

**PENGESKTRAKAN SEBATIAN-SEBATIAN MERUAP DARI
BIJI KOPI MENGGUNAKAN KAEDAH BENDALIR
SUPERKRITIKAL (SFE) – ANALISIS GC-FID**

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

DAYANG INTAN BINTI ISMAIL

**PROGRAM KIMIA INDUSTRI
SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH**

2008

**PENGESKTRAKAN SEBATIAN-SEBATIAN MERUAP DARI BIJI KOPI
MENGUNAKAN KAEDAH BENDALIR SUPERKRITIKAL (SFE) –
ANALISIS GC-FID**

DAYANG INTAN BINTI ISMAIL

**PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH**

**DISERTASI INI DIKEMUKAKAN UNTUK MEMENUHI SEBAHAGIAN
DARIPADA SYARAT MEMPEROLEHI IJAZAH SARJANA MUDA SAINS
DENGAN KEPUJIAN**

**PROGRAM KIMIA INDUSTRI
SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH**

MEI 2008

UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS@

JUDUL: PENGEKSTRAKAN SEBATIAN -SEBATIAN MERUPA
DARI BIJI KOPI MENGGUNAKAN MEGAH BENDALIP SUPERKRITIKAL(SFE)
ANALISIS GC-FID

IJAZAH: IJAZAH SARJANA MUDA DENGAN KEPUIAN
KIMIA INDUSTRI

SAYA DAYANG INTAN BINTI ISMAIL
 (HURUF BESAR)

SESI PENGAJIAN: 2005 / 2008

mengaku membenarkan tesis (LPSM/Sarjana/Doktor Falsafah) ini disimpan di Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dengan syarat-syarat kegunaan seperti berikut:-

1. Tesis adalah hakmilik Universiti Malaysia Sabah.
2. Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dibenarkan membuat salinan untuk tujuan pengajian sahaja.
3. Perpustakaan dibenarkan membuat salinan tesis ini sebagai bahan pertukaran antara institutisi pengajian tinggi.
4. Sila tandakan (/)

SULIT

(Mengandungi maklumat yang berdarjah keselamatan atau Kepentingan Malaysia seperti yang termaktub di dalam AKTA RAHSIA RASMI 1972)

TERHAD

(Mengandungi maklumat TERHAD yang telah ditentukan oleh organisasi/badan di mana penyelidikan dijalankan)

TIDAK TERHAD

Disahkan Oleh

NURULAIN BINTI ISMAIL

LIBRARIAN

UNIVERSITI MALAYSIA SABAH



(TANDATANGAN PENULIS)



(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

Alamat Tetap: K9. BRUNEI
MEMBAKUT PTS 51,
8928, MEMBAKUT SABAH

Tarikh: 8/6/08

 Nama Penyelia

Tarikh: _____

CATATAN:- *Potong yang tidak berkenaan.

**Jika tesis ini SULIT atau TERHAD, sila lampirkan surat daripada pihak berkuasa /organisasi berkenaan dengan menyatakan sekali sebab dan tempoh tesis ini perlu dikelaskan sebagai SULIT dan TERHAD.

@Tesis dimaksudkan sebagai tesis bagi Ijazah Doktor Falsafah dan Sarjana secara penyelidikan atau disertai bagi pengajian secara kerja kursus dan Laporan Projek Sarjana Muda (LPSM).



PENAKUAN

Saya akui karya ini adalah hasil kerja saya sendiri kecuali nukilan dan ringkasan yang setiap satunya telah dijelaskan sumbernya.



DAYANG INTAN BINTI ISMAIL

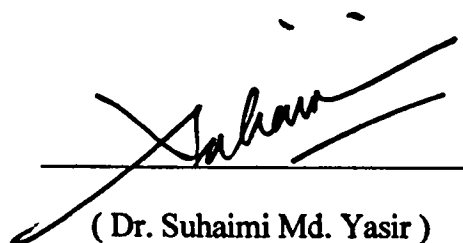
MEL, 2008

HS2005-4038

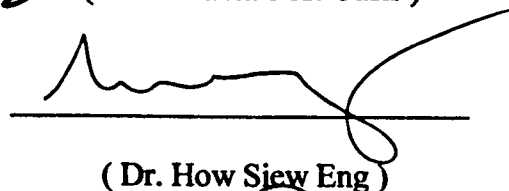
PENGESAHAN

Nama : Dayang Intan binti Ismail

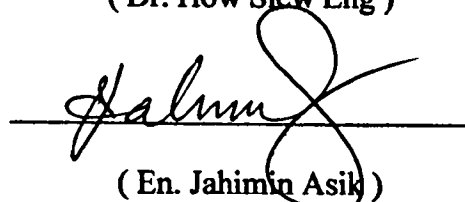
Tajuk : Kajian Pengekstrakan Sebatian-Sebatian Meruap Pada Biji Kopi
Menggunakan Bendalir Superkritikal (SFE) - Analisis GC-FID




(Dr. Suhaimi Md. Yasir)



(Dr. How Siew Eng)



(En. Jahimin Asik)



DEKAN
SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI

MEI, 2008

PENGHARGAAN

Syukur ke hadrat Ilahi dengan limpah kurniaNya dapat saya menyiapkan projek tahun akhir ini.

Setinggi-tinggi terima kasih saya ucapkan kepada penyelia projek tahun akhir saya iaitu Dr. Suhaimi Md. Yasir yang telah banyak memberi bimbingan dan dorongan sepanjang projek ini disiapkan. Tidak lupa juga kepada pensyarah-pensyarah terutamanya Dr. Marcus Jopony yang tidak jemu-jemu memberi tunjuk ajar, taklimat serta semangat kepada saya.

Penghargaan ini juga ditujukan kepada seluruh kakitangan Universiti Malaysia Sabah terutamanya kakitangan Sekolah Sains dan Teknologi (SST), Institut Penyelidikan Marin Borneo (IPMB) dan Institut Biologi Tropika dan Pemuliharaan (IBTP) di atas segala bantuan dan kemudahan yang telah disediakan.

Saya juga ingin mengambil kesempatan ini untuk merakamkan jutaan terima kasih kepada kedua orang tua saya yang sentiasa mendoakan kejayaan saya. Seterusnya tidak lupa juga pada teman-teman saya terutamanya Dj, Ijah, Pah, Zul, Lelah serta seluruh ahli keluarga kimia industri diatas bantuan dan semangat yang diberikan. Terima kasih lagi saya ucapkan kepada semua.

ABSTRAK

Kajian ini adalah mengenai penentuan sebatian perisa meruap dalam kopi Arabika. Sebatian perisa meruap ini diekstrakkan dengan menggunakan kaedah pengekstrakan Bendalir Superkritikal (SFE) dan dikesan dengan menggunakan kromatografi gas – Pengesan Pengionan Nyala (GC-FID). Keputusan menunjukkan, sebatian-sebatian perisa 2,3-dimetilpirazina, 2,5-dimetilpirazina dan 2,6-dimetilpirazina tidak dapat dikesan oleh kromatografi GC. Walau bagaimanapun, terdapat beberapa sebatian meruap lain yang dikesan.

ABSTRACT

The study was carried out to determine the flavour compounds in Arabica coffee. The volatile flavours were extracted using supercritical Fluid Extraction (SFE) and detected using Gas Chromatography- Flame Ionization detector (GC-FID). The result showed that 2,3-dimethylpyrazine, 2,5-dimethylpyrazine and 2,6-dimethylpyrazine were not detected by GC chromatography. However, there were other volatile compounds present.



SENARAI KANDUNGAN

	Muka Surat
PENGAKUAN	ii
PENGESAHAN	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	v
<i>ABSTRACT</i>	vi
SENARAI KANDUNGAN	vii
SENARAI JADUAL	x
SENARAI RAJAH	xi
SENARAI SIMBOL DAN SINGKATAN	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Pengenalan	1
1.2 Objektif Kajian	3
1.3 Skop Kajian	3
BAB 2 ULASAN LITERATUR	
2.1 Latar Belakang	4
2.2 Sejarah Kopi	6
2.3 Proses Kopi	6

2.4	Sebatian Meruap	8
2.5	Pemanggangan Kopi	9
2.5.1	Karbohidrat	10
2.5.2	Sebatian fenolik dan asid klorogenik	12
2.5.3	Alkaloid	14
2.5.4	Asid amino	15
2.5.5	Sebatian lain	15
2.6	Tindak Balas Maillard	17
2.7	Peranan Kopi Sebagai Tumbuhan Perubatan	21
2.8	Supercritical Fluid Extraction (SFE)	24

BAB 3 KAEDAH DAN BAHAN

3.1	Kaedah Kajian	27
3.2	Bahan Kimia dan Alat Radas	28
3.3	Sampel	28
3.4	Penyediaan Sampel	28
3.5	Pengekstrakan Sampel	29
3.5.1	Masa sebagai pemboleh ubah	30
3.5.2	Pelarut sebagai pemboleh ubah	30
3.6	Analisis Kandungan Sampel	31
3.6.1	Penyediaan larutan piawai	32
3.6.2	Penentuan puncak	33

BAB 4	HASIL DAN PERBINCANGAN	
4.1	Analisis Sebatian-Sebatian Pirazina	34
4.2	Sampel Kopi dengan Pelarut Diklorometana	35
4.2.1	Penentuan masa penahanan	36
4.2.2	Kromatogram sampel	39
4.3	Sampel Kopi dengan Pelarut Metanol	43
4.3.1	Penentuan masa penahanan	43
4.3.2	Kromatogram Sampel	45
4.4	Cara Mempertingkatkan Keberkesanan Kajian	48
BAB 5	KESIMPULAN	52
	RUJUKAN	53
	LAMPIRAN	61

SENARAI JADUAL

No. Jadual	Muka Surat
3.1 Kod sampel	30
3.2 Ringkasan parameter analisis GC-FID	31

SENARAI RAJAH

No. Rajah	Muka Surat
2.1 Keratan rentas buah kopi	5
2.2 Tindak balas penghasilan sebatian aroma semasa pemanggangan	10
2.3 Penguraian asid klorogenik kepada sebatian fenolik semasa proses pemanggangan	13
2.4 Struktur purina dan piridina	14
2.5 Struktur isomer kahweofuran	16
2.6 Tindak balas am jalan Maillard	19
2.7 Pemecahan Strecker	20
2.8 Struktur agen antioksida pada fenol	22
2.9 Struktur biokimia kopi pada diterpena	23
2.10 Definisi keadaan Superkritikal untuk sebatian tulen	24
2.11 Skema aliran peringkat-tunggal SFE	25
2.12 Skema aliran peringkat-multi SFE	26
3.1 Carta alir kaedah kajian <i>C. arabica</i>	29
4.1 Larutan sebatian piawai individu diklorometana pada skala (100,000 x μ v)	36
4.2 larutan piawai gabungan sebatian-sebatian pirazina dengan skala (100,000 x μ v)	38
4.3 Kromatogram kopi panggang dengan pelarut diklorometana	40

4.4	Kromatogram kopi belum panggang dengan pelarut diklorometana	41
4.5	Larutan sebatian piawai individu metanol pada skala (100,000 x μv)	44
4.6	Kromatogram kopi panggang dengan pelarut metanol	46
4.7	Kromatogram kopi belum panggang dengan pelarut metanol	47
4.8	Contoh tiub penghubung dalam 'collection vial'	50

SENARAI SIMBOL DAN SINGKATAN

M	Meter
g	Gram
kg	Kilogram
mL	Milliliter
L	Liter
GC-FID	Kromatogram Gas – Pengesan Nyalaan Ion
SFE	Bendalir Pengekstrak Superkritikal
%	Peratus
ppm	<i>parts per million</i>
μm	mikrometer
AOAC	Analytical of Official Analytical Chemists
DCM	diklorometana
2,3-DMP	2,3-dimetilpirazina
2,5-DMP	2,5-dimetilpirazina
2,6-DMP	2,6-dimetilpirazina

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Pengenalan

Setiap tumbuhan di muka bumi ini mempunyai kepentingan tersendiri, yang masih belum diterokai sepenuhnya. Selain sebagai sumber makanan, tumbuhan juga dijadikan sebagai sumber utama perisa dan perubatan sejak dahulu kala, berasaskan latar belakang sosial, kebudayaan, keagamaan, tingkah laku, dan kepercayaan dalam sesuatu masyarakat.

Malaysia adalah sebuah negara yang terletak di kawasan tropika dan di anugerahkan dengan iklim serta kedudukan yang sesuai bagi pertumbuhan pelbagai jenis tumbuhan. Jumlah keluasan hutan hujan Malaysia adalah dianggarkan lebih kurang 19.12 juta hektar yang mana ia meliputi hampir 58% kawasan tanah (Indu & Ng, 2000). Hutan hujan Malaysia membekalkan lebih daripada 20,000 spesis tumbuhan (Ng, 2004).

Banyak produk yang dihasilkan di pasaran mempunyai perisa yang berasaskan tumbuhan, terutamanya minuman berperisa buah-buahan semulajadi. Disebabkan masyarakat lebih mementingkan kualiti rasa dan nilai perubatan pada sesuatu produk,

kajian pengekstrakan perisa semulajadi daripada tumbuhan merupakan industri yang penting pada hari ini.

Tumbuhan ubatan merupakan sebarang tumbuhan di mana satu atau lebih daripada bahagian tumbuhan tersebut mengandungi sebatian aktif yang boleh digunakan bagi tujuan terapeutik atau merupakan bahan pemula sintesis dadah yang berguna (Kamaruddin *et al.*, 2002).

Oleh itu, beberapa penemuan menarik turut ditemui pada tumbuhan kopi atau nama saintifiknya *Coffea*. Biji kopi bukan sahaja boleh dijadikan minuman berperisa bahkan telah terbukti melalui beberapa kajian, di mana ia berpotensi dijadikan sumber perubatan yang mampu menghalang beberapa jenis penyakit dalaman serta luaran yang selalu dihidapi oleh golongan pertengahan usia pada hari ini.

Perisa merupakan sesuatu yang melibatkan rangsangan terhadap rasa, bau dan warna di mana dapat dibahagikan kepada sebatian perisa sintetik dan sebatian perisa semulajadi. Tindakbalas Maillard merupakan proses yang digunakan semasa penghasilan perisa dalam industri perisa makanan. Tindakbalas Maillard ini berlaku dalam proses pemanggangan, di mana ciri-ciri organoleptik (rasa, aroma, dan warna) akan dijana. Ciri-ciri ini menjadi asas yang menentukan kepada kualiti kopi (Hernandez *et al.*, 2007).

1.2 Objektif

Mengkaji keberkesanan kaedah SFE dalam menentukan sebatian-sebatian meruap dari biji kopi melalui perbezaan masa pengekstrakan dan jenis pelarut.

1.3 Skop Kajian

Skop kajian dilakukan ke atas kopi spesis *Coffea arabica* dari kawasan Tenom, Sabah dengan menggunakan bendalir superkritikal (SFE) sebagai instrumen pengekstrak sebatian-sebatian meruap. Sebatian-sebatian meruap ini dianalisis menggunakan gas kromatografi- pengesanan nyalaan ion (GC-FID). Masa pengekstrakan yang digunakan ialah 10 minit, 20 minit, 30 minit dan 40 minit dengan menggunakan dua jenis pelarut perangkap iaitu diklorometana dan metanol.

BAB 2

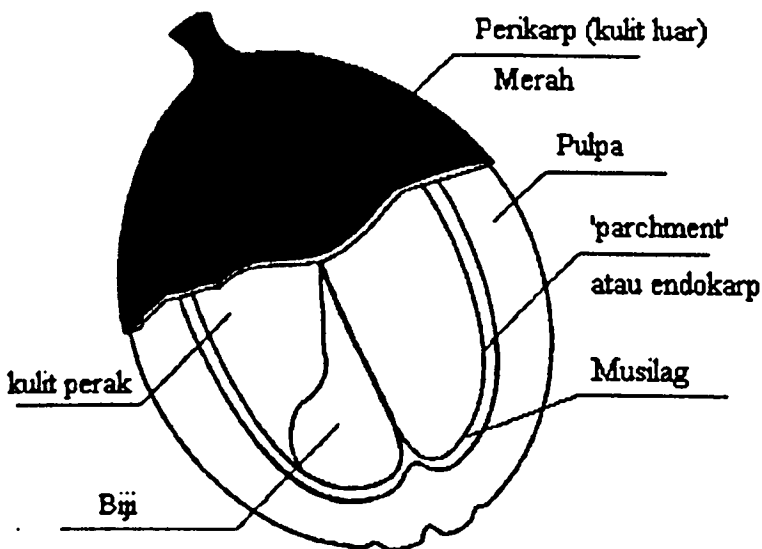
ULASAN LITERATUR

2.1 Latar Belakang

Pokok kopi merupakan pohon malar hijau, mempunyai buah yang berwarna kemerah-merahan ketika masak dan berwarna hijau ketika mentah dan tergolong dalam Subfamili jenis Cinchonoideae iaitu *Rubiacea*. *Coffea* dan *Psilanthus* adalah antara dua genus yang terdapat dalam kopi. Sebagai contoh adalah sub genus *Coffea* ialah *Coffea*, mengandungi 85 spesis kopi. Kini terdapat dua spesis yang dikenali sebagai *Coffea arabica* dan *Coffea canephora* atau selalunya merujuk sebagai arabika (70%) dan robusta (30%) yang mempunyai kepentingan komersial di pasaran (Shahidi & Naczk, 2003; Encyclopedia, 1993).

Pokok kopi selalunya tumbuh dalam hutan malar hijau pada ketinggian antara 700 m dan 2000 m. Tumbuh antara 2000 hingga 6000 kaki pada atas aras laut dengan suhu 23 °C, dan dengan hujan tahunan sekitar 1250 m³. Dipercayai kopi berasal dari Ethopia dan kemudian berkembang ke Brazil, Kenya, India, Indonesia, Colombia, El Salvador dan Filipina (Chandrasekar & Visnawathan, 1999).

Kopi mempunyai ciri biji yang cukup unik disebabkan lapisan yang menyelimuti bijinya terdiri daripada beberapa lapisan. Lapisan yang paling luar buah kopi adalah lapisan nipis perikarp atau kulit yang melindungi pulpa (serabut isi buah). Lapisan seterusnya ialah lapisan musilag yang selalunya mempunyai purata ketebalan 0.88 mm, bersifat lut cahaya, tidak berwarna dan tidak mempunyai bentuk yang tetap (seperti gel). Kemudian, lapisan endokarp yang juga dikenali sebagai lapisan 'parchment' berwarna kekuningan. Lapisan terakhir adalah lapisan nipis kulit perak yang berperanan melindungi biji kopi berwarna hijau (Berbert *et al.*, 2001b). Rajah 2.1 menunjukkan keratan rentas buah kopi.



Rajah 2.1 Keratan rentas buah kopi (Sumber: Berbert *et al.*, 2001b)

2.2 Sejarah Kopi

Pada abad kurun ke-15, biji kopi mula dipanggang dan ditumbuk menjadi serbuk untuk dijadikan minuman terkenal di semenanjung tanah Arab. Sehingga pada kurun ke-16, kopi menjadi sangat terkenal melalui empayar Uthmaniah. Sejarah awal yang menerangkan tentang kopi adalah seorang ahli fizik dan ahli botani dari Augsburg bernama Leonhard Rauwolf. Beliau mengatakan bahawa, “kopi hampir menyerupai dakwat hitam”. Nama kopi juga berasal dari perkataan Turki iaitu ‘kahveh’ (Encyclopedia, 1986, 1993).

2.3 Proses Kopi

Semasa biji kopi dituai, kelembapannya adalah sekitar 60-70% w.b. (Chandrasekar, 1999). Dalam perusahaan industri kopi, proses pulpungan dan pengeringan bergantung kepada kawasan dan jenis spesies kopi. Contohnya industri kopi di Brazil perusahaan kopi adalah menggunakan kaedah basah iaitu proses fermentasi. Maka proses pulpungan akan dilakukan terlebih dahulu sebelum proses pengeringan. Manakala di negara kita menggunakan kaedah kering, yakni proses pengeringan akan dilakukan terlebih. Proses pulpungan dilakukan untuk membuang lapisan pulpa, manakala penyahmusilag dan proses pembasuhan dilakukan untuk menyingkirkan musilag. Proses pengeringan selalunya mempunyai dua fasa. Pada fasa pertama, pengeringan di bawah sinaran cahaya matahari digunakan sehingga mencapai kelembapan sekitar 35-30% w.b. manakala pada fasa kedua pengeringan mekanikal pada suhu tinggi atau ‘fixed-bed dried’ digunakan

sehingga kelembapan kopi mencapai sekitar 13% w.b. (Berbert *et al.*, 1994a, 2001b; Chandrasekar, 1999).

Ciri-ciri perisa dan aroma kopi adalah hasil daripada gabungan ratusan sebatian kimia yang terhasil semasa tindakbalas pemanggangan berlaku. Proses ini boleh dibahagikan kepada tiga fasa secara berturut, (i) pengeringan, (ii) pemanggangan atau pirolisis dan (iii) penyejukan. Pada fasa pertama ini, pencirian kopi berlaku dengan pembebasan air dan bahan teruap secara perlahan-lahan, di mana warna biji kopi berubah dari hijau kepada kekuningan. Pada fasa kedua atau tindakbalas pirolisis, berlakunya perubahan ketara dalam kedua-dua ciri fizikal dan kimia pada biji kopi. Sehubungan itu, sejumlah besar karbon dioksida, air dan sebatian meruap akan terbebas, ini disebabkan tindakbalas Maillard atau pemasangan pengkaramelan gula berlaku, maka biji kopi menjadi perang. Kemudian diikuti oleh proses penyejukan, untuk mengelakkan kehangusan pada biji kopi (Franca *et al.*, 2005b).

Manakala proses yang terlibat dalam menentukan kualiti perisa kopi seperti tahun proses penuaian, suhu dan masa proses pemanggangan serta kaedah proses pengekstrakan yang digunakan. Sebagai contoh, kandungan alkaloid (kafein) memberi rasa pahit dan larut dalam air panas secara sederhana. Maka untuk menambah kualiti rasa terhadap kopi (bebas-kafein) penyingkiran alkaloid dilakukan dengan mengekstrak biji kopi menggunakan pelarut tidak berkutub contohnya seperti Superkritikal CO₂. Kaedah pengekstrakan ini hanya memberi sedikit pengaruh atau kesan terhadap profil perisa (Berbert *et al.*, 1994a; Brunner, 2005).

2.4 Sebatian Meruap

Semua sebatian perisa kopi terdiri daripada sebatian meruap dan dipercayai lebih daripada 1000 bahan kimia meruap yang dikenalpasti di dalam kopi. Daripada jumlah tersebut. Kira-kira 800-900 sebatian dijumpai pada kopi yang telah dipanggang, manakala lebih 300 sebatian lagi terdapat pada kopi yang belum dipanggang. Antara komponen meruap yang memberikan perisa kepada kopi adalah seperti sebatian pirazina, polifenol, pirol, diterpina dan tiazol (Akiyama *et al.*, 2007; De Maria *et al.*, 1996; Fuster *et al.*, 2000; Sanz *et al.*, 2002; Sarrazin *et al.*, 2000; Semmelroch & Groch, 1995).

Perisa kopi selalunya dipengaruhi oleh ciri fizikal dan kandungan bahan kimia yang terdapat pada kopi tersebut termasuklah proses-proses yang terlibat sepanjang pemrosesan kopi. Antara kandungan kimia yang mempengaruhi perisa kopi adalah jumlah kandungan alkaloid, asid klorogenik, asid amino, sebatian polifenol dan karbohidrat (Franca *et al.*, 2005b).

2.5 Pemangangan Kopi

Selain proses pengeringan, proses pemangangan juga turut menentukan kadar kandungan lembapan dalam biji kopi. Proses pemangangan merupakan proses yang paling penting dalam penentuan perisa, aroma, dan rasa kopi tersebut. Ini kerana ramai para saintis berpendapat bahawa proses pemangangan memulakan penjaanaan dan pengubahan profil kimia pada biji kopi untuk menentukan kualiti perisa kopi (De maria *et al.*, 1996; Oosterveld *et al.*, 2003b) .

Semasa proses pemangangan, ciri-ciri tekstur kopi akan berubah, iaitu daya kekuatan dan keliatan akan beransur hilang secara progresif dan menjadi semakin rapuh. Kerapuhan biji kopi dalam proses pemangangan dan ketinggian mutu hasil biji kopi berhubung kait dengan kehilangan air dan perubahan struktur tisu yang berlaku semasa fenomena pirolisis dan penurunan ketumpatan (Pittia *et al.*, 2001).

Proses pemangangan memberi kesan dan pengaruhi keatas komposisi kimia biji kopi untuk membentuk perisa dan aroma kopi dan antara yang mengalami perubahan semasa pemangangan ialah karbohidrat, polifenol, asid amino, alkaloid dan sebagainya.

RUJUKAN

- Akiyama, M., Murakami, K., Ikeda, M., Iwatsuki, K., Tokuno, K., Wada, A., Onishi, M., & Iwabuchi, H. 2007. Analysis of the headspace volatiles freshly brewed arabica coffee using solid-phase micro extraction. *Journal of Food Science* **100**: 1-9.
- Andriot, I., Quere, J.L.L., Guichard, E. 2004. Interaction between coffee melanoidins and flavour compounds: impact of freeze-drying (method and time) and roasting degree of coffee on melanoidins retention capacity. *Food Chemistry* **85**: 289-294.
- AOAC (1990). *Association of Official Analytical Chemists*. Official Method of Analysis, 15th ed., Washington D.C.
- Aoshima, H. & Ayabe, S. 2007. Prevention of the deterioration of polyphenol-rich beverages. *Journal of Food Chemistry* **100**: 350-355.
- Araujo, M.A.J. & Sandi, D. 2006. Extraction of coffee oil using supercritical carbon dioxide. *Food Chemistry* **101**:1087-1094.
- Berbert, P.A., Quiroz D.M., Silva, J.S., Filho Pinheiro, J.B. 1994. Drying of coffee (*coffea arabica L.*) in a fixed bed with a simulated periodic Airflow Reversal. *Journal Agriculture Engineering Research* **59**: 195-206.
- Berbert, P.A., Queiroz, D.M., Sousa, E.F., Molina, M.B., Melo, E.C. & Faroni, L.R.D. 2001b. Dielectric properties of parchment coffee. *Journal Agriculture Engineering Research* **80** : 65-80.

- Blomberg, J. & Brinkman, U.A.T. 1999. Practical and theoretical aspects of designing a flame-ionization detector / Mass Spectrometer Deans in gas chromatography-detector. *Journal of Chromatography A* **831** : 257-265.
- Brands, C.M.J., Wedzicha, B.L., Van Boekel, M.A.J.S. 2002. The use of radiolabelled sugar to estimate the extinction coefficient of malanoidins formed in heated sugar-casein system. *Journal of International Congress Series* **1245**: 249-253.
- Brunner, G. 2005. Supercritical Fluids: technology and application to food processing. *Journal of Food Engineering* **67**: 21-33.
- Casal, S., Mandes, E., Oliveira, M.B.P.P., & Ferreira, M.A. 2005. Roast effect a coffee amino acid enantiomers. *Food Chemistry* **89**: 333-340.
- Castro, M.D.L. & Jimenez-Carmona, M.M. 2000. Where is supercritical fluid extraction going. *Trends In Analytical Chemistry* **19**: 223-228.
- Cavin, C., Mace, K., Offord, E.A. & Schilter, B. 2001. Protective effect of coffee diterpenes against aflatoxin B₁-induced genotoxicity: mechanisms in rat and human cell. *Journal of Food and Chemical Toxicology* **39**: 549-556.
- Cavin, C., Holzhaeuser, D., Scharf, G., Constable, A., and Schilter, B. 2002. Cafestol and kahweol, two coffee specific diterpenes with anticarcinogenic activity. *Food and Technology* **40**: 1155-1163.
- Chandrasekar, V. & Viswanathan, R. 1999. Physical and thermal properties of coffee. *Journal Agriculture Engineering* **73**: 227-234.
- Dagan, S. & Amirav, A. 1999. Fast, very fast, and ultra-fast Gas Chromatography – Mass Spectrometry of thermally labile steroids, carbamates, and drugs in supersonic molecular beams. *Journal of American Society Mass Spectrom* **7**: 737-752.

- De Maria, C.A.B., Trugo, L.C., Aquino Neto, F.R., Moreira, R.F.A., & Alviano, C.S. 1996. Composition of green coffee water-soluble fraction and identification of volatiles formed during roasting. *Journal of Food Chemistry* **55**: 203-207.
- Degenhardt, A., Preiniger, M. & Ullrich, F. 2006. Caratenoids as flavour precursors in coffee. *Journal of Food Science* **43**: 379-382.
- Duarte, M.P., Laives, A., Gaspar, J., Leao, D., Oliveira, J.S. & Rueff, J. 1999. Genotoxicity of instant coffee: possible involvement of phenolic compound. *Journal of Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* **442**: 43-51.
- Encyclopedia of Chemical Technology, 1993. Volume 6: Coffee. Gerald Wesserman, United States of America.
- Encyclopedia of Industrial Chemistry, 1986. Volume A7: Coffee. Rinantonio Viani, New York.
- Ezrin, M. & Lavigne, G. 2005. Gas chromatography/mass spectroscopy for plastics failure analysis. *Journal of Engineering Failure Analysis* **12**: 815-859
- Favero, F.W. & Skaf, M.S. 2005. Solvation of purine alkaloids in supercritical CO₂ by molecular dynamics simulations. *Journal of Supercritical Fluids* **34**: 237-241.
- Flament, I. 2001. *Coffee Flavor Chemistry*. Published by John Wiley & Sons, New York, USA.
- Franca, A.S., Mendonca, J.C.F. & Oliveira, S.D. 2005a. Composition of green and roasted coffees of different cup qualities. *Lebensm-Wiss u-Technology* **38**: 709-715.

- Franca, A.S., Oliveira, S.D., Mendonca, J.C.F. & Silva, X.A. 2005b. Physical and chemical attributes of defective crude and roasted coffee beans. *Food Chemistry* 90: 89-94.
- Frank, S. 1999. *Botanicals A Phytocosmetic Desk Reference*. CRC Press, New York.
- Fisher, M., Reimann, S., Trovato, V. & Redgwell, R.J. 2001. Polysaccharides of green Arabica and Robusta coffee beans. *Journal of Carbohydrate Research* 330: 93-101.
- Fuster, M.D., Mitchell, A.E., Ochi, H., Shibamoto, T. 2000. Antioxidative activities of heterocyclic compounds formed in brewed coffee. *Journal Agriculture Food Chemistry* 48; 5600-5603.
- Gellati, U., Covolo, L., Franceschini, M., Pirali, F., Tagger, A., Ribero, M.L., Trevisi, P., Martelli, C., Nardi, G., Donato, F. & Francesco, D. 2005. Coffee consumption reduces the risk of hepatocellular carcinoma independently of its a etiology: a case-control study. *Journal of Hepytology* 42: 528-534.
- Hernandez, J. A., Heyd, B., Iries, C., Voldovinos, B. & Trystam, G. 2007. Analysis of the heat and mass transfer during coffee batch roasting. *Journal of Food Engineering* 78: 1141-1148.
- Hong, Y.T, Zhang, J., Bao, G.S., Ming, Q.H., Jian R.L. & Xiao, X.H. 2007. Preparation of natural isovaleraldehyde by the Maillard reaction. *Journal of Chenese Chemical Letter* 18: 1049-1052.
- Hyung, G.K., Ji, Y.K., Yong, P.H., Kyung, J.L., Kwang, Y.L., Kwang, Y.L., Dong, H.K. & Hye, G.J. 2006. The coffee diterpene kahweol inhibits tumor necrosis factor- α -induced expression of cell adhesion molecules in human endothelial cell. *Journal of Toxicology and Applied Pharmacology* 217; 332-341.

- Indu, B.J. & Ng, L.T. 2000. *Herbs The Green Pharmacy of Malaysia*. Via Press, Serdang, Selangor.
- Kamaruddin Mat Salleh, Nursafeda Abd. Rashid, Mazlina Kamaludin (pnyt.), 2002. *Tumbuhan Ubatan Malaysia*. Pusat Pengurusan Penyelidikan Universiti Kebangsaan Malaysia, Bangi, Selangor.
- Kilmartin P.A. & Chyong, F.H. 2003. Characteristic of polyphenols in green, oolong, and black tea, and in coffee, using cyclic voltammetry. *Journal of Food Chemistry* **82**: 501-512.
- Koshiro, Y., Xin, Q.Z., Ming, L.W., Nagai, C. & Ashihara, H. 2006. Changes in content and biosynthesis activity of caffeine and trygonelline during growth and ripening of *Coffea arabica* and *Coffea canephore* fruits. *Journal of Plant Science* **171**: 242-250.
- Krupcik, J., Mydlova, J., Spank, I., Tienpont, B. & Sandra, P. 2005. Computerized separation of chromatographically unresolved peaks. *Journal of Chromatography A* **1082**: 80-89.
- Lan, F.H., Ming, J.W., Ke, J.S., Yi, Z.L., Yun, H.D., Ke, L.H., Fang, Q.J. 2007. Fingerprint developing of coffee flavor by gas chromatography-mass spectrometry and combined chemometrics methods. *Analytica Chimica Acta* **588**:216-223.
- Li, Y., Murakami, Y. & Katsumura, S. 2006. Rapid synthesis of kahweofuran and its derivatives, the coffee aroma components. *Journal of tetrahedron Letters* **47**: 787-789.

- Manzocco, L., Calligaris, S., Mastrocola, D., Nicoli, M.C. & Lericci C.R. 2001. Review of non-enzymatic browning and antioxidant capacity in process foods. *Trend in Food Science & Technology* 11: 340-346.
- Mohamed, R.S. & Mansoori, G. A. 2002. *Supercritical Fluid Extraction Technology in Food Processing*. Featured article- Food Technology Magazine. The World Markets Research Centre, London, UK.
- Murkovik, M. & Deler, K. 2006. Analysis of amino acids and carbohydrates in green coffee. *Journal of Biochemical and Biophysical Method* 69:25-32.
- Ng, H.C., 2004. *Tumbuhan Liar dan Khasiat Ubatan dan Kagunaan Lain*. Utusan Publications, Kuala Lumpur, Malaysia.
- Nicoli, M.C., Anese, M., Manzocco, L. & Lericci, C.R. 1997. Antioxidant properties of coffee brews in relation to the roasting degree. *Lebensm-Wiss u-Technology* 30; 292-297.
- Ong Hean Choon, 2003. *Sayuran Khasiat Makanan dan Ubatan*. Utusan Publication, Kuala Lumpur.
- Oosterveld, A., Harmsen, J.S., Voragen, A.G.J. & Schols, H.A. 2003a. Extraction and chracterization of polysaccharides from green and roasted coffee arabica beans. *Journal of Carbohydrate Polymer* 52: 285-296.
- Oosterveld, A., Voragen, A.G.J. & Schols, H.A. 2003b. Effect of roasting on the carbohydrate composition of coffee arabica beans. *Journal of Carbohydrate Polymer* 54: 183-192.
- Osada, Y. & Shibamoto, T. 2006. Antioxidative activity of volatile extracts from maillard model system. *Food Chemistry* 98; 522-528.

- Pittia, P., Dalla Rosa, M., & Lericci, C.R. 2001. Textural Changes of coffee beans as effected by roasting conditions. *Lebensm-Wiss u-Technology* 34:168-175.
- Pourmortazivi, S.M. & Hajimirsadeghi, S.S. 2007. Supercritical Fluid Extraction in plant essential & volatile oil analysis. *Journal of Chromatography A* 1163: 2-24.
- Retro, M. & Figueira, M.E. 2007. Analysis of vitamin K in green tea leaves and infusion by SPME-GC-FID. *Food Chemistry* 100: 405-411.
- Sanagi, M.M., Wong, P.H., Yasir, S.M. 1997. Supercritical fluid extraction of pyrazines in roasted cocoa beans effect of pot storage period. *Journal of Chromatography A*. 785: 361-367.
- Sanz, C., Czerny, M. & Schieberle, P.C.C. 2002. Comparison of potent odorants in a filtered coffee brew and in an instant coffee beverage by aroma extract dilution analysis (AEDA). *European Food Research and Technology* 214: 299-302.
- Sarrazin, C., Quere, J.L., Gretsche, C., Liardon, R. 2000. Representativeness of coffee aroma extracts: a comparison of different extraction method. *Journal of Food Chemistry* 70: 99-106.
- Semmelroch, P. & Grosch, W. 1995. Analysis of Roasted coffee powder and brews by Gas Chromatography-Olfactometry of headspace samples. *Lebensm-Wiss u-Technology* 28:310-313.
- Shahidi & Naczki, M. 2003. *Phenolics in Food and Nutraceuticals: Coffee*. Published by Fereidoon, CRC Press LLC.
- Shin, M.S., Morriot, P. & Wynne, P. 2004. Comprehensive two-dimensional gas chromatography-quadrupole mass spectrometric analysis of drugs. *Journal of Chromatography A* 1058 : 223-232.

- Steinkellner, H., Hoelzl, C., Uhl, M., Cavin, C., Haidinger, G., Gsur, A., Schmid, R., Kundi, M., Bichler, J. & Knasmuller, S. 2005. Coffee consumption induces GSTP in plasma and protects Lymphocytes against (\pm)-anti-B[a]P-7,8-dihydrodiol-9,10-epoxide induced DNA-damage ; result of controlled human intervention trials. *Journal of Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 519: 264-275.
- Tavani, A., Augustin, L., Bossetti, C., Giordano, L., Gallus, S., Jenkins, D.J.A. & La Vecchia, C. 2004. Influence of selected lifestyle factors on risk of acute myocardial infarction in subjects with familiar predisposition for the disease. *Journal of Preventive Medicine* 38: 468-472.
- Van Boekel, M.A.J.S.B. 2006. Formation of flavor compound in the Maillard reaction. *Biotechnology Advances* 24: 230-233.
- Xin, Q.Z. & Ashihara, H. 2004. Distribution, biosynthesis and function of purine and pyridine alkaloids in coffee arabica seedlings. *Journal of plants science* 166: 807-813.