

**MOGUĆNOSTI PROIZVODNJE SUPLEMENATA  
SA ANTIOKSIDATIVNOM AKTIVNOŠĆU OD  
OTPADNE KAFE**

Marija Pavlović, Suzana Dimitrijević- Branković, Slavica Šiler- Marinković

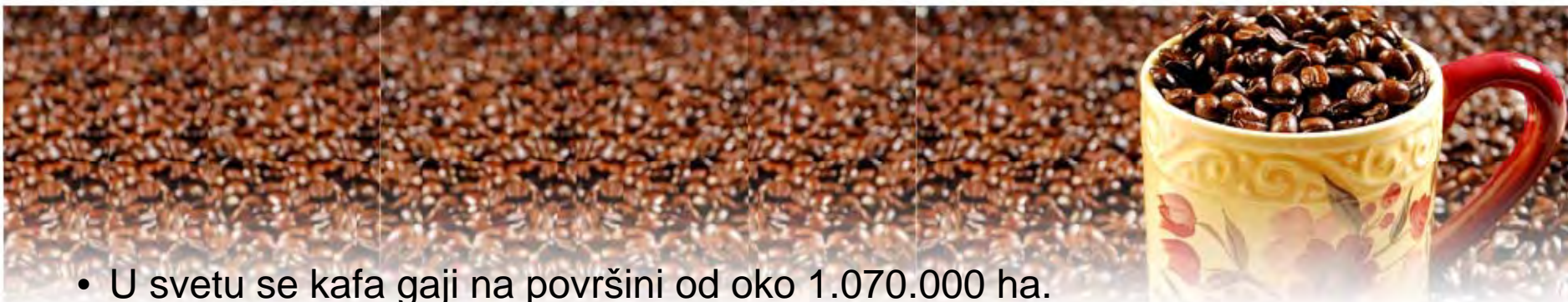
[1] Tehnološko-metalurški fakultet, Katedra za biohemijjsko inženjerstvo i biootnologije, Beograd, Karnegijeva 4,  
siler@tmf.bg.ac.rs





# UVOD

- Kafa obiluje antioksidansima, koji pozitivno utiču na metaboličke procese u organizmu, oslobađajući ga štetnih slobodnih radikala.
- Utvrđena su takođe i izvesna antitumorna, antialergijska i antiinflamatorna svojstva kafe.
- S obzirom da se danas, velika pažnja posvećuje otpadnim materijalima i njihovom ponovnom korišćenju, čine se pokušaji da se ostaci kafe, zaostali nakon pripreme napitaka, iskoriste u razne svrhe, između ostalog i kao izvor prirodnih antioksidanasa.



- U svetu se kafa gaji na površini od oko 1.070.000 ha. Uz prosečan prinos od 552 kg/ha, proizvede se količina od oko 5.700.000 t sirove kafe godišnje

- **Arabica** (*Coffea Arabica linaeus*) čini 70 % svetske proizvodnje, jer je boljeg kvaliteta, ima naglašen miris, izbalansiranu aromu, ukus je kombinacija slasti i kiselosti. Maksimalna količina kofeina ne prelazi 1,5%. Poznate arabike su : Minas, Santos, Sigri, Maragogip, Kostarika, Moka harar...

- **Robusta** (*Coffea Canehora Pirex Francher*) učestvuje sa 25 % u svetskoj proizvodnji kafe. Sadrži do 2,8% kofeina. Biljka je znatno otpornija, ali je zrno lošijeg kvaliteta.





## Sastav kafe

- Sastav kafe varira u zavisnosti od vrste, načina gajenja, berbe, čuvanja i prerade.

### *Hemijski sastav sirove kafe*

Komponente	Sadržaj, %
Vlaga	5,0 – 7,0
Masti	10,0 – 15,0
Celuloza	do 40,0
Šećeri	5,0 – 7,0
Kofein	0.7 – 2.8
Hlorogenska kiselina	65-140 mg/g





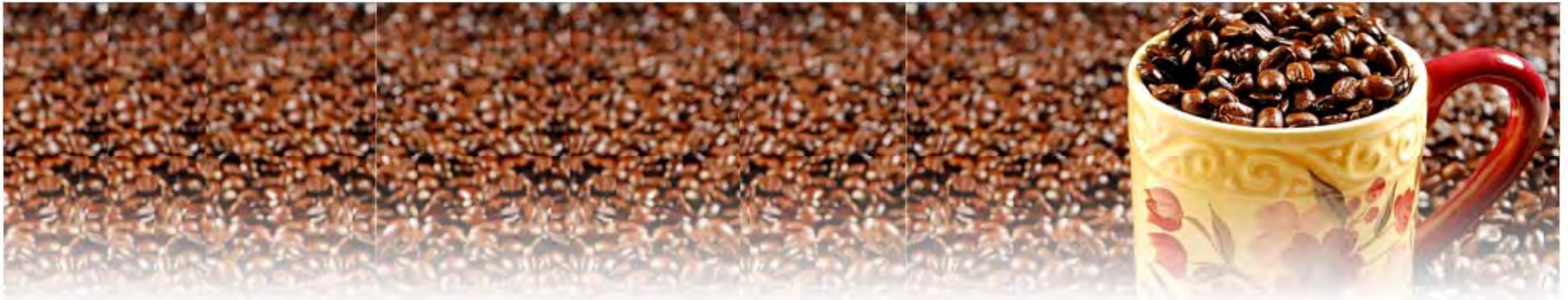
## Uticaj pečenja na fizičko - hemijske promene u zrnu kafe

- Promena boje od zelene do tamno braon, čak crne.
- Smanjenje vlage i gubitak mase od oko 20%.
- Porast zapremine od 70 do 100%.
- Sinteza aromatičnih i antioksidativnih jedinjenja ( melanoiidina) kao rezultat (Millard-ove reakcije).
- Stvaranje sloja vrlo aromatičnog kafenog ulja.
- Aroma se menja jer se kiselost, količina šećera i proteina smanjuje, a gorčina se povećava.
- Ukupan sadržaj kofeina i lipida ostaje gotovo nepromenjen.
- Smanjenje sadržaja hlorogenske kiseline za oko 70%.



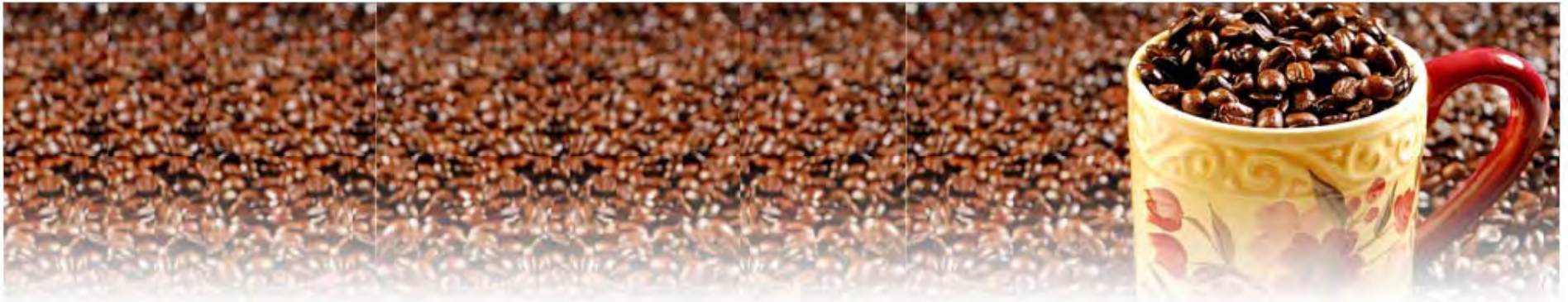
## Fiziološko delovanje kafe

- Stimuliše nervni sistem, otklanja sanjivost i smanjuje zamor
- Kratkotrajno podiže pritisak.
- Pomaže da se bolje utroši energija akumulirana u toku dana.
- Pomaže u prevenciji dijabetesa.
- Deluje analgetski
- Deluje kao vazodilatator.
- Jača imunološki sistem.
- Stimulativno deluje na srce, mozak i tonus mišića.
- Ne povećava rizik od infarkta, ateroskleroze, aritmije i hipertenzije.
- Reguliše probavu, pospešuje varenje, podstiče želudačne sokove.
- Štiti od raka debelog creva.
- Podstiče izlučivanje vode iz organizma.
- Umanjuje rizik od stvaranja kamena u žuči.
- Sprečava karijes.
- Smanjuje rizik od Parkinsonove bolesti.
- Smanjuje rizik od ciroze jetre.



- Kafa u većim količinama izaziva teškoće poput nesanice, uznemirenosti, lupanja srca i bola u želucu.
- Jedna šoljica kafe sadrži 100 do 150 mg kofeina, pa je preporučljiva doza kafe najviše 3-4 šoljice u toku dana.
- Najveća tolerantna količina je 9 šoljica dnevno.
- Letalna doza kofeina iznosi 150 mg/kg telesne mase, što znači da je za čoveka od 80 kg letalna doza 12 g kofeina, tj. 100 šoljica kafe!





## ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST KAFE

- Kafa je šesta po količini antioksidanasa u jednoj tipičnoj porciji, među 50 ispitivanih namirnica

### Antioksidansi u kafi

- Jedinjenja koja pripadaju familiji polifenola.
- Njihova koncentracija varira u zavisnosti od načina pripreme napitka
- Identifikovane su tri polifenolne komponente: hlorogenska kiselina, kafeinska i ferulinska kiselina.

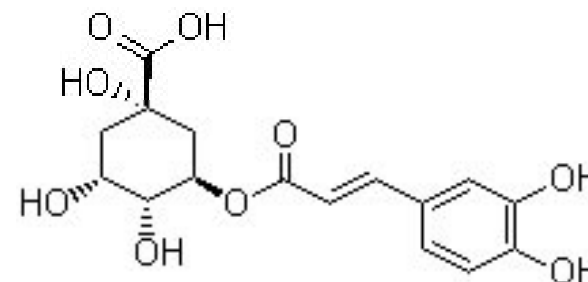




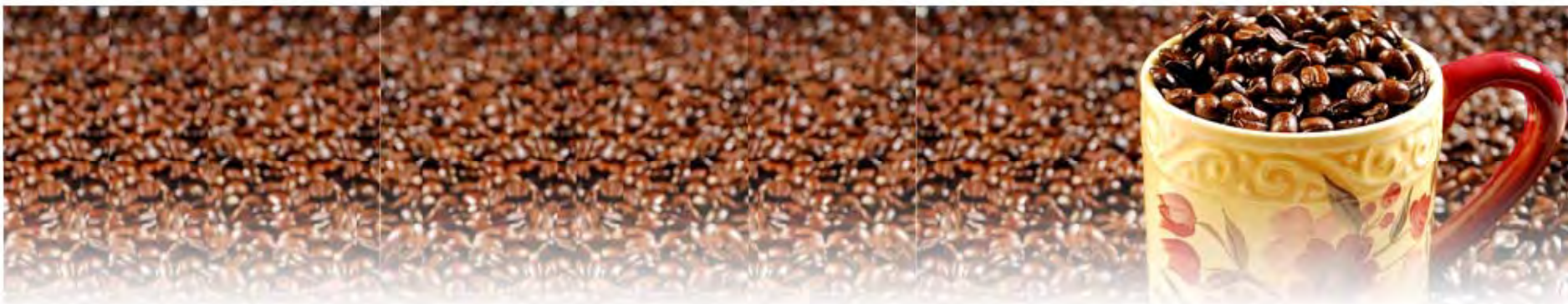
## HLOGROGENSKA KISELINA

- Najvažnije polifenolno jedinjenje u kafi.
- Estar kafeinske kiseline i 3-hidroksi-ferulinske kiseline.

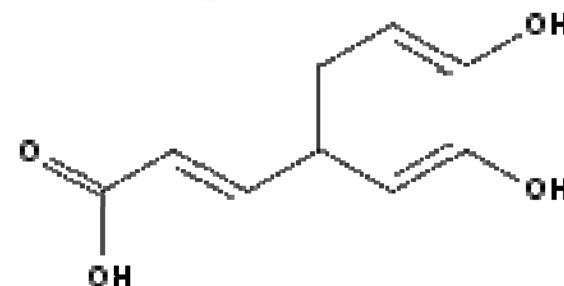
- Sadržaj hlorogenske kiseline u zelenoj kafi je:
  1. 65 mg/g, (Robusta)
  2. 140 mg/g (Arabika)



- **Pečenjem kafe, više od 70 % hlorogenske kiseline biva degradirano.**
- Hlorogenska kiselina iz ekstrakta zelene kafe je veoma bioraspoloživa.
- Njene uloge su: antioksidantne, antidijabetske, antitumorne, u redukciji telesne težine, antibakterijske, antiinflamatorne, detoksikujuće, smanjuje adsorpciju holesterola, snižava krvni pritisak, stimuliše leukocite, ubrzava gastrointestinalnu peristaltiku.



## KAFEINSKA KISELINA



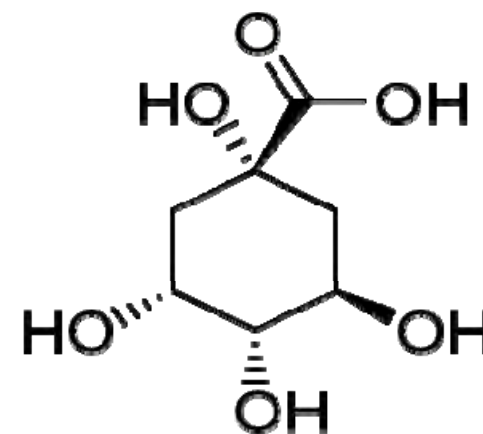
- Smanjuje produkciju aflatoksina za čak više od 95%.
- Deluje kao UV filter.
- Zajedno sa hlorogenskom kiselinom sprečava metilaciju DNK, pa se smatra da deluje antikancerogeno.
- Ispoljava antiinflamatorno i imunomodulatorsko delovanje.
- Efektivni je antidijabetik - povećava lučenje insulina i smanjuje proizvodnju glikogena u jetri.
- Praktično kompletan sadržaj zaostaje u talogu kafe.

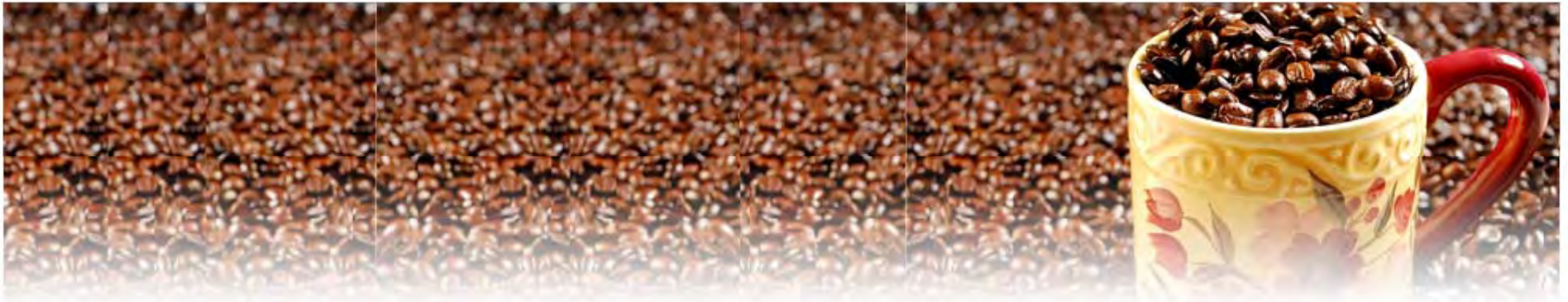




## FERULINSKA KISELINA

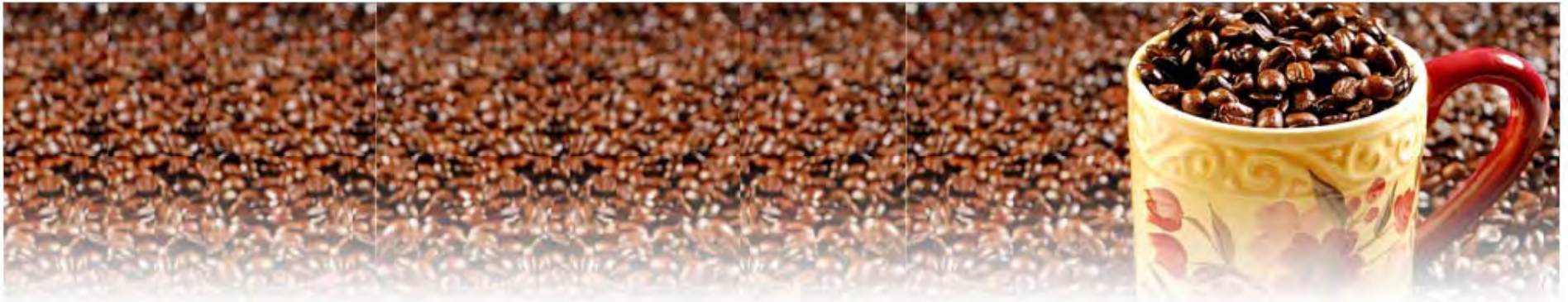
- Nastaje hidrolizom hlorogenske kiseline.
- Rastvorna je u vodi i u alkoholu.
- Navodno je uzrok kiselosti kafe.
  
- Često je početni materijal za sintezu novih lekova – Tamiflu.
- Potpomaže sintezu triptofana i nikotinamida u gastrointestinalnom traktu.





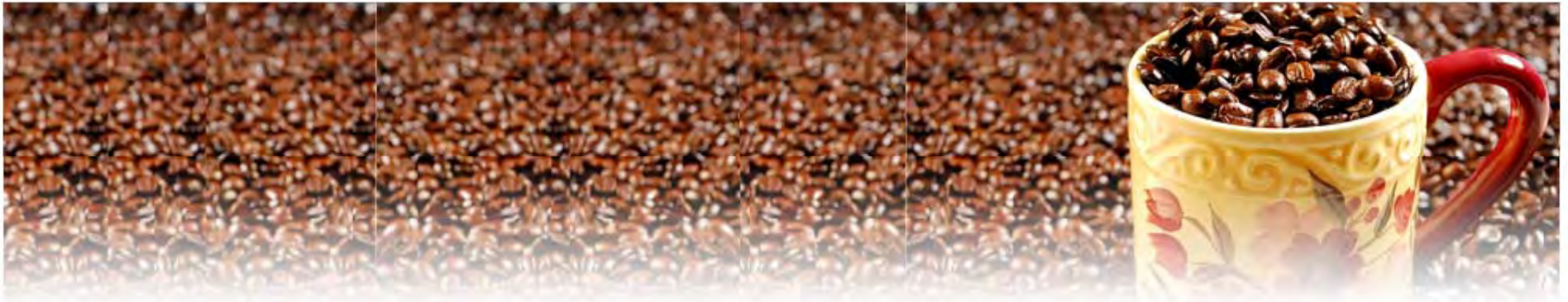
- Talog kafe zaostale nakon ekstrakcije vodom, prema literaturnim podacima poseduju antioksidativna svojstva.
- HPLC analize pokazuju da fenolne kiseline (klorogenska i kafeinska kiselina), kao i nefenolne komponente (kafein, trigonelin, nikotinska kiselina, 5-(hidroksimetil)-furfuraldehid) zaostaju delimično u talozima kafe.
- Takođe, melanoidini koji nastaju tokom prženja kafe kao rezultat Maillardove reakcije, poseduju antioksidativnu aktivnost, a i oni delimično zaostaju u talogu kafe.





## Analitičke metode

- Određivani su **hemijski sastav, antioksidativna aktivnost i antimikrobna aktivnost** sledećih uzoraka kafe: pečena, espresso, talog pečene kafe i talog espresso kafe.
- U uzorcima je direktno određen sadžaj: **suve materije, masti, kofeina i hlorogenske kiseline.**
- Svi navedeni uzorci su ekstrahovani polarnim rastvaračem (70% etanol) , a u dobijenom tečnom ekstraktu određeni su **ukupni polifenoli i antioksidativna aktivnost DPPH i FRAP metodom.**
- Tečni ekstrakti su osušeni u sušnici sa rasprskavanjem i u njima je određen sadržaj polifenola i antioksidativna aktivnost, da bi se utvrdio uticaj sušenja ekstrakta na antioksidativnu aktivnost.



### **Određivanje kofeina**

- Sadržaj kofeina određen je spektrofotometrijskom metodom na 272 nm.
- Na osnovu izmerenih ekstinkcija očitavana je koncentracija kofeina sa standardne krive.

### **Određivanje hlorogenske kiseline**

Hlorogenska kiselina je određena AOAC spektrofotometrijskom metodom na 325 nm, posle prečišćavanja vodenog ekstrakta Carezovim reagensom.

### **Određivanje ukupnih polifenola**

- U etanolonom ekstraktu sadržaj ukupnih polifenola je određen po Folin - Ciocalteu metodi, spektrofotometrijski na 750 nm.
- Na osnovu izmerenih ekstinkcija očitavana je koncentracija polifenola sa standardne krive, a rezultati su izraženi u mg galne kiseline (GAE) na g ekstrakta.





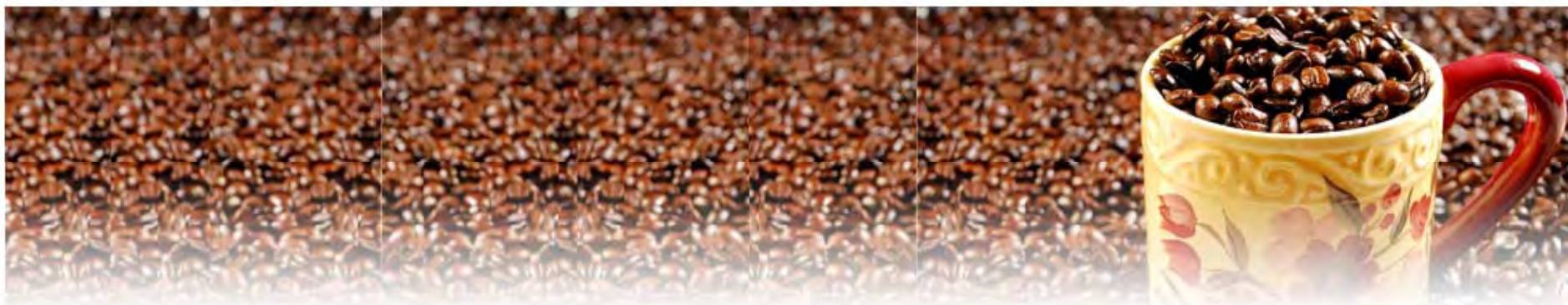
# ODREĐIVANJE ANTIOKSIDATIVNE AKTIVNOSTI

## Ispitivanje sposobnosti neutralizacije DPPH radikala

- DPPH se prilikom reakcije sa donorom protona redukuje do DPPH–H, pri čemu se boja menja iz ljubičaste u žutu. Intenzitet promene boje se meri spektrofotometrijski na 517 nm.
- Konstruisane su krive zavisnosti koncentracije ekstrakata i procenta inhibicije DPPH radikala i izračunate su vrednosti **IC50** - koncentracije antioksidanasa potrebne za inhibiciju 50 % početne količine DPPH radikala.

## FRAP metoda

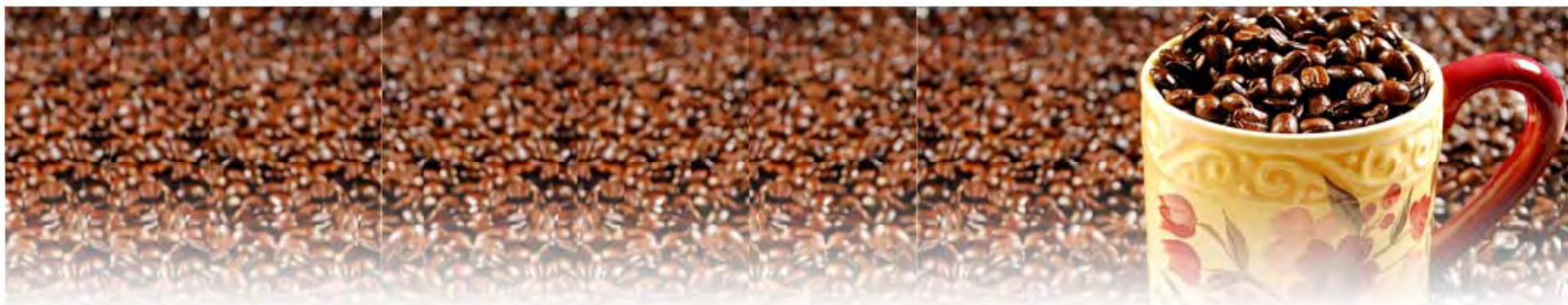
- Zasniva se na redukciji [Fe(III)-TPTZ] do [Fe(II)-TPTZ] u kiseljoj sredini.
- [Fe(II)-TPTZ] kompleks je intenzivno plavo obojen sa maksimumom absorbance na 593 nm.



## Sadržaj suve materije i masti u uzorcima kafe

Uzorak	Suva materija, %	Masti, % / s.m
Pečena kafa	96,69	14,57
Espresso kafa	97,99	11,38
Talog pečene kafe	98,86	17,09
Talog espresso kafe	98,41	11,75



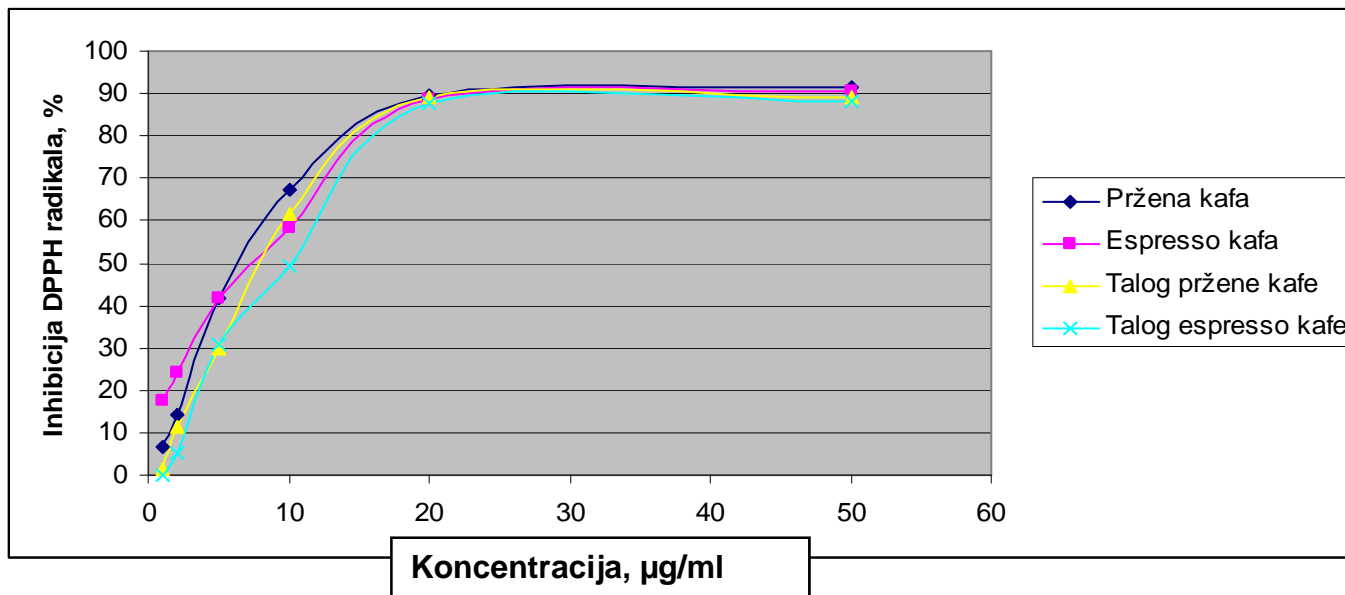


## Najvažniji antioksidansi u talogu kafe

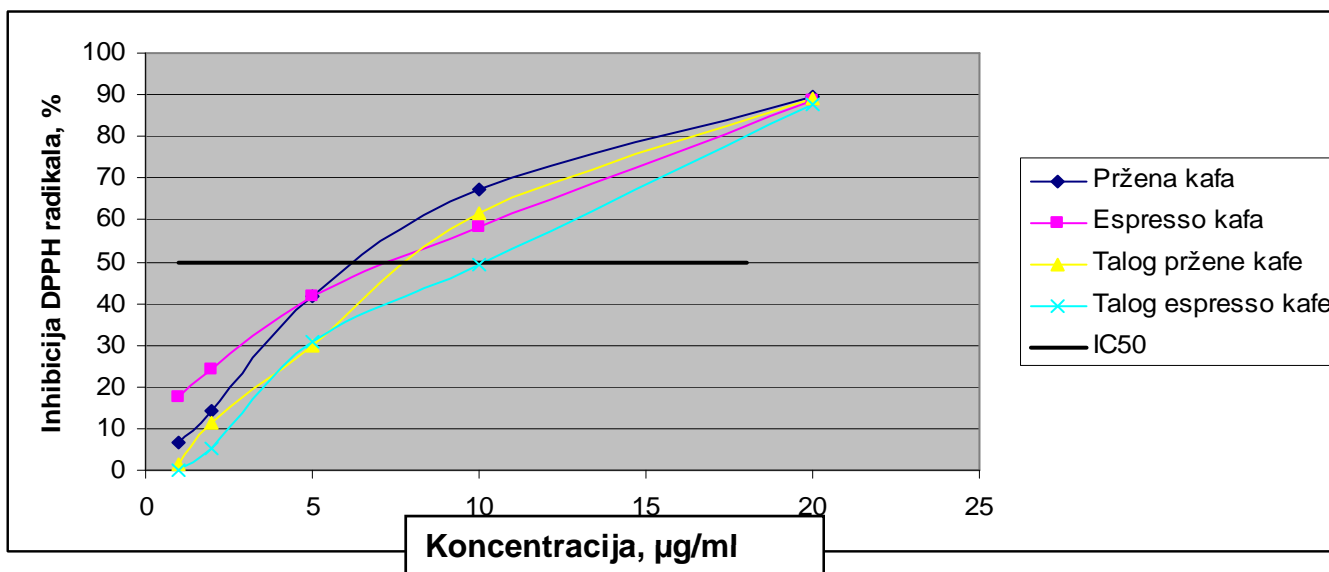
Uzorak	Kofein, %	Hlorogenska kiselina, %	Ukupni polifenoli, %
Talog pečene kafe	0.82	1.62	1.76
Talog espresso kafe	0.79	1.28	1.52

## Sadržaj antioksidanasa u ekstraktu taloga kafe

Uzorak	Kofein, %	Hlorogenska kiselina, %	Ukupni polifenoli, %
Talog pečene kafe	2.5	5.62	6.32
Talog espresso kafe	2.1	4.82	5.61



*Uporedni prikaz procenata inhibicije DPPH radikala u tečnim ekstraktima kafe*



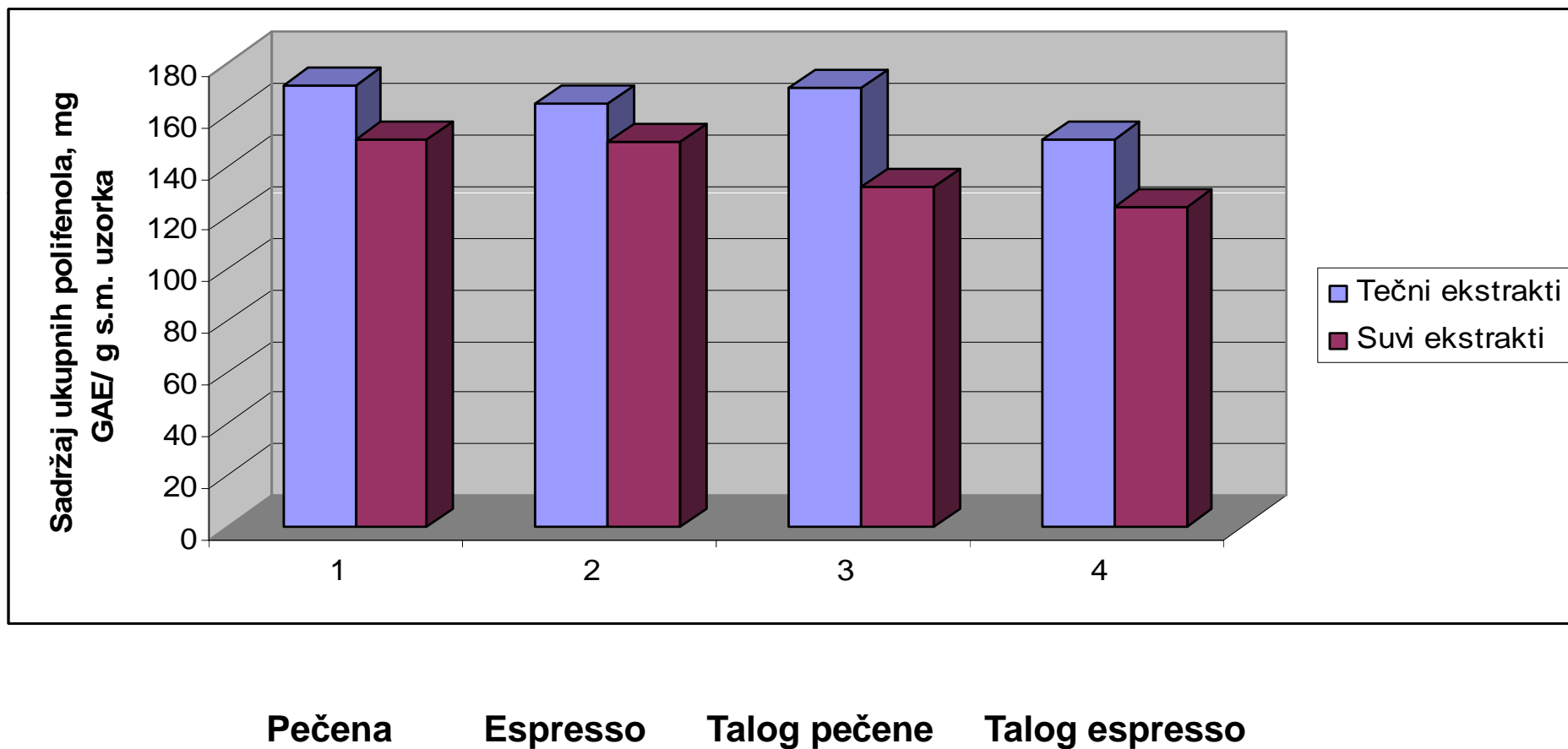
*Vrednosti IC50 za tečne ekstrakte*



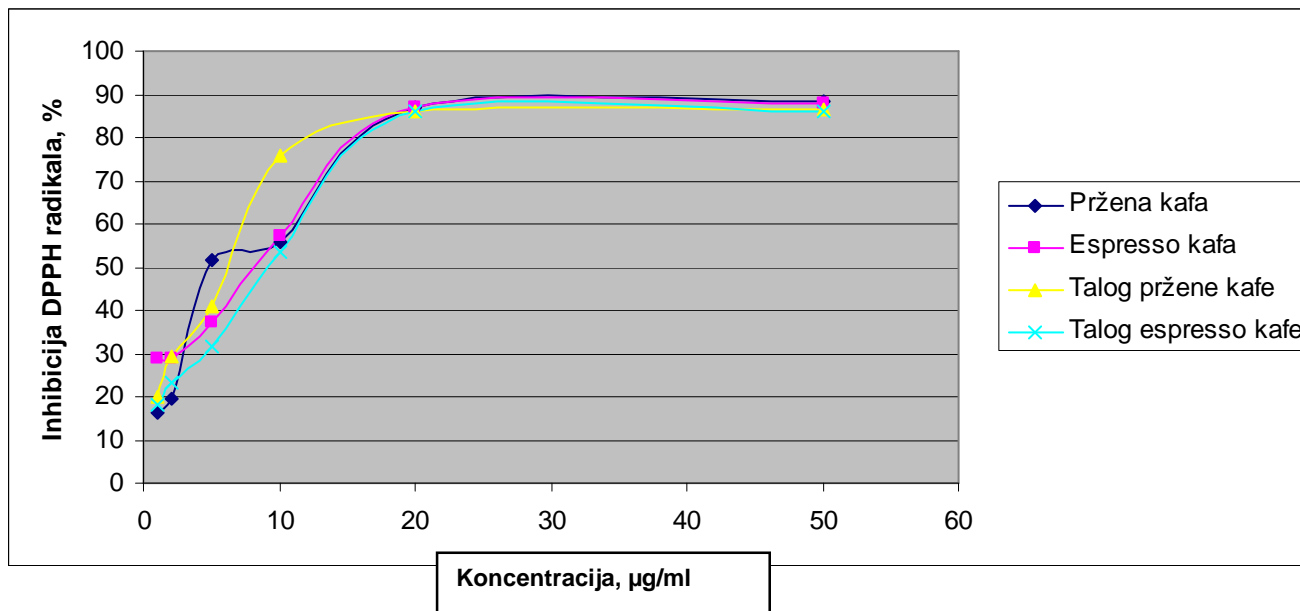
# Antioksidativna aktivnost ekstrakata taloga određena FRAP metodom

Uzorak	mmol Fe <sup>2+</sup> / g s.m.
Talog pečene kafe	0,275
Talog espresso kafe	0,270

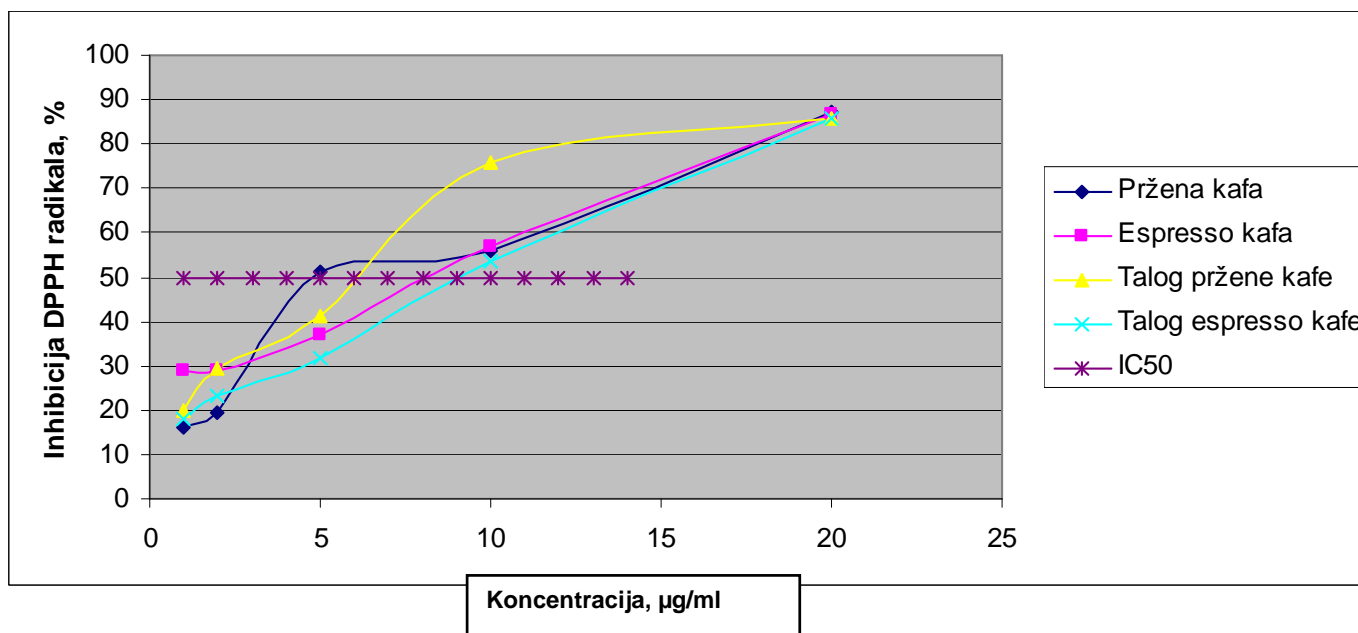
## *Sadržaj polifenola u tečnim i suvim ekstraktima*





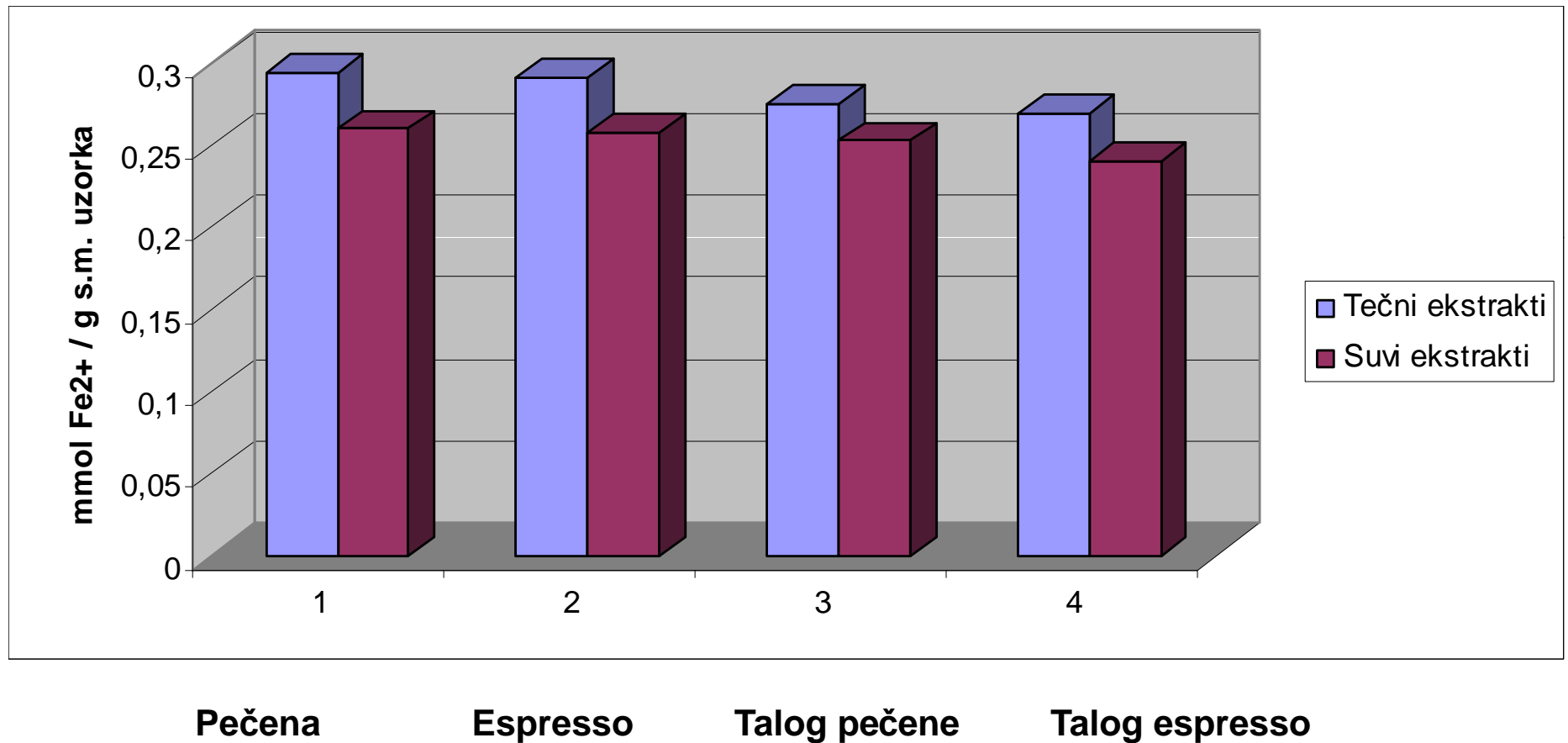


*Uporedni prikaz procenata inhibicije DPPH radikala u suvim ekstraktima kafe*



*Vrednosti IC50 za date suve ekstrakte*

## *Antioksidativna aktivnost tečnih i suvih ekstrakata određena FRAP metodom*







# Antimikrobna aktivnost

Antimikrobna aktivnost taloga kafe određivana je metodom difuzije u bunarčićima.

Nije utvrđena antimikrobna aktivnost u odnosu na:

- *Echerichia coli* ATCC 25922,
- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 i
- *Candida albicans* ATCC 24433.



## ZAKLJUČAK

**Talozi zaostali nakon ekstrakcije kafe vodom, koji predstavljaju otpadni materijal, poseduju dobra antioksidativna svojstva.**

**Oni se mogu iskoristiti za proizvodnju polifenolnih ekstrakata , koji se nakon sušenja mogu koristiti kao suplementi.**