Određivanje kofeina u čaju

Ravnjak, Gabriela

Undergraduate thesis / Završni rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of Chemistry / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za kemiju**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:182:184415

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Department of Chemistry, Osijek







Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku
Odjel za kemiju
Sveučilišni preddiplomski studij kemije

Gabriela Ravnjak

Određivanje kofeina u čaju

Determination of caffeine in tea

Završni rad

Mentor:
doc. dr. sc. Mirela Samardžić

Osijek, 2017

Sažetak:

Određivanje kofeina u čaju

Kofein je prirodni alkaloid koji se nalazi u biljnim vrstama koje pretežno rastu u tropskim ili suptropskim regijama svijeta. Njegovi glavni izvori su zrna kave i listovi čaja.

U ovom radu opisana je izolacija kofeina iz pet vrsta čaja, te su određeni njegovi maseni udjeli u pojedinoj vrsti. Korištena metoda za izolaciju je ekstrakcija na osnovu različite topljivosti između dva otapala, a maseni udjeli kofeina određeni su gravimetrijski. Potom su apsorbancije i masene koncentracije određene pomoću UV-Vis spektroskopije.

Rad je podijeljen u nekoliko poglavlja. Iza uvoda slijedi literaturni pregled gdje su ukratko prikazana svojstva kofeina te korištene metode za njegovu izolaciju. Zatim slijedi prikaz dobivenih rezultata a na kraju zaključak i upotrijebljena literatura.

Ključne riječi: kofein, čaj, ekstrakcija, gravimetrija, UV-Vis spektroskopija

Abstract:

Determination of caffeine in tea

Caffeine is a natural alkaloid that is found in plant species that predominantly grow in tropical or subtropical regions of the world. Its main sources are coffee beans and tea leaves.

This paper describes the isolation of caffeine from five types of tea, and determination of its mass fraction in each particular species. The method that was used for isolation is the extraction based on the different solubility of the two solvents, and the mass of caffeine is determined gravimetrically. Then absorbance and mass concentration were determined by UV-Vis spectroscopy.

The paper is divided into several chapters. Introduction chapter is followed by literature review where the caffeine properties and the methods used for its isolation are briefly presented. Next, is a summary of the results obtained and finally the conclusion and the used literature.

Keywords: caffeine, tea, extraction, gravimetry, UV-Vis spectroscopy

Sadržaj:

1. Uvod 1
2. Literaturni pregled 2
   2.1 Kofein 2
      2.1.1 Svojstva kofeina 3
      2.1.2 Uporaba kofeina 4
      2.1.3 Kofein u čaju 5
   2.2 Metode 6
      2.2.1 Esktrakcija 6
      2.2.2 Gravimetrija 8
      2.2.3 UV-Vis spektroskopija 9
3. Eksperimentalni dio 12
   3.1 Korištene kemikalije 12
   3.2 Aparatura 12
   3.3 Priprema otopina 13
   3.4 Postupak 13
4. Rezultati i rasprava 15
5. Zaključak 18
6. Literatura 19

1. Uvod

Kofein je gorak, bijeli kristalni purin, metilksantinski alkaloid i kemijski je povezan s adeninskim i gvaninskim bazama deoksiribonukleinske kiseline (DNA) i ribonukleinske kiseline (RNA). Pronađen je u lišću, sjemenu i plodovima više od 63 biljne vrste širom svijeta. Pića koja sadrže kofein, kao što su kava, čaj, kola te energetski napitci vrlo su popularni u svijetu. Konzumiranje kofeina ima svoje pozitivne i negativne strane. Može davati mali zaštitni učinak protiv nekih bolesti uključujući Parkinsonovu bolest, dok s druge strane ukoliko se konzumira u kasnim večernjim satima može izazvati nesanicu i poremećaje u spavanju.
Iako je kava najčešća asocijacija na kofein, čaj sadrži više kofeina, ali tipično posluživanje čaja mnogo manje, jer se obično puno slabije kuha.

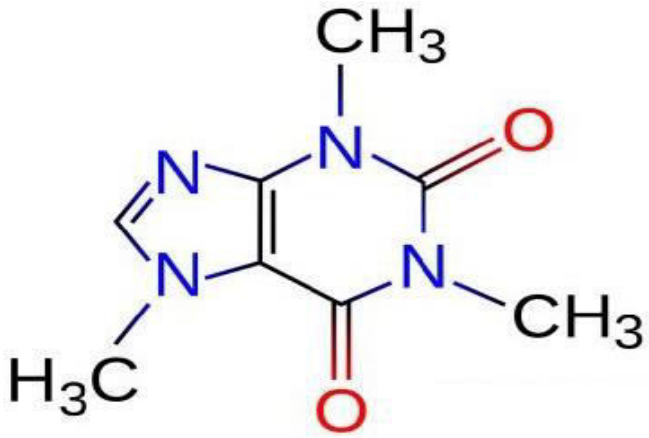
U ovome radu opisana je izolacija kofeina iz crnog, zelenog, bijelog, žutog i oolong čaja. Metoda koja je korištena za izolaciju kofeina je ekstrakcija - izdvajanje tvari iz homogenih smjesa na osnovi njene različite topljivosti u različitim otapalima koja se međusobno ne miješaju. Potom su masa i maseni udjeli određeni gravimetrijski, a apsorbancije i masene koncentracije pomoću UV-Vis spektroskopije.

Cilj ovog istraživanja je odrediti u kojem čaju se nalazi najveći, odnosno, najmanji udio kofeina.

2. Literaturni pregled

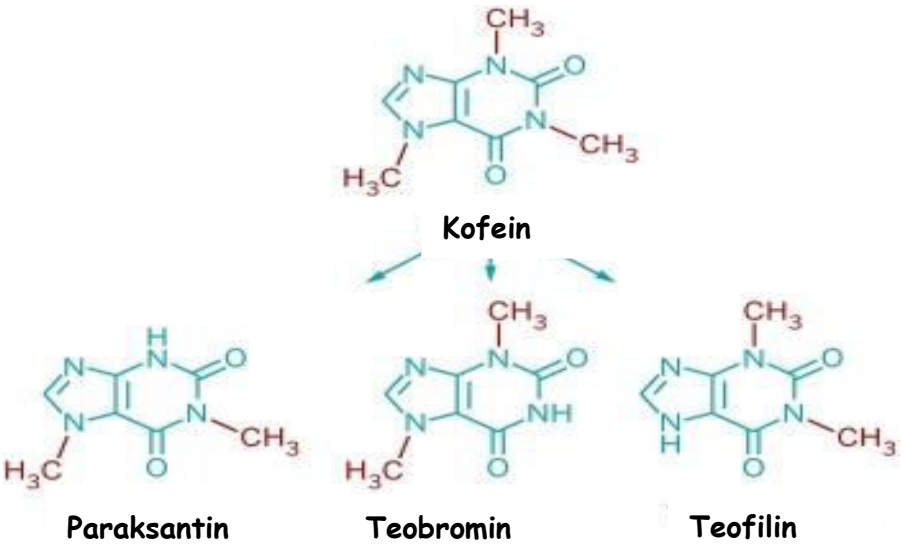
2.1 Kofein

Kofein, alkaloid obitelji metilksantina, je prirodna tvar pronađena u lišću, sjemenu i plodovima više od 63 biljne vrste širom svijeta. Najpoznatiji izvori kofeina su kava, zrna kakaa i listovi čaja. Njegova kemijska formula je $C_8H_{10}N_4O_2$, a njegov naziv prema IUPAC-u je 1,3,5-trimetilksantin (Slika 1.) [1, 2].



Slika 1. Strukturna formula kofeina [3].

Kofein je farmakološki aktivna tvar i ovisno o dozi može biti blagi stimulans središnjeg živčanog sustava. Kofein se ne nakuplja u tijelu tijekom vremena i normalno se izlučuje unutar nekoliko sati. Drugi prirodni metilksantini su teobromin i teofilin. Metilacijom teobromina nastaje kofein. Kofein i srodni spojevi sadrže imidazolni prsten spojen na pirimidinski prsten (Slika 2.) [1].



Slika 2. Strukturni prikaz kofeina i njemu srodnih spojeva [4].

Različiti proizvođači nude tzv. kofeinske tablete, tvrdeći kako korištenje kofeina farmaceutske kvalitete poboljšava mentalnu budnost. Ovi učinci potkrijepljeni su istraživanjima koja pokazuju da korištenje kofeina (bilo u obliku tableta ili ne) rezultira smanjenim umorom i povećanom pažnjom [1].

2.1.1 Svojstva kofeina

Čisti kofein ima oblik bijelih, šesterokutnih kristala koji se mogu usitniti u mekani prah (Slika 3.). Gorkog je okusa. Točka taljenja iznosi 235°C-238°C, a molekulske masa 194,19 g/mol. Topljiv je u kloroformu i metilen-kloridu, a umjereno topljiv u etanolu (1,5 g/100 mL). Također, kofein je umjereno topljiv u vodi na sobnoj temperaturi (2 g/100 mL), ali je vrlo topljiv u kipućoj vodi (66 g/100 mL). Kofein ne sadrži nikakve stereogene centre i stoga je klasificiran kao akiralna molekula. Slaba je baza te je stoga potrebna jaka kiselina za njegovo protoniranje [5].



Slika 3. Kofein u prahu [6].

2.1.2 Uporaba kofeina

Kofein je prirodni spoj koji se nalazi u biljnim vrstama koje pretežno rastu u tropskim ili suptropskim regijama svijeta. Biljke koriste kofein kao prirodni pesticid jer je toksičan za insekte i druge štetnike [7].

Dodaje se mnogim popularnim bezalkoholnim pićima, a također je sastavni dio brojnih farmakoloških preparata i lijekova za koje nisu potrebni recepti, uključujući analgetike, prehrambene pomagala i lijekove protiv prehlade ili gripe [5].

Koristi se kao stimulans središnjeg živčanog sustava koji smanjuje umor i pospanost. U normalnim dozama, kofein ima promjenjive učinke na učenje i pamćenje, ali općenito poboljšava koncentraciju. Osim na središnji živčani sustav, kofein ima učinak i na srce, bubrežni, gastrointestinalni i respiratorni sustav. Zbog rasprostranjene potrošnje metilksantina, važno je prikupiti precizne informacije o njihovom sadržaju u hrani. Doza od 300 mg na dan je doza koja ne uzrokuje nikakva oštećenja u organizmu. Međutim, u vremenima anksioznosti ili stresa, ili tijekom trudnoće preporučuje se potrošnja manja od 200 mg na dan [8-10].

2.1.3 Kofein u čaju

Camellia sinensis (Slika 4.) je vrsta zimzelenog grma ili malog stabla čiji se listovi koriste za proizvodnju čaja. Radi se o rodu *Camellia* koji spada u porodicu *Theaceae*. Uobičajena imena za ovu biljku su "čajna biljka", "čajni grm" i "stablo čaja". Uzgajaju se dvije glavne sorte: *Camellia sinensis var. sinensis* i *Camellia sinensis var. assamica*. Bijeli čaj, žuti čaj, zeleni čaj, oolong čaj i crni čaj potječu od ove biljke, ali se obrađuju drugačije kako bi se postigle različite razine oksidacije[11].



Slika 4. *Camellia sinensis* [12].

Čaj je najpopularniji napitak na svijetu, a njegova popularnost je u porastu. Listovi čaja sadrže mnoge spojeve uključujući obitelj metilksantina kojima pripada kofein [13].
Primarni izvor kofeina u svijetu jest kavino zrno (sjeme biljke kave), iz kojeg se kuha kava. Sadržaj kofeina u kavi jako varira ovisno o vrsti kave i načinu pripreme. Čak i sama zrna unutar određenog grma mogu pokazati varijacije u koncentraciji.
Iako čaj sadrži više kofeina nego kava, tipično posluživanje sadrži mnogo manje, jer se čaj obično puno slabije kuha. Na jačinu kofeina u čaju još utiču uvjeti uzgoja, tehnike prerade te druge varijable, te zbog toga čajevi sadrže različite količine kofeina.
Čaj sadrži male količine teobromina i nešto višu razinu teofilina od kave. Priprema i mnogi drugi faktori imaju značajan utjecaj na čaj, a boja je vrlo slab pokazatelj sadržaja kofeina. Na

primjer, čajevi poput blijedog japanskog zelenog čaja sadrže mnogo više kofeina od mnogo tamnijih čajeva [1, 13].

2.2 Metode

U ovom radu korištene su tri metode: esktrakcija, gravimetrijska metoda i UV-Vis spektroskopija.

2.2.1 Esktrakcija

Postoji više vrsta ekstrakcija, a jedna od njih je ekstrakcija otapalima koja podrazumijeva odjeljivanje tvari iz vodenih otopina pomoću otapala ili u njemu otopljenih ekstraktanata, tj. organskih reaktanata (ekstrakcija kapljevito-kapljevito). Ova vrsta ekstrakcije koristi se, kako u laboratorijima, tako i u industriji a temelji se na raspodjeli otopljene tvari između dviju kapljevina (otopine i otapala) koje se međusobno ne miješaju (teža i lakša faza) i koje su dovedene u tijesni dodir u vremenu, što omogućuje uspostavljanje ravnoteže. Prijenos tvari između dvaju fazu odvija se difuzijom. Kako će se tvari među fazama podijeliti ovisi o topljivosti tih tvari ili tvari nastalih reakcijom s ekstraktantom otopljenim u organskoj fazi. Nakon postupka ekstrakcije, organska faza bude obogaćena ekstrahiranom tvari, a naziva se ekstrakt. Anorganska faza, najčešće voda, osiromašena ekstrahiranom tvari naziva se rafinat. Kad se postupkom ekstrakcije iz smjese nastoji izolirati neka vrijedna tvar (npr. metal), ekstrakt ide u reekstrakciju, što znači da se ekstrahirana tvar ponovno prevodi u vodenu otopinu uz regeneraciju otapala. Kada se pak ekstrakcija primjenjuje za pročišćivanje, pri čemu u ekstrakt prelaze nepoželjne tvari ili nečistoće, rafinat je koristan proizvod ekstrakcije.

Koliko je ekstrakcijski postupak bio učinkovit to pokazuje distribucijski omjer, tj. omjer koncentracija ekstrahirane tvari u organskom i anorganskom sloju nakon postupka. Što se više sam postupak ekstrakcije ponavlja, veća je učinkovitost ovog postupka, pa tako nakon 3

ponovljena puta, sa svaki put dodanim svježim otapalom istog volumena, moguće je izdvojiti 87,5% željene tvari (50% + 25% + 12,5%).

Separacijski faktor predstavlja kvocijent distribucijskih omjera dviju otopljenih tvari koje treba razdvojiti a pokazuje selektivnost ekstrakcijskoga postupka. Osim samog otapala na selektivnost i učinkovitost ekstrakcije utječu i neki drugi čimbenici kao što su: temperatura, vrsta i koncentracija sastojaka ekstrakcijskoga sustava, volumni omjeri faza, vrijeme dodira i dr. Za ekstrakciju se upotrebljava velik broj poznatih organskih otapala (npr. kloroform, etilni eter, butilni alkohol, metilen-klorid), a u novije se doba sintetiziraju organski spojevi potrebnih ekstrakcijskih karakteristika (npr. organofosforni spojevi za ekstrakciju metala), koji se primjenjuju otopljeni u prikladnom organskom otapalu (npr. petroleju). Također, u sustav se po potrebi mogu dodati i druga sredstva, npr. razrjeđivači.

Ovaj postupak ekstrakcije otapalima u laboratoriju može služiti za pretkoncentriranje ili pročišćivanje tvari (npr. uzoraka za analizu). Za najjednostavnije se ekstrakcije najčešće upotrebljava lijevak za odjeljivanje s brušenim čepom, u kojem se vodena otopina i organsko otapalo izmiješaju i iz kojeg se, nakon postizanja ravnoteže i odjeljivanja, slojevi odvojeno ispuštaju kroz pipac na dnu (Slika 5.) [14].



Slika 5. Lijevak za ekstrakciju [15].

Noviji su postupci u ekstrakciji otapalima superkritična ekstrakcija (superkritični ugljikov dioksid kao otapalo), koja ima posebnu primjenu u prehrambenoj tehnologiji (npr. u separaciji sastojaka prirodnih ulja), te ekstrakcija uz primjenu kapljevitih membrana (npr. uklanjanje teških metala iz industrijskih otpadnih voda) [14].

2.2.2 Gravimetrija

Gravimetrija je kvantitativna metoda analize koja se sastoji u tome da se tražena tvar taloženjem prevede u teško topljivi spoj a potom se filtriranjem odijeli od otopine, ispere pogodnim sredstvom za ispiranje, pa se suši ili žari i na kraju važe. Za što preciznije rezultate koristi se analitička vaga s 5 decimalnih mjesta (Slika 6.). Iz mase taloga poznatog sastava i njegove molarne mase izračunamo količinu tražene tvari [14].



Slika 6. Analitička vaga [16].

Gravimetrijska analiza, ako se metode pažljivo prate, osigurava iznimno preciznu analizu. Zapravo, gravimetrijska analiza korištena je za određivanje atomske mase mnogih

elemenata do visoke točnosti. Gravimetrija pruža vrlo malo prostora za instrumentalnu pogrešku i ne zahtijeva niz standarda za izračunavanje nepoznatog. Metode također ne zahtijevaju često skupu opremu. Gravimetrijska analiza, zbog visokog stupnja točnosti, kada se vrši ispravno, također se može koristiti za kalibriranje drugih instrumenata umjesto referentnih standarda [17].

2.2.3 UV-Vis spektroskopija

Molekulska spektroskopija temeljena na ultraljubičastom, vidljivom i infracrvenom zračenju, široko se primjenjuje za identifikaciju i određivanje brojnih anorganskih i organskih vrsta. Molekulska ultraljubičasta i vidljiva apsorpcijska spektroskopija primjenjuje se ponajprije za kvantitativnu analizu. To je najčešće primjenjivana metoda u kliničkim i kemijskim laboratorijima svijeta od bilo kojeg drugog pojedinačnog postupka. Pomoću UV-Vis spektara ne možemo dobiti mnogo podataka o strukturi analiziranih molekula, stoga se mnogo rjeđe koriste za kvalitativnu analizu.

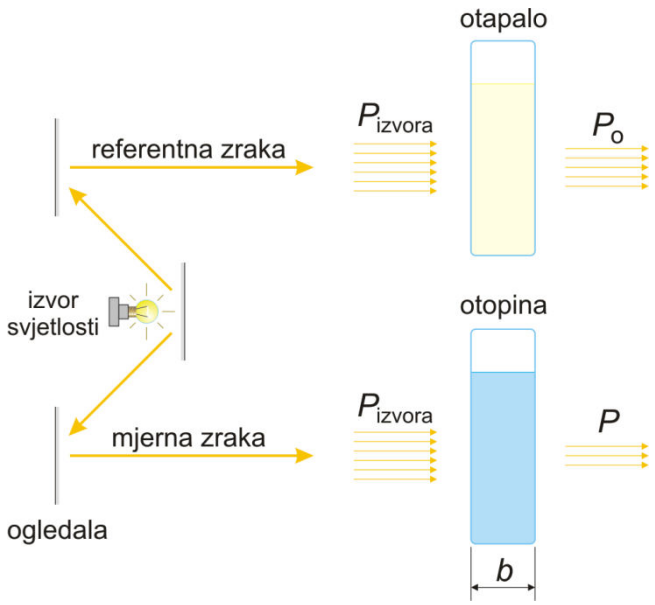
UV-Vis spektroskopija obuhvaća područje valnih duljina od 190 do 900 nm, a otapala koja se koriste za ovu spektroskopiju su: etanol, heksan, H_2O, CH_2Cl_2 jer ne apsorbiraju u UV-Vis području. Apsorpcija ultraljubičastog i vidljivog zračenja prikazuje se u obliku jedne ili više apsorpcijskih vrpca, od kojih je svaka građena od velikog broja blizu smještenih ali odvojenih linija. Svaka linija predstavlja prijelaz elektrona iz osnovnog u jedno od mnogih vibracijskih i rotacijskih energijskih stanja. Za apsorpciju UV-Vis zračenja u organskim molekulama odgovorne su dvije vrste elektrona: zajednički tj. podijeljeni elektroni koji izravno sudjeluju u stvaranju veze, te su stoga pridijeljeni više nego jednom atomu, te nepodijeljeni tj. vanjski elektroni koji su uglavnom smješteni oko atoma.

Instrumenti za ultraljubičastu i vidljivu apsorpcijsku spektroskopiju su spektrofotometri (Slika 7.). Spektrofotometar se najčešće sastoji od pet osnovnih dijelova: stabilnog izvora zračenja, selektora valnih duljina koji omogućuje izdvajanje određenog valnog područja, jednog ili više spremnika za uzorke, detektora zračenja ili pretvornika energije u mjerljiv signal (najčešće električni) te procesora signala i uređaja za njegovo očitanje [18].



Slika 7. UV-Vis spektrofotometar [19].

Postoje dvije vrste spektrofotometara: s jednim snopom svjetlosti i s dva snopa svjetlosti. Kod spektrofotometra s jednim snopom intenzitet propuštenog zračenja kroz analizirani uzorak se mjeri nakon što se slijepa proba izvadi iz držača. Kod spektrofotometra s dva snopa upadni snop se dijeli na dva prije prolaska kroz uzorak. Jedan služi kao referentni snop, a drugi prolazi kroz uzorak (Slika 8.) [18].



Slika 8. Shematski prikaz spektrofotometra s dva snopa svjetlosti [20].

Apsorpcija svjetlosti kroz otopine može se matematički opisati Lambert-Beerovim zakonom:

$$A = \varepsilon b c \qquad (1)$$

gdje je A apsorbancija na danoj valnoj duljini svjetlosti, ε je molarni apsorpcijski (ekstinkcijski) koeficijent (L mol^{-1} cm^{-1}), svojstven svakoj molekulskoj vrsti i ovisan o valnoj duljini svjetlosti, b je duljina puta svjetlosti kroz uzorak (cm) a c je koncentracija tvari u otopini (mol/L). Lambert-Beerov zakon pokazuje da je količina apsorbiranog zračenja proporcionalna koncentraciji analiziranog uzorka.

3. Eksperimentalni dio

3.1 Korištene kemikalije

Prilikom izolacije i analize kofeina iz čaja korištene su slijedeće kemikalije:

- deionizirana voda
- metilen-klorid (Fisher Chemical, Velika Britanija)
- NaOH, *c*=6 mol/L (T.T.T., Hrvatska)
- bezvodni Na_2SO_4 (T.T.T., Hrvatska)
- kofein (Kemika, Hrvatska)
- čajevi:
    - crni (Lord Nelson)
    - zeleni (Franck)
    - žuti (Franck)
    - bijeli (Julius Meinl)
    - oolong (Biofarm)

3.2 Aparatura

Prilikom izolacije i analize kofeina iz čaja korištena je slijedeća aparatura:

- Čaša, 250mL
- Satna stakla
- Lijevak za odjeljivanje, 250 mL
- Vodena kupelj
- Grijaća ploča
- Porculanska zdjelica
- Erlenmeyerova tikvica s brušenim grlom i staklenim čepom

- Analitička vaga
- UV-Vis spektrofotometar
- Kivete (plastične)

3.3 Priprema otopina

Priprema NaOH c=6 mol/dm^3

U odmjernu tikvicu od 250 mL doda se 59,985 g natrijeve lužine, NaOH. Potom se tikvica nadopuni deioniziranom vodom do oznake. Treba imati na umu da je reakcija jako egzotermna pri čemu se oslobađa velika količina topline.

3.4 Postupak

U čaši od 250 mL se zagrije 100 mL deionizirane vode, a u kipuću vodu se dodaju 4 vrećice čaja te se tako kuha 10 minuta. Kofein, koji je dobro topljiv u vrućoj vodi, prelazi u vodeni sloj. Nakon desetominutnog kuhanja, vrećice čaja se izvade i dodatno iscijede pomoću dva satna stakla. Otopina čaja se ohladi, a potom prebacuje u lijevak za odjeljivanje, te se ekstrahira pomoću metilen-klorida u tri obroka od po 20 mL. Kofein, koji nije topljiv u hladnoj vodi, sada prelazi u donji organski sloj. Ekstrahirani kofein se ispire s 2 obroka od po 20 mL NaOH a zatim s jednim obrokom od 20 mL deionizirane vode. Potom se sloj metilen-klorida suši pomoću bezvodnog Na_2SO_4 u Erlenmeyerovoj tikvici s brušenim grlom i staklenim čepom, te tako osušen uparava u porculanskoj zdjelici na vodenoj kupelji (Slika 9.).



Slika 9. Uparavanje metilen-klorida.

U zdjelici zaostaje bijeli talog – kofein. Zaostali talog može biti i blago zelene boje, zbog zelenog pigmenta, klorofila, koji posjeduju listovi čaja. Masu porculanske zdjelice potrebno je izvagati prije i poslije uparavanja a razlika između te dvije vrijednosti daje nam masu kofeina.

Dobiveni bijeli talog se otopa u 10 mL deionizirane vode, a potom se uzorak stavlja u plastične kivete debljine 1 cm i mjeri se apsorbancija uzorka pomoću spektrofotometra u rasponu valnih duljina od 230 do 350 nm. Za slijepu probu koristi se voda.

Prije snimanja apsorbancija uzoraka, potrebno je izvršiti kalibraciju čistim kofeinom. Za dobivanje kalibracijskog pravca koriste se slijedeće koncentracije: 10, 20, 30 i 40 μg/mL. Nakon snimanja apsorbancija čistog kofeina navedenih koncentracija, konstruira se pravac ovisnosti apsorbancije A o koncentraciji *c* (μg/mL), gdje se na x os nanose snimljene vrijednosti apsorbancije, a na y koncentracije što je u nastavku prikazano na *Slici 10*. Pikovi se snimaju na valnoj duljini λ=274 nm.

4. Rezultati i rasprava

U *Tablici 1.* prikazani su dobiveni rezultati gravimetrijskom metodom. Prema dobivenim rezultatima, najveći postotak kofeina nalazi se u žutom čaju, a potom slijedi bijeli. Udjeli u crnom i zelenom čaju su približni, a najmanji maseni udio kofeina prema dobivenim rezultatima je u oolong čaju.

Tablica 1. Masa izoliranog kofeina te maseni udjeli kofeina u različitim uzorcima čaja.

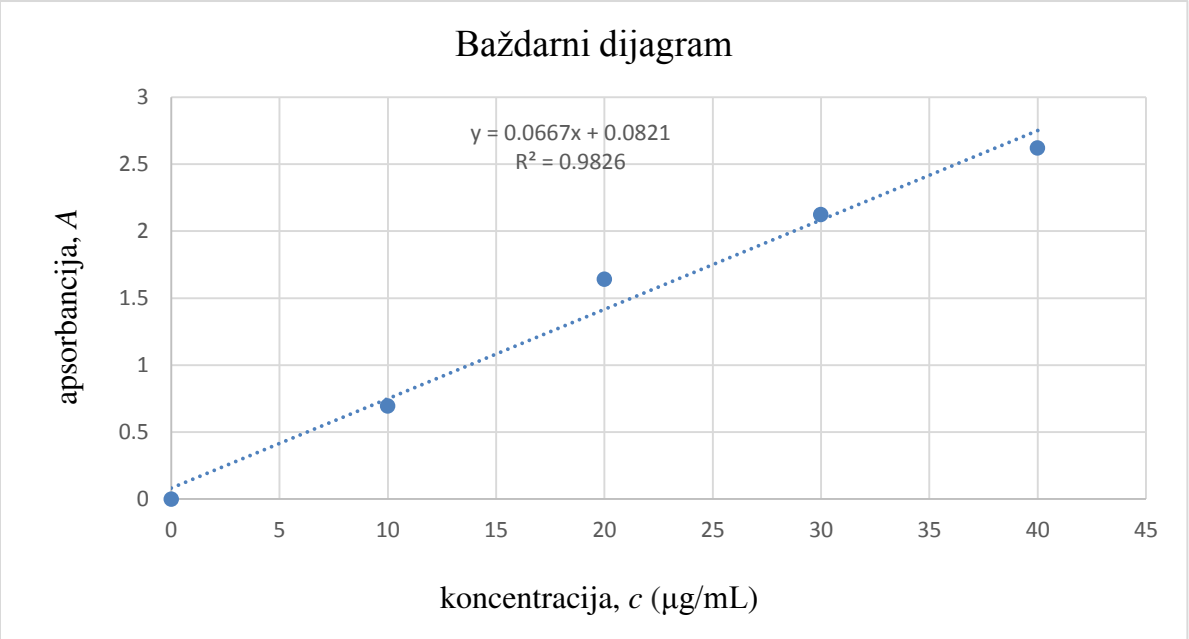
uzorak	proizvođač	masa uzorka/ g	masa izoliranog kofeina/ mg	masa izoliranog kofeina/ g	maseni udio kofeina u čaju W/%
crni čaj	Lord Nelson	7	51,23	0,05123	0,732
zeleni čaj	Franck	7	50,07	0,05007	0,715
žuti čaj	Franck	7	63,23	0,06323	0,903
bijeli čaj	Julius Meinl	7	60,52	0,06052	0,865
oolong čaj	Biofarm	6	35,54	0,03554	0,592

Masa kofeina je dobivena oduzimajući od vrijednosti mase porculanske zdjelice s kofeinom masu prazne zdjelice. Maseni udio kofeina u čaju računat je prema formuli (2).

$$W = \frac{masa\ izoliranog\ kofeina}{masa\ uzorka} * 100\% \qquad (2)$$

Masene koncentracije otopljenih uzoraka su izračunate iz jednadžbe pravca dobivene iz baždarnog dijagrama. Za dobivanje baždarnog dijagrama pripremi se serija otopina određivanog sastojka (kofeina) poznatih koncentracija c_1, c_2, … c_n koje se nazivaju i otopine standarda. Potom se izmjere njihove pripadajuće apsorbancije A_1, A_2, …A_n u odnosu na slijepu probu te se konstruira pravac (*Slika 10.*). Koncetracije nepoznatih uzoraka moguće je izračunati pomoću jednadžbe pravca y=ax+b, ili očitati s pravca. Svi uzorci su prije određivanja razrijeđeni 200 puta.

U *Tablici 2.* prikazani su rezultati dobiveni UV-Vis spektroskopijom.



Slika 10. Ovisnost apsorbancije A o koncentraciji *c* (µg/mL) pri određivanju kalibracijskog pravca.

Tablica 2. Apsorbancija pojedinih uzoraka te njihove koncetracije.

uzorak	proizvođač	apsorbancija	c (µg/mL)	c (µg/mL)* razrjeđenje	c (g/ 10mL)
crni čaj	Lord Nelson	1,2939	18,167	3633,583	0,0363
zeleni čaj	Franck	1,4296	20,025	4040,480	0,0404
žuti čaj	Franck	2,1787	31,433	6286,657	0,0628
bijeli čaj	Julius Meinl	1,9678	28,271	5654,273	0,0565
oolong čaj	Biofarm	1,2729	17,853	3570,615	0,0357

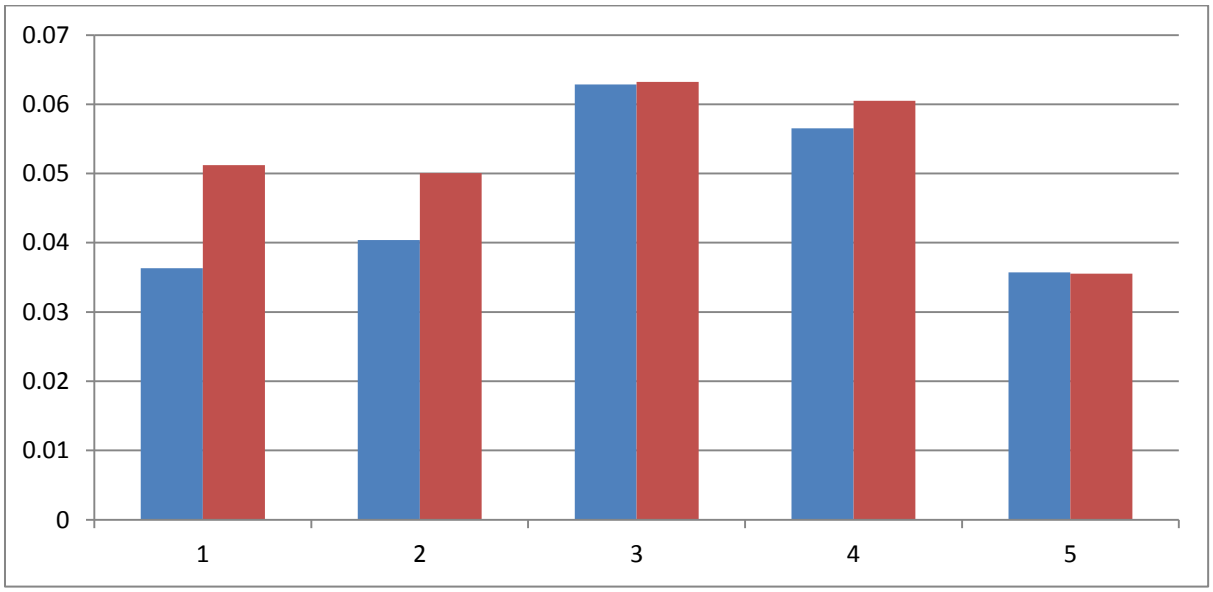
U *Tablici 3*. prikazani su postotci odstupanja spektrofotometrijskog određivanja u odnosu na gravimetrijsko određivanje. Postotak odstupanja računat je prema formuli (3).

$$\% \text{ ods.} = \frac{c\,(\frac{g}{10\,mL})}{masa\ izoliranog\ kofeina} \qquad (3)$$

Razlike u dobivenom sadržaju kofeina u pojedinim uzorcima čaja koristeći gravimetrijsku i spektrofotometrijsku metodu također su prikazane i grafički na *Slici 11.*

Tablica 3. Postotci odstupanja spektrofotometrijskog određivanja u odnosu na gravimetrijsko određivanje.

uzorak	proizvođač	masa izoliranog kofeina / g (spektrofotometrijski)	masa izoliranog kofeina / g (gravimetrijski)	% odstupanja
crni čaj	Lord Nelson	0,0363	0,05123	29,073
zeleni čaj	Franck	0,0404	0,05007	19,303
žuti čaj	Franck	0,0628	0,06323	0,575
bijeli čaj	Julius Meinl	0,0565	0,06052	6,572
oolong čaj	Biofarm	0,0357	0,03554	0,468



Slika 11. Postotci odstupanja spektrofotometrijskog određivanja u odnosu na gravimetrijsko određivanje.

Iz *Tablice 3.* i *Slike 11.* na kojem crveni stupci predstavljaju masu kofeina dobivenu gravimetrijski a plavi UV-Vis spektrometrijskom metodom, vidljivo je kako je masa kofeina koja je dobivena gravimetrijski veća. Razlike su uglavnom male, a vjerojatno su nastale zato što prilikom izolacije ekstrakcijom nije izoliran čisti kofein što je uzrokovalo povećanje mase.

5. Zaključak

Kofein je alkaloid obitelji metilksantina. Prirodna je tvar a pronađen je u lišću, sjemenu i plodovima više od 63 biljne vrste širom svijeta. Najpoznatiji izvori kofeina su kava, zrna kakaa i listovi čaja.

U ovome radu izoliran je kofein iz pet vrsta čajeva. Iako sve korištene vrste čaja (crni, bijeli, žuti, zeleni i oolong) potiču od iste biljke *Camellia sinensis* iz porodice *Theaceae*, u ovom radu je pokazano kako različita obrada biljke utiče na sastav čaja kao napitka. Svaki uzorak kuhan je isto vremena (10 minuta), a nakon izoliranja, gravimetrijski je pokazano kako svaki od njih sadrži različitu masu kofeina, odnosno različite masene udjele ovog alkaloida. Daljnjom analizom pomoću UV-Vis spektroskopije određene su masene koncentracije kofeina. Uspoređujući rezultate dobivene dvama metodama, uočeno je kako je više kofeina dobiveno gravimetrijski, nego spektrometrijom. Razlike su minimalne a gubitci su nastali iz razloga što se prilikom izolacije u ekstraktima nije nalazio čisti kofein.

Međutim, objema metodama dobiveni su isti rezultati a to je da se najviše kofeina nalazi u žutom čaju, nakon kojeg slijedi bijeli, potom crni, pa zeleni. Najmanji udio ove prirodne tvari sadrži oolong čaj.

6. Literatura

1. Wanyika, H. N., et al. "Determination of caffeine content of tea and instant coffee brands found in the Kenyan market." *African Journal of Food Science* 4 (2010): 353-358.
2. DeMan, John M. *Principles of food chemistry*. AVI Publishing Co., Inc., 1976.
3. Slika preuzeta sa https://www.caffeineinformer.com/caffeine-trimethylxanthine (10.06.2017).
4. Slika preuzeta sa http://cen.acs.org/articles/91/i5/Caffeine-Jitters.html (12.06.2017).
5. Samples S. Subila & M. Shirley Navis „Determination of Caffeine in Different tea.“ IOSR Journal of Applied Chemistry (2016): 75-78.
6. Slika preuzeta sa http://readpure.com/pure-caffeine-powder/ (13.06.2017).
7. https://www.caffeineinformer.com/caffeine-trimethylxanthine (15.06.2017).
8. Nehlig, Astrid, Jean-Luc Daval, and Gérard Debry. "Caffeine and the central nervous system: mechanisms of action, biochemical, metabolic and psychostimulant effects." *Brain Research Reviews* 17 (1992): 139-170.
9. Komes, Draženka, et al. "Determination of caffeine content in tea and maté tea by using different methods." *Czech J. Food Sci* 27 (2009): 213-216.
10. http://www.jenway.com/adminimages/A09_010A_Determination_of_Caffeine_in_Beverages_using_UV_Wavelength_Spectroscopy.pdf (19.06.2017).
11. Sharma, Mukesh, et al. "Phytochemical Constituents and Pharmacological Profile of Green Tea: An Overview." *International Journal of Pharmaceutical And Chemical Sciences* 3 (2014): 110-117.
12. Slika preuzeta sa http://www.escapecrate.co.uk/the-joys-of-tea/ (08.07.2017).
13. Hicks, Monique B., YH Peggy Hsieh, and Leonard N. Bell. "Tea preparation and its influence on methylxanthine concentration." *Food Research International* 29 (1996): 325-330.
14. http://www.enciklopedija.hr/ (05.07.2017).
15. Slika preuzeta sa - Generalić, Eni. "Solvent." *Englesko-hrvatski kemijski rječnik & glosar*. 23 Feb. 2017. KTF-Split. (06.07.2017).

16. Slika preuzeta sa http://www.masontechnology.ie/category/Bal/AnalyticalBalancesClassicLevel (06.07.2017).
17. http://intranet.tdmu.edu.ua/data/kafedra/internal/pharma_2/classes_stud/en/pharm/prov_pharm/ptn/analytical%20chemistry/2%20course/13%20Gravimetric%20analysis.htm (07.07.2017).
18. D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler, Osnove analitičke kemije, Školska knjiga, Zagreb, 1999.
19. Slika preuzeta sa - http://www.litnz.co.nz/uv-vis-spectrophotometer-calibration/ (16.08.2017).
20. Slika preuzeta sa - Generalić, Eni. "Spektrofotometar." *Englesko-hrvatski kemijski rječnik & glosar*. 23 Feb. 2017. KTF-Split. (16.08.2017).