

## **IDENTYFIKACJA GEOGRAFICZNEGO POCHODZENIA KAW GATUNKU *COFFEA ARABICA* I *COFFEA CANEPHORA* VAR. W OPARCIU O ICH SKŁAD CHEMICZNY**

**Marcin Bryła<sup>1,2</sup>, Mieczysław Obiedziński<sup>1</sup>, Janusz Sękul<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie  
Wydział Nauk o Żywności  
ul. Nowoursynowska 159C  
02-776 Warszawa

<sup>2</sup> Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego  
Zakład Analizy Żywności  
ul. Rakowiecka 36  
02-532 Warszawa  
e-mail: marcin-bryla@wp.pl

### **Streszczenie**

Celem pracy było określenie przydatności zastosowania zawartości steroli w zielonym oraz palonym ziarnie kawowym do rozróżniania kaw dwóch gatunków o różnym pochodzeniu geograficznym. Obiektem badań było pięć kaw arabskich pochodzących z Gwatemali, Etiopii, Brazylii, Kolumbii i Kostaryki oraz jedna robusta pochodząca z Indii. Skład steroli zbadano metodą chromatografii gazowej i spektrometrii mas. Zidentyfikowano i oznaczono ilościowo 3 sterole (kampesterol, stigmasterol,  $\beta$ -sitosterol). Różnice ilościowe w składzie steroli zilustrowano za pomocą analizy składowych głównych (PCA).

**Słowa kluczowe:** sterole, ziarna kawy, GC/MS, PCA

## **IDENTIFICATION OF *COFFEA ARABICA* I *COFFEA CANEPHORA* VAR. GEOGRAPHICAL ORIGIN ON THE BASIS OF ITS CHEMICAL COMPOSITION**

### **Summary**

The aim of this study was to assess the usefulness of sterol fraction analysis in raw and roasted beans for identification of the geographical origin of two coffee species. Experimental material was composed of five Arabica coffees from Guatemala, Ethiopia, Brazil, Columbia, and Costa Rica and one Robusta coffee sample from India. Sterol composition was determined with purpose of gas chromatography and mass spectrometry. Three different compounds (campesterol, stigmasterol and  $\beta$ -sitosterol) were identified and quantified in the studied samples. Differences in the sterol composition were assessed with purpose of principal component analysis (PCA) statistical method.

**Key words:** sterols, coffee grains, GC/MS, PCA

## WSTĘP

Słowo „kawa” pochodzi od łacińskiej nazwy rodzaju *Coffea*, należącego do rodziny *Rubiaceae* i obejmującego ponad 500 rodzajów i 6 tys. gatunków, w większości tropikalnych drzew i krzewów. Za najcenniejszy i najważniejszy gatunek uważa się *Coffea arabica* (tzw kawa arabska, Arabika) pochodzący z wyżyn Etiopii. Kawa arabska uprawiana jest obecnie na plantacjach na terenie Afryki, Ameryki Południowej, Australii i Azji. Inne popularne gatunki to *Coffea canephora var. robusta* (tzw. kawa koszykowa, Robusta) [Thorn 2006].

Szerokość asortymentu i zróżnicowanie cenowe dostępnych kaw wyraźnie sugerują istnienie pewnych różnic jakościowych w ziarnie, a co za tym idzie, w otrzymanywanych z niego naparach, których cechy organoleptyczne ściśle zależą od pochodzenia geograficznego surowca.

Wspólnotowe prawo żywnościowe wysoko stawia kwestię ochrony konsumentów przed wszelkimi nieuczciwymi praktykami ze strony producentów artykułów żywnościowych, w tym przed próbami fałszowania produktów spożywczych. W konsekwencji wydaje się uzasadnionym rozwijanie możliwie prostych metod pozwalających na identyfikację geograficznego pochodzenia produktu. Potencjał parametrów fizykochemicznych ziarna kawy do różnicowania jej gatunków i pochodzenia mógłby być z powodzeniem zastosowany w małych zakładach np. kawiarniach do oceny autentyczności produktów oferowanych konsumentom.

W pracy podjęto próbę zbadania składu steroli zawartych w ziarnie kawowym wykorzystywanym w lokalnej palarnio-kawiarni oraz oceniono możliwość grupowania próbek ziarna kaw o różnym pochodzeniu geograficznym w oparciu o pomiar zawartości steroli.

Skład chemiczny kawy zielonej zależy od jej gatunku, odmiany, warunków klimatycznych uprawy i zastosowanych technik agrotechnicznych i przetwórczych [Grosch i Belitz 2006]. Skład chemiczny zielonych i palonych ziaren Arabiki i Robusty przedstawiono w tabeli 1.

**Tabela 1.** Skład chemiczny ziaren kawy zielonej  
 [http://www.ico.org/event\_pdfs/patarroyo.pdf]  
*Chemical composition of green cafe beans*  
 [http://www.ico.org/event\_pdfs/patarroyo.pdf]

Nazwa związku	Zawartość związku [%]			
	Arabika		Robusta	
	zielona	palona	zielona	palona
Związki mineralne	3,0-4,2	3,5-4,5	4,0-4,5	4,6-5,0
Kofeina	0,9-1,2	0,9-1,0	1,6-2,4	1,8-2,0
Trigonelina	1,0-1,2	0,5-1,0	0,6-0,75	0,3-0,6
Lipidy	12,0-18,0	14,5-20,0	9,0-13,0	11,0-16,0
Kwasy chlorogenowe	5,5-8,0	1,2-2,3	7,0-10,0	3,9-4,6
Wolne kwasy alifatyczne	1,5-2,0	1,0-1,5	1,5-2,0	1,0-1,5
Oligosacharydy	6,0-8,0	0,0-3,5	5,0-7,0	0,0-3,5
Polisacharydy	50,0-55,0	24,0-39,0	37,0-47,0	-
Wolne aminokwasy	2,0	-	2,0	-
Białko	11,0-13,0	13,0-15,0	11,0-13,0	13,0-15,0
Kwasy huminowe	-	16,0-17,0	-	16,0-17,0

Sterole chemicznie należą do grupy alkoholi alicyklicznych z grupy steroidów. Z materiału roślinnego lub zwierzęcego są ekstrahowane wraz z innymi lipidami. W tłuszczach sterole występują jako wolne alkohole oraz w postaci estrów z kwasami tłuszczowymi i glikozydów [Sikorki 2007].

Fracja sterolowa w ziarnie kawy stanowi średnio 5,5% zawartości tłuszczu. Stwierdzono, że 40% wszystkich steroli w zielonej kawie stanowią sterole w formie wolnej, natomiast pozostałe 60% występuje w postaci zestryfikowanej [Speer, Killing-Speer, 2006]. We frakcji sterolowej 92,7% stanowią 4-desmetylosterole. Badania wykazały, że skład jakościowy frakcji steroli nie zależy od pochodzenia geograficznego kawy [Flament, 2002].

Stwierdzono, że spośród 4-desmetylosteroli w kawie dominują trzy:  $\beta$ -sitosterol (ok. 50%), stigmasterol i kampesterol [Flament, 2002]. Poza nimi, w mniejszych ilościach występują:  $\Delta$ 5-awenasterol, 24-metylenocholesterol, sitostanol,  $\Delta$ 7-stigmastenol,  $\Delta$ 7-awenasterol. Pomędzy Arabiką, a Robustą występują wyraźne różnice w zawartości  $\Delta$ 5-awenasterolu i 24-metylenocholesterolu. Kawa Robusta zawiera ich dużo więcej. Pomiar zawartości tych steroli może służyć do wykrywania 20-procentowego dodatku kawy z Robusta do kaw arabskich [Speer, Kölling-Speer 2002].

Badania nad sterolami w formie wolnej wykazały, że proporcje ilościowe we frakcji wolnych steroli układają się nieco inaczej niż w całkowitej frakcji. W największych ilościach występował stigmasterol, potem  $\beta$ -sitosterol, najmniej było kampesterolu. W przypadku

estrów steroli proporcje przedstawiły się następująco: ziarno zawierało najwięcej  $\beta$ -sitosterolu, następnie kampesterolu, a najmniej stigmasterolu [Speer i Kölling-Speer, 2006].

### **MATERIAŁ I METODY BADAŃ**

Materiał badawczy stanowiło pięć kaw z gatunku arabika pochodzących z Kolumbii (K), Gwatemali (G), Kostaryki (CR), Brazylii (B) i Etiopii (E). Próbkę ziarna kawowego zielonego i upalonego otrzymano od pobliskiej palarni. Podobnie uzyskano próbki ziarna kawy Robusta (R, kraj pochodzenia: Indie) z końcowego etapu palenia.

Próbki z końcowego etapu palenia (ziarno upalone) pobrano w piętnastej minucie, gdy temperatura ziarna kaw osiągnęła 208°C. Proces palenia przeprowadzono w piecu firmy PROBAT.

Ziarno przechowywano w szczelnie zamkniętych torebkach aluminiowych w temperaturze pokojowej. Ziarna kawy mielono w młynku laboratoryjnym firmy Retsh Grindomix bezpośrednio przed przystąpieniem do analiz.

Do próbek wirówkowych nważono 1 g świeżo zmielonej kawy, następnie dodawano 50 ml aceton:heksan 1:1(V:V) i prowadzono ekstrakcję tłuszczu w wirówce przez 10 min. przy 8000 obr./min. Do próbki zważonej z dokładnością do 0,0001 g, przelewano 3 ml fazy organicznej, dodawano 100  $\mu$ l standardu wewnętrznego (5- $\alpha$ -cholestan o stężeniu 20 mg/50 ml w chloroformie) i odparowywano w strumieniu azotu. Z różnicy masy próbki po odparowaniu i samej próbki obliczano zawartość tłuszczu. Po odparowaniu acetonu i chloroformu dodawano 1,5 ml heksanu i 0,5 ml 0,5 M KOH w metanolu w celu przeprowadzenia transestryfikacji umożliwiającej oznaczenie wszystkich estrów steroli. Proces przeprowadzano w temperaturze pokojowej przez 0,5 godziny, wytrząsając próbkę w równych odstępach czasu. Po ukończonej transestryfikacji 200  $\mu$ l roztworu frakcji niezmydlonej przenoszono do fiolki chromatograficznej i odparowywano rozpuszczalniki w strumieniu azotu. Następnie dodawano 100  $\mu$ l odczynnika BSTFA z 1% TCMS oraz taką samą ilość pirydyny. Próbkę wytrząsano i prowadzono proces upochodnienia przez 24 godz. w temperaturze pokojowej. Po tym czasie dodawano 1 ml heksanu. Do analizy chromatograficznej pobierano 1  $\mu$ l próbki.

### **Rozdział i identyfikacja steroli za pomocą GC/MS**

Analizę prowadzono przy użyciu chromatografu gazowego sprzężonego ze spektrometrem mas (GC/MS-QP2010S, Shimadzu).

Warunki rozdziału chromatograficznego: temperatura komory nastrzykowej: 250°C, gaz nośny: hel; początkowe ciśnienie gazu nośnego: 52,3 kPa, stały przepływ w kolumnie: 0,98 ml·min<sup>-1</sup>, dzielnik strumienia: 1:10,0; prędkość liniowa gazu nośnego: 36,0 cm/s, rodzaj kolumny: DB-5ms; długość: 30,0 m; grubość fazy stacjonarnej: 0,25 μm, średnica wewnętrzna: 0,25 mm, całkowity czas analizy: 76,00 min.

**Tabela 2** Program temperaturowy pieca chromatografu gazowego

*Gas chromatographs oven temperature program*

tempo przyrostu temperatury [°C/min.]	temperatura końcowa [°C]	Czas przetrzymania [min.]
-	50	2
5	250	1
3	310	13

Warunki pracy spektrometru mas: temperatura źródła jonów: 230°C, temperatura linii łączącej: 240°C; napięcie na detektorze: 1,3 kV; szybkość przemiatania (skanowania): 2000; zakres przemiatania: 100,00-600,00 (m/z); tryb pracy spektrometru: skanowanie.

Dla każdej kawy oznaczenie wykonano w trzech powtórzeniach. Identyfikację steroli przeprowadzono przy pomocy bibliotek widm masowych oraz danych literaturowych. Ilości poszczególnych steroli obliczono wg wzoru:

$$X = \frac{a \cdot A_2}{b \cdot A_1},$$

gdzie:

X – zawartość oznaczanego sterolu [mg/g tłuszczu];

a – ilość dodanego standardu wewnętrznego [mg];

b – zawartość tłuszczu w próbce [g];

A<sub>1</sub> – powierzchnia piku chromatograficznego standardu wewnętrznego [j.u.p.];

A<sub>2</sub> – powierzchnia piku chromatograficznego oznaczanego sterolu [j.u.p.].

W celu zilustrowania różnic ilościowych zawartości steroli w kawie oraz sprawdzenia możliwości rozróżniania próbek kawy o różnym pochodzeniu geograficznym w oparciu o wyniki analizy wybranych wyróżników chemicznych dane poddano ocenie statystycznej metodą składowych głównych (*principal component analysis*, PCA).

Wszystkie obliczenia wykonano przy zastosowaniu programu komputerowego *Statistica 8.0* oraz Microsoft Excel 2003.

## WYNIKI I DYSKUSJA

W próbkach badanych kaw zidentyfikowano 3 sterole: kampesterol, stigmasterol i  $\beta$ -sitosterol. Wyniki analizy zawartości steroli zestawiono w tabeli 3 oraz w tabeli 4.

Dominującym steroidem badanych kaw był  $\beta$ -sitosterol. W najmniejszych ilościach (średnio kilkanaście %) występował kampesterol. Wymienione trzy związki są głównymi związkami z grupy desmetylosteroli występującymi w kawie [Flament, 2002]. Speer i Kölling-Speer (2002) wykryli 14 różnych steroli we frakcji tłuszczowej kaw Arabica i Robusta. Obok  $\beta$ -sitosterolu, stigmasterolu i kampesterolu autorzy zidentyfikowali m.in. sitostanol,  $\Delta$ 5-awenasterol i  $\Delta$ 7-awenasterol. Podobnie, Carrera i wsp. (1998) wykryli w próbkach kawy zielonej, obok 3 steroli zidentyfikowanych w omawianym badaniu, również inne związki o charakterze triterpenów, w tym sitostanol i  $\Delta$ 5-awenasterol. Stwierdzone różnice jakościowe w składzie steroli między uzyskanymi wynikami a danymi literaturowymi mogą wynikać z różnic w zastosowanej metodyce oznaczania steroli. Przykładowo, Carrera i wsp. (1998) ekstrahowali tłuszcz metodą Soxhleta.

W celu zidentyfikowania i zilustrowania zależności między oznaczonym składem frakcji sterolowej i oceny możliwości grupowania kaw ze względu na pochodzenie geograficzne w oparciu o analizę steroli dane poddano ocenie statystycznej przy zastosowaniu techniki analizy składowych głównych (PCA). Wyniki analizy zilustrowano na wykresach 1-6.

**Tabela 3.** Procentowy udział steroli we frakcji sterolowej badanych kaw

*Average contribution of sterol to total sterol fraction of studied cafe samples*

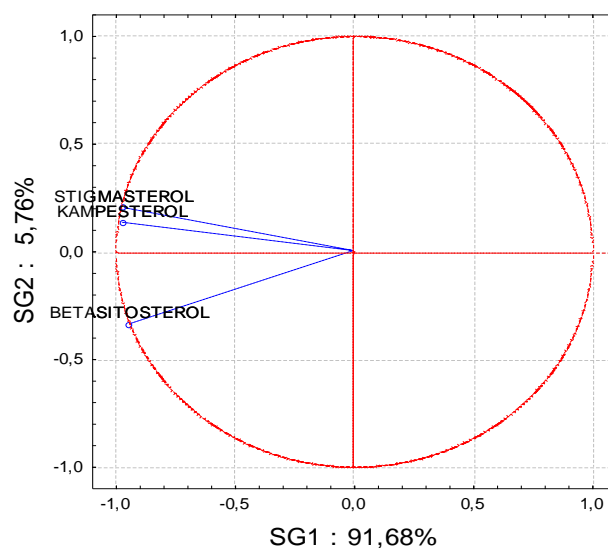
Kraj	Udział steroli [%]		
	Kampesterol	Stigmasterol	$\beta$ -sitosterol
Kawa zielona			
B	16,3	35,0	48,7
E	28,1	54,9	84,8
G	17,4	32,3	60,8
CR	14,0	31,2	53,1
K	19,9	35,5	63,3
Kawa z końcowego etapu palenia			
B	11,9	27,4	44,3
E	23,1	44,3	58,8
G	16,4	33,6	56,7
CR	13,7	28,2	45,7
K	16,2	27,4	52,2
R	18,2	34,3	55,4

**Tabela 4.** Zawartość steroli w badanych kawach [mg/100g tłuszczu]  
*Sterol contents in studied cafe samples*

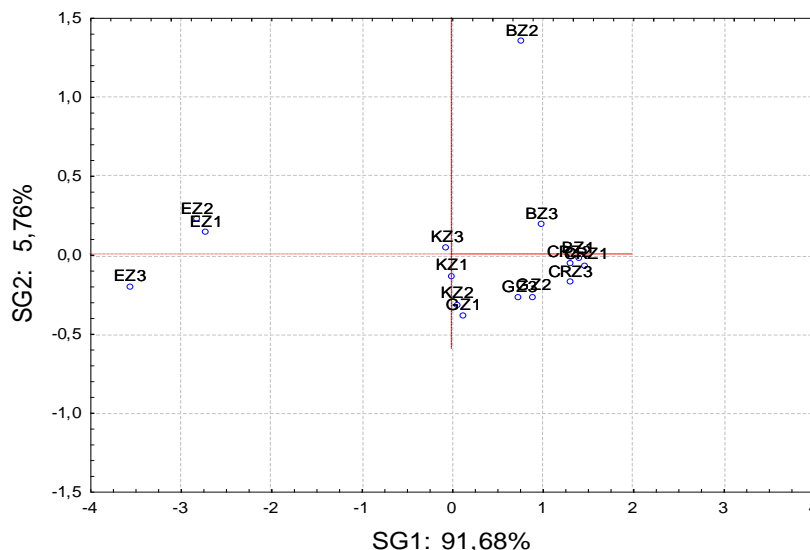
Kraj	Zawartość steroli w mg/100g tłuszczu			
	Kampesterol	Stigmasterol	$\beta$ -sitosterol	$\Sigma$
Kawa zielona				
B	230,0 $\pm$ 46,8	494,8 $\pm$ 47,0	688,0 $\pm$ 94,1	1412,8
E	396,5 $\pm$ 34,8	776,0 $\pm$ 9,2	1198,1 $\pm$ 77,4	2370,5
G	246,0 $\pm$ 10,3	455,8 $\pm$ 35,8	859,0 $\pm$ 57,0	1560,9
CR	197,9 $\pm$ 5,9	440,5 $\pm$ 17,5	749,8 $\pm$ 20,6	1388,3
K	281,6 $\pm$ 13,5	502,1 $\pm$ 4,5	893,9 $\pm$ 23,8	1677,6
Kawa z końcowego etapu palenia				
B	167,9 $\pm$ 14,8	386,6 $\pm$ 39,4	626,0 $\pm$ 50,6	1180,5
E	326,1 $\pm$ 19,1	625,9 $\pm$ 38,7	831,1 $\pm$ 53,3	1783,1
G	231,3 $\pm$ 4,9	474,1 $\pm$ 26,8	801,5 $\pm$ 8,1	1506,9
CR	193,3 $\pm$ 7,9	398,8 $\pm$ 3,2	645,0 $\pm$ 12,4	1237,1
K	228,6 $\pm$ 6,2	387,6 $\pm$ 10,2	737,0 $\pm$ 27,2	1353,2
R	256,8 $\pm$ 5,9	483,9 $\pm$ 17,8	782,6 $\pm$ 29,5	1523,3

Różnicowanie kaw na podstawie składu zielonych ziaren

Pierwsza składowa główna (SG1) wyjaśniała 91,68% zmienności całkowitej i była silnie ujemnie skorelowana z wszystkimi sterolami (rysunek 1). Przyjmowała dodatnie wartości dla kaw brazylijskich, kostarykańskich i gwatemalskich, bliskie zeru dla kaw kolumbijskich oraz ujemne dla etiopskich (rysunek 2). Pierwsza składowa główna wyraźnie odróżniła kawy etiopskie od pozostałych. Wynikało to z faktu, że próbki kaw etiopskich zawierały istotnie więcej steroli niż próbki kaw z pozostałych krajów. Nie stwierdzono wyraźnego efektu grupowania względem wartości drugiej i trzeciej składowych głównych.



**Rysunek1.** Współczynniki korelacji steroli z pierwszą i drugą SG – kawy zielone  
*Correlation coefficients of sterol concentrations against first and second principal component.- green cafe beans*



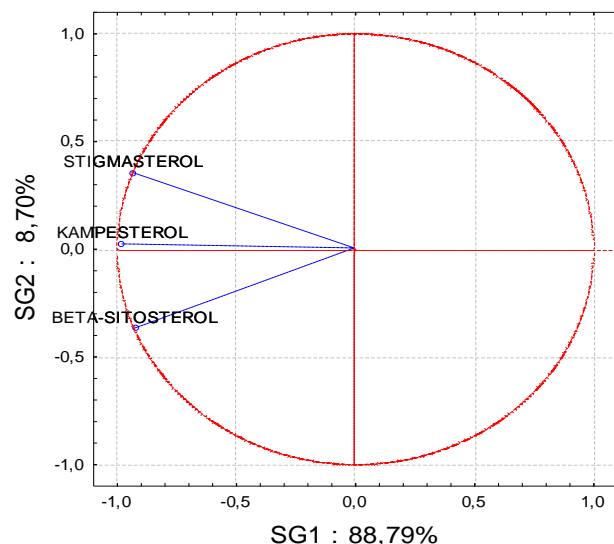
**Rysunek2.** Analiza składu steroli. Wartości pierwszej i drugiej SG dla kaw zielonych.  
*Sterol composition analysis. Values for first and second principal component for green cafe beans*

#### Różnicowanie w przypadku zielonego ziarna

Spośród wszystkich składowych głównych do opisu zjawiska wybrano dwie wyjaśniające w największym stopniu całkowitą obserwowaną zmienność danych.

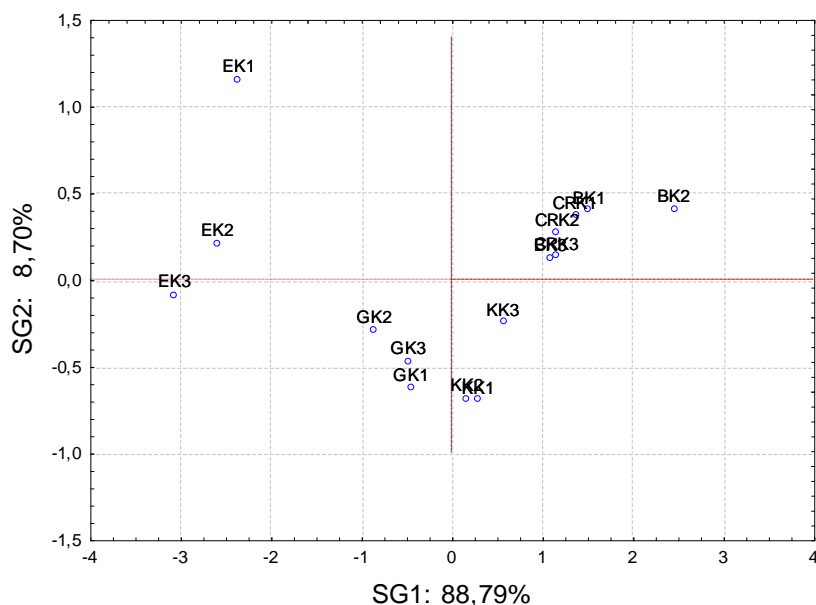
Pierwsza składowa główna wyjaśniała 88,79% zmienności całkowitej. SG1 była również silnie ujemnie skorelowana ze wszystkimi sterolami (rysunek 3). Przyjmowała dodatnie wartości dla kaw brazylijskich i kostarykańskich, bliskie zeru dla kaw gwatemalskich i kolumbijskich oraz ujemne wartości dla kaw etiopskich (rysunek 4). Pierwsza składowa główna odróżniła kawy etiopskie i gwatemalskie od pozostałych, co spowodowane było różnicą w ogólnej zawartości steroli między kawami. Kawy etiopskie odznaczały się istotnie wyższą zawartością wszystkich steroli od pozostałych kaw (tabela 3). Kawy gwatemalskie charakteryzowała istotnie wyższa zawartość stigmasterolu (tabela 3) oraz wysoka zawartość kampesterolu w porównaniu z kawami Kostaryki, Brazylii i Kolumbii.





**Rysunek 3.** Współczynniki korelacji steroli z pierwszą i drugą SG– kawy z końcowego etapu palenia.

*Corelation coefficients of sterol concentrations against first and second principal component.- caffè beans at the end of roasting process*



**Rysunek 4.** Analiza składu steroli. Wartości pierwszej i drugiej SG dla kaw z końcowego etapu palenia.

*Sterol composition analysis. Values for first and second principal component for caffè beans at the end of roasting process*

Druga składowa główna, objaśniająca 8,70% zmienności całkowitej, oddzieliła próbki kaw gwatemalskich i kolumbijskich od pozostałych badanych kaw (rysunek 4). Prawdopodobnie główną przyczyną rozdziału były różnice w zawartości kampesterolu –kawy brazylijskie charakteryzowały się istotnie niższą zawartością tego sterolu od kaw kostarykańskich, gwatemalskich i kolumbijskich (tabela 3), zaś druga składowa główna

wykazywała słabą dodatnią korelację (współczynnik korelacji równy 0,372) z zawartością tego sterolu (rysunek 3).

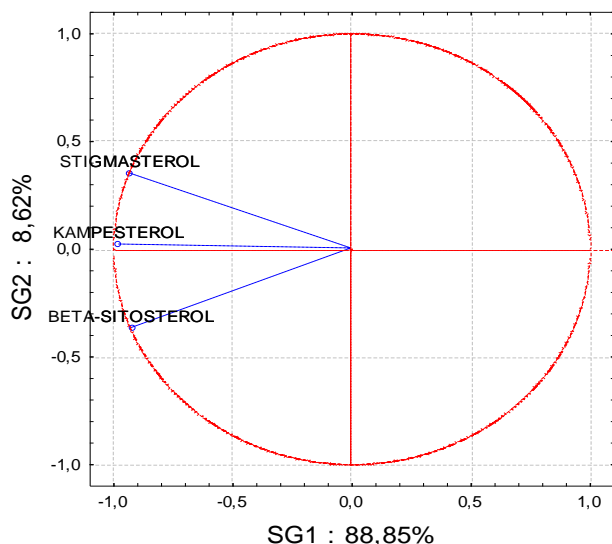
Porównanie zawartości  $\beta$ -sitosterolu, stigmasterolu i kampesterolu wykazało, że kawy etiopskie charakteryzowały się najwyższą średnią zawartością steroli spośród badanych kaw. Również kawy gwatemalskie charakteryzowały się wyższą zawartością steroli z kawami pochodzącymi z Kolumbii, Brazylii i Kostaryki.

Proces palenia nie wpłynął wyraźnie na efekt grupowania podanych kaw pod względem zawartości  $\beta$ -sitosterolu, stigmasterolu i kampesterolu. Wyniki grupowania w układzie trzech składowych głównych zdają się potwierdzać twierdzenie, że skład jakościowy steroli w kawach nie jest uzależniony od pochodzenia geograficznego [Flament, 2002]. Wydaje się jednak, że proces palenia pogłębia różnice w zawartościach poszczególnych steroli kaw.

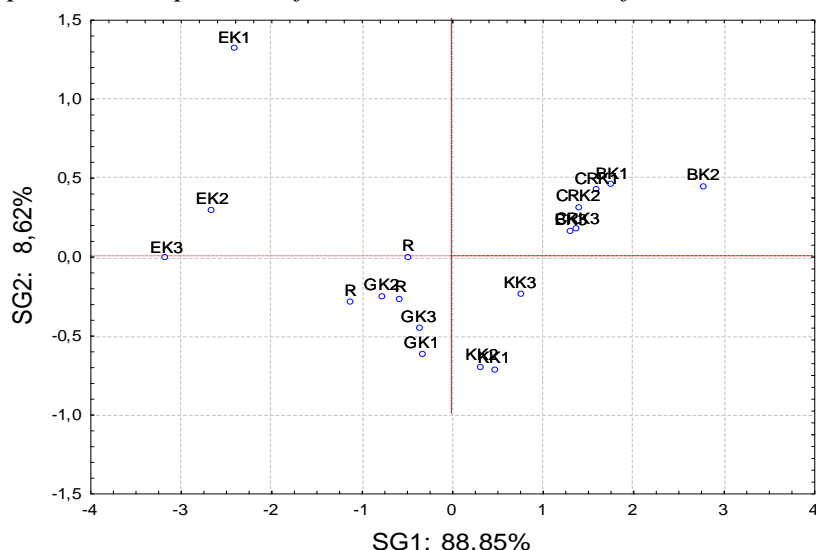
Ponadto, na każdym rozpatrywanym etapie obróbki widoczna jest tendencja do grupowania próbek kaw z Gwatemali, Kolumbii, Kostaryki i Brazylii względem kraju pochodzenia. Prawdopodobnie, przeprowadzenie analizy tylko na próbkach tych kaw z uwzględnieniem większej liczby steroli (przez zmodyfikowanie metody analitycznej) pozwoliłoby wykazać możliwość grupowania kaw ze względu na region pochodzenia w oparciu o wyniki analizy steroli.

#### Różnicowanie kaw z końcowego etapu palenia – porównanie Arabiki i Robusty

Po włączeniu do analizy kawy Robusta (rysunek 5) zauważono, że próbki tej kawy utworzyły pod względem wartości pierwszej i drugiej składowej głównej jedną grupę z kawami gwatemalskimi. Było to prawdopodobnie spowodowane podobnym składem ilościowym oznaczonych steroli (tabela 3).



**Rysunek 5.** Współczynniki korelacji steroli z pierwszą i drugą SG – porównanie Arabiki i Robusty.  
*Correlation coefficients of sterol concentrations against first and second principal component.- comparison of Arabica and Robusta cafe*



**Rysunek 6.** Analiza składu steroli. Wartości pierwszej i drugiej SG – porównanie Arabiki i Robusty.  
*Sterol composition analysis. Values for first and second principal component - comparison of Arabica and Robusta cafe*

Uzyskane wyniki różnią się od danych literaturowych. Carrera i wsp. (1998) wykazali, że pomiar zawartości steroli może być podstawą do rozróżniania między kawami arabskimi i koszykowymi. Do podobnych wniosków doszli Speer i Kölling-Speer (2002).

Przyczyną stwierdzonych różnic między wynikami doświadczenia a danymi literaturowymi mogły być różnice w metodyce skutkujące odmienną ilością zidentyfikowanych steroli. Wg Carrera i wsp. (1998) za rozróżnienie między Arabiką

i Robustą odpowiedzialne są sitostanol i  $\Delta^5$ -awenasterol, zaś wg Speera i Kölling-Speer (2002) –  $\Delta^5$ -awenasterol i 24-metylenocholesterol.

### **WNIOSKI**

- 1 Zastosowana metoda oznaczania steroli w próbkach kaw pozwoliła na wykrycie  $\beta$ -sitosterolu, stigmasterolu i kampesterolu, natomiast nie pozwala na wykrycie pozostałych steroli.
- 2 Za pomocą techniki PCA wykazano istnienie różnic ilościowych w zawartości  $\beta$ -sitosterolu, stigmasterolu i kampesterolu w próbkach kaw arabskich pochodzących z różnych rejonów świata, przy czym zastosowanie czulszej metody i zebranie szerszego profilu steroli mogłoby się okazać skuteczniejsze w ocenie autentyczności kawy.
- 3 Proces palenia utrwala różnice w zawartościach poszczególnych steroli kaw arabskich. Dla kaw palonych obserwowane grupowanie wydawało się być skutkiem nie tylko różnic w całkowitej zawartości steroli, ale również w udziałach każdego zidentyfikowanego związku.

### **PIŚMIENNICTWO**

1. Thorn J. (2006). Kawa, 15-36
2. Belitz H.D., Grosch W., (2006). Food Chemistry. Second Edition Springer, 875-873
3. [http://www.ico.org/event\\_pdfs/patarroyo.pdf](http://www.ico.org/event_pdfs/patarroyo.pdf)
4. Sikorski Z. E., (2007). Chemia żywności. Sacharydy, lipidy i białka. T 2, 140-180
5. Speer K., Kölling-Speer I.,(2006). The lipid fraction of the coffee bean. Brazilian J. Plant Physiol. 18, 201-216
6. Speer K., Kölling-Speer I., (2002). *Institute of Food Chemistry*, Technical University Dresden, Germany
7. Flament I., (2001). Coffee flavor chemistry. Other Wiley Editorial Offices. 37-335.
8. Ginz M., Hartmut H., Balzer H. H., Bradbury A.G.W., Maier H. G., (2000). Formation of aliphatic acids by carbohydrate degradation during roasting of coffee. Europ. Food Res. Technol., 211, 404-410
9. Carrera F., Leon-Camacho M., Pablos F., Gonzalez A.G. (1998). Authentication of green coffee varieties according to their sterolic profile. Anal. Chim. Acta, 370, 131-139.