

# Određivanje funkcionalnih spojeva u kavi i njenim nusproizvodima 2

---

**Pavković, Petra**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2024**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split, Faculty of Chemistry and Technology / Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:167:824723>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-01-22**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split](#)



**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**

**ODREĐIVANJE FUNKCIONALNIH SPOJEVA U KAVI I NJENIM**  
**NUSPROIZVODIMA**

**ZAVRŠNI RAD**

**Petra Pavković**

**Matični broj:194**

**Split, rujan 2024.**

**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**  
**PRIJEDIPLOMSKI STUDIJ PREHRAMBENE TEHNOLOGIJE**

**ODREĐIVANJE FUNKCIONALNIH SPOJEVA U KAVI I NJENIM  
NUSPROIZVODIMA**

**ZAVRŠNI RAD**

**Petra Pavković**

**Matični broj:194**

**Split, rujan 2024.**

**UNIVERSITY OF SPLIT**  
**FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY**  
**UNDERGRADUATE UNIVERSITY STUDY**  
**FOOD TECHNOLOGY**

**DETERMINATION OF FUNCTIONAL COMPOUNDS IN COFFE AND  
ITS BY-PRODUCTS**

**BACHELOR THESIS**

**Petra Pavković**

**Parent number:194**

**Split, September 2024.**

Sveučilište u Splitu  
Kemijско-tehnološki fakultet  
Priјediplomski studij Prehrambene tehnologije

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti  
**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija  
**Mentor:** izv. prof. dr. sc. Danijela Skroza  
**Komentor:** doc. dr. sc. Barbara Soldo

### ODREĐIVANJE FUNCIONALNIH SPOJEVA U KAVI I NJENIM NUSPROIZVODIMA

Petra Pavković, 194

**Sažetak:** Prženje kave, jednog od najpopularnijih napitaka na svijetu, stvara značajne nusproizvode, poput ljuski, čija upotreba ima potencijal smanjenja negativnih utjecaja na okoliš. U ovom istraživanju analiziran je sastav masnih kiselina i aminokiselina u nusproizvodima (BP), te u sirovoj (BR), svijetlo prženoj (LR) i tamno prženoj (DR) kavi. Dominantne masne kiseline u tim uzorcima uključuju C18:2, C16:0, C18:1 i C18:0. U LR i DR uzorcima, nezasićene masne kiseline, osobito C18:2 i C18:1, činile su 52,11-53,95% ukupnih masnih kiselina, dok su u BP uzorcima bile prisutne u manjoj mjeri, oko 35%. BR kava sadržavala je pretežno zasićene masne kiseline, s C16:0 kao najdominantnijom (66,84%). Dodatno, masne kiseline kao što su C20:0, C21:1, C20:4 i C22:0 bile su uglavnom prisutne u BP uzorcima, s visokim udjelom C22:0 od 17,01%. Analiza aminokiselina pokazala je manje razlike između BR, pržene kave i BP, pri čemu su glutamin (15,81-20,16%) i glicin (12,71-14,88%) bili najzastupljeniji. BR kava imala je nešto više arginina, treonina (10,59%) i lizina (2,98%). Iako su profili aminokiselina slični, koncentracija u BP bila je 2,5 do 3 puta niža. Nusproizvodi kave pokazuju potencijal kao jeftin izvor masti i aminokiselina te bi mogli biti korisni kao funkcionalni sastojak hrane.

**Ključne riječi:** kava, nusproizvodi kave, aminokiseline, slobodne masne kiseline

**Rad sadrži:** 28 stranica, 7 slika, 7 tablica, 32 reference

**Jezik izvornika:** hrvatski

#### Sastav povjerenstva za ocjenu i obranu završnog rada:

1. Izv. prof. dr. sc. Miće Jakić – predsjednik
2. Doc. dr. sc. Barbara Soldo - član/komentor
3. Izv. prof. dr. sc. Danijela Skroza - mentor

#### Datum obrane:

Rad je u tiskanom i elektroničkom (PDF) obliku pohranjen u Knjižnici Kemijско-tehnološkog fakulteta u Splitu, Ruđera Boškovića 35, u javnoj internetskoj bazi Sveučilišne knjižnice u Splitu te u javnoj internetskoj bazi završnih radova Nacionalne i sveučilišne knjižnice.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

BACHELOR THESIS

**University of Split**  
**Faculty of Chemistry and Technology**  
**Undergraduate university study Food Technology**

**Scientific area:** Biotechnical sciences  
**Scientific field:** Food technology  
**Supervisor:** Ph. D. Danijela Skroza, Associate Professor  
**Co-supervisor:** Ph. D. Barbara Soldo, Assistant Professor

### **DETERMINATION OF FUNCTIONAL COMPOUNDS IN COFFE AND ITS BY-PRODUCTS**

Petra Pavković, 194

**Abstract:** Roasting coffee, one of the most popular beverages in the world, creates significant by-products, such as husks, the use of which has the potential to reduce negative environmental impacts. In this research, the composition of fatty acids and amino acids in by-products (BP), and in raw (BR), light roasted (LR) and dark roasted (DR) coffee was analyzed. The dominant fatty acids in these samples include C18:2, C16:0, C18:1, and C18:0. In LR and DR samples, unsaturated fatty acids, especially C18:2 and C18:1, accounted for 52.11-53.95% of total fatty acids, while in BP samples they were present to a lesser extent, around 35%. BR coffee contained mostly saturated fatty acids, with C16:0 as the most dominant (66.84%). Additionally, fatty acids such as C20:0, C21:1, C20:4 and C22:0 were mostly present in BP samples, with a high proportion of C22:0 at 17.01%. Amino acid analysis showed smaller differences between BR, roasted coffee and BP, with glutamine (15.81-20.16%) and glycine (12.71-14.88%) being the most abundant. BR coffee had slightly more arginine, threonine (10.59%) and lysine (2.98%). Although the amino acid profiles were similar, the concentration in BP was 2.5 to 3 times lower. Coffee by-products show potential as a cheap source of fats and amino acids and could be useful as a functional food ingredient.

**Keywords:** coffee, coffee by-products, amino acids, free fatty acids

**Thesis contains:** 28 pages, 7 pictures, 7 tables, 32 references

**Original in:** Croatian

#### **Defence committee for evaluation and defense of bachelor thesis:**

1. Ph. D. Miće Jakić, Associate Professor – chair person
2. Ph. D. Barbara Soldo, Assistant Professor - co-supervisor
3. Ph. D. Danijela Skroza, Associate Professor - supervisor

**Defence date:**

**Printed and electronic (PDF) form of thesis is deposited in** Library of Faculty of Chemistry and Technology in Split, Ruđera Boškovića 35, in the public library database of the University of Split Library and in the digital academic archives repositories of the National and University Library.

*Završni rad je izrađen u Zavodu za prehrambenu tehnologiju i biotehnologiju, Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Danijele Skroza i na Odjelu za kemiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta pod komentorstvom doc. dr. sc. Barbare Soldo, u razdoblju od lipnja do rujna 2024. godine.*

*Izradu rada pomogla je firma D16 Coffee koja je za eksperimentalni dio rada donirala uzorke kave.*

*Ovaj rad je sufinanciran sredstvima projekta AgriBioPack.*

## **ZAHVALA**

*Iskrenu zahvalu upućujem svojoj mentorici izv. prof. dr. sc. Danijeli Skroza i komentorici doc. dr. sc. Barbari Soldo na neprocjenjivoj podršci, vodstvu i stručnim savjetima tijekom izrade ovog rada.*

*Posebno se zahvaljujem svojoj obitelji i prijateljima koji su bili moj glavni oslonac tijekom studiranja.*



## ZADATAK ZAVRŠNOG RADA

- Odrediti sastav aminokiselina i slobodnih masnih kiselina u uzorcima sirove kave, kave nakon prženja i njenim nusproizvodima zaostalim nakon prženja.
- Analizirati eksperimentalne podatke o zastupljenosti pojedinih funkcionalnih spojeva u analiziranim uzorcima.

## SAŽETAK

Prženje kave, jednog od najpopularnijih napitaka na svijetu, stvara značajne nusproizvode, poput ljuski, čijom bi se upotrebom smanjio negativni utjecaja na okoliš. U ovom istraživanju analiziran je sastav masnih kiselina i aminokiselina u nusproizvodima (BP), te u sirovoj (BR), svijetlo prženoj (LR) i tamno prženoj (DR) kavi. Dominantne masne kiseline u tim uzorcima uključuju C18:2, C16:0, C18:1 i C18:0. U LR i DR uzorcima, nezasićene masne kiseline, osobito C18:2 i C18:1, činile su 52,11-53,95% ukupnih masnih kiselina, dok su u BP uzorcima bile prisutne u manjoj mjeri, oko 35%. BR kava sadržavala je pretežno zasićene masne kiseline, s C16:0 kao najdominantnijom (66,84%). Dodatno, masne kiseline kao što su C20:0, C21:1, C20:4 i C22:0 bile su uglavnom prisutne u BP uzorcima, s visokim udjelom C22:0 od 17,01%. Analiza aminokiselina pokazala je manje razlike između BR, pržene kave i BP, pri čemu su glutamin (15,81-20,16%) i glicin (12,71-14,88%) bili najzastupljeniji. BR kava imala je nešto više arginina, treonina (10,59%) i lizina (2,98%). Iako su profili aminokiselina slični, koncentracija u BP bila je 2,5 do 3 puta niža. Nusproizvodi kave pokazuju potencijal kao jeftin izvor masti i aminokiselina te bi mogli biti korisni kao funkcionalni sastojak hrane.

***Ključne riječi:*** kava, nusproizvodi kave, aminokiseline, slobodne masne kiseline

## **ABSTRACT**

Roasting coffee, one of the most popular beverages in the world, creates significant by-products, such as husks, the use of which has the potential to reduce negative environmental impacts. In this research, the composition of fatty acids and amino acids in by-products (BP), and in raw (BR), light roasted (LR) and dark roasted (DR) coffee was analyzed. The dominant fatty acids in these samples include C18:2, C16:0, C18:1, and C18:0. In LR and DR samples, unsaturated fatty acids, especially C18:2 and C18:1, accounted for 52.11-53.95% of total fatty acids, while in BP samples they were present to a lesser extent, around 35%. BR coffee contained mostly saturated fatty acids, with C16:0 as the most dominant (66.84%). Additionally, fatty acids such as C20:0, C21:1, C20:4 and C22:0 were mostly present in BP samples, with a high proportion of C22:0 at 17.01%. Amino acid analysis showed smaller differences between BR, roasted coffee and BP, with glutamine (15.81-20.16%) and glycine (12.71-14.88%) being the most abundant. BR coffee had slightly more arginine, threonine (10.59%) and lysine (2.98%). Although the amino acid profiles were similar, the concentration in BP was 2.5 to 3 times lower. Coffee by-products show potential as a cheap source of fats and amino acids and could be useful as a functional food ingredient.

**Keywords:** coffee, coffee by-products, amino acids, free fatty acids

# SADRŽAJ

UVOD .....	1
1. OPĆI DIO .....	2
1.1. Nutritivni sastav kave .....	2
1.1.1. Voda .....	3
1.1.2. Ugljikohidrati .....	3
1.1.3. Lipidi .....	4
1.1.4. Aminokiseline .....	5
1.2. Biološki aktivni spojevi i biološki potencijal kave .....	6
1.3. Proizvodnja kave .....	7
2. ESKEPRIMENTALNI DIO .....	9
2.1. MATERIJALI I METODE .....	9
2.1.1 Uzorci kave .....	9
2.1.2. Kemikalije .....	9
2.1.3. Postupak određivanja aminokiselina .....	11
2.1.4. Postupak određivanja slobodnih masnih kiselina .....	12
3. REZULTATI I RASPRAVA .....	15
3.1. Rezultati sastava aminokiselina u uzorcima .....	15
3.2. Rezultati sastava slobodnih masnih kiselina u uzorcima .....	18
5. POPIS KRATICA I SIMBOLA .....	25
6. LITERATURA .....	26

## UVOD

Kava se smatra drugim najpopularnijim napitkom u svijetu i poznata je po svom stimulativnom učinku zbog kofeina. Međutim, kava se ističe i po bogatstvu bioaktivnih spojeva koji doprinose njenom nutritivnom sastavu i korisnim učincima na zdravlje. Kava predstavlja važan izvor fenolnih spojeva, vitamina i minerala, a posebna pažnja se posvećuje njenom sadržaju masnih kiselina i aminokiselina koji igraju važnu ulogu u ljudskom metabolizmu (npr. sinteza proteina). Prilikom toplinske obrade zrna, navedene komponente prolaze kroz razne kemijske procese tijekom kojih se postižu specifični miris, boja i aroma kave.

Od masnih kiselina najzastupljenije su nezasićene masne kiseline poput linolne i oleinske kiseline. Od zasićenih masnih kiselina, najzastupljenija je palmitinska kiselina, osobito u sirovoj kavi. Masne kiseline su važni sastojci prehrane jer doprinose zdravlju srca, smanjenju upala i regulaciji kolesterola. Od aminokiselina najzastupljenije su glutamin i glicin, dok se u manjoj mjeri prisutni arginin, treonin i lizin. Ove aminokiseline sudjeluju u izgradnji mišićnog tkiva, regulaciji imunološkog sustava i sintezi hormona. Iako je koncentracija aminokiselina i slobodnih masnih kiselina najzastupljenija u zrnu kave, ne smijemo zanemariti ni nusproizvode kave, kao što su ljuske i talog, koji također sadrže značajne količine ovih funkcionalnih spojeva, što im daje potencijal za daljnju upotrebu u prehrambenim i farmaceutskim proizvodima.

U ovom istraživanju fokus je usmjeren na promjene sastava aminokiselina i slobodnih masnih kiselina tijekom različitog stupnja toplinske obrade zrna kave, u odnosu na sirovu kavu i pokožicu koja zaostaje tijekom prženja. Kroz analiziranje masnih kiselina i aminokiselina u kavi, može se bolje razumjeti njen nutritivni potencijal i utjecaj na zdravlje, ali i otvoriti mogućnosti za korištenje nusproizvoda u prehrambenoj industriji.

# 1. OPĆI DIO

## 1.1. Nutritivni sastav kave

U zelenoj kavi dominiraju ugljikohidrati (60% suhog težine), uključujući topljive i netopljive polisaharide (celuloza, arabinogalaktan i galaktomanan), oligosaharide (stahioza i rafinoza), disaharide (saharoza) i monosaharide (glukoza, galaktoza, arabinoza, fruktoza, manoz, manitol, ksiloza i riboza). Sadržaj lipida u zelenoj kavi čini 8–18% njezine suhe tvari. Frakcija lipida kave sastoji se od 75% triglicerida, dok su ostali lipidi steroli (stigmasterol, sitosterol), masne kiseline (linolna, linolenska, oleinska, palmitinska, stearinska, arahidna, lignocerinska i behenska) i pentaciklički diterpeni kafestol i kahveol. Glavne aminokiseline, vezane za proteine su asparagin, glutaminska kiselina, alanin, asparaginska kiselina i lizin.<sup>1</sup>

Prženje dovodi do promjene kemijskog i nutritivnog sastava kave koje su vezane uz Maillardove reakcije, karamelizaciju ugljikohidrata i pirolizu organskih spojeva prirodno prisutnih u sirovom zrnju.



Slika 1. Pržena zrna kave<sup>2</sup>

### 1.1.1. Voda

Sadržaj vode u zelenoj i prženoj kavi ima važnu ulogu, prvenstveno zbog utjecaja na stabilnost tijekom skladištenja te mogućnosti praćenja ekstrakta kave tijekom obrade. Često postoje nacionalna i međunarodna ograničenja koja reguliraju sadržaj vode u kavi.<sup>3</sup>

Zelena (sirova) zrna kave sadrže približno 1% jako vezane vode, 4% slabo vezane vode i dodatnih 5% vode s niskom pokretljivošću.<sup>3</sup> Pod tim okolnostima, sirova zrna imaju aktivitet vode od 0,5-0,6 i stabilna su do jedne godine, pod uvjetom da temperatura skladištenja ne prelazi 25 °C.<sup>4</sup> Pržena zrna kave i instant kava u prahu obično sadrži udio vode od 4%, što odgovara aktivitetu vode u rasponu od 0,1–0,3 pri temperaturi od 20 °C. Tijekom sušenja, smanjuje se sadržaj vode u zrnu kave do 60% eliminirajući rizik od oksidacije i rasta gljivica i bakterija. S druge strane, ako se ne koriste odgovarajuće tehnike sušenja, kvaliteta zrna može biti narušena zbog nepoželjnih fizičkih, kemijskih i senzorskih promjena.<sup>5</sup>

### 1.1.2. Ugljikohidrati

Šećeri imaju važnu ulogu u strukturi i kemijskom sastavu kave, osobito tijekom prženja. Sirova zrna kave sadrže ugljikohidrate u obliku polisaharida (celuloze i hemiceluloze) i jednostavnijih šećera kao što su saharoza, glukoza i fruktoza.<sup>6</sup>

Ugljikohidrati prisutni u sirovom zrnu kave mogu se podijeliti na ugljikohidrate visoke molekularne težine, gdje spadaju arabinogalaktan, manan (i/ili galakatomanan) i celuloza te na ugljikohidrate niske molekulske mase gdje spadaju disaharidi, tj saharoza.<sup>3</sup>

U ranim stadijima razvoja tkiva perisperma uvijek su zabilježene veće koncentracije glukoze i fruktoze u usporedbi sa saharozom. U endospermu, čak i u najranijim fazama sazrijevanja, saharoza je dominantni šećer.

Polisaharidi se općenito razlikuju od proteina i nukleinskih kiselina te od većine glikoproteina i glikolipida po tome što sadrže ponavljajuće strukturne značajke koje čine osnovu za klasifikaciju polisaharida prema strukturi.<sup>7</sup> Polisaharidi zastupljeni u sirovom zrnju kave su: celuloza, arabinogalaktan i galaktomanan. Polisaharidi su važni sastojci za zadržavanje hlapljivih stvari i, posljedično, stvaranje okusa.<sup>8</sup>

Monosaharidi postoje kao aldoze ili ketoze. Oni se nadalje klasificiraju prema broju atoma ugljika u svojim lancima (trioze, tetraze, pentoze, heksoze itd.) i prema vrsti prstenova koji tvore, u furanoze i piranoze.<sup>9</sup> Monosaharidi prisutni u sirovom zrnju kave su glukoza, galaktoza, arabinoza, fruktoza, manoz, manitol, ksiloza i riboza.<sup>1</sup>

Prženje kvantitativno i kvalitativno utječe na sadržaj ugljikohidrata u ekstraktima kave. Znanstvenici su došli do spoznaje da se tijekom procesa prženja smanjuje molekulske mase arabinogalaktina. Druga važna promijeni koja se odvija tijekom prženja kave je Maillardova reakcija, kemijska reakcija između reducirajućih šećera i aminokiselina, koja dovodi do stvaranja niza važnih hlapljivih spojeva kao što su piridini, pirazini, dikarbonili, diacetil, oksazoli, tiazoli, pirol i imidazoli te enoloni.<sup>3</sup>

### **1.1.3. Lipidi**

Lipidi su jedna od ključnih sastavnica kave, a njihova koncentracija znatno varira o sorti kave i načinu obrade. Važna je njihova uloga u razvoju okusa kave tijekom prženja. Lipidni dio kave uglavnom se sastoji od triaciglicerola (oko 75%), slobodnih masnih kiselina (1%), sterola (2,2% u slobodnom obliku i 3,2% u obliku estera sa slobodnim masnim kiselinama) i tokoferola (0,05%), što su uobičajeni sastojci jestivih biljnih ulja.<sup>8</sup> Te komponente nalaze se uglavnom u endospermu zrelog zrna kave, a samo mala količina nalazi se u vanjskom sloju zrna.<sup>8</sup> Lipidna komponenta također uključuje diterpene. Identificirane su i druge tvari slične diterpenima, poput kofediola i arabiola. Ukupan sadržaj lipida u osušenim zrnima zelene kave varira između 7 i 17%. Tijekom procesa prženja dolazi do gubitka sirovih lipida.<sup>1</sup>

Kahveol i kafestol su pentaciklični diterpeni alkoholi koji su predstavnici dijela lipidne frakcije. Kafestol je dio nesapunjive uljne frakcije kave, dok je kahveol osjetljiv na toplinu, kisik i svjetlost.<sup>10</sup>



#### 1.1.4. Aminokiseline

Aminokiseline su važni spojevi u kavi, koji doprinose njenom kemijskom sastavu i okusu, posebno tijekom prženja. Iako kava nije bogat izvor proteina, u sirovim zrnima kave nalazi se značajan broj slobodnih aminokiselina među kojima se izdvajaju glutamin, glicin, arginin, treonin i lizin.<sup>1</sup>

Prženje uzrokuje znatno, ako ne i potpuno, uništavanje svih amino spojeva koje skladište dušik. Dušik je ugrađen u heterocikličnu aromu većine hlapljivih tvari koje se oslobađaju procesom prženja. Poznavanjem aminokiselinskog profila utječe na doprinos određenih hlapljivih tvari tijekom prženja.<sup>3</sup>

Sadržaj proteina u sirovom (zelenom) i prženom zrnu kave, sagledavajući kao postotak cijelog zrna, istog je reda veličine. Toplinskom obradom prženo zrno kave gubi na masi oko 14-20%, a utjecaj na smanjenje udjela aminokiseline se očituje kod arginina, cistina, histidina, lizina, serina i treonina. Glutaminska kiselina i leucin se pak povećavaju nakon prženja.<sup>11</sup>

Maillardova reakcija, za koju se smatra da je ključna za formiranje melanoida (tamnih pigmenata) uključuje interakciju karbonilne skupine reducirajućih šećera (pr. glukoze) s aminokiselinama (pr. slobodne masne kiseline ili proteini koji sadrže NH<sub>2</sub> skupinu). Ova reakcija ne uključuje samo aminokiseline, već i druge molekule koje sadrže NH<sub>2</sub> skupine. Reakcija se odvija kroz niz složenih kemijskih procesa koji su modulirani pH vrijednosti, temperaturom i raspoloživom vlagom. Kako konačni produkti Maillardove reakcije nastaju vrlo raznoliki spojevi, uključujući melanoide, koji daju hrani tamnu boju i karakterističan okus, te mnogi drugi spojevi koji pridonose aromi i okusu.<sup>1</sup>

Melanoidi se formiraju tijekom prženja zelenog zrna kave putem Maillardovih reakcija ili procesom karamelizacije, gdje reducirajući šećeri reagiraju sa slobodnim aminokiselinama. Ovi melanoidni polimeri, koji imaju varijabilan sastav i molekularnu masu, odgovorni su za smeđu boju pržene kave i čine otprilike 25% njezine suhe tvari.<sup>10</sup>

## 1.2. Biološki aktivni spojevi i biološki potencijal kave

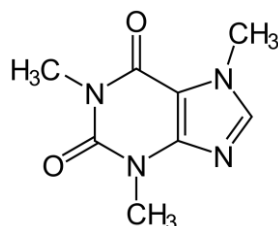
Kava je napitak koja je mješavina bioaktivnih spojeva s brojnim pozitivnim djelovanjima na zdravlje.

Mnogi bioaktivni spojevi koji djeluju kao antioksidansi, uključuju trigonelin, tokoferol, diterpene kao što su kahveol i kafestol, te fenolne spojeve poput klorogenske kiseline. Većina antioksidansa u kavi ostaje stabilna tijekom prženja, a neki se dodatno stvaraju putem Maillardovih reakcija, stvarajući melanoide i laktone klorogenske kiseline.<sup>10</sup>

Kofein, metilirani derivat ksantanina i pripadnik skupine metilksantina, ima gorki okus, ali doprinosi samo oko 10% gorčine u kavi. Ovaj alkaloid je otporan na visoke temperature. Sadržaj kofeina u prženoj kavi nije znatno smanjen, iako se gubitci (pretpostavka zbog sublimacije) mogu pojaviti procesom zagrijavanja ili izlaganjem visokim temperaturama.<sup>12</sup>

Trigonelin je alkaloid koji se tijekom procesa prženja djelomično razgrađuje na nikotinsku kiselinu i nekoliko derivata piridina. Biološka aktivnosti trigonelina uključuje, hipoglikemijsko, neuroprotektivno, antiinvazivno, estrogensko i antibakterijsko djelovanje.<sup>1</sup> Sadržaj trigonelina u prženoj kavi ovisi o načinu prženja, pa tako jačim prženjem njegov se sadržaj smanjuje. On pridonosi gorčini napitka i služi kao prekursor za formiranje različitih lakohlapljivih spojeva, poput pirola i piridina, tijekom prženja kave.<sup>1</sup>

Klorogenska kiselina predstavlja glavnu skupinu fenolnih kiselina koje su prisutne u kavi. Klorogenska kiselina se razgrađuje tijekom prženja što rezultira formiranjem spojeva kao što su kava kiselina i drugih fenolnih spojeva. Koncentracija klorogenske kiseline se povećava sazrijevanjem zrna, no kada zrno dostigne potpunu zrelost njena koncentracija opada, posebice kod prezrelih plodova gdje je koncentracija najniža.<sup>5</sup>



Slika 2. Kemijska struktura kofeina<sup>13</sup>

Dokazano je da unos polifenola pruža zaštitu organizmu od mogućeg nakupljanja masnog tkiva u području oko struka, povišenog krvnog tlaka i triglicerida u krvi. Procesom prženja, odnosno tijekom Maillardove reakcije, dolazi do formacije melanoida i laktona klorogenske kiseline koji spadaju u kategoriju antioksidativnih spojeva.<sup>10</sup> Klorogenska kiselina doprinosi antioksidativnoj moći tijela i smanjuje LDL oksidaciju.<sup>14</sup>

Tijekom detaljnih istraživanja znanstvenici su došli do spoznaje da se unosom kofeina u tijelo ujedno smanjuje i osjetljivost na inzulin što za posljedicu ima smanjenje skladištenja glukoze a to rezultira reduciranjem šećernih bolesti.<sup>14</sup>

Parkinsonova bolest karakterizirana je degradacijom dopaminergičkih neurona. Istraživanja provedena na životinjskim modelima pokazuju da konzumacija kofeina može smanjiti rizik od Parkinsonove bolesti pružanjem zaštite protiv neurotoksičnosti dopaminergičkih neurona.<sup>14</sup>

Provedene kliničke studije povezuju utjecaj kave sa smanjenom stopom samoubojstava. U 10-godišnjoj studiji na više od 128 000 ispitanika relativni rizik od samoubojstava smanjivao se za 13% sa svakom dodatnom šalicom kave koja se svakodnevno konzumirala.<sup>15</sup>

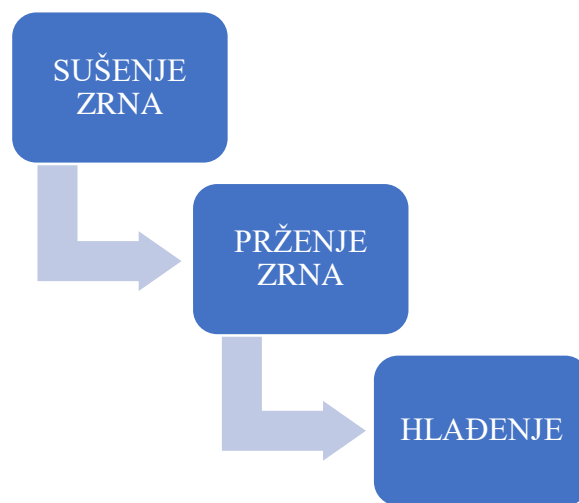
Znanstvenici su došli do spoznaje da sastojci prisutni u kavi imaju potencijalno djelovanje protiv raka jajnika, ali kofein umanjuje njihov učinak.<sup>16,17</sup> Kofein povoljno utječe na regulaciju razine cirkulirajućeg estrogena i stoga može predstavljati ključan faktor u razvoju karcinoma povezanih s hormonima.<sup>14</sup>

### **1.3. Proizvodnja kave**

Prženje kave ključno je u procesu njene obrade jer tada nastaju različita organoleptička svojstva poput okusa, arome i boje, koja utječu na kvalitetu kave. Kvaliteta prženja u velikoj mjeri zavisi o trajanju i temperaturi procesa. Proces prženja sastoji se od tri faze: prva faza uključuje sušenje prilikom kojeg se odvija uklanjanje vlage (do udjela vlage od 10-12%) iz zrna kave gdje zrno poprima žutu boju. Nakon procesa sušenja, zrna se melju gdje se osušene ljuskice (pokožica) odvajaju od zrna u cilju postizanja kvalitetnije sirovine.

Druga faza je od ključne važnosti jer se tijekom nje odvijaju najvažnije pirolitičke reakcije, a riječ je o prženju. Tijekom prženja dolazi do promjene kemijskih i fizikalnih svojstava, zrno poprima smeđu boju, oslobađa se znatna količina ugljikovog dioksida te dolazi do formacije različitih spojeva bitnih za aromu i okus. Zrna kave se uglavnom zagrijavaju na temperaturu od 180-250 °C što dovodi do Maillardove reakcije i karamelizacije šećera u zrnima. Prženje može biti lagano, srednje ili tamno, ovisno o željenom profilu okusa.

Treća ujedno i posljednja faza procesa, uključuje brzo hlađenje kako bi se spriječilo prekomjerno prženje i zadržao željeni profil okusa.<sup>18</sup>



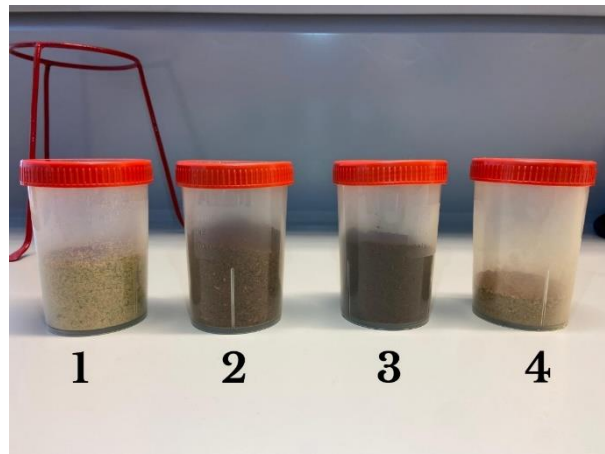
**Slika 3.** Ključne faze procesa prženja kave

## 2.ESKEPRIMENTALNI DIO

### 2.1. MATERIJALI I METODE

#### 2.1.1 Uzorci kave

Uzorci kave korišteni u ovom radu dobavljeni su od male lokalne pržionice kave *D16 Coffee* u Splitu, a sirovina je porijeklom iz Brazila. Za analizu su uzeta zrna sirove kave koja nije prošla nikakav proces prženja; zrna slabije pržene kave koja je bila izložena prženju kraće vrijeme i pri nižoj temperaturi; zrna jače pržene kave koja je izložena prženju dulji period i većoj temperaturi; pokožica kave koje predstavlja nusprodukt tijekom prženja. Svaki uzorak kave prije analize je usitnjen korištenjem mlinca Delimano PCML 2014 te pohranjen u plastične čašice na suhom i tamnom mjestu.



**Slika 4.** Uzorci kave; 1-sirovo zrno kave; 2-zrno slabije pržene kave; 3-zrna jače pržene kave; 4- pokožica kave (vlastita fotografija)

#### 2.1.2. Kemikalije

Kemikalije korištene u ovom radu su prikazane u tablicama 1 i 2 uz navođenje svrhe i upotrebe tijekom analize. Boratni pufer i flour reagens korišteni za analizu aminokiselina potječu od brenda *AccQ-Tag*.

**Tablica 1.** Kemikalije korištene za analizu aminokiselina

<b>Kemikalije</b>	<b>Kemijska formula</b>	<b>Upotreba</b>
Tekući dušik	$N_2$	Miješanje s usitnjenim uzorcima (priprema za hidrolizu)
Klorovodična kiselina	HCl	HCl/H <sub>2</sub> O (50:50, v/v)
Natrijev hidrogenkarbonat	NaHCO <sub>3</sub>	Neutralizacija otopine
AccQ. Tag boratni pufer		Otapalo
Acc. Tag flour reagens		Denaturacija

**Tablica 2.** Kemikalije korištene za analizu slobodnih masnih kiselina

<b>Kemikalije</b>	<b>Kemijska formula</b>	<b>Upotreba</b>
Metanol, bezvodni	CH <sub>3</sub> OH	otapalo
heptan, kromatografske čistoće	C <sub>7</sub> H <sub>16</sub>	otapalo
2N otopina KOH u metanolu		saponifikacija
helij, kromatografske čistoće	<i>He</i>	Plin nositelj
vodik i zrak, kromatografske čistoće	$H_2$	Pomoćni plinovi u kromatografiji
Restek Food industry Fame mix. Cat.no. 35077		mješavina masnih 36 metil estera masnih kiselina

### 2.1.3. Postupak određivanja aminokiselina

Aminokiseline su odvojene tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti (engl. *High performance liquid chromatography* - HPLC), korištenjem tekućinskog kromatografa Perkin Elmer Series 200 sustava i softvera TotalChrom Workstation, na AccQ™•Tag-koloni uz fluorescentni detektor. Prije analize, uzorci su usitnjeni i hidrolizirani na način da je 10 mg uzorka pomiješano je s 1 mL HCl/H<sub>2</sub>O (50:50, v/v) te zagrijavani preko noći u sušioniku pri 105–110 °C. Nakon hlađenja na sobnoj temperaturi, otopina je neutralizirana dodatkom krutog NaHCO<sub>3</sub>. Dobiveni hidrolizirani uzorci potom su podvrgnuti derivatizaciji. U staklenoj epruveti za uzorke (6×50 mm) 70 µL AccQ•Tag™ boratnog pufera dodano je u 10 µL neutraliziranog hidrolizata i kratko promiješano. Potom je u smjesu dodano 20 µL AccQ•Tag™ Fluor reagensa i sadržaj se promiješao. Otopina je ostavljena stajati minutu na sobnoj temperaturi i potom je prebačena u bočicu s umetkom ograničenog volumena, zatvorena i zagrijavana 10 minuta na 55 °C. Volumen od 5 µL derivatiziranog uzorka ubrizgan je u HPLC sustav. Razdvajanje je postignuto na koloni AccQ•Tag™ 3,9 × 150 mm dizajniranoj za analizu hidrolizata aminokiselina. Temperatura peći je postavljena na 37 °C, a otapalo za eluiranje bio je AccQ•Tag™ koncentrat razrijeđen vodom. Otapalo B je smjesa acetonitrila i vode (60:40, v/v). Brzina protoka mobilne faze bila je 1 mL/min. Gradijentno odvajanje postignuto je korištenjem programa pumpe kako slijedi: 0–0,5 min 100% A, 0,5–15,5 min 93% A, 15,5–19,5 min 89% A, 19,5–32,5 min 67% A, 32,5–33,5 min 67% A, 33,5–34,5 min 0% A, 34,5–43,0 min 0% A, 43,0–44,0 min 100% A i 44,0–50,0 min 100% . Aminokiseline su detektirane fluorescentnim detektorom pomoću valne duljine ekscitacije na 250 nm i emisija na 395 nm. Za identifikaciju i kvantifikaciju aminokiselina korišten je standard hidrolizata aminokiselina (Waters) prema Waters AccQ•Tag priručniku. Poblje, identifikacija je provedena usporedbom vremena zadržavanja uzorka s čistim standardima, dok je kvantifikacija provedena izradom kalibracijske krivulje na temelju pet različitih standardnih koncentracija za svaku aminokiselinu.



**Slika 5.** Primjer izgleda tekućinskog kromatografa Perkin Elmer<sup>19</sup>

#### **2.1.4. Postupak određivanja slobodnih masnih kiselina**

Analiza slobodnih masnih kiselina napravljena je plinskom kromatografijom. Ovoj metodi prethodila je ekstrakcija masne komponente iz uzoraka kave i pokožice. Za izvedbu metode ekstrakcije masne komponente koristio se Soxlet prikazan na slici 6. Soxlet je temeljni alat koji se koristi za ekstrakciju karakterističnih spojeva iz čvrstih uzoraka korištenjem procesa kontinuirane ekstrakcije otapalom. Plinska kromatografija odvija se između pokretne (plinske) faze i stacionarne (tekuće) faze.<sup>20</sup> Detektor ima ulogu praćenja sastava struje plina dok izlazi iz kolone i nosi odvojene komponente. Derivatizacija je od ključnog značaja jer ona povećava hlapljivost komponenti, što za posljedicu ima bolje odvajanje i povećanje osjetljivosti detektora. Detektor je uređaj koji pretvara fizikalna ili kemijska svojstva tvari u električni signal, koji se potom koristi za određivanje koncentracije analita u uzorku. Metoda koristi detektor plamene ionizacije (eng. *Flame Ionizing Detector*; FID) koji koristi kemijsku ionizaciju organske tvari u prisutnosti plamena vodika kako bi se stvorila struja iona čiji se intenzitet mjeri. Prednosti ovog detektora je visoka osjetljivost i široki linearni raspon te se često koristi za detekciju organskih spojeva.





**Slika 6.** Aparatura za Soxlet (vlastita fotografija)

Za pripremu metilnih estera u staklenu epruvetu odvažuje se oko 0,10 g uzorka ulja dobivenog pomoću Soxleta prikazanog na slici 6. Odvagani uzorak ulja otopi se u 2 mL heptana, i zatim doda 0,2 mL 2N metanolne otopine kalijeva hidroksida. Epruveta se začepi i snažno mućka 30 sekundi. Ostavi se uspravno stajati dok ne odijele slojevi. Gornji sloj koji sadrži metilne estere masnih kiselina se dekantira. Preporuča se čuvanje otopine metilnih estera u hladnjaku prije analize, a ne preporučuje se čuvanje otopine metilnih estera masnih kiselina više od 12 sati. Injektira se 1  $\mu$ L heptanskog sloja (gornjeg) u injektor plinskog kromatografa.

Za analizu masnih kiselina korišten je plinski kromatograf (model VARIAN 3900) s plameno-izolacijskim detektorom (FID), split-splitless injektorom (1177) te pećnicom s mogućnošću programiranja temperature uz maksimalno odstupanje od  $\pm 1$  °C. Odvajanje metil estera pojedinih masnih kiselina odvijalo se na kapilarnoj koloni za plinsku kromatografiju (Restek, RTX 2330, duljine 30 m, a unutarnjeg promjera 0,25 mm i debljine stacionarne faze 0,2  $\mu$ m).

Pri analizi osigurani su sljedeći uvjeti rada plinskog kromatografa: početna temperatura kolone iznosila je 140 °C, zatim se brzinom od 5 °C/min temperatura podigla do 210 °C i ta se temperatura održavala sljedećih 16 min. Ukupno trajanje analize je 30 min. Kako bi nastajanje trans masnih kiselina sveli na minimum temperatura injektora mora biti 250 °C i detektora 250 °C. Helij se koristi kao mobilna faza uz protok od 2 ml/min.

Identifikacija masnih kiselina provedena je usporedbom s retencijskim vremenima smjese standarda metilnih etera masnih kiselina (Restek Food industry Fame mix. Cat.no. 35077).

### 3.REZULTATI I RASPRAVA

#### 3.1.Sastav aminokiselina u uzorcima

Rezultati analize sastava aminokiselina u uzorcima kave i pokožice prikazani su u tablici 3. Dobiveni rezultati izraženi su kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija.

Kod analize aminokiselinskog sastava različito obrađenih zrna kave, važno je razumjeti kemijske karakteristike svake aminokiseline. Uočljivo je da su neke aminokiseline stabilne prilikom procesa prženja što rezultira njihovom prisutnošću u prženom zrnu kave. Na temelju eksperimentalnih podataka dobivenih prethodno opisanom metodom udio nekih aminokiselina povećava procesom prženja. Primjer takvih aminokiselina predstavljaju: glutaminska kiselina (GLU), alanin (ALA), prolin (PRO), metionin (MET), izoleucin (ILE) i leucin (LEU). Suprotno tome, zabilježeni su niži udjeli aminokiselina koje su loše toplinske stabilnosti u prženim zrnima. Takve aminokiseline su serin (SER), glicin (GLY), arginin (ARG), treonin (THR), cistein (CYS), lizin (LYS) i histidin (HIS).

Najveća promjena koncentracije vidljiva je kod glutaminske kiseline. Naime, njena se koncentracija povećava toplinskom obradom zrna (20,16% u slabije prženom zrnu i 20,97% u jače prženom zrnu dok 15,81% u sirovom zrnu kave). Glutaminska kiselina je neesencijalna aminokiselina koja je ključna u sintezi proteina. Karakterizira je njena stabilnost pri povišenim temperaturama što je ujedno i ključan faktor njene visoke koncentracije u prženom zrnu. Obzirom da pripada skupini kiselo alifatskih aminokiselina koje sadrže karboksilnu skupinu na svom bočnom ogranku ne dolazi do njene intenzivne razgradnje.<sup>21</sup>

Slično tomu, može se prepoznati kod asparaginske kiseline (ASP) koja također pripada kiselo alifatskim aminokiselinama i njena se koncentracija ne smanjuje toplinskom obradom zrna (7,65% u sirovom zrnu kave; 8,19% u slabije prženom zrnu te 8,64% u jače prženom zrnu). Posebno je zanimljiv udio ove aminokiseline u nusproizvodu koji zaostaje nakon prženja i iznosi čak 8,40%.

Za razliku od GLU, smjesa arginina i treonina (ARG+THR) se tijekom termičke obrade smanjuje. Odnosno, najviši postotak ove smjese je dobiven u sirovom zrnju 10,59%, dok procesom prženja njihov udio se smanjio do 6,99% u slabije prženom zrnju kave i do 5,65% u jače prženom zrnju. Kod nusproizvoda se i ovdje uočava veći udio ovih aminokiselina u odnosu na obrađena i sirova zrna kave. Obzirom da arginin pripada skupini bazično alifatskih aminokiselina, smanjenje udjela smjese ARG+THR do koje dolazi procesom prženja može se objasniti njihovom toplinskom osjetljivošću. Naime bazične aminokiseline imaju amino grupu na bočnom ogranku što ih čini reaktivnijima te time su i sklonije razgradnji.<sup>21</sup>

**Tablica 3.** Sastav aminokiselina u uzorcima kave i pokožici

<b>Aminokiseline</b>	<b>Sirova kava (%)</b>	<b>Slabije pržena kava (%)</b>	<b>Jače pržena kava (%)</b>	<b>Pokožica (%)</b>
<b>ASP</b>	7,65±0,07	8,19±0,06	8,64±0,07	8,40±0,33
<b>SER</b>	7,3±0,00	5,98±0,14	4,06±0,10	8,78±0,08
<b>GLU</b>	15,81±,20	20,16±0,02	20,97±1,62	8,20±0,05
<b>GLY</b>	14,88±0,03	12,71±0,31	12,56±0,31	12,59±0,04
<b>HIS</b>	2,44±0,04	2,10±0,17	1,92±0,06	2,46±0,04
<b>ARG+THR</b>	10,59±0,04	6,99±0,05	5,65±0,01	11,60±0,30
<b>ALA</b>	6,47±0,15	7,39±0,06	7,53±0,05	7,81±0,10
<b>PRO</b>	6,41±0,09	8,04±0,05	8,39±1,60	7,61±0,99
<b>CYS</b>	0,24±0,00	0,08±0,00	0,06±0,01	0,13±0,03
<b>TYR</b>	3,45±0,08	2,65±0,09	3,39±0,06	3,75±0,14
<b>VAL</b>	0,05±0,03	0,07±0,01	0,03±0,00	0,10±0,01
<b>MET</b>	7,64±0,05	8,56±0,25	8,93±0,31	8,28±0,34
<b>LYS</b>	2,98±0,07	0,52±0,00	0,47±0,04	1,14±0,09
<b>ILEU</b>	3,58±0,03	3,69±0,09	4,87±0,80	4,71±0,03
<b>LEU</b>	6,26±0,13	7,20±0,04	7,78±0,24	6,24±0,43
<b>PHE</b>	4,26±0,05	5,68±0,50	4,75±0,06	8,20±2,04

Udio fenilalanina (PHE) i tirozina (TYR) se nekontinuirano mijenja. Naime, kod TYR se uočava blagi pad koncentracije u slabije prženom zrnu (2,65%) u odnosu na sirovo zrno (3,45%) te ponovni rast u jače prženom zrnu (3,39%). Dok se kod PHE uočava porast koncentracije u slabije prženom (5,68%) zrnu u odnosu na sirovo (4,26%) te ponovni pad u jače prženom zrnu (4,75%). Takva pojava može se pojasniti oslobađanjem pojedinih aminokiselina iz proteina prilikom toplinske obrade. Objašnjenje za nešto veći udio TYR u sirovom zrnu je u izostanku toplinske obrade stoga ne dolazi do razgradnje te aminokiseline. S druge strane, kod slabije pržene kave dolazi do razgradnje TYR što se predočuje padom udjela s 3,45% na 2,65%, no objašnjenje za ponovni porast i to u jače prženoj kavi trebali bi tražiti u oslobađanju TYR iz biomolekula do kojeg dolazi procesom zagrijavanja. Kod PHE obrazac je nešto drugačiji, udio mu je veći u slabije prženoj kavi dok se u ostalim uočava pad. Može se zaključiti da se za ovu sortu kave tijekom slabijeg prženja postigla idealna temperaturna obrada prilikom koje se oslobodila najveća količina fenilalanina, a daljnjim prženjem dolazi smanjenja njegovog udjela. U pokožici kave udio PHE je bio dvostruko veći u usporedbi sa sirovom kavom.

Glicin (GLY) je neutralno alifatska kiselina te je ujedno i najjednostavnije građena aminokiselina.<sup>21</sup> Njegov udio je nešto viši u sirovom zrnu kave (14,88%) dok kod slabije prženog zrna kave (12,71%) i jače prženog zrna kave (12,56%) dolazi do blagog pada udjela GLY.

Lizin (LYS) je bazična alifatska aminokiselina.<sup>21</sup> U odnosu na slabije prženo zrno kave (0,52%) i jače prženo zrno kave (0,47%), LYS je u većem udjelu prisutan u sirovom zrnu kave (2,98%), a udio mu se smanjuje procesom prženja.

Pokožicu kave, koja je nusprodukt u ovoj industriji, karakterizira stabilnost u odnosu na pržene uzorke kave. Stabilnost pokožice očituje se u njenim udjelima koji su usporedivi s udjelima drugih uzoraka kave. Pokožica kave ima jedinstven sastav: lignin (38%), celuloza (28%), hemiceluloza (25%) također je bogata ostacima ksiloze, proteini (8-11%), lipidi (1-3%), i kofein (1%).<sup>22</sup> Pokožica kave u svom sastavu sadrži lipide i proteine koji su prisutni u malim količinama, stoga su manje izložene razgradnji u odnosu na druge uzroke zrna koji u svom sastavu sadrže više proteina. Pokožica kave bogata je i fenolnim spojevima, uglavnom su to fenolne kiseline i to kava i klorogenska kiselina.<sup>23</sup> Moguće je da su navedeni razlozi zaslužni za veći udio pojedinih aminokiselina u nusproizvodu u usporedbi s sirovom kavom.

### 3.2. Sastav slobodnih masnih kiselina u uzorcima

Rezultati analize sastava slobodnih masnih kiselina prikazani su u tablicama 4 – 7, predstavljeni su srednjom vrijednosti iz dva ponavljanja  $\pm$  standardna devijacija.

Sirovo zrno kave bogato je različitim masnim kiselinama koje su prikazane u tablici broj 4, među njima prema zastupljenosti se ističu: palmitinska kiselina (66,48%), stearinska kiselina (13,16%) i oleinska kiselina (10,84%). Palmitinska kiselina (C16:0) pripada skupini zasićenih masnih kiselina i prirodno je prisutna u većim količinama u sirovom zrnu kave, a čini stabilni dio lipidnog sastava kave. Općenito su zasićene masne kiseline manje podložne oksidaciji u usporedbi s nezasićenim masnim kiselinama, te one igraju ključnu ulogu u očuvanju kvalitete zrna kave tijekom skladištenja i prženja.<sup>24</sup> Od mononezasićenih masnih kiselina prisutna je oleinska kiselina (C18:1n9c), iako je prisutna u manjem udjelu u odnosu na prethodne, ima važnu ulogu očuvanja kvaliteta tijekom skladištenja.<sup>21</sup>

**Tablica 4.** Sastav slobodnih masnih kiselina u sirovom zrnu kave

	<b>Naziv</b>	<b>Prosjek (%)</b>
<b>C16:0</b>	Palmitinska kiselina	66,48 $\pm$ 2,57
<b>C18:0</b>	Stearinska kiselina	13,16 $\pm$ 0,23
<b>C18:1n9t</b>	Elaidična kiselina	1,55 $\pm$ 0,65
<b>C18:1n9c</b>	Oleinska kiselina	10,84 $\pm$ 1,42
<b>C20:0</b>	Arahidska kiselina	4,83 $\pm$ 0,19
<b>C18:2n6</b>	Linolna kiselina	0,88 $\pm$ 0,57
<b>C20:1</b>	Cis-11-eikozenska kiselina	0,38 $\pm$ 0,10
<b>C22:0</b>	Behenska kiselina	1,29 $\pm$ 0,06
<b>C20:4n6</b>	Atahidonska kiselina	0,16 $\pm$ 0,02
<b>C24:0</b>	Lignocerinska kiselina	0,42 $\pm$ 0,03

**Tablica 5.** Sastav slobodnih masnih kiselina u slabije prženom zrnu kave

	Naziv	Prosjek (%)
<b>C14:0</b>	Miristinska kiselina	0,06±0,01
<b>C15:0</b>	Pentadekanska kiselina	0,03±0,01
<b>C16:0</b>	Palmitinska kiselina	35,34±0,88
<b>C16:1</b>	Palmitoleinska kiselina	0,10±0,06
<b>C17:0</b>	Heptadekanska kiselina	0,10±0,01
<b>C18:0</b>	Stearinska kiselina	7,24±0,24
<b>C18:1n9c</b>	Oleinska kiselina	9,06±0,25
<b>C18:2n6c</b>	Linolna kiselina	43,05±1,26
<b>C20:0</b>	Arahidska kiselina	2,52±0,13
<b>C20:1</b>	Cis-11-eikozenska kiselina	0,22±0,03
<b>C18:3n3</b>	$\alpha$ -linolenska kiselina	1,28±0,07
<b>C21:0</b>	Heneikozanoična kiselina	0,08±0,01
<b>C20:2</b>	Eikadiena kiselina	0,02±0,01
<b>C22:0</b>	Behenska kiselina	0,58±0,03
<b>C20:4n6</b>	Arahidonska kiselina	0,08±0,03
<b>C24:0</b>	Lignocerinska kiselina	0,23±0,01

Masne kiseline koje dominiraju u slabije prženom zrnu kave su: linolna kiselina (43,05%), palmitinska kiselina (35,34%), oleinska kiselina (9,06%) i stearinska (7,24%). Različita zastupljenost pojedinih masnih kiselina između sirovog i slabije prženog zrna je rezultat procesa prženja, koje dokazano uzrokuju promjene u sastavu lipida. Linolna kiselina (C18:2n6c) je polinezasićena masna kiselina te je usporedbom sa zasićenim masnim kiselinama, više podložna procesima oksidacije.<sup>21</sup> Zanimljivo je da se udio linolne kiseline povećava s prženjem kave, iako je prethodno navedeno da su polinezasićene masne kiseline više podložne procesima oksidacije, stoga se očekivalo smanjenje njenog udjela procesom prženja. Unatoč tome, udio linolne kiseline se upravo povećava procesom prženja, najmanji udio je u sirovom zrnu kave (0,88%) dok kod slabije prženog zrna (43,05%) i jače prženog zrna kave (44,90%) udio linolne kiseline

raste. Može se pretpostaviti da je došlo do oksidacije linolne kiseline, a porast njenog udjela se krije u razgradnji lipida prilikom zagrijavanja što rezultira oslobađanjem linolne kiseline iz strukture lipida. Palmitinska kiselina (C16:0) i nakon toplinske obrade ostaje prisutna zbog svoje male sklonosti oksidaciji. Iako nezasićena, oleinska kiselina pokazuje mali pad udjela obzirom na toplinsku obradu s 10,84% na 9,06%. U slabije prženoj kavi s nižim udjelima prisutne su  $\alpha$ -linolenska kiselina (C18:3n3) s udjelom od 1,28%, heptadekanska kiselina (C17:0) s udjelom od 0,10%, palmitoleinska kiselina (C16:1) s udjelom od 0,10%, heneikozanoična kiselina (C21:0) s udjelom od 0,08%, miristinska kiselina (C14:0) s udjelom od 0,06%, pentadekanska kiselina (C15:0) s udjelom od 0,03% te eikadiena kiselina (C20:2) s udjelom od 0,02%.

**Tablica 6.** Sastav slobodnih masnih kiselina u jače prženom zrnju kave

	<b>Naziv</b>	<b>Prosjeak (%)</b>
<b>C15:0</b>	Pentadekanska kiselina	0,03±0,00
<b>C16:0</b>	Palmitinska kiselina	33,75±0,49
<b>C16:1</b>	Palmitoleinska kiselina	0,04±0,01
<b>C17:0</b>	Heptadekanska kiselina	0,11±0,01
<b>C18:0</b>	Stearinska kiselina	7,01±0,20
<b>C18:1n9c</b>	Oleinska kiselina	9,05±0,04
<b>C18:2n6c</b>	Linolna kiselina	44,90±0,21
<b>C20:0</b>	Arahidska kiselina	2,46±0,24
<b>C18:3n3</b>	$\alpha$ -linolenska kiselina	0,22±0,03
<b>C21:0</b>	Heneikozanoična kiselina	0,07±0,01
<b>C20:2</b>	Eikadiena kiselina	0,04±0,00
<b>C22:0</b>	Behenska kiselina	0,52±0,12
<b>C20:4n6</b>	Arahidonska kiselina	0,09±0,01
<b>C24:0</b>	Lignocerinska kiselina	0,24±0,02



Sastav masnih kiselina u jače prženom zrnu kave usporediv je sastavu slabije prženog zrna kave. Istuču se linolna kiselina (44,90%), palmitinska kiselina (33,75%), oleinska kiselina (9%) i stearinska kiselina (7%). Podložnost oksidacije polinezasićenih masnih kiselina, gdje upravo spada linolna, raste povećanjem temperature i povećanjem dvostrukih veza u strukturi.<sup>24</sup> Visoki udjel palmitinske kiseline u jače prženom zrnu pripisuje se njenoj niskoj sklonosti oksidaciji stoga ostaje zastupljena i tijekom prženja zrna.

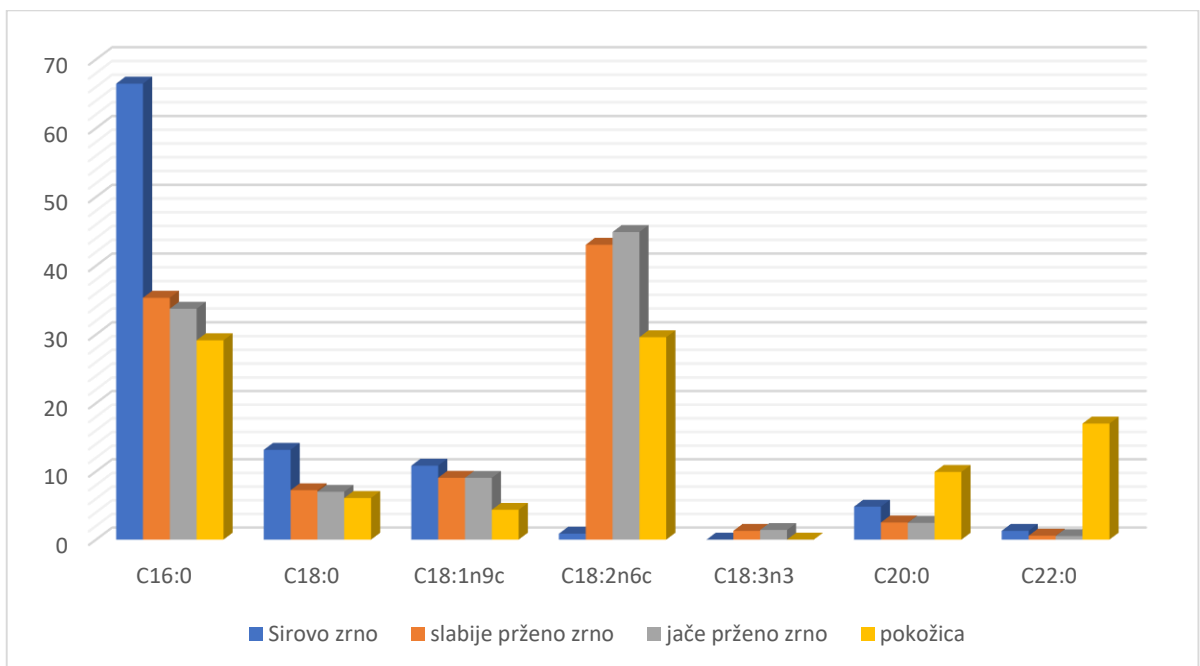
**Tablica 7.** Sastav slobodnih masnih kiselina u pokožici kave

	Naziv	Prosjeak (%)
<b>C15:0</b>	Pentadekanska kiselina	0,10±0,02
<b>C16:0</b>	Palmitinska kiselina	29,16±0,34
<b>C17:0</b>	Heptadeknaska kiselina	0,15±0,03
<b>C18:0</b>	Stearinska kiselina	6,11±0,24
<b>C18:1n9c</b>	Oleinska kiselina	4,37±3,20
<b>C18:2n6c</b>	Linolna kiselina	29,60±0,82
<b>C20:0</b>	Arahidska kiselina	9,92±1,15
<b>C20:1</b>	Cis-11-eikozenska kiselina	0,78±0,03
<b>C22:0</b>	Behenska kiselina	17,01±1,09
<b>C20:4n6</b>	Arahidonska kiselina	0,24±0,07
<b>C24:0</b>	Lignoerinska kiselina	2,54±0,33

Profil masnih kiselina pokožice nalikuje na profil sirove kave s tim da su udijeli pojedinih, uglavnom zasićenih kiselina različiti. U pokožici, koja je nusprodukt, od nezasićenih masnih kiselina dominira linolna kiselina s udjelom od 29,60%, potom slijede palmitinska s udjelom od 29,06%, behenska s udjelom od 17,01% i arahidska s udjelom od 9,92%. Visoki udio palmitinske kiseline posljedica je njene stabilnosti na oksidaciju kao što je to već prethodno navedeno. Dugolančane zasićene kiseline, poput behenske, pomažu u očuvanju stabilnosti tkiva, pružajući zaštitu protiv vanjskih čimbenika. Takve

karakteristike prisutnih masnih kiselina omogućuju produljenje trajnosti pokožice što otvara mogućnosti primjene pokožice u raznim industrijama.

Usporedbom koncentracija najutjecajnijih masnih kiselina u pojedinim uzorcima kave (slika 7) možemo uočiti da je palmitinska kiselina najdominantnija u sirovom zrnju kave dok je linolna zastupljena u toplinski obrađenim zrnima i u pokožici. Palmitinska kiselina koja dominira u sirovom zrnju kave također ostaje zastupljena i pri daljnjoj toplinskoj obradi u slabije i jače prženom zrnju i pokožici.



**Slika 7.** Usporedba sastava slobodnih masnih kiselina u analiziranim uzorcima kave

Oleinska kiselina je mononezasićena masna kiselina koja po zastupljenosti slijedi poslije palmitinske i linolne kiseline. Zanimljiv je njezin gotovo dvostruko veći udio kod sirovog, slabije i jače prženog zrna kave u odnosu na pokožicu. Razlog tome može biti činjenica da sirova i toplinski obrađena zrna imaju veći udio lipida i masnih kiselina dok pokožica ima manji udio lipida.<sup>22</sup>

Stearinska kiselina koja je također zasićena kiselina je otpornija na oksidaciju stoga ostaje zastupljena tijekom procesa prženja, ali i njena koncentracija u nusproizvodu nije zanemariva.<sup>24</sup>

$\alpha$ -linolenska kiselina ( C18:3n3) u sirovom zrnu kave i pokožici kave nije zabilježena, dok je kod jače prženog zrna (1,42%) i slabije prženog zrna (1,28%) zastupljena u tragovima. Arahidska kiselina (C20:0) je također prisutna u manjim udjelima uglavnom u pokožici kave (9,92%) dok kod sirovog zrna kave (4,83%), jače prženog zrno kave (2,52%) i slabije prženog zrna kave (2,46%) u nešto nižim udjelima. Behenska kiselina (C22:0) najviše je zastupljena pokožice kave (17,01%) dok je u niskim udjelima prisutna u sirovom zrnu kave (1,29%), slabije prženom zrnu kave (0,58%) i jače prženom zrnu kave (0,52%).

## 4.ZAKLJUČAK

Analizom sastava aminokiselina u uzorcima kave prepoznate su aminokiseline čiji udio raste procesom prženja, pri čemu je najniži udio u sirovom zrnu, a najveći u jače prženom zrnu kave. Opisan trend je prepoznat kod sljedećih aminokiselina: GLU, ALA, PRO, MET, LEU, ILEU. S druge strane, aminokiseline poput: SER, GLY, ARG, THR, CYS, LYS i HIS pokazuju pad udjela do kojeg dolazi procesom prženja. Pokožicu kave karakterizira stabilni raspon koncentracije u odnosu na druge ispitivane uzorke zahvaljujući njenom sastavu kojeg čine lignin, celuloza, hemiceluloza. To svojstvo pokožice najbolje je prikazano na slici broj 7 gdje je vidljivo kako udjeli masnih kiselina u pokožici ne odskaču od udjela masnih kiselina u drugim ispitivanim uzorcima.

Analizom sastava slobodnih masnih kiselina u uzorcima kave ističu se: palmitinska kiselina (C16:0), linolna kiselina (C18:2n6c), oleinska kiselina (C18:1n9c), stearinska kiselina (C18:0) i arahidska kiselina (C20:0). Ostale slobodne masne kiseline su prisutne u neznatnim količinama. Palmitinska kiselina (C16:0) je jedna od najzastupljenijih slobodnih masnih kiselina u svim analiziranim uzorcima predvodeći u sirovom zrnu kave gdje je ujedno i dominantna (66,48%), slabije prženo zrno kave (35,34%), jače prženo zrno kave (33,75%) te u pokožici kave (29,16%). Njena značajna prisutnost u uzorcima bitno ovisi o tome što palmitinska kiselina spada u kategoriju zasićenih masnih kiselina koje su manje podložne oksidaciji uspoređujući s nezasićenim masnim kiselinama. Linolna kiselina (C18:2n6c) dominira kod uzoraka koja su prošla toplinsku obradu (prženje): jače prženo zrno (44,90%), slabije prženo zrno (43,05%) te pokožica (29,06%). Kod sirovog zrna linolna kiselina prisutna je gotovo u tragovima (0,88%).

## 5. POPIS KRATICA I SIMBOLA

AK- aminokiseline

SMK- slobodne masne kiseline

ASP-asparagin

SER- serin

GLU- glutaminska kiselina

GLY- glicin

HIS- histidin

ARG- arginin

THR- treonin

ALA- alanin

PRO-prolin

CYS- cistein

TYR-tirozin

VAL-valin

MET-metionin

LYS-lizin

ILEU-izoleucin

LEU-leucin

PHE-fenilalanin

HPLC- High performance liquid chromatography

## 6. LITERATURA

1. *I. A. Ludwig , M. N. Clifford, M. E. J. Lean, H. Ashiharad i A. Crozier* Coffee: biochemistry and potential impact on health: 2014 Aug;**5**(8):1695-1717. doi: 10.1039/c4fo00042k
2. <https://www.nescafe.com/th/en-th/coffee-culture/coffee-knowledge/coffee-beans> ( pristupljeno 01.09.2024.)
3. *A. Meenakshi, L. Jagan Mohan:* An Impression of Coffee Carbohydrates 2007;**47**(1):51-67 doi: 10.1080/10408390600550315
4. *Clifford, M. N. (1985):* Chemical and Physical Aspects of Green Coffee and Coffee Products. *Coffee*, 305–374. doi:10.1007/978-1-4615-6657-1\_13
5. *P. F. Pinheiro, C. A. Pinheiro, V. M. Osório, L. L. Pereira (2021.):* Chemical Constituents of Coffee. 209.-255. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-54437-9\\_5](https://doi.org/10.1007/978-3-030-54437-9_5)
6. *H. Sharmaj:* A detail chemistry of coffe and its anlysis 1-10. 2020. DOI: 10.5772/intechopen.91725
7. *G. Aspinall:* The Polysaccharides 2014. eBook ISBN: 9781483277929
8. *Melo Pereira, V.d., Carvalho Neto, P.d., Magalhães Júnior, A.I., Vásquez, Z.S., Medeiros,A.B.P., Vandenberghe, L.P.S., Soccol, C.R.,* Exploring the impacts of postharvest processing on the aroma formationof coffee beans – A review, *Food Chemistry* (2018), 4-21. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.061>
9. *H. E. Khadem, (2012.). Carbohydrate Chemistry: Monosaccharides and Their Oligomers.* 111-118. ISBN 0323158587, 9780323158589
10. *A. Farah:* Coffee: Chemistry, quality and health implications 100-255 ;ISBN 1788016653, 9781788016650
11. *Spiller, Gene.A.(2019.).* Caffeine. DOI: <https://doi.org/10.1201/9780429126789>
12. *Crozier W. M T., A. Stalmach, M. E. J. Lean, A. Crozier (2011.).* Espresso coffees, caffeine and chlorogenic acid intake: potential health implications. 2012 **3**(1):30-33. DOI: 10.1039/c1fo10240k

13. <https://bs.wikipedia.org/wiki/Kofein#/media/Datoteka:Koffein> Caffeine  
(pristupljeno 01.09.2024.)
14. *M. S. Butt , M Tauseef Sultan*: Coffee and its consumption: benefits and risks 2011;**51**(4):363-373. DOI: 10.1080/10408390903586412
15. *J. Higdon , B. Frei*; *Coffe and health*: a review of recent human reserch 2006;**46**(2) 101.-123.DOI: 10.1080/10408390500400009
16. *Y. J. Song , A. R. Kristal, K. G Wicklund, K. L Cushing-Haugen, M. A.*:Rossting Coffee, tea, colas, and risk of epithelial ovarian cancer 2008 Mar;**17**(3)712-716. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-07-2511
17. *Baker, J. A., Boakye, K., McCann, S. E., Beehler, G .P., Rodabaugh, K. J., Villella, J. A., and Moysich, K. B. (2007)*: Consumption of black tea or coffee and risk of ovarian cancer. *Int. J. Gynecol. Cancer*. DOI: 10.1111/j.1525-1438.2006.00773.
18. *Buffo, R. A.& Cardelli-Freire(2004.)*: Coffee flavour: an overview, 99-104. DOI:10.1002/ffj.1325
19. <https://shop.labexchange.com/en/107007-b00037639-perkin-elmer-200.html>  
(pristupljeno 16.09.2024.)
20. *Bartle, K. D., & Myers, P. (2002)*. History of gas chromatography. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, **21**(9-10), 547–557. doi:10.1016/s0165-9936(02)00806-3
21. *R. Podhorsky (1959–74), Ž. Viličić (1975), H. Požar (1976–91) i D. Štefanović (1991–97)*: 270-274. Tehnička enciklopedija
22. *B. M Gouvea, C. Torres, A. S. Franca, S. O Evelyn. (2009)*. Feasibility of ethanol production from coffee husks. *Biotechnology Letters*, 31(9), 1315–1319. doi:10.1007/s10529-009-0023-4
23. *O. Gonçalo, C. P. Passos, P. Ferreira, M. A. Coimbra i I. Gonçalves (2021.)*: Coffee By-Products and Their Suitability for Developing Active Food Packaging Materials, DOI:10.3390/foods10030683
24. *A. Nneken: Fatty acids* 73-112. DOI: 10.1002/14356007.a10\_245.pub2
25. *A. Meister*: Biochemistry of amino acids ISBN:0323161472, 9780323161473

26. *Gilberto V. de Melo Pereira , Dão Pedro de Carvalho Neto, Antonio I. Magalhães Júnior, Fe. Guilherme do Prado, M. Giovana B. Pagnoncelli, S. Grace Karp, C. R. Socol*: Chapter Three - Chemical composition and health properties of coffee and coffee by-products 66-86. doi: <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2019.10.002>
27. <http://www.cyberlipid.org/fa/acid0001.htm>  
<https://web.archive.org/web/20181028011853/http://www.cyberlipid.org/fa/acid0001.htm#1> -Internet archive
28. *A. Illy (2004.)*. Espresso Coffee: The Science of Quality. ISBN 0123703719, 9780123703712
29. LipidBank: Službena baza podataka Japanske konferencije o biokemiji lipida (JCBL): <https://lipidbank.jp/>
30. *G. Makhataдзе*: Heat capacities of amino acids, peptides and proteins 133-156 doi: [https://doi.org/10.1016/S0301-4622\(98\)00095-7](https://doi.org/10.1016/S0301-4622(98)00095-7)
31. The official database of Japanese Conference on the Biochemistry of Lipids (JCBL): <https://lipidbank.jp/>
32. *O. G. Vitzthum*: Thirty Years of Coffee Chemistry Research: Flavor Chemistry, 1999. 117-133. [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-4693-1\\_11](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-4693-1_11)