

Potencijal nusproizvoda iz proizvodnje kave kao temelj održive proizvodnje

Božić, Angela

Master's thesis / Diplomski rad

2021

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:159:070547>

Rights / Prava: [Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-12**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2021.

Angela Božić

1418/USH

**POTENCIJAL NUSPROIZVODA
IZ PROIZVODNJE KAVE KAO
TEMELJ ODRŽIVE
PROIZVODNJE**

Rad je izrađen u Laboratoriju za kemijske analize hrane na Odjelu za zdravstvenu ispravnost i kvalitetu hrane i predmeta opće uporabe Nastavnog zavoda za javno zdravstvo dr. Andrija Štampar pod mentorstvom prof. dr. sc. Anet Režek Jambrak, Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu te uz pomoć Marinele Nutrizio, mag. nutr.

Za početak se zahvaljujem mentorici, prof. dr. sc. Anet Režek Jambrak na pomoći, stručnim savjetima i svom znanju prenesenom prilikom izrade diplomskog rada.

Također, veliko hvala asistentici Marineli Nutrizio, mag. nutr., na pomoći i svim savjetima koji su doprinijeli izradi ovog diplomskog rada.

Zahvaljujem se dr. sc. Adeli Krivohlavek i svim kolegama s Nastavnog zavoda za javno zdravstvo dr. Andrija Štampar koji su izdvojili svoje vrijeme i koji su svojim analizama i savjetima pomogli izradi ovog diplomskog rada.

Hvala i svim prijateljima koji su bili uz mene i učinili moje studentske dane još ljepšima.

A najveće hvala mojim roditeljima i bratu koji su bili najveća podrška i najveći oslonac u svakom trenutku mog obrazovanja.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Zavod za opće programe
Laboratorij za održivi razvoj

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

POTENCIJAL NUSPROIZVODA IZ PROIZVODNJE KAVE KAO TEMELJ ODRŽIVE PROIZVODNJE

Angela Božić 1418/USH

Sažetak:

Zbog povećanja broja stanovništva na Zemlji i povećane potrebe za proizvodnjom hrane, povećava se i prehrambeni otpad i količina nusproizvoda iz prehrambene industrije. Iz tog razloga prehrambena industrija se postepeno okreće održivom razvoju i održivoj proizvodnji, a temelj održive proizvodnje jest upravo iskorištavanje nusproizvoda i stvaranje kružne proizvodnje u kojoj će se nusproizvod moći u potpunosti iskoristiti. Svrha ovog diplomskog rada bila je ispitati svojstva nusproizvoda koji zaostaje nakon prženja kave – pokožica kave, te odrediti količinu minerala i sirovih vlakana u pokožici kave. Rezultati su pokazali da pokožica kave ne sadrži pesticide i teške metale u količinama koje bi štetno utjecale na ljudsko zdravlje, a utvrđene su i znatne količine makrominerala, minerala u tragovima i vlakana koji su od iznimne važnosti za ljudski organizam. Na temelju rezultata moglo se zaključiti da pokožica kave ne sadrži kontaminante i nutritivno je bogat proizvod koji može služiti kao odličan izvor vlakana i minerala i koji bi se mogao iskoristiti u proizvodnji novih prehrambenih proizvoda, za obogaćivanje novih ili već postojećih prehrambenih proizvoda i/ili kao dodatak prehrani.

Ključne riječi: pokožica kave, pesticidi, teški metali, vlakna, održivi razvoj

Rad sadrži: 49 stranica, 19 slika, 6 tablica, 75 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u: Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

Mentor: *prof. dr. sc. Anet Režek-Jambrak*

Pomoć pri izradi: *Marinela Nutrizio, mag. nutr.*

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. Izv.prof.dr.sc. *Mojca Čakić Semenčić*
2. Prof.dr.sc. *Anet Režek Jambrak*
3. Prof.dr.sc. *Nada Vahčić*
4. Doc.dr.sc. *Nikolina Čukelj Mustač* (zamjena)

Datum obrane: rujan 2021.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Department of General Programmes
Laboratory for sustainable development

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Food Technology

POTENTIAL OF COFFEE PRODUCTION BY-PRODUCT AS THE FOUNDATION FOR SUSTAINABLE PRODUCTION

Angela Božić 1418/USH

Abstract:

Due to the population increase of Earth and the increasing need for food production, the amount of food by-products and food waste has been increasing as well. That is why the food industry has slowly been turning towards sustainable development and sustainable production, whose base is the utilization of by-products and creation of cycle production in which by-products can be fully utilized. The aim of this graduate thesis was to analyze properties of coffee silverskin - the coffee roasting by-product, and to determine the amounts of minerals and crude fiber in coffee silverskin. The results have shown that coffee silverskin does not contain any pesticides or heavy metals in amounts that would affect the human health. Instead, significant quantities of macrominerals, traces of minerals, and crude fiber have been detected that are of utmost importance for the human organism. Based on the results one can conclude that coffee silverskin does not contain contaminants and is a nutritionally rich product which can be used as a great source of fiber and minerals. It can also be utilized for the production of new food products, as well as for enriching new or already existing food products and/or as a food supplement.

Keywords: *coffee silverskin, pesticides, heavy metals, fiber, sustainable development*

Thesis contains: 49 pages, 19 figures, 6 tables, 75 references

Original in: Croatian

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

Mentor: *PhD Anet Režek-Jambrak, Full professor*

Technical support and assistance: *Marinela Nutrizio, MSc*

Reviewers:

1. PhD *Mojca Čakić Semenčić*, Associate professor
2. PhD *Anet Režek Jambrak*, Full professor
3. PhD *Nada Vahčić*, Full professor
4. PhD *Nikolina Čukelj Mustač*, Assistant professor (substitute)

Thesis defended: September 2021

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. KAVA	2
2.1.1. Nusproizvodi kave.....	3
2.1.1.1. <i>Srebrna pokožica kave</i>	4
2.1.1.2. <i>Kemijski sastav srebrne pokožice</i>	5
2.1.1.3. <i>Mogućnost iskorištenja srebrne pokožice</i>	5
2.2. PESTICIDI	6
2.2.1. Ostaci pesticida u hrani	7
2.2.2. Dopuštene granice pesticida.....	7
2.3. ODREĐIVANJE PESTICIDA	8
2.3.1. Utjecaj matrice	8
2.3.2. Plinska kromatografija vezana sa spektrometrijom masa (GC/MS)	8
2.3.3. Tekućinska kromatografija vezana sa spektrometrijom masa (LC/MS).....	9
2.4. MINERALI.....	11
2.4.1. Makrominerali	11
2.4.2. Mikrominerali.....	12
2.5. METALI	13
2.5.1. Teški metali	13
2.5.2. Dopuštene granice teških metala.....	14
2.6. ODREĐIVANJE MINERALA I METALA	14
2.6.1. Induktivno spregnuta plazma s masenim spektrometrom (ICP-MS)	15
2.7. VLAKNA	15
2.7.1. Netopljiva prehrambena vlakna	16
2.7.2. Topljiva prehrambena vlakna.....	17
2.8. ISKORIŠTAVANJE NUSPROIZVODA KAO TEMELJ ODRŽIVE PROIZVODNJE.....	18
3. EKSPERIMENTALNI DIO	20
3.1. MATERIJALI.....	20
3.1.1. Uzorci	20
3.1.2. Kemikalije	20
3.1.3. Pribor i aparatura.....	21
3.2. METODE.....	22
3.2.1. Određivanje ostataka pesticida.....	22
3.2.2. Određivanje minerala i teških metala	25
3.2.3. Određivanje sirovih vlakana.....	27
4. REZULTATI I RASPRAVA	29
4.1. PESTICIDI	29
4.2. TEŠKI METALI.....	38
4.3. MINERALI.....	40
4.4. VLAKNA	42
5. ZAKLJUČCI	43
6. LITERATURA	45

1. UVOD

Kava je kofeinski napitak poznat cijelom svijetu. Jedno je od najčešće konzumiranih pića čija se proizvodnja i potrošnja povećavaju iz dana u dan. Uzgoj kave smjestio se uzduž ekvatora, ali njena proizvodnja rasprostranjena je u cijelome svijetu. Tijekom uzgoja i proizvodnje kave nastaju razni nusproizvodi, no u ovom diplomskom radu fokus je stavljen na glavni nusproizvod prženja kave, a to je srebrna pokožica kave (Perta-Crisan i sur., 2019).

Srebrna pokožica kave je nusproizvod izrazito bogat vlaknima, proteinima, fenolima, a u isto vrijeme zdravstveno ispravan proizvod koji bi se mogao iskoristiti u prehrambenoj industriji u proizvodnji novih prehrambenih proizvoda, dodataka prehrani i u proizvodnji funkcionalne hrane (Machado i sur., 2020). S obzirom na prehrambeni i kemijski sastav, antioksidacijsku aktivnost i sadržaj bioaktivnih spojeva, srebrna pokožica se čini posebno zanimljivom kao proizvod koji bi svoje mjesto mogao pronaći čak i u kozmetičkoj i farmaceutskoj industriji (Bessada i sur., 2018).

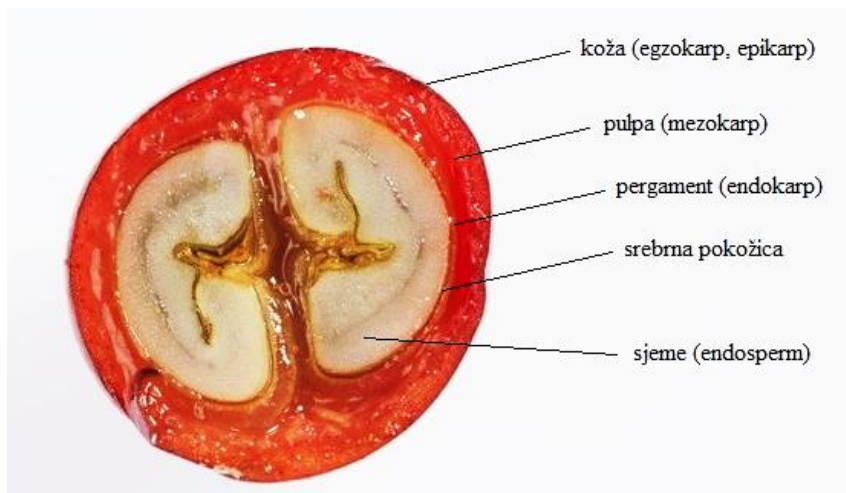
Nutritivno bogatstvo nusproizvoda kave, ali i većine drugih nusproizvoda iz prehrambene industrije, mora potaknuti industriju na iskorištavanje tih nusproizvoda. Oni se mogu iskoristiti u proizvodnji nekih drugih, nutritivno bogatih proizvoda, funkcionalne hrane, dodataka prehrani ili mogu poslužiti za obogaćivanje novih ili već postojećih prehrambenih proizvoda. Na taj bi se način smanjila količina otpada, povećao bi se održivi razvoj prehrambene proizvodnje, smanjila bi se količina masovnog iskorištavanja bioloških resursa te negativan utjecaja na okoliš (Hicks i Verbeek, 2016).

Cilj ovog diplomskog rada bio je ispitati potencijal pokožice kave, točnije cilj je ispitati sadržaj pokožice kave pesticide i teške metale, odnosno koliko sadržaj minerala i vlakana. Na temelju tih rezultata moći će se zaključiti sadržaj pokožice kave, kao najveći nusproizvod prženja kave, kontaminante štetne za ljudsko zdravlje i je li nutritivno bogat proizvod koji bi se mogao iskoristiti u proizvodnji novih proizvoda prehrambene industrije.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. KAVA

Kava je opći naziv za plodove i sjemenke biljke roda *Coffea*, kao i proizvoda od tih plodova i sjemenki pripremljenih za potrošnju (Pravilnik o kavi, kavovinama te proizvodima od kave i kavovina, NN 172/2004). Kava je zimzeleni grm koji raste iz zemlje, a može doseći visinu do čak 10 metara. Njeni cvjetovi su bijele boje, a iz njih nastaju plodovi na početku zelene boje, a povećanjem zrelosti boja im postaje žuta ili pak crvena do crna. Na Slici 1 može se vidjeti presjek ploda kave i njegovi dijelovi. Vanjski sloj ploda kave naziva se koža (egzokarp, epikarp), a ispod kože nalazi se mekani i mesnati mezokarp ili pulpa. Nakon mezokarpa slijedi endokarp ili pergament koji služi kao tanki polisaharidni pokrov koji obuhvaća dva sjemena odnosno zrna kave koja su još dodatno prekrivena srebrnom pokožicom (Klingel i sur., 2020).



Slika 1. Građa zrna kave (Anonymus 1)

Kava, koja je put oko svijeta započela u Etiopiji, danas je dio svakodnevice većine ljudi. Možemo je pronaći u svakom kućanstvu zahvaljujući napretku prehrambene industrije koja omogućava njenu proizvodnju, preradu i distribuciju na svakom kraju svijeta.

Postoje brojne vrste kave koje se prirodno javljaju u divljini, a sve su izvorno s istočne obale Afrike. Samo dvije vrste čine gotovo svu kavu uzgojenu za konzumaciju, a to su *C. robusta* i *C. arabica*. Još jedna vrsta kave, *C. liberica*, se uspjela komercijalizirati, ali ni približno u količinama kao *C. robusta* ili *C. arabica*, koja je ujedno i najviše uzgajana kultura. *C. arabica* je i najkvalitetnija vrsta kave, ali u usporedbi s *C. robustom* nije tako otporna na bolesti (Colonna-Dashwood, 2017).

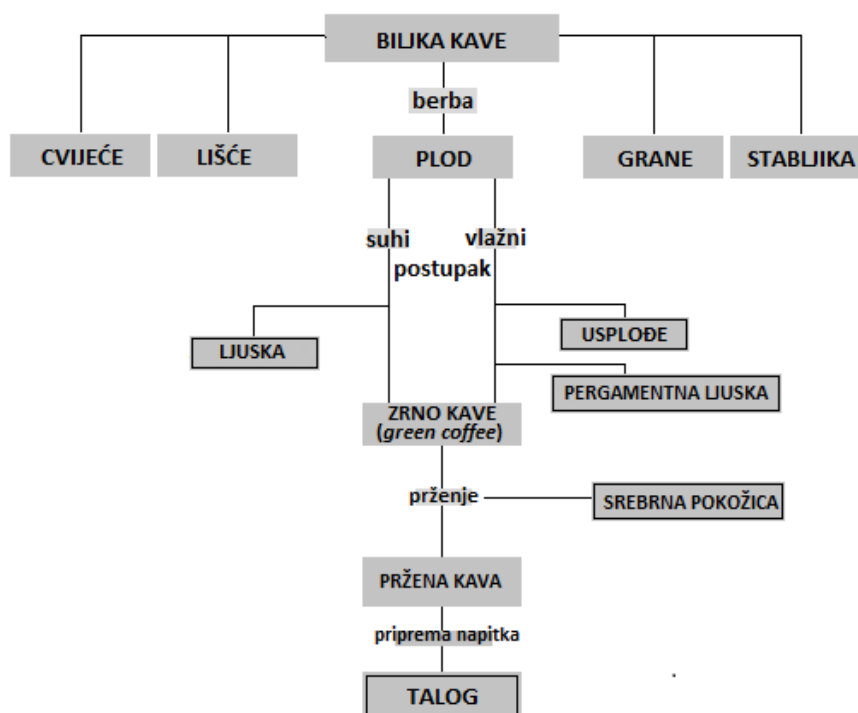
Razne vrste kave rasprostranile su se kroz mnoge vrste šuma na afričkom kontinentu. Osim na afričkom kontinentu kava se rasprostranila cijelom dužinom uz ekvator, pa je tako taj imaginarni pojas na kojem se uzgaja kava nazvan "pojasom kave" (*eng. Coffee belt*), a pruža se 23,5° zemljopisne širine sjeverno i južno od ekvatora (Ferreira i sur., 2019).

Duž "pojasa kave" smjestili su se i najveći proizvođači kave u svijetu. Prema Međunarodnoj organizaciji za kavu (2021) pet najvećih proizvođača kave su Brazil, Indonezija, Etiopija, Filipini i Vijetnam, a proizvodnja kave u cijelom svijetu svakim danom raste. Ogromne količine kave koje se proizvode u navedenim državama najviše uvoze europske zemlje.

2.1.1. Nusproizvodi kave

Kako se ukupna svjetska potrošnja kave svake godine povećava, važan problem postaju velike količine organskog otpada koje proizlaze iz industrije kave: nusproizvodi od prerade i prženja zrna i talog nakon pripreme napitka kave (Perta-Crisan i sur., 2019). Zbog smanjene cijene kave, proizvođačima kave i industriji kave moglo bi biti korisno početi tržiti nusproizvode koji se danas, u većini slučajeva, svrstavaju u otpad (Klingel i sur., 2020).

Slika 2 predstavlja shematski prikaz proizvodnje kave, odnosno nusproizvoda koji nastaju prilikom proizvodnje i uzgoja kave. Od cijele biljke, za proizvodnju kave beru se samo zreli plodovi dok ostatak biljke zaostaje (listovi, stabljika, cvijet, grane). Ti dijelovi biljke se podjednako klasificiraju kao nusproizvodi jer nastaju tijekom uzgoja kave. Plodovi se zatim suše, vlažnim ili češće, suhim postupkom. Nakon što su plodovi obrađeni suhim postupkom, osušeno usplođe, pergamentna ljuska i manji dio srebrne pokožice se ljušte i postaju nusproizvod, tj. otpad nazvan ljuska. Vlažnim postupkom se, za razliku od suhog, najprije odvaja usplođe, koje u tom trenutku postaje nusproizvod, slijedi fermentacija nakon koje se odvaja pergamentna ljuska. Zatim slijedi sortiranje zrna, a takva nepržena zrna (*eng. green beans*) distribuiraju se proizvođačima diljem svijeta gdje slijedi postupak prženja. U postupku prženja, ostatak srebrne pokožice koja je ostala vezana na zrno kave otpada i postaje nusproizvod. Talog nakon pripreme napitka je još jedna vrsta otpada. Talog nastaje u industrijskoj proizvodnji instant kave ili ju pak stvaraju potrošači kave u svojim domovima. Kao rezultat svega toga, tijekom proizvodnje kave stvara se velika količina nusproizvoda, a njihova reciklaža postaje sve važnija (Klingel i sur., 2020).



Slika 2. Nusproizvodi koji nastaju u procesu uzgoja i proizvodnje kave (Klingel i sur., 2020)

2.1.1.1. Srebrna pokožica kave

Srebrna pokožica kave (Slika 3) tanak je sloj koji izravno pokriva zrno kave. Ona predstavlja oko 4,2 % zrna kave (Iriundo-DeHond i sur., 2017). Tijekom postupka prženja zrno kave se širi i taj tanki sloj se odvaja te postaje jedan od glavnih nusproizvoda prženja kave. Srebrna pokožica je u usporedbi s ostalim nusproizvodima kave relativno stabilan proizvod zbog nižeg udjela vlage (5 % - 7 %). Trenutno se ovaj nusproizvod koristi kao gorivo, za kompostiranje i gnojidbu tla, a predstavlja i dobar izvor nekoliko bioaktivnih spojeva koji se mogu ekstrahirati i dalje koristiti u prehrambene, kozmetičke i farmaceutske svrhe (Bessada i sur., 2018).



Slika 3. Srebrna pokožica kave (Jethwa i sur., 2018)

2.1.1.2. Kemijski sastav srebrne pokožice

Srebrna pokožica kave bogata je fenolnim spojevima, uglavnom klorogenskom kiselinom te drugim fitokemikalijama i bioaktivnim spojevima koji doprinose velikom antioksidacijskom kapacitetu (Iriondo-DeHond i sur., 2017). Iako je pokožica bogata fenolnim spojevima, detektirana koncentracija je manja u usporedbi s prženim zrnom kave. Pretpostavlja se da je uzrok tome utjecaj visoke temperature na vanjski sloj zrna tijekom prženja, zbog čega dolazi do brze razgradnje fenolnih spojeva (Borrelli i sur., 2004).

Također, sadrži velike količine ukupnih prehrambenih vlakana (oko 62 %), od čega 15 % čine topiva vlakana, a ostatak od 85 % ukupnih vlakana čine netopiva vlakna (Borrelli i sur., 2004). Od netopivih vlakna prevladavaju celuloza, lignin i hemiceluloza, a od monosaharida tu su ksiloza, galaktoza, arabinoza i manozna (Klingel i sur., 2020; Bessada i sur., 2018). Nije dokazana značajna razlika u sadržaju prehrambenih vlakana između *C. arabica* i *C. canephora* srebrne pokožice. Zbog velike količine prehrambenih vlakana otvara se mogućnost korištenja srebrne pokožice kao sirovine za razvoj funkcionalne hrane (Klingel i sur., 2020).

Vrijednosti pepela su visoke, što se pripisuje mineralima. Mineralni sastav sastoji se uglavnom od kalija, magnezija i kalcija (oko 5 g, 2 g i 0,5 g na 100 g srebrne pokožice). Osim kalija, magnezija i kalcija u pokožici kave mogu se pronaći i razni drugi minerali kao što su željezo, mangan, bakar, fosfor, aluminij i drugi (Ballesteros i sur., 2014).

Sadržaj proteina je zabilježen u značajnijim koncentracijama oko 18 % (Ballesteros i sur., 2014). Ostali nutrijenti kao što su masti su pronađeni u manjim koncentracijama (Bessada i sur., 2018). Sadržaj kofeina u pokožici kave nakon prženja kreće se oko 0,8 i 1,4 g/100 g, što je poprilično slično količini kofeina u zrnu kave (1,0 % - 1,2 % u *C. arabica*, 1,6 % - 2,5 % *C. robusta*) (De Marco i sur., 2018).

Iriondo-DeHond i sur. (2017) istraživali su akutnu toksičnost vodenog ekstrakta srebrne pokožice na štakorima s jednom dozom od 2000 mg kg⁻¹ te nisu primijetili nikakve znakove toksičnosti, abnormalnog ponašanja ili smrtnosti. Ekstrakt također nije pokazao citotoksičnost na MTT testu na HepG2 stanicama. U istom su istraživanju ispitnim štakorima oralnim putem dali otopinu srebrne pokožice koncentracije 1 g kg⁻¹, nakon čega nisu uočeni negativni utjecaji na izlučivanje hormona niti antioksidativnih i protuupalnih biomarkera.

2.1.1.3. Mogućnost iskorištenja srebrne pokožice

S obzirom na prehrambeni i kemijski sastav, antioksidacijsku aktivnost i sadržaj bioaktivnih spojeva, srebrna pokožica se čini posebno zanimljivom kao proizvod koji bi se mogao koristiti u prehrambenoj, kozmetičkoj i farmaceutskoj industriji (Bessada i sur., 2018).

Srebrna pokožica bi se zbog svog sastava mogla koristiti kao izvor prehrambenih vlakana, u pekarskim proizvodima, u proizvodnji napitaka (čaj) ili kao aditiv za aromu dima. Osim toga, ekstrakti pokožice mogli bi se koristiti kao prirodne boje i kao izvor prehrambenih vlakana u keksima. Također, mogla bi poboljšati kvalitetu, trajnost i senzorska svojstva kruha. Moguća je i implementacija srebrne pokožice u antioksidativne napitke koje su Mertinez-Saez i sur. (2014) pripremali sa svrhom kontrole tjelesne težine (Klingel i sur., 2020). Pokožica kave potencijalni je kandidat za zamjenu sintetičkih kemikalija kao aktivnih sastojaka u kozmetičkim formulacijama, zbog svog visokog antioksidativnog potencijala, fenolnih spojeva, melanoidina i kofeina (Bessada i sur., 2018).

Segafredo Zanetti u Italiji sakupljaju srebrnu pokožicu kave, nusproizvod postupka prženja, te ga pretvaraju u pelete i prodaju kao gorivo za grijanje. (Klingel i sur., 2020). S druge strane, švedska grupa Löfbergs je uspostavila suradnju s tvrtkom koja se bavi 3D printanjem. Suradnja se temelji na tome da otpad kave pretvori u potpuno nove proizvode i za potpuno novu svrhu. Teže tome da se do 2030. godine, u skladu s Agendom 2030 (Ministarstvo vanjskih i europskih poslova, 2015)., otpad kave svede na minimum te da proizvedu kružni ciklus iskorištavanja kave. Već sada razvijaju nove proizvode pomoću nusproizvoda kave i to tako da koriste srebrnu pokožicu kave i polipropilen, na temelju čega stvaraju trajni materijal i zanimljiv dizajn za postolja na kojima će se posluživati kava. Plan im je daljnjim razvojem upotrebljavati polipropilen iz recikliranih vrećica za kavu, time bi proizvedili postolja za posluživanje kave te učinili proizvodnju i iskorištavanje nusproizvoda kave 100 % kružnim ciklusom (Löfbergs, 2021).

2.2. PESTICIDI

Zbog povećanog broja i konstantnog rasta broja ljudi, postoji i povećana potreba za proizvodnjom velike količine hrane te osiguranja dostupnosti te hrane kroz cijelu godinu. Da bi mogli proizvoditi voće i povrće kroz svako godišnje doba te da bi osigurali velike prinose istih, primorani smo koristiti pesticide, odnosno sredstva za zaštitu bilja (Adams D., 2017).

Na prinos biljaka neprestano utječu štetni organizmi, stoga je prijeko potrebno zaštititi biljke i od takvih organizama kako bi osigurali kvalitetu ubranih proizvoda i visoku poljoprivrednu produktivnost. U tu svrhu dostupne su različite metode, kemijske i one koje nisu kemijske, kao što su uporaba otpornih sorti, rotacija usjeva, mehaničko plijevljenje, biološka kontrola. U kemijske metode spada uporaba sredstava za zaštitu bilja (Uredba br. 396/2005).

Pesticidi su tvari namijenjeni privlačenju, omamljivanju i uništavanju štetnika. Najčešća uporaba pesticida je kao sredstvo za zaštitu bilja, čija je zadaća zaštititi biljku od štetnih utjecaja

korova, gljivica ili insekata. Uporaba pesticida je toliko česta da je pojam *pesticid* postao sinonim za *sredstvo za zaštitu bilja*, iako on obuhvaća širi pojam jer se može koristiti i u nepoljoprivredne svrhe (Adams D., 2017). Sredstva za zaštitu bilja pripravci su koji se sastoje ili koji sadržavaju aktivne tvari i dodatne nepesticidne tvari (Jurak i Sabljak, 2020).

2.2.1. Ostaci pesticida u hrani

Ostaci pesticida mogu dospjeti u hranu i pitku vodu raznim putevima. Najčešći put kontaminacije je izravna kontaminacija proizvoda kao rezultat korištenja pesticida za suzbijanje štetnika na usjevima biljaka. Osim tretiranja biljaka, moguće je i tretiranje životinja kada ih se želi zaštititi od insekata ili drugih štetnika, zbog čega se pesticid izravno može unijeti u organizam životinje i zadržati se u njihovom tkivu. Do kontaminacije hrane može doći i kada u tlu zaostanu pesticidi od prethodnog usjeva koji onda putem korijena dopijevaju u biljku koja je zasađena na istom polju. Ako životinja konzumira tako kontaminirano bilje, pesticidi će se zadržati u tkivu životinje zbog čega na koncu imamo kontaminirano meso ili mlijeko. Ostaci pesticida u raznim poljoprivrednim proizvodima se trgovinom mogu transportirati na velike udaljenosti gdje će vjerojatno ponovo dospjeti u okoliš i kontaminirati druge prehrambene proizvode, na primjer kroz proizvodne procese ili kao stočna hrana. Rizik od kontaminacije pesticidima postoji i ako u skladištima i transportnim objektima zaostane pesticida koji bi mogli kontaminirati naknadno uskladištene proizvode (Davies i sur., 2004).

2.2.2. Dopuštene granice pesticida

Europska unija ima jedan od najstrožih sustava u svijetu za izdavanje odobrenja i kontrolu upotrebe pesticida. Prema EU zakonodavstvu sredstva za zaštitu bilja ne smiju se stavljati na tržište bez prethodnog odobrenja, a svaka aktivna tvar sadržana u sredstvu za zaštitu bilja, mora se dokazati sigurnom za zdravlje ljudi, životinja i sigurnom za okoliš (Palfi i sur., 2020). Države članice EU moraju propisati pravilnu uporabu sredstava za zaštitu bilja. Pravilna uporaba uključuje primjenu načela dobre poljoprivredne prakse kao i načela integrirane kontrole. Potrebno je osigurati da ostaci pesticida ne budu prisutni u razinama koje predstavljaju neprihvatljivi rizik za ljude i, gdje je to bitno, za životinje. Maksimalna razina ostataka (MRO) je najviša razina ostataka pesticida koja je zakonom dozvoljena u ili na hrani ili hrani za životinje, a potrebno ju je utvrditi na najnižoj prihvatljivoj razini u skladu s dobrom poljoprivrednom praksom za svaki pesticid radi zaštite ranjivih skupina poput djece i nerođenih (Uredba br. 396/2005).

2.3. ODREĐIVANJE PESTICIDA

2.3.1. Utjecaj matrice

Hrana često predstavlja matricu vrlo složenog sastava iako se sastoji od četiri glavne komponente: ugljikohidrata, lipida, bjelančevina i vode. Sposobnost analitičke metode može uvelike ovisiti o matrici, ali velika raznolikost namirnica također ograničava praktičnost validacije novih analitičkih metoda za svaku matricu hrane. Iz tog razloga znanstvenici su predložili da se određeni tipovi hrane koriste kao referenca za druge tipove hrane slične prirode (Rathore, 2010). U svrhu smanjenja utjecaja matrice provodi se i tzv. podudaranje ili usporedba matrica (*eng. matrix match*). To je postupak kojim se provodi kalibracija i standardizacija instrumenta s ciljem usklađivanja glavnih kemijskih komponenti standarda, slijepe probe i uzorka kako bi se smanjio učinak matrice uzorka na rezultate. Učinci matrice često su uzrokovani promjenom učinkovitosti ionizacije ciljanih analita u prisutnosti spojeva koji koeluiraju u istoj matrici. U većini slučajeva, efekt matrice smatra se suzbijanjem (supresija iona) ili pojačavanjem (pobuđivanje iona) odgovora analita. Utjecaj matrice može voditi do lažno negativnih rezultata zbog supresije iona ili lažno pozitivnih rezultata, kad na primjer dođe do veće supresije signala standarda nego analita. To se može lako otkriti uspoređivanjem odgovora dobivenog iz standardne otopine i odgovora iz uzorka koji se obrađuje (Soliman i sur., 2020, Zhou i sur., 2017).

2.3.2. Plinska kromatografija vezana sa spektrometrijom masa (GC/MS)

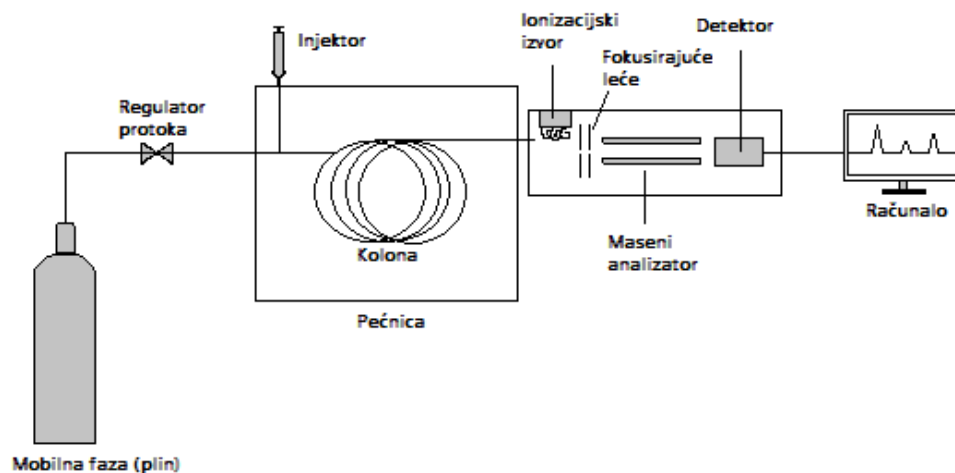
Kvalitativno i kvantitativno određivanje pomoću plinske kromatografije sa selektivnim detektorima potpomognuto masenom spektrometrijom je metoda koja prevladava u analizi ostataka pesticida (Kiljanek i sur., 2016). Kromatografija je tehnika kojom se razdvajaju pojedinačne komponente neke smjese. Plinska kromatografija je tehnika kojom se uzorak vaporizira, odnosno prevodi u plinovito stanje, a zatim se komponente razdvajaju na temelju različitih temperatura vrenja i sposobnosti vezanja za stacionarnu fazu u tekućem ili krutom stanju. Plinska kromatografija se najčešće koristi za analizu hlapljivih spojeva i spojeva niske molekulske mase i koristi se u raznim industrijama kao što su forenzika, prehrambena industrija, farmaceutska industrija, petrokemija (Shimadzu, 2020).

Kromatografske tehnike sadrže mobilnu i stacionarnu fazu. Mobilna faza u plinskoj kromatografiji je plinovita, a najčešće se koriste plinovi dušik, helij i vodik. Plin mora biti vrlo visoke čistoće i ne smije sadržavati tragove vode ili kisika koji mogu utjecati na stacionarnu

fazu. Kromatografska kolona može biti punjena ili kapilarna, a sama stacionarna faza može biti kruta ili tekuća. Razdvajanje sastojaka u plinskoj kromatografiji može se provoditi izotermno tj. pri stalnoj temperaturi ili temperaturnim gradijentom gdje dolazi do izmjene temperature. Temperaturni gradijent se koristi za razdvajanje sastojaka sa širokim rasponom hlapljivosti koji se ne mogu razdvojiti u prihvatljivom vremenu pri konstantnoj temperaturi (Kiljanek i sur., 2016).

Masena spektrometrija je postupak kojim se određuje točna masa elementa ili spoja. Može se koristiti u razne svrhe kao što su određivanje sastava nepoznatog uzorka, određivanje količine analita u uzorku, izotopskog sastava uzorka, strukture molekule, molarne mase molekule. Temelj rada masenog spektrometra je mogućnost razlikovanja iona različitih omjera mase i naboja (m/z) (Urban, 2016).

GC/MS uređaj čine plinski kromatograf koji je direktno spojen na maseni spektrometar (Slika 4).



Slika 4. Shematski prikaz GC/MS uređaja (Prilagođeno prema Shimadzu, 2020)

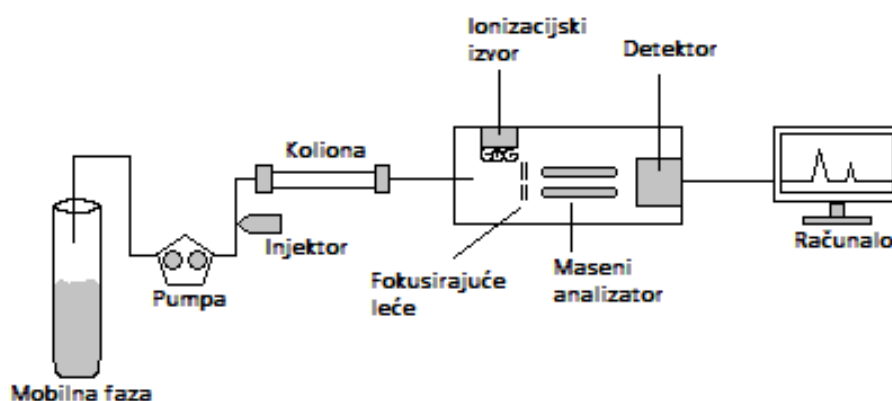
2.3.3. Tekućinska kromatografija vezana sa spektrometrijom masa (LC/MS)

Glavna razlika između GC/MS i LC/MS tehnike jest u kromatografiji. Osim što se razlikuju po tome što su im mobilne faze drugačije razlikuju se i po načinu separacije, spojevima koje je pomoću njih moguće odrediti te po tome što tekućinska kromatografija koristi niže temperature za razliku od plinske kromatografije koja radi na višim temperaturama. Princip rada i sam maseni spektrometar je jednak u obje tehnike, odnosno, po potrebi se mijenjanju ionizator, analizator ili detektor (Skoog i sur., 2014).

Tekućinski kromatograf je instrument u kojem se vrši analiza većinom polarnih analita razdvajanjem ciljanog analita na kromatografskoj koloni i detekcijom istog uz pomoć pogodne

tehnike detekcije. Tekućinska kromatografija je analitička tehnika koja se koristi za separaciju otopljenih tvari. Tvari iz otopina u različitoj mjeri stupaju u interakciju s nepokretnom i tekućom pokretnom fazom radi razlika u adsorpciji, ionskoj izmjeni, razdiobi među fazama ili veličini tvari koje se razdvajaju, te imaju različita vremena zadržavanja na kromatografskoj koloni (Fanali i sur., 2017). Stacionarnu fazu čine kolone, odnosno spojevi koji su vezani za kolonu, a najčešće su korišteni anorganski oksidi i porozni polimeri s različitim funkcionalnim grupama na površini. Kada je stacionarna faza manje polarna od mobilne ili kada je ona nepolarna tada se radi o reverzno-faznoj kromatografiji (RPC) koja je danas najčešće korištena separacijska tehnika u tekućinskoj kromatografiji. Nepolarna stacionarna faza kod RPC najčešće je na bazi kemijski modificiranog silikagela. Suprotno od reverzno-fazne kromatografije je kromatografija normalnih faza gdje je stacionarna faza polarnija od mobilne faze, a tada je stacionarna faza najčešće na bazi čistog silikagela. Mobilna faza u tekućinskoj kromatografiji je u tekućem stanju i pravilan izbor mobilne faze jedan je od najvažnijih koraka u razvoju kromatografske metode. Veliku ulogu pri izboru mobilne faze ima i polarnost otapala. Mobilna faza je uglavnom voda, organska otapala i puferi, a može biti polarna ili nepolarna. Često se radi o smjesi dvaju otapala. U slučaju kombinacije dvaju otapala tijekom analize, sastav mobilne faze može biti konstantan, tada je riječ o izokratnoj eluaciji. Suprotno tome, ako se sastav mobilne faze mijenja s vremenom, govorimo o gradijentnoj eluaciji (Skoog i sur., 2014; Stachniuk i Fornal, 2015).

LC/MS uređaj čine tekućinski kromatograf koji je direktno spojen na maseni spektrometar (Slika 5).



Slika 5. Shematski prikaz LC/MS uređaja (Prilagođeno prema Stachniuk i Fornal, 2015)

2.4. MINERALI

Nutrijenti u hrani se grupiraju u dvije glavne skupine: makronutrijente i mikronutrijente. Glavna razlika je ta da su makronutrijenti tijelu potrebni u velikim količinama, dok su mikronutrijenti tijelu potrebni u puno manjim količinama (Akram i sur., 2020). Makronutrijenti su hranjive tvari koje svojom razgradnjom osiguravaju energiju organizmu. U skupinu makronutrijenata pripadaju ugljikohidrati, prehrambena vlakna, masti, masne kiseline, kolesterol, bjelančevine i aminokiseline. Pod mikronutrijente se ubrajaju minerali (esencijalni anorganski mikronutrijenti) i vitamini (esencijalni organski mikronutrijenti). Iako su u prehrani potrebni u jako malim količinama, iznimno su važni za funkcioniranje organizma. Vitamini i minerali su čovjeku potrebni kroz cijeli život, a njihovu potrebnu količinu diktiraju fizička aktivnost, trudnoća, starost ili specifične dijete (Akram i sur., 2020; Vranešić Bender i Krstev, 2008).

Minerali su anorganski elementi koje čovjekovo tijelo ne može sintetizirati, već ih mora unijeti hranom. Postoje esencijalni minerali koji su prijeko potrebni za funkcioniranje ljudskog organizma, dok s druge strane postoje i oni koji su veoma toksični. Prirodno su prisutni u tlu i vodi, a u hranu dospijevaju tako što ih biljke apsorbiraju iz tla, a zatim se prehrabnim lancem prenose i u životinje. Minerali su ključni elementi ljudskog organizma i potrebni su za izgradnju i funkciju važnih biomolekula u tijelu. Iako nisu izvor energije važni su za održavanje normalnih bioprocasa u ljudskom organizmu. Mineralne tvari prisutne u ljudskom organizmu mogu se podijeliti na makromineralne i mikromineralne, odnosno minerale u tragovima (Akram i sur., 2020).

2.4.1. Makrominerali

Makrominerali su u tijelu prisutni uglavnom u ionskom obliku. Primjerice, natrij, kalij i kalcij su pozitivno nabijeni ioni (kationi), dok su u skupinu negativno nabijenih iona (aniona) uključeni klor, sumpor (sulfati) i fosfor (fosfati). Osim toga, mineralne tvari se mogu pojaviti i kao komponente organskih spojeva, poput fosfoproteina, fosfolipida i metaloenzima poput hemoglobina (Vranešić Bender i Krstev, 2008). U grupi makrominerala najznačajniji su kalij, kalcij, natrij, magnezij, fosfor, klor i sumpor, jer je njihov dnevni unos za odraslog čovjeka veći od 100 mg dnevno (Prashanth i sur., 2015).

Kalij se u prirodi nalazi u obliku soli, kao što su kalijev klorid ili kalijev nitrat. Većina kalija nalazi se u mišićima i stanicama nemasnog tkiva. Ima ga u većini namirnica i dobro se apsorbira u organizam. Normalne funkcije organizma ovise o strogoj regulaciji koncentracije kalija unutar i izvan stanice. Kalij ima ključnu ulogu u stvaranju živčanih impulsa potrebnih za normalan rad mišića. Pomaže u održavanju normalnog krvnog tlaka, a kao elektrolit odgovoran

je za prijenos elektrona i održavanje ravnoteže pH u organizmu. Posebno dobar izvor kalija su voće i povrće, mlijeko, jogurt te svježe meso (Borić i Ivankić, 2015).

Kalcij je jedan od najrasprostranjenijih elemenata u prirodi i najrasprostranjeniji je mineral u ljudskom organizmu. Gotovo sav se nalazi u koštanom tkivu i zubima, dok vrlo malih količina ima u krvi i mekim tkivima. Za održavanje normalnih fizioloških funkcija koncentracija kalcija u krvi i izvanstaničnoj tekućini mora biti u odgovarajućem rasponu. U suprotnom može doći do demineralizacije koštanog tkiva jer se u slučaju manjka kalcija, isti crpi iz kostiju. Bitan je za rad mišića, živčanog sustava i ima ulogu u zgrušavanju krvi. Najpoznatiji izvor kalcija su mliječni proizvodi, a sadrže ga određene žitarice i povrće (Borić i Ivankić, 2015).

Natrij u ljudski organizam u najvećim količinama dopijeva iz natrijevog klorida, odnosno kuhinjske soli. Zajedno s kalijem, natrij je elektrolit koji sudjeluje u održavanju elektrokemijskog potencijala staničnih membrana. Najveći izvor natrija u prehrani je sol, a namirnice koje sadrže relativno visoke koncentracije soli su u pravilu prerađena hrana poput hrenovki, čipsa i grickalica, suhomesnatih proizvoda i gotove hrane (Borić i Ivankić, 2015; Wilck i sur., 2019).

Magnezij pomaže u održavanju rasta kostiju te je ključan u regulaciji srčanog ciklusa i funkcioniranju mišića i živčanog sustava. Nedostatak magnezija je rijedak slučaj, no ako dođe do nedostatka javlja se hipomagnezijemija i neuro-mišićna nadražljivost (Akram i sur., 2020). Magnezij je dio klorofila (zelenog pigmenta u biljkama) pa je povrće izvrstan izvor magnezija, osim toga bogat izvor magnezija su i nerafinirane žitarice te orašasti plodovi (Borić i Ivankić, 2015).

2.4.2. Mikrominerali

Mikrominerali ili elementi u tragovima čine grupu esencijalnih minerala koji su potrebni u malim količinama kako bi svakodnevni metabolički procesi neometano tekli. Smatraju se elementima u tragovima jer bi njihova dnevna potreba trebala biti ispod 100 mg, iznad te količine mogu biti toksični za zdravlje. No, do velikog utjecaja na zdravlje dolazi i ako dođe do deficita nekog od elemenata u tragovima (Akram i sur., 2020 i Prashanth i sur., 2015). Elementi u tragovima uključuju željezo, bakar, cink, jod, mangan, selenij, krom, fluor, molibden i nikal. Minerali u tragovima toksični su pri unosu koji nije puno veći od preporučenoga, tako da je važno da uobičajeni unos nije veći od gornje granice preporučenoga (Vranešić Bender i Krstev, 2008).

Željezo je neophodno za metabolizam u gotovo svim živim bićima, a u ljudskom je organizmu važan sastavni dio mnogih bjelančevina i enzima. Element je hemoglobina, crvenog pigmenta u eritrocitima, koji krvi daje crvenu boju i sudjeluje u prijenosu kisika po organizmu. U velikim

količinama željezo je vrlo otrovno. Slobodno željezo u stanicama može dovesti do stvaranja slobodnih radikala i uzrokovati stanična oštećenja. Cink je vrlo bitan mineral u tragovima i u ljudskom je organizmu prisutan gotovo kao i željezo, a ima ga u očima, mozgu, gušterači, bubrezima i jetri. Sudjeluje u katalitičkim, strukturalnim i regulacijskim funkcijama organizma. Potreban je za pravilnu funkciju inzulina te za sintezu bjelančevina i deoksiribonukleinske kiseline. Bakar se u organizmu najviše pronalazi u jetri i mozgu te u bubrezima, gušterači i srcu. Bakar pomaže tvorbi hemoglobina i neophodan je za stvaranje eritrocita. Mangan je mineral koji je istovremeno prehrambeno bitan i potencijalno toksičan. U organizmu se nalazi u mitohondrijima, a najviše ga ima u kostima, jetri, gušterači i bubrezima. Što je niža njegova razina u krvi to je bolja apsorpcija u organizam. Bitan je za normalan rast i razvoj te je strukturni dio određenih enzima i pomaže u aktivaciji drugih. Selen ima važnu ulogu u održavanju zdravlja tkiva i mišića. Sudjeluje u regulaciji hormona štitnjače (Borić i Ivankić, 2015).

Vrlo je važno naglasiti da iako mikrominerali doprinose pozitivnom radu ljudskog organizma, unesu li se količine veće od dopuštenih oni mogu djelovati vrlo toksično na organizam, ali isto tako ukoliko ih ne unosimo dovoljno može doći do poremećaja u organizmu. Osim toga, većina mikrominerala su zapravo metali u tragovima koji ulaze i u skupinu teških metala. Teški metali su opasni ako ih u organizam unesemo u prevelikim količinama (Vranešić Bender i Krstev, 2008).

2.5. METALI

Metali i slitine (legure) dolaze u dodir s hranom uglavnom tijekom proizvodnje (procesna oprema), pripreme (pribor) i čuvanja (metalna ambalaža: limenke, spremnici, aluminijska folija) hrane. Mogu dovesti u opasnost i zdravlje potrošača, ukoliko ukupna koncentracija metala prijeđe preporučena ograničenja ili mogu dovesti do neželjenih organoleptičkih promjena u hrani (Galić K., 2010). Naravno, osim što u dodir s hranom dolaze tijekom proizvodnje, pripreme i čuvanja, neki metali u hranu dopijevaju iz okoliša, odnosno iz tla i vode te se dalje prenose hranidbenim lancem ili se pak u hrani već nalaze u obliku esencijalnih minerala (Akram i sur., 2020).

2.5.1. Teški metali

Teški metali su jedan dio velike grupe metala. Prva asocijacija na pojam teški metali je uglavnom nešto opasno i štetno, no to u stvarnosti ne mora biti tako. Teški metali su skupina metala koja ima gustoću veću od 5 g cm^{-3} . Stoga u tu skupinu se ubraja jako velik broj metala,

od kojih su neki esencijalni, elementi u trgovima važni za funkcioniranje ljudskog organizma, ali i oni neesencijalni, tj. štetni metali (Vranešić Bender i Krstev, 2008).

Zbog svoje postojanosti, visoke otrovnosti i sklonosti da se akumuliraju u ekosustavu, teški su metali opasni za žive organizme. Teški metali koji djeluju isključivo toksično i nisu biogeni su kadmij, olovo i živa. Njihova toksičnost ovisi o nekoliko čimbenika, uključujući dozu, način izlaganja i kemijsku vrstu, kao i starost, spol, genetiku i stil života. Zbog visokog stupnja toksičnosti osim kadmija, olova i žive, od velikog značaja su i arsen i krom (Tchounwou i sur., 2012).

Ukoliko dođe do trovanja teškim metalima između ciljnih organa na koje djeluju teški metali, posebno su osjetljiva tkiva poput bubrega, jetre i centralnog živčanog sustava. Metali pokazuju afinitet za razne ligande organskih molekula, posebice proteina. Stanična membrana s mnogo osjetljivih liganada (proteina) prvi je stupanj u djelovanju metala, zbog čega može doći do promjene u raspodjeli iona, promjene transmembranskog potencijala, blokiranja aktivnog transporta ili čak do kompletnog razaranja membranske strukture (Rai i sur., 2019).

2.5.2. Dopuštene granice teških metala

Na tržište se ne smije staviti hrana koja sadrži neprihvatljivu odnosno štetnu količinu kontaminanata u hrani. S obzirom na to da je utvrđeno da se teški metali prenose hranidbenim lancem, njihova se prisutnost očekuje u tlu i vodi odakle će ih crpiti biljke, a zatim i životinje te preko kojih će završiti u probavi čovjeka. Iz tog razloga potrebno je pratiti koncentracije esencijalnih metala, kao i koncentracije neesencijalnih, tj. toksičnih metala u okolišu. Još jedan razlog zašto je vrlo važno pratiti koncentracije teških metala u hrani je taj što su razna istraživanja tvrde da teški metali mogu biti kancerogeni, mutageni i teratogeni (Rai i sur., 2019).

Dokumenti na koje se treba pozivati pri analizi kontaminanata u hrani su u Republici Hrvatskoj Pravilnik o najvećim dopuštenim količinama određenih kontaminanata u hrani koji propisuje najveće dopuštene količine određenih kontaminanata koji se mogu nalaziti u hrani, a u tu skupinu se ubrajaju i svi metali i nemetali, a na razini Europske Unije objavljena je Uredba komisije (EZ) br. 1881/2006 o utvrđivanju najvećih dopuštenih količina određenih kontaminanata u hrani.

2.6. ODREĐIVANJE MINERALA I METALA

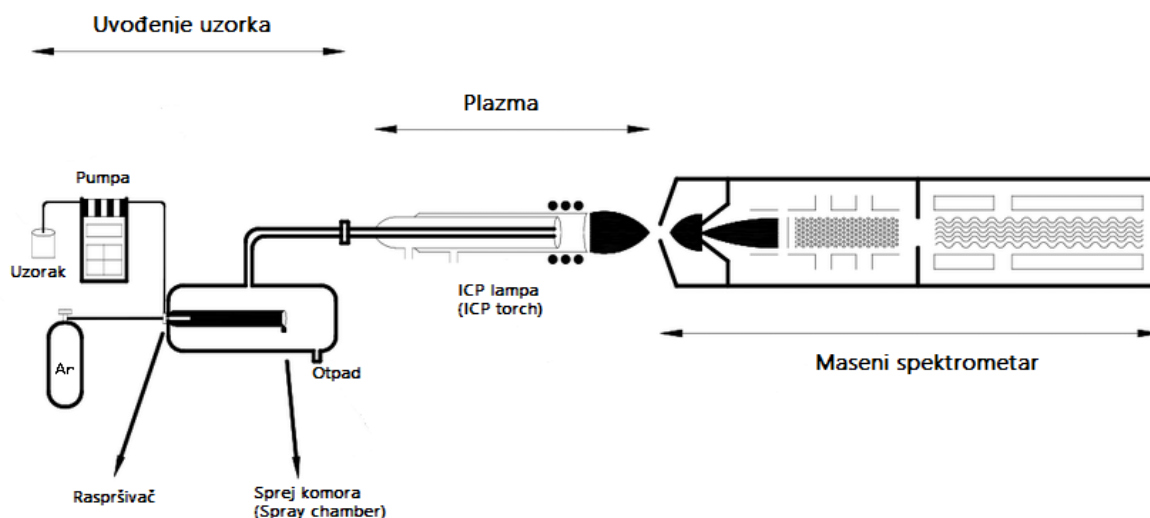
U istraživanjima koja se bave određivanjem minerala, odnosno metala u hrani pa i u drugim sirovinama najčešće se koriste metode induktivno spregnute plazme povezane s masenim

spektrom (ICP-MS) ili pak induktivno spregnuta plazma povezana s optičkom emisijskom spektrofotometrijom (ICP-OES).

2.6.1. Induktivno spregnuta plazma s masenim spektrometrom (ICP-MS)

Plazma je četvrto agregatno stanje, sastoji se od pozitivnih i negativnih nabijenih iona i pobuđenih čestica koje se nasumično kreću u svim smjerovima. Plazma se u ICP-MS-u koristi za ionizaciju elemenata koji se analiziraju. Već je poznata činjenica da kada zagrijavamo čvrstu tvar ona postepeno prelazi u tekućinu, a zatim i u plinovito stanje, zbog pobuđivanja čestica od kojih je tvar građena. Kada se tvar nastavi zagrijavati i nakon što je postignuto plinovito stanje čestice se pobuđuju i kreću se u svim smjerovima te se ioniziraju i postaju nabijene čestice koje se slobodno kreću, to stanje se naziva plazmom (Nageswaran i sur., 2017).

ICP-MS (Slika 6) je vrsta masene spektrometrije koja je sposobna detektirati metale i neke nemetale u jako niskim koncentracijama. To je moguće zato što se uzorak ionizira pomoću induktivno spregnute plazme (ICP), a zatim se na masenom spektrometru ioni razdvajaju prema omjeru mase i naboja te se kvantificiraju. U usporedbi s atomskom apsorpcijskom spektrometrijom, ICP-MS je brža, preciznija i osjetljivija metoda (Chirayil i sur., 2017).



Slika 6. Shematski prikaz ICP-MS (Kashani i Mostaghimi, 2010)

2.7. VLAKNA

Tijekom godina definicija vlakana se mijenjala nekoliko puta pa i danas postoje razne definicije, no najčešće se prehrambena vlakna definiraju kao tvari biljnog podrijetla koje su neprobavljive za enzime probavnog sustava čovjeka, a tu ubrajamo hemicelulozu, celulozu, lignin, oligosaharide, pektine, gume i voskove (Fuller i sur., 2016). Najpoznatiji i najtipičniji izvor prehrambenih vlakana su žitarice, iako i druge namirnice poput nekih mahunarki, mogu pružiti

dovoljne količine vlakana (Guiné i sur., 2016). Vlakna pomažu probavnom sustavu preraditi i apsorbirati hranjive tvari, te sudjeluju u kontroli apetita tako što potiču osjećaj sitosti (Borić i Ivankić, 2015). Zdravstvena dobrobit prehrambenih vlakana dobro je istražena i dokumentirana u literaturi tijekom posljednja dva desetljeća. Smanjena konzumacija, odnosno nedostatak prehrambenih vlakana u prehrani dovodi do brojnih problema i bolesti kao što su konstipacija (zatvor), upala slijepog crijeva, dijabetes, bolesti srca i krvožilnog sustava, žučni kamenac i druge (Fuller i sur., 2016). Ukoliko je prehrana bogata vlaknima smanjuje se rizik oboljenja od prethodno navedenih bolesti, a isto tako razna literatura potvrđuje da se povećanom konzumacijom prehrambenih vlakana smanjuje krvni tlak i razine kolesterola u krvnom serumu, sprječava se nagomilavanje kilograma i ubrzava gubitak istih te se smatra da poboljšava imunološku funkciju kroz zdravlje crijeva te interakcije vlakana i mikrobiote (Olive Li i Komarek, 2016).

2.7.1. Netopljiva prehrambena vlakna

Netopljiva prehrambena vlakna prolaze kroz probavni sustav gotovo nepromijenjena, iako se jedan manji dio može fermentirati pomoću bakterija u debelom crijevu. Ona imaju mogućnost vezanja vode, zbog čega bubre i povećavaju svoju težinu do čak 15 puta, daju volumen fecesu, sprječavaju opstipaciju te potiču peristaltiku crijeva. Nalaze se uglavnom u mekinjama, integralnim žitaricama i kori voća, a manje se zastupljena u samom voću, povrću i mahunarkama. Netopljiva prehrambena vlakna se najvećim dijelom sastoje od celuloze, hemiceluloze, lignina te nekih vrsta pektina (protopektina) (Gaćina, 2014).

Celuloza je najrasprostranjenije prehrambeno vlakno u prirodi i glavna je komponenta stanične stijenke biljke. Građena je kao nerazgranati lanac od nekoliko tisuća molekula glukoze, povezanih β -1,4-glikozidnom vezom. Mehanička čvrstoća, otpornost na biološku razgradnju, niska topljivost u vodi i otpornost na hidrolizu rezultat su vodikovih veza unutar molekule celuloze. Enzimi ljudskog gastrointestinalnog sustava ju ne mogu probaviti (Ciudad-Mulero i sur., 2019).

Hemiceluloza je također građena od molekula glukoze povezanih β -1,4-glikozidnom vezom, ali se od celuloze razlikuje po tome što je manje veličine, može sadržavati razne šećere i obično je razgranata. Uglavnom je građena od ksiloze, galaktoze, manoze, arabinoze i drugih vrsta šećera (Ciudad-Muleroi sur., 2019).

Lignin je drvenasto biljno vlakno koje se ne može razgraditi enzimima probavnog sustava niti enzimima crijevne mikroflore. Lignin se nalazi u vanjskim tkivima zrna žitarica, u cijelom zrnu kao biljno vlakno i u brašnu koje se industrijski ekstrahira iz zrnja. Zbog jakih intramolekularnih veza,

koje uključuju veze ugljik-ugljik, lignin je vrlo inertan te pokazuje veću otpornost od bilo kojeg drugog polimera u prirodi (Ciudad-Muleroi sur., 2019).

2.7.2. Topljiva prehrambena vlakna

Topljiva prehrambena vlakna otapaju se tijekom procesa probave tvoreći viskoznu masu nalik na gel. U ovu skupinu se ubrajaju pektini, gume, sluzi, polisaharidi algi, karagenan i agar. Topljiva vlakna su podložna fermentaciji u debelom crijevu pri čemu nastaju kratkolančane masne kiseline koje organizam koristi kao energetski materijal. Njihovo fiziološko djelovanje očituje se u smanjenju koncentracije kolesterola, triglicerida i glukoze u krvi tj. usporavaju resorpciju glukoze iz tankog crijeva, te im se zbog toga prepisuje zaštitno djelovanje na kardiovaskularne bolesti i dijabetes (Gaćina, 2014).

Pektini su složena skupina polisaharida čiji je glavni sastojak D-galakturonska kiselina. Nalaze se u staničnoj stijenci biljke kao strukturne komponente. Pektin je vrlo topljiv u vodi i gotovo ga u potpunosti metaboliziraju bakterije debelog crijeva. Zbog mogućnosti geliranja, mogu smanjiti brzinu pražnjenja želuca (Mudgil, 2017). U prehrambenoj industriji se koriste kao stabilizatori, kao sredstvo za postizanje bolje konzistencije i kao sredstvo za želiranje (Gaćina, 2014).

Gume su biljna vlakna koja proizvode posebne sekretorne stanice. Gume su polisaharidi vrlo razgranate strukture koji stvaraju gelove, vežu vodu i druge organske tvari. One se ne razgrađuju u čovjekovom probavnom sustavu i otporne su na probavne enzime. U ovu se skupinu najčešće ubrajaju guar gume i gume arabika. U prehrambenoj industriji se koriste za poboljšavanje teksture hrane, zadržavanje vlage i općenito povećanje kvalitete proizvoda prilikom skladištenja (Ciudad-Mulero i sur., 2019).

Sluzi su polimeri ugljikohidrata s galakturonskom kiselinom kao glavnom komponentom. Izdvajaju se iz raznih dijelova biljki kao npr. iz korijena i endosperma. Sluzi netopljive u vodi mogu apsorbirati velike količine vode, a sluzi topljive u vodi mogu stvarati viskozne otopine. U prirodi se mogu pronaći u korijenju i sjemenju bilja, a funkcija im je zaštita biljaka od isušivanja, a najvećim količinama se nalaze u algama i morskoj travi (Ciudad-Mulero i sur., 2019).

Polisaharidi algi se također ubrajaju u topljiva prehrambena vlakna, a takvi polisaharidi su npr. alginat, karagenan i agar. Ta se prehrambena vlakna smatraju dobrima za ljudsko zdravlje jer imaju pozitivan utjecaj na probavu. Alginati se ekstrahiraju iz smeđe morske alge, dostupni su u obliku soli i kiseline. Koriste se u proizvodnji prerađene hrane, kozmetičkih krema, kartona i papira te u farmaceutskoj industriji. Sadrže svojstvo zadržavanja vode, stvaranja filmova i gelova te sposobnost stabilizacije emulzija i disperzija zbog čega je našao široku primjenu u različitim industrijama. Karagenan je biomolekula građena od linearnih polisaharidnih lanaca

koje imaju sulfatne skupine vezane za šećer. Njegova kemijska svojstva omogućavaju da se u potpunosti otopi u vodi i stvori vrlo viskoznu otopinu koja ostaje stabilna na velikom rasponu pH vrijednosti (Usman i sur., 2017). Agar je linearni polimer koji se dobiva ekstrakcijom iz crvenih morskih algi. Sastoji se od dvije glavne frakcije: agaroze, nenabijene frakcije koja je odgovorna za sposobnost geliranja, te nabijene frakcije – agaropektina. Agar se upotrebljava u prehrambenoj i farmaceutskoj industriji te u mikrobiološkim laboratorijima zahvaljujući svojim svojstvima geliranja, biorazgradivosti i netoksičnosti (Liu i sur., 2017).

2.8. ISKORIŠTAVANJE NUSPROIZVODA KAO TEMELJ ODRŽIVE PROIZVODNJE

Sva razvijena gospodarstva uključujući i europsko gospodarstvo nastoje u što većoj mjeri uvesti model održivog razvoja (*eng. sustainable development*). Temelj održivog razvoja je zadovoljiti potrebe sadašnje generacije, ali pri tome paziti da se ne ugroze mogućnosti ostvarivanja istih ciljeva u budućnosti. Održivi razvoj definiran je trima glavnim komponentama: 1. ekonomskom komponentom, koja se temelji na tome da je potrebno osigurati vlastiti gospodarski razvoj, 2. ekološkom komponentom koja ima fokus na održivosti budućeg razvoja i smanjenju zagađenja okoliša i 3. socijalnom komponentom koja se fokusira na osiguranje pravilne kohezije u društvu (Frajman-Jakšić i sur., 2010).

2015. godine je u New Yorku održan sastanak Ujedinjenih naroda (UN) o održivom razvoju na kojem je predstavljen novi program UN-a o održivom razvoju do 2030. godine (tzv. Agenda 2030). Glavnu okosnicu ove agende čine 17 ciljeva održivog razvoja i 169 detaljno razrađenih pod-ciljeva. Fokus ove agende je na iskorjenjivanju svih oblika i dimenzija siromaštva, uključujući i ekstremno siromaštvo što se smatra najvećim globalnim izazovom i osnovnim preduvjetom održivog razvoja (Ministarstvo vanjskih i europskih poslova, 2015).

Povećanje broja stanovništva, procvat ekonomije, brza urbanizacija i porast životnog standarda zajednice uvelike su ubrzali stvaranje čvrstog otpada u svijetu, posebno u zemljama u razvoju. Čvrsti otpad postao je jedno od globalnih pitanja zaštite okoliša. Stvaranje bilo kakvog otpada iscrpljuje prirodne resurse, koristi energiju i vodu, vrši pritisak na zemlju, zagađuje okoliš i, konačno, stvara dodatne ekonomske troškove za gospodarenje otpadom. Posljednjih godina jedan od načina koji se predlaže kao način rješavanja ovih zabrinutosti jest koncept — "Zero Waste". To je koncept kojim se nastoji promijeniti dosadašnji ciklus proizvoda na način da se svi proizvodi recikliraju te da se smanji količina otpada koji će se slati na odlagališta i u spalionice. Ovaj postupak nastoji imitirati postupak koji se odvija s obnovljivim prirodnim resursima. U sustavu bez otpada protok materijala ide u krug, što znači da se isti materijali koriste iznova i iznova dokle god imaju mogućnost iskorištenja. Stoga se na kraju svog ciklusa

proizvodi ponovno koriste, popravljaju, prodaju ili preraspodjeljuju unutar sustava. Ako ponovna upotreba ili popravci nisu mogući, mogu se reciklirati i koristiti kao ulazni materijal, zamjenjujući potražnju za korištenjem prirodnih resursa (Song i sur., 2014; Kumar i sur., 2021). Koncept "Zero Waste" može se povezati s pravilom "Three Rs" odnosno "Tri R" što se odnosi na "Reduce, Reuse, Recycle" što u prijevodu znači "Smanji potrošnju, Ponovno iskoristi, Recikliraj" čime se također potiče ekološka svijest i čime se promiče svjesno ponašanje i izbor potrošača i proizvođača (Abdul-Rahman, 2014). Osim toga, ono što je puno zanimljivije i što se istražuje i na čemu se radi zadnjih nekoliko godina je kako iskoristiti otpad koji nastaje u prehrambenoj industriji kako bi se od njega stvorili novi prehrambeni proizvodi. Nusproizvodi u proizvodnji i preradi raznog voća, povrća, žitarica i drugih proizvoda su uglavnom dijelovi koji nisu jestivi kao što su ljuske, kore, koštice, stabljike, listovi i slično. No istraživanjima se utvrdilo da su baš ti dijelovi bogati antioksidansima, vitaminima, mineralima, vlaknima, proteinima i mnogim drugim makro i mikromolekulama koje imaju pozitivan utjecaj na ljudski organizam. Nutritivno bogatstvo nusproizvoda mora postati poticaj prehrambenoj industriji za iskorištavanje nusproizvoda u proizvodnji nekih drugih, nutritivno bogatih proizvoda, dodataka prehrani ili poticaj za iskorištavanje tih nusproizvoda za obogaćivanje postojećih prehrambenih proizvoda (Karche i Singh, 2019; Fike, 2016).

Upravo nusproizvod industrije kave – pokožica kave, može biti odličan primjer potpune održive proizvodnje i poticaj prehrambenoj industriji da uoči bogatstvo i sve mogućnosti koje nude nusproizvodi proizvodnje. Kada prehrambena industrija učini proizvodnju održivom i nusproizvod iskoristi za stvaranje potpune kružne proizvodnje, doći do smanjenja ukupnog otpada, smanjenja potrošnje prirodnih resursa te će se smanjiti negativan utjecaj na okoliš.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

3.1.1. Uzorci

U istraživanju su korišteni uzorci nusproizvoda nakon prženja kave, odnosno uzorci pokožice kave. Uzorci su dobiveni od hrvatske tvrtke za proizvodnju kave, čaja i snack proizvoda iz Zagreba, Franck d.d. Uzorci sadrže mješavinu kave *C. arabica* i *C. robusta* s obzirom na to da se u pogonu sakuplja nusproizvod iz svih pržionika, koji se zatim pretvara u brikete. Uzorci nusproizvoda dobiveni su u obliku briketa koji su se za potrebe istraživanja usitnjavali u prah (Slika 7) radi lakšeg provođenja analiza.



Slika 7. Uzorak pokožice kave (Vlastita fotografija)

3.1.2. Kemikalije

- Aceton (Lach-Ner, Neratovice, Češka)
- Acetonitril (Applichem, Darmstadt, Njemačka)
- Amonij formijat (GramMol, Zagreb Hrvatska)
- Argon, 99,9995 % (Messer, Bad Soden am Taunus, Njemačka)
- Certificirani referentni materijal elementa (CPACem, Bogomilovo, Bugarska)
- Destilirana voda
- Dušična kiselina (Gram-Mol, Zagreb, Hrvatska)
- Helij, 6.0 (Messer, Bad Soden am Taunus, Njemačka)

- Metanol (GramMol, Zagreb, Hrvatska)
- Mješavina soli magnezij-sulfata, natrij-klorida i citratnih soli (Citrates-Kit-01, BEKOlut, Bruchmühlbach-Miesau, Njemačka)
- Mješavina soli magnezij-sulfata, primarno sekundarnog amina i GCB-a (PSA-Kit-06, BEKOlut, Bruchmühlbach-Miesau, Njemačka)
- Natrijev hidroksid (T.T.T., Sveta Nedjelja, Hrvatska)
- Petrol-eter (Applichem, Chicago, SAD)
- Sumporna kiselina (Kemika, Zagreb, Hrvatska)
- Vodikov peroksid (Gram-Mol, Zagreb, Hrvatska)

3.1.3. Pribor i aparatura

- Automatska pipeta
- Dispenzor (10 ml, 50 ml)
- Eksikator
- Falcon epruvete (50 ml)
- Filter vrećice
- Porculanski lončići
- Staklene bočice (1,5 ml)
- Staklena čaša (500 ml)
- Stakleni lijevak
- Staklene tikvice (25 ml)
- Teflonske kivete
- Žličice
- Analitička vaga (NBL-254i, Nimbus Analytical Balances, Oxford, SAD)
- Centrifuga (Rotina 35, Hettich Zentrifugen, Tuttlingen, Njemačka)
- Mikrovalna pećnica (ultraWAVE, Milestone, Sorisole, Italija)
- Peć za žarenje (Degetherm Easy 4, Interdent, Celje, Slovenija)
- Sušionik (ST120L, Inkolab, Zagreb, Hrvatska)
- Uređaj za određivanje sirovih vlakana (ANKOM 2000, Ankom, Macedon, SAD)
- Uređaj za zavarivanje (AIE-200, Ankom, Macedon, SAD)
- Vortex tresilica (Dlab, MX-S, Peking, Kina)
- ICP-MS (ICP-MS 7900, Agilent, Santa Clara, SAD)

- LC-MS (UPLC-MS/MS, Xevo TQ MS, Waters, Milford, SAD)
- Kolona za LC-MS (ACQUITY UPLC BEH 150 x 2,1 mm; 1,7 μ m, Waters, Milford, SAD)
- Program za mjerenje: MassLynx (Waters, Milford, SAD)
- Program za analizu podataka: TargetLynxXS (Waters, Milford, SAD)
- GC-MS (GCMS-TQ8050 NX, Nexis GC-2030, Shimadzu, Kyoto, Japan)
- Kolona za GC-MS: (SH-Rxi-5Sil MS 30 m, 0.25 mmID; 0.25 μ m df, Restek, Bellefonte, SAD)
- Program za mjerenje: GC-MS Solution (Shimadzu, Kyoto, Japan)
- Program za analizu podataka: LabSolutions Insight GCMS (Shimadzu, Kyoto, Japan)

3.2. METODE

3.2.1. Određivanje ostataka pesticida

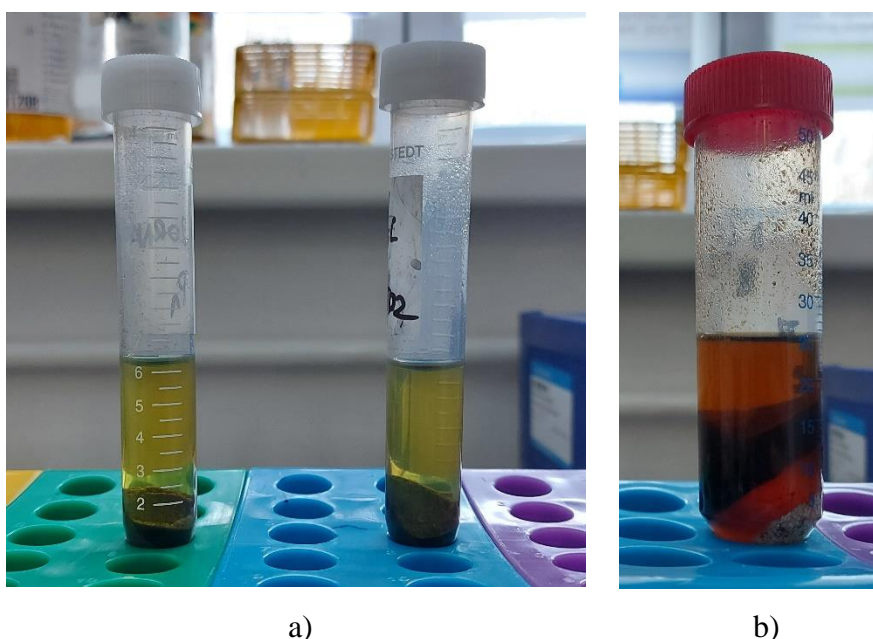
Uzorci za određivanje ostataka pesticida pripremljeni su metodom QuEChERS (*eng. Quick Easy Cheap Effective Rugged Safe*) prema Anastassiades i sur., 2003. Nakon toga su kvantificirani pomoću plinske i tekućinske kromatografije povezane s dvostrukom masenom spektrometrijom.

Priprema uzorka:

U kivetu od 50 ml odvaže se $2,0 \pm 0,03$ g usitnjenog i homogeniziranog uzorak pokožice kave te se doda 10 g vode. Pesticidi se iz uzorka ekstrahiraju dodatkom 10 ml acetonitrila, ekstrakcija kruto-tekuće. Zatim se dodaje komercijalno dostupna mješavina soli magnezij-sulfata i natrij-klorida i citratnih soli koje omogućavaju razdvajanje acetonitrilnog od vodenog sloja. Smjesa se snažno izmućka te centrifugira 5 min na >3000 okretaja/min. Za analizu na LC-MS/MS potrebno je uzeti 100 μ l sirovog acetonitrilnog ekstrakta te razrijediti s 900 μ l vode. Tako pripremljen ekstrakt snima se na LC-MS/MS-u.

Uzorci za analizu na GC-MS/MS-u moraju proći dodatan korak. Nakon centrifuge iz gornjeg organskog (acetonitrilnog) sloja uzima se alikvot od 6 ml te se odvaja u kivetu s komercijalno dostupnom smjesom soli magnezij-sulfata, primarno sekundarnog amina i GCB-a, s ciljem dodatnog pročišćavanja i uklanjanja pigmenata. Smjesa se dobro promućka te se stavlja na centrifugu 5 min na >3000 okretaja/min. Nakon toga se uzima 1 ml gornjeg sloja iz kivete i ulijeva u bočicu od 1,5 ml, tamnog stakla zbog mogućeg postojanja fotosenzibilnih pesticida.

Takav uzorak spreman je za analizu na GC-MS/MS-u. Na Slici 8b prikazano je kako izgledaju pripremljeni uzorci za tekućinsku kromatografiju te se vidi kako izgledaju slojevi nakon centrifugiranja, od gore prema dolje to su supernatant, čvrste tvari iz uzorka, voda i ostatak soli. Na Slici 8a prikazani su dodatno pročišćeni uzorci za analizu na plinskom kromatografu. Uz uzorke za analizu moraju se pripremiti uzorci u koje je nacijepljena točno poznata koncentracija standarda (tzv. spajkani uzorci) kako bi se umanjio utjecaj matriksa na rezultate. Za analizu na GC-MS/MS koncentracija standarda iznosila je $0,002 \mu\text{g ml}^{-1}$, a za analizu na LC-MS/MS koncentracija standarda iznosila je $0,05 \text{ mg kg}^{-1}$. Uzorci su pripremljeni i analizirani u dvije paralele uzorka te dvije paralele spajkanih uzoraka.



Slika 8. Pripremljeni uzorci za analizu pesticida na GC-MS/MS-u (a) te na LC-MS/MS-u (b) (Vlastita fotografija)

Identifikacija i kvantifikacija na instrumentima GC-MS/MS i LC-MS/MS:

Pripremljeni uzorci injektirani su i analizirani na oba instrumenta kako bi se odredio što veći broj pesticida. Uzorci koji su analizirani plinskom kromatografijom (GCMS-TQ8050 NX, Nexis GC-2030, Shimadzu, Kyoto, Japan) (Slika 9a) snimani su u programu GC-MS Solution, a podaci su obrađeni u programu LabSolutions Insight GCMS. Uzorci analizirani tekućinskom kromatografijom (UPLC-MS/MS, Xevo TQ MS, Waters, Milford, SAD) (Slika 9b) snimani su u programu MassLynx, a podaci su obrađeni u programu TargetLynxXS. Kromatografski uvjeti pod kojim su obavljena mjerenja plinskom i tekućinskom kromatografijom prikazani su u Tablici 1. Dobiveni kromatogrami analizirani su na temelju vremena zadržavanja komponenti

u uzorku i standardu te su kvalitativno identificirani pojedini pesticidi u uzorcima. Omjer površine ispod pika u uzorku i pojedinom standardu daje kvantitativnu informaciju tj. koncentraciju pesticida prisutnog u uzorku.

Tablica 1. Kromatografski uvjeti GC-MS/MS-a i LC-MS/MS-a

	<i>GC-MS/MS</i>	<i>LC-MS/MS</i>
<i>Instrument</i>	GCMS-TQ8050 NX, Nexis GC-2030, Shimadzu	UPLC-MS/MS, Xevo TQ MS, Waters
<i>Kolona</i>	SH-Rxi-5Sil MS 30 m, 0.25 mmID; 0.25 μ m df, Restek	ACQUITY UPLC BEH 150 x 2,1 mm; 1,7 μ m, Waters
<i>Mobilna faza</i>	Helij	A: 5mM amonij-formijat u smjesi vode i metanola (9:1) B: 5mM amonij-formijat u metanolu
<i>Protok</i>	1,4 ml min ⁻¹	0,4 ml min ⁻¹
<i>Temp. kolone</i>	105 °C	50 °C
<i>Temp. injektora</i>	290 °C	10 °C
<i>Temp. ionskog izvora</i>	250 °C	150 °C
<i>Volumen injektiranja</i>	1,0 μ l	30 μ l
<i>Vrijeme analize</i>	40.25 min	20 min



a)



b)

Slika 9. Instrument GC-MS/MS (a) i LC-MS/MS (b) korišteni za određivanje ostataka pesticida (Vlastite fotografije)

3.2.2. Određivanje minerala i teških metala

Uzorak pokožice kave najprije se razgrađuje i priprema za mjerenje, nakon čega se mjeri na instrumentu s induktivno spregnutom plazmom sa spektrometrom masa (ICP-MS).

Priprema uzorka:

U teflonsku kivetu mikrovalnog uređaja se najprije odvaže 0,5 g usitnjenog i homogeniziranog uzorka pokožice kave. U tako odvagani uzorak dodaje se 1 ml vode i ostavi stajati 1 sat nakon čega se dodaje 3 ml koncentrirane dušične kiseline te 1 ml 30 % vodikovog peroksida. Kiveta s uzorkom se zatvori te se stavlja u bubanj za mikrovalnu razgradnju (ultraWAVE, Milestone, Sorisole, Italija) (Slika 10). Po završetku postupka razgradnje, uzorak se hladi te se kiveta otvara, a bistra otopina se preko staklenog lijevka uz ispiranje deioniziranom vodom, kvantitativno prenese u odmjernu tikvicu volumena 25 ml.

Nakon što je uzorak pripremljen i spreman za mjerenje, ne smije sadržavati suspendirane čestice, u suprotnom se naknadno obrađuje. Prije početka mjerenja pripremaju se standardne otopine za kalibracijski pravac, nakon čega se pristupa mjerenju uzoraka. Uzorak je pripremljen i analiziran u dvije paralele.



Slika 10. Mikrovalna pećnica korištena za razgradnju uzorka (Vlastita fotografija)

Uvjeti rada:

Za analizu elemenata korištena je induktivno spregnuta plazma s masenim detektorom (ICP-

MS 7900, Agilent, Santa Clara, SAD) (Slika 11a) i automatskim uzorkivačem (Slika 11b), prema uvjetima u Tablici 2. Za rad instrumenta koriste se plinovi: argon čistoće 99,9995 % i helij čistoće 6.0. Pojedinačni standardi korišteni su za pripremu kalibracijskih pravaca. Za kalibracijski pravac svakog elementa postignuta je linearnost od $\geq 0,999$. Korišten je interni standard (Bi, Sc, Y, Ge) koncentracije $100 \mu\text{g L}^{-1}$.

Tablica 2. Kromatografski uvjeti ICP-MS-a

<i>ICP-MS</i>	
<i>Raspršivač</i>	MicroMist
<i>Injektor</i>	kvarcni
<i>Konusi</i>	nikal
<i>Rf-snaga</i>	1180 W
<i>Protok plina plazme</i>	$15,0 \text{ L min}^{-1}$
<i>Protok plina raspršivača</i>	$1,07 \text{ L min}^{-1}$
<i>Protok pomoćnog plina</i>	$0,90 \text{ L min}^{-1}$
<i>Vrijeme integriranja</i>	1000 ms
<i>Točke po piku</i>	100
<i>Broj replika</i>	5
<i>Vrijeme odgode</i>	30 s
<i>Vrijeme ispiranja</i>	70 s



a)



b)

Slika 11. Instrument ICP-MS (a) korišten za određivanje minerala i teških metala te njegov automatski uzorkivač (b) (Vlastite fotografije)

3.2.3. Određivanje sirovih vlakana

Određivanje sirovih vlakana u ovom diplomskom radu određeno je pomoću metode za određivanje masenog udjela sirovih vlakana u hrani iz AOAC-a (962.09). Sirova vlakna se definiraju kao ostatak nakon postupka razgradnje, sušenja i spaljivanja uzorka.

Postupak:

Uzorak pokožice kave ispitan je u šest paralela na način da je najprije odvagano 0,95-1,00 g uzorka u označene filter vrećice (Slika 12a). Pri tome se mora paziti da uzorak ne zahvati gornji dio vrećice koji će se kasnije zavariti pomoću uređaja za zavarivanje (Slika 12b) oko 4 mm od njenog vrha. Potrebno je izvagati i jednu praznu vrećicu koja će služiti kao slijepa proba. Svi uzorci se stave u čašu te preliju petrol-eterom da se ekstrahiraju masti. Tako prelivene vrećice ostave se stajati 10 minuta nakon čega se suše u eksikatoru. Vrećice se protresu kako bi se uzorak jednakomjerno rasporedio po vrećici i kako bi se razbile grudice. Vrećice se slažu u okvir (Slika 13a) koji se stavlja u uređaj za analizu sirovih vlakana (Ankom 2000, Ankom, Macedon, SAD) (Slika 13b). Nakon razgradnje u uređaju za analizu sirovih vlakana vrećice se hlade, a višak vode se oprezno istisne iz vrećica. Vrećice se potope u aceton i ostave stajati 3-5 min, nakon čega se suše. Tek kada su potpuno suhe, stavljaju se u sušionik na 102 ± 2 °C kroz 2-4 sata. Nakon sušenja se hlade i važu. Pepeo se zatim određuje spaljivanjem u prethodno izvaganim porculanskim lončićima na 600 ± 15 °C kroz 2 sata. Nakon hlađenja se ponovo važu.

Izračun:

Rezultati sirovih vlakana dobivaju se računom iz sljedećih formula:

$$C_1 = \frac{m(\text{vreć. nak. suš.}) - m(\text{pepela})}{m(\text{vreć.})} \quad /1/$$

$$m(\text{pepela}) = m(\text{lonč. nak. žar.}) - m(\text{lonč.}) \quad /2/$$

$$w(\text{vlakna}) = \frac{\{[m(\text{nak. suš.}) - m(\text{pepela})] - [m(\text{vreć.}) * C_1]\}}{m(\text{uzorka})} * 100 \quad /3/$$

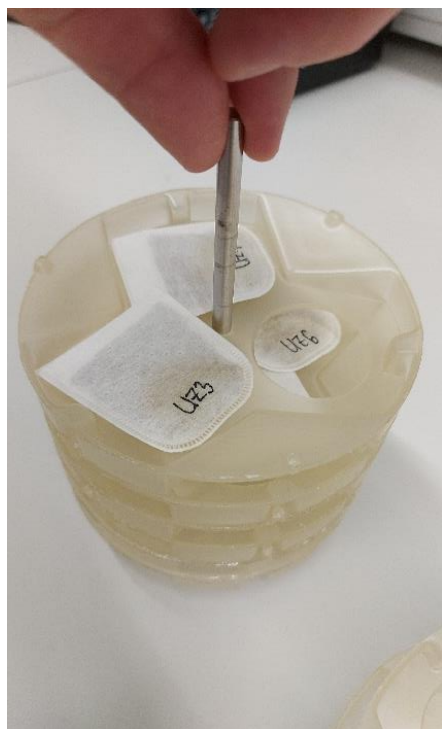


a)

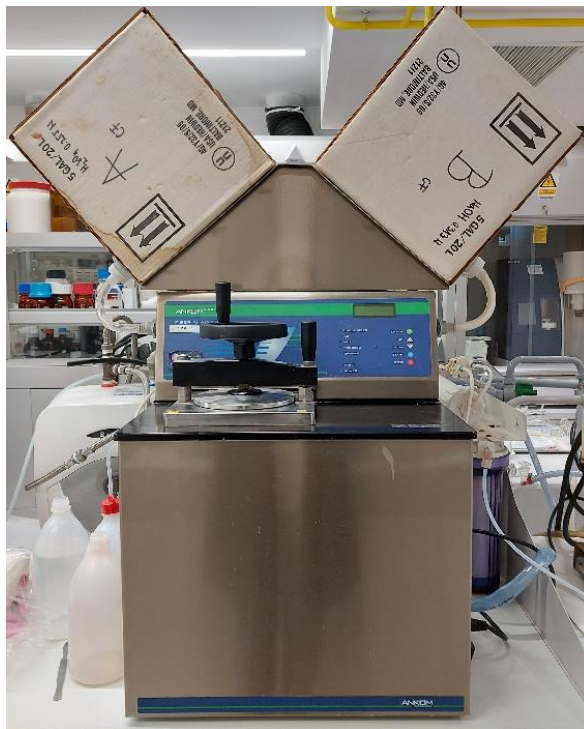


b)

Slika 12. Vrećice s izvaganim uzorkom (a). Prikaz zavarivanja vrećica na uređaju za zavarivanje (b) (Vlastite fotografije)



a)



b)

Slika 13. Kućište s vrećicama s uzorkom (a) i uređaj za analizu sirovih vlakana (b) (Vlastite fotografija)

4. REZULTATI I RASPRAVA

Cilj ovog rada bio je analizirati moguće ostatke pesticida i teških metala u uzorku pokožice kave te ujedno odrediti količinu minerala i vlakana. Na temelju tih rezultata cilj je utvrditi sadržaj li pokožica kave kontaminante štetne za ljudsko zdravlje te je li sirovina koja bi se mogla koristiti u proizvodnji novih prehrambenih proizvoda, u svrhu obogaćivanja već postojećih ili novih prehrambenih proizvoda ili kao dodatak prehrani.

U Tablicama 3 i 4 prikazani su svi pesticidi koji su uspješno kvantificirani, odnosno svi pesticidi koji su ispitani na uzorku pokožice kave, zajedno s njihovim vremenom zadržavanja te iskorištenjem. Tablica 5 prikazuje tri pesticida koja su detektirana u uzorku kave te njihove detektirane koncentracije (mg kg^{-1}). Slika 17 prikazuje detektirane teške metale i njihove koncentracije (mg kg^{-1}). Slika 18 prikazuje detektirane makromineralne i njihovu koncentraciju (mg kg^{-1}) u uzorku pokožice kave, dok Slika 19 prikazuje detektirane mikromineralne i njihovu koncentraciju (mg kg^{-1}). Tablica 6 prikazuje količinu sirovih vlakana određenih u uzorku pokožice kave izražene u g na 100 g.

4.1. PESTICIDI

Ostatci pesticida u uzorku pokožice kave određeni su pomoću LC-MS/MS i GC-MS/MS kako bi se identificirao što veći broj pesticida. Glavni razlog jest što navedene tehnologije nisu jednako osjetljive na sve pesticide. U Tablici 3 navedeni su svi pesticidi koji su uspješno kvantificirani pomoću GC-MS/MS-a. Osim pesticida navedenih u Tablici 3, nastojalo se ispitati veći broj pesticida no zbog nečistoća u uzorku i supresija (utjecaj vrlo složene matrice) uspješno je kvantificirano 128 pesticida. U Tablici 4 navedeno je 137 pesticida koji su uspješno kvantificirani pomoću LC-MS/MS-a. Također, zbog vrlo složene matrice manji broj pesticida nije se mogao kvantificirati.

Tablica 3. Prikaz pesticida analiziranih pomoću GC-MS/MS

	Analit	Vrijeme zadržavanja	Koncentracija ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	Iskorištenje
1	Diklobenil	6,86	0,0081±0,0002	0,81±0,02
2	Bifenil	7,77	0,0091±0,0002	0,91±0,02
3	Klormefos	9,20	0,0110±0,0010	1,10±0,10
4	Etridiazol	9,14	0,0074±0,0002	0,74±0,02
5	Krimidin	10,46	0,0087±0,0002	0,87±0,02
6	Kloroneb	10,53	0,0098±0,0001	0,98±0,01
7	Kloretoksifos	13,04	0,0051±0,0002	0,51±0,02
8	Difenilamin	13,25	0,0080±0,0002	0,80±0,02
9	Demeton-S-metil	13,75	0,0100±0,0000	1,00±0,00

10	Etalfluralin	14,03	0,0067±0,0002	0,67±0,02
11	Naled	14,05	0,0087±0,0002	0,87±0,02
12	Sulfotep	14,53	0,0093±0,0002	0,93±0,02
13	Benfluralin	14,60	0,0091±0,0002	0,91±0,02
14	Forat	14,89	0,0097±0,0002	0,97±0,02
15	Alfa-BHC	14,95	0,0087±0,0001	0,87±0,01
16	Heksaklorobenzen	15,06	0,0069±0,0009	0,69±0,09
17	Pentakloroanisol	15,39	0,0087±0,0001	0,87±0,01
18	Etoksikvin	15,95	0,0079±0,0002	0,79±0,02
19	Simazin	15,93	0,0105±0,0005	1,05±0,05
20	Beta-BHC	16,26	0,0080±0,0003	0,83±0,03
21	Propazin	16,40	0,0078±0,0002	0,78±0,02
22	Klomazon	16,40	0,0077±0,0002	0,77±0,02
23	Gama-BHC (lindan)	16,51	0,0091±0,0007	0,91±0,07
24	Terbufos	16,92	0,0081±0,0004	0,81±0,04
25	Terbutilazin	17,06	0,0073±0,0002	0,73±0,02
26	Profluralin	17,04	0,0085±0,0002	0,85±0,02
27	Flukloralin	17,62	0,0087±0,0003	0,87±0,03
28	Delta-BHC	17,95	0,0069±0,0001	0,69±0,01
29	Trialat	18,10	0,0082±0,0002	0,82±0,03
30	Teflutrin	18,29	0,0083±0,0002	0,83±0,02
31	Izobenzan	18,59	0,0105±0,0005	1,05±0,05
32	Iprobenfos	18,54	0,0076±0,0000	0,76±0,00
33	Tebupirimfos	18,56	0,0085±0,0003	0,85±0,03
34	Fosfamidon-2	19,11	0,0086±0,0004	0,86±0,04
35	Diklofention	19,27	0,0072±0,0003	0,72±0,03
36	Propanil	19,20	0,0092±0,0003	0,92±0,03
37	Klorpirifos-metil	19,50	0,0088±0,0008	0,88±0,08
38	Vinklozolin	19,76	0,0084±0,0004	0,84±0,04
39	Heptahlor	19,94	0,0090±0,0003	0,90±0,03
40	Simetrin	20,14	0,0048±0,0002	0,48±0,02
41	Propizoklor	20,14	0,0070±0,0004	0,70±0,04
42	Ametrin	20,35	0,0085±0,0000	0,85±0,00
43	Prometrin	20,52	0,0084±0,0002	0,84±0,02
44	Ditiopir	20,66	0,0079±0,0001	0,79±0,01
45	Fenpropidin	20,49	0,0090±0,0001	0,90±0,01
46	Fenitrotion	20,97	0,0077±0,0001	0,77±0,01
47	Pirimifos-metil	20,99	0,0071±0,0001	0,71±0,01
48	Terbutrin	21,05	0,0088±0,0001	0,88±0,01
49	Esprokarb	21,33	0,0080±0,0000	0,80±0,01
50	Malation	21,55	0,0079±0,0001	0,79±0,01
51	Tiazopir	21,65	0,0081±0,0001	0,81±0,01
52	Metolaklor	21,59	0,0089±0,0000	0,89±0,01
53	Fention	21,91	0,0078±0,0002	0,78±0,02
54	Klortal-dimetil	21,91	0,0085±0,0002	0,85±0,02
55	Fenson	22,50	0,0077±0,0002	0,77±0,02

56	Bromofos	22,64	0,0079±0,0001	0,79±0,01
57	Butralin	22,64	0,0090±0,0000	0,90±0,00
58	Nitrotal-izopropil	22,66	0,0087±0,0002	0,87±0,02
59	Pirimifos etil	22,94	0,0085±0,0001	0,85±0,01
60	Izofenfos-metil	23,07	0,0088±0,0001	0,88±0,01
61	Izopropalin	23,11	0,0081±0,0001	0,81±0,01
62	Penkonazol	23,52	0,0099±0,0001	0,99±0,01
63	Tolilfluaniid	23,73	0,0065±0,0003	0,65±0,03
64	Ciprodinil	23,70	0,0067±0,0002	0,67±0,02
65	(Z)-pirifenoks	23,67	0,0087±0,0000	0,87±0,00
66	Klozolinat	23,70	0,0057±0,0002	0,57±0,02
67	Bromfeninfos-metil	23,74	0,0088±0,0003	0,88±0,03
68	Izofenfos	23,72	0,0078±0,0000	0,78±0,00
69	(E)-Klorfenvinfos	23,80	0,0089±0,0000	0,89±0,01
70	Fentoat	23,93	0,0095±0,0001	0,95±0,01
71	Dimepiperat	24,00	0,0094±0,0002	0,94±0,02
72	Procimidon	24,08	0,0085±0,0001	0,85±0,01
73	Beflubutamid	24,15	0,0088±0,0001	0,88±0,01
74	Bromofos-etil	24,50	0,0079±0,0003	0,79±0,03
75	<i>o,p'</i> -DDE	24,61	0,0077±0,0002	0,77±0,02
76	Propafos	24,75	0,0082±0,0002	0,82±0,03
77	Tetraklorvinfos	24,81	0,0089±0,0002	0,89±0,02
78	Trans-klordan	24,89	0,0078±0,0000	0,78±0,00
79	Cis-klordan	24,89	0,0079±0,0001	0,79±0,01
80	Napropamid	25,02	0,0087±0,0002	0,87±0,02
81	Jodofenfos	25,38	0,0088±0,0001	0,88±0,01
82	Protiofos	25,56	0,0083±0,0003	0,83±0,03
83	Profenofos	25,73	0,0078±0,0000	0,78±0,00
84	<i>p,p'</i> -DDE	25,83	0,0079±0,0001	0,79±0,01
85	Tribufos	26,01	0,0091±0,0001	0,91±0,01
86	<i>o,p'</i> -DDD	26,03	0,0087±0,0003	0,87±0,03
87	Oksadiazon	26,01	0,0110±0,0000	1,10±0,00
88	Diklobutrazol	26,14	0,0073±0,0013	0,73±0,13
89	Endrin	26,52	0,0069±0,0012	0,69±0,12
90	Ciflufenamid	26,59	0,0063±0,0001	0,63±0,01
91	Klorobenzilat	26,96	0,0079±0,0009	0,79±0,09
92	Kloropropilat	26,97	0,0078±0,0003	0,78±0,03
93	Dinikonazol	27,07	0,0098±0,0001	0,98±0,01
94	<i>o,p'</i> -DDT	27,20	0,0085±0,0005	0,85±0,05
95	<i>p,p'</i> -DDD	27,20	0,0079±0,0000	0,79±0,00
96	Etion	27,26	0,0081±0,0001	0,81±0,01
97	Klortiofos-2	27,35	0,0080±0,0010	0,80±0,10
98	Klortiofos-3	27,35	0,0078±0,0008	0,78±0,08
99	Sulprofos	27,72	0,0058±0,0004	0,58±0,04
100	Karbofenotion	27,99	0,0089±0,0004	0,89±0,03
101	Edifenfos	28,05	0,0084±0,0002	0,84±0,02

102	Kvinoksifen	28,13	0,0083±0,0002	0,83±0,02
103	Endosulfan sulfat	28,13	0,0083±0,0007	0,83±0,07
104	Piraflufen-etil	28,45	0,0073±0,0001	0,73±0,01
105	Diklofop-metil	28,82	0,0080±0,0020	0,80±0,20
106	Diflufenikan	28,91	0,0083±0,0007	0,83±0,07
107	Piributikarb	29,31	0,0067±0,0007	0,67±0,07
108	Iprodion	29,52	0,0073±0,0013	0,73±0,13
109	Bromopropilat	29,74	0,0078±0,0002	0,78±0,02
110	Bifenoks	30,16	0,0079±0,0001	0,79±0,01
111	Tetradifon	30,40	0,0056±0,0006	0,56±0,06
112	Fenotrin-1	30,42	0,0084±0,0002	0,84±0,02
113	Leptofos	30,58	0,0089±0,0002	0,89±0,02
114	Fenotrin-2	30,42	0,0076±0,0006	0,76±0,06
115	Cihalofop-butil	30,94	0,0083±0,0003	0,83±0,03
116	Akrinatriin-1	31,21	0,0089±0,0005	0,89±0,05
117	Mireks	31,04	0,0084±0,0002	0,84±0,02
118	Lambda-cihalotrin	31,21	0,0089±0,0009	0,89±0,09
119	Fenarimol	31,30	0,0082±0,0003	0,82±0,03
120	Pirazofos	31,34	0,0130±0,0020	1,30±0,20
121	Akrinatriin-2	31,50	0,0072±0,0003	0,72±0,03
122	Dialifos	31,57	0,0100±0,0000	1,00±0,00
123	Piraklofos	31,74	0,0115±0,0005	1,15±0,05
124	Permetrin-1	32,19	0,0060±0,0006	0,60±0,06
125	Flukvinkonazol	32,33	0,0079±0,0002	0,79±0,02
126	Kafenstrol	32,76	0,0067±0,0003	0,67±0,03
127	Flumioksazin	34,42	0,0111±0,0001	1,11±0,01
128	Fluvalinat-2	34,74	0,0083±0,0003	0,83±0,03

Tablica 4. Prikaz pesticida analiziranih pomoću LC-MS/MS

	Analit	Vrijeme zadržavanja	Podudaranje matrica	Standard	Iskorištenje
1	Metamidofos	3,52	25814,30±3911,65	21883,07±669,89	0,85±0,03
2	Acefat	3,97	19103,94±813,07	15727,00±238,56	0,82±0,01
3	Ometoat	4,21	44348,15±300,42	38302,00±61,86	0,86±0,00
4	Dinotefuran	4,31	27244,03±1656,96	22280,44±704,63	0,82±0,03
5	Butoksikarboksim	4,42	10950,54±833,65	9728,59±896,15	0,89±0,08
6	Oksamil	4,60	18764,11±331,18	18050,28±1365,75	0,96±0,07
7	Nitenpiram	4,75	8208,35±583,38	7327,23±1503,90	0,89±0,18
8	Pimetrozin	4,75	38685,42±807,02	24373,93±841,26	0,63±0,02
9	Metomil	4,85	17858,68±2334,27	15841,74±525,29	0,89±0,18
10	Tiametoksam	4,91	9740,30±1011,85	10565,29±451,45	1,08±0,05
11	Monokrotofos	4,98	42516,73±1904,38	41384,16±3671,98	0,97±0,09
12	Dikrotofos	5,16	60122,18±380,42	58108,75±661,75	0,97±0,01
13	Imidaklopid	5,29	8541,81±497,76	10760,09±424,86	1,26±0,05
14	Klotianidin	5,35	5565,78±833,24	5485,87±960,06	0,99±0,17
15	Metiokarb-sulfoksid	5,39	30900,22±94,20	27810,77±1208,30	0,90±0,04

16	Vamidotion	5,49	62127,22±2928,75	60506,24±2758,33	0,97±0,04
17	Acetamidrid	5,54	30033,58±2623,46	31058,08±1677,41	1,03±0,06
18	Metiokarb-sulfon	5,58	27319,89±324,67	25255,19±382,69	0,92±0,01
19	Dimetoat	5,59	22162,02±1020,94	23081,41±852,73	1,04±0,04
20	Dioksakarb	5,60	17025,84±1184,83	16860,68±571,12	0,99±0,03
21	Fenuron	5,60	41105,05±1427,38	39115,24±259,76	0,95±0,01
22	Triklorfon	5,65	18032,50±734,62	18490,15±73,25	1,03±0,00
23	Tiaklopid	5,75	31059,39±307,60	30103,48±736,63	0,97±0,02
24	Cimoksaniil	5,79	16344,00±1274,80	17373,85±843,99	1,06±0,05
25	Minfos	5,91	18358,27±1997,88	18173,99±924,39	0,99±0,05
26	Triciklazol	6,03	69320,47±987,87	62468,42±2218,79	0,90±0,03
27	Ioksinil	6,08	3617,88±690,05	3407,70±280,87	0,94±0,08
28	Tiabendazol	6,35	64273,33±3354,90	52950,98±898,02	0,82±0,01
29	Karbetamid	6,46	25005,77±485,89	22445,78±1755,51	0,90±0,07
30	Fuberidazol	6,53	87170,57±3293,83	78930,27±1066,16	0,91±0,01
31	Metolkarb	6,54	24020,12±858,04	21712,87±296,44	0,90±0,01
32	Tiofanat-metil	6,59	38639,25±2411,31	31486,94±434,83	0,81±0,01
33	Tidiazuron	6,68	3522,56±93,37	2702,30±2303,13	0,77±0,07
34	Malaokson	6,85	127020,58±1736,92	126945,78±5121,38	1,00±0,04
35	Bendiokarb	6,86	52069,25±1616,06	50544,91±718,66	0,97±0,01
36	Propoksur	6,88	41804,71±1258,85	41448,82±2194,11	0,99±0,05
37	Sulfentrazon	6,90	7965,05±885,11	6830,01±533,48	0,86±0,07
38	Heksazinon	6,99	152972,44±2228,18	147551,39±839,16	0,96±0,01
39	Pirakarbolid	7,07	90123,24±837,83	85457,37±2344,94	0,95±0,03
40	Aminokarb	7,09	111883,59±3351,54	105339,53±1405,28	0,94±0,01
41	Tebutiuron	7,09	79549,51±2642,91	75399,83±444,43	0,95±0,01
42	Tiodikarb	7,15	13097,82±645,60	14055,04±879,10	1,07±0,07
43	Karboksin	7,23	76755,25±959,92	70060,04±488,21	0,91±0,01
44	Karbaril	7,24	3182,70±266,88	3124,97±372,48	0,98±0,12
45	Monolinuron	7,53	8410,26±469,55	8106,90±967,97	0,96±0,12
46	Diuron	7,59	41280,18±1293,49	41537,47±968,76	1,01±0,02
47	Etiufenkarb	7,59	37070,71±3984,29	37556,73±1301,03	1,01±0,04
48	Fostiazat	7,62	103116,74±3120,74	100284,75±825,76	0,97±0,01
49	Klorotoluron	7,80	60108,28±3174,38	56605,54±2018,41	0,94±0,03
50	Flutriafol	7,97	57303,42±1058,18	56431,22±1738,98	0,98±0,03
51	Metobromuron	7,97	28191,30±855,50	24825,27±635,12	0,88±0,02
52	Pirimikarb	7,99	146541,72±1864,35	144626,97±5488,10	0,99±0,04
53	Forklorfenuron	8,12	37196,14±1268,22	32412,31±1959,22	0,87±0,05
54	Metabenzthiazuron	8,15	79538,56±906,12	76474,24±1154,00	0,96±0,01
55	Izoprokarb	8,16	70271,63±1438,94	72284,47±1193,32	1,03±0,02
56	Izoproturon	8,35	105692,69±1946,82	103475,12±3395,85	0,98±0,03
57	Fenmedifam	8,37	6573,81±173,21	6931,82±303,71	1,05±0,05
58	Desmedifam	8,38	33273,49±965,73	33479,99±51,43	1,01±0,03
59	Etirimol	8,60	88489,04±3459,35	75440,83±1919,71	0,85±0,02
60	Klorantraniliprol	8,76	15163,30±769,11	14232,78±570,70	0,94±0,03
61	Cikluron	8,80	113284,72±1145,86	114674,66±2962,44	1,01±0,03

62	Azinfos-metil	8,91	22189,84±1562,01	20550,63±86,95	0,93±0,00
63	Dimefuron	8,93	86352,32±1899,60	87699,47±886,64	1,02±0,01
64	Azoksistrobin	9,33	56853,85±1910,87	57172,73±2371,81	1,01±0,04
65	Dietofenkarb	9,55	33010,38±1582,07	33925,14±274,82	1,03±0,01
66	Profam	9,55	44346,08±1564,65	44801,71±225,14	1,01±0,01
67	Fenobukarb	9,64	44705,41±1013,32	44336,58±1162,85	0,99±0,03
68	Haloksifop	9,64	7032,18±441,46	6720,12±296,91	0,96±0,04
69	Linuron	9,69	26514,22±181,08	24533,22±538,63	0,93±0,02
70	Metoprotrin	9,72	114951,92±1271,89	113762,99±1653,57	0,99±0,01
71	Halofenozid	9,91	8359,95±427,12	7365,65±98,62	0,88±0,01
72	Etiprol	9,96	39069,27±312,30	38561,02±708,25	0,99±0,02
73	Metiokarb	10,00	107381,25±2242,94	107355,25±1655,14	1,00±0,02
74	Pirimetamil	10,06	49560,51±1826,63	45773,06±1729,18	0,92±0,03
75	Boskalid	10,25	22658,14±553,084	20995,29±381,85	0,93±0,02
76	Mandipropamid	10,27	37718,91±1521,48	38395,81±1331,51	1,02±0,04
77	Flutolanil	10,51	44106,79±1278,65	43774,73±1182,34	0,99±0,03
78	Paklobutrazol	10,55	64748,52±2668,54	65188,41±674,58	1,01±0,01
79	Mepronil	10,66	181042,73±3182,39	179687,18±2645,41	0,99±0,01
80	Triadimefon	10,98	39045,67±1154,6	36541,20±156,74	0,94±0,00
81	Miklobutanil	11,12	25788,72±696,49	25079,11±2116,48	0,97±0,08
82	Kloroksuron	11,38	53205,72±269,84	52210,14±1634,22	0,98±0,03
83	Mepanipirim	11,71	204260,50±2317,22	202119,08±1442,86	0,99±0,01
84	Iprovalikarb	11,76	47577,94±1669,59	48321,40±1034,21	1,02±0,02
85	Fluoksastrobin	11,82	51749,34±1440,09	49224,07±516,88	0,95±0,01
86	Spirotetramat	11,84	63366,16±1007,57	62333,03±966,39	0,98±0,02
87	Mekarbam	11,93	23726,64±978,59	22568,34±1273,64	0,95±0,05
88	Fenheksamid	11,98	25042,50±384,68	24722,81±606,42	0,99±0,02
89	Tritikonazol	12,17	42569,63±636,42	39669,96±267,98	0,93±0,01
90	Epoksikonazol	12,25	75455,31±361,40	73579,62±1746,86	0,98±0,02
91	Ciazofamid	12,40	59304,13±1001,00	58160,82±325,28	0,98±0,01
92	Fenbukonazol	12,80	49929,28±352,60	49824,80±1181,47	1,00±0,02
93	Diflubenzuron	12,88	50625,40±1195,02	48400,95±906,34	0,96±0,05
94	Rotenon	13,01	32073,27±2374,62	32777,51±993,49	1,02±0,03
95	Flusilazol	13,19	79267,78±1868,28	79910,71±229,55	1,01±0,00
96	Bupirimat	13,20	82530,69±1902,16	84577,84±2127,36	1,02±0,03
97	Neburon	13,25	59931,95±721,04	56003,24±1380,15	0,93±0,02
98	Tebufenozid	13,25	23803,75±1226,14	22091,09±3,55	0,93±0,00
99	Fenoksikarb	13,27	77289,02±2480,87	73022,31±1095,37	0,94±0,01
100	Pikoksistrobin	13,30	132950,45±2821,93	130114,83±1576,37	0,98±0,01
101	Dimoksistrobin	13,45	65748,76±929,08	69320,36±5601,29	1,05±0,09
102	Karfentrazon-etil	13,50	46724,79±697,26	46949,98±1281,65	1,00±0,03
103	Flubendiamid	13,54	6022,66±732,81	6066,06±90,72	1,01±0,02
104	Spiroksamin	13,69	240867,40±53693,61	236469,15±438,10	0,98±0,02
105	Imazalil	13,71	26173,11±1348,32	24752,08±707,80	0,95±0,03
106	Ciprodinil	13,77	27697,13±429,91	26681,95±1418,68	0,96±0,05
107	Zoksamid	13,97	55034,50±1355,97	51046,78±966,74	0,93±0,02

108	Benzoksimat	14,00	17530,37±1563,85	15360,38±90,61	0,88±0,01
109	Famoksadon	14,07	4789,25±228,14	4247,94±165,06	0,89±0,03
110	Piraklostrobin	14,17	64648,87±4178,62	64994,65±706,27	1,01±0,01
111	Triflumuron	14,21	33582,79±1521,51	31707,41±1018,79	0,94±0,03
112	Metkonazol	14,24	39235,49±1127,97	38155,88±931,16	0,97±0,09
113	Tiobenkarb	14,47	66900,32±1079,95	63874,36±146,54	0,95±0,00
114	Pencikuron	14,49	81987,88±944,41	71792,62±3500,37	0,88±0,04
115	Difenokonazol	14,61	29674,26±968,99	29356,24±1542,82	0,99±0,05
116	Indoksakarb	14,67	10972,36±330,35	11507,50±581,24	1,05±0,05
117	Heksaflumuron	14,72	3235,57±476,32	3102,08±494,87	0,96±0,15
118	Novaluron	14,80	10532,42±806,97	8637,13±341,07	0,82±0,03
119	Ipkonazol	14,82	19881,83±1529,12	18476,13±74,12	0,93±0,00
120	Prosulfokarb	14,99	69075,45±4224,07	67061,82±1845,26	0,97±0,03
121	Metaflumizon	15,13	3691,74±541,45	3956,09±318,24	1,07±0,09
122	Furatiokarb	15,14	74392,14±1556,92	65996,52±4904,52	0,89±0,07
123	Temefos	15,20	32989,71±2368,89	30735,91±200,82	0,93±0,01
124	Tebufenpirad	15,24	48887,60±1437,35	45095,72±324,22	0,92±0,01
125	Propakvizafop	15,25	31142,75±1833,97	28815,99±1387,285	0,93±0,04
126	Lufenuron	15,27	3204,36±398,95	3321,71±217,77	1,04±0,07
127	Teflubenzuron	15,33	1036,04±212,27	705,68±168,13	0,68±0,16
128	Piperonil butoksid	15,40	101346,26±4353,12	101001,94±2720,76	1,00±0,03
129	Flufenoksuron	15,69	26309,40±683,40	25749,57±1451,95	0,98±0,06
130	Spiromesifen	15,75	1614,60±443,48	1413,35±224,87	0,88±0,14
131	Propargit	15,78	51123,51±1742,52	45761,81±407,80	0,90±0,01
132	Etoksazol	15,80	109535,59±460,95	100369,32±654,97	0,92±0,01
133	Spirodiklofen	16,00	10361,31±461,09	10301,52±232,05	0,99±0,02
134	Klorfluazuron	16,01	6242,71±234,59	5522,02±621,00	0,88±0,10
135	Piridaben	16,33	88078,37±3594,27	79037,82±3294,35	0,90±0,04
136	Fenazakvin	16,41	80193,47±99527	72394,18±797,29	0,90±0,01
137	Spinetoram	16,51	54974,63±1307,35	53126,81±927,55	0,97±0,02

Primijećeno je da pokožica kave kao nepročišćeni i sirovi nusproizvod predstavlja uzorak složene matrice koja može utjecati na rezultate tako da suzbija ili pojačava odgovor analita zbog koeluiranja sastojaka matrice. To se moglo lako otkriti uspoređivanjem odgovora dobivenog iz standardne otopine i odgovora iz uzorka pokožice kave.

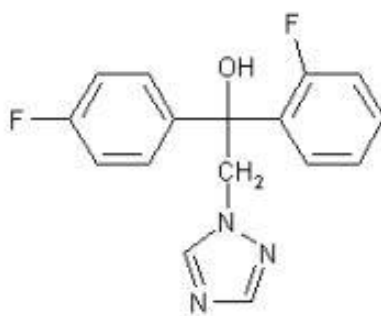
S ciljem smanjenja utjecaja matrice provodi se pročišćavanje uzorka mješavinom soli koji se može ponoviti nekoliko puta, no nije poželjno jer dolazi do gubitka spojeva unutar uzorka. Iz tog razloga proveden je matrix matching kojim se nastojalo maksimalno smanjiti utjecaj matrice.

Od analiziranih 265 pesticida, u uzorku su detektirana samo su 3 pesticida prikazana u Tablici 5, a to su flutriafol, imidakloprid i piperonil butoksid.

Tablica 5. Prikaz detektiranih pesticida u uzorku pokožice kave

	Pesticid	Koncentracija (mg kg⁻¹)
1	Flutriafol	0,012±0,002
2	Imidakloprid	0,016±0,002
3	Piperonil butoksid	0,002±0,000

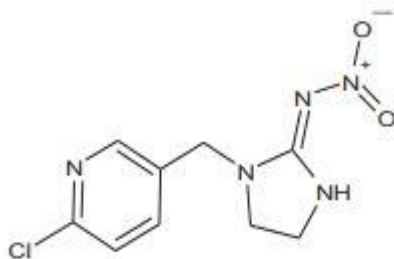
Flutriafol (Slika 14) je kontaktni i sistemski fungicid koji pripada klasi triazola. Koristi se na raznim žitnim kulturama i za tretiranje sjemena. Njegov mehanizam djelovanja je inhibicija biosinteze ergosterola i time poremećaj sinteze gljivičnih staničnih stijenki. U tlu, u laboratorijskim aerobnim uvjetima, flutriafol je stabilan i ne primjećuje se značajna razgradnja. Pokazao je otpornost na hidrolizu u normalnim uvjetima te otpornost na fotolizu pri izlaganju umjetnoj svjetlosti (EFSA, 2010). Dvije najčešće bolesti kave su hrđa lista kave, *Hemileia vastatrix* i bolest plodova kave, *Colletotrichum kahawae* (Nair, 2021). Upravo te bolesti su uzrokovane gljivicama zbog čega se na usjevima kave koriste fungicidi, što je jedan od razloga njihovih ostataka i u nusproizvodu. Flutriafol je detektiran u količini od 0,012±0,002 mg kg⁻¹. Prema Codex Alimentariusu (2019) te podacima iz baze podataka Europske komisije (2021) maksimalne razine ostataka (MRO) flutriafole u zrnu kave su 0,15 mg kg⁻¹, stoga se razine prisutne u pokožici kave nalaze u dozvoljenim granicama i ne predstavljaju opasnost za ljudsko zdravlje.



Slika 14. Strukturna formula flutriafole (EFSA, 2010)

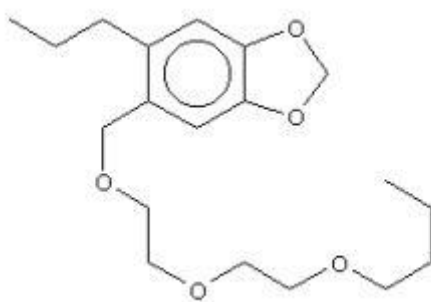
Imidakloprid je sljedeći detektirani pesticid. Imidakloprid (Slika 15) pripada skupini spojeva neonikotionoida/nitrovanidina koji se koriste kao insekticidi. Djeluje kao antagonist vežući se na postsinaptičke nikotinske receptore u središnjem živčanom sustavu insekata. Ima široku primjenu na gotovo svim usjevima. Imidakloprid je dokazano stabilan na temperaturama zamrzavanja čak do 24 mjeseca (EFSA, 2018). Jedan od čestih insekata koji napada korijen kave jest kukac *Dysmicoccus texensis* zbog kojeg se koriste insekticidi kao što je imidakloprid koji se nanosi na donji dio biljke (Kumar i sur., 2016). Imidakloprid detektiran je u količini od

0,016±0,002 mg kg⁻¹. Prema Codex Alimentariusu (2019) i podacima iz baze podataka Europske komisije (2021) MRO u zrnju kave iznosi 1 mg kg⁻¹, prema tome se količina ostataka imidakloprida u pokožici kave nalazi u dozvoljenim granicama i nema negativan utjecaj na ljudsko zdravlje.



Slika 15. Strukturna formula imidakloprida (EFSA, 2018)

Treći, a ujedno i posljednji detektirani pesticid je piperonil butoksid. Piperonil butoksid (Slika 16) koristi se u insekticidnim formulacijama više od 50 godina i uvijek u kombinaciji s drugim insekticidima kao što su piretrini, sintetički piretroidi, organofosfati i karbamati. Piperonil butoksid sam po sebi nije insekticid, ali je jako dobar sinergist i u kombinaciji s insekticidom pojačava njegovo djelovanje. On omogućava da više toksina dođe do ciljne molekule što povećava smrtnost ciljanog organizma. Piperonil butoksid djeluje na oksidacijski mehanizam i mehanizam na osnovi esteraze primijenjenog pesticida. Na taj način odgađa razgradnju primijenjenog pesticida i produljuje njegovo djelovanje (ECHA, 2017). Piperonil butoksid detektiran je u vrlo niskoj količini od 0,002±0,000 mg kg⁻¹ što je ispod granice kvantifikacije koja iznosi 0,01 mg kg⁻¹.



Slika 16. Strukturna formula piperonil butoksida (ECHA, 2017)

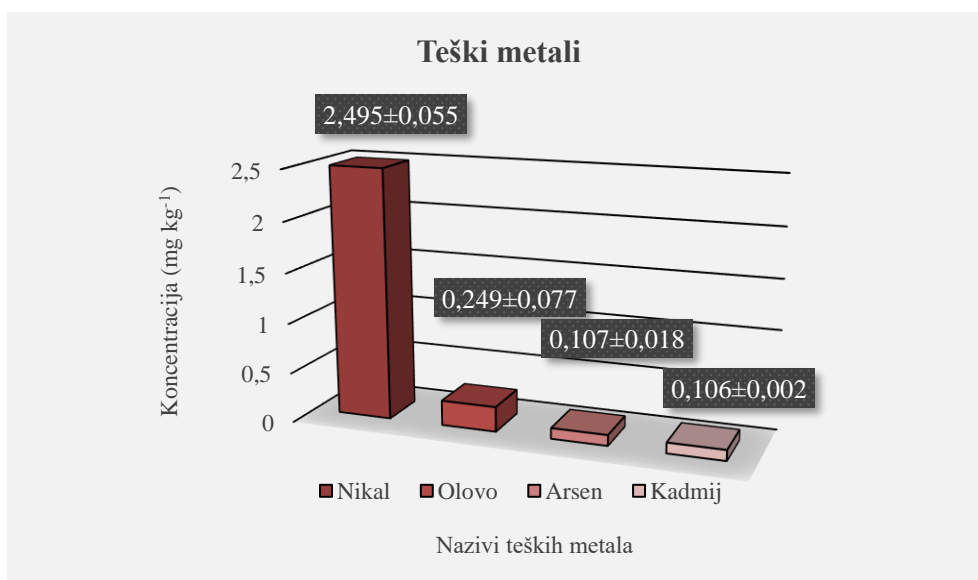
Harmoko i sur. (2015) su analizirali 14 pesticida u 181 uzorku zrna kave iz različitih regija Indonezije. U većini uzoraka detektiran je diazinon i imidaklopid, koji je detektiran i u uzorku pokožice kave u ovom radu. Imidaklopid je i u zrnju kave bio ispod vrijednosti MRO. Osim imidakloprida, detektirani su i mnogi drugi pesticidi koji su se nalazili u zadovoljavajućim

granicama, no detektirano je i 6 pesticida čije je količina prelazila vrijednosti MRO. Ti pesticidi bili su karbaril, diazinon, diklorvos, dimetoat, malation i propoksur. Irondo-Dehond i sur. (2018) su ispitali svojstva nusproizvoda kave, odnosno ljuske i srebrne pokožice kave. U tom istraživanju su ispitali ostatke 18 pesticida te u pokožici kave nisu detektirali niti jedan pesticid.

Usporede li se rezultati provedenih istraživanja na zrnima kave te istraživanja na pokožici kave i rezultati dobiveni ovim radom može se primijetiti da nusproizvod kave sadrži puno manje pesticida i u vrlo malim količinama. Razlog tome je što zrno kave prije komercijalizacije prolazi kroz postupak prženja na visokim temperaturama zbog čega dolazi do razgradnje pesticida (Łozowicka i Jankowska, 2016).

4.2. TEŠKI METALI

Pomoću ICP-MS-a određeni su razni metali koji su svrstani u kategorije makrominerala, mikrominerala te u teške metale. Teški metali su skupina metala koja ima gustoću veću od 5 g cm^{-3} , stoga u tu skupinu spada velik broj metala uključujući i neke mikromineralne koji su u ovom radu kategorizirani u odvojenu skupinu. Zbog svoje postojanosti, visoke otrovnosti i sklonosti da se akumuliraju u ekosustavu, teški su metali opasni za žive organizme (Tchounwou i sur., 2012). U uzorku pokožice kave detektirana su četiri teška metala, nikal, olovo, arsen i kadmij te su prikazani na Slici 17.



Slika 17. Količina teških metala (nikal, olovo, arsen, kadmij)

Može se primijetiti da najveću koncentraciju ima nikal ($2,495 \pm 0,055 \text{ mg kg}^{-1}$), a u puno manjim koncentracijama detektirani su olovo ($0,249 \pm 0,077 \text{ mg kg}^{-1}$), arsen ($0,107 \pm 0,018 \text{ mg kg}^{-1}$) te kadmij ($0,106 \pm 0,002 \text{ mg kg}^{-1}$). Prema Uredbi Komisije br. 1881/2006 pokožica kave mogla bi se svrstati u skupinu dodataka prehrani, s obzirom da bi se u tu svrhu mogla koristiti u budućnosti. U istoj Uredbi navedeno je da je maksimalno dopuštena količina olova u dodacima prehrani $3,0 \text{ mg kg}^{-1}$. S obzirom da je u uzorku pokožice kave detektirano $0,249 \pm 0,077 \text{ mg kg}^{-1}$ olova, može se utvrditi da detektirana količina olova nije opasna za ljudski organizam i ne predstavlja opasnost za ljudsko zdravlje. Nadalje, Uredbom je definirano da maksimalno dopuštena količina kadmija u dodacima prehrani može iznositi $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$. U ovom radu je dokazano da kadmija u uzorku pokožice kave ima u količini od $0,106 \pm 0,002 \text{ mg kg}^{-1}$ što ulazi u granice dopuštenih vrijednosti, te kadmij ne predstavlja opasnost za ljudsko zdravlje.

Količina arsena u pokožici kave detektirana je u količini od $0,107 \pm 0,018 \text{ mg kg}^{-1}$. Arsen je prirodno prisutan element u Zemljinoj kori. Prisutan je i u mnogim namirnicama zbog apsorpcije iz tla i vode. Riža, u usporedbi s drugom vrstom hrane, može apsorbirati veće količine arsena, a s obzirom da je njena konzumacija visoka u cijelom svijetu može doprinijeti velikom izlaganju arsenu. Komisija Codex Alimentarius je, kako bi zaštitila potrošače od prekomjerne izloženosti, preporučila da razina arsena u riži ne smije prelaziti $0,2 \text{ mg kg}^{-1}$. Još uvijek nije donesen zakon o maksimalnoj količini arsena u ostalim vrstama hrane zbog pretpostavke da su količine arsena u hrani vrlo male (FAO, 2014).

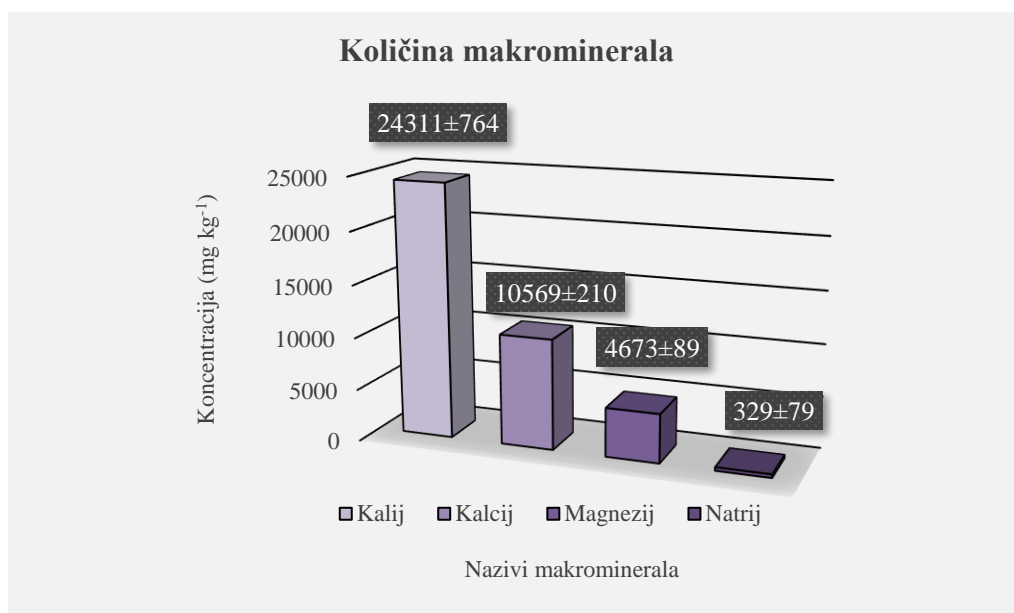
Nikal je još jedan metal za kojeg trenutno ne postoje MRO vrijednosti pa se ne može znati koja je točno maksimalno dozvoljena razina nikla u hrani. EFSA je 2015. sumirala rezultate raznih istraživanja kako bi utvrdila u kojim se koncentracijama nikal nalazi u hrani. Prema tom izvješću, najveće koncentracije nikla pronađene su u gljivama, kakau i proizvodima od kaka ($> 10 \text{ mg kg}^{-1}$), zrnu graha ($9,8 \text{ mg kg}^{-1}$), soji ($5,2 \text{ mg kg}^{-1}$), proizvodima od soje ($5,1 \text{ mg kg}^{-1}$), orasima ($3,6 \text{ mg kg}^{-1}$), kikirikiju ($2,8 \text{ mg kg}^{-1}$), žitaricama ($2,3 \text{ mg kg}^{-1}$), heljdi ($2,0 \text{ mg kg}^{-1}$) te zobi ($1,8 \text{ mg kg}^{-1}$). Osim toga, nikal je pronađen i u pivu ($30 \mu\text{g L}^{-1}$) te u vinu ($100 \mu\text{g L}^{-1}$). EFSA je također dodala, da faktori koji utječu na koncentraciju nikla u hrani su uvjeti rasta (utvrđene su puno veće koncentracije nikla na područjima zagađenog tla) te način pripreme hrane (utjecaj posuđa za kuhanje) (EFSA, 2015). U pokožici kave, određene su količine nikla od $2,495 \pm 0,055 \text{ mg kg}^{-1}$. S obzirom da ne postoji maksimalno dopuštena količina nikla u hrani, ne može se utvrditi je li ta količina previsoka. No prema izvještaju EFSA-e može se primijetiti da je nikal inače u hrani prisutan u visokim koncentracijama.

Bellestros i sur. (2014) su dokazali da pokožica kave sadrži $1,64 \text{ mg kg}^{-1}$ nikla, $< 1,60 \text{ mg kg}^{-1}$ olova i $< 0,15 \text{ mg kg}^{-1}$ kadmija. Rezultati tog rada slažu se s rezultatima olova i kadmija koji su

dobiveni analizom pokožice kave u ovom radu, jedina razlika je što je u ovom radu nikal pronađen u nešto većim koncentracijama.

4.3. MINERALI

Makrominerali su u pravilu tvari koje su ljudskom organizmu potrebne u velikim količinama. Na Slici 18 prikazana su četiri minerala od iznimne važnosti za ljudski organizam, koji su ujedno pronađeni u uzorku pokožice kave.



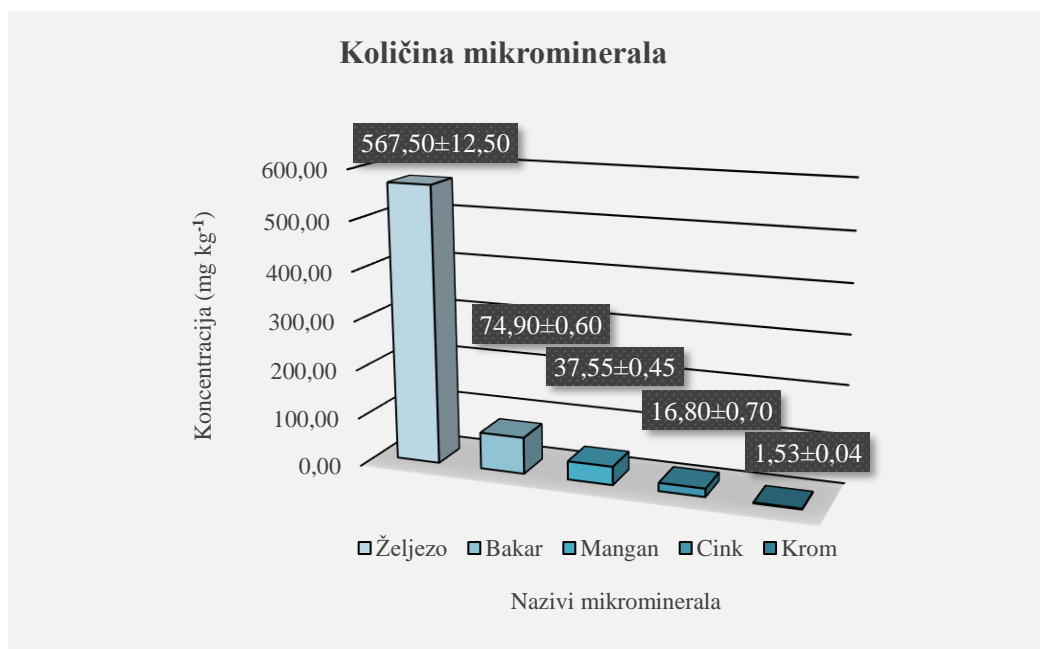
Slika 18. Količina makrominerala (kalij, kalcij, magnezij i natrij)

Ako se usporede dobiveni rezultati za kalij, kalcij, natrij i magnezij, može se primijetiti da kava sadrži najveće količine kalija (24311 ± 764), zatim kalcija (10569 ± 210), te magnezija ($4672,5 \pm 88,5$) i natrija (329 ± 79).

Prema uputama FDA (2020) dnevne potrebe kalija su 4700 mg, kalcija – 1300 mg, magnezija – 420 mg i natrija – 2300 mg. Stoga, kad bi se pokožica kave iskorištavala za obogaćivanje prehrambenih proizvoda, u proizvodnji novih proizvoda ili kao dodatak prehrani, ovisno o unesenoj količini, zadovoljila bi dio dnevne potrebe organizma za makromineralima, naročito magnezija i kalcija, zatim kalija te nešto manje natrija.

Costa i sur. (2018) su također dokazali da pokožica kave u svom mineralnom sastavu sadrži najviše kalija (5 g/100 g), magnezija (2 g/100 g) i kalcija (0,5 g/100 g). To su 2014. godine utvrdili Ballestros i sur. kada su dokazali da pokožica kave sadrži najveće količine kalija (2,1 g/100 g), zatim kalcija (0,9 g/100 g) te magnezija (0,3 g/100 g). Rezultati ovog rada slažu se s podacima iz literature.

Mikrominerali, odnosno minerali u trgovima su tvari koje su čovjekovom organizmu potrebne u malim količinama. Na Slici 19 prikazani su mikrominerali pronađeni u uzorku pokožice kave.



Slika 19. Količina mikrominerala (željezo, bakar, mangan, cink i krom)

Može se primijetiti da najveću količinu u pokožici kave zauzima željezo ($567,50 \pm 12,50 \text{ mg kg}^{-1}$), u puno manjoj količini zatim slijede bakar ($74,90 \pm 0,60 \text{ mg kg}^{-1}$), mangan ($37,55 \pm 0,45 \text{ mg kg}^{-1}$), cink ($16,80 \pm 0,70 \text{ mg kg}^{-1}$) te krom ($1,53 \pm 0,04 \text{ mg kg}^{-1}$). Prema uputama FDA (2020) dnevne potrebe željeza su 18 mg, bakra – 0,9 mg, mangana – 2,3 mg, cinka – 11 mg te kroma – 35 μg . S obzirom na preporučeni dnevni unos mikrominerala pokožica kave bi i u određenim količinama uspješno zadovoljila dnevne potrebe čovjekovog organizma za mikromineralima. Ballestros i sur. (2014) su ispitivali veliku količinu minerala u pokožici kave, među kojima su i mikrominerali ispitani u ovom radu. Oni su dokazali da u uzorku pokožice kave ima $843,3 \text{ mg kg}^{-1}$ željeza, $63,3 \text{ mg kg}^{-1}$ bakra, $50,0 \text{ mg kg}^{-1}$ mangana, $22,3 \text{ mg kg}^{-1}$ cinka te $1,59 \text{ mg kg}^{-1}$ kroma. Ti rezultati prate isti trend kao i rezultati u ovome radu, iako su u njihovom uzorku detektirane nešto malo veće količine mikrominerala, osim bakra kojeg je više u uzorku pokožice kave analiziranom u ovom radu. Također, Ballestros i sur. (2014) su dokazali da pokožica kave sadrži puno veću količinu minerala u usporedbi s talogom kave koji zaostaje nakon pripreme kave, što je pokazatelj da je pokožica kao nusproizvod kave jedan od bogatijih izvora minerala.

4.4. VLAKNA

U uzorku pokožice kave određena su sirova vlakna. Sirova vlakna su samo dio prehrambenih vlakana, točnije dio netopljivih vlakana koji zaostaju nakon laboratorijske obrade s kiselinom i lužinom. U ovu skupinu se uglavnom ubrajaju celuloza, hemiceluloza i lignin. Hrana sadrži više prehrambenih vlakana od sirovih vlakana, ali ne postoji nikakva kvantitativna veza između tih dvaju vrsta vlakana (Dai i Chau, 2016). Količina sirovih vlakana određena u pokožici kave prikazana je u Tablici 6.

Tablica 6. Količina sirovih vlakana određena u uzorku pokožice kave

<i>Uzorci</i>	<i>Masa uzorka</i>	<i>Sirova vlakna (g/100 g)</i>	<i>SV</i>	<i>SD</i>
1	0,9543	31,70071159		
2	0,9544	31,70071159		
3	0,9556	31,70071159		
4	0,9561	32,6091413	31,97291	0,61299
5	0,9714	31,16553428		
6	0,9579	32,96064307		

*SV = srednja vrijednost

*SD = standardna devijacija

U uzorku pokožice kave detektirano je $31,97 \pm 0,61$ g/100 g sirovih vlakana. S obzirom da je to samo dio netopivih vlakana, ukupnih vlakana je puno više. To je dokazano i ranijim istraživanjima. Narita i Inouye (2014) su u svom radu utvrdili da pokožica kave sadrži 50-60 % prehrambenih vlakana, od čega 15 % čine topljiva vlakna, a 85 % čine netopljiva vlakna. Od netopljivih vlakana prevladavaju celuloza (18 %) i hemiceluloza (13 %) (Bessada i sur., 2018). Ballestros i sur. (2014) su također dokazali visoku količinu ukupnih vlakana (54,11 g/100 g) od čega prevladavaju netopljiva vlakna. S obzirom na velike količine vlakna, pokožica kave ima velik potencijal da se koristi kao sirovina u razvoju funkcionalne hrane.

5. ZAKLJUČCI

Na osnovu dobivenih rezultata može se zaključiti sljedeće:

1. U uzorku pokožice kave detektirana su tri pesticida. Flutriafol u koncentraciji od $0,012 \pm 0,002$ mg kg⁻¹, imidakloprid u koncentraciji od $0,016 \pm 0,002$ mg kg⁻¹ i antagonist piperonil butoksid u koncentraciji od $0,002 \pm 0,000$ mg/kg. Svi pesticidi nalaze se ispod granice maksimalno dopuštenih ostataka pesticida u hrani i ne predstavljaju rizik za ljudsko zdravlje.
2. U uzorku pokožice kave detektirana su četiri teška metala od kojih najveću koncentraciju ima nikal ($2,495 \pm 0,055$ mg kg⁻¹), zatim olovo ($0,249 \pm 0,077$ mg kg⁻¹), arsen ($0,107 \pm 0,018$ mg kg⁻¹) i kadmij ($0,106 \pm 0,002$ mg kg⁻¹). Prema Uredbi Komisije br. 1881/2006 olovo i kadmij se nalaze u koncentracijama koje ne prelaze maksimalno dopuštene količine kontaminanata u hrani, te stoga ne predstavljaju rizik za ljudsko zdravlje. Količine arsena i nikla u pokožici kave detektirane su u niskim koncentracijama, a njihove maksimalno dopuštene količine u prehrambenim proizvodima još uvijek nisu utvrđene.
3. Uzorak pokožice kave sadrži velike količine makrominerala kalija (24311 ± 764 mg kg⁻¹), kalcija (10569 ± 210 mg kg⁻¹), magnezija ($4672,5 \pm 89$ mg kg⁻¹) te manje količine natrija (329 ± 79 mg kg⁻¹). Unosom pokožice kave u obliku dodatka prehrani, mogli bi zadovoljiti određeni dio dnevne potrebe za makromineralima kao što su kalij, kalcij, magnezij i natrij.
4. Pokožica kave sadrži velike količine minerala u tragovima, naročito željeza ($567,50 \pm 12,50$ mg kg⁻¹), zatim bakra ($74,90 \pm 0,60$ mg kg⁻¹), mangana ($37,55 \pm 0,45$ mg kg⁻¹), cinka ($16,80 \pm 0,70$ mg kg⁻¹) i kroma ($1,53 \pm 0,04$ mg kg⁻¹). Stoga, pokožica kave je dobar izvor mikrominerala te bi se njenom konzumacijom mogle zadovoljiti određene potrebe za mikromineralima u ljudskom organizmu.
5. U pokožici kave utvrđeno je oko 30 % sirovih vlakana, točnije $31,97 \pm 0,61$ g/100 g. S obzirom da je to samo jedan dio ukupnih vlakana, može se zaključiti da je pokožica kave odličan izvor prehrambenih vlakana, naročito netopljivih u vodi. S obzirom na bogatstvo vlaknima mogla bi se koristiti u proizvodnji funkcionalne hrane obogaćene prehrambenim vlaknima.
6. Nusproizvod kave, odnosno srebrna pokožica kave, nedovoljno je ispitana sirovina za koju još uvijek ne postoje idealne standardne matrice koje bi mogle poslužiti kao standardi prilikom mjerenja na LC-MS/MS-u i GC-MS/MS-u. Potrebno je provesti

dodatna ispitivanja kako bi se razvila idealna metoda kojom bi se mogli ispitati svi spojevi unutar sirovine bez negativnog utjecaja primjesa ili je potrebno provesti pročišćavanje kojim ne bi došlo do gubitka prisutnih spojeva.

7. Generalno se može zaključiti da je pokožica kave kao nusproizvod prženja kave odličan izvor minerala i vlakana te ne sadrži ostatke pesticida ili teške metale koji bi negativno utjecali na ljudsko zdravlje. Stoga se pokožica kave može iskoristiti kao nutritivno bogata sirovina u proizvodnji novih prehrambenih proizvoda, u svrhu obogaćivanja novih ili postojećih prehrambenih proizvoda ili kao dodatak prehrani.

6. LITERATURA

Abdul-Rahman, F. (2014) Reduce, Reuse, Recycle: Alternatives for Waste Management. U: Guide (New Mexico State University), Las Cruces, 314.

Adams, D. (2017) Insecticides and Pesticides: Techniques for Crop Protection, Library Press, New York.

Akram, M., Munir, N., Daniyal, M., Egbuna, C., Gaman, M.A., Onyekere, P.F., Olatunde, A. (2020) Vitamins and Minerals: Types, Sources and their Functions. U: Functional Foods and Nutraceuticals (Egbuna C., Dable Tupas G., ured.), Springer, Cham, str. 149-172.

Anastassiades, M., Lehotay, S.J., Tajnbaher, D., Schenck, F.J. (2003) Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. *J. AOAC. Int.* **86**, 412-431.

Anonymus 1 (datum nepoznat) <<https://barista.ua/blog/makrosoemka-kofeynyh-yagod-v-razreze>> Pristupljeno: 12.02.2021.

AOAC (1971) Official Method 962.09 Fiber (Crude) in Animal Feed and Pet Food.

Ballesteros, L.F., Teixeira, J.A., Mussatto, S.I. (2014) Chemical, Functional, and Structural Properties of Spent Coffee Grounds and Coffee Silverskin. *Food Bioprocess Tech.*, **7**, str. 3494-3503.

Bessada, S.M.F., Alves, R. C., Oliveira, M.B.P.P. (2018) Coffee Silverskin: A review on Potential Cosmetic Applications. *Cosmetics*, **5**(1), 5.

Borić, N. i Ivankić, D. (2015) Leksikon hranjivih tvari, Leo commerce, Rijeka, str. 99-125.

Borrelli, R.C., Esposito, F., Napolitano, A., Ritieni, A., Fogliano, V. (2004) Characterization of a New Potential Functional Ingridient: Coffee Silverskin. *J. Agric. Food Chem.*, **52**, str. 1338-1343.

Chirayil, C.J., Abraham, J., Mishra, R.K., George, S.C. (2017) Instrumental Techniques for the Characterization of Nanoparticles. U: Thermal and Rheological Measurement Techniques for Nanomaterials Characterization, (Thomas i sur., ured.), Elsevier, Nizozemska/UK/SAD, str. 1-36.

Ciudad-Mulero, M., Fernández-Ruiz, V., Matallana-González, M.C., Morales, P. (2019) Dietary fiber sources and human benefits: The case study of cereal and pseudocereals. *Adv. Food Nutr. Res.* **90**, 83-134.

Codex Alimentarius (2019) Pesticide Indeks < <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/pesticides/en/>> Pristupljeno: 10.06.2021.

Colonna-Dashwood, M. (2017) The Coffee Dictionary, Chronicle Books LLC, San Francisco.

Costa, A.S.G., Alves, R.C., Vinha, A.F., Costa, E., Costa, C.S.G., Nunes, M.A., Almeida, A.A., Santos-Silva, A., Oliveira, M.B.P.P. (2018) Nutritional, chemical and antioxidant/pro-oxidant profiles of silverskin, a coffee roasting by-product. *Food Chem.* **267**, 28-35.

Dai, F.J., Chao, C.F. (2016) Classification and regulatory perspectives of dietary fiber. *J Food Drug Anal.* **25**, 37-42.

Davies L., O'Connor M., Logan S. (2004) Chronic Intake. U: Pesticide Residues in Food and Drinking Water: Human Exposure and Risks, (Hamilton D. i Crossley S., ured.), John Wiley & Sons, New Jersey, str. 213-223.

De Marco, I., Riemma, S., Iannone, R. (2018) Life cycle assessment of supercritical CO₂ extraction of caffeine from coffee beans. *J. Supercrit. Fluid.* **133**, 393-400.

ECHA (2017) Piperonyl Butoxide: Product-type 18 (insecticides, acaricides and products to control other arthropods). ECHA – European Chemicals Agency, Helsinki, Finska, <<https://echa.europa.eu/documents/10162/a521088e-3a21-2bba-96ad-a1fd55e91325>> Pristupljeno: 11.06.2021.

EFSA (2010) Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance flutriafol. *EFSA J.* **8**(10), 1868.

EFSA (2015) Scientific Opinion on the risks to public health related to the presence of nickel in food and drinking water. *EFSA J.* **13**(2), 4002.

EFSA (2018) Review of the existing maximum residue levels for imidacloprid according to Article 12 of Regulation (EC)No 396/2005. *EFSA J.* **17**(1), 5570.

Europska komisija (2021) EU Pesticides database <<https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/mrls/?event=search.pr>> Pristupljeno: 10.06.2021.

Fanali, S., Haddad, P.R., Poole, C.F., Riekkola, M.L. (2017) Liquid Chromatography, Elsevier, Nizozemska/UK/SAD.

FAO (2014) Codex Alimentarius Commission - Geneva 14-18 July 2014. FAO - U.S. Food and Drug Administration, Silver Spring, SAD, <<http://www.fao.org/news/story/en/item/238558/icode/>> Pristupljeno: 13.06.2021.

FDA (2020) Daily Value on the New Nutrition and Supplement Facts Labels. FDA – U.S. Food and Drug Administration, Silver Spring, SAD, <<https://www.fda.gov/food/new-nutrition-facts-label/daily-value-new-nutrition-and-supplement-facts-labels#referenceguide>> Pristupljeno: 12.06.2021.

Ferreira, T., Shuler, J., Guimarães, R., Farah, A. (2019) Introduction to Coffee Plant and Genetics. U: Coffee: Production, Quality and Chemistry, (Farah, A., ured.), The Royal Society of Chemistry, London, str. 1-25.

Fike, J. (2016) Industrial Hemp: Renewed Opportunities for an Ancient Crop. *Crit. Rev. Plant Sci.* **35**, 406-424.

Frajman-Jakšić, A., Ham, M., Redek, T. (2010) Sreća i ekološka svjesnost – čimbenici održivog razvoja. *Ekonomski vjesnik.* **23**, 467-481.

Fuller, S., Beck, E., Salman, H., Tapsell, L. (2016) New Horizons for the Study of Dietary Fiber and Health: A Review. *Plant Food Hum. Nutr.* **71**, 1-12.

Gaćina, N. (2014) Alternativne sirovine prehrambenih vlakana. *Zbornik radova Veleučilišta u Šibeniku*, br. 1-2/2014, str. 123-130.

Galić, K. (2010) Metali i slitine. U: Kemijske i fizikalne opasnosti u hrani, (Hengl, B., ured.), Hrvatska agencija za hranu (HAH), Osijek, str. 150-167.

Guiné, R.P.F., Ferreira, M., Correia, P., Duarte, J., Leal, M., Rumbak, I., Barić, I.C., Komes, D., Satalić, Z., Sarić, M.M., Tarcea, M., Fazakas, Z., Jovanoska, D., Vanevski, D., Vittadini, E., Pellegrini, N., Szűcs, V., Harangozó, J., EL-Kenawy, A., EL-Shenawy, O., Yalçın, E., Kösemeci, C., Klava, D., Straumite, E. (2016) Knowledge about dietary fibre: a fibre study framework. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, **67**, str. 707-714.

Harmoko, Kartasasmita, R.E., Tresnawati, A. (2015) QuEChERS Method for the Determination of Pesticide Residues in Indonesian Green Coffee Beans using Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry. *J. Math. Fund. Sci.*, **47**, str. 296-308.

Hicks, T.M. i Verbeek, C.J.R. (2016) Protein-Rich By-Products: Production Statistics, Legislative Restrictions, and Management Options. U: Protein Byproducts; Transformation from Environmental Burden Into Value-Added Products, (Dhillon, G.S., ured.), Academic Press, UK/SAD, str. 1-18.

International coffee organization (2021) Trade Statistics Tables. <https://www.ico.org/trade_statistics.asp> Pristupljeno: 08.06.2021.

Iriondo-DeHond, A., Fernandez-Gomez, B., Martinez-Saez, N., Martirosyan, D.M., Garcia, M.D.M., del Castillo, M.D. (2017) Coffee Silverskin: A Low-Cost Substrate for Bioproduction of High-Value Health Promoting Products. *Ann. Nutr. Food Sci.*, **1**, str. 1-6.

Jethwa, F., Shetty, P., Dabade, A. (2018) Extraction and Functional Properties of Crude Proteins from Coffee Silver Skin and its Cost Effective Application. *RJLBPCS*. **50**(15), 252- 262.

Jurak, G. i Sabljak, I. (2020) Što o proizvodima biljnog podrijetla na Hrvatskom tržištu govore analize ostataka pesticida?. *Glasilo biljne zaštite*, **20**, str. 333-339.

Karche, T., i Singh, M.R. (2019) The application of hemp (*Cannabis sativa* L.) for a green economy: a review. *Turk. J. Bot.* **43**, 710-723.

Kashani, A. i Mostaghimi, J. (2010) Aerosol characterization of concentric pneumatic nebulizer used in inductively coupled plasma—mass spectrometry (ICP-MS). *Atomization Spray*. **20**, 415-433.

Kiljanek, T., Niewiadowska, A., Semeniuk, S., Gawel, M., Borzęcka, M., Posyniak, A. (2016) Multi-residue method for the determination of pesticides and pesticide metabolites in honeybees by liquid and gas chromatography coupled with tandem mass spectrometry—Honeybee poisoning incidents. *J Chromatogr.* **1435**, 100-114.

Klingel, T., Kremer, J.I., Gottstein, V., Rajcic de Rezende, T., Schwarz, S., Lachenmeier, D.W. (2020) A Review of Coffee By-Products Including Leaf, Flower, Cherry, Husk, Silver Skin, and Spent Grounds as Novel Foods within the European Union. *Foods*, **9**(5), 665.

Kumar, M., Dutta, S., You, S., Luo, G., Zhang, S., Show, P.L., Sawarkar, A.D., Singh, L., Tsang, D.C.W. (2021) A critical review on biochar for enhancing biogas production from anaerobic digestion of food waste and sludge. *J. Clean Prod.* **305**, 127143.

- Kumar, P.K.V., Reddy, G.V.M., Seetharama, H.G., Balakrishnan, M.M. (2016) Coffee. U: Mealybugs and their Management in Agricultural and Horticultural crops, (Mani, M., Shivaraju, C., ured.), Springer, Indija, str. 643-655.
- Liu, J., Xue, Z.X., Zhang, W., Yan, M., Xia, Y. (2017) Preparation and properties of wet-spun agar fibers. *Carbohid. Polim.* **181**, 760-767.
- Löfbergs (2021) Coffee comes full circle: First ever 3D printed coffee station made from waste. <<https://www.mynewsdesk.com/lofbergs/pressreleases/coffee-comes-full-circle-first-ever-3d-printed-coffee-station-made-from-waste-3066258>> Pristupljeno: 12.02.2021.
- Łozowicka, B. i Jankowska, M. (2016) Comparison of the effects of water and thermal processing on pesticide removal in selected fruit and vegetables. *J. Elem.* **21**, 99-111.
- Machado, S., Costa, A.S.G., Pimentel, B.F., Oliveira, M.B.P.P., Alves, R.C. (2020) A study on the protein fraction of coffee silverskin: Protein/non-protein nitrogen and free and total amino acid profiles. *Food Chem.* **326**, 126940.
- Martinez-Saez, N., Ullate, M., Martin-Cabrejas, M.A., Martorell, P., Genovés, S., Ramon, D., del Castillo, M.D. (2014) A novel antioxidant beverage for body weight control based on coffee silverskin. *Food Chem.* **150**, 227-234.
- Ministarstvo vanjskih i europskih poslova (2015) Održivi razvoj <<http://www.mvep.hr/hr/vanjska-politika/multilateralni-odnosi0/globalne-teme/odrzivi-razvoj/>> Pristupljeno: 09.06.2021.
- Mudgil, D. (2017) The Interaction Between Insoluble and Soluble Fiber. U: Dietary Fiber for the Prevention of Cardiovascular Disease, (Samaan, R.A., ured.), Academic Press, UK/SAD, str. 35-59.
- Nageswaran, G., Choudhary, Y.S., Jagannathan, S. (2017) Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. U: Spectroscopic Methods for Nanomaterials Characterization, (Thomas, S. i sur., ured.), Elsevier, Amsterdam, str. 163-194.
- Nair, K.P. (2021) Tree Crops: Harvesting Cash from the World's Important Cash Crops, Springer, Cham, Švicarska, str. 215-248.
- Narita, Y. i Inouye, K. (2014) Review on utilization and composition of coffee silverskin. *Food Res. Int.* **61**, 16-22.
- Olive Li, Y. i Komarek, A.R. (2017) Dietary fibre basics: Health, nutrition, analysis, and applications. *Food Quality and Safety*, **1**, str. 47-59.
- Palfi, M., Knežević, N., Vrandečić, K., Čosić, J. (2020) Ostaci pesticida u hrani – zakonodavstvo. *Glasnik zaštite bilja*, **5**, str. 18-23.
- Perta-Crisan, S., Ursachi, C., Munteanu, F.D. (2019) Trends in valorisation of spent Coffee grounds: A review. *Scien. Tech. Bull-Chem. Food Sci. Eng.*, **16**, str. 29-40.
- Prashanth, L., Kattapagari, K.K., Chitturi, R.T., Baddam, V.R.R., Prasad, L.K. (2015) A review on role of essential trace elements in health and disease. *J. Dr. Ntr. Univ. Health Sci.*, **4**, str. 75-85.

Pravilnik o kavi, kavovinama te proizvodima od kave i kavovina (2004) *Narodne novine* **172**, Zagreb.

Rai, P.K., Lee, S.S., Zhang, M., Tsang, Y.F., Kim, K.H. (2019) Heavy metals in food crops: Health risks, fate, mechanisms, and management. *Environ. Int.* **125**, 365-385.

Rathore, H.S. (2010) Methods and Problem sin Analyzing Pesticide Residues. U: Handbook of Pesticides: Methods for Pesticide Residues Analysis. (Nollet, L.M.L., Rathore, H.S., ured.), CBC Press, SAD.

Schimadzu (2020) Shimadzu's Fundamental Guide to Gas Chromatography Mass Spectrometry (GCMS). <<https://www.shimadzu.com/an/service-support/technical-support/analysis-basics/gcms/fundamentals/index.html>> Pristupljeno: 20.02.2021.

Skoog D.A., West D.M., Holler F.J., Crouch S.R. (2014) Fundamentals of Analytical Chemistry, 9. izd., Cengage Learning, str. 915.

Soliman, M., Khorshid, M.A., Abo-Aly, M.M. (2020) Combination of analyte protectants and sandwich injection to compensate for matrix effect of pesticides residue in GC–MS/MS. *Microchem. J.* **156**, 104852.

Song, Q., Li, J., Zeng, X. (2014) Minimizing the increasing solid waste through Zero waste strategy. *J. Clean Prod.* **104**, 199-210.

Stachniuk, A. i Fornal, E. (2015) Liquid Chromatography-Mass Spectrometry in the Analysis of Pesticide Residues in Food. *Food Anal. Method.* **9**, 1654–1665.

Tchounwou, P.B., Yedjou, C.G., Patlolla, A.K., Sutton, D.J. (2012) Heavy Metals Toxicity and the Environment. U: Molecular, Clinical and Environmental Toxicology; Volume 3: Environmental Toxicology (Luch, A., ured.), Springer, Basel, str. 133-164.

Urban, P.L. (2016) Quantitative mass spectrometry: an overview. *Phil. Trans. R. Soc. A.* **374**, 20150382.

Uredba komisije (EZ) (2005) br. 396/2005 o maksimalnim razinama ostataka pesticida u ili na hrani i hrani za životinje biljnog i životinjskog podrijetla i o izmjeni Direktive Vijeća 81/414/EEZ

Uredba komisije (EZ) (2006) br. 1881/2006 o utvrđivanju najvećih dopuštenih količina određenih kontaminanata u hrani.

Usman, A. Khalid, S., Usman, A., Hussain, Z., Wang, Y. (2017) Algal Polysaccharides, Novel Application, and Outlook. U: Algae Based Polymers, Blends, and Composites, (Zia, K.M., Zuber, M., Ali, M., ured.), Elsevier, Nizozemska/UK/SAD, str. 115-153.

Vranešić Bender, D. i Krstev, S. (2008) Makronutrijenti i mikronutrijenti u prehrani čovjeka. *Medicus*, **17**, str. 19-25.

Wilck, N., Balogh, A., Markó, L., Bartolomaeus, H., Müller. D.N. (2019) The role of sodium in modulating immune cell function. *Nat. Rev. Nephrol.* **15**, 546-558.

Zhou, W., Yang, S., Wang, P. (2017) Matrix effects and application of matrix effect factor. *Bioanalysis.* **9**, 23.

IZJAVA O IZVORNOSTI

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.

Angela Božić

Ime i prezime studenta