

Koffein-Nachweis in Getränken mit Dünnschichtchromatographie

Einleitung

In diesem Praktikum untersuchst du verschiedene Getränke (Kaffee, Red Bull, Eistee, etc.) auf ihren Koffeingehalt. Die Untersuchung ist rein qualitativ, d.h., es wird bloss untersucht, ob Koffein enthalten ist oder nicht. Die Bestandteile der Gemische (Getränke) werden wir mittels Chromatographie auftrennen.

Die Dünnschichtchromatographie (DC) ist eine analytische Methode zur Auftrennung kleiner Mengen von Gemischen (< 1 mg) in ihre einzelnen Bestandteile. Die einzelnen Bestandteile des Gemisches können dabei mithilfe von Referenzsubstanzen (bekannter reiner Stoff) identifiziert werden.

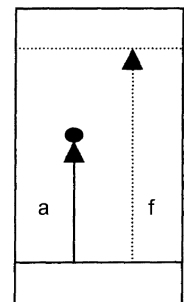
Zur Trennung des Gemisches wird ein Plättchen verwendet, welches mit einer dünnen Schicht eines Chromatographiematerials (Kieselgel, Aluminiumoxid oder Cellulose) versehen ist. Das Stoffgemisch wird am unteren Ende dieses Plättchens punktförmig auf die Schicht aufgetragen. Danach wird das Plättchen in ein Gefäss gestellt, dessen Boden zu ca. 10 mm mit einem Lösungsmittel (Fließmittel) bedeckt ist. Das Fließmittel steigt in der Schicht hoch und trägt dabei die einzelnen Substanzen unterschiedlich weit mit. Die Verbindungen, die stark an der Schicht haften, werden nur wenig mitgetragen, während Verbindungen, die schwach haften, vom Lösungsmittel bis weit in die obere Zone des Plättchens getragen werden. Durch Variation der Zusammensetzung des Fließmittels können meist Bedingungen für eine erfolgreiche Auftrennung in die einzelnen Bestandteile gefunden werden.

Der Betrag, um den eine Verbindung auf dem DC-Plättchen gewandert ist, wird mit dem R_f -Wert beschrieben. Es gilt:

$$R_f = \frac{a}{f}$$

a : effektive Laufstrecke (Startort – Substanzfleck)

f : maximal mögliche Laufstrecke (entspricht der Strecke die das Fließmittel total zurückgelegt hat)



Lernziel: Du kannst das Prinzip sowie die Auswertung der (Dünnschicht)-Chromatographie an einem Beispiel beschreiben und erklären.

Versuch

Geräte / Material

- | | | |
|---|---|---|
| • eigenes weiches Bleistift, Lineal | • Schleifpapier | • Messzylinder (50 ml), zentral |
| • Bunsenbrenner | • DC-Glas (Konfitüreglas) | • Trichter (Glas), zentral |
| • Keramikdrahtnetz auf Dreifuss | • 2 DC-Plättchen (Silica) | • UV-Lampe (zentral in verdunkeltem Wägeraum) |
| • Pasteurpipette 'gebraucht' oder neu (Kapillare) | • je 3 beschriftete Plastikbecher pro Getränk (zentral) | |

Chemikalien

- | | | |
|---|--|-------------------------------|
| • Instant-Kaffeepulver (2 Sorten) | • Laufmittel (Essigsäureethylester/ Aceton), bleibt in Kapelle (zentral) | • Eistee |
| • Isostar (Flüssigkeit, nicht Pulver) oder Gatorade | • 3 Koffein-Referenzlösungen (2 mg Koffein pro ml Dichlormethan) | • Redbull |
| • Schwarztee (Beutel) | | • Cola (Pepsi oder Coca-Cola) |

Vorbereitung der Getränkeproben

(üblicherweise von Assistentin vorbereitet)

Kaffee: Man übergiesst in einem 250 ml-Becherglas 1 Teelöffel Kaffeepulver mit 100 ml siedendem destilliertem Wasser, rührt um und lässt die Suspension 5 Min. stehen. Danach wird die Flüssigkeit (alles bzw. mind. 10 ml) in eine entsprechend beschriftete Flasche filtriert.

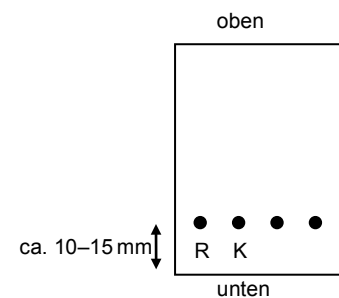
Praktikum 6: Koffeinnachweis mittels Dünnschichtchromatographie (Trennmethode)

Schwarztee: Man übergießt in einem Becherglas 1 Teebeutel mit 100 ml siedendem dest. Wasser, rührt um und lässt das Gemisch 5 Min. stehen. Man transferiert die Flüssigkeit in eine entsprechend beschriftete Flasche.

Isostar (oder Gatorade), Cola, Red Bull und Eistee: Werden direkt aufgetragen.

Analyse der Getränkeproben mittels Dünnschichtchromatographie

- 1.1 ☞ (Dieser Schritt wird von der Lehrperson vorgezeigt) Ziehe über der Flamme eines Bunsenbrenners aus einer (alten) Pasteurpipette eine ca. 1 mm dicke Kapillare und breche sie in ca. 5 cm lange Stücke (Anfeilen mit Schleifpapier). Insgesamt werden 4 Kapillarstücke pro Gruppe benötigt.
- 1.2 Fülle die zu untersuchenden Getränke in die entsprechenden Plastikbecher (Boden gerade bedecken). Pro 2 Arbeitsplätze sollten 1 Referenzlösung, alle Getränke und dazu 8 Kapillaren bereit stehen. Sprich dich mit deiner gegenüberliegenden Gruppe ab.
- 1.3 Bereite ein erstes DC-Plättchen wie folgt vor: Zeichne mit Bleistift ‚mit wenig Druck‘ im Abstand von 10–15 mm vom unteren Rand eine feine Startlinie ein (ca. vier Startpunkte markieren, vgl. neben stehendes Muster).
- 1.4 Auf den ersten Startpunkt wird mit einer Glaskapillare die Koffein-Referenzlösung (R) aufgetragen (**2-mal auftupfen**).
- 1.5 Trage auf die anderen Startpunkte die ersten drei zu untersuchenden Getränke mit einer neuen Kapillare auf (zuerst je 1-mal auftupfen). **Nun trocknest du das Plättchen** oberhalb des Keramikdrahtnetzes über der Bunsenbrennerflamme (wichtig, da wässrige Probe). Beschriftung nicht vergessen (z.B. 'K' für Kaffee)! Verwende für jede Flüssigkeit eine separate Kapillare.
 Wiederhole das Auftupfen und Trocknen, so dass auf jeden Punkt insgesamt **5-mal** die Getränkeprobe aufgetragen wurde.
- 1.6 (*Zentrale Kapelle*) Bedecke den Boden eines Konfitüreglases zu ca. 10 mm mit dem Laufmittelgemisch (in unserem Fall 70 Vol.-% Essigsäureethylester, 30 Vol.-% Aceton). Total etwa 10 ml (Messzylinder verwenden).
- 1.7 (*Wieder am eigenen Platz*) Stelle nun das DC-Plättchen hinein. Die Startpunkte müssen klar oberhalb des Lösungsmittelspiegels liegen. Schliesse den Deckel.
 Warte, bis das Laufmittel 6–7 cm aufgestiegen ist. In der Zwischenzeit kannst du das 2. DC-Plättchen vorbereiten: wiederum Koffein (R) und die 3 restlichen Getränke.
- 1.8 Nimm das erste Plättchen aus dem Konfitüreglas, schliesse sofort den Deckel, und markiere die Laufmittelfront mit einem Bleistift. Lass das Plättchen kurz trocknen (Bunsenbrenner).
- 1.9 Betrachte das Plättchen unter der UV-Lampe: Umrande die 'Flecken' sorgfältig mit einem Bleistift.
- 1.10 Vergleiche die Chromatogramme der Getränke mit jenem der Referenzsubstanz Koffein. In welchen Getränken ist Koffein enthalten? Verfahre mit dem 2. DC-Plättchen analog.
- 1.11 Das Laufmittel bleibt im Konfitüreglas. Spüle die Plastikbecher zuerst mit Leitungswasser und dann mit dest. Wasser aus. Die Plastikbecher werden an die zentrale Vorbereitungsstelle zurückgestellt.



Aufgaben

- (1) Zeichne die angefertigten Plättchen mit der Lage der Substanzflecken. Bestimme die R_f -Werte von Koffein sowie die R_f -Werte von andern, klar sichtbaren Substanzflecken.
- (2) Oft wird das Schichtmaterial als ‚stationäre Phase‘ bezeichnet, das Fließmittel hingegen als ‚mobile Phase‘ – warum?
- (3) Warum dürfen die Startpunkte des Chromatogramms nicht ins Fließmittel eingetaucht sein?
- (4) Du möchtest zwei Chromatogramme vergleichen, bei denen das Fließmittel unterschiedlich weit gelaufen ist (z. B. Höhe Chromatogramm A = 70 mm, Höhe Chromatogramm B = 90 mm, gleiches Fließmittel und Schichtmaterial). Welches Kriterium kannst du heranziehen, um zu begründen, ob die Flecken der beiden Chromatogramme von denselben Verbindungen herrühren oder nicht?