

Isolering af koffein

Formål

Øvelsen er et eksempel på en fremgangsmåde til udvinding af en ren kemisk forbindelse fra et plantemateriale. Selvom koffein udvundet på denne måde er "naturens eget produkt", giver dette ingen garanti for, at koffein er sundt, helsebringende osv. Der er naturligvis ingen forskel på egenskaberne af "naturligt" koffein, og koffein fremstillet ved en syntese. Koffein i mindre mængder, 0,1 - 0,2g, virker opkvikkende og det anvendes som tilsætningsstof i en lang række læskedrikke i koncentrationer mellem 65 og 250 mg pr. liter. Cola indeholder således ca. 100 mg pr. liter. Til sammenligning indeholder kaffe 500 mg pr. liter.

Sikkerhed

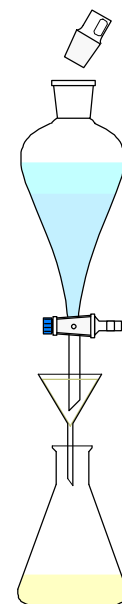
Koffein indtaget i større mængder er sundhedsfarligt. Den dødelige dosis ligger omkring 5 g for et voksent menneske. Dichlormethan (methylenchlorid, CH_2Cl_2) i laboratorieluften bør begrænses mest muligt. Inddampningerne og håndteringen af opløsningsmidler skal foregå i stinkskab.

Teori om metoderne

Ekstraktion

For at adskille koffeinen fra andre stoffer i theen, benytter vi metoden ekstraktion. Først ekstraheres koffeinen ud af thebladene ved hjælp af en basisk vandopløsning og dernæst ekstraheres koffeinen ud af vandfasen. Vi gør brug af kaffeins forskellige opløselighed i vand og et organisk opløsningsmiddel. Princippet er at vælge et organisk opløsningsmiddel, som ikke er blandbart med vand, og hvori koffein har en høj opløselighed. Det kunne f.eks. være dichlormethan. Det vandige the-ekstrakt hældes nu sammen med det organiske opløsningsmiddel i en skilletragt, og de to faser blandes forsigtigt. Det optimale vil være at blande de to lag grundigt ved at ryste de to opløsninger grundigt sammen, men herved opstår et stort emulgerende lag mellem de to faser, og det vil vi gerne undgå.

Når de to faser er blevet adskilt efter at have stået nogle minutter, tappes den organiske fase ud af skilletragten (den nederste fase, da dichlormethan har en densitet på 1,23g/mL), husk at tage proppen af inden aftapning!. Ved at gentage processen flere gange (og hver gang opsamle den organiske fase) øges udbyttet.



Tyndtlagskromatografi

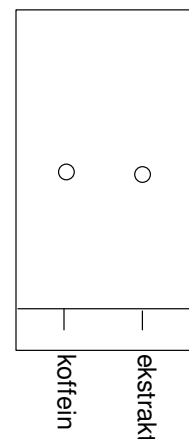


Kromatografiske metoder benyttes til at adskille og identificere de forskellige stoffer i en kompleks blanding. Her anvendes ofte kieselgel. Ca. 1 cm fra pladens underkant placeres en lille smule (en plet med en diameter på nogle få millimeter) af prøven, som man forinden har opløst i en væske. Desuden placeres en plet af en opløsning af noget rent stof på pladen. Så kan man sammenligne pletternes placering efter kromatograferingen med henblik på en identificering af stofferne i prøven. Når opløsningsmidlet er fordampet, og pletterne er tørre, kan selve kromatograferingen

startes.

Pladen placeres i et udviklingskar (bægerglas eller lignende), hvor der i bunden er lidt af den mobile fase, som f.eks. kan være acetone. Det er vigtigt, at acetonen ikke dækker pletterne. Et låg lægges over karret, og den mobile fase vil begynde at vandre op ad pladen. Når det når pletterne, vil de delvist blive trukket med. Hvis to stoffer vandrer ca. lige langt, har man sandsynliggjort, at det er det samme stof, men man kan ikke sige noget med sikkerhed.

Vi kan se på pladen til højre, at der sandsynligvis er koffein i den analyse-rede prøve.



Apparatur

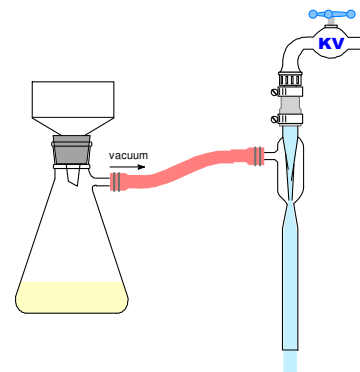
500mL bægerglas, 250mL büchnertragt, gummikonus, 500 mL sugokolbe, stativ med klo og ring, ostelærred, vandstråleluftpumpe, elkande, 50 mL bægerglas, isbad, 500 mL skille-tragt, glastragt, filterpapir, kogestenen, sandbad, 250mL måleglas, 50mL måleglas, glasspatel, små præparatglas, 250 mL konisk kolbe, arbejdshandsker, plast-engangspipetter, tilspidsede kapillarrør, 100 mL bægerglas (høj form) med låg, TLC-plade behandlet med fluorescerende stof (Kiselgel), UV-lampe

Kemikalier

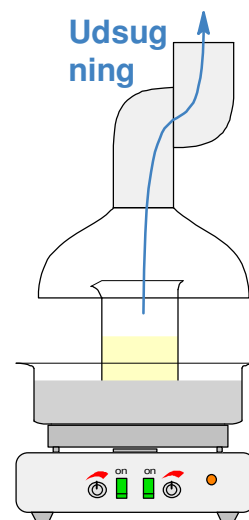
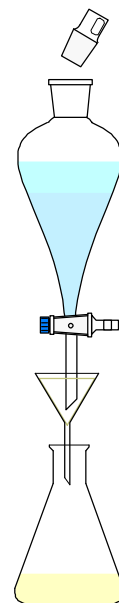
Natriumcarbonat (Na_2CO_3), the, dichlormethan (CH_2Cl_2), vandfrit natriumsulfat (Na_2SO_4), acetone ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$), koffein-stamopløsning ($\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2$ (100 mg/L))

Fremgangsmåde

1. 35 g Na_2CO_3 afvejes i et 500mL bægerglas og opslømmes i 250mL vand.
2. 50 g the afvejes og hældes i en 250 mL Büchnertragt, hvori der er anbragt et stykke ostelærred, som er anbragt på en fastspændt 500 mL sugokolbe. Slangen fra vandstråleluftpumpen sættes på, så der er klar til sugefiltrering, men tænd ikke for vandet endnu.
3. Det opslømmede Na_2CO_3 hældes på el-kanden, denne tilsluttes stikkontakten og opløsningen bringes i kog. Hæld opløsningen stille og roligt henover theen i Büchnertragten.
4. Tragten med the + opløsning står i 3-4 min, inden der sættes sug på. Tænd herefter for suget og sug væsken igennem. Theen trykkes sammen med en glasprop eller et lille bægerglas, for at så meget som muligt af væsken suges ned i sugokolben.



- Opløsningen i sugekolben afkøles til ca. 20 °C i isbad og hældes herefter i en skilletragt, hvor den udrystes med 30 mL dichlormethan, der hældes ned langs indersiden af skilletragten. Udrystningen foregår ved forsigtig hældning frem og tilbage 6-7 gange eller indtil der opnås en svag emulgering på grænsefladen mellem de to væsker. Tap dichlormethanfasen fra, ned i en konisk kolbe.
- Gentag processen yderligere 3 gange med 30 mL dichlormethan pr. gang. Saml dichlormethanfaserne i samme kolbe. Ved sidste udrystning aftappes hele dichlormethanfasen.
- Hæld the-opløsningen ud af skilletragten og skyl denne med lidt vand.
- De samlede dichlormethanfaser hældes tilbage i skilletragten og vaskes (udrystes) med 20 mL H₂O i skilletragten, hvorefter dichlormethanfasen atter tappes fra.
- Inden opløsningsmidlet afdampes skal opløsningen tørres, hvilket vil sige, at vand, som stadig er i dichlormethanfasen, skal fjernes. Dette gøres ved at omrøre opløsningen med ca. 10g vandfrit Na₂SO₄ i ca 5 min.
- Derefter frafiltreres tørringsmidlet over i et 250 mL bægerglas, kolbe og filter vaskes med 5 mL dichlormethan og opløsningen indampes.
- Inddampningen foretages på følgende måde: Filtratet tilsættes 2-3 kogesten og koges ned til 20-30 mL på sandbad. Derefter overføres filtratet kvantitativt (skyl med 3 x 1 mL dichlormethan) til et 50 mL forvejet (analysevægt) bægerglas og der indampes til dichlormethanen lige netop er fordampet. Vej bægerglasset igen og beregn udbyttet.



TLC-analyse af produktet.

- Tegn forsigtigt en blyantsstreg på TLC-pladen ca 1 cm fra bunden.
- Sug lidt af koffein-stamopløsningen op i et kapillærrør og afsæt en lille plet lige over strengen i den ene side på TLC pladen, se skitse i teoriafsnittet. Lad pletten tørre let og sæt så endnu en plet oveni.
- Opløs dit isolerede koffein i ca 5 mL dichlormethan (hvis du har et stort udbytte, så brug 10 mL) overfør opløsningen til et lille prøveglas. Sug lidt af denne opløsning op i et andet kapillærrør og afsæt en lille plet lige over strengen i den anden side på TLC pladen, se skitse i teoriafsnittet. Lad pletten tørre let og sæt så endnu en plet oveni.

4. Kig på pladen under UV-lampen for at se, at der er to små fine tydelige pletter. Hvis ikke sættes et par dråber mere på samme sted.
5. Hæld ca $\frac{1}{2}$ cm acetone i et 100 mL bægerglas (høj form med låg), læg et stykke filterpapir rundt langs siden af glasset så acetonen suges op, herved mættes luften med dampe af løbevæsken. Sæt din TLC-plade ned i væsken.
6. Lad pladen stå indtil væsken er løbet næsten helt op, tag pladen op og lad den tørre.
7. Når pladen er tør kigger du på den under UV-lampen. Er der grund til at tro, at du har isoleret koffein fra theen ?
8. Lad evt. opløsningsmidlet frivilligt dampe af fra det lille prøveglas og tag dit isolerede koffein med hjem til skolen.