

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra kvality a bezpečnosti potravin**



**Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů**

**Vliv zpracování na kvalitativní parametry daných vzorků  
kávy (*Coffea* sp.; *Rubiaceae*)**

**Diplomová práce**

**Bc. Maria Kurenkova**

**Kvalita potravin a zpracování zemědělských produktů**

**Ing. Jan Tauchen, Ph.D.**

### **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vliv zpracování na kvalitativní parametry daných vzorků kávy (*Coffea* sp.; *Rubiaceae*)" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 14.04.2022

---

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala panu Ing. Janovi Tauchenovi, Ph.D. za cenné rady, perfektní vedení mé diplomové práce a čas, který mi v průběhu jejího psaní věnoval. Děkuji Ing. Mátušovi Várady za pomoc s experimentální částí práce a statistickým vyhodnocením. Dále kavárně a pražírně La Bohème Café za poskytnutí vzorků kávy a možnost využití pražícího stroje. Děkuji také své rodině a přátelům za podporu během celého studia.

# Vliv zpracování na kvalitativní parametry daných vzorků kávy (*Coffea* sp.; *Rubiaceae*)

## Souhrn

Káva se konzumuje po celém světě pro své aroma, chuť a fyziologické účinky. Její kvalitu určuje biochemické složení, které je především ovlivněno genetickými faktory, faktory prostředí a pražením. Hned po sklizni plodů dochází ke zpracování, jehož cílem je oddělení kávové slupky s dužinou a získání čistého kávového zrna. Existují tři základní metody, které producenti používají v závislosti na klimatických podmínkách nebo přístupu k vodě, jimiž jsou suchá, polosuchá a promytá. Volba způsobu zpracování má vliv na chemické složení a tím pádem i výslednou chuť kávového nápoje. Tato práce se zabývá analýzou vzorků káv z Etiopie, Guatemaly a Hondurasu, které prošly třemi základními metodami zpracování. Byl kladen důraz na to, aby každá z káv pocházela z jedné farmy dané země, kde byla zpracována. V této studii byl u jednotlivých vzorků kávy sledován celkový fenolický obsah (Total Phenolic Content; TPC) a obsah kofeinu, kyselin gallové, skořicové, chlorogenové a epikatechinu pomocí kapalinové chromatografie spojené s UV/Vis detektorem (HPLC/UV).

Dle výsledku z TPC nejvyšší hodnoty byly naměřeny u polosuché metody u káv z Etiopie (1778 mg GAE/100 g) a Guatemaly (1479 mg GAE/100 g) a u suché metody u kávy z Hondurasu (1631 mg GAE/100 g). Dle HPLC nejvyšších hodnot u kofeinu, kyselin chlorogenové a gallové a epikatechinu dosahovaly kávy z Etiopie (902 mg/100 g, 795 mg/100 g, 23 mg/100 g a 225 mg/100 g) a Hondurasu (1174 mg/100 g, 784 mg/100 g, 22 mg/100 g a 421 mg/100 g) u káv zpracovaných polosuchou metodou, u Guatemaly to byly kávy zpracované promytou metodou (780 mg/100 g, 516 mg/100 g, 16 mg/100 g a 263 mg/100 g). Kyselina skořicová byla detekována pouze u kávy z Hondurasu zpracovanou polosuchou metodou (2 mg/100 g). Nižší hodnoty se projevíly u káv zpracovaných suchou metodou. Výsledky TPC byly v nesouladu s HPLC/UV, což mohlo být způsobeno nepřesností metody TPC.

Výsledky této studie přinášejí nové informace v oblasti zpracování kávy, které jsou doposud minimálně popsány a mohou být nápomocné při získávání lepšího chuťového profilu a celkové kvality kávového nápoje pro konečného spotřebitele.

**Klíčová slova:** *Coffea* sp.; kofein; kyselina chlorogenová; fenoly; zpracování; pražení

# Influence of processing on qualitative parameters of given coffee samples (*Coffea* sp.; *Rubiaceae*)

## Summary

Coffee is consumed all over the world for its aroma, taste and physiological effects. Its quality is determined by its biochemical composition, which is mainly influenced by genetic, environmental and roasting factors. Immediately after the fruit is harvested, processing takes place to separate the skin and pulp from coffee fruit to obtain pure coffee beans. There are three basic methods that producers use, depending on climatic conditions or access to water, which are dry, semi-dry and washed. The choice of processing method has an impact on the chemical composition and therefore the resulting taste of the coffee drink. This paper deals with the analysis of coffee samples from Ethiopia, Guatemala and Honduras that have undergone three basic processing methods. The emphasis was on ensuring that each of the coffees came from a single farm in the country where it was processed. In this study, the total phenolic content (TPC) and the caffeine, gallic, cinnamic, chlorogenic and epicatechin contents of each coffee sample were monitored by liquid chromatography coupled to a UV/Vis detector (HPLC/UV).

According to the TPC result, the highest values were measured in the semi-dry method for coffees from Ethiopia (1778 mg GAE/100 g) and Guatemala (1479 mg GAE/100 g) and in the dry method for coffee from Honduras (1631 mg GAE/100 g). According to HPLC, the highest values for caffeine, chlorogenic and gallic acids and epicatechin were achieved by coffees from Ethiopia (902 mg/100 g, 795 mg/100 g, 23 mg/100 g and 225 mg/100 g) and Honduras (1174 mg/100 g, 784 mg/100 g, 22 mg/100 g and 421 mg/100 g) for coffees processed by the semi-dry method, while for Guatemala it was coffees processed by the washed method (780 mg/100 g, 516 mg/100 g, 16 mg/100 g and 263 mg/100 g). Cinnamic acid was detected only in Honduran coffee processed by the semi-dry method (2 mg/100 g). The lower values were observed for coffees processed by the dry method. The TPC results were inconsistent with the HPLC/UV results, which could be due to the inaccuracy of the TPC method.

The results of this study provide new information in the field of coffee processing, which is minimally described so far, and may be helpful in obtaining a better taste profile and overall quality of the coffee beverage for the final consumer.

**Keywords:** *Coffea* sp.; caffeine; chlorogenic acid; phenols; processing; roasting

# Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod</b>	<b>7</b>
<b>2</b>	<b>Vědecká hypotéza a cíle práce</b>	<b>8</b>
<b>3</b>	<b>Literární rešerše</b>	<b>9</b>
<b>3.1</b>	<b>Káva</b>	<b>9</b>
3.1.1	Charakteristika rostliny kávovníku	9
3.1.2	Druhy kávovníku	10
3.1.3	Chemické složení kávy	12
3.1.4	Zpracování plodů kávovníku	18
3.1.5	Kvalitativní rozdíly mezi promytou a suchou metodou	27
<b>3.2</b>	<b>Metody stanovení složení kávy</b>	<b>27</b>
3.2.1	Stanovení celkového obsahu fenolických sloučenin	27
3.2.2	Chromatografické metody	28
<b>4</b>	<b>Materiál a metody</b>	<b>29</b>
<b>4.1</b>	<b>Analyzované vzorky</b>	<b>29</b>
<b>4.2</b>	<b>Příprava vzorků k analýze</b>	<b>29</b>
<b>4.3</b>	<b>Chemikálie, reagenty a standardy</b>	<b>30</b>
<b>4.4</b>	<b>Stanovení celkového obsahu fenolických látek</b>	<b>30</b>
<b>4.5</b>	<b>Stanovení obsahu vybraných látek pomocí HPLC/UV</b>	<b>30</b>
<b>4.6</b>	<b>Statistická analýza</b>	<b>30</b>
<b>5</b>	<b>Výsledky</b>	<b>32</b>
<b>5.1</b>	<b>Analýza fenolických látek</b>	<b>32</b>
<b>5.2</b>	<b>Analýza vybraných látek pomocí HPLC/UV</b>	<b>33</b>
<b>6</b>	<b>Diskuze</b>	<b>34</b>
<b>7</b>	<b>Závěr</b>	<b>38</b>
<b>8</b>	<b>Literatura</b>	<b>39</b>

# 1 Úvod

Káva jako surovina má velký ekonomický význam a je jednou z nejvyhledávanějších zemědělských komodit na světě. S příchodem výběrové kávy začali lidé vnímat kávu nejen jako povzbuzující nápoj, ale i jako komplexní produkt, na jehož kvalitu má vliv mnoho faktorů. Chemické složení (kofein, fenolové sloučeniny, organické kyseliny, sacharidy, aromatické látky) určuje chuť a vůni, které přímo souvisí s kvalitou kávy. Kvalitu konečného produktu ovlivňuje i řada dalších faktorů, mezi něž patří zeměpisný původ a podnebí, teplotní rozdíly, nadmořská výška, druh, způsob sklizně, postupy zpracování a skladování. Pokud jde o konečný produkt, kvalita kávy se hodnotí z hlediska acidity, sladkosti, hořkosti a vůně kávového nápoje.

V současné době se předpokládá, že na chemické složení kávových zrn mohou mít velký vliv právě metody zpracování po sklizni. Existují základní metody zpracování, které producenti používají dlouhá léta, a zároveň s rozvíjejícími se technologiemi zkoušejí různé experimentální metody, díky kterým vznikají zajímavé a netradiční chuťové profily. Po sklizni plodů se zelená kávová zrna získávají jednou z několika různých metod, z nichž nejznámější jsou suché, promyté a polosuché zpracování. Ačkoli všechny metody mají za cíl odstranit dužinu plodů ze zrna, provádí se to různými způsoby, což pravděpodobně má vliv na konečný obsah některých látek v zrnech.

Cílem této práce bylo zjistit, jestli a v jaké míře existuje vliv metody zpracování na obsah vybraných bioaktivních látek v kávě pomocí metod analytické chemie.

## **2 Vědecká hypotéza a cíle práce**

### **Vědecké hypotézy**

- Metoda zpracování kávy má vliv na chemické složení a tím i senzorické vlastnosti výsledného produktu
- Vliv na kvalitu produktu má země původu a vnější podmínky

### **Cíle práce**

Cílem diplomové práce bylo zjistit, jak metoda zpracování kávy v zemi původu má vliv na výsledné chemické složení kávy konkrétně složek jako kofein a látky polyfenolického charakteru. Byly vybrány vzorky ze tří zemí, které byly zpracovány třemi různými způsoby. Pro splnění daných cílů bylo třeba provést tyto kroky:

- Literární rešerše o základních poznatcích o rostlině kávovníku a metodách zpracování jeho plodů a sledovaných chemických látek
- Příprava vzorků kávy k analýze
- Provedení analýzy pomocí metod analytické chemie



### 3 Literární rešerše

#### 3.1 Káva

##### 3.1.1 Charakteristika rostliny kávovníku

Kávovník (několik druhů rodu *Coffea*) patří do stálezelených rostlin z čeledi mořenovitých (*Rubiaceae*). Většinou se jedná o keře nebo stromy rostoucí v tropickém pásmu. Podrobnější taxonomické rozřazení kávovníku je uvedeno v tabulce níže.

**Tabulka 1** Taxonomické zařazení kávovníku (rozřazení vychází z Novák & Skalický 2017)

Říše	Rostliny ( <i>Plantae</i> )
Podříše	Cévnaté rostliny ( <i>Tracheobionta</i> )
Oddělení	Krytosemenné rostliny ( <i>Magnoliophyta</i> )
Třída	Vyšší dvouděložné ( <i>Rosopsida</i> )
Řád	Hořcotvaré ( <i>Gentianales</i> )
Čeleď	Mořenovité ( <i>Rubiaceae</i> )
Rod	Kávovník ( <i>Coffea</i> )

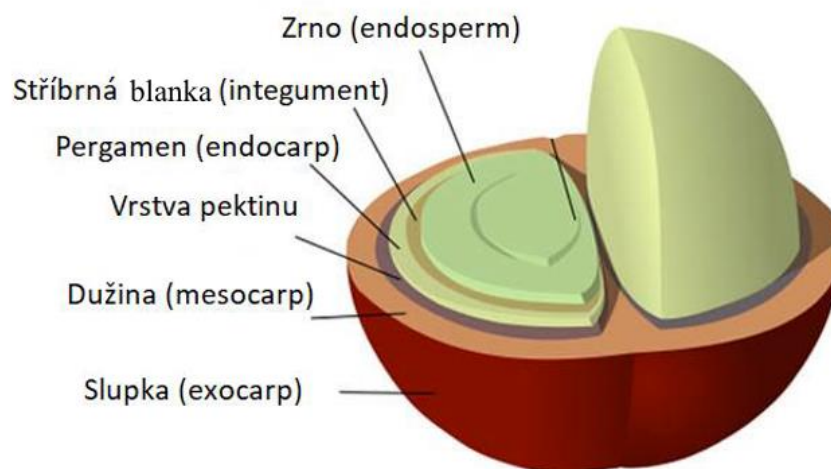
Sytě zelené listy a patrovité uspořádání větví jsou společným znakem kávovníků. Tvar a velikost listů závisí na druhu kávovníku a mohou dosahovat až 40 cm délky. Barva se taktéž odvíjí od druhu a setkáváme se i s barvami s nádechem bronzu nebo fialovou. Funkce listů je ochrana nejen před slunečním zářením, ale i před nočními mrazy (Teketa 1999; Valíček 2002).

Bílé květy hvězdicovitého tvaru sestávají z pěti okvětních lístků, pěti tyčinek a pestíku a vyznačují se intenzivní vůní. Kvetení začíná tři až čtyři roky od výsadby rostliny a kávové zrno se začíná vyvíjet v semeníku po odkvetení (Lepper 1962; Wintgens 2008).

Plodem kávovníku je peckovice, která se také často laicky označuje jako “kávová třešeň“. Plod obsahuje semeno neboli kávové zrno, které je hlavním vyhledávaným produktem rostliny na trhu. Zralosti dosahuje mezi šestým a osmým měsícem a od zeleného plodu postupně přechází k červené až fialové barvě v závislosti na druhu a odrůdě. Velikost a tvar zrna jsou dány geneticky, výrazný vliv mají také vnější podmínky a výživa rostliny. Plod kávovníku by vždy měl obsahovat dvě zrna (semena), ale v důsledku nesprávného vývoje může docházet k abnormalitám (Kadlec 2002; Ferreira et al. 2019).

Plod se skládá z několika vrstev. Na povrchu plodu je kožovitá slupka (*exocarp*), pod kterou se nachází šťavnatá dužina (*mesocarp*). Obsahuje sacharózu, fruktózu a pektin, které slouží jako zdroj energie pro zárodek. Zrna jsou obalena pergamenovým obalem (*endocarp*) a stříbrnou blankou (*integument*). Pergamenový obal je odstraněn před

exportem, stříbrná blanka se odstraňuje až během pražení a považuje se za vedlejší produkt (Schwan 2000).



**Obrázek 1** Řez kávovou peckovicí

Kávovníky se rozmnožují několika způsoby, a to pohlavně semeny, vegetativně pomocí řízkování a roubování nebo *in vitro*. Druhy rodu *Coffea* jsou cizosprašné, až na *C. arabica*, která se od ostatních druhů v tomto liší. Opyluje se vlastním pylem, jedná se tudíž o rostlinu samosprašnou (Schwan 2000; Wintgens 2008).

Základními faktory, které mají vliv na růst rostliny, je teplota, dostupnost vody, intenzita slunečního záření, nadmořská výška a typ půdy. Optimální teplota závisí na druhu a během roku by nemělo docházet k velkým teplotním výkyvům. Půda by nejlépe měla být sopečného původu s velkým podílem humusu, mírně kyselým pH a velkým množstvím živin (Wintgens 2008; Pohlan & Janssens 2011).

### 3.1.2 Druhy kávovníku

Existuje přes sto druhů rodu *Coffea*, hospodářsky nejvíce významné jsou pouze tři: kávovník arabský, kávovník robusta a kávovník liberijský (Schwan 2000). V závislosti na druhu se rostliny kávovníku liší morfologicky, vyznačují se jinými požadavky na pěstování a v konečném produktu je kladen velký důraz na sensorické a kvalitativní rozdíly (Davis et al. 2007; Aerts et al. 2017).

Rostlina, která původně pochází z Afriky, byla lidskou činností rozšířena do dalších zemí a v dnešní době se komerčně pěstuje v Jižní a Střední Americe, Asii, Africe, Indonésii a na Arabském poloostrově. Původ kávového zrna je jedním z důležitých faktorů, které mají vliv na výslednou chuť připraveného nápoje (Beller 2001).

#### **Kávovník arabský (*Coffea arabica*)**

Kávovník arabský představuje 70 % světové produkce, jelikož je více preferován konzumenty díky menší hořkosti, bohatší chuťové rozmanitosti a vyšší kvalitě ve srovnání s Robustou (Geromel et al. 2006). Keř dosahuje výšky 2-6 m, preferuje vyšší nadmořské výšky (1300–2000 m n.m.) a optimální teplotu mezi 15-24 °C (Lepper 1962; Illy 2002).

Peckovice obsahuje dvě zrna, která se vyznačují podlouhlým tvarem, jsou úzká se zaobleným profilem do písmene „S“. Hmotnost jedné peckovice je 18-22 g a zraje 9 až 11 měsíců (Valíček 2002; Ferreira et al. 2019).

### **Kávovník robusta (*Coffea canephora*)**

Druhý nejvíce pěstovaný kávovník představuje zbylých 30 % světové produkce. Pěstuje se v nižších nadmořských výškách při optimálních teplotách 24-29 °C. Je méně náchylný k nemocem, nenáročný na vnější podmínky a má větší výnosy. Má vyšší obsah kofeinu (1,6-2,4 %) a jeho chuťový profil není tak rozmanitý, ve výsledném nápoji cítíme spíše zemitou, nahořklou chuť, kvůli čemuž je spíše přidáván do kávových směsí. Dorůstá výšky až 10 m, peckovice zrají jedenáct měsíců, váží 12-15 g a podélná rýha je rovná (Galanakis 2017).

### **Kávovník liberijský (*Coffea liberica*)**

Jedná se o velikostně největší komerčně pěstovaný kávovník, tělo je mohutné a dosahuje výšky až 18 m. Poskytuje bohatou úrodu, plody ale nejsou tak kvalitní a jejich chuťový profil není atraktivní pro konzumenty. Na kávové produkci se podílí pouze z 1 % a používá se do kávových směsí (Wintgens 2008).

### **Výběrová káva (Specialty Coffee)**

Termín „výběrová káva“ poprvé použila Erna Knutsenová v roce 1974 v jednom z čísel časopisu *Tea & Coffee Trade Journal*. Tímto termínem označila produkci kávy s jedinečným chuťovým profilem, které se pěstují ve speciálních mikroklimátech. Dnešní oficiálně definice výběrové kávy od Asociace výběrové kávy (*Specialty Coffee Association*) zní následovně: výběrová káva je kávou nebo kávovým zážitkem uznávaným pro své charakteristické vlastnosti a kvůli těmto atributům má na trhu významnou přidanou hodnotu. Jedná se o kávu bez defektů, která je správně roztříděna podle velikosti a usušena. V hotovém nápoji se projevuje bez vad a musí být schopná projít přísnými jakostními testy (Poltronieri & Rossi 2016; Specialty Coffee Association 2017).

Výběrová káva tvoří přibližně 1 % celosvětové produkce a jedná se o kávy s hodnocením minimálně 80 bodů ze 100 v mezinárodní kávové soutěži Cup of Excellence. Jejich cenu již neurčuje komoditní trh, ale jejich kvalita a vzácnost. V kávovém průmyslu se tak vyvinul nový tržní přístup, který způsobil změny v produkci a konzumaci kávy. Nejedná se již o produkt, který je vyhledáván pouze pro své povzbuzující účinky, ale bere se v potaz i jeho komplexnost (Poltronieri & Rossi 2016).

### 3.1.3 Chemické složení kávy

Chemické složení kávy je ovlivněné mnoha předsklizňovými a posklizňovými faktory. Mezi předsklizňové faktory se řadí kávový druh a jeho kultivar, způsob pěstování a stupeň zralosti při sklizni. Mezi posklizňové faktory patří metody zpracování, tj. jakým způsobem byla odstraněna dužina a rostlinný sliz, sušení a následné skladování a přeprava (Schwan 2000).

Mezi nejdůležitější bioaktivní látky kávy patří následující: fenolové sloučeniny (např. chlorogenové kyseliny a jejich deriváty), methylxantiny (kofein, teobromin a teofylin), diterpeny (včetně kafestolu a kahweolu), kyselina nikotinová (vitamin B<sub>3</sub>) a její prekurzor trigonellin, hořčík a draslík (Spiller 2019).

Obsahy chemických látek v kávě jsou popsány v tabulce č. 2.

**Tabulka 2** Obsahy významných látek v kávě (Spiller 2019)

Přítomná látka	<i>C. arabica</i>		<i>C. robusta</i>		Příklady sloučenin
	Zelená káva (%)	Pražená káva (%)	Zelená káva (%)	Pražená káva (%)	
Oligosacharidy	6,8-8,0	0-3,5	5,0-7,0	0-3,5	glukóza, galaktóza, arabinóza, sacharóza
Polysacharidy	50,0-55,0	24,0-39,0	37,0-47,0	35,0-42,0	polymery manózy, galaktózy, arabinózy; celulóza
<b>Těkavé sloučeniny a fenoly</b>					
Těkavé kyseliny	1,5-2,0	1,0-1,5	1,5-2,0	1,0-1,5	kys. propionová, máselná, valerová, octová
Chlorogenové kyseliny	5,5-8,0	1,2-2,3	7,0-10,0	3,9-4,6	
<b>Lipidové sloučeniny</b>	12,8-18,0	14,5-20,0	9,0-13,0	11,0-16,0	kafestol, kahweol
<b>Dusíkaté sloučeniny</b>					
Volné aminokyseliny	2,0	0	2,0	0	kys. glutamová, asparagová
Bílkoviny	11,0-13,0	13,0-15,0	11,0-13,0	13,0-15,0	
Kofein	0,9-1,2	~1,0	1,6-2,4	~2,0	
Trigonellin	1,0-1,2	0,5-1,0	0,6-0,75	0,3-0,6	
Minerální látky	3,0-4,2	3,5-4,5	4,0-4,5	4,6-5,0	

## Alkaloidy

Hlavními alkaloidy v kávě jsou skupina methylxantinů a trigonellin (Velíšek & Hajšlová 2009).

Methylxantiny patří pod alkaloidy, jež jsou sekundární rostlinné metabolity odvozené od purinových nukleotidů s heterocyklickým atomem dusíku. V některých publikacích jsou začleňovány mezi pseudoalkaloidy, jelikož při jejich biosyntéze nedochází k začlenění aminokyseliny (Farah 2018). Methylxantiny jsou při pokojové teplotě bezbarvé, bez zápachu a hořké. Pokud jde o rozpustnost, mají odlišné chování (Vitzthum & Werkhoff 1976). Do dané skupiny se řadí kofein (1,3,7-trimethylxantin), theobromin (3,7-dimethylxantin) a theofylin (1,3-dimethylxantin), které se vyskytují zejména v kávě, čaji, kakau, a maté (Mehari et al. 2016). Z nich je kofein nejhodněji zastoupeným alkaloidem v kávě (Farah 2018).

Druhým nejvíce zastoupeným alkaloidem v kávě je trigonellin (*N*-methylpyridinium-3-karboxylát), sekundární metabolit kávovníku odvozený od pyridinu (Jeszka-Skowron et al. 2015). Přestože je trigonellin obsažený také v ječmeni, kukuřici, cibuli, hrachu, sóji a rajčatech, káva je jedním z jeho nejvýznamnějších zdrojů mezi potravinami a nápoji rostlinného původu určenými k lidské spotřebě (Duarte et al. 2010; Gichimu et al. 2014).

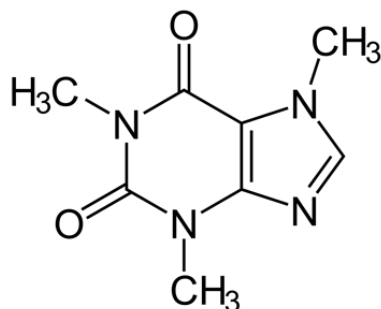
## Kofein

Kofein patří mezi celosvětově nejčastěji konzumované stimulační látky (Nuhu 2014a). Je mu přisuzována ochranná funkce a má inhibiční účinek na některé druhy produkující mykotoxiny, jako jsou *Aspergillus* a *Penicillium*. Snižuje tak produkci a růst afatoxinů, ochratoxinu A, sterigmatocystinu, patulinu a citrinu (Akbar et al. 2016; Leitão 2019). Má schopnost snižovat klíčivost sousedních zrn a v budoucnu by mohl být považován za alelochemickou látku pro regulaci plevelů (Pham et al. 2019; Hall et al. 2022). Izolovaný kofein je při pokojové teplotě bílý prášek, bez zápachu s mírně nahořklou chutí. Dobře se rozpouští ve vroucí vodě a jeho rozpustnost se zvyšuje přidáním kyselin. V nepražené kávě je vázán na chlorogenové kyseliny (Preedy & Abramovic 2015; Farah 2018).

Kofein se tvoří v nezralých plodech kávy a postupně se hromadí po celou dobu vývoje a růstu. Robusta (2,2 %) obsahuje téměř dvakrát víc kofeinu než Arabika (1,2 %), přičemž u Robusty byla pozorována větší variabilita. Arabika vykazuje homogennější složení nezávisle na jejich zeměpisném původu, což je způsobeno nízkou genetickou diverzitou charakteristickou pro tento druh. Vysvětluje se také nižší expresí některých genů ve srovnání s Robustou (Severini et al. 2017).

Nižší obsah kofeinu u Arabiky jej činí zranitelnějším vůči fytopatogenům i biologickému a mechanickému stresu než Robusta (Alonso-Salces et al. 2009; Tomaszewski et al. 2015; Farah 2018). Přirozeně nízké množství bylo zjištěno u jiných afrických druhů kávovníku jako např. *C. eugenioides*, *C. salvatrix* nebo *C. bengalensis*, které nemají tak široké komerční využití kvůli malému výnosu, nevyhovujícímu chuťovému profilu nebo slabé rezistenci proti škůdcům a plísním právě z důvodu malého obsahu kofeinu (Ashihara & Crozier 1999; Farah 2018).

Vliv životního prostředí, zemědělských postupů, včetně používání hnojiv, a posklizňového zpracování na obsah kofeinu a dalších alkaloidů se zdá být méně důležitý než genetické aspekty. Byl také zaznamenán zvýšený obsah kofeinu a v závislosti na nadmořské výšce. Velké rozdíly v obsahu kofeinu uváděné v nápojích jsou pozorovány v důsledku kulturních zvyklostí, které se odrážejí ve způsobech přípravy a poměru mleté kávy a vody (Farah et al. 2006b).

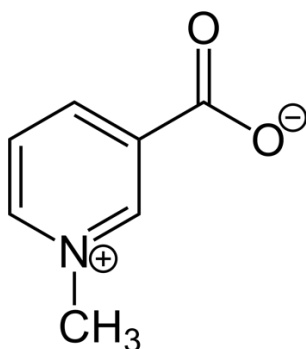


**Obrázek 2** Strukturní vzorec kofeinu (<https://cs.wikipedia.org>)

### Trigonellin

Trigonellin je druhým hlavním alkaloidem obsaženým v kávě a je jednou z příčin jeho hořkosti (Jeszka-Skowron et al. 2015). Během procesu pražení dochází k výrazné tepelné degradaci trigonellinu, při níž vzniká řada těkavých látek, které jsou zodpovědné za tvorbu chuti a aromatu. Vznikají sloučeniny jako pyridin, pyroly a pyraziny, které jsou zodpovědné za aromatické vlastnosti jako jsou oříškové, čokoládové nebo pražené tóny ve vůni kávy (Jeszka-Skowron et al. 2015). Také dochází k demetylaci trigonellinu, díky čemuž opětovně vzniká niacin (vitamin B<sub>3</sub>) a tak se rozšiřuje spektrum vitaminů v kávě (Galeone et al. 2010).

Obsah trigonellinu a v kávových nápojích může být silně ovlivněn druhem kávy, odrůdou, zeměpisným původem a podmínkami pražení. Na rozdíl od kofeinu se tyto složky vyskytují ve vyšším množství v Arabice. Metoda zpracování spíše jeho obsah neovlivňuje (Sunarharum et al. 2014a; Jeszka-Skowron et al. 2015).



**Obrázek 3** Strukturní vzorec trigonellinu (<https://cs.wikipedia.org>)

### Kyselina chlorogenová

Chlorogenové kyseliny (CGA) je souhrnný název pro definování hlavních fenolických složek nacházejících se v kávě (5-7 %), které vznikají jako estery mezi různými deriváty molekul kyseliny chinové a kyseliny kávové (CA), ferulové (FA) nebo kumarové (CoA) (Narita & Inouye 2013). CGA se dělí do pěti hlavních podtříd a každá

z nich má nejméně tři hlavní strukturní izomery a stupeň nasycenosti sacharidovou jednotkou. Patří sem kafeoylchinové kyseliny (CQA), dikafeoylchinové kyseliny (diCQA), kyseliny feruloylchinové (FQA), kyseliny *p*-kumaroylchinové (*p*-CoQA) a kyseliny kafeoyl-feruloylchinové (CFQA).

Relativní podíly se v jednotlivých třídách značně liší. CQA představují až 85,5 % z celkového obsahu fenolických látek v zelených kávových zrnech. V rámci CQA existují tři hlavní izomery: kyselina 5-*O*-kafeoylchinová (5-CQA), kyselina 4-*O*-kafeoylchinová (4-CQA) a kyselina 3-*O*-kafeoylchinová (3-CQA). 5-CQA je nejhojněji zastoupená a v literatuře se často nesprávně označuje obecně jako "kyselina chlorogenová". DiCQA a FQA představují každá 10 % všech fenolických látek, zatímco ostatní skupiny dohromady tvoří 1-2 % (Hall et al. 2022).

V tabulce č. 3 jsou uvedeny typické obsahy těchto chlorogenových kyselin v zelené kávě Arabika a Robusta.

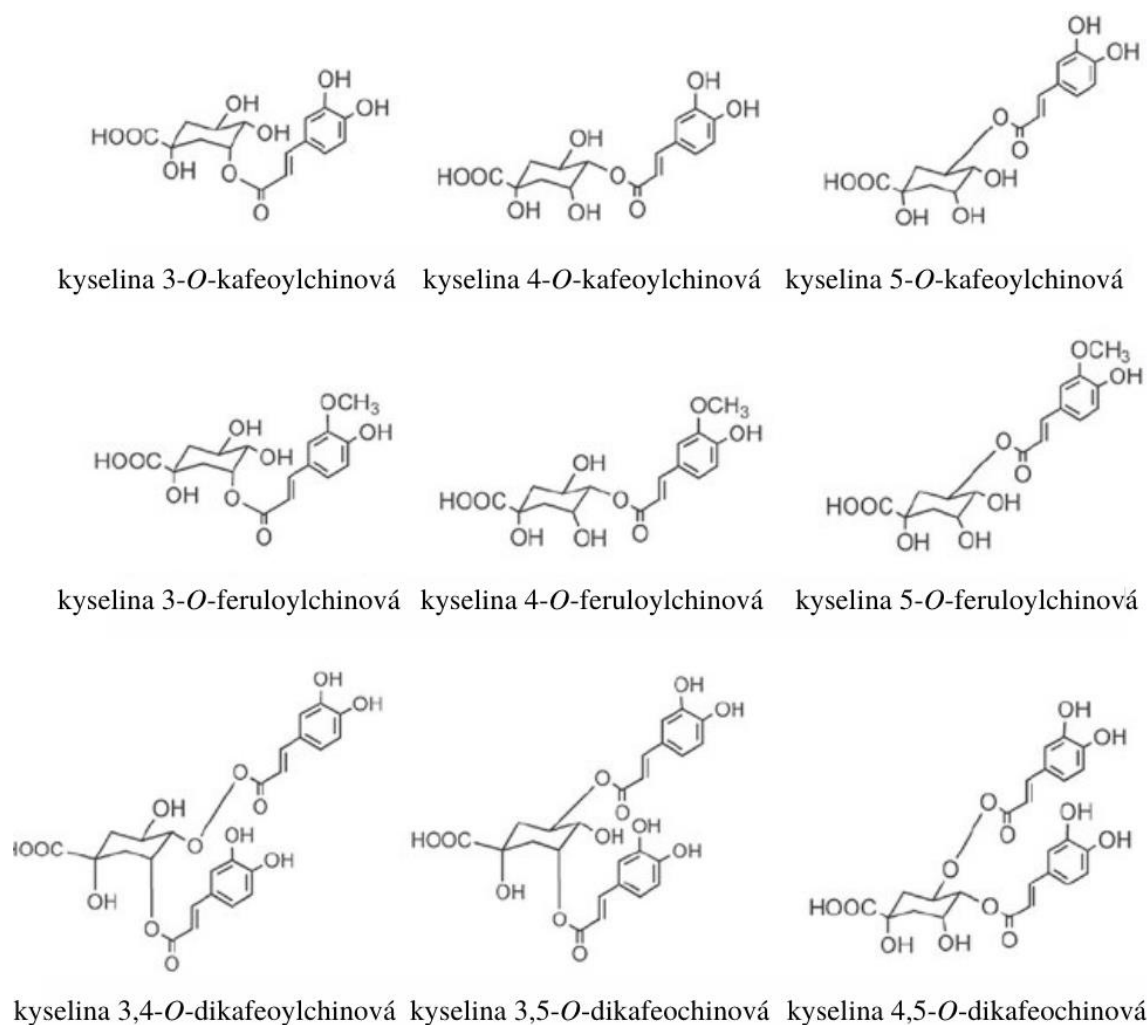
**Tabulka 3** Obsah CGA v zelených kávových zrnech (Oestreich-Janzen 2019)

<b>Přítomná látka</b>	<b><i>C. Arabica</i> (%)</b>	<b><i>C. Robusta</i> (%)</b>
CQA	5,2-6,5	5,5-8,0
<i>p</i> -CoQA	0,03-0,07	0,05-0,06
FQA	0,3-0,5	0,7-1,5
diCQA	0,7-1,0	1,4-2,5
CFQA	n.d.	0,2-0,3

CGA se vyskytují v rostlinách např. v listech tabáku a moruše a hrají důležitou roli v reakci rostlin na stres (Dawidowicz & Typek 2010; Nuhu 2014b). CGA se výrazně podílí na konečné kyselosti, trpkosti a hořkosti kávového nápoje (Farah et al. 2006a; Moon et al. 2009). Ačkoli jsou údaje omezené, studie naznačují, že CGA může mít potenciální zdravotní účinky, včetně schopnosti snižovat riziko kardiovaskulárních onemocnění a cukrovky druhého typu přičemž se předpokládá zlepšení kognitivních funkcí (Nuhu 2014b; Pimpley et al. 2020).

V souvislosti s kvalitou zrn je potenciálně významnou úlohou těchto fenolických látek tvorba komplexu s kofeinem a minoritními CGA, zejména s diCQA. Má se za to, že tvorba tohoto komplexu stabilizuje alkaloid, napomáhá jeho transportu v tkáních a zabraňuje autotoxicitě (Hall et al. 2022).

Při produkci kávy existuje řada kroků zpracování, které mohou mít významný vliv na obsah CGA. Největší vliv má fáze pražení. Zatímco kofein se s pražením téměř nemění, obsah CGA klesá a dochází ke změnám, které vedou ke vzniku široké škály látek určujících chuť kávy. V průběhu Maillardovy reakce se zvyšuje hořkost v důsledku uvolňování kyseliny kávové a dalších fenolových derivátů, které jsou zodpovědné za chuť a aroma (Farah et al. 2006a; Dawidowicz & Typek 2010). Z toho vyplývá, že pokud by metoda zpracování měla vliv na složení CGA, mohly by CGA a jejich produkty pražení podílet se na rozdílném chuťovém profilu v závislosti na zvolené metodě (Schwan 2000).



**Obrázek 4** Izomery kyseliny chlorogenové (Stalmach et al. 2006)

### Organické kyseliny

Organické kyseliny vznikají v plodech kávy během zrání a pražení, přičemž hlavním prekurzorem je sacharóza a další sacharidy. Hlavními alifatickými kyselinami kávy jsou kyselina citronová, octová, mléčná, jablečná a  $\gamma$ -aminomáselná (GABA) (Hall et al. 2022). V zelených zrnech je přirozeně mnohem více kyselin, ale ty jsou obvykle zahrnuty do jiných skupin (např. mastné kyseliny ve skupině sloučenin rozpustných v tucích, kyselina chlorogenová ve skupině fenolových sloučenin).

Obsah organických kyselin v zelených zrnech Arabiky a Robusty odpovídá 2-2,9 % a 1,3-2,2 % z celkového složení zrn. Tento rozdíl může být podmíněn lokalitou pěstování. Kávovníky Arabiky se obvykle pěstují ve vyšších nadmořských výškách při nižších teplotách ve srovnání s Robustou a vývoj rostlin ve vysokohorských oblastech a na vulkanických půdách bývá spojován s vysokou aciditou, na které se tyto látky podílejí. Acidita je důležitou vlastností kávy a ovlivňuje reakci spotřebitelů na kávu a spolu s aroma a hořkostí byla vždy považována za důležitý atribut sensorické kvality. U pražené kávy se zvýšení celkové kyselosti ve srovnání se zelenou kávou připisuje nárůstu kyselin mravenčí, octové, glykolové a mléčné, které vznikají při pražení. Celkový obsah alifatických kyselin



v pražené kávě se především liší podle stupně pražení. Průměrné hodnoty u Arabiky se pohybují od 0,7 % do 1,6 % a u Robusty od 0,4 % do 1,6 % (Clarke & Vitzthum 2008; Duarte et al. 2010; Henrique et al. 2015; Bressani et al. 2018; Pereira & Moreira 2021).

Na celkový obsah kyselin a konečnou aciditu pravděpodobně má vliv i metoda zpracování. Fermentace během posklizňových operací může zvyšovat aciditu a ovlivnit konečnou kvalitu. Během mokrého zpracování při fermentaci vznikají kyseliny, které pronikají do slupek kávových zrn a pozitivně mění složení zrn a pH nápoje. Při suché metodě může naopak docházet k nežádoucí fermentaci s produkcí kyseliny máselné, octové a propionové, které mají nepříznivý vliv na chuť nápoje (Schwan 2000; Farah et al. 2006b).

### **Kafestol a kahweol**

Jedná se o pentacyklické diterpenické alkoholy na bázi kauranového skeletu a hlavní diterpeny v kávě, jejichž struktura se liší pouze tím, že kahweol má dvojnou vazbu navíc. Navzdory jejich příznivým účinkům, mezi něž patří antiangiogenní a antikarcinogenní vlastnosti, jsou spojovány s negativními důsledky, jako je zvýšení hladiny cholesterolu v krvi. Zelená a pražená kávová zrna obsahují 0,18–1,31 % kafestolu a 0–1,27 % kahweolu. Obecně u připraveného nápoje platí, že nefiltrované kávové nápoje vykazují vyšší koncentraci diterpenů než filtrované. Oba diterpeny jsou citlivé na kyseliny, světlo a teplo (Dias et al. 2014; Benassi & Dias 2015; Farah 2018).

Obsah diterpenů v kávových zrnech může být ovlivněn několika parametry jako je druh kávovníku, genetický původ, postupy po sklizni a klimatické podmínky. Studie uvádí rozdíly mezi diterpeny v závislosti na odrůdě kávy: zatímco výskyt kafestolu byl zaznamenán u všech komerčních druhů kávy, kahweol je převážně zastoupen u kávy Arabika (Pacetti et al. 2012).

### **Aromatické těkavé látky**

Aromatické těkavé látky vznikající při pražení kávových zrn jsou pravděpodobně nejdůležitějším faktorem určujícím kvalitu kávy. Charakterizují nejen různé odrůdy, styly a použité techniky zpracování, ale také zeměpisný původ kávy (Andueza et al. 2003; Sunarharum et al. 2014a).

Složení těkavých látek v kávě je poměrně složité, bylo identifikováno více než 800 sloučenin (Angeloni et al. 2021). Těkavé sloučeniny kávy zahrnují několik chemických tříd včetně uhlovodíků, alkoholů, aldehydů, ketonů, karboxylových kyselin, esterů, pyrazinů, pyrrolů, pyridinů, sloučenin síry, furanů, furanonů, fenolů, oxazolů a dalších. Kvantitativně jsou na prvních dvou místech v kávě furany a pyraziny, zatímco kvalitativně jsou sloučeniny obsahující síru spolu s pyraziny považovány za nejvýznamnější pro chuť kávy (Nijssen et al. 1996). Tyto sloučeniny se výrazně liší v koncentraci a senzorycké potencialitě, což činí chuť kávy komplexní a vysvětluje, proč mohou různé druhy kávy vykazovat tak rozmanité, jedinečné a specifické chutě (Risticovic et al. 2008).

Konečné složení těkavých látek závisí na řadě faktorů, včetně druhu/odrůdy kávových zrn, klimatických a půdních podmínek během růstu, skladování zrn po sklizni i po pražení, doby a teploty pražení a použitého pražicího zařízení. Tyto faktory ovlivňují výsledné aroma tím, že určují množství a poměr těkavých prekurzorů přítomných v zrnech před pražením a jejich osud během pražení. Důležité je také pečlivé skladování pražené

kávy, aby se minimalizovala ztráta aroma a vznik nebo získání vedlejších aromatických látek. Co se týče metody zpracování, káva zpracována promytou metodou měla ve srovnání s kávou zpracovanou naturální metodou lepší kvalitu aroma. Odstranění dužiny fermentací ve vodě dává kávám specifitější ovocné, květinové a karamelové vlastnosti, zatímco odstranění dužiny za sucha dává kávám neutrálnější, čokoládové vlastnosti (Gonzalez-Rios et al. 2007; Clarke & Vitzthum 2008).

**Tabulka 4** Aromatické látky obsažené v kávě a jejich deskriptory (Yeretzian et al. 2019)

Skupiny sloučenin	Deskriptory aroma
Furany	kouřová, pražená
Pyraziny	zemitá, oříšková
Ketony	květinová, ovocná, máslová
Pyridiny	kouřová, dřevitá, bylinná, negativní tóny – defektní zrna
Pyroly	sladká, oříšková
Fenoly	kořeněná, vanilková
Estery	ovocná
Aldehydy	ovocná, mandlová, sladká
Thioly	Černý rybíz, ovocná, bylinná

### 3.1.4 Zpracování plodů kávovníku

Zpracování kávových plodů je velice komplexní a zahrnuje několik důležitých kroků, které mají vliv na výslednou chuť a kvalitu produktu.

#### Sklizeň

Kávovník dospívá po třech až pěti letech od výsadby a postupně začíná přinášet úrodu. Peckovice Arabiky dozrávají po 6–8 měsících, u Robusty kolem 9–11 měsíců, proto sběr může probíhat jen jednou ročně a období sklizně se v závislosti na zeměpisných pásmech přirozeně liší (Augustín et al. 2016).

Způsob sklizně se může lišit v závislosti na metodě zpracování kávy. Pokud má být použita promytá nebo polosuchá metoda (dopodrobna rozebráno níže), hlavním cílem je maximalizovat procento sklizených zralých peckovic. Naproti tomu při použití suché metody je obvyklým cílem sklidit všechny peckovice najednou s co nejmenším procentem nezralých plodů (Wintgens 2008). Volba systému sklizně není v současné době v zásadě racionální a je výsledkem dlouhodobě zavedených postupů a tradic. Zatímco země produkující promytou kávu stále trvají na selektivním ručním sběru, aniž by tuto volbu zpochybňovaly, producenti naturální kávy upřednostňují současný sběr všech peckovic (Schwan 2000).

Sklizeň se provádí dvěma způsoby, a to buď manuálně nebo s pomocí techniky. Manuálně se může káva sklízet dvěma způsoby: sběrem pásovým nebo výběrovým. Při pásovém sběru se ze stromu plody sklízají najednou, a to jak zralé, tak i nezralé. Tento

způsob se obvykle používá u Robusty. V dnešní době moderní technologie umožnily strojovou sklizeň, při níž se stromy jednoduše oklepou a zbavují všech plodů najednou. Selektivní sběr zahrnuje četné přechody přes plantáž, při nichž se vybírají pouze zralé peckovice, a poté se ke kávovníku v průběhu několika týdnů několikrát vrací pro zbylé, které postupně dozrávají. Selektivní sběr je dražší vzhledem k vynaložené práci a používá se pouze pro sběr Arabiky (Schwan 2000; Wintgens 2008).

Možnost strojového sběru přichází v úvahu pouze v nižších nadmořských výškách a rovných plantážích. Jedná se o rychlejší způsob sběru, avšak ke kávovníkům a jeho plodům je velmi nešetrný. Další nevýhodou je, že dochází se sklizni plodů v jakékoliv fázi zralosti (Pohlan & Janssens 2011; Augustín et al. 2016).

### **Třídění**

V závislosti na metodě se komerční káva třídí buď ručně nebo pomocí techniky. V případě výběrové kávy všechny peckovice bez ohledu na techniku sklizně nebo metodu zpracování by měly projít mycím systémem a systémem separace dle hustoty. I po odstranění všech větších nečistot (kamínků, listů, klacíků atd.) se musí káva vyčistit vodou, aby se oddělily jemné nečistoty na povrchu peckovice. Poté probíhá separace v závislosti na hustotě, díky níž se defektní nebo nezralé peckovice zůstanou na hladině a mohou být odstraněny od zralých plodů, které klesají ke dnu (Pereira et al. 2021).

### **Klasické metody zpracování**

Sklizené peckovice musí být co nejdříve po sklizni a třídění zpracovány. Cílem zpracování je oddělení kávové slupky s dužinou a získání čistého kávového zrna. Skladování čerstvě sklizených plodů by nemělo trvat déle než 8 hodin, jinak by nekontrolované přírodní kvašení mohlo mít negativní dopad na výslednou kvalitu kávy (Galanakis 2017; Schwan 2000;).

V každé zemi najdeme zaběhlý způsob zpracování, který závisí na klimatických podmínkách nebo přístupu k vodě. V poslední době ale i farmáři experimentují a přicházejí s novými způsoby a tím vznikají pestřejší chuťové profily. Volba způsobu zpracování ovlivňuje, jaké a v jakém množství se vytvářejí aromatické prekurzory. Můžeme tedy tvrdit, že metoda zpracování má významný podíl na chemickém složení, a tedy i na výsledné chuti připraveného nápoje z plodů kávovníku.

Starší literatura rozděluje zpracování kávy na tři základní – na suchou/naturální (*dry/natural*), s pomocí vody na promytou (*fully washed*) a polosuchou (*semi-dry, honey, pulped*) (Wintgens 2008). Toto rozdělení však není úplně přesné a poměrně chaotické, a proto aktuální literatura začíná rozdělovat metody dle fermentace, jelikož k ní dochází přirozeně bez ohledu na způsob zpracování.

Fermentace je metabolický proces, při kterém se zpracovávají sacharidy, a to buď za nepřítomnosti (anaerobní), nebo za přítomnosti (aerobní) kyslíku. Fermentací v kávě se jednoduše rozumí proces, který se zabývá rozkladem dužiny a rostlinného slizu kombinovaným působením bakterií, kvasinek a enzymů, které působí jako katalyzátory v procesu fermentace a je rozhodující pro uvolnění kávového zrna z vnějších obalů. Kávový sliz obsahuje polysacharidy (pektin), celulózu a škrob, který může prodloužit dobu potřebnou k sušení kávových plodů a v některých případech také vést k rozvoji plísní, které

sníží konečnou kvalitu kávy (Schwan 2000; Haile & Kang 2019). Během fermentace dochází v peckovicích k fyzikálně-chemickým změnám, jako je snížení obsahu vody a jednoduchých cukrů a hlavně k tvorbě aromatických a chuťových prekurzorů, díky čemuž se producenti přiklánějí k dané metodě čím dál víc (Vaast et al. 2006; Haile & Kang 2019; Pereira et al. 2021).

V dané práci je uvedeno klasické rozdělení metod, jelikož rozdělení metod dle fermentace ještě není ustálené.

**Suchá neboli naturální metoda** je nejstarší a nejjednodušší zpracování kávy. Po sklizni se kávové plody očistí, oddělí se nedozrálé nebo poškozené peckovice a vcelku bez předchozího odstranění dužiny se suší na slunci. Na začátku sušení obsahují kávová zrna přibližně 60 % vlhkosti. Vlhkost kávového pergamenu je třeba co nejdříve snížit na optimálních 12,5 %, a to buď na slunci, v mechanické sušárně, nebo kombinací obou způsobů. Sušení na slunci se provádí na rozsáhlých betonových nebo cihlových plochách, nebo na stolech z drátěného pletiva, tzv. afrických postelích. Peckovice se rozprostírají ve vrstvě 2-10 cm a často se obracejí, aby se zajistilo rovnoměrné sušení a zamezilo nadměrné fermentaci a organickému rozkladu (Schwan 2000; Wintgens 2004; Pereira et al. 2021)

V závislosti na podmínkách sušení po 3 až 4 týdnech se zrno uvolní z fermentovaného, vyschlého dužnatého obalu peckovice loupáním, buď ručně nebo pomocí techniky (Galanakis 2017). Suchou metodou se zpracovává přibližně 95 % kávy Arabika produkované v Brazílii, většina kávy produkované v Etiopii, na Haiti, v Indonésii a Paraguayi, některé kávy Arabika produkované v Indii a Ekvádoru a téměř pro všechny kávy druhu Robusta na světě (Silva et al. 2000).

K fermentaci u naturální metody nedochází do takové míry, stále ale probíhá tzv. přirozená spontánní suchá fermentace. Bylo zjištěno, že během suchého zpracování byly nejhojněji zastoupeny bakterie octového kvašení (*Acetobacter*, *Gluconobacter*) spolu s kvasinkami (*Candida*, *Saccharomycopsis*) (Pereira et al. 2021).

Nižší kvalitu, která se často projevuje u naturálních káv, lze vysvětlit dvěma hlavními faktory: nedostatečnou péčí při sklizni, která vede k získání plodů různé kvality a zralosti, a vyšším rizikem nežádoucího kvašení v důsledku zvýšeného obsahu cukru ve slizu a pomalejší doby sušení (Henrique et al. 2015). Pokud se selektivně sklízí pouze zralé plody a poté se pečlivě suší, je možné získat vysoce kvalitní kávu suchým zpracováním. Obecně jsou kvalitní přírodní kávy považovány za sladší, plnější s chutí od čokoládové a oříškové až po ovocnou a jsou velmi ceněny při přípravě espressa (Illy & Viani 2005; Farah 2018)

Další metodou zpracování kávových plodů je **promytá metoda** (*washed method*). Tento způsob vyžaduje specifické vybavení a značné množství vody, proto se také považuje za finančně nejnáročnější z klasických metod. Zároveň ale umožňuje získat status vyšší kvality a s tím i vyšší cenovou hodnotu. Metody a vybavení používané k tomuto typu zpracování se liší podle místa produkce, princip ale zůstává stejný (Galanakis 2017). Jedná se o kvalitnější metodu z důvodu automatické separace zralých zrn od nezralých, přezrálých a defektních (viz sekce třídění). U suchého zpracování nyní již rovněž dochází k tomuto třídění, leč téměř výhradně u výběrové kávy.

Cílem mokrého zpracování je odstranění dužiny ze zralých kávových peckovic šetrným způsobem. Pomocí drticích plechů dochází ke zbavení horní části slupky a části

dužiny. Zůstává tak pouze vrstva rostlinného slizu, který je ve vodě nerozpustný a na zrně ulpívá příliš silně, než aby se dal odstranit pouhým omytím. Lze ho odstranit fermentací ve vodních nádržích, pak následným omytím nebo mechanicky pomocí strojů. Daná metoda se používá pro většinu káv Arabika a jen malou část výnosu kávy Robusta (Schwan 2000; Uman et al. 2016).

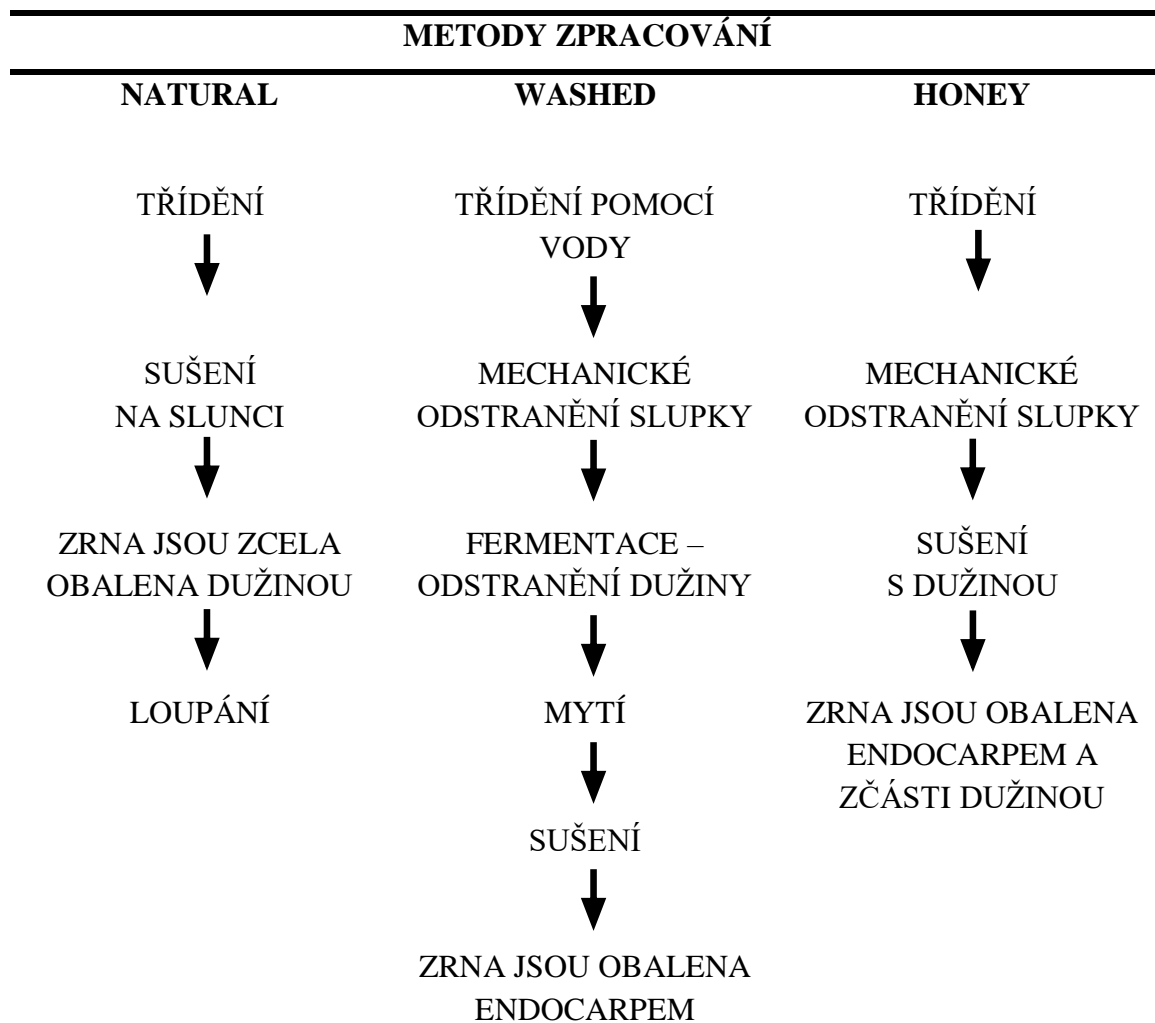
Zcela promytá je metoda, při které se dužina – slupka (exokarp) a část slizu (mezokarp) – se odstraní mechanicky a zbytek slizu zůstane na pergamenu (endokarp), který je možné odstranit pouze fermentací a následným umytím. Délka fermentace se obvykle pohybuje mezi 24 až 36 hodinami v případě Arabiky nebo až 72 hodin v případě Robusty. Délka se liší mimo jiné v závislosti na faktorech, jako je teplota, typ fermentace, stupeň vyzrállosti a kultivar kávy. Zbytky slizu po procesu fermentace lze odstranit lehkým drhnutím kávy. Zcela promyté kávy jsou nejběžnějším způsobem mokrého zpracování a jejich chuť je obecně považována za čistší s příjemným aroma, vyšší vnímanou kyselostí a méně výrazným tělem než u suchého zpracování (Farah 2018; Hall et al. 2022).

Třetí metodou je **polosuchá** (*semi-dry, honey, pulped*), která kombinuje postupy mokrého a suchého zpracování. Podobně jako je tomu u promytého zpracování sklizené peckovice putují do vodních nádrží, kde probíhá selekce zralých a nezralých plodů. Poté je strojově odstraněna vrchní slupka plodu a část dužiny, zbylý sliz se však neodstraňuje ve fermentačních nádobách, ale suší se společně se zbytkem pergamenu. Ponechané množství rostlinného slizu může měnit výsledné sensorické vlastnosti, a proto mnozí pěstitelé s tím rádi experimentují. Podle konečné barvy zrna, které se odvíjí od ponechané vrstvy slizu, pak kávy označujeme jako Yellow, Red nebo Black honey (Augustín et al. 2016; Farah 2018). Rozdíly ve vzhledu zrn zpracovaných polosuchou metodou jsou uvedeny na obrázku č. 5.

Chuť polosuchých káv je často považována jako meziprofil mezi plně promytými kávy a kávy zpracovanými naturální metodou, má "čistší" chuť než standardní přírodní kávy, ale více těla s výraznou sladkostí než většina plně promytých káv. Vlastnosti takto zpracované kávy se také mění v závislosti na nadmořské výšce. Kávy pěstované v nízkých nadmořských výškách je bližší k naturálním kávám. S rostoucí nadmořskou výškou jsou kávy chuťově blíže k promytým kávám (Wintgens 2004).



**Obrázek 5** Vzhled zrn po různých metodách zpracování



**Obrázek 6** Schéma metod zpracování kávy

### Nekonvenční metody ve zpracování kávy

- **Anaerobní zpracování**

Anaerobní fermentace je jednou z nejnovějších metod zpracování kávy a získala si oblibu zejména u soutěžních káv. Je podobná promyté metodě, ale fermentace probíhá v plně uzavřených nádržích bez přístupu kyslíku. Se zvyšujícím se tlakem v nádržích vzniká CO<sub>2</sub>, který společně s hladinou sacharidu, teplotou a pH se musí pečlivě měřit. K fermentaci kávových zrn obvykle dochází za pomoci přirozených mikrobů, např. kvasinek a bakterií mléčného kvašení. V některých oblastech daný způsob zpracování dokonce označují za mléčné kvašení (lactic fermentation) (Schwan 2000; Farah 2018).

Přidání startovacích kultur není běžnou praxí, avšak se zjistilo, že při jejich použití se zlepšují strukturní a sensorické vlastnosti výrobku a lze zabránit riziku růstu škodlivých organismů (Heperkan 2013). Proto v poslední době o ně roste zájem v použití při fermentaci kávy, aby se dosáhlo kontrolovanějšího procesu. Zavedením inokula se výrazně zkracuje doba fermentace, dále se vykazují výrazné sensorické vlastnosti a zvýšená kvalita

ve srovnání s konvenčními postupy. Většinou se jedná právě o kyseliny mléčného kvašení. Proces musí být přísně hlídán, než se z postupující fermentace vytvoří alkohol. Poškodit konečnou kvalitu nápoje mohou kyseliny máselná, octová a propionová, které vznikají při nadměrné fermentaci. Ve správný okamžik se kvašení zastaví a zrna promyjí čistou vodou, aby se zastavil růst bakterií. Posledním krokem je sušení, stejně jako u jiných způsobů zpracování (Huch & Franz 2015; Pereira et al. 2016).

Tyto metody jsou zatím poměrně experimentální, ale anaerobně zpracované kávy mají často mnohem intenzivnější a jasně definovatelné chutě s tóny tropického ovoce nebo skořice s mléčnou aciditou (Avallone et al. 2002).

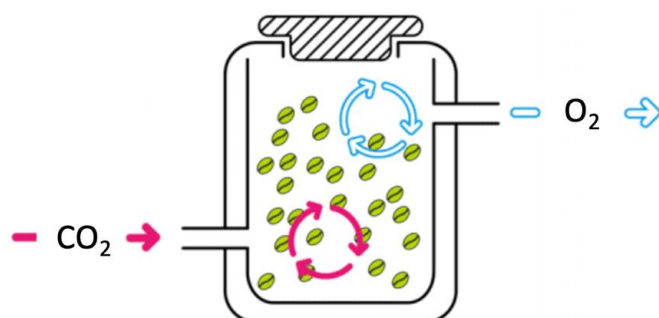
- **Karbonická macerace**

Karbonická macerace je technika již ustálená ve vinařství. Je to proces využívající adaptabilitu neporušených bobulí hroznů na prostředí bez přístupu kyslíku obohacené o oxid uhličitý. Tato adaptace se téměř okamžitě projeví uvnitř každé bobule přechodem z respiračního na fermentační anaerobní metabolismus. Spočívá v umístění neporušených hroznů do uzavřené nádře s atmosférou bohatou na oxid uhličitý. Bobule následně projdou vnitrobuněčným kvašením bez zásahu kvasinek. Během tohoto procesu dochází ke složitým změnám, které zahrnují přeměnu malého množství cukru na alkohol (1,5-2 % alkoholu), snížení obsahu kyseliny jablečné přibližně na polovinu a vznik sekundárních produktů (Tesniere & Flanzy 2011).

V kávovém průmyslu je stále považována za experimentální metodu, která skýtá mnoho příležitostí k nalezení zajímavých chuťových profilů. Podobně jako u vína, tak i neporušené kávové peckovice se po sklizni ukládají vcelku do uzavřeného prostředí. U kávy jsou to uzavíratelné plastové sáčky s jednosměrným ventilem nebo nerezové nádoby, do kterých se vpouští CO<sub>2</sub> a kyslík je z nádoby vypuštěn, čímž vzniká značně anaerobní prostředí, ve kterém peckovice procházejí vnitrobuněčnou fermentací. Tímto zpracováním obvykle vznikají světlé a chuťově podobné vínu kávy s výraznými tóny červeného ovoce (Tesniere & Flanzy 2011; Pereira et al. 2021).

Metabolický proces ovoce probíhá pouze pomocí intracelulární enzymatické kinetiky, působením enzymů přítomných v plodech. Fermentace karbonickou macerací je považováno za velmi žádoucí, protože během ní vznikají přirozené aromatické vlastnosti, které se při fermentaci rozdrčených plodů zpravidla nevytvářejí. Při tomto procesu vzniká glycerol a některé další složky, rozkládá se kyselina jablečná, mění se fyzikální vzhled peckovic a vzniká komplexnější příznivá chuť (Mencarelli & Bellincontro 2020).

Technika karbonické macerace je v kávovém průmyslu stále nová a vyžaduje další studie, aby bylo možné lépe porozumět procesům, které probíhají při zpracování kávy za výše uvedených podmínek. Zjednodušené schéma této metody je uvedeno na obrázku č. 7.



**Obrázek 7** Schéma karbonické macerace (<https://karstorganics.com>)

### **Třídění, kontrola a uskladnění zelených zrn**

Po zpracování a dosažení požadované vlhkosti se zrna roztřídí podle velikosti a hustoty, kontrolují se případné defekty, zápachy, odstraňují se cizorodé částice a probíhá hodnocení barvy. Zrna se musí správně uskladnit, aby nedošlo k nežádoucímu plesnivění, kdy může docházet k tvorbě ochratoxinu A, nebo napadení hmyzem a hlodavci. Zelené zrnko je třeba uchovávat v suchém, studeném prostředí bez přímých slunečních paprsků a doba by neměla přesahovat dva roky, jelikož delším uskladněním kvalita výrazně klesá a ztrácí svůj aromatický potenciál (Studer-Rohr et al. 1995; Selmar et al. 2008; Rojas 2009).

Během skladování musí být udržována rovnováha mezi relativní vlhkostí okolního vzduchu a obsahem vody uvnitř zrna. Při vyšších hodnotách vlhkosti zrnko vodu absorbuje; při nižších podlehne hydrataci. Pokud vlhkost v zrnech přesáhne 14 %, může dojít k mikrobiální činnosti a objeví se defekty jako zatuchlost nebo povrchové poškození zrn (Wintgens 2008; Tripetch & Borompichaichartkul 2019).

Nejčastěji používaným způsobem skladování kávy je pytel vyrobený z juty. Je snadno přizpůsobitelný pro obchodování v malém měřítku, lze z něj snadno odebírat vzorky pro kontrolu šarží a opakovaně používat. Nevýhodou je rychlé zhoršení kvality, pokud nejsou dodrženy skladovací podmínky. Kromě toho mají větší propustnost, což může vést ke kontaminaci zelených zrn (Selmar et al. 2008; Ribeiro et al. 2011). Selmar et al. (2008) uvádí, že skladování po delší dobu vykazuje pokles konečné kvality způsobený změnami chemického složení. V současné době se jako výstelka jutových pytlů začaly používat plastové pytly, které nepropouštějí plyny a vlhkost, zejména při přepravě a delším skladování (Tripetch & Borompichaichartkul 2019).

### **Pražení kávy**

Po dokončení všech posklizňových kroků následuje proces pražení, který je jednou z nejdůležitějších částí tvorby kávového aroma a má rozsáhlý vliv na složení biologicky aktivních látek v kávě (Bolka & Emire 2020). Teploty a čas pražení se mohou lišit dle zvolené metody, obvykle se pohybují mezi 180 °C a 240 °C po dobu 8 až 15 minut a probíhá v pražičkách s použitím horkého vzduchu za neustálého míchání (Sinnott 2010).



## **Fáze pražení**

Existují tři fáze pražení, které popisují různé chemické a fyzikální změny.

1. Fáze sušení
2. Maillardova reakce
3. Development

## **Fáze sušení**

Začíná plněním pražičky zeleným zrnem a končí v kritickém bodě označeném jako počátek chemické reakce. Dochází ke změně barvy na žlutou a je cítit aroma připomínající seno. Signalizuje to začátek Maillardovy reakce a až do teploty kávového zrna 160 °C je průběh chemických reakcí endotermický, tj. probíhá tepelná absorpce.

## **Maillardova reakce**

Maillardova reakce je neenzymatický proces hnědnutí, při kterém redukující sacharidy reagují s aminokyselinami. Redukující sacharid má volnou aldehydovou nebo ketonovou skupinu, které obsahují atom kyslíku s dvojnou vazbou. Tento atom kyslíku se pojí k uhlíkovému řetězci, který pak může snadno reagovat s aminokyselinami a mnoha dalšími sloučeninami. Vzniká většina aromatických sloučenin a některá barviva (melanoidiny). Tato chemická reakce pokračuje, dokud se nevyčerpají sloučeniny, které mohou mezi sebou reagovat, nebo je ukončena vysypáním zrn z bubnu pražičky do kruhového tanku, kde se zrna zchladí (Jansen 2006).

Zároveň probíhá Streckerova degradace, kdy aminokyseliny reagují s karbonylovými skupinami za vzniku aldehydů a ketonů. Stručně řečeno, Maillardova reakce a Streckerova syntéza přeměňují sacharidy na sloučeniny patřící do skupiny ketonů, furanů, aldehydů a melanoidinů. Aminokyseliny zde dávají vznik ketonům, furanům a sulfidickým sloučeninám. Poměrně malý podíl bílkovin se přeměňuje na ketony a furany, a tím také přispívá k aromatickým sloučeninám (Jansen 2006).

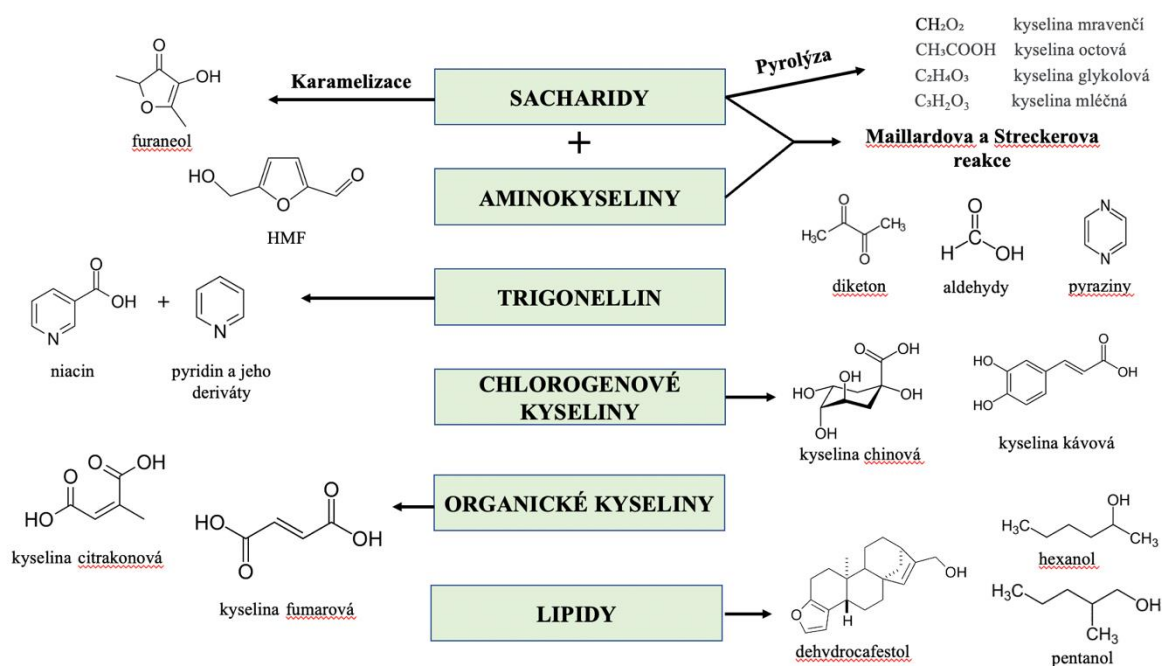
## **Development**

Vnitřní tlak se během delšího pražení dostatečně zvyšuje, aby zlomil buněčné stěny zrna a dojde k prvnímu prasknutí – tzv. first crack. V teplotním rozmezí od 160 °C do přibližně 250 °C dochází ke zvýšenému přenosu tepla v důsledku exotermických reakcí (pyrolýza). Pyrolýza popisuje tepelný rozklad složitých látek, kdy v důsledku rozkladu vznikají jednotlivé sloučeniny látek typických pro kávu, uvolňuje se oxid uhličitý, oxid uhelnatý a vzniká voda.

## **Chemické reakce**

Během pražení probíhá mnoho složitých reakcí, které kávě dodávají barvu, chuť a typické kávové aroma. Maillardova reakce, pyrolýza, hydrolyza a oxidace přitom hrají mimořádně důležitou roli. Z několika málo výchozích sloučenin vzniká téměř 1000 různých složek.

Některé chemické reakce jsou uvedeny na obrázku č. 8.



**Obrázek 8** Některé chemické změny sloučenin v průběhu pražení kávových zrn.

### Fyzikální změny

Na rozdíl od chemických změn jsou fyzikální změny kávových zrn během pražení snadno rozpoznatelné a měřitelné. Řadí se sem barva, objem, tvar, úbytek vody a hmotnosti. V důsledku procesu pražení se většina vody obsažené v zelené kávě odpaří, kávová zrna se zvětší a změní se jejich barva. Ztráta vody a zvětšení objemu kávového zrna dávají buněčné tkáni suchou a křehkou strukturu, která usnadňuje mletí kávových zrn a zvyšuje schopnost extrakce (Sunarharum et al. 2014b; Oestreich-Janzen 2019)

Hlavní přeměny, ke kterým dochází v kávovém zrně s rostoucí teplotou jsou uvedeny v tabulce č. 5.

**Tabulka 5** Fyzikální změny během pražení (Illy & Viani 2005).

Změna teploty zrna (°C)	Efekt
20–130	Změna obsažené vody z kapaliny na páru (sušení kávových zrn). Blednutí zrn.
130–140	První endotermické maximum. Žluté zbarvení a zvětšení zrna s počátkem neenzymatického hnědnutí. Vzniká $\text{CO}_2$ , které se začíná odpařovat.
140–160	Řada endotermických a exotermických píků. Barva se mění na světle hnědou. Značné zvětšení objemu kávových zrn a mikropórů. Zbytky stříbrné slupky jsou odstraněny. Zrna jsou velmi křehká. Na povrchu se objevují drobné trhliny. Začíná se tvořit aroma.
160–190	Reakce pražení směřují do vnitřní části zrna. Objevuje se typická chuť pražené kávy (sláma, pečený chléb).
190–220	Mikrotrhliny uvnitř zrna. Únik kouře a velkého množství $\text{CO}_2$ , který zanechává zrno velmi porézní.

### 3.1.5 Kvalitativní rozdíly mezi promytou a suchou metodou

Co se týče kvality šálku, je známo, že promyté kávy jsou kvalitnější, mají jemnější chuťový profil, vyšší aciditu a více aroma než kávy naturální. Právě chuť a aroma, které se vytváří při pražení kávových zrn, určuje kvalitu kávy. Do kvality zasahují všechny výše zmíněné faktory (Duarte et al. 2010).

V rámci metod zpracování bylo prokázáno, že klíčem k vysvětlení některých senzorických rozdílů mezi kávami zpracované promytou a naturální metodou může být změna aminokyselin, které jsou považovány za základní prekurzory chuti a barvy kávového nápoje. Projevují se přeměnou kyseliny glutamové na kyselinu  $\gamma$ -aminomáselnou (GABA) zprostředkovanou enzymatickou  $\alpha$ -dekarboxylací u suché metody. Tato reakce souvisí s fyziologickou stresovou situací způsobenou suchem a je specifická pro použitý způsob zpracování (Bytof et al. 2005; Bastian et al. 2021). V neposlední řadě se předpokládá, že intenzivní vnímání květinových a ovocných vůní a vysoká kyselost u kávy zpracované mokrou metodou mohou být důsledkem mikrobiálních metabolitů vznikajících ve fázi fermentace (Vinícius de Mello Pereira et al. 2017).

Chuťový rozdíl lze také vysvětlit osmotickými jevy. Během zpracování plodů se mezi slizem (mezokarpem) a zrnem (endospermem) vytváří koncentrační gradient, který způsobuje přemístění látek obsažených ve slizu do zrna. Při promyté metodě dochází ke ztrátě 0,7 % rozpustných pevných látek během fermentace a 0,7 % během mytí, a to difuzí roztoků z vnitřní části peckovice do vody se slizem. Sacharidy tvoří jednu třetinu celkové ztráty rozpustných pevných látek během fermentace s úbytkem v rozmezí 0,34 až 0,51 %. Větší množství rozpustných pevných látek obsažených v naturálních kávách je nepochybně příčinou jejich větší tělesné hmotnosti ve srovnání s promytlými kávami. Obsah minerálních látek je u promytlých zpracovaných zrn mírně nižší než u naturálních. Naturální metoda navíc nevyžaduje velké množství vody. Při promyté metodě se však odstraní přibližně 60 % objemu peckovice (dužiny), čímž se výrazně sníží plocha a doba potřebná k sušení. Zároveň se výrazně snižuje riziko nežádoucího kvašení. Další výhodou je možnost získat produkt s homogennějším vzhledem a sušením (Illy & Viani 2005; Kitzberger et al. 2020).

## 3.2 Metody stanovení složení kávy

### 3.2.1 Stanovení celkového obsahu fenolických sloučenin

Total phenolic content (TPC) je jedna z nejnámější a nejčastěji používané metody pro zjištění celkového obsahu rostlinných fenolů je spektrofotometrická zkouška s činidlem Folin-Ciocalteu (FCM). Činidlo, které se při dané metodě používá je směsí fosfomolybdenanu a fosfowolframanu, které reaguje s fenoly obsaženými ve vzorku. Tato reakce probíhá pouze v zásaditém prostředí, aby byla umožněna reakce všech rostlinných fenolů látek s Folinovým činidlem. Fenoly se začínají redukovat za vzniku modrých produktů. Při vlnové délce okolo 700 nm se následně provádí spektrofotometrické měření a zjištěná koncentrace fenolických látek je přepočítána na ekvivalentní množství gallové kyseliny, neboť se zde tato kyselina používá jako standard (Stratil et al. 2008).

Její přednostmi jsou především její jednoduchost, rychlost a možnost opakovatelnosti s velice podobnými výsledky (Khoddami et al. 2013).

### 3.2.2 Chromatografické metody

Káva obsahuje více než dva tisíce složek – od těkavých nízkomolekulárních až po vysokomolekulární sloučeniny. K separaci a identifikaci všech druhů směsí, od plynů a těkavých sloučenin po vysokomolekulární sloučeniny, jakož i směsí organických a anorganických iontů (kationtů a aniontů), jsou využívány různé chromatografické metody. Chromatografickými metodami lze tedy zjistit téměř všechny složky kávy. Složky ve směsi se nejprve oddělí na kolonách pomocí afinitě k dané fázi a poté se oddělené složky registrují na výstupu z kolony pomocí detektorů (Yashin et al. 2017).

K separaci a identifikaci těkavých látek v kávě se nejčastěji používá plynová chromatografie (GC). Je důležité, aby se tyto sloučeniny během odpařování nerozkládaly. Sloučeniny s molekulovou hmotností do 500-600 Da lze identifikovat pomocí plynové chromatografie.

Kapalinová chromatografie (HPLC) byla použita k separaci a identifikaci netěkavých vysokomolekulárních sloučenin při teplotách blízkých pokojové teplotě. Proto lze kapalinovou chromatografií stanovit i nestabilní sloučeniny. Většinou sestává ze specifické pevné stacionární fáze (C18, C8, phenyl-hexyl), která se nachází uvnitř kolony. Kolona je nejčastěji vyrobená z nerezavějící oceli a je naplněná přečištěným jemným pískem. Kapalná mobilní fáze většinou sestává ze dvou rozpouštědel, a to většinou z H<sub>2</sub>O + nějaké organické rozpouštědlo (nejčastěji MeOH a acetonitril).

Interakce mezi složkami různých vzorků v koloně je odlišná, to způsobuje rozdíl v afinitě vůči specifické fázi v koloně a vede k oddělení jednotlivých analytů (Pallavi & Patil 2017). Například šest markerů kvality v kávě, kterými jsou kofein, trigonellin, kyselina nikotinová, *N*-methylpyridinium, kyselina 5-kafeoylchinová a 5-hydroxyfurfural, bylo současně detekováno pro tři matrice kávy - zelenou, praženou a rozpustnou - s mezí stanovitelnosti 0,069-0,71 µg/ml pomocí kapalinové chromatografie s detekcí pomocí diodového pole (HPLC-DAD). Tato technika je užitečná pro rutinní stanovení míry tepelné degradace během pražení (Gant et al. 2015).

Metody iontové chromatografie (IC) a iontově výměnné chromatografie (IEC) využívají k oddělení směsí iontů kolony naplněné iontoměniči. Při tenkovrstvé chromatografii (TLC) nedochází k separaci na kolonách, ale na deskách ze skla, kovu nebo polymeru potažených tenkou vrstvou adsorpčního materiálu. Techniky kapilární elektroforézy (CE) využívají křemenné kapiláry o vnitřním průměru 0,1 mm nebo méně. Směsi mohou být separovány pouze díky elektroforetickému mechanismu (kapilární zónová elektroforéza) nebo díky elektroforetickému a chromatografickému mechanismu současně. V druhém případě se na vnitřní stěny kapiláry nanese vrstva adsorbentu nebo se do mobilní fáze přidá sorbent (adsorbent) (Yashin et al. 2017).

## 4 Materiál a metody

V této práci byl zkoumán vliv metody zpracování kávy na její obsah vybraných bioaktivních látek a polyfenolů. Metodika práce zahrnuje přípravu analyzovaných vzorků. Celkový obsah polyfenolů byl měřen pomocí metody Total Phenolic Content (TPC). Obsahy fenolických látek a dalších látek, které se v kávě přirozeně vyskytují, byly rovněž měřeny pomocí metod analytické chemie (high performance liquid chromatography spojený s UV detektorem; HPLC/UV).

### 4.1 Analyzované vzorky

Pro analýzu byly použity již zpracované kávy ze tří světových oblastí pěstování kávy, a to z Etiopie, Hondurasu a Guatemaly. Vzorky byly získány po domluvě se dvěma distributorskými firmami výběrového zeleného zrna: Belco (Bordeaux, Francie) a List+ Beisler (Hamburg, Německo).

Z každé zemi byla získána trojice vzorků, které byly zpracovány třemi metodami: suchá, (Natural; N), promytá (Washed; W) a polosuchá (Honey; H). Byl kladen důraz na to, aby každá trojice káv pocházela z jedné farmy dané země, kde byla zrna zpracována. Analyzováno bylo celkem 9 vzorků káv druhu Arabika. Podrobněji jsou kávy popsány v tabulce č. 6.

**Tabulka 6:** Popis použitých vzorků

	<b>Etiopie</b>	<b>Honduras</b>	<b>Guatemala</b>
<b>Region</b>	Gomma	Marcala Montecillos	Antigua
<b>Farma</b>	Khalid Shifa	Ceiba	Finca Medina
<b>Druh</b>	Arabika	Arabika	Arabika
<b>Odrůda</b>	Heirloom	Mix odrůd	Mix odrůd
<b>Metody zpracování</b>	N, W, H	N, W, H	H, W, H
<b>Nadmořská výška</b>	2100 m.n.m.	1200–1700 m.n.m.	2000 m.n.m.

### 4.2 Příprava vzorků k analýze

Vzorky kávy byly napražené pomocí speciálního dvoububnového pražicího stroje na pražení vzorků značky PROBAT BRZ (Emmerich am Rhein, Německo), který byl zahřát na 200 °C a poté bylo do pražicího válce vloženo 100 g zelených kávových zrn na vzorek. Vzorky byly praženy do bodu First Crack a přibližně minutu poté. Během pražení byla teplota v pražičce regulována na 200 °C nastavením zdroje plynu pro ohříváč. Ihned po pražení byly vzorky kávy vloženy do chladicího zásobníku, aby se rychle ochladily vhaněním chladného vzduchu přes chladicí desku.

Následně byla káva namletá ručním mlýnkem Comandante C40 MK3 (Unterhaching, Německo) na jemné mletí. Byla provedena extrakce vzorku navážením 100 mg vzorku do zkumavek a přidáním 10 ml vroucí destilované vody. Následně zkumavky byly postupně

vloženy vortexovány po dobu jedné minuty. Vortexované vzorky byly následně centrifugovány 5 min při 9000 rpm.

### **4.3 Chemikálie, reagenty a standardy**

Standardy analyzovaných látek (kys. gallová, kys. chlorogenová, kys. skořicová, (-)-epikatechin, kofein) byly zakoupeny od Sigma-Aldrich (Praha Česká republika). Rozpouštědla a kyseliny analytické kvality (metanol, acetonitril, kys. octová) byly zakoupeny od VWR (Praha, česká republika). Folin-Ciocalteu činidlo bylo zakoupeno od Penta Chemicals (Praha, česká republika). Anorganické soli (uhličitan sodný;  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) byly zakoupeny od Lachner (Neratovice, Česká republika).

### **4.4 Stanovení celkového obsahu fenolických látek**

Pro stanovení celkového obsahu fenolických látek (TPC) byla použita dříve popsaná metoda založená na Folin-Ciocalteu reagentu (Singleton et al. 1999), která byla modifikována pro 96jamkovou mikrotitrační destičku. Do 96jamkové mikrotitrační destičky bylo přidáno 100  $\mu\text{l}$  vzorku kávy:voda (naředěna poměrem 1:1000). Poté bylo přidáno 25  $\mu\text{l}$  čistého Folin-Ciocalteuova činidla. Reakce byla zahájena přidáním 75  $\mu\text{l}$  20%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Směs byla ponechána ve tmě při 37 °C po dobu 2 hodin. Absorbance byla měřena pomocí spektrofotometrické mikrodestičkové čtečky Synergy H1 (Biotek, Winooski, USA), jež byla nastavena na 700 nm. Jako standard byla použita kyselina gallová, která byla testována při koncentracích 128 - 0,02  $\mu\text{g/ml}$ . Jako negativní kontrola byla použita destilovaná voda. Výsledky byly vyjádřeny jako ekvivalenty kyseliny gallové ( $\mu\text{g}$  GAE/mg extraktů).

### **4.5 Stanovení obsahu vybraných látek pomocí HPLC/UV**

Analýza pomocí HPLC byla provedena na systému Ultimate 3000 (ThermoFisher Scientific, Waltham, USA) a byla řízena softwarem Chromeleon 7.2 (ThermoFisher Scientific, Waltham, USA). Bioaktivní sloučeniny byly chromatograficky separovány pomocí kolony ACE Excel 2u C18 - Amide (150  $\times$  4,6 mm) 100A (Advanced Chromatography Technologies Ltd, Aberdeen Scotland). Gradientová eluce byla provedena pomocí mobilní fáze A (voda s 0,5% kyseliny octové) a B (acetonitril s 0,5% kyseliny octové) takto: 0 min, 96:4 (A:B); 10 min, 85:15; 14 min, 79:21; 25 min, 78:22; 34 min, 59:41; 38 min, 0:100; 48 min, 0:100; 51 min, 96:4; 61 min, 96:4. Objem nástřiku byl nastaven na 10 ml, průtoková rychlost na 1 ml min a teplota termostatu na 33,8 °C.

### **4.6 Statistická analýza**

Obsah fenolických látek stanoven pomocí Folin-Ciocalteu činidla byl určen ve třech nezávislých testech vždy ve třech opakováních. V případě HPLC analýzy hodnoty byly získány ve třech opakováních. Získaná data z obou použitých testů jsou vyjádřeny jako průměr  $\pm$  směrodatná odchylka (SD). Data byla analyzována pomocí programu GraphPad Prism 8.3.0 (538) 2019 (GraphPad Software, Inc., San Diego, USA) pomocí běžné

jednosměrné ANOVA. Výsledky byly považovány za statisticky významné při  $p < 0,05$ . Pro detailní statistické vyhodnocení byl ve všech případech použit Tukeyův HSD (Honestly Significant Difference) test (Statistica 12, CZ).

## 5 Výsledky

Ve vzorcích kávy byl stanoven celkový obsah fenolických látek pomocí metody TPC a specifické látky pomocí metody HPLC/UV.

Z obou testů na základě statistické analýzy vyplývá, že kávy připravené metodou Honey vykazují nejvyšší obsah sledovaných látek. Co se týče rozdělení káv na základě země původu, nejvyšší hladiny analyzovaných látek obsahovala káva z Etiopie, leč toto pozorování nebylo potvrzeno statistickou analýzou. Z těchto dat vyplývá, že zpracování, ale i původ kávy, může mít zásadní vliv na obsahy biologicky aktivních látek ve finálním nápoji. Výsledky jsou detailněji popsány níže.

### 5.1 Analýza fenolických látek

V tabulce č. 7 jsou zobrazené hodnoty celkového obsahu fenolických látek, které jsou uvedeny v mg GAE (Gallic Acid Equivalent) na 100 g vzorku. Největší průměrné hodnoty TPC byly dosaženy u káv z Etiopie (1645 až 1778 mg GAE/100 g), z nichž nejvyšší hodnota byla získána u kávy zpracované metodou Honey (1778 mg GAE/100 g). Nejvyšší obsah fenolických látek u metody Honey byl taktéž zjištěn u kávy z Guatemaly (1479 mg GAE/100 g). Výsledky TPC u guatemalských vzorků tvořil rozmezí 1324 až 1479 mg GAE/100 g a jedná se o nejnižší hodnoty ze všech káv. U káv z Hondurasu největší hodnoty byly zjištěny u kávy zpracované metodou Natural (1631 mg GAE/100 g). Celkové průměrné hodnoty byly v rozmezí 1302 až 1631 mg GAE/100 g.

Bylo zjištěno, že v rámci skupin nejvyšší hodnoty TPC vykazovaly kávy zpracované metodou Honey (Etiopie a Guatemala). U Hondurasu byly největší hodnoty u metody Natural, přestože ostatní kávy zpracované stejnou metodou vykazovaly nejmenší obsahy z celé skupiny.

Byl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi celkovým obsahem fenolických látek a metodou zpracování ( $p = 0,03$ ). Pro jednotlivé skupiny byl proveden Tukeyho test a statisticky významný rozdíl nebyl zjištěn.

**Tabulka 7** Obsah fenolických látek ve vzorcích kávy (průměr  $\pm$  SD)

Původ kávy	Metoda zpracování	TPC (mg GAE/100 g)
Etiopie	Washed	1645 $\pm$ 322a
	Honey	1778 $\pm$ 303a
	Natural	1710 $\pm$ 344a
Guatemala	Washed	1333 $\pm$ 302a
	Honey	1479 $\pm$ 353a
	Natural	1324 $\pm$ 322a
Honduras	Washed	1302 $\pm$ 191a
	Honey	1316 $\pm$ 184a
	Natural	1631 $\pm$ 279a
<i>p</i>		0,03



## 5.2 Analýza vybraných látek pomocí HPLC/UV

V HPLC analýze byly sledovány následující specifické látky: kofein, kyseliny gallové, chlorogenové, skořicová a epikatechin. Výsledky jsou uvedené v tabulce č. 8. V kávách z Etiopie byly sledovány obsahy kofeinu, kyseliny gallové a chlorogenové a epikatechinu nejvíce u metody Honey (902 mg/100 g, 795 mg/100 g, 23 mg/100 g a 225 mg/100 g). V rámci dané skupiny byl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi obsahem kyselin gallové, chlorogenové a kofeinu a metodou zpracování. Epikatechin nevykazoval žádné signifikantní rozdíly. Kyselina skořicová nebyla detekována. Nejvíce statisticky se lišily hodnoty u metody Natural, které byly zároveň nejnižší.

Guatemalské kávy vykazovaly nejvyšší obsahy kofeinu, kyseliny gallové a chlorogenové a epikatechinu u metody Washed (780 mg/100 g, 516 mg/100 g, 16 mg/100 g a 263 mg/100 g), přičemž statisticky významné rozdíly byly pozorovány u kofeinu u metody Natural a epikatechinu u metody Honey. Kyselina skořicová nebyla detekována.

Kávy z Hondurasu měly jednoznačně nejvyšší hodnoty u metody Honey. Obsahy kofeinu, kyseliny gallové a chlorogenové a epikatechinu byly naměřeny následující hodnoty: 1174 mg/100 g, 784 mg/100 g, 22 mg/100 g a 421 mg/100 g. Tyto hodnoty se signifikantně lišily od ostatních metod v dané skupině. Jako u jediného vzorku bylo spatřeno nestopové množství kyseliny skořicové právě u metody Honey ( $2 \pm 1$  mg/100 g).

Mezi metodou zpracování a obsahem kyselin gallové, chlorogenové, kofeinu a epikatechinu je statisticky významný rozdíl ( $p < 0,001$ ).

**Tabulka 8** Obsah bioaktivních látek ve vzorcích kávy (průměr  $\pm$  SD)

Původ kávy	Metoda zpracování	Kys. gallová	Kys. chlorogenová	Kys. skořicová	Epikatechin	Kofein
		(mg/100 g)				
Etiopie	Washed	21 $\pm$ 2a*	767 $\pm$ 32a	n.d.**	221 $\pm$ 4a	834 $\pm$ 44a
	Honey	23 $\pm$ 2a	795 $\pm$ 13a	n.d.	225 $\pm$ 11a	902 $\pm$ 23a
	Natural	17 $\pm$ 1b	653 $\pm$ 27b	n.d.	180 $\pm$ 16a	714 $\pm$ 26b
Guatemala	Washed	16 $\pm$ 1a	516 $\pm$ 44a	n.d.	263 $\pm$ 33a	780 $\pm$ 63a
	Honey	16 $\pm$ 1a	500 $\pm$ 40a	n.d.	248 $\pm$ 36b	732 $\pm$ 65a
	Natural	16 $\pm$ 0,00a	465 $\pm$ 27a	n.d.	203 $\pm$ 5a	659 $\pm$ 35ab
Honduras organic	Washed	18 $\pm$ 0,00a	481 $\pm$ 8a	n.d.	252 $\pm$ 14a	697 $\pm$ 8a
	Honey	22 $\pm$ 0,001b	784 $\pm$ 21b	2 $\pm$ 1	421 $\pm$ 32b	1174 $\pm$ 33b
	Natural	16 $\pm$ 0,00a	504 $\pm$ 20a	n.d.	249 $\pm$ 17a	825 $\pm$ 28c
<i>p</i>		< 0,001	< 0,001		< 0,001	< 0,001

\* Hodnoty označené různými malými písmeny ve stejném sloupci v rámci jedné kávy se významně liší

\*\* n.d. - nebylo detekováno

## 6 Diskuze

V současné době se uznává, že na chemické složení kávových zrn a konečnou kvalitu nápoje mají vliv zejména metody zpracování po sklizni na farmě. Výzkum zelené kávy je však omezený a jeho výsledky nejsou jednotné. Přesto již existují náznaky, že při určování chemického složení zelené kávy hraje roli více faktorů – včetně pěstování kávovníků/záležitostí spojených s dozráváním plodů a konče postupy zemědělců a podmínkami skladování po sklizni. Navíc v literatuře je polosuchá metoda obecně opomíjena, a tak se spíše zabývá srovnáváním suchého a polosuchého zpracování, jelikož se jedná o nejméně používané metody. Při přímých srovnáních je třeba postupovat opatrně, zejména proto, že v publikacích často chybí klíčové informace.

Cílem diplomové práce bylo zjistit, zda má metoda zpracování vliv na obsah specifických bioaktivních látek v kávě. Byl zkoumán celkový obsah fenolických látek pomocí Folin-Ciocalteuovy metody a obsah vybraných látek pomocí HPLC/UV. Vzorky káv pocházely ze tří zemí: Etiopie, Guatemala a Honduras, přičemž každá země představovala tři základní metody zpracování: suchá, polosuchá a promytá. Každá trojice vzorků byla vypěstována na stejné farmě dané země, což bylo hlavním cílem při jejich hledání. Tento požadavek zároveň představoval překážku k získání vzorků zpracovaných nekonvenčními metodami (např. karbonická macerace nebo anaerobní zpracování), tudíž nebylo možné je do analýzy zařadit. Je totiž velice vzácné, aby na jedné farmě mimo tři základní metody zpracovávali kávu nekonvenční metodou. Získané výsledky byly následně posuzovány v rámci jedné farmy. Tato studie je jedna z mála, které přináší výsledky z jedné farmy, odlišující možné diference ve výsledcích způsobené lokalitou.

Kofein v kávě je víceméně otázkou genetiky, zatímco fenolické látky mohou být navíc do jisté míry ovlivněny prostředím, protože mají ochrannou funkci vůči potenciálním patogenům (Cheng et al. 2016; Farah 2018). Káva je velice komplexní produkt a na její chemické složení má vliv spousta faktorů, včetně druhu a odrůdy, původu, vnějších podmínek, zemědělských postupů, posklizňových úprav, přepravy a skladování (Severini et al. 2017). Tím, že každá trojice káv byla vypěstována na totožné farmě při stejných klimatických podmínkách, půdě, nadmořské výšce, a dokonce nejspíš i stejnými lidmi, dává možnost zjistit, jak opravdu velký vliv má metoda zpracování na chemické složení kávových zrn. Na výsledné chemické složení, a hlavně kvalitu kávy, má ale pravděpodobně největší vliv následné pražení, během kterého probíhají různé chemické reakce zodpovědné za chuť a aroma výsledného kávového nápoje (Tfouni et al. 2012). Je dobré si uvědomit, že i vysoce kvalitní zelené zrno se může znehodnotit nevhodným pražením. Přestože byly provedeny rozsáhlé přehledy o změnách chemických složek během zpracování kávy, změna obsahů bioaktivních látek od plantáže až po hotový nápoj dosud nebyla zcela objasněna.

Použité vzorky kávy se považují za kávu výběrovou, což znamená, že prošly přísnými jakostními testy a bylo jim uděleno minimální 80 bodů v mezinárodní soutěži Cup of Excellence. Dle studie Alcantara et al. (2021) hlavním rozdílem mezi kávou výběrovou a komoditní bylo množství sloučenin, které jsou zodpovědné za sensorické vlastnosti.

Zdravotní výhody kávy souvisejí s vysokou antioxidační aktivitou, která je silně ovlivněna celkovým obsahem fenolických látek (TPC) v kávových zrnech. V práci bylo

sledováno, zda metody zpracování kávy mají vliv na TPC, které je zároveň důležitým faktorem pro hodnocení kvality kávy (Méndez-Lagunas et al. 2017; Bastian et al. 2021). Stanovené obsahy TPC všech káv se pohybovaly od 1302 do 1778 mg GAE/100 g, což se shoduje s výsledky studie Alnsour et al. (2022), ve které se analyzovaly fenolické látky ve vzorcích kávy různého původu a hodnocení vlivu pražení na jejich obsah. Hodnoty ve studii byly naměřeny v rozpětí 1492 g/100 g do 1655 mg GAE /100 g. Studie prokázala, že stupeň pražení a zeměpisný původ jsou klíčovými faktory, které ovlivňují celkový obsah fenolů.

Ve studii Haile & Kang (2019) zjistili, že kávová zrna získaná suchou metodou měla relativní nižší TPC ve srovnání s promytou metodou. Vysvětluje se to tím, že kávové peckovice při promyté metodě procházejí fermentačním procesem za účelem odstranění dužiny. Bakterie a kvasinky, které způsobují spontánní fermentaci, produkují kyseliny zlepšující obsah fenolů v kávě, jejichž obsah následným pražením klesá. Potvrzuje to i zjištění ve studii Odžakovic et al. (2016), který uvádí, že TPC je významně vyšší u zelené kávy ve srovnání s praženou.

V této práci všechny kávy dle TPC zpracované suchou metodou měly naopak vyšší hodnoty než promyté kávy. Při porovnávání výsledku u fenolických látek z obou testů byly zjištěny rozdíly, které mohou být způsobeny nepřesností metody TPC. Pro stanovení koncentrace fenolických látek podle MacDonald-Wicks et al. (2006) je obvykle vhodnější použít HPLC analýzu, která omezuje kvantifikaci na jednu třídu fenolických látek. Podle HPLC nejvíc fenolických látek bylo naměřeno u promyté a polosuché metody, což souhlasí s výsledky studií výše.

Vliv na celkový obsah fenolů může být způsoben nehomogenním pražením vzorku, kde nebyl dodržován stejný čas a teplota u všech vzorků, nebo rozdílná vyzrálость zrn. Perdani et al. (2019) uvedl, že druh kávovníku a místo jeho pěstování mají významný vliv na obsah fenolů v zeleném zrně. Výsledky studie se pohybovaly v rozmezí 386 – 3567 mg GAE /100 g. Zároveň ve studii Zhu et al. (2021) se porovnávalo chemické složení kávových zrn Arabiky z různých zeměpisných oblastí původu. Zjistilo se, že TPC kávových zrn z Hondurasu, Etiopie a Guatemaly se statisticky neliší, což se shoduje s výsledky této práce.

Mehari et al. (2021) uvádí, že obsah polyfenolů v zelených kávových zrnech Arabika se liší podle zeměpisného původu. Při výzkumu káv z Etiopie bylo zjištěno, že kávy rostoucí v různých oblastech východní Etiopie, obsahují výrazně nižší množství polyfenolů než kávy z ostatních oblastí. Hlavní složkou polyfenolů byly chlorogenové kyseliny, zatímco flavonoidy byly nalezeny pouze ve stopovém množství.

Nejaktivnějšími sloučeninami z kávových antioxidantů jsou chlorogenové kyseliny. Ve studii Shin (2019) byly zkoumány změny obsahu kyseliny chlorogenové podle fáze pražení s různými způsoby zpracování. Obsah CGA byl snížen o více než 50 % jak v suché, tak i v promyté metodě, nebyl ale zjištěna žádná signifikance v rámci použitých metod. Barrios-Rodríguez et al. (2021) naměřil průměrné hodnoty obsahu CGA 802 mg/100 g u promyté metody a 875 mg/100 g u polosuché metody, což potvrzuje, že způsob zpracování nemá velký vliv na obsah CGA. Ve této práci byly stanoveny nejvyšší obsahy u vzorků z Etiopie u metody Honey 795 mg/100 g, z Guatemaly u metody Washed 516 mg/100 g a z Hondurasu u metody Honey 784 mg/100 g.

Farah & Duarte (2015) uvádí, že obsah CGA v komerční pražené kávě značně kolísá, především v závislosti na procentuálním zastoupení zrn Arabiky a Robusty ve směsi a na stupni pražení, přičemž obsahy se mohou pohybovat od 300 mg/100 g do 3500 mg/100 g. Taktéž uvádí, že čím vyšší je rychlost pražení, tím nižší jsou ztráty CGA. Dekofeinizace může snížit nebo zvýšit obsah CGA přibližně o 10 %, v závislosti na metodě použité k tomuto účelu. Zároveň uvádí, že celkový obsah CGA v zelených kávových zrnech se spíše liší v závislosti na genetickém druhu, kultivaru a stupni zrání.

Ve své studii Kitzberger et al. (2020) zjistili, že největší změny v závislosti na metodě zpracování byly potvrzeny u obsahu celkových a redukujících cukrů, fenolových sloučenin, včetně chlorogenových kyselin, a lipidů. Zrna vykazovala různý úbytek hmotnosti po pražení pro dosažení stejné barvy a byly taktéž ovlivněny senzorycké vlastnosti výsledného kávového nápoje, což souviselo s ponecháním či odstraněním slupky, které aktivuje metabolismus klíčení během zpracování. Sualeh et al. (2014) potvrdili, že metody zpracování měly vliv na fyzikální změny zrna během pražení (objem a úbytek hmotnosti). Jedná se o důležitá kritéria pro pražiče, který musí zohlednit metodu zpracování pro pražení konkrétní kávy, pokud chce účinně a efektivně vyhovět poptávce konečného spotřebitele.

Ve stejné studii bylo zjištěno, že největší obsah CGA byl u káv Natural, což naznačuje, že CGA se nacházejí v kávové slupce. U promyté nebo polosuché metody dochází k odstranění této části. Duarte et al. (2010) ve své studii uvádí, že kávy zpracované promytou metodou vykazovaly v průměru výrazně vyšší celkový obsah CGA než vzorky zpracované polosuchou metodou. Výsledky mohou být také odlišné kvůli různé vyzrálости zrn, protože CGA se vyskytují ve větším množství v nezralých kávových zrnech než ve zralých (Bastian et al. 2021). Informací o vlivu metody zpracování konkrétně na CGA je stále velmi málo a je třeba provést další studie.

Obsah kofeinu se ve všech vzorcích se pohyboval v rozmezí 659–1174 mg/100 g. Mehari et al. (2016) ve své studii uvádí nepatrně vyšší hodnoty 870–1380 mg/100 g. V rámci všech skupin vzorků docházelo k rozdílům v závislosti na metodě. Nicméně, ve studii Joët et al. (2010), ve které byl analyzován vliv zpracování mokrou metodou na kofein, bylo zjištěno, že posklizňové metody nemají statisticky významný vliv na jeho obsah. Studie ukázala, že existuje souvislost mezi nadmořskou výškou/teplotou ovzduší a konečným obsahem v závislosti na odrůdě. Studie Duarte et al. (2010) rovněž naznačila, že obsah kofeinu není ovlivněn použitou metodou zpracování. Na rozdíl od ní však zjistili, že metoda posklizňového zpracování má významný vliv na koncentraci trigonellinu v zelených zrnech Arabiky z Brazílie.

Analýza Mehari et al. (2016) alkaloidů pomocí HPLC/UV v etiopské kávě ukázala, že existují významné rozdíly v koncentraci kofeinu v závislosti na zeměpisném původu kávových zrn. Kávy ze severozápadu Etiopie se vyznačovaly vyšší koncentrací než v jiných regionech. Ve studii byl sledován obsah kofeinu ze stejného regionu západní Etiopie, ze kterého pochází jeden ze vzorků v dané práci. Průměrný obsah kofeinu ve studii vyšel 1150 mg/100 g, v dané práci u etiopských vzorků 817 mg/100 g. Rozdíl může být způsoben jinou odrůdou, rokem sklizně a částečně pražením. Severini et al. (2017) potvrzují, že obsah kofeinu v zelených kávových zrnech může být ovlivněn odrůdou, původem, agronomickými podmínkami, posklizňovou úpravou, přepravou a skladováním. Co se týče vlivu pražení, literatura se v této problematice nedokáže zcela shodnout. Król et al. (2020)

a Hečimović et al. (2011) sledovali vliv pražení na obsah kofeinu a zjistili, že s delším pražením obsah kofeinu klesá. Avšak výsledky získané Tfouni et al. (2012) a Jeon et al. (2017) změnu obsahu kofeinu během pražení nepotvrdili.

Ve výsledcích této diplomové práce je statisticky významný rozdíl mezi metodou zpracování a obsahem kofeinu, zvláště u kávy vypěstované v ekologickém zemědělství (Honduras). Ve studii Król et al. (2020) výsledky popisné statistiky ukázaly, že obsah kofeinu se může lišit podle toho, zda se zrna pěstují na principu konvenčního nebo ekologického zemědělství. Kofein je purinový alkaloid a hnojení dusíkem může zvýšit obsah tohoto alkaloidu v kávových zrnech. Snadno rozpustný dusík používaný v konvenčním systému pěstování má ve srovnání s organickým systémem účinek zvyšující obsah kofeinu. Nicméně, vyšší obsah kofeinu se pak projevil během skladování u organické kávy. V ekologickém zemědělství je zcela zakázáno používat syntetická hnojiva, a proto jedinou ochranou pro rostliny proti škůdcům je kofein.

Duarte et al. (2010) uvádí, že v kávových zrnech zpracovaných promytou metodou se obsah kofeinu pohyboval od 1050 do 1530 mg/100 g, zatímco v zrnech zpracovaných polosuchou metodou se obsah pohyboval od 1120 do 1540 mg/100 g. Statisticky významný rozdíl nebyl zjištěn.

Barrios-Rodríguez et al. (2021) analyzovali, zda mají metody zpracování vliv na senzorické vlastnosti kolumbijské kávy. Senzorická analýza s využitím metodiky Specialty Coffee Association klasifikovala kávu zpracovanou polosuchou metodou jako výbornou a kávy zpracované suchou a promytou metodou jako velmi dobrou; u hodnocených vlastností však nebyly zjištěny žádné významné rozdíly mezi posklizňovými úpravami.

Velké množství studií potvrzuje, že velkou roli v chemickém složení kávy hraje její původ. Například Yener et al. (2015) analyzovali aromatické látky u pražené kávy Arabika z různých částí světa včetně Guatemaly a Etiopie. Bylo zjištěno, že původ má velký vliv na obsah aromatických látek. Kolumbijské kávy se odlišovaly vyšší koncentrací sirných sloučenin jako je dimethylsulfid (aroma podobné zelí), zatímco etiopská káva se nejvíce identifikovala podle vyšší koncentraci monoterpenů (citrusové aroma). Cheng et al. (2016) se podrobně zabývali metabolismem nejdůležitějších složek kávy v závislosti na genotypu a prostředí a prokázali, že obě tyto složky ovlivňují vývoj zrna a konečnou koncentraci metabolitů v kávových zrnech, zejména obsah kofeinu. Konkrétně autoři zdůraznili, že genotyp a prostředí, stejně jako jejich interakce, mohou ovlivnit celkovou kvalitu kávy.

## 7 Závěr

Na konečnou kvalitu kávového nápoje má vliv mnoho předsklizňových a posklizňových faktorů. Cílem této práce bylo zjistit, zda má metoda zpracování po sklizni vliv na obsahy specifických bioaktivních látek. Přestože jsou poznatky z vědecké literatury v této sféře stále omezené a je zřejmé, že u mnoha aspektů jsou znalosti fyziologie a chemie kávových zrn stále nedostatečné anebo neexistující, jsou náznaky, že metoda zpracování ovlivňuje chemické složení kávy.

Tato práce analyzovala chemické složení káv ze tří zemí (Etiopie, Guatemala, Honduras) a každá káva byla zpracována třemi metodami (suchá, polosuchá, promytá). Bylo zjištěno, že metoda zpracování má vliv na obsah kofeinu a fenolických látek. Největší hodnoty byly zjištěny u káv zpracovaných polosuchou a promytou metodou. Ukázalo se, že velký vliv na složení má pražení, při kterém se měnil obsah nejen fenolických látek, ale i kofeinu, u kterého se předpokládá relativní termostabilita.

Tato práce potvrdila, že chemické složení kávových zrn je velmi variabilní v závislosti na genetických vlastnostech a původu kávy. Je však třeba provést další studie, aby bylo možno korelovat a ustanovit vztahy v biochemickém složení mezi jednotlivými způsoby zpracování a kvalitou kávy.

## 8 Literatura

- Aerts R, Geeraert L, Berecha G, Hundera K, Muys B, De Kort H, Honnay O. 2017. Conserving wild Arabica coffee: Emerging threats and opportunities. *Agriculture, Ecosystems & Environment* **237**:75–79. Available from <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167880916306053> (accessed April 16, 2019).
- Akbar A, Medina A, Magan N. 2016. Efficacy of different caffeine concentrations on growth and ochratoxin A production by *Aspergillus* species. *Letters in Applied Microbiology* **63**:25–29. *Lett Appl Microbiol*. Available from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27203680/> (accessed March 30, 2022).
- Alnsour L, Issa R, Awwad S, Albals D, Al-Momani I. 2022. Quantification of Total Phenols and Antioxidants in Coffee Samples of Different Origins and Evaluation of the Effect of Degree of Roasting on Their Levels. *Molecules* **27**:1591. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. Available from <https://www.mdpi.com/1420-3049/27/5/1591/htm> (accessed April 7, 2022).
- Alonso-Salces RM, Serra F, Reniero F, HÉberger K. 2009. Botanical and Geographical Characterization of Green Coffee (*Coffea arabica* and *Coffea canephora*): Chemometric Evaluation of Phenolic and Methylxanthine Contents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **57**:4224–4235. Available from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19298065> (accessed March 25, 2019).
- Andueza S, Paz De Peña M, Cid C. 2003. Chemical and Sensorial Characteristics of Espresso Coffee As Affected by Grinding and Torrefacto Roast. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**:7034–7039. American Chemical Society . Available from <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf034628f> (accessed March 12, 2022).
- Angeloni S et al. 2021. Characterization of the Aroma Profile and Main Key Odorants of Espresso Coffee. *Molecules* 2021, Vol. 26, Page 3856 **26**:3856. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. Available from <https://www.mdpi.com/1420-3049/26/13/3856/htm> (accessed March 31, 2022).
- Ashihara H, Crozier A. 1999. Biosynthesis and Catabolism of Caffeine in Low-Caffeine-Containing Species of *Coffea*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **47**:3425–3431. American Chemical Society . Available from <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf981209n> (accessed March 10, 2022).
- Augustín J, Kašpárková Koišová K, Elbel O. 2016. U kávy o kávě a kávovinách. Available from [https://www.booktook.cz/p/u-kavy-o-kave-a-kavovinach/?gclid=EA1aIQobChMI1v\\_MhcWg4QIVzed3Ch0CpAbWEAAYAAEgLWDvD\\_BwE](https://www.booktook.cz/p/u-kavy-o-kave-a-kavovinach/?gclid=EA1aIQobChMI1v_MhcWg4QIVzed3Ch0CpAbWEAAYAAEgLWDvD_BwE) (accessed March 26, 2019).
- Avallone S, Brillouet JM, Guyot B, Olguin E, Guiraud JP. 2002. Involvement of pectolytic micro-organisms in coffee fermentation. *International Journal of Food Science and Technology* **37**:191–198.
- Barrios-Rodríguez YF, Rojas Reyes CA, Triana Campos JS, Girón-Hernández J, Rodríguez-Gamir J. 2021. Infrared spectroscopy coupled with chemometrics in coffee post-harvest processes as complement to the sensory analysis. *LWT* **145**:111304. Academic Press.
- Bastian F, Hutabarat OS, Dirpan A, Nainu F, Harapan H, Emran T Bin, Simal-Gandara J. 2021, November 17. From plantation to cup: Changes in bioactive compounds during coffee processing. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. Available

- from <https://www.mdpi.com/2304-8158/10/11/2827/htm> (accessed April 7, 2022).
- Beller D. 2001. The Bean Belt - How Coffee Works. Available from <https://science.howstuffworks.com/innovation/edible-innovations/coffee2.htm> (accessed April 16, 2019).
- Benassi M de T, Dias RCE. 2015. Assay of Kahweol and Cafestol in Coffee. Pages 993–1004 *Coffee in Health and Disease Prevention*. Academic Press.
- Bolka M, Emire S. 2020. Effects of coffee roasting technologies on cup quality and bioactive compounds of specialty coffee beans. *Food Science and Nutrition* **8**:6120–6130. Wiley-Blackwell. Available from </pmc/articles/PMC7684626/> (accessed March 21, 2022).
- Bressani APP, Martinez SJ, Evangelista SR, Dias DR, Schwan RF. 2018. Characteristics of fermented coffee inoculated with yeast starter cultures using different inoculation methods. *LWT - Food Science and Technology* **92**:212–219. Academic Press.
- Bytof G, Knopp SE, Schieberle P, Teutsch I, Selmar D. 2005. Influence of processing on the generation of  $\gamma$ -aminobutyric acid in green coffee beans. *European Food Research and Technology* **220**:245–250.
- Cheng B, Furtado A, Smyth HE, Henry RJ. 2016, November 1. Influence of genotype and environment on coffee quality. Elsevier.
- Clarke RJ, Vitzthum OG. 2008. Coffee: Recent Developments. *Coffee: Recent Developments*:1–257. wiley.
- Davis AP, Chester M, Maurin O, Fay MF. 2007. Searching for the relatives of *Coffea* (Rubiaceae, Ixoroideae): The circumscription and phylogeny of *Coffeae* based on plastid sequence data and morphology. *American Journal of Botany* **94**:313–329. *Am J Bot*. Available from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21636404/> (accessed June 24, 2021).
- Dawidowicz AL, Typek R. 2010. Thermal Stability of 5-o-Caffeoylquinic Acid in Aqueous Solutions at Different Heating Conditions. *J. Agric. Food Chem* **58**:12578–12584. Available from <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>.
- Dias RCE, de Faria-Machado AF, Mercadante AZ, Bragagnolo N, Benassi M de T. 2014. Roasting process affects the profile of diterpenes in coffee. *European Food Research and Technology* **239**:961–970. Springer Verlag. Available from <https://link.springer.com/article/10.1007/s00217-014-2293-x> (accessed March 18, 2022).
- Duarte GS, Pereira AA, Farah A. 2010. Chlorogenic acids and other relevant compounds in Brazilian coffees processed by semi-dry and wet post-harvesting methods. *Food Chemistry* **118**:851–855. Elsevier.
- Farah A. 2018. Coffee: Production, Quality and Chemistry. *Coffee: Production, Quality and Chemistry*:In press. Available from <https://books.google.com/books/about/Coffee.html?hl=cs&id=SRSEDwAAQBAJ> (accessed January 20, 2022).
- Farah A, De Paulis T, Moreira DP, Trugo LC, Martin PR. 2006a. Chlorogenic acids and lactones in regular and water-decaffeinated arabica coffees. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **54**:374–381.
- Farah A, Duarte G. 2015. Bioavailability and Metabolism of Chlorogenic Acids from Coffee. Pages 789–801 *Coffee in Health and Disease Prevention*. Academic Press.
- Farah A, Monteiro MC, Calado V, Franca AS, Trugo LC. 2006b. Correlation between cup quality and chemical attributes of Brazilian coffee. *Food Chemistry* **98**:373–380. Elsevier.
- Ferreira T, Shuler J, Guimarães R, Farah A. 2019. CHAPTER 1. Introduction to Coffee Plant and Genetics. Pages 1–25 *Coffee*. Royal Society of Chemistry. Available from



- <https://pubs.rsc.org/en/content/chapterhtml/2019/bk9781782622437-00001> (accessed June 26, 2021).
- Galanakis CM. 2017. Handbook of Coffee Processing By-Products: Sustainable Applications. Page Handbook of Coffee Processing By-Products: Sustainable Applications. Available from [https://books.google.cz/books?hl=cs&lr=&id=qfPtDQAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=Handbook+of+Coffee+Processing+By-Products&ots=Hyjle1BqkR&sig=SGmcXUhsXBy\\_u8XurKF77Zmtn0&redir\\_esc=y#v=onepage&q=Handbook of Coffee Processing By-Products&f=false](https://books.google.cz/books?hl=cs&lr=&id=qfPtDQAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=Handbook+of+Coffee+Processing+By-Products&ots=Hyjle1BqkR&sig=SGmcXUhsXBy_u8XurKF77Zmtn0&redir_esc=y#v=onepage&q=Handbook of Coffee Processing By-Products&f=false) (accessed August 10, 2021).
- Galeone C et al. 2010. Coffee and tea intake and risk of head and neck cancer: pooled analysis in the international head and neck cancer epidemiology consortium. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology* **19**:1723–1736. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* Available from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20570908/> (accessed February 22, 2022).
- Gant A, Leyva VE, Gonzalez AE, Maruenda H. 2015. Validated HPLC-Diode Array Detector Method for Simultaneous Evaluation of Six Quality Markers in Coffee. *Journal of AOAC International* **98**:98–102. *J AOAC Int.* Available from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25857885/> (accessed March 28, 2022).
- Geromel C, Ferreira LP, Guerreiro SMC, Cavalari AA, Pot D, Pereira LFP, Leroy T, Vieira LGE, Mazzafera P, Marraccini P. 2006. Biochemical and genomic analysis of sucrose metabolism during coffee (*Coffea arabica*) fruit development. *Journal of Experimental Botany* **57**:3243–3258.
- Gichimu BM, Gichuru EK, Mamati GE, Nyende AB. 2014. Biochemical Composition Within *Coffea arabica* cv. Ruiru 11 and Its Relationship With Cup Quality. *Journal of Food Research* **3**:p31. Canadian Center of Science and Education. Available from <https://ccsenet.org/journal/index.php/jfr/article/view/33909> (accessed February 22, 2022).
- Gonzalez-Rios O, Suarez-Quiroz ML, Boulanger R, Barel M, Guyot B, Guiraud JP, Schorr-Galindo S. 2007. Impact of “ecological” post-harvest processing on coffee aroma: II. Roasted coffee. *Journal of Food Composition and Analysis* **20**:297–307. Academic Press.
- Haile M, Kang WH. 2019. *The Role of Microbes in Coffee Fermentation and Their Impact on Coffee Quality.* Hindawi Limited.
- Hall RD, Trevisan F, de Vos RCH. 2022, January 1. Coffee berry and green bean chemistry – Opportunities for improving cup quality and crop circularity. Elsevier.
- Hečimović I, Belščak-Cvitanović A, Horžić D, Komes D. 2011. Comparative study of polyphenols and caffeine in different coffee varieties affected by the degree of roasting. *Food Chemistry* **129**:991–1000. *Food Chem.* Available from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25212328/> (accessed April 8, 2022).
- Henrique J, Taveira DS, Borém FM, Delyzette S, Da Rosa VF, Oliveira PD, Giomo GS, Isquierdo EP, Fortunato VA. 2015. Post-harvest effects on beverage quality and physiological performance of coffee beans. *African Journal of Agricultural Research* **10**:1457–1466. *Academic Journals.* Available from <https://academicjournals.org/journal/AJAR/article-abstract/2E6001E51866> (accessed February 28, 2022).
- Heperkan D. 2013. Microbiota of table olive fermentations and criteria of selection for their use as starters. *Frontiers in Microbiology* **4**:143. *Frontiers Research Foundation.*

- Huch M, Franz CMAP. 2015. Coffee: fermentation and microbiota. *Advances in Fermented Foods and Beverages: Improving Quality, Technologies and Health Benefits*:501–513. Woodhead Publishing.
- Illy A, Viani R. 2005. *Espresso coffee : the science of quality*. Elsevier Academic.
- Illy E. 2002. The Complexity of Coffee. *Scientific American* **286**:86. Available from <https://www-jstor-org.infozdroje.czu.cz/stable/26059726?Search=yes&resultItemClick=true&searchText=coffee+botany&searchUri=%2Faction%2FdoBasicSearch%3FQuery%3Dcoffee%2Bbotany%2B%26acc%3Don%26wc%3Don%26fc%3Doff%26group%3Dnone%26refreqid%3Dsearch%253A6877f6> (accessed June 26, 2021).
- Jansen GA. 2006. *Coffee roasting : magic, art, science : physical changes and chemical reactions*. ed. SV Corporate Media, Munich. Available from <https://www.worldcat.org/title/coffee-roasting-magic-art-science-physical-changes-and-chemical-reactions/oclc/180709739> (accessed April 3, 2019).
- Jeon JS, Kim HT, Jeong IH, Hong SR, Oh MS, Park KH, Shim JH, Abd El-Aty AM. 2017. Determination of chlorogenic acids and caffeine in homemade brewed coffee prepared under various conditions. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* **1064**:115–123. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. Available from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28918319/> (accessed April 8, 2022).
- Jeszka-Skowron M, Zgoła-Grześkowiak A, Grześkowiak T. 2015. Analytical methods applied for the characterization and the determination of bioactive compounds in coffee. *European Food Research and Technology* **240**:19–31. Springer Verlag.
- Joët T, Laffargue A, Descroix F, Doubeau S, Bertrand B, Kochko A de, Dussert S. 2010. Influence of environmental factors, wet processing and their interactions on the biochemical composition of green Arabica coffee beans. *Food Chemistry* **118**:693–701. Elsevier.
- Kadlec P. 2002. Káva a kávoviny. Page 218 *Technologie potravin II. Vysoká škola chemicko-technologická, Praha*. Available from <https://kramerius-vs.techlib.cz/uuid/uuid:1aecc10d-48fb-11e1-92b9-0050568253d9>.
- Khoddami A, Wilkes MA, Roberts TH. 2013, February. *Techniques for analysis of plant phenolic compounds*.
- Kitzberger CSG, Pot D, Marraccini P, Pereira LFP, Scholz MB dos S. 2020. Flavor precursors and sensory attributes of coffee submitted to different post-harvest processing. *AIMS Agriculture and Food* **5**:700–714. AIMS Press. Available from <http://www.aimspress.com/article/doi/10.3934/agrfood.2020.4.700> (accessed March 15, 2022).
- Król K, Gantner M, Tatarak A, Hallmann E. 2020. The content of polyphenols in coffee beans as roasting, origin and storage effect. *European Food Research and Technology* **246**:33–39. Springer. Available from <https://link.springer.com/article/10.1007/s00217-019-03388-9> (accessed April 6, 2022).
- Leitão AL. 2019. Occurrence of ochratoxin a in coffee: Threads and solutions—A mini-review. *Beverages* **5**:36. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. Available from <https://www.mdpi.com/2306-5710/5/2/36/htm> (accessed March 30, 2022).
- Lepper HA. 1962. Coffee: Botany, Cultivation, and Utilization. *Journal of AOAC INTERNATIONAL* **45**:198–198. Available from <https://digitalcollections.qut.edu.au/1656/1/Coffee.pdf> (accessed March 26, 2019).
- M.R.N. Alcantara G, Dresch D, R. Melchert W. 2021. Use of non-volatile compounds for the classification of specialty and traditional Brazilian coffees using principal

- component analysis. *Food Chemistry* **360**:130088. Elsevier.
- MacDonald-Wicks LK, Wood LG, Garg ML. 2006. Methodology for the determination of biological antioxidant capacity in vitro: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **86**:2046–2056. John Wiley & Sons, Ltd. Available from <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jsfa.2603> (accessed April 10, 2022).
- Mehari B, Chandravanshi BS, Redi-Abshiro M, Combrinck S, McCrindle R, Atlabachew M. 2021. Polyphenol contents of green coffee beans from different regions of Ethiopia. *International Journal of Food Properties* **24**:17–27. Taylor & Francis. Available from <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10942912.2020.1858866> (accessed April 9, 2022).
- Mehari B, Redi-Abshiro M, Chandravanshi BS, Atlabachew M, Combrinck S, McCrindle R. 2016. Simultaneous Determination of Alkaloids in Green Coffee Beans from Ethiopia: Chemometric Evaluation of Geographical Origin. *Food Analytical Methods* **9**:1627–1637. Springer New York LLC. Available from <https://link.springer.com/article/10.1007/s12161-015-0340-2> (accessed February 22, 2022).
- Mencarelli F, Bellincontro A. 2020. Recent advances in postharvest technology of the wine grape to improve the wine aroma. *Journal of the science of food and agriculture* **100**:5046–5055. *J Sci Food Agric*. Available from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29369355/> (accessed March 6, 2022).
- Méndez-Lagunas L, Rodríguez-Ramírez J, Cruz-Gracida M, Sandoval-Torres S, Barriada-Bernal G. 2017. Convective drying kinetics of strawberry (*Fragaria ananassa*): Effects on antioxidant activity, anthocyanins and total phenolic content. *Food Chemistry* **230**:174–181. Elsevier.
- Moon JK, Hyui Yoo SUN, Shibamoto T. 2009. Role of roasting conditions in the level of chlorogenic acid content in coffee beans: correlation with coffee acidity. *Journal of agricultural and food chemistry* **57**:5365–5369. *J Agric Food Chem*. Available from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19530715/> (accessed February 17, 2022).
- Narita Y, Inouye K. 2013. Degradation kinetics of chlorogenic acid at various pH values and effects of ascorbic acid and epigallocatechin gallate on its stability under alkaline conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **61**:966–972.
- Nijssen LM, Visscher CA, Maarse H, Willemsens LC, Boelens MH. 1996. Volatile compounds in food : qualitative and quantitative data 7th ed. TNO-CIVO Food Analysis Institute, Zeist Netherlands.
- Nuhu AA. 2014a. Bioactive micronutrients in coffee: recent analytical approaches for characterization and quantification. *ISRN nutrition* **2014**:1–13. *ISRN Nutr*. Available from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24967266/> (accessed February 11, 2022).
- Nuhu AA. 2014b. Bioactive Micronutrients in Coffee: Recent Analytical Approaches for Characterization and Quantification. *ISRN Nutrition* **2014**:1–13. Hindawi Limited.
- Odžakovic B, Džinic N, Kukric Z, Grujic S. 2016. Effect of roasting degree on the antioxidant activity of different Arabica coffee quality classes. *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria* **15**:409–417. *Acta Sci Pol Technol Aliment*. Available from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28071018/> (accessed April 7, 2022).
- Oestreich-Janzen SH. 2019. Chemistry of Coffee. Page Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering. Elsevier. Available from <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780124095472027864> (accessed March 12, 2022).

- Pacetti D, Boselli E, Balzano M, Frega NG. 2012. Authentication of Italian Espresso coffee blends through the GC peak ratio between kahweol and 16-O-methylcafestol. *Food Chemistry* **135**:1569–1574. *Food Chem.* Available from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22953895/> (accessed March 19, 2022).
- Perdani CG, Pranowo D, Qonitatilah. 2019. Total phenols content of green coffee (*Coffea arabica* and *Coffea canephora*) in East Java. Page IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. Institute of Physics Publishing.
- Pereira GV de M, de Carvalho Neto DP, Medeiros ABP, Soccol VT, Neto E, Woiciechowski AL, Soccol CR. 2016. Potential of lactic acid bacteria to improve the fermentation and quality of coffee during on-farm processing. *International Journal of Food Science & Technology* **51**:1689–1695. John Wiley & Sons, Ltd. Available from <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/ijfs.13142> (accessed March 1, 2022).
- Pereira LL, Júnior DB, de Sousa LHBP, dos Santos Gomes W, Cardoso WS, Guarçoni RC, ten Caten CS. 2021. Relationship Between Coffee Processing and Fermentation. Pages 255–301 *Food Engineering Series*. Springer, Cham. Available from [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-54437-9\\_6](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-54437-9_6) (accessed March 6, 2022).
- Pereira LL, Moreira TR. 2021. Quality Determinants In Coffee Production. Page (Louzada Pereira L, Rizzo Moreira T, editors). Springer International Publishing, Cham. Available from <http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-54437-9> (accessed March 12, 2022).
- Pham VTT, Ismail T, Mishyna M, Appiah KS, Oikawa Y, Fujii Y. 2019. Caffeine: The Allelochemical Responsible for the Plant Growth Inhibitory Activity of Vietnamese Tea (*Camellia sinensis* L. Kuntze). *Agronomy* **9**:396. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. Available from <https://www.mdpi.com/2073-4395/9/7/396/htm> (accessed April 9, 2022).
- Pimpley V, Patil S, Srinivasan K, Desai N, Murthy PS. 2020. The chemistry of chlorogenic acid from green coffee and its role in attenuation of obesity and diabetes. *Preparative biochemistry & biotechnology* **50**:969–978. *Prep Biochem Biotechnol.* Available from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32633686/> (accessed February 17, 2022).
- Pohlan HAJ, Janssens MJJ. 2011. Encyclopedia of Life Support Systems ( EOLSS ) GROWTH AND PRODUCTION OF COFFEE. Available from [https://www.semanticscholar.org/paper/Encyclopedia-of-Life-Support-Systems-\(-EOLSS-\)-AND-Pohlan-Janssens/e8300d1440dfec0f5f846eec7f3f94428a1dc76](https://www.semanticscholar.org/paper/Encyclopedia-of-Life-Support-Systems-(-EOLSS-)-AND-Pohlan-Janssens/e8300d1440dfec0f5f846eec7f3f94428a1dc76) (accessed March 20, 2019).
- Poltronieri P, Rossi F. 2016. Challenges in Specialty Coffee Processing and Quality Assurance. *Challenges* **7**:19. Available from [www.mdpi.com/journal/challenges](http://www.mdpi.com/journal/challenges).
- Preedy VR, Abramovic H. 2015. *Coffee in health and disease prevention*, 1st edition. Academic Press, London, England.
- Ribeiro FC, Borém FM, Giomo GS, De Lima RR, Malta MR, Figueiredo LP. 2011. Storage of green coffee in hermetic packaging injected with CO<sub>2</sub>. *Journal of Stored Products Research* **47**:341–348. Pergamon.
- Risticvic S, Carasek E, Pawliszyn J. 2008. Headspace solid-phase microextraction-gas chromatographic-time-of-flight mass spectrometric methodology for geographical origin verification of coffee. *Analytica Chimica Acta* **617**:72–84. Elsevier.
- Rojas J. 2009. Green coffee storage. *Coffee: growing, processing, sustainable production. A guidebook for growers, processors, traders and researchers*:741–758. Wiley-VCH. Available from <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20113026434> (accessed

- March 30, 2019).
- Schwan RF. 2000. Cocoa and coffee fermentations. Page Encyclopedia of Food Microbiology.
- Selmar D, Bytof G, Knopp SE. 2008. The storage of green coffee (*Coffea arabica*): Decrease of viability and changes of potential aroma precursors. *Annals of Botany* **101**:31–38. Available from <https://academic.oup.com/aob/article-lookup/doi/10.1093/aob/mcm277> (accessed March 30, 2019).
- Severini C, Derossi A, Ricci I, Fiore AG, Caporizzi R. 2017. How Much Caffeine in Coffee Cup? Effects of Processing Operations, Extraction Methods and Variables. Page The Question of Caffeine. IntechOpen. Available from <https://www.intechopen.com/chapters/55623> (accessed March 10, 2022).
- Shin HK. 2019. Analysis of Antioxidant Components in Coffee Making Process Using Washed Coffee and Natural Coffee. *The Korean Journal of Food And Nutrition* **32**:312–320. The Korean Society of Food and Nutrition. Available from <https://doi.org/10.9799/ksfan.2019.32.4.312> (accessed April 8, 2022).
- Silva CF, Schwan RF, Sousa Dias E, Wheals AE. 2000. Microbial diversity during maturation and natural processing of coffee cherries of *Coffea arabica* in Brazil. Pages 251–260 *International Journal of Food Microbiology*. *Int J Food Microbiol*. Available from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11016614/> (accessed August 10, 2021).
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology* **299**:152–178. Academic Press.
- Sinnott K. 2010. *The art and craft of coffee : an enthusiast's guide to selecting, roasting, and brewing exquisite coffee*. Quarry Books.
- Specialty Coffee Association. 2017. What is Specialty Coffee? — Specialty Coffee Association. Available from <https://sca.coffee/research/what-is-specialty-coffee> (accessed March 28, 2022).
- Spiller GA. 2019. *Caffeine* 1st editio. CRC Press LLC.
- Stalmach A, Mullen W, Nagai C, Crozier A. 2006. On-line HPLC analysis of the antioxidant activity of phenolic compounds in brewed, paper-filtered coffee. *Brazilian Journal of Plant Physiology* **18**:253–262.
- Stratil P, Kubáň V, Fojtová J. 2008. Comparison of the phenolic content and total antioxidant activity in wines as determined by spectrophotometric methods. *Czech Journal of Food Sciences* **26**:242–253. Institute of Agricultural and Food Information.
- Studer-Rohr I, Dietrich DR, Schlatter J, Schlatter C. 1995. The occurrence of ochratoxin A in coffee. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association* **33**:341–355. *Food Chem Toxicol*. Available from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7759018/> (accessed April 1, 2022).
- Sualeh A, Mohammed A, Endris S. 2014. Processing method, variety and roasting duration effect on physical quality attributes of roasted Arabica coffee beans. *Sky Journal of Agricultural Research* **3**:82–088. Available from [https://www.researchgate.net/publication/341787150\\_Processing\\_method\\_variety\\_and\\_roasting\\_duration\\_effect\\_on\\_physical\\_quality\\_attributes\\_of\\_roasted\\_Arabica\\_coffee\\_beans/citations](https://www.researchgate.net/publication/341787150_Processing_method_variety_and_roasting_duration_effect_on_physical_quality_attributes_of_roasted_Arabica_coffee_beans/citations) (accessed April 8, 2022).
- Sunarharum WB, Williams DJ, Smyth HE. 2014a, August. Complexity of coffee flavor: A compositional and sensory perspective. Available from <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996914001409> (accessed April 16,

- 2019).
- Sunarharum WB, Williams DJ, Smyth HE. 2014b. Complexity of coffee flavor: A compositional and sensory perspective. *Food Research International* **62**:315–325. Elsevier.
- Teketay D. 1999. History, botany and ecological requirements of coffee. *Walia* **20**:28–50. Available from [https://www.researchgate.net/profile/Demel\\_Teketay/publication/284331870\\_History\\_botany\\_and\\_ecological\\_requirements\\_of\\_coffee/links/56952f6e08ae820ff074a64e.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Demel_Teketay/publication/284331870_History_botany_and_ecological_requirements_of_coffee/links/56952f6e08ae820ff074a64e.pdf) (accessed March 26, 2019).
- Tesniere C, Flanzky C. 2011. Carbonic Maceration Wines: Characteristics and Winemaking Process. *Advances in Food and Nutrition Research* **63**:1–15. Academic Press.
- Tfouni SAV, Serrate CS, Carreiro LB, Camargo MCR, Teles CRA, Cipolli KMVAB, Furlani RPZ. 2012. Effect of roasting on chlorogenic acids, caffeine and polycyclic aromatic hydrocarbons levels in two *Coffea* cultivars: *Coffea arabica* cv. Catuaí Amarelo IAC-62 and *Coffea canephora* cv. Apoatã IAC-2258. *International Journal of Food Science and Technology* **47**:406–415. John Wiley & Sons, Ltd. Available from <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-2621.2011.02854.x> (accessed April 8, 2022).
- Tomaszewski M, Burdan F, Olchowik G, Tomaszewska M. 2015. The effects of caffeine administered at different temperatures on foetal development. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* **23**:148–152. Available from <http://23.indexcopernicus.com/abstracted.php?level=5&ICID=1196871> (accessed April 3, 2019).
- Tripetch P, Borompichaichartkul C. 2019. Effect of packaging materials and storage time on changes of colour, phenolic content, chlorogenic acid and antioxidant activity in arabica green coffee beans (*Coffea arabica* L. cv. Catimor). *Journal of Stored Products Research* **84**:101510. Pergamon.
- Uman E et al. 2016. The effect of bean origin and temperature on grinding roasted coffee. *Scientific Reports* 2016 6:1 **6**:1–8. Nature Publishing Group. Available from <https://www.nature.com/articles/srep24483> (accessed January 11, 2022).
- Vaast P, Bertrand B, Perriot J-J, Guyot B, Enard MG´. 2006. Fruit thinning and shade improve bean characteristics and beverage quality of coffee (*Coffea arabica* L.) under optimal conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture J Sci Food Agric* **86**:197–204.
- Valíček P. 2002. Užitékové rostliny tropů a subtropů. Academia. Available from <https://www.cbdb.cz/kniha-95484-uzitkove-rostliny-tropu-a-subtropu-uzitkove-rostliny-tropu-a-subtropu> (accessed March 26, 2019).
- Velíšek J, Hajšlová J. 2009. Chemie potravin. OSSIS. Available from <http://ossis.cz/obchod/knihy/27-jan-velisek-a-jana-hajslova-chemie-potravin-ii.html> (accessed April 3, 2019).
- Vinícius de Melo Pereira G, Soccol VT, Brar SK, Neto E, Soccol CR. 2017. Microbial ecology and starter culture technology in coffee processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **57**:2775–2788. Taylor and Francis Inc.
- Vitzthum OG, Werkhoff P. 1976. Steam volatile aroma constituents of roasted coffee: neutral fraction. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung* **160**:277–291. *Z Lebensm Unters Forsch*. Available from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/983337/> (accessed February 10, 2022).
- Wintgens JN. 2004. Coffee : growing, processing, sustainable production : a guidebook for growers, processors, traders and researchers. Wiley-VCH.

- Wintgens JN. 2008. Coffee: Growing, Processing, Sustainable Production: A Guidebook for Growers, Processors, Traders, and Researchers. Page Coffee: Growing, Processing, Sustainable Production: A Guidebook for Growers, Processors, Traders, and Researchers.
- Yashin A, Yashin Y, Xia X, Nemzer B. 2017. Chromatographic Methods for Coffee Analysis: A Review. *Journal of Food Research* **6**:60. Canadian Center of Science and Education.
- Yener S, Romano A, Cappellin L, Granitto PM, Aprea E, Navarini L, Märk TD, Gasperi F, Biasioli F. 2015. Tracing coffee origin by direct injection headspace analysis with PTR/SRI-MS. *Food Research International* **69**:235–243. Elsevier.
- Yeretzian C, Opitz S, Smrke S, Wellinger M. 2019. Coffee Volatile and Aroma Compounds – From the Green Bean to the Cup. Pages 726–770 *Coffee*. Royal Society of Chemistry.
- Zhu M, Long Y, Ma Y, Chen Y, Yu Q, Xie J, Li B, Tian J. 2021. Comparison of chemical and fatty acid composition of green coffee bean (*Coffea arabica* L.) from different geographical origins. *LWT* **140**:110802. Academic Press.