

# Zur Bestimmung des Koffeins in Kaffee-Extrakten

Autor(en): **Hadorn, H. / Jungkunz, R.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **40 (1949)**

Heft 3-4

PDF erstellt am: **21.06.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-983794>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern. Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

# Zur Bestimmung des Koffeins in Kaffee-Extrakten

von *H. Hadorn* und *R. Jungkunz*

(Laboratorium VSK Basel)

Vor einiger Zeit haben *Pritzker* und *Jungkunz*<sup>1)</sup> eine einfache Methode zur Koffeinbestimmung in Tee beschrieben, bei welcher das Koffein aus einer wässrigen Extraktlösung mittels Chloroform perforiert wird. Es schien nun naheliegend, diese Arbeitsweise, die sich gut bewährt hat, auch auf Kaffee-Extrakte und Röstkaffee anzuwenden. Dabei traten zunächst einige Schwierigkeiten auf. Das Perforieren wässriger Kaffee-Extraktlösungen mit Chloroform gelingt nicht ohne weiteres, weil sich leicht Emulsionen einstellen, welche den Perforationsvorgang stark stören und sogar verunmöglichen. Durch verschiedene Zusätze, wie Bariumhydroxyd, Carrez- oder Ammoniak-Lösung kann die Bildung einer Emulsion wirksam bekämpft werden. Das durch Perforation aus Kaffee-Extrakten gewonnene Koffein ist, im Gegensatz zu dem aus Tee isolierten, stark mit braunen Röstprodukten verunreinigt. Wie Vorversuche ergeben haben, kann dieses Rohkoffein durch Chromatographie mittels speziell präpariertem  $\text{Al}_2\text{O}_3$  gereinigt werden. Durch Modellversuche haben wir gezeigt, dass die neue Methode bei Kaffee-Extrakten richtige Werte liefert. Zum Vergleiche zogen wir die kürzlich publizierte Methode von *Wyler* und *Högl*<sup>2)</sup> heran. Dabei stellte sich heraus, dass diese letztere in gewissen Fällen, besonders bei 100 %igen Kaffee-Extrakten, etwas zu niedrige Werte liefert. Die Ursache dieser Unterschiede konnte in der Folge aufgeklärt werden.

Wir haben auch versucht, die Perforationsmethode bei Roh- und Röstkaffee anzuwenden, weil bereits für die Extraktbestimmung ein Kaffee-Auszug hergestellt werden muss. Dabei sind gut reproduzierbare Werte erhalten worden, und die Methode schien sich auch in diesem Falle zu bewähren. Bei Kontrollanalysen nach der Lebensmittelbuch-Methode jedoch zeigte es sich, dass die Perforationsmethode stets etwas zu niedrige Werte ergab. Der Grund hierfür ist darin zu suchen, dass bei der Herstellung des wässrigen Extraktes nach der Vorschrift des Lebensmittelbuches<sup>3)</sup> nicht alles Koffein quantitativ in das wässrige Extrakt gelangt, weil ein Teil vom sogenannten Kaffeersatz zurückgehalten (adsorbiert) wird und sich so der Bestimmung entzieht.

## *Versuche mittels Perforation*

Um festzustellen, in welcher Zeit ein bestimmtes Quantum Koffein bei gegebenen Arbeitsbedingungen quantitativ erfasst wird, sind 100 mg reines Koffein in 80 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst und im Perforator von *Pritzker* und *Jungkunz*<sup>4)</sup> mit Chloroform perforiert worden. In Abständen von je einer Stunde wurde das Kölbchen ausgewechselt, das Lösungsmittel abdestilliert und das erhaltene Koffein gewogen. Wir fanden:

in der 1. Fraktion nach 1 Stunde	=	87,0 mg
in der 2. Fraktion nach 2 Stunden	=	13,0 mg
in der 3. Fraktion nach 3 Stunden	=	0,6 mg
in der 4. Fraktion nach 4 Stunden	=	0

Nach 2 Stunden ist demnach die Perforation von 100 mg Koffein praktisch beendet.

Beim Perforieren einer Kaffee-Extrakt-Lösung bildet sich, wie bereits erwähnt, eine stark störende Emulsion. Diese Schwierigkeit konnte durch Zusatz von je 0,5 cm<sup>3</sup> Carrez-Lösung zur heissen Extraktlösung in den meisten Fällen behoben werden. Als wirksamer und auch einfacher erwies sich ein Zusatz von 5—10 cm<sup>3</sup> konzentrierter Ammoniaklösung. Aus solchen ammoniakalischen Extraktlösungen werden Koffein-Mengen bis zu 100 mg in 2 Stunden ebenfalls quantitativ extrahiert. Bei noch längerem Perforieren werden gewöhnlich nur noch geringe Mengen brauner, nicht kristallisierbarer Substanzen isoliert.

### *Chromatographische Reinigung*

Zur Reinigung des bei der Perforation erhaltenen, braun gefärbten Rohkoffeins wurde die chromatographische Adsorptionsanalyse herangezogen.

Als Lösungsmittel für Koffein kommen praktisch nur Wasser und Chloroform in Frage. Vorversuche haben ergeben, dass die chromatographische Reinigung einer wässrigen Lösung nicht gelingt, weil mit dem Koffein gleichzeitig auch der grösste Teil der Verunreinigungen in den Durchlauf gelangt. Löst man dagegen das Rohkoffein in wasserfreiem Chloroform und filtriert durch eine Säule von aktiviertem Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, so werden die Verunreinigungen vollständig zurückgehalten. Die aus der Säule abtropfende Lösung enthält reines Koffein. Es wurde beobachtet, dass sich das Koffein gelegentlich nur langsam und unvollständig mit Chloroform aus einer neutralen Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> Säule herauswaschen liess. Diesem Umstand konnte dadurch abgeholfen werden, dass die beschickte Säule unmittelbar vor dem Gebrauch mit ammoniakalischem Chloroform behandelt wurde. Aus einer derart ammoniakalisch gemachten Säule lässt sich das Koffein in kurzer Zeit quantitativ gewinnen, wie nachstehender Versuch zeigt:

100,3 mg Koffein, gelöst in 5 cm<sup>3</sup> Chloroform, wurden durch 5 g ammoniakalisch gemachtes Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nach der am Schluss dieser Arbeit beschriebenen Methode chromatographiert. Das Filtrat (Durchlauf) haben wir in verschiedenen Fraktionen aufgefangen und darin das Koffein bestimmt. Wir fanden:

1. Fraktion 20 cm <sup>3</sup> Filtrat	100,0 mg Koffein
2. Fraktion 20 cm <sup>3</sup> Filtrat	0,2 mg Koffein
3. Fraktion 20 cm <sup>3</sup> Filtrat	kein Koffein

40 cm<sup>3</sup> Chloroform genügen demnach, um das Koffein quantitativ aus einer ammoniakalisch gemachten Säule zu eluieren. Das durch Perforation gewonnene Rohkoffein lässt sich auf diese Weise einfach und gut reinigen.

### Modellversuch

Die Brauchbarkeit der eben skizzierten und am Schluss dieser Arbeit ausführlich beschriebenen Methode wurde durch nachstehenden Modellversuch überprüft.

Zu 2 g eines «koffeinfreien» Kaffee-Extraktes wurden 101,6 mg Koffein zugesetzt, die Mischung in heissem Wasser gelöst, ammoniakalisch gemacht und perforiert. Als Rohkoffein wurden 121,7 mg erhalten, woraus sich nach chromatographischer Reinigung 103,7 mg Reinkoffein ergaben. Der «koffeinfreie» Kaffee-Extrakt enthielt ebenfalls eine geringe Menge Koffein (0,073 ‰), so dass sich folgende Rechnung ergibt:

2,0 g Kaffee-Extrakt enthalten	=	1,5 mg Koffein
zugesetzt	=	101,6 mg Koffein
Summe	=	103,1 mg Koffein
gefunden	=	103,7 mg Koffein

Das zugesetzte Koffein wurde somit quantitativ wieder gefunden, womit die Brauchbarkeit der Methode bewiesen sein dürfte.

### Analysenbeispiel

Die Methode, welche an verschiedenen Kaffee-Extrakten ausprobiert worden ist, soll an einem praktischen Beispiel erläutert werden.

4,40 g eines 50 ‰igen Kaffee-Extraktes (Nr. 3) wurden in zirka 50 cm<sup>3</sup> heissem Wasser gelöst, mit 5 cm<sup>3</sup> konzentrierter Ammoniaklösung versetzt und während 2 Stunden im genannten Apparat perforiert. Die Menge des Rohkoffeins betrug 123 mg = 2,79 ‰. Dieses wurde nun, zwecks Reinigung, in 10 cm<sup>3</sup> Chloroform gelöst, durch eine ammoniakalisch gemachte Säule von 5 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> filtriert und diese sodann mit 40 cm<sup>3</sup> Chloroform eluiert. Es wurden 89,9 mg *Reinkoffein*, entsprechend 2,04 ‰ erhalten, welches leicht gelblich gefärbt war. Zur Kontrolle wurde das Chromatogramm nochmals mit 20 cm<sup>3</sup> Chloroform nachgewaschen. Nach dem Abdampfen hinterblieb nur eine Spur (0,3 mg) eines gelblichen Rückstandes. Das Koffein war demnach praktisch quantitativ in der ersten Fraktion (10 + 40 cm<sup>3</sup>) enthalten. Zur weiteren Prüfung wurde in dem chromatographisch gereinigten Koffein der Stickstoff-Gehalt nach *Kjeldahl* bestimmt und dabei gefunden:

Reinkoffein nach Chromatographie	=	89,9 mg	=	2,04 ‰
nach <i>Kjeldahl</i> -Bestimmung	=	89,3 mg	=	2,03 ‰

Das chromatographisch gereinigte Koffein schmilzt bei 227—228°, während im Parallelversuch ein chemisch reines Präparat des Handels bei 229—230° schmolz. Nach Ph. H. V. soll reines Koffein zwischen 229,5—232° schmelzen. Damit dürften Identität und Reinheit des chromatographisch gereinigten Koffeins bewiesen sein.

Weitere Analysen von Kaffee-Extrakten des Handels sind in der Tabelle 1 zusammengestellt. Bei Parallelbestimmungen mit wechselnden Einwaagen wur-

Tabelle 1  
Koffeinbestimmung in Kaffee-Trockenextrakten

Nr.	Bezeichnung	Perforations-Methode				Methode Wyler und Högl	
		Einwaage	Rohkoffein (perforiert)	Reinkoffein nach chromatogr. Reinigung	Reinkoffein aus N-Gehalt berechnet	Einwaage	Koffein aus N-Bestimmung berechnet
			%	%	%		%
1	100 %iger Kaffee-Extrakt (M)	1,97	6,53	4,85	4,83	82,7	4,30
		1,99	6,77	4,93	—	2,14	4,17
		2,43	6,01	4,85	4,79	2,00	4,50
						2,00	4,75 (+0,25) *)
2	100 %iger Kaffee-Extrakt (In)	2,00	4,92	3,75	3,72	2,00	3,40 (+0,49) *)
		2,00	—	3,73	—		
		2,00	—	3,81	—		
3	50 %iger Kaffee-Extrakt (S)	4,02	2,88	2,05	—	2,00	1,89
		2,00	—	2,05	2,09	2,00	1,98
		4,40	2,79	2,04	2,03	4,01	2,18
		4,07	2,67	2,08	—	3,60	2,16
4	50 %iger Kaffee-Extrakt (N)	4,00	2,69	1,84	1,82		
		5,00	2,71	1,84	1,82		
5	zirka 27 %iger Kaffee-Ex- trakt mit Zichorie-Zusatz (N)	6,00	2,13	1,17	1,17		
		5,62	2,11	1,19	1,18		
6	50 %iger Kaffee-Extrakt koffeinfrei (N)	5,00	1,29	0,098	—	10,00	0,118
		5,00	1,14	0,106	—		
		10,00	0,94	0,105	0,074		
		10,00	0,86	0,108	0,073		

\*) Nachträglich durch Extraktion erhalten.

den von verschiedenen Analytikern in der Regel gut reproduzierbare Werte erhalten. Durch *Kjeldahl*-Bestimmungen wurde bestätigt, dass das chromatographisch gereinigte Koffein durchwegs rein war. Aus dem Stickstoffgehalt berechnet sich die Reinheit zu 98,5—100 %.

Eine besondere Stellung unter den Kaffee-Trockenextrakten nehmen die koffeinfreien Präparate ein, von welchen für die Koffeinbestimmung grössere Substanzmengen (10 g) verarbeitet werden müssen. Das durch Perforation erhaltene Rohkoffein ist deswegen auch etwas stärker verfärbt und besonders in unserem Beispiel (Nr. 6) stark verunreinigt. Zur chromatographischen Reinigung muss etwas mehr  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , meistens 7 g, verwendet werden. Das auf diese Weise erhaltene Koffein (0,106 %) war intensiv gelb gefärbt und immer noch ziemlich unrein. Die Stickstoff-Bestimmung nach *Kjeldahl* ergab in diesem Falle ein bedeutend niedrigeres Resultat (0,073 %). Beim Chromatographieren sind demnach zirka 3 mg gelb gefärbter Verunreinigungen mit dem Koffein (7 mg) durch die Säule geflossen.

Eine andere Reinigung führte zum gleichen Resultat, wie die Stickstoff-Bestimmung. Das aus 10 g koffeinfreiem Kaffee-Extrakt isolierte Rohkoffein (1,1 %) wurde zunächst nach der Vorschrift des Lebensmittelbuches in heissem Wasser gelöst und der Reinigung mit  $\text{KMnO}_4$  unterzogen. Aber auch das so erhaltene Koffein (0,156 %) war noch braun verfärbt. Anschliessend wurde es chromatographiert und lieferte jetzt in guter Übereinstimmung mit der *Kjeldahl*-Bestimmung 0,073 % reines Koffein. Um auch bei koffeinfreien Kaffee-Extrakten genaue Werte zu erhalten, empfiehlt es sich, nach der chromatographischen Reinigung noch eine *Kjeldahl*-Bestimmung durchzuführen.

### *Vergleich der Perforationsmethode mit der Methode Wyler und Högl*

Nach der Methode von *Wyler* und *Högl* wird der Kaffee-Extrakt zunächst in heissem Wasser gelöst, mit Ammoniaklösung versetzt und eine halbe Stunde gekocht \*). Dann wird zur Beseitigung verschiedener störender Stoffe eine Fäl-

---

\*) Das Kochen mit Ammoniak soll eine Art Aufschluss bewirken.

Nach Untersuchungen von *Payen* <sup>5)</sup>, die durch *Gorter* <sup>6)</sup> bestätigt wurden, kommt das Koffein im Kaffee nicht frei vor, sondern in chemisch gebundener Form als Kalium-Koffein-Doppelsalz der Chlorogensäure. Aus diesem Grunde gelingt es nicht, das Koffein mittels geeigneter Lösungsmittel, wie *Chloroform* oder *Tetrachlorkohlenstoff* quantitativ aus der Bohne zu extrahieren. Es ist vorher ein Aufschluss nötig (meistens mit  $\text{NH}_3$ ) der die Freisetzung des Alkaloids aus dem Doppelsalz bezweckt.

Wir konnten durch verschiedene Versuche feststellen, dass diese Doppelverbindung in *wässrigen* Kaffee-Extraktlösungen bereits gespalten ist. Das Koffein lässt sich aus neutraler (mit Carrez versetzten) wässriger Lösung ebenso gut und in gleicher Ausbeute perforieren, wie aus ammoniakalischer. Auch in einer Abkochung von Roh- und Röstkaffee mit Wasser ist das gelöste Koffein nicht mehr gebunden. Es lässt sich ohne Aufschluss quantitativ mit Chloroform perforieren.

lung mit ziemlich viel Carrezlösung je 10—15 cm<sup>3</sup> vorgenommen. Nach dem Abnutschen wird der Niederschlag mit wasserfreiem Natriumsulfat verrieben und die pulverförmige Masse dreimal mit je 30 cm<sup>3</sup> Chloroform *durchgeknetet*, um adsorbiertes Koffein herauszulösen. Das wässrige Filtrat wird viermal mit 50 cm<sup>3</sup> Chloroform ausgeschüttelt, alle Chloroformauszüge vereinigt und das Lösungsmittel abdestilliert. Das Koffein im Abdampfrückstand wird durch eine Stickstoffbestimmung nach *Kjeldahl* ermittelt.

Wie aus der Gegenüberstellung der Werte in Tabelle 1 hervorgeht, haben wir nach der Methode von *Wyler* und *Högl* bei 100 %igen Kaffee-Extrakten durchwegs zu niedrige Koffeingehalte gefunden. Die Ursache für diese Koffein-Verluste liegt darin, dass der Carrez-Niederschlag einen Teil des Koffeins adsorbiert und ziemlich hartnäckig zurückhält. Bei dreimaligem Auskneten in der Kälte wird das Koffein nicht quantitativ aus dem mit wasserfreiem Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> verriebenen Carrez-Niederschlag herausgelöst. Durch nachträgliches Extrahieren mit Chloroform in der Wärme lassen sich aus dem ausgekneteten Rückstand noch beachtliche Mengen Koffein gewinnen. Die nachstehenden Versuche in Tabelle 2

Tabelle 2

Koffeinausbeute der einzelnen Phasen bei der Methode *Wyler* und *Högl*

	100%iger Kaffee-Extrakt Nr. 1		100%iger Kaffee-Extrakt Nr. 2	
	Koffein aus 2 g Extrakt	Koffein i. Extrakt	Koffein aus 2 g Extrakt	Koffein i. Extrakt
	mg	%	mg	%
<i>Fraktion I</i> im wässrigen Filtrat	74,0	3,70	57,0	2,85
<i>Fraktion II</i> aus dem Carrez-Niederschlag nach dreimaligem Auskneten mit je 50 cm <sup>3</sup> Chloroform	21,0	1,05	11,0	0,55
Summe I + II (Methode <i>Wyler</i> )	95,0	<b>4,75</b>	68,0	<b>3,40</b>
<i>Fraktion III</i> aus dem ausgekneteten Carrez- Niederschlag nachträglich durch Extraktion erhalten	5,1	0,25	9,8	0,49
Gesamt-Koffein (I + II + III)		<b>5,00</b>		<b>3,89</b>
Nach eigener Methode		4,9		3,8

veranschaulichen diese Verhältnisse, wobei die einzelnen Etappen der Methode verfolgt wurden.

Wir lösten 2 g Kaffee-Extrakt in heissem Wasser, kochten die mit Ammoniak versetzte Lösung, führten die Carrez-Fällung durch und filtrierten vorschriftsgemäss. Dieses Filtrat wurde etwas eingeeengt, viermal mit je 50 cm<sup>3</sup> Chloroform ausgeschüttelt und das gelöste Koffein bestimmt. (Fraktion I). Als dann verrieb man den Rückstand mit wasserfreiem Natriumsulfat, knetete ihn dreimal mit je 50 cm<sup>3</sup> Chloroform \*) durch, wobei das Chloroform jedesmal abgesaugt wurde. Das Koffein aus diesen 3 Chloroformauszügen wurde gesondert bestimmt (Fraktion II). Der mit Chloroform ausgeknetete Carrez-Niederschlag wurde schliesslich in einer Extraktionshülse gebracht und während 2 Stunden in der Wärme extrahiert. Das so erhaltene Roh-Koffein wurde chromatographisch gereinigt, der gewonnene Rückstand gewogen und als Koffein identifiziert (Fraktion III).

Das jetzt nach erschöpfender Extraktion gefundene Gesamt-Koffein stimmt gut mit unseren durch Perforation erhaltenen Werten überein.

Bei den 50 0/0igen Kaffee-Extrakten stimmen die nach der Methode *Wyler* und *Högl* gefundenen Werte gut mit den unsrigen überein.

Bei koffeinfreien Kaffee-Extrakten dagegen, liefert die Methode *Wyler* und *Högl* etwas zu hohe Werte, wie nachstehende Zahlen zeigen.

#### 50 0/0iger koffeinfreier Kaffee-Extrakt Nr. 6

##### Methode *Wyler* und *Högl*

Roh-Koffein

0,39 0/0

darin aus N-Gehalt = **0,118 0/0**

##### Eigene Methode

Roh-Koffein

1. Bestg. 0,94 0/0 chromat. gereinigt = 0,105 0/0 darin aus N-Gehalt = **0,074 0/0**
2. Bestg. 0,86 0/0 chromat. » = 0,108 0/0 N-Gehalt = **0,074 0/0**
3. Bestg. 1,19 0/0 mit KMnO<sub>4</sub> » = 0,156 0/0 chromat. gereinigt = **0,073 0/0**

Die Ursache für diese Differenz liegt wohl darin, dass nach *Wyler* und *Högl* mit dem Koffein auch noch geringe Mengen anderer stickstoffhaltiger Substanzen in die Chloroformauszüge gelangen und bei der *Kjeldahl*-Bestimmung Koffein vortäuschen. Auf diese Fehlerquelle, die sich bei koffeinfreiem Kaffee besonders stark auswirkt, haben bereits *Bürgin* und *Streuli* <sup>7)</sup> hingewiesen. Sie konnten zeigen, dass nach der Methode *Helberg* <sup>8)</sup>, bei welcher ebenfalls der

\*) In Originalvorschrift sind nur dreimal je 30 cm<sup>3</sup> Chloroform vorgeschrieben.



Stickstoffgehalt in einem Chloroformauszug ohne vorherige Reinigung bestimmt wird, stets viel zu hohe Werte erhalten werden. *Bürgin* und *Streuli* schreiben in diesem Zusammenhang wörtlich:

«Unterbleibt die Reinigung (mit  $\text{KMnO}_4$ ), so werden bei der Stickstoffbestimmung nach *Kjeldahl* noch andere stickstoffhaltige Substanzen ausser Koffein miterfasst.»

### *Anwendung der Perforationsmethode auf Röstkaffee*

Wir haben auch versucht, die Perforationsmethode auf Röstkaffee anzuwenden. Da bei der Analyse von Röstkaffee gewöhnlich das wässrige Extrakt bestimmt wird, war es naheliegend, die nach der Vorschrift des Lebensmittelbuches bereitete Extraktlösung zur Koffeinbestimmung heranzuziehen. Dadurch liesse sich die ganze Untersuchung wesentlich abkürzen.

Beim Perforieren von je  $80 \text{ cm}^3$  der genannten Extraktlösung (entsprechend 4 g Kaffee) und der anschliessenden chromatographischen Reinigung ergaben sich keine Schwierigkeiten. Es zeigte sich aber, dass Kontroll-Bestimmungen, durchgeführt nach der Lebensmittelbuch-Methode, höhere Werte ergaben als die Perforationsmethode. Das nach der Vorschrift des Lebensmittelbuches erhaltene, mit  $\text{KMnO}_4$  gereinigte Koffein, ist schwach gelb bis bräunlich verfärbt und scheint nicht ganz rein zu sein. Bei der anschliessenden damit durchgeführten Stickstoffbestimmung nach *Kjeldahl* wurden etwas niedrigere Werte gefunden. Auch beim Chromatographieren des nach der Lebensmittel-Methode erhaltenen Koffeins wurden noch geringe Mengen brauner Verunreinigungen adsorbiert. Die auf diese Weise gefundenen Werte entsprachen genau den aus der N-Bestimmung berechneten Koffein-Gehalten. Wir fanden beispielsweise in einem gerösteten *Ambriz-Angola*-Kaffee:

#### *Lebensmittelbuch-Methode*

1. Bestg. = 2,55 % Koffein, darin aus N-Gehalt ber.                    2,50 % Koffein  
1. Bestg. = 2,62 % Koffein, darin nach Chromatographie = 2,50 % Koffein

Der Unterschied zwischen dem wirklichen Reinkoffeingehalt und dem nach der Lebensmittelbuch-Methode ermittelten, ist so geringfügig, dass er in der Regel vernachlässigt werden kann. Nach der Perforationsmethode erhält man aus der Extraktlösung von Röstkaffee dagegen beträchtlich niedrigere Werte. In obigem Kaffee z. B. nur 2,21 % bzw. 2,23 % Koffein, was einem absoluten Fehler von  $-11 \%$  entspricht. Diese Verluste können nur dadurch erklärt werden, dass in der wässrigen Extraktlösung nicht das gesamte Koffein enthalten war. Ein Teil bleibt, wie früher schon angedeutet, offenbar im Kaffeesatz zurück.

Um diese Sache abzuklären, wurde die Methodik der Extraktherstellung mehrfach variiert. Die verschiedenen Versuche sind in der Tabelle 3 zusammen-

Tabelle 3  
Einfluss der Extraktzubereitung auf die Koffeinausbeute

Ver- such Nr.	Kaffeesorte	cm <sup>3</sup> Wasser auf je 10 g Kaffee	Koch- zeit in Min.	Zusatz auf je 100 cm <sup>3</sup> Wasser	Roh- Koffein	Rein- Koffein n. chromat. Reinigung	Wirklicher Koffeingehalt *)
1	Ambriz/Angola geröstet	200	5	—	2,53	2,21	2,50 2,50
2	Ambriz/Angola geröstet	200	5	—	2,47	2,23	
3	Ambriz/Angola geröstet	200	60	—	2,68	2,30	
4	Ambriz/Angola geröstet	500	60	—	2,71	2,41	
5	Santos extra geröstet	200	5	—	1,26	1,04	1,15
6	Santos extra geröstet	200	5	2,5 cm <sup>3</sup> n-NaOH	1,41	1,05	
7	Santos extra geröstet	200	5	2 g Zitronensäure	1,59	1,05	

\*) Die Lebensmittelbuch-Methode ergab folgende Werte:

<i>Ambriz/Angola</i>	1. Bestimmung = 2,55 % Koffein, aus N-Gehalt berechnet = 2,50 %
	2. Bestimmung = 2,62 % Koffein, nach Chromatographie = 2,50 %
<i>Santos extra</i>	1. Bestimmung = 1,20 % Koffein, aus N-Gehalt berechnet = 1,15 %
	2. Bestimmung = 1,19 % Koffein
	3. Bestimmung = 1,20 % Koffein

gestellt. Nach der Originalvorschrift von *Pritzker* und *Jungkunz* <sup>9)</sup> werden 10 g fein gemahlener Kaffee mit 200 cm<sup>3</sup> Wasser während 5 Minuten gekocht, die Lösung abgekühlt, das verdampfte Wasser ersetzt und hernach filtriert. (Versuch 1 und 2.) Zunächst haben wir die Kochzeit auf 1 Stunde erhöht, wodurch aber die Ausbeute nicht wesentlich verbessert wurde. (Versuch 3.) Dagegen erwies sich im Versuch 4 ein grösserer Wasserzusatz (auf 10 g Kaffee 500 cm<sup>3</sup> Wasser) als wirksam. Die aus dieser Extraktlösung isolierte Koffeinemenge war bedeutend höher, aber immer noch etwas niedriger als der wirkliche, nach der Lebensmittelbuch-Methode ermittelte Koffeingehalt. Auch ein Zusatz von Natronlauge oder Zitronensäure vor dem Aufkochen erwies sich ebenfalls als unwirksam, wie aus den Versuchen 6 und 7 hervorgeht. Um annähernd eine quantitative Ausbeute an Koffein zu erhalten, müsste eine sehr verdünnte Extraktlösung hergestellt werden, welche aber andererseits den Nachteil hätte, dass sie für die Extraktbestimmung zu verdünnt wäre. Um aus einer solch verdünnten Extraktlösung genügend grosse Mengen Koffein zur Wägung zu erhalten, müssten grössere Quantitäten (200—400 cm<sup>3</sup>) derselben eingeengt und perforiert werden, wodurch dann die Methode zu umständlich und zeitraubend würde.

#### *Versuche mit Rohkaffee*

Interessant ist die Beobachtung, dass bei fein gemahlenem Rohkaffee nach der Perforationsmethode auch aus ziemlich konzentrierten Extraktlösungen (10 g Kaffee + 200 cm<sup>3</sup> Wasser) brauchbare Resultate erhalten werden.

Nachstehende Versuche wurden mit einem fein gemahlenden *Rohkaffee Costa Rica* durchgeführt.

#### *Nach Lebensmittelbuch-Methode*

= 1,10 % Koffein, darin aus N-Gehalt berechnet = **1,09 %**

#### *Nach unserer Methode*

1. Bestg. = 1,21 % Koffein, darin aus N-Gehalt berechnet = **1,12 %**

2. Bestg. = 1,22 % Koffein

Die Resultate nach den beiden Methoden stimmen gut überein. Bei Rohkaffee werden demnach vom Kaffeersatz keine nennenswerten Mengen Koffein adsorbiert. Dies lässt sich damit erklären, dass nur beim gerösteten Kaffee ein merkliches Adsorptionsvermögen für Koffein besteht, welches auf die physikalischen und chemischen Veränderungen beim Röstvorgang zurückzuführen ist. Durch die teilweise Verkohlung der Bohne entsteht eine aktive innere Oberfläche mit ähnlichen Eigenschaften wie Aktivkohle.

## Methodik

### Prinzip

Eine gewogene Menge Kaffee-Extrakt wird in heissem Wasser gelöst, mit Ammoniaklösung versetzt und die Lösung während 2 Stunden mit Chloroform perforiert. Das nach dem Abdestillieren des Chloroforms zurückbleibende Rohkoffein wird getrocknet, der jetzt wasserfreie Rückstand in Chloroform gelöst und durch eine Säule von aktiviertem  $\text{Al}_2\text{O}_3$  filtriert. Dabei werden alle Verunreinigungen zurückgehalten, während das Koffein quantitativ ins Filtrat gelangt. Nach dem Verdampfen des Lösungsmittels wird das Reinkoffein gewogen.

### Reagenzien

*Aktiviertes  $\text{Al}_2\text{O}_3$ .* Man verwendet käufliches  $\text{Al}_2\text{O}_3$  zur Adsorptionsanalyse, beispielsweise das standardisierte Präparat nach *Brockmann* (Merck). Zur Aktivierung wird das Präparat, wie bereits früher<sup>10)</sup> beschrieben, zunächst mit zirka 2%iger Salpetersäure gewaschen, scharf abgenutzt und das  $\text{Al}_2\text{O}_3$  an der Luft getrocknet. Hierauf wird es in einer Platinschale stark gegläht und im Exsikkator erkalten gelassen. Um zu verhüten, dass das aktivierte Präparat Feuchtigkeit aus der Luft aufnimmt, wird es mit etwas trockenem Chloroform befeuchtet. In gut verschlossener Flasche ist es alsdann unbeschränkt haltbar. Zum Regenerieren von gebrauchtem  $\text{Al}_2\text{O}_3$  verfährt man in gleicher Weise.

*Chloroform mit Ammoniak gesättigt.* 50 cm<sup>3</sup> Chloroform werden im Scheidetrichter mit 20 cm<sup>3</sup> 25%iger Ammoniaklösung kräftig durchgeschüttelt. Die Chloroform-Schicht wird abgelassen und mit  $\text{CaCl}_2$  getrocknet.

### Arbeitsvorschrift

Die Einwaage richtet sich nach dem Koffeingehalt des Produktes. Von 100%igen Kaffee-Extrakten werden zirka 2 g, von 50%igen 4—5 g und von koffeinfreien Trockenextrakten 10 g genau abgewogen und in 40—50 cm<sup>3</sup> heissem Wasser gelöst. Nun setzt man 5 cm<sup>3</sup> 25%ige Ammoniaklösung (bei 10 g Einwaage 10 cm<sup>3</sup>) zu und spült die Lösung quantitativ in den mit Chloroform beschickten Perforator. Hierauf wird mindestens 2 Stunden lang perforiert. Nach dem Abdestillieren des Chloroforms hinterbleibt gelb bis braun gefärbtes Rohkoffein, welches während 5—10 Minuten bei 105° getrocknet wird. Dadurch werden gewisse Verunreinigungen chloroform unlöslich.

Zur chromatographischen Reinigung beschickt man ein unten verengtes und mit einem Wattebausch verschlossenes Glasrohr von 1 cm lichter Weite und zirka 30 cm Länge mit 5 g aktiviertem  $\text{Al}_2\text{O}_3$ . Die Säule wird mit zirka 5 cm<sup>3</sup> trockenem, mit  $\text{NH}_3$  gesättigtem Chloroform durchtränkt. Hierauf wird das Rohkoffein in 5—10 cm<sup>3</sup> wasserfreiem Chloroform gelöst und unter schwachem Saugen durch die Säule filtriert. Ein Teil der braunen Verunreinigungen bleibt dabei ungelöst und bildet eine dunkle Schicht zu oberst im Chromatogramm. Darunter folgt eine gelb gefärbte Zone, während die unteren Partien der Säule rein weiss bleiben. Zum Auswaschen des Kölbchens und der Säule verwendet man 40 cm<sup>3</sup> reines, trockenes Chloroform. Das Kölbchen wird zunächst mehrmals mit kleinen Portionen von 3—5 cm<sup>3</sup> Chloroform ausgespült, um das Koffein mit möglichst wenig Lösungsmittel quantitativ in die Kolonne zu bringen. Den Rest der Waschflüssigkeit saugt man langsam durch die Säule hindurch. Das Filtrat

wird aufgefangen und quantitativ in ein gewogenes Kölbchen gebracht. Nach dem Abdestillieren des Chloroforms wird das Koffein, welches rein weiss oder höchstens leicht gelblich gefärbt ist, während 10—15 Minuten bei 105° getrocknet und gewogen. Eine Stickstoff-Bestimmung nach *Kjeldahl* ist in der Regel überflüssig, da das chromatographisch gereinigte Koffein 99—100 %ig ist. Bei koffeinfreien Trockenextrakten wird gelegentlich gelb gefärbtes, stärker verunreinigtes Koffein erhalten, was auf die relativ grosse Einwaage (10 g) und den sehr geringen Koffeingehalt zurückzuführen ist. Eine *Kjeldahl*-Bestimmung ist in jenen Fällen, wo es auf äusserste Genauigkeit ankommt, zu empfehlen.

### Zusammenfassung

1. Es wird eine neue, einfache Methode zur Bestimmung des Koffeins in Kaffee-Extrakten beschrieben, nach welcher eine wässrige Lösung in geeigneter Weise mit Chloroform perforiert und das isolierte Rohkoffein chromatographiert wird.

2. Zur Kontrolle der neuen Methode wurden sowohl diejenige des Lebensmittelbuches, als auch die von *Wyler* und *Högl* herangezogen. Vor- und Nachteile sowie gewisse Fehlermöglichkeiten der einzelnen Methoden werden erörtert.

### Résumé

1. Une nouvelle méthode simple, de dosage de la caféine dans des extraits de café est décrite, selon laquelle une solution aqueuse de ces derniers est extraite, de façon appropriée, par le chloroforme, la caféine brute isolée étant ensuite purifiée par chromatographie.

2. La méthode du «Mannuel» ainsi que celle de *Wyler* et *Högl* ont été utilisées pour le contrôle de cette nouvelle méthode. On discute des avantages et des inconvénients de chaque méthode en particulier, ainsi que de certaines possibilités d'erreurs.

### Literatur

- 1) *J. Pritzker* und *R. Jungkunz*, diese Mitt. **30**, 256 (1939).
- 2) *O. Wyler* und *O. Högl*, diese Mitt. **39**, 351 (1948).
- 3) Schweiz. Lebensmittelbuch, 4. Aufl. Seite 231.
- 4) *J. Pritzker* und *R. Jungkunz*, Pharm. Acta Helv. **14**, 223 (1939).
- 5) *Payen*, Ann. Chim. et Phys. **26**, 108 (1849) zitiert nach Handbuch der Lebensmittelchemie Bd. **6**, S. 9 (1943).
- 6) *K. Gorter*, Ann. Chem. **358**, 327 (1908) zitiert nach Handbuch.
- 7) *E. Bürgin* und *M. Streuli*, diese Mitt. **27**, 1 (1936).
- 8) *E. Helberg*, diese Mitt. **24**, 54 (1933).
- 9) *J. Pritzker* und *R. Jungkunz*, Z.U.L. **41**, 150 (1921).
- 10) *H. Hadorn*, diese Mitt. **37**, 360 (1946).