

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu  
Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności  
Dyscyplina naukowa: Technologia żywności i żywienia



mgr inż. Damian Maksimowski

**Opracowanie metody otrzymywania napojów instant cold brew  
coffee typu liquid opartych na kawie o zwiększonych właściwościach  
sensorycznych i prozdrowotnych**

Development of a method for obtaining liquid type instant cold brew coffee beverages based  
on coffee with enhanced sensory and health-promoting properties

**Rozprawa doktorska**

Promotor:

dr hab. inż. Maciej Oziembłowski, prof. uczelni

Opiekun pomocniczy:

mgr Tomasz Nietubyc

Wrocław 2024

## Streszczenie

Kawa typu cold brew to konkurencyjna kategoria napojów o odmiennych cechach sensorycznych w porównaniu do kaw tradycyjnie parzonych na gorąco. W ramach pracy doktorskiej opracowano nową recepturę kawy rozpuszczalnej cold brew coffee o dobrych właściwościach sensorycznych i zdrowotnych. Szczególną uwagę zwrócono na zawartość akrylamidu w kawie prażonej, optymalizację procesu ekstrakcji prażonych ziaren kawy oraz porównanie dwóch technik koncentracji (zateżanie termiczne oraz kriokoncentracja) w odniesieniu do zmian składu chemicznego wybranych związków chemicznych: akrylamidu, kwasu chlorogenowego (3-kawoilochinowego, 3-CQA), kofeiny oraz profilu związków lotnych, które oznaczono techniką chromatografii cieczowej LC-MS oraz techniką HS-SPME chromatografii gazowej GC-MS. Wszystkie prace rozwojowe prowadzono w odniesieniu do kluczowego produktu z portfolio firmy Etno Cafe – klasycznej wersji napoju cold brew coffee.

Optymalizacja procesu ekstrakcji kawy cold brew umożliwiła weryfikację rekomendowanych przez Specialty Coffee Association (SCA) parametrów, które wyznaczają optymalny procent ekstrakcji w zakresie 1,15-1,35 % TDS (Total dissolved solids). Z wykorzystaniem wykresów Pareta stwierdzono, że czas ekstrakcji [h] decyduje w głównej mierze o skuteczności tego procesu. Na podstawie uzyskanych wyników w etapie 1 wskazano trzy wartości czasu [6h, 9h, 12h] do analizy w dalszych etapach badań. Najlepsze pod względem wdrożeniowym były kolejno 12-sta i 9-ta godzina ekstrakcji. Wyniki otrzymane dla czasu ekstrakcji 24 godzin nie wykazywały różnic istotnych statystycznie w porównaniu do 12-tej godziny ( $p=0,05$ ).

Analizy pod kątem zawartości akrylamidu w kawie prażonej wykazały, że stężenie tego związku chemicznego wynosiło 289  $\mu\text{g}/\text{kg}$  w kawie o profilu prażenia w temperaturze 210°C, które było średnio o 80  $\mu\text{g}/\text{kg}$  wyższe niż w wariantach obróbki termicznej na poziomie 220°C i 230°C.

W kolejnym etapie badań dokonano w szerokim zakresie analiz zawartości 3-CQA i kofeiny w ekstraktach oraz sporządzonych na ich bazie koncentratów. W każdej próbie doświadczalnej w miarę wzrostu temperatury ekstrakcji rosła wydajność procesu. W większości przypadków stężenie kwasu 3-kawoilochinowego rosło wraz z mniejszą wielkością rozdrobnionych cząstek ziaren użytych w procesie ekstrakcji, przy czym dla kofeiny rozmiar ziarna nie wykazywał istotnego wpływu na jej stopień ekstrakcji. Ponadto, w przypadku kofeiny wyższe stężenie w ekstrakcie również istotnie zależało od wyższej temperatury prażenia ziaren. Zgodnie z literaturą najwyższe stężenia 3-CQA w ekstrakcie stwierdzono dla profilu 210°C, które wynosiło od 0,606 do 0,639 mg/ml ( w wariantach o wartości brew:ratio, stopniu rozdrobnienia ziaren kawy, temperatury i czasu ekstrakcji wynoszących 5g×1,0mm×25°C×12h oraz 6g×1,0mm×5°C×6h), najmniejsze zaś dla profilu 230°C w zakresie od 0,318 do 0,334 mg/ml (w wariantach 6g×1,5mm×5°C×6h oraz 5g×1,5mm×25°C×12h), co jest związane z niską trwałością kwasu chlorogenowego w wyższych temperaturach obróbki. Co istotne, w przypadku procesu kriokoncentracji wyniki zawartości 3-CQA pomiędzy profilami 210°C i 220°C były na porównywalnym poziomie i wynosiły powyżej 1,5 mg/ml. Z kolei podczas termicznego zateżania ekstraktów na wyparce pod zmniejszonym ciśnieniem zaobserwowano średnio od półtora do dwóch razy mniejszą ilość 3-CQA w porównaniu do procesu kriokoncentracji.

Porównując uzyskane wyniki dotyczące zawartości kofeiny stwierdzono średnie stężenie tego związku w ekstraktach dla profilu 230°C na poziomie 0,795 mg/ml, dla profilu 220°C na poziomie 0,827 mg/ml oraz dla profilu 210°C na poziomie 0,633 mg/ml. Po procesie kriokoncentracji dla profilu 230°C zawartość kofeiny była na poziomie 1,834 mg/ml, dla profilu 220°C na poziomie 1,867 mg/ml oraz dla profilu 210°C na poziomie 1,756 mg/ml. Po zateżaniu termicznym zawartość kofeiny w koncentratkach dla profilu 230°C była na poziomie 2,783 mg/ml, dla profilu 220°C na poziomie 2,41 mg/ml, zaś dla profilu 210°C wynosiła 2,247 mg/ml.

Kolejny trzeci etap pracy zakładał analizę zawartości akrylamidu w ekstraktach z kawy prażonej otrzymanej w 220°C i 230°C. Stwierdzono, że na proces ekstrakcji tego związku chemicznego z kawy do roztworu miały wpływ zmienne: stopień rozdrobnienia ziarna, temperatura oraz czas ekstrakcji. Średnia różnica dla wszystkich prób eksperymentalnych rozpatrywana między temperaturami prażenia wyniosła 1,29 ng/ml. W każdym przypadku wyższe stężenia odnotowano wobec ekstraktów otrzymanych z kawy prażonej w temperaturze 220°C, zaś najwyższa wartość wynosiła 10,63 ng/ml. W efekcie przeprowadzonych prac zdefiniowano warianty o najniższym stężeniu akrylamidu, którego zawartość wynosiła kolejno dla profilu 220°C: 4,84 oraz 6,29 ng/ml, a dla profilu 230°C: 4,42 oraz 5,11 ng/ml.

Opracowana w etapie czwartym technika kriokoncentracji blokowej pozwoliła na otrzymanie zadowalającej (tj. na stosunkowo niskim poziomie) zawartości akrylamidu na średnim poziomie 3,73 ng/ml. Niemniej jednak w przypadku zateżania termicznego zaobserwowano istotnie większy poziom redukcji akrylamidu - średnie stężenie było na poziomie 2,88 ng/ml. Otrzymane próby o zwiększonych właściwościach prozdrowotnych zostały poddane ocenie w dwuetapowym teście sensorycznym wykonanym przez ekspertów, związanych zawodowo z firmą Etno Cafe (piąty etap badań). Zastosowano skalę liczbową dziesięciopunktową, w której odpowiednim poziomom jakości (pożądalności) i intensywności przypisano odpowiednie liczby (1 – niska jakość/pożądalność, niska intensywność; 10 – wysoka jakość/pożądalność, wysoka intensywność). W ocenie ekspertów wykazano, że technika zateżania skutkowałą produktem finalnym o wyższym stopniu pożądalności. Koncentrat charakteryzował się smakiem słodkim i zapachem owocowo-kwiatowym typowym dla kawy cold brew. Jednocześnie wskazano na pojawiający się w trakcie produkcji koncentratów termicznych problem związany z intensywnością smaku gorzkiego i aromatu palonego, co znalazło odzwierciedlenie w nisko ocenianym wyróżniku sensorycznym tzw. „aftertaste”, czyli posmakiem po połknięciu. Badanie wybranych do wdrożenia receptur kriokoncentratów w ujęciu jakości i ilości składników aromatu metodą chromatografii gazowej przy użyciu technik analizy fazy nadpowierzchniowej umożliwiło wyjaśnienie lepszych właściwości sensorycznych napojów instant cold brew coffee typu „liquid”. Wyróżniono trzy kluczowe związki: 2-etylo-3,5-dimetylopirazyna, gwajakol oraz aldehyd izowalerianowy, które posiadały istotnie najwyższe i jednocześnie wysoce dominujące wartości OAV.

Wartością wdrożeniową badań było uzyskanie receptury kawy instant typu „liquid” opracowanej na bazie techniki kriokoncentracji napoju z wykorzystaniem parametrów modelu ekstrakcji 6g×1,0mm×25°C×12 kawy prażonej w temperaturze 220°C, która została również wyprodukowana w firmie na opracowanym i skonstruowanym w trakcie prowadzonych badań prototypowym urządzeniu technologicznym.

## Abstract

Cold brew coffee is a competitive beverage category with different sensory characteristics compared to traditionally hot brewed coffees. In this dissertation, a new recipe of instant cold brew coffee with good sensory and health properties was developed. Special attention was paid to the acrylamide content of roasted coffee, optimization of the roasted coffee bean extraction process and the comparison of two concentration techniques (thermal concentration and cryoconcentration) with regard to changes in the chemical composition of selected compounds: acrylamide, chlorogenic acid (3-caffeoylquinic acid, 3-CQA), caffeine and the profile of volatile compounds, which were determined by liquid chromatography LC-MS and HS-SPME gas chromatography GC-MS techniques. All development work was carried out on to a key product in Etno Cafe's portfolio - a classic version of the cold brew coffee drink.

Optimization of the cold brew coffee extraction process made it possible to verify the parameters recommended by the Specialty Coffee Association (SCA), which determine the optimal extraction percentage in the range of 1.15-1.35 % TDS (total dissolved solids). Using Pareto charts, it was found that the extraction time [h] mainly determines the efficiency of the process. Based on the results, three time values [6h, 9h, 12h] were identified for analysis in further stages of the study. The best in terms of implementation were the 12th and 9th hour of extraction, respectively. The results obtained for the 24-hour extraction time showed no statistically significant differences compared to the 12th hour ( $p=0.05$ ).

Analyses for the content of acrylamide in roasted coffee showed that the concentration of this chemical compound was 289  $\mu\text{g}/\text{kg}$  in coffee with a roasting profile at 210°C, which was on average 80  $\mu\text{g}/\text{kg}$  higher than variants at 220°C and 230°C.

A wide range of analyses in the next stage were carried out on the of 3-CQA and caffeine content in the extracts and the concentrates prepared from them. In each experimental trial, as the extraction temperature increased, the efficiency of the process increased. In most cases, the concentration of 3-CQA increased with the smaller particle size of the grains used in the extraction process, while for caffeine, grain size showed no significant effect on its extraction rate. Moreover, for caffeine, the higher concentration in the extract also significantly depended on the higher roasting temperature of the grains. According to the literature, the highest concentrations of 3-CQA in the extract were found for the 210°C roasting profile, which ranged from 0.606 to 0.639 mg/ml (in variants with brew: ratio, degree of coffee bean grinding, temperature and extraction time of 5g×1.0mm×25°C×12h and 6g×1.0mm×5°C×6h), while the lowest for the 230°C roasting profile ranged from 0.318 to 0.334 mg/ml (in variants of 6g×1.5mm×5°C×6h and 5g×1.5mm×25°C×12h), which is related to the low persistence of chlorogenic acid at higher processing temperatures. Importantly, in the case of the cryoconcentration process, the results of 3-CQA content between the 210°C and 220°C roasting profiles were at comparable levels and were above 1.5 mg/ml. In contrast, an average of one and a half to two times less 3-CQA was observed during thermal concentration of extracts on an evaporator under reduced pressure compared to the cryoconcentration process.



Comparing the results obtained for caffeine content, the average concentration of this compound in the extracts after roasting for the 230°C was found to be 0.795 mg/ml, for the 220°C roasting profile at 0.827 mg/ml, and for the 210°C roasting profile at 0.633 mg/ml. After the cryoconcentration process, for the 230°C roasting profile the caffeine content was at 1.834 mg/ml, for the 220°C roasting profile at 1.867 mg/ml and for the 210°C roasting profile at 1.756 mg/ml. After thermal concentration, the caffeine content of the concentrates for the 230°C roasting profile was at 2.783 mg/ml, for the 220°C roasting profile at 2.41 mg/ml, and for the 210°C roasting profile at 2.247 mg/ml.

The third stage of the work involved analyzing the acrylamide content of roasted coffee extracts obtained at 220°C and 230°C roasting profiles. It was found that the process of extracting this chemical compound from coffee into solution was influenced by the variables of bean fineness, temperature and extraction time. The average difference for all experimental samples considered between roasting temperatures was 1.29 ng/ml. In each case, higher concentrations were recorded against extracts obtained from coffee roasted at 220°C, while the highest value was 10.63 ng/ml. As a result of the work carried out, variants with the lowest concentration of acrylamide were defined, whose content was, respectively, for the 220°C roasting profile: 4.84 and 6.29 ng/ml, and for the 230°C roasting profile: 4.42 and 5.11 ng/ml.

The block cryoconcentration technique developed in the fourth stage made it possible to obtain satisfactory (i.e. at a relatively low level) acrylamide content at an average level of 3.73 ng/ml. Nevertheless, a significantly higher level of acrylamide reduction was observed in the case of thermal concentration - the average concentration was at the level of 2.88 ng/ml. The obtained samples with enhanced health-promoting properties were evaluated in a two-stage sensory test performed by experts, professionally affiliated with Etno Cafe (the fifth stage of the research). A ten-point numerical scale was used, in which the corresponding levels of quality (desirability) and intensity were assigned corresponding numbers (1 - low quality/desirability, low intensity; 10 high quality/desirability, high intensity). The expert evaluation showed that the concentration technique resulted in a final product with a higher degree of desirability. The concentrate was characterized by a sweet taste and a fruity-floral aroma typical of cold brew coffee. At the same time, an emerging problem during the production of thermal concentrates was pointed out, related to the intensity of the bitter taste and roasted aroma, which was reflected in the low-rated sensory distinction of the "aftertaste", sensation after swallowing. The study of the cryoconcentrate formulations selected for implementation in terms of quality and quantity of aroma components by gas chromatography using supersurface phase analysis techniques made it possible to clarify the improved sensory properties of instant cold brew coffee drinks "liquid" type. Three key compounds stood out: 2-ethyl-3,5-dimethylpyrazine, guaiacol and isovaleraldehyde, which had significantly the highest and also highly dominant OAV values.

The implementation value of the research was to obtain a liquid instant coffee recipe developed on the basis of the beverage cryoconcentration technique using the parameters of the extraction model of 6g×1.0mm×25°C×12 coffee roasted at 220°C, which was also produced on a prototype technological device developed and constructed during the research.

## Spis treści

1. Wstęp.....	7
2. Część literaturowa.....	8
2.1. Kawowiec - charakterystyka rośliny.....	8
2.2. Technologia prażenia kawy zielonej- opis procesu.....	10
2.3. Technologia prażenia kawy zielonej- przegląd wybranych zmian składników lotnych.....	12
2.3.1. Aldehydy i ketony.....	12
2.3.2. Lotne związki siarki.....	13
2.3.3. Heterocykliczne związki azotu i tlenu.....	14
2.4. Technologia prażenia kawy zielonej. Wpływ procesu na zawartość kwasu kawoilochinowego, kofeiny i akrylamidu.....	16
3.Charakterystyka napoju cold brew coffee oraz produktu końcowego typu instant typu „liquid”...19	
4. Cel pracy i hipotezy.....	26
5. Metodyka badań – materiał badawczy i metody analityczna.....	26
6. Szczegółowe schematy badań.....	33
7. Omówienie wyników.....	36
7.1. Etap 1.....	36
7.2. Etap 2.....	43
7.3. Etap 3.....	104
7.4. Etap 4.....	112
7.5. Etap 5.....	115
7.6. Etap 6.....	119
8. Dyskusja.....	125
9. Wnioski.....	134
10. Literatura.....	135
11. Dokumentacja aplikacyjna.....	144

## WYKAZ UŻYWANYCH SKRÓTÓW

3-CQA – kwas 3-kawoilochinowy (ang. 3-caffeoylquinic acid)

4-CQA - kwas 4-kawoilochinowy (ang. 4-caffeoylquinic acid)

5-CQA - kwas 5-kawoilochinowy (ang. 5-caffeoylquinic acid)

CQAs - kwasy kawoilochinowe (ang. caffeoylquinic acids), kwasy chlorogenowe (ang. chlorogenic acids)

AA – akrylamid

GC-MS – chromatografia gazowa –spektrometria mas (ang. gas chromatography – mass spectrometry)

LC-MS/MS - chromatografia cieczowa z tandemową spektrometrią mas (ang. liquid chromatography with tandem mass spectrometry)

HS-SPME- mikroekstrakcja do fazy stacjonarnej z fazy nadpowierzchniowej (ang. headspace solid phase microextraction)

OAV – wartość aktywności aromatu (ang. odor activity value)

OT – próg wyczuwalności sensorycznej (ang. odor treshold)

RSM - metoda powierzchni odpowiedzi (ang. response surface methodology)

VOCs – lotne związki organiczne (ang. volatile organic compounds)

## 1. Wstęp

Charakterystyczne właściwości sensoryczne kawy cold brew, które wynikają bezpośrednio z odmiennego sposobu ekstrakcji w porównaniu do tradycyjnie parzonej kawy, wpływają na wzrost popularności napoju zarówno w sektorze napojów bezalkoholowych oraz przetwórstwa kawy. Tym samym, dostrzegalny słodki smak oraz owocowy aromat kawy macerowanej na zimno wskazują na zmieniające się preferencje konsumentów, co jest prognostykiem dalszego wzrostu sprzedaży tego typu napojów oraz wzrostu konkurencji wśród producentów.

Kwestie te stają się ważne i stawiają wyzwanie przedsiębiorcom w kierunku nowych receptur, jak i procesów wytwarzania. Powyższe aspekty skłoniły do przypuszczeń, że kawa instant typu cold brew coffee ze względu na zawartość skoncentrowanej frakcji składników bioaktywnych oraz lotnych może odgrywać istotną rolę w sektorze napojów kawowych. Zgodnie z dostępną wiedzą w momencie pisania rozprawy doktorskiej nie zidentyfikowano żadnej firmy w Polsce, która podjęłaby się podobnego opracowania recepturowego kawy instant typu „liquid” otrzymanej z napoju cold brew. Koncepcja nowego produktu może odpowiadać aktualnym trendom, tj. innowacji technologicznych, oczekiwaniom konsumenckim oraz uzyskaniu kawy jak najbardziej prozdrowotnej, zwłaszcza pod kątem zwiększenia zawartości pożądaných związków chemicznych, jak kwasy kawoilochinowe czy kofeiny przy jednoczesnej redukcji akrylamidu.

Dzięki możliwości rozwoju w ramach IV edycji doktoratu wdrożeniowego, realizowanego w Szkole Doktorskiej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, przeprowadzono prace naukowo-wdrożeniowe, których celem zostało otrzymanie kawy instant cold brew coffee typu „liquid” o zwiększonych właściwościach sensorycznych i prozdrowotnych.

Program zrealizowano m.in. przez poszczególne etapy badań:

1. Analiza zawartości akrylamidu w kawie prażonej. Optymalizacja procesu ekstrakcji cold brew w ujęciu całkowitej ilości składników rozpuszczonych (TDS – Total Dissolved Solids).
2. Optymalizacja procesu ekstrakcji składników bioaktywnych w kawie cold brew (kofeiny oraz 3-CQA). Ocena zawartości kofeiny i kwasu kawoilochinowego w koncentratkach.
3. Analiza zawartości akrylamidu w napojach cold brew coffee.
4. Próba redukcji akrylamidu – instantyzacja kawy cold brew coffee.
5. Wykonanie testów sensorycznych.
6. Analiza receptury o zwiększonych właściwościach sensorycznych. Badania GC-MS (analiza jakościowa i ilościowa związków lotnych) koncentratów. Kalkulacja wartości aktywności zapachu OAV (ang. odour activity value).

Wymiernym efektem prac badawczo-rozwojowych przeprowadzonych w ramach doktoratu wdrożeniowego to kawa rozpuszczalna wytwarzana z ziaren kawy arabica (*Coffea arabica* L.) o zwiększonych właściwościach prozdrowotnych i sensorycznych, uzyskanych bez stosowania dodatkowych substancji.

## 2. Część literaturowa

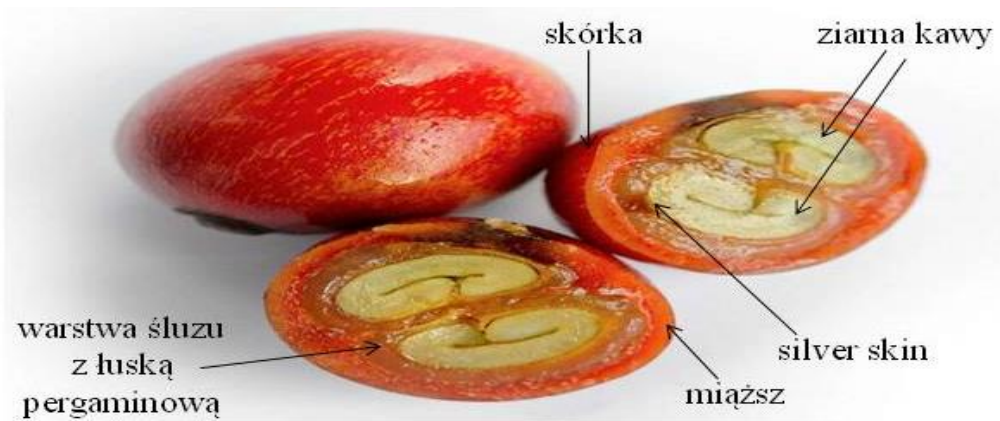
### 2.1. Kawowiec - charakterystyka rośliny

Z punktu widzenia produkcji kawy na cele konsumpcyjne zasadnicza wiedza opiera się na rozróżnieniu dwóch gatunków owoców kawowca mających znaczenie ekonomiczne: *Coffea arabica* L (kawa arabica) i *Coffea canephora* L. Linden (kawa robusta). W literaturze wskazuje się również trzeci gatunek *Coffea liberica*, jednak stanowi on mniej niż 1 % światowej produkcji kawy (Chrostowska-Siwek, 2011). Robusta pochodzi z lasów równikowych położonych na niskich i średnich wysokościach (między 300 a 900 m n.p.m.). W porównaniu do *Coffea arabica* L. cechą charakterystyczną odmiany jest łatwiejsza i mniej kosztowna kultywacja rośliny oraz dwukrotnie większa zawartość wtórnych metabolitów. Wynikające ze składu chemicznego cechy organoleptyczne robusty wpływają na smak kawy, który „rozwija się” w ustach, pozostawiając mocniejszy, „ściągający” i zdecydowanie bardziej gorzki posmak (*aftertaste*). Uznana jest jednak za gorszą jakościowo odmianę (Lambot i wsp., 2017). Pomimo tej powszechnej opinii, należy zwrócić uwagę na jej znaczący wzrost w obrocie gospodarczym. Z badań wynika, że na rynku kawy od roku 2020 przeważa popyt nad podażą, dlatego w porównaniu do minionej dekady jakość napojów produkowanych na świecie uznawana jest przez specjalistów za produkty gorszej jakości, ale opłacalne ekonomicznie dla producentów (źródło internetowe nr 1).

Odmiennej smak kawy *C. arabica* L. wynika przede wszystkim z faktu, że rośnie ona na innych obszarach geograficznych, na których wegetuje znacznie dłużej w porównaniu gatunku do *C. canephora*. Popularnym kryterium oceny jakości danych ziaren są oznaczenia literowe, służące również do określenia ich wielkości. **HB** (hard beans – twarde ziarna) lub **HG** (high grown – wysoko uprawiana) – takimi symbolami określa się ziarna z plantacji położonych na wysokości 1000-1500 m n.p.m. Występująca na Hawajach na wysokości 1000 m n.p.m. kawa może być w odczuciu delikatna wpływając na niskie „body” – cielistość, czyli odczucie wypełnienia w ustach oceniane podczas testów tzw. „cuppingu” (to rodzaj techniki używanej przez sensoryków w celu oceny rodzaju oraz jakości zarówno zapachu, jak i smaku napoju sporządzonego na bazie prażonych ziaren kawy). W Brazylii, z której pochodzi największa część światowej produkcji kawy arabica, plantacje uprawiane są na średniej wysokości 1100-1200 m n.p.m. Ziarna są cięższe i gęstsze w swojej strukturze, co przekłada się na wysokie „body” napojów. Pozyskane kawy charakteryzuje wysoka słodycz i delikatny gorzki „aftertaste” (tzw. posmak, czyli odczucie na języku bezpośrednio po wypiciu napoju kawowego). Z kolei etiopska czy kolumbijska arabica uprawiana w górach na wysokości ok. 1500 m n.p.m. wywołuje wrażenie egzotycznej nuty owoców i charakterystycznej kwaskowatości (Miechowska i Dmowski, 2008). Zdecydowanie niższa ilość tlenu, ograniczona dostępność światła słonecznego sprawiają, że kawa etiopska dojrzewa bardzo powoli, a jej jakość opisują następujące skrótowe lub wyrazy: **SHB** (strictly hard beans - wyłącznie twarde ziarna), **SHG** (strictly high grown – wyłącznie wysokie uprawy) lub „**Altura**” – kawa pochodząca z plantacji położonych co najmniej 1500 metrów nad poziomem morza (Nebesny i Budryn, 2006).

Czas zbioru kawy równoznaczny jest z osiągnięciem 95% dojrzałości owoców. Kolejny etap produkcji mający miejsce na plantacji, to przetwarzanie „wiśni” (trześni kawy) w celu wydobycia pestek. Dla produkcji kawy zielonej znane są trzy metody przetwarzania: metoda sucha, półsucha i mokra. Najczęściej praktykowana w Brazylii metoda dry-processing

to najstarszy rodzaj obróbki kawy. W praktyce usunięcie zewnętrznej warstwy epikarpu polega na suszeniu owoców na otwartych platformach, a osiągnięcie określonego poziomu wilgotności kawy zachodzi w warunkach naturalnych. Finalnie zewnętrzne warstwy suszonej „wiśni” oddzielają się samodzielnie lub są usuwane mechanicznie. Pomimo, że proces pozornie wydaje się być nieskomplikowanym, to sensoryczną jakość finalnego produktu uzyskanego metodą suchą nie da się wytłumaczyć tylko tą jedną zmienną. W trakcie suszenia następują biochemiczne przemiany naturalnych cukrów miąższu co prowadzi do uzyskania naturalnej słodyczy i prekursorów aromatów owocowych (Vincent, 1987).



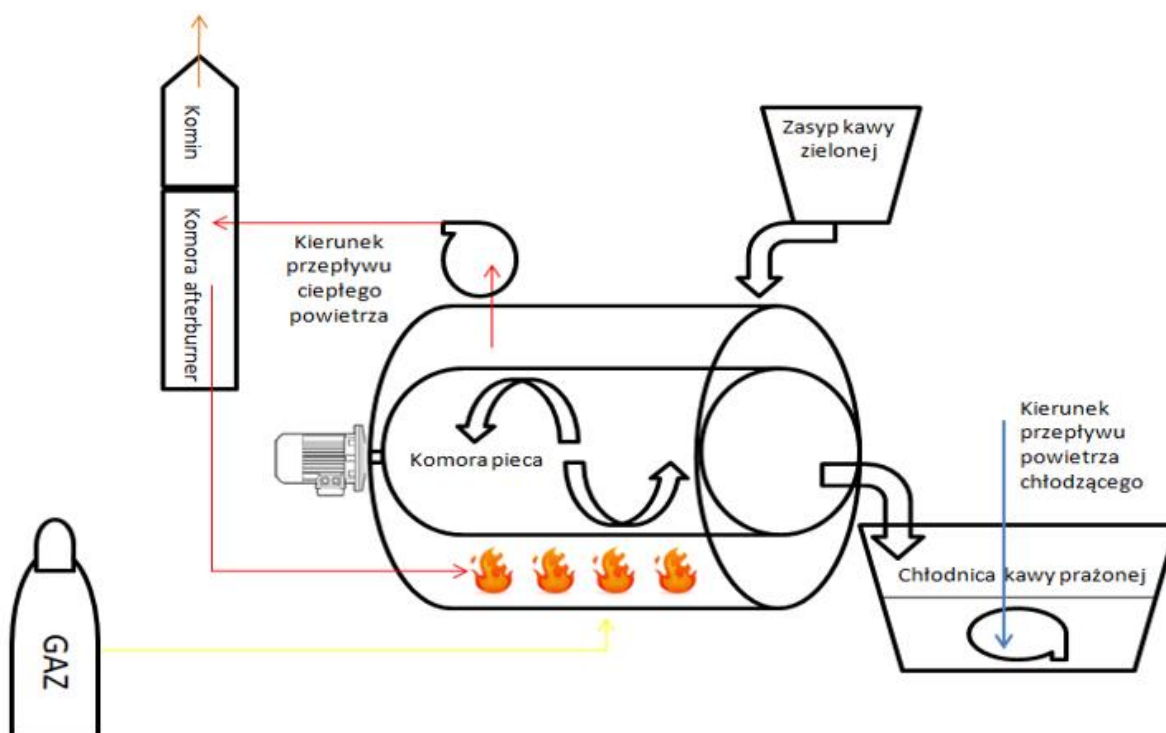
Rys.1. Owoc kawy (źródło internetowe nr 2)

Metoda „wet-processing” w porównaniu do powyższego procesu odzwierciedla bardziej zaawansowany sposób pozyskiwania kawy zielonej, gwarantując otrzymanie surowca o znacznie wyższej wartości smakowo-zapachowej. W urządzeniach przypominających młyn wodny następuje mechaniczne usunięcie skórki i znacznej części miąższu okrywającego ziarna kawy. Główną zaletą procesu jest redukcja czasu obróbki z 3-5 tygodni do 8-10 dni oraz zmniejszenie łącznej powierzchni surowca w procesie suszenia kawy. Z uwagi na fakt, że procesowi od samego początku towarzyszy woda, różnice gęstości ziaren wynikające z ewentualnego porażenia mikrobiologicznego umożliwiają wstępną selekcję, jak również oddzielenie zanieczyszczeń fizycznych. W kolejnym etapie kawa transportowana jest specjalnymi kanałami do basenu fermentacyjnego. Jest to klasyczny etap, który trwa od kilku do kilkunastu godzin (może być to jedna doba). Zachodzący w nim proces fermentacji mlekowej zużywa zawarte w ziarnach cukry oraz pektyny, a enzymy mikrobiologiczne hydrolizują białka co sprawia, że kawy myte wyróżniają się owocowym aromatem (de Melo Pereira i wsp., 2019).

Ostatnią z powszechnie stosowanych metod jest tzw. „pulp”, która polega na mechanicznym rozcieraniu owoców kawowych i usunięciu ich wierzchniej warstwy, z wyłączeniem fermentacji. Po oddzieleniu skórki od ziarna, kawę pozostawia się na słońcu wraz z pozostałościami aż do osiągnięcia wilgotności na poziomie 10-12%. Charakterystyczne deskryptory aromatów „owocowych” oraz „czekoladowych” dla surowców pochodzących z tej metody obróbki są wypadkową dwóch poprzednio omówionych technik (Chrostowska-Siwiek, 2011; Poltronieri i Rossi, 2016).

## 2.2. Technologia prażenia kawy zielonej – opis procesu

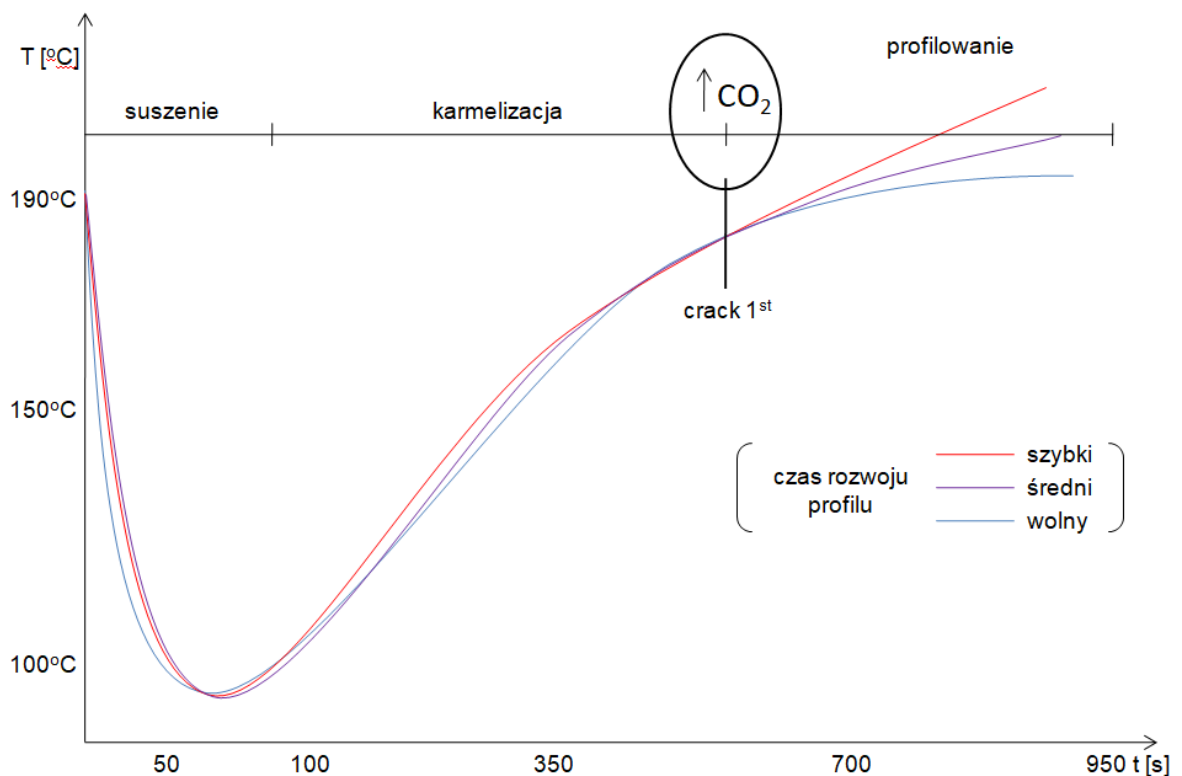
W praktyce przemysłowej do prażenia zielonych ziaren powszechnie wykorzystywane są piece kontaktowo-konwekcyjne (rys.2), które przystosowano do wytwarzania wysokich temperatur poprzez spalanie gazu lub dostarczania energii w sposób alternatywny (promieniowanie). Transfer ciepła do zielonych ziaren następuje zarówno przez przewodzenie przez ściany rotującego bębna, jak i konwekcję od poruszającego się strumienia powietrza, które unosi się ku górze i trafia do komory spalania (Schenker, 2000). Element niezbędny układu stanowi chłodnica kawy prażonej. Zbudowana jest ona z perforowanej blachy zaopatrzonej w przekładnię mieszającą, do której następuje wyładunek produktu poprzez uchylny segment bębna. Wentylator scalony z chłodnicą kieruje mechanicznie strumień powietrza z nad wypalonych ziaren, co sprzyja szybkiemu obniżeniu ich temperatury i zatrzymaniu niepożądanych zmian termicznych, takich jak pirolityczny wzrost stężenia dwutlenku węgla czy postępujące po wypaleniu procesy endotermiczne (Geiger i wsp., 2005).



Rys. 2. Schemat budowy pieca do prażenia kawy zielonej (opracowanie własne, źródło: Pantaleo i wsp., 2017)

W trakcie prażenia surowiec w całym przekroju osiąga temperaturę powyżej 200°C. W praktyce proces ocenia się wizualnie obserwując zmianę barwy co ma kluczowy wpływ na walory smakowe kawy. Pierwszy etap procesu, który charakteryzuje spadek temperatury komory do 100-120°C po aplikacji surowca do wnętrza pieca, obejmuje suszenie ziarna zielonego (rys.3). Zmiana barwy ziaren (z jasno słomkowej do ciemnobrązowej) jest efektem wzrostu temperatury w układzie w drugiej części procesu. Branżowa nomenklatura odnosząc się do wizualnych obserwacji, w której ziarna zmieniają kolor, definiuje dany etap jako karmelizację. Z chemicznego punktu widzenia zjawisko to jest związane z reakcją Maillarda (Michalska i Zieliński, 2007). Wypalane ziarna po osiągnięciu widocznych zmian strukturalnych (wzrost objętości ziaren od 50 do 100%) pękają, co powszechnie zwane jest „crackiem”. Towarzyszy temu charakterystyczny dźwięk, który wydaje surowiec, gdy osiąga po raz pierwszy temperaturę powyżej 180°C. Następuje wtedy efekt reorganizacji

miejsca parowania związanej wody (wewnętrzny wzrost ciśnienia jako następstwo pochłoniętego ciepła) oraz rozpoczynającej się pirolizy, podczas której uwalniany jest dwutlenek węgla (gaz ten negatywnie wpływa na smak kawy po zaparzeniu) oraz lotne związki organiczne (LZO) jak również substancje tłuszczowe (Chrostowska-Siwiek, 2011). Nieprawidłowe ustawienie wartości początkowej temperatury lub w przypadku, gdy gradient wzrostu temperatury jest nierównomierny i nie następuje stopniowe nagrzewanie ziaren od ich powierzchni do rdzenia może skutkować uwolnieniem zbyt dużej ilości substancji lotnych, przez co aromat kawy może ulec osłabieniu lub pogorszeniu (Pantaleo i wsp., 2018). Przykładowo, charakterystyczny w kawach z Kenii aromat, określany jako słodki pomidor (mieszanka heksanalu wraz z izomerami i pochodnymi alkoholami), który nie będzie kwalifikowany jako defekt (przypalony pomidor) w napoju cold brew coffee wymaga doboru odpowiedniej wartości temperatury początkowej w stosunku do ilości wsadu surowca, jak również ścisłej kontroli wyznaczonego organoleptycznie profilu palenia (Yilmaz, 2001).



Rys. 3. Krzywe profilowania kawy zielonej podczas procesu prażenia (opracowanie własne)

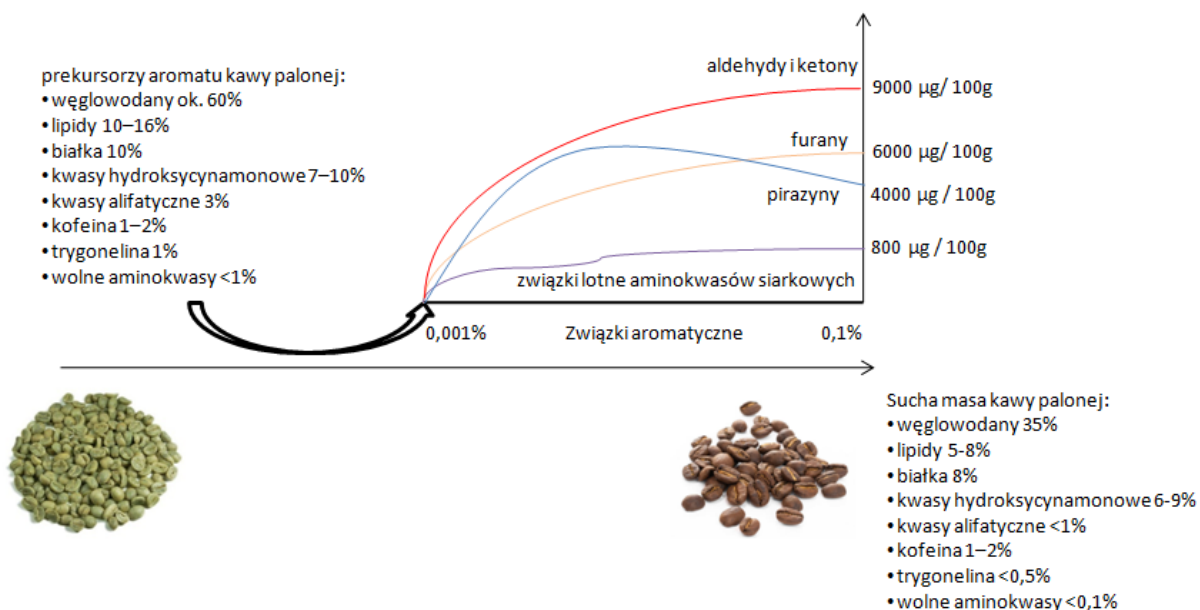
Temperatura prażenia kawy na potrzeby konsumpcyjne waha się od około 205 do 240°C. Czas wypalania trwa w przetwórstwie przemysłowym zazwyczaj kilka minut (7-12 min.), co stanowi połowę czasu potrzebnego na prażenie kawy w rzemieślniczych palarniach kawy. Proces ten jest charakteryzowany przez profil palenia (np. jasny, średni, ciemny), rodzaj otrzymanej kawy (np. lightbrown, cityroast, french) i w zależności od produktu - smak (np. mocna słodycz, lekka gorycz, pełne “body”) (Hu i wsp., 2020). W realiach przetwórstwa przemysłowego o wydajności powyżej 1000 kg/h, profil kawy coraz częściej jest monitorowany w sposób chemometryczny (np. 5-metylofurfural lub 2-acetylofuran są liniowo zależne od barwy uzyskanej w procesie palenia) lub w bardziej zaawansowanym standardzie proces ten może opierać się na badaniu wytworzonej lotnej frakcji. Przykładowo pirydyna, która jest nośnikiem nuty prażonej, przypalonej, może służyć jako ogólny wskaźnik prażenia, ponieważ powstaje przez cały czas trwania procesu



(Baggenstoss i wsp., 2008; Ruosi i wsp., 2012; Pantaleo i wsp., 2018). W przypadku produkcji rzemieślniczej proces prażenia kawy polega zasadniczo na doświadczeniu sensorycznym roastera (palacza kawy).

### 2.3. Technologia prażenia kawy zielonej - przegląd wybranych składników lotnych

Matrycę chemiczną kawy zielonej kształtuje średnio około 1000 związków chemicznych. Podstawowy podział lotnych składników organicznych VOCs (volatile organic compounds) odpowiedzialny za specyficzny aromat surowca kształtuje średnio 200 związków, zaś samej kawy palonej od 600 do 800 związków. Ich powstawaniu towarzyszą zmiany chemiczne związane z termiczną degradacją: węglowodanów (38–42%), lipidów (50%), białka (10%), kwasów kawoilochinowych (5-10%) i wolnych aminokwasów, co zobrazowano na rysunku 4. Kierując się analizą ilościową frakcji VOCs kawy prażonej warto podkreślić, że od 30 do 90 związków może być przedmiotem badań w kierunku zmian technologicznych procesu prażenia kawy w praktyce przemysłowej. Na ich podstawie producenci opisują klasyczne zapachy takie, jak: orzechowy, skórka chleba, karmelowy, miodowy, owocowy, ziołowy, które wpływają na decyzje zakupowe klientów. Przekazywane na opakowaniach informacje w większości przypadków determinują kolejno: pirazyny, furany, aldehydy, ketony i związki siarki, które odpowiadają za intensywność i zmiany aromatu kawy po przygotowaniu napoju, dlatego wybrane składniki kawy palonej opisano w dalszej części pracy (Holscher i Steinhart, 1994; Holscher i Steinhart, 1995; Toledo i wsp., 2016; Yang i wsp., 2016).



Rys.4. Wybrane zmiany składu chemicznego podczas prażenia kawy zielonej (opracowanie własne, źródło: Chrostowska-Siwiek, 2011; Seninde i Chambers, 2020)

#### 2.3.1. Aldehydy i ketony

Krótkołańcuchowe frakcje związków lotnych aldehydów i ketonów to charakterystyczne składniki aromatu, mogące mieć wpływ na poprawę jakości sensorycznej kaw rozpuszczalnych (Rodrigues i Fernandes, 2023). W badaniach Semmelroch i Grosch (1996) nad substancjami zapachowymi przedstawiono związki chemiczne mające wpływ na aromat wykazując, że 3-metylobutanal i metylopropanal, to najważniejsze aldehydy mające wpływ na OAV napoju z palonych ziaren kawy. Co istotne, aldehydy mogą służyć również za wskaźnik

niepożądanych zmian jakości ekstraktów kawy. Przykładowo, w procesie ich utleniania zanika charakter słodki i owocowy napoju, co potwierdzono podczas badań własnych w trakcie testów przechowalniczych klasycznej wersji napoju marki Etno Cafe (Huige, 1993; Bayle, 2019; Araújo et al., 2020). Innym przykładem wadliwego aromatu napoju jest zapach „przypalonych ziemniaków”, który skojarzono z metionalem (3-(metylotio)propanal) obecnym w kawie. Powstanie tego związku wynika najprawdopodobniej z interakcji związków  $\alpha$ -dikarbonylowych z nieenzymatycznie utlenioną metioniną podczas etapu degradacji Streckera (Havkin-Frenkel i Belanger, 2008).

Ketony to związki, które w zależności od techniki ekstrakcji mogą odpowiadać aromatom kojarzącym się konsumentom negatywnie (maślany, grzybowy, stęchły) i pozytywnie (owocowy, karmelowy) (Amanpour i Selli, 2016). W praktyce produkcyjnej kawy cold brew najczęściej kojarzone są z pozytywnymi nutami popcornu, słodkiej trawy lub kwiatów, które powstają podczas pierwszego przebarwienia kawy z koloru zielonego na żółty. Za stan ten odpowiadają m.in. 2,3-butanodion i 2,3-pentanodion (aromaty cukierków krówek, orzechu, popcornu) oraz 2-pentanon, 3-heksanon (aromaty kwiatowo-karmelowe, miodowo-palone). Co istotne, gdy proces prażenia w trakcie etapu karmelizacji przebiega zbyt szybko aktywny aromat popcornu (osiągając kilkukrotnie większe stężenia) może odzwierciedlić niepożądany w napoju cold brew aromat palonej słomy (Hofmann i wsp., 2000; Chrostowska-Siwiek, 2011).

Innym przejawem niepożądanych zmian w obrębie obydwu grup związków okazuje się również palenie kawy porażonej mikrobiologicznie (pH surowca powyżej wartości referencyjnej 5,9-6,0), który istotnie wpływa na aktywność aromatu określanego, jako spleśniały, błotny (Bayle, 2019; Araújo i wsp., 2020) lub zjeżdżały ser, mleko kozie. Aromaty te mogą powstawać na drodze przekształcenia leucyny w 3-metylobutanal, a następnie w kwas izowalerianowy. Zapach ten bardzo rzadko pojawia się w kawie, ale jest wyraźny dla konsumentów, dlatego dany związek może służyć za wskaźnik oceny jakości kawy arabica (Loutfi i wsp., 2015; Iwasa i wsp., 2021).

### 2.3.2. Lotne związki siarki

Związki związane z siarką istotnie wpływają na smak i zapach kawy, ponieważ wykazują ogółem najniższy próg wyczuwalności od 0.01ppm do 1 ppb (Gemert, 2011). Przykładowo, 2-metyl-3-furanotiol oraz 2-furanometanotiol o progu wyczuwalności przy stężeniu ok. 0,005  $\mu\text{g}/\text{kg}$  są świadectwem charakterystycznych aromatów palonego mięsa, karmelowego i kawowo-słodkiego. Powstają głównie z cysteiny i rybozy podczas reakcji Maillarda, przy czym nie zawsze występują w kawie cold brew. Najwyższą zawartość spośród heterocyklicznych związków siarki kawy stwierdzono w odniesieniu do czterech związków: 2-furfurylotiol, który wywołuje pozytywne wrażenie zapachu i kojarzony jest jako „wędzony” lub „palona kawa” oraz wywołujące negatywne skojarzenia: 3-metyl-2-buten-1-tiol, mrówczan 3-merkpto-3-metylobutyli, metanotiol. Pomimo zazwyczaj pozytywnych wrażeń (deskrypcji) w zwiększonym stężeniu są uznawane za składniki nieprzyjemne, jako tzw. “off-flavour” - skojarzenia te opisywane są jako nuty „kanalizacji” lub „zepsutych warzyw” (Parker i wsp., 2014).

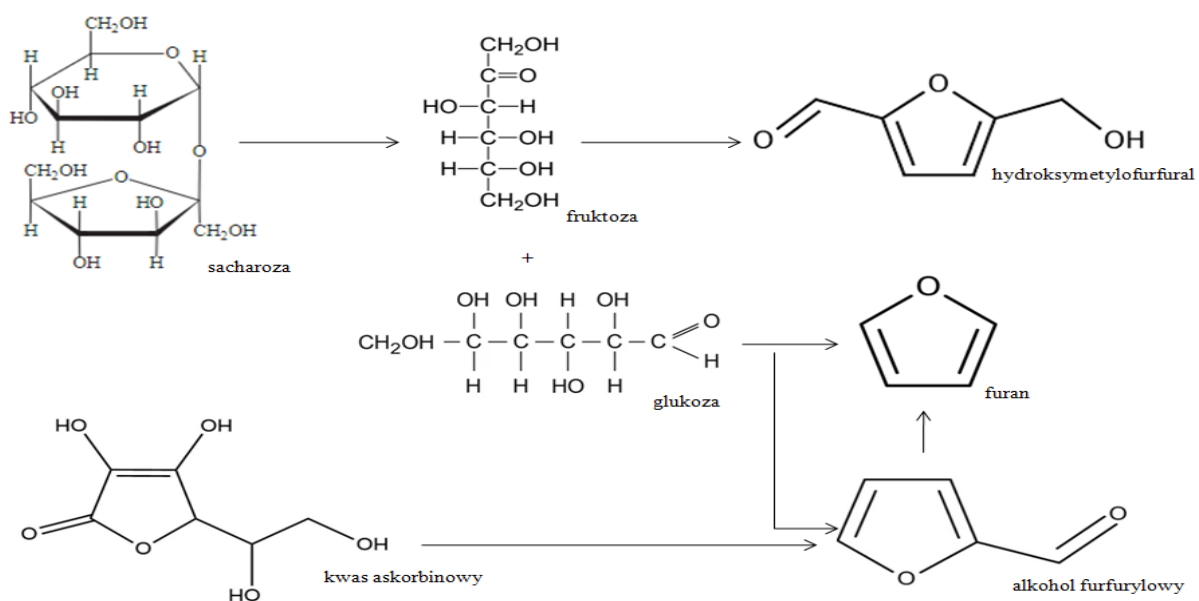
Interesującym wyrazem dynamicznych zmian w składzie związków lotnych kawy charakteryzuje się metanotiol. Osiągając początkowe stężenie 1,5-4,3 ppm dla ziaren palonych może ulec dekoncentracji w trakcie przechowywania o około 30% podczas pierwszych godzin

lub 80-95% do trzech tygodni od wyprażenia. Istotny spadek stężenia danego składnika obserwuje się także w trakcie ekstrakcji, za co odpowiada nisko polarna grupa funkcyjna związku i wysoka lotność składnika. Dla kawy typu italian, frenchroast zaobserwowano także kolejny silny potencjał niekorzystnych zmian odczuwalnych sensorycznie przez metanotiol. W przypadku przechowywania ziaren ciemno palonych w miejscu bezpośrednio narażonym na światło słoneczne następuje częściowa autooksydacja tłuszczu i wiązania metionalu (3-metylotiopropanal), który najczęściej kojarzony jest z aromatem typu „obrane, tłuczone ziemniaki”.(Amorim i Amorim, 1977; Buttery i wsp., 1997; Flament, 2001).

### 2.3.3. Heterocykliczne związki azotu i tlenu

Napoje z kawy są lepiej oceniane sensorycznie w zależności od składu i budowy związków chemicznych w nich zawartych. Z tego też względu w porównaniu do atomów siarki utlenione związki heterocykliczne kojarzone są z wyższą jakością sensoryczną (generalna deskrypcja: słodczy, nuty owocowo-palone, karmelowy słód). Ich ilość rośnie wraz z krótszym czasem i wyższą temperaturą prażenia osiągając nawet 60% VOCs po pierwszym „cracku”. Z uwagi na wysoką elektroujemność tworzą silne wiązania wodorowe, co ma wpływ na długotrwałe odczucie podobieństwa aromatu kawy cold brew po procesie pasteryzacji (Toledo i wsp., 2016).

Interesującym składnikiem grupy heterocyklicznych związków związanych z atomem tlenu jest furan. Związek ten odpowiada za właściwości niosące aromat słodkiego karmelu i orzechów. Sprzęgając się z innymi cząstkami tworzy pochodne takie, jak: difurany, etery, ketony, aldehydy, wypełniając ponad 10% całkowitej liczby VOCs w napojach (Flament, 2001, Meireles i wsp., 2022). Furan powstaje w głównym szlaku z degradacji termicznej sacharozy (rys. 5). We wczesnym etapie biosyntezy dochodzi do tworzenia pierścienia furanoidowego, zaś w ostatnim do dehydratacji glukozy. Co istotne, zbyt szybki wzrost temperatury sprzyja wzrostowi koncentracji pochodnych związku, wśród których 5-hydroksymetylofurfural (5-HMF) i furfural (FF) stanowią główne produkty (zaobserwowano możliwą dekarboksylację furfuralu, która prowadzi w 10% do powstawania furanu i 90% alkoholu furfurylowego na skutek uwodornienia w ciemnych profilach prażenia) (Mathew i wsp., 2018; Gruczyńska i wsp., 2018; Hernández-Fernández i wsp., 2023)



Rys. 5. Schemat syntezy furanu podczas prażenia kawy zielonej (opracowanie własne, źródło: Moon i Shibamoto, 2010; Hernández-Fernández i wsp., 2023)

Biorąc pod uwagę aspekty zdrowotne picia kawy należy zaznaczyć, że furan był przedmiotem dyskusji naukowych, ponieważ został sklasyfikowany jako prawdopodobnie rakotwórczy dla ludzi (ze względu na toksyczną aktywność metaboliczną). Wyznaczono margines ekspozycji niebezpiecznej dawki, która wynosi ponad 0,95 mg/kg masy ciała (dawka śmiertelna ponad 5 mg/kg masy ciała) (Gruczyńska i wsp., 2018). Co istotne, składnik ten jest również wykrywany w innych produktach żywnościowych czy posiłkach dla dzieci, w których wyznaczono średnie stężenie furanu na poziomie 112 µg/kg (Minorczyk i wsp., 2012). Warto zaznaczyć, że spożywanie kawy pomimo zawartego furanu ma pozytywny wpływ na zdrowie, ponieważ koncentracja aktywnych składników chemicznych o właściwościach prozdrowotnych dominuje nad potencjalnie szkodliwymi dla zdrowia składnikami z frakcji lotnej. Ponadto, bezprecedensową korzyść z picia kawy zaobserwowało w kraju Narodowe Centrum Edukacji Żywieniowej umieszczając symbol filiżanki kawy w nowej Piramidzie Zdrowego Żywienia i Aktywności Fizycznej dla osób dorosłych. Stwierdzono, że umiarkowane spożycie (3-5 filiżanek dziennie) jest bezpieczne dla zdrowia i łączone z całą gamą pożądaných skutków fizjologicznych (źródło internetowe nr 3).

Węglowodory aromatyczne z kontrapunktowym atomem azotu stanowią od 14% do 30% części składników lotnych kawy. Są pośrednimi produktami reakcji Maillarda i degradacji białek, z których najważniejszy wpływ na aktywność aromatu napojów kawowych wykazują pirazyny, pirydyny i pirole (Rusinek i wsp., 2022). W efekcie termicznej kondensacji związków aminowych, pirazyna uformowana w pierścień heterocykliczny z dwoma atomami azotu, odpowiada w kawie za aromat dymny, słodki wędzony, palonych kwiatów (Álvarez, 2016).

Przykładowo, 2-metylopirazyna, 2,5-dimetylopirazyna oraz 2,3-dimetylopirazyna uznane zostały za trzy z czterech związków markerowych w grupie aromatów „pieczeniowych” dla napojów kawowych, a 2-metoksy-4-winylofenol uznano za główny składnik aromatu kawy palonej. Jeśli te trzy związki występują w stosunku 6:3:1 to fakt ten dowodzi o prawidłowości przeprowadzonego procesu prażenia, podczas którego zachowany został balans między aromatami palonymi i owocowymi. Z drugiej strony, gdy ich stężenie w ekstraktach osiąga powyżej 5000 µg/g dowodzi to o nieprawidłowo przeprowadzonym procesie wyprażenia (Hashim i Chaveron, 1996; Toci i Farah, 2008). Inne pochodne takie, jak 2-etylo-3,5-dimetylopirazyna, 2,3-dietylo-5-metylopirazyna odpowiadają za kompozycję aromatu z nutami „palonymi”, „pieczeniowymi”, podobnymi do gwajakolu. Wykazują jeden z niższych w tej klasie progów wyczuwalności oraz kształtują finalny charakter kawy po procesie ekstrakcji, wpływając na ogólną akceptowalność konsumencką napojów kawowych (Nursten, 2005). Badania nad głównymi składnikami aromatu wykazały, że gwajakol jest jednym z kluczowych związków aromatycznych kawy rozpuszczalnej, a jego obecność jest związana z wysoką jakością produktów typu instant (Bassoli i wsp., 2006). Ponadto wykazano, że w odniesieniu do aromatu kawy, gwajakol przyczynia się do charakterystycznych różnic w percepcji i różnic smaku między gatunkami kawy (Semmelroch i wsp., 1995).

Zbudowana z sześciocząłowego pierścienia pirydyna odpowiada w kawie za wrażenia o gorzkim i cierpko-ściąającym deskryptorze. Powyżej 500 µg/kg wpływa na aromat podobny do wysuszonej na słońcu aronii, którego intensywność w kawie jest niepożądana (Zhao i wsp., 2020). Dominująca i podwyższona zawartość pirydyny, jak również pochodnych związków jest wadą procesu prażenia kawy zielonej (Gancarz i wsp., 2022). Z kolei pirol stanowi kolejny ważny składnik tlenowy frakcji VOCs z uwagi na pożądaný aromat określany jako słodki,

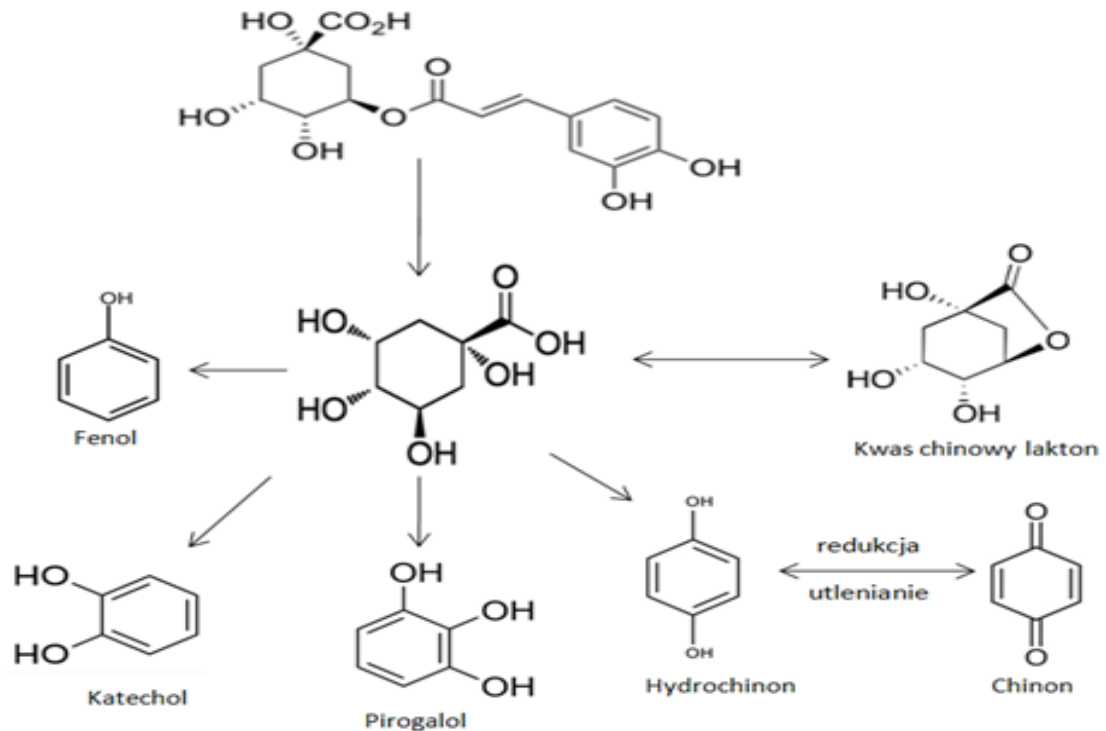
dymny. Wraz z pochodnymi powstaje z proliny w procesie pirolizy osiągając stężenie pomiędzy 2,5-3,0 ppmw kawie jasno i średnio palonej (Flament, 2001). Ze względu na wolną parę elektronów tworzy silne wiązania wodorowe z cząsteczkami wody odpowiadając za podobieństwo zapachów kawy przed zaparzeniem, jak i po przygotowaniu napoju (Petisca i wsp., 2013). Co istotne, badania aktywności przeciwutleniającej związków heterocyklicznych wykazały, że pirol posiada największą aktywność przeciwutleniającą spośród wszystkich składników VOCs (Yanagimoto i wsp., 2002). Sugeruje to, że tzw. „ciemniejsze prażenie” kawy zielonej może pozytywnie wpłynąć na zdolność potencjału antyoksydacyjnego frakcji lotnej kawy instant cold brew typu „liquid” poprzez ukierunkowane „modelowanie” składników aromatycznych. Niemniej zagadnienie to wymagać będzie dokładniejszych badań w przyszłości.

#### **2.4. Technologia prażenia kawy zielonej. Wpływ procesu na zawartość kwasu kawoilochinowego, kofeiny i akrylamidu.**

Kawa jednym z najpopularniejszych napojów na świecie stanowiących bogate źródło kwasów kawoilochinowych (kawoilochinowych): 3-CQA, 4-CQA, 5-CQA należących do grupy polifenoli. Niestety w przypadku kwasów kawoilochinowych akceptacja konsumentka napojów o ich większej zawartości znacznie spada. Związki te odpowiedzialne są za cierpki i gorzki smak kawy. W kawie jasno palonej ich zawartość jest największa, a ilość wraz z pochodnymi wynosi do 6% s.m. Z kolei profilowanie kawy typu frenchroast może wykazywać utratę do 80% wszystkich kwasów kawoilochinowych (Farah i wsp., 2006; de Melo Pereira i wsp., 2020), wykazujących szczególne właściwości bioaktywne. Ich potencjał antyoksydacyjny zmniejsza ryzyko wystąpienia chorób dietozależnych, jak również zmian nowotworzenia komórkowego. W zależności od sposobu przygotowania napoju z 1 g kawy arabica można wyekstrahować do 100 mg polifenoli. Zalecana dawka dzienna na tę grupę związków chemicznych wynosi 0,1-1,0 g (Gawlik, 2004; Jabłońska-Ryś i wsp. 2013).

Z termicznego rozpadu kwasu kawoilochinowego powstają m.in. kwas kawowy i kwas chinowy. Związki te w trakcie prażenia kawy są prekursorami fenoli, które odpowiadają za korzenny, goździkowy zapach kawy oraz charakteryzują w odczuciu konsumenckim mniej cierpki smak kawy. Kwas chinowy także przyczynia się do zmian stopnia odczucia kwaśności kawy, czyli tzw. sourness. Związek pod wpływem gorącej wody ulega odwracalnej cyklizacji wytwarzając w porównaniu do substratu mniej kwaśny „octowo” lakton, który w miarę spadku temperatury napoju hydrolyzuje do pierwotnej postaci kwasu. To wyjaśnia zmiany niepożądaną kwaśności „octowej” kawy parzonej, która wzrasta po odstaniu (Parliament, 2000). W ujęciu właściwości sensorycznych kwasów CQA warto podkreślić, że izomeryczna frakcja 5-CQA pod wpływem degradacji termicznej stanowi także istotne źródło dwutlenku węgla obejmujące nawet 20% zawartości gazu w kawie prażonej. Dowiedziono, że dany poziom koncentracji ma wpływ na odczucie organoleptyczne, które powiązane z niskiej jakości „kwaskowatością” (będącą antagonistą „słodkości”) tzw. acidity. Owocowa kwaskowatość kawy to atrybut smaku napoju kawowego, który świadczy o wysokiej jakości wykorzystanych do ekstrakcji ziaren, niemniej duże znaczenie ma także stopień prażenia. Profil typu light oraz medium roast wyraża w aromacie kawy specyficzne nuty, takie jak np. jabłko, porzeczka, wiśnia, cytryna co w efekcie pozwala na uzyskanie silniejszego odczuwania kwaskowatości (reakcji organizmu głównie na kwasy: cytrynowy, jabłkowy oraz chinowy). W celu uniknięcia niepożądanych zmian organoleptycznych niezbędne jest odgazowywanie CO<sub>2</sub> z palonych ziaren kawy (Wang i Lim,

2017). Tym samym, przeznaczenie kawy do spożycia rekomenduje się nie wcześniej niż 5-7 dni od jej prażenia.



Rys. 6. Dekompozycja kwasu kawoilochinowego podczas prażenia kawy zielonej (opracowanie własne, źródło: Moon i Shibamoto, 2010, Toledo i wsp., 2016)

W napojach cold brew coffee stężenie kwasów kawoilochinowych może być niższe w porównaniu do napojów przygotowanych przez zaparzenie. Odnosi się to szczególnie w przypadku kawy light i medium roast, ponieważ mniejsza absorpcja w roztworze składników odpowiedzialnych za właściwości prozdrowotne wynika również z mniejszej zdolności zimnej wody do ich rozpuszczenia (Stanek i wsp., 2021; Polanco-Estibález i wsp., 2023). Możliwe jest uzyskanie podobnych stężeń składników po zastosowaniu obydwóch technik ekstrakcji, zwłaszcza po czynnościach optymalizacyjnych parametrów fizycznych ekstrakcji cold brew (Fuller i Rao, 2017). Niemniej jednak ważnym jest, aby kwasy kawoilochinowe miały optymalny wpływ na zapach i smak napoju, a profilowanie kawy zielonej na typ medium roast jest wypadkową właściwości prozdrowotnych oraz wyróżników smakowo-zapachowych opracowywanych koncentratów typu „liquid”.

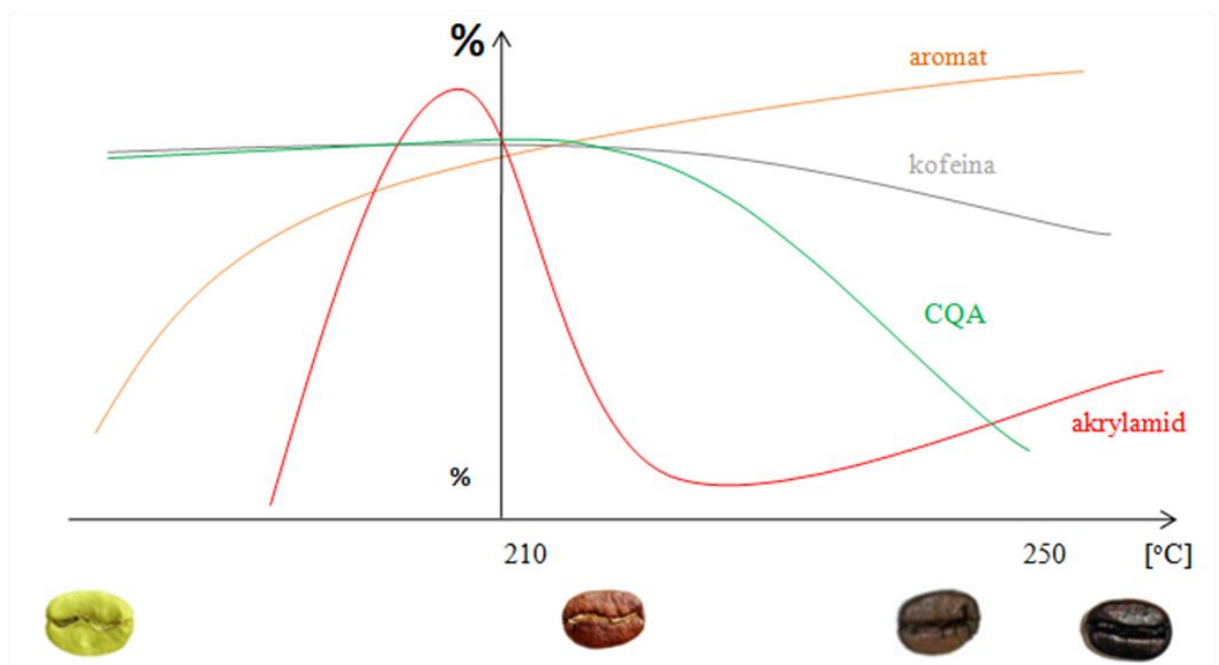
Kofeina (1,3,7-trimetyloksantyna) wydaje się być najlepiej poznanym biochemicznie składnikiem kawy, który z łatwością pokonuje barierę krew-mózg, zaś blokując receptory adenyliny wpływa stymulująco na organizm. Ponadto, obniża uczucie zmęczenia oraz zwiększa m.in. sprawność myślenia i aktywność ośrodkowego układu nerwowego ze względu na uwalnianie neuroprzekaźników, takich jak dopamina czy noradrenalina. Po spożyciu kofeina jest wchłaniana do krążenia ogólnego w ciągu 30–45 min z przewodu pokarmowego i nie ulega kumulacji w organizmie (Pelczyńska i wsp., 2019). W ujęciu organoleptycznym przyczynia się do gorzkiego smaku kawy (odpowiada za 10% odczuwanej goryczki napoju kawowego) (Sunarharum i wsp., 2014). Ze względu ilość praktykowanych sposobów ekstrakcji zawartość kofeiny w napojach kawowych dostępnych na rynku wykazuje dużą zmienność. Przykładowo, espresso oraz napoje przygotowywane z kawy w kapsułkach zawierają od 0,5 do 2,2 mg/ml kofeiny (Danhelova i wsp., 2012). Średnia zawartość

w napojach typu cold brew classic produkowanych przez markę Etno Cafe wynosi 75,4 mg/100ml, co wskazuje na 165,9 mg kofeiny zawartej w opakowaniu jednostkowym wynoszącym 220ml. Zawartość kofeiny w produktach kategorii RTD (Ready-To-Drink gotowych do spożycia) sporządzonych z kawy na gorąco dostępnych na rynku wynosiła od 109,7 do 147,7 mg w analizowanych przez autorów badań opakowaniach jednostkowych (Fajara i Susanti, 2017). Z kolei stężenie w zakresie od 36,5 do 55,1 mg/100ml, co odpowiada od 64,6 do 125,4 mg dla serwowanej porcji 175-300ml, zaobserwowano w literaturze przedmiotu dla kaw instant (Jeon i wsp., 2019). Można stwierdzić, że sposób otrzymywania napoju oraz możliwość stosowania podczas praktyki produkcyjnej różnego stosunku kawy do wody podczas ekstrakcji odzwierciedla niejednakowe wartości kofeiny w produktach dostępnych na rynku.

Zalecenia Komisji Europejskiej dotyczące referencyjnych zawartości dla akrylamidu w kawie palonej i rozpuszczalnej wynoszą odpowiednio 400 i 850  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (Endeshaw i Belay, 2020). Akrylamid (2-propenoamid, amid kwasu 2-propenowego) stanowi zanieczyszczenie o właściwościach kancerogennych powstałe podczas obróbki termicznej. Jest produktem kondensacji asparaginy i węglowodanów redukujących. Największą koncentrację akrylamidu w kawie zaobserwowano na początku procesu prażenia. Co istotne, różnica pomiędzy kawą jasno, a średnio paloną może sięgać 40% początkowej wartości stężenia akrylamidu. Niemniej jednak, praktyczne rozwiązania profilowania kawy w kierunku darkroast, które zmniejszyłyby całościowo poziom niepożądanego składnika wydają się nieskuteczne z dwóch powodów. Po pierwsze, w przypadku ciemnego profilu prażenia dochodzi do rozpadu kwasów tłuszczowych, z których powstaje kwas akrylowy i akroleina. Składniki te są bezpośrednimi półproduktami wtórnej syntezy akrylamidu. Po drugie, wraz z termiczną próbą redukcji akrylamidu może wystąpić niepożądany efekt tak zwanego „schorching’u”, na skutek którego powstają tzw. składniki antyodżywcze, co przejawia się w napojach charakterystycznymi nutami palonego papieru i tłuszczu (Yasuhara i wsp., 2003; Endeshaw i Belay, 2020). Związek ten jest wysoce polarny, dlatego większość akrylamidu ulega rozpuszczeniu w wodzie w trakcie ekstrakcji kawy prażonej (Andrzejewski i wsp., 2004). Średnia zawartość tego związku po przygotowaniu kawy techniką cold brew w temperaturze 5°C i na gorąco w temperaturze 80°C wynosi odpowiednio 4,1 i 3,5 ng/ml co sugeruje, że pokojowa temperatura jest jednym z czynników decydujących o jego stabilności (Kang i wsp., 2020).

Na rysunku 7 ukazano graficzne podsumowanie aktualnego stanu wiedzy dotyczącego surowca przeznaczonego do ekstrakcji, gdzie porównano koncentrację kwasów kawoilochinowych, kofeiny i akrylamidu w zależności od temperatury procesu prażenia, w kontekście jego końcowych zmian wizualnych. Obniżenie wartości zdrowotnych kawy może być uzależnione od prażenia w bardzo wysokich temperaturach. Wówczas ziarno charakteryzuje barwa brązowo-czarna. Symboliczne przecięcie funkcji wykładniczych kofeiny i kwasu kawoilochinowego powiązано z granicą profilowania kawy light w kierunku typu medium roast, po którym niewielki wzrost procentowy kofeiny w ziarnie odzwierciedla większościową degradację kwasów CQA oraz możliwą wtórnie postępującą syntezę akrylamidu.



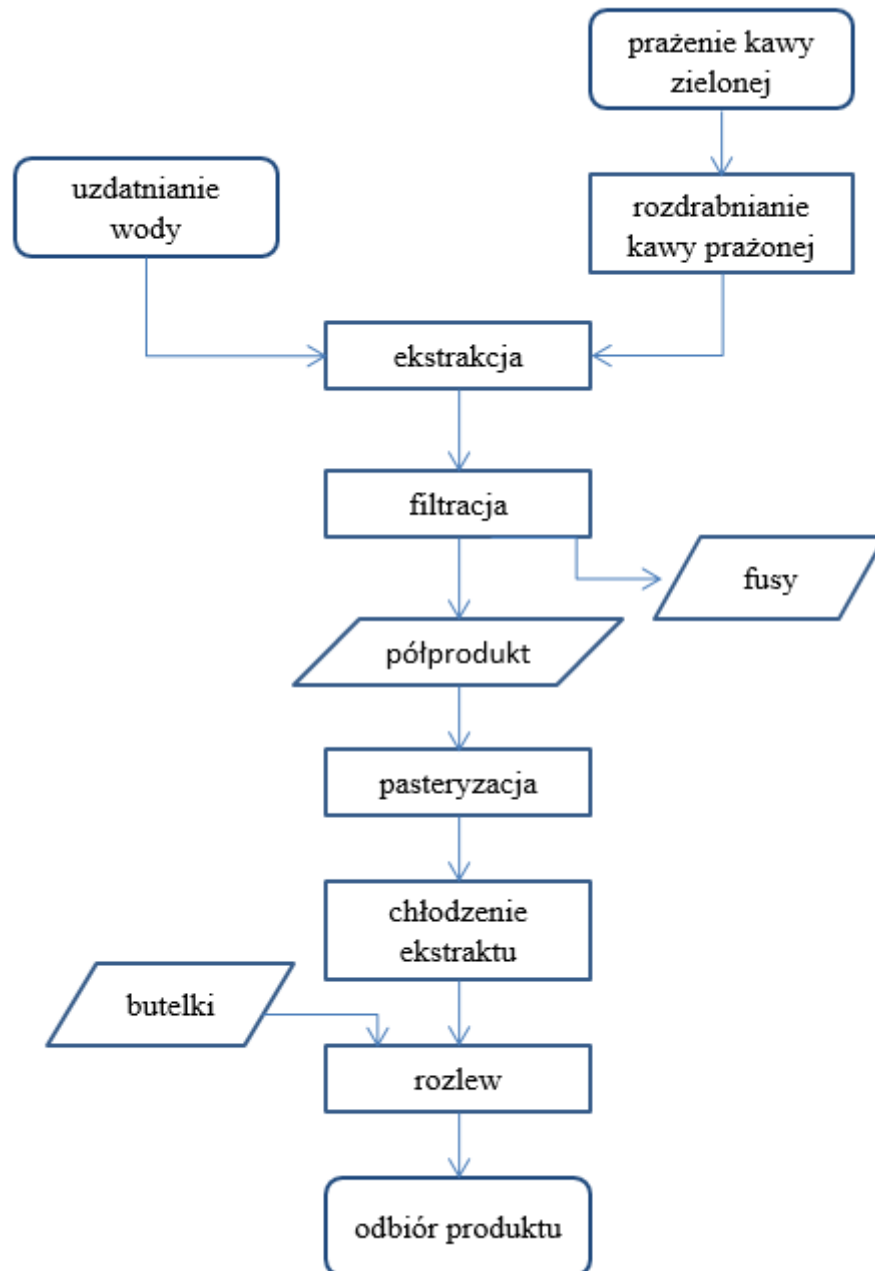


Rys. 7. Schemat zmian zawartości wybranych składników kawy oraz aromatu podczas prażenia kawy zielonej (opracowanie własne)

### 3. Charakterystyka napoju cold brew coffee oraz produktu końcowego instant typu „liquid”

Kawa typu cold brew jest nowatorskim sposobem przyrządzania napoju z prażonych ziaren kawy, którą charakteryzuje delikatny profil smakowy, mniejsza gorycz i słodko-owocowy aromat w porównaniu do tradycyjnie parzonej kawy. Specyficzne właściwości napoju, którego schemat technologiczny przedstawiono na rysunku 8, zależą nie tylko od wykorzystanej w procesie kawy, ale przede wszystkim od procesu ekstrakcji - trwającego do kilkunastu godzin w zakresie od 15°C do 25°C lub warunkach chłodniczych (Portela i wsp., 2021).





Rys.8. Proces technologiczny produkcji kawy instant cold brew coffee typu „liquid” (opracowanie własne)

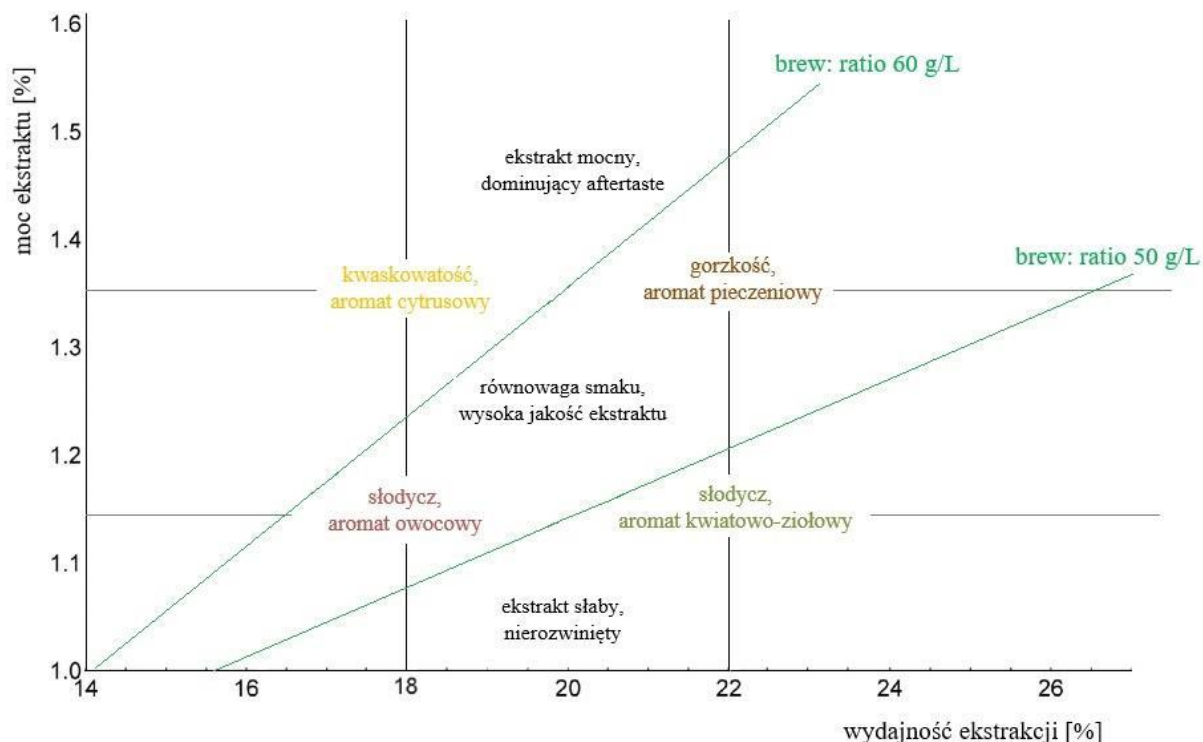
Woda jest podstawowym składnikiem napoju. Z standardów Specialty Coffee Association (SCA) wynika, że ogólna zawartość minerałów na poziomie 150 mg w litrze wody powoduje optymalną ekstrakcję pod względem smaku skutkującą zrównoważoną ilością składników słodczy, owocowej kwaskowości i goryczy. Z kolei mineralizacja wody na poziomie 70 mg/L (przy stosunku jonów Ca/Mg wynoszącym 50/50) odzwierciedla w odczuciu organoleptycznym zwiększoną cierpkość i „body” kawy w porównaniu do ekstraktu wykonanego z wykorzystaniem wody destylowanej. Dysproporcja w kierunku nadmiaru stężenia jonów Mg względem Ca (75/25) odpowiada za zmiany zwiększonej percepcji aromatu owoców. Z kolei większą ilość wapnia w wodzie powiązano z wzrostem goryczy w napoju (źródło internetowe nr 4). W badaniach dotyczących roli kationów w ekstrakcji kawy cold brew coffee ustalono, że nie istnieje jeden rodzaj wody, który zapewnia selektywną rozpuszczalność składników z palonej kawy. W przypadku niskiej mineralizacji wody można przedstawić argument za korzystną wymianą  $\text{Ca}^{2+}$  na  $\text{Mg}^{2+}$  w celu zwiększenia wydajności

ekstrakcji, bez pogorszenia smaku kawy i dodatkowej korzyści w postaci usunięcia źródła kamienia osadowego. Z kolei woda bogata w  $Mg^{2+}$  może być czynnikiem wskazującym na wyekstrahowanie większej ilości kofeiny i kwasów kawoilo i chinowych (Hendon i wsp., 2014). Wraz ze wzrostem stopnia mineralizacji wody zaobserwowano również merytoryczny związek w odniesieniu do wydajności ekstrakcji składników bioaktywnych kawy - średnio i wysoko zmineralizowana woda wpływa na niższą zawartość polifenoli w napojach. Zjawisko to wynika najprawdopodobniej z samorzutnego wiązania przez kationy  $Ca^{2+}$  związków chemicznych z grupy polifenoli (Chłopicka i wsp., 2015). Obecne rozwiązania w praktyce produkcyjnej cold brew coffee wskazują na całościowe usunięcie rozpuszczonych jonów w wodzie wykorzystywanej do produkcji napoju (Stan, 2016).

Podstawową operacją wykonywaną na kawie prażonej (zagadnienie prażenia opisano w poprzednim rozdziale) w procesie technologicznym cold brew coffee jest proces rozdrabniania. Z opisu mielenia kawy według SCA zaobserwowano, że wielkości rozdrobnionych ziaren na poziomie 1,0 mm oraz 1,5 mm można uznać za optymalne w praktyce produkcyjnej kawy cold brew, a czas ekstrakcji danych rodzajów ziaren powyżej pięciu godzin jest głównym czynnikiem wpływającym na smak napoju (Arnot, 2019). Co istotne, na podstawie doświadczenia związanego z marką Etno Cafe przyjęto, że średnie i grube mielenie odpowiada polepszeniu jakości produktu ze względu na większą klarowność napoju, gdy w procesie technologicznym zastosowano jednoetapową filtrację klasyczną. W literaturze przedmiotu stwierdzono również, że dla różnych stopni rozdrobnienia kawy cold brew ekstrahowanej powyżej trzech godzin oraz w porównaniu do kaw parzonych na gorąco nie zanotowano istotnych zmian pH (Pérez-Martínez i wsp., 2008; Somnam i Kanna, 2020; Pan i wsp., 2023). Można więc wyciągnąć wniosek, że opinia „less acidic” odnosząca się do napoju cold brew coffee ma związek przede wszystkim z wrażeniami sensorycznymi, a odniesienie do skali pH ma charakter jedynie porównawczy względem kawy parzonej na gorąco.

W celu pełnej charakterystyki procesu ekstrakcji należy również brać pod uwagę ilość substancji rozpuszczonych w produkcie. Wartość ta jest standardowo wyrażana w procentach jednostki TDS (total dissolved solids). Praktycznym narzędziem wykorzystywanym w produkcji, wyrażającym ilość składników rozpuszczonych z 1 grama kawy jest diagram Lockharta (rys. 9). Wykres opiera się na dwóch współrzędnych, tj. wydajności ekstrakcji [%] oraz mocy ekstraktu [%], na którym ukazane są linie reprezentujące iloraz ilości wody do ilości kawy na tle różnych cech sensorycznych napoju. Na rysunku tym zobrazowano więc listę konkretnych deskryptorów i stałych atrybutów smaku, które służą do opisu różnic organoleptycznych.

Określeniem organoleptycznym TDS jest „moc” ekstraktu - od słabego do mocnego, obejmując także intensywność aromatu (Colburn i wsp., 2016; Guinard i wsp., 2023). Wydajność ekstrakcji, którą można opisać jako słabą (kwaśną lub roślinną) lub nadmiernie rozwiniętą (gorzką), definiuje stosunek ilości rozpuszczonych w ekstrakcie składników kawy do ilości użytej w recepturze kawy prażonej (Várady i wsp., 2022).



Rys. 9. Diagram ekstrakcji kawy opracowany na podstawie wykresu Lockharta (opracowanie własne, źródło: internetowe nr 5)

W przypadku kaw tradycyjnie parzonych stan równowagi procesu i ilości rozpuszczonych składników wyznaczają współrzędne mocnego TDS oraz nadmiernej ekstrakcji. Wówczas finalny produkt charakteryzuje intensywny smak i typowe aromaty o pieczonym i palonym deskrytorze (Mestdagh i wsp., 2017). W przypadku kaw typu cold brew zaobserwowano, że ekstrakcja przebiega zwyczajowo w kierunku średniej mocy i umiarkowanej wydajności. W efekcie właściwości sensoryczne napoju w porównaniu do kaw tradycyjnie parzonych odzwierciedla balans smaku pomiędzy kwaskowością i słodyczą, intensywny aromat cytrusów i orzeźwiający charakter napoju (Kwok i wsp., 2020).

Zasadniczo metoda tzw. „pełnego zanurzenia” kawy do ekstrakcji cold brew odpowiada klasycznej technice produkcji napoju. W praktyce przemysłowej stosuje się do tego celu zbiornik wyposażony w mieszadło. Nieodłączną zaletą tej techniki jest możliwość kontroli parametrów procesu ekstrakcji, bez konieczności zastosowania specjalistycznych układów pomiarowych (Batali i wsp., 2022). Inną techniką ekstrakcji jest zimne przelewanie, tzw. *cold drip*. Jest to metoda „powolnego kroplenia”, która odzwierciedla natrysk rozpuszczalnika oraz przesączenie ekstraktu. Sposób ten wymaga minimum 3 poziomów konstrukcyjnych - kolejno na wodę, kawę i komorę zbierającą ekstrakt. W porównaniu do tradycyjnej maceracji układ wieży cold drip może być problematyczny w zastosowaniu przemysłowym ze względów finansowych oraz znacznie dłuższego czasu ekstrakcji. Z drugiej strony niewątpliwą zaletą tego rodzaju konstrukcji jest możliwość ułożenia ziaren kawy w filtrze, przez który grawitacyjnie przepływa ekstrakt (przypomina to technikę zaparzania kawy w ekspresie przelewowym). W ocenie sensorycznej kawy otrzymanej metodą cold drip, ocenia się go jako napój bardziej gorzki w smaku i o mocniejszym, palonym aromacie w porównaniu do ekstrakcji pełnego zanurzenia. Napoje uzyskane tą drugą technologią są charakteryzowane jako produkty o mocniejszym smaku słodocy. Ze względu na istotną różnicę związków lotnych, takich jak ketony, furany, furanony i pirazyny w aromacie

stwierdzono silniejsze odczuwanie takich cech jak orzechowość, karmel i słodowość (Córdoba i wsp., 2021). Zjawisko to może wynikać z częściowego utleniania składników kawy przelewanej na zimno, ze względu na proces przesączenia. Walory sensoryczne napojów uzyskanych w ten sposób są zależne również od kofeiny, której wyższą zawartość stwierdzono w przypadku napojów uzyskanych techniką cold drip, zaś różnica może sięgać nawet 0,2 mg/ml (Angeloni i wsp., 2019).

W kwestii maksymalnego stopnia redukcji czasu niezbędnego do otrzymania kawy cold brew, wykorzystuje się także tzw. niekonwencjonalne techniki. Przykładowo ekstrakcja wspomagana wiązką lasera powoduje uszkodzenia materiału spowodowane zmianami fizycznymi, które indukują zjawisko kawitacji przy powierzchni kawy zanurzonej w wodzie, ale z drugiej strony następujące zmiany kształtu na porowatej strukturze materiału są korzystne gdyż przyspieszają proces ekstrakcji. Finalnie skład chemiczny kawy wspomaganą laserem podczas ekstrakcji jest podobny do konwencjonalnej kawy macerowanej na zimno (Ziefuß i wsp., 2022). Innym przykładem procesu umożliwiającego optymalizację czasu ekstrakcji cold brew są techniki związane ze zmianą ciśnienia. Zastosowanie próżni redukuje obecność powietrza uwięzionego w przestrzeni międzykomórkowej kawy ograniczając fizyczną barierę, którą napotyka woda w kontakcie z ścianą komórkową surowca. Interakcja cykli próżniowych i czasu ich trwania ma więc znaczący wpływ na ilość składników możliwych do wyekstrahowania z kawy. Wadą tej metody w porównaniu do ekstrakcji przy użyciu wysokiego ciśnienia jest możliwość pogorszenia wszystkich cech sensorycznych (aromatu, body, aftertaste, równowagi smaku), co można wytłumaczyć obniżeniem temperatury wrzenia wody (Kyroglou i wsp., 2021, 2022). Z kolei metoda wysokich ciśnień (HPP), powszechnie wykorzystywana w przetwórstwie owocowo-warzywnym, pozwala utrzymać odpowiednią jakość smakowo-zapachową i wysokie stężenie bioaktywnych składników w napoju, ponieważ możliwe jest utrzymanie niskiej temperatury w procesie technologicznym. Ponadto, w metodzie tej otrzymuje się wzrost wartości TDS, stężenia związków aromatycznych w napoju i redukcję czasu ekstrakcji (Liu i wsp., 2022; Zhang i wsp., 2022; Polanco-Estibález i wsp., 2023). Redukcję czasu ekstrakcji oraz wzrost wydajności procesu można uzyskać przy zastosowaniu techniki wspomaganą ultradźwiękami (US). Doświadczenia innych badaczy wskazują, że w stosując ultradźwięki powoduje się intensyfikację mikroprzepływu cieczy w porowatej strukturze kawy, co skutkuje dwunastokrotnym zredukowaniem czasu ekstrakcji. Co istotne, w próbach eksperymentalnych US zaobserwowano podobne stężenia składników chemicznych w roztworze w porównaniu do wersji napoju produkowanego metodą pełnego zanurzenia. Metoda wspomaganą ultradźwiękami (US) wydaje się być aktualnie najlepszą z alternatywnych technik do otrzymania napoju cold brew (Stasiak, 2005; Zhai i wsp., 2022).

W opracowaniu technologii produkcji kawy cold brew typu instant zwrócono szczególną uwagę na fakt, że koncentrat takiej kawy posiada bardzo dobrą jakość i jest bezpieczny mikrobiologicznie przez ponad kilka tygodni (Bellumori i wsp., 2021; Wei, 2021), co potwierdzono również we wstępnych badaniach własnych. Tym samym podjęto decyzję eliminacji procesu pasteryzacji w dalszej części badań, ponieważ zagęszczone składniki kawy prażonej wykazują znaczący wzrost trwałości mikrobiologicznej produktu, rozwiązując częściowo problem jego utrwalenia (Calheiros i wsp., 2023). Na etapie własnych badań naukowych nie zaprojektowano docelowego opakowania, co również ma istotny wpływ na wyznaczenie ostatecznej daty minimalnej trwałości. Ponadto, jednostki pasteryzacji określane są dokładnie na podstawie rekomendowanych urządzeń, w tym wartości netto potencjalnej

produkcji, których również nie ustalano w momencie pisania niniejszej rozprawy. Warto zaznaczyć, że napoje muszą zostać wyprodukowane wg standardów higieny obowiązujących dla produkcji żywności. W zakresie utrwalania kawy cold brew rozważane jest wdrożenie metod kombinowanych, dzięki którym uzyskać można produkt bez niepożądanych zmian w jego składzie chemicznym, zachowując wszystkie walory sensoryczne, jak również biologicznie aktywne substancje. Perspektywą rozwoju wydają się być niskotemperaturowe metody fizyczne, których potencjalne wdrożenie zaplanowano po etapie studiów w ramach prowadzonej współpracy z firmą Elea (źródło internetowe nr 6).

Instancja to kluczowy etap niniejszej rozprawy, którego celem jest nadanie koncentratom płynnym właściwości błyskawicznego rozpuszczenia w czasie do kilku sekund. W wyniku zatężania przez odparowanie z ogrzanego roztworu wydziela się para rozpuszczalnika, zaś substancja rozpuszczona pozostaje w aparacie w postaci zatężonego roztworu, którego temperatura wrzenia jest wyższa od temperatury wrzenia wody pod tym samym ciśnieniem i zwiększa się w miarę koncentracji roztworu. W warunkach przemysłowych proces zagęszczania prowadzi się najczęściej w wyparkach próżniowych ciągłych, wyposażonych w skraplacz oparów, który wspomaga efekt obniżenia temperatury w obniżonym ciśnieniu. Wyparki te są bardziej ekonomiczne od wyparek o działaniu okresowym ze względu na mniejsze starty energii związane z użyciem ciepła na okresowe rozgrzanie aparatu i dają możliwość wykorzystania energii oparów do zatężania samego roztworu przez podwyższenie temperatury oparów w konstrukcji urządzeń wielodziałowych (Dłużewski, 2006). Pomimo, że przez indukowane ciepło następuje pogorszenie wartości organoleptycznych istotnych dla smaku kawy związków aromatycznych (Petrotos i Lazarides, 2001), to proces zagęszczania przez odparowanie wybrano do części doświadczalnej z uwagi na:

- obecność na rynku koncentratów kawy produktów niskiej jakości, powstałych najczęściej w oparciu o kawę gatunku robusta, której smak i zapach określa aromat pozbawiony związków lotnych o owocowym i kwiatowym deskrypcyjnie (Farah, 2019; Kwok i wsp., 2020),
- wykorzystanie w niniejszej pracy surowca wysokiej jakości, z którego możliwe jest uzyskanie koncentratu termicznego o lepszych właściwościach sensorycznych (badania własne z tym związane mogą uzupełnić również niewielką ilość publikacji na temat składu chemicznego lotnej frakcji kawy instant typu cold brew),
- możliwość redukcji znacznej ilości akrylamidu w kawie co może ukierunkować rozwój alternatywnych procesów technologicznych zwiększających wartości prozdrowotne finalnego produktu (Mariotti-Celis i wsp., 2017).

Drugi model procesu instancji, wobec którego zwrócono szczególną uwagę na fakt uzupełnienia technologii produkcji kawy instant typu „liquid” o nietermiczne operacje jednostkowe, związany jest z kriokoncentracją. W porównaniu z technologią odparowania czy technologią membranową, ma miejsce minimalna utrata związków lotnych i wartości odżywczej, co związane jest z lepszym zachowaniem związków termolabilnych takich, jak kwasy chlorogenowe (pozostaje ich około 70%) oraz substancji odpowiedzialnych za barwę i smak (Petzold i wsp., 2015; Orellana-Palma i wsp., 2017). W ten sposób większość producentów wytwarza piwo typu koźlak lodowy (eisbock) czy wino lodowe i cydr lodowy, ponieważ kriokoncentracja zwiększa wydajność fermentacyjną soku, utrzymuje wysokie walory smakowo-zapachowe oraz pozwala otrzymać wysokie OAV kluczowych aromatów napojów

fermentowanych (Kirkey i Braden, 2014). Obecnie dostępne są cztery techniki separacji poprzez kriokoncentrację (Orellana-Palma i wsp., 2019):

- kriokoncentracja zawiesiny (tworzenie się wielu kryształów lodu, które oddziela się od stężonej cieczy),
- kriokoncentracja progresywna (tworzenie się dużej masy lodu na powierzchni chłodzącej),
- koncentracja opadającego filmu (tworzenie się pojedynczej warstwy lodu, która powstaje warstwa po warstwie z zatężonego roztworu),
- kriokoncentracja blokowa (uwzględnia etapy całkowitego zamrożenia roztworu i rozmrażania grawitacyjnego substancji rozpuszczonej z bryły lodu).

Co ważne, koncentracja blokowa w porównaniu z innymi nietermicznymi technikami wymaga konstrukcyjnie prostszych urządzeń i mniejszych kosztów inwestycyjnych. Na przeszkodzie w rozpowszechnieniu tej metody stoi niższa wydajność, wynikająca z czasu niezbędnego na otrzymanie koncentratu. Z kolei w porównaniu z metodami termicznymi, pozwala uniknąć nieprzyjemnych posmaków określanych, jako przypalone, co pozytywnie wpływa na jakość finalną produktu (Krzysztofik i wsp., 2015). W procesie kriokoncentracji blokowej, bez uwzględniania schłodzenia wstępnego surowca, występują zasadniczo dwa etapy (Orellana-Palma i wsp., 2019; Miyawaki i Inakuma, 2021;):

- zamrażanie - w miarę obniżania temperatury roztworu przyciąganie między cząsteczkami wody wzrasta i postępuje krystalizacja wody. W efekcie cząsteczki substancji rozpuszczonej nie są zdolne do dalszego przemieszczania między kryształami lodu. Układają się w wysoce ustrukturyzowaną sieć, powodując ich skupienie w jednej części bryły lodu. W celu uzyskania większej wydajności stosuje się zamrażanie w temperaturze poniżej -10°C, gdzie obserwowane są duże kryształki będące w 100% zarodkami skryształizowanej wody;
- separacja skoncentrowanej fazy płynnej - prowadzona okresowo lub w sposób ciągły pod wpływem siły odśrodkowej lub grawitacji, polega na odebraniu fazy w kontrolowanych warunkach rozmrażania. Korygowanie rozkładu składników rozpuszczonych w bryle lodu podlegających separacji, otrzymuje się z częściowego rozmrożenia bryły (etap przejściowy) i mrożenia wtórnego, wskutek czego następuje grawitacyjne skupienie substancji w jednej części bryły lodu. Ponadto, w celu zwiększenia wydajności separacji, można stosować w skojarzonych metodach praktyki takie jak wstrząsanie lub próżnia.

#### 4. Cel pracy i hipotezy

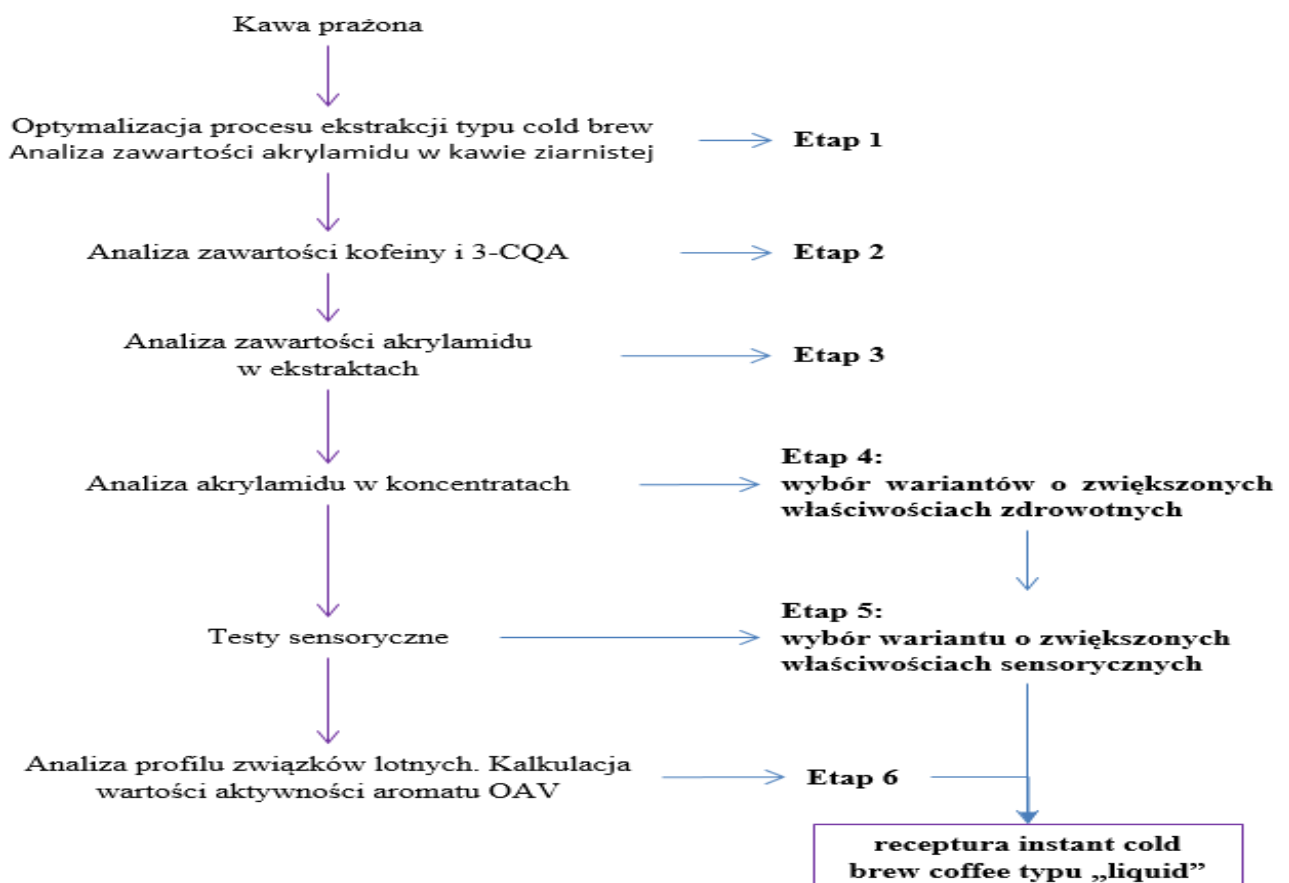
Celem głównym badań było opracowanie receptury koncentratu typu „liquid” o jak najlepszym składzie kluczowych związków chemicznych i wysokiej ocenie sensorycznej uzyskanej w wyniku zastosowania technologii instantyzacji oraz optymalizacji wybranych procesów technologicznych stosowanych w firmie.

W pracy postawiono następujące hipotezy:

1. Możliwe jest uzyskanie finalnego produktu o wysokiej zawartości kwasu kawoilochinowego 3-CQA przy jednoczesnym zredukowaniu w nim zawartości akrylamidu.
2. Technika kriokoncentracji umożliwia ukierunkowanie procesu technologicznego na zwiększenie obecności kluczowych związków aromatycznych poprawiających aromat kawy rozpuszczalnej.

#### 5. Metodyka badań – materiał badawczy i metody analityczne

W odniesieniu do metodyki badań przygotowano uproszczony schemat pracy badawczej (rys. 10), celem przybliżenia kluczowych etapów oraz wykonywanych analiz.



Rys. 10. Uproszczony schemat przeprowadzonych badań

## 5.1. Przygotowanie ziaren kawy - prażenie

Niepalone ziarna kawy brazylijskiej gatunku arabica pochodziły z palarni kawy Etno Cafe we Wrocławiu. Partię zielonych ziaren kawy (4,5 kg) podzielono na 30 frakcji po 150 g i przechowywano w firmowym opakowaniu (trójwarstwowym z wentylem jednostronnym) w temperaturze -32°C dla celów późniejszej analizy laboratoryjnej. Przed przystąpieniem do badań pobierano 50 g surowca i wypalono w automatycznym urządzeniu IKAWA (model nr Pro50, Londyn, Wielka Brytania) z wykorzystaniem aplikacji IKAWA Pro App, przy domyślnym ustawieniu czasu 8 minut, w trzech różnych temperaturach końcowych: 210°C, 220°C, 230°C. Ziarno bezpośrednio po wypaleniu mielono w młynku żarnowym marki Nivona (model Cafe Grano 130, Nurnberg, Niemcy) przy ustawieniu grubości mielenia 1500 µm i 1000µm. Zmielony materiał przesiewano w celu zatrzymania homogenicznej struktury ziaren o wielkości 1000 µm i 1500 µm wykorzystując sita marki KURVE (model Sifter Base, Ontario, Kanada). Zmielony i przesiany materiał poddano procesowi ekstrakcji po 24 godzinach - celem odgazowania CO<sub>2</sub>. Przez ten czas materiał znajdował się w chłodziarce marki LG Electronic Polska (model GBB92MCACP1, Warszawa, Polska) w temperaturze 5°C.

## 5.2. Ekstrakcja kawy. Pomiar ilości składników rozpuszczonych (TDS%)

Do szklanej kolby płaskodennej o pojemności nominalnej 100 ml z korkiem na szlif odmierzono 50 ml wody RO (uzyskanej przez odwróconą osmozę) ze stacji Aqua-Soft (model RO500, Białystok, Polska) i przetrzymywano:

- i) w chłodziarce marki LG Electronic Polska (model GBB92MCACP1, Warszawa, Polska) do ustabilizowania temperatury wody na poziomie 5°C

lub

- ii) w komorze termostatycznej marki ChemLand (model 06-WPL-30 BE, Stargard, Polska) do ustabilizowania temperatury wody na poziomie 25°C.

Kawę mieloną i przesianą, w zależności od wariantu, w ilości 2,5 g oraz 3 g, odważano do przygotowanych kolb, zamykano korkiem i obracano pięciokrotnie w kierunku góra-dół. Mieszaniny odkładano na okres 2, 4, 6, 9, 12 lub 24 godzin celem ekstrakcji w ustalonych warunkach temperatury (chłodniczych - lodówka, temperatury pokojowej - komora termostatyczna). Następnie roztwory filtrowano wykorzystując porcelanowy dripper marki Hario (model V60-01, Tokyo, Japan) oraz biały filtr papierowy do kawy marki Hario (model V60-01, Tokyo, Japan).

Pomiar TDS % filtratu dokonano za pomocą refraktometru optycznego Atago (model Pal-Coffee bx/tds, Tokyo, Japan). Każde doświadczenie przeprowadzono w czterech powtórzeniach (n=4).



### **5.3. Instancjacja ekstraktów cold brew coffee**

#### **5.3.1. Kriokoncentracja**

45 ml ekstraktu kawy cold brew przenoszono z wykorzystaniem cylindra miarowego do rurki szklanej (grubość ścianki 2 mm, średnica wewnętrzna 20 mm, wysokość 200 mm), jednostronnie izolowanej korkiem z gumy naturalnej Roth o wymiarze 12,5 mm dla dolnej średnicy (Rotilabo 12,5 mm, Karlsruhe, Niemcy). Materiał izolowano styropianem (grubość  $10\text{mm}\pm 1\text{mm}$ , przewodność cieplna  $K = 0,031 \text{ W/mK}$ ) do górnej krawędzi rurki tak, tak aby kierunek frontu zamrażania następował od góry do dołu. Roztwór mrożono przez 12 godzin w temperaturze  $-16^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$  w zamrażarce marki Whirlpool (UW8 F2Y XBI F 2 No Frost, Warszawa, Polska). Po zamrożeniu rurkę bez korka umieszczano nad cylindrem miarowym o objętości 10 ml zaopatrzonym w lejek szklany w statywie laboratoryjnym w komorze termostatycznej marki ChemLand (model 06-WPL-30 BE, Stargard, Polska). W temperaturze  $25^{\circ}\text{C}$  prowadzono proces instancjacji 5 ml napoju przez okres ok. 16 min 30 s (końcową temperatura koncentratu  $23^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ ). W dalszej kolejności koncentrat filtrowano przez filtr strzykawkowy PVDF  $0,2 \mu\text{m}$  (LLG Labware, Niemcy), przenoszono do próbki 10 ml typu Falcon i przechowywano w temperaturze  $-16^{\circ}\text{C}$  do czasu wykonania analiz.

#### **5.3.2. Koncentracja termiczna**

45 ml ekstraktu odmierzone w cylindrze miarowym i przeniesiono do kolby okrągłodennej ze szlifem o objętości 100 ml. Roztwór odparowano w wyparce próżniowej Rotavapor R-210 (Buchi, Flawil, Szwajcaria) w temp.  $65^{\circ}\text{C}$ , przy ciśnieniu 100 mbar, z szybkością 200 obr./min., w czasie ok. 11 min 20 s, do objętości 5 ml. W dalszej kolejności koncentrat filtrowano przez filtr strzykawkowy PVDF  $0,2 \mu\text{m}$  (LLG Labware, Niemcy), przenoszono do próbki 10 ml typu Falcon i przechowywano w temperaturze  $-16^{\circ}\text{C}$  do czasu wykonania analiz.

### **5.4. Analizy zawartości akrylamidu**

Analizy zawartości akrylamidu przeprowadzono na podstawie noty aplikacyjnej marki Shimadzu z modyfikacjami własnymi (Wei Edwin Ting i wsp., 2014). Do próbki typu Falcon o pojemności 50 ml dodano 0,5g (rys.11, wariant 1a) kawy prażonej, 10 ml wody destylowanej i  $10 \mu\text{l}$  wzorca wewnętrznego izotopu akryloamid- $d_3$  (Sigma Aldrich, Schnelldorf, Niemcy). W celu odłuszczenia matrycy oraz pełnej ekstrakcji analizowanego związku wprowadzono 5 ml heksanu (Sigma Aldrich, Poznań, Polska ) i 10 ml acetonitrylu (Sigma Aldrich, Poznań, Polska). Próbkę wytrząsano przez 1 min, odstawiono na 5 minut i ponownie wytrząsano przez okres 15 s. Do mieszaniny wprowadzono BEKOlut SALT AC-4 (SALT-Kit-AC4, Bruchmühlbach-Miesau, Niemcy) oraz 4g bezwodnego  $\text{MgSO}_4$  (SALT-Kit-AC4, Bruchmühlbach-Miesau, Niemcy) przystępując do ponownego wytrząsania przez okres ok. 2 minut, po czym próbkę odstawiano do samorzutnego rozdziału mieszaniny. Po rozdzieleniu się warstw, usuwano warstwę heksanową i przenoszono roztwór bez substancji stałej do kolby miarowej. Celem usunięcia kwasów organicznych i wysolenia fazy wodnej pochodzącej z próbki (migracja analitu i wzorca do fazy organicznej) przenoszono z kolby płaskodennej 1 ml roztworu do próbki BEKOlutQuEChERS (SALT-Kit-AC4, Bruchmühlbach-Miesau, Niemcy), a następnie odwirowywano (13.000 obr./min, 10 min). Otrzymany roztwór filtrowano przez filtr strzykawkowy PVDF  $0,2 \mu\text{m}$  (LLG Labware, Niemcy).

Próbkę w ilości 10 µl nastrzykiwano do analizy LC-MS/MS z wykorzystaniem aparatu marki Shimadzu (model 8045, Kioto, Japonia), kolumny Kinetex (2,6 µm C18 100A, 100 x 3 mm, Phenomenex, Aschaffenburg, Niemcy) przy temperaturze 35°C, z gradientową metodą elucji: w czasie 0,01–1 min założono 1% B, którego wartość zwiększono do 80% B do 3 min, z utrzymaniem wartości do 4.5 min i kolejno obniżeniem gradientu do 1% B do 5.5 min, z utrzymaniem wartości do końca 10 min (faza A- woda + 0,1% kwas mrówkowy, faza B – metanol + 0,1% kwas mrówkowy). Szybkość przepływu wynosiła 0,3 ml/min.

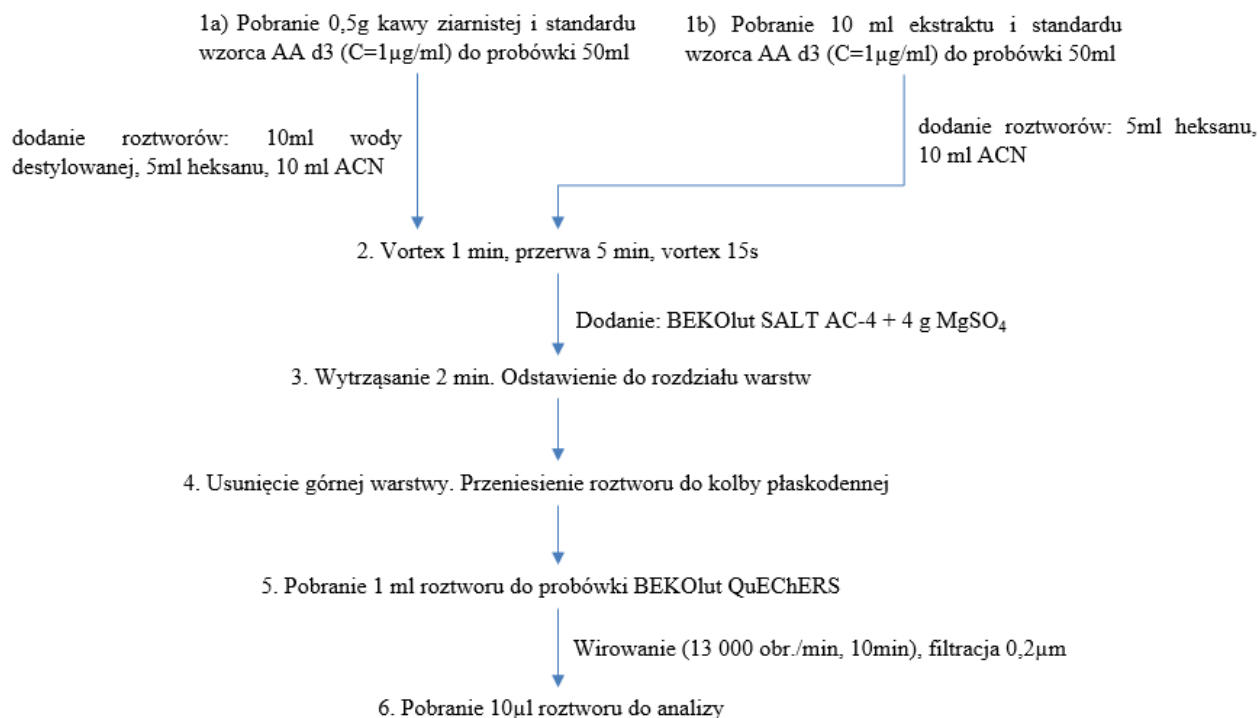
Analizę zawartości akrylamidu w ekstraktach wykonano zgodnie z rysunkiem 11 od czynności 1b. Do probówki typu Falcon o pojemności 50 ml dodano 10 ml wybranego roztworu i 10 µl wzorca wewnętrznego izotopu akryloamid-d<sub>3</sub> (Sigma Aldrich, Schnellendorf, Niemcy). W celu od tłuszczenia matrycy oraz pełnej ekstrakcji analizowanego związku wprowadzono 5 ml heksanu (Sigma Aldrich, Poznań, Polska ) i 10 ml acetonitrylu (Sigma Aldrich, Poznań, Polska). Dalsze czynności przygotowawcze oraz parametry oznaczeń pozostały niezmienione w porównaniu do analizy akrylamidu kawy ziarnistej.

Analizę zawartości akrylamidu w koncentratkach wykonano zgodnie z rysunkiem 11 z modyfikacją od czynności 1b. Do probówki typu Falcon o pojemności 50 ml dodano 5 ml wybranego roztworu i 10 µl wzorca wewnętrznego izotopu akryloamid-d<sub>3</sub> (Sigma Aldrich, Schnellendorf, Niemcy). W celu od tłuszczenia matrycy oraz pełnej ekstrakcji analizowanego związku wprowadzono 2,5 ml heksanu (Sigma Aldrich, Poznań, Polska ) i 5 ml acetonitrylu (Sigma Aldrich, Poznań, Polska). Dalsze czynności przygotowawcze oraz parametry oznaczeń zostały zmienione w porównaniu do analizy akrylamidu w ekstraktach, przy czym wykorzystano dokładnie połowę wszystkich odczynników do analizy.

Analizy przeprowadzono w trybie MRM w jonizacji dodatniej, przy parametrach spektrometru mas: przepływ gazu nebulizującego 3 L/min, przepływ gazu grzewczego 10 L/min, temperatura granicy faz 400 °C, temperatura desolvatacji 200 °C, przepływ gazu suszącego 10 l/min. Parametry analizy MRM przedstawia tabela 1. Optymalizacja MRM została przeprowadzona przy użyciu zautomatyzowanego programu stacji roboczej LabSolutions. Analizy przeprowadzono w trzech powtórzeniach dla każdego wariantu (n=3). Obliczenia zawartości akrylamidu wykonano na podstawie serii rozcieńczeń standardu związku z uwzględnieniem krzywej kalibracyjnej.

Tabela 1. Parametry analizy MRM dla akrylamidu d<sub>3</sub> i akrylamidu.

Nazwa związku	Przejścia MRM m/z (Q <sub>1</sub> ->Q <sub>3</sub> )	Q <sub>1</sub> (V)	CE (V)	Q <sub>3</sub> (V)
akrylamid d <sub>3</sub>	75.1 -> 58.0	-29	-15	-22
	75.1 -> 30.1	-29	-24	-30
akrylamid	72.1 -> 55.0	-17	-16	-24
	72.1 -> 27.1	-17	-22	-30



Rys.11. Kolejność działań w metodyce analizy akrylamidu

## 5.5. Analiza kofeiny i kwasu kawoilochinowego 3-CQA

Oznaczenie ilościowe kofeiny i 3-CQA zawartych w próbkach przeprowadzono metodą LC-MS/MS z wykorzystaniem aparatu marki Shimadzu (model 8045, Kioto, Japonia). Ekstrakty kawy cold brew oraz sporządzone na ich bazie koncentraty filtrowano przez filtr strzykawkowy PVDF 0,2 µm (LLG Labware, Niemcy) i rozcieńczano dziesięciokrotnie. Badanie analityczne wykonano z użyciem kolumny Kinetex (2,6 µm C18 100A, 100 x 3 mm, Phenomenex, Aschaffenburg, Niemcy), stosując w ustawieniach urządzenia nastrzyk 5 µl. Warunki pracy chromatografu w temperaturze 35°C utrzymała: faza A - woda z 0,1% kwasem mrówkowym (Merck, Niemcy) i faza B - metanol z 0,1% kwasem mrówkowym (Merck, Niemcy). Szybkość przepływu ustawiono na 0,3 ml/min. Program pracy rozpuszczalnika B względem rozpuszczalnika A scharakteryzowano następująco: od rozpoczęcia analizy do pierwszej minuty wynosił 20%, następnie wzrastał do 90% do 10 minuty. Od czasu 10:01 min. gradient obniżono tak, aby utrzymał wartość początkową w 12 minucie i utrzymał poziom do czasu zakończenia pomiaru (15 min.). Analizy przeprowadzono w trybie MRM w jonizacji dodatniej, przy parametrach spektrometru mas: przepływ gazu nebulizującego 3 L/min, przepływ gazu grzewczego 10 L/min, temperatura granicy faz 300°C, temperatura desolwatacji 526°C, przepływ gazu suszącego 10 l/min. Parametry analizy MRM przedstawia tabela 2. Optymalizacja MRM została przeprowadzona przy użyciu zautomatyzowanego programu stacji roboczej LabSolutions. Analizy przeprowadzono w trzech powtórzeniach dla każdego wariantu (n=3). Obliczenia zawartości kofeiny i 3-CQA wykonano na podstawie serii rozcieńczeń standardu związku z uwzględnieniem krzywej kalibracyjnej.

Tabela 2. Parametry analizy MRM dla kwasu kawoilochinowego 3-CQA i kofeiny

Nazwa związku	Przejścia MRM m/z ( $Q_1 \rightarrow Q_2$ )	$Q_1$ (V)	CE (V)	$Q_3$ (V)
3-CQA	195.2 -> 138.10	-10	-22	-22
	195.2 -> 42.15	-10	-36	-15
kofeina	355.2 -> 163.05	-19	-15	-27
	355.2 -> 89.10	-11	-55	-30

## 5.6. Analiza sensoryczna koncentratów

### 5.6.1. Ekspercka analiza pożądalności

Analizy sensorycznej dokonał 6- osobowy zespół ekspertów, który posiadał duże doświadczenie w ocenie sensorycznej produktów marki Etno Cafe. Badania sensoryczne obejmowały ogólną ocenę jakości jako pożądalności w skali od 1 do 10 (1 - niska pożądalność, 10 - wysoka pożądalność produktu). Biorąc pod uwagę, że analiza koncentratów została przeprowadzona na podstawie firmowej procedury cuppingu z modyfikacjami własnymi, do dalszej oceny produktów celem otrzymania kawy instant o zwiększonych właściwościach sensorycznych wybrano połowę wariantów badawczych (o najwyższej ocenie) z obydwóch technik koncentracji.

### 5.6.2. Ekspercka analiza sensoryczna akceptacji konsumenckiej w ujęciu hedonicznym

Ogólnej oceny akceptacji sensorycznej dokonał 8- osobowy zespół ekspertów. Analiza koncentratów została przeprowadzona w odniesieniu do ogólnej oceny pożądalności oraz akceptacji konsumenckiej, którą przeprowadzono w ujęciu hedonicznym wykorzystując do tego celu odpowiednio przygotowane karty ocen produktów w zmodyfikowanej skali dziesięciopunktowej. Badania obejmowały analizę sensoryczną wybranych wyróżników - zapach, smak, aftertaste, body, balance badanych produktów w skali od 1 do 10 (1 - niska jakość danej cechy, 10 - wysoka jakość danej cechy) oraz intensywności smaku (kwaśność, słodycz, gorzkość) i intensywności aromatu (owocowy, kwiatowy, ziołowy, orzechowy, czekoladowy, palony) w skali od 1 do 10 (1 - niska intensywność danej cechy, 10 - wysoka intensywność danej cechy). Oceniający otrzymali dodatkowo po 100 ml wody ze stacji odwróconej osmozy oraz po 10 ml roztworów: kofeiny 0,01%, kwasu cytrynowego 0,01%, sacharozy 0,01% celem przybliżenia podstawowych smaków ujętych w ocenie.

### **5.7. Analiza receptury o zwiększonych właściwościach sensorycznych. Badania GC-MS koncentratów. Kalkulacja wartości aktywności zapachu OAV (odour activity value).**

Do analizy chromatografii gazowej pobierano 0,9 ml koncentratu cold brew, które umieszczono w szklanych fiolkach SPME wraz z wzorcem 2-undekaneonem (1mg/ml) (Sigma-Aldrich, Schnellendorf, Niemcy). Ekstrakcję związków lotnych przeprowadzono w środowisku włókna DVB/C-WR/PDMS SPME Arrow o średnicy 1,10 mm (Shimadzu, Kyoto, Japonia). Substancje lotne odzyskiwano przez 14 min w temperaturze 60°C. Frakcję związków lotnych poddano desorpcji w warunkach iniektora chromatografu GC/MS i analizowano w sprzężeniu ze spektrometrem mas (Shimadzu GC-MS QP 2020, Shimadzu, Kyoto, Japonia). Rozdzielanie związków przeprowadzono przy użyciu kolumny kapilarnej Zebron ZB-5 MSi(30 m x 0,25 mm x 0,25 µm; Phenomenex, Torrance, CA, USA). Parametry analizy GC-MS ustanowiono następująco: zakres skanowania 40–400 m/z, temperatura źródła jonów 250°C, napięcie jonizacji 70 eV, gaz nośny (hel) przy natężeniu przepływu 1,01 ml·min<sup>-1</sup>, współczynnik rozdziału 1:50.

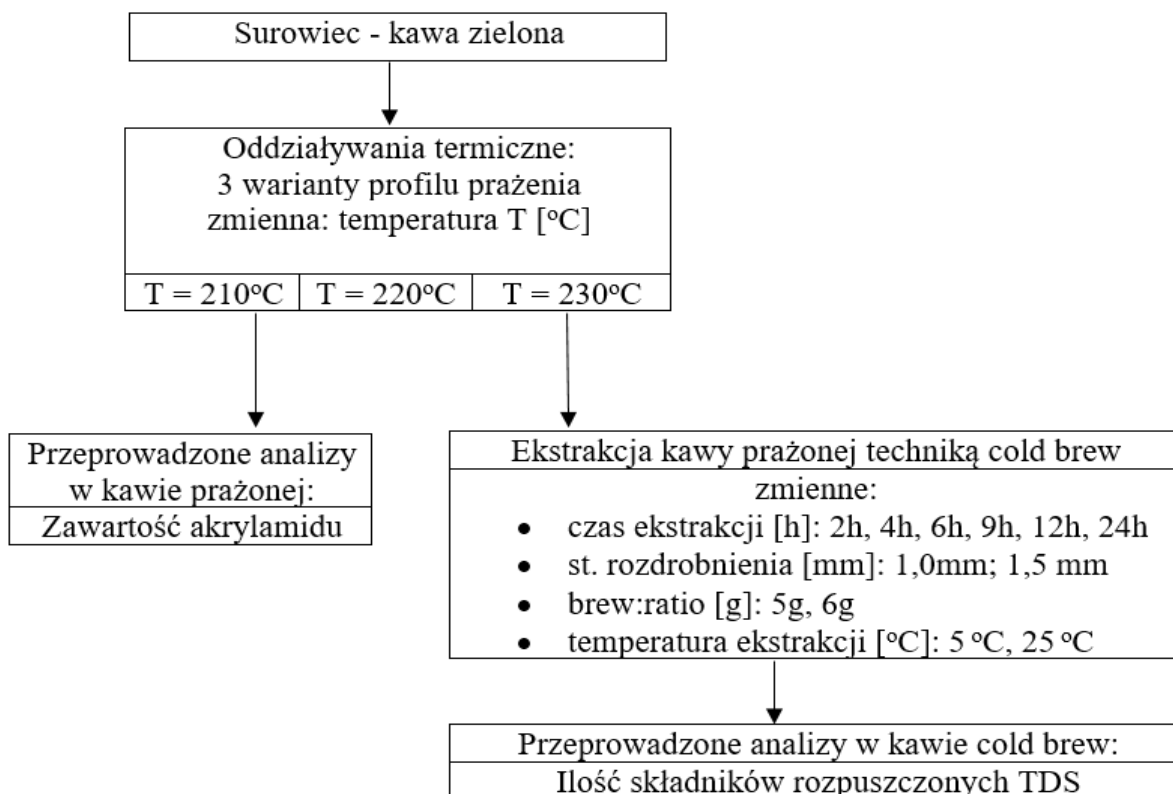
Separację związków lotnych zaprogramowano wobec temperatury początkowej 40°C utrzymaną przez pierwszą minutę, kolejno ze wzrostem do 100°C z dynamiką 2°C/min, do 140°C z dynamiką 4°C/min, do 180°C w tempie z dynamiką 8°C/min i ostatecznie do 280°C z dynamiką 20°C/min. Całkowity czas pomiaru wynosił 53 minuty. Analizy dokonano w odniesieniu do czasu retencji szeregu n-alkanów względem wzorca alkanów nasyconych Supelco oraz widm masowych i wskaźników retencji liniowej ( $\pm 10$ ) otrzymanych analitów z dostępnymi w bibliotece danych bazowych Flavours and Fragrances of Natural and Synthetic Compounds 3.0 (FFNSC 3.0). Rozpoznanie ilościowej wartości substancji lotnych wykonano na podstawie sygnałów GC-MS metodą normalizacji powierzchni piku obliczoną w stosunku do powierzchni piku wewnętrznego standardu 2-undekaneonu. Analizy przeprowadzono w trzech powtórzeniach dla każdego wariantu (n=3).

Obliczenie wartości aktywności aromatu OAV dokonano według aproksymacyjnego stężenia związku lotnego w stosunku do progu wyczuwalności sensorycznej OT (ang. odour threshold) w wodzie. Progi wyczuwalności ustalono na podstawie literatury (Gemert, 2011).

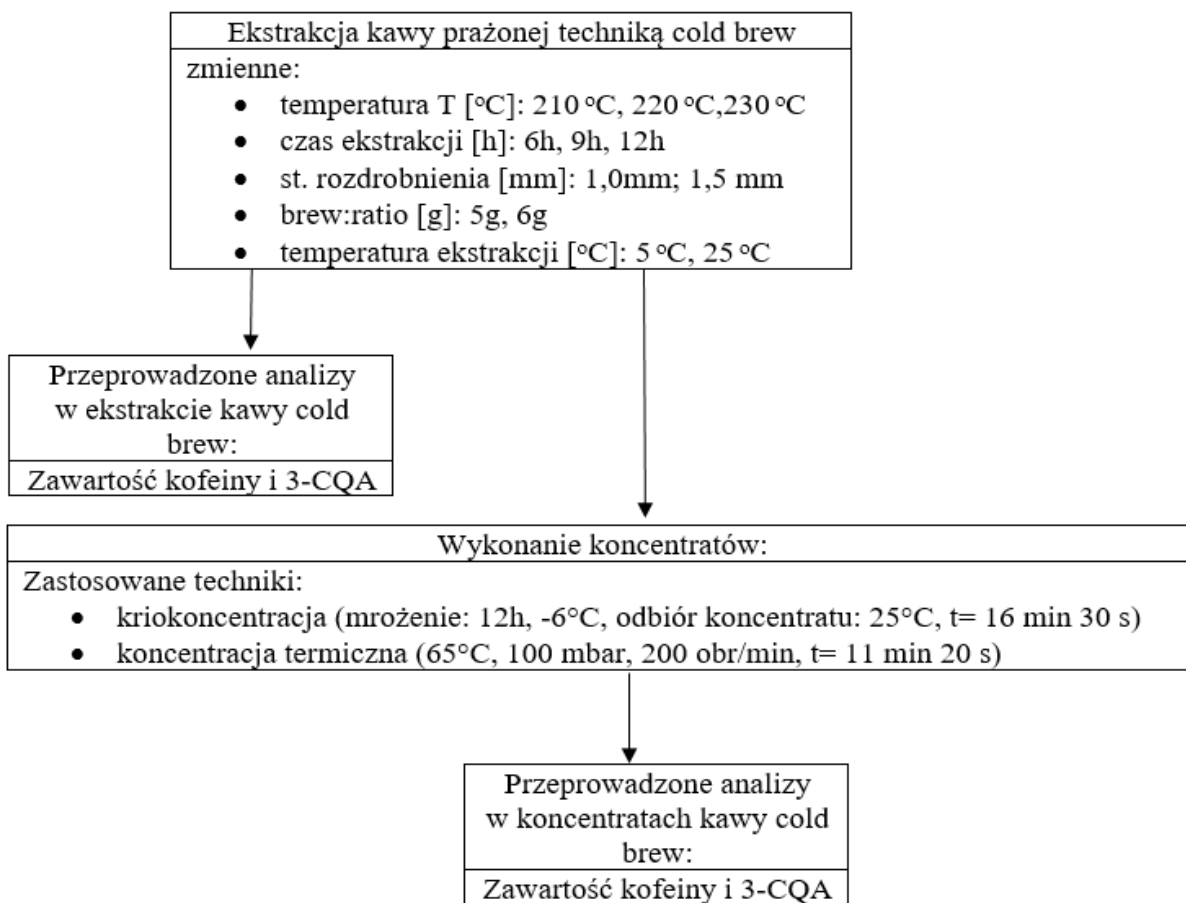
### **5.8. Analiza statystyczna wyników**

Uzyskane wyniki poddano obróbce statystycznej przy użyciu programu Statistica 13.3. Wykonano wieloczynnikową analizę wariancji, porównując średnie z testu post-hoc za pomocą testu Duncana, wykazując grupy jednorodne na poziomie  $p < 0,05$ . W badaniach optymalizacyjnych wykorzystano metodę „powierzchni odpowiedzi” (ang. Response Surface Methodology) wykreślając tylko te wykresy, dla których obliczony model był statystycznie istotny.

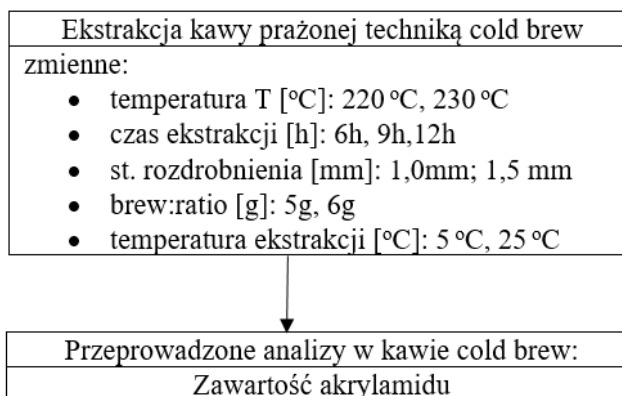
## 6. Szczegółowe schematy badań



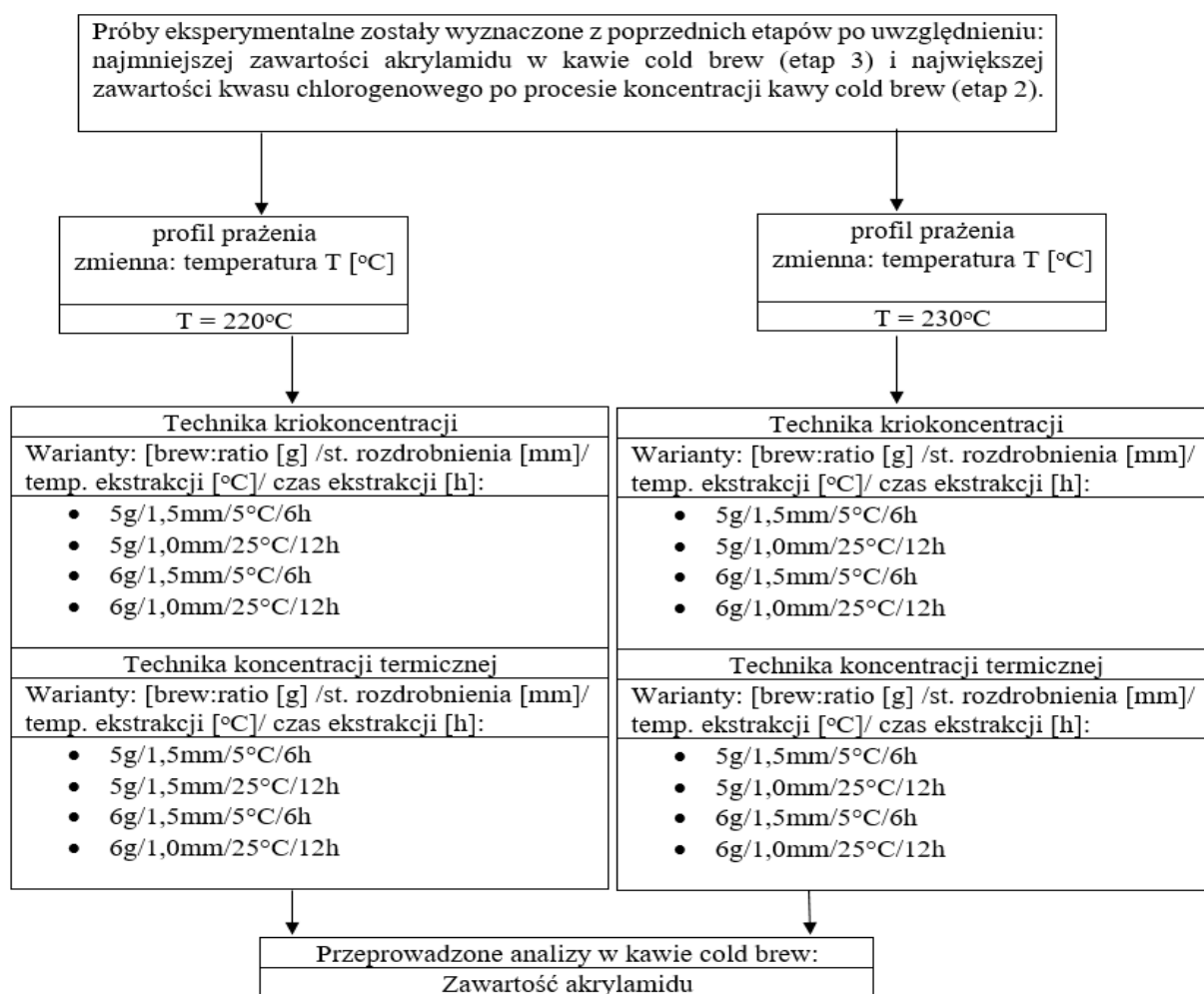
Rys. 12. Schemat szczegółowy – pierwszy etap badań



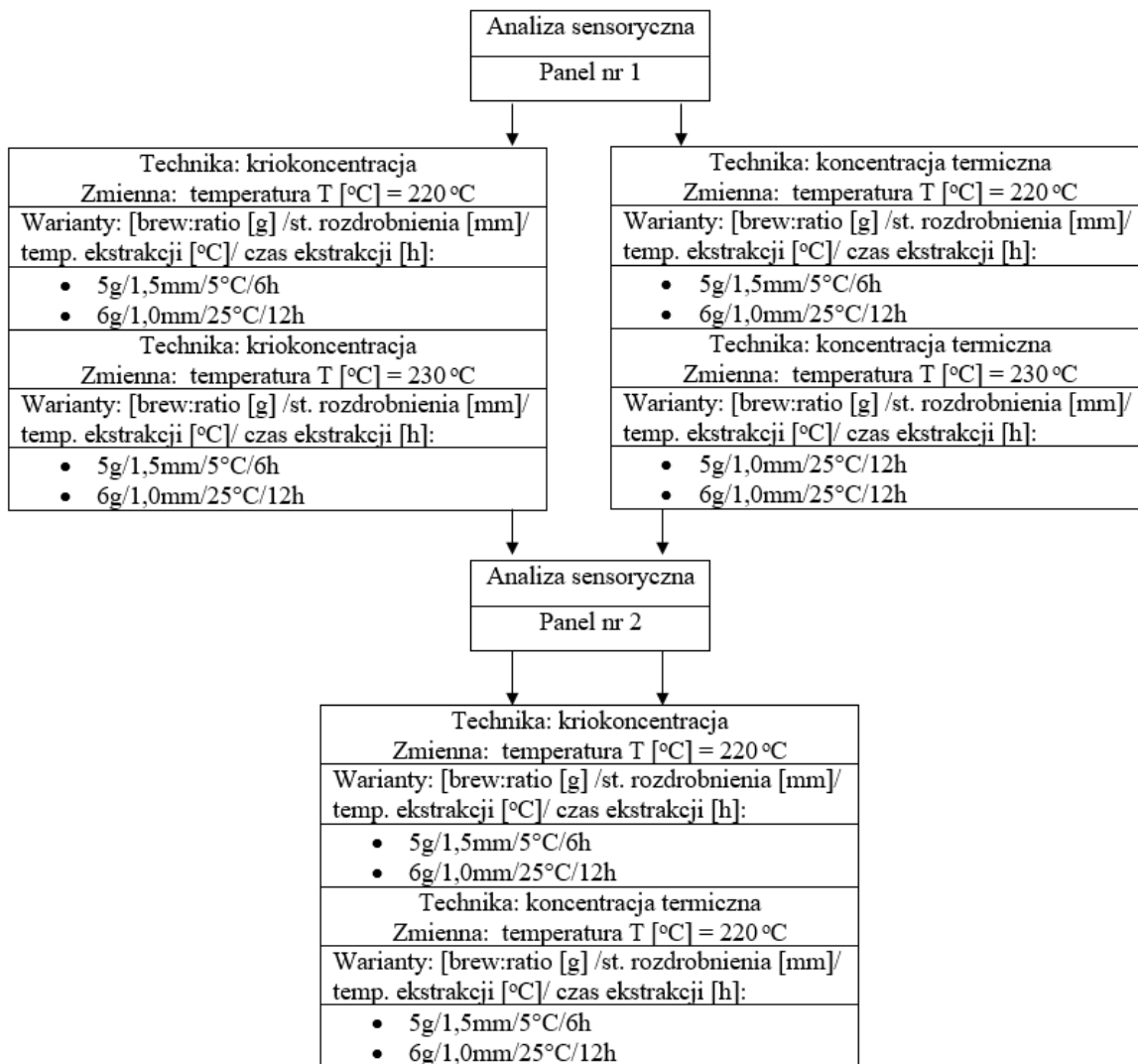
Rys. 13. Schemat szczegółowy – drugi etap badań



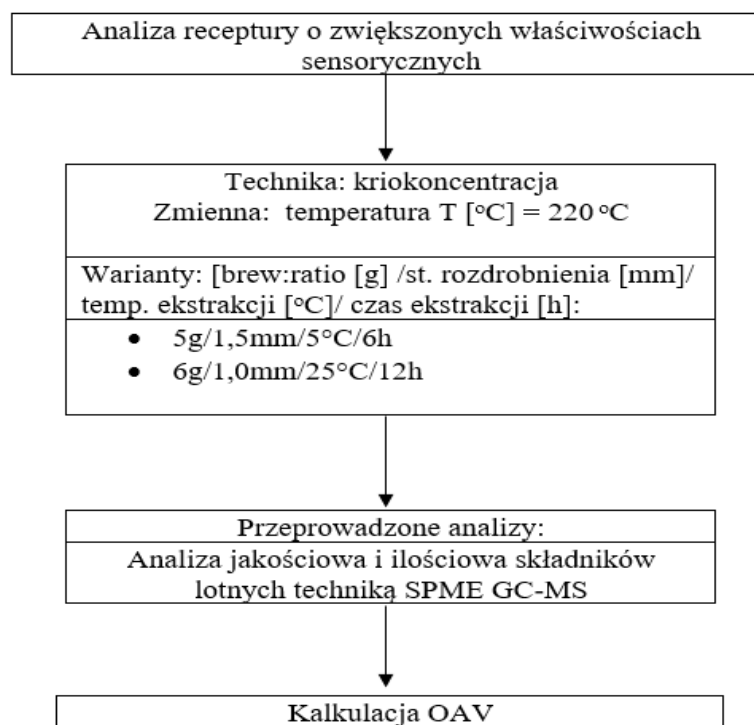
Rys. 14 . Schemat szczegółowy - trzeci etap badań



Rys. 15. Schemat szczegółowy – czwarty etap badań



Rys. 16. Schemat szczegółowy – piąty etap badań



Rys. 17. Schemat szczegółowy – szósty etap badań



## 7. Omówienie wyników

### 7.1. Etap 1

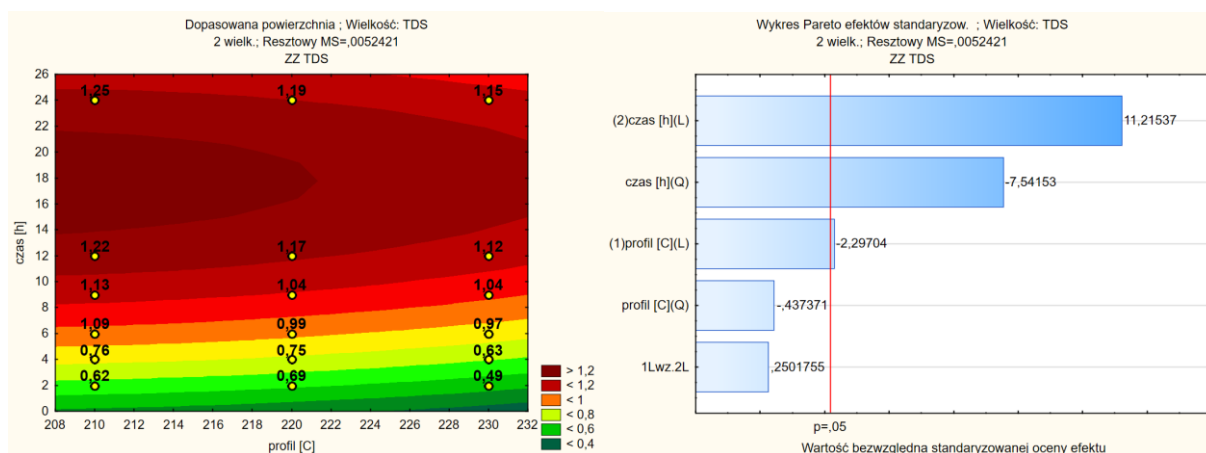
#### Optymalizacja procesu ekstrakcji kawy cold brew (TDS %)

Metodą powierzchni odpowiedzi RSM wykonano wykresy optymalizacyjne procesu ekstrakcji składników rozpuszczalnych kawy technologią cold brew. Zmiennymi były temperatura prażenia, tzw. profil (210°C, 220°C, 230°C) oraz czas ekstrakcji (2h, 4h, 6h, 9h, 12h, 24h) dla poszczególnych wariantów o wskazanych wartościach (traktowanych jako stałe) dotyczących różnego stopnia rozdrobnienia ziarna (1,0 mm lub 1,5mm), ilości surowca w stosunku do wody brew:ratio (5g lub 6g) oraz temperatury ekstrakcji (5°C lub 25°C). Dla poszczególnych wariantów określano całkowitą ilość rozpuszczonych składników - procentową wartość TDS (total dissolved solids). Pomiary wykonano w czterech powtórzeniach (n=4).

#### **Całkowita ilość rozpuszczonych składników (TDS %) wyznaczona metodą RSM dla poszczególnych wariantów (zmiennie: temperatura prażenia 210-220-230°C oraz czas ekstrakcji 4-6-9-12-24h)**

- **Stale: stopień rozdrobnienia: 1,5mm; brew:ratio: 6g; temperatura ekstrakcji: 5°C**

Analizując parametr TDS w zależności od różnych wartości zmiennych (rys.18) stwierdzono, że próbki skrajnych wartości w odniesieniu do zmiennej „czas ekstrakcji” nie wykazywały przydatności aplikacyjnej. Analizowany parametr do 4-tej godziny ekstrakcji charakteryzował się wprawdzie najszybszym wzrostem, ale wydajność procesu była na stosunkowo niskim poziomie. Stabilizację procesu zaobserwowano dopiero przy 12-tej godzinie ekstrakcji. Nie wykazano istotnych różnic pomiędzy 12-stą i 24-tą godziną ekstrakcji. Powierzchnia odpowiedzi RSM pozwoliła określić, które poziomy badanych czynników można interpretować za optymalne. W badanych zakresach zaobserwowano je pomiędzy 9-tą a 12-stą godziną ekstrakcji i wynosiły od 1,04% do 1,22% TDS. Z wykresu Pareta (rys.19) wynika, że liniowa wartość bezwzględna standaryzowanej oceny efektu profilu prażenia przekroczyła „granicznie” punkt istotności na poziomie  $p=0,05$ , przy czym różnica pomiędzy zmienną profil [°C] a czas [h], jest ponad pięciokrotna. Efekt kwadratowy „profil” [°C] nie wpływa istotnie statystycznie na wzrost jednostki TDS.



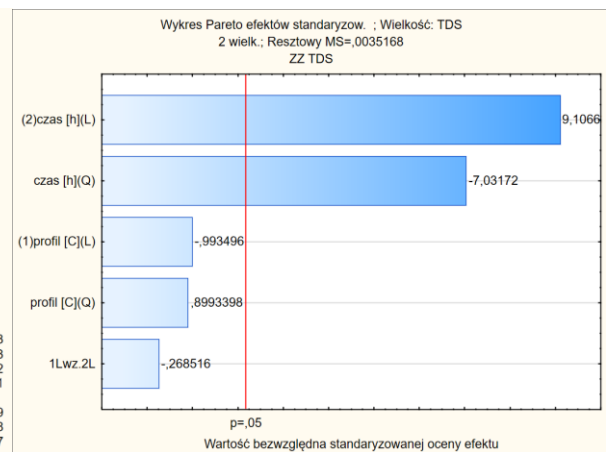
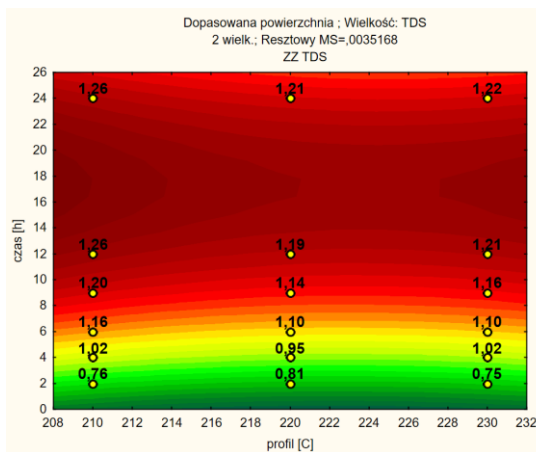
Rys. 18. Całkowita zawartość substancji rozpuszczonych TDS [%] w ekstraktach otrzymanych w zależności od profilu prażenia: 210°C, 220°C, 230°C według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu 1,5mm; 6g; 5°C]

Rys. 19. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 18.

- **Stałe: stopień rozdrobnienia: 1,5mm; brew:ratio: 6g; temperatura ekstrakcji: 25°C**

Wyniki analizy dotyczące ekstrakcji w temperaturze 25°C przedstawiono na rysunku 20. W zestawieniu z temperaturą środowiska ekstrakcyjnego na poziomie 5°C stwierdzono różne wartości parametru TDS na każdym poziomie pomiarowym. Wartości były większe i mieściły się w zakresie od 0,76% do 1,26% TDS. Analiza statystyczna i utworzone „centrum” powierzchni odpowiedzi wskazały, że wobec wszystkich temperatur prażenia kawy [°C], czyli tzw. profili, optimum wydajności procesu i potencjalnej jakości organoleptycznej (co wynika z wykresu kontroli ekstrakcji kawy Lockhart’a) osiągnięto około 12-tej godziny ekstrakcji.

Wobec profilu 210°C, pomiędzy 12-tą a 24-tą godziną ekstrakcji nie odnotowano wzrostu TDS. W przeprowadzonym teście dla profilu 220°C oznaczono wzrost 0,02% TDS (1,19% dla czasu ekstrakcji 12 [h], 1,21% dla czasu ekstrakcji 24[h]), a dla profilu 230°C zanotowano wzrost o 0,01% TDS. Przeprowadzone doświadczenie wskazało, że wartość TDS zależała wyłącznie od parametru czasu [h], którego izolinie ułożyły się równolegle do zmiennej profilu [°C]. Potwierdza to wykres Pareta (rys. 21), według którego to czas ekstrakcji [h], wyrażony jako główny efekt liniowy oraz kwadratowy zmiennej, wpływa istotnie na mierzony parametr.



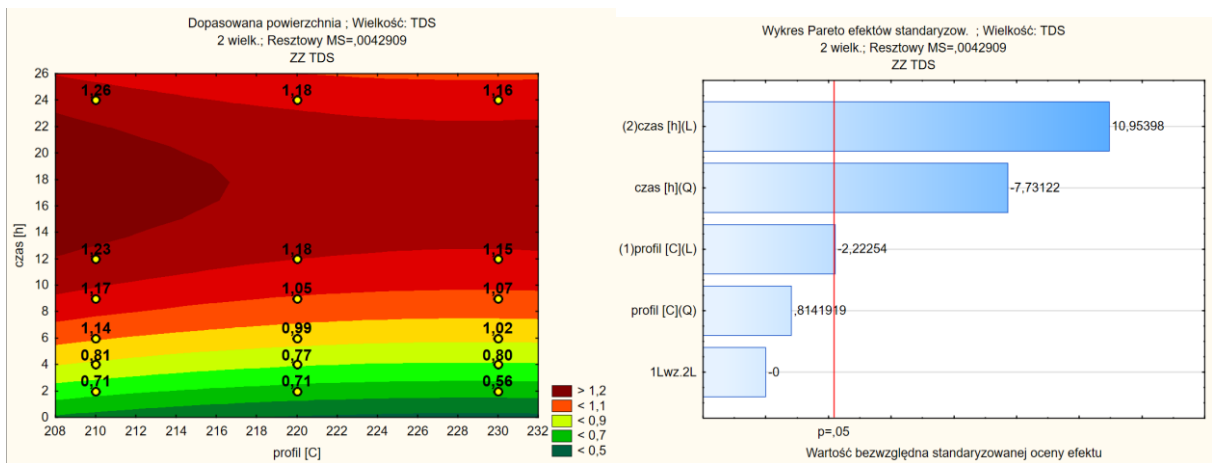
Rys. 20. Całkowita zawartość substancji rozpuszczonych TDS [%] w ekstraktach otrzymanych w zależności od profilu prażenia: 210 °C, 220 °C, 230 °C według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu 1,5mm; 6g; 25°C]

Rys. 21. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 20.

- **Stałe: stopień rozdrobnienia: 1 mm; brew:ratio: 6g; temperatura ekstrakcji: 5°C**

Na rysunku 22 ukazano wariant, w którym zastosowano mniejszej wielkości ziarna poddane ekstrakcji. Różnica wartości TDS pomiędzy skrajnymi wartościami czasu ekstrakcji dla każdego profilu prażenia była większa w porównaniu do wariantu, gdzie zastosowano wyższą temperaturę ekstrakcji na poziomie 25°C (rys. 24). W porównaniu do ekstrakcji kawy o stopniu rozdrobnienia 1,5 mm (rys. 18) zaobserwowano podobny wpływ zmiennej „czas ekstrakcji” [h] na wzrost wartości TDS (rys.23).

Pomiar ilości rozpuszczonych składników kawy w modelowych ekstraktach profilu 210°C i 220°C wskazał dla 2-tej godziny procesu jednakową wartość 0,71% TDS, która była o 0,15% TDS większa względem profilu 230°C. W miarę upływu czasu ekstrakcji zaobserwowano dysproporcję na korzyść profilu 210°C, która finalnie była większa o 0,08% TDS w porównaniu do zmiennej 220°C i 0,1% TDS wobec zmiennej 230°C. Ustabilizowanie wydajności ekstrakcji dla profilu 210°C osiągnięto przy 9-tej godzinie ekstrakcji, a dla pozostałych wariantów dopiero przy 12-tej godzinie.

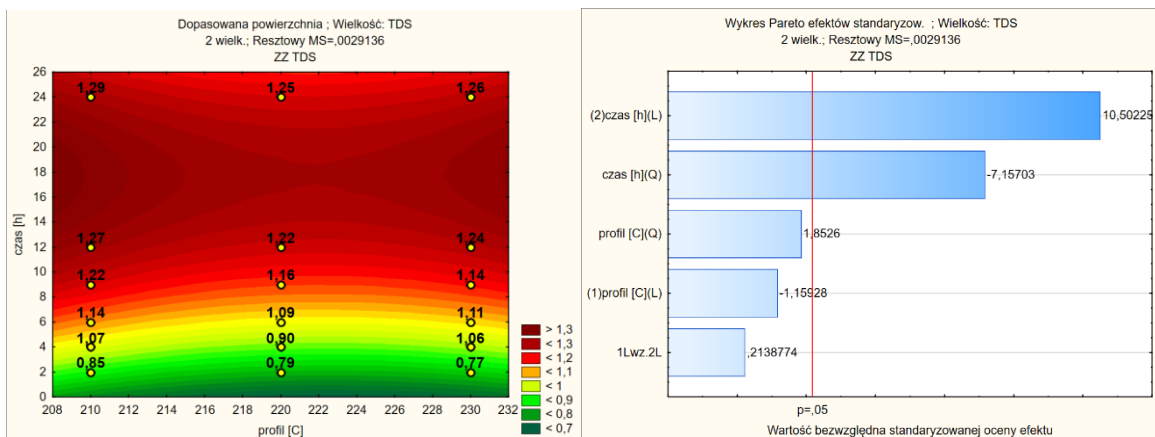


Rys. 22. Całkowita zawartość substancji rozpuszczonych TDS [%] w ekstraktach otrzymanych w zależności od profilu prażenia: 210 °C, 220 °C, 230 °C według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu 1,0mm; 6g; 5°C]

Rys. 23. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 22.

- **Stałe: stopień rozdrobnienia: 1 mm; brew:ratio: 6g; temperatura ekstrakcji: 25°C**

Wariant ten potwierdził fakt, że również przy mniejszym stopniu rozdrobnienia ziarna wyższa temperatura na poziomie 25°C przyczyniła się lepszemu wydajności procesu mierzonego wartością TDS (rys. 24 oraz rys. 25). W danym przypadku optymalną (ustabilizowaną) wydajność procesu można zaobserwować już po 9-tej godzinie ekstrakcji, gdzie wartość TDS mieści się w przedziale od 1,14% do 1,22%. Maksymalna wartość TDS po 24-tej godzinie ekstrakcji osiągnęła 1,29% TDS dla profilu 210°C i zależała wyłącznie od czasu. Ponadto wartość przy 24-tej godzinie dla profilu 220°C była o 0,04% mniejsza względem profilu 210°C.



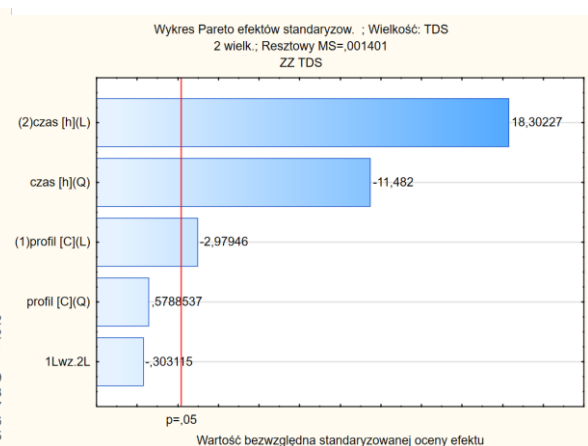
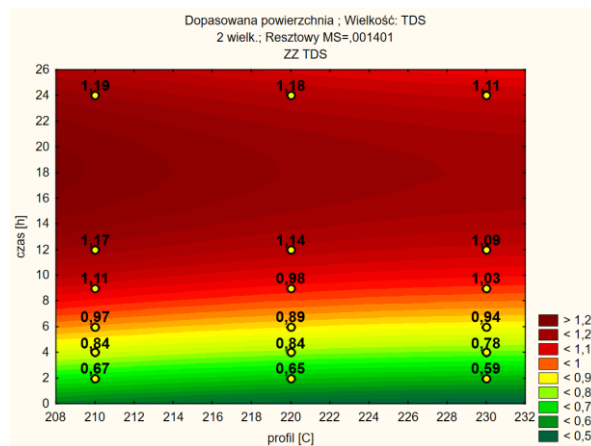
Rys. 24. Całkowita zawartość substancji rozpuszczonych TDS [%] w ekstraktach otrzymanych w zależności od profilu prażenia: 210 °C, 220 °C, 230 °C według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu 1,0mm; 6g; 25°C]

Rys. 25. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 24.

- **Stałe: stopień rozdrobnienia: 1,5 mm; brew:ratio: 5g; temperatura ekstrakcji: 5°C**

Izolinie w początkowej fazie procesu ekstrakcji do 4h, potwierdzają wysoką zdolność dyfuzji składników surowca do rozpuszczalnika (rys. 26). Ostatecznie zaobserwowano tylko trzy

punkty pomiarowe, dla których określono akceptowalne wartości TDS. Uzyskana w ostatnim etapie powierzchnia odpowiedzi wskazuje na dwa punkty 1,19% TDS i 1,18% TDS pożądanej jakości. Przeprowadzony eksperyment pozwala także na możliwość rozpatrywania procesów optymalizacyjnych ekstrakcji dla profilu 220°C, którego średnią wartość TDS oszacowano na 1,16% w dwóch ostatnich wariantach czasu [h]. Na podstawie analizowanego modelu można zauważyć, że im większy stosunek brew:ratio, to tym – według wykresu Pareta (rys. 27) – silniejszy jest efekt liniowy i kwadratowy czasu [h] oraz liniowy profilu [°C] modelu RSM, co wpływa na końcową wartość parametru TDS w procesie ekstrakcji kawy typu cold brew.

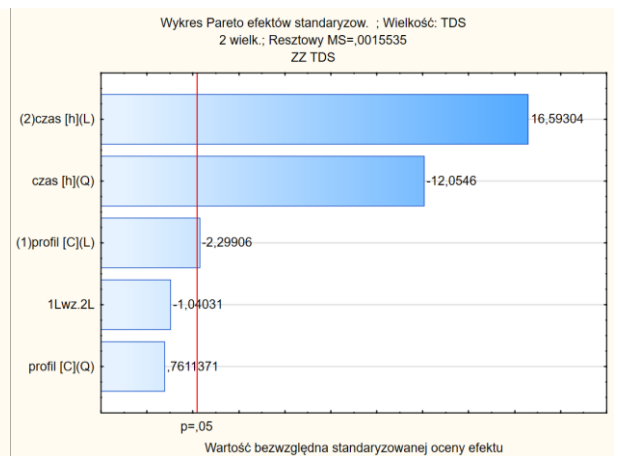
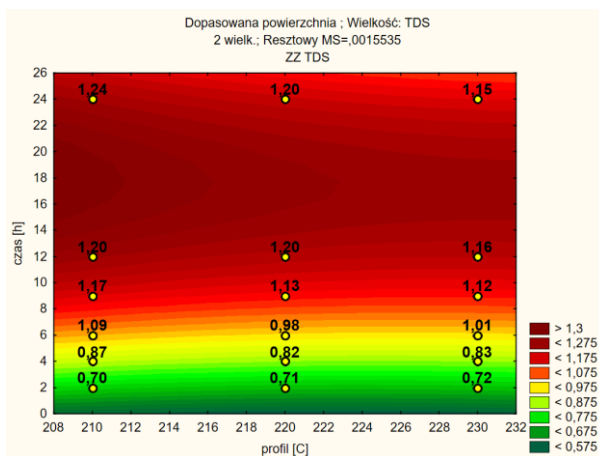


Rys. 26. Całkowita zawartość substancji rozpuszczonych TDS [%] w ekstraktach otrzymanych w zależności od profilu prażenia: 210°C, 220°C, 230°C według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu 1,5mm; 5g; 5°C]

Rys. 27. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 26.

- **Stale: stopień rozdrobnienia: 1,5 mm; brew:ratio: 5g; temperatura ekstrakcji: 25°C**

Wizualizację krzywych odpowiedzi odnoszących się do wariantu o zastosowanej ekstrakcji w temperaturze 25°C zaprezentowano na rysunku 28. Uzyskane wyniki dla wszystkich trzech profili prażenia wskazują na otrzymanie ekstraktów o odpowiedniej jakości już po 12-tu godzinach ekstrakcji. Maksymalna wartość TDS wynosząca 1,24% uzyskana została dla profilu 210°C po 24 godzinnej ekstrakcji. Na podstawie wykresu Pareta (rys. 29) stwierdzono, że TDS zależy w istotny sposób od dwóch badanych zmiennych, ale przede wszystkim od czasu ekstrakcji – zarówno w aspekcie liniowym jak i kwadratowym modelu RSM. Ponadto stwierdzono, że prowadzenie ekstrakcji w temperaturze 25°C skutkuje (dla stopnia rozdrobnienia surowca wynoszącego 1,5 mm i brew:ratio na poziomie 5g) lepszą średnią ekstraktywnością dla całego zakresu powierzchni odpowiedzi o około 0,04-0,05% TDS w porównaniu do analogicznych wartości procesu ekstrakcji prowadzonej w temperaturze 5°C (rys. 26).

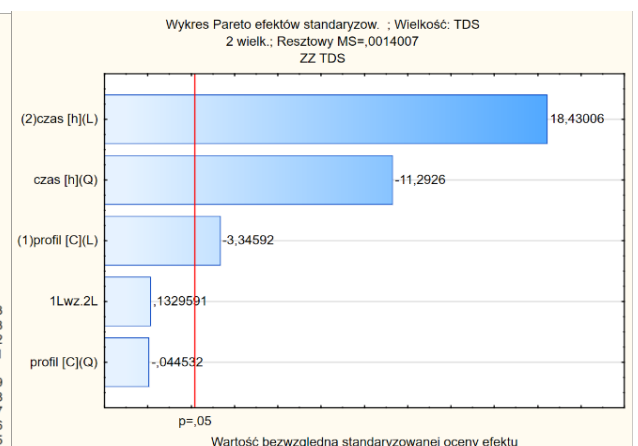
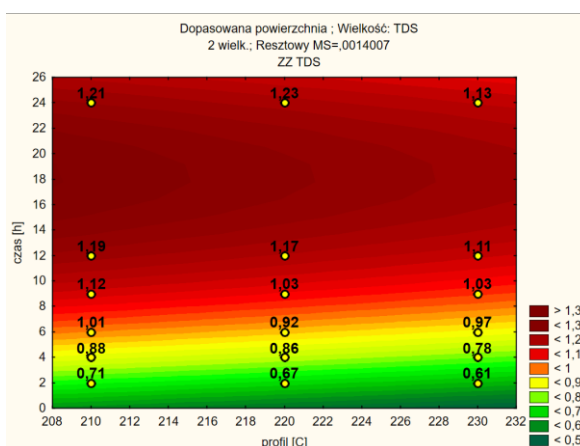


Rys. 28. Całkowita zawartość substancji rozpuszczonych TDS [%] w ekstraktach otrzymanych w zależności od profilu prażenia: 210 °C, 220 °C, 230 °C według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu 1,5mm; 5g; 25°C]

Rys. 29. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 28.

- **Stałe: stopień rozdrobnienia: 1,0 mm; brew:ratio: 5g; temperatura ekstrakcji: 5°C**

Kolejnym analizowanym wariantem był model, w którym przyjęto niskie wartości parametrów, czyli stopień rozdrobnienia ustalono na 1,0 mm, brew:ratio był na poziomie 5 g, zaś temperatura ekstrakcji wynosiła 5°C. Zaobserwowano, że wyższa temperatura prażenia i dłuższy czas ługowania kawy poprawiły wydajność procesu ekstrakcji (rys. 30). W danym przypadku po raz pierwszy oznaczono najwyższą wielkość jednostki TDS dla profilu 220°C. Wynosiła ona 1,23% TDS w 24-tej godzinie ekstrakcji i była większa o 0,02% TDS względem profilu 210°C oraz 0,1% TDS względem wyższego profilu temperatury (tj. 230°C) prażenia kawy zielonej. Sugeruje to, że w tym wariantcie wyższa temperatura prażenia może przyczynić się do większej zawartości składników rozpuszczonych w ekstrakcie oraz może wpływać na wartość oceny smaku. Obserwacje te można powiązać z wykresem Pareta (rys.31), na podstawie którego można stwierdzić, że wielkość parametru TDS zależała głównie od czasu ekstrakcji, ale też w mniejszym stopniu od profilu prażenia – w sposób statystycznie istotny.

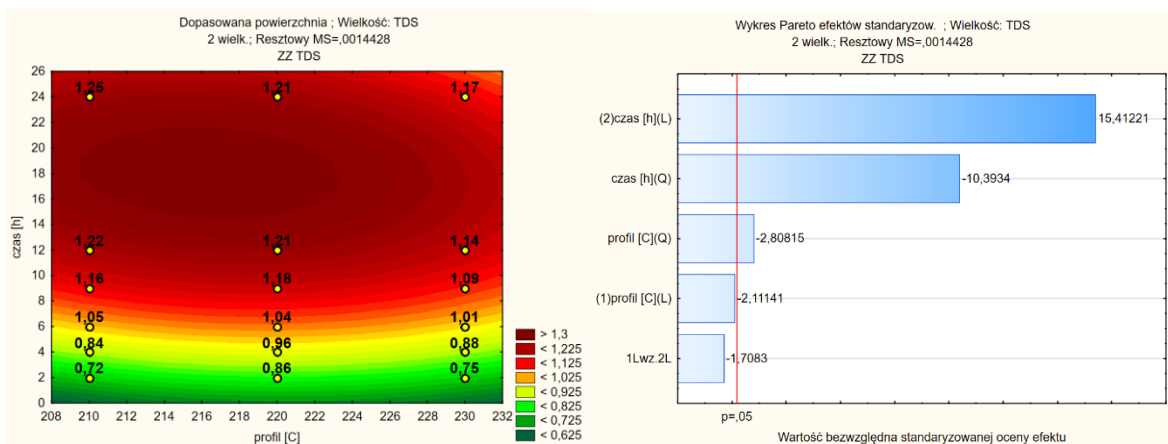


Rys. 30. Całkowita zawartość substancji rozpuszczonych TDS [%] w ekstraktach otrzymanych w zależności od profilu prażenia: 210 °C, 220 °C, 230 °C według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu 1,0mm; 5g; 5°C]

Rys. 31. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 30.

- **Stale: stopień rozdrobnienia: 1,0 mm; brew:ratio: 5g; temperatura ekstrakcji: 25°C**

Na podstawie rysunku 33 można stwierdzić, że wielkość parametru TDS jest bardzo mocno uzależniona zarówno w aspekcie liniowym (L) i kwadratowym (Q) od czasu ekstrakcji. W niewielkim stopniu, ale wciąż statystycznie istotnym, TDS zależy od profilu prażenia kawy (ale tylko w aspekcie kwadratowym). Zaobserwowano, że pomiędzy 12-tą a 24-tą godziną wartość TDS wykazywała już nieco większą zależność nie tylko od czasu ekstrakcji [h], ale i od temperatury prażenia czyli profilu [°C] na co wskazują izoliny, których kształt przypomina elipsę. Jest to widoczne „centrum” powierzchni odpowiedzi (rys. 32), którego maksimum – według modelu RSM – może znajdować się w okolicach 18-tej godziny ekstrakcji. Zjawisko to wskazuje na możliwość prowadzenia bardziej szczegółowych badań optymalizacyjnych dla tego określonego wariantu. Warto zwrócić uwagę na fakt, że różnica pomiędzy wartością TDS dla profilu 210°C oraz 220°C po 12-tu godzinach ekstrakcji wynosiła tylko 0,01% i nie była istotna statystycznie ( $p < 0,05$ ).



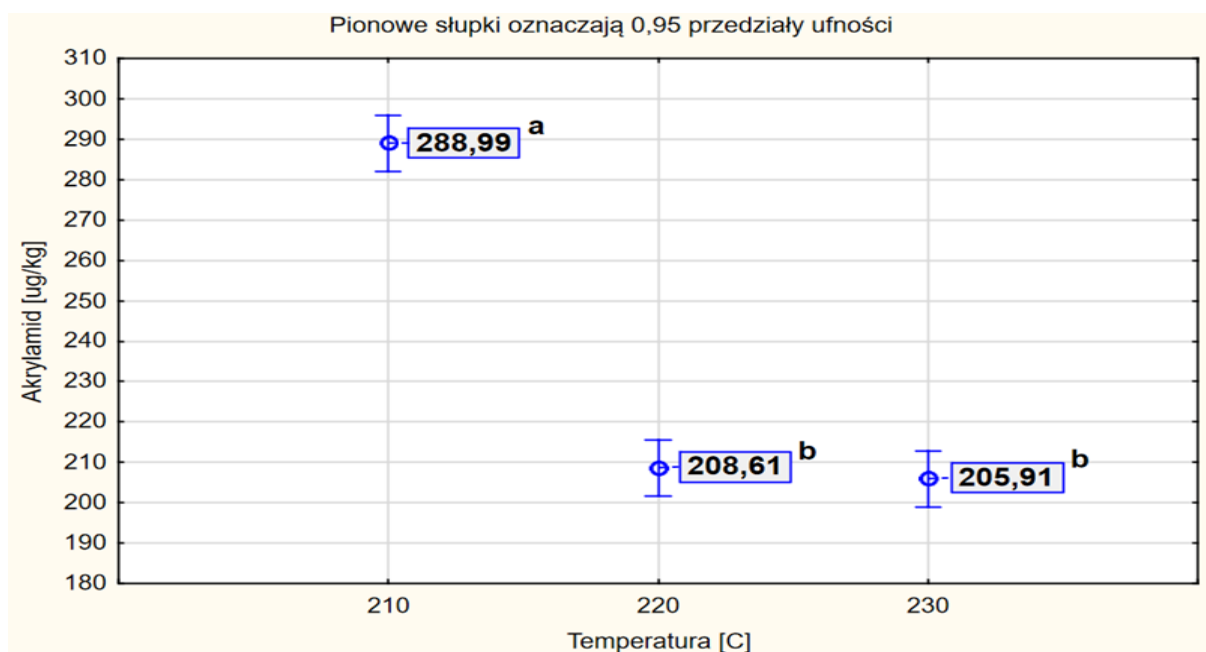
Rys. 32. Całkowita zawartość substancji rozpuszczonych TDS [%] w ekstraktach otrzymanych w zależności od profilu prażenia: 210°C, 220°C, 230°C według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu 1,0mm; 5g; 25°C]

Rys. 33. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 32.

### Analiza zawartości akrylamidu w kawie prażonej

Stwierdzono statystycznie istotną zależność zawartości akrylamidu w kawie od temperatury prażenia (rys. 34). W przypadku kawy prażonej w temperaturze 210°C akrylamid oznaczono w ilości blisko 289 µg/g. Zwiększenie temperatury procesu obróbki surowca do 220 lub 230°C spowodowało istotną redukcję ilości akrylamidu. W rezultacie zastosowania wyższej temperatury procesu zawartość tego związku chemicznego pozostała na podobnym poziomie i nie odnotowano statystycznie istotnej różnicy między próbkami. Stwierdzono, że wartości od 205,91 do 208,61 µg/g są zdecydowanie niższe od zawartości akrylamidu w kawie po prażeniu w 210°C. Dlatego też tylko te dwa warianty prażenia, tj. w temperaturze 220 lub 230°C, zostały (ze względów zdrowotnych) wzięte pod uwagę w dalszych etapach badań.





Rys. 34. Zawartość akrylamidu [µg/g] w kawie prażonej. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )

## 7.2. Etap 2

### Optymalizacja procesu ekstrakcji składników bioaktywnych w kawie cold brew (kofeiny oraz 3-CQA). Ocena zawartości kofeiny i kwasu kawoilochinowego w koncentratkach.

Zgodnie z aktualnymi przekonaniem społecznymi ekstrakt w niniejszej pracy odpowiada kawie cold brew coffee. Ze względu na specyfikację badań jest to półprodukt przeznaczony do dalszego przetworzenia. Produkt finalny (kawa instant typu „liquid”) stanowi koncentrat otrzymany za pomocą procesu kriokoncentracji oraz koncentracji termicznej.

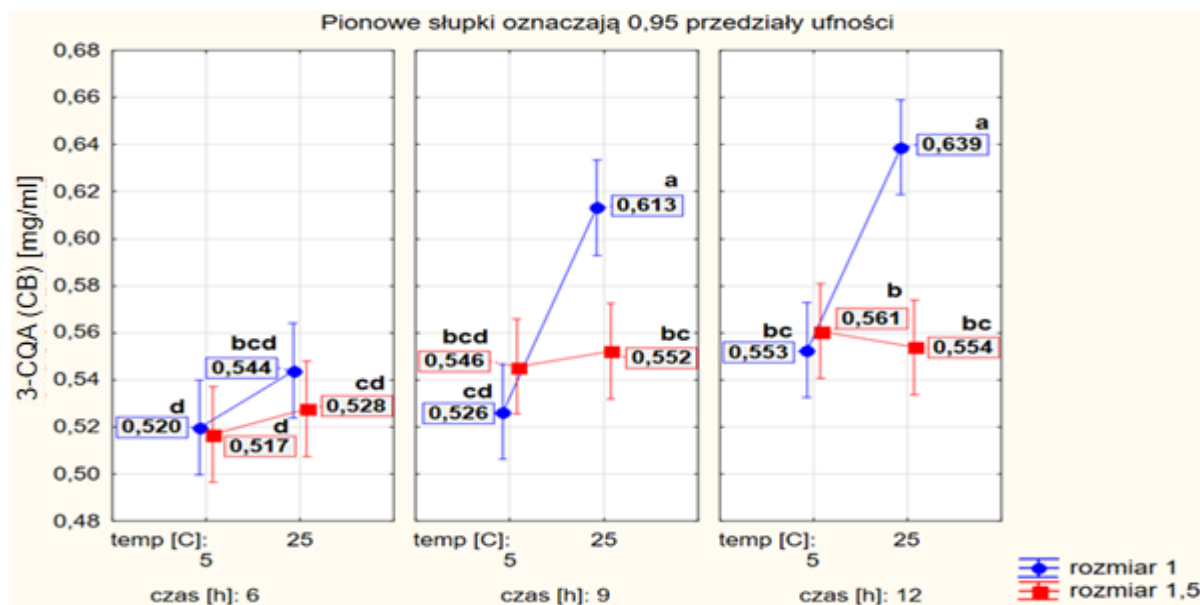
W drugim etapie badań omówiono wyniki dotyczące zawartości kwasu kawoilochinowego 3-CQA oraz kofeiny w ekstraktach cold brew oraz sporządzonych na ich bazie koncentratkach. Celem tej części badań było wskazanie takich parametrów procesu technologicznego, dla których zawartość analizowanych związków w kawie instant byłaby najwyższa. Z uzyskanych danych oraz obrazów powierzchni odpowiedzi można określić także wartości pośrednie stężeń, które w praktyce produkcyjnej stanowią cenne źródło informacji w opracowaniu i rozwoju nowych produktów. Chociaż w dalszej części pracy nie rekomendowano stosowania profilu 210°C ze względu na istotnie wysoki poziom zawartości akrylamidu w kawie ziarnistej, to jednak dokonano w etapie 2 charakterystyki także tego wariantu ze względu na brak w literaturze naukowej informacji dotyczących tego aspektu. Informacje te mogą stanowić punkt odniesienia dla rozwoju nowych tematów badawczych w ramach dyscypliny Technologii Żywności i Żywienia, w których kawa jasno palona będzie wykorzystywana do tworzenia nowych produktów, np. rozcieńczonych aktywnie składnikami biologicznie czynnymi, co może ostatecznie obniżyć poziom akrylamidu w kawie.



**Zawartość 3-CQA i kofeiny w ekstraktach, kriokoncentratkach i koncentratkach termicznych cold brew (wieloczynnikowa analiza wariancji) (zmiennie: temperatura ekstrakcji 5, 25°C; czas ekstrakcji 6, 9, 12h; stopień rozdrobnienia [rozmiar] 1,0 lub 1,5 mm)**

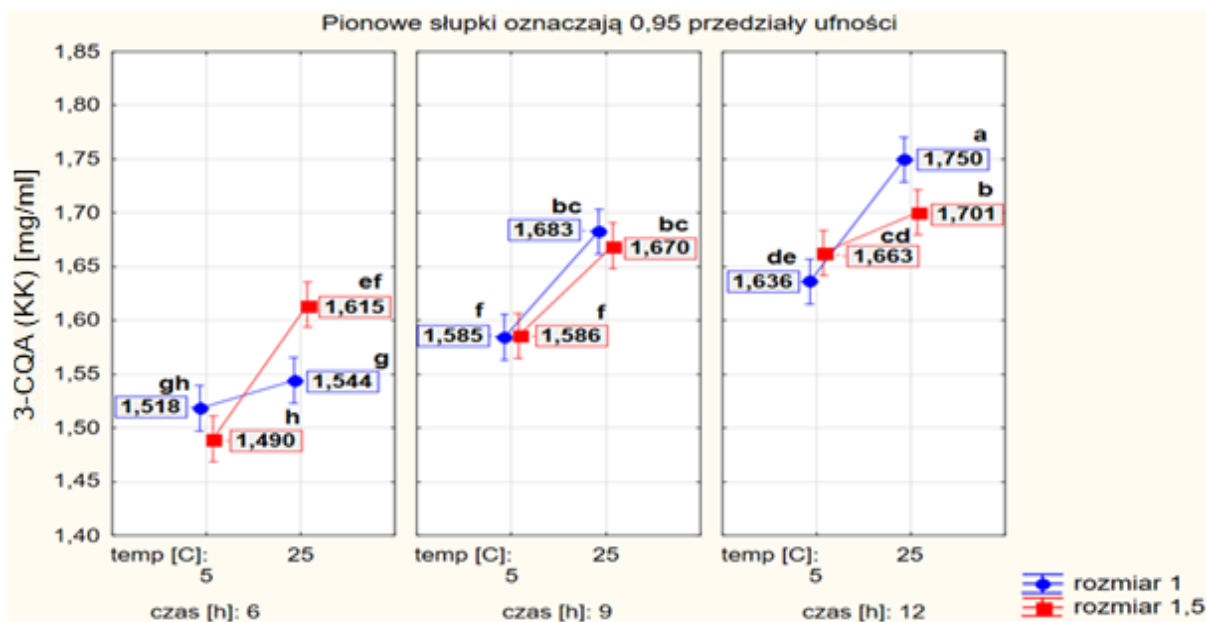
- **Stałe: temperatura prażenia: 210°C; brew:ratio: 5g**

W ekstraktach (napojach cold brew coffee) przeznaczonych do zateżenia brak statystycznie istotnych różnic pod względem zawartości 3-CQA dla obydwu stopni rozdrobnienia kawy prażonej zaobserwowano w próbach po 6h ekstrakcji (rys. 35). Średnia zawartość kwasu kawoilochinowego wynosiła od 0,517 do 0,544 mg/ml. Ponadto, zawartość 3-CQA w przypadku maceracji ziaren kawy o rozmiarze 1,5 mm wskazuje na ograniczenia w wydajności ekstrakcji tego związku. Najwyższe stężenia 3-CQA dla kawy prażonej w temperaturze 210°C uzyskano przy zastosowaniu 9 lub 12 godzin ekstrakcji w temperaturze 25°C w odniesieniu do surowca rozdrobnionego na poziomie 1 mm.



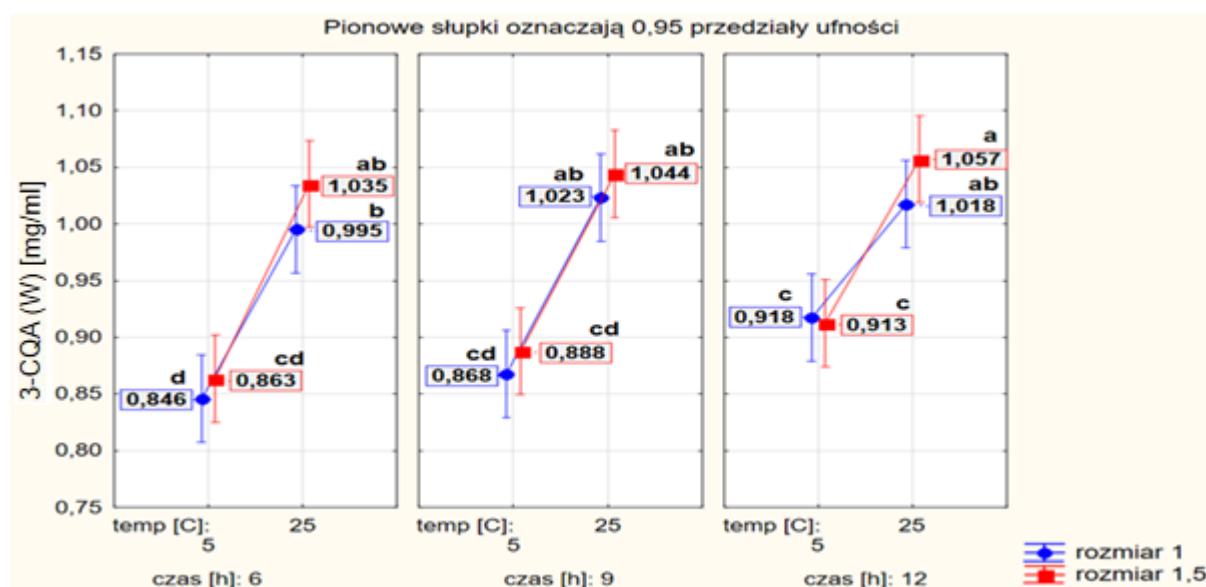
Rys.35. Wartości stężenia 3-CQA [mg/ml] w **ekstrakcie** cold brew dla profilu prażenia kawy w 210°C oraz brew:ratio 5g. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )

Na rysunku 36 przedstawiono zawartość kwasu kawoilochinowego w kriokoncentratkach. Niewątpliwie zateżanie roztworów zawierających składniki o małej odporności termicznej jest zaletą procesu. Niemniej jednak pod wpływem procesu wymrażania wody zawartość 3-CQA może zwiększać się lub maleć, co zależy od „umiejscowienia” składnika w bryle lodu. Średni poziom skoncentrowanego składnika był trzy razy wyższy względem ekstraktu wyjściowego i wynosił od 1,490 mg/ml do 1,750 mg/ml. Większą zawartość kwasu w kriokoncentratkach stwierdzono w przypadku prób o stopniu rozdrobnienia na poziomie 1,0 mm.



Rys. 36. Wartości stężenia 3-CQA [mg/ml] w **kriokoncentracje** cold brew dla profilu prażenia kawy w kawie 210°C oraz brew:ratio 5g . Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )

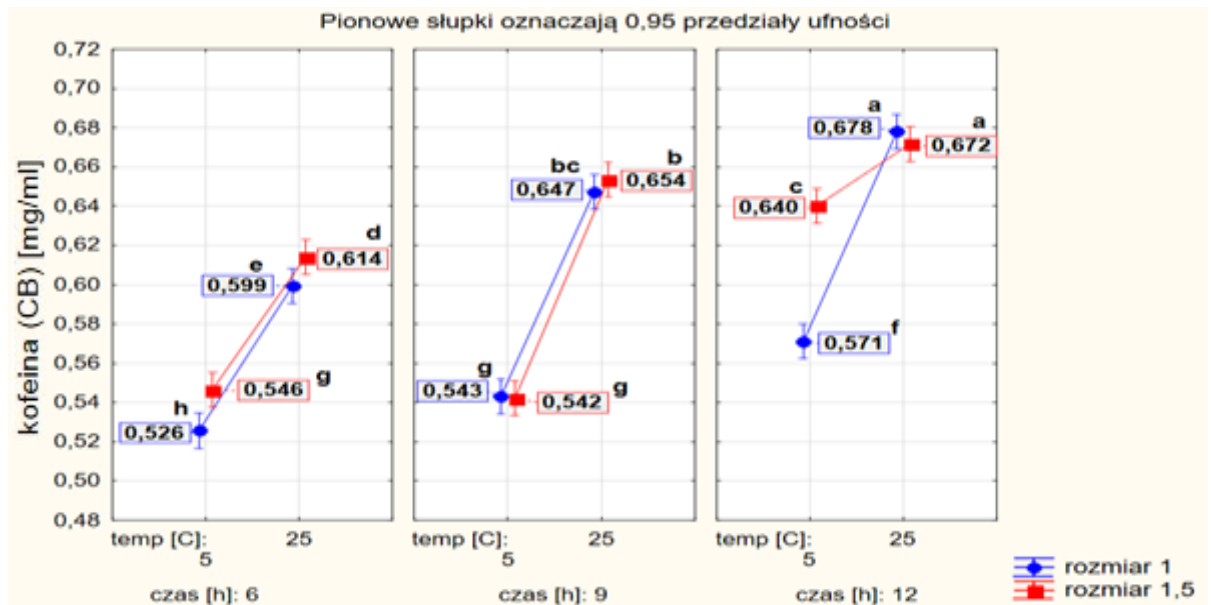
W wyniku zateżniania roztworów przez odparowanie wody (rys. 37), otrzymano w koncentratkach termicznych średnie stężenie związku od 0,846 do 1,057 mg/ml, co stanowiło wartość tylko dwukrotnie większą względem stężenia początkowego w ekstraktach. Zaobserwowano również zmianę barwy uzyskanych koncentratów termicznych, która była ciemniejsza w porównaniu do kriokoncentratów. W przypadku procesu termicznego nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic pod względem zawartości kwasu 3-CQA ze względu na stopień rozdrobnienia lub czas ekstrakcji. Istotnym czynnikiem różnicującym ilość składnika była temperatura – dla procesu o 25°C było go istotnie więcej.



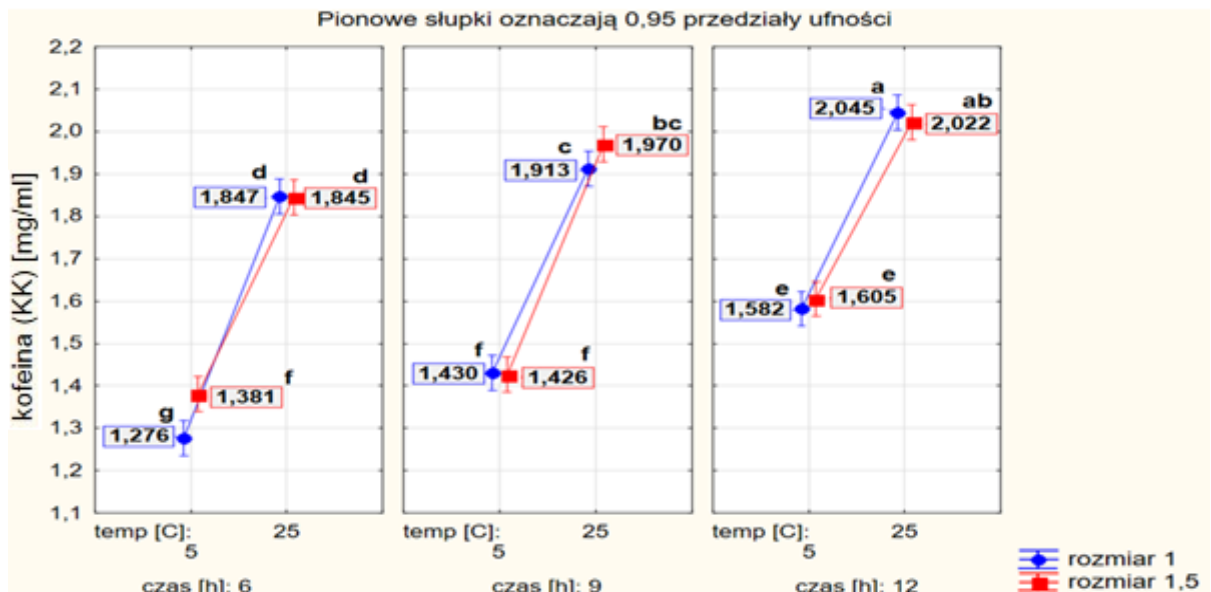
Rys. 37. Wartości stężenia 3-CQA [mg/ml] w **koncentracje termicznej** cold brew dla profilu prażenia kawy w 210°C oraz brew:ratio 5g. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )

Na podstawie badań stwierdzono, że temperatura ekstrakcji ma istotny wpływ na zawartość kofeiny w roztworze, a zmierzone stężenia wahały się w zakresie od 0,526 do 0,678 mg/ml (rys. 38) i odpowiadały wartościom w powszechnie dostępnych na rynku napojach cold brew. Dla wariantu 9-cio godzinnej ekstrakcji stwierdzono, że stopień rozdrobnienia w zakresie 1,0 mm – 1,5mm wobec jednakowo zadanej temperatury nie ma wpływu na poziom kofeiny.

Wariant 5°C×1,5mm dla 12h ekstrakcji różni się od dwóch pozostałych (tj. dla 6 i 9h ekstrakcji). Najwyższe wartości kofeiny na poziomie 0,672 mg/ml oraz 0,678 mg/ml stwierdzono w próbach po 12-tu godzinach ekstrakcji w temperaturze 25°C.



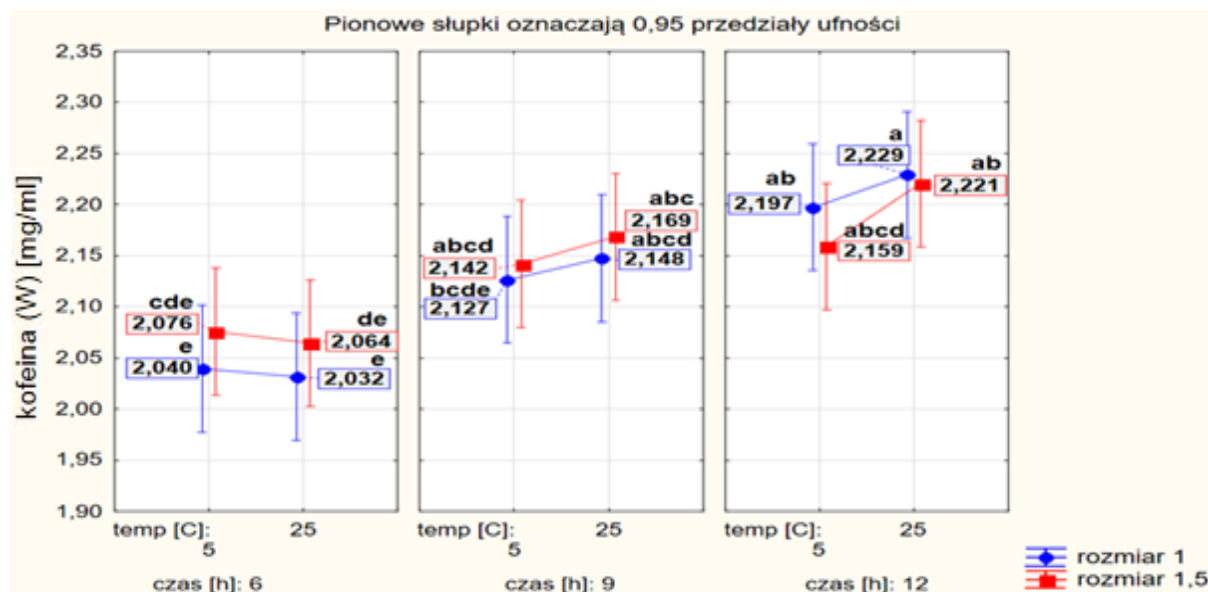
Rys. 38. Wartości stężenia **kofeiny** w **ekstrakcie** cold brew dla profilu prażenia kawy w 210°C oraz brew:ratio 5g. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )



Rys. 39. Wartości stężenia **kofeiny** w **krioconcentracjach** cold brew dla profilu prażenia kawy w 210°C oraz brew:ratio 5g. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )

Zawartość kofeiny w koncentratkach na bazie napojów kawowych może stanowić jeden z wskaźników jakości, a także dowodzić o prawidłowości stosowanych etapów produkcji. Na podstawie rys. 39 stwierdzono wzrost stężenia kofeiny dla prób eksperymentalnych otrzymanych metodą krioconcentracji wraz ze wzrostem temperatury i czasu ekstrakcji. Maksymalne zawartości tego związku wynosiły 1,845-1,847 mg/ml, 1,913-1,970 mg/ml oraz 2,022-2,045 mg/ml odpowiednio dla ekstrakcji po 6, 9 i 12 godzinach w temperaturze 25°C. W danych zakresach nie wykazano różnic istotnych statystycznie, a różnica ilości rozpuszczonej kofeiny pomiędzy rozpatrywanymi dwoma stopniami rozdrobnienia kawy była niewielka. Wymrażanie wody z roztworów ekstrahowanych w temperaturze 5°C charakteryzowało

się stosunkowo niską zawartością kofeiny, która była na poziomie 1,276 do 1,605 mg/ml. Oceniając technikę kriokoncentracji dla tego wariantu stwierdzono, że ekstrakcja w temperaturze 25°C przez 9 godzin wykazuje duży potencjał wdrożeniowy.



Rys. 40. Wartości stężenia kofeiny w koncentracji termicznej cold brew z profilu prażenia kawy w 210°C oraz brew:ratio 5g. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )

W odniesieniu do termicznej koncentracji kofeiny z kawy cold brew zaobserwowano wysoką wydajność procesu. Zawartość kofeiny dla różnych prób omawianego wariantu przedstawiono na rysunku 40. Uzyskane wartości stężenia kofeiny wynosiły od 2,032 do 2,229 mg/ml. Opierając się na interpretacji wynikającej z różnic statystycznych należy stwierdzić, że dla większości wyników wyniki pomiędzy 9-tą a 12-stą godziną ekstrakcji nie różniły się statystycznie. Proces zateżnienia termicznego na wyparce w warunkach obniżonego ciśnienia jest metodą korzystną w aspekcie wysokiej zawartości kofeiny.

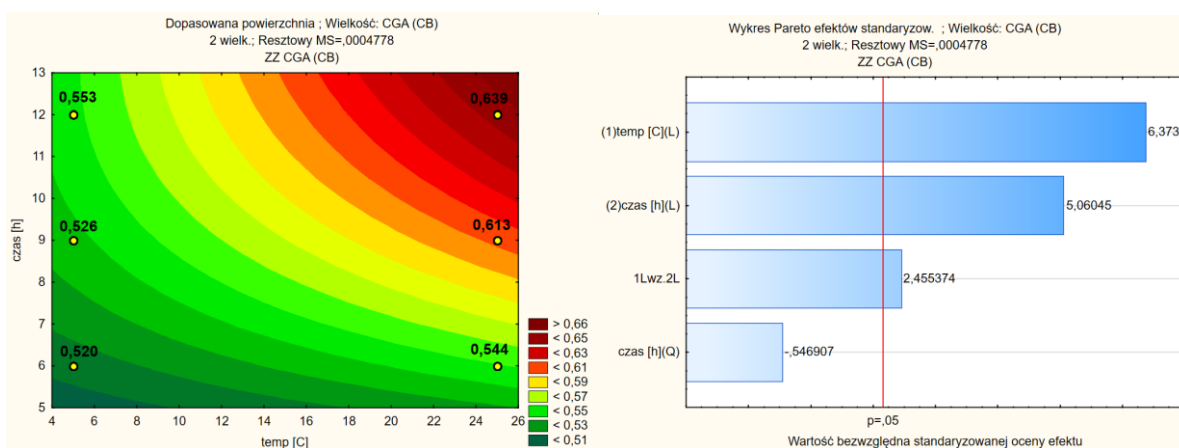
#### Zawartość kwasu kawoilochinowego i kofeiny w ekstraktach, kriokoncentratkach i koncentratkach termicznych cold brew wyrażona jako powierzchnie odpowiedzi RSM (zmiennie: temperatura ekstrakcji 5, 25°C oraz czas ekstrakcji 6, 9, 12h)

Metoda „powierzchni odpowiedzi” RSM wykazuje dużą praktyczną przydatność celem określenia badanych parametrów, takich jak zawartość kwasu kawoilochinowego i kofeiny, w zależności od zastosowanych warunków procesu (jak temperatura czy czas ekstrakcji). Mając dokonane pomiary tylko dla wybranych par zmiennych można z dużą dokładnością określić przewidywane wartości np. zawartości kofeiny dla takich par zmiennych, dla których nie były prowadzone oznaczenia. Bardzo ważnym jest fakt, że przewidywane dzięki temu modelowi wartości muszą mieścić się w empirycznie przeprowadzonych zakresach pomiarów. Innymi słowy jeżeli pomiary były prowadzone dla prób w temperaturze 5 i 25°C to przewidywane wartości badanego wyróżnika muszą odnosić się do zakresu 5-25°C. Tak samo dla wartości czasu ekstrakcji, gdzie minimalna wartość wynosiła 6h, zaś maksymalna 12h, prawidłowa predykcja zawartości np. kofeiny może mieć miejsce tylko dla czasu ekstrakcji od 6 do 12h. Przedstawione poniżej wykresy „powierzchni odpowiedzi” mają praktyczny walor nie tylko na potrzeby przeprowadzonych badań, ale mogą być punktem wyjściowym dla innych badań optymalizacyjnych na podstawie szczegółowo dobranych zmiennych parametrów technologicznych.

- **Stale: temperatura prażenia: 210°C; brew:ratio: 5g, stopień rozdrobnienia: 1 mm**

Na rysunkach 41 i 43 przedstawiono odpowiednio zawartość 3-CQA i kofeiny z zależności od temperatury i czasu ekstrakcji dla wariantu o temperaturze prażenia wynoszącej 210°C, wartości brew:ratio 5g oraz stopnia rozdrobnienia 1 mm. Z wykresów Pareta (rys. 42, rys. 48) wynika, że na zawartość 3-CQA oraz kofeiny w ekstraktach podobny wpływ miały zarówno temperatura, jak i czas ekstrakcji. Zależność podobnego wpływu parametrów ekstrakcji, czyli czasu i temperatury potwierdzają podobne wartości bezwzględne dla standaryzowanej oceny głównych efektów liniowych (rys. 42 i rys. 44).

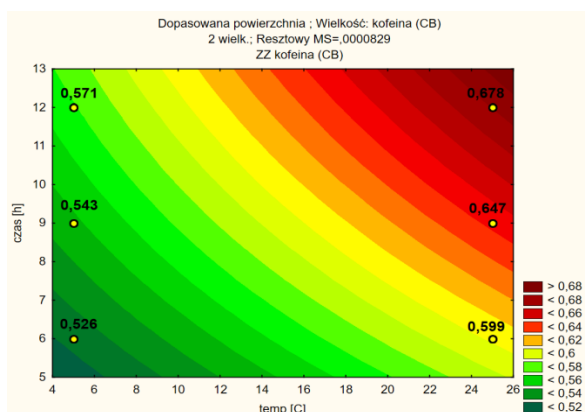
Zaobserwowano podobne poziomy zawartości 3-CQA dla wariantu 12h×5°C oraz 6h×25°C (rys. 35). Z perspektywy optymalizacji czasu ekstrakcji, w tym kosztów potencjalnej produkcji, zaleca się prowadzenie procesu produkcji napoju w warunkach temperatury pokojowej. Średnia najwyższa zawartość kwasu 3-CQA wyniosła 0,639 mg/ml i była o 0,095mg/ml większa od wariantu 6h×25°C.



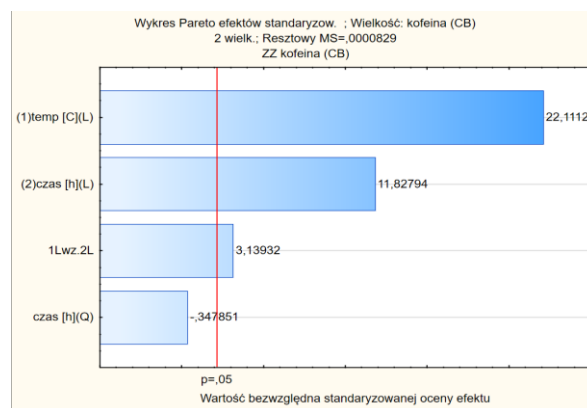
Rys. 41. Zawartość **3-CQA** [mg/ml] w ekstrakcie w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 210°C/5g/1mm]

Rys. 42. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 41.

Najniższe stężenie kofeiny wynosiło 0,526 mg/ml zaś najwyższe 0,678 mg/ml (rys. 43). Izolinie na całej powierzchni odpowiedzi w tym wariancie są bliskie nachylenia pod kątem ok. 45°, co jest graficznym potwierdzeniem podobnego wpływu czasu i temperatury na zawartość kofeiny.

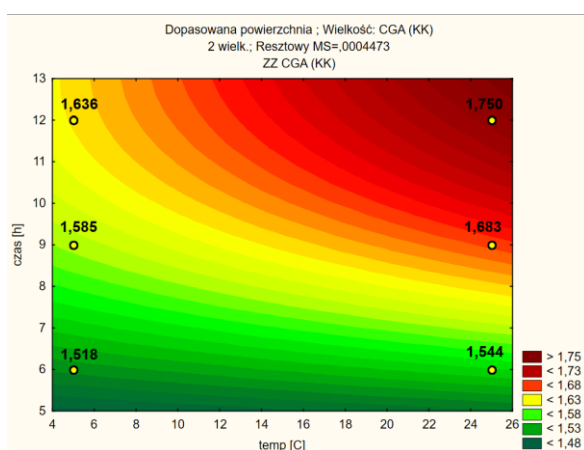


Rys. 43. Zawartość **kofeiny** [mg/ml] w ekstrakcie w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 210°C/5g/1mm]

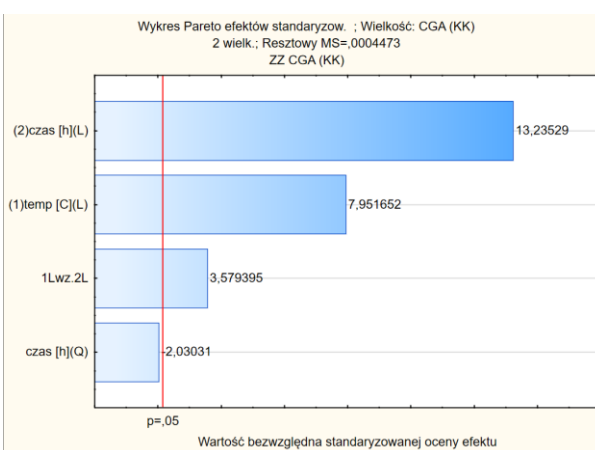


Rys. 44. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 43.

Zmniejszanie objętości ekstraktów kawy cold brew w skutek oddzielenia części wody poprzez jej wymrożenie wpływa pozytywnie na większą zawartość kwasu kawoilochinowego w kriokoncentracie. Porównanie powierzchni odpowiedzi otrzymanego koncentratu (rys. 45) wobec ekstraktu wyjściowego (rys. 41) wskazuje na ich duże podobieństwo. Obszar reprezentujący największą zawartość 3-CQA znajduje się w zakresie od 9-tej do 12-stej godziny ekstrakcji kawy cold brew. Można stwierdzić, że im dłuższy czas ekspozycji ziaren kawy poddanej ługowaniu, tym otrzymuje się wyższy poziom kwasu kawoilochinowego w otrzymanym koncentracie (rys. 46).



Rys. 45. Zawartość **3-CQA** [mg/ml] w kriokoncentracie w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 210°C/5g/1mm]



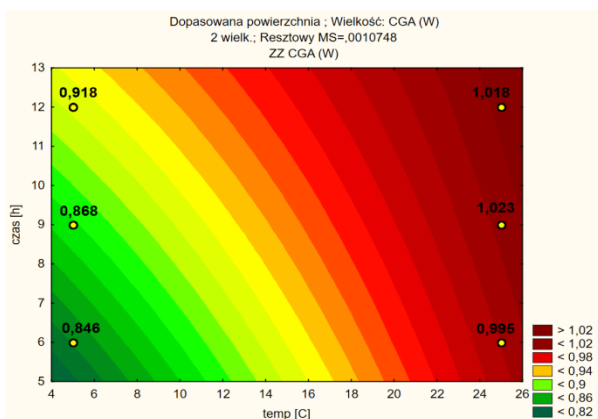
Rys. 46. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 45.

Parametry analizy termicznego procesu zateżenia ekstraktu kawy cold brew wskazują, że zmiany koncentracji 3-CQA w pierwszej kolejności zależą od temperatury środowiska ekstrakcji (rys. 48). W przypadku próby zagęszczanej przez 12 godzin temperaturze 25°C (rys. 47) zaobserwowano ponad 700 mg stratę tego związku na 1 ml w porównaniu do podobnego wariantu dla technologii koncentracji nietermicznej (rys. 45). Na podstawie analizy tego wariantu potwierdzono, że:

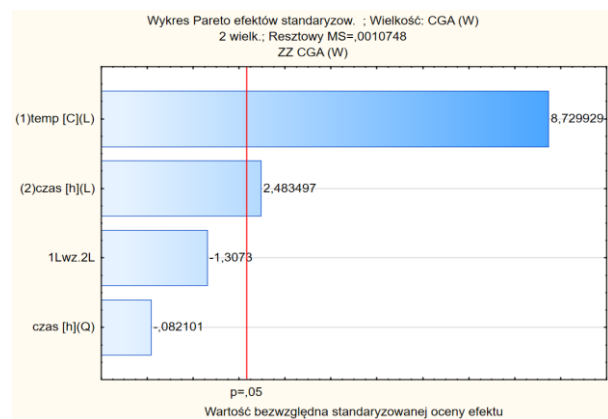
1. im wyższa temperatura ługowania kawy w zakresie od 5°C do 25°C, tym większa zawartość kwasu 3-CQA w otrzymanym ekstrakcie,



2. zagęszczanie termiczne charakteryzuje się niższą skutecznością niż zagęszczanie w formie kriokoncentracji

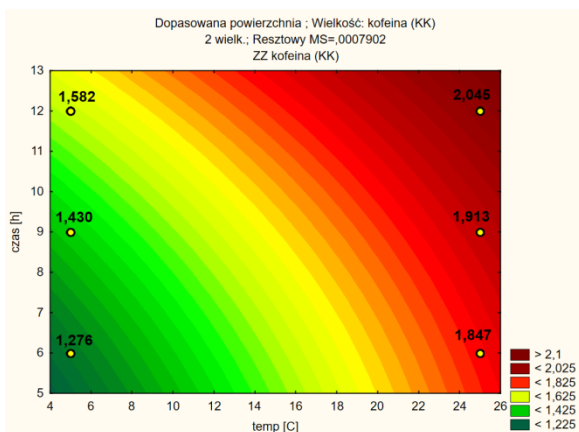


Rys. 47. Zawartość 3-CQA [mg/ml] w koncentracji termicznej w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 210°C/5g/1mm]

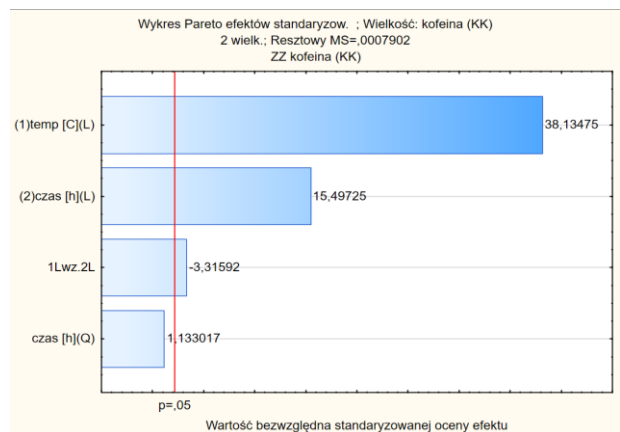


Rys. 48. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 47.

W wybranych wariantach kaw instant otrzymanych na drodze kriokoncentracji zaobserwowano zróżnicowane stężenie kofeiny (rys. 49), a wzrost jej zawartości w próbkach stwierdzono wraz ze wzrostem temperatury ekstrakcji. W próbkach dla 25°C zawartość kofeiny w kriokoncentratkach mieściła się w przedziale od 1,847 mg/ml do 2,045 mg/ml i w każdym przypadku była większa w porównaniu do próbek pochodzących z ekstraktów otrzymanych w temperaturze 5°C.

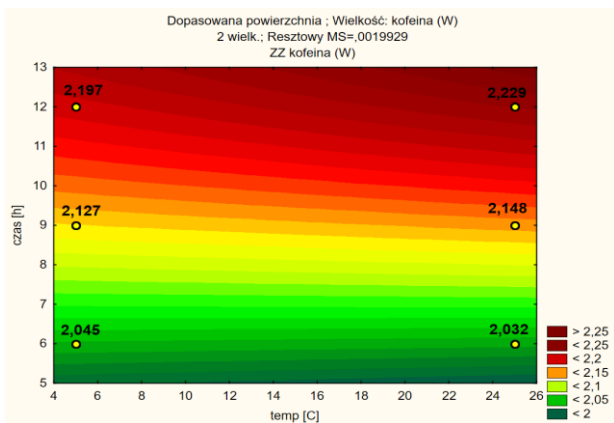


Rys. 49. Zawartość kofeiny [mg/ml] w kriokoncentracji w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 210°C/5g/1mm]

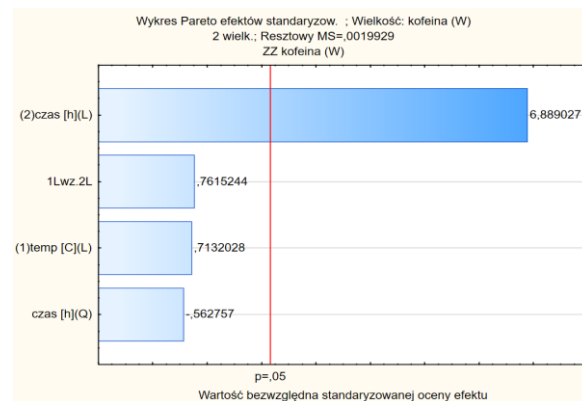


Rys. 50. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 49.

Na rysunku 45 przedstawiono stężenia kofeiny w próbkach po procesie instantyzacji termicznej ekstraktów cold brew. Z analizy uzyskanych danych wynika, że korzystny wydaje się wybór ciepłego procesu zateżenia w celu uzyskania kawy cold brew typu instant o zwiększonej koncentracji kofeiny, a przeprowadzone badanie potwierdza wysoką stabilność termiczną składnika. Wykazano, że średnie stężenie kofeiny wynosi powyżej 2 mg/ml w każdym z wariantów. Z wykresu Pareto (rys. 52) wynika, że głównym czynnikiem wpływającym na końcową zawartość kofeiny był czas ekstrakcji.



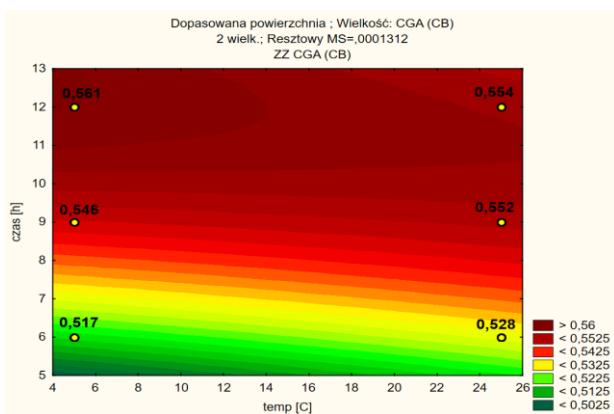
Rys. 51. Zawartość **kofeiny** [mg/ml] w koncentracji termicznej w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 210°C/5g/1mm]



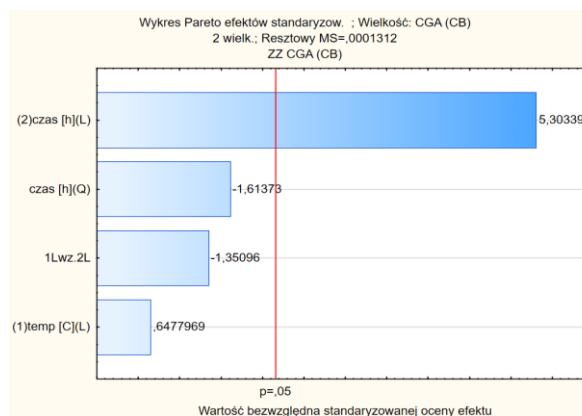
Rys. 52. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 51.

- **Stałe: temperatura prażenia: 210°C; brew:ratio: 5g, stopień rozdrobnienia: 1,5 mm**

Na rysunkach 53-56 przedstawiono wyniki dotyczące zawartości kwasu kawoilochinowego oraz kofeiny z ziaren kawy o stopniu rozdrobnienia na poziomie 1,5 mm. W przypadku zawartości kwasu 3-CQA (rys. 53) wszystkie określone poziomy stężenia zależały wyłącznie od czasu [h] ekstrakcji (rys. 54). Przy czasie ekstrakcji wynoszącym 9 godzin wartości mieściły się w zakresie od 0,546 mg/ml do 0,552 mg/ml. Najwyższe stężenie kwasu kawoilochinowego zaobserwowano dla temperatury ekstrakcji 5°C w czasie 12 godzin z wartością równą 0,561 mg/ml. Nie stwierdzono różnicy statystycznie istotnej względem wartości wynoszącej 0,554 mg/ml oraz 0,552 mg/ml wobec wariantu dla temperatury ekstrakcji 25°C.



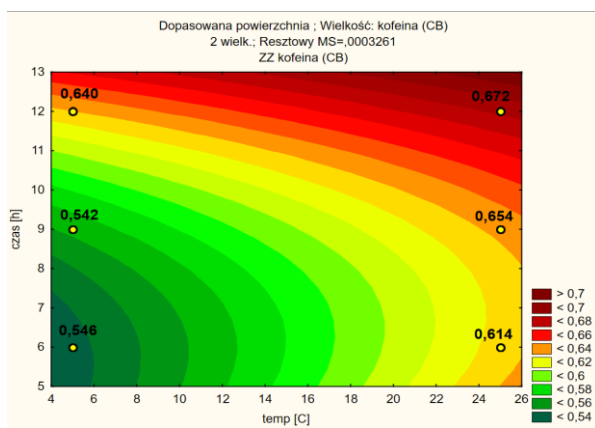
Rys. 53. Zawartość **3-CQA** [mg/ml] w ekstrakcji w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 210°C/5g/1,5mm]



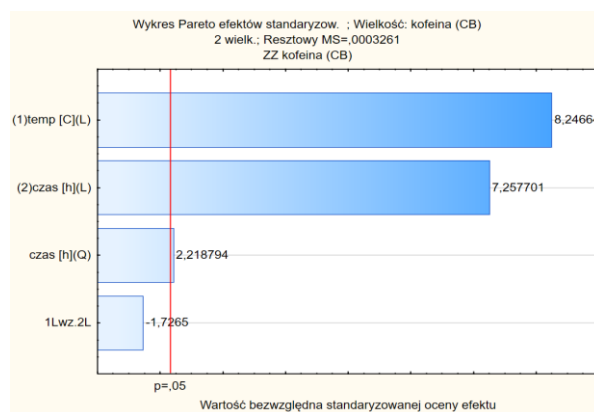
Rys. 54. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 53.

W kolejnym modelu prób technologicznych otrzymanych na drodze ekstrakcji cold brew (rys. 55) dla wariantu 12h×25°C zaobserwowano ogólne podobieństwo ilości rozpuszczonej kofeiny (0,672 mg/ml) w stosunku do odpowiedniego z modelu 210°C×5g×1mm (0,678 mg/ml). Biorąc pod uwagę cały zakres analizowanych zmiennych oraz odpowiedni wykres Pareto (rys. 56) należy stwierdzić, że osiągnięto maksymalne stężenie kofeiny w roztworze, której wydajność ekstrakcji z ziarnawyniosła blisko 90%.



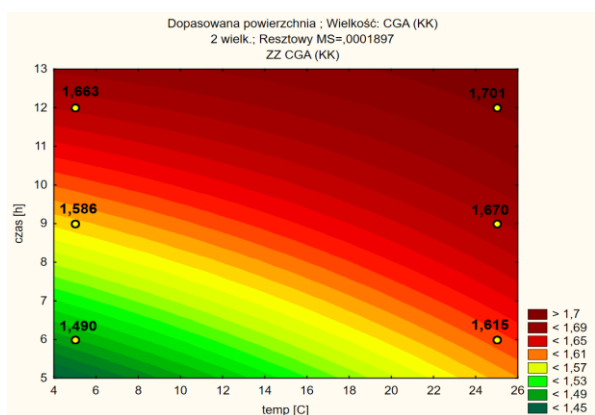


Rys. 55. Zawartość **kofeiny** [mg/ml] w **ekstrakcie** w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 210°C/5g/1,5mm]

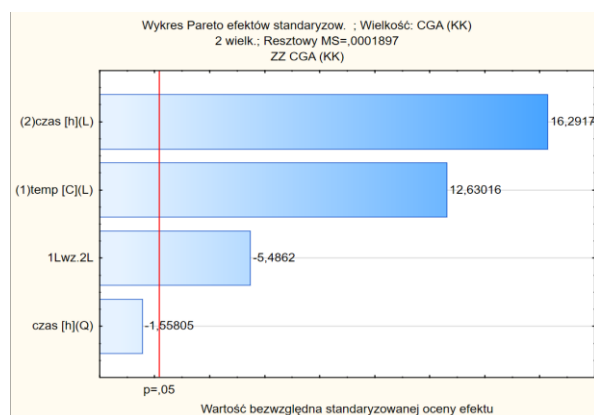


Rys. 56. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 55.

Dopasowana powierzchnia odpowiedzi modelu 210°C×5g×1,5mm w odniesieniu do techniki kriokoncentracji ukazała wysokie ilości kwasu kawoilochinowego w większości otrzymanych prób (rys. 57), które można zaobserwować w zakresie stężeń od 1,568 mg/ml do 1,701 mg/ml. Najniższa koncentracja 3-CQA dla wariantu 6h×5°C wyniosła 1,490 mg/ml – jako jedyna mieści się poniżej poziomu optymalnego, który na wykresie znajduje się w granicach stężania od 1,568 mg/ml do 1,615 mg/ml. Na podstawie analizy wykresu Pareto (rys. 58) należy stwierdzić, że wszystkie poziomy koncentracji zależą od czasu i temperatury, jak również od interakcji czynników głównych (L×L).

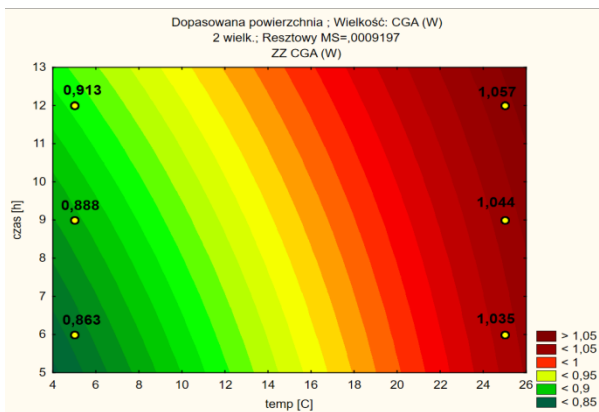


Rys. 57. Zawartość **3-CQA** [mg/ml] w **kriokoncentracji** w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 210°C/5g/1,5mm]

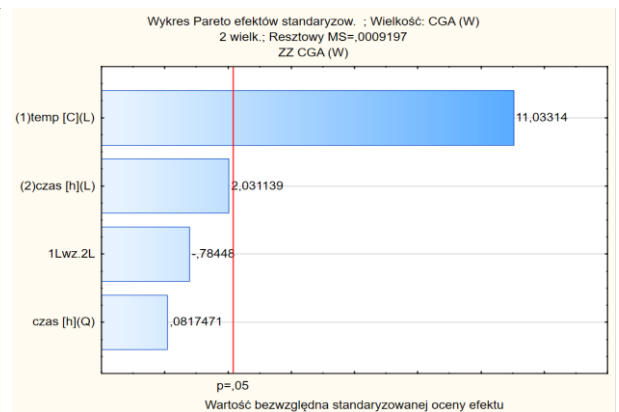


Rys. 58. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 57.

W odniesieniu do zawartości kwasu kawoilochinowego w modelowych ekstraktach 210°C×5g×1,5mm poddanych procesowi zatężania termicznego zaobserwowano mniejszą skuteczność tego procesu (rys. 59) w porównaniu do kriokoncentracji (rys. 57). Z kształtu powierzchni odpowiedzi wynika, że technika termicznego zagęszczania skutkowałą zawartością kwasu kawoilochinowego na poziomie od 1,035 mg/ml do 1,057 mg/ml (rys. 59) w porównaniu do początkowych wartości w ekstrakcie (rys. 53) wynoszących od 0,528 mg/ml do 0,554 mg/ml (w obu przypadkach dla temperatury ekstrakcji równej 25°C (rys. 53)).

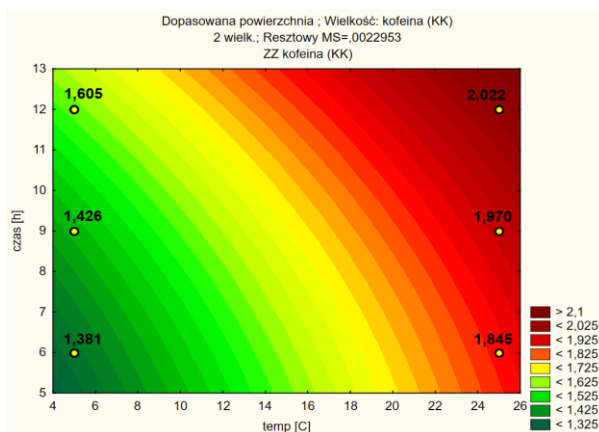


Rys. 59. Zawartość 3-CQA [mg/ml] w **koncentracji termicznej** w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 210°C/5g/1,5mm]

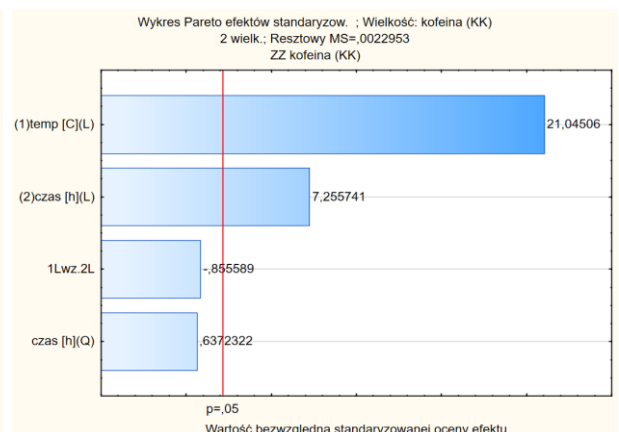


Rys. 60. Wykres Pareta odnośny do rys. 59.

Zawartość kofeiny w zagęszczonych ekstraktach po przeprowadzonym procesie kriokoncentracji zależała od temperatury i czasu ekstrakcji (rys. 62). Wzrost temperatury ekstrakcji o 20°C spowodował średni wzrost koncentracji kofeiny o ponad 0,4 mg/ml (rys. 61), zaś najniższą wartość 1,381 mg/ml stwierdzono w przypadku wariantu 6h×5°C, która to ilość jest o 0,835 mg/ml większa od zawartości kofeiny ekstraktu wyjściowego (rys. 55). Względem próby 12h×25°C różnica ta wynosiła 1,35 mg/ml.

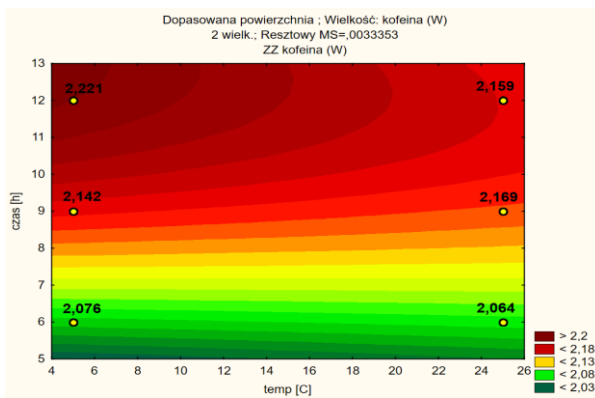


Rys. 61. Zawartość **kofeiny** [mg/ml] w **kriokoncentracji** w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 210°C/5g/1,5mm]

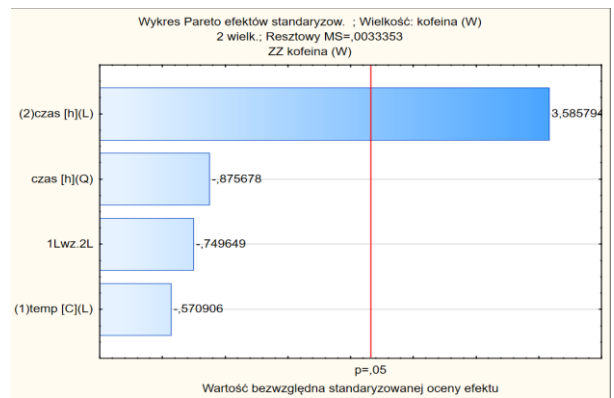


Rys. 62. Wykres Pareta odnośny do rys. 61.

Na podstawie wyników związanych z procesem termicznego zatężania kawy cold brew w analizowanym wariantcie wynika, że zawartość kofeiny w zagęszczonym ekstrakcie była na wysokim poziomie, tj. od 2,076 mg/ml do 2,221 mg/ml (rys. 63). Zawartość kofeiny uzyskanej na skutek ekstrakcji zależała tylko od czasu ekstrakcji (rys. 64).



Rys. 63. Zawartość kofeiny [mg/ml] w koncentracie termicznym w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 210°C/5g/1,5mm]

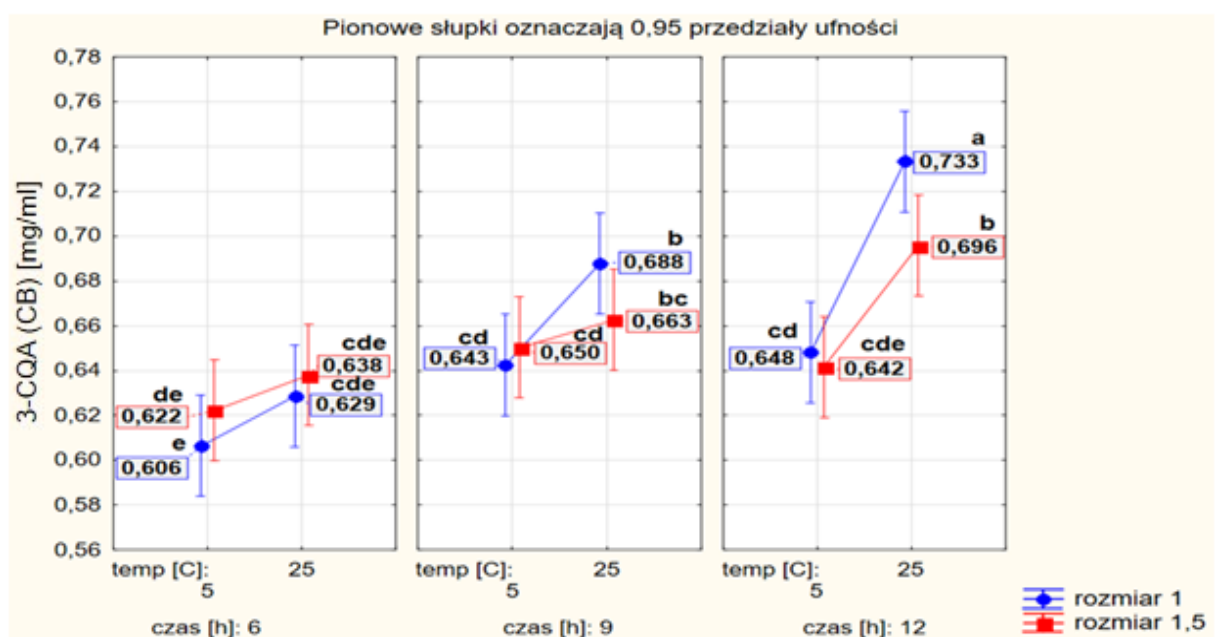


Rys. 64. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 63.

- **Stałe: temperatura prażenia: 210°C; brew:ratio: 6g**

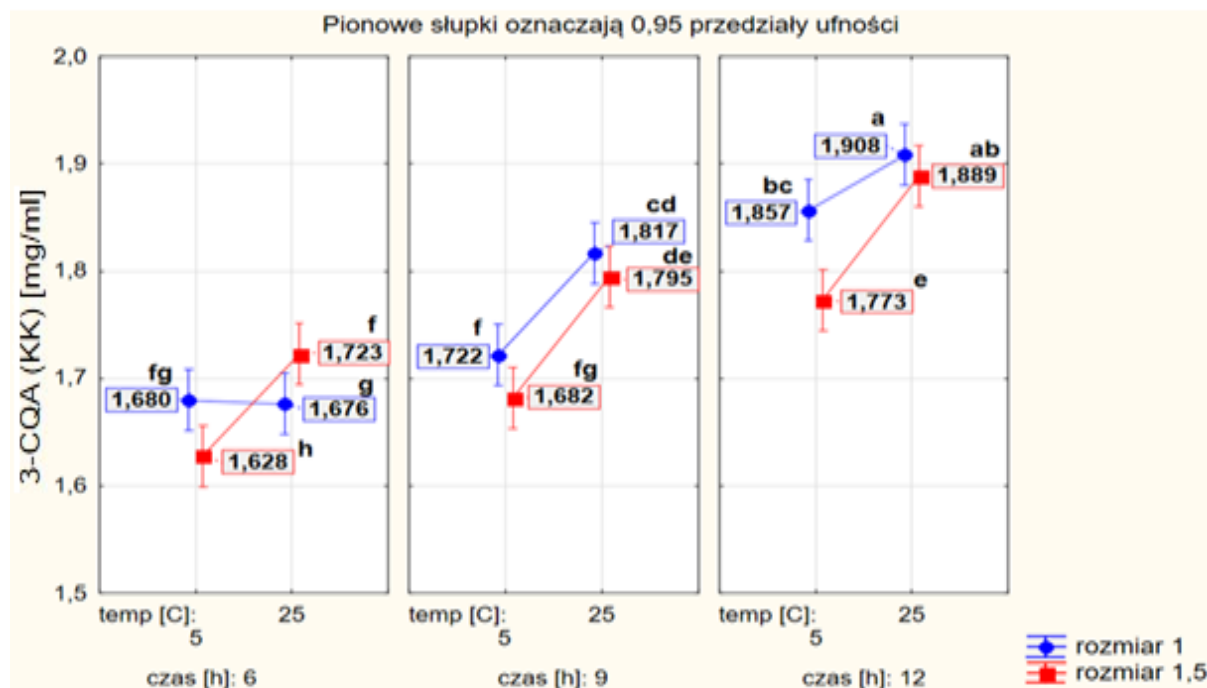
W trakcie dalszych części badań zastosowano brew:ratio na poziomie 6 g kawy do ekstrakcji typu cold brew. Wyniki zawartości kwasu kawoilochinowego w otrzymanych roztworach przedstawiono na rysunku 65. Stwierdzono średni wzrost stężenia na poziomie bliskim 0,1 mg/ml w porównaniu do poprzednich wariantów, wobec których zaobserwowano również podobieństwo przyrostu składnika w roztworze - jest największy w trakcie pierwszych 6-ciu godzin ekstrakcji.

Z analizy wykresu wynika, że zmierzona wartość 0,733 mg/ml 3-CQA dla ekstraktu 12h×25°C×1,0mm jest statystycznie największa spośród wszystkich otrzymanych w danym etapie. Druga największa wielkość 0,696 mg/ml została wyznaczona w wariacie 12h×25°C×1,5mm, która z kolei wykazała podobieństwo statystyczne względem obydwu wariantów 9-cio godzinnej maceracji kawy w temperaturze pokojowej. Na tym etapie badań wartość potencjału wdrożeniowego była najwyższa w odniesieniu do wariantu 12h×25°C×1,0mm –ze względu na najwyższy poziom kwasu kawoilochinowego, a w drugiej kolejności względem próby 9h×25°C×1,0mm –ze względu na krótszy czas ekstrakcji.

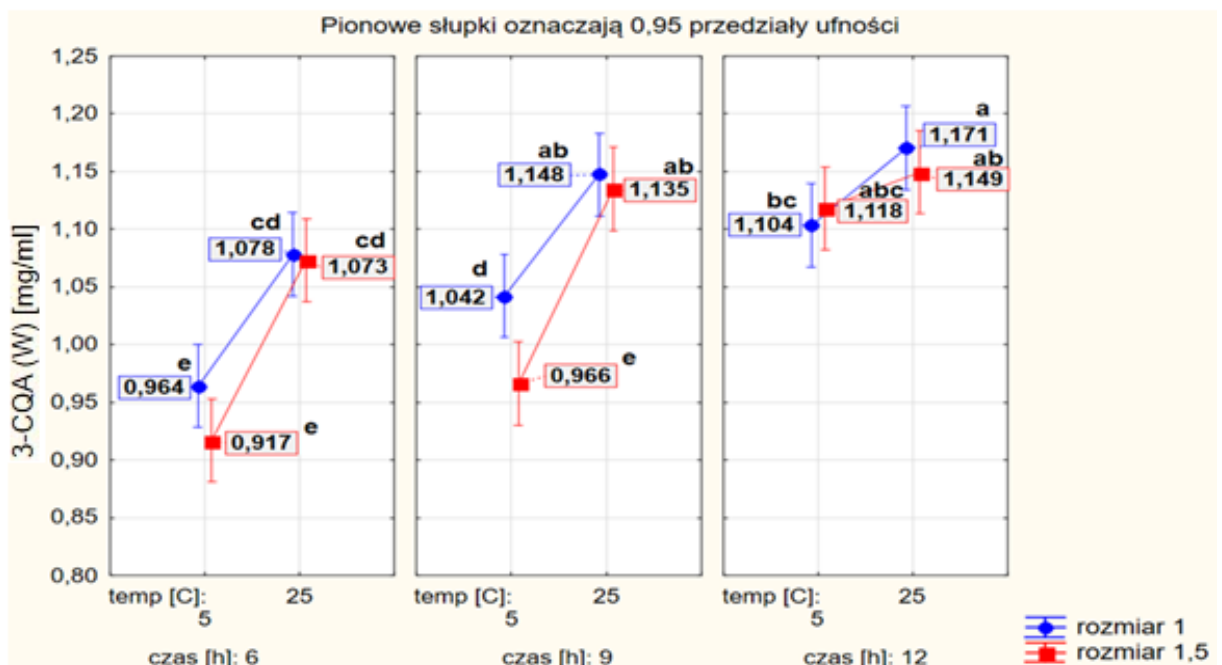


Rys. 65. Wartości stężenia 3-CQA [mg/ml] w ekstrakcie cold brew dla profilu prażenia kawy 210°C oraz brew:ratio 6g. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych (p<0,05)

Efekty zatężania ekstraktów, które odnoszą się kolejno do techniki kriokoncentracji oraz termicznego odparowania wody, przedstawiono na rysunkach 66 i 67. Zaobserwowano istotne zmiany potencjału koncentracji pomiędzy wdrożonymi do badań technikami. Na przykładzie zatężenia termicznego ekstraktu 12h×25°C zaobserwowano statystycznie podobne wyniki względem wariantów 12h×5°C oraz 9h×25°C, które poddano koncentracji. Tym samym, proces termiczny miał istotny wpływ na obniżenie wydajności procesu – im było większe stężenie kwasu kawoilochinowego w ekstrakcie wyjściowym, tym była relatywnie mniejsza wydajność w produkcji finalnym. Z kolei charakterystyka wpływu badanych zabiegów kriokoncentracji wskazuje, że wzrost stężenia analitu następuje przede wszystkim w miarę postępu czasu ekstrakcji oraz temperatury. Wyjątkiem od reguły jest próba 6h×25°C×1,0mm, której wynik może świadczyć o nierównomiernym rozkładzie tego związku w bryle lodu, z której dokonywano odbioru określonej objętości cieczy. Najwyższym wzrostem ilości kwasu kawoilochinowego charakteryzował się wariant 12h×25°C×1,0mm, a najniższym 6h×5°C×1,5mm. W przypadku procesu koncentracji roztworu 12h×25°C×1,5mm, dla którego wartość analizowanego składnika wyniosła 1,889 mg/ml, nie wykazano istotnie większej zawartości względem największego ilościowo poziomu 1,908 mg/ml.

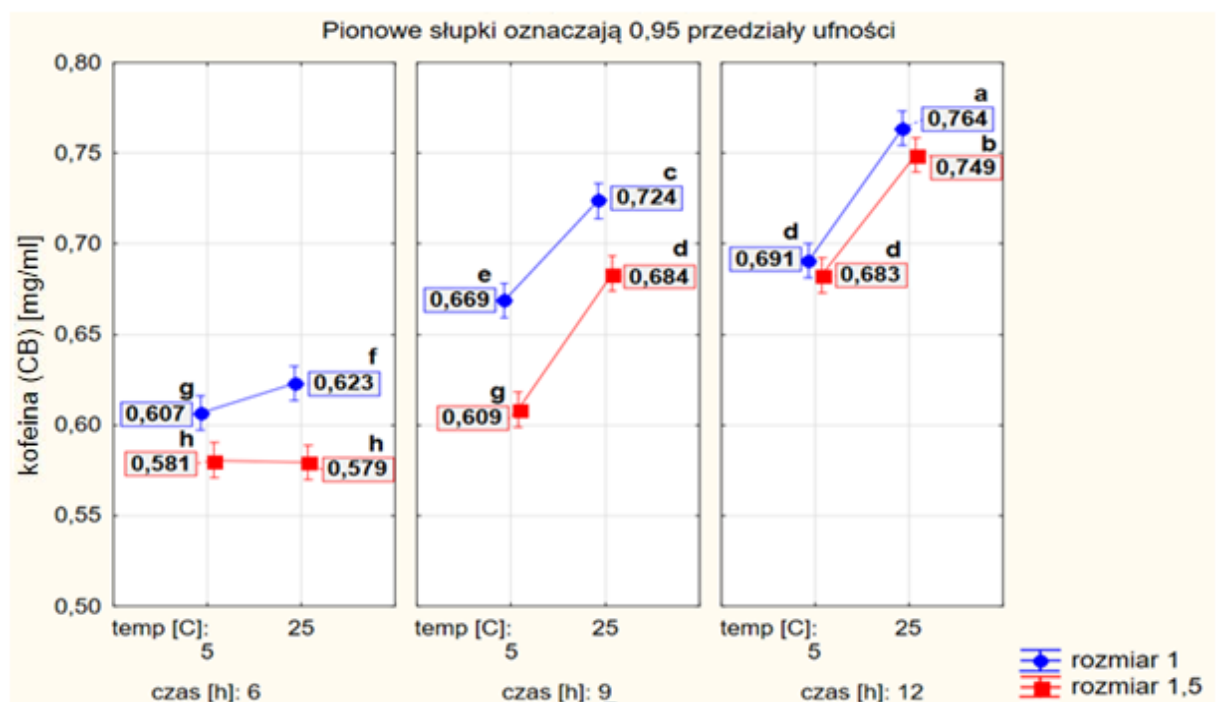


Rys. 66. Wartości stężenia 3-CQA [mg/ml] w kriokoncentracji cold brew dla profilu prażenia kawy w 210°C oraz brew:ratio 6g. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )

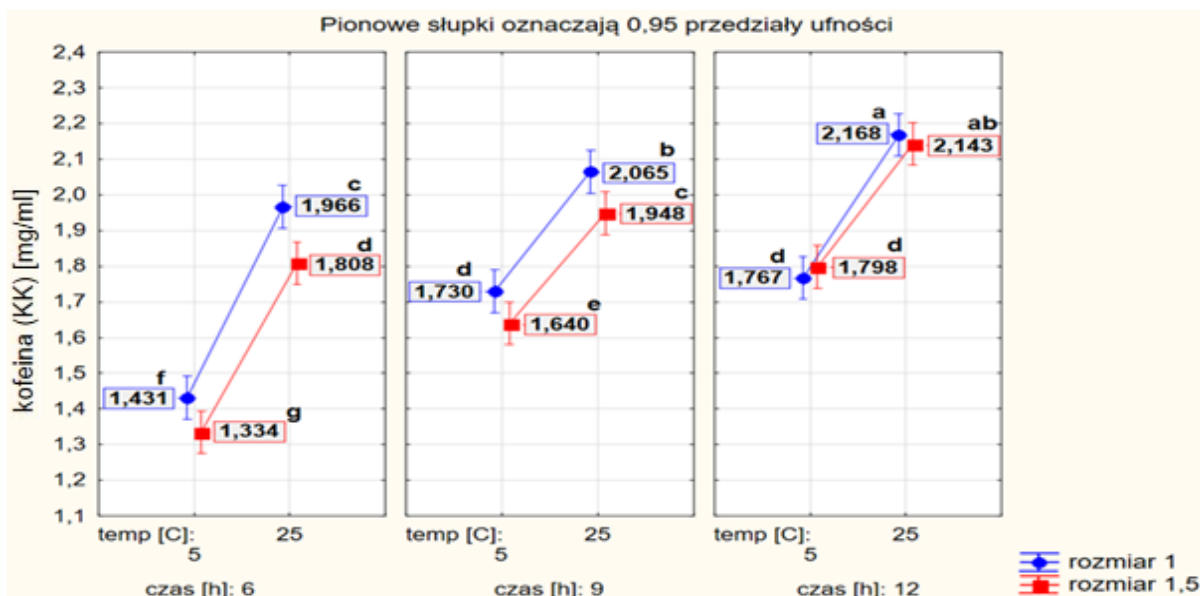


Rys. 67. Wartości stężenia **3-CQA** [mg/ml] w koncentracji termicznej cold brew dla profilu prażenia kawy w 210°C oraz brew:ratio 6g. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )

Ilość kofeiny można przyjąć na poziomie  $\pm 1,5\%$  składu chemicznego dla kawy prażonej w temperaturze 210°C. W wyniku eksperymentu stwierdzono, że wszystkie ekstrakty otrzymane w temperaturze 25°C charakteryzowały się rozpuszczalnością na poziomie od 60% do ponad 70% (rys. 68), a zwiększenie temperatury prażenia mogło przyczynić się do lepszej wydajności. W danym etapie wytwarzania napojów poziom analitu w całościowym ujęciu interakcji wszystkich zmiennych oraz po uśrednieniu wyników wynosił 0,66 mg/ml. W zakresie stężeń 0,749 – 0,764 mg/ml można zaobserwować istotnie większą zawartość kofeiny względem temperatury 5°C oraz w odniesieniu do przykładów analiz z krótszego czasu ekstrakcji. W celu otrzymania produktu o zwiększonej wartości kofeiny korzystne jest wykorzystanie ekstraktów 12h×25°C oraz 9h×25°C.

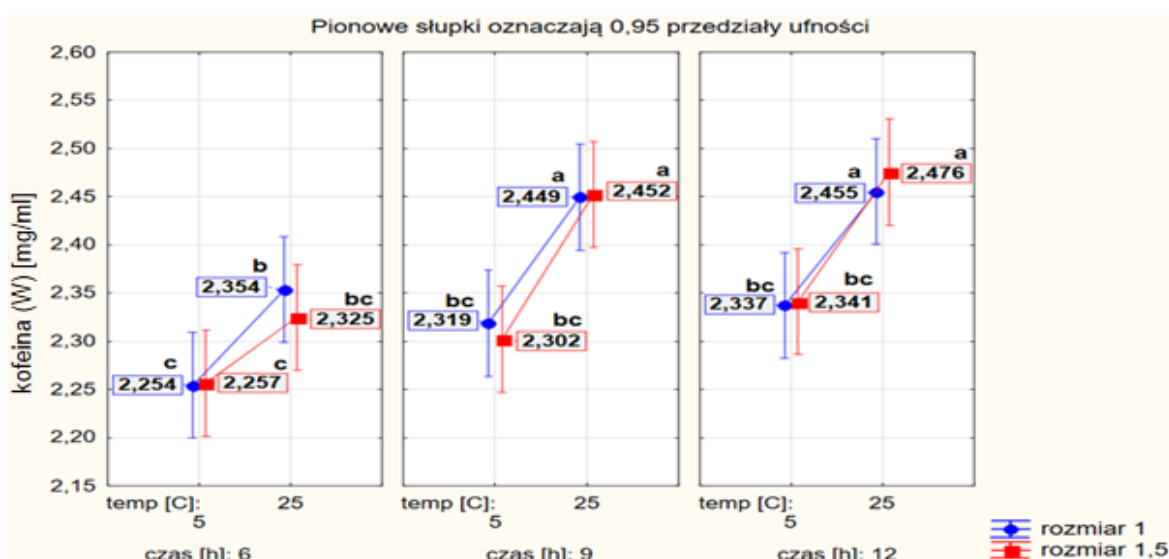


Rys. 68. Wartości stężenia **kofeiny** [mg/ml] w ekstrakcie cold brew dla profilu prażenia kawy w 210°C oraz brew:ratio 6g. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )



Rys. 69. Wartości stężenia **kofeiny** [mg/ml] w **kriokoncentracji** cold brew dla profilu prażenia kawy w 210°C oraz brew:ratio 6g. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )

Po procesie koncentracji (zarówno krio- jak i termicznej) wzrost zawartości kofeiny w każdym z produktów zwiększył się w sposób istotny statystycznie (rys. 69 oraz 70) względem ekstraktów wyjściowych (rys. 68). Z porównania obydwu technik wynika, że procesami o mniejszej wydajności zagęszczenia tego związku po zatężeniu były wszystkie próby kriokoncentracji, co jest zgodne z poprzednimi wynikami. Z kolei po zagęszczeniu ekstraktu na wyparce zaobserwowano mniejsze zróżnicowanie, co należy tłumaczyć tym, że proces zachodzi równomiernie w całej objętości produktu. Charakterystyka wydajności procesu zagęszczania metodą termiczną jest bardzo podobna dla czasów ekstrakcji 9 i 12h (rys. 64). Sugeruje to, że otrzymano maksymalny poziom zatężonej kofeiny, a zwiększanie czasu obróbki lub zmiana zastosowanej temperatury procesu nie wpłynie znacząco na dalszy wzrost składnika w płynie (porównując wprost warianty z czasem ekstrakcji na poziomie 9h i 12h). Najwyższa zawartość uzyskana w próbach po koncentracji termicznej wynosiła 2,476 mg/ml i była większa od analogicznej wartości z procesu kriokoncentracji o 0,31 mg/ml.



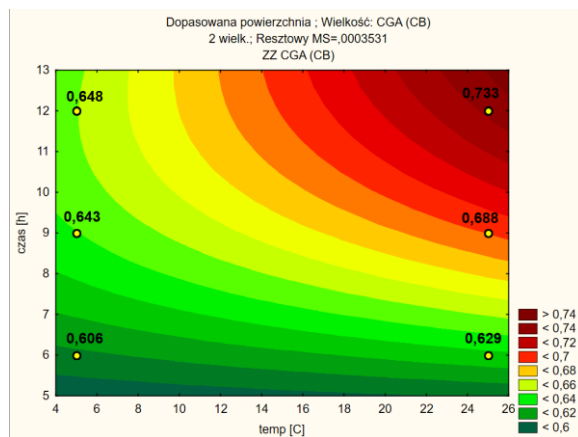
Rys. 70. Wartości stężenia **kofeiny** [mg/ml] w **koncentracji termicznej** cold brew dla profilu prażenia kawy w 210°C oraz brew:ratio 6g. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )



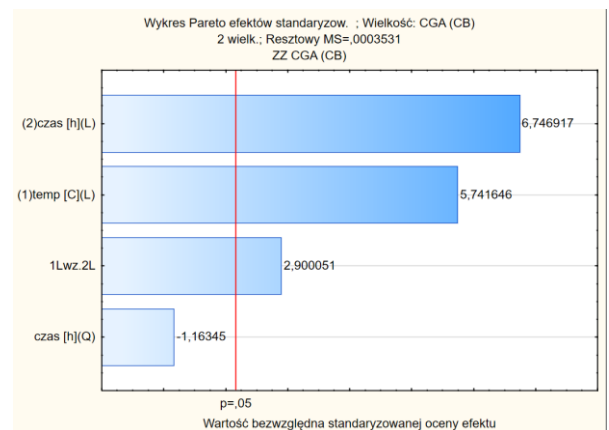
**Zawartość kwasu kawoilochinowego i kofeiny w ekstraktach, kriokoncentratach i koncentratach termicznych cold brew wyrażona jako powierzchnie odpowiedzi RSM (zmiennie: temperatura ekstrakcji 5, 25°C oraz czas ekstrakcji 6, 9, 12h)**

- **Stałe: temperatura prażenia: 210°C; brew:ratio: 6g, stopień rozdrobnienia: 1 mm**

W wyniku zmiany ilorazu parametru brew:ratio, czyli dla zastosowania 6g kawy zaobserwowano większą względem brew:ratio dla 5g ilość wyekstrahowanego do wody 3-CQA oraz kofeiny ze zmielonej kawy dla stopnia rozdrobnienia 1,0mm, co jest zjawiskiem naturalnym. Uzyskana wartość 0,648 mg/ml kwasu kawoilochinowego (rys. 71) dla wariantu 12h×5°C wskazuje podobieństwo ilości rozpuszczonego związku do wariantu 12h×25°C z modelu 210°C×5g×1,0mm. Określone stężenia zależne są od tej samej ilości głównych efektów liniowych z jedną różnicą – dla większej ilości kawy użytej w procesie ekstrakcji (tj. 6g), czas [h] jest główną zmienną wpływającą na model RSM opisujący dyfuzję związku z kawy do wody (rys. 72).

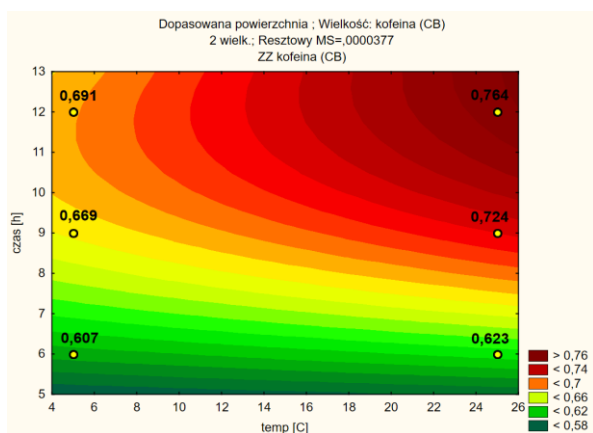


Rys. 71. Zawartość 3-CQA [mg/ml] w ekstrakcie w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 210°C/6g/1mm]

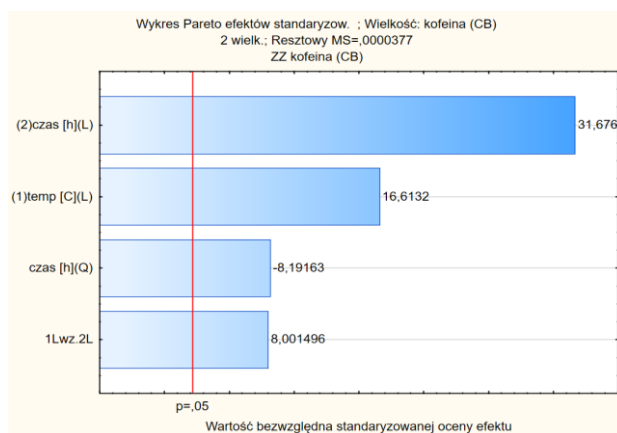


Rys. 72. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 73.

Ilość spożywanej kofeiny zależy w głównej mierze od rodzaju sporządzonego napoju. Kawa typu espresso, dla której wysoka temperatura jest jedną z dwóch kluczowych zmiennych umożliwiających natychmiastowe otrzymanie napoju, dostarcza średnio kofeinę na poziomie  $\pm 0,6$  mg na 1 ml kawy. W przypadku techniki cold brew wydłużony czas kontaktu kawy z wodą może wpływać na większą ekstrakcję kofeiny w jednostce objętości (rys. 73). Najkrótszy czas ekstrakcji kawy na zimno umożliwia podobny odzysk kofeiny w porównaniu do kawy typu espresso. Optymalny zakres zmiennej czasu [h], który mieści się w przedziale od 6-ciu do 9-ciu godzin ekstrakcji, może w praktyce produkcyjnej odzwierciedlić napój z wysoce oczekiwanym efektem wpływu na czynności fizjologiczne ze względu na umiarkowany poziom kofeiny. Wpływ zmiennej czasu [h] na stopień ekstrakcji kofeiny był silniejszy niż wpływ temperatury w tym (rys. 74).

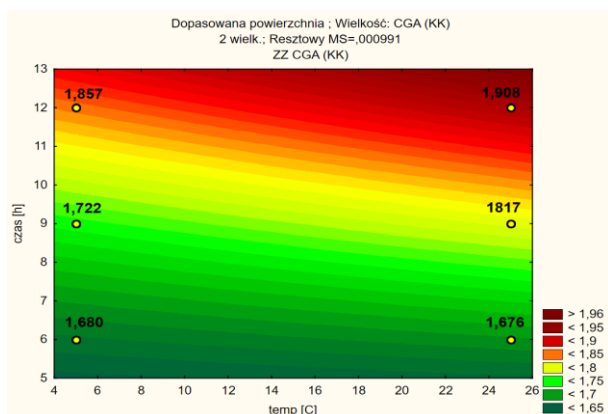


Rys. 73. Zawartość **kofeiny** [mg/ml] w ekstrakcie w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 210°C/6g/1mm]

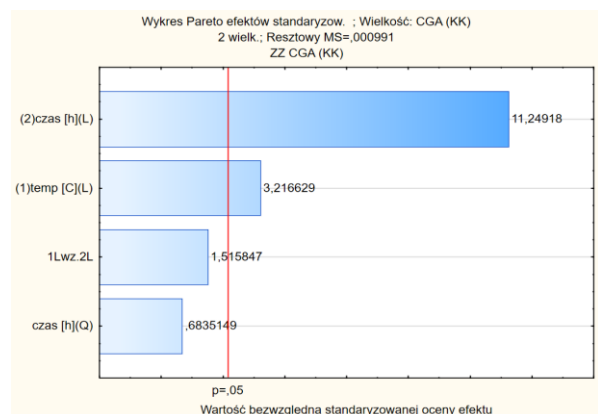


Rys. 74. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 73.

Eksperyment dla przypadku kriokoncentracji ekstraktu otrzymanego z większej dozy kawy ziarnistej wskazuje na brak wzajemnej interakcji czynników głównych ( $L \times L$ ) (rys. 76), co jest zjawiskiem odmiennym w porównaniu do eksperymentu dla proporcji 1:20 brew:ratio (tj. 5g). W celu otrzymania produktu o zwiększonych właściwościach zdrowotnych, wynikających z właściwości przeciwutleniających kwasu kawoilochinowego, na podstawie uzyskanych wyników można zasugerować, aby w praktyce produkcyjnej zastosować wydłużenie czasu ekstrakcji do 12-stu godzin. Wówczas stężenie składnika mieści w przedziale od 1,857 do 1,908 mg/ml (rys. 75).



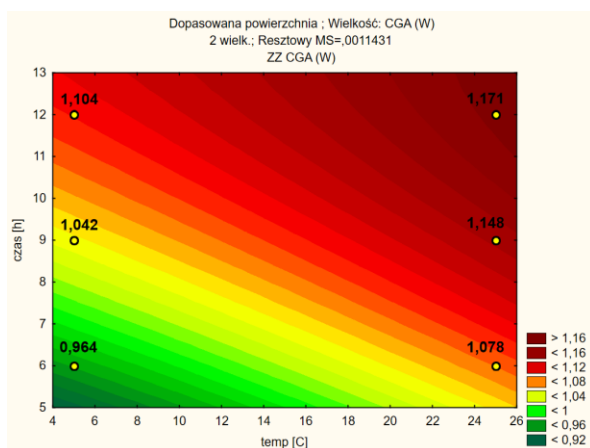
Rys. 75. Zawartość **3-CQA** [mg/ml] w **kriokoncentracji** w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 210°C/6g/1mm]



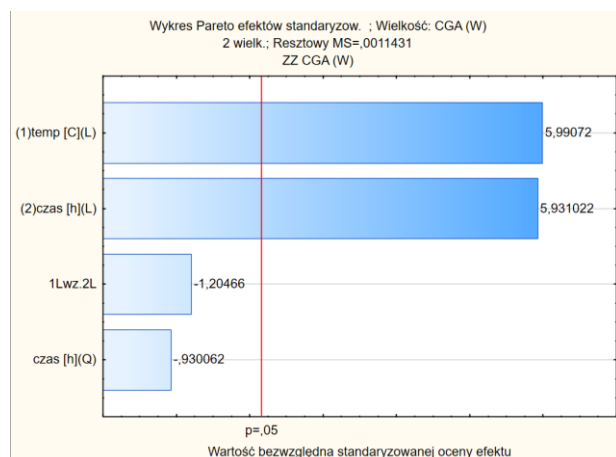
Rys. 76. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 75.

Na podstawie przedstawionych wykresów dotyczących zateżonych pod wpływem wysokiej temperatury ekstraktów otrzymanych w stosunku brew:ratio na poziomie 1:16,6, tj. 6g (rys. 77, rys. 78) zaobserwowano podobny wpływ czasu ekstrakcji [h] oraz temperatury [°C], co przejawia się podobnym nachyleniem izolinii (ok. 45°) względem osi X (rys. 77) oraz podobnymi wartościami efektów standaryzowanych (rys. 78). W tym przypadku korzystne jest wydłużenie czasu ekstrakcji oraz temperatury ekstrakcji w celu otrzymania kwasu kawoilochinowego powyżej 1 mg/ml w koncentracji.



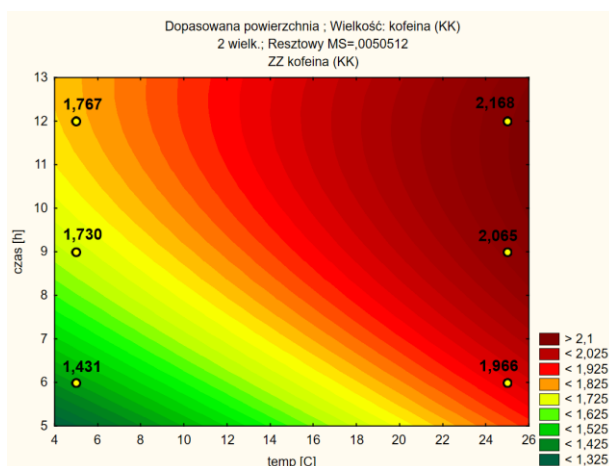


Rys. 77. Zawartość 3-CQA [mg/ml] w koncentracie termicznym w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM[dla wariantu: 210°C/6g/1mm]

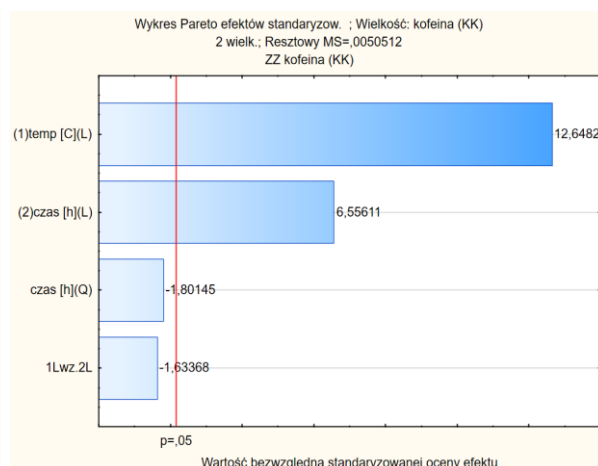


Rys. 78. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 77.

Podczas prowadzenia dalszej części eksperymentu wartości liczbowe odpowiadające poziomowi zawartej kofeiny w koncentratkach nietermicznych uzyskanych z 6 gramów kawy, rozdrobnionej do wielkości 1,0mm i prażonej przy 210°C, mieszczą się w przedziale od 1,431 mg/ml do 2,168 mg/ml (rys. 79). Stwierdzono dwukrotnie większy wpływ temperatury [°C] ekstrakcji w odniesieniu do czasu [h] na końcowe stężenie kofeiny w kriokoncentracie (rys. 80), co umożliwiło odzysk maksymalny składnika w zakresie od 1,966 mg/ml do 2,168 mg/ml.



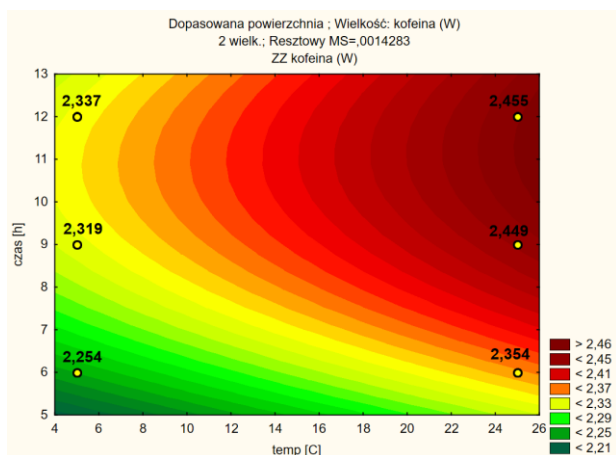
Rys. 79. Zawartość kofeiny [mg/ml] w kriokoncentracie w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM[dla wariantu: 210°C/6g/1mm]



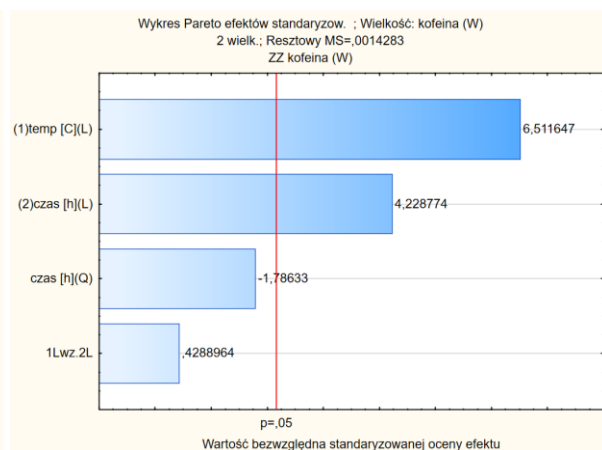
Rys. 80. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 79.

Powierzchnie odpowiedzi w odniesieniu do modelu ekstrakcji kawy 210°C×6g×1,0 mm poddanej zateżaniu na skutek odparowania części wody przedstawiono na rysunku 81. W przypadku najniższych wartości uzyskanego stężenia kofeiny (lewy dolny róg wykresu w okolicach stężenia 2,254 mg/ml) można zaobserwować podobny wpływ czasu [h] ekstrakcji, jak również temperatury na stopień skoncentrowanej kofeiny (rys. 81). Dla ekstraktów otrzymanych w temperaturze bliskiej 25°C, które poddano procesowi zateżania na wyparce, daje się zaobserwować większy wpływ temperatury [C°] niż czasu ekstrakcji (prawa część rys. 73). W tym przypadku najniższy poziom koncentracji kofeiny wynosił 2,354 mg/ml,

a najwyższy 2,455 mg/ml. W odniesieniu do całego modelu RSM większy wpływ na końcową zawartość kofeiny miała temperatura (rys. 82).



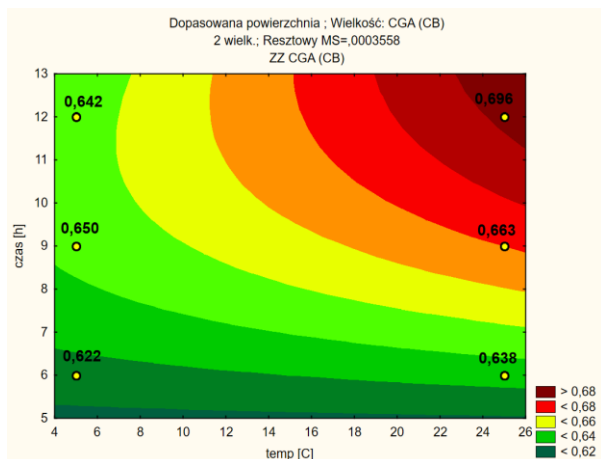
Rys. 81. Zawartość kofeiny [mg/ml] w koncentracie termicznym w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM[dla wariantu: 210°C/6g/1mm]



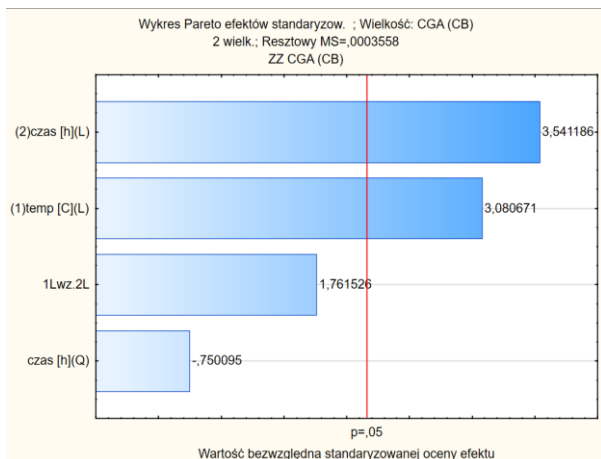
Rys. 82. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 81.

- **Stałe: temperatura prażenia: 210°C; brew:ratio: 6g, stopień rozdrobnienia: 1,5 mm**

Na rysunku 83 zaprezentowano dopasowane powierzchnie odpowiedzi wobec kolejnego modelu ekstrakcji kawy: 210C×6g×1,5mm, gdzie zaobserwowano izolinie o najmniejszym stopniu skupienia w porównaniu do dotychczas przeprowadzonych analiz. Wartości stężenia 3-CQA na poziomie 0,650 mg/ml oraz 0,642 mg/ml oszacowano jednakową powierzchnią odpowiedzi. Sugeruje to, że wydłużenie czasu ekstrakcji z 9-ciu do 12-tug godzin w środowisku 5°C nie spełnia oczekiwanego efektu wzrostu stężenia analizowanego związku w ekstrakcie. Porównując kolejne warianty niniejszego modelu badawczego należy zwrócić uwagę, że uszeregowanie ilości rozpuszczonego 3-CQA nastąpiło według istotności efektów zmiennych, w których czas [h](L) jest nieznacznie bardziej istotny od temperatury [°C](L) (rys. 84).



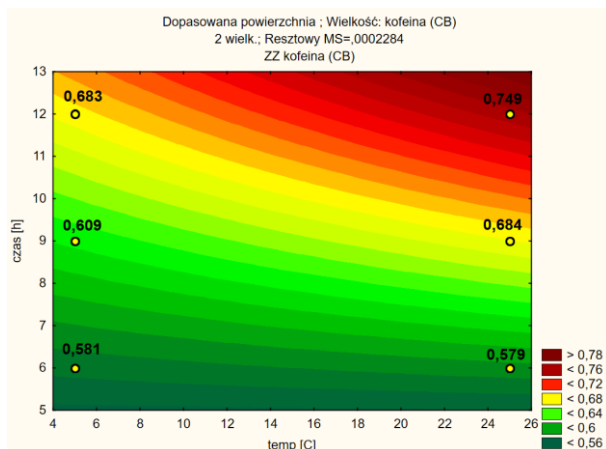
Rys. 83. Zawartość 3-CQA [mg/ml] w ekstrakcie w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM[dla wariantu: 210°C/6g/1,5mm]



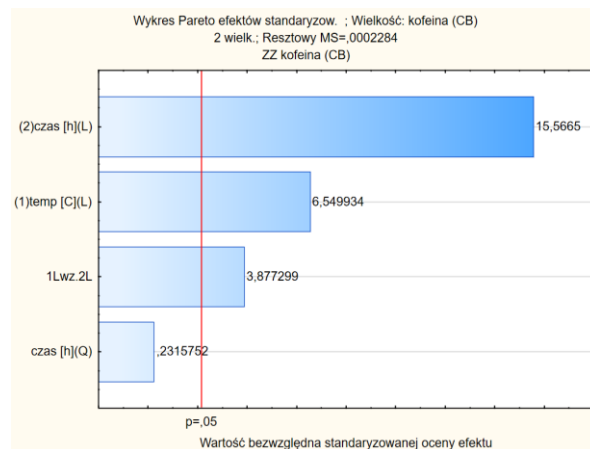
Rys. 84. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 83.

Zależność powierzchni odpowiedzi odwzorowującą rzeczywisty wpływ czasu [h] oraz temperatury [°C] na stężenie kofeiny dla omawianego modelu przedstawiono na rysunku

85. Ilość wyekstrahowanego związku w analizowanym zakresie pomiarowym rośnie głównie wraz z czasem prowadzonego procesu, w mniejszym stopniu wraz temperaturą rozpuszczalnika. Najwyższą wartość kofeiny (0,749 mg/ml) uzyskano przy temperaturze 25°C. W eksperymencie zaobserwowano także statystycznie istotny wpływ interakcję czynników głównych (L×L) na model RSM (rys. 86).

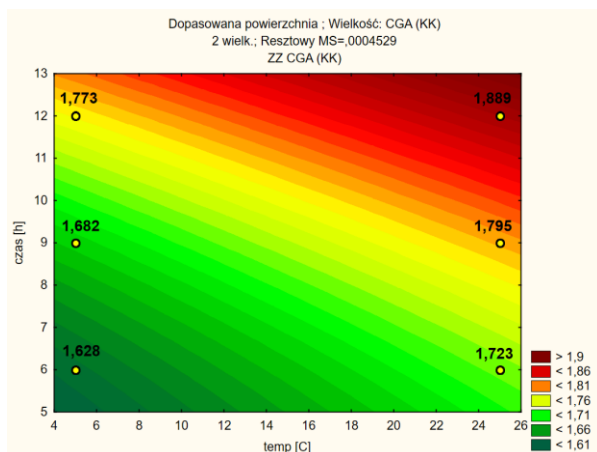


Rys. 85. Zawartość **kofeiny** [mg/ml] w ekstrakcie w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 210°C/6g/1,5mm]

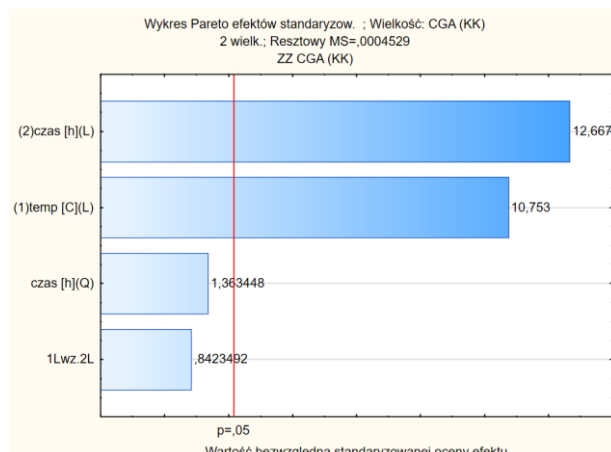


Rys. 86. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 85.

Dla kwasu kawoilochinowego w kriokoncentracie uzyskanym z ekstraktu 210°C×6g×1,5mm określono maksymalne stężenie związku na poziomie 1,889 mg/ml (rys. 87). Wartość ta uzyskana była w próbie po 12-to godzinnej ekstrakcji kawy w temperaturze 25°C. Model RSM zależał przede wszystkim od liniowej wartości czasu [h] oraz w mniejszym stopniu od temperatury [°C] efektu liniowego (rys. 88).



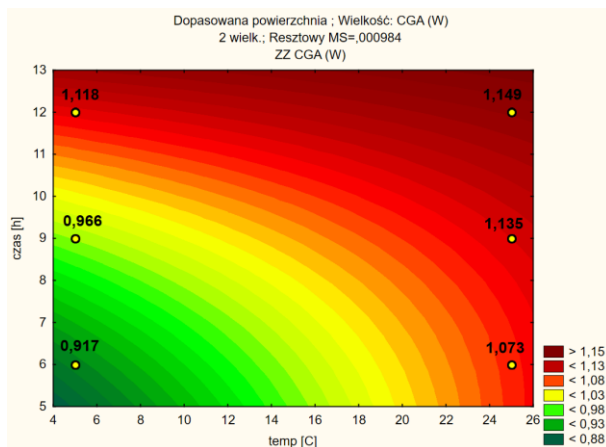
Rys. 87. Zawartość **3-CQA** [mg/ml] w kriokoncentracie w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 210°C/6g/1,5mm]



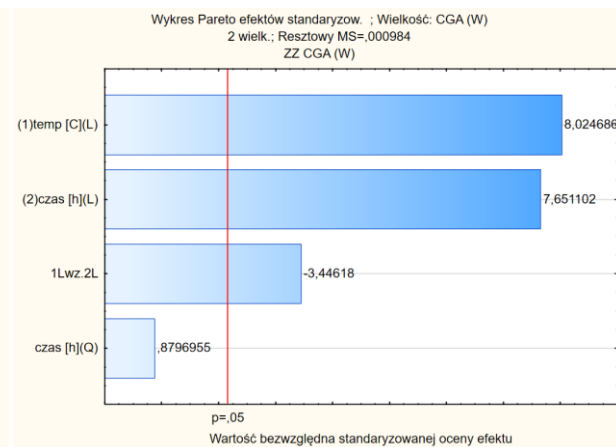
Rys. 88. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 87.

Proces zateżnienia termicznego ekstraktu kawy cold brew w tym wariantcie badawczym w odniesieniu do kwasu kawoilochinowego charakteryzuje się mniejszą skutecznością (rys. 89), niż kriokoncentracja (rys. 87). Maksymalne stężenie tego związku wynoszące 1,149 mg/ml było o 0,74 mg/ml mniejsze w porównaniu do próby uzyskanej drogą

kriokoncentracji. Wobec analizowanego przypadku, optymalizacja polegająca na określeniu minimalnych strat komponentu pozwoliła na wyznaczenie zalecanej temperatury ekstrakcji kawy na poziomie 25°C. Na poziomie istotności  $p=0,05$  określono trzy wartości mające wpływ na stężenie kwasu kawoilochinowego po procesie instandyzacji, tj. temperaturę, czas ekstrakcji oraz ich liniową interakcję (rys. 90).

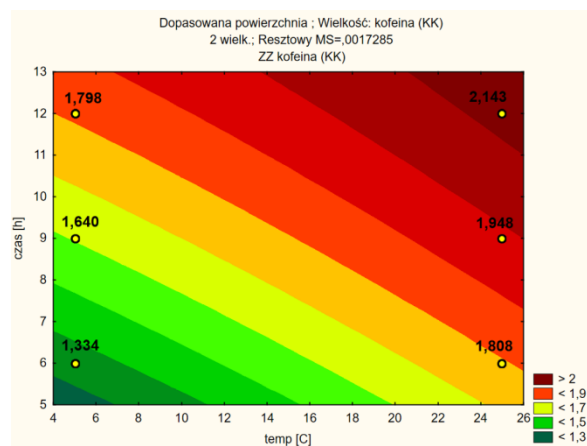


Rys. 89. Zawartość 3-CQA [mg/ml] w koncentracji termicznej w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM[dla wariantu: 210°C/6g/1,5mm]

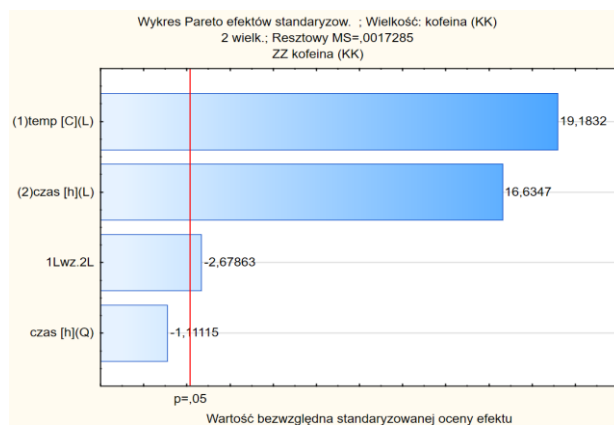


Rys. 90. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 91.

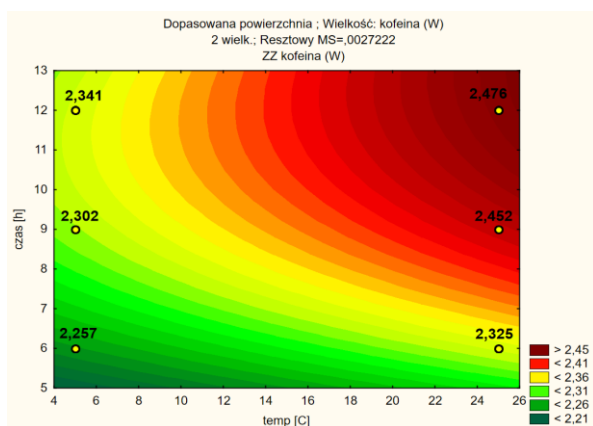
Na kolejnych wykresach przedstawiono zmiany zawartości kofeiny w zależności od zastosowanego sposobu koncentracji ekstraktu cold brew uzyskanego względem ekstraktu wyjściowego (wariant 210°C×6g×1,5mm). Stwierdzono, że koncentraty termiczne posiadające bardziej zróżnicowaną powierzchnię odpowiedzi (rys. 93) charakteryzowały się znacznie wyższymi wielkościami stężonej kofeiny w porównaniu do kriokoncentratów (rys. 91). W przypadku koncentratu termicznego maksymalna zawartość kofeiny wyniosła 2,467 mg kofeiny na 1 ml objętości koncentratu. W podobnych warunkach dla procesu kriokoncentracji zmierzona wartość wyniosła 2,143 mg/ml. W obydwu wariantach istotnym czynnikiem decydującym o wielkości stężonego związku była w pierwszej kolejności temperatura, a w drugiej czas ługowania kawy (rys. 92, rys. 94).



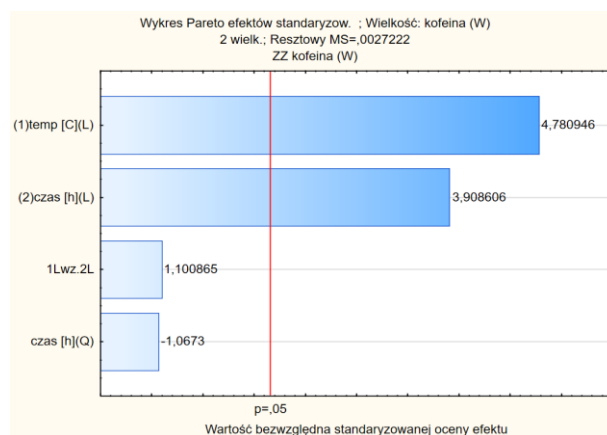
Rys. 91. Zawartość kofeiny [mg/ml] w kriokoncentracji w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM[dla wariantu: 210°C/6g/1,5mm]



Rys. 92. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 91.



Rys. 93. Zawartość **kofeiny** [mg/ml] **w koncentracje termicznej** w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM[dla wariantu: 210°C/6g/1,5mm]



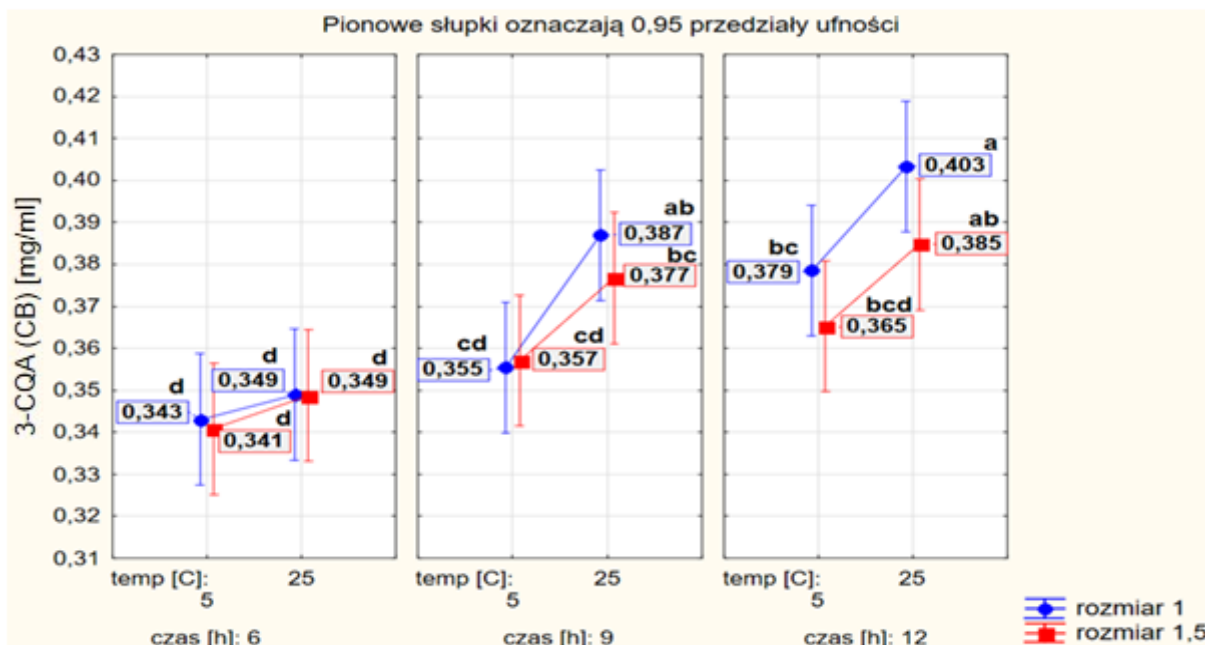
Rys. 94. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 93.

**Zawartość kwasu kawoilochinowego i kofeiny w ekstraktach, kriokoncentratów i koncentratów termicznych cold brew (wieloczynnikowa analiza wariancji) (zmienne: temperatura ekstrakcji 5, 25°C; czas ekstrakcji 6, 9, 12h; stopień rozdrobnienia [rozmiar] 1,0 lub 1,5 mm)**

- **Stale: temperatura prażenia: 220°C; brew:ratio: 5g**

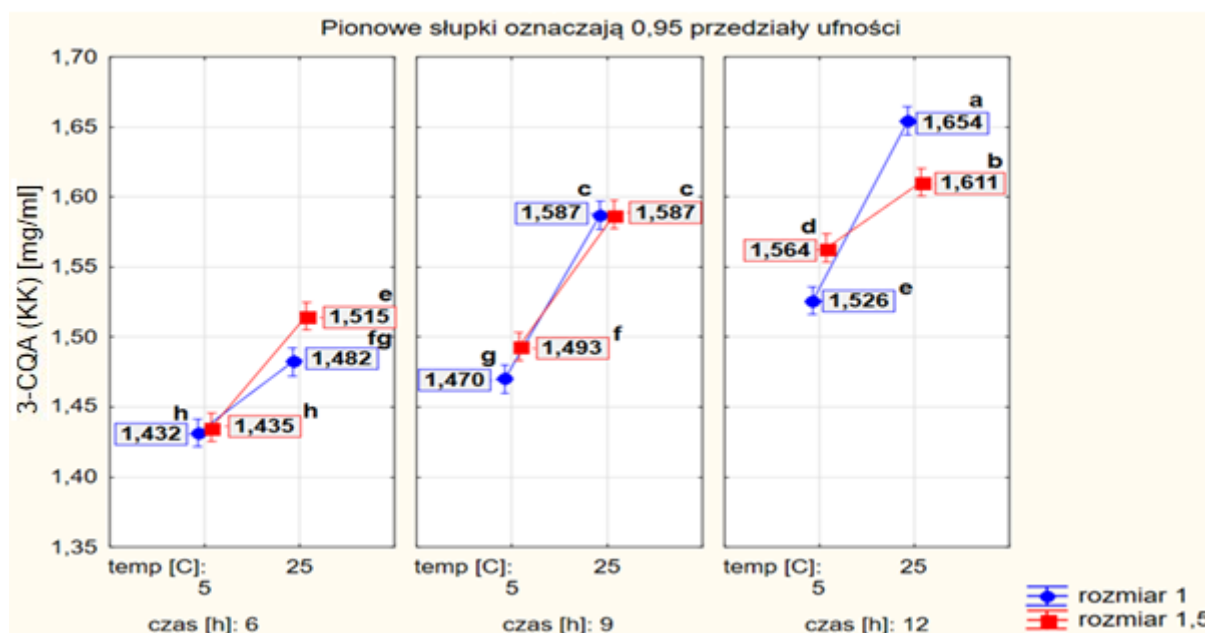
Zawartość kwasu kawoilochinowego dla procesu ekstrakcji kawy prażonej w temperaturze 220°C i brew:ratio na poziomie 5g przedstawiono na rysunku 95. W przypadku prób otrzymanych po 6-cio godzinnej ekstrakcji nie odnotowano statystycznie istotnych różnic pomiędzy analizowanymi próbami – średnie wartości kwasu kawoilochinowego wynosiły od 0,341 do 0,349 mg/ml.

Statystycznie więcej kwasu kawoilochinowego zostało wyekstrahowane w wariantach, gdzie zastosowano wyższą temperaturę (25°C), zaś czas ekstrakcji wynosił co najmniej 9h. Pomimo zaobserwowania nieco wyższych wartości 3-CQA w wariantach, w których zastosowano mniejszy stopień rozdrobnienia (1,0 mm), to różnice w porównaniu do prób o stopniu rozdrobnienia na poziomie 1,5 mm nie były statystycznie istotne (odnosiło się to do wszystkich wariantów). Udowodniono więc, że maksymalna wydajność kwasu kawoilochinowego uzyskuje się już po zastosowaniu krótszego czasu ekstrakcji, tj. po 9 godzinach. Dłuższy czas procesu (tj. 12h) nie wpływa w istotny sposób na wyższy stopień ekstrakcji kwasu kawoilochinowego.



Rys. 95. Wartości stężenia 3-CQA [mg/ml] w ekstrakcie cold brew dla profilu prażenia kawy w 220°C oraz brew:ratio 5g. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )

Zawartość kwasu kawoilochinowego w koncentratkach uzyskanych techniką wymrażania i zagęszczania przedstawiono odpowiednio na rysunkach 99 oraz 97. Próby po kriokoncentracji cechowały się podwyższoną zawartością prozdrowotnego składnika 3-CQA. Z kaw otrzymanych po 6-tej godzinnej maceracji stężenie 3-CQA oznaczono na poziomie od 1,432 do 1,515 mg/ml. Zastosowanie kawy o wielkości cząstek 1,0 mm spowodowało wzrost zawartości kwasu kawoilochinowego po 12h ekstrakcji do poziomu 1,654 mg/ml - istotnie większej w porównaniu do podobnego wariantu, w którym zastosowano 1,5 mm - większy stopień rozdrobnienia (1,611 mg/ml).

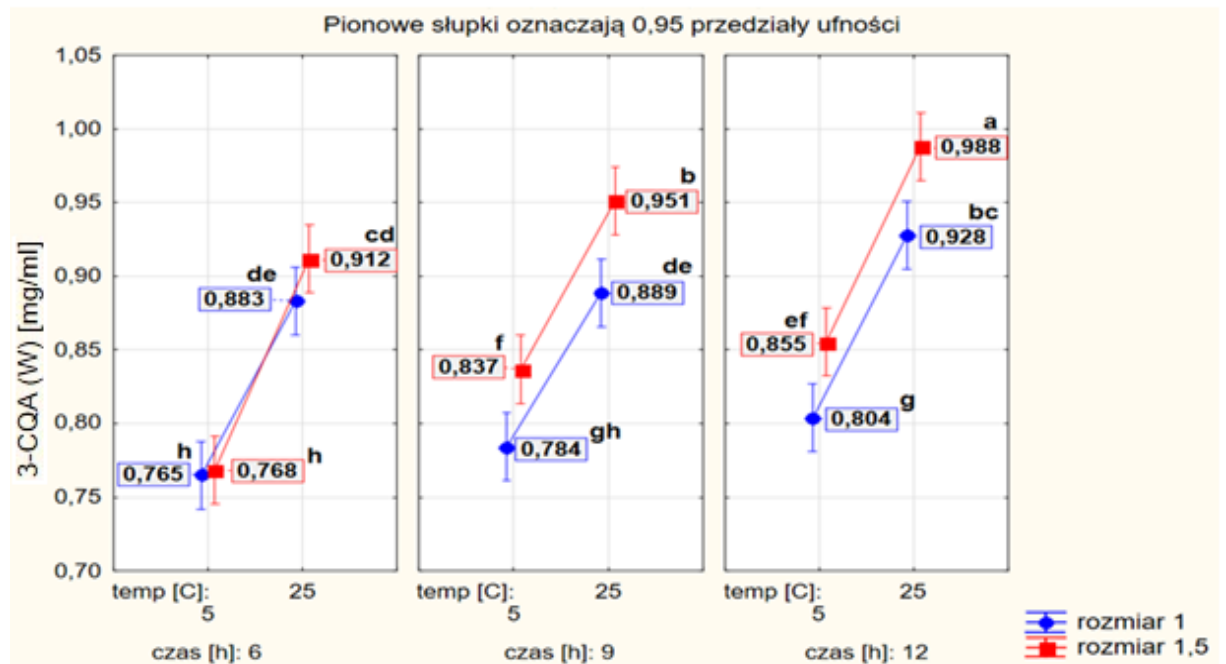


Rys. 96. Wartości stężenia 3-CQA [mg/ml] w kriokoncentracji cold brew dla profilu prażenia kawy w 220°C oraz brew:ratio 5g. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )

W koncentratkach uzyskanych wskutek odparowania wody (rys. 97) stwierdzono mniejszą wydajność procesu w każdym analizowanym przypadku w porównaniu do kriokoncentracji.

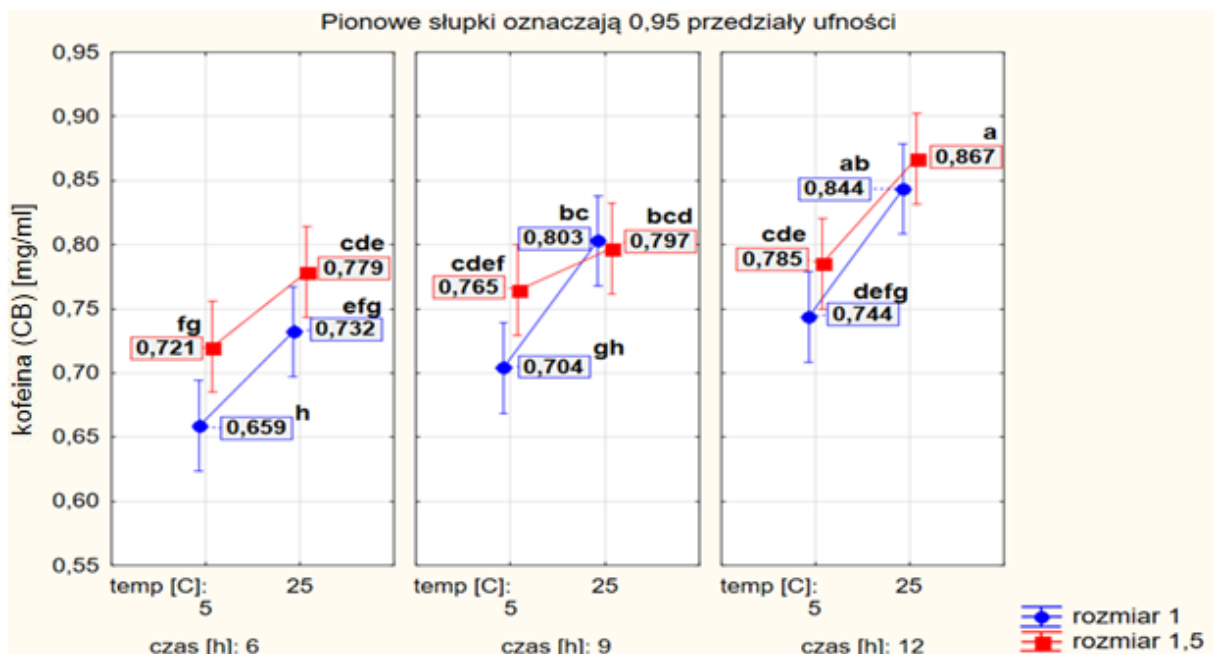


Dla koncentratów po 6h ekstrakcji nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic pomiędzy próbkami o różnym brew:ratio. W kolejnych wariantach o dłuższym czasie ekstrakcji stopień rozdrobnienia był istotnym czynnikiem różnicującym zawartość kwasu kawoilochinowego w uzyskanych koncentratkach. Najwyższe stężenie kofeiny wynoszące 0,988 mg/ml uzyskano w wariancie, gdzie zastosowano 12 godzinną ekstrakcję w temperaturze 25°C. Co istotne, stosując zateżanie termiczne w tym wariancie zaobserwowano większą stabilność uzyskanych stężeń kofeiny. Fakt ten ma duży potencjał praktyczny, ponieważ technologia termiczna umożliwia względnie szybkie otrzymanie koncentratu, który może stanowić komponenty różnego rodzaju produktów o zamierzonych cechach jakościowych.



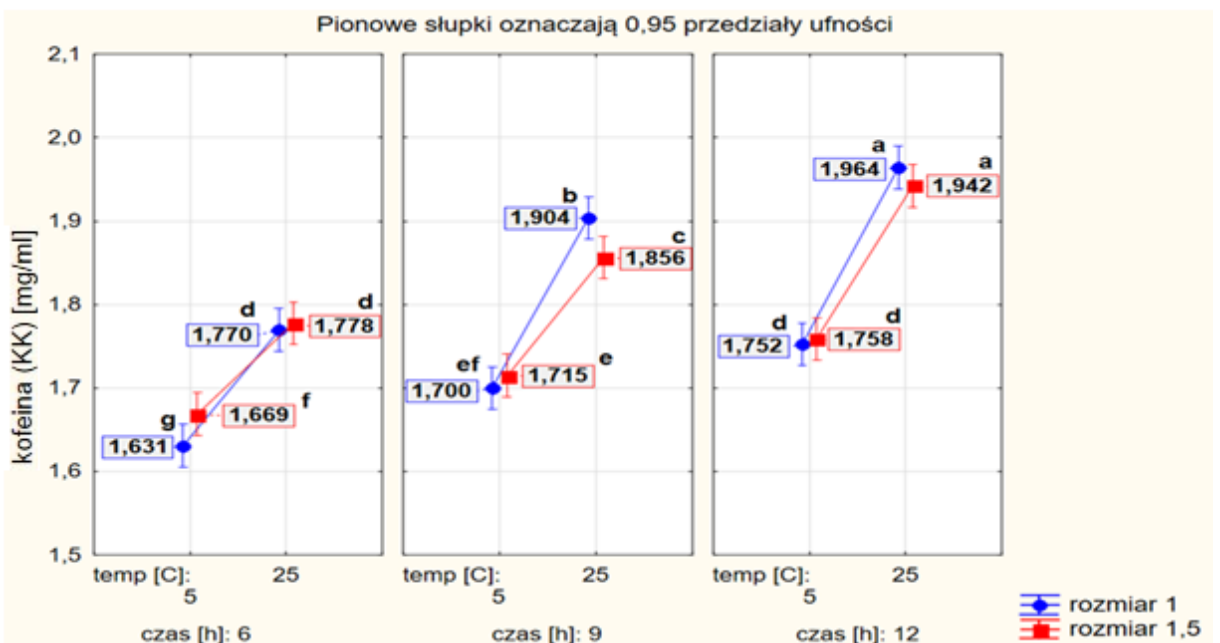
Rys. 97. Wartości stężenia 3-CQA [mg/ml] w koncentracie termicznym cold brew dla profilu prażenia kawy w 220°C oraz brew:ratio 5g. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )

Wartości stężenia kofeiny w próbkach po maceracji surowca (wariant 220°C/5g) przedstawiono na rysunku 98. Stwierdzono istotny wpływ wszystkich analizowanych czynników na ilość rozpuszczonej kofeiny. Stopień rozdrobnienia ziarna kawy miał istotne znaczenie tylko w przypadku niskotemperaturowej ekstrakcji (5°C) przez 6 lub 9 godzin. Najwyższe stężenie kofeiny zaobserwowano – podobnie jak w wielu innych wcześniej omawianych wariantach – podczas ekstrakcji w temperaturze 25°C przez 12 godzin (bez istotnego wpływu stopnia rozdrobnienia ziaren kawy).



Rys. 98. Wartości stężenia **kofeiny** [mg/ml] w **ekstrakcie** cold brew dla profilu prażenia kawy w 220°C oraz brew:ratio 5g. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )

Głównym czynnikiem różnicującym wartości stężenia kofeiny w procesie krioskopowego zagęszczania ekstraktu kawy była przede wszystkim temperatura oraz w nieco mniejszym stopniu czas ekstrakcji (rys. 99). Stopień rozdrobnienia nie miał istotnego wpływu na zawartość kofeiny w zagęszczonym koncentracie w przypadku prób, których ekstrakcja była prowadzona przez 6 lub 12 godzin w temperaturze 25°C, albo w temperaturze 5°C przez 9 lub 12 godzin. Najwyższe stężenie kofeiny (ponad 1,9 mg/ml) uzyskano stosując ekstrakcję w 25°C przez 12 godzin.



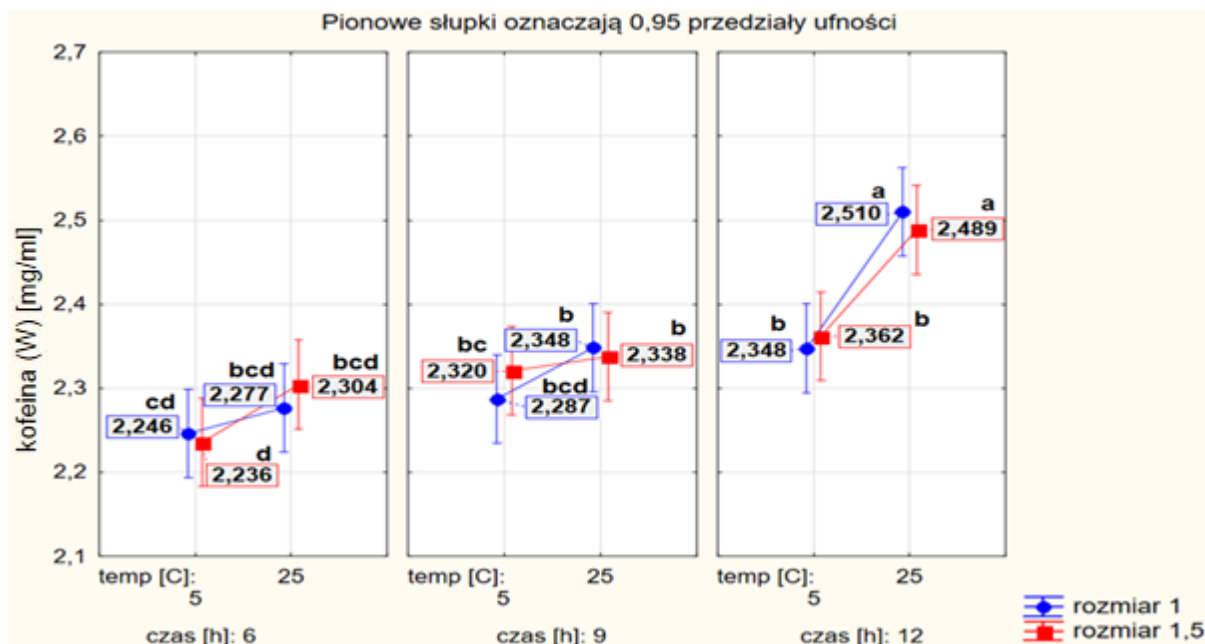
Rys. 99. Wartości stężenia **kofeiny** [mg/ml] w **kriokoncentracie** cold brew dla profilu prażenia kawy w 220°C oraz brew:ratio 5g. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )

Zatężanie termiczne prowadziło do uzyskania koncentratów o wyższej zawartości kofeiny (rys. 100) w porównaniu do kriokoncentratów, ale o stosunkowo mniejszym zróżnicowaniu (dla większości przypadków na poziomie 2,23-2,36 mg/ml). Statycznie istotną większą



zawartość kofeiny (ok. 2,5 mg/ml) stwierdzono tylko w przypadku koncentratów uzyskanych z wcześniejszej ekstrakcji prowadzonej w temperaturze 25°C przez 12 godzin.

W efekcie przeprowadzonych badań można wnioskować, że koncentracja termiczna kawy cold brew może konkurować swoją wydajnością z technikami wspomaganą ekstrakcją (ultradźwięki, ekstrakcja laserem, redukcja ciśnienia) celem otrzymania wysoko kofeinowych produktów.



Rys. 100. Wartości stężenia kofeiny [mg/ml] w koncentracie termicznym cold brew dla profilu prażenia kawy w 220°C oraz brew:ratio 5g. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )

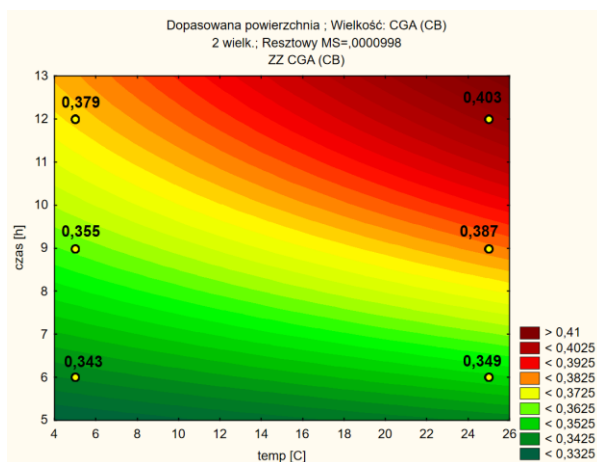
### Zawartość kwasu kawoilochinowego i kofeiny w ekstraktach, kriokoncentratkach i koncentratkach termicznych cold brew wyrażona jako powierzchnie odpowiedzi RSM(zmienne: temperatura ekstrakcji 5, 25°C oraz czas ekstrakcji 6, 9, 12h)

- **Stale: temperatura prażenia: 220°C; brew:ratio: 5g, stopień rozdrobnienia: 1 mm**

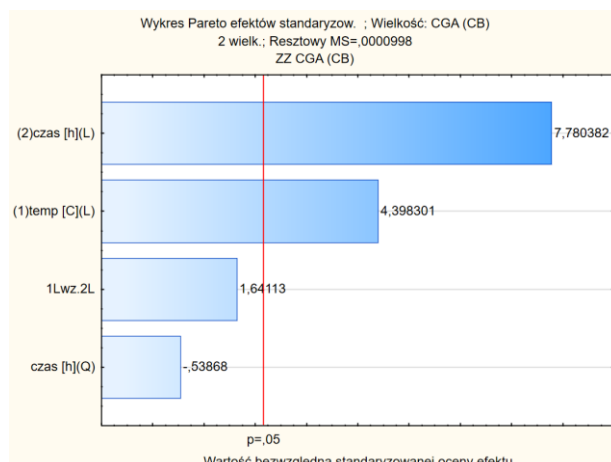
Następujący w tej części zakres pomiarów kwasu kawoilochinowego 3-CQA oraz kofeiny obejmował ekstrakty i koncentraty, dla których surowcem wyjściowym była kawa prażona w temperaturze 220°C. W przedstawionym profilu zawartość 3-CQA w ekstraktach stanowiących półprodukt do dalszego przetworzenia była istotnie niższa względem profilu 210°C w większości przypadków. Z drugiej strony zaobserwowano większą wydajność stopnia koncentracji kwasu kawoilochinowego z ekstraktu cold brew dla kawy prażonej w temperaturze 220°C, zwłaszcza na przykładzie techniki kriokoncentracji. Z kolei prażenie kawy zielonej w warunkach podwyższonej temperatury o 10°C wpływa na uwolnienie części kofeiny związanej z biologiczną strukturą ściany komórkowej, dlatego wobec związku zanotowano wzrost stężenia w stopniu średnim. Alkaloid ten również można traktować za czynnik prozdrowotny ze względu na specyficzny mechanizm działania na organizm człowieka o podłożu farmakologicznym.

Na rysunku 101 przedstawiono uzyskane powierzchnie odpowiedzi z modelowego ekstraktu 220°C×5g×1,0mm. Analiza wpływu czasu oraz temperatury ekstrakcji wykazała, że maksymalną zawartość kwasu kawoilochinowego można uzyskać stosując parametry procesu zbliżone do prób 9h×25°C oraz 12h×25°C, dla których oznaczono odpowiednio poziomy 3-CQA:

0,387 mg/ml i 0,403 mg/ml. Wzrost poziomu koncentracji tego związku zależał w większym stopniu od czasu ekstrakcji (rys. 102).

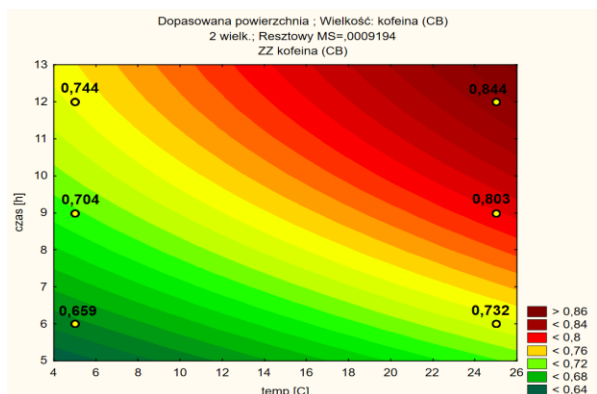


Rys. 101. Zawartość **3-CQA** [mg/ml] w ekstrakcie w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 220°C/5g/1mm]

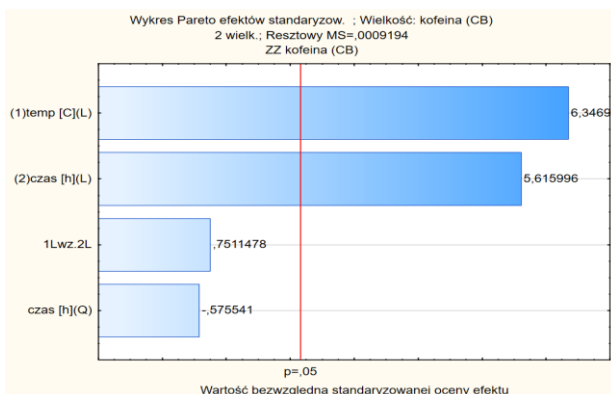


Rys. 102. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 101.

W przypadku zawartości kofeiny stwierdzono, że na model RSM statystycznie istotny wpływ ma temperatura oraz czas ekstrakcji (rys. 104). Kształt izolinii dla zawartości kofeiny (rys. 103) był podobny jak w przypadku zawartości kwasu kawoilochinowego (rys. 101), tj. z lokalnym maksimum dla obszaru reprezentującego temperaturę bliską 25°C i czas ekstrakcji na poziomie 12 godzin.

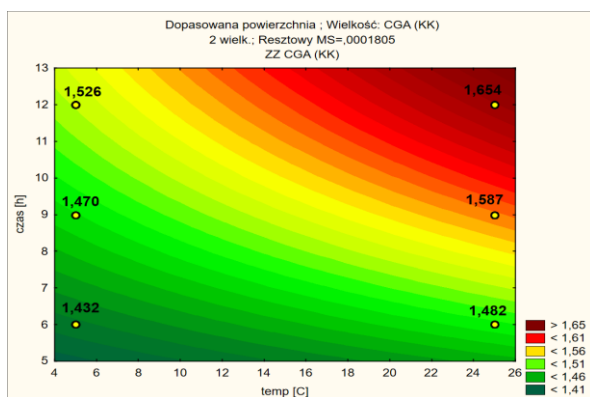


Rys. 103. Zawartość **kofeiny** [mg/ml] w ekstrakcie w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 220°C/5g/1mm]

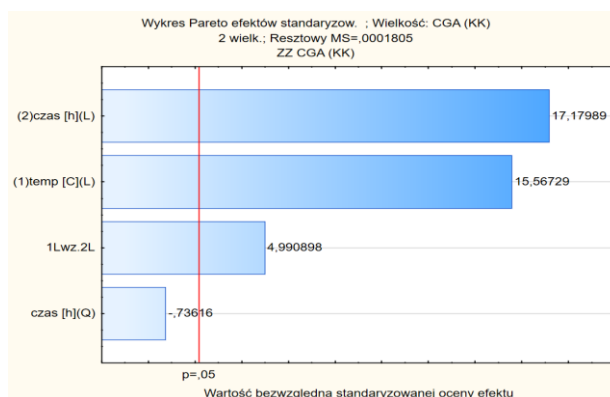


Rys. 104. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 103.

Zaobserwowany „szczyt” maksymalnego stężenia kwasu kawoilochinowego w polu prawego, górnego rogu powierzchni odpowiedzi (rys. 105) dla kriokoncentratu jest około czterokrotnie większą wartością względem ekstraktu i wynosi ponad 1,65 mg/ml kwasu kawoilochinowego. Średni poziom stężenia tego związku mieścił się w przedziale od 1,526 mg/ml do 1,587 mg/ml. W przypadku produkcji kriokoncentrowanej kawy instant o zwiększonej zawartości kwasu 3-CQA należy rozważyć każdy wyjściowy parametr fizyczny procesu ekstrakcji, który wpływa na utrzymanie pożądanego poziomu stężenia związku w trakcie kolejnego etapu przetwarzania napoju, tzn. zarówno czas i temperaturę ekstrakcji, jak również ich liniową interakcję (rys. 106).

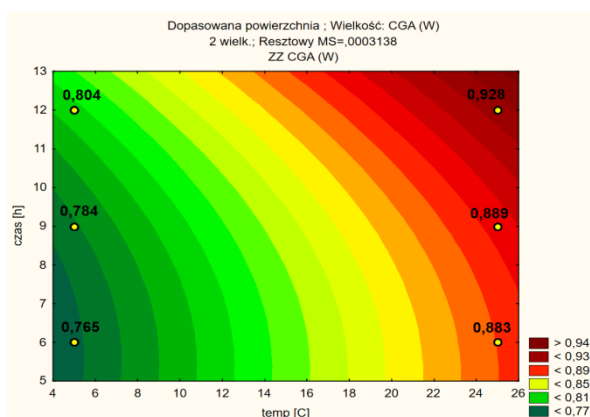


Rys. 105. Zawartość **3-CQA** [mg/ml] w kriokoncentracji w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 220°C/5g/1mm]

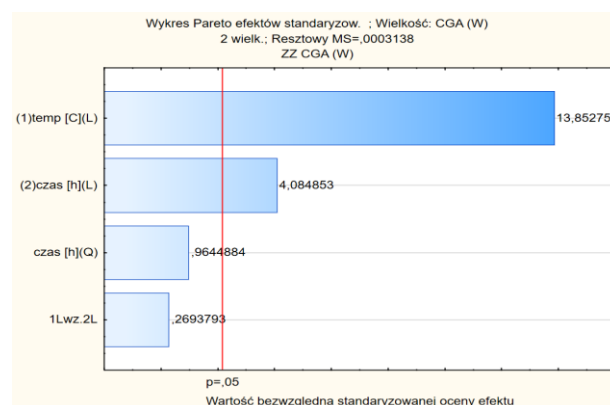


Rys. 106. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 105.

Kształt izolinii modelu RSM dotyczącego zawartości kwasu kawoilochinowego w koncentracie termicznym wykazuje koncentrację wokół lokalnego minimum usytuowanego na obszarze lewego dolnego rogu rysunku 107 nieopodal wartości 0,765 mg/ml. Przebieg ten jest nieco inny niż na rysunkach 101 i 105, gdzie izolinie koncentrują się wokół lokalnych maksimum (górnego prawego rogu). Niemniej obszary o maksymalnych i minimalnych wartościach zawartości kwasu kawoilochinowego są we wszystkich trzech przypadkach takie same (rys. 101, 105, 107). Porównując bezpośrednio wartości kwasu kawoilochinowego w ekstraktach przed zatężeniem oraz w koncentracie termicznej stwierdzono ich ponad dwukrotny wzrost (w odniesieniu do porównywalnych warunków ekstrakcji). Głównym czynnikiem wpływającym na model RSM była temperatura ekstrakcji (rys. 108).



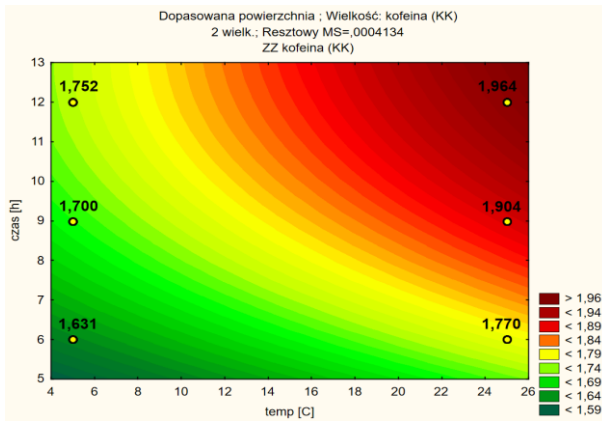
Rys. 107. Zawartość **3-CQA** [mg/ml] w koncentracji termicznej w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 220°C/5g/1mm]



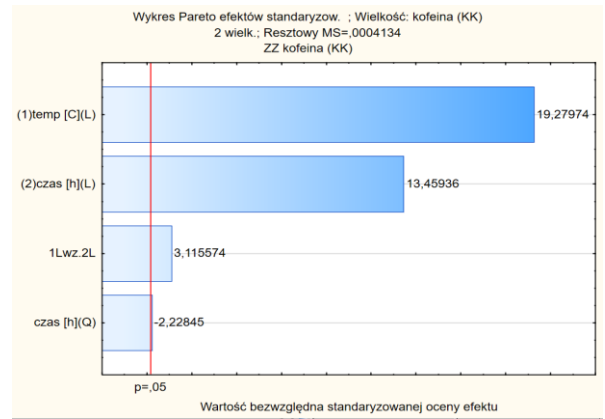
Rys. 108. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 107.

Analizując zmienności stężeń kofeiny dla obydwu stosowanych technologii (rys. 109, rys. 111) zaobserwowano, że w przypadku koncentratów termicznych każda próba eksperymentalna osiągnęła poziom tego alkaloidu powyżej 2 mg na ml koncentratu. Aby osiągnąć maksymalne stężenie kofeiny należy wykorzystać ekstrakt uzyskany przez macerację w czasie 12-tu godzin w temperaturze 25°C, który dla procesu kriokoncentracji odzwierciedli wartość kofeiny na poziomie 1,964 mg/ml, a w przypadku procesu termicznego 2,51 mg/ml. Na podstawie rysunku nr 110 można stwierdzić, że wszystkie czynniki zmienności miały istotny wpływ na model RSM dotyczący kriokoncentracji, zaś w odniesieniu do zatężania

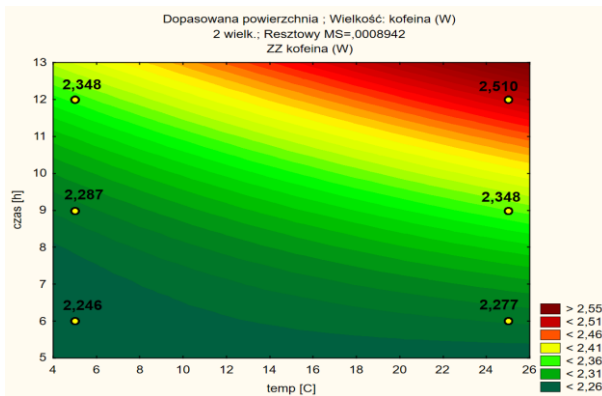
termicznego istotnie na model RSM wpływał czas i temperatura ekstrakcji, jak również ich liniowa interakcja (rys. 112).



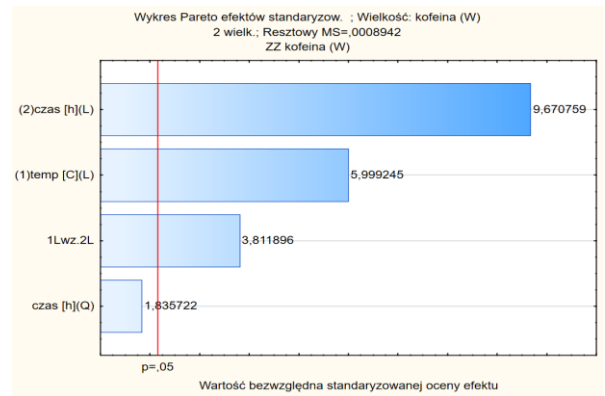
Rys. 109. Zawartość **kofeiny** [mg/ml] w krio-koncentracie w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 220°C/5g/1mm]



Rys. 110. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 109.



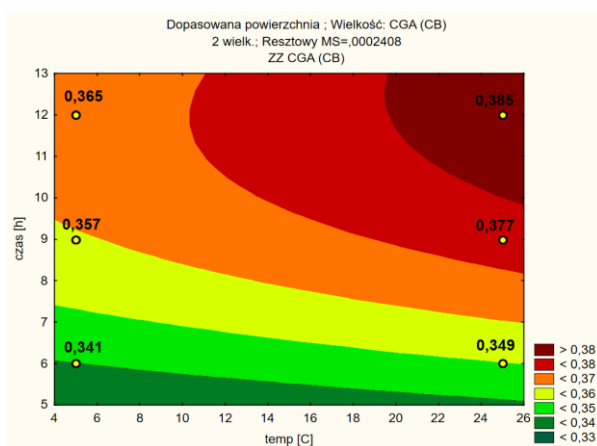
Rys. 111. Zawartość **kofeiny** [mg/ml] w koncentracie termicznym w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 220°C/5g/1mm]



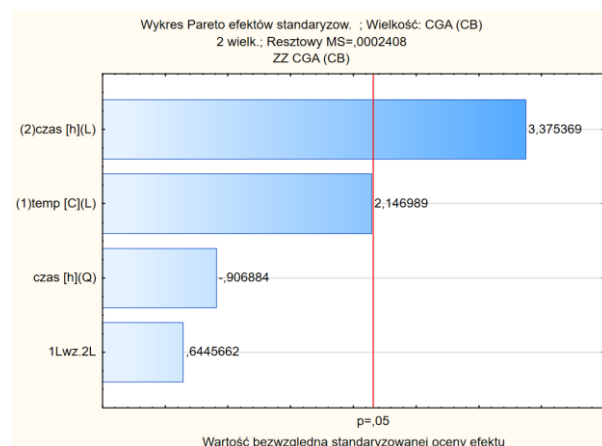
Rys. 112. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 111.

- **Stałe: temperatura prażenia: 220°C; brew:ratio: 5g, stopień rozdrobnienia: 1,5 mm**

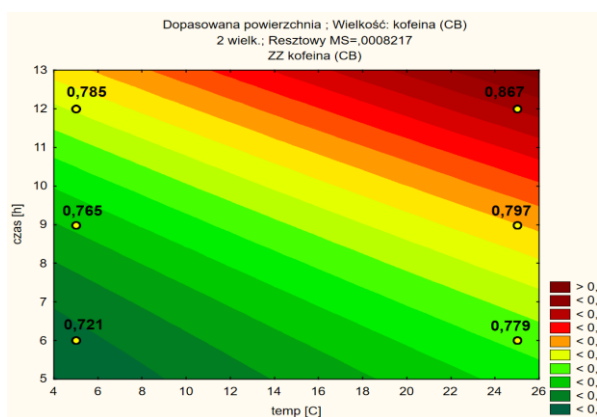
Z powierzchni odpowiedzi dla wartości stężenia kwasu kawoilochinowego w modelu 220°C×5g×1,5mm zaobserwowano, że czas ekstrakcji był głównym czynnikiem wpływającym na wzrost zawartości tego związku chemicznego (rys. 114, 116). W wyniku przeprowadzonych badań w ramach tego wariantu można zwrócić uwagę na wartości zmiennych posiadających niewielki potencjał wdrożenia do produkcji. Dla prób ekstrahowanych w temperaturze 5°C od ok. 9,5 godziny wydłużenie czasu ekstrakcji nie zwiększa istotnie poziomu koncentracji 3-CQA. Z kolei estymacje kształtu linii powierzchni odpowiedzi dla kofeiny nie wykazały podobnej zależności (rys. 115). Kształty izolinii oraz wykres Pareta (rys. 116) wskazują, że w miarę wzrostu czasu ekstrakcji oraz temperatury wzrasta stężenie kofeiny.



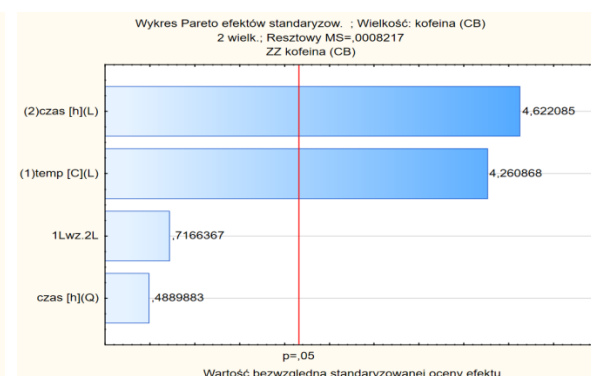
Rys. 113. Zawartość **3-CQA** [mg/ml] w ekstrakcie w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 220°C/5g/1,5mm]



Rys. 114. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 113.

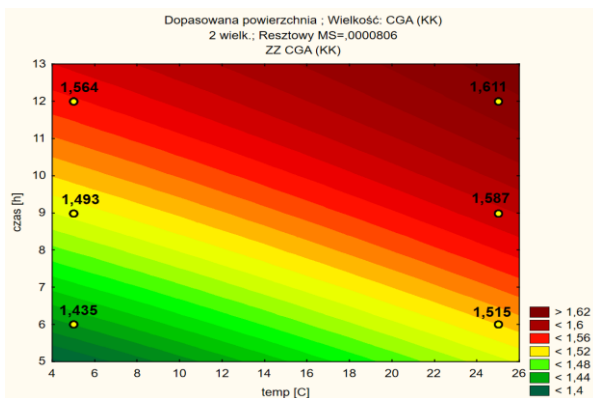


Rys. 115. Zawartość **kofeiny** [mg/ml] w ekstrakcie w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 220°C/5g/1,5mm]

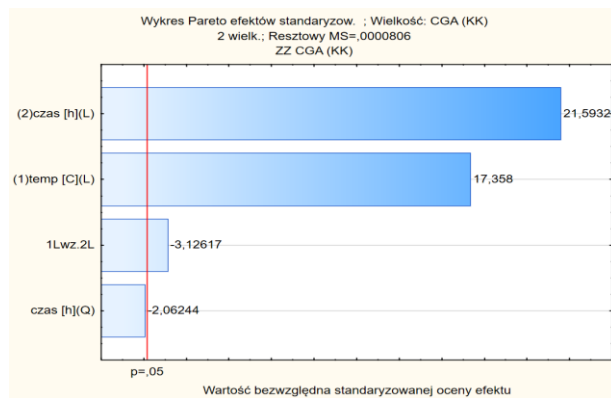


Rys. 116. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 115.

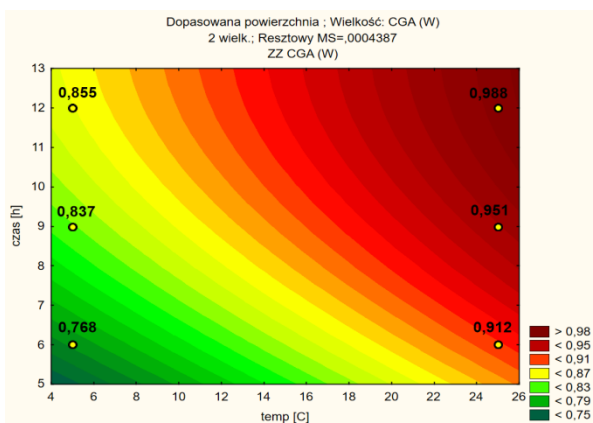
Optymalizacja procesu zagęszczania ekstraktu kawy metodą kriokoncentracji (wariant 220°C×5g×1,5mm) wskazuje, że zawartość 3-CQA w produkcie finalnym wiąże się z synergicznym wpływem czasu oraz temperatury w procesie ekstrakcji. Zależność tą reprezentują powierzchnie odpowiedzi ułożone pod kątem ok. 45° (rys. 117). Średni stopień zagęszczenia kwasu kawoilochinowego w koncentracie w stosunku do jego zawartości w ekstrakcie wyniósł 4,2. Uzyskany wynik wskazuje średnio 2 razy większą wydajność względem procesu zatężania termicznego (rys. 119). Spadek ten może mieć związek z zjawiskiem degradacji termicznej związku. W przypadku zagęszczania metodą termiczną na ogólny model RSM większy wpływ miała temperatura ekstrakcji (rys. 120), zaś w odniesieniu do kriokoncentracji – ważniejszą zmienną był czas ekstrakcji (rys. 118).



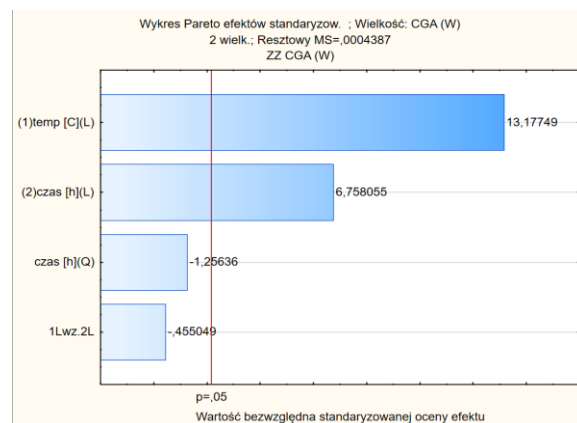
Rys. 117. Zawartość **3-CQA** [mg/ml] w kriokoncentracji w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 220°C/5g/1,5mm]



Rys. 118. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 117.

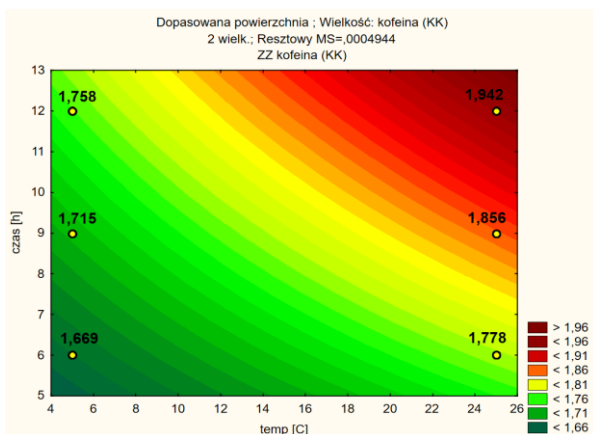


Rys. 119. Zawartość **3-CQA** [mg/ml] w koncentracji termicznej w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 220°C/5g/1,5mm]

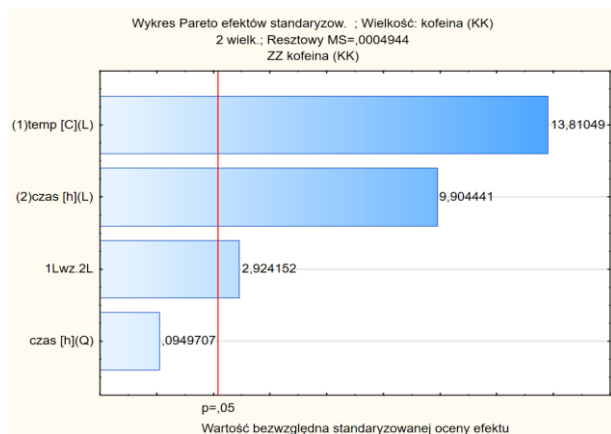


Rys. 120. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 113.

Z kształtu izolinii na rysunku 121 wynika, że obszar bliski temperaturze ekstrakcji na poziomie 25°C i jej czasu trwania około 12 godzin daje najlepszy efekt w postaci najwyższej zawartości kofeiny na poziomie ponad 1,9 mg/ml. Stwierdzono podobną zależność wpływu zmiennych (rys. 122) na model RSM jak w innych wariantach, tj. istotny wpływ miała temperatura i czas ekstrakcji, jak również ich wzajemna liniowa interakcja.



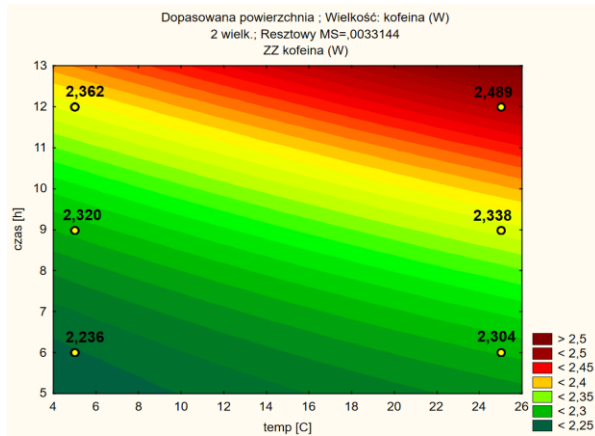
Rys. 121. Zawartość **kofeiny** [mg/ml] w kriokoncentracji w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 220°C/5g/1,5mm]



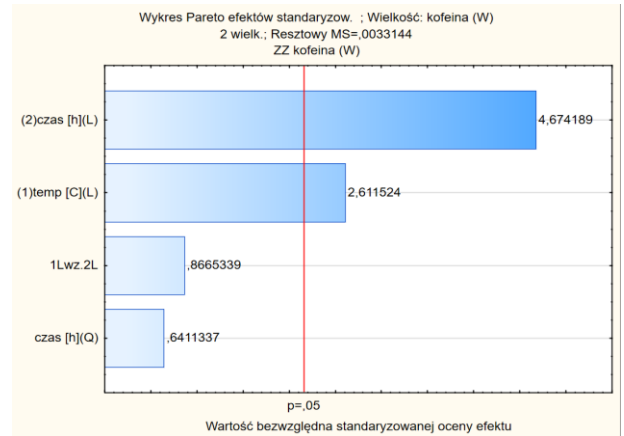
Rys. 122. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 121.



W przypadku zateżenia termicznego stwierdzono, że średnia zawartość kofeiny była w koncentratkach na poziomie 2,3 mg/ml (rys. 123), co było wartością prawie trzykrotnie większą od stężenia w ekstraktach wyjściowych (rys. 115). Wynik ten wskazuje na wysoką wartość aplikacyjną tego wariantu. Głównym czynnikiem wpływającym na model RSM był w pierwszej kolejności czas ekstrakcji, zaś w drugiej – temperatura ekstrakcji (rys. 124).



Rys. 123. Zawartość kofeiny [mg/ml] w koncentracie termicznym w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 220°C/5g/1,5mm]

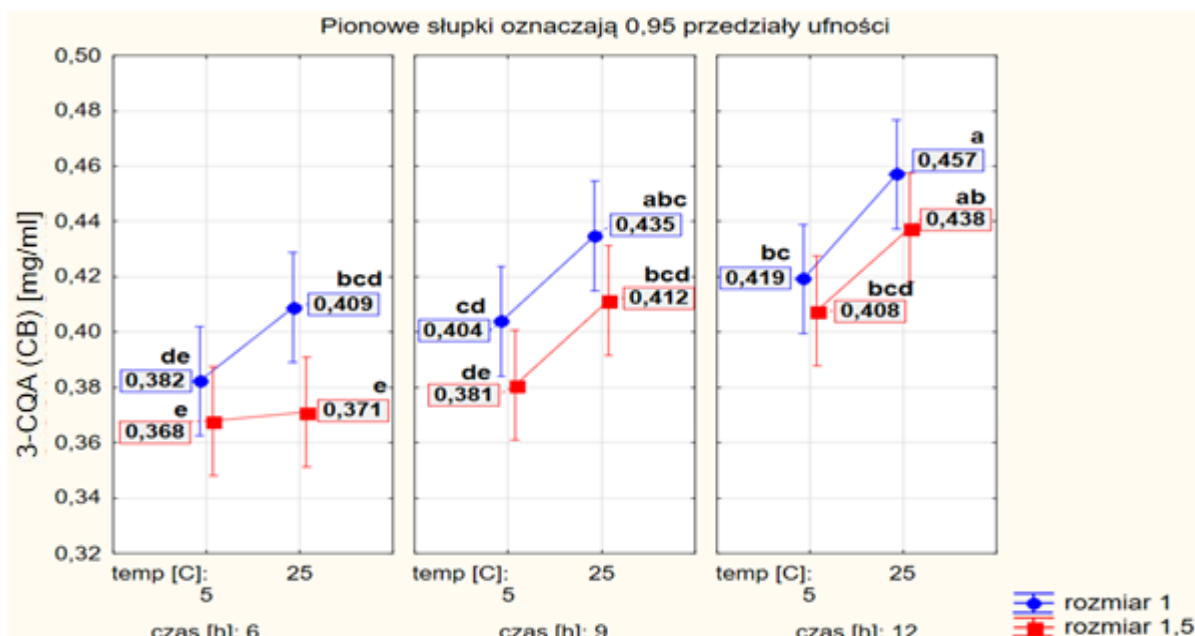


Rys. 124. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 123.

**Zawartość kwasu kawoilochinowego i kofeiny w ekstraktach, kriokoncentratkach i koncentratkach termicznych cold brew (wieloczynnikowa analiza wariancji) (zmienne: temperatura ekstrakcji 5, 25°C; czas ekstrakcji 6, 9, 12h; stopień rozdrobnienia [rozmiar] 1,0 lub 1,5 mm)**

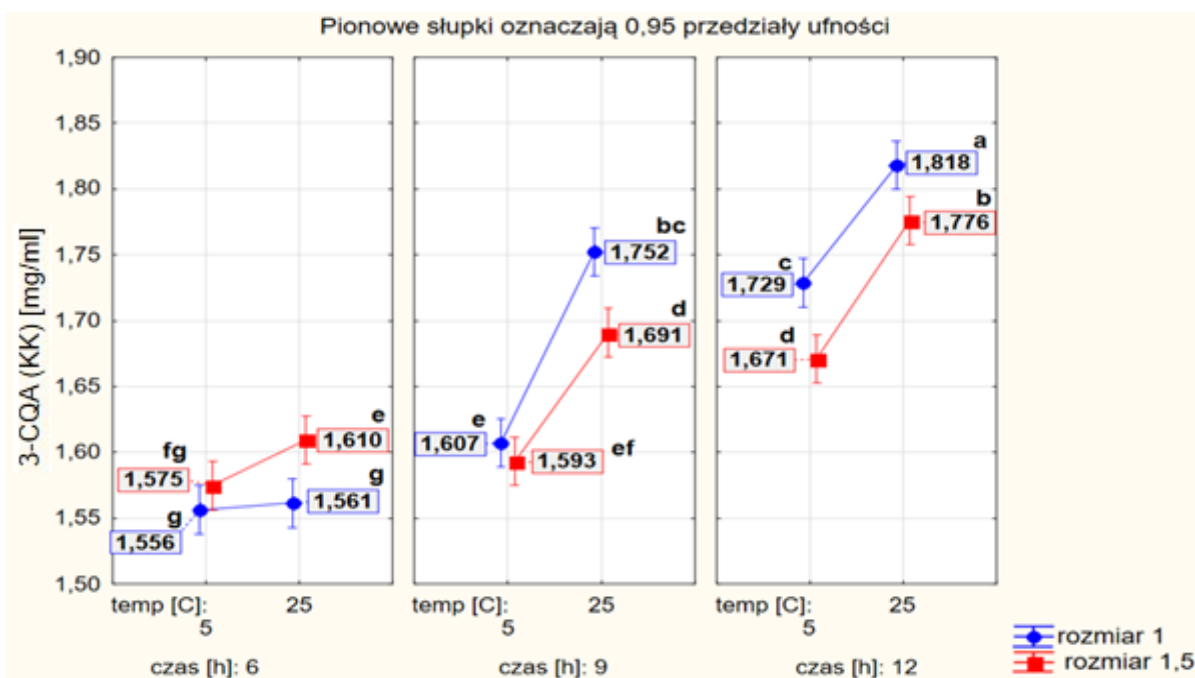
- **Stałe: temperatura prażenia: 220°C; brew:ratio: 6g**

Na podstawie przeprowadzonej analizy stwierdzono, że średnie stężenie kwasu kawoilochinowego w próbkach cold brew otrzymanych z 6 g (brew:ratio) naważki badanej kawy wynosiło (rys. 125) od 0,368 mg/ml do 0,438 mg/ml (dla stopnia rozdrobnienia 1,5mm) oraz od 0,382 mg/ml do 0,457 mg/ml (dla stopnia rozdrobnienia 1,5mm). Zawartość tego związku w zależności od parametrów fizycznych procesu ekstrakcji wynosiła od 0,6% do 0,76% w przeliczeniu na masę użytej kawy, co odpowiada danym literaturowym. Decydujący wpływ na zawartość kofeiny w przygotowanych naparach miały temperatura i czas parzenia.



Rys. 125. Wartości stężenia 3-CQA [mg/ml] w **ekstrakcie** cold brew dla profilu prażenia kawy w 220°C oraz brew:ratio 6g. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )

Na podstawie uzyskanych wyników z procesu kriokoncentracji stwierdzono, że w przypadku prób ekstrahowanych przez 6 godzin najwyższą statystycznie istotną zawartość kwasu kawoilochinowego (1,610 mg/ml) posiadała próba otrzymana z surowca ekstrahowanego w temperaturze 25°C i rozdrobnionego na poziomie 1,5mm (rys. 126). Kontynuacja procesu powyżej 9-ciu godzin ekstrakcji sprzyjała wzrostowi zawartości 3-CQA w próbach o stopniu rozdrobnienia 1,0mm. Najwyższą i statystycznie istotną zawartość kwasu kawoilochinowego w koncentracie (1,818 mg/ml) stwierdzono w próbce rozdrobnionej na poziomie 1,0mm i ekstrahowanej w temperaturze 25°C przez 12 godzin. Zastosowaną technikę zagęszczania wraz z dobranymi parametrami procesu uznać można za przydatną w praktyce przemysłowej.

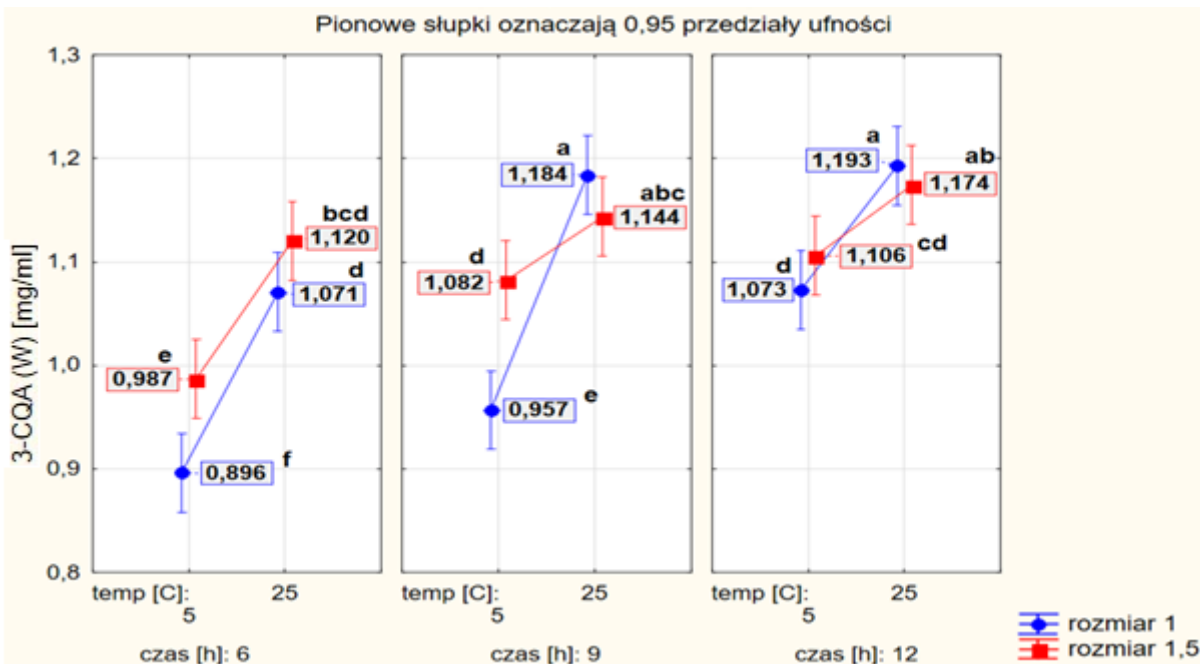


Rys. 126. Wartości stężenia 3-CQA [mg/ml] w **kriokoncentracie** cold brew dla profilu prażenia kawy w 220°C oraz brew:ratio 6g. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )



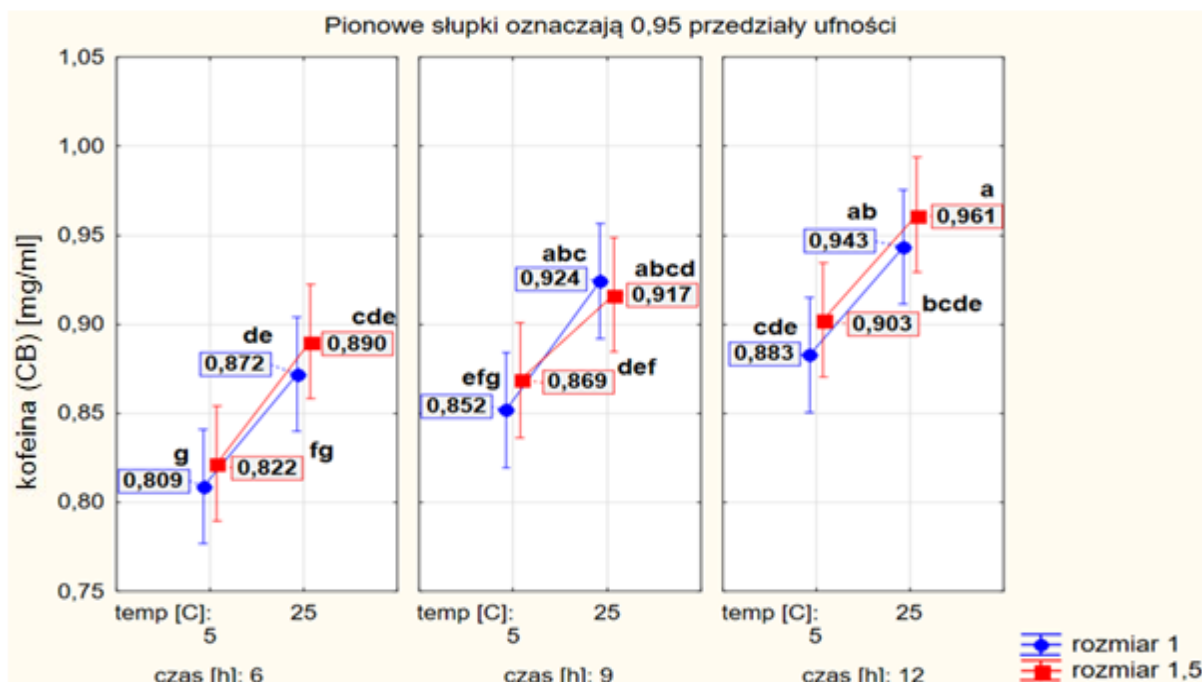
Zagęszczanie ekstraktów metodą termiczną (rys. 127), a więc w temperaturze  $\pm 65^{\circ}\text{C}$  wyższej w porównaniu do procesu kriokoncentracji (rys. 126), skutkowało w tym wariancie uzyskaniem zawartości kwasu 3-CQA na poziomie 60-70% w odniesieniu do analogicznych kriokoncentratów. Jednakże zaletą tej metody jest znaczna oszczędność czasu przeznaczanego na zagęszczanie. Na podstawie uzyskanych wyników można również zaobserwować relatywnie słaby związek, jaki występuje między stopniem rozdrobnienia kawy wykorzystanej w procesie ekstrakcji, a wyższym stopniem koncentracji kwasu kawoilochinowego. Stwierdzono następującą zawartość tego związku w przyrządzonych koncentratach:

- po 6 h ekstrakcji: od 0,896 mg/ml dla ziarna 1,0mm do 1,120 mg/ml dla ziarna 1,5mm,
- po 9 h ekstrakcji: od 0,957 mg/ml dla ziarna 1,0mm do 1,184 mg/ml dla ziarna 1,0mm,
- po 12h ekstrakcji: od 1,073 mg/ml dla ziarna 1,0mm do 1,193 mg/ml dla ziarna 1,0mm.



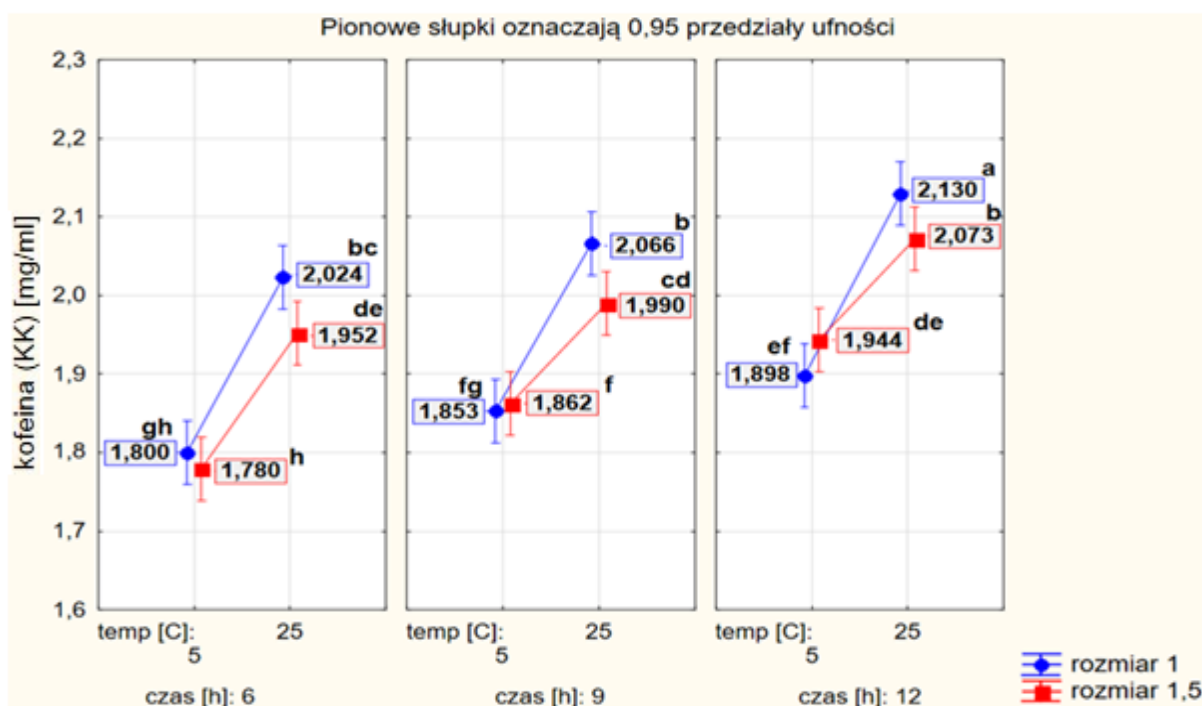
Rys. 127. Wartości stężenia 3-CQA [mg/ml] w **koncentracji termicznej** cold brew dla profilu prażenia kawy w  $220^{\circ}\text{C}$  oraz brew:ratio 6g. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )

Na rysunku 128 przedstawiono średnie wartości kofeiny w ekstraktach kawy dla wariantu  $220^{\circ}\text{C}/6\text{g}$ . Stopień rozdrobnienia ziaren kawy nie miał statystycznie istotnego wpływu na skuteczność ekstrakcji. Stężenie kofeiny w ekstraktach wynosiło od 0,809 mg/ml do 0,943 mg/ml (rozmiar 1,0mm) oraz od 0,822 mg/ml do 0,961 mg/ml (rozmiar 1,5mm). Ponadto, wyższą zawartość kofeiny zaobserwowano w przypadku prób poddanych ekstrakcji w temperaturze  $25^{\circ}\text{C}$ .



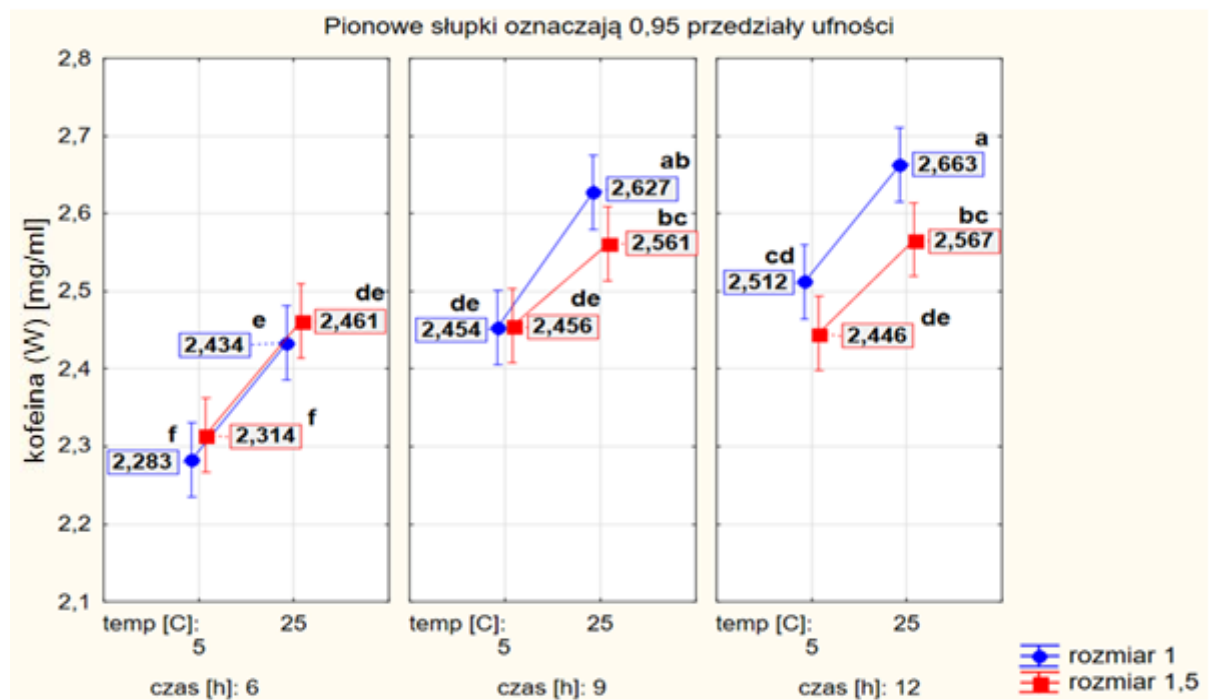
Rys. 128. Wartości stężenia **kofeiny** [mg/ml] w **ekstrakcie** cold brew dla profilu prażenia kawy w 220°C oraz brew:ratio 6 g. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )

Oddziaływania procesów zateżenia generalnie wpłynęły w sposób statystycznie istotny na wartość zwiększonego poziomu kofeiny, co należy pozytywnie ocenić w odniesieniu do wdrożeniowych prób rozwoju nowych produktów kawowych. Niemniej jednak na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że kriokoncentracja była technologią o niższej wydajności w porównaniu do technologii zateżenia termicznego (rys. 129 oraz rys. 130). Fakt ten wynika najprawdopodobniej z horyzontalnego rozłożenia substancji w bryle lodu, na skutek zbyt szybkiego zamrożenia płynu. Kriokoncentracja ukierunkowana na odzysk kofeiny powinna stanowić alternatywny sposób przetwarzania ekstraktów typu cold brew coffee.



Rys. 129. Wartości stężenia **kofeiny** [mg/ml] w **kriokoncentracji** cold brew dla profilu prażenia kawy w 220°C oraz brew:ratio 6g. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )

W próbach uzyskanych zarówno metodą termiczną, jak i wymrożenia, zawartość kofeiny nie była zróżnicowana ze względu na stopień rozdrobnienia kawy - w odniesieniu do prób poddanych wcześniejszej ekstrakcji w temperaturze 5°C (rys. 129, 130). Wysoką wydajnością procesu zagęszczania termicznego charakteryzowały się próby zarówno po 9 jak i 12 godzinach ekstrakcji w temperaturze 25°C. Zawartość kofeiny w tych próbach nie różniła się w sposób statystycznie istotny i osiągała ponad 2,6 mg/ml wobec stopnia rozdrobnienia 1,0 mm (rys. 130). Porównując najwyższy stopień ekstraktywności w metodzie kriokoncentracji i zateżnienia termicznego można stwierdzić, że był on w tym wariancie badawczym na poziomie 80%, czyli koncentraty termiczne zawierały więcej kofeiny w jednostce objętości.



Rys. 130. Wartości stężenia kofeiny [mg/ml] w koncentracie termicznym cold brew dla profilu prażenia kawy w 220°C oraz brew:ratio 6g. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )

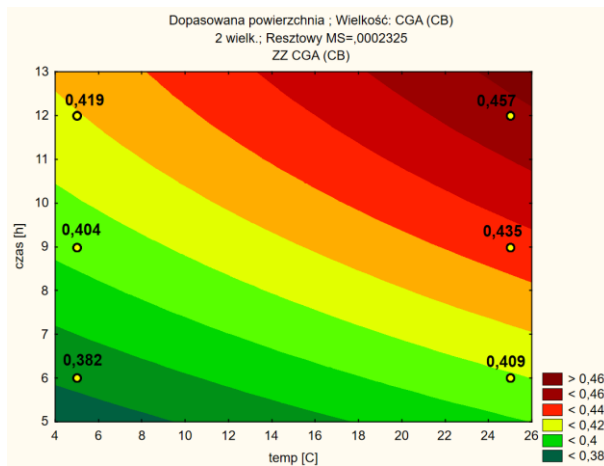
### Zawartość kwasu kawoilochinowego i kofeiny w ekstraktach, kriokoncentratkach i koncentratkach termicznych cold brew wyrażona jako powierzchnie odpowiedzi RSM (zmienne: temperatura ekstrakcji 5, 25°C oraz czas ekstrakcji 6, 9, 12h)

- **Stałe: temperatura prażenia: 220°C; brew:ratio: 6g, stopień rozdrobnienia: 1 mm**

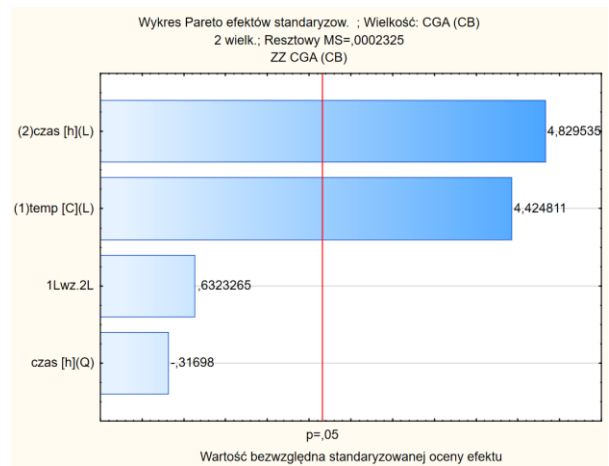
Zastosowanie wariantu badawczego, w którym wykorzystano stopień rozdrobnienia ziarna kawy na poziomie 1,0mm, profil prażenia 220°C i ługowane w proporcji 6g na 100ml wody, umożliwiło ekstrakcję kwasu 3-CQA w zakresie od 0,382 do 0,457 mg/ml (rys. 131). Czas i temperatura ekstrakcji w tym wariancie miały istotny wpływ na model RSM, czyli na zawartość kwasu kawoilochinowego w ekstrakcie (rys. 132).

Na rysunku 133 przedstawiono uzyskane stężenia kofeiny w ekstraktach na tle krzywych odpowiedzi. Ekstrakcja tego związku była statystycznie zależna od temperatury i czasu ekstrakcji (rys. 134). Najwyższe wartości kofeiny wynoszące od 0,883 mg/ml do 0,943 mg/ml uzyskano po zastosowaniu przede wszystkim 12 godzinnej

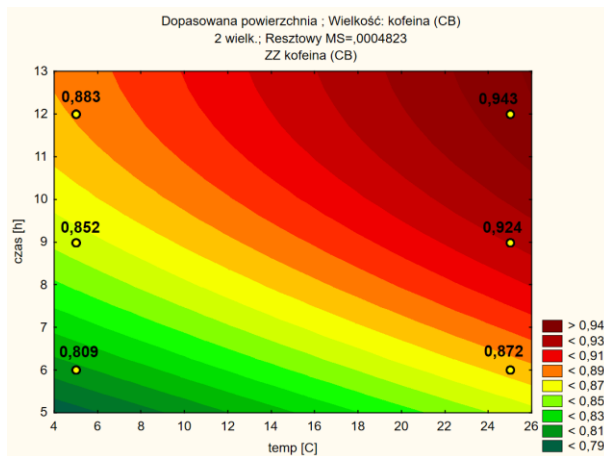
ekstrakcji. Uzyskana zawartość kofeiny w ekstraktach była wyższa w porównaniu do powszechnych napojów typu cold brew dostępnych na polskim rynku (gdzie średnie stężenie kofeiny wynosi 0,7 mg/ml).



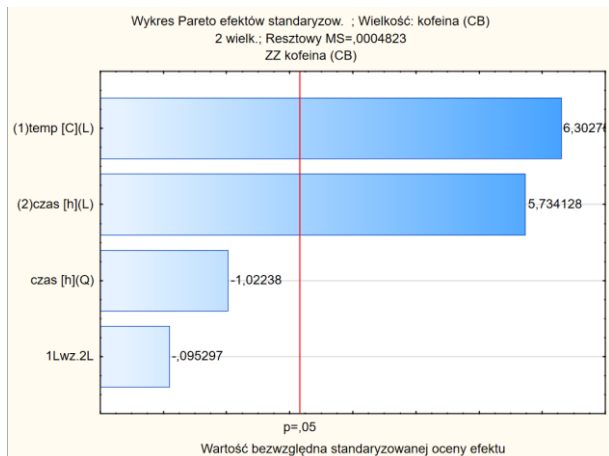
Rys. 131. Zawartość **3-CQA** [mg/ml] w ekstraktach w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 220°C/6g/1mm]



Rys. 132. Wykres Pareta odnośny do rys. 131.

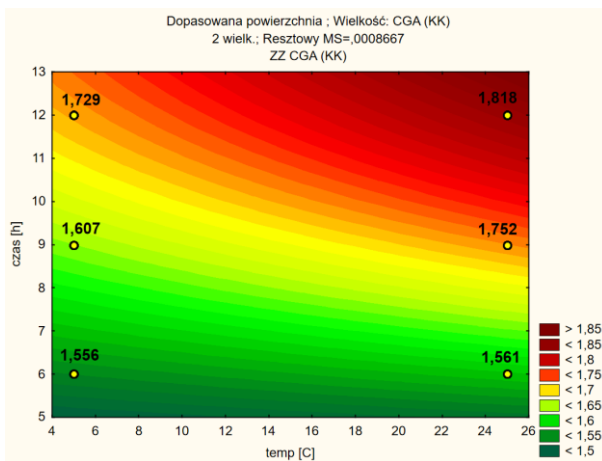


Rys. 133. Zawartość **kofeiny** [mg/ml] w ekstraktach w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 220°C/6g/1mm]

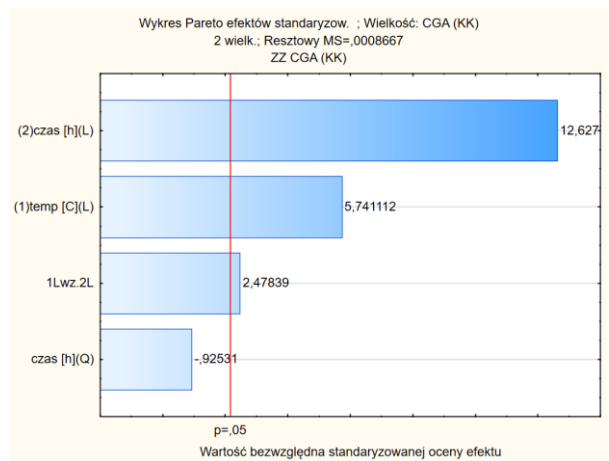


Rys. 134. Wykres Pareta odnośny do rys. 133.

Na rysunku 135 pokazano wpływ zamrażania ekstraktów na zawartość kwasu kawoilochinowego w uzyskanych koncentraty. Głównym czynnikiem wpływającym na zawartość składnika był czas wcześniejszej ekstrakcji. W mniejszy sposób, ale wciąż statystycznie istotny, odnotowano wpływ temperatury ekstrakcji oraz interakcji liniowej czasu i temperatury (rys. 136).

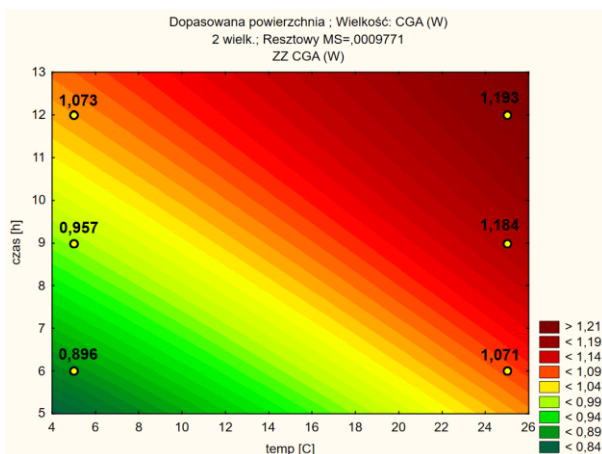


Rys. 135. Zawartość **3-CQA** [mg/ml] w **kriokoncentracji** w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM[dla wariantu: 220°C/6g/1mm]

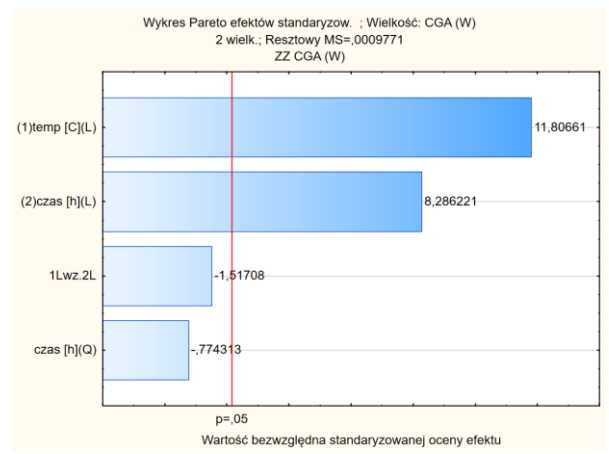


Rys. 136. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 135.

W przypadku zateżenia termicznego stwierdzono mniejszą wydajność procesu (pod kątem zawartości kwasu kawoilochinowego) w porównaniu do procesu kriokoncentracji (rys. 137). Przedstawiona płaszczyna odpowiedzi wskazuje, że uzyskane wartości mieściły się w zakresie od 0,896 mg do 1,193 mg kwasu kawoilochinowego w przeliczeniu na 1 ml produktu. W wariancie tym potwierdzono statystycznie istotny wpływ temperatury i czasu ekstrakcji na zawartość kwasu kawoilochinowego w koncentracji termicznej (rys. 138).

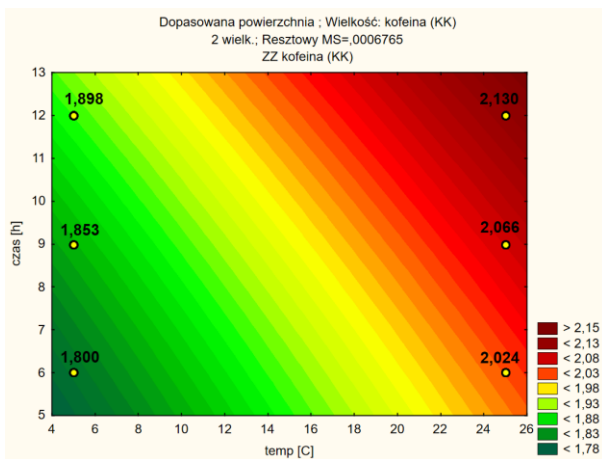


Rys. 137. Zawartość **3-CQA** [mg/ml] w **koncentracji termicznej** w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM[dla wariantu: 220°C/6g/1mm]

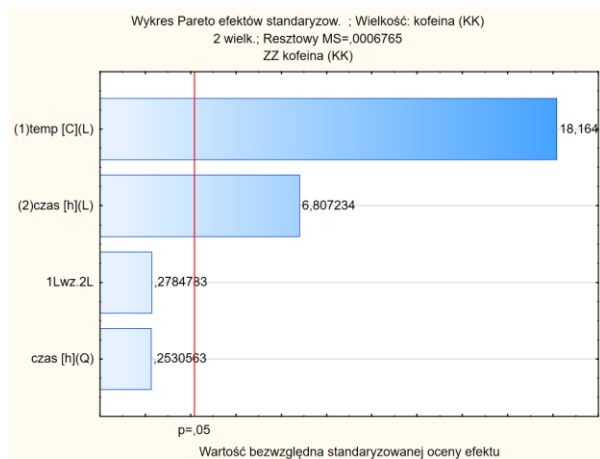


Rys. 138. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 137.

Zawartość kofeiny była wyższa w kriokoncentratkach uzyskanych w próbach poddanych wcześniejszej ekstrakcji w temperaturze 25°C i wynosiła od 2,024 do 2,130 mg/ml (rys. 139). Na podstawie wykresu Pareto stwierdzono, że zawartość kofeiny w tym modelu RSM zależy w istotny sposób od czasu ekstrakcji [h] oraz temperatury [°C] (rys. 140).

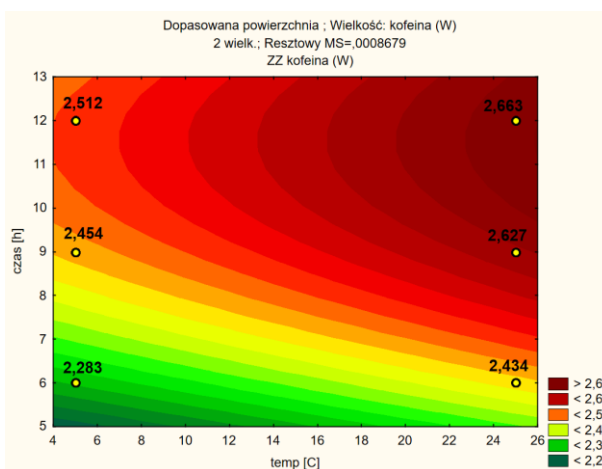


Rys. 139. Zawartość kofeiny [mg/ml] w kriokoncentracji w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM[dla wariantu: 220°C/6g/1mm]

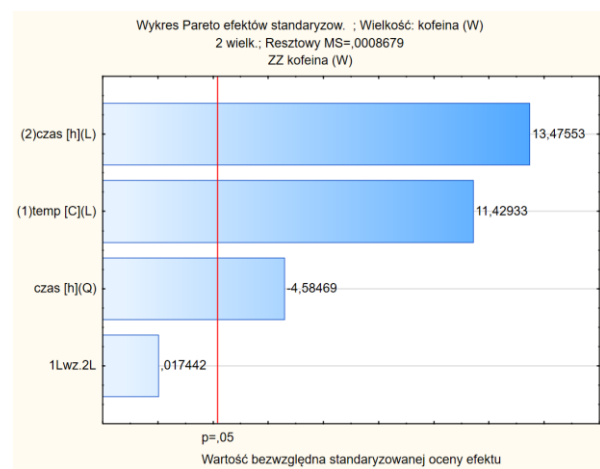


Rys. 140. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 139.

Zmiany zawartości rozpuszczonej kofeiny w koncentracie termicznej omawianego modelu przedstawiono na rysunku 141. Szerokie płaszczyzny odpowiedzi maksymalnego poziomu stężenia wskazują, że próby technologiczne oraz ustawienia stacji wyparnej zostały dobrze dopasowane do zagęszczanej próbki. We wczesnym etapie wcześniejszej ekstrakcji, tj. po 6 godzinach, poziom kofeiny w koncentraciewynosił od 2,283 mg/ml do 2,434 mg/ml, a w końcowej fazie procesu (po 12 godzinach ekstrakcji) zanotowano wielkość od 2,512 mg/ml do 2,663 mg/ml. Statystycznie istotny wpływ na końcową zawartość kofeiny w koncentracie miał czas i temperatura ekstrakcji, z tym, że w przypadku czasu był to zarówno aspekt liniowy jak i kwadratowy model RSM (rys. 142).



Rys. 141. Zawartość kofeiny [mg/ml] w koncentracie termicznym w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM[dla wariantu: 220°C/6g/1mm]



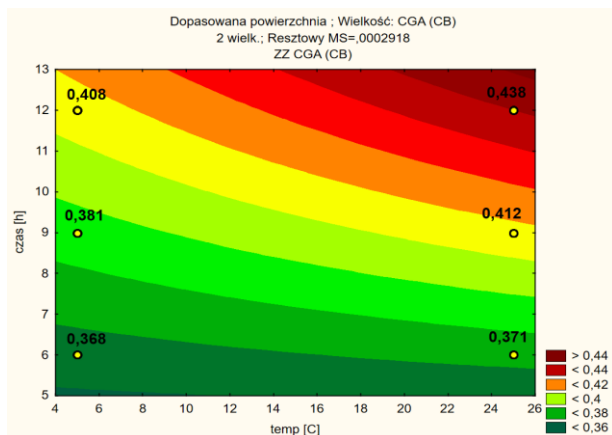
Rys. 142. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 141.

- **Stałe: temperatura prażenia: 220°C; brew:ratio: 6g, stopień rozdrobnienia: 1,5 mm**

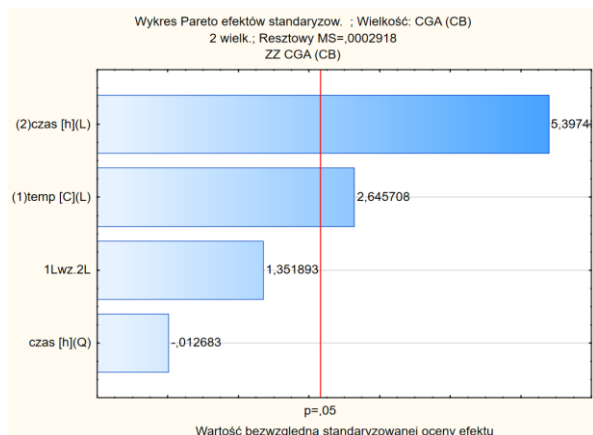
W odniesieniu do kolejnego wariantu badawczego (tj. 220°C/6g/1,5mm) stwierdzono, że wraz z wydłużeniem czasu maceracji kawy prażonej następował wzrost stężenia kwasu kawoilochinowego i kofeiny w ekstrakcie (rys. 143, rys. 145). W przypadku ekstrakcji 6 godzinnej średnia proporcja ilości wyekstrahowanej kofeiny w stosunku do kwasu



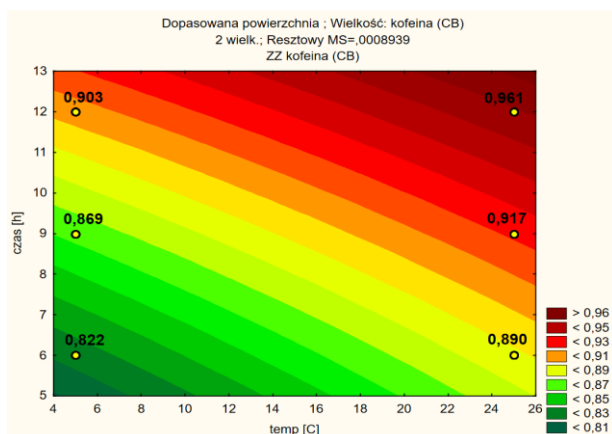
kawoilochinowego wyniosła około 2,5. Najwyższe zanotowane stężenie kofeiny wyniosło 0,961 mg/ml (rys. 145), zaś kwasu 3-CQA 0,438 mg/ml (rys. 143). W wyniku działań optymalizacyjnych średni stosunek kofeina : kwas kawoilochinowy był na poziomie około 2,2. W obydwu przypadkach zarówno czas jak i temperatura ekstrakcji istotnie wpływały na stopień ekstrakcji tych dwóch związków chemicznych (rys. 144 i 146).



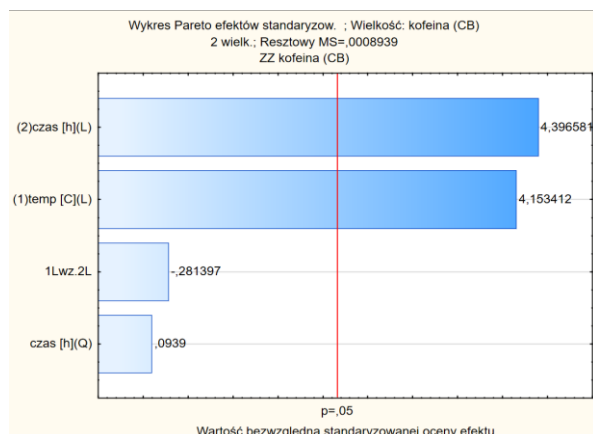
Rys. 143. Zawartość **3-CQA** [mg/ml] w ekstrakcie w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 220°C/6g/1,5mm]



Rys. 144. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 143.



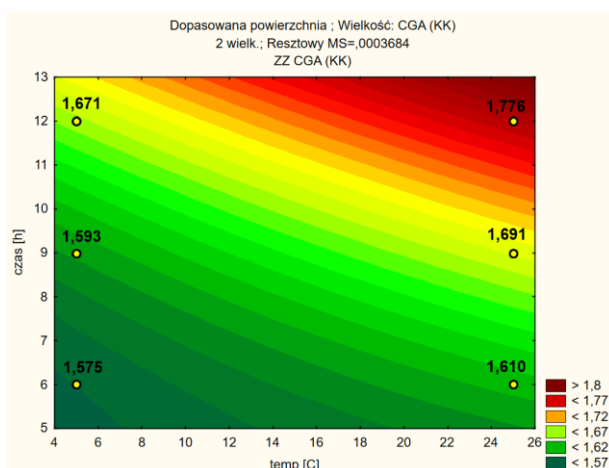
Rys. 145. Zawartość **kofeiny** [mg/ml] w ekstrakcie w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 220°C/6g/1,5mm]



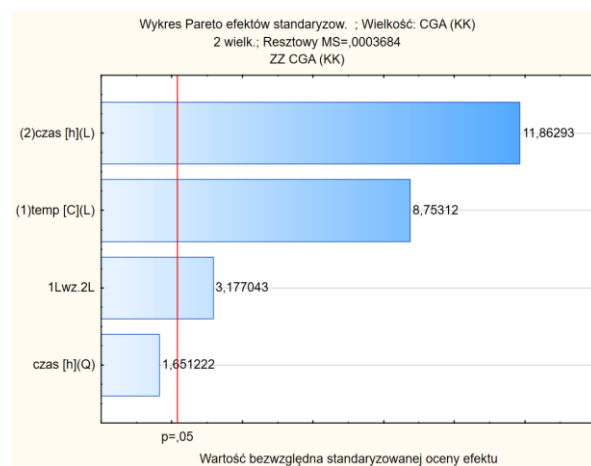
Rys. 146. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 145.

W efekcie zagęszczania krioskopowego ekstraktu, stężenie kwasu kawoilochinowego w produkcie osiągnęło maksymalne poziomy (rys. 147) wyższe w porównaniu do kawy jasno palonej z modelu 210°C×5g×1,0mm (rys. 45). Powierzchnie odpowiedzi ustalonej receptury wskazują na podobieństwo wydajności procesu dla wariantów 12h×5°C oraz 9h×25°C. Największy potencjał aplikacyjny należy jednak odnieść do wariantu 12h×25°C, dla którego uzyskano maksymalne stężenie kwasu kawoilochinowego wynoszące 1,776 mg/ml. Czas i temperatura ekstrakcji, jak również ich liniowa interakcja, w sposób istotny wpływały na wydajność procesu w ramach tego modelu RSM (rys. 148).



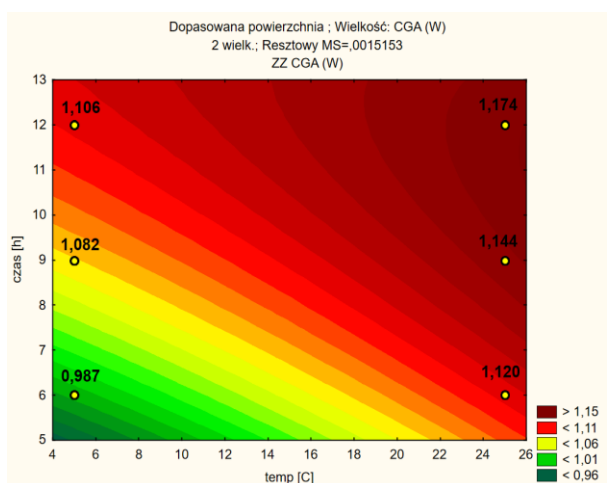


Rys. 147. Zawartość **3-CQA** [mg/ml] w kriokoncentracie w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 220°C/6g/1,5mm]



Rys. 148. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 147.

Zastosowanie wyparki wobec analogicznego ekstraktu wyjściowego celem jego koncentracji wskazuje na szerokie maksimum powierzchni odpowiedzi dla analizowanej zmiennej (rys. 149). Przeprowadzona analiza statystyczna potwierdziła różnice między czterema kluczowymi wariantami: 12h×5°C, 6h×25°C, 9h×25°C, 12h×25°C. Stwierdzono, że najwyższe wartości kwasu kawoilochinowego według modelu RSM znajdują się o obszarze bliskim wariantom 9h×25°C oraz 12h×25°C. Na podstawie wykresu Pareto (rys.150) stwierdzono zależność modelu RSM od temperatury oraz czasu ekstrakcji, zarówno w aspekcie liniowym jak i kwadratowym.



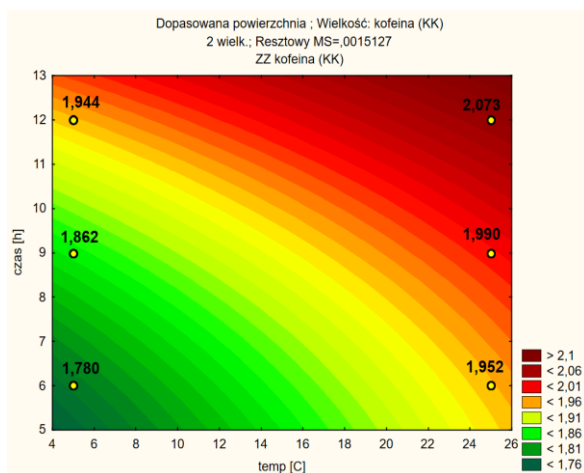
Rys. 149. Zawartość **3-CQA**[mg/ml] w koncentracie termicznej w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 220°C/6g/1,5mm]



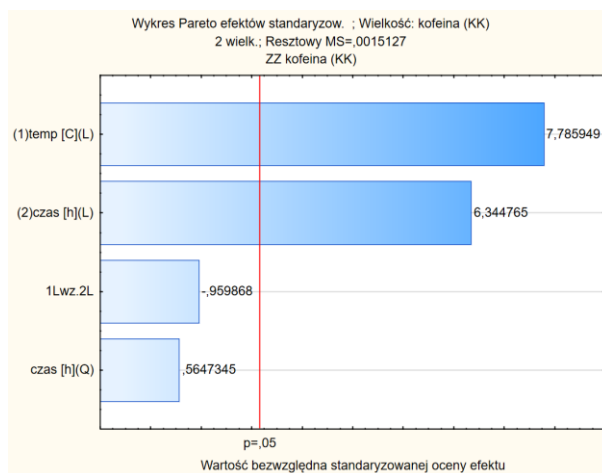
Rys. 150. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 149.

Na podstawie rys. 151 można stwierdzić, że na podobnym stopniu wydajności procesu zagęszczania (około 1,94-1,95 mg kofeiny na 1 ml) znajdują się procesy kriokoncentracji przeprowadzone na próbach otrzymanych podczas 12 godzin ekstrakcji w temperaturze 5°C lub podczas 6 godzin w temperaturze 25°C. Ogólna wydajność w aspekcie kofeiny dla tego wariantu mieściła się w zakresie od 1,780 mg/ml do 2,073 mg/ml. Potwierdzono istotny wpływ temperatury i czasu ekstrakcji na końcową zawartość kofeiny w kriokoncentracie

(rys. 152). Otrzymane wydajności w ramach tego wariantu potwierdzają jego przydatność do celów wdrożeniowych.

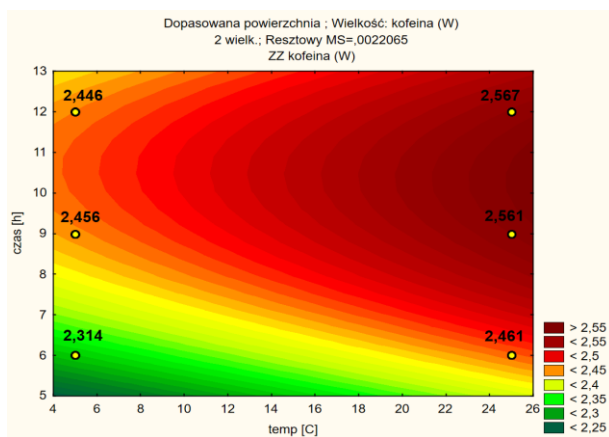


Rys. 151. Zawartość **kofeiny** [mg/ml] w kriokoncentracji w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 220°C/6g/1,5mm]

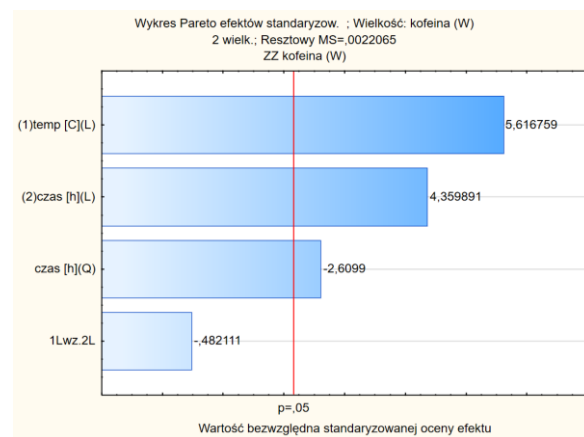


Rys. 152. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 151.

Analiza uzyskanych wyników dotyczących zawartości kofeiny w koncentracie termicznym (rys. 153) wskazuje na lepszą wydajność w tym wariantie procesu termicznego niż kriokoncentracji. Lokalne maksimum wydajności kofeiny prognozowane jest według modelu RSM w obszarze czasu ekstrakcji na poziomie 9-12 godzin oraz temperatury 20-25°C. Zakres uzyskanego stężenia kofeiny w tym modelu mieścił się w zakresie od 2,314 do 2,567 mg/ml. Głównym czynnikiem wpływającym na odzysk kofeiny z macerowanych ziaren kawy była temperatura ekstrakcji (rys. 154).



Rys. 153. Zawartość **kofeiny** [mg/ml] w koncentracie termicznym w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 220°C/6g/1,5mm]

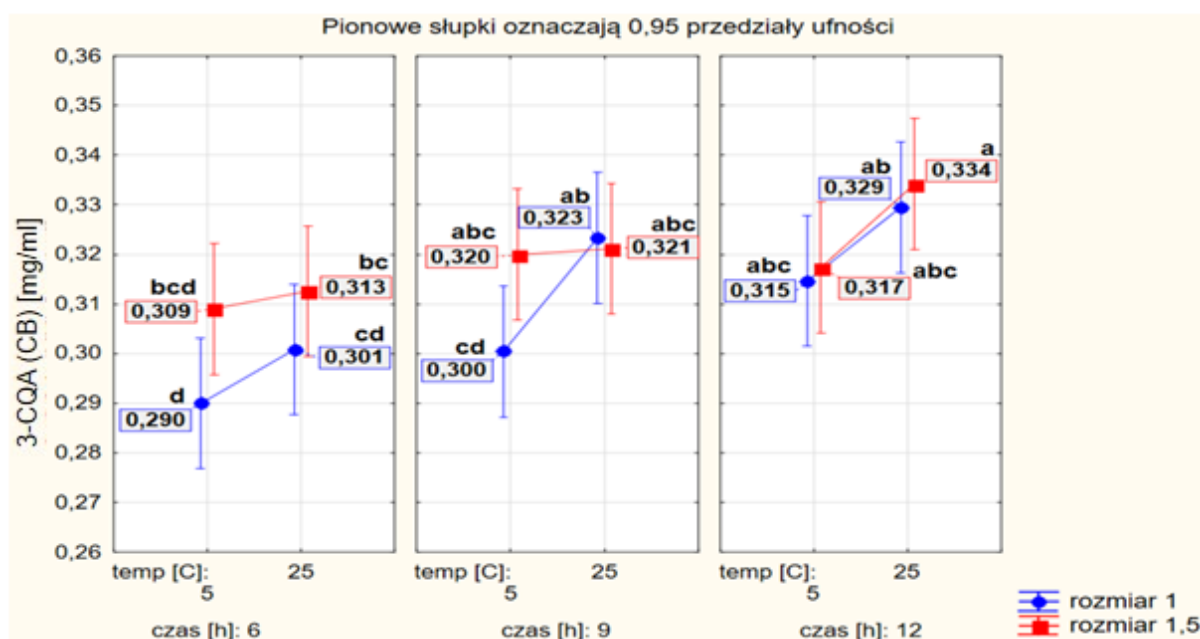


Rys. 154. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 153.

**Zawartość kwasu kawoilochinowego i kofeiny w ekstraktach, kriokoncentratkach i koncentratkach termicznych cold brew (wieloczynnikowa analiza wariancji)  
(zmiennie: temperatura ekstrakcji 5, 25°C; czas ekstrakcji 6, 9, 12h; stopień rozdrobnienia [rozmiar] 1,0 lub 1,5 mm)**

- **Stałe: temperatura prażenia: 230°C; brew:ratio: 5g**

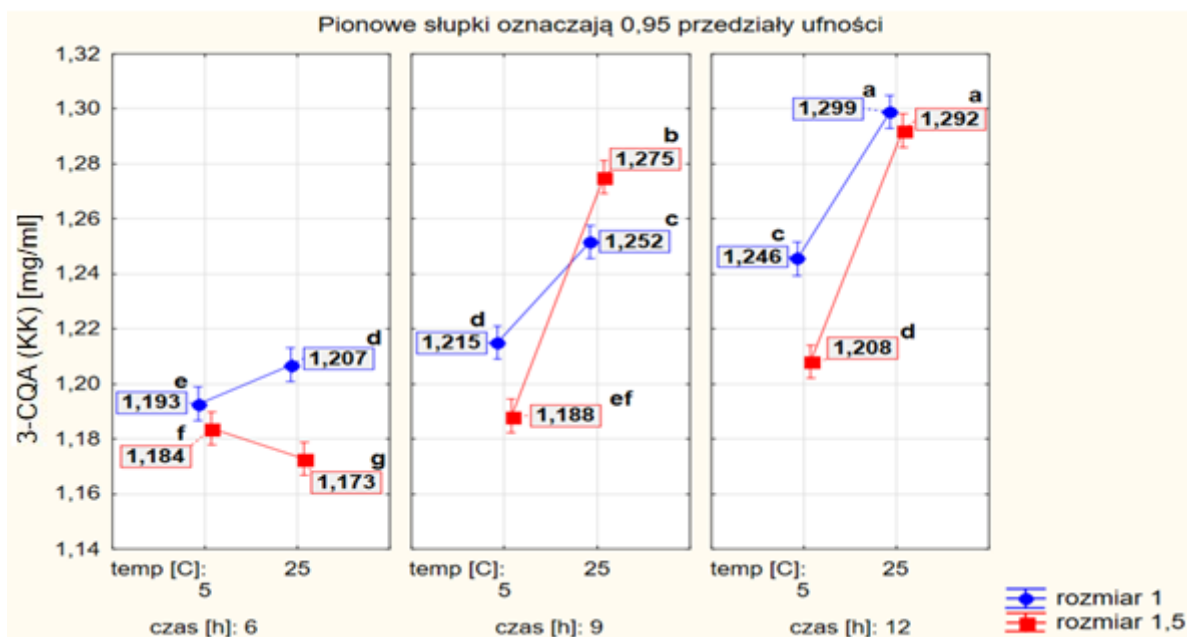
Na podstawie wieloczynnikowej analizy wariancji wykazano, że stopień rozdrobnienia ziarna kawy nie miał wpływu na stężenie kwasu kawoilochinowego w otrzymanych ekstraktach (rys. 155). Najwyższą wartość 3-CQA, wynoszącą 0,334 mg/ml, osiągnięto po zastosowaniu 12 godzinnej ekstrakcji w temperaturze 25°C, zaś najniższą (0,290 mg/ml) po 6 godzinnej ekstrakcji w temperaturze 5°C. Dla większości przypadków temperatura ekstrakcji nie miała istotnego wpływu na wydajność procesu, ale tylko w ramach poszczególnych czasów ekstrakcji, tj. osobno dla 6h, 9h i 12h. Wyjątkiem był tylko wariant 9h/1mm, dla którego wyższa wydajność miała miejsce w przypadku prowadzenia ekstrakcji w temperaturze 25°C.



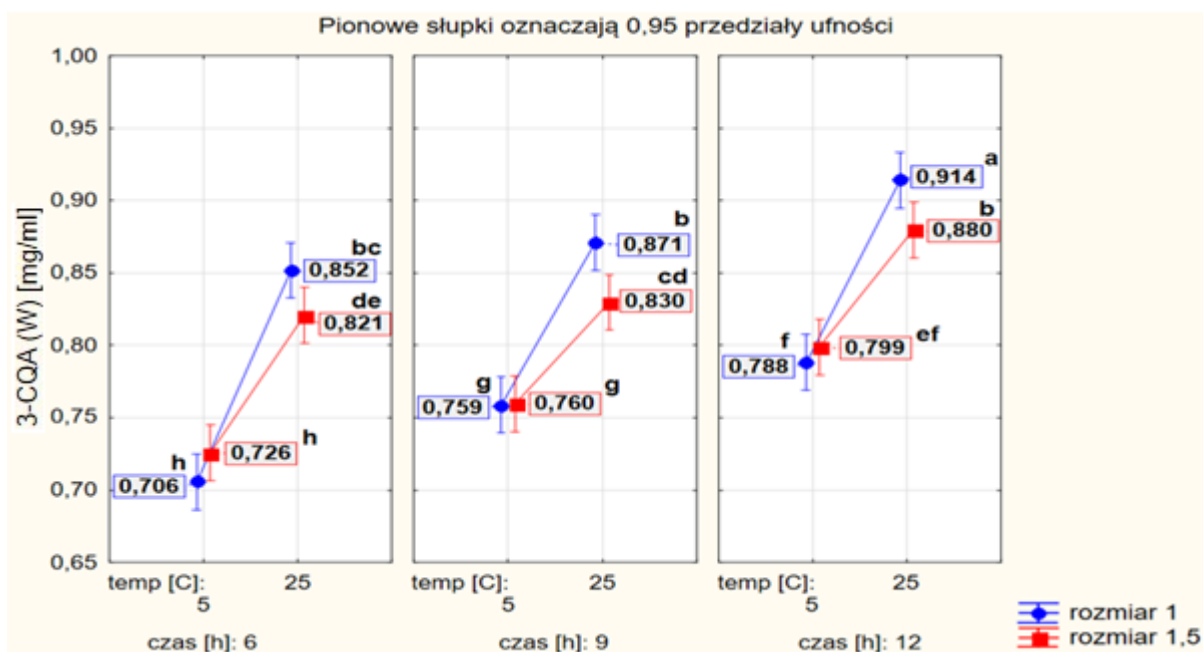
Rys. 155. Wartości stężenia 3-CQA [mg/ml] w ekstrakcie cold brew dla profilu prażenia kawy w 230°C oraz brew:ratio 5g. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )

Pozytywny efekt zaobserwowano w wyniku wymrażania wody stwierdzając, że największy odzysk kwasu kawoilochinowego w kriokoncentracie miał miejsce w próbach po 9 i 12 godzinach ekstrakcji w temperaturze 25°C (rys. 156). W ostatnim analizowanym przypadku nie stwierdzono różnic istotnych statystycznie pomiędzy wartościami 1,292 mg/ml i 1,299 mg/ml. Zateżnienie roztworów przez kriokoncentrację umożliwiło zwiększenie stężenia kwasu kawoilochinowego o około 0,880-0,914 mg/ml. Mniejszą skutecznością zateżniania ekstraktów charakteryzował się proces termiczny, za pomocą którego osiągnięto stężenie kwasu kawoilochinowego na poziomie 0,7 – 0,9 mg/ml (rys. 157). We wszystkich przypadkach zarówno w odniesieniu do kriokoncentracji jak i zateżniania termicznego temperatura ekstrakcji (w ramach poszczególnych czasów ekstrakcji, tj. osobno 6, 9 i 12h) różnicowała w sposób statystycznie istotny zawartość kwasu kawoilochinowego w koncentratkach (rys. 156, 157).

Istnieje potrzeba dalszych badań nad zwiększaniem skuteczności zateżniania kwasu kawoilochinowego z wykorzystaniem odpowiednich parametrów procesu technologicznego.

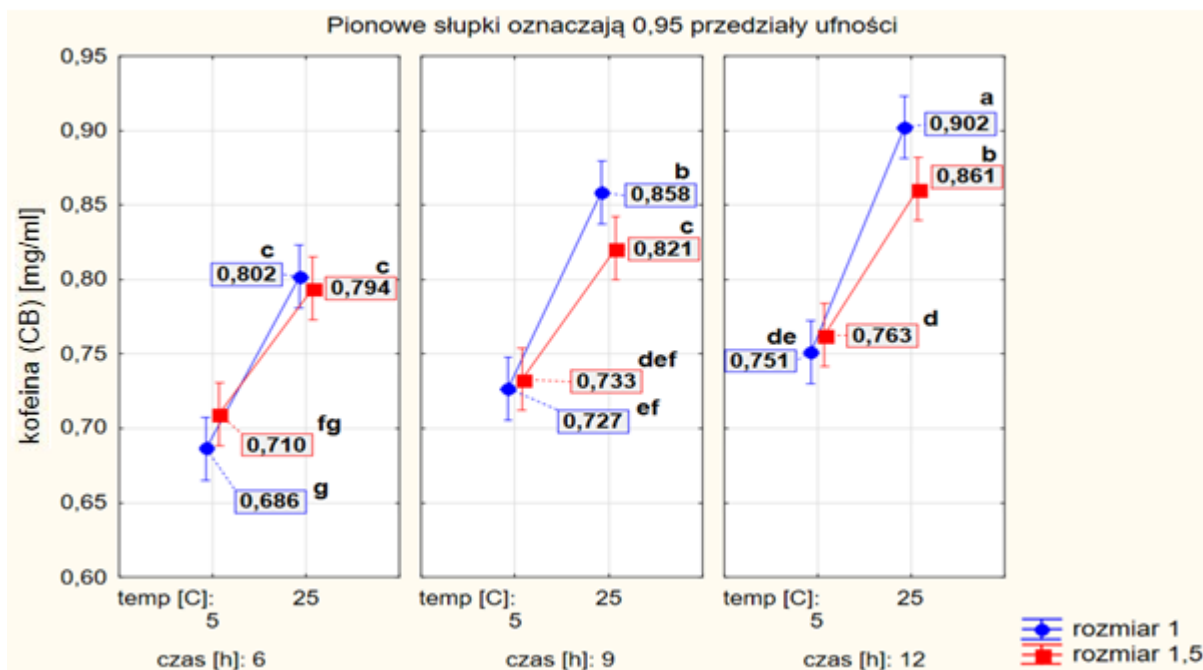


Rys. 156. Wartości stężenia 3-CQA [mg/ml] w **kriokoncentracje** cold brew dla profilu prażenia kawy w 230°C oraz brew:ratio 5g. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )



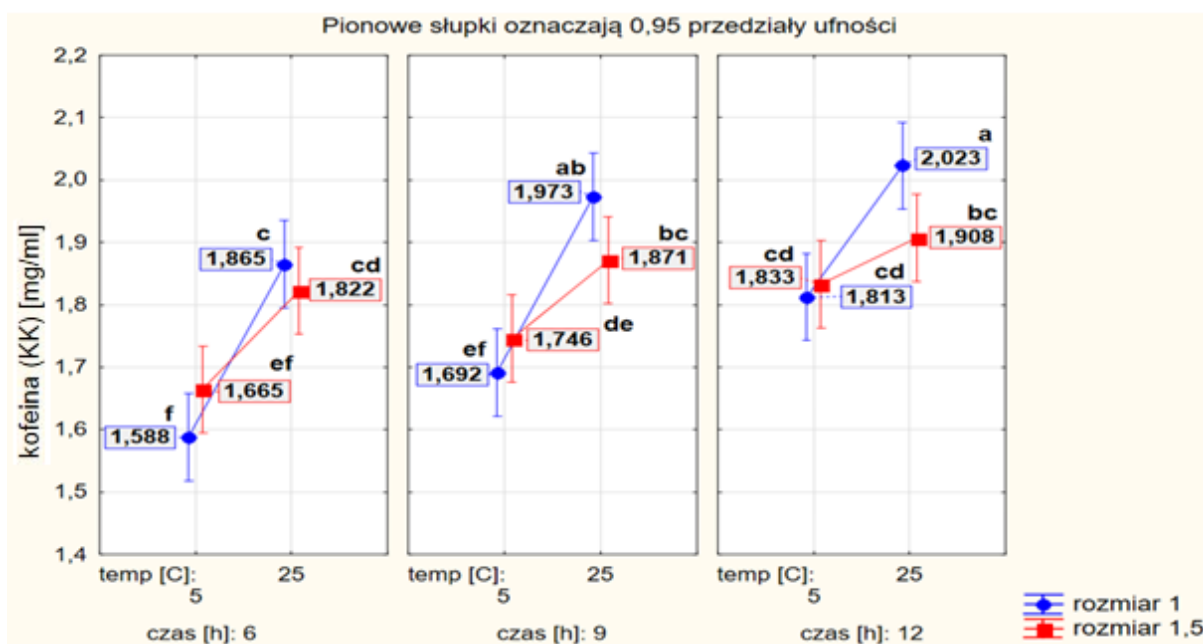
Rys. 157. Wartości stężenia 3-CQA [mg/ml] w **koncentracje termicznej** cold brew dla profilu prażenia kawy w 230°C oraz brew:ratio 5g. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )

Na podstawie analizy danych z rys. 158 stwierdzono, że dla czasu ekstrakcji 9 i 12 godzin w temperaturze 25°C stopień rozdrobnienia ziarna kawy miał istotny wpływ na wydajność ekstrakcji kofeiny. Drobniejszy rozmiar ziaren kawy (1mm) przyczyniał się do statystycznie istotnie lepszej ekstrakcji kofeiny w tych dwóch przypadkach, która była na poziomie 0,85-0,90 mg/ml. Zależności tej nie potwierdzono w pozostałych przypadkach tego wariantu. Penetracja wody w głąb ziaren o mniejszej wielkości wzrasta więc dla wyższych temperatur ekstrakcji oraz w kierunku dłuższego czasu na skutek pokonania bariery nasiąkliwości ziarna.

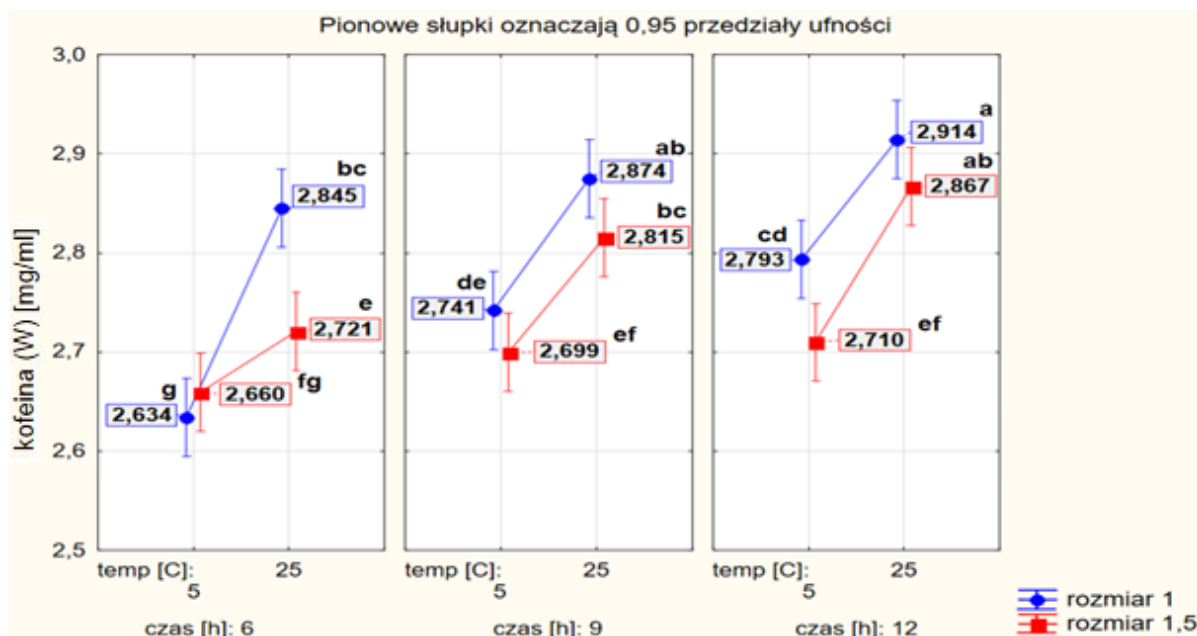


Rys. 158. Wartości stężenia **kofeiny** [mg/ml] w **ekstrakcji** cold brew dla profilu prażenia kawy w 230°C oraz brew:ratio 5g. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )

Lepszą wydajnością procesu zagęszczania charakteryzowało się zateżnienie termiczne, gdzie stężenie kofeiny było na poziomie 2,6-2,9 mg/ml. Było to o około 0,9-1,0 mg/ml więcej niż w przypadku kriokoncentracji, dla której finalne wartości stężenia kofeiny były na poziomie 1,6-2,0 mg/ml (rys. 159). Na stosunkowo wysokim poziomie uzyskano zawartość kofeiny (2,845 mg/ml) w koncentracie termicznym, który uzyskano z próby o stopniu rozdrobnienia 1,0mm poddanej wcześniejszej ekstrakcji przez 6 godzin w temperaturze 25°C (rys. 160). Generalnie dla wariantu tego uzyskano wysokie stężenia kofeiny. Nie zawsze jest potrzeba przygotowania produktów o bardzo wysokiej zawartości kofeiny, dlatego też proces wymrażania wydaje się wystarczający, aby uzyskać odpowiedni produkt końcowy bez negatywnego wpływu nadmiernej ilości kofeiny na właściwości sensoryczne lub funkcjonalne.



Rys. 159. Wartości stężenia **kofeiny** [mg/ml] w **kriokoncentracji** cold brew dla profilu prażenia kawy w 230°C oraz brew:ratio 5g. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )



Rys. 160. Wartości stężenia **kofeiny** [mg/ml] w **koncentracie termicznym** cold brew dla profilu prażenia kawy w 230°C oraz brew:ratio 5g. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )

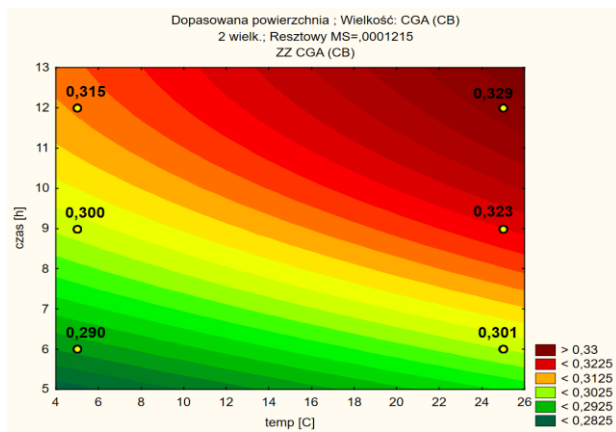
**Zawartość kwasu kawoilochinowego i kofeiny w ekstraktach, kriokoncentratkach i koncentratkach termicznych cold brew wyrażona jako powierzchnie odpowiedzi RSM (zmienne: temperatura ekstrakcji 5, 25°C oraz czas ekstrakcji 6, 9, 12h)**

- **Stałe: temperatura prażenia: 230°C; brew:ratio: 5g, stopień rozdrobnienia: 1 mm**

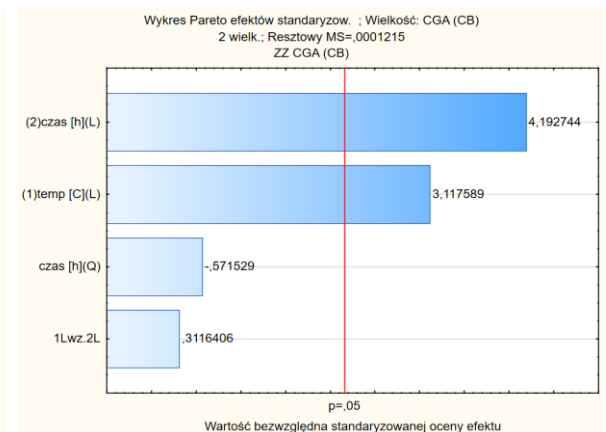
Otrzymane ekstrakty z wykorzystaniem kawy, dla której temperatura prażenia osiągnęła wartość 230°C mogą stanowić cenny surowiec do produkcji koncentratów lub półproduktów do dalszego przetworzenia (suplementy diety, farmacja) zawierających w swoim składzie wysoką dawkę kofeiny. Analogicznie do poprzednich prób eksperymentalnych ustalono empirycznie poziomy stężenia kwasu kawoilochinowego, a metodą RSM utworzono tzw. powierzchnie odpowiedzi ukazujące przewidywany poziom analizowanych związków chemicznych, tj. kwasu kawoilochinowego lub kofeiny.

Stężenie 3-CQA dla analizowanego wariantu 230°C×5g×1,0mm mieściło się w zakresie od 0,290 mg/ml do 0,329 mg/ml (rys. 161). Zanotowano średni spadek zawartości 3-CQA względem wariantów profilu prażenia 210°C na poziomie około 50%. Z uwagi na właściwości termofizyczne kwasu kawoilochinowego założono, że na skutek możliwej izomeryzacji kwasu 5-CQA do 3-CQA nie doszło do całkowitej jego transformacji. Niezależnie od temperatury ekstrakcji na końcowe stężenie kwasu kawoilochinowego w ekstrakcie wpływa w pierwszej kolejności czas ekstrakcji, a następnie temperatura (rys. 162).



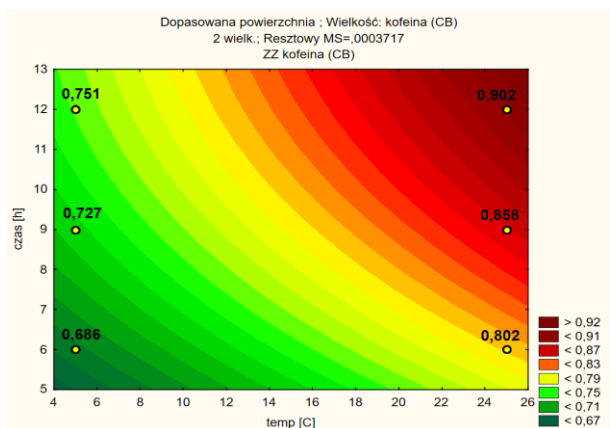


Rys. 161. Zawartość **3-CQA** [mg/ml] w ekstrakcie w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 230°C/5g/1mm]

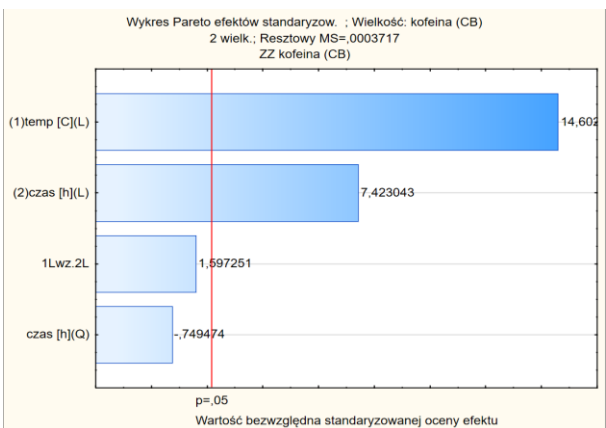


Rys. 162. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 161.

W przypadku zawartości kofeiny zaobserwowano lokalne maksimum wyznaczone przez powierzchnie odpowiedzi modelu RSM w zakresie czasu 9-12 godzin i temperatury ekstrakcji 20-25°C (rys. 163). Na końcowe stężenie kofeiny większy wpływ miała temperatura ekstrakcji, niemniej czas ekstrakcji miał również, choć o nieco mniejszym znaczeniu (rys. 164).



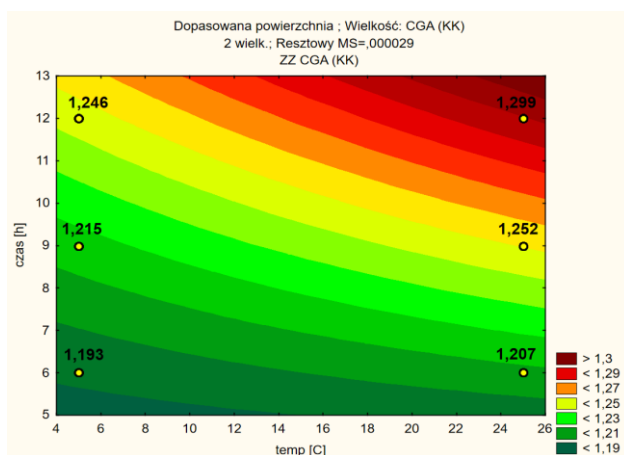
Rys. 163. Zawartość **kofeiny** [mg/ml] w ekstrakcie w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 230°C/5g/1mm]



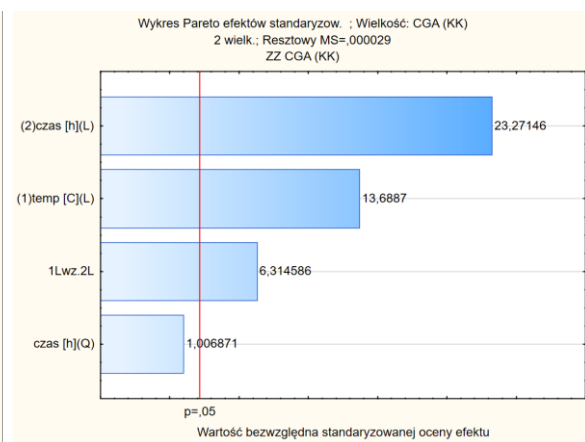
Rys. 164. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 163.

Stężenie kwasu kawoilochinowego w badanym kriokoncentracie wyniosło od 1,193 mg/ml do 1,299 mg/ml (rys. 165). Utworzone powierzchnie odpowiedzi utworzyły wyraźne, ale stosunkowo nieduże maksimum odpowiadające temperaturze ekstrakcji 20-25°C i czasowi ekstrakcji 11-12 godzin. Największy wpływ na wykreślony model RSM miał w kolejności: czas i temperatura ekstrakcji, jak również ich wzajemna liniowa interakcja (rys. 166).



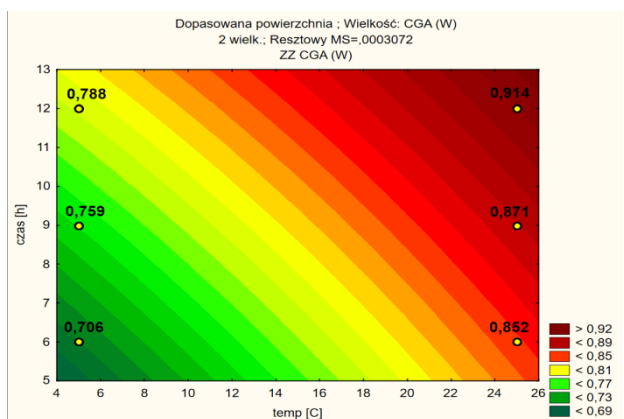


Rys. 165. Zawartość **3-CQA** [mg/ml] w **krikoncentracji** w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 230°C/5g/1mm]

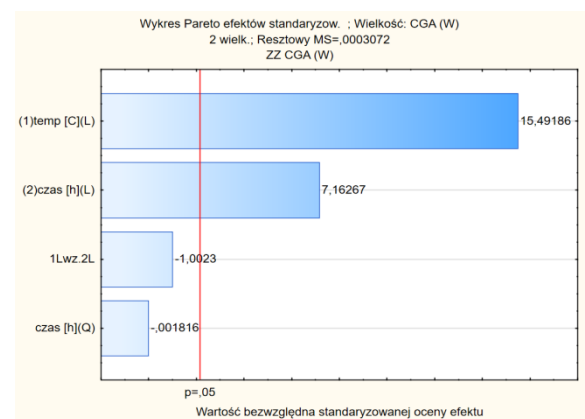


Rys. 166. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 165.

Na podstawie rysunku 167 stwierdzono, że badania rozwojowe nad termiczną technologią zateżzania kawy macerowanej na zimno celem jej skalowania i zwiększenia efektywności koncentracji kwasu kawoilochinowego należy prowadzić w temperaturze bliskiej 25°C. Obserwację tę potwierdza wykres Pareta (rys. 168), na podstawie którego można jednoznacznie stwierdzić, że wpływ temperatury na model RSM był znacznie większy niż czasu ekstrakcji.

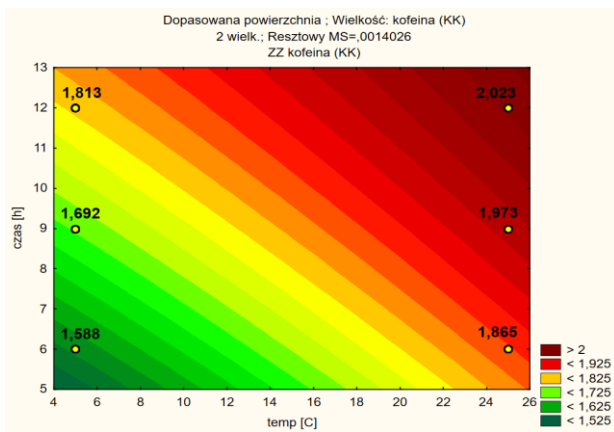


Rys. 167. Zawartość **3-CQA** [mg/ml] w **koncentracji termicznej** w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 230°C/5g/1mm]

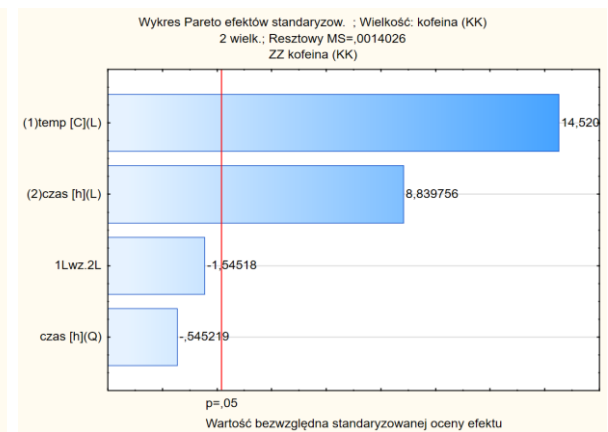


Rys. 168. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 167.

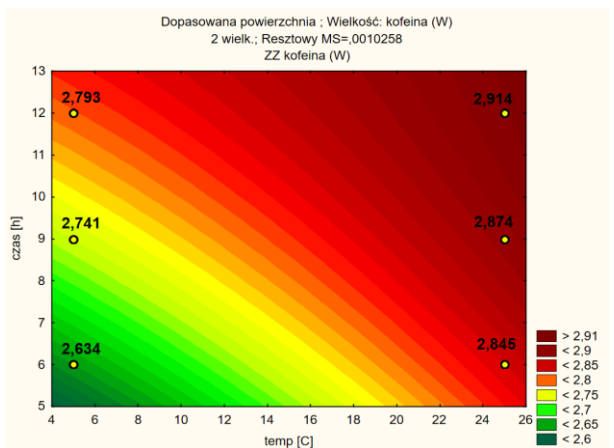
Według modelu RSM zawartość kofeiny w krikoncentratkach była najwyższa (ok. 1,9-2,0 mg/ml) dla dłuższych czasów (rzędu 9-12h) i wyższej temperatury ekstrakcji (20-25°C), co wyraźnie jest zobrazowane w prawym, górnym rogu rysunku 169. Warto zwrócić uwagę na fakt, że różnica stężenia kofeiny pomiędzy 12-tą godziną ekstrakcji, a 9-tą godziną dla temperatury 25°C wyniosła tylko 0,05 mg/ml, co jest porównywalne z procesem zateżzania termicznego dla analogicznych warunków wcześniejszej ekstrakcji (rys. 171). Pomimo podobnego kształtu powierzchni odpowiedzi w obu procesach zateżzania ekstraktu (rys. 169 i 171), koncentraty termiczne charakteryzowały się wyższymi wartościami kofeiny i wynosiły 2,634 do 2,914 mg/ml. W obu przypadkach temperatura wcześniejszej ekstrakcji miała większy wpływ na zawartość kofeiny, niż czas ekstrakcji (rys. 170, 172).



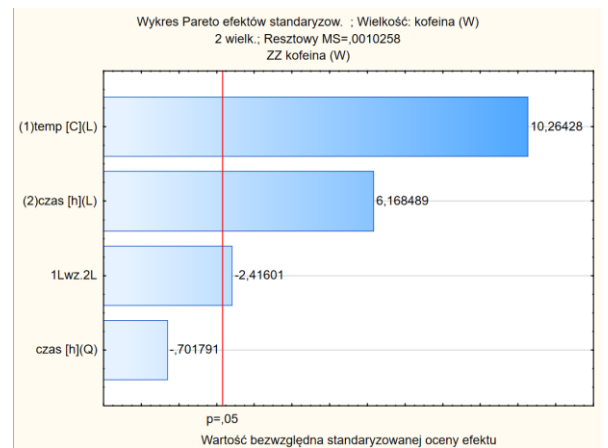
Rys. 169. Zawartość **kofeiny** [mg/ml] **w krioconcentracji** w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 230°C/5g/1mm]



Rys. 170. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 169.



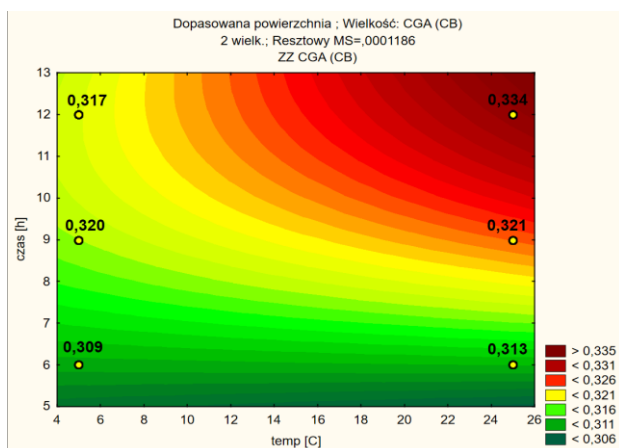
Rys. 171. Zawartość **kofeiny** [mg/ml] **w koncentracji termicznej** w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 230°C/5g/1mm]



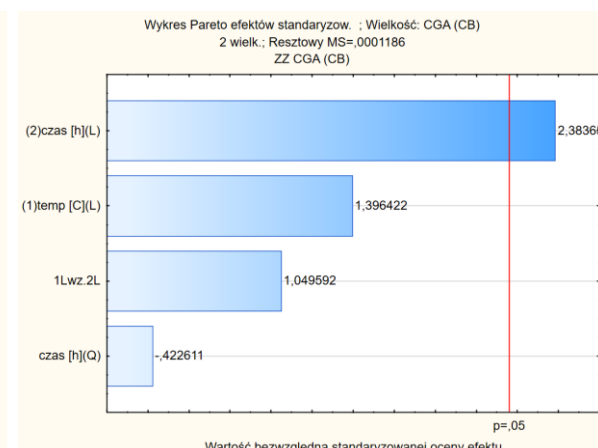
Rys. 172. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 171.

- **Stałe: temperatura prażenia: 230°C; brew:ratio: 5g, stopień rozdrobnienia: 1,5 mm**

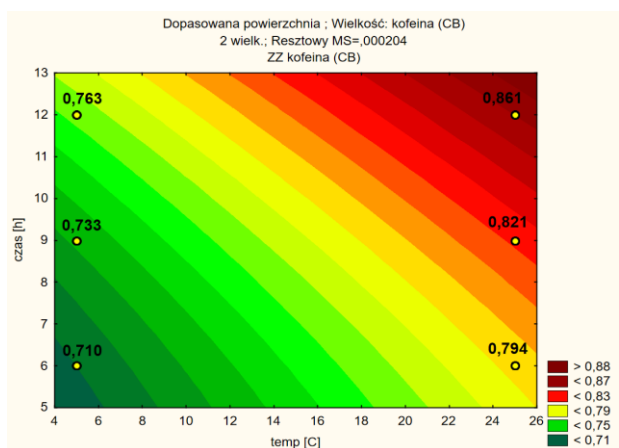
Przedstawiając wyniki modelu dotyczącego profilu 230°C ze stopniem rozdrobnienia kawy na poziomie 1,5mm i brew:ratio wynoszącym 5g, należy zwrócić uwagę na podobną zawartość kwasu kawoilochinowego i częściowy spadek zawartości kofeiny w porównaniu z eksperymentami, gdy surowiec rozdrabniano do poziomu 1,0mm. W bieżącym wariacie według modelu RSM również utworzyły się lokalne maksima zgrupowane w prawym górnym rogu rysunków 173 i 175 wskazujące, że przy najdłuższych czasach i temperaturach ekstrakcji uzyskuje się największą wydajność procesu. Model RSM w odniesieniu do kwasu kawoilochinowego zależał tylko od czasu ekstrakcji (rys. 174), zaś w przypadku kofeiny istotna zależność została potwierdzona w pierwszej kolejności od temperatury, w drugiej zaś od czasu ekstrakcji (rys. 176). Wartości stężenia kwasu kawoilochinowego mieściły się w zakresie 0,309-0,334 mg/ml, zaś kofeiny 0,710-0,861 mg/ml. Stwierdzono też, że najwyższe stężenie kofeiny w tym wariacie było jednak niższe o 0,041 mg/ml w porównaniu do wariantu, w którym zastosowano mniejszy stopień rozdrobnienia ziarna, tj. na poziomie 1,0mm.



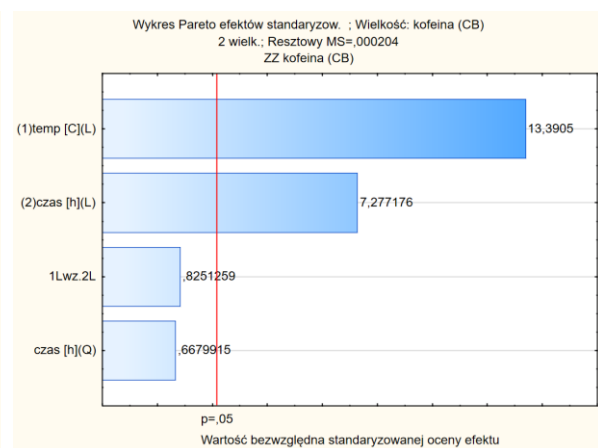
Rys. 173. Zawartość **3-CQA** [mg/ml] w ekstrakcie w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 230°C/5g/1,5mm]



Rys. 174. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 173.

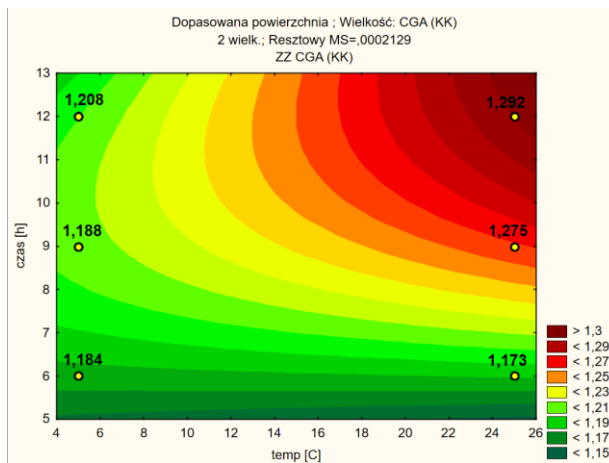


Rys. 175. Zawartość **kofeiny** [mg/ml] w ekstrakcie w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 230°C/5g/1,5mm]

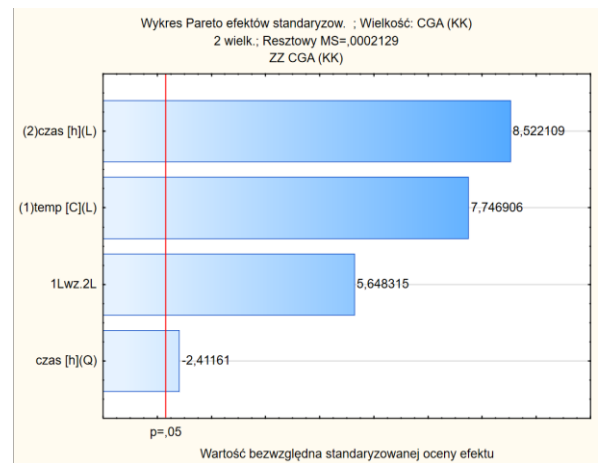


Rys. 176. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 175.

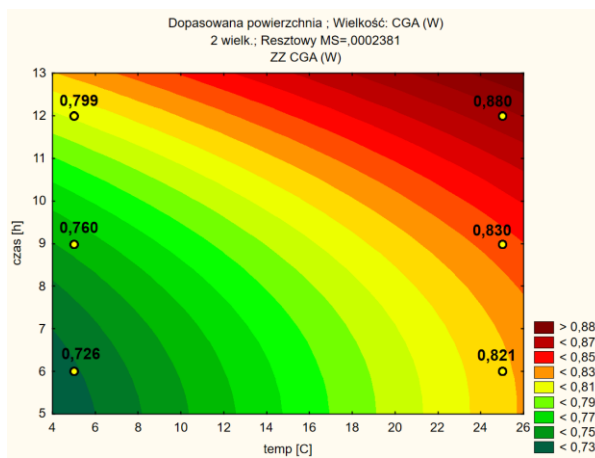
Najkorzystniejszymi wariantami zarówno dla procesu kriokoncentracji (rys. 177), jak i koncentracji termicznej (rys. 179) okazały się próby 12h×25°C, dla których zanotowano stężenie kwasu kawoilochinowego na poziomie kolejno 1,292 mg/ml oraz 0,880 mg/ml. Dla warunków procesu kriokoncentracji zaobserwowano, że cztery zmienne osiągnęły wysokie wartości wpływu, wyraźnie przekraczając poziom istotności (rys. 178). W przypadku stężenia kwasu kawoilochinowego metodą termiczną istotny wpływ na jego zawartość miała temperatura i czas ekstrakcji (rys. 180). Uwarunkowania te mogą wskazywać skalę wyzwań w zakładzie technologicznym o niskim stopniu automatyzacji, a w efekcie dużą trudność wdrożeniową takiego modelu.



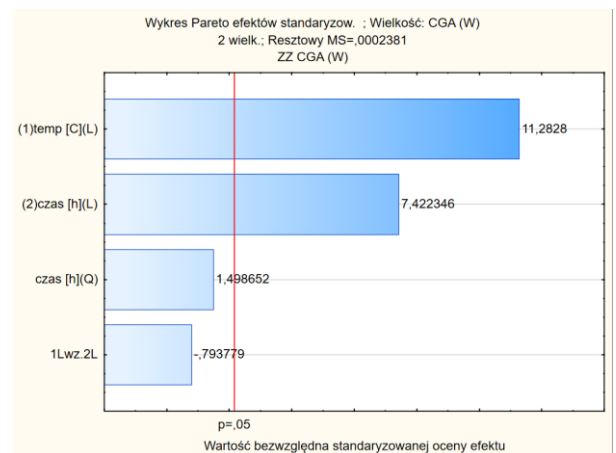
Rys. 177. Zawartość **3-CQA** [mg/ml] w krikoncentracie w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM[dla wariantu: 230°C/5g/1,5mm]



Rys. 178. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 177.

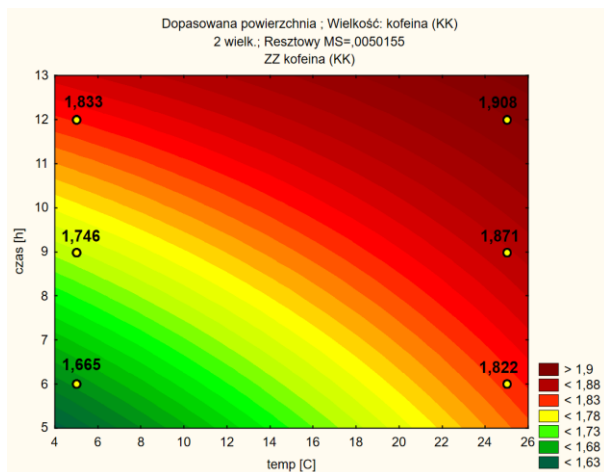


Rys. 179. Zawartość **3-CQA** [mg/ml] w koncentracie termicznym w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM[dla wariantu: 230°C/5g/1,5mm]

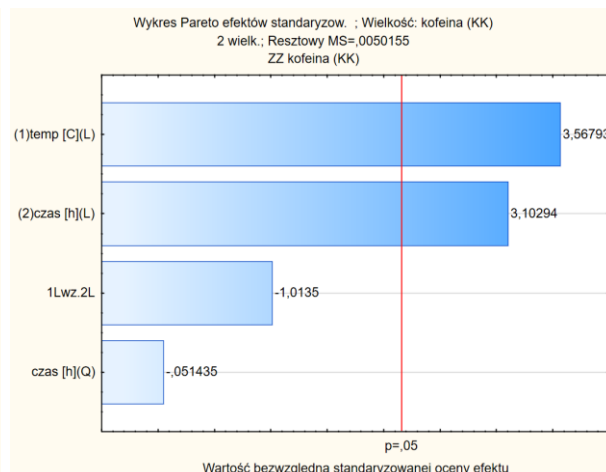


Rys. 180. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 179.

W zateżanych krikoncentratkach zawartość kofeiny we wszystkich próbach wzrosła w stosunku do wartości początkowej średnio o 1 mg/ml (rys. 181). Kontury powierzchni odpowiedzi reprezentujące najwyższewartości kofeiny usytuowane są w okolicach prób 12h×5°C i 6h×25°C. Najwyższym stężeniem kofeiny (1,908 mg/ml) charakteryzował się obszar położony nieopodal próby 12h×25°C. Na analizowany model RSM największy wpływ miała temperatura i czas ekstrakcji (rys. 182).

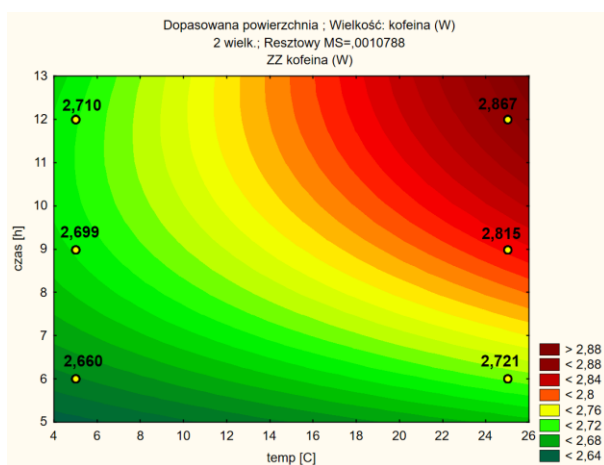


Rys. 181. Zawartość **kofeiny** [mg/ml] w kriokoncentracie w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 230°C/5g/1,5mm]

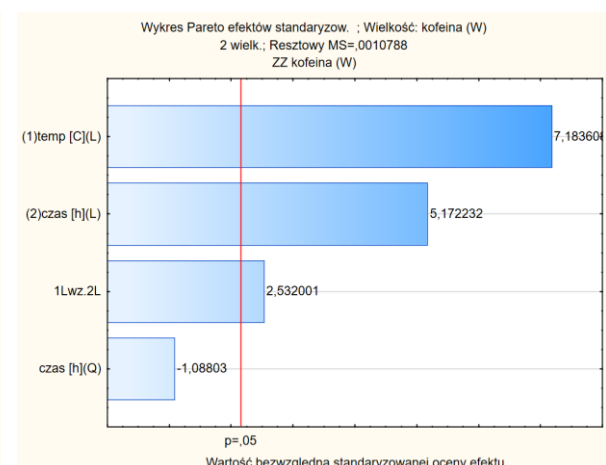


Rys. 182. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 181.

Wskutek koncentracji termicznej próby charakteryzowały się wysoką zawartością kofeiny (rys. 183). Wobec ekstraktu otrzymanego w temperaturze 5°C zmierzona wartość kofeiny w koncentracie wynosiła od 2,660 mg/ml do 2,710 mg/ml, zaś w temperaturze 25°C od 2,721 mg/ml do 2,867 mg/ml. Można przypuszczać, że oprócz wyróżników funkcjonalnych, analizowana technologia może być akceptowalnym rozwiązaniem względem stabilności mikrobiologicznej produktu. Zawartość kofeiny w koncentratkach tego modelu była statystycznie uzależniona od temperatury i czasu ekstrakcji, jak również od ich wzajemnej liniowej interakcji (rys. 184).



Rys. 183. Zawartość **kofeiny** [mg/ml] w koncentracie termicznym w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 230°C/5g/1,5mm]



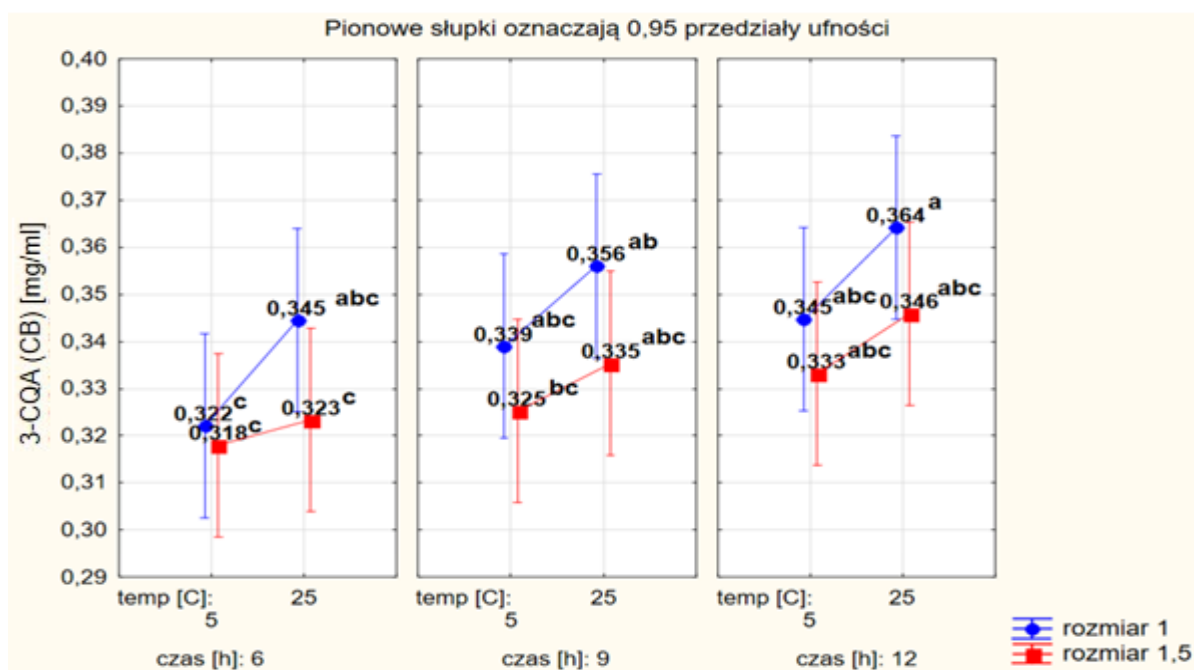
Rys. 184. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 183.

**Zawartość kwasu kawoilochinowego i kofeiny w ekstraktach, kriokoncentratkach i koncentratkach termicznych cold brew (wieloczynnikowa analiza wariancji)  
(zmiennie: temperatura ekstrakcji 5, 25°C; czas ekstrakcji 6, 9, 12h; stopień rozdrobnienia [rozmiar] 1,0 lub 1,5 mm)**

- **Stałe: temperatura prażenia: 230°C; brew:ratio: 6g**

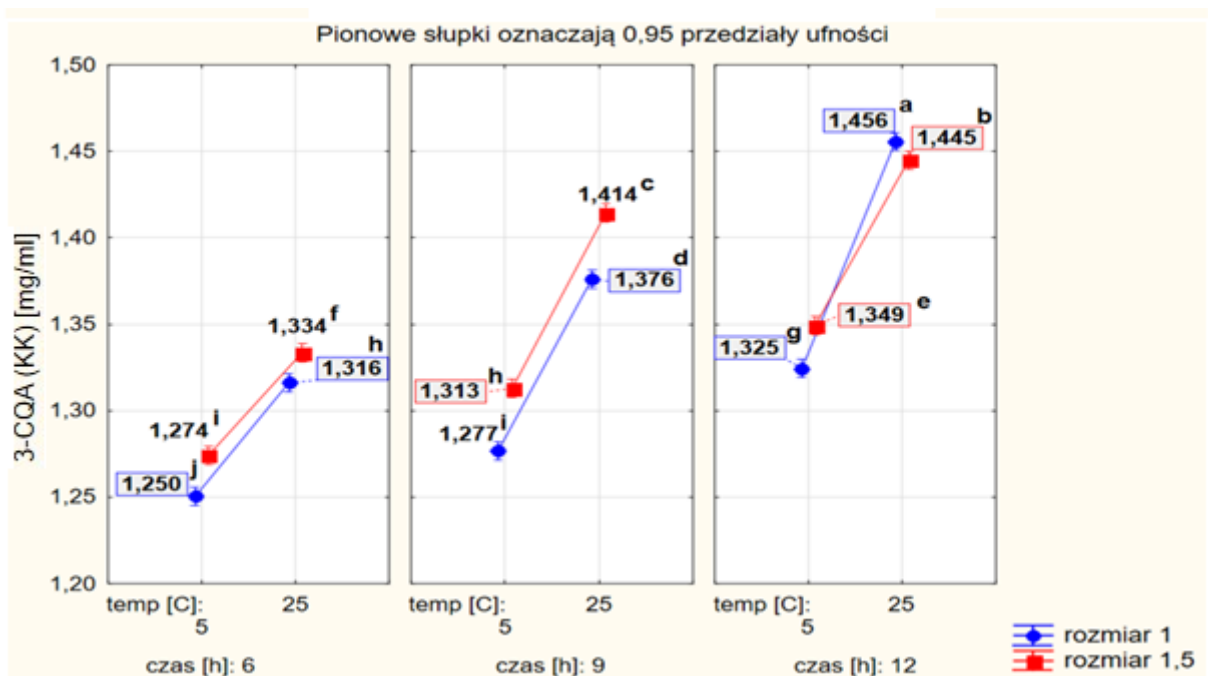
Stężenia kwasu kawoilochinowego dla wariantu badawczego odnoszącego się do profilu 230°C w proporcji 6g/100ml, osobno dla ekstraktów i koncentratów uzyskanych metodą wymrożenia i termiczną przedstawiono na rysunkach 185-187. Zaobserwowano, że wyższa temperatura i większy stopień rozdrobnienia kawy prażonej zwiększa wydajność ekstrakcji 3-CQA, przy czym między zmiennymi w obrębie jednakowego czasu ekstrakcji, tj. osobno dla 6, 9 i 12h, nie zanotowano statystycznie istotnych różnic w zależności od temperatury i poziomu rozdrobnienia (rys. 185). Z kolei dla procesu kriokoncentracji stwierdzono, że największe różnice w stężeniu kwasu kawoilochinowego zależne były od czasu ekstrakcji (rys. 186).

Wyniki dotyczące procesu termicznego wskazują, że najkorzystniejszymi próbami o względnie wysokim stężeniu 3-CQA były te, których ekstrakcja w temperaturze 5°C trwała 9 godzin, zaś w temperaturze 25°C - 12 godzin (rys. 187). Uzyskane wyniki wskazują, że dla większości przypadków (w odniesieniu do wyższych stężeń kwasu kawoilochinowego) czas ekstrakcji i temperatura nie miały istotnego wpływu.

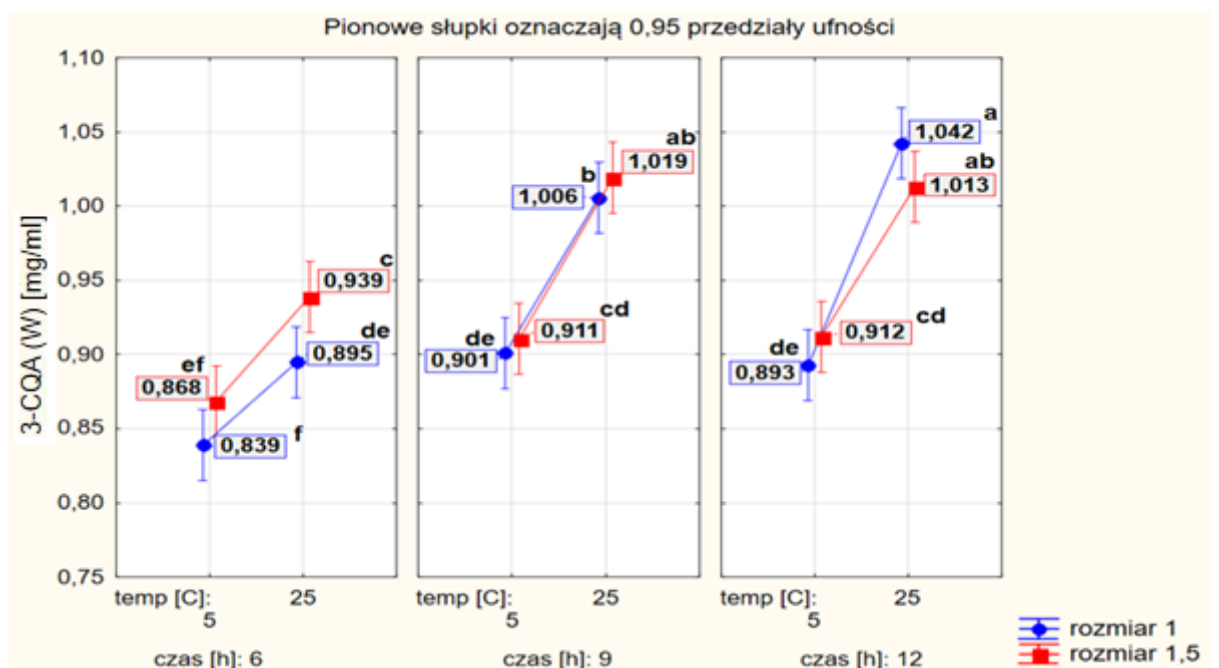


Rys. 185. Wartości stężenia 3-CQA [mg/ml] w ekstrakcie cold brew dla profilu prażenia kawy 230°C oraz brew:ratio 6g. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )





Rys. 186. Wartości stężenia 3-CQA [mg/ml] w kriokoncentracje cold brew dla profilu prażenia kawy w 230°C oraz brew:ratio 6g. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )

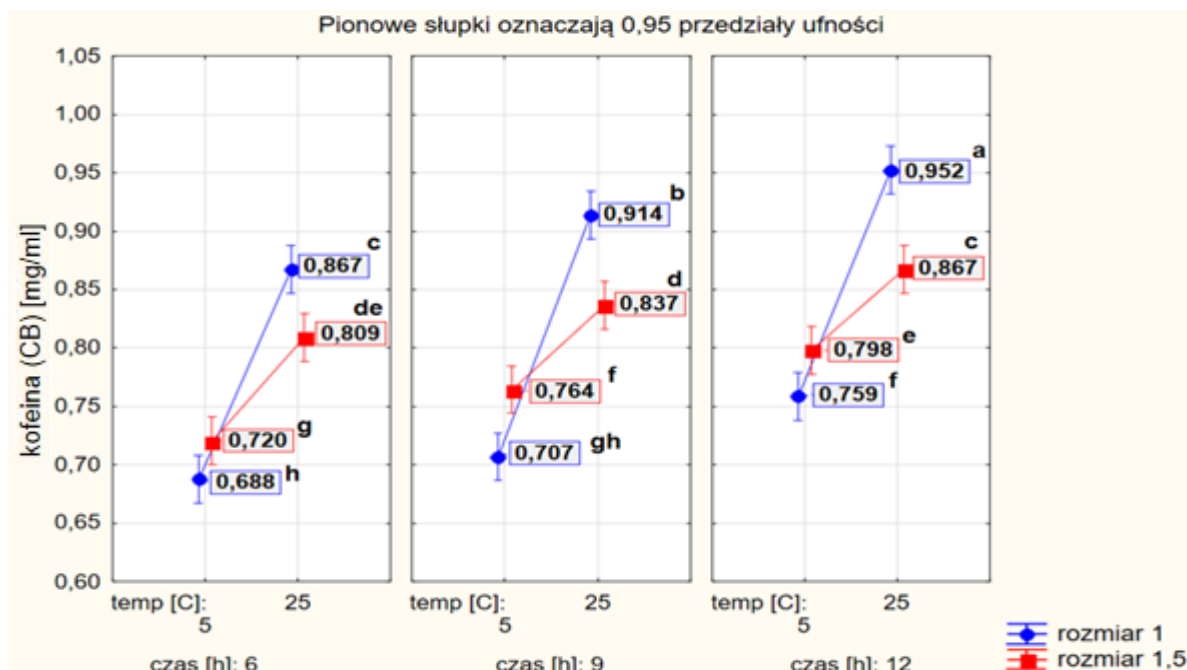


Rys. 187. Wartości stężenia 3-CQA [mg/ml] w koncentracje termicznej cold brew dla profilu prażenia kawy w 230°C oraz brew:ratio 6g. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )

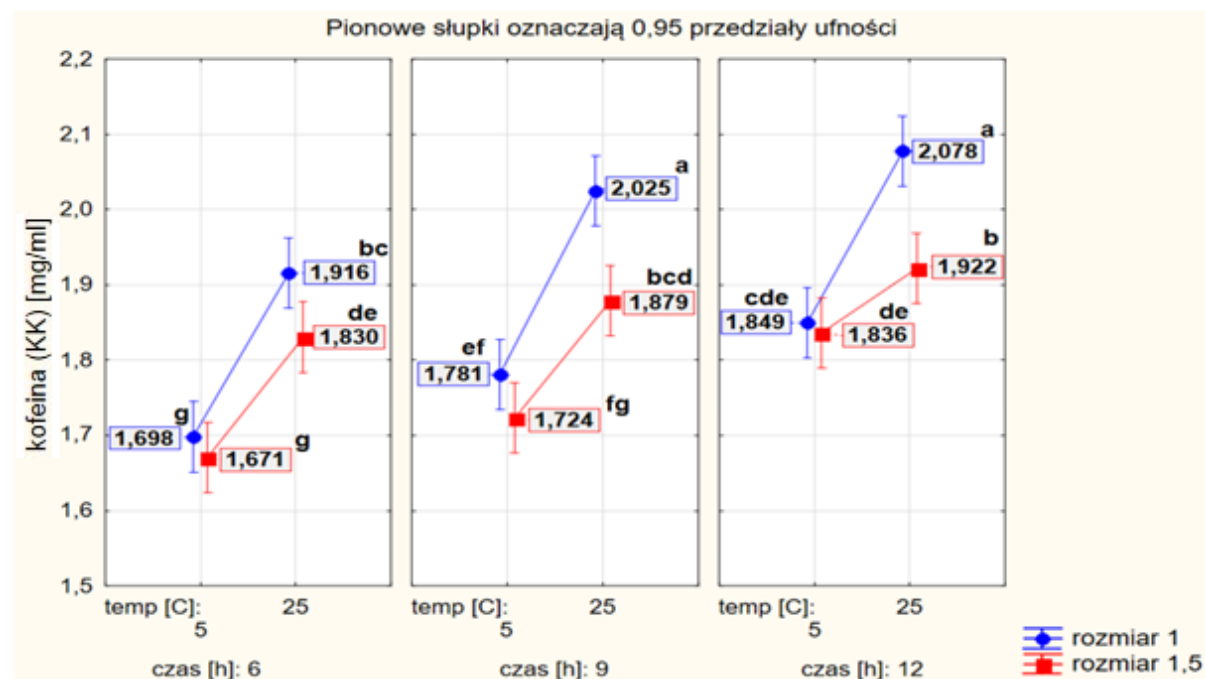
Stężenia kofeiny dla analizowanego wariantu kawy prażonej oraz zastosowanych zabiegów technologicznych przedstawiono na rysunkach 188-190. Wydajność procesów zateżania była zróżnicowana. Analiza średniej zawartości kofeiny pozwala wysnuć wniosek, że stopień rozdrobnienia ziaren kawy na poziomie 1,5 mm umożliwia znacznie większy odzysk kofeiny w warunkach chłodniczych w porównaniu do kriokoncentratów otrzymanych z ekstrakcji ziaren o wielkości 1,0mm (rys. 188). Wydaje się to być zjawiskiem nietypowym, ponieważ w miarę wzrostu temperatury oraz czasu ekstrakcji statystycznie istotnie wzrastały różnice wyników z korzyścią dla mniejszej wielkości ziaren kawy. Kofeina wyodrębniona z ziaren 1,0mm



dla poszczególnych godzin ekstrakcji w temperaturze 25°C wyniosła kolejno 0,867mg/ml, 0,914mg/ml i 0,952 mg/ml, a wartości różniły się statystycznie.



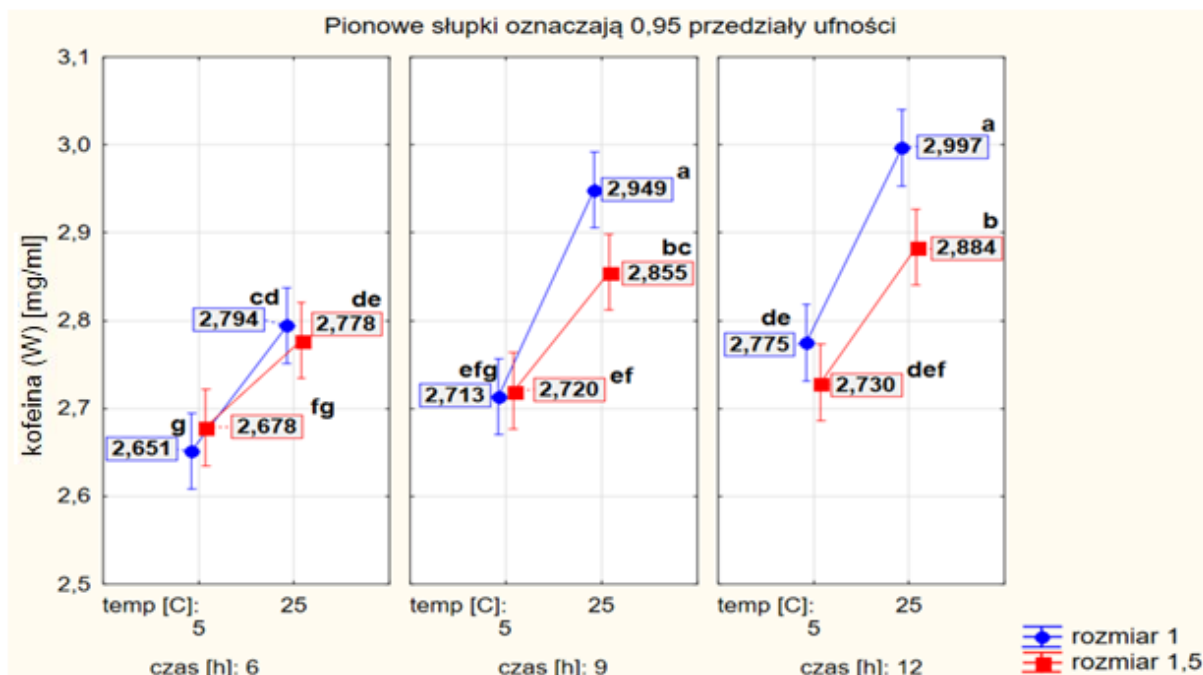
Rys. 188. Wartości stężenia **kofeiny** [mg/ml] w **ekstrakcie** cold brew dla profilu prażenia kawy w 230°C oraz brew:ratio 6g. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )



Rys. 189. Wartości stężenia **kofeiny** [mg/ml] w **kriokoncentracje** cold brew dla profilu prażenia kawy w 230°C oraz brew:ratio 6g. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )

Średnie stężenie kofeiny po procesie kriokoncentracji wynosiło od 1,671 mg/ml do 2,078 mg/ml (rys. 189). Dwie wartości stężenia przekroczyły poziom 2 mg/ml, co świadczy o potencjale wdrożeniowym tego wariantu. Jeszcze wyższą zawartością kofeiny charakteryzowały się próby uzyskane za pomocą zateżenia termicznego (rys. 190). Również i technologiczne parametry zateżenia termicznego w tym wariancie mogą mieć znaczenie aplikacyjne w produkcji nowych asortymentów o bardzo wysokiej zawartości

związku. Najniższa uzyskana średnia zawartość kofeiny była o 0,573 mg/ml większa od najwyższej wartości (2,078 mg/ml) otrzymanej w procesie kriokoncentracji.



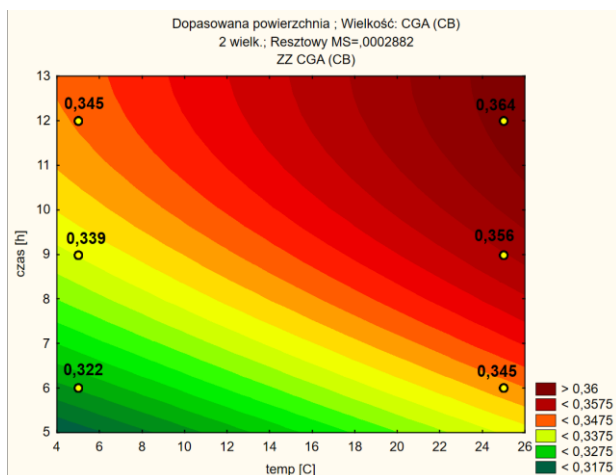
Rys. 190. Wartości stężenia kofeiny [mg/ml] w koncentracji termicznej cold brew dla profilu prażenia kawy w 230°C oraz brew:ratio 6g. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )

**Zawartość kwasu kawoilochinowego i kofeiny w ekstraktach, kriokoncentratkach i koncentratkach termicznych cold brew wyrażona jako powierzchnie odpowiedzi RSM (zmiennie: temperatura ekstrakcji 5, 25°C oraz czas ekstrakcji 6, 9, 12h)**

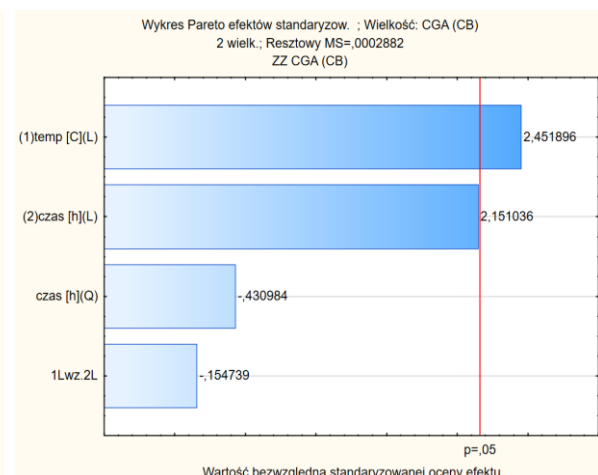
- **Stałe: temperatura prażenia: 230°C; brew:ratio: 6g, stopień rozdrobnienia: 1 mm**

Powierzchnie odpowiedzi oraz wykresy Pareta dla uzyskanych ekstraktów wariantu 230°C×6g×1,0mm przedstawiono na rysunkach 191-194. Analiza powierzchni odpowiedzi izolacji zawartości kwasu kawoilochinowego dowodzi wzrostu wydajności dla obszaru temperatury 18-25°C i czasu ekstrakcji 9-12 godzin (prawy górny róg rysunku 191). Podobny efekt wydajności uzyskuje się stosując parametry procesu ekstrakcji na poziomie 12h×5°C oraz 6h×25°C (rys. 191). Temperatura ekstrakcji była głównym czynnikiem wpływającym na wydajność kwasu kawoilochinowego w tym wariantcie badawczym (rys. 192). Krzywe powierzchni odnoszące się do stężenia kofeiny były podobne do tych opisujących zawartość kwasu kawoilochinowego, z tą różnicą, że krzywe dotyczące modelu kofeiny koncentrowały się wobec najniższych wartości czasu i temperatury ekstrakcji (lewy dolny róg rys. 193), zaś dotyczące kwasu kawoilochinowego – wokół najwyższych (prawy górny róg rys. 191). Jeśli chodzi o wpływ zmiennych na ekstrakcję kofeiny to istotne są dwa czynniki, ale ich wartości są dysproporcjonalne (na korzyść silniejszego wpływu temperatury ekstrakcji), co należy uwzględnić w potencjalnym wdrożeniu i skalowaniu receptury tego wariantu (rys. 194). Zawartość kofeiny w ekstrakcie mieściła się w zakresie od 0,688 mg/ml

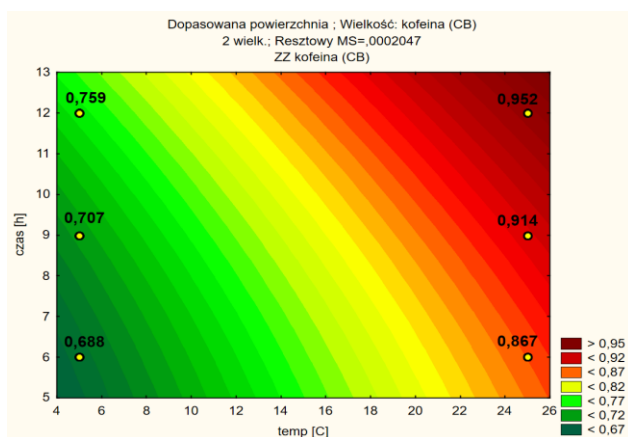
do 0,759 mg/ml (przy zastosowaniu temperatury na poziomie 5°C) oraz od 0,867mg/ml do 0,952 mg/ml - dla temperatury ekstrakcji wynoszącej 25°C (rys. 193).



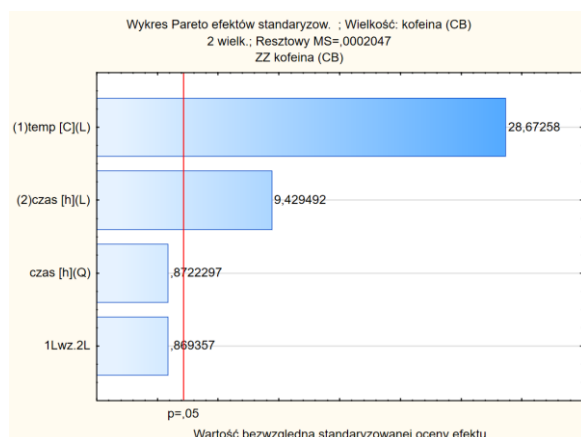
Rys.191. Zawartość **3-CQA** [mg/ml] w ekstrakcie w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM[dla wariantu: 230°C/6g/1mm]



Rys. 192. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 191.



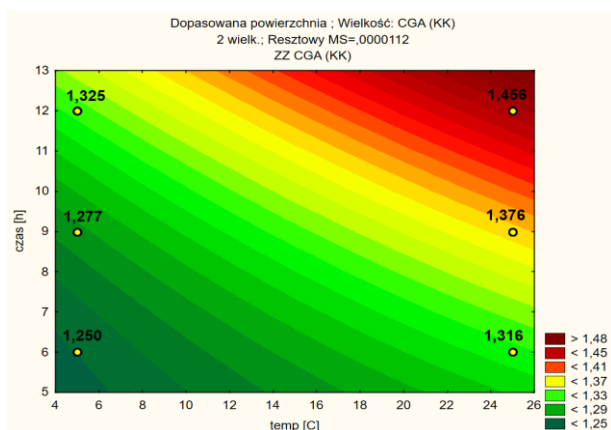
Rys.193. Zawartość **kofeiny** [mg/ml] w ekstrakcie w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 230°C/6g/1mm]



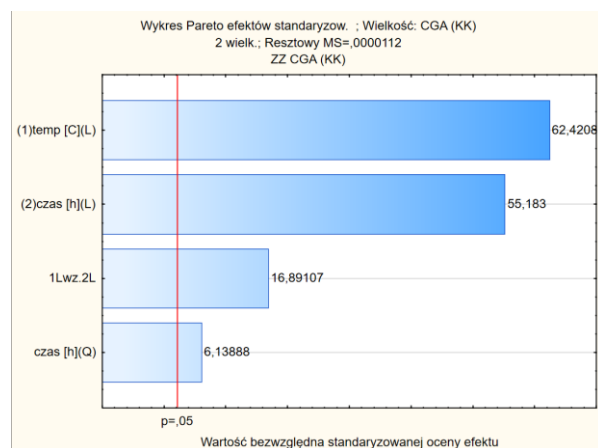
Rys. 194. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 193.

Powierzchnie odpowiedzi ukazane na rysunku 195 wskazują na pozytywny efekt procesu kriokoncentracji, którego średni stopień zateżenia dla kwasu kawoilochinowego był około czterokrotny (tj. z poziomu nieco ponad 0,3 mg/ml do poziomu ok. 1,2-1,3 mg/ml). Z uwagi na wysoką wydajność procesu kriokoncentracji w tym wariantie badawczym stwierdzono wysokie możliwości aplikacyjne tego procesu w warunkach przemysłowych, przy czym retencja związku z wymrażanej wody wymagać będzie istotnej kontroli jakości, ponieważ występuje efekt istotnego wpływu aż czterech czynników modelu RSM (rys. 196).

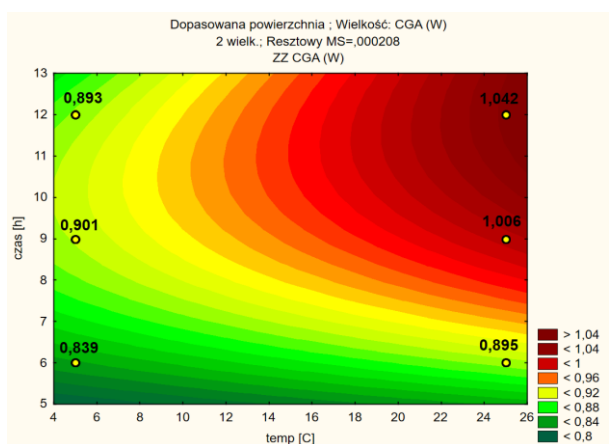
Podobną zależność istotności i ilości wpływu zmiennych stwierdzono względem prób zateżanych metodą termiczną (rys. 198). Najwyższy poziom kwasu kawoilochinowego stwierdzono dla powierzchni odpowiedzi w obszarze bliskim czasowi ekstrakcji od 9 do 12 godzin przy temperaturze 25°C, co odpowiadało stężeniom tego związku na poziomie nieco wyższym niż 1 mg/ml (rys. 197).



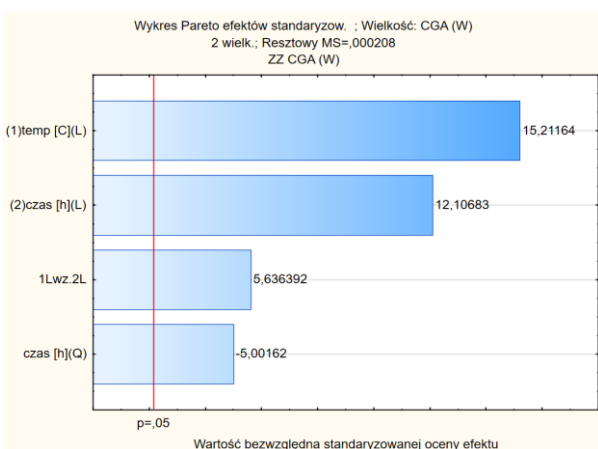
Rys. 195. Zawartość **3-CQA** [mg/ml] w krikoncentracie w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 230°C/6g/1mm]



Rys. 196. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 195.

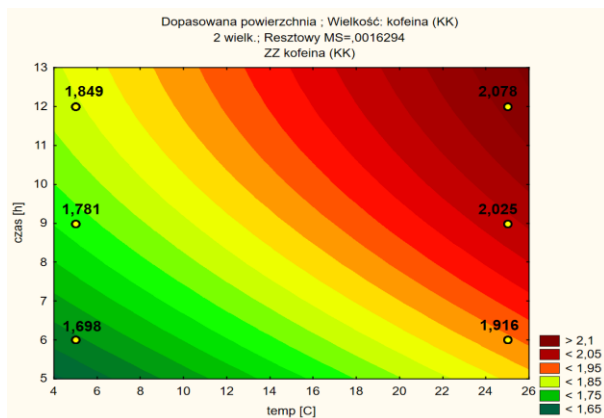


Rys.197. Zawartość **3-CQA** [mg/ml] w koncentracie termicznym w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 230°C/6g/1mm]

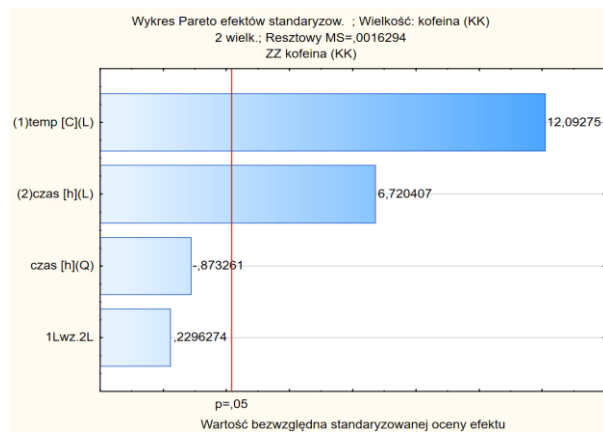


Rys. 198. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 197.

Pola powierzchni odpowiedzi charakteryzujące proces krikoncentracji wskazują, że wraz ze wzrostem temperatury ekstrakcji od 5°C do 25°C średnia wielkość przyrostu stężenia kofeiny wynosio koło 0,23 mg/ml (rys. 199). Największą różnicę 0,244 mg/ml zaobserwowano w odniesieniu do koncentratów uzyskanych na bazie wcześniejszej 9-cio godzinnej ekstrakcji. Analizowany model RSM uzależniony był w kolejności – od temperatury oraz czasu ekstrakcji (rys. 200).

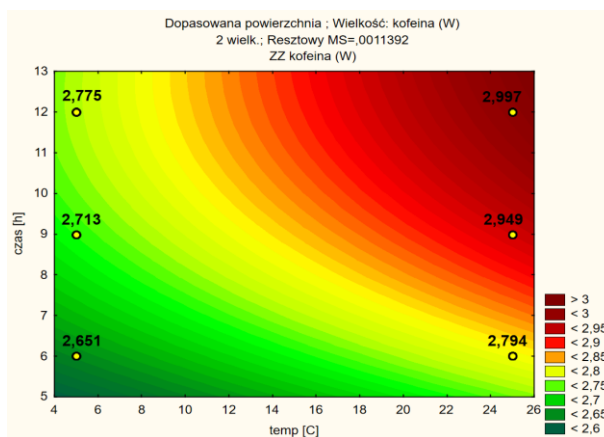


Rys. 199. Zawartość **kofeiny** [mg/ml] w kriokoncentracji w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 230°C/6g/1mm]

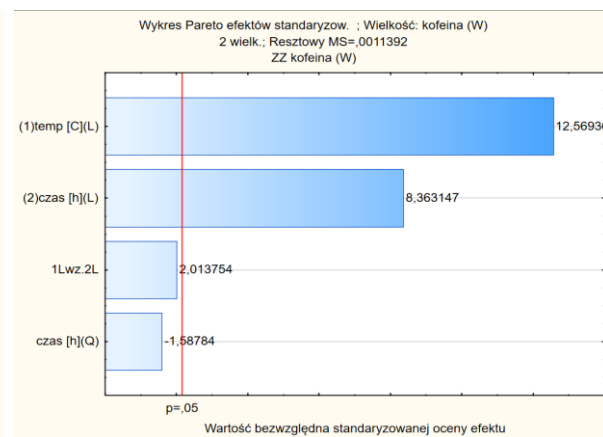


Rys. 200. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 199.

Wykazano istotny i dużyw zrost stężenia kofeiny w koncentraty uzyskanych metodą termiczną. Zależnie od wariantu wcześniej przygotowanego ekstraktu zawartość tego związku w koncentracji termicznej wynosiła od 2,651 mg/ml do 2,997 mg/ml (rys. 201). Wartości te były na najwyższym poziomie spośród wszystkich przeprowadzonych prób eksperymentalnych. Różnice w finalnej zawartości kofeiny w koncentraty termicznych uzależnione były tylko od temperatury i czasu ekstrakcji (w aspekcie liniowym modelu RSM) (rys. 202).



Rys. 201. Zawartość **kofeiny** [mg/ml] w koncentracji termicznej w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 230°C/6g/1mm]



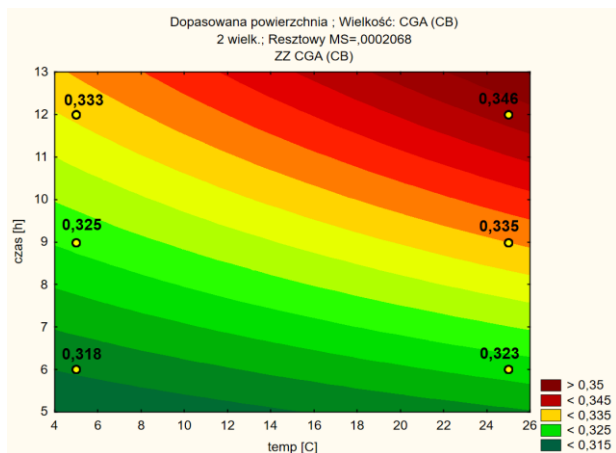
Rys. 202. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 201.

- **Stale: temperatura prażenia: 230°C; brew:ratio: 6g, stopień rozdrobnienia: 1,5 mm**

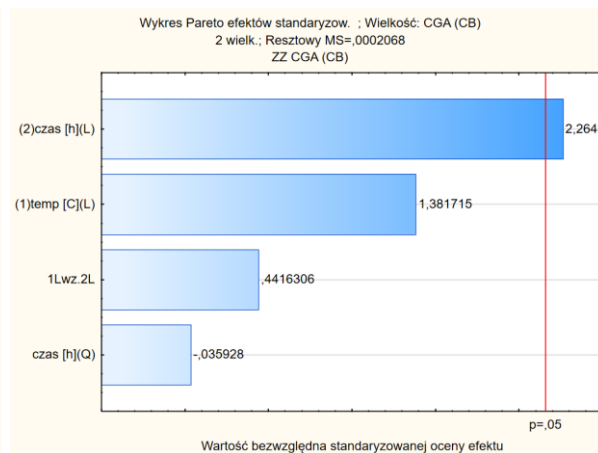
Krzywe odpowiedzi modeli RSM oraz odpowiadające im wykresy Pareta dotyczące zawartości kwasu kawoilochinowego oraz kofeiny w ekstraktach przedstawiono na rysunkach 203-206. Stwierdzono, że zawartość kwasu kawoilochinowego (rys. 203) była na poziomie niewiele przekraczającym 0,3 mg/ml z lokalnym maksimum przy obszarze reprezentującym najwyższą temperaturę ekstrakcji (tj. 25°C) oraz czas ekstrakcji (12h). Na model RSM wpływ miał tylko czas ekstrakcji (rys. 204).

W przypadku rozkładu powierzchni odpowiedzi obrazujących stężenie kofeiny stwierdzono, że najwyższe jej wartości były na poziomie 0,867 mg/ml i uzyskane były poprzez

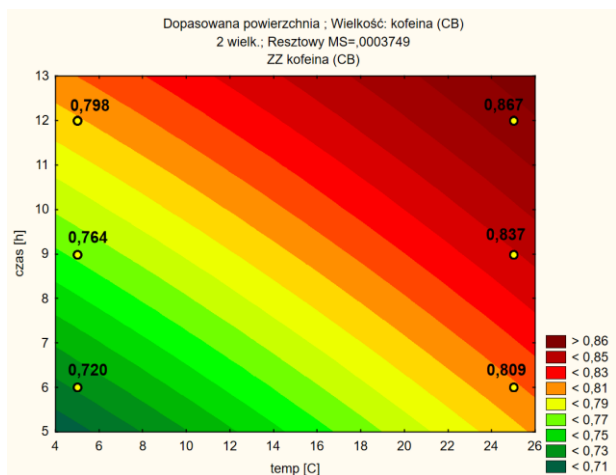
zastosowanie czasu ekstrakcji 12 godzin w temperaturze 25°C (rys. 205). Istotny wpływ na wartości stężenia kofeiny w tym modelu miała zarówno temperatura jak i czas ekstrakcji (rys. 206).



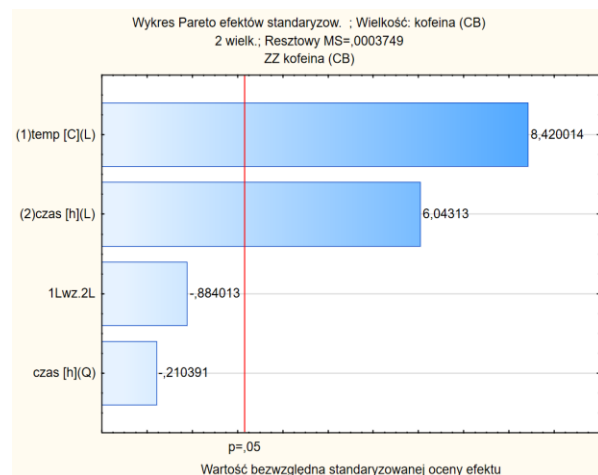
Rys. 203. Zawartość **3-CQA** [mg/ml] w ekstrakcie w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 230°C/6g/1,5mm]



Rys. 204. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 203.



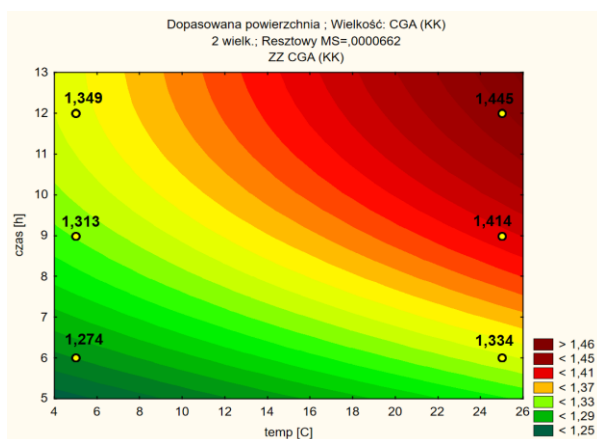
Rys. 205. Zawartość **kofeiny** [mg/ml] w ekstrakcie w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 230°C/6g/1,5mm]



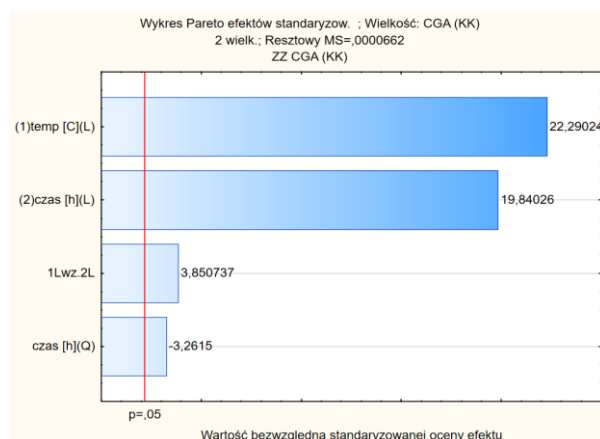
Rys. 206. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 205.

Stopień zagęszczenia kwasu kawoilochinowego metodą wymrażania był na poziomie około czterokrotnym, tj. z ok. 0,3 mg/ml w ekstrakcie do 1,3-1,4 mg/ml w koncentracji (rys. 207). Wszystkie czynniki analizowane w modelu RSM miały istotny wpływ na końcową zawartość tego związku w kriokoncentracji, ale największy – temperatura i czas ekstrakcji w aspekcie liniowym (rys. 208).



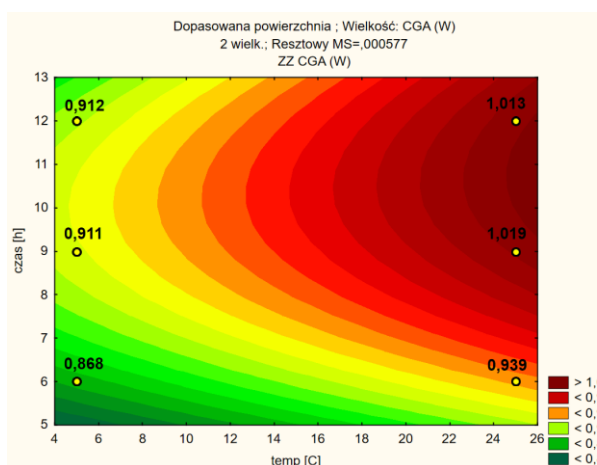


Rys. 207. Zawartość **3-CQA** [mg/ml] w krikoncentracji w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 230°C/6g/1,5mm]

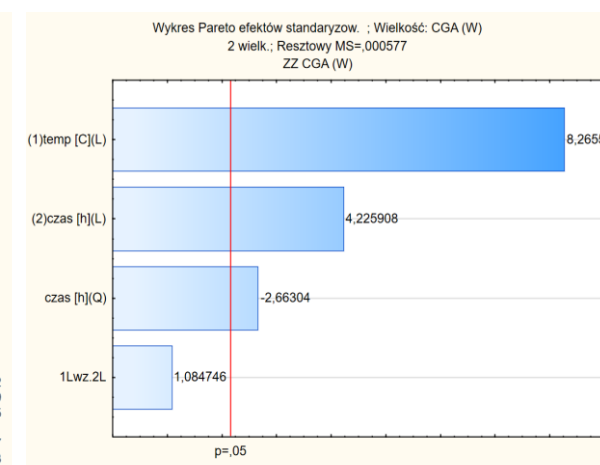


Rys. 208. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 207.

W przypadku badań nad procesem termicznego zateżnienia zaobserwowano znaczący spadek stężenia kwasu kawoilochinowego w koncentracie w porównaniu do krikoncentratu (rys. 209). Temperatura i czas ekstrakcji były również najważniejszymi czynnikami wpływającymi na końcową zawartość kwasu kawoilochinowego w koncentracie zagęszczanym termicznie (rys. 210).



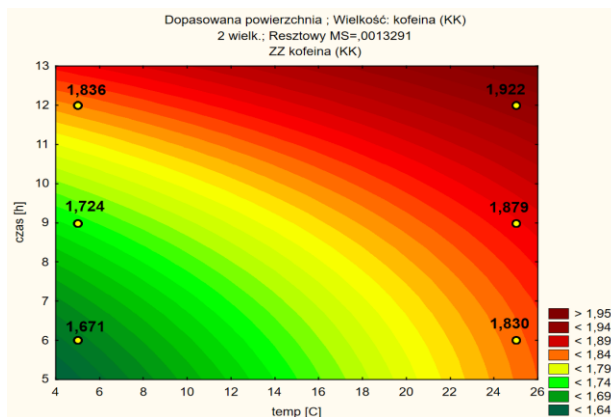
Rys. 209. Zawartość **3-CQA** [mg/ml] w koncentracie termicznym w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 230°C/6g/1,5mm]



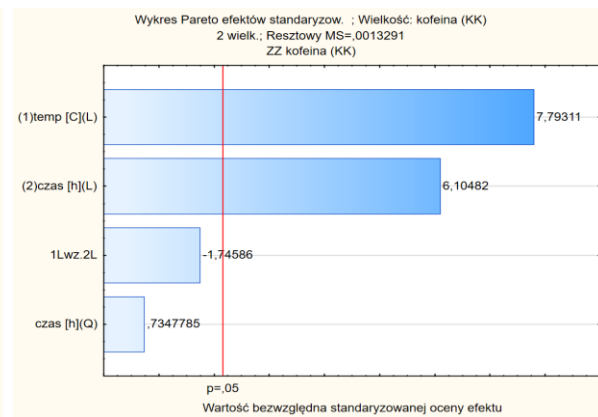
Rys. 210. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 209.

Porównując kształt i kierunek koncentrowania się izoliny powierzchni odpowiedzi na rysunkach 211 oraz 213 można stwierdzić, że w przypadku technologii krikoncentracji ogniskowanie się izoliny reprezentujących stężenie kofeiny ma miejsce wokół minimalnych wartości temperatury i czasu ekstrakcji (lewy dolny róg rys. 211), zaś w przypadku technologii termicznego zagęszczania – wokół maksymalnych (prawy górny róg rys. 213). Podjęcie decyzji na tym etapie badań, którą technologię powinno się zastosować jest trudnym do jednoznacznego określenia. Wyznacznikiem powinien być przede wszystkim cel użytkowy produktu, jednak bardzo istotna jest także analiza ekonomiczna, koszty otrzymywania produktu oraz sensoryczna pożądalność konsumenta. W przypadku kofeiny proces zagęszczania termicznego znacznie większym poziomem stężenia tego związku (od 2,678 do 2,884 mg/ml) w porównaniu do krikoncentracji (1,671 do 1,922 mg/ml).

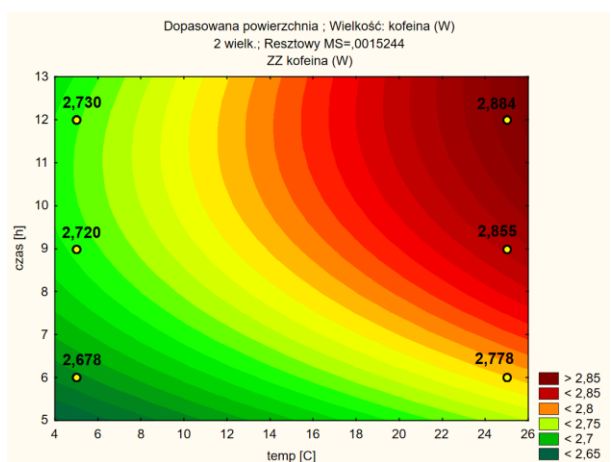




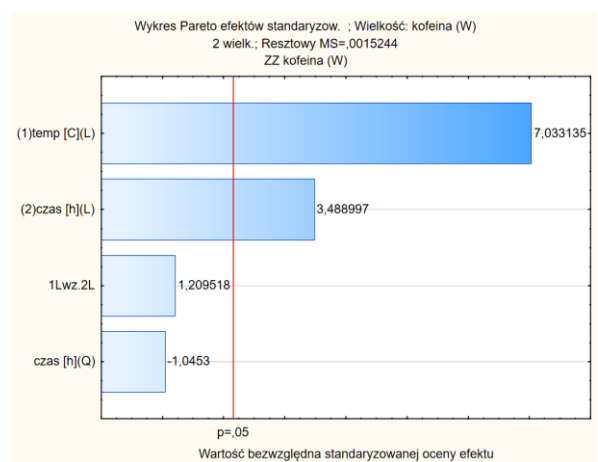
Rys. 211. Zawartość **kofeiny** [mg/ml] w krioconcentracie w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 230°C/6g/1,5mm]



Rys. 212. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 211.



Rys. 213. Zawartość **kofeiny** [mg/ml] w koncentracie termicznym w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 230°C/6g/1,5mm]



Rys. 214. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 213.

### 7.3. Etap 3

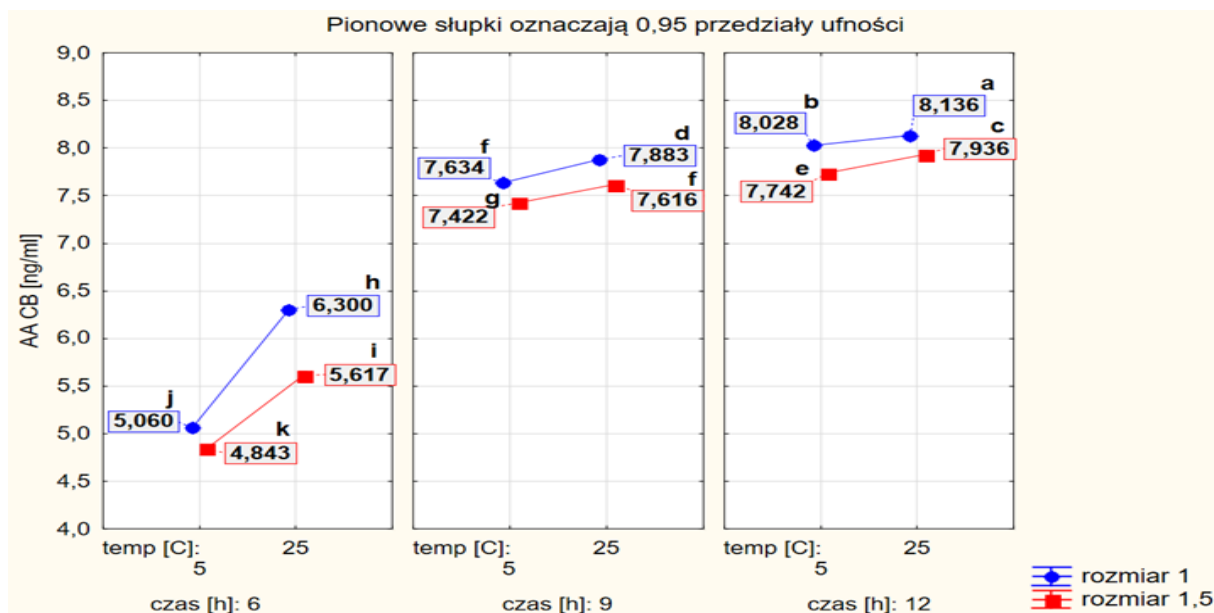
#### Analiza zawartości akrylamidu w napoju cold brew coffee

- **Stała: temperatura prażenia: 220°C**

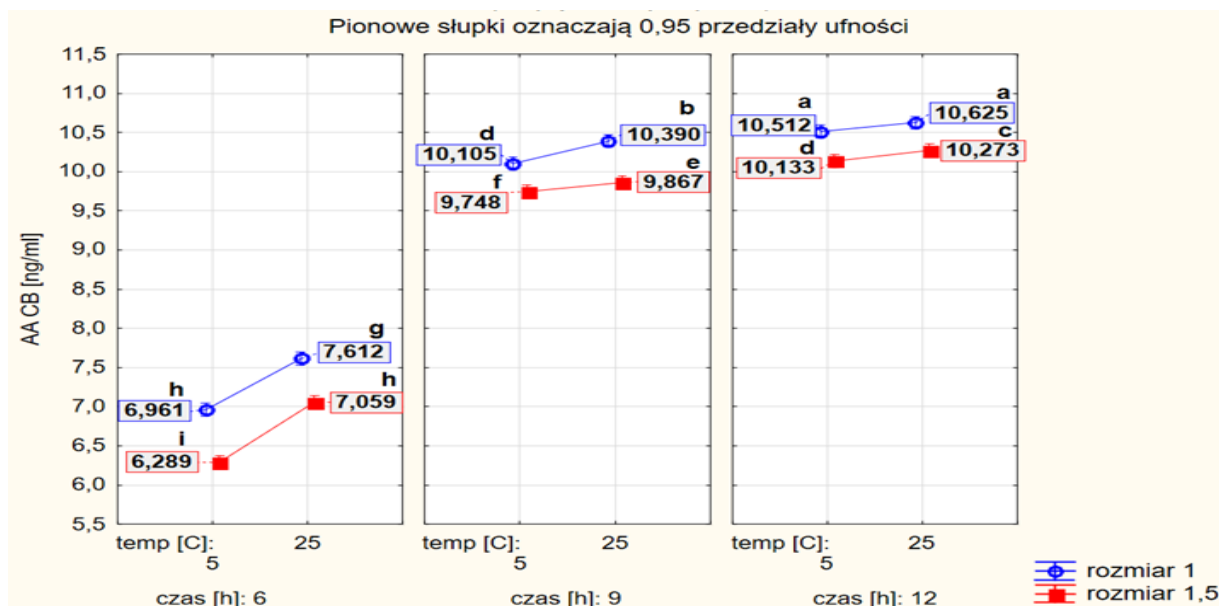
W etapie trzecim badań oznaczono akrylamid w ekstraktach typu cold brew coffee otrzymanych z kawy prażonej w 220°C i 230°C. Na podstawie analizowanych parametrów procesu ekstrakcji stwierdzono, że wzrost stężenia danego składnika miał miejsce w przypadku zastosowania najdłuższego czasu ekstrakcji w temperaturze 25°C. Kolejnym czynnikiem, który istotnie wpłynął na zwiększenie ilości tego związku był stopień rozdrobnienia ziaren kawy.

Wyniki zawartości akrylamidu po maceracji 5 gramów kawy prażonej w temperaturze 220°C przedstawiono na rysunku 215. Najwyższe stężenie akrylamidu (8,136 ng/ml) otrzymano w 12-stej godzinie ekstrakcji, w temperaturze 25°C dla kawy rozdrobnionej

do wielkości 1,0 mm. Najmniejsze (4,843 ng/ml) - w 6-stej godzinie ekstrakcji w temperaturze 5°C dla kawy rozdrobnionej do wielkości 1,5 mm.



Rys. 215. Wartości stężenia **akrylamidu** [ng/ml] w **ekstrakcie** cold brew dla profilu prażenia kawy w 220°C oraz brew:ratio 5g. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )



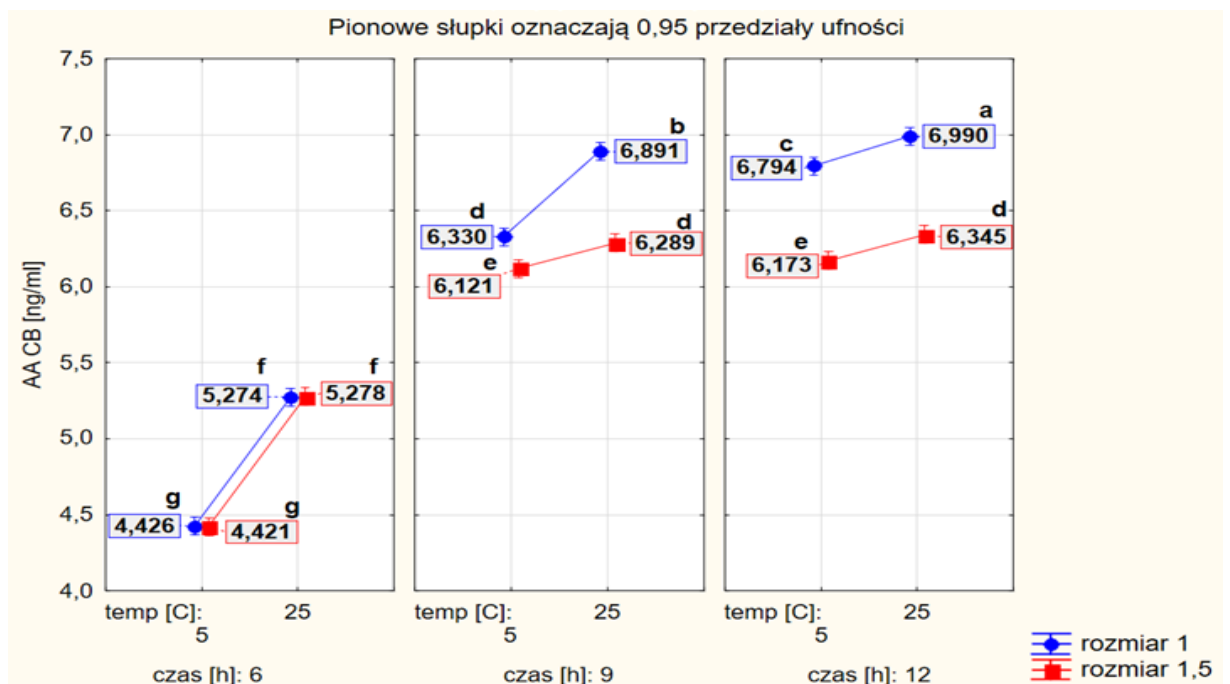
Rys. 216. Wartości stężenia **akrylamidu** [ng/ml] w **ekstrakcie** cold brew dla profilu prażenia kawy w 220°C oraz brew:ratio 6g. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )

Na podstawie analiz przeprowadzonych z próby brew:ratio na poziomie 6 gramów kawy prażonej w temperaturze 220°C, zawartość akrylamidu wzrosła średnio o 2 ng/ml (rys.216). Jego ilość wahała się od 6,289 do 10,273 ng/ml dla roztworów otrzymanych z kawy o stopniu rozdrobnienia 1,5mm oraz od 6,961 do 10,625 ng/ml dla stopnia rozdrobnienia 1,0mm. Ponadto, dla zmiennej 1,0mm zanotowano również trzy najwyższe statystycznie wartości: 10,390; 10,512 i 10,625 ng/ml. Można więc stwierdzić, że lepszy efekt prozdrowotny wynikający z mniejszego stężenia AA może mieć miejsce przy wyborze wariantu 1:20 brew:ratio (tj. 5g).

- **Stała: temperatura prażenia: 230°C**

Wyniki zawartości akrylamidu dla prób kawy prażonej w temperaturze 230°C przedstawiono na rysunku 217 oraz rysunku 218.

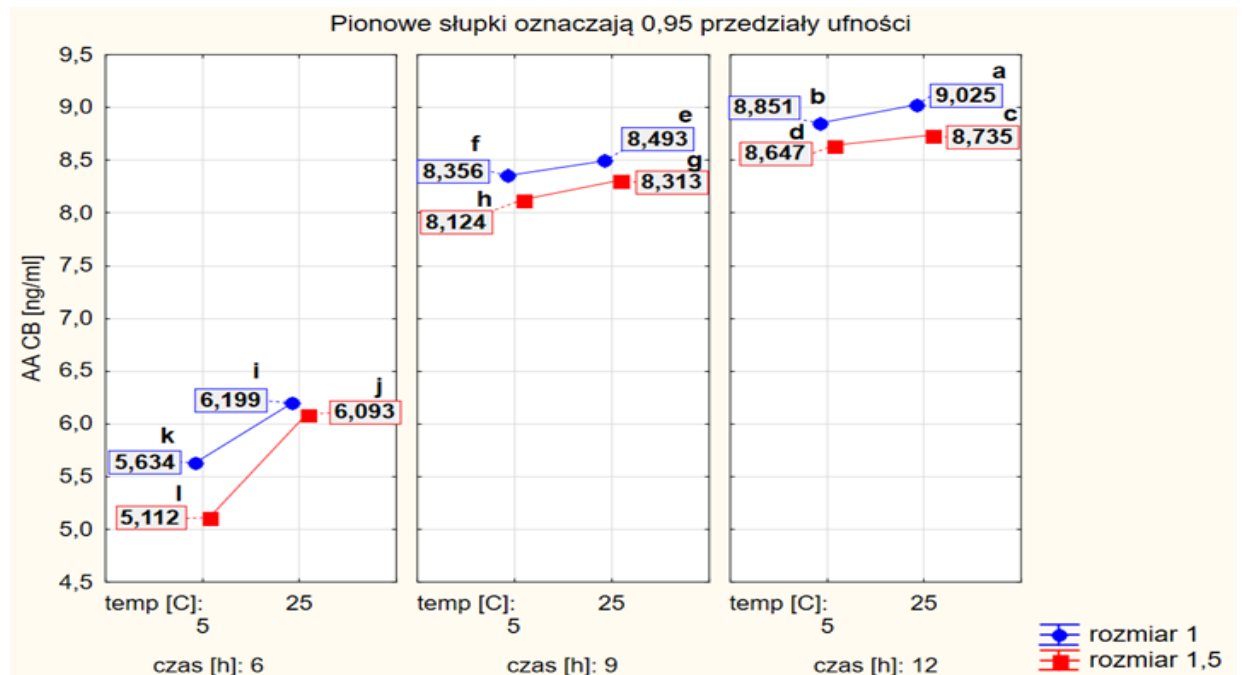
Stopień rozdrobnienia ziaren kawy nie miał statystycznie znaczenia na zawartość akrylamidu dla prób o brew:ratio wynoszącym 5g i poddanych ekstrakcji 6-cio godzinnej (rys. 217). Wyniki badań wskazują, że wydłużenie procesu maceracji wpływa na zwiększenie zawartości akrylamidu oraz zróżnicowanie jego poziomu w zależności od stopnia rozdrobnienia kawy. Wyższa zawartość akrylamidu została stwierdzona dla prób poddanych ekstrakcji w czasie 9 i 12 godzin, zaś stężenie tego związku mieściło się w zakresie od 6,330 do 6,99 ng/ml (dla stopnia rozdrobnienia na poziomie 1,0 mm). Obydwie próby doświadczenia 6h×5°C znajdują się w pierwszej grupie żywności o niskiej zawartości akrylamidu. Nieznacznie powyżej tej wartości znajdują się ekstrakty z wynikiem 5,27 ng/ml.



Rys. 217. Wartości stężenia **akrylamidu** [ng/ml] w **ekstrakcie** cold brew dla profilu prażenia kawy w 230°C oraz brew:ratio 5g. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )

W trakcie bieżącego etapu badań potwierdzono, że tworzenie się akrylamidu w żywności uzależnione jest m.in. od surowca, temperatury oraz czasu trwania procesu. Na rysunku 218 przedstawione zostały wartości stężenia akrylamidu po maceracji kawy o brew:ratio na poziomie 6g. Generalnie otrzymane roztwory odznaczały się o wiele niższym udziałem ilości rozpuszczonego akrylamidu w porównaniu do roztworów otrzymanych z kawy prażonej w 220°C. Potwierdza to, że akrylamid w wybranych warunkach środowiska może być związkiem mało stabilnym. Częściowy rozpad składnika odzwierciedlił jego stężenie w napojach od 5,112 do 9,025 ng/ml. Z zastosowanej proporcji kawy do wody (tj. brew:ratio na poziomie 6g) wynika, że w tych warunkach ekstrakcji możliwa była migracja ok. 50-75% tego związku z matrycy roślinnej. Ponadto, pomiary na każdym poziomie eksperymentu wskazują na istnienie różnic statystycznie istotnych. W efekcie wskazuje to na możliwość wykorzystania danego profilu kawy prażonej do prac optymalizacyjnych w kierunku uzyskania

jak najlepszych właściwości prozdrowotnych produktu finalnego z uwagi na względnie niski poziom akrylamidu w kawie prażonej.

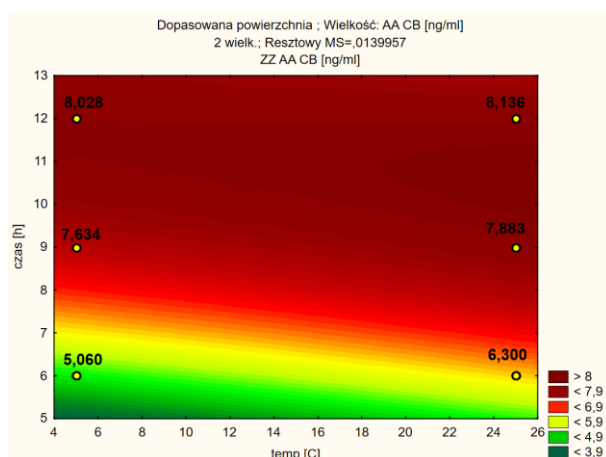


Rys. 218. Wartości stężenia **akrylamidu** [ng/ml] w **ekstrakcie** cold brew dla profilu prażenia kawy w 230°C oraz brew:ratio6g. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )

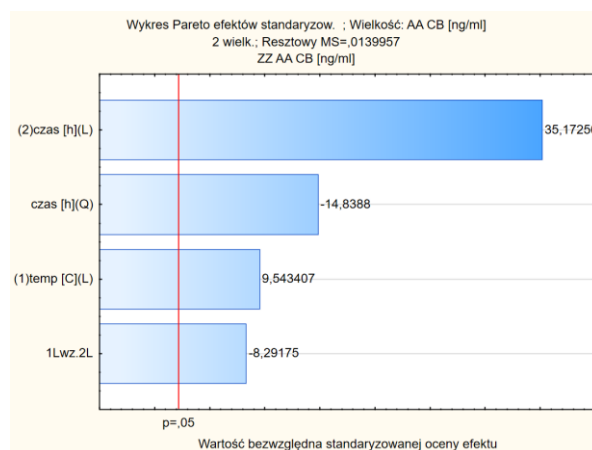
### Zawartość akrylamidu w ekstraktach cold brew wyrażona jako powierzchnie odpowiedzi RSM (zmienne: temperatura ekstrakcji 5, 25°C oraz czas ekstrakcji 6, 9, 12h)

- **Stałe: temperatura prażenia: 220°C; brew:ratio: 5g, stopień rozdrobnienia: 1 mm**

Na rysunku 219 przedstawiono wpływ środowiska ekstrakcyjnego na ilość rozpuszczonego AA z kawy ziarnistej o wielkości 1,0mm, prażonej w 220°C. Dopasowana powierzchnia wykresu wskazuje, że parametr czasu ekstrakcji [h] był zmienną najbardziej wpływową na wzrost stężenia składnika w roztworze. Względem 6-tej godziny ekstrakcji, zanotowano najmniejsze wartości AA i zaobserwowano największą różnicę stężeń pomiędzy zmienną temperatura [°C], która wyniosła 1,24 ng/ml. Średnia wartość stężenia AA w temperaturze 5°C mieściła się w zakresie od 5,060 do 8,028 ng/ml, zaś w przypadku temperatury 25°C od 6,300 do 8,136 ng/ml. Wszystkie zmienne modelu RSM miały wpływ na zawartość akrylamidu w roztworze, ale największy – czas, zarówno w aspekcie liniowym jak i kwadratowym modelu RSM (rys. 220).



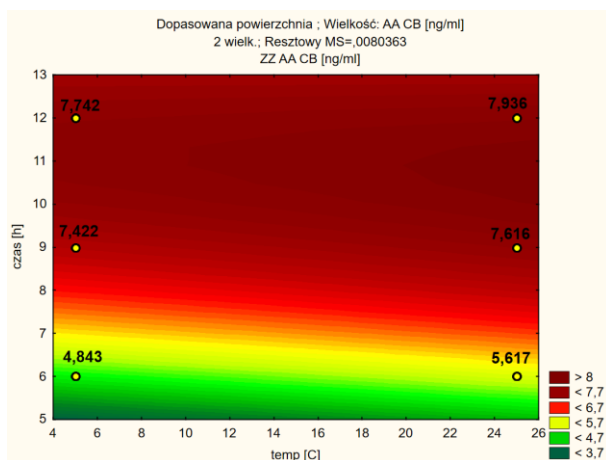
Rys. 219. Zawartość **akrylamidu** [ng/ml] **w ekstrakcie** w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 220°C/5g/1mm]



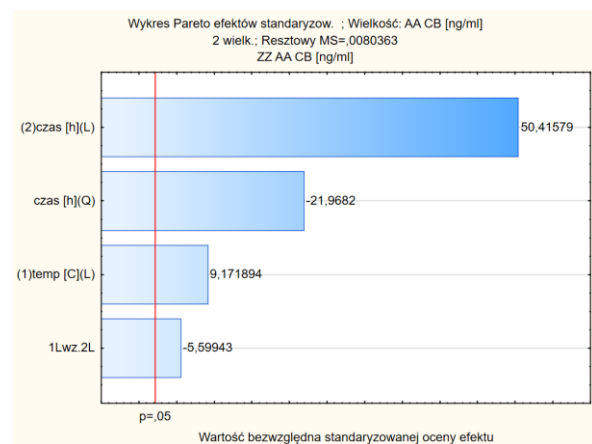
Rys. 220. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 219.

- **Stałe: temperatura prażenia: 220°C; brew:ratio: 5g, stopień rozdrobnienia: 1,5 mm**

Na podstawie wykresu Pareto (rys. 222), który dotyczy procesu ekstrakcji kawy o stopniu rozdrobnienia ziarna 1,5mm wynika, że czas [h] w wymiarze liniowym w pierwszej kolejności wpływa na ilość rozpuszczonego AA z matrycy kawy prażonej. Z analizy dopasowanej powierzchni wynika, że dla 6 godzinnej ekstrakcji stężenia akrylamidu osiągały wartości od 4,843 do 5,617 ng/ml, zaś dla 12 godzin ekstrakcji były największe i wynosiły od 7,742 do 7,936 ng/ml (rys. 221).



Rys. 221. Zawartość **akrylamidu** [ng/ml] **w ekstrakcie** w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 220°C/5g/1,5mm]



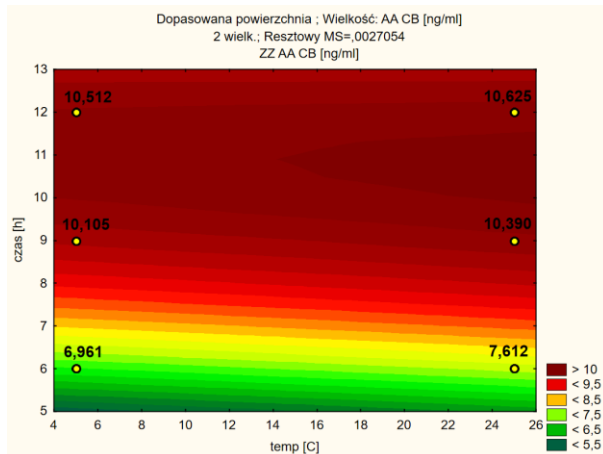
Rys. 222. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 221.

- **Stałe: temperatura prażenia: 220°C; brew:ratio: 6g, stopień rozdrobnienia: 1 mm**

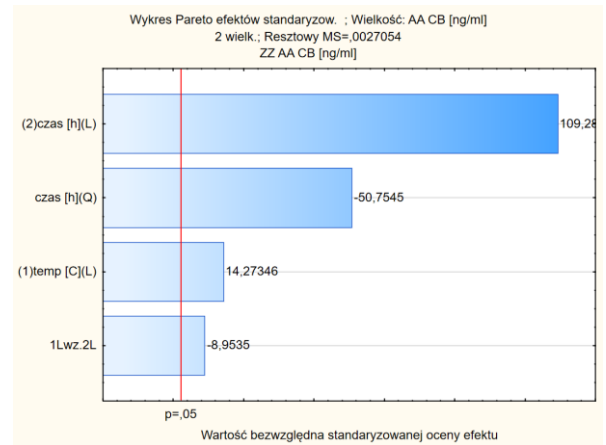
Kolejną ważną kwestią było zastosowanie wariantu brew:ratio na poziomie 6g kawy celem sprawdzenia stopnia ekstrakcji akrylamidu. Ma to znaczenie praktyczne, ponieważ zastosowana proporcja wydaje się w podobnym stopniu wykorzystywana w przemysłowej produkcji napojów typu cold brew, co poprzednia, tj. w stosunku 1:20 brew:ratio (czyli 5g kawy na 100ml roztworu).

Uzyskane wyniki wskazują na wyższy stopień ekstrakcji akrylamidu (rys. 223) w porównaniu do prób, w których zastosowano podobny stopień rozdrobnienia ziarna kawy

i brew:ratio na poziomie 5g (rys. 219). Największy wzrost zawartości składnika zaobserwowano między 6-tą a 9-tą godziną ekstrakcji. Z danych uzyskanych za pomocą RSM wynika, że w przypadku czterech wariantów doświadczenia wartość AA przekroczyła 10 ng/ml, a oznaczenia kolejno: 10,390; 10,512 i 10,625 ng/ml odzwierciedlają trzy największe zmierzone wielkości spośród wszystkich wykonanych analiz. Wpływ czasu [h] ekstrakcji na zawartość rozpuszczonego AA wykazał przeważająco istotny wpływ względem innych czynników (rys. 224). Przeprowadzone badania potwierdzają, że wraz z większą ilością kawy przeznaczoną do sporządzenia napoju (czyli gdy brew:ratio jest na poziomie 6g) wzrasta ilość akrylamidu w finalnym produkcie.



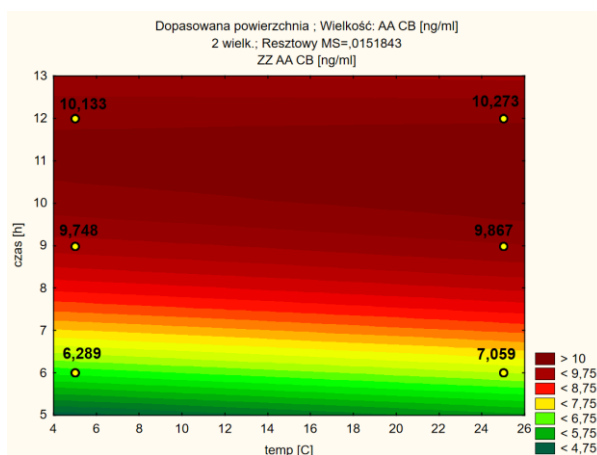
Rys. 223. Zawartość akrylamidu [ng/ml] w ekstrakcie w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 220°C/6g/1mm]



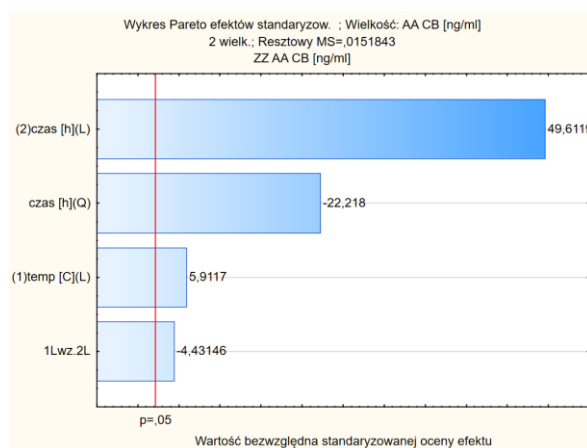
Rys. 224. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 223.

- **Stałe: temperatura prażenia: 220°C; brew:ratio: 6g, stopień rozdrobnienia: 1,5 mm**

Na rysunku 225 przedstawiono zależność pomiędzy czasem ekstrakcji a temperaturą w odniesieniu do zawartości akrylamidu w wariacie, w którym zastosowano stopień rozdrobnienia kawy na poziomie 1,5mm i prażonej w 220°C. Osiągnięto wysokie stężenia AA (od 10,133 do 10,273 ng/ml) przy najdłuższym czasie ekstrakcji wynoszącym 12 godzin. Uzyskane wyniki wskazują, że temperatura również miała istotny wpływ na zawartość akrylamidu w próbach, ale w porównaniu do zmiennej czasu, wpływ ten był znacznie mniejszy (rys. 226).



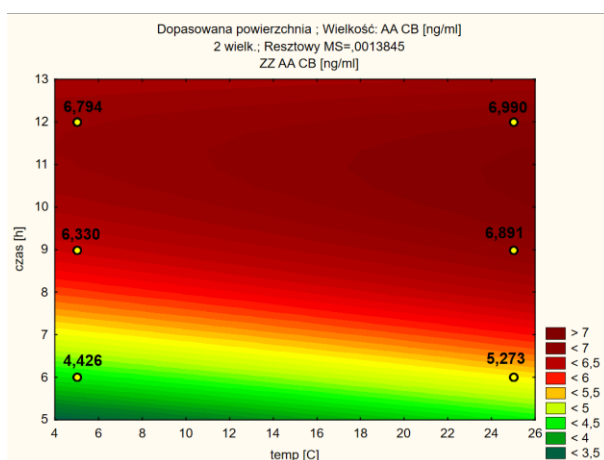
Rys. 225. Zawartość **akrylamidu** [ng/ml] w ekstrakcie w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 220°C/6g/1,5mm]



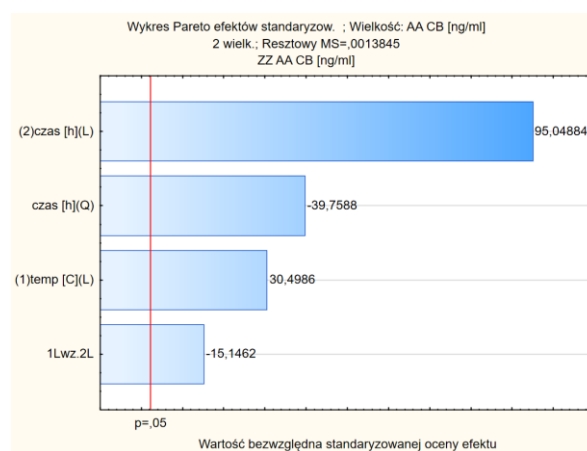
Rys. 226. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 225.

- **Stale: temperatura prażenia: 230°C; brew:ratio: 5g, stopień rozdrobnienia: 1 mm**

Na rys. 227 przedstawiono prognozowany rozkład stężenia akrylamidu w zależności od czasu i temperatury ekstrakcji dla wariantu 230°C/5g/1mm. Najniższe wartości AA (4,426-5,273 ng/ml) uzyskano w próbach, które poddane były najkrótszemu czasowi ekstrakcji. Dla dłuższych czasów ekstrakcji uzyskane wartości stężenia AA nie były na wysokim poziomie, gdyż nie przekraczały wartości 7 ng/ml. Największy wpływ na zawartość akrylamidu w ekstrakcie miał czas ekstrakcji – zarówno w liniowym jak i w kwadratowym aspekcie modelu RSM (rys. 228).



Rys. 227. Zawartość **akrylamidu** [ng/ml] w ekstrakcie w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 230°C/5g/1mm]



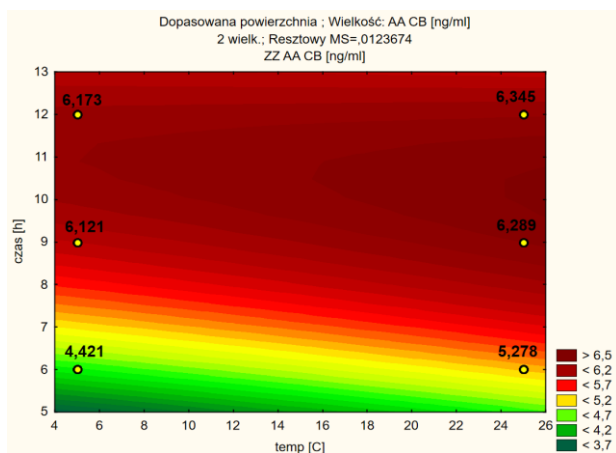
Rys. 228. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 227.

- **Stale: temperatura prażenia: 230°C; brew:ratio: 5g, stopień rozdrobnienia: 1,5 mm**

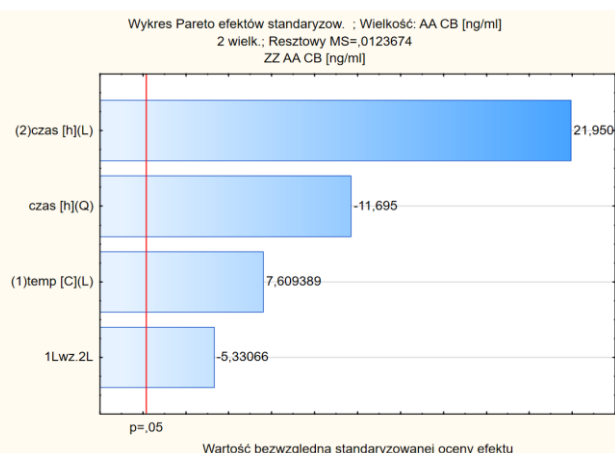
Zależność końcowego stężenia AA dla wariantu badawczego 230°C/5g/1,5mm przedstawiono na rysunku 229. Zastosowanie sześciu godzinnej ekstrakcji skutkowało uzyskaniem od 4,421 do 5,278 ng/ml akrylamidu, zaś ekstrakcja 12-sto godzinna powodowała wzrost zawartości AA kolejno o 1,75 oraz 1,07 ng/ml. W przeprowadzonym eksperymencie zaobserwować można było większą zależność stężenia akrylamidu od zmiennej czasu [h] w porównaniu zmiennej temperatury [°C] (rys. 230),



gdzie zmierzony wzrost stężenia nie przekraczał 0,86 ng/ml pomiędzy próbkami 6h×5°C oraz 6h×25°C.



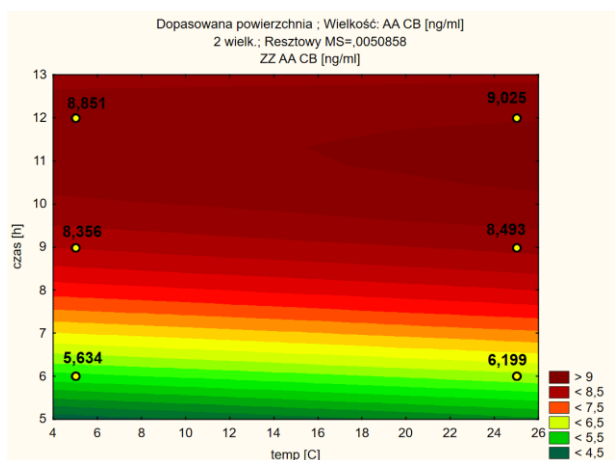
Rys. 229. Zawartość **akrylamidu** [ng/ml] **w ekstrakcie** w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 230°C/5g/1,5mm]



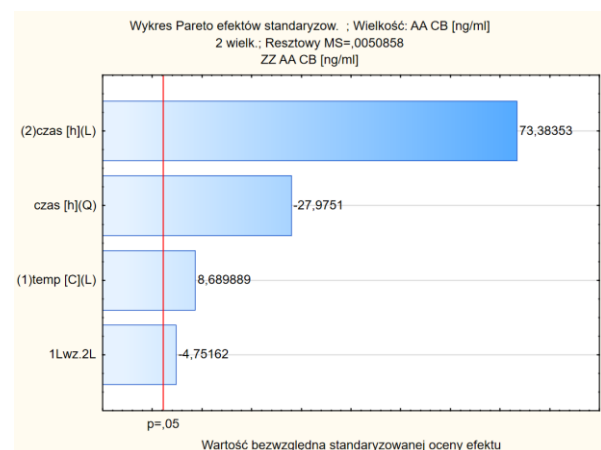
Rys. 230. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 229.

- **Stałe: temperatura prażenia: 230°C; brew:ratio: 6g, stopień rozdrobnienia: 1mm**

W kolejnej części eksperymentu, gdzie zastosowano temperaturę prażenia równą 230°C oraz brew:ratio na poziomie 6g kawy o stopniu rozdrobnienia na poziomie 1,0mm dla temperatury ekstrakcji wynoszącej 5°C uzyskano stężenie akrylamidu w zakresie od 5,634 do 8,851 ng/ml (rys. 231). Nieco wyższe wartości (dla tych samych czasów ekstrakcji) uzyskano w przypadku zastosowania temperatury ekstrakcji wynoszącej 25°C, gdyż mieściły się one w zakresie od 6,199 do 9,025 ng/ml (rys. 231). Potwierdzono tym samym praktyczne zastosowanie technologii prażenia, jako sposobu redukującego zawartość AA. W porównaniu do modeli ekstrakcji 220°C×6g×1,0mm/1,5mm w żadnym przypadku nie przekroczono stężenia 10 ng/ml. Kontur powierzchni odpowiedzi przypominający parabolę (prawy górny róg rys. 231) nieopodal wartości AA w zakresie 8,493 – 9,025 ng/ml potwierdza istotny wpływ temperatury, lecz głównym czynnikiem wpływającym na model RSM był czas ekstrakcji – zarówno w aspekcie liniowym jak i kwadratowym (rys. 232).



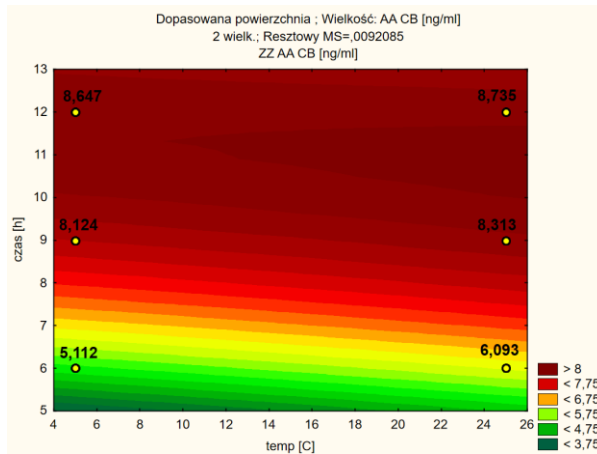
Rys. 231. Zawartość **akrylamidu** [ng/ml] **w ekstrakcie** w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 230°C/6g/1mm]



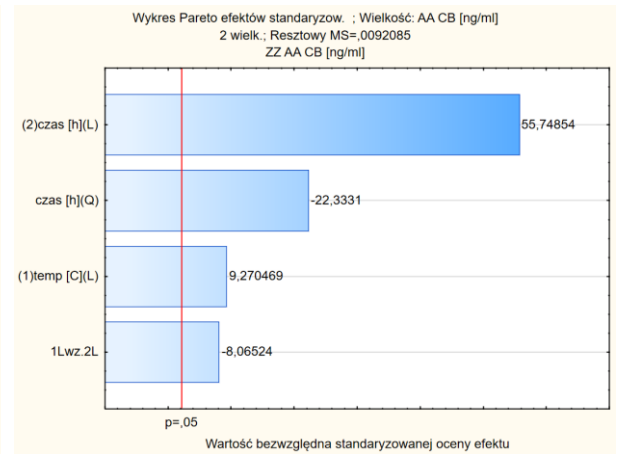
Rys. 232. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 231.

- **Stale: temperatura prażenia: 230°C; brew:ratio: 6g, stopień rozdrobnienia: 1,5mm**

Zmienność stężenia akrylamidu w zależności od czasu i temperatury ekstrakcji kawy dla wariantu 230°C/6g/1,5mm przedstawiono na rysunku 233. Wydajność rozpuszczonego w wodzie AA rosła głównie liniowo wraz ze wzrostem czasu i temperatury obróbki (rys. 234), przy czym wpływ czasu na stężenie akrylamidu był największy, zwłaszcza w pierwszych godzinach ekstrakcji. Wraz ze wzrostem długości czasu ekstrakcji w temperaturze 5°C stężenie akrylamidu rosło od wartości 5,112 do 8,647 ng/ml. Z kolei prowadzenie ekstrakcji w wyższej temperaturze (tj. 25°C) powodowało wzrost stężenia AA od 6,093 do 8,735 ng/ml.



Rys. 233. Zawartość **akrylamidu** [ng/ml] **w ekstrakcie** w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji według modelu powierzchni odpowiedzi RSM [dla wariantu: 230°C/6g/1,5mm]



Rys. 234. Wykres Pareta odnoszący się do rys. 233.

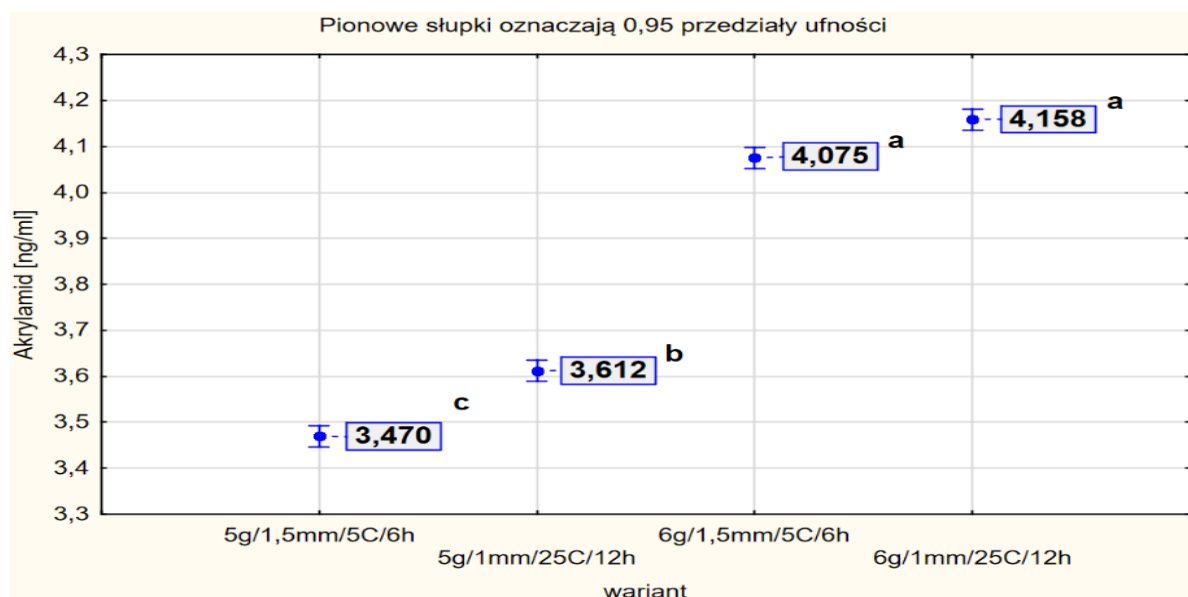
## 7.2. Etap 4

### Próba redukcji akrylamidu – instancjacja kawy cold brew coffee

W ramach zadania etapu związanego z próbą redukcji akrylamidu z zastosowaniem dwóch technik instancjacji analizowano 16 wariantów. Próby eksperymentalne zostały wyznaczone na podstawie wyników z poprzednich etapów wybierając po jednym wariancie o najmniejszej zawartości akrylamidu w kawie cold brew uwzględniając profil prażenia (220°C i 230°C) oraz stosunek brew:ratio (5g i 6g kawy) (etap 3) i największej zawartości 3-CQA po procesie koncentracji kawy cold brew dla obydwóch technik koncentracji uwzględniając profil prażenia (220°C i 230°C) oraz stosunek brew:ratio (5g i 6g kawy) (etap 2). Warto podkreślić, że z punktu widzenia nabywcy do najważniejszych czynników związanych z akceptacją nowo opracowywanych produktów, a szczególnie dla kawy, należą właściwości związane z jakością sensoryczną. Było to także przedmiotem analiz w kolejnym etapie badań, do którego wyodrębniono po cztery warianty z dwóch technik koncentracji, przeprowadzając testy organoleptyczne.

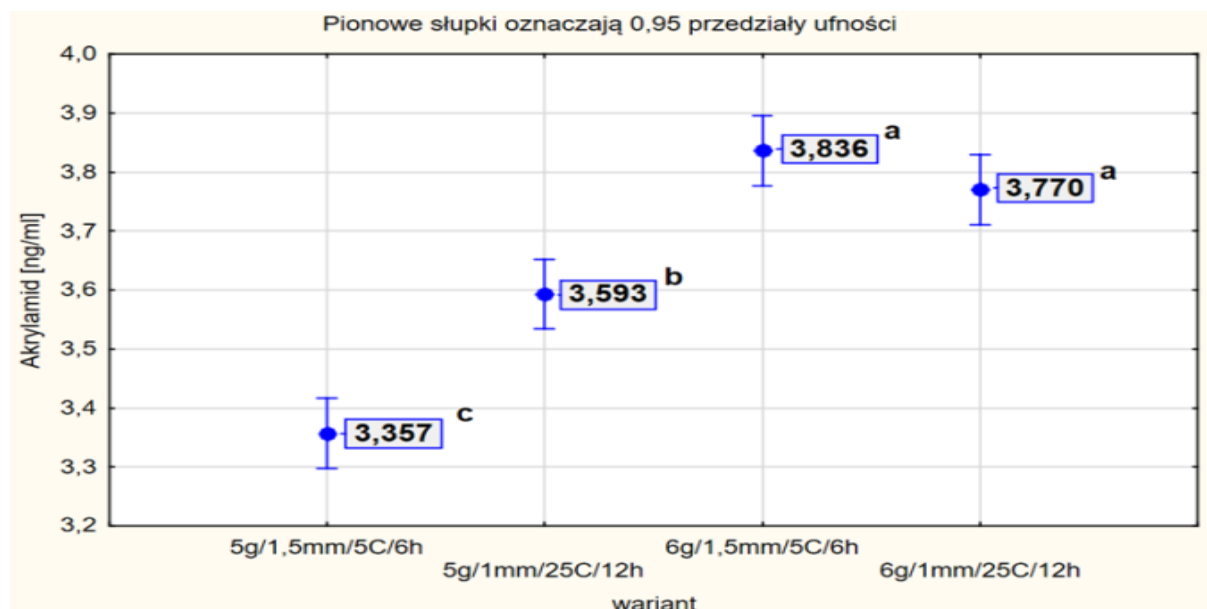
Na podstawie przeprowadzonej jednoczynnikowej analizy wariancji zaobserwowano, że średnie wyniki stężeń akrylamidu w kriokoncentratkach otrzymanych z kawy prażonej w 220°C (rys. 235) (wariant brew:ratio na poziomie 5g) odpowiadają wartościom 3,470 ng/ml oraz 3,612 ng/ml. Dla wariantu brew:ratio na poziomie 6g tego samego surowca zmierzone wartości wynoszą kolejno 4,075 ng/ml oraz 4,158 ng/ml i nie były zróżnicowane w sposób statystycznie

istotny. W porównaniu do ekstraktów wyjściowych stwierdzono wartość zredukowanego akrylamidu w ilości od ponad 1 do ponad 5 ng/ml.



Rys. 235. Wartości stężenia **akrylamidu** [ng/ml] w **kriokoncentratkach** cold brew dla profilu prażenia kawy w 220°C. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )

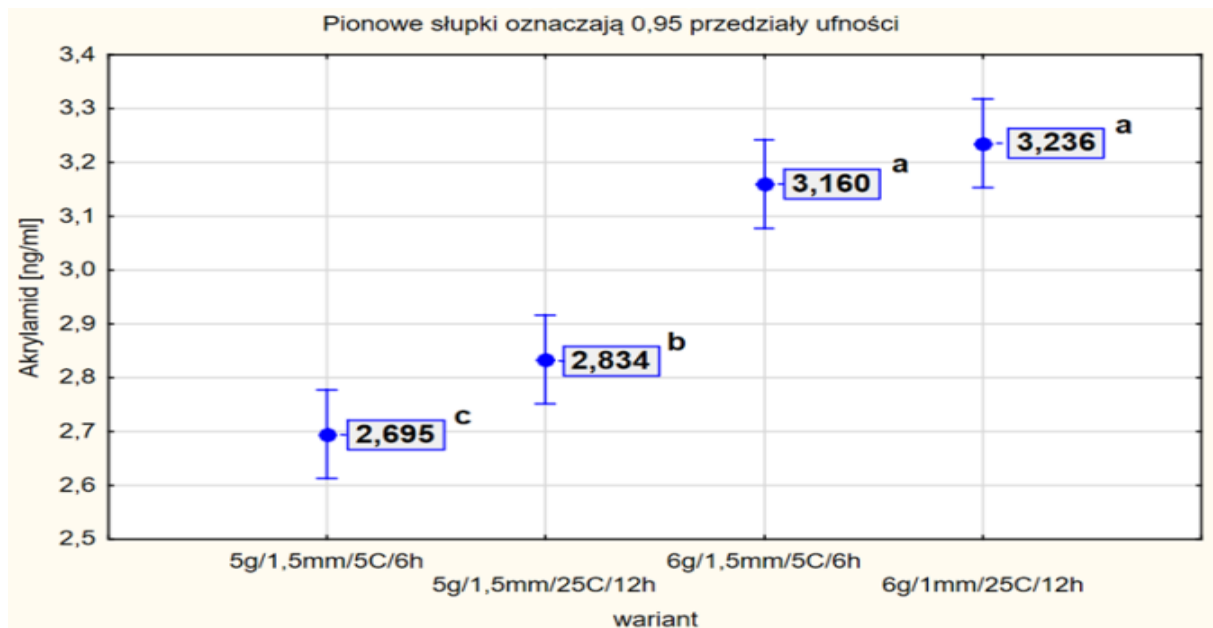
W przypadku analiz wykonanych dla kriokoncentratów otrzymanych z kawy prażonej w 230°C zaobserwowano mniejsze zróżnicowanie wyników (rys. 236), gdyż większa ilość akrylamidu przy wyższej temperaturze prażenia ziaren uległa degradacji. Średnia zawartość AA to 3,475 ng/ml dla brew:ratio 5 g kawy oraz 3,803 ng/ml dla brew:ratio 6g kawy, wobec której nie stwierdzono również różnic istotnych statystycznie pomiędzy wynikami 3,836 i 3,770 ng/ml. Na podstawie dotychczas analizowanych parametrów stężeń stwierdzono niskie zawartości akrylamidu, które wskazują na potencjał wdrożeniowy w kierunku projektowania nowych produktów.



Rys. 236. Wartości stężenia **akrylamidu** [ng/ml] w **kriokoncentratkach** cold brew dla profilu prażenia kawy w 230°C. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )

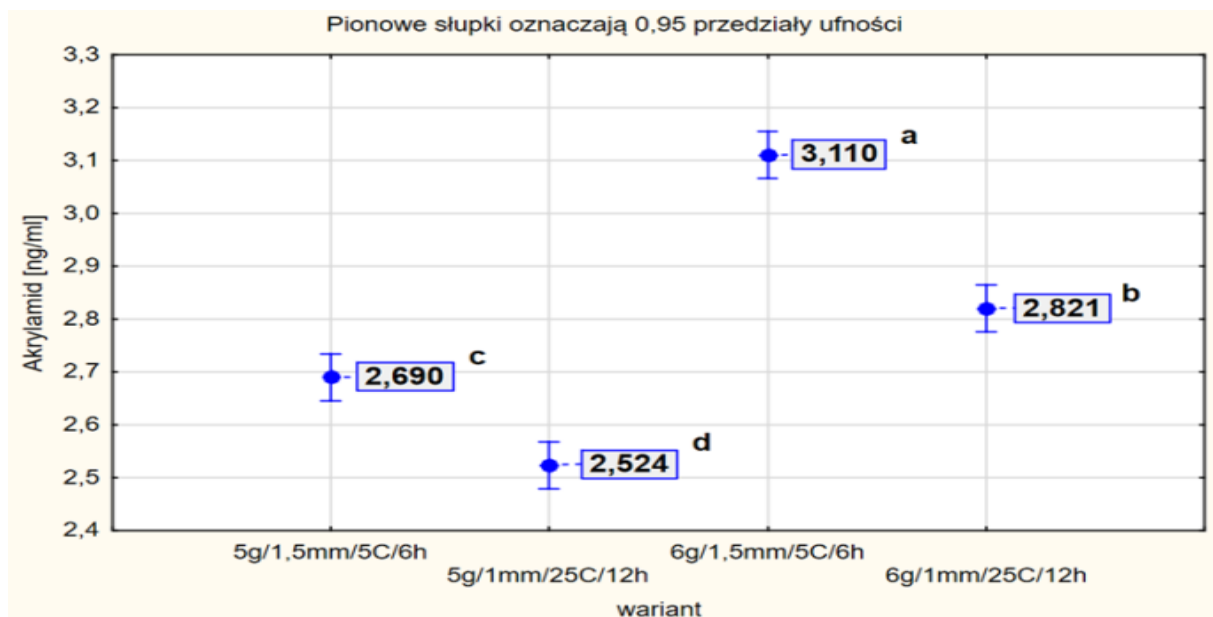
Zagęszczanie termiczne skutkowało uzyskaniem akrylamidu w zakresie od 2,695 do 3,236 ng/ml z kawy prażonej w 220°C (rys. 237). Zaobserwowano również, że większy

dodatek kawy (czyli brew:ratio na poziomie 6g) w próbach przygotowanych do procesu ekstrakcji odzwierciedlił brak różnic statystycznie istotnych – wartości 3,160 oraz 3,236 ng/ml stanowią jedną grupę jednorodną.



Rys. 237. Wartości stężenia **akrylamidu** [ng/ml] w **koncentratkach termicznych** cold brew dla profilu prażenia kawy w 220°C. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )

Dla produktów zatężanych termicznie z wykorzystaniem kawy prażonej w 230°C stwierdzono większe możliwości wdrożeniowe (rys. 238). Dla wszystkich prób uzyskano wyniki na poziomie blisko 0,85 ng/ml mniejszym w porównaniu do procesu kriokoncentracji, co wskazuje na bardzo wysoki stopień redukcji akrylamidu. Zaobserwowano również, że większy stopień rozdrobnienia, wyższa temperatura oraz 12 godzinna ekstrakcja spowodowały istotny spadek zawartości akrylamidu w koncentratkach termicznych. Najwyższą wartość AA stwierdzono po zatężeniu ekstraktu w wariacie 6g×1,5mm×5°C×6h, najniższą zaś w wariacie 5g×1,0mm×25°C×12h, które osiągnęły kolejno 3,110 ng/ml oraz 2,524 ng/ml.



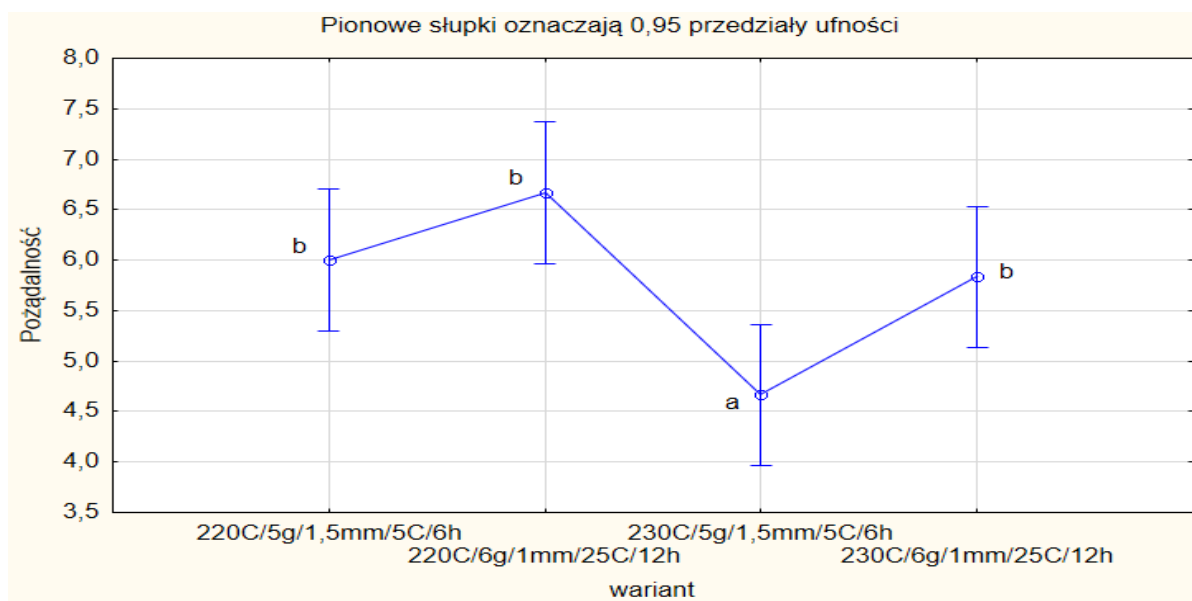
Rys. 238. Wartości stężenia **akrylamidu** [ng/ml] w **koncentratkach termicznych** cold brew dla profilu prażenia kawy w 230°C. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )

### 7.3. Etap 5

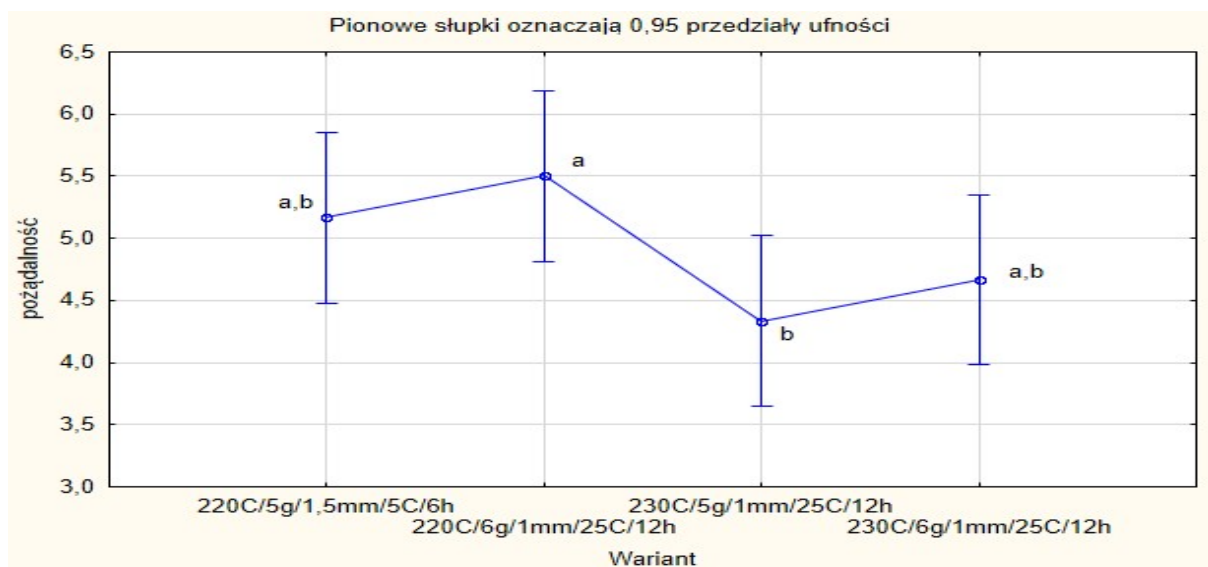
#### Wykonanie testów sensorycznych

##### Eksperska analiza pożądalności cech sensorycznych

Testy sensoryczne produktów typu „instant” cold brew coffee wskazały, że obróbka technologiczna (temperatura prażenia) oraz technika koncentracji wykonana względem wybranych modeli wyjściowych ekstraktów cold brew coffee mają istotny wpływ na stopień pożądalności czyli poziomu akceptowalności konsumenckiej. W praktyce zawodowej jeśli wskaźnik pożądalności cechy sensorycznej przyjmuje najwyższą wartość tym lepszą jakością charakteryzuje się produkt, dlatego stanowią one kluczową rolę przy wyborze finalnych koncentratów typu „liquid”. Na rysunkach 239 i 240 przedstawiono ogólną pożądalność sensoryczną różnych wariantów kawy cold brew uzyskanych zarówno metodą kriokoncentracji, oraz zateżniania termicznego ocenioną przez panel ekspertów. Generalnie wyższe wyniki pożądalności dla koncentratów otrzymano z ekstraktów kawy prażonej w 220°C. Najwyższy poziom pożądalności uzyskano dla procesu kriokoncentracji względem wariantów: 220°C×5g×1,5mm×5°C×6h oraz 220°C×6×1,0mm×25°C×12h (rys. 239). Względem wariantów 5g×1,5mm×5°C×6h otrzymanego z kawy prażonej w 220°C oraz 6×1,0mm×25°C×12h otrzymanego z kawy prażonej w temperaturze 230°C nie zanotowano różnic statystycznie istotnych pod względem ogólnej pożądalności sensorycznej.



Rys. 239. Ogólna pożądalność sensoryczna w skali 10-punktowej różnych wariantów kawy cold brew uzyskanej techniką **kriokoncentracji** – panel ekspertów. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )



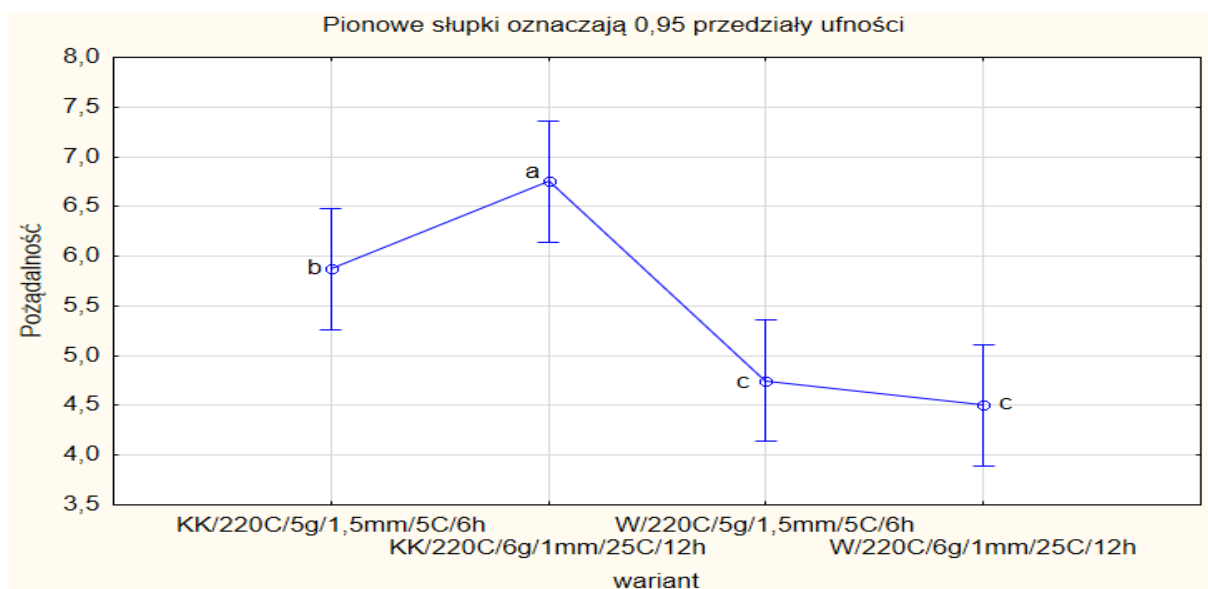
Rys. 240. Ogólna pożądalność sensoryczna w skali 10-punktowej różnych wariantów kawy cold brew uzyskanej techniką **zateżenia termicznego** - panel ekspertów. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )

Mając na uwadze praktyczne znaczenie cuppingu do następnego etapu eksperckich badań sensorycznych typu konsumenckiego posiadającego wartość wdrożeniową wyznaczono następujące warianty produktów:

- kriokoncentraty (KK) pozyskane z kawy prażonej w 220°C z modelu ekstrakcji:
  - i) 5g×1,5mm×5°C×6h,
  - ii) 6g×1,0mm×25°C×12h oraz
- koncentraty termiczne (W) pozyskane z kawy prażonej w 220°C z modelu ekstrakcji:
  - i) 5g×1,5mm×5°C×6h,
  - ii) 6g×1,0mm×25°C×12h.

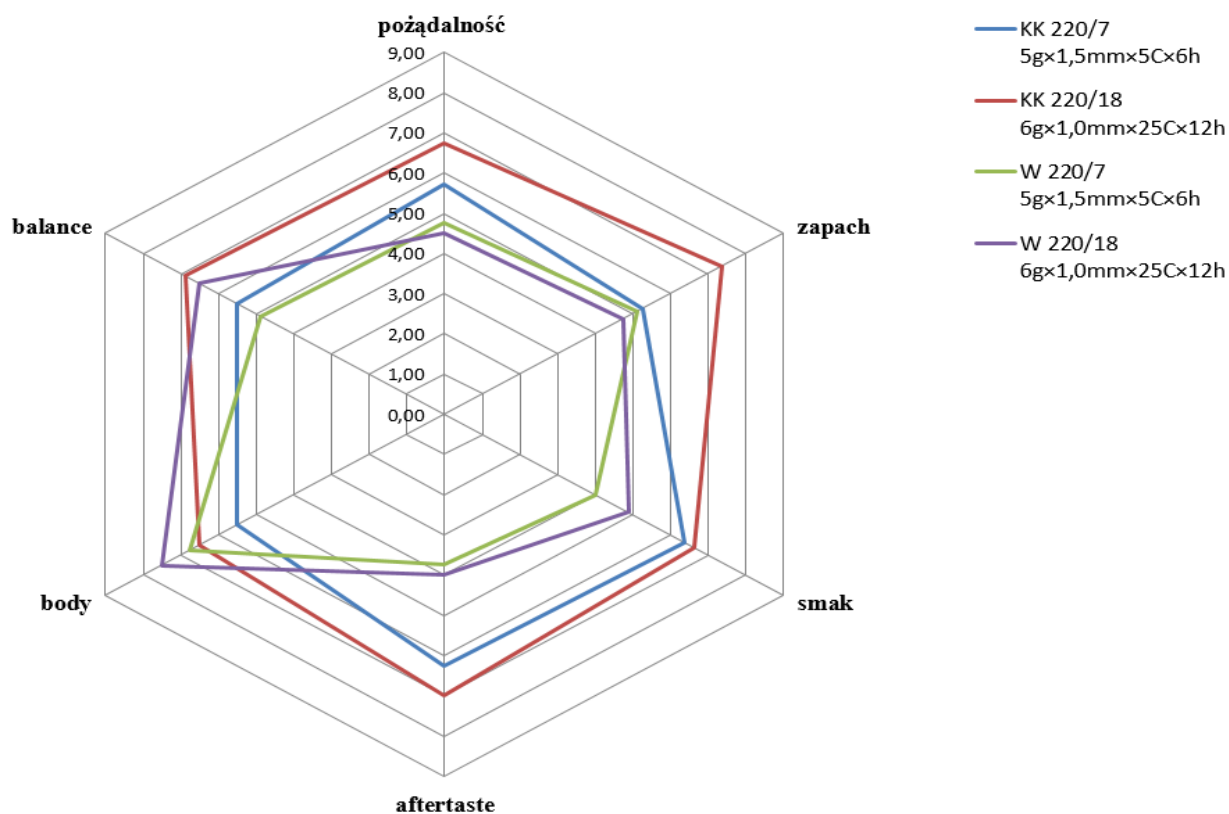
### **Eksperska analiza sensoryczna akceptacji konsumenckiej w ujęciu hedonicznym**

Na rysunku 241 przedstawiono wyniki drugiej serii konsumenckiej analizy sensorycznej przeprowadzonej przez panel ekspertów. Istotny wpływ na pożądalność produktu miała technika jego koncentracji. Wyniki badań nie wykazały statystycznej różnicy pomiędzy próbkami uzyskanymi metodą zateżenia termicznego. Na podstawie skali dziesięciopunktowej największą wartość wskaźnika zanotowano na średnim poziomie 6,75, poniżej którego odnotowano drugą wartość istotnie się różniącą (5,87). Tym samym stwierdzono, że potencjał wdrożeniowy wykazują dwa kriokoncentraty otrzymane z kawy palonej w 220°C.



Rys. 241. Ogólna pożądalność sensoryczna w skali 10-punktowej różnych wariantów kawy cold brew (prażonej w 220°C) uzyskanej techniką **kriokoncentracji** oraz **zateżenia termicznego** z ekstraktów– końcowa ekspercka analiza konsumencka. Jednakowe litery oznaczają brak różnic statystycznych ( $p < 0,05$ )

W danej części omówienia wyników wykorzystano wykresy radarowe (rys. 242-244), ponieważ są powszechnie użyteczne do celów naukowych oraz z uwagi na fakt, że przedstawiają wiele zmiennych ilościowych i ułatwiają dostrzeżenie, które z nich mają podobne wartości odzwierciedlając jednocześnie w zestawie danych wysokie i niskie oceny.



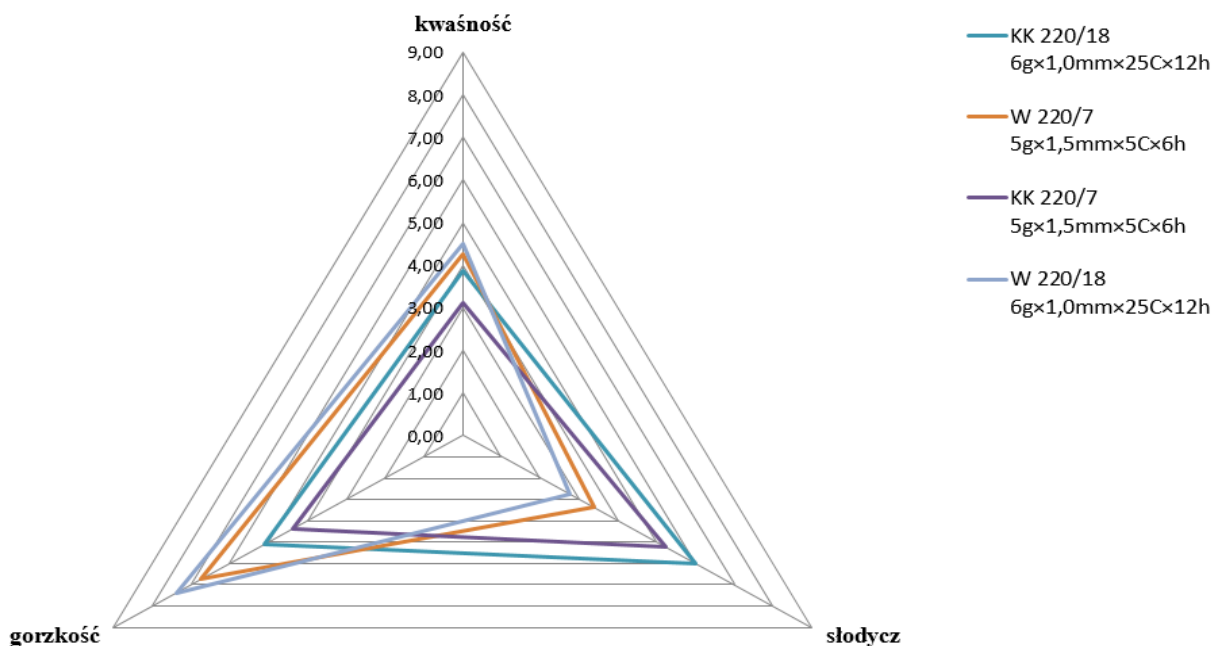
Rys. 242. Wykres radarowy odnoszący się do analizy jakości dla wybranych wariantów **kriokoncentratów** oraz dla wybranych wariantów **koncentratów termicznych**, gdzie „1” oznacza niską jakość/ pożądalność danej cechy, „10” oznacza wysoką jakość/ pożądalność danej cechy

Testy sensoryczne analizowanych produktów typu „instant” cold brew coffee wykazały, że obróbka technologiczna (temperatura prażenia) oraz sposób koncentracji ma wpływ na cechy



jakościowe ewaluowanych wyróżników (zapach, smak, aftertaste, body, balance) (rys 242). Dla kriokoncentratów otrzymano większą wartość pożądalności, co przekłada się na odbiór produktów jako bardziej przyjemnych podczas spożywania. Największe dysproporcje w analizowanych próbach (w obrębie tej samej techniki koncentracji) wobec zmiennej zapachu stwierdzono dla produktów otrzymanych w wyniku wymrażania wody. Z drugiej strony uwzględniając, że jednoczącą cechą „aftertaste” jest posmak odczuwalny *po* połknięciu napoju, można wnioskować, że jest on kolejnym wyróżnikiem decydującym o akceptacji kriokoncentrowanej kawy instant typu „liquid”. Przeprowadzone badanie świadczy o większych możliwościach modyfikacji walorów sensorycznych produktu z wykorzystaniem danej techniki. Z oceny ekspertów jednoznacznie wynika również negatywny wpływ procesu termicznej koncentracji ekstraktów cold brew coffee na zapach w otrzymanych produktach. Z kolei dla danej techniki wyniki wskazują na „rozwiniecie body” produktu, która jest pozytywnym wyznacznikiem dla jakości napojów kawowych.

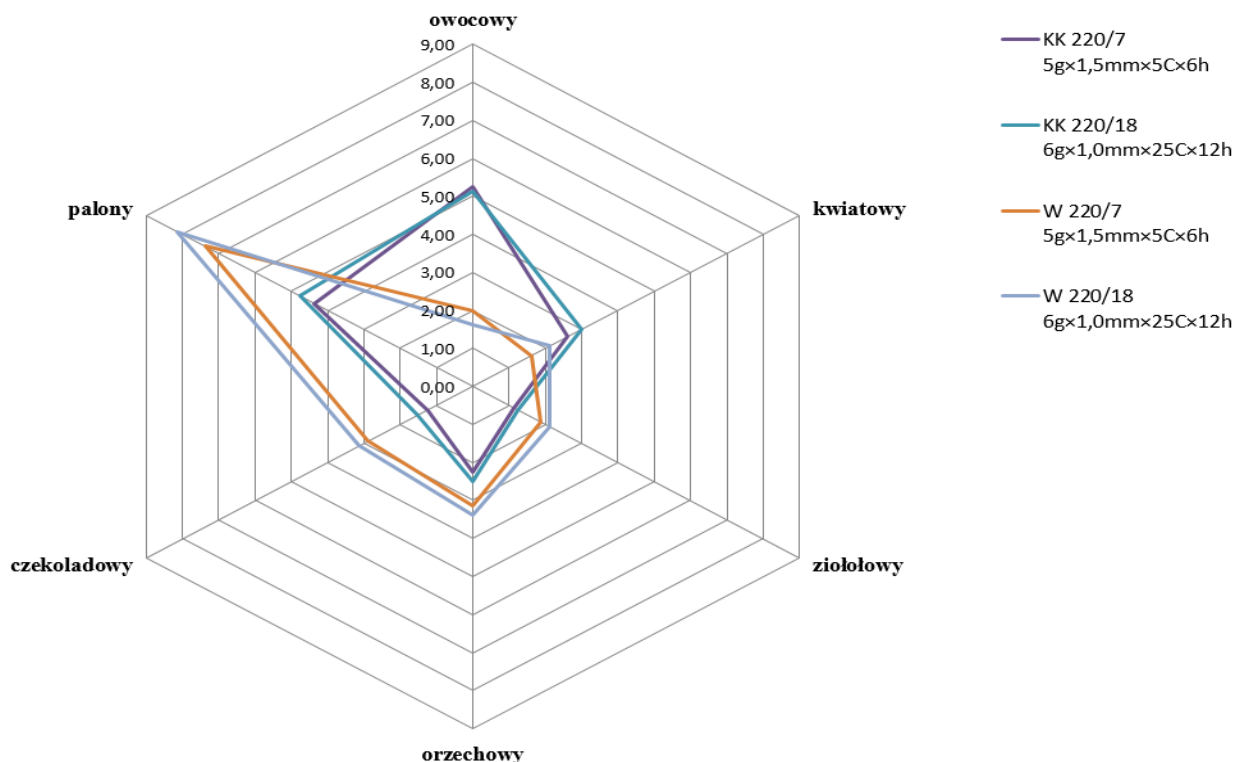
Ocenę podstawowych smaków wyrażonych w skali intensywności przedstawiono kolejno na rysunku 243. Efekt zatężania ekstraktów cold brew metodą termiczną można porównać do specyficznych smaków kawy typu espresso, dla której parametry pozyskania napoju wpływają podobnie na charakterystykę sensoryczną. Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że dla koncentratów termicznych uzyskano wysoki poziom intensywności kwaśności oraz smaku gorzkiego. Dla produktów otrzymanych techniką kriokoncentracji zaobserwowano dwa najwyższe poziomy słodczy.



Rys. 243. Wykres radarowy odnoszący się do analizy **intensywności** smaku dla wybranych wariantów **kriokoncentratów** oraz dla wybranych wariantów **koncentratów termicznych**, gdzie „1” oznacza niską intensywność danej cechy, „10” oznacza wysoką intensywność danej cechy

Analizując wyniki intensywności poszczególnych zapachów (rys. 244), należy stwierdzić, że w ocenie ekspertów aromat palony miał największe znaczenie w profilu lotnych związków organicznych względem produktów otrzymanych techniką koncentracji termicznej. Badania nad technikami zagęszczania odzwierciedliły różnice pomiędzy zapachem owocowym i czekoladowym. W konsekwencji kriokoncentracji zaobserwowano wzrost odczucia intensywności zapachu owocowego, zaś dla koncentracji termicznej - wzrost czekoladowego.

Co istotne, po procesie zagęszczania przez wymrożenie wody zaobserwowano także wyższą intensywność aromatu kwiatowego. Stwierdzono, że zachowanie kwiatowo-owocowego profilu lotnych związków w produkcie jest efektem utrzymania warunków niskotemperaturowych od etapu ekstrakcji kawy prażonej.

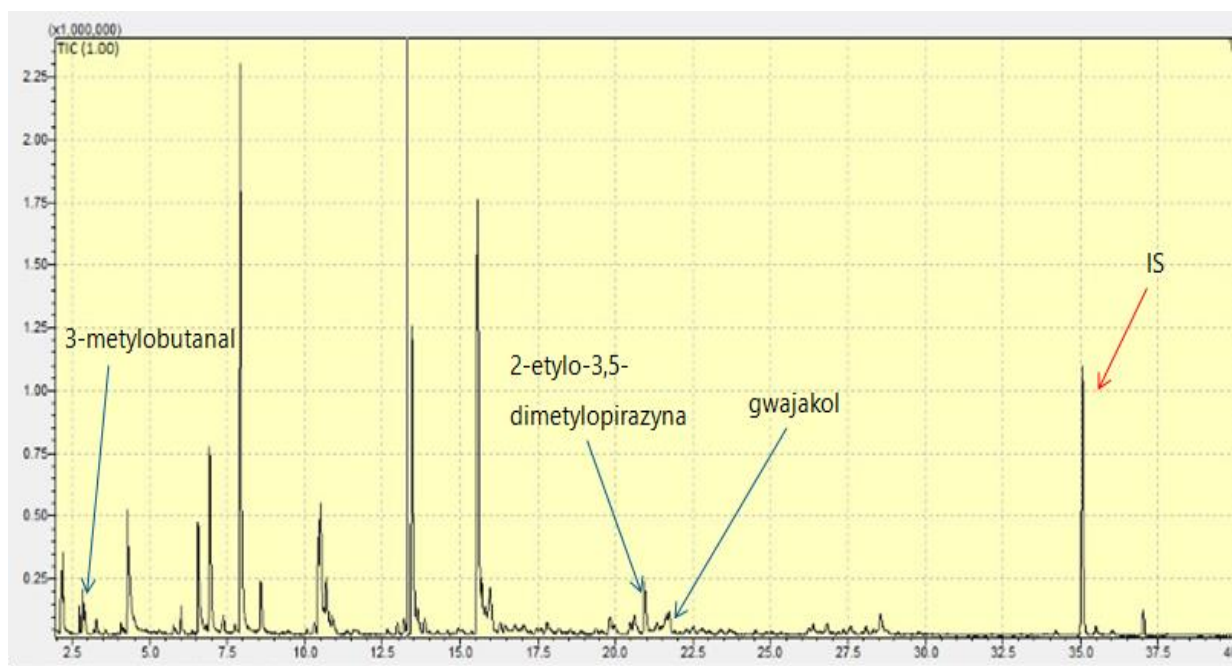


Rys. 244. Wykres radarowy odnoszący się do analizy **intensywności** aromatu dla wybranych wariantów **kriokoncentratów** oraz dla wybranych wariantów **koncentratów termicznych**, gdzie „1” oznacza brak wyczuwalnego aromatu, „10” oznacza intensywny i wyczuwalny aromat

## 7.6. Etap 6

### Analiza receptury o zwiększonych właściwościach sensorycznych. Kalkulacja OAV

Dla wybranych kriokoncentratów dokonano analizy chromatograficznej techniką SPME GC-MS celem dodatkowych badań będących uzupełnieniem do analizy sensorycznej. Zidentyfikowano 59 związków lotnych w produkcie otrzymanym z kawy prażonej w 220°C w modelu ekstrakcji 5g×1,5mm×5°C×6h oraz 60 związków w produkcie otrzymanym z kawy prażonej w 220°C w modelu ekstrakcji 6g×1,0mm×25°C×12h. (tab.1, tab.2). Względem wprowadzonego standardu wzorca wewnętrznego 2-undekanonu dokonano aproksymacji obliczeń Wartości Aktywności Aromatu (OAV- ang. Odour Activity Value). Kalkulacje przeprowadzono w celu zbadania wpływu poszczególnych związków na zapach, a pominięcie omówienia większości zidentyfikowanych związków chemicznych było zabiegiem świadomym gdy nie oczekiwano, że będą one głównym czynnikiem przyczyniającym się do powstawania zapachu odzwierciedlającego wyniki z testów sensorycznych. Biorąc powyższe pod uwagę wytypowano trzy kluczowe związki o największym wpływie na wyczuwalny aromat dla jednej receptury.



Rys. 245. Wybrany chromatogram GC-MS dla kriokoncentratu KK 220/18 – wariant  $6g \times 1,0mm \times 25^{\circ}C \times 12h$

Porównując próbki stwierdzono wysokie podobieństwo składu chemicznego związków lotnych w obu przypadkach (tab. 3, tab.4). Po procesie kriokoncentracji kaw typu cold brew największe stężenia składników zanotowano we frakcji heterocyklicznych związków furanowych, co jest zjawiskiem naturalnym (furan wraz z pochodnymi zajmuje od 20 do 50% związków chemicznych w aromacie w kawy palonej). Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że alkohol furfurylowy, którego stężenie wyniosło od 18,32 do 18,65  $\mu g/ml$  istotnie wyróżniał się poziomem stężenia na tle całej frakcji VOCs. Silny wzrost zawartości wykazano również dla octanu 2-furfurylu i 5-metylofurfuralu, które wykazują wysoce pożądany zapach o charakterze słodko-owocowym. Zajmują one ponad 30% składu związków lotnych, a ich stężenie wyniosło kolejno 16,36  $\mu g/ml$  i 13,47  $\mu g/ml$  w koncentracie z modelowego eksperymentu ekstrakcji: 5g kawy rozdrobnionej do wielkości 1,5mm, macerowanej w temperaturze  $5^{\circ}C$  przez okres 6-ciu godzin oraz 16,78  $\mu g/ml$  i 14,22  $\mu g/ml$  oznaczonego dla produktu skoncentrowanego z eksperymentu: 6g kawy rozdrobnionej do wielkości 1,0mm, macerowanej w temperaturze  $25^{\circ}C$  przez okres 12-ciu godzin.

Z analizy związków lotnych dla obydwu wariantów kaw instant cold brew można wyróżnić drugie co do wielkości zakresy stężeń, które zaobserwowano względem furfuralu i pirydyny. Pirydyna dodatkowo wyznaczała w kompozycji zapachowej znaczący wpływ na aktywność aromatu kriokoncentratów. Można to wyjaśnić ponad 80-krotnie wyższą wartością OAV względem furfuralu. Co ważne, oba składniki są przyczyną względnie nieprzyjemnego aromatu. Pirydyna wywołuje zapach prażono-gorzki, wywołujący mdłości, z kolei furfural charakteryzuje mdły, słodko-chlebowy aromat, ale w rozcieńczeniach oba składniki dają prażony, dymny karmelowo-cynamonowy aromat. W zależności od rodzaju koncentratu stężenie furfuralu wyniosło od 5,82 do 7,05  $\mu g/ml$ , pirydyny od 5,79 do 6,26  $\mu g/ml$ .

W mniejszych ilościach tj. w zakresie od 2 do 5  $\mu g/ml$  zidentyfikowano sześć związków należących do pochodnych pirazyny (pirazyna, 2-metyl; pirazyna, 2,5-dimetyl-; pirazyna, 2,6-dimetyl-; 2-etylopirazyna; pirazyna, 2-etyl-3-metyl; 2-etylo-3,5-dimetylopirazyna). Pirazyny mogą wpływać korzystnie na aromat – nadając czekoladowe i orzechowe nuty, ale w zakresie

większych stężeń przyczyniają się do powstania wrażenia ziemistego, palonego aromatu co jest charakterystyczne dla kawy robusta, która traktowana jest za odmianę gorszej jakości.

Na podstawie badań stwierdzono, że pirazyny odgrywają istotną rolę w kształtowaniu właściwości zapachowych kawy instant typu cold brew. Przykładem reprezentatywnego składnika danej frakcji wpływającego na jakość sensoryczną, zależną od stężenia i progu wyczuwalności zapachu związku jest pirazyna,2-metyl, dla której wartość OAV 1219 i 1465 wyliczono ze stężeń 3,95 ng/ml i 3,96 ng/ml. W modelowych procesach kriokoncentracji szczególna obserwacja wskazuje wartości OAV wyliczone dla 2-etylo-3,5-dimetylopirazyny, która charakteryzowała się wartością dominującą, tj. 4828 i 5118 OAV. W efekcie składnik ten charakteryzuje się najwyższym udziałem w bukiecie zapachowym pomimo 8-krotnie mniejszej ilości w porównaniu do octanu 2-furfurylu i 9-krotnie mniejszej w porównaniu do alkoholu furfurylowego.

Nieco niższą, ale wysoką wartość OAV odnotowano dla gwajakolu odpowiedzialnego za spalone, pieczone nuty aromatyczne o pikantnym charakterze. Gwajakol wraz z innymi pochodnymi metoksyfenoli powstaje w wyniku termicznej degradacji kwasów fenolowych, dlatego ich stężenia wzrastają głównie wraz z wzrostem temperatury w trakcie prażenia kawy zielonej. Indywidualne przeliczenia dla kriokoncentratów określają wartości na poziomie 2937 i 3377 OAV od stężeń kolejno 0,63 µg/ml i 0,88 µg/ml. Stwierdzono, że drugie wrażenie sensoryczne, jakie odzwierciedli produkt w trakcie konsumpcji zależy od danego związku. Jest to zgodne z powszechnie dostępną wiedzą, ponieważ gwajakol należy do niewielkiej grupy związków mających największy wpływ na aromat napoju sporządzonego z palonych ziaren kawy. Stężenie składnika również może wzrastać, gdy stosuje się wyższe temperatury ekstrakcji (przygotowanie kawy z użyciem ekspresu automatycznego lub urządzenia typu syfon).

Dalsze porównanie składników lotnych należących do pochodnych związków fenolowych wskazuje, że w obu produktach duży wpływ na aromat mają związki takie, jak 2-metoksy-4-winylofenol i 2-metoksy-4-etylofenol, gdyż mają wysoki wskaźnik OAV. Z analizy danych składników bardziej aktywny okazał się 2-metoksy-4-winylofenol, który osiągnął stężenia: 0,77 µg/ml i wartość 478 OAV. Stężenie 0,24 µg/ml oznaczone dla koncentratu powstałego z mniejszej ilości kawy użytej podczas ekstrakcji wyniosło 200 OAV. Obecność 2-metoksy-4-winylofenolu odpowiada pożądanym aromatom: goździków, prażonych owoców dzikiej róży, prażonego rokitnika. W przypadku składnika etylofenolowego zapach jest bardziej kompleksowy, a na pozytywną percepcję wrażeń ma wpływ stężenie. Dla zmierzonych wartości w niniejszym badaniu nuty 2-metoksy-4-etylofenol można opisać, jako: palone, waniliowe. W przypadku wzrostu stężenia zapach może przybierać deskrypcję aromatu sojowego, medycznego, fenolowego.

Wskazując charakterystyczny profil kawy typu cold brew oraz sporządzonego na jej bazie koncentratu należy zwrócić uwagę na składnik odpowiedzialny za nuty lub mieszaniny związków organicznych o przyjemnej woni, występujących w kwiatach lub owocach. 3-metylobutanal, będący produktem degradacji Streckera aminokwasów o rozgałęzionych łańcuchach, ustanowił maksimum zapachu o charakterze owocowym dla wariantu KK 220/18. W wyniku przeprowadzonej analizy można stwierdzić, że jest składnikiem pozbawiającym koncentrat odczucia goryczy, wpływając jednocześnie na równowagę pomiędzy aromatem owocowo-kwiatowym a czekoladowo-palonym. Stężenie składnika na poziomie 0,53 µg/ml odpowiadało wartości 2827 OAV, a stężenie 0,42 µg/ml wartości 2685 OAV.

Ponadto, 3-metylobutanal odzwierciedlił dla wariantu KK 220/7 nieco odmienny poziom wpływu na wartość aktywności zapachu z uwagi na stężenie diacetylu. Obecność tego składnika w kawie odpowiedzialna jest za nuty kojarzone m.in. z masłem lub tłuszczem. Z różnicy wskaźników aktywności aromatu wynika, że wartość diacetylu 2700 OAV była 15 większa w porównaniu do 3-metylobutanalu, co skutkowało przesunięciem pozycji aldehydu do czwartej pozycji wpływu na aromat. Z kolei, jednym z głównych składników mających oryginalny wkład do bukietu smakowo-zapachowego otrzymanych koncentratów jest heksanal. Z wyliczonej wartości OAV (557 dla stężenia 0,28  $\mu\text{g/ml}$  oraz 918 dla stężenia 0,55  $\mu\text{g/ml}$ ) składnik ten odpowiada za pożądany aromat określany jako owocowy, skoszonej trawy. Uważa się, że jest on ważny dla akceptacji konsumentów. Cechą charakterystyczną składnika jest dwubiegowy wpływ na wrażenia sensoryczne. W przypadku kaw ciemno palonych może nadawać zjełczały smak wskutek dwukrotnie większego wpływu na wartość aktywności zapachowej. W trakcie przechowywania kawy w niekontrolowanych warunkach można również zaobserwować negatywny wpływ tego związku na aromat kawy, ponieważ powstaje na drodze utleniania lipidów.

Tab. 3. Lotne związki chemiczne oznaczone z wykorzystaniem analizy chromatograficznej techniką SPME GC-MS występujące w aromacie kawy cold brew dla wariantu próby prażonej w 220°C i w odniesieniu do modelu ekstrakcji 6g×1,0mm×25°C×12h

KK 220/18											
lp.	czas retencji	nazwa związku	pow. piksu	%	indeks retencji	µg/ml	identyfikacja	Numer CAS	µg/g	OT [µg/g]	OAV
1	2,165	diacetyl	116096	0,22	595	0,25	RI, MS, IS	431-03-8	0,47	0,001	472
2	2,229	2-butanon	65193	0,13	598	0,14	RI, MS, IS	78-93-3	0,26	7	0
3	2,774	aldehyd izowale rianowy (3-metylobutanal)	240203	0,46	652	0,53	RI, MS, IS	590-86-3	0,99	0,00035	2827
4	3,216	2-pentanon	21662	0,04	685	0,05	RI, MS, IS	107-87-9	0,09	0,01	9
5	3,323	2,3-pentanodion	124275	0,24	695	0,28	RI, MS, IS	600-14-6	0,52	0,02	26
6	3,587	acetoina	36417	0,07	713	0,08	RI, MS, IS	513-86-0	0,14	0,014	10
7	4,087	pirazyna	99228	0,19	736	0,22	RI, MS, IS	290-37-9	0,41	75	0
8	4,297	Pirydyna	2862260	5,53	746	6,26	RI, MS, IS	110-86-1	11,59	0,0079	1467
9	5,374	3-heksanon	20933	0,04	784	0,04	RI, MS, IS	589-38-8	0,08	0,041	2
10	5,831	n-heksanal + 3,4-heksanodion	234418	0,46	801	0,55	RI, MS, IS	66-25-1	1,01	0,0011	918
11	6,062	dihydro-2-metylo-3-furanon	285541	0,55	810	0,64	RI, MS, IS	3188-00-9	1,19	0,005	238
12	6,385	4-metylotiazol	50676	0,10	816	0,11	RI, MS, IS	693-95-8	0,20	0,055	4
13	6,494	pirydyna, 2-metyl-	15249	0,03	818	0,03	RI, MS, IS	109-06-8	0,06	0,01	6
14	6,605	pirazyna, 2-methyl	1796664	3,47	829	3,95	RI, MS, IS	109-08-0	7,31	0,006	1219
15	7,007	furfural	3210285	6,21	833	7,05	RI, MS, IS	98-01-1	13,06	0,77	17
16	7,38	kwasy izowale rianowy	55657	0,11	858	0,13	RI, MS, IS	503-74-2	0,24	0,012	20
17	7,702	trimetyloksazol	52065	0,10	852	0,12	RI, MS, IS	20662-84-4	0,22	0,017	13
18	7,991	alkohol furfurylowy	8418853	16,28	860	18,65	RI, MS, IS	98-00-0	34,54	1,9	18
19	8,646	2,4-pentanodion (acetyloacetoni)	387756	0,75	870	0,87	RI, MS, IS	592-20-1	1,62	0,04	40
20	10,409	mrówczan furfurylu	67348	0,13	902	0,16	RI, MS, IS	13493-97-5	0,29	-	-
21	10,487	pirazyna, 2,5-dimetyl-	1167097	2,26	916	2,55	RI, MS, IS	123-32-0	4,73	0,08	59
22	10,571	pirazyna, 2,6-dimetyl-	1821341	3,52	916	3,97	RI, MS, IS	108-50-9	7,35	0,4	18
23	10,68	pirazyna, 2,5-dimetyl-	181281	0,35	915	0,36	RI, MS, IS	123-32-0	0,67	0,8	1
24	10,761	2-etylopirazyna	933971	1,80	920	2,00	RI, MS, IS	13925-00-3	3,71	4	1
25	10,937	pirazyna, 2,3-dimetyl-	276738	0,53	921	0,59	RI, MS, IS	5910-89-4	1,09	0,4	3
26	11,628	pirazyna, 2-winylo-	165439	0,33	946	0,37	RI, MS, IS	4177-16-6	0,69	0,7	1
27	12,689	2,5-dimetylo-3(2H)-furanon	129749	0,25	944	0,28	RI, MS, IS	14400-67-0	0,53	-	-
28	13,072	2-furyloaceton	203446	0,39	952	0,45	RI, MS, IS	6975-60-6	0,83	-	-
29	13,298	benzaldehyd	334609	0,65	962	0,75	RI, MS, IS	100-52-7	1,39	0,024	58
30	13,551	5-metylofurfural	6484586	12,54	964	14,22	RI, MS, IS	620-02-0	26,33	0,5	53
31	13,936	2-butanon, 1-(acetyloksy)-	192701	0,37	967	0,43	RI, MS, IS	1575-57-1	0,80	-	-
32	15,041	fenol	176063	0,34	981	0,40	RI, MS, IS	108-95-2	0,74	0,031	24
33	15,674	octan-2-furfurylu	7644320	14,78	995	16,78	RI, MS, IS	623-17-6	31,07	0,1	311
34	15,772	5-etylo-2-metylopirazyna	637396	1,22	1005	1,28	RI, MS, IS	13360-64-0	2,37	0,016	148
35	15,874	2,3,5-trimetylopirazyna	523725	1,01	1004	1,08	RI, MS, IS	14667-55-1	2,00	0,023	87
36	16,085	pirazyna, 2-etylo-3-metyl	1032540	1,99	1016	2,14	RI, MS, IS	15707-23-0	3,97	0,13	31
37	16,502	pirol-2-karboksyaldehyd	308848	0,60	1014	0,68	RI, MS, IS	1003-29-8	1,26	65	0
38	16,991	Pyrazyna, 2-methyl-5-vinylo-	92582	0,18	1030	0,21	RI, MS, IS	13925-08-1	0,39	0,7	1
39	17,139	4(H)-pirydyna, N-acetyl	264542	0,52	1032	0,59	RI, MS, IS	67402-83-9	1,10	0,02	55
40	17,908	2-Acetylopirydyna	125537	0,24	1034	0,27	RI, MS, IS	1122-62-9	0,51	0,019	27
41	18,279	2-acetyl-5-metylofuran	159348	0,31	1039	0,34	RI, MS, IS	1193-79-9	0,64	-	-
42	18,389	4-heksanolid	31317	0,06	1056	0,08	RI, MS, IS	695-06-7	0,14	0,05	3
43	18,644	2,5-furanokarboksyaldehyd	157832	0,30	1076	0,35	RI, MS, IS	823-82-5	0,65	-	-
44	19,455	2-butanon, 1-(2-furanyl)-	135862	0,27	1069	0,31	RI, MS, IS	4208-63-3	0,57	-	-
45	19,881	2-acetylopirol	572114	1,10	1065	1,24	RI, MS, IS	1072-83-9	2,30	58	0
46	20,07	5-metylo-2-(metylotio)furan	209205	0,41	1080	0,46	RI, MS, IS	13679-60-2	0,86	-	-
47	20,592	trans-linalol	256725	0,49	1086	0,59	RI, MS, IS	11063-78-8	1,09	0,007	155
48	20,714	2-acetyl-N-metylopirol	544809	1,05	1091	1,19	RI, MS, IS	932-16-1	2,21	51	0,04
49	21,03	2-etylo-3,5-dimetylopirazyna	1187270	2,30	1091	2,61	RI, MS, IS	13925-07-0	4,83	0,001	4828
50	21,236	2-acetylotiofen	56235	0,11	1092	0,13	RI, MS, IS	88-15-3	0,24	0,084	3
51	21,736	gwajakol	399607	0,77	1090	0,88	RI, MS, IS	90-05-1	1,62	0,00048	3377
52	21,845	Propionian furfurylu	398778	0,77	1097	0,87	RI, MS, IS	623-19-8	1,62	-	-
53	23,484	etanon, 1-(3-metylopirazyna)-	115451	0,22	1130	0,25	RI, MS, IS	23787-80-6	0,46	0,02	23
54	23,74	acetylo-, metylopirazyna, nieznanym izomer	145600	0,29	1134	0,31	RI, MS, IS	-	0,58	-	-
55	26,447	2-metylo-3,5-dietylopirazyna	153421	0,30	1152	0,33	RI, MS, IS	18138-05-1	0,61	0,001	610
56	28,191	N-furfurylopirol	324037	0,62	1170	0,71	RI, MS, IS	1438-94-4	1,31	0,1	13
57	34,301	2-metoksy-4-etylofenol	152831	0,30	1282	0,34	RI, MS, IS	2785-89-9	0,64	0,0044	145
58	35,166	wzorzec	5286725	10,18	1294	-	-	-	-	-	-
59	35,566	eter difurfurylowy	263881	0,51	1299	0,57	RI, MS, IS	4437-22-3	1,06	-	-
60	36,081	2-metoksy-4-winylofenol	347094	0,67	1316	0,77	RI, MS, IS	7786-61-0	1,43	0,003	478

Tab. 4. Lotne związki chemiczne oznaczone z wykorzystaniem analizy chromatograficznej techniką SPME GC-MS występujące w aromacie kawy cold brew dla wariantu próby prażonej w 220°C i w odniesieniu do modelu ekstrakcji 5g×1,5mm×5°C×6h

KK 220/7											
lp.	czas retencji	nazwa związku	pow. piku	%	indeks retencji	µg/ml	identyfikacja	Numer CAS	µg/g	OT [µg/g]	OAV
1	2,161	diace tyl	545992	1,06	595	1,22	RI, MS, IS	431-03-8	2,70	0,001	2700
2	2,192	2-butanon	542666	1,05	598	1,20	RI, MS, IS	78-93-3	2,67	7	0
3	2,732	aldeh yd izowale rianowy (3-metylobutanal)	191706	0,37	652	0,42	RI, MS, IS	590-86-3	0,94	0,00035	2685
4	3,18	2-pentanon	40607	0,08	685	0,09	RI, MS, IS	107-87-9	0,20	0,01	20
5	3,277	2,3-pentanodion	145196	0,28	695	0,31	RI, MS, IS	600-14-6	0,69	0,02	35
6	3,567	acetoina	57041	0,115	713	0,13	RI, MS, IS	513-86-0	0,29	0,014	21
7	4,064	pirazyna	127527	0,245	736	0,28	RI, MS, IS	290-37-9	0,62	75	0
8	4,281	Pirydyna	2682251	5,18	766	5,79	RI, MS, IS	110-86-1	12,87	0,0079	1630
9	5,314	3-heksanon	39354	0,075	790	0,08	RI, MS, IS	589-38-8	0,18	0,041	4
10	5,775	n-heksanal + 3,4-heksanonidion	126383	0,245	800	0,28	RI, MS, IS	66-25-1	0,61	0,0011	557
11	5,998	dihydro-2-metylo-3-furanon	334114	0,645	807	0,72	RI, MS, IS	3188-00-9	1,61	0,005	321
12	6,361	4-metylotiazol	34655	0,065	815	0,07	RI, MS, IS	693-95-8	0,16	0,055	3
13	6,508	pirydyna, 2-metyl-	17031	0,03	816	0,03	RI, MS, IS	109-06-8	0,08	0,01	8
14	6,548	pirazyna, 2-methyl	1810573	3,5	829	3,96	RI, MS, IS	109-08-0	8,79	0,006	1465
15	6,932	furfural	2678468	5,175	834	5,82	RI, MS, IS	98-01-1	12,94	0,77	17
16	7,381	kwasi zowale rianowy	320429	0,62	842	0,69	RI, MS, IS	503-74-2	1,53	0,012	128
17	7,756	trimetyloksazol	131870	0,255	848	0,27	RI, MS, IS	20662-84-4	0,59	0,017	35
18	7,911	alkohol furfurylowy	8423692	16,275	853	18,32	RI, MS, IS	98-00-0	40,70	1,9	21
19	8,571	2,4-pentanodion (acetyloacetone)	814339	1,575	867	1,76	RI, MS, IS	592-20-1	3,92	0,04	98
20	10,305	mrowczan furfurylu	190028	0,37	906	0,41	RI, MS, IS	13493-97-5	0,92	-	-
21	10,414	pirazina, 2,5-dimetyl-	1132479	2,19	908	2,49	RI, MS, IS	123-32-0	5,54	0,08	69
22	10,494	pirazina, 2,6-dimetyl-	2073652	4,02	910	4,68	RI, MS, IS	108-50-9	10,40	0,4	26
23	10,618	pirazina, 2,5-dimetyl-	230738	0,445	915	0,53	RI, MS, IS	123-32-0	1,18	0,8	1
24	10,682	2-etylopirazina	1016050	1,97	918	2,27	RI, MS, IS	13925-00-3	5,05	4	1
25	10,877	pirazina, 2,3-dimetyl-	277007	0,535	921	0,61	RI, MS, IS	5910-89-4	1,35	0,4	3
26	11,674	pirazyna, 2-winylo-	62035	0,12	939	0,13	RI, MS, IS	4177-16-6	0,29	0,7	0
27	12,648	2,5-dimetylo-3(2H)-furanon	127375	0,245	946	0,28	RI, MS, IS	14400-67-0	0,61	-	-
28	12,979	2-furyloacetone	198667	0,385	952	0,43	RI, MS, IS	6975-60-6	0,95	-	-
29	13,2	benzaldehyd	287839	0,555	955	0,62	RI, MS, IS	100-52-7	1,38	0,024	57
30	13,445	5-metylofurfural	6207549	11,995	962	13,47	RI, MS, IS	620-02-0	29,93	0,5	60
31	13,847	2-butanon, 1-(acetyloksy)-	243946	0,47	966	0,53	RI, MS, IS	1575-57-1	1,18	-	-
32	14,937	fenol	124873	0,24	985	0,27	RI, MS, IS	108-95-2	0,61	0,031	20
33	15,563	oetan 2-furfurylu	7493378	14,485	996	16,36	RI, MS, IS	623-17-6	36,36	0,1	364
34	15,686	5-etylo-2-metylopirazyna	760307	1,475	1003	1,75	RI, MS, IS	13360-64-0	3,88	0,016	242
35	15,796	2,3,5-trimetylopirazyna	376444	0,735	1004	0,90	RI, MS, IS	14667-55-1	2,01	0,023	87
36	15,968	pirazyna, 2-etylo-3-metyl	1186645	2,295	1014	2,62	RI, MS, IS	15707-23-0	5,82	0,13	45
37	16,448	pirol-2-karboksyaldeh yd	142527	0,275	1016	0,30	RI, MS, IS	1003-29-8	0,66	65	0
38	16,939	Pyrazina, 2-methyl-5-vinylo-	39522	0,075	1020	0,08	RI, MS, IS	13925-08-1	0,18	0,7	0
39	17,05	4(H)-pirydyna, N-acetyl	156009	0,3	1022	0,32	RI, MS, IS	67402-83-9	0,70	0,02	35
40	17,801	2-Acetylopirydyna	292356	0,56	1030	0,61	RI, MS, IS	1122-62-9	1,36	0,019	71
41	18,193	2-acetyl-5-metylofuran	124197	0,24	1036	0,27	RI, MS, IS	1193-79-9	0,59	-	-
42	18,342	4-heksanolid	26306	0,05	1038	0,06	RI, MS, IS	695-06-7	0,13	0,05	3
43	18,537	2,5-furanokarboksyaldeh yd	86121	0,165	1041	0,18	RI, MS, IS	823-82-5	0,41	-	-
44	19,535	2-butanon, 1-(2-furanylo)-	94476	0,185	1056	0,21	RI, MS, IS	4208-63-3	0,47	-	-
45	19,831	2-acetylpirol	451507	0,87	1062	0,95	RI, MS, IS	1072-83-9	2,11	58	0
46	19,974	5-metylo-2-(metylotio)furan	141820	0,275	1068	0,31	RI, MS, IS	13679-60-2	0,69	-	-
47	20,483	trans-linalol	224071	0,43	1076	0,48	RI, MS, IS	11063-78-8	1,07	0,007	153
48	20,615	2-acetyl-N-metylopirol	493393	0,95	1078	1,05	RI, MS, IS	932-16-1	2,34	51	0
49	20,945	2-etylo-3,5-dimetylopirazyna	1072976	2,075	1081	2,30	RI, MS, IS	13925-07-0	5,12	0,001	5118
50	21,341	2-acetylotiofen	123884	0,24	1084	0,27	RI, MS, IS	88-15-3	0,60	0,084	7
51	21,629	gwajakol	287512	0,555	1088	0,63	RI, MS, IS	90-05-1	1,41	0,00048	2937
52	21,736	Propian furfurylu	396291	0,765	1091	0,85	RI, MS, IS	623-19-8	1,89	-	-
53	23,398	etanon, 1-(3-metylopirazyna)-	75952	0,145	1119	0,16	RI, MS, IS	23787-80-6	0,35	0,02	18
54	23,675	acetylo, metylopirazyna, nieznan y izomer	91610	0,18	1124	0,19	RI, MS, IS	-	0,58	-	-
55	26,376	2-metylo-3,5-dietylopirazyna	160246	0,31	1156	0,35	RI, MS, IS	18138-05-1	0,78	0,001	782
56	28,077	N-furfurylopirol	120322	0,23	1171	0,25	RI, MS, IS	1438-94-4	0,56	0,1	6
57	28,551	terpineol <alpha>	384392	0,74	1188	0,82	RI, MS, IS	98-55-5	1,82	0,0046	396
58	34,209	2-metoksy-4-etylofenol	90136	0,175	1281	0,20	RI, MS, IS	2785-89-9	0,44	0,0044	100
59	35,054	wzorce	5308990	10,225	1294	-	RI, MS, IS	-	-	-	-
60	35,486	eter difurfurylowy	192265	0,37	1302	0,42	RI, MS, IS	4437-22-3	0,92	-	-
61	36,008	2-metoksy-4-winylofenol	124548	0,24	1315	0,27	RI, MS, IS	7786-61-0	0,60	0,003	200



## 8. Dyskusja

Wprowadzanie nowych i ulepszanie istniejących produktów ma istotne znaczenie dla firm w świetle obserwowanej na rynku konkurencji. Pierwszorzędną czynnością w projekcie była optymalizacja ilości składników rozpuszczonych w ekstrakcie cold brew coffee, czyli półprodukcie przeznaczonym do koncentracji kawy instant typu „liquid”. Proces modelowano m.in. profilami prażenia, proporcjami ilości użytej kawy względem rozpuszczalnika (wody), stopniami rozdrobnienia ziaren prażonych, środowiskiem ekstrakcji w warunkach chłodniczych i temperatury pokojowej oraz sześcioma wariantami czasu ekstrakcji. Zaobserwowano podobieństwo schmatu pracy badawczej do literatury dotyczącej właściwości fizykochemicznych ekstraktu kawy cold brew, zależnych od profilu prażenia i stopnia rozdrobnienia kawy prażonej (Rao i wsp., 2020). Autorzy zastosowali trzy profile kawy prażonej (194°C, 203°C, 209°C), dla których wydajność procesu ekstrakcji ustalono na wyższym poziomie od 1,88 do 2,06% TDS po maceracji ziaren kawy o średniej wielkości 1,25mm. Stwierdzono, że przyczyną różnic w wartościach TDS w porównaniu do badań własnych jest dwa razy większa ilość kawy wykorzystanej przez badaczy w procesie ekstrakcji. Rozpatrując teoretycznie zachowanie podobnego stosunku brew:ratio, uzyskano by zbieżne wartości TDS. Ponadto, istotnym wydaje się brak zachowania podobnego stopnia homogeniczności wobec zmiennej dotyczącej wielkości ziarna.

Znamiennym do porównania wydają się również wyniki badań, w których ziarna o średnim stopniu zmielenia (0,7mm) poddanych ekstrakcji typu cold brew wykazały poziom TDS w zakresie 1,54-1,61%, na który miała wpływ czternasta godzina ekstrakcji (Cordoba i wsp., 2019). Nie stwierdzono w badaniach własnych, aby stopień rozdrobnienia miał istotny wpływ na wzrost wydajności ekstrakcji w większości wykonanych prób po przekroczeniu dwunastu godzin maceracji. Podobną zależność zaobserwowano w pracy Wang i Lim (2021). Co istotne, Severini i wsp. (2017) stwierdzili, że ilość rozpuszczonych składników należy rozpatrywać indywidualnie dla wybranej techniki, a zastosowanie mniejszych cząsteczek zmielonych ziaren w procesie ekstrakcji kawy wpływa pozytywnie na szybkość dyfuzji tylko na początku procesu.

Biorąc powyższe pod uwagę należy stwierdzić, że maksymalizacja wydajności procesu ekstrakcji nie jest czynnikiem decydującym o pożądanej jakości, a przede wszystkim smaku kawy cold brew, co zaobserwowano w doniesieniach optymalizacji właściwości sensorycznych (Kyroglou i wsp., 2022) oraz w porównaniu do napoju przygotowanego na gorąco (Zakaria i wsp., 2023). Wyniki te mają szczególne znaczenie, ponieważ autorzy wyznaczyli wartość TDS na poziomie do 1,3% dla kawy cold brew, którą można uwzględnić w aspekcie zwiększonych właściwości sensorycznych. W badaniach własnych, po pierwsze szczególną uwagę zwrócono na walory smakowo-zapachowe półproduktu, które w świetle literatury wyznaczono od 1,15 do 1,35% TDS. Po drugie na mniejszy nakład i niższy koszt pracy co można bezpośrednio przełożyć na ograniczenie poziomów filtracji w skutek wykorzystania ziaren większych rozmiarów (1,0mm i 1,5mm). Tym samym, wobec czterogodzinnego czasu ekstrakcji średni zakres TDS wynosił od 0,63 do 1,07%, który zgodnie z wykresem parzenia kawy odzwierciedla ekstrakt niskiej intensywności oraz o niskim, wodnistym body, czyli nieakceptowanym przez konsumentów. Wydłużenie procesu ekstrakcji o dwie godziny istotnie

wpłynęło na jakość otrzymanego produktu, która uległa polepszeniu. Średni zakres wartości TDS wynosił od 0,89 do 1,16% i pomimo, że nie znajduje się w ramach tzw. wartości optymalnej, to „graniczne” przekroczenie zaledwie o 0,01 punktu procentowego zdecydowało o uwzględnieniu tej zmiennej do dalszego etapu instandyzacji dla celów naukowych. W przypadku 12-godzinnej ekstrakcji w temperaturze 25°C uzyskano wartość TDS w zakresie od 1,14% do 1,27%. Praktyczne warianty po procesie optymalizacji ekstrakcji, wspomagające potencjalnie proces instandyzacji, ustalono względem trzech wartości czasu ekstrakcji, tj. sześciu, dziewięciu oraz dwunastu godzin.

Dokonując prób technologicznych założono, że cechy produktu takie, jak właściwości zdrowotne, sensoryczne czy funkcjonalne zależne będą także od kwasu kawoilochinowego i kofeiny (Yust i wsp., 2024). Związki te należą do najważniejszych składników chemicznych kawy o działaniu bioaktywnym, przy czym także odgrywają istotną rolę w percepcji smaku i zapachu (kwasy CQA są w dodatku prekursorami frakcji lotnej) (Maksimowski i wsp., 2022). Podobieństwo wyboru składników można zaobserwować w innych badaniach, gdzie kofeinę oraz kwasy CQA wyznaczono za wskaźnik korzyści zdrowotnych napoju sporządzonego na bazie prażonych ziaren kawy (Rao i wsp., 2019). Autorzy badań stwierdzili, że niski stosunek kofeina:CQA może odzwierciedlać zwiększone właściwości prozdrowotne. W opinii własnej proponowane rozwiązanie wymaga doprecyzowania badań i wyników badań medycznych, ponieważ efekt zdrowotny zależny od ilości spożywanej kofeiny należy rozpatrywać m.in. w kwestii indywidualnych aspektów jej metabolizmu oraz zjawiska tachyfilaksji, czyli wzrostu tolerancji organizmu na działanie w tym przypadku alkaloidu lub stopniowe osłabianie jego działania w miarę wzrostu konsumpcji napojów kawowych (Depaula i Farah, 2019). Zgodnie z literaturą (Correa i wsp., 2018), 3-CQA wytypowano do analiz chemicznych w drugiej części badań własnych.

Z analizy wyników badań własnych wynika, że czas ekstrakcji i temperatura wody są istotnymi czynnikami wpływającymi na skład chemiczny ekstraktu kawy cold brew. W zależności od modelu ekstrakcji wskazano również na odmienny wpływ profilu prażenia na retencję kofeiny i kwasu kawoilochinowego z kawy. Z eksperymentu przeprowadzonego przez Cordoba i wsp. (2019) wynika, że na ilość składników w napoju cold brew ma wpływ trzecia zmienna – stopień rozdrobnienia ziaren kawy. Naukowcy przyznali jednak, że ich badania mają pewne ograniczenia, a te można odnieść bezpośrednio do zjawiska sedymentacji cząstek kawy w próbce z uwagi na brak zastosowanej czynności mieszania.

W badaniach własnych zaobserwowano, że większy stopień rozdrobnienia ziaren kawy ma większy wpływ na ilość rozpuszczonego 3-CQA w odniesieniu do profilu prażenia w temperaturze 210°C. Z dalszej części eksperymentu można wnioskować, że stopień rozdrobnienia (1,0mm i 1,5mm), który traktowano za zmienną produkcji przemysłowej, wydaje się być nieistotnym czynnikiem dla ekstrakcji kwasu kawoilochinowego po szóstej godzinie ekstrakcji. W porównaniu do badań Fuller i Rao (2017), pomimo występującej różnicy wielkości cząstek kawy na poziomie 0,4mm oraz 0,6mm, otrzymano finalnie porównywalny wynik stężeń 3-CQA w zakresie  $\pm 300-500$  mg/L względem średniego i ciemnego profilu prażenia. Wskazuje to na bardzo dobre działania optymalizacyjne w badaniach własnych.

Rozpatrując kolejne zmienne należy stwierdzić, że wzrost temperatury prażenia z 210°C do 220°C spowodował 30% spadek zawartości kwasu 3-CQA oraz wzrost stężenia kofeiny w ekstraktach o 20%. Stanek i wsp. (2021) w przypadku analizy ekstrakcji cold brew

z wykorzystaniem ziarna typu specjalty wyznaczyli wyższe stężenie 3-CQA w podobnym do badań własnych profilu prażenia. Potencjalną różnicę wyników w zakresie  $\pm 0,3 - 0,4$  mg/ml należy rozpatrywać względem rodzaju wykorzystanego surowca. Kawa uprawiana w innym regionie ma różną zawartość kwasów chlorogenowych i kofeiny oraz dystrybucję wymienionych składników w ziarnie (Ayelign i Sabally, 2013).

W przypadku kofeiny jej większe stężenie w próbach po prażeniu w  $220^{\circ}\text{C}$  oraz późniejszym zateżaniu termicznym wynika bezpośrednio z ubytku masy surowca (hipotetycznie do  $\pm 10\%$  wody,  $\pm 10\%$  suchej masy) oraz z niewielkich, ale znaczących ilości uwięzionego alkaloidu w kawie zielonej (który uwalniany jest podczas wypalania z kompleksów kwasów chlorogenowych ściany komórkowej). Termiczne zmiany są zgodne z wynikami wcześniej uzyskanymi - hydroliza enzymatyczna kwasu kawoilochinowego przed prażeniem kawy nie odpowiadała wzrostowi zawartości kofeiny w kawie zielonej (Lee i wsp., 2017; Tfouni i wsp., 2012). Stężenie kofeiny wyznaczono na średnich poziomach  $0,77$  mg/ml po ekstrakcji kawy wariantu brew:ratio na poziomie  $5\text{g}$  oraz  $0,89$  mg/ml po ekstrakcji kawy wariantu brew:ratio na poziomie  $6\text{g}$ . Podobne poziomy stężenia obserwowano w innych badaniach, które dodatkowo charakteryzowały wysoką akceptacją konsumentką napojów, co należy rozpatrywać z umiarkowanym odczuciem gorzkości (Heo i wsp., 2020). Dalszy wzrost temperatury w miarę ciemniejszego palenia powodował średni spadek zarówno stężenia kofeiny jak również kwasu kawoilochinowego, dla którego istotnie niższy poziom obserwowany była dla temperatury prażenia w zakresie  $208-210^{\circ}\text{C}$ , kiedy to przekroczona została temperatura topnienia związku, zaś drastyczny spadek zawartości tego składnika w kawie obserwuje się w temperaturze powyżej  $238^{\circ}\text{C}$  (Arnot, 2019).

Z doniesień literatury wynika, że chleb i kawa stanowią główne źródło akrylamidu w diecie człowieka (warto podkreślić, że dla konsumentów dużych ilości przekąsek, takich jak chipsy ziemniaczane i popcorn, udział AA z chleba oraz kawy jest stosunkowo niewielki) (Svensson i wsp., 2003). Mając na uwadze efekty toksykologiczne akrylamidu, analizę danego składnika uznano za niezbędną w ujęciu właściwości prozdrowotnych opracowywanych koncentratów.

Powszechnie wiadomo, że temperatura procesu powyżej  $120^{\circ}\text{C}$  ma decydujący wpływ na ilość powstającego akrylamidu w żywności. W takich warunkach dochodzi do syntezy związku we wczesnych etapach reakcji Maillarda, inicjowanej przez kondensację asparaginy i cukrów z wolnymi grupami karbonyłowymi (Guenther i wsp., 2007). Z tego względu ziarna kawy jasno palone mogą zawierać stosunkowo większe ilości akrylamidu niż ciemno palone (Soares i wsp., 2015). Zależność tę potwierdzono w badaniach własnych stwierdzając, że najwyższe stężenie tego składnika ( $289$   $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) było w ziarnach po prażeniu w temperaturze  $210^{\circ}\text{C}$ . Prażenie surowca w wyższych temperaturach ( $220^{\circ}\text{C}$  i  $230^{\circ}\text{C}$ ) doprowadziło do zmniejszenia stężenia akrylamidu w próbach. Doświadczenia, w których podstawą badań była technologia przemysłowa, wykazały, że zawartość akrylamidu wynosiła od  $170$  do  $351$   $\mu\text{g}/\text{kg}$  dla kaw komercyjnych prażonych w temperaturze  $210^{\circ}\text{C}-230^{\circ}\text{C}$  (Taeymans i wsp., 2004). W ogólnej ocenie właściwości prozdrowotnych wynikających z kontroli poziomu akrylamidu w żywności zwrócono uwagę na treść pracy Friedmana (2003), z której można wnioskować, że bezpieczne stężenie akrylamidu w żywności wynosi maksymalnie do  $260$   $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Uwzględniając cel praktyczny badań, czyli opracowanie nowej receptury napoju instant o zwiększonych właściwościach prozdrowotnych, realizacja pierwszego etapu pozwoliła na eliminację profilu  $210^{\circ}\text{C}$  w kolejnych eksperymentach z uwagi na istotnie najwyższy poziom akrylamidu w kawie prażonej.

Alves i wsp. (2010) przedstawili zależność, gdzie po wypaleniu kawy na jasny, średni oraz ciemny profil zmierzono następujące poziomy akrylamidu: 783  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 183  $\mu\text{g}/\text{kg}$  oraz 132  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Eksperymenty z deuterowanym standardem związku dodanym do zielonej kawy przed paleniem potwierdzają zjawisko spadku zawartości tego związku, co sugeruje jego małą stabilność indukowaną termicznie (Taeymans i wsp., 2004). Dokonując porównania poziomu najwyższego stężenia akrylamidu w badaniach własnych należy podkreślić jego znaczną zmienność. Zjawisko to jest szczególnie interesujące, ponieważ w doświadczeniach zastosowano ten sam surowiec. W niektórych przypadkach różnice mogą wynikać z nieznanymi i odmiennymi parametrów fizykochemicznych surowca, gdzie ważnym aspektem syntezy związku wydaje się niska zawartość wody (Taeymans i wsp., 2004). Autorzy tej pracy przedstawili wartości pomiaru barwy, co wskazuje na „jaśniejszy profil” w porównaniu do profilu własnego. Obserwację tę potwierdzają wyniki innych badań (Mojska i Gielcińska, 2013), gdzie porównano m.in. zawartość akrylamidu w kawie palonej w zależności od intensywności zabarwienia, a najwyższa istotna statystycznie zawartość akrylamidu miała miejsce w przypadku kawy jaśniejsz palonej - 323  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .

W trakcie maceracji kawy prażonej zaobserwowano wzrost stężenia akrylamidu w miarę wydłużenia czasu ekstrakcji oraz temperatury, co jest zjawiskiem odwrotnym dla syntezy związku w trakcie procesu prażenia kawy zielonej. Zależność jest zgodna z badaniami przedstawionymi w literaturze przedmiotu (Alves i wsp., 2010). Na ich podstawie stwierdzono również, że wydłużenie czasu ekstrakcji typu cold brew z dwunastu do dwudziestu czterech godzin istotnie zwiększyłoby poziom akrylamidu w napoju. W tym przypadku, z uwagi na wysoką hydrofilowość składnika, można by się spodziewać ponad 90% dyfuzji akrylamidu z kawy do roztworu.

W odniesieniu do otrzymanych ekstraktów z profilu prażenia kawy zielonej w temperaturze 230°C stężenie akrylamidu oznaczono na poziomie od 4,42 do 9,02 ng/ml. Natomiast uzyskane wyniki dla profilu 220°C były statystycznie wyższe ( $p < 0,05$ ), charakteryzowały się szerszym zakresem 4,84 do 10,63 ng/ml i dla obydwu profili były to wyniki zgodne z badaniami Bertuzzi i współpracowników (2020). W innych badaniach, gdzie oceniano zawartość składnika w ekstraktach sporządzonych w temperaturze 5°C oraz 20°C, stężenie akrylamidu odnotowano na średnim poziomie kolejno 4,55 ng/ml oraz 4,75 ng/ml (Kang i wsp., 2020). W przeciwieństwie do warunków chłodniczych ekstrakcji, różnica 5°C (w porównaniu do temperatury 25°C stosowanej w badaniach własnych) dla umownej temperatury pokojowej wydaje się być istotna w odniesieniu do końcowej zawartości akrylamidu w finalnym produkcie. W swojej pracy Kang i wsp. badali kawę pochodzącą z Ugandy, co również mogło mieć wpływ na niższą zawartość analitu. Niemniej jednak zawartość akrylamidu w badaniach własnych była średnio o 2,5 ng/ml większa w porównaniu do wyników otrzymanych dla kawy cold brew macerowanej w temperaturze 20°C. Z kolei Basaran i wsp. (2020) wykazali serię wyników dla komercyjnie dostępnych ekstraktów, określając w swojej pracy stężenie akrylamidu na poziomie od 7,2 do 23 ng/ml. Tak duże różnice w porównaniu do badań własnych mogą wynikać z zastosowania bardzo mocno palonej kawy, w której zachodzi wtórna synteza akrylamidu wskutek degradacji oksydacyjnej lipidów (Yasuhara i wsp., 2003).

Poddając zagęszczaniu ekstrakty kawy cold brew wykorzystano proces termiczny przez odparowanie wody oraz kriokoncentrację blokową, która polegała na wymrożeniu części wody i selektywnym rozpuszczeniu w warunkach temperatury pokojowej fazy skoncentrowanej. Zastosowanie wyparki próżniowej do zagęszczania ekstraktów w sektorze spożywczym

jest powszechnie stosowane z uwagi na korzystną zależność ilości otrzymanego koncentratu i czasu zagęszczania oraz względnie pozytywny wpływ procesu na jakość produktu w przypadku stosowania niskich temperatur podczas odparowania w granicach 50-70°C (Nadulski, 2009). Drugi rodzaj techniki zagęszczania umożliwił zachowanie niskich temperatur w całym procesie technologicznym. Ponadto, kriokoncentracja prowadzi do niewielkich strat właściwości sensorycznych (na skutek utrzymania związków o niskiej lotności) i odżywczych w trakcie przetwarzania żywności (Aider i de Halleux, 2008). Udowodniono również, że koncentrat zimnego naparu ma potencjał wydłużenia okresu przydatności do spożycia oraz stanowi cenne źródło związków bioaktywnych (Lane i wsp., 2017; Wei, 2021). Przyszłe badania w tym zakresie można rozwinąć o obliczenia energetyczne oraz optymalizację kosztów produkcji.

Rzeczywista ocena spożycia kofeiny w odniesieniu do pojedynczego konsumenta wydaje się być bardzo trudna do oszacowania, niemniej jednak powszechnie zakłada się, że dawka 50 mg jest optymalna dla człowieka (Severini i wsp., 2017). Najniższe i najwyższe stężenia kofeiny w otrzymanych kriokoncentratkach wyniosły 1,28 mg/ml oraz 2,13 mg/ml i charakteryzowały się różnicą 60 procent, przy czym najwyższe średnie poziomy tego związku zanotowano dla produktów otrzymanych z kawy prażonej w 220°C - od 1,63 do 2,13 mg/ml. Z kolei, najniższe i najwyższe stężenia kofeiny w koncentratkach termicznych wyniosły 2,04 mg/ml i 3,00 mg/ml i charakteryzowały się różnicą 68 procent, przy czym najwyższe średnie poziomy związku zanotowano dla produktów otrzymanych z kawy prażonej w 230°C - od 2,63mg/ml do 3,0 mg/ml. Wiedza ta może być przydatną szczególnie w kontekście doboru odpowiednich parametrów technologii produkcji kawy instant.

Inne badania przeprowadzone w celu poznania właściwości kawy rozpuszczalnej wykazały, że poziom kofeiny powyżej 2.5 % odpowiada wysokiej jakości produktu (Langi i wsp., 2023). Arai i wsp. (2015) potwierdzili pozytywne wyniki dotyczące zawartości kofeiny w komercyjnych kawach instant w zakresie od 28,8 do 35,0 mg/g, które oznaczyli techniką chromatografii cieczowej. Na rynku, w którym koncentraty cold brew coffee zyskują coraz większą popularność zaobserwowano, że pożądaný poziom kofeiny mieści się w zakresie od  $\pm 1,5$  do 3,0 mg/ml. Ekstremalnie wysokie stężenie zanotowano w jednym z produktów na poziomie 5 mg/ml (źródło internetowe nr 7), które jest średnio dwa razy większe od koncentratów sporządzonych na wyparce. Należy stwierdzić, że nowo opracowane kriokoncentraty z poziomem kofeiny od 1,8mg/ml do 2,03mg/ml odpowiadają pożądanym wartościom przez zagraniczny rynek, a tak szeroki zakres może stanowić istotny czynnik w ogólnym interesie konsumentów, którzy coraz częściej piją kawę instant lub RTD dla wygody i stymulacji kofeiną (Sunarharum i wsp., 2021).

Istotne zagadnienie w kontekście zawartości kofeiny w kawach rozpuszczalnych podjęli również Arai i wsp. (2015), którzy udowodnili na przykładzie komercyjnych próbek kaw instant, że zwiększenie zawartości kofeiny odpowiadało zmniejszeniu koncentracji kwasu kawoilochinowego w kawie rozpuszczalnej. Podobne zjawisko można zaobserwować w badaniach własnych, ale tylko dla procesu zagęszczania przez termiczne odparowanie wody. Z przeprowadzonych analiz wynika, że wzrost kofeiny  $\pm 0,16$  mg/ml może prowadzić do spadku zawartości kwasu 3-CQA na poziomie  $\pm 0,04$  mg/ml (porównanie profilu 220°C do 210°C). Wskazuje to, że proces kriokoncentracji blokowej wpływa na zwiększenie właściwości zdrowotnych produktów z uwzględnieniem związków fenolowych.

Dokonując analizy wyników zagęszczonego kwasu 3-CQA stwierdzono, że dla procesu kriokoncentracji kawy cold brew otrzymanej z profilu 220°C oraz 230°C występuje porównywalny stopień zagęszczenia na poziomie od 3,9 do 4,1 w stosunku do ekstraktu wyjściowego. W przypadku kriokoncentracji ekstraktów z profilu 210°C stopień zagęszczenia 3-CQA zanotowano na średnim poziomie 2,8. Ubytek wydajności stopnia odzysku danego składnika można wytłumaczyć silniejszym zjawiskiem wiązania wodorowego cząsteczek składnika w bryle lodu, gdy jest go więcej w ekstrakcie wyjściowym lub kształtem wykorzystanej próbki, która w eksperymencie determinowała wertykalny rozrost bryły lodu, co w efekcie mogło zamrozić część kwasu kawoilochinowego w wyższej warstwie nie podlegającej późniejszemu rozpuszczeniu. Tym samym, po procesie kriokoncentracji produkty o wartości wdrożeniowej odzwierciedlają kawę instant otrzymane z surowca prażonego w temperaturach 220°C oraz 230°C, dla których wyznaczono kolejno średnie poziomy 3-CQA: 1,6 mg/ml oraz 1,3 mg/ml. Z eksperymentu własnego wynika, że wartości te nie były porównywalne z licznymi doniesieniami w literaturze. Kriokoncentracja kawy techniką opadającego filmu wykazała średnie stężenie 3-CQA na poziomie 0,6 mg/ml (Correa i wsp., 2018). Zastosowanie powyższej techniki przy produkcji przemysłowej należy rozważać, stosując optymalizację procesu, a tym samym podnosząc jego wydajność. Najprawdopodobniej w skutek zjawiska okluzji autorzy otrzymali wysokie straty na poziomie 40% substancji stałych, zaobserwowane w końcowej frakcji lodowej stanowiącej produkt uboczny. W przypadku kriokoncentracji blokowej odnotowano ponad dwukrotnie mniejsze straty 3-CQA (na poziomie 16%), dlatego proces można rozpatrywać jako bardziej opłacalny w praktyce przemysłowej (Moreno i wsp., 2014). Pomimo przedstawionych mniejszych strat autorzy dokonali jeszcze niższego odzysku kwasu kawoilochinowego na poziomie 0,48 mg/ml, co należy wytłumaczyć wykorzystaniem w badaniach kawy rozpuszczalnej poddanej wtórnej instancyzacji. Niniejsze doniesienia wydają się być korzystnym przykładem do porównania wobec zastosowanej techniki w badaniach własnych, która wraz z zastosowaniem kawy wysokiej jakości może zwiększyć wydajność procesu oraz właściwości funkcjonalne produktu.

Ważnym czynnikiem, który powinien być brany pod uwagę przy opracowywaniu nowych produktów lub przy zastosowaniu nowych rozwiązań technologicznych do praktyki przemysłowej jest odbiór społeczny. Sporo kontrowersji obserwowano wobec kawy rozpuszczalnej, którą oceniano jako „coś niezdrowego”. Należy zwrócić uwagę, że popularny rodzaj kawy instant stanowi formę zagęszczonego lub wysuszonego ekstraktu (kawa liofilizowana, suszona rozpyłowo, aglomeryzowana), zazwyczaj bez żadnych dodatków. Niemniej jednak tę opinię konsumentów można w pewnym zakresie zrozumieć ponieważ - po pierwsze - większość kaw rozpuszczalnych produkowana jest z gorszej jakości ziaren i aby ukryć defekty jakościowe surowca, ziarna wypala się w temperaturze powyżej 230°C w bardzo krótkim czasie (Langi i wsp., 2023). Po drugie, można też merytorycznie zgodzić się z opiniami konsumentów, ponieważ spośród wszystkich rodzajów dostępnych na rynku kaw, produkty typu instant zawierają najwięcej akrylamidu, gdyż w ich produkcji stosuje się dodatek gatunku robusta (Orzeł i Biernat, 2011).

Do analizy stopnia redukcji akrylamidu w procesie technologicznym produkcji kawy instant typu „liquid” wytypowano szesnaście prób eksperymentalnych. Powodem takiej decyzji było uwzględnienie tylko tych ekstraktów cold brew coffee z etapu trzeciego, które charakteryzowały się najmniejszą zawartością akrylamidu oraz koncentraty z etapu drugiego, które odznaczały się największą zawartością kwasu 3-CQA. Zastosowane w toku badań techniki koncentracji skutkowały różnicami statystycznie istotnymi pod względem

redukcji akrylamidu. Względem oznaczonego stężenia tego związku w ekstraktach stwierdzono w przypadku prób termicznych, że pierwotna obecność akrylamidu została obniżona średnio od 3,6 do 4,4 ng/ml, natomiast dla kriokoncentratów od 2,7 do 3,6 ng/ml.

W literaturze przedmiotu związanej z analizą zawartości akrylamidu w kriokoncentraty powstałych z kawy cold brew w momencie pisania rozprawy stwierdzono brak doniesień naukowych na ten temat. Najniższymi wartościami stężenia akrylamidu charakteryzowały się koncentraty termiczne otrzymane z kawy prażonej w temperaturze 230°C, czyli w zakresie od 2,7 do 3,11 ng/ml, zaś najwyższymi kriokoncentraty otrzymane z kawy prażonej w 220°C, które charakteryzowały się ilością akrylamidu od 3,47 do 4,16 ng/ml. Basran i wsp. (2020) w swoich badaniach uzyskali znacząco wyższe wyniki zawartości akrylamidu w kawach rozpuszczalnych z przeznaczeniem do wtórnej rehydratacji, które mieściły się w przedziale 16,5-79,5 ng/ml. Z kolei stężenie tego związku w koncentraty płynnych wahało się od 10,1 do 38,8 ng/ml. Czynniki determinującymi różnice w zawartości akrylamidu w porównaniu do badań własnych wydają się być większe proporcje kawy do wody, które zgodnie z tureckimi zwyczajami stanowią stosunek 1:10 oraz stopień bardzo drobnego zmielenia ziaren, które poddano ekstrakcji przed procesem otrzymania produktów typu instant (Kucukkomurler Özgen, 2009). Biorąc pod uwagę, że kawę typu espresso również uznano za typ koncentratu, autorzy Sores i wsp. (2006) przedstawili wyniki stężeń akrylamidu dla danego rodzaju produktu w zakresie od 10,66 do 48,66 ng/ml, co jest zgodne z wynikami badań innych autorów (Mohammed i Shehasen, 2020). Tym samym należy stwierdzić, że kawa typu espresso będąca termiczną alternatywą powszechnego zabiegu przygotowania skoncentrowanej kawy charakteryzuje potencjał do wykorzystania jako dodatek do funkcjonalnych produktów, ale przy niższych poziomach stężeń akrylamidu. Niemniej jednak każdy z opracowanych koncentratów typu „liquid” można stosować zarówno jako dodatek oraz żywność o zwiększonych właściwościach zdrowotnych ze względu na obniżony poziom akrylamidu oraz jako żywność nutraceutyczną z uwagi na obfitość substancji czynnych biologicznie (takich jak kofeina i CQA).

Pomimo, że smak kawy kształtuje gorycz oraz bogaty aromat, wprowadzenie nowej receptury do potencjalnej produkcji wymaga wcześniejszego zaangażowania ze strony producenta i przeprowadzenia badań sensorycznych. Podobnych czynności dokonano we wcześniejszych badaniach nad kawą instant, w których uwzględniono zbieżną liczbę osób podczas paneli sensorycznych w porównaniu do badań własnych (Oliveira i wsp., 2009). Dzięki przeprowadzonym testom sensorycznym wykazano również, że oddziaływanie na smak kawy przez kwasy fenolowe może być związane z obniżeniem jakości (pożądalności) napojów. Wówczas na niekorzystną percepcję nakłada się długi i cierpki aftertaste wynikający z dysproporcji stosunku kofeina/kwasy CQA. Znamiennym wydaje się fakt, że negatywny wpływ wzrostu stężenia CQA w odniesieniu do smaku kawy zaobserwowano w badaniach Kuswardhani i wsp. (2021), w których stopniowy proces usuwania kofeiny spowodował ogólną redukcję akceptacji konsumenckiej kawy odmiany Robusta (Farah i Donangelo, 2006). Porównanie do badań nad kawą bezkofeinową wydają się istotne dla eksperymentów własnych z dwóch powodów. Po pierwsze, wykorzystana przez autorów odmiana kawy zawiera większe stężenia kwasów CQA względem odmiany arabika użytej w niniejszej rozprawie (wyższe stężenia wspomnianych kwasów również uzyskano poprzez koncentrację ekstraktów). Po drugie, proces zagęszczenia nie wpłynął niekorzystnie na proporcję wyższego stężenia kofeiny względem CQA, co stwierdzono na przykładzie wysoko ocenianej jakości produktów (zapach, smak, aftertaste, body, balance) zwłaszcza w przypadku kriokoncentratów.



Na odmienną jakość produktu z uwzględnieniem różnej techniki jego otrzymania („na zimno” lub „na ciepło”) zwrócono uwagę we wcześniejszych badaniach (Farah i Donangelo, 2006; Asiah i wsp., 2019; Pan i wsp., 2023). Biorąc pod uwagę odrębność technik koncentracji, które zastosowano w badaniach, należy stwierdzić, że proces kriokoncentracji pozytywnie wpłynął na uznane przez autorów walory smakowo-zapachowe kawy cold brew. Utrzymanie niskich temperatur w trakcie dalszego przetworzenia ekstraktów umożliwiło tym samym na trzykrotnie większą percepcję intensywności smaku słodkiego oraz aromatu owocowego w porównaniu do koncentratów termicznych, które to z kolei odzwierciedlają wyższej intensywności aromat palony. Zjawisko to jest także wyraźnym efektem testów sensorycznych ekspertów, którzy nie zalecali stosowania profilu 230°C w końcowych etapach prac wdrożeniowych.

Rozwój przemysłu kawowego powoduje również, że wzrastają wymagania konsumentów co do poziomu jakości. W związku z tym kluczową rolę odgrywają oświadczenia żywieniowe, których postrzeganie oraz prawdziwość uwierzytelniają wysoce specjalistyczne techniki analityczne (Várkölyi i wsp., 2015; Kyroglou i wsp., 2022). W przypadku oświadczenia żywieniowego o zwiększonych właściwości sensorycznych opracowywanych koncentratów typu „liquid” można wyznaczyć trzy kluczowe związki frakcji lotnej spośród sześćdziesięciu jeden, które dominowały w zapachu produktów finalnych. Największy wpływ na zapach o deskrypcji słodkich i owocowych wrażeń sensorycznych był odpowiedzialny 3-metylobutanal, wobec którego oznaczono trzecie co do wartości najwyższe OAV w analizowanych próbkach koncentratów (2827 przy stężeniu 0,99 µg/g oraz 2685 przy stężeniu 0,94 µg/g). Zapata i wsp. (2018) wyróżnili aldehyd w kawach instant, stwierdzając, że składnik ten w 70% odpowiada za sumaryczny udział w tworzeniu aromatu kawowego i suszonych słodkich owoców). Z kolei Wang i wsp. (2024) badając wpływ alternatywnej metody ekstrakcji kawy cold brew wnioskuje, że dany związek należy do dziewięciu kluczowych składników mających istotny wpływ na charakter napoju. Zjawisko to można przypisać temu, że aldehydy stanowią ponad 17% komponentów lotnych w brazylijskiej kawie arabika, którą zastosowano również w badaniach własnych (Abdelwareth i wsp., 2021).

Podsumowanie kluczowych związków aromatycznych zidentyfikowanych dla odmiany kawy arabika pozwoliło również na stwierdzenie, że obecność gwajakolu wpływa pozytywnie na typowy aromat kawy określanej, jako palony (Sunarharum i wsp., 2014). Podobieństwo takie zaobserwowano również w badaniach własnych. Spośród wszystkich składników frakcji lotnej dla kriokoncentratów wartość OAV gwajakolu wynosiła 3377 (przy stężeniu 1,62 µg/g) oraz 2937 (przy stężeniu 1,41 µg/g). W obydwu analizowanych produktach były to drugie najwyższe poziomy OAV mające wpływ na ocenianą intensywność aromatu, czyli tak samo, jak w przypadku kawy typu cold brew analizowanej przez Cai i wsp. (2022). Autorzy badań na pierwszym miejscu z wartością OAV 173 ocenili 3-etylo-2,5-dimetylopirazynę, zaś gwajakol na drugim - z wartością OAV 41. Z porównania badań można było również wyciągnąć wniosek, że wartość OAV składników lotnych w trakcie procesu koncentracji wykazuje względnie wykładniczą tendencję wzrostu. Co istotne, w wyniku przeprowadzonego testu sensorycznego nie stwierdzono zależności, że wraz ze zmianą stężenia ten sam związek może wywoływać inne wrażenia zapachowe (Marcinkowska, 2023), ponieważ rozpatrując sumarycznie intensywność aromatu orzechowego i czekoladowego należy stwierdzić, że w przypadku kriokoncentratów jest ona porównywalna do intensywności pojedynczego aromatu palonego wyznaczonego przez gwajakol. Za te dwie powyższe nuty z najwyższymi wartościami OAV (4828 przy stężeniu 4,83 µg/g oraz 5118 przy stężeniu 5,12 µg/g) odpowiada 2-etylo-3,5-dimetylopirazyna, którą należy

uznać za jedną z trzech substancji odpowiadających za zwiększone właściwości sensoryczne koncentratów kawy cold brew.

Podsumowując, kriokoncentracja blokowa może być w najbliższych latach interesującym tematem wielu badań naukowych, również dla polskiego przemysłu czy też sposobem na utrwalanie składników bioaktywnych oraz lotnych, ponieważ w porównaniu do procesu liofilizacji kawy cold brew, 2-etylo-3,5-dimetylopirazyna uległa prawie całkowitej degradacji (Zhang i wsp. 2024). Ponadto, charakterystyczną właściwością produktów poddanych finalnej ocenie była niska intensywność aromatu ziołowego. Cecha ta wydaje się być szczególnie istotna, ponieważ na podstawie analizy sensorycznej kawy cold brew coffee wynika, że dany aromat skorelowano ze smakiem przypominającym lekarstwo, czyli negatywnym atrybutem napoju (Heo i wsp., 2019).

## 9. Wnioski

1. Metoda powierzchni odpowiedzi RSM wykazała swoją przydatność w prowadzonych badaniach pod kątem optymalizacji zawartości wybranych związków chemicznych w napojach kawy w zależności od zastosowanych parametrów technologicznych takich, jak: czas i temperatura ekstrakcji.
2. Uzyskane wyniki dowodzą, że parametr czasu stanowi główną zmienną mającą wpływ na ilość składników rozpuszczonych w ekstrakcie kawy cold brew.
3. Stwierdzono, że optymalne parametry procesu ekstrakcji kawy cold brew mają miejsce podczas procesu trwającego 12 godzin w temperaturze 25°C, dzięki czemu maksymalna zawartość ekstraktu wyniosła od 1,14 do 1,27% TDS.
4. Proces prażenia kawy zielonej stwarza zarówno warunki do powstawania akrylamidu, jak również możliwość jego redukcji. Empirycznie zmierzone zawartości akrylamidu w kawie prażonej potwierdziły istotnie najwyższe stężenie składnika w kawie jasno palonej, czyli w temperaturze 210°C.
5. Oddziaływania procesów zateżania wpłynęły w sposób statystycznie istotny na wartość zwiększonego poziomu kofeiny oraz kwasu kawoilochinowego w otrzymanych koncentratkach, przy czym proces instantyzacji przez odparowanie wody powodował jednocześnie częściowe straty 3-CQA
6. Maksymalny stopień odzysku 3-CQA stwierdzono po procesie kriokoncentracji ekstraktu cold brew otrzymanego z kawy prażonej w temperaturze 220°C, którego wartość średnia wyniosła 1,596 mg/ml produktu, zaś maksymalny stopień odzysku kofeiny stwierdzono po procesie zateżania termicznego ekstraktu cold brew otrzymanego z kawy prażonej w temperaturze 230°C, której wartość średnia wyniosła 2,783mg/ml produktu.
7. Stężenie akrylamidu w otrzymanych koncentratkach było na różnym poziomie. W każdej z przeprowadzonych prób stwierdzono znacząco mniejszą zawartość tego związku w porównaniu do ekstraktu wyjściowego. Dla procesu kriokoncentracji uzyskano redukcję akrylamidu na poziomie ponad 40 %, zaś dla procesu termicznego na poziomie ponad 50%.
8. Produkty badanych technik koncentracji różniły się pod względem sensorycznych wyróżników jakościowych smaku, intensywności aromatu oraz pod względem akceptowalności ocenianych parametrów. Proces kriokoncentracji istotnie wpłynął na wyższą pożądalność napoju instant cold brew coffee typu „liquid”.
9. Kompozycja aromatyczna wybranych kriokoncentratów charakteryzowała się najwyższą intensywnością przyjemnych, owocowo-kwiatowo-palonych nut zapachowych. Porównanie OAV umożliwiło wyznaczenie trzech kluczowych związków odpowiedzialnych za aromat: 2-etylo-3,5-dimetylopirazyna, gwajakol oraz aldehyd izowalerianowy.
10. Do wdrożenia przemysłowego wybrany został wariant, w którym surowiec poddany był prażeniu w temperaturze 220°C, ekstrakcja była przeprowadzona w temperaturze 25°C przez 12 godzin w odniesieniu do prób o stopniu rozdrobnienia ziaren kawy na poziomie 1,0 mm i współczynniku brew:ratio 5g, zaś zateżanie ekstraktu oparte było na technice kriokoncentracji.

## 10. Literatura

Abdelwareth, A., Zayed, A., Farag, M. A. Chemometrics-based aroma profiling for revealing origin, roasting indices, and brewing method in coffee seeds and its commercial blends in the Middle East. *Food Chemistry*. 2021, 349, 129162.

Adamu, E. A. B. D. B. Chemical characterization of green coffee beans and determining the effect of roasting temperature on the content of caffeine. *Reactions*. 2019, 11(8).

Aider, M., De Halleux, D. Production of concentrated cherry and apricot juices by cryoconcentration technology. *LWT-Food Science and Technology*. 2008, 41(10), 1768-1775.

Álvarez, C., Pérez, E., Lares, M. D. C., Boulanger, R., Davrieux, F., Assemat, S., Cros, E. Identification of the volatile compounds in the roasting Venezuela criollo cocoa beans by gas chromatography-spectrometry mass. *J Nutr Health Food Eng*. 2016, 5(4), 659-666.

Alves, R. C., Soares, C., Casal, S., Fernandes, J. O., Oliveira, M. B. P. Acrylamide in espresso coffee: Influence of species, roast degree and brew length. *Food chemistry*. 2010, 119(3), 929-934.

Amanpour, A., Selli, S. Differentiation of volatile profiles and odor activity values of Turkish coffee and French press coffee. *Journal of Food Processing and Preservation*. 2016, 40(5), 1116-1124.

Amorim, H. V., Amorim, V. L. Coffee enzymes and coffee quality. *Enzymes in Food and Beverage Processing, ACS Symposium Series 47*. 1977, 3, 27-56.

Andrzejewski, D., Roach, J. A., Gay, M. L., Musser, S. M. Analysis of coffee for the presence of acrylamide by LC-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004, 52(7), 1996-2002.

Angeloni, G., Guerrini, L., Masella, P., Innocenti, M., Bellumori, M., Parenti, A. Characterization and comparison of cold brew and cold drip coffee extraction methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2019, 99(1), 391-399.

Arai, K., Terashima, H., Aizawa, S. I., Taga, A., Yamamoto, A., Tsutsumiuchi, K., Kodama, S. Simultaneous determination of trigonelline, caffeine, chlorogenic acid and their related compounds in instant coffee samples by HPLC using an acidic mobile phase containing octanesulfonate. *Analytical Sciences*. 2015, 31(8), 831-835.

Araújo, C. D. S., Macedo, L. L., Vimercati, W. C., Ferreira, A., Prezotti, L. C., Saraiva, S. H. Determination of pH and acidity in green coffee using near-infrared spectroscopy and multivariate regression. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2020, 100(6), 2488-2493.

Arnot, B., *Kawa dla zdrowia. Energia, smak i sposób na długowieczność*. Vivante, Wydanie I. Białystok, 2019.

Asiah, N., Aqil, M., Dwiranti, N. S., David, W., Ardiansyah, A. Sensory and chemical changes of cold and hot brew arabica coffee at various resting time. *Asia Pacific Journal of Sustainable Agriculture Food and Energy (APJSAFE)*. 2019, 7 (2), 23-26.

Ayelign, A., Sabally, K. Determination of chlorogenic acids (CGA) in coffee beans using HPLC. *American Journal of Research Communication*. 2013, 1(2), 78-91.

Baggenstoss, J., Poisson, L., Kaegi, R., Perren, R., Escher, F. Coffee roasting and aroma formation: application of different time temperature conditions. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2008, 56(14), 5836-5846.

Başaran, B., Aydın, F., i Kaban, G. The determination of acrylamide content in brewed coffee samples marketed in Turkey. *Food Additives & Contaminants: Part A*. 2020, 37(2), 280-287.

- Bassoli, D., Silva, R. S. F. Key aroma compounds of soluble coffee. In 21st International Conference on Coffee Science, Montpellier-France. 2006, 340-348.
- Farah, A. (Ed.) Coffee: Production, quality and chemistry. Royal society of chemistry. 2019, 11, 292-308.
- Batali M.E., Lim L.X., Liang J., Yeager S.E., Thompson A.N., Han J., Ristenpart W.D., Guinard J-X. Sensory Analysis of Full Immersion Coffee: Cold Brew Is More Floral, and Less Bitter, Sour, and Rubbery Than Hot Brew. *Foods*. 2022, 11(16),2440.
- Bellumori, M., Angeloni, G., Guerrini, L., Masella, P., Calamai, L., Mulinacci, N., Parenti, A., Innocenti, M. Effects of different stabilization techniques on the shelf life of cold brew coffee: Chemical composition, flavor profile and microbiological analysis. *LWT*. 2021, 142, 111043.
- Bertuzzi, T., Martinelli, E., Mulazzi, A., Rastelli, S. Acrylamide determination during an industrial roasting process of coffee and the influence of asparagine and low molecular weight sugars. *Food chemistry*. 2020 303, 125372.
- Buttery, R. G., Ling, L. C., Stern, D. J. Studies on popcorn aroma and flavor volatiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1997, 45(3), 837-843.
- Cai, Y., Xu, Z., Pan, X., Gao, M., Wu, M., Wu, J., Lao, F. Comparative Profiling of Hot and Cold Brew Coffee Flavor Using Chromatographic and Sensory Approaches. *Foods*. 2022, 11, 2968.
- Calheiros D, Dias M.I, Calhelha R.C, Barros L, Ferreira I.C.F.R., Fernandes C, Gonçalves T. Antifungal Activity of Spent Coffee Ground Extracts. *Microorganisms*. 2023, 11(2):242.
- Chlopicka, J., Niedziela, A., Barton, H. Aktywność antyoksydacyjna i całkowita zawartość polifenoli w naparach kawy w zależności od jej rodzaju i sposobu przygotowania. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*. 2015, 48(3).
- Chrostowska-Siwiek, I. Związki lotne jako wyróżniki zmian przechowalniczych kawy. Praca doktorska. Uniwersytet Ekonomiczny w Poznaniu. Poznań, 2011.
- Colburn, A. S., Meeks, N., Weinman, S. T., Bhattacharyya, D. High total dissolved solids water treatment by charged nanofiltration membranes relating to power plant applications. *Industrial & engineering chemistry research*. 2016, 55(14), 4089-4097.
- Cordoba, N., Pataquiva, L., Osorio, C., Moreno, F. L. M., Ruiz, R. Y. Effect of grinding, extraction time and type of coffee on the physicochemical and flavour characteristics of cold brew coffee. *Scientific reports*. 2019, 9(1), 8440.
- Cordoba N., Moreno F. L., Osorio C., Velásquez S., Ruiz Y. Chemical and sensory evaluation of cold brew coffees using different roasting profiles and brewing methods. *Food Research International*. 2021, 141, 110141.
- Correa, L. J., Ruiz, R. Y., Moreno, F. L. Effect of falling-film freeze concentration on bioactive compounds in aqueous coffee extract. *Journal of Food Process Engineering*. 2018, 41(1), e12606.
- da Silva Portela, C., de Almeida, I. F., Mori, A. L. B., Yamashita, F., de Toledo Benassi, M. Brewing conditions impact on the composition and characteristics of cold brew Arabica and Robusta coffee beverages. *Lwt*. 2021, 143, 111090.
- Danhelova, H., Hradecky, J., Prinosilova, S., Cajka, T., Riddellova, K., Vaclavik, L., Hajslova, J. Rapid analysis of caffeine in various coffee samples employing direct analysis in real-time ionization-high-resolution mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2012, 403, 2883-2889.
- de Melo Pereira, G. V., de Carvalho Neto, D. P., Júnior, A. I. M., do Prado, F. G., Pagnoncelli, M. G. B., Karp, S. G., Soccol, C. R. Chemical composition and health properties of coffee and coffee by-products. *Advances in food and nutrition research*. 2020, 91, 65-96.

- de Melo Pereira, G. V., de Carvalho Neto, D. P., Júnior, A. I. M., Vásquez, Z. S., Medeiros, A. B., Vandenberghe, L. P., Soccol, C. R. Exploring the impacts of postharvest processing on the aroma formation of coffee beans—A review. *Food chemistry*. 2019, 272, 441-452.
- dePaula J, Farah A. Caffeine Consumption through Coffee: Content in the Beverage, Metabolism, Health Benefits and Risks. *Beverages*. 2019, 5(2), 37.
- Dłużewski, M. *Technologia żywności: podręcznik dla technikum. Praca zbiorowa cz.1. WSiP*, 2006.
- Endeshaw, H., Belay, A. Optimization of the roasting conditions to lower acrylamide content and improve the nutrient composition and antioxidant properties of *Coffea arabica*. *Plos one*. 2020, 15(8), e0237265.
- Fajara, B. E. P., Susanti, H. HPLC determination of caffeine in coffee beverage. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. 2017, 259, 1, 012011.
- Farah, A., Donangelo, C. M. Phenolic compounds in coffee. *Brazilian journal of plant physiology*. 2006, 18, 23-36.
- Farah, A., Monteiro, M. C., Calado, V., Franca, A. S., Trugo, L. C. Correlation between cup quality and chemical attributes of Brazilian coffee. *Food chemistry*. 2006, 98(2), 373-380.
- Flament, I. *Coffee flavor chemistry*. John Wiley & Sons, 2001.
- Friedman, M. Chemistry, biochemistry, and safety of acrylamide. A review. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2003 51(16), 4504-4526.
- Fuller, M., Rao, N. Z. The effect of time, roasting temperature, and grind size on caffeine and chlorogenic acid concentrations in cold brew coffee. *Scientific reports*. 2017, 7(1), 17979.
- Gawlik-Dziki, U. Fenolokwasy jako bioaktywne składniki żywności. *Żywność Nauka Technologia Jakość*. 2004, 11(4 Spec), 29-40.
- Gancarz, M., Dobrzański, B. Jr., Malaga-Toboła, U., Tabor, S., Combrzyński, M., Ćwikła, D., Strobel, W.R., Oniszczuk, A., Karami, H., Darvishi, Y., Żytek, A., Rusinek, R. Impact of Coffee Bean Roasting on the Content of Pyridines Determined by Analysis of Volatile Organic Compounds. *Molecules*. 2022, 27(5),1559.
- Geiger, R., Perren, R., Kuenzli, R., Escher, F. Carbon dioxide evolution and moisture evaporation during roasting of coffee beans. *Journal of food science*. 2005, 70(2), E124-E130.
- Gruczynska, E., Kowalska, D., Kozłowska, D., Majewska, E., Tarnowska, K. Furan in roasted, ground and brewed coffee. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny*. 2018, 69(2), 111-118.
- Guinard, J. X., Frost, S., Batali, M., Cotter, A., Lim, L. X., Ristenpart, W. D. A new Coffee Brewing Control Chart relating sensory properties and consumer liking to brew strength, extraction yield, and brew ratio. *Journal of Food Science*. 2023, 88(5), 2168-2177.
- Guenther, H., Anklam, E., Wenzl, T., Stadler, R. H. Acrylamide in coffee: review of progress in analysis, formation and level reduction. *Food additives and contaminants*. 2007 24(sup1), 60-70.
- Hashim, L., Chaveron, H. Use of methylpyrazine ratios to monitor the coffee roasting. *Food Research International*. 1995, 28(6), 619-623.
- Hendon, C. H., Colonna-Dashwood, L., Colonna-Dashwood, M. The role of dissolved cations in coffee extraction. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2014, 62(21), 4947-4950.
- Heo, J., Choi, K. S., Wang, S., Adhikari, K., Lee, J. Cold brew coffee: Consumer acceptability and characterization using the check-all-that-apply (CATA) method. *Foods*. 2019, 8(8), 344.
- Heo, J, Adhikari, K, Choi, K.S., Lee, J. Analysis of Caffeine, Chlorogenic Acid, Trigonelline, and Volatile Compounds in Cold Brew Coffee Using High-Performance Liquid Chromatography and Solid-Phase Microextraction—Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Foods*. 2020, 9(12),1746.

- Hernández-Fernández, J., Puello-Polo, E., Márquez, E.. Furan as Impurity in Green Ethylene and Its Effects on the Productivity of Random Ethylene–Propylene Copolymer Synthesis and Its Thermal and Mechanical Properties. *Polymers*. 2023,15(10), 2264.
- Hofmann, T., Schieberle, P. New and convenient syntheses of the important roasty, popcorn-like smelling food aroma compounds 2-acetyl-1-pyrroline and 2-acetyltetrahydropyridine from their corresponding cyclic  $\alpha$ -amino acids. *Journal of agricultural and food chemistry*. 1998, 46(2), 616-619.
- Hofmann, T., Münch, P., Schieberle, P. Quantitative model studies on the formation of aroma-active aldehydes and acids by Strecker-type reactions. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2000, 48(2), 434-440.
- Holscher, W., Steinhart, H. Formation pathways for primary roasted coffee aroma compounds. *ACS Symposium Series 543*. 1994, 16, 206-217.
- Holscher, W., Steinhart, H. Aroma compounds in green coffee. *Developments in food science*. 1995, 37, 785-803.
- Hu, G., Peng, X., Gao, Y., Huang, Y., Li, X., Su, H., Qiu, M. Effect of roasting degree of coffee beans on sensory evaluation: Research from the perspective of major chemical ingredients. *Food chemistry*. 2020, 331, 127329.
- Huige, N. J. Progress in beer oxidation control. *Beer and Wine Production*. 1993, 536, 5, 64-97.
- Iwasa, K., Seta, H., Matsuo, Y., Nakahara, K. Evaluation of 3-Methylbutanoic Acid Methyl Ester as a Factor Influencing Flavor Cleanness in Arabica Specialty Coffee. *Applied Sciences*. 2021, 11(12), 5413.
- Jabłońska-Ryś, E., Zalewska-Korona, M., Sławińska, A. Zawartość polifenoli w wybranych kawach z gatunku *Coffea arabica*. *Towaroznawcze Problemy Jakości*. 2013, (2), 62-70.
- Jeon, J. S., Kim, H. T., Jeong, I. H., Hong, S. R., Oh, M. S., Yoon, M. H., Shim J. H, Jeong J. H, Abd El-Aty, A. M. Contents of chlorogenic acids and caffeine in various coffee-related products. *Journal of Advanced Research*. 2019, 17, 85-94.
- Kang, D. E., Lee, H. U., Davaatseren, M., Chung, M. S. Comparison of acrylamide and furan concentrations, antioxidant activities, and volatile profiles in cold or hot brew coffees. *Food Science and Biotechnology*. 2020, 29, 141-148.
- Kirkey, C., Braden, T. An introduction to ice cider in Quebec: a preliminary overview. *Journal of Eastern Townships Studies/Revue D'études Des Cantons-de-l'Est (JETS/RECE)*. 2014, 43.
- Krzysztofik, B., Drózdź, T., Sobol, Z., Nawara, P., Wrona, P. Metody zabezpieczania i utrwalania surowców oraz produktów żywnościowych. *Polskie Towarzystwo Inżynierii Rolniczej*. 2105, 27-40.
- Küçükkömürlü, S., Özgen, L. Coffee and Turkish coffee culture. *Pakistan Journal of Nutrition*. 2009, 8(10), 1693-1700.
- Kuswardhani, N., Mukti, N. P., Sari, P. Antioxidant and sensory properties of ready to drink coffee-ginger made from decaffeinated and non-decaffeinated robusta coffee beans. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 653. 2021, 012050.
- Kwok, R., Lee, W.T.K., Schwarz, S., Claassen, L., Lachenmeier, D.W.. Current Challenges of Cold Brew Coffee-Roasting, Extraction, Flavor Profile, Contamination, and Food Safety. *Challenges*. 2020, 11(2),26.
- Kyroglou, S.; Laskari, R.; Vareltzis, P. Optimization of Sensory Properties of Cold Brew Coffee Produced by Reduced Pressure Cycles and Its Physicochemical Characteristics. *Molecules*. 2022, 27, 2971.
- Kyroglou, S., Thanasouli, K., Vareltzis, P. Process characterization and optimization of cold brew coffee: Effect of pressure, temperature, time and solvent volume on yield, caffeine and phenol content. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2021, 101(11), 4789-4798.



- Lambot, C., Herrera, J. C., Bertrand, B., Sadeghian, S., Benavides, P., Gaitán, A. Cultivating Coffee Quality—Terroir and Agro-Ecosystem. *The Craft and Science of Coffee*. 2017, 17–49.
- Lane, S., Palmer, J., Christie, B., Ehling, J., Le, C. Can cold brew coffee be convenient? A pilot study for caffeine content in cold brew coffee concentrate using high performance liquid chromatography. *The Arbutus Review*. 2017, 8(1), 15-23.
- Langi, T. M., Paat, F. J., Kusuma, S. D., Oesso, Y. Y., Liwu, S. L., Mamuaja, C. F., Latumakulita L. A., Tooy D., Rumambi D. P., Pinatik H. F., Mamarimbing, R. The Effect of Arabica and Robusta Coffee Blends on Caffeine Content, Acidity and Organoleptic Properties of Instant Coffee. *Journal of Agriculture*. 2023, 2 (2), 183-192.
- Lee, L. W., Tay, G. Y., Cheong, M. W., Curran, P., Yu, B., Liu, S. Q. Modulation of the volatile and non-volatile profiles of coffee fermented with *Yarrowia lipolytica*: I. Green coffee. *LWT*. 2017, 77, 225-232.
- Lee, L. W., Cheong, M. W., Curran, P., Yu, B., Liu, S. Q. Coffee fermentation and flavor—An intricate and delicate relationship. *Food chemistry*. 2015, 185, 182-191.
- Loutfi, A., Coradeschi, S., Mani, G. K., Shankar, P., Rayappan, J. B. B. Electronic noses for food quality: A review. *Journal of Food Engineering*. 2015, 144, 103-111.
- Liu, X., Wang, W., Fei, Y., Zhou, Y., Jin, L., Xing, Z. Effect of sterilization methods on the flavor of cold brew coffee. *Beverage Plant Research*. 2022, 2(1), 1-7.
- Maksimowski, D., Pachura N., Oziembłowski, M., Nawirska-Olszańska, A., Szumny, A.. Coffee Roasting and Extraction as a Factor in Cold Brew Coffee Quality. *Applied Sciences*. 2022, 12(5), 2582.
- Marcinkowska, M. A. Lotne produkty degradacji glukozyolanów jako związki sensorycznie aktywne w warzywach kapustowatych. Praca doktorska. Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu. Poznań, 2023.
- Mariotti-Celis, M. S., Cortés, P., Dueik, V., Bouchon, P., Pedreschi, F. Application of vacuum frying as a furan and acrylamide mitigation technology in potato chips. *Food and bioprocess technology*. 2017, 10, 2092-2099.
- Mathew, A. K., Abraham, A., Mallapureddy, K. K., Sukumaran, R. K. Lignocellulosic Biorefinery Wastes, or Resources? *Waste Biorefinery*. 2018, 267–297.
- Meireles, D. A. L., Valdez, A. S. B., Boroski, M., Augusto, S. C., Toci, A. T. Effects of pollination on the composition of volatile compounds in *Coffea arabica* L. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2022, 102(11), 4955-4960.
- Mestdagh, F., Glabasnia, A., Giuliano, P. The brew-Extracting for excellence. In *The craft and science of coffee*. Academic Press. 2017, 355-380.
- Michalska, A., & Zielinski, H. Produkty reakcji Maillarda w żywności. *Żywność Nauka Technologia Jakość*. 2007, 2(51), 5-16.
- Minorczyk, M., Góralczyk, K., Struciński, P., Hernik, A., Czaja, K., Łyczewska, M., Korcz, W., Starski, A., Ludwicki, J. K. Risk assessment for infants exposed to furan from ready-to-eat thermally processed food products in Poland. *Rocz Panstw Zakl Hig*. 2012, 63(4):403-10.
- Miyawaki, O., Inakuma, T. Development of progressive freeze concentration and its application: A review. *Food and Bioprocess Technology*. 2021, 14(1), 39-51.
- Mohammed, A. S., Shehasen, M. Z. Occurrence of Acrylamide in Coffee. *International Journal of Research Studies in Science, Engineering and Technology*. 2020, 7 (5), 24-36.
- Mojska, H., Giełecinska, I. Studies of acrylamide level in coffee and coffee substitutes: influence of raw material and manufacturing conditions. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny*. 2013, 64(3).

- Moon, J. K., Shibamoto, T. Formation of volatile chemicals from thermal degradation of less volatile coffee components: quinic acid, caffeic acid, and chlorogenic acid. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2010, 58(9), 5465-5470.
- Moreno, F. L., Raventós, M., Hernández, E., Ruiz, Y. Block freeze-concentration of coffee extract: Effect of freezing and thawing stages on solute recovery and bioactive compounds. *Journal of Food Engineering*. 2014, 120, 158-166.
- Nadulski, R. Wpływ parametrów procesu zagęszczania na jakość koncentratu soku jabłkowego. *Inżynieria Rolnicza*. 2009, 13, 117-122.
- Nebesny, E., Budryn, G. Evaluation of sensory attributes of coffee brews from robusta coffee roasted under different conditions. *European Food Research and Technology*. 2006, 224, 159-165.
- Nursten, H. E. *The Maillard reaction: chemistry, biochemistry and implications*. Royal Society of Chemistry, 2005.
- Oliveira, A. L. D., Cabral, F. A., Eberlin, M. N., Cordello, H. M. A. B. Sensory evaluation of black instant coffee beverage with some volatile compounds present in aromatic oil from roasted coffee. *Food Science and Technology*. 2009, 29, 76-80.
- Orellana-Palma, P., Takhar, P. S., Petzold, G. Increasing the separation of block cryoconcentration through a novel centrifugal filter-based method. *Separation Science and Technology*. 2019, 54(5), 786-794.
- Orellana-Palma, P., Petzold, G., Guerra-Valle, M., Astudillo-Lagos, M. Impact of block cryoconcentration on polyphenol retention in blueberry juice. *Food Bioscienc.* e2017, 20, 149-158.
- Orzel, D., Biernat, J. Furan i akrylamid w żywności. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*. 2011, 44 (3), 225-232.
- Pan, L., Xiao, Y., Jiang, F., Jiang, T., Zhu, J., Tang, W., Zhou, Y., Yu, L. Comparison of characterization of cold brew and hot brew coffee prepared at various roasting degrees. *Journal of Food Processing and Preservation*. 2023.
- Pantaleo, A. M., Fordham, J., Oyewunmi, O. A., De Palma, P., Markides, C. N. Integrating cogeneration and intermittent waste-heat recovery in food processing: Microturbines vs. ORC systems in the coffee roasting industry. *Applied Energy*. 2018, 225, 782-796.
- Pantaleo, A. M., Fordham, J., Oyewunmi, O. A., Markides, C. N. Intermittent waste heat recovery via ORC in coffee torrefaction. *Energy Procedia*. 2017, 142, 1714-1720.
- Parker, J. K., Elmore, S., Methven, L. *Flavour development, analysis and perception in food and beverages*. Elsevier Science. 2014, 7-21.
- Parliment, T. H. An overview of coffee roasting. *ACS Symposium Series 754*. 2000, 20, 188-201.
- Pelczyńska, M., Bogdański, P. Prozdrowotne właściwości kawy. *Varia Medica*. 2019, 3(4), 311-317.
- Pérez-Martínez, M., Sopelana, P., de Peña, M. P., Cid, C. Effects of refrigeration and oxygen on the coffee brew composition. *European food research and technology*. 2008, 227, 1633-1640.
- Petisca, C., Pérez-Palacios, T., Farah, A., Pinho, O., Ferreira, I. M. Furans and other volatile compounds in ground roasted and espresso coffee using headspace solid-phase microextraction: Effect of roasting speed. *Food and Bioproducts Processing*. 2013, 91(3), 233-241.
- Petrotos, K. B., Lazarides, H. N. Osmotic concentration of liquid foods. *Journal of food engineering*. 2001, 49(2-3), 201-206.

- Petzold, G., Moreno, J., Lastra, P., Rojas, K., Orellana, P. Block freeze concentration assisted by centrifugation applied to blueberry and pineapple juices. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 2015, 30, 192-197.
- Polanco-Estibález, B., García-Santa-Cruz, R., Queirós, R.P., Serment-Moreno, V., González-Angulo, M., Tonello-Samson, C., Rivero-Pérez, M.D. High-Pressure Processing for Cold Brew Coffee: Safety and Quality Assessment under Refrigerated and Ambient Storage. *Foods*. 2023, 12(23):4231.
- Poltronieri, P., Rossi, F. Challenges in Specialty Coffee Processing and Quality Assurance. *Challenges*. 2016, 7(2):19.
- Rao, N. Z., Fuller, M., Peoples, M., Adams, D., Wilkinson, F., Fallon, K. Ready, Drink! Chemical Characterization of Ready-to-Drink Cold Brew Coffee Products. *Food Studies*. 2020, 10(2), 31.
- Rao N.Z, Fuller M, Grim M.D. Physiochemical Characteristics of Hot and Cold Brew Coffee Chemistry: The Effects of Roast Level and Brewing Temperature on Compound Extraction. *Foods*. 2020, 9(7):902.
- Rodrigues, S., Fernandes, F. A. Green chemistry applied to ground coffee volatile compounds modification aiming coffee aroma improvement. *Journal of Food Processing and Preservation*. 2023.
- Ruosi, M. R., Cordero, C., Cagliero, C., Rubiolo, P., Bicchi, C., Sgorbini, B., Liberto, E. A further tool to monitor the coffee roasting process: Aroma composition and chemical indices. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2012, 60(45), 11283-11291.
- Rusinek, R., Dobrzański, B. Jr., Oniszczuk, A., Gawrysiak-Witulska, M., Siger, A., Karami, H., Ptaszyńska, A. A., Żytek, A., Kapela, K., Gancarz, M. How to Identify Roast Defects in Coffee Beans Based on the Volatile Compound Profile. *Molecules*. 2022, 27(23),8530.
- Schenker, S. Investigations on the hot air roasting of coffee beans. Doctoral dissertation, ETH Zurich. 2000
- Seninde, D.R, Chambers E. Coffee Flavor: A Review. *Beverages*. 2020, 6(3):44.
- Semmelroch, P., Laskawy, G., Blank, I. Grosch, W. Determination of potent odourants in roasted coffee by stable isotope dilution assays. *Flavour and fragrance journal*. 1995, 10(1), 1-7.
- Semmelroch, P., Grosch, W. Studies on character impact odorants of coffee brews. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1996, 44(2), 537-543.
- Severini, C., Derossi, A., Ricci, I., Fiore, A. G., Caporizzi, R. How much caffeine in coffee cup? Effects of processing operations, extraction methods and variables. *Quest. Caffeine*. 2017, 45-85.
- Soares, C., Cunha, S., Fernandes, J. Determination of acrylamide in coffee and coffee products by GC-MS using an improved SPE clean-up. *Food additives and contaminants*. 2006, 23(12), 1276-1282.
- Soares, C. M., Alves, R. C., Oliveira, M. B. P. Acrylamide in coffee: Influence of processing. In *Processing and impact on active components in food*. Academic Press. 2015, 575-582.
- Somnam, S., Kanna, M. Flow-based titration with a colorimetric detection box using a smartphone for the determination of titratable acidity in coffee. *ScienceAsia*. 2020, 46(1).
- Sunarharum, W. B., Ali, D. Y., Mahatmanto, T., Nugroho, P. I., Asih, N. E., Mahardika, A. P., Geofani, I. The Indonesian coffee consumers perception on coffee quality and the effect on consumption behavior. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2021, 733 (1), 012093.
- Sunarharum, W. B., Williams, D. J., Smyth, H. E. Complexity of coffee flavor: A compositional and sensory perspective. *Food research international*. 2014, 62, 315-325.

- Stanek, N., Zarębska, M., Biłos, Ł., Barabosz, K., Nowakowska-Bogdan, E., Semeniuk, I., Błaszkiwicz, J., Kulesza R., Matejuk, R., Szkutnik, K. Influence of coffee brewing methods on the chromatographic and spectroscopic profiles, antioxidant and sensory properties. *Scientific Reports*. 2021, 11(1), 21377.
- Stasiak, D. M. Wykorzystanie ultradźwięków do przyśpieszenia wodnej ekstrakcji cukru z krajanki buraka cukrowego. *Acta Scientiarum Polonorum Technica Agraria*. 2005, 4(2), 31-39.
- Svensson, K., Abramsson, L., Becker, W., Glynn, A., Hellenäs, K. E., Lind, Y., Rosen, J. Dietary intake of acrylamide in Sweden. *Food and Chemical Toxicology*. 2003, 41(11), 1581-1586.
- Śmiechowska, M., Dmowski, P. Knowledge of organic production and Fair Trade rules among coffee consumers in Poland. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*. 2008, 53(4).
- Taeymans, D., Wood, J., Ashby, P., Blank, I., Studer, A., Stadler, R. H., Whitmore, T. A review of acrylamide: an industry perspective on research, analysis, formation, and control. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2004, 44(5), 323-347.
- Tfouni, S. A., Serrate, C. S., Carreiro, L. B., Camargo, M. C., Teles, C. R., Cipolli, K. M., Furlani, R. P. 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 & Technology*. 2012, 47(2), 406-415.
- Ting, Z. W. E., Chew, Y. L., Ng, J. C., Xing, J., Zhan, Z. High Sensitivity Analysis of Acrylamide in Potato Chips by LC/MS/MS with Modified QuEChERS Sample Pre-treatment Procedure. 2014.
- Toci, A. T., Farah, A. Volatile compounds as potential defective coffee beans' markers. *Food chemistry*. 2008, 108(3), 1133-1141.
- Toledo, P. R., Pezza, L., Pezza, H. R., Toci, A. T. Relationship between the different aspects related to coffee quality and their volatile compounds. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2016, 15(4), 705-719.
- Van Gemert, L. J. Odour thresholds: Compilations of odour threshold values in air, water and other media. *Oliemans Punter*. 2011.
- Várady M., Tauchen J., Klouček P., Popelka P.. Effects of Total Dissolved Solids, Extraction Yield, Grinding, and Method of Preparation on Antioxidant Activity in Fermented Specialty Coffee. *Fermentation*. 2022, 8(8),375.
- Várvölgyi, E., Gere, A., Szöllösi, D., Sipos, L., Kovács, Z., Kókai, Z., Csóka, M., Mednyánszky, Zs., Fekete, A., Korány, K. Application of sensory assessment, electronic tongue and GC–MS to characterize coffee samples. *Arabian Journal for Science and Engineering*. 2015, 40, 125-133.
- Von Melanie, S. Das Mineralienverhältnis im Wasser bestimmt den Extraktionsprozess und den Geschmack des Kaffees. Mit freundlicher Empfehlung von BWT water+more. 2017.
- Wang, Y., Wang, W., Zhou, Q., Cheng, C., Xing, Z., Zhou, Y., Yu, Y. Characterization of key aroma compounds in cold brew coffee prepared by negative-pressure extraction technology and its changes during storage. 2024, *LWT*, 115919.
- Wang, X., Lim, L. T. Modeling study of coffee extraction at different temperature and grind size conditions to better understand the cold and hot brewing process. *Journal of Food Process Engineering*. 2021, 44(8), e13748.
- Wang, X., Lim, L. T. Investigation of CO<sub>2</sub> precursors in roasted coffee. *Food chemistry*. 2017, 219, 185-192.
- Wei, K. Non-thermal cold brew coffee concentration. 2021.

- Yanagimoto, K., Lee, K. G., Ochi, H., Shibamoto, T. Antioxidative activity of heterocyclic compounds found in coffee volatiles produced by Maillard reaction. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2002, 50(19), 5480-5484.
- Yang, N., Liu, C., Liu, X., Degen, T. K., Munchow, M., Fisk, I. Determination of volatile marker compounds of common coffee roast defects. *Food Chemistry*. 2016, 211, 206-214.
- Yasuhara, A., Tanaka, Y., Hengel, M., Shibamoto, T. Gas chromatographic investigation of acrylamide formation in browning model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003, 51(14), 3999-4003.
- Yilmaz, E. The chemistry of fresh tomato flavor. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 2001, 25(3), 149-155,
- Yust B.G., Wilkinson F., Rao N.Z. Variables Affecting the Extraction of Antioxidants in Cold and Hot Brew Coffee: A Review. *Antioxidants*. 2024, 13(1):29.
- Zakaria, N.H., Whanmek, K., Thangsiri, S., Chathiran, W., Srichamnong, W., Suttisansanee, U., Santivarangkna, C. Optimization of Cold Brew Coffee Using Central Composite Design and Its Properties Compared with Hot Brew Coffee. *Foods*. 2023, 12, 2412.
- Zapata, J., Londoño, V., Naranjo, M., Osorio, J., Lopez, C., Quintero, M. Characterization of aroma compounds present in an industrial recovery concentrate of coffee flavour. 2018, *Journal of Food*, 16(1), 367-372.
- Zhai, X., Yang, M., Zhang, J., Zhang, L., Tian, Y., Li, C., Bao, L., Ma, C., Abd El-Aty, A. M. Feasibility of ultrasound-assisted extraction for accelerated cold brew coffee processing: Characterization and comparison with conventional brewing methods. *Frontiers in Nutrition*. 2022, 9, 849811.
- Zhang, L., Wang, X., Manickavasagan, A., Lim, L. T. Extraction and physicochemical characteristics of high pressure-assisted cold brew coffee. *Future Foods*. 2022, 5, 100113.
- Zhang, D., Gao, M., Cai, Y., Wu, J., Lao, F. Profiling flavor characteristics of cold brew coffee with GC-MS, electronic nose and tongue: effect of roasting degrees and freeze-drying. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2024. 104(10), 6139-6148. <https://doi.org/10.1002/jsfa.13437>
- Zhao, C., Cao, H., Xiao, J. Pyrazines in food. *Handbook of dietary phytochemicals*. 2020, 1-25.
- Ziefuß, A. R., Hupfeld, T., Meckelmann, S. W., Meyer, M., Schmitz, O. J., Kaziur-Cegla, W., Tintrop, L.C., Schmidt, T.C, Gökce, B., Barcikowski, S. Ultrafast cold-brewing of coffee by picosecond-pulsed laser extraction. *npj Science of Food*. 2022, 6(1), 19.

### **Źródła internetowe:**

- Źródło nr 1: <https://www.internationalcoffeecouncil.com/cdr2020>, dostęp: 11.01.2024r.
- Źródło nr 2: <https://coffeplant.pl/>, dostęp: 11.01.2024r.
- Źródło nr 3: <https://ncez.pzh.gov.pl/abc-zywienia/zasady-zdrowego-zywienia/piramida-zdrowego-zywienia-i-aktywnosci-fizycznej-dla-osob-doroslych-2/>, dostęp: 15.04.2024r.
- Źródło nr 4: [:https://scahellas.com/portfolio/scae-water-chart/](https://scahellas.com/portfolio/scae-water-chart/), dostęp: 26.03.2024r.
- Źródło nr 5: <https://homegroundcoffeeroasters.com/blogs/journals/coffee-extraction-theory>, dostęp: 28.03.2024r.
- Źródło nr 6: <https://elea-technology.com/tiles/cold-brew-coffee/>, dostęp: 13.04.2024r.
- Źródło nr 7: <https://explorercoldbrew.com/products/big-bottle-32oz>, dostęp: 20.06.2024r.

## 11. Dokumentacja aplikacyjna

W ramach projektu finalną recepturę kawy instant poddano testom produkcji na prototypie technologicznym, który opracowano w toku studiów. Podstawowe elementy wchodzące w skład układu to: zbiornik ekstrakcji w filtrem wstępnym oraz komorą na kawę prażoną, pompa dwukierunkowa, zbiornik buforowy, zbiornik do procesu kriokoncentracji oraz wyposażenie pomiarowe (kontrola temperatury, czasu, automatyczny wyłącznik). Główną zaletą prototypowego układu jest sposób ekstrakcji, który polega na przepływie wody przez stałe podłoże w systemie ciągłym lub periodycznym. Ponadto, zastosowano jednostopniowy moduł koncentracji w oparciu o system blokowy (zamrażanie całej objętości ekstraktu), który charakteryzuje się prostą konstrukcją i obsługą.



Rys. 246. Prototypowy układ technologiczny do ekstrakcji i koncentracji kawy cold brew

W wyniku prób eksperymentalnych pozyskiwano średnio 2000 ml ekstraktu, który zamrażano w całej objętości otrzymując 22 porcje koncentratu. Parametry składu chemicznego (kofeina, 3-CQA, akrylamid) produktu były zgodne ze składem wariantu doświadczalnego  $6g \times 1,0mm \times 25^{\circ}C \times 12h$ , który wytypowano do produkcji.

Dokonano wstępnych analiz wydajności. Za ciepło właściwe roztworu przyjęto wartość  $4,18 \text{ kJ/kg} \times K$ . Ze względu na grubość ścian 1mm zbiornika koncentracyjnego i niską pojemność cieplną stali nierdzewnej ( $0,5 \text{ kJ/kg} \times K$  w porównaniu do  $4,18 \text{ kJ/kg} \times K$  dla wody) w obliczeniach teoretycznych energii potrzebnej na zamrożenie kg ekstraktu pominięto opór cieplny materiału. Z uwagi na fakt, że w każdym cyklu produkcyjnym proces instancjacji następował w zmiennych warunkach temperatury hali produkcyjnej w firmie, ustalono, że potrzebna jest średnia dawka w ilości 430 kJ energii do otrzymania gotowego produktu. Wartość wyliczono tylko dla procesu krzepnięcia, z równania na ilość ciepła określającą zmianę energii wewnętrznej układu:

$$Q = C_w \times m \times \Delta t$$

Obliczenia parametrów procesu wydajności zateżania obliczano w każdym cyklu za pomocą następującego równania:

$$\eta (\%) = ((\text{TDS koncentratu} - \text{TDS frakcji lodu}) / \text{TDS koncentratu}) \times 100\%,$$

gdzie średnia wartość wynosiła  $\pm 83\%$ .

Odzysk substancji rozpuszczonej ( $W_{sr}$ ) obliczono dla każdego cyklu kriokoncentracji przy użyciu następującego równania:

$$W_{sr} = V_k / V_e,$$

wobec, którego średnia wartość wynosiła 0,11 litr koncentratu/ 1 l ekstraktu, gdzie  $V_k$  to objętość otrzymanego koncentratu, a  $V_e$  to początkowa objętość ekstraktu.

Podsumowując, wyniki badań uzyskane w ramach **IV edycji Doktoratu Wdrożeniowego** zrealizowanego w Szkole Doktorskiej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu oraz zdobyte doświadczenie B+R o wartości aplikacyjnej w firmie odzwierciedlają duże możliwości rozszerzenia asortymentu produkcji. W konsekwencji projekt przedstawił złożoną konceptualizację innowacyjności produktowej, które mają z jednej strony posiadać typowe pozytywne cechy napoju o właściwościach pobudzających, a z drugiej strony mają być również w założeniach produktem zdrowszym i o bogatej charakterystyce aromatyczno-smakowej. Ponadto, korzyści wynikające z docelowego poziomu technologii to nowy rodzaj napoju w sektorze napojów bezalkoholowych typu instant.