



LUNDS UNIVERSITET

Institutionen för Livsmedelsteknik

---

# Rostningens påverkan på koffein och klorogensyra

En kartläggning av Soldes kaffe

---

Ulf Davidson och Emil Jonsson

Examensarbete för högskoleexamen  
i livsmedelsteknik, 15 hp

2021

Examinator: Charlott Håkansson  
Handledare: Ia Rosenlind

## Sammanfattning

Kaffe är en av världens viktigaste handelsvaror. Kaffe innehåller flera aktiva biokomponenter med hälsobringande effekter. Studier har visat att kaffekonsumtion kan minska risken för flertalet sjukdomar inklusive hjärt-kärlsjukdomar och typ 2-diabetes. Koffein har visat sig ha positiva effekter mot Parkinsons sjukdom och klorogensyra ha antioxidativa, antiinflammatoriska och tumörhämmande effekter för att nämna några av kaffets positiva hälsoeffekter. I denna studie analyseras kaffeböner och bryggt kaffe från Solde kafferosteri i Malmö. Halterna av klorogensyra och koffein har i denna studie uppmätts och jämförts med resultat från tidigare studier. Utgångspunkten var att undersöka hur dessa två biokomponenter påverkas av rostning och brygning. Med hjälp av spektrofotometri mättes halterna i de olika börnorna och i det bryggda kaffet. Totalt analyserades fyra olika bönblandningar, dels som gröna orostade och dels som ljusrostade, därtill analyserades en av bönblandningen som mörkrostad. Enligt den teoretiska grunden sjunker halterna av klorogensyra och koffein med grad av rostning, något som även denna studie visar. Soldes böner rostar ljusare än vad vanliga böner i genomsnitt rostar vilket teoretiskt ska medföra något högre halter av nämnda komponenter. Även detta stämde överens med denna studie. Vad gäller klorogensyrahalten i Soldes rostade kaffeböner låg medelvärdet på 4,1 %. Jämfört med tidigare studier på 1,9–2,5 % var innehållet betydligt högre i Soldes böner. Även koffeinhalten var något högre och låg på 1,7 % i snitt jämfört med värden från tidigare studier på 1,1–1,3 %. I en färdig kopp kaffe var medelvärdet av koffeinhalten i Soldes kaffe 0,09 % jämfört med tidigare studier på 0,04 %. Klorogensyrahalten låg på 0,24 % jämfört med tidigare studier på 0,04–0,18 %. Det fanns viss inbördes skillnad mellan de olika börnorna och beskrivs i detalj i resultatdelen.

## Abstract

Coffee is one of the world's most important commodities. Coffee contains several active biocomponents with health-promoting effects. Studies have shown that coffee consumption can reduce the risks of several diseases including cardiovascular disease and type 2 diabetes. Caffeine has been shown to have positive effects against Parkinson's disease and chlorogenic acid to have antioxidant, anti-inflammatory and tumor-suppressing effects to name a few of the positive health effects of coffee. This study analyzes coffee beans and brewed coffee from Solde coffee roastery in Malmö. The levels of chlorogenic acid and caffeine have been measured and compared with results from previous studies. The starting point was to investigate how these two biocomponents are affected by roasting and brewing. By using spectrophotometry, the levels in the various beans and in the brewed coffee were measured. A total of four different bean mixtures were analyzed, as green unroasted beans, as light roasted beans and as dark roasted beans. According to the theoretical basis, the levels of chlorogenic acid and caffeine fall with the degree of roasting, something that this study also show. Solde beans are roasted lighter than ordinary beans in general which theoretically should lead to higher levels of the forementioned components. This also matched this study's results. Regarding the chlorogenic acid content in Solde's roasted coffee beans, the average value was 4.1 %. Compared with previous studies of 1.9–2.5 %, the content of Solde's beans was significantly higher. The caffeine content was also slightly higher and was 1.7 % on average compared with values from previous studies of 1.1–1.3 %. In a finished cup of coffee, the average value of the caffeine content in Solde's coffee was 0.09 % compared with previous studies of 0.04 %. The chlorogenic acid content is 0.24 % compared with previous studies of 0.04–0.18 %. There were some mutual differences between the different beans which will be described in detail in the results section.

## **Förord**

Denna rapport är vårt examensarbete i Livsmedelsteknisk högskoleutbildning på 120 hp vid Lunds tekniska högskola. Arbetet har genomförts av Ulf Davidson och Emil Jonsson under vårterminen 2021. Laborationerna har genomförts på Kemicentrum i Lund. Examensarbetet omfattar 15 hp.

Vi tackar vår handledare Ia Rosenlind för stöd och hjälp i processen och tackar Charlott Håkansson för sitt engagemang som examinator. Vi tackar även Solde kafferosteri för donation av kaffebönor och för ett gott kaffe.

Fotografierna är tagna av författarna till rapporten där ej annat anges.

# Innehållsförteckning

<b>1</b>	<b>INLEDNING .....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>SYFTE.....</b>	<b>1</b>
2.1	AVGRÄNSNING .....	1
<b>3</b>	<b>BAKGRUND.....</b>	<b>2</b>
3.1	ODLING, SKÖRD OCH EFTERSKÖRD.....	2
3.2	ROSTNING .....	3
3.2.1	<i>Rostning hos Solde kafferosteri.....</i>	<i>5</i>
3.3	KAFFEBÖNANS INNEHÅLL .....	6
3.4	KOFFEIN.....	8
3.4.1	<i>Rostningens påverkan på koffeinhalten.....</i>	<i>9</i>
3.5	POLYFENOLER .....	9
3.5.1	<i>Klorogensyror (CGA).....</i>	<i>9</i>
3.5.2	<i>Rostningens påverkan på klorogensyrhalten .....</i>	<i>10</i>
3.6	KAFFETS HÄLSOEFFEKTER .....	10
3.6.1	<i>Koffeinets hälsoeffekter .....</i>	<i>11</i>
3.6.2	<i>Klorogensyrans hälsoeffekter.....</i>	<i>11</i>
3.7	ANALYS .....	12
3.7.1	<i>Spektrofotometri.....</i>	<i>12</i>
3.7.2	<i>Tunnskiktskromatografi (TLC).....</i>	<i>13</i>
3.7.3	<i>Statistisk analys - Mann-Whitney U-test.....</i>	<i>13</i>
<b>4</b>	<b>METODBESKRIVNING.....</b>	<b>14</b>
4.1	MATERIAL .....	14
4.2	PROVBEREDNING GRÖNA BÖNOR .....	14
4.2.1	<i>Hackning med kockkniv.....</i>	<i>14</i>
4.2.2	<i>Knivkvarn .....</i>	<i>15</i>
4.3	PROVBEREDNING ROSTADE BÖNOR .....	15
4.4	PROVBEREDNING BRYGGT KAFFE .....	16
4.5	ANALYS AV KOFFEIN OCH KLOROGENSYRA .....	16
4.6	KALIBRERING SPEKTROFOTOMETER .....	16
4.7	VIKTFÖRÄNDRING PÅ GRUND AV VATTENAVGÅNG .....	17
4.8	KONTROLL AV SEPARERING - TUNNSKIKTSKROMATOGRAFI (TLC).....	17
<b>5</b>	<b>RESULTAT .....</b>	<b>18</b>
5.1	KALIBRERINGSKURVA .....	18
5.2	MANN WHITNEY U-TEST.....	18
5.3	GRÖNA BÖNOR – INNEHÅLL AV KOFFEIN OCH KLOROGENSYRA .....	19
5.3.1	<i>Hackning med kockkniv.....</i>	<i>19</i>
5.3.2	<i>Knivkvarn .....</i>	<i>20</i>
5.4	ROSTADE BÖNOR – INNEHÅLL AV KOFFEIN OCH KLOROGENSYRA.....	20
5.5	BRYGGT KAFFE – INNEHÅLL AV KOFFEIN OCH KLOROGENSYRA .....	22
5.6	VIKTFÖRÄNDRING PÅ GRUND AV VATTENAVGÅNG .....	23
5.6.1	<i>Koffein.....</i>	<i>23</i>
5.6.2	<i>Klorogensyra .....</i>	<i>24</i>
5.7	KONTROLL AV SEPARERING - TUNNSKIKTSKROMATOGRAFI (TLC).....	25
<b>6</b>	<b>DISKUSSION OCH SLUTSATS .....</b>	<b>26</b>
<b>7</b>	<b>REFERENSER .....</b>	<b>29</b>
<b>8</b>	<b>BILAGOR.....</b>	<b>32</b>
8.1	BILAGA 1. RÅDATA GRÖNA BÖNOR.....	32
8.2	BILAGA 2. RÅDATA LJUSROSTADE BÖNOR.....	33
8.3	BILAGA 3. RÅDATA MÖRKROSTADE BÖNOR .....	34
8.4	BILAGA 4. RÅDATA KAFFE .....	35

# 1 Inledning

Kaffe, som har sitt troliga ursprung i Jemen, är en av världens viktigaste handelsvaror och har druckits i ungefär 600 år. Under 1500-talet spred sig drycken över den muslimska världen och på 1600-talet kom den till Europa och var där allmänt spridd på 1700-talet. Under 1800-talet övergick bruket från att ha varit för överklassen till att bli en genuint folklig dryck. Redan då diskuterades kaffets hälsoeffekter, både positiva och negativa (Fredholm, 2021). Idag vet man att kaffe innehåller flera olika bioaktiva komponenter som påverkar hälsan, varav polyfenoler och koffein hör till de mest kända. Innehållet av dessa komponenter varierar mellan olika bönor och beror på faktorer som genetik, växtplats, odlingsätt och rostningsgrad.

Under de senaste åren har cirka tio miljoner ton kaffe per år producerats i världen och produktionen ökar konstant. I Sverige konsumeras cirka hundra tusen ton kaffe per år (ICO, 2021), där en viss del av detta också rostar i Sverige. Ett av alla rosterier i Sverige är kafferosteriet Solde i Malmö. De har rostat bönor sedan 2010 och gör det i låga temperaturer och i små batcher. Deras fokus ligger på smak och drickkvalitet, men idag saknas information om vilka halter av koffein och polyfenoler som finns i deras kaffe.

## 2 Syfte

Syftet med detta arbete är att undersöka innehållet av klorogensyra och koffein i bönor och kaffe hos kafferosteriet Solde i Malmö. Hur förändras innehållet från grön böna till rostad böna och vilka halter finns i en färdig kopp kaffe?

### 2.1 Avgränsning

Undersökningen begränsas till bönorna i tabell 4, sidan 14. Rapporten begränsas också till att enbart undersöka halterna av klorogensyra och koffein och inte vilka övriga ämnen som eventuellt påverkas av rostning.

## 3 Bakgrund

### 3.1 Odling, skörd och efterskörd

Kaffebusken tillhör släktet *Coffea* som består av cirka 100 olika arter. Det är dock endast tre arter som används inom kaffeproduktion, *C. arabica*, *C. canephora* och *C. liberica*, varav de två första utgör den absoluta merparten av världens samlade produktion. *C. arabica* är den allra vanligaste (Ferreira, et al., 2019).

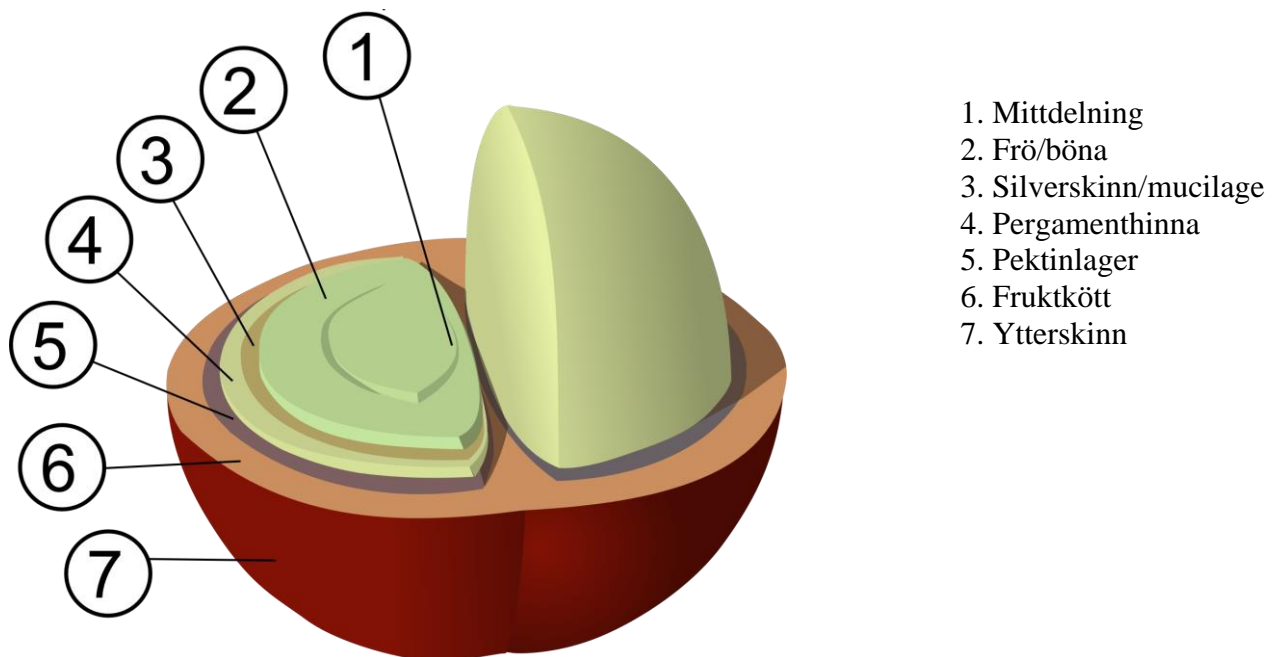
*Coffea* är ett släkte måreväxter med buskar eller småträd där de flesta är hemmahörande i Afrika. De har blanka, läderartade och ständigt gröna blad med väldoftande blommor. Frukten är i regel en röd och körsbärsstor stenfrukt med ett pergamentlikt innerskal (pergamenthinnan) som omger två frön; kaffebönorna. Arten *C. arabica* (arabica) är ett 6–10 m högt träd som vid odling ofta beskärs till en 2–3 m hög buske. Blomningen pågår nästan året runt. Arten trivs bäst i inte alltför hett och fuktigt klimat och förekommer vilt i provinsen Kaffa i Etiopien. (Elgklou, 1993)

Skörd av kaffe kan delas in i tre olika metoder: handplockning, repning och mekanisk skörd. Vid handplockning plockas de mogna bären ett och ett, vilket innebär att man kan välja ut de bär som är mest mogna och plocka dem vid exakt rätt tidpunkt. Detta ger en bättre kvalitet och smak, men är ett väldigt tidsödande arbetssätt. Repning görs också för hand, men är något mer tidseffektivt då man istället repar av alla bären på en kvist samtidigt. Vid mekanisk skörd skakar man träden maskinellt så att bären trillar av, alternativt görs en repning maskinellt (Farah, 2012).

Efter skörd avlägsnas fruktköttet från kaffefrukterna för att få fram de gröna kaffebönorna. De vanligaste metoderna kallas våt metod och torr metod. I den torra processmetoden exponeras bönorna för solljus eller körs i en lufttorkare tills vatteninnehållet ligger på 10 %-12 %. Efter torkningen rengörs och skalas frukterna, skalet avlägsnas och kvar blir ett mucilage som är ett slemaktigt lager som täcker bönorna, även kallat silverskinn. För att nå en hög kvalitet sorteras bönorna mekaniskt för att separera defekta bönor från bönor av hög kvalitet. Denna metod används ofta i Brasilien och Afrika där det finns rikligt med sol och utrymme. Den våta metoden är mer sofistikerad och ger generellt en högre kvalitet på kaffet. Före skalning och separering sker en kvalitetssortering av frukterna i vattenfyllda bassänger. Därefter blötläggas bären och fermenteras. Genom fermenteringen, där enzymer ibland tillsätts, avlägsnas silverskinnet och pH-värdet i kaffebönorna sjunker. Därefter tvättas, poleras och saltorkas

och/eller lufttorkas bönorna. Den våta metoden används oftast i Colombia, Asien och Centralamerika. Den största skillnaden är att i den våta metoden avlägsnas bönorna från fruktköttet och dess skinn före torkning. En alternativ metod kallad naturlig process kombinerar båda delarna av torr och våt metod. Denna metod går ut på att tvätta och selektera bönorna i vattenbassänger utan fermentering. Dessa bönor används ofta i espressoblandningar eftersom de tenderar att tillföra mer kropp till drycken då de polysackarider som finns i silverskinnet inte fermenteras. Vill man ha ett fylligt, karamelligt och sött kaffe sparas allt mucilage och metoden kallas då "Honey" (Farah, 2012).

Figur 1 visar en illustration över kaffebäret.



Figur 1. (Y tambe, CC BY-SA 3.0, via Wikipedia Commons, 2007) Illustration över kaffebäret.

### 3.2 Rostning

Rostning av kaffe görs genom att tillföra värme till gröna bönor och det är först i detta steg som kaffebönan får sin karaktäristiska doft- och smak. Genom rostningen sker flera både fysikaliska och kemiska processer inuti bönan, som i hög grad beror på hur rostningen går till. De kemiska processerna är komplexa och resulterar i smakförändringar som ännu inte är helt klarlagda (Farah, 2012).

Fernandes (Fernandes, 2019) delar upp rostningen i torkning och därefter tre olika temperatursteg för att beskriva vad som sker under processen. Torkprocessen pågår när temperaturen i bönan uppgår till upp till 150 °C och är det steg då det mesta av böns vatten avgår. Att allt vatten inte avgår redan vid 100 °C, som är normal kokpunkt för vatten, beror på



bönans höga inre tryck som bland annat uppkommer då gaser bildas inuti bönan. Detta resulterar i en högre kokpunkt (Fernandes, 2019).

Under torksteget startar också maillardreaktioner mellan bönans reducerande sockerarter och aminosyror, som ger viktiga förändringar både färg- och smakmässigt. När temperaturen når 150–180 °C i det som Fernandes kallar *roasting initial stages* påbörjas också en karamellisering av sockerarter vilket bidrar till en mörkare färg hos bönan. Det är även här som värmekänsliga föreningar så som klorogensyror börjar brytas ned (Farah, et al., 2005; Olthof, et al., 2001)

Vid en temperatur omkring 190 °C sker det som kallas för *first crack* som är det tillstånd där bönan ”poppar” på liknande sätt som popcorn gör. Detta sker eftersom de bildade gaserna inuti bönan, i huvudsak vattenånga och koldioxid, behöver frigöras. Gaserna gör att bönans cellstruktur expanderar på grund av det ökade trycket inuti bönan. Detta medför att lösliga ämnen kan extraheras bättre senare under bryggprocessen (Fernandes, 2019).

Här sker även pyrolys, ett slags termisk nedbrytning av ämnen till mindre molekyler, som orsakar kemiska förändringar i bönan. Detta är ett viktigt steg för smak- och doftutvecklingen hos bönan (Hernández, et al., 2007). Då de pyrolytiska reaktionerna resulterar i koldioxid och vatten sker också en viktninskning på 4–6 % när dessa ämnen avgår (Fernandes, 2019). Detta vatten är inte fritt vatten som är tillgängligt i den gröna bönan, utan ett resultat av kemiska reaktioner vid rostningen.

Dessa processer pågår vanligtvis i upp till 230 °C. Då bönor rostas väldigt mörkt kan rostningen pågå i upp till 260 °C. Då kan en så kallad *second crack* ske, som alltså är ett andra poppande ljud, orsakat av samma reaktioner som vid *first crack*. (Fernandes, 2019).

Poppningen gör att bönans volym ökar ytterligare, vilket resulterar i att fler flyktiga, aromatiska ämnen kan avgå från ytan.

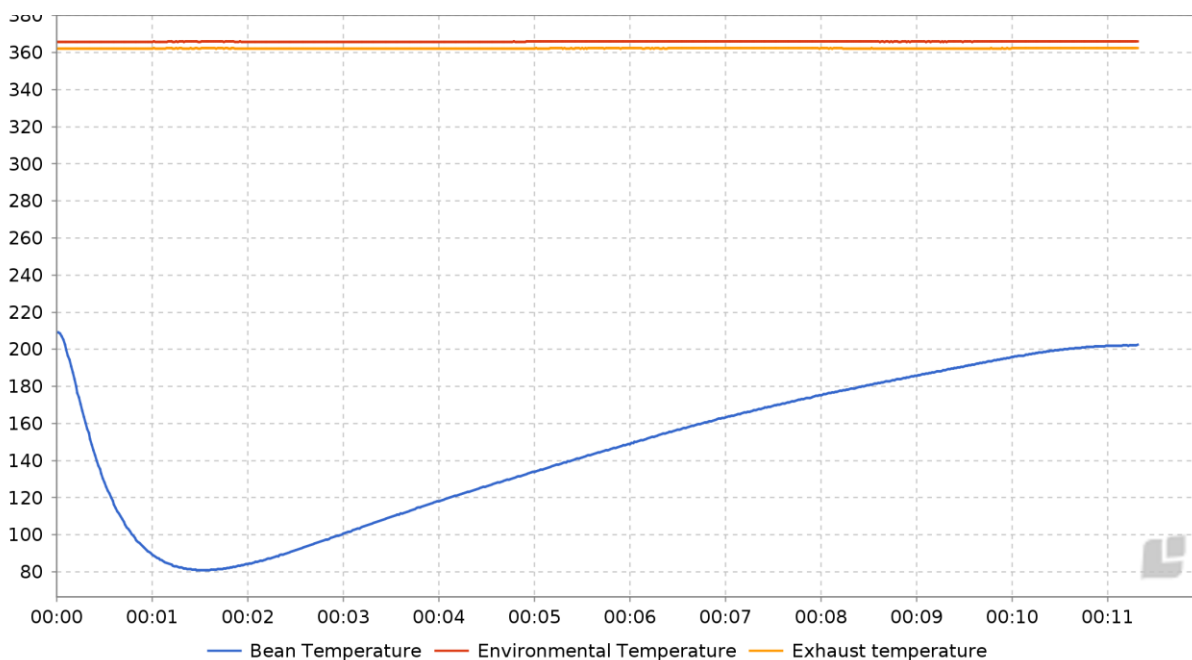
Rostningen avslutas när önskad rostningsgrad är uppnådd, och bestäms vanligtvis efter en avvägning av rätt färg och temperatur (Hernández, et al., 2007). En erfaren kafferostare kan baserat på sin expertis och sinnen använda en subjektiv och empirisk indikator som till exempel visuell färg på bönorna för att kontrollera processen (Dorfner, et al., 2004). Bönorna behöver sedan snabbt kylas ned för att avbryta rostningsprocessen. Vanligtvis görs detta effektivt med hjälp av vatten, men kan även göras med hjälp av kall luft, vilket är vanligare bland företag som producerar specialkaffe. Detta eftersom vatten orsakar en ökad fuktighet hos bönan, vilket kan medföra oönskade mikrobiologiska förändringar (Fernandes, 2019).

### ***3.2.1 Rostning hos Solde kafferosteri***

Rostningen hos Solde kafferosteri görs i en roterande trumrost med gas som värmekälla (Figur 2). Varje typ av bönor eller blandning har ett unikt rostningsschema anpassat efter den smak man vill få ut av kaffet. I de sorter som ingår i denna rapport har trumrosten värmts upp till ungefär 210 °C när bönorna släpps in. När den varma luften möter de kalla bönorna resulterar detta i en temperatursänkning till ungefär 80 °C. Temperaturen ökar sedan kontinuerligt under cirka 10 minuter för att avslutas vid en temperatur omkring 200 °C. Vid mörkrostade sorter sker temperaturökningen något snabbare och avslutas istället runt 220 °C. Bönorna släpps sedan ut i en öppen behållare där kall luft blåses in för att kyla ned bönorna. Figur 3 visar ett typiskt rostningsschema hos Solde kafferosteri.



*Figur 2. Soldes gasdrivna trumrost. På bilden ses bönor under avkylningssteget där kall luft blåses för att kyla ned bönorna.*



Figur 3. Temperaturkurva från en ljus rostning hos kafferosteriet Solde. X-axeln visar tid i minuter och y-axeln grader °C.

### 3.3 Kaffebönans innehåll

Den gröna kaffebönans innehåll varierar efter genetik och odling, med viss skillnad mellan arterna *C. arabica* och *C. canephora*. De huvudsakliga beståndsdelarna är vatten, kolhydrater, proteiner och fetter. Vatteninnehållet uppgår vanligtvis till 8,5–12 % (Farah, 2012)

Klorogensyror, koffein, trigonellin och lösliga fiber är viktiga bioaktiva komponenter som bidrar med smakutveckling hos den rostade bönan. I tabell 1 ses typiska värden för sammansättningen hos gröna bönor. Tabell 2 visar motsvarande värden hos rostade bönor. Siffrorna är hämtade från en metastudie av Farah (2012).

Tabell 1. Kemisk sammansättning hos gröna bönor. Halterna varierar utefter art, odlingsätt, klimat och analysmetod.

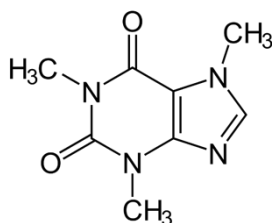
	<i>C. arabica</i> (g/100 g)	<i>C. canephora</i> (g/100 g)
<i>Kolhydrater/fibrer</i>		
Sackaros	6,0–9,0	0,9–4,0
Reducerande sockerarter	0,1	0,4
Polysackarider	34–44	48–55
Lignin	3,0	3,0
Pektin	2,0	2,0
<i>Kväveföreningar</i>		
Proteiner/peptider	10,0–11,0	11,0–15,0
Fria aminosyror	0,5	0,8–1,0
Koffein	0,9–1,3	1,5–2,5
Trigonellin	0,6–2,0	0,6–0,7
<i>Lipider</i>		
Kaffeoljor (triglycerider med oförtvålbara steroler/tokoferoler)	15,0–17,0	7,0–10,0
Diterpener	0,5–1,2	0,2–0,8
<i>Mineraler</i>	3,0–4,2	4,4–4,5
<i>Syror och estrar</i>		
Klorogensyror	4,1–7,9	6,1–11,3
Alifatiska syror	1,0	1,0
Kinasyra	0,4	0,4

Tabell 2. Kemisk sammansättning hos rostade bönor. Halterna varierar utefter odling, art, sort, rostningsgrad och analysmetod.

	<i>C. arabica</i> (g/100 g)	<i>C. canephora</i> (g/100 g)
<i>Kolhydrater/fibrer</i>		
Sackaros	4,2-	1,6-
Reducerande sockerarter	0,3	0,3
Polysackarider	31–33	37
Lignin	3,0	3,0
Pektin	2,0	2,0
<i>Kväveföreningar</i>		
Proteiner/peptider	7,5–10	7,5–10
Fria aminosyror	-	-
Koffein	1,1–1,3	2,4–2,5
Trigonellin	1,2–0,2	0,7–0,3
<i>Lipider</i>		
Kaffeoljor (triglycerider med oförtvålbara steroler/tokoferoler)	17,0	11,0
Diterpener	0,9	0,2
<i>Mineraler</i>		
Syror och estrar		
Klorogensyror	1,9–2,5	3,3–3,8
Alifatiska syror	1,6	1,6
Kinasyra	0,8	1,0
Melanoider	25	25

### 3.4 Koffein

Koffein, med kemiska beteckningen  $C_8H_{10}N_4O_2$ , återfinns i flera olika växter och fungerar där som ett naturligt bekämpningsmedel som skyddar växten från angrepp av insekter och djur. Koffein är kemiskt en alkaloid med en purinbas som kallas xantin. Det kemiska namnet är 1,3,7 Trimetylxantin, vilket indikerar tre metylgrupper ( $CH_3$ ) på en xantin (figur 4). I ren form är det ett vitt pulver, med en bitter smak, men utan doft (National Center for Biotechnology Information, 2021).



Figur 4. (NEUROtiker, Public domain, via Wikimedia Commons, 2007) Kemisk struktur för koffein. Tre metylgrupper på en xantin.

Hur mycket koffein som finns i kaffebönan varierar på flera faktorer. Innehållet varierar utifrån art, sort, växtplats och hantering av bönan. Enligt tabell 2 innehåller *C. arabica* 0,9–1,3 g/100 g medan *C. canephora* vanligtvis ligger mellan 1,5–2,5 g/100 g. Med andra ord innehåller *C. canephora* mer än *C. arabica* rent genetiskt (Lima & Farah, 2019). En deciliter bryggt kaffe innehåller vanligtvis ungefär 44,5 mg koffein. Räknat i procent blir det 0,045 % (EFSA, 2015)

### **3.4.1 Rostningens påverkan på koffeinhalten**

Flera studier visar att halten av koffein också påverkas av rostningsgrad, med en sänkning relaterat till högre temperatur (Król, et al., 2020) (Bolka & Emire, 2020). Bolka och Emire skriver att detta beror på koffeinets ökade löslighet i vatten vid högre temperaturer, vilket gör att koffeinet kan avdunsta med den vattenånga som frigörs.

Lima och Farah konstaterar kort att koffeininnehållet inte påverkas nämnvärt vid rostning då det är värmestabilt utan lyfter fram genetiska variationer som mer betydelsefulla för bönas koffeininnehåll (Lima & Farah, 2019).

## **3.5 Polyfenoler**

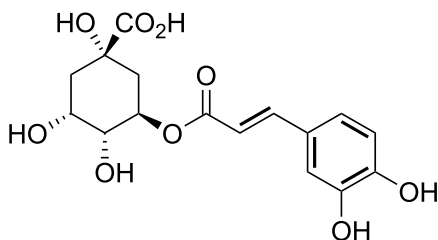
Polyfenoler är mikronutrier som finns rikligt i vår diet. Man har identifierat flera tusen olika molekyler med polyfenolstruktur (flera hydroxylgrupper på aromatiska ringar) i växter och flera hundra finns i ätbara växter. I växterna är polyfenolerna generellt involverade i försvaret mot ultraviolett ljus samt mot angrepp av olika patogener. Dessa föreningar kan klassificeras i olika grupper genom antal fenolringar och hur dessa fenolringar binder till varandra. Man delar upp polyfenolerna i fenolsyra, flavanoider, stilbener och lignaner. Ett exempel på fenolsyra är klorogensyror. (Manach, et al., 2004).

### **3.5.1 Klorogensyror (CGA)**

Klorogensyror (engelska chlorogenic acid, förkortat CGA) är en av de vanligaste förekommande polyfenolerna. Kaffebönor, vissa frukter och grönsaker är bland de rikaste källorna till klorogensyra i våra livsmedel. Liksom andra polyfenoler har klorogensyra visat sig bidra till antioxidativa, antiinflammatoriska, febernedsättande och tumörhämmande effekter (Wei & Tanokura, 2015).

Klorogensyror är en familj av estrar bildade mellan kininsyra och vissa trans-kanelnyror, som koffeinsyra p-kumarsyra och ferulinsyra. Molekylformeln är  $C_{16}H_{18}O_9$  och strukturen

illustreras i figur 5. I gröna kaffeböner är de vanligaste klorogensyrorerna isomerer av koffeoylkininsyror som heter: 5-O-koffeoylkininsyra (5-CQA), 4-O-koffeoylkininsyra (4-CQA) och 3-O-koffeoylkininsyra (3-CQA) (Wei & Tanokura, 2015).



Figur 5. (Public domain, via Wikipedi Commons, 2018) Kemisk struktur för klorogensyra.

Den vanligaste enskilda klorogensyran är 5-O-koffeoylkininsyra, som oftast kallas för bara klorogensyra. Kaffe är den rikaste källan till klorogensyror i kosten och halten i en kopp kaffe på 200ml ligger på 70–350 mg, vilket motsvarar 0,035 - 0,175 % av det bryggda kaffet. (Clifford, 1999).

### 3.5.2 Rostningens påverkan på klorogensyrahalten

Under rostning är sänkningen av halten klorogensyra en konsekvens av brytningar av intramolekylära bindningar vilket resulterar i en isomerisering i det tidiga rostningssteget. Fler molekylära förändringar sker i de senare rostningsstegen, vilket medför att klorogensyran bryts ner vid de högre temperaturerna som uppstår i börnorna under slutfasen av rostningen (Perrone, et al., 2010).

## 3.6 Kaffets hälsoeffekter

Kaffets effekt på hälsan har undersökts länge och många studier har gjorts för att ta reda på hur kaffekonsumtionen påverkar oss. Vad gäller kaffets effekt på hjärt-kärlsjukdomar är resultaten motstridiga, vissa studier visar att kaffekonsumtion kan öka risken för dessa sjukdomar medan andra visar att det inte finns någon koppling. Uppfattningen i forskarvärlden över lag är att kaffekonsumtion inte har några skadliga effekter på hälsan. Samtidigt menar man att fler kliniska studier behövs för att undersöka relationen mellan kaffe och sjukdomar. Studier som undersöker typ av kaffe, kaffeböner, rostningsprocess, bryggningsprocess och specifik information om koffeinintag per dag och kroppsvikt (Tofalo, et al., 2016).

I en metastudie över forskning kring hälsoeffekter av kaffe de senaste tio åren fann man starka bevis för en minskad risk att utveckla typ 2 diabetes och fetma vid konsumtion av 3–4 koppar per dag. Effekterna beror sannolikt på innehållet av klorogensyra och koffein (González, et al., 2020).

### **3.6.1 Koffeinets hälsoeffekter**

Koffein har genom omfattande studier visat sig ha en positiv effekt mot Parkinsons sjukdom och det finns godkända läkemedel baserade på koffein som används vid behandlingen av sjukdomen (Fredholm, 2021). I en studie från Linköpings universitet framkom att ett intag mellan 200 mg och 600 mg per dag gav en signifikant lägre risk att drabbas sjukdomen. Ju högre intag inom detta spann desto lägre risk för utvecklandet av Parkinsons sjukdom (Yamada-Fowler, et al., 2014).

Andra studier har visat på negativa effekter av koffein. Det kan öka risken för missfall och dessutom ge en påverkan på fostrets vikt, varför Livsmedelsverket rekommenderar ett intag om max 200 milligram per dag till gravida. För stort intag kan ge effekter som illamående, hjärtklappning och muskeldarrningar (Livsmedelsverket, 2021). Intag om upp till 400 mg per dag anses ofarligt för vuxna, icke-gravida, men olika personer är olika känsliga (EFSA, 2015).

Framför allt används koffein för dess uppiggande effekt. Effekten beror på att koffeinet blockerar upptaget av den kroppsegna substansen adenosin. Adenosin är en signalsubstans som verkar i det centrala nervsystemet och påverkar vår trötthet. Koffeinet hindrar då att adenosinet når hjärnan vilket motverkar trötthet, snarare än att koffeinet i sig ger en uppiggande effekt (Fredholm, 2021). Doser om 2–3 mg per kg kroppsvikt har visat sig förhöja prestationsförmågan (Andersson, 2013).

### **3.6.2 Klorogensyrans hälsoeffekter**

Fram till för ungefär 15 år sedan trodde man att klorogensyra och andra polyfenoler togs upp dåligt i vårt metabola system. Men under åren har mycket kunskap erhållits om dess biotillgänglighet och idag är det känt att ungefär en tredjedel av klorogensyran kan absorberas i mag-tarmkanalen, metaboliseras i magen, tarmarna, levern och njurarna och kan troligtvis verka med en serie av hälsobringande biologiska egenskaper i kroppen. Detta förklarar i alla fall delvis varför kaffekonsumtion varit förknippat med ökad livslängd och ge lägre förekomst av flertalet sjukdomar i epidemiologiska studier (Duarte & Farah, 2015).



Liksom andra polyfenoler har klorogensyra visat sig bidra till antioxidativa, antiinflammatoriska, febernedsättande och tumörhämmande effekter (Wei & Tanokura, 2015).

I en review-artikel av Tajik m.fl. (Tajik, et al., 2016) antas att klorogensyra utövar en betydande påverkan på metabolismen av glukos och lipider vid sjukdomar relaterade till dessa som till exempel diabetes, hjärt-kärlsjukdomar, fetma, cancer och vissa leversjukdomar. De potentiella hälsoeffekterna hos klorogensyra kan fungera som en icke-farmakologisk behandlingsmetod och kan användas i förebyggande syfte vid vissa kroniska sjukdomar.

I en studie om fetma utförd på möss användes klorogensyra i mängden 0,02 % av kroppsvikten. Resultatet visade att klorogensyra signifikant minskade totala kroppsvikten, mängden bukfett, nivåerna av triglycerider, LDL-kolesterol och insulinnivåer hos råttorna. (Cho, et al., 2010). Även om en studie på möss inte kan översättas direkt på människor ger denna studie ett riktmärke. Enligt våra beräkningar motsvarar det 15 mg för en person på 75 kg.

## **3.7 Analys**

### **3.7.1 Spektrofotometri**

Med hjälp av spektrofotometri kan man bestämma koncentrationen av olika ämnen i en lösning (Nationalencyklopedin, u.d.). Enligt Lambert-Beers lag är absorbansen detsamma som lösningens koncentration multiplicerat med sträckan ljuset färdas och lösningens absorptionskoefficient (Nationalencyklopedin, u.d.). Koncentrationen kan alltså räknas ut med formeln  $A = \epsilon l C$  där  $A$  = uppmätt absorbans,  $\epsilon$  = absorptionskoefficient,  $l$  = kyvettens längd och  $C$  = lösningens koncentration. Genom att använda kända koncentrationer och titta på hur mycket ljus de absorberar vid en viss våglängd kan man få fram en kalibreringskurva som sedan kan användas för att bestämma koncentrationen i lösningen med okänd koncentration.

Då klorogensyrans och koffeinets mätbara våglängder överlappar varandra behöver koffeinet först extraheras bort för att kunna analyseras med spektrofotometri. Detta görs med hjälp av diklormetan (Belay, et al., 2008). Diklormetan, med den kemiska formeln  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , är inte blandbart med vatten men har en god förmåga att lösa opolära organiska föreningar. Detta gör det till ett användbart lösningsmedel i många kemiska processer (Rossberg, 2006). I livsmedelsindustrin används det bland annat för att framställa koffeinfritt kaffe (Balyaya,

1995). Diklormetan har en densitet på  $1,325 \text{ g/cm}^3$  vid  $4 \text{ }^\circ\text{C}$ , vilket gör det tyngre än vatten. (National Center for Biotechnology Information, 2021)

Absorbansen för koffein mäts vid våglängd  $272 \text{ nm}$  (Belay, et al., 2008) och för klorogensyra vid  $324 \text{ nm}$  (Belay & Gholap, 2009).

### **3.7.2 Tunnskiktskromatografi (TLC)**

Kromatografi används för att separera blandningar av ämnen i dess olika beståndsdelar. All kromatografi utgår från samma princip. De har alla en stationär fas och en mobil fas. Tunnskiktskromatografi använder ett enhetligt lager av kiselgel täckt på glas, metall eller hårdplast. Det här lagret är den stationära fasen och innehåller ofta ett ämne som är fluorescerande i UV-ljus. På plattan appliceras en liten upplöst mängd av blandningen i plattans nederkant. Därefter sänks plattan ner i en bägare som innehåller mobilfasen i sådan mängd att mobilfasens vätskenivå ligger under applikationspunkten på plattan. Med hjälp av kapillärkraften vandrar sedan vätskan uppåt längs plattan och tar med sig komponenterna i den applicerade lösningen. Olika komponenter färdas med olika hastighet. På så sätt sker separationen av de olika ämnena genom dess olika interaktioner med den polära stationärfasen och den opolära mobilfasen. När vätskan börjar nå plattans övre kant avbryts processen. Därefter används en UV-lampa för att för att visualisera de olika ämnenas läge på plattan (Reich & Widmer, 2012).

### **3.7.3 Statistisk analys - Mann-Whitney U-test**

För att kunna avgöra huruvida det föreligger någon statistisk skillnad mellan två serier kan Mann Whitney U-test användas. Metoden lämpar sig om resultaten inte är normalfördelade och/eller har ett fåtal mätvärden. Uppmätta värden i serie A ställs mot uppmätta värden i serie B och man sammanställer det antal värden i serie A som överskrider vart och ett av värdena i serie B. Antalet värden som överskrider benämns som  $U$  och används för att se om det föreligger någon signifikant skillnad mellan serierna. Med ett  $P$ -värde på  $0,05$  kan tabell 3 användas. Nollhypotesen kan avslås om  $U$  är lägre än, eller uppgår till, det antal som tabellen anger (Miller & Miller, 1993).

Nollhypotes: Det finns ingen skillnad mellan serierna.

Mothypotes: Det finns en skillnad mellan serierna.

Tabell 3. Kritiska värden för  $U$  vid olika antal prover ( $n$ ).  $P=0,05$ . (Miller & Miller, 1993)

$n_1$	$n_2$	$U$ (ensidigt test)	$U$ (tvåsidigt test)
3	3	0	N/A
3	4	0	N/A
3	5	1	0
3	6	2	1
4	4	1	0
4	5	2	1
4	6	3	2
4	7	4	3
5	5	4	2
5	6	5	3
5	7	6	5

## 4 Metodbeskrivning

### 4.1 Material

Bönorna i undersökningen har valts ut i samarbete med Solde kafferosteri utifrån att de alla har olika ursprung, men liknande rostningsgrad (tabell 4). Bönorna är ljusrostade till ungefär 200 °C. Ett av ursprung, Costa Rica, förekommer även i en något mörkare rostningsgrad, där sluttemperaturen uppnått 218 °C. Bönorna tillhör släktet *C. arabica*.

Tabell 4. De bönor som analyseras har liknande rostningsgrad, men olika ursprung.

Ursprung	Farm/namn	Varietet	Processmetod
Kenya	Kagaa AA	SL 28, Ruiru, Batain	Tvättat
Costa Rica	Los Urena Honey	Catuai	Honey
Brasilien	Fazenda Minamihara (Eko)	Mundo Novo, Röd/gul Catuai	Natural
Colombia	Aponte	Caturra	Tvättat

### 4.2 Provberedning gröna bönor

Material: våg (Mettler Toledo, AB 204. Schweiz), kockkniv (Yaxell Ran, Santoku 165mm. Japan), termometer (Multi-Thermometer), magnetomrörare (VWR. Hotplate/stirrer), diverse labbglas

#### 4.2.1 Hackning med kockkniv

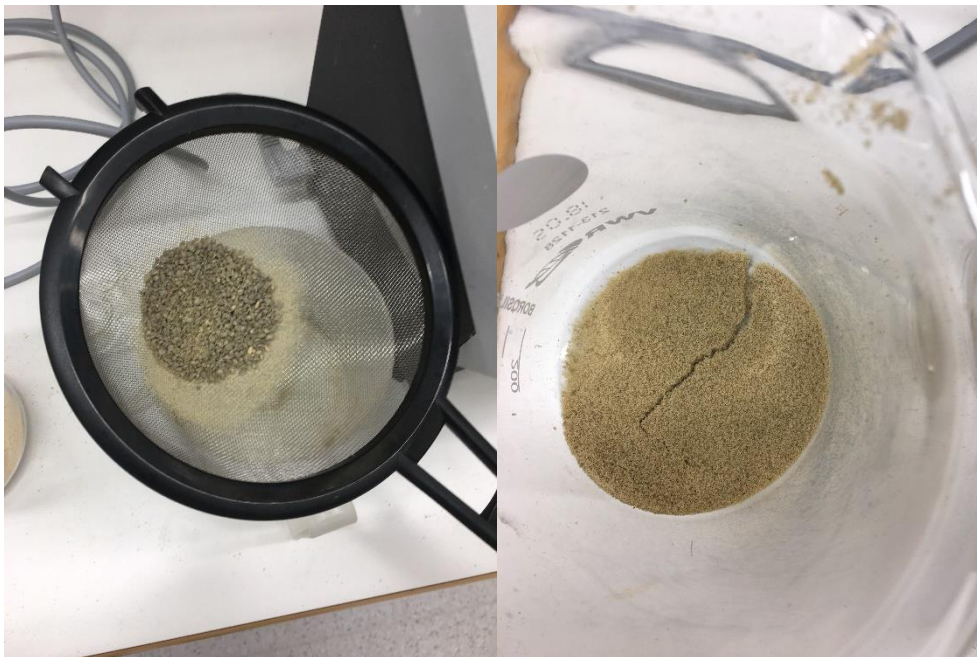
Varje grön bönblandning hackades med kockkniv på skärbräda så fint som det var möjligt. Därefter vägdes 50 mg av bönhacket upp och tillsattes i e-kolv med 20 ml avjoniserat vatten

som sattes på magnetorrörare med värme. En loppa lades i och lösningen fick gå på ca 30 °C i 60 minuter. Därefter silades lösningen av genom en glastratt med filterpapper ner i en mätkolv. För att få med eventuella rester i filtret droppades avjoniserat vatten med en pipett i glastratten tills den totala volymen i mätkolven blev 25 ml. Varje bönblandning gjordes i treprov.

#### 4.2.2 Knivkvarn

*Material: våg (Mettler Toledo, AB 204. Schweiz), Knivkvarn (Retsch Grindomix GM200, Tyskland), termometer (Multi-Thermometer), magnetorrörare (VWR. Hotplate/stirrer), diverse labbglas*

Ett försök gjordes att mala de gröna bönorna med knivkvarn. De gröna bönorna (Brasilien) tillsattes till knivkvarnen och maldes så fint som möjligt. Därefter silades de större bitarna bort och ca 50 mg av det finmalda pulvret vägdes upp (figur 6). I övrigt behandlades försöket som beskrivet ovan.



Figur 6. De större bitarna silades bort. Kvar fanns ett finmalat pulver som användes i analysen.

#### 4.3 Provberedning rostade bönor

*Material: våg (Mettler Toledo, AB 204. Schweiz), Kaffekvarn (Nivona Café Grano), termometer (Multi-Thermometer), magnetorrörare (VWR. Hotplate/stirrer), diverse labbglas*

Varje rostad bönblandning maldes enskilt i kaffekvarn. För att undvika rester från tidigare malning maldes först en liten mängd bönor som sedan hälldes bort. Cirka 50 mg kaffepulver tillsattes till en e-kolv med 20 ml avjoniserat vatten och sattes på magnetomrörning 1 timme vid 30 °C. Därefter filtrerades lösningen till en mätkolv. Avjoniserat vatten tillsattes över filtret till dess att 25 ml samlats upp i mätkolven. Varje prov gjordes i trippelprov.

#### **4.4 Provberedning bryggt kaffe**

*Material: våg (Mettler Toledo, AB 204. Schweiz), Kaffekvarn (Nivona Café Grano), kaffefilter (oblekt, Xtra Coop, Nederländerna)*

15 gram malt kaffe vägdes upp och lades i en tratt med melittafilter. 2,5 dl nyss uppkokat vatten hälldes i omgångar över kaffepulvret. Cirka 2 dl kaffe samlades upp. Från detta togs 2,5 ml och fördes med pipett till en mätkolv som sedan fylldes med avjoniserat vatten upp till 25 ml.

#### **4.5 Analys av koffein och klorogensyra**

*Material: spektrofotometer (Hitachi U-1500 Spectrophotometer), diklormetan (VWR Prolabo 0,2 % etanol. Frankrike) (Honeywell. p.a., Reag. ACS + ISO, stab. Tyskland), pipett (Pipetman P5000, Gilson, Middleton. USA), diverse labbglas*

I ett dragskåp hälldes lösningarna var för sig i en separertratt och 25ml diklormetan tillsattes. Separertratten skakades i tre minuter. Diklormetan och koffeinelösningen hälldes av i en uppmärkt mätkolv. Separeringen upprepades tre gånger till. Därefter tappades den kvarvarande lösningen med avjoniserat vatten och klorogensyra av i en separat uppmärkt mätkolv. För att späda till rätt koncentration överfördes 3ml med en pipett från lösningen med klorogensyra och vatten som överfördes till en ny mätkolv, till vilken avjoniserat vatten tillsattes upp till 25 ml.

Med en UV/vis-spektrofotometer mättes absorbansen i lösningarna en i taget.

Koffeinelösningen mättes till 272nm och klorogensyralösningen mättes till 324nm.

Rådata för mätningarna återfinns i bilaga 1–4.

#### **4.6 Kalibrering spektrofotometer**

*Material: spektrofotometer (Hitachi U-1500 Spectrophotometer), koffeinstandard (Sigma, Caffeine Anhydrous), klorogensyrastandard (Aldrich, Chlorogenic acid < 95 % titration*

*CAS:327-97-9. Kina), diklormetan (VWR Prolabo 0,2 % etanol. Frankrike) (Honeywell. p.a., Reag. ACS + ISO, stab. Tyskland), pipett (Pipetman P5000, Gilson, Middleton. USA), diverse labbglas*

Ca 50 mg av klorogensyrastandard vägdes upp på ett vågskepp, med en decimals noggrannhet, och tillsattes i en mätkolv. Avjoniserat vatten tillsattes till dess att volymen uppgick till 100 ml. Från denna stamlösning togs 10 ml med en pipett och tillsattes till en ny mätkolv som fylldes med avjoniserat vatten till 100 ml. Denna lösning användes sedan för att späda till lämpliga koncentrationer. Kalibreringslösningarna pipeterades till en kyvett och absorbansen mättes vid 324 nm. För koffein vägdes ca 50 mg av koffeinstandard och motsvarande spädningar gjordes med diklormetan istället för avjoniserat vatten. Absorbansen mättes på 272 nm.

#### **4.7 Viktförändring på grund av vattenavgång**

*Material: våg (Mettler Toledo, AB 204. Schweiz)*

20 bönor av varje sort togs slumpmässigt ur förpackningen och vägdes. Detta för att kunna kompensera för den vattenavgång som sker vid rostning.

#### **4.8 Kontroll av separering - Tunnskiktskromatografi (TLC)**

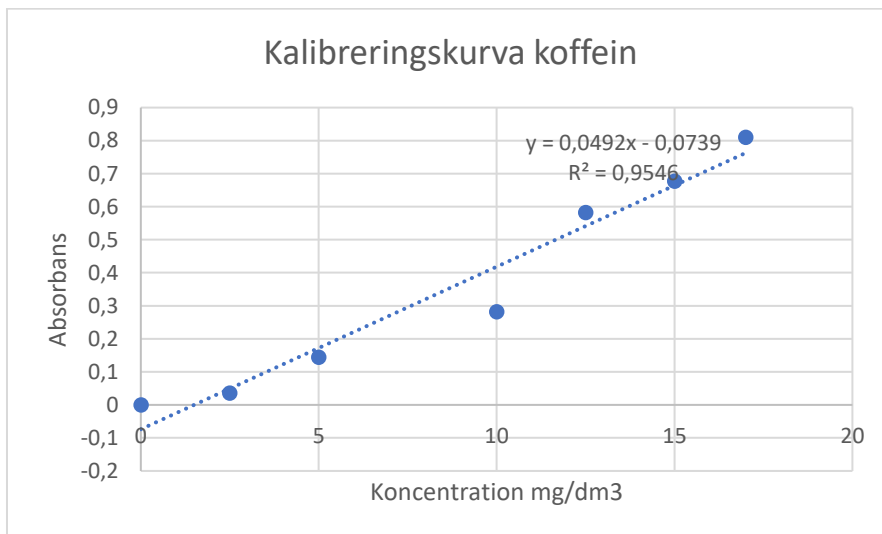
*Material: HP-TLC-folie (kiselgel 60 F 254, Merck, Darmstadt. Tyskland), UV-lampa, diverse labbglas*

Med en blyertspenna gjordes en baslinje ca 1 cm ovanför nederkanten på kiselgelarket och tre punkter markerades. På punkterna applicerades små droppar av lösningarna. På en punkt applicerades en av kalibreringsvätskorna för koffein, på den andra punkten applicerades klorogensyralösningen som extraherats ur kaffebönorna och på den tredje punkten applicerades koffeinslösningen som extraherats ur kaffebönorna. Arket sänktes ner i en lösning av etylacetat och ättiksyra med förhållandet 10:1. Bägaren täcktes med en plastfilm och fick stå några minuter tills mobilfasen nästan hade nått arkets övre kant. Arket belystes med en UV-lampa.

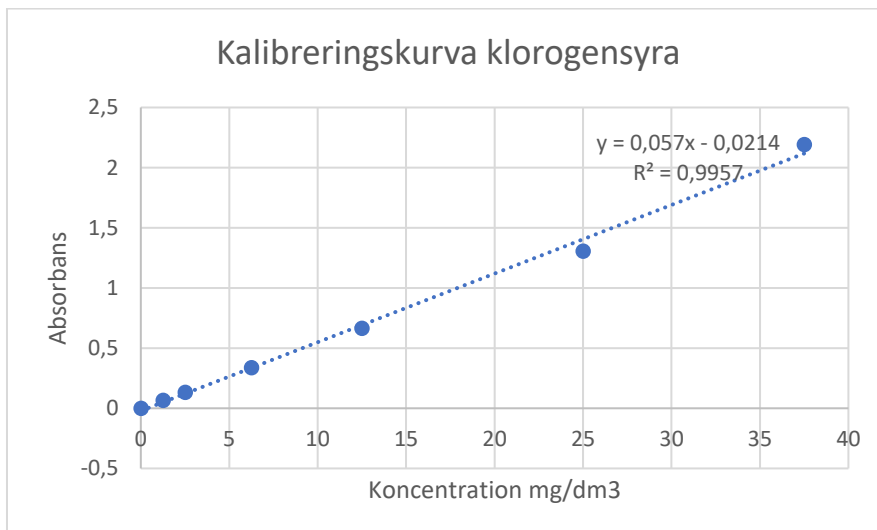
## 5 Resultat

### 5.1 Kalibreringskurva

Kalibreringskurvorna (figur 7 och 8) med formel  $Y = 0,0492x - 0,0739$  respektive  $Y = 0,057x - 0,0214$ , där Y är provets absorbans och x är provets koncentration i  $\text{mg}/\text{dm}^3$ , användes för att avläsa provernas koncentration. Koncentrationen i  $\text{mg}/\text{dm}^3$  multiplicerades med mängden lösningsmedel i  $\text{dm}^3$  och eventuell spädning och delades på provets vikt för att få fram koncentrationen i procent.



Figur 7. Kalibreringskurva för koffeinets absorbans i diklormetan.



Figur 8. Kalibreringskurva för absorbansen hos klorogensyra.

### 5.2 Mann Whitney U-test

De uppmätta resultaten prövades mot varandra med hjälp av ensidigt Mann Whitney U-test, enligt exempel i tabell 5. Koffeinhalten i rostad Colombia uppmättes till 1,71 %, 1,86 % och

1,79 %. Motsvarande värden för rostad Kenya mättes till 1,77 %, 1,80 % och 1,72 %. Då  $U_3$  (antal värden) är högre än  $U_0$  (som anges som gräns enligt tabell 3 på sidan 14) gäller nollhypotesen: Det finns ingen skillnad mellan serierna.

Tabell 5. Exempel på hur alla resultat har prövats mot varandra för att se om det finns en signifikant skillnad mellan bönorna.

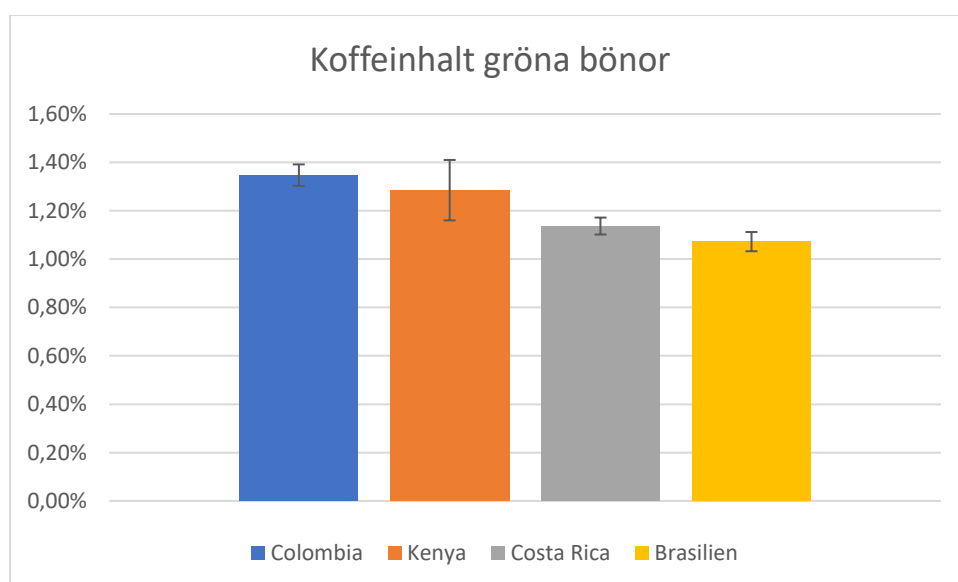
<i>Colombia</i>	<i>Högre värden hos Kenya</i>	<i>Antal värden</i>
1,71 %	1,77 %, 1,80 %, 1,72 %	3
1,86 %	-	0
1,79 %	-	0

## 5.3 Gröna bönor – innehåll av koffein och klorogensyra

### 5.3.1 Hackning med kockkniv

Resultatet av koffeinhalt och klorogensyrahalt i gröna bönor redovisas i figur 9 och 10. Resultatet visas som ett medelvärde av våra trippelprov med felstaplar som anger standardavvikelse mellan proverna. Koffeinhalten varierar från 1,35 % hos Colombia till 1,07 % hos Brasilien. Medelvärdet för samtliga ursprung uppgår till 1,21 %. För klorogensyra hamnar medelvärdet på 4,95 % för samtliga ursprung.

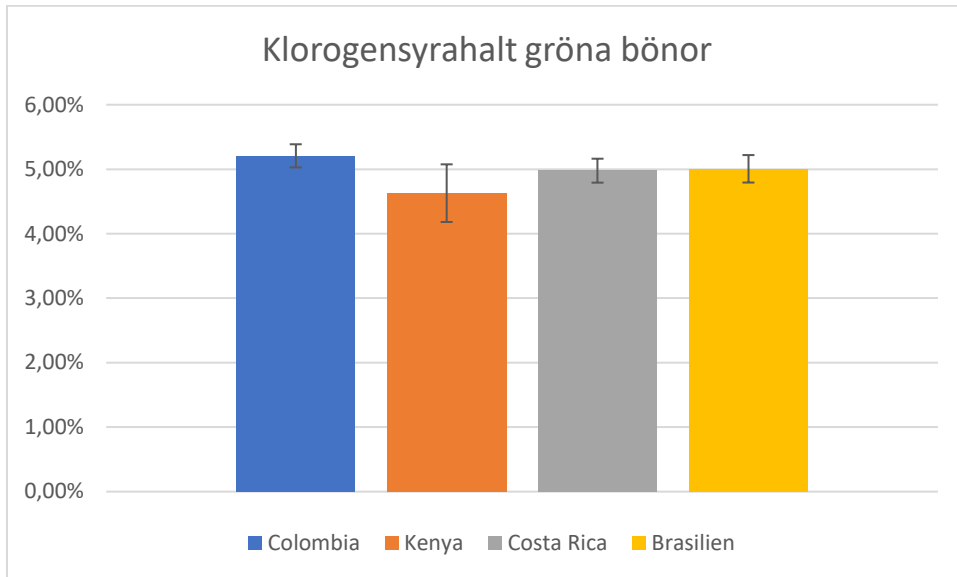
Koffeinhalten är signifikant högre hos Colombia och Kenya jämfört med Costa Rica och Brasilien, men ingen signifikant skillnad kan ses mellan Colombia och Kenya eller mellan Costa Rica och Brasilien.



Figur 9. Koffeinhalt i gröna bönor för respektive ursprung.



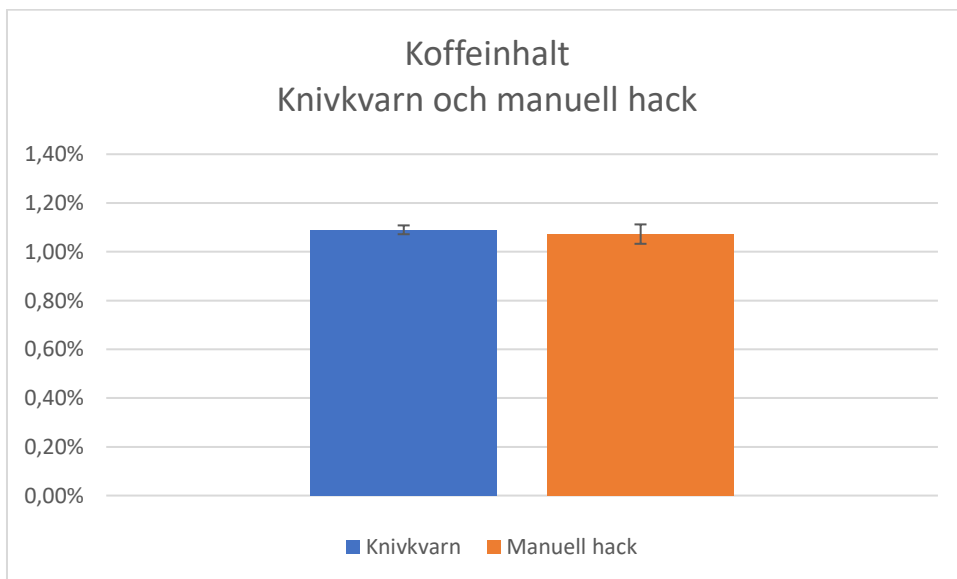
Klorogensyrahalten hos Colombia är signifikant högre än hos Kenya. Mellan övriga ursprung kan ingen signifikant skillnad ses av klorogensyrahalten.



Figur 10. Klorogensyrahalt i gröna bönor för respektive ursprung.

### 5.3.2 Knivkvarn

Den uppmätta koffeinhalten hos Brasilien redovisas i figur 11. I en jämförelse med den manuella hackmetoden för hand, föreligger ingen signifikant skillnad mellan metoderna.



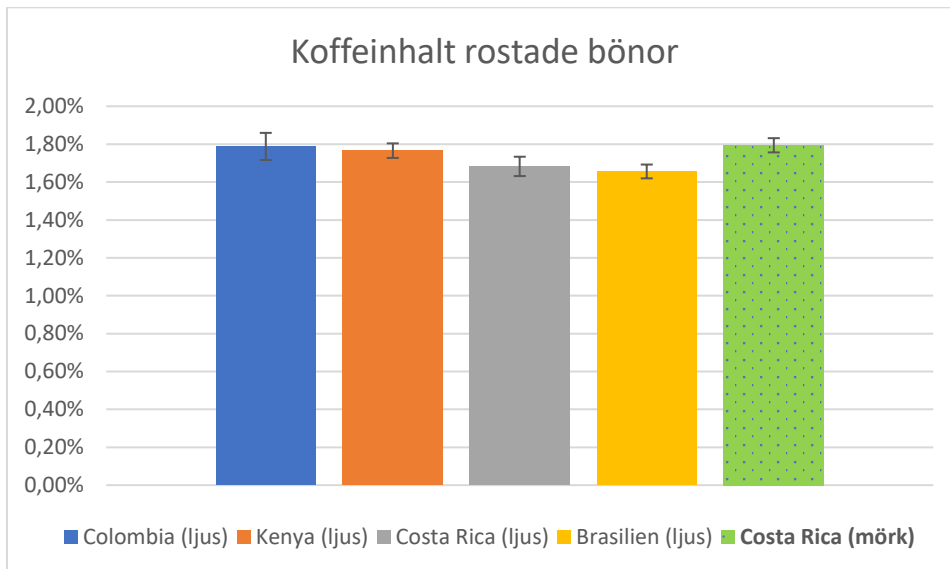
Figur 11. Uppmätt koffeinhalt hos Brasilien med två olika metoder. Ingen signifikant skillnad mellan hackmetoderna kunde ses.

## 5.4 Rostade bönor – innehåll av koffein och klorogensyra

För rostade bönor presenteras resultatet i figur 12 och 13. Medelvärdet för de ljusrostade bönorna är 1,72 % koffeinhalt och 4,29 % klorogensyrahalt. För de mörkrostade bönorna, där

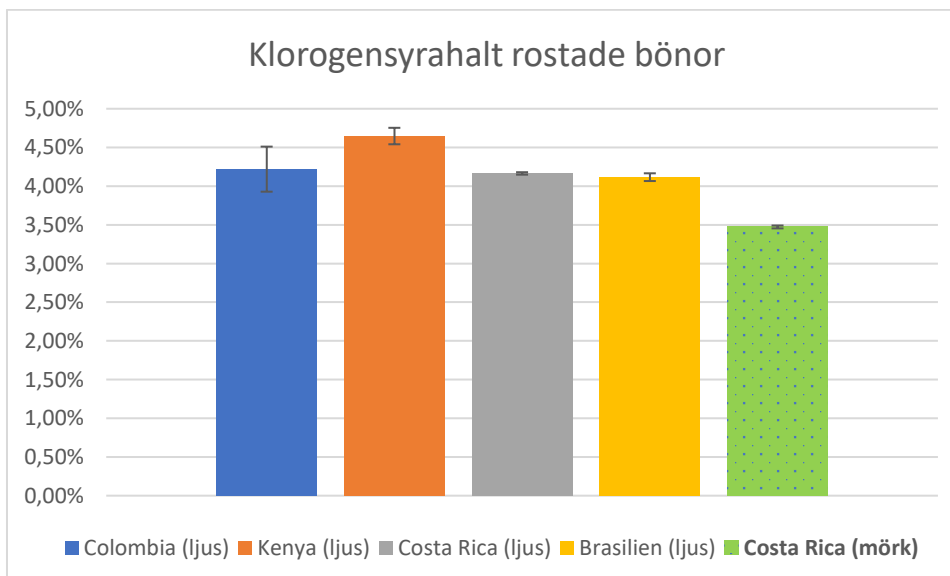
bara ett ursprung användes i analysen, hamnar koffeinhalten på 1,79 % och halten klorogensyra på 3,47 %. Det totala medelvärdet för samtliga sorter (både ljusrostade och mörkrostade) hamnar på 1,74 % koffeinhalt och 4,12 % klorogensyrahalt.

Koffeinhalten är signifikant högre hos Colombia, Kenya och Costa Rica (mörk) jämfört med Costa Rica (ljus) och Brasilien. Det föreligger ingen skillnad mellan Colombia, Kenya och Costa Rica (mörk) och ej heller mellan Costa Rica (ljus) och Brasilien.



Figur 12. Uppmätt koffeinhalt hos rostade bönor.

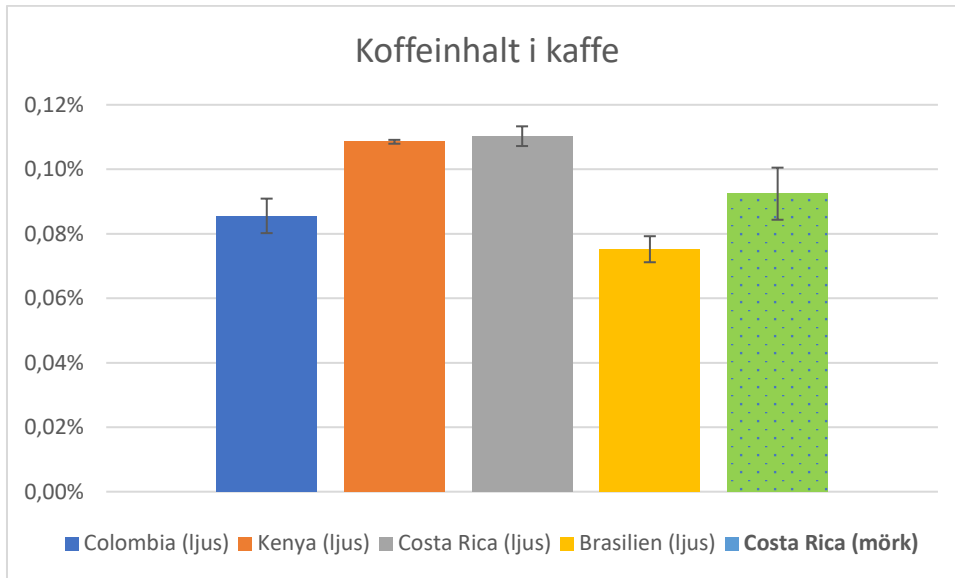
Kenya har signifikant högre klorogensyrahalt än de övriga ursprung. Samtliga av de ljusrostade bönorna har högre halt än den mörkrostade Costa Rica. I övrigt föreligger ingen skillnad mellan ursprung.



Figur 13. Uppmätt halt av klorogensyra hos rostade bönor.

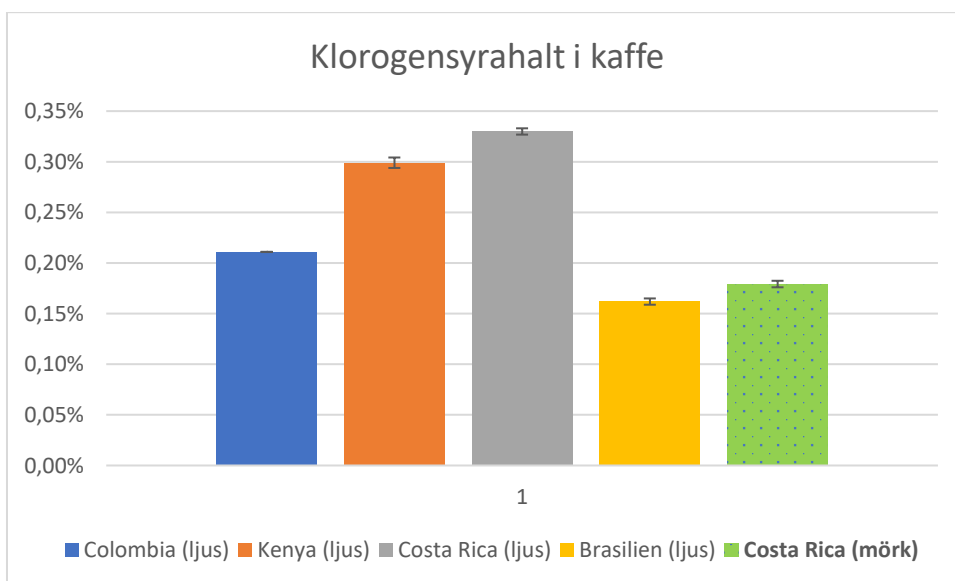
## 5.5 Bryggt kaffe – innehåll av koffein och klorogensyra

Halterna av koffein och klorogensyra i det färdiga kaffet presenteras i figur 14 och 15. Halten av koffein varierar från 0,08 % i fallet Brasilien till 0,11 % hos den ljusrostade Costa Rica. Medelvärdet av alla de olika ursprungerna uppgår till 0,09 %. Då enbart två prover togs av varje ursprung går det inte att avgöra om det finns någon signifikant skillnad mellan ursprungerna. Det ger 90 mg koffein i 100 ml kaffe.



Figur 14. Koffeinhalt i kaffe från de olika ursprungerna och rostningarna.

För klorogensyra varierar halterna från 0,16 % till 0,33 % med ett genomsnitt på 0,24 %. Även här togs enbart två prover, varför man inte kan avgöra om det finns en signifikant skillnad mellan ursprungerna. Det ger 340 mg i 100 ml kaffe.



Figur 15. Halt av klorogensyra från olika ursprung och rostningar. Alla sorter skiljer sig signifikant från varandra.

## 5.6 Viktförändring på grund av vattenavgång

I tabell 6 ses vikten av 20 bönor för respektive ursprung. Resultatet anger vikten i gram. Inom parentes anges de rostade bönornas vikt i procent relaterat till de gröna bönorna.

Viktförändringen beror framför allt på vattenavgång.

Tabell 6. Uppmätt vikt i gröna, ljusrostade och mörkrostade bönor.

<i>Ursprung</i>	<i>Gröna bönor</i>	<i>Ljusrostade bönor</i>	<i>Mörkrostade bönor</i>
<i>Colombia</i>	3,2778 g	2,7762 g (84,70 %)	
<i>Kenya</i>	4,2720 g	3,4987 g (81,90 %)	
<i>Costa Rica</i>	3,3020 g	2,8689 g (86,88 %)	2,5260 g (76,50 %)
<i>Brasilien</i>	2,9144 g	2,4611 g (84,45 %)	

För att kunna göra en jämförelse mellan de gröna och de rostade bönorna behöver hänsyn tas till vattenhalten. Då de rostade bönorna innehåller mindre vatten än de gröna bönorna har resultatet för dessa räknats om till den del de motsvarar av den ursprungliga vikten. Den uppmätta halten för ljusrostad Colombia har med andra ord multiplicerats med 0,8470 för att kunna presentera ett resultat där bönor med olika vattenhalt ändå är jämförbara med varandra.

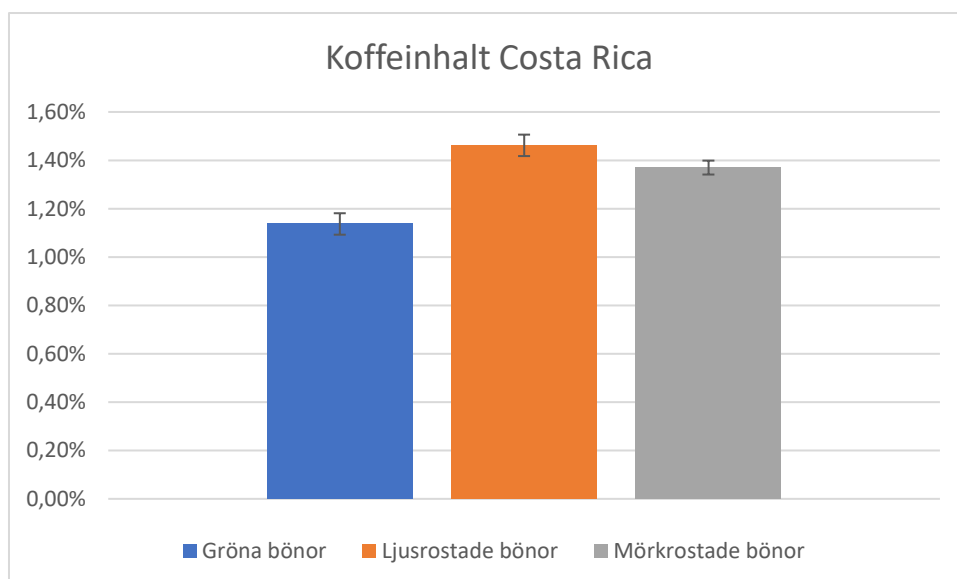
### 5.6.1 Koffein

I tabell 7 nedan anges relativa värden där vikten för de rostade bönorna är kompenserad i förhållande till dess vikt i grön böna. Den till synes ökande halten koffein från gröna till ljusrostade bönor beror troligtvis på dålig extraktion vid analysen av de gröna bönorna. Skillnaden mellan grön böna och rostad böna är signifikant i samtliga fall. Likaså skillnaden mellan den ljusrostade Costa Rica och den mörkrostade Costa Rica.

Tabell 7. Koffeinhalt i de olika ursprungerna vid olika rostningsgrad. Hänsyn har tagits till vattenavgången vid rostning.

<i>Ursprung</i>	<i>Gröna bönor</i>	<i>Ljusrostade bönor</i>	<i>Mörkrostade bönor</i>
<i>Colombia</i>	1,35 %	1,51 %	
<i>Kenya</i>	1,29 %	1,45 %	
<i>Costa Rica</i>	1,14 %	1,46 %	1,37 %
<i>Brasilien</i>	1,07 %	1,40 %	

Koffeinhalten minskade från ljusrostad till mörkrostad i fallet Costa Rica. Figur 16 illustrerar förändringen från grön böna till mörkrostad böna. Skillnaden mellan ljusrostad och mörkrostad böna är signifikant.



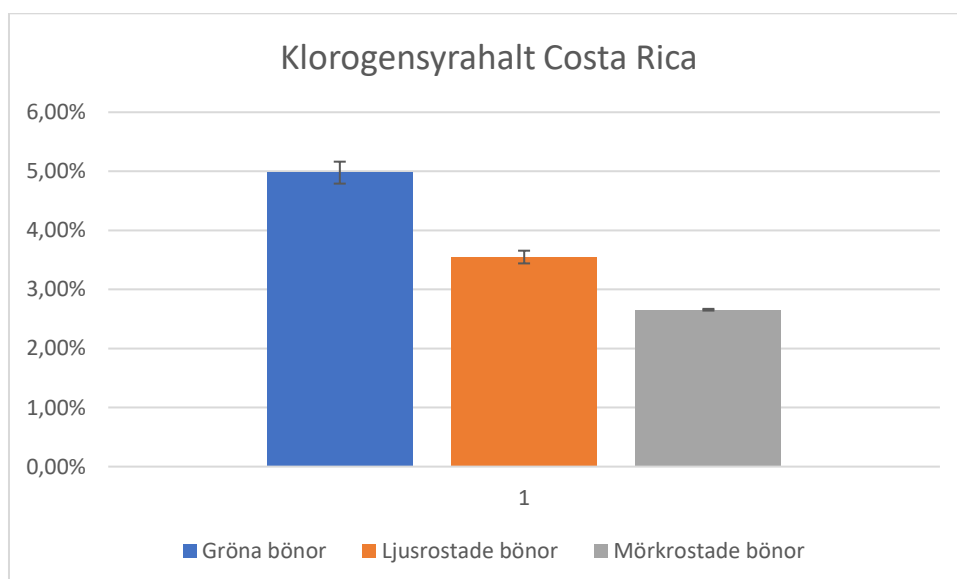
Figur 16. Koffeinhalt hos Costa Rica vid olika processteg: grön bön, ljusrostad bön och mörkrostad bön. Hänsyn har tagits till skillnaden i vattenhalt.

### 5.6.2 Klorogensyra

Motsvarande värden för klorogensyra presenteras i tabell 8. Även här är skillnaden mellan grön bön och rostad bön signifikant. Figur 17 illustrerar ursprunget Costa Rica som förekom i två olika rostningsgrader. Även skillnaden mellan ljusrostad Costa Rica och mörkrostad Costa Rica är signifikant.

Tabell 8. Klorogensyra i de olika ursprung och rostningarna. Här har hänsyn tagits till vattenförlusten vid rostning.

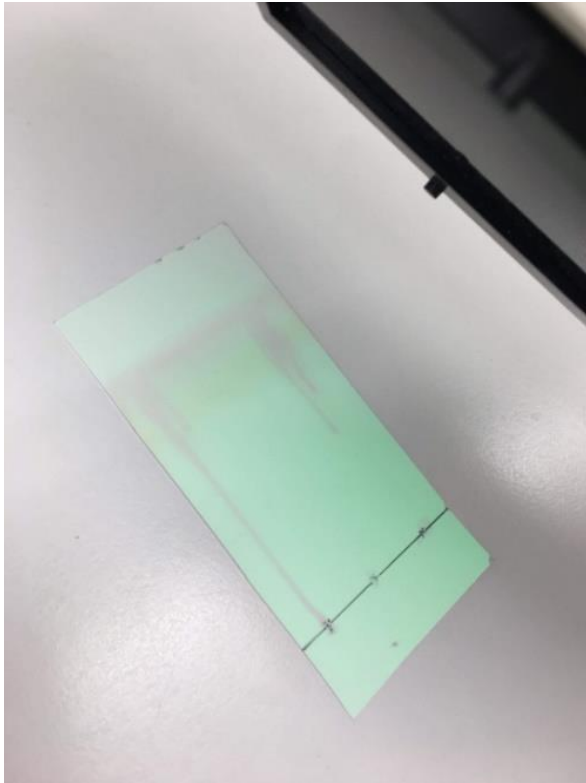
Ursprung	Gröna bönor	Ljusrostade bönor	Mörkrostade bönor
Colombia	5,21 %	3,57 %	
Kenya	4,63 %	3,81 %	
Costa Rica	4,98 %	3,55 %	2,66 %
Brasilien	5,01 %	3,48 %	



Figur 17. En signifikant minskning av klorogensyrahalt sker vid rostning. Här har hänsyn tagits till vattenförlusten vid rostning.

## 5.7 Kontroll av separering - Tunnskikt-kromatografi (TLC)

Figur 18 visar resultat av TLC-testet. Det syns tydligt att koffeinelösningarna vandrat upp längs arket och klorogensyralösningen stannat kvar på baslinjen. Försöket visar att klorogensyralösningen inte innehöll koffein.



Figur 18. Punkten till vänster i bild är en av kalibreringsvätskorna och höger i bild är koffeinelösningen som extraherats ur kaffebönorna. Punkten i mitten är klorogensyralösningen.

## 6 Diskussion och slutsats

I resultatet av mätningarna av koffeinhalten i de gröna bönorna var halterna lägre än i de rostade bönorna (tabell 7). Då tidigare studier har visat att koffeinhalten antingen sjunker vid rostning (Król, et al., 2020) (Bolka & Emire, 2020) alternativt är oförändrad (Lima & Farah, 2019) utgår vi från att vi inte lyckades extrahera ut allt innehåll från de gröna bönorna. Då de kvarnar vi hade tillgång till inte lyckades finfördela de hårdare, gröna bönorna särskilt väl valde vi istället att finhacka med kniv, vilket gav en blandning av större och mindre bitar. Detta kan mycket väl ha försämrat lösligheten. Vårt försök med knivkvarn, där vi trots allt lyckades få ett finmalet pulver, visade dock inte på någon skillnad mellan metoderna (figur 11). De låga halterna kanske bäst förklaras med att den gröna bönans inte genomgått *first crack*, dvs det steg i rostningen där cellstrukturen expanderar. Detta gör det svårare för lösliga ämnen att extraheras ut (Fernandes, 2019).

Även om den uppmätta koffeinhalten i de gröna bönorna kan ifrågasättas går det ändå se ett visst mönster i den mån att Colombia och Kenya innehöll mer än Brasilien och Costa Rica (ljus) i både gröna och rostade bönor. Bönorna från Costa Rica, som mättes i två olika rostningsgrader innehöll, efter beräknad kompensation för vattenförlust, 1,46 % koffein i den ljusrostade varianten och 1,37 % i den mörkrostade (figur 16). Detta tyder på att koffeinhalten faktiskt sjunker vid rostning. Som Bolka och Emire skriver (Bolka & Emire, 2020) beror detta på att koffeinets löslighet i vatten ökar vid högre temperatur. När vattenånga frigörs genom avdunstning tar den med sig en del av koffeinet.

Medelvärdet för alla rostade sorter uppmättes till 1,74 % koffeinhalt. Detta kan jämföras med tidigare studier där *C. arabica* vanligtvis ligger på 1,1–1,3 % (tabell 3). Då Soldes bönor rostar väldigt varsamt i låga temperaturer följer detta teorin om att ljusrostade sorter bör innehålla mer koffein än mörkrostade sorter. Detta är dock inte hela sanningen då våra gröna bönor också måste ha innehållit mer koffein än vad *C. arabica* vanligtvis gör. I tabell 2 anges vanliga värden till 0,9–1,3 %. Våra bönor bör, med resonemanget att koffeinet inte kan öka vid rostning, ha varit  $\geq 1,74$  % i genomsnitt. Detta indikerar att det är fler faktorer än rostning som påverkar koffeinhalten och kanske, som Lima och Farah skriver, att genetiska faktorer faktiskt är mer betydelsefulla för bönans koffeininnehåll (Lima & Farah, 2019).

Vad det gäller klorogensyrahalten var den lägre i de rostade bönorna än i de gröna bönorna (tabell 8). Eftersom värme bryter ned klorogensyra är detta logiskt och följer de teorier vi refererat till (Perrone, et al., 2010). Hos Costa Rica, som förekom i två rostningsgrader,

minskades dessutom halterna ytterligare vid den mörkare rostningsgraden (figur 17). Figur 17 ger intryck av att halterna minskade ungefär lika mycket mellan alla tre processteg. Precis som i fallet med koffein är det dock rimligt att även här anta att de uppmätta värdena hos de gröna bönorna är lägre än de verkliga värdena. Detta på grund av extraktionssvårigheterna.

Medelvärdet för samtliga rostade bönor uppgår till 4,12 % klorogensyra, vilket är högre än de referensvärdena på 1,9–2,5 % som anges i tabell 3. Även detta följer teorin om att ju hårdare rostning desto lägre halt av klorogensyra. Då halterna är relativt lika mellan sorterna (figur 13) kan man dra slutsatsen att Soldes bönor innehåller mer klorogensyra än vad kaffebönor gör generellt.

Vad bönornas halter av koffein och klorogensyra medförde i det bryggda kaffet ses i figur 14 och 15. Medelvärdet är 0,09 % för koffein och 0,24 % för klorogensyra, där Kenya och Costa Rica (ljus) uppnådde de högsta halterna i båda fallen. I samtliga ursprung är halterna högre än de siffror vi hittat i litteraturen, som för koffein är 0,044 % och för klorogensyra 0,035 - 0,175 %.

Det finns inget givet samband mellan de uppmätta halterna i det bryggda kaffet och vad som faktiskt uppmättes i bönan (figur 12 och 13). Till detta kan finnas flera olika förklaringar. Det kan spela roll hur vattnet fördelades över kaffet vid brygning, huruvida vattnet kom åt allt kaffe eller om det bildades kanaler i kaffet där vattnet passerade. Även tiden för vattnet att rinna ned bör ha betydelse. Att använda kaffebyggare istället för att manuellt hälla över vatten, hade möjligtvis gett ett jämnare bryggresultat. Att vi ändå valde denna metod beror på att den rekommenderades av Solde, och att vi då ville ligga så nära verkligt användande som möjligt. Mest troligt förklaras skillnaderna mellan halterna i bönor och i kaffe med att halterna i bryggt kaffe är väldigt låga, vilket ger en mätosäkerhet då små avvikelser ger till synes stora effekter.

Viss mätosäkerhet ska beaktas överlag, i synnerhet vad det gäller koffeinhalten då kalibreringskurvan  $Y = 0,0492x - 0,0739$  inte är optimal. Detta beror troligtvis på svårigheten att pipetera vätskor med låg ytspänning. Viss oro fanns att vi heller inte skulle lyckas separera koffeinet fullt ut och därmed få koffein kvar i klorogensyralösning och vice versa. TCL-testet visar dock att så inte var fallet, utan att vi, åtminstone i vårt stickprov, lyckats separera ämnena från varandra. Den mycket polära klorogensyran hade inte vandrat med den opolära mobilfasen över huvud taget. Det mindre polära koffeinet ligger däremot



med vätskefronten (figur 18). Detta indikerar att vår metod att separera ämnena från varandra faktiskt fungerade.

Kaffe överlag innehåller betydligt högre nivåer av klorogensyra än vad studien av (Cho, et al., 2010) anger som den dos som medför flera hälsobringande egenskaper. Vi har inte hittat några studier som visar att de halter av klorogensyra som finns i kaffe skulle ha någon skadlig effekt på människan.

Soldes bryggda kaffe innehåller dubbelt så mycket koffein (90 mg/100 ml) som det bryggda kaffet i de andra studier vi refererat till (44,5 mg/100 ml). Vad gäller minskad risk för Parkinsons sjukdom vid ett intag av 200 – 600 mg/dag (Yamada-Fowler, et al., 2014) behöver man bara dricka hälften så mycket kaffe om man väljer Soldes bryggda kaffe.

Sammanfattningsvis kan Soldes bönor sägas innehålla runt 1,7 % koffein och 4,1 % klorogensyra, med högst halter hos Colombia och Kenya. Dessa värden är högre än vad kaffebönor generellt innehåller. Detta beror troligtvis på att bönorna rostas i låga temperaturer, vilket ger mer kvar av ämnena i den färdiga produkten.

## 7 Referenser

- Andersson, A., 2013. Idrottsnutrition. i: L. Abrahamsson, A. Andersson & G. Nilsson, red. *Näringslära för högskolan*. Stockholm: Liber AB, pp. 410-439.
- Balyaya, K. J. a. M. C., 1995. *Balyaya, K. J. and M. Clifford. "Chlorogenic acids and caffeine contents of monsooned Indian Arabica and Robusta coffee compared with wet and dry processed coffees from the same geographic area, u.o.: u.n.*
- Belay, A. & Gholap, A. V., 2009. Characterization and determination of chlorogenic acids (CGA) in coffee beans by UV-Vis spectroscopy. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, 3(11), pp. 234-240.
- Belay, A., Ture, K., Redi, M. & Asfaw, A., 2008. Measurement of caffeine in coffee beans with UV/vis spectrometer. *Food Chemistry*, Issue 108, p. 310–315.
- Bolka, M. & Emire, S., 2020. Effects of coffee roasting technologies on cup quality and bioactive compounds of specialty coffee beans. *Food Science & Nutritions*, 8(11), pp. 6120-6130.
- Cho, . S. o.a., 2010. Chlorogenic Acid Exhibits anti-Obesity Property and Improves Lipid Metabolism in High-Fat Diet-Induced-Obese Mice. *Food Chem Toxicol*, p. 937–943.
- Clifford, . N., 1999. Chlorogenic acids and other cinnamates—nature occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture* , pp. 362-372.
- Dorfner, R. o.a., 2004. Laser mass spectroscopy as on-line sensor for industrial process analysis: process control of coffee roasting.. *Analytical Chemistry*, 22 Januari, pp. 1386 - 1402.
- Duarte, G. & Farah, A., 2015. *Bioavailability and Metabolism of Chlorogenic Acids from Coffee*. London: Academic Press.
- EFSA, 2015. *EFSA, European Food and Safety Authority*. [Online] Available at: <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/4102> [Använd 17 05 2021].
- Elgklou, L., 1993. *Kaffeboken*. u.o.:Bokförlaget Arena.
- Farah, A., 2012. Coffee Constituents. i: Y. Chu, red. *Coffee: Emerging Health Effects and Disease Prevention*. u.o.:John Wiley & Sons Inc, pp. 21-57.
- Farah, A., Paulis, T. d., Trugo, L. C. & Martin, P. R., 2005. Effect of Roasting on the Formation of Chlorogenic Acid Lactones in Coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 5(53), pp. 1505-1513.
- Fernandes, F., 2019. Roasting. i: A. Farah, red. *Coffee: Production, Quality and Chemistry*. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, pp. 230-255.
- Ferreira, T., Shuler, J., Guimarães, R. & Farah, A., 2019. Introduction to Coffee Plant and genetics. i: A. Farah, red. *Coffee: Production, Quality and Chemistry*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, pp. 1-25.
- Fredholm, B., 2021. *Kaffeologi*. Stockholm: Fri tanke.
- González, S. o.a., 2020. Long-Term Coffee Consumption is Associated with Fecal Microbial Composition in Humans.. *Nutrients*, May.
- Hernández, J. o.a., 2007. Analysis of the heat and mass transfer during coffee batch roasting. *Journal of Food Engineering*, 78(4), pp. 1141-1148.
- ICO, 2021. *International Coffee Organization*. [Online] Available at: <https://www.ico.org/> [Använd 05 05 2021].
- Król, K., Gantner, M., Tatarak, A. & Hallmann, E., 2020. The content of polyphenols in coffee beans as roasting, origin and storage effect. *European Food Research and Technology*, Issue 246, pp. 33-39.

- Lima, J. d. P. & Farah, A., 2019. Caffeine and Minor Methylxanthines in Coffee . i: A. Farah, red. *Coffee: Production, Quality and Chemistry*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, pp. 543-564.
- Livsmedelsverket, 2021. *Koffein*. [Online]  
Available at: <https://www.livsmedelsverket.se/livsmedel-och-innehall/oonskade-amnen/vaxtgifter/koffein>  
[Använd 26 03 2021].
- Manach, C. et al., 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, May, pp. 727-747.
- Miller, J. & Miller, J., 1993. *Statistics for analytical chemistry*. 3:e red. Chichester: Ellis Horwood Ltd.
- National Center for Biotechnology Information, 2021. *PubChem Compound Summary for CID 2519, Caffeine*. [Online]  
Available at: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2519>  
[Använd 26 03 2021].
- National Center for Biotechnology Information, 2021. *PubChem Compound Summary for CID 6344, Dichloromethane*. [Online]  
Available at: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Dichloromethane>  
[Använd 10 05 2021].
- Nationalencyklopedin, u.d. *Bouguer–Lambert–Beers lag*. [Online]  
Available at: <http://www-ne-se.ludwig.lub.lu.se/uppslagsverk/encyklopedi/lang/bouguer-lambert-beers-lag>  
[Använd 08 04 2021].
- Nationalencyklopedin, u.d. *Ljusabsorptionsspektrometri*. [Online]  
Available at: <http://www-ne-se.ludwig.lub.lu.se/uppslagsverk/encyklopedi/lang/ljusabsorptionsspektrometri> (  
[Använd 08 04 2021].
- NEUROtiker, Public domain, via Wikimedia Commons, 2007. *Structure of caffeine*. [Online]  
Available at: [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Koffein\\_-\\_Caffeine.svg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Koffein_-_Caffeine.svg)  
[Använd 07 05 2021].
- Olthof, . R., Hollman, . C. & Katan, . B., 2001. Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans. *The Journal of Nutrition*, Jauari, pp. 66-71.
- Perrone, D., Donangelo, R., Donangelo, C. & Farah, A., 2010. Modeling Weight Loss and Chlorogenic Acids Content in Coffee during Roasting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58, p. 12238–12243.
- Public domain, via Wikipeda Commons, 2018. *Chemical structure of chlorogenic acid*.. [Online]  
Available at: <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Chlorogenic-acid-2D.svg>  
[Använd 10 05 2021].
- Reich, E. & Widmer, V., 2012. *Thin Layer Chromatography*. In *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, (Ed.). u.o.:Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA..
- Rossberg, M. e. a., 2006. *Chlorinated Hydrocarbons*. Weinheim: u.n.
- Tajik, N., Tajik, M., Mack, I. & Enck, P., 2016. The potential effects of chlorogenic acid, the main phenolic components in cofee, on health: a comprehensive review of the literature. *European journal of nutrition*, 15 Februari, p. 2216.
- Tofalo, R., Renda, G., Caterina, R. D. & Suzzi, G., 2016. *Encyclopedia of Food and Health, Coffee: Health Effects*. u.o.:Academic Press.
- Wei, F. & Tanokura, M., 2015. *Organic Compounds in Green Coffee Beans*, u.o.: Department of Applied Biological Chemistry, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Toky.

Y tambe, CC BY-SA 3.0, via Wikipedia Commons, 2007. *Coffee Bean Structure*. [Online]

Available at: [https://en.wikipedia.org/wiki/File:Coffee\\_Bean\\_Structure.svg](https://en.wikipedia.org/wiki/File:Coffee_Bean_Structure.svg)

Yamada-Fowler, N., Fredrikson, M. & Söderkvist, 2014. Caffeine Interaction with Glutamate Receptor Gene GRIN2A: Parkinson's Disease in Swedish Population.. *PLOS ONE* , 10 Juni.

## 8 Bilagor

### 8.1 Bilaga 1. Rådata gröna bönor

#### Gröna bönor

#### Kalibreringskurva

Koffein	$Y=0,0492x-0,0739$	0,0492	0,0739
CGA	$Y=0,057x-0,0214$	0,057	0,0214

#### Prover

#### Resultat Koffein

#### Resultat CGA

Ursprung	Märkning	vikt prov, mg	vatten, dm3	Diklormetan, dm3	Absorbans Koffein	Absorbans CGA	Konc., mg/dm3	Konc., %	Konc., mg/dm3	Konc., %
Colombia	CB G1	49,7	0,025	0,100	0,247	0,702	6,522	1,31%	12,691	5,32%
Colombia	CB G2	51,7	0,025	0,100	0,265	0,686	6,888	1,33%	12,411	5,00%
Colombia	CB G3	50,9	0,025	0,100	0,276	0,717	7,112	1,40%	12,954	5,30%
Kenya	K G1	52,0	0,025	0,100	0,261	0,660	6,807	1,31%	11,954	4,79%
Kenya	K G2	50,0	0,025	0,100	0,209	0,659	5,750	1,15%	11,937	4,97%
Kenya	K G3	50,2	0,025	0,100	0,271	0,545	7,010	1,40%	9,937	4,12%
Costa Rica	CR G1	51,3	0,025	0,100	0,207	0,689	5,709	1,11%	12,463	5,06%
Costa Rica	CR G2	53,5	0,025	0,100	0,221	0,676	5,994	1,12%	12,235	4,76%
Costa Rica	CR G3	49,2	0,025	0,100	0,211	0,666	5,791	1,18%	12,060	5,11%
Brasilien	B G1	50,2	0,025	0,100	0,200	0,700	5,567	1,11%	12,656	5,25%
Brasilien	B G2	50,7	0,025	0,100	0,195	0,656	5,465	1,08%	11,884	4,88%
Brasilien	B G3	50,1	0,025	0,100	0,180	0,648	5,161	1,03%	11,744	4,88%

## 8.2 Bilaga 2. Rådata ljusrostade bönor

### Ljusrostat

#### Kalibreringskurva

Koffein	$Y=0,0492x-0,0739$	0,0492	0,0739
CGA	$Y=0,057x-0,0214$	0,057	0,0214

#### Prover

#### Resultat Koffein

#### Resultat CGA

Ursprung	Märkning	vikt prov, mg	vatten, dm3	Diklormetan, dm3	Absorbans Koffein	Absorbans CGA	Konc., mg/dm3	Konc., %	Konc., mg/dm3	Konc., %
Colombia	CB L1	52,3	0,025	0,100	0,367	0,536	8,961	1,71%	9,779	3,90%
Colombia	CB L2	52,0	0,025	0,100	0,401	0,591	9,652	1,86%	10,744	4,30%
Colombia	CB L3	51,2	0,025	0,100	0,378	0,603	9,185	1,79%	10,954	4,46%
Kenya	K L1	50,6	0,025	0,100	0,367	0,619	8,961	1,77%	11,235	4,63%
Kenya	K L2	51,0	0,025	0,100	0,378	0,614	9,185	1,80%	11,147	4,55%
Kenya	K L3	51,6	0,025	0,100	0,364	0,651	8,900	1,72%	11,796	4,76%
Costa Rica	CR L1	50,3	0,025	0,100	0,354	0,554	8,697	1,73%	10,095	4,18%
Costa Rica	CR L2	50,0	0,025	0,100	0,342	0,548	8,453	1,69%	9,989	4,16%
Costa Rica	CR L3	51,3	0,025	0,100	0,337	0,561	8,352	1,63%	10,218	4,15%
Brasilien	B L1	51,1	0,025	0,100	0,341	0,562	8,433	1,65%	10,235	4,17%
Brasilien	B L2	52,1	0,025	0,100	0,342	0,560	8,453	1,62%	10,200	4,08%
Brasilien	B L3	50,0	0,025	0,100	0,343	0,539	8,474	1,69%	9,832	4,10%

### 8.3 Bilaga 3. Rådata mörkrostade bönor

#### Mörkrostat

#### Kalibreringskurva

Koffein	$Y=0,0492x-0,0739$	0,0492	0,0739
CGA	$Y=0,057x-0,0214$	0,057	0,0214

#### Prover

#### Resultat Koffein

#### Resultat CGA

Ursprung	Märkning	vikt prov, mg	vatten, dm3	Diklormetan, dm3	Absorbans Koffein	Absorbans CGA	Konc., mg/dm3	Konc., %	Konc., mg/dm3	Konc., %
Costa Rica	CR M1	50,5	0,025	0,100	0,374	0,461	9,104	1,80%	8,463	3,49%
Costa Rica	CR M2	50,2	0,025	0,100	0,359	0,453	8,799	1,75%	8,323	3,45%
Costa Rica	CR M3	51,4	0,025	0,100	0,388	0,467	9,388	1,83%	8,568	3,47%

## 8.4 Bilaga 4. Rådata kaffe

### Kaffe

#### Kalibreringskurva

Koffein	$Y=0,0492x-0,0739$	0,0518	0,0369
CGA	$Y=0,057x-0,0214$	0,057	0,0214

#### Prover

#### Resultat Koffein

#### Resultat CGA

Ursprung	Märkning	vikt prov, mg	vatten, dm <sup>3</sup>	Diklormetan, dm <sup>3</sup>	Absorbans Koffein	Absorbans CGA	Konc., mg/dm <sup>3</sup>	Konc., %	Konc., mg/dm <sup>3</sup>	Konc., %
Colombia	CB K1	2500	0,025	0,100	1,120	1,421	22,334	0,09%	25,305	0,21%
Colombia	CB K2	2500	0,025	0,100	1,022	1,422	20,442	0,08%	25,323	0,21%
Kenya	K K1	2500	0,025	0,100	1,363	2,049	27,025	0,11%	36,323	0,30%
Kenya	K K2	2500	0,025	0,100	1,374	1,999	27,237	0,11%	35,446	0,30%
Costa Rica	CR K1	2500	0,025	0,100	1,363	2,217	27,025	0,11%	39,277	0,33%
Costa Rica	CR K2	2500	0,025	0,100	1,419	2,253	28,106	0,11%	39,902	0,33%
Brasilien	B K1	2500	0,025	0,100	0,974	1,101	19,515	0,08%	19,691	0,16%
Brasilien	B K2	2500	0,025	0,100	0,900	1,071	18,087	0,07%	19,165	0,16%
Costa Rica	CR M K1	2500	0,025	0,100	1,234	1,189	24,535	0,10%	21,235	0,18%
Costa Rica	CR M K2	2500	0,025	0,100	1,086	1,220	21,678	0,09%	21,779	0,18%