



Laboratoris Lamter

Determinació de la cafeïna de la Monster Original, Monster Zero Ultra White i Monster Mango Loco per Espectrofotometria d'absorció molecular UV-Visible



Yohalis Cuevas
Andrea Martínez
David Barrientos

ÍNDEX

1. Introducció	2
2. Prevenció de riscos	3
3. Procediment	3
3.1. Mostra	3
3.2. Reactius	3
3.3. Material	4
3.4. Càlculs previs	4
3.5. Procediment experimental	6
3.5.1. Extracció Líquid-Líquid cafeïna	6
3.5.2. Quantificació cafeïna	7
4. Taula amb dades experimentals	8
5. Càlculs finals	9
6. Resultats	12
7. Discussió de resultats / Conclusions	13
8. Bibliografia	15

1. Introducció

La cafeïna (1,3,7-trimetilxantina) és un alcaloide cristal·lí blanc i amarg, present en diverses begudes (refrescos i begudes energètiques) (Spectrophotometric determining)¹. És una substància que es troba de forma natural a les fulles, llavors o fruits de més de 63 espècies de plantes a tot el món. A més s'utilitza àmpliament en molts refrescos com a agent saboritzant (Spectrophotometric Analysis of Caffeine)².

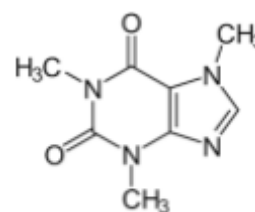


Foto 1. Molècula de cafeïna

Consumida en dosis moderades (Dosis úniques de fins a 200 mg) la cafeïna pot augmentar l'atenció i el rendiment mental (EFSA)³; (Español Hartford HealthCare)⁴. Però les begudes energètiques no contenen cafeïna en petita quantitat, sinó que contenen una quantitat molt gran. Tanmateix, un consum excessiu pot provocar efectes fisiològics no desitjats com alteració del son, canvis en el comportament o trastorns cardiovasculars (AESAN)⁵.

Segons la Agència Espanyola Seguridad Alimentaria y Nutrición, un consum regular de cafeïna pot causar dependència física moderada i tolerància a aquesta substància, creant la necessitat de consumir una dosi més gran que la inicial per aconseguir un efecte semblant a l'original.

Les begudes energètiques solen contenir quantitats elevades de cafeïna. Generalment, el contingut és d'uns 32 mg de cafeïna per 100 mL de beguda (AESAN)⁵. Segons el Reglament (UE) 1169/2011 (Reglamento UE nº 1169/2011)⁶, les begudes amb un contingut superior a 150 mg de cafeïna per litre han d'indicar a l'etiquetatge l'avertiment: "Contingut elevat de cafeïna: no recomanat per a nens ni dones embarassades o en període de lactància", així com el contingut de cafeïna expressat en mg per 100 mL.

Per determinar la concentració de cafeïna en les mostres es va utilitzar, l'espectrofotòmetria d'absorció molecular UV-Vis. Aquesta tècnica es basa en la mesura de l'absorció de radiació electromagnètica en les regions ultraviolada i visible (190-1100 nm) de l'espectre electromagnètic. Quan una molècula absorbeix un fotó de llum ultraviolada o visible, l'energia del fotó promou un electró des d'un orbital d'estat fonamental de menys energia a un orbital d'estat excitat de més energia. La part específica d'una molècula responsable d'aquesta absorció s'anomena cromòfor (Hinotek)⁷.

La cafeïna és un cromòfor excel·lent perquè la seva estructura molecular conté un sistema conjugat, una sèrie d'enllaços simples i dobles alternats. Aquesta conjugació deslocalitza els electrons π a través de la molècula, cosa que disminueix la bretxa energètica entre l'estat fonamental i l'estat excitat. Com a resultat, la cafeïna pot absorbir fotons de menor energia, concretament al rang UV, cosa que la fa fàcilment detectable per espectrofotometria UV-Vis (Hinotek)⁷.

La cafeïna absorbeix radiació UV al voltant de 272-275 nm, amb una màxima absorció (λ_{max}) a 274 nm, on la substància absorbeix la llum amb més intensitat i permet detectar fins i tot concentracions baixes mitjançant espectrofotometria UV-Vis, i s'utilitza cubetes de quars (Hinotek)⁷; (Spectrophotometric determining)¹.

La quantificació es basa en la llei de Beer-Lambert que estableix una relació entre l'absorbància de la mostra i la concentració de la substància absorbent segons l'expressió:

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c$$

On A és l'absorbància, ϵ és l'absortivitat molar, b és el camí òptic de la cubeta i c és la concentració de la substància absorbent (cafeïna) a la dissolució (Hinotek)⁷.

No obstant això, les begudes són mesclades complexes que contenen altres compostos com sucres, colorants, àcids o conservants els quals també poden absorbir radiació ultraviolada a la mateixa regió que la cafeïna i interferir en la determinació (Hinotek)⁷. Per aquest motiu, abans de l'anàlisi es realitza una preparació de la mostra mitjançant una extracció líquid-líquid.

L'extracció líquid-líquid és una tècnica basada en la partició d'un solut entre dues fases líquides immiscibles. La cafeïna és moderadament soluble en aigua però presenta una major solubilitat en dissolvents orgànics com el diclorometà o el cloroform. Així, quan la mostra aquosa es barreja amb un d'aquests dissolvents, la cafeïna passarà preferentment de la fase aquosa a l'orgànica. (Hinotek)⁷. S'utilitza el dissolvent cloroform, perquè la cafeïna presenta una major afinitat per aquest dissolvent orgànic que per l'aigua, fet que afavoreix la seva transferència a la fase orgànica i permet la separació dels compostos més polars presents en la fase aquosa (Determinación de Cafeína)⁸; (Coeficiente de Partición)⁹.

2. Prevenció de riscos

Cloroform: carcinogenicitat, toxicitat. - Fer-ho servir dins d'una campana.

Carbonat de sodi al 20%: lesions oculars greus.

3. Procediment

3.1. Mostra

- Monster Original (Monster Energy Original Green)
- Monster Sense Sucre (Monster Energy Zero Ultra White)
- Monster Mango Loco

3.2. Reactius

- Estàndard de cafeïna d'alta puresa ($\geq 99\%$) CAS: 58-08-2
- Triclormeta (cloroform) CAS: 67-66-3
- Carbonat de sodi al 20% CAS: N° CAS: 497-19-8

3.3. Material

- Matrassos aforats de 100 mL, 50 mL i 5 mL.
- Pipetes aforades de 1 mL, 2 mL, 3 mL, 4 mL, 5 mL, 10 mL
- Embuts de decantació
- Vas de precipitats
- Vidres de rellotges
- Suport i pinça
- Pipeta pasteur
- Micropipeta
- Espàtula
- Cubetes de quars

3.4. Càlculs previs

Preparació recta de calibrat

- Dissolució stock

Dissolució stock 100 ppm (mg/L) de Cafeïna - 100 ml

↳ 0,0121 g /100 ml

Cafeïna 99% de puresa

100 mL dissolució stock final $\frac{100 \text{ mg Patró comercial}}{1000 \text{ mL dó}} \cdot \frac{1 \text{ g}}{1000 \text{ mg}}$

$\frac{99 \text{ g Cafeïna}}{100 \text{ g Patró comercial}} = 0,0099 \text{ g Cafeïna a pesar, } \approx 0,01 \text{ g Cafeïna}$

S'arrodoneix a 0,01 g per poder pesar una quantitat més elevada i exacte a l'hora de fer anàlisis. A l'hora de l'experimentació es va pesar una quantitat exacte de 0,0121 g i es va enrasar a 100 mL en un matras aforat, però com aquest valor es molt baix per a pesar-ho s'hauria d'haver pesat de l'ordre de 0,1 g del patró de cafeïna i enrasar-ho a 1 L, per mantenir la mateixa concentració desitjada.

- Dilució intermitja 1

Es prepara una dilució intermitja de 10 ppm a partir de la dissolució stock de 100 ppm.

100 mL dissolució final $\cdot \frac{10 \text{ mg Cafeïna}}{100 \text{ mL dó}} \cdot \frac{1000 \text{ mL dissolució mare}}{100 \text{ mg cafeïna}} = 10 \text{ mL dissolució mare}$

S'agafen 10 mL de la dissolució mare i es porta a un volum de 100 mL, els ppm de cafeïna en aquesta dilució és 10 ppm (mg/L).

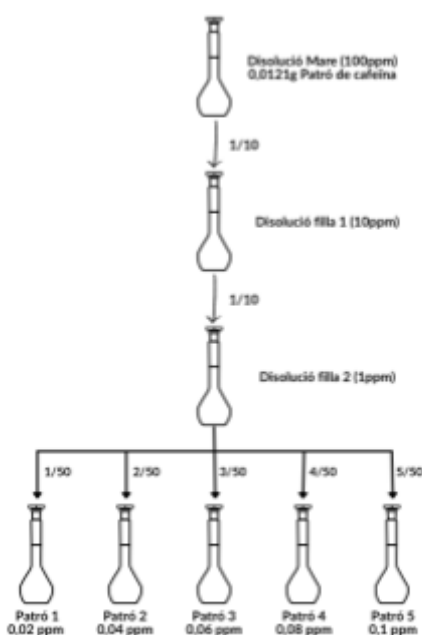


Foto 2. Arbre de dilucions

- **Dilució intermitja 2**

Es prepara una segona dilució intermitja de 1 ppm a partir de la primera dilució intermitja de 10 ppm.

$$50 \text{ mL dissolució final} \cdot \frac{1 \text{ mg cafeïna}}{1000 \text{ mL do}} \cdot \frac{1000 \text{ mL dilució intermitja 1}}{10 \text{ mg cafeïna}} = 5 \text{ mL dilució intermitja 1}$$

S'agafen 5 mL de la primera dilució intermitja i es porta a un volum de 50 mL, els ppm de cafeïna en aquesta dilució és 1 ppm (mg/L).

- **Patrons per a realitzar la recta de calibratge de l'espectofotòmetre**

A partir de la segona dilució intermitja es realitzen els 5 patrons.

Els patrons són 0,02 ppm, 0,04 ppm, 0,06 ppm, 0,08 ppm, 0,1 ppm, perquè anteriorment és van realitzar uns altres patrons i la absorbància va donar uns valors molt elevats (més de 2,5)

1. 0,02 ppm

$$50 \text{ mL volum final} \cdot \frac{0,02 \text{ mg cafeïna}}{1000 \text{ mL do}} \cdot \frac{1000 \text{ mL dilució intermitja 2}}{1 \text{ mg cafeïna}} = 1 \text{ mL dilució intermitja 2}$$

S'agafa 1 mL de la segona dilució intermitja i es porta a un volum de 50 mL, els ppm de cafeïna en aquest patró és 0,02 ppm.

2. 0,04 ppm

$$50 \text{ mL volum final} \cdot \frac{0,04 \text{ mg cafeïna}}{1000 \text{ mL do}} \cdot \frac{1000 \text{ mL dilució intermitja 2}}{1 \text{ mg cafeïna}} = 2 \text{ mL dilució intermitja 2}$$

S'agafa 2 mL de la segona dilució intermitja i es porta a un volum de 50 mL, els ppm de cafeïna en aquest patró és 0,04 ppm.

3. 0,06 ppm

$$50 \text{ mL volum final} \cdot \frac{0,06 \text{ mg cafeïna}}{1000 \text{ mL do}} \cdot \frac{1000 \text{ mL dilució intermitja 2}}{1 \text{ mg cafeïna}} = 3 \text{ mL dilució intermitja 2}$$

S'agafa 3 mL de la segona dilució intermitja i es porta a un volum de 50 mL, els ppm de cafeïna en aquest patró és 0,06 ppm.

4. 0,08 ppm

$$50 \text{ mL volum final} \cdot \frac{0,08 \text{ mg cafeïna}}{1000 \text{ mL do}} \cdot \frac{1000 \text{ mL dilució intermitja 2}}{1 \text{ mg cafeïna}} = 4 \text{ mL dilució intermitja 2}$$

S'agafa 4 mL de la segona dilució intermitja i es porta a un volum de 50 mL, els ppm de cafeïna en aquest patró és 0,08 ppm.

5. 0,1 ppm

$$50 \text{ mL volum final} \cdot \frac{0,1 \text{ mg cafeïna}}{1000 \text{ mL do}} \cdot \frac{1000 \text{ mL dilució intermitja 2}}{1 \text{ mg cafeïna}} = 5 \text{ mL dilució intermitja 2}$$

S'agafa 5 mL de la segona dilució intermitja i es porta a un volum de 50 mL, els ppm de cafeïna en aquest patró és 0,1 ppm.

Concentració cafeïna en ppm dels patrons:

Número patró	Concentració de cafeïna en ppm
1	0,02
2	0,04
3	0,06
4	0,08
5	0,1

Taula 1. Concentració dels patrons

Dissolució de Carbonat de sodi al 20%

S'afegeix a l'embut de decantació a l'hora de realitzar l'extracció líquid-líquid de la cafeïna. La seva funció és ajustador del pH, neutralitzar i eliminar compostos àcids presents en la mescla durant l'extracció.

$$100 \text{ mL diss} \cdot \frac{20 \text{ g}}{100 \text{ mL}} = 20 \text{ g Na}_2\text{CO}_3$$

3.5. Procediment experimental

- Desgasificar les tres mostres de Monster al bany d'ultrasons.
 - Abocar uns 50 mL de mostra en un vas de precipitats de 600 mL. Fer-ho per cada mostra.
 - Deixar durant 45 min els tres vasos amb les mostres al bany d'ultrasons fins que no hi hagi presència de gasos a la mostra (no hi havia presència de bombolles o escuma als vasos).
 - Passat aquest temps treure les tres mostres del bany d'ultrasons.
- Realitzar els patrons de 0,02 ppm, 0,04 ppm, 0,06 ppm, 0,08 ppm i 0,1 ppm a partir de la dissolució filla 2 en matrassos aforats de 50 mL i enrasar amb cloroform.

3.5.1. Extracció Líquid-Líquid cafeïna

Realitzar a la campana

- En un embut de decantació afegir 10 mL de mostra Monster Original desgasificada.
- Afegir 1 mL de carbonat de sodi al 20%.
- Afegir 5 mL de cloroform i agitar per dissoldre.
- Tapar l'embut i invertir-lo suaument diverses vegades per barrejar les capes, ventilar sovint obrint la clau de pas per alliberar la pressió acumulada.

- Deixar reposar l'embut fins que les dues capes s'hagin separat del tot. (El cloroform (CHCl_3) és més dens que l'aigua i formarà la capa inferior).
- Abocar en un vas de precipitat l'extracte orgànic (cafeïna + cloroform).
- Repetir l'extracció dues vegades més amb el dissolvent (cloroform).
- Combinar tots els extractes orgànics en un vas de precipitats.
- Buidar la capa orgànica inferior en un vas de precipitats net.
- Repetir el procediment d'extracció per els altres tipus de Monster: Monster Zero Ultra White i Mango Loco.
- Dilució de les tres mostres: S'agafa 0,1 mL amb micropipeta del extracte (cafeïna + cloroform) de la mostra de monster Original s'aboca en un matràs aforat de 5 ml i omplir amb cloroform fins enras, es duu a terme 3 vegades.
- Dilució de les tres mostres: S'agafa 0,1 mL amb micropipeta del extracte (cafeïna + cloroform) de la mostra de monster Zero Ultra White s'aboca en un matràs aforat de 5 ml i omplir amb cloroform fins enras, es duu a terme 3 vegades.
- Dilució de les tres mostres: S'agafa 0,1 mL amb micropipeta del extracte (cafeïna + cloroform) de la mostra de monster Mango Loco s'aboca en un matràs aforat de 5 ml i omplir amb cloroform fins enras, es duu a terme 3 vegades.

3.5.2. Quantificació cafeïna

Cubetes de quars, longitud d'ona absorbeix cafeïna $\lambda_{272 \text{ nm} - 275 \text{ nm}}$ **λ_{max} : 274 nm**

- Realització del blanc: Posar a una cubeta de quars una petita quantitat de cloroform.
- Realització de la recta de calibrat: S'aboca una petita quantitat de patró 0,02 ppm a una cubeta de quars, fer el mateix per a la resta de patrons.
- Lectura de l'absorbància dels patrons: Posar les cubetes de quars que contenen els patrons al espectrofotometre UV-Visible a una longitud d'ona de $\lambda_{274 \text{ nm}}$ i fer la lectura espectrofotomètrica.
- Lectura de l'absorbància de les mostres: S'aboca una petita quantitat de la mostra diluïda de Monster Original a una cubeta de quars, fer-ho per triplicat.
- Posar la cubeta de quars que conté la mostra diluïda de Monster Original al espectrofotòmetre UV-Visible a $\lambda_{274 \text{ nm}}$ i fer la lectura espectrofotomètrica, mesurar l'absorbància per triplicat.
- Lectura de l'absorbància de les mostres: S'aboca una petita quantitat de la mostra diluïda de Monster Zero Ultra White a una cubeta de quars, fer-ho per triplicat.

- Posar la cubeta de quars que conté la mostra diluïda de Monster Zero Ultra White al espectrofotòmetre UV-Visible a $\lambda 274$ nm i fer la lectura espectrofotomètrica, mesurar l'absorbància per triplicat.
- Lectura de l'absorbància de les mostres: S'aboca una petita quantitat de la mostra diluïda de Monster Mango Loco a una cubeta de quars, fer-ho per triplicat.
- Posar la cubeta de quars que conté la mostra diluïda de Monster Mango Loco al espectrofotòmetre UV-Visible a $\lambda 274$ nm i fer la lectura espectrofotomètrica, mesurar l'absorbància per triplicat.

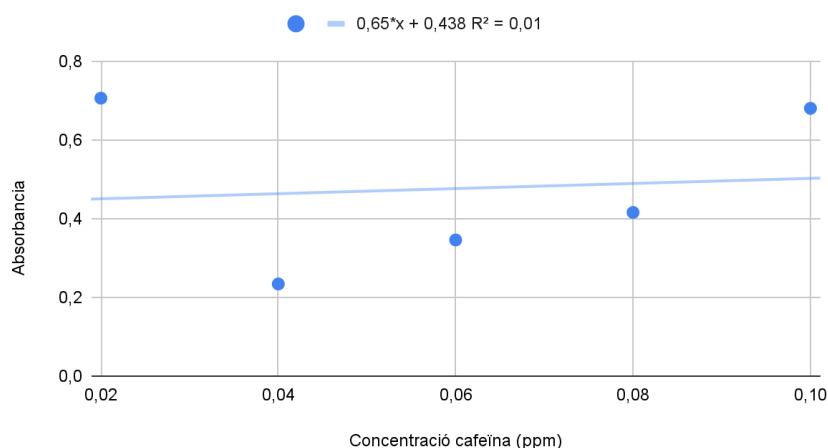
La quantificació de les mostres, fer-ho el més ràpid possible, per minimitzar l'evaporació del cloroform.

4. Taula amb dades experimentals

Número patró	Concentració de cafeïna en ppm	Absorbància
1	0,02	0,707
2	0,04	0,234
3	0,06	0,346
4	0,08	0,416
5	0,1	0,681

Taula 2. Dades experimentals lectura absorbància dels patrons

Absorbància i Concentració cafeïna (ppm)

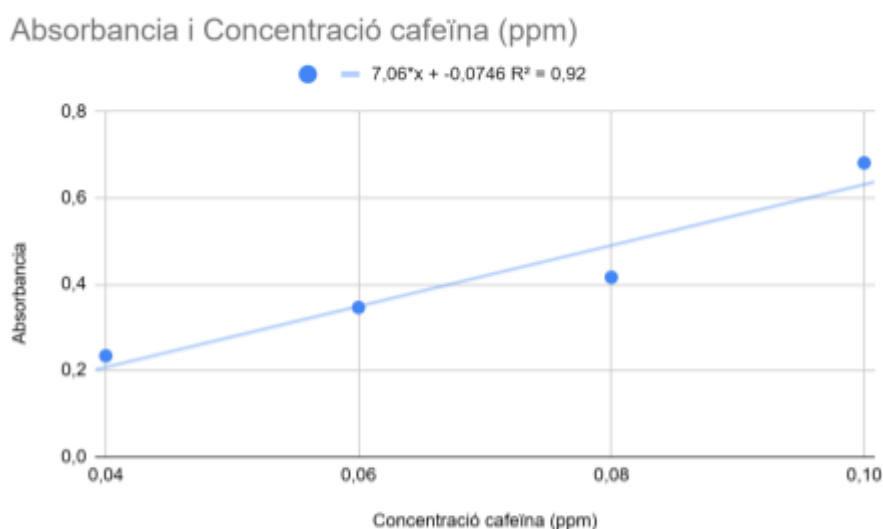


Gràfic 1. Línia de tendència dels 5 patrons

S'elimina el punt corresponent al patró amb una concentració de 0'02 ppm (mg/L) i una absorbància de 0'707, ja que es considera un valor anòmal que s'allunya molt de la tendència lineal, i es torna a fer la recta de calibrat sense aquest punt.

Número patró	Concentració de cafeïna en ppm	Absorbància
2	0,04	0,234
3	0,06	0,346
4	0,08	0,416
5	0,1	0,681

Taula 2. Dades experimentals lectura absorbància dels patrons



Gràfic 2. Línia de tendència dels 4 patrons

5. Càlculs finals

Després d'obtenir els resultats de les senyals de les mostres en l'espectrofotòmetre, es realitzen els següents càlculs per determinar la concentració de cafeïna present a les mostres.

Mostres	Absorbància		
Monster Original	0,575	0,575	0,575
Monster Zero Ultra White (Sense sucre)	0,268	0,267	0,266
Monster Mango Loco	0,213	0,267	0,312

Taula 3. Dades experimentals lectura absorbància de les mostres

S'aplica l'equació de la recta de calibratge per determinar la concentració de cafeïna corresponent a cada mostra.

Equació de la recta $y=ax+b \rightarrow y=7,06x + (-0,0746)$

- **Mostra Monster Original**

$$y = 0,575$$

$$0,0575 = 7,06x + (-0,0746)$$

$$0,0575 - (-0,0746) = 7,06x$$

$$\frac{0,6496}{7,06} = x \rightarrow x = 0,0920 \text{ ppm Cafeïna} \rightarrow 0,0920 \cdot \frac{5 \text{ mL}}{0,1 \text{ mL}} = 4,6 \text{ ppm (mg/L) Cafeïna}$$

$$4,6 \frac{\text{mg Cafeïna}}{\text{L}} \cdot \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}} \cdot \frac{100 \text{ mL}}{1} = 0,46 \text{ mg Cafeïna/100 mL}$$

Es fa el mateix càlcul per totes les rèpliques, ja que l'absorbància es la mateixa.

- **Tractament estadístic (mitjana \pm DS)**

- No es realitza tractament estadístic ja que els tres replicas donen el mateixa valor.

Valor teòric (especificat a l'etiqueta del fabricant): 32 mg cafeïna/100mL

$$\text{Er(\%)} = \frac{|\text{valor real} - \text{valor experimental}|}{\text{Valor real}} \times 100 \rightarrow \frac{|32 - 0,46|}{32} \times 100 = 98,56 \%$$

- **Mostra Monster Zero Ultra White**

$$1) y = 0,268$$

$$0,268 = 7,06x + (-0,0746)$$

$$0,268 - (-0,0746) = 7,06x$$

$$\frac{0,3426}{7,06} = x \rightarrow x = 0,0485 \text{ ppm Cafeïna} \rightarrow 0,0485 \cdot \frac{5 \text{ mL}}{0,1 \text{ mL}} = 2,43 \text{ ppm (mg/L) Cafeïna}$$

$$2,43 \frac{\text{mg Cafeïna}}{\text{L}} \cdot \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}} \cdot \frac{100 \text{ mL}}{1} = 0,243 \text{ mg Cafeïna/100 mL}$$

$$2) y = 0,267$$

$$0,267 = 7,06x + (-0,0746)$$

$$0,267 - (-0,0746) = 7,06x$$

$$\frac{0,3416}{7,06} = x \rightarrow x = 0,0484 \text{ ppm Cafeïna} \rightarrow 0,0484 \cdot \frac{5 \text{ mL}}{0,1 \text{ mL}} = 2,42 \text{ ppm (mg/L) Cafeïna}$$

$$2,42 \frac{\text{mg Cafeïna}}{\text{L}} \cdot \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}} \cdot \frac{100 \text{ mL}}{1} = 0,242 \text{ mg Cafeïna/100 mL}$$

$$3) y = 0,266$$

$$0,266 = 7,06x + (-0,0746)$$

$$0,266 - (-0,0746) = 7,06x$$

$$\frac{0,3406}{7,06} = x \rightarrow x = 0,0482 \text{ ppm Cafeïna} \rightarrow 0,0482 \cdot \frac{5 \text{ mL}}{0,1 \text{ mL}} = 2,41 \text{ ppm (mg/L) Cafeïna}$$

$$2,41 \frac{\text{mg Cafeïna}}{\text{L}} \cdot \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}} \cdot \frac{100 \text{ mL}}{1} = 0,241 \text{ mg Cafeïna/100 mL}$$

○ Tractament estadístic (mitjana ± DS)

Valors Experimentals	Mitjana	(X - Mitjana)	(X - Mitjana) ²	DS
0,243 mg Cafeïna/100 mL	0,242 mg Cafeïna/100 mL	0,001	1 x 10 ⁻⁶	1 x 10 ⁻³
0,242 mg Cafeïna/100 mL		0	0	1 x 10 ⁻³
0,241 mg Cafeïna/100 mL		-0,001	1 x 10 ⁻⁶	1 x 10 ⁻³

Taula 4. Tractament estadístic Monster Zero Ultra White

Mitjana: $\frac{0,243 + 0,242 + 0,241}{3} = 0,242 \text{ mg}$

Cafeïna/100 mL

(x- mitjana):

0,243 - 0,242 = 0,001

0,242 - 0,242 = 0

0,241 - 0,242 = - 0,001

(x- mitjana)²:

0,001² = 1x10⁻⁶

0² = 0

(- 0,001)² = 1x10⁻⁶

DS:

$$\sqrt{\frac{0,000001 + 0 + 0,000001}{2}} = 1x10^{-3}$$

Rang: (0,241-0,243)

Resultat: 0,242 ± 0,001 mg Cafeïna/100 ml

Valor teòric (especificat a l'etiqueta del fabricant): 30 mg cafeïna/100mL

$$Er(\%) = \frac{|valor\ real - valor\ experimental|}{Valor\ real} \times 100 \rightarrow \frac{|30 - 0,242|}{30} \times 100 = 99,19 \%$$

● **Mostra Monster Mango Loco**

1) y= 0,213

0,213 = 7,06x + (-0,0746)

0,213 - (-0,0746) = 7,06x

$$\frac{0,2876}{7,06} = x \rightarrow x = 0,0407 \text{ ppm Cafeïna} \rightarrow 0,0407 \cdot \frac{5 \text{ ml}}{0,1 \text{ ml}} = 2,04 \text{ ppm (mg/L) Cafeïna}$$

$$2,04 \frac{\text{mg Cafeïna}}{\text{L}} \cdot \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ ml}} \cdot \frac{100 \text{ ml}}{1} = 0,204 \text{ mg Cafeïna/100 ml}$$

2) y= 0,267

0,267 = 7,06x + (-0,0746)

0,267 - (-0,0746) = 7,06x

$$\frac{0,3416}{7,06} = x \rightarrow x = 0,0484 \text{ ppm Cafeïna} \rightarrow 0,0484 \cdot \frac{5 \text{ mL}}{0,1 \text{ mL}} = 2,42 \text{ ppm (mg/L) Cafeïna}$$

$$2,42 \frac{\text{mg Cafeïna}}{\text{L}} \cdot \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}} \cdot \frac{100 \text{ mL}}{1} = 0,242 \text{ mg Cafeïna/100 ml}$$

$$3) y = 0,312$$

$$0,312 = 7,06x + (-0,0746)$$

$$0,312 - (-0,0746) = 7,06x$$

$$\frac{0,3866}{7,06} = x \rightarrow x = 0,0548 \text{ ppm Cafeïna} \rightarrow 0,0548 \cdot \frac{5 \text{ mL}}{0,1 \text{ mL}} = 2,74 \text{ ppm (mg/L) Cafeïna}$$

$$2,74 \frac{\text{mg Cafeïna}}{\text{L}} \cdot \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL do}} \cdot \frac{100 \text{ mL}}{1} = 0,274 \text{ mg Cafeïna/100 mL}$$

○ Tractament estadístic (mitjana \pm DS)

Valors Experimentals	Mitjana	(X - Mitjana)	(X - Mitjana) ²	DS
0,204 mg Cafeïna/100 mL	0,24 mg Cafeïna/100 mL	- 0,036	$1,3 \times 10^{-3}$	0,035
0,242 mg Cafeïna/100 mL		0,002	4×10^{-6}	0,035
0,274 mg Cafeïna/100 mL		0,034	$1,16 \times 10^{-3}$	0,035

Taula 5. Tractament estadístic Monster Mango Loco

Mitjana: $\frac{0,204 + 0,242 + 0,274}{3} = 0,24 \text{ mg}$

Cafeïna/100 mL

(x- mitjana):

$$0,204 - 0,24 = - 0,036$$

$$0,242 - 0,24 = 0,002$$

$$0,274 - 0,24 = 0,034$$

Rang: (0,205 - 0,275)

(x- mitjana)²:

$$(- 0,036)^2 = 1,3 \times 10^{-3}$$

$$0,002^2 = 4 \times 10^{-6}$$

$$0,034^2 = 1,16 \times 10^{-3}$$

DS:

$$\sqrt{\frac{1,3 \times 10^{-3} + 4 \times 10^{-6} + 1,16 \times 10^{-3}}{2}} = 0,035$$

Es descarta el primer valor perquè la seva desviació respecte a la mitjana del conjunt ($|x - \text{mitjana}|$) és superior a la desviació estàndard, la qual cosa indica que es tracta d'un valor estadísticament discordant o outlier. En un conjunt de dades reduït com aquest, un valor anòmal té un pes proporcionalment molt elevat sobre la mitjana, de manera que la seva inclusió desplaçaria el resultat final allunyant-lo del valor real i reduiria la fiabilitat de la mesura. Mantenir-lo significaria obtenir una mitjana que no representa adequadament el comportament del conjunt de rèpliques vàlides.

Per aquest motiu, es torna a calcular una nova mitjana únicament amb els valors acceptats. La nova mitjana amb els dos valors restants és:

Mitjana: $\frac{0,242 + 0,274}{2} = 0,258 \text{ mg Cafeïna/100 mL}$

RESULTAT: 0,258 mg cafeïna/100 mL

Valor teòric (especificat a l'etiqueta del fabricant): 32 mg cafeïna/100mL

$$Er(\%) = \frac{|valor\ real - valor\ experimental|}{Valor\ real} \times 100 \rightarrow \frac{|32 - 0,258|}{32} \times 100 = 99,19\%$$

6. Resultats

Mostres	Concentració de cafeïna en ppm
Monster Original	0,46 mg cafeïna/100 mL
Monster Zero Ultra White (Sense sucre)	0,242 ± 0,001 mg Cafeïna/100 mL
Monster Mango Loco	0,258 mg cafeïna/100 mL

Taula 6. Resultats concentració cafeïna a les mostres

7. Discussió de resultats / Conclusions

Els resultats obtinguts mostren concentracions de cafeïna molt inferiors a les indicades per les etiquetes dels fabricants en tots tres productes analitzats. Mentre que les etiquetes declaren aproximadament 32 mg/100 mL per a la Monster Original i la Monster Mango Loco, i 30 mg/100 mL per a la Monster Zero Ultra White, els valors experimentals obtinguts han estat de 0,46 mg/100 mL, 0,258 mg/100 mL i 0,242 ± 0,001 mg/100 mL respectivament, amb errors relatius superiors al 98% en tots els casos. Aquestes discrepàncies tan notables posen de manifest una manca d'exactitud en els resultats, és a dir, els valors experimentals s'allunyen significativament dels valors reals esperats. Cal distingir aquest concepte del de precisió, que fa referència a la reproductibilitat dels resultats entre rèpliques: en el cas de la Monster Zero Ultra White, per exemple, la baixa desviació estàndard (±0,001 mg/100 mL) indica una bona precisió malgrat l'escassa exactitud. Això és característic dels errors sistemàtics, que afecten tots els mesuraments en la mateixa direcció sense alterar-ne la reproductibilitat (Spectrophotometric determining)¹ (Spectrophotometric Analysis of Caffeine)².

Un dels principals errors sistemàtics identificats és l'evaporació parcial del cloroform (CHCl₃) durant el procediment d'extracció. El cloroform és un líquid volàtil, no inflamable, incolor, d'olor penetrant, amb un punt d'ebullició d'aproximadament 62 °C (TERMCAT)¹⁰. Qualsevol pèrdua de volum de la fase orgànica durant les successions d'extracció, la combinació dels extractes o el traspàs a altres recipients implica una disminució del volum total de la solució. Atès que la cafeïna extreta es troba dissolta en un volum menor del previst, i les dilucions posteriors es fan assumint el volum nominal, la concentració final queda sistemàticament subestimada (HINOTEK)⁷.

Un segon error sistemàtic és la quantitat de patró de cafeïna pesada per preparar la dissolució stock. La massa teòrica necessària era d'aproximadament 0,01 g, una quantitat molt petita que introdueix una incertesa relativa elevada en el pesatge, fins i tot amb una balança analítica de precisió. En química analítica, treballar amb masses tan baixes augmenta l'error relatiu de pesatge de forma significativa, cosa que afecta directament la concentració real de tots els patrons derivats (Calibració de

espectrofotòmetre UV-Vis)¹¹. Idealment, s'hauria d'haver preparat la dissolució stock a una concentració superior, pesant al voltant de 0,1 g de patró, per minimitzar aquest error.

Quant a la qualitat de la recta de calibratge, la recta inicial obtinguda amb els 5 patrons presentava un R^2 de tan sols 0,01, fet que indica l'absència total de linealitat. En els mètodes quantitius basats en corbes de calibració, el coeficient de correlació R^2 ha de ser proper a 1 per garantir la fiabilitat de les mesures; la Farmacopea Europea estableix que aquest valor ha de superar 0,999 (Calibración de espectrofotòmetre UV-Vis)¹¹. En eliminar el punt aberrant del patró 1 (0,02 ppm, absorbància = 0,707) i recalculer la recta amb els 4 patrons restants, el R^2 va millorar fins a 0,92. Tot i ser un valor acceptable per a una pràctica d'iniciació, segueix estant per sota del mínim recomanat en mètodes analítics validats. La causa més probable de l'anomalia del patró 1 és un error de pipeteig en la seva preparació, possiblement per contaminació de la micropipeta o per un error en el volum transferit (Espectrofotòmetres UV-Visible)¹².

Finalment, la mostra de Monster Mango Loco va presentar la major variabilitat entre rèpliques (absorbàncies de 0,213; 0,267 i 0,312), amb una desviació estàndard de 0,035 mg/100 mL, fet que reflecteix una baixa precisió en aquesta mostra concreta. El primer valor va haver de ser descartat per ser estadísticament discordant, i a més se situava per sota del patró de menor concentració acceptat (0,04 ppm), la qual cosa significa que quedava fora del rang lineal de la recta de calibratge. Quan una mostra presenta una absorbància inferior a la del patró de menor concentració, els resultats obtinguts per interpolació no són vàlids (Espectrofotòmetres UV-Visible)¹². Aquesta irregularitat és indicativa de problemes en la homogeneïtat de la solució preparada o en el procés d'extracció d'aquesta mostra, probablement relacionats amb la pèrdua de cloroform esmentada.

En conclusió, tot i que el mètode de determinació de cafeïna per espectrofotometria UV-Vis a 274 nm és adequat i ben fonamentat —tant en termes de selectivitat per extracció líquid-líquid amb cloroform com en la linealitat de la llei de Beer-Lambert (Spectrophotometric Analysis of Caffeine)², (HINOTEK)⁷ — la seva aplicació en aquesta pràctica ha estat compromesa per múltiples errors experimentals de caràcter sistemàtic. Cal tenir en compte, a més, algunes limitacions intrínseques del mètode: l'espectrofotometria UV-Vis no és completament selectiva, ja que altres compostos presents en les begudes energètiques amb absorbància a 274 nm podrien interferir en la mesura; el rang lineal de treball és limitat, i mostres fora d'aquest rang requereixen dilucions addicionals; i la qualitat dels resultats depèn críticament de la preparació acurada dels patrons i del manteniment de les condicions d'extracció (Spectrophotometric determining)¹. Per a futures repeticions del mètode, es recomana: dur a terme tota la manipulació de la fase orgànica a la campana i minimitzar el temps d'exposició a l'ambient per evitar l'evaporació del cloroform; preparar la dissolució stock a concentracions superiors (p. ex. 1.000 ppm, pesant $\geq 0,1$ g de patró) per reduir l'error relatiu de pesatge; i verificar les

absorbàncies dels patrons en ordre creixent de concentració per detectar valors anòmals de forma immediata i repetir la preparació si s'escau.

8. Bibliografia

1. *Spectrophotometric determining of caffeine content in the selection of teas, soft and energy drinks available on the Croatian market.* (s. f.). Recuperado 6 de marzo de 2026, de https://www.myfoodresearch.com/uploads/8/4/8/5/84855864/39_fr-2020-482_vuletic.pdf
2. *Spectrophotometric Analysis of Caffeine.* (s. f.). Recuperado 6 de marzo de 2026, de <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4641934/>
3. *La cafeína.* (s. f.). EFSA.
https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/corporate_publications/files/efsaexplainscaffeine150527es.pdf
4. *6 Beneficios de la Cafeína (y Cuánto es Demasiado) | Español Hartford HealthCare | CT.* (s. f.). Recuperado 6 de marzo de 2026, de <https://espanol.hartfordhealthcare.org/pacientes-y-visitas/noticias/6-beneficios-de-la-cafeina>
5. *RECOMENDACIONES SOBRE EL CONSUMO DE BEBIDAS ENERGÉTICAS.* (s. f.). Recuperado 6 de marzo de 2026, de https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/noticias/2022/recomendaciones_bebidas_energeticas.pdf
6. *REGLAMENTO (UE) No 1169/2011 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO de 25 de octubre de 2011.* (2011, 25 octubre). *Diario Oficial de la Unión Europea.* <https://www.boe.es/doue/2011/304/L00018-00063.pdf>
7. *Determinación de la cafeína en bebidas mediante espectrofotómetro.* (s. f.). Recuperado 6 de marzo de 2026, de <https://www.hinotek.com/es/determinacion-de-la-cafeina-en-bebidas-mediante-espectrofotometro/>
8. *Determinación de cafeína.* (2014, 8 febrero). Scribd. Recuperado el 4 de mayo de 2026, de <https://es.scribd.com/document/205657247/Guia-Practica-Cafeina>
9. *Coeficiente de partición.* (s. f.). Universidad Nacional Autónoma de Honduras. <https://laboratorislamtercat.es/wp-content/uploads/2026/05/Coeficiente-de-Particion.pdf>
10. *cloroform - Diccionari de química | TERMCAT.* (s. f.). Recuperado 6 de marzo de 2026, de <https://www.termcat.cat/es/diccionaris-en-linia/212/fitxa/NDM1NTUxOA==>
11. *Calibración de espectrofotómetro UV Vis.* (s. f.). Recuperado 6 de marzo de 2026, de https://www.mt.com/es/es/home/applications/Application_Browse_Laboratory_Analytics/uv-vis-spectroscopy/uv-vis-calibration.html
12. *Dacmail, & Dacmail.* (2026, 12 febrero). *Espectrofotómetros UV-Visible: Interpretación de certificados de calibración.* Laboratorios Eycó. Recuperado 6 de marzo de 2026, de <https://laboratorioeyco.com/espectrofotometros-uv-visibles-interpretacion-de-certificados-de-calibracion/>