



Wie lassen sich Restmengen an Koffein in entkoffeiniertem Instantkaffee nachweisen?

Dr. Carolin Fischer



Einleitung

Der Haupt-Wirkstoff in Kaffee ist Koffein. Erhöhter Blutdruck, ein empfindlicher Magen, eine Schwangerschaft oder Wechselwirkungen mit Arzneimitteln sind jedoch Kontraindikationen, bei denen entkoffeinierter Kaffee bevorzugt wird. 1903 wurde das erste Verfahren zur Entkoffeinierung von Kaffeebohnen entwickelt. Bei dieser Technik wurden Wasser und Benzol eingesetzt, um das Koffein aus den rohen Bohnen zu extrahieren (Roselius-Verfahren). Später wurden als Ersatz für das krebserregende Benzol andere Lösemittel wie Dichlormethan oder Ethylacetat verwendet. Heute sind neue Verfahren wie die Extraktion mit reinem Wasser (Schweizer-Wasser-Prozess SWP), das Triglycerid-Verfahren oder die Extraktion mit überkritischem Kohlendioxid üblich. [1]

Entkoffeinierter Kaffee enthält jedoch immer noch eine gewisse Restmenge an Koffein: reine Rohkaffeebohnen enthalten – je nach Art der Kaffeebohne [2] – zwischen 0,8 % und 4 %. Die EU erlaubt eine Restmenge von 0,1 % Koffein in den ungerösteten Bohnen für den Verkauf von koffeinfreiem Kaffee [3]. Die Menge des Koffeins, die von der Bohne auf die Tasse gekochten Kaffee übergeht,

hängt von der Menge des verwendeten Kaffeepulvers, der Röstungsart, der Korngröße des Kaffeepulvers nach dem Mahlen, der Extraktionszeit und dem Druck sowie der Wassertemperatur ab. Daraus ergibt sich für koffeinfreien Kaffee eine Menge von etwa 3 mg Koffein pro Tasse (150 ml), während eine „normale“ Tasse Kaffee zwischen 50 mg und 100 mg Koffein enthält. Der Koffeingehalt von Instantkaffee ist sogar noch geringer. Je nach Art der verwendeten Bohnen und des Herstellungsverfahrens beträgt er nur etwa 50 % des Koffeins im Vergleich zum Filterkaffee. Die Durchschnittswerte liegen zwischen 30 und 90 mg pro Tasse (150 ml). Die Hersteller geben an, dass ihre koffeinfreien Instantprodukte weniger als 5 mg Koffein pro Portion enthalten.

Der Hauptunterschied zwischen Instant- und aufgebrühten Kaffee liegt in der Zubereitung. Wie regulärer Kaffee wird Instantkaffee aus Bohnen hergestellt, die gemahlen, gebrüht und dann gefriergetrocknet oder sprühgetrocknet zu einem konzentrierten Pulver verarbeitet werden. Sobald das Pulver mit Wasser gemischt wird, erlangt es seinen gewohnten Kaffeegegeschmack und seine gewohnte Konsistenz wieder.

APPLICATIONNOTE Wie lassen sich Restmengen an Koffein in entkoffeiniertem Instantkaffee nachweisen?

In dieser Studie wurden verschiedene Instantkaffees mit und ohne Koffein mittels TG-GC-MS (STA 449 **F3** Jupiter®, gekoppelt an das Agilent GC 8890 und das Agilent MDS 5975) zur Bestimmung des Koffeingehalts untersucht.

Zur Probenvorbereitung wurden die Proben leicht gemahlen in den Tiegel komprimiert und die STA über-

führt. Die TG-Messungen waren basislinienkorrigiert. Die Proben wurden in Inertatmosphäre bis 850 °C erhitzt, um flüchtige Verbindungen wie Koffein freizusetzen. Die freigesetzten Verbindungen wurden in der Kühlfalle bei -50 °C aufgefangen, nach der TG-Messung aufgetrennt und identifiziert.

Tabelle 1. TG-Messparameter

Probe	1 (gefriergetrocknet)	2 (sprühgetrocknet)	3 (gefriergetrocknet)	3a entkoffeiniert (gefriergetrocknet)	Reines Koffein
Probeneinwaage	7,26 mg	7,13 mg	7,46 mg	7,38 mg	10,39 mg
Tiegel	Offene Al ₂ O ₃ -Tiegel (85 µl)				
Probenträger	TG, Typ S + Aufsteckplatte				
Ofen	SiC				
Temperaturporgramm	RT - 850 °C				
Heizrate	10 K/min				
Gasatmosphäre	Helium				
Gasfluss (gesamt)	70 ml/min				

Tabelle 2. GC-MS-Messparameter

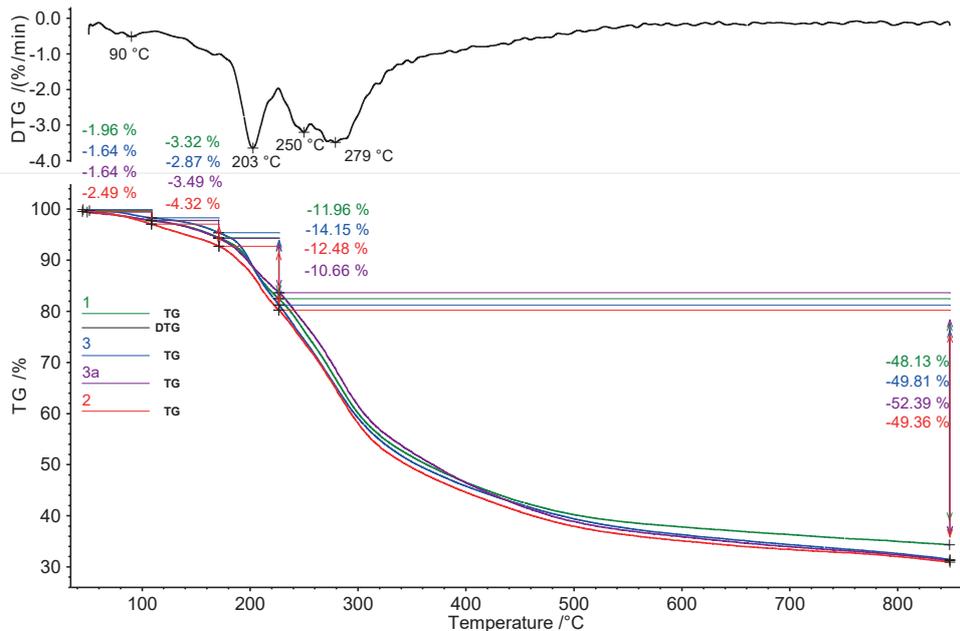
Kühlfallenmodus	
Säule	Agilent HP-5ms
Säulenlänge	30 m
Säulendurchmesser	0,25 mm
Temperatur Kühlfalle	-50 °C, 81 min
Säulentemperatur	45 °C, 83 min isotherm 45 °C bis 300 °C, 10 K/min
Gas	Helium
Gasfluss (Split)	20 ml/min (10:1)
Ventil	alle 1 min

APPLICATIONNOTE Wie lassen sich Restmengen an Koffein in entkoffeiniertem Instantkaffee nachweisen?

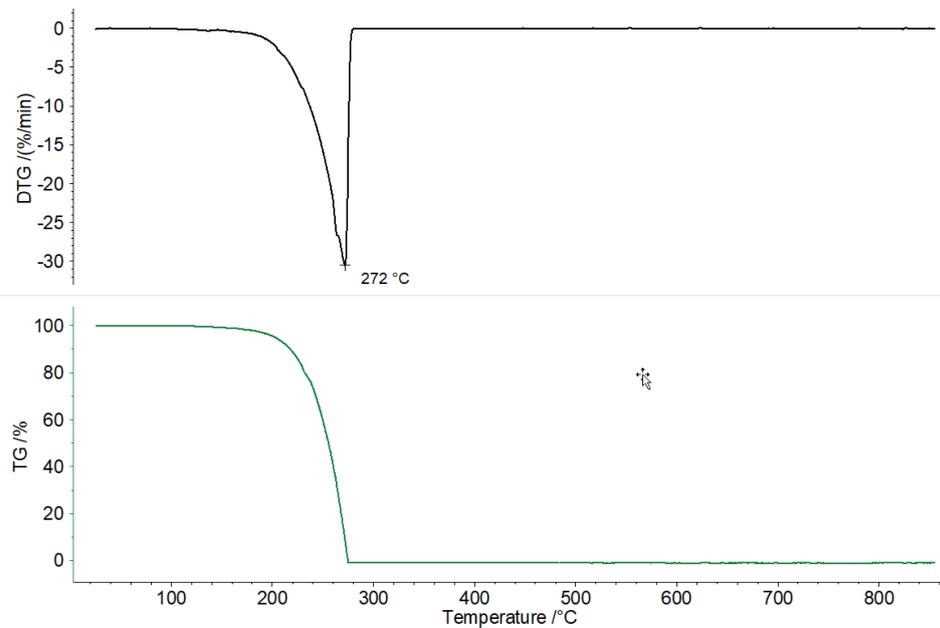
Ergebnisse und Diskussion

Alle Kaffeeproben wiesen mehrere signifikante Massenverluststufen zwischen Raumtemperatur und 850 °C auf; siehe Abbildung 1. Eine eindeutige Auftrennung der Massenverluststufen war mit der verwendeten Heizrate

von 10 K/min nicht möglich. Alle vier Proben zeigten ein relative ähnliches Verhalten. Außerdem war eine eindeutige Identifizierung der Koffeinfreisetzung nur alleine durch TG nicht möglich. Das reine Koffein wies einen DTG-Peak bei 272 °C (Abbildung 2) auf, der von anderen Effekten in den Kaffeeproben überlagert war.



1 Temperaturabhängiger Massenverlust (TG) der vier verschiedenen Kaffeeproben in Korrelation mit der Massenverlustrate (DTG, schwarz).



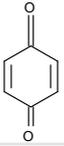
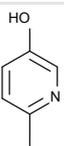
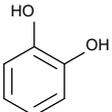
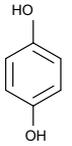
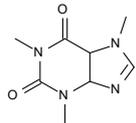
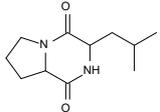
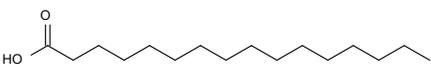
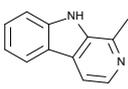
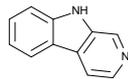
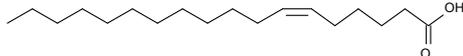
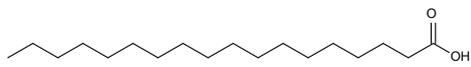
2 Temperaturabhängiger Massenverlust (TG, grün) von Koffein in Korrelation mit der Massenverlustrate (DTG, schwarz).

APPLICATIONNOTE Wie lassen sich Restmengen an Koffein in entkoffeiniertem Instantkaffee nachweisen?

Um die freigesetzten Verbindungen aufzutrennen und das Koffein aus dieser komplexen Mischung identifizieren zu können, ist die GC-MS-Technik notwendig. Der

resultierende Gesamtionengasstrom zeigt eine Reihe gasförmiger Verbindungen, die für jede Probe nachgewiesen wurden; siehe Tabelle 3.

Tabelle 3. Identifizierung der Mischungen mittels GC-MS

Verweilzeit	Name der Mischung	Struktur
85,283	Essigsäure	
88,583	p-Benzochinon	
91,322	3-Pyridinol	
91,820	3-Pyridinol, 6-methyl-	
92,261	1,2-Benzendiol	
92,909	Hydrochinon	
97,689	Koffein	
98,178	Pyrrolo [1,2-a]pyrazin-1,4-dion hexahydro-3-(2-methylpropyl)-	
98,303	n-Hexadecansäure	
98,351	9H-Pyrido[3,4-b]indol, 1-methyl-	
98,561	9H-Pyrido[3,4-b]indol	
99,440	6-Octadecensäure, (Z)-	
99,572	Octadecensäure	

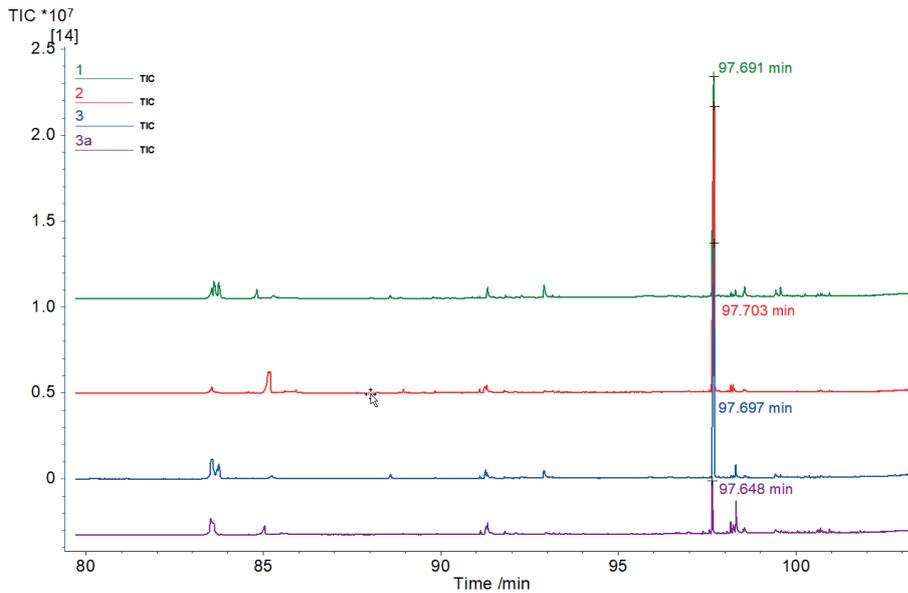
APPLICATIONNOTE Wie lassen sich Restmengen an Koffein in entkoffeiniertem Instantkaffee nachweisen?

Mit Hilfe der NIST-Bibliothek ließ sich der Hauptpeak eines jeden Chromatogramms Koffein zuordnen; siehe Abbildung 3. Dabei konnte gezeigt werden, dass Hochsieder wie Koffein ohne Kondensation ins MS transferiert werden.

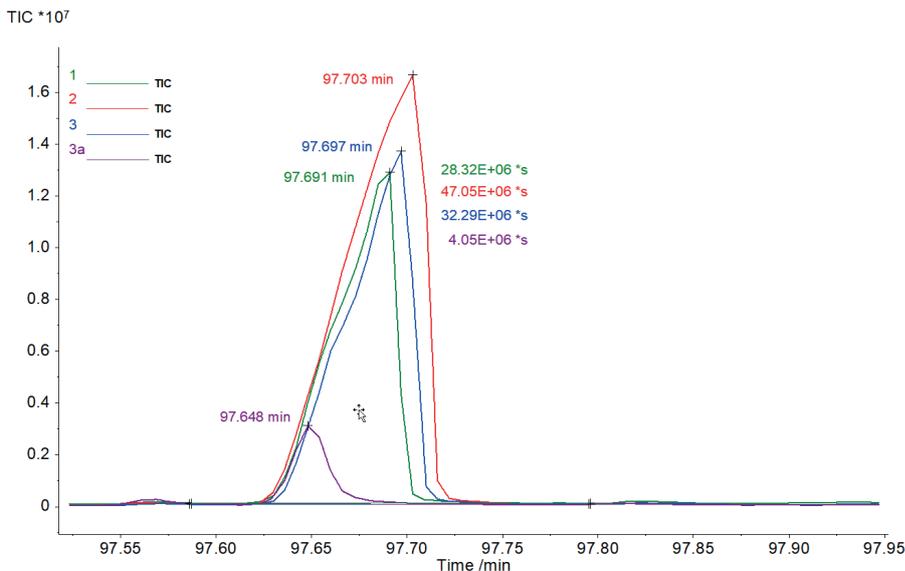
Eine nähere Betrachtung dieses Peaks (Abbildung 4) mit einer Retentionszeit von ca. 98 min zeigt die unterschiedlichen Größen und somit auch die unterschiedlichen Flächen unterhalb dieses Peaks. Die Fläche unterhalb des Peaks ist relativ vergleichbar und steht mit der Menge des enthaltenen Koffeins in Zusammenhang.

Die mittlere Fläche aller koffeinhaltigen Kaffeeproben ergibt einen Wert von $35,88 \cdot 10^6$ s. Das Ergebnis der entkoffeinierten Probe lag bei $4,05 \cdot 10^6$ s. Aus dem relativen Vergleich dieser Werte lässt sich in diesem Fall abschätzen, dass die entkoffeinierte Probe etwa um den Faktor 9 weniger Koffein enthält als die koffeinhaltigen Proben.

Die Koffeinmenge pro Tasse hängt stark vom Herstellungsverfahren für Instantkaffee und der Menge des verwendeten Kaffeepulvers pro Tasse ab. Die Verzehrsempfehlungen schwanken zwischen 2 und 4 g pro Tasse.



3 Gesamt-Ionenstrom nach Aufheizung der Kühlfalle für alle vier Koffeinproben im Vergleich



4 Vergrößerter Gesamt-Ionenstrom für den Koffeinpeak aller vier Kaffeeproben

APPLICATIONNOTE Wie lassen sich Restmengen an Koffein in entkoffeiniertem Instantkaffee nachweisen?

Zusammenfassung

Die TG-GC-MS-Technik bietet eine Vielzahl an unterschiedlichen Optionen für die Analyse und den Vergleich verschiedener Lebensmittel. Die durchgängige hohe Beheizung des Transfersystems ermöglicht den kondensationsfreien Transport von Hochsiedern. Neben der Identifizierung unterschiedlicher freigesetzter organischer Verbindungen war in den gemessenen Instantkaffees der relative Vergleich des enthaltenen Koffeins möglich. Obwohl eine Probe entkoffeiniert war, konnte eine Restmenge an Koffein nachgewiesen werden. Dies beweist die hohe Empfindlichkeit des GC-MS-Systems; sogar Spuren von freigesetzten Gasen im μg -Bereich können nachgewiesen werden.

Literatur

- [1] Entkoffeinierung – Wikipedia
<https://en.wikipedia.org/wiki/Decaffeination>
- [2] Coffee bean – Wikipedia
https://en.wikipedia.org/wiki/Coffee_bean
- [3] Guidelines of the European Commission about labeling of quinine and caffeine containing beverages, 18. July 2002.