

บทที่ 4

วิจารณ์ผลการทดลอง

1. ในขั้นตอนการเตรียมพืชตัวอย่าง เนื่องจากพืชตัวอย่างทั้ง 3 ชนิดมีใบเป็นลักษณะใบประกอบที่มีขนาดเล็ก จึงต้องเก็บพืชมาเป็นกิ่งแล้วอบให้แห้งเสียก่อนจึงจะสามารถเด็ดเอาเฉพาะใบออกได้ง่าย จึงทำให้ไม่สามารถทราบน้ำหนักของใบพืชตัวอย่างสดได้

2. ในการสกัดพืชตัวอย่างเลือกใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย เนื่องจากกรดอินทรีย์จะละลายได้ดีในน้ำและเอทานอล⁷

3. การนำสารสกัดเข้มข้นเมทานอลมาคัมกับน้ำ แล้วนำสารสกัดน้ำมาผ่านคอลัมน์เรซินไดโอไอออน-เอชพี 20 ก่อนนำไปแยกด้วยคอลัมน์โครมาโตกราฟี เพื่อแยกกรดและน้ำตาลออกมา⁸

4. ในขั้นตอนการแยกกรดด้วยคอลัมน์โครมาโตกราฟี ทดสอบแต่ละ fraction ว่ามีกรดอยู่หรือไม่ โดยการใช้กระดาษกรองชิ้นเล็กๆชุบสารละลายโบรโมครีซอลกรีนเป็นตัวทดสอบทุก Fraction หากมีกรดอยู่กระดาษจะเปลี่ยนจากสีน้ำเงินเป็นเหลือง

5. การสกัดแยกกรดแอลฟาไฮดรอกซีจากใบผักปวยล่า

5.1 การทดสอบเบื้องต้นหากรดแอลฟาไฮดรอกซีในใบผักปวยล่าโดยเทคนิคโครมาโตกราฟีกระดาษเทียบกับกรดแอลฟาไฮดรอกซีมาตรฐาน 5 ชนิด ในน้ำยาชะชนิดที่ 1 คือ เอ็น-บิวทานอล, กรดอะซิติก และน้ำ (4 : 1 : 1) ได้ผลคั่งโครมาโตแกรมรูป 8 พบว่าค่า R_f ของสารสกัดน้ำเข้มข้นจากใบผักปวยล่ามีค่าเท่ากับ 0.42 ซึ่งเท่ากับค่า R_f ของกรดซิตริก และในน้ำยาชะชนิดที่ 2 คือ เอ็น-โพรพานอล และแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (6:4) ได้ผลคั่งโครมาโตแกรมรูป 9 พบว่าค่า R_f ของสารสกัดน้ำเข้มข้นจากใบผักปวยล่ามีค่าเท่ากับ 0.34 ซึ่งเท่ากับค่า R_f ของกรดซิตริก จึงคาดการณ์ได้ว่าในใบผักปวยล่าจะมีกรดซิตริกอยู่

5.2 การสกัดพืชตัวอย่างโดยนำใบผักปวยล่าแห้งน้ำหนัก 500 กรัม มาทำการสกัดโดยวิธี Reflux ได้สารเมทานอลเข้มข้น คิดเป็นร้อยละ 18 นำไปผ่านคอลัมน์ไดโอไอออนเรซิน เอชพี-20 ได้สารสกัดน้ำเข้มข้น คิดเป็นร้อยละ 8.20 จากนั้นนำมาแยกกรดแอลฟาไฮดรอกซีด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีคอลัมน์ พบว่ากรดถูกชะออกมาเมื่อผ่านคอลัมน์ครั้งที่ 3 ในน้ำยาชะคลอโรฟอร์มและเมทานอลในอัตราส่วน 8 : 2 ใน fraction ที่ 43-55 ได้กรดหนัก 2.48 กรัม คิดเป็นร้อยละ 0.50

5.3 การพิสูจน์เอกลักษณ์กรดแอลฟาไฮดรอกซีที่แยกได้

5.3.1 โดยเทคนิคโครมาโตกราฟีกระดาษชนิด 1 มิติ ในน้ำยาชะ เอ็น-บิวทานอล, กรดอะซิติก และน้ำ (4 : 1 : 1) ได้ผลดังโครมาโตแกรมรูป 10 พบว่ากรดที่แยกได้จากใบผักปวยล่ามีค่า Rf เท่ากับ 0.49 ซึ่งเท่ากับค่า Rf ของกรดซิตริก ส่วนในน้ำยาชะ เอ็น-โพรพานอล และแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (6:4) ได้ผลโครมาโตแกรมดังรูป 11 พบว่ากรดที่แยกได้จากใบผักปวยล่ามีค่า Rf เท่ากับ 0.26 ซึ่งเท่ากับค่า Rf ของกรดซิตริก โดยเทคนิคโครมาโตกราฟีกระดาษ 2 มิติ ได้ผลดังโครมาโตแกรมรูป 12-14 พบว่ามี spot สีเหลืองบนพื้นสีน้ำเงินเพียงจุดเดียว แสดงว่ากรดที่แยกได้จากใบผักปวยล่าจะเป็นกรดซิตริก

5.3.2 โดยเทคนิคการดูดกลืนรังสีอินฟราเรด นำกรดที่แยกได้จากใบผักปวยล่าไปวัดค่าการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดได้สเปกตรัมสารตัวอย่างดังรูป 15 เปรียบเทียบกับกรดมาตรฐานซิตริกได้สเปกตรัมดังรูป 32 จากตาราง 7 เมื่อศึกษาค่า wave number จากอินฟราเรดสเปกตรัมของกรดที่แยกได้จากใบผักปวยล่า พบว่ามีหมู่ฟังก์ชัน C=O ที่ 1694.88, C-O ที่ 1250.75 และ O-H ที่ 3000-3600, 917.18, 1438.54 แสดงว่ากรดที่แยกได้เป็นกรดคาร์บอกซิลิก และเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบกับอินฟราเรดสเปกตรัมของกรดที่แยกได้จากใบผักปวยล่ากับอินฟราเรดสเปกตรัมของกรดมาตรฐานซิตริกพบว่ามีค่าคล้ายคลึงกัน แสดงว่ากรดที่แยกได้จากใบผักปวยล่าจะเป็นกรดซิตริก

6. การสกัดแยกกรดแอลฟาไฮดรอกซีจากใบมะขามป้อม

6.1 การทดสอบเบื้องต้นหากรดแอลฟาไฮดรอกซีในใบมะขามป้อมโดยเทคนิคโครมาโตกราฟีกระดาษเทียบกับกรดแอลฟาไฮดรอกซีมาตรฐาน 5 ชนิด ในน้ำยาชะชนิดที่ 1 คือ เอ็น-บิวทานอล, กรดอะซิติก และน้ำ (4 : 1 : 1) ได้ผลดังโครมาโตแกรมรูป 16 พบว่าค่า Rf ของสารสกัดน้ำเข้มข้นจากใบมะขามป้อมมีค่าเท่ากับ 0.53 ซึ่งเท่ากับค่า Rf ของกรดทาร์ทาริก และในน้ำยาชะชนิดที่ 2 คือ เอ็น-โพรพานอล และแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (6:4) ได้ผลดังโครมาโตแกรมรูป 17 พบว่าค่า Rf ของสารสกัดน้ำเข้มข้นจากใบมะขามป้อมมีค่าเท่ากับ 0.47 ซึ่งเท่ากับค่า Rf ของกรดทาร์ทาริก จึงคาดการณ์ได้ว่าในใบมะขามป้อมน่าจะมีกรดทาร์ทาริกอยู่

6.2 การสกัดพืชตัวอย่างโดยนำใบมะขามป้อมแห้งน้ำหนัก 1000 กรัม มาทำการสกัดโดยวิธี Reflux ได้สารเมทานอลเข้มข้น คิดเป็นร้อยละ 42.87 นำไปผ่านคอลัมน์ไดโอไอออนเรซิน เอชพี-20 ได้สารสกัดน้ำ คิดเป็นร้อยละ 15.26 จากนั้นนำมาแยกกรดแอลฟาไฮดรอกซีด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีคอลัมน์ พบว่ากรดถูกชะออกมาเมื่อผ่านคอลัมน์ครั้งที่ 4 ในน้ำยาชะคลอโรฟอร์มและเมทานอลในอัตราส่วน 8.5 : 1.5 ใน fraction ที่ 31-37 ได้กรดหนัก 0.56 กรัม คิดเป็นร้อยละ 0.06

6.3 การพิสูจน์เอกลักษณ์กรดแอลฟาไฮดรอกซีที่แยกได้

6.3.1 โดยเทคนิคโครมาโตกราฟีกระดาษชนิด 1 มิติ ในน้ำยาชะ เอ็น-บิวทานอล, กรดอะซิติก และน้ำ (4 : 1 : 1) ได้ผลดังโครมาโตแกรมรูป 18 พบว่ากรดที่แยกได้จากใบมะขามป้อมมีค่า Rf เท่ากับ 0.45 ซึ่งเท่ากับค่า Rf ของกรดทาร์ทาริก ส่วนในน้ำยาชะ เอ็น-โพรพานอล และแอมโมเนียม ไฮดรอกไซด์ (6:4) ได้ผลโครมาโตแกรมดังรูป 19 พบว่ากรดที่แยกได้จากใบมะขามป้อมมีค่า Rf เท่ากับ 0.45 ซึ่งเท่ากับค่า Rf ของกรดทาร์ทาริก โดยเทคนิคโครมาโตกราฟีกระดาษ 2 มิติ ได้ผลดังโครมาโตแกรมรูป 20-22 พบว่ามี spot สีเหลืองบนพื้นสีน้ำเงินเพียงจุดเดียว แสดงว่ากรดที่แยกได้จากใบมะขามป้อมน่าจะเป็นกรดทาร์ทาริก

6.3.2 โดยเทคนิคการดูดกลืนรังสีอินฟราเรด นำกรดที่แยกได้จากใบมะขามป้อมไปวัดค่าการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดได้สเปกตรัมสารตัวอย่างดังรูป 23 เปรียบเทียบกับกรดมาตรฐานทาร์ทาริกได้สเปกตรัมดังรูป 36 จากตาราง 14 เมื่อศึกษาค่า wave number จากอินฟราเรดสเปกตรัมของกรดที่แยกได้จากใบมะขามป้อม พบว่ามีหมู่ฟังก์ชัน C=O ที่ 1755.02, C-O ที่ 1286.32 และ O-H ที่ 3100-3600, 921.72, 1444.89 แสดงว่ากรดที่แยกได้เป็นกรดคาร์บอกซิลิก และเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบกับอินฟราเรดสเปกตรัมของกรดที่แยกได้จากใบมะขามป้อมกับอินฟราเรดสเปกตรัมของกรดมาตรฐานทาร์ทาริกพบว่ามีค่าคล้ายคลึงกัน แสดงว่ากรดที่แยกได้จากใบมะขามป้อมน่าจะเป็นกรดทาร์ทาริก

7. การสกัดแยกกรดแอลฟาไฮดรอกซีจากใบส้มป่อย

7.1 การทดสอบเบื้องต้นหากรดแอลฟาไฮดรอกซีในใบส้มป่อยโดยเทคนิคโครมาโตกราฟีกระดาษเทียบกับกรดแอลฟาไฮดรอกซีมาตรฐาน 5 ชนิด ในน้ำยาชะชนิดที่ 1 คือ เอ็น-บิวทานอล, กรดอะซิติก และน้ำ (4 : 1 : 1) ได้ผลดังโครมาโตแกรมรูป 24 พบว่าค่า Rf ของสารสกัดน้ำเข้มข้นจากใบส้มป่อยมีค่าเท่ากับ 0.55 ซึ่งเท่ากับค่า Rf ของกรดซิตริก และ ในน้ำยาชะชนิดที่ 2 คือ เอ็น-โพรพานอล และแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (6:4) ได้ผลดังโครมาโตแกรมรูป 25 พบว่าค่า Rf ของสารสกัดน้ำเข้มข้นจากใบส้มป่อยมีค่าเท่ากับ 0.28 ซึ่งเท่ากับค่า Rf ของกรดซิตริก จึงคาดการณ์ได้ว่าในใบส้มป่อยน่าจะมีกรดซิตริกอยู่

7.2 การสกัดพืชตัวอย่างโดยนำใบส้มป่อยแห้งน้ำหนัก 700 กรัม มาทำการสกัดโดยวิธี Reflux ได้สารเมทานอลเข้มข้น คิดเป็นร้อยละ 7.14 นำไปผ่านคอลัมน์ไดโอไอออนเรซิน เอชพี-20 ได้สารสกัดน้ำเข้มข้น คิดเป็นร้อยละ 3.20 จากนั้นนำมาแยกกรดแอลฟาไฮดรอกซีด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีคอลัมน์ พบว่ากรดถูกชะออกมาเมื่อผ่านคอลัมน์ครั้งที่ 4 ในน้ำยาชะ คลอโรฟอร์มและเมทานอลในอัตราส่วน 8 : 2 ใน fraction ที่ 27-34 ได้กรดหนัก 0.86 กรัม คิดเป็นร้อยละ 0.12

7.3 การพิสูจน์เอกลักษณ์กรดแอลฟาไฮดรอกซีที่แยกได้

7.3.1 โดยเทคนิคโครมาโตกราฟีกระดาษชนิด 1 มิติ ในน้ำยาชะ เอ็น-บิวทานอล, กรดอะซิติก และน้ำ (4 : 1 : 1) ได้ผลดังโครมาโตแกรมรูป 26 พบว่ากรดที่แยกได้จากใบส้มป่อยมีค่า Rf เท่ากับ 0.51 ซึ่งเท่ากับค่า Rf ของกรดซิตริก ส่วนในน้ำยาชะ เอ็น-โพรพานอล และแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (6:4) ได้ผลโครมาโตแกรมดังรูป 27 พบว่ากรดที่แยกได้จากใบส้มป่อยมีค่า Rf เท่ากับ 0.30 ซึ่งเท่ากับค่า Rf ของกรดซิตริก โดยเทคนิคโครมาโตกราฟีกระดาษ 2 มิติ ได้ผลดังโครมาโตแกรมรูป 28-30 พบว่ามี spot สีเหลืองบนพื้นสีน้ำเงินเพียงจุดเดียว แสดงว่ากรดที่แยกได้จากใบส้มป่อยน่าจะเป็นกรดซิตริก

7.3.2 โดยเทคนิคการดูดกลืนรังสีอินฟราเรด นำกรดที่แยกได้จากใบส้มป่อยไปวัดค่าการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดได้สเปกตรัมสารตัวอย่างดังรูป 31 เปรียบเทียบกับกรดมาตรฐานซิตริกได้สเปกตรัมดังรูป 32 จากตาราง 21 เมื่อศึกษาค่า wave number จากอินฟราเรดสเปกตรัมของกรดที่แยกได้จากใบส้มป่อย พบว่ามีหมู่ฟังก์ชัน C=O ที่ 1736.44, C-O ที่ 1245.49 และ O-H ที่ 3100-3600, 900.04, 1462.40 แสดงว่ากรดที่แยกได้เป็นกรดคาร์บอกซิลิก และเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบกับอินฟราเรดสเปกตรัมของกรดที่แยกได้จากใบส้มป่อยกับอินฟราเรดสเปกตรัมของกรดมาตรฐานซิตริกพบมีความคล้ายคลึงกัน แสดงว่ากรดที่แยกได้จากใบส้มป่อยน่าจะเป็นกรดซิตริก