

УДК 615.322:663.9

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ
АКТИВНЫХ КОМПОНЕНТОВ ЭКСТРАКТОВ КОФЕЙНОЙ
ГУЩИ СПЕКТРОФЛУОРИМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ**

Лысова Валентина Антоновна

заведующий кафедрой естествознания учреждения образования
«Могилевский государственный университет имени А. А. Кулешова»;
кандидат технических наук, доцент

(г. Могилев, Беларусь)
sedakova@m.msu.by

Андреев Евгений Вадимович

студент факультета математики и естествознания
учреждения образования «Могилевский государственный
университет имени А.А. Кулешова»
(г. Могилев, Беларусь)
zhandreenko@yandex.by

Аннотация. Статья посвящена исследованию биологически активных компонентов такого отхода производства, как кофейная гуща. Приведены экспериментальные данные по разработке методики определения кофеина и кофейной кислоты в водных растворах, а также данные по содержанию указанных веществ в стигмах кофейных экстрактов в зависимости от параметров экстрагирования.

Кофейная гуща – отход приготовления кофе, представляет собой густой выщелоченный остаток кофейного напитка, состоящий из мелких нерастворимых в воде частиц. Химический состав разных типов кофейной гущи схож, хотя в отходах, получаемых в ходе приготовления растворимого кофе, концентрация веществ ниже из-за более интенсивного процесса экстракции. И использованная кофейная гуща богата углеводами, которые составляют около половины её веса. Ещё 20 % приходится на белки и около 20 % – на лигнин. Сухая кофейная гуща содержит значительное количество минеральных компонентов: калия (11,7 г/кг), азота (27,9 г/кг), магния (1,9 г/кг) и фосфора (1,8 г/кг) и биологически активных веществ: кофеин, хлорогеновую и кофейную кислоты.

Кофеин и кофейная кислота относятся к биологически активным веществам способным оказывать выраженное физиологическое действие на животные и растительные организмы. В связи с чем, актуальной задачей является поиск и адаптация методик прямого определения кофеина и кофейной кислоты в растворах, обладающих экспрессностью, точностью и хорошей воспроизводимостью.

Флуоресценция – это испускание света молекулами, находящимися в возбужденном энергетическом состоянии, при переходе в основное состояние. Предварительный переход молекул в возбужденное состояние осуществляется в виде люминесценции за счет поглощения молекулами световой энергии под действием ультрафиолетового, видимого

или иного электромагнитного излучения. На сегодняшний день существуют приборы и методы, позволяющие не только фиксировать, но и измерять различные параметры флуоресценции [1].

Целью данной работы является исследование возможности прямого определения кофеина и кофейной кислоты в растворе методом спектрофлуориметрии. Основной метод исследования – спекрофлуориметрический анализ, который проводился на приборе спектрофлуориметр FP-8200.

Для приготовления *стандартного раствора кофеина* в мерную колбу объемом 25 см³ вносили 25 мг кофеина, доводили до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивали. 1 см³ данного раствора содержит 1 мг кофеина [2].

Для определения максимума флуоресценции кофеина проводили сканирование стандартного раствора в диапазоне длин волн возбуждения от 200 до 500 нм. Полученный 3D-спектр стандартного раствора кофеина приведен на рисунке 1. Как видно из приведенных данных, максимальная флуоресценция с относительной интенсивностью 250 усл. ед. была зафиксирована при длине волны 360 нм, что согласовывается с данными, полученными авторами статьи [2].

Для построения калибровочного графика из стандартного раствора с концентрацией 1 мг/см³ методом разбавления были приготовлены растворы кофеина с концентрациями соответственно 0,02; 0,015; 0,01; 0,005 и 0,002 мг/см³. Полученные растворы использовали для определения интенсивности флуоресценции кофеина при длине волны испускания 360 нм.

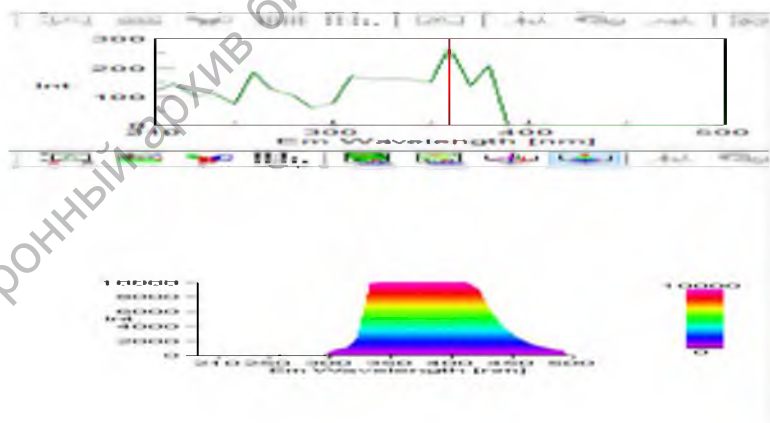


Рисунок 1. 3D-спектр стандартного раствора кофеина (концентрация кофеина 1 мг/см³)

Полученные данные представлены в таблице 1.

Таблица 1

**Относительная интенсивность флуоресценции кофеина
в зависимости от концентрации**

Концентрация кофеина, мг/см ³	Относительная интенсивность флуоресценции при 360 нм усл.ед
0,002	71,838
0,005	132,322
0,010	221,054
0,015	351,536
0,020	452,970

На основании полученных данных был построен калибровочный график, представленный на рисунке 2.

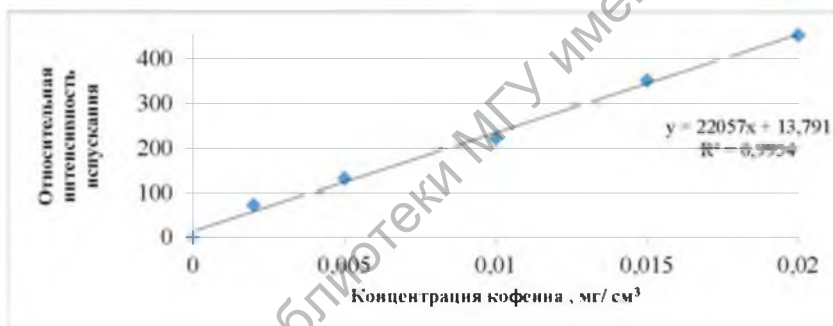


Рисунок 2. Калибровочный график флуоресценции кофеина при длине испускания 360 нм.

Из представленных данных видно, что зависимость относительной интенсивности испускания растворов кофеина от его концентрации в выбранном диапазоне носит линейный характер (коэффициент корреляции $R^2=0,9954$). Полученный калибровочный график использовали для определения кофеина в экстрактах спитой кофейной гущи.

Определение концентрации кофеина проводили в экстрактах кофейной гущи, полученных при разных условиях экстрагирования: при комнатной температуре (18 °С) и при температуре кипения воды (100 °С) и продолжительности экстракции от 0 до 24 часов. Полученные данные представлены в таблице 2.

Таблица 2

Содержание кофеина в кофейных экстрактах при температурах 18 °С и 100 °С в зависимости от продолжительности экстракции

		Содержание кофеина, мг/см ³ раствора	
		Температура воды для экстракции	
Время экстракции, часов	Количество кофейной гущи, г на 100 мл воды	18 °С	100 °С
0	5	0,003815	0,005717
	10	0,005201	0,006315
	20	0,006320	0,007130
	40	0,006250	0,006410
2	5	0,004820	0,004255
	10	0,005817	0,006025
	20	0,006810	0,007250
	40	0,007310	0,007280
6	5	0,004426	0,004835
	10	0,006125	0,006531
	20	0,007260	0,007740
	40	0,008020	0,008330
12	5	0,004523	0,005042
	10	0,006324	0,006841
	20	0,007530	0,007420
	40	0,008620	0,009000
24	5	0,005026	0,005048
	10	0,006849	0,007254
	20	0,005220	0,006340
	40	0,009130	0,009840

Из представленных в таблице данных видно, что максимальная концентрация кофеина наблюдается при температуре 100 °С и времени экстракции 24 ч (масса кофейной гущи 40г).

С целью определения кофейной кислоты был выполнен аналогичный алгоритм. Во-первых, определен максимум испускания в диапазоне длин волн возбуждения от 200 до 500 нм. Полученный 3D-спектр стандартного раствора кофейной кислоты представлен на рисунке 3.

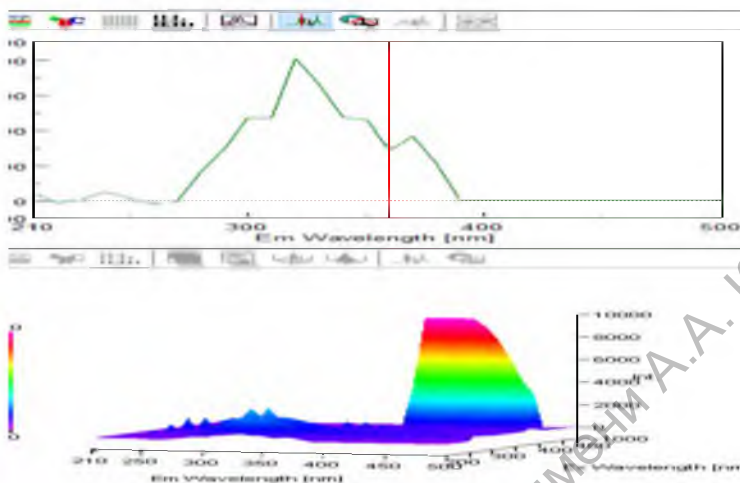


Рисунок 3. Спектр флуоресценции стандартного раствора кофейной кислоты (концентрация 1 мг/см^3)

Пик испускания кофейной кислоты наблюдается при длине волны 320 нм. Следующим этапом работы было построение калибровочного графика зависимости относительной интенсивности флуоресценции кофейной кислоты при длине волны 320 нм от её концентрации в диапазоне $0,002 - 0,020 \text{ мг/см}^3$. Полученный график приведен на рисунке 4.



Рисунок 4. Калибровочный график кофейной кислоты

С использованием полученного калибровочного графика исследованы экстракты спитой кофейной гущи, полученные при температурах 18 °С и 100 °С и продолжительности экстракции от 0 до 24 часов. Полученные данные приведены в таблице 3.

Таблица 3

Содержание кофейной кислоты в кофейных экстрактах при температурах 18 °С и 100°С в зависимости от продолжительности экстракции

		Содержание кофейной кислоты, мг/мл раствора	
		Температура воды для экстракции	
Время экстракции, часов	Количество кофейной гущи, г на 100 мл воды	18°С	100 °С
0	5	0,007961	0,008463
	10	0,008261	0,009874
	20	0,007644	0,007966
	40	0,006917	0,007158
2	5	0,009142	0,010940
	10	0,009156	0,010540
	20	0,007148	0,007470
	40	0,007158	0,007690
6	5	0,008456	0,011080
	10	0,009863	0,010630
	20	0,007045	0,007258
	40	0,007621	0,007542
12	5	0,010814	0,011020
	10	0,010240	0,012030
	20	0,007260	0,007050
	40	0,008156	0,008341
24	5	0,011559	0,013474
	10	0,011560	0,013470
	20	0,007910	0,008100
	40	0,009040	0,009860

Из представленных в таблице данных видно, что максимальная концентрация кофейной кислоты наблюдается при температуре 100°С и времени экстракции 24 ч. (масса кофейной гущи 5г).

В результате выполненных исследований разработана методика количественного определения кофеина и кофейной кислоты в водных растворах методом спектрофлуориметрии. С помощью данной методики исследованы экстракты спитого кофе при разных параметрах экс-

трагирования и установлено, что максимальное количество кофеина ($0,009840 \text{ мг/см}^3$) в экстракте обнаруживается при соотношении гуща : вода 40 : 100 г, температуре экстракции 100°C и продолжительности экстрагирования 24 часа, а максимальное количество кофейной кислоты ($0,013474 \text{ мг/см}^3$) в экстракте обнаруживается при соотношении гуща : вода 5 : 100 г, температуре экстракции 100°C и продолжительности экстрагирования 24 часа.

Список литературы

1. Введение в спектральный и люминесцентный анализ [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://www.bsmu.by/downloads/kafedri/k_fiziki/2013-2/vveden.pdf. – Дата доступа: 11.04.2024.
2. Blen Weldegebreal Development of new analytical methods for the determination of caffeine content in aqueous solution of green coffee beans / Blen Weldegebreal, Mesfin Redi-Abshiro, Bhagwan Singh Chandravanshi // Chemistry Central Journal volume 11, Article number: 126 (2017).