

## บทที่ 2

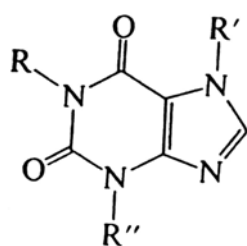
### การแยกคาเฟอีนจากใบชา

#### 2.1 บทนำ

คาเฟอีนเป็นสารประกอบประเภทแอลคาลอยด์ มีคุณสมบัติเป็นเบส พบในกาแฟ ชา น้ำอัดลมประเภทโคล่า โทโก้ และชอคโกแลต คาเฟอีนที่บริสุทธิ์ถูกสกัดได้เป็นครั้งแรกโดยนักเคมีชาวฝรั่งเศส ชื่อ Pierre Jean Robiquet

คาเฟอีนเป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นพวกแซนทีน (xanthines) เป็นของแข็งสีขาว ไม่มีกลิ่น มีรสขม และมีชื่อทางเคมีว่า 1,3,7-Trimethylxanthine

#### Xanthines



Xanthine

$R = R' = R'' = H$

Caffeine

$R = R' = R'' = CH_3$

Theophylline

$R = R'' = CH_3, R' = H$

Theobromine

$R = H, R' = R'' = CH_3$

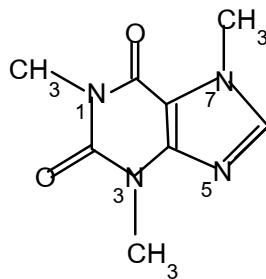
คาเฟอีนมีฤทธิ์กระตุ้นประสาทส่วนกลาง ช่วยให้หายง่วง ยังช่วยกระตุ้นโครงสร้างกล้ามเนื้อ ช่วยให้ง่ายต่อการทำงานดีขึ้น นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์กระตุ้นระบบการหายใจ และขับปัสสาวะได้เล็กน้อย

Theobromine ซึ่งพบมากในเมล็ดโกโก้สุก มีผลต่อประสาทส่วนกลางเพียงเล็กน้อย แต่เป็นสารกระตุ้นการขับปัสสาวะ ส่วน Theophylline พบในใบชา มีฤทธิ์กระตุ้นประสาทส่วนกลางเพียงเล็กน้อยแต่กระตุ้นกล้ามเนื้อหัวใจ และมีฤทธิ์คลายกล้ามเนื้อเรียบได้ดีกว่า Theobromine

ผลข้างเคียงของคาเฟอีน คือ ทำให้หัวใจเต้นเร็วและเพิ่มความดันโลหิตเล็กน้อย ยังทำให้กระเพาะปัสสาวะอักเสบได้ การรับประทานคาเฟอีนประมาณ 100 ถ้วยติดต่อกันในระยะสั้นอาจทำให้ตายได้

เนื่องจากผลของคาเฟอีนที่มีต่อประสาทส่วนกลางและผลข้างเคียงอื่นๆ ทำให้มีผู้ผลิตกาแฟที่กำจัดคาเฟอีนออก (decaffeinated coffee) การสกัดคาเฟอีนออกจากเมล็ดกาแฟทำได้โดยการสกัดด้วยไดคลอโรมีเทนและกำจัดตัวทำละลายโดยใช้ไอน้ำ ปัจจุบันบริษัทที่ผลิต

คาเฟอีนที่สกัดได้ ถูกนำไปขายให้กับบริษัทผลิตน้ำอัดลมเพื่อผลิตน้ำอัดลมโคล่า บางส่วนถูกนำไปใช้ผสมในการผลิตยาบางชนิด ยาที่มีคาเฟอีนผสมจะต้องแสดงส่วนผสมที่ฉลากด้วย คาเฟอีนเป็นของแข็งสีขาว ไม่มีกลิ่น มีรสขม และมีชื่อทางเคมีว่า 1,3,7-Trimethylxanthine ซึ่งมีสูตรโครงสร้างดังนี้



1, 3, 5 – Trimethylxanthin

โครงสร้างของคาเฟอีนประกอบด้วยวง 2 วง แต่ละวงมีไนโตรเจน 2 อะตอม ดังนั้นคาเฟอีนจึงเป็นสารประกอบเฮเทอโรไซคลิกด้วย และคาเฟอีนยังเป็นเบสจึงเกิดเกลือได้โดยไนโตรเจนที่ตำแหน่ง 5 จับกับไฮโดรเจนไอออนได้เกลือของกรด สารอื่นๆ ที่เป็นสารจำพวกแอลคาลอยด์ ได้แก่ นิโคติน มอร์ฟีน โคเคน ควินิน และสติชนิน สารแอลคาลอยด์ส่วนใหญ่มาจากพืช และมีผลต่อทางสรีระวิทยาของผู้บริโภค ผลกระทบดังกล่าวจะแตกต่างกันขึ้นกับชนิดของแอลคาลอยด์

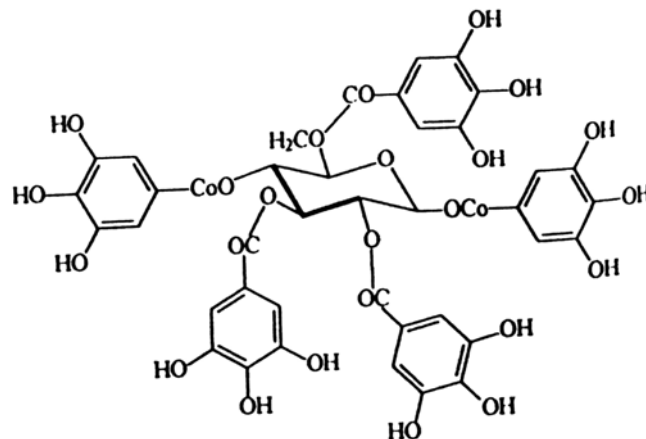
## 2.2 วิธีการสกัดคาเฟอีนจากใบชา

ในการทดลองนี้เราจะสกัดคาเฟอีนจากใบชา ปัญหาสำคัญในการสกัดคือ ใบชาประกอบด้วยสารธรรมชาติอื่นๆ นอกเหนือจากคาเฟอีน เช่น เซลลูโลส แทนนิน และรงควัตถุ เป็นต้น องค์ประกอบที่มีมากที่สุดในใบชา คือ เซลลูโลสซึ่งเป็นสารที่มีมากที่สุดในเซลล์พืช เซลลูโลสซึ่งเป็นพอลิเมอร์ของกลูโคสไม่ละลายน้ำ เมื่อต้มใบชาในน้ำร้อน เซลลูโลสจะไม่ละลาย ส่วนคาเฟอีนซึ่งมีอยู่ประมาณ 5% ในใบชาละลายได้ในน้ำร้อน แทนนินก็ละลายน้ำร้อนได้เช่นกัน แทนนินไม่ใช่สารประกอบเดี่ยวที่มีเนื้อเดียว แต่เป็นกลุ่มสารที่มีคุณสมบัติคล้ายคลึงกัน แทนนินเป็นกลุ่มสารประกอบฟีนอล มีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 1,500 ถึง 3,000 ใช้ฟอกหนัง (tan

leather) ได้ ในสารละลายเอควีเอส แทนนินสามารถตกตะกอนโปรตีนและแอลคาลอยด์ ทำให้สารละลายขุ่น

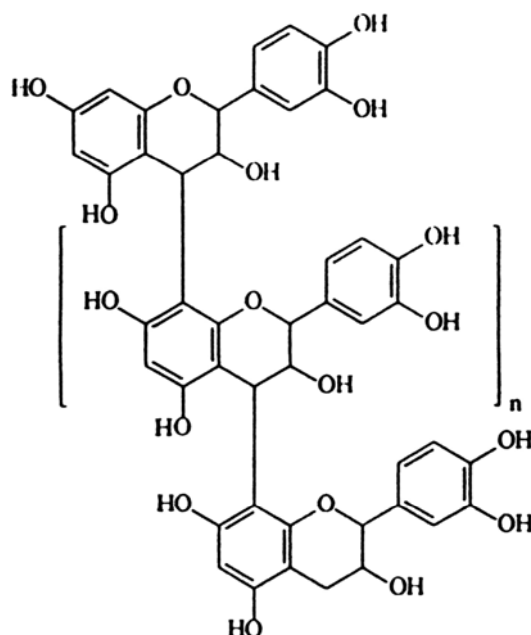
## แทนนิน

แทนนินจำแนกออกเป็น 2 ประเภท คือ แทนนินที่ถูกไฮโดรไลส์ได้ (hydrolysable tannin) และ โปรแอนโทไซยานิดิน (proanthocyanidin) หรือ คอนเดนส์แทนนิน (condensed tannin) แทนนินประเภทแรกพบในใบชาวม และเมื่อถูกไฮโดรไลส์จะได้กลูโคสกับกรดแกลลิก (gallic acid) แทนนินประเภทนี้เป็นเอสเทอร์ของกลูโคสและกรดแกลลิก แทนนินประเภทนี้เป็นกลูโคที่มีหมู่ไฮดรอกซิลบางหมู่เกิดพันธะเอสเทอร์กับกรดแกลลิก (รูปที่ 2.1)



รูปที่ 2.1 แทนนินที่ถูกไฮโดรไลส์ได้

ส่วนแทนนินประเภทที่สองก็พบในใบชาเช่นกัน แทนนินประเภทนี้เป็นคอนเดนเซชันพอลิเมอร์ของแคทีชิน (catechin) พอลิเมอร์เหล่านี้มีโครงสร้างไม่เป็นรูปแบบเดียวตลอด แต่โมเลกุลของแคทีชินจะมาเชื่อมต่อกันที่ตำแหน่ง 4 และ 8 (รูปที่ 2.2)



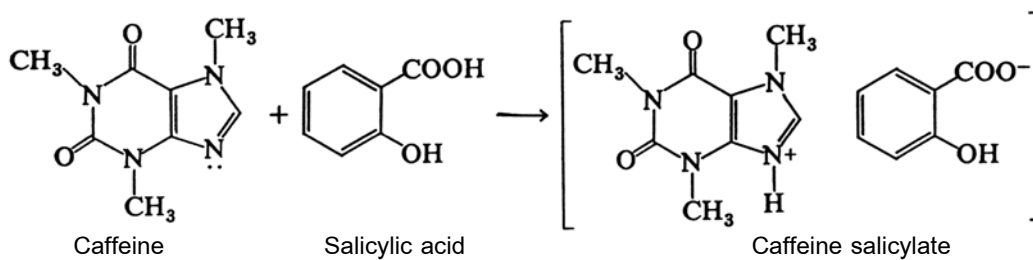
รูปที่ 2.2 โครงสร้างของคอนเดนส์แทนนิน

เมื่อต้มใบชา แทนนินประเภทแรกจะถูกไฮโดรไลส์บางส่วนเกิดกรดแกลลิกอิสระในน้ำชา แทนนินซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลและกรดแกลลิกซึ่งมีหมู่คาร์บอกซิลล้วนเป็นหมู่กรด ถ้าเติมแคลเซียมคาร์บอเนตซึ่งเป็นเบสจะเกิดเกลือแคลเซียมที่ไม่ละลายน้ำ เมื่อสกัดคาเฟอีนด้วยคลอโรฟอร์ม คาเฟอีนซึ่งละลายได้ดีมากในคลอโรฟอร์ม จะอยู่ในชั้นของคลอโรฟอร์ม ส่วนเกลือแคลเซียมของกรดแกลลิก และเกลือของแทนนินซึ่งไม่ละลายในคลอโรฟอร์ม จะยังคงอยู่ในชั้นเอเคเวียส

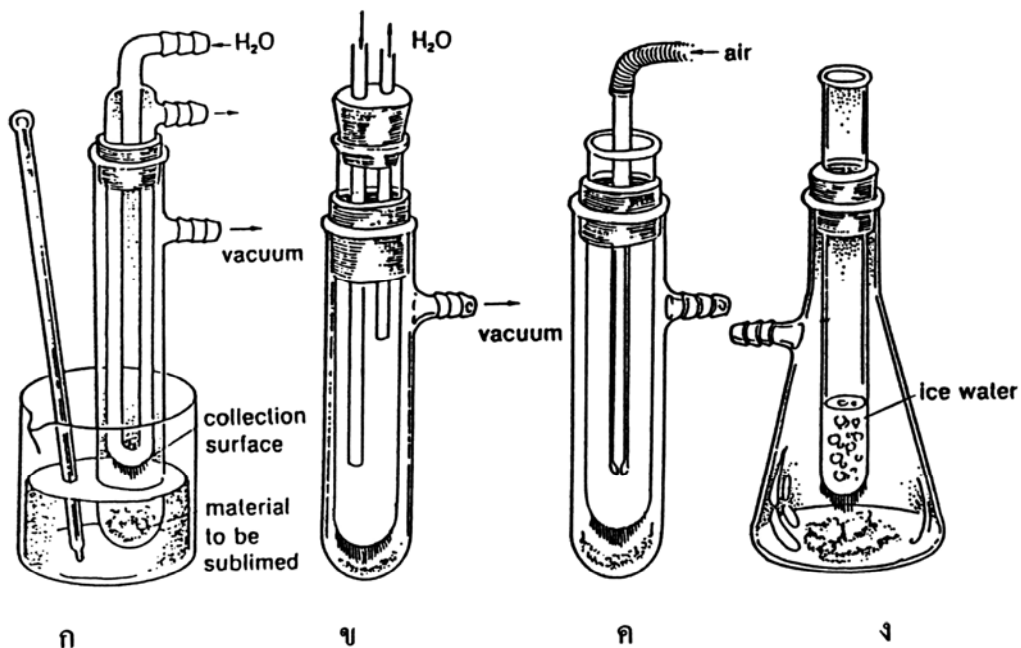
สีน้ำตาลของน้ำชาเกิดจากรงควัตถุแฟลโวนอยด์และคลอโรฟิลล์ ตลอดจนผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากออกซิเดชันของรงควัตถุเหล่านี้ แม้ว่าคลอโรฟิลล์จะละลายในคลอโรฟอร์มได้ แต่สารอื่นๆ ส่วนใหญ่จะไม่ละลาย ดังนั้น การสกัดคาเฟอีนด้วยคลอโรฟอร์ม จึงได้คาเฟอีนที่ค่อนข้างบริสุทธิ์ เมื่อกำจัดคลอโรฟอร์มออกที่จุดเดือด 61 °C จะได้คาเฟอีนที่ยังไม่บริสุทธิ์เพียงพอ จึงต้องทำการตกผลึกใหม่ด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม ซึ่งจะได้คาเฟอีนที่มีสีเขียวอ่อน หรือทำการระเหิดซึ่งจะได้คาเฟอีนที่มีสีขาว(ดูรายละเอียดเกี่ยวกับการระเหิดของคาเฟอีนและรูปที่2.4)

## การพิสูจน์เอกลักษณ์ของคาเฟอีน

เพื่อพิสูจน์เอกลักษณ์ของคาเฟอีน เราจะเตรียมอนุพันธ์ของคาเฟอีน ซึ่งได้แก่ คาเฟอีนซาลิไซเลท (รูปที่ 2.3) คาเฟอีนเป็นเบส เมื่อทำปฏิกิริยากับกรดซาลิไซลิก จะได้เกลือคาเฟอีนซาลิไซเลท เมื่อนำจุดหลอมเหลวของคาเฟอีนและของคาเฟอีนซาลิไซเลทไปเปรียบเทียบกับจุดหลอมเหลวที่บันทึกไว้ในวรรณกรรมเคมี ถ้าจุดหลอมเหลวของสารทั้งสองตรงกับจุดหลอมเหลวที่เคยมีผู้บันทึกไว้ทั้งสองจุด แสดงว่าสารที่สกัดได้เป็นคาเฟอีนจริง



รูปที่ 2.3 ปฏิกิริยาการเตรียมคาเฟอีนซาลิไซเลท



รูปที่ 2.4 เครื่องมือสำหรับการระเหิด

## การทดลองที่ 2

### การแยกคาเฟอีนจากใบชา

#### วิธีทดลอง

#### การแยกคาเฟอีนจากใบชา

ใส่ใบชาแห้ง 25 กรัม ผงแคลเซียมคาร์บอเนต 12 กรัม และน้ำ 250 มิลลิลิตรลงในขวดก้นกลมขนาด 500 มิลลิลิตรที่มีคอนเดนเซอร์เสียบอยู่ ต้มก้น (reflux) สารผสมโดยใช้ตะเกียงเบนเสนให้ความร้อนเป็นเวลา 20 นาที จากนั้นกรองสารละลายชาขณะร้อนผ่านเครื่องกรองตุต อาจต้องเปลี่ยนกระดาษกรองถ้าเกิดการอุดตัน หลังจากกรองแล้ว ปล่อยให้สารละลายเย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้อง แล้วเทสารละลายในกรวยแยก สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม 2 ครั้งๆ ละ 25 มิลลิลิตร การสกัดคาเฟอีนจากสารละลายชาโดยใช้คลอโรฟอร์ม จะเกิดอิมัลชันอย่างรุนแรง ให้ไขชั้นอิมัลชันที่ได้จากการสกัดทั้งสองครั้งรวมกันในบีกเกอร์ ใส่ anhydrous  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  ~1.0 - 2.0 กรัม เขย่าและทิ้งไว้สักครู่ จะเห็นชั้นคลอโรฟอร์ม (สีเหลืองใส) แยกออก เทสารละลายที่แยกชั้นแล้วกลับเข้าไปในกรวยแยก โดยเทผ่านกรวยกรองที่อุดด้วยสำลีเล็กน้อยเพื่อมิให้ anhydrous  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  ตกลงไป ในกรวยแยก แยกชั้นคลอโรฟอร์มออก แล้วใส่ anhydrous  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  อีกครั้งหนึ่งเพื่อทำให้สารละลายแห้ง นำสารละลายดังกล่าวไปกลั่นแบบธรรมดา โดยใช้ steam bath เป็นตัวให้ความร้อนเพื่อกำจัดคลอโรฟอร์ม เมื่อกลั่นจนเหลือคลอโรฟอร์มในขวดกลั่นประมาณ 10 มิลลิลิตรให้หยุดกลั่น เทสารละลายคลอโรฟอร์มในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร กลั้วขวดกลั่นด้วยคลอโรฟอร์ม 5-10 มิลลิลิตร แล้วเทรวมกันในบีกเกอร์ ระเหยคลอโรฟอร์มจนแห้งบน steam bath ในตู้ควัน จะเหลือตะกอนคาเฟอีนแห้งในบีกเกอร์

คาเฟอีนที่ได้ยังไม่บริสุทธิ์ (crude caffeine) นำมาทำการตกผลึกใหม่โดยใช้ตัวทำละลายผสม ชั้นแรก ให้ละลายคาเฟอีนในเบนซีนร้อน (ใส่เบนซีนร้อนที่ละลายจนคาเฟอีนละลายหมด) แล้วหยดปิโตรเลียมอีเทอร์ (จุดเดือด  $60^\circ - 90^\circ$  หรือ ligroin) ในสารละลายร้อนจนสารละลายขุ่นหยุดต่อจนสารละลายไม่ขุ่นมากกว่านี้ให้หยุด ปล่อยให้สารละลายเย็นลงหรือแช่ในน้ำแข็ง จะได้ผลึกคาเฟอีนสีเขียวย่อ่น กรองผลึกโดยวิธีกรองตุต เปิดเครื่องกรองตุตทิ้งไว้สักครู่ใหญ่ๆ เพื่อให้ผลึกแห้ง ชั่งน้ำหนักคาเฟอีนที่ได้ คำนวณหาร้อยละของผลิตภัณฑ์ที่ได้และหาจุดหลอมเหลว

อีกวิธีหนึ่งที่จะทำให้ได้คาเฟอีนที่บริสุทธิ์ คือทำการระเหิดคาเฟอีน เครื่องมือที่ใช้ในการระเหิดมีหลายแบบดังแสดงในรูปที่ 2.4

## การเตรียมคาเฟอีนซาลีไซเลต

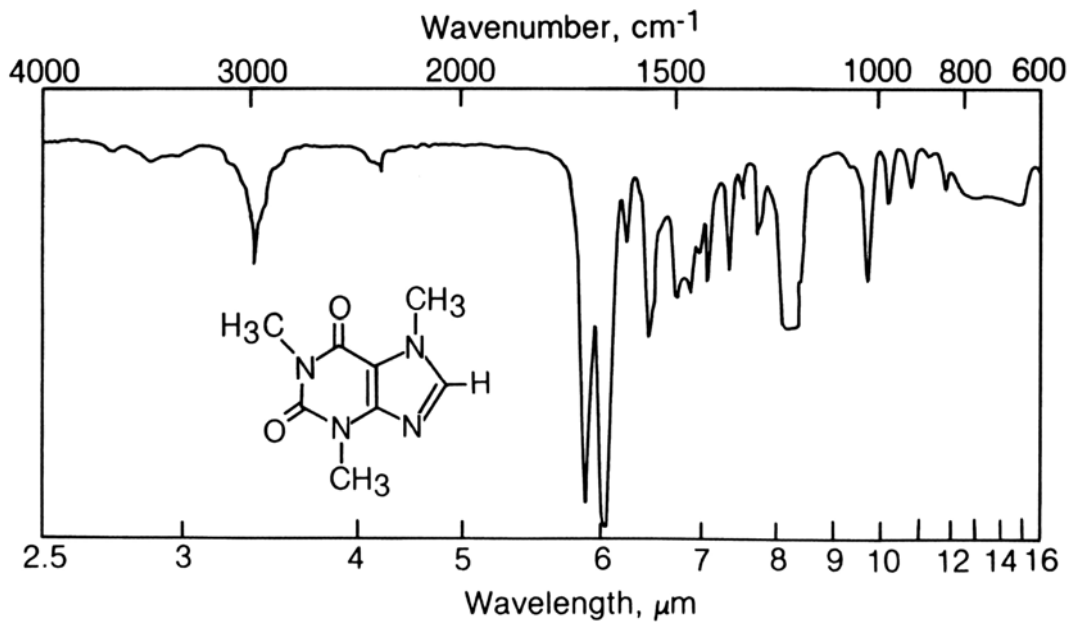
ละลาย 0.2 กรัมของคาเฟอีน และ 0.15 กรัมของกรดซาลีไซลิกใน 15 มิลลิลิตรของเบนซีนในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตรโดยอุ่นสารผสมในหม้ออังไอน้ำแล้วเติม 5 มิลลิลิตรของปิโตรเลียมอีเทอร์ ปล่อยให้สารละลายเย็นลงหรือแช่ในน้ำแข็ง ใช้แท่งแก้วชูดข้างบีกเกอร์จะช่วยให้ผลึกตกเร็วขึ้น กรองดูดผลึกแล้วทิ้งไว้ให้แห้ง ชั่งน้ำหนัก และหาจุดหลอมเหลวของคาเฟอีนซาลีไซเลต คำนวณเปอร์เซ็นต์ผลได้ของผลิตภัณฑ์ จดผลการทดลอง

## การระเหิดของคาเฟอีน

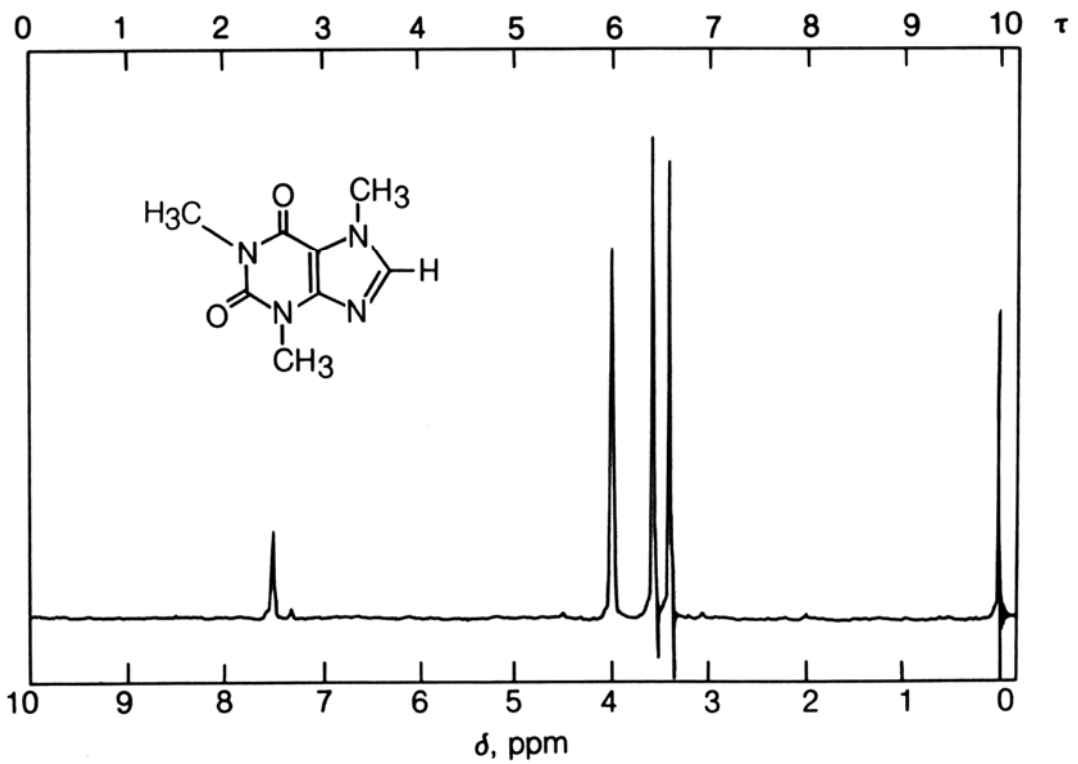
จัดเครื่องมือดังแสดงในรูปที่ 2.4 (ง) ซึ่งประกอบด้วย suction flask และหลอดแก้วซึ่งสอดผ่านจุกยางเข้าไปใน suction flask ใส่ผลึกคาเฟอีนใน suction flask และใส่น้ำแข็งทุบผสมน้ำในหลอดแก้ว เมื่อจัดเครื่องมือดังแสดงในรูปที่ 2.4 (ง) เรียบร้อยแล้ว ใช้ตะเกียงเบนเสนซึ่งปรับไฟอ่อนๆ ลนรอบๆ suction flask บริเวณที่มีคาเฟอีนอยู่อย่างระมัดระวัง คาเฟอีนจะระเหิดกลายเป็นไอ เมื่อไอของคาเฟอีนปะทะกับหลอดแก้วที่เย็น จะทำให้คาเฟอีนแข็งตัวจับที่ผิวด้านนอกของหลอดแก้ว อย่าใช้ไฟแรงเกินไป เพราะจะทำให้คาเฟอีนที่เกาะหลอดแก้วหลอมละลายได้ จึงต้องเอาตะเกียงออกบ้างสักครู่หนึ่ง แล้วจึงลนไฟต่อ เมื่อคาเฟอีนระเหิดหมดแล้ว ดับตะเกียงแล้วปล่อยให้อุปกรณ์ทั้งหมดเย็นลง

ปิดเครื่องกรองดูด ดึงสายยางด้านข้างของ suction flask ออก ค่อยๆ หมุนหลอดแก้วออกโดยไม่กระทบด้านข้างของ suction flask มิฉะนั้น ผลึกที่เกาะที่หลอดแก้วอาจหลุดออกค่อยๆ เทน้ำแข็งผสมน้ำที่อยู่ด้านในหลอดแก้วออก ใช้แท่งแก้วชูดผลึกออกจากด้านนอกของหลอดแก้ว นำไปชั่งน้ำหนักและหาจุดหลอมเหลว เปรียบเทียบจุดหลอมเหลวของคาเฟอีนที่ทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีนี้กับที่ได้จากการตกผลึกใหม่

IR และ NMR สเปกตรัมของคาเฟอีนแสดงอยู่ในรูปที่ 2.5 และ 2.6



รูปที่ 2.5 อินฟราเรด สเปคตรัมของคาเฟอีน



รูปที่ 2.6 <sup>1</sup>H-NMR สเปคตรัมของคาเฟอีน



## คำถามท้ายบท

1. เหตุใดการสกัดคาเฟอีนจากใบชาด้วยคลอโรฟอร์ม 3 ครั้งๆ ละ 15 มิลลิลิตรจึงดีกว่าสกัดครั้งเดียวโดยใช้คลอโรฟอร์ม 45 มิลลิลิตร
2. ท่านคิดว่าสีเขียวอ่อนของสารละลายคลอโรฟอร์มเกิดจากสารอะไร เหตุใดสีเขียวอ่อนนี้ จึงไม่เห็นในช่วงแรกของการทดลอง
3. ในการสกัดคาเฟอีนจากใบชา ถ้าเติมกรดในสารละลายเอเควีลของคาเฟอีน ท่านสามารถสกัดคาเฟอีนเข้าไปในชั้นคลอโรฟอร์มได้หรือไม่ เพราะเหตุใด
4. พิจารณาจากโครงสร้างของคาเฟอีน
  - ก. ไนโตรเจนอะตอมใดในโมเลกุลของคาเฟอีนมีความเป็นเบสสูงสุด
  - ข. หมู่ OH ใดในแทนนินที่มีความเป็นกรดสูงสุด
5. ในการสกัดคาเฟอีนด้วยคลอโรฟอร์ม ท่านมีวิธีแก้ไขอิมัลชันที่เกิดได้อย่างไร
6. สารดูดน้ำ (drying agent) มีวิธีการทำงานอย่างไร
7. จงอธิบายหลักการตกผลึกโดยใช้ตัวทำละลายผสม
8. แทนนินใช้ประโยชน์อะไรได้บ้าง
9. วาดรูปเครื่องมือที่ใช้ในการระเหิดภายใต้สภาวะลดความดัน พร้อมกับอธิบายการทำงานของเครื่องมือดังกล่าว
10. จงวิเคราะห์พีคต่างๆ ที่ปรากฏใน IR และ NMR สเปกตรัมของคาเฟอีน (รูปที่ 2.5 และ 2.6) อย่างละเอียดว่า พีคใดเกิดจากโครงสร้างส่วนใดของคาเฟอีน