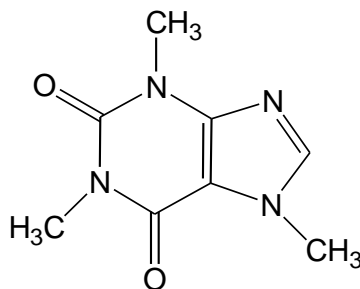


Analiza środowiskowa żywności i leków

Ćwiczenie nr 9: Oznaczanie kofeiny

KOFEINA: alkaloid purynowy o wzorze $C_8H_{10}N_4O_2$ (1-3-7 trimetylo-2,6 dihydroksypuryna). Wzór strukturalny kofeiny przedstawiono poniżej (rys.1).



Rys. 1. Wzór strukturalny kofeiny

Kofeina występuje w postaci białego proszku, bez zapachu, o gorzkawym smaku. Jest dobrze rozpuszczalna w gorącej wodzie i rozpuszczalnikach organicznych (chloroform, dichlorometan). Związek ten obecny jest w wielu roślinach, m.in. w herbacie, kawie, liściach mate (*Ilex paraguayensis*), guaranie (*Paulius cupan*) czy orzeszkach cola. Kofeina jest silnym stymulatorem centralnego układu nerwowego, przyspiesza przemianę materii, pobudza wydzielanie soku żołądkowego, zwiększa sprawność myślenia, zmniejsza zmęczenie psychiczne i fizyczne oraz wykazuje słabe działanie moczopędne. Kofeina stosowana jest w leczeniu, głównie w postaci łatwo rozpuszczalnych soli. Stosowana jest m.in. w przypadku ostrych zatruc alkoholem, w zapaściach, przy chorobach zakaźnych oraz niedociśnieniu. Stężenie kofeiny w filiżance kawy może wynosić od 2 do 115 mg, w zależności od sposobu przygotowania. Maksymalna, doustna dawka kofeiny wynosi 1,5 g, a dawka śmiertelna 10-12 g.

Celem ćwiczenia jest oznaczenie stężenia kofeiny w ekstraktach kaw metodą spektrofotometrii UV-Vis.

Istnieje możliwość zbadania próbek przyniesionych przez studentów (herbata, kawa, napoje energetyczne, napoje typu Cola, itp.).

1. Zasada oznaczenia:

Stężenie kofeiny oznacza się metodą spektrofotometryczną, mierząc absorbancję przy długości fali 276 nm (maksimum absorpcji kofeiny), po uprzedniej ekstrakcji kofeiny za pomocą dichlorometanu (lub chloroformu) z uprzednio zalkalizowanych ($pH > 12$) roztworów próbek.

2. Wykonanie oznaczenia:

Przygotowanie roztworów wzorcowych kofeiny

Z roztworu podstawowego kofeiny przygotować w kolbkach miarowych serię 5 roztworów wzorcowych w zakresie stężeń 0-40 ppm. Kolbki uzupełnić do kreski dichlorometanem (lub chloroformem) i dokładnie wymieszać.

Przygotowanie badanej próbki

Kawa, herbata

W zlewce pojemności 250 cm³ sporządzić napar herbaty bądź kawy (według wytycznych producenta, bądź też własnego uznania). W przypadku kawy mielonej/herbaty liściastej – otrzymane napary po zaparzeniu – przesączyć. Uwaga: w zależności od spodziewanej zawartości kofeiny w próbce, rozcieńczyć otrzymany napar przed ekstrakcją kofeiny. Następnie, do małej zlewki pobrać 10,00 cm³ naparu i doprowadzić do pH>12 za pomocą roztworu NaOH. Zasadowe roztwory przenieść do rozdzielacza i ekstrahować trzema kolejnymi porcjami ekstrahenta (10 cm³/5 cm³/5 cm³). Każdorazowo wytrząsać przez około 1 minutę i pozostawiać do rozwarstwienia. Warstwę organiczną z wyekstrahowaną kofeiną zbierać do kolby miarowej o pojemności 25 cm³. Po wykonaniu ostatniego powtórzenia, kolbki z ekstraktem dopełnić do kreski ekstrahentem. W analogiczny sposób należy przygotować roztwór tzw. ślepej próby.

Napoje energetyczne, napoje typu Cola

Przed przystąpieniem do analizy, napoje odgazować. W zależności od zawartości kofeiny w próbce, napoje rozcieńczyć. Następnie, postępować analogicznie jak w przypadku naparów kaw/herbat.

Wykonanie oznaczeń spektrofotometrycznych

Zarejestrować widma roztworów wzorcowych kofeiny oraz badanych próbek w zakresie 200-400 nm względem ślepej próby (użyty ekstrahent). Odczytać wartości absorbancji dla maksimum pasma absorpcyjnego kofeiny (λ_{\max} 276 nm) oraz przy długości fali 315-320 nm (tło). Z różnicy obliczyć właściwą absorbancję kofeiny. Wykreślić krzywą wzorcową. W oparciu o krzywą wzorcową określić zawartość kofeiny w badanej próbce (porcji spożywanego napoju (kawa herbata) lub mg/100 cm³ (napój energetyczny/Cola)).

Sprawozdanie

Sprawozdanie powinno zawierać dokładny opis wykonania oznaczenia, wyniki pomiarów spektrofotometrycznych (proszę dołączyć wykres krzywej wzorcowej), obliczenia zawartości kofeiny w badanej próbce oraz końcowy wynik analizy.

Literatura:

1. M. Frankowski, A. Kowalski, A. Ociepa, J. Siepak, P. Niedzielski: Kofeina w kawach i ekstraktach koleinowych i odkofeinowanych dostępnych na polskim rynku. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, XLI, 1 (2008) 21-27.
2. Shufen Li, J. Berger, S. Hartland: UV spectrophotometric determination of theobromine and caffeine in cocoa beans. *Analytica Chimica Acta*, 232 (1990) 409-412.