تقدير كمية الكافائين في المشروبات الغازية لمنتجات شركة بغداد باستخدام تقنية HPLC

نهى عبد الجليل عمران
قسم الكيمياء – كلية العلوم – جامعة ديالى

الخلاصة

تم استخدام تقنية الكروماتوغرافيا السائلة عالية الاداء (HPLC) لقياس كمية الكافائين في المشروبات الغازية لشركة بغداد وهي البيبسي، البيبسي دايت, السفن, السفن دايت, الميرندا تفاح والميرندا برتقال ، وتم انجاز التحليل الكروماتوغرافي لقياس الكافائين باستخدام (اسيتونتريل : ماء) كطور متحرك 50% وعمود C8 كطور ثابت وبتحسس مقداره 273 nm كطول موجي لمقياس طيف UV . وتم حساب قيم الانحراف القياسي النسبي (RSD%) وقد تراوحت هذه القيم لزمن الاحتجاز Retention time ما بين (0.104-0.515%) اما قيم (RSD%) لمساحة القمة Peak Area فكانت تتراوح بحدود(1.319-7.741%) .

مفاتيح البحث: الكروماتوغرافيا السائلة عالية الاداء ، اسيتونتريل, C8 ، المشروبات الغازية ، الكافائين .

Determination of caffeine content in Baghdad Soft Drinks Company products using HPLC technique

Nuha .A. j .Imran
Department of Chemistry, College of Science, University of Diyala.

Abstract

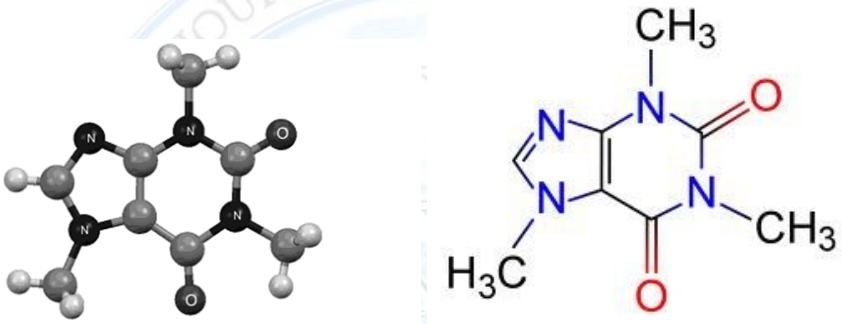
A high- performance Liquid chromatography method was employed for the quantitative determination of Caffeine in several soft drinks produced in Baghdad company such as Pepsi, Pepsi diet, seven, seven diet, Miranda orange and Miranda apple .The chromatographic analysis of caffeine was carried out after their sequential elution with 50% (Acetonitrile: water) as mobile phase by reverse- phase HPLC technique C8 Column and UV detection was

made at 273nm. Calculated (RSD%) values for retention time was obtained between (0.104-0.515%) and (RSD%) for Peak Area was (1.319-7.741%) .

Key words: HPLC, Acetonitrile, C8 ,Soft drinks , Caffeine

المقدمـــة

الكافائين caffeine هو عبارة عن مركب عضوي يتكون من العناصر الشائعة مثل الكاربون والهيدروجين والنيتروجين والأوكسجين ، والصيغة الجزيئية له هي $C_8H_{10}N_4O_2$



والكافائين هو الاسم الشائع للمركب 1,3,7-trimethylxanathine ويعتبر الكافائين من المركبات القلوية وهو شائع الوجود في نباتات الشاي وحبوب القهوة وألياف النباتات وكذلك البندق البني . كما يوجد في أكثر من 63 نبات منتشر في مختلف أنحاء العالم [2,1] .

الكافائين caffeine هو منبه مباشر معتدل لكل مستويات الخلايا العصبية CNS والذي يحفز النظام العضلي للقلب , وهو منبه للجهاز التنفسي المركزي وانبساط العضلة الشعيبية الملساء , ومنبه ايضا للعضلات الإرادية وإفراز الحامض المعدي, ويزيد من سرعة جريان الدم في الكلية وهو مدر بولي معتدل [3].

تعتبر تقنية الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء طريقة بسيطة وسريعة ودقيقة وذات انتقائية وحساسية عالية ويمكن ان تستخدم لتقدير الكافائين في المركبات الدوائية مثل الباراستيول من دون تداخلات (interference) [4] .

تستخدم تقنية الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) لفصل وتقدير الكافائين caffeine والثيوبرومين theobromine والثيوفلين theophlline الموجودة في الأطعمة والمشروبات والمنتجات العشبية وبحدود كشف تصل الـــى (0.2 - 0.07 ppm) [5] .

تحتوي الانواع المختلفة من الشاي على كميات عالية من الكافائين caffeine بالإضافة الى كل من Catechins وgallicacid ، وتعتمد نسب هذه المكونات على نوعية نباتات الشاي ودرجة التخمر خلال تحضيره [6].

ويضاف الكافائين المنبه الى المشروبات الغازية وهي مشروبات صناعية مضاف اليها مواد حافظة وغازات ونكهات تعطي الطعم المميز الذي يختلف من نوع إلى آخر وحسب النكهة المضافة وتتكون المشروبات الغازية والعصائر من الماء بنسبة 85% من حجم المنتوج والسكر الذي يكسب الطعم الحلو المرغوب فيه إضافة إلى الحوامض مثل حامض الستريك والفوسفوريك والكاربونيك وان اختيار نوع الحامض وكميته تعتمد على نوع المنتوج ، و تحتوي علبة الكولا سعة 330 مليلتر على 50-30 ملغرام من الكافائين ، وباستخدام تقنية HPLC يمكن قياس كمية من المواد المختلفة الموجودة في المشروبات الغازية بالإضافة الى الكافائين [8,7] ، وبنفس التقنية تم قياس الكافائين ومواد اخرى في بعض انواع الحلويات [9] .

الجزء العملي

الأدوات والأجهزة المستخدمة :

- جهاز الطرد المركزي EBA20 Heltch
- قناني حجمية (25,1000 mL)
- جهاز قياس الدالة الحامضية (pH meter) لشركة TWT - 7110
- جهاز HPLC لشركة Shimadzu UFLC- 20 AD
- كاشف Shimadzu Detector UV-Vis
- عمود الفصل : Column C8 column HiQ si 250mmx4.6lmm - اليابان
- ميزان الكتروني حساس Electronics Balance
- محقنة لجهاز HPLC syringe
- مدرجة مايكروية micro pipette Eppendorf

المحاليل والمواد المستخدمة

1- الكافائين بنقاوة 99% - شركة BDH

2- بيبسي ،بيبسي دايت ،سفن ،سفن دايت ، ميرندا برتقال وميرندا تفاح (منتجات شركة بغداد).

3- اسيتونتريل C_2H_3N - شركة Sigma Aldrich

4- ماء لا ايوني Deionized water

ظروف HPLC

- العمود : C8
- سرعة الجريان: 1.5 min / ml
- الطور المتحرك : (Acetonitrile : Deionized water) 50:50
- كاشف المنطقة فوق البنفسجية UV detection: 273nm

المحاليل القياسية

تم تحضير المحلول القياسي (stock Solution) بإذابة 1غرام من الكافائين في 1 لتر من الماء اللايوني، منه حضرت سلسلة من المحاليل تراكيزها كالآتي : 40,80,120,160 ppm وكل المحاليل حضرت آنيا واستخدمت لقياس منحني المعايرة للكافائين . وسحب 1 مللتر من عينات البيبسي، والبيبسي دايت، السفن، السفن دايت، الميرندا برتقال، والميرندا تفاح وخففت العينات25 مرة وحضرت في قناني حجمية سعة 25 مللتر .

التحليلات الإحصائية

تم إجراء التحليلات الإحصائية باستخدام معالجة وتقدير البيانات الإحصائية لحساب المعدل الانحراف القياسي النسبي (%RSD)[10] ، وباستخدام برنامج Microsoft Office word تم حساب معامل القياس R^2 ومعادلة الخط المستقيم Y=bx+m

النتائج والمناقشة

منحني المعايرة للكافائين Calibration Curve of Caffeine

كما مبين في (الشكل -1) والذي تم الحصول عليه من تكرارية تحليل كل تركيز من التراكيز المقاسة (40,80,120,160 ppm) ولأربع قراءات متتالية ، حيث تم الحصول على معادلة الخط المستقيم وبالشكل التالي

$$y = 53816x + 66336$$

وكذلك قيمة R^2 تدل وبوضوح على جودة مقبولة لهذه النتائج وكما مبين ادناه

$$R^2 = 0.9959$$

ومن خلال المعاملات الاحصائية (الجدول-1) تظهر تأكيد على مصداقية عالية لقيمة زمن الاحتجاز (retention time) وبدلالة الانحراف القياسي النسبي (RSD%) relative standard deviation حيث تراوحت قيمتها -0.15% (0.81%) وهذا مؤشر على استقرارية عالية للجهاز من الناحية التشغيلية من خلال ثباتية كل من الضغط وسرعة الجريان وما يمثله هذين المؤثرين على كفاءة عمل الجهاز.

اما قيم peak area فقد تراوحت (RSD%) بحدود (2.12%-6.79%) وهي قيم ضمن الحدود المقبولة والشكل -2- يبين ثباتية زمن الاحتجاز لتراكيز مختلفة من الكافائين .

تقدير الكافائين في المشروبات الغازية لشركة بغداد

لقد تم قياس الكافائين في البيبسي ،البيبسي دايت ،الميرندا برتقال والميرندا تفاح كما مبين في (الجدول -2) حيث تم اخذ القراءات التحليلية للكافائين وبتكرارية ثلاث مرات لكل نوع من الانواع المذكورة .

وتم حساب قيم الانحراف القياسي النسبي (RSD%) وقد تراوحت هذه القيم لزمن الاحتجاز Retention time ما بين (0.104%-0.515%) اما قيم (RSD%) لمساحة القمة Peak Area فكانت تتراوح بحدود (1.319%-7.741%) وهي قيم مقبولة ايضا . وتبين ان البيبسي دايت يحتوي على 81.729 ppm (الشكل-3- a) وهي اعلى قيمة ما بين منتجات المشروبات الغازية لشركة بغداد، اما البيبسي العادي فكانت قيمة الكافائين هي 71.974 ppm (الشكل-3- b) وتأتي بالدرجة الثانية من حيث قيمة الكافائين، بينما قيمته في الميرندا برتقال فكانت قليلة جدا حيث سجلت كمية واطئة وبالمقدار 2.656 ppm (الشكل-3- c) في حين كانت قيمته في الميرندا تفاح دون درجة تحسس الجهاز (الشكل-3- d) ، اما بالنسبة للسفن فقد حصلت تداخل قممي ما بين قيمة الكافائين ومكونات اخرى يحتويها هذا النوع (الشكل-4-a) مما تعذر قياس تركيز الكافائين فيه أما السفن دايت كان غير حاوي على الكافائين (الشكل-4-b) .

وللمقارنة بين نتائج البحث الحالي والبحث [11] والمتضمن في الجدول- 3 ، يمكن الاستدلال على ان كمية الكافائين في المشروبات البيبسي دايت يكون اكثر من مثيلاتها في مشروبات البيبسي الاعتيادي وان اختلاف الكميات بين البحثين هو طبيعيا باعتبار ان كمية الكافائين المضافة كمنبه الى المشروبات الغازية تعتمد على الشركة المصنعة .

الاستـنتاج

باستخدام الظروف المثبتة في هذا البحث ، بالإمكان وبشكل يسير تقدير الكافائين في أي نوع من انواع المشروبات الغازية او العصائر او المشروبات الساخنة مثل الشاي والقهوة وكثير من المشروبات الطبيعية ، حيث تبين صلاحية عالية لعمود الفصل C8 في تنفيذ مثل هذه البحوث كما وان تقليل نسبة مذيب الاسيتونتريل الى 50% والمثبتة في هذا البحث بدل النسب العالية من هذا المذيب بالمقارنة مع بحوث اخرى يمكن اعتباره ذات بعد مهم من ناحية اختزال الكلف المصروفة في مثل هذه البحوث وبالتالي زيادة الجدوى الاقتصادية عندما يكون هناك تطبيق عملي لهذه الطريقة في وحدات السيطرة النوعية في مصانع من هذا النوع .

المصادر

1. Victor R. Preedy, Caffeine, chemistry, analysis, function and effects , published by Royal Society of Chemistry, Cambridge ,books.google.com,UK,(2012) .
2. H.N.Wanyika, E. G.Gatebe, L.M.Gitu,E.K.Ngumba and C.W.Maritim, African Journal of Food Science Vol.4(6), pp.353-358, June ,(2010) .
3. Yuegang Z., Hao C. and Yiwei D., Talant 57, pp. 307-316,(2002).
4. Sharm R. C., Mahfuza M.and Mahbubul H. S., Asian J.pharm.Ana , vol.2:Issue 1, P 01-04, (2012) .
5. Branislava S., Vukosava D.M. , Nevena G., Rade I. and zika L., Journal of Chromatographic Science,Vol.46 pp.144-149, February (2008) .
6. V. Pavlova and S. Petrovska – Jovanovic, Acta Chromatographic, No.18, pp.157-167, (2007) .
7. Diane S. Aschenbrenner, Samantha J.Venable, Drug Therapy in Nursing, Wolters Kluwer, Lippincott,Williams & Wikins, books. google.com, (2009) .
8. عصام شاكر حمزة ، امير خضير عباس ، كريم ناظم جلعوط ، سهيلة غفوري علي و سندس علي جاسم International Journal Sciences and Technology, vol.6.No1, p 80-91, march (2011) .
9. Ursula W. R., Wener T., and Andreas W., J. Agric. Food Chem. 58, pp. 12216-12220,(2010) .
10. Douglas A.Akoog , Donald M. West, F. James Holler and Stanley R.Crouch Fundamentals of Analytical Chemistry, 8th edition, Brooks / Cole, adivision of Thomson,(2004) .
11. Mei M. A., Mawahib E., Mohammed I. T., Badawi A. Z. and Abdall A. E., Pakistan Journal of Nutrition 11(4), pp.336-342, (2012) .

جدول -1

نتائج المعاملات الاحصائية لمنحني المعايرة

Sample No.	Peak area	Retention time Min.
40 ppm		
1	2014134	2.310
2	2304815	2.321
3	2105524	2.329
4	2387563	2.352
Mean of areas	2203009	2.328
RSD%	6.79%	0.66%
80 ppm		
1	4758154	2.356
2	4228431	2.356
3	4811313	2.354

4	4278017	2.347
Mean of areas	4518978	2.353
RSD%	5.90%	0.15%
120 ppm		
1	6645466	2.356
2	6159730	2.355
3	6133696	2.344
4	6171010	2.317
Mean of areas	6277475	2.343
RSD%	3.39%	0.67%
160 ppm		
1	8796196	2.316
2	8980455	2.338
3	8489403	2.300
4	8903241	2.288
Mean of areas	8792323	2.310
RSD%	2.12%	0.81%

$$Y= 53816\ X + 66336$$

$$R^2= 0.9959$$

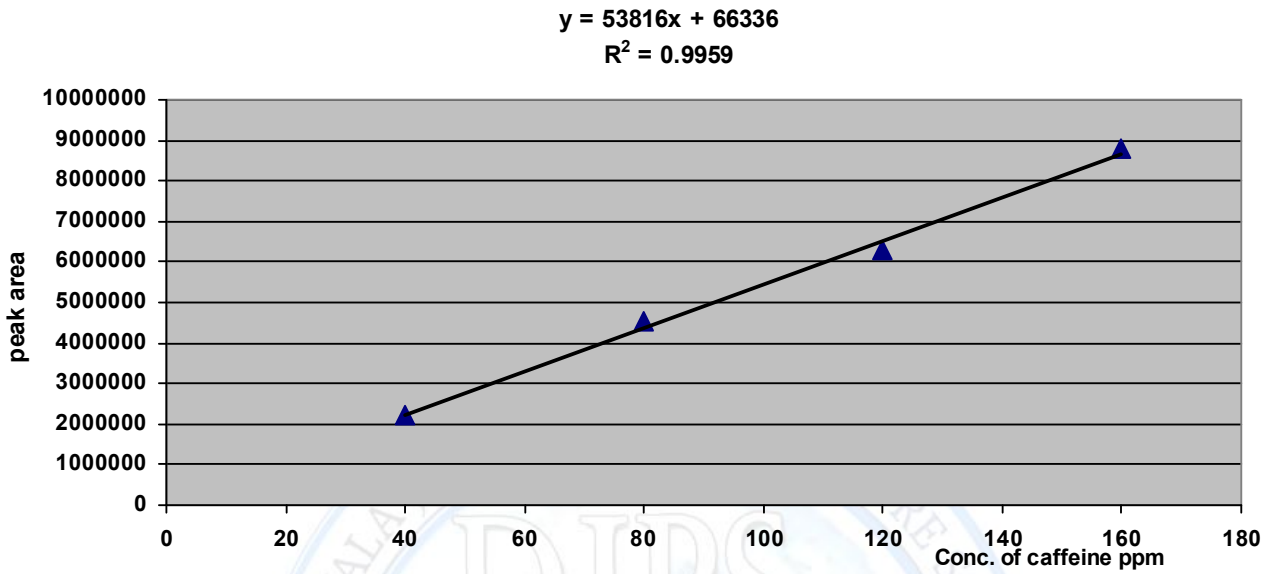


Fig-1 Calibration curve of caffeine

(الشكل-1) منحنى المعايرة لتراكيز مختلفة من الكافائين

جدول - 2

تركيز الكافائين في المشروبات الغازية لشركة بغداد

Brand type	Caffeine Retention time	Caffeine Peak area	Conc. of Caffeine g / l
Pepsi			71.974
1	2.370	217804	
2	2.348	224945	
3	2.350	221069	
Mean	2.356	221272	

RSD%	0.421%	1.319%	
Pepsi diet			81.729
1	2.353	225289	
2	2.358	258399	
3	2.353	243124	
Mean	2.354	242270	
RSD%	0.104%	5.5849%	
Miranda orange			2.656
1	2.283	7945	
2	2.289	8706	
3	2.296	8466	
Mean	2.289	8372	
RSD%	0.232%	3.1049%	
Miranda apple			Nil.
1	2.350	2423	
2	2.347	2043	
3	2.337	2090	
Mean	2.334	2185	
RSD%	0.515%	7.741%	

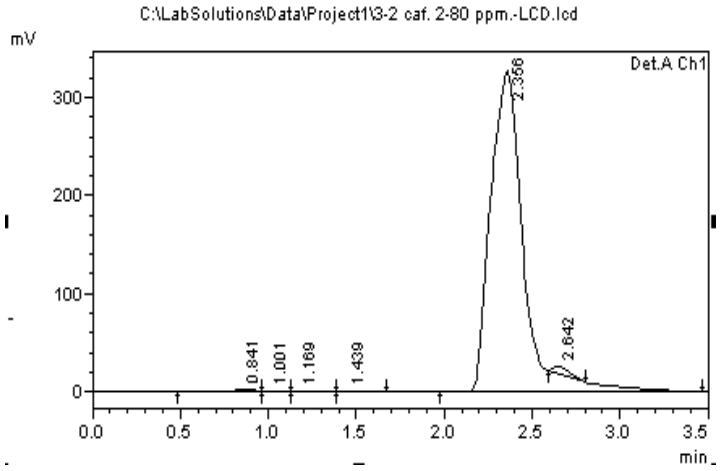
(جدول-3)

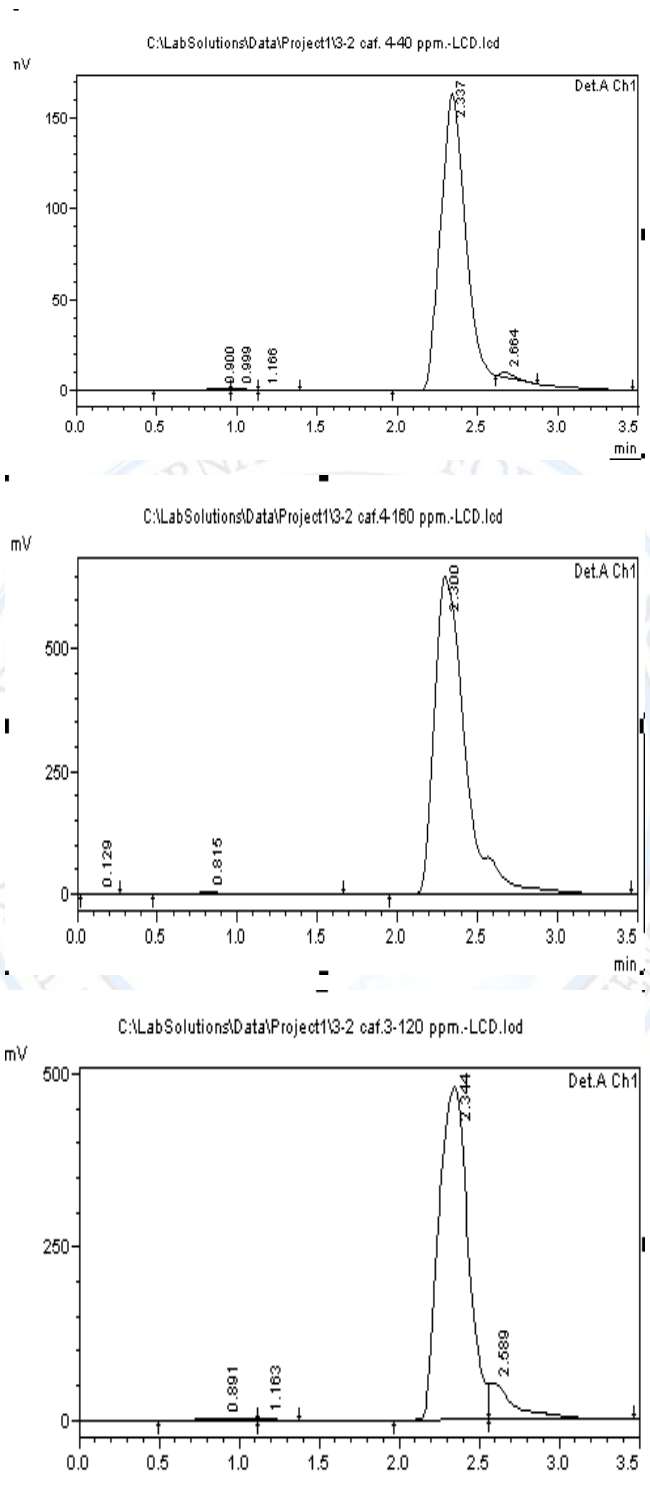
مقارنة كميات الكافائين في المشروبات الغازية في البحث الحالي والمصدر 11

Beverage type	Caff.conc. ppm
Coca cola*	102.8
Rich cola*	77
Vita cola*	32.4
Cola light*	121
Pepsi cola*	106.2
Pepsi cola**	71.974
Pepsi diet*	114.8
Pepsi diet**	81.729

* المصدر 11

** البحث الحالي





الشكل -2- ثباتية زمن الاحتجاز لتراكيز مختلفة من الكافائين

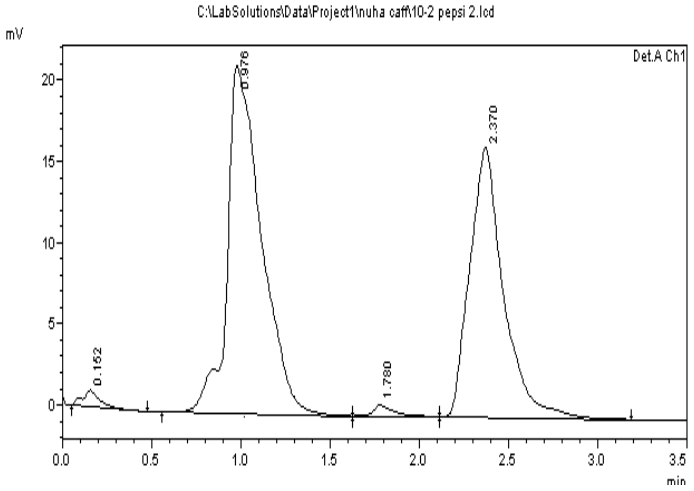


figure (a) pepsi diet

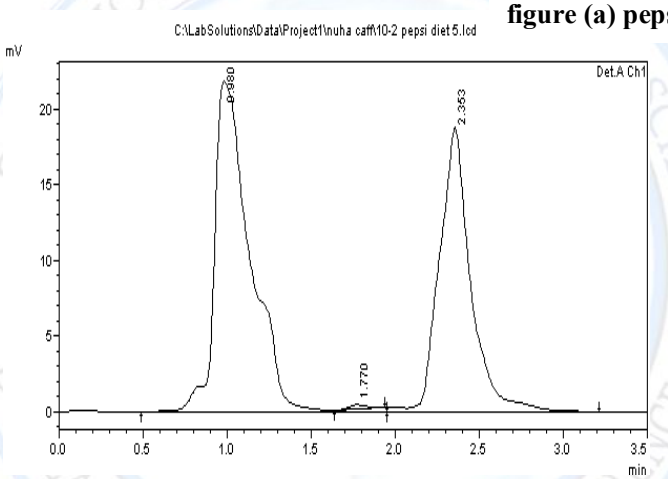


figure (b) pepsi

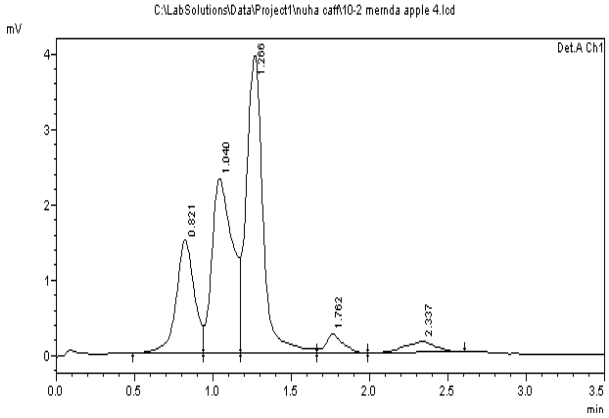


figure (c) meranda orange

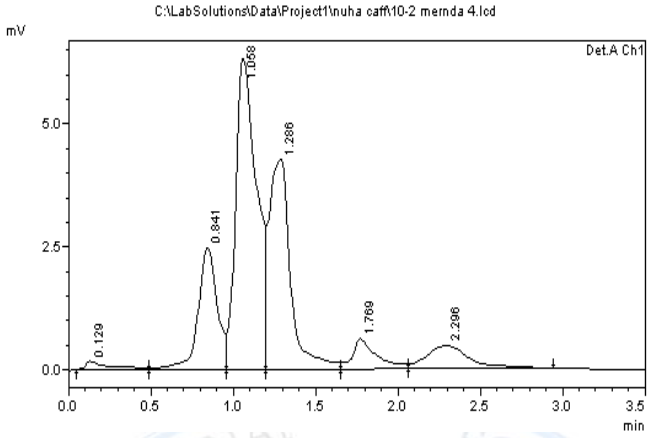


figure (d) meranda apple

الشكل -3- مساحات القمم لمجموعة من المشروبات الغازية لشركة بغداد

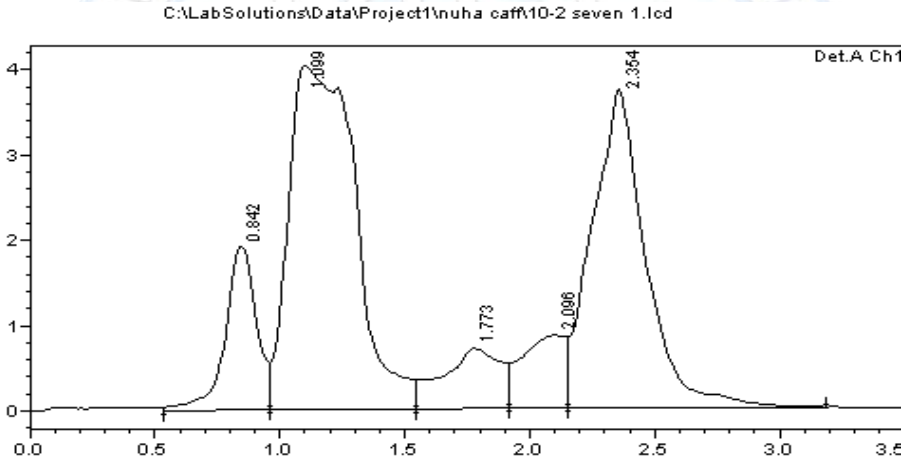


figure (a) seven

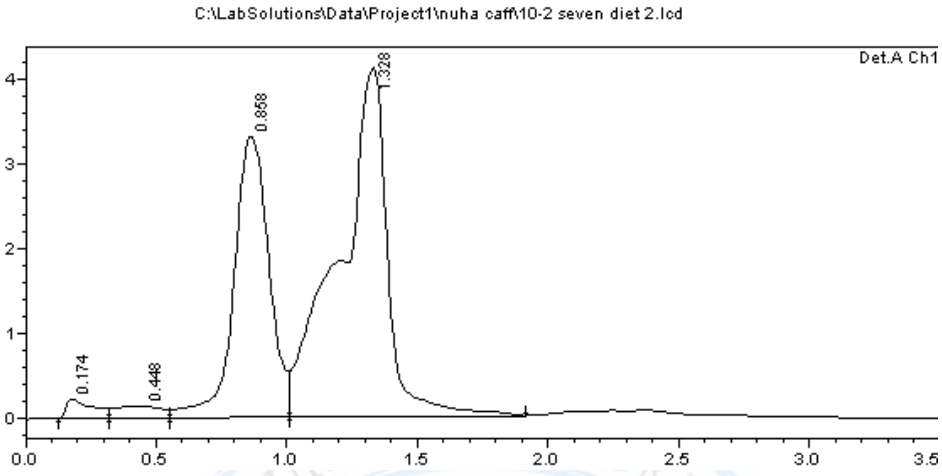


figure (b) seven diet

الشكل -4- مساحات القمم لكل من السفن دايت والسفن لمشروبات شركة بغداد