

# Hodnocení a ovlivnění antioxidačních vlastností extraktů kávy

Šárka Polášková

---

Bakalářská práce  
2022

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická  
Ústav technologie potravin

Akademický rok: 2021/2022

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Šárka Polášková  
Osobní číslo: T19696  
Studijní program: B0721A210002 Technologie a hodnocení potravin  
Specializace: Technologie potravin  
Forma studia: Prezenční  
Téma práce: Hodnocení a ovlivnění antioxidačních vlastností extraktů kávy

### Zásady pro vypracování

#### I. Teoretická část

Charakteristika kávových zrn, druhů kávy, její složení a vlastnosti.

Popis antioxidantů a metod využívaných pro stanovení antioxidačních vlastností.

#### II. Praktická část

Analýza antioxidačních vlastností extraktů kávy spektrofotometricky.

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

**Seznam doporučené literatury:**

- [1] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 2. Tábor: OSSIS*, 1999. ISBN 8090239145  
[2] CHU, Yi-Fang. *Coffee: emerging health effects and disease prevention*. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell/IFT Press, 2012. ISBN 978-1-119-94989-3  
[3] LUDWIG, I. A., SANCHEZ, L., CAEMMERER, B., KROH, L. W., et al. Extraction of coffee antioxidants: Impact of brewing time and method. *Food Research International*, 48, 2012, 57-64. doi.org/10.1016/j.foodres.2012.02.02  
[4] PRIFTIS, A., STAGOS, D., KONSTANTINOPOULOS, K., TSITSIMPIKOU, C., et al. Comparison of antioxidant activity between green and roasted coffee beans using molecular methods. *Molecular Medicine Reports*, 2015, 12, 7293-7302. doi.org/10.3892/mmr.2015.4377

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Soňa Škrovánková, Ph.D.**  
Ústav analýzy a chemie potravin

Datum zadání bakalářské práce: **31. prosince 2021**  
Termín odevzdání bakalářské práce: **20. května 2022**

L.S.

---

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

---

**Ing. Robert Gál, Ph.D.**  
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 25. února 2022

## **PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE**

Beru na vědomí, že:

- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji bakalářskou 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 – bakalářskou 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 bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

### **Prohlašuji,**

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

Ve Zlíně, dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....  
podpis studenta

## **ABSTRAKT**

Bakalářská práce se zaměřuje na studium celkového obsahu polyfenolických sloučenin a antioxidační aktivitu v kávě u druhů arabika a robusta při různém stupni pražení s využitím několika druhů rozpouštědel. V teoretické části byla práce zaměřena na charakteristiku kávových zrn, druhů kávy a jejich složení. V praktické části se práce zabývala spektrofotometrickým stanovením fenolických látek kávy pomocí Folin-Ciocalteuova činidla. Pro analýzu antioxidační aktivity byly použity dvě metody spektrofotometrického stanovení, a to s činidly DPPH a ABTS. Nejvyšší obsah polyfenolů i antioxidační aktivity byl zjištěn u kávy druhu robusta, v 1. stupni pražení po extrakci s činidly voda, etanol.

Klíčová slova: káva, polyfenoly, antioxidační aktivita, DPPH, ABTS

## **ABSTRACT**

The bachelor thesis is focused on quantification of polyphenolic compounds and antioxidant activity in coffee samples of arabica and robusta species, and evaluation of the effect of roasting at different degrees using several types of solvents. In the theoretic part, the study is focused on the characteristics of coffee beans, types of coffee and their composition. In the practical part, the study analyses the spectrophotometric determination of phenolic substances of coffee using the Folin-Ciocalteu reagent. Two methods of spectrophotometric determination were used for the analysis of antioxidant activity, namely the DPPH and ABTS reagents. The results showed that the highest polyphenol concentration and antioxidant activity was detected in the robusta coffee in the first degree of roasting after the hot water extraction method and ethanol reagents.

Keywords: coffee, polyphenols, antioxidant activity, DPPH, ABTS

Chtěla bych poděkovat vedoucí této bakalářské práce Ing. Soni Škrovánkové, Ph.D. za velké množství trpělivosti, ochoty a pomoci při zpracování závěrečné práce.

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

# OBSAH

ÚVOD.....	10
<b>I TEORETICKÁ ČÁST .....</b>	<b>11</b>
<b>1 KÁVOVNÍK.....</b>	<b>12</b>
1.1 HISTORIE .....	12
1.2 PĚSTOVÁNÍ KÁVOVNÍKU.....	14
1.2.1 Nemoci a škůdci napadající kávovníky.....	14
1.3 DRUHY KÁVOVNÍKŮ .....	15
1.3.1 Kávovník arabský ( <i>Coffea arabica</i> ).....	15
1.3.2 Kávovník statný ( <i>Coffea canephora</i> ) .....	16
1.3.3 Kávovník liberijský ( <i>Coffea liberica</i> ) .....	16
1.4 ODRŮDY <i>COFFEA ARABICA</i> .....	16
<b>2 KÁVA .....</b>	<b>19</b>
2.1 KÁVOVÉ ZRNO .....	19
2.2 ZPRACOVÁNÍ KÁVY .....	20
2.2.1 Sklizeň.....	20
2.2.2 Zpracování zelené kávy.....	21
2.2.3 Pražení.....	22
2.2.4 Balení a skladování kávy .....	23
<b>3 VLASTNOSTI A SLOŽENÍ KÁVOVÉHO ZRNA .....</b>	<b>24</b>
3.1 VLASTNOSTI KÁVOVÉHO ZRNA.....	24
3.2 CHEMICKÉ SLOŽENÍ KÁVOVÉHO ZRNA.....	25
3.2.1 Sacharidy .....	26
3.2.2 Lipidy .....	27
3.2.3 Dusíkaté sloučeniny .....	27
3.2.4 Kyseliny .....	29
3.2.5 Minerální látky .....	29
3.2.6 Melanoidiny .....	30
<b>4 ANTIOXIDANTY .....</b>	<b>31</b>
4.1 ANTIOXIDANTY V KÁVĚ .....	31
4.1.1 Polyfenoly .....	32
<b>5 METODY STANOVENÍ MNOŽSTVÍ ANTIOXIDANTŮ A ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY .....</b>	<b>35</b>
5.1 METODA STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU POLYFENOLŮ .....	35
5.1.1 TPC metoda.....	35
5.2 METODY STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY .....	36
5.2.1 Metoda DPPH .....	36
5.2.2 Metoda ABTS .....	37

<b>II PRAKTICKÁ ČÁST.....</b>	<b>38</b>
<b>6 CÍL PRÁCE .....</b>	<b>39</b>
<b>7 CHEMIKÁLIE A ZAŘÍZENÍ .....</b>	<b>40</b>
7.1 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE A POMŮCKY .....	40
<b>8 CHARAKTERISTIKA VZORKŮ KÁV.....</b>	<b>42</b>
8.1 VZORKY KÁV .....	42
8.1.1 Káva Ethiopia Sidamo.....	44
8.1.2 Káva Brazil Santos .....	45
8.1.3 Káva Kenya Mount Kenya Selection .....	47
8.1.4 Káva Mexiko Berilo .....	48
8.1.5 Káva India Malabar .....	50
<b>9 METODIKA PRÁCE.....</b>	<b>52</b>
9.1 POUŽITÉ ZPŮSOBY PŘÍPRAVY VZORKŮ KÁV .....	52
9.2 STANOVENÍ CELKOVÉHO MNOŽSTVÍ POLYFENOLŮ (TPC) POMOCÍ FOLIN- CIOCALTEUOVA ČINIDLA.....	53
9.2.1 Kalibrační křivka kyseliny gallové .....	53
9.3 STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU DPPH.....	54
9.3.1 Kalibrační křivka troloxu pro metodu DPPH.....	55
9.4 STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU ABTS.....	56
9.4.1 Kalibrační křivka troloxu pro metodu ABTS.....	57
<b>10 VÝSLEDKY .....</b>	<b>59</b>
10.1 STANOVENÍ CELKOVÉHO MNOŽSTVÍ POLYFENOLŮ .....	59
10.1.1 TPC kávy Ethiopia Sidamo .....	59
10.1.2 TPC kávy India Malabar .....	60
10.1.3 TPC kávy Kenya Mountain Kenya Selection .....	61
10.1.4 TPC kávy Brazil Santos .....	62
10.1.5 TPC kávy Mexico Berilo .....	63
10.1.6 Porovnání TPC káv připravených vybranou metodou .....	64
10.2 STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU DPPH.....	65
10.2.1 AA kávy Ethiopia Sidamo .....	66
10.2.2 AA kávy India Malabar.....	67
10.2.3 AA kávy Kenya Mountain Kenya Selection .....	68
10.2.4 AA kávy Brazil Santos.....	69
10.2.5 AA kávy Mexiko Berilo.....	70
10.2.6 Porovnání AA káv připravených vybranou metodou.....	71
10.3 STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU ABTS.....	72
10.3.1 AA kávy Ethiopia Sidamo .....	72
10.3.2 AA kávy India Malabar.....	73
10.3.3 AA kávy Kenya Mountain Kenya Selection .....	75
10.3.4 AA kávy Brazil Santos.....	76
10.3.5 AA kávy Mexiko Berilo.....	77



10.3.6	Porovnání AA káv připravených vybranou metodou.....	78
10.4	KORELAČNÍ ANALÝZA PRO HODNOTY TPC A AA.....	79
<b>11</b>	<b>ZÁVĚR.....</b>	<b>83</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>	<b>85</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....</b>	<b>92</b>
	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>93</b>
	<b>SEZNAM TABULEK.....</b>	<b>95</b>
	<b>SEZNAM PŘÍLOH.....</b>	<b>96</b>

## ÚVOD

Káva je celosvětově známý hořký nápoj, který je připravován mnoha způsoby. Káva byla objevena již v roce 850 a je původem z Etiopie a Jemenu odkud se dále rozšiřovala do celého světa. Přípravuje se z plodů kávovníků, zejména kávovníků *Coffea arabica* (arabika) a *Coffea canephora* (robusta). V současnosti jsou kávová zrna pěstována v zemích nacházejících se v rovníkové oblasti.

Kávové zrno je zpracováváno v několika fázích, a to ihned po sklizni a poté v pražírkách kávy. Po sklizni je káva zpracována v místě pěstování, a to nejčastěji suchým anebo mokrým způsobem. Zelená káva je následně pražena v pražičkách. Během pražení u kávy dochází k vývoji typické chuti a aroma, kávová zrna expandují a křehnou. Z chemického hlediska probíhají v kávových zrnech různé chemické reakce. Nejvýznamnějšími reakcemi jsou Maillardovy reakce, degradace fenolických sloučenin a Streckerova degradace.

Složení kávového zrna obsahuje širokou škálu látek. Mezi hlavní složky kávového zrna patří sacharidy, lipidy, kofein, kyselina chlorogenová, trigonellin, fenolické sloučeniny a minerální látky (hořčík, fosfor).

Káva je také bohatým zdrojem antioxidantů, jejichž funkcí je ochrana organismu proti volným radikálům. Volné radikály mohou způsobovat oxidační stres, ale také mohou být příčinou kardiovaskulárních onemocnění, karcinogeneze nebo různých zánětů. Přítomnost antioxidantů v potravinách má pozitivní vliv na prodloužení údržnosti potravin, díky zabránění nežádoucím oxidačním lipidů. V kávě jsou v největší míře antioxidanty zastoupeny fenolickými sloučeninami, a to zejména kyselinou chlorogenovou a katechiny.

Antioxidanty v kávě mohou být stanovovány několika způsoby, a to např. pomocí spektrofotometrie, vysokoúčinné kapalinové chromatografie, plynové chromatografie apod. Celkový obsah polyfenolů (TPC) lze stanovit pomocí spektrofotometrie s Folin-Ciocalteuovým činidlem. Antioxidační aktivitu je možné stanovit pomocí metod za použití činidel, jako jsou DPPH a ABTS.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

# 1 KÁVOVNÍK

## 1.1 Historie

Doba objevení kávovníku, a kávy jakožto nápoje, není přesně známa, ale o jejím vzniku existuje několik legend jako např. legenda o Chaldim nebo historka o Mohamedovi.

Legenda o Chaldim vypráví příběh z období asi kolem roku 850 o pastevci koz (Obrázek 1) v Horním Egyptě, který si všiml, že jeho kozy mají příliš mnoho energie poté, co se pasou červenými bobulemi z nedalekých keřů. Rozhodl se bobule vyzkoušet a pozoroval na sobě nárůst energie. Bobule natrhal a donesl je opatovi z blízkého kláštera. Opat si zpočátku myslel, že rostlina je dílem ďábla a hodil bobule do ohně. V legendě se praví, že tohle byl klíčový moment objevení kávy, protože právě oheň v zrnech uvolnil aroma a šířil jej do okolí. Když opat ucítil vůni, ihned zrna vyhrabal a napadlo jej, že je zkusí vařit s vodou a pít je jako likér. Poté vyzval své stoupence, aby se nápoje napili a mohli neúnavně recitovat dlouhé modlitby [1, 2].



Obrázek 1 - pastevec Chaldí a jeho kozy [3]

Další historka vypráví příběh o Mohamedovi, který nebyl schopen plnit své mužské ani vojevůdcovské povinnosti a na pomoc mu přišel Archanděl Gabriel s šálkem kávy. Unavenému vojevůdci podal šálek s kávou a Mohamedovi se zázrakem opět navrátila síla. Vypráví se, že díky takto získané nové energii dokázal Mohamed vybudovat největší islámskou říši [1, 2].

Za oblast odkud káva nejspíše pochází, se považuje území dnešní Etiopie a Jemenu, protože v těchto oblastech se vyskytují divoce rostoucí keře kávovníků. Káva dostala jméno podle etiopské oblasti Kaffa [2].

Káva se dlouhou dobu, přibližně od roku 575 až do poloviny 15. století, pěstovala pouze na Arabském poloostrově. Pěstování kávy bylo vysoce rozvinuto a Arabové si ji pečlivě hlídali, aby se nedostala do ostatních částí světa, protože pro obchodníky to byl významný zdroj příjmů. Vyvážet se kávová zrna mohla pouze upražená nebo převařená, aby již nemohla klíčit [2].

V polovině 15. století se poutníkovi jménem Baba Budan povedlo propašovat několik kávových klíčivých zrn do Indie. Zasadil je blízko oblasti Chikamalaguru v jižní Indii [2].

Holandřanům se v roce 1616 povedlo propašovat několik kávovníku do Nizozemska a díky nim se začala káva pěstovat na Srí Lance nebo na západním pobřeží Indie (Malabar) [2].

Průkopníkem v dějinách kávy je Nicolaas Witson, tehdejší starosta Amsterdamu, který domluvil s malabarským guvernérem, aby vysadil kávu na Jávě. Tenhle pokus o rozmnožení kávovníků nevyšel, protože kávovníky byly vyplaveny prudkými dešti. Nakonec se podařilo v roce 1699 Henricku Zwaaydecroonovi přepravit kávovníky lodí z Malabaru na Jávu a v roce 1706 byly dovezeny první vzorky kávy z Jávy do Amsterdamu. Zároveň byl v botanické zahradě nasazen kávovník přivezený z Jávy. Mezitím Holanďané rozmnožili kávovníky na Sumatře a Indonéském souostroví. Na Americký kontinent se kávovník dostal z Evropy až v roce 1714, kdy král Ludvík XIV. dostal sazenici kávovníku darem od amsterdamského starosty a povedlo se mu úspěšně rostlinu převést do karibské oblasti. V oblasti Střední Ameriky se kávě velmi dařilo a během krátké doby se stala velmi rozšířenou. Během prvních 50-ti let bylo v oblasti Střední Ameriky vypěstováno 20 milionů kávovníků [1].

V roce 1718 Holanďané přivezli kávovníky na Jižní pobřeží Ameriky a v roce 1727 byly v brazilském městě Para vysazeny první plantáže. Brazílie se poté stala jedním z největších pěstitelů a vývozců kávy na světě. Albertu Santos, podle kterého je pojmenovaná známá odrůda Brazil Santos, se povedlo vyprodukovat a vyexportovat zrna z 5 milionů kávovníků pěstovaných v Brazílii [2].

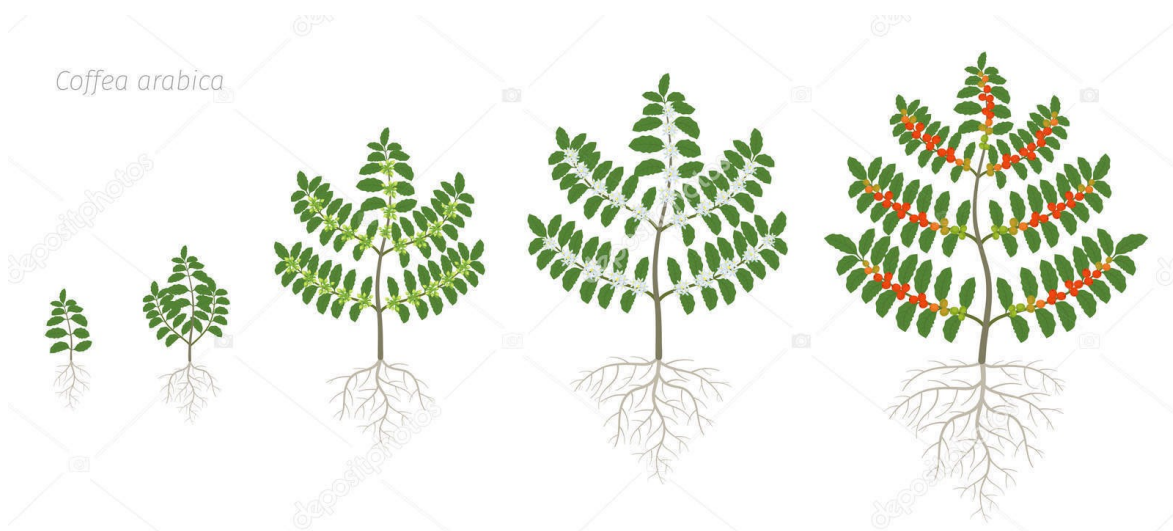
Britové začali pěstovat kávovníky na Jamajce v roce 1730 a pochází odtud směs Blue Mountain. V roce 1878 se celá cesta kávovníku dostala zpět do Afriky, konkrétně do Keni. V Keni se poté začal rozvíjet kávový průmysl. Koncem 18. století se káva stala nejžádanější komoditou na světě [2].

## 1.2 Pěstování kávovníku

Kávovník je rostlina rodu *Coffea*, která roste v tropickém a subtropickém pásmu v různých nadmořských výškách. Pěstuje se v Jižní Americe, Africe, Indii a Asii. Jedná se o stálezelený keř, někdy strom, který může dorůst do výšky až 15 m. Na plantážích je kávovník pravidelně zastříhován, aby se s ním dalo dobře pracovat [4, 5].

Z hlediska botanické klasifikace je kávovník řazen do říše rostlin *Plantea*, podříše cévnatých rostlin *Tracheobionita*, oddělení krytosemenné *Magnoliophyta*, třída vyšší dvouděložné *Rosopsida*, řád hořcotvarné *Gentianales* a čeledi mořenovitých *Rubiaceae* [4, 5].

Kávovník bývá na plantážích pěstován v kyselé půdě bohaté na živiny. Květy kávovníku mají bílou barvu a kvetou několikrát do roka. Rozmnožuje se pomocí semen (kávových zrn) ze zralých plodů, které se nazývají kávové třešně (Obrázek 2), a klíčí přibližně 4 týdny. Rostlina kávovníku v závislosti na odrůdě prvních 3-5 let neprodukuje žádné plody, ale dožívá se až 50 let. Plody neboli kávové třešně dozrávají přibližně 7 měsíců a na jednom kávovníku mohou být současně květy i plody. Zralé kávové třešně jsou sklizeny ručně nebo strojově. Kávové plody neboli třešně jsou zelené barvy a v průběhu zrání se mění na červenou barvu. Kávová zrna jsou ukryta v peckovicích o velikosti cca 1,5 cm. Peckovice je složena z exokarpu (slupky), mezokarpu (dužiny) a endokarpu (pergamenu). Kávová zrna jsou obalena vrstvou pergamenu a stříbřité blanky [4, 5].



Obrázek 2 - životní cyklus kávovníku [7]

### 1.2.1 Nemoci a škůdci napadající kávovníky

Kávovníky jsou ohroženy a napadány škůdci stejným způsobem jako ostatní rostliny. V kávovnících je sice obsažena ochranná látka kofein proti škůdcům, ale vyskytují se i jejich

přirození nepřátelé. Největší problém představuje škůdce *Hypothenemus hampei* a nemoc kávová rez neboli plíseň listů [6].

Brouk *Hypothenemus hampei* představuje celosvětový problém pro pěstitele kávy. Jedná se o brouka velikosti 1–2 mm černého zbarvení, který je původem z Afriky. Živí se zelenými zrny, ve kterých tvoří cestičky. Je velmi odolný proti pesticidům a rychle se množí. Pro zabránění jeho výskytu a přemnožení napomáhá rozšířená péče o kávovníky, tj. pravidelné prořezávání a sbírání opadaných listů a plodů. Při jeho přemnožení může zničit celou úrodu. Snaha vědců o vyšlechtění odolnějších odrůd není prozatím úspěšná [6, 8].

Dalším velkým problémem je nemoc kávovníků nazývána kávová rez listů. Epidemie kávové rzi postihla Střední Ameriku v roce 2012 a od té doby představuje riziko pro kávovníky. Kávová rez postihuje rostliny plodící plody i mladé rostliny pěstované ve školkách. Nemoc postihuje kávové listy, na kterých se začnou objevovat rezavé fleky. Nemoc způsobuje houba *Hemelia vastatrix*, která produkuje velké množství spor a pomocí větru se přenáší na další rostliny. Napadené listy kávovníků opadají, rostlina přestane plodit plody a v nejhorším případě uhynie. Bylo zjištěno, že šíření nemoci lze omezit použitím kvalitních hnojiv a dobrého poměru stínu a přímého slunečního záření [2, 8].

### 1.3 Druhy kávovníků

Kávovník má několik druhů, z nichž nejznámější a nejvíce pěstované jsou druhy *Coffea arabica*, *Coffea canephora* a *Coffea liberica* [1].

#### 1.3.1 Kávovník arabský (*Coffea arabica*)

*Coffea arabica* neboli kávovník arabský tvoří největší zastoupení, přibližně 70 % kávy ve světové produkci. Kávovník pochází z oblasti Etiopie a Súdánu. Je pěstován ve vysokých nadmořských výškách v rozmezí 900–2500 m.n.m. Kávovník arabský je náročnější na pěstování než kávovník statný (*Coffea canephora*), přičemž kvůli náročnějšímu pěstování je i vyšší cena těchto kávových zrn. První sklizeň u kávovníku probíhá po 5 letech pěstování. Optimální podmínky pro jeho pěstování jsou ve stinných podrostech tropických lesů, a kávovník nemá problém se změnami počasí [2, 4].

Kávová zrna kávovníku arabského mají velmi bohatý chuťový profil, který výrazně závisí na jeho odrůdách. Charakteristická je kyselost, jemná ovocná chuť a celková rozmanitost. V kávových zrnech se nachází větší množství tuků a sacharidů, ale kofein je obsažen

v malém množství. Zralé kávové plody (třešně) se sklízí ručně nebo pomocí česacího hřebenu, a to zajišťuje vyšší kvalitu kávy oproti strojové sklizni [2, 6].

### 1.3.2 Kávovník statný (*Coffea canephora*)

*Coffea canephora* (kávovník statný), známý v České republice spíše pod názvem robusta, je také významným druhem kávy. Vyznačuje se vysokou odolností a jeho pěstování je snadnější. Je pěstován v nízkých nadmořských výškách do 800 m.n.m. Kávovník statný musí být na plantážích pravidelně zastříháván, protože dorůstá do výšky až 13 m. Pro pěstování vyžaduje kávovník statný vlhké stálé klima s teplotou v rozmezí 24-29 °C. První sklizeň u kávovníku probíhá po 3 letech pěstování [2, 6].

Chuťový profil je drsnější. Připravená káva je výrazná, hořká a zemitá. V kávových zrnech kávovníku statného se vyskytuje až trojnásobné množství kofeinu oproti kávovým zrnům kávovníku arabského. Vyznačuje se vysokou produktivností, bývá sklizen strojovým způsobem pomocí kombajnů a je zpravidla méně kvalitní. Používá se často ve směsích s arabikou pro přípravu espressa a není vhodná pro alternativní přípravu kávových nápojů. Největším producentem kávy robusta je Vietnam [2, 6].

### 1.3.3 Kávovník liberijský (*Coffea liberica*)

*Coffea liberica* neboli kávovník liberijský se vyznačuje vysokou produktivitou. Je pěstován v oblasti Libérie, především na Pobřeží slonoviny a dosahuje výšky až 20 metrů.

Obsahuje jen malé množství sacharidů a její chuťový profil je nevýrazný, hořký a dřevitý. Kávová zrna jsou větší a tvrdší. Jedná se o málo populární druh kávovníku a s kávou ze zrn tohoto kávovníku se běžně nelze setkat [9].

## 1.4 Odrůdy *Coffea arabica*

Je známo asi 600 druhů odrůd *Coffea arabica*. Mezi hlavní odrůdy kávovníku arabského patří Typica, Bourbon a Heirlom, z nichž následně vznikají další mutace a kříženci. Nové odrůdy vznikají hlavně díky práci člověka. Nově vzniklé odrůdy musí splňovat řadu norem, aby mohly být zařazeny na seznam odrůd kávovníků v katalogu. Musí být homogenní, všechny nově vznikající odrůdy musí být přesně popsány a jejich rostliny musejí vypadat stejně. Dalším pravidlem je odlišnost odrůdy od již stávajících odrůd a posledním pravidlem je stabilita odrůdy. Odrůdu je možné rozmnožovat jakýmkoliv způsobem, ale její vlastnosti během replikace nesmí být změněny [9, 10].



Nejvíce známé jsou odrůdy Typica a Bourbon pocházející z Etiopie. Typica je nejstarší a nejběžnější odrůdou kávovníku pocházející z Afriky, ze které v průběhu času postupně vznikaly další odrůdy. Pod odrůdu Typica patří např. odrůdy Blue Mountain, Kona, Kent, Jáva, atd. Blue Mountain je odrůda, která vznikla přirozenou mutací odrůdy Typica v oblasti Blue Mountain na Jamajce. Je pěstována rovněž na Haiti, Keni a Havaji. V 19. století se stala velmi populární odrůdou díky její vysoké odolnosti proti škůdcům. Odrůda Kona je odrůda pěstována na úpatí hor v přibližné nadmořské výšce 800 m.n.m. na Havaji. Díky výjimečnému mikroklimatu oblasti, kde je tato odrůda pěstována, patří Kona mezi významné odrůdy kávovníků. Kávové třešně bývají sklizeny pouze ručně a zpracovány pomocí mokrého způsobu. Odrůda Kent byla objevena v Indii jako odolnější varianta odrůdy Typica proti nemoci kávové rzi, která zástupce této odrůdy často postihovala. Je pěstována hojně v Keni, ale již není schopna odolávat novým mutacím kávové rzi, a proto není zcela doporučována pro pěstování. Odrůda Java je odolnější proti škůdcům a nemocem oproti odrůdě Typica a vyznačuje se podlouhlými kávovými zrny často s květinovým chuťovým profilem. Při pěstování ve vysokých nadmořských výškách v sopečné půdě dosahuje odrůda Java velmi vysoké kvality. Je pěstována v Panamě, Nikaragui, na Kostarice a Jávě [9, 10].

Další velmi známou odrůdou je Bourbon, který vznikl přirozenou mutací odrůdy Typica na ostrově Réunion a poté byla dále rozšířena do celého světa. Mezi hlavní zástupce odrůdy Bourbon patří: Caturra, Pacas, Mocha. Odrůda Caturra byla objevena v Brazílii jako odolnější odrůda, která vznikla z Red Bourbon. Kávovníky odrůdy Caturra dorůstají menšího vzrůstu a typický chuťový profil tvoří jemné tělo a lehká acidita. Odrůda Pacas vznikla z odrůdy Bourbon jako její kultivar. Jedná se o velmi citlivou odrůdu kávovníku z hlediska odolnosti proti nemocem a škůdcům, ale zároveň s dobrým výnosem a kvalitou. Kávovníky odrůdy Pacas dorůstají menšího vzrůstu a jsou pěstovány například v Hondurasu a Portoriku. Pro odrůdu Mocha je typický menší vzrůst kávovníků a kulaté třešně i kávová zrna. Produktivita kávovníků odrůdy Mocha je nízká, ale jedná se o jednu z nejstarších kávových odrůd [6, 11].

Je známo také velmi mnoho kříženců odrůd Typica a Bourbon, mezi které například patří Mundo Novo, Catuai nebo Pacamara. Mundo Novo je nejběžnější brazilskou odrůdou kávovníků. Vznikla křížovým opylením kávovníků odrůd Typica a Bourbon. Úroda kávovníku odrůdy Mundo Novo je méně odolná proti škůdcům, ale má velmi vysoký výnos. Kávová zrna mají vysokou kvalitu a plnou vyváženou chuť. Odrůda Catuai je křížencem Mundo Novo a Yellow Caturra. Kávovník dorůstá nižšího vzrůstu, vyznačuje se vysokým

výnosem a kávová zrna jsou vysoké kvality. Kávové třešně jsou v červené a žluté barvy. Odrůda Catuai je hojně pěstována v Brazílii, v Bolívii, Kostarice, Nicaragui a Mexiku. Odrůda Pacamara je zařazena ke křížencům kávovníků Maragogypu společně s kávovníkem odrůdy Pacas, který pochází se Salvadoru. Jedná se o velmi kvalitní odrůdu kávovníků, která plodí velká kávová zrna [9, 11].

Mezi odrůdy Heirloom jsou označovány odrůdy kávovníků pocházející z Africké Etiopie. Mezi tyto odrůdy jsou zařazovány odrůdy Geisha, Agarro, Kaffa, Rambung a další. Odrůda Geisha je pokládána za jednu z nejdražších kávovníkových odrůd. Tato odrůda byla z Etiopie rozšířena do Panamy, Kostariky, Peru a Kolumbie a její pěstování je omezeno jen do určitých mikroklimatických podmínek. Odrůda je známá především díky své kvalitě, výraznému květinovému aroma a jemné chuti [6, 11].

## 2 KÁVA

Definice slova káva je poměrně problematická vzhledem k různorodosti produktů, pro které se toto slovo používá. Slovem káva je označován jemně namletý prášek z pražených zrn kávovníků, který bývá používán k výrobě hořkého kávového nápoje, pro který se také používá název káva. Káva je tedy známá po celém světě i jako nápoj. Vzhledem k vysoké popularitě je káva považována za druhou nejvýznamnější světovou obchodní komoditu, která je předčena pouze ropným průmyslem [4, 12].

### 2.1 Kávové zrno

Kávové zrno je získáno zpracováním sklizených zralých třešní kávovníků. Zpracování zelených kávových zrn je prováděno přímo na plantážích. V každé kávové třešni jsou zpravidla obsažena dvě kávová zrna. V některých případech je vyvinuto pouze jedno oválné kávové zrno, které se poté nazývá perlové zrno. Pro získání typické vůně a aromatu, je nutné zpracovaná zelená kávová zrna upražit [6].

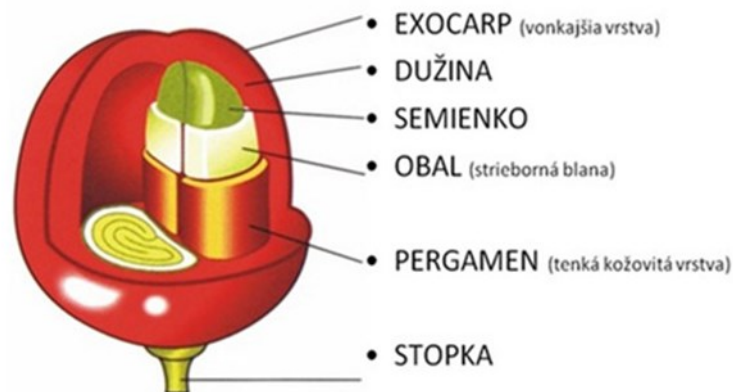
Kávová třešeň (Obrázek 3) je složena z 3 vrstev: exokarpu, mezokarpu a endokarpu. Střed plodu je tvořen nejčastěji dvěma kávovými zrny, která jsou obalena ve stříbrné blance a pergamenu. Exokarp neboli slupka je tvořena vrstvou buněk parenchymu. Barva exokarpu je zpočátku vývoje plodu zelená a později se během zrání plodu mění nejčastěji na žlutou nebo červenou barvu. Červenou barvu má plod v přítomnosti anthokyanových pigmentů a žlutou za přítomnosti luteolinu. Mezokarp je tvořen dužinou kávové třešně. V nezralé kávové třešni je dužina tuhé konzistence. Během dozrávání dochází k rozkladu peptidických řetězců, na základě kterých je tvořen nerozpustný hydrogel bohatý na cukry a pektiny. Poměr slizu a vody v mezokarpu je v kávových třešních navyšován se vzrůstající nadmořskou výškou pěstování kávovníků. Zralá dužina plodu je po sklizni odstraňována nejčastěji pomocí suché anebo mokré metody. Z usušené dužiny zralých kávových třešní je následně vyráběna a prodávána tzv. cascara, která je bohatá na kofein a antioxidanty. Endokarp neboli pergamen je složen z 3 až 7 vrstev vazivových buněk a tvoří obal kávových zrn. Během zrání dochází k vytvrzování endokarpu, který má následně vliv na velikost kávových zrn. Kávová zrna arabica jsou větší než zrna robusty [13, 14].

Kávové zrno je složeno ze stříbrné slupky, endospermu a embrya. Stříbrná slupka, také nazývaná jako perisperm, je vnější vrstvou pokrývající kávové zrno. Při zpracování zelené kávy je slupka odstraňována leštěním anebo je ponechána, a při pražení dochází k jejímu

odstranění. V některých oblastech jsou kávová zrna obsahující stříbrnou slupku označovány jako tzv. liščí fazole a vnímány jako vada zrna [14, 15].

Endosperm je primární rezervní tkáň kávového zrna, kde jsou obsaženy látky, které jsou prekurzorem chuti a aroma pražené kávy. Tyto látky lze rozdělit na rozpustné a nerozpustné ve vodě. Mezi rozpustné ve vodě jsou řazeny: kofein, trigonellin, oligosacharidy a některé bílkoviny a karboxylové kyseliny. Ve vodě nerozpustná část endospermu je složena z celulózy, jiných polysacharidů a ligninu [14, 15].

Embryo je složeno z hypokotylu a dvou kotyledonů a díky nim je kávové zrno schopno klíčit [14, 15].



Obrázek 3 - anatomie kávové třešně [16]

## 2.2 Zpracování kávy

Zpracování kávy lze rozdělit do několika skupin, a to na sběr kávy neboli sklizeň, zpracování zelené kávy, přeprava, pražení a skladování kávy [2, 6].

Káva je surovinou, která je zpracovávána dvakrát. Nejprve v oblasti sklizně, kde se opracovávají sklizené kávové třešně, ze kterých jsou získávána zelená kávová zrna. A poté v pražírkách, a to pražením zpracovaných zelených kávových zrn do podoby, která je známa spotřebitelům a kterou je možno zakoupit v běžné tržní síti [4].

### 2.2.1 Sklizeň

Sklizeň je první částí celého procesu zpracování kávy. Kvalita sběru kávových třešní je hlavním pilířem ovlivňující jakost kávy. Kávové třešně jsou sklizeny v době jejich plné zralosti, a to u většiny odrůd charakteristickým projevujícím se červeným zbarvením. Doba

sklizeně je ovlivňována nadmořskou výškou a klimatickými podmínkami. Klimatické podmínky neovlivňují pouze délku zrání, ale mají vliv i na kvalitu a chuť kávy. Káva je sklizena více způsoby, a to ručně, česáním anebo strojově [2, 6].

Ruční sběr je nejvíce šetrná metoda, ale také nejvíce náročná. Výhodou je sklizeň pouze zralých kávových třešní. Je používána u kvalitních odrůd káv pěstovaných ve vysokých nadmořských výškách v oblastech, kde strojový sběr není možné použít. Ručně sbíraná káva je tedy dražší, ale o to více kvalitní [2, 6].

Druhá používaná metoda ručního sběru je česací metoda. Ta je používána pro urychlení sběru kávových třešní, ale pomocí česání jsou sklizeny všechny plody z kávovníku, včetně nezralých a poškozených. Používá se tedy v oblastech, kde není možné použít strojovou sklizeň díky nedostupnému terénu [2, 6].

Poslední metodou sklizeně kávových třešní je strojová sklizeň za použití kombajnu. Tato metoda je využívána v oblastech pěstování s nižší nadmořskou výškou a s vhodným terénem. Strojová sklizeň je invazivní ke kávovníkům, protože jsou během ní sklizeny mimo plody také listy a větvičky. Rovněž nejsou sbírány pouze zralé kávové třešně, ale i nezralé. Strojová sklizeň je používána převážně pro sklizeň kávy druhu robusta, ale také pro méně kvalitní kávy arabik [2, 6].

### 2.2.2 Zpracování zelené kávy

Sklizené kávové třešně je nutné zpracovat brzy po sklizni pro zabránění nežádoucí fermentace způsobující následnou nepříjemnou pachut' v šálku kávy. Zpracování zelené kávy spočívá zejména v odstranění dužiny, a to za použití různých metod. Nejvíce využívanými metodami jsou mokrá a suchá metoda [4].

Principem suché metody je sušení rovnoměrně rozprostřených kávových třešní na zemi. Během sušení jsou kávové třešně pravidelně obraceny a prohrabávány, aby třešně rovnoměrně osychaly a nezačaly hnit. Sušení třešní na zemi je stále častěji nahrazováno sušením na afrických postelích, na kterých třešně schnou rychleji a více rovnoměrně. Africká postel je bambusová konstrukce, mezi kterou je nataženo plátno. Sušení probíhá přibližně měsíc a poté jsou kávové třešně přesunuty do sil na dobu 30-60 dní. Během této doby dochází k odpočinutí a k vyrovnání vlhkosti u kávových zrn. Následně jsou loupacími stroji ze zrn odstraňovány slupky a zbytky dužiny. Opracovaná zrna jsou tříděna podle velikosti a kvality a balena do jutových pytlů vhodných pro přepravu kávy. Tato metoda je finančně méně náročná a je používána zejména v oblastech s nedostatkem pitné vody [4, 6].

Mokrý metoda je způsob zpracování zelené kávy za použití vody. Kávové třešně jsou nejprve promývány ve vodě, kde jsou oddělovány zralé a nezralé plody od sebe. Nezralé plody jsou lehčí a plavou na rozdíl od zralých plodů, které se pohybují po dnu nádrže. Po promytí kávových třešní jsou třešně loupány v loupacích strojích, kde je odstraňována vrchní slupka a část dužiny. Po odstranění slupky a části dužiny jsou zrna přemístěna až na dobu 36 hodin do fermentačních nádrží. Během fermentace dochází pomocí enzymů k odstranění lepkavé vrstvy dužiny pokrývající pergamenovou vrstvu kávových zrn. Po fermentaci se kávová zrna rovnoměrně rozmístí na zem nebo africké postele a nechají se za pravidelného obracení oschnout. V oblastech s nevhodným klimatem na sušení zrn jsou používány sušící bubny. Zpracování zelené kávy pomocí mokré metody je finančně náročnější, díky použití velkého množství vody, ale více šetrné pro kávová zrna. Kávová zrna zpracována touto metodou jsou více svěží a ovocné [6, 17].

### 2.2.3 Pražení

Pražení je proces zpracování zelené kávy, během kterého dochází k vysušení a expanzi kávových zrn za vzniku hnědé barvy a charakteristického chuťového a aromatického profilu [4, 17].

Pro pražení kávových zrn jsou využívány pražičky, a to bubnové anebo horkovzdušné. Do pražičky je nasypána dávka zelené kávy, která se odvíjí od velikosti pražičky. Během pražení dojde nejprve k poklesu teploty uvnitř pražičky vlivem nasypání studené zelené kávy. Dále pak následuje doba sušení, která trvá přibližně po dobu 10 minut a během které dochází k vysušení kávových zrn a kávová zrna získávají žlutou bravu. Po uplynutí doby sušení následuje první prasknutí. Po prvním prasknutí se začnou odehrávat téměř všechny fyzikální i chemické procesy probíhající během pražení. Kávová zrna začínají postupně získávat hnědou barvu a charakteristické kávové aroma. Při teplotách v rozmezí 160 - 220 °C dochází k druhému prasknutí. V momentě druhého prasknutí jsou kávová zrna nejčastěji vysypávána z pražičky do chladicí části, kde jsou zrna promíchávána a chlazena studeným vzduchem pro zastavení pražení. Při delším pražení dochází ke spálení kávových zrn. Pražení kávových zrn probíhá přibližně při 200 °C, ale tato teplota je různá dle stylu pražení. V závislosti na teplotě se odvíjí i doba pražení [6, 18].

Během pražení jsou v kávových zrnech tvořeny aromatické sloučeniny a polymerní hnědé pigmenty. Mezi tepelně reaktivní složky zelené kávy patří monosacharidy a disacharidy, zejména sacharóza, dále pak volné aminokyseliny, kyselina chlorogenová a trigonellin za

vzniku prekurzorů degradovaných sacharidů a denaturovaných bílkovin. Kofein je procesem pražení téměř neovlivněn [17, 18].

Mezi chemické reakce převládající při pražení patří Maillardovy reakce aminokyselin anebo proteinů s redukcujícími cukry. Mezi další chemické reakce probíhající během pražení jsou Streckerova degradace, degradace kyseliny chlorogenové a degradace fenolických sloučenin [4, 17].

Antioxidanty vznikající během pražení jsou přítomny ve frakcích s vysokou molekulovou hmotností. Antioxidanty jsou tedy tvořeny zejména těmito frakcemi, pravděpodobně za přítomnosti arabinogalaktanu anebo proteinové skupiny obsahující komplex melanoidinu [4].

#### **2.2.4 Balení a skladování kávy**

Konečnou fází procesu zpracování kávy je balení a skladování kávy, případně její mletí. Kávu je nejvhodnější balit do speciálních obalů obsahujících jednosměrný ventil, a to zejména z důvodu odchodu stále vznikajícího oxidu uhličitého a zabránění příchodu cizích pachů. Společně s oxidem uhličitým odchází z kávy i aroma. Skladování kávy je obecně doporučováno při pokojové teplotě [4, 6].

Po upražení je vhodné kávu zabalit a nechat odpočinout, a to 1 - 2 týdny. Během této doby dochází k ustálení organoleptických vlastností. Dlouhodobým skladováním se u kávy mění senzorické vlastnosti. Kávu je nejvhodnější spotřebovat do 3 - 4 měsíců po upražení, ale maximální doba skladování není v ČR určena. V případě mleté kávy je doporučována spotřeba do 14 dnů, ale káva ztrácí aroma již po 30 minutách po namletí, a proto je doporučováno kávu namlít těsně před přípravou [4, 6].

### 3 VLASTNOSTI A SLOŽENÍ KÁVOVÉHO ZRNA

#### 3.1 Vlastnosti kávového zrna

Mezi ukazatele kvality kávy je zařazován vzhled kávových zrn.

Hlavními atributy kávy ve smyslu hodnocení kávových zrn a také kávy jako nápoje jsou vůně, aroma, hořkost, sladkost, slanost, acidita, pocit v ústech, dochuť a vyváženost [19].

Za vůni je považována vůně pražených nebo namletých kávových zrn. Na rozdíl od toho, za aroma je považována vůně vznikající během spařování kávových zrn převařenou vodou. Aroma je prekurzorem pro hodnocení chuti a vzhledu kávy jako nápoje [19, 20].

Chuť kávy je vnímána jako pocit v ústech po usrknutí nápoje na rozdíl od pachutě, která je vnímána jako přetrvávající pocit v zadní části úst po polknutí. Slanost kávy může být způsobena vysokým obsahem draslíku a je doprovázena nežádoucí vůní. Kyselost kávy je dělena na ostrou, příjemnou sladkou a ovocně citrusovou. Na vnímání kyselosti má vliv pH kávy, a také obsah kyselin, zejména kyseliny chlorogenové a fenolových kyselin, které se tvoří během pražení kávy. Vnímání kyselé chuti u kávového nápoje je také závislé na obsahu kyseliny citrónové, jablečné a octové. Kávové tělo je pocit v ústech, který je ovlivněn obsahem tuku. Je hodnocena chuť kávy, a především její jemnost v ústech. Káva nižší kvality je často hutná, těžká. Pocit v ústech má velký vliv na celkový dojem chuti kávy. Organoleptické vlastnosti kávy jsou stabilizovány tukem, kterým jsou tyto vlastnosti pozitivně ovlivněny [6, 20, 21].





Chemické složení kávového zrna je rovněž výrazně odlišné u zrna nepraženého a praženého (Obrázek 5) [23].

Constituent	<i>Arabica green<sup>a</sup></i>	<i>Robusta green<sup>a</sup></i>	<i>Arabica roasted<sup>b</sup></i>	<i>Robusta roasted<sup>b</sup></i>	<i>Arabica instant<sup>a</sup></i>	<i>Robusta instant<sup>a</sup></i>
	% DW	% DW	% DW	% DW	% DW	% DW
Caffeine	1.3	2.3	1.2	2.4	2.5	3.8
Trigonelline	0.8	0.7	0.3 <sup>c</sup>	0.3 <sup>c</sup>	0.7	0.4
Carbohydrates	53.7	50.7	38	42	46.6	44.7
Chlorogenic acids	8.1	9.9	2.5	3.8	2.6	1.6
Lipids	15.2	9.4	17.0	11.0	0.11	0.26
Amino acids	11.1	11.8	7.5	7.5	6.2	6.0
Organic acids	2.3	1.7	2.4	2.6	8.1	7.9
Melanoidins	–	–	25.4	25.9	25.1	28.6
Volatile aroma	Traces	Traces	0.1	0.1		
Ash (minerals)	3.9	4.4	4.5	4.7	8.0	7.4
Others partly unknown			In melanoidines	Added to melan		

<sup>a</sup> Leloup<sup>79</sup>.

<sup>b</sup> Illy and Viani<sup>80</sup>.

<sup>c</sup> Macrae<sup>81</sup>.

Obrázek 5 - rozdíly v chemickém složení u zelené a pražené kávy [17]

### 3.2.1 Sacharidy

Nejvíce zastoupenou látkou v kávovém zrně jsou sacharidy. Jsou zde obsaženy různé sacharidy, polysacharidy i cukry. Hlavní cukr, který je zastoupen v zeleném kávovém zrně, je sacharóza. Na základě analýzy autorů Tressla a kol. [23] bylo zjištěno pomocí GC metody, že sacharóza je v arabice obsažena v množství 8,2 - 8,3 % v sušině, u robusty je obsah v sušině jen 3,3 - 4,1 %. Rozdíly v obsahu sacharózy jsou pozorovány rovněž v důsledku různých odrůd kávovníků, stavu zralosti při sklizni a podmínek při zpracování a následně i při skladování. V zelené kávě bylo rovněž nalezeno vyšší množství glukózy a fruktózy, dále pak i stopové množství galaktózy, ribózy a manózy. Při procesu odstranění kofeinu ze zelených kávových zrn byl na základě analýzy zjištěn z důvodu promývání mírný pokles těchto cukrů.

Obsah polysacharidů v sušině zeleného kávového zrna je v rozmezí 40–50 %. Jako polysacharidy jsou označovány sacharidy na bázi původní monosacharidové složky, jako je například glukán, manan a araban. Dále jsou v kávě obsaženy také heteroglykany [23].

V průběhu pražení dochází k podstatné proměně u sacharidů v kávových zrnech. Největší pokles (97 - 99 %) je zaznamenán u sacharózy, která je během pražení přeměněna na fruktózu a glukózu. V případě bezkofeinové kávy je sacharóza přeměna téměř 100%.

Vzhledem k tomu, že vznikající fruktóza a glukóza jsou termicky nestabilní, u pražené kávy je obsah cukrů minimální. U polysacharidů je obsah u zelené nepražené a pražené kávy téměř neměnný. Buněčná stěna kávového zrna je tvořena polysacharidy, které jsou stabilní a zodpovědné za tvrdost zrna. Nejvíce zastoupeným polysacharidem v kávě je celulóza [24, 25].

### 3.2.2 Lipidy

Obsah tuku v zelených kávových zrnech závisí na druhu i odrůdě kávovníku. Většina tuku je soustředěna v endospermu a pouze malý obsah vosků se nachází v exospermu. Obsah lipidů v kávě arabika je přibližně 15 %, v kávě robusta 10 % [26].

V kávovém zrně jsou v triacylglycerolech nejvíce zastoupeny nenasycené mastné kyseliny, mezi které patří kyselina linolová (36 %), olejová (7 %) a linolenová (1 %). V kávovém zrně jsou dále zastoupeny volné mastné kyseliny (kyselina linolová, palmitová) a estery diterpenických alkoholů (19 %), estery sterolů (3 %). V malém množství jsou v kávovém oleji obsaženy také diterpenické alkoholy jako kafestol nebo kahweol, a další látky, tokoferoly, fosfatidy [26, 27].

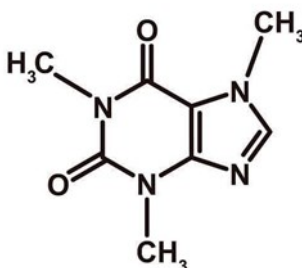
Kafestol a kahweol jsou diterpenické alkoholy, které se mohou podílet na zvyšování sérového cholesterolu. Nicméně obě tyto látky jsou ovlivňovány přípravou a druhem kávy. V kávě arabika není přítomen kafestol. V případě alternativních způsobů přípravy kávy a káv z kávovarů je množství těchto alkoholů velmi omezeno. Jejich větší množství bylo zjištěno např. v přípravě tradiční české zalévané kávy [17, 27].

### 3.2.3 Dusíkaté sloučeniny

Nejvíce zastoupeným alkaloidem v kávě je kofein. Kofein (Obrázek 8), neboli 1,3,7-trimethylxanthin, je bílá krystalická látka rostlinného původu a řadí se do skupiny purinů, methylových derivátů xanthinu. Je obsažen v kakaových bobech, kávě, čaji, maté anebo v guaraně. U rostlin je obsažen v celé části rostlin a má na ni ochranný účinek. V kávovníku je obsažen kofein v rostlině, kořenech i jeho plodech. Bylo zjištěno, že i půda kolem rostliny obsahuje kofein z důvodu ochrany svých mateřských rostlin [6, 9].

U saveců ovlivňuje kardiovaskulární, respirační, lymfatický i nervový systém a jedná se o nejvíce rozšířený a užívaný stimulant na světě. Ve větších dávkách je kofein řazen mezi mitotické jedy, má tlumící efekt a způsobuje křeče. Metabolismus kofeinu v těle probíhá 5–6 hodin a během toho dochází k dimetylizaci na dimethylxanthin, následně na

monometylxanthin a poté je štěpen na močovinu, díky které je z těla vylučován. Za maximální doporučené denní množství kofeinu je považováno 300-500 mg, což odpovídá 3–5 šálkům [6, 9].

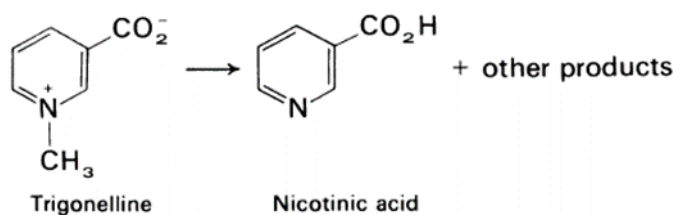


Obrázek 6 - strukturní vzorec kofeinu

V kávě je množství kofeinu odlišné v závislosti na druhu kávy (arabika, robusta), ale i odrůdě, stáří rostliny a podnebí. Obsah kofeinu v zelené kávě arabika je průměrně 1,2 % a robustě 2,2 %. Během pražení kávy dochází k výrazným ztrátám hmotnosti kávy (až 20 %), ale obsah kofeinu zůstává téměř nezměněn i přes to, že teplota při pražení přesáhne teplotu sublimace kofeinu. Při přepočtu na suchý pražený základ dochází zejména vlivem poklesu vody v kávě k nárůstu až 10 % kofeinu. Důvodem mírného poklesu kofeinu během pražení je nahromadění tlaku uvnitř kávového zrna a špatná difúze páry skrz jeho vnější vrstvy [23].

Obsah kofeinu lze ovlivnit také způsobem přípravy kávy, a to zejména délkou extrakce namleté kávy s horkou vodou. Například turecká káva, u které je mletá káva extrahována po celou dobu, bude obsahovat více kofeinu než například káva připravená ve french pressu, kde se doba extrakce pohybuje v rozmezí 3-5 minut [9].

Mezi další dusíkaté sloučeniny nacházející se v kávě patří amoniak, betain, cholin, trigonellin a serotonin. Amoniak, betain a cholin jsou v kávě přítomny ve stopovém množství (0,1 %). Serotonin neboli 5-hydroxytryptamid je obsažen v kávovém vosku a ze zeleného zrna je extrahován pomocí hydrofobních rozpouštědel. Významnou dusíkatou sloučeninou je trigonellin, jehož produkty tepelné degradace při pražení jsou důležité z nutričního i sensorického hlediska. Obsah trigonellinu v zelené kávě arabika je 1 %, v robustě 0,7 %. Degradací trigonellinu vzniká kyselina nikotinová (vitamin PP) [23].



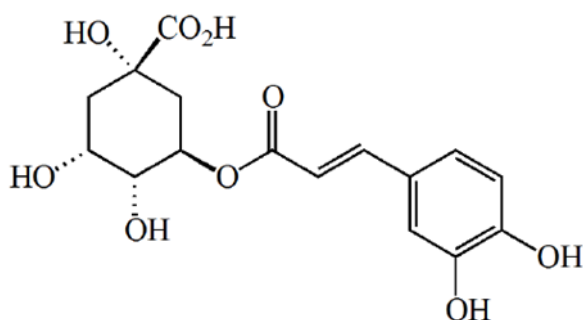
Obrázek 7 - degradace trigonellinu na k. nikotinovou [23]

### 3.2.4 Kyseliny

V kávě je méně než 3 % organických kyselin, z nichž nejvíce zastoupena je kyselina chlorogenová. Mezi další kyseliny nacházející se v zelené kávě patří kyselina citronová, jablečná a fosforečná. V průběhu pražení, vlivem rozkladu sacharidů, vzniká v stopovém množství kyselina mravenčí, glykolová a mléčná, které působením vysoké teploty částečně degradují [23].

Do skupiny fenolických sloučenin s antioxidačními účinky patří deriváty kyseliny chlorogenové. Za hlavní zdroje těchto derivátů jsou považovány káva, luštěniny, ovoce nebo zelenina. Deriváty kyseliny chlorogenové vznikají esterifikací trans-skořicových kyselin, mezi které patří kyselina kávová, chinová a  $\rho$ -kumarová. Deriváty kyseliny chinové by mohly vytvořit v kávě nepříjemnou pachut', ale jsou neutralizovány laktátem kyseliny mléčné během pražení [17, 28].

Z celkového obsahu derivátů kyseliny chlorogenové jsou zastoupeny z 80 % izomery kyseliny kafeoylchinové, jako kyselina neochlorogenová, kryptochlorogenová. Tyto kyseliny jsou prekurzorem katecholů a fenolů [29].



Obrázek 8 - strukturní vzorec kyseliny chlorogenové [30]

### 3.2.5 Minerální látky

Profil minerálních prvků je rozlišován v závislosti na typu půdy, ve které kávovník roste, ale také na způsobu zpracování kávy. V kávovém zrně je obsaženo 30 různých minerálních

látek, z nichž nejvíce zastoupenými minerálními prvky je hořčík, který tvoří přibližně 40 % celkového minerálního obsahu (1 - 2 g/100 g zelené kávy), a fosfor, který tvoří 4 %. Dalšími zástupci jsou sodík, vápník, síra a ve stopovém množství jsou obsaženy zinek, stroncium, křemík, mangan, železo, měď a další [4].

Zelená káva je zpracovávána suchým a mokrým způsobem. Je zjištěno, že u káv (arabika, robusta) zpracovaných suchým způsobem byly obsaženy minerální prvky v popelu ve větší míře než u káv zpracovaných mokrou metodou. Při pražení kávy dochází k výrazným ztrátám minerálních látek [23].

### **3.2.6 Melanoidiny**

Melanoidiny jsou aromatické látky, které jsou v kávě tvořeny při pražení za výrazného hnědnutí kávových zrn, vznikající při Maillardových reakcích. Melanoidiny v kávě jsou zařazovány mezi významné antioxidanty. Tyto látky jsou v sušině kávového zrna zastoupeny v množství 20 %, ale mohou být z kávy izolovány. Melanoidiny jsou v kávě tvořeny z 80 % frakcí nízkomolekulárních sloučenin a 20 % vysokomolekulární frakce [17].

## 4 ANTIOXIDANTY

Antioxidanty jsou sloučeniny, které chrání potraviny před nežádoucí oxidací, která se může projevit oxidací vonných látek nebo žluknutím tuku, a tím prodlužují jejich údržnost. Jsou to látky inhibující oxidaci nebo reakci s kyslíkem, peroxidy nebo volnými radikály. Jde o: „látky, které inhibují nebo zpomalují oxidaci biologicky relevantních molekul, buď specifickým zhašením volných radikálů nebo chelatací redoxních kovů“ [31, 32].

Mechanismus působení antioxidantů u oxidace lipidů a oxylabilních sloučenin je založen na reakci s volnými radikály nebo hyperoxidy, dále na eliminaci přítomného kyslíku, anebo navázáním se do komplexů katalyticky působících kovů [33].

Nežádoucí oxidace mají v potravinách negativní vliv na organoleptické vlastnosti potravin, i jejich bezpečnost. Látky s antioxidačními účinky, jiným slovem antioxidanty, se v organismu zúčastňují mnoha obranných mechanismů v boji proti negativnímu působení volných radikálů, které vznikají v průběhu oxidace. Velké množství volných radikálů v organismu může mít negativní vliv na vznik a průběh mnoha onemocnění [33, 34, 35].

Volné radikály jsou spojovány s oxidačním stresem, který negativně ovlivňuje kardiovaskulární, zánětlivé a různé chronické onemocnění. Oxidační stres vytváří podmínky pro oxidaci volnými radikály střevní stěny, molekul bílkovin, DNA, sacharidů a lipidů. Nejvíce aktivní volné radikály mohou významně přispět ke vzniku rakovinových buněk v důsledku poškození genetického aparátu buněk rušením vazeb v molekulách DNA. [36]

Mezi důležité zdroje antioxidantů v lidské stravě jsou mimo ovoce a zeleninu zařazovány také rostlinné nápoje, jako např. káva nebo yerba maté [37].

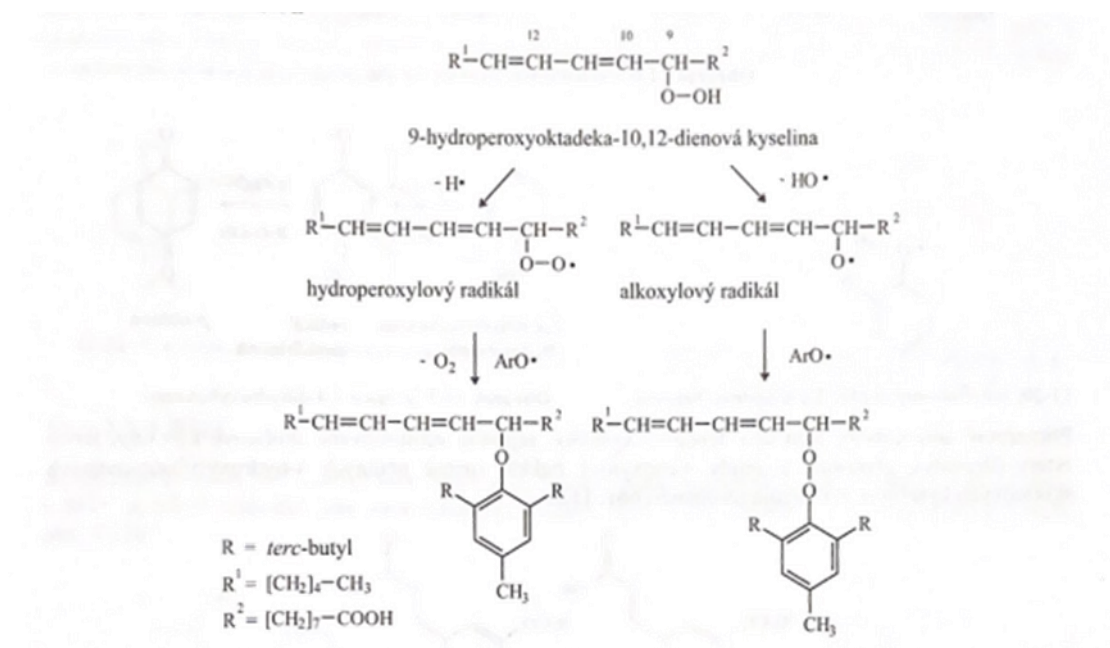
### 4.1 Antioxidanty v kávě

Antioxidanty lze klasifikovat dle mechanismu reakcí na primární a sekundární. V kávě jsou obsaženy primární antioxidanty (obsaženy v zelených kávových zrnech) a také sekundární, vzniklé pražením. Mezi primární antioxidanty, obsažené již v zeleném kávovém zrně, patří fenolické sloučeniny, a to zejména kyselina chlorogenová. K antioxidantům vzniklým pražením kávových zrn, díky Maillardovým reakcím, jsou zařazovány zejména melanoidiny. Antioxidanty v kávě mají pozitivní vliv na zdraví a také zlepšují organoleptické vlastnosti (chuť, aroma). Pro extrakci kávových sloučenin je nezbytný proces přípravy kávy jako nápoje [33,37].

V kávě je zastoupen vysoký podíl přírodních antioxidantů, a to zejména polyfenolických sloučenin. V kávě je obsaženo více antioxidantů než například v některých druzích ovoce nebo zeleném čaji. Nejvýznamnějším antioxidantem v kávě je kyselina chlorogenová, která je složena z kyseliny kávové a chinové [37].

#### 4.1.1 Polyfenoly

Fenolové sloučeniny jsou primárními antioxidanty. Jejich mechanismus působení je na základě interference s oxidací lipidů při reakci s radikály hydroperoxidů. Vzniklé radikály dále reagují s volným hydroperoxidovým ( $\text{ROO}\cdot$ ) nebo alkoxylovým radikálem ( $\text{RO}\cdot$ ) oxidované mastné kyseliny. Bez probíhajících reakcí je fenol jako antioxidant téměř neúčinný a jeho účinnost se zvyšuje, je-li substitucí alkylovými skupinami přeměněn do polohy *-orto*, nebo *-para* [33, 38].



Obrázek 9 - reakce volného radikálu antioxidantu s volným radikálem oxidované kyseliny linolové [33]

Společným znakem fenolických sloučenin je obsah jednoho nebo více aromatických jader substituovaných hydroxylovými skupinami. Jsou rozdělovány do čtyř skupin, a to na fenolové kyseliny, flavonoidy, stilbeny a lignany. V kávě jsou zastoupeny z větší části flavonoidy (katechiny) a fenolové kyseliny. Lignany a stilbeny jsou zastoupeny minimálně [39].

Obsah těchto látek v kávových zrnech je ovlivňován stupněm zralosti, odrůdou kávovníku, ale také zpracováním a skladováním [39, 40].



Fenolické sloučeniny jsou známy pro své pozitivní účinky na zdraví v oblasti degenerativních onemocnění mozku, kardiovaskulárních chorobách nebo v peristaltice střev [40].

#### 4.1.1.1 Fenolické kyseliny

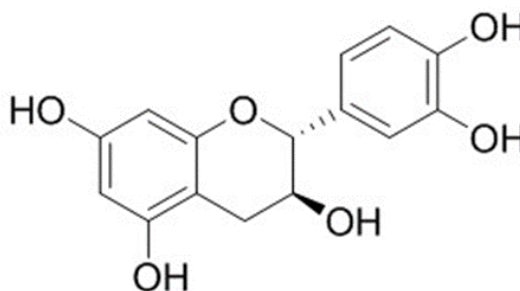
Deriváty fenolových kyseliny jsou děleny do dvou skupin, na deriváty kyseliny benzoové a deriváty kyseliny skořicové. Mezi deriváty kyseliny benzoové jsou zařazovány kyselina ellagová a gallová. Kyselina kávová, chlorogenová, kumarová a ferulová patří do skupiny derivátů kyseliny skořicové [41].

V rostlinách jsou fenolické kyseliny zastoupeny ve formě esterů, které jsou navázány karboxylem na hydroxylovou skupinu organické kyseliny nebo sacharidu [38, 41].

Fenolové kyseliny v kávě jsou nejvíce zastoupeny depsidy, zejména kyselina chlorogenová. Tato kyselina je ve větším množství zastoupena v kávě, anebo například v bramborách [42].

#### 4.1.1.2 Flavonoidy

Flavonoidy jsou sekundární metabolity rostlin a jsou zařazovány mezi fenolické sloučeniny. Molekuly flavonoidů jsou tvořeny flavonovým cyklickým skeletem (Obrázek 10), který je složen z pyranového kruhu C a dvou substituovaných benzoových kruhů (A, B). V pyranovém kruhu je obsažen atom kyslíku [43].



Obrázek 10 - strukturní vzorec katechinu [44]

V kávě je zastoupeno velké množství flavonoidů, mezi které jsou zařazovány flavonoly (epigallokatechin), kondenzované tanniny, myricetin a kvercetin. Flavonoidy jsou známy především pro svou protizánětlivou funkci, ochranu střev a podporu kardiovaskulárních funkcí [45, 46].

Mezi flavanoly, flavan-3-oly, jsou zařazovány katechiny, epikatecin a epigallokatechiny. Tyto látky jsou bezbarvé a jsou zastoupeny v kávě, čajích a téměř ve všech druzích ovoce a zeleniny. V katechinech a gallokokatechinech jsou obsaženy dva chirální uhlíky [46].

Taniny jsou trpké látky a v kávě jsou v přiměřené míře žádoucí. Taniny jsou fenolové sloučeniny, které interagují s proteiny, zejména slin. Flavonoly (kondenzované taniny) se mohou nazývat také komplexními tříslovinami z důvodu možné kombinace kondenzovaných a hydrolyzovaných tříslovin [33, 38].

#### ***4.1.1.3 Lignany a stilbeny***

Lignany jsou fenolické dimery (fytoestrogeny), jejichž funkcí je tvorba ligninu, který tvoří základní stavební kámen při tvorbě buněčné stěny rostlin. Nejvíce jsou obsaženy ve lněných semínkách [48].

Chemická struktura stilbenů je tvořena dvěma benzoovými kruhy, které jsou spojeny molekulou etanolu nebo etylenu v trans konfiguraci. Nejvýznamnějším zástupcem je resveratrol. V kávě je obsažen v malém množství a má antimikrobní vlastnosti [38, 48].

## 5 METODY STANOVENÍ MNOŽSTVÍ ANTIOXIDANTŮ A ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY

Pro stanovení antioxidantů, a to zejména polyfenolických sloučenin a antioxidační aktivity bylo vypracováno mnoho metod. Metody jsou vzájemně odlišné, ale základním principem je charakteristika antioxidační účinnosti jakožto vlastnosti potravin. Množství látek působících antioxidačně může být stanoveno spektrofotometricky (TPC, DPPH, ABTS) nebo například vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC), s různými možnostmi detekce, a to UV-VIS detektor s diodovým polem (DAD) nebo hmotnostní detektor (MS). Kapalinová chromatografie je často využívanou metodou pro analýzu antioxidantů, kdy se stanovují jednotlivé látky vedle sebe, s určením množství každé konkrétní složky [37, 49]

Množství fenolických sloučenin je nejčastěji zjišťováno pomocí spektrofotometrické metody TPC, využívající Folin-Ciocalteuovo činidlo. Pomocí této metody bývá určován celkový obsah polyfenolických látek přítomných v dané potravine [50, 51].

Antioxidační aktivita, tedy celkový antioxidační účinek látek v potravine, je nejčastěji analyzována pomocí metod, které lze rozdělit na chemické a fyzikální. Mezi chemické metody jsou zařazovány metody na vychytávání syntetických radikálů (DPPH), dále metody hodnotící eliminaci kyslíkových radikálů (ORAC) nebo eliminaci lipidové peroxidace. Do fyzikálních metod jsou zařazeny metody jako chemiluminiscence nebo stanovení redoxního potenciálu. Vychytávání syntetických radikálů je zjišťováno pomocí spektrofotometrických analýz za použití činidel DPPH (1,1-difenyl-2,4,6-trinitrofenylhydrazyl) nebo ABTS<sup>•+</sup> (2,2'-azinobis-(3-ethylbezothiazol-6-sulfonová kyselina) [49, 50, 52, 53].

### 5.1 Metoda stanovení celkového obsahu polyfenolů

#### 5.1.1 TPC metoda

Stanovení celkového obsahu polyfenolických látek pomocí Folin-Ciocalteuovo činidla je v praxi využíváno nejčastěji. Princip metody stanovení TPC závisí na oxidaci redukováných molekul působením dvou silných anorganických činidel, kyseliny fosfomolybdenové a fosfowolframové. Toto činidlo je využíváno pro stanovení fenolických antioxidantů, polyfenolů. Během reakce nejprve činidlo reaguje s fenoly a tato směs je poté redukována na chromogeny, které jsou zachyceny spektrofotometricky. Produkty těchto reakcí jsou modrého zbarvení a intenzita modré barvy je přímo závislá na koncentraci přítomných

polyfenolů. Touto metodou jsou polyfenoly stanovovány spektrofotometricky při vlnové délce 765 nm [50, 51, 54].

Vzhledem k tomu, že se jedná o spektrofotometrickou metodu, je nutné sestavit kalibrační křivku za použití vhodného standardu. Při analýze fenolických sloučenin je nejčastěji využívána kyselina gallová, zejména díky dobré stabilitě [37].

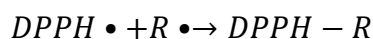
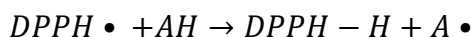
Metoda TPC může být ovlivňována některými faktory, jako jsou přítomnost oxidu siřičitého nebo bílkovin. Tato metoda stanovení není proto vhodná pro hodnocení vzorků s vysokým obsahem bílkovin, je výhodná zejména pro analýzu rostlinných produktů, jako např. bylin, čaje, vína, kávy apod. [54].

## 5.2 Metody stanovení antioxidační aktivity

### 5.2.1 Metoda DPPH

Metoda stanovení antioxidační aktivity (AA) za použití radikálu DPPH• (1,1-difenyl-2(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl) je zařazována mezi základní metodu tohoto stanovení. Pomocí této metody lze posuzovat čistou látku i směsi látek [37, 50].

Princip stanovení AA je založený na vzniku radikálové formy roztoku DPPH, který je následně převeden zpět do stabilní formy. Tato reakce může proběhnout díky vlastnosti DPPH•, který díky své struktuře může být akceptorem atomu vodíku. Radikál DPPH• má v roztoku etanolu modrofialovou barvu a v této formě je relativně stabilní. Po přidání DPPH• do roztoku dochází ke zhašení DPPH• a jeho odbarvení. Během chemických reakcí dochází k redukci a míra odbarvení reakční směsi je měřena spektrofotometricky při vlnové délce 517 nm [50, 55].



Jelikož metoda stanovení AA pomocí DPPH je spektrofotometrickou metodou, je nezbytné sestavení kalibrační křivky za použití vhodného standardu. Pro tuto metodu jsou nejčastěji využívány standardy: kyselina gallová, trolox a kyselina askorbová. Pro stanovení antioxidační aktivity u kávy byl použit standard trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová kyseliny), protože byl určen za nejvíce vhodný.) [37, 50, 55].

### 5.2.2 Metoda ABTS

Stanovením antioxidační aktivity metodou ABTS je testována schopnost vzorku zhasět kation-radikál  $\text{ABTS}^\bullet +$  (2,2'-azinobis-2,3-hydrobenzothiazol-6-sulfonát). Tato metoda je používána pro stanovení celkové antioxidační aktivity čistých látek, směsí a nápojů [50, 51].

Principem metody je oxidace reakčního roztoku ABTS na jeho kation-radikál  $\text{ABTS}^\bullet +$  pomocí iniciačního roztoku peroxodisíranu draselného. Mezi další iniciátory reakce může být použit peroxid vodíku, hexakynoželeznatán draselný nebo roztok AAPH (2,2'-azobis(2-amidinopropan)dihydrochlorid) [49, 56].

Existují dva způsoby měření AA metodou ABTS, a to přidáním antioxidantu přímo do reakční směsi, ve které je obsažen kation-radikál ABTS anebo je antioxidant přidán do reakční směsi již během vzniku kation-radikál ABTS [50, 52].

Stanovení AA pomocí ABTS je používáno pro stanovení hydrofilních a lipofilních antioxidantů. Měření antioxidační aktivity je založeno na intenzitě odbarvení roztoku způsobeného mírou zhašení kation-radikálu vzorkem a je měřeno spektrofotometricky při vlnové délce 734 nm. Stanovení AA je ovlivňováno v závislosti na množství a koncentraci použitého roztoku ABTS, ale také na délce inkubace reakční směsi. Pro sestavení kalibrační křivky je využíván standard troloxu (6-hydroxy-2,5,7,8-retramethylchroman-2-karboxylová kyseliny) [50, 52, 56].

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

## 6 CÍL PRÁCE

Cílem bakalářské práce bylo stanovit změny v obsahu celkového množství polyfenolů a antioxidační aktivity u 5 druhů vybraných káv v závislosti na stupni pražení a způsobu přípravy jednotlivých vzorků.

V teoretické části práce charakterizovala jednotlivé druhy kávy, kávová zrna, jejich složení a vlastnosti, popsat antioxidanty a metody využívané pro stanovení celkového obsahu polyfenolů a antioxidační aktivity.

V praktické části práce upražit jednotlivé druhy káv podle požadovaných kritérií (různý stupeň pražení), určit celkový obsah polyfenolů pomocí metody využívající Folin-Ciocalteuovo činidlo u vzorků káv při různém stupni pražení a způsobech přípravy vzorků káv. Zároveň také stanovit jejich antioxidační aktivitu pomocí dvou metod s využitím činidel DPPH a ABTS.

## 7 CHEMIKÁLIE A ZAŘÍZENÍ

### 7.1 Použité chemikálie a pomůcky

Pro stanovení antioxidantů ve vzorcích kávy byly použity následující chemikálie, pomůcky a zařízení:

- DPPH (Sigma Aldrich, Francie)
- trolox – 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová kyselina (Sigma Aldrich, Francie)
- kyselina gallová – kyselina 3,4,5-trihydroxybenzoová (Sigma Aldrich, Francie)
- acetátový pufr; pH=5,5 (Lukeš, ČR)
- roztok Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> – uhličitan sodný (Lukeš, ČR)
- činidlo Folin-Ciocalteu (Penta, ČR)
- ABTS (Sigma Aldrich, Francie)
- K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> – peroxodisíran draselný (Sigma Aldrich, Francie)
- etanol p.a. (Penta, ČR)
- demineralizovaná voda
- laboratorní sklo a pomůcky
- teploměr
- filtrační papír KA 4 (Papírna Perštejn, ČR)
- filtrační síto, vel. 200 mm DIA x 50 mm (Retsch, Polsko)
- elektrický mlýnek (Waldner Biotech Combi-Star, Německo)
- analytické váhy Voyager PRO VP214C (Ohaus corporation, Pine Brook USA)
- laboratorní třepačka (LT2 – Kavalier, ČR)
- homogenizátor vortex CHS (ČR)
- Spektrofotometr (Libra S6 Biochrom, Velká Británie)





Obrázek 11 - elektrický mlýnek Waldner

## 8 CHARAKTERISTIKA VZORKŮ KÁV

V bakalářské práci bylo analyzováno 5 druhů káv, a to v zeleném stavu a třech stupních pražení připravované čtyřmi různými metodami. Celkově bylo analyzováno 74 vzorků káv. Jednalo se o zelenou kávu a 3 stupně různě pražené kávy (po fázi sušení, 1. prasknutí, 2. prasknutí), které byly připravovány metodou zalití horkou vodou, cold brew a extrakcí směsí vody s etanolem v poměru 1:1. Všechny uvedené vzorky káv byly získány od místní pražírny káva Trobica se sídlem ve Fryštáku.

### 8.1 Vzorky káv

Pro analýzu bylo použito 5 druhů káv, 4 druhy kávy arabica (Ethiopie Sidamo, Brazil Santos, Kenya Mount Kenya Selection a Mexiko Berilo) a 1 druh kávy robusta (Inida Malabar). Káva byla analyzována v zeleném stavu a ve 3 stupních pražení (Tabulka 1).

Tabulka 1 - způsoby pražení vzorků káv

Druh kávy	Zkratky	Způsob pražení
Ethiopia Sidamo	ES	3 – 2. prasknutí
		2 – 1. prasknutí
		1 – po době sušení
		0 – zelená káva
Brazil Santos	BS	3 – 2. prasknutí
		2 – 1. prasknutí
		1 – po době sušení
		0 – zelená káva
Kenya Mount Kenya Selection	KM	3 – 2. prasknutí
		2 – 1. prasknutí
		1 – po době sušení
		0 – zelená káva
Mexiko Berilo	MB	3 – 2. prasknutí
		2 – 1. prasknutí

		1 – po době sušení
		0 – zelená káva
India Malabar	IM	3 – 2. prasknutí
		3 VK – 2. prasknutí, vadné kusy
		2 – 1. prasknutí
		1 – po době sušení
		0 – zelená káva



Obrázek 12 - vzorky káv (India Malabar, Brazil Santos)  
v různých stupních pražení



Obrázek 13 - vzorky káv (Ethiopia Sidamo, Mexiko Berilo, Kenya Mount Kenya Selection) v různých stupních pražení

### 8.1.1 Káva Ethiopia Sidamo

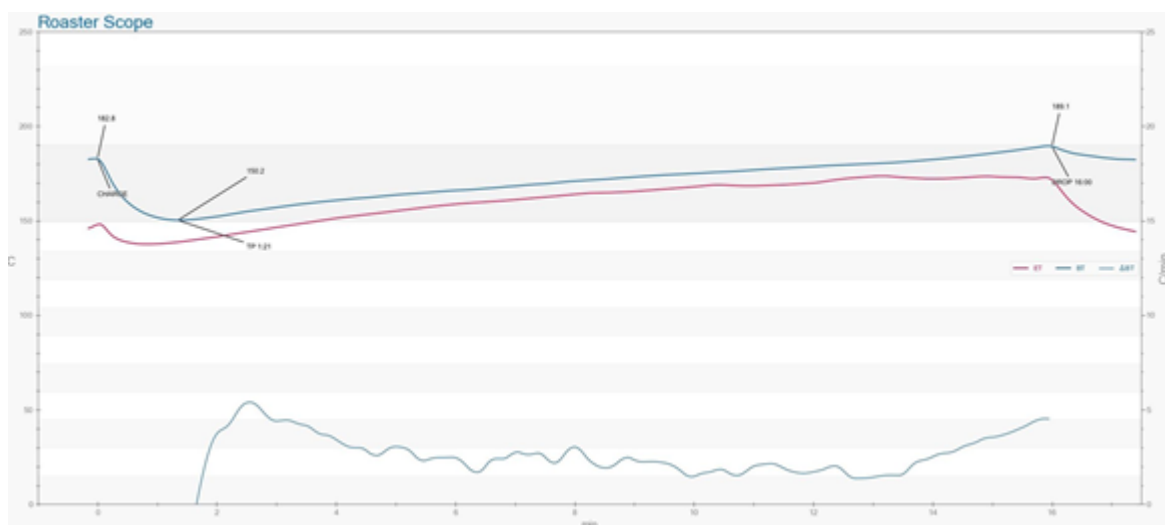
Jedná se o kávu druhu arabika pocházející z oblasti Sidamo v Etiopii, která je pěstována v nadmořské výšce 1400-1800 m.n.m. Analyzovaná káva Ethiopia Sidamo roste na kávovnících odrůd Herloom a Setami. Je zpracována mokrou metodou. Pro stanovení antioxidantů byla použita káva v zeleném stavu a ve 3 stupních pražení.



Obrázek 14 - mapa oblasti pěstování kávy Ethiopia Sidamo

Tabulka 2 - parametry jednotlivých stupňů pražení  
kávy Ethiopia Sidamo

Stupeň pražení	Teplota [°C]	Doba pražení [min.]
1	169	8:30
2	176	12:15
3	189	16:00



Obrázek 15 - graf pražení kávy Ethiopia Sidamo

Počáteční teplota pražicího bubnu při vsypání zelené kávy byla 182,8 °C. Došlo k mírnému ochlazení bubnu a nastala doba sušení kávy. Doba sušení trvala 8,5 minuty. Poté byla kávová zrna vytažena a zchlazena. Kávová zrna měla nažloutlou barvu. Zbytek kávových zrn byl dále pražen. Po uplynutí cca 13 minut celkové doby pražení při teplotě 176 °C došlo k 1. prasknutí zrna neboli 1. prasknutí (1. crack). V této fázi byla vytažena a zchlazena kávová zrna 2. stupně pražení. Kávová zrna měla světle hnědou barvu. Vzorek kávy 3. stupně pražení byl zároveň konečný produkt pražení kávy Ethiopia Sidamo. Kávová zrna byla vysypána z pražicího bubnu po 16-ti minutách při teplotě 189 °C. Následně byla zchlazena.

### 8.1.2 Káva Brazil Santos

Jedná se o kávu druhu arabika pocházející z oblasti Santos v Brazílii. Odrůda kávovníku, ze kterého káva pochází je: Red Caturra, Yellow Caturra a Y. Bourbon. Káva je pěstována v nadmořské výšce 1000-1350 m.n.m. a je zpracovávána suchou cestou. Pro další analýzu

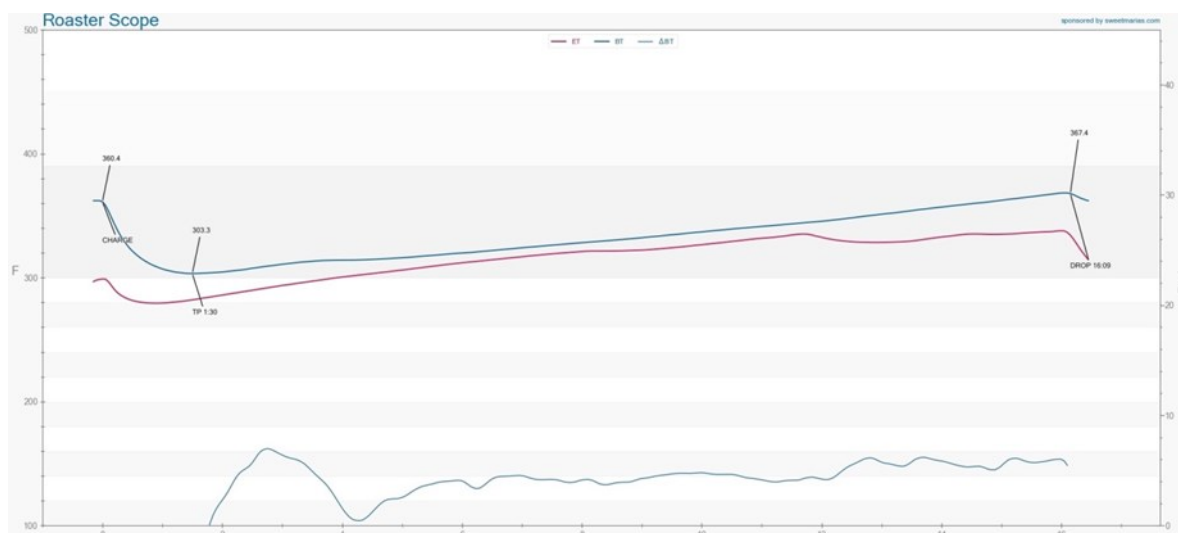
byl použit vzorek zelené kávy a 3 vzorky v různých stupních pražení (ukončení doby sušení, 1. prasknutí, 2. prasknutí).



Obrázek 16 - oblast pěstování kávy Brazil Santos

Tabulka 3 - parametry pražení kávy Brazil Santos

Stupeň pražení	Teplota [°C]	Doba pražení [min.]
1	167	11:10
2	177	14:36
3	184,3	16:29



Obrázek 17 - graf průběhu pražení kávy Brazil Santos

Káva byla vsypána do pražicího bubnu při teplotě 182,4 °C. Následně došlo k ochlazení bubnu v důsledku nízké teploty zelené kávy. Po uplynutí cca 11 minut při teplotě 167 °C došlo k ukončení fáze sušení a byla vytažena kávová zrna 1. stupně pražení, která měla světle žlutou barvu. Další vzorek (2. stupeň pražení) byl z pražicího bubnu vytažen po uplynutí celkové doby pražení 14,5 minut při teplotě 177 °C. Kávová zrna měla světle hnědou barvu. K ukončení pražení (3. stupeň pražení) došlo po uplynutí 16,5 minut při teplotě 184,3 °C, kdy byla kávová zrna vysypána z pražicího bubnu a následně zchlazena.

### 8.1.3 Káva Kenya Mount Kenya Selection

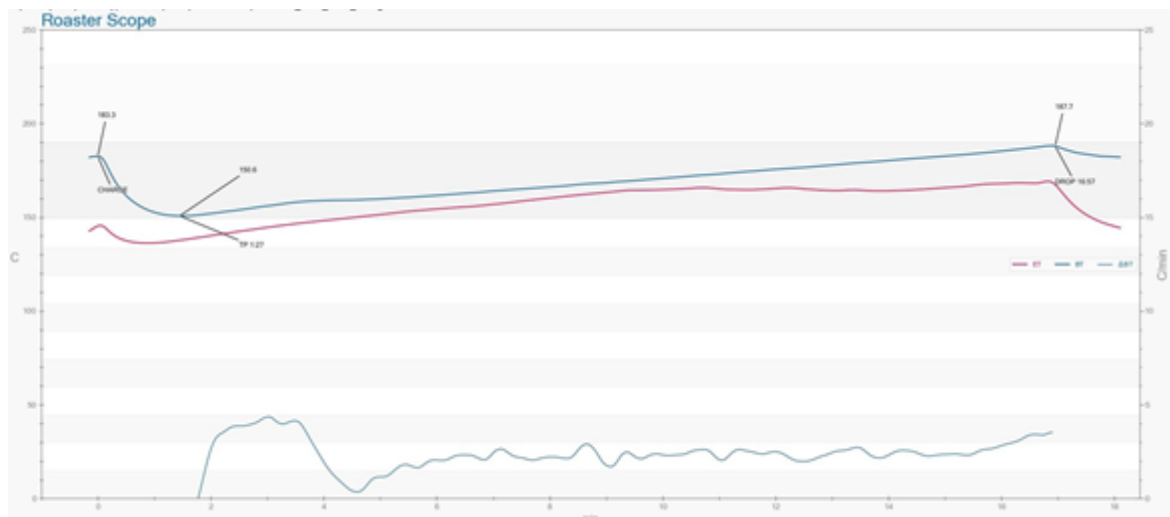
Káva Kenya Mount Kenya Selection pochází z oblasti Mount Kenya, která se nachází v nadmořské výšce 1750-1900 m.n.m. Je zpracována mokrou cestou a jedná se o kávu druhu arabika. Odrůda kávy KM je SL28. Dle stupnice kvality je káva hodnocena číslem 87, což řadí KM mezi kvalitní výběrovou kávu. Pro analýzu byl použit vzorek zelené kávy a 3 vzorky v jednotlivých stupních pražení viz Tabulka 5.



Obrázek 18 - oblast pěstování kávy  
Kenya Mount Kenya Selection

Tabulka 4 - parametry pražení kávy Kenya Mount Kenya Selection

Stupeň pražení	Teplota [°C]	Doba pražení [min.]
1	168	9:50
2	177	13:55
3	187,7	16:57



Obrázek 19 - graf pražení kávy Kenya Mount Kenya Selection

Celková doba pražení trvala přibližně 17 minut. Kávová zrna byla vsypána do pražicího bubnu při teplotě 183,3 °C. Nejprve došlo k ochlazení bubnu vlivem nízké teploty zelené kávy. Následně po uplynutí cca 10 minut a při teplotě 168 °C byla vytažena kávová zrna 1. stupně pražení a ihned zchlazena. K dalšímu vytažení kávových zrn 2. stupně pražení došlo po 13,5 min. pražení při teplotě 176 °C. Kávová zrna byla opět zchlazena. Po uplynutí celkové doby pražení při teplotě 187,7 °C byla zrna 3. stupně pražení vysypána z pražicího bubnu a opět ochlazena na pokojovou teplotu.

#### 8.1.4 Káva Mexiko Berilo

Káva pochází z oblasti Chiapas v Mexiku a roste v nadmořské výšce 1100-1300 m.n.m. Odrůda kávy MB je Bourbon, Catuia a Caturra. Hodnocení této kávy dle žebříčku kvality je 84 a jedná se o kávu výběrovou. Způsob zpracování je proveden mokrou cestou a jedná se o kávu druhu arabika. Pro další stanovení byl použit vzorek zelené kávy a kávy ve 3 stupních pražení (po době sušení, 1. prasknutí, 2. prasknutí).

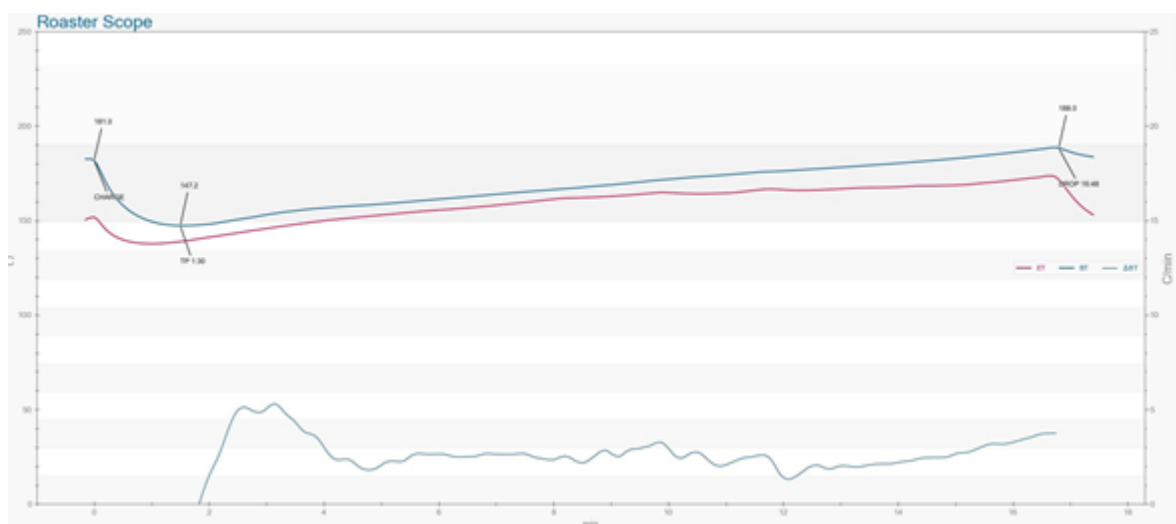




Obrázek 20 – oblast pěstování kávy  
Mexiko Berilo

Tabulka 5 - parametry pražení kávy Mexiko Berilo

Stupeň pražení	Teplota [°C]	Doba pražení [min.]
1	166	9:10
2	176	13:15
3	188	16:48



Obrázek 21 - graf pražení kávy Mexiko Berilo

Počáteční teplota pražicího bubnu byla 181 °C. Po vsypání zelené kávy do pražicího bubnu došlo k poklesu teploty v důsledku nízké teploty zelené kávy. Káva procházela následně dobou sušení. V cca 9. minutě pražení a teplotě 166 °C došlo k vyjmutí vzorku v 1. stupni pražení, který byl následně ochlazen. Po uplynulých dalších cca 4 minutách a při teplotě 176 °C došlo k vyjmutí druhého vzorku v 2. stupni pražení, který byl také následně ochlazen. K ukončení pražení došlo po uplynutí cca 17 minut celkové doby pražení a teplotě 188 °C, kdy byl vzorek 3. stupně pražení vysypán z pražicího bubnu a následně opět ochlazen.

### 8.1.5 Káva India Malabar

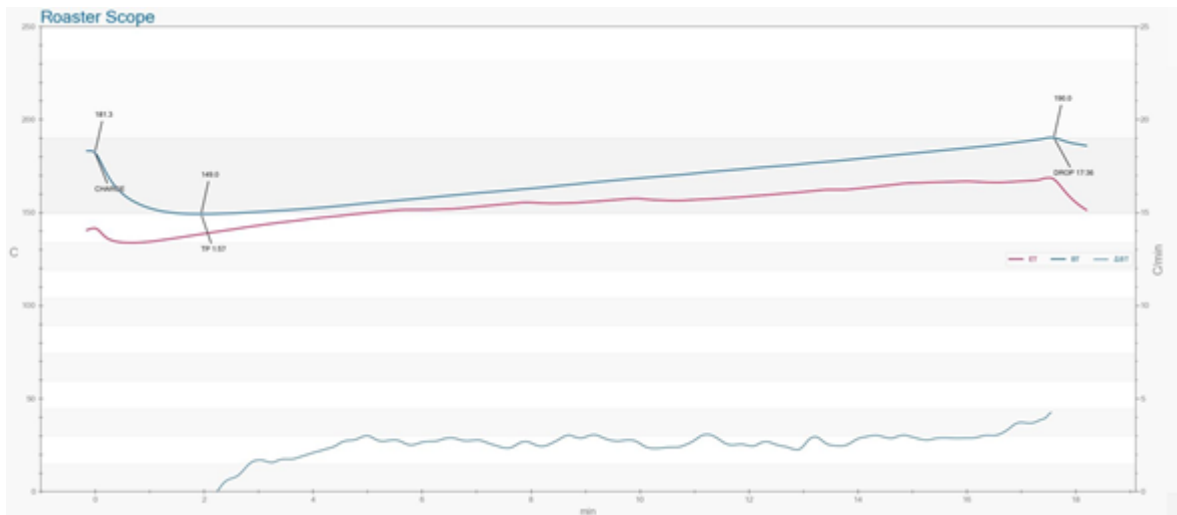
Tato káva je pěstována v oblasti India Malabar v nadmořské výšce 900-1000 m.n.m. Jedná se o kávu druhu robusta a byla zpracovávána suchou cestou. Tato káva patří do kategorie vyšší třídy (A++) komoditní kávy. Odrůda kávovníku IM je Kent, Catimor, SLN 795 a SLN 9. Pro další analýzu byl připraven vzorek zelené kávy a 3 vzorky kávy v různých stupních pražení (konec doby sušení, 1. prasknutí, 2. prasknutí).



Obrázek 22 - oblast pěstování kávy  
India Malabar

Tabulka 6 - parametry pražení kávy India Malabar

Stupeň pražení	Teplota [°C]	Doba pražení [min.]
1	166-167	10:00
2	178	14:30
3	190	17:58



Obrázek 23 - graf pražení kávy India Malabar

Počáteční teplota pražicího bubnu byla 181 °C. Nejprve došlo k částečnému ochlazení bubnu z důvodu nízké teploty zelené kávy. Po uplynutí 10 minut při teplotě 166-167 °C došlo k vyjmutí vzorku 1. stupně pražení. Další vzorek (2. stupeň pražení) byl následně z pražicího bubnu vyjmut po 14,5 minutách celkové doby pražení při teplotě 178 °C. Pražení bylo ukončeno po uplynutí 18 minut při teplotě 190 °C, kdy byl vzorek 3. stupně pražení vysypán z pražicího bubnu a následně zchlazen na požadovanou teplotu.

## 9 METODIKA PRÁCE

K měření byly použity extrakty vzorků káv připravovány metodou zalití horkou vodou, cold brew a směsí vody s etanolem. Pro stanovení celkového obsahu polyfenolických látek byla použita metoda stanovení pomocí činidla Folin-Ciocalteu. Pro stanovení antioxidační aktivity byly použity metody DPPH a ABTS. K vytvoření kalibračních křivek byly použity standardy kyseliny gallové (polyfenoly) a troloxu (DPPH, ABTS).

### 9.1 Použité způsoby přípravy vzorků káv

Pro stanovení obsahu polyfenolických látek a antioxidační aktivity byly použity vzorky zelené kávy a vzorky kávy pražené na 3 stupně. Měřeny byly vzorky káv připravovány čtyřmi způsoby – metodou zalití horkou vodou o teplotě 95 °C (2 různé doby louhování), cold brew neboli louhování ve studené vodě, a extrakcí směsí vody s etanolem v poměru 1:1.

Všechny vzorky kávy byly těsně před měřením namlety na elektrickém mlýnku a následně připraveny vybranými metodami.

Při metodě zalití horkou vodou byly použity dva způsoby přípravy, které se lišily v délce doby louhování, 3 anebo 5 minut. Postup přípravy spočíval v namletí kávy na požadovanou jemnost, následně zalití namleté kávy horkou vodou o teplotě 95 °C, poté byl vzorek louhován požadovanou dobu a následně rychle ochlazen ve vodní lázni s ledem a zfiltrován přes filtrační papír.

Metoda přípravy cold brew spočívala v zalití namleté kávy studenou destilovanou vodou a následném louhování po dobu 12 hodin při teplotě 4 °C. Po uplynutí doby louhování byl vzorek filtrován přes filtrační papír. Tato metoda byla použita pouze u vzorků káv pražených na 2. a 3. stupeň. U méně pražených káv nebylo možné vzorky efektivně připravit a přefiltrovat.

Při přípravě vzorků pomocí extrakce směsí vody s etanolem v poměru 1:1 byl vzorek namleté kávy o požadované jemnosti vložen do třepačky na dobu 3 hodin, a následně byl zfiltrován přes filtrační papír.

U jednotlivých vzorků káv bylo naváženo 2,5 g vzorku s přesností na 0,0001 g. Vzorek byl zalit 50 ml destilované vody o požadované teplotě nebo směsí vody s etanolem a louhován požadovanou dobu. Po uplynutí dané doby byl vzorek zfiltrován. Získané extrakty byly naředěny a měřeny.

## 9.2 Stanovení celkového množství polyfenolů (TPC) pomocí Folin-Ciocalteuova činidla

Pro optimalizaci stanovení celkového obsahu polyfenolických látek bylo vycházeno z vědeckých článků [37, 58]. Byl zjišťován odpovídající postup stanovení s vhodným složením reakční směsi s Folin-Ciocalteuovým činidlem.

Z vytvořených roztoků káv, připravených postupy uvedenými v kapitole 9.1, bylo následně do zkumavek pipetováno množství 0,1 ml a 1 ml Folin-Ciocalteuova činidla (10 %). Směs byla poté promíchána a dána do tmy na dobu 5 minut. Po uplynutí této doby byl do vzorku přidán 1 ml uhličitanu sodného. Roztok byl promíchán a vložen do tmy na 15 minut. Zároveň se vzorkem kávy byl připraven i slepý pokus, kde místo vzorku kávy byla použita destilovaná voda. Po uplynutí 15 minut byla změřena absorbance jednotlivých vzorků proti slepému vzorku na spektrofotometru při vlnové délce 750 nm. Pro každý vzorek kávy byly provedeny 3 měření.

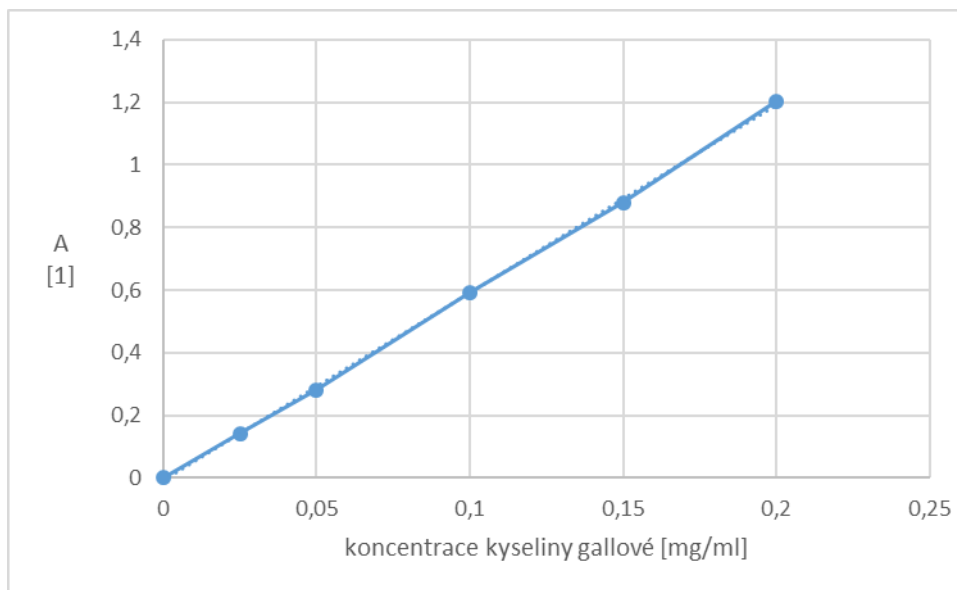
Celkový obsah polyfenolických látek ve vzorcích kávy byl přepočítán na základě kalibrační křivky standardu kyseliny gallové (KG) a dle navážky vzorku, a byl vyjádřen jako ekvivalent kyseliny gallové v miligramech na gram vzorku.

### 9.2.1 Kalibrační křivka kyseliny gallové

Pro měření kalibrační křivky byl použit stejný postup jako u analýzy vzorků káv, který je uveden v kapitole 9.2, kdy místo vzorku byly použity připravené koncentrace standardu kyseliny gallové (0,2; 0,15; 0,1 0,05 a 0,025 mg/ml). U jednotlivých koncentrací kyseliny gallové byla třikrát změřena absorbance při vlnové délce 750 nm a z výsledků byla sestrojena kalibrační křivka závislosti absorbance na koncentraci kyseliny gallové (mg/ml). Sestrojením kalibrační křivky byla zjištěna rovnice lineární regrese.

Tabulka 7 - naměřené hodnoty absorbance kyseliny gallové pro stanovení kalibrační křivky

<b>c [mg/ml]</b>	<b>A [1]</b>
0,2	1,203
0,15	0,879
0,1	0,592
0,05	0,282
0,025	0,141



Obrázek 24 - kalibrační křivka kyseliny gallové

Rovnice kalibrační křivky KG má tvar:

$$y = 6,0055x - 0,0093$$

y – hodnota absorbance [1]

x – hodnota koncentrace KG [mg/ml]

Hodnota spolehlivosti  $R^2 = 0,9996$ .

### 9.3 Stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH

Ke stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH byly použity roztoky vzorků kávy připravených postupy uvedenými v kapitole 9.1. Pro stanovení antioxidační aktivity bylo vycházeno z vědeckých článků [35, 37]. V rámci modifikace daných metod, pro zjištění vhodného postupu, byla experimentálně připravena reakční směs, která obsahovala 0,1 ml vzorku kávy, etanolový roztok DPPH o koncentraci 0,2 mM, 1,4 ml, a 0,75 ml acetátového pufru o  $\text{pH} = 5,5$ . Zároveň se vzorky byl připraven slepý pokus a kontrolní vzorek. Slepý pokus byl připraven stejným způsobem jako reakční směs, kdy místo roztoku DPPH byl přidán etanol. Kontrolní vzorek byl připraven také obdobným způsobem, kdy místo vzorku kávy byla pipetována destilovaná voda. Kontrolní vzorek poté sloužil k výpočtu inaktivace. Zkumavky s napipetovanou reakční směsí byly uzavřeny, promíchány a vloženy do temna na 1 hodinu, při laboratorní teplotě. Po uplynutí reakční doby byla měřena absorbance při

vlnové délce 517 nm proti slepému pokusu. Absorbance všech připravených vzorků kávy byla měřena třikrát. Proměřen byl i kontrolní vzorek.

Ze získaných hodnot absorbance vzorků kávy a kontrolních vzorků byla vypočítána inaktivace I [%] dle vztahu:

$$I = \frac{(K - A)}{K} \cdot 100$$

K – absorbance kontrolního vzorku při vlnové délce 517 nm

A – absorbance vzorku kávy při vlnové délce 517 nm

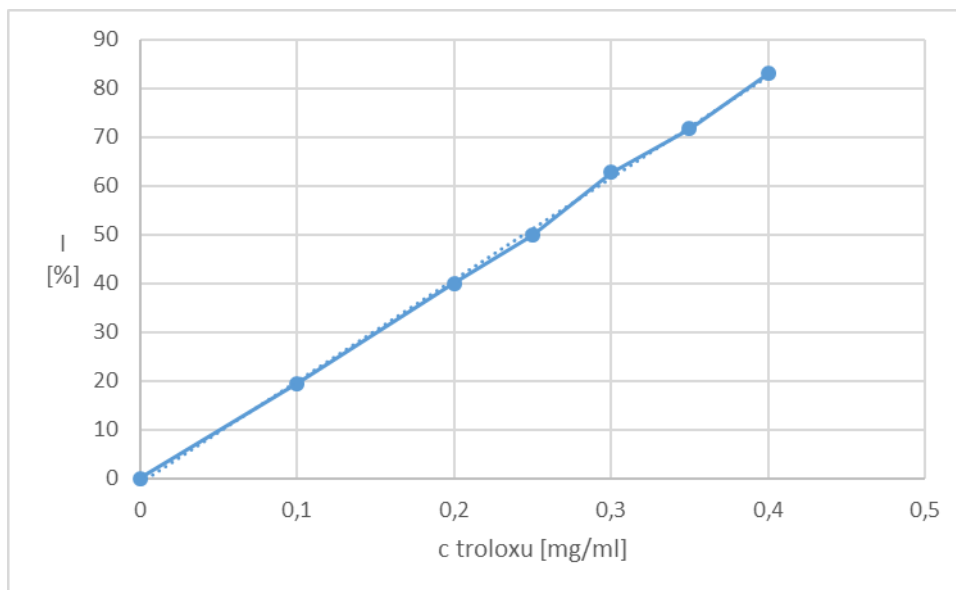
Antioxidační aktivita byla poté přepočítána z hodnot inaktivace na standard trolox pomocí kalibrační křivky a vyjádřena jako ekvivalent troloxu v miligramech na gram vzorku.

### 9.3.1 Kalibrační křivka troloxu pro metodu DPPH

Pro stanovení kalibrační křivky bylo postupováno stejným způsobem jako u stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH uvedeným v kapitole 9.3, ale namísto vzorků kávy byly použity připravené koncentrace troloxu 0,1; 0,2; 0,25; 0,3; 0,35 a 0,4 mg/ml, ředěny etanolem. U jednotlivých koncentrací troloxu byla po reakci měřena absorbance při vlnové délce 517 nm třikrát. Naměřená absorbance byla následně přepočítána na procenta inaktivace a z nich byl sestrojen graf závislosti inaktivace na koncentraci troloxu.

Tabulka 8 - hodnoty inaktivace troloxu pro sestrojení kalibrační křivky

c [mg/ml]	Inaktivace I [%]
0,4	83,05
0,35	71,72
0,3	62,75
0,25	49,86
0,2	40,03
0,1	19,51



Obrázek 25 - kalibrační křivka troloxu pro metodu DPPH

Rovnice kalibrační křivky troloxu má tvar:

$$y = 208,27x - 0,9016$$

y – hodnota inaktivace I [%]

x – hodnota koncentrace (c) troloxu [mg/ml]

Hodnota spolehlivosti  $R^2 = 0,999$ .

#### 9.4 Stanovení antioxidační aktivity metodou ABTS

Pro stanovení antioxidační aktivity metodou ABTS byly použity připravené roztoky vzorků káv dle kapitoly 9.1. Při stanovení antioxidační aktivity bylo vycházeno z vědeckých článků [37, 51]. Experimentálně byla vybrána reakční směs složená z roztoku ABTS o koncentraci 3,5 mM a peroxidisíranu draselného o koncentraci 60 mM v poměru 50:1. Takto připravený roztok byl ponechán 16 hodin v temnu při pokojové teplotě. Zároveň byl připraven octanový pufr o pH 4,3, který byl po uplynutí dané reakční doby smíchán s roztokem vygenerovaného radikálu ABTS v poměru 39:1.

Slepý pokus při stanovení antioxidační aktivity byl octanový pufr. Jako kontrolní vzorek byla uvedena reakční směs, měřena při vlnové délce 734 nm.

Do zkumavek bylo napipetováno 8 ml reakční směsi a 0,1 ml vzorku kávy. Zkumavky byly promíchány a ponechány ve tmě po dobu 30 minut při laboratorní teplotě. Po uplynutí



reakční doby byly zkumavky promíchány, a na spektrofotometru byla změřena absorbance při vlnové délce 734 nm. Měření absorbance u všech vzorků bylo opakováno třikrát.

Z naměřených hodnot absorbance vzorků kávy a absorbance reakční směsi ABTS byla vypočítána inaktivace I [%] dle vzorce:

$$I = \frac{(K - A)}{K} \cdot 100$$

K – absorbance reakční směsi při vlnové délce 734 nm

A – absorbance vzorku kávy při vlnové délce 734 nm

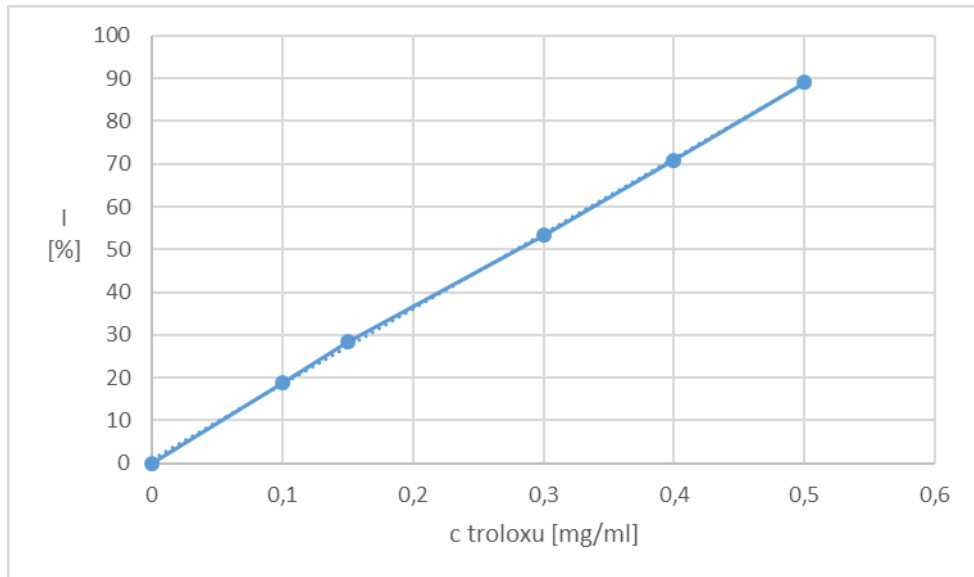
Z hodnot inaktivace byla zjištěna antioxidační aktivita na standard trolox, která byla přepočtena z kalibrační křivky a podle přesné navážky, a vyjádřena jako ekvivalent troloxu v miligramech na gram.

#### 9.4.1 Kalibrační křivka troloxu pro metodu ABTS

Pro sestavení kalibrační křivky byl použit stejný postup jako u stanovení antioxidační aktivity metodou ABTS uvedený v kapitole 9.4, kdy místo vzorku kávy byly použity připravené koncentrace troloxu. Jednotlivé koncentrace troloxu byly naředěny etanolem na koncentrace 0,1; 0,15; 0,3, 0,4 a 0,5 mg/ml. Následně byl připraven kontrolní vzorek, do kterého byl přidán etanol namísto troloxu. U jednotlivých připravených koncentrací troloxu byla následně změřena absorbance na spektrofotometru při vlnové délce 734 nm. Z naměřené absorbance byly poté vypočítány procenta inaktivace a z nich sestrojen graf závislosti inaktivace na dané koncentraci troloxu.

Tabulka 9 - hodnoty inaktivace troloxu pro sestavení kalibrační křivky pro metodu ABTS

c [mg/ml]	I [%]
0,5	89,05
0,4	70,85
0,3	53,38
0,15	28,41
0,1	18,82



Obrázek 26 - kalibrační křivka troloxu pro metodu ABTS

Rovnice regrese zjištěná z kalibrační křivky troloxu má tvar:

$$y = 176,11x + 0,8599$$

y – hodnota inaktivace I [%]

x – hodnota koncentrace troloxu c [mg/ml]

Hodnota spolehlivosti  $R^2 = 0,9996$ .

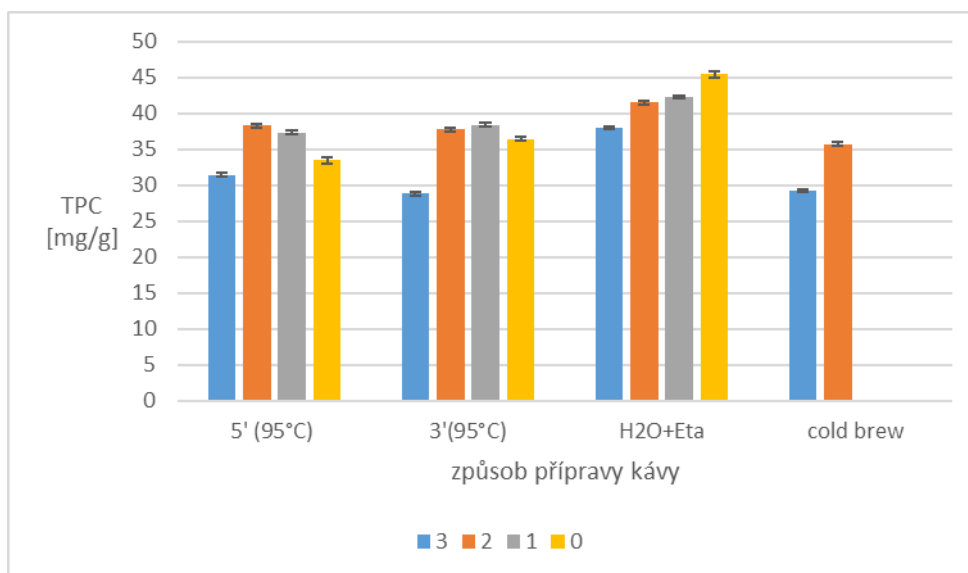
## 10 VÝSLEDKY

### 10.1 Stanovení celkového množství polyfenolů

Celkové množství polyfenolů (TPC) bylo stanoveno spektrofotometricky pomocí činidla Folin-Ciocalteu u 5 druhů káv. Vzorky byly vždy připravovány čtyřmi způsoby: metodou zalití horkou vodou o teplotě 95 °C ve dvou časových rozmezích, dále cold brew a extrakcí směsi vody s etanolem v poměru 1:1. Postup přípravy vzorků kávy je uveden v kapitole 9.1. Stanovení TPC bylo provedeno postupem stanoveným v kapitole 9.2. Celkové množství polyfenolů pro všechny extrakty bylo vypočítáno z rovnice lineární regrese závislosti absorbance na koncentraci standardu kyseliny gallové (KG), a vyjádřeno jako ekvivalent KG na množství vzorku [mg ekv.KG/g].

#### 10.1.1 TPC kávy Ethiopia Sidamo

Měření celkového množství polyfenolů u kávy Ethiopia Sidamo (ES) bylo provedeno pro kávu nepraženou a praženou na 3 stupně, která byla připravena metodou zalití horkou vodou s dobou louhování 3 a 5 minut, extrakcí směsi vody s etanolem a způsobem přípravy cold brew.



Obrázek 27 - porovnání TPC u kávy Ethiopia Sidamo

Obrázek 27 zobrazuje srovnání získaných výsledků TPC u kávy Ethiopia Sidamo (ES) připravenou 4 různými způsoby. Nejvyšších hodnot TPC dosahovaly extrakty káv pražených na 1. a 2. stupeň u všech způsobů příprav, s výjimkou přípravy směsí extraktu vody

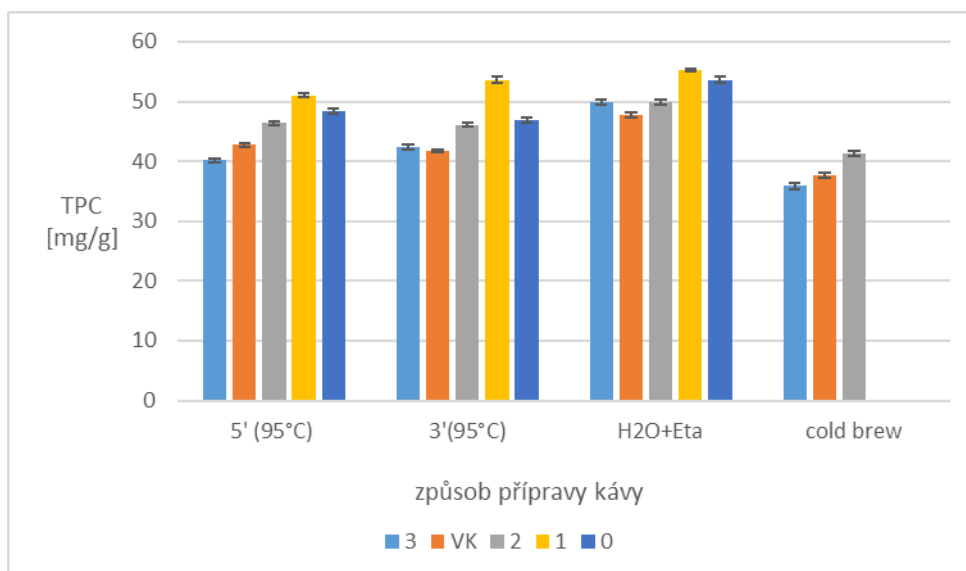
s etanolem, u kterého dosahoval nejvyšších výsledků vzorek nepražené kávy. Zároveň u těchto vzorků nebyl pozorován výrazný rozdíl hodnot TPC mezi způsoby přípravy metodou zalití horkou vodou a extrakcí směsí vody s etanolem. V závislosti na stupni pražení bylo zjištěno, že vzorky kávy ES pražené na 1. stupeň měly průměrně nejvyšší obsah polyfenolů (39,34 mg/g), a u vzorků kávy pražené na 3. stupeň došlo k výraznému poklesu množství polyfenolů oproti vzorkům kávy praženým na 2. stupeň (o 25,5 %).

Při hodnocení rozdílů mezi způsoby přípravy metodou zalití horkou vodou s dobou louhování 3 nebo 5 minut nebyly zaznamenány významné změny hodnot TPC. Ovšem u vzorku kávy pražené na 3. stupeň byl zaznamenán nárůst TPC s dobou louhování, naopak u nepražené kávy byl zaznamenán pokles TPC.

U vzorků kávy ES tedy celkově dochází k poklesu množství polyfenolů s délkou pražení, a to především u vzorků pražených na 3. stupeň.

### 10.1.2 TPC kávy India Malabar

U kávy India Malabar (IM), která je představitelem kávy robusta, byl stanoven celkový obsah polyfenolů (TPC) u nepražené kávy a kávy pražené na tři stupně pražení. Zároveň byla z kávy pražené na 3. stupeň vybrána vadná zrna (nižší kvalita kávy), kde bylo také provedeno měření TPC.



Obrázek 28 - porovnání TPC u kávy India Malabar

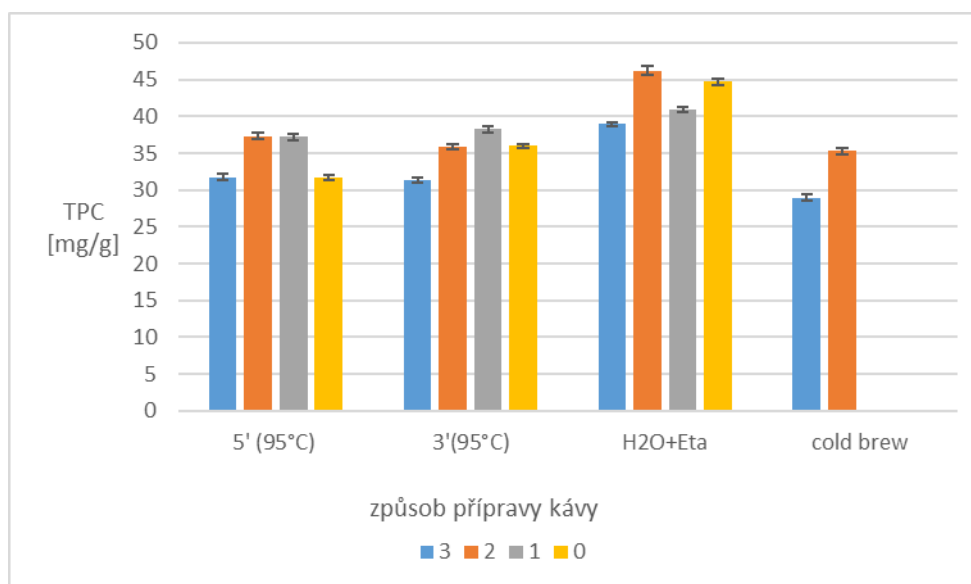
Na obrázku 28 je porovnání TPC u kávy India Malabar v závislosti na pražení a způsobu přípravy. Nejvyšší hodnoty TPC (průměr 53,51 mg/g), úměrně stupni pražení, byly zjištěny

u vzorků kávy pražené na 1. stupeň. U vzorků pražené kávy, které se běžně konzumují (2. a 3. stupeň), dosahovaly vyšších hodnot (o 7 %) vzorky pražené na 2. stupeň (průměr hodnot 47,48 mg/g) oproti vzorkům praženým na 3. stupeň (44,17 mg/g), přičemž hodnoty TPC u vzorků nepražené kávy byly vyšší než u vzorků, které byly praženy na 2. a 3. stupeň. Porovnáním vzorků pražených na 3. stupeň a pražených z vadných kusů kávy bylo zjištěno, že výsledky obsahu polyfenolů jsou u těchto vzorků přibližně shodné (kvalitní káva na 3. stupeň – 44,17 mg/g, káva z vadných kusů – 44,07 mg/g).

Nejvyšší množství TPC u kávy IM bylo zjištěno u vzorků extrahovaných směsí vody s etanolem v poměru 1:1 pro všechny vzorky káv. Následovaly vzorky připravené metodou zalití horkou vodou s oběma dobami louhování. Nejnižší hodnoty měly vzorky připraveny metodou cold brew.

### 10.1.3 TPC kávy Kenya Mountain Kenya Selection

U kávy Kenya Mountain Kenya Selection (KM) byl měřen celkový obsah polyfenolů (TPC) u zelené kávy a kávy pražené na 3 stupně pražení. Vzorky kávy KM byly připraveny 4 způsoby: zalitím horkou vodou, extrakci směsí vody s etanolem a cold brew.



Obrázek 29 - porovnání TPC u kávy Kenya Mountain Kenya Selection

Na Obrázku 29 je uvedeno srovnání celkového obsahu polyfenolů (TPC) u kávy KM v závislosti na způsobu přípravy kávy a stupni pražení. Na základě měření bylo zjištěno, že vzorky kávy KM pražené na 3. stupeň dosahovaly průměrně nejnižších hodnot TPC (v průměru 34,01 mg/g). Nejvyšší obsah (39,8 mg/g) měly vzorky pražené na 2. stupeň.

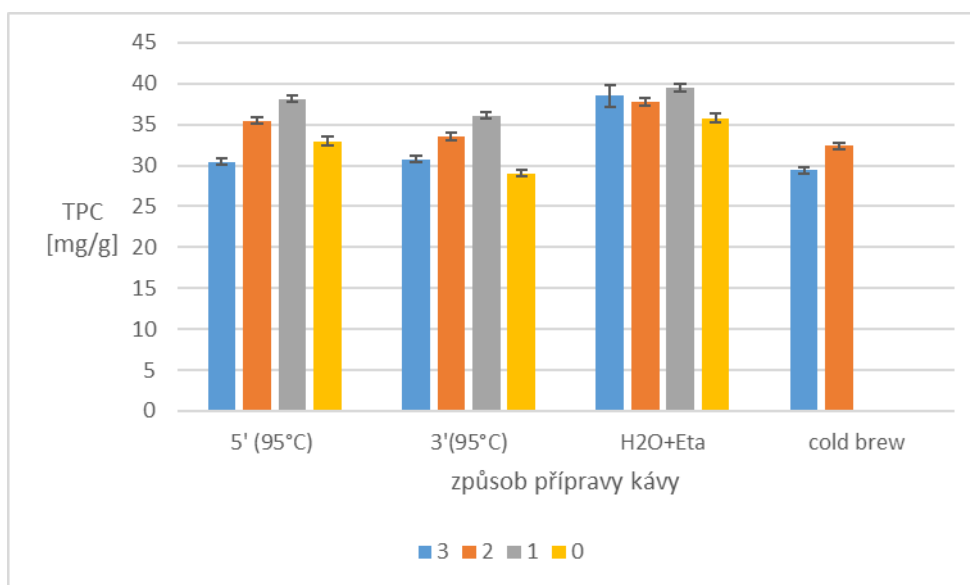
Vzorky káv pražené na 1. a 2. stupeň dosahovaly velmi podobných hodnot TPC u metody zalití horkou vodou s dobou extrakce 3 a 5 minut (rozdíl přibližně 1,1 %). U vzorku nepražené kávy KM byl pozorován pokles TPC s delší dobou louhování u způsobu přípravy kávy zalitím horkou vodou (rozdíl o 11,8 %).

Průměrně nejvyšší hodnoty obsahu polyfenolů (42,69 mg/g) byly naměřeny u způsobu přípravy extrakcí směsí vody s etanolem bez ohledu na stupeň pražení kávy. Průměrně nejnižší TPC (32,11 mg/g) byly naopak stanoveny u způsobu přípravy cold brew, i když tady byly měřeny pouze vzorky KM pražené na 2. a 3. stupeň.

Co se týče rozdílů mezi metodami přípravy, nejvyšší rozdíl TPC byl pozorován mezi postupem extrakce cold brew a extrakcí směsí vody s etanolem u vzorku kávy pražené na 2. stupeň (rozdíl o 25,8 %). U vzorku kávy pražené na 1. stupeň byl zaznamenán naopak nejmenší rozdíl hodnot TPC mezi metodami přípravy zalitím horkou vodou a extrakcí směsí vody s etanolem (rozdíl o 6,6 %).

#### 10.1.4 TPC kávy Brazil Santos

U kávy Brazil Santos (BS) byl měřen celkový obsah polyfenolů (TPC) u zelené kávy a kávy pražené na tři stupně. Vzorky byly připraveny čtyřmi způsoby přípravy.



Obrázek 30 - porovnání TPC u kávy Brazil Santos

Na Obrázku 30 jsou uvedeny hodnoty TPC u vzorků káv Brazil Santos (BS). Bylo zjištěno, že u metody přípravy extrakce směsí vody s etanolem byly naměřeny průměrně nejvyšší obsahy polyfenolů (37,92 mg/g). Naopak nejnižší hodnoty TPC (30,9 mg/g) byly u vzorků

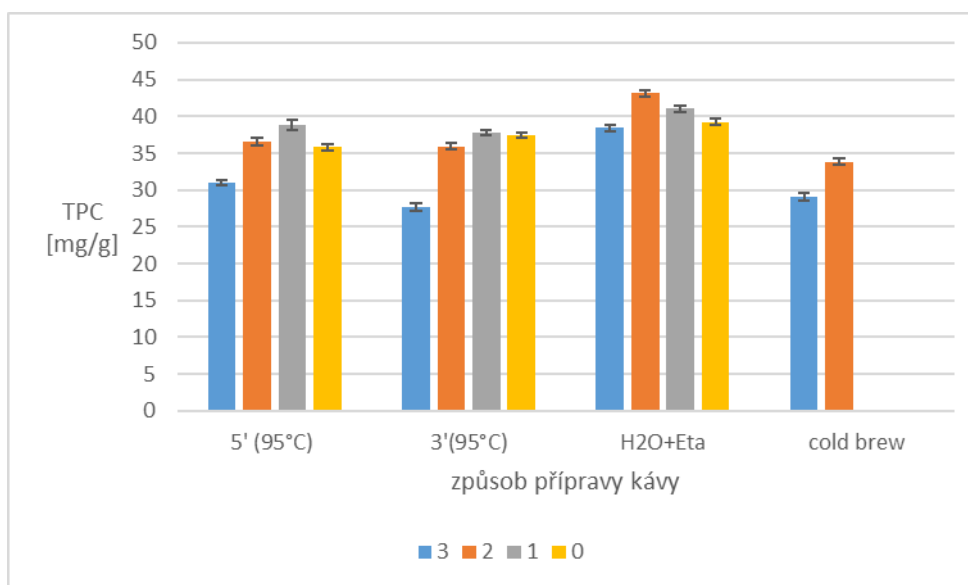
připravených způsobem cold brew, i když tady byly měřeny pouze vzorky pražené na 2. a 3. stupeň.

Byl hodnocen i vliv délky louhování vzorků připravených metodu zalití horkou vodou s dobou extrakce 3 a 5 minut. Bylo stanoveno, že u kávy BS se hodnota TPC s dobou louhování zvyšuje u všech vzorků káv s výjimkou kávy pražené na 3. stupeň, kdy je hodnota TPC téměř stejná. U vzorků připravených extrakcí směsí vody s etanolem byly zjištěny velmi podobné výsledky hodnot TPC bez ohledu na stupeň pražení. U ostatních metod přípravy (metoda zalití horkou vodou, cold brew) jsou hodnoty TPC dosti rozdílné.

Co se týče vlivu pražení, vzorek kávy pražený na 1. stupeň vykazoval opakovaně nejvyšších hodnot TPC u všech způsobů přípravy. Vzorky nepražené kávy dosahovaly nejnižších hodnot TPC bez ohledu na způsob přípravy. Při porovnání vzorků kávy BS, které se obvykle konzumují (2. a 3. stupeň) byly z hlediska TPC naměřeny mírně vyšší hodnoty u vzorků pražených na 2. stupeň (rozdíl o 6,6 %).

#### 10.1.5 TPC kávy Mexico Berilo

Stanovení celkového obsahu polyfenolů (TPC) u kávy Mexiko Berilo (MB) bylo provedeno u vzorků zelené kávy a kávy pražené na tři stupně pražení, připravených čtyřmi způsoby.



Obrázek 31 - porovnání TPC u kávy Mexiko Berilo

Na Obrázku 31 jsou znázorněny rozdíly mezi hodnotami TPC u vzorků káv Mexiko Berilo (MB) připravených čtyřmi způsoby. Nejvyšší naměřené hodnoty TPC (průměrně 39,28 mg/g) byly naměřeny u vzorků pražených na 1. stupeň. U káv pražených na 3. stupeň

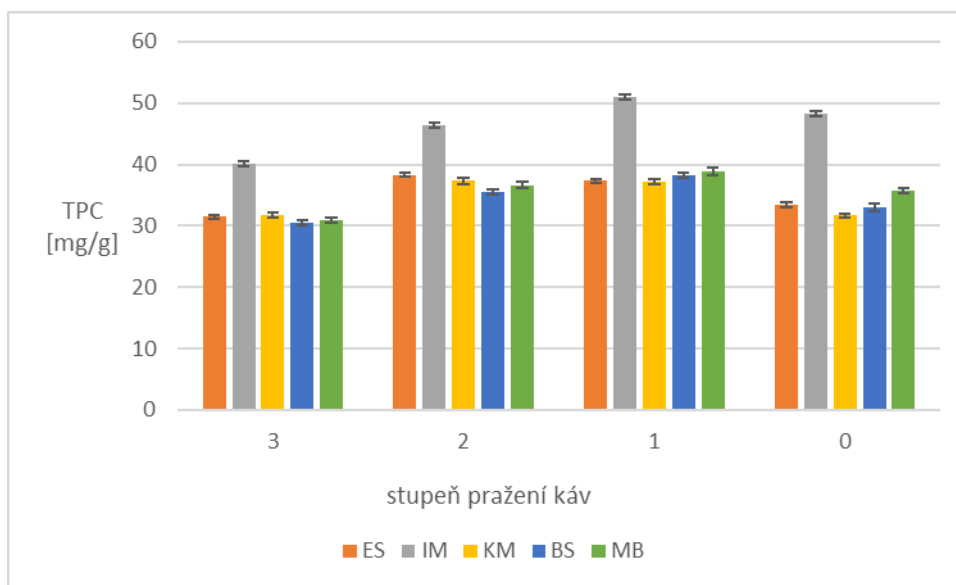
byly naopak zjištěny průměrně nejnižší hodnoty TPC (32,36 mg/g). Ve srovnání se vzorky praženými na 2. stupeň měly o 16,1 % nižší obsah polyfenolů.

Z hlediska způsobu přípravy byly průměrně určeny nejvyšší hodnoty TPC (40,47 mg/g) u vzorků extrahovaných směsí vody s etanolem. Nižší množství polyfenolů (o 13,2 %) bylo naměřeno u vzorků zalitých horkou vodou (3 a 5 minut) a nejnižší hodnoty TPC měly vzorky z přípravy cold brew (o 22,2 %).

Při srovnání doby louhování u metody zalití horkou vodou bylo zjištěno, že při delší době louhování, tj. 5 minut, vykazoval vzorek MB vyšší množství TPC oproti vzorku extrahovanému 3 minuty bez ohledu na stupeň pražení, s výjimkou kávy nepražené, která se vyznačovala poklesem množství TPC s dobou louhování.

### 10.1.6 Porovnání TPC káv připravených vybranou metodou

V této kapitole je pro názornost uvedeno porovnání hodnot TPC u všech analyzovaných káv (ES, BS, KM, IM a MB) v závislosti na stupni pražení připravených pomocí metody zalití horkou vodou s dobou extrakce 5 minut. Tento způsob přípravy vzorků byl vybrán z důvodu jeho nejběžnějšího využití.



Obrázek 32 - porovnání TPC u všech analyzovaných vzorků káv připravených zalitím horkou vodou s délkou extrakce 5'

Rozdíly TPC mezi analyzovanými vzorky káv připravenými zalitím horkou vodou s délkou louhování 5 minut jsou vidět na Obrázku 32. V daném srovnání byly analyzovány vzorky kávy arabika (ES, KM, BS a MB) a jeden vzorek kávy robusta – India Malabar (IM). Bylo



zjištěno, že právě káva robusta IM dosahovala u všech provedených měření nejvyšších hodnot, kdy vykazovala přibližně o čtvrtinu vyšší množství polyfenolů, než bylo naměřeno u vzorků káv arabika.

Při vzájemném srovnání vzorků káv arabika u této metody přípravy bylo zjištěno, že hodnoty TPC téměř všech vzorků káv (ES, KM, BS, MB) byly přibližně shodné úměrně stupni pražení.

Z hlediska stupně pražení bylo určeno, že množství polyfenolů u vzorků pražených na 1. stupeň dosahovaly nejvyšších hodnot TPC (průměr 38,74 mg/g). Naopak nejnižší hodnoty TPC (32,72 mg/g) byly naměřeny u vzorků káv pražených na 3. stupeň. Ve srovnání nepražených vzorků káv se vzorky praženými na 3. stupeň bylo zjištěno, že nepražené vzorky vykazovaly vyšší množství polyfenolů, v průměru o 7,9 %.

Ze získaných výsledků u metody zalitím horkou vodou s délkou louhování 5 minut lze říci, že u zkoumaných vzorků docházelo vlivem délky pražení nejdříve k nárůstu množství polyfenolů, kdy nejvyšší množství bylo v 1. stupni, a poté docházelo k postupnému poklesu u 2. i 3. stupně pražení. Ve srovnání konzumovatelných vzorků káv (2. a 3. stupeň) bylo u stanovovaných vzorků doporučeno pražení na 2. stupeň, protože vzorky dosahovaly průměrně o 13,4 % vyšší obsah polyfenolů oproti vzorkům praženým na 3. stupeň.

Na základě dostupné literatury lze obecně říci, že trend nárůstu a následného poklesu množství polyfenolů vlivem různých stupňů pražení kávy je obdobný v porovnání s výsledky, které byly získány během experimentální části bakalářské práce. Bylo potvrzeno, že vlivem pražení na 3. stupeň dochází ke snížení obsahu polyfenolů ve vzorcích kávy. Rovněž bylo potvrzeno, že káva robusta dosahuje vyšších hodnot TPC ve srovnání s kávou arabika [37, 53, 54].

## 10.2 Stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH

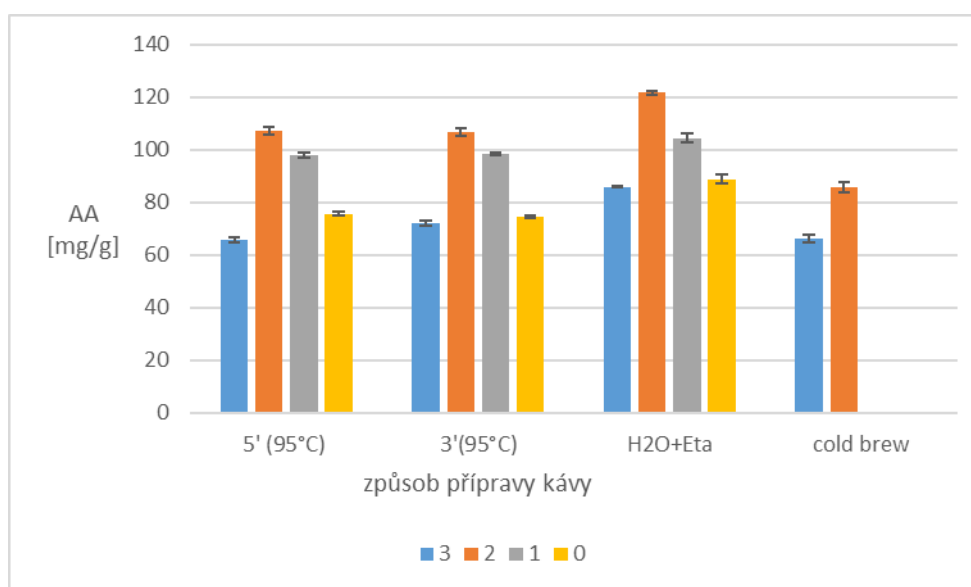
Antioxidační aktivita (AA) byla stanovena spektrofotometrickou metodou pomocí činidla DPPH u 5 druhů káv. Vzorky byly připravovány pomocí 4 metod: metodami zalitím horkou vodou s délkami extrakce 3 a 5 minut, extrakcí směsí vody s etanolem v poměru 1:1 a pomocí cold brew.

Stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH bylo provedeno postupem stanoveným v kapitole 9.3. Antioxidační aktivita pro všechny extrakty byla počítána z rovnice lineární

regrese závislosti inaktivace na koncentraci standardu troloxu, a je vyjádřena jako ekvivalent troloxu (TE) na množství vzorku [mg TE/g].

### 10.2.1 AA kávy Ethiopia Sidamo

U kávy Ethiopia Sidamo (ES) byla stanovena AA pomocí metody DPPH u vzorků kávy nepražené a pražené na 3 stupně. Vzorky byly následně připraveny 4 způsoby u každého typu pražení.



Obrázek 33 - porovnání AA metodou DPPH u kávy Ethiopia Sidamo

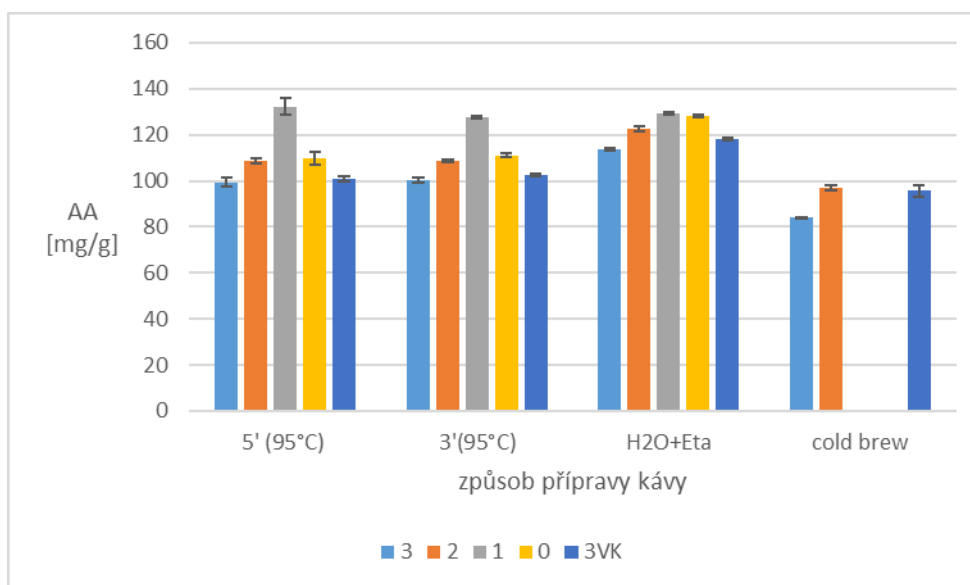
U kávy Ethiopia Sidamo (ES) jsou znázorněny na Obrázku 33 rozdíly AA měřeny metodou DPPH. Průměrně nejvyšší AA (111,95 mg/g) dosahovaly vzorky kávy ES pražené na 2. stupeň. U ostatních stupňů pražení hodnoty AA sestupně klesaly následovně: vzorky pražené na 1. stupeň, nepražené vzorky a vzorky pražené na 3. stupeň. Mezi vzorky kávy praženými na 2. a 3. stupeň byl zaznamenán pokles AA v hodnotě 33,4 %.

Při porovnání z hlediska způsobu přípravy, dosahovaly vzorky kávy ES průměrně nejvyšší hodnoty AA (100,28 mg/g) po extrakci směsí vody s etanolem v poměru 1:1. Dále následovaly obě metody zalití horkou vodou, a nejnižší hodnoty AA (průměrně 87,3 mg/g) byly zjištěny u přípravy postupem cold brew (75,96 mg/g).

Při porovnání vzhledem k rozdílné době louhování (3 a 5 minut) u metody zalití horkou vodou bylo na základě výsledků zjištěno, že u kávy ES nemá doba extrakce významný vliv na hodnoty AA.

### 10.2.2 AA kávy India Malabar

Antioxidační aktivita byla stanovena pomocí metody DPPH také u kávy India Malabar (IM), a to u vzorků nepražené kávy a pražené na tři stupně. Navíc u vzorků pražených na 3. stupeň byla měřena antioxidační aktivita i u káv připravených z vadných kusů. Analyzované vzorky byly připraveny čtyřmi způsoby.



Obrázek 34 - porovnání AA metodou DPPH u kávy India Malabar

Na obrázku 34 jsou znázorněny rozdíly u AA v závislosti na stupni pražení a způsobu přípravy. U kávy IM byly průměrně naměřeny nejvyšší hodnoty AA (129,72 mg/g) u vzorků pražených na 1. stupeň. Nejvyšší antioxidační aktivita (132,33 mg/g) byla zaznamenána u vzorku kávy připravené 1. stupněm pražení a metodou zalití horkou vodou s dobou extrakce 5 minut. Dále pak AA klesala sestupně u ostatních stupňů pražení následovně: vzorky nepražené (113,37 mg/g), vzorky pražené na 2. stupeň (113,24 mg/g) a nejnižší AA měly vzorky pražené na 3. stupeň (104,39 mg/g). Vzorky nepražené kávy a kávy pražené na 2. stupeň dosahovaly velmi podobných hodnot AA, z nichž nepatrně vyšší byly u vzorku kávy nepražené. Nejnižší hodnota AA (83,89 mg/g) byla naměřena u kávy pražené na 3. stupeň, připravené metodou cold brew. Zjištěné hodnoty AA se v závislosti na způsobu přípravy výrazně nelišily.

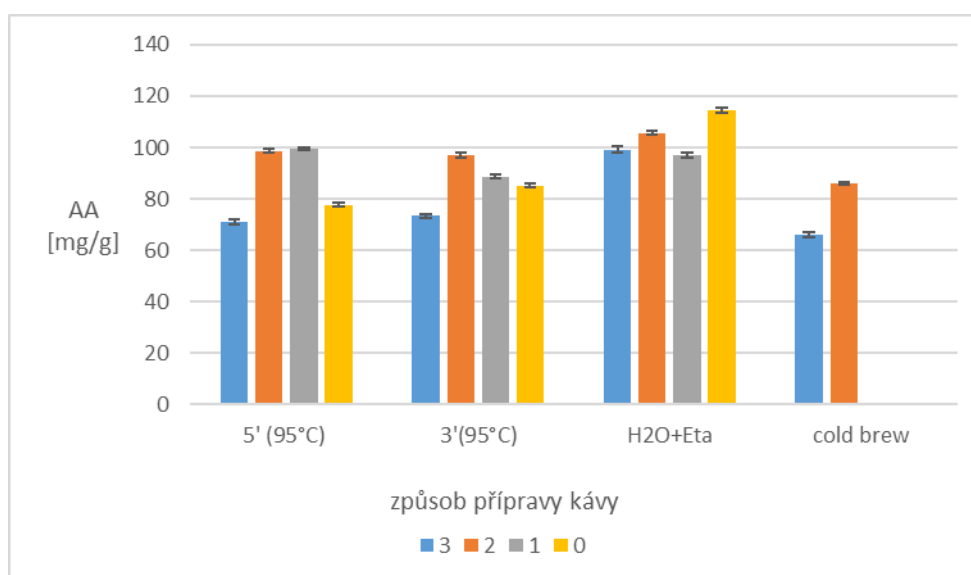
U kávy IM byly měřeny také vadné kusy, které byly praženy společně se vzorkem praženým na 3. stupeň a následně po vychladnutí vytřízeny. Vzorek připravený z vadných zrn

z hlediska AA dosahoval téměř shodných hodnot jako vzorek připravený z kvalitních kávových zrn.

U způsobu přípravy zalití kávy horkou vodou byly zaznamenány minimální rozdíly v závislosti na délce extrakce, tedy doba louhování neměla vliv na AA. Z hlediska způsobu přípravy byly průměrně nejvyšší hodnoty AA (122,38 mg/g) naměřeny u extrakce směsí vody s etanolem. Nejnižší AA (92,06 mg/g) byla stanovena u vzorků připravených metodou cold brew, ale tento způsob přípravy byl použit pouze u vzorků pražených na 2. a 3. stupeň.

### 10.2.3 AA kávy Kenya Mountain Kenya Selection

Antioxidační aktivita stanovena pomocí metody DPPH u kávy Kenya Mountain Kenya Selection (KM) byla měřena u vzorků kávy nepražené a pražených na 3 stupně, připravených čtyřmi způsoby.



Obrázek 35 - porovnání AA metodou DPPH u kávy Kenya Mountain Kenya Selection

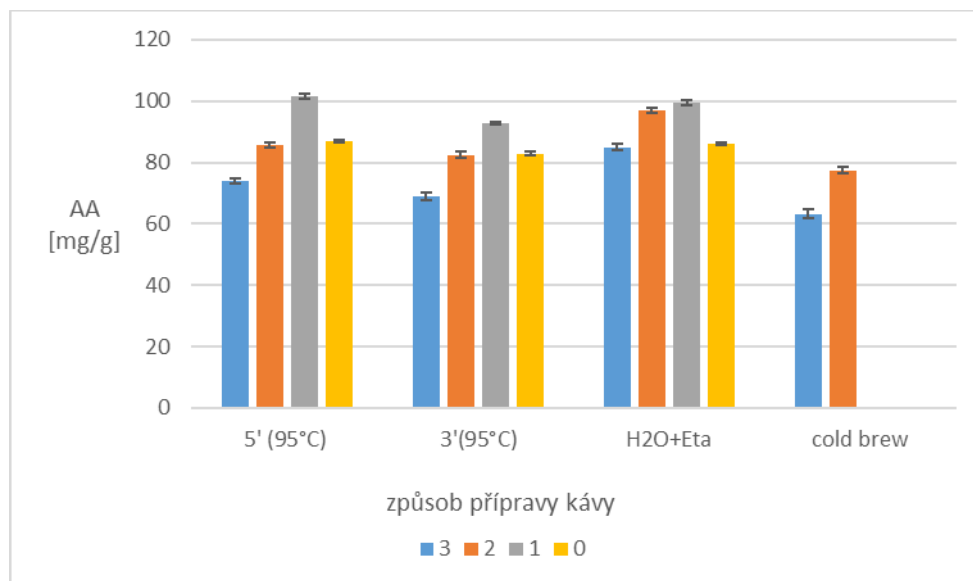
Obrázek 35 zobrazuje naměřené hodnoty AA kávy KM. U vzorků této kávy byl potvrzen vliv pražení na hodnoty AA. Nejvyšší průměrné hodnoty AA měly vzorky pražené na 2. stupeň (100,4 mg/g). Naopak, vzorky kávy KM pražené na 3. stupeň vykazovaly nejmenší antioxidační aktivitu (průměrně 81,18 mg/g). U vzorků ostatních stupňů pražení narůstala AA vzestupně následovně: nepražené vzorky (83,15 mg/g), vzorky pražené na 1. stupeň (96,0 mg/g). Při srovnání vzorků pražených na 2. a 3. stupeň bylo zjištěn pokles AA z nejvyšších hodnot při 2. stupni o 19 % při delším pražení (3. stupeň).

Při porovnání ohledně způsobu přípravy vzorků kávy bylo zjištěno, že pomocí přípravy extrakcí směsí vody s etanolem byla průměrně určena nejvyšší AA (100,94 mg/g). Nižší AA byla naměřena u vzorků připravených zalitím horkou vodou (extrakce 3', 5'), z nichž průměrně o 2,5 % vyšší AA byla získána u vzorků extrahovaných 5 minut. Nejnižší AA byla naměřena u vzorků připravených cold brew (75,97 mg/g). Dále bylo zjištěno, že u vzorků kávy KM pražených na 2. stupeň má způsob přípravy na AA jen malý vliv. Naopak u vzorků nepražených a pražených na 3. stupeň má způsob přípravy na AA větší vliv.

Co se týče metody cold brew, byly analyzovány vzorky kávy z 2. a 3. stupně pražení. Po srovnání hodnot bylo zjištěno, že oba vzorky měly nižší hodnoty AA oproti ostatním způsobům příprav vzorků. U kávy pražené na 3. stupeň byla naměřena celkově nejnižší hodnota AA kávy KM, a to 65,98 mg/g.

#### 10.2.4 AA kávy Brazil Santos

U kávy Brazil Santos (BS) byla stanovena AA metodou DPPH u vzorků nepražené kávy a kávy pražené na tři stupně, které byly připraveny čtyřmi způsoby.



Obrázek 36 - porovnání AA metodou DPPH u kávy Brazil Santos

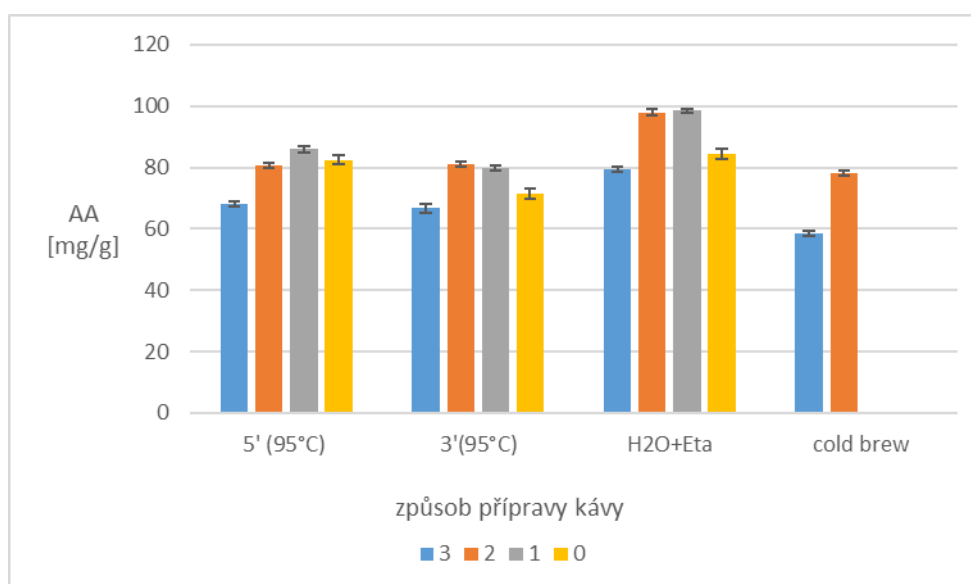
Na Obrázku 36 jsou vidět výsledky měření AA u kávy BS nepražené a pražené na 3 stupně. Nejvyšší hodnoty AA průměrně dosahovaly vzorky kávy BS pražené na 1. stupeň (98,01 mg/g), ve srovnání s ostatními stupni pražení byly hodnoty vyšší až o 15 %. Nejvyšší hodnota AA (101,56 mg/g) byla naměřena u vzorků pražených na 1. stupeň připravených zalitím horkou vodou s 5 minutovou extrakcí. Nejnižší hodnoty AA (průměrně 75,95 mg/g)

byly stanoveny u vzorků pražených na 3. stupeň. Vzorky nepražené kávy dosahovaly AA v průměru 85,32 mg/g, a vzorky pražené na 2. stupeň 88,38 mg/g.

Při porovnání rozdílů AA v závislosti na způsobu přípravy bylo zjištěno, že vzorky nepražené kávy BS dosahovaly vyrovnaných výsledků AA (rozdíl pouze 4 %). Nejvyšší AA (91,94 mg/g) byla průměrně naměřena u vzorků kávy připravené extrakcí směsí vody s etanolem. U metody zalitím horkou vodou (extrakce 3', 5') byl zjištěn 6% nárůst AA s narůstající délkou extrakce (5 minut). Vzorky káv připravené cold brew vykazovaly průměrně nejnižších hodnot AA (70,38 mg/g) u vzorků kávy pražených na 2. a 3. stupeň.

### 10.2.5 AA kávy Mexiko Berilo

Antioxidační aktivita u kávy Mexiko Berilo (MB) byla stanovena pomocí metody DPPH u vzorků káv nepražených a pražených na 3 stupně, které byly připraveny 4 různými způsoby.



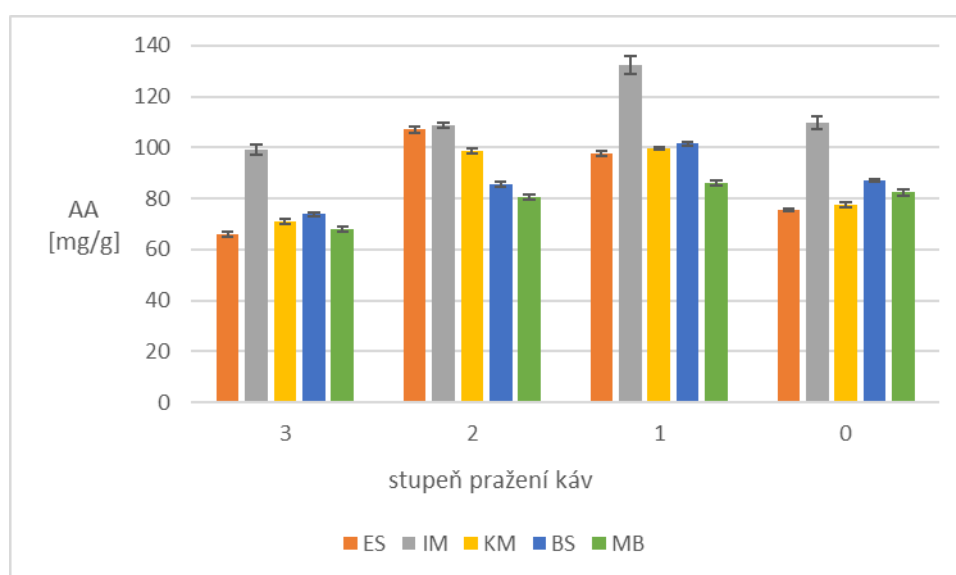
Obrázek 37 - porovnání AA metodou DPPH u kávy Mexiko Berilo

Rozdíly AA mezi nepraženými vzorky kávy MB a vzorky praženými na tři stupně připravenými čtyřmi různými způsoby jsou znázorněny na Obrázku 37. Průměrně nejvyšší hodnoty AA (90,07 mg/g) byly naměřeny u vzorků připravených extrakcí směsí vody s etanolem, přičemž celkově nejsilnější antioxidační aktivita byla zjištěna u vzorků kávy pražené na 1. (98,53 mg/g) a 2. (97,89 mg/g) stupeň. Nejnižší hodnoty AA (průměrně 71,43 mg/g) byly naměřeny u vzorků kávy MB pražených na 3. stupeň. Nejnižší hodnota AA (58,56 mg/g) byla u vzorku kávy pražené na 3. stupeň, připravené pomocí metody cold brew.

Při metodě zalití horkou vodou vzorky kávy MB pražené na 2. a 3. stupeň dosahují přibližně stejných hodnot AA, kdy doba louhování má malý vliv na hodnotu AA. U vzorků nepražené kávy a kávy pražené na 1. stupeň byl pozorován mírný nárůst AA s délkou louhování, a to o 13,3 % u vzorku nepražené kávy, a o 7,2 % u vzorku kávy pražené na 1. stupeň.

### 10.2.6 Porovnání AA káv připravených vybranou metodou

V této kapitole je pro názornost uvedeno porovnání AA u všech analyzovaných káv (ES, BS, KM, IM a MB) v závislosti na stupni pražení a přípravě pomocí metody zalití horkou vodou s dobou extrakce 5 minut, jako nejběžnějšího způsobu přípravy kávy.



Obrázek 38 - porovnání AA metodou DPPH u všech analyzovaných vzorků připravených zalitím horkou vodou s délkou extrakce 5'

Obrázek 38 poskytuje náhled na rozdíly AA analyzovaných káv stanovených metodou DPPH v závislosti na stupni pražení u přípravy zalitím horkou vodou (extrakce 5'). Byly analyzovány 4 druhy káv arabika (ES, KM, BS, MB) a jedna káva robusta (IM). Podobně jako při hodnocení množství polyfenolů, i v případě antioxidační aktivity byly nejvyšší hodnoty zjištěny pro kávu robusta – IM (India Malabar), které byly průměrně o 24,8 % vyšší oproti kávám druhu arabika. U vzorků káv arabika byla průměrně nejvyšší AA naměřena u kávy BS (Brazil Santos) (87,01 mg/g) a dále pak sestupně následovaly: KM (Kenya Mountain Kenya Selection) a ES (Ethiopia Sidamo) v rozmezí 86,68 - 83,72 mg/g, a nejnižší AA byla zjištěna u kávy MB (Mexico Berilo) (79,29 mg/g).

V závislosti na stupni pražení bylo u analyzovaných káv zjištěno, že průměrně nejvyšší AA (103,58 mg/g) dosahovaly vzorky pražené na 1. stupeň a nejnižší AA (74,07 mg/g) vzorky pražené na 3. stupeň. U všech vzorků káv došlo k poklesu AA při pražení z 2. stupně na 3. stupeň.

Na základě tohoto zjištění bylo u analyzovaných vzorků z hlediska AA doporučeno pražení spíše na nižší stupně pražení. Jako nejvhodnější se jeví pražení na 2. stupeň, vzhledem k tomu, že vzorky káv už jsou dostatečně upraženy pro přípravu nápoje a zároveň z hlediska AA mají pořád dostatečně vysokou antioxidační aktivitu.

Ve srovnání s odbornou literaturou [50, 54, 57] bylo shodně zjištěno, že původní obsah antioxidačních látek v kávě a způsob pražení má zásadní vliv na množství stanovených antioxidantů. K nárůstu antioxidačních hodnot během pražení dle těchto studií dochází nejspíše díky probíhajícím Maillardovým reakcím.

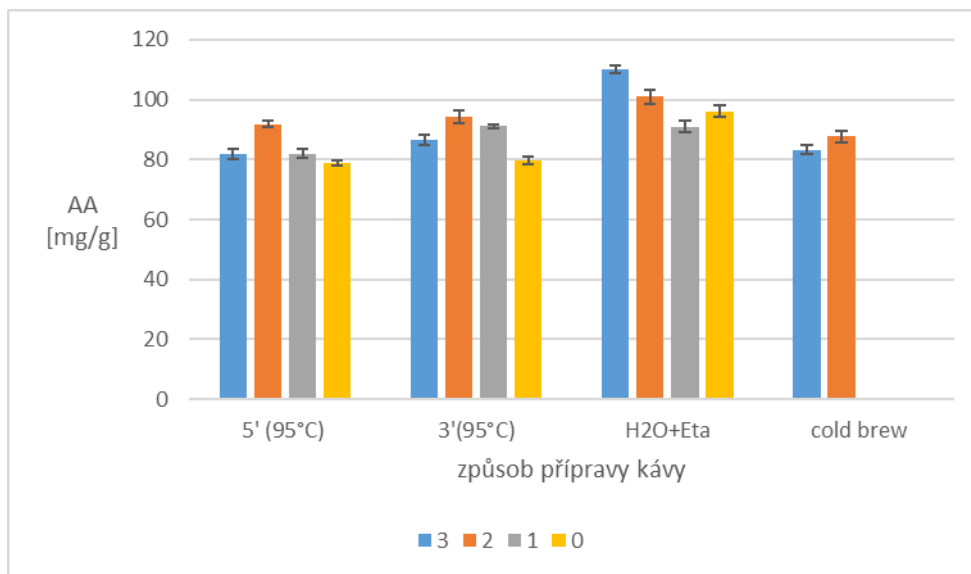
### **10.3 Stanovení antioxidační aktivity metodou ABTS**

Antioxidační aktivita u 5 druhů káv byla spektrofotometricky pro porovnání stanovena, kromě metody DPPH, také metodou ABTS. Vzorky byly připraveny čtyřmi způsoby přípravy uvedenými v kapitole 9.2. Stanovení antioxidační aktivity (AA) metodou ABTS bylo provedeno postupem popsáním v kapitole 9.4. Antioxidační aktivita pro všechny extrakty byla vypočítána z rovnice lineární regrese závislosti inaktivace na koncentraci standardu troloxu, a vyjádřena jako ekvivalent troloxu (TE) na množství vzorku [mg TE/g].

#### **10.3.1 AA kávy Ethiopia Sidamo**

U kávy Ethiopia Sidamo (ES) byla zjišťována AA pomocí metody ABTS u vzorku nepražené kávy a pražené na tři stupně, připraveny 4 různými způsoby.





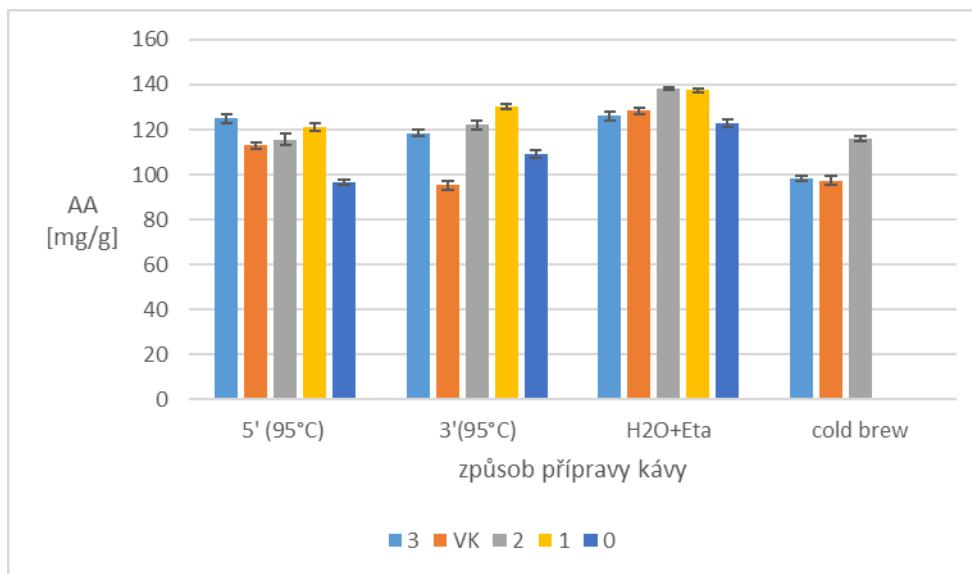
Obrázek 39 - porovnání AA metodou ABTS u kávy Ethiopia Sidamo

Rozdíly hodnot AA v závislosti na stupni pražení a způsobu přípravy kávy Ethiopia Sidamo (ES) jsou zobrazeny na Obrázku 39. Celkově nejvyšší hodnoty AA (průměr 99,56 mg/g) byly naměřeny u vzorků káv připravených pomocí extrakce směsí vody s etanolem. Nejvyšší hodnota AA (110,12 mg/g) byla u tohoto způsobu přípravy naměřena u vzorku kávy praženého na 3. stupeň, poté u kávy pražené na 2. stupeň. U ostatních způsobů přípravy dosahovaly opakovaně nejvyšších výsledků vzorky kávy BS pražené na 2. stupeň. Následovaly vzorky pražené na 1. stupeň (88,04 mg/g) a nejnižší AA byla naměřena u vzorků kávy nepražené, v průměru 84,96 mg/g. Nejnižší hodnoty AA s ohledem k metodě přípravy byly naměřeny u postupu zalitím horkou vodou s dobou louhování 5 minut (83,67 mg/g), přičemž nejnižší hodnota AA (78,42 mg/g) byla u vzorku nepražené kávy.

Při porovnání obou metod při zalití kávy horkou vodou (3 a 5 minut) bylo zjištěno, že u kávy BS s narůstající dobou louhování dochází k mírnému poklesu AA u všech vzorků bez ohledu na stupeň pražení. K nejvyššímu poklesu, 5,2 %, pak došlo u vzorku kávy BS pražené na 3. stupeň.

### 10.3.2 AA kávy India Malabar

U kávy India Malabar (IM) byla AA také měřena metodou ABTS u vzorků nepražené kávy a pražené na 3 stupně (4 způsoby přípravy). Navíc u vzorků pražených na 3. stupeň byly analyzovány i vzorky vadných kusů.



Obrázek 40 - porovnání AA metodou ABTS u kávy India Malabar

Hodnoty AA v závislosti na způsobu přípravy a stupni pražení kávy IM jsou zobrazeny na Obrázku 40. Průměrně nejvyšší AA (130,59 mg/g) u vzorků této kávy byla zjištěna u metody přípravy extrakce směsí vody s etanolem. Následují vzorky připravené metodou zalití horkou vodou (extrakce 3', 5') s průměrnou hodnotou pro antioxidační aktivitu 113,63 mg/g a nejnižší AA (103,82 mg/g) byla naměřena u metody přípravy cold brew.

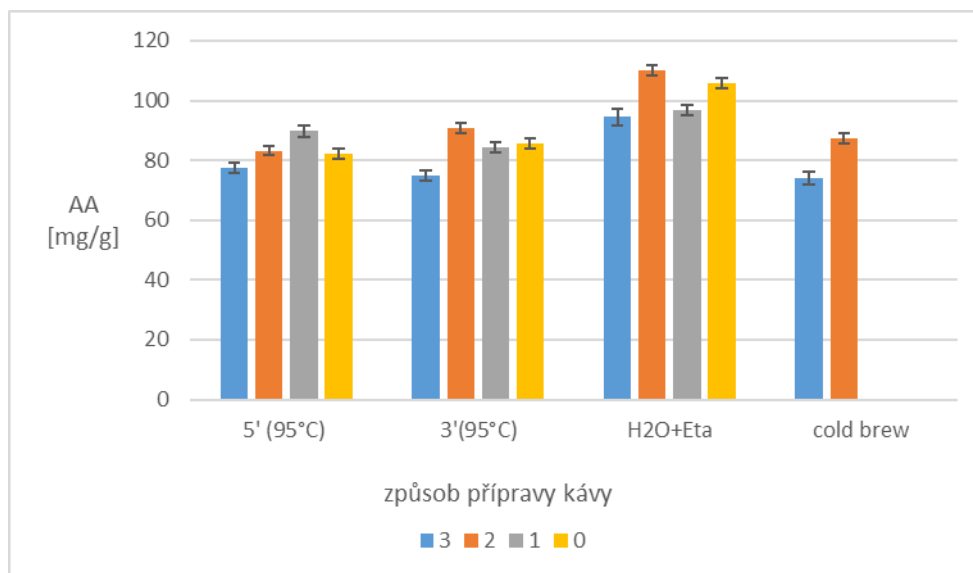
Při srovnání závislosti stupně pražení na AA bylo zjištěno, že vzorky kávy IM pražené na 1. stupeň měly nejvyšší AA (129,54 mg/g), nižší hodnoty dosahovaly sestupně vzorky pražené na 2. stupeň (125,36 mg/g), 3. stupeň (123,17 mg/g), vadné kusy pražené na 3. stupeň (112,21 mg/g) a nejnižší AA byla určena u vzorků nepražených (109,44 mg/g).

Při porovnání metody zalití horkou vodou v závislosti na délce extrakce (3', 5') bylo zjištěno, že u vzorků nepražené kávy a kávy pražené na 1. a 2. stupeň dochází s narůstající délkou louhování ke snížení AA průměrně o 7,8 %. U kávy pražené na 3. stupeň naopak dochází k nárůstu hodnoty AA s délkou extrakce.

Při porovnání vzorků kávy z kvalitních zrn a vadných vzorků kávy byla opakovaně zaznamenána nižší hodnota AA u vadného vzorku kávy IM, s výjimkou metody přípravy extrakcí směsí vody s etanolem. Největší rozdíl AA (19,5 %) mezi vadným a běžným vzorkem kávy byl zaznamenán u způsobu přípravy zalití horkou vodou s dobou extrakce 3 minuty.

### 10.3.3 AA kávy Kenya Mountain Kenya Selection

Antioxidační aktivita (AA) byla u kávy Kenya Mountain Kenya Selection (KM) měřena metodou ABTS u vzorků nepražené kávy a kávy pražené na 3 stupně, připravené 4 různými způsoby.



Obrázek 41 - porovnání AA metodou ABTS u kávy Kenya Mountain Kenya Selection

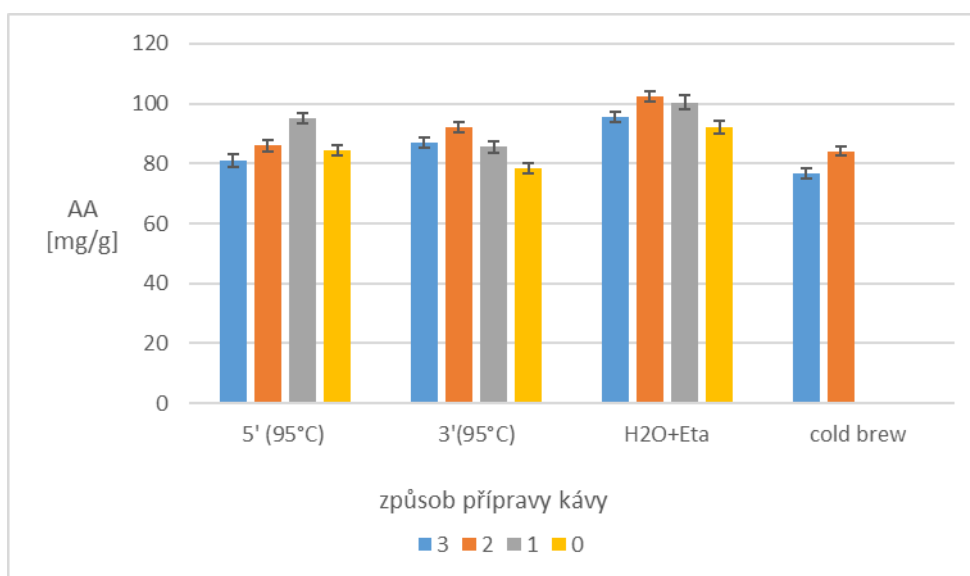
Na Obrázku 41 jsou znázorněny hodnoty zjištěné antioxidační aktivity u kávy Kenya Mountain Kenya Selection v závislosti na stupni pražení a způsobu přípravy. Nejvyšší hodnoty AA u kávy KM připravené pomocí extrakce směsí vody s etanolem (v průměru 101,78 mg/g). Ve srovnání s ostatními přípravami byly tyto hodnoty přibližně o 18 % vyšší. Nižší hodnoty AA (průměr 83,56 mg/g) byly naměřeny u obou metod zalití horkou vodou s dobou extrakce 3 a 5 minut a nejnižší hodnoty AA (80,67 mg/g) byly určeny u přípravy cold brew.

Při srovnání AA vzhledem ke stupni pražení dosahovaly opakovaně nejnižších výsledků kávy pražené na 3. stupeň (82,63 mg/g). O trochu vyšší hodnoty AA byly naměřeny u vzorků káv pražených na 1. stupeň, s výjimkou přípravy pomocí zalití horkou vodou s délkou louhování 5 minut a vzorků nepražené kávy. Nejvyšší hodnoty AA byly zjištěny u vzorků kávy pražené na 2. stupeň, s výjimkou přípravy vzorků káv pomocí metody zalití horkou vodou s délkou extrakce 5 minut. Na základě stanovení AA metodou ABTS u vzorků kávy KM lze tedy říci, že nejvhodnější z hlediska antioxidační aktivity je káva pražená na 2. stupeň.

Při porovnání vlivu doby louhování (3 a 5 minut) na hodnoty AA u metody zalití horkou vodou bylo zjištěno, že u vzorků káv pražených na 1. a 3. stupeň dochází s narůstající délkou extrakce k nárůstu AA. Naopak u vzorků nepražené kávy KM a pražené na 2. stupeň dochází s narůstající délkou extrakce vzorků k poklesu AA.

#### 10.3.4 AA kávy Brazil Santos

Antioxidační aktivita (AA) pomocí metody ABTS vzorků nepražené kávy a pražené na 3 stupně, připraveny 4 různými způsoby, byla zjišťována i u kávy Brazil Santos (BS).



Obrázek 42 - porovnání AA metodou ABTS u kávy Brazil Santos

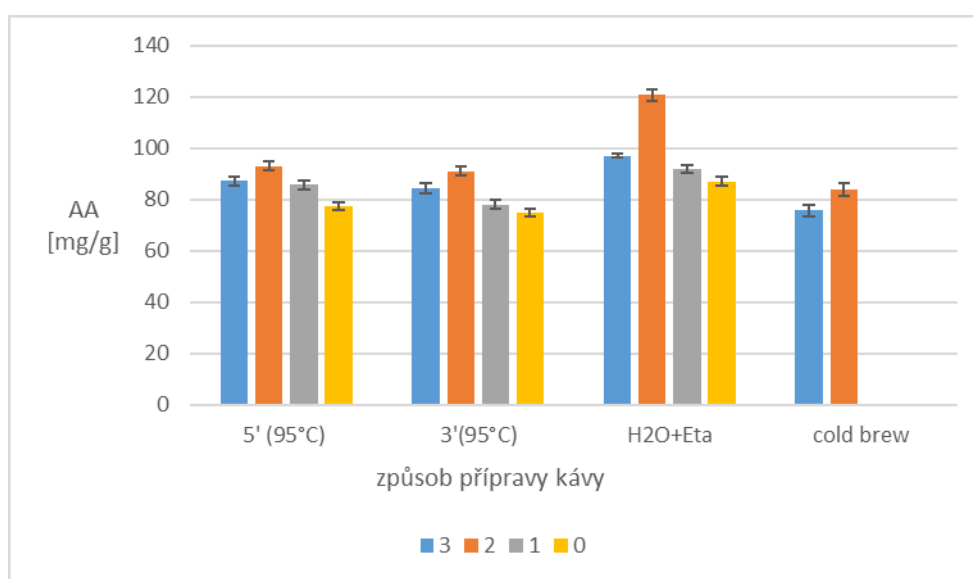
Rozdíly AA v závislosti na stupni pražení a způsobu přípravy kávy BS jsou vidět na Obrázku 42. Při srovnání hodnot AA bez ohledu na stupeň pražení bylo zjištěno, že vzorky káv BS připravené způsobem extrakce směsí vody s etanolem dosahovaly nejvyšší hodnot AA (průměrně 97,57 mg/g) oproti ostatním způsobům přípravy. Naopak nejnižší hodnoty (v průměru 80,46 mg/g) byly naměřeny u způsobu přípravy pomocí cold brew (2. a 3. stupeň pražení).

Při porovnání antioxidační aktivity napříč všemi způsoby přípravy bylo zjištěno, že kromě metody přípravy zalití horkou vodou s délkou extrakce 5 minut, kde hodnoty AA mají jiný trend oproti ostatním metodám, dosahovaly opakovaně vzorky nepražené kávy BS nejnižších hodnot AA (84,93 mg/g). Vyšší hodnoty AA měly vzorky pražené na 3. stupeň (87,92 mg/g). Nejvyšší hodnoty AA byly naměřeny u vzorků kávy BS pražené na 1. stupeň (93,67 mg/g) a 2. stupeň (93,39 mg/g).

Byl zjištěn i vliv délky extrakce u metody zalití horkou vodou, kdy u vzorků kávy BS pražených na 2. a 3. stupeň dochází s narůstající délkou extrakce k poklesu hodnot AA průměrně přibližně o 7 %. Naopak u vzorků nepražené kávy a pražené na 1. stupeň s delší délkou extrakce se zvyšují i hodnoty AA, především u kávy pražené na 1. stupeň, kde byl nárůst AA s delším louhováním o 10,2 %.

### 10.3.5 AA kávy Mexiko Berilo

Antioxidační aktivita (AA) metodou ABTS byla zjišťována také u vzorků kávy Mexiko Berilo (MB) nepražené a pražené na tři stupně připravené pomocí čtyř různých způsobů.



Obrázek 43 - porovnání AA metodou ABTS u kávy Mexiko Berilo

Graf se zobrazenými daty pro antioxidační aktivitu pro různé stupně pražení a přípravy vzorků u kávy MB je uveden na Obrázku 43. U této kávy bylo danou analýzou zjištěno, že vzorky pražené na 2. stupeň dosahovaly průměrně nejvyšších hodnot AA (101,62 mg/g). Nižší hodnoty AA byly sestupně naměřeny u kávy pražené na 3. a 1. stupeň a nejnižší hodnoty AA (79,76 mg/g) byly získány u vzorků nepražené kávy MB.

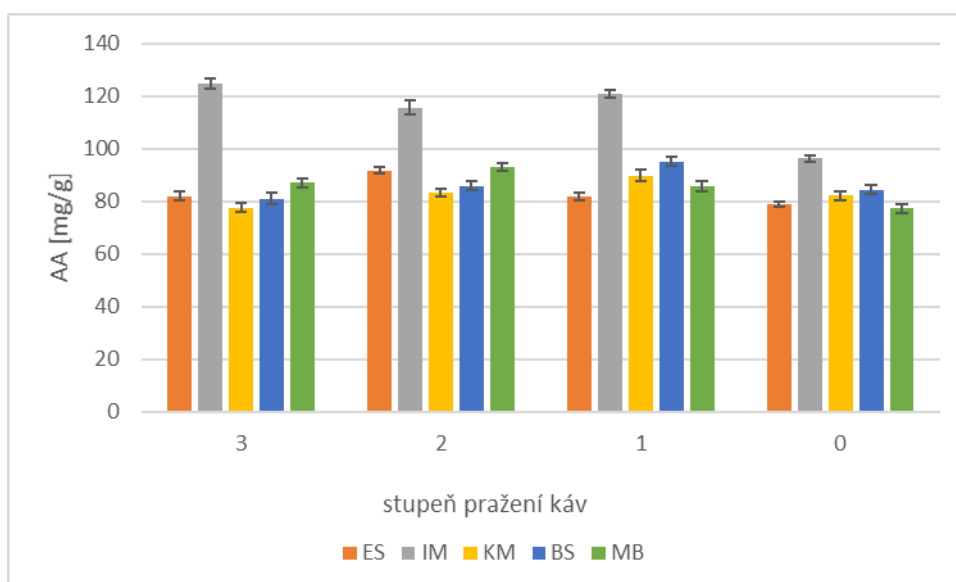
Při porovnání AA v závislosti na způsobu přípravy bylo určeno, že všechny vzorky kávy MB opakovaně dosahovaly nejvyšších výsledků (99,21 mg/g) u přípravy pomocí extrakce směsí vody s etanolem. Nejvyšší hodnota (120,79 mg/g) byla zaznamenána u vzorku kávy pražené na 2. stupeň. Tato hodnota byla přibližně o 24 % vyšší oproti AA naměřené u ostatních vzorků kávy u tohoto způsobu přípravy. Nejnižší hodnoty AA byly změřeny

u způsobu přípravy cold brew (pražení na 2. a 3. stupeň), přičemž nižší hodnota AA (75,62 mg/g) byla stanovena u vzorku kávy praženého na 3. stupeň

Jen k mírnému nárůstu AA (průměrně o 4,2 %) došlo u metody zalití horkou vodou s narůstající délkou extrakce. Délka extrakce má tedy poměrně malý vliv na hodnoty AA u vzorků této kávy.

### 10.3.6 Porovnání AA káv připravených vybranou metodou

V této kapitole je uvedeno porovnání zjištěné antioxidační aktivity u všech analyzovaných káv (ES, BS, KM, IM a MB) v závislosti na stupni pražení, a to pro názornost u metody zalití horkou vodou s dobou extrakce 5 minut.



Obrázek 44 - porovnání AA metodou ABTS u káv připravených metodou zalití horkou vodou s dobou extrakce 5 minut

Naměřené hodnoty antioxidační aktivity metodou ABTS podle stupně pražení u analyzovaných káv arabika (ES, BS, KM, MB) a robusta (IM) připravených metodou zalití horkou vodou (extrakce 5 minut) jsou znázorněny na Obrázku 44. Z výsledků je patrné, že opakovaně nejvyšších hodnot AA bez ohledu na stupeň pražení kávy dosahovaly vzorky kávy robusta, India Malabar (IM). Tyto hodnoty byly průměrně o 26 % vyšší oproti ostatním vzorkům káv.

Z analýzy vzorků káv bylo zjištěno, že všechny kávy druhu arabika dosahovaly velmi podobných hodnot AA v jednotlivých stupních pražení.

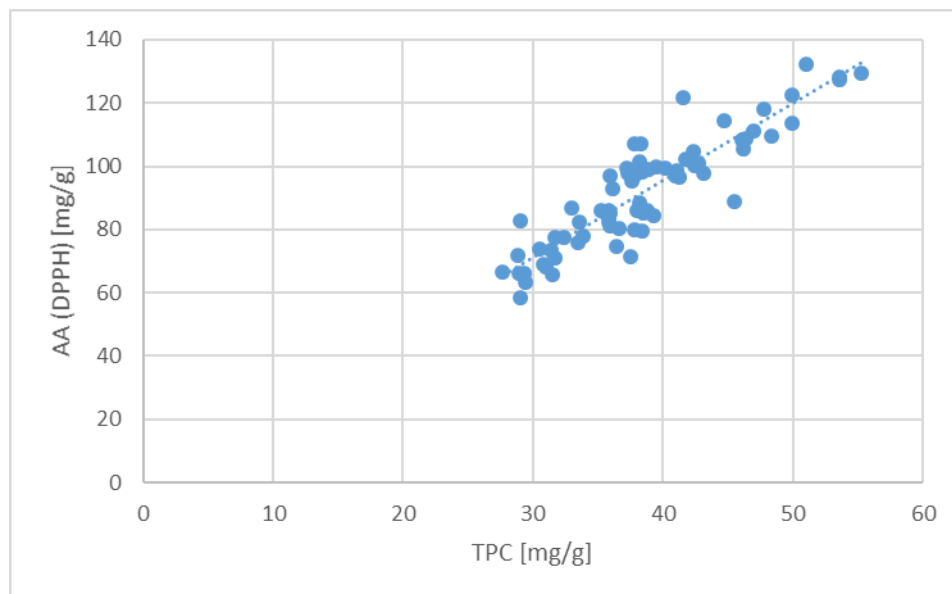
Porovnáním vzorků, vzhledem k hodnoceným stupňům pražení bylo zjištěno, že analyzované vzorky káv dosahovaly průměrně nejvyšší hodnoty AA (96,29 mg/g) při pražení na 1. stupeň. Sestupně následovaly typy pražení: 2. stupeň (89,03 mg/g), poté pražení na 3. stupeň (86,54 mg/g), a nejnižší antioxidační aktivitu vykazovaly vzorky nepražených káv (83,85 mg/g).

Na základě výsledků ABTS metody je z hlediska antioxidační aktivity možné konstatovat, že nejvhodnější stupeň pražení pro vybrané druhy káv, je sice pražení na 1. stupeň, ale tento typ pražení není vhodný pro běžnou přípravu kávy. Proto by bylo pro vhodnou přípravu pražené kávy doporučeno pražení na 2. stupeň, vzhledem k tomu, že při delším pražení (3. stupeň) docházelo k poklesu AA u všech vzorků kávy arabika (ES, KM, BS a MB), s výjimkou vzorků kávy robusta (IM).

Porovnáním s výsledky odborných článků [37, 54, 57] bylo zjištěno, že námi získané průměrné hodnoty AA metodou ABTS během experimentální části jsou velmi podobné hodnotám uváděných v daných pracích. Bylo zjištěno, že antioxidační aktivita ve vzorcích kávy je ovlivněna druhem a odrůdou kávovníku, a také dalším zpracováním. U zkoumaných vzorků káv v odborném článku došlo mezi nepraženou kávou a kávou praženou na 3. stupeň u káv arabika ve většině případů ke zvýšení AA, a to přibližně o 30 %, kdežto u vzorků, které byly analyzovány v této práci byly u káv druhu arabika zjištěny přibližně shodné hodnoty AA. Při srovnání výsledků stanovení hodnot AA u kávy druhu robusta byl zjištěn opačný trend.

#### **10.4 Korelační analýza pro hodnoty TPC a AA**

V následující kapitole jsou graficky znázorněny korelace mezi hodnotami TPC a AA (DPPH) na Obrázku 45, a také TPC a AA (ABTS) na Obrázku 46, u všech hodnocených vzorků káv.



Obrázek 45 - korelační graf hodnot TPC a AA (DPPH)

Rovnice závislosti hodnot TPC a AA (DPPH):

$$y = 2,4244x - 1,3829$$

$$R^2 = 0,8091$$

Z grafu (Obrázek 45) je patrné, že mezi obsahem polyfenolů a antioxidační aktivitou, zjištěnou metodou DPPH, jde o lineární kladnou korelaci, přičemž se zvyšujícím se množstvím polyfenolů ve vzorku se zvyšuje i hodnota antioxidační aktivity. Tedy je možné konstatovat, že za AA jsou u daných vzorků kávy ve velké míře zodpovědné právě polyfenolické látky.

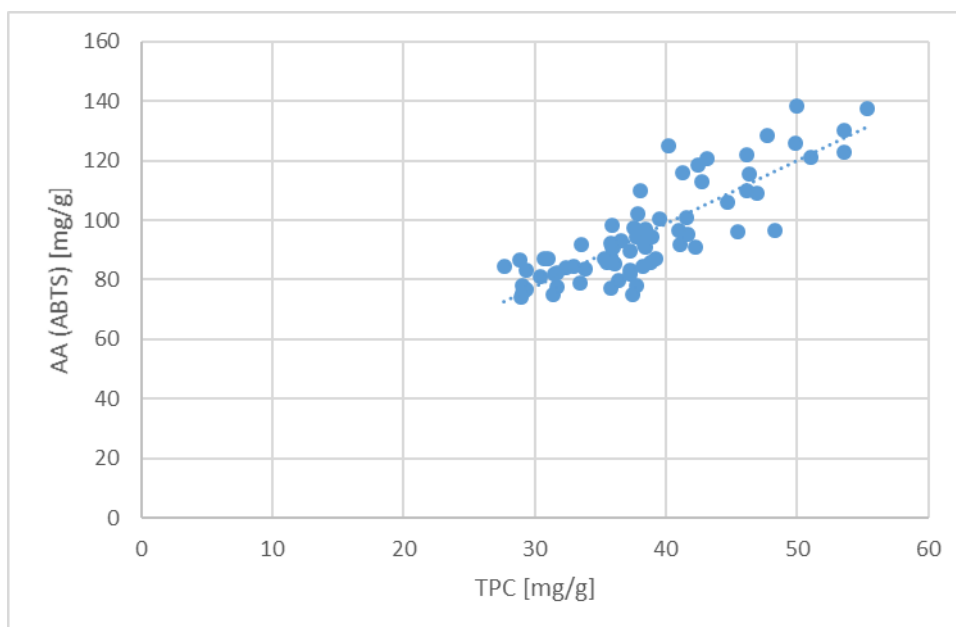
Hodnota korelačního faktoru zjištěného mezi TPC a AA (DPPH) pro všechny vzorky: 0,8995.

Jednotlivé hodnoty korelačních faktorů pro dané vzorky káv (ES, IM, KM, BS, MB) jsou uvedeny v Tabulce 10. Nejvyšší korelační faktor byl stanoven u kávy robusta (IM) a vzorku kávy arabika (KM). Zbývající korelační faktory dosahovaly hodnot v rozmezí 0,8885 – 0,7309.



Tabulka 10 - hodnoty korelačních faktorů  
(TPC, AA-DPPH) pro všechny vzorky káv

Vzorky káv	Korelační faktor
ES	0,7309
IM	0,9558
KM	0,9170
BS	0,8335
MB	0,8885



Obrázek 46 - korelační graf hodnot TPC a AA (ABTS)

Rovnice závislosti hodnot TPC a AA (ABTS):

$$y = 2,1285 + 13,718x$$

$$R^2 = 0,7103$$

Také z tohoto grafu (Obrázek 46) je patrné, že mezi množstvím polyfenolů přítomných ve vzorcích a antioxidační aktivitou zkoumaných káv, analyzovanou metodou ABTS, jde o lineární kladnou korelaci, i když hodnota korelačního faktoru pro TPC a AA (ABTS) pro všechny vzorky je mírně nižší než v předchozím případě (0,8428). I v tomto případě byla

zjištěna úměra mezi zvyšujícím se množstvím polyfenolů ve vzorku a hodnotou antioxidační aktivity.

Hodnoty korelačních faktorů pro dané vzorky káv (ES, IM, KM, BS, MB) jsou uvedeny v Tabulce 11. Nejvyšší korelační faktor byl stanoven opět u vzorku kávy arabika Kenya Mountain Kenya Selection (KM), zbývající korelační faktory dosahovaly hodnot v rozmezí 0,8794 - 0,5398.

Tabulka 11 - hodnoty korelačních faktorů  
(TPC, AA-ABTS) pro všechny vzorky káv

Vzorky káv	Korelační faktor
ES	0,5592
IM	0,6592
KM	0,9490
BS	0,8794
MB	0,5398

## 11 ZÁVĚR

Káva, známý hořký nápoj z kávových zrn, je připravována mnoha způsoby. Během pražení u kávy dochází k vývoji typické chuti a aroma. Je žádána především kvůli kofeinu, ale významné jsou i další složky jako sacharidy, lipidy, antioxidanty jako kyselina chlorogenová, katechiny, trigonellin, a jiné fenolické sloučeniny, a také minerální látky (hořčík).

Cílem bakalářské práce bylo zjistit obsah polyfenolických sloučenin (TPC) a antioxidační aktivitu (AA) extraktů vzorků kávy pomocí metod DPPH a ABTS. Celkem bylo připraveno 74 extraktů kávy z 5 druhů káv, nepražených a pražených na tři stupně, které byly připravovány čtyřmi způsoby, a to zalitím horkou vodou s délkou extrakce 3 a 5 minut, extrakcí směsí vody s etanolem v poměru 1:1 a postupem cold brew.

Z výsledků je patrné, že všechny připravené extrakty káv dosahovaly nejvyšších hodnot TPC i AA, zjištěné dvěma metodami, u způsobu přípravy kávy extrakcí směsí vody s etanolem v poměru 1:1. Jedním z důvodů vyšších hodnot TPC a AA byl zřejmě přídavek etanolu, který způsobil vyextrahování většího množství antioxidačních látek do připraveného extraktu kávy. Z hlediska efektivity jednotlivých způsobů příprav bylo zjištěno, že při přípravě kávy postupem cold brew byly opakovaně naměřeny nižší hodnoty než u jiných příprav. To bylo pravděpodobně způsobeno extrakcí vzorku kávy zastudena, při nízké teplotě (4 °C), kdy nedošlo k vylouhování takového množství polyfenolických sloučenin jako u ostatních způsobů přípravy při vyšší teplotě. U přípravy vzorku kávy zalitím horkou vodou o teplotě 95 °C neměla délka extrakce (3 nebo 5 minut) významný vliv na hodnoty TPC nebo AA. Dále bylo zjištěno, že vzorek kávy robusta dosahoval celkově vyšších hodnot TPC i AA ve srovnání se vzorky připravenými z kávy arabika.

Porovnáním celkového obsahu polyfenolů (TPC) u všech vzorků bylo určeno, že analyzované vzorky káv dosahovaly nejvyšší obsah polyfenolů při pražení na 1. stupeň, dále byl pozorován mírný pokles pro vzorky káv pražených na 2. stupeň. Při delším pražení (3. stupeň) byl zjištěn větší pokles TPC, a naměřené hodnoty byly průměrně o 13 % nižší než u vzorků nepražených káv. Na základě zjištěných výsledků je z hlediska celkového obsahu polyfenolických sloučenin vhodné pražení vzorků káv na nižší stupně, kdy 2. stupeň pražení je vhodný i ze sensorického hlediska.

Podobné závěry jako pro stanovení celkového obsahu polyfenolů byly zjištěny také u výsledků antioxidační aktivity stanovené metodou DPPH. Bylo potvrzeno, že vzorky káv

dosahovaly nejvyšších hodnot AA při pražení na 1. a 2. stupeň pražení. Vzorky káv pražené na 3. stupeň (déle pražená káva) dosahovaly opět nižších hodnot antioxidační aktivity než vzorky nepražených káv. Nárůst AA je způsoben zejména probíhajícími chemickými reakcemi (Maillardovy reakce, degradace fenolických sloučenin) během pražení, kdy mezi pražením kávy z 1. na 2. stupeň (konec doby sušení, 1. prasknutí) jsou tyto reakce nejintenzivnější. Následný pokles je patrně způsoben dlouho působícími fyzikálními vlivy, a to zejména teplotou uvnitř pražičky a délkou pražení.

U stanovení AA metodou ABTS měly vzorky káv přibližně shodné hodnoty AA u všech stupňů pražení. U této metody nebyly zaznamenány velké rozdíly antioxidační aktivity u vzorků káv mezi jednotlivými stupni pražení. U kávy robusta byl zaznamenán postupný nárůst AA dle stupňů pražení, kdy nejvyšší antioxidační aktivita byla stanovena u vzorku kávy praženého na 3. stupeň.

Při zjišťování korelační závislosti mezi hodnotami TPC-AA (DPPH) a TPC-AA (ABTS) bylo v obou případech určeno, že se jedná o kladnou lineární korelaci. Tedy je možné konstatovat, že za antioxidační aktivitu jsou u daných vzorků kávy ve velké míře zodpovědné právě polyfenolické látky.

Na základě experimentálních zjištění z této práce je z hlediska celkového obsahu polyfenolických sloučenin a hodnot antioxidační aktivity doporučeno pražení analyzovaných vzorků káv na nižší stupně s preferencí především na 2. stupeň pražení, který je i ze sensorického hlediska vhodný ke konzumaci.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1] CLIFFORD, Michael N. a Ken C. WILLSON. *Coffee botany, biochemistry and production of beans and beverage*. USA: The A VI Publishing Company, 1985. ISBN 9781461566595.
- [2] AUGUSTÍN, Jozef. *U kávy o kávě a kávovinách*. V Brně: Jota, 2016. ISBN 978-80-7462-850-4.
- [3] Legendy. In: *PePe Coffee* [online]. c2022 [cit. 2022-04-26]. Dostupné z: <https://www.pepecoffee.cz/pestovani-kavovniku/> (obrázek)
- [4] CHU, Yi-Fang, ed. *Coffee: emerging health effects and disease prevention*. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell, 2012. ISBN 978-1-119-94989-3.
- [5] FERREIRA, Thiago, Joel SHULER, Rubens GUIMARÃES a Adriana FARAH. Introduction to Coffee Plant and Genetics. *Coffee: Production, Quality and Chemistry* [online]. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2019, s. 1-25 [cit. 2022-05-08]. ISBN 978-1-78262-243-7. Dostupné z: doi:10.1039/9781782622437-00001
- [6] DAVIES VESELÁ, Petra. *Velká kniha o kávě*. Praha: Smart Press, 2018. ISBN 978-80-88244-05-9.
- [7] Growth stages of coffee plant. In: *Depositphotos* [online]. c2022 [cit. 2022-04-26]. Dostupné z: [https://st4.depositphotos.com/4017441/28081/v/1600/depositphotos\\_280818060-stock-illustration-growth-stages-of-coffee-plant.jpg](https://st4.depositphotos.com/4017441/28081/v/1600/depositphotos_280818060-stock-illustration-growth-stages-of-coffee-plant.jpg) (obrázek)
- [8] Hypothenemus hampei (coffee berry borer). In: *Cabi* [online]. 2009, aktualizováno 2016 [cit. 2022-04-07]. Dostupné z: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/51521#tosummaryOfInvasiveness>
- [9] MONTENEGRO, Gloria a Christina CHIROUZE. *Kávologie: příběhy a pocity*. Praha: Dobrovský, 2018. Knihy Omega. ISBN 978-80-7390-522-4.
- [10] Coffee varieties of Mesoamerica and the Caribbean. *World Coffee Research* [online]. 2016, 1-47 [cit. 2022-04-07]. Dostupné z: <https://worldcoffeeresearch.org/resources/annual-report-2016>
- [11] MOLDVAER, Anette. *Kávové opojení*. Praha: Euromedia, 2016. Esence. ISBN 978-80-7549-111-4.

- [12] CASTLE, Timothy J. a Joan NIELSEN. *The Great Coffee Book*. California (USA): Ten Speed Press, 1999. ISBN 1580081223
- [13] DE CASTRO, Renato D. a Pierre MARRACCINI. Cytology, biochemistry and molecular changes during coffee fruit development. *Brazilian Journal of Plant Physiology* [online]. 2006, **18**(1), 175-199 [cit. 2022-05-09]. ISSN 1677-0420. Dostupné z: doi:10.1590/S1677-04202006000100013
- [14] BORÉM, Flávio Meira, ed. *Pós-Colheita do Café*. Lavras: Editora UFLA, 2008.
- [15] WINTGENS, Jean Nicolas, ed. *Coffee: Growing, Processing, Sustainable Production: A Guidebook for Growers, Processors, Traders and Researchers*. 2nd revisited ed. Weinheim: Wiley-VCH, 2012. ISBN 978-3527332533.
- [16] SZABÓ, Peter. Kávovníkové zrno - a všetko, čo by ste o ňom mali vedieť. In: *Coffeein Blog* [online]. 01.02.2018 [cit. 2022-04-26]. Dostupné z: <https://www.coffeein.sk/blog/a/74/kavovnikove-zrno-a-vsetko-co-by-ste-o-nom-mali-vediet/>
- [17] OESTREICH-JANZEN, Sigrid. Chemistry of Coffee. In: LIU, Hung-Wen a Lew MANDER. *Comprehensive Natural Products II: Chemistry and Biology* [online]. Elsevier, 2010, s. 1085-1117 [cit. 2022-05-09]. ISBN 9780080453828. Dostupné z: doi:10.1016/B978-008045382-8.00708-5
- [18] MÜNCHOW, Morten, Jesper ALSTRUP, Ida STEEN a Davide GIACALONE. Roasting Conditions and Coffee Flavor: A Multi-Study Empirical Investigation. *Beverages* [online]. 2020, **6**(2) [cit. 2022-05-09]. ISSN 2306-5710. Dostupné z: doi:10.3390/beverages6020029
- [19] LEROY, Thierry, Fabien DE BELLIS, Hyacinthe LEGNATE, et al. Improving the quality of African robustas: QTLs for yield- and quality-related traits in *Coffea canephora*. *Tree Genetics & Genomes* [online]. 2011, **7**(4), 781-798 [cit. 2022-05-09]. ISSN 1614-2942. Dostupné z: doi:10.1007/s11295-011-0374-6
- [20] CLARKE, R. J. The Technology of Converting Green Coffee into the Beverage. *Coffee: Botany, Biochemistry and Production of Beans and Beverage* [online]. Boston (MA): Springer, 1985, 1985, s. 375-393 [cit. 2022-05-09]. ISBN 978-1-4615-6659-5. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-4615-6657-1\_14

- [21] MCCAMEY, D. A., T. M. THORPE a J. P. MCCARTHY. Coffee bitterness. *Developments in Food Science*. 1990, **5**(25), 169-182.
- [22] Kolo kávových chutí a vůní. In: *Jak na kávu* [online]. 2010 [cit. 2022-04-26]. Dostupné z: <https://jaknakavu.eu/o-kave/kolo-kavovych-chuti-a-vuni/>
- [23] CLARKE, R. J. a R. MACRAE, ed. *Coffee: Volume 1: Chemistry*. Elsevier Science Publishers, 1985. ISBN 978-94-010-8693-6.
- [24] FISCHER, Monica, Silvia REIMANN, Véronique TROVATO a Robert J. REDGWELL. Polysaccharides of green Arabica and Robusta coffee beans. *Carbohydrate Research* [online]. 2001, **330**(1), 93-101 [cit. 2022-04-07]. ISSN 00086215. Dostupné z: doi:10.1016/S0008-6215(00)00272-X
- [25] BRADBURY, A.G.W. Carbohydrates. CLARKE, Ronald J. a O. G. VITZTHUM. *Coffee: recent developments*. Wiley-Blackwell, 2001, s. 1-17. ISBN 978-0632055531.
- [26] SPEER, Karl a Isabelle KÖLLING-SPEER. The lipid fraction of the coffee bean. *Brazilian Journal of Plant Physiology* [online]. 2006, **18**(1), 201-216 [cit. 2022-04-07]. ISSN 1677-0420. Dostupné z: doi:10.1590/S1677-04202006000100014
- [27] ESTÉVEZ-SÁNCHEZ, Karen Hariantty, Carlos Enrique OCHOA-VELASCO, Héctor RUIZ-ESPINOSA a Irving Israel RUIZ-LÓPEZ. Kahweol and cafestol. *A Centum of Valuable Plant Bioactives* [online]. 2021, **3**(4), 159-192 [cit. 2022-04-07]. ISBN 9780128229231. ISSN 2333-1119. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-822923-1.00018-2
- [28] JANISSEN, Brendan a Tien HUYNH. Chemical composition and value-adding applications of coffee industry by-products: A review. *Resources, Conservation and Recycling* [online]. 2018, **128**, 110-117 [cit. 2022-05-09]. ISSN 09213449. Dostupné z: doi:10.1016/j.resconrec.2017.10.001
- [29] CLIFFORD, Michael N., Jo KIRKPATRICK, Nikolai KUHNERT, Hajo ROOZENDAAL a Paula Rodrigues SALGADO. LC-MSn analysis of the cis isomers of chlorogenic acids. *Food Chemistry* [online]. 2008, **106**(1), 379-385 [cit. 2022-05-09]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2007.05.081
- [30] PLAZAS, Mariola, Isabel ANDÚJAR, Santiago VILANOVA, Maria HURTADO, Pietro GRAMAZIO, Francisco J. HERRAIZ a Jaime PROHENS. Breeding for Chlorogenic Acid Content in Eggplant: Interest and Prospects. *Notulae Botanicae Horti*

*Agrobotanici Cluj-Napoca* [online]. 2013, **41**(1), 26-35 [cit. 2022-05-09]. ISSN 1842-4309. Dostupné z: doi:10.15835/nbha4119036

[31] FLORA, Govinder, Megha MITTAL a Swaran J.S. FLORA. Medical Countermeasures—Chelation Therapy. *Handbook of Arsenic Toxicology* [online]. Elsevier, 2015, s. 589-626 [cit. 2022-05-09]. ISBN 9780124186880. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-418688-0.00026-5

[32] BHATT, Indra D., Sandeep RAWAT a Ranbeer S. RAWAL. Antioxidants in Medicinal Plants. *Biotechnology for Medicinal Plants* [online]. Berlin, Heidelberg: Springer, 2013, s. 295-326 [cit. 2022-05-09]. ISBN 978-3-642-29973-5. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-642-29974-2\_13

[33] VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. *Chemie potravin*. 3. rozš. a přeprac. vyd. Tábor: OSSIS, 2009. ISBN 978-80-86659-16-9.

[34] AGUIRRE, A. a R. BORNEO. Antioxidant Capacity of Medicinal Plants. *Bioactive Food as Dietary Interventions for Liver and Gastrointestinal Disease* [online]. Elsevier, 2013, 2013, s. 527-535 [cit. 2022-05-09]. ISBN 9780123971548. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-397154-8.00011-7

[35] BUŘIČOVÁ, Lucie a Zuzana RÉBLOVÁ. Czech medicinal plants as possible sources of antioxidants. *Czech Journal of Food Sciences* [online]. 2008, **26**(2), 132-138 [cit. 2022-05-10]. ISSN 12121800. Dostupné z: doi:10.17221/2468-CJFS

[36] PATAY, Éva Brigitta, Nikolett SALI, Tamás KŐSZEGI, Rita CSEPREGI, Viktória Lilla BALÁZS, Tibor Sebastian NÉMETH, Tibor NÉMETH a Nóra PAPP. Antioxidant potential, tannin and polyphenol contents of seed and pericarp of three *Coffea* species. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 2016, **9**(4), 366-371. ISSN 19957645. Dostupné z: doi:10.1016/j.apjtm.2016.03.014

[37] LUDWIG, Iziar A., Lidia SANCHEZ, Bettina CAEMMERER, Lothar W. KROH, M. Paz DE PEÑA a Concepción CID. Extraction of coffee antioxidants: Impact of brewing time and method. *Food Research International*. 2012, **48**(1), 57-64. ISSN 09639969. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodres.2012.02.023

[38] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 2*. Tábor: OSSIS, 1999. ISBN 80-902-3914-5.

[39] SLANINA, Jiří a Eva TÁBORSKÁ. Příjem, biologická dostupnost a metabolismus rostlinných polyfenolů u člověka. *Chemické listy* [online]. 2004, **98**(4), 239-245 [cit. 2022-



05-09]. ISSN 1213-7103. Dostupné z: <http://www.chemicke-listy.cz/ojs3/index.php/chemicke-listy/article/view/2137/2137>

[40] LUGASI, Andrea a Judit HÓVÁRI. Antioxidant properties of commercial alcoholic and nonalcoholic beverages. *Nahrung/Food* [online]. **47**(2), 79-86 [cit. 2022-05-09]. ISSN 0027769X. Dostupné z: doi:10.1002/food.200390031

[41] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 3*. Tábor: OSSIS, 1999. ISBN 80-902-3915-3.

[42] LACHMAN, Jaromír, Karel HAMOUZ a Matyáš ORSÁK. Červeně a modře zbarvené brambory významný zdroj antioxidantů v lidské výživě. *Chemické listy* [online]. 2005, **99**(7), 474-482 [cit. 2022-05-09]. ISSN 1213-7103. Dostupné z: <http://www.chemicke-listy.cz/ojs3/index.php/chemicke-listy/article/view/2031/2031>

[43] VODRÁŽKA, Zdeněk. *Biochemie*. 2. opr. vyd. Praha: Academia, 1996. ISBN 80-200-0600-1.

[44] Catechin. In: *ChemFaces* [online]. c2011-2021 [cit. 2022-05-09]. Dostupné z: <https://www.chemfaces.com/natural/Catechin-CFN99646.html>

[45] OLIVAS-AGUIRRE, Francisco, Joaquín RODRIGO-GARCÍA, Nina MARTÍNEZ-RUIZ, et al. Cyanidin-3-O-glucoside: Physical-Chemistry, Foodomics and Health Effects. *Molecules* [online]. 2016, **21**(9) [cit. 2022-04-26]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules21091264

[46] DIAS, Maria Celeste, Diana C. G. A. PINTO a Artur M. S. SILVA. Plant Flavonoids: Chemical Characteristics and Biological Activity. *Molecules* [online]. 2021, **26**(17) [cit. 2022-05-09]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules26175377

[47] HERRERO, M., M. PLAZA, A. CIFUENTES a E. IBÁÑEZ. Extraction Techniques for the Determination of Phenolic Compounds in Food. *Comprehensive Sampling and Sample Preparation* [online]. Elsevier, 2012, s. 159-180 [cit. 2022-05-09]. ISBN 9780123813749. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-381373-2.00132-0

[48] Polyphenols. MORENO, Juan a Rafael PEINADO. *Enological Chemistry* [online]. London: Elsevier, 2012, s. 53-76 [cit. 2022-05-09]. ISBN 9780123884381. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-388438-1.00005-4

[49] SERPEN, Arda, Edoardo CAPUANO, Vincenzo FOGLIANO a Vural GÖKMEN. A New Procedure To Measure the Antioxidant Activity of Insoluble Food

Components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2007, **55**(19), 7676-7681 [cit. 2022-05-09]. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf071291z

[50] PRIFTIS, Alexandros, Dimitrios STAGOS, Konstantinos KONSTANTINOPOULOS, Christina TSITSIMPIKOU, Demetrios A. SPANDIDOS, Aristides M. TSATSAKIS, Manolis N. TZATZARAKIS a Demetrios KOURETAS. Comparison of antioxidant activity between green and roasted coffee beans using molecular methods. *Molecular Medicine Reports* [online]. 2015, **12**(5), 7293-7302 [cit. 2022-05-09]. ISSN 1791-2997. Dostupné z: doi:10.3892/mmr.2015.4377

[51] STRATIL, P., B. KLEJDUS a V. KUBÁŇ. Determination of phenolic compounds and their antioxidant activity in fruits and cereals. *Talanta* [online]. 2007, **71**(4), 1741-1751 [cit. 2022-05-10]. ISSN 00399140. Dostupné z: doi:10.1016/j.talanta.2006.08.012

[52] PAULOVÁ, Hana, Hana BOCHOŘÁKOVÁ a Eva TÁBORSKÁ. Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek *in vitro*. *Chemické listy* [online]. 2004, **98**(4), 174-179 [cit. 2022-05-09]. ISSN 1213-7103. Dostupné z: <http://www.chemicke-listy.cz/ojs3/index.php/chemicke-listy/article/view/2144/2144>

[53] CHRPOVÁ, D., L. KOUŘIMSKÁ, M.H. GORDON, V. HEŘMANOVÁ, I. ROUBÍČKOVÁ a J. PÁNEK. Antioxidant activity of selected phenols and herbs used in diets for medical conditions. *Czech Journal of Food Sciences* [online]. 2010, **28**(4), 317-325 [cit. 2022-05-10]. ISSN 12121800. Dostupné z: doi:10.17221/129/2010-CJFS

[54] DYBKOWSKA, Ewa, Anna SADOWSKA, Rita RAKOWSKA, Maria DEBOWSKA, Franciszek ŚWIDERSKI a Katarzyna ŚWIĄDER. Assessing polyphenols content and antioxidant activity in coffee beans according to origin and the degree of roasting. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny* [online]. **68**(4), 347-353 [cit. 2022-05-10]. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/publication/322008832\\_Assessing\\_polyphenols\\_content\\_and\\_antioxidant\\_activity\\_in\\_coffee\\_beans\\_according\\_to\\_origin\\_and\\_the\\_degree\\_of\\_roasting](https://www.researchgate.net/publication/322008832_Assessing_polyphenols_content_and_antioxidant_activity_in_coffee_beans_according_to_origin_and_the_degree_of_roasting)

[55] BRAND-WILLIAMS, W., M.E. CUVELIER a C. BERSET. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology* [online]. 1995, **28**(1), 25-30 [cit. 2022-05-10]. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/S0023-6438(95)80008-5

[56] RE, Roberta, Nicoletta PELLEGRINI, Anna PROTEGGENTE, Ananth PANNALA, Min YANG a Catherine RICE-EVANS. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* [online].

1999, **26**(9-10), 1231-1237 [cit. 2022-05-10]. ISSN 08915849. Dostupné z:  
doi:10.1016/S0891-5849(98)00315-3

[57] SACCHETTI, Giampiero, Carla DI MATTIA, Paola PITTIA a Dino MASTROCOLA. Effect of roasting degree, equivalent thermal effect and coffee type on the radical scavenging activity of coffee brews and their phenolic fraction. *Journal of Food Engineering* [online]. 2009, **90**(1), 74-80 [cit. 2022-05-10]. ISSN 02608774. Dostupné z:  
doi:10.1016/j.jfoodeng.2008.06.005

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

A	absorbance vzorku kávy
AA	antioxidační aktivita
AAPH	2,2'-azobis(2-amidinopropan)dihydrochlorid
ABTS	2,2-azinobis(3-ethyl-2,3-dihydrobenzothiazol-6-sulfonová kyselina
DAD	detektor diodového pole
DPPH	1,1-difenyl-2,4,6-trinitrofenylhydrazyl
DPPH•	1,1difenyl-2(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl
HPLC	vysokoučinná kapalinová chromatografie
I	inaktivace
K	absorbance kontrolního vzorku
KG	kyselina gallová
MS	hmotnostní detektor
ORAC	eliminace kyslíkových radikálů
R <sup>2</sup>	hodnota spolehlivosti
RO•	alkoxylový radikál
ROO•	peroxylový radikál
TE	ekvivalent troloxu
TPC	celkové množství polyfenolů
trolox	6-hydroxy-2,5,7,8-retramethylchroman-2-karboxylová kyseliny
UV-VIS	UV VIS detektor

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

Obrázek 1 - pastevec Chaldi a jeho kozy [3] .....	12
Obrázek 2 - životní cyklus kávovníku [7] .....	14
Obrázek 3 - anatomie kávové třešně [16] .....	20
Obrázek 4 - kolo kávových chutí a vůní podle SCCA [22] .....	25
Obrázek 5 - rozdíly v chemickém složení u zelené a pražené kávy [17].....	26
Obrázek 6 - strukturní vzorec kofeinu .....	28
Obrázek 7 - degradace trigonellinu na k. nikotinovou [23] .....	29
Obrázek 8 - strukturní vzorec kyseliny chlorogenové [30] .....	29
Obrázek 9 - reakce volného radikálu antioxidantu s volným radikálem .....	32
Obrázek 10 - strukturní vzorec katechinu [44] .....	33
Obrázek 11 - elektrický mlýnek Waldner .....	41
Obrázek 12 - vzorky káv (India Malabar, Brazil Santos) .....	43
Obrázek 13 - vzorky káv (Ethiopia Sidamo, Mexiko Berilo, .....	44
Obrázek 14 - mapa oblasti pěstování kávy Ethiopia Sidamo .....	44
Obrázek 15 - graf pražení kávy Ethiopia Sidamo .....	45
Obrázek 16 - oblast pěstování.....	46
Obrázek 17 - graf průběhu pražení kávy Brazil Santos .....	46
Obrázek 18 - oblast pěstování kávy .....	47
Obrázek 19 - graf pražení kávy Kenya Mount Kenya Selection .....	48
Obrázek 20 – oblast pěstování kávy .....	49
Obrázek 21 - graf pražení kávy Mexiko Berilo .....	49
Obrázek 22 - oblast pěstování kávy .....	50
Obrázek 23 - graf pražení kávy India Malabar .....	51
Obrázek 24 - kalibrační křivka kyseliny gallové .....	54
Obrázek 25 - kalibrační křivka troloxu pro metodu DPPH .....	56
Obrázek 26 - kalibrační křivka troloxu pro metodu ABTS .....	58
Obrázek 27 - porovnání TPC u kávy Ethiopia Sidamo .....	59
Obrázek 28 - porovnání TPC u kávy India Malabar.....	60
Obrázek 29 - porovnání TPC u kávy Kenya Mountain Kenya Selection.....	61
Obrázek 30 - porovnání TPC u kávy Brazil Santos.....	62
Obrázek 31 - porovnání TPC u kávy Mexiko Berilo.....	63
Obrázek 32 - porovnání TPC u všech analyzovaných vzorků káv připravených.....	64
Obrázek 33 - porovnání AA metodou DPPH u kávy Ethiopia Sidamo.....	66
Obrázek 34 - porovnání AA metodou DPPH u kávy India Malabar .....	67

---

Obrázek 35 - porovnání AA metodou DPPH u kávy.....	68
Obrázek 36 - porovnání AA metodou DPPH u kávy Brazil Santos .....	69
Obrázek 37 - porovnání AA metodou DPPH u kávy Mexiko Berilo .....	70
Obrázek 38 - porovnání AA metodou DPPH u všech analyzovaných vzorků .....	71
Obrázek 39 - porovnání AA metodou ABTS u kávy Ethiopia Sidamo.....	73
Obrázek 40 - porovnání AA metodou ABTS u kávy India Malabar .....	74
Obrázek 41 - porovnání AA metodou ABTS u kávy.....	75
Obrázek 42 - porovnání AA metodou ABTS u kávy Brazil Santos .....	76
Obrázek 43 - porovnání AA metodou ABTS u kávy Mexiko Berilo .....	77
Obrázek 44 - porovnání AA metodou ABTS u káv připravených metodou .....	78
Obrázek 45 - korelační graf hodnot TPC a AA (DPPH) .....	80
Obrázek 46 - korelační graf hodnot TPC a AA (ABTS) .....	81

**SEZNAM TABULEK**

Tabulka 1 - způsoby pražení vzorků káv .....	42
Tabulka 2 - parametry jednotlivých stupňů pražení .....	45
Tabulka 3 - parametry pražení kávy Brazil Santos .....	46
Tabulka 4 - parametry pražení kávy Kenya Mount Kenya Selection .....	47
Tabulka 5 - parametry pražení kávy Mexiko Berilo .....	49
Tabulka 6 - parametry pražení kávy India Malabar .....	50
Tabulka 7 - naměřené hodnoty absorbance kyseliny gallové .....	53
Tabulka 8 - hodnoty inaktivace troloxu pro sestrojení .....	55
Tabulka 9 - hodnoty inaktivace troloxu pro sestrojení .....	57
Tabulka 10 - hodnoty korelačních faktorů .....	81
Tabulka 11 - hodnoty korelačních faktorů .....	82

## SEZNAM PŘÍLOH



