

Izolace oleje z kávových zrn

Bc. Zuzana Mudráková

Diplomová práce
2021



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Akademický rok: 2020/2021

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

Jméno a příjmení: **Bc. Zuzana Mudráková**
Osobní číslo: **T19459**
Studijní program: **N0711A130011 Biomateriály a kosmetika**
Studijní obor: **Biomateriály a kosmetika**
Forma studia: **Prezenční**
Téma práce: **Izolace oleje z kávových zrn**

Zásady pro vypracování

I. Teoretická část

Student postupně zpracuje teoretický základ práce zahrnující následné body:

1. Základní charakteristika kávovníku a jeho plodů.
2. Skupiny chemických látek obsažených v kávovníkových zrnech.
3. Kávovníkový olej a jeho složení s přihlédnutím k mastným kyselinám.
4. Stávající techniky získávání a použití kávovníkového oleje.

II. Praktická část

Na základě teoretických znalostí student bude pokračovat v praktické části postupnými kroky:

1. Izolace kávovníkového oleje z pražených zrn rozpouštědly různých polarit.
2. Chemická charakteristika získaného kávovníkového oleje.
3. Oxidační stabilita kávovníkového oleje.

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

Seznam doporučené literatury:

- [1] FLAMENT I. Coffee Flavor Chemistry. John Wiley & Sons Ltd. Chichester, 2002, ISBN 0-471-72038-0.
- [2] FARAH A. Coffee, Production, Quality and Chemistry. The Royal Society of Chemistry, 2019, ISBN 978-1-78262-004-4.
- [3] WINTGENS J. N. Coffee: Growing, Processing, Sustainable Production, 2nd ed revised. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2012, ISBN 978-3-527-33253-3.
- [4] SCHUETTE, H. A. et al. The Characteristics and Composition of Coffee Bean Oil. Journal of the American Chemical Society. 1934, 56(10), 2085–2086. DOI: 10.1021/ja01325a024.
- [5] KHAN, N. A. a J. B. BROWN. The composition of coffee oil and its component fatty acids. Journal of the American Oil Chemists' Society. 1953, 30(12), 606. DOI: 10.1007/BF02640975.
- [6] HURTADO-BENAVIDES A., DORADO A. D., SÁNCHEZ-CAMARGO A. del P. Study of the fatty acid profile and the aroma composition of oil obtained from roasted Colombian coffee beans by supercritical fluid extraction. The Journal of Supercritical Fluids. 2016, 113, 44. DOI: 10.1016/j.supflu.2016.03.008.

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Ondřej Rudolf, Ph.D.**
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Datum zadání diplomové práce: **2. ledna 2021**
Termín odevzdání diplomové práce: **14. května 2021**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

doc. Ing. Marián Lehocký, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 20. února 2021

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 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:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Tato diplomová práce se zabývá kávovým olejem, jeho složením a metodami jeho izolace. Cílem bylo zjistit a zhodnotit zastoupení jednotlivých sloučenin a především výtěžky samotného oleje. Byly popsány jednotlivé metody získávání kávového oleje. Výtěžek oleje se pohyboval okolo 10 %. V práci jsou uvedeny výsledky měření pomocí plynové chromatografie na zjištění zastoupení mastných kyselin, kdy bylo zjištěno, že nejvíce zastoupenými mastnými kyselinami jsou kyselina linolová s procentuálním zastoupením okolo 43 % a kyselina palmitová, jejíž obsah se pohybuje okolo 34 %. Kromě oleje získaného pomocí Soxhletovy extrakce byly zkoumány také dva komerční oleje od firem Renovality a Bewit. U těchto vzorků bylo určováno složení mastných kyselin pomocí plynové chromatografie a také byla studována oxidační stabilita.

Klíčová slova: kávový olej, lipidová frakce, mastné kyseliny, extrakce, oxidační stabilita, plynová chromatografie

ABSTRACT

This diploma thesis deals with coffee oil, its composition and methods of its isolation. The aim was to find out and evaluate the representation of individual compounds and especially the yields of the oil itself. Individual methods of obtaining coffee oil have been described. The oil yield was around 10 %. The diploma thesis presents the results of measurements by gas chromatography to determine the proportion of fatty acids, where it was found that the most common fatty acids are linoleic acid with the percentage of around 43 % and palmitic acid, whose content is around 34 %. In addition to the oil obtained by Soxhlet extraction, two commercial oils from Renovality and Bewit were also examined. The fatty acid composition of these samples was determined by gas chromatography and the oxidative stability was also studied.

Keywords: coffee oil, lipid fraction, fatty acids, extraction, oxidative stability, gas chromatography

Tímto bych chtěla poděkovat vedoucímu mé diplomové práce Ing. Ondřeji Rudolfovi, Ph.D. za pomoc a cenné rady, které mi během psaní mé práce poskytoval. Chtěla bych také poděkovat své rodině a příteli za podporu během celého studia. Mé poděkování také patří Ústavu chemie a doc. Robertu Víchovi za pomoc při měření.

Prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 KÁVA	12
1.1 HISTORIE KÁVY	12
2 ZÁKLADNÍ CHARAKTERISTIKA KÁVOVNÍKŮ	14
2.1 VÝSKYT KÁVOVNÍKŮ	15
2.2 ODRŮDY KÁVOVNÍKŮ.....	15
2.3 ZPRACOVÁNÍ KÁVOVNÍKOVÝCH ZRN.....	17
2.3.1 Suchá metoda	17
2.3.2 Mokrý metoda	18
2.3.3 Polopromývaná metoda.....	19
3 LIPIDOVÁ FRAKCE KÁVOVNÍKOVÝCH ZRN	20
3.1 TRIACYLGLYCEROLY.....	21
3.2 MASTNÉ KYSELINY.....	21
3.2.1 Vliv pražení na složení mastných kyselin	22
3.2.2 Volné mastné kyseliny	23
3.3 NEZMÝDELNITELNÁ FRAKCE.....	24
3.3.1 Diterpeny	25
4 KOFEIN	27
5 ANALYTICKÉ POSTUPY PRO URČENÍ SLOŽENÍ KÁVOVNÍKOVÝCH ZRN	28
5.1 PLYNOVÁ CHROMATOGRRAFIE (GC).....	28
5.2 NMR SPEKTROSKOPIE	28
6 METODY IZOLACE KÁVOVÉHO OLEJE	30
6.1 ÚPRAVY VZORKU PŘED IZOLACÍ OLEJE.....	30
6.1.1 Netermální plasma (NTP)	30
6.1.2 Úpravy pomocí ultrazvuku.....	30
6.2 SUPERKRITICKÁ FLUIDNÍ EXTRAKCE (SFE).....	31
6.3 SOXHLETOVA EXTRAKCE.....	33
6.4 ZRYCHLENÁ EXTRAKCE ROZPOUŠTĚDLEM (ASE).....	34
6.5 ULTRAZVUKOVÁ EXTRAKCE	34
6.6 DVOUFÁZOVÁ EXTRAKCE.....	36
6.7 LISOVÁNÍ OLEJE ZA STUDENA.....	36
7 TYPY VZORKŮ KÁVOVÉHO OLEJE	38
7.1 POUŽITÁ KÁVOVÁ SEDLINA (SCG).....	38

7.2	OLEJ ZE ZELENÉ KÁVY (GCO).....	39
8	OXIDAČNÍ STABILITA.....	41
8.1	VLIV PRAŽENÍ NA OXIDAČNÍ ZMĚNY KÁVOVÉHO OLEJE.....	41
8.2	VLIV SKLADOVÁNÍ NA OXIDAČNÍ STABILITU KÁVOVÉHO OLEJE	42
9	VYUŽITÍ OLEJE Z KÁVOVÝCH ZRN.....	44
9.1	VÝROBA BIONAFTY	44
9.1.1	Výroba bionafty z defektních kávových zrn	44
9.1.2	Výroba bionafty z kávové sedliny (SCG)	45
9.2	VYUŽITÍ JAKO SURFAKTANT.....	46
9.3	PŘÍPRAVKY NA OPALOVÁNÍ.....	47
9.4	POUŽITÍ V KOSMETICKÉM PRŮMYSLU.....	47
9.4.1	Kosmetické přípravky s kávovým olejem.....	48
II	PRAKTICKÁ ČÁST	51
10	VZORKY	52
10.1	KOMERČNÍ KÁVA.....	52
10.2	KÁVA Z ETIOPIE	52
10.3	KÁVA Z BURUNDI (MR. COFFEE)	52
10.4	KÁVA Z KENI	52
10.5	KÁVA Z BURUNDI (JAMAI CAFÉ).....	53
10.6	KOMERČNÍ VZORKY KÁVOVÝCH OLEJŮ	53
10.6.1	Kávový olej Renovality.....	53
10.6.2	BIO kávový olej Bewit.....	53
11	SOXLETOVA EXTRAKCE	55
12	STANOVENÍ JODOVÉHO ČÍSLA	57
13	ANALÝZA POMOCÍ PLYNOVÁ CHROMATOGRFIE.....	59
13.1	ESTERIFIKACE	59
13.2	PLYNOVÁ CHROMATOGRFIE	59
13.2.1	Komerční káva	60
13.2.2	Kávový olej izolovaný z kávových zrn z Etiopie.....	60
13.2.3	Kávový olej izolovaný z kávových zrn z Keni	61
13.2.4	Kávový olej izolovaný z kávových zrn z Burundi (Mr. Coffee).....	62
13.2.5	Kávový olej izolovaný z kávových zrn z Burundi (Jamai Café).....	63
13.2.6	Komerční BIO kávový olej Bewit.....	64
13.2.7	Komerční kávový olej Renovality.....	66
14	OXIDAČNÍ STABILITA.....	67
	ZÁVĚR	74
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	76
	SEZNAM OBRÁZKŮ	83

SEZNAM TABULEK.....	85
SEZNAM PŘÍLOH.....	86

ÚVOD

Káva patří mezi jednu z nejobchodovanějších komodit na světě. Její spotřeba s dobou neustále roste, a proto bych v této práci ráda rozebrala celou problematiku kávy od jejího růstu, složení přes izolaci kávového oleje až po jeho využití.

Rostlina kávovníku je rozšířena téměř po celém světě, kde jsou přijatelné podmínky pro její pěstování. Z hlediska složení kávovníkových zrn, konkrétně jejich lipidové frakce, je nejdůležitější zastoupení mastných kyselin, které jsou vázány v triacylglycerolech. Práce je zaměřena zejména na kávový olej a jeho izolaci. Jsou zde popsány metody, kterými je možno kávový olej získávat. Mezi nejvýznamnější metody patří především různé typy extrakce, jako je Soxhletova extrakce nebo superkritická fluidní extrakce. Několik kapitol je také věnováno analýze složek obsažených v kávovém oleji.

Aplikace kávového oleje je důležitá např. u výroby bionafty, kdy výroba bionafty z použité kávové sedliny nebo z defektních kávových zrn, může být dobrou alternativou k neobnovitelným zdrojům.

V praktické části byly zkoumány výtěžky kávového oleje pomocí Soxhletovy extrakce použitím dvou typů rozpouštědel a to petroletheru a chloroformu. Následně bylo složení získaných vzorků podrobena analýze pomocí plynové chromatografie. Testována byla také oxidační stabilita kávového oleje a bylo stanoveno jodové číslo.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 KÁVA

Káva je velmi oblíbeným nápojem díky své jedinečné chuti a chuťovým vlastnostem. [17] Považuje se za druhou nejjobchodovanější komoditu na světě (po ropě) a poskytuje zaměstnání asi dvaceti milionům lidí. [2] Kávu v současné době pije asi 80 % dospělé populace. Jedním z hlavních důvodů vysoké spotřeby kávy jsou různé formy přípravy kávy, které uspokojí různé požadavky spotřebitelů. Role jedinečných sensorických vlastností a její stimulační či fyziologické účinky by také neměly být přehlíženy. [44] Předpokládá se, že káva se původně vyvinula ve volné přírodě ve východní Africe a dostala se do mnoha různých kultur. Dnes se káva pěstuje ve více než sedmdesáti zemích světa. [13] Ročně se z jednoho kávovníku sesbírá 0,5–1,5 kg kávových zrn. Jedná se ale pouze o statistický odhad, který se mění v závislosti na podmínkách prostředí. [15] Největším světovým producentem kávy je Brazílie, která se na produkci kávy podílí asi z 30 %. Následuje Vietnam, který se podílí z 20 %, potom následuje Kolumbie a Indonésie. Významnými producenty kávy jsou také státy Jižní a Střední Ameriky, Afriky, Asie, Austrálie a Oceánie. [15] Podle Mezinárodní organizace pro kávu (ICO) jsou hlavními spotřebiteli kávy Evropa (33 %), Asie a Oceánie (22 %) a Severní Amerika (19 %). [44] Komerční káva je k dispozici jako směs dvou druhů kávových zrn. Jedná se o zrna *Coffea arabica*, které jsou dražší a *Coffea canephora*. Na trhu jsou k dostání také jednodruhové Arabiky, které jsou lahodnější, naopak Robusta má o něco horší chuť a je považována za méně kvalitní kávu než Arabika a to i přesto, že obsahuje více kofeinu. [11]

1.1 Historie kávy

Je pozoruhodné, jak se káva šířila po celém světě, nejdříve jako plodina a později jako nápoj. Kávovník je původem z Etiopie, ale raná historie jeho pěstování a používání kávy jako nápoje, je zaměřena na Arábii. [2]

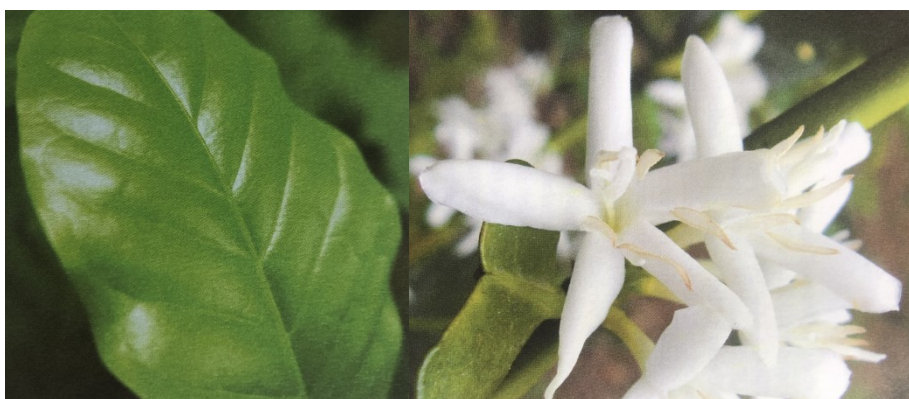
Nápoj byl do Evropy dovezen Turky kolem roku 1600 a brzy se stal populárním v mnoha zemích. Údajně se prodával v Římě v roce 1625 a první anglická kavárna byla otevřena v Oxfordu v roce 1650. Do roku 1675 byly v Anglii téměř tři tisíce kaváren. [2]

Historie šíření pěstování kávovníků není o nic méně velkolepá. Zpočátku Arabové, jako jediní poskytovatelé kávy, byli velmi tajemní, pokud šlo o původ jejich kávových zrn. Nejen, že zakázali cizincům navštěvovat jejich plantáže, ale také trvali na tom, aby veškerá vyvážená káva byla ponořena do vroucí vody, aby se zabránilo klíčení. Traduje se, že první rostliny byly ze země propašovány muslimským poutníkem z Indie v roce 1600, ale byli to

podnikaví Holanďané, kdo zahájil rozsáhlé pěstování kávy na Srí Lance v roce 1658. Další výsadba následovala na Jávě v roce 1696, což mělo za následek první malou komerční dodávku kávy, která v roce 1711 dorazila do Amsterodamu. Mezitím se v amsterodamské botanické zahradě podařilo vyprodukovat semena a sazenice těchto rostlin, později klasifikované jako *Coffea arabica* a jedna z nich se stala předkem většiny miliard stromů, které nyní rostou v Jižní a Střední Americe, Karibiku a nakonec v mnoha dalších zemích. Další komerčně důležitý druh, *Coffea canephora* (komerčně známý jako Robusta), je jedním z několika dalších druhů pocházejících z Afriky, odkud se nyní většina z nich získává. Bylo zjištěno, že v Ugandě, v povodí Konga a poblíž pobřeží západní Afriky, rostl tento druh divoce jen posledních sto let a nyní představuje asi 20 % světového vývozu. [2]

2 ZÁKLADNÍ CHARAKTERISTIKA KÁVOVNÍKŮ

Kávovník je vytrvalá vždyzelená dvouděložná rostlina patřící do čeledi *Rubiaceae*. V divokém stavu může dosáhnout výšky až 10 metrů, ale kávovníky pěstované na plantážích se prořezávají a mohou mít maximálně 3 metry. K prořezávání dochází kvůli tomu, aby se usnadnil sběr a udržel se optimální tvar stromu. Primární větve jsou protilehlé a listy rostou v párech na krátkých stoncích. U druhu *Coffea arabica* jsou listy dlouhé a měří asi 15 centimetrů. U druhu *Coffea canephora* mají listy oválný nebo kopinatý tvar lesklého a tmavě zeleného vzhledu. [2]



Obrázek 1: List a květ kávovníku [15]

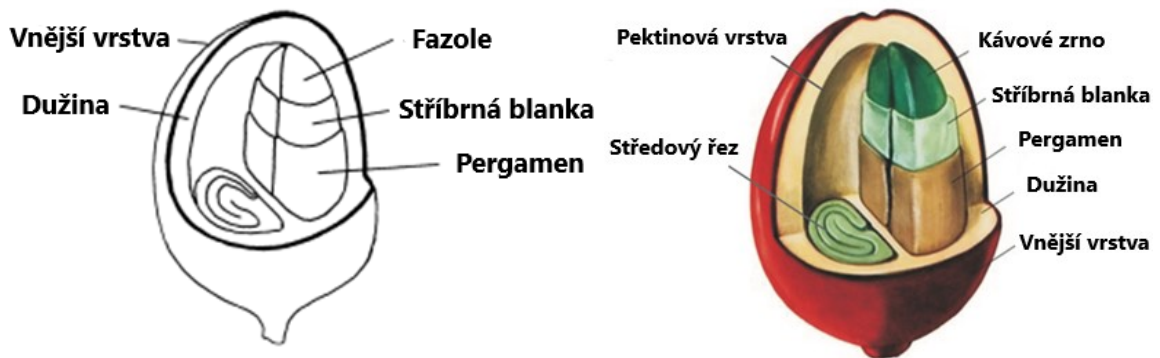
První květy se objevují po 3 až 4 letech, jsou krémově bílé a sladce vonící, objevují se ve shlucích. Koruna má délku asi 20 mm a horní část se obvykle dělí na pět okvětních lístků. U *Coffea canephora* dochází k rozmnožování pomocí křížového opylení, u *Coffea arabica* se jedná o samoopylení. Poté se ze semeníků pomalu stávají kávové třešně o délce až 18 mm a průměru 10 až 15 mm, nejprve zelené, které dozrávají do jasně červené barvy a v této fázi jsou připraveny ke sklizni. [2]



Obrázek 2: Kávové třešně v různém stádiu zralosti [15]

Kávové třešně jsou semena, která se skládají ze dvou částí a leží plochými stranami směrem k sobě. Každá fazole je pokryta těsně přiléhající blánou známou jako „silverskin“

neboli stříbrná blanka. Na vnějšku je blána o něco volnější a nažloutlá, která se nazývá pergamen, celá je obalena dužinou, která tvoří tělo třešně. [2]



Obrázek 3: Stavba kávového zrna [2,19]

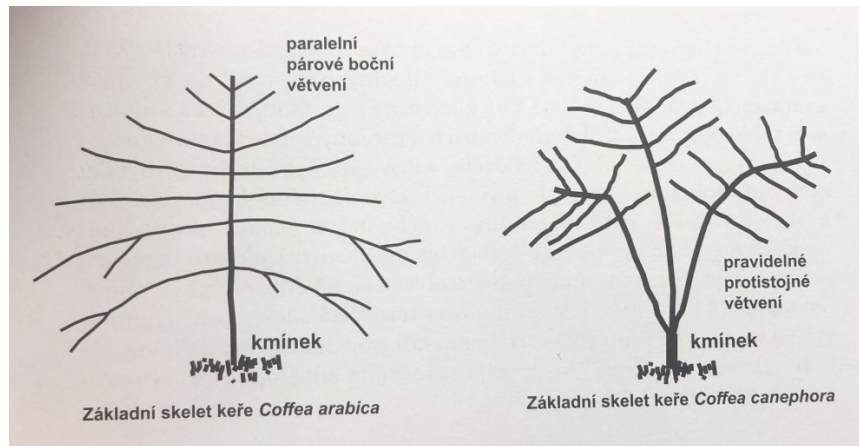
2.1 Výskyt kávovníků

Oblasti světa, ve kterých lze kávu komerčně pěstovat, jsou omezeny především teplotou, protože rostlinu lze snadno zničit mrazem. Takže oblasti, které jsou jižně nebo severně od obratníků, jsou z tohoto hlediska nevhodné. [2] Vysoké nadmořské výšky jsou považovány za ideální pro pěstování kávovníků, přičemž nižší teploty zpomalují růstový cyklus, což umožňuje třešním procházet delším procesem zrání a to vytváří mnohem plnější, bohatší a výraznější chuť. Tento prodloužený proces zrání také zajišťuje, že třešně jsou naplněny příchutěmi typickými pro region, ve kterém se pěstují. Třešně si s vysokou nadmořskou výškou uchovávají svou chuť při skladování déle, protože jejich prodloužený vývoj vytváří tvrdší třešně. Vědecké studie porovnávající třešně ve vysoké a nízké nadmořské výšce prokázaly, že třešně ve vyšší nadmořské výšce mají mnohem lepší tělo a aroma. Nadmořská výška, ve které se kávovník pěstuje, je navíc hlavním faktorem chemického složení fazole. [13]

Mezi druhy *Coffea arabica* a *Coffea canephora* je také významný rozdíl v tom, v jaké nadmořské výšce rostou. *Coffea arabica* lépe prospívá ve vyšších nadmořských výškách v rozmezí 800 až 2000 metrů. Naopak *Coffea canephora* preferuje spíše nižší nadmořské výšky v rozmezí 0 až 900 metrů. [14]

2.2 Odrůdy kávovníků

Komerčně jsou důležité dva druhy, *Coffea arabica* a *Coffea canephora*. Tyto dvě odrůdy jsou známy pod obchodním názvem Arabika a Robusta. [2]



Obrázek 4: Struktura keře *Coffea arabica* a *Coffea canephora* [15]

Coffea arabica, která představuje přibližně 80 % světové produkce, pochází z vysokých hor na jihu Etiopie, kde pořád roste jako divoká plodina a existuje v mnoha formách. [2]

Byly vyvinuty také hybridy odrůd *Coffea arabica* a *Coffea canephora*. Mezi nejznámější patří především Arabusta, vyšlechtěná v Pobřeží slonoviny. Cílem spojení těchto odrůd bylo spojit výbornou chuť Arabiky s vysokou odolností Robusty proti chorobám. Dosud se však nenachází ve významném množství na světovém trhu. [2]

Mezi dvěma nejrozšířenějšími odrůdami lze zaznamenat několik rozdílů. *Coffea canephora* roste v relativně nízkých nadmořských výškách, toleruje vyšší teploty, silnější srážky a vyžaduje vyšší obsah humusu v půdě než *Coffea arabica*. [2] Předpokládá se, že vyšší obsah kofeinu spolu s obsahem chlorogenových kyselin (přírodně se vyskytujících antioxidantů) je výsledkem mechanismu vlastní ochrany rostliny před škůdci a chorobami. [13] Zatímco zrna *Coffea arabica* jsou zelené až světle zelené barvy a oválného tvaru, *Coffea canephora* má zrna kulatější a jejich barva je zelená až nahnědlá. [2] Káva Arabika je kvalitnější než káva Robusta a má také nižší obsah kofeinu. [11] Je však důležité si uvědomit, že i v rámci jednoho druhu kávy způsobí různé a často nepředvídatelné podmínky růstu a způsobu zpracování různý chuťový profil ve výsledném šálku. Na chuťovém profilu se také podílí jak stupeň a průběh pražení, tak i skladování kávovníkových zrn. [13]



Obrázek 5: Zrno *Coffea arabica* a *Coffea canephora* [19]

2.3 Zpracování kávovníkových zrn

Po sklizni se kávovníkové třešně zpracovávají, aby se ze zelených semen odstranily vrstvy slizu a buničiny. Semena se dále suší na specifický obsah vlhkosti. [13]

Existují dva základní způsoby zpracování kávovníkových zrn, konkrétně suchá metoda a mokrá metoda. V současné době se stává více populární také třetí metoda zpracování tzv. polopromývaná metoda. [13]

2.3.1 Suchá metoda

Tento způsob zpracování kávovníkových zrn, známý také jako přírodní metoda, se často používá v zemích s omezeným přístupem k vodě. Tato metoda vyžaduje malé strojní zařízení a je nejstarším a nejtradičnějším způsobem zpracování kávy. [13]

Kávovníková zrna jsou ponechána na stromě poněkud déle. Listy a další nežádoucí materiál může být odstraněn na plantážích a kávovníková zrna jsou následně transportována na sušicí plochu, která by v ideálním případě měla být z hladkého betonu, ale malí zemědělci často zrna rozloží na rohože umístěné na holé zemi. Hloubka vrstvy kávovníkových zrn vystavená slunci obvykle nepřesahuje 5 cm. Je nutné zrna obracet hrabáním několikrát denně, aby bylo dosaženo účinného a rovnoměrného sušení. V noci za vlhkého počasí se káva shromažďuje na hromadách a zakrývá se. Sušení trvá přibližně 3 týdny nebo déle, než se sníží obsah vlhkosti zrna na optimálních 12 %. Poté jsou kávovníková zrna připravena přejít do další fáze. [2,15]

Tímto způsobem se zpracovává většina kávových zrn odrůdy *Coffea canephora* a také kávová zrna *Coffea arabica* pocházející z Brazílie. [13,15]

2.3.2 Mokrý metoda

Zpracování pomocí mokré metody se obvykle používá pouze v bohatších oblastech pěstování kávy, protože vyžaduje velké množství vody a řadu drahých strojů. Jelikož se jedná převážně o strojově řízený proces, dochází k výrobě kvalitnější kávy, protože je snížen počet defektních zrn, která se díky lidské chybě mohou dostat do konečné dávky. [13]

Zrna se umístí do nádrží na vodu, nejprve se umyjí a poté jsou transportovány vodními kanály. Dochází k flotační separaci, kde jsou zrna tříděna podle velikosti a zralosti. Zrna dále prochází mezi pevnou a pohyblivou plochou, kdy stroj odstraňuje slupku a ponechává pouze semena a sliz. Ve fermentačních nádržích se zrna nechají fermentovat po dobu 12 až 80 hodin, v závislosti na různých vlastnostech každé plodiny. Přítomné enzymy potom rozkládají sliz na povrchu zrn. Někdy se přidává voda, ale obecně vlhkost ze samotného slizu vytvoří prostředí, které je pro fermentaci ideální. V některých případech se sliz může oddělovat také mechanicky. [13,15]

Kávové zrno ponechané uvnitř pergamenového povlaku se opláchne, aby se odstranil veškerý zbývající sliz, a následně se zahájí proces sušení. Zrna se potom suší na slunci stejným způsobem jako u suché metody nebo se mohou sušit v mechanických sušičkách a to do té doby, dokud není vlhkost v rozmezí 10–12 %. V tomto okamžiku jsou kávová zrna označována jako pergamenová káva díky žluté pergamenové vrstvě připojené k zrnu. [13]

Poslední fází je loupání, které probíhá za účelem odstranění pergamenu a odhalení zelených kávových zrn pod nimi. Poté jsou připravena k odeslání do pražičen, extraktorů a k výrobcům rozpustné kávy. [13]

Mokrou metodou se zpracovává asi 50 % světové kávy. Tato metoda snižuje znehodnocení a snížení kvality v důsledku lidské chyby nebo podmínek prostředí, protože lze řídit každou fází tohoto procesu. [13,15]



Obrázek 6: Promývání kávovníkových zrn během zpracování pomocí mokré metody [15]

2.3.3 Polopromývaná metoda

Novějším způsobem zpracování kávy je napůl promytá nebo drcená přírodní metoda, která je v některých ohledech kombinací dvou předchozích metod. Používá se hlavně k výrobě speciální kávy a vyvinula se v důsledku experimentů, které vyvolaly popularitu a celosvětovou poptávku po kávě. [13,15]

Polopromývaná metoda se provádí stejným způsobem jako mokrá metoda, dokud se zrna nerozdrtí a poté se zrna suší se stále připojeným slizem, přičemž se vynechá fáze fermentace. Protože lepkavá vrstva slizu zabraňuje mechanickému vysychání semen, musí se zrna sušit na slunci, což má za následek vlastnosti podobné těm, které se vyrábějí tradičním způsobem. [13,15]

Všechny kávy, které si během procesu sušení udrží tuto vrstvu slizu, se označují jako polopromývané, avšak způsob zpracování se v jednotlivých zemích, kde se káva vyrábí, liší. To vedlo v průmyslu k určitému zmatku ohledně toho, co přesně tento pojem znamená. [13]

Existuje řada zdánlivě drobných prvků ve zpracování kávy, které mohou vést k zásadním změnám konečného produktu. Například kávová zrna, která se suší rychle za stabilních podmínek prostředí, mají obecně čistší a ostřejší chuť než ta, která se suší pomalu a mají ovocnou chuť. Metoda zpracování je možná jedním z nejdůležitějších ovlivňujících faktorů v případném chuťovém profilu kávového zrna. [13]

3 LIPIDOVÁ FRAKCE KÁVOVNÍKOVÝCH ZRN

Lipidy patří z kvantitativního hlediska mezi nejdůležitější složky zelených kávových zrn. Ve vyzrálém kávovém endospermu jsou přítomny ve formě olejových tělísek fungujících jako energetická rezerva využívaná během klíčení. [3] Lipidy zelených kávových zrn se skládají z kávového oleje, který se nachází v endospermu a malého množství kávového vosku umístěného ve vnějších vrstvách zrna. Kávový olej obsahuje nejen TAG, ale také značný podíl dalších lipidových složek, které jsou charakteristickým a důležitým rysem tohoto oleje. [3] Dva komerčně dostupné druhy kávy *Coffea arabica* a *Coffea canephora* obsahují 7–17 % lipidů. [3] Průměrné rozsahové hodnoty pro procentuální obsah kávového oleje v zelené kávě byly uvedeny v řadě studií, zejména Maier, Poisson, Clifford a Streuli. Tyto studie jsou založeny na individuálních experimentálních stanoveních různými pracovníky. Existuje evidentní rozdíl v obsahu na základě druhů kávy, např. Streuli uvádí, že káva Arabika má průměrný obsah $15 \pm 0,78$ % a káva Robusta má průměr $10 \pm 1,41$ % kávového oleje. [2] Hodnoty obsahu oleje v pražených zrnech jsou vyšší ve srovnání s hodnotami v zelených zrnech kvůli celkové ztrátě obsahu sušiny při pražení, která se liší podle stupně pražení. Ztráta skutečné lipidové hmoty je však nízká. [4] Lipidy v kávě působí také jako nosiče příchutí, protože přidání praženého kávového oleje do instantní kávy zlepšuje její chuť a zabraňuje fragmentaci granulí. [44]

Kávový vosk je obecně definován jako materiál získaný krátkou extrakcí nemletých zrn chlorovaným rozpouštědlem. Obsah vosku je asi 0,25 % v zelené kávě, a proto tvoří 1,5–2,5 % z celkového kávového oleje. [2] Další studie uvádí obsah vosku pohybující se v rozmezí od 0 do 2,8 %. Vosk může být zodpovědný za nepříjemný pocit po pití některých káv. Tato negativní vlastnost má však pozitivní stránku v tom, že tato látka má antioxidační vlastnosti a je také zdrojem serotoninu, který se získává pomocí speciálních separačních technik jako je např. kapalinová chromatografie. [17]

Z hlediska složení je kávová lipidová frakce extrémně složitá. Je tvořena především triacylglyceroly (TAG) s profilem mastných kyselin podobným profilu běžných jedlých olejů. [3] Další složky přítomné v lipidové frakci jsou diterpeny, steroly, tokoferoly a fosfatidy. Bylo vypracováno několik studií, které uvádějí stejné složky, které se však mírně liší procentuálním zastoupením jednotlivých složek, jak je možno vidět v tabulce 1. [2]

Tabulka 1: Složení lipidové frakce kávových zrn

Složka	Zastoupení daných složek [%]		
	Maier [2]	Oliviera [8]	Farah [4]
TAG	75,2	75,2	74,9
Estery diterpenů a mastných kyselin	18,5	18,5	18,1
Volné diterpeny	0,4	0,4	0,4
Estery sterolů	3,2	3,2	2,6
Volné steroly	2,2	2,2	2,1
Tokoferoly	0,04–0,06	0,04–0,06	0,1
Fosfatidy	0,1–0,5	0,1–0,5	0,4

3.1 Triacylglyceroly

Kávový olej se skládá především ze směsi TAG jako hlavních složek. Rozdíly v TAG a jejich složení jsou zodpovědné za fyzikální a chemické vlastnosti oleje. Složení TAG se liší v závislosti na druhu rostliny, zralosti, environmentálních faktorech (např. kvalita půdy a klimatické podmínky) a technologii zpracování používané při extrakci oleje. [40] Hodnocení druhů TAG je tedy důležité pro pochopení jejich chemických a fyzikálních vlastností, protože samotné složení mastných kyselin plně neodráží jejich nutriční kvalitu a stabilitu olejů. [43]

TAG se skládá ze tří mastných kyselin esterifikovaných na centrální glycerolovou část. To, jak jsou mastné kyseliny rozmístěny v molekule TAG, ovlivňuje vlastnosti oleje, jako je krystalizace, oxidační stabilita nebo bod tání. [40]

3.2 Mastné kyseliny

Složení mastných kyselin určuje fyzikální a chemické vlastnosti oleje. Mastné kyseliny se skládají z uhlovodíkových řetězců ukončených karboxylovou skupinou. V rostlinných olejích obsahují mastné kyseliny obvykle sudý počet uhlíků. [40]

Mastné kyseliny kávových zrn jsou jednou z hlavních složek, které určují kvalitu kávy. Složení mastných kyselin je ovlivněno také složením půdy a nadmořskou výškou. Obsah mastných kyselin klesá s rostoucí nadmořskou výškou. Srovnání mastných kyselin se používá také jako nástroj pro rozlišení jednotlivých odrůd kávy. [22]

Mastné kyseliny se v oleji nacházejí v TAG a malá část je přítomna také ve formě volných mastných kyselin. [22]

Folstar ve své studii uvádí, že hlavní mastné kyseliny, které se nachází v zelených kávových zrnech, jsou kyselina linolová, palmitová, olejová, stearová, linolenová, arachidová a myristová. Další autoři jako např. Oliviera nebo Dussert uvádí stejné zastoupení mastných kyselin. Údaje se nepatrně liší v procentuálním zastoupení, které je uvedeno v tabulce 2. [17]

Tabulka 2: Zastoupení mastných kyselin [17]

Mastná kyselina	Zastoupení mastných kyselin [%]		
	Folstar	Oliviera	Dussert
Linolová	41,2–42,6	44	45,2
Palmitová	35,2–36,7	34	33,4
Olejová	9,5–11,9	9	8,9
Stearová	7,2–9,7	7	7,0
Linolenová	1,3–2,7	3	1,7
Arachidová	0,3–1,5	1,5	2,2
Myristová	0,2	–	–
Behenová	–	0,7	–

Mnoho studií bylo zaměřeno na identifikaci možných ukazatelů pro rozlišení mezi odrůdami *Coffea arabica* a *Coffea canephora* ve směsích, ale parametry jako stupeň pražení kávy silně ovlivnily výsledky, což ztěžuje rozlišení a kvantifikaci odrůd ve směsi. Hlavním rozdílem v zastoupení mastných kyselin v obou odrůdách byl obsah kyseliny linolové a α -linolenové, který byl výrazně vyšší v *Coffea arabica*. Naopak v *Coffea canephora* byla ve větším množství zastoupena kyselina olejová. [11] Je třeba zdůraznit, že v kávách Arabika a Robusta proces pražení zvyšuje hladinu *trans*-mastných kyselin, konkrétně obsah C18:2. [4]

3.2.1 Vliv pražení na složení mastných kyselin

Ve studii Budryn a kolektiv byla provedena analýza složení mastných kyselin, respektive vliv pražení na složení mastných kyselin. Bylo dokázáno, že kávový olej se skládá z podobného podílu SFA (asi 45 %), jejichž hlavním představitelem je kyselina palmitová a PUFA (asi 45 %), vedené kyselinou linolovou. Při zvažování nutriční hodnoty je velmi důležitý zejména podíl PUFA. MUFA představují asi 10 % kávového oleje. Tyto výsledky

jsou v souladu se studií Alves a kolektiv nebo Speer a kolektiv, kteří stanovili obsah SFA v rozmezí 40,5–43,2 %, zatímco MUFA a PUFA na 7,2–12,9 %, resp. 42,6–47,7 %. Obsah frakcí mastných kyselin v odrůdě Arabika je na podobné úrovni, např. ve studii Nikolova a kolektiv bylo získáno 46,2 % SFA, 8,6 % MUFA a 45,3 % PUFA. [23]

Podmínky pražení ovlivnily složení kávového oleje v malé míře. Pozitivní účinky však byly pozorovány při použití kombinace vysoké teploty a vysoké vlhkosti vzduchu. Při pražení při 210 °C a při vysoké vlhkosti vzduchu byl obsah PUFA statisticky nejvyšší, tj. kolem 45,5 %. Příznivé byly také velmi mírné podmínky pražení, ale za těchto podmínek nebyla zrna plně pražena, což bylo zjištěno sensorickým hodnocením aroma, takže bylo relativně snadné udržovat vysoký obsah nenasycených mastných kyselin. [23]

Určité podmínky pražení kávy upřednostňovaly tvorbu malého množství *trans*-mastných kyselin, včetně kyseliny *trans*-linolové a *trans*-hexadecenové. Maximální množství bylo pozorováno u zrn pražených při 203 °C na vlhkém vzduchu, kde obsah mastných kyselin s *trans* konfigurací byl blízky 0,1 % kávového oleje. Podobné složení mastných kyselin v kávovém oleji našel také Alves a kolektiv. Našel malé množství *trans* mastných kyselin i v zelených zrnech. Jednalo se o *trans*-linolové a *trans*-linolenové kyseliny ve dvou izomerních formách. Jejich celkový obsah v zeleném oleji Robusta byl přibližně 0,1 % a v pražených zrnech asi 0,3 %. Další studie od Villareal a kolektiv uvádí také podobné množství mastných kyselin, avšak přítomnost *trans*-mastných kyselin nebyla prokázána. Odlišné výsledky jsou způsobeny specifickými podmínkami extrakce oleje, což potvrdila studie Couto a kolektiv, který k extrakci oleje použil jinou teplotu a tlak rozpouštědla. Podle doporučení odborníků na výživu by příjem *trans*-mastných kyselin neměl překročit 2 g/den. [23]

3.2.2 Volné mastné kyseliny

Přítomnost volných mastných kyselin (FFA) v kávě byla popsána různými autory. Přesto byla všechna tato data vyjádřena hodnotou čísla kyselosti, což je běžný, ale nepřímý postup stanovení používaný při analýze tuku. V případě kávy je tato titrační metoda pouze velmi přibližná, protože zahrnuje nejen samotné volné mastné kyseliny, ale i další kyselé sloučeniny. Proto Speer a kolektiv vyvinuli metodu pro přímé stanovení volných mastných kyselin. Pomocí gelového chromatografického systému lze kávové lipidy extrahované terciálním butyl(methyl)etherem rozdělit na tři jednotlivé frakce. První frakcí je frakce s TAG, dále je to frakce obsahující estery diterpenových mastných kyselin a frakce

s volnými mastnými kyselinami. Frakce s volnými mastnými kyselinami byla následně převedena na metyl-estery a stanovena pomocí plynové chromatografie. [4]

Bylo detekováno 9 volných mastných kyselin, které jsou rovnoměrně rozloženy v kávách Robusta i Arabika. U obou druhů kávy byly hlavními volnými mastnými kyselinami kyselina linolová a palmitová. Dále byly ve větším množství přítomny kyselina stearová, olejová, arachová a behenová. Bylo detekováno také stopové množství kyseliny myristové, linolenové a lignocerové. [4]

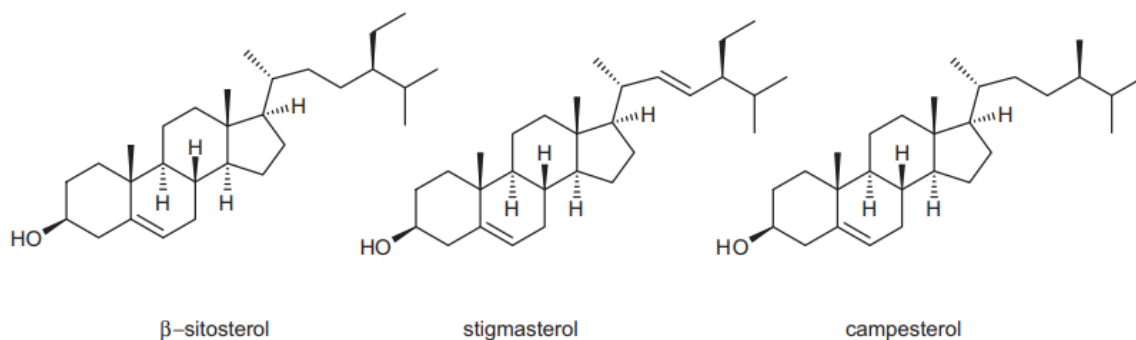
Rozdíly mezi Arabikou a Robustou se stanou viditelnými až po srovnání obsahu kyseliny stearové a kyseliny olejové. Zatímco podíl kyseliny stearové je v Robustě patrně menší než podíl kyseliny olejové, procentuální obsah těchto dvou kyselin v kávě Arabika je téměř stejný. Poměr kyseliny stearové a olejové může poskytnout první známku toho, že směs obsahuje také Robustu. [4]

3.3 Nezmýdelnitelná frakce

Kávová zrna obsahují významné množství nezmýdelnitelných látek. Podle studie, kterou uvedli autoři Khan a Brown, se obsah nezmýdelnitelných látek v kávovém oleji značně liší od většiny rostlinných olejů a může dosáhnout až 12 %. Podle Laga a Antoniassiho komplikuje vysoký obsah nezmýdelnitelných látek čištění a způsobuje, že si olej zachovává barevné a pachové vlastnosti, které jsou pro potravinářský průmysl nežádoucí. [17] Relativně velká nezmýdelnitelná frakce je bohatá na diterpeny, zejména na kafestol, kahweol a 16-O-methylkafestol, které si v posledních letech získávají stále větší zájem kvůli jejich různým fyziologickým účinkům [4] Přes jejich příznivé účinky, včetně antikarcinogenních vlastností, byly také spojeny s negativními důsledky, jako je zvýšení hladiny cholesterolu v krvi. [44] Dále je 16-O-methylkafestol spolehlivým indikátorem přítomnosti zrn Robusty v kávových směsích. [4]

Kávový olej obsahuje také řadu sterolů. Většina z nich je typická i pro jiné oleje ze semen. Kromě 4-desmethylsterolů byly identifikovány různé 4,4-dimethylsteroly. Desmethylsteroly představují 90 % celkové sterolové frakce, která se podle Picarda a kolektivu pohybuje v rozmezí 1,5–2,4 % lipidů. Nagasampagi a kolektiv uvádějí ještě vyšší obsah (5,4 %). Hlavním steroidem je β -sitosterol (asi 50 %), následovaný stigmasterolem a kampasterolem, přičemž druhý uvedený se vyskytuje ve vyšších koncentracích v kávě Robusta. [4] Obvykle se po extrakci kávového oleje lipidy saponifikují a steroly přítomné v nezmýdelnitelné frakci jsou odděleny TLC, přeměněny na

derivát trimethylsilanu a analyzovány plynovou chromatografií s plameno-ionizačním detektorem. [25]

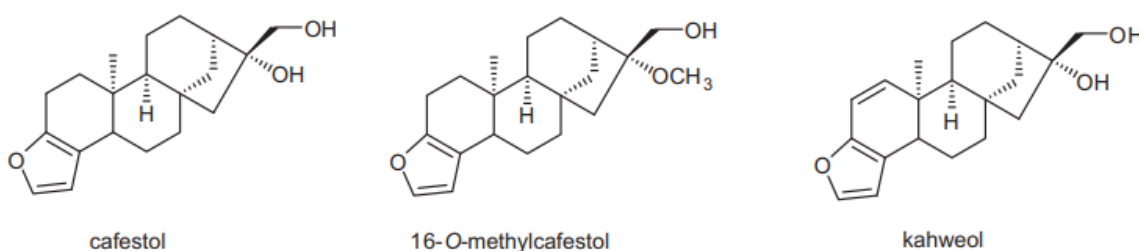


Obrázek 7: Struktura β-sitosterolu, stigmasterolu a campesterolu [25]

Folstar a kolektiv poprvé popsali přítomnost tokoferolů v kávovém oleji, kdy byl jasně identifikován α-tokoferol. [4]

3.3.1 Diterpeny

Mezi dva nejdůležitější estery terpenů obsažené v kávových lipidech patří kahweol a kafestol. [9] Tyto dva pentacyklické diterpeny existují většinou jako palmitátové a linolátové estery. Existují však také jako estery jiných mastných kyselin. Zatím bylo identifikováno 14 různých esterů mastných kyselin s kafestolem a 12 různých esterů mastných kyselin s kahweolem. Protože izolace kahweolu a kafestolu jako esterů mastných kyselin z různých matric je zdoluhavý proces, běžnou metodou je zmýdelnění nebo transesterifikace těchto esterů. Zmýdelnění nebo transesterifikace je kritickým krokem vzhledem k citlivosti furanové části těchto sloučenin na kyseliny, zásady a oxidanty. Tento problém je spojen s postupem zahřívání, který se běžně používá k získávání volných diterpenů. Množství kafestolu a kahweolu, které lze získat ze zeleného kávového oleje, se pohybuje v rozmezí 31,2–35,4 g/kg oleje pro kafestol a 21,9–26,7 g/kg oleje pro kahweol. [12] U těchto sloučenin byly zjištěny antikarcinogenní účinky a jsou spojeny s aplikacemi v krémech na opalování. [9]



Obrázek 8: Struktura kafestolu, 16-O-methylkafestolu a kahweolu [25]

Káva Arabika obsahuje kafestol a kahweol a káva Robusta obsahuje kafestol, ale pouze malé množství kahweolu a navíc 16-O-methylkafestol. Je třeba zmínit, že ačkoliv 16-O-methylkafestol nebyl detekovatelný v kávových zrnech Arabika, byl nalezen v jiných částech rostliny, např. v listech. [4, 25]

Ve volné formě se diterpeny kafestol, kahweol a 16-O-methylkafestol vyskytují v kávovém oleji pouze jako vedlejší složky. Jejich kvantifikace vyžaduje účinnou metodu separace lipidové frakce od hlavních sloučenin, zejména esterů diterpenů a TAG, které interferují s analýzou. Pomocí gelové permeační chromatografie lze frakci volných diterpenů analyzovat následnou RP-HPLC. Podíly volných diterpenů s celkovým obsahem každého z nich jsou obvykle menší než 3,5 %. [4]

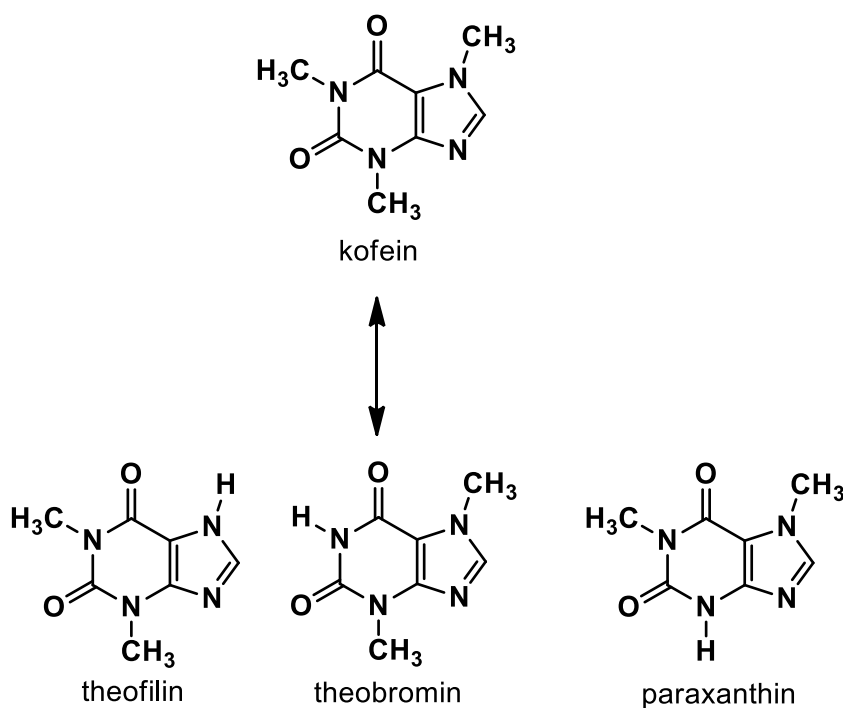
4 KOFEIN

Čistý kofein je bílý, hořký prášek bez zápachu. Je to heterocyklická organická sloučenina, která patří do skupiny látek nazývaných purinové alkaloidy. U lidí má mírné močopudné vlastnosti a působí jako mírný stimulant na nervový, oběhový a dýchací systém. [13]

Jakmile se kofein dostane do těla, vstřebává se trávicím traktem a zůstává v organismu po dobu 4 až 6 hodin. Když se dostane do jater, je metabolizován na tři sloučeniny. Většina kofeinu se přemění na paraxanthin, který zvyšuje rozpad lipidů v krvi. Malé množství se přemění na teobromin. Třetí sloučeninou je teofylin, který uvolňuje hladké svalstvo (v zažívacím a dýchacím systému). Výsledkem je zrychlení srdeční frekvence, svaly dostávají více krve na úkor orgánů. Protože je kofein rozpustný v tucích i ve vodě, prochází hematoencefalickou bariérou. [13]

Přestože kofein není návykový, u lidí konzumujících více než 4 až 5 šálků kávy denně, se může vyvinout mírná fyzická závislost. To může být doprovázeno abstinencií příznaky, když je konzumace kávy náhle zastavena, jako jsou bolesti hlavy, únava, podrážděnost nebo úzkost, ale příznaky obvykle ustoupí během několika dní. [13]

Průměrný obsah kofeinu v oleji ze zelené kávy je 2,1–2,7 g/kg oleje. [3]



Obrázek 9: Metabolismus kofeinu, překresleno podle [13]

5 ANALYTICKÉ POSTUPY PRO URČENÍ SLOŽENÍ KÁVOVNÍKOVÝCH ZRN

I přes důležitou roli, kterou hrají kávové lipidy v biologii zrn, fyziologii člověka a průmyslových aplikacích, jsou studie zaměřené na komplexní chemické charakterizace těchto složek kávy na několika vzorcích zeleného kávového oleje stále poměrně vzácné. Jednou z nevýhod při získávání kvalitativních a kvantitativních údajů o kávovém oleji může být vysoký obsah nezmýdelnitelných látek, a tedy nutnost uchýlit se k různým experimentálním přístupům založeným na klasických analytických přístrojích (GC, HPLC), které mohou být relativně časově náročné, pracné a zdlouhavé. [3]

5.1 Plynová chromatografie (GC)

Plynová chromatografie je po mnoho let základním nástrojem pro analýzu mnoha složek rostlinných olejů. Plynový chromatograf je často spojen s detektorem hmotnostní spektrometrie (MS). Hlavní výhodou tohoto detektoru je, že umožňuje identifikaci sloučenin na základě poměru hmotnosti k náboji (m/z) a relativního množství molekulárních a fragmentovaných iontů vznikajících z elektronové ionizace, běžně při 70 eV. GC ve spojení s MS se z velké části používá pro charakterizaci mastných kyselin, triacylglycerolů, těkavých sloučenin a fytosterolů. [40]

GC je vhodnější pro analýzu těkavých sloučenin. GC může někdy analyzovat méně těkavé sloučeniny, což obvykle vyžaduje derivatizaci před analýzou, což vede k těkavějším produktům, i když to zvyšuje složitost metody a prodlužuje přípravu vzorku. [40]

Složení mastných kyselin se stanovuje po převedení na jejich methylestery (FAME), čímž se přemění do těkavé formy vhodné pro analýzu na GC. Esterifikace a transesterifikace katalyzovaná kyselinou nebo zásadou jsou široce použitelné metody derivatizace. Identifikace TAG je obtížná, protože chybí dostatečná selektivita pro mnoho různých molekul TAG, které mají podobné fyzikální a chemické vlastnosti. Identifikace TAG podle GC vyžaduje buď retenční čas odpovídající autentickým standardům TAG, nebo interpretaci hmotnostního spektra. [40]

5.2 NMR spektroskopie

NMR spektroskopie je založena na integraci charakteristických NMR signálů, vybraných díky jejich podobným vlastnostem a proto, že spadají do podobných spektrálních oblastí.

Kvantifikace TAG spolu s jejich složkami mastnými kyselinami a vedlejšími druhy je při použití spektroskopie dosažena za méně než 1 hodinu. Získané údaje o složení jsou v rozumné shodě s klasickými chromatografickými analýzami. [3]

6 METODY IZOLACE KÁVOVÉHO OLEJE

6.1 Úpravy vzorku před izolací oleje

Cílem úpravy vzorků je zlepšit účinnost extrakce a kvalitu oleje. K tomuto dojde na základě otevření nebo degradace buněčné membrány zrn z požití kávové sedliny (SCG) před extrakcí rozpouštědlem, aby se zvýšila penetrace rozpouštědla a uvolnění oleje. [36]

6.1.1 Netermální plasma (NTP)

Non-thermal plasma je částečně ionizovaný plyn produkovaný vysokonapěťovým elektrickým výbojem, který způsobuje tvorbu a samovolné šíření elektronů, ionizovaných chemických látek a UV záření. [35, 37] Během výboje plazmy dochází k několika synergickým účinkům včetně přímé chemické interakce membrány endospermových buněk s reaktivními druhy kyslíku (ROS) a dusíku (RNS). [36]

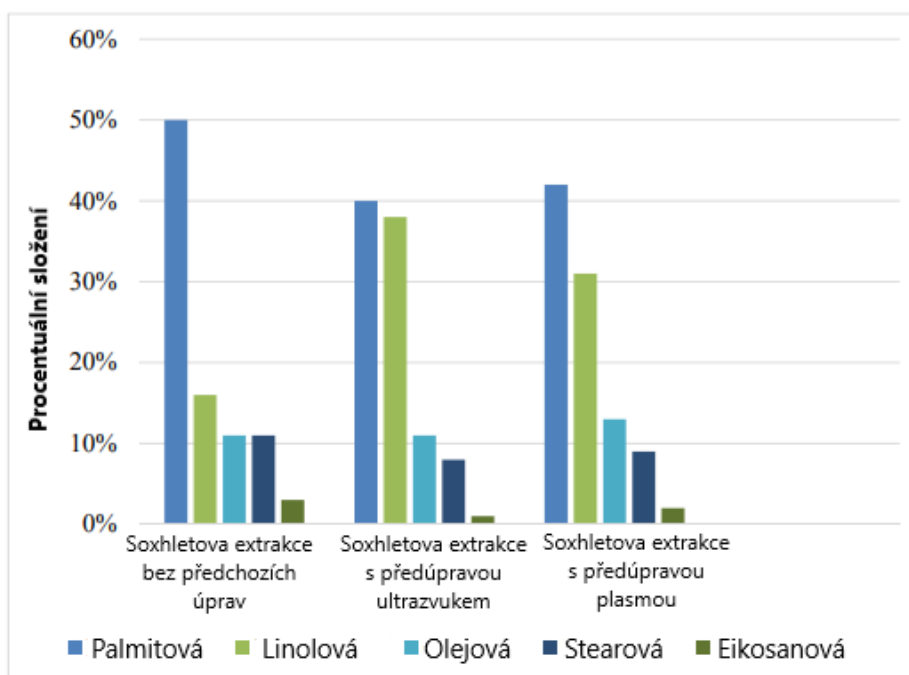
Non-thermal plasma je známá jako všestranná technologie, kterou lze aplikovat na pevné povrchy za účelem leptání a eroze a zvýšení pórovitosti a smáčitelnosti ve vodě. Také může vyvolat oxidační reakce a rozklad ve vodním prostředí. Použití NTP na pevný SCG ve vodním médiu jako postupu úpravy před Soxhletovou extrakcí by proto mohlo zlepšit účinnost extrakce a kvalitu a množství účinných sloučenin získaných z SCG. Extrahovaný olej s předúpravou pomocí plasmy také vykazuje vysoké hodnoty antioxidačního potenciálu. [36]

Podle studie Cubas a kolektiv zvýšila úprava vzorku před extrakcí pomocí NTP výtěžek extrakce o dvojnásobek ve srovnání s extrakcí bez předchozích úprav. Oproti úpravě pomocí ultrazvuku se výtěžek oleje zvýšil téměř o 30 %. [36]

Celkově je aplikace NTP velmi atraktivní a šetrná k životnímu prostředí, funguje při nízkých teplotách a má relativně nízké provozní náklady. [36]

6.1.2 Úpravy pomocí ultrazvuku

Úprava vzorků pomocí ultrazvuku vede k indukci rozpadu buněčných membrán SCG za účelem uvolnění zapouzdřeného oleje. Proces úpravy vzorků pomocí ultrazvuku před extrakcí přitahuje stále větší pozornost díky vyšší účinnosti, zkrácení doby extrakce a lepší kvalitě extrahovaného oleje v porovnání s konvenčními extrakčními technikami. [36]



Obrázek 10: Graf procentuálního zastoupení vybraných mastných kyselin neošetřeného vzorku a vzorků ošetřených plasmou a ultrazvukem [36]

Obrázek 10 ukazuje kyselinu palmitovou, kyselinu linolovou, kyselinu olejovou, kyselinou stearovou a kyselinu eikosanovou identifikované v chromatografické analýze s příslušným procentuálním podílem. Z výsledků u mastných kyselin přítomných ve vzorcích extrahovaného oleje lze vysledovat, že poměr mezi kyselinami získanými ze vzorků předem ošetřených ultrazvukem a plasmou je podobný. Lze také pozorovat, že ošetření vzorků před extrakcí výrazně zvyšuje zastoupení kyseliny linolové. [36]

6.2 Superkritická fluidní extrakce (SFE)

Superkritická fluidní extrakce (SFE) byla během posledních desetiletí velmi často používána při extrakci sloučenin přítomných s nutričními, antioxidačními, antikarcinogenními a antimikrobiálními vlastnostmi, zejména v potravinářském, farmaceutickém a kosmetickém průmyslu. [8] Extrakce pomocí superkritického oxidu uhličitého (scCO_2) poskytuje extrakty neobsahující rozpouštědla. Oxid uhličitý se řadí mezi bezpečná rozpouštědla. Je levný, netoxický, inertní a vhodný pro extrakci termolabilních sloučenin. [5] Kromě toho je nepolární a obecně uznávaný jako bezpečný pro použití v potravinářském průmyslu. SFE je alternativou k běžným procesům jako je extrakce rozpouštědly (vysoké náklady na organická rozpouštědla), destilační separace (vysoké teploty) a mechanické lisování (nízký výtěžek). [8] Vzhledem k tomu, že se jedná

o nepolární rozpouštědlo, používá se k extrakci bioaktivních sloučenin s vysokou polaritou (jako jsou např. fenolické sloučeniny). Navíc je možné přidat další polární rozpouštědlo (ethanol nebo methanol) do extrakčního systému za účelem zvýšení rozpustnosti polárních bioaktivních sloučenin, což vede ke zlepšení výtěžnosti požadovaných sloučenin. [20]

Rozpustnost sloučenin v superkritických tekutinách závisí hlavně na dvou faktorech. Jeden se týká tlaku, který zvyšuje hustotu superkritické tekutiny, čímž zvyšuje její sílu rozpouštědla nebo její solubilizační schopnost. Druhá se týká teploty, která ovlivňuje vlastnosti rozpouštědla, hustotu a také vlastnosti rozpuštěné látky, zejména tlak par. [8]

Mletá káva se vloží do koše válcového extraktoru. Řízení průtoku, tlaku a teploty v extraktoru jsou stanoveny pomocí softwaru, který řídí ABRP a čerpadlo, přičemž se udržuje konstantní průtok a tlak. Software také řídí výměník tepla, který před vstupem do extraktoru přehřívá stlačený CO₂ na požadovanou teplotu extrakce a poté udržuje systém na konstantní teplotě. Během testů je ABRP udržován zavřený, dokud teplota a tlak nejsou stabilní. Při dodržování statické periody 20 minut je otevřen ABRP a je udržována konstantní průtoková rychlost. Sběr extraktu se provádí v pravidelných intervalech ve sběrači skleněné láhve. Extrakt je expandován za podmínek okolní teploty a tlaku a kontinuálně separován od plynu. Celkovým výtěžkem extrakce je potom množství rozpustných sloučenin v scCO₂, které lze odstranit za podmínek teploty a tlaku. [8]

Ve vědecké literatuře existují některé studie, které uvádějí extrakci kávového oleje z SCG pomocí SFE při různých teplotách a tlacích. Georgieva a kolektiv provedli extrakci kávového oleje při 40 MPa a výtěžek oleje byl přibližně 10 %, což je obdobná hodnota jako výtěžek získaný stejnými autory při použití hexanu jako rozpouštědla pomocí Soxhletova systému. Andradeem a kolektiv prováděli extrakce při různém tlaku a to při 10, 20 a 30 MPa. Těmto tlakům potom odpovídaly výtěžky 9,43 % pro 10 MPa, 9,10 % pro 20 MPa a 9,80 % pro 30 MPa. [5] Muangrat a kolektiv provedli studii, ve které byly použity teploty 40, 50 a 60 °C a tlaky 17,5, 20 a 22,5 MPa. Jak je vidět v tabulce 3, nejvyšší výtěžek byl pozorován při teplotě 50 °C a tlaku 20 MPa. Naopak nejmenší výtěžek byl při nejnižší teplotě a nejnižšímu tlaku, tedy 40 °C a 17,5 MPa. [20] Bylo dokázáno, že zvýšením tlaku extrakce kávového oleje se snížila doba extrakce a na výtěžek extrakce to nemělo vliv. Ačkoliv je tlak důležitým parametrem, rozdíly v celkovém výtěžku mohou být také způsobeny klimatickými faktory, kávovou směsí a předúpravou surovin. [5]

Tabulka 3: Hodnoty výtěžku kávového oleje při daných teplotách a tlacích [20]

Teplota [°C]	Tlak [MPa]	Čas [h]	Výtěžek oleje [%]
60	22,5	2	12,36
50	20	2	13,20
40	17,5	2	4,67
40	22,5	2	9,30
60	17,5	2	7,78

6.3 Soxhletova extrakce

Získání kávového oleje pro důkladné studium jeho chemického složení vyžaduje přímou extrakci rozpouštědlem bez úpravy kyselinou. Podle Picarda a kolektivu je použitelný diethylether, petrolether, n-hexan a směs diethyletheru a n-hexanu. Jejich výsledky nebyly homogenní, protože v závislosti na vybraném rozpouštědle byly částečně extrahovány i některé polárnější nelipidové látky, jako je třeba kofein. Folstar a kolektiv prokázali, že dosažitelný výtěžek extrakce rozpouštědlem závisí na velikosti částic, na kterou je káva nakonec rozemletá. [4]

Speer extrahoval mletou kávu o velikosti částic v rozmezí 0,25–0,63 mm a jako extrakční rozpouštědlo použil terciální butyl(methyl)ether, čímž se vyhnul nebezpečnému diethyletheru. Tato metoda byla přijata jako metoda DIN 10779. Pražená kávová zrna se hrubě rozemelou v běžném mlýnku na kávu a prosejí se sítím o velikosti ok 0,63 mm. Pět gramů prosetého materiálu se extrahuje terciálním butyl(methyl)etherem v Soxhletově aparatuře po dobu 4 hodin. Rozpouštědlo se následně odpaří a zbytek se vysuší do konstantní hmotnosti při teplotě 105 °C. Delší doby extrakce (6, 8 nebo 10 hodin) nezvyšují obsah lipidů. [4]

Hexan byl široce používán pro extrakci oleje díky snadné rekuperaci oleje, nízkému bodu varu a vynikající rozpustnosti. Je však uvolňován do životního prostředí a je prokázáno, že při vdechování ovlivňuje nervový systém. Vzhledem ke zdraví, bezpečnosti a životnímu prostředí bylo nutné najít náhradu hexanu, aniž by byl ohrožen výtěžek oleje. Alternativou by mohly být tzv. biologicky obnovitelná rozpouštědla. Biologicky obnovitelná rozpouštědla se získávají buď z přírodních, nebo zemědělských zbytků (např. ethanol). Rozpouštědla jako je ethanol, aceton, ethyl-acetát a isopropylalkohol mají obrovský potenciál nahradit n-hexan, aniž by došlo k ohrožení výtěžku oleje. [38]

Soxhletova extrakce má několik nevýhod, jako je dlouhá doba extrakce, použití velkého objemu rozpouštědla, ztráty a rozklad těkavých organických sloučenin a provoz při vysoké teplotě vedoucí k nežádoucím sloučeninám. [20] Výhodou naopak je možné opětovné použití rozpouštědla v několika po sobě následujících extrakcích. [36]

6.4 Zrychlená extrakce rozpouštědlem (ASE)

Další možností extrakce oleje z použité kávové sedliny (SCG) je zrychlená extrakce rozpouštědlem. Sušené a práškové vzorky se umístí mezi dvě vrstvy křemeliny, která se používá ke snížení objemu rozpouštědla potřebného pro extrakční proces, do nerezové nádoby. Dno každé extrakční buňky je opatřeno nerezovou fritou a celulózovým filtrem pro zabránění přístupu suspendované částice do sběrné lahvičky. Extrakční nádoba je potom umístěna do vaničky a vzorek je extrahován při teplotě 120 °C a při konstantním tlaku po dobu 5 minut. Aby bylo zabráněno oxidaci analytů během provozních podmínek, dochází k odplynění extrakčního rozpouštědla pomocí dusíku. Celý extrakční postup probíhá následovně. Extrakční nádobka se vzorkem je naplněna vybraným rozpouštědlem, natlakována a poté zahřívána na zvolenou teplotu. Poté je extrakční nádobka propláchnuta čerstvým extrakčním rozpouštědlem a propláchnuta plynným dusíkem. Získané extrakty jsou odebrány do skleněných lahviček a odstraní se rozpouštědlo pomocí vakuové odparky, dokud hmotnost vzorku není konstantní. [20]

Muangrat a kolektiv ve své práci srovnávají ASE, SFE a Soxhletovu extrakci z hlediska výtěžku oleje. Z tabulky 4 je patrné, že ASE měla vyšší průměrný výtěžek oleje ve srovnání se Soxhletovou extrakcí a SFE. [20]

Tabulka 4: Srovnání výtěžků oleje pomocí Soxhletovy extrakce, ASE a SFE [20]

	Soxhletova extrakce	ASE	SFE
Rozpouštědlo	Propanol	Propanol	scCO ₂
Výtěžek oleje [%]	13,75	14,02	12,11

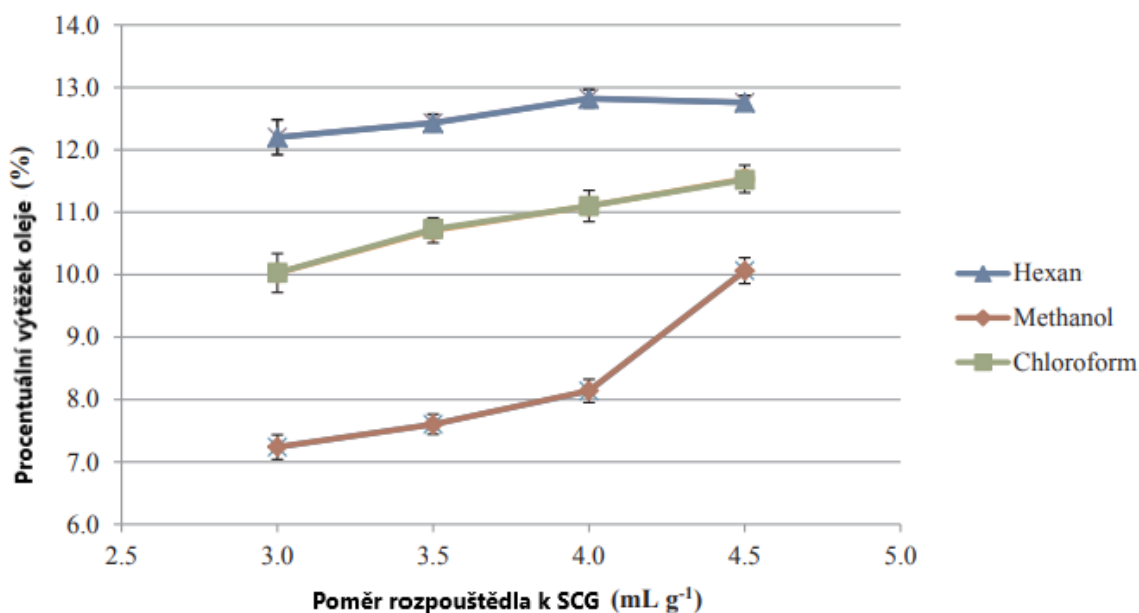
6.5 Ultrazvuková extrakce

Podle studie Han Hoe Goh a kolektiv bylo zjištěno, že hexan je nejúčinnějším extrakčním činidlem pro olej z použité kávové sedliny (SCG). Soxhletova extrakce dosáhla maximálního výtěžku SCG oleje 12,5 % během 3 hodin, zatímco nejvyšší výtěžek SCG oleje (14,52 %) pomocí ultrazvukové extrakce byl získán v poměru hexan k SCG 4 ml:1 gram a při 30 % amplitudě po dobu 30 minut. Zlepšený výtěžek oleje s kratší dobou

extrakce byl způsoben ultrazvukovou fragmentací na SCG buňkách, což zvýšilo interakce mezi olejem a rozpouštědlem. [24]

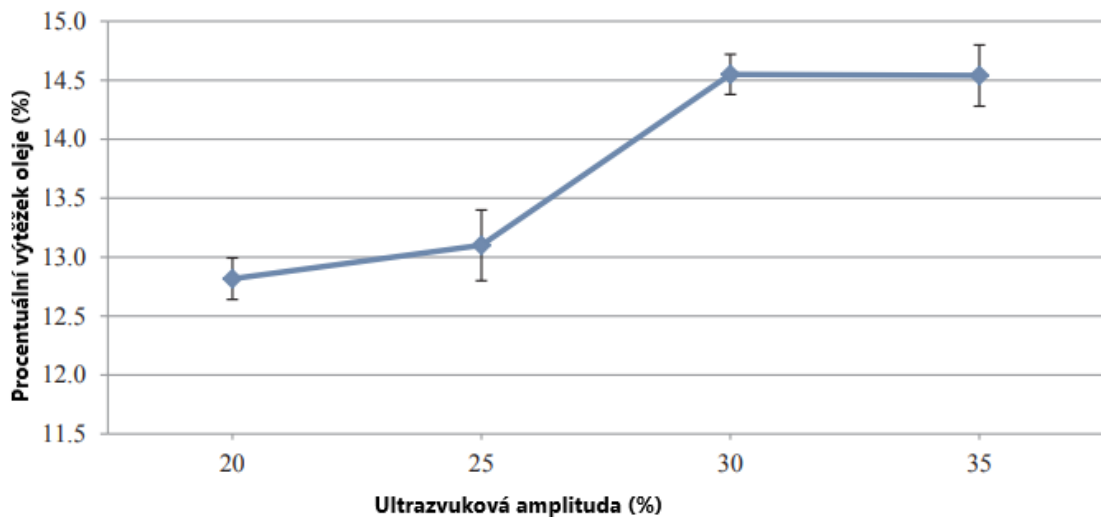
Nejprve se naváží určité množství SGC (v této studii 16 g) a umístí se do reaktoru. Následně se přidá vybrané rozpouštědlo (hexan, chloroform nebo methanol) na základě různých objemových poměrů a vloží se do ultrazvuku. Ultrazvuková sonda se ponoří tak, že její hrot je zcela ponořen do směsi rozpouštědel. Ultrazvukové vlny se nastaví na 5 sekund s intervaly 2 sekundy pro optimální extrakci oleje. [24]

Organická rozpouštědla extrahují olej protržením buněčných stěn a narušením interakčních sil mezi lipidem a tkáňovou matricí. Správné použití rozpouštědla výrazně sníží požadovanou dobu extrakce a objem použitého rozpouštědla. Obrázek 11 ukazuje srovnání procentuálního výtěžku oleje proti poměru rozpouštědla k SCG pro všechna tři rozpouštědla. [24]



Obrázek 11: Srovnání procentuálního výtěžku oleje a poměru různých rozpouštědel k SCG [24]

Nárůst ultrazvukové amplitudy může vést k většímu výtěžku extrakce oleje. Pokud je však nastavena příliš vysoká ultrazvuková amplituda, vede to pouze k plýtvání energií.



Obrázek 12: Závislost procentuálního výtěžku oleje na ultrazvukové amplitudě [24]

Bylo zjištěno, že mezi amplitudami 20 až 30 % došlo k významnému zvýšení extrakce oleje. Toto zvýšení se očekávalo, protože větší ultrazvuková síla může zvýšit molekulární difúzi a vylučování oleje z SCG. Výtěžek oleje extrahovaného z SCG pomocí ultrazvuku může dosáhnout až 14,55 %, což je výrazně vyšší než hodnota při použití Soxhletovy extrakce. [24]

6.6 Dvofázová extrakce

Dvofázová extrakce je proces používaný pro extrakci oleje z vodných biologických materiálů. Dvofázový proces zahrnuje rozptýlení částic obsahujících olej v organickém rozpouštědle mísitelném s vodou v jedné fázi a přidání nemísitelného rozpouštědla, aby se směs rozdělila na dvě fáze. Tato extrakce může zlepšit procesy extrakce oleje z materiálů obsahujících olej s vysokým obsahem vlhkosti. První fáze se týká extrakce volného oleje a druhá fáze procesu difúze, který zahrnuje penetraci rozpouštědla do pevných částic za účelem získání zachyceného oleje. [41]

6.7 Lisování oleje za studena

Expres oleje ze zelených kávových zrn se provádí kontinuálním lisem. Teplota oleje vystupujícího z lisu se pohybuje v rozmezí 40 a 45 °C, aby mohl být olej klasifikován jako za studena lisovaný. Lisovaný šrot je první získaný zbytek zvaný „koláč“, který byl

shromážděn na konci lisu a dvakrát lisován. Surový olej je následně centrifugován ve zkumavkách po dobu 20 minut. Vysráženým materiálem je druhý zbytek zvaný „sediment“. Výtěžek oleje získaný lisováním za studena je menší než u běžných metod a pohybuje se okolo 4 %. [45]

7 TYPY VZORKŮ KÁVOVÉHO OLEJE

7.1 Použitá kávová sedlina (SCG)

Díky svému stimulačnímu účinku je káva jedním z nejoblíbenějších nápojů na světě. V důsledku toho je kávový průmysl odpovědný za produkci velkého množství organického odpadu, včetně materiálu, který se označuje jako použitá kávová sedlina (SCG). [5] SCG je zbytkový materiál získaný po extrakci pražené a mleté kávy horkou vodou nebo párou během procesu výroby instantní kávy. Tvoří přibližně dvě třetiny kávových zrn, což vede ke vzniku 2 tun SCG na 1 tunu vyrobené instantní kávy. [39]

SGC je materiál, který obsahuje přibližně 15 % lipidového materiálu. Má také antioxidační potenciál díky přítomnosti fenolových sloučenin. Celkový obsah fenolických sloučenin v extraktech SCG, vyjádřený v ekvivalentu kyseliny kávové, dosáhl 587,7 mg/g extraktu. Hodnoty uváděné v literatuře však závisí na druhu kávy, extrakčních rozpouštědlech a metodách. Ačkoliv proces pražení ovlivňuje obsah fenolových sloučenin, obsah oleje ovlivněn není. Obsah lipidů se pohybuje od 7 do 17 % u zelených kávových zrn. Hodnota u SGC je velmi podobná, protože lipidová frakce není během výroby rozpustné kávy účinně extrahována vodou. V tabulce 5 je uvedeno srovnání mastných kyselin pro kávy Arabika a Robusta. [5]

Kromě toho, že je SCG přidáván do krmiv pro zvířata, je také používán jako hnojivo na plantážích. Mezi další využití patří výroba paliv používaných v průmyslových kotlích, substrát pro růst mikroorganismů, zdroj fenolických sloučenin a také výroba bionafty. [5]

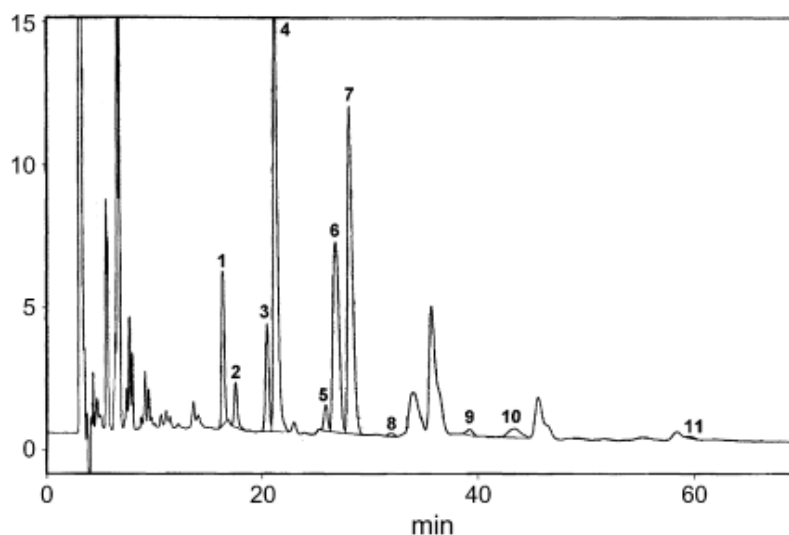
Tabulka 5: Srovnání obsahu MK ve vzorcích SCG Arabiky a Robusty [39]

Mastná kyselina	Zastoupení mastných kyselin [%]	
	Arabika (Somnuk a kol.)	Robusta (Couto a kol.)
Laurová	0,02	3,57
Myristová	0,09	1,99
Palmitová	34,44	37,37
Stearová	0,0	7,07
Olejová	7,74	8,31
Linolová	43,12	44,67
α -linolenová	1,18	1,42
Arachová	2,83	1,16

7.2 Olej ze zelené kávy (GCO)

Olej ze zelené kávy (GCO) je směs několika skupin sloučenin, kde TAG představují 75 %. Surový GCO má na trhu relativně vysokou cenu a získává se mechanickým lisováním za studena. Extrahovaný olej obsahuje ve svém složení také kofein a vosk. Pro zlepšení kvality oleje pro použití v kosmetických a farmaceutických aplikacích lze použít frakcionaci. GCO může být také zdrojem dalších cenných produktů, jako je kofein, steroly, terpeny a tokoferoly. GCO získaný lisováním za studena má tmavě hnědozelenou barvu se zakaleným vzhledem, což je připisováno přítomnosti pigmentů a dalších složek. [9]

GCO byl studován z hlediska jeho působení na zdraví pokožky. Bylo prokazatelně zjištěno, že GCO má vliv na syntézu kolagenu, elastinu a GAG. GCO je také účinný proti celulitidě. Tyto účinky pravděpodobně souvisí s jeho lipidovou frakcí bohatou na TAG, steroly a tokoferoly. Stejně tak diterpeny jsou spojovány s prospěšnými účinky na kůži. [6]



Obrázek 13: Chromatogram pro surový olej ze zelené kávy [9]

Na obrázku 13 lze pozorovat chromatogram surového oleje ze zelené kávy analyzovaného pomocí HPLC. Tabulka 6 potom ukazuje průměrné složení TAG zjištěné pro surový olej ze zelených kávových zrn a označení daných píků. Mezi 7 hlavních zastoupených TAG patří trilinolein (LLL; 7,76 %), 1-palmito-2-linolo-3-linolenin (PLLn; 2,35 %), 1-oleo-2,3-linolein (OLL; 5,84 %), 1-palmito-2,3-linolein (PLL; 32,74 %), 1-oleo-2-linolo-3-olein (OLO; 1,56 %), 1-palmito-2-linolo-3-olein a 1-stearo-2,3-linolein (PLO + SLL; 19,53 %) a 1-palmito-2-linolo-3-palmitin (PLP; 26,74 %). [9]

Tabulka 6: Průměrné složení TAG pro GCO [9]

TAG	Procentuální zastoupení [%]	Číslo píku v chromatogramu
LLL	7,76	1
PLLn	2,35	2
OLL	5,84	3
PLL	32,74	4
OLO	1,56	5
PLO + SLL	19,53	6
PLP	26,74	7
OOO	0,27	8
POP	0,65	9
OOS	1,77	10
SOS	0,79	11

*OOO (triolein), POP (1-palmito-2-oleo-3-palmitin), OOS (1,2-oleo-3-stearin), SOS (1-stearo-2-oleo-3-stearin)

8 OXIDAČNÍ STABILITA

Oxidační stabilita může být hodnocena změnami vodivosti vodného roztoku v přítomnosti těkavých sloučenin, které se tvoří během degradace oleje vystaveného vzduchu a ohřevu. Degradace oleje se zvyšuje a následně se zvyšuje vodivost vody ve sběrné nádobě. [6] Složení mastných kyselin (stupeň nenasycení) a umístění v molekulách TAG určují oxidační stabilitu. Oxidační stabilita oleje kromě složení mastných kyselin závisí na složení TAG, na jejich vedlejších složkách a podmínkách skladování. [43]

8.1 Vliv pražení na oxidační změny kávového oleje

Rozsah oxidačních změn vyskytujících se v průběhu pražení byl odhadnut na základě změn peroxidového čísla a obsahu konjugovaných dienů (CD) a trienů (CT). Podle studie Budryn a kolektiv spočíval princip stanovení v temné reakci oleje s 12,5 ml roztoku chloroformu a kyseliny octové v poměru 2:3 a s 0,5 ml nasyceného roztoku jodidu draselného. Tento roztok byl titrován 2 mM thiosíranem sodným za použití škrobového mazu. CD a CT byly stanoveny spektrofotometrickou metodou. Vzorky byly měřeny při vlnové délce 232 nm pro konjugované dieny a 268 nm pro konjugované trieny. [23]

Bylo zjištěno, že pokles peroxidového čísla související se zvýšením teploty pražení nepochází z degradace oxidačních procesů při vyšších teplotách, ale z rychlé transformace peroxidů stanovených prostřednictvím peroxidového čísla na produkty s nižší molekulovou hmotností, zejména karbonylové deriváty a zejména při tepelném zpracování. [23]

Během počáteční fáze pražení při teplotě 216 °C se obsah CD zvýšil až o 60 %. Když bylo pražení dokončeno, všechny vzorky obsahovaly mnohem méně CD než zelená zrna. Obsah CD je nejčastějším znakem oxidace lipidů, ale podobně jako u peroxidů nejsou tyto struktury stabilní, zejména při vysokých teplotách. [23]

U oleje ze zrn pražených při 216 °C na suchém vzduchu rychlostí 0,5 m/s došlo během počáteční fáze pražení k významnému zvýšení obsahu CT, zatímco později v procesu pražení jejich obsah poklesl. [23]

Tyto výsledky naznačují, že během pražení je kávový olej tepelně relativně stabilní, což odpovídá výsledkům výzkumů i jiných autorů. [23]

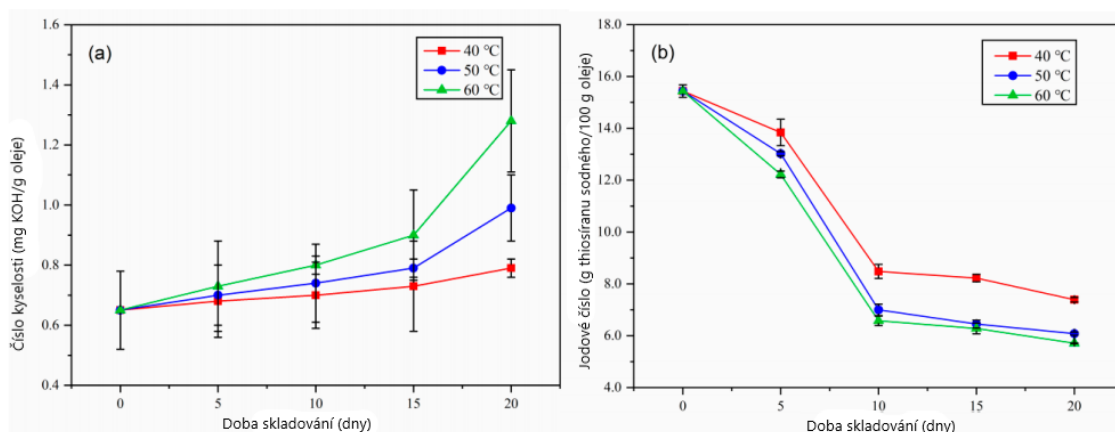
Nejhorší z hlediska oxidace oleje se zdá být pražení na 216 °C v suchém vzduchu, rychlostí 0,5 m/s. Teplota spolu se suchým vzduchem může ve skutečnosti drasticky snížit kvalitu oleje v kávových zrnech. [23]

8.2 Vliv skladování na oxidační stabilitu kávového oleje

Zelená kávová zrna obsahují vysoký podíl nenasycených mastných kyselin a nízký obsah vlhkosti a jsou tak během skladování náchylná k oxidaci tuků a žluknutí. [18]

Ve studii Cong a kolektiv byla zkoumána oxidační stabilita kávového oleje při skladování po dobu 20 dnů a při teplotách 40, 50 a 60 °C. Prvním hodnoceným parametrem bylo číslo kyselosti. Číslo kyselosti je důležitým indexem pro hodnocení kvality oleje, protože měří obsah nenasycených mastných kyselin vytvořených po hydrolytické degradaci lipidových molekul. Na obrázku 14 je sestrojena závislost čísla kyselosti na době skladování. Je zjevné, že nejvyšší číslo kyselosti měl vzorek, který byl skladován při nejvyšší teplotě (60 °C). [18]

Dalším hodnoceným parametrem bylo jodové číslo. Během skladování jsou dvojně vazby nenasycených mastných kyselin napadeny volnými radikály a vytvářejí tak konjugované vazby. Na znázorněném grafu lze pozorovat, že se jodové číslo během 20 dnů skladování vzorků při těchto třech teplotách postupně snižovalo. Tento pokles byl způsoben hlavně destrukcí dvojných vazeb mastných kyselin v důsledku oxidace lipidů. [18]

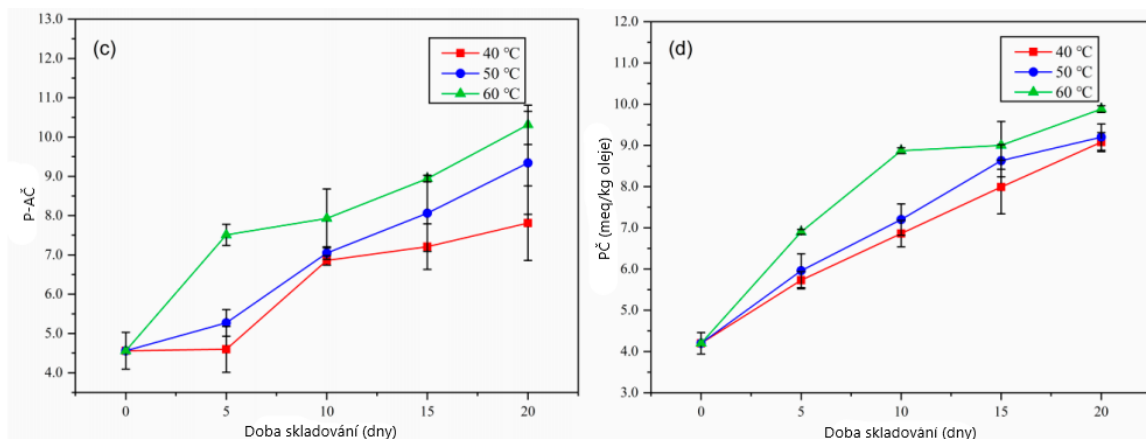


Obrázek 14: Závislost čísla kyselosti (a) a jodového čísla (b) kávového oleje na době skladování [18]

PAC je ukazatelem produktů sekundární oxidace, jako jsou aldehydy. [42] Obecně se karbonylové vazby vytvářejí během sekundární oxidace lipidů. V této studii podle očekávání došlo k významnému nárůstu PAC v průběhu skladování, jak je znázorněno na obrázku 15. Z grafu je zřejmé, že vyšší skladovací teplota způsobuje vyšší tvorbu sekundárních oxidačních produktů.

Důležitým ukazatelem oxidace kávového oleje je také peroxidové číslo. Peroxidové číslo lze použít jako oxidační index pro raná stádia oxidace lipidů a vyšší oxidační stabilita je

doprovázena pomalejším zvyšováním peroxidového čísla. Peroxidové číslo vzorků kávového oleje se zvyšovalo téměř lineárně se zvyšováním doby skladování, jak je uvedeno na obrázku 15. [18]



Obrázek 15: Závislost PAČ (c) a PČ (d) kávového oleje na době skladování [18]

Mezi ukazatele oxidační stability také patří obsah volných mastných kyselin (FFA) ve vzorku. Obsah FFA lze stanovit jako měřítko hydrolytického žluknutí, ke kterému dochází buď enzymatickou nebo spontánní hydrolyzou TAG a FFA se obvykle používá jako indikátor hydrolyzy tuků. Obsah FFA ve všech vzorcích se během 20 dnů skladování zvýšil a mezi různými teplotními úpravami se významně lišil. Celkové zvýšení FFA bylo nejvyšší u vzorků skladovaných při 60 °C, nižší u vzorků skladovaných při 50 °C a nejnižší u vzorků skladovaných při 40 °C po dobu 20 dnů. [18]

9 VYUŽITÍ OLEJE Z KÁVOVÝCH ZRN

Díky svým hydratačním vlastnostem je olej ze zelené kávy používán v kosmetickém průmyslu a také je prokázáno, že nabízí dobrý potenciál v aplikacích na ochranu proti slunečnímu záření. [3] Je známo, že SCG obsahuje různé organické sloučeniny jako jsou mastné kyseliny, lignin, celulóza, hemicelulóza a další polysacharidy. Je také vhodným biologickým zdrojem pro výrobu bionafty, aktivního uhlí, hnojiv a dokonce adsorbentů pro odstraňování iontů těžkých kovů. [24]

9.1 Výroba bionafty

Bionafta je definována jako monoalkylestery mastných kyselin s dlouhým řetězcem odvozené z obnovitelné suroviny jako jsou rostlinné oleje, živočišné tuky a alkoholy. Dramatický nárůst spotřeby fosilních paliv v průmyslovém, dopravním a technologickém vývoji v poslední době vede k celosvětovému vyčerpání zásob fosilních paliv. Z tohoto důvodu vědci věnovali větší pozornost hledání alternativní energie jako je bionafta, díky které je možné snížit závislost na fosilních palivech a podpořit udržitelnost životního prostředí. [7] Bionafta může rovněž snížit emise CO₂ o 50 % během celého životního cyklu. K dalším výhodám patří přítomnost přirozeného kyslíku v chemické struktuře bionafty, která může hrát zásadní roli při posilování procesu spalování s ohledem na emise. [26]

9.1.1 Výroba bionafty z defektních kávových zrn

Brazílie je největším producentem kávy na světě. Přibližně 20 % jeho výroby tvoří defektní zrna, která při pražení snižují kvalitu nápoje. Bez ohledu na podmínky růstu, sklizně a zpracování jsou některé vady přirozené povahy a budou vždy přítomny. Kvalitu nápoje nejvíc ovlivňují černé, hnědé a nezralé fazole. S ohledem na tuto situaci je v současné době vyvíjeno několik studií s cílem nalézt alternativní použití pro defektní kávová zrna. Jednou ze zvažovaných alternativ je výroba bionafty. [16]

Bionaftu lze použít jako palivo pro nemodifikované naftové motory. Tento druh paliva se v Evropě komerčně vyrábí od počátku 90. let. Výzkumné studie naznačují, že bionafta může nahradit motorovou naftu, aniž by způsobila škodlivé účinky nemodifikovanému dieslovému motoru a současně snížit škodlivé emise výfukových plynů. Bionafta je navíc zcela mísitelná s naftou a lze ji použít jako směs. Bionafta však ve srovnání s naftou není ekonomicky proveditelná. Tato nevýhoda by mohla být minimalizována použitím „méně

hodnotné“ suroviny, jako je například olej z vyřazených defektních kávových zrn s výhodou umožňující producentům kávy vyrábět a používat vlastní palivo. [16]

9.1.2 Výroba bionafty z kávové sedliny (SCG)

Použitá kávová sedlina (SCG) byla studována jako potenciální zdroj pro výrobu bionafty jako alternativní využití odpadu místo toho, aby byl likvidován jako komunální odpad. [24] V průměru lze u použité kávy extrahovat 15 % oleje. Odpadní kávový olej je extrahován a chemicky převeden pomocí alkalické transesterifikační reakce na methylestery mastných kyselin. [7] Vyráběná bionafta z SCG má slibné vlastnosti, které splňují standardy pro bionaftu, ale hodnota kyselosti byla nad přípustnou hranicí, kterou lze překonat použitím suroviny jako směsi s jinou komerčně dostupnou bionaftou. Vysoká výhřevnost spolu s nízkou viskozitou a hustotou navrhly bionaftu z SCG jako zajímavou a životaschopnou alternativu. [24]

Tabulka 7: Mastné kyseliny obsažené v bionaftě z odpadního kávového oleje [7]

Mastná kyselina	Struktura	Procentuální zastoupení	Procentuální zastoupení [47]
Kyselina myristová	14:0	3,82	2,29
Kyselina myristolejová	14:1	20,00	-
Kyselina palmitová	16:0	19,00	61,42
Kyselina stearová	18:0	6,73	11,24
Kyselina olejová	18:1	9,27	4,00
Kyselina linolová	18:2	28,71	1,38
Kyselina arachidová	20:0	2,96	3,87
Kyselina behenová	22:0	-	1,29
Kyselina lignocerová	24:1	4,29	-

Tabulka 7 ukazuje složení mastných kyselin v bionaftě z odpadního kávového oleje. Je vidět, že bionafta z odpadního kávového oleje má 37,61 % nasycených a 62,27 % nenasycených mastných kyselin. Převládající mastnou kyselinou je kyselina linolová, která je zastoupena z 28,71 %. [7] Pro srovnání je uvedeno zastoupení mastných kyselin z další studie, ve které je složení mastných kyselin odlišné. Ve druhé studii byla nejvíce zastoupenou mastnou kyselinou kyselina palmitová následovaná kyselinou stearovou. [47]

9.2 Využití jako surfaktant

Povrchově aktivní látky (PAL) jsou látky, které se široce používají v chemickém, farmaceutickém, kosmetickém a potravinářském průmyslu. Molekula povrchově aktivní látky je amfipatická, což znamená, že se skládá z hydrofilní a hydrofobní části. Povrchově aktivní látky mají schopnost sjednotit nemísitelné fáze a poskytnout jednotnou homogenní fázi. Obecně existují dva typy surfaktantů. Prvním typem je přírodní povrchově aktivní látka, která je odvozena z přírodních zdrojů jako jsou oleje (např. kokosový nebo palmový olej se používají k výrobě dodecylsulfátu sodného). Druhým typem PAL jsou chemicky syntetizované povrchově aktivní látky. Syntetické PAL se v poslední době více používají kvůli jejich snadné dostupnosti a nižším nákladům. Výroba a použití syntetických povrchově aktivních látek má však nepříznivé účinky na zdraví a životní prostředí. [10]

V kávovém oleji byla zjištěna přítomnost trigonellinu, kyseliny kávové, kofeinu, kyseliny feruloylchinové, kyseliny dikofeoylchinové, kyseliny chinové, kyseliny kumaroylchinové jako polární základ tohoto oleje. Tyto složky pomáhají utvářet samouspořádání, kde kyselina chlorogenová tvoří hydrofilní hlavu a uhlovodíky s dlouhým uhlovodíkovým řetězcem (dekan, tetradekan a pentadekan) tvoří hydrofobní ocas. Kávový olej také pomáhá udržovat pěnu v kávě, podobně jako u jiných syntetických povrchově aktivních látek. Bylo také dokázáno, že po přidání kávového oleje jako povrchově aktivní látky dochází k podobné změně hodnot povrchového napětí s koncentrací, jako je to u komerčního povrchově aktivního činidla. V další studii bylo dokázáno, že pokud koncentrace kávového oleje v roztoku překročí hodnotu 0,03 %, dojde k ustálení hodnot povrchového napětí. Tato koncentrace tedy byla považována za kritickou micelární koncentraci (CMC). Byla analyzována struktura pěny pomocí dynamického analyzátoru pěny u kávy espresso. I v tomto případě vykazovala 0,03 % koncentrace nejlepší stabilitu pěny a nižší koalescenci po dobu 6 až 8 minut. [10]

Rychlost koalescence a rychlost růstu bublin u kávového oleje je minimální (pod CMC), což ukazuje na dobrou pěnivost až do té doby, pokud nedosáhne hodnoty CMC. Rychlost koalescence kávového oleje se pohybovala okolo 0,3161 $\mu\text{m/s}$. Tato hodnota s porovnáním s jinými PAL při jejich CMC byla nižší. [10]

Kávový olej je vhodným přírodním povrchově aktivním činidlem, které lze použít jako alternativu k syntetickým povrchově aktivním látkám v různých potravinách, kosmetice i ve farmaceutických aplikacích. Jako sloučenina přírodního původu je také šetrný

k životnímu prostředí. Káva je druhou nejobchodovanější komoditou na světě a odpad a vedlejší produkty z kávového průmyslu mohou být dobrým zdrojem surovin pro takové povrchově aktivní látky. [10]

9.3 Přípravky na opalování

Účinnost látky nebo produktu při absorpci ultrafialového záření se měří slunečním ochranným faktorem (SPF). Tento faktor udává, kolikrát déle může osoba natřená opalovacím krémem zůstat na slunci, aniž by se popálila v případě, že nenosí žádnou ochranu proti slunci. [17]

Kávový olej má mnoho vlastností požadovaných pro opalovací krémy a lze jej považovat za dobrou přísadu pro průmyslové aplikace. [17] Studie ukazují, že kávový olej obsahuje bioaktivní sloučeniny, jako je kofein, polysacharidy a polyfenoly, které jsou vynikající pro prevenci škodlivých účinků ultrafialového záření na pokožku, a to díky svým antioxidačním a protizánětlivým účinkům. [36]

Nejstudovanější dermatologické aplikace GCO je v přípravcích na opalování. Jako formulace pro fotoprotekci byla navržena neionická emulze O/W obsahující 3 % GCO. Studie GCO jako přísady do přípravku na ochranu proti slunečnímu záření obsahujícího ethylhexylmethoxycinnamát nedávno ukázala synergický účinek tohoto oleje zvýšením faktoru ochrany proti slunečnímu záření (SPF) o 20 % ve srovnání se samotným syntetickým přípravkem. [6]

9.4 Použití v kosmetickém průmyslu

Vzhledem k vysokému obsahu diterpenů není olej ze zelené kávy vhodný pro lidskou spotřebu. Je však žádanou surovinou v kosmetickém průmyslu. [4] Lipidy mohou v mnoha kosmetických přípravcích působit jako změkčovadla, emulgátory, nosiče, modifikátory viskozity, pojiva a mazadla. Konkrétní použití závisí na vlastnostech oleje. [9]

Nezmýdelnitelná frakce je zodpovědná za schopnost vázat vodu, proniknout kůží a přilnout. Z tohoto důvodu by vysoký obsah nezmýdelnitelných látek mohl zlepšit kvalitu kosmetických přípravků. [17]

Kávový olej obsahující kyselinu linolovou je vynikající emolient, vhodný k ošetření pokožky a kyselina linolová je také nezbytná ve výživě člověka díky svému použití při syntéze prostaglandinů a v dalších biologických procesech souvisejících s regenerací buněk.

Absence kyseliny linolové je spojena s dermatologickými poruchami. Vysoká koncentrace kyseliny palmitové poskytuje dobrou ochranu pokožky. [22]

Jednou z nevýhod kosmetické aplikace rostlinných olejů nebo tuků je jejich oxidační stabilita, protože nenasycené voskovité kyseliny mohou podstoupit fotooxidaci, tepelnou oxidaci, autooxidaci nebo enzymatickou oxidaci. Fotooxidace GCO může být omezujícím faktorem zejména pro aplikace na ochranu proti slunečnímu záření a použití syntetických antioxidantů podléhá mnoha formulačním a regulačním aspektům. Vhodným způsobem ochrany těchto materiálů i dalších složek před oxidací může být mikroenkapsulace. Existuje mnoho materiálů, které lze použít jako enkapsulační činidla jako jsou gumy, vosky a polymery. Arabská guma se vyznačuje vynikajícími emulgačními vlastnostmi a je široce používána pro ochranu oleje. Je široce používána pro řízené uvolňování aktivní látky a kromě toho, že je biologicky kompatibilní, mají dobrou stabilitu při změnách pH a vlhkosti. [6]

Wagemaker a kolektiv hodnotili toxicitu kávového oleje ze zelených kávových zrn. Ani čistý kávový olej, ani formulace, které tento olej obsahovaly, nevykazovaly cytotoxické účinky v koncentracích do 100 $\mu\text{g/ml}$. Hodnoty transepidermální ztráty vody (TEWL) ukázaly mírné snížení, když byla použita formulace obsahující kávový olej. Obsah vody ve *stratum corneum* nevykazoval významné rozdíly. [21]

9.4.1 Kosmetické přípravky s kávovým olejem

Na trhu je dostupných několik kosmetických výrobků obsahujících kávový olej. Jednou skupinou těchto výrobků jsou pleťová séra. Kávový olej má v těchto přípravcích roli antioxidantů a také stimuluje tvorbu kolagenu a elastinu. Je vhodný na čištění pleti zejména pro pleť se sklonek k tvorbě akné, jelikož má také protizánětlivé účinky. [33]



Obrázek 16: Pleťové sérum MARK organic oil Coffee [33]

Dalším výrobkem s kávovým olejem nacházejícím se na trhu je kávový peeling. Kávový peeling je vhodný pro odstranění různých nedokonalostí pokožky a odumřelých buněk. Má také hydratační a regenerační účinky. [32]



Obrázek 17: Tělový peeling MARK scrub Coffee Original [32]

Dalším výrobkem je kávový balzám, který obsahuje vysoké množství kávového oleje získaného z nepražených kávových zrn. Obecně se výrobky s kávovým olejem používají na zralou pleť jako přípravky proti stárnutí. [34]



Obrázek 18: Kávový balzám s obsahem kávového oleje [34]

Kávové mýdlo do koupele obsahuje čistý kávový olej a je určeno pro hloubkové čištění kůže. Mýdlo ve tvaru kávového zrna vyživuje a tonizuje pokožku. Díky obsahu kávového oleje a vitamínu E pokožku také vyživuje a má příznivé pH (5,5). Neobsahuje minerální oleje, SLS ani parabeny.



Obrázek 19: Kávové mýdlo s čistým kávovým olejem [46]

II. PRAKTICKÁ ČÁST

10 VZORKY

K extrakci kávového oleje bylo zakoupeno 5 vzorků káv. Prvním vzorkem byla běžně dostupná káva, která byla směsí Arabiky a Robusty. Zbylé 4 vzorky pocházely ze států Afriky. V tomto případě se jednalo vždy o 100% Arabiky. Konkrétně to byly vzorky z Etiopie, Keni a dva vzorky z Burundi. Dále byly zakoupeny komerční kávové oleje od firem Renovality a Bewit.

10.1 Komerční káva

Káva značky Clever je směsí káv Arabiky a Robusty. Tato pražená mletá káva se skládá z 30 % Arabiky a 70 % Robusty. Jedná se tedy o méně kvalitní kávu z důvodu přídavku vyššího množství Robusty do směsi.

10.2 Káva z Etiopie

Vzorek kávy pocházející z Etiopie byl zakoupen v místní pražírně Mr. Coffee. Tento vzorek kávy pochází z Etiopie ze tří farem z okolí města Yirgacheffe. Odrůda této kávy je odolná vůči škůdcům a chorobám. Ke zpracování kávy byly použity vyspělé technologie. Podmínkou růstu kávovníků je růst v přirozeném stínu stromů v půdě, která je kvalitní a bohatá na živiny. Jedná se o 100% Arabiku. Tato káva byla zpracována mokrou metodou. [30]

10.3 Káva z Burundi (Mr. Coffee)

Vzorek kávy z Burundi byl zakoupen v místní pražírně Mr. Coffee. Tato káva pochází z provincie Ngozi, která se nachází na severu tohoto státu. Káva byla pěstována v nadmořské výšce okolo 1700 metrů nad mořem. Jedná se o 100% Arabiku. V provincii Ngozi jsou půdy bohaté na živiny, optimální množství srážek a teploty. [30]

10.4 Káva z Keni

Tento vzorek kávy pochází z pražírny Jamai Café. Káva z Keni je pěstována především na úpatí sopek v nadmořských výškách 1500 až 2100 metrů nad mořem. Káva je složením 100% Arabika a byla zpracována mokrou metodou. Kávová zrna jsou sklížena dvakrát ročně. [1]

10.5 Káva z Burundi (Jamai Café)

Káva z Burundi zakoupená v pražárně Jamai Café pochází z oblasti Kavugangoma. Složením je tato káva 100% Arabika a je zpracována pomocí mokré metody. Pěstuje se na vulkanické půdě a ve vysokých nadmořských výškách. [1]

10.6 Komerční vzorky kávových olejů

Pro analýzu byly použity dva vzorky komerčně dostupných kávových olejů. Kávový olej od firmy Renovality a od firmy Bewit.

10.6.1 Kávový olej Renovality

Tento kávový olej byl lisován za studena ze zelených kávových zrn *Coffea arabica*. Jeho hlavní funkcí je redukce celulitidy a také jako přípravek proti stárnutí. Má příznivé účinky na pokožku a podporuje její přirozenou vlhkost. Tento olej obsahuje také poměrně vysoké množství kofeinu. [28]



Obrázek 20: Kávový olej Renovality [28]

10.6.2 BIO kávový olej Bewit

Tento BIO kávový olej od firmy Bewit je také lisovaný za studena a je vyroben z kávových zrn *Coffea arabica* pocházejících z Brazílie. [29]



Obrázek 21: BIO kávový olej Bewit [29]

11 SOXLETOVA EXTRAKCE

Olej byl z kávových zrn získáván pomocí Soxhletovy extrakce. Zakoupené vzorky kávy byly naváženy tak, aby patrona, ve které se káva extrahovala, byla naplněna téměř po okraj. Na povrch vzorku se umístila vata, která zabraňovala vyplavování vzorku do aparatury. Patrona byla umístěna do Soxhletova extraktoru. Varná baňka se 150 ml rozpouštědla (petrolether fr. 40–60 °C nebo chloroform) byla umístěna na topné hnízdo a bylo přidáno několik varných kamínků. Rozpouštědlo bylo zahříváno k varu a po následné extrakci kávového oleje, která trvala kontinuálně 4 hodiny, byl obsah baňky ochlazen. Následně došlo k odstranění rozpouštědla pomocí vakuové odparky při 39 °C a 110 otáčkách za minutu až do konstantní hmotnosti vzorku. Vzorek byl následně uložen do lednice pro další analýzy.



Obrázek 22: Soxhletova extrakce kávového oleje (vlastní obrázek)

Z tabulky je zřejmé, že nejvyšší výtěžky byly získány při extrakci chloroformem, což může být způsobeno tím, že chloroform rozpouští více polárních látek než petrolether. Při použití PE jako rozpouštědla byly nejvyšší výtěžky pozorovány u kávy z Burundi (Jamai Café). Naopak nejnižší výtěžek měla káva z Etiopie.

Tabulka 8: Extrakce oleje z daných vzorků a jejich výtěžky

Vzorek	Navážka vzorku [g]	Typ rozpouštědla	Hmotnost oleje [g]	Výtěžek [%]
Komerční káva (1)*	40,8902	PE	4,360	10,66
Komerční káva (2)	29,8889	PE	3,2651	10,92
Komerční káva (3)	28,8554	PE	3,1507	10,92
Komerční káva (4)	28,8223	PE	2,7638	9,59
Komerční káva (5)	29,1422	PE	3,2913	11,29
Komerční káva (6)	24,2585	CHCl ₃	3,2129	13,24
Komerční káva (7)	24,5309	CHCl ₃	3,2086	13,08
Komerční káva (8)	28,8709	CHCl ₃	3,8693	13,40
Komerční káva (9)	28,6594	CHCl ₃	3,9830	13,90
Káva z Etiopie (1)	25,3898	PE	2,2789	8,98
Káva z Etiopie (2)	25,7022	PE	2,2716	8,84
Káva z Etiopie (3)	25,6537	PE	2,2569	8,80
Káva z Etiopie (4)	25,1959	PE	2,2253	8,83
Káva z Burundi (1)**	27,3980	PE	2,7890	10,18
Káva z Burundi (2)	27,9065	PE	2,8006	10,04
Káva z Burundi (3)	28,4436	PE	2,8819	10,13
Káva z Burundi (4)	27,6262	PE	2,8117	10,18
Káva z Keni (1)	28,5340	PE	3,8159	13,37
Káva z Keni (2)	28,8749	PE	3,7920	13,13
Káva z Burundi (1) Jamai Café	28,0878	PE	3,9893	14,20
Káva z Burundi (2) Jamai Café	28,4778	PE	4,0325	14,16

* u všech použitých vzorků byla doba extrakce 4 hodiny a objem rozpouštědla 150 ml, kromě prvního vzorku, kdy byla doba extrakce 1,1 hodiny a objem rozpouštědla 270 ml

** Mr. Coffee

12 STANOVENÍ JODOVÉHO ČÍSLA

Do Erlenmayerovy baňky bylo naváženo asi 0,2 g vzorku kávového oleje. Následně bylo přidáno 25 ml chloroformu a vzorek byl řádně rozpuštěn. Dále bylo přidáno 25 ml Hanušova činidla, baňka byla opět promíchána, uzavřena zátkou a uložena na temné místo po dobu 1 hodiny. Po uplynutí 1 hodiny bylo přidáno 20 ml 10% roztoku jodidu draselného, zátka byla opláchnuta destilovanou vodou a k naředění bylo přidáno 100 ml destilované vody. Promísený roztok oranžové barvy byl titrován za stálého míchání 0,1M thiosíranem sodným až do vzniku žlutého zabarvení. Následně byl přidán asi 1 ml škrobového mazu a pokračovalo se v titraci až do odbarvení roztoku. Slepé pokusy byly připraveny stejným postupem pouze bez přidání vzorku kávového oleje. Jodové číslo udává míru nenasycenosti tuku, tedy obsah dvojných vazeb. Návod byl převzat z laboratorního cvičení Chemie a technologie lipidů I.

Tabulka 9: Stanovení jodového čísla

Vzorek	Navážka [g]	Spotřeba thiosíranu sodného na odbarvení [ml]	Jodové číslo [%]
Olej z komerční kávy (PE, 1)	0,2079	4,1	92,2
Olej z komerční kávy (PE, 2)	0,2178	3,7	90,4
Olej z komerční kávy (CHCl ₃ , 1)	0,2110	4,6	87,6
Olej z komerční kávy (CHCl ₃ , 2)	0,2112	4,5	88,2
Olej z kávy z Etiopie (1)	0,2210	4,8	82,5
Olej z kávy z Etiopie (2)	0,2004	4,9	95,6
Olej z kávy z Burundi (1, Mr. Coffee)	0,2198	8,3	61,6
Olej z kávy z Burundi (2, Mr. Coffee)	0,2239	8,3	60,5
Olej z kávy z Keni (1)	0,2043	4,7	89,9
Olej z kávy z Keni (2)	0,2008	4,6	92,1
Olej z kávy z Burundi (1, Jamai Café)	0,2038	4,4	92,1
Olej z kávy z Burundi (2, Jamai Café)	0,2015	4,5	92,4
Kávový olej Bewit (1)	0,2072	6,2	78,9
Kávový olej Bewit (2)	0,2020	5,9	82,9
Kávový olej Renovality (1)	0,2260	7,8	62,9
Kávový olej Renovality (2)	0,2132	8,0	65,4
Slepý pokus (1)	-	18,4	-
Slepý pokus (2)	-	18,3	-

V tabulce 9 jsou uvedena jodová čísla, která byla získaná pomocí výše popsaného postupu. Pro srovnání jsou v tabulce 10 uvedena jodová čísla běžně dostupných olejů v porovnání s hodnotami zjištěnými pro kávový olej. Ze získaných výsledků je patrné, že nejnižší hodnotu jodového čísla měl vzorek kávového oleje izolovaný z kávy z Burundi (Mr. Coffee). Naopak nejvyšší hodnota byla zjištěna taktéž u kávového oleje izolovaného z kávy z Burundi, ale u vzorku z Jamai Café. Komerční vzorky kávových olejů se významně lišily. U kávového oleje od firmy Bewit byla zjištěna hodnota 80,9 %. U kávového oleje od firmy Renovality byla hodnota poměrně nižší a to 64,2 %. Z níže uvedených olejů se kávovému oleji nejvíce přibližuje hodnotou jodového čísla olivový olej.

Tabulka 10: Jodové čísla běžně dostupných olejů [27] ve srovnání se získanými průměrnými hodnotami jodového čísla kávového oleje

Olej	Jodové číslo [%]	Kávový olej	Jodové číslo [%]
Sójový	128,2	Burundi (Jamai Café)	92,2
Slunečnicový	119,4	Keňa	91,0
Arašídový	112,3	Etiopie	89,1
Řepkový	109,3	Bewit	80,9
Olivový	88,2	Renovality	64,2
Palmový	43,2	Burundi (Mr. Coffee)	61,1

13 ANALÝZA POMOCÍ PLYNOVÉ CHROMATOGRAFIE

13.1 Esterifikace

Aby bylo možno vzorky analyzovat na plynovém chromatografu, bylo nutno je esterifikovat. Byla použita bazicky katalyzovaná esterifikace. Do 100ml varné baňky bylo s přesností 0,01 g naváženo přibližně 0,5 g vzorku oleje. K vzorku bylo přidáno 7,5 ml 1% CH_3ONa v methanolu, 7,5 ml CH_3OH a 1 ml toluenu. Takto připravená směs byla ponechána vařit pod zpětným chladičem 15 minut. Poté byla baňka ochlazena a její obsah byl převeden do dělicí nálevky. Baňka byla promyta 5 ml petroletheru a roztok byl přidán do dělicí nálevky spolu s 5 ml 15% roztoku NaCl . Celý obsah byl poté řádně protřepán, vodná fáze byla oddělena. Bylo přidáno dalších 5 ml NaCl a opět protřepáno. Po oddělení vodné fáze byla petroletherová fáze vysušena přes bezvodý Na_2SO_4 . Poté byly vzorky převedeny do 5ml odměrných baněk a podle potřeby byly dále ředěny. Tento postup byl převzat z diplomové práce Nikolky Kostkové (2018, Metody methyl-esterifikace olejů).

13.2 Plynová chromatografie

Jak je uvedeno výše, vzorky byly nejdříve esterifikovány. Následně byly vzorky naředěny v poměru vzorek:petrolether, fr. 40–60 °C, 2:8. Vzorky o objemu 2 μl byly pomocí mikrostříkačky dávkovány přes septum do přístroje. Spuštěné měření jednoho vzorku trvalo 20 minut. Poté bylo měření automaticky vypnuto, přístroj byl ochlazen na původní teplotu a připraven k analýze dalšího vzorku. Podmínky měření jsou uvedeny v příloze I.

Identifikace mastných kyselin v kávovém oleji probíhala pomocí retenčních časů, které byly srovnány se standardy. Byly použity jak komerční, tak i zvlášť připravené standardy.

Tabulka 11: Retenční časy stanovovaných mastných kyselin

Retenční čas [min]	Mastná kyselina
8,440	Kyselina myristolejová
9,360	Kyselina palmitová
10,710	Kyselina stearová
10,870	Kyselina olejová
11,250	Kyselina linolová
11,830	Kyselina linolenová
12,470	Kyselina arachová
13,040	Kyselina eikosanová

13.2.1 Komerční káva

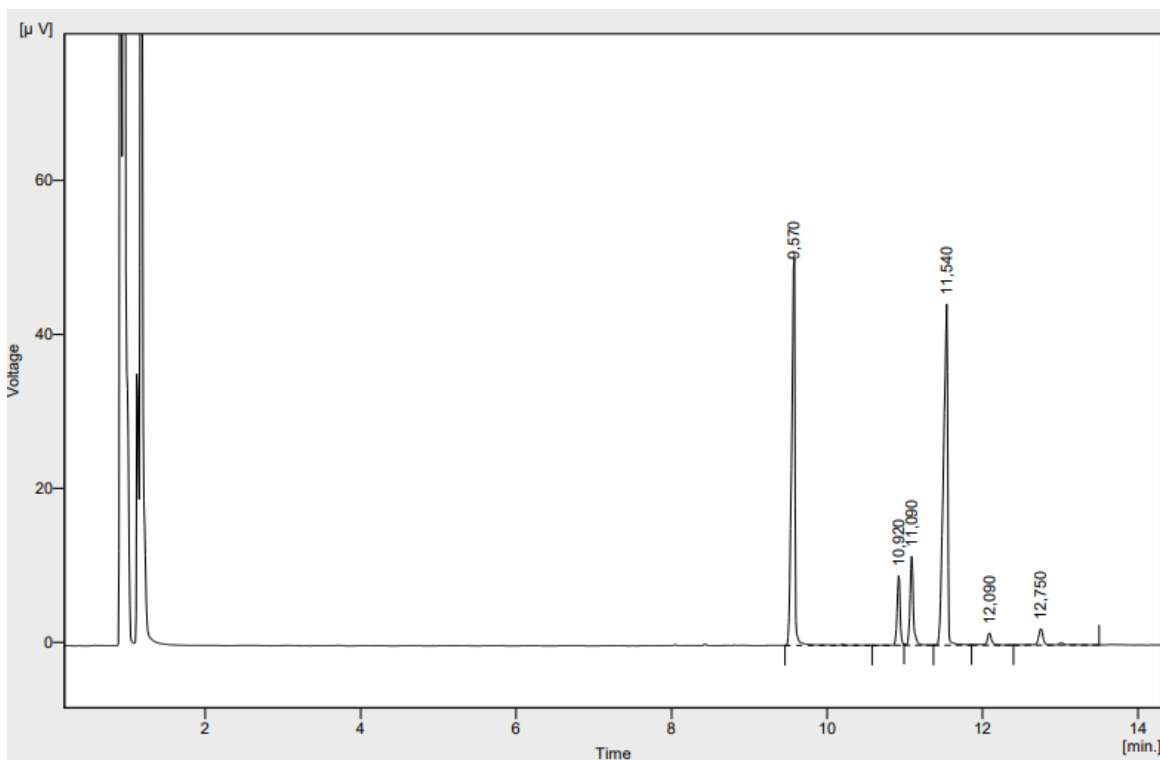
Na plynovém chromatografu byly analyzovány dva vzorky komerční kávy, kdy jeden byl extrahován pomocí petroletheru a druhý pomocí chloroformu. U obou vzorků byla nejvíce zastoupena kyselina linolová následovaná kyselinou palmitovou. U vzorku extrahovaného pomocí chloroformu bylo poměrně velké zastoupení kyseliny arachové ve srovnání s jinými vzorky. Mezi ostatními kyselinami nebyly žádné významné rozdíly.

Tabulka 12: Data z plynové chromatografie pro vzorek komerční kávy extrahované pomocí PE a CHCl_3

Typ mastné kyseliny	Procentuální zastoupení [%]	
	PE	CHCl_3
Palmitová	30,2	31,3
Stearová	7,0	8,1
Olejová	13,8	10,7
Linolová	42,8	40,3
Linolenová	3,2	3,4
Arachová	3,0	6,2

13.2.2 Kávový olej izolovaný z kávových zrn z Etiopie

U oleje extrahovaného z kávy z Etiopie byly analyzovány dva vzorky. Na rozdíl od ostatních vzorků bylo zaznamenáno vysoké množství kyseliny palmitové, které dokonce u prvního vzorku přesahovalo množství kyseliny linolové. U druhého vzorku bylo množství kyseliny linolové a palmitové téměř totožné.



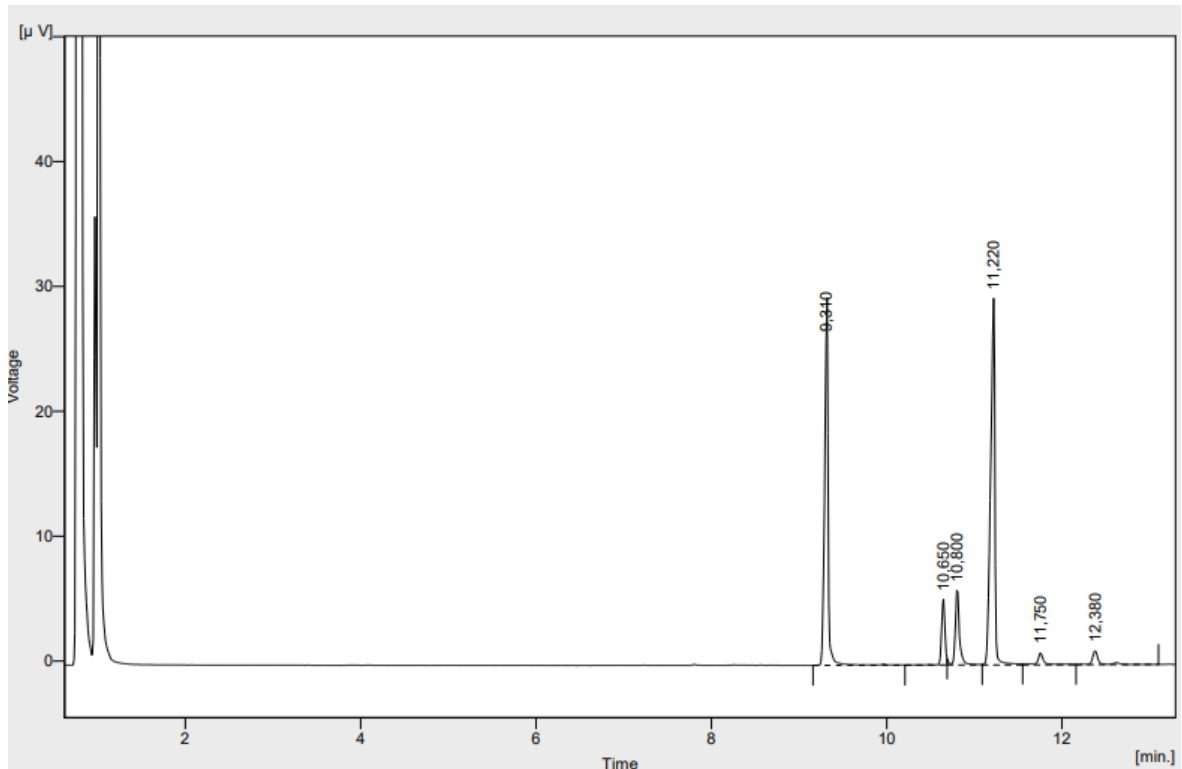
Obrázek 23: Plynový chromatogram pro kávový olej izolovaný z kávových zrn z Etiopie

Tabulka 13: Data z plynového chromatografu pro dva vzorky kávy z Etiopie

Typ mastné kyseliny	Procentuální zastoupení [%]	
	Vzorek 1	Vzorek 2
Palmitová	46,0	40,9
Stearová	5,4	6,1
Olejová	7,6	9,9
Linolová	38,8	41,1
Linolenová	0,3	0,8
Arachová	1,8	0,9

13.2.3 Kávový olej izolovaný z kávových zrn z Keni

U kávového oleje z Keni bylo zastoupení mastných kyselin bez významných rozdílů ve srovnání s údaji uvedenými v literatuře. Opět byla nejvíce zastoupena kyselina linolová a následně kyselina palmitová.



Obrázek 24: Plynový chromatogram pro kávový olej izolovaný z kávových zrn z Keni

Tabulka 14: Data z plynového chromatografu pro vzorek kávy z Keni

Typ mastné kyseliny	Procentuální zastoupení [%]
Palmitová	35,9
Stearová	6,2
Olejová	9,0
Linolová	44,2
Linolenová	2,2
Arachová	2,5

13.2.4 Kávový olej izolovaný z kávových zrn z Burundi (Mr. Coffee)

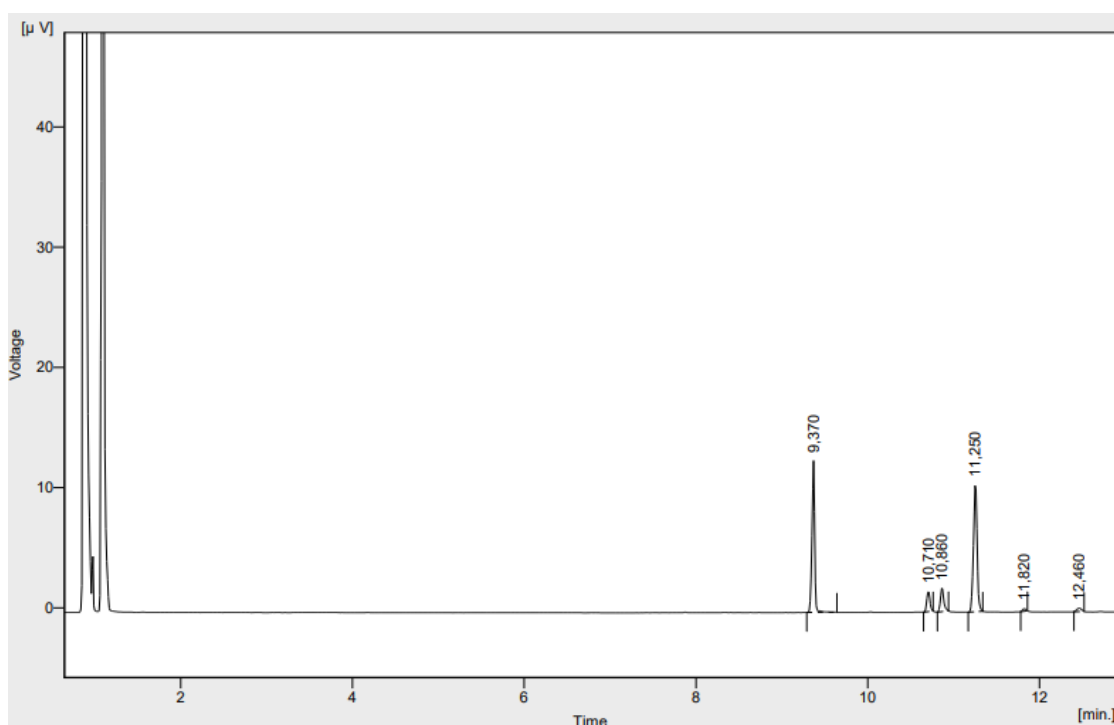
U tohoto vzorku kávového oleje bylo zastoupení dvou hlavních mastných kyselin stejné. Byly analyzovány dva vzorky. U prvního vzorku byla navíc zjištěna přítomnost kyseliny eikosanové, která nebyla zjištěna u žádného jiného vzorku. Naopak u druhého vzorku byla navíc kyselina myristolejová. Obě tyto kyseliny byly zastoupeny v minoritním množství.

Tabulka 15: Data z plynového chromatografu pro dva vzorky z Burundi (Mr. Coffee)

Typ mastné kyseliny	Procentuální zastoupení [%]	
	Vzorek 1	Vzorek 2
Myristolejová	-	1,3
Palmitová	34,6	38,6
Stearová	8,2	6,7
Olejová	9,1	8,0
Linolová	45,0	43,1
Linolenová	0,5	1,5
Arachová	2,4	0,9
Eikosanová	0,2	-

13.2.5 Kávový olej izolovaný z kávových zrn z Burundi (Jamai Café)

U kávového oleje izolovaného z kávy z Burundi bylo zastoupení mastných kyselin srovnatelné s údaji v literatuře. Opět byly nejvíce zastoupeny kyselina linolová a palmitová. Dále následovala kyselina olejová a stearová. V minoritním množství potom byly přítomné kyselina arachová, linolenová.



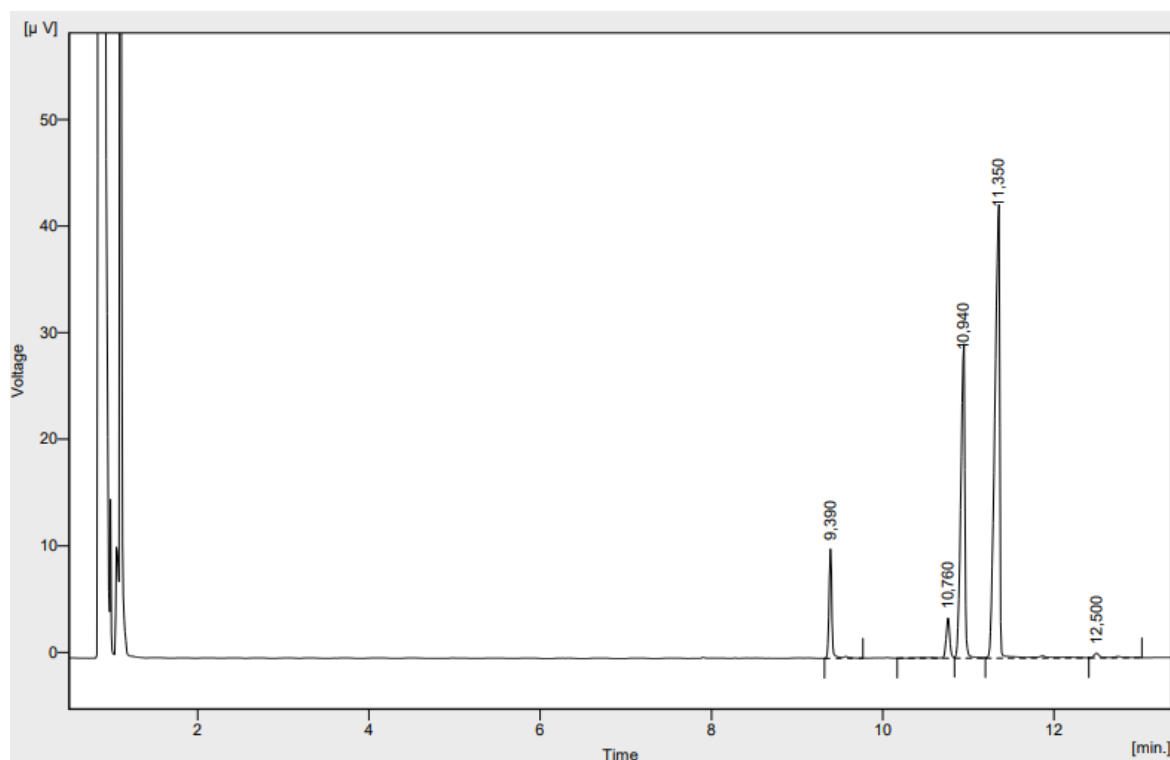
Obrázek 25: Plynový chromatogram pro kávový olej izolovaný z kávových zrn z Burundi

Tabulka 16: Data z plynového chromatografu pro vzorek kávy z Burundi (Jamai Café)

Typ mastné kyseliny	Procentuální zastoupení [%]
Palmitová	39,5
Stearová	6,1
Olejová	7,5
Linolová	44,7
Linolenová	0,8
Arachová	1,5

13.2.6 Komerční BIO kávový olej Bewit

V tomto kávovém oleji bylo identifikováno více mastných kyselin než v ostatních olejích. Kromě běžných mastných kyselin, které byly identifikovány i v ostatních vzorcích, byla navíc identifikována kyselina myristolejová, ale pouze ve stopovém množství. Dále byla nalezena mastná kyselina s retenčním časem 15,290, kterou se nepodařilo identifikovat, ale lze říci, že se jedná o mastnou kyselinu s vyšším počtem atomů uhlíku. Dalším rozdílem od ostatních vzorků je to, že u tohoto oleje nebylo nalezeno žádné množství kyseliny linolenové. Co se týká zastoupení běžných mastných kyselin, nejvíce zastoupenou mastnou kyselinou byla kyselina linolová. Druhou nejvíce zastoupenou mastnou kyselinou nebyla kyselina palmitová, jak je tomu u ostatních vzorků, ale kyselina olejová. Kyselina palmitová byla nalezena v menším množství, okolo 8 %.



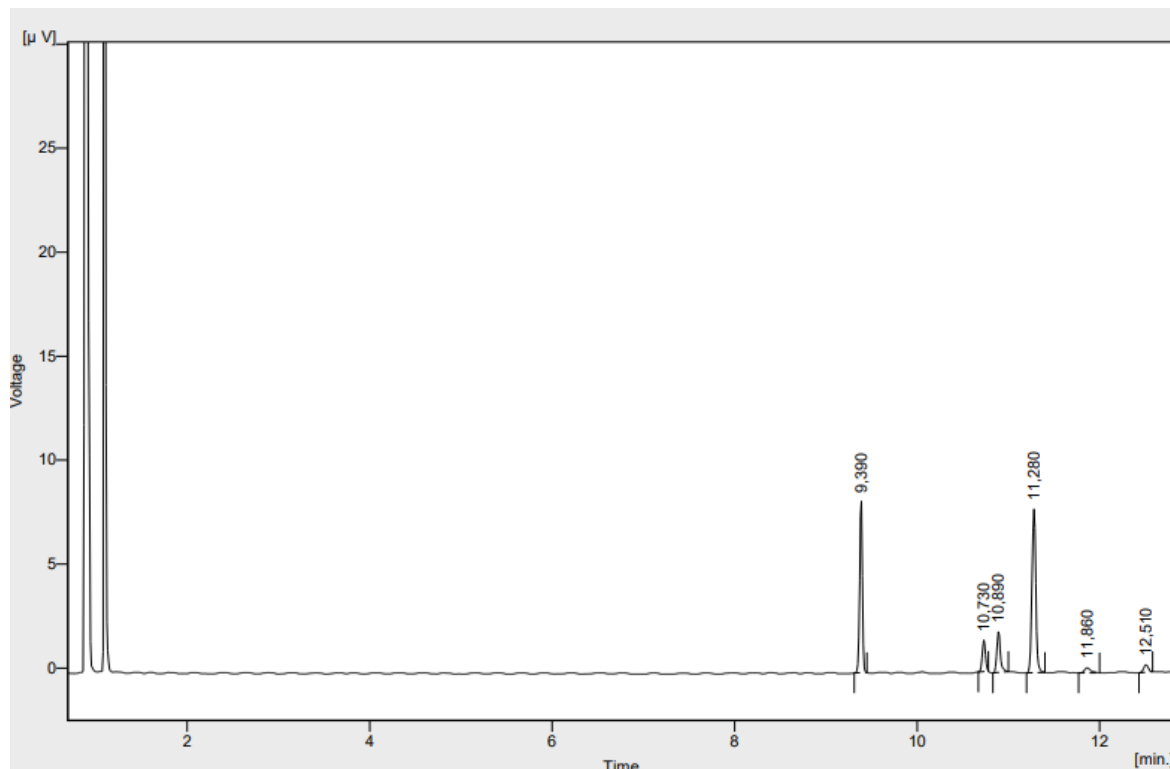
Obrázek 26: Plynový chromatogram pro naředěný BIO kávový olej Bewit

Tabulka 17: Data z plynového chromatografu pro ředěný a neředěný komerční kávový olej Bewit

Typ mastné kyseliny	Procentuální zastoupení [%]	
	Ředěný	Neředěný
Myristolejová	-	1,7
Palmitová	7,6	8,4
Stearová	3,9	3,6
Olejová	31,3	30,6
Linolová	55,4	53,9
Linolenová	-	-
Arachová	1,0	1,0
15,290	0,9	0,7

13.2.7 Komerční kávový olej Renovality

U druhého komerčního vzorku oleje bylo zastoupení mastných kyselin typické pro tento olej. Opět byla nejvíce zastoupena kyselina linolová a jako druhá kyselina palmitová.



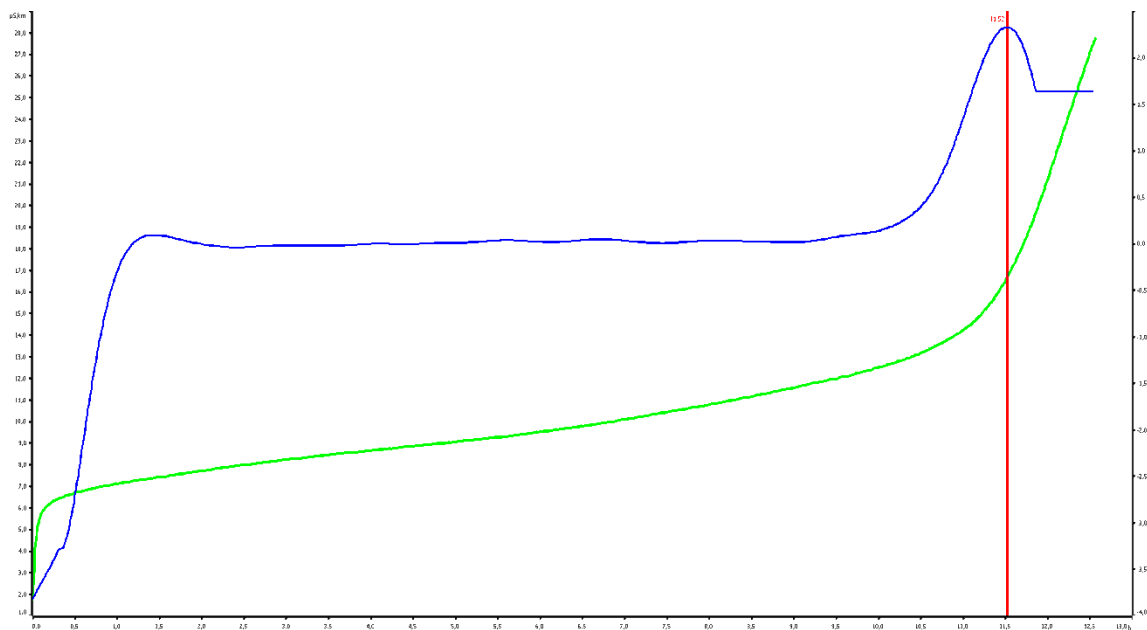
Obrázek 27: Plynový chromatogram pro komerční kávový olej Renovality

Tabulka 18: Data z plynového chromatografu pro komerční kávový olej Renovality

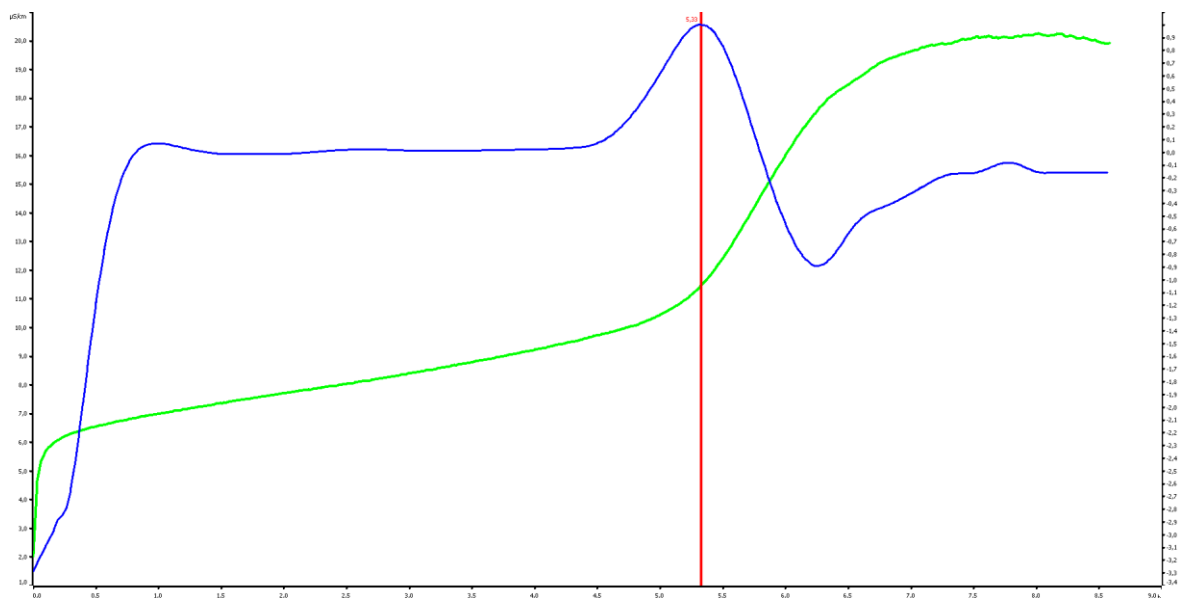
Typ mastné kyseliny	Procentuální zastoupení [%]
Palmitová	33,5
Stearová	7,2
Olejová	10,2
Linolová	44,4
Linolenová	2,2
Arachová	2,4

14 OXIDAČNÍ STABILITA

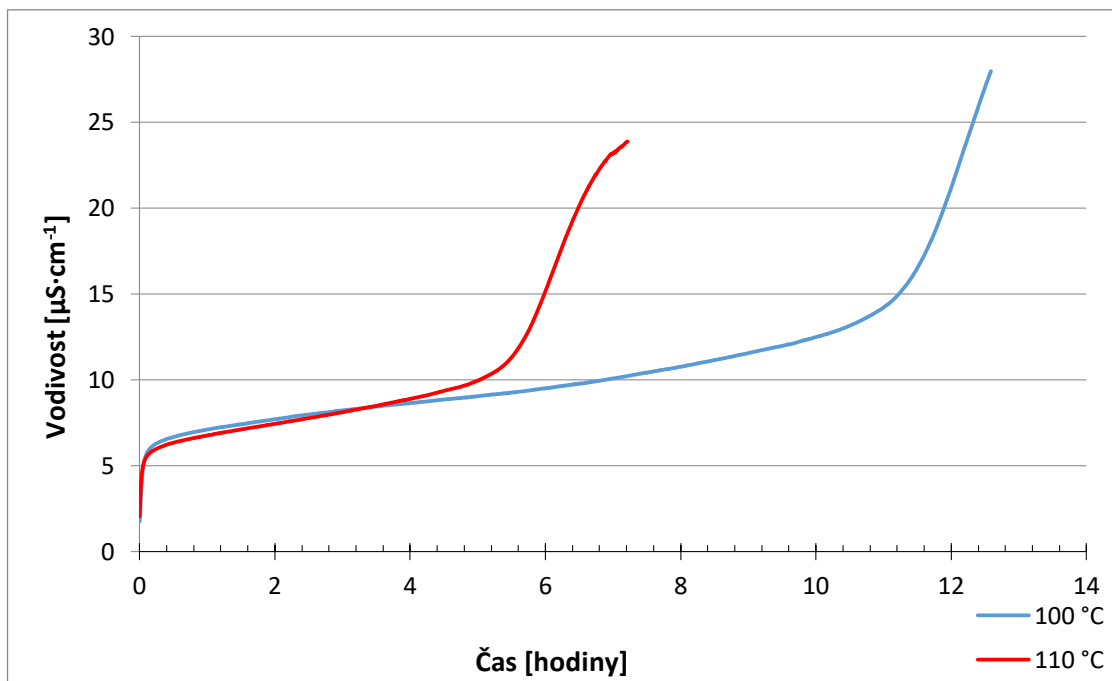
Prvním vzorkem, který byl testován na oxidační stabilitu, byl komerční BIO kávový olej od firmy Bewit. Níže uvedené grafy ukazují oxidační stabilitu oleje při teplotách 100 a 110 °C. Jak lze z grafů vyčíst, při teplotě 100 °C byla indukční perioda oxidace kávového oleje 11,52 hodin. U oxidace oleje při 110 °C došlo k výraznému zkrácení indukční periody a to na 5,33 hodin. Teplota tedy výrazně ovlivňuje oxidační stabilitu kávového oleje. Podmínky a popis přístroje je uveden v příloze II.



Obrázek 28: Kávový olej Bewit, teplota: 100 °C, indukční čas: 11,52 hodin



Obrázek 29: Kávový olej Bewit, teplota 110 °C, indukční čas: 5,33 hodin



Obrázek 30: Srovnání indukčního času pro kávový olej Bewit při teplotách 100 a 110 °C

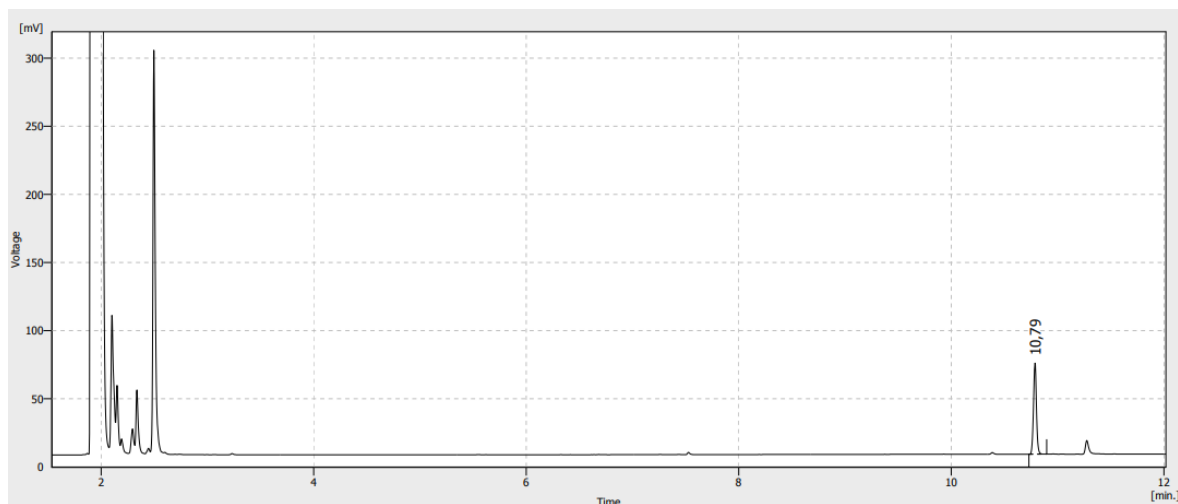
Druhým vzorkem, u kterého byla zkoumána oxidační stabilita, byl kávový olej od firmy Renovality. Kávový olej Renovality nebyl měřitelný při žádné ze zkoušených teplot. Zkoušené teploty byly 100, 110 a 120 °C. V úvahu by připadaly teploty vyšší, např. 140 °C, což je teplota vhodná pro kokosový olej. Jako možné vysvětlení může být fakt, že olej byl lisován ze zelených kávových zrn, kdy tyto kávová zrna obsahují vyšší množství antioxidantů, než zrna pražená. Vzhledem ke zjištěnému zastoupení mastných kyselin byla indukční perioda očekávána mnohem dříve.

Stanovit oxidační stabilitu tohoto oleje se tedy nepovedlo, ale na konci měření byly izolovány na protipěnicích bariérách malé jehličky neznámé látky.

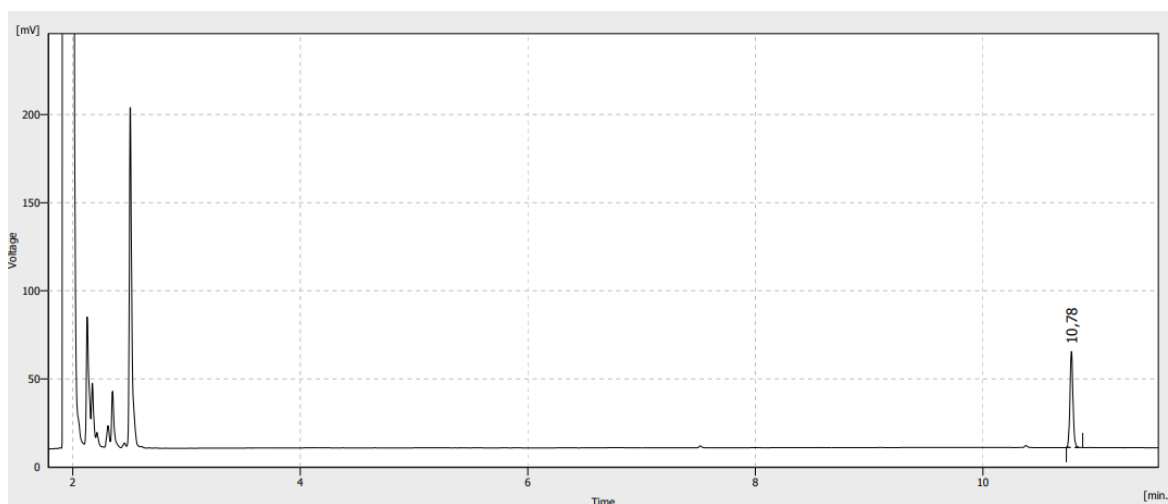


Obrázek 31: Izolované jehličky neznámé látky (vlastní obrázek)

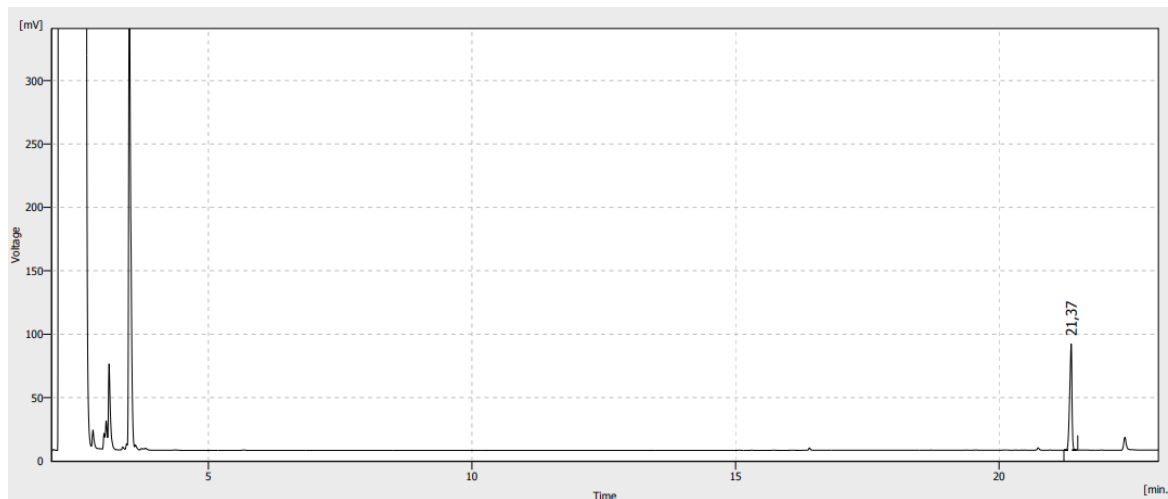
Tyto jehličky byly podrobeny analýze na FTIR-ATR a následně na plynovém chromatografu. Podezření, že vysublimované jehličky jsou kofein, bylo potvrzeno pomocí výše uvedených metod. Výsledky měření na plynovém chromatografu byly následně porovnány s chromatogramy čistého kofeinu od společnosti Fichema. Poslední použitou metodou byla NMR.



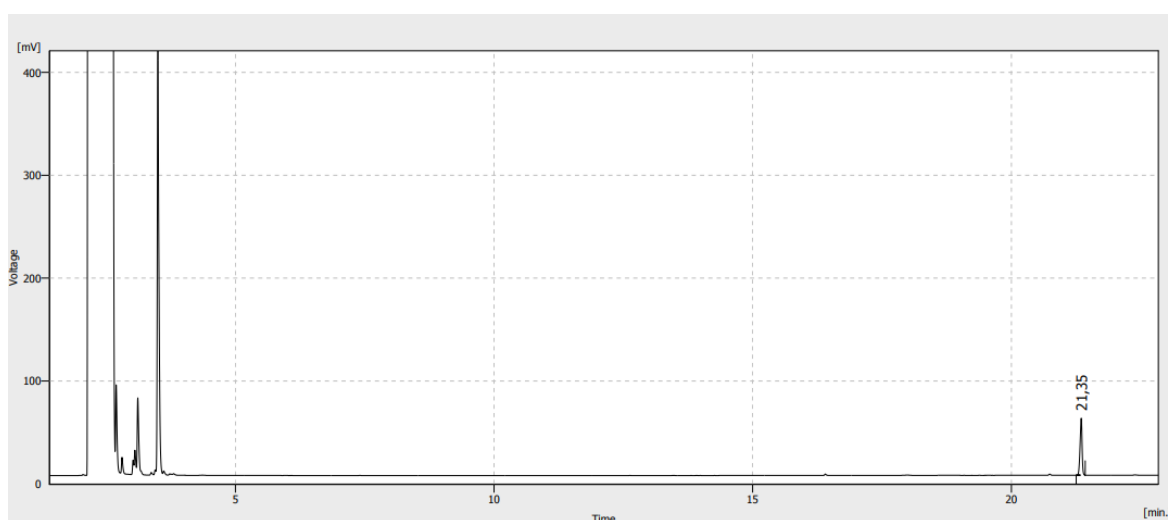
Obrázek 32: Plynový chromatogram vysublimovaného kofeinu (metoda 1)



Obrázek 33: Plynový chromatogram čistého kofeinu od společnosti Fichema (metoda 1)

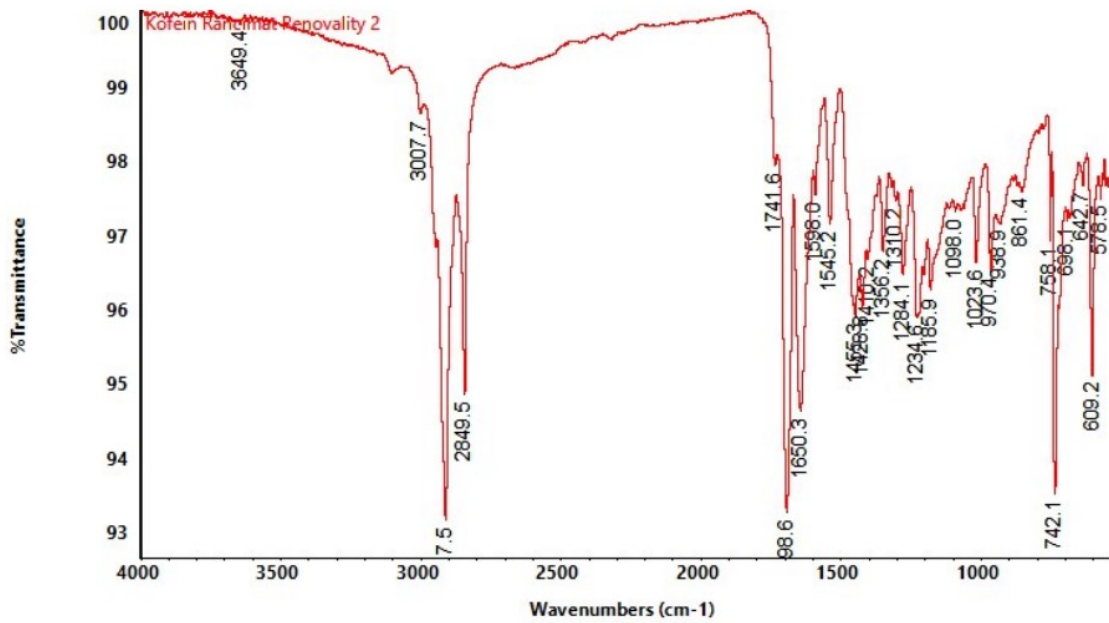


Obrázek 34: Plynový chromatograf vysublimovaného kofeinu (metoda 2)

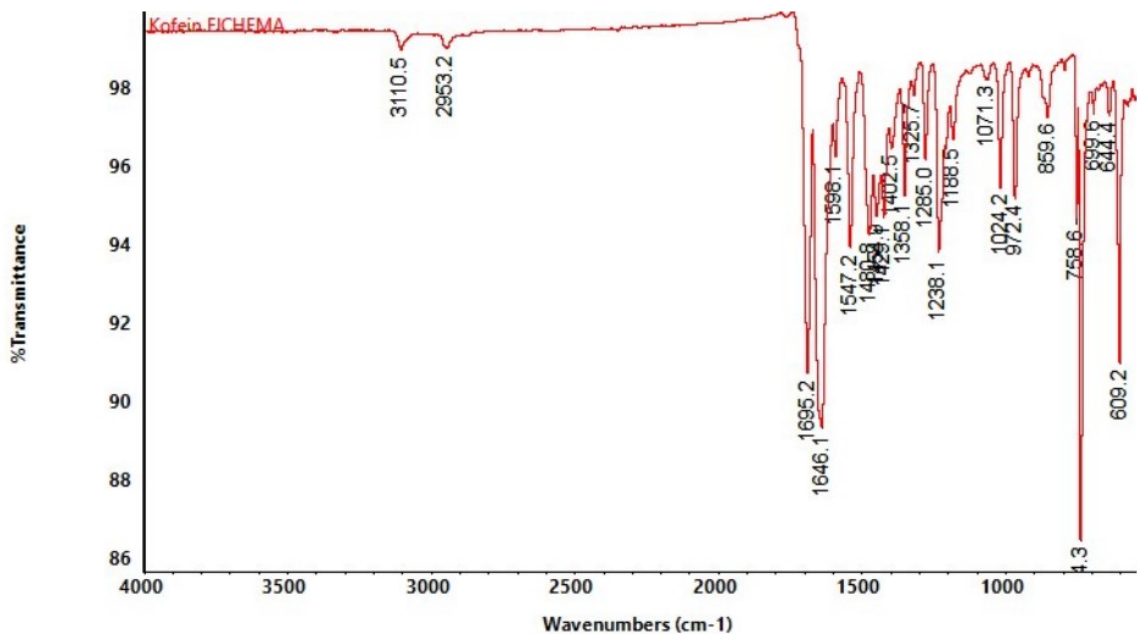


Obrázek 35: Plynový chromatogram čistého kofeinu od společnosti Fichema (metoda 2)

Analýza kofeinu pomocí plynové chromatografie byla provedena pomocí dvou metod. U první metody byl retenční čas vzorku a čistého kofeinu téměř totožný, lišil se pouze o jednu desetinu. To samé bylo také u druhé metody, kde se retenční časy měřených látek lišily pouze o dvě desetiny. Z tohoto měření je zřejmé, že izolovanou látkou byl opravdu kofein. Podmínky analýzy jsou uvedeny v příloze III.



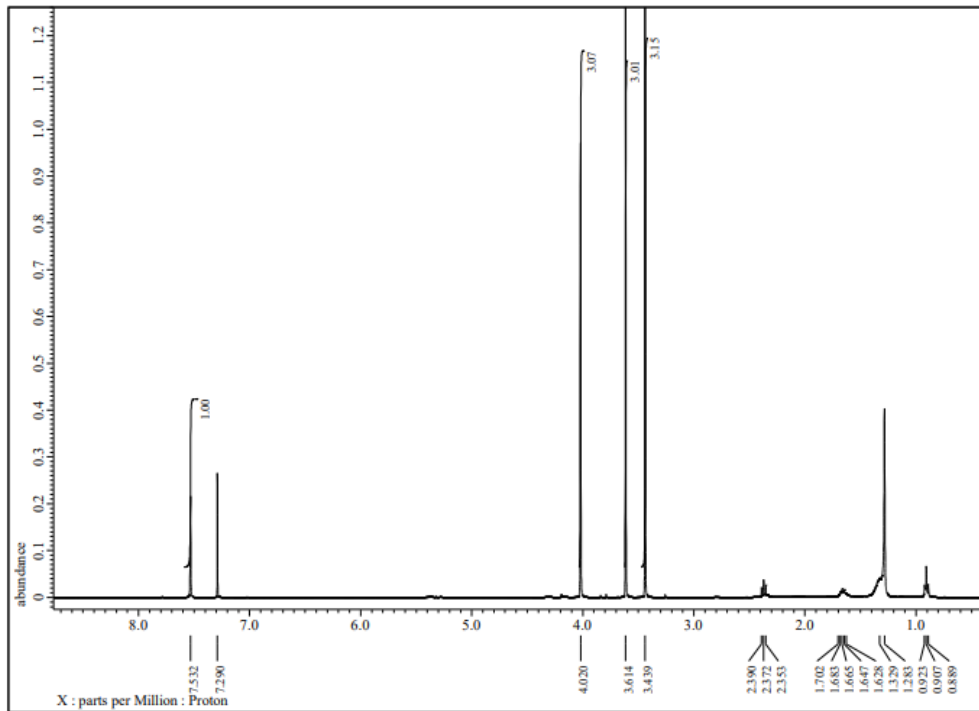
Obrázek 36: FTIR spektrum vysublimovaného kofeinu



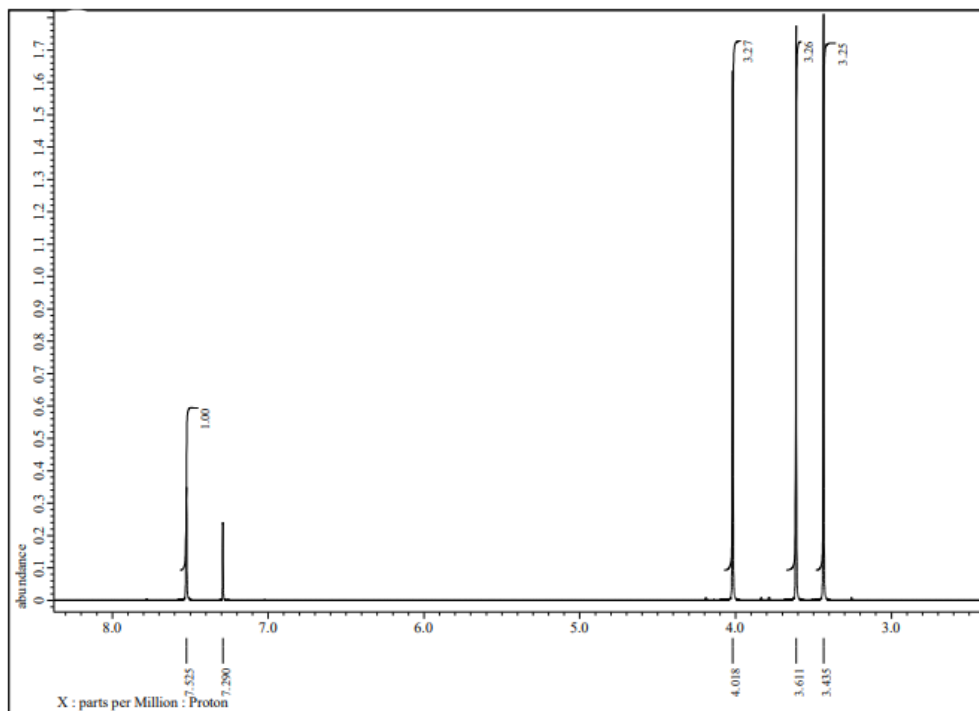
Obrázek 37: FTIR spektrum čistého kofeinu od společnosti Fichema

Spektra sublimovaného kofeinu a čistého kofeinu jsou si velmi podobná. Jednotlivé vlnočty se liší velmi málo. Největší rozdíl lze pozorovat v přítomnosti intenzivních pásů o vlnočtech 2849 a 2917 cm^{-1} , které u čistého kofeinu nejsou přítomny. Tyto vlnočty odpovídají odezvě methylové a methylenové skupiny. Z toho lze usoudit, že se může jednat o pozůstatky kávového oleje (přítomnost TAG s MK). Tuto teorii v tomto spektru podporuje také pás u hodnoty vlnočtu 1741 cm^{-1} , který patří karbonylové skupině a u

čistého kofeinu se tento signál také nevyskytuje. Podmínky a popis metody je uveden v příloze III.



Obrázek 38: NMR spektrum vysublimovaného kofeinu



Obrázek 39: NMR spektrum čistého kofeinu

Spektra čistého a sublimovaného kofeinu jsou podobná. V hodnotách chemického posunu si skoro odpovídají (čísla na ose x) v hodnotách ppm. Tři patří skupinám CH_3 (3,4; 3,6 a

4,0 ppm). Posun u 7,5 ppm odpovídá protonu C-H mezi dvěma atomy dusíku pětičlenného kruhu molekuly kofeinu. Znečištění původním olejem lze vidět u posunů 1 až 2,4 ppm. Signál při hodnotě 7,29 odpovídá protonu z použitého rozpouštědla (chloroform). Podmínky a popis metody je uveden v příloze III.

ZÁVĚR

V této diplomové práci byly srovnány výsledky kávového oleje získaného pomocí Soxhletovy extrakce. Použita byla dvě rozpouštědla (chloroform a petrolether). Obecně lze říci, že chloroform poskytoval lepší výtěžky oleje než petrolether. Toto je způsobeno tím, že chloroform může strhávat polárnější látky. Nejvyšší výtěžek extrakce byl získán z kávy z Burundi (Jamai Café), kdy hodnota získaného oleje byla v průměru 14,18 %. Naopak nejnižší výtěžek kávového oleje poskytla káva z Etiopie a to průměrně 8,84 %. Výtěžky dalších vzorků se potom vyskytovaly v tomto rozmezí.

Další zkoumanou vlastností kávového oleje bylo jodové číslo. Jodové číslo udává míru nenasyčenosti daného tuku nebo oleje. Nejvyšší jodové číslo bylo stanoveno u vzorku kávového oleje z Burundi (Jamai Café), jehož hodnota byla 92,2 %. Naopak nejnižší bylo určeno také u oleje z Burundi, avšak u druhého vzorku (Mr. Coffee) s hodnotou 61,1 %. Jodové číslo bylo stanovováno také u dvou komerčních olejů od firem Bewit a Renovality. U těchto olejů vyšlo jodové číslo 80,9 % pro Bewit a 64,2 % pro Renovality.

Pomocí plynové chromatografie bylo stanoveno složení mastných kyselin přítomných v kávovém oleji. Mezi mastné kyseliny přítomné ve všech vzorcích patří kyselina linolová, palmitová, stearová, olejová a arachová. Kyselina linolenová byla ve všech vzorcích kromě oleje Bewit. U tohoto oleje byla navíc také kyselina myristolejová a také kyselina s retenčním časem 15,290, kterou se však nepodařilo identifikovat. Dá se předpokládat, že se jedná o kyselinu s poměrně vysokým počtem atomů uhlíku. Dvě nejvíce zastoupené mastné kyseliny jsou kyselina linolová, která se ve vzorcích pohybovala v rozmezí 40 až 55 % a kyselina palmitová s hodnotou okolo 30 %. Pouze u oleje Bewit bylo zastoupení kyseliny palmitové poměrně malé a to okolo 8 %.

Další zkoumanou vlastností kávového oleje byla oxidační stabilita. Ta byla zkoumána u dvou zmíněných komerčních olejů. U kávového oleje Bewit byla určena indukční perioda u dvou teplot. U teploty 100 °C vyšla indukční perioda 11,52 hodin. Jelikož je teplota velmi důležitým faktorem oxidačních reakcí, při teplotě 110 °C došlo k výraznému zkrácení indukční periody na 5,33 hodin. U druhého oleje Renovality bylo prováděno měření při 100, 110 i 120 °C, nicméně ani u jedné teploty nedošlo k naměření výsledků. Vzhledem k tomu, že tento olej byl nejspíše lisován ze zelených kávových zrn, obsahoval mnohem vyšší množství antioxidantů než olej z pražených kávových zrn. To je možný důvod, proč během měření nebylo možno stanovit indukční periodu. Na konci měření však

byly izolovány malé jehličky neznámé látky, které byly později identifikovány pomocí plynové chromatografie, NMR spektroskopie a FTIR spektrometrie jako kofein.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] JAMAI CAFÉ - Nabídka káv. JAMAI CAFÉ - Úvod [online]. [cit. 03.05.2021]. Dostupné z: <https://www.jamai.cafe/nabidka-kav>
- [2] CLARKE, R. J. a R. MACRAE, ed. Coffee [online]. Dordrecht: Springer Netherlands, 1985 [cit. 2021-03-31]. ISBN 978-94-010-8693-6. Dostupné z: doi:10.1007/978-94-009-4948-5
- [3] D'AMELIO, Nicola, Elisabetta DE ANGELIS, Luciano NAVARINI, Elisabetta SCHIEVANO a Stefano MAMMI. Green coffee oil analysis by high-resolution nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Talanta* [online]. 2013, 110, 118-127 [cit. 2021-04-01]. ISSN 00399140. Dostupné z: doi:10.1016/j.talanta.2013.02.024
- [4] FARAH, Adriana, ed. Coffee [online]. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2019 [cit. 2021-03-31]. ISBN 978-1-78262-004-4. Dostupné z: doi:10.1039/9781782622437
- [5] BITENCOURT, Raphaela G., Fernando M.P.A. MELLO, Fernando A. CABRAL a Antonio J.A. MEIRELLES. High-pressure fractionation of spent coffee grounds oil using green solvents. *The Journal of Supercritical Fluids* [online]. 2020, 157 [cit. 2021-03-31]. ISSN 08968446. Dostupné z: doi:10.1016/j.supflu.2019.104689
- [6] NOSARI, Anna B.F.L., Juliana F. LIMA, Osvaldo A. SERRA a Luis Alexandre P. FREITAS. Improved green coffee oil antioxidant activity for cosmetic purpose by spray drying microencapsulation. *Revista Brasileira de Farmacognosia* [online]. 2015, 25(3), 307-311 [cit. 2021-04-01]. ISSN 0102695X. Dostupné z: doi:10.1016/j.bjp.2015.04.006
- [7] UDDIN, M.N., K. TECHATO, M.G. RASUL, N.M.S. HASSAN a M. MOFIJUR. Waste coffee oil: A promising source for biodiesel production. *Energy Procedia* [online]. 2019, 160, 677-682 [cit. 2021-04-01]. ISSN 18766102. Dostupné z: doi:10.1016/j.egypro.2019.02.221
- [8] CORNELIO-SANTIAGO, Heber P., Cintia Bernardo GONÇALVES, Naila Albertina DE OLIVEIRA a Alessandra Lopes DE OLIVEIRA. Supercritical CO₂ extraction of oil from green coffee beans: Solubility, triacylglycerol composition, thermophysical properties and thermodynamic modelling. *The Journal of Supercritical Fluids* [online]. 2017, 128, 386-394 [cit. 2021-04-01]. ISSN 08968446. Dostupné z: doi:10.1016/j.supflu.2017.05.030
- [9] DE AZEVEDO, A.B.A., T.G. KIECKBUSH, A.K. TASHIMA, R.S. MOHAMED, P. MAZZAFERA a S.A.B. Vieira de MELO. Extraction of green coffee oil using

supercritical carbon dioxide. *The Journal of Supercritical Fluids* [online]. 2008, 44(2), 186-192 [cit. 2021-04-01]. ISSN 08968446. Dostupné z: doi:10.1016/j.supflu.2007.11.004

[10] DEOTALE, Shweta M., Sayantani DUTTA, J.A. MOSES a C. ANANDHARAMAKRISHNAN. Coffee oil as a natural surfactant. *Food Chemistry* [online]. 2019, 295, 180-188 [cit. 2021-04-01]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2019.05.090

[11] ROMANO, Raffaele, Antonello SANTINI, Laura LE GROTTAGLIE, Nadia MANZO, Attilio VISCONTI a Alberto RITIENI. Identification markers based on fatty acid composition to differentiate between roasted Arabica and Canephora (Robusta) coffee varieties in mixtures. *Journal of Food Composition and Analysis* [online]. 2014, 35(1), 1-9 [cit. 2021-04-01]. ISSN 08891575. Dostupné z: doi:10.1016/j.jfca.2014.04.001

[12] CHARTIER, Agnes, Mathieu BEAUMESNIL, Alessandra Lopes DE OLIVEIRA, Claire ELFAKIR a Stephane BOSTYN. Optimization of the isolation and quantitation of kahweol and cafestol in green coffee oil. *Talanta* [online]. 2013, 117, 102-111 [cit. 2021-03-31]. ISSN 00399140. Dostupné z: doi:10.1016/j.talanta.2013.07.053

[13] KINGSTON, Lani. *How to make coffee: The science behind the bean* [online]. New York, 2015 [cit. 2021-03-31]. ISBN 978-1-61312-790-2.

[14] Pavel Malena: Co je to vlastně káva? - Kávové Listy.cz. Kávové Listy.cz | Zprávy ze světa kávy [online]. 2014 Kávové listy [cit. 03.05.2021]. Dostupné z: <http://www.kavovelisty.cz/pavel-malena-co-je-to-vlastne-kava/>

[15] AUGUSTÍN, Jozef. *U kávy o kávě a kávovinách*. V Brně: Jota, 2016. ISBN 978-80-7462-850-4.

[16] OLIVEIRA, Leandro S., Adriana S. FRANCA, Rodrigo R.S. CAMARGOS a Vany P. FERRAZ. Coffee oil as a potential feedstock for biodiesel production. *Bioresource Technology* [online]. 2008, 99(8), 3244-3250 [cit. 2021-04-01]. ISSN 09608524. Dostupné z: doi:10.1016/j.biortech.2007.05.074

[17] WAGEMAKER, Tais Aleriana Lucon, Cássia Regina Limonta CARVALHO, Nilson Borlina MAIA, Sueli Regina BAGGIO a Oliveiro GUERREIRO FILHO. Sun protection factor, content and composition of lipid fraction of green coffee beans. *Industrial Crops and Products* [online]. 2011, 33(2), 469-473 [cit. 2021-04-01]. ISSN 09266690. Dostupné z: doi:10.1016/j.indcrop.2010.10.026

- [18] CONG, Sha, Wenjiang DONG, Jianping ZHAO, Rongsuo HU, Yuzhou LONG a Xiaoxing CHI. Characterization of the Lipid Oxidation Process of Robusta Green Coffee Beans and Shelf Life Prediction during Accelerated Storage. *Molecules* [online]. 2020, 25(5) [cit. 2021-04-01]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules25051157
- [19] COFFEE: THE JOURNEY FROM THE SEED TO YOUR CUP | Essense Coffee. [online]. Dostupné z: <https://essense.coffee/en/coffee-the-journey-from-the-seed-to-your-cup/>
- [20] MUANGRAT, Rattana a Israpong PONGSIRIKUL. Recovery of spent coffee grounds oil using supercritical CO₂: Extraction optimisation and physicochemical properties of oil. *CyTA - Journal of Food* [online]. 2019, 17(1), 334-346 [cit. 2021-04-21]. ISSN 1947-6337. Dostupné z: doi:10.1080/19476337.2019.1580771
- [21] WAGEMAKER, T. A. L., P. RIJO, L. M. RODRIGUES, P. M. B. G. MAIA CAMPOS, A. S. FERNANDES a C. ROSADO. Integrated approach in the assessment of skin compatibility of cosmetic formulations with green coffee oil. *International Journal of Cosmetic Science* [online]. 2015, 37(5), 506-510 [cit. 2021-04-07]. ISSN 01425463. Dostupné z: doi:10.1111/ics.12225
- [22] TSEGAY, Girmay, Mesfin REDI-ABSHIRO, Bhagwan Singh CHANDRAVANSI, Estifanos ELE, Ahmed M. MOHAMMED a Hassen MAMO. Effect of altitude of coffee plants on the composition of fatty acids of green coffee beans. *BMC Chemistry* [online]. 2020, 14(1) [cit. 2021-04-07]. ISSN 2661-801X. Dostupné z: doi:10.1186/s13065-020-00688-0
- [23] BUDRYN, Grażyna, Ewa NEBESNY, Dorota ŻYŻELEWICZ, Joanna ORACZ, Karolina MIŚKIEWICZ a Justyna ROSICKA-KACZMAREK. Influence of roasting conditions on fatty acids and oxidative changes of Robusta coffee oil. *European Journal of Lipid Science and Technology* [online]. 2012, 114(9), 1052-1061 [cit. 2021-04-05]. ISSN 14387697. Dostupné z: doi:10.1002/ejlt.201100324
- [24] GOH, Brandon Han Hoe, Hwai Chyuan ONG, Cheng Tung CHONG, Wei-Hsin CHEN, Kin Yuen LEONG, Shiou Xuan TAN a Xin Jiat LEE. Ultrasonic assisted oil extraction and biodiesel synthesis of Spent Coffee Ground. *Fuel* [online]. 2020, 261 [cit. 2021-04-05]. ISSN 00162361. Dostupné z: doi:10.1016/j.fuel.2019.116121

- [25] GUERCIA, Elena, Federico BERTI, Luciano NAVARINI, Nicola DEMITRI a Cristina FORZATO. Isolation and characterization of major diterpenes from *C. canephora* roasted coffee oil. *Tetrahedron: Asymmetry* [online]. 2016, 27(14-15), 649-656 [cit. 2021-04-21]. ISSN 09574166. Dostupné z: doi:10.1016/j.tetasy.2016.06.008
- [26] KAMIL, Mohammed, Khalid M. RAMADAN, Abdul Ghani OLABI, Eman I. AL-ALI, Xiao MA a Omar I. AWAD. Economic, technical, and environmental viability of biodiesel blends derived from coffee waste. *Renewable Energy* [online]. 2020, 147, 1880-1894 [cit. 2021-04-21]. ISSN 09601481. Dostupné z: doi:10.1016/j.renene.2019.09.147
- [27] ALVISO, Dario, Cristhian ZÁRATE a Thomas DURIEZ. Modeling of vegetable oils cloud point, pour point, cetane number and iodine number from their composition using genetic programming. *Fuel* [online]. 2021, 284 [cit. 2021-04-22]. ISSN 00162361. Dostupné z: doi:10.1016/j.fuel.2020.119026
- [28] Kávový olej za studena lisovaný 100 ml - Renovality. Renovality - Kosmetické oleje [online]. Dostupné z: https://www.renovality.cz/kosmeticke-oleje/kavovy-olej-za-studena-lisovany-100-ml/?gclid=EAIaIQobChMI5ve7gN6Q8AIVrBJ7Ch2uXwMsEAAYASAAEgK0gvD_BwE
- [29] BIO KÁVOVÝ OLEJ - Bewit.love. Bewit.love - esenciální vůně, které proměňují [online]. [cit. 22.04.2021]. Dostupné z: <https://bewit.love/produkt/bio-coffee-oil-50ml/>
- [30] Mr.Coffee Burundi Kirezi Ngozi 500 g — Heureka.cz. Káva – Heureka.cz [online]. 2007 [cit. 22.04.2021]. Dostupné z: <https://kava.heureka.cz/mr-coffee-burundi-kirezi-ngozi-500-g/#specifikace>
- [31] Mr. Coffee Zlín - archiv káv | MR. COFFEE. Rodinná pražírna výběrové kávy | Zlín | MR. COFFEE [online]. 2021 MR. COFFEE. [cit. 22.04.2021]. Dostupné z: <https://mrcoffee.cz/svet-kavy/ethiopia-biftu-gudina>
- [32] MARK coffee scrub Original - s kávovým olejem | NetoxickaDomacnost.cz. NetoxickaDomacnost.cz [online]. 2021 Všechna práva vyhrazena. [cit. 22.04.2021]. Dostupné z: https://www.netoxickadomacnost.cz/MARK-coffee-scrub-Original-s-kavovym-olejem-d882_1047336631.htm
- [33] Plet'ové sérum MARK organic oil Coffee - s arganovým, jojobovým olejem a vitamínem E 30 ml :: WERECO. wereco :: WERECO [online]. 2020 [cit. 22.04.2021].

Dostupné z: <https://www.wereco.store/p/pletove-serum-mark-organic-oil-coffee-s-arganovym-jojobovym-olejem-a-vitaminem-e-30-ml>

[34] Kávový balzám - rozabel.cz. Rozabel.cz | Netoxická drogerie a kosmetika [online]. Dostupné z: <https://www.rozabel.cz/balzamy--kremy--masti-a-oleje/kavovy-balzam/>

[35] LÓPEZ, Mercedes, Tamara CALVO, Miguel PRIETO, Rodolfo MÚGICA-VIDAL, Ignacio MURO-FRAGUAS, Fernando ALBA-ELÍAS a Avelino ALVAREZ-ORDÓÑEZ. A Review on Non-thermal Atmospheric Plasma for Food Preservation: Mode of Action, Determinants of Effectiveness, and Applications. *Frontiers in Microbiology* [online]. 2019, 10 [cit. 2021-04-23]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2019.00622

[36] LEAL VIEIRA CUBAS, Anelise, Marina MEDEIROS MACHADO, Ritanara TAYANE BIANCHET, et al. Oil extraction from spent coffee grounds assisted by non-thermal plasma. *Separation and Purification Technology* [online]. 2020, 250 [cit. 2021-04-23]. ISSN 13835866. Dostupné z: doi:10.1016/j.seppur.2020.117171

[37] CHEN, P., S. DENG, Y. CHENG, X. LIN, L. METZGER a R. RUAN. Non-thermal food pasteurization processes: an introduction. *Case Studies in Novel Food Processing Technologies* [online]. Elsevier, 2010, 2010, s. 1-18 [cit. 2021-04-23]. ISBN 9781845695514. Dostupné z: doi:10.1533/9780857090713.1

[38] OLIVEIRA, Érica Resende, Rodrigo Fonseca SILVA, Paula Ribeiro SANTOS a Fabiana QUEIROZ. Potential of alternative solvents to extract biologically active compounds from green coffee beans and its residue from the oil industry. *Food and Bioproducts Processing* [online]. 2019, 115, 47-58 [cit. 2021-04-23]. ISSN 09603085. Dostupné z: doi:10.1016/j.fbp.2019.02.005

[39] PADMA ISHWARYA, S. a P. NISHA. Foaming agents from spent coffee grounds: A mechanistic understanding of the modes of foaming and the role of coffee oil as antifoam. *Food Hydrocolloids* [online]. 2021, 112 [cit. 2021-04-23]. ISSN 0268005X. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodhyd.2020.106354

[40] MOTA, Maria Fernanda S., Habtewold D. WAKTOLA, Yada NOLVACHAI a Philip J. MARRIOTT. Gas chromatography – mass spectrometry for characterisation, assessment of quality and authentication of seed and vegetable oils. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* [online]. 2021, 138 [cit. 2021-04-23]. ISSN 01659936. Dostupné z: doi:10.1016/j.trac.2021.116238

- [41] ABDULLAH, Mudafer a A. BULENT KOC. Oil removal from waste coffee grounds using two-phase solvent extraction enhanced with ultrasonication. *Renewable Energy* [online]. 2013, 50, 965-970 [cit. 2021-04-23]. ISSN 09601481. Dostupné z: doi:10.1016/j.renene.2012.08.073
- [42] ZOU, Yanping, Yuanyuan GAO, Hui HE a Tiankui YANG. Effect of roasting on physico-chemical properties, antioxidant capacity, and oxidative stability of wheat germ oil. *LWT* [online]. 2018, 90, 246-253 [cit. 2021-4-26]. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2017.12.038
- [43] ABAD, Abrehem a Fereidoon SHAHIDI. Fatty acid, triacylglycerol and minor component profiles affect oxidative stability of camelina and sophia seed oils. *Food Bioscience* [online]. 2021, 40 [cit. 2021-4-26]. ISSN 22124292. Dostupné z: doi:10.1016/j.fbio.2020.100849
- [44] MOEENFARD, Marzieh a Arminda ALVES. New trends in coffee diterpenes research from technological to health aspects. *Food Research International* [online]. 2020, 134 [cit. 2021-4-26]. ISSN 09639969. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodres.2020.109207
- [45] LOMBO VIDAL, Oscar, Anna TSUKUI, Rafael GARRETT, Maria Helena MIGUEZ ROCHA-LEÃO, Carlos Wanderlei PILER CARVALHO, Suely PEREIRA FREITAS, Claudia MORAES DE REZENDE a Mariana SIMÕES LARRAZ FERREIRA. Production of bioactive films of carboxymethyl cellulose enriched with green coffee oil and its residues. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2020, 146, 730-738 [cit. 2021-4-26]. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.10.123
- [46] Buy mCaffeine Naked & Raw Espresso Coffee Bathing Bar Soap | Deep Cleansing | Pure Coffee Oil, Vitamin E | Ph 5.5, Skin Friendly | 100 g Online at Low Prices in India - Amazon.in. Online Shopping site in India: Shop Online for Mobiles, Books, Watches, Shoes and More - Amazon.in [online]. 1996 [cit. 02.05.2021]. Dostupné z: <https://www.amazon.in/mCaffeine-Espresso-Bathing-Cleansing-Friendly/>
- [47] PARK, Jeongseok, Bora KIM a Jae W. LEE. In-situ transesterification of wet spent coffee grounds for sustainable biodiesel production. *Bioresource Technology* [online]. 2016, 221, 55-60 [cit. 2021-5-4]. ISSN 09608524. Dostupné z: doi:10.1016/j.biortech.2016.09.001

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

ABRP	automatický regulátor zpětného tlaku
CD	konjugované dieny
CMC	kritická micelární koncentrace
CT	konjugované trieny
FFA	volné mastné kyseliny
GC	plynová chromatografie
GCO	olej ze zelných kávových zrn
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
MUFA	mononenasycené mastné kyseliny
NMR	nukleární magnetická rezonance
O/W	emulze olej ve vodě
PAČ	p-anisidinové číslo
PAL	povrchově aktivní látka
PČ	peroxidové číslo
PUFA	polynenasycené mastné kyseliny
RP-HPLC	vysokoúčinná chromatografie s reverzibilními fázemi
scCO ₂	superkritický oxid uhličitý
SCG	olej z použité kávové sedliny
SFA	nasycené mastné kyseliny
SFE	superkritická fluidní extrakce
SPF	sun protection factor
TAG	triacylglyceroly
TEWL	transepidermální ztráta vody
UVB	ultrafialové záření

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: List a květ kávovníku [15]	14
Obrázek 2: Kávové třešně v různém stádiu zralosti [15].....	14
Obrázek 3: Stavba kávového zrna [2,19].....	15
Obrázek 4: Struktura keře <i>Coffea arabica</i> a <i>Coffea canephora</i> [15].....	16
Obrázek 5: Zrno <i>Coffea arabica</i> a <i>Coffea canephora</i> [19].....	17
Obrázek 6: Promývání kávovníkových zrn během zpracování [15].....	19
Obrázek 7: Struktura β -sitosterolu, stigmasterolu a campesterolu [25].....	25
Obrázek 8: Struktura kafestolu, 16-O-methylkafestolu a kahweolu [25].....	26
Obrázek 9: Metabolismus kofeinu, překresleno podle [13].....	27
Obrázek 10: Zastoupení MK u vzorků ošetřených plasmou a ultrazvukem [36]	31
Obrázek 11: Srovnání výtěžku oleje a poměru různých rozpouštědel k SCG [24]	35
Obrázek 12: Závislost procentuálního výtěžku oleje na ultrazvukové amplitudě [24]	36
Obrázek 13: Chromatogram pro surový olej ze zelené kávy [9]	39
Obrázek 14: Závislost čísla kyselosti a JČ kávového oleje na době skladování [18].....	42
Obrázek 15: Závislost PAČ (c) a PČ (d) kávového oleje na době skladování [18].....	43
Obrázek 16: Pleťové sérum MARK organic oil Coffee [33].....	48
Obrázek 17: Tělový peeling MARK scrub Coffee Original [32]	49
Obrázek 18: Kávový balzám s obsahem kávového oleje [34].....	49
Obrázek 19: Kávové mýdlo s čistým kávovým olejem [46]	50
Obrázek 20: Kávový olej Renovality [28]	53
Obrázek 21: BIO kávový olej Bewit [29]	54
Obrázek 22: Soxhletova extrakce kávového oleje (vlastní obrázek)	55
Obrázek 23: Plynový chromatogram pro kávový olej z kávových zrn z Etiopie	61
Obrázek 24: Plynový chromatogram pro kávový olej z kávových zrn z Keni	62
Obrázek 25: Plynový chromatogram pro kávový olej z kávových zrn z Burundi.....	63
Obrázek 26: Plynový chromatogram pro naředěný BIO kávový olej Bewit	65
Obrázek 27: Plynový chromatogram pro komerční kávový olej Renovality	66
Obrázek 28: Kávový olej Bewit, teplota: 100 °C, indukční čas: 11,52 hodin	67
Obrázek 29: Kávový olej Bewit, teplota 110 °C, indukční čas: 5,33 hodin	67
Obrázek 30: Srovnání indukčního času pro olej Bewit při teplotách 100 a 110 °C	68
Obrázek 31: Izolované jehličky neznámé látky	68
Obrázek 32: Plynový chromatogram vysublimovaného kofeinu (metoda 1).....	69
Obrázek 33: Plynový chromatogram kofeinu od společnosti Fichema (metoda 1).....	69
Obrázek 34: Plynový chromatograf vysublimovaného kofeinu (metoda 2).....	70

Obrázek 35: Plynový chromatogram kofeinu od společnosti Fichema (metoda 2).....	70
Obrázek 36: FTIR spektrum vysublimovaného kofeinu.....	71
Obrázek 37: FTIR spektrum čistého kofeinu od společnosti Fichema	71
Obrázek 38: NMR spektrum vysublimovaného kofeinu	72
Obrázek 39: NMR spektrum čistého kofeinu	72
Obrázek 40: Příklad pro měření oxidační stability – Rancimat.....	88

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Složení lipidové frakce kávových zrn.....	21
Tabulka 2: Zastoupení mastných kyselin [17].....	22
Tabulka 3: Hodnoty výtěžku kávového oleje při daných teplotách a tlacích [20].....	33
Tabulka 4: Srovnání výtěžků oleje pomocí Soxhletovy extrakce, ASE a SFE [20].....	34
Tabulka 5: Srovnání obsahu MK ve vzorcích SCG Arabiky a Robusty [39].....	38
Tabulka 6: Průměrné složení TAG pro GCO [9].....	40
Tabulka 7: Mastné kyseliny obsažené v bionaftě z odpadního kávového oleje [7]	45
Tabulka 8: Extrakce oleje z daných vzorků a jejich výtěžky	56
Tabulka 9: Stanovení jodového čísla	57
Tabulka 10: JČ dostupných olejů [27] ve srovnání s hodnotami JČ kávového oleje	58
Tabulka 11: Retenční časy stanovovaných mastných kyselin	59
Tabulka 12: Data z GC pro komerční kávu extrahovanou PE a CHCl ₃	60
Tabulka 13: Data z GC pro dva vzorky kávy z Etiopie.....	61
Tabulka 14: Data z GC pro vzorek kávy z Keni.....	62
Tabulka 15: Data z GC pro dva vzorky z Burundi (Mr. Coffee).....	63
Tabulka 16: Data z GC pro vzorek kávy z Burundi (Jamai Café).....	64
Tabulka 17: Data z GC pro ředěný a neředěný komerční kávový olej Bewit	65
Tabulka 18: Data z GC pro komerční kávový olej Renovality.....	66

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha P I: Plynová chromatografie

Příloha P II: Oxidační stabilita

Příloha P III: Analýza kofeinu

PŘÍLOHA P I: PLYNOVÁ CHROMATOGRRAFIE

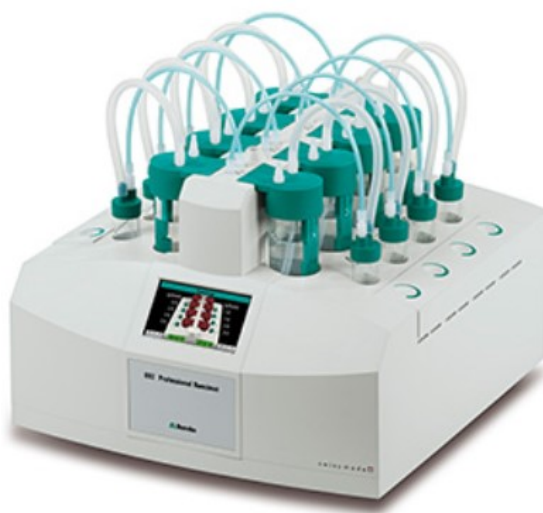
K analýze kávového oleje byl použit plynový chromatograf Shimadzu GC-14A vybavený FID detektorem. Použitými plyny byly vodík, dusík a vzduch. Použitou kolonou byla kolona DB-wax, 30 m × 0,25 mm × 0,25 μm (polární). K nástřiku vzorků byla použita mikrostríkačka Hamilton o objemu 10 μl.

Při analýze byly použity následující podmínky. Teplota nástřiku byla 225 °C, teplota detektoru 230 °C. U teploty kolony se programuje gradient (col init temp 110; col init time 3,0; col prog rate 15; col final temp 220; col final time 10). Tlak y plynů byly pro dusík jako nosný plyn (určuje průtok kolonou) 2,5 kg/cm², pro dusík pro oplachování 0,5 kg/cm², pro vzduch 0,3–0,5 kg/cm² a pro vodík 0,5 kg/cm².

PŘÍLOHA P II: OXIDAČNÍ STABILITA

Oxidační stabilita byla testována pomocí přístroje Rancimat 892 Metrohm. Princip přístroje spočívá v akcelerovaném stárnutí vzorku oleje díky zvýšení teploty. Vzorkem neustále probublává proud vzduchu. Vznikající těkavé oxidační produkty jsou následně unášeny proudem vzduchu do nádoby, ve které je destilovaná voda. Dochází k měření vodivosti právě v nádobách s destilovanou vodou, do kterých jsou unášeny oxidační produkty. Obecně se na přístroji měří indukční doba. Indukční doba je čas, který uplyne do velmi rychlé oxidace oleje. Vyhodnocení výsledků probíhá pomocí softwaru StabNet.

Přístroj má celkem 8 pozic, do kterých může být vzorek umístěn. Do zkumavek je navážen vzorek o hmotnosti asi 3 gramy. Následně jsou zkumavky umístěny do přístroje. Do nádob, ve kterých je měřena vodivost, je dáno 50 ml destilované vody. Každý blok obsahuje 4 místa pro vzorky a každý může být vyhříván na různou teplotu. U prvního bloku byla použita teplota 100 °C, u druhého 110 °C. Průtok vzduchu byl 20 l/h. Po vyhřátí jednotlivých bloků na dané teploty byl přístroj spuštěn.



Obrázek 40: Přístroj pro měření oxidační stability – Rancimat

PŘÍLOHA P III: ANALÝZA KOFEINU

Plynová chromatografie

Analýza kofeinu pomocí plynové chromatografie byla provedena na přístroji DANI Master GC Fast Gas Chromatograph a byla použita kolona ZB-5MS o parametrech 30 m × 0,25 mm × 0,5 μm.

Pro první metodu byly použity následující podmínky. Injektor/nástřík: T = 280 °C, průtok = 1 ml/min, dělič toku 1:50. Teplotní profil: počáteční teplota 80 °C (doba setrvání teploty 1 min) s teplotním gradientem 20 °C/min na 250 °C (doba setrvání teploty 1 min), následně s teplotním gradientem 6 °C/min do 280 °C (doba setrvání teploty 2 min), dále s teplotním gradientem 10 °C/min do 290 °C a setrvání 20 minut. Detektor: FID, T = 310 °C. Celkový čas analýzy: 38,50 minut.

Podmínky pro druhou metodu byly následující. Injektor/nástřík: T = 200 °C, průtok 1ml/min, dělič toku 1:25. Teplotní profil: počátek 50 °C, ohřev na 120 °C, gradient 6 °C/min do 230 °C a setrvání 15 min. Detektor: FID, T = 270 °C. Celkový čas analýzy: 33,99 min.

FTIR

FTIR spektra byla měřena na spektrometru Nicolet Summit s nástavcem Everest pro ATR (Attenuated total reflectance; zeslabený úplný odraz). Měřeno bylo v módu transmitance, počet skenů byl 32 s rozlišením 4 cm⁻¹ a rozsah měření byl 4 000–550 cm⁻¹.

¹H NMR

¹H NMR spektra byla měřena na spektrometru Jeol ECZ400/S3 za teploty 303 K, frekvenci 400 MHz v deuterovaném chloroformu CDCl₃.