

Bioaktivna i senzorska svojstva napitaka i nusproizvoda kave

Javorsky, Nina

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

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:159:954493>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-29**



Repository / Repozitorij:

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



**Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Sveučilišni prijediplomski studij Nutricionizam**

Nina Javorsky
0058217594

**BIOAKTIVNA I SENZORSKA SVOJSTVA NAPITAKA I NUSPROIZVODA KAVE
ZAVRŠNI RAD**

Predmet: Kemija i tehnologija uživala

Mentor: prof. dr. sc. Draženka Komes

Zagreb, 2024.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Sveučilišni prijediplomski studij Nutricionizam

Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo
Laboratorij za tehnologiju ugljikohidrata i konditorskih proizvoda

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Nutricionizam

Bioaktivna i senzorska svojstva napitaka i nusproizvoda kave

Nina Javorsky, 0058217594

Sažetak:

Cilj ovog istraživanja bio je bioaktivna karakterizacija srebrne pokožice Arabika i Robusta kave te napitaka pripremljenih od obje vrste kave i obogaćenih zelenim zrnima kave, dobričicom i travom ivom. Bioaktivna karakterizacija (određivanje udjela ukupnih polifenola i pojedinačnih bioaktivnih spojeva, antioksidacijskog kapaciteta i melanoidina) provedena je spektrofotometrijskim i HPLC-PDA metodama. Srebrna pokožica Robusta kave sadržavala je veći udio ukupnih polifenola (11,79 mg EGK/g s.tv.) i kafeina (2,90 mg/g s.tv.) u usporedbi sa srebrnom pokožicom Arabika zrna (11,43 mg EGK/g s.tv. i 2,72 mg/g s.tv.). Dodatak dobričice u napitke obje vrste kave rezultirao je najvećim povećanjem udjela ukupnih polifenola (1,42 i 2,10 mg EGK/mL) i antioksidacijskog kapaciteta (ABTS: 14,31 i 18,93 mmol Trolox/L; DPPH: 15,67 i 19,76 mmol Trolox/L). Prema rezultatima senzorske analize, najbolje su bili prihvaćeni napitci Robusta kave uz dodatak dobričice i Arabika kave bez dodataka, dok se dodatak trave ive najlošije odrazio na prihvatljivost napitaka obje vrste kave.

Ključne riječi: kava, srebrna pokožica, polifenoli, kafein, antioksidansi

Rad sadrži: 29 stranica, 13 slika, 9 tablica, 50 literaturnih navoda, 0 priloga

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološkoga fakulteta, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: prof. dr. sc. Draženka Komes

Pomoć pri izradi: dr. sc. Danijela Šeremet

Datum obrane: 16. rujna 2024.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Undergraduate thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
University undergraduate study Nutrition

Department of Food Engineering
Laboratory for Chemistry and Technology of Carbohydrates and Confectionery Products

Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Nutrition

Bioactive and sensory properties of coffee beverages and byproducts

Nina Javorsky, 0058217594

Abstract:

The aim of the present study was the bioactive characterization of the silver skin of Arabica and Robusta coffee, as well as of beverages prepared from both coffee varieties and enriched with green coffee beans, ground ivy and mountain germander. Bioactive characterization (determination of total phenolic content and individual bioactive compounds, antioxidant capacity and melanoidin) was carried out using spectrophotometric and HPLC-PDA methods. The silver skin of Robusta coffee contained a higher content of total polyphenols (11.79 mg GAE/g weight) and caffeine (2.90 mg/g dw) compared to the silver skin of Arabica beans (11.43 mg GAE/g dw and 2.72 mg/g dw). The addition of ground ivy to the beverages of both coffee varieties resulted in the greatest increase in the total phenolic content (1.42 and 2.10 mg GAE/mL) and antioxidant capacity (ABTS: 14.31 and 18.93 mmol Trolox/L; DPPH: 15.67 and 19.76 mmol Trolox/L). According to the results of the sensory analysis, the beverages prepared from Robusta coffee with the addition of ground ivy and Arabica coffee without any additions were the best accepted, while the addition of mountain germander had the worst effect on the acceptance of the beverages of both coffee varieties.

Keywords: coffee, silverskin, polyphenols, caffeine, antioxidants

Thesis contains: 29 pages, 13 figures, 9 tables, 50 references, 0 supplements

Original in: Croatian

Thesis is deposited in printed and electronic form in the Library of the University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: Draženka Komes, PhD, Full Professor

Technical support and assistance: Danijela Šeremet, PhD

Thesis defended: September 16, 2024

Sadržaj

| | |
|---|----|
| 1. UVOD | 1 |
| 2. TEORIJSKI DIO..... | 2 |
| 2.1. KAVA..... | 2 |
| 2.2. NUSPROIZVODI KAVE | 4 |
| 2.3. SREBRNA POKOŽICA..... | 5 |
| 3. EKSPERIMENTALNI DIO | 8 |
| 3.1. MATERIJALI | 8 |
| 3.1.1. UZORCI..... | 8 |
| 3.1.2. KEMIKALIJE | 8 |
| 3.1.3. APARATURA I PRIBOR | 9 |
| 3.2. METODE..... | 9 |
| 3.2.1. PRŽENJE ZELENIH ZRNA KAVE | 9 |
| 3.2.1.1. Određivanje udjela suhe tvari u srebrnoj pokožici | 10 |
| 3.2.2. BIOAKTIVNA KARAKTERIZACIJA SREBRNE POKOŽICE..... | 10 |
| 3.2.2.1. Određivanje udjela ukupnih polifenola | 11 |
| 3.2.2.2. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta DPPH metodom..... | 11 |
| 3.2.2.3. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta ABTS metodom | 11 |
| 3.2.2.4. Određivanje udjela melanoidina | 11 |
| 3.2.2.5. Određivanje udjela pojedinačnih bioaktivnih spojeva tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti (HPLC) | 12 |
| 3.2.3. PRIPREMA NAPITAKA OD PRŽENIH ZRNA KAVE..... | 12 |
| 3.2.3.1. Bioaktivna karakterizacija | 13 |
| 3.2.3.2. Mjerenje pH i topljive suhe tvari | 13 |
| 3.2.3.3. Senzorska analiza | 13 |
| 4. REZULTATI I RASPRAVA | 13 |
| 4.1. BIOAKTIVNI SASTAV SREBRNE POKOŽICE..... | 13 |
| 4.2. BIOAKTIVNI SASTAV NAPITAKA KAVA..... | 16 |

| | |
|--|----|
| 4.3. FIZIKALNA SVOJSTVA NAPITAKA KAVA..... | 20 |
| 4.4. SENZORSKA SVOJSTVA NAPITAKA KAVE..... | 21 |
| 5. ZAKLJUČCI..... | 23 |
| 6. POPIS LITERATURE..... | 24 |

1. UVOD

Kava je jedan od najpopularnijih napitaka na svijetu i potražnja za njom kontinuirano raste. Porastom potražnje, raste i količina nusproizvoda koji nastaju preradom zrna kave. U tom kontekstu, naročito je zanimljiva srebrna pokožica koja nastaje kao nusproizvod tijekom prženja kave. Pošto nastaje tijekom prženja, dostupnost ovog nusproizvoda nije ograničena samo na zemlje koje kavu uzgajaju pa generiraju i druge nusproizvode kao što su kaskara, pokožica, pulpa i pergamentna ovojnica, već na sve zemlje u koje se zelena zrna kave transportiraju i prže. Stoga je jedan od ciljeva ovog rada bila bioaktivna karakterizacija srebrne pokožice Arabika i Robusta kave u svrhu daljnjeg istraživanja njezinog potencijala u formulacijama funkcionalnih prehrambenih proizvoda. Bioaktivna karakterizacija provedena je određivanjem udjela ukupnih polifenola, antioksidacijskog kapaciteta i melanoidina spektrofotometrijskim metodama te udjela pojedinačnih bioaktivnih spojeva HPLC-PDA metodologijom.

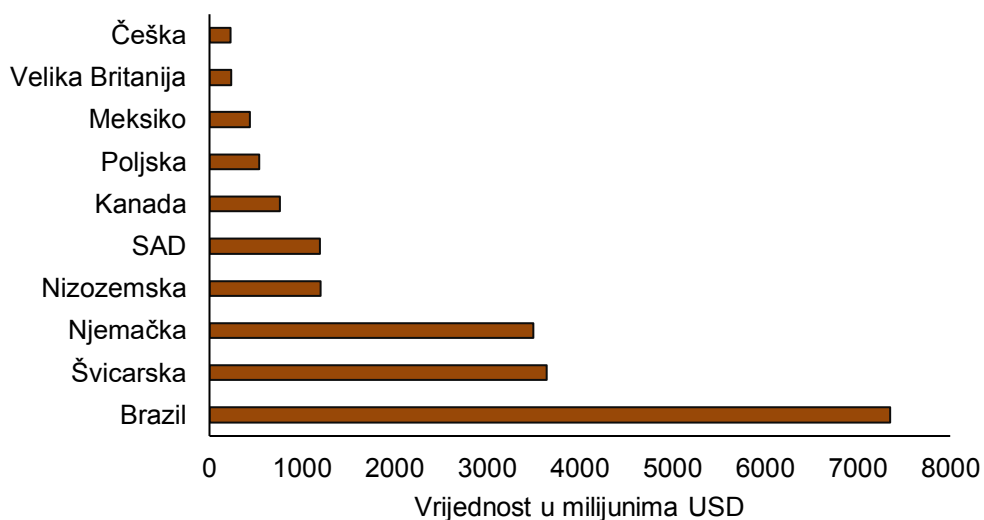
Kao što je spomenuto, potražnja za kavom kontinuirano raste pa se šire i palete okusa kave koje se često kombiniraju s različitim biljnim dodacima, ponajprije začinima. Stoga je drugi cilj ovog istraživanja bio pripremiti napitke Arabika i Robusta kava obogaćene dodatkom zelenih zrna kave te dviju biljnih vrsta; dobričice (*Glechoma hederacea* L.) i trave ive (*Teucrium montanum* L.), s ciljem potencijalnog proširenja asortimana napitaka kava s dodacima biljnog podrijetla izraženog antioksidacijskog djelovanja. Pripremljenim napitcima određen je bioaktivni sastav (udjel ukupnih polifenola, antioksidacijski kapacitet, udjel melanoidina te udjel kafeina i klorogenskih kiselina) te fizikalna (pH i topljiva suha tvar) i senzorska svojstva (okus i miris te opća prihvatljivost).

2. TEORIJSKI DIO

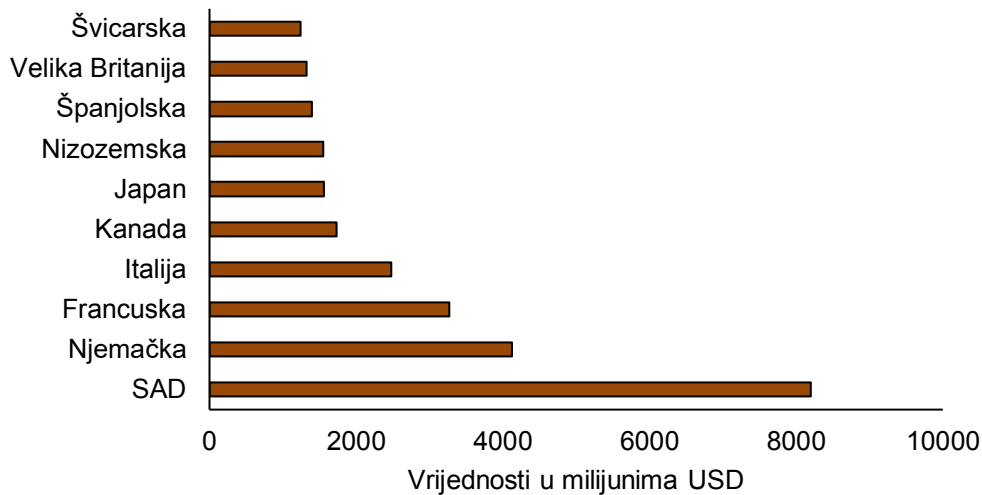
2.1. Kava

Biljka kave raste kao zimzelena grm ili nisko stablo u tropskim i suptropskim područjima. Pripada porodici Rubiaceae i rodu *Coffea* koji uključuje više od 100 vrsta, ali komercijalno najznačajnije su *Coffea arabica* (Arabika) i *Coffea canephora* (Robusta). Arabika kava uzgaja se u planinskim područjima i na višim nadmorskim visinama, dok Robusta uspijeva na nižima (Al-Asmari i sur., 2020). Arabika i Robusta kave međusobno se razlikuju morfološki, a i po kemijskom sastavu, okusu i otpornosti na bolesti. Biljke Arabika kave su grmolikog oblika i imaju manja zrna, koja su plosnata i izdužena, dok su biljke Robusta kave otpornije s okruglim i manjim zrnima (Anthony i sur., 2001). Robusta zrna sadrže dvostruko više kofeina (2,2 – 2,7 %), u usporedbi s Arabika zrnima (1,2 – 1,5 %), i taj visok udio kofeina u Robusta kavi doprinosi njenoj gorčini i jačoj otpornosti na nametnike. Arabika zrna imaju veći udio lipida (15 – 17 %) i šećera (6 – 9 %) u usporedbi s Robusta kavom, čiji udio lipida iznosi 10 – 12 %, a udio šećera 3 – 7 %. Robusta kava obično sadrži i viši udio klorogenskih kiselina (7 – 10 %) u odnosu na Arabika kavu (5 – 8 %) što dodatno doprinosi njenoj izraženijoj gorčini. Arabika kava se zbog bogatijeg i kompleksnijeg sastava najčešće koristi za proizvodnju visokokvalitetnih kava, a Robusta zbog jačeg okusa, u instant kavama i kao dodatak espresso mješavinama (Ky i sur., 2001).

Kava je drugi proizvod po izvozu na globalnoj razini, odmah iza sirove nafte (Vargas-Hernández, 2020). Najveći izvoznici i uvoznici kave za 2023. godinu prikazani su na Slikama 1. i 2.



Slika 1. Najveći izvoznici kave za 2023. godinu (Statista, 2024a)



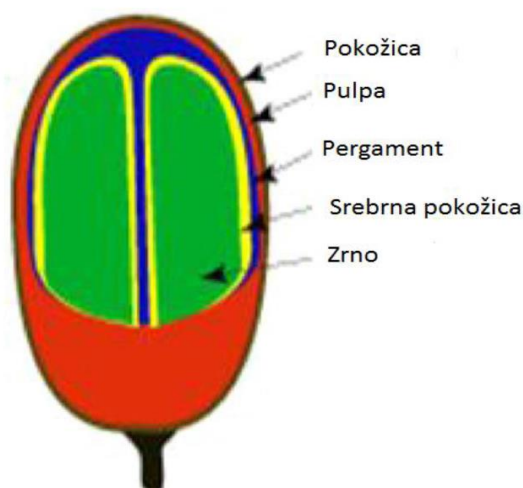
Slika 2. Najveći uvoznici kave za 2023. godinu (Statista, 2024b)

Napitci kave mogu se pripremati na različite načine kao što su espresso, french press, filter kava, *cold brew*, aeropress, turska kava, itd. Tehnika pripreme kave utječe na okus, boju, sastav i miris napitka (Illy i Viani, 2005). Najviše se konzumiraju vrući napitci kave, no sve popularniji postaju hladni (*cold brew*) zbog slađeg i punijeg okusa te manje kiselosti (Fuller i Rao, 2017). Najveća tržišta kave su SAD i Europska unija, a procijenjeno je da se globalno dnevno popije preko 2,25 milijardi šalica kave (Drive Research, 2024).

Konzumacija kave u 2024. godini značajno se povećala među mlađim generacijama, točnije milenijalcima i generacijom Z, koji čine 52 % svjetske populacije. Ritualni ispijanja kave postoje već generacijama, od talijanskog brzog ispijanja jutarnjeg espresa do višesatnog uživanja uz šalicu turske kave u nekim područjima balkanskog poluotoka, no zbog ubrzanog načina života, u novije vrijeme naglasak je na brzini i praktičnosti pa se i ritualni ispijanja kave mijenjaju i raste popularnost *ready to drink* napitcima kave. Ispijanje kave kod kuće najčešće obuhvaća instant mješavine kava koje također postaju sve popularnije. Bitno je napomenuti kako se danas budi svijest o štetnosti prekomjernog unosa kafeina čija dnevna konzumacija ne bi smjela prelaziti 400 mg (*European Food Safety Authority - EFSA*). S obzirom na to, raste i popularnost bezkofeinskih napitaka i/ili napitaka smanjenog udjela kafeina. Nadalje, na tržištu kave ključna je održivost zbog utjecaja klimatskih promjena na kvalitetu i dostupnost usjeva kave, a potrošači sve više traže ekološki odgovorne robne marke (GourmetPro, 2024).

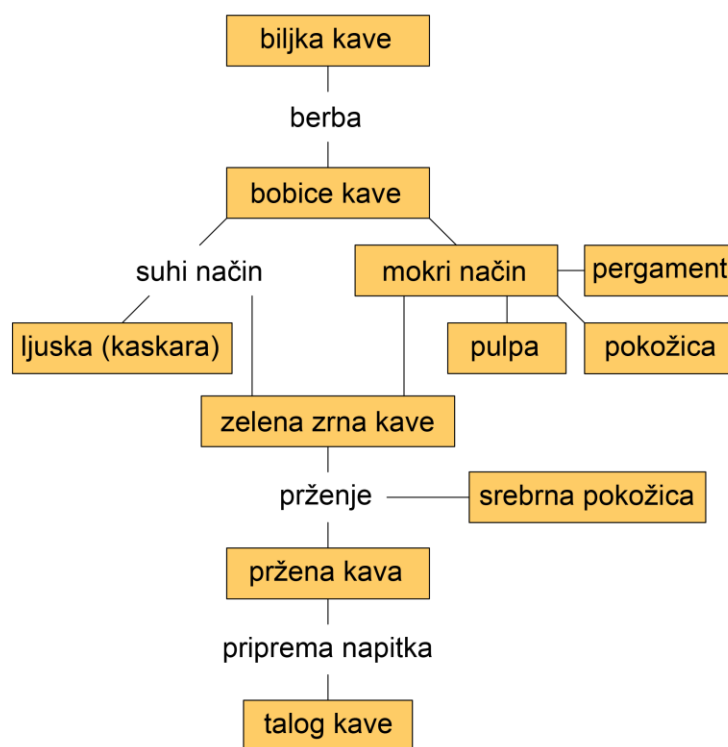
2.2. Nusproizvodi kave

Prvi postupak nakon dozrijevanja plodova kave je berba koja može biti ručna i koja kao takva doprinosi većoj kvaliteti kave, i mehanička, koja je brža i ekonomičnija. Plod kave sastoji se od perikarpa i zrna (Slika 3). Perikarp se sastoji od četiri sloja – pokožica (egzokarp), mezokarp, pektinski sloj i pergamentna ovojnica (endokarp). Zrno čine embrio i endosperm, a obavija ih srebrna pokožica (Ferreira i sur., 2019). Nakon berbe plodova, slijedi uklanjanje usplođa kave (Murthy i Naidu, 2012).



Slika 3. Presjek ploda kave (*prema* Murthy i Naidu, 2012)

Razlikuju se primarna i sekundarna prerade kave, pri čemu primarna uključuje proizvodnju zelenog zrna kave, a sekundarna prženje zrna i pripremu napitaka kave. Primarna prerada kave suhim postupkom najčešće se koristi za Robusta kave, a uključuje sušenje na suncu (2 – 4 tjedna) te ljuštenje pri čemu se odvaja usplođe, odnosno kaskara. Prerada mokrim postupkom koristi se za Arabika kave pri čemu se prvotno provodi izdvajanje pulpe i pokožice, potom se vrši fermentacija (24 – 72 h) uslijed čega se uklanja pektinski sloj i zaostala pulpa, a dobivena zrna se peru i suše te se u konačnici tijekom ljuštenja uklanja pergamentna ovojnica. U nusproizvode sekundarne prerade kave ubraja se srebrna pokožica, koja se izdvaja tijekom prženja zrna kave, te talog kave, koji nastaje uslijed pripreme napitka u domaćinstvima i ugostiteljskim objektima, te u industrijskoj proizvodnji instant kave (Mussatto i sur., 2011). Prikaz nastanka nusproizvoda prerade kave prikazan je na Slici 4.



Slika 4. Shema nastanka nusproizvoda kave (prema Klingel i sur., 2020)

2.3. Srebrna pokožica

Srebrna pokožica jedan je od nusproizvoda kave koji nastaje procesom prženja, a obavlja zrno kave. Prije prženja, srebrna pokožica čini oko 2 – 5 % ukupne mase neprženih zrna, a tijekom prženja taj udio se smanji na 1 – 3 % mase neprženih zrna. Srebrna pokožica dugo se u industriji smatrala agro-industrijskim otpadom, no u posljednje vrijeme, zbog svog bioaktivnog sastava, postaje predmet različitih istraživanja u prehrambenoj, kozmetičkoj i farmaceutskoj industriji (Iriundo-DeHond, 2019). Kemijski sastav srebrne pokožice ovisi o vrsti kave, mjestu proizvodnje, kao i klimatskim uvjetima tijekom rasta plodova kave te daljnjim metodama obrade i načina skladištenja zrna (Nolasco i sur., 2022). Kemijski i bioaktivni sastav srebrne pokožice prikazan je u Tablici 1.

Tablica 1. Kemijski i bioaktivni sastav srebrne pokožice (Narita i Inouye, 2014)

| Makromolekulski sastav (g/100 g srebrne pokožice) | | Mikroelementi (mg/100 g srebrne pokožice) | | Bioaktivni sastav (g/100 g srebrne pokožice) | |
|---|-------------|---|--------|--|-----------|
| <i>Ugljikohidrati</i> | 34,6 - 65,1 | <i>Ca</i> | 584,0 | <i>Ukupni polifenoli</i> | 1,0 - 1,6 |
| <i>Prehrambena vlakna</i> | 56,4 - 65,9 | <i>Mg</i> | 2002,0 | <i>Klorogenska kiselina</i> | 0,6 - 3,0 |
| <i>Celuloza</i> | 23,8 | <i>Na</i> | 5,3 | <i>Tanini</i> | 0,02 |
| <i>Hemiceluloza</i> | 16,7 | <i>K</i> | 4977,0 | <i>Kafein</i> | 0,8 - 1,2 |
| <i>Lignin</i> | 28,6 | <i>Fe</i> | 41,8 | | |
| <i>Masti</i> | 1,6 - 3,2 | | | | |
| <i>Proteini</i> | 18,4 - 19,0 | | | | |
| <i>Pepeo</i> | 4,7 - 7,0 | | | | |

Kao što se vidi u Tablici 1, najzastupljenija komponenta srebrne pokožice su prehrambena vlakna (oko 50 – 60 %) koja imaju povoljan učinak na crijevnu mikrobiotu te smanjuju rizik od različitih bolesti. Srebrna pokožica sadrži i relativno visoki udio proteina (18 %) te nešto manje mineralnih tvari (7 %) (Murthy i Naidu, 2012). Tijekom procesa prženja u srebrnoj pokožici nastaju i melanoidini (Iriundo-DeHond i sur., 2019). Od bioaktivnih spojeva treba istaknuti prisutnost polifenolnih spojeva, naročito klorogenskih kiselina, te kafeina, iz skupine metilksantina. Primjeri ekstrakcija polifenolnih spojeva i kafeina iz srebrne pokožice prikazani su u Tablici 2.

Tablica 2. Pregled tehnika ekstrakcija polifenolnih spojeva i kafeina iz srebrne pokožice

| Uvjeti ekstrakcije | Ekstrakcijski prinos polifenolnih spojeva/kafeina | Referenca |
|---|---|--------------------------------|
| Ekstrakcija pulsirajućim električnim poljem, 41,6 - 70 % EtOH, 5 - 20 min, broj pulseva 500 - 1000, snaga polja 1,5 - 3 kV/cm | 9,9 - 12,9 mg EGK/g srebrne pokožice | Barbossa-Pereira i sur. (2018) |
| Ultrazvukom potpomognuta ekstrakcija, 60 % EtOH, 19 - 45 min, 37 - 80 °C, snaga ultrazvuka 300 W, frekvencija 40 kHz | 7,6 - 10,5 mg EGK/g srebrne pokožice | Guglielmetti i sur. (2017) |
| Ekstrakcija potpomognuta mikrovalovima, 60 % EtOH, 19 - 45 min, 37 - 80 °C, snaga mikrovalova 280 W | 5,2 - 7,0 mg EGK/g srebrne pokožice | Guglielmetti i sur. (2017) |
| Ultrazvukom potpomognuta ekstrakcija, voda 80 %, MeOH, 10 min, snaga ultrazvuka 0 - 38 W/cm ² | 3,3 - 4,3 g kafeina/100 g srebrne pokožice | Wen i sur. (2018) |
| Ekstrakcija pulsirajućim električnim poljem, 41,6 - 70 %, 5 - 20 min, broj pulseva 500 - 1000, snaga polja 1,5 - 3 kV/cm | 4,4 - 6,4 mg kafeina/g srebrne pokožice | Barbossa-Pereira i sur. (2018) |
| Ultrazvukom potpomognuta ekstrakcija, 60 % EtOH, 19 - 45 min, 37 - 80 °C, snaga ultrazvuka 300 W, frekvencija 40 kHz | 9,9 - 12,4 mg kafeina/g srebrne pokožice | Guglielmetti i sur. (2017) |
| Ekstrakcija potpomognuta mikrovalovima, 60 % EtOH, 19 - 45 min, 37 - 80 °C, snaga mikrovalova 280 W | 9,9 - 14,0 mg kafeina/g srebrne pokožice | Guglielmetti i sur. (2017) |

Zbog visokog antioksidacijskog kapaciteta, prisustva kafeina, klorogenskih kiselina i melanoidina, srebrna pokožica može se potencijalno primijeniti kao prirodan izvor bioaktivnih spojeva u formulacijama funkcionalne hrane. Visoke temperature tijekom prženja kave smanjuju mikrobnu aktivnost stoga se konzumacija srebrne pokožice kao sastojka hrana (5 do 10 g) ne smatra rizičnom (Nolasco i sur., 2022). Dakako, prije stavljanja na tržište takvih proizvoda, potrebna je autorizacija Uredbom (EU) br. 2015/2283 i odobrenje Europske agencije za sigurnost hrane (EFSA). Primjeri inkorporacije srebrne pokožice u prehrambene proizvode prikazani su u Tablici 3.

Tablica 3. Primjeri korištenja srebrne pokožice u prehrambenim proizvodima

| Prehrambeni proizvod | Oblik i udio dodane srebrne pokožice | Funkcionalno-tehnološki učinak dodataka srebrne pokožice | Referenca |
|--|---|---|------------------------------|
| Kolač | Prah srebrne pokožice (do 30 %) | Zamjena za pšenično brašno, povećanje udjela prehrambenih vlakana | Ates i Elmaci (2018) |
| Keksi | Prah srebrne pokožice (2,5, 5 i 7,5 %) | Proizvod s poboljšanim funkcionalnim svojstvima i višom <i>in vitro</i> bioraspoloživošću polifenola | Gocmen i sur. (2019) |
| | Vodeni ekstrakt srebrne pokožice kao zamjena za vodu (~23 %); prah (~1 %) | Proizvod poboljšanog nutritivnog sastava i fizikalno-kemijskih parametara uz niski udio hidrokсимetilfurfurala | Garcia-Serna i sur. (2014) |
| Napitak | 2 % praha srebrne pokožice u mješavini za napitak | Napitak s povećanim udjelom bioaktivnih spojeva i zadovoljavajućim senzorskim karakteristikama | Riberio i sur. (2014) |
| Napitci | Vodena infuzija srebrne pokožice (2,5, 5 i 10 mg/mL) | Proizvod izraženog bioaktivnog potencijala i zadovoljavajućeg okusa | Martinez-Saez i sur. (2014) |
| Ekstrudirani proizvod na bazi žitarica | 15 % srebrne pokožice | Proizvod kao izvor proteina i prehrambenih vlakana | Beltran-Medina i sur. (2020) |
| Jogurt | Prah srebrne pokožice (2, 4 i 6 g/100 g jogurta) | Nutraceutički jogurt obogaćenog bioaktivnog sastava dijetalnim vlaknima, fenolnim spojevima, klorogenskim kiselinama i kafeinom | Bertolino i sur. (2019) |

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijali

3.1.1. Uzorci

U ovome radu korištena su zelena zrna Arabika i Robusta kave donirane iz Quawha Coffee Roastery & Coffee Shop (Hrvatska). Zrna Arabika kave bila su podrijetlom iz Brazila, a zrna Robusta kave iz Gvatemale. Biljka dobričica nabavljena je od Travar MB (Hrvatska), a trava iva od OPG Piteša (Hrvatska).

3.1.2. Kemikalije

ABTS reagens (2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina) diamonijeve soli, Sigma-Aldrich (Njemačka)

DPPH reagens (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil radikal), Honeywell Fluka (Italija)

Etanol, Gram-mol d.o.o. (Hrvatska)

Folin-Ciocalteu reagens, Lach-ner (Češka)

HPLC standardi - Galna kiselina (> 97 %), Sigma-Aldrich (Njemačka)

Neoklorogenska kiselina (> 98 %), Sigma-Aldrich (Njemačka)

Klorogenska kiselina (> 95 %), Sigma-Aldrich (Njemačka)

Kriptoklorogenska kiselina (> 98 %), Sigma-Aldrich (Njemačka)

Kalijev persulfat, Sigma-Aldrich (Njemačka)

Karamelan, Frutarom (Izrael)

Metanol, Honeywell (Francuska)

Natrijev karbonat, Lach-ner (Češka)

Trolox (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilna kiselina), Honeywell Fluka (Italija)

Mravlja kiselina, Fisher Scientific (SAD)

Acetonitril, Fisher Scientific (SAD)

3.1.3. Aparatura i pribor

Analitička vaga, New Classic MF, Mettler Toledo AG (Švicarska)

Laboratorijski sušionik, Instrumentaria (Hrvatska)

Magnetska miješalica (SMHS-6), Witeg Labortechnik GmbH (Njemačka)

pH metar Crux Id 185, Mettler Toledo (SAD)

Pržionik (model 1300), Sonofresco (SAD)

Refraktometar (ORF 85BM), Kern & Sohn GmbH (Njemačka)

Tehnička vaga (GF-3000), A&D Instruments (UK)

Ultrazvučna kupelj Elmasonic S 60 H (Njemačka)

Uređaj za tekućinsku kromatografiju visoke djelotvornosti Agilent 1200 Series, Agilent Technologies (SAD)

UV-Vis spektrofotometar Genesys 10S, Thermo Scientific (SAD)

Vodena kupelj Inko VKZ ERN, Inkolab d.o.o. (Hrvatska)

3.2. Metode

3.2.1. Prženje zelenih zrna kave

Zelena zrna Arabika i Robusta kave pržene su koristeći pržionik Sonofresco model 1300 (Slika

5). Prženje je trajalo 20 min, a maksimalna temperatura prženja bila je 200 °C. Nakon prženja, zrna su odvojena od srebrne pokožice, koja nastaje kao nusproizvod tijekom prženja. Pržena zrna i srebrna pokožica potom su samljevena pomoću mlinca za kavu i kao takva korištena za daljnje eksperimente.



Slika 5. Pržionik Sonofresco (model 1300) korišten u ovome istraživanju

3.2.1.1. Određivanje udjela suhe tvari u srebrnoj pokožici

Određivanje udjela suhe tvari provedeno je sušenjem uzoraka u sušioniku na 105 °C do konstantne mase slijedeći AOAC 930.15 metodu (Padmore, 1990). Aluminijske posudice su se osušile u sušioniku, potom ohladile u eksikatoru i izvagale na analitičkoj vagi. U aluminijske posudice dodano je oko 1 g samljevenih uzoraka srebrne pokožice te je provedeno sušenje na 105 °C do konstantne mase. Potom su se posudice ohladile i izvagale, a udio suhe tvari izračunao prema formuli [1]:

$$\text{Udio suhe tvari (\%)} = \frac{m_{ns} - m_p}{m_u} \times 100 \quad [1]$$

gdje je: m_u – masa uzorka (g)

m_p – masa prazne posude s poklopcem (g)

m_{ns} – masa posude s poklopcem i uzorkom nakon sušenja (g)

3.2.2. Bioaktivna karakterizacija srebrne pokožice

U cilju bioaktivne karakterizacije nusproizvoda prženja - srebrne pokožice, pripremljen je vodeno-alkoholni ekstrakt koji je potom korišten za analizu. Kod ekstrakcije je korišten omjer uzorak/otapalo 1 g/100 mL, a kao otapalo korištena je 80 %-tna (v/v) otopina metanola. Ekstrakcija se provodila u vodenoj kupelji zagrijanoj na 80 °C kroz 15 min i potom u

ultrazvučnoj kupelji kroz 15 min te 5 min na magnetskoj mješalici pri sobnoj temperaturi. Nakon ekstrakcije, uzorci su filtrirani, a zaostao kruti talog podvrgnut je još jednom postupku ekstrakcije slijedeći iste parametre. Filtrati prve i druge ekstrakcije su spojeni i korišteni za analizu udjela ukupnih polifenola, antioksidacijskog kapaciteta i udjela kafeina. Analizirana je srebrna pokožica zaostala nakon prženja zrna Arabika kave (uzorak SP_A) i Robusta kave (uzorak SP_R).

3.2.2.1. Određivanje udjela ukupnih polifenola

Udio ukupnih polifenola određen je spektrofotometrijskom metodom modificiranom prema radu Singleton i Rossi (1965). Reakcijska smjesa sastojala se od 100 μ L uzorka, 7,9 mL demineralizirane vode, 500 μ L Folin-Ciocalteu reagensa razrijeđenog s vodom (1:2) i 1,5 mL 20 %-tne (*w/v*) otopine natrijevog karbonata. Apsorbancija reakcijske smjese mjerila se nakon 2 h na valnoj duljini od 765 nm. Baždarna krivulja izrađena je koristeći otopine galne kiseline različite koncentracije te su rezultati izraženi kao ekvivalenti galne kiseline (EGK).

3.2.2.2. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta DPPH metodom

U radu je primijenjena metoda opisana u radu Brand-Williams i sur. (1995). Reakcijska smjesa sastojala se od 3,9 mL 0,094 mM otopine DPPH u metanolu i 100 μ L uzorka. Apsorbancija reakcijske smjese mjerila se na 515 nm nakon 30 min. Baždarna krivulja izrađena je koristeći otopine Trolox-a različite koncentracije te su rezultati izraženi kao ekvivalenti Trolox-a.

3.2.2.3. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta ABTS metodom

U radu je primijenjena metoda opisana u radu Re i sur. (1999). Pripremila se otopina ABTS^{•+} radikala oksidacijom vodene otopine ABTS reagensa (7 mM) s kalijevim persulfatom (140 mM) do konačne koncentracije otopine kalijevog persulfata od 2,45 mM. Na dan analize otopina se razrijedila etanolom do konačne koncentracije ABTS^{•+} radikala od 1 % tako da apsorbancija te otopine iznosi $0,70 \pm 0,02$ na 734 nm. Reakcijska smjesa sastojala se od 4 mL otopine ABTS^{•+} radikala te 40 μ L uzorka, a apsorbancija se mjerila na valnoj duljini od 734 nm nakon 6 min. Baždarna krivulja izrađena je koristeći otopine Trolox-a različite koncentracije te su rezultati izraženi kao ekvivalenti Trolox-a.

3.2.2.4. Određivanje udjela melanoidina

Udio melanoidina određen je spektrofotometrijski mjerenjem apsorbancije pripremljenih ekstrakata (poglavlje 3.2.2.) na 420 nm. Baždarna krivulja izrađena je koristeći karamelan čija 0,1 %-tna (*w/v*) otopina u demineraliziranoj vodi na 420 nm ima apsorbanciju od 0,145 te su rezultati izraženi kao ekvivalenti karamelana (EK).

3.2.2.5. Određivanje udjela pojedinačnih bioaktivnih spojeva tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti (HPLC)

Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (engl. *high performance liquid chromatography*-HPLC) provedena je na kromatografskom sustavu Agilent Series 1200 koristeći kolonu Zorbax Extend C18 (4,6 x 250 nm, 5 µm i.d.; Agilent Technologies, SAD) spojene s detektorom s nizom fotodioda (PDA detektor). Elucija je provedena gradijentno s dvokomponentnom mobilnom fazom koja se sastojala od 1 %-tne (v/v) otopine mravlje kiseline u vodi (A) i 1 %-tne (v/v) otopine mravlje kiseline u acetonitrilu (B), prema režimu elucije prikazanom u Tablici 4. Protok je iznosio 1 mL/min, volumen injektiranja uzorka 5 µL, a temperatura kolone bila je 25 °C. Analiti su detektirani PDA detektorom pri valnim duljinama od 278 nm i 320 nm. Svi uzorci su filtrirani kroz 0,45 µm membranski filter (Nylon Membranes,SAD) prije analize. Identifikacija spojeva provedena je usporedbom retencijskih vremena i UV spektra s odgovarajućim standardima, a kvantifikacija izradom baždarnih krivulja koristeći odgovarajuće standarde.

Tablica 4. Prikaz režima elucije za primijenjenu HPLC-PDA metodologiju

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

3.2.3. Priprema napitaka od prženih zrna kave

Za pripremu napitaka, 20 g prženih i samljevenih zrna Arabika (uzorak A) i Robusta (uzorak R) kava prebačeni su u 200 mL demineralizirane vode zagrijane do vrenja u odgovarajućoj posudi za pripremu (džezva). Pripremljeni su i uzorci gdje je 5 % samljevene i pržene kave zamijenjeno sa zelenim zrnima Arabika i Robusta kave (uzorci A_ZK i R_ZK) pri čemu su miješana pržena i zelena zrna iste vrste. Pripremljeni su i napitci s dodatkom dobričice (uzorci A_D i R_D) i trave ive (uzorci A_TI i R_TI) koji su dodani u istom udjelu kao i zelena zrna.

3.2.3.1. Bioaktivna karakterizacija

Dobivenim napitcima određen je udio ukupnih polifenola (poglavlje 3.2.2.1..), antioksidacijski kapacitet (poglavlja 3.2.2.2.. i 3.2.2.3.) i udio melanoidina (poglavlje 3.2.2.4..) spektrofotometrijskim metodama te udio pojedinačnih bioaktivnih spojeva HPLC-PDA metodologijom (poglavlje 3.2.2.5.).

3.2.3.2. Mjerenje pH i topljive suhe tvari

Napitcima kava izmjerena je pH vrijednost pomoću pH metra Mettler Toledo Crux Id 185 te topljiva suha tvar pomoću refraktometra Kern ORF 85BM.

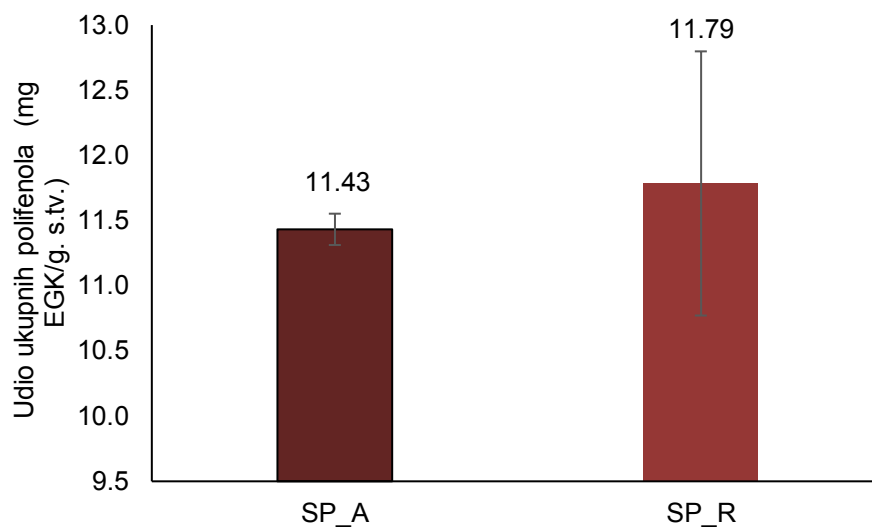
3.2.3.3. Senzorska analiza

Senzorsku analizu provodio je interni panel Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu (Hrvatska) koji se sastojao od 20 članova starosti između 20 i 50 godina. Ispitivani su parametri okusa (kiselo, slatko/karamel, gorko, trpk, biljno, dimljeno/prženo, kakao/čokolada, orašasto), miris i opća prihvatljivost. Korištena je ljestvica procjene jačine ocjenama od 1 do 9 (pri čemu 1 označava izrazito nizak intenzitet/jačinu parametra, a 9 izrazito visoki intenzitet/jačinu parametra.) Opća prihvatljivost napitaka kave ocjenjivana je hedonističkom skalom od 1 do 9, pri čemu 1 izražava izrazito nepoželjan proizvod, a 9 izrazito poželjan proizvod.

4. REZULTATI I RASPRAVA

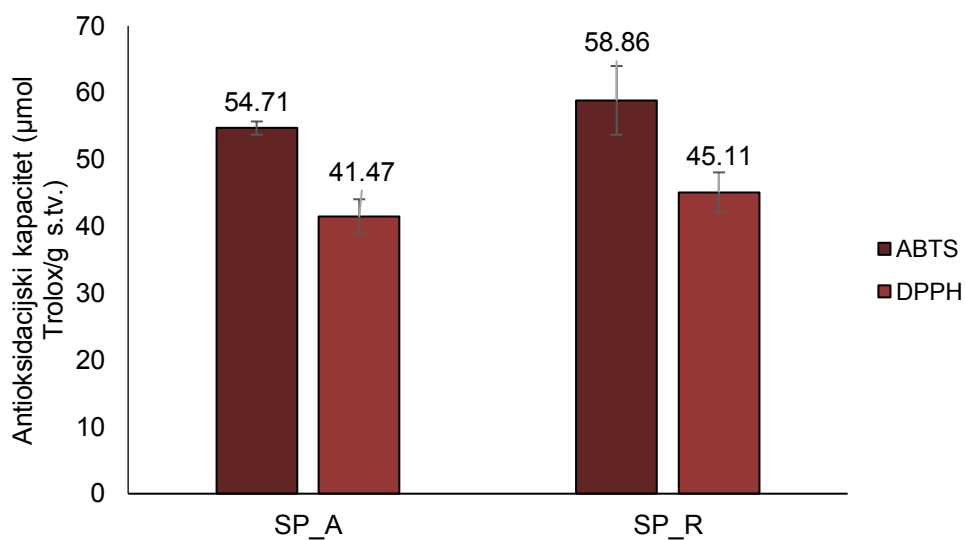
4.1. Bioaktivni sastav srebrne pokožice

Prinos srebrne pokožice nakon prženja zrna Arabika kave iznosio je 0,85 %, a nakon prženja zrna Robusta kave iznosio je 0,32 %. Bioaktivna karakterizacija srebrne pokožice uključivala je određivanje udjela ukupnih polifenola, antioksidacijskog kapaciteta i udjela melanoidina spektrofotometrijskim metodama te udjela kafeina HPLC-PDA metodologijom. Rezultati su prikazani na Slikama 6-8 i u Tablici 5. Rezultati su izraženi na suhu tvar uzoraka, koja je za uzorak srebrne pokožice Arabika kave (uzorak SP_A) iznosila 99,20 %, a za uzorak Robusta kave (uzorak SP_R) 99,03 %.



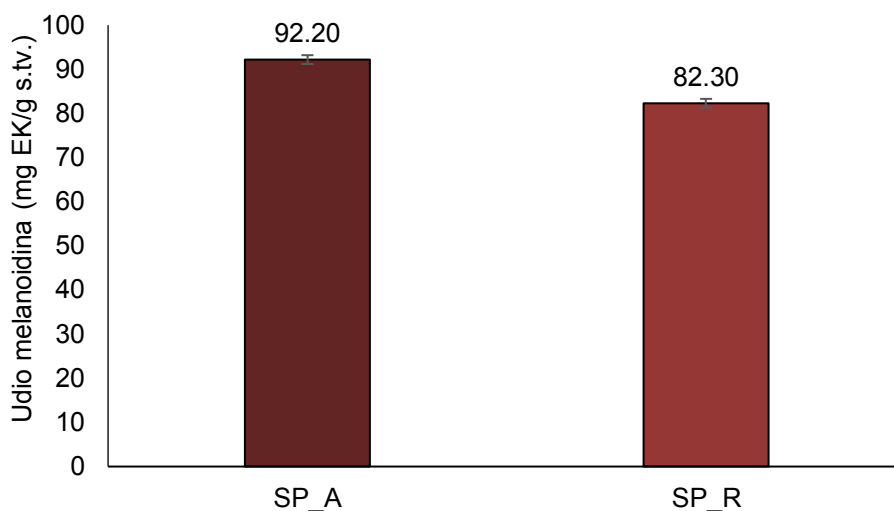
EGK-ekvivalent galne kiseline; s.tv.-suha tvar uzorka

Slika 6. Udio ukupnih polifenola u srebrnoj pokožici zrna Arabika i Robusta kava



s.tv.-suha tvar uzorka

Slika 7. Antioksidacijski kapacitet srebrne pokožice zrna Arabika i Robusta kava



EK-ekvivalent karamelana; s.tv.-suha tvar uzorka

Slika 8. Udio melanoidina u srebrnoj pokožici zrna Arabika i Robusta kava

Tablica 5. Udio kafeina u srebrnoj pokožici zrna Arabika i Robusta kava

| Uzorak | Udio kafeina (mg/g s.tv.) |
|--------|---------------------------|
| SP_A | 2,72 ± 0,00 |
| SP_R | 2,90 ± 0,00 |

s.tv.-suha tvar uzorka

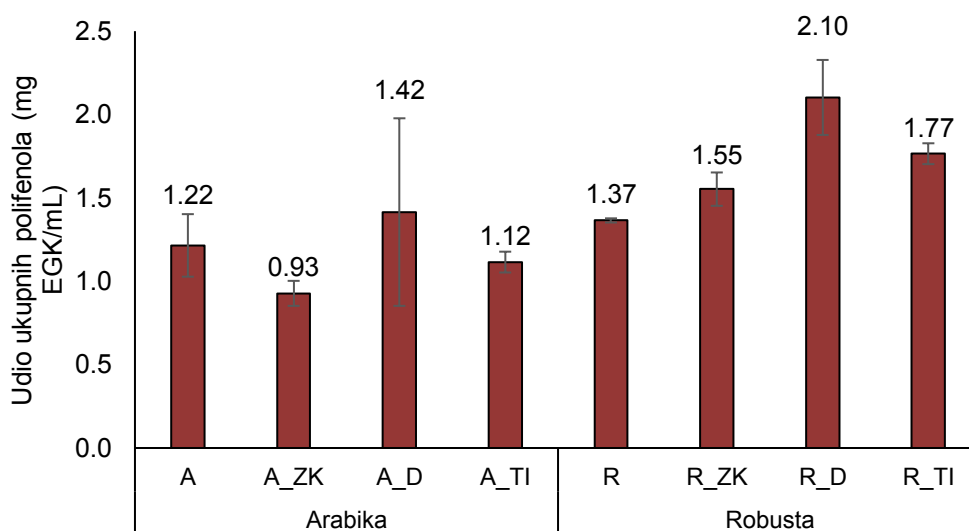
Udio polifenola u srebrnoj pokožici Arabika kave iznosio je 11,43 mg EGK/g s.tv., a antioksidacijski kapacitet određen ABTS metodom 54,71 μmol Trolox/g. s.tv. te antioksidacijski kapacitet određen DPPH metodom 41,47 μmol Trolox/g. s.tv. U srebrnoj pokožici Robusta kave udio polifenola iznosio je 11,79 mg EGK/g s.tv., što je više nego u srebrnoj pokožici Arabika kave. ABTS metodom određen je antioksidacijski kapacitet srebrne pokožice Robusta kave od 58,86 μmol Trolox/g s.tv., a onaj određen DPPH metodom 45,11 μmol Trolox/g s.tv., što su također više vrijednosti nego u srebrnoj pokožici Arabika kave. Machado i sur. (2023) istraživali su bioaktivni sastav mješavine srebrne pokožice sastavljene od kava *C. arabica* i *C. canephora* (40 % : 60 %) i odredili udio polifenola od 12,8 mg EKK (ekvivalenata klorogenske kiseline)/g s.tv. U istome istraživanju određen je i antioksidacijski kapacitet DPPH metodom te je iznosio 1,9 mg Trolox/g s.tv., a onaj određen FRAP metodom 40,5 mg FSE (ekvivalenti željeznog sulfata)/g s.tv., dok je udio kafeina iznosio 7,1 mg/g s.tv. U istraživanju koje su proveli Ballesteros i sur. (2014) određen je antioksidacijski kapacitet DPPH i FRAP metodom u srebrnoj pokožici mješavine Arabika i Robusta kava portugalskog podrijetla. Antioksidacijski kapacitet, određen DPPH metodom, iznosio je 21 μmol Trolox/g s.tv., a onaj određen FRAP metodom 45 μmol Fe(II)/g s.tv.

Određivanjem udjela melanoidina u srebrnoj pokožici kava dobiveni su sljedeći rezultati: 92,20 mg EK/g s.tv. za srebrnu pokožicu Arabika kave te 82,30 mg EK/g s.tv. za srebrnu pokožicu Robusta kave. Iriondo-DeHond i sur. (2021) navode da udio melanoidina u srebrnoj pokožici kave može biti i viši i to u rasponu od 170 do 210 mg/g, što je posljedica uvjeta prženja.

Nadalje, HPLC-PDA metodologijom određen je udio kafeina u srebrnoj pokožici Arabika kave od 2,72 mg/g s.tv. te u srebrnoj pokožici Robusta kave od 2,90 mg/g s.tv. Toschi i sur. (2014) odredili su udio kafeina u mješavini srebrne pokožice kava *C. arabica* i *C. canephora* talijanskog podrijetla u rasponu od 7,7 do 10,3 mg/g, dok su Nzekoue i sur. (2020) odredili udio kafeina u ekstraktu srebrne pokožice Arabika kave, podrijetlom iz Etiopije, od 35,9 mg/g s.tv ekstrakta.

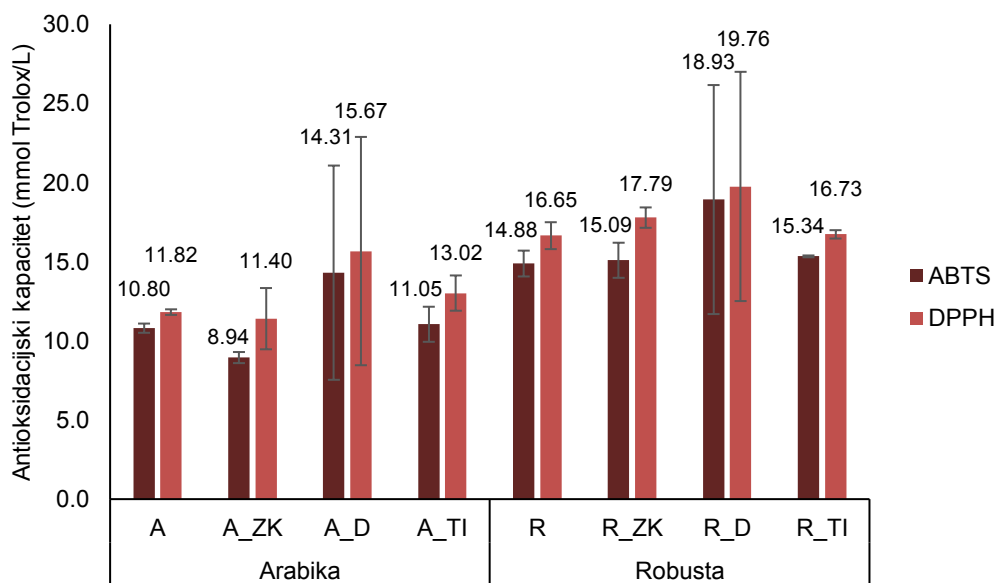
4.2. Bioaktivni sastav napitaka kava

U ovome istraživanju provedena je bioaktivna karakterizacija pripremljenih napitaka od Arabika i Robusta kava koristeći tehniku pripreme za tursku kavu. Pripremljeni su i uzorci s dodatkom zelenih zrna te biljaka dobričice i trave ive. Bioaktivna karakterizacija provedena je određivanjem udjela ukupnih polifenola, antioksidacijskog kapaciteta, udjela melanoidina spektrofotometrijskim metodama te udjela pojedinačnih bioaktivnih spojeva HPLC-PDA metodologijom. Rezultati su prikazani na Slikama 9-11 te u Tablicama 6 i 7.

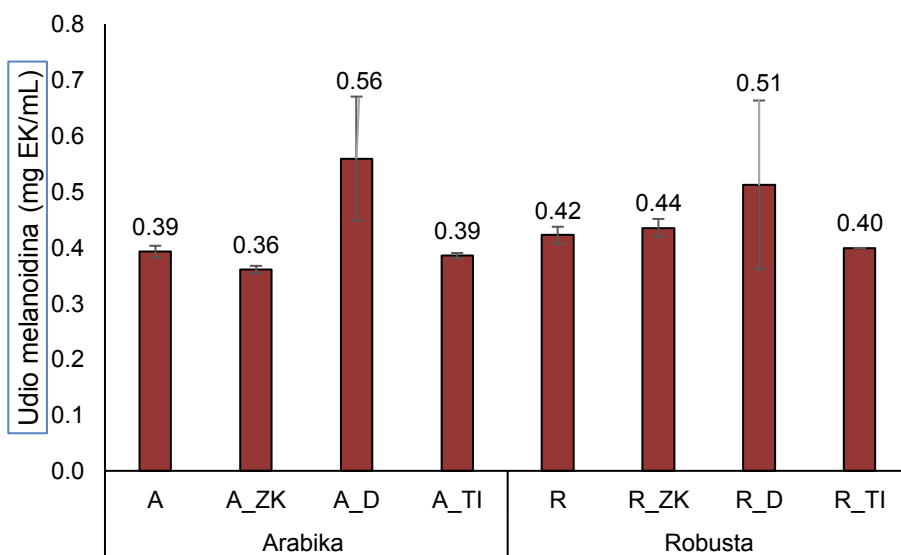


EGK-ekivalent galne kiseline

Slika 9. Udio ukupnih polifenola u napitcima kave



Slika 10. Antioksidacijski kapacitet napitaka kave



EK-ekvivalent karamelana

Slika 11. Udio melanoidina u napitcima kave

Tablica 6. Udio ($\mu\text{g/mL}$) pojedinačnih bioaktivnih spojeva u napitcima Arabika kave

| Uzorak | Metilksantini | Polifenolni spojevi | | |
|--------|---------------|-------------------------|----------------------|----------------------------|
| | Kafein | Neoklorogenska kiselina | Klorogenska kiselina | Kriptoklorogenska kiselina |
| A | 748,37 | 70,69 | 169,04 | 100,74 |
| A_ZK | 690,19 | 70,79 | 284,74 | 106,38 |
| A_D | 679,23 | 71,43 | 164,13 | 98,40 |
| A_TI | 712,36 | 65,56 | 156,76 | 94,33 |

Tablica 7. Udio ($\mu\text{g/mL}$) pojedinačnih bioaktivnih spojeva u napitcima Robusta kave

| Uzorak | Metilksantini | Polifenolni spojevi | | |
|--------|---------------|--------------------------------|-----------------------------|-----------------------------------|
| | <i>Kafein</i> | <i>Neoklorogenska kiselina</i> | <i>Klorogenska kiselina</i> | <i>Kriptoklorogenska kiselina</i> |
| R | 2015,89 | 147,31 | 386,22 | 252,04 |
| R_ZK | 1310,14 | 103,63 | 365,76 | 175,43 |
| R_D | 1250,19 | 91,55 | 232,80 | 156,00 |
| R_TI | 1254,13 | 90,91 | 233,51 | 156,47 |

Udio ukupnih polifenola u napitku pripremljenim isključivo od samljevenih i prženih zrna Arabika kave (uzorak A) iznosio je 1,22 mg EGK/mL. U uzorku s dodatkom zelenih zrna Arabika kave (uzorak A_ZK), određeni je manji udio polifenola od 0,93 mg EGK/mL. Dodatak dobričice u uzorak s Arabika kavom (uzorak A_D) rezultirao je povećanjem udjela ukupnih polifenola na 1,42 mg EGK/mL, dok je u uzorku s dodatkom trave ive (uzorak A_TI) udio ukupnih polifenola iznosio 1,12 mg EGK/mL.

Udio ukupnih polifenola u napitku pripremljenim od samljevenih i prženih zrna Robusta kave (uzorak R) iznosio je 1,37 mg EGK/mL, što je više u odnosu na uzorak Arabika kave (uzorak A). U uzorku s dodatkom zelenih zrna kava (uzorak R_ZK), udio ukupnih polifenola iznosio je 1,55 mg EGK/mL. Isto kao i kod napitaka pripremljenih od Arabika kave, najveći udio ukupnih polifenola imao je napitak pripremljen s dodatkom dobričice (uzorak R_D), a iznosio je 2,10 mg EGK/mL, dok je uzorak s dodatkom trave ive (uzorak R_TI) sadržavao 1,77 mg EGK/mL. Usporedbom napitaka pripremljenih od Arabika i Robusta kave vidljivo je da uzorci Robusta kave sadrže veći udio ukupnih polifenola.

Antioksidacijski kapacitet napitka pripremljenog isključivo od prženih zrna Arabika (uzorak A) iznosio je 10,80 mmol Trolox/L, određen ABTS metodom, te 11,82 mmol Trolox/L, određen DPPH metodom. U napitku pripremljenom od prženih zrna Robusta kave (uzorak R), antioksidacijski kapacitet iznosio je 14,88 mmol Trolox/L (ABTS) te 16,65 mmol Trolox/L (DPPH). Dodatak dobričice u napitke obje vrste kava (uzorci A_D i R_D), uzrokovao je najveće povećanje antioksidacijskog kapaciteta na 14,31 mmol Trolox/L, odnosno 18,93 mmol Trolox/L određenih ABTS metodom, te 15,67 mmol Trolox/L i 19,76 mmol Trolox/L određenih DPPH metodom.

Chavez i sur. (2022) istraživali su bioaktivni sastav različito pripremljenih napitaka (espresso, V60-filter kava, french press, turska i pomoću japanskog sifona) Arabika kave iz Perua. Najveći antioksidacijski kapacitet, određen DPPH i ABTS metodama, (1587,7 i 22,61 mmol Trolox/L) imao je espresso uzorak, a najmanji (584,4 i 11,00 mmol Trolox/L) uzorak turske kave. Najveći udio ukupnih polifenola također je određen u uzorku espressa (73,28 mg EGK/g

uzorka), a najmanji u sifon uzorku (30,54 mg EGK/g uzorka). Najveći udio kafeina određen je u espresso uzorku (1174 µg/mL), dok je u french press uzorku bio najmanji (698 µg/mL). U turskoj kavi udio kafeina iznosio je 918 µg/mL. U istraživanju koje su proveli Šeremet i sur. (2021) pripremljeni su napitci s Arabika kavom iz Brazila i Kostarike, s dekofeiniziranom Arabika kavom iz Meksika i Kolumbije te s Robusta kavom iz Gvatemale i Brazila, na 3 različita načina: espresso, turska i filter kava. Kod svih uzoraka, espresso tehnika pripreme rezultirala je najvećim udjelom ukupnih polifenola i antioksidacijskog kapaciteta (ABTS i DPPH metode), slijedila je turska kava te filter kava. Najveće vrijednosti bioaktivnih parametara određene su u espresso napitku Robusta kave podrijetlom iz Brazila (19,86 mg EGK/mL; 129,60 i 111,59 µmol Trolox/mL).

Nadalje, budući da se tijekom prženja zrna formiraju melanoidini, u svim napitcima određen je i njihov udio koji je u napitku Arabika (uzorak A) i Robusta (uzorak R) kava iznosio 0,39 i 0,42 mg EK/mL. I u slučaju napitaka s Arabika i Robusta kavom, dodatak dobričice uzrokovao je najveće povećanje melanoidina na 0,56 mg EK/mL (uzorak A_D) i 0,51 (uzorak R_D) mg EK/mL. Fogliano i sur. (2010) određivali su udio melanoidina u Arabika kavama iz lokalnih španjolskih trgovina te su pripremili moka, filter i espresso kavu. U moka kavi određeno je 7,2 mg melanoidina /100 g pržene kave kao i u espresso i u filter kavi. Bitno je napomenuti da se razlikovao volumen serviranja espresso kave koji je bio 50 mL, dok je za filter kavu bio 130 mL te za moka kavu 60 mL. Prema tome, udio melanoidina, izražen po volumenu napitka, je najveći u espresso kavi jer je on najkoncentriraniji od drugih istraživanih napitaka.

Nadalje, HPLC-PDA metodologijom, identificiran i kvantificiran je kafein, iz grupe metilksantina, kao i klorogenska, neoklorogenska i kriptoklorogenska kiselina, iz skupine polifenolnih spojeva. Među uzorcima pripremljenima s Arabika kavom, najveći udio kafeina određen je u uzorku A (748 µg/mL), a najmanji u uzorku A_ZK (690 µg/mL). Neoklorogenska kiselina bila je najzastupljenija u uzorku A_D (71,43 µg/mL), a najmanje zastupljena u uzorku A (70,69 µg/mL). Uzorak A_ZK sadržavao je najveće udjele klorogenske i kriptoklorogenske kiseline (284 i 106,38 µg/mL). Od uzoraka pripremljenih s Robusta kavom, najveće udjele kafeina (2015,89 µg/mL), neoklorogenske (147,31 µg/mL), klorogenske (386,22 µg/mL) i kriptoklorogenske (252,04 µg/mL) kiseline imao je uzorak R. Najmanji udjeli kafeina (1250,19 µg/mL), klorogenske (232,80 µg/mL) i kriptoklorogenske (156,00 µg/mL) određeni su uzorku R_D, a najmanji udio neoklorogenske kiseline (90,91 µg/mL) u uzorku R_TI. Awwad i sur. (2021) istraživali su udio kafeina i klorogenskih kiselina u uzorcima zelenih i prženih zrna Arabika kave, podrijetlom iz Jordana. Udio klorogenske kiseline u ekstraktu zelenih zrna kava iznosio je 543,23 mg/L, a udio kafeina 166,72 mg/L. U ekstraktima pripremljenima od zrna prženih na najnižim temperaturama, u rasponu 155 - 165 °C, udio klorogenske kiseline bio je 270,93 mg/L, a kafeina 196,35 mg/L, dok su u ekstraktima pripremljenima od zrna prženih na najvišoj

temperaturi u rasponu 205 - 215 °C, njihovi udjeli iznosili 90,53 i 189,85 mg/L. Rezultati ovog istraživanja pokazali su da najveći udio kafeina imaju srednje pržena zrna kave (175 - 185 °C), a najveći udio klorogenske kiseline imaju zelena zrna kava. Izlaganje klorogenske kiseline visokim temperaturama uzrokuje cijepanje ugljik-ugljik veza čime dolazi do njene degradacije. Također, rezultati su ukazali da se udio kafeina povećava povišenjem temperature do određenog stupnja zbog smanjenja udjela vode u zrnju kave što omogućava oslobađanje hlapljivih spojeva. Vignoli i sur. (2013) određivali su udio kafeina u uzorcima *C. arabica* i *C. canephora* kave brazilskog podrijetla i odredili udjele od 47 mg/g topljive suhe tvari za Arabika kavu te 72 mg/g topljive suhe tvari tvari Robusta kave.

4.3. Fizikalna svojstva napitaka kava

Pripremljenim napitcima kava, od fizikalnih svojstava, određeni su pH vrijednost i topljiva suha tvar. Rezultati su prikazani u Tablicama 8 i 9.

Tablica 8. pH i topljiva suha tvar napitaka Arabika kave

| Uzorak | pH | Topljiva suha tvar (°Bx) |
|--------|-------------|-----------------------------|
| A | 5,50 ± 0,00 | 2,90 ± 0,00 |
| A_ZK | 5,52 ± 0,01 | 2,85 ± 0,05 |
| A_D | 5,49 ± 0,00 | 3,15 ± 0,05 |
| A_TI | 5,53 ± 0,00 | 2,95 ± 0,05 |

Tablica 9. pH i topljiva suha tvar napitaka Robusta kave

| Uzorak | pH | Topljiva suha tvar (°Bx) |
|--------|-------------|-----------------------------|
| R | 5,51 ± 0,00 | 3,20 ± 0,00 |
| R_ZK | 5,53 ± 0,00 | 3,30 ± 0,00 |
| R_D | 5,54 ± 0,00 | 3,05 ± 0,05 |
| R_TI | 5,55 ± 0,00 | 2,95 ± 0,05 |

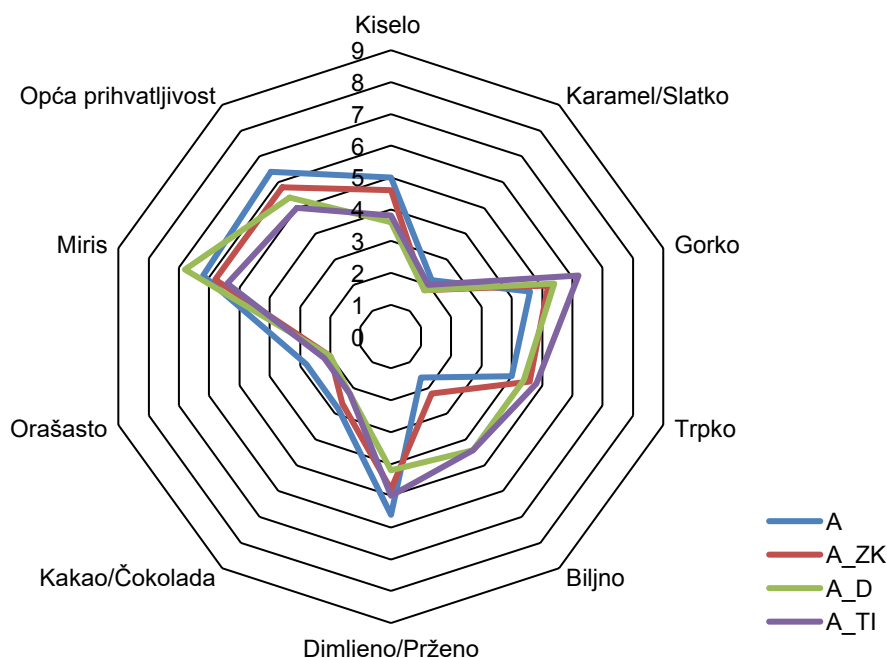
pH vrijednosti napitaka pripremljenih od Arabika kave bili su u uskom rasponu od 5,49 (uzorak A_D) do 5,53 (uzorak A_TI). Slično je uočeno i kod napitaka Robusta kave gdje je taj raspon bio od 5,51 (uzorak R) do 5,55 (uzorak A_TI). pH vrijednosti napitaka kave povezuju se vrlo često s kvalitetom kave te visokokvalitetni napitci pokazuju više vrijednosti pH (5,3 - 5,8) (Araujo i sur., 2020). Kiselost je važno senzorsko svojstvo kave na koju utječe vrsta i

produkcija kave, zemlja podrijetla, temperatura prženja, sastav vode te način pripreme kave (Brollo i sur., 2020).

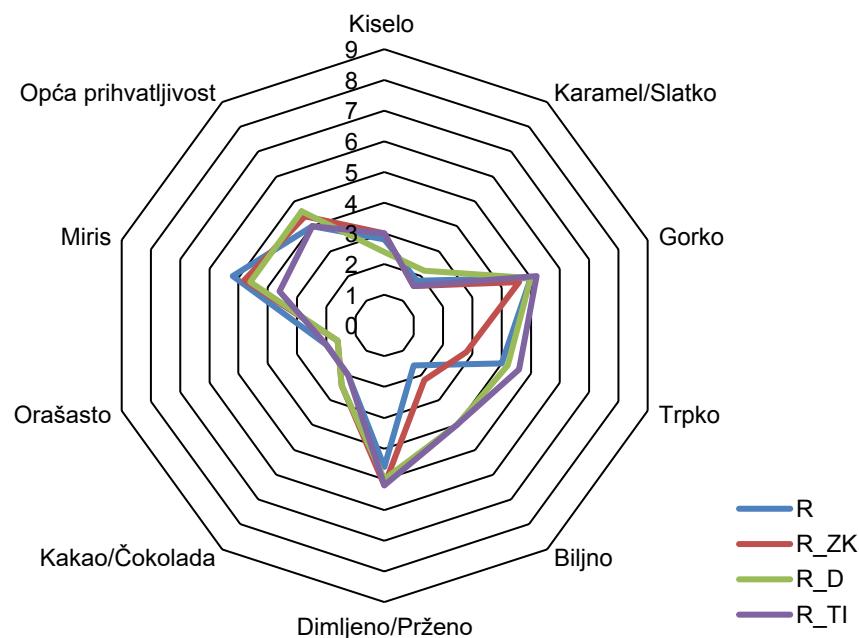
Udio topljive suhe tvari u napitku pripremljenim isključivo od Arabika kave (uzorak A) iznosio je 2,90 °Bx, a dodatak dobričice u napitak (uzorak A_D) uzrokovao je najveće povećanje topljive suhe tvari na 3,15 °Bx. Udio topljive suhe tvari u napitku pripremljenim isključivo od Robusta kave (uzorak R) iznosio je 3,20 °Bx, a najveće povećanje, na 3,30 °Bx, uzrokovao je dodatak zelenih zrna (uzorak R_ZK). Perez-Martinez i sur. (2010) određivali su pH i topljivu suhu tvar u napitcima (filter kava, espresso, moka i french press) prženih zrna Arabika kave iz Kolumbije. pH vrijednosti bile su u uskom rasponu od 5,1 (espresso i moka) do 5,2 (filter i french press), a najviši udio topljive suhe tvari (28,21 mg/mL) određen je u uzorku espressa, a najmanji (13,23 mg/mL) u filter kavi. U uzorku moka kave određeno je 21,25 mg/mL topljive suhe tvari, a u uzorku french press kave 15,77 mg/mL.

4.4. Senzorska svojstva napitaka kave

Pripremljeni napitci kava senzorski su evaluirani pri čemu su ispitivani parametri okusa (kiselo, slatko/karamel, gorko, trpko, biljno, dimljeno/prženo, kakao/čokolada, orašasto), miris i opća prihvatljivost. Rezultati su prikazani na Slikama 12 i 13.



Slika 12. Senzorska svojstva napitaka Arabika kave



Slika 13. Senzorska svojstva napitaka kave Robuste

Najviši intenzitet kiselosti (5,0) određen je u uzorku napitka same Arabika kave (uzorak A), a najmanji (3,6) u uzorku A_D. Također, najviši intenzitet karamel/slatko (2,2) određen je uzorku A, a najmanji (1,8) u uzorcima A_ZK i A_D. Prema ocjenama intenziteta gorčine, kao najgorči uzorak (6,2) ocijenjen je A_TI, a kao najmanje gorak (4,6) uzorak A. Trpkost je bila najmanje izražena u uzorku A (4,0), a najviše izražena (4,8) u uzorku A_TI. Biljni okus je bio najizraženiji u napitcima pripremljenima s dodatkom dobričice i trave ive, odnosno u uzorcima A_D i A_TI (4,4), a najmanje izražen (1,6) u uzorku A. Intenzitet dimljeno/prženo je bio najizraženiji u uzorku A (5,6), a najmanje izražen u uzorku A_D (4,2). Intenzitet okusa kakao/čokolada bio je ocijenjen vrijednostima u uskom rasponu od 2,2 (uzorci A_D i A_TI) do 2,8 (uzorak A). Intenzitet orašastog okusa bio je najviše izražen u uzorku A (2,8), a najmanje u uzorcima A_ZK i A_D (2,0). Najintenzivniji miris određen je u uzorku A_D (6,8), a najmanji u uzorku A_TI (5,4). Prema rezultatima opće prihvatljivosti, nabolje prihvaćen napitak od strane senzorskog panela (6,8) bio je onaj pripremljen isključivo od zrna Arabika kave (uzorak A), a najmanje prihvaćen (5,0) onaj s dodatkom trave ive (uzorak A_TI).

Prema ocjenama intenziteta kiselosti, kao najkiseliji napitci (3,0) ocijenjeni su uzorci R_ZK i R_TI, a kao najmanje kiseo (2,4) uzorak R_D. Okus karamel/slatko bio je najizraženiji (2,2) u uzorku R_D, a najmanje (1,6) u uzorcima R_ZK i R_TI. Kao najgorči uzorak (5,2) ocijenjen je uzorak R_TI, a kao najmanje gorak (4,6) uzorak R_ZK. Trpkost je bila najviše izražena u uzorku R_TI (4,6), a najmanje u uzorku R_ZK (2,8). Biljni okus najmanje je bio izražen u

uzorku R (1,6), a najviše (4,0) u uzorcima s dodatkom dobričice i trave ive (uzorci R_D i R_TI). Okus dimljeno/prženo bio je najviše izražen u uzorcima R_ZK i R_TI (5,2), a najmanje (4,6) u uzorku same Robusta kave (uzorak R). U uzorcima R_ZK i R_D okus kakao/čokoloda ocijenjen je s 2,0, a u napitcima R i R_TI s 2,4. Orašasto svojstvo ocijenjeno je s 1,6 u uzorcima R_ZK i R_D, a s 2,0 u uzorcima R i R_TI. Najintenzivniji miris (5,2) određen je u uzorku R, a najmanje intenzivan (3,6) u uzorku R_TI. Najbolje prihvaćen napitak od strane senzorskog panela, prema rezultatima opće prihvatljivosti, je uzorak R_D (4,6), a najmanje prihvaćeni uzorci R i R_TI (4,0).

5. ZAKLJUČCI

1. Srebrna pokožica Robusta kave sadržavala je veći udio ukupnih polifenola, antioksidacijski kapacitet, udjel melanoidina te kafeina u usporedbi sa srebrnom pokožicom Arabika kave.
2. Dodatak dobričice u napitke obje vrste kave rezultirao je najvećim povećanjem udjela ukupnih polifenola i antioksidacijskog kapaciteta.
3. Među napitcima pripremljenima s Arabika kavom, najveći udio kafeina određen je u napitku bez dodataka, neoklorogenska kiselina bila je najzastupljenija u napitku kave pripremljenom uz dodatak dobričice, dok je u napitku s dodatkom zelene kave određen najveći udjel klorogenske i kriptoklorogenske kiseline.
4. Među napitcima pripremljenima s Robusta kavom, najveći udjeli kafeina, neoklorogenske, klorogenske i kriptoklorogenske kiseline određeni su u napitku bez dodataka.
5. Senzorski su najbolje bili prihvaćeni napitak Arabika kave bez dodataka i napitak Robusta kave s dodatkom dobričice, dok se dodatak trave ive najlošije odrazio na prihvatljivost napitaka obje vrste kave.

6. POPIS LITERATURE

Al-Asmari KM, Abu Zeid IM, Al-Attar AM (2020) Coffee Arabica in Saudi Arabia: An overview. *Int. J Pharm Phytopharm Res.***10**, 71-78.

Anthony F, Bertrand B, Quiros O, Wilches A, Lashermes P, Berthaud J, Charrier A (2001) Genetic diversity of wild coffee (*Coffea arabica* L.) using molecular markers. *Euphytica* **118**, 53-65. <https://doi.org/10.1023/A:1004013815166>

Araujo SC, Macedo LL, Vimercati WC, Ferreira A, Prezotti LC, Saraiva SH (2020) Determination of pH and acidity in green coffee using near-infrared spectroscopy and multivariate regression. *J Sci Food Agr* **100**, 2488-2493. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10270>

Ates G, Elmaci Y (2018) Coffee silverskin as fat replacer in cake formulations and its effect on physical, chemical and sensory attributes of cakes. *LWT* **90**, 519-525. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.01.003>

Awwad N, Issa R, Alnsour L, Albals D, Al-Momani I (2021) Quantification of caffeine and chlorogenic acid in green and roasted coffee samples using HPLC-DAD and evaluation of the effect of degree of roasting on their levels. *Molecules* **26**, 7502. <https://doi.org/10.3390/molecules26247502>

Ballesteros LF, Teixeira JA, Mussatto SI (2014) Chemical, functional and structural properties of spent coffee grounds and coffee silverskin. *Food Bioprocess Technol* **7**, 3493-3503. <https://doi.org/10.1007/s11947-014-1349-z>

Barbosa-Pereira L, Guglielmetti A, Zeppa G (2018) Pulsed electric field assisted extraction of bioactive compounds from cocoa bean shell and coffee silverskin. *Food Bioprocess Technol* **11**, 818-835. <https://doi.org/10.1007/s11947-017-2045-6>

Beltran-Medina EA, Guatemala-Morales GM, Padilla-Camberos E, Corona-Gonzalez RI, Mondragon-Cortez PM, Arriola-Guevara E (2020) Evaluation of the use of a coffee industry by-product in a cereal-based extruded food product. *Foods* **9**, 1008. <https://doi.org/10.3390/foods9081008>

Bertolino M, Barbosa-Pereira L, Ghirardello D, Botta C, Rolle L, Guglielmetti A i sur. (2019) Coffee silverskin as nutraceutical ingredient in yogurt: its effect on functional properties and its bioaccessibility. *J Sci Food Agr* **99**, 4267-4275. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9659>

Bessada SF, Alves RC, Oliveira MBPP (2018) Coffee silverskin: A review on potential cosmetic applications. *Cosmetics* **5**, 5. <https://doi.org/10.3390/cosmetics5010005>

Brand-Williams W, Cuvelier ME and Berset CLWT (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT* **28**, 25-30. [http://dx.doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)

Brollo G, Cappuccio R, Navarini L (2008) Acidity in coffee: bridging the gap between chemistry and psychophysics, 22nd International Conference on Coffee Science, Capinas, Brazil, str. 270-280.

Chavez SG, Mendoza MM, Caetano AC (2022) Antioxidants, phenols, caffeine content and volatile compounds in coffee beverages obtained by different methods. *Food Sci Technol* **42**, e47022. <https://doi.org/10.1590/fst.47022>

Drive research (2024) 2024 Coffee statistics: Consumption, preferences, & spending, <https://www.driveresearch.com/market-research-company-blog/coffee-survey/> Pristupljeno 3. rujna 2024.

Ferreira T, Shuler J, Guimarães, Farah A (2019) Introduction to coffee plant and genetics. U: Farah A (ured.) *Coffee: Production, Quality and Chemistry*, 1.izd., Royal Society of Chemistry, str. 1-25. <https://doi.org/10.1039/9781782622437-00001>

Fogliano V. i J.Morales F. (2011) Estimation of dietary intake of melanoidins from coffee and bread. *Food Funct* **2**, 117-123. DOI: 10.1039/C0FO00156B

Fuller M, Rao N (2017) The effect of time, roasting temperature, and grind size on caffeine and chlorogenic acid concentrations in cold brew coffee. *Sci Rep* **7**, 17979. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-18247-4>

Garcia-Serna E, Martinez-Saez N, Mesias M, Morales FJ, del Castillo MD (2014) Use of coffee silverskin and stevia to improve the formulation of biscuits. *Pol J Food Nutr Sci* **64**, 243-251. <https://doi.org/10.2478/pjfn-2013-0024>

Gocmen D, Sahan Y, Yildiz E, Coskun M, Aroufai IA (2019) Use of coffee silverskin to improve the functional properties of cookies. *Food Sci Technol* **56**, 2979-2988. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03773-y>

GourmetPro (2024) 2024 Coffee market trends: Expert insights, <https://www.gourmetpro.co/blog/coffee-market-trends-expert-insights>. Pristupljeno 3. rujna 2024.

Gugliemetti A, D'Ignoti, Ghirardello D, Belviso S, Zeppa G (2017) Optimization of ultrasound and microwave-assisted extraction of caffeoylquinic acids and caffeine from coffee silverskin using response surface methodology. *Ital J Food Sci* **29**, 3. <https://doi.org/10.14674/IJFS-727>

Illy A, Viani R (2005) *Espresso coffee: The science of quality*, 2.izd., Academic Press, New York.

Iriondo-DeHond A, Aparicio Garcia N, Fernandez-Gomez B, Guisantes-Batan E, Velazquez Escobar F i sur. (2019) Validation of coffee by-products as novel food ingredients. *IFSET* **51**, 194-204. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.06.010>

Iriondo-DeHond A, Casas AR, del Castillo MD (2021) Interest of coffee melanoidins as sustainable healthier food ingredients. *Front Nutr* **8**, 730343. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.730343>

Kleinwächter M, Bytof G, Selmar D (2015) Coffee beans and processing. U: Preedy VR (ured.) *Coffee in Health and Disease Prevention*, 1.izd., Academic Press, str. 73-81. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409517-5.00009-7>

Klingel T, Kremer JI, Gottstein V, Rajcic de Rezende T, Schwarz S, Lachenmeier DW (2020) A review of coffee by-products including leaf, flower, cheery, husk, silver skin, and spent grounds as novel foods within the European Union. *Foods* **9**, 665. <https://doi.org/10.3390/foods9050665>

Ky CL, Louarn J, Dussert S, Guyot B, Hamon S, Noirot M (2001) Caffeine, trigonelline, chlorogenic acids and sucrose diversity in wild *Coffea arabica* L. and *C. canephora* P. accessions. *Food Chem* **75**, 223-230. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00204-7](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00204-7)

Machado M, Santo LE, Machdado S, Lobo JC, Costa ASG, Oliveira MBPP i sur.

(2023) Bioactive potential and chemical composition of coffee by-products: From pulp to silverskin. *Foods* **12**, 2354. <https://doi.org/10.3390/foods12122354>

Martinez-Saez N, Ullate M, Martin-Cabrejas MA, Martorell P, Genoves S, Ramon D, Dolores del Castillo M (2014) Anovel antioxidant beverage for body wight control based on coffee silverskin. *Food Chem* **150**, 227-234. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.100>

Murthy PS, Naidu MM (2012) Sustainable management of coffee industry by-products and value addition-A review. *Resour Conser Recy* **66**, 45-58. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2012.06.005>

Mussatto SI, Machado ES, Martins S, Teixeira JA (2011) Production, composition, and application of coffee and its industrial residues. *Food Bioprocess Technol* **4**, 661-672. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0565-z>

Narita Y, Inouye K (2014) Review on utilization and composition of coffee silverskin. *Food Res Int* **61**, 16-22. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.01.023>

Nolasco A, Squillante J, Esposito F, Velotto S, Romano R, Aponte M i sur. (2022) Coffee silverskin: Chemical and biological risk assessment and health profile for its potential use in functional foods. *Foods* **11**, 2834. <https://doi.org/10.3390/foods11182834>

Nzekoue FK, Angeloni S, Navarini L, Angeloni C, Freschi M, Hrelia S i sur. (2020) Coffee silverskin extracts: Quantification of 30 bioactive compounds by a new HPLC-MS/MS method and evaluation of their antioxidant and antibacterial activities. *Food Res Int* **133**, 109128. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109128>

Olechno E, Puscion-Jakubik A, Markiewicz-Żukowska R i Socha K (2020) Impact of brewing methods on total phenolic content (TPC) in various types of coffee. *Molecules*, **25**, 5274. <https://doi.org/10.3390/molecules25225274>

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

Perez-Martinez M, Caemmerer B, de Peña MP, Cid C, Kroh LW (2010) Influence of brewing method and acidity regulators on the antioxidant capacity of coffee brews. *J Agric Food Chem* **58**. <https://doi.org/10.1021/jf9037375>

Pham Y, Reardon-Smith K, Mushtaq S, Cockfield G (2019) The impact of climate change and variability on coffee production: a systematic review. *Climatic Change* **156**, 609-630. <https://doi.org/10.1007/s10584-019-02538-y>

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**, 1231-1237. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(98)00315-3)

Ribeiro VS, Leitao AE, Ramalho JC, Cebola Lidon F (2014) Chemical characterization and antioxidant properties of new coffee blend with cocoa, coffee silverskin and green coffee minimally processed. *Food Res Int* **61**, 39-47. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.05.003>

Samoggia A, Riedel B (2018) Coffee consumption and purchasing behavior review: Insights for further research. *Appetite* **129**, 70-81. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2018.07.002>

Šeremet, D, Fabečić P, Vojvodić Cebin A, Mandura Jarić A, Pudić R, Komes D (2021) Antioxidants and sensory assessment of innovative coffee blends of reduced caffeine content. *Molecules* **27**, 448. <https://doi.org/10.3390/molecules27020448>

Singleton VL, Rossi JA (1965) Colorimetry of total phenolic with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic* **16**, 144-158. <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>

Statista (2024a) Leading coffee exporting countries worldwide in 2023, <https://www.statista.com/statistics/1096413/main-export-countries-for-coffee-worldwide/>. Pristupljeno 4. rujna 2024.

Statista (2024b) Leading coffee importing countries worldwide in 2023, <https://www.statista.com/statistics/1096400/main-import-countries-for-coffee-worldwide/>. Pristupljeno 4. rujna 2024.

Tores de la Cruz S, Iriando-DeHond A, Herrera T, Lopez-Tofiño Y, Galvez-Robleño C, Prodanov M i sur. (2019). An assessment of the bioactivity of coffee silverskin melanoidins *Foods* **8**, 68. <https://www.mdpi.com/2304-8158/8/2/68>

Toschi TG, Cardenia V, Bonaga G, Mandrioli M, Rodriguez-Estrada MT (2014). Coffee silverskin: Characterization, possible uses, and safety aspects. *J Agric Food Chem* **62**, 10836-10844. <https://doi.org/10.1021/jf503200z>

Vargas-Hernandez JG (2020) Global trade of coffee and its economic effect in the value chain. *RSEP* **5**, 51-64 <https://doi.org/10.19275/RSEP095>

Vignoli JA, Caldeira Viegas M, Bassoli DG, de Toledo Benassi M (2014) Roasting process affects differently the bioactive compounds and the antioxidant activity of arabica and robusta coffees. *Food Funct.* **61**, 117-123.

<https://doi.org/10.1039/c0fo00156b>

Wen C, Zhang J, Zhang H, Dzah CS, Zandile M, Duan Y i sur. (2018) Advances in ultrasound assisted extraction of bioactive compounds feom cash crops-A review. *Ultrason Sonochem* **48**, 538-549. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.07.018>

Izjava o izvornosti

Ja, Nina Javorsky, izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.



Vlastoručni potpis