

Gimnazija Kranj

# Kako trdota vode vpliva na odstotni delež ekstrahiranega kofeina iz fino mlete mešanice kavnih zrn Robusta in Arabica, kuhanje z kavomatom?

*Pridobitev kave z maksimalno vsebnostjo kofeina.*

Področje: Druga področja kmetijstvo, biotehnologija in  
prehrana

Raziskovalna naloga

Avtor: Brina Lukančič

Mentor: Petra Flajnik

Kranj, 2023

## **Zahvala**

Rada bi se zahvalila mentorici profesorici Petri Flajnik, za pomoč in vodenje pri razvoju ideje.

# Kazalo vsebine

|              |  |    |
|--------------|--|----|
| <b>1.</b>    | <b>Uvod</b>  | 5  |
| <b>2.</b>    | <b>Teoretično ozadje</b>   | 6  |
| <b>2.1</b>   | <b>Kofein</b>  | 6  |
| <b>2.2</b>   | <b>Trdota vode</b>   | 6  |
| <b>2.3</b>   | <b>Vpliv trdote vode na vsebino kofeina</b>                      | 7  |
| <b>2.4</b>   | <b>Ekstrakcija tekoče-tekoče</b>                                 | 7  |
| <b>2.5</b>   | <b>Kloroform</b>   | 7  |
| <b>3.</b>    | <b>Eksperimentalni del</b>                                       | 8  |
| <b>3.1</b>   | <b>Spremenljivke</b>   | 8  |
| <b>3.1.1</b> | <b>Neodvisna spremenljivka</b>                                   | 8  |
| <b>3.1.2</b> | <b>Odvisna spremenljivka</b>                                     | 8  |
| <b>3.1.3</b> | <b>Kontrolirane spremenljivke</b>                                | 9  |
| <b>3.2</b>   | <b>Materiali uporabljeni v eksperimentu</b>                      | 10 |
| <b>3.3</b>   | <b>Metode raziskovalnega dela</b>                                | 10 |
| <b>3.3.1</b> | <b>Priprava vzorcev z različno trdoto</b>                        | 10 |
| <b>3.3.2</b> | <b>Kuhanje kave</b>  | 11 |
| <b>3.3.3</b> | <b>Ekstrakcija tekoče-tekoče</b>                                 | 11 |
| <b>3.3.4</b> | <b>Ekstrakcija kofeina iz kloroformom</b>                        | 11 |
| <b>4.</b>    | <b>Rezultati</b>   | 13 |
| <b>4.1</b>   | <b>Neobdelani podatki</b>  | 13 |
| <b>4.2</b>   | <b>Izračun odstotnega deleža kofeina</b>                         | 13 |
| <b>4.3</b>   | <b>Graf povprečnega odstotnega deleža ekstrahiranega kofeina</b> | 14 |
| <b>4.4</b>   | <b>Izračun napake</b>  | 15 |
| <b>5.</b>    | <b>Razprava</b>  | 16 |
| <b>5.1</b>   | <b>Hipoteze</b>  | 16 |
| <b>5.2</b>   | <b>Prednosti metode</b>  | 16 |
| <b>5.3</b>   | <b>Omejitve metode</b>   | 17 |
| <b>6.</b>    | <b>Zaključek</b>   | 18 |
| <b>7.</b>    | <b>Viri in literatura</b>  | 19 |
| <b>8.</b>    | <b>Viri slik</b>   | 21 |

## Kazalo slik

|  |    |
|--|----|
| Slika 1: Strukturna formula kofeina (Oestrich-Janzen, 2016).....   | 6  |
| Slika 2: Strukturna formula kloroforma (Anon, 2021) .....  | 8  |
| Slika 3: Aparatura za destilacijo (hladilna cev, destilirna bučka, bučka, gorilnik, izparilnica, 2 stojali, hladna voda iz pipe in čaša) (Brina Lukancič, 2022)..... | 12 |
| Slika 4: Kofein (rjav prah), ki je ostal po izparevanju kloroforma (Lukančič, 2022).....   | 12 |

## Kazalo tabel

|  |                              |
|--|------------------------------|
| Tabela 1: Topnost kofeina v različnih topilih (Vuong and Roach, 2013))..   | Error! Bookmark not defined. |
| Tabela 2:Številka vzorcev z njihovo trdoto vode v mg/L.....  | 8                            |
| Tabela 3: Laboratorijska oprema in materiali .....   | 10                           |
| Tabela 4: Prikaz mase kofeina ekstrahiranega iz vsake ponovitve vzorca, skupaj z povprečno vrednostjo vsakega vzorca ..... | 13                           |
| Tabela 5: Tabela prikazuje povprečni odstotni delež vsakega vzorca in njihovo standardno deviacijo                         | 14                           |
| Tabela 6: Prikaz napak .....   | 15                           |

## Povzetek

V tej raziskovalni nalogi je bilo ugotovljeno, da trdota vode vpliva na količino odstotnega deleža ekstrahiranega kofeina iz fino mlete mešanice kavnih zrn Robusta in Arabica, kuhanje z kavomatom. Ugotovljeno je bilo da čim trša je voda s katero kuhamo kavni napitek, tem več kofeina se bo iz fino mletih kavnih zrn izločilo. Glede na graf ustvarjen na podlagi rezultatov tega eksperimenta, imajo vzorci z mehkejšo vodo strmejši koeficient krivulje pri naraščanja odstotnega deleža izločenega kofeina iz kavnih zrn. V nalogi so bile za ta sklep uporabljene naslednje metode: priprava različnih vzorcev vod z različno trdoto, kuhanje kave, ekstrakcija tekoče-tekoče, pri kateri je bil kot organsko topilo uporabljen kloroform, in destilacija kloroforma. Produkt vseh teh metod je bila količina kofeina v vsakem kavnem napitku, s pomočjo katere je bil izračunan odstotni delež izločenega kofeina pri vsakem vzorcu.

In this research, it was found that water hardness effects the percentage yield of caffeine extracted from batch brewing fine grinded coffee beans of Arabica and Robusta blend. In the research, it was concluded that the harder the water with which we make the coffee beverage is, the more caffeine is extracted from the coffee beans while cooking the beverage. It was also concluded, that on the graph, the coefficient of the line is bigger and with that the curve steeper with the samples of lower water hardness. In the research, the following methods were used to get the end product, caffeine, from each coffee beverage made - preparing different samples of water with different water hardness, batch brewing the coffee beans and with that preparing the coffee beverage, liquid-liquid extraction, at which the organic solvent was chloroform, and distillation process. The product of all these methods was a mass of caffeine for each coffee beverage, with the help of which, the percentage yield of extracted caffeine from the coffee beans was calculated.

## 1. Uvod

Kot skoraj vsak navdušenec nad kavo sem tudi sama opazila drugačen okus espressa glede na državo, kjer sem ga pila. Dejstvo da naj bi bil recept zanj univerzalen po celiem svetu, me je privedlo do razmišljanja, da je razlika v okusu kavnega napitka najbrž zaradi različne vrste ali celo različne stopnje praženosti kavnih zrn iz katerih je napitek pripravljen. Nekaj internetnih zavirkov kasneje, mi je postalo jasno da stopnja praženosti in vrsta kave nista glavna razloga za različne okuse kav po svetu – našla sem namreč strokovne vire, ki so trdili, da se okus kave spremeni s trdoto vode, ki jo uporabimo pri sami pripravi tega napitka. Kljub temu da je veliko virov opisovalo spremembu okusa kave z uporabo različne trdote vode ob kuhanju, pa noben izmed teh virov ni omenil kako trdota vode vpliva na najpomembnejši aspekt pri samem pitju - vsebnost kofeina. Ravno zaradi pomankanja te informacije in pa zato, ker večina ljudi kavo piye ravno zaradi te substance, sem se odločila svojo raziskovalno nalogu nameniti vplivu trdote vode na odstotni delež ekstrahiranega kofeina iz kavnih zrn. Kava, ki sem jo uporabila je bila fino mleta mešanica kavnih zrn Robusta in Arabica, ki sem jo pripravila v domačem kavnem aparatu.

Z rezultati te raziskave bi posameznikom omogočili izračun zaužitega kofeina na dan, glede na trdoto vode občine v kateri posameznik stane. To bi bilo lahko za določene posameznike nadvse koristno, saj bi s tem lahko pazili da ne prekoračijo maksimalne priporočene doze kofeina na dan (400 mg). Prav tako bi s temi rezultati lahko pomagali ljudem, ki kavo pijejo predvsem zaradi kofeina, saj bi z njihovo pomočjo lahko pridobili maksimalno količino le tega v svojem napitku. (Nichols, 2017)

Med zbiranjem gradiva za teoretično ozadje te naloge, sem našla predvsem dva pomembna članka na podlagi katerih sem postavila tudi hipotezi za mojo raziskavo. Prvi pomemben članek je »*The role of Dissolved Cations in Coffee Extraction*<sup>1</sup>« izdan leta 2014, katerega avtorji so Christopher H. Hendon, Lesley Colonna-Dashwood in Maxwell Colonna-Dashwood. V članku je dokazano, da je vodna koncentracija Mg<sup>2+</sup> in Ca<sup>2+</sup> (ki povzročata trdoto vode) pomembna za vezavo kofeina pri ekstrakciji kave. Na podlagi tega članka sem postavila svojo prvo hipotezo, ki trdi, da se bo s povečanjem trdote vode vzorca povečal tudi odstotni delež kofeina v kavnem napitku.

Drugi pomemben članek za mojo raziskavo, pa je bil Wellingerjev članek »*Chapter 16: Water for Extraction - Composition, Recommendations and Treatment*<sup>2</sup>« iz leta 2017, v katerem je avtor trdil, da se pri uporabi vode z trdoto vodo več kot 300 mg/l ekstrakcija kofeina iz kavnih zrn upočasni. Na podlagi tega članka, sem postavila drugo hipotezo, ki trdi da bo največji koeficient krivulje na grafu dosežen pri mehkejših vodah. (Hendon et al., 2014) (Wellinger, 2017)

Ta raziskovalna naloga je ločena na štiri glavne dele: na teoretično ozadje, eksperimentalno delo, rezultate in razpravo. V prvem delu, **2. Teoretično ozadje**, sem zbrala osnovne informacije za razumevanje mojega eksperimenta - vsebuje namreč opis kofeina, trdote vode, vpliv trdote vode na ekstrakcijo kofeina, opis ekstrakcije tekoče-tekoče in pa opis kloroformna. V drugem poglavju, **3. Eksperimentalni del**, sem dodala opis neodvisne in odvisne spremenljivke ter opise kontroliranih spremenljivk, ter seznam materialov in substanc ki sem jih uporabila, v njem pa sem opisala tudi metode svojega raziskovalnega dela. V tretjem delu, **4. Rezultati**, sem zbrala dobljene podatke in iz njih izračunala odstotni delež kofeina za vsak vzorec. Iz teh rezultatov, sem nato ustvarila graf, za lažjo potrditev oz. zavrnitev postavljenih hipotez. Na koncu tega sklopa sem seštela še svoje napake med raziskovanjem.

V četrtem, glavnem delu, **5. Razlaga**, sem dobljene rezultate obrazložila in jih primerjala z postavljenimi hipotezami ter naštela prednosti in omejitve svojega eksperimenta.

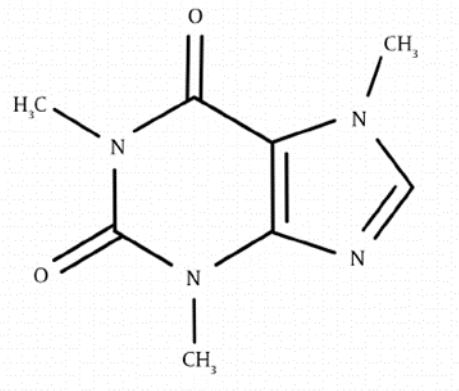
<sup>1</sup> O vlogi raztopljenih kationov pri ekstrakciji kofeina

<sup>2</sup> Poglavlje 16: Voda za ekstrakcijo - Sestava, priporočila in uporaba

## 2. Teoretično ozadje

### 2.1 Kofein

Odkar je bil kofein prvič izoliran leta 1820, je postal eden izmed najbolj razširjenih legalnih drog na svetu. Večina ljudi ga zaužije s pitjem kave oziroma čaja. Kofein oziroma 1,3,7-trimetilkantin/ 1,3,7-trimetil-2,6-dioxopurin s formulo C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>, je naraven stimulant, ki ga najdemo v semenih, listih in pa sadežih velike večine rastlin. Kofein je alkaloid, kar pomeni da vsebuje dušik in ima farmakološke učinke na ljudi in živali. Kemijska struktura kofeina je vidna na *Slika 1.* (Oestreich-Janzen, 2016) (Petre, 2020)



*Slika 1: Strukturna formula kofeina (Oestrich-Janzen, 2016)*

Čisti kofein je bel kristalni prah, zelo grenkega okusa. Sublimira pri 178°C, njegova topnost pa je odvisna predvsem od topila (*Tabela 1*). (Petre, 2020)

*Table 1: Topnost kofeina v različnih topilih (Vuong and Roach, 2013))*

| Topilo                     | Topnost kofeina [mg/ml] |
|----------------------------|-------------------------|
| H <sub>2</sub> O pri 25°C  | 22                      |
| H <sub>2</sub> O pri 100°C | 678                     |
| Kloroform                  | 180                     |

### 2.2 Trdota vode

Organizacija WHO trdoto vode označuje kot njen kapaciteto da reagira z milom. Trdota vode ni odvisna le od ene same substance, ampak od različnih raztopljenih polivalentnih kovinskih ionov – večinoma so to magnezijevi in kalcijevi kationi, vendar k trdoti vode prispevajo tudi aluminijevi, barijevi, železni... kationi. Trdoto vode merimo v miligramih kalcijevega karbonata na liter. Voda katere količina kalcijevega karbonata na liter je manj kot 60 mg/l je mehka voda, 60-120 mg/l je zmersko trda voda, 120-180 mg/l je trda voda in 180 mg/l je zelo trda voda. (McGowan, 2000) (WHO, n.d.).

### **2.3 Vpliv trdote vode na vsebino kofeina**

Glede na študijo »*The Role of Dissolved Cations in Coffee Extraction*<sup>3</sup>«, ki so jo izvedli Christopher H. Hendon, Lesley Colonna-Dashwood in Maxwell Colonna-Dashwood leta 2014, sta koncentraciji  $Mg^{2+}$  in  $Ca^{2+}$  v vodi, zelo pomembni za ekstrahiranje kofeina iz kave. Glede na študijo naj bi se kofein bolje vezal na  $Mg^{2+}$  katione kot  $Ca^{2+}$  katione, medtem ko se na raztopljeni  $Na^+$  katione kofein sploh ne veže. (Hendon et. al., 2014)

Poleg tega pa Wellinger pravi, da trdota vode, ki je večja od 300 mg/l, upočasni ekstrakcijo kofeina in drugih topil v procesu ekstrakcije. Več kot je kavnih kislin, ki se ekstrahirajo iz kavnih zrn, večja je nevtralizacija hidrogen karbonata v vodi. Pri tem procesu nastane ogljikova kislina, ki pa se nato lahko pretvori v ogljikov dioksid. (Wellinger, 2017)

### **2.4 Ekstrakcija tekoče-tekoče**

Ekstrakcija je prenos spojin iz trdnega ali tekočega stanja v drugo fazo oziroma v drugo topilo.

Ekstrakcija je glavna metoda za izolacijo spojin iz rastlinskih materialov. (Nichols, 2022)

Ena najpogosteje uporabljenih ekstrakcijskih metod je ekstrakcija tekoče-tekoče, ki jo izvedemo v lij ločniku. Ekstrakcijo tekoče-tekoče izvedemo tako, da premikamo spojine iz ene tekočine v drugo. S tem omogočimo enostavno koncentriranje in tako selektivno odstranjevanje komponent v mešanici. Raztopino, ki vsebuje raztopljeni substance, prelijemo v lij ločnik in dodamo topilo, ki se ne meša s prvotno tekočino, tako da dobimo v lij ločniku dve plasti tekočin. Najpogosteje za ekstrakcijo tekoče-tekoče uporabimo tekočine tako, da je ena plast anorgansko topilo, drugo pa organsko. Komponente se same od sebe premikajo iz ene plasti v drugo, hitrost pa je odvisna predvsem od njihove topnosti v vsaki tekočini. Uporaba lij ločinka omogoča učinkovito drenažo obeh topil in vidno ločitev obeh plast. (Nichols, 2022)

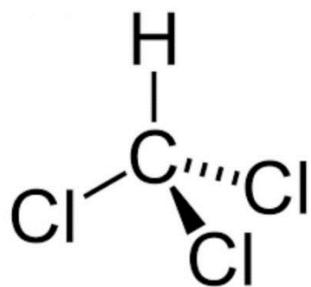
V tem poskusu je bil kloroform uporabljen kot organsko topilo, kavni napitek (topilo za kofein je bila voda) pa kot vodna plast.

### **2.5 Kloroform**

Kloroform ali triklorometan je negorljiva, bistra in brezbarvna tekočina, ki je gostejša od vode in ima prijeten vonj po etru. Njegova formula je  $CHCl_3$ . Včasih se je kloroform uporabljal predvsem kot inhalacijski anestetik med operacijami, danes pa se večinoma uporablja v industriji pri proizvodnji hladilnega freona. Kloroform je strupen, lahko povzroči akutno okvaro jeter, srčno aritmijo, slabost in disfunkcijo centralnega živčnega sistema. Ima razmeroma nizko vrelišče 61,5 °C, kar je v tem eksperimentu zelo pomembno, saj omogoča enostavno odstranitev kloroforma v fazi destilacije. Struktura kloroforma je prikazana na *Slika 2.* (Thermopedia, 2011) (Carey, 2021) (NCL, n.d.)

---

<sup>3</sup> O vlogi raztopljenih kationov pri ekstrakciji kofeina



Slika 2: Strukturna formula kloroformata (Anon, 2021)

### 3. Eksperimentalni del

#### 3.1 Spremenljivke

##### 3.1.1 Neodvisna spremenljivka

Neodvisna spremenljivka v tem eksperimentu je trdota vode. Za eksperiment sem pripravila 5 različnih trdot vode, vse pa sem pridobila z redčenjem vzorca številka 1. Vzorec številka 1 sem pridobila iz mineralne vode brez CO<sub>2</sub>, katere trdota je bila 900 mg/l. Ta vzorec je bil nato razredčen z destilirano vodo, da sem pridobila vzorce z različno trdoto, ki pa sem jo določila pred redčenjem na podlagi zbranega teoretičnega ozadja. Za lažje razumevanje in prikaz trdote vode v vsakem vzorcu, sem podatke zbrala v Tabelo 2.

Tabela 1: Številka vzorcev z njihovo trdoto vode v mg/l

| Številka vzorca | Trdota vode (mg/l) |
|-----------------|--------------------|
| 1               | 900                |
| 2               | 225                |
| 3               | 135                |
| 4               | 45                 |
| 5               | 9                  |

##### 3.1.2 Odvisna spremenljivka

Odvisna spremenljivka v eksperimentu je odstotni delež kofeina, pridobljenega iz vsake kavne kapsule. Odstotni delež sem dobila z destilacijo organskega topila, ki sem ga pridobila z ekstrakcijo tekoče-tekoče kloroformata in kavnega napitka. Po končani destilaciji, je v destilirni bučki ostal le še prah (kofein), ki sem ga stehtala in s tem podatkom izračunala odstotni delež ekstrahiranega kofeina iz kavnih zrn, nato pa ga primerjala z teoretično vrednostjo kofeina v vsaki kapsuli – 147 mg.

Uporabljena enačba za izračun odstotnega deleža ekstrahiranega kofeina:

$$\text{odstotni delež} = \frac{\text{masa kofeina v vzorcu}}{\text{teoretična vrednost kofeina v kapsuli}} \times 100$$

### **3.1.3 Kontrolirane spremenljivke**

Nadzorovane spremenljivke sem razdelila v tri različne kategorije;

#### *I. Spremenljivke kontrolirane s strani proizvajalca kapsul*

Uporabljene so bile kapsule Lungo intense proizvajalca Dolce gusto. Proizvajalec je nadzoroval:

- **Velikost kavnih delcev;** večja velikost kavnih delcev upočasni hitrost ekstrakcije, ker je površina manjša. Kava, uporabljena v poskusu, je bila fino mleta.
- **Vrsta kave;** različne vrste kave vsebujejo različno količino kofeina. Kava, uporabljena v tem poskusu, je bila mešanica vrst Arabica in Robusta.
- **Vrsta praženja;** vrsta praženja kave lahko vpliva na hitrost ekstrakcije kofeina. V tem poskusu je bila uporabljena temno pražena kava.

#### *II. Spremenljivke nadzorovane s postopkom kuhanja v kavomatu*

Uporabljen je bil kavomat Dolce Gusto`s Mini me. Ta je nadzoroval:

- **Čas kuhanja;** daljši kot je čas kuhanja, več kofeina se izloči. Kava, uporabljena v poskusu, je bila pripravljena po metodi za pripravo kave espresso, pri kateri čas priprave ni daljši od nekaj sekund.
- **Temperatura vode med kuhanjem;** temperatura vode med kuhanjem lahko vpliva na ekstrakcijo kofeina iz kavnih zrn. Temperatura vode je bila 83 °C.
- **Metoda kuhanja;** metoda kuhanja vpliva na ostale dejavnike pri pripravi, kot sta čas kuhanja in velikost delcev kave. Pri tem poskusu je bil za pripravo kave uporabljena metoda kavomata.

#### *III. Spremenljivke nadzorovane z moje strani*

- **Velikost lij ločnika:** večja kot je površina kave, ki je v stiku z organskim topilom, več molekul kofeina ima možnost da se raztopi v organskem topilu. V eksperimentu sem uporabila dva enako velika lij ločnika.
- **Metoda;** število pretresanj (vsakič 10 krat), čas, ki je ostal, da sta se tekočini ločili (30 minut); to je pomembno, ker vpliva na medsebojni stik molekul kloroform in kofeina ter tako vpliva na količino kofeina ekstrahiranega iz kavnega napitka.
- **Destilacija;** metoda destilacije je pomembna, saj vpliva na maso ekstrahiranega kofeina (če bi organsko raztopino pustili le na grelni plošči, bi kofein lahko zgorel in imel tako večjo maso)
- **Količina kloroforma in kavnega napitka;** pomembno je, da je količina nadzorovana, saj z njim vplivamo na interakcije med molekulami kloroform in kofeina, kar lahko vpliva na količino kofeina, ekstrahiranega iz kavnega napitka. Za vsako ponovitev sem uporabila enako količino kloroform (40 ml) in kavnega napitka (100 ml).

### 3.2 Materiali uporabljeni v eksperimentu

Tabela 2: Laboratorijska oprema in materiali

| Laboratorijska oprema   | Količina              |
|---|-----------------------|
| Dolce gusto Lungo intenso kapsule   | 15 (1 za vsak poskus) |
| Dolce Gusto`s Mini me kavomat   | 1                     |
| Lij ločnik  | 2                     |
| aparatura za destilacijo (hladilna cev, destilirna bučka, bučka, gorilnik, izparilnica, 2 stojali, hladna voda iz pipe in čaša) | 1                     |
| 100 ml merilni cilinder ( $\pm 1 \text{ ml}$ )  | 1                     |
| Tehnica ( $\pm 0.0005 \text{ mg}$ )   | 1                     |
| Čaša 150 ml   | 1                     |
| Štoparica ( $\pm 0.005 \text{ s}$ )   | 1                     |
| Maska   | 1                     |
| Primež  | 2                     |
| Stojalo   | 2                     |
| <br>  |                       |
| Materiali   |                       |
| Kloroform   | 1 l                   |
| Mineralna voda  | 1 l                   |
| Destilirana voda  | 2 l                   |

### 3.3 Metode raziskovalnega dela

Metode uporabljene v tem poskusu so bile priprava vodnih vzorcev z različno trdoto vode, kuhanje kave, ekstrakcija tekoče-tekoče in destilacija.

#### 3.3.1 Priprava vzorcev z različno trdoto

V prvem koraku eksperimentalnega dela, sem pripravila različne vzorce vod z različno trdoto oziroma vsebnostjo  $\text{CaCO}_3$ . Pripravila sem 5 vzorcev, njihove vrednosti  $\text{CaCO}_3$  pa so zbrane v Tabela 2.

Vsak vzorec sem pripravila z redčenjem vzorca številka 1. Količino destilirane vode, s katero sem razredčila 100 ml mineralne vode (vzorec številka 1), da bi pridobila željeno trdoto vode, sem določila s preprostim izračunom:

$$Volumen_{novega\ vzorca} = \frac{\text{Trdota vode}_{mineralna\ voda} \times volumen_{mineralne\ vode}}{\text{Trdota vode}_{novega\ vzorca\ (določena\ vnaprej)}}$$

$$\begin{aligned} & \text{Količina dodane destilirane vode } 100 \text{ ml mineralne vode} \\ &= Volumen_{novega\ vzorca} - Volumen_{mineralne\ vode} \end{aligned}$$

### **Primer: Izračun volumna destilirane vode za vzorec številka 2**

$$Volumen_{vzorca\ številka\ 2} = \frac{900 \frac{mg}{l} \times 100\ ml}{225 \frac{mg}{l}} = 400\ ml$$

Količina dodane destilirane vode 100 ml mineralne vode za pridobitev trdote vode vzorca številka 2  
=  
400 ml - 100 ml = 300 ml

#### **3.3.2 Kuhanje kave**

Pred vsako ponovitvijo poizkusa sem stroj očistila.

Pred samim kuhanjem kave, sem v kavomat, v razdelek z vodo, nalila enega izmed 5 vzorcev vode, v posodico za kavno kapsulo, pa sem vstavila eno 8 gramsko kapsulo fino mlete kave Dolce Gusto Lungo intenso. Kavomat sem nato prižgala, s čimer sem tudi začela s samim postopkom kuhanja kavnega napitka - ta je skozi filter vstavljen v kapsulo začel pronicati iz kavomata. S tem postopkom sem pridobila 100 ml svežega in filtriranega kavnega napitka.

Postopek kuhanja kave sem ponovila 3-krat za vsak vzorec, kar pomeni da sem skupno skuhala 15 kavnih napitkov.

#### **3.3.3 Ekstrakcija tekoče-tekoče**

Postopek za ekstrakcijo kofeina iz kavnega napitka sem povzela in modificirala na podlagi postopka Požgana in Štefana, iz leta 2016:

100 ml kavnega napitka sem najprej prelila v 250 ml lij ločnik. Nato sem s pomočjo 100 ml merilnega valja odmerila 40 ml kloroform, ki sem ga nato dodala v lij ločnik, v katerem je bil že kavni napitek. Lij ločnik sem nato z vrha zaprla, vzela s stojala in 10-krat pretresla. Po vsakih 2 tresljajih, sem odprla ventil na lij ločniku in tako iz njega izpustila plin. Potem, sem lij ločnik postavila nazaj na stojalo in mešanico pustila pri miru 30 minut, s čimer sem omogočila razdelitev mešanice na 2 plasti - plast kavnega napitka (zgoraj) in plast kloroforma, v katerega se je raztopil kofein (spodaj). Nato sem spodnjo plast kloroforma previdno spustila skozi lij ločnik v 200 ml čašo, ki sem jo postavila pod njim. (Požgan in Štefan, 2016)

Za vsak vzorec trdote vode sem poizkus ponovila 3-krat, kar je skupaj pomenilo 15 ekstrakcij kofeina.

#### **3.3.4 Ekstrakcija kofeina iz kloroformom**

Postopek za ekstrakcijo kofeina iz kloroformu sem povzela in modificirala na podlagi Požgana in Štefana (2016):

Za ekstrakcijo kofeina iz kloroformu, ki sem ga pridobila v ekstrakciji tekoče-tekoče, sem najprej stehala 100 ml destilacijsko bučko na analitski tehnicni in nato zabeležila njeno maso. Nato sem pripravila destilacijsko aparaturo (Slika 3), katera je vsebovala hladilno cev, izparilnico, temperaturno nadzorovano grelno ploščo, destilirano bučko, 2 stojali, hladno vodo iz pipe, čašo, navadno cev... Na koncu vodno hlajenega kondenzatorja sem namestila časo, da bi se vanjo ujel toksičen kloroform. Vodo v izparilnici sem s pomočjo temperaturno nadzorovane grelne plošče segrela na 65 °C, nato pa sem v destilacijsko bučko nalila kloroform, ki je vseboval raztopljen kofein. Destilacijsko bučko sem namestila v destilacijsko aparaturo in jo zaprla na vrhu, tako da so se hlapi kloroforma usmerili v vodno hlajeno cev. Ko je ves kloroform izhlapel iz destilirne bučke, je v hladilni cevi kondenziral in se

v tekoči obliki iztekel v časo na koncu hladilne cevi. V bučki je tako ostal samo kofein (z nekaj nečistočami) v trdnem stanju (*Slika 4*). Po tem, ko je v destilirni bučki ostal le še kofein, je bila ta odstranjena iz aparature in stehtana na analitski tehnicici. Ta masa je bila nato zabeležena. Z odštetjem začetne mase končni sem izračunala maso kofeina.

Za vsak vzorec vode sem poizkus ponovila 3-krat, kar pomeni, da sem skupno opravila 15 ekstrakcij kofeina iz kloroformata.



*Slika 3: Aparatura za destilacijo (hladilna cev, destilirna bučka, bučka, gorilnik, izparilnica, 2 stojali, hladna voda iz pipe in čaša) (Brina Lukančič, 2022)*



*Slika 4: Kofein (rjav prah), ki je ostal po izparevanju kloroformata (Brina Lukančič, 2022)*

## 4. Rezultati

### 4.1 Neobdelani podatki

V tabeli so rezultati vseh mas kofeina za vsak vzorec, pridobljen z ekstrakcijo, destilacijo in na koncu s tehtanjem. Trdota vode v vzorcu **1** je bila **900 mg/l**, vzorcu **2** **225 mg/l**, vzorcu **3** **135 mg/l**, v vzorcu **4** **45 mg/l** in vzorcu **5** **9 mg/l**.

*Tabela 3: Prikaz mase kofeina ekstrahiranega iz vsake ponovitve vzorca, skupaj z povprečno vrednostjo vsakega vzorca*

| Številka vzorca                                      | 1    |      |      | 2    |      |      | 3    |      |      | 4    |      |      | 5    |      |      |
|--|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Ponovitev  | I    | II   | III  | I    | II   | II   | I    | II   | III  | I    | II   | III  | I    | II   | III  |
| Masa kofeina (mg) [ $\pm 0,5 \text{ mg}$ ]           | 96,7 | 97,2 | 97,1 | 83,7 | 84,2 | 84,1 | 77,1 | 77,3 | 76,6 | 53,4 | 52,8 | 52,7 | 44,1 | 44,9 | 43,9 |
| Povprečna masa kofeina (mg) [ $\pm 0,5 \text{ mg}$ ] | 97,0 |      |      | 84,0 |      |      | 77,0 |      |      | 53,0 |      |      | 44,3 |      |      |

### 4.2 Izračun odstotnega deleža kofeina

Glede na spletno stran Caffeine informer, ki hrani podatke o vsebnosti kofeina najbolj popularnih kav, je vrednost kofeina v eni kavni kapsuli Dolce gusto Lungo intenso 147 mg (Caffeine informer, n.d.).

Za določitev učinka trdote vode na količino kofeina, ekstrahiranega iz ene kapsule, sem glede na literarno vrednost kofeina iz spletnih strani Caffeine Informer izračunala odstotni delež ekstrahiranega kofeina iz vsake kapsule.

Formula za izračun odstotnega deleža

*odstotni delež ekstrahiranega kofeina*

$$= \frac{\text{masa kofeina v vzorcu}}{\text{masa teoretične vrednosti kofeina v kapsuli}} \times 100$$

Primer izračuna odstotnega deleža pri eni izmed ponovitev vzorca številka 5:

$$\frac{44,1}{147} \times 100 = 30,0 \%$$

Za vsak vzorec sem izračunala povprečen odstotni delež ekstrahiranega kofeina. To sem storila tako, da sem najprej izračunala odstotni delež za vse ponovitve vzorca z zgornjo enačbo, jih nato seštela skupaj in delila s številom 3.

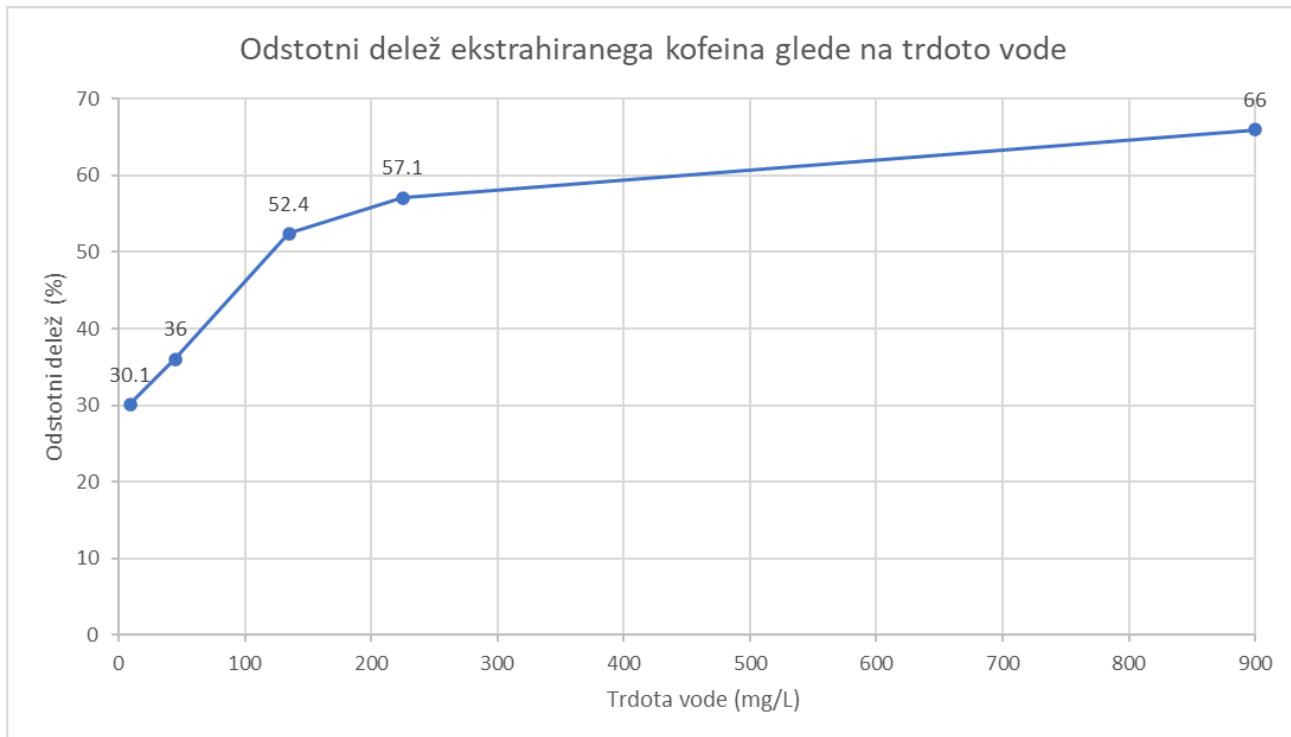
Za vsak odstotni delež, je bila izračunana tudi standardna deviacija:

$$SD = \sqrt{\frac{\sum |x - povprečna vrednost|^2}{n - 1}}$$

Tabela 4: Tabela prikazuje povprečni odstotni delež vsakega vzorca in njihovo standardno deviacijo

| Številka vzorca                | 1     | 2     | 3     | 4     | 5     |
|--------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Povprečni odstotni delež (v %) | 66,0  | 57,1  | 52,4  | 36,0  | 30,1  |
| Standardna deviacija           | 0,141 | 0,170 | 0,163 | 0,216 | 0,262 |

### 4.3 Graf povprečnega odstotnega deleža ekstrahiranega kofeina



Graf 1: Graf odstotnega deleža ekstrahiranega kofeina v odvisnosti trdote vode

#### 4.4 Izračun napake

V poizkusu sem zaradi kombinacije kvalitativnih in kvantitativnih metod, napako ocenila. Skupni odstotek napake sem izračunala na podlagi ocenjenih napak in pa merilnih napak. Majhne napake, kot na primer napaka štoparice, sem izpustila, saj so bile te napake zamarljive.

Odstotno napako sem izračunala tako, da sem seštel vse odstotne napake metode:

Tabela 5: Prikaz napak

| Eksperimentalna metoda | Količina/teža | Uporaba                                 | Napaka                 | Odstotna napaka (%) |
|------------------------|---------------|---|------------------------|---------------------|
| Merilni valj           | 100 ml        | Redčenje mineralne vode                 | $\pm 1 \text{ ml}$     | 1,00                |
| Merilni valj           | 40 ml         | Količina kloroformata                   | $\pm 1 \text{ ml}$     | 2,50                |
| Lij ločnik             | 140 ml        | Ločevanje organske in neorganske plasti | $\pm 5 \text{ ml}$     | 3,60                |
| Tehtnica               | 69,8 g        | Tehtanje destilirne bučke               | $\pm 0,0005 \text{ g}$ | 0,000716            |
| Tehtnica               | 96,7 mg       | Tehtanje kofeina                        | $\pm 0,5 \text{ mg}$   | 0,517               |

Skupna odstotna napaka v poizkusu je tako bila 7,41%.

## 5. Razprava

### 5.1 Hipoteze

Glede na rezultate prikazane v točki **4.2 Izračun odstotnega deleža kofeina in 4.3 Graf povprečnega odstotnega deleža kofeina** lahko iz njih pridobimo odgovor na raziskovalno vprašanje in pa potrdimo oziroma zavrzemo postavljene hipoteze.

*Graf 1* prikazuje korelacijo med odstotnim deležom ekstrahiranega kofeina za vsak vzorec trdote vode. Krivulja prikazuje logaritemsko funkcijo - to pomeni, da krivulja narašča z različnim koeficientom premice v vsaki točki, kar prikaže da se odstotni delež kofeina povečuje z večanjem trdote vode.

Tako lahko iz grafa razvidimo da je pri vzorcu številka 5, ki vsebuje najmhejkejšo vodo (trdota vode:  $9 \text{ mg/l}$ ) odstotni delež ekstrahiranega kofeina najmanji in sicer 30,1%, medtem ko je pri vzorcu številka 1, ki vsebuje najbolj trdo vodo uporabljeni v poizkusu (trdota vode:  $900 \text{ mg/l}$ ), odstotni delež kofeina največji in sicer 66%. Ta rezultat, se sklada s Hendononovim člankom »*The Role of Dissolved Cations in Coffee Extraction*<sup>4</sup>« iz leta 2014, v katerem avtor predstavi idejo o znantnem povečanju količine ekstrahiranega kofeina iz kavnih zrn s povečanjem trdote vode, kar se je zgodilo tudi v tem poizkusu. S tem potrjujem hipotezo 1 - s povečanjem trdote vode se bo povečala vsebnost kofeina v kavnem napitku. (Hendon et al, 2014)

Iz grafa lahko razvidimo tudi dejstvo, da je strmina krivulje med označenimi točkami na grafu različna, kar pomeni da so tudi koeficienti njihovih premic različni. Iz *Graf 1* lahko razvidimo da je najbolj strma črta med vzorcem številka 4 (trdota vode:  $45 \text{ mg/l}$ ) in vzorcem številka 3 (trdota vode:  $135 \text{ mg/l}$ ). Druga najbolj strma črta je med vzorcem številka 5 (trdota vode:  $9 \text{ mg/l}$ ) in vzorcem številka 4 (trdota vode:  $45 \text{ mg/l}$ ), tretja najbolj strma črta pa je med vzorcem številka 3 (trdota vode:  $135 \text{ mg/l}$ ) in vzorcem številka 2 (trdota vode:  $225 \text{ mg/l}$ ). Najmanj strmo črto lahko opazimo med vzorcem številka 2 (trdota vode:  $225 \text{ mg/l}$ ) in vzorcem številka 1 (trdota vode:  $900 \text{ mg/l}$ ). Te rezultati, se ujemajo z Wellingerjevo teorijo (2017) o tem, da trdota vode večja od  $300 \text{ mg/l}$ , upočasni ekstrakcijo kofeina. Glede na *Graf 1* lahko celo domnevamo, da je meja trdote vode za opazno počasnejšo ekstrakcijo kofeina iz kavnih zrn okoli  $200 \text{ mg/l}$  ali celo manj. Hipotezo 2, da bo koeficient premice najbolj strm pri nižji trdoti vode, lahko glede na rezultate eksperimenta potrdimo. (Wellinger, 2017)

*Graf 1* ne vsebuje ničle, saj ta pri samem eksperimentu ni bila dodana- vodo z  $0 \text{ mg/l}$   $\text{CaCO}_3$  je namreč nemogoče pridobiti.

### 5.2 Prednosti metode

Rekla bi, da je največja prednost moje raziskave vsekakor način priprave kavnega napitka. Ta metoda mi je omogočila enake pogoje za vsak skuhan kavni napitek, saj je tako na primer za tehtanje zmletih kavnih zrn uporabljenih pri vsakem kuhanju poskrbel proizvajalec kapsul in omogočil, da je bila v vsaki kapsuli enaka količina kavnih zrn. Še ena prednost izbire kapsul je bila, da sem na spletni strani proizvajalca pridobila natančen podatek o mg kofeina, ki bi morali biti v kavnih zrnih v kapsuli.

Prednost te raziskave je tudi ta, da sem za kuhanje kavnega napitka uporabila kavomat, saj lahko tako res domnevam da je stroj vsem vzorcem zagotavljal enako temperaturo, čas kuhanja..., kar pomeni, da so imeli vsi vzorci enake in optimalne pogoje za ekstrakcijo kofeina iz kavnih zrn.

<sup>4</sup> O vlogi raztopljenih kationov pri ekstrakciji kofeina

### **5.3 Omejitve metode**

Omejitve moje metode in tako eksperimenta so bile predvsem naključne in sistematične napake.

Prve so naključne napake, ki so se zgodile med eksperimentom. Te so se na primer pojavile med ekstrakcijo kofeina iz kavnega napitka. Prva med njimi je, da se je med stresanjem mešanice kloroforma in kavnega napitka v lij ločniku moč stresanja med različnimi ponovitvami razlikovala, kar je vplivalo na ekstrakcijo kofeina iz kave v kloroform, saj je bilo z večjo močjo več rotacij tekočin, kar pomeni daljše interakcije med kavo in kloroformom. Druga naključna napaka se je pojavila med ekstrakcijo kofeina iz kavnega napitka in kloroforma. Pri mešanju obeh tekočin v lij ločniku je vsakič nastala emulzija, zato je bilo treba pri vsaki uporabi lij ločnika za ločevanje obeh tekočin zavreči različno količino emulzije, ki je vsebovala kofein. To omejitev bi lahko do neke mere odpravili tako, da bi lij ločnik z kloroformom in kavnim napitkom pustili dlje časa »počivati«, vendar bi bila najboljša rešitev za to centrifugacija emulzije, ta postopek pa presega zmožnost šolskega laboratorija.

Naslednja omejitev, ki jo je treba upoštevati pri tej raziskavi je ekstrahiran kofein. Ta namreč ni bil čist, saj je vseboval snovi, ki so povzročile rumeno do rjavo barvo v dobljenem kofeinu, kar postavlja vprašanje, koliko čistega kofeina je bilo dejansko ekstrahiranega, kar pomeni, da je lahko prišlo do sistematične napake. To bi lahko izboljšali z dodajanjem snovi v kavni napitek, ki bi odstranile druge snovi in jih nato odstranile iz raztopine.

## **6. Zaključek**

V tej raziskovalni nalogi sem raziskovala vpliv trdote vode na odstotni delež ekstrahiranega kofeina iz mletih kavnih zrn mešanic vrste Robusta in Arabica, pridobljenega z kuhanjem v kavomatu. Glede na rezultate, sta bili obe hipotezi potrjeni:

Prva hipoteza, ki je velela da se bo s povečanjem trdote vode vzorca, povečal tudi odstotni delež kofeina v kavnem napitku, je bila potrjena z mojimi rezultati vzporedno s študijo Hendona in sodelavcev (Hendon et al., 2014). Moja druga hipoteza, ki trdi da bo največji koeficient premice na grafu dosežen pri mehkejših vodah, je bila prav tako potrjena z mojo hipotezo in pa študijo Wellingtona 2017. (Wellington, 2017)

Rezultate te raziskave bi lahko vsak posameznik uporabili za računanje dnevnega vnosa kofeina, da ne preseže maksimalne predpisane količine. Rezultati bi bili uporabni tudi za posamezni, ki bi si želeli iz svojih kavnih zrn pridobiti maksimalno količino kofeina.

Menim, da bi to raziskavo lahko razširili na več različnih načinov; najprej bi lahko raziskali ekstrakcijo kofeina glede na število magnezijevih kationov v vodi, ki je bila uporabljena za pripravo kavnega napitka, saj se kofein bolje veže na katione  $Mg^{2+}$  (Hendon et al., 2014), in nato rezultate primerjali z rezultati, ki so bili predstavljeni v tej raziskavi. Druga razširitev bi lahko bil preizkus okusa in vonja med kavnimi napitki, uporabljenimi v tem poskusu, saj sem med kuhanjem opazila, da se njihovi vonji razlikujejo - nekateri so bili močnejši in ostrejši od drugih (kave pripravljene z vodo, ki je imela večjo trdoto so imele bolj oster in močen vonj, kot tiste ki so bile pripravljene z mehkejšo vodo).

## 7. Viri in literatura

### C

Carey, F. (2021). *Chloroform*. Encyclopedia Britannica. [Spletni vir] Dostopno na: <https://www.britannica.com/science/chloroformv> [Povzeto 20.09. 2022].

### H

Hendon, C.H., Colonna-Dashwood, L. in Colonna-Dashwood, M. (2014). *The Role of Dissolved Cations in Coffee Extraction*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 62(21), stran 4947–4950. [Spletni vir] Dosopno na: doi:10.1021/jf501687c [Povzeto 20.09. 2022]

### M

McGowan, W. (2000). *Residential water processing: a reference handbook*. Lisle, Ill.: Water Quality Association. 2013; 1(3):25-33. [Spletni vir] Dostopno na: doi: 10.12691/ajwr-1-3-2 [Povzeto 20.09. 2022]

### N

National cancer institute (n.d.). *Chloroform*. NCI Thesaurus. [Spletni vir] Dostopno na: [https://ncithesaurus.nci.nih.gov/ncitbrowser/ConceptReport.jsp?dictionary=NCI\\_Thesaurus&ns=ncit&code=C29815](https://ncithesaurus.nci.nih.gov/ncitbrowser/ConceptReport.jsp?dictionary=NCI_Thesaurus&ns=ncit&code=C29815) [Povzeto 20.09. 2022]

Nichols, H. (2017) *What does caffeine do to your body?* MedicalNewsToday. [Spletni vir] Dostopno na: <https://www.medicalnewstoday.com/articles/285194> [Povzeto 25.09. 2022]

Nichols L. (2022). *Organic chemistry lab techniques*. Butte Collage, stran 203-248.

### O

Oestreich-Janzen, S. (2016). *Caffeine: Characterization and Properties*. Encyclopedia of Food and Health. pp.556–572. [Spletni vir] Dostopno na: doi:10.1016/b978-0-12-384947-2.00098-2 [Povzeto 20.09. 2022].

### P

Petre, A. (2020) *What Is Caffeine, and Is It Good or Bad for Health?* Healthline. [Spletni vir] Dostopno na: <https://www.healthline.com/nutrition/what-is-caffeine> [Povzeto 20.09. 2022].

Požgan, F. and Štefane, B. (2016) *Uvod v laboratorijsko organsko kemijo*. 2nd ed. Ljubljana: Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo.

### T

Thermopedia. (2011). *Chloroform*. Thermopedia. [Spletni vir] Dostopno na: doi:10.1615/AtoZ.c.chloroform [Povzeto 20.09. 2022].

### V

Vuong, Q.V. and Roach, P.D. (2013). *Caffeine in Green Tea: Its Removal and Isolation*. Separation & Purification Reviews, 43(2), stran 155–174. [Spletni vir] Dostopno na: doi:10.1080/15422119.2013.771127 [Povzeto 20.09. 2022]

## W

- WHO. (2010). *Hardness in Drinking-water*. WHO Guidelines for Drinking-water Quality. Stran 1–2. [Spletni vir] Dostopno na: [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/70168/WHO\\_HSE\\_WSH\\_10.01\\_10\\_Rev1\\_eng.pdf](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/70168/WHO_HSE_WSH_10.01_10_Rev1_eng.pdf) [Povzeto 20.09. 2022].
- Welinger, M. (2017). *Chapter 16: Water for Extraction - Composition, Recommendations and Treatment. The Craft and Science of Coffee*. Stran 381-398. [Spletni vir] Dostopno na: [https://www.researchgate.net/publication/312183310\\_Water\\_for\\_Extraction-Composition\\_Recommendations\\_and\\_Treatment](https://www.researchgate.net/publication/312183310_Water_for_Extraction-Composition_Recommendations_and_Treatment) [Povzeto 20.09. 2022]

## **8. Viri slik**

**A**

Anon, (2021). *CHCl<sub>3</sub> Lewis Structure, Geometry, Hybridization, and Polarity*. Techiescientist. [Spletni vir] Dostopno na: <https://techiescientist.com/chcl3-lewis-structure/> [Povzeto 20.09. 2022].

**O**

Oestreich-Janzen, S. (2016). *Caffeine: Characterization and Properties*. Encyclopedia of Food and Health. pp.556–572. [Spletni vir] Available at: doi:10.1016/b978-0-12-384947-2.00098-2 [Povzeto 20.09. 2022].