

การวิเคราะห์หาปริมาณคาเฟอีนในเครื่องดื่มโคล่าโดยวิธีการสกัดและสเปกโตรโฟโตเมตรี

Quantitative Analysis of Caffeine in Cola Beverage by Extraction and Spectrophotometry

¹ไพรัตน์ โชควิบูลย์กิจ

¹Pairat Chokwibulkit

บทคัดย่อ

ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณคาเฟอีนในเครื่องดื่มโค้ก โดยนำมาสกัดด้วย 1-propanol ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่ไม่เป็นพิษและมีราคาถูกกว่าตัวทำละลายที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบแล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณด้วยวิธีอัลตราไวโอเลตสเปกโตรโฟโตเมตรีที่ $\lambda_{\max}$ ซึ่ง $\lambda_{\max}$ หาได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานคาเฟอีนใน 1-propanol เข้มข้น 20 ppm ในช่วงความยาวคลื่น 250-300 นาโนเมตร พบว่ามี $\lambda_{\max}$ เท่ากับ 274 นาโนเมตร กราฟมาตรฐานเตรียมขึ้นจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ $\lambda_{\max}$ ของสารละลายมาตรฐานคาเฟอีนในช่วงความเข้มข้น 0-30 ppm และใช้กราฟนี้เป็นตัวเทียบหาปริมาณของคาเฟอีนในเครื่องดื่มโค้ก พบว่ามีคาเฟอีนอยู่ในเครื่องดื่มโค้ก 10.340 ± 0.434 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร

คำสำคัญ : คาเฟอีน อัลตราไวโอเลตสเปกโตรโฟโตเมตรี น้ำอัดลมโคล่า

ABSTRACT

Caffeine in Cola beverage (Coke) was extracted by 1-propanol which is nontoxic and less expensive than chlorinated solvent, and then quantitatively analyzed using UV- spectrophotometry at $\lambda_{\max}$. The standard solution of 20 ppm caffeine in 1-propanol was scanned between 250-300 nm and $\lambda_{\max}$ was detected at 274 nm. At this $\lambda_{\max}$, the standard

curve of standard caffeine in 1-propanol in the range of 0-30 ppm was prepared and used to determine the amount of caffeine in Coke. We found that caffeine in Coke was 10.340 ± 0.434 mg/100 mL.

Keywords : caffeine, UV-spectrophotometry, Cola Beverage

บทนำ

การสกัดคาเฟอีนด้วยตัวทำละลายนิยมใช้ตัวทำละลายที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบ เช่น chloroform (1-3) และ methylene chloride (4-7) ซึ่งตัวทำละลายประเภทนี้เป็นพิษที่อาจก่อให้เกิดมะเร็งกับผู้ใช้ได้และนอกจากนี้เมื่อระเหยเข้าสู่ชั้นบรรยากาศยังไปทำลายโอโซนในชั้นบรรยากาศอีกด้วย จากการวิจัยของ Murray, S.D. และ Hansen, P.J. ที่ตีพิมพ์ในปี 1995 (8) ได้ใช้ตัวทำละลายใหม่ที่ปลอดภัยและราคาถูกกว่า คือ 1-propanol ในการสกัดคาเฟอีนออกจากใบชา งานวิจัยนี้จึงได้ดัดแปลงวิธีการสกัดคาเฟอีนด้วย 1-propanol มาใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณคาเฟอีนในเครื่องดื่มโค้กด้วยวิธีอัลตราไวโอเลตสเปกโตรโฟโตเมตรี

อุปกรณ์และวิธีการ

สารเคมี

1. สารละลายมาตรฐาน Caffeine ใน 1-propanol เข้มข้น 100 ppm (mg/L)
2. สารละลายอิ่มตัวของเกลือ NaCl ในน้ำ
3. 1-propanol (Carlo Erba Reagent)
4. เครื่องดื่มโค้ก ผลิตโดยบริษัท ไทยน้ำทิพย์ จำกัด
5. Anhydrous Na_2SO_4 (Carlo Erba Reagent)

Pairatchok@hotmail.com

ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสยาม

Department of Food Technology, Faculty of Science, Siam University

อุปกรณ์

1. บีกเกอร์
2. กรวยแยก (separatory funnel)
3. ขวดวัดปริมาตร
4. O-ring clamp
5. Base & Stand
6. ปิเปต
7. เครื่อง UV-Vis Spectrophotometer (SHIMADZU UV-1601) และ program UVPC V.3.9
8. cuvette (Eppendorf, 50-2000 μL , 220-1600 nm)

วิธีการทดลอง

ตอนที่ 1 หา λ_{max} ของสารละลายมาตรฐาน Caffeine ใน 1-propanol

นำสารละลายมาตรฐาน Caffeine ใน 1-propanol เข้มข้น 100 ppm มาเจือจางลง 5 เท่า โดยปิเปตมา 5 mL ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 25 mL แล้วเติม 1-propanol จนมีปริมาตรครบ 25 mL จะได้สารละลายมาตรฐาน Caffeine ใน 1-propanol เข้มข้น 20 ppm นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 250-300 nm แล้วหา λ_{max} จากความยาวคลื่นที่ Caffeine มีค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุด

ตอนที่ 2 ทำกราฟมาตรฐาน (calibration curve) ของสารละลายมาตรฐาน Caffeine ใน 1-propanol

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Caffeine ใน 1-propanol ใส่ขวดวัดปริมาตรให้มีความเข้มข้นต่างๆ กัน ดังแสดงในตารางที่ 1

นำสารละลายมาตรฐานที่เตรียมได้ 4 ความเข้มข้น

ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ λ_{max} ซึ่งได้จากการทดลองตอนที่ 1 แล้วเขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสง กับความเข้มข้นของคาเฟอีนในสารละลาย (ppm) เป็นกราฟมาตรฐานด้วย program UVPC V.3.9

ตอนที่ 3 การสกัด Caffeine ออกจากเครื่องดื่มค็อกและวิเคราะห์หาปริมาณ

ปิเปตเครื่องดื่มค็อกมา 2.00 mL ใส่กรวยแยก แล้วเติม 1-propanol ลงไป 5 mL หมุนข้อมือแกว่งกรวยแยกเป็นวงกลมให้สารละลายผสมเป็นเนื้อเดียวกันนาน 1 นาที ตั้งไว้บน O-ring clamp แล้วเติมสารละลายอิ่มตัวของเกลือ NaCl ในน้ำลงไป 2 mL จากนั้นแกว่งกรวยแยกอีกนาน 1 นาที แล้วตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้นอย่างสมบูรณ์ แยกเก็บชั้น 1-propanol ใส่บีกเกอร์ขนาด 50 mL ไว้ แล้วนำชั้นน้ำไปสกัดซ้ำอีกครั้งด้วย 1-propanol 5 mL แยกเก็บชั้น 1-propanol มารวมกันในบีกเกอร์ใบเดิม แล้วกำจัดน้ำที่ปะปนมาเล็กน้อยโดยการเติมผง Anhydrous Na_2SO_4 ลงไป รินสารละลาย 1-propanol ที่สกัดได้ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 mL เติม 1-propanol จนได้ปริมาตรครบ เขย่าให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน นำสารละลายที่สกัดได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ λ_{max} แล้วเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานที่ได้จากการทดลองตอนที่ 2 คำนวณหาปริมาณ Caffeine ในเครื่องดื่มค็อกว่ามีอยู่กี่ mg/100mL ทำการทดลองซ้ำอีก 9 ครั้ง แล้วคำนวณหาความเข้มข้นของคาเฟอีนในเครื่องดื่มค็อกเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

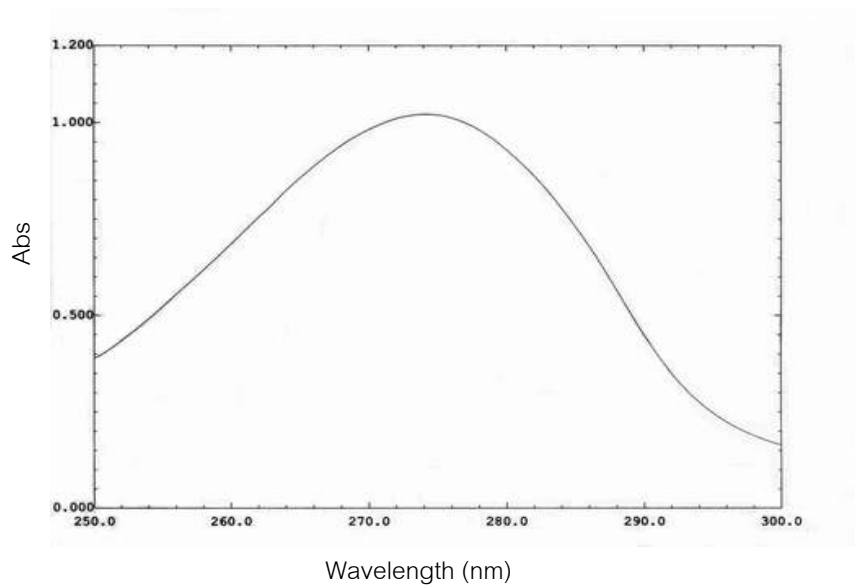
ตารางที่ 1 แสดงการเตรียมสารละลายมาตรฐาน Caffeine ใน 1-propanol ใส่ขวดวัดปริมาตรให้มีความเข้มข้นต่าง ๆ

สารละลายมาตรฐาน Caffeine 100 ppm (mL)	1-propanol (mL)	ปริมาตรรวม (mL)	ความเข้มข้นของ Caffeine ที่เตรียมได้ (ppm)
0.50	9.50	10.00	5
1.00	9.00	10.00	10
2.00	8.00	10.00	20
3.00	7.00	10.00	30

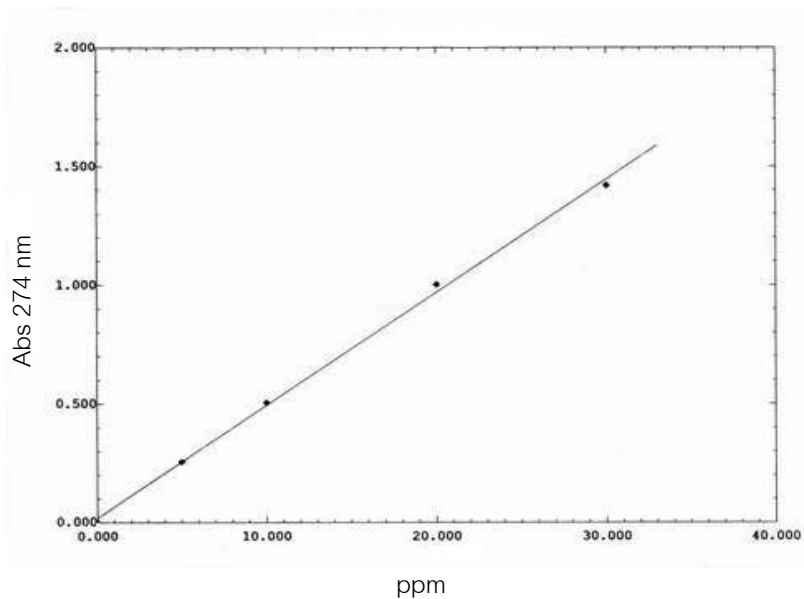
ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการทดลองหา $\lambda_{\max}$ ของสารละลายมาตรฐานคาเฟอีนใน 1-propanol เข้มข้น 20 ppm พบว่ามี $\lambda_{\max}$ เท่ากับ 274 nm ดังแสดงในรูปที่ 1 แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 274 nm ของสารละลายมาตรฐานคาเฟอีนใน 1-propanol ในช่วงความเข้มข้น 0-30 ppm นำมาเขียนกราฟมาตรฐานได้กราฟเส้นตรงดังแสดงในรูปที่ 2 จากนั้นสกัดคาเฟอีนจากเครื่องดื่ม

โค้ก แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 274 nm เทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อคำนวณหาปริมาณความเข้มข้นของคาเฟอีนในเครื่องดื่มโค้กดังแสดงในตารางที่ 2 จากการทดลองสกัดคาเฟอีนจากเครื่องดื่มโค้ก 10 ครั้ง พบว่ามีค่าความเข้มข้นของคาเฟอีนในเครื่องดื่มโค้กเฉลี่ย 10.340 ± 0.434 mg/100 mL ซึ่งใกล้เคียงกับผลการวิจัยด้วยวิธี Capillary Zone Electrophoresis (CZE) (9) และวิธี HPLC (10,11) ดังแสดงในตารางที่ 3



รูปที่ 1 spectrum ของสารละลายมาตรฐานคาเฟอีนใน 1-propanol เข้มข้น 20 ppm



รูปที่ 2 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานคาเฟอีน ใน 1-propanol

ตารางที่ 2 แสดงผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายคาเฟอีนที่สกัดได้จากเครื่องต้มไค้กและค่าความเข้มข้นของคาเฟอีนที่คำนวณได้

การทดลอง ครั้งที่	ความเข้มข้น (ppm)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 274 nm	ความเข้มข้นของคาเฟอีนใน เครื่องต้มไค้ก (mg/100 ml)
1	21.680	1.050	10.840
2	22.039	1.067	11.020
3	20.379	0.988	10.190
4	20.456	0.991	10.228
5	20.895	1.012	10.448
6	20.954	1.015	10.477
7	21.298	1.031	10.649
8	19.204	0.932	9.602
9	20.092	0.974	10.046
10	19.792	0.960	9.896
ความเข้มข้นของคาเฟอีนในเครื่องต้มไค้กเฉลี่ย			10.340 $\pm$ 0.434

ตารางที่ 3 ผลการวิจัยหาปริมาณคาเฟอีนในเครื่องต้มไค้กโดยวิธี CZE และ HPLC

วิธีการวิเคราะห์	ความเข้มข้นของคาเฟอีนใน เครื่องต้มไค้ก (mg/100 ml)	เอกสารอ้างอิง
CZE	7.606	9
HPLC	6.958	10
HPLC	11.070	11

การสกัดด้วย 1-propanol นั้นมีข้อดีคือ เป็นตัวทำละลายที่ไม่เป็นพิษต่อผู้ใช้และมีราคาถูกกว่าตัวทำละลายที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบ นอกจากนี้ยังไม่ทำลายโอโซนในชั้นบรรยากาศด้วย

สรุป

การวิเคราะห์หาปริมาณคาเฟอีนในเครื่องดื่มโค้กทำได้โดยการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ไม่เป็นพิษต่อผู้ใช้คือ 1-propanol แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณด้วยวิธีอัลตราไวโอเลตสเปกโตรโฟโตเมตริกที่ $\lambda_{\max}$ เท่ากับ 274 nm พบว่าเครื่องดื่มโค้กมีคาเฟอีนอยู่เข้มข้นเฉลี่ย 10.340 ± 0.434 mg/100 mL ซึ่งวิธีการวิเคราะห์นี้สามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณคาเฟอีนในเครื่องดื่มประเภทโคล่าอื่นๆ ได้ด้วย

เอกสารอ้างอิง

- Helmkamp, G.K. and Johnson, H.W. 1968. Selected Experiments in Organic Chemistry. 2nd ed. Freeman. San Francisco. pp. 157-158.
- O'Connor, R. 1971. The Freeman Library of Laboratory Separates in Chemistry. Birdwhistell, R.K. O'Connor, R. Eds. Freeman. San Francisco, Vol.2.
- Pavia, D.L. Lampman. and G.M. Kriz, G.S. 1976. Introduction to Organic Laboratory Techniques. Saunders. Philadelphia. pp. 58-62.
- Williamson, K.L. 1989. Macroscale and Microscale Organic Laboratory. 2nd ed. Heath. Toronto. pp.130-133.
- Mayo, D.W. Pike. and R.M. Butcher, S.S. 1989. Microscale Organic Laboratory. 2nd ed. Wiley. New York. pp.162-164.
- Nimitz, J.S. 1991. Experiments in Organic Chemistry. Prentice-Hall. Englewood Cliffs. NJ. pp.61-62.
- Landgrebe, J.A. 1993. Theory and Practice in the Organic Laboratory. 4th ed. Brooks/Cole. Pacific Grove. CA. pp. 381-383.
- Murray, S.D. Hansen, P.J. 1995. J. Chem. Educ. 72: 851-852.
- Conte, E.D. Barry, E.F., and Rubinstein, H. 1996. J. Chem. Educ. 73: 1169-1170.
- Delaney, M.F., and et al. 1985. J. Chem. Educ. 62: 618.
- Strohl, A.N. 1985. J. Chem. Educ. 64: 447.

