

*Marcin Frankowski, Artur Kowalski, Agnieszka Ociepa,
Jerzy Siepak, Przemysław Niedzielski*

KOFEINA W KAWACH I EKSTRAKTACH KOFEINOWYCH I ODKOFEINOWANYCH DOSTĘPNYCH NA POLSKIM RYNKU

Zakład Analizy Wody i Gruntów Wydziału Chemii
Uniwersytetu im. A. Mickiewicza w Poznaniu
Kierownik: prof. zw. dr hab. J. Siepak

Celem przeprowadzonych badań było określenie zawartości kofeiny w kawach i ekstraktach kofeinowych i odkofeinowanych pochodzących z palarni kaw z całego świata dopuszczonej do sprzedaży na polskim rynku. Zawartość kofeiny oznaczono za pomocą aparatu do wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją UV-Vis (HPLC-UV-Vis).

Hasła kluczowe: kofeina, kawa kofeinowa, kawa odkofeinowana, ekstrakt kawowy, HPLC-UV-Vis.

Key words: caffeine, caffeine coffe, decaffeinated coffee, instant coffe, HPLC-UV-Vis.

W ostatnich kilkunastu latach zainteresowanie kofeiną i jej negatywnym oddziaływaniem na organizm człowieka znacznie wzrosło. Związane jest to z coraz większą dostępnością kofeiny w napojach, słodyczach i w gumach do żucia (1, 2). Zagadnienie to jest istotne, również ze względu na konieczność przestrzegania zalecanej, dopuszczalnej dziennej dawki kofeiny w artykułach żywnościowych i używkach (3–5). Stymuluje to rozwój nie tylko produktów spożywczych, ale również poszukiwanie nowych metod oznaczania stężenia kofeiny (3, 6–9).

Kofeina, inaczej teina, jest alkaloidem purynowym o wzorze $C_8H_{10}N_4O_2$ (1-3-7 trimetylo-2,6-dihydroksypuryna) (10). Należy do grupy metyloamin. Występuje w postaci białego proszku, bez zapachu, o gorzkawym smaku. Jest dobrze rozpuszczalna w gorącej wodzie i chloroformie. Temperatura topnienia kofeiny wynosi ok. $235^{\circ}C$ (temp. sublimacji – $180^{\circ}C$) (10). W swojej budowie jest zbliżona do teobrominy i teofiliny (11). Kofeina jest całkowicie wchłaniana z przewodu pokarmowego, a następnie rozprowadzana do poszczególnych tkanek w zależności od ich uwodnienia. Kofeina nie kumuluje się w organizmie człowieka, ponieważ ulega szybkiej biotransformacji do kwasów 1-metylomoczwowego, 1,3-dimetylomoczwowego, 7-metyloksantyny i 1,7-dimetyloksantyny. Wydalana jest wraz z moczem w postaci niezmienionej oraz jako metabolity będące pochodnymi kwasu moczowego i ksantyny (10, 12, 13). Maksymalne stężenie kofeiny we krwi występuje po pierwszej godzinie od jej spożycia, a okres połowicznego półtrwania w organizmie wynosi 2,5–4,5 godz. (14). Stężenie kofeiny w filiżance kawy może wynosić od 2 do 115 mg, w zależności od sposobu przygotowania (1, 14, 15). Maksymalna,

doustna dawka kofeiny wynosi 1,5 g, a dawka śmiertelna 10–12 g (1, 10). Kofeina ma działanie analeptyczne, przez co aktywuje receptory dopaminy, pobudza ośrodkowy układ nerwowy, korę mózgową oraz ośrodki wegetatywne (oddechowy, naczynioruchowy i nerwu błędnego) (1, 16, 17). Przyspiesza przemianę materii, zwiększając tym samym zapotrzebowanie na tlen, zmniejsza napięcie mięśni gładkich naczyń krwionośnych. Ponadto, pobudza wydzielanie soku żołądkowego, zwiększa sprawność myślenia, zmniejsza zmęczenie psychiczne i fizyczne oraz wykazuje słabe działanie moczopędne (10, 18). Kofeina stosowana jest w lecznictwie, głównie w postaci łatwo rozpuszczalnych soli. Stosowana jest w przypadku ostrych zatruc alkoholem, atropiną, w zapaściach, przy chorobach zakaźnych oraz niedociśnieniu (1,10). Ziarna kawy zielonej zawierają: 0,3–2,3% kofeiny związanej z kwasem chlorogenowym, do 15% tłuszczu, 13% białek, 8% cukrów, 7% soli mineralnych przede wszystkim magnezu i potasu, trygonelinę, kwasy organiczne, pektynę, witaminę PP oraz 11% wody. Kawa palona zawiera znacznie mniej lotnych substancji aromatycznych, tłuszczu i białek (19).

Obecnie kofeinę stosuje się jako składnik różnego rodzaju dodatków do napojów i artykułów spożywczych. Niepokojący staje się fakt, iż coraz częściej jest ona konsumowana również przez dzieci. Kofeina przyjmowana w zbyt dużych dawkach może mieć negatywny wpływ na zdrowie człowieka, dlatego istnieje konieczność rozwoju bardziej precyzyjnych i dokładniejszych metod jej oznaczania (6–9, 20). Obecnie do oznaczania kofeiny wykorzystuje się przede wszystkim metody instrumentalne takie, jak: spektrofotometrię oraz chromatografię gazową i cieczową (8, 9, 11). W oznaczeniach rutynowych wykorzystuje się technikę wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją UV-Vis (5). Dzięki wysokiej sprawności, dobrej rozdzielczości i dużej szybkości analizy, znalazła ona szerokie zastosowanie w oznaczaniu kofeiny w próbkach farmakologicznych, biochemicznych, jak i środowiskowych (21).

Celem przeprowadzonych badań było oznaczenie stężenia kofeiny w kawach i ekstraktach kofeinowych i odkofeinowanych pochodzących z palarni kaw całego świata dopuszczonych do spożycia na polskim rynku.

MATERIAŁ I METODY

Stężenie kofeiny oznaczono w 59 próbkach kaw polskiej i zagranicznej dostępnych na polskim rynku. Analizie, poddano zarówno kawy kofeinowe palone i odkofeinowane oraz ekstrakty kawy (kawy rozpuszczalne) kofeinowej i odkofeinowanej.

Przygotowanie próbek kawy i oznaczanie stężenia w nich kofeiny wykonywano wg Polskiej Normy PN-ISO 10095 (5). Do oznaczeń stosowano odczynniki czystości analitycznej firmy Merck (KGaA Darmstadt, Niemcy) przeznaczone do chromatografii cieczowej oraz wodę dejonizowaną pozyskiwaną z urządzenia Milli-Q RG (Milli-Q system, Millipore, France). Roztwory wzorcowe stosowane do oznaczeń przygotowywano z roztworu wzorcowego kofeiny firmy Fluka (Sigma-Aldrich, Switzerland). Do wzbogacania i oczyszczania próbki ekstraktu wodnego kofeiny wykorzystano zestaw z kolumnami oczyszczającymi SPE (Solid Phase

Extraction) w odwróconym układzie faz, modyfikowanymi grupami fenylowymi o poj. 3 cm³ firmy Baker (J. T. Baker, USA).

Stężenie kofeiny w próbkach kaw oznaczono metodą HPLC-UV-Vis wykorzystując aparat wysokosprawnej chromatografii cieczowej firmy Selko (Selko 500). Jako kolumnę chromatograficzną zastosowano C-18 RP ODS firmy Macherey-Nagel (Macherey-Nagel GmbH, Niemcy). Natężenie przepływu fazy ruchomej składającej się z metanolu i wody 55/45, wynosiło 1 cm³/min. Granica oznaczalności dla kofeiny wynosiła 0,005 g kofeiny/100 g.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Stężenie kofeiny w 34 próbkach kawy palonej kofeinowej wynosiła od 0,32 do 2,95 g/100 g próbki. Średnie stężenie kofeiny w próbkach kaw kofeinowych palonych wynosiła 2,25 g kofeiny/100 g badanej próbki (mediana: 1,92 g kofeiny/100 g kawy).

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że najwyższe stężenie kofeiny oznaczono w próbce kawy Woseba Arabica (2,95 g kofeiny/100 g kawy), a najniższą w próbce Gayer cafe kawa śniadaniowa (0,32 g kofeiny/100 g kawy). Dla 12 próbek ekstraktów kawy kofeinowej najwyższe stężenie kofeiny stwierdzono w kawie Prima Finezja – 2,01 g kofeiny/100 g kawy. Najniższe stężenie kofeiny 1,03 g kofeiny/100 g próbki, oznaczono w próbce Nescafé Espresso. Średnie stężenie kofeiny w próbkach ekstraktu kawy kofeinowej wynosiła 1,63 g kofeiny/100 g kawy i była niższa niż średnie stężenie kofeiny w kawach palonych (mediana: 1,68 g kofeiny/100 g kawy). Wyniki stężenia kofeiny dla poszczególnych kaw kofeinowych zestawiono w tab. I.

Na podstawie uzyskanych wyników badań stężenia kofeiny dla 10 próbek kawy odkofeinowanej palonej można stwierdzić, że większość próbek kawy nie przekracza dopuszczalnego stężenia wynoszącego 0,10 g kofeiny w 100 g kawy (5). Jedyne, próbka kawy Sati Café dekafeinet (0,26 g kofeiny/100 g kawy) przekraczała dopuszczalne stężenie kofeiny (5). Najniższe stężenie kofeiny (0,06 g kofeiny/100 g) oznaczono w próbkach kawy Mercus i Onko. Dla ekstraktów kawy odkofeinowanej, stwierdzono najwyższe stężenie kofeiny w próbce kawy Jacobs Night&Day – 0,14 g kofeiny/100 g. Natomiast, najniższe stężenie kofeiny 0,06 g kofeiny/100 g kawy stwierdzono w kawie Tesco instant coffee- decaffeinated (tab. II). Parametry statystyczne zestawiono w tab. III.

W literaturze dostępne są informacje, że przeciętny konsument wypija dziennie od 2 do 4 filiżanek kawy dostarczając do organizmu 2–4 mg kofeiny/kg masy ciała na dobę (14). Za dawkę śmiertelną kofeiny uważa się ok. 10 g (ok. 80 filiżanek) (1). Do przygotowania w filiżance zwykłej porcji kawy, używa się wg danych producentów ok. 7–10 g kawy mielonej (co odpowiada 120–200 mg kofeiny), w celu zaparzenia kawy rozpuszczalnej używa się ok. 2,5 g (co stanowi średnio 65 mg kofeiny) (1, 15). Przeciętna porcja kawy espresso zawiera 40–62 mg kofeiny, natomiast filiżanka kawy bezkofeinowej do 4 mg kofeiny (14, 15).

Nadużywanie picia kawy, szczególnie kaw palonych zawierających dużą ilość robusty, może powodować niepożądane skutki objawiające się nadmiernym pobu-

Tabela I. Stężenie kofeiny w próbkach kawy kofeinowej (g/100 g kawy)

Table I. Caffeine content in caffeine-rich coffee samples (g/100 g coffee)

Nazwa próbki	Stężenie kofeiny g/100 g kawy	Nazwa próbki	Stężenie kofeiny g/100 g kawy
kawy kofeinowe palone		kawy kofeinowe palone (cd.)	
MK Café Feeling	2,03	Jacobs Aroma	2,00
MK Café Feeling	2,14	Caffe Sonia	1,98
Tchibo Family	2,57	Gayer caffe/kawa śniadaniowa	0,32
Prima Excellent	1,68	Shaheen Café	2,00
Prima Rumba	2,43	Lyons original	1,46
Prima niebieska	2,08	Morrisons (Roasted Grodnu coffee)	1,25
Café Prima Impresja	1,07	Douwe Egberts – Real coffee	2,02
Gala ulubiona	2,63	Organic Coffee-Breakfast Blend	1,23
Elite Optima	0,86	Organic Coffee-French Roast	1,21
Elite Fort	1,91	Hawana Gold	1,20
Elite Pedros	1,92	ekstrakty kawy kofeinowej	
Maxwell House	2,07	Nescafé Classic	1,87
Caffé Vergano	1,78	Nescafé Classic	1,66
Caffé Mike	2,48	Nescafé Gold	1,57
Caffe Matta	2,51	Nescafé Espresso	1,03
Segafredo espresso Casa	1,92	Maxwell House	1,76
Röstfein Kosta Espresso	1,55	Tchibo Exclusive	1,31
Sido Café	2,31	Mokate caffe classic	1,72
Kawa boska	1,69	Prima Finezja	2,01
Woseba Arabica	2,95	Prima Arabica	1,69
Woseba Gold	1,87	Jacobs Cronat Gold	1,64
Woseba Domowa	2,57	Astra Margo	1,38
Astra Terra	1,65	Cafe Prim	1,92
Taka Czarna	1,74		

dzeniem organizmu i bezsennością, wzmożoną potliwością, niepokojem, przyspieszeniem rytmu serca (1). Uważa się, że kofeina przy zachowaniu umiarkowanego poziomu spożycia do 300 mg dziennie, nie jest niebezpieczna dla zdrowia człowieka i nie wywołuje efektów niepożądanych (1, 15). W Niemczech dawka ta jest wyższa i wynosi 4 mg/kg masy ciała na dobę, w Wielkiej Brytanii – 3 mg/kg masy ciała na dobę i w USA – 4 mg/kg masy ciała na dobę (3). Na podstawie wieloletnich badań stwierdzono, że dzienna dawka kofeiny w ilości 300 mg nie wpływa negatywnie na rozwój płodu u kobiet ciężarnych (1, 15). Jednak należy pamiętać, że kofeina jest nie tylko składnikiem kawy, lecz innych

Tabela II. Stężenie kofeiny w kawie odkofeinowanej (g/100 g kawy)

Table II. Caffeine content in decaffeinated coffee samples (g/100 g coffee)

Nazwa próbki	Stężenie kofeiny g/100 g kawy	Nazwa próbki	Stężenie kofeiny g/100 g kawy
ekstrakty kawy odkofeinowanej		kawy odkofeinowane palone (cd.)	
Nescafé Classic	0,10	Marcus	0,06
Jacobs Night& Day	0,14	Onko	0,06
Tesco instant coffee – decaffeinated	0,06	Melita	0,07
kawy odkofeinowane palone		Prima DECAF ICA	0,08
Jacobs Night &Day	0,07	Prima DECAF ASG	0,09
Prima Grand Aroma	0,09	Prima bezkofeinowa	0,09
Sati Café dekafeinet	0,26	Prima bezkofeinowa	0,08

Tabela III. Podstawowe dane statystyczne dla próbek kawy (g/100 g kawy)

Table III. Basic statistical data for coffee samples (g/100 g coffee)

	Kawa kofeinowa palona	Ekstrakt kawy kofeinowej	Ekstrakt kawy odkofeinowanej	Kawa odkofeinowana palona
średnia	1,86	1,63	0,10	0,10
mediana	1,92	1,68	0,10	0,08
SD	0,56	0,28	0,04	0,06
n	34	12	3	10
minimum	0,32	1,03	0,06	0,06
maximum	2,95	2,01	0,14	0,26
25%	1,55	1,48	0,06	0,07
75%	2,14	1,82	0,14	0,09

produktów spożywczych (1, 14, 15). W herbacie stężenie kofeiny wynosi od 80 do 730 mg/dm³, w coca-coli ok. 80 mg/dm³, w kubku kakao 5–10 mg kofeiny, w czekoladzie 5–20 mg/100 g, zaś w 245 cm³ puszka napoju Red Bull zawiera 80 mg kofeiny (1, 14, 15). Wszelchobecność kofeiny w produktach spożywczych spowodowała normowanie zalecanej dopuszczalnej dziennej dawki dla dzieci, która w USA nie powinna przekraczać: 1 mg/kg masy ciała na dobę, w Niemczech 2,5 mg/kg masy ciała na dobę, w Wielkiej Brytanii 3 mg/kg masy ciała na dobę (3). W krajach Unii Europejskiej w celu ochrony konsumentów, szczególnie tych najmłodszych, spożywających duże ilości napojów energetyzujących (tj. Red Bull, Tiger itp.) wprowadzono konieczność informowania konsumenta „o wysokiej zawartości kofeiny” dla produktów, które zawierają więcej niż 150 mg/dm³ (4).

WNIOSKI

Na polskim rynku istnieje zaledwie kilka firm zajmujących się produkcją kaw odkofeinowanych, a tylko dwie spośród nich produkują odkofeinowany ekstrakt kawowy. Przeprowadzone badania wykazały, że kawy kofeinowe palone (średnia: 1,86; mediana: 1,92 g kofeiny/100 g kawy) mają wyższe stężenie kofeiny niż ekstrakt kawy kofeinowej (średnia: 1,63; mediana: 1,68 g kofeiny/100 g kawy). Przy dziennym spożyciu 2–4 filiżanek zawierających kawę kofeinową paloną dostępną na polskim rynku do organizmu wprowadzone zostaje 372–744 mg kofeiny/dobę.

Na podstawie otrzymanych wyników można stwierdzić, że stężenie kofeiny w kawach palonych odkofeinowanych nie przekracza 0,1 g kofeiny w 100 g. Przy dziennym spożyciu 2–4 filiżanek zawierających kawę odkofeinowaną do organizmu dostarcza się 20–40 mg kofeiny/dobę.

M. Frankowski, A. Kowalski, A. Ociepa, J. Siepak, P. Niedzielski

CAFFEINE LEVELS IN VARIOUS CAFFEINE-RICH
AND DECAFFEINATED COFFEE GRADES AND COFFEE EXTRACTS
MARKETED IN POLAND

Summary

The aim of this work was to assess the levels of caffeine in various grades of caffeine-rich and decaffeinated coffee and coffee extracts from all over the world allowed for sale in Poland. Caffeine concentrations were determined by High Performance Liquid Chromatography with UV/Vis detection (HPLC-UV-Vis). Our results indicate that caffeine-rich grades of roasted coffee contain more caffeine (0.32–2.95 g/100 g; median 1.92 g/100 g) than the caffeine-rich extracts (1.03–2.01 g/100 g; median: 1.68 g/100 g). From the results of our assessments of caffeine content in decaffeinated coffee grades (0.06–0.14 g caffeine/100 g coffee; median: 0.10 g caffeine/100 g coffee) and decaffeinated extracts (0.06–0.26 g caffeine/100 g coffee; median: 0.08 g caffeine/100 g coffee) we may conclude that caffeine content of the majority of analysed samples is within the limits specified by the Polish Standard PN-ISO 10095 for decaffeinated roasted coffee (0.1g caffeine/100g sample) and for decaffeinated coffee extract (0.3 g caffeine/100g sample).

PIŚMIENNICTWO

1. *Kosicka T., Kara-Perz H., Głuszek J.*: Kawa – zagrożenie czy ochrona. Przewodnik Lekarza, 2004; 4: 78-83. – 2. *Lau C., Falk J.*: Dose-dependent surmountability of locomotor activity in caffeine tolerance. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1995; 52(1): 139-143. – 3. *Nawrot P., Jordan S., Eastwood J., et al.*: Effects of caffeine on human health. *Food Addit Contam*, 2003; 20(1): 1-30. – 4. Dyrektywa Komisji 2002/67/WE z dnia 18 lipca 2002 r.: w sprawie etykietowania środków spożywczych zawierających chininę oraz środków spożywczych zawierających kofeinę. *Dziennik Urzędowy L* 191, 19/07/2002 P: 0020 – 0021. – 5. Polska Norma: Kawa. Oznaczanie zawartości kofeiny. Metoda wykorzystująca wysokosprawną chromatografię cieczową. Polski Komitet Normalizacyjny PN-ISO 10095; 1997. – 6. *Franca A., Mendonc J., Oliveira S.*: Composition of green and roasted coffees of different cup qualities. *LWT*, 2005; 38: 709-715. – 7. *Farah A., Monteiro M., Calado V., Franca A., Trugo L.*: Correlation between cup quality and chemical attributes of Brazilian coffee. *Food Chemistry*, 2006; 98: 373-380. – 8. *Tzanavaras P., Themelis D.*: Development and validation of a high-throughput high-performance liquid chromatographic assay for the determination of caffeine in food samples using a monolithic column. *Analytica Chimica Acta*, 2007; 581: 89-94. – 9. *Zou J., Li N.*: Simple and

environmental friendly procedure for the gas chromatographic–mass spectrometric determination of caffeine in beverages, *Journal of Chromatography A*, 2006; 1136: 106-110. – 10. *Seńczuk W.*: Toksykologia, PZWL, Warszawa 1999.

11. *Meyer A., Ngiruwonsanga T., Henze G.*: Determination of adenine, caffeine, theophylline and theobromine by HPLC with amperometric detection. *Journal of Analytical Chemistry*, 1996; 356(3-4): 284-287. – 12. *Schneider H., Ma L., Glatt H.*: Extractionless metod for the determination of urinary caffeine metabolites using high – performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 2003; 789: 227-237. – 13. *Nyéki Á., Biollaz J., Kesselring O., Décosterd L.*: Extractionless metod for the simultaneous high-performance liquid chromatographic determination of urinary caffeine metabolites for N-acetyltransferase 2, cytochrom P450 1A2 and xantine oxidase activity assessment. *Journal of Chromatography B*, 2001; 755: 73-84. – 14. *Mandel H.G.*: Update on caffeine consumption, disposition and action. *Food and Chemical Toxicology*, 2002; 40: 1231-1234. – 15. *Reid T.*: Kofeina. *National Geographic*, 2005; 1(64): 10-38. – 16. *Smith A.*: Effects of caffeine on human behavior. *Food and Chemical Toxicology*, 2002; 40: 1243-1255. – 17. *Sakamoto W., Nishihira J., Fujie K., Iizuka T., Handa H., Ozaki M., Yukawa S.*: Effect of Coffee Consumption on Bone Metabolism. *Bone*, 2001; 28(3): 332-336. – 18. *Liguori A., Hughes J., Grass J.*: Absorption and subjective effect of caffeine from coffee, cola and capsules. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1997; 58(3): 721-726. – 19. *Kobukowski J.*: Rozprawy i monografie 17. Wpływ spożycia używek na wartość odżywczą białka, wykorzystanie energii oraz biodostępności składników mineralnych. Art., Olsztyn 1999. – 20. *Ly S., Joung Y., Kim M., Han L., Joung W., Kim H.*: Determination of Caffeine Using a Simple Graphite Pencil Electrode with Square-Wave Anodic Stripping Voltammetry. *Microchimica Acta*, 2004; 146 (3-4): 207-213.

21. *Szczepaniak W.*: Metody instrumentalne w analizie chemicznej. PWN, Warszawa 2002.

Adres: 60-613 Poznań, ul. Michała Drzymały 24.