

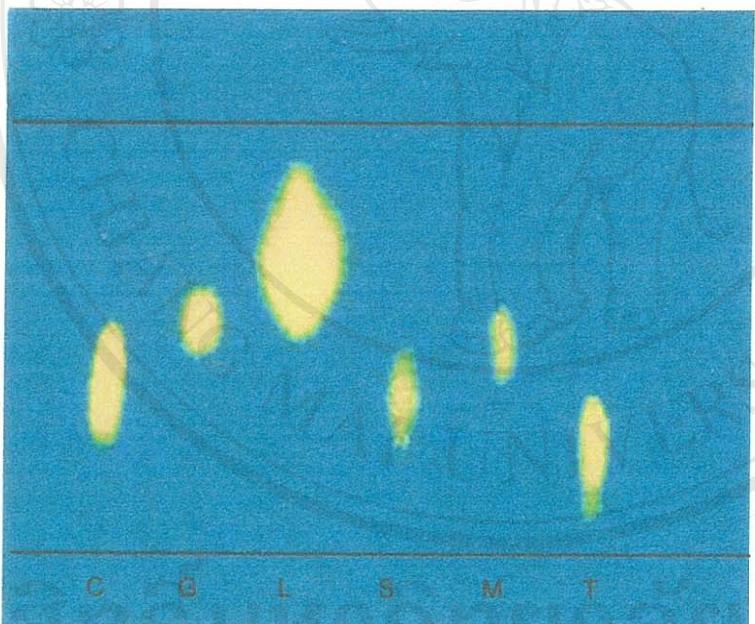
บทที่ ๓

ผลการทดลอง

๑. การสกัดและคัดแยกกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีจากผักปูย่า

๑.๑ การทดสอบเบื้องต้นหารครดแอลฟ้าไฮดรอกซีในผักปูย่า

เมื่อนำสารสกัดน้ำเข้มข้นจากใบผักปูย่ามาทดสอบหากรดเบื้องต้นโดยเทคนิคโคมามาโต กราฟกระดาษ โดยใช้น้ำยาชีว เอ็น-บิวทานอล, กรดอะซิติก และน้ำ ($4 : 1 : 1$) และน้ำยาชีว เอ็น-โปรปานอล และแย้อมโนนีบิมไฮดรอกไซด์ ($6 : 4$) ได้ผลการทดลองดังนี้



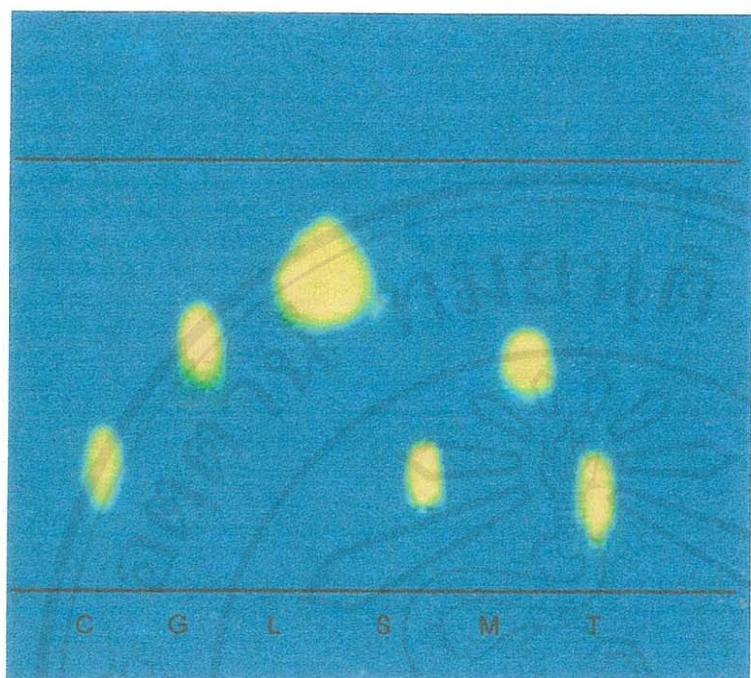
C= กรดซิตริก, G= กรดไอก็อกโคลิก, L= กรดแลตติก, S= สารตัวอ่อน, M= กรดมาเลิก, T= กรดฟาร์ฟาริก

รูป ๘ แสดง โคมามาโตแกรม ๑ มิติของสารสกัดน้ำเข้มข้นจากใบผักปูย่าเทียบกับกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีมาตรฐาน ๕ ชนิดในน้ำยาชีว เอ็น-บิวทานอล, กรดอะซิติก และน้ำ ($4 : 1 : 1$)

ตาราง 1 แสดงค่า Rf ของสารสกัดน้ำเข้มข้นจากใบผักปูย่าและกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีมาตรฐาน 5
ชนิดในน้ำยาชง เอ็น-บีวานอล, กรดอะซิติก และน้ำ (4 : 1 : 1)

กรดอินทรีย์	ค่า Rf
กรดอะซิติก	0.42
กรดไกกลโคลิก	0.58
กรดแลคติก	0.75
สารสกัดน้ำจากใบผักปูย่า	0.42
กรดมาลิก	0.55
กรดทาร์ทาริก	0.28

จากโปรแกรมรูป 8 ได้ค่า Rf แสดงดังตาราง 1 พบว่าค่า Rf ของสารสกัดน้ำเข้มข้น
จากใบผักปูย่าเท่ากับค่า Rf ของกรดอะซิติกเท่ากับ 0.42 คาดว่าใบผักปูย่ามีกรดอะซิติกอยู่



C= กรณีชิตริก, G= กรณีกลโตกิก, L= กรณีแลกติก, S= สารสกัดน้ำ, M= กรณามาลิก, T= กรณทาร์ทาเริก

รูป 9 แสดงโคมาร์โตรแกรม 1 มิติของสารสกัดน้ำเข้มข้นจากใบผักปูย่าเทียบกับกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีเมตสูน 5 ชนิดในน้ำยาชา เอ็น-โพรปานอล และแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (6 : 4)

ตาราง 2 แสดงค่า Rf ของสารสกัดน้ำเข้มข้นจากใบผักปูย่าและกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีเมตสูน 5 ชนิดในน้ำยาชา เอ็น-โพรปานอล และแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (6 : 4)

กรดอินทรีย์	ค่า Rf
กรณีชิตริก	0.34
กรณีกลโตกิก	0.64
กรณีแลกติก	0.81
สารสกัดน้ำจากใบผักปูย่า	0.34
กรณามาลิก	0.60
กรณทาร์ทาเริก	0.28

จากโคมาร์โตรแกรมรูป 9 ได้ค่า Rf แสดงดังตาราง 2 พบร่วมค่า Rf ของสารสกัดน้ำเข้มข้นจากใบผักปูย่าเท่ากับ 0.34 คาดว่าใบผักปูย่าน่าจะมีกรณีชิตริกอยู่

1.2 การสกัดพืชตัวอ่อนย่างและแยกกรดแอลฟ้าไอกรอกซีด้วยเทคนิคโกรมาโทกราฟี

ตาราง 3 แสดงผลการสกัดพืชตัวอย่างผักปูย่าและแยกกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีด้วยเทคนิค โกรมาโทกราฟีคอลัมน์

พืชตัวอย่าง	น้ำหนัก (กรัม)	คิดเป็นร้อยละของ ใบผักปูย่าแห้ง
น้ำหนักใบผักปูย่าแห้งที่นำมาสกัด	500.00	100.00
น้ำหนักสารสกัดเมล็ดทานตะวัน	89.99	18.00
น้ำหนักสารสกัดน้ำขี้มขัน	40.98	8.20
น้ำหนักกรดแลอฟ้าไซครอคซีที่แยกไว้	2.48	0.50

ตาราง 4 แสดงผลการแยกกรดแอลฟ้าไซรอกซีจากใบผักปูย่าด้วยเทคนิคโครงสร้างภาพฟื้กกลั่มน้ำ

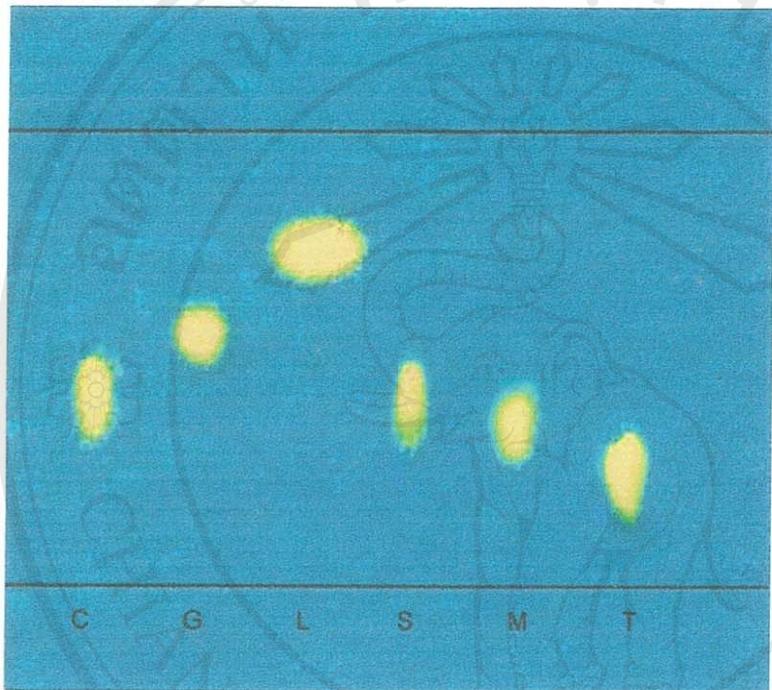
คอลัมน์ชิลิกาเจล	อัตราส่วนน้ำยาชา คลอรอฟอร์ม : เมทานอล	Fraction ที่มีกรด
ครั้งที่ 1	8 : 2	81-98
ครั้งที่ 2	8 : 2	66-79
ครั้งที่ 3	8 : 2	43-55

การสกัดพืชตัวอย่าง โดยนำใบผักปูย่าแห้งน้ำหนัก 500 กรัม มาทำการสกัดด้วยสารละลายเมทานอล โดยวิธี Reflux ได้สารเมทานอลเข้มข้นหนัก 89.99 กรัม คิดเป็นร้อยละ 18 นำไปผ่าน kolamn ไค ไอ โวนเรชิน เอชพี-20 ได้สารสกัดน้ำเข้มข้นหนัก 40.98 กรัม คิดเป็นร้อยละ 8.20 จากนั้นนำมาแยกกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีด้วยเทคนิคโคมาราฟิคอลัมน์ พบว่ากรดถูกชะออกมาก่อนมาเมื่อผ่าน kolamn ครั้งที่ 3 ในน้ำยาชะ คลอโรฟอร์มและเมทานอลในอัตราส่วน 8 : 2 ใน fraction ที่ 43-55 ซึ่งเป็นสารละลายตีเหลืองใส นำมารวมกันแล้วทิ้งไว้ให้ตกร่องได้กรดหนัก 2.48 กรัม คิดเป็นร้อยละ 0.50

1.3 การพิสูจน์เอกสารลักษณ์กรรมแอลฟ้าไฮดรอกซีที่แยกได้

1.3.1 การพิสูจน์เอกสารลักษณ์โดยเทคนิคโปรแกรมโตกราฟีกระดาษ

ก. โดยเทคนิคโปรแกรมโตกราฟีกระดาษชนิด 1 มิติ ในน้ำยาอะ เอ็น-บิวทานอล, กรรมอะเซติก และน้ำ (4 : 1 : 1)



C= กรรมชีตริก, G= กรรมไกลโคลิก, L= กรรมแลคติก, S= สารตัวอย่าง, M= กรรมมาลิก, T= กรรมฟาร์ฟาริก

รูป 10 แสดงโปรแกรม 1 มิติของกรรมแอลฟ้าไฮดรอกซีจากใบผักบูรเขียนกับกรรมแอลฟ้าไฮดรอกซีม่าตรฐาน 5 ชนิดในน้ำยาอะ เอ็น-บิวทานอล, กรรมอะเซติก และน้ำ (4 : 1 : 1)

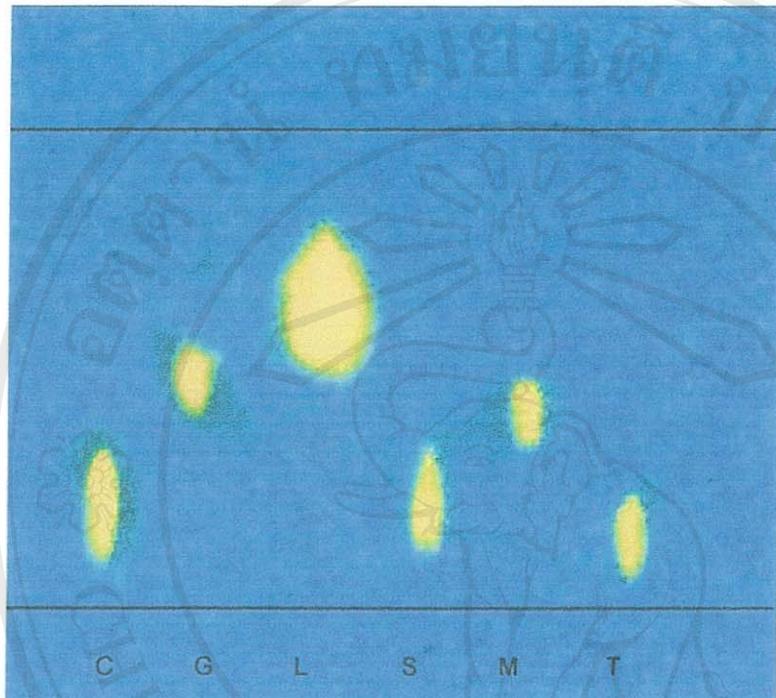
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 5 แสดงค่า RF ของกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีจากใบผักปูย่าและกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีมาตรฐาน 5 ชนิดในน้ำยาชีว เอ็น-บีวานอล, กรดอะซิติก และน้ำ (4 : 1 : 1)

กรดอินทรีย์	ค่า RF
กรดอะซิติก	0.49
กรดไกลโคลิก	0.66
กรดแลคติก	0.85
กรดแอลฟ้าไฮดรอกซีจากใบผักปูย่า	0.49
กรดมาลิก	0.43
กรดหาร์ทาริก	0.32

จากโปรแกรมรุ่น 10 ได้ค่า RF แสดงดังตาราง 5 พบว่าค่า RF ของกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีจากใบผักปูย่าเท่ากับค่า RF ของกรดอะซิติก เท่ากับ 0.49 แสดงว่ากรดที่แยกได้จากใบผักปูย่าน่าจะเป็นกรดอะซิติก

ข.โดยเทคนิค โคมนาโตแกรม กระดานชนิด 1 มิติในน้ำยาอะเอ็น-โปรปานอลและแอมโนเนียมไไฮดรอกไซด์ (6 : 4)



C= กรดซิตริก, G= กรดไกโอลโคลิก, L= กรดแลคติก, S= สารตัวอ่อน, M= กรดมาติก, T= กรดฟาร์ทาริก

รูป 11 แสดงโคมนาโตแกรม 1 มิติของกรดแอลฟ้าไไฮดรอกซีจากใบผักบุ้งย่างเทียบกับกรดแอลฟ้าไไฮดรอกซีมาตรฐาน 5 ชนิดในน้ำยาอะเอ็น-โปรปานอล และแอมโนเนียมไไฮดรอกไซด์ (6 : 4)

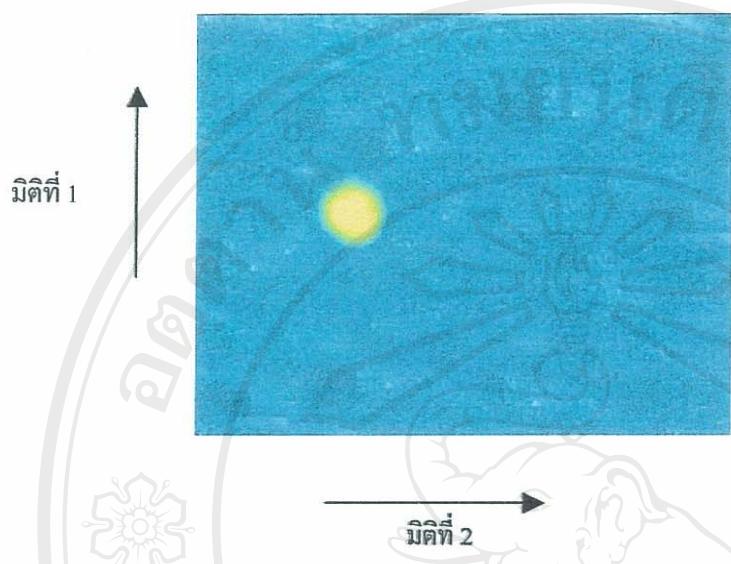
จัดทำโดย ภาควิชาชีวเคมี
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 6 แสดงค่า Rf ของกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีจากใบผักปูย่าและกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีมานาตรฐาน 5 ชนิดในน้ำยาชีวะ เอ็น-โพรปานอล และแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (6 : 4)

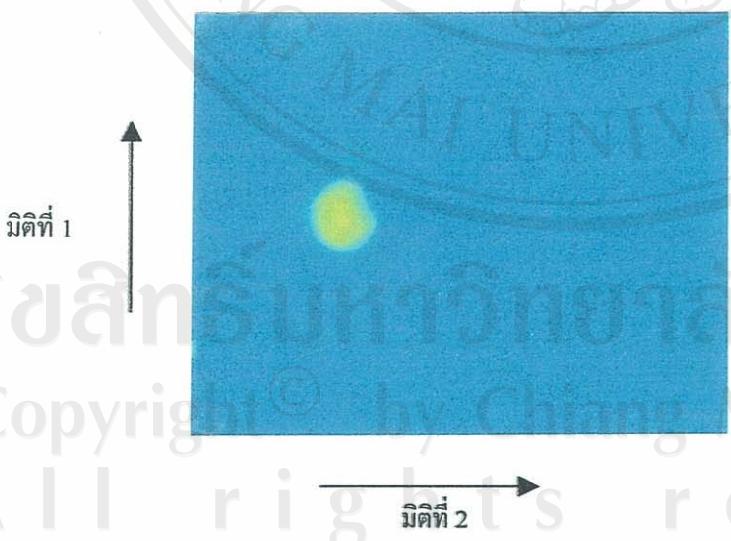
กรดอินทรีย์	ค่า Rf
กรดซิตริก	0.26
กรดไกคลิก	0.57
กรดแลคติก	0.75
กรดแอลฟ้าไฮดรอกซีจากใบผักปูย่า	0.26
กรดมาลิก	0.49
กรดทาร์ทาริก	0.21

จากโปรแกรมรูป 11 ได้ค่า Rf แสดงดังตาราง 6 พบว่าค่า Rf ของกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีจากใบผักปูย่าเท่ากับค่า Rf ของกรดซิตริก เท่ากับ 0.26 แสดงว่ากรดที่แยกได้จากใบผักปูย่า屬於เป็นกรดซิตริก

ค. โดยเทคนิคโคมาราฟีกระดาษชนิด 2 มิติ



รูป 12 แสดงโคมาราฟีограм 2 มิติของกรดแอลฟ้าไชครอกซีจากใบผักปูย่าในน้ำยาจะมิติแรกคือ เอ็น-บิวทานอล, กรดอะซิติก และน้ำ ($4 : 1 : 1$) และมิติที่ 2 คือ เอ็น-โปรปานอล และแอมโมเนียมไชครอกไซด์ ($6 : 4$)



รูป 13 แสดงโคมาราฟีograms 2 มิติของกรดมาตรฐานซิตริกในน้ำยาจะมิติแรกคือ เอ็น-บิวทานอล, กรดอะซิติก และน้ำ ($4 : 1 : 1$) และมิติที่ 2 คือ เอ็น-โปรปานอล และแอมโมเนียมไชครอกไซด์ ($6 : 4$)

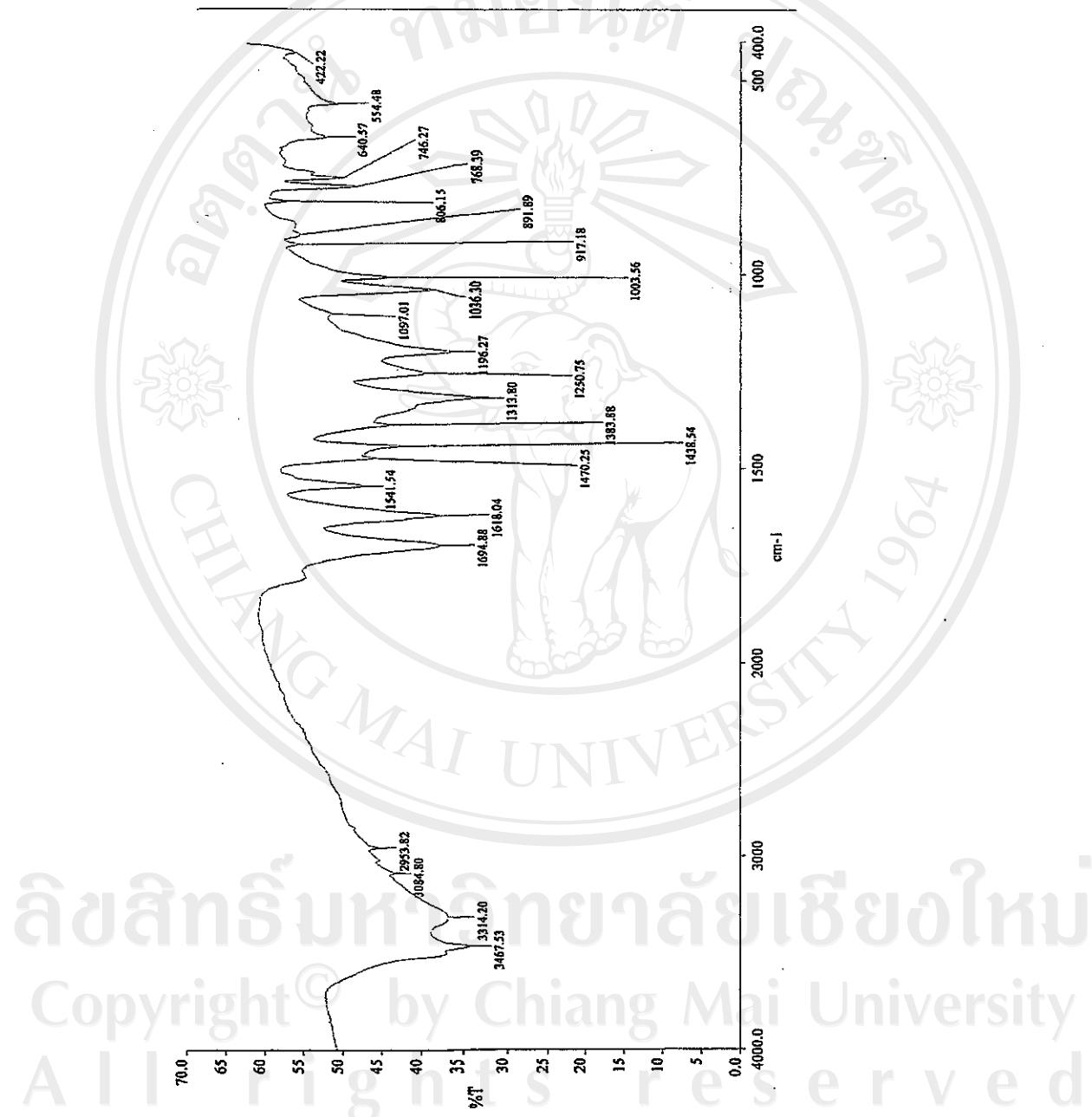


รูป 14 แสดงโครมาໂຕແກຣມ 2 มิติของกรดแอลັພິໄຊໂຄຣອກซີ້ຈາກໃບຜັກປູ່ຍ່າແລກຮົມາຕຽບຮູນຊີຕິຣິກ
ໃນນໍ້າຍະມືຕິແຮກຄື່ອ ເອັນ-ບິວທານອດ, ກຣດອະຊີຕິກ ແລະນໍ້າ ($4 : 1 : 1$) ແລະມິຕີທີ່ 2 ຄື່ອ ເອັນ-ໂປຣປາ
ນອດ ແລະແອນ ໂມເນີນ ໄຊໂຄຣອກໄຫຼດ ($6 : 4$)

จากໂຄຣມາໂຕແກຣມรูป 14 ພົບວ່າມີ spot ສີເຫຼືອງບນພື້ນສິນໍາເງິນຊ້ອນທັນເປັນຈຸດເດືອງ
ແສດງວ່າກຣດທີ່ແຍກໄດ້ຈາກໃບຜັກປູ່ຍ່ານໍ້າຈະເປັນກຣດຊີຕິຣິກ

1.3.2 การพิสูจน์เอกสารโดยเทคนิคการดูดกลืนรังสีอินฟราเรด

ผลของค่าการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดของกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีจากใบผักปูย่าเปรียบเทียบกับกรรมมาตรฐานทั้ง 5 ชนิด แสดงดังรูป 15



รูป 15 แสดงอินฟราเรดスペกตรัมของกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีจากใบผักปูย่า

ตาราง 7 แสดงค่า wave number จากอินฟราเรดสเปกตรัมของกรดที่แยกได้จากใบผักบูร្យาเทียนกับกรดมาตราฐานซิตริก

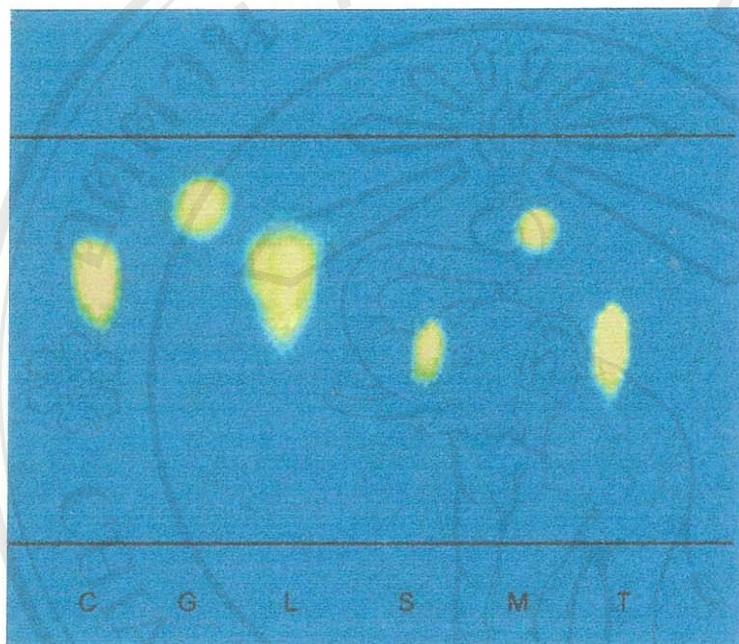
หมู่ฟังก์ชัน	wave number กรดที่แยกได้จากใบผักบูร្យา (cm^{-1})	wave number กรดมาตราฐานซิตริก (cm^{-1})
O-H stretching	3000-3600	3000-3500
C=O stretching	1694.88	1701.14
C-O stretching	1250.75	1238.77
O-H blending	917.18, 1438.54	943.31, 1429.89

จากตาราง 7 ค่า wave number จากอินฟราเรดสเปกตรัมของกรดที่แยกได้จากใบผักบูร្យาพบว่ามีหมู่ฟังก์ชัน C=O ที่ 1694.88, C-O ที่ 1250.75 และ O-H ที่ 3000-3600, 917.18, 1438.54 แสดงว่ากรดที่แยกได้เป็นกรดcarboxylic acid และเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบอินฟราเรดสเปกตรัมของกรดที่แยกได้จากใบส้มป่อยดังรูป 15 กับอินฟราเรดสเปกตรัมของกรดมาตราฐานซิตริกดังรูป 32 พบว่ามีความคล้ายคลึงกัน แสดงว่ากรดที่แยกได้จากใบผักบูร្យาน่าจะเป็นกรดซิตริก

2. การสกัดและคัดแยกกรดแอลฟ่าไฮดรอกซีจากใบมะขามป้อม

2.1 การทดสอบเบื้องต้นหารกรดแอลฟ่าไฮดรอกซีในใบมะขามป้อม

เมื่อนำสารสกัดน้ำเข้มข้นจากใบมะขามป้อมมาทดสอบหากรดเบื้องต้นโดยเทคนิคโครโนโต グラฟกระดาษ โดยใช้น้ำยาอะ เอ็น-บิวทานอล, กรดอะซิติก และน้ำ (4 : 1 : 1) และ น้ำยาอะ เอ็น-โปรดปานอล และแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (6 : 4) ได้ผลการทดลองดังนี้



C= กรดชิทريك, G= กรดไกกลิคิก, L= กรดแลคติก, S= สารตัวอ่อน, M= กรดมาลิก, T= กรดทาร์ทาริก

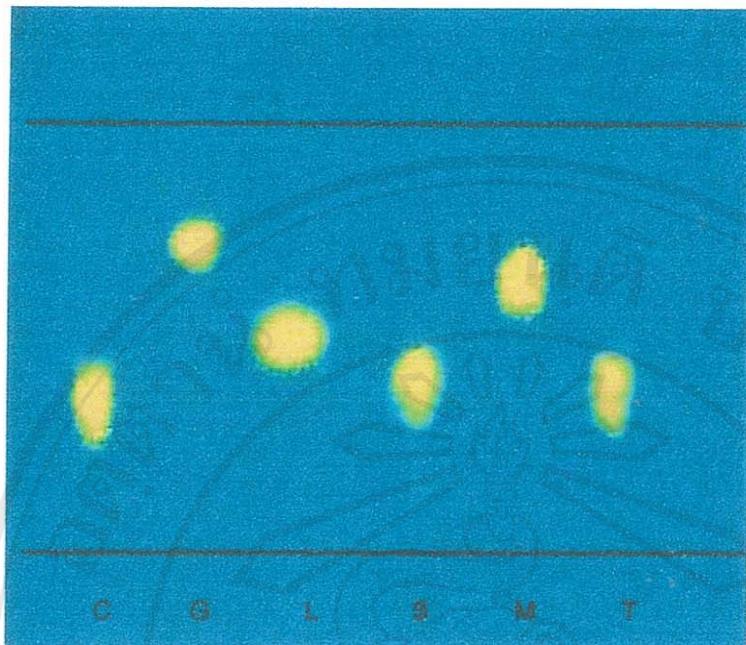
รูป 16 แสดงโครโนโตแกรม 1 มิติของสารสกัดน้ำเข้มข้นจากใบมะขามป้อมเทียบกับกรดแอลฟ่าไฮดรอกซีมาตรฐาน 5 ชนิดในน้ำยาอะ เอ็น-บิวทานอล, กรดอะซิติก และน้ำ (4 : 1 : 1)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright[©] by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 8 แสดงค่า Rf ของสารสกัดน้ำเข้มข้นจากใบมะขามป้อมและกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีมานาตรฐาน 5 ชนิดในน้ำยาอะ เอ็น-บิวทานอล, กรดอะซิติก และน้ำ (4 : 1 : 1)

กรดอินทรีย์	ค่า Rf
กรดอะซิติก	0.67
กรดไกලโคเลิก	0.84
กรดแลคติก	0.69
สารสกัดน้ำจากใบมะขามป้อม	0.53
กรดมาลิก	0.79
กรดทาร์ทาริก	0.53

จากโคมนาไตรแกรมรูป 16 ได้ค่า Rf แสดงดังตาราง 8 พบว่าค่า Rf ของสารสกัดน้ำเข้มข้นจากใบมะขามป้อมเท่ากับค่า Rf ของกรดทาร์ทาริกเท่ากับ 0.53 คาดว่าใบมะขามป้อมน่าจะมีกรดทาร์ทาริกอยู่



C= กรณีตริก, G= กรณีไกลโคลิก, L= กรณีแดคติก, S= สารตัวอ่อน, M= กรณามาลิก, T= กรณทาร์ทาริก

รูป 17 แสดงโคมามาโนแกรม 1 มิติของสารสกัดน้ำเข้มข้นจากใบมะขามป้อมเทียบกับกรณ例外พ่าไชครอกซีนาตรูนาน 5 ชนิดในน้ำยาอะเอ็น-โปรปานอล และแอมโมเนียมไไฮดรอกไซด์ (6 : 4)

ตาราง 9 แสดงค่า Rf ของสารสกัดน้ำเข้มข้นจากใบมะขามป้อมและกรณ例外พ่าไชครอกซีนาตรูนาน 5 ชนิดในน้ำยาอะเอ็น-โปรปานอล และแอมโมเนียมไไฮดรอกไซด์ (6 : 4)

กรณินทรีย์	ค่า Rf
กรณีตริก	0.43
กรณีไกลโคลิก	0.81
กรณีแดคติก	0.58
สารสกัดน้ำจากใบมะขามป้อม	0.47
กรณามาลิก	0.74
กรณทาร์ทาริก	0.47

จากโคมามาโนแกรมรูป 17 ได้ค่า Rf แสดงดังตาราง 9 พบร่วมค่า Rf ของสารสกัดน้ำเข้มข้นจากใบมะขามป้อมเท่ากับค่า Rf ของกรณทาร์ทาริก เท่ากับ 0.47 คาดว่าใบมะขามป้อมน่าจะมีกรณทาร์ทาริกอยู่

2.2 การสกัดพืชตัวอย่างและแยกกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีด้วยเทคนิคโคมาราฟิโตรามาโทกราฟี

ตาราง 10 แสดงผลการสกัดพืชตัวอย่างมะขามป้อมและแยกกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีด้วยเทคนิคโคมาราฟิโตรามาโทกราฟีคอลัมน์

พืชตัวอย่าง	น้ำหนัก (กรัม)	คิดเป็นร้อยละของ ใบมะขามป้อมแห้ง
น้ำหนักใบมะขามป้อมแห้งที่นำมาสกัด	1,000.00	100.00
น้ำหนักสารสกัดเมทานอลเข้มข้น	428.71	42.87
น้ำหนักสารสกัดน้ำเข้มข้น	152.63	15.26
น้ำหนักกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีที่แยกได้	0.56	0.06

ตาราง 11 แสดงผลการแยกกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีจากใบมะขามป้อมด้วยเทคนิคโคมาราฟิโตรามาโทกราฟีคอลัมน์

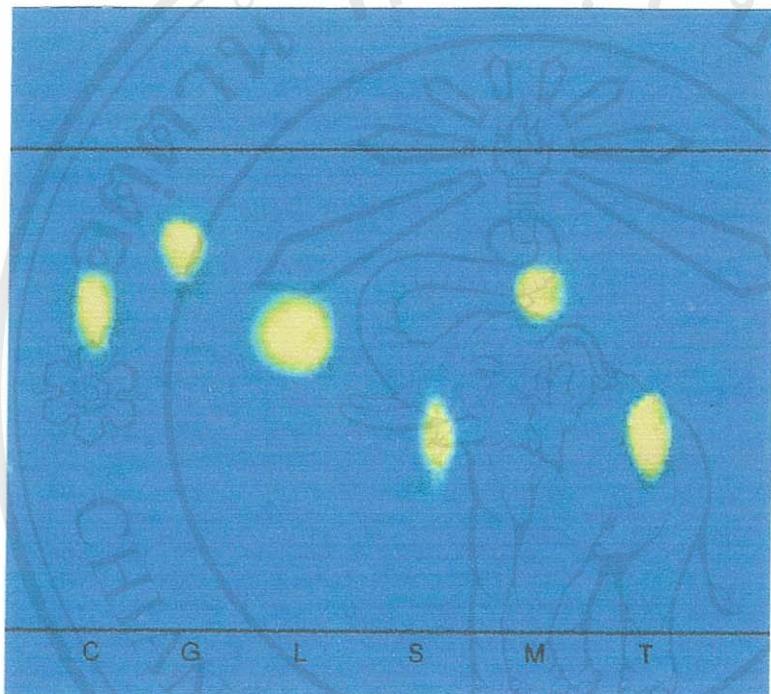
คอลัมน์ชิลิกาเจล	อัตราส่วนน้ำยาอะ คลอโรฟอร์ม : เมทานอล	Fraction ที่มีกรด
ครั้งที่ 1	8 : 2	54-69
ครั้งที่ 2	8.5 : 1.5	44-58
ครั้งที่ 3	8.5 : 1.5	41-62
ครั้งที่ 4	8.5 : 1.5	31-37

การสกัดพืชตัวอย่าง โดยนำใบมะขามป้อมแห้งน้ำหนัก 1000 กรัม มาทำการสกัดด้วยสาร ละลายเมทานอลโดยวิธี Reflux ได้สารเมทานอลเข้มข้นน้ำหนัก 428.71 กรัม คิดเป็นร้อยละ 42.87 นำไปผ่านคอลัมน์ไฮโดรฟอฟิลิก ไอโอนเรชิน เอชพี-20 ได้สารสกัดน้ำเข้มข้นน้ำหนัก 152.63 กรัม คิดเป็นร้อยละ 15.26 จากนั้นนำมายกกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีด้วยเทคนิคโคมาราฟิโตรามาโทกราฟีคอลัมน์ พบร่วมกรดถูกจะออกมากเมื่อผ่านคอลัมน์ครั้งที่ 4 ในน้ำยาอะ คลอโรฟอร์มและเมทานอลในอัตราส่วน 8.5 : 1.5 ใน fraction ที่ 31-37 ซึ่งเป็นสารละลายสีเหลืองใส นำมารวมกันแล้วทิ้งไว้ให้ตกลงตัวได้กรดหนัก 0.56 กรัม คิดเป็นร้อยละ 0.06

2.3 การพิสูจน์เอกสารลักษณ์กรดแอลฟ่าไชครอซีที่แยกได้

2.3.1 การพิสูจน์เอกสารลักษณ์โดยเทคนิค โคลามาโตกราฟกระดาษ

ก. โดยเทคนิค โคลามาโตกราฟกระดาษชนิด 1 มิติ ในน้ำยาอะ เอ็น-บิวทานอล, กรดอะซิติก และน้ำ (4 : 1 : 1)



C= กรดซิตริก, G= กรดไกกลิคอลิก, L= กรดแลคติก, S= สารตัวอย่าง, M= กรดมาลิก, T= กรดทาร์ทาริก

รูป 18 แสดงโคลามาโตแกรม 1 มิติของกรดแอลฟ่าไชครอซีจากใบมะขามปีอมเทียบกับกรดแอลฟ่าไชครอซีมาตรฐาน 5 ชนิดในน้ำยาอะ เอ็น-บิวทานอล, กรดอะซิติก และน้ำ (4 : 1 : 1)

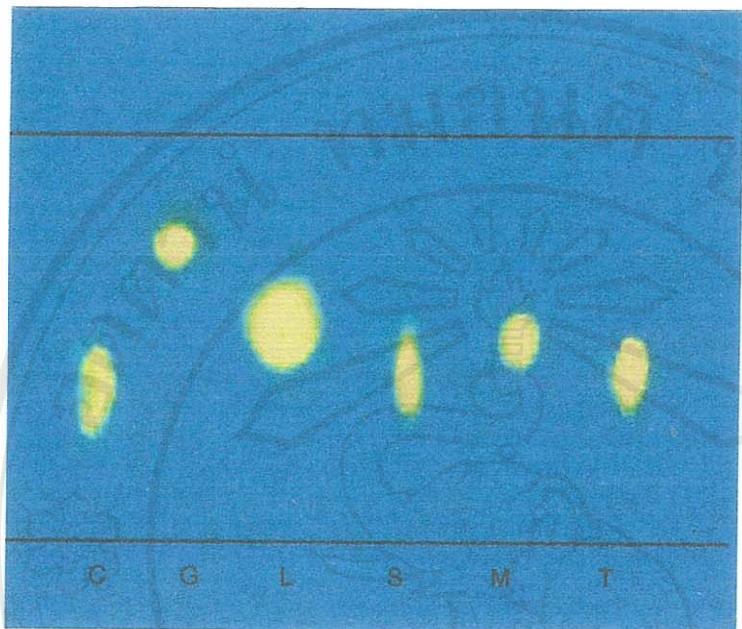
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright[©] by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 12 แสดงค่า Rf ของกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีจากใบมะขามปีอมและกรดแอลฟ้าไฮดรอกซี มาตรฐาน 5 ชนิดในน้ำข้าวชะ เอ็น-บิวทานอล, กรดอะซิติก และน้ำ (4 : 1 : 1)

กรดอินทรีย์	ค่า Rf
กรดซิตริก	0.75
กรดไกกล โคลิก	0.90
กรดแลคติก	0.70
กรดแอลฟ้าไฮดรอกซีจากใบมะขามปีอม	0.45
กรดมาลิก	0.79
กรดทาร์ทาริก	0.45

จากโปรแกรมรูป 18 ได้ค่า Rf แสดงดังตาราง 12 พบว่า ค่า Rf ของกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีจากใบมะขามปีอมเท่ากับ ค่า Rf ของกรดทาร์ทาริก เท่ากับ 0.45 แสดงว่ากรดที่แยกได้จากใบมะขามปีอมน่าจะเป็นกรดทาร์ทาริก

ข. โดยเทคนิคโคมนาໂຕGRAF/grafic មີຕີໃນນໍ້າຍະເລື່ອນ-ໂປຣປານອລແລະແອນໄມເນີຍມໄຊຄຣອກໄຊເຊົ່ວ (6 : 4)



C= กรณีศึกษา, G= กรณีกลไกถูก, L= กรณีแลกดัก, S= สารด้วอย่าง, M= กรณีลักษณะ, T= กรณีการฟาร์มา

รูป 19 ແສດໂຄມາໂຕແກຣມ 1 ມີຕີຂອງຮຽດແອລຟາໄຊຄຣອກຕີຈາກໃບນະຫານປ້ອນເທິບກັບຮຽດແອລຟາໄຊຄຣອກຕີມາຕຽບສູງ 5 ຊົນດີໃນນໍ້າຍະເລື່ອນ-ໂປຣປານອລ ແລະແອນໄມເນີຍມໄຊຄຣອກໄຊເຊົ່ວ (6 : 4)

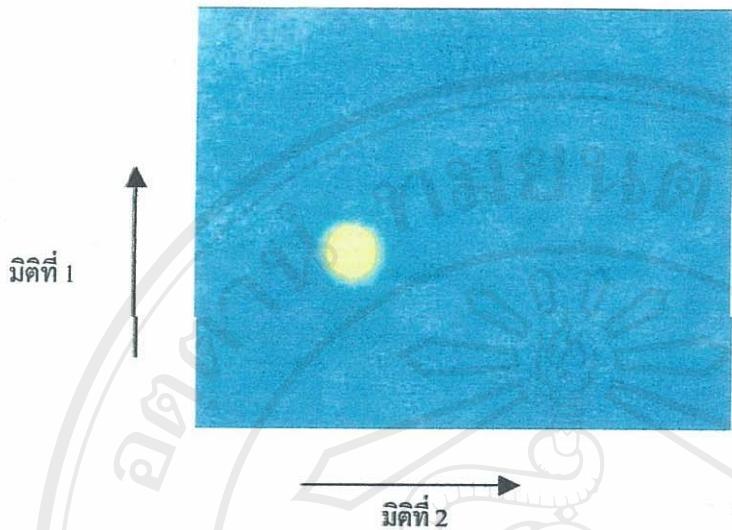
ຄິດສິນຫາວິທາລີຍເຊີຍໃໝ່
Copyright[©] by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 13 แสดงค่า Rf ของกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีจากใบมะขามปีอมและกรดแอลฟ้าไฮดรอกซี มาตรฐาน 5 ชนิดในน้ำยาชั้น เอ็น- โปรปานอล และแม่น้ำมันเนยม ไฮดรอกไซด์ (6 : 4)

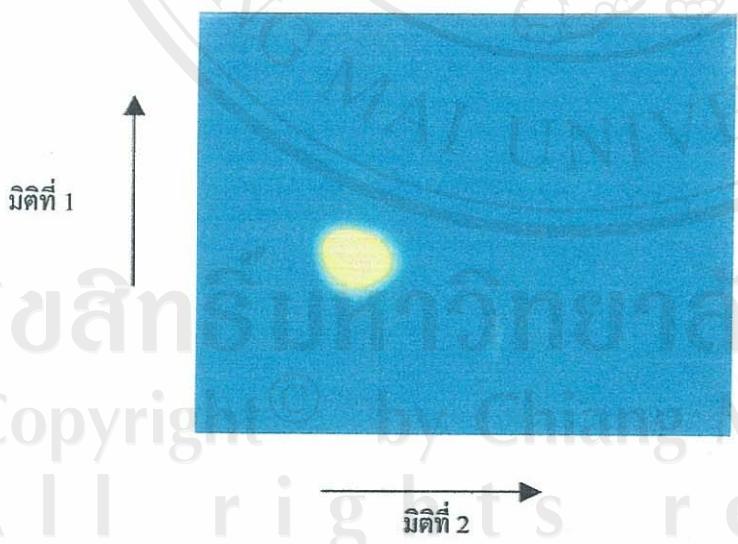
กรดอินทรีย์	ค่า Rf
กรดซิตริก	0.42
กรดไกกลิค	0.75
กรดแลคติก	0.58
กรดแอลฟ้าไฮดรอกซีจากใบมะขามปีอม	0.45
กรดมาลิก	0.53
กรดหาร์ทาริก	0.45

จากโคมาร์ตограмรูป 19 ได้ค่า Rf แสดงค้างตาราง 13 พบว่าค่า Rf ของกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีจากใบใบมะขามปีอมเท่ากับค่า Rf ของกรดหาร์ทาริก เท่ากับ 0.26 แสดงว่ากรดที่แยกได้จากใบใบมะขามปีอมน่าจะเป็นกรดหาร์ทาริก

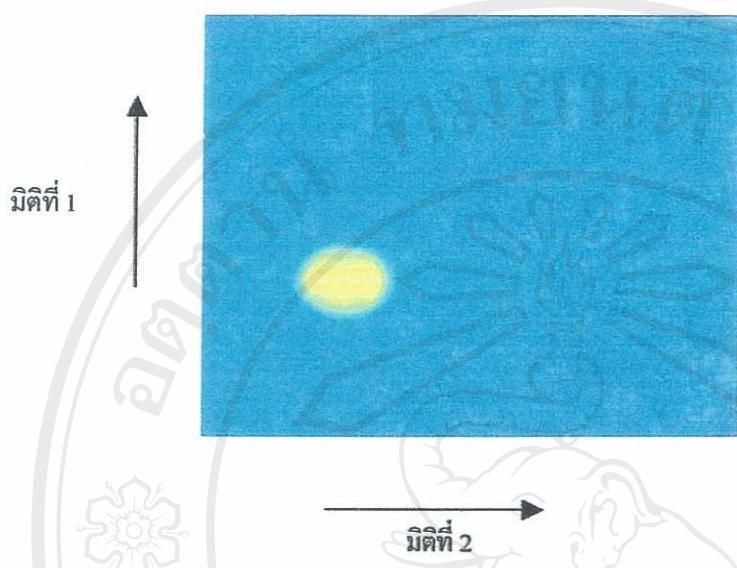
ค. โดยเทคนิค โคมนาโถกราฟกระดาษชนิด 2 มิติ



รูป 20 แสดงโคมนาโถแกรน 2 มิติของกรดแอลไฟ ไซดรอกซ์จากใบมะขามป้อมในน้ำยาอะมิติแรกคือ เอ็น-บีวานอล, กรดอะซิติก และน้ำ ($4 : 1 : 1$) และมิติที่ 2 คือ เอ็น-โปรปานอล และแอมโมเนียม ไซดรอกไซด์ ($6 : 4$)



รูป 21 แสดงโคมนาโถแกรน 2 มิติของกรดมาตราฐานหาร์ทาริกในน้ำยาอะมิติแรกคือ เอ็น-บีวานอล, กรดอะซิติก และน้ำ ($4 : 1 : 1$) และมิติที่ 2 คือ เอ็น-โปรปานอล และแอมโมเนียม ไซดรอกไซด์ ($6 : 4$)



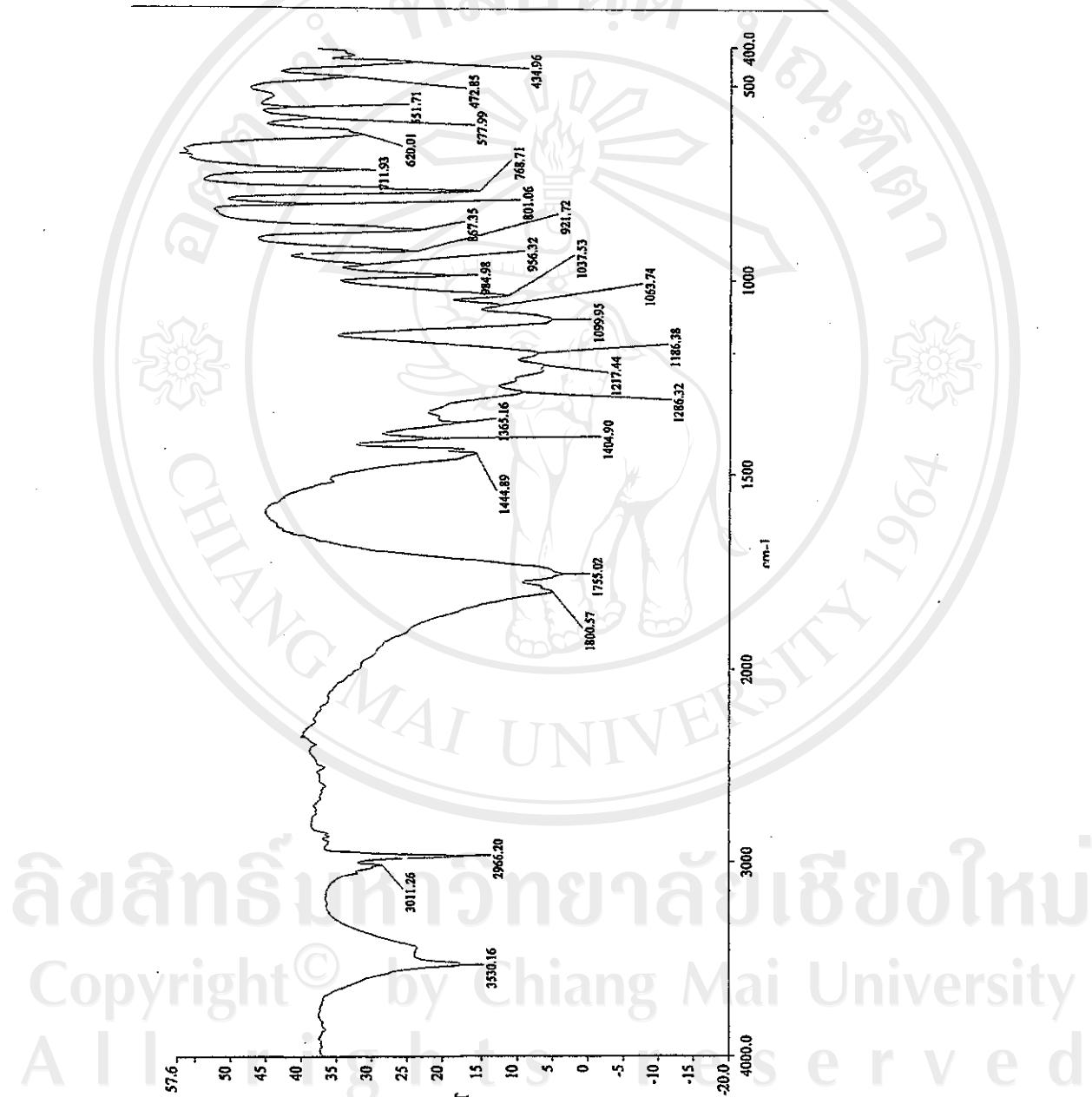
รูป 22 แสดงโกรมาโทแกรม 2 มิติของกรดแอลฟ้าไฮครอกซีจากในมะขามป้อมและกรดมาตรฐาน
ثار์ทาริกในน้ำยาจะมีมิติแรกคือ เอ็น-บิวทานอล, กรดอะซิติก และน้ำ ($4 : 1 : 1$) และมิติที่ 2 คือ เอ็น-
โปรดปานอล และแอน โนเนียม ไฮครอกไซด์ ($6 : 4$)

จากโกรมาโทแกรมรูป 22 พบร่วมกับ spot สีเหลืองบนพื้นสีน้ำเงินช้อนทับเป็นจุดเดียว
แสดงว่ากรดที่แยกได้จากใบในมะขามป้อมน่าจะเป็นกรดثار์ทาริก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2.3.2 การพิสูจน์เอกสารด้วยน้ำโดยเทคนิคการคุณค่าลีนริงส์อินฟราเรด

ผลของค่าการคุณค่าลีนริงส์อินฟราเรดของกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีจากใบมะขามปี่อนเปรียบเทียบกับกรรมมาตรฐานทั้ง 5 ชนิด แสดงดังรูป 23



รูป 23 แสดงอินฟราเรดスペกตรัมของกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีจากใบมะขามปี่อน

ตาราง 14 แสดงค่า wave number จากสเปกตรัมอินฟราเรดของกรดที่แยกได้จากใบมะขามปีอม เทียบกับกรรมการมาตรฐานثار์ثارิก

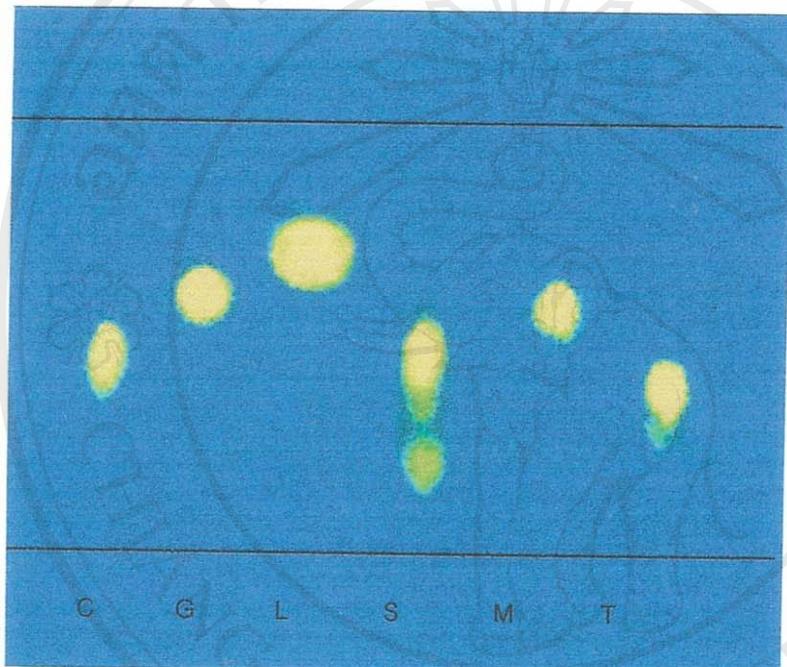
หมู่ฟังก์ชัน	wave number กรดที่แยกได้ จากใบมะขามปีอม (cm^{-1})	wave number กรรมการมาตรฐาน ثار์ثارิก (cm^{-1})
O-H stretching	3100-3600	3100-3600
C=O stretching	1755.02	1740.79
C-O stretching	1286.32	1256.30
O-H blending	921.72, 1444.89	944.78, 1449.54

จากตาราง 14 ค่า wave number จากอินฟราเรดสเปกตรัมของกรดที่แยกได้จากใบมะขามปีอม พนวณมีหมู่ฟังก์ชัน C=O ที่ 1755.02, C-O ที่ 1286.32 และ O-H ที่ 3100-3600, 921.72, 1444.89 แสดงว่ากรดที่แยกได้เป็นกรดคาร์บอซิลิก และเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบอินฟราเรดสเปกตรัมของกรดที่แยกได้จากใบมะขามปีอมดังรูป 23 กับอินฟราเรดสเปกตรัมของกรรมการมาตรฐานثار์ثارิกดังรูป 36 พนวณว่ามีความคล้ายคลึงกัน แสดงว่ากรดที่แยกได้จากใบมะขามปีอมน่าจะเป็นกรดثار์ثارิก

3. การสกัดและคัดแยกกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีจากใบส้มป่อย

3.1 การทดสอบเมื่องต้นหารดแอลฟ้าไฮดรอกซีในใบส้มป่อย

เมื่อนำสารสกัดน้ำเข้มข้นจากใบส้มป่อยมาทดสอบหากรดเมื่องต้น โดยเทคนิคโคมาราโトイราฟีกระดาษ โดยใช้น้ำยาชีว เอ็น-บิวทานอล, กรดอะซิติก และน้ำ ($4 : 1 : 1$) และ น้ำยาชีว เอ็น-โปรปานอล และแอนโนเนียมไฮดรอกไซด์ ($6 : 4$) ได้ผลการทดลองดังนี้



C= กรดอะซิติก, G= กรดไกලโคเลติก, L= กรดแลคติก, S= สารตัวอ่อน, M= กรดมาลิก, T= กรดทาร์ทาริก

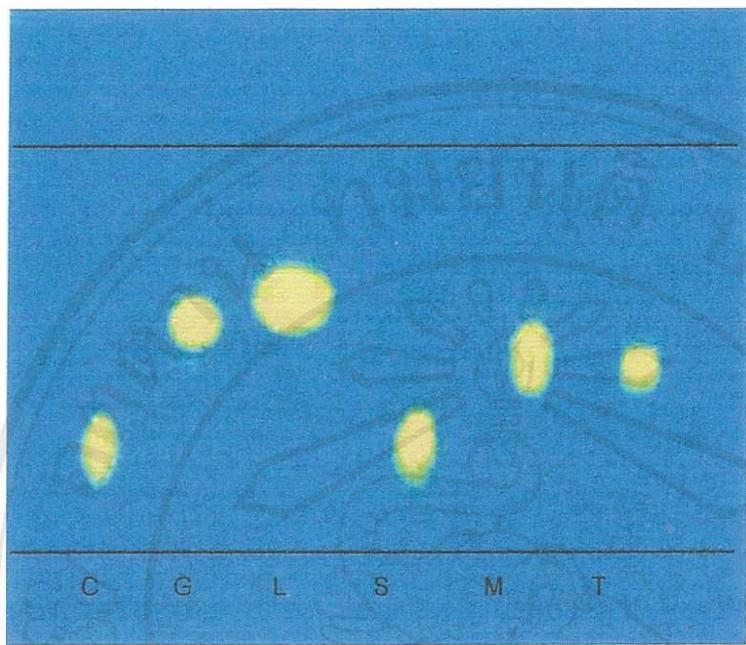
รูป 24 แสดง โคมาราโトイแกรม 1 มิติของสารสกัดน้ำเข้มข้นจากใบส้มป่อยเทียบกับกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีมาตรฐาน 5 ชนิดในน้ำยาชีว เอ็น-บิวทานอล, กรดอะซิติก และน้ำ ($4 : 1 : 1$)

Copyright[©] by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 15 แสดงค่า Rf ของสารสกัดน้ำเข้มข้นจากใบส้มป้อมและกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีมาตรฐาน 5 ชนิดในน้ำยาอะเอ็น-บิวทานอล, กรดอะซิติก และน้ำ (4 : 1 : 1)

กรดอินทรีย์	ค่า Rf
กรดอะซิติก	0.55
กรดไอกลโคลิก	0.70
กรดแลคติก	0.79
สารสกัดน้ำจากใบส้มป้อม	0.30, 0.55
กรดมาลิก	0.68
กรดทาร์ทาริก	0.49

จากโคมาราโตรแกรมรูป 24 ได้ค่า Rf แสดงดังตาราง 15 พน.ว่าค่า Rf ของสารสกัดน้ำเข้มข้นจากใบส้มป้อมเท่ากับค่า Rf ของกรดอะซิติก เท่ากับ 0.55 คาดว่าใบส้มป้อมน่าจะมีกรดอะซิติกอยู่



C= กรณีชิตริก, G= กรณีกลโคลิก, L= กรณีแลคติก, S= สารตัวอ่อน, M= กรณามาลิก, T= กรณಥาร์ทาริก

รูป 25 แสดงโคม่าโทแกรม 1 มิติของสารสกัดน้ำเข้มข้นจากใบส้มป้อมเทียบกับกรณีแลคฟ้าไชครอกซีนมาตรฐาน 5 ชนิดในน้ำยาฉะ เอ็น-โปรปานอล และแอมโมเนียมไไซด์ (6 : 4)

ตาราง 16 แสดงค่า Rf ของสารสกัดน้ำเข้มข้นจากใบส้มป้อมและกรณีแลคฟ้าไไซครอกซีนมาตรฐาน 5 ชนิดในน้ำยาฉะ เอ็น-โปรปานอล และแอมโมเนียมไไซด์ (6 : 4)

กรณีทรีฟ์	ค่า Rf
กรณีชิตริก	0.28
กรณีกลโคลิก	0.60
กรณีแลคติก	0.67
สารสกัดน้ำเข้มข้นจากใบส้มป้อม	0.28
กรณามาลิก	0.51
กรณಥาร์ทาริก	0.49

จากโคม่าโทแกรมรูป 25 ได้ค่า Rf แสดงดังตาราง 16 พบร่วมค่า Rf ของสารสกัดน้ำเข้มข้นจากใบส้มป้อมเท่ากับ 0.28 คาดว่าใบส้มป้อมน่าจะมีกรณีชิตริกอยู่

3.2 การสกัดพืชตัวอย่างและแยกกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีด้วยเทคนิคโตรมาโทกราฟี

ตาราง 17 แสดงผลการสกัดพืชตัวอย่างสัมป้อยและแยกกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีด้วยเทคนิคโตรมาโทกราฟี

พืชตัวอย่าง	น้ำหนัก (กรัม)	คิดเป็นร้อยละของ ในสัมป้อยเท่านั้น
น้ำหนักใบสัมป้อยเท่านั้นมาสกัด	700.00	100.00
น้ำหนักสารสกัดเมทานอลเข้มข้น	50.00	7.14
น้ำหนักสารสกัดน้ำเข้มข้น	22.40	3.20
น้ำหนักกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีที่แยกได้	0.86	0.12

ตาราง 18 แสดงผลการแยกกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีจากใบสัมป้อยด้วยเทคนิคโตรมาโทกราฟี

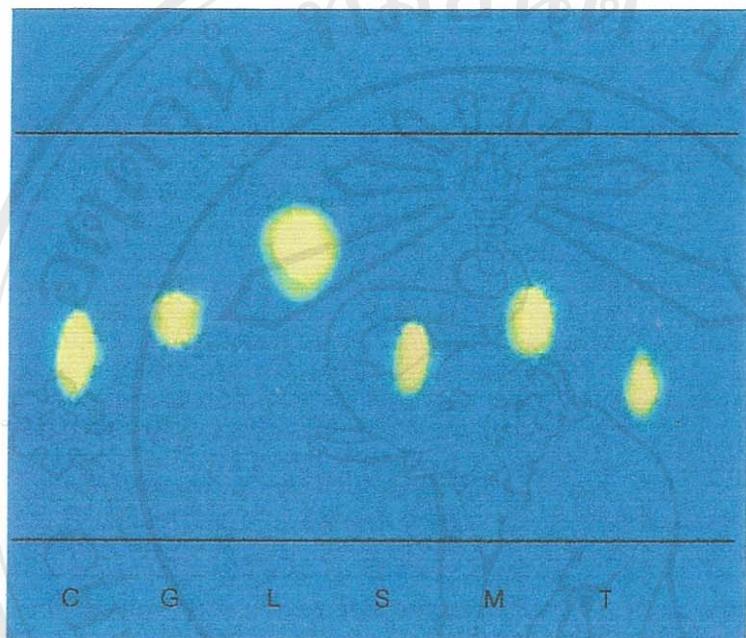
ครั้งที่	อัตราส่วนน้ำยาชีวะ คลอโรฟอร์ม : เมทานอล	Fraction ที่มีกรด
ครั้งที่ 1	7.5 : 2.5	62-77
ครั้งที่ 2	7.5 : 2.5	45-59
ครั้งที่ 3	8 : 2	40-53
ครั้งที่ 4	8 : 2	27-34

การสกัดพืชตัวอย่างโดยนำใบสัมป้อยเท่านั้นน้ำหนัก 700 กรัม มาทำการสกัดด้วยสารละลายเมทานอลโดยวิธี Reflux ได้สารเมทานอลเข้มข้นหนัก 50 กรัม คิดเป็นร้อยละ 7.14 นำไปผ่าน kolamn ได้ไอโอนเรซิน เอชพี-20 ได้สารสกัดน้ำเข้มข้นหนัก 22.40 กรัม คิดเป็นร้อยละ 3.20 จากนั้นนำมาแยกกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีด้วยเทคนิคโตรมาโทกราฟี Kolamn พบว่ากรดคูกระออกมาเมื่อผ่าน kolamn ครั้งที่ 4 ในน้ำยาชีวะ คลอโรฟอร์มและเมทานอลในอัตราส่วน 8 : 2 ใน fraction ที่ 27-34 ซึ่งเป็นสารละลายสีเหลืองใส นำมารวมกันแล้วทิ้งไว้ให้ตกรดลึกได้กรดหนัก 0.86 กรัม คิดเป็นร้อยละ 0.12

3.3 การพิสูจน์เอกสารลักษณ์กรรมแอลฟ่าไฮดรอกซีที่แยกได้

3.3.1 การพิสูจน์เอกสารลักษณ์โดยเทคนิคโคมาราโตกราฟีกระดาษ

ก. โดยเทคนิคโคมาราโตกราฟีกระดาษชนิด 1 มิติ ในน้ำยาอะ เอ็น-บิวทานอล, กรรมอะซิติก และน้ำ ($4 : 1 : 1$)



C= กรรมชีวิก, G= กรรมไอกโคลิก, L= กรรมแอลกอติก, S= สารตัวอ่อน, M= กรรมมาลิก, T= กรรมทาร์ทริก

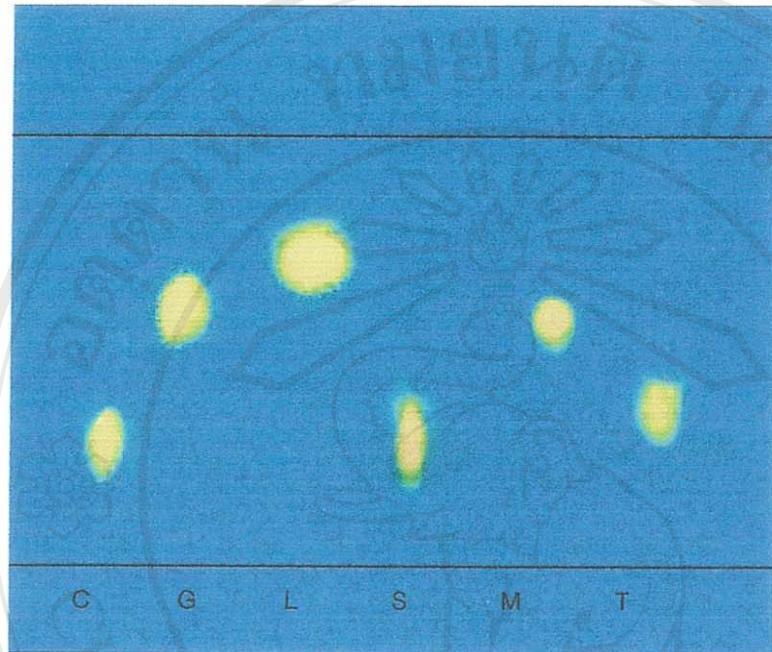
รูป 26 แสดงโคมาราโตแกรม 1 มิติของกรรมแอลฟ่าไฮดรอกซีจากใบส้มปีอยเทียบกับกรรมแอลฟ่าไฮดรอกซีมาตรฐาน 5 ชนิดในน้ำยาอะ เอ็น-บิวทานอล, กรรมอะซิติก และน้ำ ($4 : 1 : 1$)

ตาราง 19 แสดงค่า Rf ของกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีจากใบส้มป้อมและกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีมาตรฐาน 5 ชนิดในน้ำยาอะ เอ็น-บิวทานอล, กรดอะซิติก และน้ำ (4 : 1 : 1)

กรดอินทรี	ค่า Rf
กรดอะซิติก	0.51
กรดไกลโคลิก	0.60
กรดแลคติก	0.77
กรดแอลฟ้าไฮดรอกซีจากใบส้มป้อม	0.51
กรดมาลิก	0.58
กรดทาร์ทาริก	0.43

จากโกรมาโตรแกรมรูป 26 ได้ค่า Rf แสดงดังตาราง 19 พบว่าค่า Rf ของกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีจากใบส้มป้อมเท่ากับค่า Rf ของกรดอะซิติก เท่ากับ 0.51 แสดงว่ากรดที่แยกได้จากใบส้มป้อมน่าจะเป็นกรดอะซิติก

ข. โดยเทคนิคโคมาราโtopicрафีกระดายชนิด 1 มิติ ในน้ำยาอะ เอ็น-โปรปานอล และแอมโนเนียมไฮดรอกไซด์ (6 : 4)



C= กรณีชิตริก, G= กรณีกลโภคิก, L= กรณีแดคติก, S= สารตัวอย่าง, M= กรณามลิก, T= กรณทาร์ทาริก

รูป 27 แสดงโคมาราtopicarem 1 มิติของกรณีของยาไฮดรอกซีจากใบส้มปือยกับกรณีของยาไฮดรอกซีมาตรฐาน 5 ชนิดในน้ำยาอะ เอ็น-โปรปานอล และแอมโนเนียมไฮดรอกไซด์ (6 : 4)

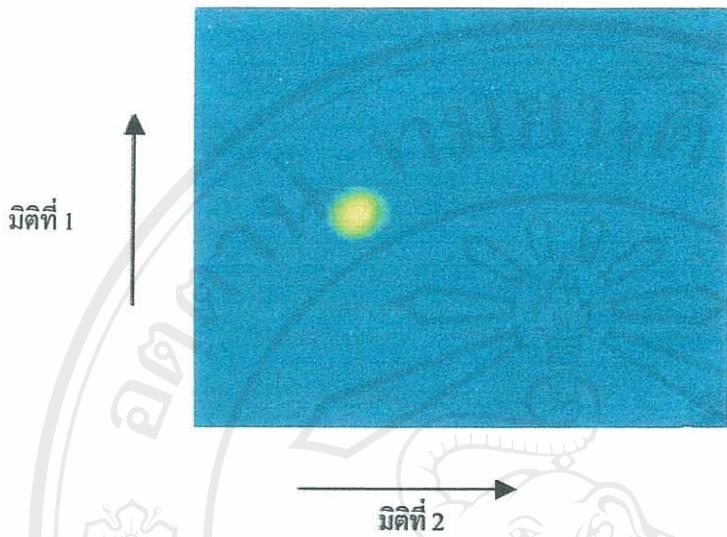
จิรศิลป์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 20 แสดงค่า Rf ของกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีจากใบสัมปออยและกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีเม่าตรฐาน 5 ชนิดในน้ำยาอะ เอ็น-โพรปานอล และแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (6 : 4)

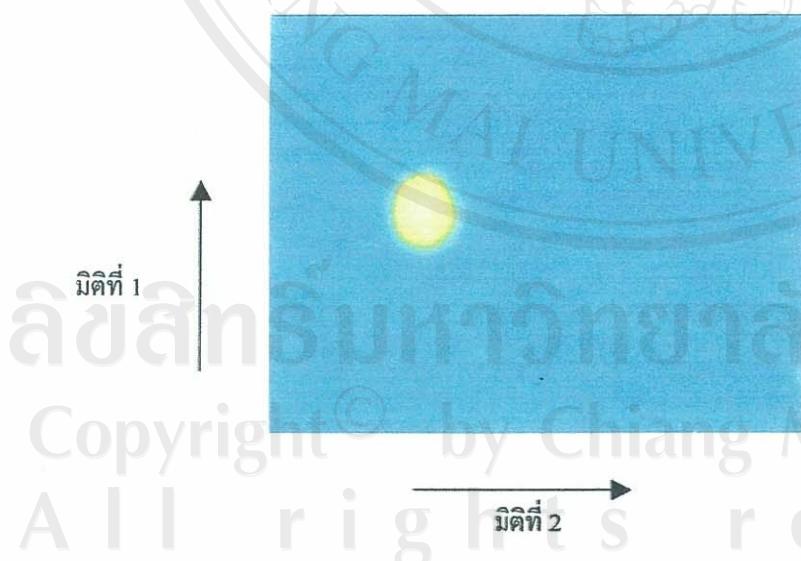
กรดอินทรีย์	ค่า Rf
กรดซิตริก	0.30
กรดไกลโคลิก	0.62
กรดแลกติก	0.75
กรดแอลฟ้าไฮดรอกซีจากใบสัมปออย	0.30
กรดมาลิก	0.60
กรดทาร์ทาริก	0.38

จากโครงมาตรากรัมรูป 27 ได้ค่า Rf แสดงดังตาราง 20 พบร่วมค่า Rf ของกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีจากใบสัมปออยเท่ากับค่า Rf ของกรดซิตริกเท่ากับ 0.30 แสดงว่ากรดที่แยกได้จากใบสัมปออยน่าจะเป็นกรดซิตริก

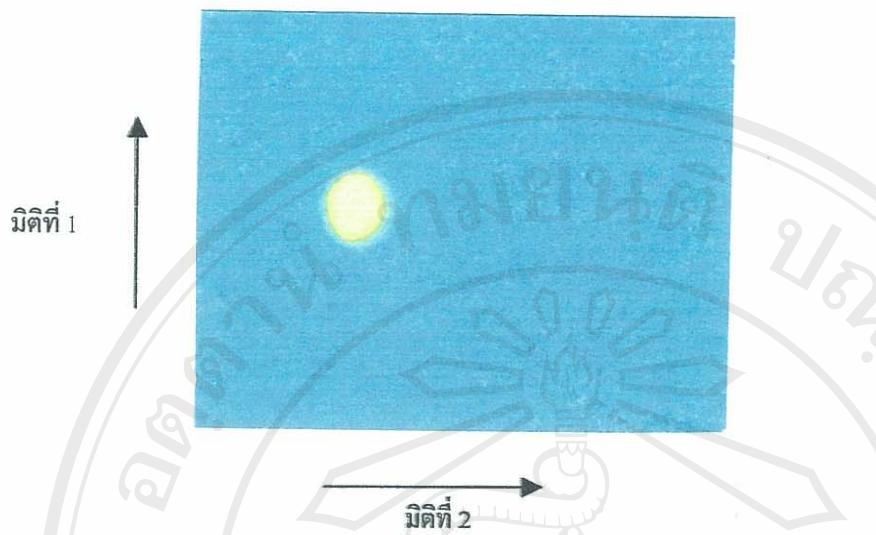
ค. โดยเทคนิค โครม่าโทกราฟีกระดาษชนิด 2 มิติ



รูป 28 แสดง โครม่าโทแกรม 2 มิติของกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีจากใบส้มป้อมในน้ำยาจะมิติแรกคือ เอ็น-บิวทานอล, กรดอะซิติก และน้ำ ($4 : 1 : 1$) และมิติที่ 2 คือ เอ็น-โปรปานอล และแอมโมเนียม ไฮดรอกไซด์ ($6 : 4$)



รูป 29 แสดง โครม่าโทแกรม 2 มิติของกรดมาตรฐานซิตริกในน้ำยาจะมิติแรกคือ เอ็น-บิวทานอล, กรดอะซิติก และน้ำ ($4 : 1 : 1$) และมิติที่ 2 คือ เอ็น-โปรปานอล และแอมโมเนียม ไฮดรอกไซด์ ($6 : 4$)



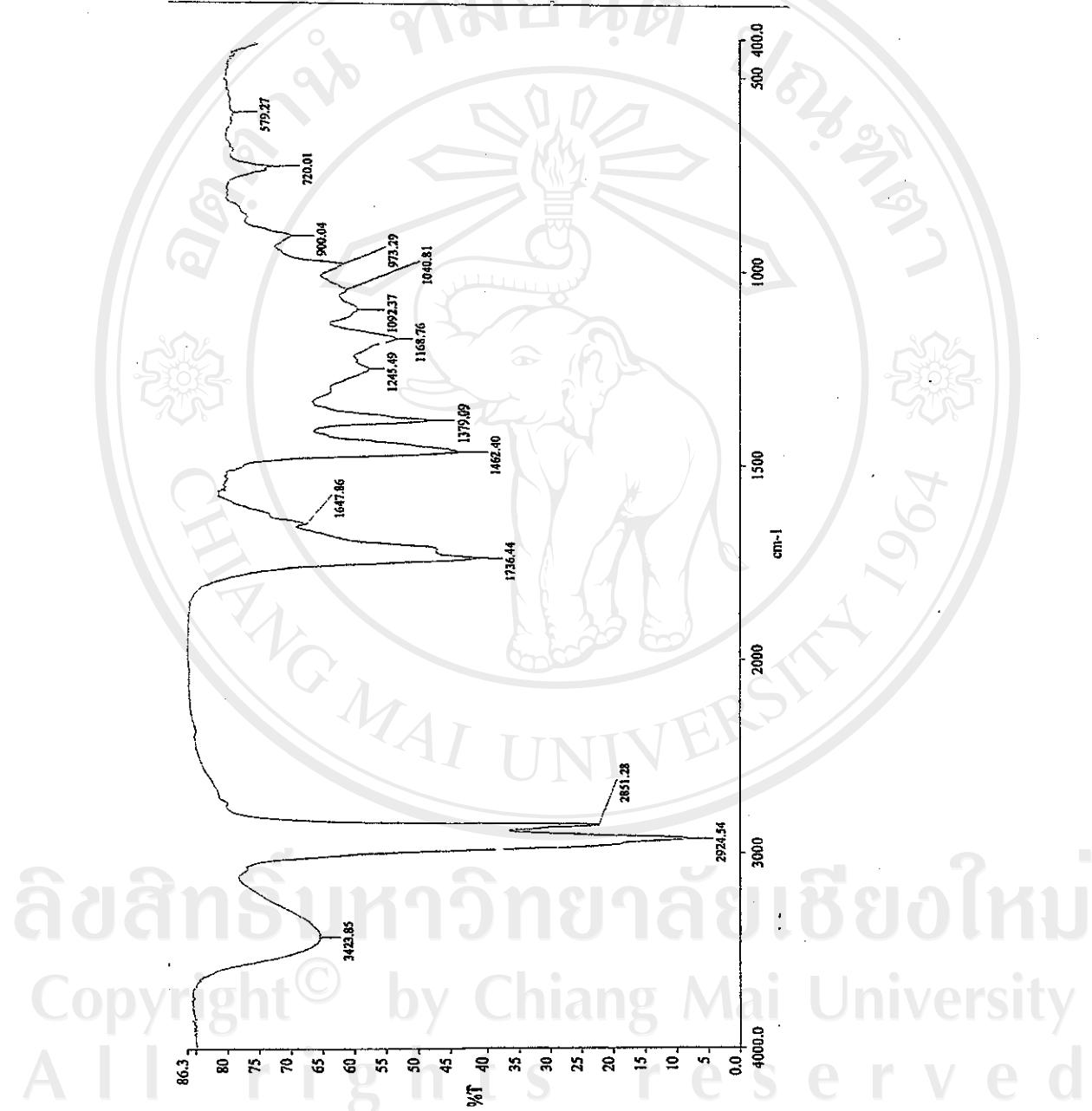
รูป 30 แสดงโคมาร์โตรแกรม 2 มิติของกรดแอลฟ้าไฮครอกซีจากในสัมปอยและการมาตรฐานชิตริกในน้ำยาจะมีตัวแปรคือ เอ็น-บิวทานอล, กรดอะซิติก และน้ำ ($4 : 1 : 1$) และมิติที่ 2 คือ เอ็น-โปรปานอล และแอนโนเนียม ไฮครอกไซด์ ($6 : 4$)

จากโคมาร์โตรแกรมรูป 30 พบร่วมกับ spot สีเหลืองบนพื้นสีน้ำเงินซ้อนทับเป็นจุดเดียว
แสดงว่ากรดที่แยกได้จากในสัมปอยน่าจะเป็นกรดชิตริก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright[©] by Chiang Mai University
All rights reserved

3.3.2 การพิสูจน์เอกสารลักษณ์โดยเทคนิคการดูดกลืนรังสีอินฟราเรด

ผลของค่าการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดของกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีจากใบส้มป้อมเปรียบเทียบกับกรรมมาตรฐานทั้ง 5 ชนิด แสดงดังรูป 31



รูป 31 แสดงอินฟราเรดスペกตรัมของกรดแอลฟ้าไฮดรอกซีจากใบส้มป้อม

ตาราง 21 แสดงค่า wave number จากสเปกตรัมอินฟราเรดของกรดที่แยกได้จากใบส้มป้อมเทียนกับกรดมาตราฐานซิตริก

หมู่ฟังก์ชัน	wave number กรดที่แยกได้จากใบส้มป้อม (cm^{-1})	wave number กรดมาตราฐานซิตริก (cm^{-1})
O-H stretching	3100-3600	3000-3500
C=O stretching	1736.44	1701.14
C-O stretching	1245.49	1238.77
O-H blending	900.04, 1462.40	943.31, 1429.89

จากตาราง 21 ค่า wave number จากอินฟราเรดสเปกตรัมของกรดที่แยกได้จากใบส้มป้อมพบว่ามีหมู่ฟังก์ชัน C=O ที่ 1736.44, C-O ที่ 1245.49 และ O-H ที่ 3100-3600, 900.04, 1462.40 แสดงว่ากรดที่แยกได้เป็นกรดคาร์บอเนตซิตริก และเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบอินฟราเรดสเปกตรัมของกรดที่แยกได้จากใบส้มป้อมดังรูป 31 กับอินฟราเรดสเปกตรัมของกรดมาตราฐานซิตริกดังรูป 32 พบว่ามีความคล้ายคลึงกัน แสดงว่ากรดที่แยกได้จากใบส้มป้อมน่าจะเป็นกรดซิตริก