

Kávové slupky a jejich využití

Bc. Natálie Podešvová

Diplomová práce
2022



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

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

Akademický rok: 2021/2022

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Natálie Podešvová**
Osobní číslo: **T20137**
Studijní program: **N0711A130011 Biomateriály a kosmetika**
Forma studia: **Prezenční**
Téma práce: **Káвовé slupky a jejich využití**

Zásady pro vypracování

1. Provedte literární rešerši zaměřenou na složení zelené kávy, chemické složení pražené kávy a vlivy stupně pražení na její kvalitu a vlastnosti. Dále se zaměřte na kávové slupky, jejich charakterizaci, chemické složení a možnosti jejich využití, s akcentem na využití v kosmetice. Získané poznatky kriticky zhodnoťte.
2. V praktické části se věnujte přípravě a charakterizaci meziproduktů z kávových slupek a jejich následné aplikaci do kosmetických přípravků, včetně charakterizace jejich základních vlastností.
3. Dosažené výsledky diskutujte.

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

Seznam doporučené literatury:

- [1] Vědecké články z databází *Web of Science*, *Scopus* atd; databáze elektronických knih.
- [2] WINTGENS, J. N. (2012). *Coffee: growing, processing, sustainable production: a guidebook for growers, processors, traders, and researchers (Second, updated edition)*. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH Co.
- [3] THORN, J., *Káva*, 1 vyd., Fortuna Print, 2000. ISBN 80-86144-64-X.
- [4] POKORNÝ, Jan. *Antioxidants in food: practical applications*. Cambridge: Woodhead, 2001, 380 s. Woodhead Publishing in food science and technology. ISBN 1-85573-463-X.
- [5] YOUNG, J.D.; HARDESTY, D.C.: *Flavored coffee compositions with stable flavors and method of making*, Canada Intellectual Property Office, patent number: CA 2 460 802; 2004.
- [6] PREEDY, Victor R. *Caffeine: chemistry, analysis, functions and effects*. Cambridge: RSC Publishing, 2012. ISBN 978-1-84973-367-0.

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

Datum zadání diplomové práce: **25. února 2022**

Termín odevzdání diplomové práce: **13. května 2022**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

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

PROHLÁŠENÍ AUTORA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

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

Prohlašuji,

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

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá charakteristikou, zpracováním a vlastnostmi kávových zrn, jejich pražením a detailně popisuje stříbrné kávové slupky. Pojednává o oblastech uplatnění stříbrných kávových slupek v kosmetice i nekosmetických oborech. Získané poznatky uvádí do praxe přípravou a testováním kosmetické řady obsahující extrakty ze stříbrných kávových slupek.

Klíčová slova: stříbrné kávové slupky, antioxidant, TEWL, hydratace, pH, kofein

ABSTRACT

The diploma thesis is focused on characteristics, processing and properties of coffee beans, their roasting and attention is paid to describes in detail the coffee silverskin. The thesis deals with the area of application of coffee silverskin in cosmetic and non-cosmetic industries. It puts the knowledge gained into practice by preparing and testing a cosmetic line containing extract from coffee silverskin.

Keywords: coffee silverskin, antioxidant, TEWL, moisturization, pH, caffeine

Mé poděkování patří především vedoucí mé diplomové práce, Ing. Pavlíně Egner, Ph.D. za pomoc při samotném experimentu, trpělivé vedení, cenné rady a připomínky. Dále bych ráda poděkovala Ing. Ondřeji Rudolfovi, Ph.D., Mgr. Magdě Janalíkové, Ph.D. a Ing. Janě Pavlačkové, Ph.D., za pomoc a rady během experimentu. V neposlední řadě chci poděkovat svým rodičům a partnerovi za podporu během celé doby studia.

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

Bc. Natálie Podešvová

OBSAH

ÚVOD	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 KÁVOVNÍK	11
1.1 KÁVOVNÍKOVÉ BOBULE	12
1.1.1. Zpracování kávovníkových bobulí.....	13
1.1.2. Zelené kávové zrno	14
1.1.3. Chemické složení zeleného kávového zrna.....	14
1.1.4. Pražení kávových zrn	16
1.1.5. Chemické složení praženého kávového zrna	18
2 STŘÍBRNÉ KÁVOVÉ SLUPEKY	19
2.1 CHARAKTERIZACE STŘÍBRNÝCH KÁVOVÝCH SLUPEK	19
2.2 CHEMICKÉ SLOŽENÍ STŘÍBRNÝCH KÁVOVÝCH SLUPEK	19
2.2.1. Extrakční techniky bioaktivních látek ze stříbrných kávových slupek	22
2.3 VYUŽITÍ STŘÍBRNÝCH KÁVOVÝCH SLUPEK	23
2.3.1. Kosmetické využití stříbrných kávových slupek	24
2.3.2. Využití stříbrných kávových slupek v nekosmetických oborech.....	31
3 CÍLE PRÁCE	35
II PRAKTICKÁ ČÁST	36
4 METODIKA	37
4.1 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE, POMŮCKY A ZAŘÍZENÍ.....	37
4.2 POUŽITÉ MIKROORGANISMY	40
4.3 VLASTNÍ EXPERIMENT	40
4.3.1. Příprava extraktů ze stříbrných kávových slupek	41
4.3.2. Stanovení obsahu kofeinu v extraktu ze stříbrných kávových slupek pomocí plynové chromatografie	42
4.3.3. Mikrobiologické testování extraktů ze stříbrných kávových slupek.....	43
4.3.4. Charakterizace chemických vlastností extraktů ze stříbrných kávových slupek	44
4.3.5. Příprava krémů s využitím extraktů ze stříbrných kávových slupek	45
4.3.6. Příprava tělového lotionu s využitím extraktů ze stříbrných kávových slupek	45
4.3.7. Stanovení hodnoty SPF u vyrobených krémů a lotionů.....	46
4.3.8. Senzorické hodnocení vyrobených krémů a lotionů	47
4.3.9. <i>In vivo</i> hodnocení vyrobených krémů a tělových lotionů	49
4.3.10. Příprava gelů s využitím extraktů ze stříbrných kávových slupek.....	51
4.3.11. Příprava šampónů s využitím extraktů ze stříbrných kávových slupek	51
4.3.12. Základní charakterizace vyrobených gelů a šampónů	52
4.3.13. Příprava peelingu s obsahem stříbrných kávových slupek.....	53
5 VÝSLEDKY A DISKUZE	54
5.1 PŘÍPRAVA EXTRAKTŮ ZE STŘÍBRNÝCH KÁVOVÝCH SLUPEK.....	54

5.5	HODNOCENÍ KRÉMŮ A TĚLOVÝCH LOTIONŮ S VYUŽITÍM EXTRAKTŮ ZE STRÍBRNÝCH KÁVOVÝCH SLUPEK	61
5.5.1.	Stanovení hodnoty SPF u krémů a tělových lotionů.....	62
5.5.2.	Senzorické hodnocení krémů a tělových lotionů	63
5.5.3.	<i>In vivo</i> hodnocení krémů a tělových lotionů	67
5.6	PŘÍPRAVA GELŮ A ŠAMPÓNŮ	72
5.6.1.	Charakterizace chemických vlastností vyrobených gelů a šampónů	73
5.7	PŘÍPRAVA PEELINGU	76
ZÁVĚR		77
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....		79
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....		88
SEZNAM OBRÁZKŮ		90
SEZNAM TABULEK.....		91
SEZNAM PŘÍLOH.....		92

ÚVOD

Kávová zrna, ze kterých se připravuje oblíbený nápoj zvaný káva, jsou celosvětově obchodovanou a oblíbenou komoditou napříč národy bez ohledu na etnikum, národnost či náboženskou příslušnost. Jejich konzumace přispěla k rozvoji celosvětového obchodu a dopravy, a také infrastruktury států, které kávová zrna produkují (Brazílie, Vietnam, Indonésie, Kolumbie). Autoři projektu CirCo (Circular Coffee) [1] dokonce uvádějí, že káva je druhým nejobchodovanějším produktem na světě s celosvětovou produkcí 9,8 milionů tun (2015). Hlavní význam mají kávová zrna, avšak vedlejší suroviny, které doposud nebyly využívány a při výrobě kávy jsou považovány za odpad, jsou zajímavým materiálem. Stříbrné kávové slupky jsou jednou z vedlejších surovin při získávání pražených kávových zrn, kterým se jako samostatné surovině, pro jejich vlastnosti a chemické složení, věnuje čím dál více pozornosti. Odpad v podobě slupek představuje materiál s velkým potenciálem, pro svou jednoduchou skladovatelnost a obsah látek, jako jsou kofein, vláknina nebo kyselina chlorogenová. Tyto látky obsažené ve stříbrných kávových slupkách mohou být využity v kosmetice jako aktivní látky (antioxidanty, humektanty, UV filtry) ale také v jiných odvětvích (obalové materiály, potravinářství, výroba papíru) a tím dát přípravkům přidanou hodnotu. Bohužel se dnes stříbrné kávové slupky považují za vedlejší produkt bez užitku a likvidují se jako tuhý komunální odpad. Jedním z prvních průkopníků pro využití stříbrných kávových slupek je projekt CirCo, který si naopak klade za cíl využít všechny složky stříbrných kávových slupek. Ze slupek už umějí získat celulózu, lignin a některé fenolické látky, které využívají pro výrobu kosmetických přípravků (rtěnky) a také k produkci papíru, což vede k cirkulární výrobě a ekonomice. CirCo je ukázkou toho jak lze snadno využít stříbrné kávové slupky a tím udržitelně vyrábět produkty s přidanou hodnotou ve stejné či vyšší kvalitě.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 KÁVOVNÍK

Kávovníky jsou vytrvalé, stálezelené rostliny. Průměrná délka života bývá 10 až 15 let, produkce plodů s přibývajícím věkem klesá. Řadí se mezi skupinu krytosemenných rostlin *Angiospermae*, toto zařazení rovněž dává informaci o rozmnožování kávovníku. Tyto rostliny se rozmnožují semeny, která jsou uložena v obalu v takzvaných ováriích. Botanicky se kávovníky řadí do oddělení *Anthophyta*, třídy *Magnoliopsida*, podtřídy *Asteridae*, řádu *Rubiales*, čeledi *Rubiaceae*, rodu *Coffea*. Davis a kol. [2] popisují přes 90 druhů rostlin rodu *Coffea*, z nichž bylo 25 podrobně studováno. Z hlediska kávy jako obchodní komodity jsou významné dva druhy, a to *Coffea arabica* a *Coffea canephora*. [2, s. 471–473], [3, s. 5–7]

Druh *C. arabica* známý také jako kávovník arabský roste převážně ve vysokých nadmořských výškách s mírnými teplotami v rozmezí 15 až 24 °C. Strom dosahuje výšky 6 m. Semena těchto stromů představují více než 60 % světové produkce kávových zrn, mají podlouhlý a úzký tvar se zaobleným profilem. Doba zrání bobulí je zhruba šest až devět měsíců. Rostlina má tetraploidní uspořádání a je samosprašná. Samotná pražená zrna rostliny druhu *arabica* jsou oblíbená pro svou jemnou chuť a aroma. Káva připravená z těchto zrn se vyznačuje jemnou ovocnou chutí, vyváženou kyselostí a nízkým stupněm hořkosti. [3, s. 5–7], [4, s. 88–93]

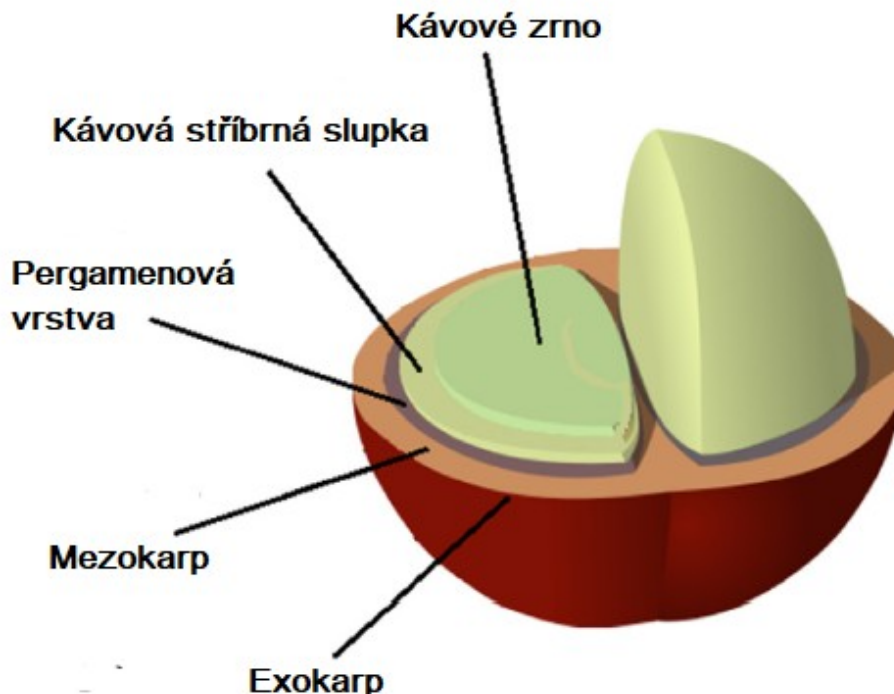
C. canephora s diploidním uspořádáním chromozomů roste spíše v níže položených oblastech s teplejším podnebím (30 °C). Rostlina dorůstá výšky až 10 m a je odolnější vůči chorobám. Její semena jsou méně kvalitní a mají nižší tržní hodnotu, představují 40 % světové produkce, mají okrouhlejší a ne tak dlouhý tvar. Plody dozrávají delší dobu, zhruba 10 až 11 měsíců. Na rozdíl od *C. arabica*, nejsou rostliny *C. canephora* samosprašné. Právě druh *C. canephora* bývá často nesprávně označován jako *C. robusta*. Ve skutečnosti se nejedná o druh ale pouze podskupinu. Označení *robusta* bývá užíváno pro komerční a jiné účely, toto označení je však mnohdy nesprávné, protože druh *canephora* má nespočet podskupin (např. *robusta*, *kouilouensis*, *kouilon*, *conilon*). Zrna těchto keřů bývají horší kvality, obsahují více kofeinu a jejich chuť a aroma nejsou tak vyvážené [3, s. 5–7], [4, s. 88–93]

Druhy kávovníků mají rozmanitý vzhled listů, květů i plodů. Pro všechny ale platí, že listy mají voskový povrch. Jejich okraje bývají mírně vlnité a jsou na obou koncích zašpičatělé. Květy jsou bílé, hvězdicovitého tvaru. Rostlina kvete pouze několik dní,

což je doprovázeno specifickou, příjemnou vůní. Po odkvětu se pak začínají tvořit plody (bobule). Při jejich dozrávání mění barvu přes zelenou, žlutou, oranžovou až na sytě červenou. Zralé hnědo fialové bobule se sklízí. V každé sklizené bobuli se zpravidla nacházejí dvě kávová zrna. [4, s. 88–93]

1.1 Kávovníkové bobule

Samotné kávovníkové bobule mají několika vrstvou strukturu. Vnější vrstva, označována jako exokarp je silná, hrubá slupka, která chrání celý plod před vnějšími vlivy a poškozením. Ve středu plodu se nachází mezokarp, gelovitá, dužnatá vrstva. Dužina má nasládlou chuť, obsahuje velké množství sacharidových složek a také díky tomu jsou některé druhy kávovníků pěstovány právě pro tuto část plodu. Z dužiny se totiž vyrábí kvas a z něj kávový likér, nebo nápoj zvaný sakka. Vnitřní vrstva endokarp svými vlastnostmi a tuhostí připomíná pergamen, proto se někdy setkáme s označením pergamenová vrstva. Na samotných kávových zrnech zůstává tenká slupka, takzvaná stříbrná blanka (stříbrná kávová slupka). Ta chrání zrno a odlučuje se až při procesu pražení. Na Obrázek 1 lze vidět řez bobulí s jednotlivými vrstvami. [3, s. 3], [4, s. 20–43]



Obrázek 1 Řez kávovníkovou bobulí, [3, s. 3]

1.1.1. Zpracování kávovníkových bobulí

U rostlin se zralými plody dochází ke sběru. Ten probíhá buď strojově, nebo ručně. Ruční sběr je časově a personálně náročný proces. Proto k takovému sklizení dochází pouze v oblastech s levnou pracovní silou, kdy sběrači sbírají pouze zralé plody jedním nebo více přechody přes plantáž. Sbíráni je velmi šetrné, ale také nákladnější. Takto získané bobule jsou velmi kvalitní a při následném zpracování není potřeba je dále třídit dle kvality. Mechanické (strojové) sklizení lze uskutečnit pouze na plantážích v nižších nadmořských výškách s rovnou půdou. Kombajn uzpůsobený k sběru plodu strhává plody z větví. Takto sklizené bobule se pro následné zpracování musí třídit na zralé, přezrálé, nezralé či jinak poškozené. Strojový sběr je nízkonákladový a nezávisí na sezónních pracovnících. Ze sklizených kávovníkových bobulí se získávají zelená kávová zrna. Izolace zrn se děje hned několika základními metodami. [4, s. 114–123], [5, s. 73–75], [6, s. 1–7]

Nejpoužívanější metody jsou suchá, mokrá a polo-promývaná (semi-washed) cesta. Jednotlivé postupy se liší, jak z hlediska časové náročnosti, tak i energeticky. Během zpracování bobule jsou postupně odstraněny exokarp, mezokarp i pergamenová vrstva. Na konci procesu jsou získána z jedné bobule dvě suchá, zelená kávová zrna, která jsou chráněna stříbrnou blankou. Zpracování suchou cestou probíhá ve dvou hlavních krocích. V první fázi jsou bobule sušeny na slunci a pravidelně otáčeny. Zhruba po čtyřech týdnech klesne obsah vody v plodu na 12 % a bobule jsou loupány. Proces loupání probíhá buď strojově, nebo ručně a takto získána kávová zrna jsou obalena blankou a mnohdy i zbytky pergamenové vrstvy. Zpracování je fyzicky a časově náročné, ale ekonomicky i ekologicky výhodnější. Metoda se využívá hlavně u méně kvalitních odrůd. Naproti tomu zpracování mokrou cestou je více fázové a dochází u něj k velké spotřebě vody, kdy se na jeden kilogram zelených kávových zrn spotřebuje 120 až 160 litrů vody. Nejprve dochází pomocí promývání ke zbavení všech hrubých nečistot, listí a větviček. Ve vodě dojde také k selekci plodů dle velikosti, kdy větší, zralejší bobule klesají na dno a nezralé nebo jinak nevhodné plody jsou odstraněny ve vrchní části nádrže. Dále jsou z plodů odstraněny slupky pomocí strojů (ozubené čepele, rotující bubny). Loupání probíhá do 24 hodin od sběru. Další fází je fermentace gelové a pergamenové vrstvy pomocí bakterie *Lactobacillus acidophilus*, která trvá od 24 do 72 hodin. Při tomto postupu vzniká kyselina mléčná, jejíž kyselé pH ovlivňuje následné vlastnosti kávy. Takto opracovaná zrna obsahují asi 50 % vody a musí se dále sušit buď volně na slunci, nebo pomocí strojových horkovzdušných sušiček. Třetí způsob zpracování kombinuje postupy dvou předchozích a jedná

se o takzvaný polo-promývaný způsob. První část procesu probíhá stejně jako zpracování mokrou cestou, kdy jsou sesbírané plody promyty a roztřízeny pomocí vodních nádrží a zralé bobule jsou pak strojově zbaveny vrchních vrstev slupky. Zrna s pergamenovou vrstvou a zbytky gelové vrstvy jsou poté sušeny na přímém slunci, jak tomu je i u zpracování suchou cestou. Po dokonalém prosušení jsou zrna loupána a uskladněna. Takto zpracovaná zrna jsou typická jemnou chutí bez přílišné kyselosti. [4, s. 114–123], [5, s. 76–78], [6, s. 1–7]

Ačkoliv je výrobcí všeobecně udáváno, že způsob zpracování má vliv na finální sensorické vlastnosti kávy, pravdivost tvrzení nebyla nikdy jednoznačně prokázána. Selmar [6] ve své práci uvádí, že zvolená metoda zpracování má přímý vliv na fyziologický stav získaných zrn. Dále se také zabývá faktem, že v zrně po sklizni a zpracování dochází k řadě metabolických procesů a zejména jejich časová osa a úkony prováděné v daném časovém intervalu, výrazně ovlivňuje kvalitu kávy. Další vliv na stav kávy má míra stresu nebo proces klíčení. Z výše uvedeného je zřejmé, že na kvalitě kávy se podílí spousta faktorů v průběhu růstu, zrání, sklizně, zpracování i následném pražení zrn. [4, s. 114–123], [5, s. 78–79], [6, s. 1–7]

1.1.2. Zelené kávové zrno

Zelená kávová zrna jsou nepražená zrna získaná z plodů kávovníku. Tím, že zrna nejsou pražená, obsahují vyšší množství látek, např. kyselinu chlorogenovou, o níž se předpokládá, že má zdravý prospěšné účinky, především v souvislosti s konzumací extraktu ze zelených zrn. V poslední době se nápoj připravený z nepražených zrn těší čím dál vyšší oblibě. Zrna, která neprošla tepelnou úpravou, obsahují vyšší množství antioxidantů a vitaminů, jsou využívána zejména pro propagaci potravinových doplňků. Nicméně nejmarkantnější užití zelených kávových zrn je stále jejich úprava pražením a následná příprava kávy tak, jak ji známe. [7], [8]

1.1.3. Chemické složení zeleného kávového zrna

Stanovení chemického složení zelených kávových zrn bylo důležitým krokem k celkovému pochopení sensorických vlastností kávy, jejího prospěchu či škodlivosti při konzumaci. Pro pochopení chemického složení byly využity různé analytické metody, ze kterých byla získána základní stavba zeleného kávového zrna. Druhy *arabica* a *canephora* se neliší ve skladbě hlavních složek, ale v jejich množství. Kávové zrno je složeno z polysacharidů, lipidů, proteinů a minoritních složek jako jsou kofein, trigonellin, kyselina chlorogenová,

volné aminokyseliny, cukry a další. Právě tyto minoritní složky způsobují typické kávové aroma a dávají kávě například povzbuzující účinky. Analýza pomocí nukleární magnetické resonance, kterou provedl Wei [9] odhalila 16 ve vodě rozpustných sloučenin v extraktech ze zelených kávových zrn. Mezi těmito látkami byly izomery kyseliny caffeoylchinové (CCK), dále kyselina octová, kofein, cholin, kyselina citronová, kyselina l-glutamová, l-alanin, kyselina chinová, kyselina jablečná a další. [4, s. 228–255], [9, s. 149], [10, s. 654]

Velmi důležitou složkou z hlediska fyziologie a chuti kávy je kofein. Chemicky se jedná o 1,3,7-trimethylxanthin. Tento purinový alkaloid je bílá krystalická látka hořké chuti, mírně rozpustná ve vodě. Obsah kofeinu v zelených kávových zrnech se liší u jednotlivých druhů. Udává se, že druhy *arabica* obsahují 0,6 až 1,2 % kofeinu a druhy *canephora* 2,2 až 2,8 %. Je to termostabilní látka a během pražení nedochází k významnému úbytku v zrně. Napříč tomu, že je kofein jen mírně rozpustný ve vodě je dostatečně hydrofobní a snadno prostupuje biologickými membránami. Po požití je z 99 % vstřebán z trávicího traktu do krevního řečiště. Kofein je antagonistou adenosinu, a právě na tomto principu funguje jako psychotropní látka a jsou mu připisovány psychotropní účinky. Další z purinových alkaloidů nahořklé chuti je trigonelin, derivát vitamínu B6. Obsah opět závisí na druhu rostliny. Zde je naopak vyšší množství v rostlinách *arabica*. Trigonelin je během pražení (230 °C) nestálý a přeměňuje se na N-methylpyridinium a kyselinu nikotinovou, právě tohoto faktu se využívá ke kontrole stupně pražení. [4, s. 228–255], [9, s. 149–150], [10, s. 656]

Početnou skupinou látek zastoupených v zelených kávových zrnech jsou izomery kyseliny caffeoylchinové. Především pak izomer 5-O-caffeoylchinová kyselina, neboli kyselina chlorogenová. Jedná se o polyfenolickou látku, která je významným zdrojem fenolů v potravě. V nižších koncentracích má hořkou chuť, při vyšších koncentracích chutná kysele. Více než 70 % kyseliny se zničí při teplotách pražení. Do souvislosti s kyselinou chlorogenovou se dává její antioxidační účinek. Někteří autoři uvádějí i její příznivý vliv na snižování hladiny glukózy v krvi. Dále se má za to, že hraje důležitou roli v prevenci onemocnění, která souvisejí s oxidativním stresem. [9, s. 150], [10, s. 656]

Hlavními sacharidy přítomnými v zelené kávě jsou sacharóza, glukóza, fruktóza, arabinóza, galaktóza a manóza. Z těchto základních jednotek jsou tvořeny polysacharidy, které tvoří až polovinu hmotnosti v sušině. Jsou obsaženy především v buněčné stěně. Hlavní polysacharidy v zeleném i praženém kávovém zrně jsou manan, galaktomanan,

arabinogalaktan a celulóza. Ve studii [11] byly sledovány, zda jsou rozdíly ve složení polysacharidů u druhů *C. arabica* a tzv. *robusta*. V případě galaktomananů nebyly prokázány žádné rozdíly ve strukturních rysech. V případě arabinogalaktanů byly výrazné rozdíly v rozpustnosti kávy. Právě vysoce rozpustný arabinogalaktan, který byl více rozvětvený, zapříčiňoval lepší rozpustnost a extrahovatelnost káv druhů *robusta*. [9, s. 151–159], [10, s. 658], [11, s. 97–100]

Proteiny tvoří 8 až 12 % sušiny zelených kávových zrn a většina z nich je během zrání degradována na aminokyseliny. Tento proces je urychlován kyselinou chlorogenovou a jejími deriváty. Jmenovitě jsou z aminokyselin (AMK) zastoupeny především alanin, arginin, asparagin, cystein, leucin, izoleucin, histidin, fenylalanin, prolin, serin, metionin. Volné AMK přispívají v zrnech k nepříjemné chuti. Tyto složky jsou však během pražení odstraněny, a tak chuť kávy neovlivňují. [9, s. 159], [10, s. 658]

Celkový obsah lipidů v sušeném zeleném kávovém zrně může dosahovat až 14 g/100 g. Olej extrahovaných zrn se skládá ze 75 % triacylglycerolů (TAG), 13,5 % nezmýdelnitelných látek a 0,24 % vosků. Hlavní mastné kyseliny přítomné v oleji jsou k. linolová a k. palmitová. Větší množství lipidů se v zrně nachází na povrchu, kde tvoří voskový obal, který chrání zrno. [10, s. 659]

V zelených zrnech byly identifikovány ovocné kyseliny (citronová, jablečná) a dále octová kyselina. Tyto organické kyseliny jsou v minoritním množství, ale dodávají odrudám typickou kyselost. Větší obsah kyselin lze nalézt u druhu *arabica*, jež se vyznačuje právě svou vyšší kyselou chutí. Dalšími doplňujícími látkami v zelených kávových zrnech jsou minerály, především pak draslík, hořčík, vápník, sodík, železo, mangan, zinek, nikl, kobalt, olovo, měď a chrom. V doporučené denní dávce je mimo jiné obsaženo 1–5 % hořčíku a 1–2 % draslíku. [9, s. 160–161], [10, s. 657–658]

1.1.4. Pražení kávových zrn

Pražení kávy je tepelný proces, při kterém se mění chemické složení a fyzikální vlastnosti zelených kávových zrn. Nejdůležitější faktory tohoto procesu jsou teplota a čas pražení. Změny těchto dvou podmínek během procesu přímo ovlivňují obsah vody, sacharidů, bílkovin a fenolických látek. Samotné pražení lze rozdělit do pěti základních fází (sušení, hnědnutí, fáze prvního prasknutí, pražení, fáze druhého prasknutí). Tyto klíčové kroky mohou v různých pražárnách probíhat různě dlouho. Rychlost, jakou kávová zrna

procházejí jednotlivými fázemi, se označuje jako profil pražení. [4, s. 138–153], [12, s. 1], [13]

První fází procesu je sušení zrn. Zrna přijímána do pražírén obsahují 10–12 % vlhkosti. Té jsou zbaveny pomocí předem přehřáté pražičky, teplota sušení je 150 °C. Po odpaření vody zrna pozvolně přecházejí do druhé fáze, tzv. hnědnutí. Toto neenzymatické hnědnutí způsobuje Maillardova reakce (MR). Reakce způsobující změnu barvy zapříčiňují rozpínání zrna, ze kterého se uvolňují tenké slupky (stříbrné kávové slupky), které jsou pomocí horkého proudu vzduchu odváděny do sběrné nádoby, protože by během pražení mohly způsobit požár. Třetí fáze nastává po tzv. first crack neboli prvním prasknutí. Uvnitř kávového zrna se nahromadí plyn a vodní pára a po jejich uvolnění zrno pukne, tento proces je doprovázen slyšitelným zvukem prasknutí. Endotermická reakce, kdy zrno teplo přijímalo, se mění na exotermickou. Kávové zrno je ve třetí fázi dostatečně upražené, tyto světle pražená kávová zrna však mají vysokou kyselost, a proto je na pražiči, zda bude v procesu pokračovat. Pro více upražená zrna se pokračuje ve čtvrté fázi, kdy dochází k vývoji pražení. Zrna zvyšují svou porozitu, oleje migrují ke stěnám a dochází k dalšímu tmavnutí. Tato fáze může trvat různě dlouho a závisí jen na zkušenostech pražiče. Čím delší doba pražení, tím méně kyselosti a sladkosti. Na konci této fáze se může objevit tzv. second crack (druhé prasknutí). Struktura zrna se začíná rozpadat. Oleje zrno obalí, je tedy lesklé a velmi tmavé. Po druhém prasknutí se zrno praží jen omezeně krátkou dobu, poté dochází k jeho spálení, ztrácí se původní jedinečná chuť kávy. [4, s. 138–153], [13]

Při zpracování potravin za vysokých teplot jsou produkty MR výsledkem chemické reakce mezi aminokyselinami a redukujícími cukry. Tato reakce zvyšuje v potravině chuť, barvu a aroma. Jeden z důsledků MR je Streckerova degradace (SD) aminokyselin na jejich strukturně příbuzné těkavější protějšky, která vede v potravinách především ke vzniku řady chuťově významných alifatických aldehydů s krátkým řetězcem. Reakcemi, mezi α -aminokyselinami a karboxylovými sloučeninami vznikají, kromě aldehydů, také pyraziny, pyridiny, pyroly, oxazomy nebo specifické chromofory. Všechny tyto látky ovlivňují organoleptické vlastnosti kávy. Mezi hlavní produkty MR vznikající během pražení, patří v případě kávových zrn především melanoidy. Během reakce vzniká i akrylamid, ten je považován za kontaminant a Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny jej označila jako potencionální karcinogen třídy 2A. Právě káva se v dospělé populaci řadí jako jeden z hlavních zdrojů akrylamidu pocházejícího z potravin. Dále jsou to pak potraviny smažené, pekařské výrobky nebo snídanové cereálie. [14], [15, s. 1–2]

1.1.5. Chemické složení praženého kávového zrna

Chemické složení pražených kávových zrn je značně ovlivněno stupněm pražení. Studie prokazují, že základními chemickými procesy, které lze při pražení pozorovat jsou rozklad sacharózy a kyseliny chlorogenové. Téměř veškerá sacharóza se během pražení rozkládá, a to nezávisle na stupni pražení. Degradace sacharózy se vysvětluje hydrolýzou na glukózu a fruktózu, které se mohou dále štěpit za vzniku alifatických kyselin nebo se mohou účastnit MR s bílkovinami a aminokyselinami. Degradace kyseliny chlorogenové je vyšší při delším pražení a za vyšších teplot. Studie [17] prokázala, že během pražení typu, tzv. full city (225 °C, 19 min) se rozložilo až 85 % kyseliny chlorogenové. Degradními produkty sacharózy a kyseliny chlorogenové jsou nízkomolekulární organické kyseliny a fenolové sloučeniny. Tento fakt byl prokázán při měření, kdy se koncentrace kyseliny mravenčí a mléčné v zrnech v důsledku pražení zvýšila téměř stonásobně. Zvýšení koncentrace fenolických sloučenin nebylo tak prudké, ale bylo pozorovatelné, především pak zvýšení 5-hydroxymethylfurfuralu. Degradaci kyseliny chlorogenové potvrdila také studie [18], kdy bylo hodnoceno biochemické složení zrn a jejich antioxidační aktivita. U pražených kávových zrn se výrazně snížil obsah trigonellinu, kyseliny chlorogenové, tedy látek nestabilních při vysokých teplotách pražení. Průměrný obsah kyseliny chlorogenové v zelených zrnech byl 4,22 g/100 g, zatímco důsledkem pražení klesla hodnota na 1,94 g/100 g. V důsledku pražení tedy došlo ke snížení obsahu kyseliny chlorogenové o 54 %. Obsah trigonellinu se snížil o 7,69 % a antioxidační aktivita zrn klesla o 15,33 %. Změny v obsahu kofeinu v zelených a pražených zrnech nebyly statisticky významné, obsah kofeinu se snížil v důsledku pražení zhruba o 2 %, čímž byla potvrzena jeho termostabilita. [4, s. 228–255], [16], [17, s. 345–348], [18, s. 8–9]

2 STŘÍBRNÉ KÁVOVÉ SLUPKY

Stříbrné kávové slupky (KS) jsou vedlejšími produkty při zpracování kávových zrn, odlučují se od zeleného kávového zrna při teplotách pražení. Stříbrná kávová slupka je tenká vrstva, která obaluje a chrání zelené kávové zrno. Jak bylo zmíněno výše, káva je jedna z nejobchodovatelnějších komodit na světě, proto je slupka jako vedlejší produkt zajímavou surovinou, která představuje příležitost pro další využití s přidanou hodnotou (biopaliva, biopolymery, obalové aplikace, využití v topických aplikacích v kosmetice, atd.). [19, s. 2372–2373], [20, s. 313–314]

2.1 Charakterizace stříbrných kávových slupek

Samotná slupka tvoří přibližně 4 % hmotnosti kávového zrna. Má především ochrannou funkci. Hlavní složkou KS jsou vláknité struktury, které tvoří 69 % hm., z toho 24 % tvoří celulóza, 17 % hemicelulóza a 29 % lignin. Slupky dále obsahují 19 % látek bílkovinné povahy a 4 % tvoří lipidy. Lze v nich nalézt i malé množství purinových alkaloidů a polyfenolů. Hlavní složkou polyfenolů ve slupkách je kyselina chlorogenová. Obsah všech látek ve slupkách je závislý na spoustě faktorů, jako je odrůda kávovníku, stupeň pražení, použitá metoda extrakce a samotná analýza. [19, s. 2372], [20, s. 313–314], [21, s. 1]

2.2 Chemické složení stříbrných kávových slupek

Jelikož jsou KS získávány z kávových zrn, předpokládá se, že budou mít i podobné chemické složení. Slupky jsou tvořeny především dietní vlákninou (DV), což otevírá dveře využití KS jako přísad do různých potravin (pečivo, jogurty, atd.). Kromě toho mají KS vysokou antioxidační aktivitu, která se přičítá přítomnosti jak (poly)fenolických sloučenin, tak melanoidů. Hlavní polyfenolickou sloučeninou ve slupkách je kyselina chlorogenová. [19, s. 2372–2374], [20, s. 316–318], [21, s. 1–2]

Ve studii [21] je uveden celkový počet DV v KS jako $59,1 \pm 0,02$ g/100 g u druhů *arabica* a u granulátu ze směsi *arabica* a *canephora* je hodnota rovna $67,0 \pm 1,0$ g/100 g. Podíl nerozpustné a rozpustné vlákniny se u vzorků lišil. Granulát vykazoval nejnižší obsah nerozpustné dietní vlákniny (NDV) a naopak vyšší obsah rozpustné dietní vlákniny (RDV) oproti vzorkům jednoho druhu, které měly naopak vyšší obsah vlákniny nerozpustné. U žádného vzorku nebyla detekována nízkomolekulární rozpustná vláknina, která byla v této studii také sledována. [21, s. 1–3]

Co do složení je dietní vláknina velmi zajímavá. Analýza monosacharidů NDV určila jako hlavní složky glukózu (50,8–56,2 %) a xylózu (26,3–30,4 %). Tyto hlavní monomery polysacharidů jsou zastoupeny jak ve slupkách *arabica*, tak *canephora*, tak i v granulátu. Vysoký obsah glukózy je způsobený především díky buněčné stěně (polysacharidová celulóza). Jelikož je kávovník dvouděložná rostlina, tak buněčná stěna obsahuje také xyloglukany. Tyto fakty jednoznačně přispívají k vysokým hodnotám obsahu těchto monosacharidů. Analýza RDV poukázala na zvýšenou přítomnost polysacharidů, konkrétně rhamnózy (26,9–33,5 %), arabinózy (18,2–24,4 %), manózy (17,1–18,5 %) a galaktózy (13,7–18,1 %). Opět nebyly shledány velké rozdíly mezi jednotlivými vzorky. Studie také prokázala zvýšený obsah kyseliny pektinové, což indikuje přítomnost pektických polysacharidů. [21, s. 8]

Pro stanovení polysacharidů byla použita metylační analýza, na jejímž základě byla jako hlavní složka identifikována 1,4–vázaná glukopyranóza, což dokazuje dominantní postavení celulózy v KS, především v nerozpustné vláknině. Ačkoliv předchozí výsledky ukazují na vyšší podíl xylózy, glukopyranózové jednotky vázány 1,4,6–vazbou nebyly ve větší míře zjištěny. Vyšší přítomnost xyloglukanů je pravděpodobná, ale ve studii se jí nepodařilo jednoznačně prokázat. Naopak se ale objevily vyšší hodnoty (14–17 %) 1,4–vázané xylopyranósy, která tvoří páteř xylanů pocházejících ze sekundárních buněčných stěn rostlin. Touto analýzou nebyly prokázány významné rozdíly mezi KS *arabica*, KS *canephora* a granulátem. [21, s. 8]

Obsah bílkovin v DV u KS stanovovaly jak studie [21], tak [23]. Analytické postupy stanovení obsahu bílkovin se mírně lišily, přímá srovnatelnost tak není možná. Výsledky nicméně naznačují, že obsah bílkovin je v KS vysoký, navzdory variabilitě hnojení rostlin, původu a typu stanovení. Ballesteros a kol. [23] stanovili obsah bílkovin na 18,2 g/100 g. Gottstein se svým týmem [21] dospěl k hodnotám $17,8 \pm 0,1$ – $22,2 \pm 0,5$ g/100 g bílkoviny v KS. Kromě samotného obsahu bílkovin je však třeba zohlednit i zastoupení aminokyselin (AMK). Použitá metoda pro stanovení AMK je však omezená ve smyslu možnosti stanovení tryptofanu, metioninu a cysteinu. Tyto AMK byly stanoveny pouze kvalitativně. Dominantními AMK ve vzorcích byly kyselina glutamová, asparagová (obsah k. glutamové a aspartové zahrnují i glutamin a asparagin) a leucin. Esenciální AMK (leucin, valin, fenylalanin, izoleucin, treonin, histidin a lysin) jsou přítomny ve značném poměru. Tyto AMK jsou přítomny především ve volné formě. [21, s. 10], [22, s. 1–15]

Tuk jako složka v KS má spíše minoritní zastoupení. Obsah tukových složek je všeobecně nízký. U druhů *canephora* byl stanoven na $1,82 \pm 0,04$ g/100 g. Obsah tuku u druhu *arabica* je ještě nižší ($1,57 \pm 0,08$ g/100 g). Složení mastných kyselin (MK) je u KS srovnatelné i se studií [24]. Převažují nasycené MK, které tvoří přibližně 80 %. Hlavní zastoupení má kyselina palmitová (C16:0), dále pak kyselina behenová (C22:0) a kyselina arachidonová (C20:0). Frakce nenasyčených MK je složena především z kyseliny olejové (C18:1) a kyseliny linolové (C18:2). [21, s. 12]

Údaje o minerálních látkách obsažených v KS (*arabica* i *canephora*) byly téměř shodné pro všechny sledované vzorky. Nejvíce zastoupené minerální prvky v KS jsou vápník, draslík a hořčík. Ve stopovém množství se pak vyskytuje železo, sodík, kobalt, chróm, molybden nebo měď. Ve studii byly také sledovány stopy kadmia, rtuti, olova a arsenu. Světová zdravotnická organizace (WHO) pro tyto prvky stanovila předběžnou přípustnou hodnotu týdenního příjmu, která je např. pro olovo 25 µg/kg a pro kadmium na 7 µg/kg. Arzen a rtuť nebyly identifikovány v žádném ze vzorků. Kadmium bylo naměřeno v KS druhu *arabica* i *canephora* s hodnotami 0,075–0,10 mg/kg. Taktéž bylo v KS stanoveno olovo v rozmezí 0,16–0,65 mg/kg. Tyto hodnoty jsou důležité hlavně pro využití KS v potravinářství. Obsah minerálních látek v KS je silně ovlivněn půdními vlastnostmi (obsah organických látek, hodnota pH). Dále pak aplikací chemických přípravků, především pak hnojiv, fungicidů, insekticidů, právě tyto přípravky obsahují více kovů a mohou je uvolňovat do půdy a rostlin. [21, s. 13–14]

Kofein je hlavní terpenický alkaloid zastoupený v zelených i pražených kávových zrnech, a proto se předpokládá, že se bude vyskytovat i v KS. Obsah kofeinu podle Gottsteina a kol. [21] byl ve slupkách *arabica* $0,80 \pm 0,002$ g/100 g a ve slupkách z granulátu $0,76 \pm 0,01$ g/100 g. Tyto výsledky byly srovnatelné a lze tvrdit, že množství kofeinu v KS obou vzorků je totožné. Kofein byl zjištěn i u slupek druhu *canephora*, jeho množství však bylo o něco vyšší, a to $0,86 \pm 0,03$ g/100 g. Jen pro srovnání, u zrn se udává množství kofeinu přibližně 1–2 g /100 g. Obsah kofeinu se v zrně i slupkách snižuje se zvyšujícím se stupněm pražení, ne však příliš výrazně. Ač je míra kofeinu ve slupkách nižší než v zrně, není zanedbatelná. Přítomnost této látky otevírá nové možnosti využití, například jako aditivum do potravin obohacené o kofein. A vzhledem k tomu, že jsou slupky vedlejším produktem pražení, je tady možnost z nich kofein extrahovat a dále využívat. [20, s. 316–318], [21, s. 15], [22, s. 1–15]

Stříbrné kávové slupky jsou ze zrna odlučovány během pražení, a proto se u nich předpokládá i výskyt látek, které při procesu vznikají. Jednou z těchto sloučenin je akrylamid (AA). Obsah akrylamidu v kávových zrnech je ovlivněn stupněm pražení, méně pražená světlá kávová zrna obsahují vyšší množství AA než tmavá kávová zrna. Zajímavostí je, že navzdory předchozím zjištěním, obsah AA v kávových zrnech klesá se stupněm pražení. Pro slupky druhu *arabica* byl obsah AA stanoven na 152 µg/kg a pro druh *canephora* to bylo 161 µg/kg. Rozdíl byl u granulátu, který obsahoval slupky z obou druhů, ve kterém bylo zjištěnou 24,0 µg/kg. V evropské unii je stanovena referenční hodnota pro AA v potravinách nařízením Komise (EU) 2017/2158 ze dne 20. listopadu 2017, kterým se stanoví zmírňující opatření a porovnávací hodnoty pro snížení přítomnosti akrylamidu v potravinách. [21, s. 14–15], [25], [26, s. 5]

2.2.1. Extrakční techniky bioaktivních látek ze stříbrných kávových slupek

Pro stanovení chemického složení a zisk extraktů z KS jsou dle různých autorů používány i rozdílné extrakční techniky, které vedou k rozdílným výsledkům. Zde zmíním některé z nich. Studie [27] stanovovala na 30 bioaktivních látek v extraktu z KS. Extrakční metody pro následné stanovení pomocí HPLC (high-performance liquid chromatography) – vysokoúčinné kapalinové chromatografie byly založeny na extrakčních metodách popsanych a optimalizovaných Capriolim [28]. Celkově bylo použito osm extrakčních postupů, které byly testovány s cílem určit nejúčinnější extrakční metody pro stanovení bioaktivních látek z KS. U všech extrakcí bylo vždy 10 g prášku z KS rozpuštěno v 50 ml rozpouštědla. Směs byla sonikována pomocí ultrazvukové lázně FALC při frekvenci 40 kHz po dobu 120 minut při teplotě 20 °C. Po extrakci byly vzorky přefiltrovány přes filtrační papír a získaný extrakt byl uchováván ve tmě při teplotě -20 °C až do samotné analýzy. Mezi osmi extrakčními metodami byly vybrány čtyři, které měly nejvyšší výtěžnost, a ty byly použity pro následnou analýzu. Ve vybraných extraktech byly použity následující rozpouštědla: methanol (E1), destilovaná voda (E2), methanol/voda – 50:50 (E3), etanol/voda – 70:30 (E4). Před analýzou bylo 5 mg lyofilizovaného extraktu rozpuštěno v 5 ml methanolu a roztok byl sonikován v ultrazvukové lázni po dobu 10 min. Pro samotnou HPLC analýzu byly získané extrakty filtrovány přes filtr o velikosti pórů 0,2 µm a poté vstříkovány do HPLC-MS/MS. Výsledky studie prokázaly, že ultrazvuková extrakce je cenově dostupná technika, která umožňuje získat extrakty s vysokým obsahem kofeinu, kyseliny chlorogenové a flavanoidů. Bioaktivní sloučeniny sledovány ve studii představují 1,56–4,01 % hm

extraktů. Nejvíce zastoupenou bioaktivní sloučeninou ve všech extraktech byl kofein s obsahem kolísajícím od 1,00 % do 3,59 % sušiny extraktu. Tyto zjištěné hodnoty jsou poměrně vysoké vzhledem k tomu, že obsah kofeinu v sušině kávových zrn se podle studie [29] pohybuje od 1,01 % do 8,16 %. Extrakty E1 a E4 vykazovaly vyšší antioxidační aktivitu vzhledem k jejich obsahu fyto-sloučenin. [27, s. 1–9], [28, s. 490–495], [29, s. 314–315]

Extrakce za pomoci ultrazvuku byla použita i ve studii [30], kdy bylo 100 g KS macerováno ve 2 l deionizované vody po dobu 2 hodin. Sonikace, po uplynutí stanovené doby macerace, probíhala pomocí ultrazvukové sondy po dobu 30 min. a při teplotě 25 °C. Extrakt byl poté filtrován a zahuštěn pomocí rotační vakuové odparky při teplotě 40 °C. Jako druhou metodu extrakce, zvolili Fathi a kol. hydroethanolovou maceraci. Taktéž bylo použito 100 g KS a 2 l rozpouštědla. Jako rozpouštědlo byly použity deionizovaná voda, etanol (96 %), a směsi etanol:voda v poměru 50:50, 50:70. Extrakty byly macerovány po dobu 24 h a následně filtrovány. Pro další účely studie byly extrakty obohaceny o kofein a fenolické látky pomocí pryskyřičných kolon. Etanolové extrakty a jejich ethylacetátové frakce pro kosmetické použití byly připraveny ve studii [31] tak, že suché KS v množství 50 g byly zality 50 % roztokem etanolu v objemu 1 l. Macerace probíhala za studena, po dobu 24 h. Extrakt byl dále filtrován pomocí Büchnerovy nálevky, zkoncentrován na rotační vakuové odparce a vysušen. Vysušené vzorky byly uchovávány v lednici. [30, s. 5], [31, s. 2]

2.3 Využití stříbrných kávových slupek

V současné době jsou KS většinou při procesu pražení kávy vyřazeny jako odpad. Existuje ale několik variant, jak tyto vedlejší produkty dále zpracovávat a využít jejich prospěchu. Kávové slupky jsou pro následné zpracování velmi výhodným materiálem, jedním z důvodů je jejich nízký obsah vlhkosti. Teploty pražení také snižují množství mikrobiální kontaminace a jsou snadno skladovatelné. Možné uplatnění mohou mít slupky v zemědělství pro úpravu půdy, dále při fermentaci v tuhé fázi jako substrát, nebo jako zdroj bioaktivních sloučenin jako je kofein, dietní vláknina nebo fenolické sloučeniny. Testuje se také jejich uplatnění v obalových materiálech nebo jako výplň pro cementové kompozity. [19, s. 2372–2374], [33, s. 280–281]

2.3.1. Kosmetické využití stříbrných kávových slupek

Stříbrné kávové slupky jako vedlejší produkty kávy obsahují velké množství bioaktivních látek a proto mohou být využity v kosmetice, především pro své účinky antioxidační, antimikrobiální, anti-aging, mohou chránit před slunečním zářením nebo mít protizánětlivý efekt. Proto, jsou tyto vedlejší produkty vhodnou alternativou pro výrobu kosmetických přípravků (KP). Mimo aktivní složky jsou tyto produkty udržitelné, bezpečné a účinné. Kyselina chlorogenová je hlavní účinnou složkou, která byla v souvislosti s výše uvedenými účinky více studována. [33, s. 285]

Antioxidační účinky

Kůže obsahuje přirozené antioxidační látky jako enzymy (superoxidismutáza), antioxidační sloučeniny (glutathion, vitamín C a E), které jsou v přirozené rovnováze s volnými radikály a chrání ji před poškozením membránových lipidů, proteinů, DNA a jiných makromolekul. Při nadbytku výskytu volných radikálů například vlivem slunečního záření je potřeba kůži před oxidačním stresem bránit aplikací antioxidantů topicky. Oxidační stres souvisí s poškozením kůže a stárnutím. V poslední době lze pozorovat snahu nahradit syntetické antioxidanty přírodními, protože syntetické antioxidační přípravky mohou být v KP použity pouze s přísnými regulacemi. Hlavními antioxidanty KS jsou bezpochyby jejich fenolové sloučeniny, kterými jsou především chlorogenové deriváty, kdy byla jejich antioxidační aktivita potvrzena *in vitro* i *in vivo*. Kromě fenolických látek obsahují KS také melanoidy, které vznikají Maillardovou reakcí při tepelném zpracování zrn. V menší míře se u slupek vyskytuje i vitamín E, především α -tokoferol. Oliveir [34] studoval antioxidační stabilitu různých koncentrací extraktů KS zakomponovaných do filmu tvořeného bramborovým škrobem. Antioxidační aktivita byla stanovena pomocí ABTS (2,2-anizo-bis (3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonová kyselina)) metody, kdy byl ABTS připraven v množství 2,45 mM a uchováván v lednici ve tmě. Aktivita antioxidantu byla stanovena podle procenta inhibice ABTS po 72 h působení na film s KS. Výsledky ukázaly, že už 1% extrakt KS zabudovaný do filmu inhiboval ABTS v míře 15,9 %, kdy kontrolní vzorek bez KS byl inhibován o 4,7 %. V přítomnosti 5% extraktu KS byla inhibice třikrát vyšší. Koncentrace 10 % však již inhibici oproti 5% extraktu neměnila. Antioxidační aktivita byla zde přisuzovaná fenolickým látkám a flavonoidům v extraktu. Antioxidační aktivita vodných i alkoholických extraktů KS byla stanovena studií [35] pomocí dvou metod. První metodou bylo hodnocení pomocí DPPH radikálů (1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl), což jsou známé stabilní volné

radikály, které mají charakteristické absorpční spektrum v rozmezí 515–517 nm. Druhou metodou bylo stanovení aktivity redukujícího železa (FRAP = ferric reducing antioxidant power). U obou testů byla prokázána antioxidační aktivita extraktů KS bez ohledu na použité rozpouštědlo (voda, etanol). Vyšší antioxidační potenciál však vykazovaly alkoholické extrakty. [32], [33, s. 285–287], [34, s. 7], [35, s. 388–389]

Anti-aging

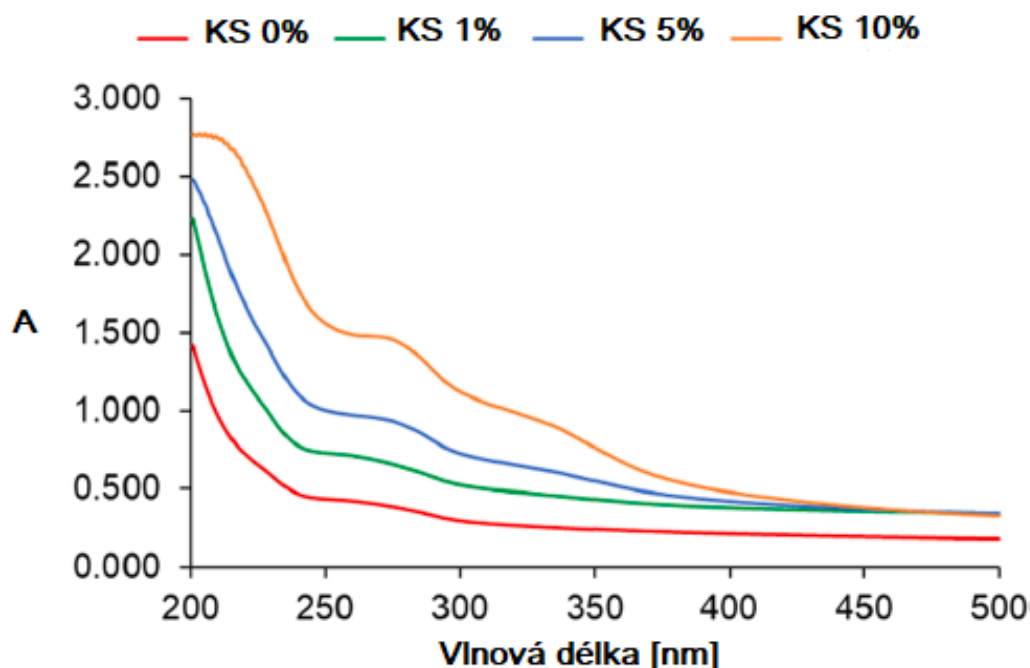
Jak bylo zmíněno výše, oxidační stres je jednou z hlavních příčin předčasného stárnutí a onemocnění kůže. Tento typ stresu je definován jako nerovnováha mezi reaktivní formou kyslíku (ROS) a antioxidanty obsaženými v kůži. Za normálních podmínek jsou ROS přirozené vedlejší produkty vznikající v mitochondriích a peroxizomech. Mají pozitivní fyziologické účinky na buňky, například zneškodňováním nežádoucích mikroorganismů. Pokud se ovšem výskyt ROS zvýší působením vnějších vlivů (UV záření, chemické látky), mohou tyto radikály poškozovat buněčnou DNA a přispívat k poškození kůže. Potenciál kávových slupek působit proti stárnutí pokožky byl poprvé popsán ve studii [36], kde Del Castillo navrhuje způsob jejich extrakce a následné použití v kosmetice. Patent založený na emulzi vody a olivového oleje s přídavkem 0,4 % KS v práškovém stavu, kdy vznikl KP s pH 5,44, který obsahoval vysoké množství fenolických látek, však nebyl dále studován nebo rozvíjen. Výsledky, které přispěly k prevenci stárnutí, přisuzovali autoři přirozeně se ve slupkách vyskytujícím antioxidantům (kofein, kyselina chlorogenová). Metodou *in vitro* byl anti-aging efekt ověřen ve studii [37]. Zde za použití keratinocytů (HaCaT) byla sledována antioxidační stabilita a ochrana při oxidačním poškození terc-butylhydroperoxidem (TBHP) v koncentraci 0,5 mM. Měření viability buněk probíhalo v čase 1, 6 a 24 h. Extrakt KS byla aplikován v množství 0,5 a 1 mg/ml. Zajímavým zjištěním bylo, že pokud byly buňky ošetřeny extraktem z KS v koncentraci 1 mg/ml, 24 h před aplikací TBHP, došlo u těchto buněk ke zvýšené odolnosti proti oxidačnímu stresu než u buněk, u kterých byl extrakt aplikován jen chvíli před aplikací hydroperoxidu. U těchto buněk nebyl pozorován významný rozdíl oproti kontrolní skupině (bez aplikace TBHP). Předpokládalo se, že dávka 1 mg/ml extraktu KS plně chránila testované buňky před poškozením oxidativním stresem. V další studii [38] byly použity buňky myších fibroblastů. Ty byly ozařovány UVB zářením a byl sledován vliv kyseliny chlorogenové (obsažené i v KS) na photoaging buněk, tedy na viabilitu a tvorbu ROS po ozáření. Nejprve byly provedeny testy na toxicitu, kdy byla životaschopnost buněk (90 %) pozorována u koncentrací kyseliny chlorogenové 50 µg/ml a nižších. Koncentrace

50 µg/ml byla následně studována v souvislosti s působením UVB záření na buňky. Ošetřené buňky vykazovaly v kožních fibroblastech pokles exprese kolagenu typu I oproti buňkám kontrolním. Výskyt matrix metaloproteináz (MMP) byl u obou vzorků srovnatelný a nedošlo zde k výrazné změně. Z výsledku je také zřejmé, že aplikace kyseliny chlorogenové v koncentraci 50 µg/ml významně zvýšila hladinu prokolagenu typu I. Dále byl sledován potenciál kyseliny chlorogenové inhibovat xantinoxidázu, což je enzym zodpovědný za tvorbu volných radikálů. Tento potenciál se u testované kyseliny potvrdil. Na základě dosažených výsledků dospěli autoři k závěru, že kyselina chlorogenová obsažená ve vedlejších produktech kávy má potenciál jako látka, která brání indukovanému poškození kůže UV zářením, tedy v určité míře zabraňuje photoagingu. [33, s. 287], [36], [37, s. 3–11], [38, s. 331]

Ochrana proti slunečnímu záření

Součástí slunečního záření je i záření ultrafialové (UV), jehož složky jsou zodpovědné za změny na kůži (photoaging), zejména pak UVB, které poškozuje DNA tím, že tvoří pyrimidinové dimery. K ochraně pokožky před škodlivým zářením slouží látky, u kterých byl prokázán ochranný faktor (sun protection factor = SPF). Studie [38] se zabývala určením SPF u kyseliny chlorogenové použité v různých koncentracích. U koncentrace 0,04 mg/ml byla zaznamenána hodnota $16,6 \pm 0,7$ SPF. Účinnost testované kyseliny je pravděpodobně dána její strukturou, obsahuje ve svém řetězci konjugovaný systém dvojných vazeb, což jí předurčuje jako látku k ochraně proti UV záření. Choquenet a kol. [39] hodnotili účinnost ochrany (kyseliny chlorogenové a kávové) proti UV záření a fotostabilitu *in vitro*. U zmíněných kyselin v koncentraci 10 % byly naměřeny hodnoty SPF od 6,2 do 10,1 při maximální absorpční vlnové délce 324 nm a 330 nm, což odpovídá části UVA spektra. Tyto polyfenolické kyseliny ovšem v emulzi nevykazovaly dobrou fotostabilitu. Problematikou fotostability kyseliny chlorogenové se dále zabýval ve své studii Rivelli [40], kde byl studován vodný roztok kyseliny chlorogenové v koncentraci 10 mg/ml a proměřen pomocí kapalinové chromatografie (HPLC) před a po ozáření UVA a UVB zářením. Výsledky ukázaly, že koncentrace kyseliny se po ozáření nelišila od neozářených vzorků a molekuly vykazovaly fotostabilitu vůči UVA a UVB záření. U této koncentrace kyseliny byl následně proměřen SPF proti UVA s kritickou vlnovou délkou 372 nm, naměřená hodnota SPF 146 ukazuje na vysokou účinnost kyseliny chlorogenové k ochraně proti UVA záření. Ve studii [41] byla dále kyselina chlorogenová zkoumána v koncentraci 40 µg/ml. Kyselina byla izolována z bobů *Coffea arabica*, a změřená

hodnota SPF byla rovna 16. Autor na základě výsledků uvádí, že kyselina chlorogenová má potenciál přispívat k prevenci stárnutí kůže způsobené UV zářením. Oliveira a kolektiv [34] sledovali UV ochranu KS zakomponovaných do filmu tvořeného bramborovým škrobem. Výsledky ukázaly, že zakomponování KS do filmu výrazně zvýšila absorpci v UV oblasti 200–400 nm, zejména u filmů obsahujících nejvyšší studované dávky KS (10 %). Ochrana proti UV záření je u KS vysvětlena přítomností kofeinu a kyseliny chlorogenové, dále může tuto zvýšenou ochranu vysvětlovat vysoké množství ligninu ve slupkách. Filmy se zakomponovanými KS také vykazovaly určitý stupeň opacity, který rovněž přispěl k minimalizaci průchodu UV záření filmem. Vliv KS na schopnost UV ochrany filmu je zobrazen na Obrázek 2. Z výše uvedených studií vyplývá, že kyselina chlorogenová je fotostabilní molekula pro oblast UVA i UVB a má prokazatelné fotoprotektivní vlastnosti, které závisí na její koncentraci. [33, s. 288], [34, s. 7], [38, s. 330–331], [39, s. 227–230], [40, s. 1005–1007], [41, s. 323–330]



Obrázek 2 Vliv KS na ochranu polymerního filmu s obsahem škrobu proti UV záření, [34, s. 7]

Antimikrobiální účinky

Mikroorganismy jako houby, plísně a bakterie jsou významnými faktory, které ovlivňují trvanlivost KP a způsobují jejich oxidační procesy během skladování, které následně znehodnocují KP. Jak již bylo zmíněno výše, kávové slupky obsahují spoustu látek

fenolické povahy, a dalších sloučenin, u kterých lze v určitých koncentracích pozorovat také antimikrobiální vlastnosti, a to jak proti gram pozitivním, tak gram negativním bakteriím a také kvasinkám. Mikrobiální aktivitu etanolových extraktů KS prokázala studie [35], pomocí stanovení hodnot MIC (minimální inhibiční koncentrace). V této studii byly vybrány mikroorganismy (MO) zahrnující jak gram pozitivní bakterie (*Staphylococcus aureus*, i jeho resistantní formu (MRSA – methicilin resistantní zlatý stafylokok), *Staphylococcus epidermis*), tak gram negativní bakterie (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*) a kvasinka (*Candida albicans*). Získané výsledky prokázaly, že extrakty KS vykazovaly antimikrobiální účinnost. Vodné extrakty KS vykazovaly MIC v rozmezí koncentrací od 31,3–250 µg/ml proti *S. aureus*, *S. epidermis*, *E. coli* a *K. pneumoniae*. Vodněalkoholické a alkoholické extrakty vykazovaly podobnou aktivitu vůči testovaným MO. Testy antimykotických účinků nevykazovaly aktivitu u žádných z testovaných extraktů proti *C. albicans*. Výsledky testovaných extraktů jsou uvedeny v Tabulka 1. Antimikrobiální aktivitu extraktu ze zelených kávových zrn, které jsou obaleny stříbrnou blankou, byla sledována Wagemakerem [42]. Pro stanovení byly použity základní MO (*S. aureus*, *E. coli*, *S. epidermis*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*). Inhibice byla hodnocena pomocí diskové difuzní metody, kdy bylo na disky nanášeno 50 µl vzorku. Inhibiční zóny u bakterií byly v rozmezí od 9–19 mm, všechny testované vzorky tedy v určité míře inhibovaly bakterie. Vysoký stupeň inhibice byl zaznamenán u kvasinky (*C. albicans*). Bioaktivní sloučeniny obsažené v KS mohou být zodpovědné za bakteriostatické působení extraktů. Na výše uvedených studiích se ukázalo, že káva a její vedlejší produkty mají potenciál snížit používání syntetických konzervačních přísad v KP. [33, s. 288–289], [35, s. 389–390], [42, s. 1695–1697]

Tabulka 1 Antimikrobiální aktivita různých extraktů KS vyjádřena jako minimální inhibiční koncentrace (MIC) [35, s. 389]

MIC [$\mu\text{g/ml}$]			
Druh MO	Vodný extrakt	Vodněalkoholický extrakt	Alkoholický extrakt
<i>S. aureus</i>	31,3	125	125
<i>S. aureus</i> (MRSA)	250	250	250
<i>S. epidermis</i>	62,5	62,5	62,5
<i>E. coli</i>	62,5	125	125
<i>K. pneumoniae</i>	31,3	31,3	31,3
<i>P. aeruginosa</i>	> 1000	> 1000	> 1000
<i>C. albicans</i>	> 1000	> 1000	> 1000

Účinky na celulitidu

Celulitida je označení pro změny na povrchu kůže, které se projevují zvrásněným a zvlňeným povrchem. Kůže se jeví jako tzv. pomerančová, tedy vzhledem připomíná pomerančovou kůru. Podle Hamishehkara [43] se celulitida vyskytuje u 85–98 % žen po pubertálním období a přetrvává v určité míře do dospělosti. Hlavní příčinou změn na kůži je hromadění tukových buněk v podkožním vazivu. Léčba a úprava povrchu kůže je často založena na lipolýze tukových buněk v tkáni. Jednou z látek, která prokazatelně podporuje lipolýzu tukových buněk je kofein. Využitelnost kofeinu obsaženého v KS poprvé ověřil Rodrigues [44]. V jeho studii byl popsán přípravek pro zlepšení vzhledu kůže s celulitidou, kde byl použitý kofein extrahován z KS a následně byl začleněn do nanostrukturovaných lipidových nosičů. [33, s. 289], [43, s. 1640–1644], [44, s. 496–501], [45, s. 252–257]

2.3.1.1 Hodnocení biofyzikálních charakteristik kůže po aplikaci přípravku s obsahem stříbrných kávových slupek

Jedna z prvních studií od Rodriguese [46] zabývající se bezpečností používání extraktu z KS pomocí *in vivo* a *in vitro* metod zároveň porovnávala bezpečnost a účinnost extraktu KS s kyselinou hyaluronovou. Při *in vitro* metodách byly pro hodnocení permeace kofeinu z extraktu použity Franzovy difúzní komůrky a jako modelová bariéra byla vybrána kůže

z prasečího ucha. Po 8 hodinách prošlo kůží velmi malé množství kofeinu z KS (20 % obsahu extraktu). Dále byly ve studii použity HaCaT keratinocyty a HFF-1 fibroblasty, na kterých nebyly pozorovány žádné cytotoxické účinky extraktů v koncentraci 1–10 mg/ml. Při testování *in vivo* byly na kůži dobrovolníků (oblast kolem očí) nanášeny dvě základní krémové matrice, kdy jedna formulace obsahovala extrakt z KS a druhá formulace obsahovala 1,5 % kyseliny hyaluronové (HyaCare Filler CL). Vliv těchto matric na kůži byl měřen pomocí korneometru a kutometru a také byly na začátku a po 28 dnech každodenní aplikace pořizovány fotografie kůže. Obsah vlhkosti v kůži byl měřen korneometrem v čase 0 a po 28 dnech studie. U přípravku s KS došlo ke zlepšení z hodnoty $54,74 \pm 6,57$ na $65,54 \pm 5,67$ korneometrických jednotek (k.j.). Hydratace byla u obou krémů podobná a nebyly pozorovány žádné statisticky významné rozdíly. Ani u jedné formulace nebyla pozorována změna v objemu vrásek kolem očí probandů, všichni dobrovolníci však při sensorickém hodnocení ocenili oba přípravky, co do konzistence, aplikace a příjemnosti podobným hodnocením. Tato studie ukázala, že KS mohou být účinnou složkou, s podobnými výsledky jako kyselina hyaluronová a mají pozitivní vliv na hydrataci a pevnost kůže. [46, s. 556–569]

Ve studii [47] hodnotil Rodrigues dráždivost na rekonstruovaných tkáních lidské *epidermis* (EpiSkinTM) a modelu epitelu lidské rohovky (SkinEthicsTMHCE) a také pomocí *in vivo* metod. Kožní dráždivost je definována jako vznik reverzibilního poškození kůže po aplikaci testované látky po dobu až 4 hodin. Pokud má být látka používána v KP musí být testována právě na kožní dráždivost a v případech, kdy se předpokládá kontakt s očním okolím, tak i dráždivost oční. Ve studii na kožní dráždivost byly hodnoceny tři extrakty KS (vodný, vodněalkoholický a alkoholický), které na kožní model působily po dobu 15 minut. Výsledky byly vyhodnoceny na základě počtu životaschopných buněk a uvolněných interleukinů IL-1 v médiu. Viabilita kožních buněk převyšovala u všech tří vzorků 50 % a vzorky byly vyhodnoceny jako nedráždivé. Absence dráždivých účinků naznačuje, že KS mohou být bezpečné pro lokální použití. Testy oční dráždivosti byly prováděny se stejnými extrakty, kdy na buněčný model látky působily 10 minut a poté byly předepsaným způsobem omyty. Životaschopnost buněk byla vyšší o 50 % u vodného a vodněalkoholového extraktu, ty byly vyhodnoceny jako nedráždivé. Extrakt alkoholický vykazoval viabilitu buněk 48 %, což je na pomezí dráždivé a nedráždivé látky, autor tuto skutečnost odůvodňoval vyšším množstvím alkoholu, který je sám o sobě pro oční okolí dráždivý. Pro bezpečné použití KS v kosmetice byly tedy na základě testů oční dráždivosti

vyhodnoceny jako nedráždivé vodný a vodněalkoholický extrakt KS. Jako *in vivo* metoda byl zvolen náplastový (patch) test na 20 zdravých dobrovolnících, kterým byla na volární předloktí aplikována gáza napuštěna 50 µl vodněalkoholického extraktu KS. Gáza byla zafixována náplastí. Tyto náplasti měli dobrovolníci připevněny po dobu 48 h. Oblast vystavena kontaktu s extraktem byla vyhodnocována pomocí bioinženýrských neinvazivních metod (korneometr, tewametr). Tento test prokázal, že vybrané extrakty nepůsobily iritaci kůže u žádného z 20 probandů. [47, s. 170–174]

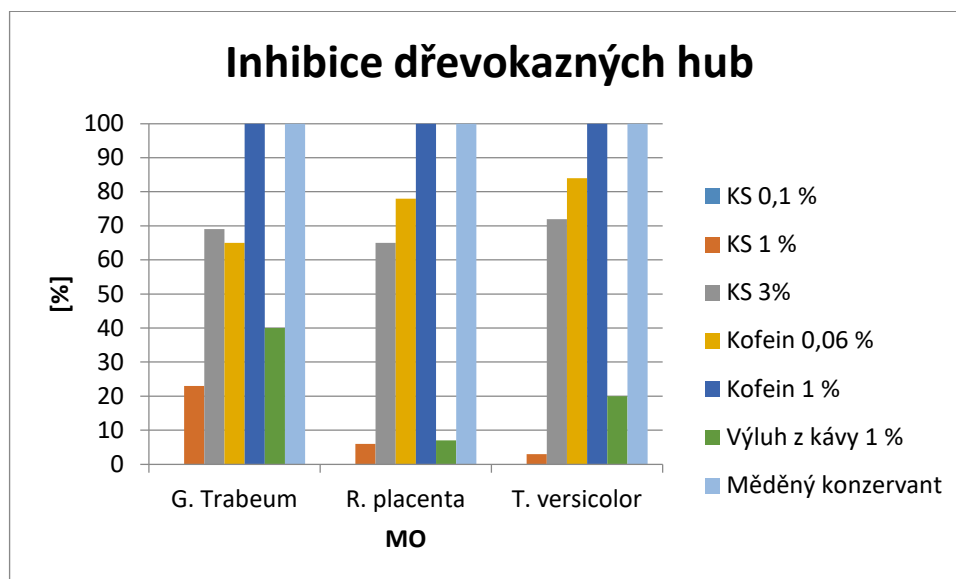
2.3.2. Využití stříbrných kávových slupek v nekosmetických oborech

Ochrana dřeva

Klasické chemické látky, které jsou používány při konzervaci dřeva, jsou postupně kvůli problémům spojených s jejich dopadem na životní prostředí nahrazovány. Zakázán je například arseničnan mědný, který má sice skvělé antifungální vlastnosti a působí proti hnilobě dřeva, ale jeho dopad na životní prostředí a kumulace této látky vedly k jeho zákazu používání. Při hledání účinných ekologických chemických látek pro konzervaci dřeva byly zkoušeny především rostlinné oleje (lněný, tungový) a výtažky z rostlin (třísloviny, stilbeny, destiláty z kůry stromů). Jako jedna z možných náhrad by mohly být kávové slupky. Ty obsahují mnoho fenolických látek jako je kofein, lakton kyseliny kafeoylchinové, kyselina feruoylchinová. [48, s. 1]

Ve studii [48] byly KS v podobě granulátu (pelet) extrahovány v horké vodě po dobu 1 h pomocí automatického extraktoru. Pro každou extrakci bylo použito 8 g KS a 80 ml vody. Získané extrakty byly studovány a testovány na ekotoxicitu, antifungální vlastnosti a jejich funkci při ošetřování dřeva proti hnilobě. Ze 100 g KS bylo extrakcí získáno 4,17 g suchého extraktu. Tyto extrakty byly analyzovány pomocí HPLC. Sloučeniny přítomné v nejvyšší koncentraci byly kofein a jeho deriváty (theobromin, theofilin), kyselina chlorogenová, kyselina ellagová, protokatechová a vanilová. V nízkých koncentracích byly nalezeny také třísloviny. Z extraktů byly následně připraveny roztoky o koncentraci 0,1, 1 a 3 %. Ty byly podrobeny testu inhibice růstu dřevokazných hub (*Rhodonía placenta*, *Trametes versicolor*, *Gloeophyllum trabeum*). U koncentrace 0,1 % nebyl pozorován inhibiční efekt oproti vzorkům bez inhibičních přísad. Koncentrace extraktu KS 1 % inhibovala *G. Trabeum* o 23 % a *R. placenta* o 7 %, ale neinhibovala *T. versicolor*. Nejvyšší účinnost u všech tří testovaných organismů, a to více jak 60 %

prokázal roztok s 3% koncentrací extraktu KS. Porovnání s roztoky kofeinu a běžně užívaným konzervantem dřeva je uveden níže (Obrázek 3).



Obrázek 3 Graf inhibice růstu dřevokazných hub, [48, s. 5]

Extrakt KS měl relativně nízkou ekotoxicitu, $EC_{50} = 2661$ mg/l a $EC_{20} = 1172$ mg/l. Běžně používaný konzervační prostředek na bázi mědi má toxicitu mnohem vyšší ($EC_{50} = 19$ mg/l). [48, s 4–5]

Obalové materiály

Jak již bylo zmíněno výše, vedlejší produkty výroby kávových zrn jsou materiály bohaté na lipidy, fenolické látky, polysacharidy. Všechny tyto látky mají u obalových materiálů potenciál zlepšit fyzikálně-chemické, mechanické a bariérové funkce. Zároveň velkou měrou přispívají k biodegradaci, na kterou je v poslední době kladen velký důraz, stejně tak i na koncept cirkulárního hospodářství a ekonomiky. Některé sloučeniny v KS mohou přispívat k tvorbě filmu a mají antifungální a antimikrobní potenciál. Jednou z variant využití KS při výrobě obalů je úprava vysokohustotního polyetyleny (HDPE). V poslední době lze pozorovat snahu zakomponovat do polymerní matrice polyetyleny tzv. zelené kompozity, ty by přispěly k termostabilitě, zlepšení fyzikálně-chemických a mechanických vlastností obalových materiálů. Kávové slupky jsou jeden z materiálů, který je jako plnivo matrice velmi výhodný, protože jako odpad během pražení zrn neobsahuje téměř žádnou vodu a je snadné s ním pracovat. Z dostupných studií je zřejmé, že KS mají zpevňující účinek na HDPE matrici. Už nejnižší přídatky KS do matrice výrazně zvýšily

termooxidační odolnost kompozitů, a to bez zhoršení mechanických vlastností, což může mít pozitivní vliv na vývoj nových polymerů s přírodními vlákny. Výsledky studie [49] ukazují, že zakomponování KS do matrice na bázi polyetylenu (PE) by mělo být v přídatku do 2 %, kdy byly pozorovány nejpriznivější výsledky statických, dynamických a mechanických zkoušek PE. [49, s. 10–11], [50, s. 311–319], [51, s. 1, 12]

Produkce mastných kyselin

Kávové slupky jsou bohaté na lipidy, které jsou složeny z mastných kyselin (MK). Při snaze o zpracování odpadů z kávového průmyslu se tedy objevily i teorie o možnosti získat z KS olej a z něj dále cenné MK. Tuto teorii potvrzuje studie [52], kdy byl olej získán hned dvěma způsoby a MK byly následně získány lipázami. Před samotnou extrakcí byly KS vysušeny v sušárně po dobu 24 h při 60 °C. První metoda pro získání oleje byla Soxhletova extrakce, kdy bylo pro extrakci oleje použito 150 ml hexanu a do patrony bylo naváženo 20 g KS. Extraktor byl v provozu 8 h při teplotě 70 °C. Druhou metodou pro získání oleje byla ultrazvukem asistovaná extrakce, která byla provedena třikrát vedle sebe při 30 °C a použito bylo vždy 50 ml hexanu na 20 g KS. Mezi jednotlivými metodami nebyly pozorovány žádné významné rozdíly ve výtěžcích, nicméně se ukázalo, že olej získaný metodou Soxhleta má lepší vlastnosti (viskozita, zbarvení), a proto byl tento dále použit pro výrobu MK metodou enzymatické hydrolýzy za použití čtyř komerčních lipáz. Nejúčinnější lipázou pro získání MK byla lipáza *Candida rugosa* (CRL), která u oleje zapříčinila zvýšení čísla kyselosti z 13,4 mg/g KOH na 37,5 mg/g KOH. Olej z KS obsahuje vysoké množství kyseliny palmitové C16:0 (> 35 %), kyseliny linolové C18:2 (> 30 %), a v menším množství pak kyseliny stearové C18:0, arachové C20:0, behenové C22:0 a olejové C18:1. Estery výše zmíněných kyselin byly zastoupeny ve stejném množství. Poměr nasycených a nenasycených MK v oleji činil 60:30. Kyseliny obsažené v KS se mohou uplatnit především v potravinářství a kosmetickém průmyslu. Do budoucna může mít získání MK z vedlejších produktů velký význam, protože se tímto procesem snižuje jednak množství odpadu a jednak náklady na výrobu MK, zároveň má tento proces přidanou hodnotu. [52, s. 519–524]

Vliv stříbrných kávových slupek na zdraví

Jak již bylo zmíněno výše, KS obsahují aktivní složky s antioxidačními účinky, vlákninu s nutriční hodnotou a další minoritní látky využitelné v potravinářství. Studie [53] sledovala účinnost látek obsažených v KS (kyselina chlorogenová, kofein) v extraktech ze slupek a jejich podíl na patogenezi onemocnění diabetu druhého typu. Cílem studie bylo

zhodnotit biologickou přístupnost a aktivitu. Účinky extraktů byly sledovány na slinivce břišní potkanů. Metabolity kyseliny chlorogenové a kofeinu chránily buňky slinivky břišní před rizikem vzniku diabetu. Denní podání extraktu z KS po dobu 35 dní významně snížil pankreatický oxidační stres a poškození proteinů. [53, s. 197–200]

Minerální složení KS a obsah vitamínů B stanovila studie [54]. Analýza zjišťovala výskyt třiceti minerálů včetně makrominerálů (vápník, chlorid, hořčík, fosfor, draslík, sodík, síra). Byl prokázán výskyt vápníku ve vysokém množství 1080 mg/100 g, autor uvádí, že by KS mohly být zdrojem jeho získávání pro potravinářské a farmaceutické účely. Vápník hraje klíčovou roli během neurotransmise, svalové kontrakce, dělení buněk a srážení krve. Kromě toho analýza vykazovala vysoké hladiny draslíku (972 mg/100 g), který je velmi důležitý pro udržování krevního tlaku a hořčíku (257 mg/100 g), ten je zásadní pro svalovou kontrakci, syntézu bílkovin a růst kostí. Stříbrné kávové slupky dále obsahovaly nezanedbatelné množství chloridů (12,3 mg/kg), fosforu (12,4 mg/kg), sodíku (110 mg/kg) a síry (51,9 mg/kg). Hodnocení 23 mikrominerálů ukázalo na přítomnost železa (238 mg/kg) a hliníku (89 mg/kg). Železo je důležitý mikronutrient, který hraje důležitou roli při tvorbě červených krvinek a dělení buněk a snižuje únavu, především při chudokrevnosti. V menším množství byly v KS zastoupeny mangan, měď, zinek, bor a molybden. Měď a mangan přispívají ke správnému vývoji kostí a tvorbě pojivové tkáně, měď také podporuje nervový systém. Kromě zdraví prospěšných minerálů byly analýzou zjištěny i zdraví nebezpečné a toxické prvky včetně arsenu (0,13 mg/kg), olova (0,25 mg/kg), rtuti a kadmia. Tyto těžké kovy mohou způsobovat různá zdravotní rizika a jsou potenciálními karcinogeny. Studie se dále zabývala obsahem vitamínu B2 (riboflavin) a B3 (niacin) v KS. Niacin se vyskytuje v KS ve vyšším množství než riboflavin. Obsah niacinu byl studií stanoven na 2,51–3,07 µg/g, naproti tomu obsah riboflavinu se rovnal 0,18–0,20 µg/g. Stejných výsledků vyššího obsahu niacinu oproti riboflavinu docílil i Wachamo [55], který hodnotil jejich obsah v kávových nápojích. Hladiny niacinu přesněji kyseliny nikotinové úzce souvisí s profilem pražení kávových zrn, kyselina je odvozena od trigonellinu, který se během pražení rozkládá na těkavé (pyridinové a pyrolové deriváty) i netěkavé látky (kyselina nikotinová), právě v závislosti na stupni pražení. Přítomnost těchto dvou důležitých vitamínů dává KS další přidanou hodnotu, kterou lze využít v potravinách s obsahem KS. [54, s. 1–5], [55, s. 1–10]

3 CÍLE PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo vytvořit ucelenou rešerši zaměřenou na získávání a chemické složení zelené i pražené kávy. Dále pak shrnout poznatky o stříbrných kávových slupkách a jejich chemickém složení, zaměřit se na možnosti jejich využití, s akcentem na využití v kosmetice, ale i v nekosmetických oborech.

Dále prakticky ověřit přípravu extraktů ze stříbrných kávových slupek a jejich charakterizaci a následně takto získané extrakty aplikovat do různých kosmetických vehikul. U vyrobených základů porovnat vliv obsahu extraktů z KS pomocí neinvazivních bioinženýrských metod a následně je i sensoricky zhodnotit.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 METODIKA

4.1 Použité chemikálie, pomůcky a zařízení

Kávové slupky dodala pro experiment pražírna Pra-Ka-Čer Otrokovice. Slupky pocházely z odrůd Brasil Santos, Nicaragua, Tanzanie, Honduras marcala. Vzorek KS vidíme na Obrázek 4.



Obrázek 4 Stříbrné kávové slupky

Pro experiment byly použity následující pomůcky:

- Laboratorní sklo
- Třecí miska s tloučkem
- Büchnerova nálevka
- Filtrační papír KA 4, modrá páska
- Miska na měření tenziometrie
- Automatická mikropipeta Thermo o objemu 200–1000, 2–20 μl
- Sterilní pipetovací špičky o objemu 200, 1000 μl
- Sterilní plastové Petriho misky pro kultivaci 90 \times 15 mm
- Sterilní skleněné Petriho misky 90 \times 15 mm
- Sterilní plastové zkumavky s víčkem na densilometrii

- Skleněná láhev o objemu 500 ml
- Očkovací klička
- Eppendorf zkumavky o objemu 0,5 ml
- Sterilní jehla
- Sterilní disky Hemidea s aplikátorem
- Mikrostříkačka Hamilton

Pro experiment byly použity následující chemikálie:

- Dichlormethanol 99,9%, IPL (Česká republika)
- Ethanol 96%, VWR (Francie)
- Destilovaná voda
- Mueller–Hinton agar MHA (Indie)
- Sabouraudův agar (Indie)
- Fyziologický roztok
- pufr, pH 4
- pufr, pH 7
- Bezvodý síran sodný, Lukeš (Česká republika)
- Kofein, Penta (Česká republika)
- Glycerol bezvodá p. a., Lukeš (Česká republika)
- Mandlový olej rafinovaný 100% (www.nature-store.cz)
- Slunečnicový olej, High Oleic (www.nature-store.cz)
- Bamacké máslo bio (Ghana)
- Kakaové máslo Bio (www.nature-store.cz)
- Včelí vosk surový (www.nature-store.cz)
- Ricinový olej LZS (www.nature-store.cz)
- Cetyl alkohol (www.nature-store.cz)

- Olivoil Avenate Emulsifier (www.nature-store.cz)
- Konzervační směs Dermosoft® 1388 eco (www.nature-store.cz)
- Sodium laureth sulfát (70%), Enaspol a. s. (Česká republika)
- Cocamidopropyl betain, Sigma Aldrich (Německo)
- Cocamide DEA, Sigma Aldrich (Německo)
- Carbomer (Plate Count Agar), Himedia (Indie)
- Xanthanová guma, Fluka (Francie)
- Hydroxid sodný, Sigma Aldrich (Německo)
- Chlorid sodný, LACH-NER s. r. o. (Česká republika)
- Dodecylsulfát sodný, Sigma Aldrich (Česká republika)

Pro experiment byly použity následující přístroje:

- Vakuová vývěva
- Laboratorní váhy KERN 440-47 (Německo)
- Vařič ETA 2107
- Sušárna MEMMERT UFE 400
- Tensiometr – KRÜSS-EasyDyne S (Německo)
- Wilhelmydo destička (Německo)
- pH/mV metr Eltec CPH51 (Česká republika)
- pH sonda THETA90 HC 103 (Česká republika)
- Magnetické míchadlo Heidolph MR 1000 (Německo)
- Densi-La-Metr Erba Lachema (Česká republika)
- Vortex Heidolph REAX top (Německo)
- Plynový kahan Fuego
- Laminární box Clean Air (Nizozemsko)
- Autokláv Wolf SANOclav Labortechnik AG (Německo)

- Mikrobiologický inkubátor Memert GmbH (Německo)
- Ultrazvuková lázeň KRAINTEK K-10 LE (Česká republika)
- Analytické váhy Nimbus NBL 254i (Německo)
- Modulární plynový chromatograf Master GC, DANI Instruments S.p.A. (Itálie)
- Rotační viskozimetr Myr V2-L (Španělsko)
- Spindl L3, PB, PC, PE (Španělsko)
- Homogenizátor Heidolph RZR 2020 (Německo)
- Dispergační nástavec na homogenizátor (Německo)
- Stanice MPA5 Courage+Kazaka electronic GmbH (Německo)
- Sonda Corneometr CM 825 Courage+Kazaka electronic GmbH (Německo)
- Sonda Tewametr TM 300 Courage+Kazaka electronic GmbH (Německo)
- pH metr Skin-pH-Meter pH 905 Courage+Kazaka electronic GmbH (Německo).
- Lednice Electrolux (Německo)
- Spektrofotometr UV-VIS/NIR, Jasco V-750 (Německo)
- Software VWSP-966, SPF/PA Calculation, Jasco (Německo)
- Teploměr

4.2 Použité mikroorganismy

Pro antibakteriální stanovení účinnosti extraktů z KS byly použity mikroorganismy, které byly získány z České sbírky mikroorganismů (CCM):

- *Candida albicans* CCM 8275
- *Escherichia coli* CCM 3954
- *Staphylococcus aureus* CCM 3953

4.3 Vlastní experiment

Při vlastním experimentu byly z KS odrůd Brasil Santos, Nicaragua, Honduras marcala, Tanzanie připraveny extrakty s použitím různých rozpouštědel (voda, dichlormethanol, etanol), které byly dále testovány na obsah kofeinu a jejich antimikrobiální aktivitu.

U vodných extraktů pak byly stanoveny jejich základní chemické parametry (pH, povrchové napětí).

4.3.1. Příprava extraktů ze stříbrných kávových slupek

Vodné extrakty z KS byly připraveny za studena i za horka. Pro přípravu extraktů s organickými rozpouštědly byla použita ultrazvuková lázeň.

4.3.1.1 Macerace za studena

Kávové slupky různých odrůd byly rozmělněny v třecí misce s tloučkem na práškovou konzistenci. Pro každý typ extraktu bylo použito vždy 8 g KS a 93 ml rozpouštědla. Rozemleté KS byly naváženy s přesností 0,01 g do kádinky o objemu 250 ml, k nim bylo následně přidáno 93 ml destilované vody. V případě přípravy macerátu, byly slupky zality studenou destilovanou vodou. Kádinka byla po dobu macerace zakryta parafínem. Stanovená doba macerace za studena byla 24 hodin. Po uplynutí stanoveného času, byl macerát zfiltrován pomocí Büchnerovy nálevky přes filtr (modrá páska) za použití vakuové vývěvy. Získaný macerát v objemu cca 75 ml byl následně uchováván v lednici při teplotě 4 °C.

4.3.1.2 Extrakce za tepla

Pro přípravu extraktu za tepla bylo naváženo stejné množství jako při přípravě macerátu, s tím rozdílem, že rozmělněné KS byly zality destilovanou vodou (93 ml) a kádinka byla umístěná na vodní lázeň. Směs byla zahřívána na teplotu 60 °C po dobu 3 hodin. Poté byl extrakt z lázně odstaven a chlazení probíhalo volně na vzduchu. Zfiltrování bylo provedeno po 20 hodinách po odstavení stejným způsobem jako u macerátu. Takto získaný extrakt o objemu cca 50 ml byl uchováván v lednici při teplotě 4 °C.

4.3.1.3 Příprava nálevu

Pro přípravu nálevu bylo použito stejné množství rozmělněných KS i stejné množství destilované vody jako tomu bylo v předchozích případech s tím rozdílem, že destilovaná voda byla přivedena k varu a navážené slupky byly vařící vodou přelity. Slupky byly louhovány 15 minut a poté byl nálev filtrován za horka přes filtr (modrá páska) na Büchnerově nálevce. Takto získaný nálev o objemu cca 80 ml, byl po volném chlazení na vzduchu, uchováván v lednici při teplotě 4 °C.

4.3.1.4 *Extrakce pomocí organických rozpouštědel*

Extraktů za použití organických rozpouštědel (dichlormethanol a etanol) byly připraveny za pomoci ultrazvukové lázně KRAINTEN K-10 LE. Extrakce probíhala po dobu 20 minut při teplotě 30 °C. Pro přípravu extraktů byly použity 2 g rozmělněných KS, které byly přelity 40 ml příslušného rozpouštědla. Poté byly extraktů filtrovány pomocí Büchnerovy nálevky přes filtr (modrá páska) za použití vakuové vývěvy. Získané extraktů byly uchovávány v přidavku bezvodého síranu sodného v lednici při teplotě 4 °C. Hrdla baněk s obsahem extraktů byla uzavřena zátkou a následně utěsněna parafinem, aby se předešlo případnému navázání vody na extrakt.

4.3.2. Stanovení obsahu kofeinu v extraktu ze stříbrných kávových slupek pomocí plynové chromatografie

Pro stanovení obsahu kofeinu v extraktu v přítomnosti dichlormethanolu byl použit modulární plynový chromatograf – DANI Master GC Fast Gas Chromatograph obsahující kolonu – Zebron™ ZB-5MS, (GC kapilární kolona 30 m × 0,25 mm × 0,5 μm, nepolární). Jako metoda analýzy byla zvolena metoda esenciální oleje, Silice 4. Parametry pro injektor/nástřik byly T = 200 °C, průtok = 1 ml/min, dělič toku 1: 25, oplach septa 5 ml/min. Objem nástřikového vzorku činil 1 μl. Teplotní profil analýzy byl následující: počátek 4 min na 40 °C, pak ohřev na 120 °C rychlostí 8 °C/min → do 200 °C rychlostí 15 °C/min → do 300 °C rychlostí 25 °C/min; konec 5 min při 300 °C. Celkový čas analýzy činil 28,33 min. Pro analýzy byl použit detektor – FID, T = 240 °C, průtok = inert/aux dusík 25 ml/min, vodík 40 ml/min, vzduch 280 ml/min.

Příprava kalibračních roztoků kofeinu

Pro stanovení přesného množství kofeinu v extraktu v dichlormethanolu byla připravená sada kalibračních roztoků kofeinu. Všechny roztoky byly připraveny ze zásobního 5% roztoku kofeinu, který byl připraven navážením 1,25 g (0,0001 g) kofeinu a jeho rozpuštěním v 25 ml dichlormethanolu. Do odměrných baněk o objemu 5 ml byly poté nepipetovány skleněnou 1ml pipetou přesné objemy tak, aby byla vytvořena kalibrační řada o koncentraci 1; 0,5; 0,1; 0,02; 0,01; 0,005; 0,0025 % kofeinu. Takto připravené roztoky byly proměřeny metodou Silice 4 na plynovém chromatografu společně se vzorkem extraktu. Poté byla vytvořena kalibrační přímka a z ní byl stanoven přesný obsah kofeinu ve vzorku extraktu.

4.3.3. Mikrobiologické testování extraktů ze stříbrných kávových slupek

Příprava živné půdy MHA

Pro přípravu 400 ml Mueller-Hinton živné půdy bylo nezbytné navážit 15,2 g MHA s přesností na 0,0001 g do infuzní láhve a rozpustit ji ve 400 ml destilované vody. Sterilizace proběhla v autoklávu při teplotě 121 °C po dobu 15 minut. Sterilní živná půda byla následně v laminárním boxu rozlita do sterilních plastových Petriho misek.

Příprava živné půdy SBR

Agar pro kvasinkovou kultivaci byl připraven v množství 400 ml. Pro jeho přípravu bylo naváženo 26 g agaru s přesností 0,0001 g a agar byl rozmíchán v 400 ml destilované vody. Směs byla sterilizována v autoklávu při teplotě 121 °C po dobu 21 minut. Sterilní kultivační médium bylo následně v laminárním boxu rozlito do sterilních Petriho misek.

Příprava fyziologického roztoku

Pro přípravu 500 ml fyziologického roztoku bylo naváženo 4,3 g chloridu sodného s přesností na 0,0001 g. Ten byl následně rozpuštěn v 500 ml destilované vody a poté proběhla sterilizace v autoklávu při teplotě 121 °C po dobu 15 minut.

Disková difúzní metoda

Antibakteriální účinnost vodných, dichlormethanolových a etanolových extraktů z KS a roztoků kofeinu byla stanovena pomocí diskové difúzní metody (DDM). Pro samotné testování byly použity mikroorganismy *Staphylococcus aureus* jako zástupce gram pozitivních koků, *Escherichia coli*, tedy gram negativní tyčinka a kvasinka *Candida albicans*. Všechny mikroorganismy byly před použitím čerstvě očkované na živnou půdu křížovým roztěrem a inkubovány při teplotě inkubace (37 °C pro bakterie po dobu 24 h, 25 °C pro kvasinky po dobu 72 h). Z takto připravených kultur bylo odebráno malé množství inokula sterilní vyžíhanou kličkou, které bylo zamícháno ve zhruba 5 ml fyziologického roztoku v plastové zkumavce. Roztok byl protřepán na vortexu a proměřen na densitometru na požadovanou hodnotu zákalu 0,5 McF (MacFarlanda). Práce probíhala za aseptických podmínek v laminárním boxu. Pipetou se sterilní špičkou byl odebrán 1 ml roztoku mikroorganismu. Roztok byl aplikován na příslušnou agarovou plotnu a krouživými pohyby rozlit po celé ploše misky. Přebytek roztoku byl pipetou odsát a inokulum se nechalo schnout. Na takto připravená agarová média byly rozloženy 3–4 sterilní disky o průměru 6 mm a na ně bylo následně pomocí mikropipety aplikováno

10 µl testovaného vzorku (extraktu). Poté byla miska uzavřena víčkem. Kultivace bakterií probíhala v inkubátoru při 37 °C po dobu 24 hodin. Kultivace kvasinky probíhala při laboratorní teplotě, tj. 25 °C po dobu 72 hodin. Po uplynutí doby kultivace byly změřeny a odečteny inhibiční zóny kolem aplikovaných disků. Výpočet pro velikost inhibiční zóny popisuje rovnice (1).

$$\text{velikost inhibiční zóny} = \frac{\varnothing \text{ inhibiční zóny} - \varnothing \text{ disku}}{2} \quad (1)$$

4.3.4. Charakterizace chemických vlastností extraktů ze stříbrných kávových slupek

Připravené vodné extrakty byly testovány na základní chemické vlastnosti jako je pH či povrchové napětí. Tyto hodnoty byly měřeny k ověření vlastností pro následné použití extraktů do připravovaných KP. Z tohoto důvodu byly připraveny 1% roztoky extraktů a to tak, že do 25ml odměrné baňky bylo vždy nepipetováno příslušné množství extraktu a roztok byl doplněn destilovanou vodou po rysku.

Měření povrchového napětí

Hodnoty povrchového napětí byly měřeny metodou Wilhelmyho destičky na tenziometru KRÜSS-EasyDyne S. Wilhelmyho destička byla před každým použitím opláchnuta v destilované vodě a etanolu. Poté vyžihána nad plamenem plynového kahanu do zčervenání a ponechána volně na Petriho misce do zchladnutí. Do skleněné misky určené pro měření povrchového napětí na tenziometru byl vždy nalit příslušný roztok a miska byla umístěna do tenziometru. Wilhelmyho destička byla umístěna nad roztok tak, aby se na hladině roztoku odrazil její odraz v těsné blízkosti s destičkou. Poté byl přístroj vynulován a následovalo samotné měření povrchového napětí. Deska byla do přístroje ponořena do hloubky 3 mm a poté vytažena těsně nad povrch. Měření probíhalo pětikrát vedle sebe při teplotě 25,5 °C. Jako výsledek měření byl brán vždy průměr z pěti naměřených hodnot. Měření bylo opakováno třikrát pro příslušný vzorek extraktu. Před samotným měřením bylo vždy nezbytné změřit povrchové napětí destilované vody.

Stanovení hodnoty pH u extraktů s KS

Před vlastním měřením byla sonda pro měření pH kalibrována pufráčními roztoky o pH 4 a 7. Každý ze vzorků extraktů byl proměřen 5 krát vedle sebe. Ze získaných hodnot byly vždy vypočítány průměrné hodnoty.

4.3.5. Příprava krémů s využitím extraktů ze stříbrných kávových slupek

Krémy byly vyrobeny tak, že obsah vody v receptuře byl nahrazen příslušným extraktem z KS (nálev, macerát, extrakt). Společně s krémy s obsahem extraktů z KS byl vyroben vždy srovnávací vzorek, kde byl obsah vody ve formulaci zachován.

Všechny emulzní prostředky byly vyrobeny tak, že do kádinky o objemu 100 ml byly s přesností 0,0001 g naváženy všechny složky olejové fáze (mandlový olej, bambucké máslo, kakaové máslo, ricinový olej, emulgátor). Do druhé kádinky o objemu 100 ml byla odvážena vždy voda či příslušný extrakt z KS, glycerol a konzervant. Obě kádinky byly poté umístěny na vodní lázeň a zahřívány na teplotu cca 50 °C, tj. teplotu tání tukové fáze. Kádinka s olejovou fází byla umístěna pod homogenizační zařízení Heidolph RZR 2020 a za stálého míchání byla do olejové fáze přidána fáze vodná. Homogenizace celé směsi probíhala až do jejího zchladnutí, tj. cca 10 minut. Vyrobený krém byl následně uchován v lednici při teplotě 4 °C. Rámcové složení krému uvádí Tabulka 2.

Tabulka 2 Složení krému

Surovina	Funkce	Obsah [%]	Navážka [g]
Voda/Extrakt z KS	Rozpouštědlo	66	33
Glycerol	Humektant	4	2
Dermosoft	Konzervant	2	1
Mandlový olej	Emolient	10	5
Bamacké máslo	Emolient	4	2
Včelí vosk	Emolient	2	1
Kakaové máslo	Emolient	2	1
Ricinový olej	Emolient	2	1
Olivoil	Emulgátor	8	4

4.3.6. Příprava tělového lotionu s využitím extraktů ze stříbrných kávových slupek

Tělový lotion byl připraven podobně jako krém, tzn. že do kádinek o objemu 100 ml byly zvlášť naváženy a přesností 0,0001 g olejová a vodná fáze. Ty byly umístěny na vodní lázeň do rozpuštění složek tvořící olejovou fází (cca 50 °C). Poté byla za stálého míchání

olejové fáze na homogenizéru přidána fáze vodná. Vyrobený lotion byl míchán do zchladnutí, tj. cca 10 minut. Vytvořená emulze O/V byla uchovávána v lednici při teplotě 4 °C. I tento typ formulace byl připraven jednak s vodou a jednak s extrakty z KS . Složení lotionu je uvedeno v Tabulka 3.

Tabulka 3 Složení tělového lotionu

Složka	Funkce	Obsah [%]	Navážka [g]
Voda/Extrakt z KS	Rozpouštědlo	68	34
Glycerol	Humektant	3	1,5
Dermosoft	Konzervant	2	1
Slunečnicový olej	Emolient	12	6
Bamacké máslo	Emolient	10	5
Olivoil	Emulgátor	3	1,5
Cetyl alkohol	Emulgátor	2	1

4.3.7. Stanovení hodnoty SPF u vyrobených krémů a lotionů

Pomocí spektrofotometru UV–VIS/NIR Jasco V–750 byla měřena hodnota transmittance a z ní následně vypočítány příslušné hodnoty SPF.

Vlastní měření probíhalo tak, že jednotlivé homogenní vzorky krémů a tělových lotionů byly aplikovány na substrát (PMMA destička) v množství 1,3 mg/cm² pomocí injekční stříkačky a rozetřeny prstem předepsaným způsobem [56]. Desky s jednotlivými vzorky byly proměřeny v rozmezí vlnových délek 290–400 nm. Měření transmittance probíhalo celkem na pěti místech každého vzorku substrátu. Získané hodnoty byly vyhodnoceny pomocí softwaru VWSP–966 (SPF/PA Calculation). Software pracuje s výpočty (2) a (3).

$$SPF \% T = \frac{\sum_{290}^{400} T(\lambda) \cdot E(\lambda) \cdot R(\lambda)}{\sum_{290}^{400} E(\lambda) \cdot R(\lambda)} \quad (2)$$

$$SPF = \frac{\sum_{290}^{400} E(\lambda) \cdot R(\lambda)}{\sum_{290}^{400} T(\lambda) \cdot E(\lambda) \cdot R(\lambda)} \cdot 100 \quad (3)$$

Kde:

SPF – zaokrouhlená celočíselná hodnota ekvivalentu SPF (1 až 50), pokud je hodnota vyšší než 50 zobrazuje se jako 50+

$E(\lambda)$ – energetické rozhraní světelného zdroje podle normy Austrálie/Nový Zéland (AS/NZS 4399:1996)

$R(\lambda)$ – referenční akční spektrum CIE pro erytém (CIE J.6: 17-22, 1987)

$T(\lambda)$ – difúzní transmittanční spektrum (290 až 400 nm)

4.3.8. Senzorické hodnocení vyrobených krémů a lotionů

K sensorickému hodnocení bylo předloženo celkem 8 vyrobených vzorků (4 formulace tělového lotionu a 4 formulace krému). Sada vzorků byla označena písmeny A až H a předložena k hodnocení 16 hodnotitelům. U předložených vzorků byla hodnocena roztíratelnost, barva a vůně. Hodnocení probíhalo pomocí jednostranné párové porovnávací zkoušky a pomocí zkoušky pořadové. Výsledky byly zaznamenány do sensorického dotazníku (Příloha I), který obdržel každý z hodnotitelů.

4.3.8.5 Párová porovnávací zkouška jednostranná

Jednostranná párová porovnávací zkouška byla použita pro hodnocení roztíratelnosti předložených dvojic. Nejprve byly porovnány základy formulací se svými analogy s obsahem macerátu z KS. Poté byla roztíratelnost srovnávána u formulací tělového lotionu a krému obsahující stejný typ extraktu.

Samotné posuzování probíhalo tak, že hodnotitelé si pomocí špachtle nanесли posuzované vzorky na volární stranu předloktí a jejich roztíráním pomocí prstu hodnotili pak jejich roztíratelnost. Výsledky byly zaznamenány do sensorického dotazníku a ty byly následně zpracovány pomocí Microsoft Office Excel 2010, na hladině významnosti 5 %. Cílem hodnocení bylo určit, zda je jeden z předložené dvojice vzorků lépe roztíratelný než vzorek druhý. Pro každou zkoušku bylo spočítáno testové kritérium (4) a kritický obor (5), (6). Pokud hodnota testového kritéria padla do kritického oboru a platilo $F \geq F_{\text{krit}}$, byla nulová hypotéza zamítnuta a přijata hypotéza alternativní.

Porovnávány byly tyto dvojice:

- tělový lotion základ/tělový lotion s macerátem z KS
- krém základ/krém s macerátem z KS

- tělový lotion s macerátem z KS/krém s macerátem z KS
- tělový lotion s extraktem z KS/krém s extraktem z KS
- tělový lotion s nálevem z KS/krém s nálevem z KS

$$F = \frac{n_A}{n - n_A + 1} \quad (4)$$

$$F \geq F_{1-\frac{\alpha}{2}}(v_1; v_2) \quad (5)$$

$$v_1 = 2(n - n_A + 1)$$

$$v_2 = 2 \cdot n_A \quad (6)$$

Kde:

n – celkový počet posuzovatelů

n_A – Počet posuzovatelů, kteří zvolili vzorek A

4.3.8.6 Pořadová zkouška

Pořadová zkouška byla zvolena pro hodnocení dvou skupin vzorků. V první skupině se hodnotila roztíratelnost u 4 předložených vzorků (tělový lotion základ, krém základ, tělový lotion s macerátem z KS a krém s macerátem z KS). Hodnotitele přiřazovaly pořadí od 1 do 4 pro vzorky dle snadnosti roztírání (1 – velmi dobře roztíratelný, 4 – spatně roztíratelný). Druhá skupina byla složena ze šesti hodnocených vzorků, kdy všechny vzorky obsahovaly jeden z připravených extraktů z KS (tělový lotion s macerátem z KS, krém s macerátem z KS, tělový lotion s extraktem z KS, krém s extraktem z KS, tělový lotion s nálevem z KS a krém s nálevem z KS). U této skupiny posuzovaných vzorků byla hodnocena sytost jejich béžové barvy a jejich kávová vůně. Hodnotitelé opět přiřazovali vzorkům pořadí dle zadání v sensorickém dotazníku. Jednalo se o zkoušku s nucenou volbou, hodnotitelé tedy měli každému vzorku přiřadit konkrétní pořadí. Výsledky byly opět zaznamenány do sensorických dotazníků a ty byly následně zpracovány v Microsoft Office Excel 2010. Pomocí Friedmanova testu na hladině významnosti 1 %, dále pak bylo pomocí Némenyho testu určeno, mezi jakými vzorky je rozdíl v hodnoceném znaku na hladině významnosti 1 %. Opět bylo spočteno testové kritérium podle rovnice (7).

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

(7)

Kde:

n – počet posuzovatelů

R – počet posuzovaných vzorků

T_i^2 – druhá mocnina sumy součtu pořadí

4.3.9. *In vivo* hodnocení vyrobených krémů a tělových lotionů

Hodnocení účinnosti vyrobených krémů a tělových lotionů s obsahem extraktů z KS se zúčastnilo 5 dobrovolnic ve věku od 24 do 44 let. Dobrovolnice byly poučeny o průběhu experimentu a seznámeny s možnými riziky spjatými s aplikací přípravků na kůži. Dále byly poučeny o tom, že v průběhu experimentu by měly omezit fyzickou aktivitu a na aplikovaná místa nenanášet žádné další KP, ani testovaná místa neomývat. Před začátkem měření vyplnila každá účastnice dotazník (Příloha II) zjišťující její zdravotní stav a také individuální informovaný souhlas (Příloha III).

Samotné měření probíhalo v době 6–8. 4. 2022 v klimatizované místnosti ($T = 22,0\text{--}24,0$ °C, $RH = 30\text{--}33$ %). Z vyrobených formulací byly odebrány pomocí injekčních stříkaček vzorky a ponechány při laboratorní teplotě v exsikátoru.

Příprava roztoku pro předpravu pokožky

Pro přípravu roztoku na odmaštění byl použit fyziologický roztok, který byl připraven navážením 0,9 g chloridu sodného s přesností na 0,0001 g. A navážka byla kvantitativně převedena do 100 ml odměrné baňky a doplněna destilovanou vodou po rysku. Fyziologický roztok byl použit pro přípravu 0,5% roztoku SDS. Na analytických vahách bylo naváženo 0,5 g SDS s přesností na 0,0001g. Navážka byla rozpuštěna v malém množství fyziologického roztoku v 50 ml kádince a kvantitativně převedena do 100 ml odměrné baňky a doplněna fyziologickým roztokem po rysku.

Při vlastním testování byla dobrovolnicím pokožka volárního předloktí nejprve odmaštěna pomocí 0,5% roztoku sodium lauryl sulfátu (SDS) ve fyziologickém roztoku (0,9% roztok chloridu sodného), kterým byly napuštěny proužky filtračního papíru o rozměrech 4×2 cm, které byly na jednotlivá testovaná místa volárního předloktí přiloženy. Přiložené

filtrační papíry byly zafixovány náplastí po dobu 4 h. Na levé ruce bylo tímto způsobem odmaštěno celkem 5 ploch (4 plochy se vzorky a jedno místo kontrolní – K), kontrolní místo bylo místo, kde byl umístěn napuštěný proužek filtračního papíru, ale nenanášel se pak na něj žádný z testovaných vzorků a místo sloužilo tak jako kontrola obnovy stavu pokožky po odmaštění. Na pravé ruce byly odmaštěny plochy 4. Takto ošetřená místa byla po uplynutí doby odmaštění označena fixem a poté proměřena pomocí speciálního zařízení, které je schopno proměřit hydrataci, trans epidermální ztrátu vody (TEWL) a pH (MPA stanice, Courage Khazaka). Jedno testované místo na levé ruce sloužilo jako místo pro zjištění hodnot přirozeného stavu pokožky dobrovolnic (P) a proto bylo bez předešlé úpravy.

Vlastní měření probíhalo tak, že na každém vyznačeném místě bylo změřeno vždy 25 hodnot TEWL pomocí sondy Tewametr TM 300, 5 hodnot hydratace pomocí sondy Corneometr CM 825 a nakonec 1 hodnota pH pomocí pH metru 905. Poté bylo na vyznačená místa (mimo místa P a K) aplikováno 0,1 ml vzorku pomocí injekční stříkačky a pomocí plastové hokejky byl vzorek rozetřen po celé vyznačené ploše. Měření hydratace, TEWL a pH pak probíhalo v čase 1, 2, 3, 4 a 24 h od nanesení vzorků.

Výsledky měření byly následně zpracovány v Microsoft Office Excel 2010. U hodnot TEWL bylo vždy prvních deset naměřených hodnot, pro odstranění chyb a zvýšení relevantnosti měření, zanedbáno. Hodnoty hydratace a pH byly podrobeny testu odlehlých hodnot (Dean–Dixon). Poté byl pro všechny měření vypočten aritmetický průměr a směrodatná odchylka. Pro interpretaci výsledků byly použity stupnice fyziologické hydratace, TEWL a pH pokožky.

Stupnice hydratace:

- Normální (45 k.j. a více)
- Suchá (30–44 k.j.)
- Velmi suchá (29 k.j. a méně)

Stupnice TEWL:

- Výborný stav ($0\text{--}9 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$)
- Dobrý stav ($10\text{--}14 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$)
- Normální stav ($15\text{--}25 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$)

- Nepříznivý stav ($26 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ a více)

Stupnice pH pro ženy:

- Kyselé (3,5 a méně až 4,3)
- Neutrální (4,3–5,5)
- Zásadité (5,5–6,5 a více)

4.3.10. Příprava gelů s využitím extraktů ze stříbrných kávových slupek

Pro přípravu gelů s obsahem extraktů z KS byl použit carbomer. Vlastní příprava gelů probíhala tak, že do 100 ml kádinky bylo naváženo 0,2 g carbomeru s přesností na 0,0001 g, k němu byla přidána destilovaná voda nebo extrakt z KS (32,7 g). Směs se nechala odstát přes noc. Následně byla umístěna na magnetické míchadlo (Heidolph MR 1000) a za stálého míchání byl přidán etanol (15,6 g). Po důkladné homogenizaci byl postupně přikapáván 5% roztok NaOH a průběžně bylo pomocí pH-metru (Eltec CPH51) měřeno pH gelu až jeho pH dosáhlo na hodnotu 6. U gelů s obsahem extraktů z KS musel být zvolen odlišný postup přípravy než u gelu bez obsahu extraktů z KS, jelikož nedošlo k patřičnému zvýšení viskozity. Proto bylo nezbytné nejprve připravit směs tvořící 0,4 g carbomeru a 32,5 g příslušného extraktu z KS. Přídavek NaOH musel být pro výslednou hodnotu pH 6 také navýšen. Složení gelů uvádí Tabulka 4.

Tabulka 4 Složení připravovaných gelů

Složka	Procentuální zastoupení složek [%]	Navážka na 50 g přípravku [g]
Voda/extrakt KS	Do 100	32,7
Carbomer	0,4/0,8	0,2/0,4
Etanol (96%)	30	15,6
Hydroxid sodný (5%)	0,15	Cca 1,5

4.3.11. Příprava šampónu s využitím extraktů ze stříbrných kávových slupek

Pro přípravu šampónu bylo do 100 ml kádinky naváženo s přesností na 0,0001 g 0,5 g xanthanové gumy a k ní přiváženo 2,5 g glycerolu. Xanthanová guma byly v glycerolu rozpuštěna a dále byly k této směsi přidány povrchově aktivní látky (PAL)

v celkovém množství 12 %. Do druhé kádinky bylo naváženo příslušné množství vody a konzervační látky (Dermosoft). Kádinka se směsí PAL a glycerolu byla umístěna na magnetickou míchačku a za stálého míchání a mírného zahřívání bylo přidáno vypočtené množství destilované vody (příslušného extraktu z KS) a dále mícháno, dokud nebyla celá směs homogenní. Přesné složení formulací je uvedeno v Tabulka 5.

. Tabulka 5 Složení připravených šampónů

Složka	Procentuální zastoupení [%]	Navážka na 50 g přípravku [g]
Sodium laureth sulfat (70 %)	6	3,9
Cocamidopropyl betain	3	1,5
Cocamide DEA	3	1,5
Glycerol	5	2,5
Xanthanová guma	1	0,5
Konzervant dermosoft	2	1
Voda/extrakt KS	Do 100	39,1

4.3.12. Základní charakterizace vyrobených gelů a šampónů

Měření povrchového napětí šampónů

K ověření, zda má obsah extraktů z KS v šampónu vliv na jeho povrchové napětí, byly připraveny 1% roztoky ze vzorků čtyř vyrobených šampónů a to tak, že do 10 ml kádinky bylo s přesností na 0,0001 g naváženo 0,5 g šampónu a ten rozpuštěn v malém množství destilované vody. Tento roztok byl dále kvantitativně převeden do 50 ml odměrné banky. Postup měření byl stejný, jako při měření povrchového napětí extraktů z KS viz kapitola 4.3.4.

Stanovení viskozity šampónů

Viskozita šampónů byla měřena na rotačním viskozimetru Myr V2–L za použití spindlu L3. Před měřením byla provedena kalibrace přístroje a poté byly měřeny vzorky šampónů ve 100 ml kádince tak, že spindl L3 byl ponořen do vzorku šampónu a na displeji

viskozimetru byl nastaven příslušný počet otáček (RPM). Počet RPM byl během měření nastaven tak, aby hodnota točivého momentu byla rovna 20–50 % kapacity přístroje. Měření každého vzorku probíhalo do ustálení hodnoty viskozity cca 60 sekund. Každý vzorek byl měřen pětkrát a ze zaznamenaných hodnot byl spočten aritmetický průměr a směrodatná odchylka.

Stanovení viskozity gelů

Viskozita připravených gelů byla měřena pomocí rotačního viskozimetru Myr V2–L při použití speciálního nástavce pro měření gelů a spindlů PB, PC, PE a PF, které jsou také speciálně vyvinuty právě pro měření gelů. Měření probíhalo stejně jako u stanovení viskozity šampónů. Každý vzorek byl měřen pětkrát a ze zaznamenaných hodnot byl spočten aritmetický průměr a směrodatná odchylka.

4.3.13. Příprava peelingu s obsahem stříbrných kávových slupek

Pro přípravu peelingu s obsahem KS jako abrazivní složky byl použit základ tělového lotionu, viz Tabulka 3 s tím, rozdílem, že obsahoval méně vody, z důvodu přidání stříbrných kávových slupek do formulace. Do připraveného základu byly skleněnou tyčinkou ručně vmíchány 3 g namletých stříbrných kávových slupek.

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

Stříbrné kávové slupky jsou jako vedlejší produkty kávy studovány pro svou antioxidační nebo anti-aging aktivitu, UV ochranu či pro svou nutriční hodnotu. Pozornost je jim věnována také proto, že se jedná o surovinu s nízkými náklady, udržitelnou a bezpečnou pro použití v kosmetice. Většina studií se však zaměřuje na stanovení aktivity u chemických látek, které byly zjištěny v KS, ne však u samotných KS či kosmetických přípravků obsahujících KS. V kapitole bude diskutována příprava extraktů z KS, výsledky obsahu kofeinu v extraktech KS, jejich mikrobiální aktivita, dále pak míra SPF či hydratace u přípravků.

5.1 Příprava extraktů ze stříbrných kávových slupek

V prvním kroku bylo nezbytné připravit ze stříbrných kávových slupek vodné extrakty. Ty byly připraveny pomocí postupů popsanych v kap. 4.3.1. Metodou macerace za studena bylo po filtraci tedy získáno 70 ml macerátu tmavé barvy a s lehkou kávovou vůní. Extrakce za studena měla nižší výtěžnost a tímto postupem bylo získáno cca 50 ml extraktu. Extrakt měl velmi tmavou až černou barvu a jemnou kávovou vůni. Nejméně ztrátový byl postup přípravy nálevu, kdy za použití 93 ml vody bylo získáno 80 ml nálevu, který barevně odpovídal macerátu s jemnou kávovou vůní. Získané extrakty jsou zobrazeny na Obrázek 5 a tyto byly následně použity při dalších experimentech.



Obrázek 5 Vodné extrakty z KS

Získání extraktů z KS lze dle dostupných studií rozdělit do dvou kategorií. První technika je prosté louhování slupek za studena či tepla po přesně stanovenou dobu ve vodě či organických rozpouštědlech. Výluh se následně filtruje a extrakt je možné poté zahustit na odparce. Techniku macerace využil také Rodrigues [57], který ve své studii o permeaci kofeinu z macerátu z KS využil macerace 1 g KS v 20 ml směsi etanol:voda (1:1). Takto získaný macerát byl do použití uchováván v lednici při 4 °C. Macerace KS v 50% roztoku

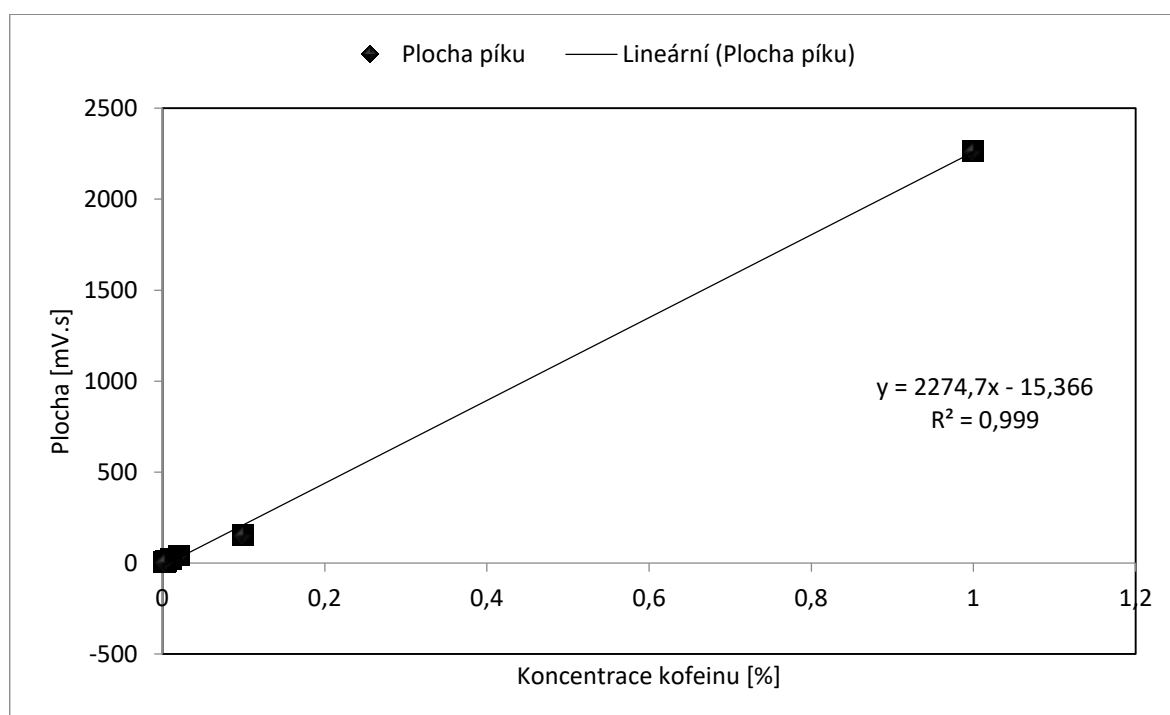
etanolu byla popsána i ve studii [31], kdy byly slupky macerovány po dobu 24 h a poté filtrovány. Macerát byl zahuštěn na odparce a opět skladován v lednici. Technika prostého louhování byla proto použita i v našem experimentu pro přípravu macerátu, extraktu a nálevu za použití vody jako rozpouštědla. Voda byla zvolena na základě potřeby zakomponovat extrakty do KP. Druhou technikou získání extraktů je využití fyzikálních metod ke zvýšení výtěžnosti extrakce. Zde můžeme zařadit extrakci pomocí ultrazvuku. Kterou pro svůj experiment využili také studie [27], [30]. Sonikace pomocí ultrazvukové lázně či sondy vede k výraznému urychlení doby extrakce. Za použití ultrazvukové lázně byly v našem experimentu připraveny extrakty v etanolu a dichlormethanolu pro mikrobiologické testování a stanovení obsahu kofeinu v extraktu. Dosažené výsledky jsou diskutovány níže.

5.2 Stanovení obsahu kofeinu v extraktu ze stříbrných kávových slupek pomocí plynové chromatografie

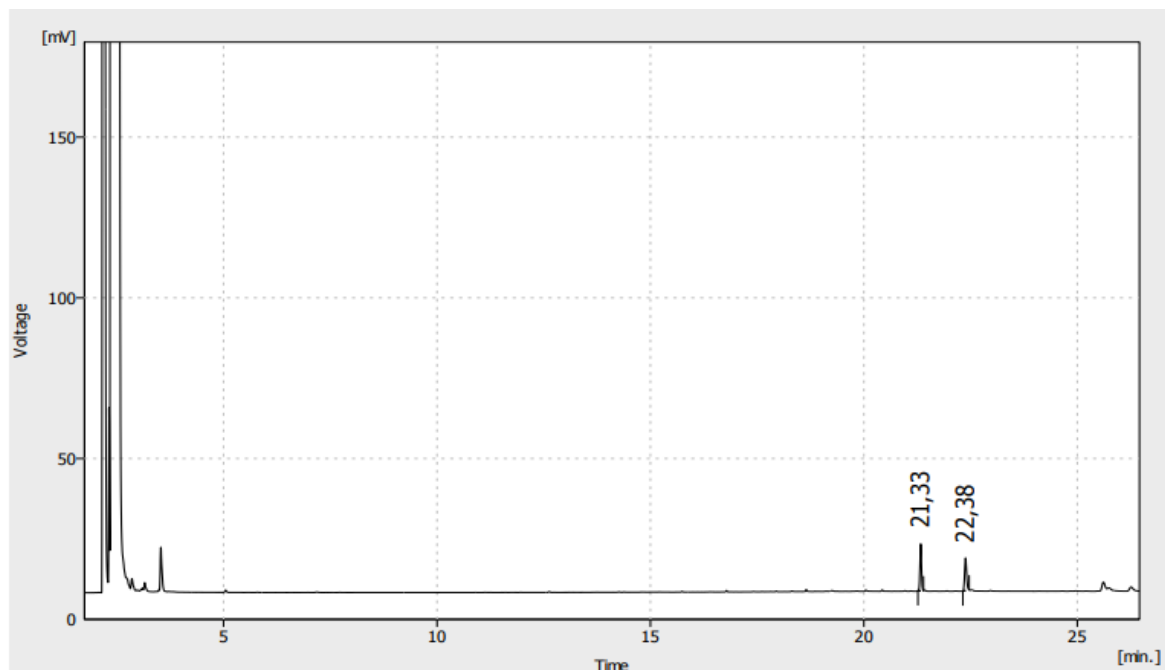
V dalším kroku bylo nezbytné zjistit, jaký je vlastní obsah kofeinu v KS extraktech. Jelikož k tomuto stanovení bylo potřebné použít plynový chromatograf DANI MASTER GC, musel být připraven extrakt z KS v dichlormethanolu. Pro stanovení bylo nutné připravit kalibrační řadu roztoků kofeinu v dichlormethanolu v koncentracích 1–0,0025 %. Z ploch píků uvedených v Tabulka 6 byl sestaven graf (Obrázek 6) a dle rovnice přímky byla spočtena koncentrace kofeinu v extraktu. Chromatogram extraktu z KS je zobrazen na Obrázek 7. Analýza prokázala kromě přítomnosti kofeinu s retenčním časem $t_R = 21,33$ min i přítomnost druhé látky s retenčním časem $t_R = 22,38$ min, která nebyla metodou identifikována. Je předpokládáno, že se jedná o jeden z derivátů kofeinu, který se podařilo vyextrahovat společně s kofeinem do dichlormethanolu.

Tabulka 6 Plochy a výšky píků změřených na GC

Koncentrace kofeinu [%]	Plocha [mV·s]	Výška [mV]
1	2264,8	319,9
0,1	153,0	55,3
0,02	41,5	17,0
0,01	20,7	8,3
0,005	9,1	3,7
0,0025	6,2	2,7
Extrakt z KS	36,2	14,5



Obrázek 6 Kalibrační řada extraktů z KS v dichlormethanolu



Obrázek 7 Chromatogram extraktu z KS v dichlormethanolu

Obsah kofeinu v extraktu KS byl roven 0,023 %, zvolenou metodou extrakce z KS do dichlormethanolu pomocí ultrazvukové lázně byl tedy získán extrakt s obsahem kofeinu 0,31 mg/ml.

Vedlejší produkty kávy včetně KS jsou chemicky charakterizovány jak z hlediska nutričního, tak z hlediska potenciálních kontaminantů vytvořených vysokými teplotami během pražení. Nejběžnější metodou stanovení obsahu látek v KS je HPLC, kterou použil také Gottstein [21] pro stanovení množství kofeinu v KS. Kofein byl analyzován podle německé referenční metodiky pro stanovení kofeinu v kávě a kávových výrobcích. Stříbrné kávové slupky (1 g) byly smíchány s 5 g oxidu hořečnatého a směs byla zalita 100 ml vody. Roztok byl zahříván na 90 °C po dobu 20 min. Po temperaci byl roztok doplněn na 100 ml a přefiltrován. Vzorek byl analyzován pomocí HPLC–DAD (detektor s diodovým polem). Koncentrace kofeinu u druhu arabika byla stanovena na $0,80 \pm 0,002$ g/100 g. Vysokoučinná kapalinová chromatografie byla použita i v další studii. Methanolové extrakty z KS získány pomocí sonikace ultrazvukovou lázní a stanoveny pomocí HPLC–MS/MS obsahovaly dle Caprioliho [28] 1,00–3,59 % kofeinu. Extrakci do dichlormethanolu, která byla použita v diplomové práci, zvolil také Belay [58], který stanovoval obsah kofeinu v kávových zrnech pomocí UV/VIS spektrofotometrie. V zrnech Gediyo bylo po extrakci stanoveno množství kofeinu na $1,01 \pm 0,04$ %. Během našeho experimentu se pomocí extrakce do dichlormethanolu a plynové chromatografie podařilo prokázat obsah kofeinu v KS v množství 0,022 %, z dostupných studií však

vyplývá, že výsledky jsou závislé na metodě extrakce, době sonikace, zvoleném rozpouštědle a typu analýzy.

5.3 Mikrobiologické testování extraktů ze stříbrných kávových slupek

V dalším kroku jsme chtěli ověřit, zda i vodné extrakty získané z KS disponují nějakou protimikrobní aktivitou. Proto byly provedeny diskové difúzní testy (viz kap. 4.3.3). Po uplynutí doby kultivace mikroorganismů byly na plotnách s difúzními disky změřeny inhibiční zóny, které uvádí Tabulka 7. Lze tedy říci, že inhibice nastala u čistého kofeinu u bakterie *Escherichia coli*. Velikost inhibičních zón byla rovna 3,5 a 4 mm. Nepatrná inhibiční zóna (0,5 mm), byla pozorována na plotnách s *Escherichia coli* u 5% roztoku kofeinu v dichlormethanolu. Srovnatelná inhibice byla pozorována i u bakterie *Staphylococcus aureus* u 1% roztoku čistého kofeinu v dichlormethanolu. Připravené extrakty z KS (vodné, etanolické i v dichlormethanolu) neinhibovaly žádný z testovaných mikroorganismů. Důvodem může být nízký obsah účinné látky (kofein) v připravených extraktech.

Antimikrobiální aktivita extraktů ze stříbrných kávových slupek byla testována. Také ve studii [35] pomocí měření minimální inhibiční koncentrace (MIC) proti grampozitivním i gramnegativním bakteriím a kvasinkám. Extrakty nevykazovaly žádnou aktivitu proti *C. albicans*, *P. aeruginosa*. Pozitivní výsledky však byly sledovány v rozmezí 31,3 µg/ml až 250 mg/ml u bakterií *S. aureus*, *S. epidermis*, *E. coli*, *K. pneumoniae* v závislosti na použitém systému rozpouštědel. Diskovou difúzní metodou, která byla použita i v našem experimentu, testoval účinnost extraktů ze zelených kávových zrn i Wagemaker [42]. Pro stanovení byly použity základní MO (*S. aureus*, *E. coli*, *S. epidermis*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*). Na disky bylo nanášeno 50 µl vzorku. Inhibiční zóny u bakterií byly v rozmezí od 9–19 mm, všechny testované vzorky tedy v určité míře inhibovaly bakterie. Vysoký stupeň inhibice byl zaznamenán u kvasinky (*C. albicans*). Výše uvedené studie neodpovídají výsledkům, kterých jsme dosáhli během vlastního experimentu, kde nebyla zjištěna žádná antimikrobiální aktivita u extraktů z KS.

Tabulka 7 Výsledky diskové difúzní metody testovaných extraktů z KS a roztoků kofeinu

Testované vzorky		Inhibiční zóny [mm]					
		SA		EC		CA	
Extrakt z KS		NI	NI	NI	NI		
Macerát z KS		NI	NI	NI	NI		
Nálev z KS		NI	NI	NI	NI		
Extrakt v dichlormethanolu z KS		0,5	NI	NI	NI	NI	NI
Kofein 100 %		NI	NI	3,5	4		
Roztok kofeinu v dichlormethanolu [%]	5	NI	NI	0,5	0,5	NI	NI
	1	0,5	NI	NI	NI	NI	NI
	0,5	NI	NI	NI	NI	NI	NI
	0,1	NI	NI	NI	NI	NI	NI
	0,02	NI	NI	NI	NI	NI	NI
	0,01	NI	NI	NI	NI	NI	NI
	0,005	NI	NI	NI	NI	NI	NI
Extrakt v etanol z KS		NI	NI	NI	NI		
Etanol 96 %		NI	NI	NI	NI		

Poznámka NI = non inhibition – bez inhibiční zóny

5.4 Charakterizace chemických vlastností extraktů ze stříbrných kávových slupek

U získaných vodných extraktů bylo stanoveno povrchové napětí pomocí tenziometru KRÜSS-EasyDyne za pomoci Wilhelmyho destičky. Výsledky měření jsou uvedeny v Tabulka 8. U všech extraktů byl pozorován mírný vliv na snižování povrchového napětí vůči destilované vodě, která vykazovala hodnotu $71,60 \pm 0,00$ mN/m. U nálevu bylo pozorováno snížení povrchového napětí na hodnotu $50,90 \pm 0,00$ mN/m. Nejméně snižoval povrchové napětí macerát a to na hodnotu $68,70 \pm 0,01$ mN/m. Průkaz vlivu KS extraktů na povrchové napětí může být využit u KP s obsahem povrchově aktivních látek

k podpoření jejich aktivity. Na základě těchto zjištění byly extrakty použity k přípravě šampónů, u kterých byla teorie ověřena. Výsledky měření jsou uvedeny v kapitole 5.6.1.

Tabulka 8 Stanovení povrchového napětí u 1% roztoků extraktů s KS

Měřené roztoky	γ [mN/m]	σ [mN/m]	t [°C]
Voda	71,6	0,00	24,7
Extrakt	58,1	0,01	25,0
	59,5	0,01	25,0
	59,9	0,02	25,2
Macerát	68,7	0,01	25,4
	67,7	0,01	25,6
	68,2	0,01	25,6
Nálev	50,9	0,00	25,6
	52,0	0,01	25,6
	52,4	0,01	25,7

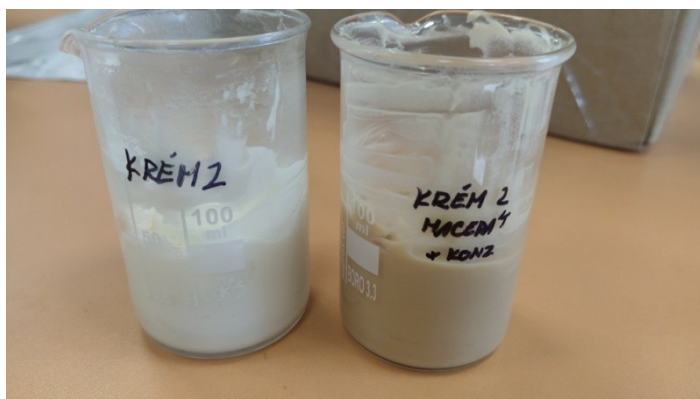
Dalším sledovaným parametrem bylo měření pH. Hodnoty pH byly stanoveny pomocí pH metru ETLEC s pH sondou THETA90 HC 103. Extrakt z KS vykazoval hodnotu pH $4,722 \pm 0,006$, macerát měl podobnou hodnotu pH jako extrakt, a to $4,854 \pm 0,006$. Nejvyšší z naměřených hodnot byla zjištěna u nálevu z KS, kdy bylo pH rovno $4,878 \pm 0,002$. Extrakty měly pH odpovídající fyziologickému pH kůže, což je žádoucí pro jejich aplikaci do KP. Naměřené hodnoty uvádí Tabulka 9.

Tabulka 9 Stanovení pH extraktů s KS

Počet měření	Hodnota pH [1]		
	Extrakt KS	Macerát KS	Nálev KS
1	4,70	4,84	4,88
2	4,72	4,86	4,88
3	4,73	4,84	4,87
4	4,73	4,86	4,88
5	4,73	4,87	4,88
Průměr	4,722	4,854	4,878
Směrodatná odchylka průměru	0,006	0,006	0,002

5.5 Hodnocení krémů a tělových lotionů s využitím extraktů ze stříbrných kávových slupek

Krémy s obsahem extraktů z KS byly připraveny dle kap. 4.3.5. viz výše. Krém základ, tj. krém bez obsahu extraktů z KS byl bílé barvy a bez výrazné vůně. Krémy s obsahem extraktů z KS měly béžovou až hnědou barvu a vůně byla jemná kávová. Připravené krémy (Obrázek 8) vykazovaly dobrou stabilitu a při skladování při nižší teplotě (4 °C), nedošlo k žádnému rozpadu připravené emulze.



Obrázek 8 Vyrobené krémy bez (vlevo) a s extraktem z KS (vpravo)

Tělové lotiony s obsahem extraktů z KS měly díky nižšímu obsahu tukové složky výraznější hnědou barvu. Taktéž u nich byla pozorována jemná kávová vůně. Základní

formulace tělového lotionu byla bílé barvy a nevykazovala žádnou typickou vůni. Tělové lotiony (Obrázek 9) byly při skladování při teplotě 4 °C stabilní a během doby skladování (30 dní) nedošlo k jejich rozpadu.



Obrázek 9 Připravené tělové lotiony bez (vlevo) a s extraktem z KS (vpravo)

5.5.1. Stanovení hodnoty SPF u krémů a tělových lotionů

U vyrobených krémů nebyla naměřena žádná hodnota SPF (Tabulka 10). Formulace krému s obsahem extraktů z KS tedy nevykazují ochranné vlastnosti před slunečním zářením. U formulace tělového lotionu s macerátem KS bylo změřeno SPF 1. U zbývajících formulací byla hodnota SPF nulová. U základní formulace tělového lotionu bylo u dvou z pěti měření odečteno SPF 1. Chyba mohla nastat v důsledku nesprávně rozetřeného vzorku. Výsledky měření krémů a tělových lotionů taktéž ukázaly na to, že obsah extraktů KS ve formulaci nepřispěl k ochraně před UV zářením.

Tabulka 10 SPF krémů a tělových lotionů

Počet měření	SPF [1]							
	A	B	C	D	E	F	G	H
1	0	0	1	0	0	0	0	0
2	0	0	1	0	0	0	0	0
3	0	0	1	0	0	0	0	0
4	1	0	1	0	0	0	0	0
5	1	0	1	0	0	0	0	0

A – tělový lotion základ, B – krém základ, C – tělový lotion s macerátem z KS, D – krém s macerátem z KS, E – tělový lotion s extraktem z KS, F – krém s extraktem z KS, G – tělový lotion s nálevem z KS, H – krém s nálevem z KS

Ochrana proti slunečnímu záření byla v souvislosti s KS měřena za použití látek (kofein, kyselina chlorogenová) jež jsou ve slupkách obsaženy. Kolektiv autorů [39]

hodnotil *in vivo* účinnost 2% a 10% koncentrací kofeinu a kyseliny chlorogenové v emulzích typu voda v oleji. Kyselina chlorogenová v emulzi vykazovala SPF 10,1 maximální absorpční vlnové délky 324 nm. Kyselina chlorogenová izolovaná z bobů *Coffea arabica* byla hodnocena *in vitro* ve studii [38], kde vykazovala SPF 16 při koncentraci 40 µg/ml. Tento výsledek potvrzuje závěry autorů, že kyselina chlorogenová je fotostabilní UVA/UVB molekula a má prokazatelné fotoprotektivní vlastnosti. Srovnatelných výsledků jako náš experiment dosáhl také Rosado [59] ve své studii, kdy hodnotil SPF potenciál přípravku obsahujícího 2,5 % kofeinu. Samotný kofein neposkytoval dostatečnou ochranu. Nicméně ve spojení s chemickými filtry (ethylhexylmethoxycinnamát a avobenzon) a fyzikálními filtry (oxid titaničitý) měl na hodnotu SPF synergický efekt. Vzorky s chemickými filtry bez obsahu kofeinu vykazovaly hodnotu SPF 15,43. Obsah kofeinu ve formulaci zvýšil SPF na 19,34. Studie tedy prokázala, že lze docílit vyššího SPF pomocí přidání kofeinu aniž by bylo potřeba zvyšovat množství UV filtru ve formulaci.

5.5.2. Senzorické hodnocení krémů a tělových lotionů

Pro ucelené poznatky o připravených formulacích bylo provedeno sensorického hodnocení, zaměřeno na jejich roztíratelnost, barvu a vůni. Připravené vzorky byly podrobeny pořadové zkoušce i párové porovnávací zkoušce jednostranné. Pro lepší orientaci v hodnocení byla jednotlivým vzorkům přidělena písmena, pod kterými byly vyhodnocovány.

- A - tělový lotion základ
- B - krém základ
- C - tělový lotion s macerátem z KS
- D - krém s macerátem z KS
- E - tělový lotion s extraktem z KS
- F - krém s extraktem z KS
- G - tělový lotion s nálevem z KS
- H - krém s nálevem z KS

5.5.2.1 Párová porovnávací zkouška jednostranná

Pro hodnocení pomocí párové porovnávací zkoušky byla na začátku stanovena nulová hypotéza, tzn. že mezi hodnocenými vzorky nejsou statisticky významné rozdíly, tj. že vzorky jsou si rovny ($A = C$; $B = D$; $C = D$; $E = F$; $G = H$). Poté byla stanovena hypotéza alternativní, tzn. že vzorek $C \geq A$; $D \geq B$; $C \geq D$; $E \geq F$; $G \geq H$. Tedy, že vzorky C, D, E, G jsou v posuzovaném znaku intenzivnější (lépe roztíratelné).

Po provedení párové porovnávací jednostranné zkoušky se podařilo prokázat, že na hladině významnosti 5 % jsou vzorky D, E a G lépe roztíratelné než vzorky C, F, H. U zbývajících hodnocených dvojic C–A, C–D testové kritérium nepadlo do kritického oboru, byla přijata nulová hypotéza, že mezi vzorky není statisticky významný rozdíl v roztíratelnosti. Hodnoty testových kritérií a kritických oborů zkoušek jsou uvedeny v Tabulka 11.

Tabulka 11 Hodnoty pro vyhodnocení párové porovnávací zkoušky

	Testové kritérium F [1]	Kritický obor F_{krit} [1]
C/A	1,83	2,23
D/B	2,40	2,25
C/D	1,83	2,23
E/F	2,40	2,25
G/H	4,66	2,45

A – tělový lotion základ, B – krém základ, C – tělový lotion s macerátem z KS, D – krém s macerátem z KS, E – tělový lotion s extraktem z KS, F – krém s extraktem z KS, G – tělový lotion s nálevem z KS, H – krém s nálevem z KS

5.5.2.2 Pořadová zkouška

Pro určení pořadí roztíratelnosti vzorků A až D byl použit Friedmanův test. Opět byla stanovena nulová hypotéza H_0 , že mezi vzorky nejsou statisticky významné rozdíly. A také hypotéza alternativní A_1 , tj. že mezi vzorky existuje alespoň jeden, který se liší od jiného či jiných. Výsledky byly vyhodnoceny, dány do tabulky a pro každý vzorek byl spočten součet pořadí (T_i). Tato hodnota byla použita pro výpočet testového kritéria (FR). Kritická hodnota (FR_{krit}) pro Friedmanův test byla pro výpočet roztíratelnosti rovna 10,84 [60]. Pokud platilo, že $FR \geq FR_{krit}$, pak byla nulová hypotéza zamítnuta a přijata alternativní hypotéza, tedy že mezi vzorky existuje alespoň jeden, který se liší ve sledovaném znaku (roztíratelnosti). K určení rozdílu konkrétních vzorků byla použita

Neményiho metoda vícenásobného párového porovnávání závislých výběrů, tj. že rozdíly jsou u vzorků, pokud platí že, $|T_i - T_j| \geq q_{1-\alpha}$, kdy kritický obor ($q_{1-\alpha}$) byl roven hodnotě 35,6 [60] pro hladinu významnosti 1 %. Druhá skupina vzorků C až H byla hodnocena stejným postupem. V tomto případě byla posuzována barva a vůně vzorků. Kritická hodnota (FR_{krit}) pro Friedmanův test byla v tomto případě rovna 14,48. [60]

V Tabulka 12 lze vidět, že podmínka $FR \geq FR_{krit}$ platila pro hodnocení barvy a vůně. Zde hodnota testového kritéria padla do kritického oboru. Byla tedy zamítnuta nulová hypotéza a přijata hypotéza alternativní. Na hladině významnosti 1 % bylo možné tvrdit, že mezi vzorky existoval alespoň jeden, který se lišil od jiného či jiných. U hodnocení roztíratelnosti byla potvrzena nulová hypotéza, tedy že mezi vzorky nebyl statisticky významný rozdíl. U hodnocení barvy a vůně byla následně použita Neményiho metoda vícenásobného párového porovnávání závislých výběrů. Výsledky rozdílů součtu pořadí uvádí Tabulka 13 a Tabulka 14. Kritický obor pro Neményiho test byl roven hodnotě 35,6. [60]

Tabulka 12 Hodnoty pro vyhodnocení pořadové zkoušky

	Testové kritérium FR [1]	Kritický obor FR_{krit} [1]
Roztíratelnost	7,28	10,84
Barva	54,32	14,48
Vůně	18,25	14,48

Podmínka $|T_i - T_j| \geq q_{1-\alpha}$ je v Tabulka 13 zvýrazněná tučně. S 99% spolehlivostí se tedy podařilo prokázat, že rozdíl v sytosti barvy existuje mezi vzorky C–E, D–E, D–F, E–G, E–H, F–G, F–H. Lze konstatovat, že vzorek E (tělový lotion s extraktem z KS) má sytější barvu než vzorky C, D, G a H a vzorek F (krém s extraktem z KS) má sytější barvu než vzorky D, G, H. Výsledky sensorického hodnocení barvy krému a tělového lotionu ukázaly, že vzorky obsahující extrakt z KS měly nejsytější zbarvení.

Tabulka 13 Rozdíly součtu pořadí pro Néményiho test hodnocení barvy

		Srovnávané vzorky				
		C	D	E	F	G
Srovnávané vzorky	D	19				
	E	-39	-58			
	F	-30	-49	9		
	G	16	-3	55	46	
	H	10	-9	49	40	-6

C – tělový lotion s macerátem z KS, D – krém s macerátem z KS, E – tělový lotion s extraktem z KS, F – krém s extraktem z KS, G – tělový lotion s nálevem z KS, H – krém s nálevem z KS

Vůně formulací s obsahem extraktů z KS byla lehce kávová a připomínala jemnou vůni kávy. Vůně nebyla nijak výrazná ani ostrá. Hodnota testového kritéria u Friedmanova testu vůně padla do kritického oboru a na hladině významnosti 1 % bylo prokázáno, že mezi vzorky existuje rozdíl, Néményiho metodou se však na stejné hladině významnosti nepodařilo prokázat, které vzorky jsou odlišné. Blízká hodnota testovému kritériu 35,6 byla mezi vzorky C–H a to 35. S 99% spolehlivostí bylo tedy u hodnocení vůně prokázáno, že je mezi nimi alespoň jeden vzorek, který se liší od jiných, nepodařilo se však se stejnou spolehlivostí prokázat, o který vzorek se jedná.

Tabulka 14 Rozdíly součtu pořadí pro Néményiho test hodnocení vůně

		Srovnávané vzorky				
		C	D	E	F	G
Srovnávané vzorky	D	19				
	E	30	11			
	F	30	11	0		
	G	6	-13	-24	-24	
	H	35	16	5	5	29

C – tělový lotion s macerátem z KS, D – krém s macerátem z KS, E – tělový lotion s extraktem z KS, F – krém s extraktem z KS, G – tělový lotion s nálevem z KS, H – krém s nálevem z KS

5.5.3. *In vivo* hodnocení krémů a tělových lotionů

Hydratace

V rámci *in vivo* hodnocení vyrobených produktů byl změřen i jejich hydratační potenciál. Byla tedy stanovena i hodnota hydratace kůže bez odmaštění, jež byla v čase 0 rovna 32,9 k.j (korneometrických jednotek). Úprava pokožky pomocí fyziologického roztoku s SDS po dobu 4 h snížila hydrataci na 28,7 k.j. Zhodnocení rozdílů v % vůči ošetřené pokožce pomocí fyziologického roztoku s SDS v čase 0 ukazuje Tabulka 15.

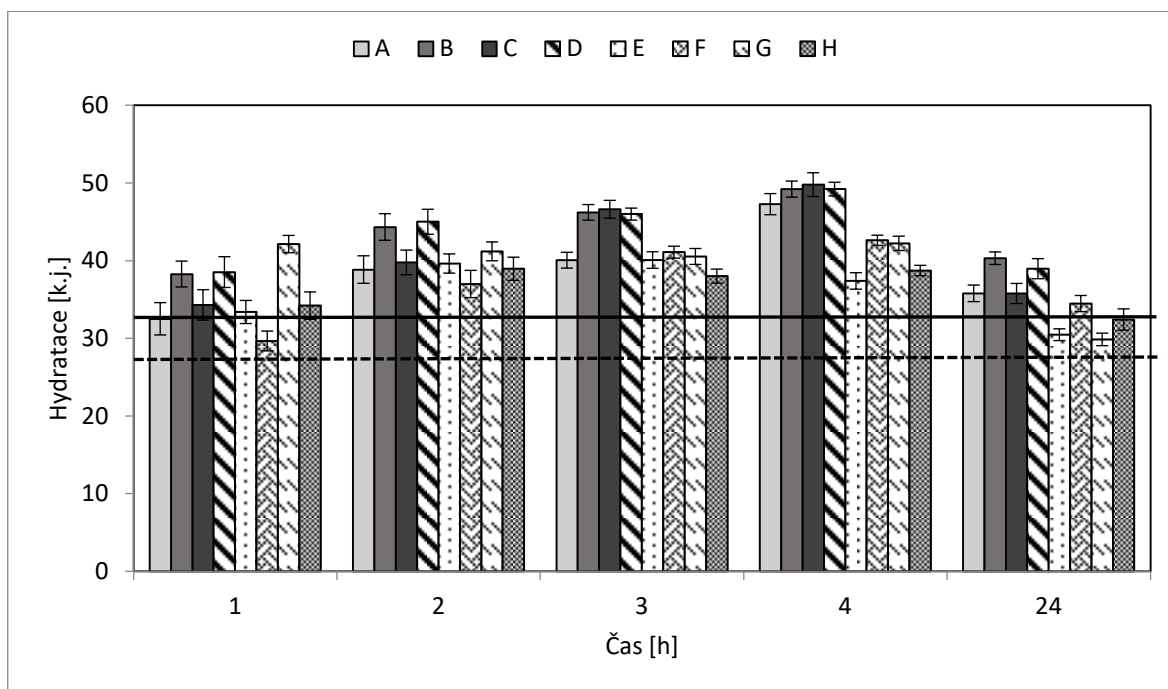
Tabulka 15 Rozdíly hydratace vůči hodnotám měřeným v čase 0.

Čas [h]	Rozdíl hydratace [%]							
	A	B	C	D	E	F	G	H
1	17	49	42	60	45	26	113	58
2	40	73	64	87	72	57	108	80
3	44	80	93	91	74	74	105	76
4	70	92	106	104	62	81	113	79
24	29	57	48	62	32	46	51	50

A – tělový lotion základ, B – krém základ, C – tělový lotion s macerátem z KS, D – krém s macerátem z KS, E – tělový lotion s extraktem z KS, F – krém s extraktem z KS, G – tělový lotion s nálevem z KS, H – krém s nálevem z KS

Výsledky ukázaly, že hodnota hydratace kůže se výrazně zvýšila u všech testovaných vzorků, a to v čase 1–4 h po jejich nanesení na odmaštěná místa. Nejvýraznější nárůst hydratace nastal u vzorku G (tělový lotion s nálevem z KS), kdy byla hodnota hydratace oproti ošetřené kůži v čase 0 zvýšená o 113 % a C (tělový lotion s macerátem z KS), kdy byla hydratace zvýšena o 105 %. Z Obrázek 10 je zřejmé, že hydratace kůže po aplikaci všech vzorků v čase rostla a do 4 h od nanesení. Dále, po 24 h od jejich aplikace se zvýšila u všech testovaných vzorků, nejvíce to bylo o 62 % u vzorku D (krém s macerátem z KS) a nejméně o 29 % u vzorku A (tělový lotion základ). U vzorků tělových lotionů, lze pozorovat zvýšenou hydrataci u formulací s obsahem extraktů z KS oproti základní formulaci a lze tedy tvrdit, že extrakty z KS měly pozitivní vliv na celkovou míru hydratace. V případě testovaných krémů byla pokožka hydratována nejlépe krémem s macerátem z KS. U dalších dvou testovaných formulací obsahující extrakty z KS

(extrakt a nálev) však hodnoty hydratace nebyly výrazně vyšší než u krémového základu. V tomto případě nelze obsahu extraktů z KS přičítat vliv na hydrataci kůže.



Obrázek 10 Vliv formulací na hydrataci kůže (kontrolní místo - - -; přirozená pokožka —)

A – tělový lotion základ, B – krém základ, C – tělový lotion s macerátem z KS, D – krém s macerátem z KS, E – tělový lotion s extraktem z KS, F – krém s extraktem z KS, G – tělový lotion s nálevem z KS, H – krém s nálevem z KS

Horní rohová vrstva kůže zabraňuje odpařování vlhkosti z pokožky, společně se sebou složeným z TAG, vosků a MK. Jejich fyziologická funkce bývá často narušena některými KP, například kosmetikou s vysokým obsahem PAL. Pokožku je proto důležité chránit před vysušením dodáním látek (humektantů a emolientů), které mají vysoký hydratační potenciál. I Rdriguez [44] hodnotil hydratační potenciál krémové formulace s obsahem KS pomocí korneometru (Courage & Khazaka, Německo), kdy kůže byla proměřena v čase 0 a po 28 dnech denního nanášení testované formulace v oblasti očního okolí. Studie prokázala zlepšení hydratace pokožky z hodnoty $54,74 \pm 6,57$ k.j. na $65,54 \pm 5,67$ k.j. Výsledky hydratace naměřeny Rodriguezem jsou v porovnání s našimi mnohem vyšší. Přesto oba experimenty prokázaly, že obsah KS nebo extraktů z nich ve formulaci vede k zvýšení hydratace pokožky. [61, s. 159–161]

TEWL

Ošetření pokožky roztokem SDS/fyziologický roztok před nanesením vlastních vzorků vedlo ke zvýšení hodnoty trans epidermální ztráty vody (TEWL) na $9,78 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$, přičemž neošetřená pokožka vykazovala hodnotu TEWL $8,62 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$.

Dále, v první hodině po aplikaci testovaných vzorků bylo možné pozorovat výrazný rozdíl snižování TEWL u jednotlivých vzorků, což bylo způsobeno nedokonalým vstřebáním některých vzorků, kdy se na pokožce tvořil film, který ovlivňoval výsledky měření. Nedokonalé vstřebávání je nejvíce patrné u vzorků F (krém s extraktem z KS) a C (tělový lotion s macerátem z KS), u kterých je hodnota TEWL nejnižší. Tvorba filmu tak měla pozitivní vliv na snížení hodnoty TEWL a nedokonalé vstřebávání tak paradoxně vedlo k lepším výsledkům.

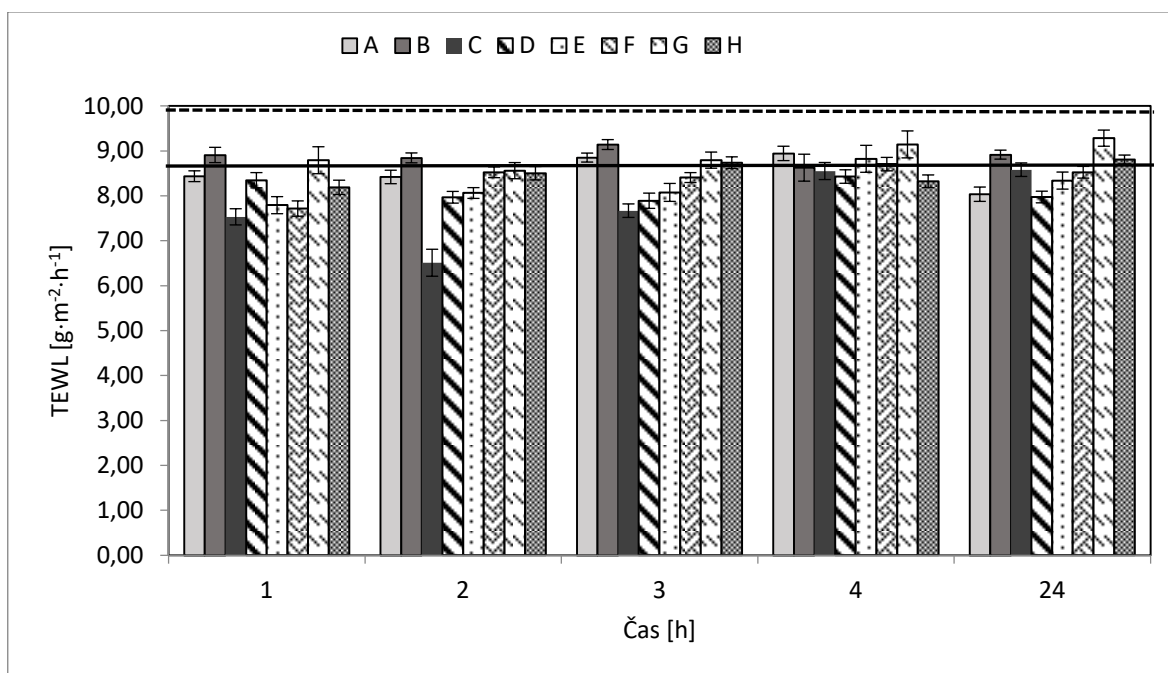
Po dvou hodinách již byly formulace dostatečně vstřebány do kůže a měření prokázalo, že testované formulace měly pozitivní vliv na hodnotu TEWL. Výrazné snížení nastalo u několika vzorků. Formulace A (tělový lotion základ), snižovala po 2 h testování TEWL o 22 %, kdy byla měřena hodnota $8,42 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ a po 24 h dokonce o 26 % s měřenou hodnotou TEWL $8,03 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$. Vzorek tělového lotionu s macerátem z KS snižoval po 2 h od aplikace TEWL dokonce o 38 % a naměřená hodnota byla rovna $6,51 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$. Výrazné snížení TEWL po celou dobu měření nastalo také u vzorků D (krém s macerátem z KS), E (tělový lotion s extraktem z KS), F (krém s extraktem z KS) a H (krém s nálevem z KS). Nejmenší vliv na snížení hodnot TEWL měla formulace G (tělový lotion s nálevem z KS), kde nastalo pouze minimální snížení, a to o 1 %. V závislosti na čase byl klesající trend hodnot pozorován u vzorků C, E, G (tělové lotiony s macerátem, extraktem a nálevem z KS) a F, H (krém s extraktem a nálevem z KS). U ostatních formulací nebyla klesající tendence jednoznačně prokázána (viz Obrázek 11).

U formulací krémů bylo možné pozorovat pozitivní vliv obsahu extraktů z KS na snižování TEWL oproti základní formulaci, kdy všechny formulace krémů obsahující extrakty z KS snižovaly po 24 h testování hodnotu TEWL o 19 a více %. Krém bez obsahu extraktů z KS snižoval po 24 h TEWL o 14 % (hodnota $9,81 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$). U vzorků tělových lotionů nebyl pozorován statisticky významný rozdíl mezi formulacemi s extrakty z KS (macerát, extrakt) a základním tělovým lotionem. Z výsledků (Tabulka 16) bylo patrné, že testované formulace měly pozitivní vliv na snižování transepidermální ztráty vody kůže, a to i po 24 h od jejich aplikace.

Tabulka 16 Rozdíl TEWL vůči hodnotám měřeným v čase 0.

Čas [h]	Rozdíl TEWL [%]							
	A	B	C	D	E	F	G	H
1	-22	-14	-29	-18	-25	-29	-7	-25
2	-22	-15	-38	-22	-23	-21	-9	-22
3	-18	-12	-27	-23	-23	-23	-7	-19
4	-18	-17	-19	-18	-15	-20	-3	-23
24	-26	-14	-19	-22	-20	-21	-1	-19

A – tělový lotion základ, B – krém základ, C – tělový lotion s macerátem z KS, D – krém s macerátem z KS, E – tělový lotion s extraktem z KS, F – krém s extraktem z KS, G – tělový lotion s nálevem z KS, H – krém s nálevem z KS



Obrázek 11 Vliv formulací na TEWL (kontrolní místo - - -; přirozená pokožka —)

A – tělový lotion základ, B – krém základ, C – tělový lotion s macerátem z KS, D – krém s macerátem z KS, E – tělový lotion s extraktem z KS, F – krém s extraktem z KS, G – tělový lotion s nálevem z KS, H – krém s nálevem z KS

Měření pH kůže

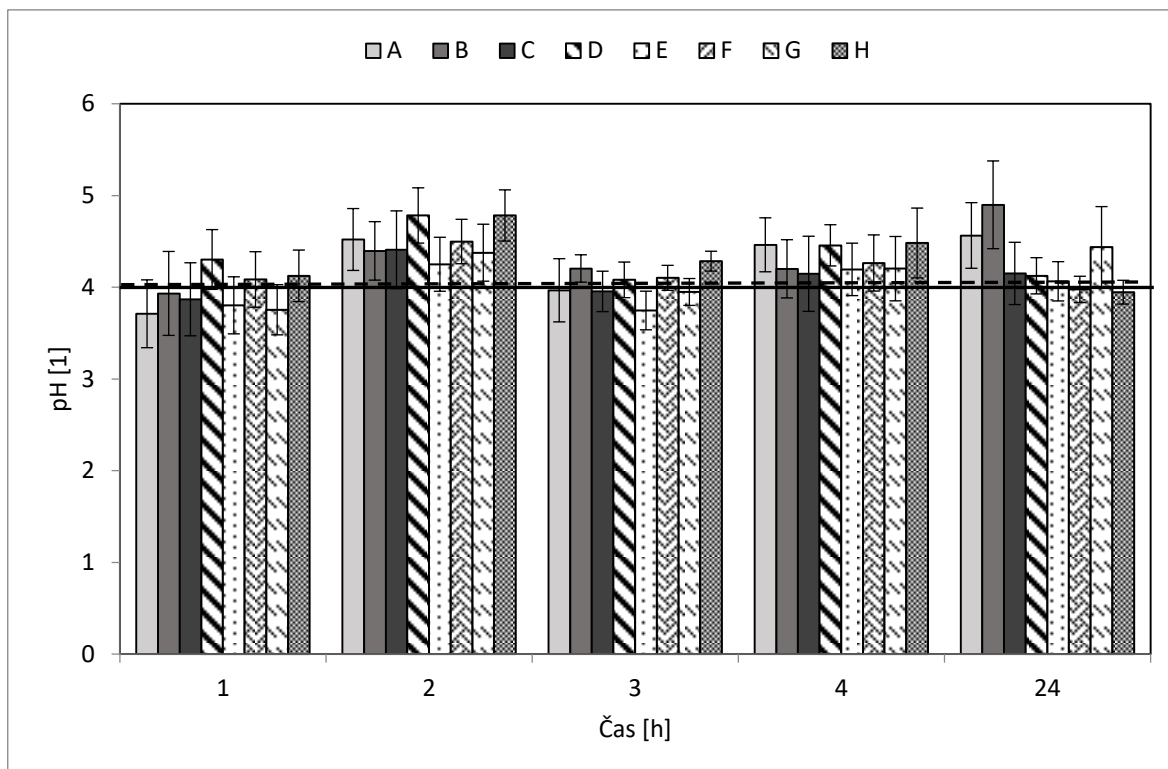
Poslední měřenou veličinou v rámci testování *in vivo* bylo měření pH kůže. Průměrná hodnota pH kůže dobrovolnic byla $4,02 \pm 0,14$. U ošetřených míst pomocí SDS ve fyziologickém roztoku byla naměřena hodnota pH $4,09 \pm 0,13$. Předúprava měřených míst tedy neměla vliv na vlastní pH kůže.

Naměřené hodnoty pH kůže v čase 0 nepřesahovaly u žádného z ošetřených míst hodnotu 4,04, pokožka byla tedy po předúpravě mírně kyselá (Obrázek 12). V 1. hodině po nanesení testovaných krémů byl u všech vzorků pozorován nárůst hodnot pH nejméně o 1 % u vzorku F (krém s extraktem z KS) a nejvíce o 11 % u vzorku B (krém základ). Ve 2. hodině testování nastal u hodnot pH rostoucí trend, kdy nejvyšší nárůst byl zaznamenán u vzorků G (tělový lotion s nálevem z KS), kde pH vzrostlo o 28 % na hodnotu 4,38 a A (tělový lotion základ), kdy byla hodnota pH rovna 4,52 a nárůst byl vyšší o 26 %. V čase 3–24 h naměřené pH klesalo u vzorků A, C, E (tělový lotion základ, macerát a extrakt z KS) a D, F, H (krém macerát, extrakt, nálev z KS). U vzorků B (krém základ) a G (tělový lotion s nálevem z KS) byl pozorován nárůst v hodnotách pH po 24 hodinách testování, a to především u krémového základu o 38 % a u tělového lotionu s nálevem z KS o 30 %. Jediný vzorek, u kterého došlo ke snížení pH byl vzorek F (krém s extraktem z KS) viz Tabulka 17.

Tabulka 17 Rozdíl pH vůči hodnotám měřeným v čase 0.

Čas [h]	Rozdíl pH [%]							
	A	B	C	D	E	F	G	H
1	4	11	9	4	4	1	10	6
2	26	24	24	16	16	11	28	23
3	11	18	11	2	2	1	16	10
4	25	18	17	14	14	5	23	15
24	15	38	17	11	11	-2	30	1

A – tělový lotion základ, B – krém základ, C – tělový lotion s macerátem z KS, D – krém s macerátem z KS, E – tělový lotion s extraktem z KS, F – krém s extraktem z KS, G – tělový lotion s nálevem z KS, H – krém s nálevem z KS



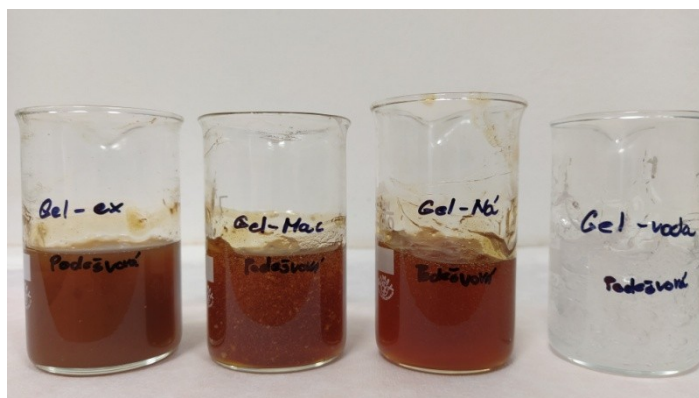
Obrázek 12 Vliv formulací na pH kůže (kontrolní místo - - -; přirozená pokožka —)

A – tělový lotion základ, B – krém základ, C – tělový lotion s macerátem z KS, D – krém s macerátem z KS, E – tělový lotion s extraktem z KS, F – krém s extraktem z KS, G – tělový lotion s nálevem z KS, H – krém s nálevem z KS

Obecně lze tedy říci, že testované formulace výrazně neměnily přirozené pH kůže a naměřené hodnoty se blížily hodnotám kyselého pláště kožního, tedy fyziologickému pH kůže. Nebyl pozorován výrazný rozdíl mezi formulacemi krému a tělového lotionu ve vztahu k pH kůže.

5.6 Příprava gelů a šampónů

Další řadu kosmetických přípravků měly tvořit gely s obsahem extraktu z KS (Obrázek 13). Během samotné přípravy gelů bylo zjištěno, že extrakty z KS ovlivňují viskozitu gelu a formulace musely být připraveny s vyšším množstvím carbomeru (0,8 %) oproti základní formulaci, která obsahovala 0,4 % carbomeru, aby po zesíťování vznikl viskózní gel. Gely s obsahem extraktů z KS měly sytou hnědou barvu. Kvůli obsahu etanolu ve formulaci nebyla u vyrobených gelů přítomná jemná kávová vůně.



Obrázek 13 Vyrobené gely s obsahem extraktů z KS (z leva extrakt, macerát, nálev) a bez (transparentní zabarvení)

Stejně jako u přípravy gelů i u přípravy šampónů (Obrázek 14) byl pozorován vliv extraktů z KS na viskozitu formulace. Šampóny s obsahem extraktů z KS měly hnědou barvu a voněly jemně po kávě. Základní formulace šampónů měla světlou krémovou barvu.



Obrázek 14 Vyrobené šampony s obsahem extraktů z KS (z leva nálev, macerát, extrakt) a bez (světlé zabarvení)

5.6.1. Charakterizace chemických vlastností vyrobených gelů a šampónů

Měření povrchového napětí šampónů

Povrchové napětí šampónů bylo měřeno pomocí tenziometru KRÜSS-EasyDyne metodou Wilhelmyho destičky. U připravených šampónů bylo zjišťováno, zda má obsah extraktů z KS vliv na jejich hodnotu povrchového napětí. Základní formulace šampónu vykazovala hodnoty povrchového napětí $27,00\text{--}27,60 \pm 0,01$ mN/m. U formulací obsahující extrakty z KS nebyl pozorován vliv na snižování povrchového napětí, jelikož nejnižší naměřená hodnota byla rovna $26,80 \pm 0,01$ mN/m. Navzdory tomu, že samotné vodné extrakty povrchové napětí snižovaly, u připravených formulací se nepodařilo prokázat, že obsah těchto extraktů má vliv na výsledné povrchové napětí výsledné formulace (Tabulka 18).

Tabulka 18 Stanovení povrchového napětí u 1% roztoku šampónů

Vzorky	γ [mN/m]	σ [mN/m]	t [°C]
Voda	70,2	0,00	25,2
Šampón základ	27,6	0,01	25,4
	27,4	0,01	25,4
	27,0	0,01	25,5
Šampón macerát	27,0	0,01	25,5
	26,8	0,00	25,5
	27,0	0,01	25,5
Šampón nálev	27,1	0,00	25,6
	26,8	0,01	25,5
	26,9	0,01	25,5
Šampón extrakt	26,9	0,00	25,5
	26,9	0,00	25,5
	26,9	0,01	25,5

Viskozita šampónů

Viskozita je velice důležitým parametrem pro spotřebitele. Produkt musí odpovídat viskozitě ideální pro jeho užívání, tak aby lehce tzv. tekla z láhve, ale zároveň byl dostatečně viskózní pro snadnou manipulaci. Již po namíchání formulací šampónů s extrakty z KS bylo zřejmé, že vlastní přítomnost extraktů ve formulacích ovlivňuje výslednou viskozitu produktu. Domněnka vlivu extraktů na viskozitu byla potvrzena měřeními na rotačním viskozimetru Myr V2–L. Základní formulace šampónu bez přidaných extraktů měla viskozitu 39540 ± 4320 mPas. U šampónu s obsahem macerátu došlo ke snížení viskozity na hodnotu 10522 ± 295 mPas. Nálev snižoval u formulace viskozitu na 958 ± 6 mPas. Daleko výraznější snížení nastalo u šampónu s obsahem extraktu, hodnota odpovídala 724 ± 14 mPas. Z výsledků uvedených v Tabulka 19 je zřejmé, že obsah extraktů z KS má tedy výrazný vliv na výslednou viskozitu KP, především s ohledem na způsob získání vlastního extraktu z KS.

Tabulka 19 Stanovení viskozity šampónů

Počet měření	Viskozita [mPas]			
	Šampón základ	Šampón macerát z KS	Šampón extrakt z KS	Šampón nálev z KS
1	26860	11100	750	970
2	31370	10640	720	960
3	46570	9450	690	970
4	46410	10420	700	950
5	46490	11000	760	940
Průměr	39540	10522	724	958
Směrodatná odchylka	4320	295	14	6

Viskozita gelů

Vliv obsahu extraktů z KS na viskozitu byl prokázán i u vyrobených gelů. Vzhledem k jejich velmi rozdílné viskozitě bylo nezbytné do jejich formulace navýšit počáteční množství carbomeru na 0,8 % oproti formulaci základní, kde bylo množství carbomeru 0,4 %. Pro základní gelovou formulaci byla naměřena viskozita $706345,6 \pm 803,2$ mPas. Gely s obsahem extraktů výrazně snižovaly viskozitu základní formulace. Pro gel s obsahem macerátu byla naměřena hodnota viskozity $3176,6 \pm 4,4$ mPas. O něco vyšší viskozitu ($10247,4 \pm 89,6$ mPas) vykazoval gel s obsahem nálevu. Největší vliv na viskozitu gelu měl, stejně jako v případě šampónu, obsah extraktu, viskozita byla rovna $217,6 \pm 0,9$ mPas. Jak u vyrobených gelů, tak i šampónů měly tedy extrakty výrazný vliv na snižování jejich viskozity. Nejvíce viskozitu snižoval extrakt, poté macerát, naopak nejméně nálev. Výsledky měření jsou uvedeny v Tabulka 20.

Tabulka 20 Stanovení viskozity gelů

Počet měření	Viskozita [mPas]			
	Gel základ	Gel macerát z KS	Gel extrakt z KS	Gel nálev z KS
1	704542	3190	217	10389
2	704542	3168	219	10350
3	706617	3177	217	10303
4	708630	3182	220	9895
5	707397	3166	215	10300
Průměr	706345,6	3176,6	217,6	10247,4
Směrodatná odchylka	803,2	4,4	0,9	89,6

5.7 Příprava peelingu

Pro přípravu peelingu s obsahem stříbrných kávových slupek byla použita základní formulace tělového lotionu. Bohužel do struktury přidaných kávových slupek vnikla volná voda z formulace a slupky tak nepůsobily abrazivně, nejsou tedy k přípravě peelingu vhodné. Připravená formulace je znázorněna na Obrázek 15.



Obrázek 15 Peeling s obsahem stříbrných kávových slupek

ZÁVĚR

Diplomová práce pojednává o složení zelené a pražené kávy a jejich vlastnostech. Zaměřuje se na stříbrné kávové slupky jako vedlejší produkt pražení kávových zrn, jejich charakterizaci, chemické složení a možnosti využití v kosmetických i nekosmetických oborech.

Využití stříbrných kávových slupek v kosmetice bylo ověřeno v praktické části, kdy byly připraveny extrakty ze stříbrných kávových slupek, které byly dále analyzovány. Následně byla připravena řada kosmetických produktů (krém, tělový lotion, gel, šampón a peeling) s obsahem získaných extraktů.

Příprava vodných extraktů byla rychlou a snadnou cestou, jak zpracovat stříbrné kávové slupky, extrakci do vody i organických rozpouštědel lze podpořit pomocí ultrazvukové lázně. Postupem extrakce do dichlormethanolu pomocí ultrazvukové lázně se podařilo získat extrakt, který stanovením pomocí plynové chromatografie obsahoval kofein v množství 0,31 mg/ml, čímž se podařilo prokázat, že stříbrné kávové slupky obsahují kofein.

Mikrobiologické stanovení extraktů neprokázalo, jejich aktivitu a nelze tak extraktům ani samotným stříbrným kávovým slupkám připisovat antimikrobiální účinky. Obsah kofeinu i dalších látek, jimž jsou antimikrobiální vlastnosti připisovány, nebyl v námi připravených extraktech dostatečný.

Vodné extrakty, které byly použity pro přípravu kosmetických přípravků, zabarvovaly formulace do béžové až hnědé barvy. U všech formulací byl po nahrazení vody extrakty pozorován vliv na výslednou viskozitu produktu. Pro přípravu gelů muselo být použito dvojnásobné množství gelotvorného činidla. Viskozita KP je důležitým parametrem především pro uživatele a výrazné snížení může mít negativní vliv během aplikace přípravku.

Ačkoliv byl u samotných vodných extraktů prokázán vliv na snížení povrchového napětí, na povrchové napětí, výsledné formulace šampónů s obsahem 12 % PAL, extrakty neměly vliv.

U formulací krémů a tělových lotionů bylo pomocí neinvazivních metod na dobrovolnicích zjištěno, že obě formulace, s i bez extraktů z KS mají pozitivní vliv na hydrataci, TEWL a vliv na pH pokožky mají relativně malý. Vyšší hydratace kůže byla pozorována

u formulací tělových lotionů s obsahem extraktů z KS. Naopak u měření TEWL se prokázal pozitivní vliv u formulací krémů s obsahem extraktů z KS.

Senzorické hodnocení krémů s 95% spolehlivostí prokázalo vliv extraktu na viskozitu produktu, kdy krém s obsahem macerátu z KS byl lépe roztíratelný než základní krémová formulace. Formulace se na hladině významnosti 0,1 % lišily v barvě i vůni. Bylo prokázáno, že obsah extraktu z KS způsobil nejsytější zbarvení formulací.

Výsledky experimentu prokázaly, že extrakty z KS v připravených formulacích byly účinnou kosmetickou ingrediencí a jsou vhodné pro použití v kosmetických přípravcích určených k ošetření kůže za účelem hydratace.

Dále je zřejmé, že stříbrné kávové slupky jsou levnou, snadno dostupnou a udržitelnou surovinou, kterou lze jednoduchým způsobem zakomponovat do KP, jimž obsah extraktů z KS dává přidanou hodnotu či dokonce zlepšuje jejich funkci.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. ©*Progetto CirCo* [online]. 2022, Španělsko [cit. 2022-05-06]. Dostupné z: <http://progettocirco.it/>
2. DAVIS, A. P., R. GOVAERTS, D. M. BRIDSON a P. STOFFELEN. An annotated taxonomic conspectus of the genus *Coffea* (Rubiaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* [online]. 2006, 152(4), 465-512 [cit. 2021-10-13]. ISSN 00244074. Dostupné z: doi:10.1111/j.1095-8339.2006.00584.x
3. FARAH, A. a T. FERREIRA DOS SANTOS. Coffee plant and beans: An Introduction. In: PREEDY, V. *Coffee in Health and Disease Prevention* [online]. Elsevier science publishing Co Ing, 2015 [cit. 2021-11-02]. ISBN 9780124095175. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409517-5.00001-2>
4. AUGUSTÍN, J. *U kávy o kávě a kávovinách*. Brno: JOTA, 2016, ISBN 978-80-7462-850-4
5. KLEINWÄCHTER, M., G. BYTOF a D. SELMAR. Coffee beans and processing. In: PREEDY, V. *Coffee in Health and Disease Prevention* [online]. Elsevier science publishing Co Ing, 2015 [cit. 2021-11-02]. ISBN 9780124095175. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409517-5.00009-7>
6. SELMAR, D., G. BYTOF, S.-E. KNOPP. New aspects of coffee procesing: Relation between seed germination and coffee quality. In: *library.sweetmarias* [online]. 2020 [cit. 2021-11-02]. Dostupné z: <https://library.sweetmarias.com/wp-content/uploads/2020/08/New-Aspects-of-Coffee-Processing-older-paper.pdf>
7. FUSTER, J. a J. DECICCO. Green Coffee: What It Is, How It Tastes, Why People Drink It. *Super coffee* [online]. 2021 [cit. 2022-02-11]. Dostupné z: <https://drinksupercoffee.com/blog/nutrition/green-coffee/>
8. WINTEGENS, J. N. *Coffee - Growing, Processing, Sustainable Production: A Guidebook for Growers, Processors, Traders and Researchers* [online]. Druhé, upravené vydání. Německo: Weinheim, 2008 [cit. 2022-05-02]. ISBN 978-3-527-61962-7. Dostupné z: [https://www.wiley.com/en-us/Coffee+Growing,+Processing,+Sustainable+Production:+A+Guidebook+for+Gr
owers,+Processors,+Traders+and+Researchers-p-9783527619627](https://www.wiley.com/en-us/Coffee+Growing,+Processing,+Sustainable+Production:+A+Guidebook+for+Growers,+Processors,+Traders+and+Researchers-p-9783527619627)

9. WEI, F., M. TANOKURA. Organic compounds in green coffee beans. In: PREEDY, V. *Coffee in Health and Disease Prevention* [online]. Elsevier science publishing Co Ing, 2015 [cit. 2021-11-03]. ISBN 9780124095175. Dostupné z: <https://www-sciencedirect-com.proxy.k.utb.cz/science/article/pii/B9780124095175000176?via%3Dihub>
10. GARG, S. Green coffee bean. In: GUPTA, R. *Nutraceuticals: Efficacy, Safety and Toxicity* [online]. 2016, s. 653-667 [cit. 2021-11-19]. ISBN 9780128021651. Dostupné z: https://app-knovel-com.proxy.k.utb.cz/web/view/khtml/show.v/rcid:kpNEST0002/cid:kt010V6FD4/viewerType:khtml/root_slug:nutraceuticals-efficacy/url_slug:green-coffee-bean?&kpromoter=federation&b-toc-cid=kpNEST0002&b-toc-url-slug=nutraceuticals-in-cns&b-toc-title=f&page=1&view=collapsed&zoom=1
11. FISCHER, M., S. REIMANN, V. TROVATO a R. J. REDGWELL. Polysaccharides of green *Arabica* and *Robusta* coffee beans. *Carbohydrate Research* [online]. 2001, 330(1), 93-101 [cit. 2021-11-19]. ISSN 00086215. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(00\)00272-X](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)00272-X)
12. FATHY, M. M. a A. A. MOHAMMAD. Thermostability of bioactive compounds during roasting process of coffee beans. *Heliyon* [online]. 2020, (6), 1–7 [cit. 2021-12-16]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05508>
13. The 5 Stages of Coffee Roasting. *Pebble and Pine Ltd* [online]. UK, © 2021 [cit. 2021-12-17]. Dostupné z: <https://pebbleandpine.co.uk/blogs/fresh-roasted-coffee-news/5-stages-coffee-roasting>
14. THORN, J. *Káva: Příručka pro labužníky*. Fortuna print, 2000, 192 s. ISBN 80-86144-64-X.
15. IRIONDO-DEHOND, A., A. S. ELIZONDO a M. B. RÍOS. Assessment of Healthy and Harmful Maillard Reaction Products in a Novel Coffee Cascara Beverage: Melanoidins and Acrylamide. *Foods* [online]. 2020, 9(620), 1–18 [cit. 2021-12-16]. Dostupné z: <https://www.mdpi.com/2304-8158/9/5/620>
16. YOUNG, J. D. a D. C. HARDESTY. *Flavored coffee compositions with stable flavors and method of making*. Kanada. WO/2003/077667.

17. DIVIŠ, P., J. POŘÍZKA a J. KRŽÍKALA. The effect of coffee beans roasting on its chemical composition. *POTRAVINARSTVO SLOVAK JOURNAL OF FOOD SCIENCES* [online]. 2019, **13**(1), 344–350 [cit. 2022-02-19]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.5219/1062>
18. SUALEH, A., K. TOLESSA a A. MOHAMMED. Biochemical composition of green and roasted coffee beans and their association with coffee quality from different districts of southwest Ethiopia. *Heliyon* [online]. 2020, **6**(12), 1–9 [cit. 2022-02-19]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05812>
19. GARCIA, C. V. a Y. T. KIM. Spent Coffee Grounds and Coffee Silverskin as Potential Materials for Packaging: A Review. *Journal of Polymers and the Environment* [online]. 2021, **29**(8), 2372–2384 [cit. 2022-01-12]. ISSN 15662543. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1007/s10924-021-02067-9>
20. SPADI, A., G. ANGELONI, L. GUERRINI a F. CORTI. Hydrodistillation of Coffee By-Products to Recover of Bioactive Compounds: the Spent Coffee Ground and Coffee Silvers Skin Case-Study. *CET Journal - Chemical Engineering Transactions* [online]. 2021, **87**, 313-318 [cit. 2022-02-20]. ISSN 19749791. Dostupné z: doi:[10.3303/CET2187053](https://doi.org/10.3303/CET2187053)
21. GOTTSTEIN, V., M. BERNHARDT a E. DILGER a kol. Coffee Silver Skin: Chemical Characterization with Special Consideration of Dietary Fiber and Heat-Induced Contaminants. *Foods* [online]. 2021, **10**(8), 1-18 [cit. 2021-11-23]. doi:doi.org/10.3390/foods10081705. Dostupné z: <https://www.mdpi.com/2304-8158/10/8/1705>
22. PRANDI, B., M. FERRI, S. MONARI, et al. Extraction and Chemical Characterization of Functional Phenols and Proteins from Coffee (*Coffea arabica*) By-Products. *Biomolecules* [online]. 2021, **11**(11), 1–17 [cit. 2022-02-20]. ISSN 2218273X. doi:[10.3390/biom11111571](https://doi.org/10.3390/biom11111571) Dostupné z: <https://eds.s.ebscohost.com/eds/detail/detail?vid=0&sid=02d3d270-6178-4694-8912-6dc98b5d4438%40redis&bdata=Jmxhbmc9Y3Mmc2l0ZT1lZHMtbGl2ZQ%3d%3d#AN=34827569&db=cmedm>
23. BALLESTEROS, L.F., J.A., TEIXEIRA. Chemical, Functional, and Structural Properties of Spent Coffee Grounds and Coffee Silverskin. *Food Bioprocess*

- Technol [online]. 2014, 7, 3493–3503 [cit. 2021-12-13]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s11947-014-1349-z>
24. BESSADA, S. M. F., R. C. ALVES a A.S. COSTA. *Coffea canephora* silverskin from different geographical origins: A comparative study. *Science of The Total Environment* [online]. 2018, (645), 1021-1028 [cit. 2021-12-14]. Dostupné z: [doi:https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.201](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.201)
25. EVROPSKÁ KOMISE. Nařízení Komise (EU) 2017/2158 ze dne 20. listopadu 2017, kterým se stanoví zmírňující opatření a porovnávací hodnoty pro snížení přítomnosti akrylamidu v potravinách. In: Úřední věstník Evropské Unie, L 304. 2017, 24-44. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=celex%3A32017R2158>
26. LACHEMEIER, D. W., S. SCHWARZ a J. TEIPEL. Potential Antagonistic Effects of Acrylamide Mitigation during Coffee Roasting on Furfuryl Alcohol, Furan and 5-Hydroxymethylfurfural. *Toxics* [online]. 2019, 7(1), 1–13 [cit. 2022-02-15]. Dostupné z: [doi:https://doi.org/10.3390/toxics7010001](https://doi.org/10.3390/toxics7010001)
27. NZEKOUÉ, F. K., S. ANGELONI, L. NAVARINI, et al. Coffee silverskin extracts: Quantification of 30 bioactive compounds by a new HPLC-MS/MS method and evaluation of their antioxidant and antibacterial activities. *Food Research International* [online]. 2020, **133**, 1–13 [cit. 2022-03-24]. ISSN 09639969. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109128>
28. CAPRIOLI, G., F. K. NZEKOUÉ a F. GIUSTI. Optimization of an extraction method for the simultaneous quantification of sixteen polyphenols in thirty-one pulse samples by using HPLC-MS/MS dynamic-MRM triple quadrupole. *Food Chemistry* [online]. 2018, (266), 490–497 [cit. 2022-03-28]. Dostupné z: [doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.049](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.049)
29. BELAY, A., K. TURE BAKETIE a M. REDI. Measurement of Caffeine in Coffee Beans with UV/Vis Spectrometer. *Food Chemistry* [online]. 2008, **108**(1), 310–315 [cit. 2022-03-28]. DOI: [10.1016/j.foodchem.2007.10.024](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.10.024) Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/223306460_Measurement_of_Caffeine_in_Coffee_Beans_with_UVVis_Spectrometer
30. FATHI, F. Formulation of Nano/Micro-Carriers Loaded with an Enriched Extract of Coffee Silverskin: Physicochemical Properties, In Vitro Release Mechanism and In

- Silico Molecular Modeling. *Pharmaceutics* [online]. 2022, **14**(112), 112-112 [cit. 2022-03-30]. ISSN 19994923. Dostupné z: doi:10.3390/pharmaceutics14010112
31. XUAN, S. H., K. S. LEE, H. J. JEONG, Y. M. PARK, J. H. HA a S. N. PARK. Cosmeceutical activities of ethanol extract and its ethyl acetate fraction from coffee silverskin. *Biomaterials Research* [online]. 2019, **23**(1) [cit. 2022-03-30]. ISSN 20557124. DOI: doi:10.1186/s40824-018-0151-9 Dostupné z: <https://biomaterialsres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40824-018-0151-9>
32. POKORNÝ, J., N. YANISHLIEVA a M. GORDON. *Antioxidants in Food: Practical Applications* [online]. Cambridge: Woodhead Publishing in food science and technology, 2001, 400 s. [cit. 2022-05-02]. ISBN 9781855736160. Dostupné z: <https://www.elsevier.com/books/antioxidants-in-food/pokorny/978-1-85573-463-0>
33. MENDES DOS SANTOS, É., L. MALVEZZI DE MACEDO a L. TUNDISI. Coffee by-products in topical formulations: A review. *Trends in Food Science and Technology* [online]. (111), 280–291 [cit. 2022-01-28]. ISSN 0924-2244. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.064>
34. OLIVEIRA, G., I. GONÇALVES a A. BARRA. Coffee silverskin and starch-rich potato washing slurries as raw materials for elastic, antioxidant, and UV-protective biobased films. *Food Research International* [online]. 2020, (138), 1–9 [cit. 2022-02-13]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109733>
35. RODRIGUES, F., A. PALMEIRA–DE–OLIVEIRA a J. DAS NEVES. Coffee silverskin: A possible valuable cosmetic ingredient. *Pharmaceutical Biology* [online]. 2015, **53**(3), 386–394 [cit. 2022-02-18]. ISSN 1744-5116. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.3109/13880209.2014.922589>
36. DEL CASTILLO, B. a M. DOLORES. *Application of products of coffee silverskin in anti-aging cosmetics and functional food*. Španělsko. WO 2013/004873 A1. Uděleno 03.07.2012. Zapsáno 10.01.2013.
37. IRIONDO-DEHOND, A., P. MARTORELL a S. GENOVÉS. Coffee Silverskin Extract Protects against Accelerated Aging Caused by Oxidative Agents. *Molecules* [online]. 2016, **21**(721), 1–14 [cit. 2022-01-31]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.3390/molecules21060721>

38. YONG-HUN, Ch., A. BAHUGUNA a K. HAN-HYUK. Potential effect of compounds isolated from *Coffea arabica* against UV-B induced skin damage by protecting fibroblast cells. *Journal of photochemistry and photobiology* [online]. 2017, (174), 323–332 [cit. 2022-01-31]. Dostupné z: doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2017.08.015>
39. CHOQUENET, B., C. COUTEAU a E. PAPARIS. Flavonoids and polyphenols, molecular families with sunscreen potential: determining effectiveness with an in vitro method. *Natural product communication* [online]. 2009, 4(2), 227–230 [cit. 2022-02-11]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19370928/>
40. RIVELLI, D. P., C. A. H. FILHO a R. L. ALMEIDA. Chlorogenic acid UVA–UVB photostability. *Photochemistry and photobiology* [online]. 2010, 86(5), 1005–1007 [cit. 2022-02-11]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.2010.00776.x>
41. CHO, Yong-hun, Ashutosh BAHUGUNA, Han-hyuk KIM, et al. Potential effect of compounds isolated from *Coffea arabica* against UV-B induced skin damage by protecting fibroblast cells. *Journal of Photochemistry* [online]. 2017, 174, 323-332 [cit. 2022-02-11]. ISSN 10111344. Dostupné z: doi:10.1016/j.jphotobiol.2017.08.015
42. WAGEMAKER, T. A. L., A. S. FERNANDES a P. RIJO. Unsaponifiable matter from oil of green coffee beans: cosmetic properties and safety evaluation. *Drug Development and Industrial Pharmacy* [online]. 2016, 42(10), 1695–1699 [cit. 2022-02-16]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.3109/03639045.2016.1165692>
43. HAMISHEHKAR, H., J. SHOKRI a S. FALLAHI. Histopathological evaluation of caffeine-loaded solid lipid nanoparticles in efficient treatment of cellulite. *Drug Development and Industrial Pharmacy* [online]. 2015, 41(10), 1640–1646 [cit. 2022-02-15]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.3109/03639045.2014.980426>
44. RODRIGUES, F., A. C. ALVES a C. NUNES. Permeation of topically applied caffeine from a food by-product in cosmetic formulations: Is nanoscale in vitro approach an option?. *Pharmaceutical nanotechnology* [online]. 2016, 513(1–2), 496–503 [cit. 2022-02-15]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.09.059>
45. EL-ANANY, A. M. a R. F. M. ALI. Hypolipidemic effect of coffee silver skin in rats fed a high-fat diet. *Food Science and Human Wellness* [online]. 2018, 7(4), 252–259 [cit. 2022-02-20]. ISSN 22134530. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.fshw.2018.10.005>

46. RODRIGUES, F., R. MATIAS a M. FERREIRA. In vitro and in vivo comparative study of cosmetic ingredients Coffee silverskin and hyaluronic acid. *Experimental Dermatology* [online]. John Wiley, 2016, **25**, 555–576 [cit. 2022-01-27]. ISSN 1600-0625. DOI: 10.1111/exd.13010. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/exd.13010>
47. RODRIGUES, F., C. PEREIRA a F. B. PIMENTEL. Are coffee silverskin extracts safe for topical use? An in vitro and in vivo approach. *Industrial Crops and Products* [online]. 2015, (63), 167–174 [cit. 2022-01-27]. ISSN 0926-6690. Dostupné z: https://recipp.ipp.pt/bitstream/10400.22/7269/4/ART_FRodrigues_2015_GRAQ.pdf
48. LÓPEZ, A. B., J. M. BELTRÁN a V. VIRJAMO. Revalorization of coffee silverskin as a potential feedstock for antifungal chemicals in wood preservation. *International Biodeterioration & Biodegradation* [online]. 2020, (152), 1–7 [cit. 2022-01-12]. ISSN 9648305. Dostupné z: [doi:https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2020.105011](https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2020.105011)
49. HEJNA, A., P. KOSMELA a M. BARCZEWSKI. Coffee Silverskin as a Multifunctional Waste Filler for High-Density Polyethylene Green Composites. *Journal of composites science*. [online]. 2021, **5**(44), 1–13 [cit. 2022-01-13]. ISSN 2504-477X. Dostupné z: [doi:https://doi.org/10.3390/jcs5020044](https://doi.org/10.3390/jcs5020044)
50. SARASINI, F., J. TIRILLÒ, A. ZUORRO a G. MAFFEI. Recycling coffee silverskin in sustainable composites based on a poly(butylene adipate-co-terephthalate)/poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) matrix. *Industrial Crops* [online]. 2018, **118**, 311–320 [cit. 2022-02-20]. ISSN 09266690. Dostupné z: [doi:https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.03.070](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.03.070)
51. OLIVEIRA, G., P. FERREIRA a C. P. PASSOS. Coffee By-Products and Their Suitability for Developing Active Food Packaging Materials. *Foods* [online]. 2021, **10**(683), 1–17 [cit. 2022-01-13]. ISSN 2304-8158. Dostupné z: [doi:https://doi.org/10.3390/foods10030683](https://doi.org/10.3390/foods10030683)
52. MOTA, D. A., M. BARBOSA a J. K. SCHNEIDER. Potential Use of Crude Coffee Silverskin Oil in Integrated Bioprocess for Fatty Acids Production. *J Am Oil Chem Soc* [online]. 2021, (98), 519–529 [cit. 2022-01-14]. ISSN 1558-9331. DOI: 10.1002/aocs.12472 Dostupné z:

<https://www.scilit.net/article/171804aa53d763964413b6f751910d46?action=show-references>

53. FERNANDEZ-GOMEZ, B., A. LEZAMA, M. AMIGO-BENAVENT, M. ULLATE a M. HERRERO. Insights on the health benefits of the bioactive compounds of coffee silverskin extract. *Journal of Functional Foods* [online]. 2016, **25**(197-207), 197-207 [cit. 2022-03-24]. ISSN 17564646. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.06.001>
54. NZEKOUÉ, F. K., G. BORSETTA, L. NAVARINI, et al. Coffee silverskin: Characterization of B-vitamins, macronutrients, minerals and phytosterols. *Food Chemistry* [online]. 2022, 372 [cit. 2022-04-27]. ISSN 03088146. Dostupné z: [doi:10.1016/j.foodchem.2021.131188](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131188)
55. WACHAMO, H. L. Review on Health Benefit and Risk of Coffee Consumption. *Med Aromat Plants an open access journal* [online]. 2017, 6(4), 1–12 [cit. 2022-04-27]. ISSN 2167-0412. DOI: [doi:10.4172/2167-0412.1000301](https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000301) Dostupné z: https://www.researchgate.net/profile/Hailulire-Wachamo/publication/327241743_Review_on_Health_Benefit_and_Risk_of_Coffee_Consumption/links/5e79c7254585158bd501ca05/Review-on-Health-Benefit-and-Risk-of-Coffee-Consumption.pdf
56. VEČEŘOVÁ, V. *Optimalizace metody stanovení SPF a UVA in vitro* [online]. Zlín, 2015 [cit. 2022-05-06]. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Vedoucí práce P. Egner. Dostupné z: https://stag.utb.cz/portal/studium/prohlizeni.html?pc_pagenavigationalstate=AAAAAQAFMTAzNTATAQAAAAEACHN0YXRIS2V5AAAAQAULTkyMjMzNzIwMzY4NTQ3NzA1NzEAAAAA.
57. RODRIUES, F., A. C. ALVES, C. NUNES a B. SARMENTO. Permeation of topically applied caffeine from a food by—product in cosmetic formulations: Is nanoscale in vitro approach an option?. *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 2016, (513), 496–503 [cit. 2022-05-03]. Dostupné z: [doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.09.059](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.09.059)
58. BELAY, A., K. TURE, M. REDİ a A. ASFAW. Measurement of caffeine in coffee beans with UV/vis spectrometer. *Food Chemistry* [online]. 2008, **108**(1), 310-315

[cit. 2022-04-30]. ISSN 03088146. Dostupné z:
doi:10.1016/j.foodchem.2007.10.024

59. ROSADO, C., V. K. TOKUNAGA, R. SAUCE, et al. Another Reason for Using Caffeine in Dermocosmetics: Sunscreen Adjuvant. *FRONTIERS IN PHYSIOLOGY* [online]. 2019, **10**, 519-526 [cit. 2022-04-03]. ISSN 1664042X. DOI: doi:10.3389/fphys.2019.00519 Dostupné z:
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2019.00519/full>
60. KŘÍŽ, O., F. BUŇKA a J. HRABĚ. *Senzorická analýza potravin II.: Statistické metody*. Zlín, 2007. ISBN 978-80-7318-494-0
61. FUKUI, H. *Cosmetic Science and Technology*. 2017, 159-169. ISBN 9780128020050. DOI: doi:10.1016/B978-0-12-802005-0.00012-4. Dostupné z:
<https://www-sciencedirect-com.proxy.k.utb.cz/science/article/pii/B9780128020050000124?via%3Dihub>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AA	Akrylamid
ABTS	2,2-anizo-bis (3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonová kyselina
AMK	Aminokyselina
CCK	Kyselina caffeoylchinová
CRL	Lipáza <i>Candida rugosa</i>
DDM	Disková difúzní metoda
DPPH	1,1- difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl
DV	Dietní vláknina
FRAP	Ferric reducing antioxidant power
HaCaT	Imortalizované lidské keratinocyty
HDPE	Vysokohustotní polyetylen
HPLC	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie
KJ	Korneometrická jednotka
KP	Kosmetický přípravek
KS	Kávové slupky (stříbrné kávové slupky)
MHA	Müeller-Hinton agar
MIC	Minimal Inhibitory Concentration, minimální inhibiční koncentrace
MK	Mastná kyselina
MO	Mikroorganismus
MR	Maillardova reakce
MRSA	Methicilin resistantní <i>Staphylococcus aureus</i>
NDV	Nerozpustná dietní vláknina
O/V	Emulze typu olej ve vodě
PAL	Povrchově aktivní látka
PE	Polyetylen

PMMA	Polymethylmetharylát
RDV	Rozpustná dietní vláknina
ROS	Reaktivní formy kyslíku
SBR	Sabouraudův agar
SDS	Sodium dodechl sulfát
SPF	Sun Protection Factor
TAG	Triacylglycerol
TBHP	Terc–butylhydroperoxidem
TEWL	Trans epidermální ztráta vody
UV	Ultrafialové záření
UVA	Ultrafialové záření alfa
UVB	Ultrafialové záření beta
VIS	viditelná oblast záření
WHO	Světová zdravotnická organizace

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Řez kávovníkovou bobulí, [3, s. 3]	12
Obrázek 2 Vliv KS na ochranu polymerního filmu s obsahem škrobu proti UV záření, [34, s. 7].....	27
Obrázek 3 Graf inhibice růstu dřevokazných hub, [48, s. 5]	32
Obrázek 4 Stříbrné kávové slupky	37
Obrázek 5 Vodné extrakty z KS	54
Obrázek 6 Kalibrační řada extraktů z KS v dichlormethanolu	56
Obrázek 7 Chromatogram extraktu z KS v dichlormethanolu	57
Obrázek 8 Vyrobené krémy bez (vlevo) a s extraktem z KS (vpravo).....	61
Obrázek 9 Připravené tělové lotiony bez (vlevo) a s extraktem z KS (vpravo)	62
Obrázek 10 Vliv formulací na hydrataci kůže (kontrolní místo - - -; přirozená pokožka —)	68
Obrázek 11 Vliv formulací na TEWL (kontrolní místo - - -; přirozená pokožka —)	70
Obrázek 12 Vliv formulací na pH kůže (kontrolní místo - - -; přirozená pokožka —).....	72
Obrázek 13 Vyrobené gely s obsahem extraktů z KS (z leva extrakt, macerát, nálev) a bez (transparentní zbarvení)	73
Obrázek 14 Vyrobené šampony s obsahem extraktů z KS (z leva nálev, macerát, extrakt) a bez (světlé zbarvení)	73
Obrázek 15 Peeling s obsahem stříbrných kávových slupek.....	76

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Antimikrobiální aktivita různých extraktů KS vyjádřena jako minimální inhibiční koncentrace (MIC) [35, s. 389]	29
Tabulka 2 Složení krému	45
Tabulka 3 Složení tělového lotionu	46
Tabulka 4 Složení připravovaných gelů	51
. Tabulka 5 Složení připravených šampónů	52
Tabulka 6 Plochy a výšky píků změřených na GC	56
Tabulka 7 Výsledky diskové difúzní metody testovaných extraktů z KS a roztoků kofeinu	59
Tabulka 8 Stanovení povrchového napětí u 1% roztoků extraktů s KS	60
Tabulka 9 Stanovení pH extraktů s KS	61
Tabulka 10 SPF krémů a tělových lotionů	62
Tabulka 11 Hodnoty pro vyhodnocení párové porovnávací zkoušky	64
Tabulka 12 Hodnoty pro vyhodnocení pořadové zkoušky	65
Tabulka 13 Rozdíly součtu pořadí pro Némenyiho test hodnocení barvy	66
Tabulka 14 Rozdíly součtu pořadí pro Némenyiho test hodnocení vůně	66
Tabulka 15 Rozdíly hydratace vůči hodnotám měřeným v čase 0.	67
Tabulka 16 Rozdíl TEWL vůči hodnotám měřeným v čase 0.	70
Tabulka 17 Rozdíl pH vůči hodnotám měřeným v čase 0.	71
Tabulka 18 Stanovení povrchového napětí u 1% roztoku šampónů	74
Tabulka 19 Stanovení viskozity šampónů	75
Tabulka 20 Stanovení viskozity gelů	76

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha P I: Dotazník pro senzorické hodnocení

Příloha P II A: Dotazník pro účastníka měření, část 1

Příloha P II B: Dotazník pro účastníka měření, část 2

Příloha P III: Individuální informovaný souhlas

PŘÍLOHA P I: DOTAZNÍK PRO SENZORICKÉ HODNOCENÍ

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická

Datum:

Jméno a příjmení:

DOTAZNÍK PRO SENZORICKÉ HODNOCENÍ KRÉMŮ S EXTRAKTY Z KÁVOVÝCH SLUPEK

Úkol 1: Seřad'te předložené vzorky podle roztíratelnosti (1 – velmi dobře roztíratelný, 4 – špatně roztíratelný). Jedná se o zkoušku s nucenou volbou, tzn., že každý vzorek musí mít přidělené jedno číslo. (Friedmanův test)

Pomocí špachtle si naneste vzorek na volární předloktí a prstem jej rozetřete. (současně řešte úkol 2)

	A	B	C	D
Roztíratelnost				

Úkol 2: Který z předložených vzorků je lépe roztíratelný? Svou volbu zakroužkujte. (Párová porovnávací zkouška - jednostranná)

Pomocí špachtle si naneste vzorek na volární předloktí a prstem jej rozetřete.

A	C
B	D

Úkol 3: Seřad'te předložené vzorky podle barvy/vůně (1 – nejsvětější / typická, 6 – nejtmavší / netypická). Jedná se o zkoušku s nucenou volbou, tzn., že každý vzorek musí mít přidělené jedno číslo. Vůni hodnotíte pro typické aroma kávových slupek - vedlejší produkt při pražení kávových zrn. (Friedmanův test)

	Barva	Vůně
C		
D		
E		
F		
G		
H		

Úkol 4: Který z předložených vzorků je lépe roztíratelný? Svou volbu zakroužkujte. (Párová porovnávací zkouška – jednostranná)

Pomocí špachtle si naneste vzorek na volární předloktí a prstem jej rozetřete.

C	D
E	F
G	H

PŘÍLOHA P II A: DOTAZNÍK PRO ÚČASTNÍKA MĚŘENÍ, ČÁST 1

Dotazník pro účastníka měření

Jméno a příjmení:

Věk:

Pohlaví:

Číslo účastníka:

Váš současný zdravotní stav:

Trpíte nyní onemocněním:	ano	ne	jaké
Lupénka			
Ekzém			
Rakovina kůže			
Jiné kožní problémy			
Jizvy, znaménka, vady v místě testu			
Zarudnutí kůže po slunění v místě testu			
Astma s denním příjmem léků			
Jiné chronické respirační onemocnění			
Diabetes vyžadující léčbu inzulínem			
Onemocnění imunitního systému			
Alergie na kávu či kofein			

Váš zdravotní stav v minulosti:

Prodělal(a) jste v minulosti:	ano	ne	jaké
Transplantaci orgánů			
Léčbu maligního nádoru v posledních 6 měsících			

Užívané léky:

Užíváte pravidelně:	ano	ne	jaké
Léky na kožní onemocnění			
Léky na předpis či volně prodejné			
Imunosupresiva			
Protizánětlivé léky (ibuprofen, paracetamol, steroidy)			
Biologická léčiva (humira)			
Jiné léky			
Léčba alergie (injekce, kapky)			
Byla poslední dávka léčby podána minulý týden			
Budou vám v průběhu studie podány další dávky			

PŘÍLOHA P II B: DOTAZNÍK PRO ÚČASTNÍKA MĚŘENÍ, ČÁST 2

Alergie a léky:

Máte alergii na:	jaké
Detergenty, čisticí prostředky	
Vůně a parfemace	
Pleťové krémy, lotiny	
Antiperspiranty, deodoranty	
Léky	
Jiné	

Doplňující:

Zdravotní stav:	ano	ne	jaké
Pro ženy: Jste těhotná			
Navštěvujete lékaře kvůli alergii, kožnímu onemocnění			
Máte jiné zdravotní potíže			

Účast na studii:

Studie:	Typ:	Datum posledních testů:
Účastnil(a) jste se někdy kožního testu		
Účastnil(a) jste se v současné době jiné studie		

PŘÍLOHA P III: INDIVIDUÁLNÍ INFORMOVANÝ SOUHLAS

Individuální informovaný souhlas

Pro účely experimentu v rámci diplomové práce Vám budou na pokožku aplikovány různé testované výrobky (krémy s obsahem extraktů z KS). Všechny známé informace o zkoumaných výrobcích, dovolují testovat je na dobrovolnících.

Cíl experimentu. Cílem práce je otestovat odezvu Vaší pokožky na aplikované přípravky pomocí měřených veličin (hydratace, TEWL, pH).

Podmínky účasti. Před zahájením testování je potřeba vyplnit dotazník pro účastníka měření, kde jsou informace o Vašem zdravotním stavu, užívaných lécích či dřívější účasti na jiné studii. O Vaší účasti bude rozhodnuto až na základě vyplněného dotazníku.

Metodika testování. Testy budou prováděny studentem magisterského studijního programu pod dohledem kvalifikovaných pracovníků Ústavu technologie tuků, kosmetiky a detergentů. Metodika zahrnuje epikutánní testy na vnitřní straně předloktí.

Odstoupení z testování. Z práce je možno odstoupit po výskytu závažnějších potíží po dohodě s vedoucím diplomové práce.

Možná rizika. Během testování může dojít k podráždění pokožky (začervenání, svědění, pálení, otok). Mohou se objevit suchá místa. Nejsou očekávány žádné trvalé následky.

Jméno a příjmení:

Datum:

Podpis: