



A kép illusztráció / The picture is illustration

Kávé vízoldható összes polifenoltartalmának és antioxidáns hatásának változása a pörkölési hőmérséklet függvényében

1. Összefoglalás

Munkánk során brazíliai arabica és ugandai robusta kávéfajtákat hasonlítottunk össze a vízoldható polifenoltartalom, a vasredukáló képesség mérésén alapuló antioxidáns hatás szerint. Mivel a másodlagos feldolgozó folyamatok közül a pörkölés van legnagyobb hatással a kávé fizikai és kémiai tulajdonságaira, a méréseket a pörkölés intenzitásának függvényében végeztük el, és kiterjesztettük a tömegcsökkenés és a térfogatnövekedés mértékének megállapítására is. Vizsgálataink során a pörkölés idejét állandó értéken tartottuk, csak a pörkölés második szakaszának hőmérsékletét változtattuk.

Eredményeink alátámasztották azt a tényt, hogy növekvő pörkölési hőmérsékleten a kávészemek térfogata növekvő mértékben nő, míg tömegük fokozatosan csökken. A két fajta között a növekedés illetve a csökkenés mértékében tapasztaltunk eltérést.

A kémiai vizsgálatok során méréseink mérési eredményeink összhangban voltak az irodalmi adatokkal, miszerint a robusta kávé fenolos komponens tartalma nagyobb az arabica kávéénál kávéban mérhetőnél. Az összes vízoldható fenolos komponens tartalom mindkét kávéban jelentősen csökkent a pörkölés hatására. Vizsgáltuk ezen kívül a kávék antioxidáns aktivitását is. E méréseink során azt tapasztaltuk, hogy a két fajta zöldkávéja közel ugyanakkora FRAP- értékkel rendelkezik. Az arabica és a robusta között azonban a pörkölés erősségének függvényében az antioxidáns kapacitás értékeiben és alakulásában is eltérés mutatkozott. Mindkét kávé esetében megállapítottuk, hogy a közepes pörkölés esetén tapasztalható a legnagyobb antioxidáns hatás, ami robusta esetén 198 °C-os, arabica esetén pedig 180 °C illetve 192 °C-os pörkölésnél volt a maximális.

A mérések eredményeként elmondható, hogy a közepesen pörkölt kávék rendelkeznek nagyobb antioxidáns aktivitással a magasabb hőmérsékleten pörkölt mintákkal szemben.

2. Bevezetés

A kávé összetétele rendkívül komplex. Az alkotóanyagok arányát meghatározza a kávé fajtája és változata, továbbá az alkalmazott mezőgazdasági eljárások, a termés érettsége és a zöld kávé tárolási körülményei. A zöld kávé ipari feldolgozása során alkalmazott eljárások, valamint a kávéital elkészítésének módszere

is módosíthatja az összetevők koncentrációját. Biológiai aktivitás szempontjából – a koffein mellett – a fenolos vegyületek számítanak jelentősnek.

A kávé magjában előforduló fenolos komponensek főként a hidroxifahéjsav és a kinasav észtereknek formájában vannak jelen, ezeket együttesen klorogénsavaknak nevezzük. Antioxidáns tulajdonságuk-

¹ Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszertudományi Kar Gabona- és Iparinövény Technológiai Tanszék

¹ *Corvinus University of Budapest, Faculty of Food Science, Department of Grain and Industrial Plant Processing*

nak köszönhetően számos jótékony hatásuk ismert az ember egészségére, vírusellenes, vércukorszint csökkentő és májvédő hatással is rendelkeznek [3], [7]. A kávébabok fenolos frakciójának fő alkotórészei a klorogénsavak. A klorogénsavak csoportja több különböző vegyületcsoportot és azok izomerjeit foglalja magába, amelyek egy molekula kinasav és egy-három molekula specifikus transz-hidroxi-fahéjsav észterei. A hidroxifahéjsavak transz-fenil-3-propénsavak, különböző funkciós csoportokkal az aromás gyűrűn. A kávéban legnagyobb mennyiségben előforduló közülük a kávésav (3,4-dihidroxi-fahéjsav, CA), majd a ferulsav (3-metoxi-4-hidroxi-fahéjsav, FA), és a p-kumarinsav (4-hidroxi-fahéjsav, pCoA) [5], [8]. A pörkölés során a klorogénsavtartalom megváltozik, átalakul a kávészemekben. A kávé pörkölése során a szín, íz és aroma kialakításában vesznek részt a klorogénsavak. Intenzív pörkölés hatására hő-instabilitásuk következtében szinte teljes mértékben lebomlanak. A pörkölés során a klorogénsavak izomerizálódnak, kinolaktionokká alakulnak a dehidratáció és egy intramolekuláris kötés kialakulása következtében, valamint hidrolizálódnak, és lebomlanak kis molekula tömegű összetevőkké [4]. A klorogénsavak részt vesznek nagyobb polimerizációs fokú vegyületek képződésében, mint például a melanoidin. Erős pörkölés hatására minden 1% szárazanyag veszteséggel 8-10%-os klorogénsav csökkenés mutatható ki [5].

Az antioxidáns hatású anyagok a levegő oxigénjének hatására könnyen oxidálódnak, így más, az emberi szervezetben igen fontos szerepet betöltő értékes biomolekulákat megvédenek az oxidációtól és a szabad gyökök káros hatásától. Az antioxidánsok úgy lépnek reakcióba a szabad gyökökkel, hogy azokat elektron átadás útján redukálva megszüntetik, tulajdonképpen „gyökfogó” vegyületek. A fenolos komponenseken, a Maillard-reakció (nem enzimátikus barnulási reakció) és a karamellizáció termékein kívül kisebb molekulák is hozzájárulnak az antioxidáns hatáshoz, például a koffein is. Más vegyületek a pörkölés során keletkeznek, egyrészt a Maillard-reakció köztes termékeiként, másrészt mint polimerizált fenolos komponensek, pl. kondenzált tanninok, melyek szintén hatékony antioxidánsok [10]. A kávé ital antioxidáns aktivitását a pörkölési folyamat erőteljesen

befolyásolja. Míg a kávéban természetes módon előforduló fenolos antioxidánsok (főként a klorogénsavak) mennyisége csökken a pörkölés során, az antioxidánstartalom nem csökken, sőt esetleg nőhet is. Ez olyan vegyületek keletkezésének köszönhető, amelyek antioxidáns hatásúak, főként a Maillard-reakció termékeinek. Ezen vegyületek vizsgálatakor kiderült, hogy antioxidáns tulajdonságokkal rendelkeznek [2], [9].

3. Anyagok és módszerek

3.1. Felhasznált anyagok

A méréseinkhez kétféle, eltérő földrajzi eredetű zöld kávé használtunk. Az egyik braziliai *Coffea arabica*, a másik pedig ugandai *Coffea canephora* var. *robusta* volt. A két kávé tiszta állapotban vizsgáltuk, keveréket nem képeztünk belőlük. Munkánk során a braziliai *arabica* mintákat A-val, az ugandai *robustát* pedig R-rel jelöltük. A zöld kávé mintákból 100-100 grammot pörköltünk különböző hőmérsékleteken. A pörkölést háztartási pörkölő berendezéssel (i-Roast, No. 40211) végeztük, amely a pörkölési szakaszonként beállítható, általunk meghatározott hőmérsékletre melegített, forró levegővel a bemért zöld kávé folyamatos keverés közben pörkölte meg. A pörkölési idő minden minta esetében összesen 6 perc volt, ebből 2 perces 160 °C-on történő előmelegítési szakasszal. Ezt követte egy 4 perces pörkölési szakasz. Az itt alkalmazott hőmérsékletek a következők voltak: 180 °C, 186 °C, 192 °C, 198 °C, 204 °C, 210 °C és 216 °C. A minták jelölését az **1. táblázat** tartalmazza.

A pörkölés vége után négy perces, hideg levegővel történő hűtési szakasz következett minden minta esetében. A pörköletlen zöldkávé mintát ZA (braziliai *arabica*) és ZR (ugandai *robusta*) jelölést kaptak. Pörkölés előtt és után a fizikai vizsgálatokat végeztünk el. Az analitikai vizsgálatok előtt a pörkölt kávé megfelelően feliratozott, jól zárható műanyag tasakokban szobahőmérsékleten, nedvességtől elzárva tároltuk. A kémiai paraméterek (összes fenoltartalom és antioxidánstartalom) mérése előtt a pörkölt kávémintákat háztartási kávédarálóval őröltük meg. A zöld kávé mintákat kemény, szívós szerkezetük miatt laboratóriumi gabonaőrölő berendezéssel készítettük elő.

1. táblázat: A kávéminták jelölése

Table 1: Designation of the coffee samples

Pörkölési fokozat a pörkölés második szakasza alapján <i>Temperature of the second roasting stage</i>	Mintaazonosító / <i>Sample ID</i>	
	Brazíliai arabica <i>Brazilian arabica</i>	Ugandai robusta <i>Ugandan robusta</i>
180 °C	A1	R1
186 °C	A2	R2
192 °C	A3	R3
198 °C	A4	R4
204 °C	A5	R5
210 °C	A6	R6
216 °C	A7	R7

Changes in the total water-soluble polyphenol content and antioxidant effect of coffee as a function of the roasting temperature

Anita Imre¹, László Somogyi¹, Anita Soós¹,
Katalin Szántainé Kóhegyi¹

1. Summary

In our work, Brazilian arabica and Ugandan robusta coffee varieties were compared in terms of water-soluble polyphenol content and antioxidant effect, as measured by ferric reducing ability. Because, of secondary processing procedures, roasting has the greatest impact on the physical and chemical properties of coffee, measurements were performed as a function of roasting intensity, and they were also extended to determine the degree of weight loss and volume growth. In our study, roasting time was kept constant, only the temperature of the second stage of roasting was varied.

Our results confirmed the fact that, at increasing roasting temperatures, the volume of coffee beans increases to a larger extent, while their weight gradually decreases. There were differences observed between the two varieties regarding the degree of increase and decrease.

Results of our chemical analyses were consistent with literature data, according to which the content of phenolic components of robusta coffee is higher than what can be measured in arabica coffee. The total water-soluble phenolic component content was significantly reduced in both varieties as a result of roasting. The antioxidant activity of the coffees was also investigated. During these measurements we found that green beans of the two varieties have nearly identical FRAP values. However, there have been differences between the values of antioxidant capacity and changes in them for arabica and robusta, as a function of roasting intensity. We found for both coffees that the greatest antioxidant effect was experienced in the case of medium roasting, and it had a maximum at 198 °C for robusta, and at 180 °C and 192 °C for arabica.

As a result of our measurements it can be stated that medium-roasted coffees have higher antioxidant activities, as opposed to samples roasted at higher temperatures.

2. Introduction

The composition of coffee is extremely complex. The ratio of components is determined by the type and variety of the coffee, and also by the agricultural procedures used, crop maturity and the storage conditions of green coffee. Concentrations of the ingredients can also be modified by the procedures applied during the industrial processing of green coffee, as well as the method used for preparing the coffee drink. In terms of biological activity – in addition to caffeine – phenolic compounds are considered significant.

Phenolic components that occur in coffee seeds are primarily present as esters of hydroxycinnamic acid and quinic acid, collectively called chlorogenic acids. Thanks to their antioxidant properties, many beneficial health effects in humans are known, they have antiviral, blood sugar lowering and hepatoprotective effects [3], [7]. The

main components of the phenolic fraction of coffee beans are chlorogenic acids. The group of chlorogenic acids includes several different compound groups and their isomers, which are esters of one molecule of quinic acid and one to three specific trans-hydroxycinnamic acids. Hydroxycinnamic acids are trans-phenyl-3-propenoic acids, with various functional groups on the aromatic ring. The one that occurs in the largest amount in coffee is caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid, CA), followed by ferulic acid (3-methoxy-4-hydroxycinnamic acid, FA) and p-coumaric acid (4-hydroxycinnamic acid, pCoA) [5], [8]. During roasting, the chlorogenic acid content of the coffee beans is altered, transformed. When roasting coffee, chlorogenic acids participate in the development of color, flavor and aroma. Due to their thermal instability, they are almost completely decomposed when exposed to intensive roasting. During roasting, chlorogenic acids isomerize and turn into quinolactones through dehydration and formation of an intramolecular bond, and they also hydrolyze and decompose to low molecular weight components [4]. Chlorogenic acids also participate in the formation of compounds with a higher degree of polymerization, such as melanoidins. As a result of strong roasting, each percent of loss in dry weight is accompanied by a chlorogenic acid loss of 8 to 10% [5].

Substances with antioxidant properties are easily oxidized when coming into contact with atmospheric oxygen, so they can protect other valuable biomolecules, which play very important roles in the human body, from oxidation and the harmful effects of free radicals. Antioxidants react with free radicals so that they are eliminated by reduction via electron transfer, so they are basically „scavenger” compounds. In addition to phenolic components and products of the Maillard reaction (a non-enzymatic browning reaction) and caramelization, small molecules, such as caffeine, also contribute to the antioxidant effect. Other compounds are produced during roasting, either as intermediates of the Maillard reaction or as polymerized phenolic components, such as condensed tannins, which are also effective antioxidants [10]. The antioxidant activity of the coffee drink is strongly influenced by the roasting process. While the amount of phenolic antioxidants naturally occurring in coffee (mainly chlorogenic acids) is reduced during roasting, the total antioxidant content does not decrease, it might even increase. This is due to the formation of compounds possessing antioxidant effects, mainly the products of the Maillard reaction. When investigating these compounds it was found that they have antioxidant properties [2], [9].

3. Materials and methods

3.1. Materials used

Two types of green coffee of different geographical origin were used in our experiments. One was a Brazilian *Coffea arabica*, and the other was a Ugandan *Coffea canephora* var. *robusta*. The two coffees were analyzed in their pure forms, no mixtures were prepared from them. In our work, Brazilian arabica samples were designated with an A, while Ugandan robusta was designated with an R. 100 gram batches of green coffee were roasted at different temperatures. Roasting was performed with a household roaster (i-Roast, No. 40211), which roasted the measured amount of green coffee with constant stirring and using hot air heated to predetermined temperatures that could be set separately for the different roasting stages. The total roasting time for each sample was 6 minutes, including

3.2. Mérési módszerek

3.2.1. Tömegmérés

A pörkölések előtt 100,00 gramm zöld kávé mértünk ki két tizedes jegy pontossággal digitális mérlegen (AND electronic balance, EA-2000). A tömegvesztés meghatározásához pörkölés után a már kihűlt kávébabok tömegét ismét megmértük és feljegyeztük. A tömegvesztésüket a kiindulási tömeg százalékában adtuk meg a bemért és a pörkölés után mért tömeg különbsége alapján.

3.2.2. Térfogatmérés

A térfogat-növekedés meghatározásához a kávémin-ták térfogatát pörkölés előtt és után is megmértük. Ez a mérés csak közelítő adatokat ad. A térfogat méréséhez 500 cm³-es mérőhengert (DURAN) használtunk. A térfogat leolvasása előtt minden mintát ötször rázással tömörítettük, hogy a felszín minél egyenle- sebb legyen, ezután olvastuk le a babok térfogatát. A térfogatnövekedést a pörkölés után és előtt mért térfogatértékek különbsége alapján a kiindulási térfogat százalékában adtuk meg.

3.2.3. Extraktum készítés

Minden kávémintából vizes extraktumot készítettünk az összes fenoltartalom és az antioxidáns aktivitás méréséhez. A két zöld kávé őrleményből és minden pörkölt mintából két párhuzamos extraktumot készítettünk. Ehhez analitikai mérlegen (Boeco Germany) négy tizedes jegy pontossággal 150 mg (0,1500 g) őrlött kávémintát mértünk be a minta homogenizálása után egy üveg pohárba. Ebből egy kis mozsárba öntöttük át a kimért mintát, ügyelve, hogy a veszteség mennyisége minél kisebb legyen. Ezután a kávémin-tát egy spatula kvarchomokkal két percig szárazon dörzsöltük. A száraz dörzsölés után a mozsár tartal-mához 1500 µl desztillált vizet adtunk és öt percig dörzsöltük a mintát. Ilyen módon 100 mg kávé/ml desztillált víz koncentrációjú oldatot készítettünk. A dörzsölés után a mozsár tartalmát minél kisebb veszteséggel egy Eppendorf-csőbe öntöttük át, majd ezt jól lezárva tizenöt percen keresztül öt másik ekstrak-tummal együtt centrifugáltuk (Hermle Z100M centri-fuga). A centrifugálási idő letelte után a felülúszókat óvatosan tiszta Eppendorf-csővekbe öntöttük át, ezeket megfelelően feliratoztuk. A párhuzamos ext-raktumok jelölésénél római számokat alkalmaztunk (I és II). Viszonylag nagy mintaszámmal dolgoztunk, ezért az extraktumokat előre elkészítettük, és a vizsgálatok elvégzéséig fagyaszttva tároltuk, a vegyületek minél jobb megőrzése érdekében.

3.2.4. Vízoldható összes fenoltartalom mérése

A mérést Singleton és Rossi (1965) [11] módszere alapján végeztük. A vizsgálat során a Folin-Ciocalteu reagenst alkotó wolfram és molibdén oxidok a fenolos komponensek hatására redukálódnak. A keletkező ve-

gyületek kék színűek, amelyek abszorpció maximuma 760 nm-en van. Az ezen a hullámhosszon mért abszor-bancia érték arányos a minta összes fenoltartalmával.

Méréseinket a kalibrációs egyenes felvételével kezd-tük. Ezután az egy mintához tartozó két kiolvaszott extraktumból egy-egy hígítást készítettünk Eppen-dorf-csővekbe (zöld kávé esetében 50-szerest, pör-költ kávé esetén 10-szerest). Egy hígításból két párhuzamos mérést végeztünk, így végül egy kávémin-tához négy abszorbancia értéket mértünk. A mérés menete: egy tiszta kémcsőbe 1250 µl Folin-Ciocal-teu oldatot mértünk ki, automata pipetta segítségével. Hozzámértünk zöld kávé esetén 150 µl, pörkölt kávé esetén 200 µl hígítószeret. Ezután az extraktum megfelelő hígításából 100 illetve 50 µl-t mértünk be. A hígítószernek és a mintának együttesen 250 µl-nek kell lennie. A minta bemérése után pontosan egy perccel 1000 µl nátrium-karbonát oldatot adtunk a kémcső tartalmához. Ezt követően a kémcsöveket öt percre 50 °C-ra beállított digitális száraz termosztátba helyeztük (Labnet D1100 Accublock Digital Dry Bath). Az inkubálási idő letelte után a kémcsö-vek tartalmát óvatosan tiszta kuvettákba töltöttük át, majd a látható fény 760 nm-es hullámhosszán az ab-szorbanciát spektrofotométerrel (Spektromom 195D, MOM Budapest) megmértük. Az abszorbancia érté-kekből minden mintára átlagot számoltunk, majd az összes fenoltartalmat a kalibrációs egyenesről gal-luszsav-egyenértékben olvastuk le.

3.2.6. Antioxidáns aktivitás mérése

A mérést Benzie és Strain [1] módszere alapján vé-geztük. A vizsgálataink során csak az extraktum készítéskor desztillált vízzel kivont, antioxidáns ha-tással rendelkező vegyületek FRAP-értékét tudtuk megmérni. Ezt a módszert eredetileg a vérplazma antioxidáns kapacitásának mérésére dolgozták ki (FRAP: ferric reducing ability of plasma vagyis a plaz-ma vasredukáló képessége). Alacsony pH mellett a vas(III)-tripiridiltriazin komplex vas(II)-tripiridil-triazin komplexszé redukálódik az antioxidáns aktivitású vegyületek hatására. Az e folyamat során keletkező Fe(II)-TPTZ intenzív kék színű, amely abszorpció maximuma 593 nm-nél van. A reakció sebessége függ a jelenlévő antioxidáns hatású anyagok kon-centrációjától. Minden mérés során a reakcióelegy és a minta összemérése után 5 perccel olvastuk le az abszorbancia értéket. Általában ekkor már a ma-ximális abszorbancia érték több mint 85%-át elérte az elegy. A minta FRAP-értékét úgy kaptuk, hogy a mért abszorbancia értéket összehasonlítottuk olyan reakcióelegyével (aszorbinsav-oldat) amelynek is-mert volt a koncentrációja.

A mérések előtt itt is elkészítettük a kalibrációs egye- nest. Egy extraktumból egy hígítást készítettünk, egy hígításból azonban két párhuzamos mérést végez-tünk, így ebben az esetben is egy kávémintához négy abszorbancia értéket mértünk.

a two-minute preheating stage at 160 °C. This was followed by a four-minute roasting stage. The temperatures applied were as follows: 180 °C, 186 °C, 192 °C, 198 °C, 204 °C, 210 °C and 216 °C. Sample IDs are listed in **Table 1**.

At the end of the roasting, a four-minute cooling period followed for all samples, using cold air. Unroasted green coffee samples were designated ZA (Brazilian arabica) and ZR (Ugandan robusta). Physical tests were performed before and after roasting. Before the analyses, roasted coffee samples were kept at room temperature, away from moisture, in properly labeled, tightly sealable plastic bags. Before the determination of chemical parameters (total phenol content and antioxidant content), roasted coffee samples were ground using a household coffee grinder. Sample preparation on green coffee samples was performed using a laboratory mill, because of their hard, tough structure.

3.2. Measurement methods

3.2.1. Weight measurement

Before roasting, 100.00 grams of green coffee was weighed to two decimal places on a digital scale (AND electronic balance, EA-2000). To determine weight loss, the weight of the cooled coffee beans was measured again and recorded after roasting. Weight loss was given as a percentage of the initial weight, based on the difference between the measured weights before and after roasting.

3.2.2. Volume measurement

To determine the increase in volume, the volume of the coffee samples was measured before and after roasting. Only approximate results are obtained by this measurement. For volume determination, a 500cc graduated cylinder (DURAN) was used. Before taking a volume reading, each sample was compacted by shaking five times, in order for the surface to be as smooth as possible, and then the volume of the beans was recorded. Volume increase was given as a percentage of the initial volume, based on the difference between the measured volume values before and after roasting.

3.2.3. Extract preparation

An aqueous extract was prepared from each coffee sample for the measurement of total phenol content and antioxidant activity. Extracts were prepared in duplicate from the two ground green coffees and from each roasted sample. For this, 150 mg (0.1500 g) of ground coffee sample was measured to four decimal places on an analytical balance (Boeco Germany) into a glass beaker, after homogenization of the sample. The measured sample was transferred to a small mortar, taking care to minimize loss. Then the coffee sample was ground dry with a spatula of quartz sand for two minutes. After the dry grinding, 1500 µl of distilled water was added to the content of the mortar, and the sample was ground for five minutes. This way, an extract with a solid to liquid ratio of 100 mg coffee/ml of distilled water was prepared. After grinding, the content of the mortar was poured into an Eppendorf tube, once again taking care to minimize loss, it was tightly sealed, and then it was centrifuged, together with five other extracts, for fifteen minutes (Hermle Z100M centrifuge). After centrifugation, supernatants were transferred into clean Eppendorf tubes, and these were properly labeled. When marking duplicate extracts, Roman numerals were used (I and II). We worked with a relatively large number of samples, therefore, extracts were prepared in advance, and

they were stored frozen until performing the analyses, to maintain the compounds as well as possible.

3.2.4. Determination of total water-soluble phenol content

The measurement was performed according to the method of Singleton and Rossi (1965) [11]. During the analysis, tungsten and molybdenum oxides that form the Folin-Ciocalteu reagent are reduced due to phenolic components. The resulting compounds are blue colored, with an absorption maximum at 760 nm. The absorbance value measured at this wavelength is proportional to the total phenol content of the sample.

The measurements started with the recording of the calibration curve. Then a dilution each was prepared in Eppendorf tubes from the two thawed extracts belonging to the same sample (50-fold dilutions in the case of green coffees, 10-fold in the case of roasted coffees). Two parallel measurements were performed from each dilution, so in the end there were four absorbance values measured for each coffee sample. Measurement procedure: 1250 µl of Folin-Ciocalteu solution was measured into a clean test tube, using an automatic pipette. 150 µl of dilution agent was added in the case of green coffee, and 200 µl in the case of roasted coffee. Then 100 or 50 µl of the appropriate dilution of the extract was added. The total volume of the dilution agent and the sample was 250 µl in each case. Exactly one minute after adding the sample, 1000 µl of sodium carbonate solution was added to the test tube. Following this, test tubes were placed for five minutes in a digital dry thermostat set to 50 °C (Labnet D1100 Accublock Digital Dry Bath). At the end of the incubation time, the contents of the test tubes were transferred into clean cuvettes, and the absorbance at the 760 nm wavelength of visible light was measured using a spectrophotometer (Spektromom 195D, MOM Budapest). An average was calculated from the absorbance values for each sample, and then the total phenol content in gallic acid equivalent was read from the calibration curve.

3.2.6. Determination of antioxidant activity

The measurement was performed according to the method of Benzie and Strain (1996) [1]. During our analyses, only the FRAP values of compounds having antioxidant activity and extracted by distilled water during the preparation of the extracts could be determined. This method was originally developed for the determination of the antioxidant capacity of plasma (FRAP: ferric reducing ability of plasma). At low pH, the iron(III)-tripirydyltriazine complex is reduced to the iron(II)-tripirydyltriazine complex by the compounds with antioxidant activity. The Fe(II)-TPTZ produced during this process has an intensive blue color, with an absorption maximum at 593 nm. The rate of the reaction depends on the concentrations of the antioxidant substances present. During each measurement, the absorbance value was recorded 5 minutes after mixing the reaction mixture and the sample. Usually, more than 85% of the maximum absorbance value of the mixture was reached by this time. The FRAP value of the sample was then determined by comparing the measured absorbance value to that of a reaction mixture (ascorbic acid solution) with a known concentration.

A calibration curve again was prepared before the measurements. A single dilution was prepared from each extract, and two parallel measurements were performed from each dilution, so four absorbance values were obtained for each coffee sample in this case also.

Measurement procedure: the FRAP reagent was prepared

A mérés menete: az elkészített oldatokból összemértük a FRAP-reagenst. Tiszta küvetába a FRAP-reagensből 1500 µl-t mértünk be, majd 50 µl megfelelően hígított mintát mértünk hozzá. Pontosan öt perccel ezután a látható fény 593 nm-es hullámhosszán megmértük az abszorbanciát (Spektromom 195D, MOM Budapest). Átlagszámolás után a FRAP-értéket a kalibrációs egyenesről aszkorbinsav-egyenértékben olvastuk le.

4. Eredmények és értékelésük

4.1. Tömegveszteség

A pörkölés előtt a zöld kávé tömegét az m_{be} , a pörkölés utáni tömegét pedig az m_{ki} jelöléssel azonosítottuk. A tömegveszteséget a következőképpen számoltuk: $(m_{be} - m_{ki}) / (m_{be} / 100)$. Így megkaptuk, hogy a kiindulási tömeg hány százalékával csökkent a kávébabok tömege. A pörkölési fokozat függvényében ábrázoltuk a tömegveszteséget (**1. ábra**).

Az **1. ábrán** jól látható, hogy a pörkölés hőmérsékletének emelkedésével az arabica kávé tömegvesztesége egy maximumot ér el 198 °C-nál (A4 azonosítójú minta), és ennél magasabb hőmérsékletű pörkölésnél csökken. A robusta kávénál a tömegveszteség mértéke növekvő tendenciájú. Összehasonlítva a két kávéfajtát látható, hogy az arabica esetén szinte mindig nagyobb volt a tömegveszteség, mint a robusta esetén, továbbá az is, hogy az eltérés nagysága a 198 °C-os pörkölésig (A4 és R4 azonosítójú minták) folyamatosan nő. Tehát ugyanakkora pörkölési hőmérsék-

let esetén a robusta szemek tömegcsökkenése kisebb volt, mint az arabicáé. Ezt magyarázhatja a két kávéfajta eltérő kémiai összetétele, a lebomlási folyamatok szubsztrátjainak különböző mennyisége is.

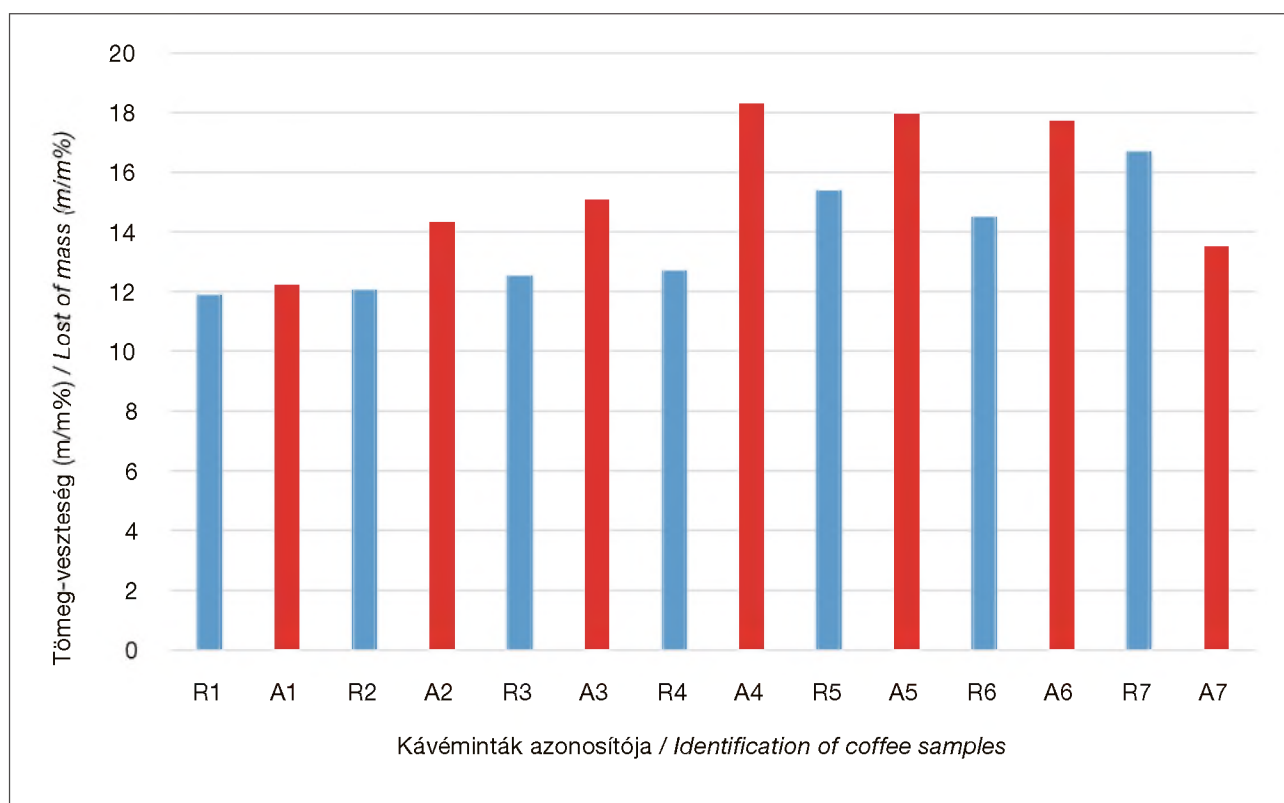
4.2. Térfogat-növekedés

A kávébabok térfogatát mérőhengerben mértük a pörkölés előtt (V_{be}) és utána (V_{ki}) is. A térfogat-növekedést a kiindulási térfogat %-ában adtuk meg a következő képlet alapján: $(V_{ki} - V_{be}) / (V_{be} / 100)$. Így megkaptuk, hogy a kiinduláshoz képest hány százalékkal nőtt a pörkölés során a kávészemek térfogata. A térfogatnövekedés eredményeit a **2. ábrán** foglaltuk össze.

4.3. A vízdoldható összes fenoltartalom-mérés eredményei

A mérés elvégzéséhez előbb elkészítettük a kalibrációs egyenest.

A kalibráció során egy kémcsőbe előbb a Folin-Ciocalteu oldatot mértük be (VF.-C.), majd a megfelelő mennyiségű hígítószer (Vhszer) és az 1 mM koncentrációjú galluszsav oldatot (Vgsav). A galluszsav koncentrációját a hígítószer és a galluszsav oldat összes mennyiségében számoltuk. Ezek összemérése után egy perccel hozzáadtunk kémcsőnként 1000 µl nátrium-karbonát oldatot (VNa_2CO_3), majd öt percre 50 °C-ra tettük őket. Ezután spektrofotométerrel 760 nm-en megmértük az abszorbanciát. Mérési eredményeinket a galluszsav-koncentráció függvényében ábrázolva megkaptuk a kalibrációs egyenest (**3. ábra**)



1. ábra Ugandai robusta és Brazíliai arabica tömegvesztesége
Figure 1 Weight loss of Ugandan robusta and Brazilian arabica

from the appropriate solutions. 1500 μl of the FRAP reagent was placed in a clean cuvette, and 50 μl of properly diluted sample was added. Exactly five minutes later, the absorbance at the 593 nm wavelength of visible light was measured (Spektromom 195D, MOM Budapest). After calculating the average, the FRAP value in ascorbic acid equivalent was read from the calibration curve.

4. Results and evaluation

4.1. Weight loss

The weight of green coffee before roasting was designated m_{be} , and after roasting it was designated m_{ki} . Weight loss was calculated as follows: $(m_{be} - m_{ki}) / (m_{be} / 100)$. Thus, the loss in the weight of coffee beans as a percentage of the initial weight was obtained. The weight loss was plotted as a function of the roasting degree (**Figure 1**).

Figure 1 clearly shows that the weight loss of arabica coffee reaches a maximum with increasing roasting temperature at 198 °C (sample A4), and it decreases at higher roasting temperatures. For robusta coffee, the degree of weight loss shows an increasing trend. Comparing the two types of coffee, it can be seen that the weight loss was almost always greater in the case of arabica than it was for robusta, and the magnitude of the difference was continuously increasing up to a roasting temperature of 198 °C (samples A4 and R4). In other words, at identical roasting temperatures, the weight loss of robusta beans was smaller than that of arabica. This can be explained by the different chemical compositions of the two types of coffee, and the different amounts of substrates of degradation processes.

4.2. Volume increase

The volume of the coffee beans was measured in a graduated cylinder before (V_{be}) and after (V_{ki}) roasting. Volume increase was calculated as a percentage of the initial volume, according to the following formula $(V_{ki} - V_{be}) / (V_{be} / 100)$. Thus, the increase in volume of coffee beans during roasting as a percentage of the initial volume was obtained. Volume increase results are summarized in **Figure 2**.

4.3. Results of total water-soluble phenol content measurements

For the measurement, the calibration curve was recorded first.

During calibration, the Folin-Ciocalteu solution (VF.-C.) was measured into a test tube first, then the appropriate amount of dilution agent (V_{hszer}) and 1 mM concentration gallic acid solution (V_{gsav}). The concentration of gallic acid was calculated for the total amount of dilution agent and gallic acid solution. One minute after combining these, 1000 μl of sodium carbonate solution ($V_{Na_2CO_3}$) was added to each test tube, and the mixture was kept at 50 °C for five minutes. Absorbance was then measured at 760 nm using a spectrophotometer. The calibration curve was obtained by plotting measurement results as a function of gallic acid concentration (**Figure 3**).

Gallic acid concentration in mg/ml was obtained by substituting the absorbance value into the equation of the calibration curve. This is the concentration of the sample analyzed (a given dilution). Therefore, the gallic acid concentration in the 100 or 50 μl of sample used for the analysis was calculated, and the weight of the coffee in mg that was used to prepare this sample amount. (The solid to liquid ratio for extract preparation was 100 mg/ml in each case.) Based on this concentration value, the phenolic component content of one gram of coffee, ex-

pressed in mg of gallic acid, was calculated. Results are plotted in **Figure 4**.

Figure 4 clearly shows how the total phenol content of coffee beans is influenced by roasting. Even at the lowest temperature roasting, a significant decrease can be observed (samples R1 and A1). When increasing the roasting temperature, the amount of total water-soluble phenolic components decreases continuously, albeit only to a small extent. The higher the roasting temperature is, the more phenolic components are degraded. Even in the case of green coffees, the difference between the two types of coffee is visible. The total water-soluble phenolic component content of arabica is less than that of robusta. Therefore, roasting at the same temperature resulted in lower total phenol concentrations in the case of arabica, than in the case of robusta.

The figure also shows that the decreasing trend in total phenol content for arabica is similar to that of robusta. The gradually decreasing trend is broken by the fourth sample (198 °C), with a slightly lower concentration value than subsequent samples. This deviation could be due to differences in the roasting process, or to slight differences in extraction efficiency during the preparation of the extracts.

The diagram clearly shows the difference between the two types of coffee. Robusta has a higher phenol content, therefore, higher values are also measured after roasting, while arabica can be characterized by a lower total phenolic component content. When performing roasting at high temperatures (210 °C and 216 °C), total phenol content values converged to each other.

4.4. Results of the antioxidant activity measurements

When measuring the antioxidant capacity of coffee, only the FRAP values of water-soluble compounds could be determined, since aqueous extracts were prepared from the coffee samples. For this measurement, a calibration had to be performed first as well. When performing the calibration, the FRAP reagent (VFRAP) was measured into a clean cuvette first, followed by the appropriate amount of distilled water (VDV) and 1mM concentration ascorbic acid solution (Vasav). Five minutes later, the absorbance was measured. The values obtained were plotted as a function of the ascorbic acid concentration (casav) (**Figure 5**).

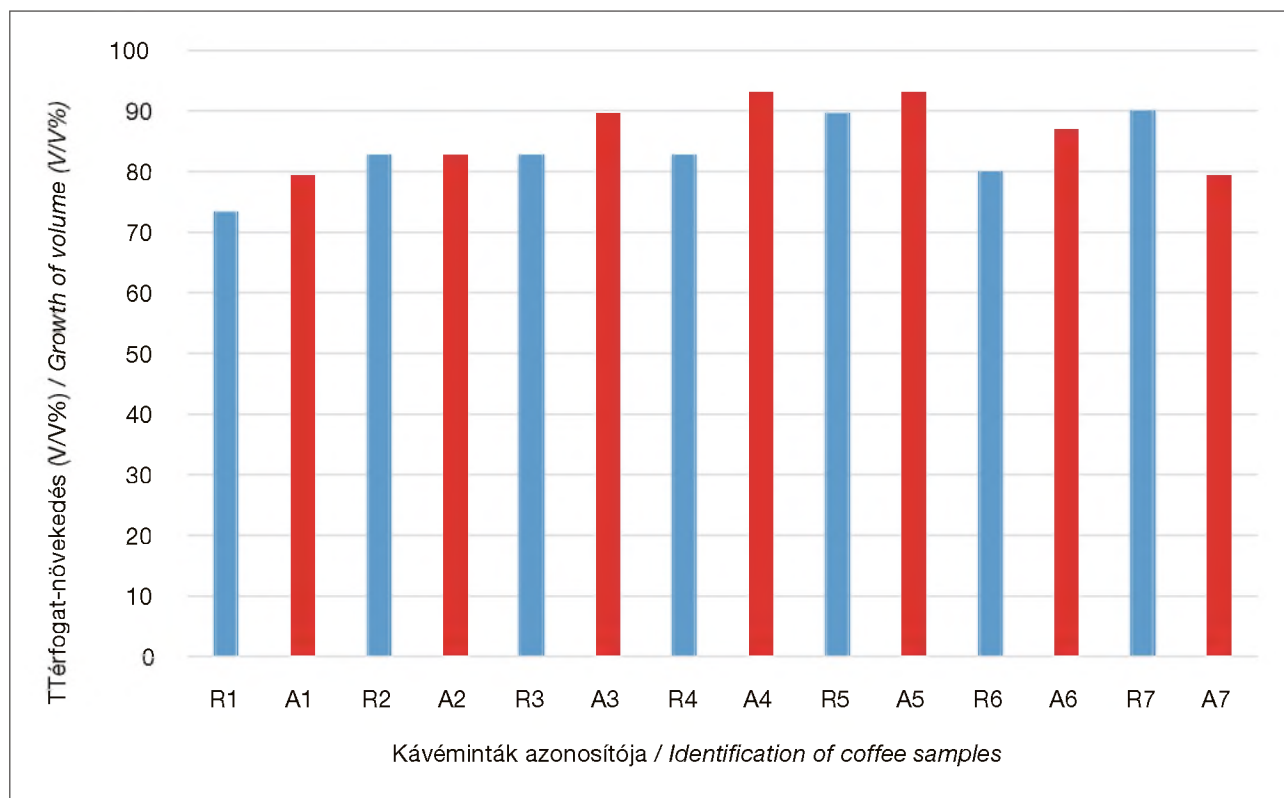
The FRAP value of the given sample in ascorbic acid equivalent was calculated by substituting coffee sample measurement results into the equation of the calibration curve. The measurement was performed as previously described.

With the help of the calibration curve, the FRAP value of 1 ml of the given sample was calculated. Following this, coffee contents of the different dilutions of the extracts were calculated, and the FRAP value of the 50 μl of sample used for the measurement was determined. Finally, based on these data, the FRAP value of one gram of coffee was calculated. Comparison of the FRAP values of the two coffees is shown in **Figure 6**.

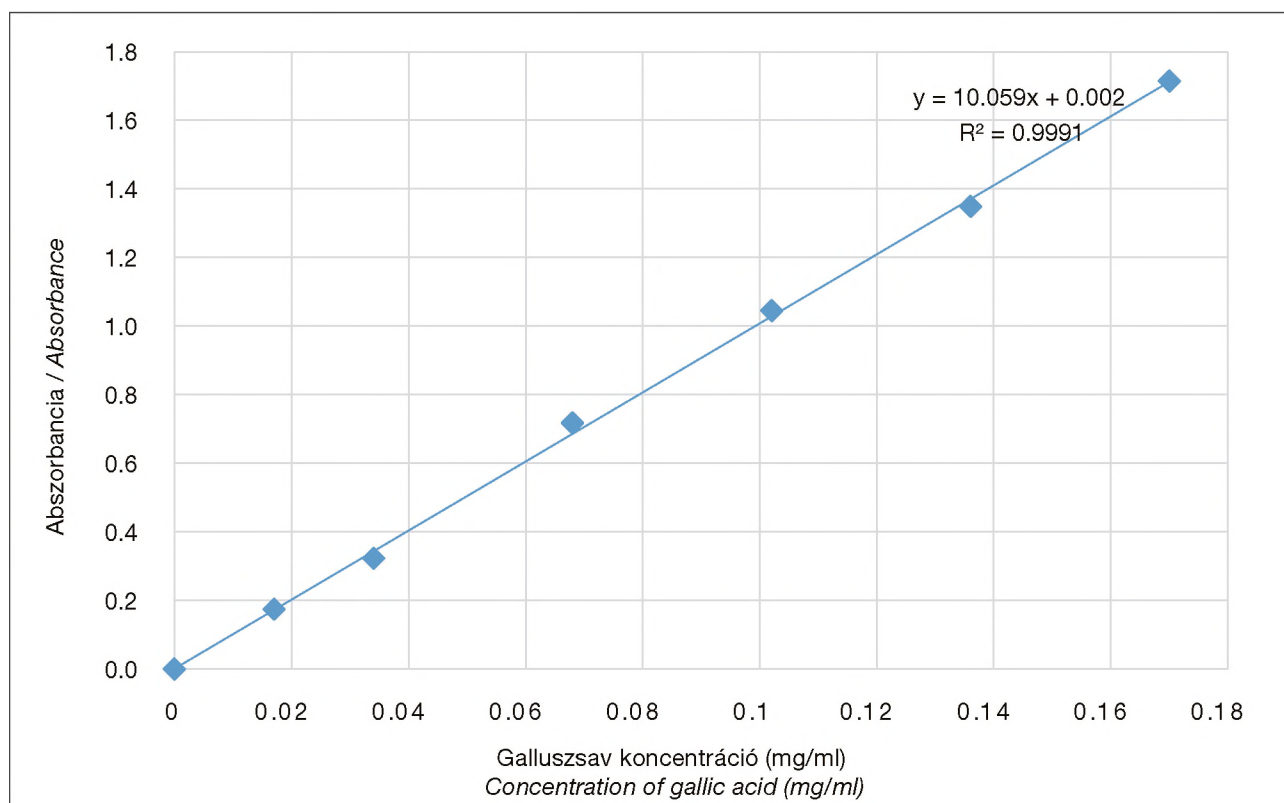
Based on the results, it can be seen that the FRAP value of robusta decreases initially, then it increases, and then decreases again when applying higher roasting temperatures. The increase in FRAP value has a maximum (roasting at 198 °C), after which a further increase in temperature results in a decreasing antioxidant activity of robusta, due to the degradation of different compounds.

Az abszorbancia értékét a kalibrációs egyenes egyenletébe behelyettesítve kaptuk meg a galluszsav koncentrációját mg/ml értékben. Ez egy ml vizsgált mintára vonatkozik (az adott hígításra). Ezért kiszámoltuk, hogy a vizsgálathoz használt 100 illetve 50 μ l

mintában mennyi a galluszsav-koncentráció, illetve, hogy ez a mintamennyiség hány mg kávéból készült (az extraktumok minden milliliter 100 mg kávé kivonatát tartalmazta). Majd e koncentrációérték alapján kiszámoltuk, hogy egy gramm kávé hány mg gal-



2. ábra Ugandai robusta és Brazíliai arabica térfogat-növekedése
Figure 2 Volume increase of Ugandan robusta and Brazilian arabica



3. ábra Összes fenol-tartalom mérés kalibrációs egyenese
Figure 3 Calibration curve of total phenol content measurement

Figure 6 shows that, while the antioxidant capacities of the green coffees were the same, there were differences between the two types of coffee during roasting. The minimum value of antioxidant capacity was reached by arabica at the second roasting stage (186 °C), while it was reached by robusta already at the 180 °C roasting. This deviation could be caused by differences in the compositions of the two types, and also by their differing reactions to identical roasting conditions. Following this, an increase with increasing roasting temperatures can be observed in the case of arabica as well. However, in this case, the extent of the increase is not as great as in the case of robusta. This disparity can be explained by differences in the chemical compositions of the two coffees, for example, green arabica contains a smaller amount of components from which compounds possessing antioxidant activity can form via different reactions, and its concentration of phenolic components is also lower. As a result of higher roasting temperatures, there was no such clear decrease in FRAP values for arabica, as was observed in the case of robusta.

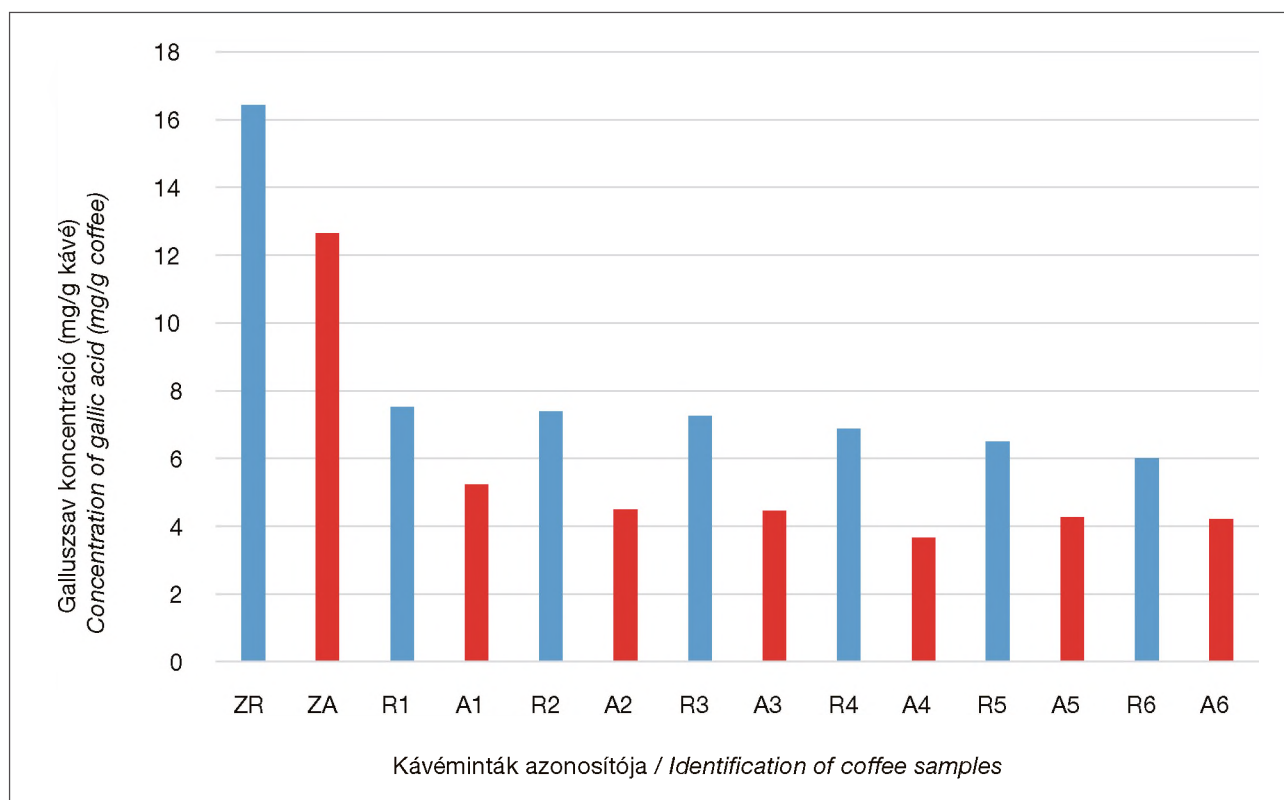
5. Conclusions

Our experimental results were in agreement with literature data. In addition to recording the fact of weight loss and volume increase, conclusions about the trends of the changes could be drawn. While changes were more even in the case of robusta, both the weight loss and the volume increase showed maximums in the case of arabica. From this phenomenon, we concluded that the two physical changes are related to each other, i.e., weight loss is also a cause of the volume increase during roasting.

In the case of both coffee types, results of the total water-soluble phenol content measurements showed that even roasting at a temperature of 180 °C results in a more than 50% decrease, and the extent of this decrease is greater in the case of arabica. From this, one might conclude that the water-soluble phenolic compounds of the two types of coffee differ not only in terms of quantity, but also in composition, and they also have different heat resistances.

The antioxidant activity characterized by the ferric reducing ability (FRAP value), measured as a function of the roasting temperature, showed an initial decrease followed by an increase, both in the case of arabica and robusta. The initial decrease can be explained by the degradation of phenolic components, constituting a large part of the substances of green coffee with antioxidant effect. The increasing FRAP value indicates that, during roasting and mainly due to the Maillard reaction, a significant amount of substances with antioxidant effect are formed. Analytical results of both arabica and robusta coffees showed that the largest antioxidant effect can be measured in the case of medium roasting, meaning a roasting temperature of 198 °C for robusta, and 180 °C and 192 °C for arabica.

Overall, we concluded that medium roasted coffees possessed higher antioxidant activities, compared to samples roasted at higher temperatures.



4. ábra Ugandai robusta és Brazíliai arabica vízoldható összes fenoltartalma
Figure 4 Total water-soluble phenol content of Ugandan robusta and Brazilian arabica

lúszavban kifejezett fenolos komponens tartalmaz. Az eredményeket a **4. ábrán** ábrázoltuk.

A **4. ábrán** jól látható, hogyan befolyásolja a pörkölés a kávészemek összes fenoltartalmát. Már a legalacsonyabb hőmérsékletű pörkölés esetén is jelentős csökkenés észlelhető (R1 és A1 azonosítójú minták). A pörkölés hőmérsékletének emelkedésével kis mértékben ugyan, de folyamatosan tovább csökken az összes vízoldható fenolos komponens mennyisége. Minél magasabb a pörkölés hőmérséklete, annál több fenolos komponens bomlik le. Már a zöld kávénál látszik a két kávéfajta közötti különbség. Az arabica kevesebb összes vízoldható fenolos komponens tartalmaz, mint a robusta. Ezért az ugyanakkora hőmérsékleten történő pörkölés is alacsonyabb összes fenol koncentrációt eredményezett az arabica esetén, mint a robusta kávéjánál.

A **4. ábrán** látható, hogy az összes fenoltartalom csökkenése hasonló tendenciát mutat az arabicánál, mint a robusta esetén. A fokozatosan csökkenő sorból a negyedik minta lóg ki (198 °C) kissé alacsonyabb koncentrációértékkel, mint az azt követő mintáké. Ez az eltérés köszönhető a pörkölési folyamat eltérő lezajlásának, vagy a nem teljesen ugyanolyan mértékű kivonási aránynak az extraktum készítés során.

A diagramon jól látszik a két kávéfajta közötti különbség. A robusta magasabb összes fenoltartalmú, ezért a pörkölések után is nagyobb értékeket mértünk, míg az arabica alacsonyabb összes fenolos komponens

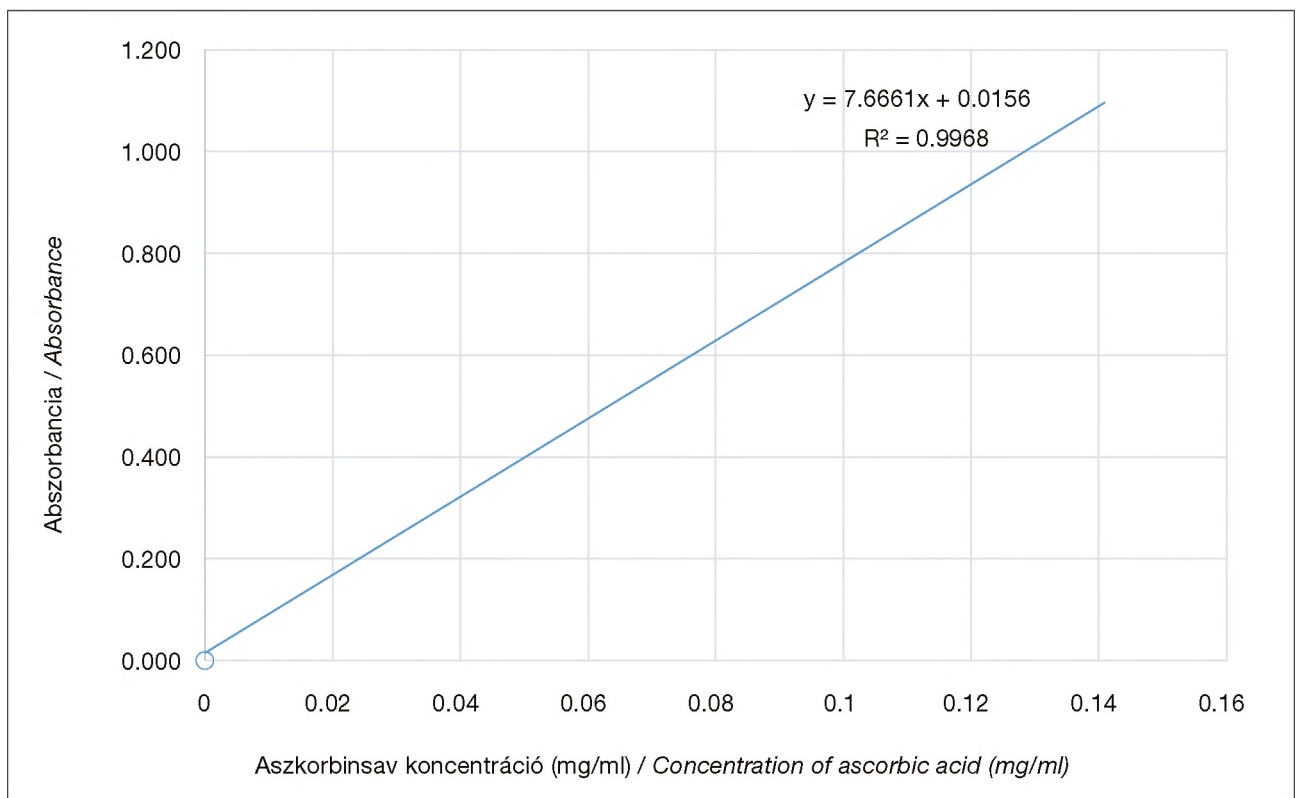
tartalommal jellemezhető. Magas hőmérsékletű pörköléskor (210 °C és 216 °C) az összes fenoltartalom-értékek közelítettek egymáshoz.

4.4. Az antioxidáns-aktivitás mérésének eredményei

A kávé antioxidáns kapacitásának mérésekor csak a vízoldható vegyületek FRAP-értékét tudtuk mérni, hiszen a kávémintákból vizes extraktumot készítettünk. Ennél a mérésnél is előbb kalibrációt kellett készíteni. A kalibráció végzésekor előbb tiszta küvetta-ba bemértük a FRAP-reagenst (VFRAP), majd a megfelelő mennyiségű desztillált vizet (VDV) és az 1mM koncentrációjú aszkorbinsav oldatot (Vasav). Öt perccel ezután megmértük az abszorbanciát. A kapott értékeket ábrázoltuk az aszkorbinsav koncentráció (casav) függvényében (**5. ábra**).

A kávéminták mérésekor kapott eredményeket a kalibrációs egyenes egyenletébe helyettesítve számoltuk ki az adott minta FRAP-értékét aszkorbinsav-egyenértékben. A mérést a korábban leírtak szerint végeztük el.

A kalibrációs egyenes alapján kiszámítottuk az adott minta 1 ml-ének FRAP-értékét. Ezt követően az extraktumok különböző hígításainak kávé tartalmát számítottuk ki, és ez alapján határoztuk meg a vizsgálat során bemért 50 µl minta FRAP-értékét. Végül ezen adatok alapján kiszámítottuk egy gramm kávé FRAP-értékét. A két kávé FRAP-értékeinek összehasonlítását a **6. ábrán** tüntettük fel.



5. ábra FRAP-mérés kalibrációs egyenese
Figure 5 Calibration curve of the FRAP measurement

Az eredmények alapján jól látszik, hogy kezdetben csökken a robusta FRAP-értéke, majd nő, és magasabb pörkölési hőmérsékletek alkalmazásakor ismét csökken. A FRAP-érték növekedésének van egy maximuma (198 °C-os pörkölés), amely után a hőmérséklet emelésével a robusta antioxidáns aktivitása ismét csökkenni kezd a különböző vegyületek lebomlásának következtében.

A **6. ábrán** kitűnik, hogy míg a zöld kávék antioxidánskapacitása ugyanakkora volt, a pörkölés során a két kávéfajta között eltérések mutatkoztak. Az antioxidánskapacitás minimumértékét az arabica a második pörkölési fokozatnál (186 °C) érte el, míg a robusta már 180 °C-os pörkölésnél mutatta. Ezt az eltérést okozhatja a két fajta összetételének különbözősége, és az, hogy eltérően reagálnak az azonos pörkölési körülményekre. Ezt követően az arabicánál is növekedés tapasztalható a pörkölési hőmérséklet emelésével. Ez a növekedés ebben az esetben azonban nem akkora mértékű, mint a robusta esetén. Ez a különbség magyarázható a két kávé kémiai összetételének eltéréseivel, például a zöld arabicában kevesebb olyan vegyület található, amelyekből a különböző reakciók során antioxidáns aktivitással rendelkező vegyületek képződnek, valamint alacsonyabb a fenolos komponenseinek koncentrációja is.

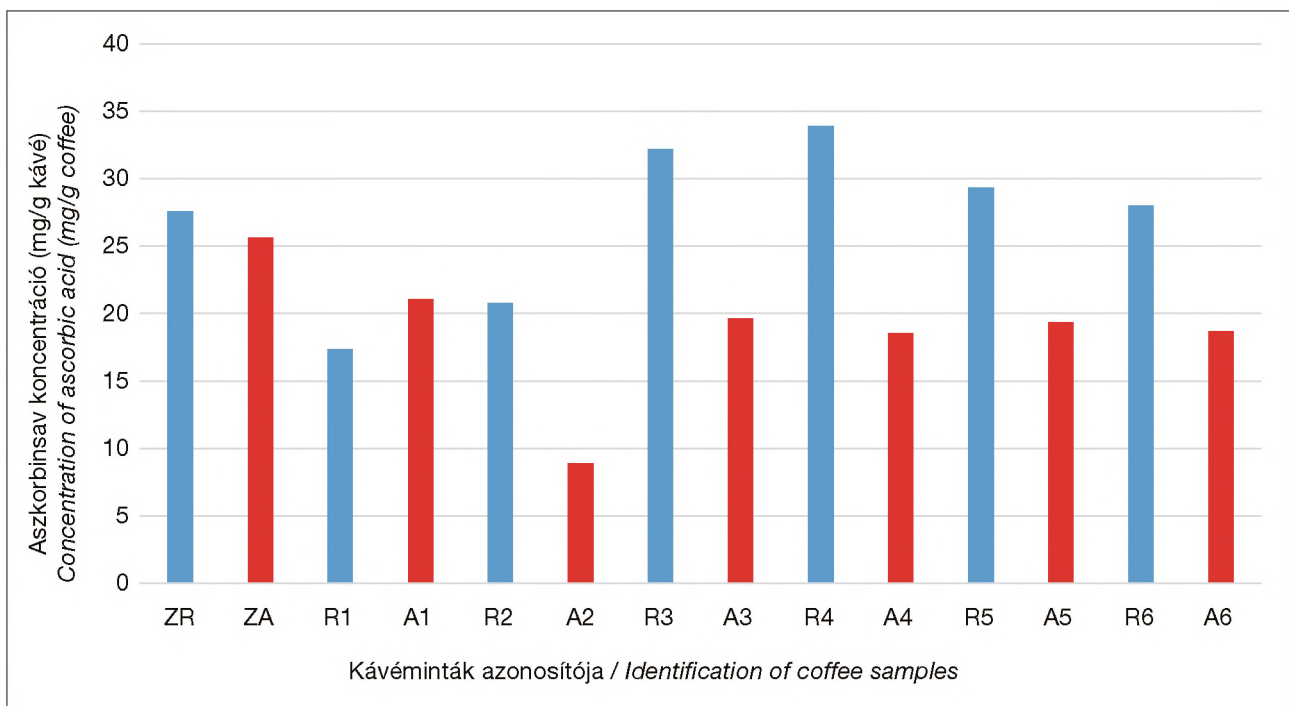
Magasabb pörkölési hőmérséklet hatására az arabica esetén nem tapasztaltunk olyan egyértelmű csökkenést a FRAP-értékben, mint a robusta esetében.

5. Következtetések

Kísérleti eredményeink összhangban voltak a szakirodalomban közöltekkel. A tömegcsökkenés és térfogat-növekedés tényének megállapítása mellett következtetni tudunk a változás tendenciájára is. Míg a robustánál a változások inkább egyenesnek voltak mondhatók, az arabica fajtánál a tömegcsökkenés és a térfogatnövekedés maximumot mutatott. A jelenségből arra következtettünk, hogy a két fizikai változás egymással összhangban van, azaz a tömegcsökkenés okozója is a pörkölés közbeni térfogat-növekedésnek.

A vízdoldható összfenol mérésének eredményei mindkét kávéfajtánál azt mutatták, hogy a 180 °C hőmérsékletű pörkölés is már több mint 50%-os csökkenést eredményez, és az arabica esetében a csökkenés aránya nagyobb. Ebből arra lehet következtetni, hogy a két kávéfajta vízdoldható fenolos vegyületei nem csak mennyiségben, de összetételükben is különböznek, eltérő hőrezisztenciával rendelkeznek.

A pörkölési hőmérséklet függvényében mért, vas-redukáló képességgel jellemzett antioxidáns aktivitás (FRAP-érték) alakulása kezdeti csökkenés után növekedést mutatott úgy az arabica, mint a robusta kávéknál. A kezdeti csökkenés magyarázható a zöld kávé antioxidáns hatású anyagainak nagy részét kitevő fenolos komponensek elbomlásával. A FRAP-érték növekedéséből arra lehet következtetni, hogy a pörkölés során, elsősorban a Maillard-reakció lejátszódása következtében, jelentős mértékben



6. ábra Ugandai robusta és Brazíliai arabica FRAP-értékei
Figure 6 FRAP values of Ugandan robusta and Brazilian arabica

keletkeztek antioxidáns hatású anyagok. Az arabica és a robusta kávék vizsgálati eredményei azt mutatják, hogy a közepes pörkölés esetén mérhető a legnagyobb antioxidáns hatás, és ez a robustánál 198 °C-os, arabica esetén pedig 180 °C illetve 192 °C-os pörkölési hőmérsékletet jelentett.

Összességében arra következtettünk, hogy a közepesen pörkölt kávék rendelkeznek nagyobb antioxidáns aktivitással a magasabb hőmérsékleten pörkölt mintákkal szemben.

6. Irodalom / References

- [1] Benzie, I. F., Strain J. J. (1996): The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of „Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochem.* 239 p. 70-76.
- [2] Carlsen, M. H., Halvorsen, B. L. (2010): The total antioxidant content of more than 3100 foods, beverages, spices, herbs and supplements used worldwide. *Nutr. J.* 9 p. 3.
- [3] Clarke R. J., Macrae, R. (1988): *Coffee Volume 3: Physiology.* Essex, Elsevier Applied Science Publishers Ltd.
- [4] Clifford M. N. (1997): The nature of chlorogenic acids. Are they advantageous compounds in coffee? In: *Proc. 17th Int. Sci. Coll. Coffee (Nairobi) ASIC, Paris* p. 79-91.
- [5] Clifford M. N. (2000): Chlorogenic acids and other cinnamates – nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism. *J. Sci. Food Agric.* 80 p. 1033-1043.
- [6] Croizer, A., Ashihara, H., Barbéran, F.-T. (szerk.) (2012): *Teas, cocoa and coffee: Plant Secondary Metabolites and Health.* West Sussex, John Wiley and sons Ltd.
- [7] Debry, G. (1994): *Coffee and Health.* Párizs, John Libbey Eurotext.
- [8] Farah A., Donangelo C. M. (2006): Phenolic compounds in coffee. *Braz. J. Plant Physiol.* 18(1) p. 23-36.
- [9] Pellegrini N., Serafini M. et al. (2003) : Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *J. of Nutr.* 133 p. 2812-2819.
- [10] Sacchetti G., di Mattia C. et al. (2009): Effect of roasting degree, equivalent thermal effect and coffee type on the radical scavenging activity of coffee brews and their phenolic fraction. *J. of Food Eng.* 90 p. 74-80.
- [11] Singleton V. L., Rossi J. A. (1965): Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid „reagents”. *Am. J. Enol. Vitric.* 16 p. 144-158.



A kép illusztráció / The picture is illustration