

Муниципальное бюджетное общеобразовательное учреждение
городского округа Королёв Московской области

«Гимназия №5»

Проектная работа

Определение рутина и кофеина в разных сортах чая
методом высокоэффективной жидкостной
хроматографии

Выполнила:

Ученица 10 «Б» класса Савельева К.А.

Руководитель проекта:

учитель химии, к.х.н. Акмурзина В.А.

Базой для проведения практической части

Служила Испытательная лаборатория

ООО НИЦ «ФАРМОБОРОНА»

2025 год

Содержание

Введение.....	3
Теоретическая часть.....	4
1. Историческая справка.....	4
2. Виды чая и его обработки.....	4
3. Химический состав чая.....	5
3. Рутин.....	6
3.1. Количественное содержание рутина в организме.....	7
4. Кофеин.....	7
4.1. Количественное содержание кофеина в организме.....	8
5. Методы определения рутина и кофеина в чае.....	8
Практическая часть.....	9
1. Социологический опрос.....	9
2. Количественное определение рутина и кофеина в разных сортах чая методом ВЭЖХ.....	9
3. Количественное определение рутина и кофеина в разных марках черного чая методом ВЭЖХ.....	13
Выводы.....	14
Рекомендации.....	15
Список литературы.....	15

Введение

Чай является одним из наиболее распространённых напитков по всему миру. В понимании многих, чай – это листья растений, прошедшие термическую обработку. Миллионы людей пьют этот напиток каждый день, но даже не задумываются над его составом.

С чаем человек получает различные биоактивные вещества, среди которых есть витамин Р (или рутин). Он укрепляет стенки сосудов, и несколько стаканов чая насыщают наш организм суточной дозой витамина.

Тонизирующее действие чая связано с наличием кофеина. Несмотря на то, что кофеина в чае больше, чем в кофе, действует он значительно мягче, поскольку связывается с соединениями танинами (полифенолами), образуя комплекс, который медленнее всасывается в кровь. Это приводит к более мягкому и длительному тонизирующему эффекту, в отличие от кофе, где кофеин быстро высвобождается и дает более резкий скачок бодрости. Чайный кофеин не задерживается и не накапливается в организме человека, что исключает отравление кофеином даже при самом частом употреблении чая. Несмотря на мягкое действие чай в редких случаях приводит к нежелательным эффектам (бессоннице и учащенному сердцебиению), что связано с большим количеством кружек в день.

Химический состав чая зависит от многих факторов, среди которых: время сбора листьев, климат региона произрастания чайного растения, сорт чая (черный, зеленый, красный, белый), метод приготовления и т. д. Для исследования состава чая применяются различные физико-химические методы анализа, среди которых высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) – метод, который позволяет разделять и определять небольшие концентрации веществ в сложных смесях с высокой точностью.

Гипотеза: я предполагаю, что в чае содержится больше кофеина, нежели рутин. Также, я думаю, что содержание кофеина и рутина зависит от сорта чая и производителя.

Цель работы: количественное определение рутина и кофеина в разных сортах и марках чая методом ВЭЖХ.

Актуальность: огромное множество людей ежедневно пьют чай, но мало кто знает какие вещества в нем содержатся и в каком количестве.

Новизна работы заключается в исследовании конкретных сортов и марок чая.

Объект исследования: различные сорта и марки чая.

Предмет исследования: содержание рутина и кофеина в чае.

Задачи исследования:

- провести анализ литературных данных о составляющих компонентах в чае;
- провести соцопрос, выбрать сорт и марку чая для исследования;
- методом ВЭЖХ определить количественное содержание рутина и кофеина в чае определенной марки и сорта;
- обработать результаты эксперимента, сделать вывод и дать рекомендации.

Новизна работы заключается в исследовании конкретных сортов и марок чая.

Методы: теоретический; социологический; экспериментальный; математический.

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

1. Историческая справка

По легенде, чай был открыт императором Шэнь-нунем в 2737 году до нашей эры. Листок чайного дерева упал в чашу с горячей водой и получившийся напиток пришелся правителю по душе. Первоначально чай использовался в медицинских целях — он считался важным лечебным растением. Со временем его популярность распространилась среди множества людей и стала частью их повседневной жизни (рис.1).



Рисунок 1. Чайный лист и чайный напиток.

В V веке нашей эры чай стали активно употреблять как в императорском дворе, так и в монастырях и в отдельных домах.

По ходу истории напиток стал распространяться за пределы Китая. В 8 веке ростки чайного куста и методы различных обработок были переданы в Японию и Корею, где началась разработка других сортов.

Чай начал появляться в России в конце XVI — начале XVII века. Первые сведения о напитке в российских источниках связаны с дипломатическими контактами между Россией и Китаем. В 1618 году в Московском кремле был организован приём в честь китайского посланника, на котором были поданы пиалы с чаем.

Если в конце XIX века ученые выделяли в чае только 4 - 5 основных видов веществ, то сегодня эта цифра возросла до 300.

Мне стало интересно, чем же чай смог так зацепить душу человека?

2. Виды чая и его обработки

Некоторые вариации чая обусловлены различными сортами растения. Однако, наибольшие различия присутствуют в обработке чая после сбора чайных листьев.

Сначала лист подвергается вялению для удаления из него излишней влаги и чтобы дать начало окислению. Далее происходит его фиксация или же пропаривание. Этот процесс позволяет остановить ферментацию на желаемом уровне, листья умеренно прогреваются, что деактивирует окисляющие ферменты, удаляется нежелательный запах, оставляя нетронутым аромат чая.

Далее идет скручивание или формование. Влажный чайный лист скручивается в жгут, выжимается небольшое количество соков и эфирных масел, что в будущем усиливает вкус чая.

Последним этапом является сушка. Она может быть произведена путём прожарки, просушивания на солнце, воздушной просушки или запекания.



Рисунок 2. Степень ферментации чая.

Существует множество различных видов (сортов) чая в зависимости от степени ферментации: белый, зеленый, желтый, улун, черный и постферментированный (рис. 2).

3. Химический состав чая

Химический состав чая зависит от многих факторов, среди которых: время сбора листьев, климат региона произрастания чайного растения, сорт чая (черный, зеленый, красный, белый), метод приготовления и т. д.

Даже после многочисленных обработок в листьях чая остаётся множество полезных веществ, такие как (рис.3):



Рисунок 3. Химический состав чая.

- витамины (тиамин (B1), рибофлавин (B2), пантотеновая кислота (B3), аскорбиновая кислота (витамин C), никотиновая кислота (PP), рутин (P) и витамины A, K, E)
- кофеин (по другому матеин, теин или гуаранин) – алкалоид пуринового ряда,

являющийся психоактивным веществом.

- дубильные вещества до 30 % (панины (придают крепость и вкус чаю), катехины, полифенолы)
- аминокислоты (наиболее важная из них — глутаминовая кислота, которая необходима для функционирования нервной системы).
- минеральные вещества (фтор, йод, фосфор, калий и др.)
- органические кислоты (щавелевая, лимонная, яблочная, янтарная и др.)
- эфирные масла до 0,2 %
- пигменты

Таким образом природа создала в чае «склад» химических веществ. В своей работе мы поставили задачу определить содержание рутина и кофеина в чае.

3. Рутин

Название - витамин Р - объединяет группу биологически активных веществ растительного происхождения (биофлавоноиды и полифенолы: рутин, антоцианы, флавоны, флавонолы, катехины и др. всего более 150). Не является витамином в полном смысле, так как биофлавоноиды не выполняют каких-либо жизненно важных функций в организме. Сам рутин (или рутозид) (рис. 4) это растительный фенол, антиоксидант, обладающий капилляроукрепляющим действием. Впервые был выделен из цитрусовых в 1936 году.

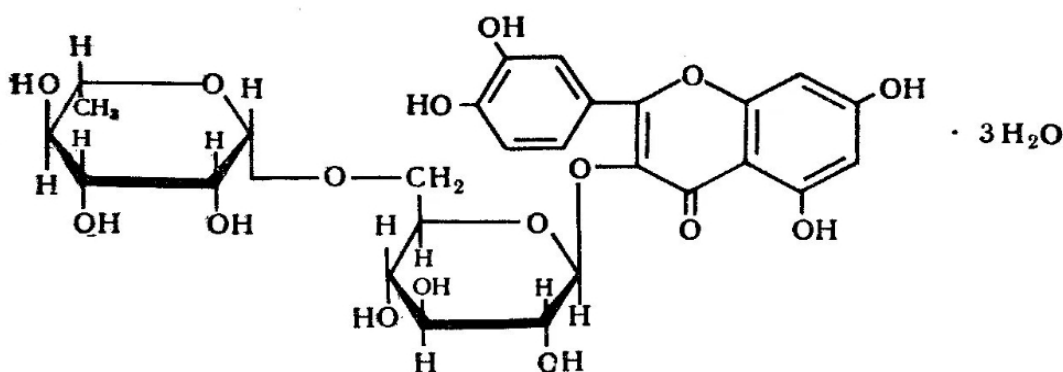


Рисунок 4. Формула рутозида.

По физическим свойствам представляет собой кристаллическое вещество жёлтого цвета растворимое в воде. Рутин повышает активность аскорбиновой кислоты (витамина С), защищая его от окисления. За счёт этого, витамин Р и витамин С тесно связаны между собой.

Несмотря на то, что рутин не является полноценным витамином, у него имеется множество полезных свойств: укрепление капилляров и поддержание эластичности сосудов, предотвращение кровотечений; поддержание нормального давления крови; регуляция уровня глюкозы в крови; участие в окислительно-восстановительных процессах в печени и мышцах; повышение иммунитета; антиоксидантное действие и др.

3.1. Количественное содержание рутина в организме.

Организмом рутин не вырабатывается, поэтому обязательно должен поступать с продуктами питания. Для нормального функционирования взрослому человеку необходимо в среднем от 25 мг до 50 мг витамина Р в сутки. При физических нагрузках суточная норма увеличивается.

Избыток витамина Р (рутина) не опасен для организма. Лишние вещества не задерживаются и выводятся через почки с мочой. Передозировка бывает лишь при потреблении синтетического витамина Р. В этом случае могут возникать беспричинное головокружение, тошнота и диарея.

При дефиците витамина Р (рутина) проявляются следующие симптомы: общая слабость; повышенная утомляемость; кровотечения из дёсен (обычно это заметно после чистки зубов); точечные кровоизлияния; тянущие боли в нижних конечностях; боли в плечах и ногах, хрупкость капилляров.

Продукты с высоким содержанием витамина Р (в 100 г):

черноплодная рябина — 4000 мг, черная смородина — до 1500, вишня и черешня темная — до 1900, крыжовник и брусника — до 650, апельсины и лимоны, щавель — 500 мг, сушеные плоды шиповника — до 680 мг.

Продукты с нормальным содержанием витамина Р (в 100 г): брусника — 460 мг, крыжовник — 430 мг, картофель — 250 мг, зелень, петрушка — 157 мг, укроп — 170, земляника — 195, малина — 150 мг, морковь — 75, яблоки, капуста белокочанная — 40 мг.

Хорошими источниками витамина Р, также являются гречка, грецкие орехи и чай — до 32 мг/г. Достаточно выпивать 3 чашки чая в день, чтобы получить суточную дозу рутина.

4. Кофеин

Как говорилось ранее, не мало важной частью чайного напитка является кофеин (рис.5). В первую очередь, кофеин (матеин, теин или гуаранин) - алкалоид пуринового ряда, по физическим свойствам это бесцветные или белые горькие кристаллы. Больше всего его содержится в кофе, чае и в энергетических напитках. Гуаранин стимулирует нервную систему, усиливает сердечную деятельность, расширяет кровеносные сосуды. Исходя из этого, можно сделать вывод, что его используют из-за эвгероических (способствующих бодрствованию), эргогенных (повышающих работоспособность) и ноотропных (повышающих когнитивные способности) свойств. В промышленности синтезируется с помощью мочевого кислоты и ксантина. В природе встречается в кофейных зернах, чайных листьях, бобах какао, гуаране и коле.

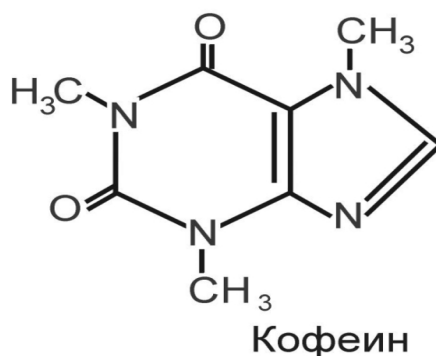


Рисунок 5. Формула кофеина.

4.1. Количественное содержание кофеина в организме

Безопасная разовая дозировка кофеина по медицинским расчётам составляет от 100 до 200 мг. Если человек не жалуется на своё здоровье, то 1 или 2 чашечки кофе в день ему не повредят.

Содержание кофеина в некоторых продуктах:

- в кофе — 380–650 мг/л, в растворимом кофе — 310–480 мг/л, в кофе «Эспрессо» — 1700–2250 мг/л;
- в напитке «Кола» — около 150 мг/л кофеина;
- в чае - 180–420 мг/л или от 10 -90 мг/г чая. Варьируется в зависимости от разновидности и возраста чайного куста, времени сбора, продолжительности ферментации и других факторов. В пакетированном чае его больше, чем в листовом, так как там листья переработаны в чайную крошку, а это ведет к большей экстракции кофеина при заваривании напитка кипятком.

Продолжительность выведения кофеина у разных людей также разная: у курильщиков кофеин покинет организм уже через 3 ч, у обычного человека на это потребуется от 5 до 7 ч, у беременных — от 18 до 20 ч.

5. Методы определения рутина и кофеина в чае

Все методы определения начинаются с получение экстрактов рутина и кофеина, чаще водных. Стандартные методики определения прописаны в ГФ.

Метод перманганатометрии. Он основан на измерении объёма раствора перманганата калия известной концентрации, затраченного на реакцию с рутином.

Метод титрования .В основе метода лежит закон эквивалентов, согласно которому вещества взаимодействуют исключительно в строго точном соотношении. Это позволяет рассчитать концентрацию исследуемого состава, зная концентрацию и объём добавленного титранта. Чаще применяют йодометрическое титрование.

Спектрофотометрия. В ходе этого метода измеряется поглощение или прохождение электромагнитного излучения различных веществ в видимом, ультрафиолетовом или инфракрасном диапазонах.

Метод ВЭЖХ.

Высокоэффективная жидкостная хроматография с ультрафиолетовым детектированием (ВЭЖХ-УФ) – это метод, который позволяет разделять и количественно определять вещества, если они поглощают ультрафиолетовый свет. Он широко используется в химии, фармацевтике и пищевой промышленности для анализа сложных смесей.

Метод основан на том, что растворённые вещества проходят через специальную колонку, где они разделяются. Затем они попадают в ультрафиолетовый детектор, который измеряет, насколько хорошо вещество поглощает ультрафиолетовое излучение, что связано с его концентрацией в растворе. Чем больше вещества, тем сильнее оно поглощает ультрафиолетовые лучи. В результате анализа методом ВЭЖХ-УФ получается хроматограмма – график, на котором отображаются пики, соответствующие разным веществам в образце. Высота и площадь пиков зависят от концентрации вещества, что позволяет определить, сколько кофеина и рутина содержится в чае.

Этот метод хорошо подходит для исследования кофеина и рутина в чае, потому что оба вещества поглощают ультрафиолетовые лучи. ВЭЖХ-УФ позволяет получить точные данные о их содержании даже в небольших количествах, что делает его полезным для анализа чая и других пищевых продуктов.

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

1. Социологический опрос.

Объекты исследования были выбраны на основе соцопроса среди 35 человек возраста от 12 до 68 лет.

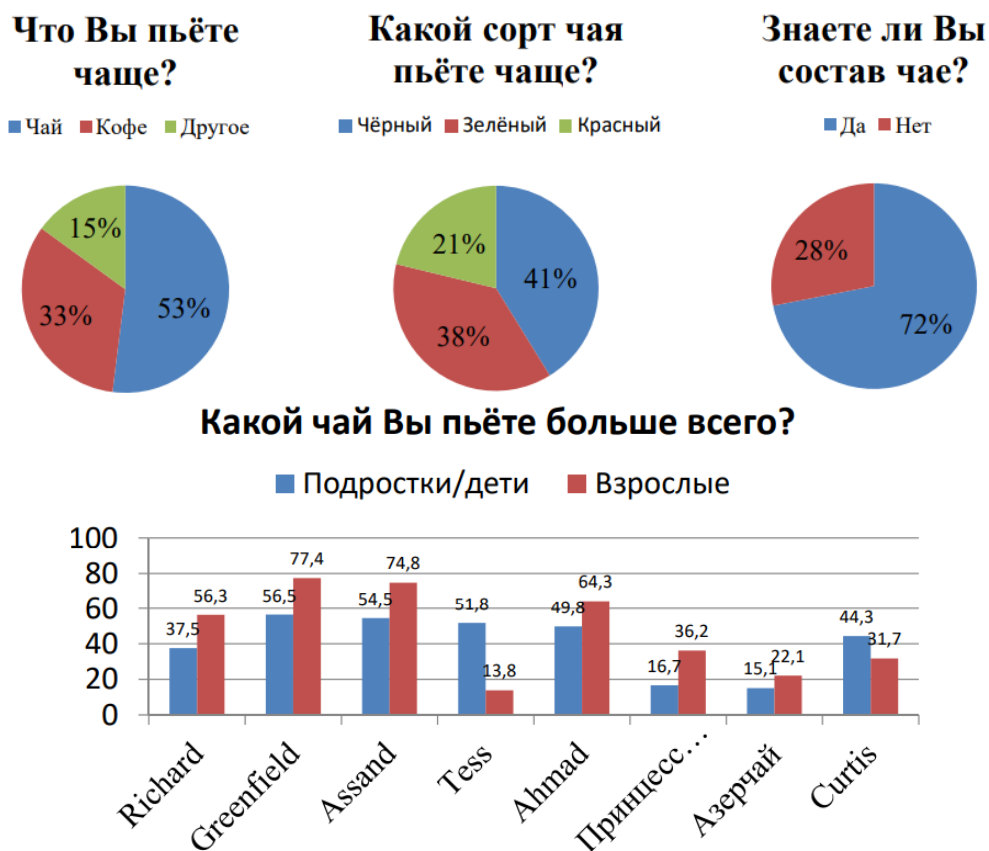


Рисунок 6. Результаты социологического опроса.

Результаты соцопроса представлены на рисунке 6. из которого следует, что:

- чай является самым популярным напитком (53 % опрошенных),
- черный чай пьют чаще зеленого и красного (41% опрошенных),
- 72 % опрошенных не знают состав чая,
- самыми покупаемыми марками чая являются «GreenField» (74%), «Assand» (78,4%) и «Ahmad» (64,3%).

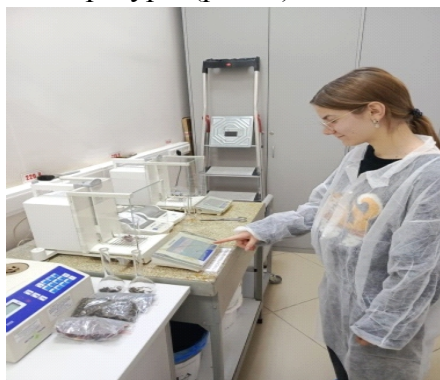
Чаще всего люди покупают чай на основе совета друзей или рекламы по телевизору и выбирают не самые дорогие сорта и фирмы.

2. Количественное определение рутина и кофеина в разных сортах чая методом ВЭЖХ.

Так как по данным соцопроса я выяснила, что самой популярной фирмой является «GreenField», то для количественного определения рутина и кофеина я приобрела разные виды чая этой фирмы - **красный, зелёный и чёрный** чай.

Методика определения заключается в хроматографическом анализе стандартных образцов рутина и кофеина и экстрактов чая. Экстракция была приближена к стандартным условиям заваривания чая, чтобы получить те количества, которые реально потребляет человек, когда пьет чай.

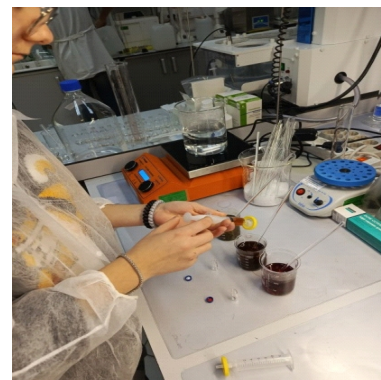
Методика экстракции: к навеске чая массой 2,5 г добавили 100 мл горячей воды 80°C, выдержали 20 минут, отфильтровали полученный экстракт и охладили до комнатной температуры (рис. 7).



Взвешивание



Экстракция



Фильтрование

Рисунок 7. Пробоподготовка исследуемых образцов.

Далее методом обращенно-фазной ВЭЖХ с УФ-детектированием провели количественное определение рутина и кофеина сначала в стандартных образцах, а затем в полученных экстрактах чая (рис.8).

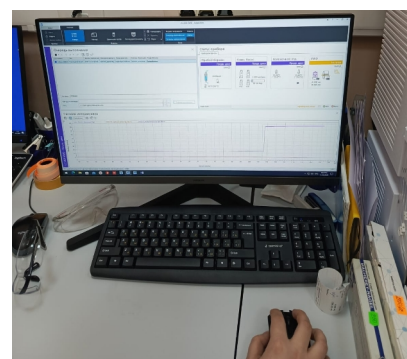
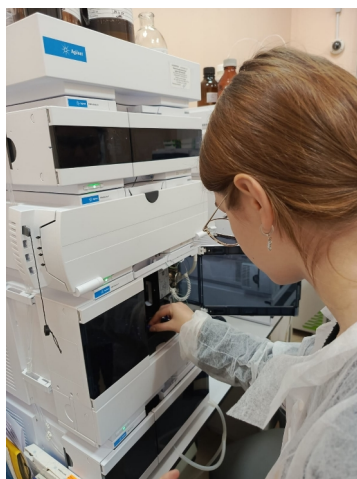
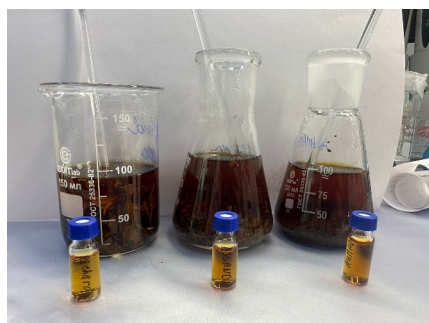


Рисунок 8. Хроматографическое определение.

Использовали хроматограф «Agilent 1260 Infinity II» с УФ детектированием. Разделение проводили на хроматографической колонке «Xterra C18» размерами 150*4,6 мм с размером пор 5мкм.

Условия хроматографирования:

- постоянная скорость потока подвижной фазы 0,5 мл/мин,
- температура колонки 30 °C
- объем пробы (вкола) 20 мкл
- детектирование при 280нм (для фенолокислот) и 365нм (для флавоноидов)
- подвижная фаза А — 1% раствор фосфорной кислоты в воде
- подвижная фаза В - 1% раствор фосфорной кислоты в ацетонитриле.

Градиент подвижных фаз представлен в таблице 1.

Таблица 1. Градиент подвижных фаз для хроматографического определения рутина и кофеина в экстракте чая.

Время, мин	Подвижная фаза А, %	Подвижная фаза В, %
0-40	95-40	5-60
40-50	40	60
50-51	40-95	60-5
51-60	95	5

Анализ стандартных образцов рутина и кофеина (табл.2) показал время удерживания этих веществ, с помощью которого мы можем идентифицировать пики в исследуемых экстрактах. Так же мы знаем точную концентрацию рутина и кофеина в стандартных образцах и площадь пика, с помощью чего мы определим концентрацию рутина и кофеина в исследуемых чаях.

Таблица 2. Анализ стандартный растворов

Название раствора	Площадь пика кофеина	Площадь пика рутина	Навеска стандартного образца, мг	Объем раствора, мл	Чистота стандартного образца, %	Концентрация раствора, мг/мл
Кофеин	9754,9	-	10,7	100	99,36	0,106
Рутин	-	2861,7	5,4	100	88,8	0,048

Получили хроматограммы стандартных образцов (рис.9) и исследуемых экстрактов (рис.10).

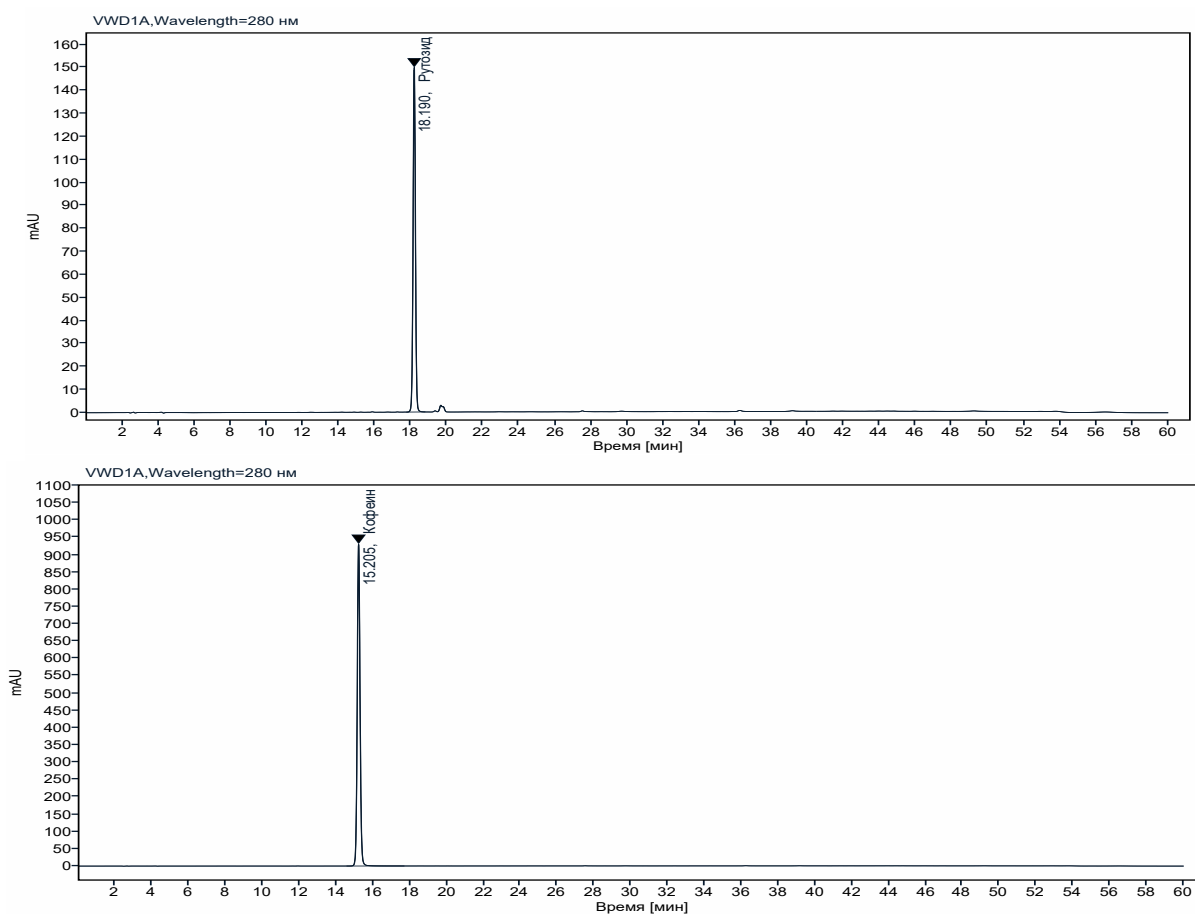


Рисунок 9. Хроматограммы стандартных образцов рутина (сверху) и кофеина (снизу) при 280 нм.

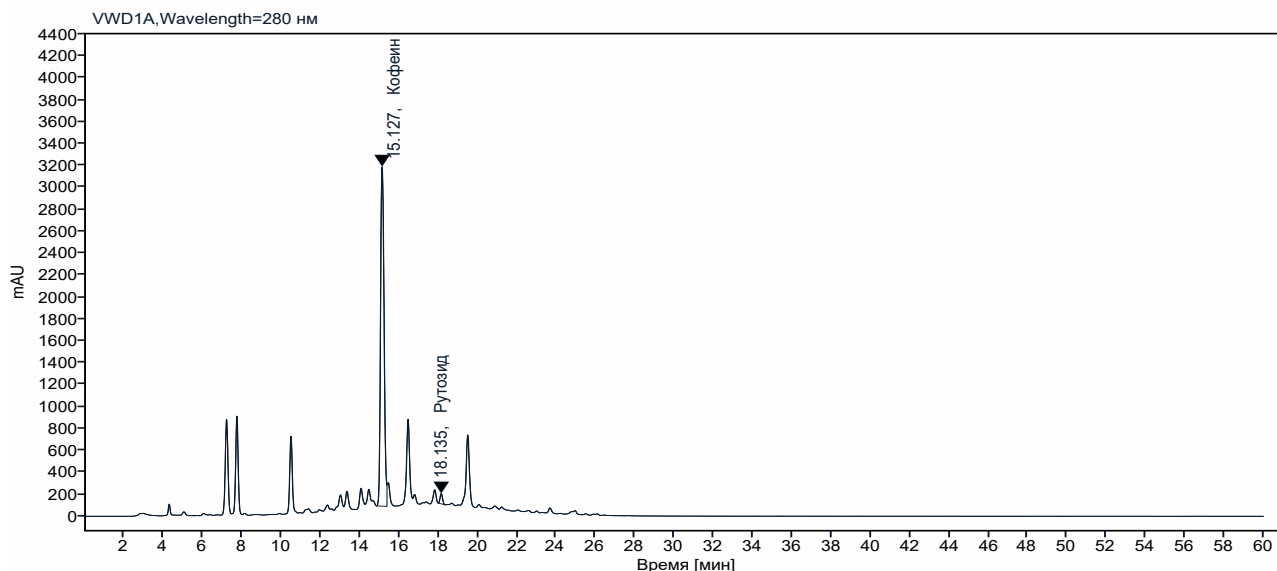


Рисунок 10. Хроматограмма экстракта черного чая «GreenField» при 280 нм.

По площади пика и известной концентрации стандартных образцов мы рассчитали содержание рутина и кофеина в разных сортах чая.

Формула для расчета концентрации вещества в испытуемом растворе (растворе чая) (мг/мл):

$$C = \frac{C_0 \times S}{S_0}$$

где:

C– концентрация вещества в испытуемом растворе, мг/мл;

S– площадь пика определяемого вещества на хроматограмме раствора чая;

S₀– площадь пика определяемого вещества на хроматограмме стандартного раствора;

C₀– концентрация вещества в стандартном растворе, мг/мл.

Формула для расчета содержания вещества в испытуемом образце (чае) (мг/г):

$$C[\text{мг/г}] = \frac{C[\text{мг/мл}] \times V}{m}$$

где:

C [мг/мл]– концентрация вещества в сухом чае на 1 г, мг/г;

C [мг/мл]– концентрация вещества в растворе чая, мг/мл;

V – объем воды для заваривания чая (100 мл);

m – навеска чая;

Результаты представлены в таблице 3 и на рисунке 11.

Таблица 3. Содержание рутина и кофеина в черном, зеленом и красном чае фирмы «GreenField».

Чай «GreenField»	Навеска чая, г	Площадь пика рутина	Площадь пика кофеина	Концентрация, мг/г чая	
				Рутин на 1 г чая, мг	Кофеина на 1г чая, мг
Чёрный	2,54	1835,6	38475,4	1,21	16,51
Зелёный	2,51	1212,4	28911,0	0,81	12,55
Красный	2,49	187,4	4685,4	0,13	2,05

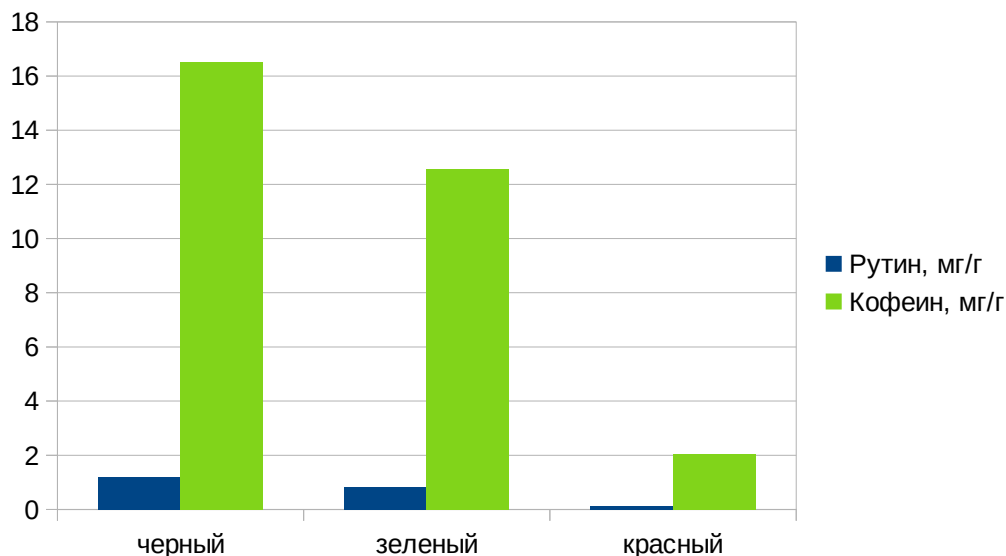


Рисунок 11. Содержание рутина и кофеина в черном, зеленом и красном чае фирмы «GreenField».

Вывод:

- содержание кофеина во всем видах чая больше, чем содержание рутина
- содержание рутина и кофеина в **чёрном** чае марки «GreenField» в 1,5 раза больше, чем в **зеленом** чае и в 9 раз больше, чем в красном.

Данный факт можно объяснить различием в методах получения, а также различием в условиях обработки и хранения чая различных сортов. Общеизвестно, что при получении зеленого чая листья предварительно фиксируются острым паром при высокой температуре (170-1800 °C), ферментация происходит не более 2 дней и прекращается принудительно. Листья черного чая ферментируют дольше— до месяца.

3. Количественное определение рутина и кофеина в разных марках черного чая методом ВЭЖХ.

Из социологического опроса остались еще 3 самых часто употребляемых чаев фирм «Richard», «Ahmad» и «Assand». Провели такой же эксперимент: экстрагирование, далее хроматографирование, обработка результатов. Получили хроматограммы (рис.12).

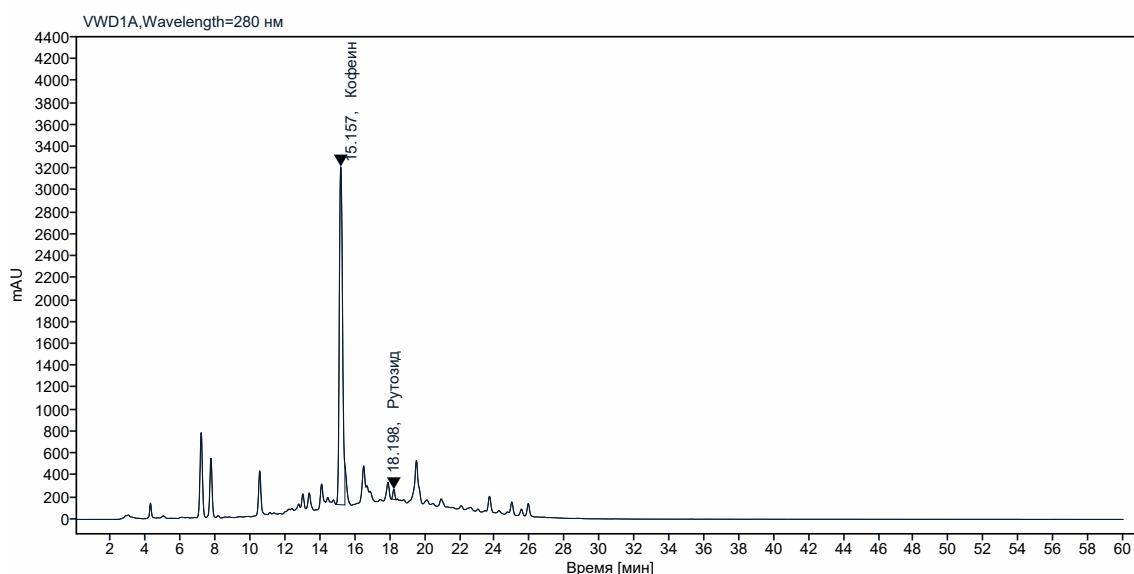


Рисунок 12. Хроматограмма экстракта черного чая «Ahmad» при 280 нм.

По площади пика и объему вкола стандартных образцов и исследуемых проб рассчитали содержание рутина и кофеина в разных сортах чая (табл. 4) и на рисунке 13.

Таблица 4. Содержание рутина и кофеина в черном чае разных фирм.

Название раствора	Навеска чая, г	Площадь пика рутина	Площадь пика кофеина	Концентрация	
				Рутин на 1 г чая, мг	Кофеина на 1 г чая, мг
Richard	2,51	1783,6	41528,4	1,19	18,11
Assand	2,5	2567,2	39054,1	1,72	16,99
Ahmad	2,51	1927,6	39923,4	1,29	17,35

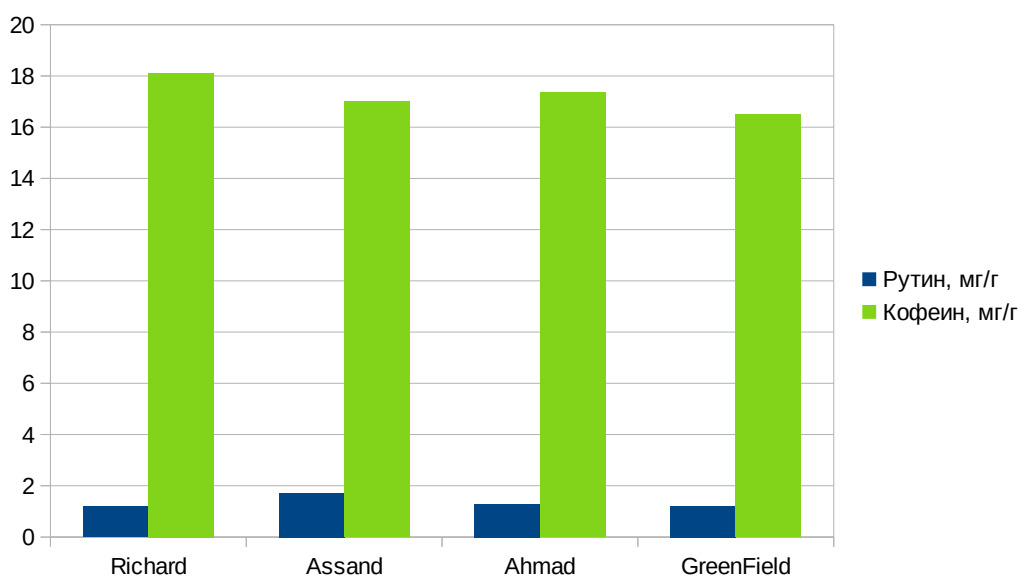


Рисунок 13. Содержание рутина и кофеина в черном, зеленом и красном чае фирмы «GreenField».

Вывод:

- наибольшее количество рутина (1,72 мг/г) содержит черный чай марки «Assand»,
- наибольшее количество кофеина (18,11 мг/г) содержит черный чай марки «Richard».

Полученные количественные значения совпадают с литературными данными о содержании рутина и кофеина в чае.

Выводы

1. Проведенный социопрос показал, что :

- чай является самым популярным напитком (пьют 53 % опрошенных),
- 72 % опрошенных не знают о его составе,
- самыми покупаемыми марками чая являются «GreenField» (74%), «Assand» (78,4%) и «Ahmad» (64,3%).

2. В ходе исследования образцов чая методом ВЭЖХ установили, что:

- содержание кофеина во всех видах чая больше, чем рутина,
- содержание кофеина и рутина зависит от сорта чая и производителя. Так в **чёрном** чае марки «GreenField» рутина примерно в 1,5 раза больше, чем в зеленом чае, и в 9 раз больше, чем в красном.
- наибольшее количество рутина 1,75 мг/г содержит черный чай марки «Assand», а кофеина 18,11 мг/г – черный чай марки «Richard».

Рекомендации

Открытие и изучение витаминов и психоактивных веществ стало прорывом в науке. Наука уделяет большое количество времени изучению полезных и вредных свойств различных групп витаминов и наркотиков, ведь они имеют огромное влияние на здоровье организма и человека в целом. Они должны поступать в организм не только в период болезней и инфекций, но и в повседневной жизни, чтобы сохранить постоянство внутренней среды организма. Таким образом, поддерживая уровень всех веществ в организме на нужном уровне, можно облегчить себе жизнь наименьшим количеством заболеваний.

Принятие нескольких кружек черного чая в день способствует улучшению кровообращения и укреплению сосудов, а также стимуляции нервной системы, бодрствованию и активной умственной и физической деятельности. Регулярное употребление чая может положительно влиять на кровообращение и состояние сосудов благодаря содержанию флавоноидов, таких как рутин. Кофеин в чае способствует бодрствованию, улучшению концентрации и умственной активности. Однако людям с проблемами с давлением стоит учитывать индивидуальную реакцию на чай.

Список литературы и источников

1. <https://ru.wikipedia.org/>
2. <https://www.kp.ru/doctor/zdorovyj-obraz-zhizni/vitamin-p/?ysclid=m6f4ow84oi471428515>
3. Витамины как основа иммунометаболической терапии / А.А. Савченко, Е.Н. Анисимова, А.Г. Борисов, А.Е. Кондаков. – Красноярск: Издательство КрасГМУ, 2011. – 213 с.
4. Биология 8 класс/ Пасечник В.В. и др., 2023
5. <https://www.justfood.pro/blog/v-kakih-produktah-soderzhitsya-rutin>
6. Биология. Человек. 8 класс./ Реми Маш, Дмитрий Колесов, Иван Беляев, 2020
7. ВИТАМИНЫ/ В.М. Коденцова – Медицинское информационное агентство, Москва, 2015
8. Похлебкин В. В. Чай — его типы, свойства, употребление. — М. : Легкая и пищевая промышленность, 1981. — 119 с. 4.
9. Филиппович Ю. Б. Основы биохимии. — М. : Агар, 1999. — 512 с.
10. Химический состав пищевых продуктов. Кн. 2: Справочные таблицы содержания аминокислот, жирных кислот, витаминов, макро- и микроэлементов, органических кислот и углеводов / Под ред. проф., д-ра техн. наук И.М. Скурихина и проф., д-ра мед. наук М.Н. Волгарева.— 2-е изд., перераб. и доп. -М.: Агропромиздат, 1987.-360 с