

Određivanje kemijskog i bioaktivnog sastava zelenih i prženih zrna kave i napitaka smanjenog udjela kafeina

Fabečić, Patricia

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:772870>

Rights / Prava: [Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-15**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2022.

Patricia Fabečić

**Određivanje kemijskog i bioaktivnog
sastava zelenih i prženih zrna kave i
napitaka smanjenog udjela kafeina**

Rad je izrađen u Laboratoriju za tehnologiju ugljikohidrata i konditorskih proizvoda na Zavodu za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom prof. dr.sc. Draženke Komes, te uz pomoć asistentica Danijele Šeremet, mag. ing., i dr. sc. Aleksandre Vojvodić Cebin.

Ovaj diplomski rad izrađen je u sklopu projekta „*Formuliranje inovativnih blendova kava s različitim sadržajem kafeina i izraženim antioksidativnim svojstvima (KK 03.2.2.03.)*“ financiranog od strane Europskog fonda za regionalni razvoj.

Prije svega, zahvalila bih mentorici dr. sc. Draženki Komes na velikoj potpori, susretljivosti, podijeljenim znanjima i vještinama te kvalitetnim kritikama kojima sam uvelike poboljšala ovaj rad. Zahvaljujem i svim djelatnicama Laboratorija za tehnologiju ugljikohidrata i konditorskih proizvoda na odličnoj radnoj atmosferi i savjetima, a posebno hvala Danijeli Šemeret, mag. ing., i dr. sc. Aleksandri Vojvodić Cebin na trudu i pomoći pri provođenju eksperimentalnog dijela i pisanju diplomskog rada.

Najveća hvala majci, bratu i Martinu na podršci i pomoći koju su mi pružili tijekom studiranja te hvala prijateljima koji su mi uljepšali studentske dane i učinili ih nezaboravnima.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo
Laboratorij za tehnologiju ugljikohidrata i konditorskih proizvoda

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Diplomski sveučilišni studij: Nutricionizam

ODREĐIVANJE KEMIJSKOG I BIOAKTIVNOG SASTAVA ZELENIH I PRŽENIH ZRNA KAVE I
NAPITAKA SMANJENOG UDJELA KAFEINA

Patricia Fabečić, univ. bacc. nutr. 00582075512

Sažetak: Kava je omiljen napitak ljudi širom svijeta čije konzumiranje ima brojne prednosti, no isto tako može imati i negativne učinke na ljudsko zdravlje ukoliko dnevna doza premašuje preporučenu dozu od 400 mg prema Europskoj agenciji za sigurnost hrane (engl. *European Food Safety Authority, EFSA*). Uzimajući to u obzir, ali i nastojeći omogućiti uživanje u konzumaciji većih količina kave, cilj ovoga rada je formuliranje blendova kava smanjenog udjela kafeina, ali bogatog bioaktivnog sastava. Kemijski i bioaktivni sastav zelenih i prženih zrna kave i napitaka određen je pomoću standardnih AOAC metoda (engl. *Association of Official Analytical Chemists, AOAC*), spektrofotometrijskih metoda te tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti s detektorom s nizom dioda (engl. *high-performance liquid chromatographic method with diode-array detection, HPLC-DAD*). U istraživanje je bilo uključeno 6 vrsta kave; 4 Arabice i 2 Robuste, s time da su 2 uzorka Arabica kave bili dekafeinizirani. Bogatiji bioaktivni sastav karakterizira Robusta kave, dok su Arabica kave sadržavale više udjele ulja i saharoze. Napitci su pripremljeni primjenom tri tehnike te su se ispitivale filter, espresso i turska kava. Espresso je karakterizirana najvišim udjelom kafeoil kininskih kiselina i najboljim antioksidacijskim svojstvima. Novoformulirani blendovi imali su udjele kafeina redom 5,55, 15,44 i 20,44 mg g⁻¹ s. tv.

Ključne riječi: *bioaktivni sastav, HPLC, kava, kemijski sastav, prženje*

Rad sadrži: 57 stranica, 15 slika, 13 tablica, 80 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u: Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

Mentor: *prof. dr.sc. Draženka Komess*

Pomoć pri izradi: *Danijela Šeremet, mag. ing.*
Dr. sc. Aleksandra Vojvodić Cebin

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. Prof.dr.sc. Ksenija Marković (predsjednik)
2. Prof.dr.sc. Draženka Komess (mentor)
3. Doc.dr.sc. Marko Obranović (član)
4. Prof.dr.sc. Nada Vahčić (zamjenski član)

Datum obrane: 23. rujna 2022.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Department of Food Engineering
Laboratory for Chemistry and Technology of Carbohydrates and Confectionery Products

Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Food Technology

Graduate university study programme: Nutrition

DETERMINATION OF THE CHEMICAL AND BIOACTIVE COMPOSITION OF GREEN AND ROASTED COFFEE BEANS AND BEVERAGES WITH REDUCED CAFFEINE CONTENT

Patricia Fabečić, univ. bacc. nutr. 00582075512

Abstract: Coffee is a favorite drink among people around the world which consumption has numerous advantages, but it can also have negative effects on human health if the daily dose exceeds the recommended dose of 400 mg according to the European Food Safety Authority (EFSA). Taking this into account, but also trying to enable enjoyment in the consumption of larger quantities of coffee, the goal of this work is to formulate coffee blends with a reduced caffeine content, but with a rich bioactive composition. The chemical and bioactive composition of green and roasted coffee beans and beverages was determined using standard methods of the Association of Official Analytical Chemists (AOAC), spectrophotometric methods, and high-performance liquid chromatographic method with a diode-array detection (HPLC-DAD). 6 types of coffee were included in the research; 4 Arabica and 2 Robusta, with the fact that 2 Arabica coffee samples were decaffeinated. A richer bioactive composition characterizes Robusta coffees, while Arabica coffees contained higher proportions of oil and sucrose. The drinks were prepared using three techniques, and filter, espresso and Turkish coffee were tested. Espresso is characterized by the highest content of caffeoyl quinic acids and the best antioxidant properties. The newly formulated blends had caffeine contents of 5.55, 15.44 and 20.44 mg g⁻¹ DM.

Keywords: *bioactive composition, chemical composition, coffee, HPLC, roasting*

Thesis contains: 57 pages, 15 figures, 13 tables, 80 references

Original in: Croatian

Graduate Thesis in printed and electronic (pdf format) version is deposited in: Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb.

Mentor: *prof. dr.sc. Draženka Komes*

Technical support and assistance: *Danijela Šeremet, mag. ing.*

Dr. sc. Aleksandra Vojvodić Cebin

Reviewers:

1. Ksenija Marković, PhD, Full professor (president)
2. Draženka Komes, PhD, Full professor (mentor)
3. Marko Obranić, PhD, Assistant professor (member)
4. Nada Vahčić, PhD, Full professor (substitute)

Thesis defended: September 23th, 2022

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	3
2.1. BOTANIČKA KLASIFIKACIJA I VRSTE KAVA	3
2.1.1. Botanička klasifikacija.....	3
2.1.2. Vrste kava	4
2.2. STATISTIKA PROIZVODNJE I KONZUMACIJE KAVE	6
2.3. KEMIJSKI I BIOAKTIVNI SASTAV KAVE	8
2.4. UTJECAJ PROCESA PRŽENJA NA IZGLED I SASTAV ZRNA	9
2.5. UTJECAJ KAVE I KAFEINA NA ZDRAVLJE ČOVJEKA	10
2.6. TEHNIKE PRIPREME NAPITKA KAVE	11
2.6.1. Turska kava.....	12
2.6.2. <i>Naepolitan</i> kava	13
2.6.3. Filter kava	13
2.6.4. <i>French Press</i>	13
2.6.5. Espresso	13
2.6.6. Moka kava.....	14
2.6.7. Hladna kava i ledena kava	14
2.7. DEKAFEINIZACIJA KAVA	15
2.7.1. Ekstrakcija organskim otapalima.....	15
2.7.2. Ekstrakcija vodom	16
2.7.3. Ekstrakcija ugljikovim dioksidom pod tlakom.....	17
3. EKSPERIMENTALNI DIO	18
3.1. MATERIJALI	18
3.2. METODE RADA	21
3.2.1. Mljevenje uzoraka kave	21
3.2.2. Određivanje udjela suhe tvari	21
3.2.3. Određivanje udjela masti	22
3.2.4. Određivanje udjela saharoze.....	22
3.2.5. Određivanje udjela melanoidina	23
3.2.6. Karakterizacija bioaktivnog sastava	23
3.2.7. Priprema napitaka kave.....	26
4. REZULTATI I RASPRAVA	28

4.1. KARAKTERIZACIJA OSNOVNOG KEMIJSKOG SASTAVA ZELENIH I PRŽENIH ZRNA KAVA	28
4.2. KARAKTERIZACIJA BIOAKTIVNOG SASTAVA ZELENIH I PRŽENIH ZRNA KAVE	31
4.3. KARAKTERIZACIJA BIOAKTIVNOG SASTAVA NAPITAKA KAVA.....	37
4.4. FORMULACIJA I KARAKTERIZACIJA FINALNIH BLENDOVA KAVA I NJIHOVIH NAPITAKA	39
4.4.1. Blendovi kava	39
4.4.2. Napitci blendova kava.....	42
5. ZAKLJUČAK	46
6. LITERATURA	47

1. UVOD

Kava je popularan proizvod kojim se najviše trguje u prehrambenom sektoru. Najpopularnije kultivirane vrste kave su Arabica (*Coffea arabica L*) i Robusta (*Coffea canephora*). Na kvalitetu kave utječu brojni faktori kao što su klima, tlo, nadmorska visina, način obrade, stupanj prženja i tehnika pripreme napitka (Tarigan i sur., 2022). U razdoblju od listopada 2021. do travnja 2022. godine izvoz kave povećao se za 0,6 % u odnosu na isto razdoblje tijekom 2020./2021. Unutar 12 mjeseci do travnja 2022. godine, izvezeno je 80,47 milijuna vreća od 60 kg Arabica kave te 49,54 milijuna vreća od 60 kg Robusta kave (ICO, 2022). Među 6 najvećih proizvođača zelenih zrna kava ubrajaju se Brazil, Vijetnam, Kolumbija, Indonezija, Etiopija i Honduras (FAO, 2022). Najveći konzumenti kave su stanovnici sjevernoeuropskih država, 30 – 40 % populacije širom svijeta kavu konzumira svaki dan (Novak, 2021).

Konzumacija kave može imati pozitivne, ali isto tako i negativne učinke na zdravlje (Mejia i Ramirez-Mares, 2014). Neki od pozitivnih učinaka su: smanjenje rizika od pojave Alzheimerove i Parkinsonove bolesti, kao i određenih karcinoma i dijabetesa tipa 2 (Dam i sur., 2020). Među 1000 opisanih fitokemikalija u kavi, kafein je najpoznatiji (Cano-Marquina i sur., 2013), a njegov utjecaj na ljudsko zdravlje ovisi o velikom broju faktora poput tjelesne mase, spola, dobi i osobne osjetljivosti na kafein. Većina konzumenata uživa u aromi i stimulirajućem učinku kafeina, no, konzumiranjem kafeina razvija se ovisnost te nagli prekid unosa uzrokuje glavobolju, letargiju i razdražljivost (Mejia i Ramirez-Mares, 2014). Pretpostavlja se da mnogi konzumenti kave unose mnogo više kafeina od preporučene doze koja se odnosi na 3 šalice od 200 mL kave dnevno (Hudyakova, 2020). Preporučena dnevna doza kafeina prema EFSA-i iznosi 400 mg (Verster i Koenig, 2017).

Među najpopularnije tehnike pripreme napitaka kava ubrajaju se espresso, turska i filter (*American i French press*) kava. Priprema turske kave najzastupljenija je na Srednjem Istoku, Balkanu, Grčkoj, Turskoj i Istočnoj Europi, dok je priprema espresso kave najčešća u Italiji, Španjolskoj i Portugalu. Filter kava popularna je u cijelom svijetu, osobito u Sjedinjenim Američkim Državama (SAD). Metoda pripreme utječe na sastav napitka kave (Derossi i sur., 2017).

Cilj ovog istraživanja je određivanjem kemijskog i bioaktivnog sastava zelenih i prženih zrna kava razviti formulacije blendova kave smanjenog udjela kafeina, ali bogatog bioaktivnog sastava. U istraživanje je bilo uključeno 6 vrsta kave (4 Arabica i 2 Robusta), pri čemu su 2 uzorka Arabica kave bila dekafeinizirana. Primijenjena je standardna AOAC, spektrofotometrijska i HPLC-DAD metodologija.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. BOTANIČKA KLASIFIKACIJA I VRSTE KAVA

2.1.1. Botanička klasifikacija



Slika 1. Botanička klasifikacija kave (Ferreira i sur., 2019; CABI, 2019)

Stablo kave pripada porodici *Rubiaceae* (slika 1) u koju se ubraja oko 500 rodova i preko 6000 vrsta. Unutar roda *Coffea* navedeno je preko 100 vrsta. Od svih klasificiranih vrsta kava samo tri imaju komercijalnu važnost, a to su *Coffea arabica*, *Coffea canephora* i *Coffea liberica*. Botaničari se nisu uspjeli dogovoriti oko jednostavnog i preciznog sustava klasifikacije vrsta zbog velikih varijacija koje su prisutne među biljkama i sjemenkama kava (Ferreira i sur., 2019).

Kava je višegodišnja biljka koja raste između 10 do 15 godina. Budući da se urod plodova smanjuje i ranije, potrebno je komercijalne nasade redovito obnavljati. Stablo kave sastoji se od uspravnog glavnog izdanka iz kojeg se šire primarne, sekundarne i tercijarne bočne grane. Listovi su tamnozeleni, sjajni i valoviti s jasno uočljivim žilama te je svaki par listova križno pozicioniran u odnosu na sljedeći par listova. Cvjetovi se formiraju na stablu starom tek 1 godinu. Unutar 6 h nakon cvatnje odvija se oprašivanje te je process oplodnje završen unutar 24 – 48 h nakon oprašivanja. Plod koji nastane dugačak je 10 – 15 mm i sadrži dvije sjemenke (zrna kave). Plod se sastoji od egzokarpa (jednostanični sloj prekriven voštanom tvari), mezokarpa (sloj sluzi od pektina), endokarpa (tanka, mrvičasta polisaharidna obloga nalik papiru), srebrne pokožice (omotač sjemena koji se uglavnom sastoji od polisaharida te monosaharida, proteina, polifenola i drugih manjih spojeva) i dvije eliptične sjemenke koje sadrže endosperm i embrije (Farah i Santos, 2015).

2.1.2. Vrste kava

2.1.2.1. *C. arabica*

C. arabica je vrsta kave koja je nastala prirodnom hibridizacijom između *C. canephora* i *C. eugenoides* ili ekotipova povezanih s ove dvije diploidne vrste te je tetraploidna vrsta (Ferreira i sur., 2019). Cenci i sur. (2012) došli su do rezultata u kojima se minimalna starost *C. arabica* procjenjuje između 10 000 i 50 000 godina, dok su Bawin i sur. (2021) procijenili da se hibridizacija *C. arabica* dogodila između 1,08 milijuna i 543 tisuće godina. Originalno je grm koji je rastao na nadmorskim visinama između 1300 – 2000 metara u šumama oko jugozapadne Etiopije i sjeverne Kenije, no, dobro se prilagođava i na nadmorskim visinama od 800 metara (Herrera i Lambot, 2017). Stablo raste do 6 metara visine i dobro podnosi blage temperature (Farah i Santos, 2015). Stabla rastu pri godišnjim temperaturama između 18 – 21 °C s godišnjom količinom oborina između 1100 – 2000 mm. U krajevima Etiopije *C. arabica* raste na crvenim ili smeđastim, dobro dreniranim, dubokim tlima s kiselošću tla koja varira između pH 4,1 i 6,3 (Lambot i sur., 2017). Plodovi sazrijevaju 7 – 9 mjeseci od datuma cvatnje, ovisno o sorti i okolišu (Lashermes i sur., 2008). Preko 60 % svjetske proizvodnje kave otpada na *C. arabica* (Farah i Santos, 2015). Najtradicionalniji varijeteti potječu od jemenskih populacija i poznati su kao Typica i Bourbon te su se iz njih razvili mnogi drugi varijeteti poput Caturra, Laurina, Moka i Blue

Mountain. Varijeteti kava poput Geisha i Rume Sudan potječu iz regija Etiopije i Sudana te imaju nisku produktivnost (Herrera i Lambot, 2017).

2.1.2.2. *C. canephora*

C. canephora potječe iz vlažnih nizinskih šuma tropske Afrike (Herrera i Lambot, 2017) te se proteže do Gvinejskog zaljeva i Ugande. Raste na nadmorskoj visini između 250 – 1500 metara, uglavnom na crvenim tlima koja su ravna do blago nagnuta, kisela te dobro drenirana. Optimalna godišnja temperatura za rast ove vrste je između 22 – 26 °C, s godišnjom količinom oborina između 1200 – 2500 mm (Lambot i sur., 2017). Stablo doseže do 10 metara visine te ima veću otpornost na bolesti i nižu tržišnu vrijednost u odnosu na stabla Arabike (Farah i Santos, 2015). Plodovi sazrijevaju 9 – 11 mjeseci od datuma cvatnje, ovisno o sorti i okolišu (Lashermes i sur., 2008). Nešto manje od 40 % svjetske proizvodnje otpada na *C. canephora* kavu (Farah i Santos, 2015). Najpoznatiji varijetet je Robusta. Od ostalih varijeteta poznati su Kouillou (Obala Bjelokosti), Maclaudi i Game (Gvineja), Niaouli (Togo) i *Coffea ugandae* (Uganda) (Herrera i Lambot, 2017).

2.1.2.3. *C. liberica*

C. liberica Hiern je diploidna vrsta te se uzgaja u manjoj mjeri zbog osjetljivosti na bolest (Ferreira i sur., 2019) koju uzrokuje patogen *Fusarium xylarioides* (Herrera i Lambot, 2017). Stablo raste do 18 metara visine pri niskim nadmorskim visinama i toploj klimi. Čini manje od 1 % tržišta (Farah i Santos, 2015).

2.1.2.4. *C. anthonyi*

C. anthonyi pronađena je u južnom Kamerunu te pograničnoj regiji između Kameruna i Republike Kongo. Morfološki i makromolekularni podaci pokazuju povezanost ove vrste s *C. arabica* i *C. eugenoides*. Stoga, smatra se kao ključna vrsta za razumijevanje podrijetla *C. arabica*. *C. anthonyi* je mali grm do 2 metra visine s eliptičnim listovima dugačkima 5 – 9/10 cm i širokim 2,2 – 4/5 cm. Dužina peteljke iznosi 5 – 10 mm. Plodovi su crveni te 9 – 10 mm dugi i 6 – 8 mm široki. Nadalje, sjeme je eliptično te dugo 7 – 8 mm, široko 5,5 – 6 mm i 3 mm debelo (Stoffelen i sur., 2009).

2.2. STATISTIKA PROIZVODNJE I KONZUMACIJE KAVE

Prema podacima Organizacije za prehranu i poljoprivredu Ujedinjenih naroda (engl. *Food and Agriculture Organization of United Nations, FAO*) u Hrvatskoj je 2016. godine najviše uvezeno zelenih i izvezeno zelenih i prženih zrna kave u razdoblju od 2015. – 2019. godine (tablica 1). Prženih zrna kave najviše je uvezeno 2019. godine, u iznosu od 5921 tona. Hrvatska je uvezla 0,20 % zelenih zrna kave od ukupnog svjetskog uvoza u 2019. godini.

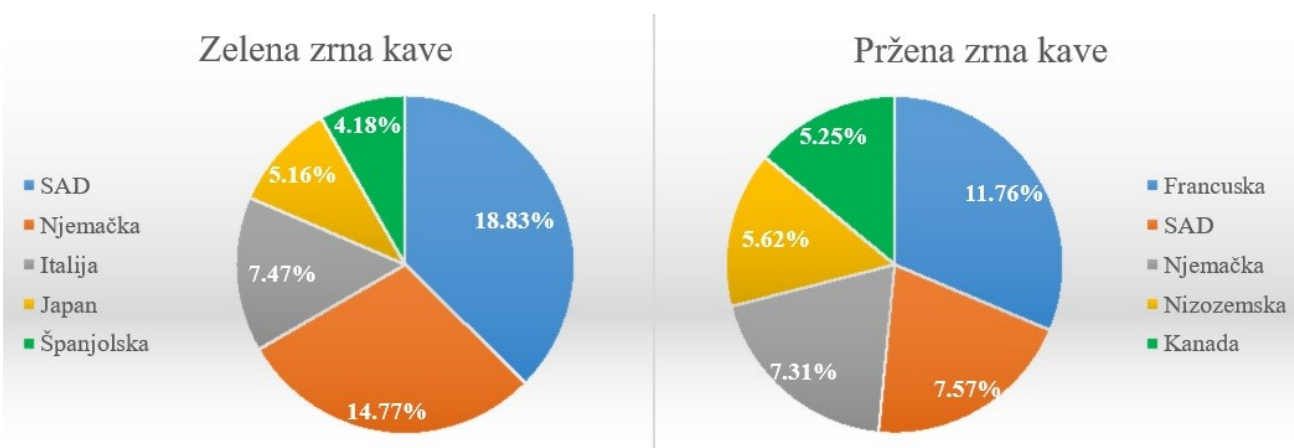
Tablica 1. Prikaz podataka uvoza i izvoza zelenih (ZK) i prženih zrna kava (PK) u Hrvatskoj (FAO, 2022)

Zemlja	Godina	Uvoz		Izvoz	
		ZK	PK	ZK	PK
Hrvatska	2015.	16614	4318	208	1909
	2016.	17974	5104	584	3425
	2017.	15820	4913	103	2706
	2018.	15653	5184	234	2939
	2019.	15520	5921	257	3013

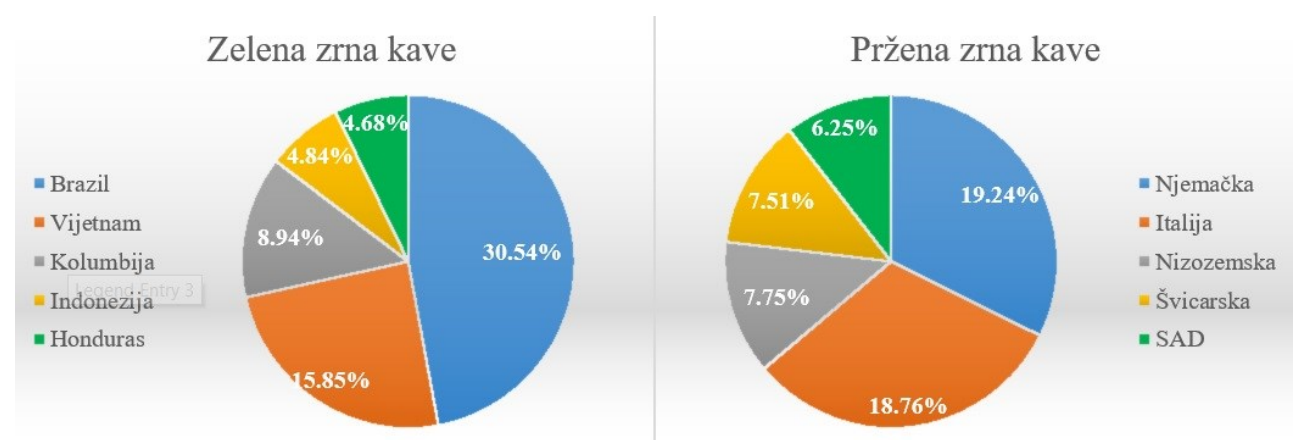
U razdoblju od 2015. – 2020. godine najveći proizvođači zelenih zrna kave bili su redom Brazil, Vijetnam, Kolumbija, Indonezija i Etiopija, s izuzetkom 2017. godine gdje je 5. mjesto zauzeo Honduras. 2020. godine Brazil je proizvodio 34,25 % ukupnog svjetskog uzgoja, a slijedili su ga Vijetnam (16,33 %), Kolumbija (7,72 %), Indonezija (7,16 %) i Etiopija (5,41 %). Što se tiče proizvodnje prženih zrna kava u razdoblju 2015. – 2019. godine, prva tri mjesta zauzeli su SAD, Njemačka i Italija, dok su se na četvrtom i petom mjestu izmjenjivali Francuska, Španjolska i Ujedinjeno Kraljevstvo.

Na slikama 2 i 3 prikazani su najveći uvoznici i izvoznici zelenih i prženih zrna kava u 2020. godini širom svijeta. Najveći uvoznici zelenih zrna kave bili su SAD (1 427 849 t), Njemačka (1 120 426 t), Italija (566 783 t), Japan (391 611 t) i Španjolska (317 417 t), dok su najveći uvoznici prženih zrna kava bili Francuska (151 048 t), SAD (97 226 t), Njemačka (93 904 t), Nizozemska (72 196 t) i Kanada (67 418 t). Nasuprot tome, najveći izvoznik zelenih

zrna kave bio je Brazil s 2 372 633 t, a slijedili su ga Vijetnam (1 231 314 t), Kolumbija (694 928 t), Indonezija (375 671 t) i Honduras (363 400 t). Među izvoznicima prženih zrna kava dominirala je Njemačka s 245 626 t. Slijedile su je Italija (239 579 t), Nizozemska (98 949 t), i Švicarska (95 858 t) i SAD (79 771 t). Najveći proizvođači zelenih zrna kave ujedno su i najveći izvoznici. (FAO, 2022). Tako je Brazil u siječnju 2020. godine izveo najveću količinu kave i to otprilike 3,22 milijuna vreća od 60 kg, a slijedili su ga Vijetnam s 2,3 i Kolumbija s 1,07 milijuna vreća kave od 60 kg. Procjenjuje se da je u svijetu uvezeno ukupno oko 133,03 milijuna vreća kave od 60 kg, a izvezeno oko 142,37 milijuna vreća kave od 60 kg u razdoblju tijekom 2020./2021 (Statista, 2022a).



Slika 2. Uvoz zelenih i prženih zrna kave 2020. godine (FAO, 2022)



Slika 3. Izvoz zelenih i prženih zrna kave 2020. godine (FAO, 2022)

U 2020./2021. godini proizvedeno je 175,35 milijuna vreća kave od 60 kg (Statista, 2022b), a konzumirano oko 166,63 milijuna (Statista, 2022c), za razliku od 2019./2020. godine kada je proizvedeno nešto manje kave u iznosu od 165 milijuna (Statista, 2022b), a konzumirano oko 164 milijuna vreća kava od 60 kg (Statista, 2022c).

Oko 30 – 40 % populacije širom svijeta konzumira kavu svaki dan, dok u SAD-u ta brojka iznosi oko 65 %. Statistike pokazuju da stanovnici sjevernoeuropskih država piju najviše kave po glavi stanovnika. Ističu se Finska, Nizozemska i Švedska s konzumacijom oko 9 – 10 kg kave po osobi godišnje. Talijani popiju 6,69 kg kave, a Amerikanci i Španjolci oko 4,30 kg kave po osobi godišnje. Stanovnici azijskih država poput Kine, Rusije i Turske preferiraju konzumaciju instant kave. Nadalje, preferiraju je i stanovnici Australije te stanovnici nekih latinoameričkih zemalja. Kavu najčešće konzumiraju ljudi u dobi od 16 do 26 godina te svaki drugi student počinje dan sa šalicom kave. Procjenjuje se da oko 78 % studenata koji konzumiraju kavu prelaze sigurnu dnevnu dozu kafeina, što znači da piju više od 3 šalice od 200 mL dnevno kave. Ovisno o spolu, procjenjuje se da u SAD-u 50 % muškaraca konzumira kavu (2,22 šalice dnevno) te 33 % žena (1,79 šalice dnevno). Muškarci pretežito preferiraju običnu crnu kavu ili espresso s dodatkom šećera, dok žene više preferiraju kavu s mlijekom, često s dodatkom šećera ili njegovih zamjena (Hudyakova, 2020). Hrvati konzumiraju i do 6 kg kave godišnje po osobi što ih svrstava na 20. mjesto najvećih konzumenata kave (Novak, 2021).

2.3. KEMIJSKI I BIOAKTIVNI SASTAV KAVE

Osim što je kafein najpoznatija komponenta kave, zrna sadrže i celulozu, mineralne tvari, šećere, lipide, tanine i polifenole. Od mineralnih tvari sadrže natrij, magnezij, kalcij, kalij, cink, mangan, rubidij, željezo, bakar, krom, barij, vanadij, stroncij, nikal, kadmij, olovo, molibden, titan i kobalt (Mussatto i sur., 2011). Dominantnu skupinu spojeva u zelenim zrnima kava čine ugljikohidrati i to 60 % suhe mase. Uključeni su netopljivi i netopljivi polisaharidi (arabinogalaktan, galaktomanan i celuloza), oligosaharidi (rafinosa i stahioza), disaharidi (saharoza) te monosaharidi (riboza, arabinoza, fruktoza, manitol, manoza, ksiloza (Ludwig i sur., 2014), glukoza i galaktoza (Mussatto i sur., 2011). Lipidi se nalaze u rasponu 8 – 18 % s. tv. Frakcija lipida najviše se sastoji od triglicerida (75 %), a ostalo čine steroli (sitosterol i stigmasterol), masne kiseline (linolenska, linolna, oleinska, palmitinska, arahidna, stearinska,

lignocerinska i behenska kiselina), diterpeni (kafestol, kahweol) i masni acil triptamidi. Proteini, peptidi i slobodne masne kiseline čine 9 – 16 % suhe mase zelenih zrna kava. Glavne prisutne aminokiseline su: asparagin, glutaminska i asparaginska kiselina, lizin te alanin (Ludwig i sur., 2014). Također, ima i alanin, asparagina, arginina, cisteina, glicina, glutaminske kiseline, histidina, izoleucina, lizina, leucina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, tirozina, treonina i valina (Mussatto i sur., 2011).

Polifenoli u zelenim zrnima kave čine oko 6 – 10 % suhe mase. Glavnu komponentu čine klorogenske kiseline i to kafeoil kininske kiseline, među kojima je dominantna 5-kafeoil kininska kiselina zajedno s feruloil kininskom kiselinom i dikafeoil kininskom kiselinom. Uz njih, prisutno je više od 50 drugih strukturno srodnih cinamoil kininskih kiselina te konjugata cinamoil aminokiseline i cinamoil glikozida. U kavi se nalaze i spojevi poput trigonelina, teobromina i teofilina. Trigonelina čini oko 1 % suhe mase zelenih zrna kave. Procesom prženja djelomično se razgrađuje na nikotinsku kiselinu i nekoliko piridin derivata (Ludwig i sur., 2014).

2.4. UTJECAJ PROCESA PRŽENJA NA IZGLED I SASTAV ZRNA

Proces prženja zrna kave na vrući zrak definira se kao termički proces s ciljem proizvodnje pržene kave poželjnog okusa te stvaranja tamne boje i porozne strukture spremne za mljevenje i ekstrakciju. Temperatura zrna treba prijeći 190 °C kako bi se aktivirale kemijske reakcije tipične za proces prženja. Prolaskom vremena temperatura prženja polako raste do maksimuma nakon kojeg se proces zaustavlja naglim hlađenjem. Finalna temperatura može iznositi 200 – 250 °C i proces prženja obično traje od 3 do 20 minuta (Schenker i Rothgeb, 2017). Dolazi do promjena boja zelenkasto sivo plavog zrna u žutu, narančastu, smeđu, tamno smeđu i konačno u crnu (Schenker, 2000). Najbolji pokazatelj stupnja prženja i najvažniji kriterij kvalitete upravo je boja zrna kave. Povećanje temperature prženja uzrokuje kemijske reakcije, dehidraciju i promjene mikrostrukture zrna kava (Schenker i Rothgeb, 2017). Dolazi do povećanja volumena i bubrenja zrna. Mikrostruktura se mijenja od guste do vrlo porozne strukture te se povećanjem volumena zrna postupno povećava i poroznost (Schenker i sur., 1999). Također, proces prženja dovodi i do gubitka vode gdje zrna koja početno imaju veći udjel vode gube više tijekom prve faze prženja, ali završavaju sa sličnim udjelom vode, kao i ostala zrna (2,5 %). U zrnima isto tako nastaje znatna količina vode koja zatim isparava procesom prženja. Nakon što se udjel vode smanji ispod

određene kritične vrijednosti, neke od kemijskih reakcija se usporavaju. Nadalje, suha tvar djelomično se pretvara u hlapljive komponente. Dolazi i do pretvorbe organskih tvari u plin i hlapljive komponente, gubitka srebrne pokožice, prašine i fragmenata zrna. Zrna kave mogu izgubiti 12 – 20 % mase tijekom prženja, ovisno o kvaliteti zelenog zrna i parametrima prženja. Kako proces prženja uništava nativnu biološku strukturu stanice, tlak plina unutar zrna uzrokuje izlazak ulja kroz mikrokanele u staničnoj stijenci te dolazi do pojave kapljica ulja na površini zrna (Schenker i Rothgeb, 2017). Tijekom procesa prženja odvijaju se neke od najvažnijih kemijskih reakcija koje utječu na ugljikohidrate, poput Maillard-ovih reakcija, Strecker-ove razgradnje, pirolize i karamelizacije. Također, dolazi do denaturacije i razgradnje proteina te mnogih kiselina (Illy i Viani, 1995). Tijekom pirolize i Maillard-ovih reakcija dolazi do nastanka znatne količine plina (CO₂, CO i N₂) gdje se jedan dio oslobađa u atmosferu tijekom prženja, a drugi, veliki dio ostaje zarobljen unutar zrna i oslobađa se tijekom skladištenja. Što se tiče hlapljive frakcije pržene kave, ona sadrži više od 1000 spojeva. Prvi stupanj prženja važan je za nastanak prekursora aroma gdje ne nastaju velike količine tvari odgovornih za aromu. Većina komponenata arome nastaje tijekom srednjeg stupnja prženja i srednjeg stupnja dehidracije zrna s udjelom vode koja varira od 7 do 2 %. Pri visokoj temperaturi zbog toplinske razgradnje dolazi do raspada većine aromatičnih tvari poput pirazina, dok s druge strane dolazi do nastanka određenih aromatičnih tvari poput gvajakola. Ovisno o stupnju i vremenu prženja nastaju specifični okusi. Isto tako, proces prženja utječe na senzorska svojstva. S višim stupnjem prženja dolazi do povećanja gorčine kave. Laktoni klorogenske kiseline koji nastaju razgradnjom klorogenske kiseline tijekom prženja, odgovorni su za gorčinu kave, dok kafein doprinosi samo 10 – 20 % ukupnoj gorčini. Dalje, laktoni klorogenske kiseline razgrađuju se na fenilindane koji su odgovorni za dugotrajan oštar okus gorčine u tamno prženoj kavi. Na senzorska svojstva kave značajno utječu limunska, jabučna, octena i mravlja kiselina (Schenker i Rothgeb, 2017). Procesom prženja smanjuje se koncentracija limunske i jabučne kiseline (Maier, 1987). Nasuprot tome, octena i mravlja kiselina nastaju iz prekursora ugljikohidrata tijekom početnih faza prženja, ali se konačnici razgrađuju pri višim temperaturama tijekom završnih faza prženja (Schenker i Rothgeb, 2017).

2.5. UTJECAJ KAVE I KAFEINA NA ZDRAVLJE ČOVJEKA

Uobičajena konzumacija kave može smanjiti rizik od pojave Alzheimerove i Parkinsonove bolesti te ima povoljan utjecaj na funkciju jetre i smanjenje tjelesne mase time što je povećana

potrošnja energije, brzina metabolizma, lipidna oksidacija i termogeni efekt. Također, smanjuje rizik od nastanka određenih karcinoma poput karcinoma jetre, prostate, endometrija i kolorektalnog karcinoma. Nadalje, konzumacija kave utječe i na smanjenje rizika od dijabetesa tipa 2 gdje svaka dodatna šalica smanjuje rizik od bolesti za 7 %. Unos kave obrnuto je povezan i sa smrtnošću (Mejia i sur., 2014). Bioaktivne komponente prisutne u kavi mogu smanjiti oksidativni stres i poboljšati crijevnu mikrofloru te modulirati metabolizam glukoze i masti (Dam i sur., 2020).

Pokazalo se da nema povezanosti između konzumacije kave s pojavom želučanog i duodenalnog ulkusa te refluksnog ezofagitisa i neerozivne refluksne bolesti.

Najzastupljeniji aktivni sastojak kave je kafein koji može utjecati pozitivno i negativno na zdravlje čovjeka. Jedna od negativnih posljedica kafeina je to što uzrokuje smanjenje tolerancije na glukozu i izaziva povećanu glikemiju. S druge strane, ostali bioaktivni spojevi prisutni u kavi mogu spriječiti ovaj efekt promjenom apsorpcije glukoze, metabolizma glukoze u jetri, oslobađanja inkretina i inzulinske osjetljivosti. Također, pokazalo se da konzumacija kave ima štetne učinke na serumski kolesterol, krvni tlak i plazmatski homocistein. Isto tako, ima utjecaj na koncentraciju epinefrina i hiperglikemiju, iako je taj utjecaj slabiji u odnosu na unos čistog kafeina. Suprotno tome, drugi bioaktivni spojevi u kavi mogu imati povoljne učinke na biološke puteve uključene u razvoj koronarne bolesti srca. Unos kave povezuje se i s gubitkom koštane mase i nižom koštanom gustoćom i prijelomima. Trudnice ne bi trebale unositi više od 300 mg kafeina dnevno jer inače postoji rizik od slabog rasta fetusa i spontanog pobačaja. Prekomjeran unos kafeina uzrokuje glavobolju, mučninu, anksioznost, hipertenziju i nemir (Mejia i sur., 2014).

2.6. TEHNIKE PRIPREME NAPITKA KAVE

Posljednji korak prije konzumacije kave čini proces pripreme napitka (slika 4), odnosno kuhanje kave (Cordoba i sur., 2020) i omogućuje ekstrakciju molekula mirisa i okusa iz pržene i mljevene kave. Postoje različite tehnike pripreme ovisno o podrijetlu, kulturi i preferencijama potrošača (Mestdagh i sur., 2017). Okus je jedan od najvažnijih parametara kvalitete kave. Na proces ekstrakcije i okus kave utječu različiti faktori poput vremena ekstrakcije, sastava i temperature vode, tlaka, veličine čestica, omjera vode i kave i dr. Tvari prisutne u zelenim zrnima

kave procesom prženja prelaze u hlapljive i nehlapljive komponente koje se tijekom procesa pripreme napitaka ekstrahiraju vrućom vodom iz mljevene kave i raspoređuju između čvrstih, vodenih i uljnih faza. Ekstrakcija kave može se provoditi tehnikom dekokcije (turska, kuhana, vakuum i perkolator kava), tehnikom infuzije (*Naepolitan* i filter kava) i tehnikom pritiska (Moka, Plunger i espresso kava). Dekokciju karakterizira produljeni kontakt kave i vode, kod infuzije vruća voda prolazi kroz sloj kave, dok je kod tehnika pritiska tlak odgovoran za prolazak vode kroz „kolačić“ od kave napravljen od mljevene kave (Cordoba i sur., 2020).



Slika 4. Tehnike pripreme napitka kave: a) turska kava; b) espresso; c) *Naepolitan* kava; d) filter kava; e) Moka kava, f) *French press* kava (Barts, 2021; KoeppiK, 2020; Verch, 2019; Xenon 77, 2015; Teepetersen, 2014; Bayburs, 2013; Csant, 2007)

2.6.1. Turska kava

Turska kava priprema se kuhanjem fino mljevene kave u vodi. Pri visokim temperaturama dolazi do difuzije topljivih tvari i ekstrakcije spojeva koji su manje topivi u vodi i doprinose intenzivnom i gorkom okusu s okusom tamne čokolade. Kada se postigne temperatura vrenja,

zagrijavanje se zaustavlja. Prije posluživanja treba pričekati da se talog slegne. Omjer vode/kave obično iznosi 20 mL/g (Mestdagh i sur., 2017).

2.6.2. *Naepolitan* kava

Napitak se priprema u *Naepolitan* posudi koja za razliku od Moka posude ne koristi tlak za prolazak vode kroz kavu već gravitaciju, isto kao i kod pripreme filter kave. Razlika je jedino u tome što se kod pripreme *Naepolitan* kave, mljevena kava nalazi između 2 perforirana filtera i time je spriječen prolazak granula kave u napitak. Kako bi se dobilo 75 mL napitka, za pripremu se koristi 15,4 g mljevene pržene kave i 145 mL vode. Ekstrakcija se provodi 5 minuta pri 90 °C na početku procesa, a do kraja temperatura vode poraste za oko 60 °C (Caporaso i sur., 2014).

2.6.3. Filter kava

Filter kavu možemo pronaći i pod nazivom *drip coffee* ili *American coffee*. Kava se priprema u aparatu koji se sastoji od staklene posude i posebnog filtera. Nakon što se mljevena kava stavi u posebni filter, aparat pušta vruću vodu koja prolazi kroz filter i napitak se skuplja u staklenoj posudi. Kako bismo dobili 230 mL napitka, uzima se 25 g mljevene pržene kave i 300 mL vode. Ekstrakcija traje oko 2 minute pri 90 °C (Caporaso i sur., 2014).

2.6.4. *French Press*

French press kava priprema se u *French press* vrču gdje se krupnije mljevena kava pomiješa s vrućom vodom i stoji 2 – 5 minuta. Duža ekstrakcija može povećati intenzitet i gorčinu, a kraća ekstrakcija pojačava kiselost i slatkoću. Nakon stajanja, klip koji sadrži uređaj za filtriranje koristi se za odvajanje taloga i napitka. U napitku zaostaje više taloga u odnosu na *drip coffee* zbog relativno neučinkovite filtracije metalnom mrežicom. Također, prešanje kave povećava udjel ulja u finalnom napitku. Omjer vode/kave iznosi 15 mL/20 g (Mestdagh i sur., 2017).

2.6.5. Espresso

Tradicionalni talijanski espresso priprema se u perkolatoru za kavu od sloja pržene i mljevene kave ($7 \pm 0,5$ g) i vruće (88 ± 2 °C) vode pod tlakom (9 ± 1 bar) kroz kratko vrijeme (25 ± 5 s). Dobije se 25 – 40 mL napitka. Ujedno postoje i trendovi u kojima se povećava omjer kave i vode na 20 g kave za 40 mL vode. Tlak tijekom ekstrakcije ima veliki utjecaj na okus napitka.

Noviji aparati za espresso posjeduju funkcije kontrole parametara ekstrakcije poput protoka vode i tlaka tijekom ekstrakcije. Espresso koji je pripremljen s grublje mljevenom kavom sadržavao je niži aromatični profil u usporedbi sa slojem fino mljevene kave. S druge strane, sloj fino mljevene kave može otežavati procjeđivanje vode. U današnje vrijeme popularne su kapsule za espresso aparate (Mestdagh i sur., 2017). Budući da na filter papiru zaostaju lipofilne molekule, u espresso kavama koncentracije lipida bile su veće u odnosu na kave pripremljene pomoću uređaja za filtriranje (*drip coffee*) (Cordoba i sur., 2020).

2.6.6. Moka kava

Moka kava priprema se u Moka posudi koja se sastoji od 3 komore. U donjoj komori nalazi se voda ili para pod pritiskom koja prolazi kroz sloj kave u srednjoj komori. Napitak se skuplja u gornjoj komori. U odnosu na pripremu espressa, ovom metodom se ne dobiva krema te je tlak znatno niži. Pri prekomjernoj ekstrakciji dolazi do povećanja temperature i tlaka čime se bolje otapaju spojevi odgovorni za gorčinu i oporost. Kako bi se to spriječilo ekstrakciju treba završiti na vrijeme (prvi dolazak vode u gornju komoru). Vrijeme pripreme Moka kave iznosi 3 – 5 minuta, a omjer vode/kave je 9 mL/15 g (Mestdagh i sur., 2017).

2.6.7. Hladna kava i ledena kava

Hladna kava priprema se pomoću hladne vode tehnikom prelijevanja, uranjanja ili *French press* tehnikom pri sobnoj temperaturi (Mestdagh i sur., 2017). Vrijeme i tehnika pripreme napitka utječe na koncentraciju kafeina, trigonelina i klorogenske kiseline te na okus (Cordoba i sur., 2020). S druge strane, ledena kava priprema se vrućom vodom isto kao i filter kava gdje se napitak nakon ekstrakcije ohladi i poslužuje s ledom. Budući da nedostaje toplina, kod pripreme hladne kave ne dolazi do ekstrakcije nekih niskopolarnih tvari poput ulja. Suprotno tome, polarniji spojevi se dobro ekstrahiraju. Hladna kava treba odstajati 2 – 24 h, a omjer vode/kave iznosi 4 mL/15 g (Mestdagh i sur., 2017). U SAD prodaja hladne kave porasla je 460 % od 2015. – 2017. godine. U odnosu na kuhanu kavu vrućom vodom, u hladnoj kavi prevladava slatkoća i prisutne su note čokolade (Cordoba i sur., 2020).

2.7. DEKAFEINIZACIJA KAVA

Danas se u procesu dekafeinizacije koriste obično sljedeća 4 ekstrakcijska otapala: diklormetan (DCM), voda, etilni acetat i ugljikov dioksid u superkritičnom i tekućem stanju. Proces dekafeinizacije može uzrokovati negativne posljedice poput gubitka arome, promjena u strukturi i veličini zrna, gubitka mase, promjena u izgledu zrna i mogu zaostati ostaci otapala. Procesi dekafeinizacije mogu dovesti do povećanja kiselosti te ekstrakcija s etilnim acetatom može dovesti do pojačane voćne note kave. Analize su pokazale smanjenje sljedećih komponenata u dekafeiniziranim kavama: pirazin, furfural, N-metilpirol i 5-metil-2furankarboksialdehid. Ekstrakcija s DCM dovela je do smanjenog stvaranja zemljanih komponenata (pirazin). Proces dekafeinizacije uzrokuje gubitak svježih zelene boje zrna kave te ono postaje žućkasto ili smečkasto. Nakon procesa primijećene su i mrlje na zrnima kava. Smanjuje se rok trajanja zbog utjecaja topline tijekom procesa i uklanjanja površinskih komponenata. Prednost ovih procesa je to što se ekstrakcijom kafeina u većoj ili manjoj mjeri uklanja i mikotoksin ohratoksin A (Pietsch, 2017).

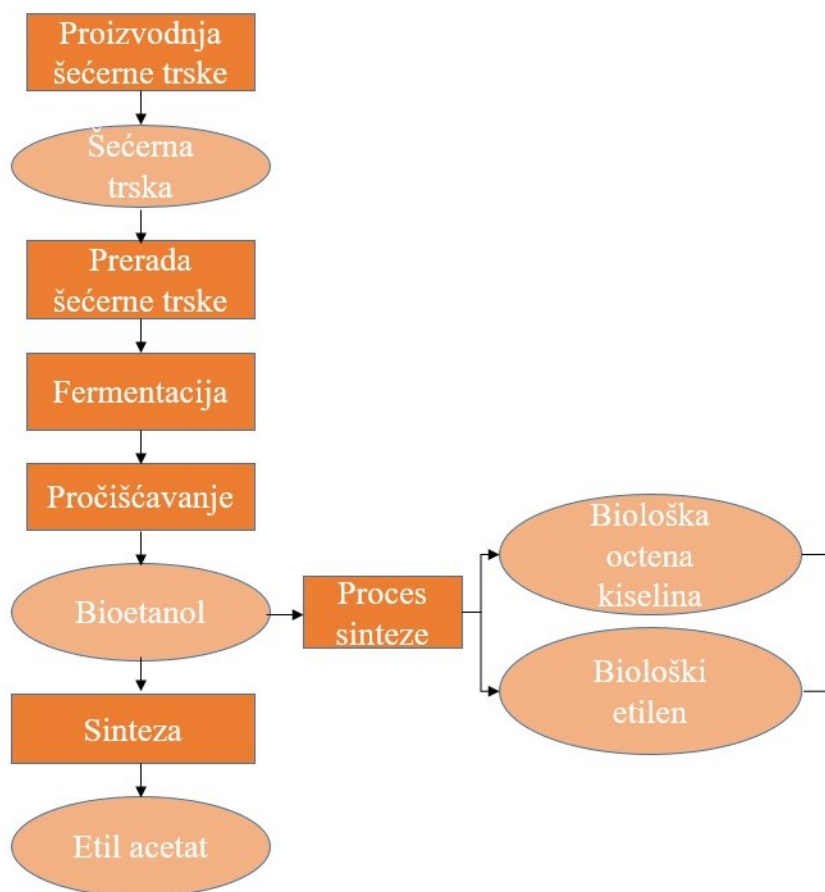
2.7.1. Ekstrakcija organskim otapalima

Od organskih otapala obično se koriste DCM i etilni acetat. Zrna kava prvo se dovode u kontakt s parom ili vodom kako bi se povećao udjel vode s 10 na 25 ili čak 40 % te se dekafeiniziraju ekstrakcijom s organskim otapalom. Nakon ekstrakcije, ostatak organskog otapala se ocijedi i ukloni parom te se početni udjel vode vraća sušenjem zrakom. Organsko otapalo se reciklira destilacijom i dobiva se čvrsti ostatak iz kojeg se odvaja kafein te rafinira. Kako bi se minimalizirao gubitak arome proces se provodi pri niskim temperaturama bez prisutnosti zraka i završava hlađenjem (Pietsch, 2017).

2.7.1.2. *Sugar cane process*

Sugar cane process dekafeinizacija potječe iz Kolumbije. Budući da se u Kolumbiji uzgaja i šećerna trska, ovaj proces se tamo i danas na široko koristi. Proces je prirodan, siguran i ne koriste se kemikalije (Tasty Decafs, 2022). Također, prednost procesa je to što se izbjegava visoka temperatura i tlak te time zrna kave uspijevaju zadržati nativnu strukturu stanice. Zrna kave podvrgavaju se parenju pri niskom tlaku kako bi se uklonila srebrna pokožica te se vlaže vrućom vodom. Zrna se zatim ispiru s recirkulirajućim etilnim acetatom u ekstrakcijskim spremnicima.

Postupak se ponavlja par puta kako bi se ekstrahiralo 97 % kafeina. Sljedeći korak je uklanjanje ostatka etilnog acetata. Finalno se u zrnima ukloni višak vode tako da udjel vode bude u rasponu 10 – 12 % te se brzo ohlade pomoću ventilatora na sobnu temperaturu (Zest Coffee, 2021). Etil acetat dobiva se iz šećerne trske tako da se prvo fermentacijom melase iz šećerne trske dobije etanol koji se zatim pomiješa s octenom kiselinom (slika 5). Ovim procesom dekafeinizacije ne narušava se stanična struktura zrna već se poveća slatkoća napitka kave (Souba, 2019).



Slika 5. Sinteza etil acetate iz šećerne trske (prema Thuy i sur., 2010)

2.7.2. Ekstrakcija vodom

Budući da se topljivost kafeina u vodi povećava povišenjem temperature, ekstrakcija se provodi vrućom vodom pri atmosferskom tlaku. Potrebno je provesti proces bubrenja zrna vlaženjem ili parenjem zrna. Isto tako, proces se može provesti i unutar ekstraktora. Ekstrakcija traje 8 h i provodi se pomoću perkolacijskih kolona. Pri ekstrakciji vodom prekursori arome, poput

šećera, biti će djelomično koekstrahirani. Ovaj problem se može izbjeći tako da se spriječi otapanje nekafeinskih tvari u vodi ili da se ekstrahirane tvari ponovno ugrade u zeleno zrno kave. Kako bi se one ponovno ugradile, ekstrakt s kafeinom prvo prolazi kroz sloj adsorbensa od aktivnog ugljena gdje se zadržava kafein, a ostale tvari ostaju otopljene u vodi. Otopina se koncentrira i koristi za ponovnu ugradnju nekafeinskih tvari u zeleno zrno kave, no, prvo mora odstajati 1 – 1,5 h. Završno se provodi sušenje. Drugi način sprječavanja koekstrakcije šećera je uporaba vode iz prethodnog procesa ekstrakcije koja ne sadrži kafein, ali sadrži ostale topljive tvari iz kave. Za uklanjanje kafeina iz ove vode koristi se organsko otapalo DCM ili se voda propusti kroz sloj adsorbensa (Pietsch, 2017).

2.7.2.1. *Swiss water process*

Prije dekafeinizacije, zrna kave se natapaju u vodi kako bi se postigao udjel vlage idealan za uklanjanje kafeina. Zrna kava se zatim stavljaju u vodu koja sadrži sve topljive tvari koje se obično nalaze u kavi, samo bez kafeina, na 8 – 10 h sve dok ne ostane manje od 0,1 % kafeina u zelenim zrnima. Nakon procesa, kafein se iz otapala uklanja kroz ugljikove filtere. Tijekom dekafeinizacije, obogaćena voda se stalno nadopunjava (Swiss water process, 2021).

2.7.3. Ekstrakcija ugljikovim dioksidom pod tlakom

Ugljikov dioksid u tekućem, ali još više u superkritičnom stanju može otopiti nešto kafeina, no, opet manje nego ostala otapala. Dekafeinizacija superkritičnim ugljikovim dioksidom provodi se pri 25 MPa i 100 °C. Za početak, zrna kava se natope vodom, kao i u ostalim procesima, te se ekstrakcija provodi perkolacijom kroz kolonu. Kako bi se odvojio kafein od superkritičnog ugljikovog dioksida koriste se adsorpcija s aktivnim ugljenom ili se kolona ispiru vodom. Voda bogata kafeinom se zatim reciklira preko membrana. Moguća je ekstrakcija i s tekućim ugljikovim dioksidom pri 6,5 – 7 MPa i 20 – 25 °C, ali je potrebno više vremena jer je kafein u tim uvjetima slabije topljiv (Pietsch, 2017).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

3.1.1. Uzorci

U ovom radu istraživani su uzorci zelenih i prženih zrna kava (slika 6) podrijetlom iz Sjeverne i Južne Amerike. Oznake, vrsta te podrijetlo ispitivanih zrna kava prikazane su u tablici 2.

Tablica 2. Oznake, vrsta i podrijetlo istraživanih kava

Uzorak	Vrsta kave	Zemlja podrijetla	Regija podrijetla
ZK1	Arabica ^{d1}	Meksiko	Chiapas
ZK2	Arabica ^{d2}	Kolumbija	Huila
ZK3	Arabica	Brazil	Minas Gerais
ZK4	Arabica	Kostarika	Tarrazu Region
ZK5	Robusta	Gvatemala	Volcanic San Marcos
ZK6	Robusta	Brazil	Minas Gerais

ZK-zelena zrna kave; d1-dekafeinizirana zrna kava pomoću procesa *Swiss water process*; d2- dekafeinizirana zrna kava pomoću procesa *Sugar cane process*



Slika 6. Prikaz ispitivanih zelenih i prženih zrna kave

U tablici 3 navedeni su parametri prženja zelenih zrna kava - početna i konačna temperatura prženja te vrijeme. Prženje je provedeno u pržioniku Giesen W30A (Giesen, Ulfit, Nizozemska). „Metodom pokušaja i pogrešaka“ odabrani su optimalni parametri prženja za svaku kavu dok se nisu postigla zadovoljavajuća aroma i okus. Stupanj prženja bio je srednji za sve uzorke kava.

Tablica 3. Početna (T_P) i konačna (T_K) temperatura prženja te vrijeme

Uzorak	T_P (° C)	T_K (° C)	Vrijeme (min)
PK1	355	410	10:50
PK2	355	410	11:40
PK3	375	410	14:15
PK4	430	405	11:45
PK5	360	420	10:30
PK6	340	410	12:40

PK-pržena zrna kave

3.1.2. Kemikalije

- ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina) diamonijeve soli), Sigma-Aldrich (St. Louis, SAD)
- Acetonitril, Fisher Scientific (Hampton, New Hampshire, SAD)
- Analitički standardi polifenolnih spojeva:
 - Galna kiselina (> 97 %), Sigma-Aldrich (St. Louis, SAD)
 - Kafein, Fluka (Taufkirchen, Germany)
 - Neoklorogenska kiselina/3-O-kafeoil kininska kiselina (3-KKK; 95 %), Sigma-Aldrich (St. Louis, SAD)
 - Kriptoklorogenska kiselina/4-O-kafeoil kininska kiselina (4-KKK; > 98 %), Sigma-Aldrich (St. Louis, SAD)
 - Klorogenska kiselina/5-O-kafeoil kininska kiselina (5-KKK; > 98 %), Sigma-Aldrich (St. Louis, SAD)
 - Saharoza, Kemika (Zagreb, Hrvatska)
- DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil radikal), Sigma-Aldrich (St. Louis, SAD)
- Etanol, Gram-mol d.o.o. (Zagreb, Hrvatska)

- Folin-Ciocalteu reagens, Lach-Ner, s. r. o. (Neratovice, Češka)
- Kalijev persulfat, Sigma-Aldrich (St. Louis, SAD)
- Karamel, Frutarom (Haifa, Israel)
- Metanol, Fisher Scientific (Hampton, New Hampshire, SAD)
- Mravlja kiselina, Fisher Scientific (Hampton, New Hampshire, SAD)
- Natrijev karbonat, Lach-Ner, s. r. o. (Neratovice, Češka)
- Natrijev oksalat, Gram-mol d.o.o. (Zagreb, Croatia)
- Olovo (II) acetat, Sigma-Aldrich (St. Louis, SAD)
- Petroeleter, Kemika (Zagreb, Croatia)
- Tekućina za kupelj, Buddeberg GmbH (Mannheim, Njemačka)
- Trolox (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilna kiselina), Sigma-Aldrich (St. Louis, SAD)

3.1.3. Aparatura i pribor

Sve kemikalije i reagensi koji su se koristili u ovome radu bili su visoke analitičke čistoće ili HPLC čistoće.

- Aluminijske posudice s poklopcem
- Analitička vaga (New Classic ML204/01), Mettler Toledo (Zürich, Švicarska)
- Automatska pipeta
- Boca za odsisavanje
- Büchnerov lijevak
- Centrifuga SL 8R, Thermo Fisher Scientific Inc. (Waltham, SAD)
- Eksikator sa sredstvom za sušenje
- HPLC posude za uzorke s čepovima (viale)
- Kivete za spektrofotometar
- Kriomlin, Retsch GmbH (Haan, Njemačka)
- Kromatografska kolona Hi-Plex Ca (300 x 7,7 mm), Agilent Technologies (Santa Clara, SAD)
- Kromatografska kolona Zorbax Extend-C18 (4,6 × 250 mm, 5 µm), Agilent Technologies (Santa Clara, SAD)

- Kromatografski sustav Agilent Series 1200, Agilent Technologies (Santa Clara, SAD)
- Kvarcni pijesak, Gram-mol d.o.o. (Zagreb, Hrvatska)
- Laboratorijski sušionik ST-06, Instrumentaria d.d. (Zagreb, Hrvatska)
- Magnetska miješalica s grijačima SMHS 6, Witeg Labortechnik GmbH (Wertheim, Njemačka)
- Mikrofilteri veličine pora 0,45 µm, Supelco, (Bellefonte, PA, SAD)
- Povratno vodeno hladilo
- Rocket Espresso Milano R60V, Rocket Espresso Milano (Milano, Italija)
- Spektrofotometar (Genesys 10S UV-VIS), Thermo Fisher Scientific Inc. (Waltham, SAD)
- Vakuumska pumpa (IKA VACSTAR digital), IKA®-Werke GmbH & Co. KG (Staufen, Njemačka)
- Vodena kupelj (Inko VKZ ERN), Inkolab d.o.o. (Zagreb, Hrvatska)
- Vortex (MX-S), DLAB Scientific Co. (Beijing, Kina)
- Whatman filter papir 4, Sigma-Aldrich (St. Louis, SAD)

3.2. METODE RADA

3.2.1. Mljevenje uzoraka kave

Za mljevenje zrna kave koristio se kriomlin bez upotrebe tekućeg dušika tako da se 1/3 posude popunila s uzorkom, 1/3 posude činila je kuglica, a 1/3 ostala je prazna. Koristili su se zamrznuti uzorci kako bi se smanjilo njihovo zagrijavanje, a time i denaturacija bioaktivnih spojeva. Vrijeme rada kriomlina bilo je postavljeno na 3 min i frekvenciju 30 Hz za zelena zrna kave, a mljevena pržena zrna kava usitnjavana su 1 min na frekvenciji 30 Hz.

3.2.2. Određivanje udjela suhe tvari

U prethodno osušene, ohlađene i izvagane aluminijske posude s poklopcima odvažuje se ~0,5 g uzorka te se stave u sušionik s prislonjenim poklopcima na 105 °C. Uzorci se suše do konstantne mase, ohlade u eksikatoru i izvažuju (Padmore, 1990a). Određivanje suhe tvari provedeno je u paraleli prema formuli [1]:

$$\text{Suha tvar (\%)} = \frac{m_2 - m_1}{m_0} \times 100 \quad [1]$$

gdje je: m_0 – masa uzorka (g)

m_1 – masa prazne posude s poklopcem (g)

m_2 – masa posude s poklopcem i uzorkom nakon sušenja (g)

3.2.3. Određivanje udjela masti

Udjel masti određen je primjenom aparature po Soxhletu prema modificiranoj AOAC 920.39 metodi (Padmore, 1990b). U Soxhlet ekstraktor uspravno se postavi celulozna čahura u koju se prethodno izvaže ~ 4 g uzorka i začepi vatom. Izvagane tikvice s ravnim dnom i s 2 – 3 kuglice za vrenje spoje se na ekstraktor i pomoću lijevka ulije se petroleter u volumenu 2 ekstraktora te se započne zagrijavanje. Ekstrakcija se provodi ~ 7,5 h. Nakon završene ekstrakcije uzorci se suše u sušioniku na 105 °C do konstantne mase. Prije svakog vaganja tikvice s uzorkom se hlade u eksikatoru. Udjel ekstrahirane masti izračunavamo prema formuli [2]:

$$\text{Masti (\%)} = \frac{m_2 - m_1}{m_0} \times 100 \quad [2]$$

gdje je: m_0 – početna masa uzorka u celuloznoj čahuri (g)

m_1 – masa prazne tikvice zajedno s kuglicama za vrenje (g)

m_2 – masa tikvice s kuglicama za vrenje i ekstrahiranom masti (g)

Rezultati su izraženi kao postotak (%) masti na suhu tvar uzorka (% s. tv.). Određivanje udjela masti provedeno je u paraleli.

3.2.4. Određivanje udjela saharoze

Za određivanje saharoze korišteni su vodeni ekstrakti uzoraka pripremljeni miješanjem ~ 1g uzorka i 50 mL vode na 90 °C kroz 45 min. Nakon ekstrakcije slijedilo je centrifugiranje (9500 rpm, 15 min). U odmjernu tikvicu od 50 mL prebačen je supernatant i dodan je 1 mL zasićene otopine neutralnog olovnog acetata te dobro promiješan i nadopunjen vodom do oznake. Vodeni ekstrakti uzoraka su profiltrirani pomoću filter papira (Whatman® filter papers 4) te je dodan natrijev oksalat kako bi se istaložio višak olova korišten u procesu pročišćavanja. Tako pročišćeni uzorci korišteni su za HPLC analizu saharoze. Određivanje saharoze provedeno je kromatografijom hidrofilnih interakcija na Hi-Plex Ca koloni pomoću kromatografskog sustava

Agilent 1200 Series i refrakcijskog detektora. Volumen injektiranja uzorka iznosio je 10 μL , a uspostavljena je izokratna elucija analita pri protoku od 0,6 mL min^{-1} . Temperatura kromatografske kolone iznosila je 80 $^{\circ}\text{C}$, a detektora 40 $^{\circ}\text{C}$. Mobilnu fazu činila je voda. Saharoza je identificirana usporedbom retencijskog vremena s komercijalno dostupnim standardom, a kvantificirana korištenjem jednadžbe baždarne krivulje [3] dobivene primjenom standarda saharoze (20 – 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$).

$$y = 175,68x - 74,999 \quad [3]$$

Rezultati su izraženi kao postotak saharoze na suhu tvar uzorka (% s. tv.) Određivanje udjela saharoze provedeno je u paraleli.

3.2.5. Određivanje udjela melanoidina

Za određivanje melanoidina pripremljeni su vodeni ekstrakti prženih kava na isti način kao i za određivanje saharoze, samo bez koraka pročišćavanja. Udjel melanoidina kvantificiran je spektrofotometrijski mjerenjem apsorbancije na 420 nm pomoću jednadžbe baždarne krivulje [4] izrađene pomoću otopine karamela različitih koncentracija (250 – 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$) (Iriondo-DeHond i sur., 2020).

$$y = 1,2965x + 0,1623 \quad [4]$$

Rezultati su izraženi kao postotak (%) karamel melanoidina na suhu tvar uzorka (% KM g^{-1} s. tv.) Određivanje udjela melanoidina u prženim kavama provedeno je u tri paralele.

3.2.6. Karakterizacija bioaktivnog sastava

3.2.6.1. Ekstrakcija bioaktivnih spojeva

U tikvicu s okruglim dnom pomiješa se ~ 1 g uzorka i 20 mL 70 %-tnog (v/v) etanola. Dvostruka kontinuirana ekstrakcija provodi se 25 min pri 85 $^{\circ}\text{C}$ na magnetskoj miješalici s grijaačima i s povratnim vodenim hladilom. Sakupljeni filtrat obje ekstrakcije prebaci se u odmjernu

tikvicu od 50 mL i nadopuni do oznake 70 %-tnim etanolom. Dobiveni etanolni ekstrakti dodatno su centrifugirani (9500 rpm, 10 min, 4 °C). Ekstrakcija je provođena u paraleli.

3.2.6.2. *Određivanje udjela ukupnih polifenola*

U epruvetu se otpipetira i dobro promiješa 3,95 mL destilirane vode, 50 µL razrijeđenog etanolnog ekstrakta, 250 µL Folin-Ciocalteu reagensa (pomiješanog s vodom u omjeru 1:2) i 750 µL 20 %-tne (w/v) otopine natrijevog karbonata. Nakon 2 h mjeri se apsorbancija na 765 nm. Potrebno je napraviti i slijepu probu gdje se umjesto etanolnog ekstrakta otpipetira 50 µL destilirane vode. Konačan rezultat apsorbancije (ΔA) dobiva se oduzimanjem apsorbancije slijepa probe od apsorbancije uzorka. Udjel ukupnih polifenola računa se pomoću jednadžbe baždarne krivulje [5]. Baždarna krivulja napravljena je pomoću otopina galne kiseline različitih koncentracija (25–200 µg mL⁻¹), a prikazuje ovisnost apsorbancije o koncentraciji standarda (mg L⁻¹).

$$y = 0,0010x - 0,0001 \quad [5]$$

Rezultati se izražavaju kao mg ekvivalenata galne kiseline na suhu tvar uzorka (mg EGK g⁻¹ s. tv.) (Singleton i Rossi, 1965). Određivanje udjela ukupnih polifenola provedeno je u paraleli.

3.2.6.3. *Određivanje antioksidacijskog kapaciteta ABTS metodom*

U epruvetu se otpipetira 20 µL razrijeđenog etanolnog ekstrakta i 2 mL otopine ABTS⁺ radikala. Apsorbancija reakcijske smjese mjeri se nakon 6 min stajanja u zamračenom prostoru na 734 nm. Potrebno je pripremiti i slijepu probu gdje se umjesto etanolnog ekstrakta otpipetira 20 µL etanola. ΔA dobiva se oduzimanjem apsorbancije slijepa probe od apsorbancije uzorka. Antioksidacijski kapacitet se izračunava pomoću jednadžbe baždarne krivulje [6]. Baždarna krivulja izrađena je pomoću standarda Trolox-a pri različitim koncentracijama (25–200 µmol mL⁻¹), a prikazuje ovisnost apsorbancije o koncentraciji standarda (mmol L⁻¹).

$$y = 0,303x + 0,0006 \quad [6]$$

Rezultati se izražavaju kao mmol Trolox-a na suhu tvar uzorka ($\text{mmol Trolox g}^{-1}$ s. tv. uzorka (Re i sur., 1999). Određivanje antioksidacijskog kapaciteta ABTS metodom provedeno je u paraleli.

3.2.6.4. *Određivanje antioksidacijskog kapaciteta DPPH metodom*

U epruvetu se otpipetira 100 μL razrijeđenog etanolnog ekstrakta i 3,9 mL 0,094 mM otopine DPPH i dobro pomiješa. Nakon 30 min mjeri se apsorbancija na 515 nm. Za pripremu slijepe probe koristi se 100 μL metanola umjesto etanolnog ekstrakta. ΔA dobiva se oduzimanjem apsorbancije slijepe probe od apsorbancije uzorka. Antioksidacijski kapacitet izračunava se pomoću jednadžbe baždarnе krivulje [7]. Baždarna krivulja izrađena je pomoću standarda Trolox-a pri različitim koncentracijama (25–200 $\mu\text{mol mL}^{-1}$), a prikazuje ovisnost apsorbancije o koncentraciji standarda (mmol L^{-1}).

$$y = 0,603x - 0,006 \quad [7]$$

Rezultati se izražavaju kao mmol Trolox-a po suhoj tvari uzorka ($\text{mmol Trolox g}^{-1}$ s. tv.) (Brand-Williams i sur., 1995). Određivanje antioksidacijskog kapaciteta DPPH metodom provedeno je u paraleli.

3.2.6.5. *Određivanje udjela pojedinačnih polifenolnih spojeva i kafeina*

Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (engl. *High performance liquid chromatography, HPLC*) sastoji se od degazera, kvarterne pumpe, automatskog injektora, termostata kolone, kromatografske kolone i detektora s nizom dioda (engl. *Diode-Array Detector, DAD*). Za određivanje polifenolnih spojeva koristile su se 2 mobilne faze: 1%-tna (v/v) otopina mravlje kiseline u destiliranoj vodi (A) i 1%-tna (v/v) otopina mravlje kiseline u acetonitrilu (B). Režim elucije prikazan je u tablici 4. Etanolni ekstrakti su prije analize profiltrirani kroz mikrofiltere veličine pora 0,45 μm u HPLC vialice. Volumen injektiranja uzorka iznosio je 5 μL , a protok 1 mL min^{-1} . Temperatura kromatografske kolone iznosila je 25 $^{\circ}\text{C}$. Usporedbom retencijskog vremena korištenih analitičkih standarda polifenolnih spojeva i apsorpcijskih spektara snimljenih u valnom području od 190 do 400 nm, identificirani su pikovi na kromatogramima. Identificirani polifenolni spojevi kvantificirani su pomoću jednadžbi baždarnih krivulja standarda

različitih koncentracija ($20\text{--}100\ \mu\text{g mL}^{-1}$) prikazanih u tablici 5. Određivanje bioaktivnih spojeva HPLC metodom provedeno je u paraleli.

Tablica 4. Elucija uzoraka s dvokomponentnom mobilnom fazom

Vrijeme (min)	A (%)	B (%)
0	93	7
5	93	7
45	60	40
47	30	70
52	30	70

A-1%-tna otopina mravlje kiseline u destiliranoj vodi; B-1%-tna otopina mravlje kiseline u acetonitrilu

Tablica 5. Valne duljine detekcije i jednadžbe baždarnih krivulja standarda

Polifenolni spoj	Maksimum apsorpcijskog spektra (nm)	Jednadžba baždarne krivulje	R ²
Neoklorogenska kiselina	320	$y = 19,1640x - 1,0486$	0,99
Klorogenska kiselina	320	$y = 15,6120x - 19,738$	0,99
Kriptoklorogenska kiselina	320	$y = 16,1500x - 0,7988$	0,99
Kafein	278	$y = 14,5250x - 0,6509$	0,99

3.2.6.6. Određivanje ekstraktibilne suhe tvari

Udjel ekstraktibilne suhe tvari u etanolnim ekstraktima određen je sušenjem uzoraka do konstantne mase sljedeći postupak opisan u poglavlju 3.2.2. Razlika je u tome što se kod određivanja udjela ekstraktibilne suhe tvari koristi kvarcni pijesak kao pomoćni materijal te ga oznake m1 i m2 sadrže u odvagi. Određivanje udjela ekstraktibilne suhe tvari provedeno je u paraleli.

3.2.7. Priprema napitaka kave

Pripremljene su 3 vrste napitaka koristeći analizirane pržene kave - espresso, turska i filter kava. Espresso kava pripremljena je u aparatu za kavu Rocket Espresso Milano R60V s omjerom kava/vode 1 g:20 mL. Turska kava pripremljena je zagrijavanjem mješavine kave i vode do vrenja

(1 g:10 mL). Vrenje je zaustavljeno nakon pojave pjene na površini napitka. Filter kava pripremljena je prelijevanjem vruće vode (92 °C) preko kave (1 g:15 mL) te je profiltrirana.

4. REZULTATI I RASPRAVA

Cilj ovog istraživanja bio je formulirati blendove kave smanjenog udjela kafeina na osnovu prethodno određenog kemijskog i bioaktivnog sastava 6 različitih vrsta kave. Stoga su u ovome poglavlju prikazani i uspoređeni rezultati kemijskog i bioaktivnog sastava zelenih i prženih zrna kava podrijetlom iz Sjeverne i Južne Amerike, napitaka pripremljenih od odabranih prženih kava te finalnih blendova kava.

4.1. KARAKTERIZACIJA OSNOVNOG KEMIJSKOG SASTAVA ZELENIH I PRŽENIH ZRNA KAVA

Tablica 6. Udjel suhe tvari, ulja i saharoze u zelenim (ZK) i prženim (PK) zrnima kave

Uzorak	Suha tvar (%)		Ulje (% s. tv.)		Saharoza (% s. tv.)	
ZK1	91,09 ± 0,13	↑	15,16 ± 0,04	↓	4,05 ± 0,10	↓
PK1	99,11 ± 0,01	8,09 %	15,15 ± 0,04 ^a	0,07 %	0,07 ± 0,02	98,27 %
ZK2	90,67 ± 0,16	↑	15,73 ± 0,04	↑	5,85 ± 0,38	↓
PK2	99,45 ± 0,23	8,83 %	15,92 ± 0,12	1,19 %	0,11 ± 0,01	98,12 %
ZK3	91,68 ± 0,08	↑	16,85 ± 0,00	↓	5,05 ± 0,45	↓
PK3	99,37 ± 0,39	7,74 %	16,36 ± 0,16	2,91 %	0,10 ± 0,00	91,09 %
ZK4	89,54 ± 0,13	↑	15,35 ± 0,15	↓	5,19 ± 0,05	↓
PK4	98,94 ± 0,03	9,50 %	15,07 ± 0,13	1,82 %	0,10 ± 0,01	98,07 %
ZK5	90,49 ± 0,09	↑	10,93 ± 0,20	↓	3,96 ± 0,22	↓
PK5	98,65 ± 0,31	8,27 %	10,79 ± 0,02	1,28 %	0,08 ± 0,02	97,98 %
ZK6	90,43 ± 0,12	↑	10,43 ± 1,47	↓	2,50 ± 0,15	↓
PK6	99,52 ± 0,05	9,13 %	10,27 ± 0,02	1,53 %	0,39 ± 0,01	84,40 %

s. tv.-suha tvar; ↑-povećanje udjela nakon prženja; ↓-smanjenje udjela nakon prženja

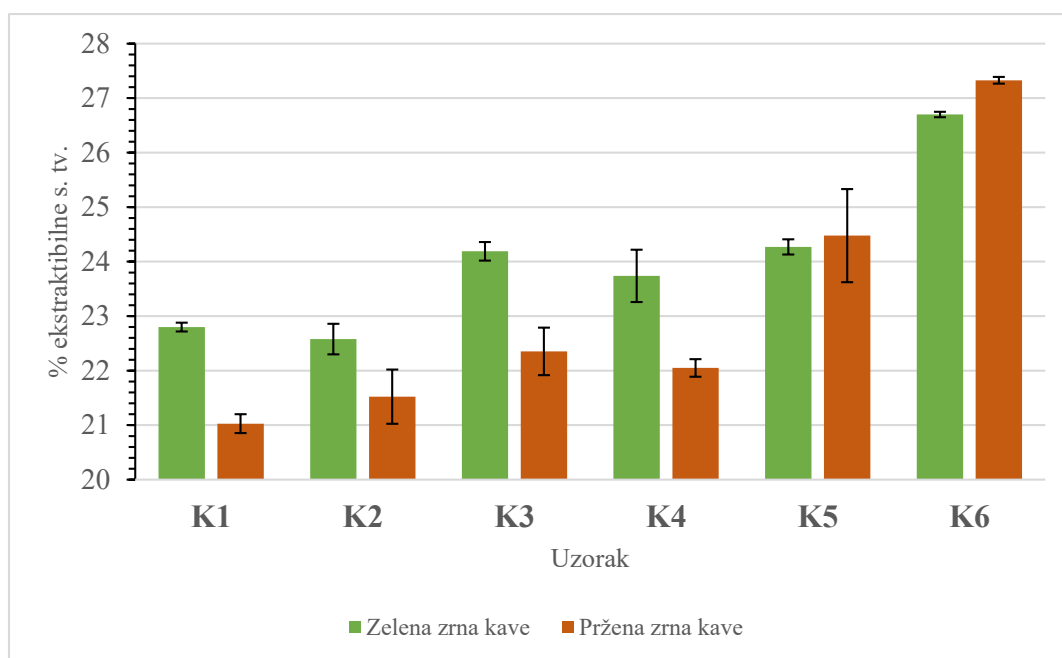
Rezultati osnovnog kemijskog sastava zelenih i prženih zrna kava uključujući udjel suhe tvari, ulja i saharoze prikazani su u tablici 6.

Međunarodna organizacija za kavu (engl. *International Coffee Organization, ICO*) navodi da bi udjel vode u sušenim zelenim zrnima kave trebao biti u rasponu 8 – 12,5 % (Perfect Daily Grind, 2017) što je u skladu s rezultatima našeg ispitivanja (8,32 – 10,46 %). Srednje tamna pržena zrna kava obično imaju udjel vode između 2 – 3 %, a tamna 1 – 2 % (Wang i Lim, 2015). U ovom radu udjel vode u uzorcima smanjio se na raspon od 0,48 % (uzorak PK6) do 1,35 % (uzorak PK5). Najveći gubitak vode uočen je u uzorku PK4 od 9,50 % što se može obrazložiti najvećom početnom temperaturom prženja, kao i inicijalno najvećim udjelom vode u ZK4. Najmanji gubitak udjela vode uočen je u uzorku PK3 od 7,74 %, budući da je i početni uzorak ZK3 sadržavao najmanji udjel vode.

Zelena zrna Arabica kava sadržavala su veći udjel ulja (15,16 – 16,85 % s. tv.) naspram Robusta kava (10,43 – 10,93 % s. tv.), što je u skladu s rasponom udjela ulja između 14,2 – 16,8 % za Arabica kave te 7,2 – 11,0 % za Robusta kave (Mazzafera i sur., 1998). Također, Marsilani i sur. (2020) dobili su slične rezultate za zelena zrna Robusta kave čiji je udjel ulja iznosio 7,92 – 9,93 % s. tv. Proces prženja rezultirao je neznatnim smanjenjem udjela ulja, najviše za 2,91 % s. tv. kod uzorka PK3, a najmanje kod uzorka PK1 za 0,07 % s. tv. Budryn i sur. (2012) došli su do zaključka da ulje ostaje stabilna komponenta tijekom procesa prženja. Također, navode da može doći i do povećanja udjela ulja tijekom prženja uslijed raspada ugljikohidrata, slobodnih aminokiselina i proteina te isparavanja njihovih razgradnih produkata, što se može povezati s povećanjem od 1,19 % kod uzorka PK2.

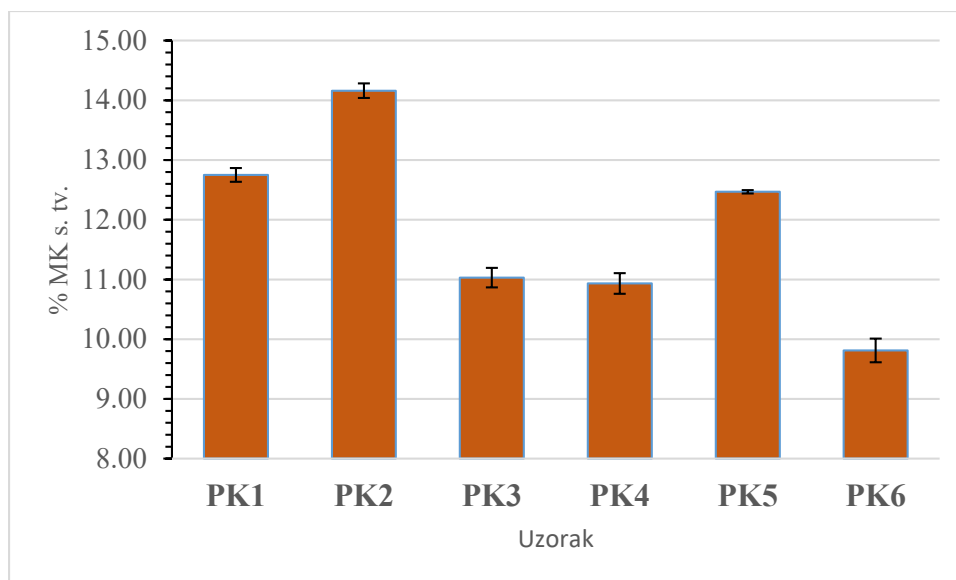
Također, zelena zrna Arabica kava sadržavala su veći udjel saharoze u odnosu na zelena zrna Robusta kava. Najveći udjel određen je u uzorku ZK2 (5,85 % s. tv.), a najmanji u uzorku ZK6 (2,50 % s. tv.). Slične rezultate prikazali su Knopp i sur. (2006) u svojem istraživanju gdje se udjel saharoze za zelena zrna kava kretao u rasponu 5,87 – 9,89 %, a za Robusta kave 3,15 – 4,85 % s. tv. Nadalje, u istraživanju Barbose i sur. (2019) udjel saharoze u zelenim zrnima Arabica kava varirao je između 5,11 – 7,76 % s. tv., dok su Marsilani i sur. (2020) proveli istraživanje na zelenim zrnima Robusta kave gdje je udjel saharoze iznosio 0,83 – 4,82 % s. tv. Nakon prženja

udjel saharaže znatno se smanjio u svim uzorcima i to u rasponu 84,40 – 98,27 % s. tv. Najveće smanjenje zapaženo je u uzorku PK1, a najmanje u PK6. Garnero (1982) navodi da pržena zrna kava sadrže samo oko 0,3 % saharaže budući da saharaža i drugi šećeri tijekom prženja djelomično reagiraju s aminokiselinama i stvaraju pirazine, aldehide i druge komponente. Konačni udjel saharaže u prženim zrnima kave iznosio je najviše 0,39 % s. tv. Također, Chindapan i sur. (2019) objašnjavaju kako do smanjenja udjela šećera dolazi uslijed toplinske razgradnje kao rezultat Maillard-ovih reakcija i karamelizacije, kao i da saharaža ima bitnu ulogu u razvoju kiselosti te formiranju arome i boje.



Slika 7. Udjel ekstraktibilne suhe tvari u zelenim i prženim zrnima kave

Prema rezultatima prikazanim na slici 7 vidljivo je da zelena i pržena zrna Robusta kava imaju viši udjel ekstraktibilne s. tv. u odnosu na Arabica kave. Najmanji udjel zabilježen je u dekafeiniziranim uzorcima ZK2 (22,58 % ekstraktibilne s. tv.) i PK1 (21,03 % ekstraktibilne s. tv.), a najveći u uzorcima ZK6 (26,7 % ekstraktibilne s. tv.) i PK6 (27,33 % ekstraktibilne s. tv.). Prženje zelenih zrna uzrokovalo je smanjenje udjela ekstraktibilne suhe tvari u Arabica kavama (4,69 – 7,76 %) te blago povećanje u Robusta kavama (0,86 – 2,31 %).

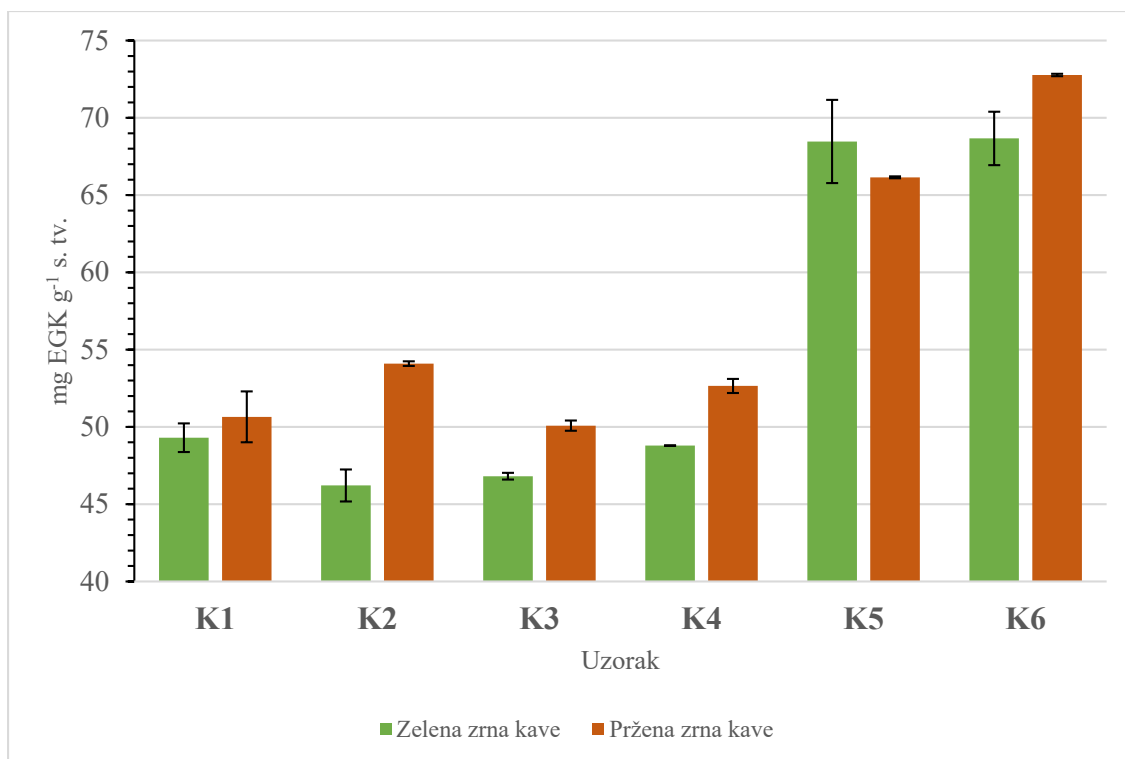


Slika 8. Udjel melanoidina u prženim zrnima kave

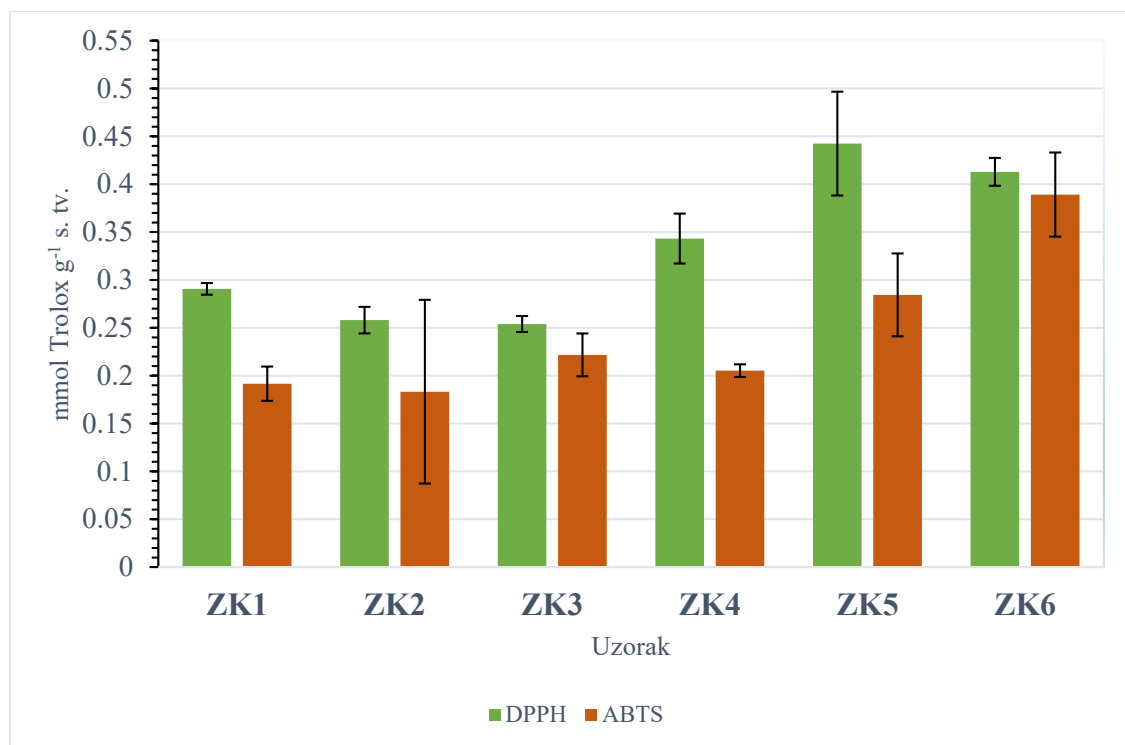
Tijekom prženja zrna kave nastaju melanoidini putem spomenutih Maillard-ovih reakcija. Definiraju se kao smeđe obojeni dušikovi spojevi visoke molekularne mase te je procijenjeno da čine do oko 25 % s. tv. (Moreira i sur., 2012). Osim što pridonose nastanku boje kave, također se proučavaju zbog svojih svojstava vezivanja okusa, antioksidacijskog kapaciteta, kelatiranja metala i reaktivnosti u napitcima kave (starenje kave) (Bekedam i sur., 2008). Rezultati određivanja udjela melanoidina prikazani su na slici 8. Uzorak PK6 sadržavao je najmanji (9,81 % KM s. tv.), a uzorak PK2 najviši udjel melanodina (14,16 % KM s. tv.), što je i u skladu s udjelima šećera u zelenim zrnima kava. Dekafeinizirani uzorci sadržavali su više udjele melanoidina.

4.2. KARAKTERIZACIJA BIOAKTIVNOG SASTAVA ZELENIH I PRŽENIH ZRNA KAVE

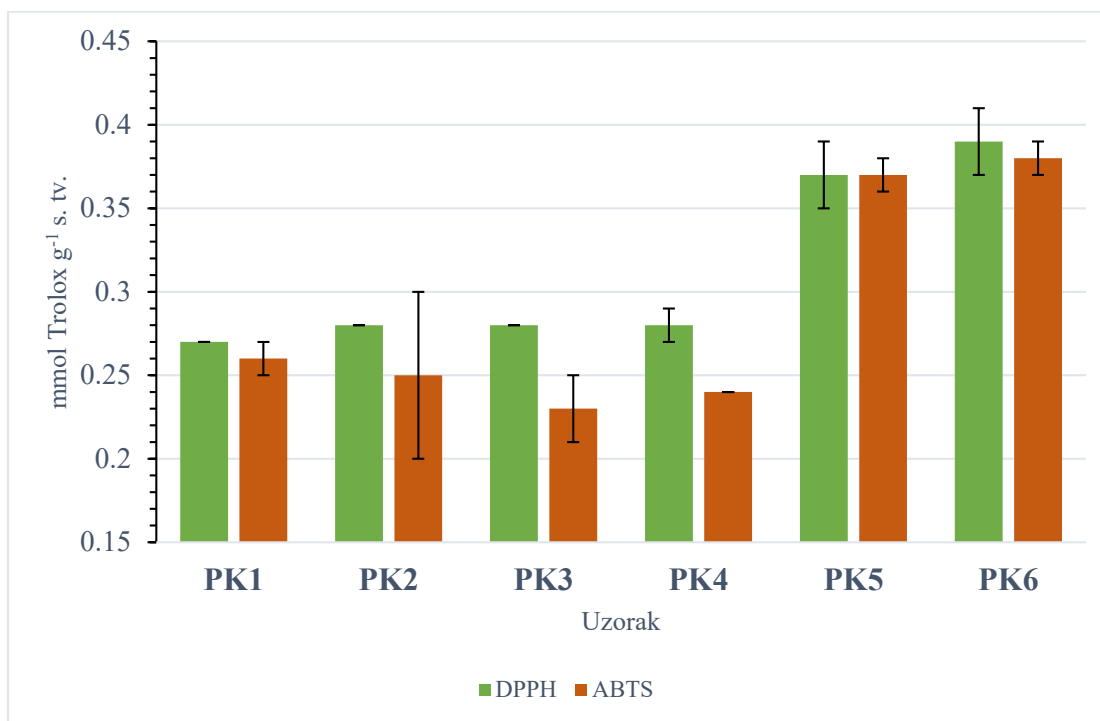
U svrhu karakterizacije bioaktivnog sastava zelenih i prženih zrna kave određivan je antioksidacijski kapacitet koji se temelji na „gašenju“ ABTS radikal-kationa i redukciji DPPH radikala. Također, određeni su udjeli ukupnih polifenola, kafeina te kafeoil kininskih kiselina (neoklorogenska, kriptoklorogenska i klorogenska kiselina).



Slika 9. Udjel ukupnih polifenola u zelenim i prženim zrnima kave



Slika 10. Antioksidacijski kapacitet zelenih zrna kava određen DPPH i ABTS metodama



Slika 11. Antioksidacijski kapacitet prženih zrna kava određen DPPH i ABTS metodama

Zelena i pržena zrna Robusta kava pokazala su veći antioksidacijski kapacitet (slika 10 i 11) te više udjele ukupnih polifenola (slika 9) u odnosu na Arabica kave. Uzorak ZK6 sadržavao je najveći udjel ukupnih polifenola od 68,67 mg EGK g⁻¹ s. tv. i najveći antioksidacijski kapacitet od 389,16 μmol Trolox g⁻¹ s. tv., određen ABTS metodom, i 412,92 μmol Trolox g⁻¹ s. tv., određen DPPH metodom. Vrijednosti antioksidacijskog kapaciteta i ukupnih polifenola kod zelenih zrna Arabica kava nisu prelazile 221,67 μmol Trolox g⁻¹ s. tv. (ABTS metoda) i 343,21 μmol Trolox g⁻¹ s. tv. (DPPH metoda) te 49,30 mg EGK g⁻¹ s. tv. Uzorak ZK2 sadržavao je najmanji udjel ukupnih polifenola (46,21 mg EGK g⁻¹ s. tv.) te antioksidacijski kapacitet određen ABTS metodom (183,21 μmol Trolox g⁻¹ s. tv.), dok ZK3 karakterizira najmanji antioksidacijski kapacitet, određen DPPH metodom (253,92 μmol Trolox g⁻¹ s. tv.), kojeg slijedi uzorak ZK2 (258,03 μmol Trolox g⁻¹ s. tv.). Prema radu Jeszka-Skowron i sur. (2016) ekstrakti Robusta kava pokazali su značajno veću antioksidacijsku aktivnost u odnosu na Arabica kave, a Wu i sur. (2022) navode kako Arabica kave sadrže niži udjel polifenolnih spojeva. U istraživanju Bobkove i sur. (2020) vrijednosti ukupnih polifenola u zelenim zrnima kave varirale su u rasponu 49,19 – 74,05 mg EGK g⁻¹ s. tv., gdje je

najveći udjel imala Robusta kava. Prženjem zrna kava ti su se udjeli smanjili na 37,44 – 47,41 mg EGK g⁻¹ s. tv.

Proces prženja zelenih zrna kava u većini slučajeva rezultirao je povećanjem antioksidacijskog kapaciteta osim kod uzoraka PK1, PK4, PK5 (DPPH metoda) te PK6 (ABTS i DPPH metoda). Najveći porasti od 27,58 % i 10,57 % zabilježeni su kod uzoraka PK2 (ABTS metoda) i PK3 (DPPH metoda). Dekafeinizirana zrna kava pokazala su najveće povećanje antioksidacijskog kapaciteta određenog ABTS metodom. Nakon procesa prženja smanjenje udjela ukupnih polifenola vidljivo je samo kod uzorka PK5 od 3,39 %. Najveći porast udjela ukupnih polifenola od 14,57 % zabilježen je kod uzorka PK2. Literaturni podaci u vezi smanjenja i povećanja ukupnih polifenola te antioksidacijskog kapaciteta nakon procesa prženja su dosta kontradiktorni (Alkaltham i sur., 2020). Takvi rezultati mogu biti posljedica složenosti kemijskih reakcija koje se zbivaju tijekom procesa prženja gdje dolazi do razgradnje bioaktivnih komponenata poput klorogenske kiseline te posljedično smanjenja antioksidacijskog kapaciteta u zrnima kava (Perrone i sur., 2012). Suprotno tome, razgradnja pojedinih bioaktivnih spojeva može dovesti do oslobađanja nekih drugih bioaktivnih spojeva poput hidroksicimetne i kininske kiseline te time i do povećanja antioksidacijskog kapaciteta (Wei i Tanokura, 2015). Tijekom procesa prženja zrna kave nastaju spojevi koji mogu nadoknaditi gubitak pojedinih tvari ili doprinijeti povećanju antioksidacijskog kapaciteta (Ludwig i sur., 2013). U svrhu što boljeg bioaktivnog sastava kave treba obratiti pozornost na pravilno prženje zrna. Pravilno prženje dovodi do povećanja udjela ukupnih polifenola i antioksidacijskog kapaciteta uslijed oslobađanja vezanih polifenolnih komponenata i stvaranju novih bioaktivnih spojeva koji pokazuju antioksidacijsko djelovanje. Nasuprot tome, prekomjerno prženje ne samo da će smanjiti broj bioaktivnih spojeva već će i potaknuti stvaranje endogenih antinutritivnih komponenata što smanjuje nutritivnu vrijednost kave (Wu i sur., 2022). Na antioksidacijsku aktivnost utječu i faktori poput sorte i porijekla kave te uvjeti skladištenja (Ludwig i sur., 2013). Proces prženje zrna kave doveo je do smanjenja antioksidacijskog kapaciteta te ukupnih polifenola u istraživanju provedenog od strane Cheong i sur. (2013) uslijed njihove razgradnje, autooksidacije i polimerizacije. Isto su utvrdili i Alkaltham i sur. (2020). Suprotno tome, Munoz i sur. (2020) utvrdili su kako procesom prženja dolazi do povećanja udjela ukupnih polifenola i antioksidacijskog kapaciteta, ali nisu utvrđene statistički značajne razlike u usporedbi sa zelenim zrnima kava. Bobkova i sur. (2020) su u radu

pokazali kako stupanj prženja zrna može utjecati na smanjenje, odnosno povećanje udjela ukupnih polifenola i antioksidacijskog kapaciteta. Kod blago i srednje prženih zrna raznih kava većinom je bilo prisutno smanjenje ukupnih polifenola i antioksidacijskog kapaciteta, no kod nekih uzoraka pojavilo se i povećanje. U svim uzorcima kave smanjenje je bilo prisutno kod tamno prženih zrna.

Tablica 7. Udjel neoklorogenske (3-KKK), kriptoklorogenske (4-KKK), klorogenske (5-KKK) kiseline te kafeina u svježim (ZK) i prženim (PK) zrnima kave

Uzorak	BIOAKTIVNI SPOJEVI (mg g ⁻¹ s. tv.)			
	3-KKK	4-KKK	5-KKK	Kafein
ZK1	10,38 ± 0,33	14,33 ± 0,74	16,50 ± 0,86	0,24 ± 0,01
PK1	2,94 ± 0,12	4,85 ± 0,20	9,28 ± 0,38	0,48 ± 0,01
ZK2	10,40 ± 0,85	15,32 ± 2,16	21,64 ± 2,98	0,36 ± 0,05
PK2	2,75 ± 0,03	4,56 ± 0,00	8,66 ± 0,02	0,35 ± 0,00
ZK3	2,63 ± 0,66	5,02 ± 0,95	38,49 ± 0,81	10,75 ± 0,74
PK3	2,59 ± 0,10	4,59 ± 0,59	9,03 ± 1,13	11,88 ± 1,55
ZK4	1,93 ± 0,02	3,90 ± 0,06	38,70 ± 0,72	10,44 ± 0,16
PK4	2,91 ± 0,00	4,98 ± 0,14	10,54 ± 0,29	12,39 ± 0,36
ZK5	4,00 ± 0,03	7,39 ± 0,27	44,22 ± 1,60	17,85 ± 0,54
PK5	3,39 ± 0,00	6,15 ± 0,12	10,49 ± 0,18	20,72 ± 0,39
ZK6	7,31 ± 0,41	11,41 ± 0,37	43,48 ± 1,26	18,50 ± 0,63
PK6	4,65 ± 0,03	8,23 ± 0,08	14,09 ± 0,13	22,38 ± 0,21

Udjeli 3-KKK, 4-KKK i 5-KKK te kafeina navedeni su u tablici 7. Od kafeoil kininskih kiselina u najvećem udjelu u svim uzorcima bila je zastupljena 5-KKK, a slijede je redom 4-KKK te 3-KKK. Rezultati su u skladu s literaturom gdje se kao najzastupljenija forma kafeoil kininskih kiselina u uzorcima kava navodi 5-KKK (Alonso-Salces i sur., 2009; Bekedam i sur., 2008; Mehaya i Mohammad, 2020), dok je 3-KKK najmanje zastupljena forma (Caprioli i sur., 2015). U zelenim zrnima Robusta kava ZK5 i ZK6 određeni su najveći udjeli 5-KKK (44,22 i 43,48 mg g⁻¹ s. tv.) i kafeina (17,85 i 18,50 mg g⁻¹ s. tv.). Perrone i sur. (2008) utvrdili su kako zelena zrna

Robusta kava također imaju više udjele 5-KKK (41,14 mg g⁻¹ s. tv.) u odnosu na Arabica kave (33,57 – 36,11 mg g⁻¹ s. tv.). Jeszka-Skowron i sur. (2016) utvrdili su da ekstrakti Robusta kava sadrže dvostruko više kafeina od Arabica kava. Isto su utvrdili Alonso-Salces i sur. (2009) u čijem istraživanju su se udjeli kafeina u Arabica kavama kretali u rasponu 10,533 – 17,412 mg g⁻¹ s. tv., a u Robusta kavama 20,224 – 31,582 mg g⁻¹ s. tv. Dekafeinizirana kava prema Ministarstvu poljoprivrede Sjedinjenih Američkih Država (engl. *United States Department of Agriculture, USDA*) smije imati 3 % kafeina, dok brazilsko zakonodavstvo dopušta prisutnost od samo 0,1 % kafeina u dekafeiniziranoj kavi (Jeszka-Skowron i sur., 2016). Prema propisima Europe, udjel kafeina u smrznutoj i sušenoj dekafeiniziranoj instant kavi ne smije premašiti vrijednost od 0,3 %, dok u prženoj i mljevenoj dekafeiniziranoj kavi ne smije premašiti vrijednost od 0,1 % (Spiller & Tait Coffee, 2018). U dekafeiniziranim zrnima Arabica kava ZK1 i ZK2 određeni su najviši udjeli 3-KKK (10,38 i 10,40 mg g⁻¹ s. tv.) i 4-KKK (14,33 i 15,32 mg g⁻¹ s. tv.), te najmanji udjeli kafeina (0,24 i 0,36 mg g⁻¹ s. tv.) što je i očekivano. Najmanja vrijednost 5-KKK zabilježena je u uzorku ZK1 (16,50 mg g⁻¹ s. tv.), a 3-KKK i 4-KKK u uzorku ZK4 redom (1,93 i 3,90 mg g⁻¹ s. tv.). Perrone i sur. (2008) navode kako zelena zrna Robusta kave imaju više udjele 3-KKK, 4-KKK i 5-KKK u odnosu na Arabica zrna. Isto potvrđuju Caprioli i sur. (2015) uz dodatak i kafeina. Ukoliko izuzmemo dekafeinizirana zrna među našim rezultatima, zelena zrna Robusta kava također pokazuju više udjele 3-KKK, 4-KKK, 5-KKK i kafeina.

Nakon procesa prženja najviši udjeli 3-KKK, 4-KKK i 5-KKK te kafeina zabilježeni su u uzorku PK6 s vrijednostima redom od 4,65, 8,23, 14,09, 22,38 mg g⁻¹ s. tv. U uzorku PK2 određeni su najmanji udjeli 4-KKK i 5-KKK te kafeina s vrijednostima redom od 4,56, 8,66 i 0,35 mg g⁻¹ s. tv., dok je najmanja vrijednost 3-KKK zabilježena kod uzorka PK4 (2,91 mg g⁻¹ s. tv.). Proces prženja rezultirao je smanjenjem 3-KKK, 4-KKK i 5-KKK u gotovo svim uzorcima, osim u uzorku PK4 gdje je određen porast 3-KKK i 4-KKK. Perrone i sur. (2008) utvrdili su kako prženjem pri 170 °C kroz 6 i 8 min dolazi do povećanja udjela 3-KKK i 4-KKK, no daljnjim prženjem nakon 12 i 15 min također dolazi do smanjenja. Nasuprot tome, proces prženja doveo je do povećanja udjela kafeina u svim uzorcima osim PK2 gdje je vidljivo neznatno smanjenje od 2,78 %. Mehaya i Mohammad (2020) također su utvrdili kako proces prženja zrna Arabica kava dovodi do povećanja udjela kafeina i to u rasponu 1,93 – 16,75 % ovisno o temperaturi i vremenu prženja. U analiziranim prženim uzorcima u radu Kalschne i sur. (2021) udjel kafeina kretao se u rasponu

15,77 – 24,99 mg g⁻¹ s. tv. Nadalje, u dekafeiniziranim zrnima Arabica kava PK1 i PK2 zabilježeno je najveće smanjenje udjela 3-KKK (71,68 i 73,56 %) i 4-KKK (66,15 i 70,23 %), a početno su zelena zrna sadržavala najveće vrijednosti. Kod regularnih zrna Arabica i Robusta kava zabilježeno je veće smanjenje udjela 5-KKK u odnosu na dekafeinizirana zrna Robusta kava u vrijednostima od 67,59 – 76,54 %. Uslijed formiranja melanoidina procesom prženja dolazi do razgradnje i ugradnje određenih komponenata u njihov sastav, poput 5-KKK (Herawati i sur., 2019). Kalschne i sur. (2021) odredili su udjele 5-KKK kod kupljenih komercijalnih uzoraka kave u rasponu 1,77 – 8,72 mg g⁻¹ s. tv. Zatim, prženjem zrna Arabica i Robusta kava pri 170 °C, udjel 5-KKK sve se više smanjivao povećanjem vremena prženja (6, 8, 12 i 15 min) te se najviše smanjio prženjem pri 200 °C 15 min. Udjel 5-KKK u Arabica kavama, ovisno o uvjetima prženja, kretao su se u rasponu 0,93 – 27,36 mg g⁻¹ s. tv., a u Robusta kavama 1,74 – 31,75 mg g⁻¹ s. tv. Rezultati najbliži rezultatima ovog istraživanja za Arabica kave postignuti su prženjem pri 170 °C kroz 12 min (9,42 – 11,50 mg g⁻¹ s. tv.) dok su za Robusta kave postignuti pri 170 °C kroz 15 i 12 min (11,45 – 15,34 mg g⁻¹ s. tv.) (Perrone i sur., 2008). Najveće smanjenje udjela kafeina od 17,34 % u kafeiniziranim zrnima kava zabilježeno je kod uzorka PK6, a najmanje od 9,51 % u uzorku PK3.

4.3. KARAKTERIZACIJA BIOAKTIVNOG SASTAVA NAPITAKA KAVA

Kod svih uzoraka kao najbolja tehnika pripreme kava pokazao se espresso napitak budući da je karakteriziran najvišim udjelom ukupnih polifenola, neoklorogenske, kriptoklorogenske i klorogenske kiseline te kafeina (tablica 9). Također određen mu je i najveći antioksidacijski kapacitet (tablica 8). Filter napitak se pokazao najlošijom tehnikom pripreme. Uzorak PK6 pokazao se kao najbolji izbor za pripremu svih vrsta napitaka budući da je sadržavao najveće vrijednosti analiziranog bioaktivnog sastava. Vrijednosti bioaktivnog sastava espresso napitka pripremljenog od uzorka PK6 iznosile su: antioksidacijski kapacitet (129,60 i 111,59 μmol TROLOX ml⁻¹), ukupni polifenoli (19,86 mg EGK ml⁻¹), 3-KKK (1,14 mg ml⁻¹), 4-KKK (2,09 mg ml⁻¹), 5-KKK (3,10 mg ml⁻¹) te kafein (8,65 mg ml⁻¹). Treba istaknuti i napitke pripremljene od dekafeiniziranih zrna Arabica kava jer iako imaju smanjen udjel kafeina i dalje pružaju dobar izvor analiziranih bioaktivnih komponenata i antioksidacijskog kapaciteta. Među istraživanim napitcima pripremljena od prženih zrna Arabica kave, espresso napitak pripremljen od PK1 sadržavao je najveće vrijednosti antioksidacijskog kapaciteta (95,85 i 81,36 μmol TROLOX ml⁻¹), ukupnih polifenola (16,48 mg EGK ml⁻¹), 3-KKK (1,13 mg ml⁻¹), 4-KKK (1,87 mg ml⁻¹) i 5-KKK (3,29

mg ml⁻¹) te najmanji udjel kafeina (0,16 mg ml⁻¹). Derossi i sur. (2017) utvrdili su kako je espresso napitak bogatiji ukupnim polifenolima i kafeinom te pokazuje bolji antioksidacijski kapacitet u odnosu na tursku kavu. Navode kako bi se razlog tome mogao nalaziti u razlici ukupnog volumena napitka kao posljedica učinka razrjeđivanja istog. Rezultate je teško uspoređivati s onima iz literature upravo zbog nestandardiziranih metoda za pripremu napitaka kava. Podaci kao što su količina mljevene kave, stupanj prženja, vrijeme ekstrakcije i volumen vode nisu konstantni i nisu uvijek navedeni. Što se tiče udjela kafeina u navedenim napitcima, espresso kava bogatija je kafeinom u odnosu na tursku kavu ukoliko izražavamo rezultate po mg na 100 mL⁻¹ (Caprioli i sur., 2015).

Tablica 8. Antioksidacijski kapacitet određen DPPH i ABTS metodom te ukupni polifenoli (UPF) u različitim napitcima kave

Uzorak	Napitak	Antioksidacijski kapacitet ($\mu\text{mol Trolox ml}^{-1}$)		UPF (mg EGK ml ⁻¹)
		DPPH	ABTS	
PK1	Espresso	95,85 ± 0,33	81,36 ± 1,04	16,48 ± 0,10
	Turska	26,72 ± 1,34	22,40 ± 0,30	3,87 ± 0,03
	Filter	11,94 ± 0,45	11,37 ± 0,59	1,88 ± 0,02
PK2	Espresso	74,30 ± 0,17	66,36 ± 1,78	12,51 ± 0,09
	Turska	30,82 ± 0,67	18,98 ± 0,15	3,95 ± 0,03
	Filter	12,09 ± 0,15	9,19 ± 0,59	1,82 ± 0,08
PK3	Espresso	82,09 ± 0,83	79,13 ± 0,30	13,29 ± 0,17
	Turska	29,33 ± 0,97	21,65 ± 0,45	3,92 ± 0,08
	Filter	15,82 ± 0,30	10,57 ± 0,20	1,93 ± 0,01
PK4	Espresso	74,79 ± 1,16	66,15 ± 0,09	12,56 ± 0,18
	Turska	27,69 ± 0,07	18,24 ± 0,89	3,61 ± 0,11
	Filter	14,63 ± 0,15	15,52 ± 0,20	2,08 ± 0,00
PK5	Espresso	82,59 ± 1,16	65,41 ± 0,24	13,31 ± 0,13
	Turska	34,25 ± 0,97	27,74 ± 0,30	5,05 ± 0,09
	Filter	16,79 ± 0,22	10,18 ± 0,59	2,44 ± 0,02
PK6	Espresso	129,60 ± 1,24	111,59 ± 0,21	19,86 ± 0,34
	Turska	31,34 ± 1,04	25,81 ± 0,45	4,96 ± 0,08
	Filter	11,94 ± 0,45	15,13 ± 0,40	2,96 ± 0,10

PK-pržena zrna kave; EGK-ekvivalent galne kiseline

Tablica 9. Udjel neoklorogenske (3-KKK), kriptoklorogenske (4-KKK), klorogenske (5-KKK) kiseline te kafeina u različitim napitcima kave

Uzorak	Napitak	BIOAKTIVNI SPOJEVI (mg mL ⁻¹)			
		3-KKK	4-KKK	5-KKK	Kafein
PK1	Espresso	1,13 ± 0,04	1,87 ± 0,03	3,29 ± 0,01	0,16 ± 0,03
	Turska	0,25 ± 0,02	0,40 ± 0,01	0,72 ± 0,00	0,08 ± 0,00
	Filter	0,13 ± 0,02	0,22 ± 0,01	0,40 ± 0,02	0,03 ± 0,01
PK2	Espresso	0,81 ± 0,08	1,32 ± 0,09	2,39 ± 0,07	0,29 ± 0,03
	Turska	0,27 ± 0,02	0,42 ± 0,02	0,78 ± 0,03	0,05 ± 0,00
	Filter	0,12 ± 0,01	0,19 ± 0,05	0,35 ± 0,02	0,05 ± 0,00
PK3	Espresso	0,81 ± 0,09	1,34 ± 0,05	2,53 ± 0,06	3,91 ± 0,10
	Turska	0,24 ± 0,04	0,38 ± 0,02	0,72 ± 0,04	1,10 ± 0,02
	Filter	0,13 ± 0,01	0,20 ± 0,00	0,39 ± 0,01	0,64 ± 0,03
PK4	Espresso	0,89 ± 0,05	1,47 ± 0,03	2,90 ± 0,04	3,63 ± 0,08
	Turska	0,24 ± 0,01	0,38 ± 0,07	0,78 ± 0,03	0,90 ± 0,07
	Filter	0,14 ± 0,01	0,22 ± 0,02	0,45 ± 0,03	0,53 ± 0,03
PK5	Espresso	0,87 ± 0,02	1,48 ± 0,04	2,37 ± 0,06	4,94 ± 0,05
	Turska	0,31 ± 0,01	0,54 ± 0,01	0,87 ± 0,02	1,83 ± 0,07
	Filter	0,14 ± 0,01	0,24 ± 0,00	0,41 ± 0,02	0,86 ± 0,04
PK6	Espresso	1,14 ± 0,01	2,09 ± 0,02	3,10 ± 0,05	8,65 ± 0,11
	Turska	0,24 ± 0,03	0,42 ± 0,01	0,61 ± 0,04	1,71 ± 0,04
	Filter	0,15 ± 0,01	0,26 ± 0,01	0,40 ± 0,01	1,17 ± 0,03

PK-pržena zrna kave

4.4. FORMULACIJA I KARAKTERIZACIJA FINALNIH BLENDOVA KAVA I NJIHOVIH NAPITAKA

4.4.1. Blendovi kava

Uzorak PK6 koristio se u formulaciji sva tri blenda kava (BK) zbog svojeg bogatog bioaktivnog sastava. Sadržavao je najveće vrijednosti ukupnih polifenola (slika 9), antioksidacijskog kapaciteta (slika 10 i 11) te kafeoil kininskih kiselina (tablica 7). U prvom blendu

kave BK1 koristio se i uzorak PK5 budući da je iza uzorka PK6 pokazao najbolji bioaktivni sastav u odnosu na ostale uzorke, a imao je nešto niži udjel kafeina. Nadalje, uzorak PK4 koristio se pri formuliranju blenda kave BK2 s obzirom na to da je u odnosu na uzorak PK3 pokazao nešto bolji bioaktivni sastav (↑ ABTS, ↑ UPF, ↑ 5-KKK, ↑ 4-KKK, ↓ DPPH, ↓ 3-KKK) dok je udjel kafeina bio približno isti, ali u odnosu na uzorak PK5 niži. Kako bi se postigao najmanji udjel kafeina, za formuliranje trećeg blenda kave BK3 korišten je dekafeinizirani uzorak PK1 jer je imao bolji bioaktivni sastav naspram dekafeiniziranog uzorka PK2 (↑ ABTS, ↑ 3-KKK, ↑ 4-KKK, ↑ 5-KKK, ↓ DPPH, ↓ UPF).

Tablica 10. Udjel suhe tvari (s. tv.) i ekstraktibilne suhe tvari (ekstr. s. tv.) u finalnim blendovima kava (BK)

Uzorak	Formulacija	S. tv. (%)	Ekstr. s. tv. (%)
BK1	70 % PK6	99,16 ± 0,17	26,44 ± 0,27
	30 % PK5		
BK2	70 % PK4	99,42 ± 0,12	23,51 ± 0,09
	30 % PK6		
BK3	50 % PK6	99,48 ± 0,13	22,26 ± 0,08
	50 % PK1		

Udjel suhe tvari u finalnim blendovima kava kretao se u rasponu 99,16 – 99,48 %, a udjel ekstraktibilne suhe tvari 22,26 – 26,44 %. Rezultati su prikazani u tablici 10 i u skladu su s početnim određivanjem ovih vrijednosti u prženim zrnima kave budući da, uz uzorak PK6, najveći udjel suhe tvari određen je u uzorku PK1 te tako i u formulaciji BK3 kojoj pripada. U istom odnosu su i svi ostali blendovi kava s prženim zrnima kave što se tiče udjela suhe tvari i ekstraktibilne suhe tvari.

S obzirom na to da su se pri formulaciji BK1 koristili uzorci PK5 i PK6, koji su prema bioaktivnom sastavu najbogatiji, od sva tri blenda kava upravo se ovaj pokazao kao najbolji. Udjel kafeina iznosio je 20,44 mg g⁻¹ s. tv. Uzorak blenda kave s najmanjim udjelom kafeina (5,55 mg

g⁻¹ s. tv.) je BK3 zbog činjenice da se sastoji od dekafeiniziranih prženih zrna kava. Unatoč niskom udjelu kafeina ovaj blend kave ima dobar bioaktivni sastav. Udjeli kafeoil kininiskih kiselina u blendovima kava kretali su se redom 5-KKK > 4-KKK > 3KKK gdje 4-KKK ima otprilike 2 puta manje, a 3-KKK otprilike 3 puta manje u odnosu na 5-KKK. Bioaktivni sastav finalnih blendova kava prikazan je u tablicama 11 i 12.

Tablica 11. Antioksidacijski kapacitet određen DPPH i ABTS metodom te ukupni polifenoli (UPF) u finalnim blendovima kava (BK)

Uzorak	Formulacija	Antioksidacijski kapacitet ($\mu\text{mol Trolox g}^{-1}$ s. tv.)		UPF (mg EGK g ⁻¹ s. tv.)
		DPPH	ABTS	
BK1	70 % PK6	406,27 ± 6,84	352,88 ± 10,79	68,60 ± 1,04
	30 % PK5			
BK2	70 % PK4	317,18 ± 12,32	300,36 ± 8,09	58,27 ± 0,61
	30 % PK6			
BK3	50 % PK6	276,08 ± 12,41	242,10 ± 7,92	51,70 ± 0,71
	50 % PK1			

EGK-ekvivalent galne kiseline

Tablica 12. Udjel neoklorogenske (3-KKK), kriptoklorogenske (4-KKK), klorogenske (5-KKK) kiseline te kafeina u finalnim blendovima kava (BK)

Uzorak	Formulacija	BIOAKTIVNI SPOJEVI (mg g ⁻¹ s. tv.)			
		3-KKK	4-KKK	5-KKK	Kafein
BK1	70 % PK6	3,55 ± 0,26	6,95 ± 0,24	11,87 ± 0,44	20,44 ± 0,68
	30 % PK5				
BK2	70 % PK4	3,22 ± 0,19	5,49 ± 0,20	10,69 ± 0,36	15,44 ± 0,71
	30 % PK6				
BK3	50 % PK6	2,25 ± 0,23	4,54 ± 0,61	8,82 ± 1,08	5,55 ± 0,71
	50 % PK1				

4.4.2. Napitci blendova kava

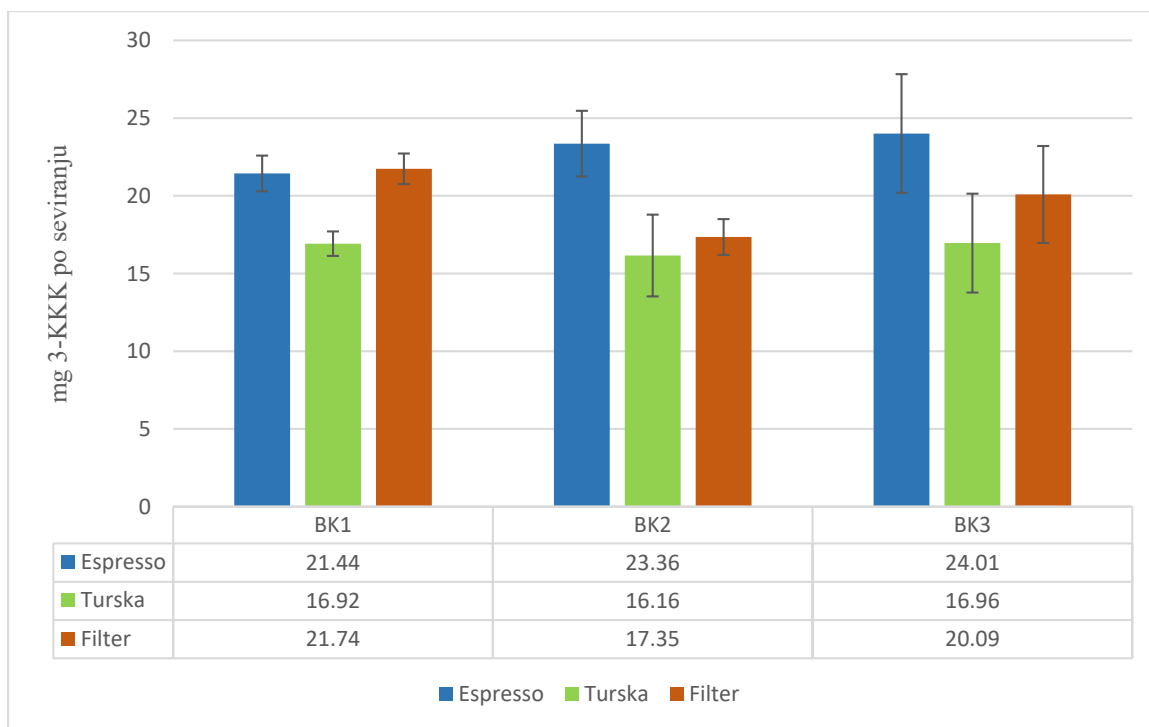
U tablici 13 prikazani su rezultati antioksidacijskog kapaciteta i ukupnih polifenola u napitcima blendova kava (espresso, turska i filter kava) te su izraženi po mL napitka. Najveći udjeli ukupnih polifenola i antioksidacijskog kapaciteta određeni su u svim napitcima spremljenim od uzorka BK1. U turskoj kavi pripremljenoj od BK2 određeni su nešto viši udjeli ukupnih polifenola i bolji antioksidacijski kapacitet u odnosu na tursku kavu pripremljenu od BK3.

Tablica 13. Antioksidacijski kapacitet određen DPPH i ABTS metodom te ukupni polifenoli (UPF) u napitcima blendova kava (BK)

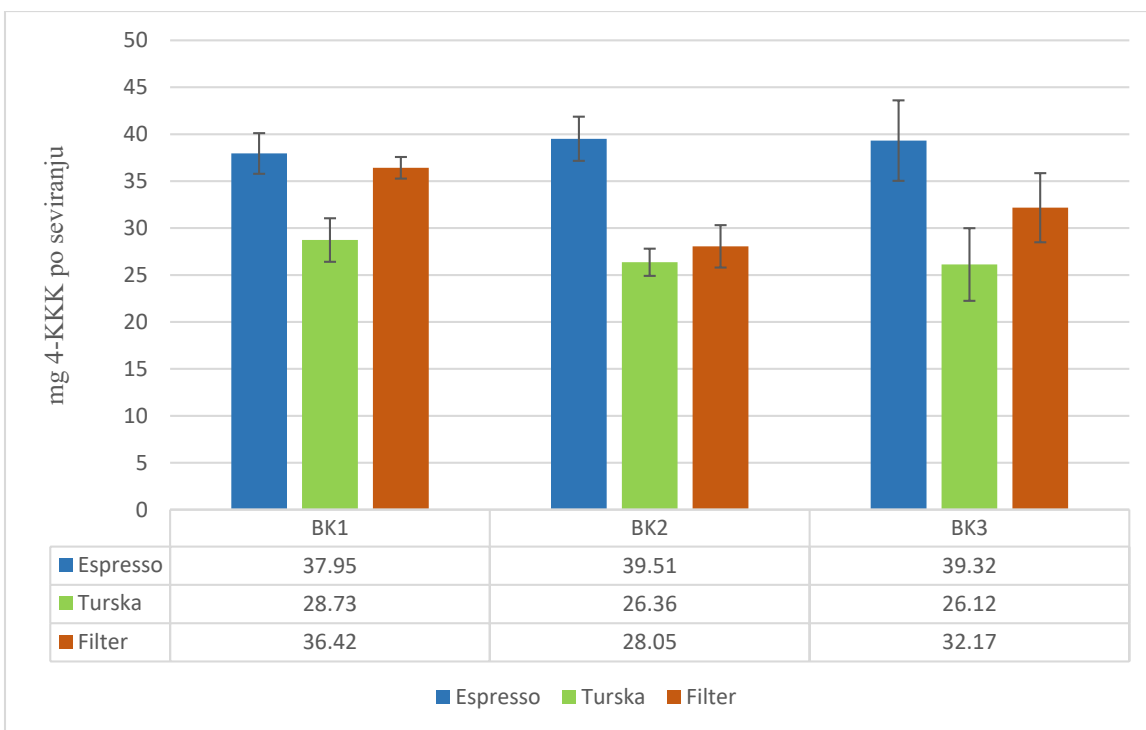
Uzorak	Napitak	Antioksidacijski kapacitet ($\mu\text{mol Trolox mL}^{-1}$)		UPF (mg EGK mL^{-1})
		DPPH	ABTS	
BK1	Espresso	94,20 ± 1,16	72,39 ± 0,68	13,20 ± 0,2
	Turska	35,30 ± 0,22	30,42 ± 0,89	5,31 ± 0,11
	Filter	18,51 ± 0,45	13,74 ± 0,40	2,69 ± 0,07
BK2	Espresso	76,87 ± 0,41	61,54 ± 0,36	11,65 ± 0,19
	Turska	32,31 ± 1,42	19,87 ± 1,04	4,40 ± 0,12
	Filter	13,21 ± 0,07	9,09 ± 0,69	1,91 ± 0,09
BK3	Espresso	81,18 ± 0,58	66,74 ± 0,09	12,06 ± 0,22
	Turska	32,16 ± 0,97	19,13 ± 0,00	4,21 ± 0,07
	Filter	12,61 ± 0,67	10,38 ± 0,59	1,91 ± 0,05

Udjeli neoklorogenske, kriptoklorogenske, klorogenske kiseline i kafeina u napitcima blendova kava (espresso, turska i filter kava) prikazani su na slikama 12 – 15. Rezultati su izraženi po serviranju. Veličina serviranja za espresso napitak iznosila je 30 mL, za tursku kavu 60 mL, a za filter kavu 150 mL. EFSA navodi kako je sigurna konzumacija kafeina do 400 mg dnevno za odrasle, 3 mg kg^{-1} tjelesne mase dnevno za djecu i adolescente, te za trudnice do 200 mg dnevno (Verster i Koenig, 2017). Sukladno toj preporuci prema rezultatima u ovom radu može se zaključiti kako bi se od BK1 dnevno mogle popiti 2 šalice espresso (314,56 mg kafeina) i filter kave (311,82 mg kafeina) te 3 šalice turske kave (319,98 mg kafeina). Nadalje, od BK2 može se konzumirati 3

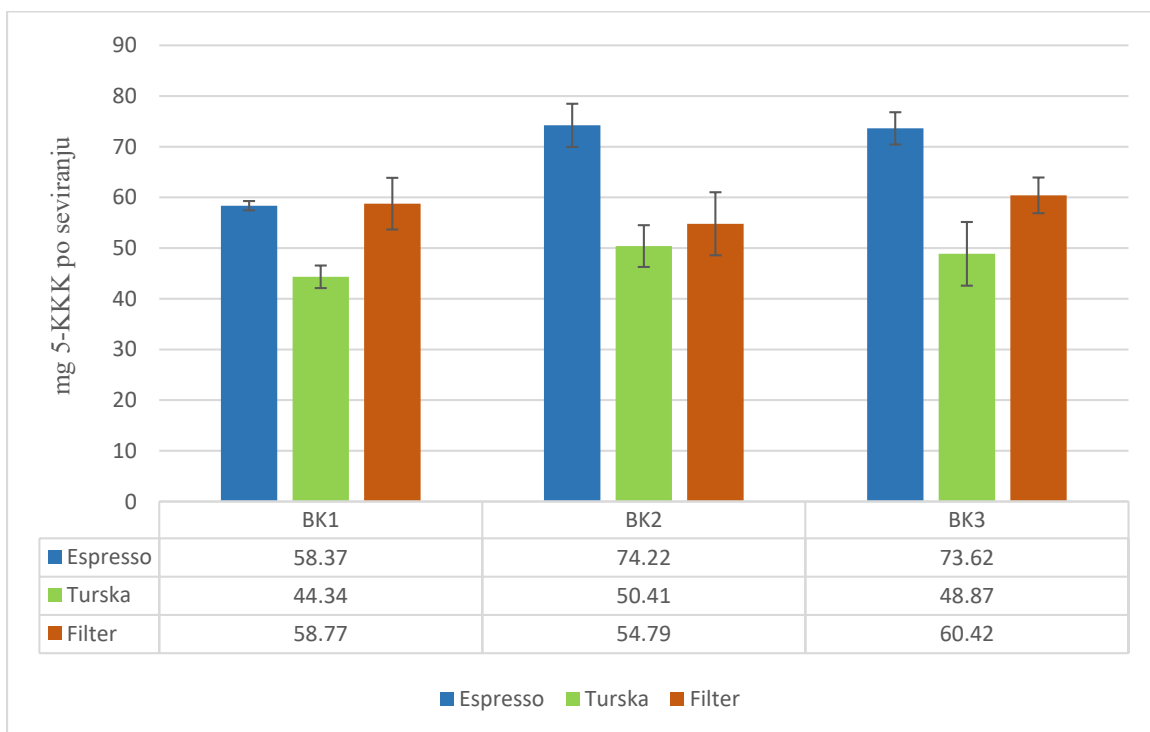
šalice espressa (361,65 mg kafeina), 5 šalica turske kave (383,15 mg kafeina) i 4 šalice filter kave (352,12 mg kafeina). Naime, BK3 predstavlja najbolju opciju osobama koje konzumiraju puno kave, a ne žele prekoračiti sigurnu dozu kafeina dnevno. Tako mogu konzumirati 3 x više espressa kave (387,9 mg kafeina), 3,33 x više turske kave (381,2 mg kafeina) te 4x više filter kave (376,88 mg kafeina) u odnosu na napitke spremljene od BK1. Provedena istraživanja pokazuju kako je formuliranje blendova kava smanjenog udjela kafeina bilo uspješno. Što se tiče sastava kafeoil kininskih kiselina, udjeli u espresso i filter napitcima BK1 bili su poprilično podjednaki, dok je turska kava sadržavala najmanje udjele. Od BK2 i BK3 kao najbogatije napitke kafeoil kininskim kiselinama može se pripremiti espresso, zatim filter kava, dok će najmanji udjel istih biti u turskoj kavi. Kao najbogatiji napitak 4-KKK i 5-KKK pokazao se espresso napitak i to spremljen od BK2 (39,51 i 74,22 mg po serviranju), dok je najveći udjel 3-KKK prisutan u espresso napitku BK3 (24,01 mg po serviranju). Turske kave sadržavale su najmanje udjele kafeoil kininskih kiselina u svim blendovima kava. Razlog zbog kojeg filter napitak ima bolji bioaktivni sastav naspram turske kave krije se u volumenu napitka (Caprioli i sur., 2015) koji za filter kavu iznosi 150 mL, a za tursku kavu 60 mL.



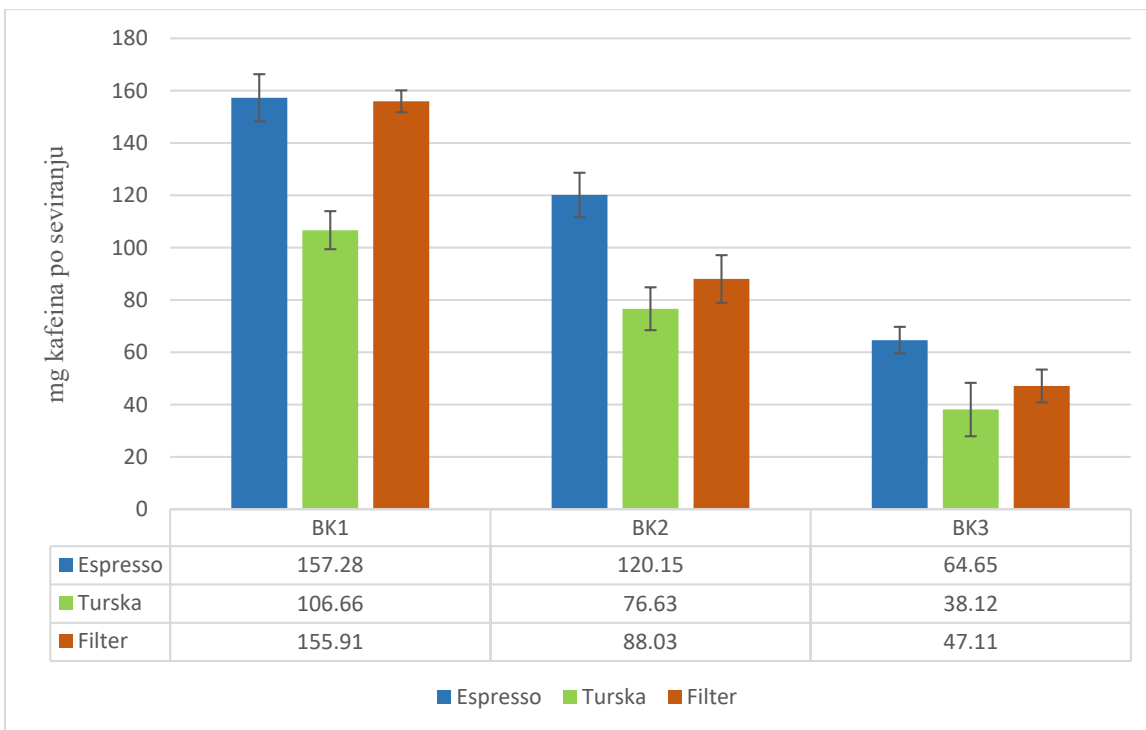
Slika 12. Udjel neoklorogenske kiseline (3-KKK) po serviranju u finalnim blendovima kava (BK1, BK2 i BK3)



Slika 13. Udjel kriptoklorogenske kiseline (4-KKK) po serviranju u finalnim blendovima kava (BK1, BK2 i BK3)



Slika 14. Udjel klorogenske kiseline (5-KKK) po serviranju u finalnim blendovima kava (BK1, BK2 i BK3)



Slika 15. Udjel kafeina po serviranju u finalnim blendovima kava (BK1, BK2 i BK3)

5. ZAKLJUČAK

1. U zelenim zrnima Robusta kave određeni su viši udjeli ekstraktibilne s. tv. u odnosu na Arabica kave. Zelena zrna Arabica kave sadržavala su viši udjel ulja (15,16 – 16,85 % s. tv.) i saharoze (4,05 – 5,85 % s. tv.) u odnosu na Robusta kave.
2. Zelena zrna Robusta kave imala su viši udjel ukupnih polifenola (68,47 – 68,67 mg EGK g⁻¹ s. tv.) i bolja antioksidacijska svojstva (ABTS: 284,35 – 389,16 μmol Trolox g⁻¹ s. tv. i DPPH: 371,08 – 389,57 μmol Trolox g⁻¹ s. tv.) u odnosu na Arabica kave.
3. Najviši udjel neoklorogenske i kriptoklorogenske kiseline određen je u dekafeiniziranim zelenim zrnima Arabica kave, a slijede ih zelena zrna regularne Robusta kave te regularna zelena zrna Arabica kave, dok je najviši udjel klorogenske kiseline određen u zelenim zrnima Robusta kava.
4. Proces prženja utjecao je na osnovni kemijski te bioaktivni sastav zrna kava koji je varirao ovisno i o tehnici pripreme napitka.
5. Sukladno udjelima ekstraktibilne s. tv. i ulja u zelenim zrnima kave, u prženim zrnima Robusta kava određeni su viši udjeli ekstraktibilne s. tv. i viši udjel ulja određen je u prženim zrnima Arabica kave.
6. Tijekom prženja došlo je do značajnog smanjenja udjela saharoze u Arabica i Robusta kavama, u rasponu od 84,4 do 98,27 %. Udjel melanoidina u prženim zrnima kava kretao se u rasponu 9,81 – 14,16 % MK s. tv.
7. Pržena zrna Robusta kava karakterizira bogatiji bioaktivni sastav (viši udjel ukupnih polifenola, neoklorogenske, kriptoklorogenske i klorogenske kiseline te kafeina) i viši antioksidacijski kapacitet u odnosu na Arabica kave.
8. U odnosu na filter i tursku kavu, espresso se pokazao najboljim izborom uzimajući u obzir njegov izraženi bioaktivni potencijal.
9. Uspješno su formulirana 3 blenda kave različitih udjela kafeina (5,55; 15,44; 20,44 mg g⁻¹ s. tv.), pri čemu je blend s najvišim udjelom kafeina imao i najviši udjel ukupnih polifenola i kafeoil kininskih kiselina te je pokazao najbolji antioksidacijski kapacitet.
10. Sukladno preporuci EFSA-e i rezultatima ovog istraživanja blend s najmanjim udjelom kafeina predstavlja najbolji izbor za ljude koji konzumiraju velike količine kave budući da se istog može konzumirati u prosjeku 3 puta više u bilo kojem obliku napitka u odnosu na blend s najvećim udjelom kafeina (2 šalice espresso i filter kave te 3 šalice turske kave).

6. LITERATURA

Alkaltham MS, Ozcan MM, Uslu N, Salamatullah AM, Hayat K (2020) Effect of microwave and oven roasting methods on total phenol, antioxidant activity, phenolic compounds, and fatty acid compositions of coffee beans. *J Food Proces Pres* **44** (11), e14874. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14874>

Alonso-Salces RM, Serra F, Reniero F, Heberger K (2009) Botanical and Geographical Characterization of Green Coffee (*Coffea arabica* and *Coffea canephora*): Chemometric Evaluation of Phenolic and Methylxanthine Contents. *J Agr Food Chem* **57** (10), 4224 – 4235. <https://doi.org/10.1021/jf8037117>

Barbosa MSG, Scholz MBS, Kitzberger GSG, Benassi MT (2019) Correlation between the composition of green Arabica coffee beans and the sensory quality of coffee brews. *Food Chem* **292**, 275 – 280. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.04.072>

Barts N. (2021, 18. svibanj) Close-Up Shot of a Person Pouring Hot Water in a Coffee Pot. *Pexels* [online], <https://www.pexels.com/photo/close-up-shot-of-a-person-pouring-hot-water-in-a-coffee-pot-7937503/>. Pristupljeno 4. rujna 2022.

Bawin Y, Ruttink T, Staelens A, Haegeman A, Stoffelen P, Mwanga JCIM, i sur. (2021) Phylogenomic analysis clarifies the evolutionary origin of *Coffea arabica*. *J Syst Evol* **59** (5), 953 – 963. <https://doi.org/10.1111/jse.12694>

Bayburs M. (2013, 18. studeni) Türk Kahvesi - Bakir Cezve. *Wikimedia Commons* [online], https://commons.wikimedia.org/wiki/File:T%C3%BCrk_Kahvesi_-_Bakir_Cezve.jpg. Pristupljeno 4. rujna 2022.

Bekedam EK, Loots MJ, Schols HA, Boekel MAJSV, Smit G (2008) Roasting Effects on Formation Mechanisms of Coffee Brew Melanoidins. *J Agr Food Chem* **56** (16), 7138 – 7145. <https://doi.org/10.1021/jf800999a>

Bobkova A, Hudaček M, Jakobova S, Belej L, Capcarova M, Čurlej J, i sur. (2020) The effect of roasting on the total polyphenols and antioxidant activity of coffee. *J Environ Sci Heal B* **55** (5), 495 – 500. <https://doi.org/10.1080/03601234.2020.1724660>

Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm Wiss Technol* **28** (1), 25 – 30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)

Budryn G, Nebesny E, Zyzelewicz D, Oracz J, Miskiewicz K, Rosicka-Kaczmarek J (2012) Influence of roasting conditions on fatty acids and oxidative changes of Robusta coffee oil. *Eur J Lipid Sci Tech* **114** (9), 1052 – 1061. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201100324>

CABI (2019) *Coffea arabica (arabica coffea)*. CABI-Centre for Agriculture and Bioscience International, <https://www.cabi.org/isc/datasheet/14792>. Pristupljeno 25. lipnja 2022.

Cano-Marquina A, Tarin JJ, Cano A (2013) The impact of coffee on health. *Maturitas* **75** (1), 7 – 21. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2013.02.002>

Caporaso N, Genovese A, Canela MD, Civitella A, Sacchi R (2014) Neapolitan coffee brew chemical analysis in comparison to espresso, moka and American brews. *Food Res Int* **61**, 152 – 160. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.01.020>

Caprioli G, Cortese M, Sagratini G, Vittori S (2015) The influence of different types of preparation (espresso and brew) on coffee aroma and main bioactive constituents. *Int J Food Sci Nutr* **66** (5), 505 – 513. <https://doi.org/10.3109/09637486.2015.1064871>

Cenci A, Combes MC, Lashermes P (2012) Genome evolution in diploid and tetraploid *Coffea* species as revealed by comparative analysis of orthologous genome segments. *Plant Mol Biol* **78** (1-2), 135 – 145. <https://doi.org/10.1007/s11103-011-9852-3>

Cheong MW, Tong KH, Ong JJM, Liu SQ, Curran P, Yu B (2013) Volatile composition and antioxidant capacity of Arabica coffee. *Food Res Int* **51** (1), 388 – 396. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.12.058>

Chindapan N, Soydok S, Devahastin S (2019) Roasting Kinetics and Chemical Composition Changes of Robusta Coffee Beans During Hot Air and Superheated Steam Roasting. *J Food Sci* **84** (2), 292 – 302. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14422>

Cordoba N, Fernandez-Alduenda M, Moreno FL, Ruiz Y (2020) Coffee extraction: A review of parameters and their influence on the physicochemical characteristics and flavour of coffee brews. *Trends Food Sci Tech* **96** (2), 45 – 60. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.12.004>

Csant (2007, 29. prosinac) Neapolitan flip coffee pot. *Wikimedia Commons* [online], https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Neapolitan_flip_coffee_pot.jpg. Pristupljeno 4. rujna 2022.

van Dam RM, Hu FB, Willett WC (2020) Coffee, Caffeine, and Health. *New Engl J Med* **383** (4), 369 – 378. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1816604>

Derossi A, Ricci I, Caporizzi R, Fiore A, Severini C (2017) How grinding level and brewing method (Espresso, American, Turkish) could affect the antioxidant activity and bioactive compounds in a coffee cup. *J Sci Food Agr* **98** (8), 3198 – 3207. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8826>

FAO (2022) FAOSTAT. FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations, <https://www.fao.org/faostat/en/#country>. Pristupljeno 27. lipnja 2022.

Farah A, dos Santos TF (2015) The Coffee Plant and Beans: An Introduction. U: Preedy VR (ured.) Coffee in Health and Disease Prevention, Academic Press, London, str. 5 – 10. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409517-5.00001-2>

Ferreira T, Shuler J, Guimaraes R, Farah A (2019) Introduction to Coffee Plant and Genetics. U: Farah A (ured.) Coffee: Production, Quality and Chemistry, Royal Society of Chemistry, United Kingdom, str. 1 – 25. <https://doi.org/10.1039/9781782622437-00001>

Garnero J (1982) Heterocyclic aroma compounds precursors. U: Vernin G (ured.) The Chemistry of Heterocyclic Flavoring and Aroma Compounds, Ellis Horwood Ltd, West Sussex, str. 17.

Herawati D, Giriwono PE, Dewi FNA, Kahiwagi T, Andarwulan N (2019) Critical roasting level determines bioactive content and antioxidant activity of Robusta coffee beans. *Food Sci Biotechnol* **28** (6), 7 – 14. <https://doi.org/10.1007/s10068-018-0442-x>

Herrera JC, Lambot C (2017) The Coffee Tree – Genetic Diversity and Origin. U: Folmer B (ured.) The Craft and Science of Coffee, Academic Press, London, str. 1 – 16. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803520-7.00001-3>

Hudyakova A (2020) World Coffee Consumption Statistics - Coffee Rank. <https://coffee-rank.com/world-coffee-consumption-statistics/>. Pristupljeno 29. lipnja 2022.

Illy A, Viani R (1995) Espresso Coffee: The Chemistry of Quality, Academic Press, London.

ICO (2022) Trade Statistics – April 2022. ICO-International Coffee Organization, https://www.ico.org/show_news.asp?id=785. Pristupljeno 9. lipnja 2022.

Iriondo-DeHond A, Elizondo AS, Iriondo-DeHond M, Ríos MB, Mufari R, Mendiola JA, i sur. (2020) Assessment of healthy and harmful Maillard reaction products in a novel coffee cascara beverage: Melanoidins and acrylamide. *Foods* **9** (5), 620. <https://doi.org/10.3390/foods9050620>

Jeszka-Skowron M, Sentkowska A, Pyrzynska K, Pena MPD (2016) Chlorogenic acids, caffeine content and antioxidant properties of green coffee extracts: influence of green coffee bean preparation. *Eur Food Res Technol* **242** (8), 1403 – 1409. <https://doi.org/10.1007/s00217-016-2643-y>

Kalschne DL, Silva NK, Canan C, Benassi MD, Flores ELM, Leite D (2021) Main minerals and organic compounds in commercial roasted and ground coffee: an exploratory data analysis. *Quim Nova* **44** (1), 70 -75. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170653>

Knopp S, Bytof G, Selmar D (2006) Influence of processing on the content of sugars in green Arabica coffee beans. *Eur Food Res Technol* **223** (2), 195 – 201. <https://doi.org/10.1007/s00217-005-0172-1>

KoeppiK (2020, 27. listopad) French press 2020. *Wikimedia Commons* [online], https://commons.wikimedia.org/wiki/File:French_press_2020.jpg. Pristupljeno 4. rujna 2022.

Lambot C, Herrera JC, Bertrand B, Sadeghian S, Benavides P, Gaitan A (2017) Cultivating Coffee Quality – Terroir and Agro-Ecosystem. U: Folmer B (ured.) *The Craft and Science of Coffee*, Academic Press, London, str. 20. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803520-7.00002-5>

Lashermes P, Andrade AC, Etienne H (2008) Genomics of Coffee, One of the World's Largest Traded Commodities. U: Moore PH, Ming R (ured.) *Genomics of Tropical Crop Plants*, Springer, New York, str. 203 – 226. https://doi.org/10.1007/978-0-387-71219-2_9

Ludwig IA, Bravo J, Pena MPD, Cid C (2013) Effect of sugar addition (torrefacto) during roasting process on antioxidant capacity and phenolics of coffee. *LWT-Food Sci Technol* **51** (2), 553 – 559. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.12.010>

Ludwig IA, Clifford MN, Lean MEJ, Ashihara H, Crozier A (2014) Coffee: biochemistry and potential impact on health. *Food Funct* **5** (8), 1695 – 1717. <https://doi.org/10.1039/c4fo00042k>

Maier HG (1987) The acids of coffee. U: Proceedings of the 12th International Scientific Colloquium on Coffee. ASIC, Montreux, str. 229 – 237.

Marsilani ON, Wagiman, Sukartiko AC, (2020) Chemical profiling of western Indonesian single origin robusta coffee. *Iop C Ser Earth Env* **425** (1), 012041. doi: 10.1088/1755-1315/425/1/012041.

Mazzafera P, Soave D, Zullo MAT, Filho OG (1998) Oil content of green beans from some coffee species. *Bragantia* [online] **57** (1). SciELO, <https://www.scielo.br/j/brag/a/H3hb649nrT7RXhGLTcKg6Vv/?lang=en&format=html>.
Pristupljeno 10. svibnja 2022.

Mehaya FM, Mohammad AA (2020) Thermostability of bioactive compounds during roasting process of coffee beans. *Heliyon* **6** (11), e05508. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05508>

de Mejia EG, Ramirez-Mares MV (2014) Impact of caffeine and coffee on our health. *Trends Endocrin Met* **25** (10), 489 – 492. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2014.07.003>

Mestdagh F, Glabasnia A, Giuliano P (2017) The Brew – Extracting for Excellence. U: Folmer B (ured.) The Craft and Science of Coffee, Academic Press, London, str. 355 – 380. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803520-7.00015-3>

Moreira ASP, Nunes FM, Domingues MR, Coimbra A (2012) Coffee melanoidins: structures, mechanisms of formation and potential health impacts. *Food Funct* **3** (9), 903 – 915. <https://doi.org/10.1039/c2fo30048f>

Munoz AE, Hernandez SS, Tolosa AR, Burillo SP, Herrera MO (2020) Evaluation of differences in the antioxidant capacity and phenolic compounds of green and roasted coffee and their relationship with sensory properties. *LWT-Food Sci Technol* **128**, 109457. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109457>

Mussatto SI, Machado EMS, Martins S, Teixeira JA (2011) Production, Composition, and Application of Coffee and Its Industrial Residues. *Food Bioprocess Tech* 4 (5), 661 – 672. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0565-z>

Novak V (2021) Croatian coffee culture - My Istria. <https://www.myistria.com/en/the-story-of-coffee-when-it-began-and-why-is-drinking-coffee-a-must-for-croatians>. Pristupljeno 29. lipnja 2022.

Padmore JM (1990a) Animal feed – AOAC official method 930.15 – Moisture in animal feed. U: Helrich K (ured.) Official Methods of Analysis, 15. izd., AOAC International, Arlington, Virginia, SAD, str. 69 – 70.

Padmore JM (1990b) Animal feed – AOAC official method 920.39 – Fat (crude) or ether extract in animal feed. U: Helrich K (ured.) Official Methods of Analysis, 15. izd., AOAC International, Arlington, Virginia, USA, str. 79.

Perfect Daily Grind (2017) Roaster Guide: Why Is Green Bean Moisture Content Important? <https://perfectdailygrind.com/2017/08/roaster-guide-why-is-green-bean-moisture-content-important/>. Pristupljeno 10. svibnja 2022.

Perrone D, Farah A, Donangelo CM (2012) Influence of Coffee Roasting on the Incorporation of Phenolic Compounds into Melanoidins and Their Relationship with Antioxidant Activity of the Brew. *J Agr Food Chem* 60 (17), 4265 – 4275. <https://doi.org/10.1021/jf205388x>

Perrone D, Farah A, Donangelo CM, Paulis T, Martin PR (2008) Comprehensive analysis of major and minor chlorogenic acids and lactones in economically relevant Brazilian coffee cultivars. *Food Chem* 106 (2), 859 – 867. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.06.053>

Pietsch A (2017) Decaffeination – Process and Quality. U: Folmer B (ured.) The Craft and Science of Coffee, Academic Press, London, str. 225 – 243. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803520-7.00010-4>

Pointon KD (2015, 26. lipanj) Coffea plant. OpenClipArt [online], <https://openclipart.org/detail/223606/coffea-plant>. Pristupljeno 16. kolovoza 2022.

Rao S (2008) The Professional Barista's Handbook: An Expert Guide to Preparing Espresso, Coffee, and Tea, SAD.

Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* **26** (9-10), 1231-1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)

Schenker S (2000) Investigations on the Hot Air Roasting of Coffee Beans (doktorski rad), Swiss Federal Institute of Technology, Zurich. <https://doi.org/10.3929/ethz-a-003889071>

Schenker S, Handschin S, Frey B, Perren R, Escher F (1999) Structural properties of coffee beans as influenced by roasting conditions. U: Proceedings of the 18th International Scientific Colloquium on Coffee. ASIC, Helsinki, str. 127 – 135.

Schenker S, Rothgeb T (2017) The Roast – Creating the Beans' Signature. U: Folmer B (ured.) The Craft and Science of Coffee, Academic Press, London, str. 245 – 271. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803520-7.00011-6>

Singleton VL, Rossi JA (1965) Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *Am J Eno Viticult* **16**, 144–158. <http://www.ajevonline.org/content/16/3/144.full.pdf+html>

Souba F (2019) Sugar Cane Process – Behind the Decaf. - SlackTide Coffee Roasters. <https://slacktidecoffee.com/sugar-cane-process-behind-the-decaf/>. Pristupljeno 29. lipnja 2022.

Spiller & Tait Coffee (2018) Decaf Versus Regular Coffee. <https://www.spillerandtait.co.uk/blogs/news/decaf-versus-regular-coffee>. Pristupljeno 4. rujna 2022.

Statista (2022a) Total Coffee imports and exports worldwide from 2005/06 to 2021/22. <https://www.statista.com/statistics/225403/total-global-coffee-imports-and-exports/>. Pristupljeno 28. lipnja 2022.

Statista (2022b) Coffee production worldwide from 2003/04 to 2020/21 (in million 60 kilogram bags)*. <https://www.statista.com/statistics/263311/worldwide-production-of-coffee/>. Pristupljeno 28. lipnja 2022.

Statista (2022c) Coffee consumption worldwide from 2012/13 to 2020/21. <https://www.statista.com/statistics/292595/global-coffee-consumption/>. Pristupljeno 28. lipnja 2022.

Stoffelen P, Noirot M, Couturon E, Bontems S, De Block P, Anthony F (2009) *Coffea anthonyi*, a new self-compatible Central African coffee species, closely related to an ancestor of *Coffea arabica*. *Taxon* **58** (1), 133 – 140. <https://doi.org/10.1002/tax.581014>

Swiss water process (2021) Step by step. <https://www.swisswater.com/pages/coffee-decaffeination-process#stepbystep>. Pristupljeno 29. lipnja 2022.

Tarigan E, Wardiana E, Hilmi YS, Komarudin NA (2022) The changes in chemical properties of coffee during roasting: A review. *IOP C Ser Earth Env* **974** (1), 012115. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/974/1/012115>

Tasty Decafs (2022) Sugarcane Decaf Coffee. <https://tastydecafs.com/blogs/learn-about-decaf/sugarcane-decaf>. Pristupljeno 4. rujna 2022.

Teepetersen (2014, 1. listopada) Coffee maker. *Wikimedia Commons* [online], https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Coffee_maker.jpg. Pristupljeno 4. rujna 2022.

Thuy NTH, Kikuchi Y, Sugiyama H, Noda M, Hirao M (2010) Techno-economic and environmental assessment of bioethanol-based chemical process: A case study on ethyl acetate. *Environ Prog Sustain* **30** (4), 675 – 684. <https://doi.org/10.1002/ep.10517>

Verch M. (2019, 10. listopada) De'Longhi Premium Barista Espresso Machine: Man holding ground coffee in front of Pump Espresso Screen Carrier EC9335.R - La Specialista. *Flickr* [online], <https://www.flickr.com/photos/160866001@N07/48714749463>. Pristupljeno 4. rujna 2022.

Verster JC, Koenig J (2017) Caffeine intake and its sources: A review of national representative studies. *Crit Rev Food Sci* **58** (8), 1250 – 1259. <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1247252>

Wang X, Lim LT (2015) Physicochemical Characteristics of Roasted Coffee. U: Preedy VR (ured.) *Coffee in Health and Disease Prevention*, Academic Press, London, str. 247 – 254. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409517-5.00027-9>

Wei F, Tanokura M (2015) Chemical Changes in the Components of Coffee Beans during Roasting. U: Preedy VR (ured.) *Coffee in Health and Disease Prevention*, Academic Press, London, str. 83 – 91. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409517-5.00010-3>

Wu H, Gu J, Bk A, Nawaz MA, Barrow CJ, Dunshea FR, i sur. (2022) Effect of processing on bioaccessibility and bioavailability of bioactive compounds in coffee beans. *Food Biosci* **46** (31), 101373. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101373>

Xenon 77 (2015, 12. travanj) Moka Pot. *Wikimedia Commons* [online], https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Moka_Pot.jpeg. Pristupljeno 4. rujna 2022.

Zest Coffee (2021) Why all decaf drinkers should choose EA sugarcane decaf.
<https://www.zestcoffee.com.au/2021/05/14/why-all-decaf-drinkers-should-choose-ea-sugarcane-decaf/>. Pristupljeno 4. rujna 2022.

IZJAVA O IZVORNOSTI

Ja PATRICIA FABEČIĆ izjavljujem da je ovaj diplomski rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristila drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Handwritten signature of Patricia Fabčić in blue ink.

Vlastoručni potpis