

### 3. Analiza kofeiny w produktach pochodzenia naturalnego metodą chromatografii cienkowarstwowej

Odczynniki i sprzęt laboratoryjny:

1. Materiał analizowany: kawa, herbata, Coca-Cola lub inne produkty zawierające kofeinę
2. Płytki chromatograficzne (10×10 cm) pokryte 0,25 mm warstwę żelu krzemionkowego z indykatorem UV (Kieselgel 60 F<sub>254</sub>, Merck)
3. Szkło laboratoryjne: komora chromatograficzna, kapilary, rozdzielacz, cylindry miarowe, pipety miarowe, kolby płaskodenne, kolba okrągłodenna, lejek zwykły
4. Bibuła filtracyjna
5. Suszarka do włosów
6. Lampa UV ( $\lambda=254$  nm)
7. Bezwodny Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
8. Układ rozwijający: octan etylu : heksan : kwas octowy (60 : 40 : 1; v/v/v)
9. Roztwór wzorcowy zawierający kofeinę rozpuszczoną w dichlorometanie, o stężeniu 1 mg/mL
10. 0,2 M wodny roztwór NaOH
11. Dichlorometan
12. Wyparka rotacyjna próżniowa

Wykonanie doświadczenia:

Torebkę herbaty lub odpowiednią ilość płynu (około 20 mL) zawierającego kofeinę umieścić w rozdzielaczu i dodać 15 mL dichlorometanu (DCM) oraz 15 mL 0,2 M roztworu NaOH. Tak przygotowaną mieszaninę wytrząsać przez 10 minut. Oddzielić warstwę organiczną i przenieść do uprzednio przygotowanego naczynia (kolba płaskodenna). Do warstwy wodnej w rozdzielaczu dodać 20 mL DCM i ponownie ekstrahować. Warstwy organiczne połączyć i osuszyć nad Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Po 15 minutach roztwór przesączyć do kolby okrągłodennej oraz usunąć rozpuszczalnik pod obniżonym ciśnieniem, a otrzymany osad rozpuścić w 5 mL DCM i nanieść na uprzednio przygotowaną płytkę TLC (o wymiarach 10×10 cm) z indykatorem UV. Oprócz analizowanych substancji dodatkowo nanieść wzorzec będący roztworem kofeiny w DCM. Wzorzec nanieść w trzech stężeniach, odpowiadających jedno-, dwu- i trzykrotnej objętości roztworu wzorcowego. Po rozwinięciu płytki chromatograficznej, płytkę wysuszyć i umieścić w świetle lampy UV ( $\lambda_{254}$ ). Zaznaczyć wszystkie widoczne plamki, obliczyć współczynnik  $R_f$ , a następnie porównać je z wzorcem.

Zakres materiału:

Zasada rozdziału w chromatografii TLC, klasyfikacja, występowanie, właściwości i zastosowanie alkaloidów, wzory alkaloidów (kofeina, teofilina, teobromina, efedryna, nikotyna)