

Bioaktivna karakterizacija cold brew kava

Marić, Mateja

Master's thesis / Diplomski 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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:159:485600>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-04-01**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, studeni 2024.

Mateja Marić

BIOAKTIVNA KARAKTERIZACIJA
***COLD BREW* KAVA**

Rad je izrađen u Laboratoriju za tehnologiju ugljikohidrata i konditorskih proizvoda na Zavodu za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo Sveučilišta u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološkoga fakulteta pod mentorstvom prof. dr. sc. Draženke Komes te uz pomoć asistentice dr. sc. Danijele Šeremet.

Srdačno zahvaljujem mentorici, prof. dr. sc. Draženki Komes, na velikoj potpori, strpljenju, susretljivosti i podijeljenom znanju tijekom pisanja ovog diplomskog rada. Iskrena hvala i asistentici, dr. sc. Danijeli Šeremet, na nesebičnoj podršci, strpljenju i prenesenom znanju tijekom provođenja eksperimentalnog dijela i pisanja ovog rada.

Velika zahvalnost ide i mojim roditeljima, Juri i Biserki, na njihovoj bezuvjetnoj emotivnoj podršci, strpljenju i motivaciji tijekom cijelog mog obrazovanja.

Na kraju, hvala svim prijateljima, a posebno najdražim kolegicama s fakulteta, koje su mi bile oslonac u svim teškim i sretnim trenucima studiranja.

Hvala Ti, Bože!

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: Prehrambeno inženjerstvo

BIOAKTIVNA KARAKTERIZACIJA *COLD BREW* KAVA
Mateja Marić, univ. bacc. ing. techn. aliment.
0058215906

Sažetak: Među novijim trendovima na tržištu kave ističu se *cold brew* napitci koji se pripremaju različitim tehnikama, pri čemu omjeri kave i vode, temperatura i vrijeme ekstrakcije značajno utječu na njihova bioaktivna i senzorska svojstva. Cilj rada bio je pripremiti funkcionalne *cold brew* napitke Arabika i Robusta kave obogaćene dodatkom zelene kave, dobričice (*Glechoma hederacea* L.) i trave ive (*Teucrium montanum* L.). Napici su pripremljeni na 15 °C i 25 °C. Bioaktivna karakterizacija kava i napitaka određena je spektrofotometrijskim metodama i tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti s detektorom s nizom fotodioda (engl. *high-performance liquid chromatographic method with photodiode array detector*, HPLC-PDA). Robusta kava imala je veći udjel melanoidina, ukupnih polifenola, kafeina i klorogenskih kiselina te izraženiji antioksidacijski kapacitet, u usporedbi s Arabika kavom. *Cold brew* napitke pripremljene na višoj temperaturi (25 °C) karakterizira viši udjel melanoidina, polifenola i kafeina kao i viši antioksidacijski kapacitet u odnosu na napitke pripremljene na nižoj temperaturi (15 °C), koji su i senzorski bili slabije ocijenjeni. Funkcionalni *cold brew* napitak kave s dodatkom trave ive bio je senzorski najlošije prihvaćen od strane senzorskog panela.

Ključne riječi: *cold brew* kava, melanoidini, polifenoli, kafein, antioksidacijski kapacitet

Rad sadrži: 54 stranice, 28 slika, 11 tablica, 93 literaturna navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološkoga fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb.

Mentor: prof. dr. sc. Draženka Komes

Pomoć pri izradi: dr. sc. Danijela Šeremet

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. doc. dr. sc. Aleksandra Vojvodić Cebin (predsjednik)
2. prof. dr. sc. Draženka Komes (mentor)
3. prof. dr. sc. Ksenija Marković (član)
4. prof. dr. sc. Dubravka Novotni (zamjenski član)

Datum obrane: 28. studenoga 2024.

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 Confectionary Products

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Food Technology

Graduate university study programme: Food Engineering

BIOACTIVE CHARACTERIZATION OF COLD BREW COFFEE

Mateja Marić, univ. bacc. ing. techn. aliment.
0058215906

Abstract: Among recent trends in the coffee market, cold brew beverages stand out, prepared using various techniques where the coffee-to-water ratio, temperature, and extraction time significantly influence their bioactive and sensory properties. The aim of this study was to prepare functional cold brew beverages from Arabica and Robusta coffee, enriched with the addition of green coffee, ground ivy (*Glechoma hederacea* L.), and mountain germander (*Teucrium montanum* L.). The beverages were prepared at 15 °C and 25 °C. The bioactive characterization of the coffees and beverages was determined using spectrophotometric methods and high-performance liquid chromatography with photodiode array detection (HPLC-PDA). Robusta coffee had a higher content of melanoidins, total polyphenols, caffeine, and chlorogenic acids, as well as a more pronounced antioxidant capacity compared to Arabica coffee. Cold brew beverages prepared at the higher temperature (25 °C) were characterized by a higher content of melanoidins, polyphenols, and caffeine, along with a higher antioxidant capacity compared to beverages prepared at the lower temperature (15 °C), which also received lower sensory evaluations. The functional cold brew coffee beverage with the addition of mountain germander was the least well-received by the sensory panel.

Keywords: cold brew coffee, melanoidins, polyphenols, caffeine, antioxidant capacity

Thesis contains: 54 pages, 28 figures, 11 tables, 93 references

Original in: Croatian

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

Mentor: Draženka Komes, PhD, Full professor

Technical support and assistance: Danijela Šeremet, PhD

Reviewers:

1. Aleksandra Vojvodić Cebin, PhD, Assistant professor (president)
2. Draženka Komes, PhD, Full professor (mentor)
3. Ksenija Marković, PhD, Full professor (member)
4. Dubravka Novotni, PhD, Full professor (substitute)

Thesis defended: November 28th, 2024

Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO.....	2
2.1. KAVA.....	2
2.1.1. Uzgoj i proizvodnja kave.....	3
2.1.2. Konzumacija kave	6
2.1.3. Kemijski sastav kave	7
2.2. COLD BREW KAVA	8
2.2.1. Obogaćene/funkcionalne kave i <i>cold brew</i> obogaćene kave.....	9
2.2.2. Priprema <i>cold brew</i> kava	10
2.3. TRENDOWI NA TRŽIŠTU KAVE	13
2.3.1. <i>Specialty</i> kava	13
2.3.2. Kave smanjenog udjela kafeina.....	14
2.3.3. Dekofeinizirana kava	14
2.3.4. Održivost proizvodnje kave	14
2.3.5. Iskorištavanje nusproizvoda	15
3. EKSPERIMENTALNI DIO	16
3.1. MATERIJALI	16
3.1.1. Uzorci	16
3.1.2. Kemikalije	16
3.1.3. Laboratorijski uređaji i pribor	16
3.2. METODE RADA	18
3.2.1. Anketa	18
3.2.2. Prženje zelenih zrna kave	19
3.2.3. Određivanje udjela suhe tvari pržene kave	19
3.2.4. Mjerenje raspodjele veličine čestica pržene i samljevene kave.....	19
3.2.5. Karakterizacija bioaktivnog sastava prženih kava	20
3.2.5.1. Ekstrakcija bioaktivnih spojeva	20
3.2.5.2. Određivanje udjela melanoidina	20
3.2.5.3. Određivanje udjela ukupnih polifenola	20
3.2.5.4. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta DPPH metodom.....	21
3.2.5.5. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta ABTS metodom	21
3.2.5.6. Određivanje udjela pojedinačnih bioaktivnih spojeva tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti (HPLC)	21
3.2.6. Priprema <i>cold brew</i> napitaka	22
3.2.6.1. Određivanje pH-vrijednosti i topljive suhe tvari.....	23
3.2.6.2. Bioaktivna karakterizacija <i>cold brew</i> napitaka	23

3.2.6.3.	Senzorska analiza cold brew napitaka	24
3.2.7.	Statistička obrada rezultata	24
4.	REZULTATI I RASPRAVA	25
4.1.	REZULTATI ANKETE	25
4.2.	RASPODJELA VELIČINE ČESTICA PRŽENIH KAVA	30
4.3.	BIOAKTIVNA KARAKTERIZACIJA PRŽENIH ZRNA KAVE.....	32
4.3.1.	Udjel melanoidina u prženim zrnima kave	32
4.3.2.	Udjel ukupnih polifenola u prženim zrnima kave	33
4.3.3.	Antioksidacijski kapacitet prženih zrna kave	34
4.3.4.	Udjel kafeina i polifenolnih spojeva u prženim zrnima kave	35
4.4.	BIOAKTIVNA I KEMIJSKA KARAKTERIZACIJA COLD BREW NAPITAKA OD KAVE	36
4.4.1.	Udjel melanoidina u <i>cold brew</i> napitcima	36
4.4.2.	Udjel ukupnih polifenola u <i>cold brew</i> napitcima.....	37
4.4.3.	Antioksidacijski kapacitet <i>cold brew</i> napitaka	38
4.4.4.	Određivanje udjela kafeina i polifenolnih spojeva tekućinskom kromatografijom visoke učinkovitosti (HPLC)	40
4.4.5.	pH vrijednost <i>cold brew</i> napitaka.....	42
4.4.6.	Udjel topljive suhe tvari u <i>cold brew</i> napitcima.....	43
4.5.	SENZORSKA ANALIZA	44
5.	ZAKLJUČCI.....	48
6.	LITERATURA.....	49

1. UVOD

Konzumacija kave ima značajan ekonomski utjecaj, ali je i neizostavni dio društvenog i kulturnog života velikog dijela populacije širom svijeta. Ovaj napitak svakodnevno se konzumira zbog svog stimulativnog učinka te atraktivnog mirisa i ugodnog okusa. U razdoblju od 2020. – 2021. godine, globalna potrošnja kave premašila je 166 milijuna vreća kave od 60 kg, a procijenjuje se da se svakodnevno konzumira više od 1,6 milijardi šalica. Osim privlačnih senzorskih karakteristika, kava privlači pozornost i zbog potencijalnih pozitivnih učinaka na zdravlje (Makiso i sur., 2023) koji su rezultat kompleksnog sastava kave s više od 100 bioaktivnih i kemijskih spojeva (Ungvari i Kunutsor, 2024). Mnoga istraživanja potvrđuju da konzumacija kave može smanjiti rizik od određenih zdravstvenih komplikacija, uključujući dijabetes tipa II, srčane bolesti, cirozu jetre, pretilost i rak (Makiso i sur., 2023). Kafein je najčešće konzumirani psihostimulans čiji udjel u jednoj šalici kave varira ovisno o varijetetu kave, geografskoj regiji, uvjetima uzgoja i prerade i načinu pripreme (Ungvari i Kunutsor, 2024; Voskoboinik i sur., 2019). Prema znanstvenom mišljenju EFSA-e (*European Food Safety Authority*) uobičajena konzumacija kafeina do 400 mg dnevno ne izaziva zabrinutost za sigurnost odraslih zdravih osoba.

Sve je veća potražnja za novim proizvodima kava čija nutritivna kvaliteta postaje sve važnija potrošačima. Na tržištu se ističu trendovi *specialty* kave, kave smanjenog udjela kafeina i dekofeinizirane kave s niskim udjelom kafeina. Također, raste interes za funkcionalne kave obogaćene sastojcima koji imaju potencijalno pozitivne zdravstvene učinke. U kontekstu tržišnih trendova i održiva proizvodnja kave postaje sve važnija, s fokusom na ekološke i socijalne aspekte, čime se nastoje poboljšati uvjeti života proizvođača i zaštititi okoliš.

Jedan od novijih trendova su i *cold brew* kave čija popularnost u svijetu raste. *Cold brew* kava priprema se hladnom ekstrakcijom vodom sobne temperature (20 do 25 °C ili hladnijom) kroz duži vremenski period, u odnosu na pripremu toplog napitka, najčešće unutar 8 do 24 sata. Dugo vrijeme pripreme rezultira glatkim i blagim profilom okusa, dok su topli napitci kiselijeg i gorčeg okusa (Kyroglou i sur., 2021; Fuller i Rao, 2017).

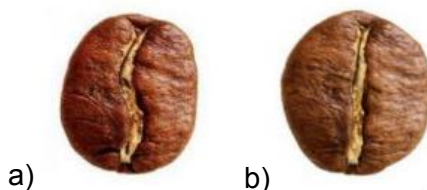
Cilj ovog rada bio je formulirati i karakterizirati bioaktivna svojstva *cold brew* napitaka pripremljenih od prženih zrna Arabika i Robusta kave. Napitci su obogaćeni dodatkom zelene kave, dobričice (*Glechoma hederacea* L.) i trave ive (*Teucrium montanum* L.). Bioaktivna karakterizacija uključivala je određivanje udjela melanoidina, ukupnih polifenola, antioksidacijskog kapaciteta te udjela kafeina i klorogenskih kiselina, a određena su i kemijska (udjel topljive suhe tvari i pH) i senzorska svojstva.

Kao uvod u eksperimentalni dio istraživanja provedeno je i anketno ispitivanje potrošača o poznavanju *cold brew* napitaka kave.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. KAVA

Biljka kave pripada rodu *Coffea* L. iz porodice Rubiaceae (broćevke). Rod *Coffea* L. obuhvaća više od 100 vrsta, dok se jedino dvije vrste - *Coffea arabica* (Arabika) i *Coffea canephora* (Robusta), uzgajaju u velikim razmjerima (Mishra i sur., 2020; Rodríguez-Gómez i sur., 2018). Na slici 1 prikazana su zrna Arabika i Robusta kave gdje se mogu uočiti razlike kao što su središnja brazda u obliku slova S kod Arabika zrna i različita veličina i oblik zrna.



Slika 1. Arabika (a) i Robusta (b) zrna kave (Susanti i sur., 2023)

Podaci o Arabika i Robusta vrstama prikazani su u tablici 1.

Tablica 1. Podaci o Arabika i Robusta vrstama

	Svjetska proizvodnja (%)	Nadmorska visina (m)	Temperature za uzgoj (°C)	Godišnja količina oborina (mm)
Arabika	80 (AL-Asmari i sur., 2020)	1300 – 2000 m (Herrera i Lambot, 2017)	18 – 21 (Lambot i sur., 2017)	1100 – 2000 (Lambot i sur., 2017)
Robusta	20 (Slavova i Georgieva, 2019)	250 – 1500 m (Lambot i sur., 2017)	22 – 26 (Lambot i sur., 2017)	1200 – 2500 (Lambot i sur., 2017)

Arabika kava čini većinu ukupne svjetske proizvodnje kave i potječe iz Etiopije (Afrika) (AL-Asmari i sur., 2020; Bresciani i sur., 2014). Ova kava raste na nadmorskoj visini od najmanje 900 metara i danas se uzgaja u tropskim i ekvatorijalnim predjelima Amerike, Afrike i Azije (Slavova i Georgieva, 2019). Nakon berbe obrada kave provodi se suhim ili mokrim postupcima. Mokri postupak uglavnom se koristi na komercijalnim plantažama i uključuje uklanjanje pulpe nakon čega se sluz uklanja fermentacijom u vodenom spremniku tijekom 6 – 24 h te slijedi ispiranje zrna i sušenje. Suhi postupak uključuje sušenje plodova 14 do 30 dana tijekom kojeg

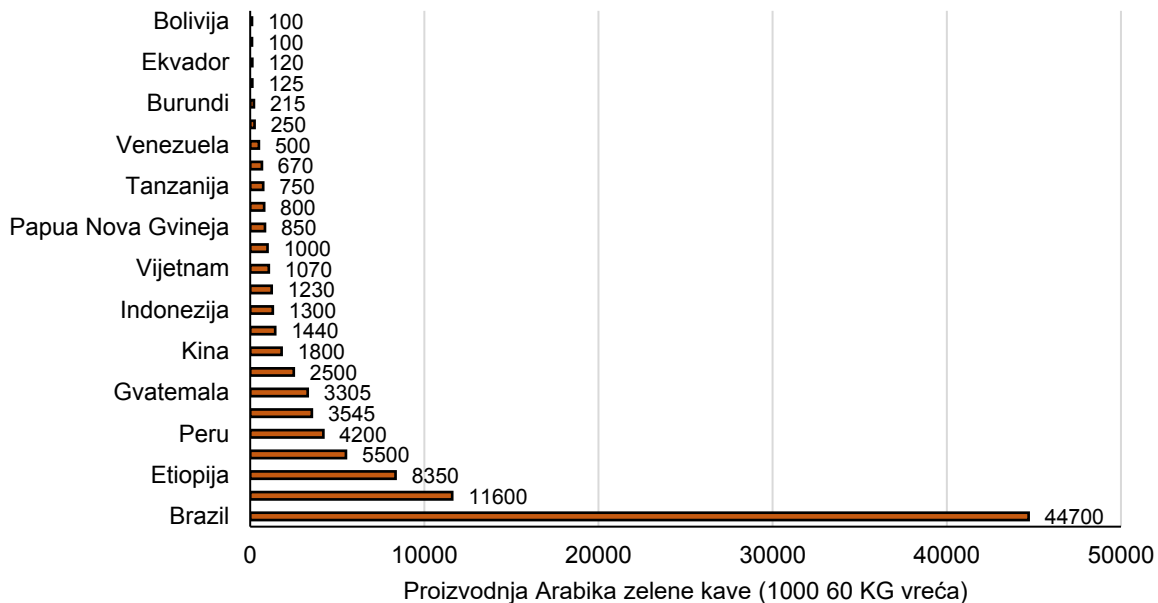
dolazi do spontane fermentacije (Bruyn i sur., 2017; Batista i sur., 2009). Sušenje je važan proces za kvalitetu kave zbog smanjenja vlage u zrnju i sprječavanja mikrobne aktivnosti koja uzrokuje kvarenje tijekom skladištenja. Sušenje se može vršiti prirodnim sušenjem ili sušenjem u sušarama uz korištenje goriva ili drva kao izvor energije. Kako bi se smanjili troškovi tog „umjetnog“ sušenja, velike komercijalne plantaže kave u novije vrijeme koriste solarne tunele kao alternativnu metodu sušenja kave (Firdissa i sur., 2022). Osim vrste i sorte, na kemijski sastav utječu i razni čimbenici kao što su metode berbe (ručno ili mehaničko), obrada zrna (mokro, suho ili polusuho) i skladištenje (Kath i sur., 2021; Casas i sur., 2017; Franca i sur., 2005). Kemijski sastav određuje cijenu kave. Kod zrna Arabika kava na brže dozrijevanje utječu više temperature i oborine. Premalo oborina tijekom vegetacijske sezone stvara stres biljkama što uzrokuje odumiranje grana i gubitak lišća te dovodi do manjih i oštećenih zrna kave, dok previše oborina može oštetiti cvjetove i plodove (Kath i sur., 2021; DaMatta i sur., 2018). Tijekom berbe, povećana vlažnost pogoduje razvoju plijesni, bolesti i prekomjernoj fermentaciji, što sve može povećati oštećenja zrna kave (Kath i sur., 2021).

U istraživanju Kath i sur. (2021) niska količina oborina tijekom kasne vegetacijske sezone bila je povezana s manjim zrnima, dok su niske oborine tijekom rane vegetacijske sezone i cvatnje imale suprotan učinak. Veća količina oborina tijekom berbe bila je povezana s povećanom vjerojatnošću pojave oštećenja zrna kave, no učinak oborina bio je ublažen ili povezan s temperaturom. Pljesniva zrna i oštećenja od insekata također su povezana s klimom tijekom rane i kasne vegetacijske sezone (Kath i sur., 2021).

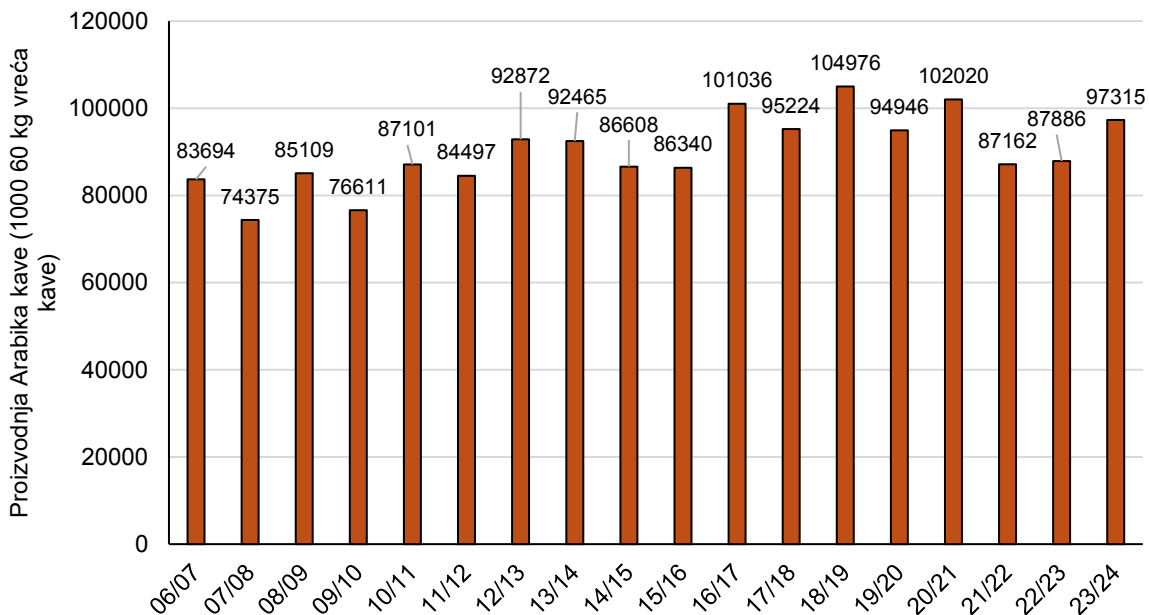
2.1.1. Uzgoj i proizvodnja kave

Glavni proizvođač kave je Brazil. Jedina iznimka bila je prirodna katastrofa 1975. godine kada su plantaže kave bile teško oštećene, a više od polovice usjeva u zemlji uništeno. Kava je prvi put uvezena u Brazil iz Francuske Gvajane 1727. godine, a danas zemlja proizvodi jednu trećinu svjetske zalihe kave. Oko 80 % zrna kave uzgojenih u Brazilu je Arabika (Slavova i Georgieva, 2019).

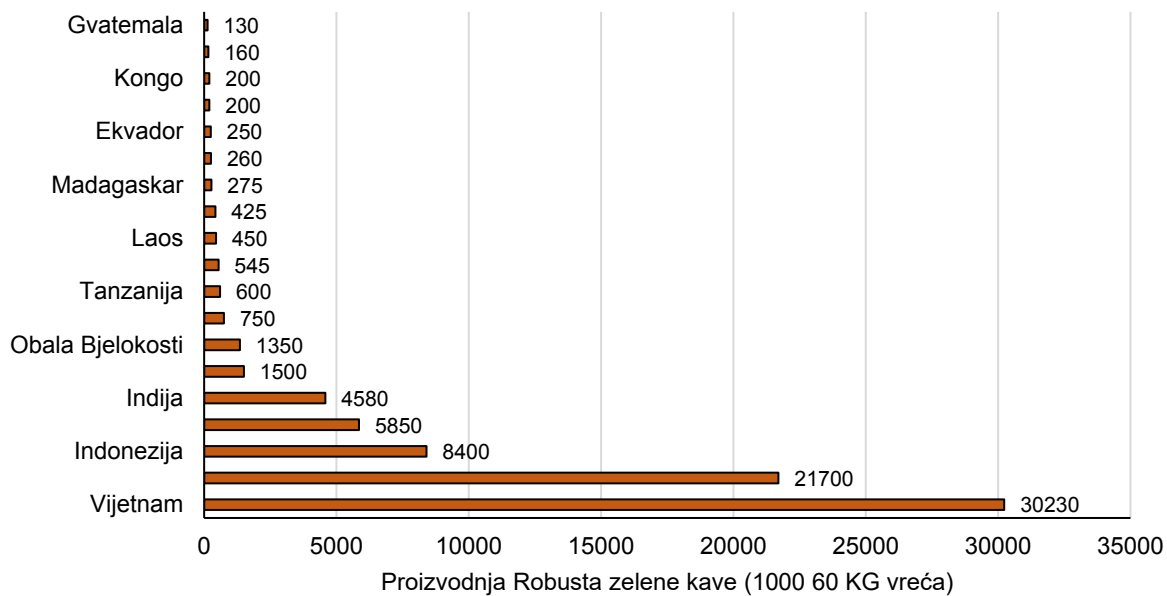
Na slikama 2 i 3 prikazana je proizvodnja Arabika zelene kave po državama 2023. godine i svjetska proizvodnja Arabika kave od 2006. do 2024. godine. Proizvodnja Robusta zelene kave po državama 2023. godine prikazana je na slici 4, a svjetska proizvodnja od 2006. do 2024. godine na slici 5.



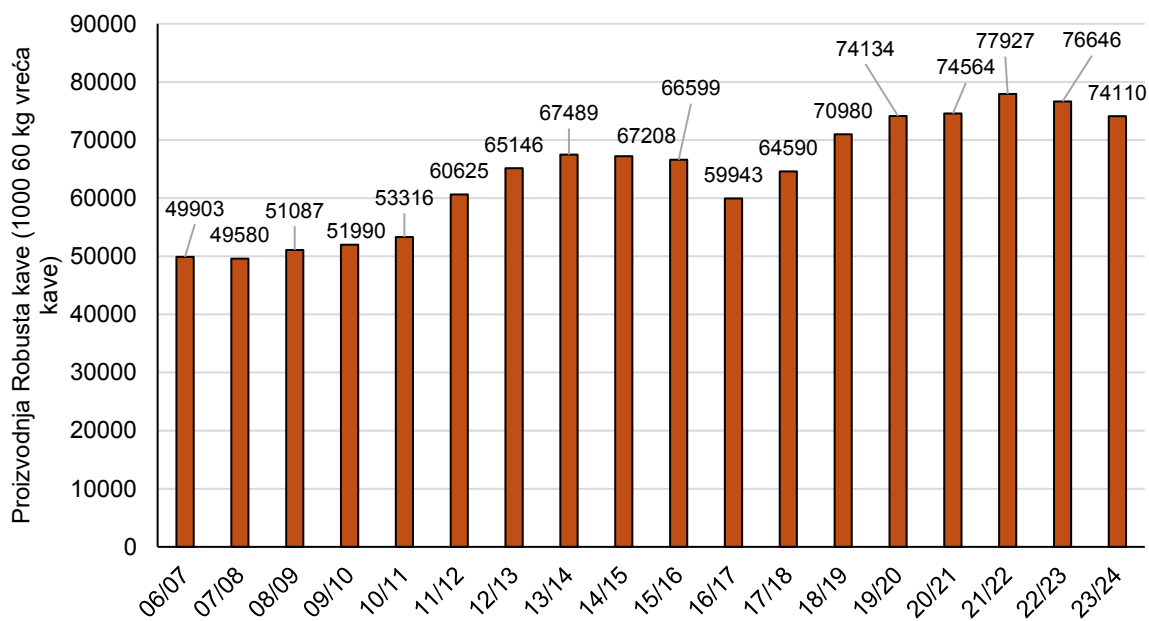
Slika 2. Proizvodnja Arabika zelene kave po državama 2023. godine (Anonymous 1)



Slika 3. Proizvodnja Arabika kave od 2006. do 2024. godine (Statista, 2024b)



Slika 4. Proizvodnja Robusta zelene kave po državama 2023. godine (Anonymous 2)

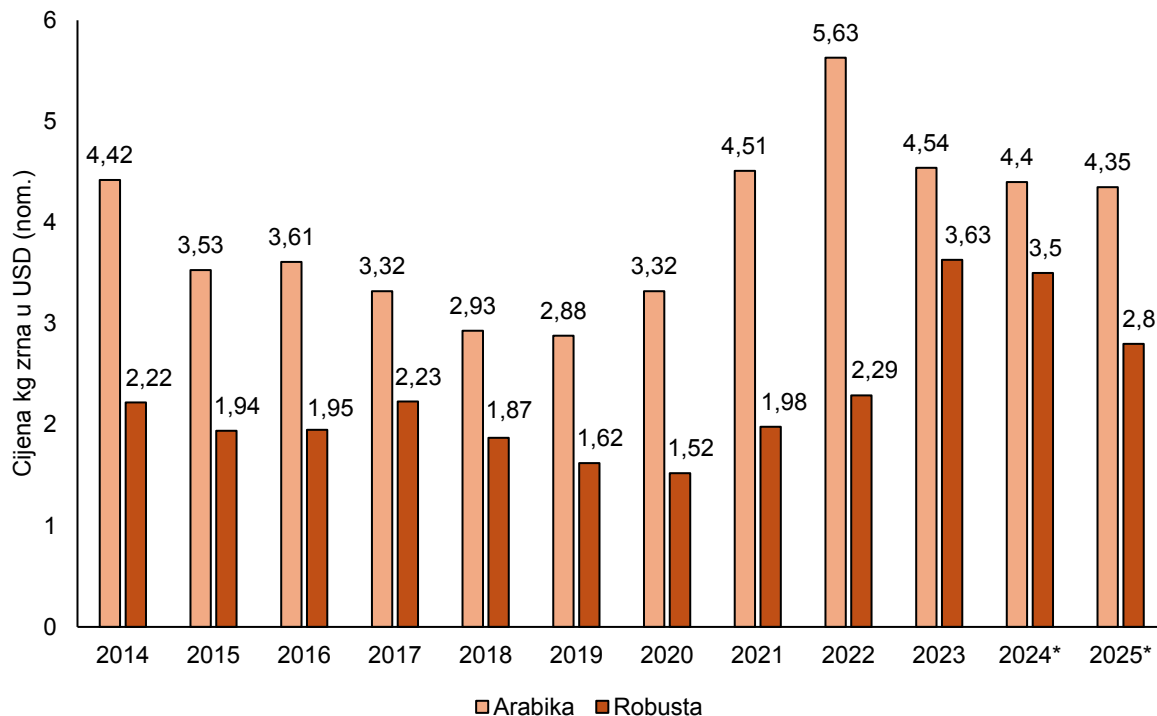


Slika 5. Proizvodnja Robusta kave od 2006. do 2024. godine (Statista, 2024c)

2.1.2. Konzumacija kave

U 2020/21. godini ukupna je proizvodnja dosegla vrhunac od 176,6 milijuna 60 kg vreća kave (Yust i sur., 2024). U razdoblju 2018. – 2019. godine globalna potrošnja kave bila je 165 milijuna vreća kave (60 kg) (Czarniecka-Skubina i sur., 2021; Statista, 2020). Europska unija (oko 40 do 42 milijuna vreća godišnje) i Sjedinjene Američke Države (oko 25 do 27 milijuna vreća godišnje) imaju najveću potrošnju kave (Yust i sur., 2024). Unutar europskog područja najveća potrošnja kave je u Skandinaviji. U Finskoj je godišnja potrošnja 12 kg po stanovniku, u Norveškoj 9,9 kg, na Islandu 9 kg, u Danskoj 8,7 kg, a u Švedskoj 8,2 kg po stanovniku (Czarniecka-Skubina i sur., 2021; ICO, 2019). Kod nekih država postoji razlika između uvoza i potrošnje. Na primjer u Njemačkoj je u 2013. godini uvezeno 21,1 milijun vreća kave, a potrošnja/konzumacija iznosila je 9,3 milijuna vreća. Ostatak vreća kave koristio se za re-izvoz. Njemačka, Belgija, Sjedinjene Američke Države i Italija pojavljuju se među deset najvećih zemalja izvoznica, a s obzirom da države nisu proizvođači kave radi se o re-izvozu. Osim što je najveći svjetski proizvođač i izvoznik kave, Brazil je također drugi najveći potrošač kave, odmah iza Sjedinjenih Američkih Država. Indonezija, Etiopija i Filipini također su veliki potrošači kave (Torga i Spers, 2020).

Slika 6 prikazuje cijene Arabika i Robusta kava u nominalnim američkim dolarima po kilogramu kave od 2014. do 2025. godine.



USD- američki dolar; nom.- nominalni dolari

Slika 6. Cijena Arabika i Robusta kava u svijetu od 2014. do 2025. (Statista, 2024a)

2.1.3. Kemijski sastav kave

Kave Arabika i Robusta razlikuju se po udjelu bioaktivnih spojeva, uključujući polifenole i druge antioksidanse (Hasbullah i Umiyati, 2021). Udjel kafeina dvostruko je veći u ekstraktima zelene Robusta kave (Leitão, 2019). Kava je glavni izvor unosa kafeina kod odraslih. Šalica crne kave (220 mL) sadrži 50 mg kafeina, šalica filter kave (200 mL) 90 mg, a šalica espressa (60 mL) 80 mg kafeina. U državama članicama Europske unije dnevni unosi kafeina kod starijih osoba od 75 godina i više iznosi od 22 do 417 mg, a kod starijih osoba od 65 do 75 godina iznosi od 23 do 362 mg. Odrasli (18 – 65 godina) unose od 37 do 319 mg kafeina dnevno. Sigurnim unosom kafeina smatra se oko 3 mg po kg tjelesne mase (EFSA, 2015). Pretjerani unos kafeina može uzrokovati poremećaje spavanja, ubrzan rad srca i tahikardiju. Kafein također utječe na krvožilni sustav, širi krvne žile i povećava krvni tlak (Hudyakova, 2020).

Proces prženja mijenja fizikalne, kemijske i senzorske karakteristike zelenih zrna kave (Hasbullah i sur., 2021; Vignoli i sur., 2014). Neki spojevi prisutni u zelenim zrnima razgrađuju se tijekom prženja, a neki nastaju prženjem, kao što su melanoidini, furfurali i hidroksimetilfurfurali (Vignoli i sur., 2014) Tijekom procesa prženja, klorogenska kiselina, trigonelin, aminokiseline i glikozidi razgrađuju se i proizvode spojeve odgovorne za okus i aromu kave (Jeszka-Skowron i sur., 2016; Yeretizian i sur., 2002). Razine prženja odražavaju se na boju prženih zrna (svijetlo, srednje i tamno pržena) koje su rezultat različitog vremena i temperature prženja (Hasbullah i Umiyati, 2021). Na okus pržene kave utječu čimbenici kao što su geografsko podrijetlo, sorta, klimatski uvjeti, metode obrade, metode pripreme i proces prženja. Zelena zrna Arabika kave sadrže više saharoze nego zrna Robusta kave. Ugljikohidrati, uključujući topljive polisaharide, razgrađuju se tijekom prženja i formiraju furane koji su odgovorni za slatke i karamel arome napitka od kave. Mliječna i octena kiselina odgovorne su za voćne, vinske i fermentirane arome (Seninde i Chambers, 2020). Kafeoilkinska kiselina, feruloilkinska kiselina i dikafeoilkinska kiselina su esteri kininske i kafeinske/ferulinske kiseline te čine glavne komponente klorogenskih kiselina i njihovih izomera (Crozier i sur., 2012). Robusta kave sadrže 7 – 8 g 100 g⁻¹ suhe tvari klorogenskih kiselina, a Arabika kave 4 – 6 g 100 g⁻¹ suhe tvari. Značajni udjel klorogenskih kiselina razgradi se tijekom prženja jer su one termolabilni spojevi tako da konačna koncentracija klorogenskih kiselina u kavama varira. Mogući pozitivni učinci klorogenskih kiselina su antioksidacijsko, protuupalno, antimutageno, antikarcinogeno, hepatoprotektivno i neuroprotektivno djelovanje, smanjen rizik pojave dijabetesa, kardiovaskularnih bolesti, hipertenzije i pretilosti (Farah i Lima, 2019).

2.2. COLD BREW KAVA

Cold brew kave su sve popularniji napitci s potencijalno različitim senzorskim značajkama u usporedbi s tradicionalno toplo pripremljenim kavama. Za pripremu *cold brew* kave koristi se voda sobne temperature ili hladna voda u razdoblju od 8 do 24 h (McCain-Keefer i sur., 2020). Ekstrakcija u hladnoj vodi tijekom dugog vremenskog perioda bez topline rezultira drugačijim okusom, aromom i udjelom bioaktivnih spojeva, u usporedbi s tradicionalno pripremanim kavama (Fuller i Rao, 2017). Senzorske karakteristike *cold brew* kave ovise o njenom procesu proizvodnje. Za razliku od proizvodnje toplog napitka, još uvijek ne postoji standardiziran proces proizvodnje *cold brew* kave u pogledu vremena i temperatura ekstrakcije, vrste kave, mljevenja, uvjeta prženja, sastava vode i doziranja (Claassen i sur., 2021). *Cold brew* kave koje su trenutno dostupne uključuju hladne *ready to drink* (RTD) napitke, RTD s dužim rokom trajanja, rashlađene koncentrate (engl. concentrates (CONC)), CONC s dužim rokom trajanja, *cold brew* kave za pripremu kod kuće (engl. *cold brew at-home* (BAH)) i *cold brew* kave s dušikom (engl. *nitrogen infused cold brew coffees* (NBC)) (McCain-Keefer i sur., 2020). Iako su tehnike pripreme toplog napitka još uvijek najrasprostranjenije, *cold brew* priprema kave kao jedan od najvećih novih trendova u kavi postaje sve popularniji u svijetu. Globalno tržište *cold brew* kave u 2018. godini, procijenjeno je na 339,7 milijuna dolara (Yust i sur., 2024). Córdoba i sur. (2021) istraživali su utjecaj kvalitete zrna i tople ili hladne pripreme kave na senzorske i fizikalno-kemijske karakteristike napitaka. Cvjetna aroma bila je najizraženija u *cold brew* kavama dok su tople kave imale izraženiju gorčinu, trpkost i kiselost. Ukupna topljiva suha tvar nije se statistički značajno ($p > 0,05$) razlikovala između toplih i *cold brew* kava (Córdoba i sur., 2021). *Cold brew* kava u usporedbi s toplim napitkom kave, ne razlikuje se po sastavu spojeva već po njihovom udjelu ekstrahiranom tijekom pripreme (Bevilacqua i sur., 2023). Castañeda-Rodríguez i sur. (2020) istraživali su utjecaj temperature ekstrakcije i veličine čestica kave na razvoj bioaktivnih, fizikalno-kemijskih i antioksidacijskih svojstava. Fizikalno-kemijska svojstva (boja, kiselost) mogu postići ravnotežu već nakon 7 h ekstrakcije, ali udjel bioaktivnih spojeva raste do 12 i 24 h. Pri 25 °C, ekstrakcija je bila znatno brža nego pri 10 °C. *Cold brew* kava pripremljena na 25 °C bila je kiselija, intenzivnije boje i s većim udjelom bioaktivnih spojeva u usporedbi s *cold brew* kavom pripremljenom na 10 °C. Fino mljevena zrna usporavala su brzinu ekstrakcije i produžavala vrijeme pripreme, ali su rezultirala manje kiselim *cold brew* napitkom s višim udjelom bioaktivnih spojeva i tamnijom bojom (Castañeda-Rodríguez i sur., 2020). Bellumori i sur. (2021) istraživali su tehnike stabilizacije *cold brew* kave s ciljem produljenja trajnosti uz očuvanje senzorskih svojstava, koristeći visokotlačnu obradu (engl. *High Pressure Processing*, HPP), mikrofiltraciju, UV zračenje, pasterizaciju i proces brzog hlađenja. Tijekom 4 mjeseca skladištenja proučavali su udjel kafeina i klorogenskih kiselina HPLC-DAD analizom i

hlapljivih spojeva HS-SPME-GC-MS metodologijom. Na kraju skladištenja uzorci tretirani HPP-om i pasterizacijom imali su mikrobiološke vrijednosti unutar postavljenih granica i stabilan udjel kafeina i klorogenskih kiselina. Uzorci tretirani UV zračenjem i brzim hlađenjem pokazali su mikrobiološku kontaminaciju nakon 7 dana, a u filtiranim uzorcima primijećena je prisutnost plijesni nakon 30 dana skladištenja (Bellumori i sur., 2021).

2.2.1. Obogaćene/funkcionalne kave i *cold brew* obogaćene kave

Funkcionalni napitci uključuju hranjive tvari i bioaktivne spojeve s različitim svojstvima koja poboljšavaju fizičko stanje organizma ili smanjuju rizik od razvoja različitih bolesti. Funkcionalni napitci koji se pojavljuju na tržištu uključuju alternativne mliječne proizvode, napitke s probioticima, energetske napitke i sportske napitke (Tolun & Altintas, 2019). Sve veći interes za funkcionalnim namirnicama potiče proizvodnju obogaćenih proizvoda s funkcionalnim sastojcima (vitamini, mineralne tvari, dijetalna vlakna). Neki napitci od kave prisutni na tržištu obogaćeni su klorogenskim kiselinama, ekstraktima *Ganoderma lucidum* (hrastova sjajnica), ginka (*Ginkgo biloba*) i ehinaceje (*Echinacea*). Također, u napitcima sličnim kavi za dijabetičare koristi se korijen cikorije (*Cichorium intybus*) (Benković i sur., 2014).

Karklina i sur. (2024) istraživali su alternative komercijalnim energetskim proizvodima koristeći *cold brew* kavu, sok od izdanka smreke i voćne sokove od naranče i jabuke-aronije. Komercijalni energetski napitci sadrže visoke udjele kafeina i šećera što može uzrokovati niz zdravstvenih problema (Karklina i sur., 2024). Udjel kafeina u energetskim napitcima kreće se od 50 do 505 mg po limenci (250 mL). S druge strane, šalica *cold brew* kave (200 mL) sadrži od 265 do 295 mg kafeina (Costantino i sur., 2023). U istraživanju Karklina i sur. (2024), tri inovativna energetska napitka sadržavala su sljedeće omjere:

1. *Cold brew* kava (96,8%) i sok izdanka smreke (3,2%) (SCB)
2. *Cold brew* kava (25%), sok od naranče (71,8%) i sok izdanka smreke (3,2%) (SCBo)
3. *Cold brew* kava (25%), sok od jabuke i aronije (71,8%) i sok izdanka smreke (3,2%) (SCBaa)

Za usporedbu navedenih napitaka korištena su tri komercijalna energetska napitka, Red Bull original (RBo), Red Bull bez šećera (RBzs) i Red Bull tropsko voće (RBt). U navedenom istraživanju, inovativni energetski napitci bazirani na *cold brew* kavi i izdanku smreke imali su znatno veći udjel vitamina C, polifenola i veći antioksidacijski kapacitet u usporedbi s komercijalnim napitcima. Inovativni energetski napitci bazirani na *cold brew* kavi i izdanku smreke mogli bi biti „zdravija“ alternativa komercijalnim energetskim napitcima jer većim udjelom vitamina C i polifenola te izraženijim antioksidacijskim kapacitetom mogu imati

pozitivne zdravstvene učinke, kao što su poboljšanje imuniteta i smanjenje rizika od pojave kroničnih bolesti (Karklina i sur., 2024).

Kombinacija kafeina s biljnim suplementom učinkovitija je u povećanju metaboličkih stopa od konzumacije samog kafeina. Razne studije pokazale su da kombinacija kafeina s efedrom (*Ephedra*) značajno potiče gubitak tjelesne težine i masti te povećava metaboličke stope u mirovanju, ali proizvodi povezani s efedrom privremeno su povučeni s tržišta suplemenata te se razvila potreba za alternativnim terapijskim sredstvima za borbu protiv pretilosti. Gorka naranča (*Citrus aurantium*) doprinosi suzbijanju apetita i povećanju metaboličke stope. Nedavna istraživanja sugeriraju da gorka naranča nije učinkovit suplement za mršavljenje i da bi se trebala kombinirati s drugim biljnim proizvodima. Nova marka kave (JavaFit™), sadrži kafein, gorku naranču, kambodžansku garciniju (*Garcinia cambogia*) i krom polinikotinat, te se reklamira kao suplement za mršavljenje. Kambodžanska garcija sadrži hidroksilimunsku kiselinu. Većina studija pokazala je da je hidroksilimunska kiselina učinkovita u poboljšanju mršavljenja kod odraslih. Istraživanje je pokazalo da obogaćena kava značajno povećava metaboličku stopu i povišuje sistolički krvni tlak kod zdravih mladih studenata, ali samo kod 70 % ispitanika osjetljivih na ovu kombinaciju. U ovom istraživanju, metabolički učinak kombinacije bio je veći nego kod obične kave. Povišeni krvni tlak se javlja samo u kombinaciji s aktivnim sastojcima poput kafeina, koji također povećava krvni tlak. Značajno niži umor kod ispitanika koji su pili obogaćenu kavu u skladu je s prethodnim istraživanjima o kafeinu, dok nisu zabilježene razlike u apetitu ili ukusu između dvije vrste kave (Hoffman i sur., 2006).

Benković i sur. (2014) obogaćivali su instant napitak od kave sa željezom, vitaminima A i C i inulinom. Naglasak je bilo povećanje željeza s obzirom na česti problem nedostatka istog, osobito kod djece i žena reproduktivne dobi. Osim na nutritivna svojstva, sastojci su utjecali i na senzorska svojstva kave. Nakon 6 mjeseci skladištenja utvrđeno je povećanje vlage, promjena u veličini čestica i koheziji te utjecaj materijala za pakiranje (trostruke vrećice i limenke) na stabilnost proizvoda (Benković i sur., 2014).

2.2.2. Priprema *cold brew* kava

Različite tehnike pripreme *cold brew* kava navedene su u tablici 2.

Tablica 2. Primjeri tehnika priprema *cold brew* kava

Vrsta kave i podrijetlo	Omjer uzorka i vode	Temperatura i vrijeme ekstrakcije	Veličina uzorka	Udjel bioaktivnih spojeva	Zaključak	Referenca
Arabika (Kolumbija: Huila i Nariño)	60 g : 700 g	20 °C; 14 – 22 h	Grubo i srednje mljevena zrna	Ukupni polifenoli (0,08 – 1,50 g L ⁻¹ EGK), Klorogenske kiseline (0,33 – 0,90 mg g ⁻¹ ekvivalenata klorogenske kiseline	Veći udjel ukupnih polifenola i klorogenskih kiselina kod grubog mljevenja i 22 h ekstrakcije. Senzorska analiza pokazala je bolje rezultate za kraću ekstrakciju (14 h) i grubo mljevenje.	Cordoba i sur. (2019)
Arabika (Kolumbija) – zrna prethodno pržena na 194 °C, 203 °C i 209 °C	20 g : 200 mL	Sobna temperatura; 7 h	500 µm – 2000 µm	Melanoidini (0,358 – 0,422), Kafein (1036 – 1962 mg L ⁻¹), Ukupne klorogenske kiseline (1308 – 1733 mg L ⁻¹),	Veći udjel melanoidina i kafeina s većom temperaturom prženja, a manji udjel ukupnih klorogenskih kiselina.	Rao i sur. (2020a)
Arabika i Robusta (Brazil)	15 g : 150 mL	5 – 15 °C; 30 min, 5, 7, 15 i 25 h	Fino i grubo mljevena zrna	Arabika: kafein (116,6 – 143,2 mg EGK 100 mL ⁻¹), melanoidini (713,4 – 1157,4 mg EGK 100 mL ⁻¹), klorogenske kiseline (383,4 – 437,1 mg EGK 100 mL ⁻¹). Robusta: kafein (175,3 - 193 mg EGK 100 mL ⁻¹), melanoidini (682,8 – 1217,3 mg EGK 100 mL ⁻¹), klorogenske kiseline (478,3 – 575,8 mg EGK 100 mL ⁻¹)	Arabika <i>cold brew</i> imala je niži udjel klorogenskih kiselina i kafeina u usporedbi s Robusta napitcima, bez obzira na veličinu čestica kave ili korištenu temperaturu ekstrakcije.	Portela i sur. (2019)
Arabika (Kina i Indonezija) – zrna prethodno pržena na 195 °C, 208 °C i 220 °C	15 g : 240 mL	5 °C; 16 h	400 µm - 600 µm	Ukupni polifenoli 0,58 – 0,83 mg mL ⁻¹ za Arabika vrstu iz Indonezije, 0,51 – 75 mg mL ⁻¹ za Arabika vrstu iz Kine.	Kombinacija zrna svijetlog prženja i <i>cold brew</i> tehnike rezultira kavom s boljim senzorskim i fizikalno-kemijskim svojstvima.	Pan i sur. (2023)
Arabika (Kolumbija) – srednje i tamno pržena zrna (194 °C i 209 °C)	10 g : 100 g	Sobna temperatura; 24 h	710 µm - 1000 µm	Ukupne klorogenske kiseline (480,65 mg L ⁻¹ i 202,72 mg L ⁻¹), Ukupni polifenoli (420,5 mg EGK L ⁻¹ i 503,2 mg EGK L ⁻¹)	/	Yust i sur. (2022)

Tablica 2. Primjeri tehnika priprema *cold brew* kava - nastavak

Arabika (Havaji)	35 g : 350 mL	Sobna temperatura (21 °C – 25 °C); 7 h i 24 h	Srednje i grubo mljevena zrna (149 µm – 3350 µm)	Kafein (7 h) – 930 mg L ⁻¹ – 1130 mg L ⁻¹ , kafein (24 h) – 990 mg L ⁻¹ - 1230 mg L ⁻¹	Veličina mljevenja nema značajan utjecaj na ravnotežne koncentracije klorogenskih kiselina i kafeina tijekom dužih vremena ekstrakcije u <i>cold brew</i> pripremi.	Fuller i Rao (2017)
Arabika (Kolumbija) – specijalna i regularna zrna	1:11 (31,5 g : 350 mL)	19 ± 2 °C; 14 h	Srednje mljevena zrna (501 – 700 µm)	Kafein (specijalna zrna) – 750,5 mg L ⁻¹ , kafein (obična zrna) – 805,0 mg L ⁻¹ , klorogenska kiselina (specijalna zrna) – 397,8 mg L ⁻¹ klorogenska kiselina (obična zrna) – 415,4 mg L ⁻¹ Kriptoklorogenska kiselina (specijalna zrna) – 335,6 mg L ⁻¹ Kriptoklorogenska kiselina (obična zrna) – 349,3 mg L ⁻¹	Razlika u kvaliteti zrna (obična ili specijalna zrna) utječe na senzorske karakteristike, hlapljive spojeve i ukupnu kiselost.	Córdoba i sur. (2021)
Arabika (Brazil) – pržena zrna (210 °C, 220 °C, 230 °C)	5 g : 100 mL	5 °C, 15 °C i 20 °C; 6,12 i 25 h	Grubo mljevena zrna (1,6 mm)	Kafein (24 h, 5 °C) – 540,4 mg L ⁻¹ , kafein (24 h, 15 °C) – 497,4 mg L ⁻¹ , kafein (24 h, 25 °C) – 500,9 mg L ⁻¹ , klorogenska kiselina (24 h, 5 °C) – 949,2 mg L ⁻¹ , klorogenska kiselina (24 h, 15 °C) – 964,0 mg L ⁻¹ , klorogenska kiselina (24 h, 25 °C) – 921,4 mg L ⁻¹	Profil prženja na 230 °C u može smanjiti klorogensku kiselinu u zelenim zrnima za gotovo 50%. Pri 220 °C ako razgradnja kiseline dosegne 20%, vrijednost kafeina poraste za oko 20%. Nakon toga, koncentracija kafeina pada ispod vrijednosti na 210 °C i 230 °C prženja.	Maksimowski i sur. (2022)
Arabika (Meksiko)	4,5 g : 45 mL	10 °C i 25 °C; 1, 7, 12 i 24 h	Srednje (0.70– 1.70 mm) i grubo mljevena zrna (0.43–0.71 mm)	Ukupni polifenoli (24 h) – 32,11 – 39,33 g EGK kg ⁻¹	Veće vrijednosti ukupnih polifenola kod uzoraka s fino mljevenim zrnima i napitcima pripremljenim pri 25 °C.	Castañeda- Rodríguez i sur. (2020)

EGK-ekvivalenti galne kiseline

2.3. TRENDOVI NA TRŽIŠTU KAVE

2.3.1. *Specialty* kava

Specialty kava se definira kao kava prepoznata po svojim jedinstvenim karakteristikama koje joj daju dodatnu vrijednost na tržištu. Karakteristike kave uključuju njezin oblik i izgled, kemijski sastav i senzorska svojstva, ali i podrijetlo kave, proizvođača i certifikate koje kava posjeduje. Definicija temeljena na karakteristikama poštuje raznolikost potrošačkih preferencija. Različite kulture različito će vrednovati različite aspekte kave. Definicija *specialty* kave temeljena na karakteristikama/atributima uključuje sve specifičnosti pojedinih kultura širom svijeta (SCO, 2021).

Specialty kava definira se kao kvalitetni napitak koji ocjenjuju potrošači i koji se ističe jedinstvenom kvalitetom i posebnim okusom u odnosu na obične napitke kave na tržištu. Zrno takve kave zadovoljava najviše standarde za zelenu kavu te njezino prženje, pripremu i skladištenje (Ramírez-Correa i sur., 2020). Jedne od najpoznatijih *specialty* kava su Kona kava (Havaji) i *Blue Mountain* (Jamajka). U novije trendove *specialty* kave pripadaju „probavljene“ kave pri čemu životinje konzumiraju plodove kave koji prolaze fermentaciju u njihovom probavnom sustavu. Pri tome se mijenja kemijski sastav zrna kave što često rezultira blažim okusom u usporedbi s običnim kavama. Jedna takva vrsta kave je Kopi Luwak (Indonezija) gdje probavu plodova kave vrše azijske cibetke (*Paradoxurus hermaphroditus*). Procijenjena godišnja proizvodnja je 127 kg, a cijena se kreće do 200-400 USD po kilogramu. Fermentacija traje otprilike 12 sati nakon čega se izlučena zrna prikupljaju, čiste i suše na odgovarajućoj temperaturi određeno vrijeme. Slijedi uklanjanje ljuske i sortiranje zrna kave. Arabika i Robusta kava nakon fermentacije unutar probavnog trakta imaju smanjen udjel kafeina (Raveendran i Murthy, 2021). Ivory kava proizvodi se isključivo od strane tvrtke *Ivory Coffee Company* u Tajlandu pod markom *Black Ivory Coffee* koja dostiže cijenu od 1800 USD po kilogramu. Godišnja proizvodnja ograničena je na otprilike 200 kg. Ivory kava obično se dobiva od Arabika zrna, a fermentacija zrna kave odvija se unutar probavnog sustava azijskog slona (*Elephas maximus*) u trajanju od 12 do 70 sati. Kava se dodatno pere, suši, ljušti i sortira (Raveendran i Murthy, 2021; Thammarat i sur., 2018).

Jacu kava je brazilska kava koja se dobiva probavom ptice *Jacu* (guan) i jedna je od najskupljih u državi Espírito Santo (savezna država Brazila), a njena cijena se procjenjuje na 112,29 USD po kilogramu (Raveendran i Murthy, 2021).

2.3.2. Kave smanjenog udjela kafeina

Genetsko inženjerstvo omogućuje izravno modificiranje biljnih gena kako bi se postigle željene karakteristike, poput smanjenog udjela kafeina. Tehnike poput RNA interferencije primijenjene su za smanjenje razine kafeina do 70 % u transgeničnim biljkama kave, što otvara mogućnost za proizvodnju kave s nižim udjelom kafeina (Kumar i sur., 2009). Laurina kava je piramidalna biljka niskog rasta koja nosi oštre sjemenke slične nekim linijama *Coffea eugenioides*. Ključna karakteristika Laurina kave uključuje niski udjel kafeina (0,6 % kafeina, što je niže u usporedbi s Arabika kavom (1,2 %)). Laurina kava je također jedan od mutanata koji su otkriveni kao otporniji na određene bolesti. Laurina kava predstavlja potencijal za uzgoj kave nižeg udjela kafeina (Medina-Filho i sur., 2007). Aramosa kava je rezultat hibridizacije između Arabika kave i *Coffea racemosa* te je poznata po svojoj otpornosti na štetočine, posebno *Perileucoptera coffeella*. *Coffea racemosa* je ispitivana u cilju smanjenja udjela kafeina u Arabika kavi (Davis i sur., 2021).

2.3.3. Dekofeinizirana kava

Još jedan trend na tržištu kave je dekofeinizirana kava. Dekofeinizirana zrna kave su prošla proces smanjenja udjela kafeina, koristeći različita otapala (voda, organska otapala) ili superkritični ugljikov dioksid. Cilj procesa dekofeinizacije je zadržavanje okusa i arome kave uz smanjenje negativnih učinaka kafeina. Dekofeinizirana kava ima blaži miris i okus, a ovisno o metodi obrade može biti razlike i u boji (DePaula i Farah, 2019). Udjel kafeina u dekofeiniziranoj kavi iznosi oko 0-7 mg po šalici kave (180 mL) (Palupi i Fatimah, 2021).

2.3.4. Održivost proizvodnje kave

Ključne komponente održivosti su ekološka, socijalna i ekonomska održivost. Ekološka održivost odnosi se na očuvanje prirodnih ekosustava i usluga te otpornost na klimatske promjene. Socijalna održivost se fokusira na utjecaj proizvodnje kave na ljude. Uključuje poticanje pozitivnih praksi kao što su povećanje sigurnosti hrane i poboljšanje životnih uvjeta radnika. Ekonomska održivost se odnosi na sposobnost proizvođača i radnika da zarađuju dovoljno za život. Ove tri komponente su međusobno povezane. Ciljevi održivog razvoja pružaju okvir za integraciju održivosti u sektor kave i podržavaju razvoj u regijama koje uzgajaju kavu (Sachs i sur., 2019). Millkard (2017) istražuje evoluciju održivosti kave i promjene koje se odvijaju na farmama i u zajednicama koje se bave proizvodnjom kave. Iako se sve više kompanija usmjerava na održivu proizvodnju kave, proizvođači od toga imaju određene koristi koje su često ograničene upravljačkim izazovima unutar lanca opskrbe i interesima samih tvrtki.

Tržišni pristup održivosti u industriji kave obuhvaća neovisne standarde, sustave certifikacije, pojedinačne sheme tvrtki i industrijske inicijative. Ulaganja uključuju plaćanje premija farmerima za održive prakse, pružanje obuke i tehničke pomoći, te potporu zajednicama u rješavanju socijalnih i okolišnih problema. Kako kompanije povećavaju ulaganja u održivost kroz politike nabave i tehničke programe, civilna društvena organizacija zadržava važnu ulogu u osiguravanju stručnosti i jačanju odnosa unutar zajednica kava proizvođača. Vlade također igraju ključnu ulogu u promicanju socijalne uključenosti, poboljšanju infrastrukture i olakšavanju pristupa uslugama. Standardi i certifikacijski sustavi osiguravaju strukturirani pristup vođenju, provjeri i komunikaciji održivosti, a njihovo visoko povjerenje među potrošačima pomaže u pretvaranju njihovih očekivanja u pozitivne rezultate na farmama (Millkard, 2017).

2.3.5. Iskorištavanje nusproizvoda

Talog kave predstavlja nusproizvod u konzumaciji kave. Generiranje nusproizvoda proizvodnje kave procijenjeno je na najmanje 6 – 8 milijuna tona godišnje (Saratale i sur., 2020; Efthymiopoulos i sur., 2018) i tu se ubraja talog, srebrna pokožica, ljuska, sluz i *cascara* (Gemechu i Beyene, 2020). Talog kave sadrži bioaktivne spojeve kao što su kafein, trigonelin i klorogensku kiselinu. Bioaktivni spojevi prisutni u talogu potječu iz pržene mljevene kave, a nisu bili ekstrahirani prilikom pripreme napitka. Razlike u udjelima spojeva u talogu ovise o metodi ekstrakcije. Talog se može koristiti kao stočna hrana, gnojivo, biogorivo te sastojak kozmetike. Istražuju se mogućnosti uporabe taloga u funkcionalnoj hrani zbog spojeva koji mogu utjecati na regulaciju tjelesne težine, poboljšati rad crijevne mikrobiote te pozitivno utjecati na srce i jetru. Zdravstvene koristi povezane s konzumacijom taloga povezane su s dozom i učestalošću. Potrebno je provesti više studija kako bi se razumjelo koji su još spojevi prisutni u nusproizvodima kave, posebno u talogu, te njihov doprinos ljudskom zdravlju. Promjena pristupa talogu (od nusproizvoda do vrijednih bioaktivnih spojeva) rezultirat će krajnjim benefitima i za proizvođače i potrošače kave (Bevilacqua i sur., 2023).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

3.1.1. Uzorci

U ovome istraživanju korištena su zelena zrna Arabika kave, podrijetlom iz Brazila, i zelena zrna Robusta kave, podrijetlom iz Gvatemale. Zelena zrna donirana su od tvrtke QUAHWA d.o.o. (Hrvatska). Dobričica je nabavljena od proizvođača Travar M.B. d.o.o. (Hrvatska), a trava iva od proizvođača OPG Piteša (Hrvatska).

3.1.2. Kemikalije

- ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina) diamonijeve soli), Sigma Aldrich (SAD)
- Acetonitril, Fisher Scientific (SAD)
- DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil radikal), Sigma-Aldrich (SAD)
- Etanol, Gram-mol d.o.o. (Hrvatska)
- Folin-Ciocalteu reagens, Lach-ner (Češka)
- Galna kiselina (> 97 %), Sigma-Aldrich (SAD)
- Kafein, Fluka (Njemačka)
- Karamelan, Frutarom (Izrael)
- Kloroform, Gram-mol d.o.o. (Hrvatska)
- Klorogenska kiselina/5-O-kafeoil kininska kiselina (> 95 %), Sigma Aldrich (SAD)
- Kriptoklorogenska kiselina/4-O-kafeoil kininska kiselina (> 98 %), Sigma-Aldrich (SAD)
- Metanol, Fisher Scientific (SAD)
- Mravlja kiselina, Fisher Scientific (SAD)
- Natrijev karbonat, Lach-ner (Češka)
- Neoklorogenska kiselina/3-O-kafeoil kininska kiselina (> 98 %), Sigma Aldrich (SAD)
- Trolox (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilna kiselina) (> 98 %), Sigma-Aldrich (SAD)

3.1.3. Laboratorijski uređaji i pribor

- Aluminijske posudice s poklopcem

- Analitička vaga, New Classic ML204/01, Mettler Toledo (Švicarska)
- Automatske mikropipete, Gilson (SAD)
- Centrifuga SL 8R, Thermo Fisher Scientific Inc. (SAD)
- Eksikator
- Kromatografska kolona Zorbax Extend-C18 (4,6 × 250 mm, 5 µm), Agilent Technologies (SAD)
- Kromatografski sustav Agilent Series 1200, Agilent Technologies (SAD)
- Kvarcni pijesak, Gram-mol d.o.o. (Hrvatska)
- Laboratorijski sušionik ST-06, Instrumentaria d.d. (Hrvatska)
- Magnetska miješalica s grijačima SMHS 6, Witeg Labortechnik GmbH (Njemačka)
- Malvern Mastersizer 2000, Malvern Panalytical (Ujedinjeno Kraljevstvo)
- Mikrofilteri Chromafil Xtra RC-20/13 (0,20 µm) (Njemačka)
- pH-metar, Mettler Toledo (Švicarska)
- Pržionik (model 1300), Sonofresco (SAD)
- Refraktometar (ORF 2WM), Kern & Sohn (Njemačka)
- Sinbo mlinac za kavu, DEIMA Elektromekanik Urunler A.S. (Turska)
- Spektrofotometar, Genesys 10S UV-VIS, Thermo Fisher Scientific Inc. (SAD)
- Stakleno posuđe (epruvete, lijevci, odmjerne tikvice, laboratorijske čaše, laboratorijske boce, menzure, kivete za spektrofotometar, pipete, HPLC posude za uzorke s čepovima (viale))
- Tehnička vaga (GF-3000), A&D Instruments (Ujedinjeno Kraljevstvo)
- Ultrazvučna kupelj Elmasonic S 60 H, Elma (Njemačka)
- Vodena kupelj Inko VKZ ERN, Inkolab d.o.o. (Hrvatska)
- Vortex (MX-S), DLAB Scientific Co. (Kina)
- Whatman filter papir 4, Sigma-Aldrich (SAD)
- Zračna tresilica, Model Lab-Therm/LT-W, Küchner AG (Švicarska)

3.2. METODE RADA

3.2.1. Anketa

U svrhu prikupljanja podataka o konzumaciji kave i poznavanju *cold brew* napitaka od kave osmišljena je *online* anketa putem Google obrasca. Anketa je sadržavala 15 pitanja uključujući osnovna pitanja o dobi ispitanika, količini kave koja se dnevno konzumira, preferencijama pripreme i aromama kave, utjecaju reklama i razlozima koji utječu na odluku o kupovini kave (proizvođač, cijena, kvaliteta, ambalaža ili drugo). Za *cold brew* napitke pitanja su bila vezana uz znanje o *cold brew* napitcima, interesu za probavanje istih, vremenu konzumacije te o uparivanju različitih biljaka s kavom. Anketu su tijekom 3 mjeseca ispunila 403 ispitanika.

Pitanja ankete prikazana su na slici 7.

1. Koliko imate godina? a.) <20 b.) 20 – 30 c.) 30 – 40 d.) 40 – 50 e.) >60	2. Konzumirate li kavu? a.) Da b.) Ne
3. Koliko šalice na dan konzumirate? a.) 1 b.) 2 c.) 3 d.) 4 i više	4. Koje tehnike pripreme kave preferirate? a.) Turska kava b.) Moka c.) Espresso d.) Capuccino, 2 u 1, 3 u 1 e.) Drugo
5. Koje arome u kavi preferirate? a.) Vanilija b.) Čokolada c.) Karamela d.) Lješnjak e.) Bez arome	6. Utječu li reklame na Vaš odabir kave? a.) Da b.) Ne
7. Što Vam je najbitnije kod kupovine kave? a.) Brand b.) Cijena c.) Kvaliteta d.) Ambalaža e.) Drugo	8. Preferirate li hladnu ili toplu kavu? a.) Hladnu b.) Toplu
9. Jeste li čuli za <i>cold brew</i> kavu? a.) Da b.) Ne	10. Ako da, jeste li upoznati s prednostima <i>cold brew</i> kave? a.) Da b.) Ne
11. Ako ne, biste li voljeli probati <i>cold brew</i> kavu? a.) Da b.) Ne	12. Smatrate li da bi bolja reklama povećala interes za <i>cold brew</i> kavu? a.) Da b.) Ne
13. Po Vašem mišljenju, kako bi rezultirala priprema kave na sobnoj temperaturi kroz duži vremenski period? a.) „Bogatija“ aroma kave b.) „Siromašnija“ aroma kave c.) Veći udjel kafeina d.) Manji udjel kafeina e.) Gorak okus kave f.) Sladak okus kave	14. Po Vašem mišljenju, koja bi se biljka dobro uparila s kavom? a.) Menta b.) Lipa c.) Kopriva d.) Komorač e.) Lavanda
15. S obzirom da se <i>cold brew</i> kava konzumira kao hladni napitak, uzimajući u obzir sve prednosti koje nudi, postoji li vremenski period u kojem biste ga konzumirali? a.) Kroz cijelu godinu b.) Samo ljeti c.) Samo zimi	

Slika 7. Pitanja ankete

3.2.2. Prženje zelenih zrna kave

Za prženje zelenih zrna Arabika i Robusta kave koristio se pržionik Sonofresco 1300 (slika 8). Prženje je trajalo oko 20 minuta i temperatura tijekom prženja nije prelazila 200 °C. Nakon prženja, zrna su samljevena u mlincu za kavu i u takvom obliku korištena za daljnje analize.



Slika 8. Sonofresco pržionik (model 1300) korišten u ovome istraživanju (*vlastita fotografija*)

3.2.3. Određivanje udjela suhe tvari pržene kave

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, u koje je stavljen kvarcni pijesak, su se osušile u sušioniku, zatim ohladile u eksikatoru i izvagale na analitičkoj vagi. U aluminijske posudice dodalo se oko 1 g samljevenih uzoraka pržene kave koji su se sušili na 105 °C do konstantne mase. Potom su se posudice ohladile i izvagale, a udjel 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)

3.2.4. Mjerenje raspodjele veličine čestica pržene i samljevene kave

Metodom laserske difrakcije pomoću instrumenta Malvern Mastersizer 2000 određena je raspodjela veličine čestica samljevenih uzoraka kava koji su se koristili za daljnje analize.

Uređaj je bio spojen na računalo i kontroliran preko programa Mastersizer 2000 5.60. Nakon odabira odgovarajuće jedinice, a prije pokretanja postupka mjerenja, provedena je kalibracija uređaja. Nakon kalibracije, uzorak se dodavao polagano, a uređaj je mjerio stupanj zasićenja na ekranu računala. Kod uzoraka su bili analizirani parametri raspodjele veličine čestica: $d(0,9)$, $d(0,5)$ i $d(0,1)$:

$d(0,5)$ – vrijednost poznata kao „*mass median diameter*“ ili medijan volumne raspodjele i predstavlja promjer čestica pri kojem je 50 % ukupnog broja čestica većeg promjera od tog promjera, a 50 % ukupnog broja čestica manjeg promjera od tog promjera

$d(0,1)$ – veličina čestica od koje je manje 10 % čestica cijelog uzorka

$d(0,9)$ – veličina čestica od koje je manje 90 % čestica cijelog uzorka.

3.2.5. Karakterizacija bioaktivnog sastava prženih kava

3.2.5.1. Ekstrakcija bioaktivnih spojeva

Za ekstrakciju bioaktivnih spojeva uzoraka prženih kava korištena je vodena otopina 80 %-tnog (v/v) metanola kao otapalo, a omjer uzorak/otapalo iznosio je 1 g : 100 mL. Ekstrakcija se provodila u vodenoj kupelji pri 80 °C kroz 15 min, a potom u ultrazvučnoj kupelji kroz 10 min i u konačnici miješanjem na magnetskoj miješalici 5 min. Po završetku ekstrakcije, slijedila je filtracija, a kruti dio uzorka zaostao nakon filtracije ponovno je podvrgnut ekstrakciji slijedeći iste parametre. Filtrati dobiveni nakon prve i druge ekstrakcije su spojeni i korišteni za analizu bioaktivnog sastava prženih uzoraka kava (određivanje udjela melanoidina, ukupnih polifenola, antioksidacijskog kapaciteta te udjela kafeina i pojedinačnih polifenolnih spojeva).

3.2.5.2. Određivanje udjela melanoidina

Dobiveni ekstrakti uzoraka kava (poglavlje 3.2.4.1.) su prije spektrofotometrijskog određivanja melanoidina odmašćeni. Za odmašćivanje se koristila ekstrakcija tekuće-tekuće s kloroformom u omjeru 1:1 (2 mL ekstrakta : 2 mL kloroforma). Po završetku ekstrakcije, kapaljkom se odmašćeni dio prenio u kivetu za spektrofotometrijsko mjerenje te se izmjerila apsorbancija na 420 nm. Kao slijepa proba koristila se demineralizirana voda. Baždarna krivulja izrađena je pomoću otopina karamelana različitih koncentracija (250 – 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$) te su rezultati prikazani kao ekvivalenti karamelana (EK). Korišten je karamelan čija je 0,1 %-tna (w/v) otopina u vodi pokazivala na 610 nm apsorbanciju od 0,145.

3.2.5.3. Određivanje udjela ukupnih polifenola

Za određivanje udjela ukupnih polifenola koristila se metoda opisana u radu Singleton i Rossi (1965). U staklene epruvete otpipetiralo se 3,95 mL demineralizirane vode, 50 μL uzorka, 250 μL Folin Ciocalteau reagensa (razrijeđenog s demineraliziranom vodom u omjeru 1:2) i 750 μL

20 %-tne (w/v) otopine natrijevog karbonata. Dobivena reakcijska smjesa u epruvetama se izmiješala na vortex-u, a nakon 30 min mjerila se apsorbancija razvijenog plavog obojenja na 765 nm. Slijepa proba pripremala se kao i uzorci, samo je umjesto 50 µL uzorka sadržavala 50 µL demineralizirane vode. Baždarna krivulja izražena je koristeći galnu kiselinu kao standard (20 – 200 µg mL⁻¹) te su rezultati izraženi kao ekvivalenti galne kiseline (EGK).

3.2.5.4. *Određivanje antioksidacijskog kapaciteta DPPH metodom*

U radu Brand-Williams i sur. (1995) opisana je metoda za određivanje antioksidacijskog kapaciteta DPPH metodom. U staklene epruvete se otpipetiralo 100 µL uzorka i 3,9 mL metanolne otopine DPPH (0,094 mM), reakcijska smjesa se izmiješala na vortex-u te se nakon 30 min mjerila apsorbancija na valnoj duljini od 515 nm. U slijepu probu, umjesto uzorka, dodalo se 100 µL metanola. Baždarna krivulja izrađena je koristeći otopine Trolox-a različite koncentracije (mmol L⁻¹).

3.2.5.5. *Određivanje antioksidacijskog kapaciteta ABTS metodom*

ABTS metoda opisana je u radu Re i sur. (1999). U staklene epruvete se otpipetiralo 20 µL uzorka i 2 mL otopine ABTS⁺ radikala te se nakon 6 min izmjerila apsorbancija na 734 nm. Otopina ABTS⁺ radikala pripremila se oksidacijom vodene otopine ABTS reagensa (7 mM) s kalijevim persulfatom (140 mM) do konačne koncentracije otopine kalijevog persulfata od 2,45 mM. Prije mjerenja uzoraka izmjerila se apsorbancija slijepa probe za koju se umjesto uzorka u epruvetu dodalo 20 µL etanola. Iz jednadžbe baždarne krivulje konstruirane za standard Trolox-a, koja prikazuje ovisnost apsorbancije o koncentraciji standarda (mmol L⁻¹), određen je antioksidacijski kapacitet u ispitivanim uzorcima.

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

Za identifikaciju i kvantifikaciju pojedinačnih bioaktivnih spojeva korištena je tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (engl. *high performace liquid chromaography* – HPLC) na sustavu Agilent Series 1200, u kombinaciji s detektorom s nizom fotodioda (engl. *photodiode array detector* – PDA). Kao stacionarna faza korištena je kolona Zorbax Extend C18 (4,6 × 250 mm, 5 µm). Elucija je bila gradijentna s dvokomponentnom mobilnom fazom (A – 1 % (v/v) otopina mravlje kiseline u vodi; B – 1 % (v/v) otopina mravlje kiseline u acetonitrilu). Režim elucije prikazan je u tablici 3. Volumen injektiranja bio je 5 µL, protok 1 mL min⁻¹ i temperatura kolone 25 °C. Svi uzorci su bili profiltrirani kroz mikrofiltre (Chromafil Xtra RC-20/13, 0.20 µm, 13 mm) prije analize. Mjerenje je provedeno pri valnim duljinama od 278 i 320 nm. Kvantifikacija je provedena izradom baždarnih krivulja koristeći odgovarajuće standarde, a identifikacija

usporedbom retencijskih vremena i karakterističnih apsorpcijskih spektara (100 – 400 nm) s komercijalnim dostupnim standardima.

Tablica 3. Režim elucije za HPLC metodu primijenjenu u ovome istraživanju

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

3.2.6. Priprema *cold brew* napitaka

U svrhu pripreme *cold brew* napitaka korišten je omjer uzorka (kava + dodaci) i vode 1 g : 10 mL. Priprema napitaka trajala je 24 h na zračnoj tresilici pri 15 i 25 °C. Osim pripreme napitaka isključivo s prženim i samljevenim zrnima Arabika i Robusta kava, pripremljeni su i napitci tako što je 5 % prženih kava zamijenjeno dodatkom zelenih kava, dobričice i trave ive, kao što je prikazano u tablici 4. Nakon završene ekstrakcije, dobiveni ekstrakti (napitci) su profiltrirani i analizirani.

Tablica 4. Uzorci *cold brew* napitaka

Uzorak	Temperatura ekstrakcije (°C)	Sastav uzorka
A_15	15	pržena zrna Arabika kave (100 %)
A_15_ZK		pržena zrna Arabika kave (95 %) + zelena zrna Arabika kave (5 %)
A_15_D		pržena zrna Arabika kave (95 %) + dobričica (5 %)
A_15_TI		pržena zrna Arabika kave (95 %) + trava iva (5 %)
A_25	25	pržena zrna Arabika kave (100 %)

Tablica 4. Uzorci *cold brew* napitaka - nastavak

A_25_ZK	25	pržena zrna Arabika kave (95 %) + zelena zrna Arabika kave (5 %)
A_25_D		pržena zrna Arabika kave (95 %) + dobričica (5 %)
A_25_TI		pržena zrna Arabika kave (95 %) + trava iva (5 %)
R_15	15	pržena zrna Robusta kave (100 %)
R_15_ZK		pržena zrna Robusta kave (95 %) + zelena zrna Robusta kave (5 %)
R_15_D		pržena zrna Robusta kave (95 %) + dobričica (5 %)
R_15_TI		pržena zrna Robusta kave (95 %) + trava iva (5 %)
R_25	25	pržena zrna Robusta kave (100 %)
R_25_ZK		pržena zrna Robusta kave (95 %) + zelena zrna Robusta kave (5 %)
R_25_D		pržena zrna Robusta kave (95 %) + dobričica (5 %)
R_25_TI		pržena zrna Robusta kave (95 %) + trava iva (5 %)

3.2.6.1. *Određivanje pH-vrijednosti i topljive suhe tvari*

Pripremljenim napitcima određena je topljiva suha tvar refraktometrom i pH-vrijednosti pH-metrom. Prije mjerenja pH-vrijednosti, potrebno je provesti kalibraciju pH-metra. Kalibracija se provodila uranjanjem elektroda u odgovarajuće pufere (pH 4 i 9). Refraktometar je, također, prije upotrebe bilo potrebno kalibrirati. Kalibracija se provodila pomoću demineralizirane vode, a nakon toga je slijedilo mjerenje topljive suhe tvari uzoraka stavljanjem kapi uzoraka na prizmu refraktometra.

3.2.6.2. *Bioaktivna karakterizacija cold brew napitaka*

Bioaktivna karakterizacija pripremljenih napitaka uključivala je određivanje udjela melanoidina, ukupnih polifenola, antioksidacijskog kapaciteta te udjela pojedinačnih bioaktivnih spojeva, koristeći metode opisane u poglavljima 3.2.4.2. – 3.2.4.6.

3.2.6.3. *Senzorska analiza cold brew napitaka*

Senzorska analiza napitaka provedena je u skladu s preduvjetima za provedbu senzorskih analiza (ISO 8589:2007). 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. Napitci su servirani odmah nakon pripreme, a ocjenjivani su intenzitet mirisa i okusa (dimljeno/prženo, orašasto, kakao/čokoladno, biljno, gorko, trpko, karamel/slatko i kiselo), koristeći ljestvicu 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 ocjenjivana je hedonističkom skalom od 1 do 9, pri čemu 1 izražava najniži stupanj prihvatljivosti, a 9 najviši stupanj prihvatljivosti.

3.2.7. Statistička obrada rezultata

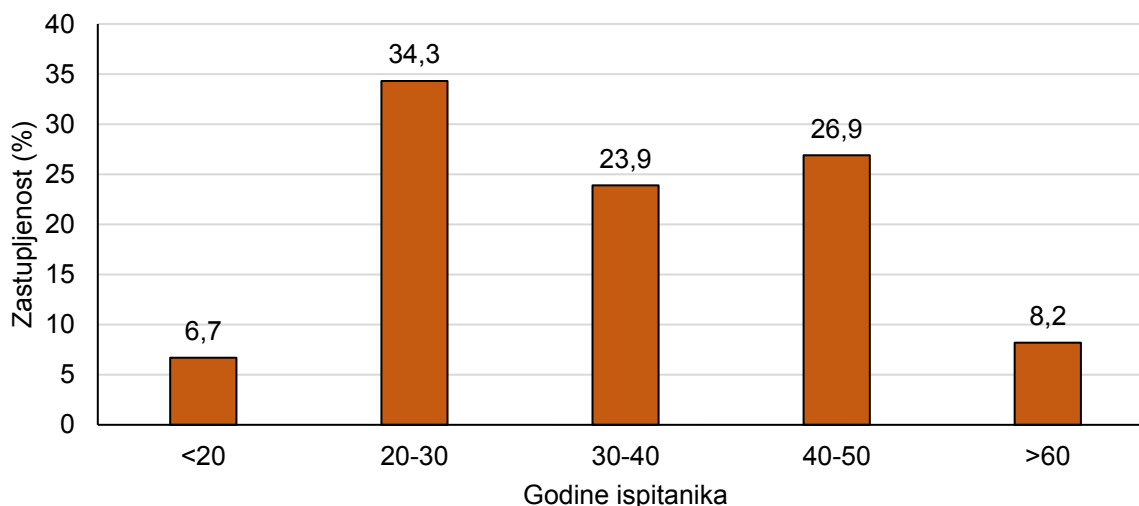
Statistička obrada rezultata provedena je u programu IBM SPSS Statistics korištenjem Studentovog t-testa i jednosmjernog ANOVA testa i Tukey *post-hoc* testa.

4. REZULTATI I RASPRAVA

Cilj ovog rada bio je formulirati i karakterizirati bioaktivna svojstva *cold brew* napitaka pripremljenih od prženih zrna Arabika i Robusta kave. Bioaktivna karakterizacija prženih kava uključivala je određivanje udjela melanoidina, ukupnih polifenola, antioksidacijskog kapaciteta i udjela pojedinačnih bioaktivnih spojeva. Pripremljenim napitcima određena su ista bioaktivna svojstva te su dodatno određena kemijska (udjel topljive suhe tvari i pH) i senzorska svojstva. Kao uvod u samu tematiku rada provedena je zanimljiva anketa, a rezultati su prikazani na slikama 9 – 18.

4.1. REZULTATI ANKETE

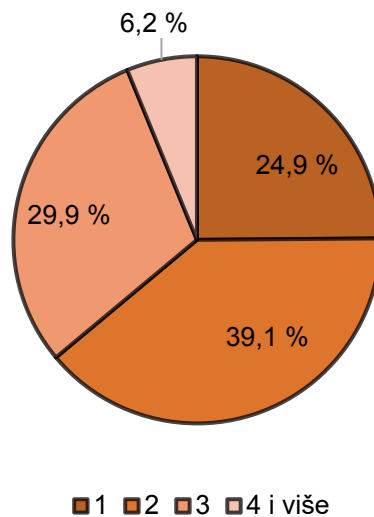
Prikaz raspodjele ispitanika ankete prema dobnim granicama prikazan je na slici 9.



Slika 9. Prikaz raspodjele ispitanika prema dobnim granicama

Od ukupnog broja ispitanika, većina se nalazila u dobnom intervalu između 20 i 30 godina.

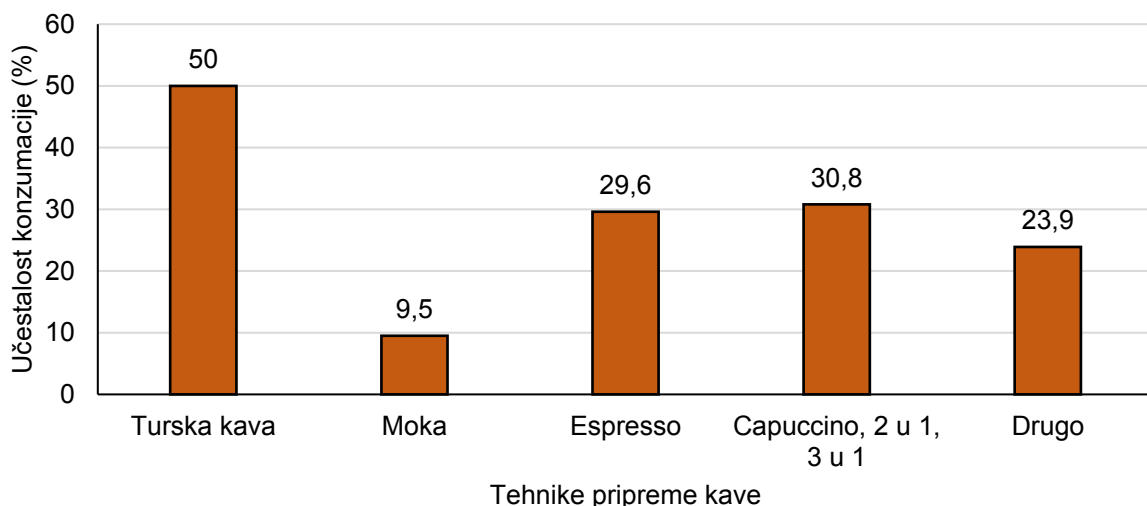
Na slici 10 prikazana je raspodjela ispitanika prema broju šalica kave konzumiranih na dan.



Slika 10. Broj šalica kave konzumiranih na dan

Od ukupnog broja ispitanika, 97 % je odgovorilo da konzumira kavu. Najveći postotak ispitanika odgovorio je da konzumira 2 šalice kave na dan. Slični rezultati dobiveni su u istraživanju Naglič i sur. (2014), provedenom na uzorku od 317 ispitanika, u kojem je utvrđeno da većina ispitanika pije 1 do 2 šalice kave dnevno (29,7 %), a najmanji udjel pije 3 šalice (5,7 %) ili 3 i više šalica kave dnevno (6,3 %). Czarniecka-Skubina i sur. (2021) u svom su istraživanju, s ukupno 1500 ispitanika, također objavili da najveći postotak, oko 28 %, ispitanika konzumira 2 šalice kave dnevno.

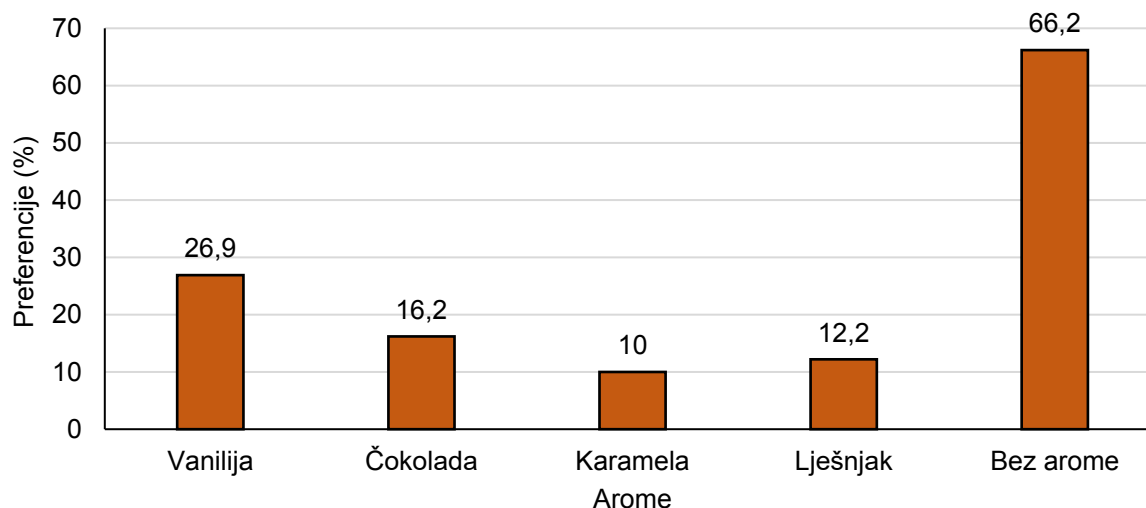
Učestalost konzumacije kave ovisno o tehnikama pripreme prikazana je na slici 11.



Slika 11. Učestalost konzumacije kave ovisno o tehnikama pripreme kave

Ovisno o tehnici pripreme kave, najviše ispitanika pije tursku kavu (50 %). U istraživanju Naglič i sur. (2014) najviše ispitanika odgovorilo je kako preferira tursku kavu (45,6 %), zatim espresso kavu (32 %), a najmanje ispitanika preferira filter kavu (2,9%).

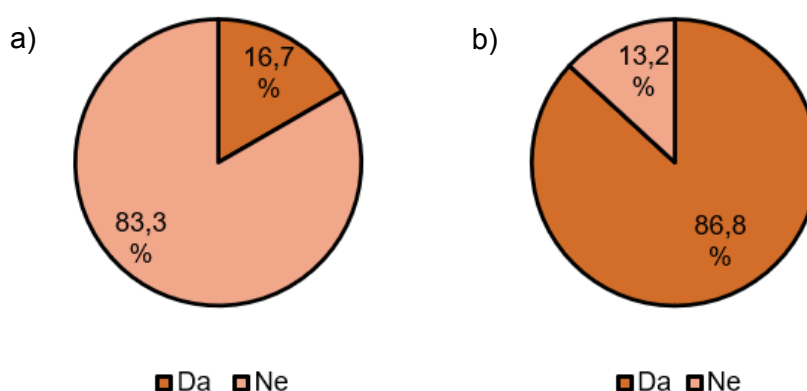
Na slici 12 prikazane su preferencije ispitanika prema različitim aromama kave.



Slika 12. Preferirane arome kave

Najviše ispitanika izabralo je kavu bez dodanih aroma. U radu Czarniecka-Skubina i sur. (2021) najviše ispitanika izabralo je kavu s mlijekom (69,6 %), zatim kavu bez dodataka (40 %), dok su dodane arome (čokolada, kokos, cimet, itd.) bile na zadnjem mjestu odabira ispitanika (8,8 %).

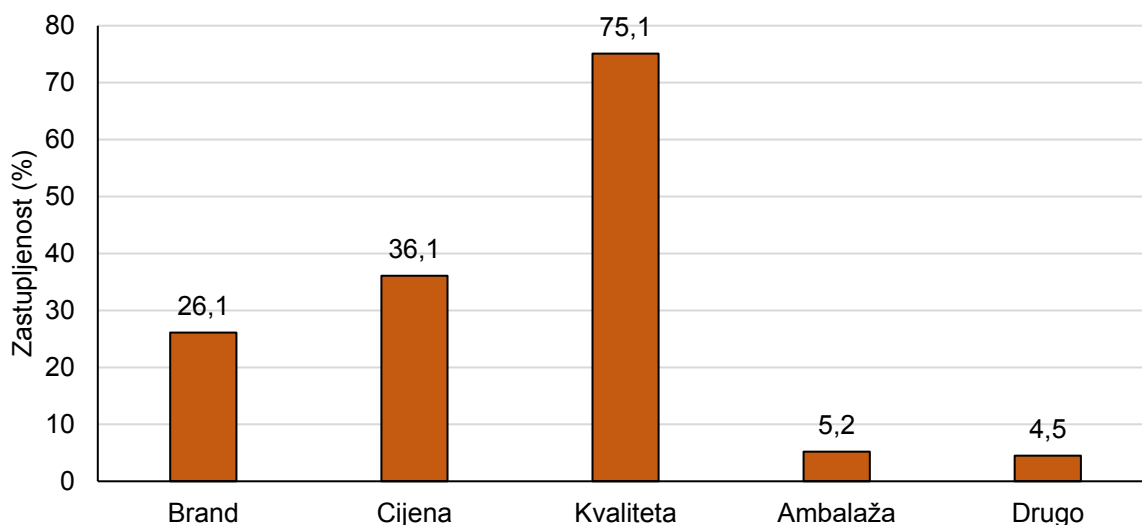
Slike 13 prikazuje utjecaj reklama na odabir kave (a) ili *cold brew* napitka (b).



Slika 13. Utjecaj reklama na odabir kave (a) i utjecaj reklama na kupovinu *cold brew* napitaka od kave (b)

Na pitanje utječu li reklame na odabir kave, 83,3 % ispitanika odgovorilo je da reklame ne utječu

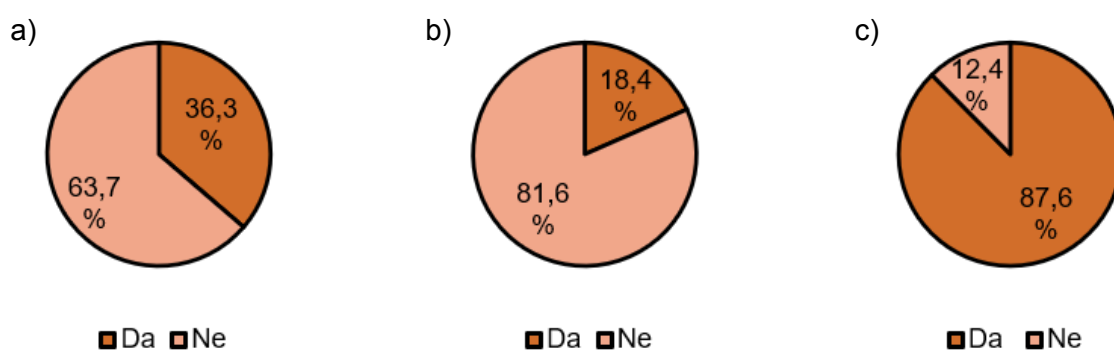
na njihov odabir kave, ali na pitanje vezano uz povezanost reklame i kupovine *cold brew* napitaka od kave, njih 86,8 % smatralo je da bi bolja reklama povećala interes za *cold brew* napitak od kave. Prikaz utjecaja različitih faktora na odabir kave prikazan je na slici 14.



Slika 14. Utjecaj različitih faktora na odabir kave

Najveći broj ispitanika odgovorio je kako prilikom odabira kave gleda kvalitetu. U istraživanju Czarniecka-Skubina i sur. (2021) faktori koje su ispitanici istaknuli kao ključne za odabir kave bili su kvaliteta i aroma te navike ispitanika, dok su cijena, brand, preporuke prijatelja i ostali faktori označeni kao manje bitni za odabir kave. Zanimljivo je da su se kao najmanje važni faktori izdvojile reklame i pakiranje.

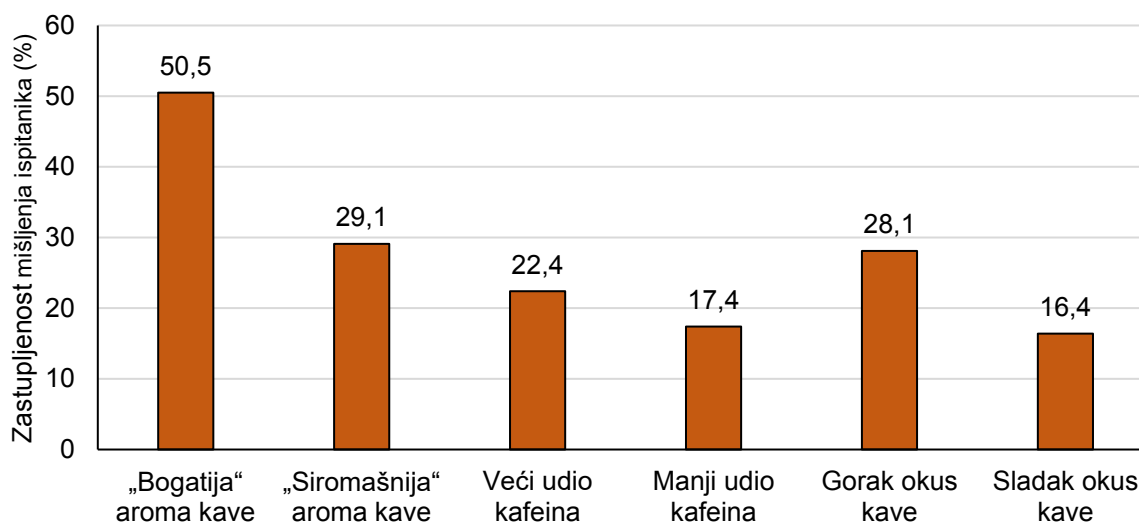
Pitanja vezana uz *cold brew* napitke od kave prikazana su na slici 15.



Slika 15. Informiranost o *cold brew* napitku od kave (a), poznavanje prednosti *cold brew* napitaka od kave (b) i voljnost probe *cold brew* napitka od kave (c)

Čak 63,7 % ispitanika nikada nije čulo za *cold brew* napitak od kave, a 81,6 % nije čulo za njegove prednosti. Ipak, 87,6 % ispitanika bilo bi voljno isprobati *cold brew* napitak od kave.

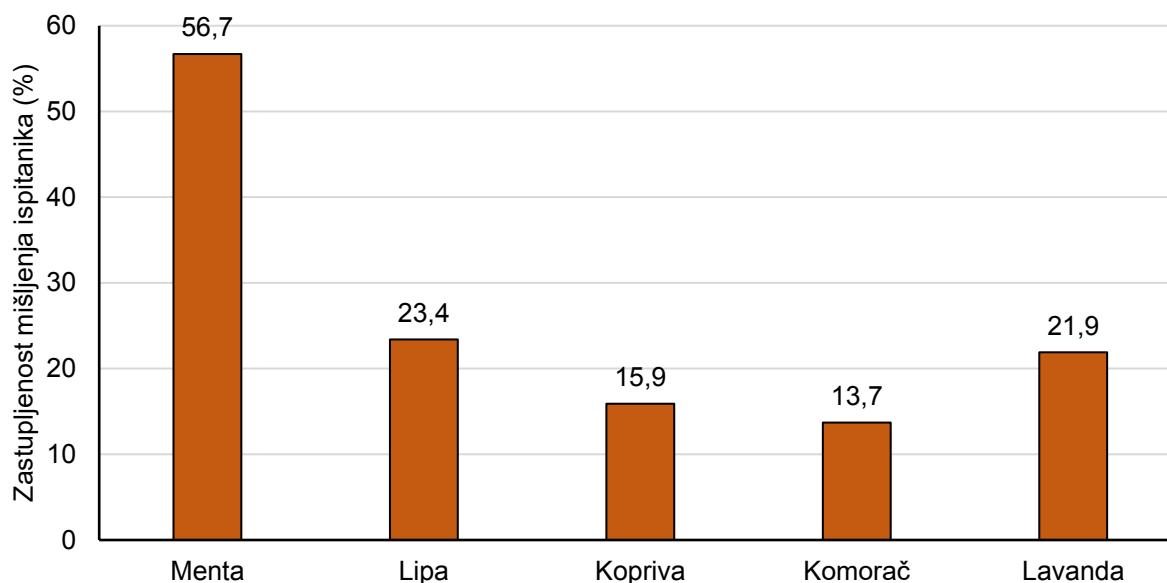
Na slici 16 prikazano je mišljenje ispitanika o rezultatu pripreme *cold brew* napitka.



Slika 16. Mišljenje ispitanika o rezultatu pripreme kave na sobnoj temperaturi kroz duži vremenski period

Većina ispitanika smatra da bi priprema kave na sobnoj temperaturi kroz duži vremenski period rezultirala „bogatijom“ aromom kave, većim udjelom kafeina i gorkim okusom kave.

Prikaz mišljenja ispitanika o uparivosti različitih biljaka s kavom prikazan je na slici 17.

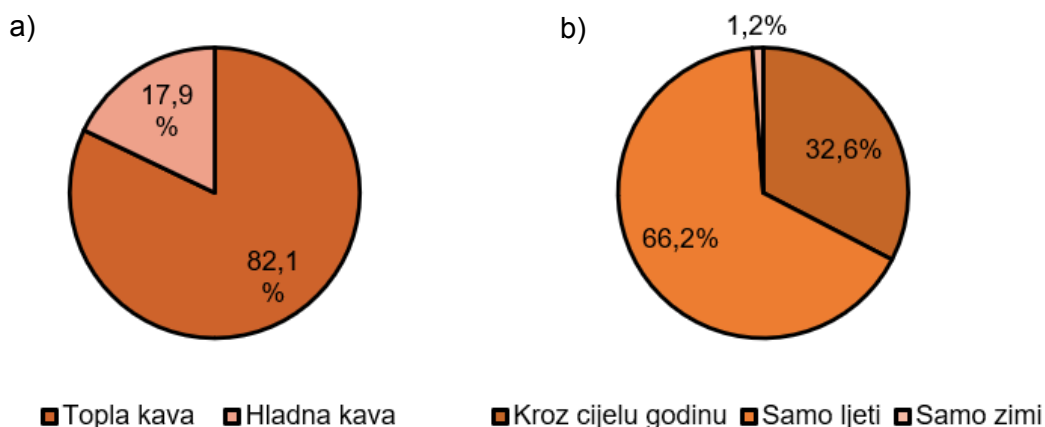


Slika 17. Mišljenje ispitanika o uparivosti različitih biljaka s kavom

Na pitanje vezano uz uparivost kave s biljkama, najviše ispitanika glasalo je kako bi se najbolje uparila menta, a najmanje komorač.

Prikaz preferirane tople ili hladne kave (a) i rezultati odabira perioda konzumacije *cold brew*

napitka (b) prikazani su na slici 18.

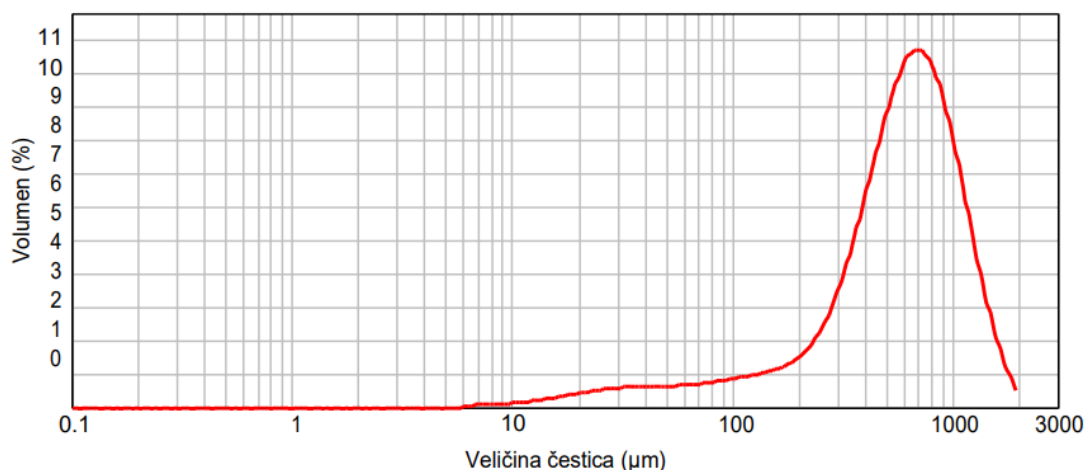


Slika 18. Preferirana kava (a) i period konzumacije *cold brew* napitka (b)

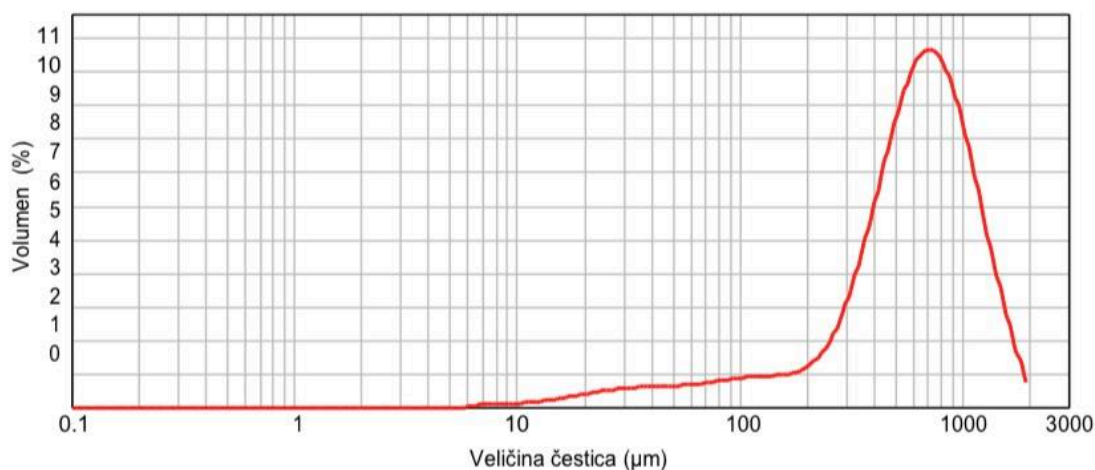
Na pitanje vole li više toplu ili hladnu kavu, 82,1 % ispitanika izabralo je toplu kavu i sukladno tome najveći broj ispitanika je odgovorio kako bi *cold brew* napitak konzumirali samo ljeti.

4.2. RASPODJELA VELIČINE ČESTICA PRŽENIH KAVA

Nakon prženja, zrna kave su samljevena i u takvom obliku korištena za sve daljnje analize i za pripremu *cold brew* napitaka. Dijagrami raspodjele veličine čestica pržene i mljevene Arabika i Robusta kave prikazani su na slikama 19 i 20, a u tablici 5 prikazani su parametri raspodjele čestica ($d(0,1)$, $d(0,5)$, $d(0,9)$).



Slika 19. Raspodjela veličine čestica pržene i mljevene Arabika kave



Slika 20. Raspodjela veličine čestica pržene i mljevene Robusta kave

Tablica 5. Parametri raspodjele veličine čestica mljevenih kava

Uzorak	d(0,1) (µm)	d(0,5) (µm)	d(0,9) (µm)
Arabika	139,303	600,001	1150,824
Robusta	146,437	628,845	1215,122

Kod uzorka Arabika kave, prema parametru d(0,1), 90 % čestica bilo je veće od 139,303 µm, a kod uzorka Robusta kave veće od 146,437 µm. Parametar d(0,5) (medijan volumne raspodjele) kod Arabika kave iznosio je 600,001 µm, a kod Robusta kave 628,845 µm. Prema dobivenim rezultatima vidljivo je da su veličine čestica Arabika i Robusta kave približnih vrijednosti. Najveća razlika uočena je kod parametra d(0,9) gdje je 10 % čestica Arabika kave bilo veće od 1150,824 µm, a kod Robusta kave veće od 1215,122 µm. Fibrianto i sur. (2018) u svom su istraživanju istraživali utjecaj različitih tehnika pripreme kave (drip, tubruk, French press, sifon) i veličina čestica (fino, srednje i grubo mljevena) na senzorska svojstva Robusta kave. Mljevenje je provedeno prema *Apresiocoffee* standardu, pri čemu su veličine čestica uzoraka iznosile 454,94 µm za fino mljevenu kavu (tubruk), 762,006 µm za srednje mljevenu kavu (drip i sifon) te 1 751,56 µm za grubo mljevenu kavu (French press). Istraživanje je pokazalo da veličina čestica može značajno utjecati na percepciju kave i njezinu prihvaćenost (Fibrianto i sur., 2018). Mugabi (2021) je u svom istraživanju određivao raspodjelu veličine čestica različitih brendova kava podrijetlom iz Gvatemale, Kolumbije, Kostarike i Libanona. Najsličnije rezultate s ovim istraživanjem dobio je za brendove kava Sanchez Classic i 1820a čiji su parametri d(10) iznosili 176 µm i 118 µm, parametri d(50) 728 µm i 667 µm te parametri d(90) 1335 µm i 1295 µm. Zaključak istraživanja pokazao je da veličina čestica nije imala utjecaj na boju mljevenih

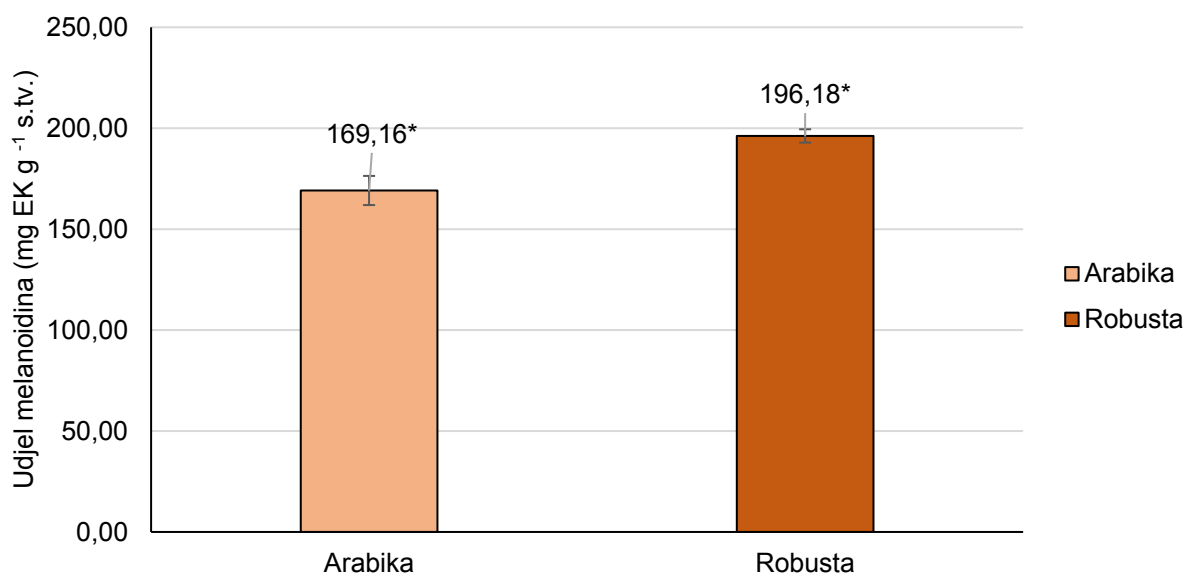
uzoraka kave (Mugabi, 2021).

4.3. BIOAKTIVNA KARAKTERIZACIJA PRŽENIH ZRNA KAVE

4.3.1. Udjel melanoidina u prženim zrnima kave

Melanoidini su smeđi pigmenti i produkti neenzimatskih Maillard-ovih reakcija koje se odvijaju tijekom toplinske obrade namirnica. Udjel melanoidina ovisi o koncentraciji prekursora i uvjetima toplinske obrade. Prekursorima melanoidina smatraju se proteini i ugljikohidrati visoke molekulske mase (npr. galaktomanani i arabinogalaktani). Iako melanoidini mogu nastati u raznim namirnicama, kao što su pekarski proizvodi, meso, tamno pivo itd., glavni izvor melanoidina je kava. Struktura i mehanizmi formiranja melanoidina još uvijek nisu jasno objašnjeni, ali se može primijetiti povezanost između sinteze melanoidina i stupnja prženja. Naime, što su temperatura i vrijeme prženja veći, veći je i udjel melanoidina u prženom proizvodu (Portillo i Arévalo, 2022).

Udjel melanoidina u prženim zrnima Arabika i Robusta kava određen je spektrofotometrijski, a rezultati su prikazani na slici 21. Rezultati su izraženi na suhu tvar uzoraka koja je iznosila 99 %.



EK-ekvivalenti karamelana; s.tv.-suhu tvar uzorka; *-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) između uzoraka određena t-testom.

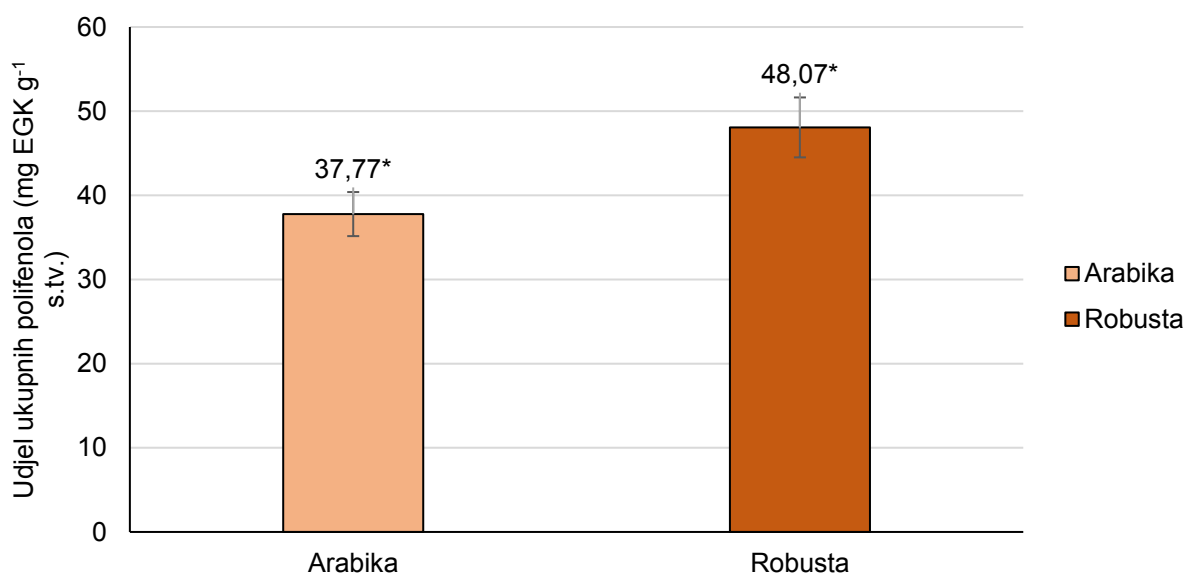
Slika 21. Udjel melanoidina u prženim zrnima Arabika i Robusta kava

Udjel melanoidina u prženim zrnima Robusta kave iznosio je 196,18 mg EK g⁻¹ s.tv. i statistički je značajno ($p < 0,05$) različit u odnosu na udjel melanoidina u prženim zrnima Arabika kave

(169,16 mg EK g⁻¹ s.tv.). Kurniawan i sur. (2017) koristili su Arabika i Robusta zrna iz Indonezije te su različitim stupnjevima prženja (200 – 210 °C) dobili slične rezultate za Arabika kavu (19,03 g 100 g⁻¹ s.tv. i 22,86 g 100 g⁻¹ s.tv.) i za Robusta kavu (18,83 g 100 g⁻¹ s.tv. i 23,37 g 100 g⁻¹ s.tv.) pri čemu su veće vrijednosti dobivene za više temperature prženja, odnosno tamnija zrna. U istraživanju Vignoli i sur. (2014) korištena su Arabika i Robusta zrna iz Brazila, pržena na temperaturama od 215 °C do 225 °C, pri čemu se udjel melanoidina povećao s 14,40 g na 23,60 g 100 g⁻¹ s.tv. za Arabika kavu i s 18,50 na 27,30 g 100 g⁻¹ s.tv. za Robusta kavu.

4.3.2. Udjel ukupnih polifenola u prženim zrnima kave

Udjel ukupnih polifenola u prženim zrnima Arabika i Robusta kava određen je spektrofotometrijski, a rezultati su prikazani na slici 22. Rezultati su izraženi na suhu tvar uzoraka koja je iznosila 99 %.



EGK-ekvivalenti galne kiseline; s.tv.-suhu tvar uzorka; *-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) između uzoraka određena t-testom.

Slika 22. Udjel ukupnih polifenola u prženim zrnima Arabika i Robusta kava

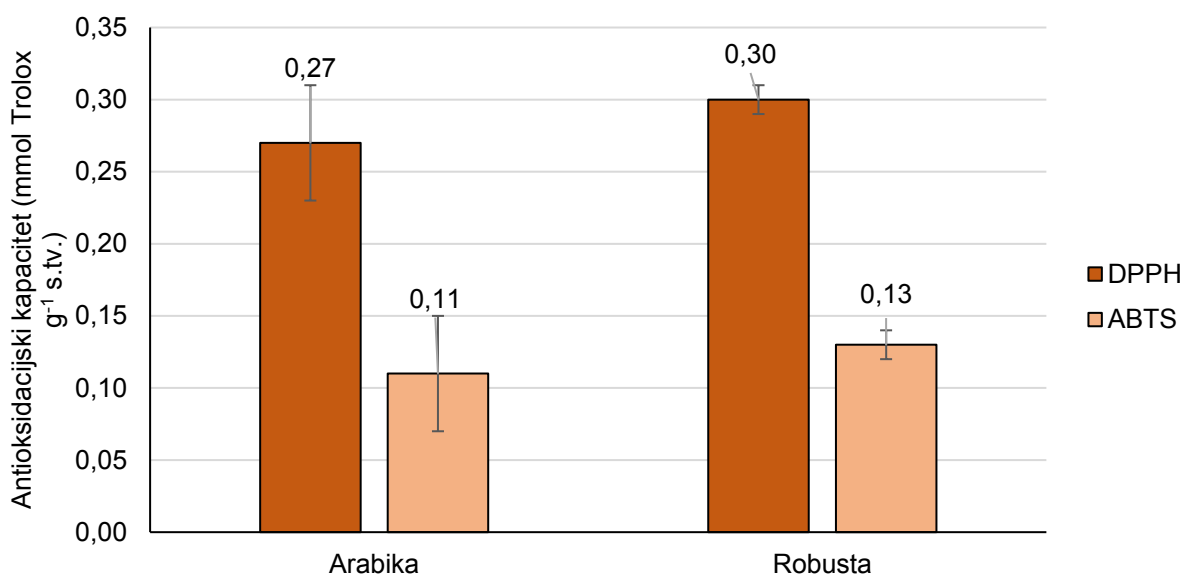
Udjel ukupnih polifenola bio je veći u prženim zrnima Robusta kave (48,07 mg EGK g⁻¹ s.tv.) i statistički se značajno ($p < 0,05$) razlikovao u odnosu na pržena zrna Arabika kave (37,77 mg EGK g⁻¹ s.tv.). Bobkova i sur. (2020) navode da udjel polifenola u prženim zrnima kave ovisi o vrsti kave, ali i o uvjetima prženja te da veća temperatura prženja rezultira manjim udjelom ukupnih polifenola u zrnima kave. Isti autori (Bobkova i sur., 2020) u svom istraživanju odredili su udjel ukupnih polifenola u rasponu od 49,19 – 74,05 mg EGK g⁻¹ s.tv. u zelenim zrnima kave, dok se isti tijekom prženja smanjio na 37,44 – 59,79 mg EGK g⁻¹ s.tv., pri čemu je najveći udjel od 59,79 mg EGK g⁻¹ s.tv. određen u svijetlo prženim zrnima Arabika kave iz Etiopije (Sidamo),

a najmanji udjel ukupnih polifenola od 37,44 mg EGK g⁻¹ s.tv. tamno prženim zrnima Arabika kave iz Indije (Monsooned Malabar). Također, u istraživanju Šeremet i sur. (2022) pržena zrna Robusta kave bila su okarakterizirana višim udjelom ukupnih polifenola (66,15 mg EGK g⁻¹ s.tv.) u odnosu na pržena zrna Arabika kave (50,08 mg EGK g⁻¹ s.tv.). U istraživanju Freitas i sur. (2023) korištena su pržena zrna Arabika i Robusta kava podrijetlom iz Brazila, a udjeli su bili u rasponu od 12,31 do 52,47 mg EGK g⁻¹ za Robusta kavu i od 11,52 do 21,47 mg EGK g⁻¹ za Arabika kavu te također potvrđuju veći udjel ukupnih polifenola u Robusta kavi. Duže vrijeme prženja na niskim temperaturama rezultira manjim izlaganjem toplini i kisiku što rezultira manje izraženom degradacijom polifenola (Freitas i sur., 2023).

4.3.3. Antioksidacijski kapacitet prženih zrna kave

Zdravstvene prednosti konzumacije kave pripisuju se njezinim antioksidansima koji povoljno utječu na kardiovaskularni sustav i metabolizam ((Mišek i sur., 2021; Messina i sur., 2015). Kava je bogata fenolnim kiselinama (poput kafeinske, klorogenske i ferulinske kiseline), koje imaju značajan pozitivan utjecaj na zdravlje, smanjuju oksidativni stres i mogu imati potencijalne anti-kancerogene učinke (Mišek i sur., 2021; Górecki i Hallmann, 2020).

Antioksidacijski kapacitet prženih zrna kava određen je spektrofotometrijski primjenom DPPH ABTS metoda. Rezultati su prikazani na slici 23 i izraženi su na suhu tvar uzorka koja je iznosila 99 %.



s.tv.-suhu tvar uzorka

Slika 23. Antioksidacijski kapacitet prženih zrna kave

Veći antioksidacijski kapacitet određen je kod Robusta kave (0,30 mmol Trolox g⁻¹ s.tv. za DPPH metodu i 0,13 mmol Trolox g⁻¹ s.tv. za ABTS metodu) u odnosu na Arabika kavu (0,27 mmol Trolox g⁻¹ s.tv. za DPPH metodu i 0,11 mmol Trolox g⁻¹ s.tv. za ABTS metodu). Istraživanje Šeremet i sur. (2022) potvrđuje navedene rezultate u kojem je također s obje metode (DPPH i ABTS) određen veći antioksidacijski kapacitet prženih zrna Robusta kave u odnosu na zrna Arabika kave. U istom istraživanju (Šeremet i sur., 2022) vrijednost antioksidacijskog kapaciteta prženih zrna Robusta kave, određenog DPPH metodom, iznosila je 371,08 μmol Trolox g⁻¹ s.tv., a za pržena zrna Arabika kave 283,93 μmol Trolox g⁻¹ s.tv. Vrijednosti antioksidacijskog kapaciteta ABTS metode za iste uzorke iznosile su 365,32 i 233,45 μmol Trolox g⁻¹ s.tv. za pržena zrna Robusta i Arabika kava. Bobkova i sur. (2020) u svom su istraživanju naveli kako antioksidacijski kapacitet zrna kave raste prženjem do niskog stupnja, dok nastavak prženja do srednjeg i tamnog stupnja uzrokuje smanjenje istog. Antioksidacijski kapacitet prženih zrna kava se razlikuje ovisno o stupnju i uvjetima prženja, vrsti kave, postupku ekstrakcije i metodama kojima se ispituje antioksidacijski kapacitet (Bobkova i sur., 2020). Pokorna i sur. (2015) prilikom određivanja antioksidacijskog kapaciteta ABTS metodom potvrdili su smanjenje antioksidacijskog kapaciteta zrna kava prženjem, a pržena zrna Robusta kave imala su približno 5 puta veće vrijednosti antioksidacijskog kapaciteta u odnosu na zrna Arabika kave.

4.3.4. Udjel kafeina i polifenolnih spojeva u prženim zrnima kave

HPLC-PDA metodologijom u prženim zrnima kave identificiran je i kvantificiran kafein, iz skupine metilksantina, te neoklorogenska, klorogenska i kriptoklorogenska kiselina, iz skupine polifenolnih spojeva. Rezultati su prikazani u tablici 6 i izraženi su na suhu tvar uzoraka koja je iznosila 99 %.

Tablica 6. Udjel pojedinačnih bioaktivnih spojeva u prženim zrnima kave

Uzorak	Metilksantini (mg g ⁻¹ s.tv.)	Polifenolni spojevi (mg g ⁻¹ s.tv.)		
	<i>Kafein</i>	<i>Neoklorogenska kiselina</i>	<i>Klorogenska kiselina</i>	<i>Kriptoklorogenska kiselina</i>
Arabika	11,88 ± 0,15	0,75 ± 0,02	2,04 ± 0,00	1,19 ± 0,01
Robusta	21,37 ± 0,03	0,97 ± 0,01	2,69 ± 0,01	1,76 ± 0,01

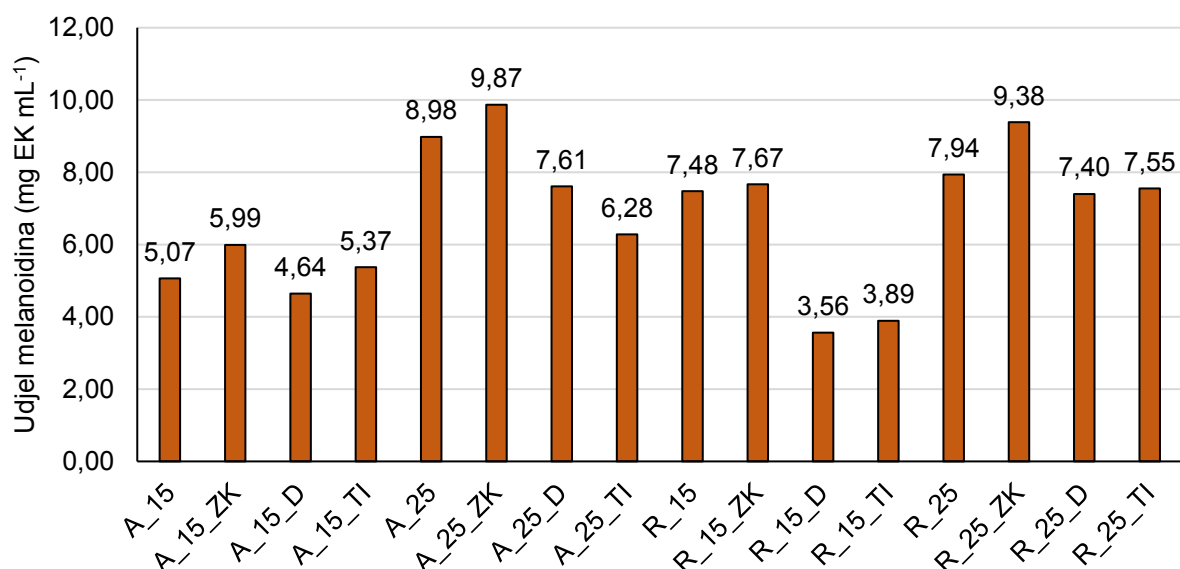
s.tv.-suha tvar uzorka

Robusta kava sadržavala je veći udjel svih analiziranih bioaktivnih spojeva u odnosu na Arabika kavu. Najveća razlika primjećuje se kod udjela kafeina koji je u Robusta kavi iznosio 21,37 mg g⁻¹ s.tv., a u Arabika kavi 11,88 mg g⁻¹ s.tv. Među fenolnim kiselinama u najvećem udjelu određena je neoklorogenska kiselina, i to Robusta kavi u udjelu od 0,97 mg g⁻¹ s.tv., a u Arabika kavi 0,75 mg g⁻¹ s.tv. Klorogenska kiselina određena je u udjelu od 2,69 mg g⁻¹ s.tv. u Robusta kavi i 2,04 mg g⁻¹ s.tv. u Arabika kavi. Udjel kriptoklorogenske kiseline u Robusta kavi iznosio je 1,76 mg g⁻¹ s.tv., a u Arabika kavi 1,19 mg g⁻¹ s.tv. U istraživanju Muzykiewicz-Szymánska i sur. (2021), u prženim zrnima kave udjel kafeina bio je u rasponu od 0,3 % do 2,5 %. U istraživanju Tsai i Jioe (2021) korištena su zrna Arabika kave iz Kine, Južne Koreje i Indonezije koja su pržena na 200 °C do svijetlo prženih, srednje prženih i tamno prženih zrna. Rezultati istraživanja pokazali su porast udjela kafeina nakon prženja, a smanjenje klorogenske kiseline. Vrijednosti udjela kafeina kretale su se od 2,62 mg g⁻¹ kod svijetlo pržene kave do 6,12 mg g⁻¹ kod tamno pržene kave (Tsai i Jioe, 2021).

4.4. BIOAKTIVNA I KEMIJSKA KARAKTERIZACIJA COLD BREW NAPITAKA OD KAVE

4.4.1. Udjel melanoidina u cold brew napitcima

Udjel melanoidinina u cold brew napitcima prikazan je na slici 24.



EK-ekvivalenti karamelana

Slika 24. Udjel melanoidina u cold brew napitcima

Najveći udjel melanoidina određen je u uzorcima 25_A_ZK (9,87 mg EK mL⁻¹) i 25_R_ZK (9,38 mg EK mL⁻¹), a najmanji u uzorcima 15_A_D (4,64 mg EK mL⁻¹) i 15_R_D (3,56 mg EK mL⁻¹).

Uzorci pripremljeni pri 15 °C, sadržavali su manje melanoidina od uzoraka pripremljenih pri 25 °C. Rao i sur. (2020a) koristili su pržena zrna Arabika kave (koristeći 3 stupnja prženja: 194 °C, 203 °C i 209 °C), podrijetlom iz Kolumbije, za pripremu *cold brew* napitaka kave (sobna temperatura, 7 h), a rezultati mjerenja apsorbancije pri 420 nm su iznosili 0,358 za napitak s mljevenim zrnima, prženima na 194 °C, 0,422 za napitak s mljevenim zrnima, prženima na 209 °C. Rao i sur. (2020a) su prema dobivenim rezultatima ustanovili da manji udjel melanoidina i ostalih spojeva manje topljivih pri nižim temperaturama, prati i manja kiselost, ali i slabije izražen antioksidacijski kapacitet.

4.4.2. Udjel ukupnih polifenola u *cold brew* napitcima

U tablici 7 prikazani su rezultati udjela ukupnih polifenola u *cold brew* napitcima.

Tablica 7. Udjel ukupnih polifenola u *cold brew* napitcima

Uzorak	Udjel ukupnih polifenola (mg EGK mL ⁻¹)	Uzorak	Udjel ukupnih polifenola (mg EGK mL ⁻¹)
<i>Arabika</i>		<i>Robusta</i>	
A_15	1,95 ± 0,55 ^{cdfghk}	R_15	1,77 ± 0,04 ^{cghn}
A_15_ZK	1,52 ± 0,04 ^{mno}	R_15_ZK	1,85 ± 0,03 ^{cdghk}
A_15_D	1,25 ± 0,03 ^{aijmnop}	R_15_D	1,39 ± 0,01 ^{ajmnop}
A_15_TI	1,39 ± 0,01 ^{ajmnop}	R_15_TI	1,54 ± 0,01 ^{mno}
A_25	1,65 ± 0,10 ^{hmn}	R_25	2,20 ± 0,10 ^{bcdefghkl}
A_25_ZK	1,45 ± 0,05 ^{amno}	R_25_ZK	2,27 ± 0,01 ^{bcdefghkl}
A_25_D	1,25 ± 0,03 ^{aijmnop}	R_25_D	2,03 ± 0,05 ^{bcdefghkl}
A_25_TI	1,14 ± 0,01 ^{aeijmnop}	R_25_TI	1,85 ± 0,20 ^{cdghk}

EGK-ekvivalenti galne kiseline; a-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na A_15; b-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na A_15_ZK; c-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na A_15_D; d-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na A_15_TI; e-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na A_25; f-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na A_25_ZK; g-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na A_25_D; h-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na A_25_TI; i-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na R_15; j-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na R_15_ZK; k-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na R_15_D; l-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na R_15_TI; m-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na R_25; n-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na R_25_ZK; o-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na R_25_D; p-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na R_25_TI. Statistička obrada rezultata provedena je koristeći jednosmjerni ANOVA test i Tukey post-hoc test.

Najveći udjel ukupnih polifenola određen je u uzorku R_25_ZK i iznosio je 2,27 mg EGK mL⁻¹, a najmanji, od 1,14 mg EGK mL⁻¹, u uzorku 25_A_TI. Može se primijetiti kako su rezultati za *cold brew* napitake pripremljene s Arabika kavom, neovisno o temperaturi ekstrakcije, približno istih vrijednosti, dok se kod *cold brew* napitaka pripremljenih s Robusta kavom primjećuje porast udjela ukupnih polifenola porastom temperature ekstrakcije. Kod *cold brew* napitaka od Arabika kave najveći udjel ukupnih polifenola određen je u uzorcima bez dodataka, dok je dodatak zelene kave, dobričice i trave ive u Arabika *cold brew* napitak rezultirao smanjenjem udjela ukupnih polifenola. Među Robusta *cold brew* napitcima najveći udjeli ukupnih polifenola određeni su u uzorcima s dodatkom zelene kave. Različite temperature ekstrakcije i dodatci rezultirali su statistički značajnom ($p < 0,05$) razlikom u udjelima ukupnih polifenola u *cold brew* napitcima. Cordoba i sur. (2019) odredili su udjel ukupnih polifenola u *cold brew* napitcima Arabika kave (Kolumbija) od 0,08 do 1,50 g EGK L⁻¹, koji su bili pripremani tijekom 14 i 22 h na temperaturi od 20 °C. U tom istraživanju produženje vremena ekstrakcije rezultiralo je povećanim udjelom ukupnih polifenola.

4.4.3. Antioksidacijski kapacitet *cold brew* napitaka

Antioksidacijski kapacitet *cold brew* napitaka određen je DPPH i ABTS metodama. Rezultati su prikazani u tablici 8.

Tablica 8. Antioksidacijski kapacitet *cold brew* napitaka određen DPPH i ABTS metodama

DPPH metoda		ABTS metoda	
Uzorak	Antioksidacijski kapacitet (mmol Trolox L ⁻¹)	Uzorak	Antioksidacijski kapacitet (mmol Trolox L ⁻¹)
A_15	11,09 ± 0,35 ^{dehijlmnop}	A_15	10,68 ± 0,41 ^{jmn}
A_15_ZK	11,40 ± 0,12 ^{cdehijlmnop}	A_15_ZK	9,44 ± 0,41 ^{egijlmno}
A_15_D	10,30 ± 0,48 ^{begijklmnop}	A_15_D	8,78 ± 1,40 ^{eghijklmnop}
A_15_TI	9,49 ± 0,08 ^{abefgijklmnop}	A_15_TI	8,61 ± 0,17 ^{eghijklmnop}
A_25	12,73 ± 0,00 ^{abcdghjkmn}	A_25	12,00 ± 0,00 ^{bcdm}
A_25_ZK	11,13 ± 0,06 ^{dehijlmnop}	A_25_ZK	10,02 ± 0,17 ^{ijlmno}
A_25_D	11,40 ± 0,29 ^{cdehijlmnop}	A_25_D	12,04 ± 1,36 ^{bcdm}
A_25_TI	9,87 ± 0,83 ^{abefgijklmnop}	A_25_TI	11,54 ± 0,21 ^{cdmn}
R_15	12,62 ± 0,15 ^{abcdghjkmno}	R_15	12,12 ± 1,20 ^{bcdm}
R_15_ZK	13,93 ± 0,00 ^{abcdefghik}	R_15_ZK	13,52 ± 0,78 ^{abcdfp}

Tablica 8. Antioksidacijski kapacitet *cold brew* napitaka određen DPPH i ABTS metodama - nastavak

R_15_D	11,65 ± 0,25 ^{cdehijlmnop}	R_15_D	11,46 ± 0,37 ^{cdmn}
R_15_TI	13,12 ± 0,06 ^{abcdefghkmn}	R_15_TI	12,66 ± 0,91 ^{bcdmf}
R_25	14,68 ± 0,62 ^{abcdefgghiklop}	R_25	14,97 ± 0,17 ^{abcdefgghiklop}
R_25_ZK	14,74 ± 0,06 ^{abcdefgghiklop}	R_25_ZK	13,94 ± 0,04 ^{abcdfhkp}
R_25_D	13,68 ± 0,00 ^{abcdefghikmn}	R_25_D	12,78 ± 0,70 ^{bcdmf}
R_25_TI	13,04 ± 0,10 ^{abcdefghkmn}	R_25_TI	11,34 ± 0,08 ^{cdjmn}

a-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na A_15; b-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na A_15_ZK; c-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na A_15_D; d-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na A_15_TI; e-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na A_25; f-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na A_25_ZK; g-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na A_25_D; h-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na A_25_TI; i-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na R_15; j-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na R_15_ZK; k-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na R_15_D; l-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na R_15_TI; m-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na R_25; n-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na R_25_ZK; o-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na R_25_D; p-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na R_25_TI. Statistička obrada rezultata provedena je koristeći jednosmjerni ANOVA test i Tukey post-hoc test.

Različite temperature ekstrakcije i dodatci zelene kave, dobričice i trave ive rezultirali su statistički značajnom ($p < 0,05$) promjenom antioksidacijskog kapaciteta uzoraka. Najveći antioksidacijski kapacitet, određen DPPH metodom, određen je u uzorku R_25_ZK i iznosio je 14,74 mmol Trolox L⁻¹. Najmanji antioksidacijski kapacitet, određen DPPH metodom, određen je kod uzorka A_15_TI i iznosio je 9,49 mmol Trolox L⁻¹. Kod DPPH metode, *cold brew* napitci s dodatkom trave ive, osim napitka R_15_TI, imali su najmanje vrijednosti antioksidacijskog kapaciteta. Nadalje, *cold brew* napitci Robusta kave pripremljeni pri 15 °C i 25 °C imali su veći antioksidacijski kapacitet u odnosu na napitke Arabika kave pripremljene pri istim temperaturama. Najveći antioksidacijski kapacitet (ABTS metoda) određen je u uzorku R_25 i iznosio je 14,97 mmol Trolox L⁻¹, a najmanji, kao i kod DPPH metode, u uzorku A_15_TI i iznosio je 8,61 mmol Trolox L⁻¹. Rao i Fuller (2018) koristili su zrna kava iz Brazila, dvije regije Etiopije, Kolumbije, Mjanmara i Meksika za pripremu *cold brew* napitaka. Antioksidacijski kapacitet bio je između 13,36 mmol Trolox-a L⁻¹ (zrno iz Etiopije, Yirgz) i 17,45 mmol Trolox-a L⁻¹ (zrno iz Etiopije, Ardi). Rezultati dobiveni u ovom istraživanju pokazali su da su kave pripremljene toplinskim tretmanom imale veći antioksidacijski kapacitet u usporedbi s *cold brew* kavama pripremljenim pri sobnoj temperaturi (21 – 25 °C) i ekstrakcijom u trajanju od 7 h (Rao i Fuller, 2018). U istraživanju Rao i sur. (2020a) korištena su pržena Arabika zrna (3 stupnja prženja: 194 °C, 203 °C i 209 °C), podrijetlom iz Kolumbije, za pripremu *cold brew* napitaka kave (sobna temperatura, 7 sati). ABTS metodom dobiveni su rezultati u rasponu od 10,13

mmol Trolox-a L⁻¹ (209 °C) do 13,09 mmol Trolox-a L⁻¹ (194 °C) kave što je u skladu s rezultatima dobivenima u ovome istraživanju za *cold brew* Arabika kavu.

4.4.4. Određivanje udjela kafeina i polifenolnih spojeva tekućinskom kromatografijom visoke učinkovitosti (HPLC)

U pripremljenim *cold brew* napitcima identificirani su isti bioaktivni spojevi kao u prženim zrnima: kafein, neoklorogenska, klorogenska i kriptoklorogenska kiselina, a rezultati su prikazani u tablici 9.

Tablica 9. Udjeli pojedinačnih bioaktivnih spojeva u *cold brew* napitcima

Uzorak	Metilksantini ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Polifenolni spojevi ($\mu\text{g mL}^{-1}$)		
	<i>Kafein</i>	<i>Neoklorogenska kiselina</i>	<i>Klorogenska kiselina</i>	<i>Kriptoklorogenska kiselina</i>
A_15	746,16	78,82	203,74	117,95
A_15_ZK	735,10	87,13	304,10	128,82
A_15_D	658,35	76,07	184,13	110,18
A_15_TI	652,03	57,24	143,55	85,00
A_25	769,98	83,71	208,37	125,45
A_25_ZK	776,77	89,63	341,24	134,43
A_25_D	660,26	73,72	170,69	105,80
A_25_TI	623,36	57,38	142,91	84,69
R_15	1174,75	82,87	174,93	132,77
R_15_ZK	1261,07	86,79	302,48	146,55
R_15_D	1105,91	68,45	162,75	116,76
R_15_TI	1208,30	74,63	184,56	129,60
R_25	1346,92	90,06	212,25	154,72

Tablica 9. Udjeli pojedinačnih bioaktivnih spojeva u *cold brew* napitcima - *nastavak*

R_25_ZK	1320,72	88,50	348,67	154,27
R_25_D	1217,99	80,83	191,56	140,39
R_25_TI	1183,00	72,39	167,68	123,39

Napitci pripremljeni od zrna Robusta kave sadržavali su veći udjel kafeina u odnosu na napitke od zrna Arabika kave. Najveći udjel kafeina određen je u uzorku R_25 (1346,92 $\mu\text{g mL}^{-1}$), a najmanji u uzorku A_25_TI (623,36 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Najveći udjel neoklorogenske kiseline određen je u uzorku R_25 (90,06 $\mu\text{g mL}^{-1}$), a najmanji u uzorku A_15_TI (57,24 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Klorogenska kiselina određena je u najvećem udjelu u uzorku R_25_ZK (348,67 $\mu\text{g mL}^{-1}$), a u najmanjem u uzorku A_25_TI (142,91 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Najveći udjel kriptoklorogenske kiseline određen je u uzorku R_25 (154,72 $\mu\text{g mL}^{-1}$), a najmanji u uzorku A_25_TI (84,69 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Uspoređujući sveukupne rezultate može se primijetiti kako kod svih uzoraka porastom temperature ekstrakcije dolazi do porasta udjela kafeina i polifenolnih spojeva, osim kod uzoraka koji sadrže travu ivu u kojima se udjel istih porastom temperature ekstrakcije smanjio. Rao i sur. (2020a) pripremali su *cold brew* napitak (sobna temperatura, 7 h) od prženih zrna Arabika kave (3 stupnja prženja: 194 °C, 203 °C i 209 °C), podrijetlom iz Kolumbije, te su detektirali udjel kafeina u rasponu od 1036 mg L^{-1} (203 °C) do 1962 mg L^{-1} (209 °C). U istome istraživanju (Rao i sur., 2020a) određeni su udjeli klorogenske kiseline od 147 mg L^{-1} (209 °C) do 757 mg L^{-1} (194 °C), kriptoklorogenske kiseline od 188 mg L^{-1} (209 °C) do 419 mg L^{-1} (194 °C) i neoklorogenske kiseline od 170 mg L^{-1} (203 °C) do 359 mg L^{-1} (209 °C). Rao i Fuller (2018) istraživali su zrna iz Brazila, dvije regije Etiopije, Mjanmara, Kolumbije i Meksika i u svim zrnima određeno je najviše klorogenske kiseline (najveći udjel u zrnu iz Etiopije, 1133 mg L^{-1} ; najmanji udjel u zrnu iz Meksika, 857 mg L^{-1}), a najmanje neoklorogenske kiseline (najveći udjel u zrnu iz Brazila, 513 mg L^{-1} ; najmanji udjel u zrnu iz Meksika, 344 mg L^{-1}).

4.4.5. pH vrijednost *cold brew* napitaka

Izmjerene pH vrijednosti *cold brew* napitaka od zrna Arabika i Robusta kave prikazane su u tablici 10.

Tablica 10. pH vrijednosti *cold brew* napitaka

Uzorak	pH-vrijednost	Uzorak	pH-vrijednost
<i>Arabika</i>		<i>Robusta</i>	
A_15	5,71 ± 0,00 ^{ce} efghijklp	R_15	5,78 ± 0,01 ^{abc} defghijmnp
A_15_ZK	5,70 ± 0,01 ^{ce} efghijklp	R_15_ZK	5,83 ± 0,00 ^{abc} defghilmnp
A_15_D	5,66 ± 0,00 ^{ab} degiijklno	R_15_D	5,79 ± 0,01 ^{abc} defghmnp
A_15_TI	5,71 ± 0,00 ^{ce} efghijklp	R_15_TI	5,79 ± 0,02 ^{abc} defghijmnp
A_25	5,61 ± 0,01 ^{abcd} fijklmn	R_25	5,68 ± 0,01 ^{eg} hijklp
A_25_ZK	5,65 ± 0,02 ^{ab} degiijklno	R_25_ZK	5,72 ± 0,00 ^{ce} efghijklp
A_25_D	5,59 ± 0,00 ^{abcd} fijklmnp	R_25_D	5,61 ± 0,01 ^{abcd} fijklmn
A_25_TI	5,62 ± 0,03 ^{abd} ijklmn	R_25_TI	5,64 ± 0,00 ^{abd} gijklmn

a-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na A_15; b-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na A_15_ZK; c-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na A_15_D; d-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na A_15_TI; e-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na A_25; f-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na A_25_ZK; g-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na A_25_D; h-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na A_25_TI; i-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na R_15; j-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na R_15_ZK; k-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na R_15_D; l-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na R_15_TI; m-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na R_25; n-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na R_25_ZK; o-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na R_25_D; p-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na R_25_TI. Statistička obrada rezultata provedena je koristeći jednosmjerni ANOVA test i Tukey post-hoc test.

Iz dobivenih rezultata vidljivo je da su *cold brew* napitci, neovisno o vrsti kave, pripremljeni pri 15 °C imali veću pH vrijednost, odnosno manju kiselost, nego *cold brew* napitci pripremljeni pri 25 °C. Robusta *cold brew* napitci imali su veće pH vrijednosti u usporedbi s Arabika *cold brew* kavama s istim dodatcima te je potvrđena i statistički značajna ($p < 0,05$) razlika između ispitivanih uzoraka. Fuller i Rao (2017) u istraživanju su koristili Arabika zrna (Havaji) za pripremu *cold brew* napitaka pri sobnoj temperaturi (20 – 25 °C) ekstrakcijom u trajanju od 8 do 24 h, a pH vrijednosti dobivene u tom istraživanju kretale su se u rasponu od 5,40 do 5,54 ovisno o stupnju prženja. U istraživanju Rao i sur. (2020b) pripremljeni su *cold brew* napitci različitih proizvođača pri sobnoj temperaturi ekstrakcijom u trajanju od nekoliko sati do 24 h. Detektirane pH vrijednosti kretale su se od 4,89 do 6,37 ovisno o pakiranju (staklo, PET,

metalne konzerve). Muzykiewicz-Szymńska i sur. (2021) odredili su pH vrijednosti od 5,25 (ekstrakcija 9 h) i 5,31 (ekstrakcija 24 h) za *cold brew* napitke od Arabika kave, podrijetlom iz Brazila, pripremljene pri sobnoj temperaturi. *Cold brew* napitcima (pri sobnoj temperaturi, ekstrakcijom u trajanju od 7 h) od Arabika kave, podrijetlom iz Kolumbije, Rao i sur. (2020a) izmjerili su pH vrijednosti u rasponu od 5,0 do 5,75.

4.4.6. Udjel topljive suhe tvari u *cold brew* napitcima

Rezultati refraktometrijskog određivanja udjela topljive suhe tvari prikazani su u tablici 11.

Tablica 11. Vrijednosti topljive suhe tvari (°Bx) u *cold brew* napitcima

Uzorak	Topljiva suha tvar (°Bx)	Uzorak	Topljiva suha tvar (°Bx)
<i>Arabika</i>		<i>Robusta</i>	
A_15	3,1 ± 0,10 ^f	R_15	3,2 ± 0,05 ^{dp}
A_15_ZK	3,2 ± 0,05 ^{dp}	R_15_ZK	3,2 ± 0,00 ^{dgp}
A_15_D	3,1 ± 0,00 ^f	R_15_D	3,2 ± 0,05 ^{dp}
A_15_TI	3,0 ± 0,00 ^{befijklmno}	R_15_TI	3,2 ± 0,00 ^{dgp}
A_25	3,2 ± 0,10 ^{dgp}	R_25	3,2 ± 0,00 ^{dgp}
A_25_ZK	3,3 ± 0,05 ^{acdghp}	R_25_ZK	3,2 ± 0,00 ^{dgp}
A_25_D	3,1 ± 0,05 ^{efjlmn}	R_25_D	3,2 ± 0,05 ^{dp}
A_25_TI	3,1 ± 0,00 ^f	R_25_TI	3,0 ± 0,00 ^{befijklmno}

a-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na A_15; b-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na A_15_ZK; c-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na A_15_D; d-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na A_15_TI; e-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na A_25; f-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na A_25_ZK; g-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na A_25_D; h-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na A_25_TI; i-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na R_15; j-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na R_15_ZK; k-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na R_15_D; l-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na R_15_TI; m-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na R_25; n-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na R_25_ZK; o-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na R_25_D; p-statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na R_25_TI. Statistička obrada rezultata provedena je koristeći jednosmjerni ANOVA test i Tukey post-hoc test.

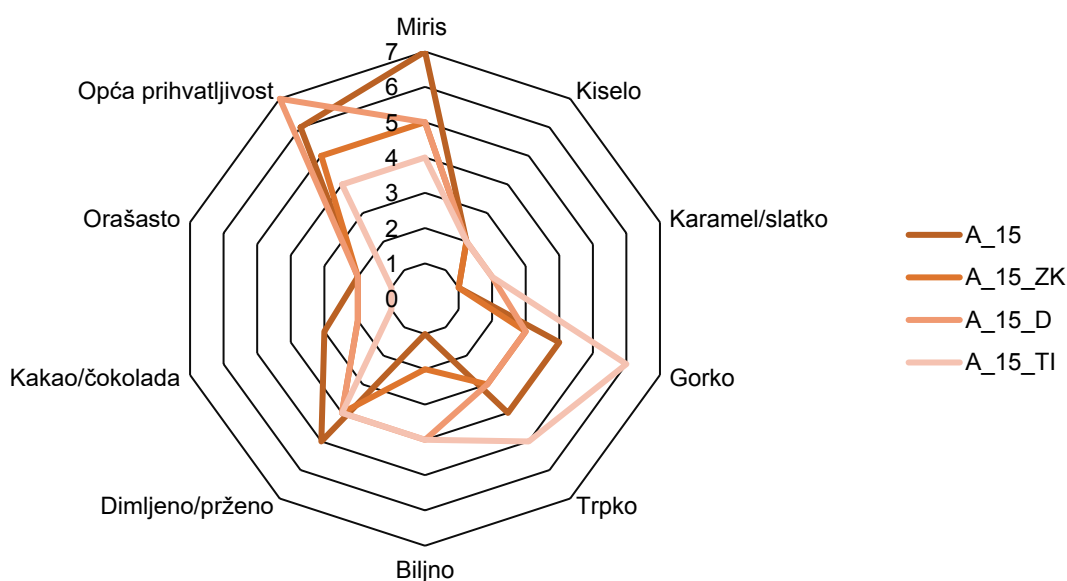
U svim napitcima, neovisno o vrsti kave, temperaturi i dodacima, određen je udjel topljive suhe tvari u uskom rasponu od 3,0 (A_15_TI i R_25_TI) do 3,3 (A_25_ZK). Dobiveni rezultati

prikazuju da su različite temperature ekstrakcije i dodaci utjecali na statistički značajne ($p < 0,05$) razlike u udjelu topljive suhe tvari. Rao i sur. (2020a) odredili su udjel topljive suhe tvari u *cold brew* napitcima Arabika kave (Kolumbija), pripremljenih na sobnoj temperaturi kroz 7 h, u rasponu udjela od 1,88 do 2,06 %. Cordoba i sur. (2019) odredili su udjel ukupne topljive suhe tvari od 0,71 do 2,04 % u Arabika (Kolumbija) *cold brew* napitcima pripremljenima na temperaturi od 20 °C ekstrakcijom kroz 14 i 22 h.

4.5. SENZORSKA ANALIZA

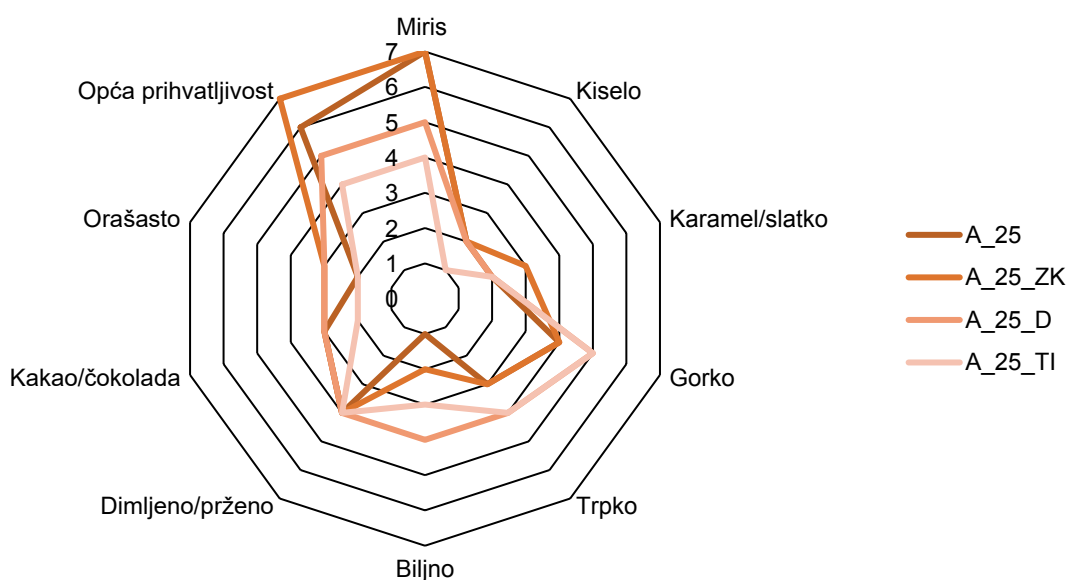
Istraživanja o senzorskim svojstvima napitaka dobivenih od mješavina Arabika i Robusta kave otkrile su da povećanje udjela Robusta kave povećava bogatstvo ekstrakata, prinos ekstrakcije te njihov gorak i trpak okus, dok viši postotak Arabika kave daje izraženiji kiseli okus i intenzivniju ukupnu aromu (Nebesny i Budryn, 2006). U usporedbi s *cold brew* napitkom, kuhanje kave na višim temperaturama dovodi do brže ekstrakcije antioksidansa, a tamnija pržena zrna pokazuju slabije izražen antioksidacijski kapacitet zbog razgradnje istih. Dugotrajno kuhanje na visokim temperaturama može dovesti do izraženijeg gorkog okusa kave. *Cold brew* napitci iz ovog razloga općenito maju manje izraženu gorčinu (Yust i sur., 2024).

Pripremljeni *cold brew* napitci senzorski su evaluirani pri čemu su se ispitivali parametri okusa, mirisa i opće prihvatljivosti. Među parametrima okusa bili su kiselo, karamel/slatko, gorak, trpk, biljno, dimljeno/prženo, kakao/čokolada i orašasto. Rezultati senzorske analize prikazani su na slikama 25 – 28.



Slika 25. Rezultati senzorske analize Arabika *cold brew* napitaka pripremljenih pri 15 °C

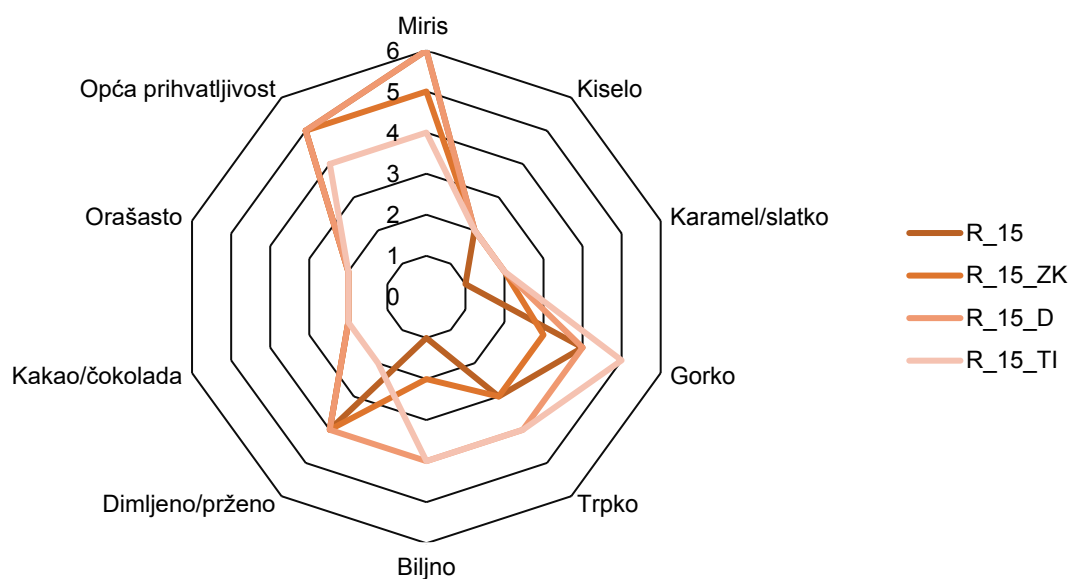
Uspoređujući rezultate Arabika *cold brew* napitaka pripremljenih pri 15 °C, najintenzivniji miris kave (7,0) određen je u napitku A_15, a najmanji intenzitet istog (4,0) u napitku A_15_TI. Intenzitet kiselosti u svim napitcima bio je nizak i ocijenjen istom ocjenom (2,0). Najmanje izražen okus karamel/slatko (1,0) imao je napitak A_15_ZK, dok su svi preostali napitci ocijenjeni nešto višom ocjenom od 2,0. Gorak okus bio je najizraženiji (6,0) u napitku A_15_TI, a najmanje (4,0) u napitcima A_15_ZK i A_15_D. Nadalje, trpkost je bila najjače izražena (5,0) u napitku A_15_TI, a najmanje (3,0) u napitcima A_15_ZK i A_15_D. Biljni okus bio je najintenzivniji (4,0) u napitcima s biljnim dodacima (A_15_D i A_15_TI), dok je najjači intenzitet okusa dimljeno/prženo (5,0) određen u napitku A_15. Okus kakao/čokolada i orašasti okus nisu bili izraženi u napitku A_15_TI, a kod svih ostalih napitaka bili su slabo izraženi (2,0). Najbolje prihvaćen napitak od strane senzorskog panela (7,0) bio je napitak A_15_D, a najmanje (3,0) napitak A_15_TI.



Slika 26. Rezultati senzorske analize Arabika *cold brew* napitaka pripremljenih pri 25 °C

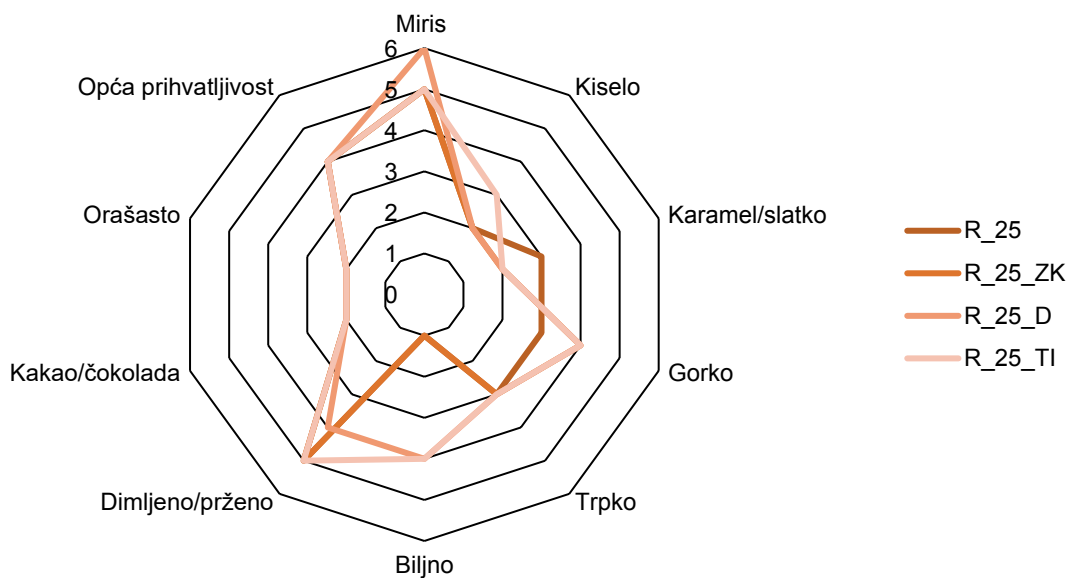
Najintenzivniji miris kave među Arabika *cold brew* napitcima pripremljenima pri 25 °C, određen je kod napitaka A_25 i A_25_ZK (7,0), dok je najslabiji (4,0) određen u napitku A_25_TI. Intenzitet kiselosti je kod svih uzoraka ocijenjen istom ocjenom (2,0) osim kod napitaka A_25_TI (1,0). Najizraženiji okus karamel/slatko određen je kod napitka A_25_ZK (3,0) dok je kod ostalih napitaka okus karamel/slatko ocijenjen slabijim intenzitetom (2,0). Gorčina je bila najviše izražena u A_25_TI (5,0), dok je kod svih ostalih napitaka ocijenjena slabijim intenzitetom (4,0). Trpkost je bila najjače izražena u napitcima A_25_D i A_25_TI (4,0), a najmanje izražena (3,0)

u napitcima A_25 i A_25_ZK. Najintenzivniji biljni okus (4,0) bio je u napitku A_25_D, dok je dimljeno/prženo svih napitaka bilo istog intenziteta (4,0). Okus kakao /čokolada bio je slabije izražen u napitku A_25_TI (2,0), dok su svi ostali napitci imali malo izraženiji taj okus (3,0). Intenzitet orašastog okusa bio je najizraženiji (3,0) u napitku A_25_ZK i A_25_D, a nešto slabije izražen (2,0) u napitcima A_25 i A_25_TI. Napitak s dodatkom zelene kave (A_25_ZK) bio je senzorski najbolje prihvaćen (7,0), dok je napitak s dodatkom trave ive (A_25_TI) bio najlošije prihvaćen.



Slika 27. Rezultati senzorske analize Robusta *cold brew* napitaka pripremljenih pri 15 °C

Kod Robusta *cold brew* napitaka pripremljenih pri 15 °C, najintenzivniji miris kave (6,0) imao je napitak R_15_D, a najmanje intenzivan (4,0) napitak R_15_TI. Svi napitci imali su slabo izraženu kiselost (2,0), kao i okus karamel/slatko (2,0). Najizraženiji gorak okus (5,0) imao je napitak R_15_TI, a najmanje (3,0) napitak R_15_ZK. Najjače izraženu trpkost (4,0) imali su napitci R_15_D i R_15_TI, a najmanje (3,0) napitci R_15 i R_15_ZK. Biljni okus najintenzivniji (4,0) je bio kod napitaka R_15_D i R_15_TI, dok su kakao/čokolada okus i orašasti okus kod svih napitaka bili slabo izraženi (2,0). Intenzitet okusa dimljeno/prženo bio je ocijenjen s 2,0 u napitku R_15_TI, dok su svi ostali napitci imali izraženiji taj okus (4,0). Opća prihvatljivost svih napitaka bila je ocijenjena s 5,0, osim napitka R_15_TI (4,0).



Slika 28. Rezultati senzorske analize Robusta *cold brew* napitaka pripremljenih pri 25 °C

Među Robusta *cold brew* napitcima pripremljenima pri 25 °C, najintenzivniji miris kave (6,0) određen je kod napitka R_25_TI, dok su svi ostali napitci imali slabije izraženi miris kave (5,0). Intenzitet kiselosti bio je relativno slabo izražen kod svih napitaka te je u napitku R_25_TI ocijenjen ocjenom 3,0, a kod ostalih napitaka kiselost je bila još slabija (2,0). Karamel/slatko okus ocijenjen je kod svih napitaka s 2,0 osim kod napitka R_25 (3,0). Gorčina nije bila previše izražena i kod svih napitaka ocijenjena je s 4,0, izuzev R_25 (3,0), a trpkost je također bila slabo izražena (3,0). Biljni okus najintenzivniji (4,0) je kod napitaka R_25_D i R_25_TI. Dimljeno/prženo okus nešto slabije je bio izražen u R_25_D (4,0), a u svim ostalim napitcima ocijenjen je 5,0. Kakao/čokolada i orašasti okus prilično slabo su se osjetili u svim napitcima (2,0). Svi napitci bili su jednako prihvaćeni od strane senzorskog panela (4,0).

Uspoređujući dobivene rezultate može se zaključiti da su svi napitci pripremljeni bez dodataka imali najintenzivniji miris kave. Kiselost nije bila intenzivno naglašena ni u jednom uzorku, a gorčina, trpkost i biljni okus bili su najizraženiji kod napitaka s dodanom travom ivom. Okusi kakaa/čokolade i orašastih plodova bili su prilično slabo izraženi kod svih napitaka. Dodatak trave ive rezultirao je *cold brew* napitcima koji su bili najlošije senzorski prihvaćeni, izuzev Robusta *cold brew* napitaka, pripremanih na 25 °C, gdje su svi napitci ocijenjeni jednako loše prihvatljivima. *Cold brew* napitci Arabika kave bili su senzorski prihvatljiviji, a najbolje su ocijenjeni napitci A_15_D i A_25_ZK.

5. ZAKLJUČCI

1. Rezultati ankete pokazali su da iako 63,7% ispitanika nije informirano o *cold brew* napitku od kave, 87,6 % voljno je isprobati isti.
2. Robusta kava imala je veći udjel melanoidina, ukupnih polifenola, kafeina, klorogenskih kiselina i antioksidativni kapacitet u usporedbi s Arabika kavom.
3. *Cold brew* napitci od Arabika i Robusta kava bez dodataka pripremljeni na višoj temperaturi (25 °C) imali su veće udjele melanoidina, kafeina i klorogenskih kiselina, kao i izraženiji antioksidacijski kapacitet u usporedbi s napitcima pripremljenima na nižoj temperaturi (15 °C).
4. Dodatak zelene kave u *cold brew* napitke od kave rezultirao je povećanim udjelom melanoidina, dok je dodatak dobričice i trave ive rezultirao smanjenjem udjela melanoidina, polifenola, kafeina i klorogenskih kiselina
5. Robusta *cold brew* napitke karakterizira veći udjel kafeina i ukupnih polifenola te izraženiji antioksidacijski kapacitet u odnosu na Arabika *cold brew* napitke pripremljene pri istim uvjetima.
6. *Cold brew* napitci pripremljeni na 25 °C senzorski su bili bolje prihvaćeni u odnosu na napitke pripremljene na 15 °C.
7. Kod Arabika *cold brew* napitaka, najintenzivniji miris kave imali su napitci bez dodataka, dok je isti bio najslabije izražen u napitku s travom ivom.
8. Kod Robusta *cold brew* napitaka pripremljenih pri 15 °C najintenzivniji miris kave imao je uzorak s dodatkom dobričice, a najmanje intenzivan uzorak s dodatkom trave ive, dok je kod *cold brew* napitaka pripremljenih pri 25 °C uzorak s dodatkom trave ive imao najintenzivniji miris kave.
9. Dodatak trave ive rezultirao je *cold brew* napitcima najizraženije gorčine i trpkosti te su isti bili i najslabije prihvaćeni.

6. LITERATURA

- ALAsmari KM, Zeid IMA, Al-Attar AM (2020) Medicinal Properties of Arabica coffee (*Coffea arabica*) Oil: An Overview. *Adv Life Sci* **8** (1), 20-29. https://www.researchgate.net/publication/346443841_Medicinal_Properties_of_Arabica_coffee_Coffea_arabica_Oil_An_Overview. Pristupljeno 5. listopada 2024.
- Anonymous 1, <https://www.indexmundi.com/agriculture/?commodity=green-coffee&graph=arabica-production>. Pristupljeno 17. listopada 2024.
- Anonymous 2, <https://www.indexmundi.com/agriculture/?commodity=green-coffee&graph=robusta-production>. Pristupljeno 17. listopada 2024.
- Batista LR, Chalfoun SM, Silva CF, Cirillo M, Varga EA, Schwan RF (2009) Ochratoxin A in coffee beans (*Coffea arabica* L.) processed by dry and wet methods. *Food Control* **20**, 784–790. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2008.10.003>
- Bellumori M, Angeloni G, Guerrini L, Masella P, Calamai L, Mulinacci N i sur. (2021) Effects of different stabilization techniques on the shelf life of cold brew coffee: Chemical composition, flavor profile and microbiological analysis. *LWT* **142**, 111043. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111043>
- Benković M, Srečec S, Špoljarić I, Mršić G, Bauman I (2014) Fortification of instant coffee beverages - influence of functional ingredients, packaging material and storage time on physical properties of newly formulated, enriched instant coffee powders. *J Sci Food Agr* **95** (13), 2607–2618. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6989>
- Bevilacqua E, Cruzat V, Singh I, Rose'Meyer RB, Panchal SK, Brown L (2023) The Potential of Spent Coffee Grounds in Functional Food Development. *Nutrients* **15**, 994. <https://doi.org/10.3390/nu15040994>
- Bobkova A, Hudaček M, Jakabova 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. *LWT* **28**: 25 - 30.
- Bresciani L, Calani L, Bruni R, Brighenti F, Del Rio D (2014) Phenolic composition, caffeine content and antioxidant capacity of coffee silverskin. *Food Res Int* **61**, 196-201. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.10.047>
- Bruyn FD, Zhang SJ, Pothakos V, Torres J, Lambot C, Moroni AV i sur. (2017) Exploring the Impacts of Postharvest Processing on the Microbiota and Metabolite Profiles during Green Coffee Bean Production. *Appl Environ Microbiol* **83** (1), 1–16. <https://doi.org/10.1128/AEM.02398-16>
- Casas MI, Vaughan MJ, Bonello P, Gardener BM, Grotewold E, Alonso AP (2017) Identification of biochemical features of defective *Coffea arabica* L. beans. *Food Res Int* **95**, 59-67. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.02.015>
- Castañeda-Rodríguez R, Mulík S, Ozuna C (2020) Brewing Temperature and Particle Size Affect Extraction Kinetics of Cold Brew Coffee in Terms of Its Physicochemical, Bioactive, and Antioxidant Properties. *J Culin Sci Technol*, 1–22. <https://doi.org/10.1080/15428052.2020.1848683>
- Claassen L, Rinderknecht M, Porth T, Röhnisch J, Seren HY, Scharinger A i sur. (2021) Cold Brew Coffee—Pilot Studies on Definition, Extraction, Consumer Preference, Chemical Characterization and Microbiological Hazards. *Foods* **10**, 865. <https://doi.org/10.3390/foods10040865>
- Córdoba N, Moreno FL, Osorio C, Velásquez S, Fernandez-Alduenda M, Ruiz-Pardo Y (2021) Specialty and regular coffee bean quality for cold and hot brewing: Evaluation of sensory profile and physicochemical characteristics. *LWT* **145**, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111363>

- Cordoba N, Pataquiva L, Osorio C, Moreno FLM, Ruiz RY (2019) Effect of grinding, extraction time and type of coffee on the physicochemical and flavour characteristics of cold brew coffee. *Sci Rep* **9** (1), 1-12. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44886-w>
- Costantino A, Maiese A, Lazzari J, Casula C, Turillazzi E, Frati P, Fineschi V (2023) The dark side of energy drinks: A comprehensive review of their impact on the human body. *Nutrients* **15** (18), 3922. <https://doi.org/10.3390/nu15183922>
- Crozier TWM, Stalmach A, Lean MEJ, Crozier A (2012) Espresso coffees, caffeine and chlorogenic acid intake: Potential health implications. *Food Funct* **3**, 30–33. <https://doi.org/10.1039/c1fo10240k>
- Czarniecka-Skubina E, Pielak M, Salek P, Korzeniowska-Ginter R, Owczarek T (2021) Consumer Choices and Habits Related to Coffee Consumption by Poles. *Int J Environ Res Pub He* **18** (8), 3948. <https://doi.org/10.3390/ijerph18083948>
- DaMatta FM, Avila RT, Cardoso AA, Martins SCV, Ramalho JC (2018) Physiological and Agronomic Performance of the Coffee Crop in the Context of Climate Change and Global Warming: A Review. *J Agric Food Chem* **66**, 5264-5274. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b04537>
- Davis AP, Gargiulo R, Almeida INdM, Caravela MI, Denison C, Moat J (2021) Hot Coffee: The Identity, Climate Profiles, Agronomy, and Beverage Characteristics of *Coffea racemosa* and *C. zanguebariae*. *Front Sustain Food Syst* **5**, 1-14. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.740137>
- DePaula J, Farah A (2019) Caffeine Consumption through Coffee: Content in the Beverage, Metabolism, Health Benefits and Risks. *Beverages* **5** (2), 37. <https://doi.org/10.3390/beverages5020037>
- Efthymiopoulos I, Hellier P, Ladommatos N, Kay A, Mills-Lamprey B (2018) Integrated strategies for water removal and lipid extraction from coffee industry residues. *Sustain Energy Technol Assess* **29**, 26-35. <https://doi.org/10.1016/j.seta.2018.06.016>
- European Food Safety Authority (EFSA) (2015) *Caffeine*. <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/caffeine>. Pristupljeno 23. listopada 2024.
- Farah A, Lima JP (2019) Consumption of chlorogenic acids through coffee and health implications. *Beverages* **5** (1), 11. <https://doi.org/10.3390/beverages5010011>
- Fibrianto K, Febryana YR, Wulandari ES (2018) Effect of brewing technique and particle size of the ground coffee on sensory profiling of brewed Dampit robusta coffee. U: International Conference on Green Agro-industry and Bioeconomy, IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 131, IOP Publishing, Batu, Indonezija, str. 1-7.
- Firdissa E, Mohammed A, Berecha G, Garedew W (2022) Coffee Drying and Processing Method Influence Quality of Arabica Coffee Varieties (*Coffea arabica* L.) at Gomma I and Limmu Kossa, Southwest Ethiopia. *J Food Quality* **2022**, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2022/9184374>
- Franca AS, Oliveira LS, Mendonça JCF, Silva XA (2005) Physical and chemical attributes of defective crude and roasted coffee beans. *Food Chem* **90** (1-2), 89-94. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.03.028>
- Freitas VV, Rodrigues Borges LL, Dias Castro GA, Henrique dos Santos M, Teixeira Ribeiro Vidigal MC, Fernandes SA, Stringheta PC (2023) Impact of different roasting conditions on the chemical composition, antioxidant activities, and color of *Coffea canephora* and *Coffea arabica* L. samples. *Heliyon* **9** (9), 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e19580>
- Fuller M i Rao NZ (2017) The Effect of Time, Roasting Temperature, and Grind Size on Caffeine and Chlorogenic Acid Concentrations in Cold Brew Coffee. *Sci Rep* **7** (1), 1-9. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-18247-4>
- Gemechu GE, Beyene TM (2020) The blooming of coffee industry: Its waste problem and utilization through management option: A review. *J Biol Chem Res* **37**, 36–46. <https://www.researchgate.net/publication/344607840>. Pristupljeno 5. listopada 2024.
- Górecki M, Hallmann E (2020) The Antioxidant Content of Coffee and Its In Vitro Activity as an Effect of Its Production Method and Roasting and Brewing Time. *Antioxidants* **9**, 308. <http://dx.doi.org/10.3390/antiox9040308>

- Hasbullah UHA, Umiyati R (2021) Antioxidant Activity and Total Phenolic Compounds of Arabica and Robusta Coffee at Different Roasting Levels. *J Phys: Conf Ser* **1764**, 1-8. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1764/1/012033>
- Herrera JC, Lambot C (2017) The Coffee Tree—Genetic Diversity and Origin. U: Folmer B (ured.) The Craft and Science of Coffee, Elsevier, London, str. 1-16.
- Hoffman JR, Kang J, Ratamess NA, Jennings PF, Mangine G, Faigenbaum AD (2006) Thermogenic Effect from Nutritionally Enriched Coffee Consumption. *J Int Soc Sport Nutr* **3** (1), 1 - 7. <https://doi.org/10.1186/1550-2783-3-1-35>
- Hudyakova A (2020) World Coffee Consumption Statistics - Coffee Rank. <https://coffeerank.com/world-coffee-consumption-statistics/>. Pristupljeno 19. listopada 2024.
- International Coffee Organization (ICO) (2019) Coffee Market Report. <http://www.ico.org/documents/cy2018-19/cmr-0719-e.pdf>. Pristupljeno 30. listopada 2024.
- ISO 8589:2007, Sensory analysis – General guidelines for the design of test rooms.
- Jeszka-Skowron M, Sentkowska A, Pyrzyńska K, De Peña MP (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>
- Karklina K, Ozola L, Ibrahim MNG (2024) Development of innovative energy drink based on cold brew spruce sprout and its comparison to commercial energy drinks. *Agronomy Research* **22** (1), 428–443. <https://doi.org/10.15159/AR.24.024>
- Kath J, Byrareddy VM, Craparo A, Nguyen-Huy T, Mushtaq S, Cao L, Bossolasco L (2020) Not so robust: Robusta coffee production is highly sensitive to temperature. *Glob Change Biol* **26** (6), 3677-3688. <https://doi.org/10.1111/gcb.15097>
- Kath J, Byrareddy VM, Mushtaq S, Craparo A, Porcel M (2021) Temperature and rainfall impacts on robusta coffee bean characteristics. *Clim Risk Manag*, **32**, 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.crm.2021.100281>
- Kumar V, Ravishankar GA (2009) Current Trends in Producing Low Levels of Caffeine in Coffee Berry and Processed Coffee Powder. *Food Rev Int* **25** (3), 175–197. <https://doi.org/10.1080/87559120802458099>
- Kurniawan MF, Andarwulan N, Wulandari N, Rafi M (2017) Metabolomic approach for understanding phenolic compounds and melanoidin roles on antioxidant activity of Indonesia robusta and arabica coffee extracts. *Food Sci Biotechnol* **26** (6), 1475–1480. <https://doi.org/10.1007/s10068-017-0228-6>
- Kyroglou S, Thanasouli K, Vareltzis P (2021) Process characterization and optimization of cold brew coffee: effect of pressure, temperature, time and solvent volume on yield, caffeine and phenol content. *J Sci Food Agric* **101** (11), 4789–4798. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11125>
- 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, Elsevier, London, str.17-49.
- Leitão AL (2019) Occurrence of Ochratoxin A in Coffee: Threads and Solutions—A MiniReview. *Beverages* **5** (2), 36. <https://doi.org/10.3390/beverages5020036>
- Makiso MU, Tola YB, Ogah O, Endale FL (2023) Bioactive compounds in coffee and their role in lowering the risk of major public health consequences: A review. *Food Sci Nutr* **12**, 734–764. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3848>
- Maksimowski D, Pachura N, Oziembłowski M, Nawirska-Olszańska A, Szumny A (2022) Coffee Roasting and Extraction as a Factor in Cold Brew Coffee Quality. *Appl Sci* **12**, 2582. <https://doi.org/10.3390/app12052582>
- McCain-Keefer HR, Meals S, Drake M (2020) The sensory properties and consumer acceptance of cold brew coffee. *J Sens Stud* **35** (6), 1-13. <https://doi.org/10.1111/joss.12604>
- Medina-Filho HP, Maluf MP, Bordignon R, Guerreiro-Filho O, Fazuoli LC (2007) Traditional breeding and modern genomics: a summary of tools and developments to exploit

- biodiversity for the benefit of the coffee agroindustrial chain. *Acta Horti* **745**, 351–368. <https://doi.org/10.17660/actahortic.2007.745.21>
- Messina G, Zannella C, Monda V, Dato A, Liccardo D, De Blasio S i sur. (2015) The Beneficial Effects of Coffee in Human Nutrition. *Biol Med* **7** (4), 1-5. <https://doi.org/10.4172/0974-8369.1000240>
- Miłek M, Młodecki Ł, Dżugan M (2021) Caffeine content and antioxidant activity of various brews of specialty grade coffee. *Acta Sci Pol Technol Aliment* **20** (2), 179–188. <http://dx.doi.org/10.17306/J.AFS.2021.0890>
- Millard E (2017) Still brewing: Fostering sustainable coffee production. *World Dev Perspect* **7-8**, 32–42. <https://doi.org/10.1016/j.wdp.2017.11.004>
- Mishra MK, Huded AKC, Jingade P (2020) Assessment of the Suitability of Molecular SCoT Markers for Genetic Analysis of Coffee Species. *Botanica* **26** (2), 184–196. <https://doi.org/10.2478/botlit-2020-0019>
- Mugabi R (2021) Effect of Particle Size on Color of Ground Coffee. *Asian Food Sci J* **20** (10), 137–144. <https://doi.org/10.9734/afsj/2021/v20i1030369>
- Muzykiewicz-Szymánska A, Nowak A, Wira D, Klimowicz A (2021) The Effect of Brewing Process Parameters on Antioxidant Activity and Caffeine Content in Infusions of Roasted and Unroasted Arabica Coffee Beans Originated from Different Countries. *Molecules* **26**, 3681. <https://doi.org/10.3390/molecules26123681>
- Naglić T, Cerjak M, Tomić M (2014) Utjecaj sociodemografskih obilježja potrošača na ponašanje u kupnji i konzumaciji kave. *Agroeconomia Croatica* **4** (1), 8-15. <https://hrcak.srce.hr/125549>. Pristupljeno 13. rujna 2024.
- Nebesny E, Budryn G (2006) Evaluation of sensory attributes of coffee brews from robusta coffee roasted under different conditions. *Eur Food Res Technol* **224** (2), 159–165. <https://10.1007/s00217-006-0308-y>
- Padmore, JM (1990) Animal feed - AOAC official method 930.15 - Moisture in animal feed. U: *Official Methods of Analysis*, Vol. **1**, 15. izd., (Helrich, K., ured.), AOAC International, Arlington, VA, str. 69-70.
- Palupi NS, Fatimah (2021) The Role of Decaffeinated Coffee in Reducing the Risk of Hypertension: A Systematic Review. *J Funct Food Nutraceut*, 99–116. <https://doi.org/10.33555/jffn.v2i2.60>
- Pan L, Xiao Y, Jiang F, Jiang T, Zhu J, Tang W i sur. (2023) Comparison of Characterization of Cold Brew and Hot Brew Coffee Prepared at Various Roasting Degrees. *J Food Process Pres* **2023**, 1–15. <https://doi.org/10.1155/2023/3175570>
- Pokorná J, Venskutonis PR, Kraujalyte V, Kraujalis P, Dvořák P, Tremlová B i sur. (2015). Comparison of different methods of antioxidant activity evaluation of green and roast *C. Arabica* and *C. Robusta* coffee beans. *Acta Aliment* **44** (3), 454–460. <https://doi.org/10.1556/066.2015.44.0017>
- Portela C da S, Almeida IF de, Mori ALB, Yamashita F, Benassi M de T (2021) Brewing conditions impact on the composition and characteristics of cold brew Arabica and Robusta coffee beverages. *LWT* **143**, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111090>
- Portillo OR, Arévalo AC (2022) Coffee's Melanoidins. A critical review of contemporary scientific literature. *Rev Bionatura* **7** (3), 1-10. <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2022.07.03.4>
- Ramírez-Correa P, Rondán-Cataluña FJ, Moulaz MT, Arenas-Gaitán J (2020) Purchase Intention of Specialty Coffee. *Sustainability* **12** (4), 1329. <https://doi.org/10.3390/su12041329>
- Rao NZ i Fuller M (2018) Acidity and Antioxidant Activity of Cold Brew Coffee. *Sci Rep* **8** (1), 1-9. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34392-w>
- Rao NZ, Fuller M, Grim MD (2020a) Physiochemical Characteristics of Hot and Cold Brew Coffee Chemistry: The Effects of Roast Level and Brewing Temperature on Compound Extraction. *Foods* **9** (7), 1-12. <https://doi.org/10.3390/foods9070902>
- Rao NZ, Fuller M, Peoples M, Adams D, Wilkinson F, Fallon K (2020b) Ready, Drink! Chemical Characterization of Ready-to-Drink Cold Brew Coffee Products. *Food Studies: An*

- Interdisciplinary Journal* **10** (2), 31–42. <https://doi.org/10.18848/2160-1933/cgp/v10i02/31-42>
- Raveendran A, Murthy PS (2021) New trends in specialty coffees - “the digested coffees.” *Crit. Rev Food Sci*, 1–7. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1877111>
- Re i sur. (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* **26**, 1231-1237.
- Rodríguez-Gómez R, Vanheuverzwijn J, Souard F, Delporte C, Stévigny C, Stoffelen P i sur. (2018) Determination of Three Main Chlorogenic Acids in Water Extracts of Coffee Leaves by Liquid Chromatography Coupled to an Electrochemical Detector. *Antioxidants* **7** (10), 143. <https://doi.org/10.3390/antiox7100143>
- Sachs J, Cordes KY, Rising J, Toledano P, Maennling N (2019) Ensuring Economic Viability and Sustainability of Coffee Production. Columbia Center on Sustainable Investment. https://scholarship.law.columbia.edu/sustainable_investment_staffpubs/53 Pristupljeno 30. listopada 2024.
- Saratale GD, Bhosale R, Shobana S, Banu JR, Pugazhendhi A, Mahmoud E i sur. (2020) A review on valorization of spent coffee grounds (SCG) towards biopolymers and biocatalysts production. *Bioresour Technol* **314**, 123800. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123800>
- Seninde DR, Chambers E (2020) Coffee Flavor: A Review. *Beverages* **6** (3), 44. <https://doi.org/10.3390/beverages6030044>
- Slavova G, Georgieva V (2019) World production of coffee imports and exports in Europe, Bulgaria and USA. *Trakia Journal of Sciences* **17** (1), 619–626. <https://doi.org/10.15547/tjs.2019.s.01.098>
- Specialty Coffee Association (2021) Towards a Definition of Specialty Coffee: Building an Understanding Based on Attributes – An SCA White Paper. <https://sca.coffee/availableresearch>. Pristupljeno 30. listopada 2024.
- Statista (2020) Global coffee consumption 2012/13-2021/21. <https://www.statista.com/statistics/292595/global-coffee-consumption/#statisticContainer>. Pristupljeno 30. listopada 2024.
- Statista (2024a) Average Prices for Arabica and Robusta Coffee Worldwide from 2014 to 2025. <https://www.statista.com/statistics/675807/average-prices-arabica-and-robusta-coffee-worldwide/>. Pristupljeno 17. listopada 2024.
- Statista (2024b) World Arabica coffee production from 2005/06 to 2023/24. <https://www.statista.com/statistics/225400/world-arabica-coffee-production/>. Pristupljeno 17. listopada 2024.
- Statista (2024c) Robusta coffee production worldwide from 2005/06 to 2023/24. <https://www.statista.com/statistics/225402/world-robusta-coffee-production/>. Pristupljeno 19. listopada 2024.
- Susanti R, Zaini Z, Hidayat A, Alfritri N, Rusydi MI (2023) Identification of Coffee Types Using an Electronic Nose with the Backpropagation Artificial Neural Network. *JOIV: Int J Inform Visualization* **7**(3), 659–659. <https://doi.org/10.30630/joiv.7.3.1375>.
- Šeremet D, Fabečić P, Vojvodić Cebin A, Mandura Jarić A, Pudić R, Komes D (2022) Antioxidant and Sensory Assessment of Innovative Coffee Blends of Reduced Caffeine Content. *Molecules* **27** (2), 1-18. <https://doi.org/10.3390/molecules27020448>
- Thammarat P, Kulsing C, Wongravee K, Leepipatpiboon N, Nhujak T (2018) Identification of Volatile Compounds and Selection of Discriminant Markers for Elephant Dung Coffee Using Static Headspace Gas Chromatography-Mass Spectrometry and Chemometrics. *Molecules* **23** (8) 1910. <https://doi.org/10.3390/molecules23081910>
- Tolun A, Altintas Z (2019) Medicinal properties and functional components of beverages. U: Grumezescu AM, Holban AM (ured.) *Functional and medicinal beverages*, Volume 11: The Science of Beverages, Academic Press, London, str. 235–284.
- Torga GN, Spers EE (2020) Perspectives of global coffee demand. *Coffee Consumption and Industry Strategies in Brazil*, 21–49. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814721-4.00002-0>

- Tsai CF, Jioe IPJ (2021) The Analysis of Chlorogenic Acid and Caffeine Content and Its Correlation with Coffee Bean Color under Different Roasting Degree and Sources of Coffee (*Coffea arabica* Typica). *Processes* **9**, 1-15. <https://doi.org/10.3390/pr9112040>
- Ungvari Z, Kunutsor SK (2024) Coffee consumption and cardiometabolic health: a comprehensive review of the evidence. *GeroScience* **46**, 6473 – 6510. <https://doi.org/10.1007/s11357-024-01262-5>
- Vignoli JA, Viegas MC, Bassoli DG, Benassi MdT (2014) Roasting process affects differently the bioactive compounds and the antioxidant activity of arabica and robusta coffees. *Food Res Int* **61**, 279-285. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.06.006>
- Voskoboinik A, Koh Y, Kistler PM (2019) Cardiovascular effects of caffeinated beverages. *Trends Cardiovasc Med* **29** (6) 345–350. <https://doi.org/10.1016/j.tcm.2018.09.019>
- Yeretzian C, Jordan A, Badoud R, Lindinger W (2002) From the green bean to the cup of coffee: investigating coffee roasting by on-line monitoring of volatiles. *Eur Food Res Technol* **214** (2), 92-104. <https://doi.org/10.1007/s00217-001-0424-7>
- Yust BG, Rao NZ, Schwarzmann ET, Peoples MH (2022) Quantification of Spent Coffee Ground Extracts by Roast and Brew Method, and Their Utility in a Green Synthesis of Gold and Silver Nanoparticles. *Molecules* **27** (16), 5124. <https://doi.org/10.3390/molecules27165124>
- Yust BG, Wilkinson F, Rao NZ (2024) Variables Affecting the Extraction of Antioxidants in Cold and Hot Brew Coffee: A Review. *Antioxidants* **13** (1), 29. <https://doi.org/10.3390/antiox13010029>

IZJAVA O IZVORNOSTI

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

Handwritten signature of Mateja Marić in blue ink.

Vlastoručni potpis