

Guayusa-Tee – eine Alternative zu Energy Drinks?

Laborbericht über Koffeinanalysen von Broken Leaf-Tee und Energy Pads der Firma Tausendkraut

Im Zeitraum von 5.9.2018 – 3.11.2018



Jessica Ißleib, Prof. Dr. Martin Gröger, Dr. Udo Führ

Universität Siegen

Fakultät IV – Department Chemie und Biologie

Didaktik der Chemie

Adolf-Reichwein-Str. 2

57068 Siegen

Kontakt: jessica.issleib@uni-siegen.de

Inhaltsverzeichnis

1 Zielsetzung.....	1
2 Erprobung der Methodik.....	2
2.1 Zubereitungsvarianten des Tees.....	2
2.2 Messverfahren.....	3
2.2.1 Titrimetrisches Verfahren – Variante 4 nach Holfeld.....	4
2.2.2 Photometrisches Verfahren I - Variante 1 nach Holfeld.....	5
2.2.3 Photometrisches Verfahren II - Variante 3 nach Holfeld.....	7
2.3 Methodenwahl.....	8
3 Bestimmung der Koffeinkonzentration in Getränken.....	10
3.1 Messung der Koffeinkonzentration im Broken Leaf Tee.....	10
3.1.1 Schwankungen bei gleicher Zubereitungsweise.....	10
3.1.2 Variation der Ziehzeit.....	11
3.1.3 Variation der Teemenge.....	14
3.2 Messung der Koffeinkonzentration in den Energy Pads.....	15
3.2.1 Schwankungen bei gleicher Zubereitungsweise.....	15
3.2.2 Koffeinkonzentration bei Mehrfachzubereitung eines Pads.....	17
3.3 Messung weiterer koffeinhaltiger Getränke.....	18
3.4 Vergleich der Koffeingehalte.....	20
4 Extraktion von Koffein aus den Teeblättern.....	21
4.1 Das Verfahren.....	21
4.2 Durchführung.....	22
4.2.1 Soxhleth-Extraktion.....	22
4.2.2 Aufbereitung.....	22
4.3 Ergebnisse.....	25
5 Zusammenfassung.....	25

1 Zielsetzung

Im Rahmen dieses Berichtes werden Untersuchungen von Guayusa Tee Produkten der Firma Tausendkraut hinsichtlich ihrer Koffeinkonzentrationen sowohl im zubereiteten Getränk als auch in den Teeblättern dargelegt.

Im Fokus der Untersuchungen steht der Broken Leaf Tee, dessen Koffeinkonzentrationen in Abhängigkeit von der Ziehzeit und der eingesetzten Teemenge mit dem Ziel bestimmt wurden, darauf basierend Empfehlungen für Verbraucher bezüglich der Zubereitungsweise des Produktes aussprechen zu können.

Weiteres zentrales Interesse gilt den Guayusa Energy Pads, welche für die Zubereitung mithilfe einer Senseo-Pad-Maschine konzipiert wurden. Ob sich die Bezeichnung „Energy Pad“ tatsächlich in dem Koffeingehalt der zubereiteten Getränke widerspiegelt, wird mithilfe der Analyseergebnisse beantwortet. Auch wird der Frage einer möglichen Mehrfachzubereitung der Pads und den Auswirkungen auf den Koffeingehalt nachgegangen.

Zuletzt soll ein Vergleich zwischen verschiedenen koffeinhaltigen Getränken gezogen werden, der sowohl auf eigenen Messungen wie auf Herstellerangaben und Literaturwerten beruht.

Die Untersuchungen knüpfen an die Erkenntnisse einer zuvor in der Arbeitsgruppe „Didaktik der Chemie“ durchgeführten Bachelorarbeit an, in der in ersten Testdurchläufen der Frage nach den Koffeinkonzentrationen im Broken Leaf Tee in Abhängigkeit von der Ziehzeit und der eingesetzten Teemenge nachgegangen wurde.

Der vorliegende Bericht legt zunächst eine Erprobung verschiedener Methoden dar (Kapitel 2) und stellt anschließend die Messergebnisse für den Koffeingehalt sowohl für Getränke (Kapitel 3) als auch für die Teeblätter (Kapitel 4) vor.

Den eigentlichen Messungen ging eine dreiwöchige Erprobungsphase voraus, in welcher einzelne Messergebnisse wieder verworfen werden mussten. Diese werden im Rahmen des vorliegenden Berichtes zum Zwecke der Übersichtlichkeit nicht vollständig dokumentiert.

2 Erprobung der Methodik

Um die Koffeinkonzentrationen verschiedener Getränke zu messen, wurden Versuche nach Holfeld¹ herangezogen, die in den Schulunterricht integriert werden können.

Zunächst wurden Zubereitungsarten für den Broken Leaf Tee erprobt, die authentisch sein sollen, und zugleich dem Anspruch hoher Messgenauigkeit genügen (Kapitel 2.1). Im Anschluss wurden verschiedene Methoden hinsichtlich der Verfahrensgenauigkeit überprüft (Kapitel 2.2) und darauf basierend ein geeignetes Verfahren gewählt.

2.1 Zubereitungsvarianten des Tees

Variante 1 – Teezubereitung im Becherglas

Im ersten Ansatz wurde der Broken Leaf Tee mithilfe der Analysenwaage in ein leeres Becherglas eingewogen, kochendes Wasser mit einem Messzylinder auf 125 mL abgemessen und hinzugegeben. Nach Zugabe des Wassers wurde kurz umgerührt und die Zeit mithilfe einer Stoppuhr gemessen. Nach der gewünschten Ziehzeit wurde der Tee abfiltriert.

Hierbei traten zwei Probleme auf: Durch das Abmessen mit dem Messzylinder kühlte das Wasser deutlich ab, sodass es nicht mehr einer Realsituation der Teezubereitung entsprach. Darüber hinaus wurde nach Ablauf der gewünschten Zeit die Ziehzeit des im Filter befindlichen Tees während der Filtration verlängert, sodass mit dieser Variante darüber keine zuverlässigen Aussagen gemacht werden konnten.

Variante 2 – Teezubereitung mit einem Tee-Ei

Der Tee wurde in ein Tee-Ei eingewogen. Das kochende Wasser wurde exakt auf 125 g abgemessen, indem es in ein Becherglas gegeben wurde, das auf einem Korkring auf einer Waage positioniert war. Nach Zugabe des Tee-Eis wurde die Messung der Ziehzeit gestartet, nach der gewünschten Zeit konnte das Tee-Ei leicht entfernt werden. Im Tee befindliche Schwebstoffe wurden im Anschluss abfiltriert.

Problematisch bei dieser Zubereitungsart waren die Poren des Tee-Eis, durch welche leichte Verluste der eingewogenen Teemenge auftreten konnten. Zudem konnte die Zubereitung mehrerer Teeaufgüsse durch das Vorhandensein eines Tee-Eis bloß nacheinander erfolgen, was einen erheblichen Zeitaufwand bedeutete.

Variante 3 – Teezubereitung im Teefilter

Um dieses Problem zu umgehen, wurden Teefilter gekauft, in welche auf der Analysenwaage jeweils die Teemengen eingewogen wurden. Auf der Waage wurden erneut jeweils 125 g

¹ Holfeld, Proske und Wiskamp: Coffeinbestimmung – viele Wege führen zum Ziel. In Holfeld, Proske und Wiskamp: Ernährung, Nahrungsmittelergänzung, Doping. Online verfügbar unter: <https://chemie-und-sport.de/flip/ernaerung/index.html#20>

kochendes Wasser in ein Becherglas eingewogen. Der Teefilter wurde in das Becherglas gegeben, die Zeitmessung gestartet, mit einem Glasstab kurz umgerührt und darauf geachtet, dass der Inhalt des Teefilters sich unterhalb der Wasseroberfläche befand. 30 Sekunden vor Ablauf der Ziehzeit wurde mit dem Glasstab kontinuierlich umgerührt, dann der Teefilter entfernt und der Aufguss filtriert. Auf diese Weise konnten jeweils vier Teeaufgüsse parallel zubereitet werden.



Abb. 1: Broken Leaf Tee, eingewogen in Teebeuteln Abb. 2: Zubereitung der Teeaufgüsse im Becherglas

Für die Messungen in Kapitel 3 wurden alle Teeaufgüsse mit losen Teeblättern gemäß der dritten Variante zubereitet.

2.2 Messverfahren

Mit den folgenden Methoden lassen sich die Koffeinkonzentration über einen Extinktionswert (photometrisches Verfahren) oder über das Volumen (titrimetrisches Verfahren) berechnen. Für jedes Verfahren besteht die Notwendigkeit, die gemessenen Werte in Relation zu Werten bekannter Koffeinkonzentrationen zu setzen. Zu diesem Zwecke wurden zunächst fünf Stammlösungen (Koffeinelösungen mit bekannter Konzentration) mithilfe einer Analysenwaage mit einer Messgenauigkeit bis auf 1 µg hergestellt. Anhand der Stammlösungen wird jeweils eine Kalibrationskurve erstellt, über deren Ausgleichsfunktion sich die Koffeinkonzentrationen der Getränkeproben berechnen lassen.



Abb. 3: Analysenwaage



Abb. 4: Maßlösungen mit bekannten Koffeinkonzentrationen ($c = 100\text{--}500\text{ mg/L}$)

2.2.1 Titrimetrisches Verfahren – Variante 4 nach Holfeld

Versuchsanleitung:

Es werden zunächst wässrige Koffeinlösungen mit $c = 100, 200, 300, 400,$ und 500 mg/L zu Kalibrationszwecken hergestellt (Abb. 4). Jeweils 5 mL Probe werden in ein Zentrifugenglas pipettiert, mit 1 mL Lugolscher Lösung (Kaliumiodid-Iod-Lösung) und 1 mL Schwefelsäure ($w \sim 25\%$) versetzt und fünf Minuten stehen gelassen. Vom Überstand werden jeweils 2 mL abpipettiert, in ein Becherglas gegeben und mit Natriumthiosulfat-Lösung ($0,05 \text{ mol/L}$) titriert. Als Indikator werden einige Tropfen Zinkiodidstärke-Lösung hinzugegeben, sobald die Lösung gelb gefärbt ist.

Am Umschlagspunkt tritt eine Entfärbung der dunkelvioletten Lösung auf (Abb. 6).



Abb. 5: Violettfärbung nach Zugabe des Indikators



Abb. 6: Entfärbung des Indikators am Umschlagspunkt

Versuchsdurchführung:

Aus vier verschiedenen Energy Pads wurden jeweils vier Proben entnommen und nach diesem Verfahren analysiert. Der Verbrauch an Natriumthiosulfatlösung am Umschlagspunkt wurde notiert:

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Pad 1	$\sim 0,2 \text{ mL}$ (6 Tropfen)	$\sim 0,2 \text{ mL}$ (6 Tropfen)	$\sim 0,2 \text{ mL}$ (5 Tropfen)	$\sim 0,2 \text{ mL}$ (6 Tropfen)
Pad 2	$\sim 0,3 \text{ mL}$ (7 Tropfen)	$\sim 0,3 \text{ mL}$ (7 Tropfen)	$\sim 0,3 \text{ mL}$ (7 Tropfen)	$\sim 0,3 \text{ mL}$ (7 Tropfen)
Pad 3	$\sim 0,3 \text{ mL}$ (7 Tropfen)	$0,3 - 0,4 \text{ mL}$ (8 Tropfen)	$\sim 0,2 \text{ mL}$ (6 Tropfen)	$\sim 0,3 \text{ mL}$ (7 Tropfen)
Pad 4	$0,3 - 0,4 \text{ mL}$ (8 Tropfen)	$0,3 - 0,4 \text{ mL}$ (8 Tropfen)	$\sim 0,3 \text{ mL}$ (7 Tropfen)	$\sim 0,3 \text{ mL}$ (7 Tropfen)

Anschließend wurden die Kalibrationswerte aus den Stammlösungen gemessen:

Konzentration in mg/L	Verbrauch Thiosulfatlösung in mL	
	Probe 1	Probe 2
100	~ 0,4 mL (8 Tropfen)	~ 0,45 mL (9 Tropfen)
200	~ 0,4 mL (8 Tropfen)	~ 0,45 mL (9 Tropfen)
300	~ 0,4 mL (8 Tropfen)	~ 0,4 mL (8 Tropfen)
400	~ 0,3 mL (7 Tropfen)	~ 0,3 mL (7 Tropfen)

Aufgrund der geringen Unterschiede des Verbrauchs lässt sich keine zufriedenstellende Kalibrationskurve erstellen. Anlässlich abweichender vorheriger Messungen durch den Laborleiter Dr. Udo Führ wurden in Zusammenarbeit mit ihm eine neue Stammlösung mit 100 mg/L Koffein, sowie und eine neue 0,05-molare Natriumthiosulfat-Lösung (0,7906 g in 100 mL) hergestellt und erneut gemessen:

Konzentration in mg/L	Verbrauch Thiosulfatlösung in mL	
	Probe 1.1	Probe 1.2
100	~ 0,5 mL (10 Tropfen)	~ 0,5 mL (10 Tropfen)
300	~ 0,4 mL (7-8 Tropfen)	~ 0,4 mL (8 Tropfen)
500	~ 0,3 mL (7 Tropfen)	~ 0,3 mL (6-7 Tropfen)

Auch hierbei kamen keine zufriedenstellenden Ergebnisse zustande. Deshalb wurde die Methode aufgrund der Ableseungenauigkeit verworfen. Der Umschlag erfolgte oft zwischen 2 Tropfen, die Abstände zwischen den unterschiedlichen Verbräuchen waren zu gering für zuverlässige Aussagen über die Koffeinkonzentration. Die Probengröße wurde testweise von 2mL auf 4mL erhöht (größere Volumina waren aufgrund des Fassungsvermögens der Zentrifugengläser von 5 mL nicht möglich), jedoch konnten auch dadurch keine zuverlässigen Werte generiert werden.

2.2.2 Photometrisches Verfahren I - Variante 1 nach Holfeld

Versuchsanleitung:

Es werden wässrige Koffeinlösungen verschiedener Konzentrationen (Stammlösungen, $c = 100, 200, 300, 400, \text{ und } 500 \text{ mg/L}$) hergestellt (Abb. 4). Jeweils 5 mL Probe werden in ein Zentrifugenglas pipettiert, mit 1 mL Lugolscher Lösung und 1 mL Schwefelsäure ($w \sim 25\%$) versetzt und fünf Minuten stehen gelassen. Im Anschluss wird die Suspension zehn Minuten zentrifugiert, der Überstand abdekantiert und zum Rückstand 10 mL Isopropanol gegeben. Die Lösung wird in eine Küvette gefüllt (Abb. 8) und die Absorption bei 480 nm gemessen. Mit den zu beprobenden Getränken wird ebenso verfahren.

Entgegen der Versuchsanleitung erfolgten die Messungen bei 470 nm, da die empfohlene Wellenlänge von 480 nm in den Geräteeinstellungen des verwendeten Photometers der Firma WINLAB (Abb. 9) nicht verfügbar waren. Darüber hinaus wurde der in Isopropanol gelöste Zentrifugationsniederschlag vor der photometrischen Messung filtriert, um die

Lösung von unerwünschten Schwebstoffen (Abb. 7) zu befreien, welche das Messergebnis beeinflussen.



Abb. 7: In Isopropanol unlösliche Schwebstoffe



Abb. 8: Unterschiedliche Farbintensitäten der aufbereiteten Stammlösungen zur Kalibration

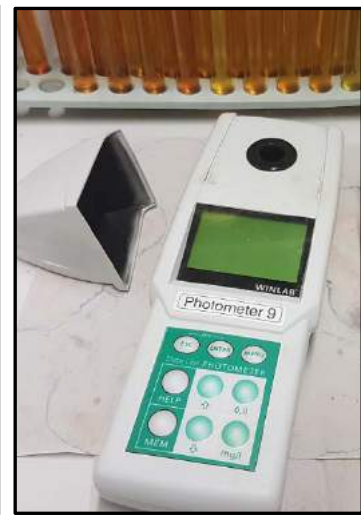


Abb. 9: Photometer der Firma WINLAB

Versuchsdurchführung:

Die Extinktionswerte der Stammlösungen wurden bei 470 nm gemessen. Um Messfehler auszuschließen, wurde die Messung einmal wiederholt und die erste Messung aufgrund zu vernachlässigender Abweichungen und einer Übereinstimmung mit früheren Messwerten des Laborleiters als zufriedenstellend beurteilt.

Koffeinkonzentration in mg/L	Extinktion bei 470 nm	
	Erste Messung	Zweite Messung
100	0,679	0,682
200	1,123	1,114
300	1,451	1,492
400	1,855	1,869
500	2,128	2,135

Daraufhin wurden die Extinktionen verschiedener Club Mate-Proben aus einer Flasche zur Ermittlung der Übereinstimmung mit der Herstellerangabe (Koffeingehalt = 200 mg/L) bestimmt. Die erhaltenen Messwerte erwiesen sich tatsächlich als Annäherung an die Hersteller-Angabe, wodurch das Verfahren als grundsätzlich geeignet beurteilt werden kann.

Getränkproben Club Mate	Extinktion	Koffeingehalt in mg/L
Probe 1	1,116	208,76
Probe 2	1,108	206,56
Probe 3	0,995	175,43
Probe 4	1,108	206,56
Probe 5	1,075	197,47

2.2.2 Photometrisches Verfahren II - Variante 3 nach Holfeld

Versuchsanleitung:

Es werden zunächst wässrige Koffeinelösungen mit $c = 100, 200, 300, 400,$ und 500 mg/L zu Kalibrationszwecken hergestellt. Jeweils 5 mL Probe werden in ein Reagenzglas pipettiert, mit 1 mL Lugolscher Lösung (Kaliumiodid-Iod-Lösung) und 1 mL Schwefelsäure ($w \sim 25\%$) versetzt, fünf Minuten stehen gelassen und anschließend filtriert. Der Rückstand auf dem Filterpapier wird in 10 mL Isopropanol gelöst. Sollten Trübungen auftreten, muss solange filtriert werden, bis eine klare Lösung erhalten wurde. Die Extinktion wird photometrisch bestimmt.

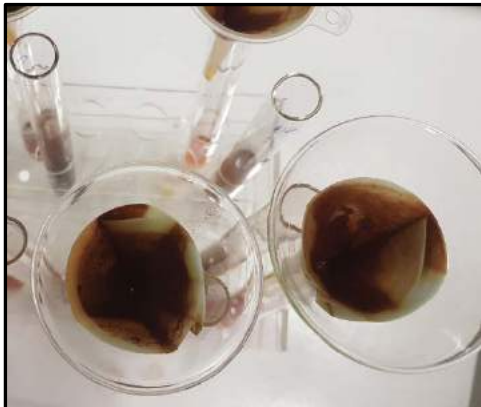


Abb. 10: Filtration des entstandenen Niederschlags



Abb. 11: Lösen des Filtrationsrückstandes in Isopropanol

Versuchsdurchführung:

Diese Methode wurde für die Koffeinbestimmung in Kaffeegetränken angewandt, da nach dem Zentrifugieren kein vollständig abgesetzter Niederschlag erhalten werden konnte. Dazu wurden zwei Kaffeepads „Klassisch“ der Marke Senseo zubereitet und von einem Pad zwei Proben zur Beurteilung der Messzuverlässigkeit untersucht. Club Mate wurde zu Vergleichszwecken ebenfalls erneut gemessen. Anschließend wurden die Kalibrationswerte bestimmt – erwartungsgemäß sollte der Unterschied zu Variante 1 gering ausfallen, da die Werte auf der Messung desselben Reaktionsproduktes beruhen.

Getränkprobe	Extinktion bei 470 nm
Senseo Klassisch (Pad 1)	1,005
Senseo Klassisch (Pad 2, Probe 1)	0,426
Senseo Klassisch (Pad 2, Probe 2)	0,438
Club Mate, Probe 1	0,695
Club Mate, Probe 2	0,681

Koffeinkonzentration der Stammlösungen in mg/L	Gemessene Extinktion für Variante 3	Extinktionen von Variante 1 im Vergleich
100	0,639	0,679
200	0,882	1,123
300	1,321	1,451
400	1,601	1,855
500	1,924	2,128

Die Messzuverlässigkeit ist aufgrund der nahe beieinander liegenden Ergebnisse von Club Mate und Senseo Pad 2 als gut zu beurteilen. Auffällig ist eine starke Schwankung des Koffeingehaltes innerhalb der Kaffeeaufgüsse des gleichen Produktes.

Bei den Kaffeeproben war eine mehrfache Filtration notwendig, bis die Isopropanol-Lösung klar wurde. Man war zudem mit der Schwierigkeit konfrontiert, dass sich der Rückstand auf dem Filterpapier schwer in solch einer geringen Menge Isopropanol in Lösung bringen ließ. Die Kalibrationswerte für Variante 3 weichen für die Stammlösungen ab einer Konzentration von 200 mg/L nicht unerheblich nach unten ab. Zudem entspricht die Koffeinkonzentration für Club Mate nicht der zuvor gemessenen und vom Hersteller angegebenen Konzentration von 200 mg/L, sondern wäre gemäß dieser Messmethode lediglich bei 100 mg/L zu verorten. Diese Befunde lassen vermuten, dass es während der Filtration oder des Lösungsvorgangs zu Koffeinverlusten kommt.

2.3 Methodenwahl

Die Messergebnisse des nachfolgenden Kapitels beruhen auf Variante 1 nach Holfeld - dem zuerst vorgestellten photometrischen Verfahren (vgl. Kapitel 2.2.1).

Um die Zentrifugationsleistung zu erbringen, musste jeweils 10 Minuten eine handgeführte Zentrifuge bedient werden. Da dies nicht bloß mit einem Zeit – und Energieaufwand, sondern auch mit einem Verletzungsrisiko und Ungleichmäßigkeiten in der Drehzahl einherging, die sich wiederum auf die Qualität des Trennungsvorgangs der jeweiligen Proben auswirkte, wurde dieses Verfahren nach einiger Zeit optimiert, indem eine elektrische Zentrifuge mit einem größeren Fassungsvermögen entliehen wurde.



Abb. 12: Handgeführte Zentrifuge



Abb. 13: Elektrische Zentrifuge der Firma Hettich



Abb. 14: Zentrifugengläser mit 10 und 50 mL Fassungsvermögen

Die Probenmenge wurde dadurch von 5 mL auf 25 mL verfünffacht und eventuelle Verluste des ausfallenden Feststoffs konnten verringert werden. Die Kalibrationswerte wurden mit dem fünffachen Ansatz erneut erhoben, wobei sich keine nennenswerte Abweichung feststellen ließ, sodass die zuvor gemessenen Werte (aus Kapitel 2.2.1) beibehalten wurden.

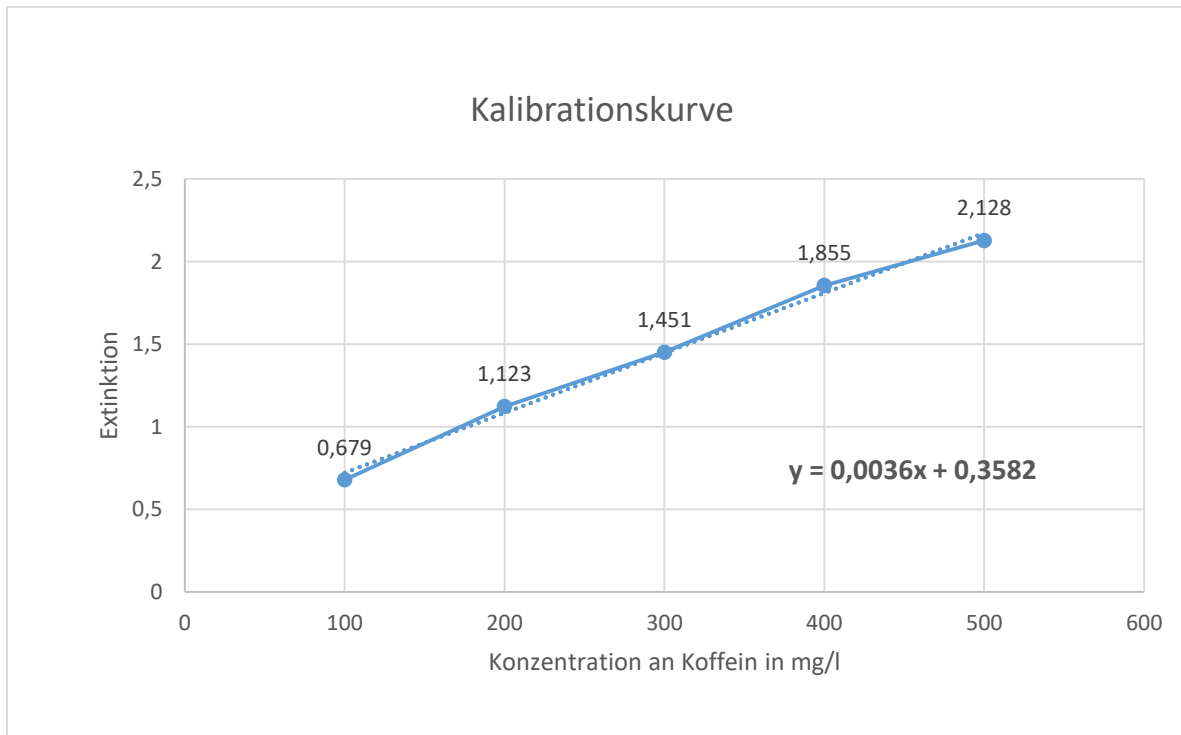


Diagramm 1: Kalibrationskurve für Variante 1 - Extinktion in Abhängigkeit von der Kaffeinkonzentration

Die Kalibrationskurve (Diagramm 1) wird allen Messungen in Kapitel 3 zugrunde gelegt. Durch Umstellung der Ausgleichsfunktion $y = 0,363x + 0,3582$ nach der Variablen x errechnet man die Kaffeinkonzentration (x) durch Einsetzen der Extinktionswerte (y) in folgende Formel:

$$x = \frac{y - 0,3582}{0,363}$$

3 Bestimmung der Koffeinkonzentration in Getränken

In diesem Kapitel werden die Analysedaten der Messungen zahlreicher koffeinhaltiger Getränke dargestellt und erläutert. Der Fokus liegt dabei auf den Koffeingehalten im Broken Leaf Tee in Abhängigkeit von der Ziehzeit und der eingesetzten Teemenge, gefolgt von den Koffeingehalten in Teegetränken, die sich aus der Zubereitung der Energy Pads ergeben. Abschließend werden die Werte zu Vergleichszwecken diversen anderen Getränken wie Energy Drinks und Cola gegenübergestellt.



Abb. 15: verschiedene koffeinhaltige Getränke vor der Probenahme

3.1 Messung der Koffeinkonzentration im Broken Leaf Tee

Zunächst wurden die Koffeinschwankungen der Teeaufgüsse gleicher Zubereitungsweise ermittelt, anschließend die Ziehzeit und eingesetzte Teemenge auf 125 mL Wasser variiert.

3.1.1 Schwankungen bei gleicher Zubereitungsweise

Zunächst wurden fünf Teegetränke nach gleicher Zubereitungsweise (1,5 g Tee auf 125 mL kochendes Wasser, 3 Minuten Ziehzeit) hergestellt und aus jedem Teeaufguss zwei Proben mit einer Probengröße von mL analysiert.

Teegetränk Nr.	Messung 1		Messung 2	
	Extinktion	c(Koffein)	Extinktion	c(Koffein)
T1	0,658	82,58953	0,717	98,84298
T2	0,69	91,40496	0,676	87,54821
T3	0,909	151,7355	0,831	130,2479
T4	0,792	119,5041	0,838	132,1763
T5	0,829	129,697	0,893	147,3278

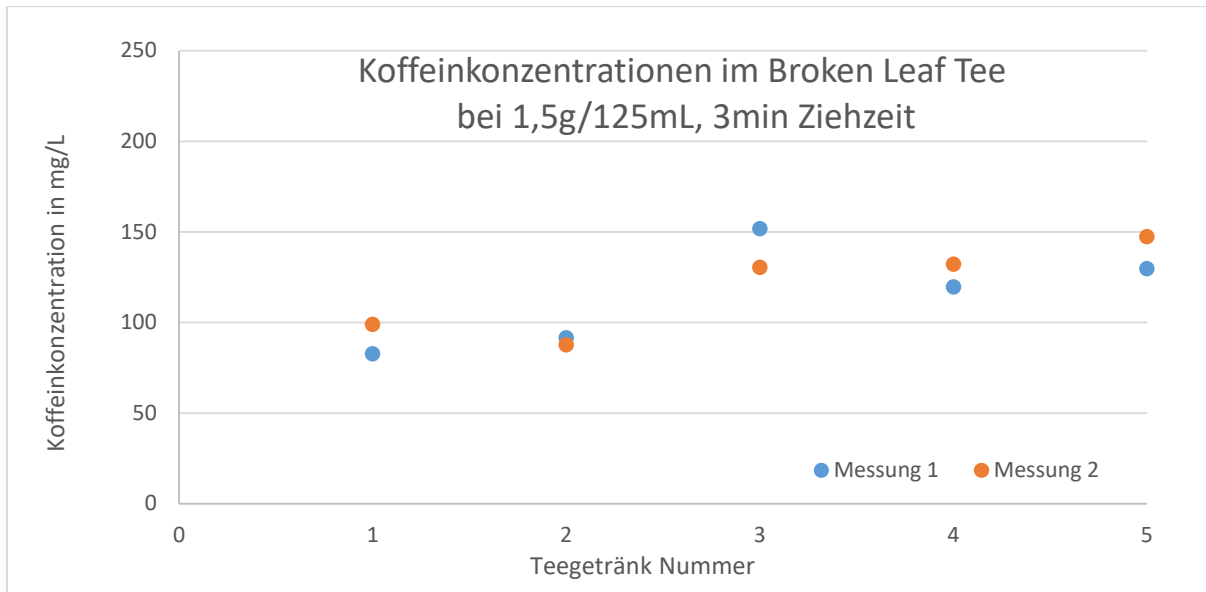


Diagramm 2: Koffeinkonzentrationen im Broken Leaf Tee bei gleicher Zubereitungsweise (1,5g auf 125 mL, 3min Ziehzeit)

Die Messwerte entsprechen einer Koffeinkonzentration zwischen 100 und 150 mg/L. Bei den ersten beiden Teeaufgüssen sind leichte Koffeinverluste nach dem Zentrifugieren anzunehmen (vgl. Kapitel 3.1.2, Abb. 16).

3.1.2 Variation der Ziehzeit

Die folgenden Messwerte wurden mit jeweils 5 mL Probenansatz ermittelt. Zur Zubereitung eines Teeausgusses wurden 1,5 g Broken Leaf Tee mit 125 mL kochendem Wasser zubereitet.

Ziehzeit (min)	Messung 1		Messung 2		Messung 3	
	Extinktion	c(Koffein) in mg/L	Extinktion	c(Koffein) in mg/L	Extinktion	c(Koffein) in mg/L
1	0,531	47,60331	0,817	126,3912	0,716	98,56749
2	0,495	37,68595	0,716	98,56749	0,762	111,2397
3	0,693	92,2314	0,852	136,0331	0,906	150,9091
4	0,867	140,1653	1,088	201,0468	0,926	156,4187
5	0,705	95,53719	0,8	121,708	0,937	159,449
6	0,872	141,5427	1,057	192,5069	0,947	162,2039
7	0,826	128,8705	1,051	190,854	0,955	164,4077
8	0,963	166,6116	1,136	214,27	1,051	190,854
10	1,098	203,8017	0,966	167,438	1,089	201,3223
20	1,073	196,9146	1,055	191,9559	1,093	202,4242
30	1,097	203,5262	0,971	168,8154	1,056	192,2314
60	1,089	201,3223	1,049	190,303	1,109	206,832

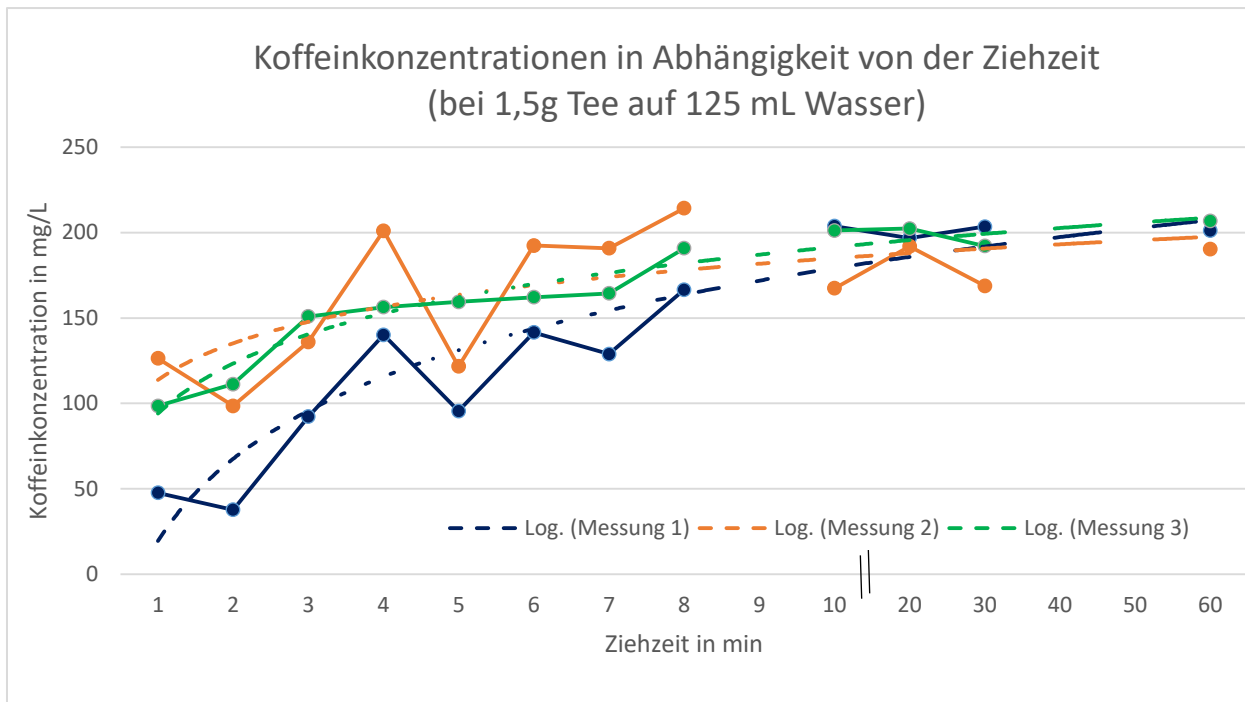


Diagramm 3: Koffeinkonzentrationen in Abhängigkeit von der Ziehzeit (1,5 g auf 125 mL, 5 mL Probe)

Die Werte sind hohen Schwankungen unterworfen, was bei der ersten Messung vor allem auf Verfahrensungenauigkeiten während des Zentrifugierens zurückzuführen ist. Bei zu geringer Zentrifugationsleistung können Anteile des entstandenen Koffeinperiodids als feiner, noch in der Lösung schwebender Niederschlag zurückbleiben (Abb. 16), der sich nicht mit Isopropanol in Lösung bringen lässt und sich somit der anschließenden Messung entzieht.

Ungeachtet dessen ist in allen Fällen eine Annäherung an eine Koffeinkonzentration von 200 mg/L während der Ziehzeiterhöhung beobachtbar.



Abb. 16: Unvollständig abgesetzter Rückstand

Die Ziehzeitvariation wurde wiederholt, es wurden erneut Teeaufgüsse mit jeweils 1,5 g Broken Leaf Tee in 125 mL Wasser zubereitet, die Probenmenge verfünffacht und mithilfe der elektrischen Zentrifuge aufbereitet.

Ziehzeit (min)	Messung1		Messung2	
	Extinktion	c(Koffein) in mg/L	Extinktion	c(Koffein) in mg/L
1	0,535	48,70523	0,649	80,11019
2	0,647	79,55923	0,744	106,281
3	0,784	117,3003	0,867	140,1653
4	0,808	123,9118	0,831	130,2479
5	0,889	146,2259	0,865	139,6143
6	0,889	146,2259	0,914	153,1129
7	0,977	170,4683	0,979	171,0193
8	1,034	186,1708	0,989	173,7741
10	1,052	191,1295	0,987	173,2231
20	0,985	172,6722	1,037	186,9972
30	1,016	181,2121	1,059	193,0579
60	1,043	188,6501	0,994	175,1515

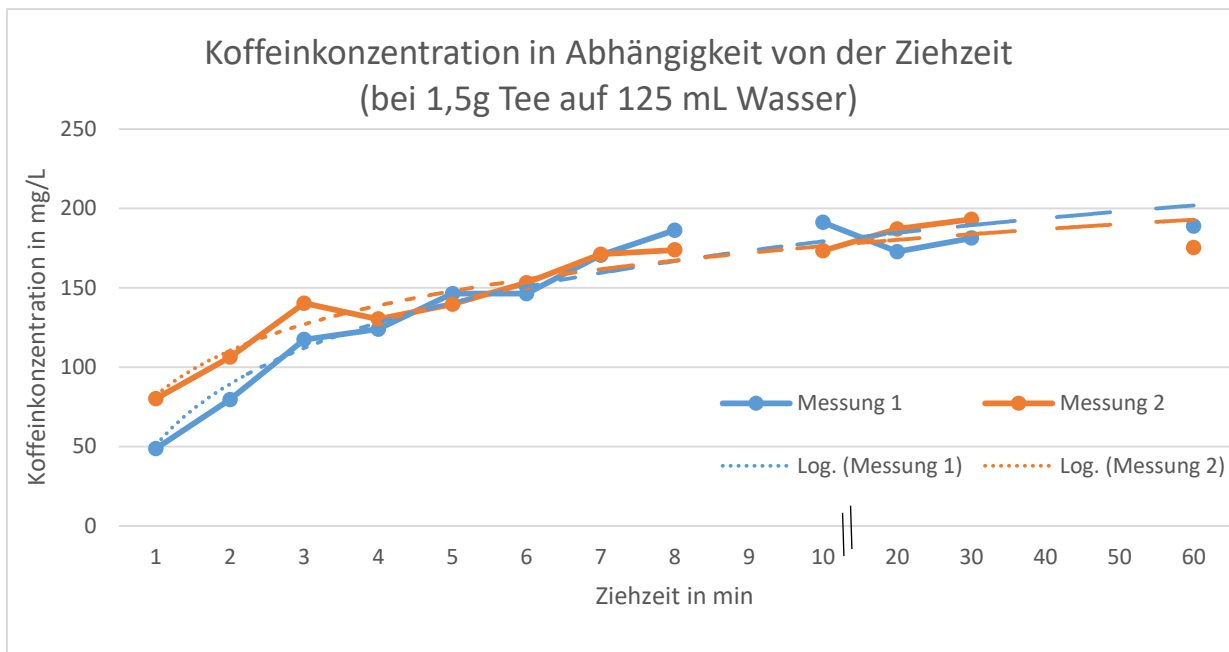


Diagramm 4: Koffeinkonzentrationen in Abhängigkeit von der Ziehzeit (1,5 g auf 125 mL, 25mL Probe)

Bei diesen Messergebnissen ist davon auszugehen, dass keine Koffeinverluste durch unzureichende Zentrifugation verursacht wurden. Auch bei diesen Ergebnissen zeigt sich bei einer Teekonzentration von 1,5 g Broken Leaf Tee auf 125 mL Wasser eine Annäherung an einen Koffeingehalt von 200 mg/L mit zunehmender Ziehzeit.

3.1.3 Variation der Teemenge

Diese Werte wurden mit jeweils 25 mL Probenmenge erhoben und für jede Ziehzeitreihe zweifach gemessen, um größere Abweichungen auszuschließen. Die ersten Messwerte wurden bei geringer Abweichung beibehalten und sind im Folgenden abgegeben, bei Abweichungen ab einer Extinktionsdifferenz von 0,1 wurde eine dritte Messung durchgeführt.

Gramm Tee auf 125 mL Wasser	3min Ziehzeit		5min Ziehzeit		7 min Ziehzeit	
	Extinktion	c(Koffein)	Extinktion	c(Koffein)	Extinktion	c(Koffein)
1	0,468	30,24793	0,534	48,42975	0,534	48,42975
1,5	0,668	85,34435	0,892	147,0523	0,809	124,1873
2	0,881	144,022	0,84	132,7273	1,07	196,0882
2,5	1,048	190,0275	1,106	206,0055	1,213	235,4821
3	1,068	195,5372	1,311	262,4793	1,354	274,3251
3,5	1,157	220,0551	1,343	271,2948	1,331	267,989
4	1,101	204,6281	1,486	310,6887	1,293	257,5207
5	1,21	234,6556	1,41	289,7521	1,365	277,3554
6	1,301	259,7245	1,438	297,4656	1,451	301,0468

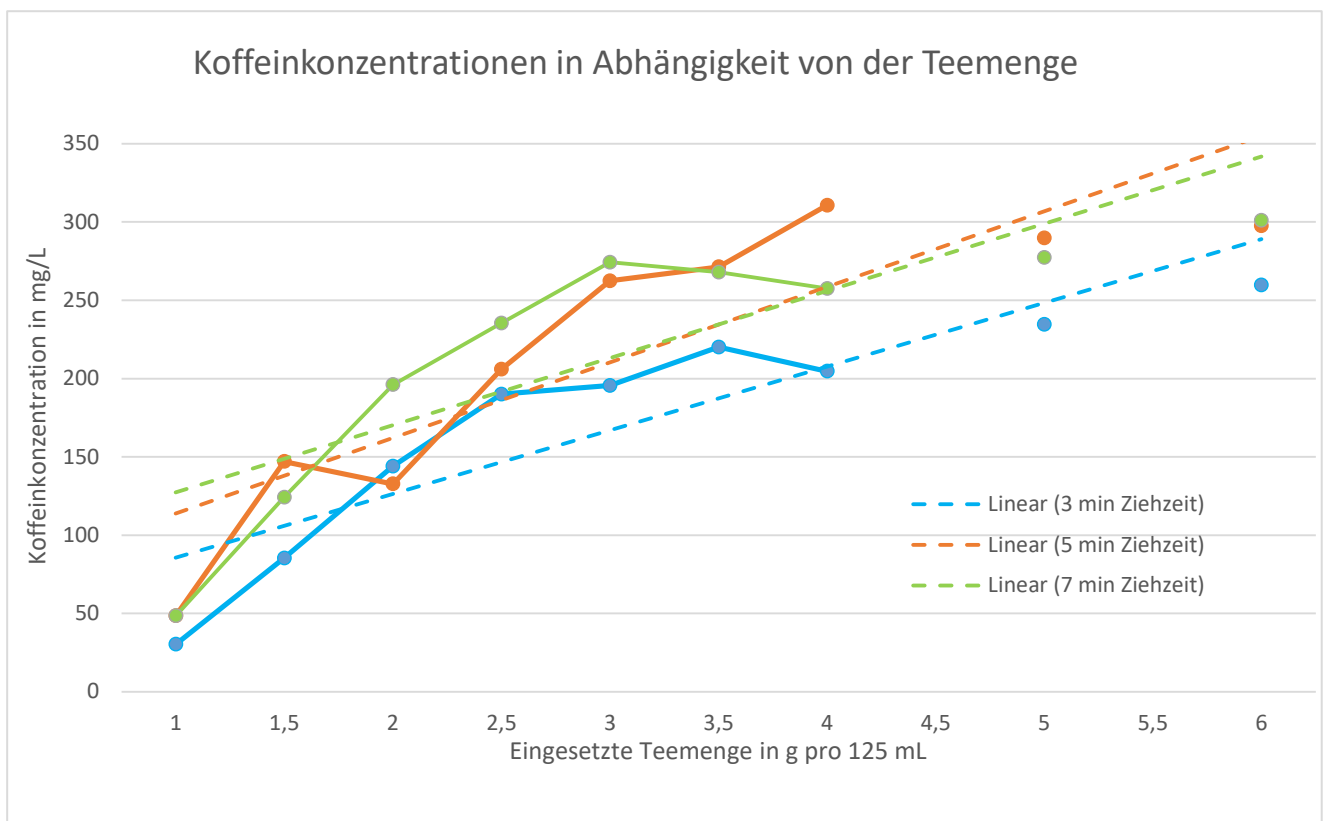


Diagramm 5: Koffeinkonzentrationen in Abhängigkeit von der eingesetzten Teemenge (in g auf 125 mL) bei unterschiedlichen Ziehzeiten (3,5 und 7 min, jeweils 25 mL Probe)

Anhand der linearen Trendlinien lässt sich eine annähernd parallele Steigung bei unterschiedlichen Ziehzeiten feststellen. Der Unterschied zwischen 5 und 7 Minuten Ziehzeit ist kaum sichtbar, während eine Ziehzeit von 3 Minuten mit einer deutlich niedrigeren Koffeinkonzentration im Tee einhergeht.

3.2 Messung der Koffeinkonzentration in den Energy Pads

Die Energy Pads werden mithilfe einer Senseo Maschine zubereitet, indem ca. 20 Sekunden kochendes Wasser bei hohem Druck durch das Pad geleitet wird. Inhalt jedes Energy Pads sind Guayusa Teeblätter mit wesentlich feinerem Mahlgrad und einer Masse von jeweils 6g.

3.2.1 Schwankungen bei gleicher Zubereitungsweise

Die folgenden Werte wurden mit jeweils 5 mL Probenansatz erhoben. Jeweils ein Guayusa-Pad (P1-6) wurde mit der Senseo-Maschine in ein Becherglas aufgebriht, anschließend wurden aus jedem Aufguss zwei Proben entnommen (Messung 1 und 2).

Pad Nr.	Messung 1		Messung 2	
	Extinktion	c(Koffein) in mg/L	Extinktion	c(Koffein) in mg/L
P1	1,638	352,562	1,696	368,5399
P2	1,259	248,1543	1,556	329,9725
P3	1,428	294,7107	1,742	381,2121
P4	1,454	301,8733	1,463	304,3526
P5	1,679	363,8567	1,388	283,6915
P6	1,273	252,011	1,252	246,2259

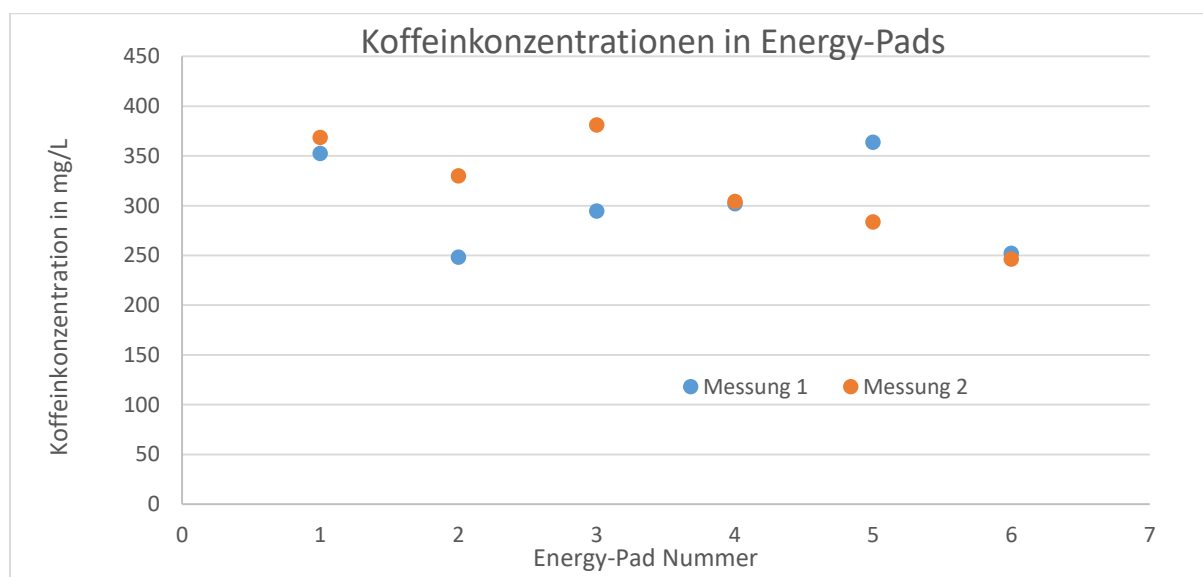


Diagramm 5: Koffeinkonzentrationen in den Teegetränken aus Energy Pads (5mL Probe)

Da die ermittelten Werte auch innerhalb desselben Teeaufgusses ungewöhnlich stark schwanken, lässt auf eine Ungenauigkeit der Messmethode schließen. Anlässlich der Ergebnisse wurde die Messreihe wiederholt und modifiziert. Die Teeaufgüsse wurden vor der Analyse filtriert und die Probenmenge auf 25 mL verfünffacht.

Dadurch konnten die Schwankungen der Messwerte innerhalb desselben Teeaufgusses deutlich verringert werden. Es wurden 10 weitere Energy Pads zweifach gemessen:

Pad Nr.	Messung 1		Messung 2	
	Extinktion	c(Koffein)	Extinktion	c(Koffein)
P1	1,969	443,7466	1,966	442,9201
P2	2,013	455,8678	2,057	467,989
P3	1,923	431,0744	1,879	418,9532
P4	1,82	402,6997	1,853	411,7906
P5	1,723	375,978	1,634	351,4601
P6	1,786	393,3333	1,813	400,7713
P7	1,847	410,1377	1,798	396,6391
P8	1,917	429,4215	1,946	437,4105
P9	1,759	385,8953	1,738	380,1102
P10	2,054	467,1625	1,985	448,1543

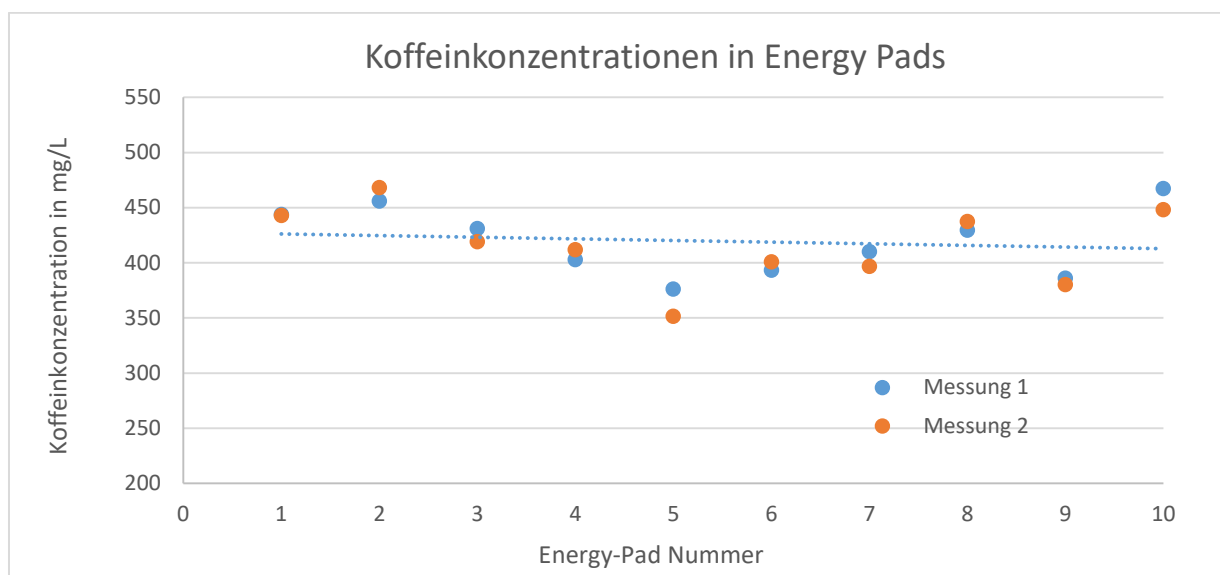


Diagramm 6: Koffeinkonzentrationen in den Teegetränken aus Energy Pads (25mL Probe)

Das Diagramm verdeutlicht die Schwankungen im Koffeingehalt zwischen den Teegetränken aus unterschiedlichen Guayusa Energy Pads. Der Koffeingehalt ist in allen Fällen im Bereich zwischen 350 und 470 mg Koffein pro Liter zu lokalisieren. Der Mittelwert aller Messwerte liegt bei rund 425 mg/L.

3.2.2 Koffeinkonzentration bei Mehrfachzubereitung eines Pads

Um herauszufinden, mit welcher Änderung der Koffeinkonzentration die Mehrfachnutzung eines Energy Pads einhergeht, wurden zwei verschiedene Energy Pads in fünf aufeinanderfolgenden Durchgängen mit der Senseomaschine zubereitet und analysiert:

	Pad 1		Pad 2	
	Extinktion	c(Koffein)	Extinktion	c(Koffein)
1. Aufguss	1,791	394,7107	1,827	404,6281
2. Aufguss	1,402	287,5482	1,441	298,292
3. Aufguss	0,844	133,8292	0,72	99,66942
4. Aufguss	0,325	-	0,267	-
5. Aufguss	0,264	-	0,251	-

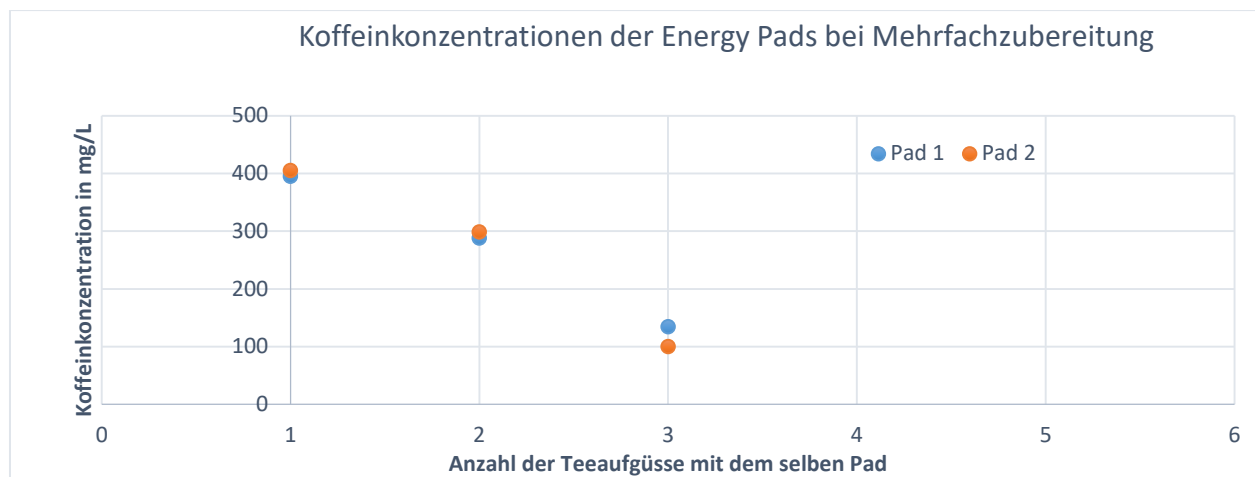


Diagramm 7: Koffeinkonzentrationen der Energy Pads bei Mehrfachzubereitung

Der Koffeingehalt nach dem zweiten Aufguss liegt mit rund 300 mg/L noch immer im erhöhten Bereich, während er nach dem dritten Aufguss deutlich auf ca. 100 mg/L sinkt. Erst nach dreimaligem Aufbrühen löst sich nur noch sehr wenig Koffein mehr im Tee (Werte unterhalb der Kailbrationskurve).



Abb. 17: Farbliche Veränderungen bei Mehrfachzubereitung eines Energy Pads

3.3 Messung weiterer koffeinhaltiger Getränke

Alle vorliegenden Messungen in Kapitel 3.3 wurden mit einer Probenmenge von 25 mL und unter Einsatz der elektrischen Zentrifuge erhalten. Untersucht wurden diverse Energy Drinks, weitere koffeinhaltige Teesorten und Kaffee.

Club Mate und Mate-Tee

Es wurden erneut Club Mate Proben analysiert und drei Getränke von jeweils 1,5 g eines Erva Mate Tees von El Puente gemäß der Zubereitungsempfehlung (70°C, 5 Minuten Ziehzeit, Empfehlung 3-6min) zubereitet.

Club Mate		Mate-Tee (Erva Mate)	
Extinktion	c(Koffein) in mg/L	Extinktion	c(Koffein) in mg/L
1,09	201,5978	0,518	44,02204
1,104	205,4545	0,516	43,47107
1,034	186,1708	0,34	-

Die Messwerte liegen bei Club Mate wieder nah an der Herstellerangabe von 200 mg/L, während die Werte des zubereiteten Mate Tees außerhalb des kalibrierten Messbereiches liegen.

Energy Drinks und Cola

	Extinktion	c(Koffein) in mg/L
Coca Cola	0,677	87,82369
Red Bull	1,434	296,3636
Effect (Zero Sugar)	1,487	310,9642
Rockstar (Pineapple & Coconut)	1,447	299,9449

Die erhaltenen Koffeinkonzentrationen liegen bei allen Messungen nah an den Herstellerangaben, welche für Energy Drinks bei 320 mg/L und für Cola bei 100 mg/L liegen.

Grüner und schwarzer Tee

Gemessen wurden jeweils zwei grüne und zwei schwarze Tees in einem Teebeutel a 1,5g, zubereitet mit 125 mL Wasser unter Einhaltung der Zubereitungsempfehlung.

	Extinktion	c(Koffein) in mg/L
Grüner Tee (Sencha)	0,641	77,90634
Grüner Tee (Lord Nelson)	0,551	53,11295
Schwarzer Tee (Schwarzer Friese)	1,604	343,1956
Schwarzer Tee (Assam)	1,485	310,4132

Die gemessenen Werte in der schwarzen Tees entsprechen bekannten Koffeinangaben², während die Werte für grünen Tee außerhalb des Messbereiches liegen.

Kaffee

Kaffepads verschiedener Marken wurden mit der Senseo-Maschine zubereitet und gemäß der Variante 1 nach Holfeld gemessen. Zum Einsatz kamen 25 mL Probenmenge.

Nachdem nach einem ersten Durchgang nach dem zehnmütigen Zentrifugieren keine klare Lösung erhalten werden konnte, wurde die Zentrifugation auf eine Stunde bei maximaler Drehzahl ausgedehnt, auch hierbei lag das ausgefallene Koffeinperiodid zum Teil noch suspendiert vor. Die folgenden Ergebnisse sind demnach als zu gering zu beurteilen und müssen verworfen werden:

Kaffee-Pad	Extinktion	c(Koffein)
Melitta	1,594	340,4408
Jacobs	1,386	283,1405
Senseo	1,312	262,7548



Abb. 18: Suspension mit Koffeinperiodid nach der Zentrifugation des Kaffees

² <https://koffein.com/tee.html>

3.4 Vergleich der Koffeingehalte

Zusammenfassend werden in der folgenden Tabelle die relevanten Messwerte für die Koffeinkonzentrationen des Guayusa Tees präsentiert und denen gängiger Getränke wie Energy Drinks und Kaffee gegenübergestellt:

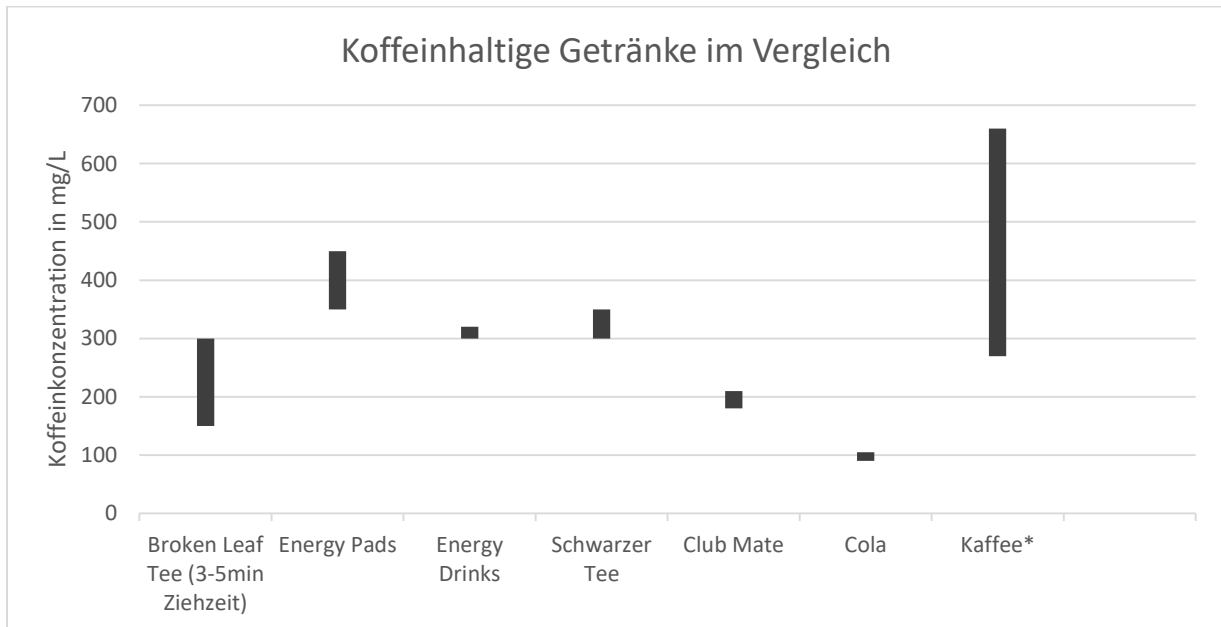


Diagramm 8: Koffeingehalte verschiedener Getränke im Vergleich

*Die Kaffeewerte beruhen nicht auf eigenen Messungen, sie beziehen sich auf Angaben der Kaffeerösterei Kirmse³, wonach die Koffeingehalte je nach Zubereitungsart und Kaffeebohne (Arabica: 0,8 – 1,4% Koffein, Robusta: 1,7% - 4% Koffein) stark schwanken.

³ www.kaffeeeroesterei-kirmse.de

4 Extraktion von Koffein aus Teeblättern

4.1 Das Verfahren

Zur Bestimmung des Koffeingehaltes der Broken Leaf Teeblätter wurden 8-stündige Soxhlet-Extraktionen mit anschließender Aufarbeitung des Extrakts⁴ durchgeführt, mit dem Ziel, das reine Koffein aus der Pflanze möglichst vollständig zu isolieren. Für eine Extraktion mit anschließender Aufbereitung werden mindestens 3 Labortage benötigt.

Die Bestimmung wurde sowohl für den Broken-Leaf-Tee als auch für den Inhalt der Energy Pads durchgeführt.

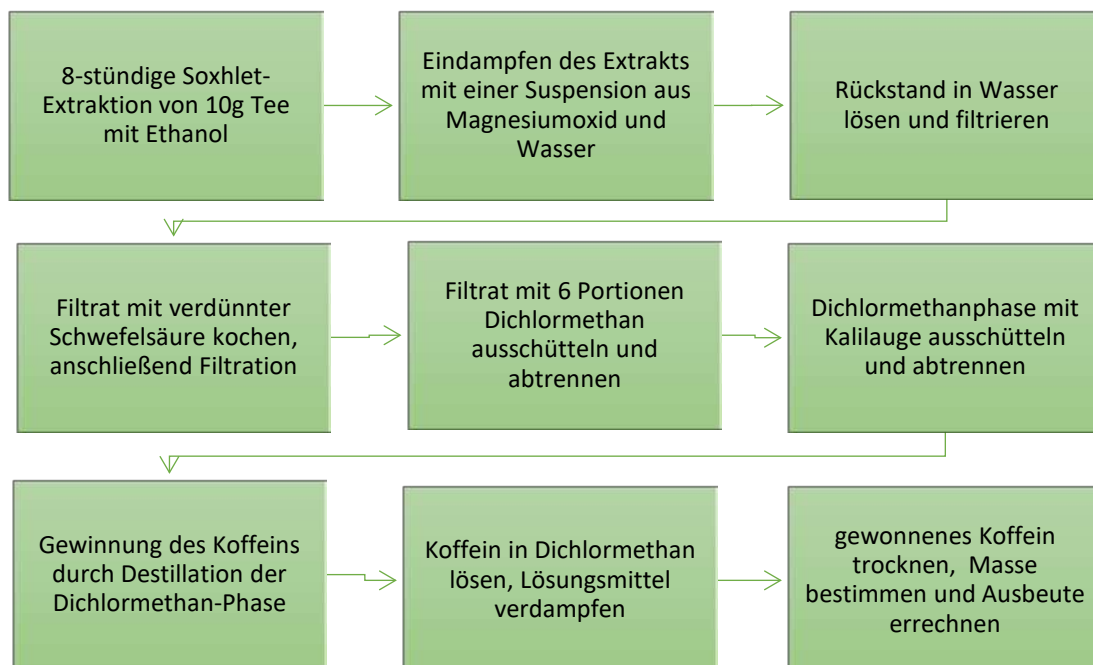
Benötigte Chemikalien:

Teeblätter, Ethanol, Magnesiumoxid, Schwefelsäure, Kaliumhydroxid, dest. Wasser, Dichlormethan (erfordert besondere Schutzmaßnahmen)

Benötigte Materialien:

Stativmaterial, Magnetrührer, div. Bechergläser, Destillationsapparatur, Scheidetrichter, Filtriermaterialien, div. Maßkolben, Soxhlet-Apparatur

Verfahrensschritte:



⁴ Gemäß der Anleitung auf

https://de.wikibooks.org/wiki/Praktikum_Organische_Chemie/_Extraktion/_Coffein_aus_Tee

4.2 Durchführung

4.2.1 Soxhlet-Extraktion

Das Gewicht aller verwendeten Materialien wurde sorgfältig bestimmt: Zum Einsatz kamen im ersten Ansatz rund 10 g Broken Leaf Tee und 250 g Ethanol. Für die Extraktion der Teeblätter aus den Energy Pads wurde in einem zweiten Ansatz die doppelte Menge Tee eingesetzt.

Der Tee wurde in die Hülse der Soxhlet-Apparatur (Abb. 19) gegeben und der Siedekolben zur Hälfte mit 96%igem Ethanol befüllt. Das Lösungsmittel wurde zum Sieden erhitzt und die Extraktion 8 Stunden lang laufen gelassen.

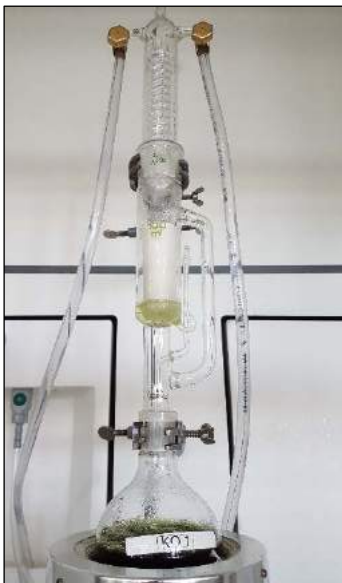


Abb. 19: Soxhlet-Apparatur



Abb. 20: Soxhlet-Hülse mit Teeprobe



Abb. 21: ethanolischer Teeextrakt nach der 8-stündigen Extraktion

4.2.2 Aufbereitung nach der Extraktion

Die folgenden Angaben beziehen sich auf den ersten Ansatz (Broken Leaf Tee), für die Aufarbeitung des Energy Pad-Extraktes mussten alle Chemikalienmengen verdoppelt werden.

Der erhaltene alkoholische Teeextrakt wurde zu einer Suspension aus 10 g Magnesiumoxid und 100 mL Wasser gegeben (Abb. 22) und unter Rühren mithilfe eines Rührfisches und Magnetrührers langsam in einem Wasserbad über mehrere Stunden eingedampft (Abb. 23).

Der trockene Rückstand wurde mit so viel heißem Wasser versetzt, dass der Feststoff abfiltriert werden konnte (Abb. 24) und mehrfach mit heißem Wasser gewaschen, das Filtrat in einem 1-Liter-Kolben aufgefangen, bis ca. 250 mL Flüssigkeit erhalten wurden.



Abb. 22: Alkoholischer Extrakt mit Magnesiumoxid-Wasser-Suspension

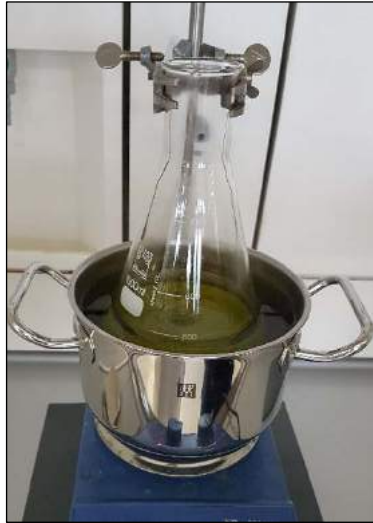


Abb. 23: Eindampfen des Gemisches im Wasserbad



Abb. 24: Erhaltener Rückstand nach der Filtration

Eine 10%ige Schwefelsäure wurde durch die Verdünnung von 5 mL konzentrierter Schwefelsäure mit 45 mL destilliertem Wasser, und eine verdünnte Kalilauge durch das Lösen von 0,5 g Kaliumhydroxid in 50 mL destilliertem Wasser hergestellt.

10 mL der hergestellten 10%igen Schwefelsäure (auf Raumtemperatur abgekühlt) wurde zu dem Filtrat gegeben (bei Ausfällung eines Niederschlags bis zu weiteren 20 mL). Die Lösung wurde vorsichtig erhitzt und 30 Minuten kochen gelassen, nach dem Abkühlen in einen Scheidetrichter filtriert und das Filterpapier mit 0,5%iger Schwefelsäure gewaschen.

Das erhaltene Filtrat wurde mit sechs Portionen (je 25 mL) Dichlormethan ausgeschüttelt und abgetrennt (Abb. 25). Die Dichlormethan-Auszüge wurden in einen zweiten, trockenen Scheidetrichter gegeben und mit 5 mL der hergestellten Kalilauge ausgeschüttelt (Abb. 26). Die Dichlormethan-Phase wurde durch ein Filterpapier in einen Erlenmeyerkolben abgelassen, die verbliebene Kaliumhydroxid-Phase mit zwei weiteren Portionen (je 10 mL) gewaschen, die ebenfalls in die Dichlormethanlösung filtriert wurden.

Zum Schluss wurde Dichlormethan im Wasserbad abdestilliert (Abb. 27), bis Koffein als Feststoff im Kolben zurückblieb (Abb. 28).



Abb. 25: Ausschütteln mit Dichlormethan



Abb. 26: Ausschütteln mit Kaliumhydroxid-Lösung



Abb. 27: Destillation des Lösungsmittels Dichlormethan

Das erhaltene Koffein im Kolben wird erneut in möglichst wenig Dichlormethan gelöst und in einem kleinen Becherglas im Abzug verdampft. Das erhaltene Koffein wird im Trockenschrank getrocknet. Im Anschluss wird die Masse auf der Analysenwaage bestimmt.

Der Schmelzpunkt des Koffeins wird im abgeschmolzenen Röhrchen (Sublimation) bestimmt.



Abb. 28: Erhaltenes Koffein nach Entfernen des Lösungsmittels

4.3 Ergebnisse

Durch das erste Extraktionsverfahren konnten aus 10 g Broken Leaf Tee 0,203 g reines Koffein isoliert werden, was einem prozentualen Koffeingehalt von 2,03% entspricht.

Im zweiten Durchgang konnten aus 20 g Guayusablättern aus den Energy Pads 0,431 g reines Koffein gewonnen werden, was einem Koffeingehalt von 2,15 % entspricht.

In einem Energy Pad befinden sich demnach ca. 130 mg reines Koffein, das sich potenziell in dem Teegetränk lösen kann.

5 Zusammenfassung

Für die Verbraucher der Guayusa Produkte können anhand der vorliegenden Analysedaten Koffeingehalte angegeben werden, in deren Nähe sich der Gehalt des zubereiteten Getränkes mit hoher Wahrscheinlichkeit befindet. Die zahlreichen Messungen mit Teeaufgüssen des Guayusa Broken Leaf Tee lassen klare Tendenzen im Koffeingehalt in Abhängigkeit von der Ziehzeit und eingesetzter Teemenge erkennen, woraus sich entsprechende Empfehlungen für die Zubereitung ableiten lassen. Schwankungen im Koffeingehalt sind bei Naturprodukten immer zu berücksichtigen.

Den Messergebnissen nach zu urteilen, scheint für die Verbraucher eine Ziehzeit von 3-6 Minuten optimal, da die Koffeinkonzentrationen unter 3 Minuten recht gering ausfallen und ab 7 Minuten nicht mehr signifikant ansteigen (vgl. Diagramm 4, S. 13).

Bei der eingesetzten Teemenge empfiehlt sich ein gehäufte Teelöffel (ca. 2 g) Broken Leaf Tee auf 125 mL kochendes Wasser, um eine Koffeinkonzentration von annähernd 200 mg/L zu erreichen - auf eine Standard-Tasse mit ca. 250 mL Fassungsvermögen verdoppelt sich die Menge entsprechend auf zwei Teelöffel. Je nach gewünschter Koffeinkonzentration kann die eingesetzte Teemenge erhöht werden, sodass bis zu 300 mg/L erhalten werden.

Ist eine besonders hohe Koffeindosis gewünscht, die selbst die Koffeinkonzentration von Energy Drinks übersteigt, so erreichen die Guayusa Energy Pads durch ihre besondere Zubereitungsweise Koffeingehalte von durchschnittlich 400 mg/L – die Gehalte schwanken von Tasse zu Tasse zwischen 350 und 450 mg/L (vgl. Diagramm 6, S. 16), während der Koffeingehalt von Energy Drinks laut Herstellerangaben und eigener Messungen bei 300-320 mg/L liegt. Selbst bei einer erneuten Nutzung desselben Energy Pads werden noch Koffeinkonzentrationen bis 300 mg/L im Teegetränk erreicht (vgl. Diagramm 7, S. 17).

Die Energy Pads werden ihrer Bezeichnung in allen Fällen gerecht, während der Koffeingehalt des zubereiteten Broken Leaf Tees erst bei deutlich höherer Teemenge als der empfohlenen Dosierung von 1 TL auf 125 mL in die Bereiche von Energy Drinks kommt.

Im Koffeingehalt in den Blättern beider untersuchten Tees war kein signifikanter Unterschied feststellbar, jedoch führte auch eine Zubereitung von 6 g Broken Leaf Tee, wie er in den Energy Pads zu finden ist, nicht zu solch hohen Konzentrationen von bis zu 400 mg/L. Es liegt also nahe, dass die Zubereitung mit der Senseo Pad Maschine das entscheidende Kriterium für die Höhe der Koffeinkonzentration in den Energy Pad Getränken ist.