

Kávé/kakaóminta koffeintartalmának azonosítása és félkvantitatív meghatározása vékonyréteg-kromatográfián

Vizsgálat elve: a rétegre felvitt minta komponensei a futtatószerrel előrehaladva, eltérő adszorpciójuk miatt egymástól elválnak. Láthatóvá tételük után a minta koffein tartalmát, az azonosan futtatott standard koffeinhez hasonlítva, az R_f értékek alapján határozzuk meg.

Eszközök, vegyszerek: 100 mg/ℓ-es alkoholos koffein oldat, eluens (petroléter/aceton 50:50 arányú elegye, vagy a gyakorlatvezető által javasolt oldószerkelet), 20x10 cm-es Kieselgel F²⁵⁴ fluoreszcens vékonyréteglap, vonalzó, grafitceruza, VRK-s kapillár vagy tompavégű mikrofecskendő, műanyag csavarkupakos centrifugacső, hajszáritó, futtatókád.

Minta: kávé vagy kakaópor

A vizsgálat menete:

1. Gyorsmérlegen 15 cm³-es centrifugacsőbe mérjen be 0,50±0,02 g kávé vagy kakaóport. Tömegét jegyezze fel. Adjon hozzá mérőhengerrel 5 cm³ acetont. A csövet zárja le, rázza intenzíven 5 percig.

Összerázás után a szilárd fázist hagyja leülepedni, vagy ha ez nem így történik meg, centrifugálja a mintát vízzel töltött csővel szemben 3 percig 4500 1/min fordulaton. Az oldat tisztáját használja a vizsgálathoz.

2. Vonalzó és ceruza segítségével a réteget hosszában hat darab, körülbelül azonos szélességű oszlopra osztjuk (úgy, hogy ezen felül mindkét szélétől kb. 0,5 cm-es sávot szabadon hagyunk) és réz tűskével bekarcolva a kijelölt oszlopokat elválasztjuk (lásd a mintát).

3. Startvonal kijelölése grafitceruzával: a réteg aljától kb. 2-2,5 cm-re legyen. A 6 oszlopon levő helyekre, tompa végű mikrofecskendővel, vagy kapillárisal az alábbi mennyiségeit cseppentjük fel a minta és a standard oldatnak:

1. hely	2. hely	3. hely	4. hely	5. hely	6. hely
10 μℓ standard	20 μℓ standard	30 μℓ standard	40 μℓ standard	50 μℓ standard	ismeretlen 50 μℓ

Az oldatok felcseppentését több részletben, a felcseppentések között a réteg szárításával végezzük úgy, hogy közben ne sértsük fel a réteget, ill. a folt átmérője ne haladja meg a 3-4 mm-t!

3. A réteget a kádba helyezzük. A kádat a fedővel lezárjuk. Addig futtatunk, amíg a futtatószer legalább a réteg háromnegyedig eljut. Ekkor kivesszük, és a fülke alatt bejelöljük a frontvonalat.

4. A réteget vegyifülke alatt hajszáritóval megszáritjuk, majd UV lámpa alatt 254 nm-en láthatóvá tesszük az UV aktív anyagok foltját. A foltokat ceruzával körberajzolva bejelöljük.

Meghatározzuk a koffein foltok R_f értékeit, azonosítjuk a mintában a koffeint. A relatív foltnagyságok alapján megbecsüljük a koffein mennyiségét.

Beadandó végeredmény: a koffein átlagos R_f értéke, a minta hozzávetőleges koffein tartalma mg/g-ban. A futtatás dokumentációja (réteg anyaga, futtatószer, előhívószer, fényképes dokumentáció)

A minta koffeintartalma:
$$\frac{c_{std} \cdot V_{felvitt\ std}}{V_{felvitt\ minta} \cdot m_{kávé}} V_{extrahálószer}$$