.2	Zvýšený cholesterol .....	39
5.1.3	Diabetes mellitus .....	39
5.1.4	Rakovina a oxidační stres.....	40
5.1.5	Parkinsonova choroba .....	40
5.1.6	Alzheimerova choroba .....	40
<b>II</b>	<b>PRAKTICKÁ ČÁST .....</b>	<b>42</b>
<b>6</b>	<b>CÍLE PRÁCE .....</b>	<b>43</b>
<b>7</b>	<b>METODIKA PRÁCE.....</b>	<b>44</b>
7.1	CHARAKTERISTIKA VZORKŮ.....	44
7.1.1	Káva 1 – Guatemala SHB Teresita .....	44
7.1.2	Káva 2 – Brasil Santos .....	44
7.1.3	Káva 3 – Ethiopian Sidamo.....	45
7.1.4	Káva 4 – Vietnam Gr.1 robusta.....	45
7.1.5	Káva 5 – instantní káva Jacobs Velvet.....	45
7.2	POUŽITÉ CHEMIKÁLIE.....	46
7.3	PŘÍSTROJOVÉ VYBAVENÍ A LABORATORNÍ POMŮCKY .....	46
7.4	PŘÍPRAVA KÁVY .....	47
7.4.1	Příprava espressa .....	47
7.4.2	Příprava kávy v moka konvičce .....	47
7.4.3	Příprava kávy pomocí Frenchpressu .....	47
7.4.4	Příprava instantní kávy.....	47
7.5	SPEKTROFOTOMETRICKÉ STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY POMOCÍ DPPH METODY .....	48
7.5.1	Princip metody .....	48
7.5.2	Postup.....	48
7.6	SPEKTROFOTOMETRICKÉ STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU POLYFENOLŮ POMOCÍ FOLIN-CIOCALTEAUOVA ČINIDLA .....	50
7.6.1	Princip metody .....	50
7.6.2	Postup.....	50
7.7	STANOVENÍ SUŠINY .....	52
7.7.1	Princip metody .....	52
7.7.2	Postup.....	52
7.8	STANOVENÍ OBSAHU KOFEINU A JEHO DERIVÁTŮ POMOCÍ HPLC .....	53
7.8.1	Princip metody .....	53
7.8.2	Postup.....	53
<b>8</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUZE .....</b>	<b>54</b>
8.1	SPEKTROFOTOMETRICKÉ STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY POMOCÍ DPPH METODY .....	54
8.1.1	Kalibrační křivka troloxu .....	54
8.1.2	Inaktivace DPPH .....	55
8.1.3	Antioxidační aktivita.....	56



8.2	SPEKTROFOTOMETRICKÉ STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU POLYFENOLŮ POMOCÍ FOLIN-CIOCALTEAUOVA ČINIDLA .....	60
8.2.1	Kalibrační řada kyseliny gallové.....	60
8.2.2	Celkový obsah polyfenolů.....	60
8.3	STANOVENÍ SUŠINY .....	64
8.4	STANOVENÍ OBSAHU KOFEINU A JEHO DERIVÁTŮ POMOCÍ HPLC .....	66
8.4.1	Kalibrační křivka kofeinu .....	66
8.4.2	Kalibrační křivka teofylinu .....	66
8.4.3	Stanovení obsahu kofeinu .....	67
8.4.4	Stanovení obsahu teofylinu .....	70
8.5	SENZORICKÁ ANALÝZA .....	72
	<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>79</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>	<b>81</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....</b>	<b>90</b>
	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>91</b>
	<b>SEZNAM TABULEK.....</b>	<b>92</b>
	<b>SEZNAM PŘÍLOH.....</b>	<b>93</b>

## ÚVOD

Pod pojmem káva si většina z nás představí horký nápoj, který si připravujeme za účelem dodání energie nebo při společenských setkání s rodinou či přáteli. Je známá především pro své silné aroma, tmavou barvu a hořkou chuť.

Káva není jen zázračný životabudič, kterým se může zahnat ospalost. Káva je i skvělým společníkem. Káva může být životním stylem. Zkrátka každý z nás si na kávu udělá svůj názor. Avšak většina z těch, kteří ji jednou okusili, si ji zamilovali.

Kávu lze připravit mnoha způsoby pomocí různých pomůcek a nástrojů. K přípravě můžeme použít mletou kávu nebo instantní. Existuje opravdu nepřeberné množství možností přípravy a ochucování kávy a proto si svůj oblíbený nápoj může každý připravit po svém.

Na kávu lze pohlížet z několika hledisek. Můžeme se zabývat botanikou a jejím pěstováním a zpracováním. Zajímavá je i ekonomická stránka kávy, jelikož kávové bobule patří mezi nejvíce obchodovatelné komodity na světovém trhu. Dále lze zkoumat chemické složení kávy, jelikož obsahuje spoustu chemických látek, které působí na lidský organismus. Názory na fyziologické působení kávy se různí, můžeme se dočíst o příznivých i negativních účincích.

Předložená diplomová práce je v teoretické části zaměřena na botanický původ kávy a oblasti pěstování, technologické zpracování kávových bobulí a technologické zpracování kávových zrn, chemické složení kávy, působení na zdraví člověka a na možné metody analýzy složek kávy.

V praktické části se pojednává o stanovení antioxidační aktivity, obsahu polyfenolických látek a obsahu kofeinu předložených vzorků káv z různých oblastí světa, které se připravují různými typy gastronomických příprav.

■

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 BOTANICKÝ PŮVOD KÁVY A OBLASTI PĚSTOVÁNÍ

Káva je celosvětově oblíbený horký nápoj z upražených a rozemletých semen plodů kávovníku. Tento nápoj je charakteristický svým silným aroma a černou barvou. Káva se pije především pro své povzbuzující účinky. Obsahuje alkaloid kofein, který zvyšuje krevní tlak. Káva také napomáhá metabolismu glukosy a zlepšuje citlivost na insulin, čímž se snižuje riziko diabetu typu II. Mezi další benefity patří snižování rizika Alzheimerovy choroby, Parkinsonovy choroby a ischemické choroby srdeční [1].

### 1.1 Původ kávy

Historie kávy sahá daleko do minulosti. Pravlastí kávy je pravděpodobně provincie Kaffa v Etiopii, kde divoce rostly kávovníkové keře. Odtud se rozšířily na Blízký východ díky islámským poutníkům. Nejznámější legenda o původu kávy vypráví o habešském pastevci koz, který vyzoroval vyšší aktivitu jeho zvířat po požití červených bobulí z neznámého keře. Rozhodl se sám vyzkoušet účinky těchto plodů a zjistil, že je díky nim čilý až do noci. O těchto účincích řekl mnichům, kteří začali z plodů připravovat nápoj před dlouhými modlitbami [2]. Věrohodnější jsou příběhy o afrických domorodcích, kteří žvýkali kávové plody pro povzbuzení.

První zmínky o pěstování kávy v Jemenu pochází z roku 575 n. l. Zpočátku byla káva považována na zázračný lék. Až později byly pozorovány její povzbudivé účinky na činnost mozku. Káva jako surovina byla přísně střeženým tajemstvím. K rozšíření do Evropy došlo díky pašování Turky. Na dalším rozšíření do světa mají podíl Nizozemci, kteří začali kávu pěstovat ve svých provinciích na Srí Lance, v Indii a na Jávě. Nizozemci nabídli rostlinu kávovníku i francouzskému králi Ludvíku XIV. Díky tomuto daru začali Francouzi pěstovat kávu na ostrově Martinik v Karibiku. Postupně se kávovník začal pěstovat i na Kubě a v Jižní Americe, především v Kolumbii, Nikaragui, Guatemale, Salvadoru, Ekvádoru a Brazílii [3,4,5,6].

#### 1.1.1 Kávovník

Kávovník je hojně rozšířená ovocná dřevina rostoucí ve více než 70 zemích subtropického a tropického podnebného pásu. Patří do rodu *Coffea* L. z čeledi *Rubiaceae* (mořenovitě), která zahrnuje 500 rodů a více než 6000 druhů.

Kávovník se pěstuje ze semen co nejdříve po sklizni, neboť skladováním klesá klíčivost. Doba klíčení trvá tři až čtyři týdny. Semena se vkládají do slabě kyselé půdy bohaté na

živiny. Zhruba po deseti dnech od vyklíčení se objevují malinké rostlinky, které se přesadí do záhonů. Další možností je pěstování z odnoží. Po šesti až osmi měsících se rostliny vysazují na plantáže ve vzdálenosti 2,5 metrů od sebe, přičemž na jeden hektar plantáže se vysází průměrně 1200 rostlin kávovníku [7].

Na růst kávovníku působí mnoho vlivů. Jedním z nich je alkalita, respektive acidita půdy. Při kyselém pH půdy kávovník odumírá, při zásaditém pH má pak zpomalený růst. Srážky se musí pohybovat nad 1500 mm ročně, proto bývají plantáže uměle zavodňovány a zároveň osazovány dalšími rychle rostoucími stromy (banánovník, palmovník, kaučukovník, akácie), které pak chrání kávovník před silným sluncem a prořezávají se dle potřeby zastínění. Vyžadováno je teplé podnebí se stálými teplotami 18-22 °C.

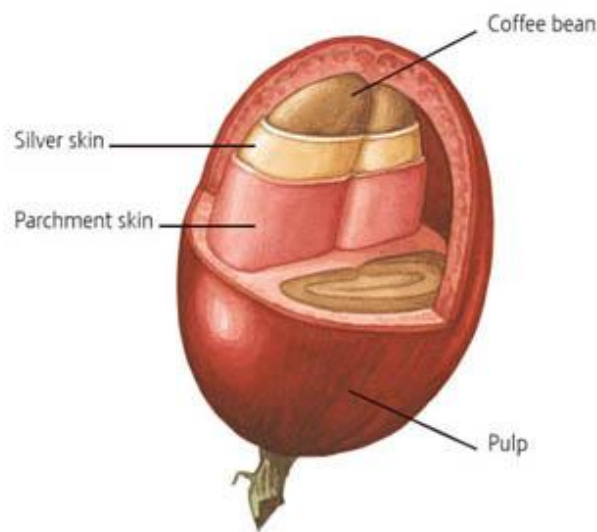
Výška různých druhů kávovníků je rozdílná, některé řadíme mezi keře a jiné mezi stromy s výškou až 15 metrů. Na plantážích se rostliny upravují do výšky maximálně 3 metrů kvůli snadnější sklizni [6,8].

Kávovník (Obr. č. 1) má velké zelené lesklé listy s délkou až 15 cm. Květy, připomínající jasmín, jsou bílé a jemně voní. Odkvétají po pár dnech. První plody, kávové třešně, se rodí nejdříve po třech letech, období plodnosti trvá 25 let. Zajímavé je, že v jednu chvíli může mít kávovník jak rozkvetlé květy, tak zralé i nezralé plody. Lze tedy sklízet i několikrát ročně. Nezralé plody jsou zelené. Při dozrávání se jejich barva mění v červenou, tmavě červenou až fialovou barvu. Zelené plody po utržení nedozrají a přezrálé se zkazí. Z jednoho kávovníku lze sklídit půl kilogramu až kilogram surové kávy ročně [3,9,10].



Obrázek č. 1: Keř kávovníku a jeho plody [11]

Kávové třešně (Obr. č. 2) mají kožovitou slupku (exokarp), pod kterou je nasládlá dužina (mezokarp). V dužině jsou uloženy dvě zelené pecky neboli kávová zrnka. Každé zrnko je chráněno pergamenovou vrstvou (endokarp) a stříbřitou blankou (integument). Pokud v plodu je jen jedna pecka, má kulovitý tvar a nazývá se perlové zrnko [9].



Obrázek č. 2: Složení plodu kávovníku [12]

### 1.1.2 Druhy kávovníků

Na světě existuje široká řada různých druhů kávovníků. Pro potravinový průmysl je nejvýznamnější kávovník arabský, robusta a liberijský.

**1. Kávovník arabský** (*Coffea arabica*) dorůstá výšky tří metrů a za příznivých podmínek první plody rodí tři roky po vysazení, průměrných výnosů lze dosáhnout po šesti letech od výsadby. Úrodu poskytuje 25-35 let podle půdních a klimatických podmínek. Keř se pěstuje ve výškách od 600 do 2000 metrů nad mořem v teplotách 15 – 24 °C. Arabica tvoří 75 % světové produkce kávy. Za rok lze z jedné rostliny získat 1 - 1,5 kilogramů zelené kávy. Zrna jsou velmi kvalitní a připravují se z nich nejchutnější kávy. Tvar zrn je ploché a protáhlé, uprostřed můžeme vidět typickou zakřivenou rýhu (Obr. č. 3). Oproti druhu robusta obsahuje arabica méně kofeinu (0,7 – 1,4 %) a je kyselější a jemnější [4,7,9].

**2. Kávovník robusta** (*Coffea robusta – canephora*) je keř dosahující výšky až 15 metrů. První úrodu poskytuje již dva roky po vysazení a plody uzrávají průběžně po celý rok. Pěstuje se ve výškách od 200 do 900 metrů nad mořem při teplotách 24 – 29 °C. Oproti arabice je odolnější vůči nemocem a škůdcům, lépe také vzdoruje nepříznivému počasí. V současné době představuje sklizeň této kávy cca 25% světové produkce a její podíl se stále zvyšuje. Pro horší kvalitu semen se tento druh kávy používá do směsí nebo na přípravu instantní kávy. Sklizená kávová zrna robusty jsou menší a kulatější než u arabicy (Obr. č. 3). Obsahují 2-3 násobné množství kofeinu oproti kávovníku arabskému a méně kyselin, které zabraňují tvorbě kvalitní pěny. Vy-

značuje se zemitější a méně aromatickou, drsnější chutí a tmavší barvou. V některých zemích, zejména v Africe a jihovýchodní Asii, se jeho pěstování dává přednost pro menší nároky na jakost půdy a vyšší úrodnost [7].



Obrázek č. 3: Rozdíl velikosti kávových zrn druhů arabica a robusta [13]

**3. Kávovník liberijský (*Coffea liberica*)** se pěstuje v malém měřítku. Z celosvětové produkce představuje liberica jen 1 %. Ze všech kávovníků je nejvyšší, dorůstá až do 18 metrů. Tato dřevina se pěstuje pouze v Malajsii a západní Africe ve výškách okolo 500 metrů nad mořem. Zrna kávy liberica (Obr. č. 4) jsou tenká a protáhlá a mají trpkou chuť. Používají se převážně do směsí [7].

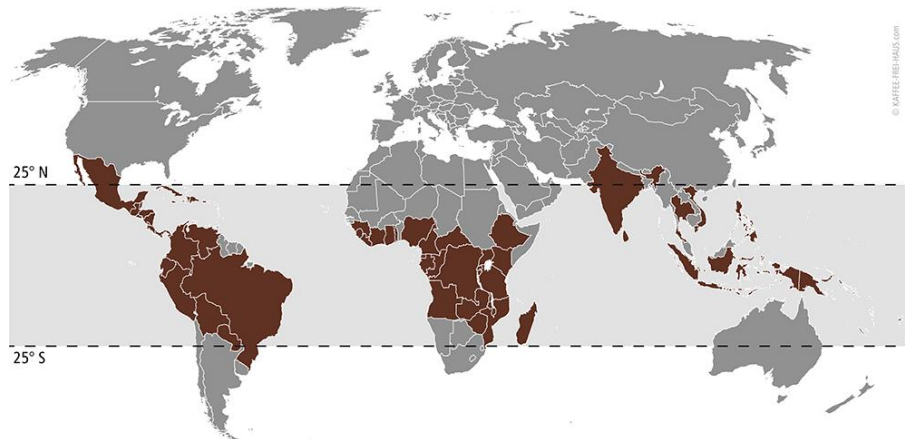


Obrázek č. 4: Zrno kávy liberica [14]



### 1.1.3 Oblasti pěstování

Kávovníkové plantáže můžeme najít v subtropickém a tropickém podnebném pásu, který se nachází mezi 23 ° severní šířky a 25 ° jižní šířky. Této oblasti se někdy přezdívá „kávo-vý pás“ (Obr. č. 5).



Obrázek č. 5: Oblasti pěstování kávy [15]

Největším světovým pěstitelem a vývozcem je jednoznačně Brazílie, kde se nachází okolo 300 tisíc farem. Většinou se pěstuje druh arabica. K největším produkčním oblastem patří stát Sao Paulo. Na světových trzích je zdejší káva označována jako Brasil – Santos. Rostlina kávovníku byla do Brazílie poprvé přivezena v 18. století francouzskými osadníky. S rostoucí popularitou kávy mezi Evropany se Brazílie stala největším producentem ve 40. letech 20. století. A první příčku si drží i v dnešní době.

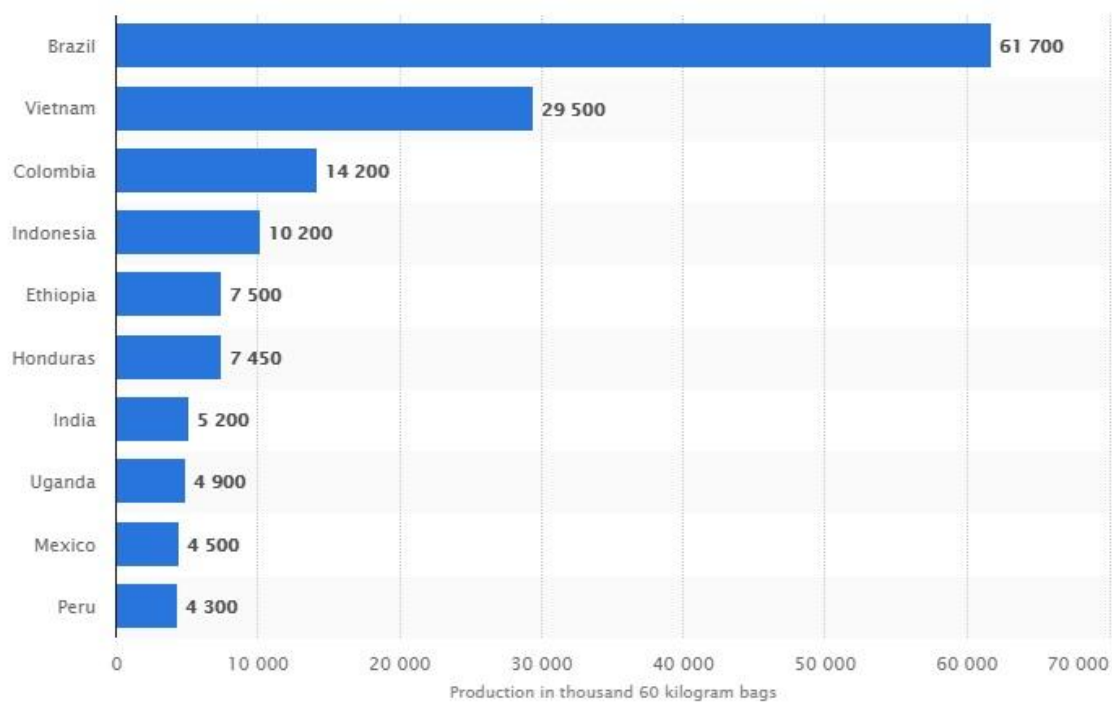
Druhou příčku ve světové produkci kávy si drží Vietnam. Pěstuje se zde především robusta, celkem 40 % celosvětové produkce, což činí z Vietnamu největšího producenta kávy robusta.

Třetí příčka patří Kolumbii. Zde se pěstuje arabica i robusta, díky příznivému klimatu. V produkci kávy arabica je Kolumbie druhým největším pěstitelem po Brazílii.

Čtvrtým největším pěstitelem kávy na světě je Indonésie. Většina produkce pochází z malých farem.

Pátým největším pěstitelem a distributorem je Etiopie. Zároveň se jedná o největšího pěstitele kávy v Africe.

Mezi deset největších producentů (Obr. č. 6) kávy patří ještě Honduras, Indie, Uganda, Mexiko a Guatemala [3,16,17].



Obrázek č. 6: Deset největších producentů kávy na světě v roce 2018 [18]

## 2 VÝROBA KÁVY

Zpracování kávy je náročný a dlouhodobý proces. Zahrnuje sběr kávových bobulí, jejich fermentaci nebo sušení, loupání kávových zrn a opětovné sušení. Na závěr jsou zrna balena do přepravních obalů.

### 2.1 Sběr kávových bobulí

Sběr kávových bobulí může probíhat několika způsoby. Jednou z možností je strojový sběr, kdy je sklizena celá plantáž najednou. Tato metoda ale není šetrná, neboť kromě zralých plodů jsou otrhány i nezralé plody a květy, poškozeny mohou být i větve rostliny. Další možností je setřásání plodů do rozprostřených plachet. Při této metodě jsou opět sklizeny i nezralé bobule.

Nejšetrnější metodou je ruční, takzvaný selektivní sběr. Sbírány jsou jen zralé a nepoškozené bobule, což je sice časově náročné, ale zároveň je zajištěna vysoká kvalita. Sběrači kávy, většinou ženy, jsou schopni sklidit až 70 kilogramů kávových třešní za den.

### 2.2 Zpracování kávových bobulí

Nasbírané kávové bobule se dále čistí. Odstraní se listy, větvičky, hlína a další nečistoty. Následuje šetrné odstranění dužnatého oplodí z kávové bobule. Způsob zpracování má velký vliv na chuť kávy, ale také na její cenu. Existují tři typy zpracování kávy: suchá, mokrá a polosuchá metoda [19,20,21].

#### 2.2.1 Suchá metoda

Suchý způsob zpracování kávových bobulí je nejstarší a také nejekonomičtější metoda. Praktikuje se především v zemích s nedostatkem vodních zdrojů. Jinak je tato metoda nazývána přírodní nebo také dry-processed.

Plody zbavené hrubých nečistot se rozprostřou na betonové, kamenné, cihlové podlahy anebo rohože do vrstev zhruba 6 – 10 centimetrů vysokých. Peckovice jsou sušeny na slunci a musí být chráněny před deštěm a chladem. Na noc se používají plachty na přikrytí, aby se k plodům nedostala vlhkost a nedocházelo k fermentaci. V pravidelných intervalech jsou třešně prohrabávány, aby rovnoměrně proschly. Na některých plantážích se využívají mechanické sušičky k urychlení procesu.

Doba sušení je různá a záleží i na počasí. Průměrná doba sušení je 4 – 6 týdnů, kdy klesne vlhkost asi na 12 %. Slupka třešně je tmavohnědá a křehká. Při nadměrném vysušení může dojít k poškození zrn v dalších krocích zpracování. Naopak při nedostatečném vysušení mohou být zrna napadena plísněmi.

Vysušené kávové třešně jsou loupány na luštících strojích, kde je odstraněna slupka a stříbřitá blanka, čímž získáme zelená kávová zrna [20].

### 2.2.2 Mokrý metoda

Mokrý způsob zpracování kávových bobulí je nákladnější a náročnější než suchý způsob, poskytuje však kvalitnější kávová zrna. Jinak je tato metoda nazývána fully-washed nebo wet-processed.

Posbírané kávové bobule se máčí ve speciálních nádržích nebo tancích. Zralé bobule sedimentují. Nezralé kávové třešně společně s dalšími nečistotami jsou odplaveny pryč. Tím je zajištěna vysoká kvalita získaných kávových zrn.

Bobule jsou plaveny proudem vody do loupacích zařízení, kde je odstraněna slupka a část dužiny ve speciálním zařízení. Slupka musí být odstraněna nejpozději do 24 hodin po sklizni. Po delší době slupka s dužinou přisychají k zrnům a lze je mnohem hůře odstranit, čímž by mohlo dojít i k poškození samotných zrn.

Semena zbavená dužiny jsou dále plavena do fermentačních tanků. Zde dochází k enzymatické reakci, při které je odstraněna lepkavá vrstva zbývajícího oplodí pokrývající pergamenovou vrstvou. Proces fermentace probíhá 12 – 36 hodin. Po ukončení fermentace jsou zrna na omak drsná. Tento proces je velmi citlivý a může významně ovlivnit kvalitu zrna [8].

### 2.2.3 Polosuchá metoda

Při polosuché neboli semi-washed metodě jsou kávové bobule namočený v nádržích a oddělí se zralé a nezralé třešně. Vytříděné bobule jsou poté plaveny do loupacích strojů a jsou zbaveny slupky a části dužiny. Následuje sušení a fermentace na slunci. Zrno se musí často prohrabovat a otáčet, aby nezačalo plesnivět. Svrchní obaly dužiny obsahují mnoho sacharidů, které postupně fermentují. Káva zpracovaná tímto způsobem je jemná a obsahuje málo kyselých tónů.

### 2.3 Sušení kávových zrn

Ať už se kávové bobule zpracovávají jakýmkoliv ze tří popsaných způsobů, zůstává na kávových zrnech ještě pergamenová vrstva. Těmto zrnům se říká pergamenová káva nebo také pergamino. Pergamenová vrstva se na zrnech ponechává do exportu.

Aby byla káva skladovatelná, musí se snížit celkový obsah vlhkosti na 11 %. Sušení může probíhat přirozeně na slunci nebo lze využít i mechanických sušáren, kde jsou zrna ofukována suchým vzduchem. Důležité je, aby teplota pergamenu nepřesáhla 45 °C a teplota zrna 40 °C. Při příliš rychlém sušení hrozí popraskání pergamenové vrstvy.

Po vysušení se doporučuje pergamenovou kávu skladovat přibližně v nadmořských výškách, ve kterých byla pěstována. Zrna kávy arabica by se neměla skladovat déle než rok. Odrůdu robustu lze skladovat i delší dobu.

### 2.4 Loupání a leštění kávových zrn

Před exportem se z kávových zrn odstraňují lehké nečistoty profukováním a těžší nečistoty proséváním na aspirátorech a triérech. Poté se loupe pergamenová slupka ve speciálních loupacích strojích. Tím se zrnům dodává trvanlivost. Odstranit pergamenovou slupku z kávy, která byla zpracována mokřím způsobem, je mnohem těžší, než u zrn zpracovaných suchým způsobem. K loupání jsou využívány třecí nebo nárazové stroje. Principem je odírání zrna o drsný povrch lopatek stroje a také vzájemné odírání zrn. Kávová zrna mají po oloupání olivově zelenou barvu. Po loupání jsou zrna ještě naleštěna v podobných přístrojích, jako jsou ty loupací. Účelem je úplné odstranění stříbřité blanky a sjednocení povrchu. Při leštění se můžou zrna spálit.

### 2.5 Třídění

Po oloupání a naleštění kávová zrnka musí projít procesem třídění. Jsou tříděna dle kvality a velikosti, eventuálně dle tloušťky. Obecně platí, že větší zrna jsou kvalitnější, existuje proto mezinárodní členění kvality dle velikosti na třídy AA, A, B, C atd.

Tento proces probíhá většinou ručně. Lze využít i mechanických přístrojů se sítí a proudy vzduchu, díky kterým těžká zrna padají dolů jako první. Vadná, svraštělá, barevně nevyrovnaná a mechanicky poškozená zrna jsou odstraněna.

Třídění je poslední proces zpracování kávy před jejím obchodováním. Před expedicí je káva balena do jutových pytlů o hmotnosti nejčastěji 60 kilogramů. Ročně je vyexpedová-

no 5 – 6 milionů tun zelené kávy. Káva putuje z plantáží rovnou do pražírén nebo na burzu.

## 2.6 Pražení kávových zrn

Na trhu si lze koupit kávu zelenou i praženou. Zelená kávová zrna jsou nepoživatelná, bez vůně a chuti. Charakteristickou barvu a vůni získávají až procesem pražení. Pražení může být kritickým bodem celé výroby kávy. Špatným pražením lze znehodnotit i tu nejkvalitnější kávu. Ke správnému pražení se využívá všech našich smyslů. U právě pražené kávy se pozoruje barva, vůně i praskání zrn.

Proces pražení probíhá v pražičce neboli roastovacím stroji, který má kapacitu desítky až stovky kilogramů. Pražička (Obr. č. 7) se skládá z několika důležitých částí. Nahoře je umístěn trychtýř, do kterého se vsype určitá dávka zelených kávových zrn určených k pražení. Pražička musí být vyhřátá na vysokou teplotu (200 – 250 °C). Zelená zrnka putují do bubnu pražičky, který se po celou dobu pražení točí a díky tomu jsou všechna zrna pražena rovnoměrně. Při vstupu zrnka kávy do bubnu dojde k poklesu teploty, jelikož zrna nejsou předehřátá. Přívodem teplého vzduchu teplota opět začne stoupat a zrna jsou pražena [9].



Obrázek č. 7: Pražicí stroj [22]

Zhruba po deseti minutách zrna hnědnou a můžeme slyšet první prasknutí, takzvaný first-crack. Čím je káva čerstvější, tím lépe můžeme praskání slyšet. Teprve po prvním prasknutí je káva použitelná ke konzumaci. V zrně se odehrávají chemické reakce. Škrob se rozpadá na jednoduché cukry, které karamelizují, a postupně také ustupuje kyselost. Buněčná struktura praská kvůli vysokým teplotám, čímž dojde k uvolnění vlhkosti a zmenšení velikosti zrna. Postupně se také rozkládají bílkoviny.

Při dalším pražení trvajícím 5 - 6 minut můžeme slyšet druhé prasknutí, takzvaný second crack. Čím delší doba uplyne do druhého prasknutí, tím je káva kvalitnější. Praží-li se kávová zrna déle než do druhého prasknutí, jsou poté spálená. Přepálená káva je velmi hořká a nejde cítit původní chuť kávy.

Po upražení jsou zrnka z bubnu pražičky vysypána do speciálního kruhového tanku, kde jsou ochlazená (Obr. č. 8). Zchlazení kávových zrn musí proběhnout co nejrychleji, aby nadále neprobíhaly chemické reakce a neunikaly éterické oleje. Po zchlazení káva putuje do skladovacích tanků, kde se nechají odležet. Do 48 hodin odpražení by zrna měla být zabalena, aby nepřijímala nežádoucí pachy. Většinou se využívají speciální neprodyšné obaly s ventilem, které odpouští plyny [7,9].



Obrázek č. 8: Chlazení kávy po pražení [23]

### 2.6.1 Stupně pražení

Každý druh kávy se praží za jiných podmínek. Aby se tyto podmínky optimalizovaly, je nejdříve upraženo pouze malé množství kávy. Připraví se tři vzorky kávy dle stupnice pražení light city roast, city plus roast a full city roast. Tyto vzorky se pak degustují a je vybrán vzorek s nejlepšími sensorickými vlastnostmi, dle kterého se vybere správný postup pražení.

Výslednou chuť kávy ovlivňuje teplota, přísun vzduchu, rychlost pohybu bubnu v pražičce i délka doby pražení. Téměř všechny látky obsažené v upražené kávě jsou ve vodě rozpustné a přechází do roztoku, tedy výsledného nápoje.

Zjednodušeně by se dalo říci, že existují **tři základní typy pražení**:

- **Světlé** pražení, kde jsou více výrazné kyselé tóny chuti
- **Střední** neboli medium s čokoládovým a sladkým nádechem chuti
- **Tmavé** pražení, kde převažují hořké tóny chuti

Dále lze stupně pražení rozdělit do **několika skupin** [24] (Obr. č. 9):

1. **Light Cinnamon** velmi světlé zrnko s kyselými tóny  
teplota pražení 75 °C
2. **Cinnamon** světle hnědé zrnko, stále výrazné kyselé tóny  
teplota pražení 195 °C
3. **New England** světle hnědá barva zrněk, již méně kyselá  
začátek first crack,  
teplota pražení 205 °C
4. **American, Light city** tmavší barva, sladší chuť, končí first crack  
teplota pražení 210 °C
5. **City plus, Medium** středně hnědá barva zrn, vyvážené chutě  
teplota pražení 220 °C
6. **Full city** středně tmavě hnědá barva, na povrchu jsou oleje  
sladce hořké tóny  
teplota pražení 225 °C
7. **Light French, Viennese** tmavší hnědá barva, větší olejové stopy, hořkosladká  
chuť, karamelové tóny, ztráta kyselosti  
teplota pražení 230 °C
8. **French** tmavě hnědá zrna, výrazné oleje na povrchu,  
spálené tóny  
teplota pražení 240 °C
9. **Italian** velmi tmavá kávová zrna, silnější spálené tóny  
teplota pražení 245 °C
10. **Spanish** hodně tmavá zrna, téměř černá, olejovitá a uhelnatá  
chuť  
teplota pražení 250 °C





Obrázek č. 9: Stupně pražení kávy [25]

## 2.7 Kávové směsi

Každá odrůda kávy má svou jedinečnou a specifickou chuť. Často se míchá několik odrůd, čímž vzniká vyvážená směs. K sestavování směsí je potřeba dlouholetých zkušeností, znalostí surovin a degustačních zkoušek. Je však třeba dodržovat zásadu míchání kávy s rozdílnými vlastnostmi, aby byla získána směs s bohatší chutí a vůní. Bývá také míchána arabica s robustou v různých poměrech, většinou 60:40 až 95:5. Stoprocentní káva arabica je na trhu jen vzácně, stejně tak jako kvalitní robusta. Kávovou směs lze namíchat i před procesem pražení [6,7,26].

## 2.8 Mletí kávových zrn, balení a skladování

Kávu si můžeme koupit v podobě upražených zrn nebo i mletou. Ovšem každým dalším technologickým krokem ztrácí káva svou životnost a specifické vlastnosti jako je příjemné aroma a chuť. Ideální je mletí kávy těsně před přípravou výsledného nápoje.

Správné mletí kávy je důležitým procesem. Kávová zrna se nesmí přehřát, aby nedošlo ke ztrátě aromatických látek, proto se v průmyslu užívají mlecí stroje s chlazenými mlecími válci.

Existuje několik stupňů mletí (Obr. č. 10):

- Nahrubo mletá vhodná pro překapávanou kávu
- Středně mletá vhodná pro vakuový způsob přípravy
- Jemně mletá vhodná pro přípravu espressa
- Prášková vhodná pro přípravu kávy v džezvě, zalévané kávy (český turek)



Obrázek č. 10: Stupně mletí kávy [27]

Kvalitu zakoupené mleté kávy zaručí vakuové balení nebo balení v ochranné atmosféře. Káva by měla být skladována na suchém místě s teplotou okolo 20 °C a bez působení slunečního záření.

## 2.9 Instantní káva

Instantní neboli rozpustná káva se nedá srovnávat s čerstvě upraženou kávou. Nemá tak výrazné aroma a chuť. Přesto má své příznivce. Výhodou je i rychlá příprava výsledného horkého nápoje. Navíc má i delší dobu trvanlivosti.

Instantní káva se připravuje z upražené zrnkové kávy, většinou je využita robusta. Na výrobu jednoho kilogramu instantní kávy jsou využity dva kilogramy zrnkové kávy.

Mezi hlavní fáze výroby instantní kávy patří pražení, mletí, extrakce, koncentrace a dehydratace. Pražení a mletí kávy bylo popsáno na předešlých stranách. Nejsložitějším aspektem

výroby instantní kávy je extrakce, tedy příprava nápoje. Extrakt kávy se musí co nejrychleji zchladit na teplotu 4 °C, aby neunikly aromatické látky. Po ochlazení se přechází k zakoncentrování. K tomu může být využita vakuová odparka nebo odstředivka, popřípadě mrazové zakoncentrování.

Posledním krokem je dehydratace, kdy je přeměněn tekutý kávový extrakt na sušenou formu. Nejpoužívanějšími způsoby dehydratace jsou sprejové sušení a lyofilizace neboli mrazové sušení. Sprejové sušení nabízí vysoké výrobní kapacity a nízké náklady na výrobu, vyžaduje však vyšší teplotu, která ovlivňuje chuť výsledného produktu. Naproti tomu produkt mrazového sušení má lepší chuťový profil blížíící se klasické zrnkové kávě, jeho výroba vyžaduje více vstupních nákladů [8,20,28,29].

### 3 CHEMICKÉ SLOŽENÍ KÁVY

Chemické složení kávových zrn závisí na mnoha faktorech. Jsou to především botanický druh, oblast pěstování, klimatické podmínky způsob zpracování a typ pražení.

Nejvíce obsaženými látkami v kávě jsou:

- Kofein (0,5 – 2,6 %)
- Polyfenoly - kyseliny kávová a chinová (10 %), kyselina chlorogenová (4 - 6 %)
- Polysacharidy (25 – 30 %)
- Proteiny (13 %)
- Lipidy a vosky (0,1 – 0,8 %)
- Minerální látky a vitamíny (4 %)
- Voda (10 – 13 %)

Rozdíly v chemickém složení jednoho druhu kávy lze nalézt v zelených a upražených zrnech.

SLOŽENÍ KÁVY ZELENÉ			SLOŽENÍ KÁVY PRAŽENÉ		
Složení	Arabica	Robusta	Složení	Arabica	Robusta
Kofein	1,2	2,2	Kofein	1,3	2,4
Minerály	4,2	4,4	Minerály	4,5	4,7
Tuky	16,0	10,0	Tuky	17,0	11,0
Trigonellin	1,0	0,7	Trigonellin	1,0	0,7
Proteiny	11,5	11,8	Proteiny	10,0	10,0
Mastné kyseliny	1,4	1,4	Mastné kyseliny	2,4	2,5
Kyselina chlorogenová	6,5	10,0	Kyselina chlorogenová	2,7	3,0
Uhlohydráty	58,0	59,5	Uhlohydráty	38,0	41,5

Obrázek č. 11: Chemické složení kávy [30]

Zelená zrna se skládají především z vody, sacharidů, aminokyselin, proteinů, lipidů, minerálů, organických kyselin, trigonelinu a kofeinu. Kyselina chlorogenová, kofein a trigonelin jsou charakteristické bioaktivní látky, které přispívají k chuti nápoje po upražení [31].

### 3.1 Kofein

Kofein patří do skupiny purinových, respektive xantinových alkaloidů. Alkaloidy jsou chemické látky, které ve své molekule obsahují minimálně jeden atom dusíku, obvykle v heterocyklickém systému. Většina alkaloidů je rostlinného původu a mají farmakologické účinky. Kofein je hořká látka, ovšem do celkové hořkosti kávy přispívá jen 10 %. Je to nejrozšířenější konzumovaná farmakologicky aktivní látka na světě. Obsah kofeinu u *Coffea robusta* je dvakrát vyšší než u *Coffea arabica*.

Kofein (Obr. č. 12) je stimulantem nervové soustavy, což vede ke zvýšení bdělosti. Právě díky tomuto efektu jsou nápoje s obsahem kofeinu velmi vyhledávané. Xanthiny působí jako neselektivní antagonisté receptorů adenosinu. Adenosin chrání mozek při stresu, potlačuje nervovou aktivitu a zvyšuje průtok krve. Kofein působí proti tomu vazbou na adenosinové receptory, čímž způsobuje snížení toku krve v mozku. Nadbytek kofeinu může způsobit nespavost, bolesti hlavy, podrážděnost, nervozitu, úzkost, bušení srdce a záškuby.

Kofein je metabolizován v játrech na dimetylxanthiny, paraxanthin, teobromin a teofylin (Obr. č. 12). Paraxanthin zvyšuje proces lipolýzy a tím rozklad tuků na glycerol a mastné kyseliny. Teobromin má vazodilatační účinek, zvyšuje tok kyslíku a živin do mozku a svalů. Teofylin uvolňuje hladké svaly a zvyšuje srdeční frekvenci [32,33,34].



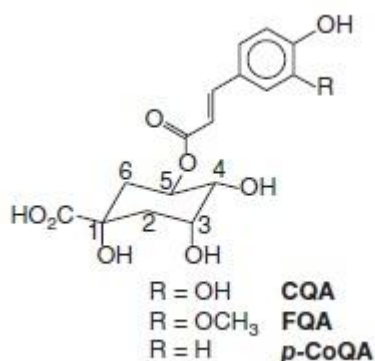
Obrázek č. 12: Kofein a jeho metabolity [35]

### 3.2 Polyfenoly a kyseliny

Polyfenoly jsou heterogenní skupinou sekundárních metabolitů rostlin. Polyfenoly ve své struktuře mají jednu nebo více fenolických skupin, mohou existovat i jako velmi rozvětvené polymery. Rozdělují se do dvou hlavních skupin flavonoidů a non-flavonoidů. V několika posledních letech výrazně stoupl vědecký zájem o možném přínosu polyfenolů pro lidské zdraví. Jejich obsah v každodenní stravě by mohl mít vliv na léčbu nebo prevenci mnoha chorob, jako například rakovina, kardiovaskulární choroby, diabetes nebo neurodegenerativní onemocnění (Alzheimerova choroba, Parkinsonova choroba). Polyfenoly také hrají důležitou roli v omezování buněčného stárnutí způsobeného reaktivními kyslíkovými radikály (ROS). Široký rozsah farmakologických aktivit je spojován s fenoly zahrnujícími antioxidační, analgetické a protizánětlivé účinky, také zlepšují endotelickou funkci a cytotoxické účinky proti bakteriím, houbám, prvkům a rakovinovým buňkám. Kapacita antioxidantů závisí na mnoha faktorech, které je třeba vzít v úvahu. Jedním z těchto faktorů je biodostupnost. Antioxidant by měl být absorbován, transportován, distribuován a správně udržován v tělních tekutinách, buňkách a tkáních [36,37,38,39].

Chlorogenové kyseliny jsou hlavní třídou polyfenolických sloučenin obsažených v kávě. Jsou to estery hydroxyskořicových a chinových kyselin. Hlavními podtřídami chlorogenových kyselin v zelené kávě jsou kafeoylchinové kyseliny, feruoylchinové kyseliny a kafeoyl-feruoylchinové kyseliny (Obr. č. 13). Každá z těchto podtříd se skládá nejméně ze tří isomerů. Nejvíce zastoupenou kyselinou je 5-kafeoylchinová a představuje 60 % všech kyselin. Je proto nazývána kyselina chlorogenová[40].

Tyto fenolické sloučeniny propůjčují kávě hořkost, trpkost a kyselost. Jejich vysoký obsah v zelené kávě, zejména kafeoylchinové a feruoylchinové kyseliny, je náchylný k oxidaci a může způsobit nežádoucí příchut' při procesu pražení. Chlorogenová kyselina má hořkou chuť při nižších koncentracích ( $50 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ) a kyselou chuť při vyšších koncentracích ( $1 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ ). Obsah chlorogenové kyseliny je u *C. robusta* vyšší než u *C. arabica*, u obou druhů je její obsah velmi variabilní.



Obrázek č. 13: Kyseliny chlorogenová, cafeoylchinová a feruoylchinová [20]

Farmakologické vlastnosti přisuzované kyselinám kafeoylchinové a dikafeoylchinové zahrnují antivirovou aktivitu proti adenoviru a herpetickému viru, hepatoprotektivní aktivitu a imunostimulační aktivitu [41].

Kyselina chlorogenová má celou řadu vlastností prospěšných pro lidské zdraví včetně hepatoprotektivních, antioxidačních, protinádorových a neuroprotektivních [42,43,44,45,46].

### 3.3 Polysacharidy

Sacharidy jsou hlavní složkou kávy a mohou představovat až 50 % sušiny kávy. Poly-, oligo-, di- a monosacharidy lze rozdělit na redukující a neredukující. Polysacharidy představují asi 44 % sušiny *C. arabica* a 47 % *C. robusta*.

Sacharosa je nejhojnější jednoduchý sacharid přítomný v zelené kávě. Působí jako předchůdce aroma během pražení za vzniku několika tříd sloučenin, jako jsou aldehydy, furany a karboxylové kyseliny, které ovlivňují chuť nápoje. Obsah sacharosy může být ovlivněn druhem kávy, odrůdou, oblastí pěstování a typem pražení. Arabica je na sacharosu bohatší než robusta a zřejmě díky ní má lepší aroma a chuť [47].

V kávě je obsažena i rozpustná vláknina. Vláknina je spojena s pozitivním fyziologickým a metabolickým působením na snižování hladiny cholesterolu v krvi a čištění střev [41].

### 3.4 Proteiny

Část proteinů je denaturována během procesu pražení na jednotlivé aminokyseliny. Mohou také interagovat s dalšími látkami. Například se sacharidy vytváří v důsledku Maillardovy

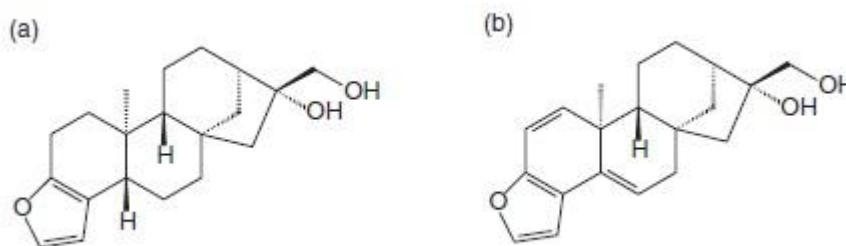
reakce melanoidiny, což jsou ve vodě rozpustné polymery a odpovídají za hnědou barvu pražené kávy. Proteiny slouží také jako prekurzory pro tvorbu těkavých látek, jako jsou furany, pyridiny, pyraziny, pyroly a aldehydy. Průměrný obsah aminokyselin v kávě je 4 mg/g *C. robusta* a 4,5 mg/g *C. arabica*. Žádná z obsažených aminokyselin není esenciální a nemají tedy nutriční hodnotu [20,39].

### 3.5 Lipidy

Tuková frakce je velmi stabilní a překoná i proces pražení s minimálními změnami. Lipidová frakce ovlivňuje tvorbu aroma, jelikož uvolňuje těkavé sloučeniny, jako jsou aldehydy, ketony a alkoholy během procesu pražení.

Z nenasycených mastných kyselin jsou v kávě obsaženy kyselina linoleová a palmitová. Tyto triacylglyceroly mohou způsobovat ztrátu sensorických vlastností kávy při jejím skladování. TAG mohou být hydrolyzovány enzymy, ty jsou však inaktivovány při procesu pražení. Dalším způsobem hydrolyzy je působení vzdušné vlhkosti. Hydrolyza vede k uvolnění volného tuku, který je zodpovědný za nežádoucí příchutě. Na povrchu kávových zrn jsou vosky, které chrání zrna před hmyzem a oxidací [48].

V kávě byly také identifikovány dva bioaktivní terpeny, cafestol a kahweol (Obr. č. 14). Představují asi 20 % lipidové frakce převážně ve formě solí nebo esterů nasyčených nebo nenasycených mastných kyselin. Jsou přítomny převážně v nefiltrované kávě, neboť nejsou rozpustné ve vodě. Vyšší obsah terpenů je v *C. arabica* než v *C. robusta* [49].



Obrázek č. 14: Cafestol (a) a kahweol (b) [20]

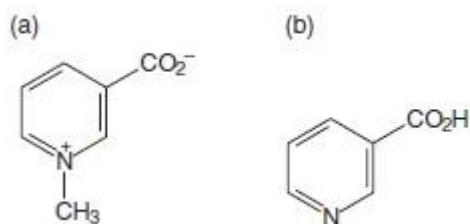
Cafestol je hlavní složkou nezmýdelnitelné frakce kávového oleje, což představuje asi 0,2 – 0,6% hmotnosti kávy. Kahweol je citlivější na zahřívání, kyslík, světlo a obsah kyselin. Obě tyto látky jsou citlivé na zahřívání, a proto v pražené kávě najdeme pouze jejich stopy [20].



### 3.6 Minerály a vitamíny

Kávová zrna jsou bohatá na několik minerálů. Nejvíce zastoupený je draslík, jeho obsah je až 40 % ze všech zastoupených minerálů. V kávě najdeme vysoký obsah hořčíku a vápníku. Dále je v kávových zrnech obsaženo asi 30 dalších prvků [39].

Z vitamínů je v kávě zastoupen niacin neboli kyselina nikotinová, jinak známá i pod názvem vitamin B<sub>3</sub>. Niacin vzniká během pražení demethylací trigonelinu (Obr. č. 15) a v jednom šálku kávy ho může být obsaženo 0,2 – 0,8 mg. Deficit niacinu se může projevit celkovou únavou, nespavostí, nechutenstvím, hubnutím, poruchami zažívání a dermatitidami. Niacin je jedinou látkou obsaženou v kávě s nutriční hodnotou. Nejlepších účinků vitamin B<sub>3</sub> dosahuje ve spojení s dalšími vitamíny skupiny B, takzvaný B komplex [47,50,51].



Obrázek č. 15: Trigonelin (a) a kyselina nikotinová (b) [20]

## 4 METODY STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY, STANOVENÍ KOFEINU, OBSAH POLYFENOLICKÝCHLÁTEK

V předchozích kapitolách byl popsán bohatý obsah různých látek v kávě. Každá složka kávy má své specifické vlastnosti, díky kterým je možné potvrdit její přítomnost a obsah.

### 4.1 Antioxidační aktivita

Antioxidant je látka omezující vznik a aktivitu reaktivních kyslíkových radikálů, které by mohly způsobovat poškození lidského organismu. Pro stanovení celkové antioxidační aktivity (total antioxidant activity, TAA) existuje řada analytických metod. TAA vyjadřuje obsah všech potenciálních antioxidantů obsažených ve vzorku. Mechanismy účinku jednotlivých antioxidačních molekul se liší, a proto není možné TAA objektivně změřit pouze jednou metodou.

Metody měření antioxidační aktivity lze rozdělit na fyzikální a chemické. Do fyzikálních metod řadíme chemiluminiscenci a elektronovou spinovou resonanci nebo hodnocení redoxního potenciálu. Metody chemické se rozdělují do dvou skupin dle typu probíhající reakce. První skupinou jsou testy založené na přesunu atomu vodíku (ORAC – oxygen radical absorbance capacity, TRAP – total radical trapping antioxidant parameter). Druhá skupina zahrnuje metody s přesunem elektronu (ABTS - 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazole-6-sulphonate), CUPRAC (cupricreducing antioxidant capacity), DPPH (2,2-difényl-1-picrylhydrazyl), FRAP (ferricreducing antioxidant power), TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity) a DMPD (N,N-dimethyl-p-phenylendiamine) [52,53,54,55].

#### 4.1.1 ORAC (oxygen radical absorption capacity)

Při použití metody ORAC se v testovaném systému generují kyslíkové radikály a hodnotí se schopnost testované látky zpomalit nebo zastavit radikálovou reakci. Při hodnocení antioxidační aktivity se sleduje intenzita, respektive úbytek fluorescence v závislosti na čase. Jako generátor radikálů se používá 2,2 -azobis(isobutyrimidamid)dihydrochlorid (AAPH), takto jsou generovány peroxidové radikály při zahřívání a při přítomnosti dostatečného množství kyslíku. Pro generování hydroxylových radikálů se používá  $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Cu}^{2+}$ . Metoda ORAC je standardizovaná, nebývá finančně náročná, ale nevýhodou je pH citlivost a dlouhá doba potřebná ke kvantifikaci výsledků [52,56,57].

#### 4.1.2 TRAP (total radical trapping antioxidant parameter)

Analýza TRAP se používá ke generování peroxylových radikálů ABAP, což je 2,2'-diazobis(2-amidinopropan)hydrochlorid. Tato metoda sleduje ovlivnění fluorescence prostřednictvím přítomných antioxidantů a volných radikálů. Fluorescence je zhasena přítomností peroxylových radikálů ABAP [55,58].

#### 4.1.3 ABTS (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazol-6-sulfonát)

Stanovení antioxidační aktivity analýzou ABTS je založeno na vychytávání radikálového kationtu ABTS (ABTS•+) přítomnými antioxidanty ve stanovovaném vzorku. Radikálový kationt ABTS má přirozeně modrozelenou barvu. Po reakci volného radikálu s antioxidantem dochází ke změně zbarvení na světle zelenou až úplně bezbarvou, čím dochází i ke snížení absorbance. Pokles absorbance kvantitativně odpovídá koncentraci přítomných antioxidantů. Tato metoda je rychlá, jednoduchá na provedení, finančně nenáročná a lze ji používat v širokém rozmezí pH [52,55].

#### 4.1.4 TEAC (troloxequivalent antioxidant capacity)

Metoda TEAC souvisí s předcházející metodou ABTS, metoda ABTS bývá také označována jako metoda TEAC. Schopnost inhibovat radikál ABTS vyjadřuje antioxidační aktivitu vzorku. Hodnota TEAC je formulována jako milimolární (mmol) koncentrace troloxu, která odpovídá antioxidační aktivitě zkoušené látky o koncentraci 1 mmol/l [55,56].

#### 4.1.5 DPPH (2,2-difenyl-1-picrylhydrazyl)

Tato metoda je založena na reakci difenylpicrylhydrazylu - DPPH s antioxidantem přítomným ve vzorku. Radikál DPPH je redukován antioxidantem a dochází tak ke změně zbarvení vzorku. Změna barevnosti a rychlost této změny je úměrná antioxidační aktivitě stanovované látky. Antioxidační aktivita vzorku vyjádřena jako ekvivalentní koncentrace ke standardnímu antioxidantu, který se stejnou účinností umožňuje zhasení stabilního DPPH radikálu. Jako standard se používá trolox a nebo kyselina askorbová.

Jednou z variant vyhodnocení je spektrofotometrické proměření, kdy se sleduje pokles absorbance při 515 nm. Antioxidační aktivita je hodnocena nejčastěji jako IC50, což je antioxidační koncentrace potřebná ke snížení DPPH absorbance o polovinu, nebo se hodnotí jako procentuální ztráty originální absorbance DPPH [55,59,60,61].

#### 4.1.6 FRAP (ferric reducing antioxidant power)

Antioxidační aktivita se v případě metody FRAP hodnotí podle redukčních schopností, kdy dochází k redukci železitých iontů na ionty železnaté. Dochází k redukci železitých iontů s tripyridyltriazinovým komplexem (2,4,6-tri(2-pyridyl)-1,3,5-triazin) za doprovodu barevné změny z bezbarvé na fialovou barvu. Naměřené hodnoty se porovnávají s hodnotami standardního roztoku železnatých iontů nebo antioxidačního roztoku [62,63].

## 4.2 Stanovení kofeinu

Káva a různé kofeinové nápoje patří mezi důležité hospodářské komodity, u kterých je vyžadována vysoká kvalita. Vzhledem k vysokému počtu vzorků je třeba najít nejrychlejší a nejúčinnější metodu chemické analýzy, která poskytne spolehlivé údaje o kvalitě i kvantitě kofeinu.

Existuje mnoho různých metod, kterými lze kofein stanovit. Nejpoužívanějšími instrumentálními technikami jsou separační metody ve spojení se spektrálními metodami díky vysoké citlivosti a selektivitě. Využívá se kapalinové chromatografie (LC, HPLC) nebo plynové chromatografie (GC) ve spojení s hmotnostní spektrometrií (GC-MS, HPLC-MS) nebo infračervenou spektrometrií (IR).

HPLC (high performance liquid chromatography) je jedna z nejpoužívanějších metod využívaných v analytické chemii. Má schopnost separovat, identifikovat a kvantifikovat sloučeniny, které jsou přítomny v jakémkoliv vzorku, který může být rozpuštěn v kapalině. Nejběžnějšími detektory pro HPLC je detektor UV s variabilní vlnovou délkou nebo UV/VIS detektor. UV/VIS detektor zahrnuje i detektor diodového pole (DAD – diode array detektor, nebo PDA – photo diode array detector). PDA detektor se často využívá pro stanovení přírodních antioxidantů. Principem HPLC je separace složek směsi mezi mobilní a stacionární fází. Stacionární fáze je zakotvena v chromatografické koloně. Jako náplň kolon se využívají adsorbenty jako například silikagel nebo oxid hlinitý. Mobilní fáze je vždy kapalná, jedná se o polární nebo nepolární rozpouštědla. Mobilní fáze unáší složky vzorku, které jsou na základě fyzikálně-chemických interakcí zadržovány na stacionární fázi. Měřenou veličinou je fluorescence, absorbance, index lomu, elektrická vodivost. Výstupem z detektoru je grafický záznam závislosti odezvy detektoru na retenčním čase, chromatogram, na němž se hodnotí plocha nebo výška píku. Kvantitativní analýza se provádí na principu odečtení výsledku z kalibrační křivky.

Dále lze kofein stanovit i pomocí elektrochemických metod, které mají dostatečnou citlivost a selektivitu. Jsou také časově nenáročné, jednoduché na obsluhu a náklady na provoz jsou nízké. Využívá se například voltametrie nebo kapilární elektroforéza [64,65,66].

### 4.3 Celkový obsah polyfenolických látek

Antioxidační vlastnosti polyfenolů jsou založeny na schopnosti hydroxylové skupiny darovat vodíkový proton molekule reaktivního volného radikálu. Tím se tvoří stabilnější a méně reaktivní molekula. Některé polyfenoly mohou tvořit i cheláty s kovovými ionty. Díky nižší akumulaci volných radikálů v biologickém systému je zabráněno oxidačnímu poškození lipidů, proteinů a nukleových kyselin [67,68].

Total phenolic content neboli celkový obsah polyfenolů v kávě můžeme určit pomocí reakce s Folin-Ciocaltovým činidlem. FC test závisí na přenosu elektronů v alkalickém prostředí od fenolických sloučenin po komplexy kyselin, které jsou stanoveny spektrofotometricky. Jako referenční standard se používá kyselina gallová [69,70,71].

Další možností stanovení TPC je využití metody HPLC. Fenolické sloučeniny jsou identifikovány porovnáním retenčních časů a UV absorpčních spekter s dostupnými standardy [72,73].

## 5 KONZUMACE KÁVY A JEJÍ VLIV NA ZDRAVÍ ČLOVĚKA

Metody přípravy kávy se liší, ale základní princip zůstává stále stejný. Umletá káva se zalévá horkou vodou s cílem vzniku lahodného nápoje s jemnou chutí a omamnou vůní. Obliba kávových nápojů se liší nejen dle věku a pohlaví, ale i dle regionu konzumentů kávy.

Velmi důležitá je při přípravě kávy teplota vody. Varem se nápoj stává více hořkým a příliš dlouhé louhování, i při nižší teplotě, působí na nápoj stejně. Přičemž v obou případech dochází i ke ztrátě chuti a aroma.

Kávu lze připravovat několika způsoby. Spařením, překapáváním, ve vakuovém přístroji, v perkolátoru, v džezvě nebo espresso přístrojích. Díky mnoha dostupným pomůckám a přístrojům si můžeme svou oblíbenou kávu připravit i v pohodlí domova [74].

### 5.1 VLIV NA ZDRAVÍ ČLOVĚKA

Názory na zdravotní účinky kávy se různí u odborníků i laiků. Během posledních let bylo několika studiemi prokázáno, že káva má spoustu pozitivních účinků blahodárně působících na zdraví člověka.

V následujících podkapitolách budou popsány účinky kávy na kardiovaskulární choroby, hladinu cholesterolu, diabetes, rakovinu, oxidační stres a neurodegenerativní choroby.

#### 5.1.1 Kardiovaskulární choroby

Kardiovaskulární onemocnění (CVD) jsou celosvětovou primární příčinou úmrtí. Existuje mnoho rozporuplných studií ohledně konzumace kávy a vznikem srdečních chorob. Vědecké výzkumy z posledních let neprokázaly spojitost mezi konzumací kávy a vznikem CVD, včetně aterosklerotického onemocnění, infarktu myokardu, arytmie a hypertenze. Naopak vědecké důkazy hovoří o tom, že spotřeba kávy může chránit před výskytem těchto chorob při konzumaci 3 – 5 šálků denně, tedy maximálně 300 mg kofeinu.

Bylo prokázáno, že spotřeba kolových nápojů s obsahem kofeinu může způsobovat hypertenzi, díky nedostatku polyfenolů. Naopak konzumace kávy, respektive kyseliny chlorogenové, významně snižuje krevní tlak. Tento mechanismus nejspíš zahrnuje vazodilataci zprostředkovanou oxidem dusnatým. Mezi příznivé účinky kyseliny chlorogenové patří i modulace glukosy a metabolismus lipidů prostřednictvím zvýšené hladiny mRNA receptorů, snižování uvolnění glukosy v játrech, snížení absorpce glukosy a nakonec antioxidační a protizánětlivé účinky [75].

Příjem kofeinu je spojován se srdeční arytmií. Kofein přímo stimuluje tkáň myokardu, což vede ke zvýšení srdeční frekvence a kontrakční síly. Studie prokázaly, že zvýšené riziko kardiovaskulárních chorob se vyskytuje při konzumaci pěti a více šálků kávy denně (dávka zhruba 500 mg). Nicméně u pacientů s kardiovaskulárním onemocněním v anamnéze se při konzumaci kávy vyskytuje vyšší riziko infarktu myokardu. Díky testování bylo také prokázáno, že mírná konzumace kávy není rizikovým faktorem pro vznik aterosklerózy [33,76].

### 5.1.2 Zvýšený cholesterol

V dřívější kapitole byl popsán obsah diterpenů cafestolu a kahweolu, které představují lipidickou složku kávy. Ve filtrované kávě se jich vyskytuje minimum, v nefiltrované jejich obsah může být okolo 18 mg ve 100 ml nápoje v závislosti na způsobu přípravy. Předpokládá se, že tyto diterpeny zvyšují hladinu cholesterolu prostřednictvím redukce aktivity receptorů lipoproteinů s nízkou hustotou (LDL), která způsobuje extracelulární akumulaci LDL a vznik aterosklerózy. Souhrnné výsledky studií, které hodnotily účinky spotřeby filtrované kávy, však ukázaly pouze minimální účinky na hladiny cholesterolu v séru [41,76].

### 5.1.3 Diabetes mellitus

Diabetes je skupina onemocnění charakterizovaná zvýšenou hladinou glukosy v krvi (hyperglykémie) způsobená poruchami sekrece insulinu anebo účinkem insulinu, a je kombinací metabolických defektů. Konzumace kávy je spojena se sníženým rizikem vzniku diabetu 2. Typu (DM2).

Na snižování hladiny glukosy v krvi má vliv káva s kofeinem i bez něj. Bezkofeinová káva dosahuje i lepších výsledků než kofeinová káva, jelikož samotný kofein může mít nepříznivé účinky na metabolismus glukosy a snižuje citlivost na insulin. Nicméně studie prokázaly, že konzumace obou druhů nápojů, s obsahem kofeinu i bez něj, zvyšuje spotřebu insulinu a tím udržuje přijatelnou hladinu glukosy v krvi. K udržení homeostázy glukosy přispívají i další složky kávy, jako je například kyselina chlorogenová a trigonelin [33,77].

Bylo také prokázáno, že přidání cukru a/nebo mléka do kávy má malý nebo žádný účinek na snižování rizika diabetu [41].

Další studie uvádějí, že riziko vzniku DM2 je menší při současné konzumaci kávy i čaje [78].

#### 5.1.4 Rakovina a oxidační stres

Oxidační stres vzniká působením reaktivních kyslíkových radikálů a je považován za výrazný činitel, který přispívá ke stárnutí organismu a také vzniku mnoha nemocí (CVD, katarakta, neurodegenerativní poruchy a chorob spojených s věkem, rakovina). Rakovina se vyvíjí v důsledku poškození DNA způsobeného prokarcinogeny nebo reaktivními kyslíkovými radikály. Obvyklá spotřeba kávy je spojena s podstatně nižším rizikem úmrtnosti a množstvím degenerativních, progresivních a chronických onemocnění včetně rakoviny. Vztah mezi kávou a rakovinou je předmětem velkého zájmu právě pro vysoký obsah složek kávy, které by potenciálně mohly poskytnout ochranné účinky prostřednictvím několika biologických mechanismů [34,79,80].

Například snížení hladiny cholesterolu je přímým účinkem konzumace kávy, stejně jako zvýšení motility střeva, což může snížit expozici střevního epitelu možným karcinogenům. Káva obsahuje diterpeny cafestol a kahweol, které indukují aktivitu enzymu odpovědného za karcinogenní detoxikaci a stimulaci intracelulárních antioxidačních obranných mechanismů. Káva je také důležitým zdrojem polyfenolů, jako jsou fytoestrogeny a flavonoidy, které mají antioxidační účinky a mohou potlačit růst karcinogenních buněk, popřípadě mohou zahájit jejich apoptózu. Kofein také může působit jako účinný „vychytávač“ reaktivních radikálů [41,81].

#### 5.1.5 Parkinsonova choroba

Parkinsonova choroba je neurodegenerativní onemocnění centrální nervové soustavy. Jedná se o úbytek mozkových buněk, které za normálního stavu generují dopamin, což je neurotransmitter, který umožňuje přenos signálů mezi nervovými buňkami. Lidé s tímto onemocněním postupně přestanou kontrolovat nebo ovládat svůj pohyb.

Konzumace kávy může mít vliv i na tuto nemoc. Předpokládá se, že hlavní mechanismus účinku probíhá díky kofeinu a jeho stimulaci CNS, přesněji stimulací adenosinových receptorů. Studie prokázaly, že kofein má ochranný účinek proti neuronové toxicitě [82,83].

Výzkumy prokázaly, že i polyfenoly mají neuroprotektivní účinky díky jejich antioxidačním a protizánětlivým vlastnostem [84,85].

#### 5.1.6 Alzheimerova choroba

Alzheimerova choroba je neurodegenerativní onemocnění mozku projevující se ztrátou nervových buněk. Jedná se o nejčastější typ demence, tedy ztrátu kognitivních schopností.



K prvním příznakům patří poruchy paměti, komunikace, orientace v prostoru a změny chování.

Mozek je obzvláště citlivý na oxidační poškození. Potrava bohatá na polyfenoly zmírňuje poškození mozku. Polyfenoly bojují proti poškození mozku několika biologickými mechanismy, které zahrnují reakce s přechodnými kovy, inaktivaci volných radikálů, inhibici zánětlivé reakce a ovlivňují intracelulární signální dráhy a genovou expresi [86,87,88].

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

## 6 CÍLE PRÁCE

Ke splnění diplomové práce byly stanoveny tyto dílčí cíle:

- Vypracování literární rešerše o botanickém původu kávy a technologickém zpracování kávových plodů a zrn, chemickém složení kávy a jejímu působení na lidský organismus
- Stanovení antioxidační aktivity ve vzorcích kávy
- Stanovení celkového obsahu polyfenolů ve vzorcích kávy
- Stanovení sušiny
- Stanovení obsahu kofeinu a teofylinu ve vzorcích kávy
- Sensorická analýza vybraných vzorků káv

## 7 METODIKA PRÁCE

### 7.1 Charakteristika vzorků

Čtyři vzorky kávy z různých oblastí světa byly zakoupeny v pražárně v Kroměříži v množství 250 gramů. Jako pátý vzorek byla zvolena instantní káva, která je běžně dostupná v obchodních sítích v balení 200 gramů.

#### 7.1.1 Káva 1 – Guatemala SHB Teresita

Káva se zajímavou tělnatostí. Příjemná kyselost je podpořena vůní čerstvého ovoce a květinových odstínů. Dochuť tvořena tóny kakaa.

Region Pěstování: Guatemala, Santa Rosa, Jalapa y Jutiapa

Nadmořská výška: 1300 až 1700 m. n. m.

Odrůdy: Caturra, Catuai, Pache

Způsob zpracování: mokrá cesta

Intenzita pražení: tmavé

#### 7.1.2 Káva 2 – Brasil Santos

Káva s plnou tělnatostí a nízkou kyselostí. Jemná chuť bez stop hořkosti, doplněná tóny čokolády a oříšků.

Region Pěstování: Brazílie, Sao Paulo

Nadmořská výška: 800 až 1000 m. n. m.

Odrůdy: Coffea arabica

Způsob zpracování: mokrá cesta

Intenzita pražení: středně tmavé

### 7.1.3 Káva 3 – Ethiopian Sidamo

Káva s bohatou chutí pražených oříšků, jemnou kyselostí a květinovou vůní. Dochut' uzavírají citrusy. Vhodná pro přípravu espressa i zalévané a filtrované kávy

Region Pěstování: Etiopie, Sidamo

Nadmořská výška: 2000 m. n. m.

Odrůdy: Coffea arabica typica

Způsob zpracování: mokrá cesta

Intenzita pražení: středně tmavé

### 7.1.4 Káva 4 – Vietnam Gr.1 robusta

Káva silná s čokoládovým aroma a vyšší hořkostí.

Region Pěstování: Vietnam, Dak Lak

Nadmořská výška: 850 m. n. m.

Odrůdy: Coffea robusta

Způsob zpracování: mokrá cesta

Intenzita pražení: středně tmavé

### 7.1.5 Káva 5 – instantní káva Jacobs Velvet

Instantní rozpustná káva s výraznou chutí a sametovou pěnou. Výrobce Jacobs Douwe Egberts, zpracováno metodou sprejování.

## 7.2 Použité chemikálie

Při měřeních byly použity následující chemikálie:

- DPPH - 1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl, (Sigma-Aldrich, Co., St. Louis, USA)
- Trolox - 6-hydroxy-2,5,7,8,-tetramethylchroman-2-karboxylová kyselina, (FLUKA, Buchs, Švýcarsko)
- Folin – Ciocalteu činidlo (Sigma-Aldrich, Co. (St. Louis, USA)
- Methanol -  $\text{CH}_3\text{OH}$ , čistota 99,9 %, (Sigma-Aldrich, Co., St. Louis, USA)
- Gallová kyselina –  $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$ , (Sigma-Aldrich, Co., St. Louis, USA)
- Uhličitan sodný –  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , dodavatel IPL - Ing. Petr Lukeš (Uherský Brod, ČR)
- Kofein -  $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2$ , (Penta, Praha, ČR)
- Teofylin -  $\text{C}_7\text{H}_8\text{N}_4\text{O}_2$  (Sigma-Aldrich, Co., St. Louis, USA)

## 7.3 Přístrojové vybavení a laboratorní pomůcky

Stanovení antioxidační aktivity a obsahu celkových polyfenolů u jednotlivých vzorků káv bylo prováděno spektrofotometricky pomocí UV/VIS spektrofotometru Cecil CE 1021, výrobní série Cecil Serie 1000, vhodný k měření absorbance a transmitance v rozsahu vlnových délek 200 až 1100 nm. Do spektrofotometru byly vkládány křemenné kyvety s optickou drahou o tloušťce 1 cm.

Obsah kofeinu byl stanoven pomocí HPLC (Thermo Scientific Dionex Ultimate 3000, MA, USA) s Thermo Scientific Dionex UltiMate 3000 detektorem diodového pole DAD-3000RS za použití kolony Supelco Ascentis C18 (150 x 4,6 mm, 2,7  $\mu\text{m}$ , Sigma Aldrich, Praha, Česká republika).

Ke stanovení sušiny jednotlivých vzorků káv byla využita sušárna typu Venticell 55 Standard (BMT Medical Technology s.r.o.).

Chemikálie byly váženy na elektronických analytických vahách Mettler Analytical balance AE 240 (Mettler Toledo, Instrumente AG, Švýcarsko).

Káva espresso z předložených vzorků byla připravena pomocí pákového kávovaru KRUPS o tlaku 15 barů. Dále byly kávové nápoje připraveny pomocí Moka konvičky Tescoma a Frenchpressu Cook Line.

## 7.4 Příprava kávy

Kávový nápoj byl připraven ze 7 g pražené mleté kávy a 100 ml vody. K přípravě nápojů byly vybrány tři způsoby – espresso, moka konvička a frenchpress.

Po přípravě byly kávy vychlazeny na laboratorní teplotu a před samotným stanovením byly kávy přefiltrovány pomocí injekčních stříkaček a stříkačkových filtrů s membránou 0,2  $\mu\text{m}$ .

### 7.4.1 Příprava espressa

Ze všech čtyř vzorků mletých káv bylo naváženo 7 gramů. Navážená káva byla vložena do malé kovové mističky, která se vložila do páky kávovaru KRUPS. Po otočení páky do správné polohy byla puštěna voda. Voda o teplotě zhruba 90 °C protékala kávou pod tlakem 15 barů. Po odměření 100 ml byla voda zastavena. Připravený kávový nápoj byl z kádinky přelit do skleněné uzavíratelné láhve.

### 7.4.2 Příprava kávy v moka konvičce

Do spodního dílu konvičky bylo nalito 100 ml vody, pro rychlejší přípravu byla nalita voda přehřátá v rychlovarné konvici. Ze všech čtyř vzorků mletých káv bylo naváženo 7 gramů. Navážená káva byla vložena do sítka, které tvoří střední díl konvičky. Sítko se vložilo do spodního dílu. Na závěr se přišrouboval horní díl, který sloužil jako sběrná nádoba pro připravený nápoj. Konvička byla postavena na elektrický vařič, po několika minutách varu začala káva protékat přes filtr do horního dílu. Po naplnění horního dílu byla konvička odstavena z vařiče a připravená káva byla přelita do uzavíratelné skleněné nádoby.

### 7.4.3 Příprava kávy pomocí Frenchpressu

Ze všech čtyř vzorků mletých káv bylo naváženo 7 gramů. Navážená káva byla vsypána do frenchpressu a zalita vodou o teplotě 90 °C. Poté byl vložen píst se sítkem. Po pěti minutách luhování byl píst stlačen a káva byla bez sedliny přelita do skleněné uzavíratelné nádoby.

### 7.4.4 Příprava instantní kávy

Instantní káva byla připravena dle návodu výrobce. Dvě kávové lžičky byly zality 200 ml vody o teplotě 85 °C.

## 7.5 Spektrofotometrické stanovení antioxidační aktivity pomocí DPPH metody

### 7.5.1 Princip metody

Metoda DPPH je považována za jednu ze základních metodik pro stanovení antioxidační aktivity čistých látek i různých směsných vzorků. Metoda spočívá v reakci testované látky s methanolickým roztokem DPPH (stabilní volný radikál 1,1-difenyyl-2-pikrylhydrazylu). V methanolvém roztoku je DPPH v radikálové formě a vykazuje silnou absorpci ve VIS spektru. Redukce DPPH antioxidantem se projevuje odbarvením roztoku. Reakce je sledována spektrofotometricky. Pokles absorbance při 515 nm se měří po uplynutí stanovené doby nebo se pracuje v kinetickém režimu. Antioxidační aktivita vzorků se vyjadřuje jako hodnota TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity), tedy ekvivalentní množství mg (mol) troloxu v 1 g (ml) či 1 kg (l) vzorku [59].

### 7.5.2 Postup

Zásobní roztok DPPH o koncentraci  $6 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$  se připravil rozpuštěním navážky pevného DPPH v 100 ml metanolu.

Jako standard byl použit trolox. Zásobní roztok o koncentraci  $200 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  se připravil rozpuštěním navážky pevného troloxu v metanolu. Ředěním se vytvořila kalibrační řada o koncentracích 20; 40; 80; 100; 120 a  $160 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  do odměrných baněk o objemu 10 ml, doplněno po rysku bylo opět metanolem. Jednotlivé koncentrace kalibračních bodů byly přidány v množství 450  $\mu\text{l}$  k 8,55 ml pracovního roztoku DPPH a byla proměřena jejich absorbance po 60 minutách při 515 nm. Každý kalibrační bod se proměřil třikrát a byla vypočtena průměrná hodnota absorbance. Kalibrační křivka byla sestavena jako závislost inaktivace radikálu DPPH (%) na koncentraci troloxu ( $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ ).

Inaktivace se vypočítá dle rovnice ( $R_1$ ):

$$\text{Inaktivace (\%)} = \frac{(A_0 - A_{1-3})}{A_0} \cdot 100$$

Kde  $A_0$  je hodnota absorbance kontrolního vzorku

$A_{1-3}$  je průměrná hodnota absorbance testovaného vzorku

Při vlastním stanovení antioxidační aktivity bylo smícháno 0,1 ml přefiltrované kávy s 5 ml zásobního roztoku DPPH. Každý vzorek byl třikrát proměřen na spektrofotometru



při 515 nm v čase 0; 15; 30; 45 a 60 minut oproti blanku metanolu. Mezi jednotlivými stanověními byly vzorky uchovávány v temnu.

Na závěr byla vypočítána hodnota antioxidační aktivity vyjádřená v  $\mu\text{mol}$  ekvivalentu troloxu na gram vzorku [89].

## 7.6 Spektrofotometrické stanovení celkového obsahu polyfenolů pomocí Folin-Ciocalteuova činidla

### 7.6.1 Princip metody

Fenoly, respektive polyfenoly jsou v alkalickém prostředí oxidovány Folin-Ciocalteho (FC) činidlem. Toto činidlo je tvořeno směsí kyseliny fosforečno-wolframové ( $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ ) a kyseliny fosforečno-molybdenové ( $\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$ ), která se po oxidaci fenolů redukuje na směs (polymerní komplex) modrých oxidů wolframu ( $\text{W}_8\text{O}_{23}$ ) a molybdenu ( $\text{Mo}_8\text{O}_{23}$ ). Dochází tedy ke snížení oxidačního čísla molybdenu. Folin-Ciocalteuovo činidlo nereaguje specificky jenom s fenoly, ale i s většinou redukujících molekul např. kyselinou askorbovou nebo kyselinou gallovou (gallic acid, GAE). Celkový obsah polyfenolů je tedy výborně korelován s ostatními testy pro stanovení antioxidační aktivity.

Metoda je založena na spektrofotometrickém měření barevných produktů reakce hydroxidových skupin fenolických sloučenin s činidlem Folin-Ciocalteu. Vytvořené modré zbarvení silně absorbuje v oblasti 764 nm a je úměrné celkovému množství původně přítomných fenolových sloučenin.

Vzhledem k tomu, že polyfenoly jsou velmi široká skupina látek, celkový obsah polyfenolů (Total Phenolic Content, TPC) se vztahuje vždy na ekvivalent daného standardu. Nejčastějšími standardy bývají kyselina gallová nebo ferulová. V našem případě je využita kyselina gallová. Výsledný obsah TPC je udáván v mg kyseliny gallové na 1 g kávy ( $\text{mg GAE} \cdot \text{g}^{-1}$ ).

### 7.6.2 Postup

Pro přípravu zásobního roztoku bylo rozpuštěno 0,5 g kyseliny gallové v 10 ml metanolu a a objem byl doplněn na 100 ml destilovanou vodou. Ředěním byla připravena kalibrační řada o koncentracích 50; 100; 200; 400; 600 a 800  $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ . Pro sestavení jednotlivých bodů kalibrační řady byl daný objem zásobního roztoku kyseliny gallové smíchán s 5 ml destilované vody a 0,3 ml FC činidla. Po třech minutách bylo přidáno 0,5 ml 14 %  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  a objem byl doplněn destilovanou vodou na 25 ml. Takto připravená kalibrační řada byla ponechána 1 hodinu v temnu reagovat a poté byla proměřena její absorbance při 764 nm, oproti slepému vzorku. Slepý vzorek byl připraven smícháním 5 ml destilované vody a 0,3 ml FC činidla a 0,5 ml 14 %  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Na závěr byla sestavena kalibrační křivka jako závislost absorbance na koncentraci polyfenolů.

Při vlastním stanovení celkového obsahu polyfenolů ve vzorcích bylo 0,25 ml přefiltrovaného vzorku kávy naředěno 3 ml destilované vody (v případě instantní kávy ředění 1:2). Poté bylo smícháno 0,1 ml naředěného vzorku kávy s 0,3 ml FC činidla. Po třech minutách bylo přidáno 0,5 ml 14%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  a 4 ml destilované vody. Tyto připravené vzorky byly ponechány 1 hodinu v temnu reagovat a poté byla měřena jejich absorbance při 764 nm oproti slepému pokusu. Slepý pokus byl připraven stejně jako vzorek kávy, jen místo objemu vzorku kávy byla přidána destilovaná voda.

Na závěr byl vypočítán obsah celkových polyfenolů ve vzorcích káv s použitím kalibrační křivky kyseliny gallové. Výsledný obsah TPC je udáván v mg kyseliny gallové na 1 g kávy ( $\text{mg GAE} \cdot \text{g}^{-1}$ ) [89,90].

## 7.7 Stanovení sušiny

### 7.7.1 Princip metody

Obsah sušiny v potravinách souvisí s obsahem vody. Pojmeme sušina označujeme souhrn všech organických a anorganických složek potravin, kromě vody. Celková sušina je součet rozpustné a nerozpustné sušiny. Rozpustná sušina je součet organických a anorganických látek rozpustných ve vodě (sacharidy, kyseliny, třísloviny, barviva, vitamíny, dusíkaté a minerální látky). Nerozpustná sušina zahrnuje organické a anorganické látky nerozpustné ve vodě (pektiny, celulóza, bílkoviny, tuky, minerální látky).

Obsah vody, respektive vlhkost či sušina patří mezi nejčastěji sledované ukazatele jakosti potravin. Pro stanovení se využívá řada fyzikálních, fyzikálně-chemických a chemických metod. Nejčastěji se stanovuje sušením do konstantní hmotnosti při 105 °C v sušárně.

Procentuální obsah vlhkosti je možné vypočítat dle rovnice ( $R_2$ ):

$$w_s(\%) = \frac{(w_1 - w_2)}{w_1} \cdot 100$$

Kde  $w_s$  je hmotnostní zlomek sušeného vzorku

$w_1$  je hmotnost vzorku před sušením

$w_2$  je hmotnost vzorku po sušení

Procentuální obsah sušiny je pak tvořen rozdílem 100 % a obsahu vlhkosti ve vzorku [91].

### 7.7.2 Postup

Na analytických vahách byly zváženy prázdné Petriho misky. Do misek bylo naváženo 5 gramů vzorku káv.

Dané vzorky byly sušeny při 105 °C v sušárně do konstantní hmotnosti po dobu 5 hodin. Vzorek byl vždy vážen až po vychladnutí misky, hodnoty byly zaznamenávány do tabulky s přesností na 4 desetinná místa. Po vysušení byl vypočten procentuální obsah sušiny.

## 7.8 Stanovení obsahu kofeinu a jeho derivátů pomocí HPLC

### 7.8.1 Princip metody

HPLC se využívá k separaci různých druhů látek pro svou citlivost a selektivitu. Separace probíhá v separační koloně, která obsahuje stacionární fázi. Vzorek je unášen mobilní fází kolonou a jednotlivé složky vzorku se separují dle afinity ke stacionární fázi.

Doba, kterou separovaný vzorek setrvává v koloně, závisí na velikosti interakcí a určuje pořadí, v němž se složky vzorku eluují. Čím větší je interakce se stacionární fází, tím větší má složka retenční čas a tím později vychází z kolony.

Analyty vycházející z kolony jsou detekovány a výsledkem chromatografické separace je eluční křivka, tzv. pík. Eluční křivka vyjadřuje závislost odezvy detektoru na čase nebo objemu prošlé mobilní fáze. Eluční čas či objem daného analytu se pak porovnává s elučním časem a objemem standardu měřených za stejných podmínek.

### 7.8.2 Postup

Vzorky káv byly připraveny dle postupů popsaných v kapitole 7.4. Z každého připraveného kávového nápoje byly připraveny dva vzorky k proměření na HPLC. 3 ml vzorku kávy byly přefiltrovány přes filtry do analytických vialka vloženy do přístroje.

Objem nástřiku byl 20  $\mu\text{l}$  a průtok 0,75 ml/min. Kolona byla vytemperována na 30 °C. Mobilní fáze obsahovala acetátový pufr a metanol v poměru 70:30 (v/v). Eluce byla isokratická s dobou analýzy 40 minut. Detekce proběhla pomocí UV detektoru při vlnové délce 210nm [92].

Pro stanovení množství kofeinu byla sestavena kalibrační křivka. Kalibrační řada o koncentracích 50; 100; 200; 400 a 600  $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$  byla podrobena analýze na HPLC/UV. Z analýzy byl zjištěn retenční čas kofeinu a z hodnot plochypíků o známých koncentrací byla sestavena kalibrační křivka. Pomocí lineární regrese byla získána rovnice přímky charakterizující závislost plochy píku a koncentrace kofeinu. Rovnicí kalibrační křivky byla přepočítána plocha píku na koncentraci kofeinu v analyzovaném vzorku a přepočtem zjištěno množství kofeinu v  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$  vzorku.

Stejným postupem byla sestavena i kalibrační řada a kalibrační křivka teofylinu.

## 8 VÝSLEDKY A DISKUZE

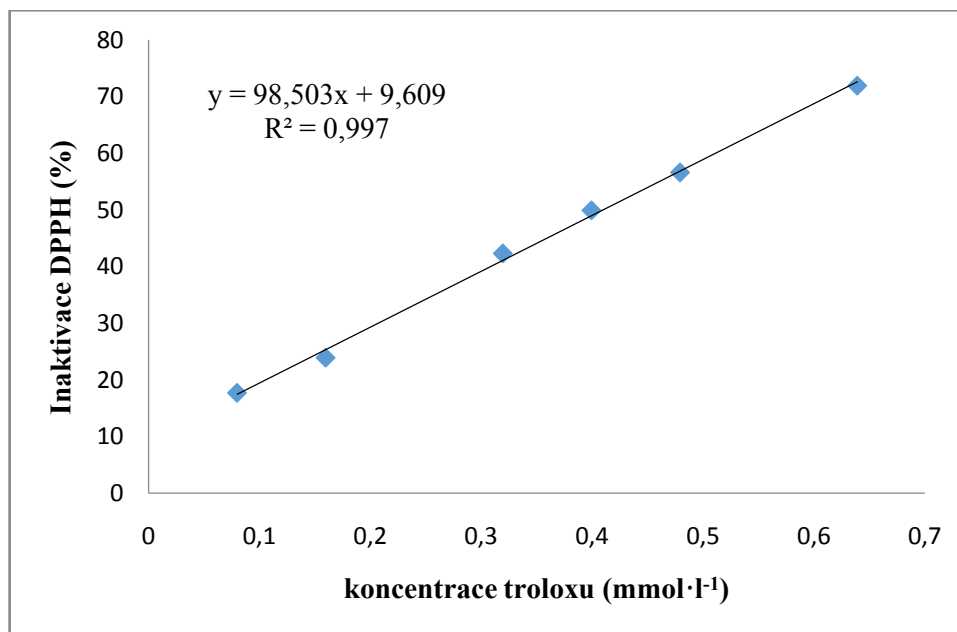
Předložená diplomová práce byla zaměřena na antioxidační schopnost káv z různých oblastí světa připravených alternativními způsoby.

### 8.1 Spektrofotometrické stanovení antioxidační aktivity pomocí DPPH metody

Antioxidační aktivita kávy byla stanovena spektrofotometrickou metodou a vyjádřena jako schopnost inaktivace reaktivních radikálů v  $\mu\text{mol}$  ekvivalentu troloxu na gram vzorku.

#### 8.1.1 Kalibrační křivka troloxu

Pro sestavení kalibrační řady byl využit standardní roztok troloxu. Kalibrační křivka (Obr. č. 16) byla sestavena jako závislost inaktivace radikálu DPPH (%) na koncentraci troloxu ( $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ ).



Obrázek č. 16: Kalibrační křivka inaktivace radikálu DPPH na trolox

### 8.1.2 Inaktivace DPPH

Při vlastním stanovení antioxidační aktivity byla měřena absorbance připravených vzorků káv. Ze tří stanovení byly vypočítány průměrné hodnoty absorbance, které byly použity při výpočtu hodnoty inaktivace DPPH (Tab. č. 1).

Tabulka č. 1: Hodnoty inaktivace DPPH u vzorků káv

Vzorky káv, různé druhy přípravy		Inaktivace (%) v čase (min)				
		0	15	30	45	60
Esp.	Guatemala	77,71 ± 0,21	77,38 ± 0,29	76,53 ± 0,08	75,85 ± 0,08	75,68 ± 0,08
	Brasil S.	78,34 ± 0,21	77,88 ± 0,08	77,66 ± 0,21	76,75 ± 0,14	76,70 ± 0,08
	Ethiopian	77,15 ± 0,16	76,41 ± 0,14	76,13 ± 0,08	74,89 ± 0,14	75,34 ± 0,16
	Vietnam	73,36 ± 0,52	75,74 ± 0,14	76,07 ± 0,14	76,75 ± 0,00	76,87 ± 0,08
Moka	Guatemala	71,21 ± 0,16	70,87 ± 0,16	70,64 ± 0,14	70,87 ± 0,08	70,93 ± 0,16
	Brasil S.	69,40 ± 0,21	70,08 ± 0,08	68,78 ± 0,14	68,44 ± 0,14	69,40 ± 0,08
	Ethiopian	75,51 ± 0,08	74,43 ± 0,08	79,94 ± 0,21	74,94 ± 0,08	74,66 ± 0,08
	Vietnam	66,06 ± 0,14	66,35 ± 0,21	65,72 ± 0,14	65,89 ± 0,37	65,27 ± 0,08
Fr.pr.	Guatemala	78,39 ± 0,08	77,88 ± 0,08	76,81 ± 0,21	76,36 ± 0,08	76,30 ± 0,08
	Brasil S.	79,75 ± 0,08	78,96 ± 0,14	78,11 ± 0,14	78,85 ± 0,21	79,52 ± 0,08
	Ethiopian	79,19 ± 0,08	79,19 ± 0,08	78,68 ± 0,16	78,73 ± 0,08	78,39 ± 0,21
	Vietnam	68,50 ± 0,08	68,38 ± 0,08	66,97 ± 0,08	67,53 ± 0,21	68,50 ± 0,08
Inst.	Jacobs V.	70,59 ± 0,21	70,08 ± 0,08	69,85 ± 0,16	70,36 ± 0,08	70,48 ± 0,14

Pro kávu Guatemala byly stanoveny hodnoty inaktivace při přípravě kávy espresso (75,85±0,08) % až (77,71±0,21) %, pro kávu moka (70,64±0,14) % až (71,21±0,16) %, pro kávu připravenou ve frenchpressu byly stanoveny hodnoty (76,36±0,08) % až (78,39±0,08) %. Parras et al. uvádí hodnoty pro espresso (78,1±3) %; pro moka kávu (77,2±3) % a pro kávu frenchpress (73,1±4) % [93]. Pouze u přípravy moka kávy pozorujeme malý rozdíl hodnot (2 %), který může být způsoben například jinou odrůdou kávy.

Pro kávu Brasil Santos byly stanoveny hodnoty inaktivace při přípravě kávy espresso (76,75±0,14) % až (78,34±0,21) %, pro kávu moka (68,44±0,14) % až (70,08±0,08) %, pro kávu připravenou ve frenchpressu byly stanoveny hodnoty (78,11±0,14) % až (79,75±0,08) %. Parras et al. uvádí hodnoty pro espresso (77,0±1) %; pro moka kávu (77,1±1) % a pro kávu frenchpress (76,0±1) % [93]. Zde pozorujeme malý rozdíl hodnot u moka kávy (6 %) a frenchpress kávy (2 %).

Pro kávu Ethiopian byly stanoveny hodnoty inaktivace při přípravě kávy espresso ( $74,89 \pm 0,14$ ) % až ( $77,15 \pm 0,16$ ) %, pro kávu moka ( $74,43 \pm 0,08$ ) % až ( $75,51 \pm 0,08$ ) %, pro kávu připravenou ve frenchpressu byly stanoveny hodnoty ( $78,39 \pm 0,21$ ) % až ( $79,19 \pm 0,08$ ) %. Parras et al. uvádí hodnoty pro espresso ( $78,2 \pm 2$ ) %; pro moka kávu ( $80,1 \pm 2$ ) % a pro kávu frenchpress ( $77,0 \pm 3$ ) % [93]. Zde pozorujeme malý rozdíl hodnot u moka kávy (3 %).

Pro kávu Vietnam byly stanoveny hodnoty inaktivace při přípravě kávy espresso ( $75,74 \pm 0,14$ ) % až ( $76,87 \pm 0,08$ ) %, pro kávu moka ( $65,27 \pm 0,08$ ) % až ( $66,35 \pm 0,21$ ) %, pro kávu připravenou ve frenchpressu byly stanoveny hodnoty ( $66,97 \pm 0,08$ ) % až ( $68,50 \pm 0,08$ ) %. Parras et al. uvádí hodnoty pro espresso ( $76,4 \pm 2$ ) %; pro moka kávu ( $77,2 \pm 2$ ) % a pro kávu frenchpress ( $78,0 \pm 1$ ) % [93]. Zde pozorujeme rozdíl hodnot u moka kávy (10 %), který může být způsoben chybou přípravy vzorku nebo rozdílnou odrůdou kávy.

Pro instantní kávu Jacobs Velvet byly stanoveny hodnoty inaktivace ( $69,85 \pm 0,16$ ) % až ( $70,59 \pm 0,21$ ) %.

### 8.1.3 Antioxidační aktivita

Celková antioxidační aktivita vzorků káv (Tab. č. 2) byla vypočítána dosazením hodnoty inaktivace do rovnice regrese kalibrační křivky troloxu. Antioxidační aktivita vzorků káv byla vyjádřena jako ekvivalent  $\mu\text{mol}$  troloxu v gramu vzorku.

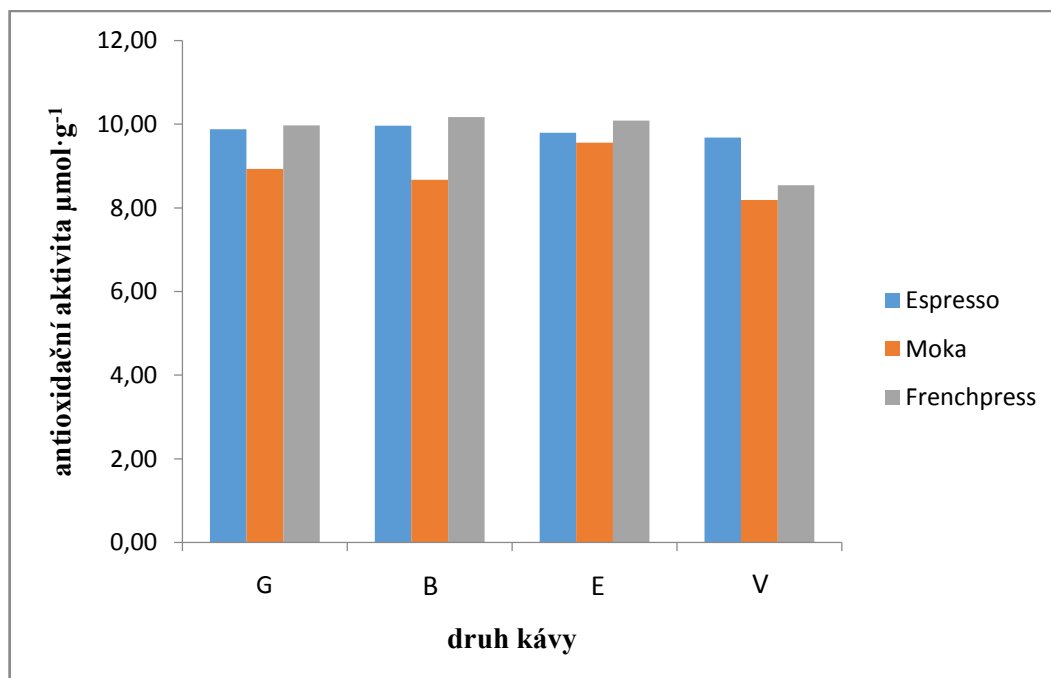
Tabulka č. 2: Hodnoty antioxidační aktivity přepočteny na sušinu vzorku

Vzorky káv, různé druhy přípravy		Antioxidační aktivita TEAC $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$				
		0	15	30	45	60
Espresso	Gatemala	9,73	9,69	9,56	9,47	9,44
	Brasil S.	9,84	9,78	9,74	9,62	9,61
	Ethiopian	9,67	9,57	9,53	9,35	9,41
	Vietnam	9,58	9,49	9,54	9,64	9,65
Moca	Guatemala	8,80	8,76	8,72	8,76	8,76
	Brasil S.	8,56	8,66	8,47	8,42	8,56
	Ethiopian	9,44	9,29	9,36	9,36	9,32
	Vietnam	8,10	8,14	8,05	8,08	7,99
Frenchpress	Guatemala	9,83	9,76	9,61	9,54	9,53
	Brasil S.	10,04	9,93	9,81	9,91	10,01
	Ethiopian	9,97	9,97	9,89	9,90	9,85
	Vietnam	8,45	8,44	8,23	8,31	8,45
Instatní	Jacobs V.	66,67	66,11	65,87	66,42	66,55



U 16 analyzovaných vzorků se antioxidační aktivita v čase 0 minut pohybovala v rozmezí od 8,10 do 10,04  $\mu\text{mol ekv TEAC/g}$  sušiny vzorku. Nejvyšší antioxidační aktivitu přepočtenou na sušinu vzorku měl vzorek kávy Brasil Santos (10,04  $\mu\text{mol ekv TEAC/g}$ ) připravené ve frenchpressu. Nejnižší antioxidační aktivitu přepočtenou na sušinu vzorku měl vzorek kávy Vietnam (8,10  $\mu\text{mol ekv TEAC/g}$ ) připravené v moka konvičce. Tyto výsledky se shodují s literaturou Parras et al. [93] zabývající se stanovením antioxidační aktivity vybraných druhů káv různými typy přípravy. Výjimkou je hodnota antioxidační aktivity vzorku instantní kávy Jacobs Velvet, která v čase 0 minut činila 66,67  $\mu\text{mol ekv TEAC/g}$  sušiny vzorku a byla tedy ze všech předložených vzorků nejvyšší.

U získaných výsledků můžeme pozorovat, že nejnižší hodnoty antioxidační aktivity mají kávy připravené v moka konvičce. Nejvyšší hodnoty antioxidační aktivity mají kávy připravené ve frenchpressu. Výjimkou je pouze káva Vietnam, která má nejvyšší antioxidační aktivitu připravenou jako espresso. Kávy připravené jako espresso mají srovnatelnou hodnotu antioxidační aktivity. Obrázek č. 17 znázorňuje rozdíly mezi hodnotami antioxidační aktivity pražených káv v závislosti na typu přípravy.



Obrázek č. 17: Srovnání antioxidační aktivity dle druhu kávy a typu přípravy

Pro kávu Guatemala byly stanoveny hodnoty antioxidační aktivity při přípravě kávy espresso 9,73 – 9,44  $\mu\text{mol ekv TEAC/g}$ , pro kávu moka 8,80 - 8,72  $\mu\text{mol ekv TEAC/g}$ , pro kávu ve frenchpressu byly stanoveny hodnoty 9,83 – 9,53  $\mu\text{mol ekv TEAC/g}$ . Parras et al. uvádí v 6. minutě reakce hodnoty (8,67 $\pm$ 0,01)  $\mu\text{mol ekv TEAC/g}$  pro kávu espresso, pro kávu moka uvádí (10,21 $\pm$ 0,05)  $\mu\text{mol ekv TEAC/g}$  a pro kávu frenchpress (10,32 $\pm$ 0,04)  $\mu\text{mol ekv TEAC/g}$  [93]. Naše výsledky se od studie Parras et al. příliš nelišily a rozdíly mohou být způsobeny jinou odrůdou kávy, plantáží, složením půdy, rokem a způsobem sběru a dalším technologickým zpracováním.

Pro kávu Brasil Santos byly stanoveny hodnoty antioxidační aktivity při přípravě kávy espresso 9,84 – 9,61  $\mu\text{mol ekv TEAC/g}$ , pro kávu moka 8,66 – 8,42  $\mu\text{mol ekv TEAC/g}$ , pro kávu ve frenchpressu byly stanoveny hodnoty 10,04 – 9,91  $\mu\text{mol ekv TEAC/g}$ . Studie Parras et al. uvádí v 6. minutě reakce hodnoty (9,38 $\pm$ 0,02)  $\mu\text{mol ekv TEAC/g}$  pro kávu espresso, pro kávu moka uvádí (10,91 $\pm$ 0,04)  $\mu\text{mol ekv TEAC/g}$  a pro kávu frenchpress (10,63 $\pm$ 0,07)  $\mu\text{mol ekv TEAC/g}$  [93]. Naše výsledky se od uvedené studie příliš nelišily z důvodů diskutovaných výše.

Pro kávu Ethiopian byly stanoveny hodnoty antioxidační aktivity při přípravě kávy espresso 9,67 – 9,35  $\mu\text{mol ekv TEAC/g}$ , pro kávu moka 9,44 – 9,29  $\mu\text{mol ekv TEAC/g}$ , pro kávu ve frenchpressu byly stanoveny hodnoty 9,97 – 9,85  $\mu\text{mol ekv TEAC/g}$ . Studie Parras et al. uvádí v 6. minutě reakce hodnoty (8,23 $\pm$ 0,02)  $\mu\text{mol ekv TEAC/g}$  pro kávu espresso, pro kávu moka uvádí (8,77 $\pm$ 0,04)  $\mu\text{mol ekv TEAC/g}$  a pro kávu frenchpress (9,80 $\pm$ 0,07)  $\mu\text{mol ekv TEAC/g}$  [93].

Pro kávu Vietnam byly stanoveny hodnoty antioxidační aktivity při přípravě kávy espresso 9,65 – 9,54  $\mu\text{mol ekv TEAC/g}$ , pro kávu moka 8,14 – 8,05  $\mu\text{mol ekv TEAC/g}$ , pro kávu ve frenchpressu byly stanoveny hodnoty 8,45 – 8,23  $\mu\text{mol ekv TEAC/g}$ . Studie Parras et al. uvádí v 6. minutě reakce hodnoty (11,42 $\pm$ 0,07)  $\mu\text{mol ekv TEAC/g}$  pro kávu espresso, pro kávu moka uvádí (12,82 $\pm$ 0,05)  $\mu\text{mol ekv TEAC/g}$  a pro kávu frenchpress (11,90 $\pm$ 0,03)  $\mu\text{mol ekv TEAC/g}$  [93].

U instantní kávy Jacobs Velvet byly stanoveny hodnoty antioxidační aktivity 65,87 – 66,67  $\mu\text{mol ekv TEAC/g}$ . Hodnota antioxidační aktivity instantní kávy byla nejvyšší u pozorovaných vzorků. Vysoké hodnoty antioxidační aktivity je dosaženo díky procesu výroby, kdy dochází k zakoncentrování složek kávy rozpustných ve vodě, včetně polyfenolů, které vykazují antioxidační aktivitu. Hodnota antioxidační aktivity instantní kávy může být

i vyšší v závislosti na složení směsi kávových zrn, ze kterých se instantní káva vyrábí. Například Sánchez-González et al., uvádějí hodnotu antioxidační aktivity 116  $\mu\text{mol}$  ekv TEAC/g [94].

Na základě dvoufaktorové ANOVY jsme prokázali, že mezi jednotlivými druhy kávy připravenými některou z použitých technik (včetně instantní kávy Jacobs) je v jednotlivých časech stanovení na hladině významnosti 5 % statisticky významný rozdíl v jejich antioxidační aktivitě. Statisticky významně se liší nejen vzorky různých káv připravené stejnou technikou, ale také vzorky téže kávy připravené odlišnou technikou (Espresso, Moca, frenchpress), avšak pokles antioxidační aktivity v čase u jednotlivých druhů káv není statisticky významný,  $p > 0,05$ .

## 8.2 Spektrofotometrické stanovení celkového obsahu polyfenolů pomocí Folin-Ciocalteuova činidla

Celkový obsah polyfenolů byl stanoven spektrofotometricky s Folin-Ciocalteuovým činidlem a vyjádřen jako mg ekvivalent kyseliny gallové na gram vzorku.

### 8.2.1 Kalibrační řada kyseliny gallové

Ředěním zásobního roztoku kyseliny gallové byla připravena kalibrační řada, která byla proměřena ve spektrofotometru při 764 nm. Kalibrační křivka kyseliny gallové byla sestavena jako závislost absorbance na koncentraci kalibračních roztoků kyseliny gallové. Byla získána rovnice lineární regrese  $y = 0.1698 \cdot x - 0.0537$ .

### 8.2.2 Celkový obsah polyfenolů

U všech předložených vzorků káv byl stanoven obsah celkových polyfenolů (Tab. č. 3) dosazením naměřené hodnoty absorbance vzorků do rovnice lineární regrese kalibrační křivky kyseliny gallové. Výsledek je vyjádřen jako mg ekvivalentu kyseliny gallové na gram vzorku (mg GAE/g). Dopočítána byla i směrodatná odchylka. Na základě hodnoty obsahu sušiny byla přepočtem stanovena hodnota mg ekvivalentu GAE/g sušiny vzorku.

Tabulka č. 3: Celkový obsah polyfenolů

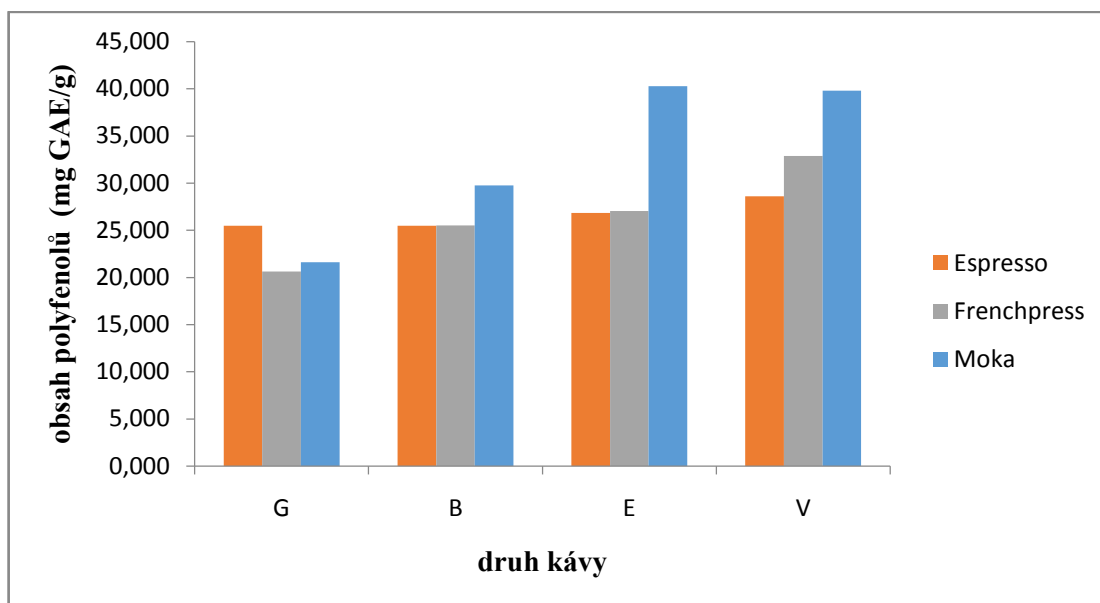
Vzorky káv různé druhy přípravy		$A_{\max}$ (764 nm)	obsah polyfenolů (mg GAE/g)	obsah polyfenolů (mg GAE/g) v sušině
Espresso	Gatemala	0,179	25,49 ± 0,14	25,12 ± 0,13
	Brasil Santos	0,179	25,49 ± 0,14	25,17 ± 0,13
	Ethiopian	0,192	26,84 ± 0,14	26,50 ± 0,13
	Vietnam	0,208	28,62 ± 0,18	28,32 ± 0,18
Moca	Guatemala	0,144	21,62 ± 0,09	21,31 ± 0,09
	Brasil Santos	0,218	29,75 ± 0,14	29,38 ± 0,13
	Ethiopian	0,315	40,29 ± 0,10	39,79 ± 0,10
	Vietnam	0,310	39,82 ± 0,14	39,40 ± 0,13
Frenchpress	Guatemala	0,135	20,64 ± 0,02	20,34 ± 0,09
	Brasil Santos	0,180	25,52 ± 0,05	25,20 ± 0,05
	Ethiopian	0,194	27,06 ± 0,14	26,72 ± 0,13
	Vietnam	0,247	32,89 ± 0,09	32,55 ± 0,09
Instatní	Jacobs Velvet	0,190	159,67 ± 0,31	157,76 ± 0,30

U 16 analyzovaných vzorků se obsah TPC pohyboval v rozmezí od  $20,64 \pm 0,09$  do  $40,29 \pm 0,10$  mg GAE/g. Obsah TPC vzorků káv přepočítaných na sušinu se pohyboval v rozmezí od  $20,34 \pm 0,09$  do  $39,79 \pm 0,1$  mg GAE/g sušiny vzorku. Nejvyšší obsah TPC přepočtený na sušinu vzorku měl vzorek kávy Ethiopian ( $39,79 \pm 0,1$  mg GAE/g) připravené v moka konvičce. Nejnižší obsah TPC přepočtený na sušinu vzorku měl vzorek kávy Guatemala ( $20,34 \pm 0,09$  mg GAE/g) připravené ve frenchpressu. Tyto výsledky se shodují s Ramón et al. a Odžakovič et al. o identifikaci a kvantifikaci polyfenolů obsažených v různých odrůdách káv [95,96].

Výjimkou je obsah TPC instantní kávy Jacobs Velvet  $159,67 \pm 0,31$  mg GAE/g, respektive  $154,76 \pm 0,3$  mg GAE/g v sušině, který je nejvyšší ze sledovaných vzorků. Tento výsledek se shoduje se současnými studiemi Niseteo et al. a Vignoli et al., které uvádějí, že instantní káva může mít až 7,3 krát vyšší obsah TPC než pražené kávy [97,98]. Vyššího obsahu TPC u instantních káv se dosahuje díky způsobu výroby, kde se uplatňuje zakoncentrování látek rozpustných ve vodě, včetně polyfenolů.

Nejnižší obsah polyfenolů byl zjištěn u kávy Guatemala připravené ve frenchpressu ( $20,64 \pm 0,09$  mg GAE/g,  $20,34 \pm 0,09$  mg GAE/g v sušině). Tento výsledek opět souhlasí se studií Niseteo et al., kde uvádějí, že u filtrovaných káv se vyskytuje nižší obsah TPC [97]. Nižší obsah TPC je způsoben extrakcí bez použití tlaku. U dalších vzorků káv (Brasil, Ethiopian a Vietnam) již tento trend o nejnižším obsahu TPC po přípravě ve frenchpressu nepozorujeme. Tyto výsledky mohou být způsobeny například jinou dobou luhování kávy nebo použitou teplotou vody.

U získaných výsledků nemůžeme pozorovat, který typ přípravy má vliv na nejvyšší obsah TPC v připraveném nápoji. Samotný obsah TPC závisí více na původu kávy. Obrázek č. 18 znázorňuje rozdíly mezi obsahy TPC v závislosti na typu přípravy kávy.



Obrázek č. 18: Srovnání obsahu TPC dle druhu kávy a typu přípravy

Káva Guatemala dosahuje u přípravy v moka konvičce výsledného obsahu TPC  $21,62 \pm 0,09$  mg GAE/g a u přípravy espresso  $25,49 \pm 0,14$  mg GAE/g. Ciaramelli et al. uvádí TPC u užití moka konvičky  $36,43$  mg GAE/g [99]. Tento výsledek se neshoduje a rozdíl může být ovlivněn jinou odrůdou kávy nebo typem pražení. U přípravy espresso Ciaramelli et al. a Balzano et al. uvádějí obsah TPC  $26,93$  mg GAE/g, tento výsledek odpovídá našemu stanovení [99,100].

Káva Brasil Santos dosahuje u přípravy v moka konvičce výsledného obsahu TPC  $29,75 \pm 0,14$  mg GAE/g a u přípravy espresso  $25,49 \pm 0,14$  mg GAE/g. Tyto výsledky se shodují se současnými studiemi Ciaramelli et al. a De Almeida et al., které uvádějí obsah TPC v moka konvičce  $30,12$  mg GAE/g a espressa  $27,46$  mg GAE/g [99,101].

Káva Ethiopian dosahuje u přípravy v moka konvičce výsledného obsahu TPC  $40,29 \pm 0,10$  mg GAE/g a u přípravy espresso  $26,84 \pm 0,14$  mg GAE/g. Tyto výsledky se přibližně shodují se současnými studiemi Ciaramelli et al., které uvádějí obsah TPC v moka konvičce  $47,95$  mg GAE/g a espressa  $31,30$  mg GAE/g [99].

Káva Vietnam dosahuje u přípravy v moka konvičce výsledného obsahu TPC  $39,82 \pm 0,14$  mg GAE/g a u přípravy espresso  $28,62 \pm 0,18$  mg GAE/g. Tyto výsledky se přibližně shodují se současnými studiemi Ciaramelli et al., které uvádějí obsah TPC v moka konvičce  $32,89$  mg GAE/g a espressa  $23,92$  mg GAE/g [99].

S využitím dvoufaktorové ANOVY bylo zjištěno, že obsah polyfenolických látek (TPC) se u testovaných káv na hladině významnosti 5 % statisticky významně neliší. S výjimkou instantí přípravy kávy (Jacobs Velvet) nebylo prokázáno, že by způsob přípravy měl statisticky významný vliv na obsah polyfenolických látek. Stejně tak mezi kávami (Guatemala, Brasil Santos, Ethiopian, Vietnam) připravenými danými způsoby nebyl v obsahu polyfenolických látek významný rozdíl (při jejich porovnání činila pravděpodobnost nulté hypotézy  $p > 0,05$ ).

### 8.3 Stanovení sušiny

Pojem sušina souvisí s obsahem vody v potravíně. Celková sušina je součet rozpustné a nerozpustné sušiny [102]. V usušených nepražených kávových zrnech je obsah vody zhruba 10 -13 %. Obsah vody se snižuje v průběhu pražení. Snížením obsahu vlhkosti v pražené kávě se dosáhne delší životnosti skladování a také dochází k zásadnímu rozvoji barvy a aroma specifických druhů kávy.

Sušinu kávy jsme stanovili sušením do konstantní hmotnosti pomocí sušárny, která byla vytemperována na 105 °C.

Do tabulky č. 4 byla zaznamenána hmotnost před sušení a po sušení a byla vypočítána hodnota obsahu vlhkosti obsažené v kávě. Hodnota obsahu vlhkosti byla odečtena od hodnoty 100 %, čímž jsme vypočítali celkovou hodnotu sušiny vzorku.

Tabulka č. 4: Obsah vlhkosti a sušiny v kávě

vzorek kávy	$m_1$ (g)	$m_2$ (g)	obsah vlhkosti (%)	sušina (%)
Guatemala	5,0024	4,9301	1,4	98,6
Brasil Santos	5,0030	4,9399	1,3	98,7
Ethiopian	5,0070	4,945	1,2	98,8
Vietnam robusta	5,0047	4,9526	1,0	99,0
Jacobs Velvet	5,0081	4,8541	3,1	96,9

Z příložené tabulky je patrné, že instantní káva Jacobs Velvet má nejvyšší obsah vlhkosti, respektive nejnižší sušinu. Z pražených káv má nejnižší obsah vlhkosti káva Vietnam robusta.

Káva Jacobs Velvet obsahuje 3,1 % vlhkosti, respektive 96,9 % sušiny. Tato instantní káva je dle informace výrobce na obalu vyráběna sprejovým sušením, kdy po procesu dehydratace má výsledný produkt 2 - 4 % vlhkosti. Káva Jacobs Velvet splňuje podmínky obsahu vlhkosti hotového produktu. Nesprávným skladováním výrobku může obsah vlhkosti narůstat [103].

Obsah vlhkosti pražených káv je dán zejména typem pražení. Díky procesu pražení předpokládáme odstranění veškeré vody. Obsah vlhkosti pražených mletých káv dosahuje hod-



noty maximálně 1,5 %. Tyto hodnoty splňují požadavky na fyzikálně chemické požadavky na jakost kávy dle přílohy č. 6 k vyhlášce Ministerstva zemědělství č. 91/200 Sb., vycházející ze zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně doplnění některých souvisejících zákonů, pro čaj, kávu a kávoviny, která stanovuje maximální povolený obsah vlhkosti 5 % [104].

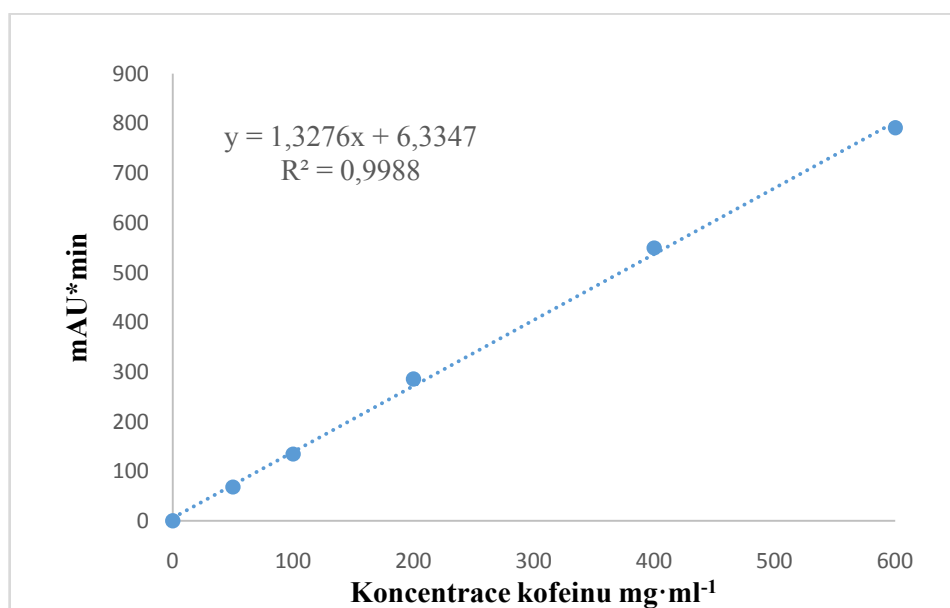
Vlhkost kávy se může zvyšovat kvůli několika faktorům. Díky mletí se zvětší povrch, který může přijímat vzdušnou vlhkost. Dalším faktorem je nesprávné skladování například v netěsnícím obalu nebo na vlhkém místě.

## 8.4 Stanovení obsahu kofeinu a jeho derivátů pomocí HPLC

Kofein je jednou z nejrozšířenějších farmakologicky aktivních látek na světě. Je bezesporu nejnámější složkou kávy. Jeho obsah v potravinách nebo nápojích lze stanovit různými metodami, například pomocí techniky HPLC s UV/VIS detektorem. Pomocí této analýzy lze detekovat i deriváty kofeinu jako jsou například teofylin a teobromin.

### 8.4.1 Kalibrační křivka kofeinu

Pro stanovení množství kofeinu v předložených vzorcích káv byla sestavena kalibrační křivka kofeinu (Obr. č.19). Z analýzy HPLC byl zjištěn retenční čas kofeinu a z hodnot ploch píků a známých koncentrací byla sestavena kalibrační křivka. Pomocí lineární regrese byla získána rovnice přímky charakterizující závislost plochy píku a koncentrace kofeinu.

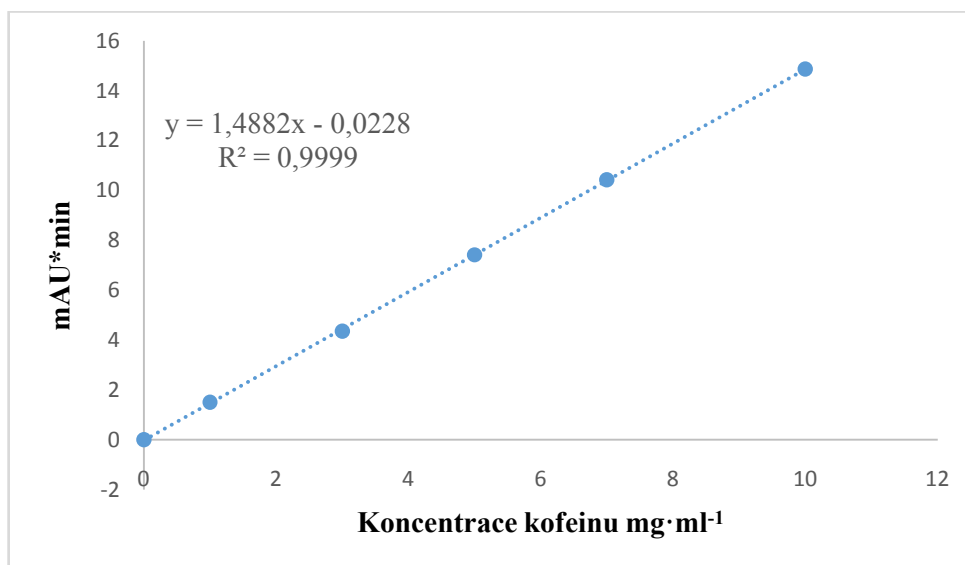


Obrázek č. 19: Kalibrační křivka kofeinu

### 8.4.2 Kalibrační křivka teofylinu

Pro stanovení množství teofylinu v předložených vzorcích káv byla sestavena kalibrační křivka teofylinu (Obr. č. 20). Z analýzy HPLC byl zjištěn retenční čas teofylinu a z hodnot ploch píků a známých koncentrací byla sestavena kalibrační křivka. Pomocí lineární regre-

se byla získána rovnice přímky charakterizující závislost plochy píku a koncentrace teofylinu.



Obrázek č. 20: Kalibrační křivka teofylinu

#### 8.4.3 Stanovení obsahu kofeinu

Rovnicí kalibrační křivky byla přepočítána plocha píku na koncentraci kofeinu v analyzovaném vzorku a přepočtem zjištěno výsledné množství kofeinu v mg·g<sup>-1</sup> vzorku. Směrodatná odchylka je uvedena.

Tabulka č. 5: Průměrný obsah kofeinu

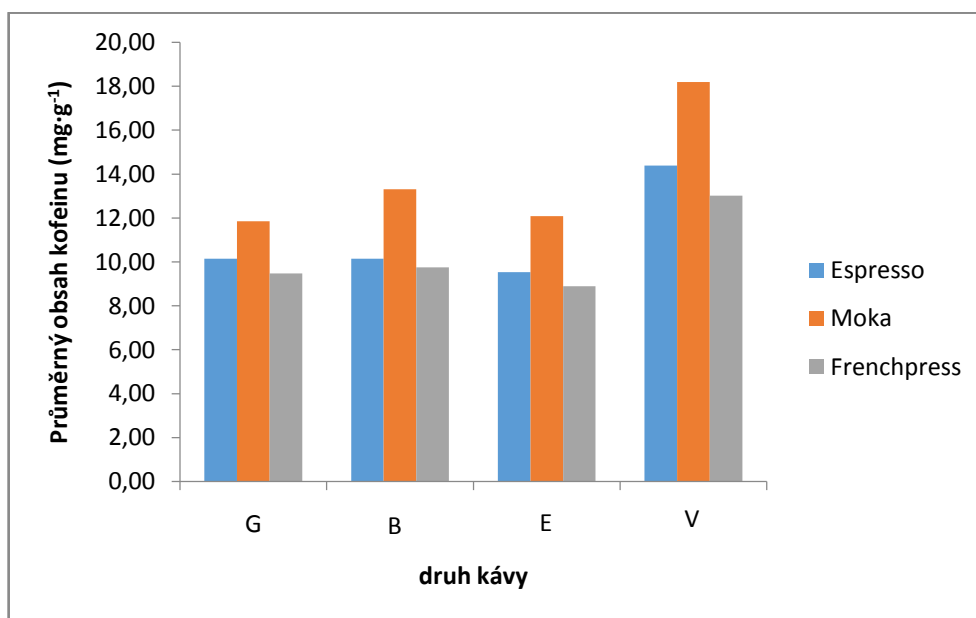
Vzorky káv různé druhy přípravy		Průměrný obsah kofeinu (mg·g <sup>-1</sup> )	Průměrný obsah kofeinu (mg·ml <sup>-1</sup> )	Průměrný obsah kofeinu (mg/100ml)
Espresso	Gautemala	10,15 ± 0,02	0,711 ± 0,002	71,06 ± 0,15
	Brasil Santos	10,14 ± 0,03	0,710 ± 0,002	71,00 ± 0,18
	Ethiopian	9,54 ± 0,03	0,667 ± 0,002	66,77 ± 0,22
	Vietnam	14,39 ± 0,04	1,007 ± 0,003	100,75 ± 0,29
Moca	Guatemala	11,85 ± 0,03	0,830 ± 0,002	82,99 ± 0,19
	Brasil Santos	13,31 ± 0,06	0,931 ± 0,004	93,14 ± 0,40
	Ethiopian	12,08 ± 0,12	0,845 ± 0,009	84,53 ± 0,86
	Vietnam	18,19 ± 0,08	1,273 ± 0,006	127,32 ± 0,58
French-press	Guatemala	9,47 ± 0,05	0,662 ± 0,003	66,26 ± 0,36
	Brasil Santos	9,75 ± 0,09	0,682 ± 0,006	68,22 ± 0,61
	Ethiopian	8,89 ± 0,02	0,622 ± 0,002	62,26 ± 0,17
	Vietnam	13,02 ± 0,03	0,911 ± 0,002	91,12 ± 0,18
Instatní	Jacobs Velvet	53,00 ± 0,62	0,477 ± 0,006	47,70 ± 0,56

Z přiložené tabulky můžeme vidět, že množství kofeinu v šálku kávového nápoje závisí na typu přípravy (Obr. č. 21). Nejvyšších hodnot obsahu kofeinu u pražených káv jsme dosáhli při přípravě kávy v moka konvičce. Následují hodnoty množství kofeinu v kávách připravené jako espresso. Nejnižší obsah kofeinu je v kávových nápojích připravených ve frenchpressu. Instantní káva má naprosto nejvyšší obsah kofeinu z předložených vzorků.

Výsledek o nejnižším obsahu kofeinu u způsobu přípravy ve frenchpressu není žádným překvapením. Zde bylo očekáváno, že se dosáhne nejnižších hodnot obsahu kofeinu, neboť příprava kávy neprobíhá pod tlakem a látky jsou tak uvolňovány do roztoku pouhým luhováním.

U všech typů káv můžeme pozorovat, že vyšší obsah kofeinu obsahují nápoje připravené způsobem espresso než nápoje připravené ve frenchpressu. Tento trend potvrzuje i Angeloni et al. [105].

U výsledků stanovení obsahu kofeinu jsme očekávali nejvyšší hodnoty u nápojů připravených typem espresso. Nejvyšší obsah kofeinu však pozorujeme u nápojů připravených v moka konvičce, což potvrdila i současná studie Santini et al. [106].



Obrázek č. 21: Srovnání obsahu kofeinu dle druhu kávy a typu přípravy

Obsah kofeinu se dle Niseteo et al. a Ling et al. v běžné kávě se pohybuje od 6,5 do 34 mg·g<sup>-1</sup> v závislosti na typu kávy, oblasti původu a podmínkách pěstování [97,107].

Káva Guatemala dosahuje hodnot kofeinu 9,47±0,05 až 11,85±0,02 mg·g<sup>-1</sup>. Naměřené hodnoty se shodují se studií Babova et al., která uvádí průměrný obsah kofeinu u kávy Guatemala 10 mg·g<sup>-1</sup> [108].

Káva Brasil Santos dosahuje hodnot kofeinu 9,75±0,09 až 13,31±0,06 mg·g<sup>-1</sup>. Naměřené hodnoty se shodují se studií Babova et al., která uvádí průměrný obsah kofeinu u kávy Brasil 12 mg·g<sup>-1</sup> [108].

Káva Ethiopian dosahuje hodnot kofeinu 8,89±0,02 až 12,08±0,12 mg·g<sup>-1</sup>. Naměřené hodnoty se shodují se studií Babova et al., která uvádí průměrný obsah kofeinu u kávy Ethiopian 9,2 mg·g<sup>-1</sup> [108].

Káva Vietnam dosahuje hodnot kofeinu 13,02±0,03 až 18,19±0,08 mg·g<sup>-1</sup>. Naměřené hodnoty se shodují se studií Babova et al., která uvádí průměrný obsah kofeinu u kávy Vietnam 17,2 mg·g<sup>-1</sup> [108]. Káva Vietnam obsahuje ze všech pražených káv nejvyšší obsah kofeinu. Jedná se o odrůdu robusta, která může obsahovat až dvojnásobné množství kofeinu oproti kávě arabica [109].

Instantní káva obsahuje 53,00±0,62 mg·g<sup>-1</sup>, respektive 47,70±0,56 mg/100 ml. Tato hodnota se shoduje i se studií Jeon et al., která uvádí obsah kofeinu v rozsahu 27,2 až 71,2 mg/100 ml v závislosti na původu kávy, odrůdě či způsobu přípravy [110].

Obsah kofeinu v jednotlivých kávkách připravených různými způsoby se statisticky významně liší. Platí tedy, že na hladině významnosti 5 % je mezi testovanými kávkami statisticky významný rozdíl v obsahu kofeinu. Současně se od sebe statisticky významně liší jednotlivé druhy kávy i v případě, že jsou připraveny stejným způsobem. Instantní káva Jacobs Velvet má významně odlišný obsah kofeinu oproti ostatním kávkám, ať jsou připraveny kteroukoliv technikou.

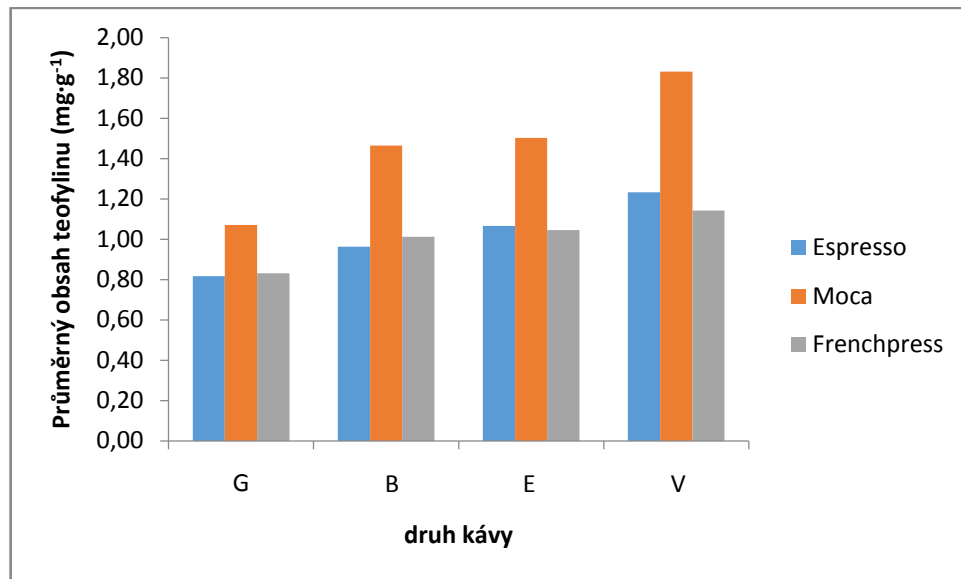
#### 8.4.4 Stanovení obsahu teofylinu

Rovnicí kalibrační křivky byla přepočítána plocha píku na koncentraci teofylinu v analyzovaném vzorku a přepočtem zjištěno výsledné množství teofylinu v  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$  vzorku. Směrodatná odchylka je uvedena.

Tabulka č. 6: Průměrný obsah teofylinu

Vzorky káv různé druhy přípravy		Průměrný obsah teofylinu ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )	Průměrný obsah teofylinu ( $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	Průměrný obsah teofylinu ( $\text{mg}/100\text{ ml}$ )
Espresso	Gautemala	$0,82 \pm 0,002$	0,057	$5,71 \pm 0,02$
	Brasil Santos	$0,96 \pm 0,003$	0,067	$6,74 \pm 0,02$
	Ethiopian	$1,07 \pm 0,006$	0,074	$7,47 \pm 0,04$
	Vietnam	$1,23 \pm 0,006$	0,086	$8,64 \pm 0,04$
Moca	Guatemala	$1,07 \pm 0,005$	0,075	$7,50 \pm 0,04$
	Brasil Santos	$1,47 \pm 0,005$	0,103	$10,25 \pm 0,04$
	Ethiopian	$1,50 \pm 0,010$	0,105	$10,52 \pm 0,07$
	Vietnam	$1,83 \pm 0,011$	0,128	$12,81 \pm 0,08$
Frenchpress	Guatemala	$0,83 \pm 0,005$	0,058	$5,82 \pm 0,03$
	Brasil Santos	$1,01 \pm 0,007$	0,071	$7,09 \pm 0,04$
	Ethiopian	$1,05 \pm 0,006$	0,073	$7,32 \pm 0,04$
	Vietnam	$1,14 \pm 0,007$	0,080	$8,00 \pm 0,05$
Instatní	Jacobs Velvet	$1,51 \pm 0,003$	0,014	$1,36 \pm 0,02$

Z přiložené tabulky můžeme vidět, že množství teofylinu v šálku kávového nápoje závisí na typu přípravy (Obr. č. 22). Nejvyšších hodnot obsahu teofylinu jsme dosáhli při přípravě kávy v moka konvičce. Následují hodnoty množství teofylinu v kávách připravené jako espresso. Nejnižší obsah teofylinu je v kávových nápojích připravených ve Frenchpressu. Výjimkou jsou kávy Guatemala a Brasil Santos, u kterých je vyšší obsah teofylinu v nápojích připravených ve frenchpressu než v espressu. Instantní káva má jeden z nejvyšších obsahů teofylinu. Trend obsahu teofylinu v závislosti na typu přípravy je stejný jako u kofeinu.



Obrázek č. 22: Srovnání obsahu teofylinu dle druhu kávy a typu přípravy

Nejvíce teofylinu obsahuje káva Vietnam robusta, kde dosahujeme hodnot  $1,14 \pm 0,007$  až  $1,83 \pm 0,011$   $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ . Tyto hodnoty souhlasí i se studií Jeszka-Skowron et al. [111].

V kávách odrůdy arabica dosahujeme nižších hodnot teofylinu. Káva Guatemala dosahuje hodnot  $0,82 \pm 0,002$  až  $1,07 \pm 0,005$   $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ . Káva Brasil dosahuje hodnot  $0,96 \pm 0,003$  až  $1,47 \pm 0,005$   $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ . Káva Ethiopian dosahuje hodnot  $1,05 \pm 0,006$  až  $1,50 \pm 0,010$   $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ . Tyto hodnoty souhlasí se současnou studií Jeszka-Skowron et al. a Rodrigues et al., které uvádějí obsah teofylinu u kávy Arabica od  $0,6$   $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$  [111,112].

Pomocí dvoufaktorové analýzy variability bylo prokázáno, že se od sebe jednotlivé kávy statisticky významně liší v obsahu teofylinu, jsou-li připraveny testovanými způsoby (Espresso, Moca, Frenchpress, instantní příprava Jacobs Velvet). Typ přípravy kávy má statisticky významný vliv na zjištěný obsah teofylinu, neboť se množství teofylinu u připravených káv (včetně kávy téhož druhu) statisticky významně liší pro jednotlivé způsoby přípravy.

## 8.5 Senzorická analýza

Senzorickou analýzou je myšleno hodnocení, při kterém se organoleptické vlastnosti potravin stanoví bezprostředně lidskými smysly (chutí, čichem zrakem, hmatem a sluchem), včetně zpracování výsledků centrálním nervovým systémem. Analýza probíhá za takových podmínek, kdy je zajištěno objektivní, přesné a reprodukovatelné měření.

K senzorické analýze kávy byl zvolen preferenční test. Při této zkoušce nejde přednostně o určení, zda existuje rozdíl mezi vzorky, ale o určení, kterému vzorku nebo kterým vzorkům dá posuzovatel přednost jako sensoricky kvalitnějšímu nebo přijatelnějšímu či příjemnějšímu [113].

Vybraným 10 hodnotitelům ve věku 25 - 50 let byly předloženy 3 sady 5 vzorků k senzorické analýze. Hodnotitelům bylo doporučeno, aby před provedením senzorické analýzy nekouřili, nejedli a nepili kávu, čaj nebo jiné chuťově výrazné nápoje kromě vody. Měli za úkol seřadit vzorky dle celkového dojmu chuti, tedy od nejlepší či nejlahodnější po nejhorší čili nejméně lahodnou kávu.

Nejprve hodnotitelé hodnotili chuť čtyř vzorků káv připravených způsobem espresso, pátým vzorek byla instantní káva.

Kávy byly podávány v bílých šálkách o objemu 100 ml. Šálky s kávou byly očíslovány. Hodnotitelé mohli kávy chutnat v libovolném pořadí. K číslu vzorku přiřadili známku preferenčním hodnocením, kde 1 znamenalo nejlahodnější chuť a 5 nejméně lahodnou chuť. Jako neutralizátor byla předložena pitná voda a rohlík.

Po senzorické analýze první sady vzorků následovala hodinová přestávka. Hodnotitelé měli opět doporučeno nekouřit a nekonzumovat jídlo a nápoje kromě vody.

Po hodinové přestávce byla hodnotitelům podána druhá sada čtyř vzorků káv, které byly připraveny v moka konvičce. Jako pátý vzorek byla opět předložena instantní káva. Po zaznamenání hodnocení následovala další hodinová přestávka.

Poslední sada čtyř vzorků káv byla připravena ve Frenchpressu, pátým vzorkem byla opět instantní káva.

Senzorická analýza byla vyhodnocena pomocí Friedmanova testu. Friedmanův test řadíme do pořadových zkoušek v senzorické analýze. Pořadové zkoušky slouží k rozřídění skupiny výrobků, k jejich seřazení dle intenzity sledovaného sensorického znaku podle prefe-



rencí spotřebitelů. Takto lze posuzovat pouze výrobky stejného druhu, například kávu od různých výrobců, víno různých ročníků atd. Nelze tak srovnávat například čaj s kávou.

Friedmanův test se používá k ověření shody úrovně sledovaného znaku v souborech vytvořených na základě R závislých výběrů se stejnými rozsahy a n jednotek. V oblasti senzorických experimentů spočívá v tom, že každý jeden z n posuzovatelů posuzuje rozdílnost R vzorků prostřednictvím stanoveného pořadí od 1 do R.

Pro potřebu zpracování Friedmanova testu jsou data uspořádána do tabulky. Sloupce odpovídají jednotlivým vzorkům (R) a řádky odpovídají hodnotitelům (n) [114].

Tabulka č. 7: Sensorická analýza kávy - způsob přípravy espresso

HODNOTITELÉ	POŘADÍ VZORKŮ 1-5				
	1	2	3	4	5
1	2	3	4	1	5
2	1	2	3	4	5
3	5	1	3	2	4
4	5	3	2	1	4
5	3	1	4	2	5
6	4	1	5	2	3
7	1	2	5	3	4
8	2	3	4	1	5
9	2	3	4	1	5
10	4	2	1	4	5
$T_i$	29	21	35	21	45
$T_i^2$	841	441	1225	441	2025

Tabulka č. 8: Senzorická analýza kávy - způsob přípravy moka konvička

HODNOTITELÉ	POŘADÍ VZORKŮ 1-5				
	1	2	3	4	5
1	4	3	5	2	1
2	3	2	4	1	5
3	4	3	5	2	1
4	4	3	5	2	1
5	1	4	2	3	5
6	2	4	3	1	5
7	3	4	2	1	5
8	3	5	4	1	2
9	3	4	5	2	1
10	4	3	5	1	2
$T_i$	31	35	40	16	28
$T_i^2$	961	1225	1600	256	784

Tabulka č. 9: Senzorická analýza kávy - způsob přípravy Frenchpress

HODNOTITELÉ	POŘADÍ VZORKŮ 1-5				
	1	2	3	4	5
1	2	5	1	3	4
2	1	3	4	2	5
3	2	3	5	4	1
4	5	2	1	3	4
5	2	3	1	4	5
6	1	2	3	4	5
7	3	4	2	1	5
8	4	1	2	3	5
9	1	5	2	3	4
10	1	3	4	2	5
$T_i$	22	31	25	29	43
$T_i^2$	484	961	625	841	1849

Testovaná hypotéza H předpokládá, že všechny vzorky pochází ze stejného základního souboru, což znamená, že mezi vzorky nejsou významné rozdíly ve sledovaném senzoric-kém znaku (preferencích). Alternativní hypotéza A toto tvrzení popírá a předpokládá, že mezi vzorky je alespoň jeden odlišný od jiného nebo jiných vzorků.

Friedmanovým testem ověříme platnost hypotézy H.

$$FR = \frac{12}{n \cdot R \cdot (R + 1)} \cdot \sum T_i^2 - 3n(R + 1)$$

Kde  $n$  je počet hodnotitelů

$R$  je počet hodnocených vzorků

$T_i^2$  je suma všech druhých mocnin součtu hodnocení pro daný vzorek

Zvolené testovací kritérium je na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ . Kritické hodnoty pro  $Q_{1-\alpha}(R,n)$  byly přiřazeny z tabulky (viz příloha 1).

Testovaná hypotéza se zamítá, pokud bude pro zvolené  $\alpha$  platit

$$FR \geq Q_{1-\alpha}(R, n)$$

Výsledky Friedmanova testu, kde  $Q$  je 9,25:

- Espresso káva 18,92 > 9,25
- Moka káva 13,04 > 9,25
- Frenchpress káva 10,4 > 9,25

U všech sad sensoricky hodnocených vzorků káv nerovnost platí. Hypotéza se tedy zamítá a můžeme s 95 % pravděpodobností říct, že mezi předloženými vzorky kávy jsou významné rozdíly. Je tedy nutné stanovit, které vzorky se od sebe liší.

Aby se určila rozdílnost mezi předloženými vzorky, přistoupilo se k Nemenyiho metodě vícenásobného párového porovnání. Tato metoda slouží ke zjišťování rozdílnosti mezi dvěma vzorky zařazenými do pořadového testu, z čehož plyne, že ji musí uživatel aplikovat  $R \cdot (R-1)/2$ krát. V našem případě to znamená  $5 \cdot (5-1)/2 = 10$  krát pro každý typ přípravy kávy, pokud chceme prověřit všechny možné dvojice v posuzované sadě vzorků.

Rozdíl mezi  $i$ -tým a  $j$ -tým vzorkem je se  $100 \cdot (1-\alpha)$  % spolehlivostí významný, platí li:

$$|T_i - T_j| \geq Q_{1-\alpha}(R, n)$$

Kde  $T_i$  respektive  $T_j$  jsou sloupcové součty pořadí vzorku.

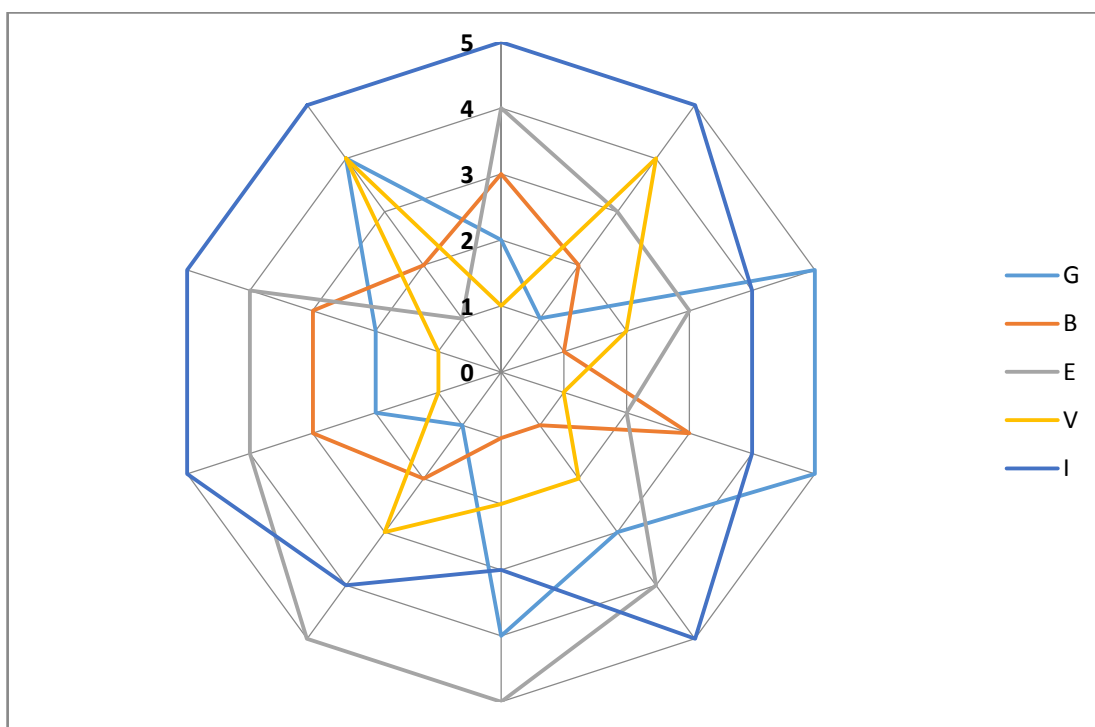
Hodnota  $Q = 19,3$  byla přiřazeny z tabulky (viz příloha 2). Použitý test je oboustranný, proto lze stanovit pouze rozdílnost jako takovou a nikoliv její směr.

Výsledky Nemenyiho testu:

- Espresso káva – z rozdílu součtu pořadí je zřejmé, že v preferencích existují významné rozdíly mezi vzorky 4 a 5 a mezi vzorky 2 a 5
- Moka káva - z rozdílu součtu pořadí je zřejmé, že v preferencích existují významné rozdíly mezi vzorky 3 a 4
- Frenchpress káva - z rozdílu součtu pořadí je zřejmé, že v preferencích existují významné rozdíly mezi vzorky 1 a 5

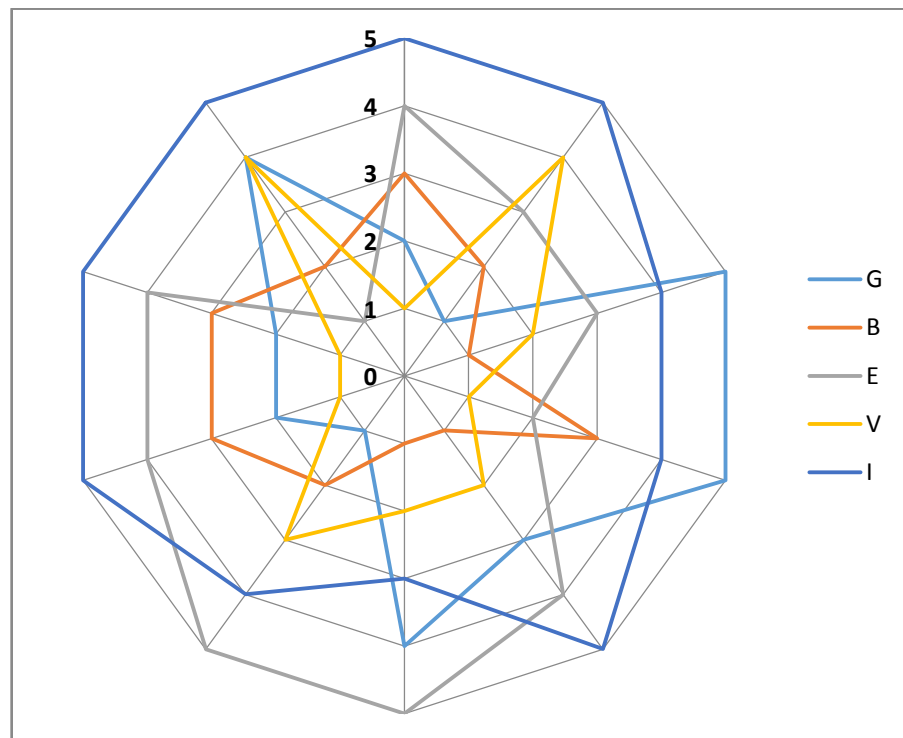
Závěr sensorické analýzy:

- Espresso káva – s 95 % spolehlivostí existují statisticky významné rozdíly v preferencích mezi 5 předloženými vzorky. Jako nejvíce preferovaný označili hodnotitelé vzorek 2 a 4, náleží jim stejné preference. Pořadí dalších je 1; 3 a jako nejméně preferovaný byl hodnocen vzorek 5. Statisticky významné jsou rozdíly mezi vzorky 4 a 5 a mezi vzorky 2 a 5. Mezi ostatními nebyly na 5 % hladině významnosti v preferencích zjištěny statisticky významné rozdíly.



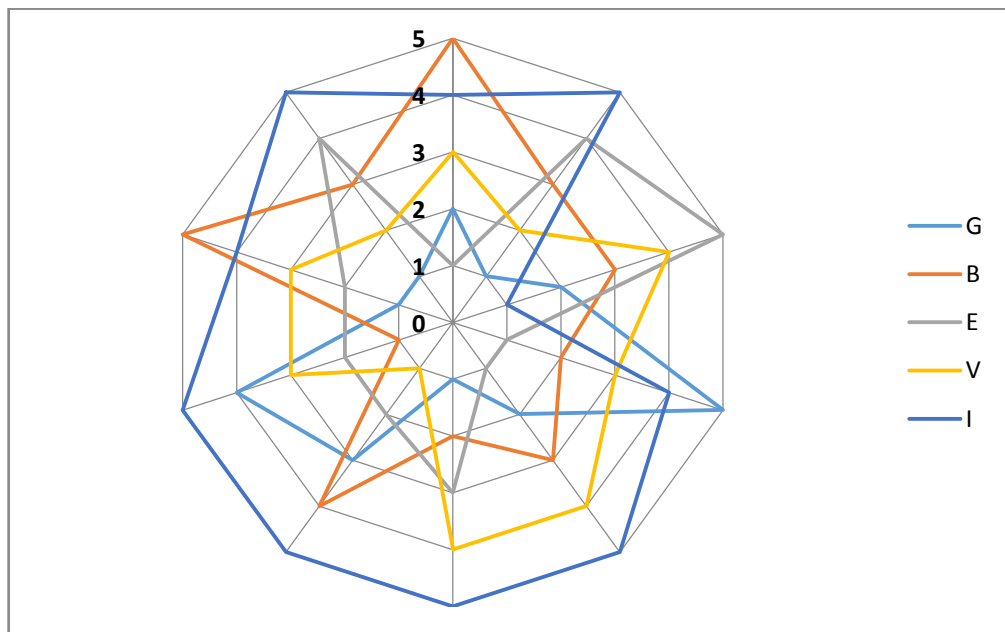
Obrázek č. 23: Četnost preference druhu kávy u přípravy espresso

- Moka káva - s 95 % spolehlivostí existují statisticky významné rozdíly v preferencích mezi 5 předloženými vzorky. Jako nejvíce preferovaný označili hodnotitelé vzorek 4. Pořadí dalších je 5; 1; 2 a jako nejméně preferovaný byl hodnocen vzorek 3. Statisticky významné jsou rozdíly pouze mezi vzorky 3 a 4. Mezi ostatními nebyly na 5 % hladině významnosti v preferencích zjištěny statisticky významné rozdíly.



Obrázek č. 24: Četnost preference druhu kávy u přípravy moka kávy

- Frenchpress káva - s 95 % spolehlivostí existují statisticky významné rozdíly v preferencích mezi 5 předloženými vzorky. Jako nejvíce preferovaný označili hodnotitelé vzorek 1. Pořadí dalších je 3; 4; 2 a jako nejméně preferovaný byl hodnocen vzorek 5. Statisticky významné jsou rozdíly pouze mezi vzorky 1 a 5. Mezi ostatními nebyly na 5 % hladině významnosti v preferencích zjištěny statisticky významné rozdíly.



Obrázek č. 25: Četnost preference druhu kávy u přípravy Frenchpress

## ZÁVĚR

Předložená diplomová práce byla zaměřena na zjištění antioxidační aktivity a polyfenolických látek v závislosti na botanickém původu a způsobu přípravy káv. Jako vzorky byly vybrány čtyři pražené kávy z různých oblastí světa, které byly připraveny způsobem espresso, v moka konvičce a ve frenchpressu. Pátým vzorkem byla instantní káva.

Teoretická část obsahuje technologii zpracování kávy od sběru kávových třešní až po pražení a mletí kávových zrn. Popsáno je i chemické složení a pěstování kávy, metody stanovení antioxidační aktivity, polyfenolických látek a kofeinu. Teoretickou část uzavírá kapitola o zdravotních účincích kávy.

U předložených vzorků káv byla stanovena vlhkost a sušina. Všechny vzorky splňovaly požadavky na obsah vlhkosti dle vyhlášky Ministerstva zemědělství č. 91/200 Sb., vycházející ze zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně doplnění některých souvisejících zákonů, pro čaj, kávu a kávoviny, která stanovuje maximální povolený obsah vlhkosti 5 %.

Ke stanovení antioxidační aktivity byla použita metoda pomocí DPPH, kde reaguje radikál DPPH s antioxidanty obsaženými ve vzorku. Nejvyšší antioxidační aktivitu vykazoval vzorek kávy Brasil Santospřipravené ve frenchpressu. Nejnižší antioxidační aktivitu vykazovala káva Vietnam připravené v moka konvičce.

Ke stanovení obsahu polyfenolických látek bylo použito spektrofotometrické stanovení. Nejvyšší obsah polyfenolických látek měl vzorek instantní kávy Jacobs Velvet. Nejnižší obsah polyfenolických látek byl naměřen ve vzorku kávy Guatemala připravené ve Frenchpressu.

Pomocí analýzy HPLC byl stanoven obsah kofeinu a jeho derivátu teofylinu. Nejvíce kofeinu obsahovala instantní káva. Nejnižší obsah kofeinu měla káva Ethiopian připravená ve frenchpressu. Nejvyšší obsah teofylinu byl naměřen v kávě Vietnam. Nejnižší obsah teofylinu měla káva Guatemala.

Hodnotu antioxidační aktivity, obsah polyfenolických látek, kofeinu a teofylinu ovlivňoval typ přípravy kávového nápoje. Nejvyšší hodnoty pozorovaných vlastností měla instantní káva Jacobs Velvet. Antioxidační aktivita byla obecně nejvyšší u nápojů připravených ve frenchpressu, naopak nejnižší byla u nápojů připravených v moka konvičce. Obsah TPC byl obecně nejvyšší u nápojů připravených v moka konvičce, naopak nejnižší byl u nápojů

připravených ve frenchpressu. Nejvyšší obsah kofeinu byl obecně pozorován u nápojů připravených v moka konvičce, naopak nejnižší u nápojů připravených ve frenchpressu. U obsahu teofylinu byl pozorován stejný trend jako u obsahu kofeinu.

Všechny vzorky káv byly podrobeny sensorické analýze preferenčním testem. Čtyři pražené kávy byly připraveny třemi způsoby (espresso, moka konvička, frenchpress), pátým vzorkem byla instantní káva. Sensorické analýzy se účastnilo 10 hodnotitelů. U každého typu přípravy kávy bylo určeno pořadí preference předložených vzorků.

U kávových nápojů připravených způsobem espresso jsme pozorovali, že nejvyšší preference chuti byla přiřazena kávám s vyšším obsahem kofeinu. U obsahu TPC a hodnoty antioxidační aktivity jsme nepozorovali vliv na preference chuti. Instantní kávě byla v porovnání s espresso nápoji přiřazena nejnižší preference.

U kávových nápojů připravených v moka konvičce jsme pozorovali vztah mezi obsahem TPC a sensorickou analýzou. U káv s vysokým obsahem TPC je pozorováno negativní hodnocení chuti. Naopak kávám s nižším obsahem TPC byla přiřazena vyšší preference chuti. Tento jev lze vysvětlit tím, že polyfenolické látky určují kávě hořkost nebo kyselost, které nejsou u hodnotitelů kladně hodnoceny. Stejný trend jsme pozorovali i u antioxidační aktivity, kde např. káva Vietnam měla nejnižší hodnotu antioxidační aktivity, a naopak nejvyšší preferenci chuti. Obsah kofeinu v nápojích připravených v moka konvičce neměl vliv na preferenci chuti. Instantní kávě byla v porovnání s nápoji připravenými v moka konvičce přiřazena vysoká preference.

U kávových nápojů připravených ve frenchpressu již nelze jasně popsat, zda měl obsah TPC či hodnota antioxidační aktivity vliv na preferenci chuti. Např. u kávy Guatemala jsme pozorovali nízký obsah TPC a nejvyšší preferenci chuti. U ostatních vzorků káv se tento trend již neopakoval. Např. káva Ethiopian měla vysoké hodnoty TPC i antioxidační aktivity, přesto obsadila druhou příčku preference chuti. Obsah kofeinu neovlivňoval preferenci chuti. Instantní kávě byla v porovnání s nápoji připravenými ve frenchpressu přiřazena nejnižší preference.



**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1]. BRESCIANI, Letizia, et al. Phenolic composition, caffeine content and antioxidant capacity of coffee silverskin. *Food Research International*, 2014, 61: 196-201.
- [2]. *Káva*. Praha: Ottovo nakladatelství, 2006. ISBN 80-7360-395-0.
- [3]. PÖSSL, Martin. *Káva jako životní styl*. Praha: Grada, 2010. Zdraví & životní styl. ISBN 978-80-247-2822-3.
- [4]. KREJČÍ, Ivan. *O kávě a čaji, aneb, Víme, proč je pijeme?*. Praha: Grada, 2000. Zdraví (Grada). ISBN 80-7169-535-1.
- [5]. DUFEK, Oldřich. *Káva známá i neobyčejná: povídky o kávě, recepty, něco dobrého k tomu*. Čestlice: Pavla Momčilová, c2000. ISBN 80-85936-32-1.
- [6]. BURDA, Alexandr. *O kávě, čaji a dalších nápojích*. Opava [i.e. Praha]: Carter eproplus, 2013. ISBN 978-80-87613-00-9.
- [7]. ŽÁČEK, Zdeněk. *Zajímavě o kávě, čaji a kakau*. 2., upr. a dopl. vyd. Praha: Vydavatelství obchodu, 1962. Obchod a spotřebitel (Vydavatelství obchodu).
- [8]. BRZONOVÁ, Lenka. *Svět kávy*. 2. přepracované vydání. Praha: Sdružení českých spotřebitelů, 2017. ISBN 978-80-88019-20-6.
- [9]. DAVIES VESELÁ, Petra. *Knihy o kávě: průvodce světem kávy s recepty na její přípravu*. Praha: Smart Press, 2010. ISBN 978-80-87049-34-1.
- [10]. NORMAN, Jill. *Káva*. Praha: Slovart, 1992. Z knihovny gurmána. ISBN 80-7209-514-5.
- [11]. Herbář rostlin, Kávovník arabský. [www.salviaparadise.cz](http://www.salviaparadise.cz) [online]. Dostupné z: [https://www.salviaparadise.cz/images/categories/kava\\_her\\_koupeno\\_123rf.jpg](https://www.salviaparadise.cz/images/categories/kava_her_koupeno_123rf.jpg)
- [12]. Kávové zrno. [www.banua.cz](http://www.banua.cz) [online]. Dostupné z: <https://banua.cz/svet-kavy/zajimavosti-o-kave/70-kavovych-zrn-v-salku>
- [13]. Arabica vs. Robusta. [www.jakubovokafe.cz](http://www.jakubovokafe.cz) [online]. Dostupné z: <https://3.bp.blogspot.com/-XChCLDmmbRU/Wk6sPiOnXVI/AAAAAAAAAODk/kBq-c-mJP7wnaJy3Gv4dtnr2jgnwWto9QCLcBGAs/s640/Difference-between-Arabica-and-Robusta-Coffee-Beans.jpg>
- [14]. Liberica. [www.indiamart.com](http://www.indiamart.com) [online]. Dostupné z: <https://www.indiamart.com/proddetail/liberica-coffee-beans-20578048973.html>
- [15]. Oblasti pěstování kávy. [www.kaffee-frei-haus.com](http://www.kaffee-frei-haus.com) [online]. Dostupné z: [https://www.kaffee-frei-haus.com/fileadmin/user\\_upload/Kaffee-Anbauegebiete.png](https://www.kaffee-frei-haus.com/fileadmin/user_upload/Kaffee-Anbauegebiete.png)

- [16]. The 5 Countries That Produce the Most Coffee. [www.investopedia.com](http://www.investopedia.com) [online]. Dostupné z: <https://www.investopedia.com/articles/investing/091415/5-countries-produce-most-coffee.asp>
- [17]. Top Coffee Producing Countries. [www.worldatlas.com](http://www.worldatlas.com) [online]. Dostupné z: <https://www.worldatlas.com/articles/top-coffee-producing-countries.html>
- [18]. World's Largest Coffee Producing Countries. [www.statista.com](http://www.statista.com) [online]. Dostupné z: <https://www.statista.com/statistics/277137/world-coffee-production-by-leading-countries/>
- [19]. ROP, Otakar a Jan HRABĚ. *Nealkoholické a alkoholické nápoje*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2009. ISBN 978-80-7318-748-4
- [20]. PAQUIN, Paul. *Functional and Speciality Beverage Technology*. Woodhead Publishing, 2009. ISBN 9781845693428.
- [21]. DOYLE, Michael P.; DIEZ-GONZALEZ, Francisco; HILL, Colin (ed.). *Food microbiology: fundamentals and frontiers*. John Wiley & Sons, 2019.
- [22]. Pražicí stroj. [www.adminvolodarsk-nn.ru](http://www.adminvolodarsk-nn.ru) [online]. Dostupné z: <http://adminvolodarsk-nn.ru/prazici-stroje/>
- [23]. Chlazení pražené kávy. [www.vybornakava.cz](http://www.vybornakava.cz) [online]. Dostupné z: <https://www.vybornakava.cz/wp-content/uploads/2015/07/chlazení-po-pražení-1280x720.jpg>
- [24]. BASU, Prabir. *Biomass gasification and pyrolysis: practical design and theory*. Academic Press, 2010.
- [25]. Stupně pražení kávy. [www.pinterest.com](http://www.pinterest.com) [online]. Dostupné z: <https://cz.pinterest.com/pin/411023903462094283/>
- [26]. AUGUSTÍN, Jozef. *Povídání o kávě: kávovníkové zrno (Coffea arabica), káva a kávoviny jako významné potravinářské pochutiny*. Olomouc: Fontána, 2003. ISBN 80-7336-040-3.
- [27]. Stupně mletí kávy. [www.cerstvakava.cz](http://www.cerstvakava.cz) [online]. Dostupné z: <https://www.cerstvakava.cz/climages/stories/27.jpg>
- [28]. BHANDARI, Bhesh R., et al. (ed.). *Handbook of food powders: Processes and properties*. Elsevier, 2013.
- [29]. BHATTACHARYA, Suwendu (ed.). *Conventional and advanced food processing technologies*. John Wiley & Sons, 2014.
- [30]. Chemické složení kávy. [www.excelso.cz](http://www.excelso.cz) [online]. Dostupné z: <https://www.excelso.cz/prazeni.htm>

- [31]. SINGHAL, Rekha S.; KULKARNI, P. K.; REG, D. V. (ed.). *Handbook of indices of food quality and authenticity*. Elsevier, 1997.
- [32]. MOTARJEMI, Yasmine; MOY, Gerald; TODD, Ewen (ed.). *Encyclopedia of food safety*. Academic Press, 2013.
- [33]. DEPAULA, Juliana; FARAH, Adriana. *Caffeine Consumption through Coffee: Content in the Beverage, Metabolism, Health Benefits and Risks*. *Beverages*, 2019, 5.2: 37.
- [34]. HIGASHI, Yukihiro. *Coffee and Endothelial Function: A Coffee Paradox?*. *Nutrients*, 2019, 11.9: 2104.
- [35]. Struktura kofeinu a jeho metabolitů. [www.depositphotos.com](http://www.depositphotos.com) [online]. Dostupné z: <https://cz.depositphotos.com/vector-images/kofein.html>
- [36]. COSTA, Chiara, et al. *Current evidence on the effect of dietary polyphenols intake on chronic diseases*. *Food and Chemical Toxicology*, 2017, 110: 286-299.
- [37]. KASPER, Heinrich. *Výživa v medicíně a dietetika*. Praha: Grada, 2015. ISBN 978-80-247-4533-6.
- [38]. NIKI, Etsuo. Assessment of antioxidant capacity in vitro and in vivo. *Free Radical Biology and Medicine*, 2010, 49.4: 503-515.
- [39]. GUPTA, Ramesh C. (ed.). *Nutraceuticals: efficacy, safety and toxicity*. Academic Press, 2016.
- [40]. FARAH, Adriana; DONANGELO, Carmen Marino. Phenolic compounds in coffee. *Brazilian journal of plant physiology*, 2006, 18.1: 23-36.
- [41]. CHU, Yi-Fang (ed.). *Coffee: emerging health effects and disease prevention*. John Wiley & Sons, 2012. ISBN 978-0-470-95878-0.
- [42]. JANISSEN, Brendan; HUYNH, Tien. Chemical composition and value-adding applications of coffee industry by-products: A review. *Resources, Conservation and Recycling*, 2018, 128: 110-117.
- [43]. MONTEIRO, Mariana C.; FARAH, Adriana. Chlorogenic acids in Brazilian Coffea arabica cultivars from various consecutive crops. *Food Chemistry*, 2012, 134.1: 611-614.
- [44]. MONTEIRO, Mariana, et al. Chlorogenic acid compounds from coffee are differentially absorbed and metabolized in humans. *The Journal of nutrition*, 2007, 137.10: 2196-2201.
- [45]. FARAH, Adriana, et al. Chlorogenic acids from green coffee extract are highly bioavailable in humans. *The Journal of nutrition*, 2008, 138.12: 2309-2315.

- [46]. DUARTE, Giselle S.; PEREIRA, Antônio A.; FARAH, Adriana. Chlorogenic acids and other relevant compounds in Brazilian coffees processed by semi-dry and wet post-harvesting methods. *Food Chemistry*, 2010, 118.3: 851-855.
- [47]. PERRONE, Daniel; DONANGELO, Carmen Marino; FARAH, Adriana. Fast simultaneous analysis of caffeine, trigonelline, nicotinic acid and sucrose in coffee by liquid chromatography –mass spectrometry. *Food chemistry*, 2008, 110.4: 1030-1035.
- [48]. TOCI, Aline T., et al. Changes in triacylglycerols and free fatty acids composition during storage of roasted coffee. *LWT-Food Science and Technology*, 2013, 50.2: 581-590.
- [49]. BARBOSA, Mayara de SouzaGois, et al. Correlation between the composition of green Arabica coffee beans and the sensory quality of coffee brews. *Food chemistry*, 2019, 292: 275-280.
- [50]. FANTÓ, Antonella. *Vitamíny a prevence: příručka k dosažení dlouhověkosti a svěžesti pomocí vitamínů a minerálních látek*. České Budějovice: Dona, 1993. ISBN 80-85463-18-0.
- [51]. CABALLERO, Benjamin, Luiz C. TRUGO a Paul M. FINGLAS. *Encyclopedia of food sciences and nutrition*. 2nd ed. New York: AcademicPress, c2003. ISBN 9999901271
- [52]. PAULOVÁ H., BOCHOŘÁKOVÁ H., TÁBORSKÁ E. Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek in vitro. *Chemické listy* 98, 2004, 174-179.
- [53]. FIDLER M., KOLÁŘOVÁ L. Analýza antioxidantů v chmelu a pivu. *Chemické listy* 103, 2009, 232-235.
- [54]. YU, Rosemary; SCHELLHORN, Herb E. Recent applications of engineered animal antioxidant deficiency models in human nutrition and chronic disease. *The Journal of nutrition*, 2013, 143.1: 1-11.
- [55]. APAK, Reşat, et al. Methods of measurement and evaluation of natural antioxidant capacity/activity (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 2013, 85.5: 957-998.
- [56]. ZULUETA, Ana; ESTEVE, Maria J.; FRÍGOLA, Ana. ORAC and TEAC assai comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chemistry*, 2009, 114.1: 310-316.
- [57]. GARCÍA-PADIAL, Marcos, et al. The role of cyclodextrins in ORAC-fluorescence assays. Antioxidant capacity of tyrosol and caffeic acid with hydroxy propyl- $\beta$ -cyclodextrin. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2013, 61.50: 12260-12264.

- [58]. WAYNER, D. D. M., et al. Quantitative measurement of the total, peroxy radical-trapping antioxidant capability of human blood plasma by controlled peroxidation: The important contribution made by plasma proteins. *FEBS letters*, 1985, 187.1: 33-37.
- [59]. SAMSONOWICZ, Mariola, et al. Antioxidant properties of coffee substitutes rich in polyphenols and minerals. *Food chemistry*, 2019, 278: 101-109.
- [60]. SOCHOR, Jiri, et al. Fully automated spectrometric protocols for determination of antioxidant activity: Advantages and disadvantages. *Molecules*, 2010, 15.12: 8618-8640.
- [61]. DUANGJAI, Acharaporn, et al. Comparison of antioxidant, antimicrobial activities and chemical profiles of free coffee (*Coffea arabica* L.) pulp aqueous extracts. *Integrative Medicine Research*, 2016, 5.4: 324-331.
- [62]. BENZIE, Iris FF; STRAIN, John J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 1996, 239.1: 70-76.
- [63]. OU, Boxin, et al. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: a comparative study. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2002, 50.11: 3122-3128.
- [64]. HARRIS, F. J. T. The determination of caffeine. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1953, 4.4: 205-208.
- [65]. ROSTAGNO, Mauricio A., et al. Fast and simultaneous determination of phenolic compounds and caffeine in teas, mate, instant coffee, soft drink and energetic drink by high-performance liquid chromatography using a fused-core column. *Analytica chimica acta*, 2011, 685.2: 204-211.
- [66]. ŠVORC, EUBOMÍR, et al. ANALYTICKÉ METÓDY NA STANOVENIE KOFEÍNU AKO BIOLOGICKY VÝZNAMNEJ LÁTKY. *Chem. Listy*, 2013, 107: 530-536.
- [67]. PROCHÁZKOVÁ, Dagmar; BOUŠOVÁ, I.; WILHELMOVÁ, N. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia*, 2011, 82.4: 513-523.
- [68]. AMARARATHNA, Madumani; JOHNSTON, Michael R.; RUPASINGHE, H. P. Plant polyphenols as chemopreventive agents for lung cancer. *International journal of molecular sciences*, 2016, 17.8: 1352.
- [69]. ARYAL, Sushant, et al. Total phenolic content, flavonoid content and antioxidant potential of wild vegetables from western nepal. *Plants*, 2019, 8.4: 96.

- [70]. AINSWORTH, Elizabeth A.; GILLESPIE, Kelly M. Estimation of total phenolic-content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent. *Natureprotocols*, 2007, 2.4: 875-877.
- [71]. FU, Li, et al. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. *Food chemistry*, 2011, 129.2: 345-350.
- [72]. GIUSTI, Federica, et al. Determination of fourteen polyphenols in pulses by high performance liquid chromatography – diode array detection (HPLC-DAD) and correlation study with antioxidant activity and colour. *Food chemistry*, 2017, 221: 689-697.
- [73]. BAE, In Kyung, et al. Simultaneous determination of 15 phenolic compounds and caffeine in teas and mate using RP-HPLC/UV detection: method development and optimization of extraction process. *Food chemistry*, 2015, 172: 469-475.
- [74]. MARTIN, Pavel. *Káva: originální recepty z kávy a ke kávě*. Praha: Ivo Železný, 2004. Knížky dostupné každému. ISBN 80-237-3847-x.
- [75]. DE MELO PEREIRAA, Gilberto V., et al. Chemical composition and health properties of coffee and coffee by-products. *Advances in Food and Nutrition Research*, 2020, 91: 65-96.
- [76]. HASLER, Clare M.; KUNDRAT, Susan; WOOL, Deborah. Functional foods and cardiovascular disease. *Current Atherosclerosis Reports*, 2000, 2.6: 467-475.
- [77]. CROZIER, Alan; ASHIHARA, Hiroshi; TOMÁS-BARBÉERAN, Francisco (ed.). *Teas, cocoa and coffee: plant secondary metabolites and health*. John Wiley&Sons, 2011.
- [78]. GIACCO, Rosalba, et al. Effects of polyphenols on cardio-metabolic risk factors and risk of type 2 diabetes. A joint position statement of the Diabetes and Nutrition Study Group of the Italian Society of Diabetology (SID), the Italian Association of Dietetics and Clinical Nutrition (ADI) and the Italian Association of Medical Diabetologists (AMD). *Nutrition, Metabolism and CardiovascularDiseases*, 2019.
- [79]. PATHAK, Yashwant. *Handbook of nutraceuticals*. BocaRaton: CRC Press, c2010-2011. ISBN 9781420082210.
- [80]. SHAHIDI, Fereidoon (ed.). *Handbook of antioxidants for food preservation*. Woodhead Publishing, 2015.
- [81]. POKORNÝ, Jan; YANISHLIEVA, Nedyalka; GORDON, Michael (ed.). *Antioxidants in food: practical applications*. Elsevier, 2001.
- [82]. PRAKASH, Kumar M.; TAN, Eng-King. Clinical evidence linking coffee and tea intake with Parkinson's disease. *Basal Ganglia*, 2011, 1.3: 127-130.

- [83]. KANDINOV, Boris, Nir GILADI a Amos D KORCZYN. The effect of cigarette smoking, tea, and coffee consumption on the progression of Parkinson's disease. *Parkinsonism & Related Disorders* [online]. 2007, **13**(4), 243-245
- [84]. REGLODI, Dora, et al. Novel tactics for neuroprotection in Parkinson's disease: role of antibiotics, polyphenols and neuropeptides. *Progress in neurobiology*, 2017, **155**: 120-148.
- [85]. SERRA, Diana; ALMEIDA, Leonor M.; DINIS, Teresa CP. Polyphenols in the management of brain disorders: Modulation of the microbiota-gut-brain axis. In: *Advances in Food and Nutrition Research*. Academic Press, 2020. p. 1-27.
- [86]. ROMAN, G. C., et al. Mediterranean diet: The role of long-chain  $\omega$ -3 fatty acids in fish; polyphenols in fruits, vegetables, cereals, coffee, tea, cacao and wine; probiotics and vitamins in prevention of stroke, age-related cognitive decline, and Alzheimer disease. *Revue neurologique*, 2019.
- [87]. COLIZZI, Chiara. The protective effects of polyphenols on Alzheimer's disease: A systematic review. *Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions*, 2019, **5**: 184-196.
- [88]. SATHYA, Sethuraman; DEVI, Kasi Pandima. The Use of Polyphenols for the Treatment of Alzheimer's Disease. In: *Role of the Mediterranean Diet in the Brain and Neurodegenerative Diseases*. Academic Press, 2018. p. 239-252.
- [89]. ANISSI, Jaouad, et al. A comparative study of the antioxidant scavenging activity of green tea, black tea and coffee extracts: A kinetic approach. *Food chemistry*, 2014, **150**: 438-447.
- [90]. TRIPETCH, Phattanit; BOROMPICHAICHARTKUL, Chaleeda. Effect of packaging materials and storage time on changes of colour, phenolic content, chlorogenic acid and antioxidant activity in arabica green coffee beans (*Coffea arabica* L. cv. Catimor). *Journal of Stored Products Research*, 2019, **84**: 101510.
- [91]. DAVÍDEK, Jiří. *Laboratorní příručka analýzy potravin: určeno [také] pro studenty vys. škol*. Praha: SNTL, 1977. Řada potravinářské literatury.
- [92]. KOLÁČKOVÁ, Tereza, et al. Matcha tea: Analysis of nutritional composition, phenolics and antioxidant activity. *Plant Foods for Human Nutrition*, 2020, **75.1**: 48-53.
- [93]. PARRAS, P., et al. Antioxidant capacity of coffees of several origins brewed following free different procedures. *Food chemistry*, 2007, **102.3**: 582-592.
- [94]. SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, Ignacio; JIMÉNEZ-ESCRIG, Antonio; SAURACALIXTO, F. In vitro antioxidant activity of coffees brewed using different procedures (Italian, espresso and filter). *Food Chemistry*, 2005, **90.1-2**: 133-139.

- [95]. RAMÓN-GONÇALVES, Marina, et al. Extraction, identification and quantification of polyphenols from spent coffee grounds by chromatographic methods and chemometric analyses. *Waste Management*, 2019, 96: 15-24.
- [96]. ODŽAKOVIĆ, Božana, et al. Effect of roasting degree on the antioxidant activity of different Arabica coffee quality classes. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 2016, 15.4: 409-417.
- [97]. NISETEO, Tena, et al. Bioactive composition and antioxidant potential of different commonly consumed coffee brews affected by their preparation technique and milk addition. *Food chemistry*, 2012, 134.4: 1870-1877.
- [98]. VIGNOLI, J. A.; BASSOLI, D. G.; BENASSI, M. T. Antioxidant activity, polyphenols, caffeine and melanoidins in soluble coffee: The influence of processing conditions and raw material. *Food Chemistry*, 2011, 124.3: 863-868.
- [99]. CIARAMELLI, Carlotta; PALMIOLI, Alessandro; AIROLDI, Cristina. Coffee variety, origin and extraction procedure: Implications for coffee beneficial effects on human health. *Food chemistry*, 2019, 278: 47-55.
- [100]. BALZANO, Michele, et al. Spent espresso coffee grounds as a source of anti-proliferative and antioxidant compounds. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2020, 59: 102254.
- [101]. DE ALMEIDA, Ricardo Farias, et al. Nutraceutical compounds: Echinoids, flavonoids, xanthones and caffeine identified and quantified in the leaves of Coffea arabica trees from free regions of Brazil. *Food research international*, 2019, 115: 493-503.
- [102]. KUBÁŇ, Vlastimil a Petr KUBÁŇ. *Analýza potravin*. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2007. ISBN 978-80-7375-036-7.
- [103]. BHANDARI, Bhesh R., et al. (ed.). *Handbook of food powders: Processes and properties*. Elsevier, 2013.
- [104]. ČESKO. Vyhláška č. 91/2000 Sb. Vyhláška Ministerstva zemědělství o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, pro čaj, kávu a kávoviny. *Sbírka zákonů České republiky*.
- [105]. ANGELONI, Giulia, et al. What kind of coffee do you drink? An investigation on effects of eight different extraction methods. *Food research international*, 2019, 116: 1327-1335.
- [106]. SANTINI, Antonello, et al. Influence of different coffee drink preparations on ochratoxin A content and evaluation of the antioxidant activity and caffeine variations. *Food Control*, 2011, 22.8: 1240-1245.



- [107]. LING, Liew Siew; DAUD, Nik Ismail Nik; HASSAN, Osman. Determination of coffee content in coffee mixtures. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 2001, 7.2: 327-332.
- [108]. BABOVA, Oxana; OCCHIPINTI, Andrea; MAFFEI, Massimo E. Chemical partitioning and antioxidant capacity of green coffee (*Coffea arabica* and *Coffea canephora*) of different geographical origin. *Phytochemistry*, 2016, 123: 33-39.
- [109]. BELGUIDOUM, K., et al. HPLC coupled to UV–vis detection for quantitative determination of phenolic compounds and caffeine in different brands of coffee in the Algerian market. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 2014, 45.4: 1314-1320.
- [110]. JEON, Jong-Sup, et al. Contents of chlorogenic acids and caffeine in various coffee-related products. *Journal of advanced research*, 2019, 17: 85-94.
- [111]. JESZKA-SKOWRON, Magdalena; FRANKOWSKI, Robert; ZGOŁA-GRZEŚKOWIAK, Agnieszka. Comparison of methylxanthines, trigonelline, nicotinic acid and nicotinamide contents in brews of green and processed Arabica and Robusta coffee beans—Influence of steaming, decaffeination and roasting processes on coffee beans. *LWT*, 2020, 109344.
- [112]. RODRIGUES, Naira Poerner; BRAGAGNOLO, Neura. Identification and quantification of bioactive compounds in coffee brews by HPLC–DAD–MSn. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2013, 32.2: 105-115.
- [113]. POKORNÝ, Jan, Zdeňka PANOVSÁ a Helena VALENTOVÁ. *Senzorická analýza potravin*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1998. ISBN 80-7080-329-0.
- [114]. KRÍŽ, Oldřich, František BUŇKA a Jan HRABĚ. *Senzorická analýza potravin II.: statistické metody*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati, 2007. ISBN 978-80-7318-494-0.

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

ROS	reaktivní kyslíkové radikály
TAA	total antioxidant activity
TEAC	trolox equivalent antioxidant capacity
TPC	total phenolic content
LC	kapalinová chromatografie
GC	plynová chromatografie
MS	hmotnostní spektroskopie
LC/MC	kapalinová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektroskopií
IR	infračervená spektroskopie
UV/VIS	ultrafialovo-viditelná spektroskopie
DAD	diode array detektor
PDA	photo diode array detektor
CVD	kardiovaskulární choroby
DM2	diabetes mellitus 2. typu

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

Obrázek č. 1: Keř kávovníku a jeho plody [11].....	14
Obrázek č. 2: Složení plodu kávovníku [12] .....	15
Obrázek č. 3: Rozdíl velikosti kávových zrn druhů arabica a robusta [13].....	16
Obrázek č. 4: Zrno kávy liberica [14] .....	16
Obrázek č. 5: Oblasti pěstování kávy [15].....	17
Obrázek č. 6: Deset největších producentů kávy v roce 2018 [18].....	18
Obrázek č. 7: Pražicí stroj [22].....	22
Obrázek č. 8: Chlazení kávy po pražení [23].....	23
Obrázek č. 9: Stupně pražení kávy [25].....	25
Obrázek č. 10: Stupně mletí kávy [27].....	26
Obrázek č. 11: Chemické složení kávy [30] .....	28
Obrázek č. 12: Kofein a jeho metabolity [35].....	29
Obrázek č. 13: Kyseliny chlorogenová, cafeoylchinová a feruoylchinová [20].....	31
Obrázek č. 14: Cafestol a kahweol [20] .....	32
Obrázek č. 15: Trigonelin a kyselina nikotinová [20].....	33
Obrázek č. 16: Kalibrační křivka inaktivace radikálu DPPH na trolox.....	54
Obrázek č. 17: Srovnání antioxidační aktivity dle druhu kávy a typu přípravy .....	57
Obrázek č. 18: Srovnání obsahu TPC dle druhu kávy a typu přípravy .....	62
Obrázek č. 19: Kalibrační křivka kofeinu .....	66
Obrázek č. 20: Kalibrační křivka teofylinu .....	67
Obrázek č. 21: Srovnání obsahu kofeinu dle druhu kávy a typu přípravy .....	68
Obrázek č. 22: Srovnání obsahu teofylinu dle druhu kávy a typu přípravy .....	71
Obrázek č. 23: Četnost preference druhu kávy u přípravy espresso.....	76
Obrázek č. 24: Četnost preference druhu kávy u přípravy moka kávy .....	77
Obrázek č. 24: Četnost preference druhu kávy u přípravy benchpress .....	78

**SEZNAM TABULEK**

Tabulka č. 1: Hodnoty inaktivace DPPH u vzorků káv .....	55
Tabulka č. 2: Hodnoty antioxidační aktivity přepočteny na sušinu vzorku .....	56
Tabulka č. 3: Celkový obsah polyfenolů .....	60
Tabulka č. 4: Obsah vlhkosti a sušiny v kávě .....	64
Tabulka č. 5: Průměrný obsah kofeinu .....	67
Tabulka č. 6: Průměrný obsah teofylinu .....	70
Tabulka č. 7: Sensorická analýza kávy – způsob přípravy espresso .....	73
Tabulka č. 8: Sensorická analýza kávy – způsob přípravy moka konvička .....	74
Tabulka č. 9: Sensorická analýza kávy – způsob přípravy Frenchpress .....	74

**SEZNAM PŘÍLOH**

Příloha 1: Kritické hodnoty Friedmanova testu pro $\alpha = 0,05$ [114] .....	94
Příloha 2: Kritické hodnoty pro vícenásobná párová porovnání závislých výběrů pro $\alpha = 0,05$ [114] .....	95

**PŘÍLOHA P1: KRITICKÉ HODNOTY FRIEDMANOVA TESTU PRO  
A = 0,05**

Tabulka I: Kritické hodnoty Friedmanova testu pro  $\alpha = 0,05$

Hodnotitelé	Výrobky							
	3	4	5	6	7	8	9	10
3	6,00	7,40	8,53	9,86	11,24	12,57	13,88	15,19
4	6,50	7,80	8,80	10,24	11,63	12,99	14,34	15,67
5	6,40	7,80	8,99	10,43	11,84	13,23	14,59	15,93
6	7,00	7,60	9,08	10,54	11,97	13,38	14,76	16,12
7	7,14	7,80	9,11	10,62	12,07	13,48	14,87	16,23
8	6,25	7,65	9,19	10,68	12,14	13,56	14,95	16,32
9	6,22	7,66	9,22	10,73	12,19	13,61	15,02	16,40
10	6,20	7,67	9,25	10,76	12,23	13,66	15,07	16,44
11	6,54	7,68	9,27	10,79	12,27	13,70	15,11	16,48
12	6,17	7,70	9,29	10,81	12,29	13,73	15,15	16,53
13	6,00	7,70	9,30	10,83	12,32	13,76	15,17	16,56
14	6,14	7,71	9,32	10,85	12,34	13,78	15,19	16,58
15	6,40	7,72	9,33	10,87	12,35	13,80	15,20	16,60
16	5,99	7,73	9,34	10,88	12,37	13,81	15,23	16,60

**PŘÍLOHA P2: KRITICKÉ HODNOTY PRO VÍCENÁSOBNÁ  
POROVNÁNÍ ZÁVISLÝCH VÝBĚRŮ PRO  $\alpha = 0,05$**

Tabulka I: Kritické hodnoty pro vícenásobná párová porovnání závislých výběrů pro  $\alpha = 0,05$

Hodnotitelé	Výrobky							
	3	4	5	6	7	8	9	10
3	5,7	8,1	10,6	13,1	15,6	18,2	20,8	23,5
4	6,6	9,4	12,2	15,1	18,0	21,0	24,0	27,1
5	7,4	10,5	13,6	16,9	20,1	23,5	26,9	30,3
6	8,1	11,5	14,9	18,5	22,1	25,7	29,4	33,2
7	8,8	12,4	16,1	19,9	23,9	27,8	31,8	35,8
8	9,4	13,3	17,3	21,3	25,5	29,7	34,0	38,3
9	9,9	14,1	18,3	22,6	27,0	31,5	36,0	40,6
10	10,5	14,8	19,3	23,8	28,5	33,2	38,0	42,8
11	11,0	15,6	20,2	25,0	29,9	34,8	39,8	44,9
12	11,5	16,2	21,1	26,1	31,2	36,4	41,6	46,9
13	11,9	16,9	22,0	27,2	32,5	37,9	43,3	48,8
14	12,4	17,5	22,8	28,2	33,7	39,3	45,0	50,7
15	12,8	18,2	23,6	29,2	34,9	40,7	46,5	52,5
16	13,3	18,8	24,4	30,2	36,0	42,0	48,1	54,2