

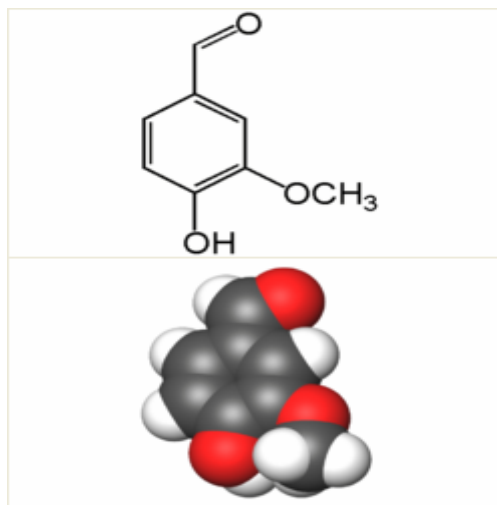
# บทที่ 9

## การหาปริมาณ vanillin ใน vanilla extract โดย Ultraviolet Spectrophotometric Method

### วัตถุประสงค์

เพื่อเรียนรู้วิธีการหาปริมาณ vanillin ในสารสกัดจาก vanilla โดยใช้ ultraviolet spectrophotometric method

Vanillin หรือ methyl vanillin เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีสูตรโมเลกุล  $C_8H_8O_3$  และมี functional group ประกอบด้วย aldehyde, ether และ phenol สารประกอบชนิดนี้จัดเป็นองค์ประกอบหลักที่พบในฝัก vanilla (vanilla bean)



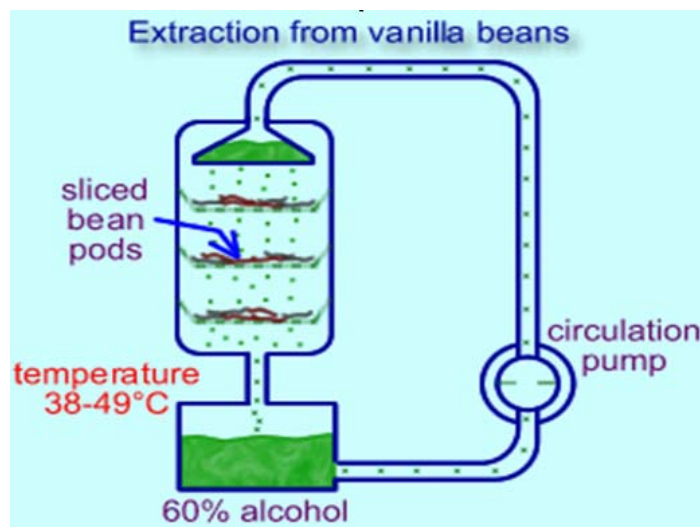
ภาพที่ 9.1 โครงสร้างทางเคมีของ vanillin

ที่มา : <http://www -Vanillin - Wikipedia, the free encyclopedia.htm>



ภาพที่ 9.2 ฝัก vanilla

ที่มา : <http://www.-Vanillin-Wikipedia,the-free-encyclopedia.htm>



ภาพที่ 9.3 การสกัด natural vanilla extract โดยใช้ ethyl alcohol เป็นตัวทำละลาย

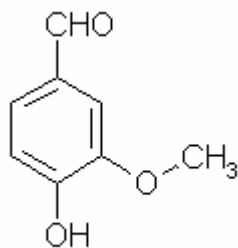
ที่มา : <http://www.EssentialOilscomponentsandessentialoilsChemistry-PureEssentialInc.htm>

Natural vanilla extract ประกอบไปด้วยสารประกอบหลายร้อยชนิด นอกเหนือจาก vanillin ในขณะที่ Artificial vanilla flavoring จะประกอบไปด้วย synthetic pure vanillin เนื่องจาก natural vanilla extract มีราคาแพง ปัจจุบันจึงมีการสังเคราะห์ vanillin เพื่อใช้ในอุตสาหกรรม การสังเคราะห์ vanillin สามารถทำได้โดยใช้ natural compound คือ eugenol เป็นสารตั้งต้น ปัจจุบันสามารถสังเคราะห์ได้โดยใช้ petrochemical guaiacol หรือจาก lignin ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมกระดาษ

## วิธีการทดลอง

### การเตรียม standard curve

- ละลาย vanillin 0.100 กรัมใน แอลกอฮอล์ 5 มิลลิลิตร ถ่ายลงใน volumetric flask 100 มิลลิลิตรจากนั้นเจือจางให้มีปริมาตร 100 มิลลิลิตรโดยใช้น้ำกลั่น ปิดเตต สารละลายที่ได้มา 5, 10 และ 15 มิลลิลิตรใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วเจือจางด้วยน้ำให้ได้ปริมาตร 250 มิลลิลิตร ( solution x ) จากนั้นเขย่าให้เข้ากัน
- ปิดเตตสารละลาย x ในแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 10 มิลลิลิตรลงใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร เจือจางให้มีปริมาตรเท่ากับ 100 มิลลิลิตรโดยใช้น้ำกลั่น จากนั้นเขย่าให้เข้ากัน
- เตรียมสารละลาย x อีกชุดหนึ่งโดยปิดเตตสารละลาย x มา 10 มิลลิลิตรเติมน้ำกลั่น ประมาณ 80 มิลลิลิตรจากนั้น เติมสารละลาย NaOH ความเข้มข้น 0.1 N ปริมาณ 2 มิลลิลิตร แล้วเจือจางโดยใช้น้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตรจากนั้นเขย่าให้เข้ากัน
- หาค่าการดูดกลืนแสงของ alk. solution ที่ความยาวคลื่น 348 นาโนเมตร โดยใช้ neut. Solns เป็น reference blank
- นำข้อมูลที่ได้มาพล็อตกราฟของสารละลาย vanillin มาตรฐาน



ภาพที่ 9.4 vanilla extract

#### การหาปริมาณ vanillin ในตัวอย่าง

ปิเปตตัวอย่าง 10 มิลลิลิตรลงใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร เจือจางโดยใช้น้ำกลั่นให้มีปริมาตร 100 มิลลิลิตร จากนั้นเขย่าให้เข้ากัน ปิเปต diluted solution ที่ได้นี้ 2 มิลลิลิตรลงใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร 2 ขวด จากนั้นเจือจางโดยใช้น้ำกลั่นให้มีปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำตัวอย่างที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ ความยาวคลื่น 348 นาโนเมตร

**วิธีการใช้เครื่อง UV-VISIBLE Spectrophotometer (Shimadzu UV-160A) เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารโดยวัดค่าการดูดกลืนแสง (quantitative analysis with linear working curve)**

1. เปิด switch เครื่อง UV-VISIBLE Spectrophotometer ซึ่งอยู่บริเวณด้านข้างของเครื่อง จากนั้นรอประมาณ 3 นาที หน้าจอของเครื่องจะแสดง basic mode menu

2. ในกรณีที่ต้องการทำการวิเคราะห์หาปริมาณสาร ให้เลือก mode 5 โดยกดเลข 5 แล้วกด Enter
  - หน้าจอจะขึ้นหน้า Quant. โดยเครื่องจะถาม parameter change y/n?
  - การตั้งค่าความยาวคลื่นที่จะใช้ในการวิเคราะห์ที่ความยาวคลื่นเดียวทำได้โดย กด yes แล้วกด 1 แล้วกด Enter แล้วเลือก 1 และกด Enter จากนั้นพิมพ์ค่าความยาวคลื่นที่ต้องการวิเคราะห์ในกรณีนี้ให้ตั้งค่าความยาวคลื่นที่ 348 นาโนเมตร จากนั้นจึงกด Enter
  - หน้าจอจะขึ้นหน้า Quant. โดยเครื่องจะถาม parameter change y/n?
  - กด 2 แล้วกด Enter แล้วใส่จำนวนสารมาตรฐานที่ต้องการวัดค่า (N) จากนั้นกด Enter
  - หน้าจอจะขึ้นหน้า Quant. โดยเครื่องจะถาม parameter change y/n?
  - กด 3 แล้วกด Enter แล้วใส่ Sample no. ที่ต้องการวัดค่า แล้วกด Enter
  - หน้าจอจะขึ้นหน้า Quant. โดยเครื่องจะถาม parameter change y/n?
  - กด 5 แล้วกด Enter (Non-linear working curve) ให้เลือก No
3. เมื่อทำการเลือกค่า parameter ต่างๆแล้ว เครื่องจะถาม ABS Data Manual Input y/n? ให้กด no จากนั้นนำ สารมาตรฐานมาวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยเริ่มจากสารมาตรฐานตัวที่ 1
4. เมื่อทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานทุกตัวอย่างเสร็จเรียบร้อยแล้ว หน้าจอจะขึ้น working curve display y/n ? ให้กด yes หน้าจอ CRT จะแสดง working curve จากนั้นระบบจะถาม working curve conc max change y/n? ในกรณีที่ต้องการเปลี่ยน working curve concentration axis scale ให้กด yes แล้วใส่ค่า concentration value แล้วกด Enter ในกรณีที่ไม่ต้องการเปลี่ยนให้กด No เครื่องจะแสดง working curve และ equation ที่หน้าจอ
5. ใส่ตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์จากนั้นกด ปุ่ม start/stop เพื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

### การบันทึกผลการทดลอง

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน vanillin	ค่าการดูดกลืนแสง
1	
2	
3	
ตัวอย่าง <b>Vanilla extract</b>	

### การรายงานผลการทดลอง

1. plot graph ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย vanillin มาตรฐาน
2. หาความเข้มข้นของ vanillin ในตัวอย่างสารสกัด vanilla