

In vivo stanovení kosmetického potenciálu formulací s obsahem kávových slupek

Bc. Žaneta Ondruchová

Diplomová práce
2025



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

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

Akademický rok: 2024/2025

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Bc. Žaneta Ondruchová
Osobní číslo: T22313
Studijní program: N0711A130011 Biomateriály a kosmetika
Forma studia: Kombinovaná
Téma práce: In vivo stanovení kosmetického potenciálu formulací s obsahem kávových slupek

Zásady pro vypracování

- Provedte literární rešerši zaměřenou na charakteristiku kávových slupek, jejich způsobů získání a možností jejich využití s apelem na kosmetický průmysl. Dále se zaměřte na jejich vlastnosti a jejich potenciální vliv na kůži. Získané poznatky kriticky zhodnoťte.
- V praktické části se věnujte přípravě kosmetických vehikul s obsahem kávových slupek a dále pak zjišťování jejich bariérových a hydratačních vlastností na kůži. Účinnost ověřte pomocí dostupných neinvazivních technik na souboru dobrovolnic.
- 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] ANTOL, M. N., *Confessions of a Coffee Bean: The Complete Guide to Coffee Cuisine*, 1. vydání, Square One Publishers, New York 2002.
- [3] WINTGENS, J. N. *Coffee: growing, processing, sustainable production : a guidebook for growers, processors, traders, and researchers* (Second, updated edition). Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH Co., 2012.
- [4] SCHWAN, Rosane F. a G. H. FLEET. *Cocoa and coffee fermentations*. Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2015. ISBN 1439847916.
- [5] THORN, J., *Káva*, 1 vyd., Fortuna Print, 2000. ISBN 80-86144-64-X.
- [6] YOUNG, J.D.; HARDESTY, D.C.: *Flavored coffee compositions with stable flavors and method of making*, Canadia Intellectual Property Office, patent number: CA 2 460 802; 2004.
- [7] 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: **10. února 2025**

Termín odevzdání diplomové práce: **9. května 2025**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Lucie Urbánková, Ph.D.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ AUTORA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že

- odevzdáním diplomové práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb., v platném znění bez ohledu na výsledek obhajoby;
- diplomová práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a bude dostupná k nahlédnutí;
- jedno vyhotovení diplomové práce v listinné podobě bude ponecháno Univerzitě Tomáše Bati ve Zlíně k uložení;
- 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 mohu užít své dílo – diplomovou práci – nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování diplomové práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem diplomové práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá; neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji, že

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

Ve Zlíně, dne

.....
podpis autora

ABSTRAKT

Tato diplomová práce se zaměřuje na komplexní literární rešerši týkající se charakteristiky stříbrných kávových slupek, jejich způsobů získávání a možností jejich využití, s důrazem na aplikaci v kosmetickém průmyslu. Připravené gelové a emulzní formulace s obsahem stříbrných kávových slupek byly podrobeny stabilitnímu hodnocení. U gelových formulací bylo dále provedeno senzorické hodnocení a *in vivo* testování na souboru dobrovolnic. Výsledky prokázaly, že gelové formulace s obsahem stříbrných kávových slupek neovlivňují negativně pH pokožky, přispívají ke snížení transepidermální ztráty vody a zároveň zvyšují její hydrataci. Z celkem dvanácti připravených gelových a emulzních formulací byly dvě emulzní formulace vyhodnoceny jako nestabilní, zatímco zbylých deset formulací vykazovalo dobrou stabilitu.

Klíčová slova: Stříbrné kávové slupky, hydratace, TEWL, antioxidační potenciál, pH, emulze, gely

ABSTRACT

This thesis focuses on a comprehensive literature review concerning the characteristics of coffee silverskin, methods of their extraction, and potential applications, with particular focus on their use in the cosmetic industry. Prepared gel and emulsion formulations containing coffee silverskin were subjected to stability testing. In addition, the gel formulations underwent sensoric evaluation and *in vivo* testing on ten female volunteers. The results demonstrated that gel formulations containing coffee silverskin do not adversely affect skin pH, reduce transepidermal water loss, and enhance skin hydration. Out of the twelve prepared gel and emulsion formulations, two emulsion formulations were evaluated as unstable, while the remaining ten showed good stability under the defined conditions.

Keywords: Coffee silverskin, hydration, TEWL, antioxidant potential, pH, emulsion, gels

Ráda bych vyjádřila své upřímné poděkování vedoucí mé diplomové práce Ing. Pavlíně Egner, Ph.D., jejíž cenné rady, trpělivost a podpora byly klíčové pro úspěšné dokončení této práce. Dále bych chtěla velmi poděkovat všem ženám, které se zúčastnily *in vivo* testování, především za jejich ochotu a čas. V neposlední řadě patří poděkování také mé rodině za podporu během celého studia.

OBSAH

ÚVOD.....	11
I TEORETICKÁ ČÁST	12
1 KÁVOVNÍK A KÁVA	13
1.1 KÁVOVNÍKOVÉ BOBULE	13
1.2 ZPRACOVÁNÍ KÁVOVNÍKOVÝCH BOBULÍ	14
1.2.1 Suché zpracování	14
1.2.2 Mokré zpracování.....	15
1.2.3 Polosuché zpracování	16
1.3 ZELENÁ KÁVOVÁ ZRNA	16
1.3.1 Chemické složení zelených kávových zrn	16
1.4 PRAŽENÍ ZELENÝCH KÁVOVÝCH ZRN	17
1.4.1 Chemická povaha pražení	18
1.5 VEDLEJŠÍ PRODUKTY ZPRACOVÁNÍ KÁVY	20
1.5.1 Vedlejší produkty vznikající během pěstování kávy	20
1.5.2 Třešňové slupky	21
1.5.3 Dužina	21
1.5.4 Stříbrné kávové slupky.....	22
1.5.5 Kávová sedlina	22
2 STŘÍBRNÉ KÁVOVÉ SLUPKY.....	23
2.1 SLOŽENÍ STŘÍBRNÝCH KÁVOVÝCH SLUPEK.....	23
2.2 ZÍSKÁVÁNÍ STŘÍBRNÝCH KÁVOVÝCH SLUPEK.....	23
2.3 CHEMICKÁ ANALÝZA STŘÍBRNÝCH KÁVOVÝCH SLUPEK.....	24
2.4 EXTRAKCE BIOAKTIVNÍCH LÁTEK ZE STŘÍBRNÝCH KÁVOVÝCH SLUPEK	24
2.5 ANTIOXIDAČNÍ VLASTNOSTI.....	27
2.5.1 Metody stanovení antioxidační aktivity	27
2.5.2 Antioxidační aktivity extraktů stříbrných kávových slupek.....	28
2.6 ANTIMIKROBIÁLNÍ VLASTNOSTI	30
3 VYUŽITÍ STŘÍBRNÝCH KÁVOVÝCH SLUPEK	32
3.1 KOSMETICKÝ PRŮMYSL	32
3.2 NEKOSMETICKÉ OBORY	35
3.2.1 Obalové materiály potravin.....	35
3.2.2 Funkční potraviny	36
3.2.3 Ochrana dřeva	38
II PRAKTICKÁ ČÁST.....	39
4 CÍLE PRÁCE	40
5 METODIKA	41

5.1	POUŽITÉ PŘÍSTROJE	41
5.2	POUŽITÉ LABORATORNÍ POMŮCKY	41
5.3	POUŽITÉ CHEMIKÁLIE	42
5.4	PŘÍPRAVA EXTRAKTŮ	43
5.4.1	Extrakt připravený za studena	43
5.4.2	Extrakty připravené za tepla.....	43
5.5	PŘÍPRAVA GELŮ S EXTRAKTY ZE STŘÍBRNÝCH KÁVOVÝCH SLUPEK	44
5.6	PŘÍPRAVA EMULZÍ S EXTRAKTY ZE STŘÍBRNÝCH KÁVOVÝCH SLUPEK	45
5.7	<i>IN VIVO</i> TESTOVÁNÍ GELOVÝCH FORMULACÍ S OBSAHEM KÁVOVÝCH SLUPEK	46
5.8	SENZORICKÁ ANALÝZA GELOVÝCH FORMULACÍ S OBSAHEM STŘÍBRNÝCH KÁVOVÝCH SLUPEK	48
5.9	STABILITNÍ HODNOCENÍ EMULZNÍCH A GELOVÝCH FORMULACÍ S OBSAHEM STŘÍBRNÝCH KÁVOVÝCH SLUPEK	50
6	VÝSLEDKY A DISKUZE	52
6.1	EXTRAKTY ZE STŘÍBRNÝCH KÁVOVÝCH SLUPEK	52
6.2	PŘÍPRAVA GELOVÝCH FORMULACÍ S OBSAHEM STŘÍBRNÝCH KÁVOVÝCH SLUPEK	53
6.3	SENZORICKÉ HODNOCENÍ GELOVÝCH FORMULACÍ S OBSAHEM STŘÍBRNÝCH KÁVOVÝCH SLUPEK	54
6.3.1	Pořadová zkouška.....	54
6.3.2	Némeneyiho test.....	55
6.4	<i>IN VIVO</i> HODNOCENÍ GELOVÝCH FORMULACÍ S OBSAHEM STŘÍBRNÝCH KÁVOVÝCH SLUPEK	58
6.4.1	Měření pH.....	58
6.4.2	Měření hydratace	60
6.4.3	Měření TEWL	62
6.5	HODNOCENÍ STABILITY EMULZNÍCH A GELOVÝCH FORMULACÍ S OBSAHEM STŘÍBRNÝCH KÁVOVÝCH SLUPEK	64
6.5.1	Vizuální hodnocení stability emulzních formulací	65
6.5.2	Vyhodnocení stability gelových formulací	69
	ZÁVĚR.....	72
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	75
	SEZNAM OBRÁZKŮ	80
	SEZNAM TABULEK.....	81
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	82
	SEZNAM PŘÍLOH.....	84

ÚVOD

Káva patří k nejobchodovanějším komoditám na světě a její produkce se neustále zvyšuje. Tento trend je doprovázen vznikem velkého množství vedlejších produktů, které během pěstování, sklizně, zpracování a konzumace kávy vznikají. Mezi tyto vedlejší produkty patří třešňové slupky (cherry husks), dužina (coffee pulp), stříbrné kávové slupky a kávová sedlina. Káva je také považována za významného původce odpadu, přibližně 30–50 % celkové hmotnosti zpracované kávy se likviduje, a to především pálením. Vzhledem k tomu, že v posledních letech stále roste politický a společenský tlak na snížení znečištění vznikajícího z průmyslové činnosti, tak se některé vedlejší produkty zpracování kávy stávají předmětem zvýšeného zájmu, a to především díky jejich složení. Stříbrné kávové slupky představují významný zdroj bioaktivních látek a mohou být použity v různých průmyslových odvětvích, včetně potravinářského, kosmetického a farmaceutického průmyslu. Stříbrné kávové slupky tvoří tenký obal kávového zrna a oddělují se při pražení kávy. Obsahují významné množství vlákniny (celulóza, hemicelulóza a lignin) a také jsou zde zastoupeny bílkoviny, lipidy, kofein a polyfenoly. Právě díky vysokému obsahu bioaktivních látek vykazují stříbrné kávové slupky antioxidační a antimikrobiální vlastnosti. Tedy klíčové vlastnosti pro potenciální využití v kosmetických formulacích, kde mohou sloužit jako zdroj přírodních antioxidantů a mohou přispět k ochraně pokožky před škodlivými vlivy prostředí a mohou zpomalit i její stárnutí. Zájem o využití přírodních složek v kosmetickém průmyslu se v posledních letech zvyšuje, a to nejen díky jejich mnohostrannému biologickému využití, ale také finančním nákladům. Stříbrné kávové slupky se tak v kosmetických formulacích stávají potenciálním kandidátem na náhradu účinných syntetických látek.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 KÁVOVNÍK A KÁVA

Zelená kávová zrna, která se praží, melou a vaří se z nich oblíbený nápoj známý po celém světě, jsou ve skutečnosti semena obsažená v plodech stromů a keřů přirozeně rostoucích v tropických oblastech. Kávovník (Obr. 1) patří do říše *Plantae*, oddělení *Angiospermae*, čeledi *Rubiaceae* a rodu *Coffea*. Tento rod je zdaleka nejvýznamnějším zástupcem čeledi *Rubiaceae*. Kávovník patří mezi stálezelené rostliny s délkou života mezi 10–15 lety. Ačkoliv bylo popsáno stovky druhů rostlin, významný komerční význam mají pouze dvě: *Coffea arabica* a *Coffea canephora*. Semena druhu *Arabica* tvoří více než 60 % světové produkce kávy, naopak semena druhu *Canephora* tvoří méně než 40 % světové produkce kávy. Káva je jednou z nejobchodovanějších komodit na světě. Je konzumovaná denně miliony lidí a její produkce se stále zvyšuje. [1]



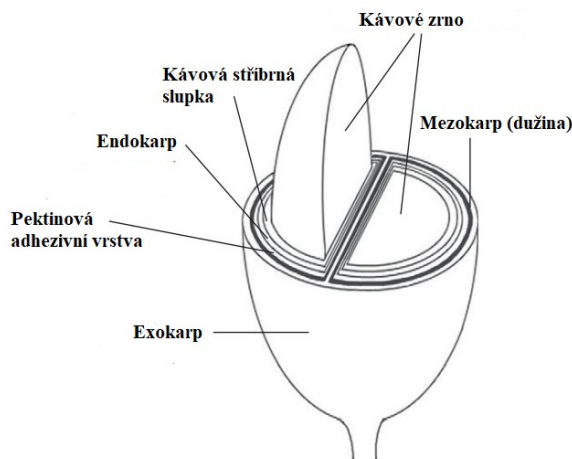
Obrázek 1 Kávovník [1]

1.1 Kávovníkové bobule

V době, kdy kávovník kvete, dochází k jeho opylení a následnému oplození, které je dokončeno během 1–2 dnů. Dochází k vývinu kávovníkové bobule (Obr. 2) v průměru 10–15 mm dlouhé, která obsahuje zpravidla 2 kávová zrna. [1][2]

Před vnějšími vlivy je plod chráněn perikarpem, který se skládá z exokarpu, mezokarpu, pektinové adhezní vrstvy a endokarpu. Exokarp, voskovitá vrstva, má obvykle červenou, tmavě růžovou nebo žlutou barvu. Pod exokarpem se nachází mezokarp neboli dužina. Dále se u zralých plodů objevuje pektinová adhezní vrstva, která je součástí vnitřního mezokarpu

a těsně přiléhá k endokarpu, někdy označovaném také jako pergamen. Následuje stříbrná kávová slupka, která pokrývá samotné kávové zrno. Plod zpravidla obsahuje dvě kávová zrna. [2][3]



Obrázek 2 Stavba kávovníkové bobule [2]

1.2 Zpracování kávovníkových bobulí

Průmyslové zpracování kávovníkových bobulí začíná sklizní. Je velmi důležité dbát na zralost plodů. Obecně lze říci, že zralé kávovníkové bobule jsou kvalitnější než nezralé. Kávovníkové bobule na jedné rostlině nezrají ve stejnou dobu, a proto se sklizní začíná ve chvíli, kdy je většina plodů zralá. Proces sklizně probíhá buď ručně nebo mechanicky. Při celém procesu zpracování je důležité dbát na zamezení případné kontaminace a růstu mikroorganismů. [1]

Prvotní zpracování spočívá v oddělení kávových zrn a ostatních zbytků kávových plodů. Existují tři metody průmyslového zpracování: suché zpracování, mokré zpracování a polosuché zpracování. [4]

1.2.1 Suché zpracování

Tato metoda je typická zejména pro brazilské, etiopské a haitské odrůdy *Arabiky* a pro kávu *Robusta* ze všech částí světa. Při této metodě se plody nejprve suší a poté se mechanicky loupou. Při suchém zpracování zpravidla nedochází k oddělení přezrálých a nedozrálých plodů. Ve výsledném produktu je tedy zastoupení všech druhů plodů. Plody se sklízí a ukládají v tenkých vrstvách o cca 5–10 cm, a to co nejrychleji, aby nedošlo k nežádoucí kontaminaci. Pravidelné míchání v průběhu tohoto procesu zabrání rozkladu mezokarpu (dužiny) a následného vzniku nežádoucích fermentovaných a černých zrn. Mezokarp je

velmi bohatý na obsah vody a cukru. Sušení může probíhat dvěma způsoby: mechanickým v sušárnách nebo přírodním na vzdušném prostoru na slunci, a to několik týdnů. Mechanické sušárny jsou zpravidla typické pro oblasti, kde jsou časté deště. V některých případech může být použito jako dokončení přírodního sušení. Během procesu sušení dochází k oddělení kávových zrn od endokarpu. Po ukončení fáze sušení jsou plody připraveny k loupání. Vlhkost nesmí přesahovat 12 %, aby se zabránilo růstu plísní a bakterií. Při loupání se odstraňuje tzv. oplodí. Zde se hovoří o slupce, dužině (mezokarpu) a pergamenu (endokarpu). Výsledným produktem loupání jsou z každého plodu dvě kávová zrna, která jsou obalena stříbrnou kávovou slupkou. I při loupání se lze setkat se dvěma metodami: ruční a strojová. Oba procesy jsou velmi náročné časově, nicméně ekonomicky jsou mnohem výhodnější než u procesu mokrého zpracování kávovníkových bobulí. [5]

1.2.2 Mokré zpracování

Obecně lze říci, že mokrá metoda zpracování kávovníkových bobulí je sofistikovanější. Je založena na odstranění dužiny, po které následuje fermentace. Při mokré metodě zpracování jsou použity pouze zralé kávovníkové bobule. Tento proces vyžaduje velkou spotřebu vody a technické vybavení, nicméně výsledný produkt je kvalitnější než při suché metodě zpracování kávovníkových bobulí. Plody musí být v dokonalém stavu zralosti a jsou tedy velmi pečlivě a často i ručně vybírány. Zpracování probíhá v promývacích nádržích. Tyto nádrže mohou být také využity pro oddělení dokonale zralých plodů od nezralých, a to na základě gravitace. Dokonale zralé plody mají vyšší hustotu než voda a mají tendenci se usazovat, nedozrálé a přezrálé plody obvykle vyplavou. Do další fáze zpracování jsou tedy využity pouze zralé plody. Další fází procesu zpracování je tzv. depulping. Cílem této fáze je odstranění exokarpu a mezokarpu. Po této fázi je kávové zrno stále spojeno s endokarpem, který pokrývá adhezní pektinová vrstva. Tato vrstva snižuje množství poničených kávových zrn a také snižuje sílu, kterou je třeba použít. Adhezní pektinová vrstva obsahuje převážně pektiny a lze ji oddělit fermentací. Fermentace je proces, který zahrnuje spoustu chemických a biologických reakcí. Kávové zrno s endokarpem zůstává v klidu, aby mohlo dojít k přirozeným enzymatickým reakcím, které rozloží pektinovou adhezní vrstvu. Fermentace probíhá ideálně 24–72 hodin. Často bývá doprovázena zvýšením teploty v důsledku alkoholové fermentace zbývajících cukru, což přispívá k působení látek rozkládajících pektiny, tzv. pektinázy. [1][4][5]

1.2.3 Polosuché zpracování

Polosuché zpracování nebo také polomokrě/polopromývané (semiwashed) je třetí metodou zpracování kávovníkových bobulí. Metoda využívá prvky jak suchého, tak mokrého zpracování. Proces spočívá ve výběru a mytí plodů ve flotačních nádržích, ale bez následné fermentace. Plody bez mezokarpu a exokarpu, které stále obsahují adhezivní pektinovou vrstvu mohou být přímo sušeny. I při tomto procesu musí být proveden další krok pro odstranění endokarpu s adhezivní pektinovou vrstvou. Při všech metodách oddělení jednotlivých částí kávovníkové bobule od kávového zrna vzniká několik vedlejších produktů. [1][4][5]

1.3 Zelená kávová zrna

Zelená kávová zrna jsou surová zrna, která byla oddělena od zbytku kávového plodu, ale nebyla ještě pražena. Tato zrna jsou z poloviny tvořena sacharidy v různých formách a druhou polovinu tvoří směs vody obsahující bílkoviny, lipidy, kyseliny a alkaloidy. [6]

Složení zelených kávových zrn se liší v závislosti na druhu, původu a analytických metodách stanovení. [7]

1.3.1 Chemické složení zelených kávových zrn

Jak bylo zmíněno výše, kávová zrna jsou téměř z poloviny tvořena polysacharidy. U *Coffea canephora* tvoří polysacharidové frakce cca 43–54 % suché hmotnosti a skládá se především ze tří polymerů: arabinogalaktanu, mananu a celulózy. Polysacharidy v *Coffea canephora* a *Coffea arabica* jsou si podobné. Jediným významným rozdílem je vyšší obsah polymeru arabinogalaktanu v *Coffea canephora*. Nejjednodušším sacharidem v zelených kávových zrnech je sacharóza. Vyšší obsah sacharózy vykazuje *Coffea arabica*. [6][7][8]

Lipidová frakce je převážně tvořena triacylglyceroly, steroly a tokoferoly. Typickou složkou jsou také rostlinné oleje. Procentuální zastoupení lipidové frakce v kávových zrnech *Coffea arabica* je 15 %, zatímco u *Coffea canephora* se jedná o 10 %. Frakce organických kyselin, převážně kyselin chlorogenových, představuje cca 7–10 % suché hmotnosti zelených kávových zrn. Chlorogenové kyseliny jsou jedny z nejhojněji se vyskytujících polyfenolů a zelená kávová zrna patří k jejich nejbohatším potravinovým zdrojům. Další organické kyseliny zastoupené v zelených kávových zrnech jsou kyselina citronová, jablečná, chinová a octová. Vyšší obsah těchto kyselin je pozorován u *Coffea arabica*. Proteiny, peptidy a volné aminokyseliny představují kolem 10–13 % suché

hmotnosti kávových zrn a jsou potenciálními prekurzory chuti. Kávové aroma a hnědnutí kávy jsou brány jako důsledky interakcí karbonylové skupiny redukujících sacharidů s amino skupinou aminokyselin, peptidů a proteinů. Dva nejdůležitější alkaloidy zastoupeny v zelených kávových zrnech jsou kofein a trigonelin. Každý z nich představuje cca 1–2 % suché hmotnosti zrna. Kofein neboli 1,3,7-trimethylxantin je klíčový pro fyziologické vlastnosti kávy a pro určení jejího hořkého charakteru. Kofein přispívá přibližně z 10 % k hořkosti kávy a zároveň ovlivňuje její stimulační účinek. Stejně jako u ostatních složek se obsah této látky v zelených kávových zrnech liší podle druhu kávy. *Coffea canephora* obsahuje 2,2–2,8 % kofeinu a *Coffea arabica* jej obsahuje 0,6–1,2 %. Enviromentální a zemědělské podmínky nemají na obsah kofeinu vliv. Trigonelin má vyšší zastoupení v *Coffea arabica*, a proto může být jeho množství v zrnech použito k rozlišování kávových zrn. Během zrání kávových zrn se jeho obsah mění pouze minimálně, změna nastává při pražení, kdy dochází k jeho přeměně na N-methylpyridinium a kyselinu nikotinovou. Tyto dvě složky jsou skvělým ukazatelem stupně pražení. [6][7][8]

1.4 Pražení zelených kávových zrn

Po oddělení kávových zrn výše zmíněnými metodami dochází ke zpracování samotného kávového zrna. Pražení kávy je jednou z nejdůležitějších fází, a to pro účely uvádění na trh. Káva se mezinárodně obchoduje jako káva zelená, tedy obchoduje se se zelenými kávovými zrny a pražení surových kávových zrn obvykle probíhá až ve spotřebitelských zemích. Důvodem je přeměna prekurzorů, které kávě dodávají její typické senzorické vlastnosti. Po přijetí a zkontrolování kvality jsou před samotným pražením surová kávová zrna skladována. Po skladování dochází k čištění, aby se odstranila vadná případně nezralá kávová zrna. [5]

Druhů pražení je několik. Pražení je sám o sobě velmi složitý proces, při kterém dochází k chemickým reakcím jako je pyrolýza, hydrolýza, polymerace apod., stejným způsobem také dochází k fyzikálním změnám v kávových zrnech, jako je změna barvy, zvětšení objemu či vlhkosti zrna. Díky těmto reakcím a změnám musí být proces pražení pečlivě sledován a kontrolován. [9]

První fáze pražení je běžně označována jako fáze sušení. V této fázi dochází k degradaci chlorofylu v zelených kávových zrnech a ty začnou žloutnout. V další fázi pražení dochází k hnědnutí kávových zrn, a to díky kondenzaci amino skupin s karbonylovými skupinami redukujících sacharidů. V poslední fázi pražení, kdy se zrna

blíží k prasknutí se v důsledku karamelizace prohlubuje hnědá barva. Zrna mohou až zčernat. Zrna se nejčastěji praží suchým teplem při teplotách 200–300 °C [2], některé zdroje mohou uvádět i jiné teploty, například 160–220 °C. [10]

1.4.1 Chemická povaha pražení

Fáze sušení, která probíhá při teplotě nižší, než je 160 °C zahrnuje především odpaření vody, zatímco další fáze (pražení), která probíhá při teplotách 160–260 °C zahrnuje řadu kritických chemických reakcí. Mezi ně patří Millardova reakce, karamelizace a pyrolýza. Všechny tyto reakce jsou zodpovědné za výsledné vlastnosti kávy, tedy chuti a vůně. Stěžejní reakce probíhající při pražení kávy jsou právě Millardovy reakce. Millardova reakce je reakce mezi redukujícími sacharidy a aminokyselinami. Vznikají při ní těkavé i netěkavé sloučeniny, včetně pyrazinů, pyridinů, pyrrolů a furanů, které v konečném důsledku přispívají ke komplexnímu sensorickému profilu kávy. [10]

Popis chemických změn u jednotlivých látek:

- Sacharidy

Sacharóza, která je v zelených kávových zrnech nejhojněji zastoupeným sacharidem, působí jako prekurzor aroma. V počátečních fázích pražení podléhá rychlému rozkladu za vzniku několika druhů sloučenin. Při těchto teplotách vznikají karboxylové kyseliny, furany a aldehydy, které významně ovlivňují aroma kávy. Během pražení lze pozorovat pokles kyseliny citronové a jablečné a nárůst kyselin mléčné, octové a mravenčí. Kromě toho dochází při pražení také k tvorbě HMF (5-hydroxymethyl-2-furfural), který je hlavní degradačním produktem svědčícím o tepelném poškození kávových zrn. Souhrnně lze říci, že sacharóza se během pražení kávových zrn přemění na alifatické kyseliny a aromatické sloučeniny. [7]

- Kyselina chlorogenové

Uvádí se, že v kávových zrnech je přibližně 30 chlorogenových kyselin. Včetně kyselin kafeoylchinových (CQA), dikafeoylchinových, feruloylchinových a p-kumaroylchinových. Pomocí NMR (nukleární magnetická rezonance) spektroskopie bylo pozorováno, že při teplotách pražení se obsah CQA značně snížil, zatímco obsah kyseliny chinové, esteru kyseliny chinové γ -chinidu a kyseliny syllochinové se zvýšil. Kyselina chinová je dominantní kyselinou v zelených kávových zrnech a je rovněž produktem rozkladu chlorogenových kyselin. Rozklad chlorogenových kyselin může být použit jako index

stupně pražení. Dále během procesu pražení vzniká ester kyseliny chinové γ -chinid a isomerní produkt kyselina syllochinová. Dále byly detekovány laktony chlorogenových kyselin (jejich tvorba je vysoce závislá na stupni pražení) a kyselina skořicová, která se může účastnit následných chemických reakcí a podílet se na vzniku dalších chuťových složek kávy. [7]

- Trigonelin

Trigonelin je pyridinový derivát, o kterém je známo, že během pražení kávy nepřímo přispívá ke vzniku žádoucích aromatických produktů jako jsou furany, pyrazin, alkylpyridiny a pyroly. Trigonelin, který je ve vysokém množství přítomen v zelených kávových zrnech během pražení kontinuálně klesá. Naopak obsah N-methylpyridinia a kyseliny nikotinové se průběžně během pražení zvyšuje. Studie potvrdily, že N-methylpyridinium a kyselina nikotinová jsou hlavními netěkavými produkty pyrolýzy trigonelinu, a to jak pomocí hmotnostní spektrometrie, tak i pomocí NMR spektroskopie. Přičemž N-methylpyridinium je hlavním produktem tepelného rozkladu trigonelinu. Kyselina nikotinová, která je důležitým vitamínem a zároveň druhým hlavním produktem termického rozkladu trigonelinu pozitivně korelovala se stupněm pražení. [7]

- Proteiny a volné aminokyseliny

Jak bylo zmíněno výše, Millardova reakce je při pražení zelených kávových zrn stěžejní reakcí. Chemická reakce mezi redukcujícími sacharidy a sloučeninami s obsahem volných aminoskupin je zodpovědná především za vznik jedinečných vůní a chutí. Při pražení kávových zrn dochází ve složení proteinů k zásadním změnám. Hlavní proteiny v zelených kávových zrnech měly molekulovou hmotnost 58 a 38 kDa. Po pražení byl pozorován pouze definovaný pás proteinů o molekulové hmotnosti <14 kDa a difúzní pás o molekulové hmotnosti >200 kDa. To znamená, že pražení kávových zrn vede k denaturaci proteinů a také k jejich degradaci. Zároveň jsou během procesu podjednotky proteinů začleněny do polymerních struktur melanoidinů. Melanoidiny jsou konečnými produkty Millardovy reakce a jsou to hnědé vysokomolekulární látky obsahující ve své struktuře dusík. Obsah volných aminokyselin v sušině zelených kávových zrn je poměrně nízký, jedná se o 0,3-0,6 %. Pomocí spektroskopie nukleární magnetické rezonance (NMR) bylo dokázáno, že během procesu pražení dochází k úbytku volných aminokyselin. Čtyři hlavní volné aminokyseliny (L-glutamová, L-alanin, L-asparagin, γ – aminomáselná) po pražení ze zelených kávových zrn vymizely úplně. [7]

1.5 Vedlejší produkty zpracování kávy

Mezi vedlejší produkty při zpracování kávy se řadí všechny produkty, které vznikly během procesu pěstování, sklizně, zpracování a konzumace kávy, dále listy kávovníku, přezrálá/nedozrálá zrna, třeshňové slupky, dužina, pergamen, stříbrné kávové slupky a kávová sedlina. Tyto vedlejší produkty jsou zdrojem bioaktivních sloučenin a jejich využití je zajímavé pro různá průmyslová odvětví. [11], [12]

Po pěstování a sklizni nastává proces zpracování. Vznik vedlejších produktů během procesu zpracování kávy se může rozdělit dle toho, zda vznikají v procesu před pražením anebo po pražení. V případě, že se jedná o vedlejší produkty vznikající před pražením dělí se v závislosti na zvolené metodě zpracování na:

- suché zpracování - třeshňové slupky;
- mokré a polosuché zpracování - dužina.

Po pražení kávy vznikají stříbrné kávové slupky a použitá kávová sedlina. [13]

Káva je považována za významného původce odpadu. Přibližně 30–50 % celkové hmotnosti zpracované kávy se likviduje. Likvidace těchto vedlejších produktů se provádí pálením. Nicméně, vzhledem k uvolňování oxidu uhličitého a kofeinu, je tento způsob velmi nešetrný k životnímu prostředí. V současné době řada výzkumných pracovníků a výrobců investuje do vývoje nových přístupů převážně ke zhodnocení vedlejších kávových produktů. Tento odpad lze využít jak pro výrobu krmiv, tak pro vývoj nových materiálů, výrobu biopaliva, výrobu přírodních aromat anebo pro izolaci účinných látek, které mohou být nadále zpracovány a použity jako přísady pro potravinářský, kosmetický, nutraceutický nebo farmaceutický průmysl. Z tohoto bezodpadového přístupu by mohly těžit všechny výše zmíněné průmysly a spotřebitelé, a to s ohledem na rychle se rozvíjející obavy z průmyslového znečištění. [14]

1.5.1 Vedlejší produkty vznikající během pěstování kávy

Některé části kávovníku jsou klasifikovány jako vedlejší produkty zpracování kávy, protože vznikají během pěstování. Do této skupiny se řadí květy, listy, stonky a větvičky. Květy kávovníku jsou důležitým určujícím faktorem množství a kvality kávovníkových plodů. Okvětní lístky obsahují velké množství vitamínů, minerálů a antioxidantů a mohly by být potenciálním zdrojem potravin nebo nápojů. Díky bioaktivním látkám mohou také hrát zásadní roli pro lidské zdraví. [15]

Listy kávovníku se používají k přípravě nápojů podobných čaji. Před přípravou takového nápoje je zapotřebí několika metod k získání potřebné ingredience z listů. Většina z nich zahrnuje spaření, následné válení a vysušení. Někteří výrobci pracují v ochranné atmosféře, aby předcházeli možnému zoxidování. K výrobě nápoje musí být listy extrahovány vodou. Kromě potravinářského využití se kávové listy testují pro několik dalších využití, a to pro parfěmy do vozidel, obličejové čistící prostředky, náhražky tabáku, krmiva pro zvířata, a další. [16]

1.5.2 Třešňové slupky

Třešňové slupky neboli cherry husks jsou prvním a hlavním vedlejším produktem při zpracování kávovníkových bobulí suchou metodou. Obsahují vnější slupku (exokarp), dužinu (mezokarp), pektinovou adhezni vrstvu a pergamen (endokarp). Tvoří přibližně 12 % suché hmotnosti kávovníkových bobulí. Na každou tunu sklizených kávovníkových bobulí připadá přibližně 0,18 tuny třešňových slupek. [5]

Obsahují 58–85 % sacharidů, 14 % redukujících cukrů, 8–11 % proteinů, 0,5–3 % lipidů, 3–7 % minerálů, 1 % kofeinu a 5 % tříslovin. Toto složení ukazuje vysoký obsah celulózy (24,5 %), hemicelulózy (29,7 %), ligninu (23,7 %) a popela (6,2 %). Složení třešňových slupek je pozoruhodné převážně pro jejich možné další využití. Literatura zmiňuje využití třešňových slupek jako hnojiva pro kompostování a vermikompostování, substrát pro produkci jedlých hub, pro výrobu bioethanolu, pro extrakci kofeinu, jako biosorbenty pro kyanid a jako biosorbenty pro odstranění těžkých kovů z vodných roztoků atd. [13][16]

1.5.3 Dužina

Dužina je hlavní produkt, který se získává během polosuchého a mokrého zpracování. Představuje téměř 30 % sušiny celého kávovníkového plodu a obsahuje exokarp (vnější slupku) a mezokarp (dužinu), souhrnně se v literatuře označuje jako dužina (coffee pulp). Je produkována ve velkém množství. Čerstvé kávovníkové plody obsahují 430 g dužiny na 1 kg. Dužina je bohatá na sacharidy (21–32 %), proteiny (5–12 %), tuky (2–7 %), a minerály (9 %). Obsahuje také množství tříslovin, polyfenolů a kofeinu. Dužina může být využita podobně jako třešňové slupky. Přímé použití jako krmivo pro zvířata je omezené převážně kvůli přítomnosti kofeinu, polyfenolů a tříslovin. [17]

Kávovu dužinu lze využít pro přípravu čaje z kávových třešní zvaného cascara (ze španělského cáscara). Jedná se o nápoj, který má stejné vlastnosti jako čaj, ale má kávové aroma. Připravuje se sušením kávové dužiny na slunci po dobu 4–5 dnů tak, aby vznikla černohnědá cascara a ta se posléze zalije horkou vodou. [18]

1.5.4 Stříbrné kávové slupky

Stříbrná kávová slupka tvoří obal přímo kolem kávového zrna. Ve velkém množství se hromadí a získává při pražení kávy a obsahuje 60–80 % vlákniny. [5]

Detailnější popis stříbrných kávových slupek bude uveden v samostatné kapitole níže.

1.5.5 Kávová sedlina

Kávová sedlina je odpadním produktem při vaření kávy. Tvoří se při domácí extrakci mletých kávových zrn (kávového prášku) horkou vodou anebo při průmyslové výrobě rozpustných kávových směsí pro další použití. Odhaduje se, že na každou tunu zelených kávových zrn vznikne 650 kg kávové sedliny. [16][19]

Téměř 50 % světové produkce kávy se zpracovává pro přípravu rozpustné kávy. Takovéto zpracování kávy generuje kolem 6 milionu tun kávové sedliny ročně. V současné době je velký politický a společenský tlak na snížení znečištění vznikajícího z průmyslové činnosti, a proto v posledních letech kávová sedlina a stříbrné kávové slupky přitahují pozornost. Každoročně jsou produkovány ve velkém množství a mohou představovat velké nebezpečí znečištění, pokud jsou vypouštěny do životního prostředí. [20]

Kávovou sedlinu lze považovat za nebezpečný odpad, protože může samovolně fermentovat a může začít samovolně hořet, také obsahuje kofein, třísloviny a polyfenoly. Vzhledem k povaze kávové sedliny, kdy se jedná o produkt biologického původu, obnovitelný, levný a chemicky komplexní, představuje spoustu příležitostí pro vývoj nových produktů s přidanou hodnotou. [19]

2 STŘÍBRNÉ KÁVOVÉ SLUPKY

Stříbrné kávové slupky představují tenký obal kávového zrna, který je vedlejším produktem při pražení kávy. Neustálé zvyšování produkce kávy vede také ke kontinuálnímu zvyšování odpadu. Z tohoto důvodu jsou kávové slupky považovány za podnětné suroviny pro další využití. Lze zde mluvit o biopalivech, biopolymerech, biologicky odbouratelných materiálech pro obaly, či různá využití v kosmetice, apod. [1]

2.1 Složení stříbrných kávových slupek

Vnější stříbrná kávová slupka představuje průměrně 4 % hmotnosti kávového zrna. Její hlavní složkou je vláknina, která představuje 69 % hmotnosti. Vlákninu tvoří z 24 % polysacharid celulóza, 17 % hemicelulóza a 29 % lignin. Dále jsou v kávových slupkách zastoupeny bílkoviny, lipidy a malé množství kofeinu a polyfenolů. Přítomnost polyfenolů v kávových plodech, kde hlavní složkou je kyselina chlorogenová, představuje zajímavý aspekt, neboť bylo prokázáno, že extrakt z kávových plodů vykazuje antioxidační aktivitu. Toto zjištění má, vzhledem k potenciálním zdravotním přínosům a využití polyfenolů obsažených v kávových plodech, vysokou relevanci. [19]

2.2 Získávání stříbrných kávových slupek

Zelená kávová zrna, která se praží, melou a vaří se z nich oblíbený nápoj známý po celém světě, jsou ve skutečnosti semena obsažená v plodech kávovníků. Na trhu jsou hospodářsky významné 2 druhy kávy. Jedná se o *Coffea arabica* a *Coffea canephora*. Se zvyšující se produkcí kávy vzniká při zpracování mnohem více odpadu, tzv. vedlejších produktů. K získání kávy, pražených kávových zrn je zapotřebí proces zpracování. Při těchto krocích vzniká velké množství odpadu, tzv. vedlejší produkty. Jedním z těchto produktů jsou i stříbrné kávové slupky. [14]

Chemická povaha pražení kávových zrn a pražení jako takové bylo vysvětleno výše. K uvolnění stříbrných kávových slupek dochází ve druhé fázi pražení a při prvním prasknutí kávového zrna, které nastane při teplotě cca 200 °C. Při této teplotě dochází k expanzi zrna a k bodu zlomu vnitřního tlaku oxidu uhličitého a vodních par. To vede k prasknutí kávového zrna, které je lidským uchem slyšitelné a následnému oddělení stříbrných kávových slupek. [6]

Ty mohou být efektivně odděleny proudem vzduchu. Správné proudění vzduchu je zde zásadní, je nutné zabránit hromadění se stříbrných kávových slupek, které by potenciálně

mohly vést ke kouřové chuti. Na každé 4 tuny kávy se oddělí cca 30 kg stříbrných kávových slupek. [21]

2.3 Chemická analýza stříbrných kávových slupek

Kávové slupky jsou získávány z kávových plodů a je tedy očekáváno, že budou mít podobné složení. Jak bylo zmíněno výše, kávové slupky obsahují z 69 % vlákninu. Nejhojnější složkou kávových slupek jsou polysacharidy. Cukry jsou polymerizovány do struktur celulózy a hemicelulózy, které dohromady odpovídají přibližně 40 % hmotnosti kávové slupky po sušení. Kávové slupky obsahují 58,76 % glukózy ($23,77 \pm 0,09$ g/100 g sušiny), 18,81 % xylózy ($7,61 \pm 0,02$ g/100 g sušiny), 9,29 % galaktózy ($3,76 \pm 1,27$ g/100 g sušiny), 8,75 % arabinózy ($3,54 \pm 0,29$ g/100 g sušiny) a 4,37 % manózy ($1,77 \pm 0,06$ g/100 g sušiny). Hodnoty se v jiných literaturách mohou lehce lišit dle odrůdy kávových zrn nebo dle způsobu extrakce. Při této studii byly využity kávové slupky ze směsi Arabicy a Robusty, které dodala portugalská společnost NovaDelta Comércio e Indústria de Cafés, S.A. Arabinogalaktan, galaktomanan a celulóza jsou polysacharidy nejhojněji zastoupené v kávě. Nebylo tedy překvapením, že glukóza, galaktóza, manóza a arabinóza byly přítomny ve stříbrných kávových slupkách. Další organickou složkou, která je ve významném množství zastoupena v kávových slupkách je lignin. Představuje 28,58 % hmotnosti kávové slupky ($28,58 \pm 0,46$ g/100 g sušiny). Lignin je komplexní makromolekula složená z velkého množství funkčních skupin, včetně fenolického a alifatického hydroxylu, methoxylu, karbonylu a sulfonátů. [20]

2.4 Extrakce bioaktivních látek ze stříbrných kávových slupek

Extrakce bioaktivních látek přítomných v rostlinných matricích byla v posledních letech podrobena rozsáhlému výzkumu. Zájem o extrakci sloučenin, jako jsou fenolické sloučeniny, flavonoidy a další přírodní antioxidanty je převážně způsoben jejich vlastnostmi. Parametry nastavené při procesu extrakce (metoda, rozpouštědlo, poměr matrice a rozpouštědla, čas apod.) jsou pečlivě hodnoceny a jsou klíčové pro výtěžnost metody. Dle různých studií, existuje spousta extrakčních technik, které mohou vést k rozdílným výsledkům. Každá metoda má své výhody a omezení. Cílem studie autorů Vimercati, Araújo, Macedo a Pimenta [22] bylo stanovit optimální podmínky pro získání bioaktivních látek ze stříbrných kávových slupek, za použití konvenčních extrakčních metod. V první fázi testovali tři extrakční metody se čtyřmi rozpouštědly (isopropanol, aceton, ethanol a voda). Při první metodě byly vzorky smíchány s rozpouštědlem, ponechány 60 minut při laboratorní

teplotě (20–25 °C) a následně byly centrifugovány. Druhá metoda vyžadovala smíchání vzorků s rozpouštědly v Erlenmeyerově bance a následné míchání (120 ot./min) na orbitální třepačce při konstantní teplotě 60 °C po dobu 30 minut. Poslední extrakční metoda využila Soxhletův extraktor. Extrakce probíhala po dobu 6 h se 150 ml rozpouštědla, teplota odpovídala teplotě varu jednotlivých rozpouštědel. Extrakční křivka celkových fenolických sloučenin byla následně vyhodnocena a postupně byly podmínky extrakce optimalizovány. Stříbrné kávové slupky použity pro tento experiment byly dodány lokální pražírnou v Lavras (Brazílie). Podmínky pražení byly 210 °C a 18 minut. Odseparované stříbrné kávové slupky byly sušeny v sušárně při 60 °C s cirkulací vzduchu do dosažené konstantní hmotnosti ($5 \pm 0,2$ % vlhkosti). Následně byly vzorky rozemlety a standardní prosévací metodou byly získány částice o velikosti 0,850 mm. Rozpouštědla využita pro experiment byla deionizovaná voda, ethanol, aceton a isopropanol. První extrakční metoda (EM-1) měla nejnížší výtěžnost antioxidantů, celkových fenolických sloučenin a celkového obsahu flavonoidů bez ohledu na zvolené rozpouštědlo. Tyto výsledky jsou přisuzovány absenci zvýšené teploty a míchání. Druhá a třetí extrakční metoda (EM-2 a EM-3) dosáhly signifikantně vyššího výtěžku antioxidantů a bioaktivních látek. Nejlepší hodnoty napříč metodami byly získány při použití ethanolu a vody. Ve druhé fázi experimentu byla analyzována kinetika extrakce. Zjistilo se, že většina látek je extrahována během prvních 120 minut a že nejlepší výtěžnosti bioaktivních látek bylo dosaženo při 68 °C a koncentraci ethanolu 64 %. Naopak extrakce za použití isopropanolu a acetonu prokázala nejnížší výtěžnost. Tato skutečnost může být vysvětlena nižší polaritou těchto rozpouštědel v porovnání s ethanolem a vodou. Tato studie ukázala, že kombinace metod a rozpouštědel má výrazný vliv na efektivitu extrakce bioaktivních látek ze stříbrných kávových slupek.

Autoři Narita a Inouye [23] zvolili jiný přístup, a to extrakci za použití subkritické vody při teplotě 25–270 °C. Tento proces spočívá v zahřátí vody nad bod varu při zachování tlaku, který ji udrží v kapalném stavu. Takto vzniká rozpouštědlo se schopností extrakce polárních i nepolárních sloučenin. Cílem zkoumání této metody byl její potenciál získávání antioxidantů ekologicky šetrným způsobem bez použití organických rozpouštědel. Proces extrakce zahrnoval zpracování 1 g stříbrných kávových slupek s 50 ml destilované vody při různých teplotách od 180 °C do 270 °C, přičemž extrakce každého vzorku trvala 10 minut. Rozmezí teplot bylo zvoleno za účelem pozorování vlivu teploty na výtěžnost extrakce a antioxidační aktivitu. Tlak v nádobě se pohyboval od 1 MPa při 180 °C do 5,3 MPa při 270 °C. Následně se extrakty přefiltrovaly, zahustily, vysušily mrazem a byly podrobeny

analýze. Extrakční výtěžek se zvyšoval s teplotou až do 210 °C, poté začal klesat. Tedy optimální podmínky extrakce jsou kolem této teploty. Studie zjistila významné zvýšení celkového obsahu fenolických látek a bílkovin, které korelují s antioxidační aktivitou. Analýza vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC) odhalila stabilní obsah kofeinu, nicméně hojně zastoupená kyselina chlorogenová degradovala při teplotě 210 °C, což naznačuje její termální sensibilitu. Studie ukazuje, že extrakce subkritickou vodou při teplotách kolem 210 °C–270 °C účinně získává antioxidační sloučeniny ze stříbrných kávových slupek.

Autoři Tangguh a Kusumocahyo [24] zkoušeli 3 metody extrakce stříbrných kávových slupek, a to konvenční extrakci za stálé agitace (míchání), konvenční extrakci bez agitace a extrakci za pomoci ultrazvuku. Následný extrakt byl analyzován na celkový obsah fenolický sloučenin, flavonoidy a antioxidační aktivitu. I tato studie potvrdila, že typ extrakce, extrakční čas a teplota silně ovlivňují obsah výše zmíněných sloučenin a antioxidační aktivitu. Stříbrné kávové slupky byly poskytnuty společností Morph Coffee Roasting. Jako rozpouštědlo bylo u všech metod použita 50% směs vody a ethanolu. Teplota se pohybovala od 30–60 °C a čas byl v rozmezí 5–60 minut. Při konvenční extrakci za stálé agitace bylo použito magnetické míchadlo a rychlost otáček byla nastavena na 350 ot/min. Rozpouštědlo bylo zahřáto na požadovanou teplotu a následně byly přidány 2 g stříbrných kávových slupek, pro absenci ztráty tepla a evaporace byla směs přikrytá aluminiovou folií. Konvenční extrakce bez míchání byla provedena úplně stejně pouze za absence míchání. Ultrazvuková extrakce byla provedena se stejným rozpouštědlem, za stejných časů, jen byl využit sonikátor operující při 35 kHz. Směs rozpouštědla a stříbrných kávových slupek byly utěsněny aluminiovou folií a byly vystaveny ultrazvukovým vlnám ve vodní lázni při požadovaných teplotách. Konvenční extrakce za stálé agitace se ukázala nejefektivnější, a to jak v obsahu fenolických sloučenin a flavonoidů, tak i antioxidační aktivity. Obsah celkových fenolických sloučenin při použití konvenční extrakce za stálé agitace byl 459,21 mg/l ekvivalentů kyseliny gallové (GAE) (termín vyjadřující koncentraci fenolických sloučenin ve vzorcích). Extrakce za použití ultrazvuku rovněž ukázala vysoký obsah fenolických sloučenin (395,39 mg/l GAE), nejnižší hodnoty byly dosaženy u konvenční extrakce bez agitace. Optimální podmínky pro konvenční extrakci za stálé agitace byly stanoveny na teplotu 40 °C a dobu extrakce 40 minut. Celkový obsah flavonoidů při konvenční extrakci za stálé agitace byl 14 mg/l ekvivalentů kvarcetinu (QE) (termín vyjadřující koncentraci flavonoidů ve vzorcích). Extrakce za použití ultrazvuku ukázala

obsah 9,35 mg/l QE a konvenční extrakce bez agitace 5,57 mg/l QE. Nejvyšší oxidační aktivita byla pozorována u konvenční extrakce za stálé agitace (59,94 %), následovala extrakce za použití ultrazvuku (51,23 %) a konvenční extrakce bez agitace (39,74 %). Toto srovnání zdůrazňuje význam agitace (míchání) v konvenčních extrakčních metodách a potenciál extrakce za použití ultrazvuku jako alternativy pro extrakci antioxidantů ze stříbrných kávových slupek.

2.5 Antioxidační vlastnosti

Volné radikály jsou vedlejšími produkty klíčových buněčných procesů v lidském těle. Vznikají při metabolismu purinových nukleotidů a kyseliny arachidonové, při syntéze prostaglandinů a při enzymatických reakcích katalyzovaných xantinoxidázou a tryptofan dioxygenázou. Zahrnují volné radikály kyslíku s označením ROS (reactive oxygen species) a volné radikály dusíky s označením RNS (reactive nitrogen species). Volné radikály se v lidském organismu podílejí na několika procesech, jako je např. zrání buněk, imunitní ochrana a cytotoxicita vůči patogenům, ale mohou také způsobovat poškození proteinů, lipidů a DNA. Za normálních fyziologických podmínek jsou nadměrně vyprodukované ROS a RNS neutralizovány antioxidanty, které zmírňují jejich škodlivé účinky. V případě, že produkce volných radikálů převyšuje antioxidační kapacitu obranných mechanismů buněk, dochází k jevu označovanému jako oxidační stres. Tento jev může vést ke kardiovaskulárním onemocněním a může být příčinou rakoviny. Bylo prokázáno, že antioxidanty jako je kyselina askorbová a tokoferoly chrání před těmito onemocněními. Nejdůležitější antioxidanty se nacházejí v obilovinách, zelenině, ovoci, olejnatých semenech, luštěninách, kakaových výrobcích, nápojích jako jsou čaj, káva, červené víno, ovocné šťávy, bylinkách a koření. V současnosti také roste zájem o využití přírodních antioxidantů jako funkčních složek do různých doplňků stravy. Syntetické antioxidanty, díky své dostupnosti a lepší aktivitě nacházejí uplatnění při stabilizaci tuků a olejů, ve farmaceutickém průmyslu nebo jako konzervační látky v kosmetice. Antioxidační vlastnosti poskytují polyfenoly, jejímž společným znakem je přítomnost více než jedné hydroxylové skupiny, která je navázána na benzenové jádro. [25]

2.5.1 Metody stanovení antioxidační aktivity

Koncept antioxidační aktivity (schopnost antioxidantů neutralizovat volné radikály) pochází nejprve z chemie, ale později byl adaptován do biologie, medicíny, epidemiologie a výživy. V posledních desetiletích roste zájem o studium antioxidační aktivity vzhledem ke známému

vlivu volných radikálů na průběh a rozvoj kardiovaskulárních a neurodegenerativních onemocnění, stárnutí a rakoviny. Za tímto účelem bylo vyvinuto mnoho různých postupů pro testování celkové antioxidační aktivity. Antioxidační aktivita by neměla být vyvozována na základě jediné metody. Mělo by být provedeno několik antioxidačních postupů, vzhledem k různým odlišnostem metod. Reakční podmínky by vždy měly napodobovat podmínky, které se vyskytují při oxidačním stresu vyvolaném ROS a RNS. Metody lze rozdělit podle reakčních mechanismů na metody přenosu vodíkových atomů (HAT) a metody přenosu jednoho elektronu (SET). Metody založené na SET detekují schopnost potenciálního antioxidantu přenést jeden elektron, který bude redukovat jakoukoliv sloučeninu včetně kovů, karbonylů a radikálů. Jejich reaktivita je založená na deprotonaci a ionizačním potenciálu reaktivní funkční skupiny. Tyto metody jsou závislé na pH a jsou zpravidla pomalejší než metody založené na přenosu vodíkového atomu. Metody HAT jsou založené na schopnosti antioxidantu zhášet volné radikály donací atomu vodíku. Jsou nezávislé na pH a rozpouštědla a zpravidla probíhají velmi rychle. [26]

Mezi metody založené na HAT patří schopnost absorpce kyslíkových radikálů (Oxygen radical absorbance capacity, ORAC), celkový parametr zachytávání radikálů (Total radical trapping antioxidant parameter, TRAP), test celkové kapacity vychytávání radikálů (Total radical scavenging capacity assay, TOSCA), β -carotene bělicí metody (β -carotene bleaching assays) a chemiluminiscenční metody (Chemiluminescent Assay). Mezi SET metody patří test antioxidační kapacity ekvivalentní Troloxu (Trolox equivalence antioxidant capacity assay, TEAC), test antioxidační kapacity redukující železitě ionty (Ferric ion reducing antioxidant power, FRAP), test vychytávání radikálů DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging assay, DPPH), test vychytávání radikálů ABTS+ (2,2-Azinobis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid radical scavenging assay ABTS+) a další. [27]

2.5.2 Antioxidační aktivita extraktů stříbrných kávových slupek

Studie vědců Anabely Costa, Rity Alves, Ana Vinha a dalších [28] se zaměřuje na optimalizaci udržitelné metody získávání extraktů ze stříbrných kávových slupek s co nejvyšším množstvím antioxidantů. Byly studovány proměnné ovlivňující výtěžek extrakce a antioxidační aktivitu extraktů, a to polarita rozpouštědla, teplota a doba extrakce. Díky nízké toxicitě byly pro studii vybrány voda a ethanol v různých poměrech (25:75, 50:50 a 75:25). Extrakty byly porovnány z hlediska obsahu celkových fenolických látek, flavonoidů a tříslovin. Antioxidační kapacita byla hodnocena dvěma postupy - metodou FRAP (ferric

reducing antioxidant power), která je založená na principu redoxní reakce a metodou DPPH, která je založena na reakci testované látky s 1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazylovým radikálem. Pro přípravu extraktů byla použita směs 1 g rozemletého vzorku (poskytnuto národní pražírnou Bicafe – Torrefac, São e Comércio de Café, Lda., Portugal) a rozpouštědel o různém poměru vody a ethanolu a tyto směsi byly zahřívány na teploty 25, 30, 40, 50 a 60 °C po dobu 30, 60, 90 a 180 minut. Extrakce probíhala za stálého míchání a byla provedena třikrát vedle sebe. Finální extrakty byly přefiltrovány a před analýzou byly skladovány při teplotě -25 °C. Schopnost extraktů neutralizovat radikály byla testována smícháním 14 µl zředěného extraktu (1:10) se 186 µl připraveného roztoku DPPH. Pokles hodnot DPPH byl měřen v 10-ti minutových intervalech. Pro metodu FRAP bylo smícháno 90 µl zředěného extraktu (1:10) s 270 µl destilované vody a 2,7 ml roztoku FRAP. Po homogenizaci byla směs ponechána po dobu 30 minut bez přístupu světla ve 37 °C. Absorbance byla měřena při vlnové délce 595 nm. Nejlepších výsledků inhibice hydrazylového radikálu (DPPH) bylo dosaženo za použití směsi 20 % vody a 75 % ethanolu po dobu 60 minut a při teplotě 30 °C, a to 416±4,2 mg ekvivalentů troloxu na 1 litr extraktu. Nejvyšší antioxidační aktivity u metody FRAP bylo dosaženo za použití směsi 50 % vody a 50 % ethanolu po dobu 60 minut při 40 °C. Hodnoty převyšovaly 1700 mg ekvivalentů síranu železnatého na 1 litr extraktu.

Autoři Narita a Inouye [23], kteří prováděli extrakci za použití subkritické vody (metody extrakce jsou detailně popsány v kapitole 2.4) zkoumali antioxidační aktivitu za pomoci metod DPPH a H-ORAC (hydrophilic oxygen radical absorbance capacity). Pro zjištění antioxidační aktivity extraktů stříbrných kávových slupek metodou DPPH bylo smícháno 0,2 ml extraktu (o různých koncentracích) se směsí 0,3 ml 0,2 mM 1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazylu v ethanolu a s 0,5 ml 0,5M acetátového pufru o hodnotě pH 5,5. Výsledná směs byla protřepána a uložena do tmavé místnosti po dobu 30 minut a při teplotě 25 °C. Pokles absorbance při vlnové délce 517 nm byl měřen spektrofotometrem. Následně byla vypočítána aktivita vychytávání DPPH radikálů a vyjádřena jako množství µmol ekvivalentů troloxu (TE) na gram extraktu. Nejvyšší hodnoty antioxidační aktivity byly získány při 270 °C, 379±36 µmol TE/l. Metoda H-ORAC (hydrophilic oxygen radical absorbance capacity) je založena na oxidaci fluorescenční sondy hydroxylovými radikály přenosem vodíkového atomu. Přítomné antioxidanty blokuji oxidaci sondy, dokud nedojde k vyčerpání jejich antioxidační kapacity. Pro zjištění antioxidační aktivity byly nejprve připraveny roztoky fluoresceinu a AAPH

(2,2'-Azobis(2-amidinopropan) dihydrochlorid), následně bylo smícháno 20 μ l extraktu (o různých koncentracích) s 200 μ l 94,4 nM roztoku fluoresceinu. Tato směs byla promíchána. Počáteční fluorescence byla měřena při excitační vlnové délce 492 nm a emisní vlnové délce 530 nm. Následně byla směs inkubována po dobu 10 minut při teplotě 37 °C. Reakce započala přidáním 75 μ l 31,7 mM AAPH roztoku. Pokles fluorescence byl měřen každé 2 minuty. Nejvyšší naměřené hodnoty antioxidační aktivity 2629 ± 193 μ mol TE/l byly získány při 270 °C.

Inácio, Santetti, Dacoreggio a kol. [29] se ve své studii zaměřili na fenolický profil, antioxidační kapacitu a antimikrobiální aktivitu kávové sedliny a stříbrných kávových slupek. Pro extrakci bioaktivních látek zvolili 3 extrakční techniky, a to extrakci za použití ultrazvuku (UAE), enzymovou extrakci (EAE) a enzymovou extrakci za použití ultrazvuku (UAEE). Pro determinaci antioxidační kapacity byly použity metody ABTS, DPPH a ORAC. Nejlepší výsledky antioxidační kapacity pro ABTS metodu ukázaly extrakty za použití metod UAEE a EAE. V porovnání s kávovou sedlinou byla u stříbrných kávových slupek zjištěna vyšší antioxidační aktivita. Tato skutečnost může být vysvětlena vyšším zastoupením celulózy v porovnání s kávovou sedlinou. Dále enzym použitý při EAE a UAEE napomohl rozložení fenolických sloučenin přítomných ve stříbrné kávové slupce, a tedy zvýšil schopnost eliminace ABTS radikálů. Nejvyšší antioxidační aktivity za použití metody DPPH byly vyhodnoceny po extrakty získané za použití ultrazvuku. Použitá metoda napomohla extrakci fenolických sloučenin z daných vzorků za použití ultrazvuku, což umožnilo zvýšit rozpustnost sloučenin s antioxidační aktivitou, a to následně usnadnilo eliminaci volných radikálů. Výsledky metody ORAC jsou téměř totožné, nebyl zjištěn signifikantní rozdíl antioxidační aktivity v návaznosti na použití různých extrakčních technik. Obecně lze říci, že UAEE přispěla k prasknutí buněčné stěny způsobené kavitací, kterou vyvolal ultrazvuk. Následná enzymatická hydrolýza strukturních sloučenin vedla ke zvýšení koncentrace atomů vodíků a přispěla ke zvýšení antioxidační aktivity extraktů.

2.6 Antimikrobiální vlastnosti

Kromě výše zmíněné velmi významné antioxidační aktivity mají stříbrné kávové slupky také další vlastnosti, které je důležité zmínit. Jednou z těchto vlastností, která je v odborných studiích zmiňována je antimikrobiální aktivita, tedy schopnost zabíjet či inhibovat růst mikroorganismů. Tato skutečnost může být důležitá pro potenciální využití pro kosmetický, potravinářský i farmaceutický průmysl. [30][31][32][33]

Bylo provedeno testování mikrobiální aktivity extraktů stříbrných kávových slupek vůči bakteriím (gram-pozitivním i gram-negativním) a kvasinkám. Extrakty nevykazovaly žádnou aktivitu vůči *C. albicans* a *P. aeruginosa*. Pozitivní výsledky byly zjištěny u *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli* and *K. pneumoniae*, a to od 31,3 µg/ml do 250 µg/ml v závislosti na použitém rozpouštědle při extrakci. Extrakce za použití ethanolu vykazovala nejnížší minimální inhibiční koncentraci (MIC) pro *K. pneumoniae* a nejvyšší MIC pro *S. aureus*. [30]

Wagemaker a kol. [34] pro test antimikrobiální aktivity vybrali gram-pozitivní bakterie *S. aureus*, *S. epidermidis*, gram-negativní bakterii *E. coli* a *P. aeruginosa* a kvasinku *Candida albicans*. Test probíhal diskovou difúzní metodou. Byla prokázána inhibice všech 4 bakterií i vybrané kvasinky. Antimikrobiální účinnost se lišila v závislosti na mikroorganismu. Tato studie popisuje antimikrobiální aktivitu extraktu ze zelených kávových zrn.

3 VYUŽITÍ STŘÍBRNÝCH KÁVOVÝCH SLUPEK

Valorizace vedlejších produktů je relativně novým konceptem v oblasti nakládání s průmyslovými zbytky, který podporuje princip udržitelného rozvoje. Po specifické předúpravě fyzikálními a biologickými činidly a následném přizpůsobeném postupu využití mohou poskytnout cenné přírodní antioxidanty, antimikrobiální látky, vitamíny atd. spolu s makromolekulami, jako je celulóza, škrob, lipidy, bílkoviny, rostlinné enzymy a pigmenty, které jsou významné pro farmaceutický, kosmetický a potravinářský průmysl. [31]

3.1 Kosmetický průmysl

V posledních letech byly díky poptávce spotřebitelů do kosmetického průmyslu zavedeny nové účinné látky. Společnost se dostala do bodu, kdy není důležitý pouze vzhled pokožky, ale také její zdraví. Použití přírodních složek pro kosmetické produkty si získalo značnou pozornost díky jejich potenciální bezpečnosti, mnohostrannému biologickému působení a v neposlední řadě finančním nákladům. Vzhledem k vlastnostem vedlejších produktů kávy při jejím zpracování, zejména stříbrných kávových slupek, stávají se v kosmetických formulacích tyto suroviny potenciálními kandidáty jako náhrada syntetických chemických látek. [5]

Rodrigues [31] se ve své studii zabýval obsahem fenolických sloučenin a flavonoidů, antioxidační aktivitou, antimikrobiální aktivitou, cytotoxicitou a životností buněk. Extrakci prováděl v rozpouštědlech ethanol, ethanol/voda a voda. V případě obsahu fenolických sloučenin byl výsledek při extrakci za použití ethanolu téměř dvakrát vyšší než při extrakci s vodou. Flavonoidy, které tvoří největší skupinu rostlinných fenolických látek a představují více než polovinu z osmi tisíc přirozeně se vyskytujících fenolických sloučenin byly přítomny ve všech extraktech. Výsledky jednoznačně ukázaly, že nejvyšší obsah flavonoidů byl získán při extrakci za použití ethanolu. Antioxidační potenciál byl determinován metodami DPPH a FRAP. Všechny extrakty potvrdily antioxidační potenciál, nicméně nejvyšší hodnoty byly opět získány ve vzorcích s ethanolem. Mikroorganismy jako jsou bakterie a plísně jsou důležitým faktorem, který způsobuje při skladování kosmetických produktů degradaci. Antibakteriální aktivita extraktů byla hodnocena podle hodnot MIC (minimální inhibiční koncentrace). Do této studie byly vybrány grampozitivní bakterie, gramnegativní bakterie a kvasinka. Výsledky testů prokázaly antimikrobiální potenciál stříbrných kávových slupek. Efekt extraktů stříbrných kávových slupek na růst keratinocytů a fibroblastů byl hodnocen pomocí testů MTS (metoda používaná k hodnocení

životaschopnosti a proliferace buněk) a LDH (metoda používaná k měření buněčné životaschopnosti a integrity membrány). Dle výsledků testu MTS, žádný z extraktů nevykazoval cytotoxicitu vůči buňkám ve všech koncentracích. Ukazatelem poškození buněk při oxidačním stresu je zvýšení propustnosti buněčných membrán. Ve studii zkoumali membránovou integritu buněk pomocí testu uvolňování LDH. Extrakty neměly vliv na únik LDH ve všech koncentracích. Všechny tyto extrakty jsou ve studovaném koncentračním rozsahu bezpečné. Na základě studie můžeme konstatovat, že ethanolový extrakt ze stříbrných kávových slupek lze považovat za nejefektivnější. Projevil vysoký antioxidační a antimikrobiální potenciál bez jakékoliv toxicity. Tímto způsobem mohou extrakty stříbrných kávových slupek představovat slibný zdroj antioxidačních látek.[31]

Extrakty stříbrných kávových slupek, jako vhodnou potenciální ingredienci pro kosmetický průmysl, prokázala studie vědců Bessada a kol. [35]. Studie se zaměřuje na vliv bioaktivních sloučenin, které mohou zlepšovat zdraví a vzhled pokožky, působit proti stárnutí kůže a souvisejícím chorobám, a to s ohledem na šetrný přístup k životnímu prostředí. Kůže má mnoho funkcí, přičemž jednou z nich je ochrana před vnějšími vlivy prostředí. Stárnutí je definováno jako akumulace změn v buňkách, tkáních nebo orgánech v průběhu času, které vede ke ztrátě struktury a funkce buněk. Stárnutí kůže je komplexní proces zahrnující vnitřní a vnější mechanismy, které vyvolávají změny jako je ztenčení, suchost, ochablost, rozšířené póry a vrásky. Vnitřní stárnutí je přirozený důsledek fyziologických a genetických změn člověka, zatímco vnější stárnutí je způsobeno vnějšími škodlivými vlivy jako je UV záření (ultrafialové záření), infekční vlivy a znečištění ovzduší, které vyvolávají změny a poškození kůže. Oxidační stres je hlavní příčinou zrychleného stárnutí kůže a souvisejících onemocnění. Lze jej definovat jako nerovnováhu mezi ROS a RNS a antioxidanty. Lidský organismus má vyvinutý antioxidační systém, který působí proti oxidačnímu stresu. Když jsou buňky vystaveny nadměrnému množství oxidantů nebo dojde k vyčerpání antioxidantů, dochází k oxidačnímu stresu. Za normálních podmínek jsou oxidanty přirozenými vedlejšími produkty fyziologických procesů, které mají pozitivní fyziologické účinky na buňky, neboť se podílejí na diferenciaci, proliferaci a přenosu signálů. Reaktivní formy však mohou vznikat i z exogenních zdrojů a způsobovat poškození DNA, proteinů a lipidů. S věkem vzniká nerovnováha mezi produkcí oxidantů a antioxidantů (vytvořených nebo přijatých), což může vést ke stárnutí kůže a některým souvisejícím onemocněním. Keratinizovaná *epidermis* a pod ní ležící silná vrstva dermální pojivové tkáně bohaté na kolagen jsou důležitými složkami mladé kůže. Úbytek kolagenu je hlavní příčinou

tvorby vrásek. Stárnutí kůže souvisí se snížením produkce kolagenu a zvýšenou hladinou matrixových metaloproteináz (MMP). Další klíčovou složkou zdravé kůže je kyselina hyaluronová. Během stárnutí se obsah kyseliny hyaluronové snižuje. Její degradaci způsobuje enzym hyaluronidáza. K inhibici tohoto enzymu by mohly napomáhat látky přítomné ve stříbrných kávových slupkách. [35][36]

Rodrigues a kol. [37] provedl několik studií na téma stárnutí kůže a vlivu extraktů stříbrných kávových slupek. Při *in vivo* testu na 20 dobrovolnících, kteří používali dvakrát denně krém obsahující stříbrné kávové slupky a po dobu 28 dní byla pak testována hydratace a pevnost pokožky. Výsledky byly porovnány s přípravkem obsahujícím zesíťovanou kyselinu hyaluronovou. Ukázalo se, že krém s obsahem stříbrných kávových slupek vykazuje podobné výsledky jako kyselina hyaluronová, pokud jde o zlepšení hydratace a pevnosti pokožky. Další z jeho studií [38] zmiňuje vývoj krému na ruce a tělo s obsahem extraktů stříbrných kávových slupek. U obou byla zjištěna vysoká antioxidační aktivita a nebyl pozorován pokles životaschopnosti buněk (u keratinocytů a fibroblastů). Studie Iriondo-DeHond [38] testuje urychlené stárnutí způsobené t-butylhydroperoxidem (t-BOOH) na lidské buněčné kultivační linii (buňky HaCaT) jako modelu kůže. Linie lidských keratinocytů HaCaT je jednou z nejčastěji používaných linií keratinocytů, a to především díky své vysoce zachované diferenciací schopnosti. Buňky HaCaT byly před oxidativním poškozením 24 h předem ošetřeny, aby se simulovalo chronické používání vodných extraktů stříbrných kávových slupek. Výsledky naznačují, že aplikace extraktů na lidské kožní buňky by mohla fungovat jako prevence vůči poškození způsobené oxidačním stresem. Vzhledem k tomu, že extrakt o koncentraci 1 mg/ml zabránil buněčné smrti vyvolané 0,5 mM t-BOOH a dokázal snížit indukované intracelulární ROS na fyziologickou úroveň, mohl by tento extrakt v této koncentraci být použit k zachování zdravé kůže. [35][37][38][39]

Jak bylo zmíněno, stárnutí kůže a s ním související kožní onemocnění jsou důsledkem vnějších škodlivých vlivů, z nichž nadměrná expozice ultrafialovému slunečnímu záření (především UVB) je důležitým faktorem pro kožní onemocnění. Ultrafialové záření o vlnové délce 280-320 nm (UVB) vyvolává nadprodukcí volných radikálů jako je superoxidový ion a singletový kyslík, které jsou rozhodující pro oxidační stres. Zvýšená produkce volných radikálů indukuje sekreci zánětlivých cytokinů a zvyšuje hladinu metaloproteináz ve fibroblastech a snižuje syntézu prokolagenu. Expres metaloproteináz vede k degradaci proteinů, což následně vede ke snížení elasticity kůže a tvorbě vrásek. Vzhledem k synergickému účinku volných radikálů a zánětlivých mediátorů je použití sloučenin

s antioxidačními a protizánětlivými účinky slibným přístupem k inhibici poškození kůže způsobené UVB zářením. [35]

Ochranu před UVB zářením ve své studii popisuje Kitagawa [40], kde sleduje účinky kyseliny chlorogenové přidané do vodného či mikroemulzního gelu na tvorbu erytému vyvolaného UVB zářením na hřbetu morčete. Vždy byl na jednu polovinu hřbetu aplikován gel s přídavkem kyseliny chlorogenové a na druhou polovinu pouze čistý gel. Po ozáření UVB, bez ohledu na přídavek kyseliny chlorogenové, nedošlo u vodného gelu k inhibici tvorby erytému. V případě mikroemulzního gelu došlo k tvorbě erytému pouze na straně hřbetu, která byla pokryta gelem bez přídavku kyseliny chlorogenové. Mikroemulzní gel s přídavkem kyseliny tvorbu erytému inhiboval. Tuto ochranu pravděpodobně zajišťovala redukce volných radikálů chlorogenovou kyselinou.

Hodnocení UV ochrany olejnatých frakcí a ethanolových extraktů kávové sedliny hodnotil ve své studii Choi a kol.[41]. Frakce s obsahem kyseliny chlorogenové a kofeinu byla aplikována na hřbet myši a následně byl jejich hřbet vystaven UVB záření. Parametr vyhodnocení byla forma vrásek a kožních linek na oblasti vystavené záření. Pro skupinu bez topické aplikace, UVB záření vyvolalo na hřbetní kůži silné vrásky a plocha vrásek se dvojnásobně zvětšila oproti skupině myši, které UVB záření vystaveny nebyly. Následně byly provedeny topické aplikace a opět byly myši vystaveny UVB záření. Aplikace frakcí s obsahem kyseliny chlorogenové a kofeinu významně snížila tvorbu vrásek vyvolaných UVB zářením a kombinovaná protekce olejnaté a ethanolové frakce snížila tvorbu vrásek o 33 %. Studie prokázala, že topická aplikace ethanolových a olejnatých frakcí kávové sedliny efektivně chrání pokožku myši před UVB zářením.

3.2 Nekosmetické obory

Jak již bylo zmíněno výše, káva je jednou z nejobchodovanějších komodit na světě a její produkce se stále zvyšuje. Tedy se zvyšuje i objem odpadu, při její výrobě.

3.2.1 Obalové materiály potravin

Liu a kol. [42] se ve své studii zabývali použitím stříbrných kávových slupek jako zdrojem celulózy pro výrobu kompozitních fólií pro balení potravin. Stříbrné kávové slupky jsou bohaté na obsah celulózy, hemicelulózy a ligninu, což z nich dělá potenciální materiál pro výrobu udržitelných obalů potravin. Studie kombinuje celulózu získanou z KS s chitinem (přírodním polysacharidem, který se získává z odpadu mořského průmyslu) a přírodními

pigmenty, jako jsou kurkumin, fykocyanin a lykopen. Přírodní pigmenty byly použity záměrně, a to pro získání různě barevných fólií. Tyto kompozitní filmy vykazovaly příznivé mechanické vlastnosti, citlivost na vodu a lepší UV bariérové vlastnosti. Nicméně, přidávek pigmentů snižoval mechanickou pevnost. Autoři studie došli k závěru, že kompozitní fólie na bázi celulózy získané ze stříbrných kávových slupek, chitinu a přírodních pigmentů představují udržitelnou a atraktivní možnost balení potravin, která kombinuje fyzikálně-chemické vlastnosti s pozitivním vnímáním spotřebitelů (právě díky pigmentům a možnostem různých barev). Použití pigmentů zvyšuje UV bariéru, snižuje botnění fólií a zachovává dobrou hydrofobnost, nízkou propustnost pro vodní páru a přijatelné mechanické vlastnosti.

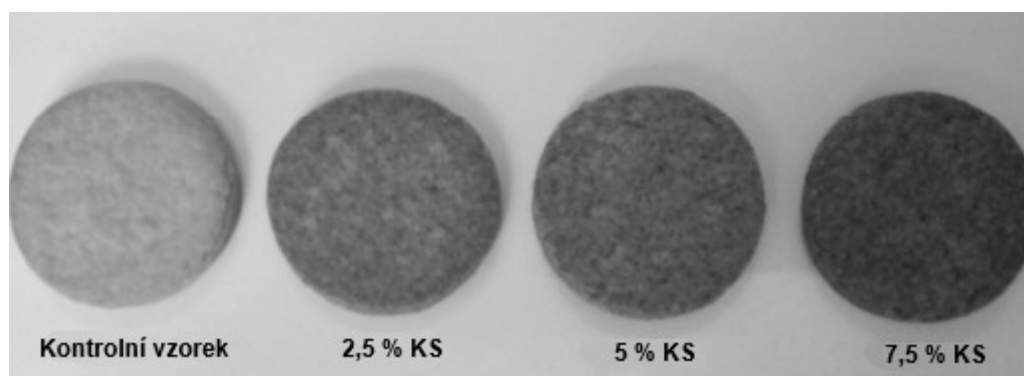
Petaloti a kol. [43] zkoumali pro balení potravin potenciální možnosti využití KS jako plniva v biokompozitních fóliích z kyseliny polymléčné. Bylo připraveno několik kompozitů kyseliny polymléčné s různým hmotnostním zastoupením KS, od 2,5 % až po 20 %. Ve studii bylo zmíněno, že s rostoucí koncentrací stříbrných kávových slupek docházelo k poklesu světlosti barvy, přičemž neupravené vzorky vykazovaly intenzivnější barvu. S vyšším přidavky KS se zvyšovala antioxidační aktivita, což se přičítá zastoupením polyfenolů v KS. Dále došlo u kompozitů s vyšším obsahem KS ke zlepšení mechanických vlastností filmu. Studie naznačuje, že přidáním KS do matrice kyseliny polymléčné lze vyrobit udržitelné kompozity se zvýšenou antioxidační aktivitou, což nabízí nový přístup k ekonomickému i ekologickému využití tohoto vedlejšího produktu. Studie Liu a kol. [42] také potvrzuje, že přidávek KS v obalových materiálech může být řešením pro výrobu udržitelných obalových materiálů.

3.2.2 Funkční potraviny

Studie Franca a kol. [44] se zabývá využitím stříbrných kávových slupek jako potenciální ingrediencí pro funkční potraviny. Hodnotí vliv přidání různých množství KS na funkční a senzorické vlastnosti čokoládových dortů. Stříbrné kávové slupky byly rozemlety a použity bez dalšího zpracování. Předem připravené čokoládové dortové směsi o hmotnosti 400 g byly nahrazeny různým množstvím KS (0 % - 0 g; 2,6 % - 20 g; 3,6 % - 27,5 g a 4,6 % - 35 g). Dle očekávání studie prokázala, že přidání KS zvýšilo v dortech celkový obsah vlákniny. Na základě brazilské legislativy byly dorty s 2,6% nahrazením KS klasifikovány jako zdroj vlákniny a dorty se 4,6% nahrazením KS byly klasifikovány již jako bohaté na vlákninu. Sensorické hodnocení prokázalo, že nejpříjemnější dort byl dort kontrolní, tedy bez KS. U dortů s 2,6 a 3,6 % se výsledky úrovně přijatelnosti významně nelišily

od kontrolního dortu. Dort se 4,6% nahrazením KS byl nejméně přijatelný. Nejvýznamnějšími hodnotícími atributy byly chuť a celkový dojem. Zvýšení obsahu vlákniny a antioxidačních vlastností neovlivnilo významně sensorické vlastnosti. Studie potvrdila potenciál KS jako přísady pro funkční potraviny.

Gocmen a kol. [45] ve své studii zase využíval KS k obohacení funkčních vlastností sušenek. Studie zkoumala možnost použití KS za účelem zvýšení obsahu fenolických látek, a tedy i antioxidační aktivity sušenek. Stříbrné kávové slupky byly nejprve rozemlety a následně přesety. Sušenky byly připravovány nahrazením pšeničné mouky KS v různých poměrech (0 % - kontrolní vzorek, 2,5 %, 5,0 % a 7,5 %). Ovlivnění barvy sušenek pro různá procentuální zastoupení KS lze vidět na Obr. 3. U sušenek bylo hodnoceno hned několik parametrů – vlhkost (%), popel (%), průměr (cm), tloušťka (cm), poměr rozprostření (průměr/tloušťka), tvrdost (N), barva, obsah fenolických sloučenin.



Obrázek 3 Porovnání barvy sušenek s různým % zastoupením KS [45]

Sušenky s obsahem KS měly v porovnání s kontrolními sušenkami bez KS:

- vyšší hodnoty vlhkosti;
- vyšší hodnoty popela;
- menší průměr;
- větší tloušťku;
- nižší poměr rozprostření;
- nižší tvrdost;
- vyšší antioxidační kapacitu;
- vyšší obsah fenolických sloučenin.

Studie potvrdila pozitivní vliv fenolických sloučenin. Biologická dostupnost antioxidantů a fenolických látek se v sušenkách s obsahem KS zvýšila až o 85 % ve srovnání s kontrolními sušenkami bez KS. Ze studie vyplývá, že pokud jsou KS začleněny do formulace sušenek do 5 %, nedochází k negativnímu ovlivnění kvality výsledného produktu. Stříbrné kávové slupky mohou být využity k přípravě funkčnějších sušenek, jednak jako zdroj fenolických látek, ale také jako zdroj antioxidantů a přírodního barviva.

3.2.3 Ochrana dřeva

Autor Barbero-López a kol. [46] se ve své studii zabývali možností využití extraktů KS jako suroviny pro antifungální chemikálie pro ochranu dřeva. Hlavními složkami extraktů, které studie identifikovala jako inhibiční pro růst hub jsou kyselina chlorogenová, deriváty kyseliny chlorogenové a deriváty kofeinu. Ve studii byly testovány extrakty z KS, extrakt kofeinu a extrakt z kávové sedliny. Pro přípravu extraktu byly použity KS ve formě pelet o hmotnosti 8 g a následně byly extrahovány v 80 ml horké vody po dobu 1 hodiny. Takto získaný extrakt byl testován na ošetření dřeva před hnilobou, ekotoxicitu a antifungální vlastnosti na dřevokazných houbách *Rhodonía (Poria) placenta*, *Gleophyllum trabeum* a *Trametes versicolor*. Při koncentraci 0,1 % se růst hub *R. placenta* a *T. versicolor* téměř nelišil od kontrolního vzorku (bez extraktu z KS). Naopak u *G. trabeum* byl růst lehce podpořen. Při koncentraci 1 % směs inhibovala *G. Trabeum* o 23 % a *R. placenta* o 7 %, naopak *T. versicolor* nebyla inhibována. Při koncentraci 3 % byl růst všech hub inhibován o více než 60 %. Výsledky studie značí, že dřevo ošetřené extraktem z KS mělo značnou ztrátu hmotnosti, kterou způsobila houba *C. puteana*. Účinnost jako samostatného konzervačního prostředku na dřevo tedy nebyla dostatečná. Ekotoxická extraktu z KS byla porovnána s komerčním konzervačním prostředkem na bázi mědi. Extrakt z KS vykazoval signifikantně nižší ekotoxicitu. Díky svým fenolickým sloučeninám a antifungální účinnosti může být extrakt z KS hodnocen jako výchozí potenciální látka do antifungálních přípravků na ochranu dřeva, nicméně tento přípravek sám o sobě vykazoval slabou účinnost jako přípravek konzervační.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍLE PRÁCE

Cílem práce vytvořit literární rešerši, zabývající se tematikou stříbrných kávových slupek, jejich složením, zdroji a způsoby získávání. Důraz byl kladen především na jejich vlastnosti a potenciální využití v kosmetickém průmyslu

Cílem praktické části bylo tedy připravit extrakty ze stříbrných kávových slupek, následně je využít v kosmetických formulacích a ověřit poznatky z literatury. Takto připravené kosmetické formulace následně otestovat *in vivo* metodou a senzoricky zhodnotit.

5 METODIKA

5.1 Použité přístroje

- Lednice Electrolux (Německo)
- Sušárna MEMMERT UFE 400
- Laboratorní váhy KERN 440-47 (Německo)
- Analytické váhy ALS 250–4A (Kern, Německo),
- Laboratorní váhy EW 420–3NM (Kern, Německo)
- Analytické váhy SBC 32 (SCALTEC, Německo),
- Vpichový pH metr PH60S-Z (Apera Instruments, USA)
- Vaříč ETA 2107
- Korneometr CM 825 (Courage & Khazaka electronics, Německo)
- Skin pH metr 905 (Courage & Khazaka electronics, Německo)
- Tewametr TM 300 (Courage & Khazaka electronics, Německo)

5.2 Použité laboratorní pomůcky

- Třecí miska s tloučkem
- Kádinky o objemech 50 ml, 75 ml, 125 ml, 250 ml, 500 ml
- Büchnerova nálevka
- Dělicí pipety o objemech 1 ml, 5 ml, 10 ml
- Lžičky
- Kovové misky
- Automatická mikropipeta Thermo o objemu 200–1000, 2–20 μ l
- Sterilní pipetovací špičky o objemu 200, 1000 μ l
- Plastové nádobky na odběr vzorků o objemu 50 ml
- Plastová pipeta o objemu 3 ml
- Teploměr

- Filtrační papír KA 4, modrá páska (Papírna Pernštejn s.r.o., ČR)
- Hrnc
- Elastické náplasti
- Plastové hokejky
- Injekční stříkačky
- Parafilm

5.3 Použité chemikálie

- Ethanol 96%, VWR (Francie)
- Demineralizovaná voda
- Hydroxid sodný, Sigma Aldrich (Německo); čistota: $\geq 97,0\%$
- Dodecylsulfát sodným Sigma Aldrich (Německo); čistota: 98,5%
- Chlorid sodný, LACH-NER s.r.o. (Česká republika)
- Fyziologický roztok
- 5% roztok SDS ve fyziologickém roztoku
- Carbomer Polygel CA, Sigma Aldrich (Německo)
- methylparaben (Methyl 4-hydroxybenzoate, Labicom s.r.o., Olomouc)
- propylparaben (Propyl 4-hydroxybenzoate, Labicom s.r.o., Olomouc)
- Glycerol (www.nature-store.cz)
- Mandlový olej (www.nature-store.cz)
- Bambucké máslo (www.nature-store.cz)
- Včelí vosk (www.nature-store.cz)
- Kakaové máslo (www.nature-store.cz)
- Ricinový olej (www.nature-store.cz)
- Olivoil (www.nature-store.cz)
- Konzervační směs Dermosoft® 1388 eco (www.nature-store.cz)

5.4 Příprava extraktů

Pro experiment byly použity stříbrné kávové slupky (Obr. 4), které poskytla firma Coffee Bee – Valašské pražírna s.r.o. Jednalo o KS odrůd *Cattura*, *Catuai*, *Sidamo* a *Pacamara*. Prvním krokem experimentu byla příprava extraktů. Stříbrné kávové slupky byly rozmělněny v třecí misce s tloučkem a následně použity pro přípravu extraktů. Pro každý extrakt bylo vždy použito 10 g rozmělněných stříbrných kávových slupek a 116,25 ml demineralizované vody. Vodné extrakty byly připraveny za studena i za tepla. Metodika přípravy extraktů byla čerpána z Diplomové práce Natálie Podešvové.[47]



Obrázek 4 Stříbrné kávové slupky (vlevo: před rozmělněním; vpravo: po rozmělnění)

5.4.1 Extrakt připravený za studena

První krok přípravy byl rozmělnit stříbrné kávové slupky a navážit 10 g s přesností na 0,01 g do předem připravené kádinky o objemu 250 ml. Následně bylo do kádinky přidáno 116,25 ml studené demineralizované vody. Směs byla promíchána a zakryta parafilmem. Macerace probíhala 24 hodin. Po uplynutí byla směs přefiltrována pomocí Büchnerovy nálevky přes filtrační papír KA 4, modrá páska. Získaný macerát měl objem cca 100 ml a byl uschován v lednici při 4 °C pro další použití.

5.4.2 Extrakty připravené za tepla

Za tepla byly připraveny 2 extrakty. Pro přípravu byly použity stejné hmotnosti a objemy jako při přípravě extraktu za studena (macerátu), tedy 10 g stříbrných kávových slupek a 116,25 ml demineralizované vody.

- Nálev

Demineralizovaná voda byla přivedena k varu a rozmělněné KS byly vroucí vodou zality. Celá směs se nechala louhovat 15 minut a následně se za horka zfiltrovala pomocí Büchnerovy nálevky a filtračního papíru KA 4, modrá páska. Extrakt o objemu cca 100 ml byl uschován v lednici při 4 °C pro další použití.

- Extrakce za tepla

Kádinka se směsí rozmělněných stříbrných kávových slupek a destilovanou vodou byla vložena do vodní lázně a zahřívána na teplotu 60 °C po dobu 3 hodin. Po uplynutí stanové doby byla směs chlazená na vzduchu. Po 20 hodinách byla pomocí Büchnerovy nálevky a filtračního papíru (KA 4, modrá páska) zfiltrována. Filtrát o objemu cca 100 ml byl uschován v lednici při 4 °C pro další použití.

5.5 Příprava gelů s extrakty ze stříbrných kávových slupek

Gely byly vyrobeny podle předem dané receptury uvedené v Tab. 1, kdy obsah vody v receptuře byl nahrazen extraktem ze stříbrných kávových slupek. Z každého extraktu byly vyrobeny 2 gely. V prvním gelu byla voda v receptuře nahrazena extraktem z 50 %. V druhém gelu byla voda v receptuře nahrazena ze 100 %. Celkem byly vytvořeny 2 totožné sady, tedy 12 gelů, každý o hmotnosti 25 g.

Tabulka 1 Rámcové složení gelu

Surovina	Obsah [%]	Navážka [g]
polygel CA	0,6	0,15
methylparaben	0,2	0,05
propylparaben	0,1	0,025
5% roztok NaOH*	3	-
extrakt z KS	ad 100	24,025/12,0125

K naváženému karbomeru (Polygel CA) s přesností 0,001 g byl přidán extrakt (příp. extrakt/voda) a směs byla ponechána 24 hodin pro dostatečné nabotnění. Po 24 hodinách byly přidány konzervanty (methylparaben a propylparaben), které byly naváženy s přesností na 0,0001 g. Směs byla promíchána a bylo změřeno počáteční pH. Pro úpravu pH

* 5% roztok NaOH byl přidáván po kapkách za účelem úpravy pH na požadované hodnoty 5,3-5,5

na požadované hodnoty byl použit předem připravený 5% roztok hydroxidu sodného, který byl připraven navážením 5g NaOH a rozpuštěním ve 100 ml demineralizované vody. Takto připravený roztok byl po kapkách přidáván do směsi. Po každém přidavku roztoku byla směs promíchána a vpichovým pH metrem bylo změřeno její pH. Se zvyšujícím se pH docházelo rovněž ke zvyšování viskozity gelu, a to z důvodů síťování Polygelu CA při vhodném pH. Roztok NaOH byl přidáván do doby, dokud nebylo pH upraveno na požadovaných 5,3–5,5. První sada takto vyrobených gelů s příměsí extraktů ze stříbrných kávových slupek byla převedena do plastových uzavíratelných nádobek a byla uchována v lednici při teplotě 4 °C a druhá sada gelů byla ponechána v kádinkách přikrytých parafilmem v laboratoři pro další testování.

5.6 Příprava emulzí s extrakty ze stříbrných kávových slupek

Emulze (v našem případě krémy) byly připraveny dle předem dané receptury uvedené v Tab. 2, kde voda v receptuře byla vždy nahrazena předem vytvořenými extrakty. Z každého extraktu byly vytvořeny 2 krémy a to se 100 % nahrazením vody extraktem a 50 % nahrazením vody extraktem. Celkem bylo připraveno 6 krémů o hmotnosti 25 g.

Tabulka 2 Rámcové složení krému

Surovina	Obsah [%]	Navážka [g]
Extrakt	66	16,5/8,25
Glycerol	4	1
Dermosoft	2	0,5
Mandlový olej	10	2,5
Bambucké máslo	4	1
Včelí vosk	2	0,5
Kakaové máslo	2	0,5
Ricinový olej	2	0,5
Olivoil	8	2

Krémy byly připraveny tak, že do kovové misky byly naváženy všechny složky olejové fáze (mandlový olej, bambucké máslo, včelí vosk, kakaové máslo, ricinový olej a olivoil) a to s přesností na 0,001g. Tato miska byla zahřívána na vodní lázni, a to na teplotu cca 50 °C (teplota tání složek olejové fáze). Dále, do 50ml kádinky byl navážen extrakt z KS, glycerol a dermosoft (konzervant). Kádinka byla zahřívána na vodní lázni společně s olejovou fází.

Složky olejové fáze byly dle potřeby promíchány. Po rozpuštění všech složek olejové fáze se za stálého míchání postupně přidávala do olejové fáze fáze vodná. Homogenizace probíhala na studené vodní lázni až do zchladnutí celého systému. Takto připravené krémy byly přemístěny do uzavíratelných plastových nádobek a ponechány v laboratoři k dalšímu testování.

5.7 *In vivo* testování gelových formulací s obsahem kávových slupek

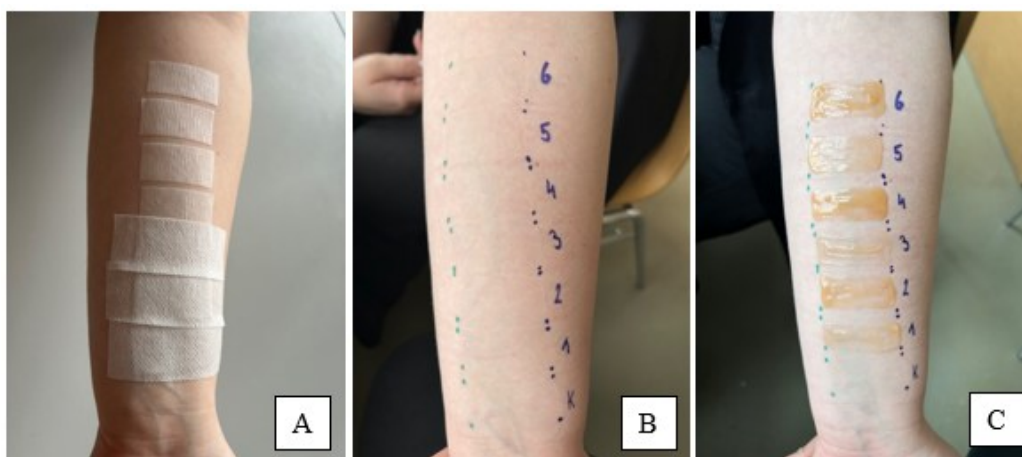
Gelové formulace s obsahem KS a jejich účinek na pokožku na transepidermální ztrátu vody (TEWL), hydrataci a pH byly testovány na skupině 10 dobrovolnic ve věkovém rozmezí 25-52 let. Před samotným testováním byly všechny dobrovolnice seznámeny s časovou náročností, průběhem testování a možnými riziky/nežádoucími účinky. Testované gelové formulace jim byly představeny a následně jim byl předložen pro vyplnění dotazník týkající se zdravotního stavu – Dotazník účastníka *in vivo* studie (Příloha I) a Informovaný souhlas a souhlas se zpracováním osobních údajů (Příloha II). Testování vždy probíhalo po dobu 24 hod. v místnosti o teplotě 23 ± 1 °C a relativní vlhkosti 35 ± 3 %. Samotné testování probíhalo vždy tak, že bylo třeba nejprve dobrovolnicím odmastit pokožku volární strany předloktí předem připraveným 0,5% roztokem SDS ve fyziologickém roztoku. Pro přípravu tohoto roztoku bylo připraveno 300 ml fyziologického roztoku rozpuštěním 2,7 g NaCl v demineralizované vodě. V malém množství takto připraveného fyziologického roztoku byl rozpuštěn 1 g SDS, který byl následně kvantitativně převeden do 200 ml odměrné baňky a doplněn fyziologickým roztokem po rysku. Takto připravený roztok byl uchováván v lednici. Filtrační papír byl nastříhán na obdélníky o rozměrech 4x2 cm, ty byly namáčeny v 0,5% roztoku SDS a přikládány na volární stranu předloktí a následně přelepeny náplastí (Obr. 5A). U každé dobrovolnice bylo vždy odmašťováno 7 míst (Obr. 5B). Odmašťování probíhalo 4 hodiny. První odmašťované místo (nejblíže u zápěstí) bylo kontrolní a nebyl na něj nanášen žádný z testovaných gelových formulací. Na dalších 6 míst byly nanášeny gely podle typu extraktů. Pořadí nanášených gelových formulací je uvedeno v Tab. 3.

Tabulka 3 Pořadí nanášení gelových formulací s obsahem KS

Pořadí	Gelová formulace
K	NA (kontrolní bod, bez ošetření)
1	Extrakt č. 1 (50% náhrada vody extraktem z KS)
2	Extrakt č. 1 (100% náhrada vody extraktem z KS)
3	Extrakt č. 2 (50% náhrada vody extraktem z KS)

4	Extrakt č. 2 (100% náhrada vody extraktem z KS)
5	Extrakt č. 3 (50% náhrada vody extraktem z KS)
6	Extrakt č. 3 (100% náhrada vody extraktem z KS)

Po 4 hodinách odmašťování byly náplasti s filtračními papíry odstraněny a místa byla označena fixem (Obr. 5B). Následně byla pomocí MPA stanice a sond změřena hydratace, TEWL a pH. Hydratace byla měřena Corneometrem CM 825 a vždy bylo změřeno 5 hodnot, ze kterých byl vypočítán průměr a směrodatná odchylka. Transepidermální ztráta vody byla měřena za pomoci Tewamtru TM 300 a bylo měřeno vždy 20 hodnot. Prvních 5 hodnot bylo zanedbáno a zbylých 15 bylo pro vyhodnocení zprůměrováno a byla vypočítána směrodatná odchylka. pH bylo měřeno pomocí pH metru 905 a byla vždy změřena jedna hodnota. Tyto parametry byly změřeny na všech odmaštěných místech. Jednalo se o hodnoty v čase 0. Následně byly na 1. – 6. místo nanесeny vzorky gelových formulací (Obr. 5C). Vzorky byly nanášeny v objemu 0,1 ml pomocí stříkačky a následně byly rozetřeny pomocí plastové hokejky na celé odmaštěné místo.



Obrázek 5 *In vivo* testování gelových formulací s obsahem KS na volární straně předloktí, A – odmaštění pokožky pomocí filtračních papírů namočených v 0,5% roztoku SDS a přelepených náplastí, B – označení odmaštěných míst, C – nanесené gelové formulace

Testování výše zmíněných parametrů probíhalo po 1, 2, 3, 4 a 24 hodinách. Dobrovolnice byly poučeny, že před posledním testováním, tedy po 24 hodinách by neměly předloktí umývat tenzidovými prostředky a nijak jej ošetřovat jakýmikoliv kosmetickými přípravky. Získané výsledky byly zpracovány softwarem Microsoft Office Excel. U měření TEWL bylo, pro přesnější hodnocení, zanedbáno prvních 5 hodnot. Naměřené hodnoty pH a hydratace byly analyzovány podle Dean-Dixonova testu odlehlých hodnot na hladině významnosti $\alpha = 0,05$. Detekované odlehlé hodnoty byly následně přezkoumány

a v případech, kdy se jednalo o prokazatelnou chybu měření byly pro další analýzy zanedbány. Výsledné hodnoty byly porovnány se stupnicí fyziologické hydratace, pH a TEWL pokožky:

Fyziologická stupnice hydratace:

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

Fyziologická 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)

Fyziologická stupnice pH pro ženy:

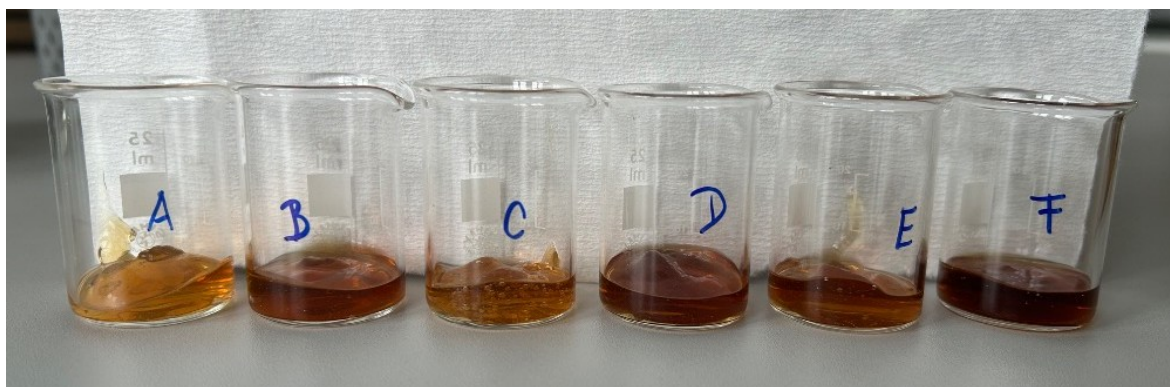
- Kyselé (3,5 a méně až 4,3)
- Neutrální (4,3–5,5)
- Zásadité (5,5–6,5 a více)

5.8 Senzorická analýza gelových formulací s obsahem stříbrných kávových slupek

Hodnotitelům byl předložen Dotazník pro senzorické hodnocení gelových formulací s obsahem stříbrných kávových slupek (Příloha III), který sloužil k zaznamenávání výsledků. Současně jim bylo předloženo 6 vzorků označených písmen A–F (Obr. 6). Gelové formulace byly představeny a bylo vysvětleno, jak správně senzorické posouzení provést. Pro hodnocení byly předem připraveny všechny potřebné pomůcky (laboratorní sklíčka, skleněné tyčinky a ubrousky). Hodnotitelé si nejprve aplikovali gel na hřbet ruky a následně provedli subjektivní posouzení jednotlivých vzorků. Bylo hodnoceno 5 parametrů (barva, vůně, roztíratelnost, vstřebatelnost a celkové osobní preference). Jednalo se o zkoušku s nucenou volbou, hodnotitelé tedy museli přiřadit pořadí všem vzorkům. První pořadí označovalo vzorek, který byl dle daného kritéria nejpříznivěji hodnocen (např.

nejpříjemnější vůně, nejsvětlejší barva, nejlepší roztíratelnost, nejrychlejší vstřebávání či celková preference), zatímco sedmé pořadí reprezentovalo vzorek s nejméně vyhovujícími vlastnostmi. Označení jednotlivých gelových formulací bylo následující:

- A = gelová formulace s extraktem č. 1 (50% nahrazení vody)
- B = gelová formulace s extraktem č. 1 (100% nahrazení vody)
- C = gelová formulace s extraktem č. 2 (50% nahrazení vody)
- D = gelová formulace s extraktem č. 2 (100% nahrazení vody)
- E = gelová formulace s extraktem č. 3 (50% nahrazení vody)
- F = gelová formulace s extraktem č. 3 (100% nahrazení vody)



Obrázek 6 Gelové formulace pro senzorické hodnocení

Výsledky byly zaznamenány do softwaru Microsoft Office Excel, kde byly také zpracovány. Výsledky byly podrobeny Friedmanovu testu pro posouzení statisticky významných rozdílů mezi jednotlivými vzorky. Dále, pokud Friedmanův test prokáže statisticky významné rozdíly lze použitím Nemeneyiho metody zjistit jaké dvojice testovaných gelových formulací vykazují statisticky významné rozdíly. Testovací kritérium pro Friedmanův test bylo spočítáno dle rovnice 1:

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

kde:

n – počet posuzovatelů

R – počet posuzovaných vzorků

T_i^2 – druhá mocnina sumy součtu pořadí

Némeneyiho test se počítá následně: nejprve se spočítá průměrné pořadí pro každý vzorek dle rovnice 2:

$$\bar{T}_i = \frac{T_i}{n} \quad (2)$$

kde:

T_i = součet pořadí

n = počet posuzovatelů

Následně se spočítá kritická vzdálenost CD (Critical difference) dle rovnice 3:

$$CD = q_{0,01} \cdot \sqrt{\frac{R \cdot (R+1)}{6n}} \quad (3)$$

kde:

$q_{0,01} = 3,73$

R = počet vzorků

n = počet posuzovatelů

Posledním krokem je tedy spočítat pro všechny možné dvojice vzorků absolutní rozdíl průměrných pořadí. Rozdíl mezi 2 vzorky je statisticky významný na dané hladině významnosti v případě, že platí, že absolutní rozdíl průměrných pořadí je větší než kritická vzdálenost CD.

5.9 Stabilitní hodnocení emulzních a gelových formulací s obsahem stříbrných kávových slupek

Pro účely stabilitního hodnocení emulzních formulací (krémů) a gelových formulací s obsahem KS byla provedeno vizuální pozorování připravených vzorků. Krémy byly ponechány v plastových uzavíratelných lahvičkách (Obr. 7) v laboratoři při teplotě 23,8 °C a relativní vlhkosti 45,3 % a jednou týdně po dobu 5 týdnů, konkrétně 7., 14., 21., 29. a 34. den, byly vizuálně zkontrolovány. Hodnocení bylo zaměřeno především na změny vzhledu. Gely (Obr. 8) byly ponechány v kádinkách a zakryty parafilmem. Každý týden byla pořízena fotografie, která zachycuje vývoj krémů a gelů v čase. Fotografie byly pořízeny 7., 14., 21., 29. a 34. den.



Obrázek 7 Emulzní formulace s obsahem stříbrných kávových slupek (krémy) určené pro stabilitní hodnocení; den 0 ihned po přípravě



Obrázek 8 Gelové formulace s obsahem stříbrných kávových slupek určené pro stabilitní hodnocení, den 0 ihned po přípravě

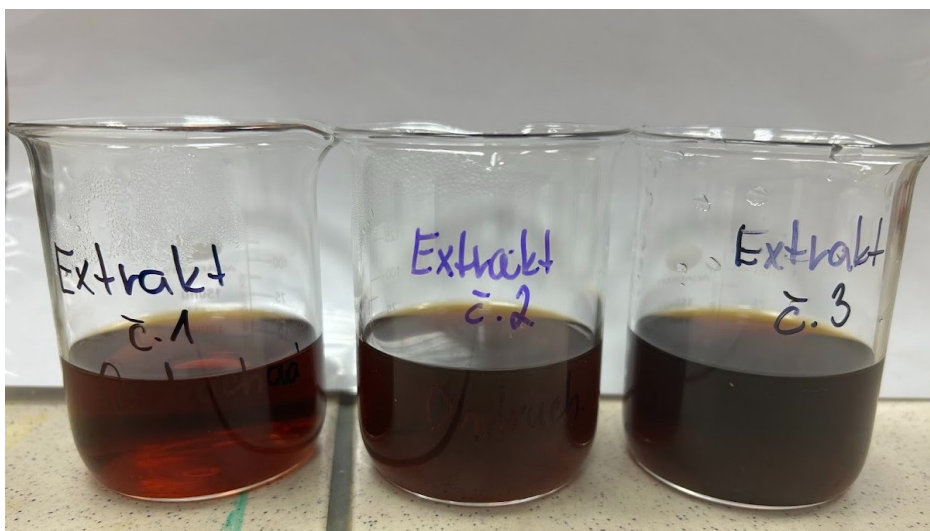
6 VÝSLEDKY A DISKUZE

Ve studiích zmíněných v teoretické části této práce bylo prokázáno, že stříbrné kávové slupky mají antioxidační aktivitu, antiaging aktivitu a UV ochranu. Vzhledem k situaci, kdy se produkce kávy zvyšuje, je věnována pozornost využitelnosti odpadu, který při produkci kávy vzniká. A to především z ekonomického hlediska a udržitelného rozvoje.

V následující kapitole budou diskutovány výsledky přípravy extraktů, dále výsledky senzorické analýzy připravených gelových formulací a výsledky *in vivo* testování gelových formulací.

6.1 Extrakty ze stříbrných kávových slupek

Byly vyrobeny tři vodné extrakty z KS (Obr. 9), a to dle postupů uvedených v kapitole 5.4 Příprava extraktů. První extrakt (Extrakt č. 1) byl připraven za studena. Jedná se o extrakt hnědé barvy, který byl z vizuálního hlediska nejsvětlejší ze všech připravených extraktů, výsledný objem činil cca 100 ml a vyznačoval se příjemnou kávovou vůní. Druhý extrakt (Extrakt č. 2) byl připraven macerací po dobu 15 minut v horké demineralizované vodě. Výsledný objem byl také přibližně 100 ml. Oproti prvnímu extraktu byl tmavší barvy, nicméně aromatické vlastnosti byly téměř totožné. Třetí extrakt (Extrakt č. 3) byl připraven vařením po dobu 3 hodin při teplotě 60 °C. Výsledný extrakt byl vizuálně nejtmaší a kávová vůně byla nejintenzivnější. Výsledný objem byl přibližně cca 100 ml.



Obrázek 9 Vodné extrakty ze stříbrných kávových slupek; Extrakt č. 1 = příprava za studena, Extrakt č. 2 = nálev, Extrakt č. 3 = příprava vařením při 60 °C

Přípravu extraktů metodou za studena ve své studii zmiňuje Vimcerati [22], který smíchal 1,14 g rozmělněných KS se 40 ml rozpouštědla (destilovaná voda). Směs byla ponechána hodinu při laboratorní teplotě a následně centrifugována po dobu 15 minut. Supernatant byl odebrán a bylo přidáno dalších 40 ml rozpouštědla a proveden stejný postup. Supernatanty byly sloučeny a objem byl doplněn. Extrakt byl přefiltrován přes filtrační papír Whatman No. 1 a uschován při teplotě -20 °C pro další použití. Tangguh [24] ve své studii popisuje extrakci KS ve směsi voda/ethanol a to při teplotách 30–60°C a časech 5–60 minut. Vždy když 100 ml rozpouštědla dosáhlo požadované teploty byly do něj přidány 2 g KS. Tato extrakce byla provedena dvěma způsoby, a to bez míchání a za stálého míchání na magnetické míchačce. Extrakty byly následně zfiltrOVány za použití filtračního papíru Whatmann 1001 125, GE, UK. Rodrigues [48] ve své studii rozmělnil KS na velikost cca 0,1 mm a 1 g maceroval 30 minut při teplotě 40 °C ve 20 ml rozpouštědla ethanol:voda (1:1), extrakty byly zfiltrOVány přes filtrační papír Whatman No. 1 s uchovávány při teplotě 4 °C pro další použití.

Na základě těchto studií byly provedeny extrakce i v našem experimentu. Vzhledem k tomu, že extrakty byly nadále použity do přípravy kosmetických formulací, zvoleným rozpouštědlem byla demineralizovaná voda.

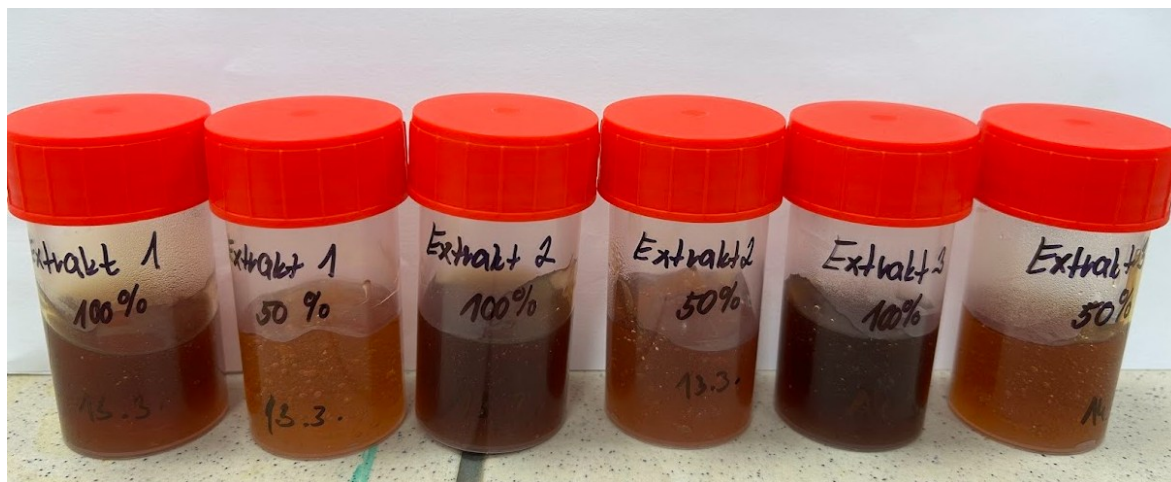
6.2 Příprava gelových formulací s obsahem stříbrných kávových slupek

Gelové formulace byly připraveny dle kapitoly 5.5 Příprava gelů s extrakty ze stříbrných kávových slupek. U každého vyrobeného gelu bylo nutné upravit pH pomocí 5% roztoku NaOH, aby byly gely aplikovatelné na pokožku. Hodnoty pH gelových formulací jsou shrnuty v Tab. 4.

Tabulka 4 pH gelových formulací pro *in vivo* testování

Gelová formulace podle typu extraktu	pH gelu
Extrakt č. 1 (50% náhrada vody extraktem z KS)	5,37
Extrakt č. 1 (100% náhrada vody extraktem z KS)	5,50
Extrakt č. 2 (50% náhrada vody extraktem z KS)	5,46
Extrakt č. 2 (100% náhrada vody extraktem z KS)	5,44
Extrakt č. 3 (50% náhrada vody extraktem z KS)	5,42
Extrakt č. 3 (100% náhrada vody extraktem z KS)	5,33

Díky tmavě hnědému zbarvení extraktů, které byly použity pro přípravu, měly všechny gely hnědé zbarvení. Intenzita zbarvení se lišila dle toho, zda byla voda v rámcovém složení nahrazena extraktem ze 100 nebo z 50 %, intenzitu zbarvení jednotlivých gelů lze vidět na Obr. 10.



Obrázek 10 Intenzita zbarvení připravených gelových formulací

Gely prokázaly ze stabilitního hlediska při teplotě 4 °C dobrou stabilitu. Během 28 dní, kdy byly uschovány v uzavíratelných plastových lahvičkách nedošlo u nich k žádné vizuální změně.

6.3 Senzorické hodnocení gelových formulací s obsahem stříbrných kávových slupek

Gelové formulace byly podrobeny senzorickému hodnocení 13 hodnotiteli. Výsledky byly zapisovány do dotazníku a následně převedeny do SW Microsoft Office Excel, kde bylo provedeno další zpracování. Hodnotitelé hodnotili 5 parametrů u všech 6 vzorků. Jednalo se o barvu, vůni, roztíratelnost, vstřebatelnost a celkovou osobní preferenci.

6.3.1 Pořadová zkouška

Pro hodnocení senzorických vlastností byla využita neparametrická pořadová zkouška, která neanalyzuje hodnoty měření jako takové, ale analyzuje pořadí. V našem případě bylo určováno pořadí barvy, vůně, roztíratelnosti, vstřebatelnosti a celkové preference vzorků A-F. V rámci této analýzy byl zvolen Friedmanův test, který slouží pro porovnání více než dvou vzorků, které jsou opakovaně hodnoceny stejnou skupinou hodnotitelů. Umožňuje zjistit, zda existují statisticky významné rozdíly v hodnocení mezi testovanými vzorky. Nulová hypotéza H_0 byla stanovena takto: Mezi vzorky neexistuje statisticky významný

rozdíl. Alternativní hypotéza H_A , která neguje nulovou hypotézu byla zvolena takto: Alespoň jeden vzorek se liší od jiného. Friedmanův test byl proveden na hladině významnosti $\alpha = 0,01$. Kritická hodnota (FR_{krit}) byla spočítána pomocí SW Microsoft Office Excel a funkce $CHISQ.INV.RT(\alpha; k-1)$, kde α je hladina významnosti a k je počet vzorků, v našem případě 6. FR_{krit} pro stanovení pořadí hodnocených parametrů bylo rovno 15,09. Testovací kritérium FR bylo vypočítáno pro každý sledovaný parametr dle výpočtu uvedeném v kapitole 5.8 Senzorická analýza gelových formulací s obsahem stříbrných kávových slupek a je zaznamenáno v Tab. 5.

Tabulka 5 Testovací kritérium

Sledovaný parametr	FR_{krit}	FR
Barva	15,09	61,75
Vůně		14,05
Roztíratelnost		9,18
Vstřebatelnost		31,73
Celková osobní preference		13,48

Platí-li, že FR je vyšší než kritická hodnota FR_{krit} , nulová hypotéza H_0 je zamítnuta a přijímá se hypotéza alternativní. To znamená, že mezi vzorky existují statisticky významné rozdíly a je vhodné je dále analyzovat pomocí dalších testů. V případě, že $FR_{krit} \geq FR$, nulová hypotéza H_0 se nezamítá a lze konstatovat, že mezi vzorky neexistují významné rozdíly na hladině významnosti $\alpha=0,01$. Jak je patrné z Tab. 5, testovací kritérium FR pro hodnocené parametry vůně, roztíratelnost a celková osobní preference je nižší než kritická hodnota při hladině významnosti $\alpha=0,01$, tedy přijímá se nulová hypotéza a lze říci, že mezi vzorky není významný rozdíl. Naopak, pro hodnocené parametry barvy a vstřebatelnost je FR vyšší než kritická hodnota, a tedy se nulová hypotéza H_0 zamítá a přijímá se alternativní hypotézu H_A . Platí, že alespoň jeden vzorek se liší od ostatních. Pro další analýzu a zjištění, které dvojice gelových formulací se liší byl zvolen Nemeneyiho test.

6.3.2 Nemeneyiho test

Na základě Friedmanova testu byla pro hodnocené parametry barva a vstřebatelnost překročena kritická hodnota FR_{krit} . Tento výsledek indikuje statisticky významné rozdíly mezi vzorky. Nemeneyiho test identifikuje konkrétní dvojice vzorků, mezi nimiž tyto rozdíly existují, výsledky Nemeneyiho testu jsou uvedeny v Tab. 6.

Vstřebatelnost

Tabulka 6 Výsledky Nemeneyiho testu pro parametr vstřebatelnost

Gel 1	Gel 2	Průměrné pořadí: Gel 1	Průměrné pořadí: Gel 2	Absolutní rozdíl průměrných pořadí	Statisticky významný rozdíl
A	B	1.308	3.0	1.692	NE
A	C	1.308	3.308	2.0	NE
A	D	1.308	3.846	2.538	NE
A	E	1.308	4.538	3.231	ANO
A	F	1.308	5.0	3.692	ANO
B	C	3.0	3.308	0.308	NE
B	D	3.0	3.846	0.846	NE
B	E	3.0	4.538	1.538	NE
B	F	3.0	5.0	2.0	NE
C	D	3.308	3.846	0.538	NE
C	E	3.308	4.538	1.231	NE
C	F	3.308	5.0	1.692	NE
D	E	3.846	4.538	0.692	NE
D	F	3.846	5.0	1.154	NE
E	F	4.538	5.0	0.462	NE

Z Tab. 6 vyplývá, že pouze mezi gely A a E a A a F existuje statisticky významný rozdíl. Ostatní dvojice nevykazují statisticky významné rozdíly, neboť jejich absolutní rozdíly průměrných pořadí nepřesáhly kritickou vzdálenost CD. Ze všech vzorků má nejnížší průměrné pořadí gel označen písmenem A, hodnotitelé tedy tento vzorek často zařazovali na první nebo druhé místo při svém hodnocení. Naopak gely E a F mají výrazně vyšší průměrné pořadí, tedy hodnocení je horší. Jak bylo zmíněno výše, rozdíly mezi vzorky A a E a A a F jsou statisticky významné a nejsou náhodné, nýbrž systematické. Gelová formulace A byla vyrobena z Extraktu č. 1 a došlo k 50% nahrazení vody v rámcovém složení gelu extraktem. Naopak Gely E a F byly vytvořeny z Extraktu č. 3. Z tohoto hodnocení lze tedy usuzovat, že typ extrakce může mít vliv i na vstřebatelnost gelů do pokožky.

Barva

Výsledky Néményiho testu pro hodnocení barvy gelových formulací jsou zaznamenány v Tab. 7.

Tabulka 7 Výsledky Néményiho testu pro parametr barva

Gel 1	Gel 2	Průměrné pořadí: Gel 1	Průměrné pořadí: Gel 2	Absolutní rozdíl průměrných pořadí	Statisticky významný rozdíl
A	B	1.077	4.0	2.923	ANO
A	C	1.077	1.923	0.846	NE
A	D	1.077	4.923	3.846	ANO
A	E	1.077	3.154	2.077	NE
A	F	1.077	5.923	4.846	ANO
B	C	4.0	1.923	2.077	NE
B	D	4.0	4.923	0.923	NE
B	E	4.0	3.154	0.846	NE
B	F	4.0	5.923	1.923	NE
C	D	1.923	4.923	3.0	ANO
C	E	1.923	3.154	1.231	NE
C	F	1.923	5.923	4.0	ANO
D	E	4.923	3.154	1.769	NE
D	F	4.923	5.923	1.0	NE
E	F	3.154	5.923	2.769	ANO

Bylo identifikováno šest dvojic vzorků, mezi nimiž absolutní rozdíl v průměrném pořadí překročil kritickou vzdálenost CD, která je 2,739. Jedná se o tučně vyznačené dvojice A a B, A a D, A a F, C a D, C a F, E a F. Největší rozdíl lze pozorovat mezi vzorky A a F, kde absolutní rozdíl průměrů pořadí činil 4,846, což značí velkou odlišnost. Naopak nejmenší rozdíl byl pozorován mezi vzorky E a F, který je těsně nad kritickou vzdáleností. Jako nejsvětlejší byly hodnoceny vzorky A a C, které měly průměrné pořadí 1,077 a 1,923, naopak nejtmavší vzorek byl F s průměrným pořadím 5,923.

6.4 *In vivo* hodnocení gelových formulací s obsahem stříbrných kávoových slupek

Gelové formulace byly testovány *in vivo* na 10 dobrovolnících. Hlavními parametry při měření byly pH kůže, transepidermální ztráta vody (TEWL) a hydratace. Měřilo se na volárním předloktí dobrovolníků. Pro hodnocení jednotlivých parametrů byly použity průměrné hodnoty všech dobrovolníků, kteří se zúčastnili *in vivo* testování. Pro přehlednější zpracování *in vivo* testování budou gelové formulace označeny v tabulkách a grafech dle níže uvedené legendy:

Gel A = gelová formulace s extraktem č. 1 (50% nahrazení vody)

Gel B = gelová formulace s extraktem č. 1 (100% nahrazení vody)

Gel C = gelová formulace s extraktem č. 2 (50% nahrazení vody)

Gel D = gelová formulace s extraktem č. 2 (100% nahrazení vody)

Gel E = gelová formulace s extraktem č. 3 (50% nahrazení vody)

Gel F = gelová formulace s extraktem č. 3 (100% nahrazení vody)

6.4.1 Měření pH

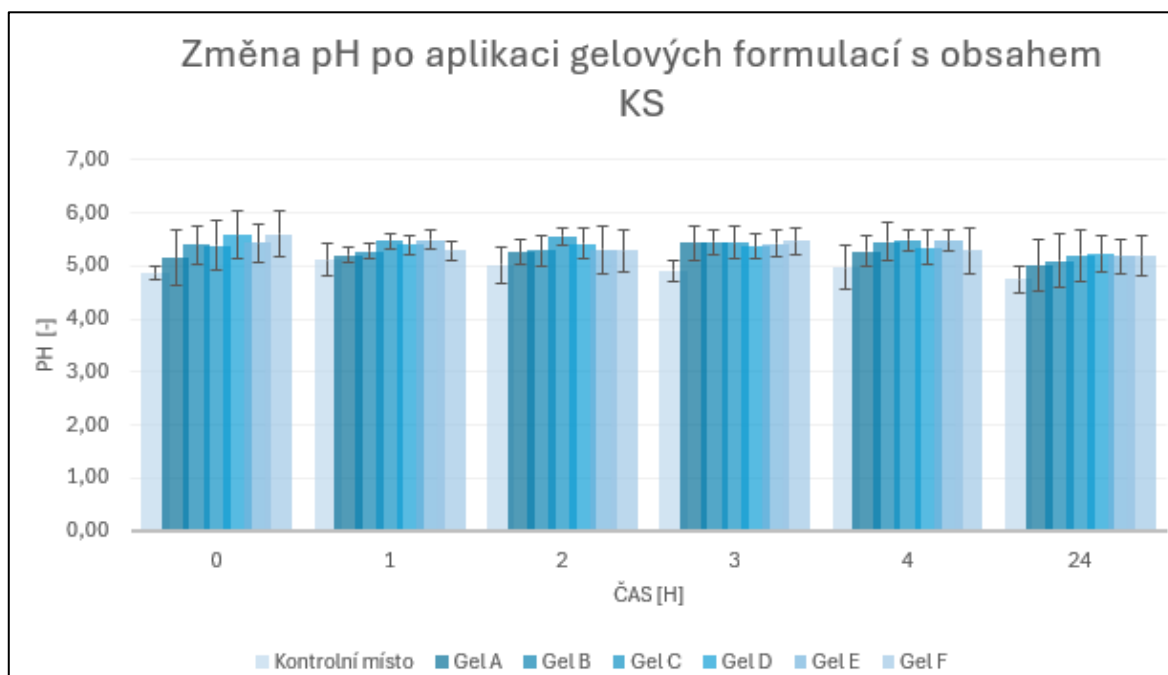
Hodnoty pH byly měřeny pomocí MPA stanice s pH metrem 905. Vždy byla měřena jedna hodnota pH ve všech sedmi místech na volární straně předloktí dobrovolnice. Měření probíhalo celkem 5x. První měření bylo ihned po odmaštění kůže v čase 0 hodin, poté bylo měření provedeno po 1, 2, 3, 4 a 24 hodinách. Přirozený stav pokožky bez odmaštění a ošetření gelem byl také u všech dobrovolnic změřen. Průměrná hodnota pH pokožky byla stanovena jako 5,04. Dle fyziologické stupnice pH pokožky se jednalo o neutrální hodnotu pro pokožku.

Nejprve byl proveden Dean-Dixonův test odlehlých hodnot. Odlehlé hodnoty byly vypočítány ze všech naměřených hodnot pH, a to ve všech časech měření. Byly identifikovány 3 odlehlé hodnoty, které byly z další analýzy vyřazeny. Výsledky měření pH jsou zaznačeny v Tab. 8. Změnu pH zobrazuje Obr. 11 a procentuální změna pH je zaznamenána v Tab. 9. Veškerá testovaná místa na volárním předloktí měla ihned po odmaštění hodnoty odpovídající normálnímu stavu kůže, tedy hodnoty v rozmezí 4,5–5,5. Procentuální změna pH u všech měřených míst během 24 hodin nepřesáhla 10 %, nejvyšší

hodnoty pH na jednotlivých místech byly vždy naměřeny po 24 hodinách. Z naměřených hodnot lze říci, že gelové formulace jakkoliv nenarušily kožní pH dobrovolnic.

Tabulka 8 Výsledky měření pH [-]

Gelová formulace	Čas [h]					
	0	1	2	3	4	24
Kontrolní místo (pouze odmaštěno)	4,85	5,12	5,02	4,91	4,97	4,75
Gel A	4,85	5,12	5,02	4,91	4,97	4,75
Gel B	5,15	5,21	5,26	5,44	5,28	5,00
Gel C	5,39	5,28	5,29	5,45	5,46	5,10
Gel D	5,38	5,48	5,55	5,44	5,48	5,20
Gel E	5,59	5,39	5,43	5,37	5,35	5,22
Gel F	5,43	5,49	5,31	5,43	5,48	5,19



Obrázek 11 Změna pH po aplikaci gelových formulací s obsahem KS

Tabulka 9 Změna pH v % při jednotlivých měřeních

Gelová formulace	Změny pH [%]				
	1	2	3	4	24
Kontrolní místo (pouze odmaštěno)	5,4	3,4	1,2	2,3	-2,1

Gel A	1,2	2,3	5,6	2,6	-2,8
Gel B	-2,1	-1,9	1,1	1,1	-5,5
Gel C	1,7	3,2	1,0	1,8	-3,5
Gel D	-3,5	-2,9	-3,9	-4,2	-6,6
Gel E	1,1	-2,3	-0,2	0,8	-4,6
Gel F	-5,7	-5,5	-2,5	-5,8	-7,4

6.4.2 Měření hydratace

Pro měření hydratačního potenciálu byla použita MPA stanice s korneometrem CM 625. Naměřené hodnoty hydratace jsou uvedeny v Tab. 10. Změny hydratace po aplikaci gelových formulací s obsahem KS jsou znázorněny v grafu na Obr. 12, procentuální změny hydratace po aplikaci gelových formulací uvádí Tab. 11. Opět byla u všech dobrovolnic změřena hydratace přirozeného stavu kůže a následně byl z těchto hodnot spočítán průměr, který byl 35,45 k.j. Obecně lze říci, že přirozený stav kůže u všech dobrovolnic, bez jakéhokoliv ošetření či odmaštění, byl spíše suchý, a to dle fyziologické stupnice hydratace.

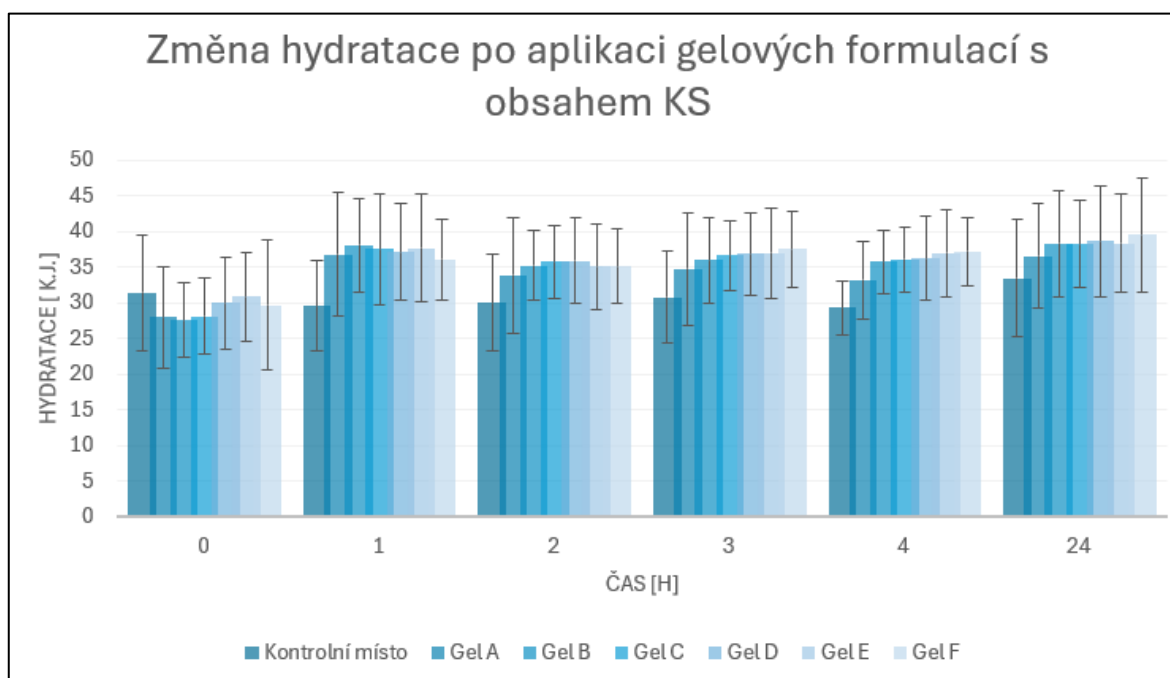
Dle Tab. 10 a Tab. 11. lze říci, že se hydratace pokožky v kontrolním bodě po odmaštění začala přibližovat přirozenému stavu pokožky (35,45 k.j.) po 24 hodinách. Nárůst hydratace z času 0 h na 24 h činil 6 %. Hydratace pokožky se po aplikaci gelových formulací zvýšila na všech místech. Průměrně ve všech bodech ošetřených gelovými formulacemi hydratace zvýšila po jedné hodině o 21,95 %. Nejvyšší hodnota hydratace byla naměřena v místě, na který byl aplikován Gel B, procentuální nárůst činil 27,59 %. Dále to byl Gel C s 25,19 % nárůstem. Naopak nejnižší procentuální nárůst hodnoty hydratace byl u Gelu F, kde zjištěná hodnota hydratace byla 36,07 k.j. a nárůst tak činil 17,64 %. Gel E vykazoval podobně nízký procentuální nárůst, a to 17,91 %. Procentuální nárůst hydratace po 2 hodinách od aplikace gelu klesl. Průměrný nárůst hydratace po 2 hodinách ve všech ošetřených místech (počítáno od počátku, tedy od času 0 h) byl 17,41 %, opět vykazoval nejlepší výsledky Gel B. Naopak nejnižší zvýšení hydratace (11,89 %; 35,05 k.j.) bylo pozorováno u Gelu E. Po třech hodinách od aplikace gelů na pokožku bylo stále nejvyšších hodnot hydratace (23,2 %; 35,96 k.j.) naměřeno u Gelu B a nejnižších (11,89 %; 35,05 k.j.) naopak u Gelu E. Průměrné zvýšení hydratace ve všech měřených místech činil 20,35 %. I po 4 hodinách vykazoval nejlepší výsledky Gel B, a to s procentuálním nárůstem hydratace 22,89 %, tj. 35,76 k.j. Nejnižší procentuální zvýšení hydratačních hodnot od počátku měření bylo možné pozorovat u Gelů A, E a D, které byly pod 20 %. Mimo vzorku Gelu E překročily hranici 20% nárůstu

hydratace po 24 hodinách od aplikace vzorků na kůži všechny testované gely. Nejvyšší zvýšení hydratace bylo pozorováno u Gelu B (28 %), C (26,52 %) a F (24,87 %).

Z Tab. 10 a Tab. 11 je zřejmé, že Gely A a C ovlivnily pozitivně hydrataci nejvíce ze všech testovaných vzorků. Všechny procentuální hydratační změny během všech měření přesáhly 20 %. Naopak nejnižší procentuální změny hydratace bylo možné pozorovat u Gelů E a D. Všechny naměřené hodnoty hydratace v čase 0 byly menší než hodnota naměřená pro přirozený stav pokožky bez ošetření a odmaštění. Vyšší hodnoty hydratace, v porovnání s přirozeným stavem pokožky dobrovolnic, po celou dobu měření vykazovaly Gely C a D.

Tabulka 10 Výsledky měření hydratace [k.j.]

Gelová formulace	Čas [h]					
	0	1	2	3	4	24
Kontrolní místo (pouze odmaštěno)	31,40	29,60	30,03	30,81	29,27	33,46
Gel A	27,96	36,83	33,84	34,76	33,18	36,54
Gel B	27,58	38,09	35,26	35,96	35,76	38,30
Gel C	28,11	37,58	35,74	36,61	36,10	38,26
Gel D	29,98	37,15	35,93	36,90	36,24	38,63
Gel E	30,88	37,62	35,05	36,97	36,95	38,34
Gel F	29,71	36,07	35,16	37,50	37,17	39,55



Obrázek 12 Změna hydratace po aplikaci gelových formulací s obsahem KS

Tabulka 11 Změna hydratace v % při jednotlivých měřeních

Gelová formulace	Změny hydratace [%]				
	1	2	3	4	24
Kontrolní místo (pouze odmaštěno)	-6,09	-4,59	-1,92	-7,29	6,15
Gel A	24,09	17,39	19,58	15,74	23,49
Gel B	27,59	21,79	23,30	22,89	28,00
Gel C	25,19	21,34	23,22	22,13	26,52
Gel D	19,30	16,55	18,76	17,26	22,38
Gel E	17,91	11,89	16,46	16,42	19,44
Gel F	17,64	15,49	20,77	20,06	24,87

Rodrigues [49] ve své studii zkoumal antioxidační potenciál KS a *Medicago sativa* (MS), které byly využity při přípravě topického krému. Extrakty z KS a MS pro výrobu topického krému byly připraveny zvlášť, a to macerací v rozpouštědle ethanol:voda (1:1) při 40 °C po dobu 30 minut. Následně byly oba extrakty použity pro přípravu krému. *In vivo* testování bylo provedeno na 20 lidech (15 žen a 5 mužů) ve věku 30 ± 5 let. Po 30 dnech pravidelné aplikace krému na volární stranu předloktí byly hodnoty hydratace změřeny a porovnány s hodnotami naměřenými ve dne 0. Procentuální nárůst hydratace po 30 dnech pravidelné aplikace byl cca 30 %. Stejně jako naše práce, tak i tato studie prokázala, že kosmetické formulace s obsahem KS mají pozitivní efekt na hydrataci kůže.

6.4.3 Měření TEWL

Pro měření TEWL byla použita MPA stanice s tewametrem TM 300. Naměřené hodnoty TEWL jsou uvedeny v Tab. 12. Změny hodnot TEWL po aplikaci gelových formulací s obsahem KS jsou znázorněny v grafu na Obr. 13, procentuální změny TEWL po aplikaci gelových formulací uvádí Tab. 13. U všech dobrovolnic byla změřena hodnota TEWL přirozeného stavu kůže na volární straně pravého předloktí, ze které byl vypočítán průměr, který činil $8,62 \text{ g.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$. Obecně lze říct, že přirozený stav kůže u všech dobrovolnic bez jakéhokoliv ošetření či odmaštění byl dle fyziologické stupnice TEWL výborný.

Po měření v čase 1 h došlo ke snížení hodnot TEWL pouze u Gelů C a E, u dalších gelů došlo ke zvýšení hodnot. Zvýšení nepřesáhlo 6 % a hodnoty stále odpovídaly dle fyziologické stupnice TEWL výbornému stavu kůže. Při všech dalších měřeních docházelo pouze ke snížení hodnot TEWL v porovnání s časem 0. Nejvyšší procentuální úbytek během

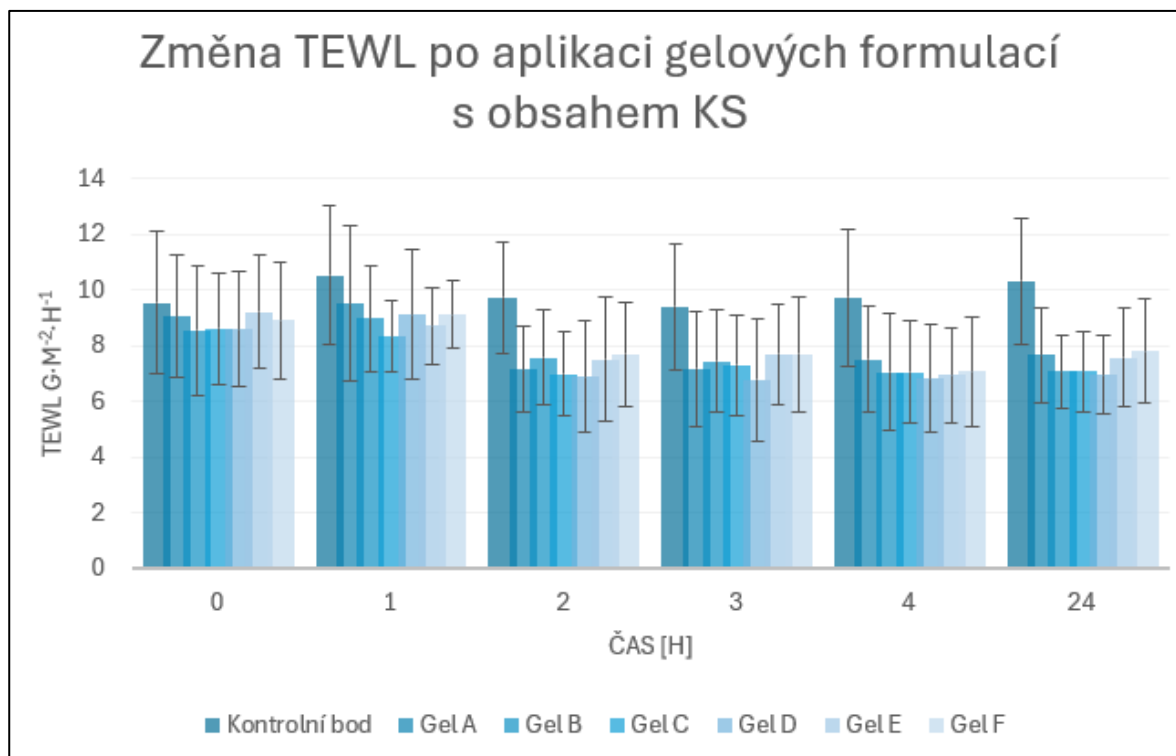
všech měření byl pozorován u Gelu E a to po 4 hodinách od aplikace vzorků na pokožku, jednalo se o úbytek 32,77 %. Nejnižší hodnota TEWL byla naměřena u Gelu D, a to po 3 hodinách od aplikace, naměřená hodnota činila $6,79 \text{ g.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$. U tohoto vzorku byl zároveň naměřen nejvyšší procentuální nárůst, a to při měření v čase 1 h. Zvýšení činilo 5,73 % a odpovídalo naměřené hodnotě TEWL $8,61 \text{ g.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$. Nejvyšší naměřená hodnota po aplikaci gelových formulací na kůži byla naměřena po 1 hodině u Gelu A ($9,53 \text{ g.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$). Z Tab. 13 lze vyčíst, že průměrně u všech testovaných gelů byl největší procentuální úbytek po 4 hodinách od aplikace, hodnoty TEWL se pohybovaly v rozmezí $6,82\text{--}7,70 \text{ g.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$.

V porovnání s přirozeným stavem kůže lze obecně tvrdit, že 2–24 hodin od aplikace všech gelových formulací (A–F) byly naměřené hodnoty TEWL nižší než hodnoty přirozeného stavu kůže. Můžeme tedy říci, že gelové formulace s obsahem stříbrných kávových slupek mají pozitivní vliv na transepidermální ztrátu vody pokožky a to především z důvodu, že na povrchu kůže vytvoří nepropustný film.

Koží bariérou se ve své studii zabývá Rodrigues [49]. V porovnání s naším experimentem Rodrigues ve studii aplikuje emulzní formulace (topický krém), naše studie aplikovala gelové formulace. V případě této studie bylo prokázáno, že aplikace topického krému s příměsí extraktů z KS a MS nemá negativní vliv na kožní bariéru. TEWL byl změřen v čase 0 a poté 2 hodiny po aplikaci krému. Naměřené hodnoty se téměř nelišily. V porovnání s naším experimentem nebyl prokázán pozitivní vliv topického krému na transepidermální ztrátu vody.

Tabulka 12 Výsledky měření TEWL [$\text{g.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$]

Gelová formulace	Čas [h]					
	0	1	2	3	4	24
Kontrolní místo (pouze odmaštěno)	9,54	10,54	9,74	9,40	9,73	10,32
Gel A	9,06	9,53	7,14	7,19	7,51	7,68
Gel B	8,57	8,99	7,59	7,45	7,06	7,07
Gel C	8,62	8,34	6,99	7,31	7,06	7,07
Gel D	8,61	9,13	6,88	6,79	6,82	6,96
Gel E	9,22	8,72	7,51	7,70	6,95	7,59
Gel F	8,92	9,12	7,69	7,69	7,07	7,82



Obrázek 13 Změna TEWL po aplikaci gelových formulací s obsahem KS

Tabulka 13 Změna TEWL v % při jednotlivých měřeních

Gelová formulace	Změny hydratace [%]				
	1	2	3	4	24
Kontrolní místo (pouze odmaštěno)	9,53	2,05	-1,51	1,99	7,55
Gel A	4,91	-26,79	-25,96	-20,59	-17,97
Gel B	4,60	-12,98	-15,03	-21,48	-21,30
Gel C	-3,43	-23,42	-18,04	-22,09	-22,04
Gel D	5,73	-25,03	-26,77	-26,13	-23,69
Gel E	-5,75	-22,82	-19,83	-32,77	-21,56
Gel F	2,25	-15,93	-15,99	-26,23	-14,08

6.5 Hodnocení stability emulzních a gelových formulací s obsahem stříbrných kávových slupek

Hodnocení stability vytvořených emulzních a gelových formulací probíhalo 1x týdně po dobu 5 týdnů, konkrétně 7., 14., 21., 29. a 34. den od přípravy. Pro její hodnocení byly

emulzní i gelové formulace po jejich výrobě ponechány pro další testování v laboratoři při teplotě 23,1°C a relativní vlhkosti 45,3 %.

6.5.1 Vizuální hodnocení stability emulzních formulací

Emulzní formulace byly vyrobeny dle postupu popsaného v kap 5.6. Následně byly převedeny do uzavíratelných plastových lahvíček k dalšímu testování (Obr. 14). Již při výrobě emulzních formulací bylo pozorováno, že emulze, které ve své receptuře obsahují extrakt č. 3, měly nižší viskozitu než formulace ostatní.



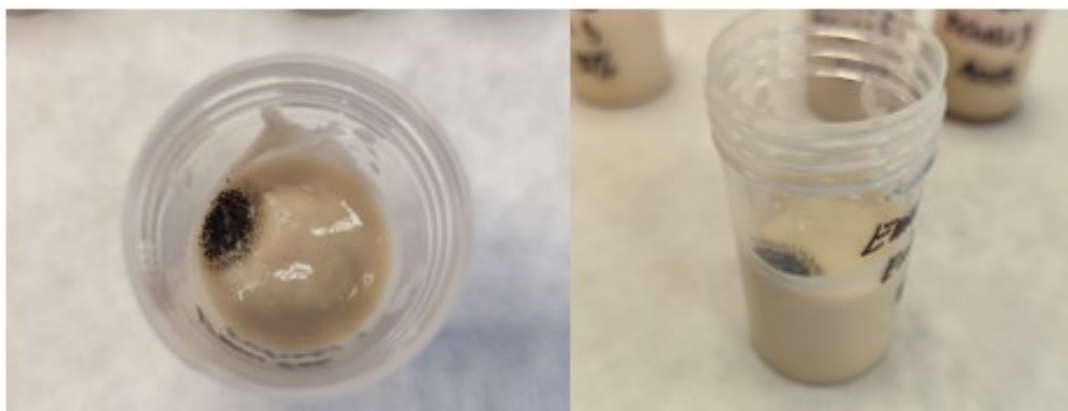
Obrázek 14 Vizuální hodnocení stability emulzních formulací (foto ihned po výrobě)

Po prvním týdnu (7. den) se vyrobené krémy jeví jako stabilní, kromě krému s přídavkem Extraktu č. 3, kde byla při jeho výrobě voda v receptuře nahrazena 100% extraktem z KS. U tohoto krému došlo k oddělení vodné fáze, které se usadila na spodu plastového kelímku, jak je vidět na Obr. 15.



Obrázek 15 Vizuální hodnocení stability emulzních formulací, 7. den

Po 14. dni testování se u krému s obsahem Extraktu č. 1 (100% nahrazení vody v receptuře extraktem) objevila na povrchu mikrobiální kontaminace (Obr. 15).



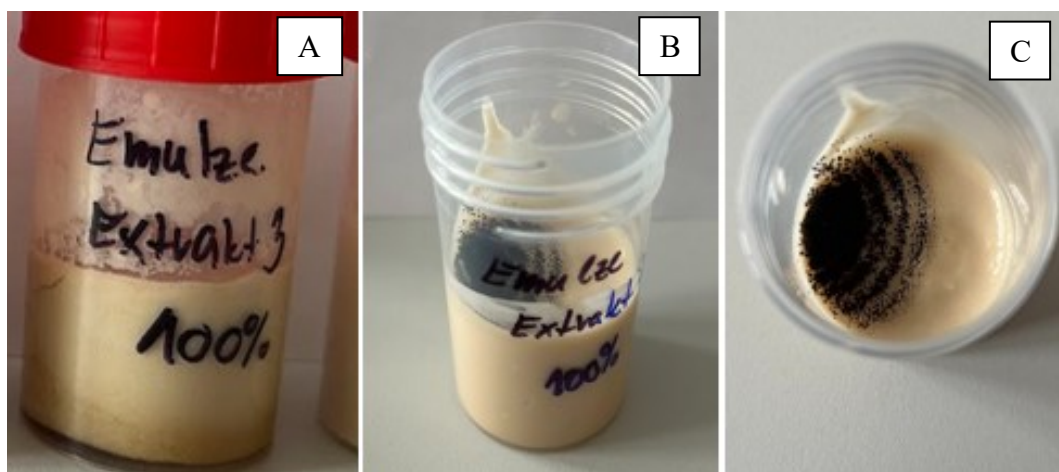
Obrázek 16 Krém s mikrobiální kontaminací (Krém vyrobený z extraktu č. 1; 100% nahrazení vody extraktem)

Vzhledem k situaci, že při výrobě krémů byla použita konzervační směs Dermosoft® 1388 eco, bylo více než nepravděpodobné, že by se jakákoliv mikrobiální kontaminace ve vzorku objevila. Z Obr. 16 lze pozorovat, že se jedná o kontaminaci vláknitou plísní, která se vyskytla pouze na povrchu, což mohlo znamenat, že tato kontaminace mohla pocházet z prostředí nebo z nedokonalé čisté nádoby, ve které byla emulze uchována. U zbylých vzorků krémů žádná kontaminace zaznamenána nebyla.

Během třetího týdne (den 21) se u krému obsahujícího Extrakt č. 3 (100% nahrazení vody extraktem) část oddělené vodné fáze začala opět spojovat se zbylým krémem (Obr. 18 A). Mikrobiální kontaminace, která se objevila u krému obsahující Extrakt č. 1 (100% nahrazení vody extraktem v receptuře) narostla a začala tvořit pravidelné kruhy (Obr. 18 B, C). Ostatní vzorky krémů byly opět beze změny (Obr. 17).

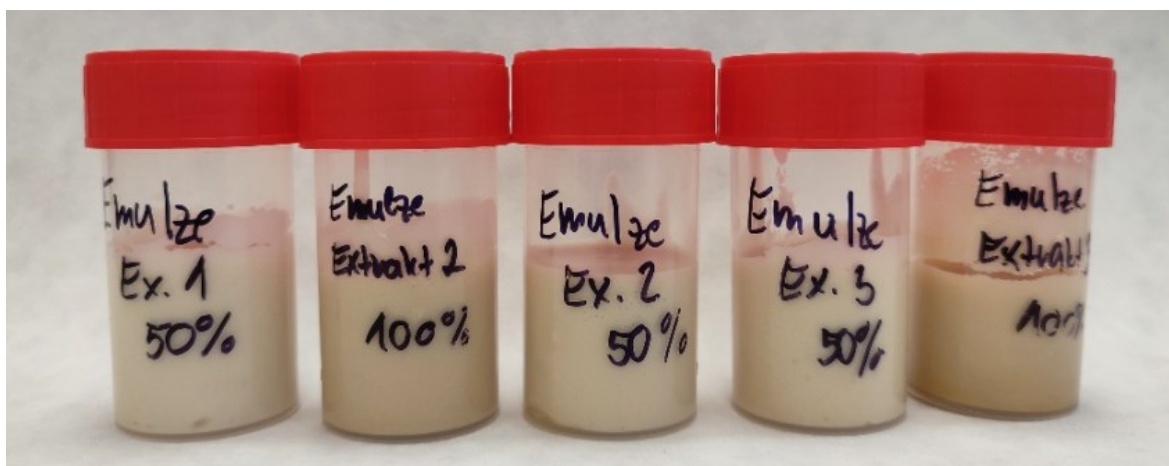


Obrázek 17 Vizuální hodnocení stability, 21. den



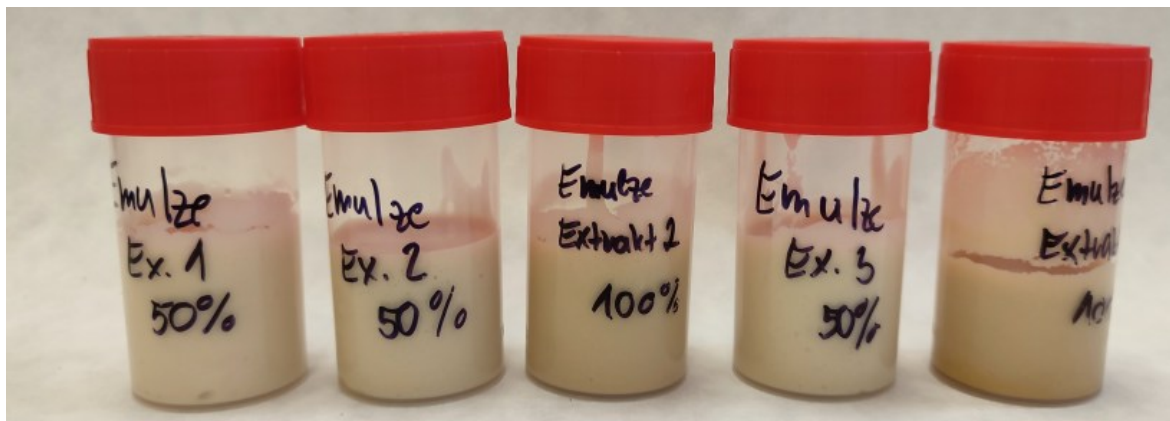
Obrázek 18 Vizuální Hodnocení stability, 21. den; A = opětovné spojení vodné fáze, B, C = mikrobiální kontaminace

Během 4. týdne (29. den) došlo u vzorku krému obsahující Extrakt č. 3 (100 % náhrada vody) ke kompletnímu opětovnému spojení vodné fáze se zbylým krémem. Vzorek krému, u kterého se objevila mikrobiální kontaminace byl dále vyřazen ze stabilitního testování. Ostatní vzorky krémů stále vykazovaly za daných podmínek dobrou vizuální stabilitu a nebyla u nich pozorována žádná výrazná vizuální změna (Obr. 19).



Obrázek 19 Vizuální hodnocení stability vzorků krémů, 29. den

Během 5. týdne (34. den) nedošlo k žádné vizuální změně testovaných vzorků krémů (Obr. 20).



Obrázek 20 Vizuální hodnocení stability vzorků krémů, 34. den

Všechny vzorky krémů byly hodnoceny vizuálním pozorováním jejich stability po dobu 5 týdnů (7., 14., 21., 29. a 34. den). Především byl u tohoto testování kladen důraz na změnu barvy, rozpad fází a změnu konzistence. Po 34 dnech lze říci, že vzorky krémů vyrobené z extraktů uvedených v Tab. 14 jsou stabilní při teplotě 23,8 °C a relativní vlhkosti 45,3 %.

Tabulka 14 Krémy vykazující dobrou stabilitu po 34 dnech

Krémy vykazující dobrou stabilitu dle použitého extraktu
Extrakt č. 1 (50% náhrada vody extraktem z KS)
Extrakt č. 2 (50% náhrada vody extraktem z KS)
Extrakt č. 2 (100% náhrada vody extraktem z KS)
Extrakt č. 3 (50% náhrada vody extraktem z KS)

Vzorek krému obsahující Extrakt č. 1 (100% nahrazení vody extraktem), u kterého se objevila mikrobiální kontaminace na povrchu musel být vyřazen se stabilitního testování, především s ohledem na bezpečnost. Pro ověření stability tohoto vzorku by bylo vhodné jej připravit znovu, tak že by bylo nezbytné při jeho přípravě klást velký důraz na manipulaci s vyrobeným krémem, čistotu použitých pomůcek a čistotu nádob k jejímu uchování. Dále, vzorek krému, jehož součástí byl Extrakt č. 3 (100% nahrazení vody extraktem), nemůže být taktéž považován za stabilní, jelikož během prvního týdne testování (7. den) zde došlo k oddělení vodné fáze od krému a během dalších týdnů k následnému opětovnému spojení. Tento jev byl s vysokou pravděpodobností ovlivněn vnějšími podmínkami (teplota a sluneční záření v laboratoři).

Stabilitou krémů se ve své studii také zabýval také Rodrigues [49], kde zjišťoval vlastnosti jako je pH, barva a separace fází během skladování. Krémy byly skladovány při teplotě

25 ± 2 °C a relativní vlhkosti 65 ± 5 % a 40 ± 2 °C a relativní teplotě 70 ± 5 %. Měření probíhalo ve dnech 0, 30, 60, 90 a 180. Po 30 dnech se krémy jevíly světlejší v obou skladovacích teplotách. Nicméně mezi dnem 30 a 180 nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl v barvě. Hodnoty pH ukázaly jen minimální změny a během celého testování nedošlo k separaci fází. Po 180 dnech, kdy byly krémy vystaveny podmínkám zmíněných výše, byly tedy stabilní. Chaiyasut [50] ve své studii řeší stabilitu hydratujících krémů na ruce s obsahem extraktů z kávových zrn. Stabilita produktů byla hodnocena po skladování 3 měsíců při teplotě 4, 30 a 40 °C. Hodnocena byla barva, vůně a homogenita. Všechny vzorky zůstaly i po 3 měsících skladování ve vynikajícím stavu. V produktech nebyly pozorované hrudky ani oddělení vodné fáze. Teplota neovlivnila negativně kvalitu produktu.

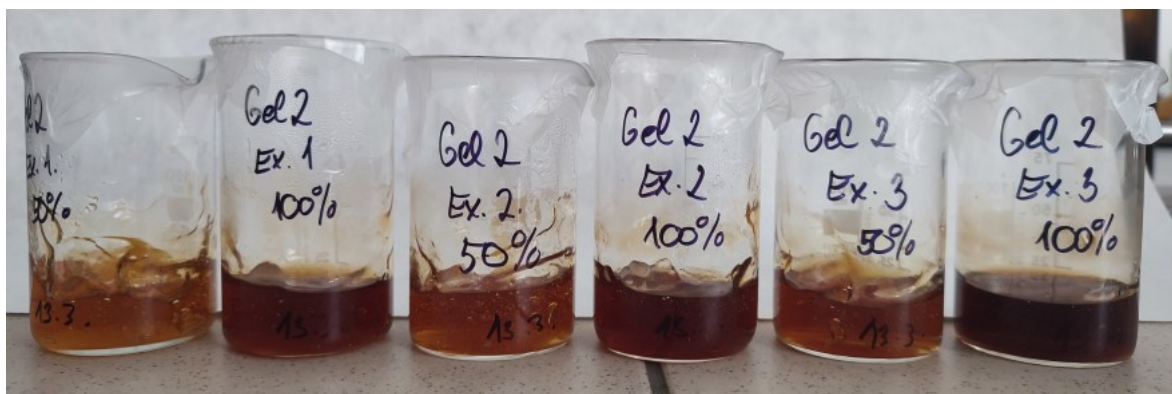
6.5.2 Vyhodnocení stability gelových formulací

Gelové formulace byly vytvořeny dle postupu popsaného v kap. 5.5

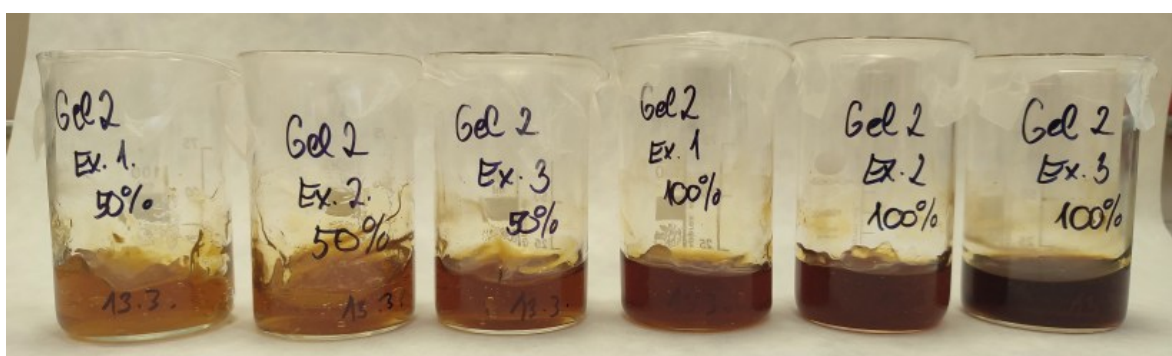
Během 5 týdnenního vizuálního testování stability nebyla u vyrobených gelů pozorována žádná vizuální změna (Obr. 21, 22, 23, 24, 25, 26). Stabilita byla ověřována 7., 14., 21., 29. a 34. den. Při třetím týdnu (21. den) bylo z kádinek odebráno vždy malé množství příslušného gelu pro jejich senzorickou analýzu, a z tohoto důvodu se na fotkách gely jeví malinko jinak, nicméně konzistence i barva zůstaly stejné. Během 34 dnů se u gelů neobjevila žádná viditelná mikrobiální kontaminace a nedošlo ani k odseparování jednotlivých složek. Gely tedy lze označit za stabilní při teplotě 23,8 °C a relativní vlhkosti 45,3 %.



Obrázek 21 Vizuální hodnocení stability vzorků gelů, den 0 (den výroby)



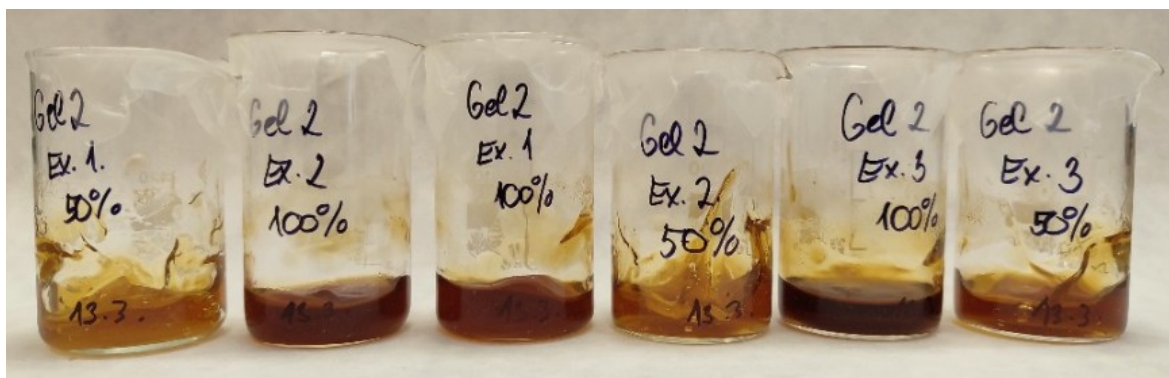
Obrázek 22 Vizuální hodnocení stability vzorků gelů, 7. den



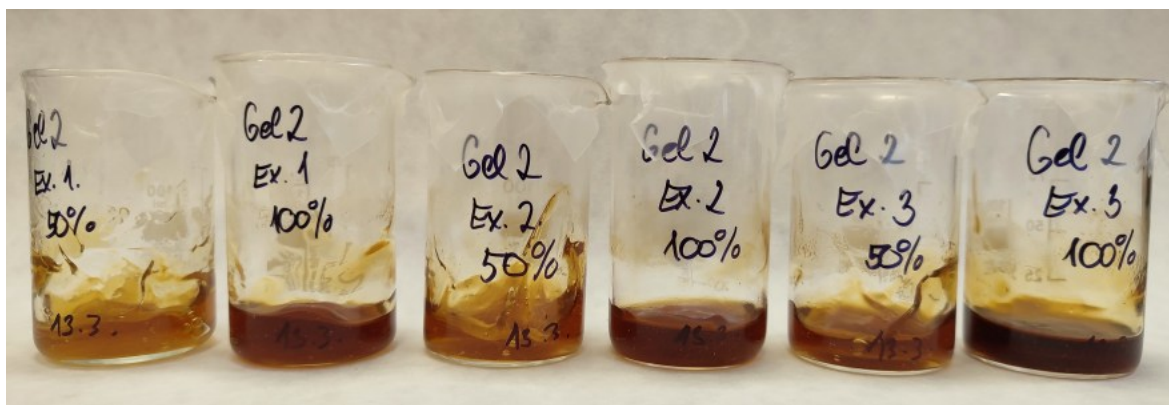
Obrázek 23 Vizuální hodnocení stability vzorků gelů, 14. den



Obrázek 24 Vizuální hodnocení stability vzorků gelů, 21. den



Obrázek 25 Vizuální hodnocení stability vzorků gelů, 29. den



Obrázek 26 Vizuální hodnocení stability vzorků gelů, 34. den

ZÁVĚR

Tato diplomová práce se zaměřuje na literární rešerši týkající se charakteristiky stříbrných kávových slupek, jejich způsobů získávání a možností jejich využití, s důrazem na aplikaci v kosmetickém průmyslu.

V praktické části byly poznatky z literatury ověřeny přípravou tří extraktů ze stříbrných kávových slupek, a to metodou za studena, macerací horkou vodou a extrakcí za tepla. Z připravených extraktů byly následně vyrobeny gelové a emulzní kosmetické formulace. Formulace byly připraveny dle předem daného rámcového schématu, kde voda ve složení byla nahrazena extraktem z stříbrných kávových slupek, a to z 50 nebo 100 %. Byly připraveny 2 sady 6 totožných gelů a jedna sada krémů. Gelové formulace byly připraveny pro senzorickou analýzu, hodnocení stability a *in vivo* testování, emulzní formulace byly hodnoceny pouze z hlediska jejich stability. Bylo vybráno třináct hodnotitelů, kteří subjektivním hodnocením u vyrobených gelů hodnotilo 5 parametrů. Hodnocena byla barva, vůně, vstřebatelnost, roztíratelnost a celková osobní preference. Výsledky byly podrobeny Friedmanovu testu, kdy u roztíratelnosti, vůně a celkové osobní preference nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl. U barvy a vstřebatelnosti byla překročena kritická hodnota FR_{krit} a byl aplikován Nemenyiho test, který identifikoval rozdíly mezi konkrétními dvojicemi gelů. U barvy byly identifikovány významné rozdíly mezi gely A a F a A a E. U vstřebatelnosti bylo identifikováno šest dvojic vzorků mezi nimiž byl statisticky významný rozdíl, jednalo se o dvojice A a B, A a D, A a F, C a D, C a F, E a F.

Dále bylo u vyrobených vzorků gelů provedeno *in vivo*, kterého se zúčastnilo deset dobrovolníků. Bylo zjišťováno pH, TEWL a hydratace pokožky po jejich aplikaci. Z naměřených hodnot bylo zjištěno, že gelové formulace nemají negativní vliv na pH pokožky, snižují TEWL a zlepšují její hydrataci. Nejvyšší nárůst hydratace byl pozorován u míst, která byla ošetřena gely A a C. Nejvyšší snížení hodnot TEWL způsobil gel E.

Stabilita vyrobených gelů i krémů byla hodnocena z vizuálního hlediska. Připravené formulace byly ponechány při teplotě 23,8 °C a relativní vlhkosti 45,3 % v laboratoři. Všechny gely vykazovaly dobrou stabilitu během celé doby testování, jelikož nedošlo k jejich žádné vizuální změně. Dále, čtyři ze šesti vzorků krémů vykazaly dobrou stabilitu. Bohužel u jednoho vzorku krému, v jehož receptuře byl použit Extrakt č. 1 se po 14. dnu objevila na povrchu mikrobiální kontaminace, kterou tvořila vláknitá plíseň. Tento vzorek krému byl tedy z testování stability vyřazen. Deklarovat stabilitu také nelze u dalšího

vzorku krému, jehož součástí byl Extrakt č.3. Zde došlo po 7. dnu k oddělení vodné fáze, které se držela na spodní části plastové nádoby. Během dalších týdnů došlo k opětovnému spojení fází, tento jev je možné si vysvětlit jako vliv okolních podmínek.

Gelové formulace připravené v rámci praktické části diplomové prokázaly jednak dobrou stabilitu a jednak příznivé účinky na pokožku. *In vivo* testování potvrdilo, že gely zlepšují hydrataci, snižují transepidermální ztrátu vody (TEWL) a nenarušují pH pokožky.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] FARAH, Adriana a FERREIRA DOS SANTOS, Thiago. The Coffee Plant and Beans. In: *Coffee in Health and Disease Prevention*. Elsevier, 2015, s. 5-10. ISBN 978-0-12-409517-5. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780124095175000012>.
- [2] NARITA, Yusaku a INOUE, Kuniyo. Review on utilization and composition of coffee silverskin. *FOOD RESEARCH INTERNATIONAL*. 2014, roč. 61, s. 16-22. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.01.023>.
- [3] SAENGER, M; HARTGE, E.-U; WERTHER, J; OGADA, T a SIAGI, Z. Combustion of coffee husks. *Renewable Energy*. 2001, vol. 23, no. 1, s. 103-121. ISSN 09601481. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0960-1481\(00\)00106-3](https://doi.org/10.1016/S0960-1481(00)00106-3).
- [4] PANDEY, A.; SOCCOL, C. R.; NIGAM, P.; BRAND, D.; MOHAN, R. et al. Biotechnological potential of coffee pulp and coffee husk for bioprocesses. *BIOCHEMICAL ENGINEERING JOURNAL*. 2000, roč. 6, č. 2, s. 153-162. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S1369-703X\(00\)00084-X](https://doi.org/10.1016/S1369-703X(00)00084-X).
- [5] ALVES, Rita C.; RODRIGUES, Francisca; ANTÓNIA NUNES, Maria; VINHA, Ana F. a OLIVEIRA, M. Beatriz P.P. State of the art in coffee processing by-products. In: *Handbook of Coffee Processing By-Products*. Elsevier, 2017, s. 1-26. ISBN 978-0-12-811290-8. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128112908000013>.
- [6] RAO, Scott. *The Coffee Roaster's Companion*. Online. Google Docs. 2014. Dostupné z: https://drive.google.com/file/u/0/d/1y3zbaaVaNsVp0uKKuF-q0fFY2aTkCF9T/view?pli=1&usp=embed_facebook. [cit. 2025-03-23].
- [7] WEI, Feifei a TANOKURA, Masaru. Chapter 10 - Chemical Changes in the Components of Coffee Beans during Roasting. In: *Coffee in Health and Disease Prevention*. San Diego: Academic Press, 2015, s. 83-91. ISBN 978-0-12-409517-5. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124095175000103>.
- [8] ESQUIVEL, Patricia a JIMÉNEZ, Víctor M. Functional properties of coffee and coffee by-products. *Food Research International*. 2012, vol. 46, no. 2, s. 488-495. ISSN 09639969. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.05.028>.
- [9] GABRIEL-GUZMÁN, Mauricio; RIVERA, Victor M.; COCOTLE-RONZÓN, Yolanda; GARCÍA-DÍAZ, Samuel a HERNANDEZ-MARTINEZ, Eliseo. Fractality in coffee bean surface for roasting process. *Chaos, Solitons & Fractals*. 2017, vol. 99, s. 79-84. ISSN 09600779. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.chaos.2017.03.056>.
- [10] TARIGAN, E. B.; WARDIANA, E.; HILMI, Y. S. a KOMARUDIN, N. A. The changes in chemical properties of coffee during roasting: A review: A review. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2022, vol. 974, no. 1, s. 012115. ISSN 1755-1315. Dostupné z: <https://doi.org/10.1088/1755-1315/974/1/012115>.
- [11] DORSEY, Benjamin M. a JONES, Marjorie A. Healthy components of coffee processing by-products. In: *Handbook of Coffee Processing By-Products*. Elsevier, 2017, s. 27-62. ISBN 978-0-12-811290-8. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128112908000025>.
- [12] IRIONDO-DEHOND, Amaia; IRIONDO-DEHOND, Maite a DEL CASTILLO, María Dolores. Applications of Compounds from Coffee Processing By-Products.

- Biomolecules*. 2020, vol. 10, no. 9, s. 1219. ISSN 2218-273X. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/biom10091219>.
- [13] BLINOVÁ, Lenka; SIROTIK, Maroš; BARTOŠOVÁ, Alica a SOLDÁN, Maroš. Review: Utilization of Waste From Coffee Production: Utilization of Waste From Coffee Production. *Research Papers Faculty of Materials Science and Technology Slovak University of Technology*. 2017, vol. 25, no. 40, s. 91-101. ISSN 1338-0532. Dostupné z: <https://doi.org/10.1515/rput-2017-0011>.
- [14] CHEMAT, Aziadé; TOURAUD, Didier; MÜLLER, Rainer; KUNZ, Werner a FABIANO-TIXIER, Anne-Sylvie. Valorization of Coffee Silverskin Using Extraction Cycles and Water as a Solvent: Design of Process: Design of Process. *Molecules*. 2024, vol. 29, no. 6, s. 1318. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules29061318>.
- [15] NGUYEN, Thi Minh Thu; CHO, Eun Jin; SONG, Younho; OH, Chi Hoon; FUNADA, Ryo et al. Use of coffee flower as a novel resource for the production of bioactive compounds, melanoidins, and bio-sugars. *Food Chemistry*. 2019, vol. 299, s. 125120. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125120>.
- [16] KLINGEL, Tizian; KREMER, Jonathan I.; GOTTSTEIN, Vera; RAJIC DE REZENDE, Tabata; SCHWARZ, Steffen et al. A Review of Coffee By-Products Including Leaf, Flower, Cherry, Husk, Silver Skin, and Spent Grounds as Novel Foods within the European Union. *Foods*. 2020, vol. 9, no. 5, s. 665. ISSN 2304-8158. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/foods9050665>.
- [17] HEEGER, Andrea; KOSÍNSKA-CAGNAZZO, Agnieszka; CANTERGIANI, Ennio a ANDLAUER, Wilfried. Bioactives of coffee cherry pulp and its utilisation for production of Cascara beverage. *Food Chemistry*. 2017, vol. 221, s. 969-975. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.067>.
- [18] ARPI, N.; MUZAIFA, M.; SULAIMAN, M. I.; ANDINI, R. a KESUMA, S. I. Chemical Characteristics of Cascara, Coffee Cherry Tea, Made of Various Coffee Pulp Treatments. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2021, vol. 709, no. 1, s. 012030. ISSN 1755-1315. Dostupné z: <https://doi.org/10.1088/1755-1315/709/1/012030>.
- [19] GARCIA, Coralia V. a KIM, Young-Teck. Spent Coffee Grounds and Coffee Silverskin as Potential Materials for Packaging: A Review: A Review. *Journal of Polymers and the Environment*. 2021, vol. 29, no. 8, s. 2372-2384. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s10924-021-02067-9>.
- [20] BALLESTEROS, Lina F.; TEIXEIRA, José A. a MUSSATTO, Solange I. Chemical, Functional, and Structural Properties of Spent Coffee Grounds and Coffee Silverskin. *Food and Bioprocess Technology*. 2014, vol. 7, no. 12, s. 3493-3503. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s11947-014-1349-z>.
- [21] VIGNOLI, Josiane Alessandra; VIEGAS, Marcelo Caldeira; BASSOLI, Denisley Gentil a BENASSI, Marta De Toledo. Roasting process affects differently the bioactive compounds and the antioxidant activity of arabica and robusta coffees. *Food Research International*. 2014, vol. 61, s. 279-285. ISSN 09639969. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.06.006>.
- [22] VIMERCATI, Wallaf Costa; DA SILVA ARAÚJO, Cintia; MACEDO, Leandro Levate a PIMENTA, Carlos José. Optimal extraction condition for the recovery of bioactive compounds and antioxidants from coffee silverskin. *Journal of Food Process Engineering*. 2022, vol. 45, no. 4, s. e14009. ISSN 1745-4530. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/jfpe.14009>.

- [23] NARITA, Yusaku a INOUE, Kuniyo. High antioxidant activity of coffee silverskin extracts obtained by the treatment of coffee silverskin with subcritical water. *Food Chemistry*. 2012, vol. 135, no. 3, s. 943-949. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.078>.
- [24] TANGGUH, Patrick a KUSUMOCAHYO, Samuel P. Extraction of coffee silverskin to convert waste into a source of antioxidant. In: *INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON APPLIED CHEMISTRY (ISAC) 2016*. 2017, s. 020029. Dostupné z: <https://doi.org/10.1063/1.4973156>.
- [25] PARCHETA, Monika; ŚWISŁOCKA, Renata; ORZECOWSKA, Sylwia; AKIMOWICZ, Monika; CHOŃSKA, Renata et al. Recent Developments in Effective Antioxidants: The Structure and Antioxidant Properties: The Structure and Antioxidant Properties. *Materials*. 2021, vol. 14, no. 8, s. 1984. ISSN 1996-1944. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ma14081984>.
- [26] KARADAG, Ayse; OZCELIK, Beraat a SANER, Samim. Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities. *Food Analytical Methods*. 2009, vol. 2, no. 1, s. 41-60. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s12161-008-9067-7>.
- [27] GULCIN, İlhami. Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview: an updated overview. *Archives of Toxicology*. 2020, vol. 94, no. 3, s. 651-715. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3>.
- [28] COSTA, Anabela S.G.; ALVES, Rita C.; VINHA, Ana F.; BARREIRA, Sérgio V.P.; NUNES, Maria A. et al. Optimization of antioxidants extraction from coffee silverskin, a roasting by-product, having in view a sustainable process. *Industrial Crops and Products*. 2014, vol. 53, s. 350-357. ISSN 09266690. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.01.006>.
- [29] INACIO, Heloisa Patricio; SANTETTI, Gabriela Soster; DACOREGGIO, Marina Volpato; HAAS, Isabel Cristina da Silva; BARANZELLI, Julia et al. Effects of different extraction methods on the phenolic profile, antioxidant and antimicrobial activity of the coffee grounds and coffee silverskin (*Coffea arabica* L.). *JSFA REPORTS*. 2023, roč. 3, č. 8, s. 354-363. ISSN 2573-5098. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/jsf2.139>.
- [30] SANTOS, Érica Mendes Dos; MACEDO, Lucas Malvezzi De; TUNDISI, Louise Lacalendola; ATAIDE, Janaína Artem; CAMARGO, Gisele Anne et al. Coffee by-products in topical formulations: A review: A review. *Trends in Food Science & Technology*. 2021, vol. 111, s. 280-291. ISSN 09242244. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.064>.
- [31] RODRIGUES, Francisca; PALMEIRA-DE-OLIVEIRA, Ana; DAS NEVES, José; SARMENTO, Bruno; AMARAL, M. Helena et al. Coffee silverskin: A possible valuable cosmetic ingredient: A possible valuable cosmetic ingredient. *Pharmaceutical Biology*. 2015, vol. 53, no. 3, s. 386-394. Dostupné z: <https://doi.org/10.3109/13880209.2014.922589>.
- [32] JIMÉNEZ-ZAMORA, Ana; PASTORIZA, Silvia a RUFIÁN-HENARES, José A. Revalorization of coffee by-products. Prebiotic, antimicrobial and antioxidant properties. *LWT - Food Science and Technology*. 2015, vol. 61, no. 1, s. 12-18. ISSN 00236438. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.11.031>.
- [33] MOREIRA, Mariana Dias; MELO, Marcela Magalhães; COIMBRA, Jéssica Marques; REIS, Kelly Cristina Dos; SCHWAN, Rosane Freitas et al. Solid coffee waste as alternative to produce carotenoids with antioxidant and antimicrobial activities. *Waste*

- Management*. 2018, vol. 82, s. 93-99. ISSN 0956053X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.10.017>.
- [34] WAGEMAKER, Tais A. L.; CAMPOS, Patrícia M. B. G. Maia; FERNANDES, Ana Sofia; RIJO, Patrícia; NICOLAI, Marisa et al. Unsaponifiable matter from oil of green coffee beans: cosmetic properties and safety evaluation: cosmetic properties and safety evaluation. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2016, vol. 42, no. 10, s. 1695-1699. Dostupné z: <https://doi.org/10.3109/03639045.2016.1165692>.
- [35] BESSADA, Sílvia; C. ALVES, Rita a P. P. OLIVEIRA, M. Coffee Silverskin: A Review on Potential Cosmetic Applications: A Review on Potential Cosmetic Applications. *Cosmetics*. 2018, vol. 5, no. 1, s. 5. ISSN 2079-9284. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/cosmetics5010005>.
- [36] LEPHART, Edwin D. Skin aging and oxidative stress: Equol's anti-aging effects via biochemical and molecular mechanisms: Equol's anti-aging effects via biochemical and molecular mechanisms. *Ageing Research Reviews*. 2016, vol. 31, s. 36-54. ISSN 15681637. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.arr.2016.08.001>.
- [37] RODRIGUES, Francisca; GASPAR, Carlos; PALMEIRA-DE-OLIVEIRA, Ana; SARMENTO, Bruno; HELENA AMARAL, M. et al. Application of Coffee Silverskin in cosmetic formulations: physical/antioxidant stability studies and cytotoxicity effects: physical/antioxidant stability studies and cytotoxicity effects. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2016, vol. 42, no. 1, s. 99-106. Dostupné z: <https://doi.org/10.3109/03639045.2015.1035279>.
- [38] RODRIGUES, F.; SARMENTO, B.; AMARAL, M. Helena a OLIVEIRA, M. Beatriz P. P. Exploring the antioxidant potentiality of two food by-products into a topical cream: stability i, in vitro/i and iin viv/i o evaluation: stability i, in vitro/i and iin viv/i o evaluation. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2016, vol. 42, no. 6, s. 880-889. Dostupné z: <https://doi.org/10.3109/03639045.2015.1088865>.
- [39] IRIONDO-DEHOND, Amaia; MARTORELL, Patricia; GENOVÉS, Salvador; RAMÓN, Daniel; STAMATAKIS, Konstantinos et al. Coffee Silverskin Extract Protects against Accelerated Aging Caused by Oxidative Agents. *Molecules*. 2016, vol. 21, no. 6, s. 721. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules21060721>.
- [40] KITAGAWA, Shuji; YOSHII, Kenta; MORITA, Shin-ya a TERAOKA, Reiko. Efficient Topical Delivery of Chlorogenic Acid by an Oil-in-Water Microemulsion to Protect Skin against UV-Induced Damage. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 2011, vol. 59, no. 6, s. 793-796. Dostupné z: <https://doi.org/10.1248/cpb.59.793>.
- [41] CHOI, Hyeon-Son; PARK, Eu Ddeum; PARK, Yooheon; HAN, Sung Hee; HONG, Ki Bae et al. Topical application of spent coffee ground extracts protects skin from ultraviolet B-induced photoaging in hairless mice. *Photochemical & Photobiological Sciences*. 2016, vol. 15, no. 6, s. 779-790. Dostupné z: <https://doi.org/10.1039/c6pp00045b>.
- [42] LIU, Xinnan; SUN, Hongbo a LENG, Xiaojing. Coffee Silverskin Cellulose-Based Composite Film with Natural Pigments for Food Packaging: Physicochemical and Sensory Abilities: Physicochemical and Sensory Abilities. *Foods*. 2023, vol. 12, no. 15, s. 2839. ISSN 2304-8158. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/foods12152839>.
- [43] PETALOTI, Argyri-Ioanna a ACHILIAS, Dimitris S. The Development of Sustainable Biocomposite Materials Based on Poly(lactic acid) and Silverskin, a Coffee Industry By-Product, for Food Packaging Applications. 2024. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/su16125075>.

- [44] FRANCA, Adriana S.; BASÍLIO, Emiliana P.; RESENDE, Laís M.; FANTE, Camila A. a OLIVEIRA, Leandro S. Coffee Silverskin as a Potential Ingredient for Functional Foods: Recent Advances and a Case Study with Chocolate Cake: Recent Advances and a Case Study with Chocolate Cake. *Foods*. 2024, vol. 13, no. 23, s. 3935. ISSN 2304-8158. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/foods13233935>.
- [45] GOCMEN, Duygu; SAHAN, Yasemin; YILDIZ, Elif; COSKUN, Meral a AROUFAL, Ídriss Amit. Use of coffee silverskin to improve the functional properties of cookies. *Journal of Food Science and Technology*. 2019, vol. 56, no. 6, s. 2979-2988. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03773-y>.
- [46] BARBERO-LÓPEZ, Aitor; MONZÓ-BELTRÁN, Juanjo; VIRJAMO, Virpi; AKKANEN, Jarkko a HAAPALA, Antti. Revalorization of coffee silverskin as a potential feedstock for antifungal chemicals in wood preservation. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2020, vol. 152, s. 105011. ISSN 09648305. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2020.105011>.
- [47] PODEŠVOVÁ, Natálie. *Kávové slupky a jejich využití*. Vedoucí Egner, Pavlína. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Fakulta technologická, Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky, 2022. Dostupné také z: <http://hdl.handle.net/10563/51502>.
- [48] RODRIGUES, Francisca; ALVES, Ana Catarina; NUNES, Claudia; SARMENTO, Bruno; AMARAL, M. Helena et al. Permeation of topically applied caffeine from a food by—product in cosmetic formulations: Is nanoscale in vitro approach an option? Online. *International Journal of Pharmaceutics*. 2016, roč. 513, č. 1-2, s. 496-503. ISSN 03785173. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.09.059>. [cit. 2025-04-13].
- [49] RODRIGUES, F.; SARMENTO, B.; AMARAL, M. Helena a OLIVEIRA, M. Beatriz P. P. Exploring the antioxidant potentiality of two food by-products into a topical cream , in vitro and in vivo evaluation: stability , in vitro and in vivo evaluation. Online. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2016, roč. 42, č. 6, s. 880-889. ISSN 0363-9045. Dostupné z: <https://doi.org/10.3109/03639045.2015.1088865>. [cit. 2025-04-19].
- [50] CHAIYASUT, Chaiyavat; SIVAMARUTHI, Bhagavathi Sundaram; SIRILUN, Sasithorn; MAKHAMRUEANG, Netnapa; SIRITHUNYALUG, Jakkapan et al. FORMULATION AND STABILITY ASSESSMENT OF ARABICA AND CIVET COFFEE EXTRACTS BASED COSMETIC PREPARATIONS. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2018, roč. 11, č. 6, s. 425. Dostupné z: <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2018.v11i6.25522>.

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Kávovník [1].....	13
Obrázek 2 Stavba kávovníkové bobule [2]	14
Obrázek 3 Porovnání barvy sušenek s různým % zastoupením KS [45].....	37
Obrázek 4 Stříbrné kávové slupky (vlevo: před rozmělněním; vpravo: po rozmělnění).....	43
Obrázek 5 <i>In vivo</i> testování gelových formulací s obsahem KS na volární straně předloktí, A – odmaštění pokožky pomocí filtračních papírů namočených v 0,5% roztoku SDS a přelepených náplastí, B – označení odmaštěných míst, C – nanesené gelové formulace....	47
Obrázek 6 Gelové formulace pro senzorické hodnocení	49
Obrázek 7 Emulzní formulace s obsahem stříbrných kávových slupek (krémy) určené pro stabilitní hodnocení; den 0 ihned po přípravě	51
Obrázek 8 Gelové formulace s obsahem stříbrných kávových slupek určené pro stabilitní hodnocení, den 0 ihned po přípravě	51
Obrázek 9 Vodné extrakty ze stříbrných kávových slupek; Extrakt č. 1 = příprava za studena, Extrakt č. 2 = nálev, Extrakt č. 3 = příprava vařením při 60 °C	52
Obrázek 10 Intenzita zabarvení připravených gelových formulací	54
Obrázek 11 Změna pH po aplikaci gelových formulací s obsahem KS.....	59
Obrázek 12 Změna hydratace po aplikaci gelových formulací s obsahem KS	61
Obrázek 13 Změna TEWL po aplikaci gelových formulací s obsahem KS	64
Obrázek 14 Vizuální hodnocení stability emulzních formulací (foto ihned po výrobě)	65
Obrázek 15 Vizuální hodnocení stability emulzních formulací, 7. den.....	65
Obrázek 16 Krém s mikrobiální kontaminací (Krém vyrobený z extraktu č. 1; 100% nahrazení vody extraktem).....	66
Obrázek 17 Vizuální hodnocení stability, 21. den	66
Obrázek 18 Vizuální Hodnocení stability, 21. den; A = opětovné spojení vodné fáze, B, C = mikrobiální kontaminace.....	67
Obrázek 19 Vizuální hodnocení stability vzorků krémů, 29. den.....	67
Obrázek 20 Vizuální hodnocení stability vzorků krémů, 34. den.....	68
Obrázek 21 Vizuální hodnocení stability vzorků gelů, den 0 (den výroby)	69
Obrázek 22 Vizuální hodnocení stability vzorků gelů, 7. den	70
Obrázek 23 Vizuální hodnocení stability vzorků gelů, 14. den	70
Obrázek 24 Vizuální hodnocení stability vzorků gelů, 21. den	70
Obrázek 25 Vizuální hodnocení stability vzorků gelů, 29. den	71
Obrázek 26 Vizuální hodnocení stability vzorků gelů, 34. den	71

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Rámcové složení gelu	44
Tabulka 2 Rámcové složení krému	45
Tabulka 3 Pořadí nanášení gelových formulací s obsahem KS	46
Tabulka 4 pH gelových formulací pro <i>in vivo</i> testování	53
Tabulka 5 Testovací kritérium	55
Tabulka 6 Výsledky Némeneyiho testu pro parametr vstřebatelnost	56
Tabulka 7 Výsledky Némeneyiho testu pro parametr barva	57
Tabulka 8 Výsledky měření pH [-]	59
Tabulka 9 Změna pH v % při jednotlivých měřeních	59
Tabulka 10 Výsledky měření hydratace [k.j.]	61
Tabulka 11 Změna hydratace v % při jednotlivých měřeních	62
Tabulka 12 Výsledky měření TEWL [g.m ⁻² .h ⁻¹]	63
Tabulka 13 Změna TEWL v % při jednotlivých měřeních	64
Tabulka 14 Krémy vykazující dobrou stabilitu po 34 dnech	68

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

KS	Stříbrné kávové slupky/kávové slupky
CQA	Kafeoylchinové kyseliny
NMR	nukleární magnetická rezonance
EM-1	První extrakční metoda
EM-2	Druhá extrakční metoda
EM-3	Třetí extrakční metoda
HPLC	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie
GAE	Kyselina gallová
QE	Quarcetin
TE	Trolox
ROS	Reaktivní formy kyslíku
RNS	Reaktivní formy dusíku
HAT	Metoda přenosu vodíkových atomů
SET	Metoda přenosu jednoho elektronu
ORAC	Test schopnosti absorpce kyslíkových radikálů
H-ORAC	Test hydrofilní schopnosti absorpce kyslíkových radikálů
TRAP	Test celkového parametru zachytávání radikálů
TOSCA	Test celkové kapacity vychytávání radikálů
FRAP	Test antioxidační kapacity redukující železité ionty
TEAC	Test antioxidační kapacity ekvivalentní Troloxu
DPPH	2,2,-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
ABTS+	2,2-Azinobis 3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid
AAPH	2,2'-Azobis(2-amidinopropan) dihydrochlorid
UAE	Extrakce za použití ultrazvuku
EAE	Enzymová extrakce

UAEE	Enzymová extrakce za použití ultrazvuku
MIC	Minimální inhibiční koncentrace
MTS	Metoda hodnocení životaschopnosti a proliferace buněk
LDH	Metoda hodnocení buněčné životaschopnosti a integrity membrány
UV	Ultrafialové světlo
UVB	Ultrafialové sluneční záření o vlnové délce 280-320 nm
MMP	Metaloproteináza
t-BOOH	t-butylhydroperoxid
HaCaT	lidská buněčná kultivační linie

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha P I: Dotazník účastníka *in vivo* studie

Příloha P II: Informovaný souhlas a souhlas se zpracováním osobních údajů

Příloha P III: Dotazník pro sensorické hodnocení gelových formulací s obsahem stříbrných kávových slupek

PŘÍLOHA P I: DOTAZNÍK ÚČASTNÍKA *IN VIVO* STUDIE

Dotazník účastníka *in vivo* studie

Věk:

Pohlaví:

Současný zdravotní stav:

Vyskytuje se u Vás nyní:	ano	ne	jaké
lupénka			-----
ekzém			-----
rakovina kůže			-----
jiné kožní problémy a onemocnění			
jizvy, mateřská znamínka, jiné vady kůže v místě testu			-----
zarudnutí kůže po slunění nebo z jiného důvodu v místě testu			-----
astma vyžadující denní příjem léků			-----
jiné chronické respirační onemocnění			
diabetes vyžadující léčbu inzulínem			-----
onemocnění imunitního systému			

Zdravotní stav v minulosti

Prodělal(a) jste:	ano	ne
transplantaci orgánů		
léčbu maligního nádoru v posledních 6 měsících		

Užívání léků

Berete či používáte pravidelně:	ano	ne	jaké
protizánětlivé léky (např. aspirin, ibuprofen, hydrokortizon, nebo jiné steroidy)			
imunosupresivní léky (např. cyklosporin A)			
jiné léky			

Alergologická léčba

Probíhá u vás v současné době:	ano	ne	jaká
alergologická léčba (kapky, injekce, apod.)			
dostali jste poslední dávku během minulého týdne			-----
očekáváte další dávky v průběhu studie			-----

Pouze pro ženy

Jste:	ano	ne
těhotná nebo kojící		

Alergie

Projevila se u vás někdy alergie na:	specifikujte:
detergenty a čisticí prostředky	
kosmetické přípravky a vůně parfémů	
přípravky do koupele a na mytí (šampón, mýdlo)	
pleťové krémy a mléka, lotiony	
antiperspiranty a deodoranty	
léky	
jiné materiály	

Doplňující údaje

Zdravotní stav:	specifikujte:
používáte pravidelně jakýkoliv přípravek pro léčbu kůže	
používáte pravidelně jakékoliv léčivo (na předpis, či volně prodejné)	
navštěvujete v současné době lékaře kvůli:	
alergiím	
kožním problémům	
z jiného důvodu	
máte nějaké jiné zdravotní potíže	

Účast v dalších studiích

Studie:	Typ studie:	Datum poslední studie:
účastnil(a) jste se někdy kožního testu	-----	
účastníte se v současné době jiné studie jakéhokoli druhu		

Datum:

Pouze pro účely organizátora měření

Na základě zjištěných údajů je účastník a) přijat
b) nepřijat

Zdůvodnění:

Datum:

Podpis organizátora studie:

PŘÍLOHA P II: INFORMOVANÝ SOUHLAS A SOUHLAS SE ZPRACOVÁNÍM OSOBNÍCH ÚDAJŮ

Informovaný souhlas a souhlas se zpracováním osobních údajů

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, veřejná vysoká škola zřízená zákonem č. 404/2000 Sb., o zřízení Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, IČO: 70883521, se sídlem Vavrečkova 5669, 760 01 Zlín, ID schránky: ahqj9id (dále jen „UTB“) hodlá realizovat níže uvedený projekt:

Název projektu: OVĚŘOVÁNÍ ÚČINNOSTI KOSMETICKÝCH FORMULACÍ

Datum a místo řešení projektu: březen – červen 2025, ÚTTTK FT UTB ve Zlíně

V rámci realizace *in vivo* projektu budou na kůži účastníka projektu aplikovány vzorky kosmetických formulací. Všechny známé informace dovolují testování na dobrovolnících – účastnících projektu.

Cíl studie

Cílem práce je zjistit odezvu Vaší pokožky na aplikovanou formuli pomocí exaktně změřených veličin.

Hlavní řešitel projektu: Ing. Jana Pavlačková, Ph.D.

Pracoviště: ÚTTTK FT UTB

Podmínky účasti

Před zahájením vlastního experimentu byl vyplněn Dotazník účastníka *in vivo* projektu. Součástí dotazníku jsou údaje o zdravotním stavu účastníka projektu, jeho alergiích, kožních problémech, o užívaných lécích a o dřívější účasti v obdobných projektech. Na základě vyhodnocení odpovědí účastníka studie bylo rozhodnuto o jeho účasti v daném projektu.

UTB informuje, že účast ve výše uvedeném projektu je dobrovolná. UTB dále informuje, že s ohledem na dobrovolnou povahu účasti na projektu může účastník projektu po dohodě s hlavním řešitelem projektu svou účast na projektu přerušit či z projektu odstoupit, a to až do okamžiku ukončení projektu.

Metodika testu

Experiment bude prováděn pod dohledem kvalifikovaných pracovníků Ústavu technologie tuků, tenzidů a kosmetiky. Plánovaný projekt zahrnuje test v periorbitální, čelové oblasti obličeje a volární straně předloktí (podrobná metodika viz níže).

Rizika a nepříjemnosti

Během práce může dojít k podráždění odpovídající lehkému připálení sluncem. Místo aplikace může zrudnout nebo zčervenat, dočasně pálit, svědit nebo se vysušit. Nejsilnější očekávanou reakcí je zrudnutí, které může být doprovázeno místním otokem. Nejsou očekávány žádné trvalé následky.

Podrobná metodika projektu

Zkušební zařízení:	stanice MPA 5/10 se sondami korneometr, tewametr, reviskometr, pH metr, viziometr avisiroskop a (výrobce zkušebních zařízení fa Courage & Khazaka electronic, Německo)
Pomůcky:	laboratorní sklo, buničina, pinzeta
Počet aplikací:	opakovaná
Místo aplikace	periorbitální oblast a čelo, volární strana předloktí
Množství aplikované emulze:	0,1 ml nebo 0,1 g, plocha 8 cm ²
Trvání testu:	krátkodobé (hodiny, dny) a dlouhodobé (týdny)
Odstranění testované látky:	není relevantní
Intervaly odečtu:	po čtyřhodinové předúpravě SDS po hodinách či dnech, po předúpravě micelární vodou po 4 a 8 týdnech
Typ reakce:	změna biofyzikálních hodnot povrchu kůže
Stupeň reakce:	vyjádření hodnotou měřené veličiny
Vyhodnocení.	časová změna hodnot měřených veličin

Systém klasifikace kožní reakce

Kožní reakce bude hodnocena změnou číselných hodnot naměřených pomocí zařízení stanice MPA 5/10 se sondami korneometr (hydratace), tewametr (transepidermální ztráta vody) a pH metr (pH pokožky), reviskometr (elasticita), visiometr a visiosken (snímání kožního reliéfu).

Kritéria pro zařazení do souboru účastníků projektu

Předpokladem pro zařazení do souboru pokusných osob pro testy jsou následující kritéria:

- nepřítomnost jakéhokoliv onemocnění (i nachlazení) minimálně 1 týden před zahájením testu
- nepřítomnost jakéhokoliv kožního onemocnění (např. *psoriasis*, ekzém, rakovina kůže, jiné dermatitidy)
- nepřítomnost kožních abnormalit v místě testu (např. jizvy, mateřská znaménka, zarudnutí kůže po slunění)
- osoba nesmí mít astma, ani jiné chronické respirační choroby
- osoba nesmí mít *diabetes*, který je léčený inzulínem
- osoba nesmí být léčena pro imunodeficienci nebo autoimunitní onemocnění a neužívá léky s vlivem na imunitní systém
- osoba nesmí mít v anamnéze transplantaci orgánů a léčbu zhoubných onemocnění
- osoba nesmí užívat pravidelně léky s lokálním i celkovým protizánětlivým účinkem (např. aspirin, ibuprofen, kortikoidy)
- osoba musí být bez alergologické anamnézy
- vyloučeny jsou ženy těhotné nebo v laktaci

- vyloučena je osoba, která se současně zúčastňuje jakéhokoliv jiného klinického projektu nebo tento projekt byl ukončen v době kratší než 14 dní před zahájením testu

Kritéria pro vyřazení ze souboru účastníků projektu

Ze souboru pokusných osob pro testování je vyřazena osoba, pokud:

- nedodržuje podmínky práce
- na vlastní žádost ukončí svou účast v testu
- změna se její zdravotní stav natolik, že by tím mohl být ovlivněn výsledek testu
- dojde u ní k navození takové situace a podmínek, které mohou ovlivnit výsledek experimentu

Prohlášení účastníka projektu

Já, níže podepsaný/á souhlasím se svou účastí ve výše specifikovaném projektu, který mi byl popsán a dostatečně vysvětlen, a který bude veden kvalifikovanými pracovníky Ústavu technologie tuků, tenzidů a kosmetiky UTB. Beru na vědomí, že experiment může zahrnovat riziko nežádoucích účinků na kůži. Toto riziko mi bylo detailně objasněno a mohl(a) jsem se informovat o všech podrobnostech experimentu.

Vím, že mohu kdykoliv odvolat svůj souhlas s účastí v experimentu a mohu kdykoliv odstoupit od své účasti v daném projektu.

Mohu si vyžádat další informace o experimentu a oznámit nežádoucí účinky u hlavního řešitele projektu, a to kdykoliv na určeném telefonním čísle.

Souhlasím, že data získaná během projektu mohou být statisticky zpracována. Veškeré údaje o průběhu a výsledcích projektu, které mne mohou identifikovat, zůstanou přísně důvěrné.

Prohlašuji, že toto poučení plně chápu a podepisuji ho při plném vědomí.

.....

Jméno a příjmení:
projektu

podpis

účastníka

Tel. kontakt účastníka projektu:

Ve Zlíně dne

Souhlas se zpracováním osobních údajů

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, veřejná vysoká škola zřízená zákonem č. 404/2000 Sb., o zřízení Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, IČO: 70883521, se sídlem Vavrečkova 5669, 760 01 Zlín, ID schránky: ahqj9id (dále jen „UTB“) hodlá realizovat níže uvedenou projektu:

Název projektu: OVĚŘOVÁNÍ ÚČINNOSTI KOSMETICKÝCH FORMULACÍ

Hlavní řešitel: Ing. Jana Pavlačková, Ph.D.

Instituce realizující projekt: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Popis projektu: OVĚŘOVÁNÍ ÚČINNOSTI KOSMETICKÝCH FORMULACÍ

Projekt spočívá v realizaci *in vivo* projektu, kdy na účastníkovi projektu bude pod dohledem zaměstnanců UTB prováděn experiment spočívající v testování v periorbitální oblasti, čela a volární strany předloktí. V rámci testu bude na tyto oblasti účastníka projektu aplikována testovaná formulace. Bližší podrobnosti jsou uvedeny v Podrobné metodice projektu, který je součástí tohoto souhlasu.

Aby Vás UTB mohla zařadit do výše uvedeného projektu, bude potřebovat také Váš souhlas se zpracováním Vašich osobních údajů. Budou zpracovávány následující osobní údaje:

jméno, příjmení, podpis a telefonní kontakt.

☐ Souhlasím se zpracováním svých osobních údajů za podmínek uvedených v tomto souhlasu, přičemž zpracováním se v tomto případě rozumí užití osobních (jméno, příjmení, podpis a telefonní kontakt) pro účely realizace výše uvedeného projektu, tzn. pro účely evidence souhlasu s mou účastí v tomto projektu.

Prohlašuji, že jsem byl(a) ze strany UTB řádně poučen(a) o zpracování a ochraně osobních údajů, že osobní údaje, které jsem poskytl(a) UTB, jsou přesné a pravdivé a jsou poskytovány dobrovolně.

UTB Vás upozorňuje, že výše uvedený souhlas můžete kdykoliv odvolat a to prostřednictvím formuláře „Odvolání souhlasu se zpracováním osobních údajů“, který je dostupný na webu UTB: <https://uni.utb.cz/organizacni-cleneni/centrum-vyzkumu-obouvani/>. Vyplněný formulář můžete zaslat na adresu Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky, Vavrečkova 5669, 760 01 Zlín nebo fyzicky odevzdat na stejné adrese na podatelně.

Odvoláním souhlasu není dotčena zákonnost zpracování osobních údajů vycházejících ze souhlasu, který byl dán před jeho odvoláním.

Vezměte, prosím, na vědomí, že podle příslušných právních předpisů máte jako subjekt údajů práva. Tyto jsou blíže specifikována v Zásadách ochrany osobních údajů, které jsou dostupné na webových stránkách UTB v sekci Ochrana osobních údajů.

Byl(a) jsem poučen(a) o tom, že poskytnutí souhlasu se zapojením do projektu se zpracováním svých osobních údajů pro výše uvedený účel je dobrovolné. Dále jsem byl(a) v souladu s příslušnou legislativou poučen(a):

- o svém právu tento souhlas odvolat, a to i bez udání důvodů,
- o svém právu přístupu k těmto údajům a právu na jejich opravu,
- o svém právu na vymazání těchto údajů, pokud dochází k jejich zpracování v rozporu s tímto souhlasem nebo byl souhlas odvolán.

Byl(a) jsem také poučen(a) o tom, že tato svá práva mohu uplatnit doručením žádosti na e-mailovou adresu dpo@utb.cz, jakož i o právu podat stížnost u dozorového orgánu.

Ve Zlíně dne

.....

Jméno a příjmení:
projektu

podpis

účastníka

PŘÍLOHA P III: DOTAZNÍK PRO SENZORICKÉ HODNOCENÍ GELOVÝCH FORMULACÍ S OBSAHEM STŘÍBRNÝCH KÁVOVCÝH SLUPEK

DOTAZNÍK PRO SENZORICKÉ HODNOCENÍ GELOVÝCH FORMULACÍ S OBSAHEM STŘÍBRNÝCH KÁVOVCÝH SLUPEK

Jméno a příjmení:

Datum:

Gelové formulace

Vzorek si pomocí tyčinky naneste na hřbet ruky a pomocí prstu rozetřete (současně řešte i ostatní úkoly)

Úkol č. 1:

Seřadte jednotlivé vzorky podle **roztíratelnosti** (od nejlépe roztíratelného po nejhůře roztíratelný). Zkouška s nucenou volbou – každému vzorku musí být přiděleno jedno číslo.

Vzorek	A	B	C	D	E	F
Roztíratelnost						

Úkol č. 2:

Seřadte jednotlivé vzorky podle **vstřebatelnosti** (od nejlépe vstřebatelného po nejhůře vstřebatelný). Zkouška s nucenou volbou – každému vzorku musí být přiděleno jedno číslo.

Vzorek	A	B	C	D	E	F
Vstřebatelnost						

Úkol č. 3:

Seřadte jednotlivé vzorky podle **barvy** (od nejsvětějšího po nejtmavší). Zkouška s nucenou volbou – každému vzorku musí být přiděleno jedno číslo.

Vzorek	A	B	C	D	E	F
Barva						

Úkol č. 4:

Seřadte jednotlivé vzorky podle **vůně** (od nejpříjemnější po nejméně příjemný). Zkouška s nucenou volbou – každému vzorku musí být přiděleno jedno číslo.

Vzorek	A	B	C	D	E	F
Vůně						

Úkol č. 5:

Seřadte jednotlivé vzorky podle **celkové uživatelské preference** (od nejvíce preferovaného po nejméně preferovaný). Zkouška s nucenou volbou – každému vzorku musí být přiděleno jedno číslo.

Vzorek	A	B	C	D	E	F
Preference						