

Elektrokemijska karakterizacija kafeina iz gaziranih bezalkoholnih napitaka primjenom pravokutnovalne voltametrije

Pitinac, Ana

Master's thesis / Diplomski rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:987976>

Rights / Prava: [Attribution-ShareAlike 4.0 International/Imenovanje-Dijeli pod istim uvjetima 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-31**

REPOZITORIJ

PTFS

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

Ana Pitinac

**Elektrokemijska karakterizacija kafeina iz gaziranih
bezalkoholnih napitaka primjenom pravokutnovalne voltometrije**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, rujan 2024.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Zavod za primijenjenu kemiju i ekologiju
Katedra za primijenjenu kemiju, biokemiju i instrumentalne metode
Franje Kuhača 18, 31000 Osijek, Hrvatska

Diplomski sveučilišni studij Procesno inženjerstvo

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Nastavni predmet: Inženjerska kemija

Tema rada je prihvaćena na VIII. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2022./2023. održanoj 22. svibnja 2023.

Mentor: doc. dr. sc. *Ivana Tomac*

Elektrokemijska karakterizacija kafeina iz gaziranih bezalkoholnih napitaka primjenom pravokutnovalne voltametrije

Ana Pitinac, 0113143595

Sažetak: Gazirani bezalkoholni napitci mogu sadržavati i kafein. Kafein se ubraja u skupinu alkaloida ksantina i elektroaktivna je tvar, te se može elektrokemijski okarakterizirati primjenom pravokutnovalne voltametrije. Pravokutnovalna voltametrijia je elektrokemijska instrumentalna tehnika, koju karakterizira velika brzina polarizacije te se ukupna struja pravokutnovalnog voltamograma može razdvojiti i prikazati posebno kao struja katodnog i struja anodnog pika. Stoga je cilj ovog diplomskog rada bila primjena pravokutnovalne voltametrije i njezinih karakterističnih parametara za praćenje elektrokemijskog ponašanja gaziranih bezalkoholnih napitaka dostupnih na lokalnom tržištu. Kao tro-elektrodni sustav koristila se radna dijamantna elektroda s primjesama bora, Ag/AgCl referentna i ugljikova pomoćna elektroda. Rezultati istraživanja pokazali su da pH vrijednost osnovnog elektrolita, višestruka uzastopna polarizacija, frekvencija pobudnog signala i koncentracija analita imaju utjecaj na elektrokemijska svojstva kafeina te da se primjena pravokutnovalne voltametrije pokazala pogodna za identifikaciju i kvantifikaciju kafeina u bezalkoholnim gaziranim napitcima.

Ključne riječi: pravokutnovalna voltametrijia, kafein, gazirani bezalkoholni napitci

Rad sadrži: 32 stranice
20 slika
1 tablica
0 priloga
34 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada i diplomskog ispita:

- | | |
|---|---------------|
| 1. prof. dr. sc. <i>Maja Molnar</i> | predsjednik |
| 2. doc. dr. sc. <i>Ivana Tomac</i> | član-mentor |
| 3. prof. dr. sc. <i>Lidija Jakobek Barron</i> | član |
| 4. dr. sc. <i>Petra Matić, znana sur.</i> | zamjena člana |

Datum obrane: 25. rujna 2024.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 18, Osijek.

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek
Faculty of Food Technology Osijek
Department of Applied Chemistry and Ecology
Subdepartment of Applied Chemistry, Biochemistry and Instrumental Methods
Franje Kuhača 18, HR-31000 Osijek, Croatia

Graduate program Process engineering

Scientific area: Biotechnical sciences

Scientific field: Food technology

Course title: Engineering Chemistry

Thesis subject was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. VIII held on May 22, 2023.

Mentor: *Ivana Tomac*, PhD, assistant prof.

Electrochemical Characterization of Caffeine from Carbonated Non-Alcoholic Beverages using Square-Wave Voltammetry

Ana Pitinac, 0113143595

Summary: The carbonated non-alcoholic beverages can contain caffeine. Caffeine belongs to the group of xanthine alkaloids and is an electroactive substance. It can be electrochemically characterized using square-wave voltammetry. Square-wave voltammetry is an electrochemical instrumental technique, which is characterized by a high speed of polarization, and the total current of the square-wave voltammogram can be separated and displayed as cathode and anode current. The aim of this work was to apply square-wave voltammetry and its characteristic parameters for the characterization of the electrochemical behaviour of carbonated non-alcoholic beverages. A three-electrode system consisting of a boron-doped diamond electrode, an Ag/AgCl reference and a carbon auxiliary electrode would be used. The results showed that the pH value of the electrolyte, multiple successive polarization, frequency and concentration of the analyte affect the electrochemical behaviour of caffeine and that square-wave voltammetry is a suitable technique for the identification and quantification of caffeine in carbonated non-alcoholic beverages.

Key words: square-wave voltammetry, caffeine, carbonated non-alcoholic beverages

Thesis contains: 32 pages
20 figures
1 tables
0 supplements
34 references

Original in: Croatian

Defense committee:

- | | |
|--|--------------|
| 1. <i>Maja Molnar</i> , PhD, full prof. | chair person |
| 2. <i>Ivana Tomac</i> , PhD, assistant prof. | supervisor |
| 3. <i>Lidija Jakobek Barron</i> , PhD, prof. | member |
| 4. <i>Petra Matić</i> , PhD. | stand-in |

Defense date: September 25, 2024

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 18, Osijek.

DIPLOMSKI RAD JAVNO JE OBRANJEN DANA

25.9.2024.

TE OCIJENJEN USPJEHOM

izvrstan (5)

Pred Povjerenstvom za obranu diplomskog rada:

1. prof. dr. sc. Maja Molnar

predsjednik

Molnar

2. doc. dr. sc. Ivana Tomac

član

Tomac

3. prof. dr. sc. Lidija Jakobek Barron

član

L. Jakobek Barron

Sadržaj

| | |
|--|-----------|
| 1. UVOD | 1 |
| 2. TEORIJSKI DIO | 3 |
| 2.1. BEZALKOHOLNI NAPITCI..... | 4 |
| 2.2. KAFEIN | 4 |
| 2.2.1. <i>TEHNIKE ODREĐIVANJA KAFEINA U REALNIM UZORCIMA</i> | 7 |
| 2.3. ELEKTROKEMIJSKE METODE | 7 |
| 2.3.1. <i>VOLTAMetriJA</i> | 9 |
| 2.4. PRAVOKUTNOVALNA VOLTAMetriJA | 10 |
| 3. EKSPERIMENTALNI DIO | 12 |
| 3.1. ZADATAK RADA | 13 |
| 3.2. MATERIJALI I METODE..... | 13 |
| 3.2.1. <i>Kemikalije i priprema otopina</i> | 13 |
| 3.2.2. <i>Bezalkoholna gazirana pića</i> | 13 |
| 3.2.3. <i>Pravokutnovalna voltametrija</i> | 13 |
| 4. REZULTATI | 16 |
| 4.1. ELEKTROKEMIJSKO PONAŠANJE KAFEINA | 17 |
| 4.1.1. <i>Utjecaj pH vrijednosti osnovnog elektrolita</i> | 17 |
| 4.1.2. <i>Utjecaj frekvencije pobudnog signala</i> | 17 |
| 4.1.3. <i>Utjecaj koncentracije kafeina na elektrokemijsko ponašanje</i> | 18 |
| 4.1.4. <i>Utjecaj višestruke uzastopne polarizacije</i> | 19 |
| 4.2. ELEKTROKEMIJSKO PONAŠANJE BEZALKOHOLNIH GAZIRANIH PIĆA | 20 |
| 5. RASPRAVA | 23 |
| 5.1. ELEKTROKEMIJSKO PONAŠANJE KAFEINA | 24 |
| 5.2. ELEKTROKEMIJSKO PONAŠANJE BEZALKOHOLNIH GAZIRANIH PIĆA | 26 |
| 6. ZAKLJUČAK | 28 |
| 7. LITERATURA | 30 |

1. UVOD

Bezalkoholni napitci su zaslađena, često aromatizirana pića na bazi vode čija je osnovna funkcija hidracija organizma. Postali su neizostavni dio proizvoda koji se konzumiraju na raznim društvenim događajima radi osvježenja i užitka. Takvi napitci mogu sadržavati sastojke kao što su sladila, arome, bojila, konzervanse te kafein.

Kafein je organska molekula sastavljena od ugljika, vodika, dušika i kisika. Prirodno se pojavljuje u velikom broju biljnih vrsta od kojih se neke koriste za pripravu različitih proizvoda. Od prehrambenih proizvoda najveći sadržaj kafeina je u kavi, čaju, gaziranim napitcima, čokoladi i proizvodima od čokolade, energetskim napitcima i dodacima prehrani. Farmakološki je aktivna tvar i utjecaj na organizam ovisi o koncentraciji u kojoj se unese, te su najčešći učinci kafeina smanjenje umora, povećanje budnosti i bolja usredotočenost (Carvalho i sur., 2012; Heckman i sur., 2010; Komes i sur., 2009; Nawrot i sur., 2003).

Za karakterizaciju kafeina su razvijene različite instrumentalne tehnike kao što su spektrofotometrijske, kromatografske te elektrokemijske metode. Jedna od najčešće korištenih tehnika za određivanje kafeina je visoko učinkovita tekućinska kromatografija jer je vrlo precizna i točna, međutim sve češće se primjenjuju i elektrokemijske metode, kao što su voltometrijske, zbog njihove brzine, osjetljivosti i ekonomičnosti. Od voltometrijskih metoda najčešće se primjenjuju pravokutnovalna voltometrija (SWV), diferencijalna pulsna voltometrija (DPV) i ciklička voltometrija (CV). Pravokutnovalna voltometrija, jedna od najbržih voltometrijskih metoda, karakterizirana je velikom brzinom polarizacije i visokom osjetljivošću. U elektrokemijskoj analizi koristi se za karakterizaciju elektroaktivnih tvari u realnim uzorcima zbog mogućnosti detekcije niskih koncentracija, uvida u mehanizam elektrokemijske oksidacije/redukcije i slično (Redivo i sur., 2018; Wang i sur., 2014).

Cilj ovog diplomskog rada je pronaći povoljne eksperimentalne uvjete i ispitati mehanizam oksidacije kafeina na površini dijamantne elektrode s primjesama bora u uzrocima gaziranih bezalkoholnih napitaka primjenom pravokutnovalne voltometrije.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. BEZALKOHOLNI NAPITCI

Bezalkoholni napitci, iako ne postoji opće prihvaćena definicija, mogu se definirati kao zaslađena pića na bazi vode koja imaju uravnoteženu kiselost (**Slika 1**). Unatoč tome što se ti napitci označavaju kao bezalkoholni, mogu sadržavati do 0,5 % alkohola po volumenu (Ashurst, 2016; WEB 1).

Najčešći sastojci bezalkoholnih pića su voda, sladila, kiseline, arome i bojila, te ovisno o vrsti i namjeni napitaka mogu sadržavati druge sastojke kao što su ugljikov dioksid, konzervansi, vitamini, minerali, antioksidansi, kafein, hidrokoloidi i slično (Kregiel, 2015; Shachman, 2004).

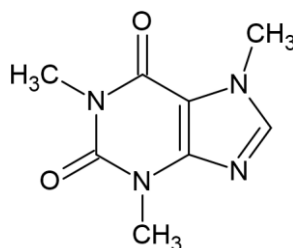
Bezalkoholni napitci se, ovisno o načinu proizvodnje i sastojcima koje sadrže, mogu podijeliti na više kategorija. Najčešće se dijele na napitke za izravnu upotrebu i koncentrirane napitke. Koncentrirani napitci su spremni za konzumaciju nakon razrjeđivanja vodom, to su najčešće voćni sirupi. Napitci za izravnu uporabu se dijele na gazirane i negazirane, odnosno one koji sadrže ugljikov dioksid i one koji ga ne sadrže (Rao i Ramalakshmi, 2011; Tireki, 2021).



Slika 1 Bezalkoholni napitci (WEB 2)

2.2. KAFEIN

Kafein, 1H-purin-2,6-dion ili 1,3,7-trimetilksantin prema IUPAC nomenklaturi, je organska molekula koja se sastoji od ugljika, vodika, dušika i kisika (**Slika 2**). Kafein je zajedno sa teobrominom i teofilinom prirodni alkaloid iz grupe metilksantina (Carvalho i sur., 2012). Na sobnoj temperaturi je u obliku bezbojnog kristalnog praha koji nema mirisa i gorkog je okusa (Tarka i Hurst, 1998). Kafein ima molekularnu masu $194,19 \text{ g mol}^{-1}$, sublimira na temperaturi od $178 \text{ }^\circ\text{C}$, a tali se na $236 \text{ }^\circ\text{C}$ pri atmosferskom tlaku (Mumin i sur., 2006).



Slika 2 Kemijska struktura kafeina (preuzeto iz Tadesse i sur., 2013)

Kafein se prirodno pojavljuje u lišću, sjemenkama ili plodovima od preko 63 biljnih vrsta, a po koncentracijama je najzastupljeniji u sjemenkama kave (*Coffea* spp.), lišću čaja (*Camellia sinensis*), bobicama guarane (*Paullinia cupana*), kola oraščićima (*Cola nitida*), lišću *yerba-maté* (*Ilex paraguariensis*) i sjemenkama kakaovca (*Theobroma cacao*) (Komes i ostali, 2009; Nour i sur., 2008). U ovim biljkama kafein djeluje kao prirodni insekticid jer ima štetan učinak na kukce koji se njima hrane (Švorc, 2013). Koncentracija kafeina varira ovisno o vrsti, uvjetima uzgoja i porijeklu biljke, pa tako bobice guarane sadrže prosječno 4 – 7 % kafeina, lišće čaja 3,5 %, sjemenke kave 1,1 – 2,2 %, lišće *yerba-maté* 0,89 – 1,73 %, kola oraščići 1,5 %, te sjemenke kakaovca 0,03 % (Patil, 2012).

Od prehrambenih proizvoda najviše kafeina sadrže kava, čaj, gazirani napitci, čokolada i proizvodi od čokolade, energetske napitke i dodatci prehrane, te se nalazi u određenim lijekovima (Heckman i sur., 2010). Količina kafeina u kavi i čaju može biti promjenjiva ovisno o načinu pripreme napitka i trajanju termičke obrade, dok je količina u proizvodima u koje se kafein dodaje kao sastojak konstantna (Smith, 2005). Proizvođači tvrde da se kafein u gazirane napitke dodaje kao poboljšivač okusa, međutim mali broj potrošača može osjetiti razliku u okusu između napitaka koja sadrže kafein i onih koja ga ne sadrže, što može dovesti do zaključka da se kafein dodaje u gazirane napitke jer ima blagi učinak da inducira želju za konzumiranjem istog (Keast i Riddell, 2007).

Kafein je farmakološki aktivna tvar čiji utjecaj na ljudsko zdravlje ovisi o koncentraciji u kojoj se unese u organizam. Snažan je stimulans središnjeg živčanog sustava i u umjerenim dozama može imati pozitivan učinak na organizam kao što je smanjenje umora i povećanje budnosti te bolja usredotočenost (Nawrot i sur., 2003). Također potencijalno može smanjiti rizik od hepatocelularnog karcinoma, karcinoma endometrija, karcinoma debelog crijeva, Parkinsonove bolesti te dijabetesa tipa II. Ima efekt bronhodilatacije što smanjuje simptome astme te diuretski učinak na bubrege (Corciova i Ivanescu, 2014; Tadesse i sur., 2013). Kafein djeluje na

kardiovaskularni sustav, sužava krvne žile i povećava krvni tlak te broj otkucaja srca (Grujić-Letić i sur., 2016). U većim količinama stimulira lučenje želučane kiseline čime otežava simptome čireva na želucu i dvanaesniku, uzrokuje mučninu, dehidraciju i nervozu te mobilizira kalcij iz stanica čime dovodi do gubitka koštane mase (Torres i sur., 2014; Corciova i Ivanescu, 2014). Unatoč tome, ukoliko se unosi u organizam umjereno, kafein nema značajne štetne učinke i smatra se da nije tvar koja izaziva ovisnost jer su efekti odvikavanja slabi i prolazni (Smith, 2005).

2.2.1. TEHNIKE ODREĐIVANJA KAFEINA U REALNIM UZORCIMA

Zbog velike zastupljenosti u različitim prehrambenim i farmaceutskim proizvodima postoji povećana potreba za praćenjem koncentracije kafeina u istim kako bi se osigurala sigurnost hrane i kontrola kvalitete (Grujić-Letić i sur., 2016; Omar i sur., 2012). Iz tog razloga postoje brojna istraživanja provedena u svrhu razvoja pouzdanih analitičkih metoda za određivanje kafeina u realnim uzorcima, a neke od tih su visoko učinkovita tekućinska kromatografija (HPLC, *high-performance liquid chromatography*), plinska kromatografija (GC, *gas chromatography*), kapilarna elektroforeza (CE, *capillary electrophoresis*), spektroskopske metode te elektrokemijske metode (Redivo i sur., 2018; Wang i sur., 2014).

2.3. ELEKTROKEMIJSKE METODE

Elektrokemijske metode se mogu definirati kao skupina analitičkih tehnika kojima se informacija o koncentraciji, aktivitetu ili nekom drugom svojstvu određivane kemijske vrste odnosno atoma, molekule ili iona dobiva na osnovi mjerenja električnih svojstava analita kao što su električni napon, struja, naboj, potencijal i slično (Wang, 2006).

Elektrokemija kao temelj elektrokemijskih metoda analize je znanstvena disciplina koja se bavi proučavanjem procesa unutar ionskih sustava i kemijskih reakcija koje se odvijaju pomoću utroška električne energije ili kemijskih reakcija koje služe kao izvor električne energije. Također proučava odnose elektriciteta i kemijskih promjena odnosno zakonitosti po kojima kemijski i električni oblik energije prelaze jedan u drugi (Metikoš-Huković, 2000).

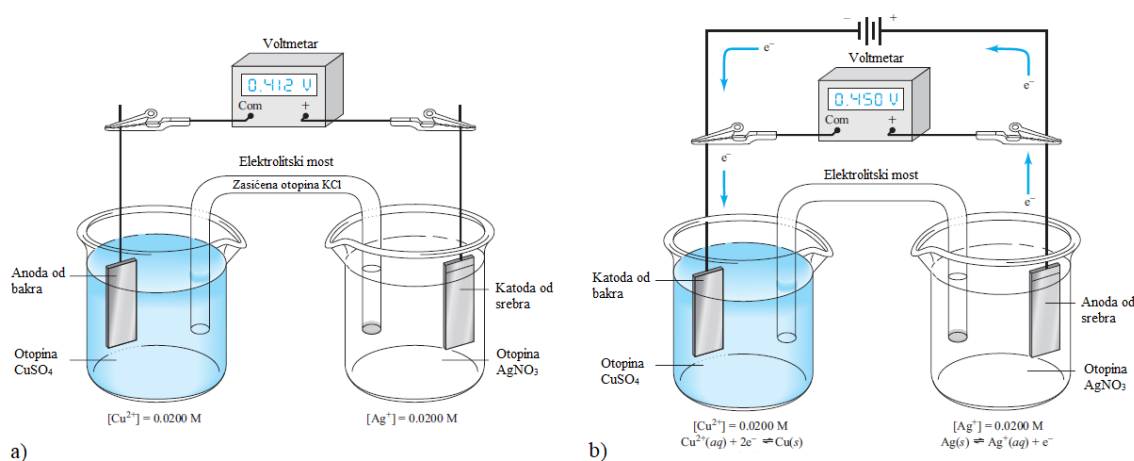
Kemijske reakcije na kojima se bazira elektrokemija se nazivaju oksidacijsko-redukcijske odnosno redoks reakcije. Elektrokemijske redoks reakcije se razlikuju od kemijskih redoks reakcija po tome što kod kemijskih redoks reakcija reaktanti moraju biti u izravnom kontaktu dok kod elektrokemijskih redoks reakcija ne smije biti izravnog kontakta između reaktanata.

Elektrokemijske redoks reakcije se provode u elektrokemijskim člancima (ćelijama) čije su glavne sastavnice posudica u kojoj se nalazi vodena otopina elektrolita, te dvije elektrode uronjene u tu otopinu odnosno elektronski vodiči (Skoog i sur., 2013).

Elektrokemijske metode se prema mjestu odvijanja kemijske reakcije dijele na metode kod kojih se elektrokemijski proces odvija u otopini („*bulk*“ metode) i metode kod kojih se

elektrokemijski proces odvija između elektrode i otopine („interfacial“ metode). „Interfacial“ metode se nadalje mogu podijeliti na statičke (kroz elektrokemijski članak ne teče električna struja) i dinamičke (kroz elektrokemijski članak teče električna struja) metode. Kod statičkih metoda električni napon nastaje spontano odvijanjem elektrokemijskih reakcija na elektrodama sve dok se ne postigne ravnotežni elektrodni potencijal. Elektrokemijski članci u kojima se odvijaju takve promjene se nazivaju galvanski članci (**Slika 3a**). Kod dinamičkih metoda dovođenjem napona iz vanjskog izvora poteći će električna struja unutar elektrokemijskog članka pri čemu nastaju kemijske odnosno redoks reakcije na elektrodama. Takve članke se naziva elektrolizni članci (**Slika 3b**) (Harvey, 2000; Piljac, 2010).

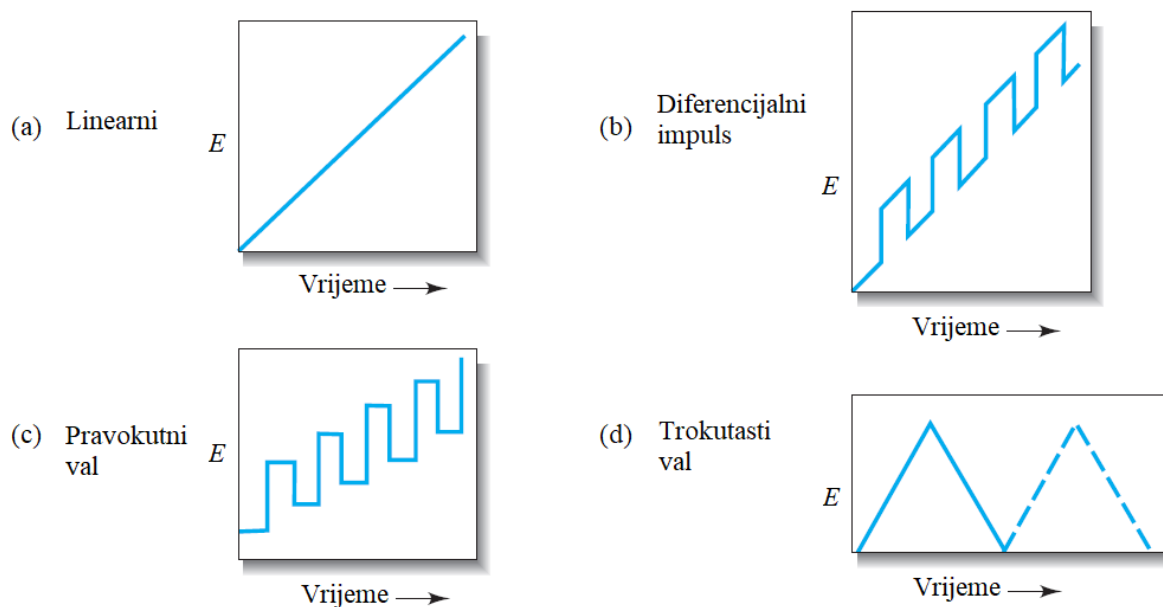
Svi elektrokemijski članci prilikom provedbe elektroanalitičkih postupaka moraju sadržavati najmanje dvije elektrode, radnu ili indikatorsku te pomoćnu elektrodu odnosno protuelektrodu. Svrha radne elektrode je stvaranje odzivnog signala odnosno električne veličine koja je analogna elektrokemijskoj reakciji koja se odvija na toj elektrodi, pri čemu odzivni signal nastaje kao posljedica prisutnosti određene molekulske vrste u otopini ili pod utjecajem signala pobude koji se dovodi na radnu elektrodu. Mjerenjem odzivnog signala se dobiva željeni analitički podatak o ispitivanoj otopini. Glavna uloga pomoćne elektrode je uspostava toka električne struje kroz članak. Ako se u članku nalaze samo radna i pomoćna elektroda, tada pomoćna elektroda istovremeno ima ulogu referentne elektrode prema kojoj se regulira pobudni signal ili mjeri odzivni signal. U slučaju tro-elektrodne ćelije, kroz referentnu elektrodu ne teče struja elektrolize i ona služi samo za regulaciju signala pobude ili odzivnog signala (Piljac, 2010).



Slika 2 Prikaz galvanskog a) i elektroliznog b) članka (preuzeto i prilagođeno iz Skoog i sur., 2013)

2.3.1. VOLTAMETRIJA

Voltometrija je elektroanalitička metoda kod koje se informacija o analitu dobije mjerenjem struje u elektrokemijskom članku kao funkcije primijenjenog napona (Skoog i sur., 2013). Taj napon predstavlja signal pobude koji mijenja potencijal radne elektrode u odnosu na stalni potencijal referentne elektrode, a dobivena struja između radne i pomoćne elektrode predstavlja signal odziva. Grafički prikaz ovisnosti struje o primijenjenom naponu se naziva voltamogram (Harvey, 2000). Oblik i vremenska ovisnost amplitude signala pobude može biti različita (Piljac, 2010). Neki od najčešćih pobudnih signala u voltametriji su linearni, diferencijalni impuls, pravokutni val i trokutasti val (**Slika 4**) (Skoog i sur., 2013).



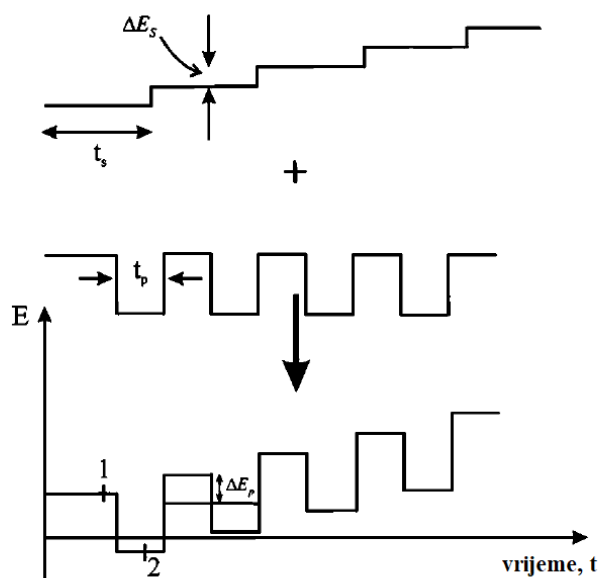
Slika 3 Prikaz nekih pobudnih signala u voltametriji (preuzeto i prilagođeno iz Skoog i sur., 2013)

Voltametrijska ćelija se sastoji od tri elektrode uronjene u otopinu koja sadrži analit te otopinu nereaktivnog elektrolita. Na radnoj elektrodi se odvija elektrokemijska reakcija i njezin potencijal se linearno mijenja s vremenom u odnosu na referentnu elektrodu. Potencijal referentne elektrode ostaje konstantan tijekom reakcije. Pomoćna elektroda zatvara strujni krug tako da struja u članku prolazi između pomoćne i radne elektrode. Voltamogram je slika koja

se dobije kao rezultat provođenja voltametrijske tehnike u nekom elektroaktivnom sustavu (Skoog i sur., 2013), a jedan od primjera voltamograma je prikazan na **Slici 6**.

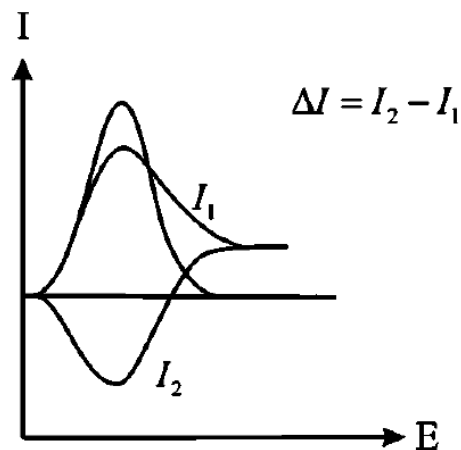
2.4. PRAVOKUTNOVALNA VOLTAMETRIJA

Pravokutnovalna voltametrija je voltametrijska tehnika s izmjeničnim naponskim pravokutnim signalom pobude koji je superponiran na stepenasto rastući ili padajući istosmjerni napon (**Slika 5**) (Wang, 2006).



Slika 4 Oblik naponskog signala odziva u pravokutnoj voltametriji (preuzeto i prilagođeno iz Compton i Banks, 2007)

Struja se mjeri dva puta tijekom svakog pravokutnog ciklusa, jednom pri kraju trajanja pozitivne poluperiode i jednom na kraju trajanja negativne poluperiode izmjeničnog pravokutnog impulsa. Struja odziva se prema tome zapisuje kao razlika između te dvije poluperiode (**Slika 6**) (Piljac, 2010; Wang, 2006).



Slika 5 Oblik naponskog signala odziva u pravokutnoj voltametrij (preuzeto iz Compton i Banks, 2007)

Računalom vođeni mjerni uređaji omogućuju zapis struje odziva neovisno o tijeku pozitivnih, odnosno negativnih poluperioda i njihove razlike odnosno zbroja. Rezultat mjerenja je voltamogram koji prikazuje ukupnu struju, međutim prednost ove tehnike je što se ukupna struja može razdvojiti na uzlaznu i silaznu struju odnosno na anodnu i katodnu (Piljac, 2010).

Pobudni signal karakteriziran je visinom pulsa odnosno amplitudom pravokutnog naponskog impulsa (ΔE_p), korakom potencijala (ΔE_s), širinom odnosno trajanjem naponskog pulsa (t_p) te periodom ciklusa (t_s). Trajanje pulsa može se iskazati frekvencijom pravokutnog pulsnog signala $f = 1/2t_p$ (Compton i Banks, 2007). Uobičajeno se rabe frekvencije pobude od 1 do 500 Hz (Piljac, 2010).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK RADA

Zadatak ovog diplomskog rada je:

- pronaći optimalne eksperimentalne uvjete pravokutnovalne voltametrije i istražiti utjecaj eksperimentalnih uvjeta:
 - višestruke uzastopne polarizacije,
 - pH osnovnog elektrolita,
 - frekvencije pobudnog signala i
 - koncentracije kafeina na dijamantnoj elektrodi s primjesama bora na elektrokemijska svojstva kafeina.
- Zatim, provesti identifikaciju i kvantifikaciju sadržaja kafeina u uzorcima gaziranih bezalkoholnih napitaka primjenom pravokutnovalne voltametrije.

3.2. MATERIJALI I METODE

3.2.1. Kemikalije i priprema otopina

Otopina fosfatnog pufera (PBS, *phosphate-buffered saline*) korištena je kao osnovni elektrolit za provođenje pravokutnovalne voltametrije. Osnovni elektrolit je pripremljen u koncentraciji od $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ različitih pH vrijednosti (pH 3, 4, 5 i 6).

Standardna otopina kafeina pripremljena je u koncentraciji $1 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ u dvostruko destiliranoj vodi. Razrjeđivanjem u odgovarajućoj pH vrijednosti elektrolita su se pripremile radne koncentracije za analizu. Standardna otopina kafeina čuvana je zaštićena od svjetla u hladnjaku na $4 \text{ }^\circ\text{C}$.

Za pripravu svih otopina koristila se ultračista voda ($\sigma < 0,1 \text{ } \mu\text{S cm}^{-1}$).

3.2.2. Bezalkoholna gazirana pića

Analizirani su uzorci dvije vrste bezalkoholnih gaziranih pića: bezalkoholni gazirani napitak 1 (BGN 1) i bezalkoholni gazirani napitak 2 (BGN 2). Uzorci su kupljeni u lokalnoj trgovini.

Uzorci su prije elektrokemijske analize razrijeđeni u određenom volumenu osnovnog elektrolita.

3.2.3. Pravokutnovalna voltametrija

Za provedbu voltametrijskih mjerenja korišten je uređaj potenciostat/galvanostat/impedancijski analizator $\mu\text{Stat-i 400}$ uz primjenu DropView 8400 programske podrške, verzija

3.78 (Metrohm AG, Švicarska). Potenciostat/ galvanostat/ impedancijski analizator μ Stat-i 400 (Slika 7) služio je za provedbu mjerenja pravokutnovalne voltametrije te za prikupljanje i analizu elektrokemijskih podataka. Mjerenja su provedena u elektrokemijskom članku tro-elektrodnog tipa (Methrohm, Švicarska) volumena 20 mL.



Slika 7 Potenciostat/ galvanostat/ impedancijski analizator μ Stat-i 400 (vlastita fotografija)

Kao tro-elektrodni sustav koristila se komercijalna jednokratna elektroda koja se sastojala od dijamantne radne elektrode s primjesama bora, pomoćne elektrode ugljika i referentne elektrode srebra te srebrnih električnih kontakata (Slika 8).



Slika 8 Komercijalna jednokratna dijamantna elektroda dopirana borom (vlastita fotografija)

Elektrokemijska svojstva kafeina iz bezalkoholnih gaziranih napitaka ispitana su pravokutnovalnom voltametrijom (SWV). Ispitan je utjecaj sljedećih eksperimentalnih uvjeta na elektrokemijska svojstva kafeina i bezalkoholnih gaziranih napitaka:

- utjecaj pH otopine osnovnog elektrolita, fosfatni pufer, $c = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$, u rasponu od pH 3 do 6,
- utjecaj višestruke uzastopne polarizacije,

- utjecaj frekvencija pobudnog signala: 10, 15, 20, 25, 50 Hz i
- utjecaj koncentracije kafeina i
- utjecaj bezalkoholnih gaziranih napitaka dva različita proizvođača.

Karakterizacija kafeina provedena je u uzorcima bezalkoholnih gaziranih napitaka (BGN), koji su za potrebe mjerenja razrjeđivani osnovnim elektrolitom (0,1 M PBS) 33 puta (DF = 33). S ciljem identifikacije kafeina u uzorcima bezalkoholnih gaziranih napitaka proveden je postupak standardne adicije odnosno dodatak poznate koncentracije standarda kafeina u uzorke bezalkoholnih napitaka. Zatim je ispitan utjecaj različitih koncentracija kafeina u rasponu koncentracija od $3 \cdot 10^{-6}$ do $100 \cdot 10^{-6}$ mol L⁻¹ na osnovi čega je kreirana kalibracijska krivulja i s ciljem kvantifikacije određen je sadržaj kafeina u ispitanim uzorcima.

Eksperimentalni uvjeti SWV primijenjeni za elektrokemijsku karakterizaciju kafeina u uzorcima bezalkoholnih napitaka prikazani su u **Tablici 1**.

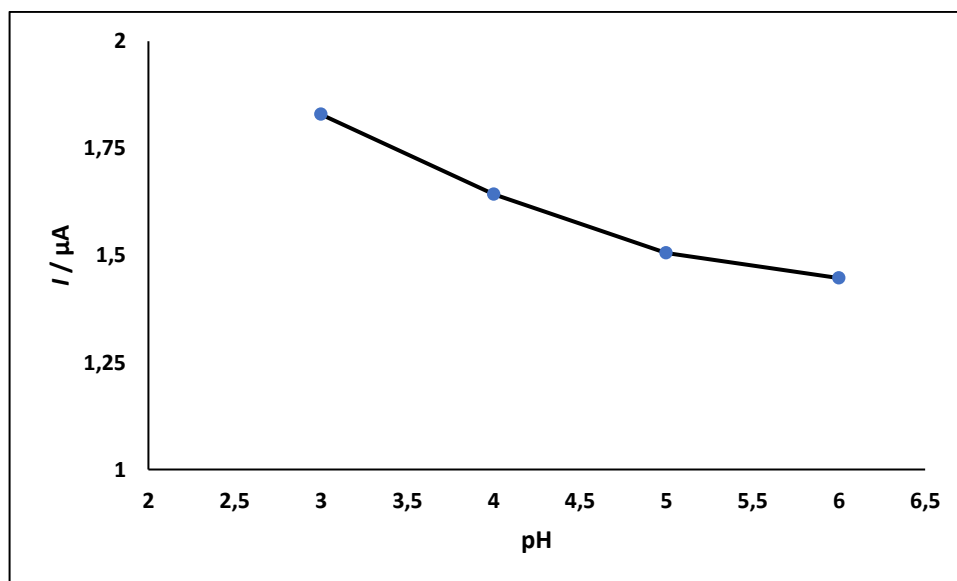
Tablica 1 Eksperimentalni uvjeti pravokutnovalne voltametrije

| Parametar | Iznos |
|------------------------|-------|
| Početni potencijal (V) | 0,7 |
| Konačni potencijal (V) | 1,8 |
| Korak potencijala (mV) | 2 |
| Amplituda pulsa (mV) | 50 |
| Frekvencija (Hz) | 15 |

4. REZULTATI

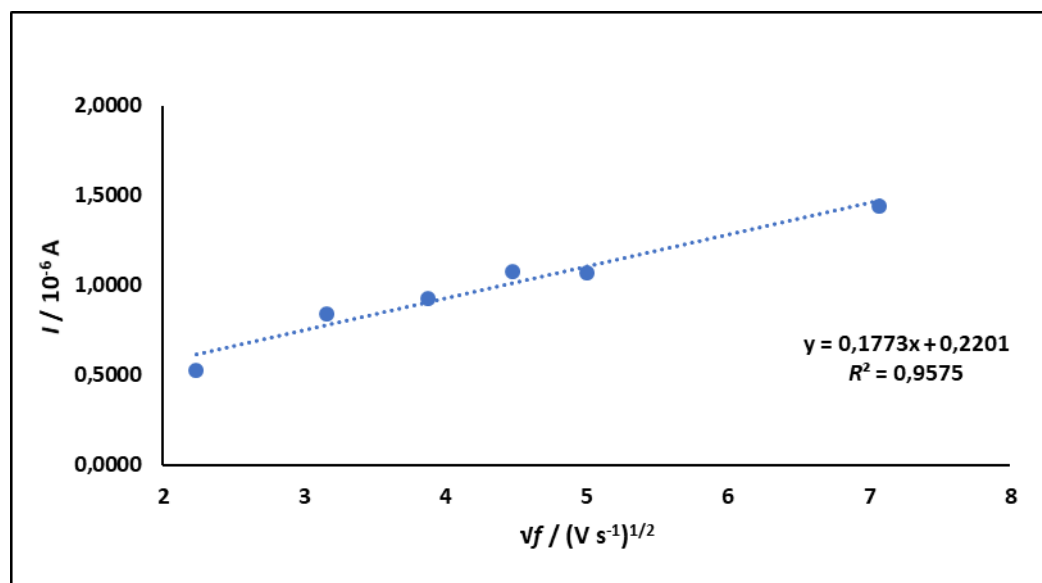
4.1. ELEKTROKEMIJSKO PONAŠANJE KAFEINA

4.1.1. Utjecaj pH vrijednosti osnovnog elektrolita



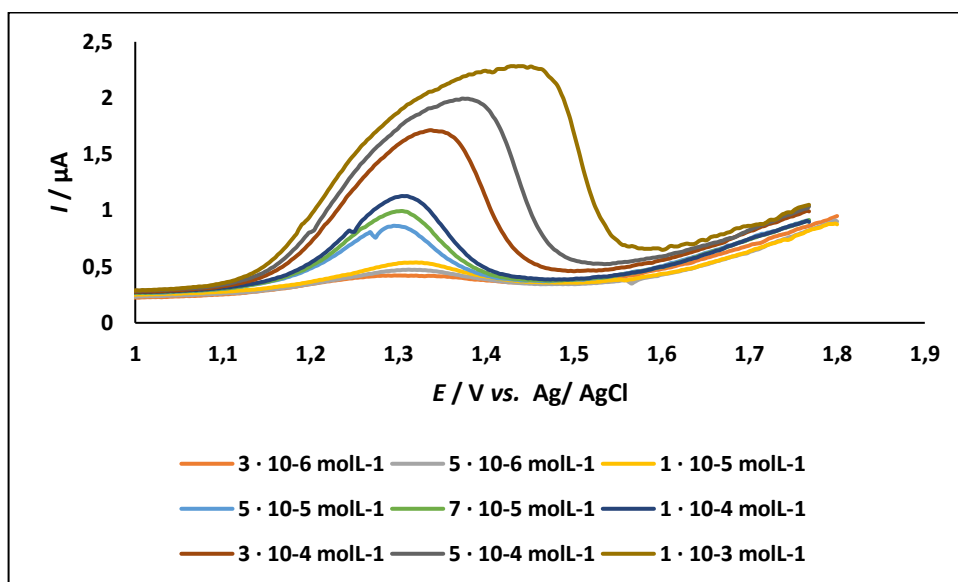
Slika 9 Utjecaj pH vrijednosti osnovnog elektrolita na elektrokemijska svojstva kafeina ($c = 5 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) dobiven pravokutnovalnom voltametrijom pri eksperimentalnim uvjetima prikazanim u **Tablici 1**

4.1.2. Utjecaj frekvencije pobudnog signala

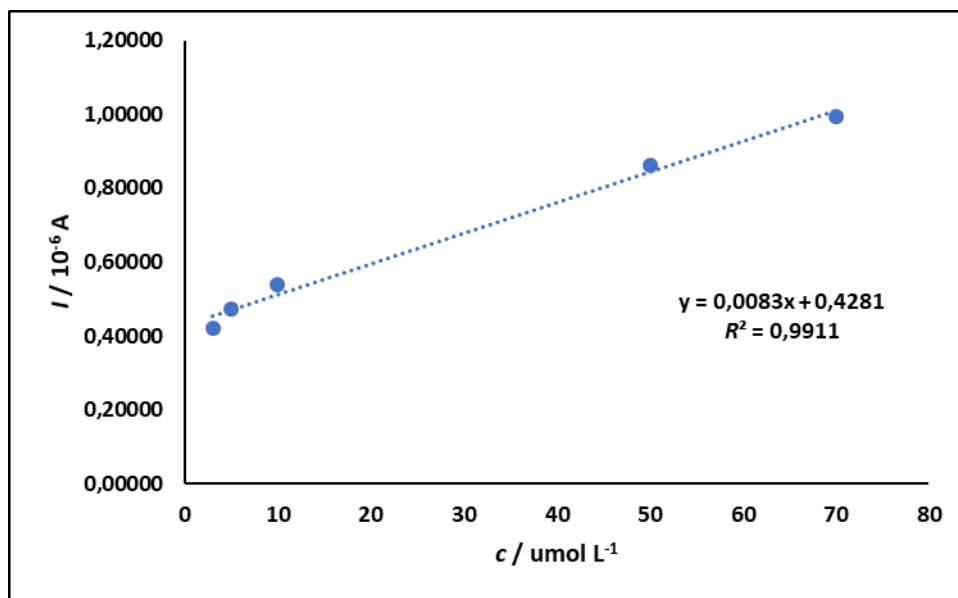


Slika 10 Ovisnost struje pika (I_p) ukupnog strujnog odziva o drugom korijenu frekvencije pobudnog signala ($f^{1/2}$)

4.1.3. Utjecaj koncentracije kafeina na elektrokemijsko ponašanje

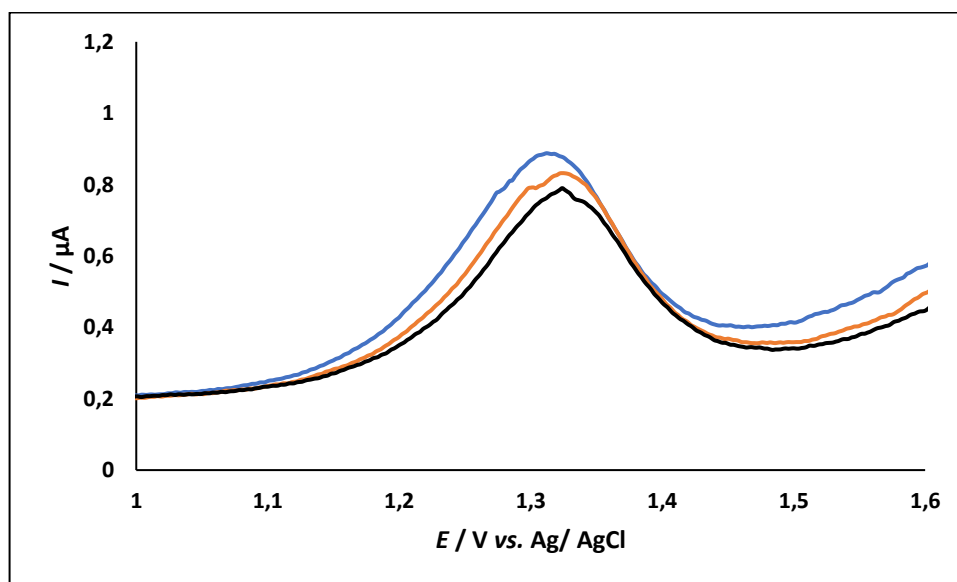


Slika 11 Utjecaj koncentracije kafeina na SW voltamogramme dobiven prema uvjetima iz Tablice 1



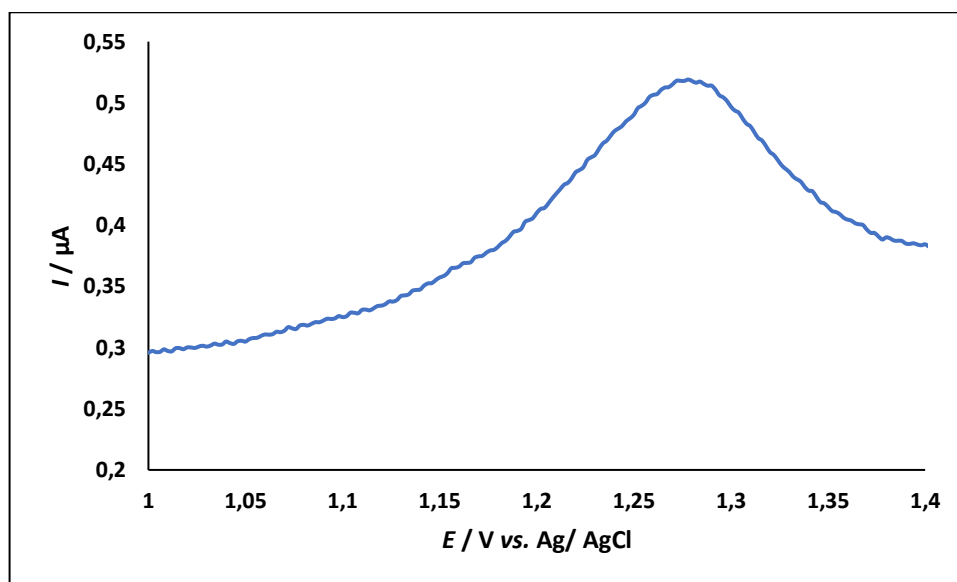
Slika 12 Ovisnost struje pika (I_p) ukupnog strujnog odziva o koncentraciji (c) otopine kafeina

4.1.4. Utjecaj višestruke uzastopne polarizacije

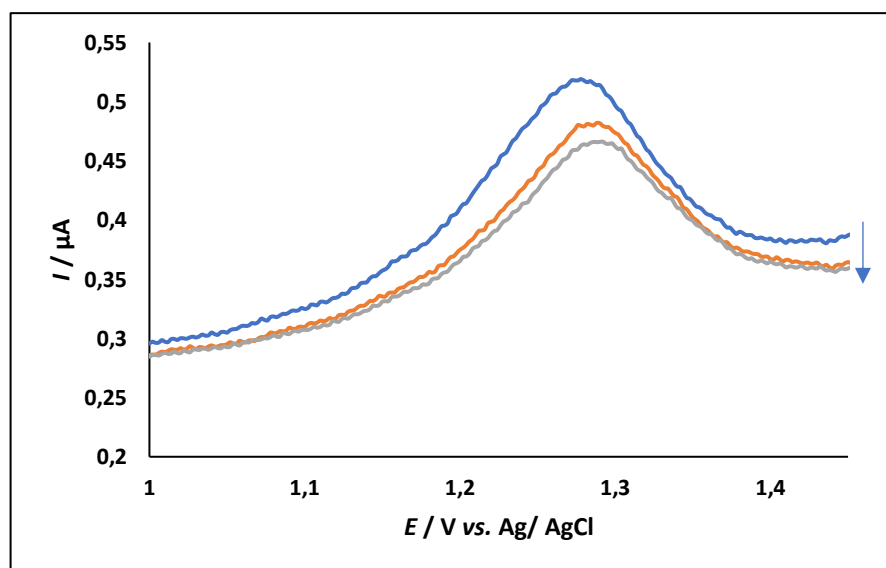


Slika 13 Utjecaj višestruke uzastopne polarizacije na SW voltamograme otopina kafeina, $c = 5 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ u $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS puferu pH 3. Na slici su prikazani ukupni strujni odzivi (ΔI)

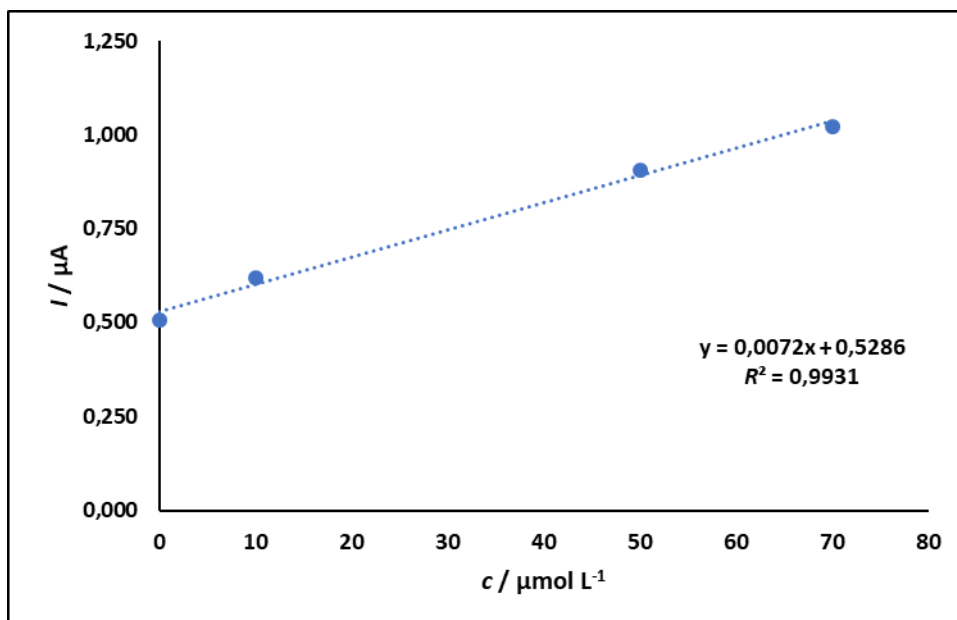
4.2. ELEKTROKEMIJSKO PONAŠANJE BEZALKOHOLNIH GAZIRANIH PIĆA



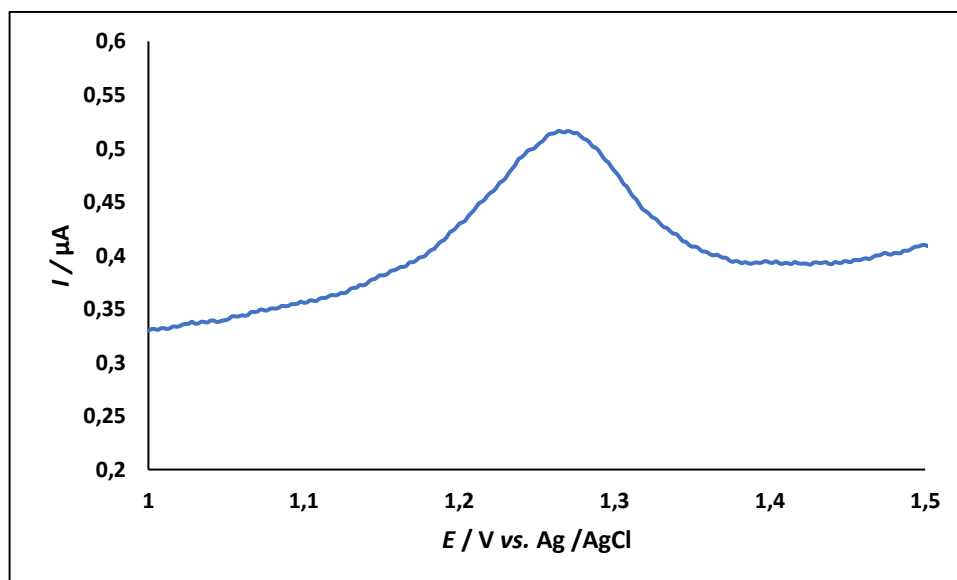
Slika 14 Pravokutnovalni voltamogram bezalkoholnog gaziranog napitka 1 (BGN 1), $DF=33$, u $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS puferu pH 3 pri eksperimentalnim uvjetima prikazanim u **Tablici 1**.



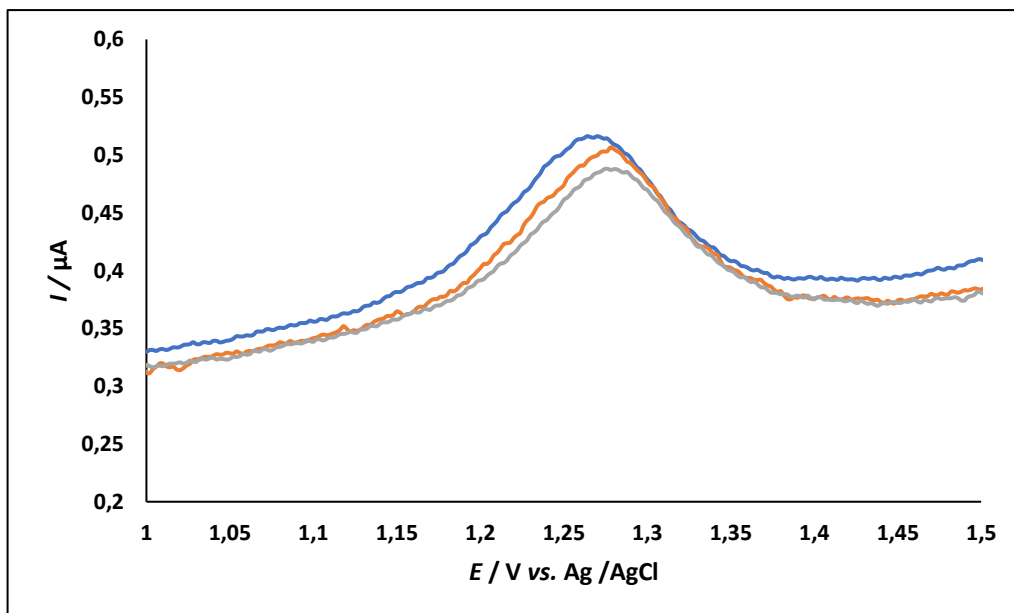
Slika 15 Utjecaj višestruke uzastopne polarizacije na SW voltamogram bezalkoholnog gaziranog napitka 1 (BGN 1), $DF=33$, u $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS puferu pH 3.



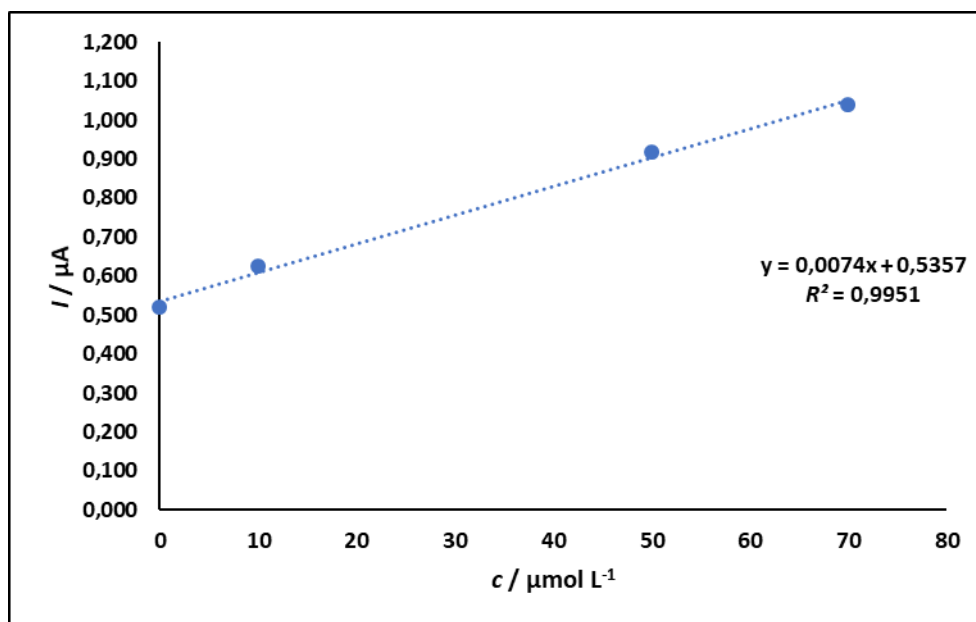
Slika 16 Obogaćivanje bezalkoholnog gaziranog napitka 1 (BGN 1), DF=33, poznatim koncentracijama kafeina



Slika 17 Pravokutnovalni voltamogram bezalkoholnog gaziranog napitka 2 (BGN 2), DF=33, u $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PBS puferu pH 3 pri eksperimentalnim uvjetima prikazanim u **Tablici 1**.



Slika 18 Utjecaj višestruke uzastopne polarizacije na SW voltamogramе bezalkoholnog gaziranog napitka 2 (BGN 2), DF=33, u 0,1 mol L⁻¹ PBS puferu pH 3.



Slika 19 Obogaćivanje bezalkoholnog gaziranog napitka 2 (BGN 2), DF=33, poznatim koncentracijama kafeina

5. RASPRAVA

U ovom diplomskom radu ispitana su elektrokemijska svojstva kafeina u bezalkoholnim gaziranim napitcima 1 i 2 primjenom pravokutnovalne voltametrije. Ispitan je utjecaj višestruke uzastopne polarizacije, pH vrijednosti osnovnog elektrolita, frekvencije pobudnog signala i koncentracije kafeina na elektrokemijsku oksidaciju kafeina. Ispitivanje je provedeno na komercijalnoj dijamantnoj elektrodi s primjesama bora kao radnoj elektrodi, ugljiku kao pomoćnoj elektrodi i Ag/AgCl kao referentnoj elektrodi. Kao osnovni elektrolit koristio se 0,1M fosfatni pufer. Pravokutnovalna voltametrija odabrana je kao elektrokemijska tehnika jer je brza, osjetljiva, precizna, ne zahtjeva značajnu pripravu uzoraka i ekonomična je. Kafein je elektroaktivna tvar jer može oksidirati tijekom elektrokemijskog procesa te je iz toga razloga pogodna za elektrokemijsko istraživanje.

5.1. ELEKTROKEMIJSKO PONAŠANJE KAFEINA

Primjenom pravokutnovalne voltametrije ispitano je utjecaj pH vrijednosti osnovnog elektrolita na elektrokemijsko ponašanje standarda kafeina koncentracije $5 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, što je grafički prikazano kao ovisnost pH o struji pika elektrokemijske oksidacije kafeina (**Slika 9**). Iz **Slike 9** može se uočiti najviši strujni odziv kafeina pri pH 3 dok se pri ostalim ispitanim pH vrijednostima strujni odziv smanjuje, stoga je pH 3 izabran za daljnja ispitivanja elektrokemijske oksidacije kafeina, a u skladu je s literaturnim referencama (Redivo i sur., 2018; Tadesse i sur., 2013; Tomčić i sur., 2012; Wang i sur., 2014).

Na **Slici 10** prikazan je utjecaj frekvencije pobudnog signala u otopini kafeina ($c = 5 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) u 0,1M PBS, pH 3, za frekvenciju od 10 do 50 Hz. Može se uočiti linearni porast strujnog odziva u ovisnosti o korijenu frekvencije pobudnog signala. Frekvencija pobudnog signala ili efektivna brzina polarizacije je jedan od parametara kinetike elektrokemijskog procesa te je kao efektivna brzina polarizacije odabrana frekvencija od 15 Hz za daljnje istraživanje.

Na **Slikama 11 i 12** prikazan je utjecaj koncentracije kafeina na elektrokemijsko ponašanje kafeina. Iz pravokutnovalnih voltamograma na **Slici 11** može se uočiti povećanje ukupnog strujnog odziva i pomak elektrodnog potencijala prema pozitivnijoj vrijednosti uslijed porasta ispitanih koncentracija u rasponu od $3 \cdot 10^{-6}$ do $5 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, što govori o tome da se na površini radne elektrode stvaraju oksidacijski produkt/i te je difuzija elektroaktivne tvari iz otopine otežana. Kalibracijska krivulja na **Slici 12** kreirana je na osnovi pravokutnovalnih

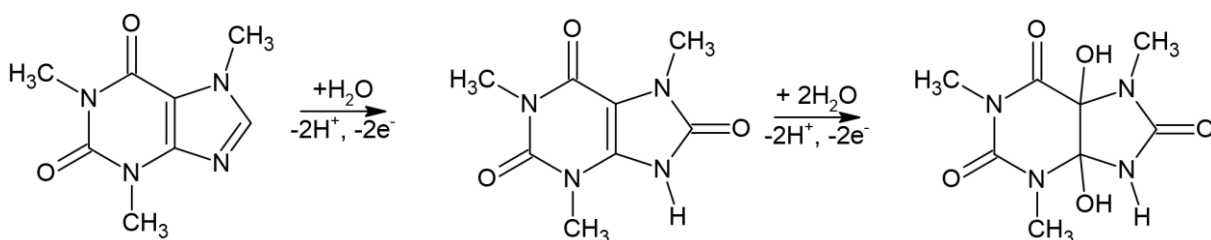
voltamograma sa **Slike 11**, odnosno na osnovi ovisnosti raspona množinskih koncentracija o ukupnom strujnom odzivu. Uočava se linearnost u području koncentracija $3 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, te porast strujnog odziva povećanjem koncentracije analita. Dobila se **jednadžba linearne regresije (1)**:

$$I(\mu\text{A}) = 0,0073c(\mu\text{molL}^{-1}) + 0,4452 \quad (1)$$

s koeficijentom korelacije 0,9796. Osjetljivost primijenjene elektrokemijske tehnike izražena je preko granice detekcije (LOD, *limit of detection*) koja iznosi $31,53 \mu\text{mol L}^{-1}$ i granice kvantifikacije (LOQ, *limit of quantification*) koja iznosi $95,55 \mu\text{mol L}^{-1}$ (Švorc, 2013).

Nadalje, ispitan je utjecaj višestruke uzastopne polarizacije kafeina primjenom pravokutnovalne voltametrije. Uočava se jedan jasno izraženi pik na potencijalu oko 1,3 V te opadanje ukupnog strujnog odziva pri drugoj i trećoj polarizaciji kao i pomak elektrodnog potencijala prema većim vrijednostima elektrodnog potencijala (**Slika 13**). Nastanak oksidacijskih produkata koji otežavaju difuziju molekula iz otopine kafeina prema površini radne elektrode je vjerojatan razlog smanjenja ukupnog strujnog odziva (Câmpean i sur., 2011; Tadesse i sur., 2013; Wang i sur., 2014).

Hansen i Dryhurst (1971) bili su prvi znanstvenici koji su istraživali elektrokemijsko ponašanje kafeina te su zaključili da se proces oksidacije kafeina odvija pri izmjeni četiri protona i četiri elektrona (4 H^+ , 4 e^-). Pretpostavljeni mehanizam elektrokemijske oksidacije otopine kafeina prikazan na **Slici 20**, a prema autorima Tadesse i suradnici (2013) odvija se u dva koraka. U prvom koraku se odvija izmjena 2H^+ , 2e^- zatim u drugom koraku se odvija još jedna izmjena jednakog broja protona i elektrona (2H^+ , 2e^-) u produkt koji je nestabilan i lako se raspada.



Slika 20 Mehanizam elektrokemijske oksidacije kafeina (preuzeo iz Tadesse i sur, 2013)

5.2. ELEKTROKEMIJSKO PONAŠANJE BEZALKOHOLNIH GAZIRANIH PIĆA

Ispitana je moguća analitička primjena ove metode, na identifikaciju i kvantifikaciju kafeina u bezalkoholnim gaziranim napitcima.

Uzorci bezalkoholnih gaziranih napitaka analizirani su prema eksperimentalnim uvjetima iz **Tablice 1**. Na **Slikama 14, 15, 17 i 18** prikazani su ukupni strujni odzivi (ΔI).

Na **Slikama 14 i 17** prikazani su pravokutnovalni voltamogrami bezalkoholnog gaziranog napitka 1 i bezalkoholnog gaziranog napitka 2. Oba uzorka razrijeđena su 33 puta u $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ fosfatnom puferu pH 3. Na oba pravokutnovalna voltamograma uočava se po jedan jasno izraženi oksidacijski strujni pik pri potencijalu od $1,27 \text{ V}$ što je potencijal oksidacije kafeina pri istim primijenjenim uvjetima.

Na **Slici 15** prikazan je utjecaj višestruke uzastopne polarizacije bezalkoholnog gaziranog napitka 1 primjenom pravokutnovalne voltametrije, te se može uočiti opadanje ukupnog strujnog odziva i pomak potencijala prema većoj vrijednosti. Ista pojava se može uočiti i kod utjecaja višestruke uzastopne polarizacije bezalkoholni gazirani napitak 2 prikazan na **Slici 18**. Ove pojave se kao i kod višestruke uzastopne polarizacije standarda kafeina mogu objasniti nastankom oksidacijskih produkata koji otežavaju difuziju molekula iz otopine kafeina prema površini radne elektrode.

Nadalje, primjenom postupka standardne adicije učinjena je kvantifikacija kafeina u uzorcima bezalkoholnih gaziranih napitaka, što je provedeno obogaćivanjem uzoraka poznatim molarnim koncentracijama kafeina. Uzorci bezalkoholnih gaziranih napitaka razrijeđeni su 33 puta, a dodane koncentracije kafeina iznosile su $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, $5 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ te $7 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Iz krivulja standardne adicije kreiranih na temelju ovisnosti množinske koncentracije o ukupnom strujnom odzivu može se uočiti linearni porast anodnog strujnog odziva povećanjem koncentracije dodanog kafeina za oba uzorka. Iz grafičkog prikaza standardne adicije za bezalkoholni gazirani napitak 1 sa **slike 16** dobila se **Jednadžba linearne regresije 2**:

$$I(\mu\text{A}) = 0,0072c(\mu\text{molL}^{-1}) + 0,5286 \quad (2)$$

sa koeficijentom korelacije 0,9931, te **Jednadžba linearne regresije 3** za bezalkoholni gazirani napitak 2 sa **slike 19**:

$$I(\mu\text{A}) = 0,0074c(\mu\text{molL}^{-1}) + 0,5357 \quad (3)$$

sa koeficijentom korelacije 0,9951. Sadržaj kafeina kvantificiran objema tehnikama je u rasponu od 66 do 490 mgL⁻¹ u ispitanim uzorcima BGN 1 i BGN 2 , što odskaka od deklariranih vrijednosti (BGN 1 iznosi 114 mg L⁻¹; BGN 2 iznosi 106 mg L⁻¹) te je moguće da je uz kafein detektiran sadržaj još nekog oksidacijskog produkta te je potrebna dodatna analiza. Također ovim postupkom je potvrđena prisutnost kafeina u ispitanim uzorcima bezalkoholnih gaziranih napitaka jer se dodatkom poznate koncentracije kafeina u uzorke, strujni odziv na potencijalu kafeina povećao u odnosu na uzorak u koji kafein nije dodan.

6. ZAKLJUČAK

Na osnovi dobivenih rezultata ovog diplomskog rada može se zaključiti:

- višestruka uzastopna polarizacija, pH osnovnog elektrolita, frekvencija pobudnog signala i koncentracije kafeina utječu na elektrokemijsko ponašanje kafeina,
- elektrokemijska oksidacija kafeina ovisna je o utjecaju pH osnovnog elektrolita te je najviši strujni odziv pri pH 3,
- utjecaj frekvencije pobudnog signala otopine standarda kafeina primjenom pravokutnovalne voltometrije pokazuje linearni porast strujnog odziva s porastom korijena frekvencije pobudnog signala od 10 do 50 Hz,
- ispitivanje utjecaja koncentracije kafeina pokazuje povećanje ukupnog strujnog odziva i pomak elektrodnog potencijala prema pozitivnijoj vrijednosti uslijed porasta koncentracije te linearnu ovisnost,
- utjecaj višestruke uzastopne polarizacije otopine standarda kafeina pokazuje opadanje strujnog odziva i pomak potencijala zbog vjerojatnog nastanka oksidacijskih produkata na površini radne elektrode,
- pravokutnovalni voltamogram bezalkoholnih gaziranih napitaka prikazuje po jedan strujni odziv pri potencijalu od 1,3 V,
- utjecaj višestruke uzastopne polarizacije bezalkoholnih gaziranih napitka pravokutnovalnom voltametrijom pokazuje jednak proces kao i kod utjecaja višestruke uzastopne polarizacije standarda kafeina,
- prisutnost kafeina potvrđena je obogaćivanjem uzoraka bezalkoholnih gaziranih napitaka poznatom koncentracijom kafeina te je uočen porast strujnog odziva nakon adicija kafeina u uzorke i
- ispitana primjena pravokutnovalne voltometrije pokazala se pogodna za elektrokemijsku karakterizaciju kafeina u uzorcima bezalkoholnih gaziranih napitaka.

7. LITERATURA

- Ashurst, P.R. (2016) 'Introduction', u *Chemistry and Technology of Soft Drinks and Fruit Juices*. John Wiley & Sons, Ltd, str. 1–14.
- Câmpean, A., Tertis, M. i Sandulescu, R. (2011) 'Voltammetric determination of some alkaloids and other compounds in pharmaceuticals and urine using an electrochemically activated glassy carbon electrode', *Central European Journal of Chemistry*, 9, str. 688–700.
- Carolina Torres, A., Barsan, M.M. i Brett, C.M.A. (2014) 'Simple electrochemical sensor for caffeine based on carbon and Nafion-modified carbon electrodes', *Food Chemistry*, 149, str. 215–220.
- Carvalho, J.J., Emmerling, F. i Schneider, R.J. (2012) 'The Chemistry of Caffeine'.
- Compton, R.G. i Banks, C.E. (2007) *Understanding Voltammetry*. World Scientific.
- Corciova, A. i Ivanescu, B. (2014) 'Determination of caffeine content from different pharmaceutical and natural products'. *Eur Chem Bull*. 2016;5(4), str. 138-141.
- Grujić-Letić, N., Rakić, B., Šefer, E., Milanović, M., Nikšić, M., Vujić, I., i Milić, N. (2016) 'Quantitative determination of caffeine in different matrices', *Macedonian Pharmaceutical Bulletin*, 62(1), str. 77–84.
- Hansen, B.H. i Dryhurst, G. (1971) 'Electrochemical oxidation of theophylline at the pyrolytic graphite electrode', *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, 32(3), str. 405–414.
- Harvey, D. (2000) *Modern Analytical Chemistry*. McGraw-Hill.
- Heckman, M.A., Weil, J. i De Mejia, E.G. (2010) 'Caffeine (1, 3, 7-trimethylxanthine) in Foods: A Comprehensive Review on Consumption, Functionality, Safety, and Regulatory Matters', *Journal of Food Science*, 75(3), str. R77–R87.
- Keast, R.S.J. i Riddell, L.J. (2007) 'Caffeine as a flavor additive in soft-drinks', *Appetite*, 49(1), str. 255–259.
- Komes, D., Horžić, D., Belščak, A., Kovačević Ganić, K., i Baljak, A. (2009) 'Determination of Caffeine Content in Tea and Maté Tea by Using Different Methods', *Czech Journal of Food Sciences*, 27, str. 213–216.
- Kregiel, D. (2015) 'Health Safety of Soft Drinks: Contents, Containers, and Microorganisms', *BioMed Research International*, 2015 [online]. Dostupno na: <https://doi.org/10.1155/2015/128697>.
- Metikoš-Huković, M. (2000) 'Elektrokemija'. Interni udžbenik, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu.
- Mumin, A., Akhter, K., Abedin, M., i Hossain, Z. (2006) 'Determination and Characterization of Caffeine in Tea, Coffee and Soft Drinks by Solid Phase Extraction and High Performance Liquid Chromatography (SPE - HPLC)', *Malaysian Journal of Chemistry*, 8, str. 045–051.
- Nawrot, P., Jordan, S., Eastwood, J., Rotstein, J., Hugenholtz, A., i Feeley, M. (2003) 'Effect of caffeine on human health', *Food additives and contaminants*, 20, str. 1–30.
- Nour, V., I., T. and Mira Elena, I. (2008) 'Quantitative determination of caffeine in carbonated beverages by an HPLC method', *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 14, str. 123–127.

- Omar, M., Eisa, M., Taha, M., Zakaria, B., i Elbashir, A. (2012) 'Determination of Caffeine in Some Sudanese Beverages by High Performance Liquid Chromatography', *Pakistan Journal of Nutrition*, 11, str. 336–342.
- Patil, P. (2012) 'Caffeine in various samples and their analysis with HPLC - A review', *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 16, str. 76–83.
- Piljac, I. (2010, siječanj 1) *Senzori Fizikalnih Veličina i Elektroanalitičke Metode*. Media Print.
- Rao, L.J.M. i Ramalakshmi, K. (2011) *Recent Trends in Soft Beverages*. CRC Press.
- Redivo, L., Stredanský, M., De Angelis, E., Navarini, L., Resmini, M., i Švorc, L. (2018) 'Bare carbon electrodes as simple and efficient sensors for the quantification of caffeine in commercial beverages', *Royal Society Open Science*, 5(5) [online] Dostupno na: <https://doi.org/10.1098/rsos.172146>.
- Shachman, M. (2004) *The Soft Drinks Companion: A Technical Handbook for the Beverage Industry*. CRC Press.
- Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., i Crouch, S. R. (2013) *Fundamentals of Analytical Chemistry*. Cengage Learning.
- Smith, A. (2005) 'Caffeine', u *Nutritional neuroscience*. Taylor & Francis Group, Ltd, str. 341–361.
- Švorc, L. (2013) 'Determination of Caffeine: A Comprehensive Review on Electrochemical Methods', *International Journal of Electrochemical Science*, 8(4), str. 5755–5773.
- Tadesse, Y., Gidey, A., Saini, R., i Pal, R. (2013) 'Cyclic Voltammetric Investigation of Caffeine at Anthraquinone Modified Carbon Paste Electrode', *Hindawi Publishing Corporation International Journal of Electrochemistry*, 2013 [online]. Dostupno na: <https://doi.org/10.1155/2013/849327>.
- Tarka, S.M. i Hurst, W.J. (1998) 'Introduction to the Chemistry, Isolation, and Biosynthesis of Methylxanthines', u *Caffeine*. CRC Press.
- Tireki, S. (2021) 'A review on packed non-alcoholic beverages: Ingredients, production, trends and future opportunities for functional product development', *Trends in Food Science & Technology*, 112, str. 442–454.
- Tomčík, P., Svítková, J., Rievaj, M., i Bustin, D. (2012) 'Voltammetric determination of caffeine in beverage samples on bare boron-doped diamond electrode', *Food chemistry*, 135, str. 198–204.
- Wang, J. (2006) 'Fundamental Concepts', u *Analytical Electrochemistry*. John Wiley & Sons, Ltd, str. 1–28.
- Wang, Y., Wei, X., Wang, F., & Li, M. (2014) 'Sensitive voltammetric detection of caffeine in tea and other beverages based on a DNA-functionalized single-walled carbon nanotube modified glassy carbon electrode', *Analytical Methods*, 6(18), str. 7525–7531.
- Web 1: <https://tehnika.lzmk.hr/bezalkoholna-pica/> (datum pristupa: 9.7.2024.)
- Web 2: https://www.rama-prozor.info/uploads/novosti/c/d/2/e/ZytpJ87h_soda_640x427.jpg (datum pristupa: 9.7.2024.)