

Mestna občina Celje  
Komisija Mladi za Celje

# EKSTRAKCIJA KOFEINA IZ ČRNEGA ČAJA

---

RAZISKOVALNA NALOGA



**Avtorica:**

Lana Kores, 9.r.

**Mentorica:**

Marjeta Gradišnik Mirt,  
predm. učiteljica

Celje, 2015

Osnovna šola Ljubečna

# EKSTRAKCIJA KOFEINA IZ ČRNEGA ČAJA

RAZISKOVALNA NALOGA

**Avtorica:**

Lana Kores, 9.r.

**Mentorica:**

Marjeta Gradišnik Mirt,  
predm. Učiteljica

**Jezikovni pregled:**

Petra Merc, prof.

Mestna občina Celje, Mladi za Celje

Celje, 2015

## KAZALO VSEBINE

KAZALO SLIK, TABEL IN GRAFOV .....	3
POVZETEK.....	4
1 UVOD.....	5
1.1 NAMEN NALOGE .....	5
1.2 HIPOTEZE.....	5
1.3 METODE DELA.....	5
2 PRAVI ČAJI .....	6
2.1 ZGODOVINA UPORABE ČAJEV .....	6
2.1.1 ZAČETEK ČAJNE KULTURE .....	6
2.1.2 ČAJ PRISPE V EVROPO .....	7
2.2 VRSTE ČAJEV.....	8
2.3 KEMIJSKA SESTAVA ČAJEV .....	10
2.4 ALKALOIDI V ČAJU .....	10
2.5 KOFEIN .....	11
2.5.1 KEMIJSKA SESTAVA .....	11
2.5.2. VIRI KOFEINA.....	11
2.6 METODE PRIDOBIVANJA KOFEINA.....	12
2.7 UPORABA IN UČINKI KOFEINA .....	13
2.7.1 DELOVANJE KOFEINA .....	13
2.7.2 NEŽELENI UČINKI.....	13
2.7.3 ODVISNOST .....	14
3 PRAKTIČNI DEL NALOGE.....	14
3.1 PRIPRAVA PRIPOMOČKOV ZA DELO .....	14
3.2 IZVEDBA POSTOPKA PRIDOBIVANJA KOFEINA.....	16
3.3 REZULTATI .....	24
4 DISKUSIJA .....	26
4.1 POTRDITEV HIPOTEZ .....	28
5 ZAKLJUČEK.....	29
LITERATURA .....	30

## KAZALO SLIK, TABEL IN GRAFOV

Slika 1: Skeletna formula kofeina.....	11
Slika 2: Vzorci uporabljenih črnih čajev .....	15
Slika 3: Zaščitna sredstva .....	16
Slika 4: Kuhanje čaja.....	17
Slika 5: Precejanje skozi gazo in cedilo .....	17
Slika 6: Dodajanje diklorometana .....	18
Slika 7: Prelivanje diklorometana.....	18
Slika 8: Organska plast in vodna faza .....	19
Slika 9: Emulzija.....	19
Slika 10: Lij ločnik .....	20
Slika 11: Tehtanje destilirne bučke .....	20
Slika 12: Sušenje z brezvodnim natrijevim sulfatom .....	21
Slika 13: Celotna destilacijska aparatura .....	21
Slika 14: Vodna kopel.....	22
Slika 15: Kristalizacija kofeina .....	22
Slika 16: Ostanek diklorometana .....	22
Slika 17: Destilirka s kofeinom in ločenim diklorometanom .....	23
Slika 18: Kofein je bela trdna snov.....	23
Slika 19: Tehtanje destilirke s kofeinom .....	24
Tabela 1: Uživala in alkaloidi v njih .....	10
Tabela 2: Približna vsebnost kofeina v različnih živilih .....	13
Tabela 3: Prikaz mas kofeina, pridobljenih v dveh ekstrakcijah .....	24
Tabela 4: Prikaz povprečnih mas kofeina v instant in razsutem črnem čaju.....	26
Graf 1: Prikaz povprečnih mas kofeina v različnih znamkah čaja .....	25
Graf 2: Prikaz povprečne mase pridobljenega kofeina iz črnega čaja v filter vrečkah in razsutega črnega čaja.....	26

## **POVZETEK**

Začela sem se spraševati, če se čaji zelo razlikujejo po količini kofeina in če bi bilo važno, katerega kupim in skuham, da se prej zbudim. Pomislila sem, da bi bilo to pametno raziskati. V literaturi sem prebrala, da vsebuje največ kofeina črni čaj. Zato sem izbrala nekaj različnih vrst črnega čaja, iz katerih sem s postopkom ekstrakcije in destilacije pridobila kofein. Po količini izločenega kofeina sem med sabo primerjala črni čaj iz filter vrečk in razsuti črni čaj, saj sem domnevala, da čaja ne bosta vsebovala enakih količin kofeina. Izkazalo se je, da sem iz črnega čaja iz filter vrečk v povprečju pridobila več kofeina kot iz razsutega črnega čaja. Sklepala sem, da s starostjo učinek črnega čaja zaradi zmanjševanja kofeina upada. Tega mi ni uspelo dokazati zaradi premajhnega števila vzorcev, kljub temu pa sem iz starejšega črnega čaja pridobila manj kofeina kot iz svežega. Predvidevala sem še, da bo več primesi v kofeinu, pridobljenem iz črnega čaja v filter vrečkah. Tega ne morem potrditi, saj nisem imela čistega kofeina za primerjavo. Z raziskovalno nalogo sem še bolj razširila svoje znanje ter izkušnje in nikakor ne obžalujem dolgih popoldnevov, ki sem jih zaradi eksperimentiranja še dodatno preživela v šoli.

## 1 UVOD

V prostem času rada počnem stvari, ki so zanimive in me veselijo. Raziskovalnega dela sem se lotila že lansko leto in ker je bilo zelo poučno, sem se odločila, da lahko tudi letos nekaj ur namesto pred televizijo preživim v šolskem laboratoriju. Že od začetka sem vedela, da bo moja raziskovalna naloga temeljila na znanju kemije, nisem pa se mogla odločiti natančno, kaj bi raziskovala. Nekaj časa sem brskala po internetu, ko sem zasledila zanimivo raziskovalno nalogo Vpliv izbire topila in pogojev ekstrakcije na izkoristek ekstrakcije kofeina iz črnega čaja oziroma kave. Pridobivanje kofeina se mi je zdelo malce nenavadno, še posebej, ker še nikoli nisem videla čistega kofeina in ker sem bila s postopki pridobivanja slabo seznanjena. Nadvse rada poizkušam nove stvari, kar me je pri pridobivanju kofeina najverjetneje najbolj pritegnilo. Vseeno raziskovalnega dela nisem mogla začeti le z besedo kofein, zato sem premišljevala dalje.

### 1.1 NAMEN NALOGE

Zaradi šole hodim pogosto pozno spat, zaradi raznih obšolskih dejavnosti pa moram vstati že zelo zgodaj. Na mojo nesrečo nisem ravno jutranja oseba in mi je vstajanje zjutraj prava muka. Pomislila sem na kofein, ki bi naj imel učinek, da te zbudi in te ohrani pokonci. Vem, da se nahaja v kavi in čaju, vendar nisem velika ljubiteljica kave, zato so mi čaji bližje. Začela sem se spraševati, če se čaji zelo razlikujejo po količini kofeina, in če bi bilo važno, katerega kupim in skuham, da se prej zbudim. Pomislila sem, da bi bilo to pametno raziskati. V pisnih virih sem zasledila, da bi naj največ kofeina vseboval črni čaj in zato sem se odločila, da bom kofein pridobivala iz črnega čaja. Končno sem se odločila o temi svoje raziskovalne naloge, katere namen je primerjati količino kofeina različnih znamk črnih čajev. Ker v šoli še nismo imeli vseh potrebnih pripomočkov za ekstrakcijo kofeina iz črnega čaja, jih je bilo potrebno najprej naročiti, medtem pa sem se lahko lotila podrobnejšega prebiranja literature.

### 1.2 HIPOTEZE

V svoji raziskovalni nalogi sem imela tri hipoteze:

- Iz črnega čaja v filter vrečkah se pridobi več kofeina kot iz razsutega črnega čaja, saj je velikost delcev čaja v filter vrečkah manjši. Črni čaj v filtervrečkah je zelo zdrobljen, skoraj uprašen. Manjši kot so delci, večja je površina in učinkovitejša je ekstrakcija.
- S starostjo se v črnem čaju lahko zmanjša količina koristnih učinkovin, mogoče tudi kofeina.
- Več primesi bo v kofeinu, pridobljenem iz črnega čaja v filter vrečkah, saj se skozi vrečke ne vidi dobro, kaj vse je v njej pomešano.

### 1.3 METODE DELA

Metode dela sem za svojo raziskovalno nalogo poiskala v že narejeni raziskovalni nalogi Vpliv izbire topila in pogojev ekstrakcije na izkoristek ekstrakcije kofeina iz črnega čaja oziroma kave. Postopek, ki sem ga uporabila za pridobivanje kofeina, se imenuje navadna ekstrakcija, in je opisan na strani 31 omenjene raziskovalne naloge. Postopek je sestavljen iz treh delov. V prvem delu s pomočjo vroče vode ekstrahiramo kofein iz črnega čaja. V drugem delu sem s pomočjo ustreznega topila diklometana iz vode izvelkla kofein, saj je v nepolarnem topilu bolj topen kot v polarni vodi. Ko sem imela raztopino kofeina v

diklorometanu, sem s pomočjo destilacije ločila kofein od topila. Podrobneje sem postopek pridobivanja kofeina opisala na strani 15. Glavnina raziskovalne naloge je temeljila na eksperimentalnem delu. Pred pričetkom eksperimentalnega dela in vmes sem preučevala najrazličnejšo strokovno literaturo, ki je navedena v teoretičnem delu naloge, in mi je pomagala razumeti postopek pridobivanja kofeina iz črnega čaja ter interpretirati rezultate.

## 2 PRAVI ČAJI

Glede na razširjenost črnega čaja v zahodnem svetu bi lahko domnevali, da je to »glavni« čaj na svetu. Po količini porabe je to res, v zgodovini čaja pa je črni čaj tako rekoč novinec. Kajti čaj je bil več kot dve tisočletji bolj ali manj zeleni. Črni čaj so resda začeli izdelovati Kitajci, domnevno po spremenjenem postopku izdelave čajev oolong pred kakimi 300 leti, v svojem bistvu pa je črni čaj dediščina kolonialne dobe. Britanci so v 19. stoletju začeli gojiti čajevce v Indiji, na Cejlonu in v vzhodni Afriki, kjer so pridelovali samo črni čaj. Še danes so to klasična območja pridelave črnega čaja, medtem ko nam sicer zelo zelena Kitajska tudi ponuja nekaj odličnih črnih čajnih specialitet(<http://www.cha.si/crni-caj-splosno-priprava/>, 20.1.2014).

### 2.1 ZGODOVINA UPORABE ČAJEV

Čaj je poparek iz posušenih listov, popkov in rožnatih cvetov zimzelenega grma, imenovanega *Camelliasinensis*, za katerega se domneva, da se je prvič pojavil v džungli na vzhodnem pogorju Himalaje, na območju današnje meje med Indijo in Kitajsko (Standage 2008, str. 173).

#### 2.1.1 ZAČETEK ČAJNE KULTURE

Že v prazgodovini so ljudje opazili poživljajoče učinke žvečenja listov čajnega grma ter zdravilne učinke vtiranja listov na rane. Te navade so se ohranile še tisoče let. Na območju jugozahodne Kitajske so čaj uživali tudi v obliki posebne zdravilne kaše. Sesekljane liste so zmešali s šalotko, ingverjem in drugimi sestavinami. Plemena na ozemlju današnje severne Tajske so poparila ali pa zavrela čajne liste, jih oblikovala v kroglice in jih nato pojedla s soljo, oljem, česnom, mastjo ali sušenimi ribami. Čaj je bil, preden je postal pijača, zdravilo ter živilo (Standage 2008, str. 173).

Tako budistični kot taoistični menihi so ugotovili, da je čaj dragocen pripomoček pri meditaciji, saj spodbuja koncentracijo in preprečuje utrujenost – ima torej lastnosti, za katere zdaj vemo, da jih povzroča kofein (Standage 2008, str. 174).

Čaj je bil sprva nekoliko nenavaden zdravilni ter religiozni napitek, vendar je na Kitajskem kmalu postal popolnoma naravna prepoznavna pijača. Knjiga iz tistega obdobja z naslovom Delovna pravila služabnikov opisuje pravilno kuhanje ter strežbo čaja. V četrtem stoletju našega štetja je bil že tako priljubljen, da ga je bilo treba začeti načrtno gojiti. Preprosto nabiranje listov divjega grmičevja ni bilo več dovolj. Čaj se je razširil po celotni Kitajski in postal nacionalna pijača v času dinastije Tang (618-907 n. št.). To obdobje se navadno omenja tudi kot zlata doba v zgodovini Kitajske. Med vladanjem dinastije Tang je bila Kitajska največje, najbogatejše in najgosteje naseljeno cesarstvo na svetu (Standage 2008, str. 174).

Tudi močno razširjena navada pitja čaja je pripomogla k blaginji ter hitri rasti prebivalstva. Zaradi antiseptičnih sestavin je bil varnejši za pitje kot pijače, ki so bile prej bolj v ospredju, na primer riževo ali proseno pivo. Res pa je, da tudi pri pripravi čaja vode včasih niso dobro prevreli. Sodobne raziskave so pokazale, da fenoli v njem (tanin) uničujejo bakterije, ki povzročajo kolero, tifus in grižo. Priprava iz posušenih listov je hitra in enostavna, povrhu vsega pa se čaj ne pokvari tako hitro kot na primer pivo. Pravzaprav je šlo za učinkovito in pripravno metodo čiščenja vode. Bistveno se je zmanjšala razširjenost bolezni, ki se prenašajo po vodi, tako pa se je zmanjšala tudi smrtnost novorojencev in podaljšala življenjska doba. Čaj je imel tudi izrazit vpliv na gospodarstvo. Ko sta se v sedmem stoletju povečala obseg in vrednost kitajske trgovine s čajem, so trgovci iz Fujiana, ki so upravljali velike vsote denarja, uvedli novost – papirnati denar. Kot plačilno sredstvo pa so uporabljali tudi čaj v obliki kock (Standage 2008, str. 175).

Obred pitja so do najmanjše podrobnosti razvili na Japonskem. Čaj so tam pili že v šestem stoletju, a leta 1191 je budistični menih Eisai prinesel na Japonsko najnovejše kitajske ugotovitve o gojenju ter nabiranju čaja, o njegovi pripravi in pitju. Napisal je knjigo, v kateri je hvalil pozitivne učinke. Ko je zbolel šogun Minamoto Sanetomo, ga je Eisai pozdravil z doma gojenim čajem. Šogun se je navdušil nad njim in priljubljenost napitka se je z njegovega dvora razširila po celotni deželi. Do štirinajstega stoletja je postal razširjena pijača med vsemi sloji japonske družbe (Standage 2008, str. 178).

### 2.1.2 ČAJ PRISPE V EVROPO

Čaj se v evropskih poročilih, ki prihajajo iz te regije, prvič omenja v 50. letih 16. stoletja, vendar ga takrat prvim trgovcem še ni uspelo pripeljati v Evropo. Morda so manjše količine iz popolnoma zasebnih razlogov v Lizbono prinesli portugalski mornarji. Šele leta 1610 je nizozemska ladja v Evropo pripeljala manjšo pošiljko čaja in tam je postala velika novost. Z Nizozemske se je v 30. letih 17. stoletja razširil v Francijo in nato v 50. letih 17. stoletja v Anglijo. Prvi je bil zeleni čaj, prav takšen, kot so ga Kitajci pili že od nekdaj. Črni čaj, ki nastane tako, da se sveže nabrane čajne lističe pusti čez noč počivati, da oksidirajo, se je pojavil šele v času dinastije Ming. Njegov natančni nastanek ostaja zavito v skrivnost. Pri Kitajcih je črni čaj veljal za primeren napitek za tujce, na koncu pa je prav ta vrsta pri trgovanju z Evropo tudi prevladala. Evropejci niso imeli nobenega znanja o tem, kako je nastal čaj, in napačno so domnevali, da sta zeleni in črni čaj popolnoma različni botanični vrsti. V Evropi je bilo mogoče čaj dobiti že nekaj let pred pojavom kave, vendar je imel v 17. stoletju veliko manjši vpliv, saj je bil precej dražji. Najprej se je na Nizozemskem pojavil kot luksuzna in v medicinske namene uporabljena pijača in tam je v 30. letih 17. stoletja potekalo veliko razprav o zdravilnih učinkih (Standage 2008, str. 181).

Evropejci so si umislili še en dodatek – mleko. Že leta 1660 je angleški oglas oznanjal, da ima čaj med drugim veliko zdravilnih učinkov na človekovo zdravje: »Če je pripravljen z mlekom in z vodo, okrepi notranje organe in preprečuje jetiko, učinkovito zdravi črevesne bolečine, trebušne krče in diarejo.« Tudi v Franciji, kjer je bil priljubljen le med aristokracijo, in še to krajši čas – med letoma 1650 in 1700 – so ga pili z dodatkom mleka, ki je napitku dodal poseben okus in ga tudi nekoliko ohladil. Hlajenje čaja z mlekom je zavarovalo tako pivca



kot porcelanasto skodelico, v kateri so ga postregli. Kmalu sta čaj v Franciji izpodrinila kava in čokolada. Na koncu se je Velika Britanija izkazala za evropski narod, ki veliko bolj od Francozov in Nizozemcev ljubi čaj (Standage 2008, str. 182).

## 2.2 VRSTE ČAJEV

Na svetu je na stotine različnih vrst čajev, zato bom v svoji raziskovalni nalogi predstavila le učinkenekaterih bolj znanih, med katerimi so:

### ČRNI ČAJ

Črni čaj je v primerjavi z zelenim pri nas pogosto pozabljen, nas pa v primerjavi z zelenim lahko veliko bolj požiwi. Proizvajalci ga pridobijo iz iste rastline kot zelenega, belega in oolong,le da njene liste obdelajo drugače. Zaradi tega ima črni čaj okus, ki je močnejši, ima pa tudi več kofeina. Nekaj učinkov črnega čaja:

- bolj zdravi zobje (saj jih lahko črni čaj zaščiti pred gnilobo in boleznimi dlesni),
- manj težav s srcem in ožiljem (stene žil ščiti pred poškodbami, ki lahko nato zaustavljajo holesterol in plak, ki potujeta po krvi, zaradi česar se lahko na določenem mestu nabereta v tolikšni meri, da žilo zamašita),
- zmanjšano tveganje za pojav raka (morda lahko uničuje rakave celice),
- lažji spopad s stresom (znižuje raven hormona stresa kortizola),
- bolj sijoča koža (je izreden antioksidant, kar vpliva na boljše zdravje na sploh pa tudi na lepši videz),
- manj maščobnih celic (lahko pospeši proces hujšanja ter celo pomaga topiti odvečne maščobne celice)(<http://vizita.si/clanek/zdravozivljenje/ne-boste-verjeli-kaj-vse-lahko-stori-za-vas.html>, 11.1.2015).

### ZELENI ČAJ

Uporablja se za spremembo razpoloženja, zavedanja in dožemanja sveta, poživlja, vpliva predvsem na možgane in osrednji živčni sistem ter ne obremenjuje srca, na duševni ravni sprošča in ne povzroča živčne napetosti. Drugače pa čaj še:

- znižuje visok krvni tlak in tako med drugim preprečuje kap,
- preprečuje nastajanje krvnih strdkov ter pomaga vzdrževati zdravo pretočno kri,
- preprečuje oksidacijo LDL – holesterola,
- varuje krvne žile pred poškodbami ter nalaganjem holesterola in jih krepi,
- pospešuje presnovo in povečuje porabo maščob v telesu,
- spodbudno vpliva na enakomernejše izločanje inzulina ter s tem lajša delo trebušni slinavki,
- učinkuje protibakterijsko in razkuževalno,
- učinkuje protivnetno,
- preprečuje ter celo zdravi razjede na želodcu in dvanajstniku(povzeto po Cortese 2004, str. 44, 45, 48).

### PUERH

Kolikor je do zdaj znanega o puerhu, je ta po učinku zelo podoben zelenemu čaju, vendar le nekoliko ali sploh ne. Puerh izstopa po tem, da uravnava in čisti. Ali drugače:

- znižuje raven LDL – holesterola in trigliceridov v krvi, s tem čisti ožilje ter preprečuje civilizacijske bolezni srca in ožilja;
- raztaplja maščobo, torej v povezavi z gibanjem sproža in spodbuja razgradnjo maščobnih zalog v telesu, skratka: zelo primeren je za hujšanje – neznano zakaj, ampak puerh najučinkovitejše tanjša maščobne obloge pri ljudeh med 40. in 50. letom starosti;
- znižuje raven sladkorja v krvi;
- znižuje raven sečne kisline v krvi in pospešuje njeno izločanje;
- pospešuje razstrupljevalno delovanje jeter in izločanje strupenih snovi (skozi ledvica, debelo črevo);
- krepi jetra in jih razmaščuje – zmanjšuje zamaščenost jeter;
- pospešuje razgradnjo alkohola v telesu in krajša mačka;
- pospešuje prebavo in črevesno peristaltiko ter tako, spet v družbi z gibanjem, poskrbi še za črevesni fitnes;
- uravnava in uravnoveša presnovo (Cortese 2004, str. 99).

## **ROOIBOS**

Če dnevno spijemo liter ali dvarooibosa, skratka toliko, kolikor ga pripravimo s petimi zvrhanimi žličkami (skupno okoli 15 g ali vsaj sedem filter vrečk), zadovoljimo približno četrtno ali tretjino dnevne potrebe po flouru, se preskrbimo s skoraj polovico priporočene dnevne količine bakra in s kakšno petino mangana. Učinkovanje rooibosa na kratko:

- antioksidant,
- za zdravo ožilje in srce,
- ščiti jetra,
- spodbudno vpliva na prebavo,
- dviguje razpoloženje, je antidepresiv,
- razkužuje,
- blaži alergije,
- za lepšo polt in kožo (povzeto po Cortese 2004, str. 199).

## **KOMBUČA**

Pijača je dobra za zaščito telesa pred civilizacijskimi boleznimi, za razstrupljanje in čiščenje organizma, krepi imunski sistem, zbere presnovne usedline vseh vrst in spodbuja njihovo izločanje. Poleg tega še:

- učinkuje splošno protivnetno in razkuževalno,
- odpira apetit,
- pospeševalno in urejevalno vpliva na prebavo,
- sodeluje pri uravnavanju presnove,

- krepi jetra,
- pospešuje tudi razgradnjo alkohola in njegovega v telesu še manj zaželenega acetaldehida,
- verjetno je probiotik: podpira razvoj koristnih mikroorganizmov v prebavnem traku, predvsem v debelem črevesju (povzeto po Cortese 2004, str. 162, 163, 164).

## 2.3 KEMIJSKA SESTAVA ČAJEV

V čaju je nekaj deset nehlapnih sestavin (polifenoli, kofein, saponini, rudnine, vitamini in druge) ter več kot 400 hlapnih, med njimi eterična olja s kemično precej raziskano družbo najrazličnejših aromatičnih spojin. Ključne sestavine čajev so kofein, polifenoli in hlapne spojine. Prvi poživlja, drugi dajejo okus in so pomembni kot antioksidanti, tretje dajejo čaju aromo. Vrste teh sestavin se bistveno razlikujejo glede na vrsto čaja. Tako se polifenoli in aromatične sestavine zelenega čaja med predelavo v čaje oolong delno spremenijo in nastanejo druge, še bolj pa se spremenijo med predelavo v črne čaje. Rooibos ima že v izhodišču drugačne sestavine, med katerimi so prav tako najpomembnejši polifenoli in hlapne snovi. Čaj kot vir vitaminov in rudnin ni pomemben (Cortese 2004, str. 18).

## 2.4 ALKALOIDI V ČAJU

Alkaloidi so organske molekule, ki vsebujejo dušik, bolj znane so zaradi svojega farmakološkega učinka na ljudi in živali. Alkaloidi vključujejo morfin, kokain, atropin, kinin in kofein in se pogosto uporabljajo v medicini kot analgetiki ali anestetiki. Nekateri alkaloidi so strupeni, na primer strihnin in konin. Reagirajo bazično. Ime alkaloid pomeni snov, podobnalugu. Najdemo jih v številnih živilih. Imajo močno biološko aktivnost in manj hranil. Večina od njih ima grenak okus. Prisotni so v rastlinah, redkeje v glivah in algah. Pomembni alkaloidi, ki se dnevno uporabljajo v živilih, so: kofein, tein, teobromin, teofilin, guaranin, kapsaicin, piperin in drugi (<http://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/alkaloidi>, 26.12.2014).

**Tabela 1: Uživala in alkaloidi v njih**

Uživala:	Alkaloidi:
KAVA	kofein
PRAVI ČAJ	kofein, teobromin, teofilin
KAKAV	Teobromin
TOBAK	Nikotin

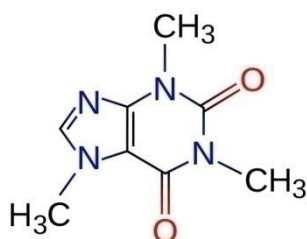
(<http://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/alkaloidi>, 26.12.2014)

## 2.5 KOFEIN

Po kemijski zgradbi kofein uvrščamo med alkaloide. V čisti obliki je kristalinična substanca, brez vonja in rahlo grenkega okusa. Medtem, ko je v hladni vodi skorajda netopen, se njegova topnost v vodi veča z naraščanje temperature (<http://www.nutris.org/prehrana/abc-prehrane/druge-snovi/187-koferin.html>, 23. 12. 2014).

### 2.5.1 KEMIJSKA SESTAVA

Kofein (tudi trimetilksantin, tein, matein, guaranin in metiloteobromin) je naravni alkaloid, ki ga pridobivamo iz kavnih zrn, iz listov čajevca in iz kakavovih zrn. Kot čista snov ima kemijsko formulo  $C_8H_{10}N_4O_2$ . Njegovo kemijsko ime po IUPAC nomenklaturi je 1,3,7-trimetilpurin-2,6-dion. Kofein je šibka baza, njegove soli niso stabilne. Topnost kofeina v vodi se poveča v prisotnosti organskih kislin, odvisna pa je tudi od temperature vode in je pri višjih temperaturah večja. Izoliran v čisti obliki je kofein bel kristalen prašek brez vonja, a zelo grenkega okusa. Dodajajo ga umetnim pijačam (kokakola). Kofein je blago poživilo, ki stimulatивно vpliva na centralni živčni sistem (<http://www.interchem.si/ponudba/prehrambena-industrija/koferin/>, 23.12.2014).



**Slika 1: Skeletna formula kofeina**

(Vir: <http://labamin.eu/img/p/75-65-thickbox.jpg>, 21.1.2015)

### 2.5.2 VIRI KOFEINA

Najdemo ga v listih, plodovih in semenih mnogih rastlin. Listi čaja (*Camamelliasinensis*), semena kave in kakavovca (*Coffea*) ter marsikatero drugo rastline vsebujejo kofein. Mnogi ljudje mislijo, da so kava, čaj in kola pijače edini viri kofeina, vendar v resnici kofein najdemo tudi v čokoladi, stimulansih, nekaterih blažilcih bolečin, diuretikih, blažilcih prehlada, preparatih za kontroliranje telesne teže in drugih zdravilih. Znanih je vsaj 63 rastlinskih vrst, ki vsebujejo kofein. Najbolj običajen in razširjen vir kofeina so kavna in kakavova zrna, oreščki kole in listi čajevca. Rastline ustvarjajo kofein, da jih kot pesticid varuje pred žuželkami. Te paralizira in celo ubije. Kofein je v večjih količinah za človeka lahko strupen in lahko povzroči tudi odvisnost. Največ kofeina je v skodelici kave, sledita čaj in kola. Kavna zrna sorte 'arabica' vsebujejo približno 1 % teže kofeina. S praženjem se vsebnost kofeina ne spremeni bistveno, saj je molekula temperaturno zelo obstojna. Za en kapučino rabimo 7 g mlete kave, ki bi torej vsebovala 70 mg kofeina, vendar v kavo ne preide celotna količina, pač pa nekaj več kot pol. S kozarcem kokakole (*Sterculiaceae cola vera*) (2 dl) zaužijemo približno 25 mg kofeina. V običajni tableti proti bolečinam je v

povprečju prav tako okoli 50 mg kofeina, v močnejših pa štirikrat več. V čaju je kofein (tein) v kompleksu z galotanskimi čreslovinami. Zato je absorbcija kofeina iz črevesja po pitju čaja počasnejša, saj mora kompleks najprej razpasti. Kofein se nato absorbira, čreslovine pa potujejo naprej po tankem črevesju v debelo črevo(<http://www.interchem.si/ponudba/prehrambena-industrija/kofein/>, 23.12.2014)

## 2.6 METODE PRIDOBIVANJA KOFEINA

Metode pridobivanja kofeina so zelo različne. V industriji uporabljajo dva postopka:

- **dekofeinizacija kave in čaja**

Obstajajo tudi ljudje, ki že ob majhnih količinah kofeina občutijo negativne učinke. Iz tega razloga se je industrija že pred več kot 100 leti odločila za proizvodnjo brezkofeinske kave, saj so s tem svoje produkte lahko prodali večjemu številu ljudi. Z dekofeinizacijo tako kave kot čaja dobimo dva uporabna produkta. Eden je kava alipravičajz manj ali celo brez kofeina, drugi uporaben produkt pa je čisti kofein, ki sedodaja pijačam in nekaterim zdravilom. Da pri dekofeinizaciji kave ne pride do izgub v okusu in aromah, se le-ta izvede že prizelenih zrnih, pred praženjem. Pri čaju so težave z izgubami arome večje, zato jih večinoma odstranijo iz listov pred dekofeinizacijo ter jih po končani dekofeinizaciji dodajo nazaj ([http://mafija.fmf.uni-lj.si/seminar/files/2012\\_2013/SUPERKRITICNE\\_TEKOCINE.pdf](http://mafija.fmf.uni-lj.si/seminar/files/2012_2013/SUPERKRITICNE_TEKOCINE.pdf), 26.12.2014).

- **ultrazvočna ekstrakcija kofeina**

Ultrazvok-assisted ekstrakcija je pogosta metoda, uporabljena za izolacijo bioaktivnih snovi iz rastlinskega materiala. Z uporabo tradicionalnih ekstrakcijskih metod, kot so ekstrakcija tekoče-tekoče v topilih, na splošno ožemalni učinek narašča z višanjem temperature. To pogosto povzroča škodo in izgubo kakovosti ekstrakta, saj temperatura vpliva na stabilnost fenolnih spojin. Ultrazvok-assisted ekstrakcija trdno-tekoče se je izkazala kot učinkovita metoda, pri kateri se prihrani čas. Visoko zmogljive ultrazvočne sile zagotavljajo potrebno energijo za ekstrakcijo, tako da je potrebnih manj ali celo nič topil. Zaradi intenzivne ekstrakcije sil ultrazvoka tudi že izrabljena kavna zrna (kavni odpadki) še vedno bogata z izločljivimi spojinami. Ker so kavni odpadni materiali poceni in na voljo v velikih količinah, so idealne surovine za pridobivanje preostalih aktivnih spojin (<http://www.hielscher.com/ultrasonic-extraction-of-caffeine-and-other-active-compounds.htm>, 23. 12. 2014).

## 2.7 UPORABA IN UČINKI KOFEINA

Količine kofeina v različnih napitkih kar precej variirajo, zato je dobro poznati povprečne vrednosti, da lahko približno ocenimo dnevni vnos.

Tabela 2: Približna vsebnost kofeina v različnih živilih

Živilo	Približna vsebnost kofeina (mg)
črni čaj (240 ml)	14 – 61
zeleni čaj (240 ml)	24 – 60
espresso (30 ml)	40 – 75
instant kava (250 ml)	76
kola (355 ml)	30 -35
energijske pijače (250 ml)	76 - 80

(<http://www.nutris.org/prehrana/abc-prehrane/druge-snovi/187-kofein.html>, 23.12.2014)

### 2.7.1 DELOVANJE KOFEINA

Pri zaužitju stimulira delovanje centralnega živčnega sistema, izboljša razpoloženje, zvišuje nivo energije in izboljša mišične dražljaje, do neke mere razbistri glavo in poveča budnost, poveča sposobnost koncentracije in mentalne sposobnosti. Navedeni učinki se od posameznika do posameznika razlikujejo in so odvisni predvsem od telesne mase, pogostosti uživanja, metabolizma, telesne aktivnosti in občutljivosti na kofein. Stranski učinki kofeina se lahko kažejo v pogostejšem uriniranju, saj deluje kot blag diuretik, hitrejšem srčnem utripu, glavobolu, nemirnosti, tresenju in nespečnosti. Tudi ti učinki se razlikujejo od posameznika do posameznika. Lahko pa stranske učinke precej okrepi sočasno uživanje kofeina in nekaterih zdravil. Več kot 99 % kofeina se absorbira v organizmu v manj kot eni uri po zaužitju in v povprečju traja med 5 in 7 ur, da se izloči polovica zaužitega kofeina. Večina opravljenih študij ni dokazala resne povezave med kofeinom in povišanjem holesterola, motenim srčnim utripom ali povečanim tveganjem za kardiovaskularne bolezni, prav tako pa tudi ne povezave med kofeinom in večjo možnostjo obolenja za rakom. Kljub temu pa strokovnjaki pri osebah s povišanim krvnim tlakom, nosečnicah, doječih materah in otrocih priporočajo zmernost in previdnost pri uživanju. (<http://www.nutris.org/prehrana/abc-prehrane/druge-snovi/187-kofein.html>, 23.12.2014)

### 2.7.2 NEŽELENI UČINKI

Jakost neželenih učinkov je odvisna od individualnih dejavnikov in količine zaužitega kofeina. Pri nizkih odmerkih se pojavijo slabost, notranji nemir, nespečnost, tahikardija in prebavne motnje. Pri kronični uporabi se pojavijo draženje želodčne sluznice, diareja, glavobol, nespečnost, nervoza, aritmije, pospešeno delovanje centralnega živčnega sistema, povečano delovanje krvnega obtoka. Zaradi povečanja števila adenozijskih receptorjev se

razvije toleranca, abstinenčni sindromi pa nastopijo približno po 48 urah in so blagi (glavobol, razdražljivost, nihanja v razpoloženju). V večjih odmerkih kofein povzroča drhtenje, razbijanje srca, budnost, vznemirjenost in spahovanje. Veliki odmerki kofeina so smrtni. Smrtna doza kofeina je 10g (približno 170 mg/kg telesne teže). Da bi to dosegli, bi morali zelo na hitro izpiti 80-100 skodelic kave, kar v praksi ni izvedljivo(<http://www.interchem.si/ponudba/prehrambena-industrija/kofein/>, 23.12.2014).

### 2.7.3 ODVISNOST

Nekatere raziskave so pokazale, da kofein povzroča fizično odvisnost. Abstinenčni znaki, ki so posledica pomanjkanja kofeina v organizmu, ki se je navadil na njegove učinke so: glavobol, utrujenost, bolečine v mišicah. Simptomi nastopijo 24 ur po zadnjem odmerku kofeina. Neka raziskava pravi, da se odvisnost razvije pri minimalni dnevni porabi kofeina v količini, ki je v 4 skodelicah kave, druge raziskave pa trdijo, da mora biti dnevna poraba kofeina še večja. (<http://www.interchem.si/ponudba/prehrambena-industrija/kofein/>, 23.12.2014)

## 3 PRAKTIČNI DEL NALOGE

V poglavju praktični del naloge bom opisala svoje raziskovalno delo. Najprej sem se lotila prebiranja strokovne literature, ki sem jo potem uporabila v teoretičnem delu. Potem se je začel zanimivejši praktični del naloge, kjer sem iz črnega čaja pridobivala kofein. Prve, malce nespretne korake sem kmalu premagala in razvila potrebne spretnosti za izvedbo postopkov, ki jih bom natančno opisala v nadaljevanju.

### 3.1 PRIPRAVA PRIPOMOČKOV ZA DELO

Pridobivanje kofeina je temeljilo na metodah ekstrakcije. Bilo je potrebno s pomočjo ustreznega topila iz čaja izločiti kofein. Prvo topilo je bila voda, segreti na 100°C.

Za prvi del poskusa sem potrebovala kar precej pripomočkov.

Vzorci so bili različne vrste črnih čajev. Odločila sem se za primerjavo količine ekstrahiranega kofeina iz eno leto starega in svežega črnega čaja. Primerjala sem količino kofeina v svežem rimfuza črnem čaju in svežem črnem čaju v filter vrečkah. Pod pojmom rimfuza črni čaj mislim na zmlete in razsute delce čaja, ki jih z žličko prenesemo v vročo vodo. Sveži čaj pomeni, da sem ga tik pred eksperimentiranjem kupila v trgovini. Dve vrsti črnega čaja sta bili v razsutem stanju (rifuza), dve vrsti pa v filter vrečkah. V razsutem stanju sem izbrala črni čaj iz trgovine Biotopic z imenom Darjeelingsingbulli in Premium bio črni čaj darjeeling iz Spara. Čaj iz filter vrečk je bil Earl grey (1001 cvet) in čaj Loydblacksense. Leto dni star črni čaj ima poreklo iz Turčije in se imenuje Tirebolu 42. Bil je kupljen v Istambulu in odprt že več kot 6 mesecev.



**Slika 2: Vzorci uporabljenih črnih čajev**

Najprej sem začela s tehtanjem, kjer sem uporabila kar dve tehtnici proizvajalcev Kern. Prva je bila na tri decimalke natančna, druga pa na dve. Uporabljala sem ju za natančno merjenje mase vzorcev čaja.

Za ekstrakcijo kofeina iz črnega čaja s pomočjo vroče vode sem potrebovala:

- električni kuhalnik,
- 500 ml čaše,
- cedilo,
- večplastno gazo,
- uro,
- stekleno palčko,
- brezvodni natrijev karbonat.

Po ekstrakciji kofeina iz črnega čaja s pomočjo vroče vode je sledila ekstrakcija v vodi raztopljenega kofeina s pomočjo diklorometana. Za ta del poskusa sem potrebovala:

- ohlajeno vodno raztopino črnega čaja,
- nasičeno raztopino natrijevega klorida,
- lij ločnik,
- diklorometan,
- stojalo z mufo in prižemo,
- erlenmajerico.

Ko sem z diklorometanom ločila kofein od ostalih primesi, sem nadaljevala z metodami čiščenja raztopine. Pri tem sem potrebovala:

- lij ločnik,
- 5 % raztopino natrijevega hidrogenkarbonata,
- brezvodni natrijev sulfat,
- erlenmajerico,
- naguban filtrirni papir,
- destilacijsko bučko z ravnim dnom,
- stekleno palčko.

Pridobljeno raztopino kofeina v diklorometanu sem ločila v postopku destilacije. Za ta del sem potrebovala:

- električni kuhalnik,



- lonec za vodno kopel,
- termometer,
- destilacijsko bučko,
- vodni hladilnik,
- okroglo bučko s stransko cevjo,
- stojala z mufami in prižemi.

Vse potrebščine za pridobivanje kofeina smo imeli v šoli. Ker je diklorometan kot topilo zdravju škodljiva in celo mutagena snov, sem poskuse izvajala v digestoriju.

Pri delu sem uporabljala vsa zaščitna sredstva:

- zaščitne rokavice iz lateksa,
- zaščitno obleko,
- zaščitna očala.



**Slika 3: Zaščitna sredstva**

### **3.2 IZVEDBA POSTOPKA PRIDOBIVANJA KOFEINA**

Za pridobivanje kofeina sem uporabila že preizkušeno metodo, ki sem jo zasledila v raziskovalni nalogi z naslovom Vpliv izbire topila in pogojev ekstrakcije na izkoristek ekstrakcije kofeina iz črnega čaja oziroma kave (Slapšak, D., 2012, str. 31).

Postopek sem s pomočjo mentorice prilagodila razmeram v osnovnošolskem laboratoriju in razpoložljivim tehničnim pripomočkom za delo. Kljub temu da nisem uporabila povsem enak kemijski pribor, je postopek odlično uspel.

Postopek sem opravila po naslednjih korakih:

1. V 300 ml vrele vode sem raztopila 2 žlički brezvodnega natrijevega karbonata.
2. V 500 ml laboratorijsko čašo sem stehtala 20,0 g čajnega vzorca.
3. V čašo s čajem sem dodala 150 ml vrele vode z raztopljenim natrijevim karbonatom in pustila raztopino počivati sedem minut.



**Slika 4: Kuhanje čaja**

4. Še vroč čaj sem precedila skozi omočeno gazo in cedilo. Gazo s čajem sem ožela in čaj ponovno namestila v čašo.



**Slika 5: Precejanje skozi gazo in cedilo**

5. Preostanek čajasem še enkrat prelila z vročo vodno raztopino natrijevega karbonata, pustila stati sedem minut in ga precedila skozi gazo. Nato se je vodna raztopina čaja na zraku hladila vsaj štiri ure.
6. V hladni čajni ekstrakt sem dodala 20 ml nasičene raztopine NaCl in ekstrakt prelila v lij ločnik.

7. Za ekstrakcijo kofeina v lijuločnikusem dodala 30 ml diklorometana, pri čemer lijaločnika nisem močno stresala, ampak le lahno krožno prelivala. Počakala sem, da se plasti ločita. Večkrat sem odmašila zamašek in izpustila hlape diklorometana.



**Slika 6: Dodajanje diklorometana**



**Slika 7: Prelivanje diklorometana**



**Slika 8: Organska plast in vodna faza**

8. Spodnjo organsko plast z diklorometanom in kofeinom sem odlila v erlenmajerico. Vodno fazo sem še dvakrat spirala s po 30 ml diklorometana. Pri zadnji ločitvi semskupaj z diklorometanom zlila še emulzijo med obema fazama, ki vsebuje tudi nekaj vode.



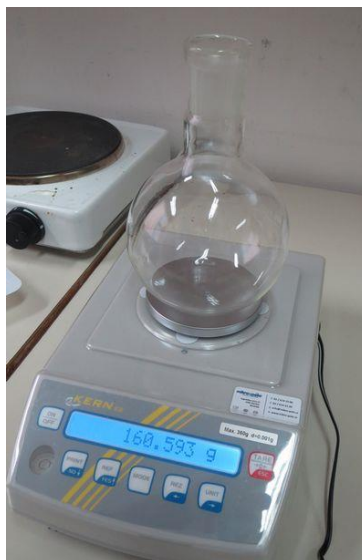
**Slika 9: Emulzija**

9. Organsko fazo (kofein + diklorometan) sem trikrat spirala v liju ločniku z 10 ml 5 % raztopine natrijevega hidrogenkarbonata. Zbirala sem jo v podstavljeni erlenmajerici.



**Slika 10: Lij ločnik**

10. Nato sem stehala destilacijsko bučko in maso zapisala na steklo bučke in v beležko.



**Slika 11: Tehtanje destilne bučke**

11. Organsko fazo (kofein + diklorometan) sem sušila v erlenmajerici z brezvodnim natrijevim sulfatom. Zmes sem preko nagubanega filtrirnega papirja prelila v destilacijsko

bučko. Filter papir sem omočila z minimalno količino diklorometana. Erlenmajerico in sol sem sprala z diklorometanom.

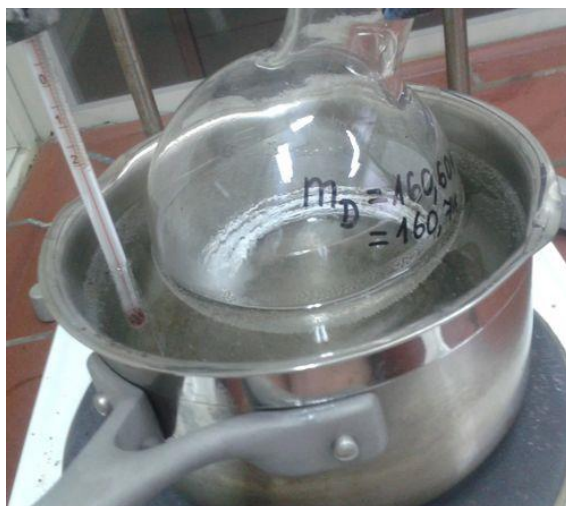


**Slika 12: Sušenje z brezvodnim natrijevim sulfatom**

12. Sestavila sem aparaturo za destilacijo. Destilacijsko bučko sem potopila v vodno kopel, ki sem jo segrela na 60°C. Povezalasem jo z vodnim hladilnikom. Na koncu vodnega hladilnika sem vpela bučko za prestrezanje topila diklorometana.



**Slika 13: Celotna destilacijska aparatura**



Slika 14: Vodna kopel



Slika 15: Kristalizacija kofeina



Slika 16: Ostanek diklorometana

Nasičeno raztopino natrijevega klorida sem pripravila tako, da sem 36 g soli raztopila v 100 ml vode s temperaturo 20°C.

5 % raztopino natrijevega hidrogenkarbonata sem pripravila tako, da sem 5 g soli raztopila v 95 ml destilirane vode.

Po končani destilaciji sem destilacijsko bučko s kofeinom pustila v digestoriju, da se je posušila in je izhlapel ves diklorometan.



**Slika 17: Destilirka s kofeinom in ločenim diklorometanom**



**Slika 18: Kofein je bela trdna snov**

Naslednji dan sem bučko s kofeinom stehtala in maso zapisala v beležko. Odštela sem maso destilacijske bučke in dobila maso pridobljenega kofeina. Pridobljen kofein sem spravila v posodice s pokrovom, ki sem jih označila z datumom izvedbe poskusa in vrsto čaja. Med delom sem fotografirala postopke.





Slika 19: Tehtanje destilirke s kofeinom

### 3.3 REZULTATI

V tabeli tri so napisani vzorci čaja, iz katerih sem po enakem postopku pridobivala kofein. Prva dva vzorca sta črna čaja iz filter vrečke. Drugi dve vrsti čaja sta v razsutem stanju. Zadnja vrsta čaja je črni čaj, ki je bil kupljen in odprt pred eni letom, vendar mu rok trajanja še ni potekel. Za vsako izbrano vrsto čaja sem postopek ekstrakcije kofeina ponovila dvakrat.

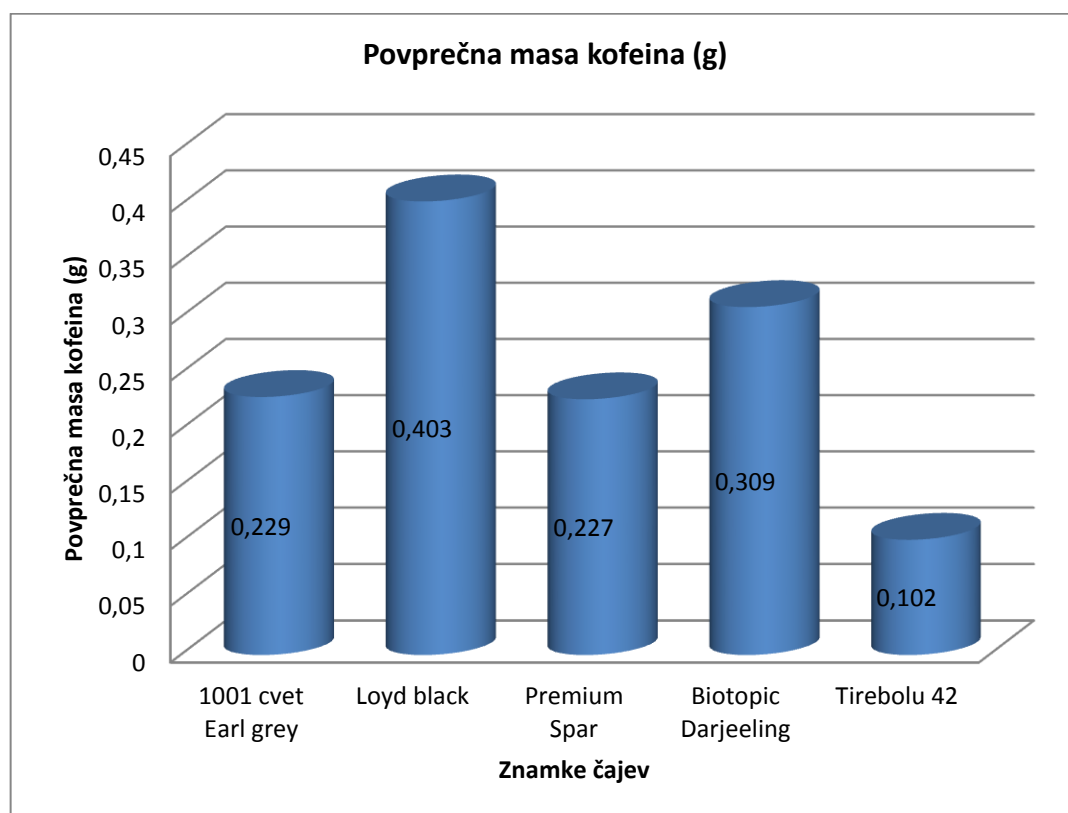
Tabela 3: Prikaz mas kofeina pridobljenih v dveh ekstrakcijah

Znamke črnih čajev	1. ekstrakcija kofeina				2. ekstrakcija kofeina				Povpre- čna masa kofeina (g)
	datum	Masa destilirke (g)	Masa destilirke in kofeina (g)	Masa kofeina (g)	datum	Masa destilirke (g)	Masa destilirke in kofeina (g)	Masa kofeina (g)	
1001 cvet Earl grey	19.11. 2014	160,620	160,865	0,245	10. 12. 2014	163,525	163,738	0,213	0,229
Loydbla ck	3. 12. 2014	160,596	161,025	0,429	10. 12. 2014	160,619	160,996	0,377	0,403
Premi- um Spar	3. 12. 2014	163,481	163,740	0,259	17. 12. 2014	163,476	163,670	0,194	0,227
Biotopic Darjee- ling	26. 11. 2014	160,607	160,934	0,327	17. 12. 2014	160,580	160,870	0,290	0,309
Tirebolu 42	12. 11. 2014	160,624	160,742	0,118	7. 1. 2015	160,590	160,675	0,085	0,102

V grafu 1 sem prikazala povprečne mase pridobljenega kofeina za različne vrste črnega čaja. Povprečno maso pridobljenega kofeina sem izračunala tako, da sem vsoto mas prve in druge ekstrakcije kofeina za posamezno znamko čaja seštela in vsoto delila z 2.

Iz grafa in tabele je razvidno, da si znamke čajev po količini kofeina (od največ do najmanj kofeina) sledijo v tem vrstnem redu:

1. Loydblack,
2. BiotopicDarjeeling,
3. 1001 cvet Earl grey,
4. Premium Spar in
5. Tirebolu 42.



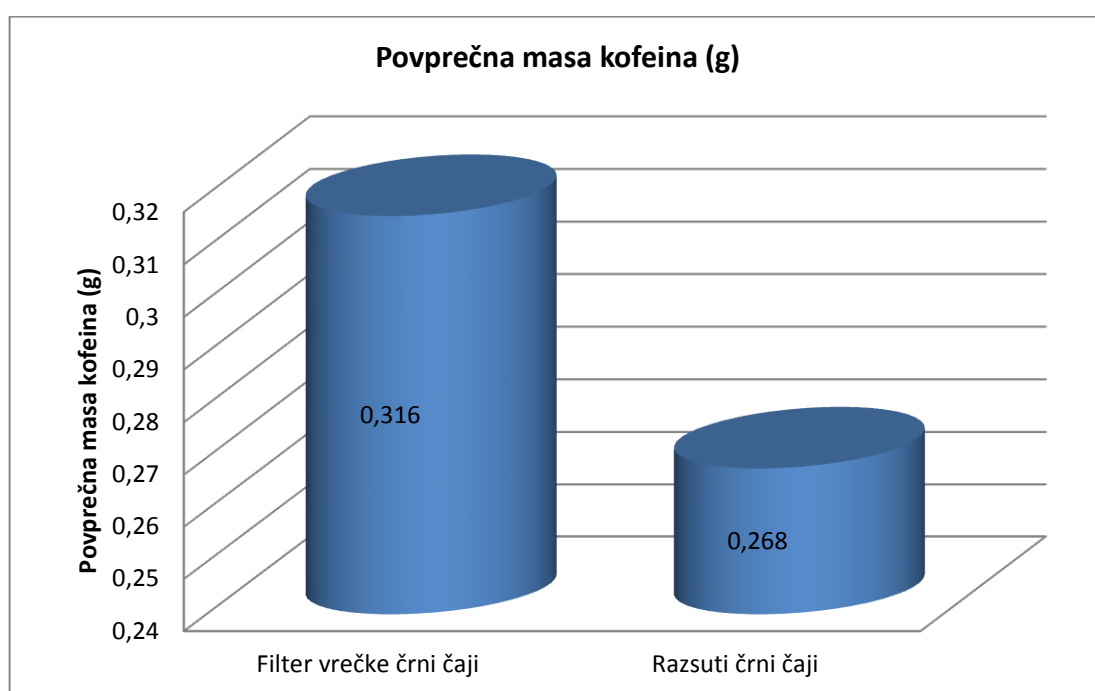
**Graf 1: Prikaz povprečnih mas kofeina v različnih znamkah čaja**

V tabeli 4 sem prikazala povprečno maso kofeina iz obeh znamk črnih čajev iz filter vrečke in povprečno maso kofeina iz obeh znamk razsutih črnih čajev. V tem povprečju ni zajeta masa črnega čaja Tirebolu 42, saj je zelo star, dalj časa odprt, zato njegovo količino kofeina ne morem primerjati s svežim čajem. Povprečje sem izračunala tako, da sem seštela povprečni masi znamk čajev iz filter vrečke in vsoto delila z dva. Postopek sem ponovila tudi pri obeh

znamkah razsutih čajih. Razmerje med povprečno maso pridobljenega kofeina iz čaja iz filter vrečk in razsutega čaja prikazuje graf 2.

**Tabela 4: Prikaz povprečnih mas kofeina v instant in razsutem črnem čaju**

Vrste čajev:	Povprečna masa kofeina (g)
filter vrečke črni čaji	0,316
razsuti črni čaji	0,268



**Graf 2: Prikaz povprečne mase pridobljenega kofeina iz črnega čaja v filter vrečkah in razsutega črnega čaja**

## 4 DISKUSIJA

Čeprav me je moja neizkušenosť na začetku ovirala pri delu, sem se dokaj kmalu navadila na laboratorijsko delo. Največje probleme sem imela s tehtnico, natančno na tri decimalke, saj se je že ob rahli sapici zadnja decimalka spremenila. Majhen problem so bile tudi izgube, ko je pri kuhanju čaja kakšna kapljica padla tudi na pult ali na tla. Na srečo te težave na koncu niso pretirano vplivale na rezultate in sem s svojim delom zadovoljna. Da se bo več kofeina izločilo iz izbranih črnih čajev v filter vrečkah, sprva nisem domnevala, saj lahko v zakrite čajne mešanice dodajajo marsikaj. Šele ko sem pri tehtanju raztrgala čajne filter vrečke, sem opazila, da so delci črnega čaja veliko bolj zdrobljeni kot v izbranem razsutem čaju. Njihov videz je spominjal na zmleto pravo kavo. Iz tega sem sklepala, da bo manjša velikost delcev in s tem večja skupna površina vplivala na učinkovitost ekstrakcije kofeina, saj bo

postopek za vse znamke čaja povsem enak. Zavedala sem se, da izbrani postopek ne bo iz črnega čaja izločil čisto vsega kofeina. Toda če delo opravim po enakem postopku za vse znamke čajev, lahko primerjam znamke čajev po količini kofeina in jih razvrstim po vsebnosti kofeina v neko zaporedje. Spraševala sem se, zakaj je postopek takšen, da izvedemo ekstrakcijo črnega čaja najprej z vročo vodo, kasneje pa iz ohlajene vode ekstrahiramo kofein z diklorometanom. Dognala sem, da vroča voda uniči celične stene drobnih lističev črnega čaja in hkrati raztopi kofein, ki je veliko bolje topen v vodi, segreti na 100°C. V vrelo vodo se izločijo še številne druge snovi. Tanini vodo obarvajo črno. Tanini imajo kislo reakcijo in so dobro topni tudi v diklorometanu. Če vodi dodamo natrijev karbonat, pride do nevtralizacije, pri čemer iz taninov nastanejo soli, ki so veliko bolje topne v vodi. Izločita se še dva alkaloida teobromin in teofilin. Z dodatkom raztopine natrijevega hidrogenkarbonata se spremenita v ionski spojini, ki sta bolje topni v vodi kot v diklorometanu. Nasičena raztopina natrijevega klorida naj bi preprečevala nastanek emulzije med vodno fazo in diklorometanom v liju ločniku. Emulzija nastane, ko preveč stresamo tekočini in se kapljice ene tekočine ujamejo v drugo topilo. Po dokončni ločitvi diklorometana od vodne faze je zato potrebno z brezvodnim natrijevim sulfatom dokončno odstraniti primesi vode. Razmišljala sem, zakaj iz vodne raztopine čaja ekstrahiramo kofein prav z diklorometanom, saj je zdravju škodljiv in še pri stresanju lija ločnika moramo biti zelo pazljivi zaradi hlapov. Po razmisleku sem ugotovila, da ima kar nekaj za ekstrakcijo dobrih lastnosti. Z vodo se ne meša in je težji od nje. S kofeinom ne reagira, ga le bolje raztaplja kot voda. Ima tudi nizko vrelišče, da ga z lahkoto ločimo pri destilaciji. Se pa moramo pri delu z njim dobro zaščititi, saj bi vdihovanje na dolgi rok človeku lahko škodovalo. Obstaja sum, da je diklorometan rakotvorna snov. Hlapov ne smemo vdihovati, zato mora biti med delom poskrbljeno za dobro zračenje. Med ekstrakcijo z diklorometanom je bila vključena vleka v digestorij, ki je odstranjeval odvečne hlapce.

Domnevalasem tudi, da čeprav kofein ni hlapen, je v staremčrnem čaju vseeno nekaj manj kofeina kot v sveže odprtem čaju. Sveži črni čaj se nam zdi bolj aromatičen kot črni čaj, ki je že dalj časa odprt. Imela sem namreč črni čaj Tirebulu 42, uvožen iz Turčije. Količina čaja je znašala 1 kg. Vrečka z razsutim črnim čajem je bila odprta več kot šest mesecev. Čez poletje je bil na sobni temperaturi in močno se je razdišaval. Iz čaja Tirebulu 42 se je res izločila manjša količina kofeina kot pri ostalih svežih črnih čajih. Upala sem, da bom pravočasno iz Turčije, kjer je bil ta čaj kupljen, dobila še sveži črni čaj iste znamke. Tako bi lahko primerjala količini izločenega kofeina. Žal so mi prinesli povsem napačen turški črni čaj, zato primerjava ni bila mogoča. Vendar po tehtnem razmisleku ni preveč verjetno, da bi se v eno leto starem čaju zmanjšala količina vsebovanega kofeina, se pa zmanjša aromatičnost takšnega čaja. Domnevam, da je ta znamka črnega čaja vsebovala manjše količine kofeina v zdrobljenih čajnih lističih.

Poleg tega se mi je zdelo, da so v črnem čaju v filter vrečki lahko med pakiranjem dodane kakšne neškodljive primesi, ki bi pocenile proizvod. Predvidevala sem, da jim dodajo različne umetne arome ali druge primesi. V načrtu sem imela še kromatografijo pridobljenega kofeina. Kromatografija bi bila smiselna, če bi imela za primerjavo čisti kofein. Ker ga nisem dobila pravočasno, je ta del poskusa odpadel. Zato ne morem ugotoviti, kako je bil v ekstrakciji pridobljen kofein iz črnega čaja čist. Po videzu je bil večinoma čiste bele barve, le v čajih iz filter vrečk je bilo malenkost rjavih primesi. Vendar se mi zdi, da so

primesi bolj posledice nepazljivosti pri izvedbi ekstrakcije, saj sem pri drugi ponovitvi poskusa dobila povsem bel kofein iz iste znamke črnega čaja.

Svoje hipoteze sem preverjala z eksperimentiranjem, pri katerem ni bilo večjih težav. Zanimivo se mi je zdelo, da se je na stenah lija ločnika med ekstrakcijo kofeina v diklorometanu pri nekaterih čajih naredila čudna smola. Kasneje sem opazila podobno smolo in olju podobno tekočino na vrhu diklorometana tudi v steklenici, v kateri sem shranila uporabljeni diklorometan. Sklepam, da je ta tekočina eterično olje, ki se je pri destilaciji prav tako ločila od kofeina. Drugih nenavadnih opažanj pri praktičnem delu ni bilo. Ko sem imela zbrane vse mase destilirnih bučk pred destilacijo in po njej, sem mere vnesla v tabelo in izračunala dejanske mase pridobljenega kofeina. Za tem sem naredila grafe, da sem lahko analizirala podatke. Zavedam se, da iz črnega čaja nisem pridobila vsega kofeina. Ker sem pridobivala kofein iz vseh čajev po enakem postopku v dveh izvedbah poskusov, lahko primerjam mase kofeina različnih čajev med seboj. Že na začetku eksperimentiranja je izgledalo, da sem imela v prvi hipotezi prav, kar so pokazali izračuni povprečnih mas kofeina črnega čaja iz filter vrečk in razsutega črnega čaja. Podatki kažejo, da se je več kofeina izločilo iz črnih čajev iz filter vrečk, kar sem prikazala v grafu 2. Sicer ni nujno, da ima to, ali je črni čaj iz filter vrečke ali razsuti, kakšno ogromno povezavo s količino kofeina v njem, lahko pa tudi.

Zelo sem bila razočarana, ker zaradi omejenih surovin nisem mogla nadaljevati z raziskovanjem starega in svežega čaja Tirebolu 42 in čistoče kofeina iz filter vrečk in razsutih črnih čajev. Zato se je moje eksperimentiranje v tej raziskovalni nalogi končalo z uspešno dvakrat ponovljeno ekstrakcijo kofeina iz petih izbranih znamk čajev in ugotavljanjem mase kofeina.

#### **4.1 POTRDITEV HIPOTEZ**

V prvi hipotezi sem predvidevala, da bom več kofeina pridobila iz črnega čaja iz filter vrečk. To hipotezo sem potrdila, saj so pridobljeni rezultati pokazali, da v povprečju izbrani črni čaj iz filter vrečk vsebuje več kofeina kot izbrani razsuti črni čaj.

V drugi hipotezi sem sklepala, da se s starostjo količina kofeina v črnem čaju lahko zmanjša. Hipoteze ne morem popolnoma potrditi, saj kljub temu, da sem iz starega čaja Tirebolu 42 ekstrahirala najmanj kofeina, količine ne morem primerjati s svežim čajem, saj ga na žalost ni bilo več mogoče dobiti.

V tretji hipotezi sem predvidevala, da bo več primesi v kofeinu, pridobljenem iz črnega čaja iz filter vrečk. Tudi te hipoteze ne morem potrditi, saj nikakor nisem mogla dobiti čistega kofeina za primerjavo in sem morala že pred začetkom opustiti nadaljnje eksperimentiranje oz. primerjavo čistoče kofeina iz črnega čaja iz filter vrečk in razsutega črnega čaja.

## 5 ZAKLJUČEK

S še eno raziskovalno nalogo sem še bolj razširila svoje znanje ter izkušnje in nikakor ne obžalujem dolgih popoldnevov, ki sem jih zaradi eksperimentiranja še dodatno preživela v šoli. Ko sem z raziskovalno nalogo začela, še nisem bila popolnoma prepričana vase, saj v šoli takrat še nismo dobro predelali snovi, precej pa me je v paniko spravilo dejstvo, da delam z mutageno snovjo diklorometanom in da bi lahko lij ločnik počil, če bi pretirano mešala. Z eksperimentiranjem sem spoznala, da se ti, če upoštevaš navodila, ne more zgoditi praktično nič. Delo je bilo natančno, a vseeno zabavno in ker sem že prej razmišljala o študiju naravoslovnih ved, me je delo v laboratoriju še bolj prepričalo o pravilni izbiri srednje šole in poklica. Pridobila sem veliko dodatnega znanja na področju kemije. Najbolj me je prevzela metoda ekstrakcije, ki jo pogostoma uporabljamo v vsakdanjem življenju, pa se tega sploh ne zavedamo. Všeč mi je bilo, da sem lahko vse eksperimente izvedla v šoli, pri tem resnično garala, vendar so bili občutki, ki so me spremljali med delom, zelo pozitivni, saj sem teoretična znanja uspešno preizkušala v praksi. To znanje mi bo v prihodnosti gotovo koristilo in prepričana sem, da bom z raziskovalnim delom nadaljevala tudi v srednji šoli.

## LITERATURA

Standage Tom, 2008, Zgodovina sveta v šestih kozarcih, Ljubljana, Študentska založba.

Cortese Dario, 2004, Čaj, čas za zdaj, Ljubljana, Založba Kmečki glas.

Spletni viri:

Vpliv izbire topila in pogojev ekstrakcije na izkoristek ekstrakcije kofeina iz črnega čaja oziroma kave, raziskovalna naloga, Dejan Slapšak, Saša Počivalšek. Najdeno dne 15. 8. 2014 na spletnem naslovu <http://www.knjiznica-celje.si/raziskovalne/4201203874.pdf>

Črni čaj - splošno in priprava. Najdeno 20.12.2014 na spletnem naslovu <http://www.cha.si/crni-caj-splosno-priprava/>

Kofein. Najdeno 23.12.2014 na spletnem naslovu <http://www.nutris.org/prehrana/abc-prehrane/druge-snovi/187-koferin.html>

Kofein. najdeno 23.12.2014 na spletnem naslovu <http://www.interchem.si/ponudba/prehrambena-industrija/koferin/>

Ultrazvočna ekstrakcija kofeina in drugih aktivnih spojin. Najdeno 23.12.2014 na spletnem naslovu <http://www.hielscher.com/sl/ultrasonic-extraction-of-caffeine-and-other-active-compounds.htm>

Alkaloidi, najdeno 26.12.2014 na spletnem naslovu <http://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/alkaloidi>

Superkritične tekočine, seminar avtorice Mance Mrvar. Najdeno 26.12.2014 na spletnem naslovu [http://mafija.fmf.uni-lj.si/seminar/files/2012\\_2013/SUPERKRITICNE\\_TEKOCINE.pdf](http://mafija.fmf.uni-lj.si/seminar/files/2012_2013/SUPERKRITICNE_TEKOCINE.pdf)

Neverjetno, kakšen učinek ima. Najdeno 11.1.2015 na spletnem naslovu <http://vizita.si/clanek/zdravozivljenje/ne-boste-verjeli-kaj-vse-lahko-stori-za-vas.html>