

Gyors módszer koffein tájékoztató meghatározására pörköltkávében

G Á L I L O N A É S B É K É S I M R E

Fővárosi Élelmiszerellenőrző és Vegyvizsgáló Intézet, Budapest

Érkezett: 1972. április 20.

Bevezetés

Koffeinnak, a pörkölt kávé fiziológiailag leghatékonyabb alkotórészének kvantitatív meghatározására számos – gravimetriás, titrimetriás, refraktometriás, potenciometriás, biológiai, szublimáción alapuló, papirkromatográfiás (1) és vékonyréteggromatográfiás módszert (2, 3) dolgoztak ki, ezeket a módszereket részben egymással is kombinálták; összesen mintegy 200 eljárást közöltek a szakirodalomban. Ezek mindegyike többé-kevésbé hosszadalmas, minthogy először a kávéból, különböző módon, feltárással, illetve extrakcióval nyerskoffeint vonnak ki, majd ennek koffeintartalmát határozzák meg. Különösen nehéz a koffeinmeghatározás a koffeinmentes, illetve koffeinszegény kávéban a nagyon csekély (legfeljebb 0,08%, illetve 0,2%) engedélyezett koffeintartalom miatt (4). Ráadásul a rendkívül körülményes munkamenet végén kapott érték nem jó, vagy egyenesen használhatatlan.

Pörkölt kávé koffeintartalmának tájékoztató meghatározására szolgáló gyorsmódszerek tudomásunk szerint még nem írták le, holott ilyenek – csekélyebb pontosságuk ellenére is – többféle előnnyel rendelkeznek: mindenekelőtt a koffeintartalomban mutatkozó nagyobb különbségek kimutatására volnának alkalmasak, pl. hamisítások, elcserélések esetében, annak eldöntésére, hogy a vizsgálandó kávé extrahálatlan, vagy koffeinmentesített-e, ami íz alapján biztonsággal nem állapítható meg. Továbbá esetleg alkalmazhatók volnának elővizsgálatként babkávé-tételek beszerzésekor, vagy – deklarált koffeintartalommal rendelkező – kávékeverékek összeállításánál; elvileg ugyanis nincs kizárva, hogy az ipar „koffeinben gazdag” kávékeverékeket is előállít, pl. alacsony vérnyomásúak számára és így biztosítja a részükre szükséges napi koffeinadag fogyasztását a kávé olyan egyéb tartalmi anyagai, pl. klorogénsav kisebb mennyisége mellett, amelyek esetleg egészségkárosító hatásúak.

Valentin már 1939-ben közölt olyan egyszerű koffeinreakciót, amely gyorsmódszer alapjául szolgálhatna. (5). Ez a koffeinnek jódval való kicsapásán alapszik koffeinperjodid ($C_8H_{10}O_2N_4 \cdot HJ \cdot J_4$) alakjában; a csapadék ásványi savakban oldható. A szerző a reakciót közvetlen koffeinmeghatározásra a kávéfőzetben nem tartotta alkalmasnak, mert a mindig jelenlévő klorogénsav jód-felvevő képességgel rendelkezik, a zavaró anyagok előzetes eltávolítása pedig nem látszott rentábilisnak. – Ezt a reakciót később ugyan sokszor alkalmazták,

* Szerzőknek a Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und – Forschungban (147/10, 1971) megjelent közleménye.

de mindig csak hosszadalmas munkamenet egyik láncszemeként olymódon, hogy a kivont nyerskoffein vizes oldatában előállították a perjodidcsapadékot, ezt – elbontás mellett – feloldták és a sárga oldatot fotometrálták (6, 7).

A mi célkitűzésünk annak megvizsgálása volt, hogy a kávéfőzetben jelenlévő klorogénsavak mennyire zavarják a perjodidreakciót, továbbá, hogy nem volna-e lehetséges a jódval kapott csapadékot korrekcióba venni, vagyis a kávéfőzetben jelenlévő „összes koffeinérték”-ből levonni és így a kávéfőzetben, illetve a pörkölt kávéban egy gyorsan tájékoztató koffeintartalmat meghatározni.

Ebben a vonatkozásban mindenképpelt a klorogénsav perjodidcsapadékát a koffeinétől elkülönítve kellett megvizsgáljunk; ez könnyen kivitelezhető, mert a klorogénsavak kloroformban oldhatatlanok és ezért a kloroformmal kivont kávéőrlembényben visszamaradnak. Továbbá szükséges volt, hogy a koffeinmentesített, valamint a kezeletlen kávémintákból jól definiált körülmények között főzeteket készítsünk és ezek perjodid-csapadékait tiszta koffein standardoldatával hasonlítsuk össze. Kiegészítő vizsgálatokat is kellett végeznünk a minták tényleges koffein- és klorogénsavtartalmának meghatározására.

Kísérleti rész

Kiindulási anyagok: Kereskedelmi forgalomban levő pörkölt kávékeverékek ismert összetétellel, illetve keverési arányokkal. Pörkölési szín „sötét”. A koffeinmentes kávéból két különböző származású tétel mintáit vizsgáltuk (Mikado cég, Ausztria és Blumenfrucht cég, NSZK). Ezeket a forgalombahozó vállalat (Compact) nyerskávé alakjában importálta és saját maga pörkölte.

A koffein extrahálása Gorter szerint (8)

Valamennyi mintát – beleértve a kereskedelmi koffeinmenteset is – finomra őrölték (50–100 μ) és kloroformmal, szekunder változások elkerülése céljából kíméletesen extraháltuk: 11 g őrlembényt 3 ml vízzel megnedvesítettünk és félórás állás után Soxhlet készülékben 3 órán át vontuk ki kloroformmal. Ilymódon a klorogénsavas kálium-koffeinből a teljes koffeintartalom kivonható. Az extrahált őrlembényt szobahőmérsékleten megszártítottuk. A kivont koffeint az előírás szerint forró vízzel kezeltük, szűrtük és kontrollkísérletekhez használtuk fel.

Főzetkészítés. Mindegyik vizsgált kávéőrlembényből kétféle főzetet készítettünk, mégpedig a) kezeletlen állapotban és b) extrahálás után: 5 g-okat mértünk be, a b) őrlembényből az extraháláskor előállított súlyvesztés figyelembevételével arányosan kevesebbet. A bemért mennyiséget főzőpohárban 75 ml hideg vízzel öntöttük le, többszöri kevergetés mellett felforraltuk és pontosan 5 percig tartottuk forrásban. A főzetet ezután 100 ml-es mérőlabikkba vittük át, lehűlés után jelig feltöltöttünk és összerázás után szűrtünk.

Összehasonlító koffein standardoldat készítése. Standardoldatunk 0,01%-os tiszta koffein(só) oldat volt. Használat előtt frissen hígítottuk egy 0,05%-os koffeintörzsoldatból és vizes cikória-főzettel a vizsgálandó kávéfőzet színével megközelítően megegyező színárnyalatúra állítottuk be.

A perjodid reakcióhoz szükséges oldatok

I. törzsoldat (HCl cc. fs. 1,19 vízzel 1:1 arányban hígítva),

II. törzsoldat (0,2 n jódoldat).

Magát a kémszert ezeknek a törzsoldatoknak 1:1 arányú elegyítésével használat előtt frissen készítjük.

A kémszer beállítása. Az összehasonlító koffein standard oldatból 10 ml térfogatú, tizedes osztályzattal ellátott becsiszolt üvegdugós, egyező átmérőjű kémcsövekbe (szükség esetén beosztás nélküli kisebb kémcsövekbe) sorban 2, 1,5, 1,0 és 0,5 ml-t pipettázunk, mindegyik térfogatát vízzel 2 ml-re egészítjük ki, majd a perjodid-kémszerből á 2 ml-t adunk mindegyikhez és összekeverjük. A keletkezett zavarosodás mértékét kb. 1 perc múlva megfigyeljük és célszerűen ++, ++, + és - jelekkel jelöljük. Általában a sorozat harmadik tagja (1,0 ml betöltésű) még éppen észrevehető zavarosodást ad, a negyedik tag (0,5 ml betöltésű) pedig kristálytisztá marad. Ha ez valamilyen oknál fogva nem következik be, pl. mert a szobahőmérséklet a szokványos 20 C° körülülr nagyobb mértékben eltér, akkor a kémszer készítéséhez használt törzsoldatok arányát megváltoztatjuk: Ha túl erős volt a zavarosodás, több savat használunk, ha túl csekély, több jóoldatot és a beállítást új összehasonlító standard sorral megismételjük.

A vizsgálat kivitelezése: Az összehasonlító standard oldatból és a vizsgálandó főzetből gyors egymásutánban elkészítjük a 4 tagú hígítási sorokat (2,0, 1,5, 1,0 és 0,5 ml-ek bepipettázása és térfogatuk kiegészítése vízzel 2 ml-re), gondosan ügyelve arra, hogy az összes oldatok hőmérséklete megegyezzek egymással, mert a perjodid csapadék hőérzékeny, a melegben oldódik, mindegyikhez hozzáadunk a beállított kémszerből 2 ml-t, összekeverjük és a vizsgálandó oldatban keletkezett zavarosodást 1 perc elteltével összehasonlítjuk a standard sor megfelelő tagjaiban keletkezett zavarosodással (vizsgálat célszerűen áteső fényben is). Ha a vizsgálandó sornál nagyobb csapadékot kapunk, mint a standard sornál, akkor a vizsgálandó főzet (egy alikvot részét) vízzel addig hígítjuk, míg a zavarosodások mértéke megegyező. A szükséges hígítás mértékét (h) feljegyezzük.

Összes koffeintartalom kiszámítása

Mint hogy a standardoldat koffeintartalma (0,01%) egy 0,2%-os koffeint tartalmazó babkávőrlemlény előírásosan készült főzetének koffeintartalmával egyezik meg ($100:0,2 = 5: 0,01$).

$$K = 0,2 \cdot h$$

képlet alapján számolunk, ahol

0,2 = átszámítási tényező,

h = a szükséges hígítás mértéke.

Példa: Ha a vizsgálandó kávé előírásosan készült főzetét 1,5-szörösére kellett hígítanunk ahhoz, hogy a perjodid-kémszertől keletkezett zavarosodása a 4 tagú sorban megegyezzen az összehasonlító standard soréval, akkor becsült koffeintartalma $K = 0,2 \cdot 1,5 = 0,3\%$.

Megjegyezzük, hogy a főzetbe a kávéőrlemlénynek nem teljes koffeintartalma, hanem annak mintegy 90%-a megy csak át, ez a pontatlanság azonban kísérleti eredményeink alapján elhanyagolható.

A Gorter szerint extrahált (8) kávéőrlemlénynek tisztított kloroformos kivonából is végeztünk ellenőrző vizsgálatokat a fent leírthoz hasonlóan, megfelelő hígítás után perjodid-reakcióval és a szükséges hígítás mértékének figyelembevételével számítottuk ki a koffeintartalmat.

Klasszikus módszerekkel is végeztünk összehasonlító vizsgálatokat a babkávénélyleges koffeintartalmának meghatározására, mégpedig a kezeletlen kávé lúgos feltárásával és extrahálásával (Bailey-Andrew) (1) szerint, majd csatlakozó tisztítással és méréssel hazai szabványelőírások útján. A koffeinentesen forgalmazott kávénál Gorter szerint tisztított kloroformos extrak-

tokat állítottunk elő (8), majd *Hadorn és Suter* (6) előírása szerint fotometráltunk.

A tényleges *klorogénsav*tartalmat a kezeletlen és koffeinmentesített mintáinkból spektrofotometriásan határoztuk meg (9).

Vizsgálati eredmények

A kísérleti eredményeinket az 1. és 2. táblázatokban foglaltuk össze.

1. táblázat

Klorogénsavtartalom és klorogénsavak koffein-korrektciója a koffeintartalom perjodid-reakcióval történő meghatározásánál. (Középtételek, illetve minimum-maximum értékek 3 meghatározásból)

Kávéfajták (pörköelve)	Klorogénsavtartalom % szárazanyagban koffeinmentesítés		Koffein- korrektció „Koffein %” száraz- anyagban
	előtt	után	
Koffeinmentes	2,54	2,66	0,2–0,3
„Brasil” keverék (C. arabica)	2,93	2,72	0,2–0,3
„Extra” keverék (C. arabica)	2,24	2,25	0,2–0,3
C. robusta	3,74	3,40	0,3

2. táblázat

Koffeintartalom pörköltkávéban

Kávéfajták (pörköelve)	Koffeintartalom % szárazanyagban		Perjodiddal	
	gravimet- riásan	fotomet- riásan	kávés- főzetből	kloroformos extraktból kiindulva
Koffeinmentes		0,077	0,1 – 0,2	0,2
„Brasil” keverék (C. arabica)	1,34		1,40	1,30
„Extra” keverék (C. arabica)	1,18		1,20	1,20
C. robusta	1,86		2,0	2,0

Az 1. táblázatból látható, hogy koffeinmentesített kávéőrleményeinkben foglalt klorogénsavak jódmegkötése 0,2–0,3%-kal nagyobb látszólagos koffein tartalmat eredményez a pörkölt kávéban, ha annak főzetéből perjodid-reakcióval végezzük a vizsgálatot. Ezt az értéket kell tehát mint „koffein” (illetve „klorogénsav”) korrekciót levonni a talált összkoffeintartalomból.

A spektrofotometriásan meghatározott tényleges klorogénsavtartalom mintáinknál 2,3–3,7% körül ingadozott, a korrekció ennek az értéknek mintegy tizedrésze. Az Európában (általában) használatos koffeinextrahálási módszerekkel (1) készült kereskedelmi koffeinmentes kávékeverékek és laboratóriumi munkban kloroformmal extrahált pörkölt kávékeverékek mintáinak klorogén-alapú koffeinkorrektciója egymással jól egyezett.

Szignifikáns különbségeket klorogénsavtartalomban kloroformos extrakció után nem tudtunk kimutatni, vagyis a kloroform nem extrahálta a klorogénsavakat. Az általunk extrahált koffein ellenőrző mintáiban sem voltak kimutathatók klorogénsavak.

A 2. táblázatban megadott 0,1–0,2%-os koffeinértékeket úgy határoztuk meg, hogy a „koffein”-korrekciót a forgalmazott koffeinmentes kávé összes koffeintartalmából (2·0,2 = 0,4%) levontuk. Így biztosan megállapíthattuk, hogy valóban koffeinmentesek.

Annak eldöntésére, hogy a korrekciót kezeletlen, normál koffeintartalmú kávék vizsgálatánál is tekintetbe kell-e venni, laboratóriumunkban koffeinmentesített őrleményeik főzetek többszörösére hígítottuk. Megállapítottuk, hogy a főzet ötszörös hígítása esetén a hígítási sor első tagjánál sem lép fel zavarosodás, úgyhogy a normál pörköltkávénál már nem kell tekintetbe venni a koffein-korrekciót.

Perjodiddal meghatározott koffeintartalmak a normál, kezeletlen pörköltkávénál kielégítő egyezést mutatnak az egyéb módszerek eredményeivel. Meg kell azonban jegyeznünk, hogy ezeket az eredményeket a hígítási sornak csupán 3. és 4. tagjában keletkezett zavarosodások figyelembevételével kaptuk. A sor első és második tagjában (2 és 1,5 ml) keletkezett csapadékok általában jóval nagyobbak voltak, mint a standard sorban, erősebben kellett hígítani, hogy annak feleljenek meg és ezért egészen 40%-ig nagyobb koffeintartalom hibás látszatát keltették. Ily módon „Brasil” keverékekben 1,8%, „Extra” keverékekben 1,7% és Coffea Robusta-ban 2,8%-ig terjedő koffeintartalmat kaptunk. Tekintettel arra, hogy (fenti) megállapításunk szerint a klorogénsav a főzetek ilyen nagy hígításainál (9-szer, 8,5-ször és 14-szer) már nem hat zavarólag, fel kell tételeznünk, hogy más, ismeretlen, a perjodid-reakciót zavaró anyagokról van szó, mégpedig – minthogy ezeket ellenőrzési kísérleteinknél a kloroformos extraktokban is észleltük – a koffein kloroformban oldható kísérő anyagairól.

Köszönetünket fejezzük ki Vitálisné Andréka Ágnesnek a kísérletekben való lelkiismeretes közreműködéséért és Rajky Antalnénak a spektrofotometriás ellenőrző mérésekért.

I R O D A L O M

- (1) Schormüller, J.: Handbuch der Lebensmittelchemie, Bd. VI. Berlin – Heidelberg – New York, Springer, 1970.
- (2) Washüttl, J., Bander, E., Riederer, P.: ZUL 143, 253, 1970.
- (3) Baltes, W.: ZUL, 145, 34, 1970.
- (4) Österreichisches Lebensmittelbuch III. Aufl. Lieferung B 12, Blatt 3. Wien, Brüder Hollinek, 1964.
- (5) Valentin, H.: ZUL 77, 248, 1939.
- (6) Hadorn, H., Suter, H.: Mitt. Gebiete Lebensmitt. Hyg. 48, 63, 1957.
- (7) Hase, K.: ZUL 110, 127, 1959.
- (8) Grafé, V.: Grafes Handbuch der organischen Warenkunde, Bd. IV/1, p. 197, Stuttgart, C. E. Poeschel, 1930.
- (9) Hausermann, M., Brandenberger, H.: ZUL, 115, 516, 1961, Kivitelezés 1. szerint p. 80.

БЫСТРЫЙ МЕТОД ДЛЯ ИНФОРМАТИВНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОФФЕЙНА В ЖАРЕННОМ КОФЕ

И. Гали и И. Бэкуш

Метод основывается на реакции кофеинпериодида Валентина. Авторы из испытуемого кофейного помола стандартизованным методом изготовили заварку. Из этой заварки приготавливали серию разжижений, измеряли мутность образующегося влиянием подосержающего реагента, что сравнивали со степенью мутности образующегося подобным образом в одной серии 0,01%-ым разведением стандартного раствора кофеина. Влияние помех возникающих потреблением иода сопутствующими хлорогеновыми кислотами подвергли коррекции и отсчитали из всего содержания кофеина.

Метод прежде всего пригодный для быстрого определения факта вольности и бедности кофеина кофейных экстрактов.

EIN RASCHES VERFAHREN ZUR ORIENTIERENDEN BESTIMMUNG DES COFFEINS IN RÖSTKAFFEE

I. Gál und I. Békés

Das Verfahren beruht auf der Coffeinperjodidreaktion nach Valentin. Die Verfasser bereiten unter standardisierten Bedingungen von den Mahlprodukten des zu untersuchenden Kaffees Aufgüsse, von diesen Verdünnungsreihen, und vergleichen den Trübungsgrad der mit dem jodhaltigen Reagenten hervorgerufenen Fällungen mit dem Trübungsgrad von in der Verdünnungsreihe einer 0,01%-igen Standard-Coffeinlösung auf ähnliche Weise entstandenen Fällungen.

Die störende Wirkung – dem Jodverbrauch der begleitenden Chlorogensäuren entstammend – wird in Korrektion genommen und von dem gesamten Coffeingehalt abgezogen. Die Methode eignet sich hauptsächlich für raschen Nachweis des durch Extraktion coffeinfrei oder coffeinarm gewordenen Kaffees.

RAPID METHOD FOR THE ORIENTATIVE DETERMINATION OF CAFFEINE IN ROASTED COFFEE

I. Gál and I. Békés

A rapid method based on caffeine periodide formed in the Valentin reaction was developed. By means of a standardized procedure decoctions are prepared from the ground samples of the roasted coffee to be examined. Then the degree of turbidity formed on the effect of the iodine-containing reagent in the dilution series prepared from the decoctions is compared to the degrees of turbidity formed in a similar way in the dilution series of a 0.01 per cent standard caffeine solution. The interfering effect due to the iodine consumption of accompanying chlorogenic acids is compensated by a correction value subtracted from the total caffeine contents. The method lends itself mainly to the rapid detection of the total or partial absence of caffeine in extracted coffee products.

MÉTHODE RAPIDE POUR LE DOSAGE D'ORIENTATION DE LA CAFÉINE DANS LE CAFÉ TORRÉFIÉ

I. Gál et I. Békés

La méthode se base sur la réaction de l'hyperiodure de la caféine selon Valentin. Les auteurs préparent des coctions des moutures du café à analyser entre des conditions standardisées; ensuite on prépare des dilutions des coctions y on compare les turbidités qui se produisent sous l'action du réactif avec celles obtenues entre conditions pareilles à partir des dilutions d'une solution de 0,01% de caféine.

On emploie une correction afin d'éliminer les réactions parasites dues à la consommation de iode des acides chlorogéniques accompagnants qu'on soustrait de la teneur totale en caféine. La méthode se prête en premier lieu à la révélation rapide de l'absence de la caféine ou de la teneur faible en caféine des cafés extraits.