

Kemijski sastav i fizikalno-kemijska svojstva ulja taloga kave

Lasić, Petra

Master's thesis / Diplomski rad

2025

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:925588>

Rights / Prava: [Attribution-ShareAlike 4.0 International / Imenovanje-Dijeli pod istim uvjetima 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-14**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, veljača 2025

Petra Lasić

**KEMIJSKI SASTAV I FIZIKALNO-KEMIJSKA
SVOJSTVA ULJA TALOGA KAVE**

Rad je izrađen pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Marka Obranovića (Sveučilišta u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološkoga fakulteta), u Department of Chemistry, Institute of Food Science, Warsaw University of Life Sciences pod komentorstvom prof. dr. sc. Joanna Brys

ZAHVALA

Prije svega, želim izraziti duboku zahvalnost svom mentoru, izv. prof. dr. sc. Marku Obranoviću, na podršci, stručnim savjetima i strpljenju tijekom izrade ovog diplomskog rada, te komentorici prof. dr. sc. Joanni Bryś na utrošenom vremenu, strpljenju i prenesenom znanju. Vaše vodstvo bilo je od neprocjenjive važnosti za završetak ovog rada.

Također, zahvaljujem obitelji i prijateljima na bezuvjetnoj ljubavi, razumijevanju i ohrabrenju koje su mi pružali tijekom cijelog školovanja.

Hvala mojim kolegicama koje su sve uspone i padove studentskih dana proživjele uz mene.

Posebnu zahvalu upućujem mojem Dominiku na motivaciji i strpljenju, koji su mi pomogli da prebrodim sve izazove i teške trenutke.

Najveću zahvalu dugujem mami Nadi i tati Petru, koji nikada nisu sumnjali u mene. Vaša podrška bila je moj najveći oslonac.

Na kraju, hvala svima koji su na bilo koji način bili dio ove priče – vaša podrška mi je pomogla da ostvarim svoje ciljeve.

Ovaj rad posvećujem svima vama.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo
Laboratorij za tehnologiju ulja i masti

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Diplomski sveučilišni studij: Prehrambeno inženjerstvo

KEMIJSKI SASTAV I FIZIKALNO-KEMIJSKA SVOJSTVA ULJA TALOGA KAVE

Petra Lasić, univ. bacc. ing. techn. aliment.
0058222762

Sažetak: Kava predstavlja jedan od najpopularnijih i najčešće konzumiranih napitaka na svijetu s čime nastaje i velika količina otpada čije zbrinjavanje predstavlja značajan ekološki problem. U ovom radu provedena je analiza ulja iz otpadnog taloga kave iz ugostiteljskih objekata kako bi se istražila mogućnost njegove primjene u proizvodnji biodizela. Iz prikupljenog taloga provedena je ekstrakcija kako bi se dobilo ulje taloga kave, te su određena fizikalno-kemijska svojstva. U dvama uzorcima određeni su udjeli vode ($34,63 \pm 1,51$ % i $50,84 \pm 0,58$ %) i ulja ($13,44 \pm 0,40$ % i $23,7 \pm 0,20$ %). Peroksidni broj za uzorke ulja iznosio je $0,92 \text{ mEq O}_2/\text{kg} \pm 0,02$ i $0,90 \text{ mEq O}_2/\text{kg} \pm 0,09$. Određeni su i kiselinski broj ($6,13 \pm 0,03$ i $5,64 \pm 0,02$ mg KOH/g), kao i sastav masnih kiselina, njihovo pozicioniranje, među kojima je ukupno dominantna linolna masna kiselina ($39,26$ % i $40,05$ %), a slijede ju palmitinska ($34,49$ % i $32,87$ %) i stearinska ($11,58$ % i $12,42$ %). Određena je i distribucija masnih kiselina na sn-2 poziciji, gdje se ponovo ističe linolna masna kiselina ($60,33$ % i $61,41$ %), zatim palmitinska ($15,32$ % i $14,65$ %) i oleinska ($13,68$ % i $13,64$ %). Oksidacijska stabilnost ulja provedena je diferencijalnom motridbenom kalorimetrijom pod tlakom (PDSC).

Glavne riječi: talog kave, ulje taloga kave, masne kiseline, biodizel

Rad sadrži: 41 stranica, 13 slika, 4 tablica, 69 literaturnih navoda, 00 priloga

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološkoga fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb.

Mentor: izv. prof. dr. sc. Marko Obranović

Komentor: prof. dr. sc. Joanna Bryś, Warsaw University of Life Sciences, Varšava, Poljska

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. doc. dr. sc. Aleksandra Vojvodić Cebin (predsjednik)
2. izv. prof. dr. sc. Marko Obranović (mentor)
3. izv. prof. dr. sc. Klara Kraljić (član)
4. prof. dr. sc. Ksenija Marković (zamjenski član)

Datum obrane: 7. veljače 2025.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Department of Food Engineering
Laboratory for Oil and Fat Technology

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Food Technology

Graduate university study programme: Food Engineering

CHEMICAL COMPOSITION AND PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF SPENT COFFEE GROUNDS OIL

Petra Lasić, univ. bacc. ing. techn. aliment.
0058222762

Abstract: Coffee is one of the most popular and frequently consumed beverages in the world, which results in a large amount of waste, the disposal of which poses a significant environmental challenge. This study analyzes the oil from spent coffee grounds to explore its potential use in biodiesel production. The oil was extracted from the collected grounds, and its physicochemical properties were determined. The water content in two samples was found to be 34.63 ± 1.51 % and 50.84 ± 0.58 %, while the oil content was 13.44 ± 0.40 % and 23.7 ± 0.20 %. The peroxide value for the oil samples was 0.92 mEq O₂/kg ± 0.02 and 0.90 mEq O₂/kg ± 0.09 . The acid number was also determined (6.13 ± 0.03 and 5.64 ± 0.02 mg KOH/g), as well as the fatty acid composition and their positioning, with linoleic acid being the dominant fatty acid (39.26 % and 40.05 %), followed by oleic acid (34.49 % and 32.87 %) and stearic acid (11.58 % and 12.42 %). The distribution of fatty acids at the sn-2 position was also determined, where linoleic fatty acid (60.33% and 61.41%), followed by palmitic acid (15.32% and 14.65%) and oleic acid (13.68% and 13.64%). The oxidation stability of the oil was assessed using pressure differential scanning calorimetry.

Keywords: coffee grounds, coffee grounds oil, fatty acids, biodiesel

Thesis contains: 41 pages, 13 figures, 4 tables, 69 references, 0 supplements

Original in: Croatian

Graduate Thesis in printed and electronic (pdf format) form is deposited in the Library of the University of Zagreb Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb.

Mentor: Marko Obranović, PhD, Associate professor

Co-mentor: Joanna Bryś, PhD, Professor, Warsaw University of Life Sciences,, PhD

Reviewers:

1. doc. dr. sc. Aleksandra Vojvodić Cebin (president)
2. izv. prof. dr. sc. Marko Obranović (mentor)
3. izv. prof. dr. sc. Klara Kraljić (member)
4. prof. dr. sc. Ksenija Marković (substitute)

Thesis defended: February 7th, 2025

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. KAVA	2
2.2. OTPAD PREHRAMBENE INDUSTRIJE	5
2.3. TALOG KAVE	7
2.3.1. Ulje otpadnog taloga kave	9
2.4. PROIZVODNJA BIODIZELA IZ ULJA KAVE	11
3. EKSPERIMENTALNI DIO	14
3.1. MATERIJALI	14
3.1.1. Sirovina	14
3.1.2. Kemikalije	14
3.1.3. Oprema	15
3.1.4. Softver	15
3.2. METODE	16
3.2.1. Priprema otopina i pufera	16
3.2.2. Određivanja udjela vode u talogu kave	17
3.2.3. Ekstrakcija ulja iz taloga kave metodom po Soxhletu	17
3.2.4. Određivanje peroksidnog broja ulja	18
3.2.4. Određivanje kiselinskog broja ulja	19
3.2.4. Određivanje sastava masnih kiselina	20
3.2.5. Određivanje distribucije masnih kiselina na poziciji <i>sn-2</i>	21
3.2.6. PDSC mjerenje	22
4. REZULTATI I RASPRAVA	24
4.1. UDIO VODE U TALOGU KAVE	24
4.2. UDIO ULJA U TALOGU KAVE	24
4.3. PEROKSIDNI BROJ	25
4.4. KISELINSKI BROJ	26
4.5. SASTAV MASNIH KISELINA	27
4.6. DISTRIBUCIJA MASNIH KISELINA NA POZICIJI <i>sn-2</i>	29
4.7. PDSC ANALIZA	31
5. ZAKLJUČCI	36
6. LITERATURA	37

1. UVOD

Kava predstavlja jedan od najpopularnijih i najčešće konzumiranih napitaka na svijetu (Ferraz i sur., 2010), što se pripisuje ugodnom ukusu i aromi, te brojnim zdravstvenim benefitima (George i sur., 2008; Wachamo, 2017). Razina svjetske proizvodnje i izvoza kave bilježi stalan rast, s čime i pripravom napitaka od kave raste i količina otpada koji se stvara, a obiluje vrijednim svojstvima koja ostaju neiskorištena (Lee i sur., 2023). Stoga, veliki broj istraživača i institucija pristupa pronalaženju potencijalnih i profitabilnih načina iskorištenja otpada od kave.

Otpadni talog kave sadrži velike količine različitih organskih spojeva, među kojima se ističu i masne kiseline, koje se mogu koristiti kao sirovine za biodizel (Uddin i sur., 2019), te za kozmetiku (Lourith i sur., 2019). Ulje otpadnog taloga kave dobiva se različitim postupcima ekstrakcije i otapalima, najčešće nepolarna otapala poput toluena, kloroforma i heksana (Ribeiro i sur., 2024).

Uzevši u obzir ograničenost rezervi fosilnih goriva, kao i negativan utjecaj ovih goriva na globalne klimatske promjene, počinju se javljati alternativni obnovljivi izvori energije, te sve više privlače interes industrije i znanosti (Babadi i sur., 2022). Stoga, nužno je pronaći nove obnovljive načine opskrbe energije. Javlja se sve veći interes za biodizelom kao ekološki prihvatljivim gorivom jer se radi o netoksičnom, biorazgradivom i obnovljivom gorivu koje se sastoji od metil-estera masnih kiselina, dobivenih iz biljnog ulja ili životinjskih masti, putem transesterifikacije triglicerida s alkoholima kratkog lanca poput etanola ili metanola u prisutnosti kiselih ili baznih katalizatora (Sikiru i sur., 2024). Kao jedna od sirovina za sintezu biodizela, upravo se javlja ulje otpadnog taloga kave, te je cilj ovog rada bio istražiti mogućnost ekstrakcije takvog ulja, te ispitati njegova fizikalno-kemijska svojstva.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. KAVA

Biljka kave, pripada rodu zimzelenog grmlja ili niskog drveća *Coffea* iz porodice Rubiaceae. Dvije vrste roda *Coffea* ključne su za međunarodnu trgovinu kavom: *Coffea arabica* L. i *Coffea canephora* P., koje su poznatije pod nazivima Arabica i Robusta. Sjemenke biljke kave nazivaju se zrnima, te se ona uzgajaju i beru za ljudsku konzumaciju (Carrera i sur., 2023). Na stablu biljke kave najprije se pojavljuju aromatični bijeli cvjetovi koji se kratko zadržavaju na stablu (slika 1) (Adepoju i sur.,2017).



Slika 1. Cvijet kave (Adepoju i sur.,2017)

Iz nastalih cvjetova razvijaju se plodovi koji nazivaju koštunice ili trešnje. Za prvi urod drveta potrebno je od tri do pet godina, a prosječno drvo kave u sezoni daje od 1 do 3 kg ploda. Plod dobije jasnu crvenu boju tek kada potpuno sazri, nakon šest do dvanaest mjeseci i tada ima promjer do 15 mm. Svaki plod sadrži dva sjemena ili zrna, koja se u daljnjem tehnološkom postupku tretiraju kao sirova zrna kave (Wang i sur., 2021) i koristi se kao osnovna sirovina za proizvodnju pržene i mljevene kave, topivog kava praha, kao i likera od kave (Yadav i sur. 2021).

Kultivirana stabljika kave obično je visoka od 2 do 5 metara, no obrezivanjem i savijanjem stabla nastoji se ograničiti na visinu od oko 3 metra, kako bi se olakšao proces berbe i

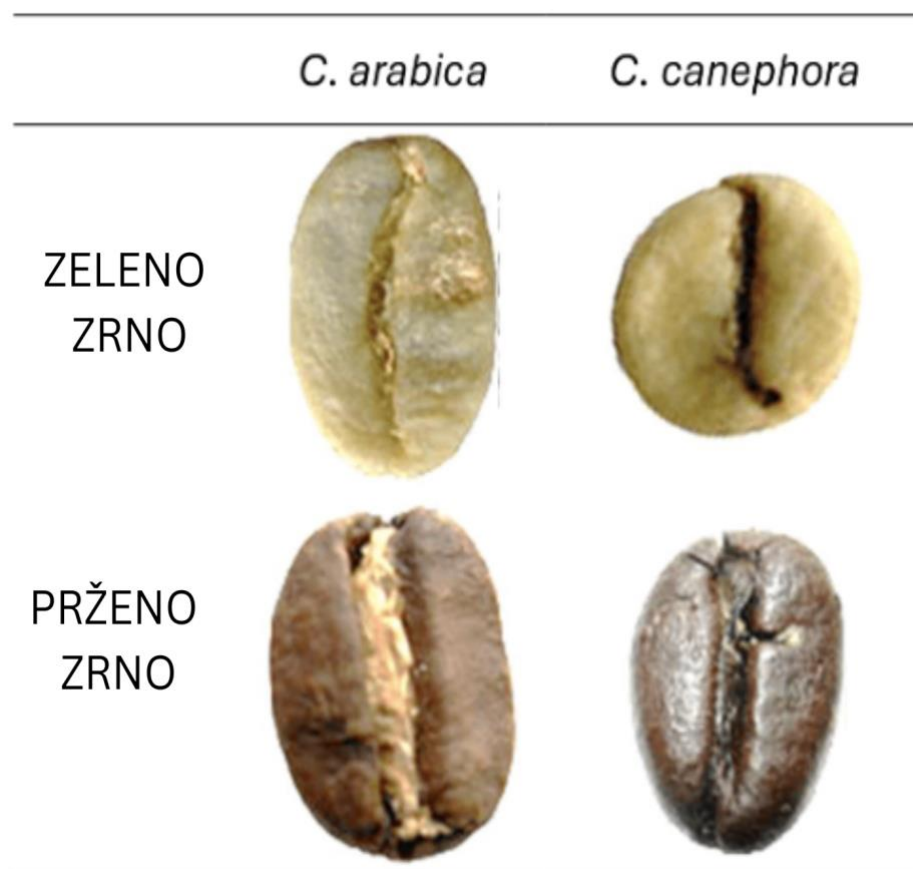
omogućio bolji pristup plodovima (de Oliveira i sur., 2021). Klima u tropskim zemljama smještenim u širem ekvatorijalnom pojasu, kao što su južna i središnja Amerika, Afrika i Azija, pogodna je za uzgoj kave. Glavni proizvođači kave su Brazil, Kolumbija, Vijetnam, Indonezija, Meksiko, Indija i Gvatemala, čija gospodarstva ostvaruju znatne prihode od izvoza kave (Cham i sur., 2022).

Glavni faktori koji utječu na uspješan uzgoj kave uključuju temperaturu i vlagu. Idealne temperature za rast kave kreću se između 12 i 27 °C (Getachew i sur., 2022). Također, za uzgoj kave potrebna je velika količina oborina kroz cijelu godinu, a optimalna količina kiše za uzgoj kave iznosi oko 1500–2500 mm godišnje (Kath i sur., 2021). Ovi uvjeti omogućuju razvijanje visokokvalitetnih kava, dok ekstremne temperature ili suše mogu negativno utjecati na prinos i kvalitetu plodova (Peroni Venancio i sur., 2020).

Proces prerade kave do gotovog proizvoda koji se može konzumirati odnosi se na niz metoda i tehnoloških operacija kojima se ubran plod kave pretvara u zrna kave koja su spremna za prženje i daljnju pripremu. Ovaj proces uključuje korake uklanjanja različitih slojeva koji sačinjavaju plod kave, među kojima su usplođe, sluz i pergamentna ljuska, kao i način sušenja zrna (Arbodela i sur., 2024). Postoje tri glavna načina uklanjanja usplođa, a svaki daje jedinstvene karakteristike. To su suhi, mokri i kombinirani postupci.

Prilikom mokrog načina obrade usplođe se uklanja nakon berbe, nakon čega se zrna fermentiraju, te ispiru (Figuroa Camposa i sur., 2020). Suha obrada ima tradicionalni pristup obradi gdje se zrna prirodno suše na suncu oko 2 tjedna (Bastian i sur., 2021). U kombiniranom postupku kombiniraju se elementi mokrih i suhih metoda. U ovom procesu uklanja se vanjska kožica, ali pulpa se ostavlja da se suši na suncu. Nakon završetka sušenja, pulpa je često mokra, a zrna se uklanjaju kao u suhom postupku. To znači da se plodovi kave ispiru i sortiraju kao u mokroj metodi, ali se ne stavljaju u fermentacijske spremnike, već se izlažu sušenju (Firdissa i sur., 2022).

Nakon uklanjanja usplođa i pergamentne ljuske, sirova kava se prži. Prženje se sastoji od obrade zrna suhim vrućim zrakom (Rotta i sur., 2021). Zelena zrna s tvrdom teksturom i slabom aromom, pretvaraju se u tamna, krhka pržena zrna (slika 2). Prženje je stoga ključna operacija koja donosi potrebne promjene kako bi sirovina postala prikladna za daljnje mljevenje i ekstrakciju (Muluken i Shimelis, 2020). Ovisno o željenim karakteristikama zrna i opremi za prženje, temperature do 160–240 °C i vrijeme obrade između 8 i 20 minuta su uobičajeni (Septianti i sur., 2020; Fadri i sur., 2020; Munchow i sur., 2020).



Slika 2. Vizualne promjene na zrnima kave nakon prženja (prema Ribeiro i sur., 2024)

Kako bi se prilikom ekstrakcije, koja je glavni način pripreme napitaka od kave, povećala izložena površina po jedinici volumena, zrna se podvrgavaju procesu mljevenja. Zbog krhkosti koja proizlazi iz faze prženja, primijenjeni stresovi mljevenja narušavaju strukturu zrna, smanjujući njihov promjer s nekoliko milimetara na nekoliko stotina mikrona (Wang i Lim, 2021).

Opća definicija ekstrakcije jest proces u kojem dolazi do prijenosa tvari između dvije faze (Nemati i sur., 2022). U slučaju obrade kave, ekstrakcija obično označava uklanjanje kofeina iz zrna i dobivanje topljivih tvari i arome iz pržene i mljevene kave kako bi se proizveo napitak od kave koji je spreman za konzumaciju, ili se može provesti korak sušenja kako bi se proizveo instant napitak od kave (Schmieder i sur., 2023).

Danas se koristi veliki broj metoda proizvodnje napitaka od kave. Odabir određene metode uglavnom je vođen kulturološkim navikama. Učinkovitost tehnike ekstrakcije u prijenosu topljivih tvari i aroma iz čestica kave u šalicu oblikuje kemijski profil ekstrakta, a time i njegov senzorski profil (Lapčikova i sur., 2023).

Prilikom provedbe ekstrakcije i pripreme napitaka od kave, tek 18 % do 31 % ukupne

korištene mase obrađene kave prelazi u napitak, što znači da zaostaje velika količina prehrambenog otpada u vidu taloga s neiskorištenim potencijalom (Franca i Oliveira, 2022).

S obzirom na funkcionalna svojstva napitka od kave (*espresso*), često su istražena svojstva takvih napitaka, a sastav Arabica kave vidljiv je u tablici 1:

Tablica 1. Kemijski sastav napitka od Arabica kave (Petrarco, 2005)

<i>Sastojak</i>	<i>Koncentracija (mg/mL)</i>	<i>Udio (%)</i>
<i>Ukupni lipidi</i>	2,5	5,3
<i>Neosapunjivi lipidi</i>	0,4	0,8
<i>Klorogene kiseline</i>	4,3	9,1
<i>Ugljikohidrati</i>	8,0	16,9
<i>Ukupni dušik</i>	1,8	3,8
<i>Kofein</i>	2,6	5,5
<i>Pepeo</i>	7,2	15,2
<i>Elementarni kalij</i>	3,2	6,8
<i>Malnoidini</i>	17,3	36,6
<i>Ukupne čvrste tvari</i>	47,3	100

Porast potražnje za kavom odražava porast globalne potrošnje kave, pri čemu je kava postala sirovina ukorijenjena u ljudskoj svakodnevnicu. S porastom potrošnje, otpadni ostaci iz industrije kave (nusproizvodi iz faza berbe, prerade, prženja i pripreme kave) predstavljaju izazov direktiva za smanjenje prehrambenog otpada (Saberian i sur., 2021).

2.2. OTPAD PREHRAMBENE INDUSTRIJE

Prilikom prerade prehrambenih proizvoda, nastaje velika količina otpada, koji je bogat funkcionalnim spojevima ili je jestiv, a takav otpad se najčešće odbacuje, gubi ili degradira (O'Connor i sur., 2021).

Usprkos nutritivnoj vrijednosti, ovi nusproizvodi često ostaju neiskorišteni, što dovodi do gubitaka u prehrambenom lancu i neodržive proizvodnje (Ojha i sur., 2020). Količina otpadne hrane i nusproizvoda prehrambene industrije koji nastaju nije ravnomjerno raspoređena kroz cijeli proizvodni ciklus, već ovisi o pojedinoj fazi proizvodnje (Bhatia i sur., 2023).

Otpad nastao iz prehrambene industrije trenutno je veliki problem, kako u razvijenim, tako i u zemljama u razvoju. Prema procjenama FAO-a, trećina hrane proizvedene za ljudsku potrošnju svake se godine baca, što iznosi gotovo 1,3 milijardu tona (Gustavsson i sur., 2011). Iako gubitak i otpad hrane izravno utječu na globalnu opskrbu hranom, oni također

predstavljaju veliki gubitak visokovrijednih resursa. Značajni gubici u prehrambenom lancu doprinose emisiji stakleničkih plinova, budući da se hrana koja bi mogla biti konzumirana, često odlaze na odlagališta gdje se razgrađuje i emitira metan. Osim toga, ovi gubici predstavljaju propuštenu priliku za podupiranje održivih prehrambenih sustava (Perin i sur., 2020).

Nusproizvodi prehrambene industrije, poput kora od voća, povrća, koštica, sjemenki mogu se potencijalno koristiti za proizvodnju korisnih materijala (Roy i sur., 2023). Istraživanja ukazuju na mogućnosti njihove valorizacije kroz procese poput ekstrakcije korisnih bioaktivnih spojeva (Benucci i sur., 2022), proizvodnje bioplastike (Ramadhan i Handayani, 2020) ili za proizvodnju biodizela (Pour i Makkawi, 2021). Spojevi koji su bitni sastojci prehrambenog otpada imaju potencijal u primjeni, te se mogu naći i primarni i sekundarni metaboliti. Primarni metaboliti su esencijalni spojevi potrebni za rast i razvoj, poput ugljikohidrata, proteina, lipida i prehrambenih vlakana. S druge strane, sekundarni metaboliti su komponente koje se nalaze u malim količinama u biljkama i drugim organizmima. Ovi spojevi potrebni su za opće održavanje i preživljavanje organizma u nepogodnim uvjetima okoliša (Camargo i sur., 2018). Sekundarni metaboliti mogu se dalje podijeliti u dvije kategorije: esencijalne i neesencijalne. Esencijalni bioaktivni sastojci uključuju vitamine, minerale i dijetalna vlakna, koji su potrebni za održavanje biokemijskih reakcija u ljudskom organizmu (Lucía i sur., 2021). Neesencijalni bioaktivni spojevi uključuju fenolne kiseline, flavonoide, eterična ulja, antioksidanse, karotenoide, saponine i fitosterole (Carbonell-Capella i sur., 2013).

Uzevši u obzir povećanje proizvodnje hrane i razvoj prehrambene industrije, nužno je smanjenje količine nusproizvoda koji se odbacuju. Korištenjem inovativnih tehnologija i održivih metoda obrade, moguće je smanjiti gubitke i pretvoriti sporedne proizvode u vrijedne nove proizvode, pa tako se ekstrakcijom otapalima može značajno povećati vrijednost nusproizvoda prehrambene industrije i smanjiti njihov utjecaj na okoliš (Saker i sur., 2024).

Nusproizvodi prehrambene industrije obiluju biološki aktivnim spojevima koji se mogu iskoristiti za povećanje nutritivne vrijednosti novih proizvoda, čime imaju pozitivne učinke na zdravlje (Bhargava i sur., 2020).

S obzirom na navedene prednosti, valorizacija nusproizvoda prehrambene industrije može biti ključna pri održivom razvoju. Korištenje tih proizvoda ne samo da pomaže u smanjenju otpada, već doprinosi i smanjenju negativnog utjecaja na okoliš i smanjenju pritiska na prirodne resurse (Talan i sur., 2021).

2.3. TALOG KAVE

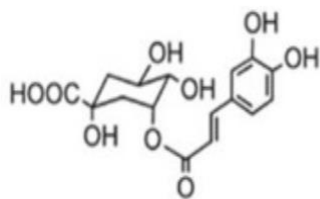
Iskorišteni talog kave predstavlja krajnji proizvod prerade kave koji nastaje nakon pripreme napitaka od kave koji često ostaje nezbrinut, te se počinje smatrati sve vrijednijim izvorom polisaharida, lipida, minerala i bioaktivnih sekundarnih metabolita, uključujući diterpene, sterole, klorogenske kiseline, flavonoide i kofein (Bijla i sur., 2022).

Talog kave obično sadrži visoki udio vode koji varira između 18 % i 85 % (w/w), ovisno o procesu pripreme kave koji se koristi (Al-Hamamre i sur., 2012). Voda u talogu kave može biti prisutna ili kao slobodna voda koja nastaje tijekom pripreme napitaka. Također, može biti vezana unutar mikrostrukture čvrstih čestica, pri čemu se razina vezane vlage razlikuje ovisno o podrijetlu i vrsti kave (Gómez-De La Cruz i sur., 2015). Visoka varijabilnost u sadržaju vode također može utjecati na daljnje procesiranje taloga kave i njegovu primjenu. Visok udio vode može otežati ekstrakciju ulja, dok manja količina vode može omogućiti lakšu obradu i veću stabilnost tijekom skladištenja.

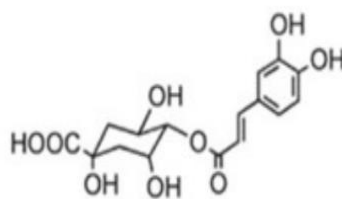
Oko 50 % suhe mase otpadnog taloga kave čine organski spojevi, među kojima su najzastupljeniji polisaharidi. Polisaharidna frakcija taloga kave sastoji se ponajviše od galaktomanana (50 %), arabinogalaktana (25 %) i celuloze (25 %). Navedeni polisaharidi imaju potencijal u proizvodnji biogoriva i bioetanola, ali kao i supstrat za formiranje biofilmova, što ih čini vrijednim resursom u industrijskim procesima (Batista i sur., 2020; Zheng i sur., 2024).

Talog kave također sadrži proteine, lipide, fenolne spojeve te minerale kao što su natrij, željezo, kalcij, cink, bakar, magnezij, kalij i mangan (Bijla i sur., 2022). Među mineralima, kalij je najzastupljeniji i čini 40 % ukupnih prisutnih minerala (Cervera-Mata i sur., 2019). Bogati mineralni sastav pruža potencijal primjene otpadnog taloga kave prilikom proizvodnje gnojiva, pa se tako kompostiranjem taloga može se dobiti obogaćeno tlo (Kovalcik i sur., 2018).

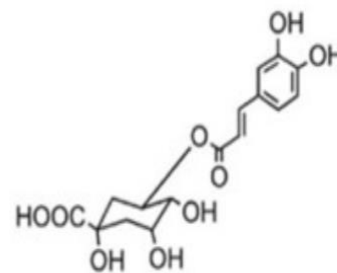
Antioksidativna svojstva taloga kave pripisana je fenolnim spojevima kojih u talogu ima između 20 i 30 mg GAE (engl. Galic Acid Equivalents)/g s.tv. (McNutt i He, 2019). Biološka aktivnost otpadnog taloga kave također se pripisuje klorogenskoj kiselini i njezinim derivatima koji nastaju esterifikacijom kininske kiseline i hidroksicimetne kiseline, među koje spadaju kafeinska kiselina, ferulinska i *p*-kumarinska kiselina. Strukture nekih od bioaktivnih spojeva prisutnih u talogu kave prikazane su na slici 3.



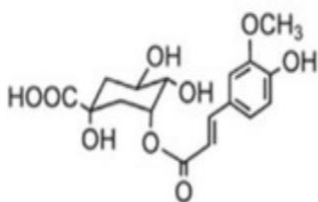
3-O-kafeoilkininska kiselina



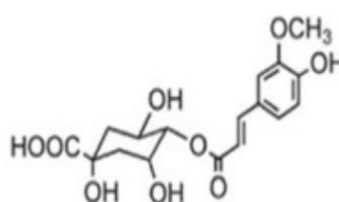
4-O-kafeoilkininska kiselina



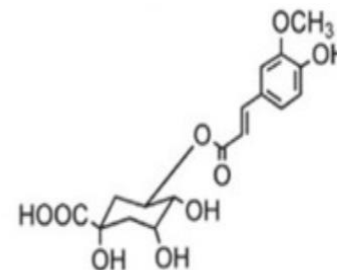
5-O-kafeoilkininska kiselina



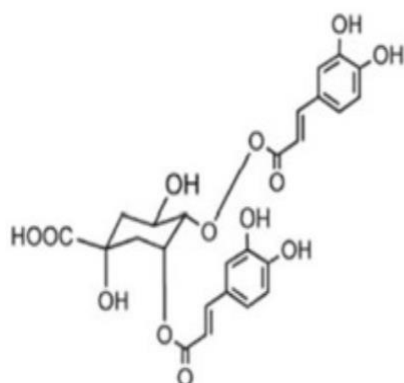
3-O-feruloikininska kiselina



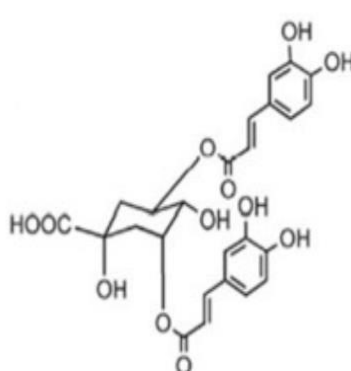
4-O-feruloikininska kiselina



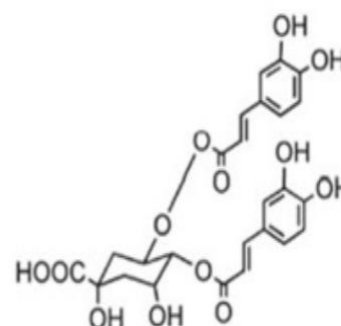
5-O-feruloikininska kiselina



3,4-O-dikafeoilkininska kiselina



3,5-O-dikafeoilkininska kiselina



4,5-O-dikafeoilkininska kiselina

Slika 3. Kemijske strukture bioaktivnih spojeva koji se najčešće nalaze u talogu kave (prema Andrade i sur., 2022)

Talog kave, osim navedenih spojeva, sadrži i metilksantine, od kojih je najzastupljeniji kofein s biološkim funkcijama zaštite od oksidativnog stresa (Vandepoosele i sur., 2021). Biološka aktivnost ovih spojeva može biti primijenjena u proizvodnji prehrambenih proizvoda, dodataka prehrani, pa čak i u kozmetici.

2.3.1. Ulje otpadnog taloga kave

Nekoliko alternativnih pristupa valorizaciji iskorištenih taloga kave istraženo je i primijenjeno u zemljama koje su najveći proizvođači kave (Campos de Bomfim i sur., 2022). Takvi pristupi obuhvaćaju brojne metode iskorištavanja otpadnog taloga kave. Jedan od najčešće istraživanih pristupa je korištenje taloga kave kao izvora lipida (Battista i sur., 2021).

Talog kave sadrži od 10 do 21,5 % ulja, ovisno o sorti kave i načinu pripreme. Varijabilnost udjela ulja znatno ovisi o karakteristikama uzgoja, geografskom podrijetlu, i metodama obrade kave (Somnuk i sur., 2017; Dong i sur., 2021). Ulje taloga kave se ponajviše sastoji od triglicerida, koji čine više od 80 % mase ukupnog ulja, dok manji postotak čine digliceridi (5,92 %), monogliceridi (11,43 %) i slobodne masne kiseline (0,41 %) (Somnuk i sur., 2017). Ostatak sastava ulja kave čine neosapunjivi spojevi, među kojima su diterpeni, steroli, tokoferoli, fosfatidi i voskovi (Speer i Kölling-Speer, 2006).

Neosapunjive lipidne frakcije su manje zastupljene u talogu kave nego u svježoj kavi, što je posljedica toplinske obrade i procesa ekstrakcije tijekom pripreme napitka, koji utječu na raspodjelu i stabilnost određenih lipidnih komponenti (Sakouhi i sur., 2024).

Diterpeni, kao što su kafestol i kahveol prisutni u ulju taloga kave, pokazali su visoke biološke aktivnosti, uključujući antioksidativna, protuupalna svojstva, kao i hiperlipidemijski učinak (Silverio Ados i sur., 2013). Također, u ulju su zastupljeni i tokoferoli, koji su prirodni antioksidansi, koji služe za očuvanje proizvoda od oksidacije. Tokoferoli mogu imati α - i β -izomere, pri čemu je zastupljeniji β -tokoferol s udjelom većim od 68 % (Sakouhi i sur., 2024).

Ulje iz otpadnog taloga kave sadrži i zasićene i nezasićene masne kiseline, a ponajviše su detektirane linolenska, palmitinska, oleinska i stearinska kiselina, u omjerima koji su slični onima pronađenim u drugim uobičajenim jestivim biljnim uljima poput sojinog ulja (Abdullah i Bulent Koc, 2013; Ahangari i Sargolzaei, 2013). Uz to, detektirane su eikosanska i linolenska kiselina, dok se laurinska i miristinska kiselina mogu pronaći u određenim uljima, ovisno o podrijetlu uzorka, načinu obrade i uvjetima ekstrakcije koji su primijenjeni (Campos-Vega i sur., 2015). Razumijevanje utjecaja različitih metoda ekstrakcije na sastav ulja otpadne kave ključno je za optimizaciju njegove primjene u industrijskim procesima, bilo za prehrambene, farmaceutske kozmetičke ili kemijske industrije.

Ispitivanjem fizikalnih svojstava ulja iz taloga kave, pokazalo je Newtonovsko ponašanje bez obzira na stupanj oksidacije i temperaturu, što je utvrđeno linearnom korelacijom smicanja i brzine protoka, odnosno da je viskoznost ulja od otpadne kave neovisna o brzini smicanja (Jalkh i sur., 2018). Viskoznost ulja iz taloga kave na 40 °C pokazuje značajan porast nakon 12 sati, što je posljedica inducirane oksidacije. Viskoznost ulja povećava se više nego dvostruko nakon 24 sata oksidacije, s vrijednosti 0,0449 Pa*s na 0,2039 Pa*s. Takav porast viskoznosti može se pripisati promjenama u strukturi ulja, kao i induciranoj polimerizaciji

uzrokovanoj intenzivnom oksidacijom kroz 24 sata (Santos i sur., 2005).

2.3.1.1. Ekstrakcija ulja otpadnog taloga kave

Ekstrakcija ulja otapalima iz otpadnog taloga kave predstavlja važnu tehnološku operaciju u kojoj se organsko otapalo koristi za odvajanje lipofilnih (lipidnih) komponenata iz čvrstog taloga kave. Time se omogućava učinkovito izdvajanje ulja, koje se može koristiti za proizvodnju biogoriva, kozmetičkih i prehrambenih proizvoda. Osnovna metoda ekstrakcije je čvrsto-tekuća ekstrakcija, gdje se organsko otapalo koristi za izolaciju željene komponente iz čvrste matrice.

Proces ekstrakcije započinje prodiranjem otapala u talog kave, nakon čega slijedi otapanje i transport otopljenih komponenata iz unutrašnjosti čvrstih čestica (Berk, 2009). Otopljeni spojevi dispergiraju se u tekućem otapalu putem difuzije i miješanja (Berk, 2009). Ekstrakcija čvrsto-tekuće je proces prijenosa mase, čija brzina određuje vrijeme potrebno za postizanje ravnoteže između faza. Brzina prijenosa mase ovisi o dužini difuzijskog puta koji otopljeni spoj mora prijeći unutar zasićene matrice, a stoga je i veličina čestica važan faktor (Berk, 2009; Toledo, 1993). U slučaju vrlo malih čestica, može doći do otežane perkolacije otapala kroz čvrstu matricu i povećati vjerojatnost da će se sitne čestice ekstrahirati zajedno sa željenim komponentama. Brzina prijenosa mase je pod utjecajem površine i poroznosti čvrste tvari, viskoznosti i difuznosti otapala unutar matrice, temperature ekstrakcije i stupnja miješanja koji može biti primijenjen za poboljšanje difuzije (Berk, 2009; Rao, 2009), a opisuje se jednadžbom 1:

$$\frac{dM}{dt} = kA(C_s - C) \quad [1]$$

U kojoj je:

dM/dt - brzina prijenosa mase,

k - koeficijent prijenosa mase,

A - površina prijenosa,

C_s - koncentracija otopljene tvari u rafinantnoj fazi,

C - koncentracija otopljene tvari u ekstraktnoj fazi.

Ekstrakcija metodom po Soxhletu je osnovna metoda koja se koristi u velikom broju istraživanja za ekstrakciju lipida iz taloga kave, a u većini slučajeva, kada se istražuju druge metode, omjeri ekstrakcije izraženi su u odnosu na prinos dobiven metodom Soxhlet

ekstrakcije s organskim otapalima (Abdullah i Bulent Koc, 2013; Ahangari i Sargolzaei, 2013). Ova metoda uključuje otapanje ulja prisutnog u talogu kave pomoću tekućeg organskog otapala i njegovo odvajanje kroz cikluse isparavanja i kondenzacije otapala, čime se u konačnici dobije ulje kave (slika 4). Ekstrakcija po Soxhletu je često korištena zbog učinkovitosti u ekstrakciji lipida, ali također zahtijeva pažljivo upravljanje uvjetima ekstrakcije, uključujući temperaturu, količinu otapala i vrijeme trajanja ciklusa, kako bi se postigao optimalan prinos i kvaliteta dobivenog ulja.



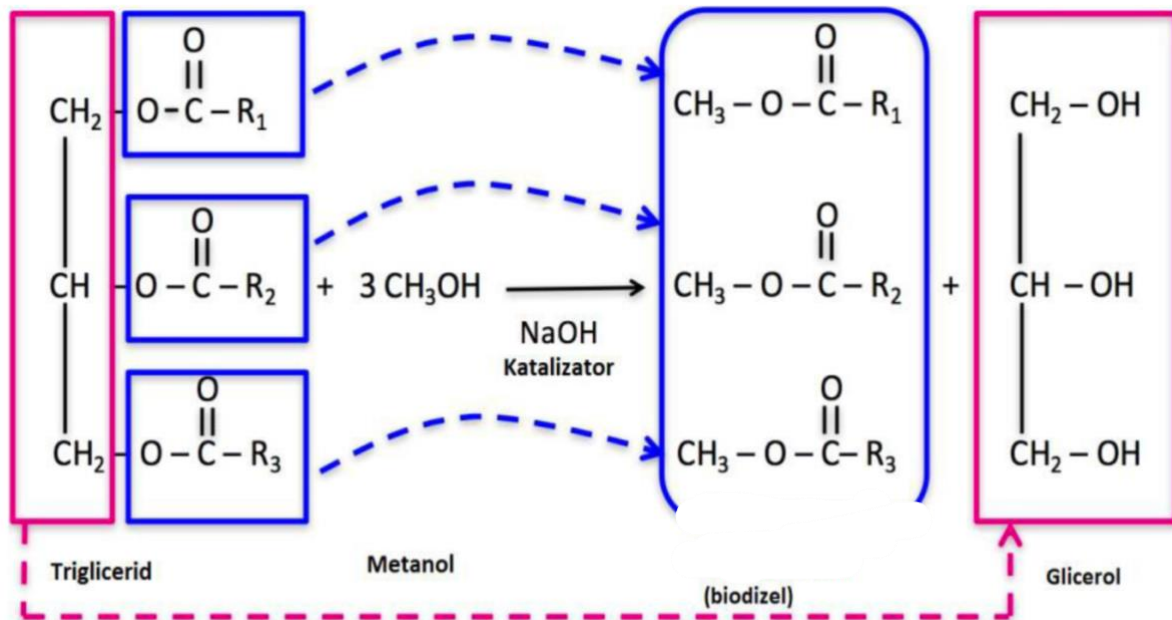
Slika 4. Dobivanje ulja od kave

2.4. PROIZVODNJA BIODIZELA IZ ULJA KAVE

Biodizel obuhvaća goriva proizvedena esterifikacijom ulja, masti i masnih kiselina. Biodizel se može koristiti kao gorivo za dizelske motore (Graboski i McCormick, 1998). Kada se biodizel koristi kao zamjena za dizelsko gorivo, u potpunosti može zamijeniti dizelsko gorivo bez negativnog utjecaja na motor, uz istovremeno smanjenje štetnih emisija ispušnih plinova. Osim toga, biodizel se može miješati s dizelskim gorivom na bazi nafte i može se kao takav

koristiti u motoru. Međutim, biodizel je i dalje ekonomski manje isplativ u odnosu na dizelsko gorivo na bazi nafte (Lotero i sur., 2005).

Najčešći proces za proizvodnju biodizela je transesterifikacija, reakcija između triglicerida i alkohola s niskom molekulskom masom (etanol ili metanol) u prisutnosti osnovnog katalizatora (NaOH ili KOH), čime se dobivaju esteri i glicerol (Mata i sur., 2010) (slika 5). Učinkovitost proizvodnje biodizela također ovisi o faktorima kao što su katalizator, vrsta alkohola i ulja, molarni omjer alkohol:ulje, vrijeme reakcije i temperatura te miješanje tijekom reakcije (Moser, 2009). Reakcija je vrlo osjetljiva na čistoću sirovina, osobito na sadržaj vode i slobodnih masnih kiselina, budući da više od 0,5 % mase vode i 1 % mase slobodnih masnih kiselina smanjuje prinos i kvalitetu biodizela, obično zahtijevajući predobradu kako bi se izbjeglo stvaranje sapuna u prisutnosti alkalnih katalizator.



Slika 5. Postupak sinteze biodizela transesterifikacijom (prema Anonymous, 2023)

Sinteza biodizela iz ulja taloga kave pokazuje da sadržaj estera u biodizelu varira između 47,4 % i 86,0 %, ovisno o otapalima koja se koriste za ekstrakciju i reakcijskim uvjetima koji se primjenjuju za izolaciju lipida i njihovu pretvorbu u biodizel (Goh i sur., 2020). Biodizel koji je proizveden od ulja taloga kave ima znatno bolju stabilnost u odnosu na biodizel dobiven iz drugih sirovina, zahvaljujući antioksidansima prisutnim u ulju, što taloga kave čini dobrom sirovinom jer se tijekom pripreme napitka (ekstrakcija vrućom vodom) uklanjaju kofein,

dušikovi spojevi i drugi sastojci koji bi mogli negativno utjecati na svojstva biodizela (Iličković i sur., 2009).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

Ovim poglavljem prikazani su materijali potrebni ekstrakciju ulja iz otpadne kave iz ugostiteljstva, kao i opremu korištenu u analizi ekstrahiranih ulja, kako bi se odredile njihove karakteristike, među kojima spadaju kiselinski i peroksidni broj, udio određenih masnih kiselina i njihova pozicija, kao i PDSC analiza.

3.1.1. Sirovina

Za ekstrakciju ulja kave korištena su dva uzorka otpadnog taloga kave za ugostiteljstvo iz ugostiteljskih objekata s područja grada Zagreba. Uzorak taloga kave 1 jest Robusta kava za ugostiteljstvo brenda Lavazza, a uzorak taloga kave 2 jest također Robusta kava, brenda Amigos. Prikupljanje uzoraka otpadnog taloga odrađeno je prvi dan nakon korištenja pržene mljevene kave za pripremu napitka *espresso*.

3.1.2. Kemikalije

- Alkali blue 6B (Avantor Performance Materials, Poljska)
- Borov trifluorid (Avantor Performance Materials, Poljska)
- Dietil eter (Avantor Performance Materials, Poljska)
- Dušik (Avantor Performance Materials, Poljska)
- Etanol (Faculty of Food Sciences, Warsaw University of Life Sciences, Poljska)
- Fenolftalein (Avantor Performance Materials, Poljska)
- Fluorescentni indikator UV254 (Avantor Performance Materials, Poljska)
- Glacijalna octena kiselina (Avantor Performance Materials, Poljska)
- Heksan (Avantor Performance Materials, Poljska)
- Izooktan (Avantor Performance Materials, Poljska)
- Kalcijev klorid (Avantor Performance Materials, Poljska)
- Kalijev hidroksid (Avantor Performance Materials, Poljska)
- Kalijev jodat (Avantor Performance Materials, Poljska)
- Kalijev jodid (Avantor Performance Materials, Poljska)
- Klorovodična kiselina (Avantor Performance Materials, Poljska)
- Lipaza iz gušterače (Tip II) (Sigma-Aldrich, SAD)
- Metil crveno (Avantor Performance Materials, Poljska)

- Natrijev hidroksid (Avantor Performance Materials, Poljska)
- Natrijev klorid (Avantor Performance Materials, Poljska)
- Natrijev sulfat, bezvodni (Avantor Performance Materials, Poljska)
- Natrijev tiosulfat 0,01 M (Avantor Performance Materials, Poljska)
- Heksan (Avantor Performance Materials, Poljska)
- Silika gel (Merck, Njemačka)
- Standard estera masnih kiselina (Merck, Njemačka)
- Škrob (Avantor Performance Materials, Poljska)
- Timolfalein (Avantor Performance Materials, Poljska)
- Voda (Faculty of Food Sciences, Warsaw University of Life Sciences, Poljska)
- Žučna sol (Avantor Performance Materials, Poljska)

3.1.3. Oprema

- Bireta (25 mL)
- Analitička vaga (Radwag, Poljska)
- Centrifuga MPW-260R (MPW+, Poljska)
- Magnetska miješalica (Roth, Poljska)
- DSC Q20 (TA Instruments, SAD)
- pH elektroda (Elmetron, Zabrze, Poljska)
- Kapilarna kolona (MEGA S.r.l., Italija).
- Rotacijski uparivač (Buchi AG, Švicarska)
- Vijale (Anchem plus, Poljska)
- TitraLab AT1000 (Hach, Poljska)
- UV lampa (Herolab, Njemačka)
- Plinski kromatograf s plameno-ionizirajućim detektorom (Young Lin Instrument Co., Južna Koreja)
- Ploče za tankoslojnu kromatografiju (Sigma-Aldrich, Kanada)
- Povratni kondenzator

3.1.4. Softver

- TA Universal Analysis 2000 (TA Instruments, SAD)

3.2. METODE

3.2.1. Priprema otopina i pufera

3.2.1.1. Zasićena otopina kalijevog jodida ($\rho=1.75 \text{ g/mL}$)

Za pripravu zasićene otopine kalijevog jodida ($\rho=1.75 \text{ g/mL}$) potrebno je otopiti 14 g kalijeva jodida u 8 g demineralizirane vode. Otopina je čuvana na tamnom mjestu na sobnoj temperaturi kako bi se spriječila kristalizacija.

3.2.1.2. Otopina škroba ($\rho=0,01 \text{ g/mL}$)

Otopina škroba je pripremljena miješanjem 0,5 g škroba s malom količinom hladne vode. Ta se otopina, uz miješanje, doda u 50 ml kipuće vode, prokuha na nekoliko sekundi i odmah ohladi.

3.2.1.3. Otopina ledena octena kiselina/izooktan

Otopina ledene kiseline i izooktana je pripremljena miješanjem 60 mL ledene octene kiseline i 40 mL izooktana.

3.2.1.4. Metanolna otopina NaOH (0,5 M)

2 g natrijeva hidroksida otope se u 100 mL metanola koji sadrži ne više od 0,5 % (w/w) vode.

3.2.1.4. Tris pufer ($\text{pH}=8$)

U odmjernu tikvicu dodano je 80 mL destilirane vode, te 1,6 g limunske kiseline i 4,02 g Tris-a. Tikvica se nadopuni do 100 mL.

3.2.1.5. Otopina dietil eter/etanol (V:V=50:50)

Otopina dietil eter/etanol (V:V=50:50) je pripremljena miješanjem 50 mL dietil etera i 50 mL etanola.

3.2.2. Određivanje udjela vode u talogu kave

Za određivanje udjela vode u talogu otpadne kave korištena je gravimetrijska metoda HRN EN ISO 665:2004 – Određivanje količine vode i hlapljivih tvari temeljena na sušenju uzorka u sušioniku do postizanja konstantne mase. Aluminijska posudica, zajedno s poklopcem, sušena je jedan sat na 105 °C, a zatim ohlađena u eksikatoru. U nju je odvagano oko 5 grama uzorka otpadne kave. Posuda je postavljena otvorena u sušionik te je sušena zajedno s poklopcem jedan sat. Nakon toga, posudica je zatvorena i pomoću metalnih kliješta prebačena u eksikator na hlađenje u trajanju kroz 30 minuta. Nakon hlađenja, uzorak se ponovno vagao, a zatim vraćao u sušionik na daljnje sušenje od jednog sata. Taj ciklus sušenja i hlađenja ponavljao se sve dok masa uzorka nije postala konstantna, tj. dok razlika između dvije uzastopne mjere nije bila manja od 0,1 % ukupne mase uzorka, što je bilo nakon 16 sati. Udio vode izračunat je prema sljedećoj jednadžbi (2):

$$w(\text{voda}) = \frac{m(a)-m(b)}{m(a)} * 100 \% \quad [2]$$

U kojoj su:

- $w(\text{voda})$ - udio vode u uzorku taloga [%]
- $m(a)$ - masa uzorka prije sušenja [g]
- $m(b)$ - masa uzorka nakon sušenja [g]

3.2.3. Ekstrakcija ulja iz taloga kave metodom po Soxhletu

Kako bi se ekstrahiralo ulje iz taloga kave, korištena je standardna ISO metoda (HRN EN ISO 659:2010). ISO 659:2009 je referentna metoda za određivanje udjela ulja s heksanom koji se koristi kao ekstrakcijsko sredstvo. Za ekstrakciju ulja iz taloga kave metodom po Soxhletu, odvagano je 10 g osušenog i samljevenog taloga kave u čajuru za ekstrakciju, nakon čega je čajura zatvorena s vatom. Zatvoreni tuljac je stavljen u ekstraktor, nakon čega je dodano 50 mL otapala heksana kroz povratno hladilo. U tikvicu s okruglim dnom su dodane 1-2 staklene kuglice za vrenje kako bi otapalo ravnomjernije ključalo. Ekstrakcija je provedena kroz 8 sati u aparaturi po Soxhletu. Nakon završene ekstrakcije, destilacijom je otpareno otapalo od dobivenog ulja, a ostatak je sušen pri 103 °C ± 2 °C, ohlađen i vagan. Sušenje je provedeno u intervalima od 30 minuta do postizanja konstantne mase. Udio ulja izračunat je kao masa dobivenog ulja u odnosu na masu taloga otpadne kave smanjenu za prethodno izračunati udio vode u talogu prema jednadžbi 3:

$$w(\text{ulje}) = \frac{m(a)}{m(b)} * 100 \% \quad [3]$$

U kojoj su:

w(ulje) - udio ulja u osušenom uzorku taloga (%)

m(a) - masa ulja (g)

m(b) - masa uzorka nakon sušenja (g)

3.2.4. Određivanje peroksidnog broja ulja

Peroksidni broj određen je standardnom metodom ISO 3960:2007, koja postavlja parametre za jodometrijsko određivanje peroksidnog broja životinjskih i biljnih masti i ulja s vizualnim određivanjem krajnje točke. Peroksidni broj predstavlja mjeru količine kisika kemijski vezanog za mast ili ulje u obliku peroksida, posebno hidroperoksida. Metoda je primjenjiva na sve masti i ulja, masne kiseline i njihove smjese s peroksidnim brojevima od 0 meq do 30 miliekvivalenata aktivnog kisika po kilogramu (meq O₂/kg).

Kako bi se odredio peroksidni broj ulja od otpadnog taloga kave, u čistu Erlenmeyerovu tikvicu prethodno propuhanu dušikom je izvagano 5 g ± 0,1 g ulja, te je uzorak otopljen u 50 mL otopine ledene octene kiseline i izooktana. U otopinu se dodaje 0,5 mL zasićene otopine kalijevog jodida. Erlenmeyerova tikvica se zatvara i lagano promiješa kroz 60 sekundi. Nakon 60 sekundi, u Erlenmeyerovu tikvicu se odmah dodaje 100 mL demineralizirane vode te se titrira oslobođeni jod s 0,01 M standardnom otopinom natrijevov tiosulfata od žuto-narančaste do blijedo žute boje (slika 6), nakon čega se dodaje 0,5 mL 1 % otopine škroba, gdje se nastavlja titracija iz ljubičaste do obezbojenja same otopine. Peroksidni broj (PB) računa se prema jednadžbi 4:

$$PB = \frac{v_0 - v}{m} * 5 \quad [4]$$

U kojoj su:

V – volumen natrijevog tiosulfata utrošenog za titraciju (mL)

V₀ – volumen natrijevog tiosulfata utrošenog za titraciju slijepe probe (mL)

m – masa uzorka ulja (g)



Slika 6. Volumetrijski titrator (vlastita fotografija)

3.2.4. Određivanje kiselinskog broja ulja

Kiselinski broj određen je standardnom metodom ISO 660:2009. Kiselinski broj predstavlja broj miligrama kalijeva hidroksida potrebnih za neutralizaciju slobodnih masnih kiselina prisutnih u 1 g masti. U Erlenmeyerovu tikvicu volumena 250 mL odvagano je $20 \text{ g} \pm 0,05 \text{ g}$ uzorka ulja otpadne kave, te je dodano 50 mL otopine etanol/dietileter ($V/V=50/50$). U tikvicu se dodaje fenolftalein kao indikator, te se otopina titrira s 0,1 M otopinom KOH. Titracija se provodi do promjene boje otopine.

Kiselinski broj (AN) izražen kao maseni udio, izračunat je prema jednadžbi 5:

$$AN = \frac{56,1 \cdot c \cdot V}{m} \quad [5]$$

U kojoj su:

c – koncentracija standardne volumetrijske otopine natrijeva ili kalijeva hidroksida (mol/L)

V – volumen standardne volumetrijske otopine kalijeva hidroksida koji se koristi (mL)

m – masa ulja od otpadne kave (g)

3.2.4. Određivanje sastava masnih kiselina

Sastav masnih kiselina u ekstrahiranom ulju otpadne kave dobiven prethodno provedenom ekstrakcijom po Soxhletu određen je plinskom kromatografijom.

3.2.4.1. Priprema metilnih estera masnih kiselina

Za pripremu metilnih estera masnih kiselina, korištena je standardna metoda transesterifikacije prema normi ISO 5509:2004. U tikvicu je odvagano $100 \text{ mg} \pm 1 \text{ mg}$ uzorka ulja taloga otpadne kave, nakon čega je dodano 4 mL otopine natrijeva hidroksida (0,5 M). Na tikvicu je postavljeno povratno hladilo te se smjesa zagrijavanja do ključanja 3 minute. Kroz povratno hladilo dodano je 3 mL izooktana kroz povratno hladilo. Nakon dodavanja izooktana, tikvica je sklonjena s topline i sklonjeno je povratno hladilo. Odmah nakon sklanjanja povratnog hladila se dodaje 20 mL zasićene otopine natrijeva klorida, te se tikvica miješa 15 s. Dolazi do stvaranja dvaju faza, pri kojoj je gornji izooktanski, iz kojeg se izuzima 1 mL i prebacuje u vijalu, te je dodan bezvodni natrijev sulfat kako bi se uklonili tragovi vode. Tako pripremljeni uzorci injektirani su u plinski kromatograf za daljnju analizu. Ova metoda omogućuje precizno određivanje sastava masnih kiselina u ulju, jer transesterifikacija učinkovito pretvara masne kiseline u metilne estere, koji su pogodniji za analizu plinskom kromatografijom.

3.2.4.2. Određivanje metilnih estera plinskom kromatografijom

Udio metilnih estera u ulju otpadnog taloga kave određeni su plinskom kromatografijom s plameno ionizirajućim detektorom, GC-FID (engl. *Gas Chromatography – Flame Ionization Detector*) s dušikom kao plinom nosiocem. Parametri analize priloženi su u tablici 2:

Tablica 2. Parametri GC-FID analize metilnih estera

PARAMETAR	VRIJEDNOST
PLINSKI KROMATOGRAFI	YL6100 GC
DETEKTOR	Plameno-ionizirajući detektor (FID)
KOLONA	BPX 70 (Trajan Scientific Europe, Njemačka)
DIMENZIJE KOLONE	0,25 mm x 60 m X 0,25 µm
TEMPERATURNI PROGRAM	Početna temperatura 70 °C Brzina zagrijavanja (70-160 °C) 15 °C/min Brzina zagrijavanja (160-200 °C) 1,1 °C/min Brzina zagrijavanja (200-225 °C) 30 °C/min
TEMPERATURA INJEKTORA	225 °C
TEMPERATURA DETEKTORA	250 °C
PLIN NOSAČ	Dušik
PROTOK PLINA	1,2 mL/min

Pojedini metilni esteri masnih kiselina identificirani su na osnovu retencijskih vremena metilnih estera lipidnog standarda injektiranog pod istim uvjetima.. Kako bi se utvrdio udio određenih masnih kiselina u uzorku ulja, korištena je metoda normalizacija površine s obzirom na to da površina pika na kromatogramu odgovara i udjelu određene masne kiseline u uzorku.

3.2.5. Određivanje distribucije masnih kiselina na poziciji *sn-2*

Metoda određivanja distribucije masnih kiselina na poziciji *sn-2* temelji na reakciji hidrolize kataliziranoj lipazom iz gušterače koja specifično djeluje na esterske veze u pozicijama *sn-1,3* triglicerida. U epruvetu od 50 mL dodano je: 20 mg pročišćene lipaze iz svinjske gušterače, 1 mL Tris pufera (pH 8.0), 0,25 mL žučnih soli (0,05%), i 0,1 mL kalcijevog klorida (2,2%) i 0,1 g uzorka ulja otpadne kave. Smjesa je inkubirana na 40°C u vodenoj kupelji 5 minuta, nakon čega je dodano 1 mL 6 M HCl i 1 mL dietil etera, nakon čega se smjesa centrifugira. Dietileterski sloj je prikupljen u epruvete i uparen u struji dušika do volumena 2 mL. Takva otopina nanošena je na ploču za tankoslojnu kromatografiju sa silicijevim dioksidom (slika 7) i fluorescentnim indikatorom (254 nm), a ploča je razvijena smjesom heksan:dietil eter:octena kiselina (50:50:1, V:V:V) (slika 7).



Slika 7. Razvijanje ploče za detekciju 2-monoacilglicerola (vlastita fotografija)

Traka 2-monoacilglicerola (2-MAG) bila je vizualizirana pod UV svjetlom. Trakica 2-MAG-a je ostrugana i prebačena u epruvetu sa čepom, a zatim ekstrahirana dva puta s 1 mL dietil etera, te podvrgnuta centrifugiranju. Eterski sloj je prikupljen i u potpunosti isparavan pod dušikom, a uzorak je zatim otopljen u n-heksanu i metiliran prema prethodno opisanoj metodi u 3.2.4.

3.2.6. PDSC mjerenje

Za određivanje oksidacijske stabilnosti ispitivanog ulja otpadne kave korišten je diferencijalni motribdeni kalorimetar (DSC Q20 TA) u kombinaciji s visokotlačnom ćelijom – PDSC (engl. *Pressure Differential Scanning Calorimetry*)., odnosno diferencijalna motribdena kalorimetrija pod tlakom. Uzorci ulja mase 3–4 mg odvagani su u aluminijsku posudicu i smješteni u komoru za uzorke pri tlaku od 1400 kPa, kroz koju je puštan kisik. Izotermna temperatura za svaki uzorak bila je 120 °C, pri čemu je osigurana stabilizacija temperature prije početka mjerenja. Dobiveni dijagrami analizirani su uz pomoć TA Universal Analysis 2000 softvera. Za svaki

uzorak, izlazni podaci automatski su preračunati i predstavljeni kao količina energije po gramu. Maksimalno vrijeme PDSC oksidacije (vrijeme indukcije) određeno je na temelju maksimalne brzine oksidacije (maksimalna brzina protoka topline).

4. REZULTATI I RASPRAVA

U ovom radu za istraživanje korištena su dva različita uzorka otpadne kave iz ugostiteljstva s područja grada Zagreba. Iz taloga kave metodom po Soxhletu ekstrahirano je ulje, te su ispitana kemijska i fizikalna svojstva iz oba uzorka kave. Utvrđeni su peroksidni i kiselinski brojevi kako bi se dobili podaci o kvaliteti i stabilnosti ekstrahiranih ulja. Uz to, provedena je GC-FID analiza kojom je dobiven uvid u sastav masnih kiselina ulja otpadne kave, te je utvrđena sterička distribucija masnih kiselina na glicerolu. PDSC analizom praćena je oksidacijska stabilnost ekstrahiranih ulja.

4.1. UDIO VODE U TALOGU KAVE

Udio vode u kavi određen je gravimetrijski sušenjem do konstantne mase. U uzorku otpadne kave 1 udio vode iznosio je $34,83 \% \pm 1,51 \%$, dok je u uzorku kave 2 iznosio $50,84 \% \pm 0,58 \%$. Za usporedbu, u neobrađenoj mljevenoj kavi, udio vode je u rasponu od 1,5 do 3,0 %, ovisno o stupnju prženja i sorti same kave (Laukaleja i sur., 2022). Određeni udjeli vode u talogu kave slažu se s literaturnim navodima, gdje neki spominju udjele i do 67 % (Adbullah i Bulent Koc, 2013), dok su neki zabilježili udjele od 18 % (Deligiannis i sur., 2011).

Pripravom napitka od kave vrućom ekstrakcijom, dolazi do povećanja udjela vode. Udio vode u uzorcima bitno utječe na fizikalno-kemijska svojstva, pa tako se mogu javljati varijacije u gustoći uzoraka zbog količine vode. Gustoća uzoraka opada s porastom razine vlage, što se može objasniti činjenicom da čestice nabubre, dajući im nižu gustoću u usporedbi sa suhim čvrstim tvarima. Nakon postizanja određene minimalne gustoće, gustoća počinje rasti s porastom razine vlage, zbog povećanja masenog udjela vode (Cruz i sur., 2012). Talog kave s visokim udjelom vode vrlo je podložan mikrobiološkom kvarenju, što čini potrebnim implementaciju adekvatnih strategija očuvanja za željenu krajnju upotrebu. Količina vode također je bitna s ekonomskog stajališta jer povećava troškove transporta.

S obzirom na količinu konzumacije kave u svijetu, godišnje se generira velika količina otpada u ugostiteljstvu, što zahtijeva razvoj plana gospodarenja prehrambenim otpadom, koji potencijalno može biti i dalje nutritivno vrijedan, čime se mogu naći razlozi za valorizaciju takvog otpada.

4.2. UDIO ULJA U TALOGU KAVE

Ulje kave osim što može biti iz iskorištenog taloga kave, može biti ekstrahirano iz sirovih (ili zelenih) i prženih zrna kave što utječe na senzorska i fizikalno-kemijska svojstva. Zeleno

ulje kave je zeleno-žute boje s blagim mirisom, obično dobiveno prešanjem. Glavna primjena zelenog ulja kave je u kozmetici i proizvodima za njegu kože zbog istaknutih antioksidativnih i hidratantnih svojstava. Ulje pržene kave je smeđa viskozna tekućina, a njegova boja i aroma uglavnom su povezane s Maillardovim reakcijama koje se događaju tijekom prženja. Kemijski gledano, aldehidi, ketoni, furani, pirazini i drugi N-heterociklički spojevi, uz fenole, najzastupljeniji su hlapljivi spojevi u ulju kave (Ren i sur., 2019).

Uzorci otpadne kave smljeveni su i osušeni te je iz njih ekstrahirano ulje i utvrđen udio ulja metodom po Soxhletu. U odnosu na suhu tvar, udio ulja u uzorku kave 1 iznosio je 13,44 % \pm 0,40 %, dok je u uzorku kave 2 taj udio bio nešto viši, te iznosio 23,7 % \pm 0,20 %. Dobivena ulja korištena su za daljnje analize (Cruz i sur., 2012).

Iskorišteni talog kave se može potencijalno valorizirati za upotrebu u proizvodnji alternativnih energetske izvora. Zbog visokog udjela ulja u otpadnoj kavi, sinteza biodizela iz ulja je jedan od brojnih načina iskorištavanja takvog otpada. Proces se sastoji od izdvajanja ulja prisutnih u talogu iskorištene kave, a zatim transesterifikacije lipida u metilne estere masnih kiselina. Ulje iz taloga kave može činiti od 10% do 30% suhe mase što uvelike ovisi o metodi pripreme, sirovini i metodi ekstrakcije (Kooks, 2018). Biodizel iz ulja otpadne kave ima dobru stabilnost zbog obilja antioksidativnih spojeva u njegovom sastavu (Rajesh Banu i sur., 2020).

Osim metode ekstrakcije po Soxhletu, u literaturi su istražene i druge metode ekstrakcije ulja iz kave, među kojima su dvofazna ekstrakcija (Abdullah i Koc, 2013) i ekstrakcija superkričnim otapalima (Couto i sur., 2009). Ekstrakcija superkričnim CO₂ se dodatno smatra ekološki prihvatljivom tehnologijom s obzirom da ne zahtijeva prisustvo organskih otapala. Heksan je najčešće korišteno otapalo, a u literaturi se spominju i druga otapala kao što su etanol, toluen i aceton.

4.3. PEROKSIDNI BROJ

Peroksidni broj je parametar kvalitete koji se koristi za utvrđivanje kvalitete tijekom proizvodnje i skladištenja ulja (Saad i sur., 2006). Pojava užeglosti jedan je od najčešćih oblika kvarenja ulja, a reakcija oksidacije je najčešći uzrok pojave užeglosti. U procesu oksidacije ulja kao primarni produkti astaju hidroperoksidi i peroksidi čije se prisustvo određuje mjerenjem peroksidnog broja.

To je mjera ukupnih peroksida u ulju i najčešće se izražava kao mmol kisika po kilogramu ulja (mmol O₂/kg ulja), te predstavlja količinu hidroperoksida prisutnih u ulju kao produkata primarne oksidacije.

Prema Pravilniku o jestivim uljima i mastima (NN 11/2019), peroksidni broj za jestiva

rafinirana ulja ne smije biti veći od 5 mmol O₂/kg. Dobivene su vrijednosti peroksidnog broja od 0,5 mmol O₂/kg za ulje kave 1, te 0,5 mmol O₂/kg za ulje kave 2. Dakle, peroksidni broj ulja taloga kave višestruko je niži od maksimalnih dozvoljenih vrijednosti koje propisuje Pravilnik o jestivim uljima i mastima, odnosno kod svih izmjerenih uzoraka je vrijednost peroksidnog broja bila ispod 5 mmol O₂/kg. U drugim istraživanjima, prešano ulje nekorištene kave imalo je peroksidnu vrijednost u rasponu od 2,4 mEq O₂/kg od 3,2 mEq O₂/kg (Boger i sur., 2021, Sanches, 2016).

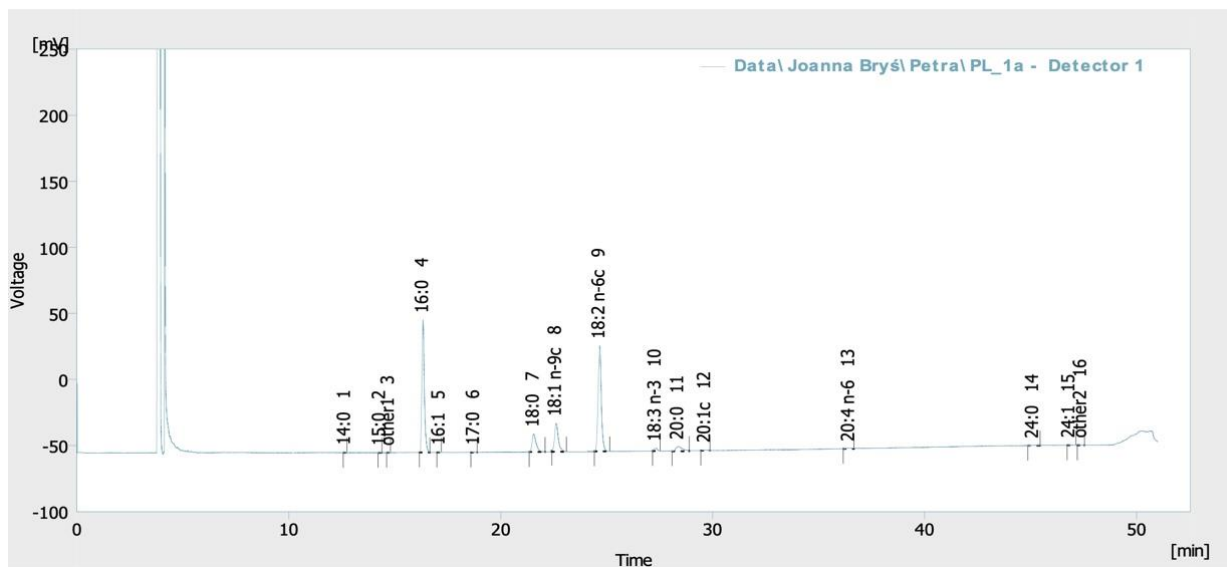
4.4. KISELINSKI BROJ

Kako bi se pratilo kvarenje i održivost ulja, određen je kiselinski broj. S obzirom na prirodu ulja i njihov ograničen rok trajanja, vrsta kvarenja i količina ovise o sirovini i uvjetima čuvanja. Posljedice kvarenja su stvaranje razradnih produkata koji utječu na senzorska svojstva i zdravstvenu ispravnost ulja. Najčešće vrste kemijskog kvarenja su hidrolitička razgradnja i oksidacijsko kvarenje. Hidrolitičkom razgradnjom dolazi do hidrolize triacilglicerola čime puca esterska veza. Posljedično se povećava kiselost ulja s obzirom da masne kiseline iz triacilglicerola postaju slobodne, te uz njih nastaju monogliceridi i digliceridi, te trovalentni alkohol glicerol. Stupanj hidrolitičkih promjena prati se određivanjem udjela slobodnih masnih kiselina, a rezultat se izražava kiselinskim brojem u mg KOH/g ulja.

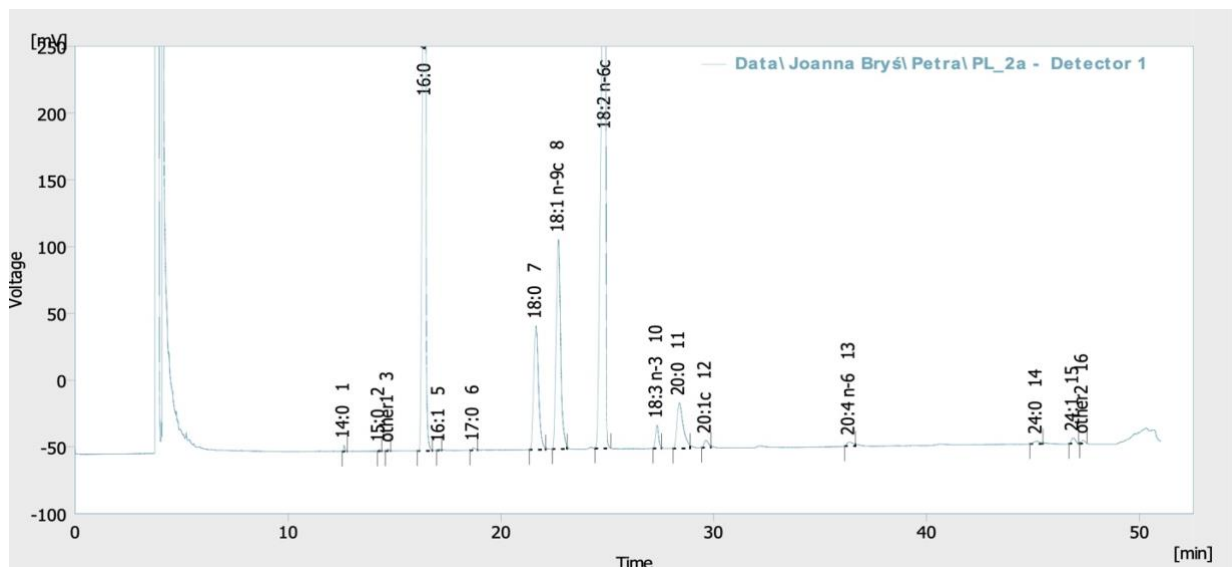
Kiselinski broj za ulje kave 1 iznosio je $6,1 \pm 0,0$ mg KOH/g, dok je za kavu 2 kiselinski broj imao vrijednost $5,6 \pm 0,0$ mg KOH/g. U ulju netretirane mljevene kave utvrđen je kiselinski broj u rasponu od 7,3 mg KOH/g do 9,0 mg KOH/g (Boger i sur., 2021, Turatti, 2001). Ne postoji specifična regulativa za ulja koja su prethodno podvrgnuta toplinskoj obradi, poput ulja pržene kave. Također, proces prženja može osloboditi kisele spojeve, povećavajući vrijednosti kiselosti (Sanches, 2016). Može se zaključiti da je došlo do hidrolitičke razgradnje triacilglicerola čuvanjem, pripremom i obradom kave. Također, visoki udjeli vode u samom talogu nakon pripreme napitka mogli su dovesti do povećane hidrolitičke razgradnje triacilglicerola. U slučaju korištenja ovakvog ulja u proizvodnji biodizela, visok kiselinski broj koji upućuje na velik udio slobodnih masnih kiselina, može dovesti do problema s obzirom da one imaju tendenciju stvaranja nusprodukata osapunjavanja tijekom transesterifikacije katalizirane lužinom, što potiče stvaranje stabilnih emulzija koje su nepoželjne u komercijalnoj proizvodnji biodizela (Kafkova i sur., 2023). Ovakav problem bi se mogao riješiti prethodnom neutralizacijom ulja s lužinom kako bi se uklonile slobodne masne kiseline koje povećavaju kiselinski broj.

4.5. SASTAV MASNIH KISELINA

Neophodno je poznavati sastav masnih kiselina bilo kojeg ulja s obzirom da određuje fizikalna svojstva i stabilnost ulja (Zoue i sur., 2012). Kako bi se utvrdio sastav masnih kiselina u ekstrahiranim uljima otpadne kave provedena je plinska kromatografija s plameno-ionizirajućim detektorom (GC-FID). Vrijednosti postotka udjela masnih kiselina u ulju prikazani su u tablici 3, dok je kromatogram profila masnih kiselina za kavu 1 vidljiv na slici 8, a za kavu 2 na slici 9. GC-FID analizom ulja otpadne kave u oba uzorka detektirano je 14 različitih masnih kiselina, te je mali udio (0,1 % za ulje kave 1 i 0,2 % za ulje kave 2) ostao neidentificiran.



Slika 8. Kromatogram profila masnih kiselina u ulju kave 1



Slika 9. Kromatogram profila masnih kiselina u ulju kave 2

Tablica 3. Sastav masnih kiselina ulja kave
Ulje kave 1 Ulje kave 2

Masna kiselina	<i>Udio [%]</i>	<i>Udio [%]</i>
14:0	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,01
15:0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0
16:0	34,5 ± 4,2	32,9 ± 1,0
16:1	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0
17:0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0
18:0	8,4 ± 1,0	8,01 ± 0,1
18:1 n-9c	11,6 ± 0,6	12,4 ± 0,2
18:2 n-6c	39,3 ± 1,6	40,1 ± 0,4
18:3 n-3	1,0 ± 0,1	1,0 ± 0,0
20:0	3,5 ± 1,0	3,9 ± 0,1
20:1c	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,0
20:4 n-6	0,4 ± 0,2	0,4 ± 0,1
24:0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0
24:1	0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,0
Ostalo	0,1 ± 0,0	0,2 ± 0,0
Σ	100,0	100,0

Iz provedene GC-FID analize vidljivo je da uzorak kave 1 ponajviše ima linolne masne kiseline (C18:2 n-6c) u udjelu od 39,3 %, te ju slijede palmitinska (C16:0) s 34,5 %, oleinska (C18:1 n-9c) s 11,6 %, te stearinska (C18:0) s 8,5 %. Ostale masne kiseline zastupljene su u znatno manjim postocima. Udio pojedinačnih masnih kiselina u ulju generalno ovisi o više čimbenika poput načina ekstrakcije, sorte kave, pripreve uzoraka, načina uzgoja samog sjemena kave, te stupnja prženja.

Linolna masna kiselina je bitna je za stabilnost i trajnost proizvoda koji ih sadrže s obzirom da smanjuju količinu oksidacijskih reakcija (Liu i sur., 2014). Linolna masna kiselina je u visokim koncentracijama prisutna u kukuruznom, sojinom i suncokretovom ulju, dok je palmitinska u palminu ulju (Dwiecki i sar., 2007; Gornas i sar., 2014a).

U nešto nižoj koncentraciji detektirana je i arahinska masna kiselina (C20:0) s 3,5 %, te linolenska (C18:3 n-3) s udjelom od 1,0 %.

Po sastavu, u ulju kave 1 zasićene masne kiseline čine 47,0 % ukupnih masnih kiselina, dok nezasićene čine 52,8 %, od kojih su 12,1 % mononezasićene masne kiseline. Omjer nezasićenih i zasićenih masnih kiselina je gotovo jednak je 1, što bitno utječe na oksidacijsku stabilnost uzoraka ulja otpadne kave.

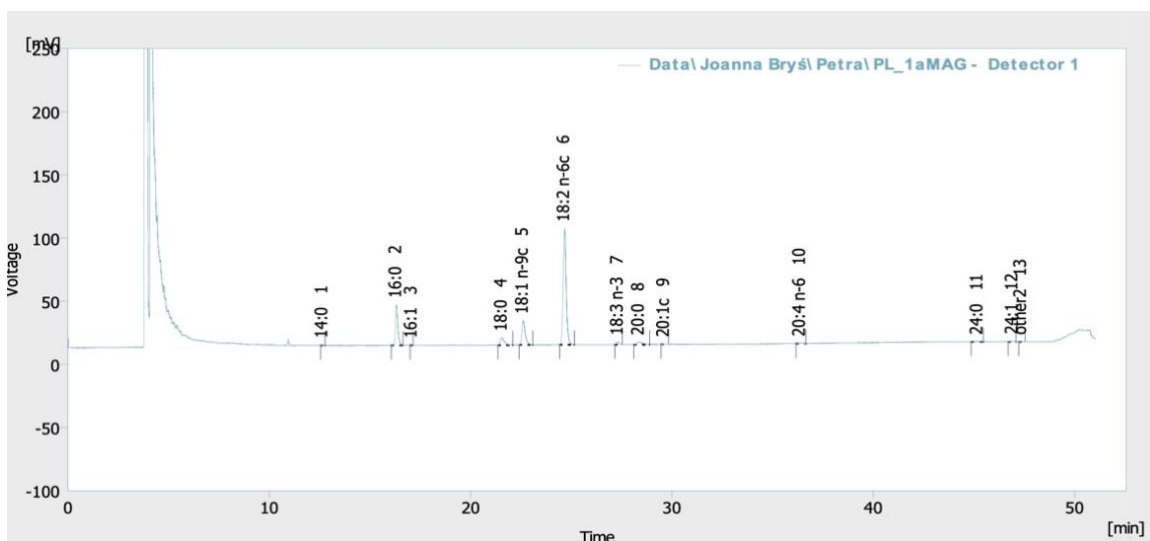
Uzorak ulja otpadne kave 2 pokazuje jednake trendove, te slične koncentracije u udjelima ukupnih masnih kiselina. Po sastavu, u ulju kave 2 zasićene masne kiseline čine 45,2 % ukupnih masnih kiselina, dok nezasićene čine 54,6 %. Nezasićene masne kiseline imaju brojne zdravstvene dobrobiti toga je njihovo očuvanje od velike važnosti, a od nezasićenih su 13,2 % mononezasićene masne kiseline. Ostalih 41,4 % čine polinezasićene masne kiseline s visokom nutritivnom vrijednosti (Christie i Han, 2012). S druge strane, masti i ulja sa visokim sadržajem nestabilnih sastojaka hrane, kao što su polinezasićene masne kiseline, podliježu kemijskim promjenama tijekom skladištenja, kao i procesu oksidacije tijekom toplinske obrade, čime dolazi do smanjenja udjela polinezasićenih masnih kiselina, a u isto vrijeme raste broj toksičnih spojeva. U konačnici, dolazi do pogoršanja, kako prehrambene vrijednosti, senzornih karakteristika ulja i prehrambenih proizvoda koji ih sadrže (Bialek i sur., 2017).

Način i duljina prženja može utjecati na sastav masnih kiselina. Omjer masnih kiselina s relativno kraćim ugljikovim lancima (C14:0, C16:0, C16:1) povećavao se prženjem, dok se omjer masnih kiselina s relativno duljim ugljikovim lancima (C18:0, C18:1, C18:2, C18:3, C20:0) smanjivao prženjem (Koshima i sur., 2020).

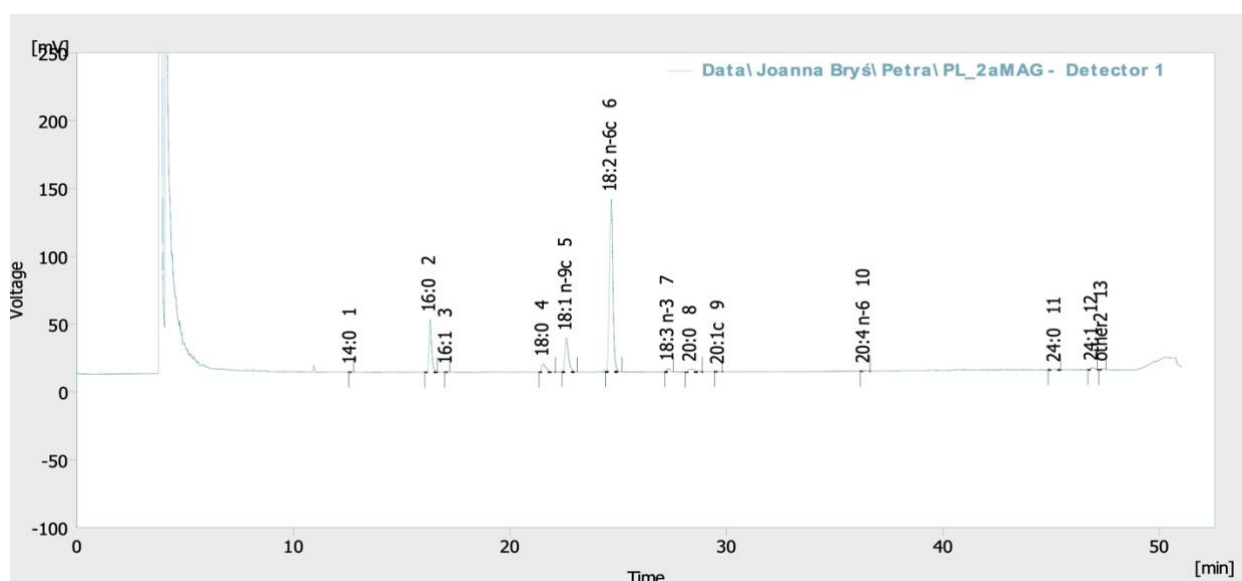
Istraživanja sastava slobodnih masnih kiselina u ulju kave ekstrahiranom iz iskorištenih zrna kave pokazala su moguću mikrobnu transformaciju masnih kiselina u polihidroksialkanoate, biološke i biorazgradive polimere, što proširuje potencijalnu primjenu ovakvih ulja (Obuca i sur., 2014).

4.6. DISTRIBUCIJA MASNIH KISELINA NA POZICIJI *sn-2*

Selektivnom hidrolizom lipida pomoću specifične lipaze iz gušterače dolazi do formiranja monoacilglicerola s obzirom da se radi o lipazi koja hidrolizira esterske veze na *sn-1,3* pozicijama. Ispitan je sastav masnih kiselina u prisutnim monoacilglicerolima, koji masne kiseline sada imaju samo na poziciji *sn-2* uslijed djelovanja lipaze. Hidrolizirano ulje podvrgnuto je GC-FID analizi. Primjer kromatograma dobivene monoacilglicerole otpadne kave 1 prikazan je na slici 10, a za ulje kave 2 je priložen na slici 11. Na kromatogramima je vidljiva promjena u pikovima u odnosu na sveukupni profil masnih kiselina u istome ulju.



Slika 10. Kromatogram profila masnih kiselina na *sn*-2 poziciji u ulju kave 1



Slika 11. Kromatogram profila masnih kiselina na *sn*-2 poziciji u ulju kave 2

U tablici 4 vidljivo da se udio masnih kiselina izmjerena na poziciji *sn*-2 razlikuje u odnosu na udio ukupnih masnih kiselina u ulju. Udio palmitinske masne kiseline (16:0) na poziciji *sn*-2 u ulju iznosi tek 15,3 %, a ukupno u ulju kave 1 je iznosio 34,5 %, što znači da se velikim dijelom zasićena palmitinska kiselina nalazi na pozicijama *sn*-1,3 s obzirom da je uklonjena hidrolizom pomoću enzima lipaza. Uz to, udio linolne masne kiseline (18:2 n-6c) na poziciji *sn*-2 je najveći i iznosi 60,3 %, a u ulju kave 1 je bio 39,3 %. Ovim rezultatima da se zaključiti da palmitinska (C16:0) i stearinska (C18:0) masna kiselina se najčešće nalaze na pozicijama *sn*-1,3, što je potvrđeno smanjenim udjelom nakon prilikom mjerenja.

Tablica 4. Sastav masnih kiselina u ulju kave na poziciji *sn-2*

	Monoacilgliceroli ulja kave 1	Monoacilgliceroli ulja kave 2
Masna kiselina	Udio [%]	Udio [%]
14:0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0
16:0	15,3 ± 0,6	14,7 ± 0,5
16:1	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0
18:0	4,9 ± 0,1	4,4 ± 0,7
18:1 n-9c	13,7 ± 0,1	13,6 ± 0,3
18:2 n-6c	60,3 ± 0,7	61,4 ± 1,1
18:3 n-3	1,2 ± 0,0	1,2 ± 0,0
20:0	2,7 ± 0,2	2,5 ± 0,2
20:1c	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,0
20:4 n-6	0,5 ± 0,1	0,4 ± 0,1
24:0	0,3 ± 0,1	0,4 ± 0,1
24:1	0,4 ± 0,1	0,6 ± 0,4
Ostalo	0,2 ± 0,1	0,4 ± 0,2
Σ	100,0	100,0

Stereospecifična distribucija masnih kiselina u triacilglicerolima utječe na fizikalna, kemijska, biološka te tehnološka svojstva ulja. Linolna acilna skupina na *sn-2* poziciji molekule triacilglicerola je otpornija na oksidaciju nego kada se nalazi na *sn-1,3* pozicijama (Wang i sur., 2015).

Korelacija između masnih kiselina na poziciji *sn-2* i uporabe ulja s takvim svojstvima u proizvodnji biodizela je bitna jer može utjecati na iskorištenje sinteze biodizela, te na fizikalno-kemijska svojstva konačnog biodizela (viskoznost, toplinska i oksidacijska stabilnost. Masne kiseline na pozicijama *sn-1,3* se lakše prolaze kroz transesterifikaciju, dok je pozicija *sn-2* manje stereokemijski dostupna i reaktivna.

4.7. PDSC ANALIZA

Procjena kvalitete različitih ulja i masti može se provesti određivanjem oksidacijske stabilnosti. Oksidacijom masti dolazi do kemijskih promjena koje dovode do pogoršanja senzorskih svojstava i kvarenja hrane. Radikali koji su međuprodukti oksidacije mogu imati negativan utjecaj na zdravlje, njihovoj proizvodnji pogoduju svjetlost, kisik i visoka temperatura

(Thurgood i sur., 2007). DSC metoda, primijenjena u ovom radu, može se koristiti za praćenje kinetike kristalizacije, određivanje termodinamičkih parametara te za procjenu kvalitete lipida i oksidacijske stabilnosti. Kako bi se odredila oksidacijska stabilnost masti, vrijeme indukcije je određeno u testu ubrzane oksidacije. U testovima stabilnosti masti, oksidacijska stabilnost masti raste s duljim vremenom indukcije (Kowalski i sur., 2004). Prijenos molekule kisika na nezasićene masne kiseline zahtijeva utrošak energije, odnosno radi se o egzotermnoj reakciji, stoga se oksidacijska stabilnost ulja može također utvrditi diferencijalnom motridbenom kalorimetrijom (PDSC). S obzirom da je korišten izotermni program pri 120 °C te inicijalnom tlaku od 1400 kPa, oksidacija ulja detektirana je kao egzotermni pik na termogramu, a rezultat je induksijski period od trenutka uključivanja kisika do pojave pika oksidacije (Velasco i sur., 2004). Termogram za ulje kave 1 vidljiv je na slici 12.

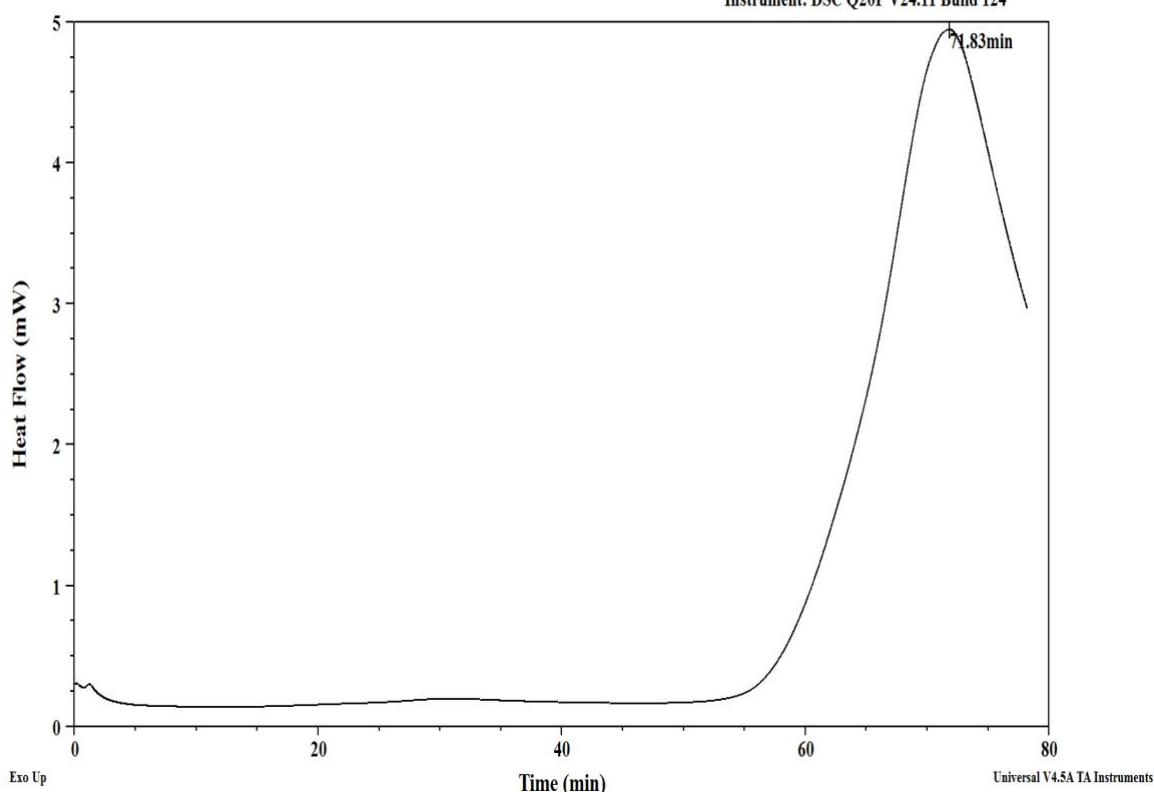
Sample: 1b
Size: 3.4460 mg
Method: Isothermal for

DSC

File: C:\TA\Data\PDSC\Joanna Bryś\Petra\1b.001

Run Date: 18-Apr-2023 12:00

Instrument: DSC Q20P V24.11 Build 124



Slika 12. Termogram ulja taloga kave 1

Za ulje kave 1, vrijeme indukcije oksidacije je izmjereno pri 74,23 min te 71,83 min na temperaturi od 120 °C. S obzirom da se radi o PDSC metodi, dakle uzorak je pod dodatnim tlakom u odnosu na konvencionalni DSC, očekivano je i kraće vrijeme indukcije oksidacije u odnosu na DSC analizu pri normalnom tlaku. Za usporedbu, PDSC metodom određena su pri 120 °C vremena indukcije hladno prešanog repičinog ulja, te su bila u rasponu od 66,61 do 74,78 min (Symoniuk i sur., 2016).

Termogram ulja kave 2 prikazan je na slici 13.

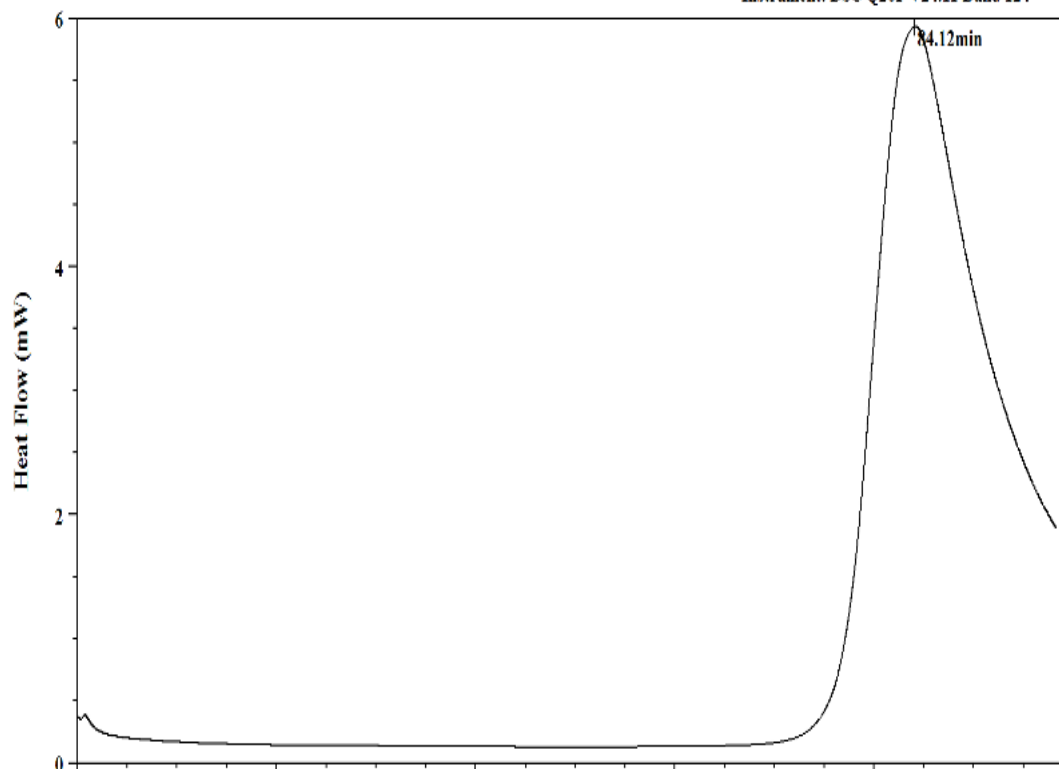
Sample: 2c
Size: 3.6480 mg
Method: Isothermal for

DSC

File: C:\TA\Data\PDSC\Joanna Brys\Petra\2c.001

Run Date: 19-Apr-2023 18:30

Instrument: DSC Q20P V24.11 Build 124



Slika 13. Termogram ulja taloga kave 2

Ulje kave 2 pokazuje nešto veću oksidacijsku stabilnost, te vrijeme indukcije oksidacije iznosi $82,28 \pm 4,11$ min. Veća oksidacijska stabilnost kave, tj. dulje vrijeme indukcije oksidacije, može se povezati s prethodno utvrđenim kemijskim svojstvima kave 2, odnosno nižim peroksidnim i kiselinskim brojem u odnosu na ulje kave 1. PDSC metodom pri $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ utvrđena je oksidacijska stabilnost lanenog ulja, te je pokazano da takvo ulje ima vrijeme indukcije oksidacije već od 19,80 min, što je znatno niže u usporedbi s dobivenim rezultatima ulja kave (Symoniuk i sur., 2016). Prethodno spomenuto repičino ulje ima sličnu oksidacijsku stabilnost kao i ulje otpadne kave. Međutim, dokazano je da ulje lješnjaka ima vrijeme indukcije oksidacije u rasponu od 119,25 do 191,06 minuta, ovisno o primijenjenoj temperaturi, dok kod maslinovog ulja vrijednosti mogu biti između 134,15 i 180,07 minuta (Ciemniewska-Zytkiewicz i sur., 2014).

Ako se pogleda profil masnih kiselina ulja taloga kave 1, nezasićene masne kiseline čine ukupno 52,84 %, dok u ulju kave 2 nezasićene masne kiseline čine 54,60 %. Ulje taloga kave 2 ima veći udio nezasićenih masnih kiselina (54,60 %) u odnosu na ulje taloga kave 1 (52,84 %), a unatoč tome ima veću stabilnost, na što mogu utjecati brojni čimbenici, među kojima su slobodne masne kiseline koje mogu smanjiti stabilnost ulja jer mogu reagirati s katalizatorima i tvoriti sapune, a također povećavaju sklonost oksidaciji, a manji kiselinski broj izmjeren je

upravo u ulju taloga kave 2. Također, sama kvaliteta sirovine može značajno utjecati na stabilnost ulja.

5. ZAKLJUČCI

1. U uzorku otpadne kave 1 udio vode iznosio je $34,83 \% \pm 1,51 \%$, dok je u uzorku kave 2 iznosio $50,84 \% \pm 0,58 \%$. Razlika u udjelu vode može ovisiti o načinu pripreme napitka, te skladištenju uzorka otpadnog taloga nakon obrade.
2. Uzorci kave 1 i 2 imali su različite udjele ulja, pri čemu je uzorak kave 2 imao veći udio ulja ($23,7 \%$) u odnosu na uzorak kave 1 ($13,44 \%$).
3. Peroksidni brojevi ulja taloga kave 1 ($0,46 \text{ mmol O}_2/\text{kg}$) i kave 2 ($0,50 \text{ mmol O}_2/\text{kg}$) značajno su niži od maksimalnih dozvoljenih vrijednosti prema Pravilniku o jestivim uljima i mastima.
4. Kiselinski brojevi ulja kave 1 ($6,13 \text{ mg KOH/g}$) i kave 2 ($5,64 \text{ mg KOH/g}$) ukazuju na prisutnost hidrolitičke razgradnje triacilglicerola, što je vjerojatno posljedica procesa pripreme i skladištenja kave, te visokog udjela vode u talogu nakon pripreme napitka.
5. Sastav masnih kiselina u ulju otpadnog taloga kave pokazuje visoki udio esencijalne linolne masne kiseline. Iz provedene GC-FID analize, u uzorcima ulja otpadnog taloga kave detektirane su još palmitinska (C16:0), oleinska (C18:1 n-9c) te stearinska (C18:0) masna kiselina u značajnim količinama.
6. Linolna masna kiselina (C18:2 n-6c) najzastupljenija na poziciji sn-2 ($60,33 \%$), što upućuje na njezinu biološku dostupnost, lakšu apsorpciju i trajnost ulja.
7. PDSC analizom utvrđeno je da se rezultati dobiveni za ulja ovih kava razlikuju u oksidacijskoj stabilnosti, pri čemu je ulje kave 2 pokazalo bolju stabilnost s vremenom indukcije oksidacije od $82,28 \pm 4,11$ minuta, u usporedbi s uljem kave 1 ($74,23$ minuta).

6. LITERATURA

Anonymous (2023) <https://www.e-education.psu.edu/egee439/node/684>. Pristupljeno 11. siječnja 2024.

Arboleda ER, Fajardo AC, Medina RP (2020) Green coffee beans feature extractor using image processing. *TELKOMNIKA* 18, 2012-2027. doi.org/10.12928/TELKOMNIKA.v18i4.13968

Bastian F, Hutabarat OS, Dirpan A, Nainu F, Harapan H, Emran TB i sur. (2021) From Plantation to Cup: Changes in Bioactive Compounds during Coffee Processing. *Foods* 10, 2825-2827. <https://doi.org/10.3390/foods10112827>

Batista MJPA, Ávila AF, Franca AS, Oliveira LS (2020) Polysaccharide-rich fraction of spent coffee grounds as promising biomaterial for films fabrication. *Carbohydr Polym* 233, 115851. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.115851>

Benucci I, Lombardelli C, Mazzocchi C, Esti M (2022) Natural colorants from vegetable food waste: Recovery, regulatory aspects, and stability—A review. *Comp Rev Food Sci Food Safe* 21, 2715–2737. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12951>

Bhargava N, Sharanagat VS, Mor RS, Kumar K (2020) Active and intelligent biodegradable packaging films using food and food waste-derived bioactive compounds: A review. *Trend Food Sci Techn* 105, 385–401. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.09.015>

Bhatia L, Jha H, Sarkar T, Sarangi PK (2023) Food Waste Utilization for Reducing Carbon Footprints towards Sustainable and Cleaner Environment: A Review. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 23, 2318-2330. <https://doi.org/10.3390/ijerph20032318>

Bijla L, Ibourki M, Bouzid HA, Sakar EH, Aissa R, Laknifli A i sur. (2022) Proximate Composition, Antioxidant Activity, Mineral and Lipid Profiling of Spent Coffee Grounds Collected in Morocco Reveal a Great Potential of Valorization. *Waste Biomass Valor* 13, 4495–4510. <https://doi.org/10.1002/ejlt.202300115>

Böger BR, Mori ALB, Viegas MC, Benassi MT (2021) Quality attributes of roasted Arabica coffee oil extracted by pressing: composition, antioxidant activity, sun protection factor and

other physical and chemical parameters. *Grasa Aceites*. 72, e394-399. <https://doi.org/10.3989/gya.1144192>

Bolka M, Emire S. (2020) Effects of coffee roasting technologies on cup quality and bioactive compounds of specialty coffee beans. *Food Sci Nutr* 8, 6120–6130. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1904>

Bomfim ASCD, De Oliveira DM, Walling E, Babin A, Hersant G, Vaneeckhaute C i sur. (2022) Spent Coffee Grounds Characterization and Reuse in Composting and Soil Amendment. *Waste* 1, 2–20. <https://doi.org/10.3390/waste1010002>

Carréra JC, Resende TB, Vicente Campos AA, De Souza RR, De Oliveira IMM, Alves Ribeiro C i sur. (2023) Anatomic characteristics of branches related to the vegetative growth of coffee tree (*Coffea arabica* L., Rubiaceae) under nutritional variation. *J Plant Nutr*. 46, 4594–605. <https://doi.org/10.1080/01904167.2023.2237524>

Cervera-Mata A, Navarro-Alarcón M, Delgado G, Pastoriza S, Montilla-Gómez J, Llopis J i sur. (2019) Spent coffee grounds improve the nutritional value in elements of lettuce (*Lactuca sativa* L.) and are an ecological alternative to inorganic fertilizers. *Food Chem* 282, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.12.101>

Cruz R, Cardoso MM, Fernandes L, Oliveira M, Mendes E, Baptista P i sur. (2012) Espresso Coffee Residues: A Valuable Source of Unextracted Compounds. *J Agric Food Chem* 60, 7777–7791. <https://doi.org/10.1021/jf3018854>

Dang CH, Nguyen TD (2019) Physicochemical Characterization of *Robusta* Spent Coffee Ground Oil for Biodiesel Manufacturing. *Waste Biomass Valor* 10, 2703–2712. doi.org/10.1007/s12649-018-0287-9

Fadri RA, Sayuti K, Nazir N, Suliansyah I. (2020) Analysis of Caffeine Levels in the Beverages of Roasted Arabica Coffee Balango in Bukik Apik with the Method of Spectroscopic. *Earth Environ Sci* 515, e012071, doi.org/10.1088/1755-1315/515/1/012071

Figuroa Campos GA, Sagu ST, Saravia Celis P, Rawel HM (2020) Comparison of Batch and Continuous Wet-Processing of Coffee: Changes in the Main Compounds in Beans, By-Products and Wastewater. *Foods*. 9, 1135-1149. <https://doi.org/10.3390/foods9081135>

Firdissa E, Mohammed A, Berecha G, Garedew W (2022) Coffee Drying and Processing Method Influence Quality of Arabica Coffee Varieties (*Coffea arabica* L.) at Gomma I and Limmu Kossa, Southwest Ethiopia. *J Food Quality*. e9184374. <https://doi.org/10.1155/2022/9184374>

Franca AS, Oliveira LS (2022) Potential Uses of Spent Coffee Grounds in the Food Industry. *Foods*. 11, 2064-2088. <https://doi.org/10.3390/foods11142064>

Getachew M, Tolassa K, De Frenne P, Verheyen K, Tack AJM, Hylander K i sur. (2022) The relationship between elevation, soil temperatures, soil chemical characteristics, and green coffee bean quality and biochemistry in southwest Ethiopia. *Agron Sustain Dev*. 42, 61-87. doi.org/10.1007/s13593-022-00801-8

Helenas Perin JK, Biesdorf Borth PL, Torrecilhas AR, Santana Da Cunha L, Kuroda EK, Fernandes F (2020) Optimization of methane production parameters during anaerobic co-digestion of food waste and garden waste. *J Clean Prod* 272, e123130. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.123130>

HRN EN ISO 3960:2007 - Određivanje peroksidnog broja

HRN EN ISO 5509:200 - Priprava metilnih estera masnih kiselina

HRN EN ISO 659:2010 - Određivanje udjela ulja (Referentna metoda)

HRN EN ISO 660:2010 -Određivanje kiselinskog broja i kiselosti

HRN EN ISO 665:2004 – Određivanje količine vode i hlapljivih tvari

Iličković Z, Đonlagić M, Redžić E (2009) Sekundarne sirovine u proizvodnji biodizela ostatak (toz) od kave. *Tehno Acta* 2 19-24

Jalkh R, Rassay H, Chehab G, Abiad M (2018) Assessment of the Physico-Chemical Properties of Waste Cooking Oil and Spent Coffee Grounds Oil for Potential Use as Asphalt Binder Rejuvenators. *Waste Biomass Valor* 9, 1-8. <https://doi.org/10.1007/s12649-017-9984-z>

Jenkins, RW, Stageman, NE, Fortune, CM, Chuck, CJ (2014) Effect of the type of bean, processing, and geographical location on the biodiesel produced from waste coffee grounds. *Energ Fuel* **28**, 1166-1174. <https://doi.org/10.1021/ef4022976>

Kafková V, Kubinec R, Mikulec J, Variny M, Ondrejčková P, Ház A i sur., (2023) Integrated Approach to Spent Coffee Grounds Valorization in Biodiesel Biorefinery. *Sustainability* **15**, 5599-5612. <https://doi.org/10.3390/su15075612>

Kath J, Mittahalli Byrareddy V, Mushtaq S, Craparo A, Porcel M (2021) Temperature and rainfall impacts on robusta coffee bean characteristics. *Clim Risk Manag* **32**, e100281. <https://doi.org/10.1016/j.crm.2021.100281>

Kc Y, Subba R, Shiwakoti LD, Dhungana PK, Bajagain R, Chaudhary DK i sur. (2021) Utilizing Coffee Pulp and Mucilage for Producing Alcohol-Based Beverage. *Fermentation* **5**, 53-69. <https://doi.org/10.3390/fermentation7020053>

Kookos IK (2018) Techno-economic and Environmental Assessment of a Process for Biodiesel Production from Spent Coffee Grounds (SCGs). *Resour. Conserv. Recycl.* **134**, 156–164. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2018.02.002>

Koshima Y, Kitamura Y, Islam MZ, Kokawa M (2020) Quantitative and Qualitative Evaluation of Fatty Acids in Coffee Oil and Coffee Residue. *Food Sci Technol Res* **26**, 545–552. <https://doi.org/10.3136/fstr.26.545>

Kovalcik A, Obruca S, Marova I (2018) Valorization of spent coffee grounds: A review. *Food Bioproduct Process.* **110**, 104–119. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2018.05.002>

Kowalski B, Ratusz K, Kowalska D, Bekas W. (2004) Determination of the oxidative stability of vegetable oils by differential scanning calorimetry and Rancimat measurements. *Eur J Lipid Sci Tech* **106**, 165–169. doi.org/10.1002/ejlt.200300915

Lapčíková B, Lapčík L, Barták P, Valenta T, Dokládlová K. (2023) Effect of Extraction Methods on Aroma Profile, Antioxidant Activity and Sensory Acceptability of Specialty Coffee Brews. *Foods* **12**, 4125-4133. <https://doi.org/10.3390/foods12224125>

Laukalēja I, Krūma Z, Cinkmanis I. (2022) Impact of The Roast Level on Chemical Composition of Coffee from Colombia. *Proc Latv Acad Sci B Nat Exact Appl Sci.* 76, 145–151.

Le CTM, Okane I, Ono Y, Tsuda Y, Yamaoka Y. (2022) Incidence of Coffee Leaf Rust in Vietnam, Possible Original Sources and Subsequent Pathways of Migration. *Front Plant Sci* 13, e872877. doi.org/[10.2478/prolas-2022-0022](https://doi.org/10.2478/prolas-2022-0022)

Liu W, Wang ZZ, Qing JP, Li HJ, Xiao W (2014) Classification and quantification analysis of peach kernel from different origins with near-infrared diffuse reflection spectroscopy. *Pharmacognos mag* 10, 441–448. doi.org/[10.4103/0973-1296.141814](https://doi.org/10.4103/0973-1296.141814)

Mata TM, Cardoso N, Ornelas M, Neves S, Caetano NS (2010) Sustainable Production of Biodiesel from Tallow, Lard and Poultry and its Quality Evaluation. *Chem Eng Trans* 19, 13-18. doi.org/[10.3303/CET1019003](https://doi.org/10.3303/CET1019003)

Moser B (2009) Biodiesel production, properties, and feedstocks. *In Vitro Cell Dev Biol Plant* 45, 229-266. doi.org/[10.1007/978-1-4419-7145-6_15](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-7145-6_15)

Mu H, Høy CE (2004) The digestion of dietary triacylglycerols. *Prog Lipid Res* 43, 105–133.. [https://doi.org/10.1016/S0163-7827\(03\)00050-X](https://doi.org/10.1016/S0163-7827(03)00050-X)

Münchow M, Alstrup J, Steen I, Giacalone D. (2020) Roasting Conditions and Coffee Flavor: A Multi-Study Empirical Investigation. *Beverages* 6, 29-42. <https://doi.org/10.3390/beverages6020029>

Nemati M, Tuzen M, Farazajdeh MA, Kaya S, Afshar Mogaddam MR (2022) Development of dispersive solid-liquid extraction method based on organic polymers followed by deep eutectic solvents elution; application in extraction of some pesticides from milk samples prior to their determination by HPLC-MS/MS. *Anal Chim Acta* 1199, 339570. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2022.339570>

O'Connor J, Hoang SA, Bradney L, Dutta S, Xiong X, Tsang DCW i sur. (2021) A review on the valorisation of food waste as a nutrient source and soil amendment. *Environ Pollution.* 272, e115985. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2022.339570>

Ojha S, Bußler S, Schlüter OK (2020) Food waste valorisation and circular economy concepts in insect production and processing. *Waste Manag* 118, 600–609. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2020.09.010>

Oliveira MFD, Santos AFD, Kazama EH, Rolim GDS, Silva RPD (2021) Determination of application volume for coffee plantations using artificial neural networks and remote sensing. *Comp Electr Agr* 184, e106096. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2021.106096>

Pour FH, Makkawi YT (2021) A review of post-consumption food waste management and its potentials for biofuel production. *Energy Report*, 7, 7759–7784. <https://doi.org/10.1016/j.egy.2021.10.119>

Rajeshanu J, Kavitha S, Yukesh Kannah R, Dinesh Kumar M, Atabani AE, Kumar G (2020) Biorefinery of Spent Coffee Grounds Waste: Viable Pathway towards Circular Bioeconomy. *Bioresour. Technol.* 302, e122821. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122821>

Ramadhan MO, Handayani MN (2020) The potential of food waste as bioplastic material to promote environmental sustainability: A review. *Mater Sci Eng* 980, 012082. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2024.104836>

Ribeiro RC, Mota MFS, Silva RMV, Silva DC, Novaes FJM, Da Veiga VF i sur. (2024) Coffee Oil Extraction Methods: A Review. *Foods* 13, 2601. <https://doi.org/10.3390/foods13162601>

Roy P, Mohanty AK, Dick P, Misra M. (2023) A Review on the Challenges and Choices for Food Waste Valorization: Environmental and Economic Impacts. *Environ Au* 3, 58–75. <https://doi.org/10.1021/acsenvironau.2c00050>

Saberian M, Li J, Donnoli A, Bonderenko E, Oliva P, Gill B i sur. (2021) Recycling of spent coffee grounds in construction materials: A review. *J Clean Prod* 289, e125837. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.125837>

Sarker A, Ahmmmed R, Ahsan SM, Rana J, Ghosh MK, Nandi R. (2024) A comprehensive review of food waste valorization for the sustainable management of global food waste. *Sustainable Food Technol* 2, 48–69. DOI <https://doi.org/10.1039/D3FB00156C>

Schmieder BKL, Pannusch VB, Vannieuwenhuysse L, Briesen H, Minceva M (2023) Influence of Flow Rate, Particle Size, and Temperature on Espresso Extraction Kinetics. *Foods* 12, 2871-2889. <https://doi.org/10.3390/foods12152871>

Septianti E, Salengke, Langkong J (2020) Profile of bioactive compounds, antioxidant and aromatic component from several clones of cocoa beans during fermentation. *Earth Environ Sci* 575, 012009. doi.org/10.1088/1755-1315/575/1/012009

Silverio Ados S, Pereira RG, Lima AR, Paula FB, Rodrigues MR, Baldissera L Jr i sur. (2013) The effects of the decaffeination of coffee samples on platelet aggregation in hyperlipidemic rats. *Plant Foods Hum Nutr* 68, 268–273. <https://doi.org/10.1007/s11130-013-0365-x>

Somnuk K, Eawley P, Prateepchaikul G (2017) Optimization of coffee oil extraction from spent coffee grounds using four solvents and prototype-scale extraction using circulation process. *Agri Natura Resource* 51, 181-189. <https://doi.org/10.1016/j.anres.2017.01.003>.

Symoniuk E, Ratusz K, Krygier K (2016) Comparison of the oxidative stability of linseed (*Linum usitatissimum* L.) oil by pressure differential scanning calorimetry and Rancimat measurements. *J Food Sci Technol* 53, 3986–3995. doi.org/10.1007/s13197-016-2398-2

Symoniuk E, Ratusz K, Krygier K. (2017) Comparison of the oxidative stability of cold-pressed rapeseed oil using Pressure Differential Scanning Calorimetry and Rancimat methods. *Euro J Lipid Sci Tech* 119, e1600182. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201600182>

Talan A, Tiwari B, Yadav B, Tyagi RD, Wong JWC, Drogui P (2021) Food waste valorization: Energy production using novel integrated systems. *Bioresource Technol* 322, e124538. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124538>

Thurgood J, Ward R, Martini S (2007) Oxidation kinetics of soybean oil/anhydrous milk fat blends: a differential scanning calorimetry study. *Food Res Int.* 40, 1030–1037. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.05.004>

Vandeponseele A, Draye M, Piot C, Chatel G. (2021) Study of Influential Parameters of the Caffeine Extraction from Spent Coffee Grounds: From Brewing Coffee Method to the Waste Treatment Conditions. *Clean Technol* 3, 335–350. <https://doi.org/10.3390/cleantechnol3020019>

Venancio LP, Filgueiras R, Mantovani EC, Do Amaral CH, Da Cunha FF, Dos Santos Silva FC i sur. (2020) Impact of drought associated with high temperatures on *Coffea canephora* plantations: a case study in Espírito Santo State, Brazil. *Sci Rep* 10, e19719. doi.org/[10.1038/s41598-020-76713-y](https://doi.org/10.1038/s41598-020-76713-y)

Wang X, Lim L. (2021) Modeling study of coffee extraction at different temperature and grind size conditions to better understand the cold and hot brewing process. *J Food Process Engineering* 44, e13748. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13748>

Wang X, Wang Y, Hu G, Hong D, Guo T, Li J i sur. (2022) Review on factors affecting coffee volatiles: from seed to cup. *J Sci Food Agric* 102, 1341–1352. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11647>

Wang X, Yang D, Gan L, Zhang H, Shin J, Lee Y i sur. (2015) Effect of Positional Distribution of Linoleic Acid on Oxidative Stability of Triacylglycerol Molecules Determined by¹ H NMR. *J Americ Oil Chem Soc* 92, 157–165. <https://doi.org/10.1007/s11746-015-2590-y>

Zheng Y, Wang P, Zhao G, Wang D. (2024) Integrated green process for efficient mannose and mannooligosaccharides production from spent coffee grounds. *Food Biosci* 61, e104876. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.104876>

IZJAVA O IZVORNOSTI

Ja Petra Lasić izjavljujem da je ovaj diplomski rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Vlastoručni potpis