

Optimizacija ekstrakcije ulja iz taloga kave

Mikić, Tena

Master's thesis / Diplomski rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:109:878233>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-19**

REPOZITORIJ

PTF

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK**

Tena Mikić

OPTIMIZACIJA EKSTRAKCIJE ULJA IZ TALOGA KAVE

DIPLOMSKI RAD

Osijek, studeni 2024.

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Sveučilišni diplomski studij Procesno inženjerstvo
Zavod za procesno inženjerstvo
Katedra za energiju, okoliš i održivi razvoj
Franje Kuhača 18, 31000 Osijek, Hrvatska

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija
Tema rada: je prihvaćena na X. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2023./2024. održanoj 24. srpnja 2024.

Mentor: *prof.dr.sc. Sandra Budžaki*

Optimizacija ekstrakcije ulja iz taloga kave
Tena Mikić, 1312104191

Sažetak: U ovom diplomskom radu istražena je optimizacija ekstrakcije ulja iz taloga kave i espresso kave primjenom dviju različitih metoda: automatske ekstrakcije pomoću SoxROC uređaja i hladne ekstrakcije. Cilj istraživanja bio je ispitati učinkovitost ovih metoda koristeći dva različita otapala: *n*-heksan i petroleter, uz primjenu različitih masa taloga kave kako bi se optimizirao proces ekstrakcije. Analizirani su sastavi ekstrahiranih ulja, s posebnim naglaskom na sadržaj kafeina i masnih kiselina. Količina kafeina u uljima određena je HPLC metodom, pri čemu je utvrđeno da je najveći udio kafeina u uzorcima taloga kave zabilježen u uzorku ekstrahiranom na SoxROC uređaju s *n*-heksanom, pri omjeru mase uzorka i otapala 15 (6 g uzorka u 90 mL otapala) te iznosi 0,84 mg/mL. Udio masnih kiselina u uzorcima analiziran je GC/FID metodom, gdje su linoleična, palmitinska i oleinska kiselina bile dominantne u svim uzorcima, čineći 98,05% ukupnih masnih kiselina u ulju kave. Optimalni uvjeti za ekstrakciju su omjer mase uzorka i otapala 10 (9 g uzorka u 90 mL otapala), uz *n*-heksan za SoxROC i petroleter za hladnu ekstrakciju.

Ključne riječi: talog kave; SoxROC; hladna ekstrakcija; kafein; masne kiseline

Rad sadrži: 42 stranice
14 slika
9 tablica
0 priloga
33 literaturne reference

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu rada:

- | | |
|----------------------------------|---------------|
| 1. prof. dr. sc. Ivica Strelec | predsjednik |
| 2. prof. dr. sc. Sandra Budžaki | član - mentor |
| 3. prof. dr. sc. Stela Jokić | član |
| 4. doc. dr. sc. Krunoslav Aladić | zamjena člana |

Datum obrane: 29.11.2024.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 18, Osijek.

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek
Faculty of Food Technology Osijek
University Graduate Study Process Engineering
Department of Process Engineering
Subdepartment of energy environment and sustainable
Franje Kuhača 18, HR-31000 Osijek, Croatia

Scientific area: Biotechnical sciences
Scientific field: Food technology
Thesis subject: was approved by Faculty Council of the Faculty of Food Technology at its session no. X. held on 24 July 2024.

Mentor: *Sandra Budžaki, PhD, prof.*

Optimization of oil extraction from coffee grounds Tena Mikić, 1312104191

Summary: This thesis investigates the optimization of oil extraction from coffee grounds and espresso coffee using two different methods: automatic extraction with a SoxROC apparatus and cold extraction. The aim of the research was to examine the efficiency of these methods using two different solvents, *n*-hexane and petroleum ether, with varying masses of coffee grounds to optimize the extraction process. The extracted oils were analyzed to determine their composition, with a focus on the caffeine and fatty acid content. The caffeine content in the oils was determined using the HPLC method, which revealed that the highest caffeine concentration in the coffee ground samples was found in the sample extracted with *n*-hexane using the SoxROC apparatus, with a sample-to-solvent ratio of 15 (6 g of sample in 90 mL of solvent), yielding 0,84 mg/mL. The fatty acid content in the samples was analyzed using the GC/FID method, where linoleic, palmitic and oleic acids were dominant in all samples, accounting for 98,05% of the total fatty acids in the coffee oil. The optimal extraction conditions were a sample-to-solvent ratio of 10 (9 g of sample in 90 mL of solvent), using *n*-hexane for SoxROC and petroleum ether for cold extraction.

Key words: coffee grounds, SoxROC, cold extraction, caffeine, fatty acids

Thesis contains: 42 pages
14 figures
9 tables
0 supplementary material
33 references

Original in: Croatian

Review and defence committee:

- | | |
|---|---------------------|
| 1. <i>Ivica Strelec</i> , PhD, prof. | chair person |
| 2. <i>Sandra Budžaki</i> , PhD, prof. | member - supervisor |
| 3. <i>Stela Jokić</i> , PhD, prof. | member |
| 4. <i>Krunoslav Aladić</i> , PhD, associate prof. | stand-in |

Defence date: 29.11.2024.

The thesis is deposited in printed and electronic form (pdf format) in the library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 18, Osijek.

DIPLOMSKI RAD JAVNO JE OBRANJEN DANA

29. 11. 2024

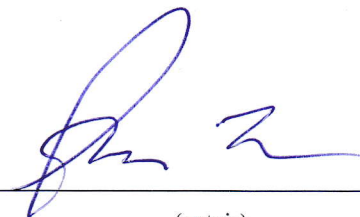
TE OCIJENJEN USPJEHOM

IZURSTAN (5)

Pred Povjerenstvom za obranu diplomskog rada:

1. prof. dr. sc. Ivica Strelec

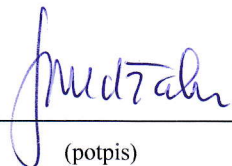
predsjednik



(potpis)

2. prof. dr. sc. Sandra Budžaki

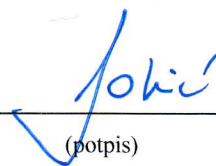
član



(potpis)

3. prof. dr. sc. Stela Jokić

član



(potpis)

Zahvaljujem mentorici prof.dr.sc. Sandri Budžaki koja me korisnim savjetima vodila tijekom izrade ovog rada. Veliko hvala mag.ing.techn.aliment Mirni Brekalo na pomoći i savjetima tijekom izrade eksperimentalnog dijela i pisanja diplomskog rada.

Hvala mojim prijateljima i kolegama koji su mi uljepšali ovaj period života!

Veliko hvala mojoj cijeloj obitelji, bratu i sestri što su mi bili velika podrška tijekom školovanja.

Hvala mom dečku na razumijevanju, strpljenju i neizmjernoj potpori.

Na kraju, najveće i najposebnije hvala ide mojim roditeljima. Hvala vam na svim savjetima, velikom razumijevanju i vjeri u mene. Bez vas ovo ništa ne bi bilo moguće!



**Ovaj rad financirala je Hrvatska zaklada za znanost projektom broj IP- 2020-
02- 6878.**

SADRŽAJ

1.	UVOD	1
2.	TEORIJSKI DIO.....	4
2.1.	EKSTRAKCIJA.....	5
2.1.1.	SOXHLET METODA	5
2.2.	KAVA	6
2.2.1.	TALOG KAVE.....	7
2.2.2.	SASTAV TALOGA KAVE	8
3.	EKSPERIMENTALNI DIO.....	10
3.1.	ZADATAK	11
3.2.	MATERIJALI I METODE	11
3.2.1.	SIROVINA.....	11
3.2.2.	KEMIKALIJE I REAGENSI	11
3.2.3.	UREĐAJI.....	11
3.2.4.	PRIPREMA UZORAKA.....	12
3.2.5.	ODREĐIVANJE SUHE TVARI.....	12
3.2.6.	EKSTRAKCIJA NA AUTOMATSKOM UREĐAJU SoxROC	13
3.2.7.	EKSTRAKCIJA NA SOBNOJ TEMPERATURI	15
3.2.8.	ODREĐIVANJE UDJELA KAFEINA	16
3.2.9.	ODREĐIVANJE SASTAVA MASNIH KISELINA.....	18
4.	REZULTATI I RASPRAVA.....	21
4.1.	UDIO SUHE TVARI.....	22
4.2.	UDIO SLOBODNE MASTI	22
4.3.	UDIO KAFEINA	28
4.4.	UDIO MASNIH KISELINA.....	31
5.	ZAKLJUČAK.....	35
6.	LITERATURA	37

POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA

HPLC (eng. *High-performance liquid chromatography*) - Tekućinska kromatografija visoke učinkovitosti

SoxROC – uređaj za automatsku ekstrakciju temeljen na Soxhlet metodi

GC/FID (eng. *Gas Chromatography with Flame Ionization Detector*) - Plinska kromatografija s plameno-ionizacijskim detektorom

PTFE – politetrafluoroetilenske

EssCaff – uzorak mljevene kave za pripremu espresso napitka od kave

SCG – talog kave zaostao nakon pripreme espresso kave

1. UVOD

Kava je jedan od najpopularnijih napitaka u svijetu, s milijardama šalica koje se konzumiraju svakodnevno. Napravljen od prženih i mljevenih zrna kave, ovaj napitak ima dugu tradiciju i uživa svjetsku popularnost zahvaljujući svojoj bogatoj aromi i stimulativnom djelovanju uzrokovanom kafeinom. U mnogim kulturama kava igra važnu ulogu u društvenim okupljanjima, dok je u poslovnom okruženju nezaobilazan dio radnog dana. Njena učestala konzumacija poticaj je razvoja globalne industrije od uzgoja do distribucije. Međutim, proces proizvodnje rezultira velikom količinom otpada, posebno u obliku pulpe ploda kave te taloga kave koji zaostaje nakon pripreme napitka od kave. Kako bi se postigla održivost proizvodnje kave i napitaka od kave, a koja je u skladu s načelima kružnog gospodarenja, posljednjih godina raste interes za pronalaženjem načina iskorištavanja otpada od kave u znanstvenim krugovima i industrijskom sektoru (Komes i sur., 2021).

Najveća količina otpada tijekom proizvodnje napitka od kave i industrijske proizvodnje instant kave nastaje u obliku taloga kave. Iz jedne tone zelene kave nastane 650 kg istrošenog taloga kao otpada. Prema istraživanju Organizacije za hranu i poljoprivredu Ujedinjenih naroda (FAO) i Međunarodne organizacije za kavu (ICO) u 2022. godini proizvedeno je 10 712 040 tona zelene kave, što odgovara količini od 6 962 826 tona taloga kave. Zbog velikih količina taloga kave koji zaostaje nakon pripreme napitka od kave te njegovog visokovrijednog sastava, talog kave mogao bi se iskoristiti u različite svrhe poput izolacije bioaktivnih komponenti (kafein, klorogenska kiselina) i ekstrakcije ulja od kave s potencijalnom primjenom u prehrambenoj, farmaceutskoj i kemijskoj industriji te u proizvodnji ambalažnih materijala i slično. Međutim, talog kave još uvijek se tretira kao otpad (Očevidnik ukidanja statusa otpada, 2024., Očevidnik nusproizvoda, 2024.) i u velikoj količini odlaže se na odlagališta (Brekalo i sur., 2023).

Ekstrakcijom taloga kave dobije se ulje bogato kafeinom i različitim masnim kiselinama. Ekstrakcija je dugotrajan proces stoga su inovacije i modifikacije postojećih metoda od velikog značaja posebno u pravcu skraćivanja vremena ekstrakcije među kojima je i automatska ekstrakcija metodom prema Soxhletu.

U ovom diplomskom radu prikazani su rezultati ekstrakcije taloga kave na automatskom uređaju SoxROC temeljenom na ekstrakciji metodom prema Soxhletu te ekstrakcije na sobnoj temperaturi uz ravnomjerno miješanje materijala i otapala, tzv. hladnom ekstrakcijom s ciljem pronalaženja optimalne metode i uvjeta ekstrakcije ulja kave iz taloga kave.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. EKSTRAKCIJA

Ekstrakcija je operacija izdvajanja pojedine komponente iz smjese na osnovi različite topljivosti u otapalu (Tomas i sur., 2013). Ekstrakcija se provodi u sustavu s dvije faze gdje je važno da ciljane tvar bude bolje topljivija u otapalu nego u početnoj fazi. Ekstrakcija se u ovisnosti o početnoj fazi može podijeliti na:

Ekstrakciju kruto-tekuće (izluživanje) koja podrazumijeva izdvajanje komponente iz krute u tekuću fazu. Ovim procesom iz čvrstog materijala, koji se sastoji od više komponenata, odgovarajućim otapalom izdvaja se jedna ili više komponenata. Čimbenici koji utječu na kruto-tekuću ekstrakciju su temperatura, otapalo, vrijeme ekstrakcije, svojstva materijala i priprema materijala. Prilikom odabira otapala potrebno je odabrati otapalo koje je selektivno, manje viskozno i s nižom površinskom napetosti kako bi se ubrzala cirkulacija i difuzija otapala u krutu tvar (Bucić-Kojić, 2008). Kruto-tekuća ekstrakcija najčešće se koristi za izolaciju bioaktivnih tvari, kao što su fenolni spojevi i antioksidansi iz otpadnih materijala prehrambene industrije, te u farmaceutskoj industriji za ekstrakciju eteričnih ulja (Jelušić, 2023).

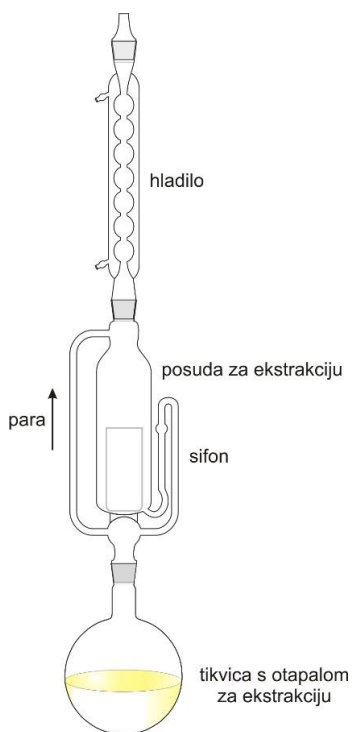
1. Ekstrakciju tekuće-tekuće (ekstrakcija u užem smislu) koja podrazumijeva izdvajanje komponente iz tekuće u tekuću fazu. Željena tvar se raspodjeljuje između dvije faze pri čemu je jedna vodena faza, a druga faza organsko otapalo. Organsko otapalo treba biti kemijski inertno, što znači da ne reagira s tvarima koje se ekstrahiraju. Također, otapalo treba biti jeftino, manje štetno i opasno (Prišćan, 2021).

1.1.1. SOXHLET METODA

Standardna metoda određivanja slobodnih masti u prehrambenim proizvodima ekstrakcijom temelji se na Soxhlet metodi. Njemački kemičar francuskog porijekla, van Soxhlet, je 1879. godine razvio metodu koja je više od stoljeća bila standardna metoda određivanja slobodnih masnoća iz različitih uzoraka. Razlog tome je jednostavnost metode i aparature te upotreba male količine uzorka. Međutim, postoji i niz nedostataka poput dugotrajnosti samog procesa, upotrebe velike količine otapala te visoke temperature (Luque de Castro, Priego-Capote, 2010).

Metodom po Soxhletu određuju se slobodne masti, sve što se dobije direktnom ekstrakcijom sa otapalom poput *n*-heksana, petroletera i/ili dietiletera. Aparatura za ekstrakciju po Soxhletu prikazana na **Slici 1** sastoji se od tikvice s otapalom, ekstraktora u kojemu se nalazi tuljak s

uzorkom i hladila.



Slika 1 Aparatura za ekstrakciju po Soxhletu (Izvor: Kemijski rječnik, 2023)

Vrijeme ekstrakcije propisano je metodom ili brojem prelijevanja ekstraktora i ovisno o uzorku traje između 6 i 8 sati. Nakon ekstrakcije masnoća zaostaje u tikvici, a otapalo se predestilira (Primorac i Flanjak, 2012). Zbog dugog vremena trajanja ekstrakcije te velike količine potrošenog otapala uz jednostavnost u izvedbi, Soxhlet metoda sve češće podliježe modifikacijama u svrhu nadilaženja istaknutih nedostataka, npr. Soxhlet ekstrakcija pri povišenom tlaku, Soxhlet ekstrakcija ultrazvukom, Soxhlet ekstrakcija mikrovalovima te automatska Soxhlet ekstrakcija (Luque de Castro, Priego-Capote, 2010).

1.2. KAVA

Biljka kave pripada porodici Rubiaceae, roda *Coffea* koja raste u tropskim i suptropskim područjima kao zimzeleni grm ili nisko stablo. Za pripremu napitka kave koriste se samo dvije vrste: *Coffea arabica* (Arabika) i *Coffea canephora* (Robusta). Brojne su razlike u kemijskom sastavu i sadržaju bioaktivnih komponenata, no značajna razlika je u udjelu kafeina pri čemu Robusta sadrži veći udio kafeina u odnosu na Arabiku (Komes i sur., 2021).

Perikarp i zrno dva su osnovna dijela ploda kave. Postupci prerade zrna kave do napitka kave dijele se na primarnu i sekundarnu preradu kave. Primarna prerada uključuje suhu ili mokru preradu zrna, dok sekundarna prerada uključuje prženje i pripremu napitka. Svaki od koraka prerade i pripreme kave rezultira određenom količinom nusproizvoda/otpada. (Komes i sur., 2021).

1.2.1. TALOG KAVE

Prema objavljenim rezultatima istraživanja autora Murthy i Naidu glavninu otpada pripreme napitka kave i industrijske pripreme instant kave čini talog kave (Murthy i Naidu, 2012). Europska unija je jedan od najvećih potrošača kave, uvozi gotovo 5 milijuna tona zrna kave dok Republika Hrvatska 23 tisuće tona. Ako se uzme u obzir činjenica da se oko polovice zrna kave potroši za proizvodnju napitka od kave, dolazi se do podatka da se u svijetu godišnje proizvede oko 6 milijuna tona taloga kave (Budžaki i sur., 2022). Talog kave klasificira se na domaći (kućanski), komercijalni (kafići, restorani) i industrijski (industrija topljive i instant kave) gdje je većina istrošenog taloga kave neprimjereno zbrinuta.

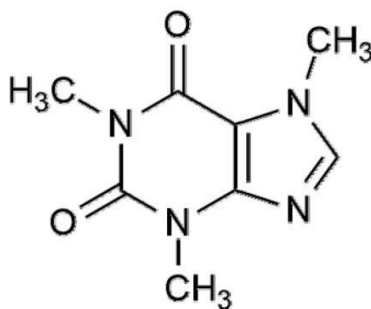
Talog kave se odlaže na odlagalištima kao biootpad te kao takav dovodi do zagađenja okoliša. Odlaganjem taloga kave dolazi do anaerobne razgradnje te stvaranja i emisije stakleničkih plinova poput metana i ugljikovog dioksida (Franca i Oliveira, 2022). Nadalje, zbrinjavanje talog kave provodi se i spaljivanjem u svrhu proizvodnje biogoriva (Uddin i sur., 2019). Proces spaljivanja označava kraj životnog ciklusa taloga kave pri čemu dolazi do emisije stakleničkih plinova. Jedan od načina očuvanja okoliša je i korištenje taloga kave za kompostiranje prilikom čega se miješa s organskim otpadom (Campos-Vega i sur., 2015). De Bomfin i sur., proučavali su talog kave za primjenu u poljoprivredi, točnije kao gnojivo koje ne sadrži teške metale opasne za prehrambeni lanac. Pronašli su da talog kave sadrži hranjive tvari poput K, Mg, P i Ca, te poboljšava tlo u poljoprivredi, ubrzava rast biljaka i smanjuje zagađenje pravilnim zbrinjavanjem otpada. Međutim, isto tako su pronašli da talog kave može biti toksičan u većim količinama što se može ublažiti kompostiranjem s drugim otpadom i tretmanima za uklanjanje toksičnih elemenata (De Bomfin i sur., 2023). U Europskoj Uniji, usjevi koji su uzgojeni sa gnojivima na bazi taloga kave, kategorizirani su kao ekološki proizvodi. Osim pozitivnog utjecaja na okoliš, talog kave bogat je različitim spojevima poput polisaharida, proteina, fenola, lipida i alkaloida te se može koristiti u različite svrhe poput proizvodnje biogoriva; kao katalizatori; u sastavu kozmetičkih preparata, stočne hrane te prehrambenih proizvoda te kao kompozitni materijali i slično (Franca i

Oliveira,2022).

1.2.2. SASTAV TALOGA KAVE

Talog kave sastoji se 60-80 % od vode, dok suha tvar čini 20-40 % sastava. U suhoj tvari nalazi se 40-50 % ugljikohidrata, 10-20 % lipida, 10-15 % proteina (Ahmed i sur., 2024).

Nakon brojnih analiza taloga kave poznat je kemijski sastav koji sadrži mnoge visokovrijedne bioaktivne komponente među kojima su najznačajniji polifenolni spojevi. Neki od polifenolnih spojeva u talogu kave su klorogenska kiselina, alkaloidi (kafein, trigonelin), diterpeni, metilksantin i brojni drugi (Komes i sur., 2021). Kafein čija je kemijska struktura prikazana na **Slici 2**, prema IUPAC nomenklaturi naziva se i 1,3,7-trimetil-1H-purin-2,6(3H,7H)-dion.



Slika 2 Kemijska struktura kafeina (Vandeponseele i sur. 2021)

Kafein je najraširenija psihotropna tvar u svijetu jer se nalazi u sastavu gaziranih i energetske pića, kave, čaja, guarane, lijekova protiv bolova pa čak i krema za mršavljenje (Vandeponseele i sur., 2021). Udio kafeina u Arabika kavi je 0,9 – 1,4 %, dok u Robusti 1,5 – 2,6 % (Tomic, 2016). S druge strane, prema istraživanju Brekalo i sur. (2023.), ekstrakcijom 100 g taloga kave dobiveno je 204 mg kafeina (0,2 %), 76 mg klorogenske kiseline, 1,63 g proteina te 5,58 g šećera (Brekalo i sur., 2023).

Zrna kave i talog kave sadrže velike količine klorogenske kiseline i njezinih derivata poput kafeoilkinske kiseline, feruloilkinske kiseline, *p*-kumaroilkinske kiseline te miješanih diestera kafeinske i ferulinske kiseline s kininskom kiselinom. Svi nabrojani spojevi zajednički se nazivaju klorogenske kiseline od kojih se dio apsorbira u želucu i dvanaesniku, a dio razlaže crijevnom mikroflorom na kafeinsku i kininsku kiselinu. Dokazano je da upravo ti spojevi posjeduju neurotrofna i neuroprotektivna svojstva koja su važna pri proizvodnji funkcionalne hrane i

dodataka prehrani koji sadrže fenole kave. Klorogenske kiseline snažni su *in vitro* antioksidansi koji imaju blagotvorno zdravstveno djelovanje, poput sposobnosti da sprječavaju različite faze razvoja raka (Zuorro i Lavecchia, 2012).

U suhoj tvari taloga kave nalazi se 10 – 15 % ulja koje sadržava 80 – 90 % triacilglicerola. Ulje je bogato vitaminom E te masnim kiselinama poput palmitinske i omega-6-linolne kiseline (Komes i sur., 2021). Prema studiji Brekalo i sur. (2023.), ekstrakcijom 100 g taloga kave dobiveno je 10,58 g ulja koje je bogato linolnom i palmitinskom kiselinom. Stoga, ulje dobiveno ekstrakcijom iz taloga kave predstavlja vrijednu sirovinu, odnosno jeftin i pristupačan izvor triacilglicerola (Brekalo i sur., 2023).

2. EKSPERIMENTALNI DIO

2.1. ZADATAK

Zadatak ovog diplomskog rada bio je pronaći optimalne uvjete ekstrakcije slobodne masti sadržane u mljevenoj kavi za pripremu espresso napitka od kave i pripadajućem talogu kave. Provedene su dvije metode ekstrakcije koristeći dva otapala uz promjenjiv omjer mase uzorka i volumena otapala. Korištene metode su metoda po Soxhletu na automatskom uređaju za ekstrakciju SoxROC te ekstrakcija na sobnoj temperaturi uz miješanje na magnetnoj miješalici (hladna metoda ekstrakcije). Nakon ekstrakcije, ulja su analizirana na sastav masnih kiselina plinskom kromatografijom (GC/FID) i udio kafeina tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti (HPLC).

2.2. MATERIJALI I METODE

2.2.1. SIROVINA

Sirovine korištene u ovom rad su mljevena kava (100 % Arabika) od koje je pravljen espresso napitak od kave te pripadajući talog kave. Uzorak taloga kave prikupljen je u kafiću s područja grada Osijeka.

3.2.2. KEMIKALIJE I REAGENSI

Kemikalije korištene tijekom eksperimentalnog dijela rada su: petroleter proizvođača Carlo Erba (Francuska), *n*-heksan proizvođača Carlo Erba (Francuska), izopropanol proizvođača J. T. Baker (Poljska), metanol proizvođača Millipore Simplicity 185 (Njemačka).

3.2.3. UREĐAJI

Uređaji korišteni tijekom eksperimentalnog dijela rada su: sušionik proizvođača Memmert UF55 (Njemačka) i sušionik proizvođača Heraeus (Švicarska), analitička vaga proizvođača Kern 320 (Njemačka), uređaj za automatsku ekstrakciju metodom po Soxhletu proizvođača OPSIS LiquidLINE SoxROC (Švedska), rotacijski uparivač proizvođač LabTech (Hrvatska), sustav za ultra čistu vodu Millipore Simplicity 185 (Njemačka), HPLC sustav proizvođača Agilent 1260 Infinity II (SAD), GC-FID sustav proizvođača Agilent Technologies (SAD), tresilica HS260 control proizvođača IKA Werke GmbH & Co. KG (Njemačka).

3.2.4. PRIPREMA UZORAKA

Priprema uzoraka taloga kave prikupljenih iz lokalnog kafića, uključivala je sušenje kako bi se uklonila slobodna voda i omogućila učinkovita ekstrakcija ulja. Uzorci taloga kave ravnomjerno su raspoređeni u pliticama na debljinu od 1-2 cm (**Slika 3**) i osušeni u sušioniku na 60 °C kroz 24 sata. Sušenje taloga kave ključno je zbog nekoliko razloga: vlaga može ometati proces ekstrakcije lipida smanjenjem učinkovitosti otapala, smanjujući tako ukupni prinos. Osim toga, vlaga može uzrokovati mikrobiološku razgradnju uzoraka tijekom skladištenja, što negativno utječe na stabilnost i kvalitetu ulja. Uklanjanje vlage stoga optimizira uvjete za uspješnu ekstrakciju, čime se dobivaju precizniji rezultati i veći prinos lipida iz taloga kave.



Slika 3 Talog kave u pliticama za sušenje

3.2.5. ODREĐIVANJE SUHE TVARI

Određivanje udjela suhe tvari ili sadržaja vode provedeno je standardnom gravimetrijskom metodom. Sušenje je provedeno do konstantne mase na uzorcima mase 3 – 5 g na temperaturi od 105 °C u trajanju od 1 sata (Primorac i Flanjak, 2012).

Prema jednadžbi (1) određen je udio suhe tvari u uzorcima taloga kave

$$ST = 100 - \frac{m(a) - m(b)}{m(\text{uzorak})} \times 100[\%] \quad (1)$$

gdje je

ST udio suhe tvari [%]

$m(a)$ masa posudice s uzorkom prije sušenja [g]

$m(b)$ masa posudice s uzorkom nakon sušenja [g]

$m(\text{uzorak})$ masa uzorka [g]

3.2.6. EKSTRAKCIJA NA AUTOMATSKOM UREĐAJU SoxROC

Za ekstrakciju ulja iz taloga kave, jedna od metoda koja je korištena u te svrhe u ovom radu je ekstrakcija na automatskom ekstraktoru SoxROC, OPSIS LiquidLINE.

Jedinica za ekstrakciju OPSIS LiquidLINE SoxROC (**Slika 4**) je automatiziran instrument za ekstrakciju vrućim otapalima, čvrsto-tekuće, i za ekstrakciju masti prema standardnoj laboratorijskoj Soxhlet metodi, uz do 98 % regeneracije otapala. Uređaj se temelji na Randall i Twisselmann tehnikama koristeći toplo otapalo i zatvoreni sustav kako bi se smanjilo vrijeme ekstrakcije u odnosu na standardnu Soxhlet ekstrakciju (Opsis AB, 2016).



Slika 4 SoxROC uređaj za automatsku ekstrakciju

Automatski uređaj za ekstrakciju, SoxROC, sastoji se od kućišta koje je podijeljeno u dvije sekcije, sekcija za uzorke (6 mjesta) opremljena s grijaćom plohom za zagrijavanje ekstraktora s uzorcima i otapalom i sekcija sa hladilima za kondenzaciju para otapala te upravljačke jedinice za digitalno postavljanje uvjeta provođenja ekstrakcije. Obzirom da je uređaj automatski nakon završetka ekstrakcije otapalo se redestilira (98 %) i sakuplja u odvojenu posudu te se može koristiti u sljedećoj ekstrakciji.

Ekstrakcija se provodi u tri faze:

1. Vrenje – uzorci se zagrijavaju do željene temperature zajedno s otapalom prilikom čega dolazi do prijenosa topljivih tvari uzoraka u otapalo.
2. Ispiranje – uzorci se ispiru s otapalom pri čemu dolazi do ekstrakcije željenih komponenti iz uzoraka otapalom koje kontinuirano isparava i kondenzira i preljeva se preko uzoraka u ekstraktorima.
3. Sušenje – uzorci se suše nakon što je svo otapalo (do 98 %) ispareno i u posebnu posudu skupljen kondenzat pri čemu se ekstraktori odvajaju od grijaće plohe i ujedno hlade.

Na automatskom ekstraktoru SoxROC u okviru eksperimentalnog dijela ovoga rada provedena je ekstrakcija ulja iz dva uzorka: mljevene kave za pripremu espresso kave i pripadajućeg taloga kave. Ekstrakcija je provedena s dva otapala, petroleterom i *n*-heksanom s različitim omjerima volumena otapala i mase uzorka što je postignuto korištenjem stalnog volumena otapala od 90 mL (prema specifikaciji proizvođača) i različitim odvagama masa uzoraka od 3, 6, 9 i 12 g, pri čemu je omjer otapala i masa uzorka iznosio 30, 15, 10 i 7,5, a sve u svrhu pronalaženja optimalnih uvjeta ekstrakcije ulja kave iz taloga kave na automatskom ekstraktoru. Omjer volumena otapala i mase uzorka kod uzoraka mljevene kave za pripremu espresso napitka od kave iznosio je 30. Sva određivanja provedena su u šest paralela, a rezultati su izraženi kao srednja vrijednost uz odgovarajuću standardnu devijaciju.

Priprema uzoraka za ekstrakciju podrazumijevala je sušenje uzoraka taloga kave, tj. uklanjanje površinske vlage što olakšava ekstrakciju lipida kako je opisano u podpoglavlju 3.2.4. što za uzorke mljevene kave nije bilo potrebno obzirom da su ti uzorci niskog udjela vlage (ispod 2 %).

U tuljak je odvagana potrebna količina uzorka na analitičkoj vagi s točnošću 0,001 g te je tuljak pokriven vatom koja sprječava izbacivanje uzorka iz tuljka tijekom ekstrakcije. U prethodno odmašćen i osušen ekstraktor s kuglicama za vrenje stavljen je tuljak s uzorkom te dodano odgovarajuće otapalo volumena 90 mL. Tako pripremljeni uzorci postavljeni su u uređaj za automatsku ekstrakciju, SoxROC. Nadalje, u programskom sučelju samog uređaj odabrani su uvjeti provedbe ekstrakcije prema specifikaciji proizvođača kako je navedeno u **Tablici 1**.

Tablica 1 Uvjeti provedbe ekstrakcije na automatskom uređaju za ekstrakciju SoxROC

Faze provedbe ekstrakcije				
Temperatura	Vrenje	Ispiranje	Sušenje	Redukcija otapala
°C	min	min	min	min
100	30	40	5	15

Nakon završenog postupka ekstrakcije tuljci s ekstrahiranim uljem preneseni su u sušionik na sušenje pri temperaturi od 105 °C do konstantne mase te izvagani na analitičkoj vagi. Udio ekstrahiranog ulja određen je kako slijedi prema jednadžbi (2)

$$M = \frac{m(a)-m(b)}{m(\text{uzorak})} \times 100[\%] \quad (2)$$

gdje je

M udio ulja u uzorku [%]

$m(a)$ masa tuljka nakon ekstrakcije [g]

$m(b)$ masa tuljka prije ekstrakcije [g]

$m(\text{uzorak})$ masa uzorka [g]

3.2.7. EKSTRAKCIJA NA SOBNOJ TEMPERATURI

Ekstrakcija na sobnoj temperaturi provodila se pri istim uvjetima (vrsta otapala, masa uzorka, vrijeme trajanja ekstrakcije) kao i ekstrakcija na automatskom uređaju SoxROC s ciljem usporedivosti rezultata. Prikaz aparature vidljiv je na **Slici 5**, a sastoji se od tikvice u kojoj se nalazi otapalo te odgovarajuća masa uzorka spojena na hladilo za kondenzaciju para otapala postavljene na magnetnu miješalicu uz 500 okretaja u minuti. Vrijeme trajanja ekstrakcije na sobnoj temperaturi bilo je 90 min što odgovara vremenu trajanja ekstrakcije na automatskom uređaju SoxROC (vrenje 30 min, ispiranje 40, sušenje 5 min i redukcija otapala 15 min) dok je sobna temperatura na kojoj je provedena ekstrakcija iznosila 20 °C. Obzirom da je cilj rad utvrditi optimalne uvjete ekstrakcije ulja kave iz taloga kave, ekstrakcija ulja kave na sobnoj temperaturi

provedena je samo iz uzoraka taloga kave uz promjenjivi omjer volumena otapala i mase uzoraka na način kako je opisano u podpoglavlju 3.2.6.. Ekstrakcija je provedena sa dva otapala, petroleter i *n*-heksan.



Slika 5 Aparatura za ekstrakciju taloga kave pri sobnoj temperaturi

Nakon završene ekstrakcije suspenzija taloga kave, otapala i ekstrahiranog ulja je profiltrirana na Buchnerovom lijevku preko Whatman GF/C filter papira. Dobiveni filtrat sastojao se od ekstrahiranog ulja iz taloga kave i odgovarajućeg otapala. Organsko otapalo otpareno je na rotacijskom uparivaču na temperaturi od 45 °C pri sniženom tlaku. Ekstrahirano ulje iz taloga kave je nadalje sušeno u sušioniku pri temperaturi od 105 °C do konstantne mase. Udio ekstrahiranog ulja određen je prema jednadžbi (2). Sva određivanja provedena su u tri paralele, a rezultati su izraženi kao srednja vrijednost uz odgovarajuću standardnu devijaciju.

3.2.8. ODREĐIVANJE UDJELA KAFEINA

Udio kafein u uzorcima ulja određen je pomoću HPLC sustava Agilent 1260 Infinity II (**Slika 6**) koji je opremljen kvarternom pumpom (G7111B), grijačem kolone (G7116A) temperaturnog raspona od 10 do 85 °C, DAD detektorom (G7115A), autosamplerom (G7129A) kapaciteta 36 vijala od 6 mL sakupljača frakcija (G1364E). Obrada podataka i upravljanje sustavom provedeno

je pomoću pripadajućeg računalnog programa ChemStation. Navedeni sustav korišten je za odvajanje, identifikaciju i kvantifikaciju kafeina iz ekstrahiranog ulja kave. Kromatografsko razdvajanje postignuto je korištenjem kolone InfinityLab Inertsil ODS-3V, duljine 250 mm, s unutarnjim promjerom od 4,6 mm i veličinom čestica 5 μm .



Slika 6 Visoko djelotvoran tekućinski kromatograf s detektorom s nizom dioda (Aladić, 2015)

Priprema uzoraka za analizu na HPLC-u provedena je na način da je u uzorke ekstrahiranog ulja kave mase 0,1 g dodano 1,9 g izopropanola te iz tako dobivene matične otopine izuzeto 100 μL otopine uzorka i razrijeđeno s metanolom do volumena od 2 mL. Tako pripremljeni uzorci filtrirani su prije analize kroz politetrafluoroetilenske (PTFE) filtere za špricu s veličinom pora 0,45 μm u vijalu od 6 mL. Ovim postupkom su uklonjene eventualne krute čestice koje bi potencijalno mogle oštetiti HPLC sustav. Za injektiranje korišteno je 10 μL pripremljene otopine uzorka.

Odvajanje analiziranih spojeva provedeno je postupnim ispiranjem pri brzini protoka od 1 mL/min tijekom 65 minuta, pri čemu je kao faza A korištena 0,1 % mravlja kiselina u miliQ vodi, a kao faza B 0,1% mravlja kiselina u metanolu. Gradijent je postavljen kako slijedi: 0,00 – 8,00 min 90 % A; 8,00 – 16,00 min 75 % A; 16,00 – 28,00 min 55 % A; 28,00 – 55,00 min 20 % A; od 55,00 – 65,00 min 10 % A nakon čega je uslijedilo period od 15 min za vraćanje uvjeta analize na početnu vrijednost. Analiza je provedena na valnoj duljini UV detekcije od 280 nm pri temperaturi od 50 °C.

Identifikacija kafeina provedena je usporedbom vremena zadržavanja i spektra izdvojenog pika s

dostupnim standardima, a kvantifikacija pomoću metode vanjskog standarda upotrebom kalibracijskih krivulja.

3.2.9. ODREĐIVANJE SASTAVA MASNIH KISELINA

Za određivanje sastava masnih kiselina u ekstrahiranom ulju iz mljevene kave za pripremu espresso napitka od kave i pripadajućem talogu kave korišten je plinski kromatograf s plameno-ionizacijskim detektorom (GC/FID) Agilent Technologies 7890. Uvjeti određivanja masnih kiselina u uzorcima su prikazani u **Tablici 2**.

Tablica 2 GC/FID uvjeti za određivanje sastava masnih kiselina

GC/FID	Karakteristike
Kolona	Kapilarna kolona HP88 100 x 0,25 mm x 0,20 µm (Agilent Technologies, Lake Forest, SAD)
Detektor	FID detektor
Autoinjektor	Agilent 7683 A
Temperatura injektora	250 °C
Volumen injektiranja	1 µL
Split/ Splitless Mod	Split 1:50
Plin nosač i protok	Helij 5.0; 2 mL/min
Temperaturni program	120 °C, 1 min; 10 °C/min do 175 °C zadržavanje 10 min; 5 °C / min do 210 °C zadržavanje 5 min; 5 C/min do 230 °C zadržavanje 5 min
FID parametri	Helij 40 mL/min; Zrak 450 mL/min; Dušik 30 mL/min
Vrijeme uravnoteženja kolone	2 minute na 120 °C

Priprema metilnih estera masnih kiselina provedena je prema normi HRN EN ISO 12966-2 (Međunarodna organizacija za standardizaciju, 2017), a analiza na plinskom kromatografu prema normi HRN EN ISO 12966-4 (Međunarodna organizacija za standardizaciju, 2015).

Metilni esteri masnih kiselina identificirani su usporedbom s vremenima zadržavanja (engl. *retention time*) 37 metil estera masnih kiselina standardne smjese analizirane pri istim uvjetima.

Pri svakoj analizi, uz uzorke i standard, korišten je i certificirani referentni materijal koji je pripremljen i analiziran na isti način kao i uzorci. Rezultat je izražen kao postotak (%) pojedine masne kiseline u odnosu na ukupno određene masne kiseline uz granicu detekcije metode od 0,1 %. Vrijednosti utvrđene u validacijskom postupku za parametar istinitosti su uspoređivane s kriterijem definiranim Pravilnikom o provođenju analitičkih metoda i tumačenju rezultata (NN 2/2005) (Ministarstvo poljoprivrede, 2005), koji za dokazivanje istinitosti pri udjelu mase >10 µg/kg može odstupati od – 20 % do +10 % u odnosu na certificiranu vrijednost (Aladić, 2015).

3. REZULTATI I RASPRAVA

Cilj ovog diplomskog rada bio je odrediti optimalne uvjete ekstrakcije slobodne masti (ulja) sadržane u talogu kave metodom po Soxhlet-u na automatskom uređaju za ekstrakciju (SoxROC) te ekstrakcije na sobnoj temperaturi uz miješanje na magnetnoj miješalici. Nakon ekstrakcije ulja su analizirana na sastav masnih kiselina plinskom kromatografijom (GC/FID) i udio kafeina tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti (HPLC).

Rezultati analiza prikazani su u tablicama i dijagramima na temelju kojih su utvrđeni optimalni uvjeti ekstrakcije ulja kave iz taloga kave.

3.1. UDIO SUHE TVARI

Udio suhe tvari određen je u uzorcima mljevene kave za pripremu espresso napitka od kave, pripadajućeg vlažnog i suhog taloga kave standardnom metodom sušenja do konstantne mase. Rezultati su prikazani u **Tablici 3** i izraženi kao srednja vrijednost \pm standardna devijacija.

Tablica 3 Udio suhe tvari u uzorcima mljevene kave za pripremu espresso napitka od kave, pripadajućeg vlažnog i suhog taloga kave

Uzorak	Udio suhe tvari [g/100 g]
Mljevena kava	98,36 \pm 0,20
Vlažni talog kave	37,17 \pm 0,23
Suhi talog kave	98,15 \pm 0,36

Udio suhe tvari u ispitivanim uzorcima poslužio je kao pokazatelj nužnosti provedbe sušenja uzoraka prije ekstrakcije, za obje metode, obzirom da uklanjanje površinske vlage u uzorcima olakšava ekstrakciju lipida. Na temelju rezultata prikazanih u Tablici 3 postupak pripreme uzoraka za ekstrakciju uključivao je sušenje samo uzoraka vlažnog taloga kave prije ekstrakcije. Mljevenu kavu nije bilo potrebno sušiti prije ekstrakcije obzirom da je udio suhe tvari iznosio 98,36 %, tj. udio slobodne vode bio je 1,64 %.

3.2. UDIO SLOBODNE MASTI

Udio ulja u uzorcima mljevene kave za pripremu espresso napitka od kave i pripadajućeg taloga kave određen je ekstrakcijom na automatskom uređaju za ekstrakciju SoxROC te hladnom ekstrakcijom na sobnoj temperaturi uz primjenu dva otapala, petroleter i *n*-heksan. Uzorci su analizirani u 6 paralela te su rezultati prikazani kao srednja vrijednost uz standardno odstupanje.

Rezultati su prikazani u **Tablici 4**.

Tablica 4 Udio ulja u uzorcima mljevene kave za pripremu espresso napitka od kave i pripadajućeg taloga kave

Oznaka uzorka*	Udio ulja [%]	
	<i>n</i> -heksan	petroleter
EssCaff	14,41 ± 0,15	11,93 ± 0,29
SCG-30-SoxRoc	12,86 ± 0,16	11,88 ± 0,46
SCG-15-SoxRoc	13,33 ± 0,09	12,48 ± 0,08
SCG-10-SoxRoc	13,42 ± 0,11	12,78 ± 0,17
SCG-7,5-SoxRoc	13,09 ± 0,06	12,51 ± 0,09
SCG-30-ColdEx	12,11 ± 0,29	12,49 ± 1,68
SCG-15-ColdEx	12,33 ± 0,06	11,78 ± 0,42
SCG-10-ColdEx	11,58 ± 0,91	13,59 ± 0,51
SCG-7,5-ColdEx	10,96 ± 0,08	11,52 ± 1,00

*EssCaff – uzorak mljevene kave za pripremu espresso napitka od kave; SCG – talog kave odgovarajućeg omjera otapala i mase uzorka; 30 - omjer mase uzorka 3g u 90 mL otapala; 15 – omjer mase uzorka 6 g u 90 mL otapala; 10 – omjer mase uzorka 9 g u 90 mL otapala; 7,5 – omjer mase uzorka 12 g u 90 mL otapala; SoxROC – uzorci ekstrahirani na automatskom uređaju za ekstrakciju; ColdEx – uzorci ekstrahirani hladnom ekstrakcijom.

Iz **Tablice 4** može se uočiti da je udio ulja u uzorcima mljevene kave za pripremu espresso napitka od kave (EssCaff) veći prilikom korištenja *n*-heksana kao otapala (14,41± 0,15 %) u usporedbi s petroleterom (11,93±0,29 %). Nadalje, iz tablice je također vidljivo da se u slučaju ekstrakcije na automatskom uređaju SoxROC ekstrahira više ulja kave iz taloga kave, bez obzira na omjer mase uzorka i otapala, u slučaju korištenja *n*-heksana u odnosu na petroleter. Najveća zabilježena vrijednost odnosi se na uzorak SCG-10-SoxROC i iznosi 13,42±0,11 %.

Promatrajući rezultate prezentirane u **Tablici 4** može se zaključiti da je za ekstrakciju ulja kave iz taloga kave na automatskom uređaju SoxROC pogodnije otapalo *n*-heksan od petroletera.

Uspoređujući rezultate udjela ulja kave iz taloga kave dobivene na automatskom uređaju SoxROC u odnosu na hladnu ekstrakciju (**Tablica 4**) vidljivo je da se u slučaju korištenja *n*-heksana kao otapala više ulja kave ekstrahira na automatskom uređaju SoxROC nego hladnom ekstrakcijom. U slučaju petroletera kao otapala bolji rezultati udjela ulja kave u talogu kave zabilježeni su u

slučaju hladne ekstrakcije pri čemu se najveća dobivena vrijednost odnosi na uzorak SCG-10-SoxRoc i iznosi $13,59 \pm 0,51$ %.

Promatrajući rezultate prezentirane u **Tablici 4** može se zaključiti da je za ekstrakciju ulja kave iz taloga kave postupkom hladne ekstrakcije pogodnije otapalo petroleter u odnosu na *n*-heksan.

Iz navedenog, može se zaključiti da bez obzira na metodu ekstrakcije, automatski uređaj SoxROC ili hladna ekstrakcija, optimalan omjer mase uzorka i otapala iznosi 10, tj. 9 g uzorka u 90 mL otapala.

Pregledom literature uočeno je da su rezultati prezentirani u ovom radu u skladu s rezultatima objavljenim u znanstvenim radovima drugih autora. Tako su Brekalo i sur. (2023) odredili udio ulja kave u talogu kave ekstrakcijom na automatskom uređaju SoxROC u vrijednosti od $10,58 \pm 1,63$ % što je u skladu s rezultatima u okviru ovoga rada uzimajući u obzir srednju vrijednost uz pripadajuće standardno odstupanje. Nadalje, Ahmed i sur. (2024) su u okviru svog istraživanja ekstrahirali ulje kave iz taloga kave *n*-heksanom metodom po Soxhletu pri čemu su se vrijednosti kretale u rasponu od 13,4 – 14 %, što je u skladu s rezultatima u okviru ovog diplomskog rada. Druga skupina autora, Somnuk i sur., (2017) provela je hladnu ekstrakciju ulja kave iz taloga kave *n*-heksanom pri čemu su im se udjeli ulja kave u talogu kave kretali u rasponu od 10 – 14 % što je također u skladu s rezultatima u okviru ovog diplomskog rada.

Prema post-hoc analizi provedenoj Tukey HSD testom (**Tablica 5 i 6**) veći broj statistički značajnih razlika uočen je između uzoraka koji su, bez obzira na primijenjenu metodu ekstrakcije, ekstrahirani uz *n*-heksan kao otapalo. Statistički značajnih razlika između vrijednosti udjela ulja kave u ispitivanim uzorcima, bez obzira na primijenjenu metodu, u slučaju kada je petroleter korišten kao otapalo gotovo i da nema (**Tablica 6**).

Udio ulja kave u uzorcima mljevene kave za pripremu espresso napitka od kave značajno je veći od svih ostalih vrijednosti koje se odnose na udio ulja kave u talogu kave primjenom automatske i/ili hladne ekstrakcije uz *n*-heksan kao otapalo. To je bilo i za očekivati obzirom da se espresso napitak od kave priprema pri povišenoj temperaturi i tlaku pri čemu se dio ulja ekstrahira u napitak, a dio zaostaje u talogu kave. Statistički značajna razlika uočena je (**Tablica 5**) gotovo kod svih uzoraka, bez obzira na primijenjenu metodu ekstrakcije, u slučaju korištenja *n*-heksana kao otapala.

Tablica 5 Tukey HSD test uzoraka ekstrahiranih *n*-heksanom

Oznaka uzorka	Vrijednost								
	{1} M=14,41	{2} M=12,86	{3} M=13,33	{4} M=13,42	{5} M=13,09	{6} M=12,11	{7} M=12,33	{8} M=11,58	{9} M=10,96
EssCaff {1} M=14,41		0,000144	0,000144	0,000147	0,000144	0,000144	0,000144	0,000144	0,000144
SCG-30-SoxRoc {2} M=12,86	0,000144		0,080683	0,017133	0,823023	0,007622	0,123260	0,000145	0,000144
SCG-15-SoxRoc {3} M=13,33	0,000144	0,080683		0,999162	0,821222	0,000147	0,000277	0,000144	0,000144
SCG-10-SoxRoc {4} M=13,42	0,000147	0,017133	0,999162		0,428153	0,000144	0,000168	0,000144	0,000144
SCG-7,5-SoxRoc {5} M=13,09	0,000144	0,823023	0,821222	0,428153		0,000334	0,005669	0,000144	0,000144
SCG-30-ColdEx {6} M=12,11	0,000144	0,007622	0,000147	0,000144	0,000334		0,983257	0,265120	0,000270
SCG-15-ColdEx {7} M=12,33	0,000144	0,123260	0,000277	0,000168	0,005669	0,983257		0,031606	0,000148
SCG-10-ColdEx {8} M=11,58	0,000144	0,000145	0,000144	0,000144	0,000144	0,265120	0,031606		0,111607
SCG-7,5-ColdEx {9} M=10,96	0,000144	0,000144	0,000144	0,000144	0,000144	0,000270	0,000148	0,111607	

*EssCaff – uzorak mljevene kave za pripremu espresso napitka od kave; SCG – talog kave odgovarajućeg omjera otapala i mase uzorka ekstrahiran na automatskom uređaju za ekstrakciju (SoxRoc) te hladnom ekstrakcijom (ColdEx); M – srednja vrijednost udjela ulja kave u uzorku

*Tukey HSD test; označene razlike su značajne na razini $p < 0,05000$

U slučaju korištenja petroletera kao otapala (**Tablica 6**) nema statistički značajne razlike među uzorcima koji su ekstrahirani na automatskom uređaju za ekstrakciju bilo da se radi o uzorcima mljevene kave za pripremu espresso napitka od kave i/ili uzorcima taloga kave. Statistički značajne razlike uočene su između uzoraka koji su ekstrahirani hladnom metodom ekstrakcije i to između uzoraka SCG-10-ColdEx u odnosu na uzorke SCG-15-ColdEx i SCG-7,5-ColdEx. Također, statistički značajne razlike zabilježene su u slučaju uzorka SCG-10-ColdEx u odnosu na uzorke koji su ekstrahirani na automatskom uređaju za ekstrakciju, EssCaff i SCG-30-SoxROC.

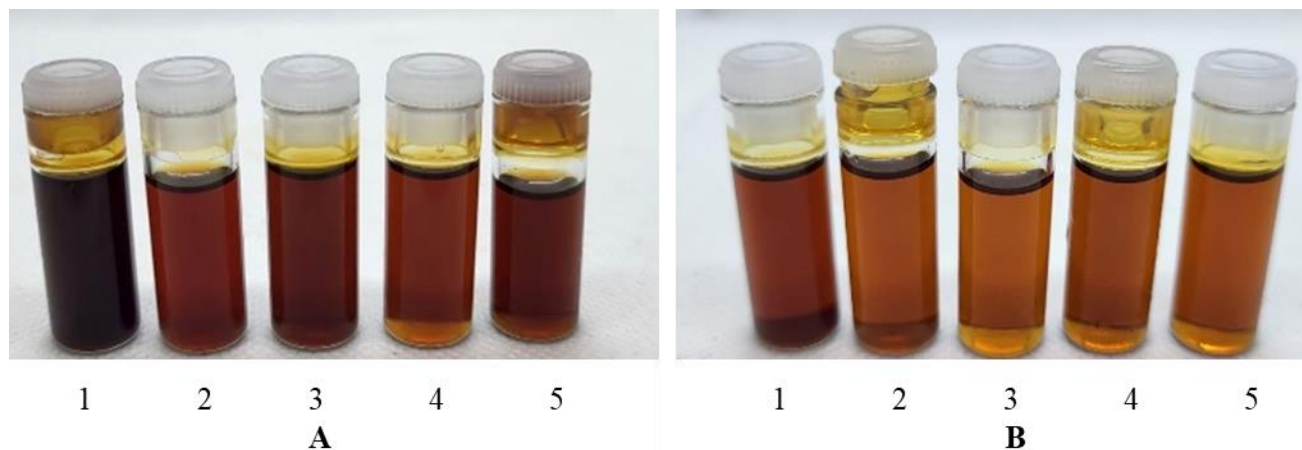
Tablica 6 Tukey HSD test uzoraka ekstrahiranih petroleterom

Oznaka uzorka	Vrijednost								
	{1} M=11,925	{2} M=11,869	{3} M=12,483	{4} M=12,779	{5} M=12,507	{6} M=12,487	{7} M=11,783	{8} M=13,591	{9} M=11,519
EssCaff {1}		1,000000	0,722991	0,205601	0,677561	0,880719	0,999990	0,005037	0,980050
SCG-30-SoxRoc {2}	1,000000		0,613708	0,146624	0,565880	0,815599	1,000000	0,003445	0,992304
SCG-15-SoxRoc {3}	0,722991	0,613708		0,990419	1,000000	1,000000	0,697983	0,152117	0,295259
SCG-10-SoxRoc {4}	0,205601	0,146624	0,990419		0,994516	0,997773	0,258425	0,517481	0,066577
SCG-7,5-SoxRoc {5}	0,677561	0,565880	1,000000	0,994516		1,000000	0,660220	0,171376	0,266497
SCG-30-ColdEx {6}	0,880719	0,815599	1,000000	0,997773	1,000000		0,826786	0,305960	0,475535
SCG-15-ColdEx {7}	0,999990	1,000000	0,697983	0,258425	0,660220	0,826786		0,009871	0,999618
SCG-10-ColdEx {8}	0,005037	0,003445	0,152117	0,517481	0,171376	0,305960	0,009871		0,002121
SCG-7,5-ColdEx {9}	0,980050	0,992304	0,295259	0,066577	0,266497	0,475535	0,999618	0,002121	

*EssCaff – uzorak mljevene kave za pripremu espresso napitka od kave; SCG – talog kave odgovarajućeg omjera otapala i mase uzorka ekstrahiran na automatskom uređaju za ekstrakciju (SoxRoc) te hladnom ekstrakcijom (ColdEx); M – srednja vrijednost udjela ulja kave u uzorku

*Tukey HSD test; označene razlike su značajne na razini $p < 0,05000$

Nakon provedene ekstrakcije dobiveni ekstrakti su fotografirani i prikazani na **Slikama 7 i 8**.



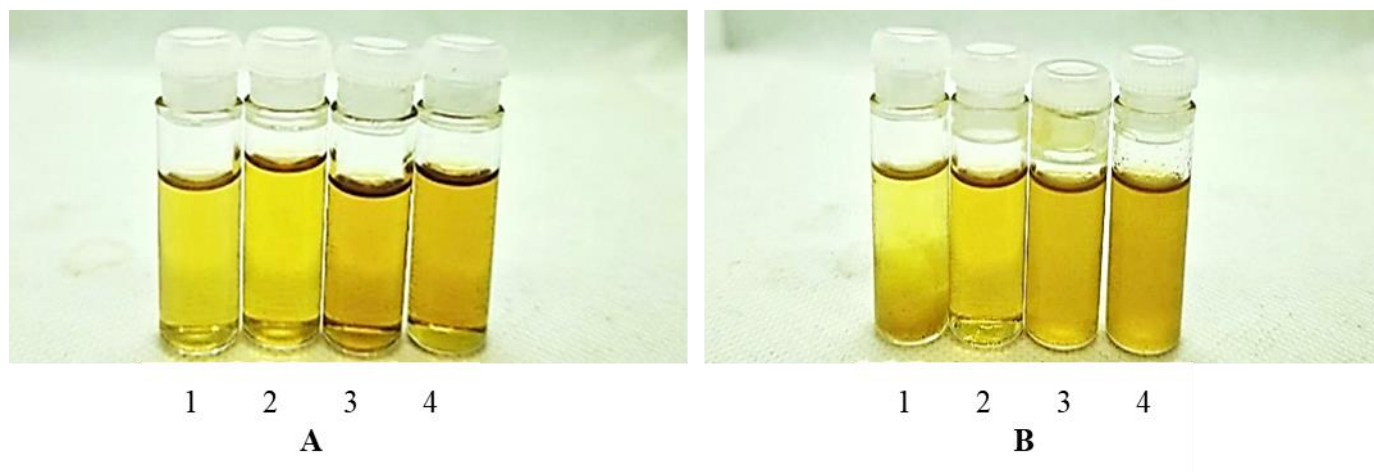
Slika 7 Ekstrakti nakon ekstrakcije mljevene kave za pripremu espresso napitka od kave i pripadajućeg taloga kave na automatskom ekstraktoru SoxRoc

Legenda: 1-5 A ekstrakti nakon ekstrakcije *n*-heksanom; 1-5 B ekstrakti nakon ekstrakcije petroleterom.

Uzorci: 1 – mljevena kava za pripremu espresso napitka od kave; 2 – talog kave uz omjer mase uzorka i otapala 30; 3 – taloga kave uz omjer mase uzorka i otapala 15; 4 – taloga kave uz omjer mase uzorka i otapala 10; 5 – taloga kave uz omjer mase uzorka i otapala 7,5.

Iz **Slike 7** vidljivo je kako su svi ekstrakti dobiveni ekstrakcijom na automatskom uređaju SoxRoc

n-heksanom (A) tamnije boje u odnosu na one dobivene korištenjem petroletera (B) kao otapala. Povezivanjem boje ekstrakata s rezultatima udjela ulja kave u uzorcima (**Tablica 4**), mljevene kave za pripremu espresso napitka od kave i pripadajućeg taloga kave, može se zaključiti da je tamnija boja ekstrakata pokazatelj većeg udjela ulja kave.



Slika 8 Ekstrakti nakon ekstrakcije taloga kave hladnom ekstrakcijom

Legenda: 1-5 A ekstrakti nakon ekstrakcije *n*-heksanom; 1-5 B ekstrakti nakon ekstrakcije petroleterom.
 Uzorci: 1 – talog kave uz omjer mase uzorka i otapala 30; 2 – taloga kave uz omjer mase uzorka i otapala 15;
 3 – taloga kave uz omjer mase uzorka i otapala 10; 4 – taloga kave uz omjer mase uzorka i otapala 7,5.

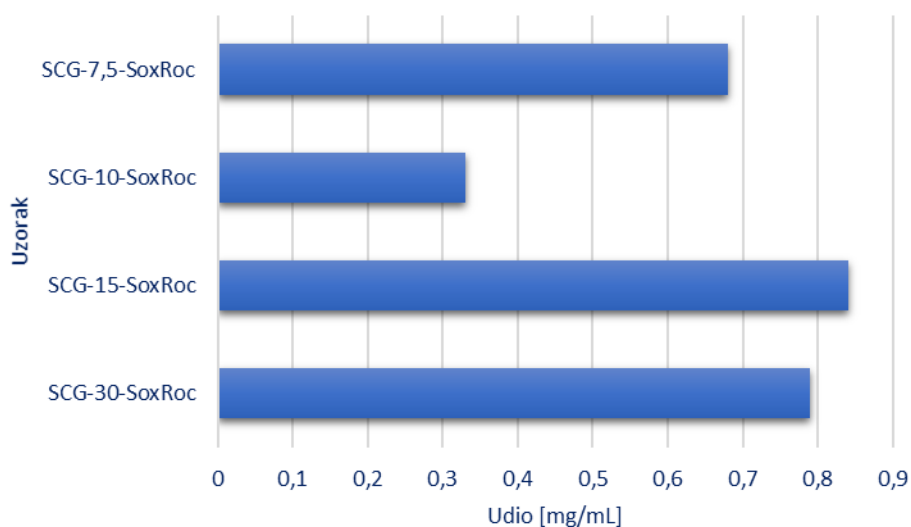
Na **Slici 8** prikazani su ekstrakti taloga kave nakon hladne ekstrakcije *n*-heksanom (A) i petroleterom (B) kao otapalima. Uspoređujući boje ekstrakata taloga kave nema vidljivo uočljivih razlika u boji ekstrakata prikazanih pod A i pod B. Ukoliko se boje ekstrakata povežu s rezultatima predstavljenim u **Tablici 4** može se uočiti da su srednje vrijednosti udjela ulja kave dobiveni hladnom ekstrakcijom petroleterom nešto viši u odnosu na srednje vrijednosti udjela ulja kave dobivene ekstrakcijom *n*-heksanom iako isto nije moguće primijetiti u razlici u boji uzoraka. Uzmu li se u obzir vrijednosti za standardno odstupanje uzoraka ekstrahiranih *n*-heksanom i petroleterom može se zaključiti da su razlike u udjelima ulja kave zanemarive (**Tablica 4**).

UDIO KAFEINA

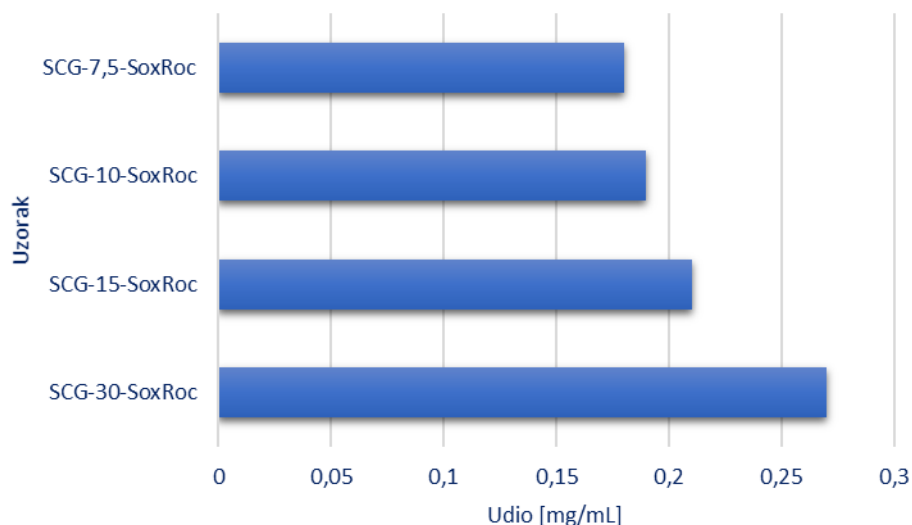
Udio kafeina u ulju kave, ekstrahiranom iz mljevene kave za pripremu espresso napitka od kave i pripadajućeg taloga kave na automatskom uređaju SoxROC te hladnom ekstrakcijom uz *n*-heksan i petroleter kao otapala, određen je na tekućinskom kromatografu visoke djelotvornosti (HPLC), a rezultati su prikazani prema vrsti otapala korištenog za ekstrakciju te metodi ekstrakcije ulja.

Udio kafeina u ulju kave koje je ekstrahirano iz mljevene kave za pripremu espresso napitka od kave na automatskom uređaju SoxROC *n*-heksanom iznosio je 5,13 mg kafeina/mL ulja, a petroleterom 3,15 mg/mL. U uzorcima taloga kave udio kafeina značajno je niži u odnosu na uzorke mljevene kave za pripremu espresso napitka od kave (**Slika 9 i 10**).

Na **Slikama 9 i 10** prikazan je udio kafeina u ulju kave nakon ekstrakcije na automatskom uređaju za ekstrakciju (SoxROC) uz *n*-heksan (**Slika 9**) i petroleter (**Slika 10**) kao otapala iz uzoraka taloga kave.

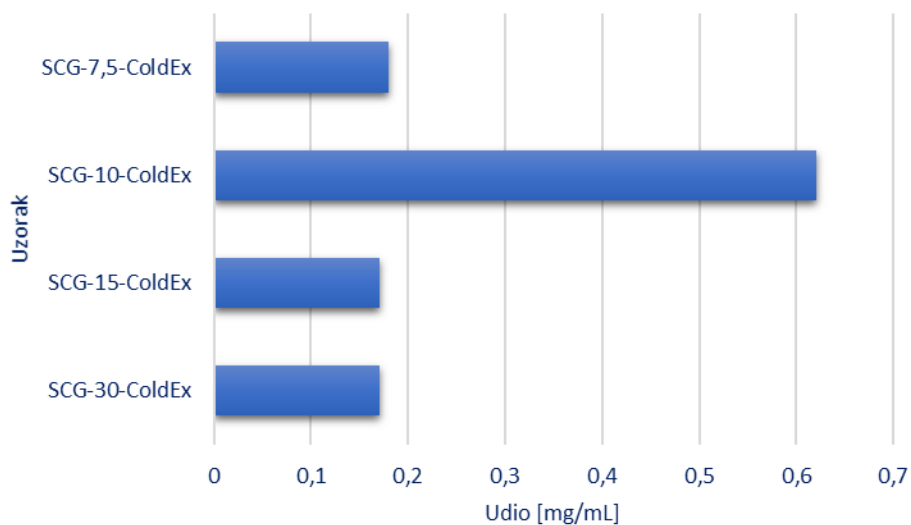


Slika 9 Udio kafeina u ulju kave nakon ekstrakcije na automatskom uređaju za ekstrakciju (SoxROC) sa *n*-heksanom kao otapalom (SCG – talog kave odgovarajućeg omjera mase uzorka i otapala)

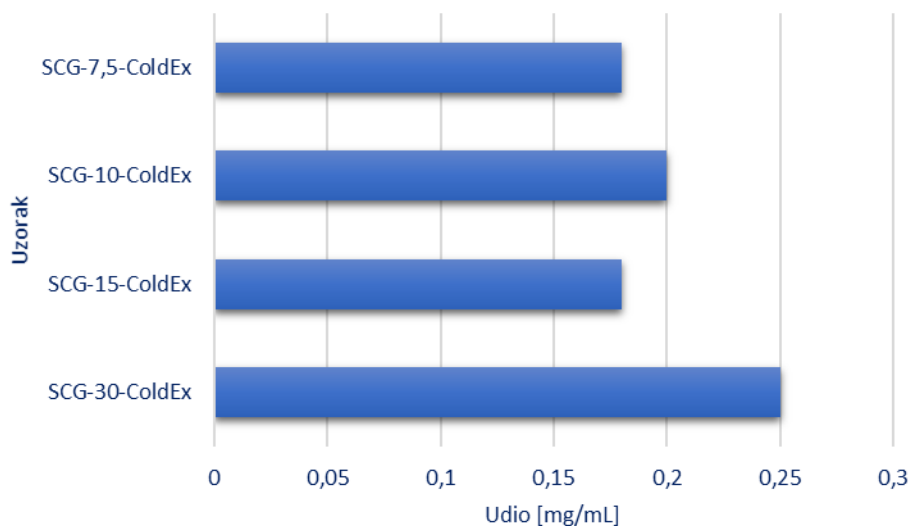


Slika 10 Udio kafeina u ulju kave nakon ekstrakcije na automatskom uređaju za ekstrakciju (SoxROC) sa petroleterom kao otapalom (SCG – talog kave odgovarajućeg omjera mase uzorka i otapala)

Iz dijagrama prezentiranih na **Slikama 9 i 10** vidljivo je da je najveći udio kafeina u ulju kave ekstrahiranom na automatskom uređaju za ekstrakciju određen za uzorak taloga kave omjera mase uzorka i otapala 15 i iznosio je 0,84 mg/mL uz *n*-heksan kao otapalo. Koristeći petroleter za ekstrakciju ulja kave na automatskom uređaju za ekstrakciju, prema vrijednostima prezentiranim na **Slici 10**, manji je udio kafeina u ulju u odnosu na ekstrakciju *n*-heksanom. U slučaju petroletera najveći udio kafeina u ulju kave zabilježen je kod uzorka čiji je omjer mase uzorka i otapala iznosio 30. Može se zaključiti da su optimalni uvjeti za ekstrakciju kafeina na automatskom uređaju za ekstrakciju (SoxROC) korištenje *n*-heksana kao otapala i omjer mase i otapala 15 (6 g uzorka i 90 mL otapala).



Slika 11 Udio kafeina u ulju kave nakon hladne ekstrakcije (ColdEx) sa *n*-heksanom kao otapalom
(SCG – talog kave odgovarajućeg omjera mase uzorka i otapala)



Slika 12 Udio kafeina u ulju kave nakon hladne ekstrakcije (ColdEx) sa petroleterom kao otapalom
(SCG – talog kave odgovarajućeg omjera mase uzorka i otapala)

Iz dijagrama prezentiranih na **Slikama 11** i **12** vidljivo je da je najveći udio kafeina u ulju kave ekstrahiranom metodom hladne ekstrakcije određen za uzorak taloga kave omjera mase uzorka i

otapala 10 i iznosio je 0,62 mg/mL uz *n*-heksan kao otapalo. Koristeći petroleter za ekstrakciju ulja kave metodom hladne ekstrakcije, prema vrijednostima prezentiranim na **Slici 12**, manji je udio kafeina u ulju u odnosu na ekstrakciju *n*-heksanom. U slučaju petroletera najveći udio kafeina u ulju kave zabilježen je kod uzorka čiji je omjer mase uzorka i otapala iznosio 30. Može se zaključiti da su optimalni uvjeti za ekstrakciju kafeina metodom hladne ekstrakcije korištenje *n*-heksana kao otapala i omjer mase i otapala 10 (9 g uzorka i 90 mL otapala).

Interesantno je za primijetiti da je kod ekstrakcije petroleterom, bez obzira na primijenjenu metodu, najveći udio kafeina određen kod uzorka s omjerom mase uzorka i otapala 30 (3 g uzorka u 90 mL otapala).

Rezultati udjela kafeina u uzorcima taloga kave u okviru ovoga rada u skladu su sa rezultatima udjela kafeina publiciranim u radovima autora Ahmed i sur., (2024), Bouhzam i sur., (2022), Campos-Vega i sur., (2015) i Olechno i sur., (2021). Vrijednosti udjela kafeina u talogu kave u spomenutim radovima kretali su se u rasponu od 0,117 do 0,972 mg/mL.

Na temelju rezultata prezentiranih na **Slikama 9-12** može se zaključiti da su optimalni uvjeti za ekstrakciju kafeina ekstrakcija na automatskom uređaju za ekstrakciju (SoxROC) uz *n*-heksan kao otapalo te omjer mase uzorka i otapala 15 (6 g uzorka u 90 mL otapala).

3.3. UDIO MASNIH KISELINA

Uzorci ulja kave ekstrahirani iz mljevene kave za pripremu espresso napitka od kave i pripadajućih taloga kave analizirani su plinskom kromatografijom s plameno-ionizacijskim detektorom (GC/FID) u svrhu određivanja profila masnih kiselina. Analiza je pokazala da je, bez obzira na primijenjenu metodu ekstrakcije, otapalo i omjer mase uzorka i otapala, profil masnih kiselina u svim ispitivanim uzorcima jednak uz mala odstupanja koja se pripisuju ponovljivosti metode te su rezultati prikazani kao srednje vrijednosti svih uzoraka uz standardno odstupanje (**Tablica 7**).

Tablica 7 Profil masnih kiselina u ulju ekstrahiranom iz taloga kave

Masna kiselina	Oznaka	Udio [%]
Palmitinska kiselina	C16:0	35,72 ± 0,18
Stearinska kiselina	C18:0	-
Oleinska kiselina	C18:1	8,67 ± 0,40
Linoleična kiselina	C18:2 (n-6)	48,93 ± 0,30
α-linolenska kiselina	C18:3 (n-3)	1,66 ± 0,04
Arahidična kiselina	C20:0	3,06 ± 0,02

Iz **Tablice 7** vidljivo je da je ulje kave bogato na linoleičnoj, palmitinskoj i oleinskoj kiselini.

Profil masnih kiselina određen u okviru ovog diplomskog rada u odnosu na literaturne podatke publicirane u radovima autora Brekalo i sur., (2023), Acevedo i sur.,(2013) i McNutt i He (2019) te Lauberts i sur. (2022) pokazuje odstupanja u udjelu stearinske kiseline (C 18:0) koja u ispitivanim uzorcima ulja kave iz taloga kave nije detektirana. U radu autora Somnuk i sur. (2017) udio stearinske kiseline u ulju kave ekstrahiranom iz taloga kave nije detektirana što je u skladu s rezultatima u okviru ovog diplomskog rada kao i ostale vrijednosti koje se odnose na udio masnih kiselina u ulju kave iz taloga kave (palmitinska kiselina 34,44 %, oleinska kiselina 7,74 %, linoleična 43,12 %, α-linolenska kiselina 1,18 % i arahidična kiselina 2,83 %).

4. ZAKLJUČCI

Na temelju rezultata istraživanja provedenih u ovom diplomskom radu, mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Optimalni uvjeti ekstrakcije na automatskom uređaju za ekstrakciju, SoxROC, su omjer mase uzorka i otapala 10 (9 g uzorka u 90 mL otapala) uz *n*-heksan kao otapalo.
2. Optimalni uvjeti ekstrakcije hladnom metodom ekstrakcije su omjer mase uzorka i otapala 10 (9 g uzorka u 90 mL otapala) uz petroleter kao otapalo.
3. Najveći udio kafeina u uzorcima taloga kave određen je u uzorku ulja kave iz taloga kave koje je ekstrahirano na automatskom uređaju za ekstrakciju (SoxROC) uz *n*-heksan kao otapalo uz omjer mase uzorka i otapala 15 (6 g uzorka u 90 mL otapala) te je iznosio 0,84 mg/mL.
4. Bez obzira na primijenjenu metodu ekstrakcije, otapalo i omjer mase uzorka i otapala, profil masnih kiselina u svim ispitivanim uzorcima (mljevena kava za pripremu espresso napitka od kave i pripadajući talog kave) je nepromjenjiv pri čemu prevladavaju linoleična, palmitinska i oleinska kiselina te čine 98,05 % ukupnih masnih kiselina u ulju kave.

5. LITERATURA

- Acevedo, F., Rubilar, M., Scheuermann, E., Cancino, B., Uquiche, E., Garcés, M., Inostroza, K., Shene, C.(2013): Spent Coffee Grounds as a Renewable Source of Bioactive Compounds. *Journal of Biobased Materials and Bioenergy* 7: 420–428.
- Ahmed, H., Abolore, R.S., Jaiswal, S., Jaiswal, A.K.(2024): Toward Circular Economy: Potentials of Spent Coffee Grounds in Bioproducts and Chemical Production. *Biomass* 4:286-312.
- Aladić K (2015): Optimizacija procesa ekstrakcije konopljinog (*Cannabis sativa* L.) ulja superkritičnim CO₂ iz pogače nakon hladnog prešanja. Distertacija. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek,
- Bouhzam, I., Cantero, R., Balcells, M., Margallo, M., Aldaco, R., Bala, A., Fullana-i-Palmer, Puig R. (2023): Environmental and Yield Comparison of Quick Extraction Methods for Caffeine and Chlorogenic Acid from Spent Coffee Grounds. *Foods* 12: 779.
- Brekalo, M., Bilić-Rajs, B., Aladić, K., Jakobek, L., Šereš, Z., Krstović, S., Jokić, S., Budžaki, S., Strelec, I. (2023): Multistep Extraction Transformation of Spent Coffee Grounds to the Cellulose-Based Enzyme Immobilization Carrier. *Sustainability* 15(17):13142
- Bucić-Kojić A (2008): Utjecaj procesnih uvjeta i načina kruto-tekuće ekstrakcije na ekstraktibilnost fenolnih tvari iz sjemenki grožđa. Disertacija. Prehrambeno-tehološki fakultet Osijek
- Budžaki, S., Velić, N., Ostojčić, M., Stjepanović, M., Bilić Rajs, B., Šereš, Z., Maravić, N., Stanojev, J., Hessel, V., Strelec, I. (2022): Waste Management in the Agri-Food Industry: The Conversion of Eggshells, Spent Coffee Grounds, and Brown Onion Skins into Carriers for Lipase Immobilization. *Foods* 11(3):409.
- Campos-Vega, R., Loarca-Pina, G., Vergara-Castaneda, H.A., Oomah, B.D. (2015): Spent coffee grounds: A review on current research and future prospects. *Trends in Food Science & Technology* 45:24- 36
- Campos-Vega, R., Loarca-Piña, G., Vergara-Castañeda, H.A., Oomah, B.D. (2015) : Spent Coffee Grounds: A Review on current research and future prospects. *Trends in Food Science & Technology*. 45(1): 24-36
- de Bomfim, A.S.C., de Oliveira, D.M., Walling, E., Babin, A., Hersant, G., Vaneeckhaute, C., Dumont, M.J., Rodrigue, D. (2023): Spent Coffee Grounds Characterization and Reuse in Composting and Soil Amendment. *Waste* 1: 2–20.
- Franca, A.S., Oliveira, L.S. (2022): Potential Uses of Spent Coffee Grounds in the Food Industry. *Foods* 11:2064
- Jelušić, M.M. (2023): Sekvencijalna ekstrakcija proteina i polifenola iz taloga kave i ljuske crvenog luka primjenom ultrazvuka i ekstrakcije u subkritičnim uvjetima. Diplomski rad. Prehrambeno- tehnološki fakultet Osijek

- Kemijski rječnik (2023). Soxlet uređaj za ekstrakciju. Dostupno na: https://glossary.periodni.com/preuzimanje_slike.php?name=soxhletov_ekstraktor.png&source=Soxhletov%2Bekstraktor (16.09.2024)
- Komes, D., Šeremet, D., Mandura, A., Cebin, A. (2021): Valorizacija bioaktivnog potencijala nusproizvoda kave. Neke mogućnosti iskorištenja nusproizvoda prehrambene industrije - Knjiga 3, str. 207-237. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek,
- Lauberts, M., Mierina, I., Pals, M., Latheef, M.A.A., Shishkin, A. (2022): Spent Coffee Grounds Valorization in Biorefinery Context to Obtain Valuable Products Using Different Extraction Approaches and Solvents. *Plants* 12:30.
- Luque de Castro, M.D., Priego-Capote, F. (2010): Soxhlet extraction: Past and present panacea. *Journal of Chromatography* 1217:2383-2389
- McNutt, J., He, Q.S. (2019): Spent Coffee Grounds: A Review on Current Utilization. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 71: 78–88.
- Međunarodna organizacija za standardizaciju (2015): Životinjske i biljne masti i ulja-Određivanje metilnih estera masnih kiselina-4.dio: Metoda plinske kromatografije na kapilarnim kolonama (ISO 12966-4:2015), Ženeva, Švicarska
- Međunarodna organizacija za standardizaciju (2017): Životinjske i biljne masti i ulja-Određivanje metilnih estera masnih kiselina plinskom kromatografijom-2.dio: Priprava metilnih estera masnih kiselina (ISO 12966-2:2017), Ženeva, Švicarska
- Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodnog gospodarstva (2005): Pravilnik o provođenju analitičkih metoda i tumačenju rezultata (NN 2/2005), Zagreb, Hrvatska
- Murthy, P., Naidu, M.M. (2012): Recovery of phenolic antioxidants and functional compounds from coffee industry by-products. *Food and process technology* 5:897-903
- Očevidnik nusproizvoda (popis) (2024) Ministarstvo gospodarstva i održivog razvoja Dostupno na: <https://ogo.mzoe.hr/Ocevidnici/PopisPDF/7> (16.09.2024)
- Očevidnik ukidanja statusa otpada (popis) (2024) Ministarstvo gospodarstva i održivog razvoja Dostupno na: <https://ogo.mzoe.hr/Ocevidnici/PopisPDF/8> (16.09.2024)
- Olechno, E., Puscion-jakunik, A., Zujko, M.E., Socha, K. (2021): Influence of various factors on caffeine content in coffee brews. *Foods*. 10(6): 1208.
- OPIS AB (2016): OPIS LiquidLINE SoxROC Extraction Unit.

- Primorac, Lj., Flanjak, I. (2012): Kontrola kakvoće hrane. Propisi za vježbe. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Hrvatska
- Ribeiro, R.C., Mota, M.F.S., Silva, R.M.V., Silva, D.C., Novaes, F.M.J., da Veiga, J.V., Bizzo, H.R., Teixeira, R.S.S. Rezende, C.M. (2024): Coffee Oil Extraction Methods: A Review. *Foods* 13: 2601.
- Somnuk, K., Eawlex, P., Prateepchaikul, G. (2017): Optimization of coffee oil extraction from spent coffee grounds using four solvents and prototype-scale extraction using circulation process. *Agriculture and Natural Resources* 51: 181-189.
- Tomac, I. (2016): Karakterizacija klorogenskih kiselina i analiza antioksidacijske aktivnosti u različitim vrstama kave primjenom elektrokemijskih metoda. Doktorski rad. Prehrambeno- tehnološki fakultet Osijek, Hrvatska
- Tomas, S., Planinić, M., Bucić-Kojić, A. (2015): Jedinične operacije u prehrambenom i procesnom inženjerstvu. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2013. *Trends in Food Science and Technology* 45, 24–36.
- Uddin, M.N., Techato, K., Rasul, M.G., Hassan, N.M.S., Mofijur, M. (2019): Waste coffee oil: A promising source for biodiesel production. *Energy Procedia* 160:677-682
- Vandepoosele, A., Draye, M., Piot, C., Chatel, G. (2021): Study of Influential Parameters of the Caffeine Extraction from Spent Coffee Grounds: From Brewing Coffee Method to the Waste Treatment Conditions. *Clean Technologies* 3: 335–350.
- Zuorro, A., Lavecchia, R. (2021): Spent Coffee Grounds as a Valuable Source of Phenolic Compounds and Bioenergy. *Journal of Cleaner Production* 34: 49–56.