

Die Mikrobestimmung des Koffeins im Kaffee.

Von **A. C. Röttinger.**

(Wien.)

(Eingelangt am 16. Mai 1929.)

Schon vor zwei Jahren habe ich eine Mikrobestimmung des Koffeins veröffentlicht¹⁾, es hat sich aber gezeigt, daß diese Methode bei sogenannten „koffeinfreien“ Kaffeesorten zu hohe Werte lieferte. Die Methode wurde deshalb entsprechend vervollkommenet und sei nun in ihrer neuen Form mitgeteilt.

Was die Wahl der Methode betrifft, so wurden seinerzeit Versuche angestellt, die zu folgenden Ergebnissen führten:

1. Die direkte Extraktion des Kaffeepulvers mit organischen Lösungsmitteln ist der Herstellung eines wässerigen Aufgusses und Extraktion des letzteren vorzuziehen.

2. Die Bestimmung des Reinkoffeins im abgeschiedenen Rohkoffein wird zweckmäßiger durch eine KJELDAHL-Bestimmung, als durch Reinigen und Wägen vorgenommen.

3. Die Extraktion des Kaffeepulvers kann ebensogut im Soxhlet-Apparat erfolgen, wie auch — einfacher — durch halbstündiges Schütteln mit der 20fachen Menge Lösungsmittel und Verarbeiten eines aliquoten Anteils des Filtrates. Hingegen gibt die Extraktion des mit Wasser zu einem Brei angerührten Kaffeepulvers im Perforator wesentlich zu niedere Werte.

4. Die Befeuchtung des Kaffeepulvers mit Ammoniak ist der einfachen Wasserbefeuchtung vorzuziehen.

5. 1 Teil Koffein löst sich in zirka 55 Teilen neutralen Wassers und in zirka 14 Teilen salzsäurehaltigen Wassers. Der neutralen Koffeinlösung kann durch einmaliges Ausschütteln mit dem gleichen Volumen Chloroform zirka 9 Zehntel des Koffeingehaltes entzogen werden, der salzsäuren Koffeinlösung nur zirka 7 Zehntel.

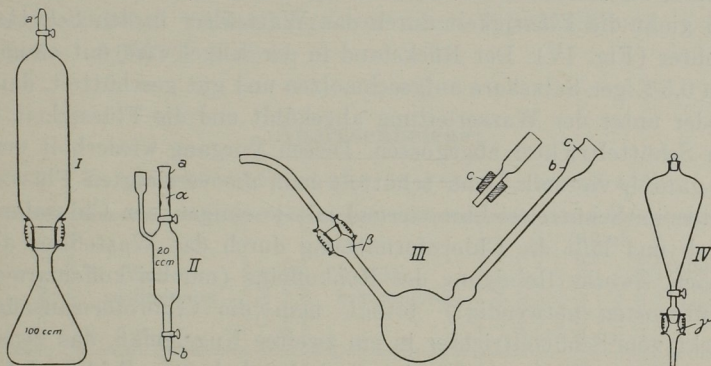
Auf diesen Versuchsergebnissen wurde die im nachstehenden beschriebene Methode seinerzeit aufgebaut. Es hat sich nun gezeigt, daß das bei ihrer Anwendung zuletzt erhaltene Rohkoffein, in welchem die KJELDAHL-Bestimmung durchgeführt werden soll, sehr geringe Mengen stickstoffhaltiger Verunreinigungen mit sich führt, die zwar bei der Analyse gewöhnlicher Kaffeesorten das

¹⁾ Ztschr. für Untersuchung d. Lebensmittel 1927, Bd. 53, pag. 146.

Resultat nicht beeinflussen, bei den sogenannten „koffeinfreien“ Kaffees, deren Koffeingehalt auf 0,01% genau angegeben werden soll, aber nicht mehr außer acht gelassen werden dürfen, weil ihre Menge im Verhältnis zum Koffein etwa 20mal so hoch ist wie im ersten Fall. Es war daher nötig, vor der KJELDAHL-Bestimmung noch eine Reinigung des Koffeins einzuschalten.

Ausführung der Methode:

10 bis 20 g Kaffee werden möglichst fein gemahlen und gut durchgemischt. Davon werden genau 5 g am besten in einem geräumigen Aluminiumschiffchen abgewogen, in das mit Hahn versehene Teilstück des Schüttelgefäßes (Fig. I) gebracht und mit 5 ccm 10% igem Ammoniak durchfeuchtet. Dann werden in den anderen Teil des Schüttelgefäßes 100 ccm Chloroform bis zur



Marke eingefüllt, die beiden Teile am schwach eingefetteten Schliff zusammengesteckt, mit den Drahtspiralen versehen und eine halbe Stunde auf der Schüttelmaschine oder in der Hand geschüttelt. Dann wird das Gefäß mit dem Hahn nach abwärts eingeklemmt, die Bohrungen im Schliff zur Deckung gebracht, die 20 ccm fassende Pipette (Fig. II) angesetzt, die bei *a* mit einem losen Watteflock beschickt wurde, und durch entsprechendes Öffnen der Hähne die Pipette gefüllt. Durch diese Anordnung wird eine Konzentrationsänderung durch Verdunsten von Chloroform praktisch vermieden. Die Pipette wird ebenso an den Schliff *b* des Kugelgefäßes (Fig. III) angesetzt und in dasselbe entleert und nachgespült; sie ist auf Einguß geeicht. Zwischen den Schliffen β sitzt ein lockerer Wattebausch. Das Kugelstück wird in ein Wasser-

bad geklemmt und nach Einfügung einiger sehr kleiner ausgeglühter Tonsplitter wird das Chloroform abgedunstet, indem man bei der Tulpe *c* ein Glasrohr mittels Korkes einsteckt und an die Pumpe anschließt. Um das Chloroform nicht zu verlieren, leitet man zweckmäßig den chloroformhaltigen Luftstrom durch den vom Autor an anderer Stelle²⁾ beschriebenen Absaugkühler. Bei koffeinarmeren Kaffeesorten füllt man die Pipette aus dem Schüttelgefäß ein zweites und eventuell drittes Mal, entleert in das Kugelgefäß und dunstet ab. Zum Rückstand in der Kugel fügt man ein erbsengroßes Stück Paraffin, wenige ccm Äther, erwärmt schwach, setzt einige ccm einer 0,5%igen Salzsäure hinzu und schüttelt gut durch. Man verjagt den Äther unter Durchleiten eines Luftstromes im Wasserbade, kühlt die Kugel unter der Wasserleitung, wobei man durch leichtes Drehen die Paraffinfettschicht an den Wandungen haftend erhält, und gießt die Flüssigkeit durch das Wattefilter in den Schütteltrichter (Fig. IV). Der Rückstand in der Kugel wird mit einigen ccm 0,5% iger Salzsäure aufgeschmolzen und gut geschüttelt, dann wieder unter der Wasserleitung abgekühlt und die Flüssigkeit in den Schütteltrichter abgegossen. Diesen Vorgang wiederholt man im ganzen viermal. Dann schüttelt man die vereinigten Flüssigkeiten im Schütteltrichter viermal mit je einigen ccm Chloroform durch und läßt die Chloroformlösung durch das Wattefilter abfließen. Zwecks Reinigung des Rohkoffeins (nur bei koffeinarmeren Kaffeesorten notwendig!) bringt man die Chloroformauszüge direkt vom Schütteltrichter in ein zweites Kugelgefäß, das genau wie in Fig. III beschaffen ist, doch bei *b* keinen Schliff, dafür aber eine vergrößerte und nach aufwärts gebogene Tulpe *c* besitzt. In diesem Kugelgefäß wird das Chloroform unter Luftdurchleiten im Wasserbad vertrieben; der Rückstand wird mit zirka 10 bis 20 ccm Wasser aufgenommen und bei Rohkaffee mit 1, bei gebranntem Kaffee mit 3 ccm einer 1%igen Kaliumpermanganatlösung versetzt und 15 Minuten in der Kälte stengelassen. Zur Abscheidung des überschüssigen Mangans fügt man tropfenweise eine Wasserstoffsperoxydlösung dazu, welche auf 100 ccm Wasser 3 ccm 30%iges Perhydrol und 1 ccm Eisessig enthält. Nun hängt man das Kugelgefäß etwa eine Viertelstunde in ein kochendes Wasserbad, gießt hierauf die Flüssigkeit durch das Wattefilter β

²⁾ Österr. Chem.-Ztg. 1926, Nr. 6.

in den Scheidetrichter IV und wäscht mit einigen Portionen heißen Wassers nach. Dieser wässrige Koffeinauszug wird nun im Scheidetrichter mit Chloroform mehrmals ausgeschüttelt und die Chloroformauszüge im Destillierkölbchen des PREGL'schen KJELDAHL-Apparates gesammelt. — Wurde von der Reinigung des Rohkoffeins Abstand genommen, dann werden schon die ersten Chloroformausschüttelungen direkt aus dem Scheidetrichter in das Destillationskölbchen des KJELDAHL-Apparates gebracht. In beiden Fällen wird nach Zufügung eines kleinen, ausgeglühten Tonsplitters das Chloroform abgedunstet, das Rohkoffein mit 2 ccm konzentrierter Schwefelsäure und je einer Messerspitze Kaliumsulfat und Kupfersulfat versetzt, am Mikrobrenner in zirka einer halben Stunde aufgeschlossen und der KJELDAHL-Destillation unterworfen. Wenn man 30 ccm einer 0,02 n-H₂SO₄ vorlegt, kommt man auch für hohe Koffeingehalte aus. 1 ccm verbrauchter Säure entspricht bei Verwendung von einer Pipettenfüllung (= 1 g Kaffee) 0,0969% Koffein.

Analysenbelege:

Koffeinbestimmungen in gebranntem Kaffee.

Probe	Makrobestimmung				Größte Differenz	Mikrobestimmung				Größte Differenz	Mittel		Differenz der Mittel
											Makrobestimmung	Mikrobestimmung	
I	1,34	1,29	1,41	0,12	1,30	1,31	1,30	0,01	1,35	1,30	+ 0,05		
II	1,52	1,41	1,47	0,11	1,42	1,41	1,41	0,01	1,47	1,41	+ 0,06		
III	1,12	1,20	1,15	0,08	1,10	1,13	1,12	0,03	1,16	1,12	+ 0,04		
IV	2,02	2,16	2,05	0,14	2,04	2,06	2,05	0,02	2,09	2,05	+ 0,04		
V	1,38	1,37	1,29	0,09	1,35	1,33	1,35	0,02	1,34	1,35	- 0,01		
VI	2,21	2,33	2,35	0,14	2,45	2,43	2,46	0,03	2,28	2,45	- 0,17		
VII	1,1	—	—	—	1,41	1,39	1,41	0,02	1,1	1,4	- 0,3		
VIII	1,0	—	—	—	1,14	1,13	—	0,01	1,0	1,1	- 0,1		
IX	1,3	—	—	—	1,36	1,34	—	0,02	1,3	1,35	- 0,05		
X	2,0	—	—	—	2,27	2,28	—	0,01	2,0	2,3	- 0,3		
Größte Differenz im Mittel				0,11	—	—	—	0,02	—	—	—		
Größte Differenz der Methoden				—	—	—	—	—	—	—	} - 0,3 } + 0,06		
Differenz der Methoden im Mittel				—	—	—	—	—	—	—		± 0,1	

Koffeinbestimmungen in „koffeinfreiem“ Kaffee.

Probe	Makrobestimmung			Mittel	Mikrobestimmung			Mittel
I	0,068	0,056	0,070	0,065	0,053	0,056	0,055	0,055
II	0,049	0,065	0,057	0,054	0,045	0,042	0,048	0,045
III	0,068	0,075	0,081	0,075	0,066	0,059	0,061	0,062