

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 warstwą żelu krzemionkowego z indykatorem UV (Kieselgel 60 F₂₅₄, Merck)
3. Szkło laboratoryjne: komora chromatograficzna, kapilary, rozdzielacz, cylindry miarowe, pipety miarowe, kolby płaskodenne, kolba okrągłodenne, lejek zwykły
4. Bibuła filtracyjna
5. Suszarka do włosów
6. Lampa UV ($\lambda=254$ nm)
7. Bezwodny Na₂SO₄
8. Układ rozwijający: octan etylu : heksan : kwas octowy (80 : 20 : 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 kolbie płaskodennej i dodać 15 mL dichlorometanu (DCM) oraz 15 mL 0,2 M roztworu NaOH. Tak przygotowaną mieszaninę wytrząsać przez 5 minut. Następnie mieszaninę przenieść do rozdzielacza i wytrząsać przez kolejne 5 min. 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 Na₂SO₄. 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 (λ_{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 alkaloidów.