

ŠOLSKI CENTER CELJE
SREDNJA ŠOLA ZA KEMIJO,
ELKTROTEHNIKO IN
RAČUNALNIŠTVO

VPLIV IZBIRE TOPILA IN POGOJEV EKSTRAKCIJE NA IZKORISTEK EKSTRAKCIJE KOFEINA IZ ČRNEGA ČAJA OZIROMA KAVE

Raziskovalna naloga

Avtorja: Dejan Slapšak in Saša Počivalšek, 4. letnik

Mentorica: Mojca Drofenik Čerček, univ. dipl. ing. kem. teh

Celje, marec 2012

ŠOLSKI CENTER CELJE
SREDNJA ŠOLA ZA KEMIJO,
ELEKTROTEHNIKO IN KEMIJO

VPLIV IZBIRE TOPILA IN POGOJEV EKSTRAKCIJE NA IZKORISTEK EKSTRAKCIJE KOFEINA IZ ČRNEGA ČAJA OZIROMA KAVE

Raziskovalna naloga

Avtorja:

Dejan Slapšak in Saša Počivalšek, 4. letnik

Mentorica:

Mojca Drogenik Čerček, univ. dipl. ing. kem. teh

Mestna občina Celje, Mladi za Celje

Celje, 2012

Kazalo

1	Povzetek	8
2	Resime	Napaka! Zaznamek ni definiran.
3	Uvod	10
4	TEORETIČNI DEL	11
4.1	Alkaloidi	11
4.1.1	Zgodovina	11
4.1.2	Lastnosti	12
4.1.3	Pridobivanje	12
4.2	Kofein	13
4.2.1	Zgodovina	13
4.2.2	Splošno	13
4.2.3	Učinki kofeina	13
4.2.4	Viri kofeina	14
4.2.5	Odvisnost	14
4.2.6	Lastnosti kofeina	15
4.3	Kava	17
4.3.1	Zgodovina	17
4.3.2	Kavovec – Coffea	17
4.3.3	Količina kofeina	18
4.4	Čaj	20
4.4.1	Zgodovina	20
4.4.2	Sestava čaja	20
4.4.3	Vrste čaja	21
4.4.4	Čajevec - Camellia sinensis	22

4.5	Postopki ali metode dela.....	23
4.5.1	Določanje topnosti.....	23
4.5.2	Ekstrakcija.....	24
4.5.3	Uparjanje pod znižanim tlakom.....	25
4.5.4	Kromatografija.....	25
5	PRAKTIČNI DEL.....	26
5.1	Preverjanje topnosti kofeina v različnih topilih.....	27
5.1.1	Potek dela.....	27
5.2	Izbira topila in določitev topil izbranimi metodama.....	27
5.3	Snovi, iz katerih bomo izvedli ekstrakcijo kofeina.....	28
5.4	Izvedba ekstrakcije.....	28
5.4.1	Ekstrakcija s Soxhletovim aparatom.....	28
5.4.2	Navadna ekstrakcija.....	31
5.5	Uparjanje pod znižanim tlakom.....	32
5.5.1	Potek dela.....	32
5.6	Tankoplastna kromatografija.....	33
5.6.1	Potek dela.....	33
6	Meritve in izračuni.....	33
6.1	Preverjanje topnosti kofeina v različnih topilih.....	33
6.2	Navadna ekstrakcija.....	34
6.3	Ekstrakcija s Soxhletovim aparatom.....	36
6.3.1	Etanol.....	36
6.3.2	Aceton.....	37
6.3.3	Diklorometan.....	38
6.3.4	Triklorometan.....	40

6.4	Kromatogrami	41
7	Rezultati	43
8	Komentar rezultatov in opažanja.....	44
9	Zaključek.....	45
10	Priloge	46
11	Viri	48
11.1	Viri literature	48
11.2	Viri slik	49
12	Zahvala.....	50

Kazalo slik

Slika 1: Zrna kave.....	14
Slika 2: Listi čajevca.	14
Slika 3: Kemijska formula kofeina.....	15
Slika 4: Zrela zrna kavovca.....	17
Slika 5: Kavovec	17
Slika 6: Čajevc.....	22
Slika 7: Kava znamke Grand kafa, proizvajalec Kofikom produkt.....	26
Slika 8: Čaj Earl Grey znamke 1001 cvet, proizvajalec Droga Portorož	26
Slika 9: Soxhletov aparat.....	28
Slika 10: Rotavapor.	28
Slika 11: Vroča filtracija.	30
Slika 12: Vroča filtracija.	30
Slika 13: Oddekantiranje skozi gazo	32
Slika 14: Ločevanje z lijem ločnikom.....	32
Slika 15: Kromatogram standarda in produktov ekstrakcije z uporabo obeh metod ekstrakcije	46
Slika 16: Kromatogram standarda in produktov ekstrakcije z uporabo Soxhletovega aparata	46
Slika 17: Kromatogram standarda in produktov ekstrakcije z uporabo Soxhletovega aparata	47
Slika 18: Kromatogram standarda in produktov ekstrakcije kave po navadni metodi.....	47

Kazalo tabel

Tabela 1: Fizikalne lastnosti kofeina.....	15
Tabela 2: Topnost kofeina.....	16
Tabela 3: Količina kofeina v različnih vrstah kave.....	18
Tabela 4: Količina kofeina v različnih vrstah čaja.....	19
Tabela 5: Količina kofeina v različni hrani.....	19
Tabela 6: Količina kofeina v različnih pijačah.....	19
Tabela 7: Kemikalije.....	27
Tabela 8: Kemikalije.....	29
Tabela 9: Meritve dobljene pri preverjanju topnosti kofeina.....	34
Tabela 10: Izračun topnosti kofeina.....	34
Tabela 11: Meritve, dobljene pri navadni ekstrakciji.....	35
Tabela 12: Meritve, dobljene po ekstrakciji s Soxhletovim aparatom v etanolu.....	36
Tabela 13: Meritve, dobljene pri ekstrakciji s Soxhletovim aparatom v acetonu.....	37
Tabela 14: Meritve, dobljene z ekstrakcijo s Soxhletovim aparatom v diklorometanu.....	39
Tabela 15: Meritve, dobljene z ekstrakcijo s Soxhletovim aparatom v triklorometanu.....	40
Tabela 16: Retenzijski faktorji posameznih produktov.....	41
Tabela 17: Retenzijski faktorji vodne faze.....	42
Tabela 18: Izkoristki ekstrakcije v odvisnosti izbire metode in topila.....	43

Kazalo grafov

Graf 1: Izkoristek kofeina z navadno ekstrakcijo.....	43
Graf 2: Izkoristek kofeina z ekstrakcijo s Soxhletovim aparatom z uporabo različnih topil.....	43

1 Povzetek

V najini raziskovani nalogi sva se odločila raziskati, kako vpliva izbira topila in metoda ekstrakcije na izkoristek ekstrakcije kofeina. Izbrala sva si dve metodi. Prva metoda je navadna ekstrakcija, druga metoda pa ekstrakcija s Soxhletovim aparatom. Pri izvajanju naloge sva uporabila tudi različna polarna in nepolarna topila. Na začetku naloge sva najprej opravila preizkus topnosti čistega kofeina v različnih topilih in se odločila za pet topil, v katerih se je kofein najbolje raztapljal. Vzorca, iz katerega sva poskušala izolirati in pridobiti čim čistejši kofein, sta bila kava in črni čaj. Prizadevala sva si tudi, da bi z okolju manj nevarnimi topili dosegla čim večji izkoristek.

Ugotovila sva, da je najuspešnejša metoda ekstrakcije s Soxhletovim aparatom ob uporabi etanola, visok izkoristek ekstrakcije pa sva dosegla tudi s kloriranimi ogljikovodiki, vendar je bil produkt po uparjanju zelo nečist.

2 Abstract

In our research paper we decided to research how the selection of solvent and the extraction method influence caffeine yield. We chose two methods. The first method is an ordinary extraction and the second method is an extraction with Soxhlet extractor. While performing the task, we also used different polar and non-polar solvents. At the beginning of our task we did the test of solubility of caffeine in different solvents and we decided to choose five solvents in which caffeine was the most soluble. Two samples, from which we tried to isolate the product and extract it as pure as possible, were coffee and black tea. With using solvents which are less harmless to environment we also tried to reach as high yield of product as possible.

We found out that the most successful method of extraction is the extraction with Soxhlet extractor in combination with ethanol as a solvent. We also reached high yield of extraction with usage of chlorinated hydrocarbons, but after vaporization, the product was rather unclean.

3 Uvod

Začetki uživanja kave in čaja segajo daleč v preteklost. Ljudje so že zelo zgodaj začeli uživati te brezalkoholne napitke, saj je imela pijača na njih poživljajoč učinek.

Zelo veliko ljudi začne svoj dan s skodelico kave, ki zaradi poživljajočega učinka spodbudi telo k delu in možgane k razmišljanju. Obenem pa se ljudje ne zavedajo, da se kava ne nahaja le v kavi ali čaju, ampak tudi v mnogih drugih pijačah in jedeh.

Veliko čistega kofeina se uporablja v farmacevtski industriji kot dodatek različnim zdravilom in drugim farmacevtskim pripravkom.

Namen naloge je bil poiskati najučinkovitejšo metodo za pridobitev čim več in čim bolj čistega kofeina. Pri tem sva si prizadevala biti ekološko osveščena in sva za izolacijo kofeina poskušala uporabljati okolju čim manj nevarno topilo, hkrati pa z izbiro prave metode iz kave in čaja pridobiti čim več čim bolj čistega kofeina. Metodo ekstrakcije s pomočjo Soxhletovega aparata sva si izbrala predvsem zato, ker je po najinih predvidevanjih obetala največji izkoristek, saj ekstrakcija poteka vedno s svežim in regeneriranim topilom.

Glede na najino poznavanje učinkovitosti posamezne metode ekstrakcije sva si postavila začetne hipoteze:

- 1) Pri ekstrakciji s Soxhletovim aparatom bomo dobili več produkta.
- 2) Iz kave bomo izolirali več kofeina kot iz čaja.
- 3) Topila, ki dobro raztapljajo čisti kofein, bodo iz kave ali čaja ekstrahirala več kofeina kot topila, ki kofein ne raztapljajo dobro.

4 TEORETIČNI DEL

Teoretični del predstavlja nekaj splošnih dejstev o alkaloidih, kofeinu, kavi, čaju ter postopkih, s katerimi smo poskušali izolirati in identificirati kofein.

4.1 Alkaloidi

4.1.1 Zgodovina

Že od antičnih časov naprej ljudje v terapevtske in rekreacijske namene uporabljajo rastline, ki vsebujejo alkaloidne. Že leta 2000 pred našim štetjem so bile zdravilne rastline znane v Mezopotamiji. V Homerjevi Odiseji je opisano, kako je bila egiptovski kraljici dana zdravilna droga, ki povzroča pozabo.

Preučevanje alkaloidov se je začelo v 19. stoletju. Pomemben prispevek k raziskovanju alkaloidov v kemiji sta dodala francoska raziskovalca Pierre Joseph Pelletier in Joseph Bienaime Caventou, ki sta odkrila kinin, strihnin, ksantin, atropin, kofein, nikotin in kokain. Prva popolna sinteza alkaloida je bila dosežena leta 1886. Kemični razvoj alkaloidov je pospešil razvoj in uporabo spektrofotometričnih in kromatografskih metod v 20. stoletju. Do leta 2008 je bilo prepoznanih več kot 12000 alkaloidov.¹

Biosintetično izhajajo alkaloidi iz aminokislin, terpenov in aromatičnih spojin, odvisno od alkaloidne strukture. Analiza strukture teh rastlinskih produktov se je pričela pred 150 leti, ki so izločili njihove osnovne gradnike glede na biološko učinkovanje na človekovo telo, nikakor pa niso poznali njihove sestave. Odkritja potekajo še sedaj, saj so alkaloidi po svoji sestavi izredno zapleteni.²

¹povzeto po <http://sl.wikipedia.org/wiki/Alkaloid>

²povzeto po http://www.aromaterapija.si/index.php?option=com_content&view=article&id=256%3Aarastlinska-kemicna-tovarna-amini-in-alkaloidi&catid=36%3Aarhiv&Itemid=41

4.1.2 Lastnosti

Alkaloidi so organske spojine z bazičnimi lastnostmi. Vsebujejo dušik, ki je običajno vezan v heterociklično strukturo. Zasledimo jih v naravi, predvsem v rastlinah, redkeje pa tudi v glivah in živalih. Večina alkaloidov je zelo strupenih in imajo na človeški organizem načeloma karakteristični učinek. Kljub temu da so strupeni, pa nekatere v zelo majhnih količinah uporabljajo kot dopolnila v zdravilih.

Poznamo mnogo alkaloidov, med njimi tudi metilksantine, ki jih predstavljajo tri spojine, z različnimi biokemičnimi lastnostmi, in sicer kofein, teofilin in teobromin.

4.1.3 Pridobivanje

Strukture alkaloidov se med seboj razlikujejo, zaradi česar obstaja tudi več metod pridobivanja alkaloidov iz naravnih surovin. Metoda za pridobivanje je odvisna od topnosti alkaloida v organskem topilu. Večina rastlin vsebuje več alkaloidov. Najprej se izloči njihova mešanica, potem pa se z uporabo različnih topil loči na posamezne alkaloidne. Največkrat so prisotni v obliki soli organskih kislin, lahko pa se spremenijo v baze.¹

¹povzeto po <http://sl.wikipedia.org/wiki/Alkaloid>

4.2 Kofein

4.2.1 Zgodovina

Kofein je bil prvič izoliran v laboratoriju leta 1820. Njegova uporaba je bila prvič zabeležena na Kitajskem leta 2737 pred našim štetjem, uživali so ga v obliki čaja. Arabska ljudstva so kofein uživala v obliki kave. Azteki so našli duhovni navdih v čokoladi, ki je vsebovala kofein. Na območju Etiopije so bojevniki žvečili kavna zrna, pomešana z maščobo, da so se pripravili na bitko. Tudi ljudje v kameni dobi so že uživali kofein v pijačah. Danes poznamo preko 160 rastlinskih vrst, iz katerih lahko pridobivamo kofein.

4.2.2 Splošno

Kofein je droga, ki se je med vsemi drogami največ zaužije. Uživamo ga navadno v pijačah, kot so kava, čaj in kokakola, vendar pa se uporablja tudi v nekaterih zdravilih. Je blago poživilo, ki stimulirajoče deluje na centralni živčni sistem in srce, hkrati pa je tudi diuretik (pospeši odvajanje urina). V večjih količinah je za človeka strupen in lahko povzroči odvisnost.

4.2.3 Učinki kofeina

V zmernih odmerkih kofein poveča pozornost, zmanjša usklajenost finih gibov, povzroči nespečnost, povzroči glavobol (lahko ga tudi odpravi), poveča razdražljivost in omotičnost. Poleg tega pospeši bitje srca, zoži žile, razširi dihalne poti in omogoča lažjo krčljivost določenih mišic. Medicinsko gledano je kofein učinkovit kardio-stimulant (sredstvo, ki pospešuje dejavnost srca) in šibek diuretik (pospešuje izločanje sečnine). Kofein tudi pomirja gladke mišice. Rekreativsko se uporablja za »dvig energije« ali občutek večje zbranosti. Pogosto ga uporabljamo za ohranjanje budnosti. Mnogo ljudi poroča, da ne morejo normalno delovati brez jutranje skodelice kave, s katerim zaužijejo redni odmerek kofeina. Kofein je droga, ki tako kot druge povzroča zasvojenost, čeprav je šibkejša kot na primer kokain in heroin.¹

¹prevedeno in povzeto po knjigi Davida c. Eatona: Laboratory investigations in organic chemistry, str. 340, 341

4.2.4 Viri kofeina

Kofein najdemo v listih, plodovih in semenih mnogih rastlin. Znanih je vsaj 63 rastlinskih vrst, ki vsebujejo kofein. Najbolj običajen in razširjen vir kofeina so kavna zrna - *Coffea* (slika 1) in listi čajevca - *Camellia sinensis* (slika 2). Rastline ustvarjajo kofein, da jih kot pesticid varuje pred žuželkami (paralizira in celo ubije). Mnogi ljudje mislijo, da so kava, čaj in kola pijače edini viri kofeina, vendar ga v resnici najdemo tudi v čokoladi, stimulansih, nekaterih blažilcih bolečin, diuretikih, blažilcih prehlada, preparatih za kontroliranje telesne teže in mnogih drugih zdravilih.¹



Slika 1: Zrna kave.



Slika 2: Listi čajevca.

4.2.5 Odvisnost

Kofein ne velja za drogo, ki povzroča odvisnost, vendar lahko ljudje postanemo psihično odvisni od njega, se nanj navadimo. Ljudje, ki na dan spijejo pet ali več skodelic kave, lahko trpijo za fizično kofeinsko odvisnostjo. Ob prenehanju uživanja kofeina se lahko pri t.i. odvisnikih od kofeina pojavijo znaki depresije, čemernost, slaba volja, utrujenost in razdražljivost v kombinaciji z občutkom slabosti in glavoboli. Vsi ti simptomi se po navadi končajo v roku dveh, treh dni. Postopno zmanjševanje uživanja kofeina odpravi simptome glavobola in slabosti. Ni dokazov, da bi kofein povzročal srčne bolezni. Študije so pokazale,

¹povzeto po <http://sl.wikipedia.org/wiki/Kofein>

da lahko prekomerno uživanje kave podvoji možnost za srčni infarkt, vendar so druge študije nasprotovale tem rezultatom.¹

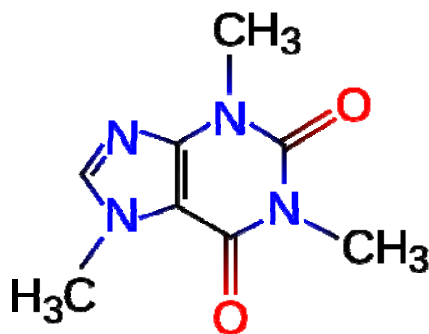
4.2.6 Lastnosti kofeina

Kofein je naravni alkaloid. V čisti obliki je bel kristaliničen prašek, ki nima vonja. Sestavljen je iz belih, podolžnih kristalov, ki so zelo grenkega okusa in topni v vodi. Osnovi proces pridobivanja kofeina je dekofeinizacija (odstranitev kofeina) kave in čaja.²

V tabeli 1 so prikazane fizikalne lastnosti kofeina.³

Tabela 1: Fizikalne lastnosti kofeina

Lastnosti	Vrednosti
kemijska formula(<i>slika 3</i>)	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂
molska masa	194,19 g/mol
gostota	1,23 g/cm ³
temperatura sublimacije	pri 178°C
temperatura tališča (v brezvodni obliki)	235 – 238°C
temperatura tališča (v obliki monohidrat)	234 – 235°C



Slika 3: Kemijska formula kofeina.

¹(povzeto in prevedeno po knjigi Davida c. Eatona: Laboratory investigations in organic chemistry, na strani 340 in 341).

²povzeto po <http://sl.wikipedia.org/wiki/Kofein>

³ Količine v tabeli so povzete po <http://en.wikipedia.org/wiki/Caffeine>

Tabela 2 prikazuje topnost kofeina v nekaterih topilih.¹

Tabela 2: Topnost kofeina

Topilo	25°C (g/100g)	80°C (g/100g)	100°C (g/100g)
voda	2,17	18,0	67,0
diklorometan	10,53		
triklorometan	12,14		
aceton	2,53		
etanol	1,01		

-
- ¹Podatki v tabeli povzeti po <http://www.pharmainfo.net/reviews/extraction-caffeine-tea-leaves>,
<http://en.wikipedia.org/wiki/Caffeinein> www.inchem.org/documents/sids/sids/caffeine.pdf

4.3 Kava

4.3.1 Zgodovina

Kot pravi legenda, ki jo je prvi zapisal Faustus Banesius Naironus, naj bi bilo odkritje učinkov kave slučajno: »Nek pastir, ki je pasel kamele, se je v kraljestvu Jemen potožil tamkajšnjim menihom, da njegove črede večkrat prebedijo noč, hkrati pa tudi čudno poskakujejo in poplesujejo. Menihi so bili prepričani, da je čudno obnašanje povezano z nečim, kar so živali pojedle, zato so se neke noči odpravili skupaj s pastirjem na pašo. Tam so našli grmičevje z rdečimi plodovi, ki so jih jedle živali. Eden od menihov je plodove prevrel in spil prekuhano pijačo. Ugotovil je, da ga je tekočina obdržala budnega celo noč. Od takrat naprej so menihi pili to pijačo vsako noč pred molitvijo. Tako naj bi se kava razširila po vsem kraljestvu, kasneje pa še izven njega.«¹

4.3.2 Kavovec – Coffea

Kavovec (*slika 4*) je zimzeleno drevo ali grm, ki izhaja iz Etiopije in iz njegovih semen pridobivajo kavo. Zrelim plodovom (*slika 5*) najprej odstranijo mesnat ovoj, način odstranitve pa je pomemben za končno kakovost kavnih zrn. Najobsežnejši nasadi kavovcev so v tropskih deželah, od koder kavo izvažajo v hladnejše kraje. Kavovec predstavlja enega od glavnih svetovnih blagovnih pridelkov, v nekaterih državah pa tudi glavni vir izvoza.



Slika 5: Kavovec



Slika 4: Zrela zrna kavovca

¹povzeto po <http://sl.wikipedia.org/wiki/Kava>

Med vrstami kavovcev, vseh je okoli šestdeset, so najpomembnejše tri vrste s svojimi podvrstami:

- *Coffea arabica*, ki izvira iz Etiopije, je najpomembnejša gospodarska vrsta, ki predstavlja kar okoli 90% vse pridelane kave na svetu. Ta vrsta daje najkvalitetnejša zrna, danes pa so najbolj cenjena zrna, pridelana v Keniji in Tanzaniji.
- *Coffea canephora* ali *robusta* izvira iz Konga in je že po imenu očitno najbolj odporna in najmanj občutljiva vrsta. Robusta vsebuje od 40–50 odstotkov več kofeina kot *arabica*, je pa zaradi svojega bolj grenkega okusa in manj izrazite arome manj cenjena in cenejša od *arabice*. Zaradi nižje cene je odstotek teh kavnih zrn bolj prisoten v mešanicah za espresso.
- *Coffea liberica* izvira iz Liberije in je kava, ki zavzema najmanjši delež med temi vrstami.

Kavna zrna, ki se uporabijo za pripravo napitka, po večini niso semena samo ene vrste, temveč jih trgovci zmešajo v točno določenih razmerjih.

4.3.3 Količina kofeina

Količina kofeina v skodelici kave je odvisna od tipa kave in načina priprave.

Tabela 3 prikazuje količino kofeina v različnih vrstah kave.¹

Tabela 3: Količina kofeina v različnih vrstah kave

Vrsta kave	Količina kofeina (mg /150 mL)
kuhana kava	110 – 180
prefiltrirana kava	60 – 170
instant	40 – 120
brezkofeinska kava, kuhana	2 – 5
Brezkofeinska kava, instant	1 –5

¹Količine v tabeli so povzete po knjigi Davida c. Eatona: Laboratory investigations in organic chemistry, str. 340, 341

V tabeli 4 je prikazana količina kofeina v različnih vrstah čaja.¹

Tabela 4: Količina kofeina v različnih vrstah čaja

Vrsta čaja	Količina kofeina (mg/150 mL)
večje ameriške znamke čajev	20 – 90
uvožene znamke čajev	25 – 110
instant čaji	25 – 50
ledeni čaji	67– 76

Tabeli 5 in 6 prikazujeta količino kofeina, ki jo vsebujejo različne hrane in pijače.²

Tabela 5: Količina kofeina v različni hrani

Hrana	Količina kofeina (mg)
Mlečna čokolada (na 28 g)	6 – 15
Temna čokolada (na 28 g)	20 – 35
Čokolada za peko (na 28 g)	26
Čokoladni sirup z okusom (na 28 g)	4

Tabela 6: Količina kofeina v različnih pijačah

Pijača	Količina kofeina (mg)
Čokoladno mleko (na 240 mL)	4 – 7
Kakav (na 150 mL)	7 – 20
Coca-cola (na 350 mL)	46
Dietna kola (na 350 mL)	46
Pepsi kola (na 350 mL)	38
Dietna pepsi kola (na 350 mL)	36

¹ Količine v tabeli so povzete po knjigi Davida c. Eatona: Laboratory investigations in organic chemistry, str. 340, 341

² Količine v tabelah so povzete po knjigi Davida c. Eatona: Laboratory investigations in organic chemistry, str. 340, 341

4.4 Čaj

Črni čaj pridobivajo iz listov grma čajevca.

4.4.1 Zgodovina

Čaj je že več kot 3000 let znana pijača. Ima tradicijo, ki je navdihnila številne legende o njegovem izvoru. Po kitajski legendi naj bi cesar Shen Nung čisto po naključju odkril to pijačo. Med kuhanjem pitne vode naj bi z bližnjega grma v skodelico padlo nekaj lističev in voda se je obarvala zlato rumeno in imela zelo aromatičen vonj. Japonci so čaj spoznali okoli leta 552 našega štetja, Arabci okoli leta 850, v Evropo pa je ta napitek prišel šele na začetku 17. stoletja.

Sprva so čaj uporabljali kot zdravilo in manj kot osvežilni napitek.

4.4.2 Sestava čaja

Čaj je sestavljen iz več snovi. Ena glavnih sestavin čaja so katehini, to je vrsta antioksidantov, ki predstavljajo kar 30 % mase svežih čajnih listov. Najvišji odstotek katehinov je v zelenem in belem čaju, in sicer zaradi krajšega časa sušenja in oksidacije. Črni čaj pri predelavi dalj časa oksidirajo, zato vsebuje manj katehinov. Poleg katehinov pa skodelica čaja vsebuje tudi približno 3% (30 – 90 mg) kofeina, odvisno od vrste čaja, predelovalca in mešanice. Poleg kofeina vsebuje čaj tudi druge spojine, na primer teobromin in teofilin, ki imata podoben poživljajoč učinek kot kofein. Posebno teobromin deluje stimulatивно, saj učinkuje dlje časa kot kofein, poleg tega pa tudi izboljšuje voljo. Ostale pomembne sestavine, ki jih vsebuje čaj, so še: fluoridi (preprečujejo nastanek zobnega kariesa) in vitamini (pomagajo v boju proti bolezni).¹

¹povzeto po <http://sl.wikipedia.org/wiki/%C4%8Caj>

4.4.3 Vrste čaja

Vse vrste čaja rastejo na rastlini, imenovani *Camellia sinensis* oziroma čajevec.¹

Glavne vrste čaja so:

- Beli čaj – vsebuje zelo malo kofeina, ima nežno barvo in okus. Od vseh vrst čajev potrebuje najmanj predelave, vsebujejo največ antioksidantnih snovi med vsemi čaji in zelo malo taninov. Zaradi vsega tega imajo tudi nekoliko višjo ceno kot ostale vrste čaja.
- Zeleni čaj – vsebuje le 5 – 10% kofeina v primerjavi z enako količino kave. Zeleni čaj ima veliko vsebnost antioksidantov, ki preprečujejo razvoj številnih bolezni, obenem pa krepi imunski sistem, razstruplja telo, pomaga preprečevati raka in regulirati krvni tlak.
- Oolong čaj – je delno fermentiran čaj (bolj kot zeleni in manj kot črni čaj) in vsebuje približno 15% količine kofeina v primerjavi z enako količino kave. Ta vrsta čaja je zelo priljubljena v deželah vzhodno od Evrope, predvsem na Kitajskem. Oolong čaj pomaga pri zmanjševanju telesne teže, saj spodbuja delovanje prebave in metabolizma.
- Črni čaj – je od vseh vrst čaja najbolj fermentiran. Telesu pomaga pri preprečevanju vstopa holesterola v ožilje in hkrati preprečuje razvoj srčne bolezni. Čaj vsebuje 20% kofeina v primerjavi z enako količino kave.
- Rooibos čaj – raste v Južni Afriki in je narejen iz južnoafriškega rdečega grma, ki ima višje vrednosti antioksidantov kot zeleni čaj, ne vsebuje pa kofeina. Ta vrsta čaja je bogata z vitamini in naravnimi minerali, ki pomagajo telesu pri premagovanju prebavnih težav.
- Zeliščni čaj – ne vsebuje listov iz rastline *Camellia sinensis*. Čaj mu pravimo samo zato, ker je postopek priprave identičen. Zeliščni čaj vsebuje samo čista zelišča, lahko pa tudi rože in sadje. Zdravilne lastnosti variirajo glede na mešanico.

¹Povzeto po <http://www.cajnica.com/vrstecaja-a-10.htm>

4.4.4 Čajevec - *Camellia sinensis*

Čajevec (*slika 6*) je zimzelena grmičasta rastlina, ki ne presega višine dveh metrov. Uspeva na vseh celinah sveta, največ pa ga pridelajo v deželah z milo in deževno višinsko klimo, v tropskem in subtropskem pasu, od koder se tudi uvaža.¹



Slika 6: Čajevec

¹povzeto po <http://www.pomurske-lekarne.si/si/index.cfm?id=1501> , <http://sl.wikipedia.org/wiki/%C4%8Caj>

4.5 Postopki ali metode dela

Pri delu smo uporabili različne metode. Določali smo topnost čistega kofeina v različnih topilih, z različnimi metodami ekstrakcije smo izolirali kofein iz kave in čaja, uparjali smo pod znižanim tlakom ter identificirali kofein s pomočjo tankoplastne kromatografije.

4.5.1 Določanje topnosti

Topnost ali topljivost je zmožnost snovi, da se enakomerno porazdeli v določenem topilu. Če se topljenec ne more več raztapljati, smo dosegli nasičeno raztopino. V večini primerov je topilo kapljevinska komponenta sistema, medtem ko je topljenec največkrat v trdnem, tekočem ali plinastem agregatnem stanju.

Na topnost močno vpliva temperatura, zato ob podatku za topnost podamo še temperaturo topila.

Topnost po navadi podajamo kot grame topljenca na sto gramov topila (g topljenca/100 g topila).

Kadar je snov dobro topna v topilu, nastane raztopina. Poznamo nasičene in nenasičene raztopine. Pri raztapljanju se gradniki ene snovi porazdelijo med gradnike druge snovi. Polarne snovi se topijo v polarnem, nepolarne pa v nepolarnem topilu.

Na topnost poleg topila vplivajo še zunanje okoliščine, zgradba snovi in geometrija, razvejanost verige, ionske interakcije, dipol-dipol interakcije ter molska masa topljenca.

Kofein je dobro topen v vodi pri višjih temperaturah, pri temperaturi 25°C je dobro topen v diklorometanu in triklorometanu, delno topen je v acetonu, slabo topen pa je v heksanu in etanolu.

4.5.2 Ekstrakcija

Ekstrakcija je kemijska metoda, s pomočjo katere izlužimo želene snovi iz trdne zmesi ali tekočine. Uporablja se predvsem po končanih reakcijskih sintezah za izolacijo in čiščenje organskih spojin, ki imajo različne fizikalno-kemijske lastnosti, ter za izolacijo lipofilnih in temperaturno občutljivih produktov, kot so na primer antibiotiki.

Ločimo dve vrsti ekstrakcijskih metod:

4.5.2.1 Ekstrakcija trdno – tekoče

Pri tej ekstrakciji imamo snov, iz katere ekstrahiramo, v trdnem agregatnem stanju, topilo pa je v tekočem. Zaželeno je, da trdno snov pred ekstrakcijo zdrobimo oz. zmeljemo, pri izbiri topila pa moramo biti pozorni na to, da je snov, ki jo želimo izolirati, v njem dobro topna.

To ekstrakcijo lahko izvedemo na več načinov. V nalogi sta bili uporabljeni t.i. navadna ekstrakcija in ekstrakcija s pomočjo Soxhletovega aparata. Pri navadni ekstrakciji se trdna snov prelije s topilom, premeša in po potrebi segreva, temu sledi filtracija in odparitev topila. Pri drugem načinu ekstrakcije pa je potek ekstrakcije drugačen zaradi Soxhletovega aparata, ki je sestavljen iz destilacijske bučke, v kateri se zbira ekstrakt, ekstrakcijske komore in hladilnika. Topilo v aparaturi kontinuirno kroži in pri tem iz trdne snovi ekstrahira zelenosnov. Pri tem se v ekstrakcijski komori vedno znova nabira sveže ekstrakcijsko topilo, ki ekstrahira trdno snov v filtrirnem tulu. Tulec je pokrit z vato, da trdna snov ne uhaja iz njega.

Pri temperaturi vrelišča ekstrakcijskega topila potujejo pare po cevi do hladilnika, kjer se utekočinijo in kondenzat steče na filtrirni tulec; ta vsebuje trdno snov, iz katere želimo izločiti ekstrakt. Ko raztopina v ekstrakcijski komori doseže višino odtoka, steče raztopina nazaj v bučko po principu natege in postopek se ponovi. Po večkratni ponovitvi pretokov raztopine se ta v destilacijski bučki čedalje bolj koncentrira in na ta način pridobimo močno koncentrirano raztopino. Ekstrakcijo zaključimo po preteku predpisanega časa. Ko odstranimo filtrirni tulec iz ekstrakcijske komore, se ekstrakcija zaključi in ekstrakt je pripravljen na nadaljnji postopek.

4.5.2.2 Ekstrakcija tekoče – tekoče

Pri tej ekstrakciji imamo tako topilo kot tudi snov, iz katere ekstrahiramo, v tekočem agregatnem stanju. Pri izbiri topila moramo paziti, da dobro raztaplja le spojino, ki jo želimo izolirati, da ne reagira s spojino, ki jo ekstrahiramo, da ne reagira in se ne meša s topilom, iz katerega ekstrahiramo, in da ga lahko ponovno uporabimo (regeneriramo).

Pravtako je pri izbiri topila pomembna njegova škodljivost za zdravje ljudi in učinek na naravo.

4.5.3 Uparjanje pod nižanim tlakom

Uparjanje je metoda za ločevanje raztopin, sestavljenih iz topila in v njem raztopljenih trdnih snovi, pri čemer je parni tlak trdne snovi zanemarljivo majhen. Pri vrenju raztopine odpari praktično čisto topilo. Poznamo več vrst uparjanj, pri vsaki od njih tekočino zavremo in uparimo, nastale pare vodimo v hladilnik, kjer se utekočinijo, v bučki pa ostale koncentrirana raztopina topljenca ali suh produkt.

Uparjanje pod nižanim tlakom, pravimo mu tudi vakuumsko uparjanje, uporabljamo takrat, ko želimo tekočino upariti pri nižji temperaturi, kot je njeno normalno vrelišče. Razlog za to je navadno neobstočnost spojine pri temperaturi vrelišča ali pa to, da z običajno laboratorijsko steklovino in grelniki težko delamo pri temperaturah, višjih od 150 °C.

4.5.4 Kromatografija

Kromatografija je separacijska metoda, ki temelji na razlikah v hitrosti potovanja sestavin zmesi skozi kromatografski sistem.

Ne glede na namen uporabe in velikost ali obliko kromatografskega sistema je ta v osnovi sestavljen iz dveh faz, med katerima poteka porazdeljevanje snovi, ki smo jih vnesli v sistem. Ena od obeh faz je mirujoča ali stacionarna, druga faza, ki potuje preko ali skozi prvo, pa se imenuje mobilna oziroma potujoča. Zmes nanese v sistem na začetek in ta potuje z mobilno fazo. Do ločevanja sestavin zmesi pride zato, ker se nekatere sestavine bolj, druge pa manj trdno vežejo na stacionarno fazo oziroma se v njej raztapljajo, če je tekoča. Bolj kot se neka snov zadržuje v mirujoči fazi, tem počasneje potuje.

5 PRAKTIČNI DEL

Vso delo, smo opravili v laboratorijih Šolskega centra Celje, Srednje šole za kemijo, elektrotehniko in računalništvo.

Topnost kofeina smo preizkušali v različnih topilih. Iz nabora različnih polarnih in nepolarnih topil smo si izbrali tista, v katerih je kofein najbolj topen. Ta topila so voda, aceton, etanol, diklorometan in triklorometan. Z uporabo dveh različnih metod ekstrakcije (navadna in s Soxhletovim aparatom), topil in dveh vzorcev (kavaznamke *Grand kafa*, proizvajalec *Kofikom produkt* (slika 7) in črni čaj - *Earl Grey*, znamke *1001 cvet*, proizvajalec *Droga Portorož* (slika 8)), smo izvedli ekstrakcije in na koncu s tankoplastno kromatografijo identificirali kofein.



Slika 7: Kava znamke Grand kafa, proizvajalec Kofikom produkt



Slika 8: Čaj Earl Grey znamke 1001 cvet, proizvajalec Droga Portorož

5.1 Preverjanjetopnosti kofeina v različnih topilih

Za preverjanje topnosti potrebujemo šest epruvet, stojalo za epruvete, analizno tehtnico ter kemikalije, ki so navedene v tabeli 7 z ustreznimi R in S stavki.¹

Tabela 7: Kemikalije.

Ime kemikalije	R – stavki	S – stavki
heksan	11-38-48/20-51/53-62-65-67	9-16-29-33-36/37-61-62
diklorometan	R40 in R52	S23, S24/25, S36/37 in S61
etanol	11	7-16
aceton	11-36-66-67	9-16-26
vrela voda	/	/
kofein	22	2

5.1.1 Potek dela

Pred izvajanjem ekstrakcije s Soxhletovim aparatom innavadne ekstrakcije v različnih topilih preverimo topnost čistega kofeina. V šest epruvet natehtamo enako količino šestih vrst topil, ki se med seboj razlikujejo po polarosti (tri polarna in tri nepolarna topila). Meritve topnosti kofeina izvajamo pri 25°C. Na analizno tehtnico postavimo tehtič, v katerega nasujemo nekaj kofeina in maso na tehtnici stariramo. Topnost kofeina določimo tako, da iz tehtiča jemljemo manjše količine kofeina in ga dodajamo v epruvete, ki jih vmes dobro pretresemo, kofein pa dodajamo tako dolgo, da nastane nasičena raztopina kofeina v različnih topilih.

5.2 Izbira topila in določitev topil izbranimi metodama

Topila izberemo na podlagi topnosti kofeina v različnih topilih. Pri raziskovanju uporabimo tista topila, v katerih je bil kofein dobro oziroma srednje dobro topen. Tem kriterijem ustrezajo naslednja topila: voda, etanol, aceton, diklorometan in triklorometan. Pri navadni

¹Podatki so najdeni na varnostnih listih posameznih kemikalij.

ekstrakcij kot topilo uporabimo vodo, pri metodi ekstrakcije s Soxhletovim aparatom pa uporabimo ostala topila (etanol, aceton, diklorometan in triklorometan).

5.3 Snovi, iz katerih bomo izvedli ekstrakcijo kofeina

Kofein ekstrahiramo iz dveh trdnih snovi, in sicer zmlate kave (znamke Grand kafa proizvajalca Kofikom produkt) in zmlatih lističev čaja Earl Grey (znamke 1001 cvet proizvajalca Droga Portorož).

5.4 Izvedba ekstrakcije

Ekstrakcijo izvedemo na dva načina: z ekstrakcijo s Soxhletovim aparatom in z navadno ekstrakcijo

5.4.1 Ekstrakcija s Soxhletovim aparatom

Pri izvedbi ekstrakcije smo potrebovali Soxhletov aparat (slika 9), laboratorijsko stojalo, pribor za segrevanje (gorilnik, kalota, keramična mrežica, trinožno stojalo), mufe, račvaste in okrogle prižeme, precizno tehtnico, stojalo za bučke, rotavapor (slika 10), čaše, merilne valje in lije ločnike različnih volumnov, stekleno palčko, filtrirne obroče, ekstrakcijske tulce ter kemikalije, ki so navedene v tabeli 8 z ustreznimi R in S stavki.



Slika 9: Soxhletov aparat.



Slika 10: Rotavapor.

Tabela 8: Kemikalije¹

Ime kemikalije	R – stavki	S – stavki
heksan	11-38-48/20-51/53-62-65-67	9-16-29-33-36/37-61-62
diklorometan	R40 in R52	S23, S24/25, S36/37 in S61
etanol	11	7-16
aceton	11-36-66-67	9-16-26
voda	/	/

Postopek ekstrakcije s Soxhletovim aparatom z uporabo polarnih topil se nekoliko razlikuje od postopka z uporabo nepolarnih topil.

5.4.1.1 Polarna topila – etanol in aceton²

Polarna topila sestavljajo polarne molekule. Uporabili smo dve polarni topili, in sicer etanol in aceton. Sklepali smo, da bo izkoristek kofeina v acetonu večji kot v etanolu, saj je kofein bolj topen v acetonu kot v etanolu.

5.4.1.1.1 Potek dela

Na precizni tehtnici natehtamo v ekstrakcijski tulec 20 g fino zmletih listov črnega čaja Earl Grey in jih 2 uri kontinuirno ekstrahiramo s 100 mL etanola ali acetona v Soxhletovem aparatu. Nato ohlajen ekstrakt prelijemo v 1000 mL bučko z okroglim dnom, dodamo 13g magnezijevega oksida in hlapne komponente vakuumsko odparimo. Trden preostanek ekstrahiramo s 4 x po 50 mL vrele vode in vroče ekstrakte filtriramo (*sliki 11 in 12*). Filtratu dodamo 12 mL 10% raztopine žveplove(VI) kisline. Filtrat pred naslednjo ekstrakcijo ohladimo in ga prelijemo v lij ločnik. Raztopino nato ekstrahiramo s triklorometanom (4 x 50 mL), organske faze združimo v drug lij ločnik in jih speremo najprej s 5 mL 1% raztopine

¹Podatki so najdeni na varnostnih listih posameznih kemikalij.

² Povzeto po <http://www.shrani.si/f/1F/7H/3kjXnjpy/preparativna-organska-ke.pdf>

natrijevega hidroksida, nato pa še s 5 mL vode. Organsko fazo prelijemo v bučko z okroglim dnom in triklorometan vakuumsko odparimo do suhega. Surovi kofein po opravljeni kromatografiji po potrebi še dodatno prekrizaliziramo.



Slika 11: Vroča filtracija.



Slika 12: Vroča filtracija.

5.4.1.2 Napolarna topila – diklorometan in triklorometan

Nepolarna topila sestavljajo napolarne molekule. Uporabili smo dve nopolarni topili, in sicer diklorometan in triklorometan. Pričakovala sva, da bo izkoristek ekstrakcije večji z uporabo diklorometana, saj je teoretično kofein bolj topen v diklorometanu kot v triklorometanu.

5.4.1.2.1 Potek dela

Potek ekstrakcije z nopolarnima topiloma poteka na enak način kot pri ekstrakciji iz polarnih topil, le da po končani ekstrakciji v Soxhletovem aparatu začnemo organsko fazo spirati in ne

dodajamo magnezijevega oksida. Po spiranju z raztopino natrijevega hidroksida in vode hlapne komponente odparimo pod znižanim tlakom in stehtamo maso produkta.

5.4.2 Navadna ekstrakcija

Navadna ekstrakcija, je metoda pri kateri vzorec kuhamo v topilu. Pri tem se v topilu topne snovi izločijo v obliki ekstrakta. S filtracijo ekstrakte in vzorec ločimo. Z uporabo drugega topila, ki se s prvotnim ne meša, oziroma ne reagira izločimo želeno snov iz prejšnjega topila. Na koncu hlapne komponente topila še odparimo pod znižanim tlakom.

5.4.2.1 Ekstrakcija kofeina v vodi

S to vrsto ekstrakcije, kjer uporabljamo kot topilo vodo, se srečujemo vsakodnevno. Za vzorca smo vzeli kavo in čaj.

5.4.2.1.1 Potek dela

V 300 mL vrele vode raztopimo dve žlički brezvodnega natrijevega karbonata. V laboratorijsko čašo natehtamo 20,0 g čajnih lističev oz. kave in prelijemo s približno 150 mL vrele raztopine in pustimo 7 minut. Še vroče oddekantiramo skozi gazo (*slika 13*), ki jo predhodno omočimo s prečiščeno vodo. Preostanek v čaši še dvakrat ekstrahiramo z vrelo raztopino in ekstrakt vsakokrat odlijemo preko gaze. Čajne lističe oz. kavo v gazi na liju čimbolj ožmemo. V ohlajen ekstrakt dodamo 20 mL nasičene raztopine natrijevega klorida in jo prelijemo v lij ločnik (*slika 14*). Ekstrahiramo s 30 mL diklorometana, pri čemer lija ne stresamo, ampak zmes lahko prelivamo in krožno premešamo. Pustimo, da se plasti ločita, organsko fazo damo v manjši lij ločnik, vodno fazo pa še dvakrat ekstrahiramo s po 30 mL diklorometana. Pri zadnji ločitvi skupaj z organsko fazo v lij ločnik odlijemo tudi emulzijo, ki nastane pri ekstrakciji. Organsko fazo speremo trikrat z 10 mL 5% raztopine natrijevega hidrogenkarbonata(IV). Organsko fazo sušimo v erlenmajerici z brezvodnim natrijevim sulfatom. Zmes natrijevega sulfata(VI) in diklorometana filtriramo preko nagubanega filtrirnega papirja v 1000 mL destilacijsko bučko. Filter predhodno omočimo z minimalno količino diklorometana. Erlenmajerico in sol speremo z diklorometanom.



Slika 13: Oddekantiranje skozi gazo



Slika 14: Ločevanje z lijem ločnikom

5.5 Uparjanje pod znižanim tlakom

Na koncu iz raztopine odparimo topilo, tako da v bučki ostane le zelen produkt.

5.5.1 Potek dela

Bučko z raztopino kofeina v diklorometanu pritrdimo na rotavapor, kjer predhodno nastavimo temperaturo vodne kopeli na 60°C . Napravi zagotovimo pretok hladilne tekočine skozi hladilnik in jo priključimo na vodno črpalko, da se ustvari podtlak. Uparjamo do suhega in ohlajeno bučko stehtamo.

5.6 Tankoplastna kromatografija

Dobljeni produkt je potrebno identificirati, pri čemer preverimo, če je dovolj čist, in potrdimo vsebnost kofeina.

5.6.1 Potek dela

Iz destilacijske bučke odvezamemo za noževno konico surovega kofeina in ga prenesemo v epruveto ter raztopimo v približno 1 mL metanola. Prav tako si pripravimo raztopino standarda - čisti kofein, ki ga raztopimo v 1 mL metanola.

Pripravimo si 30 mL mobilne faze, v kateri sta etilacetat in etanojska kislina v prostorninskem razmerju 95 : 5. Na kromatografsko ploščo, to je aluminijeva ploščica, prevlečena s silikagelom, narišemo z grafitnim svinčnikom 1,5 cm od spodnjega roba startno črto, na katero naneseemo vzorec standarda kofeina in vzorec produkta. Kromatogram razvijamo v kromatografski komori. Po koncu razvijanja kromatograma narišemo fronto topila in kromatogram posušimo.

Detekcijo opravimo s pomočjo UV svetilke, ki sveti z valovno dolžino 366 nm. Na kromatogramu primerjamo pot, ki sta jo opravila vzorec in standard, ter izračunamo retenzijske faktorje.

6 Meritve in izračuni

6.1 Preverjanje topnosti kofeina v različnih topilih

Tabela 9 prikazuje gostoto topil in maso raztopljenega kofeina v posameznem topilu.

Tabela 9: Meritve dobljene pri preverjanju topnosti kofeina

Topilo	m(kofein) (g)	V(topila) (mL)*	$\rho(\text{topila}) (\text{g}/\text{cm}^3)^1$
Voda	2,13	1,0	0,997
Etanol	0,0074	1,0	0,789
Aceton	0,0196	1,0	0,791
Diklorometan	0,1391	1,0	1,33
Triklorometan	0,1791	1,0	1,483
Heksan	0,0006	1,0	0,6548

* Volumen topila smo odmerili z merilno pipeto.

Tabela 10 prikazuje teoretične vrednosti topnosti kofeina in izračunane vrednosti topnosti kofeina v posameznih topilih.

Tabela 10: Izračun topnosti kofeina

Topilo	Teoretična vrednost (g kofeina/100 gtopila)	Praktična vrednost (g kofeina/100 gtopila)
Voda	2,17	2,14
Etanol	1,01	0,94
Aceton	2,53	2,48
Diklorometan	10,53	10,46
Triklorometan	12,14	12,08
Heksan	²	0,092

6.2 Navadna ekstrakcija

Pri navadni ekstrakciji smo dobili meritve, navedene v tabeli 11.

¹Podatki so najdeni na varnostnih listih posameznih kemikalij.

²V razpoložljivi literaturi ni bilo moč najti podatka za topnost kofeina v heksanu.

Tabela 11: Meritve, dobljene pri navadni ekstrakciji.

Meritve Vzorec	Masa vzorca	Masa bučke	Masa bučke + produkta	Masa produkta (kofeina)	Izkoristek
Kava	20,0 g	276,7 g	277,9 g	1,2 g	6,0 %
Čaj	20,0 g	307,2 g	308,4 g	1,2 g	6,0 %

Račun (kava):

$$m(\text{produkt} - \text{kofein}) = m(\text{bučka} + \text{produkt}) - m(\text{bučka})$$

$$m(\text{produkt} - \text{kofein}) = 277,9 \text{ g} - 276,7 \text{ g}$$

$$m(\text{produkt} - \text{kofein}) = 1,2 \text{ g}$$

$$\eta = m(\text{produkta}) / m(\text{kava})$$

$$\eta = 1,2 \text{ g} / 20,0 \text{ g}$$

$$\eta = 0,060 \rightarrow 6,0 \%$$

Račun (čaj):

$$m(\text{produkt} - \text{kofein}) = m(\text{bučka} + \text{produkt}) - m(\text{bučka})$$

$$m(\text{produkt} - \text{kofein}) = 308,4 \text{ g} - 307,2 \text{ g}$$

$$m(\text{produkt} - \text{kofein}) = 1,2 \text{ g}$$

$$\eta = m(\text{produkta}) / m(\text{kava})$$

$$\eta = 1,2 \text{ g} / 20,0 \text{ g}$$

$$\eta = 0,060 \rightarrow 6,0 \%$$

6.3 Ekstrakcija s Soxhletovim aparatom

Pri ekstrakciji s Soxhletovim aparatom smo dobili naslednje meritve.

6.3.1 Etanol

Meritve za etanol so podane v tabeli 12.

Tabela 12: Meritve, dobljene po ekstrakciji s Soxhletovim aparatom v etanolu.

Meritve Vzorec	Masa vzorca	Masa bučke	Masa bučke + produkta	Masa produkta (kofeina)	Izkoristek
Kava	20,0 g	485,1 g	486,9 g	1,8 g	9,0 %
Čaj	20,0 g	485,1 g	487,5 g	2,4 g	12,0 %

Račun (kava):

$$m(\text{produkt} - \text{kofein}) = m(\text{bučka} + \text{produkt}) - m(\text{bučka})$$

$$m(\text{produkt} - \text{kofein}) = 486,9 \text{ g} - 485,1 \text{ g}$$

$$m(\text{produkt} - \text{kofein}) = 1,8 \text{ g}$$

$$\eta = m(\text{produkta}) / m(\text{kava})$$

$$\eta = 1,8 \text{ g} / 20,0 \text{ g}$$

$$\eta = 0,090 \rightarrow 9,0 \%$$

Račun (čaj):

$$m(\text{produkt} - \text{kofein}) = m(\text{bučka} + \text{produkt}) - m(\text{bučka})$$

$$m(\text{produkt} - \text{kofein}) = 487,5 \text{ g} - 485,1 \text{ g}$$

$$m(\text{produkt} - \text{kofein}) = 2,4 \text{ g}$$

$$\eta = m(\text{produkta}) / m(\text{kava})$$

$$\eta = 2,4 \text{ g} / 20,0 \text{ g}$$

$$\eta = 0,120 \rightarrow 12,0 \%$$

6.3.2 Aceton

Meritve za aceton so podane v tabeli 13.

Tabela 13: Meritve, dobljene pri ekstrakciji s Soxhletovim aparatom v acetonu.

Meritve Vzorec	Masa vzorca	Masa bučke	Masa bučke + produkta	Masa produkta (kofeina)	Izkoristek
Kava	20,0 g	307,2 g	308,1 g	0,9 g	4,50 %
Čaj	20,0 g	276,7 g	277,8 g	1,1 g	5,50 %

Račun (kava):

$$m(\text{produkt} - \text{kofein}) = m(\text{bučka} + \text{produkt}) - m(\text{bučka})$$

$$m(\text{produkt} - \text{kofein}) = 308,1 \text{ g} - 307,2 \text{ g}$$

$$m(\text{produkt} - \text{kofein}) = 0,9 \text{ g}$$

$$\eta = m(\text{produkta}) / m(\text{kava})$$

$$\eta = 0,9 \text{ g} / 20,0 \text{ g}$$

$$\eta = 0,0450 \rightarrow 4,50 \%$$

Račun (čaj):

$$m(\text{produkt} - \text{kofein}) = m(\text{bučka} + \text{produkt}) - m(\text{bučka})$$

$$m(\text{produkt} - \text{kofein}) = 277,8 \text{ g} - 276,7 \text{ g}$$

$$m(\text{produkt} - \text{kofein}) = 1,1 \text{ g}$$

$$\eta = m(\text{produkta}) / m(\text{kava})$$

$$\eta = 1,1 \text{ g} / 20,0 \text{ g}$$

$$\eta = 0,0550 \rightarrow 5,50 \%$$

6.3.3 Diklorometan

Meritve za diklorometan so podane v tabeli 14.

Tabela 14: Meritve, dobljene z ekstrakcijo s Soxhletovim aparatom v diklorometanu.

Meritve Vzorec	Masa vzorca	Masa bučke	Masa bučke + produkta	Masa produkta (kofeina)	Izkoristek
Kava	20,0 g	276,7 g	279,1 g	2,4 g	12,0 %
Čaj	20,0 g	307,2 g	308,3 g	1,1 g	5,50 %

Račun (kava):

$$m(\text{produkt} - \text{kofein}) = m(\text{bučka} + \text{produkt}) - m(\text{bučka})$$

$$m(\text{produkt} - \text{kofein}) = 279,1 \text{ g} - 276,7 \text{ g}$$

$$m(\text{produkt} - \text{kofein}) = 2,4 \text{ g}$$

$$\eta = m(\text{produkta}) / m(\text{kava})$$

$$\eta = 2,4 \text{ g} / 20,0 \text{ g}$$

$$\eta = 0,120 \rightarrow 12,0 \%$$

Račun (čaj):

$$m(\text{produkt} - \text{kofein}) = m(\text{bučka} + \text{produkt}) - m(\text{bučka})$$

$$m(\text{produkt} - \text{kofein}) = 308,3 \text{ g} - 307,2 \text{ g}$$

$$m(\text{produkt} - \text{kofein}) = 1,1 \text{ g}$$

$$\eta = m(\text{produkta}) / m(\text{kava})$$

$$\eta = 1,1 \text{ g} / 20,0 \text{ g}$$

$$\eta = 0,0550 \rightarrow 5,50 \%$$

6.3.4 Triklorometan

Meritve za triklorometan so podane v tabeli 15.

Tabela 15: Meritve, dobljene z ekstrakcijo s Soxhletovim aparatom v triklorometanu

Meritve Vzorec	Masa vzorca	Masa bučke	Masa bučke + produkta	Masa produkta (kofeina)	Izkoristek
Kava ¹	/	/	/	/	/
Čaj	20,0 g	307,2 g	309,5 g	2,3 g	11,50 %

Račun (čaj):

$$m(\text{produkt} - \text{kofein}) = m(\text{bučka} + \text{produkt}) - m(\text{bučka})$$

$$m(\text{produkt} - \text{kofein}) = 309,5 \text{ g} - 307,2 \text{ g}$$

$$m(\text{produkt} - \text{kofein}) = 2,3 \text{ g}$$

$$\eta = m(\text{produkta}) / m(\text{kava})$$

$$\eta = 2,3 \text{ g} / 20,0 \text{ g}$$

¹Zaradi velikega deleža nečistoč v produktu smo ekstrakcijo kave s Soxhletovim aparatom v triklorometanu opustili.

$$\eta = 0,1150 \rightarrow 11,50 \%$$

6.4 Kromatogrami

Kromatogrami vseh produktov so v prilogi 1.

V tabeli 16 so prikazani izračuni retenzijski faktorji posameznih produktov.

Tabela 16: Retenzijski faktorji posameznih produktov

*standard

**produkt

Metoda	Navadna ekstrakcija		Ekstrakcija s Soxhletovim aparatom							
	Voda		Etanol		Aceton		Diklorometan		Triklorometan	
Topilo	S*	P**	S	P	S	P	S	P	S	P
Rf										
Vzorec										
Kava	0,21	0,20	0,23	0,22	0,33	0,33	0,29	0,29	0,29	0,31
Čaj	0,23	0,22	0,27	0,33	0,23	0,22	0,27	0,27	0,27	0,30

Tabela 17 prikazuje retenzijske faktorje, ki jih je vsebovala vodna faza.

Tabela 17: Retenzijski faktorji vodne faze

Topilo	Diklorometan		Triklorometan	
Rf	S*	P**	S	P
Vzorec				
Kava	0,24	0,30	/	/
Čaj	0,24	0,32	0,24	0,30

*standard

**produkt

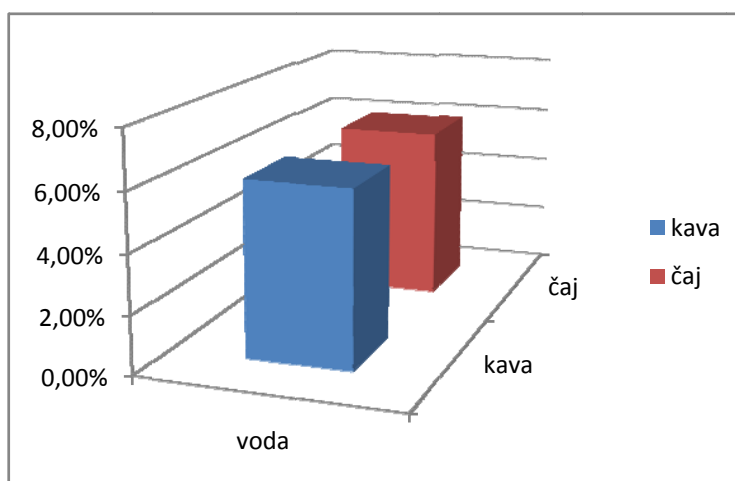
7 Rezultati

Rezultati izkoristkov kofeina iz kave in čaja, glede na različne metode in uporabo različnih topil, so podani v tabeli 18.

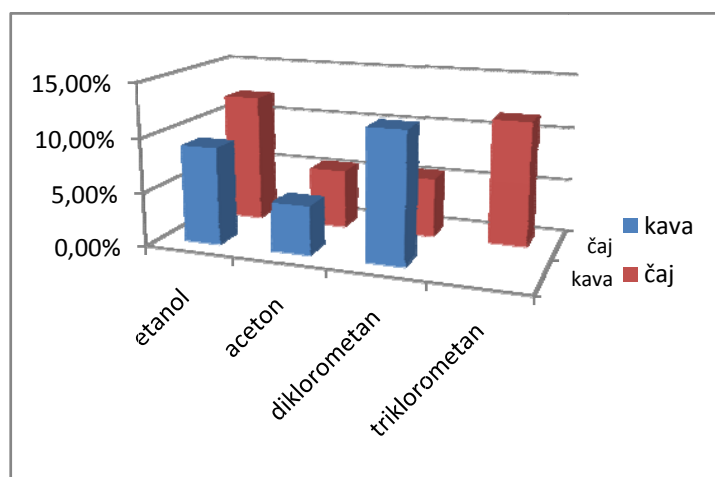
Tabela 18: Izkoristki ekstrakcije v odvisnosti izbire metode in topila

Metoda	Navadna ekstrakcija	Ekstrakcija s Soxhletovim aparatom			
Topilo	Voda	Etanol	Aceton	Diklorometan	Triklorometan
Vzorec					
Kava	6,00 %	9,00 %	4,50 %	12,00 %	/
Čaj	6,00 %	12,00 %	5,50 %	5,50 %	11,50 %

Graf 1: Izkoristek kofeina z navadno ekstrakcijo



Graf 2: Izkoristek kofeina z ekstrakcijo s Soxhletovim aparatom z uporabo različnih topil



8 Komentar rezultatov in opažanja

Iz rezultatov je razvidno, da je bila pri metodah ekstrakcije uspešnejša ekstrakcija s Soxhletovim aparatom. Produkt po končani ekstrakciji je bele barve, po analizi produkta s tankoplastno kromatografijo pa je iz kromatograma razvidno, da se poti, ki sta jo komponenti opravili, ujemata. Prav tako se ujemata retenzijska faktorja standarda kofeina in produkta. Ker na kromatogramu ni bilo videti nečistoč, sklepamo, da je produkt čist.

Izkoristek ekstrakcije je prav tako visok pri metodi ekstrakcije čaja s Soxhletovim aparatom, pri katerem smo kot topilo uporabili triklorometan, vendar smo na kromatogramu opazili, da je produkt vseboval poleg kofeina še veliko nečistoč (barvila). Pri čiščenju organske faze smo poskušali z večkratnim dodajanjem manjših količin vode in stresanjem doseči, da bi barvilo prešlo iz organske v vodno fazo, vendar nam to ni uspelo. Izvedli smo še kromatografijo vodne faze, ki smo jo ločili od organske faze v liju ločniku, in ugotovili, da je tudi ta vsebovala nekaj kofeina. Ob večkratnem dodatku vode se tako iz organske v odpadno vodno fazo prenese vedno več kofeina in zmanjšuje izkoristek ekstrakcije, zato smo se po petih zaporednih dodajanjih vode odločili, da je nesmiselno nadaljevati to vrsto čiščenja, zato smo prenehali in topila odparili.

Zaradi velikega deleža nečistoč v produktu ekstrakcije iz čaja smo se odločili, da ekstrakcije kave s Soxhletovim aparatom v triklorometanu ne bomo opravili.

Tudi pri produktih ekstrakcije kave in čaja s Soxhletovim aparatom z diklorometanom smo ugotovili večjo prisotnost nečistoč.

Največjo količino in najbolj čist produkt dosežemo z uporabo ekstrakcije s Soxhletovim aparatom in z etanolom, kot topilom. Če za topilo uporabimo aceton, je produkt prav tako čist, vendar je izkoristek za približno polovico manjši, prav tako izkoristek ni visok pri navadni ekstrakciji.

9 Zaključek

Namen najine naloge je bil poiskati najučinkovitejšo metodo za pridobitev čim več in čim bolj čistega kofeina. Pri raziskavi sva ugotovila, da je to metoda s Soxhletovim aparatom ob uporabi etanola kot topila. V tem primeru je bilo produkta največ in je bil tudi najčistejši.

S tem sva potrdila najino prvo hipotezo, v kateri sva predvidevala, da bo metoda s Soxhletom najučinkovitejša.

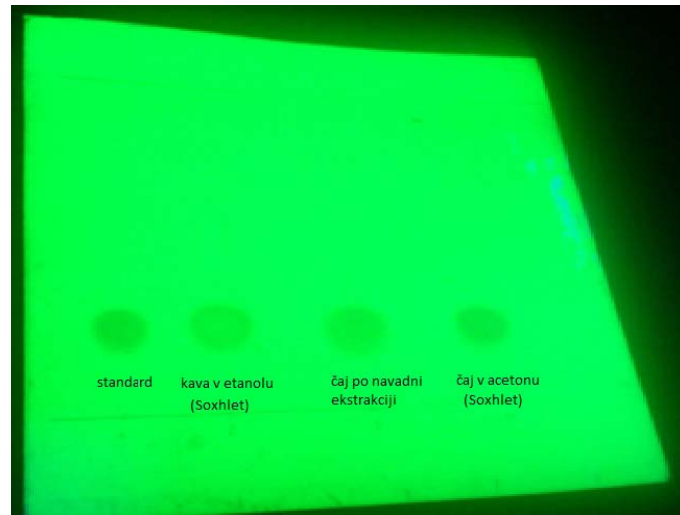
Druga hipoteza, ki napoveduje večji delež ekstrahiranega kofeina iz kave, drži samo za metodo s Soxhletom ob uporabi diklorometana. Pri uporabi drugih topil je izkoristek približno enak, pri etanolu pa je izkoristek ekstrakcije kofeina iz čaja celo višji.

Trditve tretje hipoteze, da bodo topila, ki so dobro raztapljala čisti kofein, zelo učinkovita tudi pri ekstrakciji kave oziroma čaja, ne moreva glede na rezultate raziskave ne ovreči in ne potrditi, saj je bil izkoristek ekstrakcije res zelo velik, vendar je bil produkt zelo nečist, kar pomeni, da je to topilo raztapljalo še mnoge druge substance.

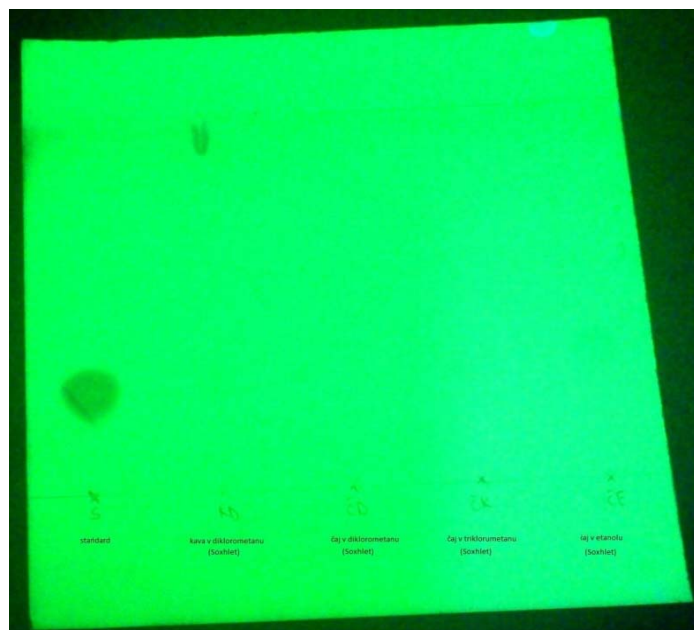
Na splošno lahko rečemo, da je izkoristek pri ekstrakciji z nepolarnimi halogeniranimi ogljikovodiki velik, vendar je produkt nečist. Lahko bi izvedli še prekrystalizacijo, metodo čiščenja produkta z dodajanjem aktivnega ogljika, vendar nam je pri izvedbi naloge zmanjkalo časa, zato priporočamo ostalim raziskovalcem, da bi lahko opravili metodo čiščenja in na ta način poskušali doseči čistejši produkt, čeprav pri tem podaljšujemo čas ekstrakcije, porabimo več kemikalij in dražimo postopek ekstrakcije.

Pri raziskavi sva ugotovila, da dosežemo največjo količino produkta, ki je obenem tudi najčistejši, z uporabo ekstrakcije s Soxhletovim aparatom in z uporabo etanola kot topila. Zato priporočava uporabo te metode.

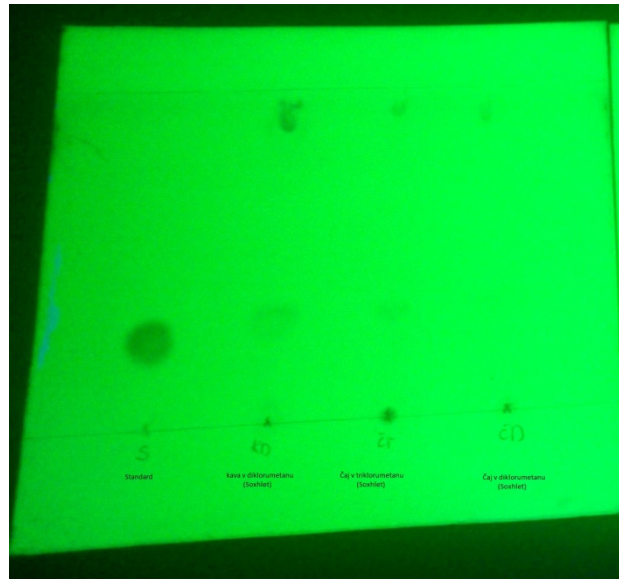
10 Priloge



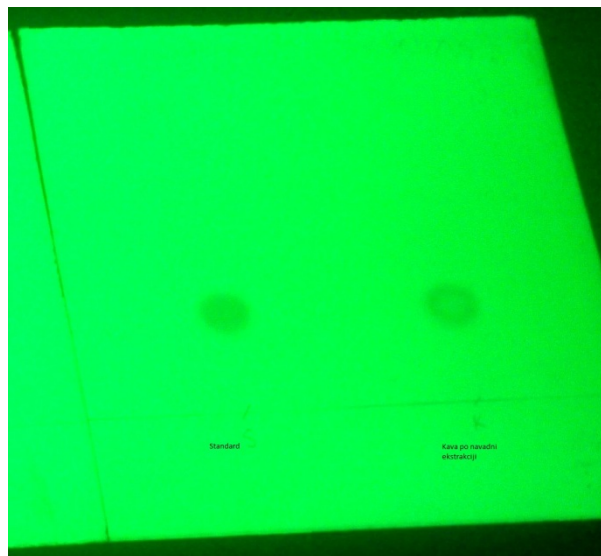
Slika 15: Kromatogram standarda in produktov ekstrakcije z uporabo obeh metod ekstrakcije



Slika 16: Kromatogram standarda in produktov ekstrakcije z uporabo Soxhletovega aparata



Slika 17: Kromatogram standarda in produktov ekstrakcije z uporabo Soxhletovega aparata



Slika 18: Kromatogram standarda in produktov ekstrakcije kave po navadni metodi

11 Viri

11.1 Viri literature

- <http://sl.wikipedia.org/wiki/Alkaloid> (14. 3. 2012)
- <http://sl.wikipedia.org/wiki/Kofein> (14. 3. 2012)
- <http://sl.wikipedia.org/wiki/Kava> (14. 3. 2012)
- [http://www.aromaterapija.si/index.php?option=com_content&view=article&id=256%3Arastli
nska-kemicna-tovarna-amini-in-alkaloidi&catid=36%3Aarhiv&Itemid=41](http://www.aromaterapija.si/index.php?option=com_content&view=article&id=256%3Arastli
nska-kemicna-tovarna-amini-in-alkaloidi&catid=36%3Aarhiv&Itemid=41) (14. 3. 2012)
- <http://www.scribd.com/doc/19992503/2/Kratka-zgodovina-%C4%8Daja> (14. 3. 2012)
- <http://www.cajnica.com/vrstecaja-a-10.htm>(14. 3. 2012)
- <http://sl.wikipedia.org/wiki/Kavovec> (15. 3. 2012)
- http://old.gimvic.org/projekti/timko/2003/2c/naravnabarvila/metoda_ekstrakcije.htm (15. 3. 2012)
- http://sl.wikipedia.org/wiki/Ekstrakcija#Topnost_snovi (15. 3. 2012)
- [http://studenti.fkkt.uni-lj.si/wp-content/uploads/group-documents/6/1322262719-
praktikum_delno.pdf](http://studenti.fkkt.uni-lj.si/wp-content/uploads/group-documents/6/1322262719-
praktikum_delno.pdf) (15. 3. 2012)
- <http://www.pomurske-lekarne.si/si/index.cfm?id=1501>(15. 3. 2012)
- <http://sl.wikipedia.org/wiki/%C4%8Caj> (15. 3. 2012)
- <http://sl.wikipedia.org/wiki/Topnost> (15. 3. 2012)
- <http://en.wikipedia.org/wiki/Caffeine> (15. 3. 2012)
- [http://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=4&cts=133172561170
3&ved=0CEQQFjAD&url=http%3A%2F%2Facademic.evergreen.edu%2Fcurricular%2Flab
methods%2FLab%2520Methods%2C%2520Spring%25202005%2C%2520Week%2520I%2
C%2520Extractions.doc&ei=yYRgT9OaAo7AswbE3-
S7CQ&usg=AFQjCNGTTIGxYUgEc2CKIPO70Mvs4qHRSQ&sig2=onjvP6A_KY-
teFzk9oFaRA](http://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=4&cts=133172561170
3&ved=0CEQQFjAD&url=http%3A%2F%2Facademic.evergreen.edu%2Fcurricular%2Flab
methods%2FLab%2520Methods%2C%2520Spring%25202005%2C%2520Week%2520I%2
C%2520Extractions.doc&ei=yYRgT9OaAo7AswbE3-
S7CQ&usg=AFQjCNGTTIGxYUgEc2CKIPO70Mvs4qHRSQ&sig2=onjvP6A_KY-
teFzk9oFaRA) (15. 3. 2012)
- <http://www.pharmainfo.net/reviews/extraction-caffeine-tea-leaves> (15. 3. 2012)
- <http://www.shrani.si/f/1F/7H/3kjXnpjy/preparativna-organska-ke.pdf>(15. 3. 2012)
- www.inchem.org/documents/sids/sids/caffeine.pdf(15. 3. 2012)

Knjižni vir:

Eaton David C., Laboratory investigations in organic chemistry, - New York : McGraw-Hill, 1989

Eckhard Ignatowitz; prevedel Leon Čelik, Kemijska tehnika – Ljubljana: Založba Jutro, 1996

11.2 Viri slik

Slika 1: http://sl.wikipedia.org/wiki/Slika:Roasted_coffee_beans.jpg

Slika 2: <http://www.google.com/imgres?um=1&hl=sl&sa=N&rls=com.microsoft:sl:IE-Address&biw=1366&bih=617&tbn=isch&tbnid=6Y1bGsy8LlNReM:&imgrefurl=http://www.bodieko.si/cajevec&docid=tilqScBMoFS9eM&imgurl=http://www.bodieko.si/foto/2011/08/cajevec.jpg&w=375&h=283&ei=3lZiT67mK5DOswbPsMi0BQ&zoom=1>

Slika 3: <http://sl.wikipedia.org/wiki/Slika:Caffeine.svg>

Slika 4: http://www.google.com/imgres?hl=sl&sa=X&rls=com.microsoft:sl:IE-Address&biw=1366&bih=617&tbn=isch&prmd=imvnsfd&tbnid=hO-frf6lZ6aDOM:&imgrefurl=http://www.cogeco.it/slo/kavovec.php&docid=2OrQs69NLH2KaM&imgurl=http://www.cogeco.it/images/foto/kavovec05.jpg&w=600&h=450&ei=cFlIT8mXKM_mtQbA8e30BQ&zoom=1&iact=rc&dur=144&sig=100202106453300892677&page=1&tbnh=135&tbnw=178&start=0&ndsp=19&ved=1t:429,r:0,s:0&tx=100&ty=58

Slika 5: http://sl.wikipedia.org/wiki/Slika:Starr_070617-7329_Coffea_arabica.jpg

Slika 6: <http://sl.wikipedia.org/wiki/Slika:HCAM13.jpg>

Slika 7: <http://grandkafa.com/grand-proizvodi/tradicionalna-kafa/grand-kafa-gold>

Slika 8: http://www.1001cvet.si/zeleni_in_crni?p=100

Slika 9 – Slika18: lastna evidenca

12 Zahvala

Skozi celoten potek raziskovanje nama je pomagalo veliko ljudi.

Posebna zahvala gre najini mentorici Mojci Drogenik Čerček, ki nama je pri raziskovanju pomagala in strokovno pregledala najin končni izdelek, Andreji Tkalec, ki je lektorirala najino nalogo ter Kristini Jazbinšek Vovk in Klavdiji Špur Jereb, ki sta lektorirali povzetek v angleškem jeziku. Zahvaljujemo se tudi celotnemu kolektivu Srednje šole za kemijo, elektrotehniko in računalništvo, posebej laborantu Sebastianu Klovarju.