

การพัฒนบทปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เรื่อง การสกัดและแยก
องค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรในท้องถิ่นสำหรับหลักสูตรวิทยาศาสตร์
ของสถาบันราชภัฏ

ปริญญานิพนธ์

ของ

ศิริกานต์ ผาสุข

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาการศึกษาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์ศึกษา
พฤษภาคม 43
ลิขสิทธิ์เป็นของ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

การพัฒนาศักยภาพการวิจัยเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เรื่อง การสกัดและแยก
องค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรในท้องถิ่นสำหรับหลักสูตรวิทยาศาสตร์
ของสถาบันราชภัฏ

บทคัดย่อ

ของ

ศิริกานต์ ผาสุข

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาการศึกษาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์ศึกษา
พฤษภาคม 2543

147638

27 11 2544

ศิริกานต์ ผาสข. (2543) การพัฒนาบทปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติเรื่องการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรในท้องถิ่น สำหรับหลักสูตรวิทยาศาสตร์ของสถาบันราชภัฏ.ปริญญาโท กศ.ด. (วิทยาศาสตร์ศึกษา). กรุงเทพฯ :บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. คณะกรรมการควบคุม : รองศาสตราจารย์ ดร.ณัฐพงษ์ เจริญพิทย์, รองศาสตราจารย์ ดร.สมสรร วงษ์น้อย, รองศาสตราจารย์ ดร.ยงยุทธ ตันกุลเวส

งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยและพัฒนา มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) สกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมี คือ น้ำมันหอมระเหย ฟลาโวนอยด์ แทนนิน ชาโปนิน คาร์ติแอกกลัยโคไซด์แอนทราควิโนน แอลคาลอยด์ และสเตอรอยด์จากพืชสมุนไพรในท้องถิ่น 2) เพื่อพัฒนาบทปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เรื่องการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรในท้องถิ่น สำหรับนักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตร์ของสถาบันราชภัฏ ผู้วิจัยได้ดำเนินการเป็น 3 ตอนคือ 1) สรรวจพืชสมุนไพรที่มีองค์ประกอบทางเคมีและวางแผนในการสกัดแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพร 2) ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ 3) พัฒนาบทปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากผลการทดลองที่ได้ และหาประสิทธิภาพของบทปฏิบัติการด้วยการใช้ค่าดัชนีความสอดคล้อง โดยผู้เชี่ยวชาญด้านเคมีและด้านวิทยาศาสตร์ศึกษา จำนวน 11 ท่านซึ่งประเมินในด้านเอกสารประกอบบทปฏิบัติการ (ใบความรู้) บทปฏิบัติการ รายงานผลและคำถามท้ายการทดลอง

ผลการวิจัยปรากฏดังนี้

1. พืชสมุนไพรที่ใช้สกัดน้ำมันหอมระเหย ฟลาโวนอยด์ แทนนิน ชาโปนิน คาร์ติแอกกลัยโคไซด์แอนทราควิโนน แอลคาลอยด์ และสเตอรอยด์ได้แก่ ผลพริกไทยดำ ดอกกานพลู เปลือกผลมังคุด ใบชุมเห็ดเทศ ผลมะคำดีควาย ดอกกระเจี๊ยบแดง หัวร้อยรู และเมล็ดรำเพยตามลำดับ

2. ผลการทดลองที่ได้จากห้องปฏิบัติการนำมาพัฒนาเป็นบทปฏิบัติการเพื่อการเรียนการสอนได้ 8 บทปฏิบัติการดังนี้

บทปฏิบัติการที่ 1 การสกัดและแยกยูจีนอลจากน้ำมันกานพลูด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบก๊าซ

บทปฏิบัติการที่ 2 การสกัดและแยกแอนโธไซยานินจากดอกกระเจี๊ยบแดงด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

- บทปฏิบัติการที่ 3 การสกัดและแยกแทนนินจากเปลือกผลมังคุดด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง
- บทปฏิบัติการที่ 4 การสกัดและแยกผลมะคำดีควายโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง
- บทปฏิบัติการที่ 5 การสกัดและแยกคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากเมล็ดรำเพยโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง
- บทปฏิบัติการที่ 6 การสกัดและแยกแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบางและปฏิกิริยาเคมี
- บทปฏิบัติการที่ 7 การสกัดและแยกปีเปอริน จากผลพริกไทยดำด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปี
- บทปฏิบัติการที่ 8 การสกัดและแยกเบต้าไซโตสเตอรอลจากหัวร้อยรูด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง

3. บทปฏิบัติการเพื่อการเรียนการสอน 8 บทปฏิบัติการ มีค่าดัชนีความสอดคล้องระหว่างวัตถุประสงค์กับเนื้อหา วัตถุประสงค์กับวิธีการทดลองและวัตถุประสงค์กับคำถามท้ายการทดลอง ระหว่าง 0.56 ถึง 1.00 แสดงว่าบทปฏิบัติการที่พัฒนาขึ้นมีประสิทธิภาพสำหรับนำไปใช้ทางด้านการเรียนการสอนได้

**A Development of Laboratories for Natural Product Chemistry on Extraction and
Separation of Chemical Components from Domestic Herbs for Rajabhat Institute's
Science Curriculum**

**AN ABSTRACT
BY
SIRIKAN PHASUK**

**Presented in partial fulfillment of the requirements
for the Doctor of Education degree in Science Education
at Srinakharinwirot University
November 2000**

Sirikan Phasuk. (2000). *A Development of Laboratories for Natural Product Chemistry on Extraction and Separation of Chemical Components from Domestic Herbs for Rajabhat Institute's Science Curriculum*. Dissertation, Ed.D (Science Education). Bangkok : Graduate School, Srinakharinwirot University. Advisor Committee : Assoc. Prof. Dr.Natthapong Charoenpit , Assoc. Prof. Dr. Somsan Wongyounoi , Assoc. Prof. Dr. Yongyut Tundulawessa.

This experimental study was conducted under two objectives :1) to extract and separate the chemical components : essential oil, flavonoid, tannin, saponin, cardiac glycoside, anthraquinone, alkaloids and steroid from domestic herbs; 2) to develop laboratories for natural product chemistry on extraction and separation of chemical components from domestic herbs for the Rajabhat Institute's science curriculum.

The study was achieved through the following steps: 1) survey plants having chemical components and design plans to extract and separate the chemical components from herbs, 2) perform scientific experiments in laboratories, 3) develop instructional laboratories for natural products and 4) identify efficiency by employing the Index of Congruency (IOC) through evaluation of 11 experts in chemistry and science education.

Findings of this research were:

1. Chemical components from herbs can be extracted and separated; alkaloid from black *piper nigrum* Linn, essential oil from *Eugenia caryophyllus* bullock et Harrison, tannin from *Garcinia mangostana* Linn, anthraquinone from *Cassia alata* Linn, saponin from *Sapindus rarak* Linn, flavonoid from *Habicus sabdariffa* Linn, steroid from *Hydnophytum formicarium* Jack, cardiac glycoside from *Thevetia peruviana* V. schum.

2. Eight instructional laboratories were proposed from the scientific laboratories:

1) An extraction and separation of Eugenol from *Eugenia caryophyllus* Bullock et Harrison with Gas Chromatography, 2) An extraction and separation of Anthocyanin from *Habicus sabdariffa* Linn with Column Chromatography, 3) An extraction and separation of Tannin from *Garcinia mangostana* Linn with Thin -layer Chromatography, 4) An extraction and separation of Saponin from *Sapindus rarak* A.DC. with Thin-layer Chromatography, 5) An extraction and separation of Cardiac glycoside from *Thevetia peruviana* V. schum with Thin - layer Chromatography. 6) An extraction and separation of Anthraquinone from

Cassia alata Linn. with Thin - layer Chromatography, 7) An extraction and separation of Piperine from *black piper nigrum* Linn with Spectroscopy and 8) An extraction and separation of β - sitosterol from *Hydnophytum formicarium* Jack with High Performance Liquid Chromatography.

3. The eight instructional laboratories, through evaluation of 11 experts in chemistry and science education, yielded the Indices of Congruency between 0.56 to 1.00 which means that the laboratories are efficient for instructional uses .

ปริญญานิพนธ์

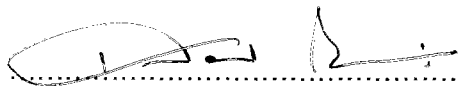
เรื่อง

การพัฒนานาบทปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เรื่อง การสกัดและแยกองค์ประกอบ
ทางเคมี จากพืชสมุนไพรในท้องถิ่น สำหรับหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิตของสถาบันราชภัฏ

ของ

นางสาวศิริกานต์ ผาสุข

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาการศึกษาคุณวุฒิบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์ศึกษา
ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

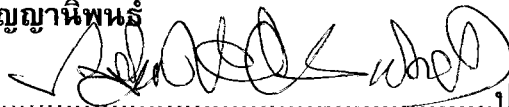


.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(ศาสตราจารย์ ดร.เสริมศักดิ์ วิศวลาภรณ์)

วันที่ 29 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2543

คณะกรรมการสอบปริญญานิพนธ์



.....ประธาน

(รองศาสตราจารย์ ดร.ณัฐพงษ์ เจริญพิทย์)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.สมสรร วงษ์อยู่น้อย)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.ยงยุทธ ตันจุลเวสส)

.....กรรมการที่แต่งตั้งเพิ่มเติม

(รองศาสตราจารย์ ดร.กาญจนา ชูครุวงศ์)

.....กรรมการที่แต่งตั้งเพิ่มเติม

(ดร.พลสันห์ โพธิ์ศรีทอง)

ประกาศคุณูปการ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยความอนุเคราะห์เป็นอย่างดียิ่งจาก รองศาสตราจารย์ ดร.ณัฐพงษ์ เจริญพิทย์ ประธานกรรมการที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร. สมสร วรช้อยน้อย และ รองศาสตราจารย์ ดร.ยงยุทธ ดันทุลเวสส กรรมการที่ปรึกษาที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำแนวทางในการวิจัยมาโดยตลอด ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณ ดร.พลสันต์ โพธิ์ศรีทอง และ รองศาสตราจารย์ ดร.กาญจนา ชูครูวงศ์ ที่ให้คำแนะนำเพิ่มเติมในการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ทรงศักดิ์ เพชรมิตร ดร. บรรชา รัตนวัย รองศาสตราจารย์ ดร.ประเสริฐ ศรีไพโรจน์ รองศาสตราจารย์ ดร.ไพโรจน์ กลิ่นพิทักษ์ รองศาสตราจารย์ ดร.ระมัด โชชัย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รัตนา สนั่นเมือง ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิชัย ใจวิสุทธิหรรษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มานพ มัทธูรศ รองศาสตราจารย์ ดร.สุวิมล เขี้ยวแก้วและศาสตราจารย์ ดร.ลำเรียง บุญเรืองรัตน์ ที่กรุณาให้คำแนะนำ ตรวจสอบแก้ไขเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ไพบุลย์ แสงแก้ว ผู้อำนวยการศูนย์วิทยาศาสตร์สถาบันราชภัฏเพชรบุรีวิทยาเขตกรณ ในพระบรมราชูปถัมภ์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ใช้เครื่องมือของศูนย์วิทยาศาสตร์ในการวิจัยตลอดจนภาคีวิชาเคมีและภาควิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไปมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่ให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์และสารเคมี

ขอขอบคุณอาจารย์ วราตุล ฉัตรทอง ที่กรุณาให้คำปรึกษาในเรื่องเครื่องมือทางเคมีวิเคราะห์รวมทั้งอาจารย์วิลาศ พุ่มพิมล ที่กรุณาให้คำปรึกษาในเรื่องการใช้เครื่องมือในการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืช

ขอขอบคุณ ดร. ชาตรี เกิดธรรม ที่กรุณาให้คำปรึกษาและช่วยเหลือในด้านการพิมพ์งาน ขอขอบคุณ ดร.เปรมจิตร บุญสาย ที่ให้คำแนะนำปรึกษาและตรวจทานปริญญานิพนธ์ฉบับนี้

ขอขอบคุณเพื่อน ๆ พี่ ๆ และน้อง ๆ ชาววิทยาศาสตร์ศึกษา ตลอดจนผู้ที่เกี่ยวข้องกับทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือ แนะนำและเป็นกำลังใจในการทำปริญญานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณ คุณเกษแก้ว บุตรวงษ์ คุณณัฐพล อุษสกุล คุณณัฐพงษ์ บุตรทอง คุณอนันต์ รักธรรม และคุณอำนาจ แยมเพชรที่กรุณาให้ความช่วยเหลือในการเป็นผู้ช่วยวิจัยและช่วยในการพิมพ์งานจนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

คุณค่าและประโยชน์ใด ๆ ที่พึงมีจากปริญญานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบเป็นเครื่องบูชาพระคุณของคุณพ่อประเสริฐ ผาสุข ผู้ล่งลับและคุณแม่เสงี่ยม ผาสุข และพี่ๆ ตลอดจนครูอาจารย์และผู้มีพระคุณทุกท่าน

ศิริกานต์ ผาสุข

สารบัญ

บทที่

หน้า

1	บทนำ.....	1
	ภูมิหลัง.....	1
	ความมุ่งหมายของการวิจัย.....	6
	ความสำคัญของการวิจัย.....	6
	ขอบเขตของการวิจัย.....	6
	นิยามศัพท์เฉพาะ.....	8
2	เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	10
	เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาค้นคว้า.....	10
	ความหลากหลายทางชีวภาพ.....	11
	ประวัติการพัฒนาสมุนไพร.....	16
	การจำแนกพืชสมุนไพร.....	25
	การสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมี.....	30
	องค์ประกอบทางเคมีในพืชสมุนไพร.....	73
	กิจกรรมปฏิบัติการวิทยาศาสตร์.....	156
	งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาค้นคว้า.....	159
	งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมี	
	จากพืชสมุนไพร.....	159
	งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับกิจกรรมปฏิบัติการวิทยาศาสตร์.....	161
	สมมติฐานการวิจัย.....	162
3	วิธีดำเนินการวิจัย.....	164
	ขั้นตอนที่ 1 การสำรวจข้อมูลพื้นฐาน.....	166
	ขั้นตอนที่ 2 การกำหนดกรอบแนวคิดหลักสูตร.....	166
	ขั้นตอนที่ 3 การวางแผนการทดลอง.....	166
	ขั้นตอนที่ 4 การทดลองในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์.....	166

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
ขั้นตอนที่ 5 การพัฒนาบทปฏิบัติการ เรื่องการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมี จากพืชสมุนไพร.....	201
ขั้นตอนที่ 6 การประเมินบทปฏิบัติการ.....	207
4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล.....	208
ตอนที่ 1 การทดลองในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์.....	208
ตอนที่ 2 การพัฒนาบทปฏิบัติการวิทยาศาสตร์.....	230
ตอนที่ 3 การประเมินประสิทธิภาพบทปฏิบัติการ.....	233
5 สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ.....	236
ความมุ่งหมายของการศึกษาค้นคว้า.....	236
สมมติฐานของการศึกษาค้นคว้า.....	236
วิธีดำเนินการศึกษาค้นคว้า.....	237
วิธีการทดลอง.....	237
ผลการศึกษาค้นคว้า.....	239
อภิปรายผลการศึกษาค้นคว้า.....	244
ข้อเสนอแนะ.....	251
บรรณานุกรม.....	254
ภาคผนวก.....	270
ประวัติย่อผู้วิจัย.....	449

บัญชีตาราง

ตาราง

หน้า

1	แสดงคุณสมบัติของตัวทำละลายบางชนิดที่ใช้สกัดสาร.....	31
2	แสดง Eluotropic series ของตัวทำละลายต่าง ๆ.....	36
3	แสดงลักษณะเฉพาะของระบบฉีดสารตัวอย่างที่เป็นแบบ split, splitless และ on-column injections.....	51
4	แสดงลักษณะเฉพาะทั่ว ๆ ไป (general characteristics) ของดีเทคเตอร์ ชนิดต่าง ๆ.....	58
5	แสดงค่า "miscibility number" ของตัวทำละลาย.....	61
6	ตารางแสดงหมู่แทนที่ในสารแอนโรไซยานิน.....	83
7	เจนนิงของคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์บางชนิด.....	115
8	แสดงส่วนประกอบของรีเอเจนต์ที่ทดสอบปฏิกิริยาการเกิดสีของ คาร์ดิแอกกลัยโคไซด์.....	120
9	ตารางแสดงน้ำยาดกตะกอนแอลคาลอยด์ที่นิยมใช้.....	136
10	การพิสูจน์ชนิดแอลคาลอยด์โดยใช้คุณสมบัติทางเคมี.....	141
11	แสดงการแยกน้ำมันหอมระเหยจากดอกกานพลูด้วยเฮกเซน และ เมทิลีนคลอไรด์.....	170
12	แสดงแนวทางในการพัฒนาบทปฏิบัติการ.....	202
13	แสดงระบบที่ใช้แยกอัตราส่วนและค่า R_f ของสารมาตรฐานแทนนินและสารที่ สกัดได้จากเปลือกผลมังคุด.....	217
14	แสดงผลการทดลองที่ได้จากการแยกแทนนินจากเปลือกผลมังคุดและ ตรวจสอบด้วยปฏิกิริยาเคมี.....	218
15	แสดงระบบที่ใช้แยกอัตราส่วนและค่า R_f ที่ใช้แยกซาโปนินจาก ผลมะคำดีควาย.....	219
16	แสดงผลการตรวจ steroidal moiety ในสารสกัดเข้มข้นจากเมล็ดรำแพน สารละลายจากยาลาน็อกซิน และไดโกซิน.....	221

บัญชีตาราง (ต่อ)

ตาราง		หน้า
17	แสดงระบบที่ใช้ในการแยก อัตราส่วน และค่า R_f ของสารละลายจาก ยาลานีอกซิน และไดโกซิน และสารสกัดจากเมล็ดรำเพย.....	221
18	แสดงผลการทดลองการทดสอบแอนทราควิโนนจากสารสกัดจากใบ ชุมเห็ดเทศ.....	223
19	แสดงระบบที่ใช้แยก อัตราส่วนและค่า R_f ที่ใช้แยกแอนทราควิโนนจาก ใบชุมเห็ดเทศ.....	223
20	ผลการตรวจหาแอลคาลอยด์ในผลพริกไทยดำ.....	224
21	แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานปีเปอรินที่ ความเข้มข้นต่าง ๆ.....	225
22	แสดงความเข้มข้นของปีเปอรินจากสารสกัดจากผลพริกไทยดำด้วย คลอโรฟอร์ม.....	226
23	แสดงระบบที่ใช้แยก อัตราส่วนและ ค่า R_f ของสารมาตรฐานแทนนินและสารที่ สกัดได้จากเปลือกผลมังคุด.....	227
24	แสดงค่าดัชนีความสอดคล้องของแต่ละส่วนของบทปฏิบัติการที่ได้จากการ ประเมินโดยผู้เชี่ยวชาญ.....	233

บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ

หน้า

1	แผนภูมิแสดงคุณค่าของความหลากหลายทางชีวภาพที่มีต่อมนุษยชาติ ทั้งโดยทางตรงและทางอ้อม.....	12
2	แผนภูมิแสดงการพัฒนาที่ยั่งยืนบนพื้นฐานของความหลากหลาย ทางชีวภาพเพื่อคุณภาพที่ดีของชีวิต สังคม และสิ่งแวดล้อม พร้อมกับทรัพยากรมนุษย์ที่มีคุณภาพ.....	15
3	แสดงเทคนิคการศึกษาโครมาโทกราฟีเยื่อบาง.....	34
4	แสดงวิธีการปฏิบัติโครมาโทกราฟีคอลัมน์ชนิด adsorption.....	39
5	แสดงวิธีการปฏิบัติโครมาโทกราฟีคอลัมน์ partition.....	40
6	โครมาโทแกรมของสารชนิดหนึ่งแสดงเวลา (t) การเคลื่อนที่ของสารนั้น ในคอลัมน์และความกว้าง (w) ของฐานพีก.....	42
7	กราฟของ H.E.T.P. กับอัตราการไหลของก๊าซพา (μ) x เป็นค่า flow rate ที่เหมาะสม (H.E.T.P. น้อยที่สุด) ที่ทำให้คอลัมน์มีประสิทธิภาพสูงที่สุด.....	43
8	แสดงค่า Eddy diffusion ของ solid support.....	44
9	แสดงค่า Molecular diffusion ของ carrier gas.....	45
10	แสดงค่า Mass transfer ของ Liquid phase.....	46
11	แสดงประสิทธิภาพของคอลัมน์.....	46
12	แสดงองค์ประกอบที่สำคัญของเครื่องโครมาโทกราฟีแบบก๊าซ.....	47
13	แสดง Van Deemter plot.....	48
14	แสดงส่วนประกอบของเครื่องโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง.....	60
15	สูตรโครงสร้างขององค์ประกอบบางชนิดในน้ำมันหอมระเหย.....	76
16	แสดงการเปลี่ยนแปลงของสารกลุ่ม anthocyanins ในสภาวะความเป็น กรดต่างต่าง ๆ.....	84
17	แสดงชีวสังเคราะห์ของฟลาโวนอยด์.....	94
18	แสดงชีวสังเคราะห์ของ Hydrolysable tannin.....	103
19	แสดงชีวสังเคราะห์ของ Condensed tannin.....	112
20	แสดงชีวสังเคราะห์ของ sapogenins.....	112

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ

หน้า

21	แสดงชีวสังเคราะห์ของคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์.....	118
22	แสดงการตรวจสอบคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์.....	119
23	แสดงชีวสังเคราะห์ของแอนทราควิโนนที่มีสารตั้งต้นจากอะซิเตตและมาโลเนต....	124
24	แสดงชีวสังเคราะห์ของแอนทราควิโนนที่มีสารตั้งต้นจากซิติเมตและเมวาโลเนต...	125
25	แสดงขั้นตอนการสกัดแอนทราควิโนน.....	127
26	แสดงขั้นตอนการสำรวจหาแอลคาลอยด์ในพืชวิธีที่ 1.....	138
27	แสดงขั้นตอนการสำรวจหาแอลคาลอยด์ในพืชวิธีที่ 2.....	139
28	แสดงขั้นตอนการสกัดและแยกแอลคาลอยด์โดยวิธี Stas-Otto.....	140
29	แสดงชีวสังเคราะห์ของคอลลิซีน.....	145
30	แสดงโครงสร้างหลักของสเตอรอยด์ชนิดต่าง ๆ.....	149
31	แสดงชีวสังเคราะห์ของสเตอรอยด์.....	151
32	แสดงการเปลี่ยนแปลงจาก cholesterol ไปเป็น vitamin D ₃	153
33	แสดงชีวสังเคราะห์ของสเตอรอยด์ลอร์ดอร์โมน.....	155
34	แสดงขั้นตอนในการพัฒนานาบทปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เรื่อง การสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรในห้องถิ่น.....	165
35	แสดงขั้นตอนการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากดอกกานพลู.....	169
36	แสดงขั้นตอนการแยกน้ำมันหอมระเหยจากดอกกานพลู.....	171
37	แสดงขั้นตอนการแยกและหาปริมาณน้ำมันหอมระเหยจากดอกกานพลู ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบก๊าซ.....	172
38	แสดงขั้นตอนการสกัดฟลาโวนอยด์จากดอกกระเจี๊ยบแดง.....	173
39	แสดงขั้นตอนการแยกฟลาโวนอยด์ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง.....	173
40	แสดงขั้นตอนการแยกฟลาโวนอยด์จากดอกกระเจี๊ยบแดงด้วย วิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์.....	174
41	แสดงขั้นตอนการทดสอบฟลาโวนอยด์ที่สกัดได้จากดอกกระเจี๊ยบแดง ด้วยปฏิกิริยาไซยานิดิน และการทดสอบแอนโธไซยานิน.....	176
42	แสดงขั้นตอนการสกัดแทนนินจากเปลือกผลมังคุด.....	177

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ	หน้า
43 แสดงขั้นตอนการแยกแทนนินจากเปลือกผลมังคุด.....	178
44 แสดงขั้นตอนการแยกแทนนินจากเปลือกผลมังคุด และทดสอบด้วย ปฏิกิริยาเคมี.....	179
45 แสดงขั้นตอนการสกัดชาโปนินจากผลมะคำดีควาย.....	181
46 แสดงขั้นตอนการตรวจสอบชาโปนินที่สกัดจากผลมะคำดีควายด้วยการ ทดสอบฟอง.....	182
47 แสดงขั้นตอนการตรวจสอบชาโปนินที่สกัดได้จากผลมะคำดีควายด้วยการ การทดสอบสีด้วยปฏิกิริยาไลเบอร์แมน-เบอร์ชาร์ด.....	183
48 แสดงขั้นตอนการแยกชาโปนินจากผลมะคำดีควายด้วยวิธีโครมาโทกราฟี แบบเยื่อบาง.....	184
49 แสดงขั้นตอนการสกัดคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากเมล็ดรำเพย.....	185
50 แสดงขั้นตอนการตรวจสอบคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์ด้วยปฏิกิริยาเคมี.....	188
51 แสดงขั้นตอนการแยกคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากเมล็ดรำเพยด้วยวิธี โครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง.....	189
52 แสดงขั้นตอนการสกัดแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศ.....	190
53 แสดงขั้นตอนการแยกแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศ และตรวจสอบ ความบริสุทธิ์ของสารประกอบกลัยโคไซด์ (purified glycoside) ด้วยปฏิกิริยาเคมี.....	191
54 แสดงขั้นตอนการแยกแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศ และตรวจสอบ อะกลัยโคน (aglycone) ด้วยปฏิกิริยาเคมี.....	193
55 แสดงขั้นตอนการแยกแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศด้วยวิธีโครมาโทกราฟี แบบเยื่อบาง.....	194
56 แสดงขั้นตอนการตรวจหาแอลคาลอยด์ในผลพริกไทยดำ.....	195
57 แสดงขั้นตอนการทำกราฟมาตรฐานจากปิเปอรินบริสุทธิ์.....	196
58 แสดงขั้นตอนวิเคราะห์หาปริมาณปิเปอรินในผลพริกไทยดำ.....	197
59 แสดงขั้นตอนการสกัดสเตอรอยด์จากหัวร้อยรู.....	198

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ

หน้า

60	แสดงขั้นตอนการแยกสเตอรอยด์จากหัวร้อยรู.....	199
61	แสดงขั้นตอนการแยกสเตอรอยด์จากหัวร้อยรูด้วยโครมาโทกราฟีแบบ ของเหลวสมรรถนะสูง.....	201
62	แสดงโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานยูจีนอล ความเข้มข้น 0.01056 ppm นิต 1 ไมโครลิตร.....	210
63	แสดงโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานยูจีนอล ความเข้มข้น 0.01320 ppm นิต 1 ไมโครลิตร.....	211
64	แสดงโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานยูจีนอล ความเข้มข้น 0.01584 ppm นิต 1 ไมโครลิตร.....	212
65	แสดงโครมาโทแกรมของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากดอกกานพลู.....	213
66	แสดงโครมาโทแกรมที่ได้จากการเติมสารละลายมาตรฐานยูจีนอล ปริมาตร 0.5 ไมโครลิตร และน้ำมันหอมระเหยจากดอกกานพลูปริมาตร 0.5 ไมโครลิตร.....	214
67	แสดงกราฟที่ได้จากการซ้อนทับของโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน ยูจีนอล น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากดอกกานพลูและการเติมสารละลาย มาตรฐานยูจีนอลกับน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากดอกกานพลู.....	215
68	แสดงกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนคลื่นแสงกับความเข้มข้นของ สารละลายมาตรฐานปิเปอริน.....	225
69	แสดงโครมาโทแกรมที่ได้จากการแยกสารละลายมาตรฐานเบต้าไซโตสเตอรอล..	228
70	แสดงโครมาโทแกรมที่ได้จากการแยกสารที่สกัดจากหัวร้อยรู.....	228
71	แสดงโครมาโทแกรมที่ได้จากการเติมสารละลายมาตรฐานเบต้าไซโตสเตอรอล กับสารที่สกัดได้จากหัวร้อยรู.....	229
72	แสดงโครมาโทแกรมที่ได้จากการซ้อนทับโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน เบต้าไซโตสเตอรอล สารที่สกัดได้จากหัวร้อยรูและการเติมสารละลาย มาตรฐานเบต้าไซโตสเตอรอลกับสารที่สกัดได้จากหัวร้อยรู.....	229

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ

หน้า

- 73 แสดงกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานเบต้าไฮโดสเตอรอลที่ความเข้มข้น 0.01 ppm, 0.02 ppm และ 0.03 ppm ตามลำดับ.....230

บทที่ 1

บทนำ

ภูมิหลัง

ประเทศไทยเป็นประเทศที่อยู่บริเวณศูนย์สูตรที่อยู่ในป่าเขตร้อนชื้น ซึ่งอุดมไปด้วยความหลากหลายทางชีวภาพ มีพันธุ์พืชนานาชนิดมากมาย ในจำนวนพืชทั้งหมดที่ศึกษากันมาแล้วประมาณ 248,000 สปีชีส์ พบว่ามีอยู่ในประเทศไทยประมาณ 20,000 สปีชีส์ ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 8 ของพืชที่นักวิชาการรู้จัก ในจำนวนนี้มีอยู่ไม่น้อยกว่า 500 ชนิดที่คนไทยใช้เป็นยาสมุนไพรรักษาโรคมะเร็งใช้เจ็บต่าง ๆ ตามตำราแพทย์แผนโบราณตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน และคาดว่าจะยังมีพืชอีกจำนวนมากที่ยังไม่ได้รับการศึกษาค้นคว้าในส่วนต่าง ๆ ของประเทศไทย (วิสุทธิ ไบไม้. : 62-63)

คนในสมัยโบราณเมื่อเกิดอาการป่วยไข้ก็ได้มีการนำพืชชนิดต่าง ๆ มาใช้เป็นยารักษาโรค พืชแทบทุกชนิดจะมีฤทธิ์ทางการรักษาโรคมาบ้างน้อยบ้าง โดยนำพืชเหล่านั้นมาใช้ในรูปแบบต่าง ๆ เช่น ยาต้ม ยาดอง ยาลูกกลอน เป็นต้น เมื่อพืชชนิดใดใช้ได้ผลดีหรือทำให้เกิดโทษก็จดจำเอาไว้และถ่ายทอดกันต่อ ๆ มา ซึ่งทำการรักษาโดยแพทย์แผนโบราณ

ต่อมาเมื่อมีการติดต่อค้าขายกับประเทศทางตะวันตกก็ได้มีการนำยาแผนปัจจุบันหรือที่เรียกว่า “ยาฝรั่ง” ซึ่งสังเคราะห์มาจากสารเคมี เข้ามาเผยแพร่ ยาแผนปัจจุบันนี้ใช้ง่าย สะดวก และให้ผลในการรักษาโรคทั่วไปได้เร็ว จึงทำให้ความนิยมยาสมุนไพรลดลง แต่ในระยะหลังพบว่ายาแผนปัจจุบันเมื่อร่างกายรับเข้าไปมาก ๆ จะมีผลข้างเคียง (Side Effect) ที่ไม่พึงปรารถนาเกิดขึ้นด้วย เช่น จากการศึกษาวิจัยพบว่าทารกที่คลอดจากมารดาที่ใช้ยาทาลิโดไมด์ (Thalidomide) ซึ่งเป็นยานอนหลับที่ผลิตในประเทศเยอรมัน เมื่อคลอดออกมาแล้วไม่มีแขนขาหรือตาบอด จำนวน 8,000 ราย ใน 46 ประเทศ (ดวงใจ ลิ้มสกุล. 2539 : 3) ด้วยเหตุนี้ทำให้ทั่วโลกหันมาสนใจสมุนไพรซึ่งมีอยู่ตามธรรมชาติ องค์การอนามัยโลกมีแผนที่จะให้ประเทศที่กำลังพัฒนาใช้สมุนไพรเป็นยาสำหรับการดูแลสุขภาพขั้นต้น ซึ่งกระทรวงสาธารณสุขได้มีนโยบายที่ต่อเนื่องกันมาตลอด ที่จะเร่งดำเนินการเพื่อจะให้นำสมุนไพรมาใช้อย่างครบวงจร มีการนำสมุนไพร 5 ชนิด คือ ขมิ้นชัน ว่านหางจระเข้ ฟ้าทะลายโจร ชุมเห็ดเทศ และเสลดพังพอน มาเป็นยารักษาโรคทั้งในงานสาธารณสุขมูลฐาน และถึงขั้นผลิตเป็นอุตสาหกรรมและพาณิชย์กรรม มีการแก้กฎหมายให้เอื้อต่อการพัฒนาสมุนไพร และส่งเสริมให้บุคลากรสาธารณสุขยอมรับการใช้สมุนไพร มีการส่งเสริมให้ปลูกพืชสมุนไพรเพื่อใช้ภายในหมู่บ้าน โดยปลูกไว้ตามบ้านในสวนครัว หรือตามที่สาธารณะ เช่น ตามโรงพยาบาล สถานีอนามัยและวัด และยังปลูกเป็นพืชเศรษฐกิจ เป็นการเพิ่มรายได้ให้ครอบครัว และเป็นการสนับสนุนให้ประชาชนสนใจหันมาใช้สมุนไพรมากยิ่งขึ้น ซึ่งเป็นวิธีหนึ่งที่จะช่วยลดการขาดดุล

การค้าในการสั่งซื้อผลิตภัณฑ์ยาจากต่างประเทศได้ปีละเป็นจำนวนมาก และในเรื่องการใช้จ่ายของคนไทยนั้น จากการศึกษาพบว่ามูลค่าการใช้จ่ายของประเทศไทยในปี พ.ศ. 2525 เป็นเงิน 17,939 ล้านบาท และในปี พ.ศ. 2533 ได้เพิ่มขึ้นเป็นเงิน 69,293 ล้านบาท ซึ่งเป็นการเพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 35.5 ในขณะที่ตัวเลขรายได้ประชาชาติเพิ่มขึ้นเพียงร้อยละ 18.4 เมื่อสำรวจถึงคุณค่าของการใช้จ่ายพบว่าสุขภาพของคนไทยไม่ได้ดีขึ้นตามสัดส่วนของการใช้จ่าย เพราะยาที่คนไทยใช้นั้นมีเพียง 1 ใน 3 เท่านั้นที่เป็นการใช้จ่ายที่เหมาะสมและถูกต้องในขณะที่อีก 1 ใน 3 เป็นการใช้จ่ายมากเกินไปและใช้จ่ายแพง ที่เหลือเป็นการใช้จ่ายผิด (รจนิภา อรรถสิษฐ์. 2537 : 141) ดังนั้นถ้าเราหันมาใช้ยาสมุนไพรเป็นยารักษาโรคเบื้องต้น เช่น ปวดหัว ตัวร้อน ท้องผูก ท้องเดิน เป็นต้น ก็จะช่วยประหยัดงบประมาณรายจ่ายไปได้มากและจะสอดคล้องกับภาวะเศรษฐกิจของประเทศไทยในขณะนี้

ในชนบทที่ห่างไกล ประชาชนไม่สะดวกในการที่จะไปขอรับบริการจากโรงพยาบาลหรือสถานรักษาพยาบาลของรัฐ ทางเลือกหนึ่งที่ประชาชนสามารถรักษาตัวเองเบื้องต้นได้ คือ การใช้สมุนไพรที่กระทรวงสาธารณสุขรับรองแล้ว มารักษาโรคเบื้องต้นได้ การรักษาตัวเองเบื้องต้น ด้วยสมุนไพรนับเป็นทางเลือกหนึ่งที่เป็นบันไดสู่การพึ่งตนเองของคนไทยโดยไม่ต้องซื้อยาจากต่างประเทศหรือใช้จ่ายที่สังเคราะห์จากสารเคมี

หลายประเทศได้มีการนำพืชสมุนไพรมาใช้ประโยชน์อย่างมากมาย ประมาณร้อยละ 40 ของยารักษาโรคต่าง ๆ (วิสุทธิ ไบไม้. 2538 : 37) ที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบันได้มาจากตัวยาสสมุนไพร หรือไม่กี่ได้มาจากการศึกษาสารเคมีที่มีต้นกำเนิดมาจากสารสกัดจากพืชสมุนไพรในป่าธรรมชาติ ทั้งสิ้น ตัวอย่างเช่น พังพวยฝรั่งชนิดหนึ่งที่ขึ้นอยู่ในเกาะมาดากาสกา ชาวบ้านพื้นเมืองใช้พืชสมุนไพรนี้รักษาโรคเบาหวาน และโรคความดันโลหิตสูง เมื่อนักวิทยาศาสตร์นำพืชสมุนไพรนี้มาสกัดและวิเคราะห์ศึกษาทางด้านเคมีพบว่าพืชพวกนี้มีสารพวกแอลคาลอยด์หลายชนิด และยังพบสารวินคริสทีน (Vincristine) ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นตัวยารักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาว (Leukaemia) ได้เป็นอย่างดี ยาควินินที่ใช้รักษาโรคมาลาเรียในสมัยก่อนเป็นผลผลิตของพวกพืชชิงโคนา (cinchona) มีคุณสมบัติรักษาไข้มาลาเรียได้เป็นอย่างดี ปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์สามารถสังเคราะห์สารควินินขึ้นมาใช้ได้จากการเรียนรู้โครงสร้างทางเคมีของสารที่สกัดจากพืชนั่นเอง และพืชชิงเฮาซู (qinghaosu) ที่ชาวจีนและเวียดนามนำมาใช้รักษาไข้มาลาเรียเป็นเวลายาวนาน และได้ผลดีมาจนถึงทุกวันนี้ยากที่จะหายาสมัยใหม่เทียมแทนได้ ปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์พบว่าสารที่สกัดได้จากพืชชนิดนั้นคือ อาทีสิมินิน (artesiminin) มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อมาลาเรียได้ดีและได้พัฒนาสังเคราะห์สารอนุพันธ์ของอาทีสิมินิน (artesiminin) ขึ้นมาใหม่อีก 2 ชนิด คือ อาทีมีเทอร์ (artemether) และ อาทีสุนัด (artesunate) ซึ่งมีฤทธิ์ทำลายเชื้อมาลาเรียได้ดีเช่นเดียวกัน (วิสุทธิ ไบไม้. 2538 : 43-44) และยังมี รีเซอปีน (Reserpine) ซึ่งใช้เป็นยาลดความดันโลหิตซึ่งได้จากรากกระยอมน้อย เคลแนค (Kelnac) เป็นยาที่รักษาโรค

กระเพาะอาหารได้จากสารเปลาโนทอล (Plannotol) ซึ่งสกัดได้จากใบเปล้าน้อย (วันดี กฤษณพันธ์. 2538 : 1)

มนุษย์เกิดมาอยู่ร่วมโลกกับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น ๆ มากมายหลายสิบล้านชนิดในอดีตกาลที่ผ่านมามนุษย์ได้ใช้ชีวิตอยู่ร่วมกับพืช สัตว์ จุลินทรีย์ อย่างเป็นระบบตามกระบวนการวิวัฒนาการ โดยการคัดเลือกโดยธรรมชาติ มนุษย์ในยุคต้นและยุคต่อ ๆ มาได้เรียนรู้และสะสมความรู้เกี่ยวกับธรรมชาติและสิ่งที่มีรอบ ๆ ตัวจนกลายเป็นองค์ความรู้พื้นฐานแบบชาวบ้านหรือที่รู้จักกันในนาม “ภูมิปัญญาท้องถิ่น” ซึ่งอาจนับได้ว่าเป็นเทคโนโลยีพื้นบ้านที่ถ่ายทอดและสืบสานต่อมาเป็นเวลายาวนาน (วิสุทธิ ไบไม้. 2537 : 256-271) สมุนไพรนับเป็นภูมิปัญญาท้องถิ่นที่มีคุณค่าที่บรรพบุรุษของเราได้มอบเป็นมรดกไว้ให้ ซึ่งเราควรช่วยกันอนุรักษ์และพัฒนาการรักษาโรคจากพืช สมุนไพรธรรมชาติในพื้นที่ชนบทและสารสกัดที่สกัดได้จากพืชสมุนไพร เพื่อนำไปสังเคราะห์ใช้ในทางอุตสาหกรรมด้านเภสัชกรรม การนำพืชสมุนไพรมาใช้เป็นยารักษาโรคนั้นเป็นการนำเอาทรัพยากรชีวภาพมาใช้ให้เกิดประโยชน์ต่อประชาชนและประเทศชาติอย่างถูกต้อง และเหมาะสม ตามแนวทางการพัฒนาอย่างยั่งยืนโดยไม่ฝืนธรรมชาติและไม่ทำลายสภาพแวดล้อม (วิสุทธิ ไบไม้. 2538 : 193) เป็นการอนุรักษ์และพัฒนาสภาพแวดล้อมเพื่อให้เกิดความสมดุลของการใช้ทรัพยากรธรรมชาติอย่างเหมาะสมกับการพัฒนาประเทศ (ชัยวัฒน์ คุประตกุล. 2535 : 28)

ปัจจุบันพืชสมุนไพรกำลังเป็นพืชเศรษฐกิจที่บริษัทเอกชนทั้งจากภายในและจากต่างประเทศต่างก็แทรกซึมเข้าศึกษาแสวงหาแหล่งพืชสมุนไพรจากตำรายาไทยโบราณและจากภูมิปัญญาชาวบ้านที่ยังไม่รู้ทันและขาดความระมัดระวังในเรื่องนี้ ทำให้ประเทศชาติต้องสูญเสียภูมิปัญญาท้องถิ่น และทรัพยากรทางชีวภาพอันทรงคุณค่าอย่างน่าเสียดาย ดังตัวอย่างกรณีของต้นเปล้าน้อยที่ถูกต่างชาติเอาไปพัฒนาเป็นตัวยารักษาแผลในกระเพาะอาหาร และลำไส้ให้แก่คนทั่วไปทั้งโลก ทำรายได้ให้แก่บริษัทข้ามชาติมีมูลค่าไม่น้อยกว่าปีละ 700 ล้านบาท (วิสุทธิ ไบไม้. 2538 : 195) ดังนั้นเราต้องเห็นคุณค่าและช่วยกันอนุรักษ์พืชสมุนไพรเอาไว้ให้ลูกหลานได้ใช้ ดังบทพระราชนิพนธ์ในสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ ที่ได้พระราชนิพนธ์เกี่ยวกับสมุนไพร ดังนี้ (กระแส วัชรปาน. 2536 : คำนำ)

สมุนไพร	ไทยนี้	มีค่ามาก
พระเจ้าอยู่หัว	ทรงฝาก	ให้รักษา
แต่ปู่ย่า	ตายาย	ใช้กันมา
ควรลูกหลาน	รู้จัก	ใช้สืบไป
เอกลักษณ์	ของชาติ	ควรศึกษา
วิจัยยา	ประยุกต์ใช้	ให้เหมาะสม
รู้ประโยชน์	รู้คุณโทษ	สมุนไพร
เพื่อคนไทย	อยู่รอด	ตลอดกาล

ในการวิจัยเกี่ยวกับสมุนไพรนั้น พบว่าการประมวลข้อมูลเกี่ยวกับสมุนไพร ตลอดจนลำดับความสำคัญยังไม่เพียงพอ หลักฐานวิทยาศาสตร์ที่จะสนับสนุนการใช้สมุนไพรแต่ละชนิดยังไม่สมบูรณ์ การวิจัยเกี่ยวกับสมุนไพรทำกันอย่างกระจัดกระจายทั้งในรูปของสมุนไพรพื้นบ้าน แพทย์แผนโบราณและผู้ที่รักษาด้วยสมุนไพรในท้องที่ต่าง ๆ ด้วยวิธีที่ยังขาดการพัฒนา และไม่มีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์รองรับว่าใช้ได้โดยปลอดภัย จึงทำให้การนำสมุนไพรมาใช้รักษาโรคยังไม่เป็นที่ยอมรับเท่าที่ควร

จากเหตุผลดังกล่าวทำให้ผู้วิจัยซึ่งสอนวิชาเคมีในสถาบันราชภัฏ ซึ่งเป็นสถาบันการศึกษาในระดับอุดมศึกษาในสังกัดกระทรวงศึกษาธิการ ซึ่งในมาตรา 7 แห่งพระราชบัญญัติสถาบันราชภัฏ พ.ศ. 2538 กำหนดไว้ว่าให้สถาบันราชภัฏเป็นสถาบันอุดมศึกษาเพื่อการพัฒนาท้องถิ่นที่เปิดโอกาสให้คนในท้องถิ่นเข้ามามีส่วนร่วมในการดำเนินงานอย่างเต็มที่ สถาบันจะใช้ประโยชน์จากทรัพยากรมนุษย์ ทรัพยากรวัฒนธรรม และทรัพยากรธรรมชาติ ที่มีอยู่ในท้องถิ่นเป็นพื้นฐาน ในการดำเนินงาน โดยมีเป้าหมายอยู่ที่การพัฒนาคุณภาพชีวิตของคนในท้องถิ่นเป็นสำคัญและสถาบันมีภารกิจในด้านการผลิตบัณฑิต โดยมีหลักการ คือ บัณฑิตที่ผลิตจากสถาบันจักมีจิตใจที่ผูกพันอยู่กับท้องถิ่น กระบวนการเรียนการสอนและการวิจัยจักต้องประสานสัมพันธ์อย่างเป็นหนึ่งเดียวกับกระบวนการพัฒนาท้องถิ่น การผลิตบัณฑิตตามหลักการข้างต้นสามารถกระทำได้ด้วยวิธีการต่าง ๆ ดังนี้ (จรูญ ถาวรจักร์. 2538. 7-8)

1. ดำเนินการสร้างหลักสูตรให้สัมพันธ์กับปัญหาและความต้องการ ทางเศรษฐกิจ การเมือง และวัฒนธรรมของท้องถิ่น โดยมีสาระของหลักสูตรต้องมุ่งผสมผสานความรู้ที่เป็นสากล เข้ากับความรู้หรือภูมิปัญญาของท้องถิ่นอย่างพอเหมาะ ในการสร้างและปรับปรุงหลักสูตร ต้องเปิดโอกาสให้ปัญญาชนหรือผู้นำในท้องถิ่นได้เข้ามามีส่วนร่วมตลอดกระบวนการ

2. เลือกใช้กิจกรรมการเรียนการสอนที่เปิดโอกาสให้นักศึกษาและอาจารย์ได้ตรวจสอบและปรับความรู้ให้มีคุณค่าต่อการแก้ปัญหาและพัฒนาคุณภาพของคนในท้องถิ่น ซึ่งจะทำให้ความรู้ในทางทฤษฎีมีผลในการปฏิบัติอย่างแท้จริง การเรียนการสอนในลักษณะนี้ย่อมถือว่าท้องถิ่นเป็นทั้งห้องเรียนและห้องปฏิบัติการ ทรัพยากรมนุษย์ ทรัพยากรวัฒนธรรม และทรัพยากรธรรมชาติที่มีอยู่ในท้องถิ่นย่อมถูกนำมาใช้ประโยชน์ในกระบวนการเรียนการสอนอย่างเต็มที่ โดยที่การเรียนการสอนก็จะทำให้เกิดการพัฒนาทรัพยากรมนุษย์ ทรัพยากรวัฒนธรรมและทรัพยากรธรรมชาติของท้องถิ่นไปด้วยในขณะเดียวกัน

3. สาขาหรือโปรแกรมวิชาที่เปิดสอนต้องสอดคล้องกับความต้องการและแนวโน้มแห่งพัฒนาการของท้องถิ่น โดยมุ่งที่จะให้เกิดการสั่งสมและเพิ่มพูนความสามารถในการวิเคราะห์ปัญหาและแสวงหาทางเลือกใหม่ ๆ ขึ้นในท้องถิ่น กับให้เกิดการพัฒนาความรู้และความคิดริเริ่มสร้างสรรค์ในทางเทคโนโลยีที่เหมาะสมในท้องถิ่นด้วยในการรับนักศึกษาเข้าเรียนในสาขาหรือโปรแกรมต่าง ๆ จักต้องให้โอกาสแก่คนในท้องถิ่นเป็นพิเศษ

4. ในระดับบัณฑิตศึกษา ต้องมุ่งที่การศึกษาค้นคว้าและวิจัยเพื่อสร้างองค์ความรู้ขึ้นจากภูมิปัญญาพื้นฐานที่มีอยู่แล้วอย่างอุดมสมบูรณ์ในท้องถิ่น ซึ่งทำให้ผลการวิจัยมีความหมายต่อการพัฒนา วิถีชีวิตและคุณภาพชีวิตอย่างมีสัมพันธภาพกับประวัติความเป็นมาของท้องถิ่น โดยที่พัฒนาการ ดังกล่าวนี้อาจจะทำให้ของดั้งเดิมในท้องถิ่นได้รับการสืบทอดและปรับปรุงให้มีคุณค่ายิ่งขึ้นอันจะยังผลให้คนในท้องถิ่นเกิดความภูมิใจ มั่นใจ และเกิดความสำนึกในอันที่จะรักษาและพัฒนาท้องถิ่นของตนบนพื้นฐานแห่งชีวิตของท้องถิ่นนั้น ๆ สืบไป

จากความสำคัญของสมุนไพรและการกิจในด้านการผลิตบัณฑิตของสถาบันราชภัฏที่ตั้งได้กล่าวมาแล้ว สถาบันราชภัฏทั้ง 41 แห่ง ซึ่งกระจายกันอยู่ทั่วภูมิภาค จึงน่าจะเป็นแหล่งที่ศึกษาหรือวิจัยเกี่ยวกับพืชสมุนไพรได้เป็นอย่างดี ประกอบกับในการเรียนการสอนหลักสูตรวิทยาศาสตร์ สาขาเคมีของสถาบันราชภัฏ มีวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ (Natural Product Chemistry) เป็นวิชาเลือกวิชาหนึ่งที่เปิดให้นักศึกษาได้เรียน ซึ่งชัยวัฒน์ คุประตกุล (2535 : 28-29) ได้กล่าวไว้ว่า ในศตวรรษที่ 21 หลักสูตรวิทยาศาสตร์ของการศึกษาระบบโรงเรียน วิทยาลัย สถาบันอุดมศึกษา ควรจะมีความยืดหยุ่นและมีส่วนที่เป็นวิชาเลือกมากขึ้น ในการเรียนการสอนวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติมีแต่การเรียนการสอนภาคทฤษฎี และภาคปฏิบัติในการเรียนการสอนวิทยาศาสตร์จะมีกิจกรรมปฏิบัติการทดลองควบคู่ไปด้วยเพราะวิทยาศาสตร์ประกอบด้วยความรู้และกระบวนการแสวงหาความรู้ ซึ่งกระบวนการแสวงหาความรู้ ที่ถือว่าเป็นหัวใจสำคัญของวิชาวิทยาศาสตร์คือกิจกรรมปฏิบัติการทดลอง เพราะกิจกรรมปฏิบัติการทดลองจะเป็นสื่อสำคัญที่ทำให้นักเรียนเข้าใจทฤษฎี สามารถเรียนรู้จนเกิดมโนคติ เกิดทักษะกระบวนการทางวิทยาศาสตร์มากกว่าให้นักเรียนท่องจำจากตำรา (จำแลง เชื้อภักดี. 2538 : 23) การทำกิจกรรมปฏิบัติการทดลองแสดงให้เห็นถึงปรากฏการณ์ต่าง ๆ หลักการและการนำหลักการไปใช้ช่วยให้นักเรียนมีความรู้ ความเข้าใจ ข้อเท็จจริง หลักการ มโนทัศน์ และข้อสรุปต่าง ๆ ทางวิทยาศาสตร์ช่วยพัฒนาทักษะต่าง ๆ นิสัยในการทำงานและเจตคติต่อวิทยาศาสตร์ (Richardson. 1957 : 70-73) และช่วยให้นักเรียนมีความเข้าใจในธรรมชาติของวิทยาศาสตร์ ช่วยส่งเสริมพัฒนาการทางสติปัญญาและช่วยให้นักเรียนเกิดมโนทัศน์ทางวิทยาศาสตร์ (Lunetta, et al. 1981 : 22-25) ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะพัฒนาบทปฏิบัติการการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรที่มีในท้องถิ่น โดยองค์ประกอบทางเคมีที่จะทำการสกัดและแยกออกมานั้นเป็นสารอินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นยารักษาโรคหรือใช้ประโยชน์ทางด้านอื่นได้แก่ แอลคาลอยด์ (alkaloid) น้ำมันหอมระเหย (essential oil) แทนนิน (tannin) แอนทราควิโนน (anthraquinone) ซาโปนิน (saponin) ฟลาโวนอยด์ (flavonoid) สเตอรอยด์ (steroid) และคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์ (cardiacglycoside) และผู้วิจัยหวังว่า การวิจัยเรื่องนี้จะเป็ประโยชน์ต่อการพัฒนาส่วนหนึ่งของงานทางด้านวิทยาศาสตร์ศึกษาของสถาบันราชภัฏ

ความมุ่งหมายของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาวิธีสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมี ของ น้ำมันหอมระเหย ฟลาโวนอยด์ แทนนิน ซาโปนิน คาร์ดิแอกกลัยโคไซด์ แอนทราควิโนน แอลคาลอยด์ และสเตอรอยด์ จากพืชสมุนไพรในท้องถิ่น
2. เพื่อพัฒนาทปปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เรื่องการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรในท้องถิ่น สำหรับหลักสูตรวิทยาศาสตรของสถาบันราชภัฏ

ความสำคัญของการวิจัย

1. เป็นประโยชน์ต่ออาจารย์ผู้สอนที่จะนำทปปฏิบัติการ เรื่องการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีบางประเภทจากพืชสมุนไพรในท้องถิ่นไปเป็นกิจกรรมปฏิบัติการในวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ
2. เป็นการส่งเสริมการเรียนการสอนวิทยาศาสตร์ที่เน้นผู้เรียนเป็นสำคัญ มีส่วนร่วมในการทดลอง ทำให้นักเรียนได้รับประสบการณ์ตรง ได้ค้นพบความรู้ทางวิทยาศาสตร์ด้วยตนเอง ซึ่งจะทำให้ความรู้ในทางทฤษฎีมีผลในทางปฏิบัติอย่างแท้จริง
3. เป็นการนำทรัพยากรธรรมชาติที่มีอยู่มากมายในท้องถิ่น คือพืชสมุนไพรซึ่งเป็นภูมิปัญญาท้องถิ่นที่มีคุณค่ามาใช้ประโยชน์ในกระบวนการเรียนการสอนอย่างเต็มที่ ทำให้เกิดการพัฒนาศักยภาพของท้องถิ่นที่มีในท้องถิ่นไปด้วย
4. ได้แนวทางในการนำพืชสมุนไพรซึ่งเป็นภูมิปัญญาท้องถิ่นมาวิเคราะห์ตามกระบวนการทางวิทยาศาสตร์นับเป็นการผสมผสานความรู้ที่เป็นสากลเข้ากับความรู้หรือภูมิปัญญาท้องถิ่น
5. ส่งเสริมให้นักศึกษาเกิดความตระหนักและเห็นคุณค่าภูมิปัญญาท้องถิ่นด้านพืชสมุนไพร ทำให้นักศึกษาเกิดความภูมิใจในท้องถิ่นของตน ซึ่งจะช่วยให้เกิดการขยายผล ในการอนุรักษ์ และพัฒนาการใช้พืชสมุนไพรให้มีประสิทธิภาพต่อไป

ขอบเขตของการวิจัย

1. การทดลองในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์
 - 1.1 พืชสมุนไพรที่นำมาสกัดและแยกเป็นพืชสมุนไพรที่มีในท้องถิ่น โดยนำมา 8 ชนิด โดยใช้องค์ประกอบทางเคมีในพืชสมุนไพรเป็นตัวกำหนด ได้แก่
 - 1.1.1 น้ำมันหอมระเหย (Essential oil)

- 1.1.2 ฟลาโวนอยด์ (Flavonoid)
- 1.1.3 แทนนิน (Tannin)
- 1.1.4 ซาโปนิน (Saponin)
- 1.1.5 คาร์ดิแอกกลัยโคไซด์ (Cardiac glycoside)
- 1.1.6 แอนทราควิโนน (Anthraquinone)
- 1.1.7 แอลคาลอยด์ (Alkaloids)
- 1.1.8 สเตอรอยด์ (Steroid)

1.2 การสกัดองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพร วิธีการสกัดทำโดย

- 1.2.1 แช่ในตัวทำละลาย
- 1.2.2 ใช้การสกัดแบบต่อเนื่อง

1.3 การแยกองค์ประกอบทางเคมีโดยเทคนิคการแยกสารทางเคมี เช่น โครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง (Thin-layer Chromatography) โครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ (Column Chromatography) โครมาโทกราฟีแบบก๊าซ (Gas Chromatography) โครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography)

1.4 การทดลององค์ประกอบทางเคมีแต่ละชนิดจะทำการทดลอง 3 ครั้ง

2. การเขียนบทปฏิบัติการ ใช้แนวทางดังนี้

2.1 กำหนดเอกสารประกอบบทปฏิบัติการ (ใบความรู้) ให้สอดคล้องกับจุดมุ่งหมายของหลักสูตร

2.2 กำหนดวัตถุประสงค์ หลักการ / ทฤษฎี ให้สอดคล้องกับเนื้อหาที่ใช้ในการเรียนการสอน

2.3 กำหนดอุปกรณ์/เครื่องมือ สารเคมีและวิธีการทดลองให้สอดคล้องกับผลการทดลองในห้องปฏิบัติการ

2.4 กำหนดรายงานผลการทดลองให้สอดคล้องกับผลการทดลอง

2.5 กำหนดคำถามท้ายการทดลองให้สอดคล้องกับวัตถุประสงค์

3. บทปฏิบัติการที่พัฒนาขึ้นมี 8 บทปฏิบัติการ แต่ละบทปฏิบัติการจะใช้เวลาทดลอง 4 ชั่วโมง ถ้าบทปฏิบัติการใดไม่สามารถทดลองให้แล้วเสร็จภายใน 4 ชั่วโมงผู้วิจัยจะนำพืชสมุนไพรไปสกัดให้ออกมาในรูปของสารสกัดสำเร็จในรูปรวม (crude product) เตรียมไว้ให้นักศึกษาหรือถ้าองค์ประกอบทางเคมีใดไม่สามารถหาสมุนไพรในท้องถิ่นมาสกัดได้ ผู้วิจัยจะออกแบบบทปฏิบัติการในลักษณะการศึกษาหาปริมาณ (Quantitative analysis) โดยใช้สารสกัดสำเร็จในรูปรวมเตรียมไว้ให้นักศึกษา เพื่อให้สามารถทำการทดลองให้แล้วเสร็จภายใน 4 ชั่วโมง

4. บทปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เรื่องการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรในท้องถิ่น สำหรับหลักสูตรวิทยาศาสตรของสถาบันราชภัฏ ได้พัฒนาขึ้นเพื่อให้นักศึกษาได้ใช้ในการเรียน ภาคปฏิบัติการทดลอง ตามหลักสูตรวิชาเคมีผลิตภัณฑ์

ธรรมชาติ ซึ่งเป็นวิชาเลือกวิชาหนึ่งของสาขาเคมี (ฉบับปรับปรุง) พ.ศ. 2543 ในการเรียนการสอนวิชานี้มีทั้งภาคทฤษฎีและภาคปฏิบัติการทดลองผู้วิจัยได้ออกแบบการทดลองและพัฒนา เป็นบทปฏิบัติการเพื่อสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพร และให้ทดลองเสร็จภายในเวลาที่กำหนด บทปฏิบัติการนี้ต้องการให้นักศึกษาจะได้เกิดเจตคติต่อวิทยาศาสตร์และเกิดความรู้ความเข้าใจในภาคทฤษฎียิ่งขึ้น โดยทิศทางการทดลองมีลักษณะเป็นการค้นหาคำตอบเพื่อตรวจสอบทฤษฎี

5. การประเมินบทปฏิบัติการก่อนนำไปใช้ประเมินโดยใช้ดัชนีความสอดคล้อง (IOC) โดยประเมินเป็นรายบทปฏิบัติการ

นิยามศัพท์เฉพาะ

1. พืชสมุนไพร หมายถึง พืชที่มีคุณสมบัติเป็นยารักษาโรค ซึ่งมีอยู่ในท้องถิ่น เช่น กระเพรา สะเดา มะระ บัวบก เป็นต้น ในการวิจัยครั้งนี้ศึกษาจาก ผลพริกไทยดำ ดอกทานตะวัน เปลือกมังคุด ใบชุมเห็ดเทศ มะคำดีควาย ดอกกระเจี๊ยบแดง หัวร้อยรูและเมล็ดรำเพย

2. องค์ประกอบทางเคมีในพืชสมุนไพร หมายถึง สารอินทรีย์ที่มีในพืชสมุนไพรที่มีคุณสมบัติเป็นยารักษาโรค ได้แก่

2.1 น้ำมันหอมระเหย (Essential oil) โดยทั่วไปมีกลิ่นหอม เป็นส่วนผสมของสารเคมีหลายชนิด ประเภทเทอร์พีน มักจะมีฤทธิ์ขับลม สารเหล่านี้หลายชนิดใช้ปรุงแต่งกลิ่นยา ใช้เป็นน้ำหอม ใช้แต่งกลิ่นอาหาร บางชนิดมีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย

2.2 ฟลาโวนอยด์ (Flavonoid) เป็นสารที่พบในส่วน of พืชที่มีสี เช่น ดอก ผล ใบ และอาจพบบ้างในส่วนที่เป็นเปลือก ราก หรือแก่น

2.3 แทนนิน (Tannin) เป็นสารประกอบที่พบในพืชทั่วไป มีรสฝาด มีฤทธิ์เป็นกรดอ่อน สามารถตกตะกอนโปรตีนเมื่อถูกกับเกลือคลอไรด์ของเหล็กจะให้สีเขียวน้ำเงินหรือดำ เนื่องจากมีฤทธิ์ฝาดจึงใช้บรรเทาอาการท้องร่วงและยังมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียด้วย

2.4 ซาโปนิน (Saponin) เป็นสารประเภทกลัยโคไซด์ (glycoside) ซึ่งส่วนที่ไม่ใช่น้ำตาล เป็นสเตอรอยด์ (Steroids) หรือไตรเทอร์พีน (Triterpene)

2.5 คาร์ดิแอกกลัยโคไซด์ (Cardiac glycoside) เป็นโอ-กลัยโคไซด์ (O-glycoside) มีส่วน อะกลัยโคน (aglycone) เป็นสเตอรอยด์ นิวเคลียส (steroids nucleus) สารนี้ออกฤทธิ์ที่กล้ามเนื้อหัวใจ โดยไปเพิ่มแรงบีบตัวของกล้ามเนื้อหัวใจ ใช้รักษาโรคหัวใจวาย (Congestive heart failure) ผลในการรักษาขึ้นอยู่กับชนิดของอะกลัยโคน (aglycone) และชนิดของน้ำตาล

2.6 แอนทราควิโนน (Anthraquinone) เป็นกลัยโคไซด์ที่มีส่วน อะกลัยโคน (aglycone) เป็นอนุพันธ์ของแอนทราซีน (anthracene) มีฤทธิ์เป็นยาระบาย และยาถ่าย

2.7 แอลคาลอยด์ (Alkaloid) เป็นสารที่มีรสขม มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ มีสมบัติเป็นเบส เมื่ออยู่ในรูปของเกลือจะละลายน้ำได้ ถ้าอยู่ในรูปของเบสจะละลายในตัวทำละลายอินทรีย์

2.8 สเตอรอยด์ (Steroid) เป็นสารประกอบในพืชที่ละลายได้ดีในไขมันหรือตัวทำละลายที่ละลายไขมันได้ สารในกลุ่มนี้บางตัวใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ยาต้านการอักเสบ

3. การสกัดองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพร หมายถึง การใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสม อาจเป็นตัวทำละลายเดี่ยวหรือตัวทำละลายผสม สกัดสารอินทรีย์ที่ต้องการออกมาจาก พืชสมุนไพร

4. การแยกองค์ประกอบทางเคมี หมายถึง การใช้เทคนิคทางเคมีแยกสารอินทรีย์ที่ผสมกันอยู่ออกจากกัน เทคนิคที่ใช้ เช่น โครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง (Thin-layer Chromatography) โครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ (Column Chromatography) โครมาโทกราฟีแบบก๊าซ (Gas Chromatography) โครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography)

5. วิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ หมายถึง วิชาเลือกวิชาหนึ่งในหลักสูตรวิทยาศาสตร์ของสถาบันราชภัฏ ฉบับปรับปรุง พ.ศ. 2543 ที่ศึกษาเกี่ยวกับการแยก ลักษณะโครงสร้าง และชีวสังเคราะห์ของสารประกอบที่เกิดขึ้นในธรรมชาติ เช่น เทอร์พีน (terpene) สเตอรอยด์ (steroid) น้ำมันหอมระเหย (essential oil) แอลคาลอยด์ (alkaloid) เป็นต้น

6. บทปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เรื่องการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรในห้องถิ่น หมายถึง ชุดปฏิบัติการที่นำความรู้เรื่องการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรในห้องถิ่นมาสร้างเป็นบทปฏิบัติการทดลองวิทยาศาสตร์ เรื่องการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรในห้องถิ่น ในแต่ละบทปฏิบัติการจะประกอบด้วย เอกสารประกอบบทปฏิบัติการ วัตถุประสงค์ หลักการ/ทฤษฎี อุปกรณ์/เครื่องมือ สารเคมี วิธีการทดลอง รายงานผลการทดลองและคำถามท้ายการทดลอง

7. การประเมินบทปฏิบัติการ หมายถึง การนำบทปฏิบัติการวิชาเคมีภัณฑ์ธรรมชาติ เรื่องการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรในห้องถิ่น สำหรับหลักสูตรวิทยาศาสตร์ ของสถาบันราชภัฏที่พัฒนาขึ้นมาประเมินก่อนนำไปใช้ โดยใช้แบบประเมินดัชนีความสอดคล้อง (IOC) ทำการประเมินองค์ประกอบ 3 ส่วนของบทปฏิบัติการ คือ เอกสารประกอบบทปฏิบัติการ บทปฏิบัติการซึ่งประกอบด้วยวัตถุประสงค์ หลักการ/ทฤษฎี อุปกรณ์/เครื่องมือ สารเคมี วิธีการทดลอง รายงานผลการทดลองและคำถามท้ายการทดลอง โดยประเมินความสอดคล้องระหว่างวัตถุประสงค์กับเนื้อหา วัตถุประสงค์กับวิธีการทดลอง วัตถุประสงค์กับคำถามท้ายการทดลอง

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในการวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยได้ศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ซึ่งประมวลเป็นหัวข้อต่าง ๆ ได้ดังนี้

1. ความหลากหลายทางชีวภาพ
 - 1.1 ความหมายของความหลากหลายทางชีวภาพ
 - 1.2 คุณค่าของความหลากหลายทางชีวภาพ
 - 1.3 ภูมิปัญญาไทยกับความหลากหลายทางชีวภาพ
2. ประวัติการพัฒนาศุมนไพรไทย
 - 2.1 การพัฒนาศุมนไพรในสมัยสุโขทัย
 - 2.2 การพัฒนาศุมนไพรในสมัยอยุธยา
 - 2.3 การพัฒนาศุมนไพรในสมัยรัตนโกสินทร์
3. การจำแนกพืชศุมนไพร
 - 3.1 จำแนกตามลักษณะการใช้
 - 3.2 จำแนกตามฤทธิ์ที่พืชศุมนไพรมีผลต่อระบบต่าง ๆ ของร่างกาย
 - 3.3 จำแนกตามสรรพคุณ
 - 3.4 จำแนกโดยใช้ส่วนของพืชที่นำมาใช้ทำยา
4. การสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมี
 - 4.1 การเลือกตัวทำละลายในการสกัด
 - 4.2 การแยกสารด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี (Chromatography)
 - 4.3 โครมาโทกราฟีแบบก๊าซ (Gas Chromatography)
 - 4.4 โครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography)
5. องค์ประกอบทางเคมีในพืชศุมนไพร
 - 5.1 แอลคาลอยด์ (Alkaloid)
 - 5.2 น้ำมันหอมระเหย (Essential oil)
 - 5.3 แทนนิน (Tannin)
 - 5.4 แอนทราควิโนน (Anthraquinone)
 - 5.5 ซาโปนิน (Saponin)
 - 5.6 ฟลาโวนอยด์ (Flavonoid)
 - 5.7 สเตอรอยด์ (Steroid)

- 5.8 คาร์ดิแอกกลัยโคไซด์ (Cardiac glycoside)
 - 6. หลักสูตรวิชาเคมีของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ
 - 7. กิจกรรมปฏิบัติการวิทยาศาสตร์
 - 7.1 ความสำคัญของกิจกรรมปฏิบัติการวิทยาศาสตร์
 - 7.2 จุดมุ่งหมายในการเรียนการสอนปฏิบัติการวิทยาศาสตร์
 - 7.3 การเรียนการสอนปฏิบัติการวิทยาศาสตร์
 - 8. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง
 - 8.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพร
 - 8.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับกิจกรรมปฏิบัติการวิทยาศาสตร์
- ผู้วิจัยขอเสนอเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องตามลำดับ ดังนี้

1. ความหลากหลายทางชีวภาพ

1.1 ความหมายของความหลากหลายทางชีวภาพ

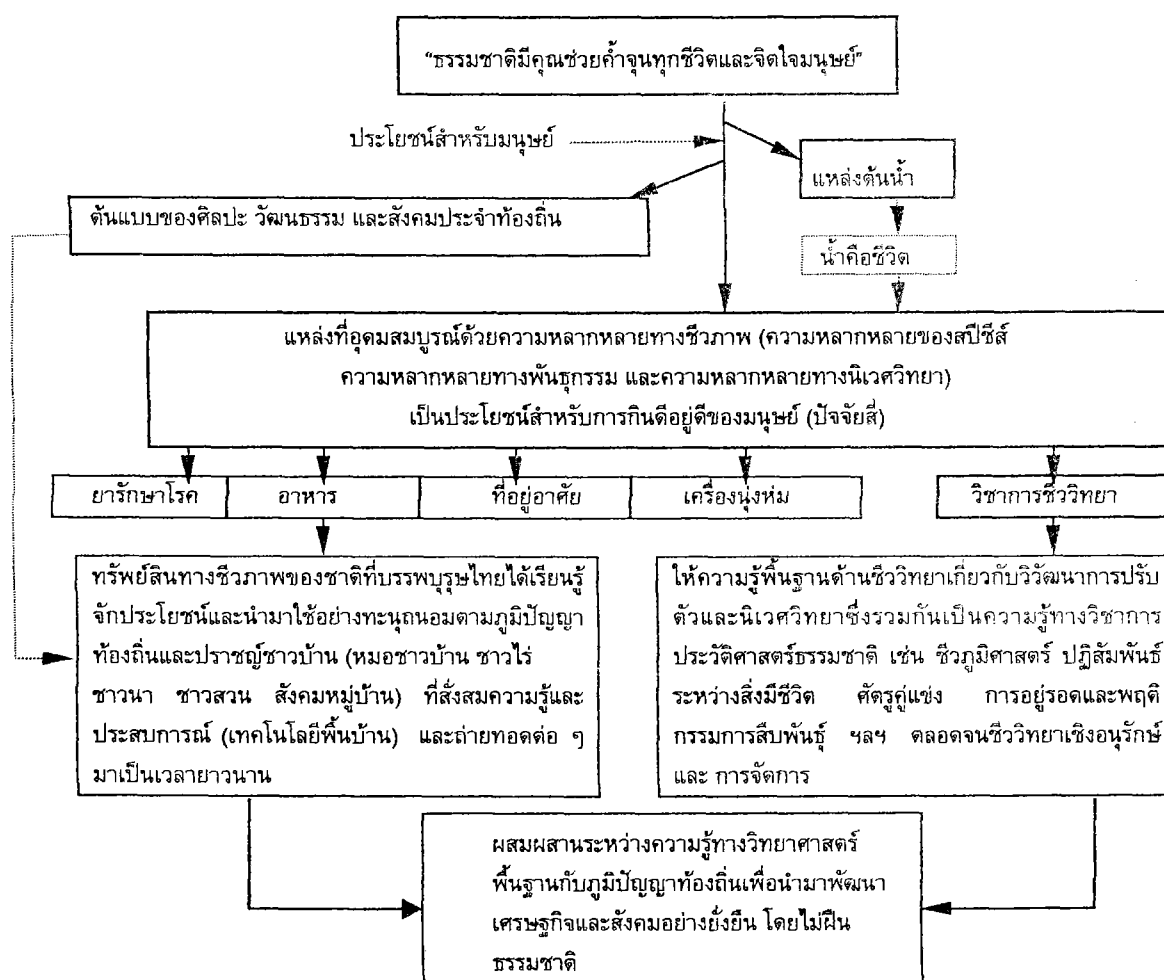
วิสุทธิ ไบไม้ (2538 : 28-29) ได้ให้ความหมายของความหลากหลายทางชีวภาพไว้ว่า หมายถึงความหลากหลายใน 3 ประเด็น คือ

1. ความหลากหลายของชนิดหรือสปีชีส์ (Species diversity) ของสิ่งมีชีวิตทั้งหมดไม่ว่าจะเป็น พวกโปรคาริโอต (Prokaryote) จุลินทรีย์ พืช สัตว์ รวมทั้งมนุษย์ด้วย
2. ความหลากหลายทางพันธุกรรม (Genetic diversity) ที่มีอยู่ในแต่ละหน่วยสิ่งมีชีวิตที่อยู่ร่วมกัน เป็นกลุ่มในประชากรหรือเป็นกลุ่มของประชากร
3. ความหลากหลายทางนิเวศวิทยา (Ecological diversity) ตามแหล่งที่อยู่อาศัยต่าง ๆ กันของ สิ่งมีชีวิต

ดังนั้นจึงอาจกล่าวถึงความหลากหลายทางชีวภาพในเชิงพันธุกรรมหรือยีน (Gene) ในเชิงสปีชีส์ (Species) และในเชิงนิเวศวิทยา (Ecological community) ซึ่งสอดคล้องกับลำดับขั้นของการผสมผสาน องค์ประกอบ (Organization) ของสิ่งมีชีวิตที่มีกระบวนการเปลี่ยนแปลงในวิวัฒนาการ ไปตามกาลและเทศะ ความหลากหลายใน 3 ประเด็นนี้จะต้องมีความผสมกลมกลืนและสอดคล้องกันตามสภาพสมดุลของธรรมชาติ ที่เป็นผลพวงมาจากการปรับเปลี่ยนแปลงวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตตั้งแต่ในอดีตติดต่อกันเรื่อยมาจนถึงปัจจุบัน และกระบวนการเปลี่ยนแปลงวิวัฒนาการจะดำเนินต่อไปอย่างไม่สิ้นสุดโดยไม่มีจุดเป้าหมายใด ๆ ทั้งสิ้น บางกรณีการเปลี่ยนแปลงอาจนำไปสู่จุดจบ คือการสูญพันธุ์ของสิ่งมีชีวิต แต่ในบางกรณีอาจมีการเปลี่ยนแปลงวิวัฒนาการไปเป็นสิ่งมีชีวิตรูปแบบใหม่ หรือแตกแขนงออกเป็นสปีชีส์ใหม่ ๆ เพิ่มขึ้น

1.2 คุณค่าของความหลากหลายทางชีวภาพ

ความหลากหลายทางชีวภาพมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการเป็นอยู่ และความอยู่รอดของมนุษย์ เพราะความหลากหลายทางชีวภาพเป็นทรัพยากรธรรมชาติอย่างหนึ่งซึ่งเป็นที่พึ่งพาอาศัยของมนุษย์โดยเป็นปัจจัยสี่ (อาหาร เครื่องนุ่งห่ม ที่อยู่อาศัย และยารักษาโรค) มนุษย์ได้เรียนรู้สิ่งต่าง ๆ จากธรรมชาติและใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพ จนพัฒนามาเป็นปราชญ์ชาวบ้านที่สร้างสรรค์และสั่งสมสืบสานเป็นองค์ความรู้ภูมิปัญญาท้องถิ่น เกิดเป็นกระบวนการที่นำไปสู่ความหลากหลายทางศิลปวัฒนธรรมประจำถิ่นของสังคมพื้นบ้าน ในกลุ่มชนต่าง ๆ สรุปคุณค่าของความหลากหลายทางชีวภาพที่มี ต่อมนุษยชาติทั้งโดยทางตรงและทางอ้อม แสดงได้ดังภาพประกอบ 1 (วิสุทธิ ไบไม้. 2537 : 256-271)



ภาพประกอบ 1 แผนภูมิแสดงคุณค่าของความหลากหลายทางชีวภาพที่มีต่อมนุษยชาติ ทั้งโดยทางตรงและทางอ้อม

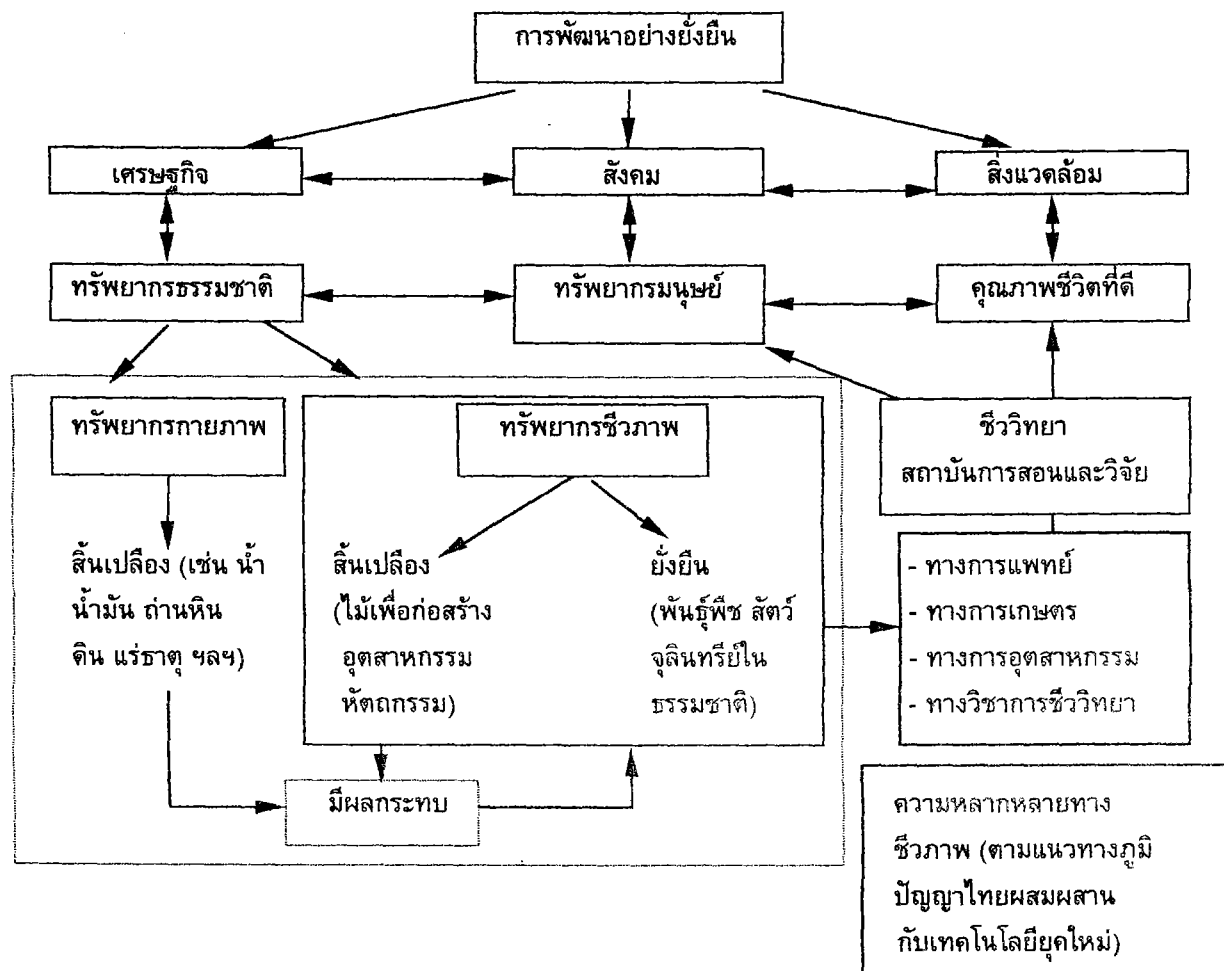
ที่มา : วิสุทธิ ไบไม้. (2537) "มนุษย์กับสมดุลของธรรมชาติ," ใน หนังสือ 30 ปี สหวิทยาการที่ยั่งยืน. หน้า 256-271.

1.3 ภูมิปัญญาไทยกับความหลากหลายทางชีวภาพ

คนไทยในอดีตได้ใช้ชีวิตอยู่ร่วมกับธรรมชาติและไม่เคยมีปัญหาเกี่ยวกับสิ่งแวดล้อม ทำให้ชาวไทยส่วนใหญ่ของประเทศมีคุณภาพชีวิตที่ดีตามอัตภาพติดต่อกันมาเป็นเวลานาน แต่คุณภาพชีวิตที่ดีเช่นแต่ก่อนนั้นได้ถูกทำให้ลดน้อยถอยลงไปจากผลกระทบของการพัฒนาประเทศในช่วง 20-30 ปีที่ผ่านมาจนถึงปัจจุบัน ซึ่งพบว่าคนไทยในปัจจุบันมีคุณภาพชีวิตที่ต่ำลงในขณะที่ตัวเลขการเติบโตทางเศรษฐกิจอยู่ในเกณฑ์สูงตลอดมาทุกปี สภาพนาเศรษฐกิจและสังคมได้ตระหนักถึงผลกระทบของการพัฒนาประเทศที่ผ่านมาเป็นอย่างดี ในแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติฉบับที่ 8 (พ.ศ.2540 - 2544) ได้เน้นการพัฒนาประเทศที่นำไปสู่คุณภาพชีวิตที่ดีของประชาชนคนไทยมากกว่าที่จะเป็นการเติบโตทางเศรษฐกิจแต่เพียงอย่างเดียวดังเช่นที่เกิดขึ้นในอดีตที่ผ่านมา จึงนับได้ว่าสอดคล้องกับกระแสการพัฒนาอย่างยั่งยืนของสังคมโลกที่ไร้พรมแดน การพัฒนาอย่างยั่งยืนโดยไม่ฝืนธรรมชาติเป็นแนวทางการพัฒนายุคใหม่ที่มีความเชื่อมโยงไปถึงการใช้ทรัพยากรธรรมชาติอย่างยั่งยืน โดยเฉพาะทรัพยากรด้านความหลากหลายทางชีวภาพที่บรรพบุรุษของเราได้หยิบมาใช้สอยอย่างทะนุถนอมเป็นเวลายาวนานนับพัน ๆ ปี และได้สั่งสมความรู้ความเข้าใจในการใช้ทรัพยากรชีวภาพอย่างยั่งยืนมาโดยตลอดในรูปแบบของหมอชาวบ้านที่ใช้วิธีการรักษาโรคภัยไข้เจ็บแบบโบราณจากพืชสมุนไพรที่หาได้จากป่าเขาลำเนาไพรที่มีอยู่มากมายในอดีต และในรูปแบบของเกษตรพื้นบ้านที่พัฒนาและรักษาพันธุ์พืชอาหารและพันธุ์สัตว์เลี้ยงเพื่อการดำรงชีวิต บรรพชนไทยได้สั่งสมความรู้ ความเข้าใจและได้ใช้ทรัพยากรชีวภาพที่มีอยู่อย่างอุดมสมบูรณ์อย่างชาญฉลาดในภาพลักษณ์ของ “ภูมิปัญญาไทย” และ “ปราชญ์ชาวบ้าน” แต่เป็นเรื่องที่น่าเสียดายอย่างยิ่งที่ทรัพยากรบุคคลทั้ง 2 ประเภทนี้ได้ถูกทอดทิ้งและอาจถูกเหยียดหยามว่าเป็นคนโบราณล้าสมัยไม่พัฒนาตามกระแสการพัฒนาโดยนักพัฒนายุคใหม่ที่มีแนวคิดแบบตะวันตก ในช่วง 20-30 ปีที่ผ่านมาทำให้ประเทศไทยเราต้องสูญเสียปราชญ์ชาวบ้าน และภูมิปัญญาท้องถิ่นไปพร้อม ๆ กับการสูญเสียความหลากหลายทางชีวภาพอย่างน่าเสียดายยิ่งเสมือนเป็น “การทุบหม้อข้าวของตัวเอง” อย่างน่าละอายใจและไม่น่าให้อภัย ครั้นเมื่อกระแสการพัฒนาตามแบบตะวันตกได้ชี้แนะว่าการพัฒนายุคใหม่จะต้องเน้นการพัฒนาอย่างยั่งยืน กลุ่มนักพัฒนาของไทยเราก็ต้องสนองตอบกระแสการพัฒนาแนวใหม่ตามไปด้วย แท้ที่จริงแล้วก็ไม่น่าจะเรียกว่าเป็นการพัฒนาอย่างยั่งยืนยุคใหม่ เพราะแนวความคิดเกี่ยวกับการพัฒนาอย่างยั่งยืนนั้นเป็นวิถีชีวิตของบรรพชนไทยในอดีตได้ถือปฏิบัติติดต่อกันมาเป็นเวลายาวนานนับพัน ๆ ปี เพียงแต่เราไม่ได้ใส่ใจในภูมิปัญญาไทยและแนวความคิดของปราชญ์ชาวบ้านของเราเท่านั้นเอง เสมือนว่า “อยู่ใกล้เกลือกินด่าง” ฉะนั้นดิฉันนั้น กลุ่มชนในสมัยก่อนได้พัฒนาวิถีชีวิตผูกพันอยู่กับป่าโดยใช้ทรัพยากรชีวภาพจากป่าเป็นปัจจัยหลักในการดำรงชีวิต บรรพชนไทยได้สั่งสมประสบการณ์และภูมิปัญญาท้องถิ่นเกี่ยวกับพืชสมุนไพร นำพืชพรรณจากป่าและสัตว์ป่ามาพัฒนาเป็นอาหารหรือเป็นสัตว์ใช้งาน เช่น ช้าง ม้า วัว ควาย ตลอดจนความสัมพันธ์ระหว่างสิ่งมีชีวิตที่รู้จักกันในทางวิชาการปัจจุบันว่า

นิเวศวิทยา ดังนั้นสภาพธรรมชาติของป่าชื้นเขตร้อนจึงไม่ได้เป็นเพียงแหล่งสะสมความหลากหลายทางชีวภาพแต่อย่างเดียวนั้น แต่ยังเป็นแหล่งธรรมชาติที่ให้ความรู้ ความคิด เชิงปรัชญาชีวิต ของบรรพชนไทยที่แสดงออกในรูปลักษณะของศิลปะ วัฒนธรรม ประเพณีที่หลากหลาย กระจัดกระจายตาม ชุมชนท้องถิ่นต่าง ๆ ของประเทศ (วิสุทธิ ไบไม้. 2536 : 38) ความรู้เชิงภูมิปัญญาท้องถิ่นและปราชญ์ชาวบ้านดังกล่าวถือว่าเป็นความรู้แบบ “เทคโนโลยีพื้นบ้าน” ยุคโบราณ ซึ่งมีคุณค่ายังสำหรับการนำไปใช้ในการพัฒนาสมัยใหม่โดยใช้ควบคู่กับเทคโนโลยีชีวภาพยุคใหม่ เช่น การผลิตยารักษาโรคจากพืช สมุนไพรที่ได้จากภูมิปัญญาของหมอชาวบ้านหรือตำรายาแผนโบราณ การปรับปรุงสายพันธุ์พืชเพาะปลูกหรือพืชผลและสัตว์เลี้ยงเพื่อใช้เป็นอาหารของมนุษย์ก็ได้มาจากภูมิปัญญาของชาวไร่ ชาวนา ชาวสวน ยุคโบราณที่สืบสานถ่ายทอดความรู้ต่อ ๆ กันมาจนรู้อย่างจะปลูกพืชอะไรบ้าง ปลูกอย่างไร ปลูกในช่วงเวลาไหน และจะเก็บรักษาพันธุ์ไว้ได้อย่างไร วิธีเก็บคัดเลือกสายพันธุ์จะทำอย่างไร ความรู้พื้นฐานแบบชาวบ้าน เหล่านี้ได้ถูกนำกลับมาใช้อีกครั้งหนึ่งในยุคปัจจุบันที่เรียกชื่อต่าง ๆ กัน เช่น เกษตรทางเลือก เกษตรผสมผสานเพื่อการพัฒนาอย่างยั่งยืน วนเกษตร เกษตรธรรมชาติ เกษตรอินทรีย์ ไร่นาป่าผสม เกษตรครบวงจร และศาสตราจารย์นายแพทย์ประเวศ วะสี (2536 : 35) เคยเรียกว่า พุทธเกษตร เพราะมีความเชื่อว่า การทำเกษตรกรรมที่ยั่งยืนต้องเชื่อมโยงเข้ากับหลักคุณธรรมและสภาพธรรมชาติโดยไม่ควรแยกส่วนต่าง ๆ นี้ออกจากกัน ดังเช่น การพัฒนายุคใหม่ คุณหมอบุรเวศ วะสี กล่าวไว้อย่างชัดเจนว่า “....เกษตรทางเลือกเป็นเกษตรที่เชื่อมโยงธรรมชาติทั้งหลายทั้งปวงเข้าไปด้วยกันเป็นบูรณาการเพื่อธรรมชาติจะได้สมดุล และได้หล่อเลี้ยงสรรพสิ่งทุกอย่างให้เป็นไปด้วยความสงบสุข....” หลักจากการพัฒนาที่มุ่งเน้นด้านการเจริญเติบโตทางเศรษฐกิจและความทันสมัยโดยใช้วิธีการแก้ไขปัญหาแบบตะวันตกโดยนำเทคโนโลยีตะวันตกเข้ามาใช้ เช่น การใช้ปุ๋ย ยาฆ่าแมลง เมล็ดพันธุ์ที่ปรุงแต่งพันธุกรรมเพื่อปลูกพืชเชิงเดี่ยว และการใช้เครื่องจักรเพื่อการปรับเปลี่ยนผิวดินระบบเกษตรกรรมแผนใหม่แบบตะวันตกได้ถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางและดูเหมือนว่าจะได้ผลในระยะแรก ๆ ในขณะที่เดียวกับระบบนิเวศที่เคยอุดมสมบูรณ์ด้วยทรัพยากรธรรมชาติที่บรรพบุรุษเราได้สั่งสมไว้อย่างดีอยู่แล้วเสื่อมสภาพไปจนกลายเป็นระบบนิเวศที่แตกร้างและเปราะบาง เพราะขาดความสมดุลของธรรมชาติ อันถือได้ว่าเป็นการพัฒนาแบบไม่ยั่งยืน ซึ่งนำไปสู่ความล้มเหลวของระบบเศรษฐกิจครอบครัวยุคใหม่ที่ก่อให้เกิดความยากจนของชุมชนท้องถิ่น ดังที่เห็นอยู่ในปัจจุบัน ดังนั้นการทำเกษตรกรรมแบบผสมผสานที่บรรพชนไทยเคยใช้กันมาแต่เก่าก่อนได้หวนกลับมาใหม่โดยอาศัยการผสมผสานกับวิทยาการเทคโนโลยีและความรู้ทางวิทยาศาสตร์ชีวภาพ ซึ่งเป็นกระแสของการพัฒนาอย่างยั่งยืน โดยไม่ฝืนธรรมชาติของสังคมยุคใหม่อย่างได้ผลดียิ่ง

การพัฒนาอย่างยั่งยืนบนพื้นฐานความหลากหลายทางชีวภาพเพื่อคุณภาพชีวิตที่ดีของชีวิต สัตว์ และสิ่งแวดล้อม พร้อมกับทรัพยากรมนุษย์ที่มีคุณค่า แสดงภาพประกอบ 2 (วิสุทธิ ไบไม้. 2538 : 161)



ภาพประกอบ 2 แผนภูมิแสดงการพัฒนาอย่างยั่งยืนบนพื้นฐานของความหลากหลาย

ทางชีวภาพเพื่อคุณภาพที่ดีของชีวิต สังคม และสิ่งแวดล้อม พร้อมกับทรัพยากรมนุษย์ที่มีคุณภาพ

ที่มา : วิสุทธิ์ ไบไม้. (2538). สถานะภาพความหลากหลายทางชีวภาพในประเทศไทย.

หน้า 161.

2. ประวัติการพัฒนาสมุนไพร

คนไทยรู้จักนำพืชมาใช้เป็นยารักษาโรคตั้งแต่สมัยโบราณ คำว่าพืชสมุนไพร (Herbs) หมายถึงพืชที่ใช้ทำเป็นเครื่องยา ซึ่งหาได้ตามพื้นเมืองไม่ใช่เครื่องเทศ (รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ. 2540 : 19) ส่วนคำว่า สมุนไพร หมายถึงยาที่ได้จากส่วนของพืช สัตว์ หรือแร่ที่ยังมิได้มีการผสมปรุง หรือแปรสภาพ (ยกเว้นการทำให้แห้ง) เช่น พืชก็ยังเป็นส่วนของราก ต้น ใบ ดอก ผล ซึ่งยังไม่ได้หั่น บด หรือสกัดสารที่สำคัญออกไป (วันดี กฤษณพันธ์. 2539 : 3)

คนไทยได้มีการใช้สมุนไพรมาตั้งแต่สมัยสุโขทัย ดังที่ โสภิต ธรรมอารี และมณฑิรา ดันต์เกตุ (2525 : 7-30) ได้ศึกษาวิจัยการพัฒนาสมุนไพรไทยไว้ดังนี้

2.1 การพัฒนาสมุนไพรในสมัยสุโขทัย

จากหลักฐานทางประวัติศาสตร์เท่าที่ค้นพบในปัจจุบันปรากฏว่าในสมัยสุโขทัยแทบจะเรียกได้ว่าไม่มีบันทึกเกี่ยวกับการแพทย์ไว้เลย นอกจากชื่อโรคบางโรคเท่านั้นไม่พบตำราหรือหลักฐานทางด้านการแพทย์โดยตรงมีปรากฏแทรกอยู่ตามหลักฐานสุโขทัยบ้าง และหนังสือไตรภูมิพระร่วงได้กล่าวถึงโรคต่าง ๆ ไว้ ในการบำบัดโรคยังไม่พบหลักฐานการใช้ยาหรือการผ่าตัดหรือวิธีการบำบัดรักษาโรค แต่คงจะมีการใช้ยาจำพวกสมุนไพร โดยนำมาต้มหรือพอก หรือบดเป็นผงรับประทาน เพราะปรากฏว่ามีหินบดยาซึ่งเป็นของสมัยทวารวดี อันเป็นยุคก่อนสุโขทัย และได้พบหลักศิลาจารึกของพ่อขุนรามคำแหง กล่าวไว้เป็นหลักฐานว่า พระองค์ได้ทรงสร้างสวนสมุนไพรอยู่บนเขาหลวง หรือเขาสรพยา อำเภอสวรรคโลก จังหวัดสุโขทัย เพื่อให้ราษฎรใช้รักษาโรคต่าง ๆ เมื่อหลายร้อยปีมาแล้วมีพืชสมุนไพรหลายร้อยชนิด ปัจจุบันองค์การป่าไม้และการท่องเที่ยวแห่งประเทศไทย ขึ้นไปสำรวจ ณ ภูเขาแห่งนี้ก็ได้พบแทนของพ่อขุนรามคำแหงถึง 3 แทน เบื้องล่างของพระแท่นเต็มไปด้วยสวนสมุนไพรขนาดใหญ่

2.2 การพัฒนาสมุนไพรในสมัยอยุธยา

สมัยอยุธยา (พ.ศ.1893 - พ.ศ.2325) แม้ว่าตามพระราชพงศาวดารฉบับต่าง ๆ จะกล่าวถึงการแพทย์อยู่บ้างก็มีเพียงระบุว่าในปีนั้น ๆ ได้เกิดโรคระบาดอะไรขึ้น และมีได้ให้รายละเอียดแต่อย่างใด อาศัยที่เรื่องราวในสมัยอยุธยานั้นมีชาวต่างประเทศซึ่งเดินทางเข้ามายังกรุงศรีอยุธยาได้จดบันทึกไว้เป็นเอกสารที่พอจะค้นคว้าได้ และมีตำราบางเล่มยังหลงเหลืออยู่ เช่น ตำราพระโอสถพระนารายณ์ ซึ่งค้นพบในสมัยรัตนโกสินทร์ มีตำราพระโอสถหลายขนานที่ปรากฏชื่อหมอลหลวงและวันคืนที่ตั้งพระโอสถนั้น ๆ จดไว้ชัดเจนว่าอยู่ระหว่าง พ.ศ.2202-2204 ซึ่งตรงกับรัชกาลสมเด็จพระนารายณ์มหาราช จึงทราบว่าเป็นตำราพระโอสถที่ใช้ถวายสมเด็จพระนารายณ์มหาราช แต่ได้รวบรวมเข้าคัมภีร์เมื่อเวลาล่วงไปแล้วถึงสมัยพระเพทราชา ลักษณะการแพทย์ไทยแผนโบราณในสมัยอยุธยาก็คือการแพทย์ที่คนไทย ได้ใช้มาในสมัยสุโขทัยแล้วนั่นเอง เพราะเราถือว่าการแพทย์เป็นเรื่องของประเพณี วัฒนธรรม ซึ่งมีการถ่ายทอดต่อเนื่องกันอยู่เสมอ ความรู้ในด้านการรักษาพยาบาลได้ยึดถือตามตำราที่บรรพบุรุษได้สะสมและถ่ายทอด

ทอดมา และถือว่าคัมภีร์แพทย์เป็นสิ่งศักดิ์สิทธิ์จึงไม่คิดดัดแปลงแก้ไข ดังนั้นวิธีการป้องกันและบำบัดโรคจึงคงเป็นไปในรูปเดิม ถึงแม้ว่าจะมีชาวยุโรปเช่นชาวฝรั่งเศสเคยนำวิธีการแพทย์แผนตะวันตก เข้ามาเผยแพร่ในสมัยอยุธยา แต่ก็ไม่มีอิทธิพลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในวิธีการรักษาพยาบาลของไทยในสมัยนั้นแต่อย่างใด ทั้งนี้เพราะชาวต่างประเทศเข้ามาติดต่อกับไทยไม่นานเพียงพอที่จะวางรากฐานการแพทย์ตะวันตกในสมัยนั้นได้ และพระมหากษัตริย์ไทยไม่ได้ทรงสนับสนุน เนื่องจากขัดกับธรรมเนียมของไทย แต่ก็พบตำราชี้แจงรักษาบาดแผลซึ่งหมอฝรั่งประกอบถวายในครั้งนั้น มีปรากฏอยู่ในตำราพระโอสถพระนารายณ์ด้วย ซึ่งทำตามตำรานี้หมอฝรั่งพวกกุฎีจีนยังใช้รักษากันต่อมาจนถึงสมัยรัตนโกสินทร์

ตามพระราชพงศาวดารกล่าวถึงโรคระบาดต่าง ๆ และกล่าวถึงวิธีการป้องกันว่าใช้วิธีไสยศาสตร์ เช่น ทำพระราชพิธีอาพาธพินาศ ซึ่งเป็นพิธีจร ทำเมื่อเกิดโรคระบาด เพื่อบำรุงขวัญประชาชน และอาจทำการป้องกันส่วนบุคคล และครอบครัว เช่น ผูกตะกรุด พิศมรดก ผ้าประเจียดลงเลขยันต์ ตลอดจนคาถาอาคม วางด้ายสายสิญจน์ หรือปักเจลวไว้ตามเขตบริเวณบ้าน นอกจากนี้มีการระมัดระวังในด้านอนามัยส่วนบุคคล เช่น อาหาร น้ำดื่ม การชำระร่างกาย การนอน การรักษาฟัน ส่วนการบำบัดรักษาด้วยยานั้นเป็นวิธีหลักของการแพทย์ไทยแผนโบราณ ซึ่งถือว่าพืชทุกชนิดมีสรรพคุณเป็นยาทั้งสิ้น พืชที่นำมาทำยาเรียกรวม ๆ ว่า เครื่องสมุนไพร อาจจะใช้ส่วนหนึ่งหรือทุกส่วนของพืช มีทั้งพืชที่มีในประเทศ และพืชที่มาจากต่างประเทศ เช่น จำพวกโกฏู เทียน และโสม การปรุงยานั้นมีตั้งแต่ง่าย ๆ ประกอบด้วยสมุนไพร 2-3 อย่าง ซึ่งเป็นที่รู้จักกันทั่วไปในระดับชาวบ้าน เช่น ความรู้ในการเอาพิมเสนแก้พิษไฟลวก การใช้น้ำมันหยอดตาแก้ผองเข้าตา ซึ่งเป็นการแก้ไขการเจ็บป่วย เล็ก ๆ น้อย ๆ ที่เกิดขึ้น ส่วนการปรุงยารักษาโรคใหญ่ ๆ นั้นต้องอาศัยตำราที่กำหนดไว้ ยาที่ปรุงขึ้นมีหลายชนิด ได้แก่ ยา ลูกกลอน ยาผงละลายน้ำกิน ยาหม้อ ยาต้ม ยาดอง ดังปรากฏในตำราพระโอสถ พระนารายณ์

ในปลายสมัยอยุธยามีหลักฐานว่ามีสถานที่ขายยาซึ่งเป็นเครื่องสมุนไพรให้แก่ชาวบ้านทั่วไปที่ ถนนป่ายา (ถนนนี้ขายยา) แสดงว่ามีร้านขายยาเครื่องสมุนไพรไม่น้อยกว่า 1 ร้าน และยังได้กล่าวถึงโรงทำยาหลวงซึ่งเรียกว่า โรงพระโอสถอยู่ไม่น้อยกว่า 2 โรง นอกจากปรุงยาใช้ในพระราชวังแล้ว ยังเตรียมยาสำหรับใช้ในกองทัพเมื่อออกไปทำสงครามด้วย โรงพระโอสถนี้คงจะมีตำรายาซึ่งเรียกว่าตำรายาในโรงพระโอสถซึ่งตกทอดไปถึงสมัยรัตนโกสินทร์

2.3 การพัฒนาสมุนไพรในสมัยรัตนโกสินทร์

ในสมัยรัตนโกสินทร์ พบหลักฐานทางประวัติศาสตร์ที่กล่าวถึงการแพทย์ไทยแผนโบราณได้มากขึ้นกว่าสมัยก่อน ๆ มีการรวบรวมตำรายาเพื่อเก็บรักษาและจารึกไว้เป็นหลักฐานอย่างถาวร การดำเนินงานนั้นนับว่าต่อเนื่องกันไป เริ่มตั้งแต่พระบาทสมเด็จพระพุทธยอดฟ้าจุฬาโลกมหาราช ทรงสร้างพระบรมมหาราชวังขึ้นใหม่ ได้ทรงปฏิสังขรณ์วัดโบราณชื่อวัดโพธารามพร้อมกันไปด้วย วัดนี้สร้างในสมัยพระนครศรีอยุธยาเป็นราชธานี ระหว่าง พ.ศ.2231-2246 ในสมัยสมเด็จพระเพทราชา ชาวบ้านเรียกวัดโพธิ์ ได้ยกขึ้นเป็นพระอารามหลวงในสมัย

กรุงธนบุรี และได้ยกฐานะขึ้นเป็นพระอารามหลวงชั้นเอก ให้ชื่อว่าวัดพระเชตุพนวิมลมังคลาราม เป็นวัดหลวงที่ใหญ่ที่สุดในประเทศไทย บริเวณวัดกว้างขวางและร่มรื่น

รัชกาลสมเด็จพระพุทธเลิศหล้านภาลัย รัชกาลที่ 2 จุลศักราช 1174 พ.ศ.2355 ทรงมีพระราชดำริว่าคัมภีร์แพทย์ ณ โรงพระโสตถีเสื่อมสูญไปมิได้เป็นเรื่องต้นเรื่องปลาย เหตุผลหนึ่งคือเนื่องจากการเสียกรุงศรีอยุธยาแก่พม่าครั้งที่ 2 ซึ่งกรุงศรีอยุธยาถูกเผาผลาญอยู่ถึง 15 วัน ดังนั้นคัมภีร์แพทย์คงจะถูกเผาผลาญ และกระจัดกระจายไปเป็นอันมาก อนึ่งเหล่าแพทย์ผู้เฒ่าที่ชำนาญในลักษณะโรค และสรรพคุณยาที่มีอยู่น้อยคน ในภายหน้าจะเป็นการยากแก่การศึกษาเล่าเรียนของกุลบุตรกุลธิดา จึงทรงพระกรุณาจะให้เป็นประโยชน์แก่สมณชีพราหมณ์และอาณาประชาราษฎร์ ในขอบข่ายที่สืบต่อไปโดยมีพระราชโองการให้สืบเสาะหาตำรายาลักษณะโรคทั้งปวงในข้าทูลละอองธุลีพระบาทและราษฎร พระราชาคณะทุกอารามก็ได้จัดส่งมาทูลเกล้าถวายหลายฉบับ มีวิธีต่าง ๆ กัน ผู้ที่มีตำรายาก็จะจดสรรพคุณยานั้น ๆ มาถวาย ก็ได้รับการตรวจสอบจดลงเป็นตำราไว้ในโรงพระโสตถี มีผู้จดตำราที่เคยใช้เคยเห็นคุณถวายตามพระราชประสงค์กรมหมอล่วงคงจะได้สอบสวนเลือกที่เชื่อว่าดีจริงจดลงไว้ในตำราหลวงสำหรับโรงพระโสตถี

สำหรับตำราพระโสตถีครั้งรัชกาลที่ 2 นี้ สมเด็จพระบรมโอรสาธิราชฯ พงศาพิตเทสนาภิธร บำรุงความเจริญ ส่วนสรพยาและวิชาความรู้อันอาศัยวัดเป็นสถานที่ศึกษา จึงทรงสถาปนาพระอารามเพื่อให้เจริญธรรมานุธรรมปฏิบัติและการศึกษาของไพร่ฟ้าข้าแผ่นดิน ทรงโปรดให้ปฏิสังขรณ์วัดพระเชตุพนฯ ด้วยทอดพระเนตรเห็นว่าวัดนี้เป็นวัดที่ใหญ่ยิ่งกว่าวัดอื่น ๆ สมเด็จพระ

ในสมัยสมเด็จพระนั่งเกล้าเจ้าอยู่หัว รัชกาลที่ 3 พ.ศ.2374 ถึงสมัยที่จะทรงทำนุบำรุงความเจริญ ส่วนสรพยาและวิชาความรู้อันอาศัยวัดเป็นสถานที่ศึกษา จึงทรงสถาปนาพระอารามเพื่อให้เจริญธรรมานุธรรมปฏิบัติและการศึกษาของไพร่ฟ้าข้าแผ่นดิน ทรงโปรดให้ปฏิสังขรณ์วัดพระเชตุพนฯ ด้วยทอดพระเนตรเห็นว่าวัดนี้เป็นวัดที่ใหญ่ยิ่งกว่าวัดอื่น ๆ สมเด็จพระ

พระอัยยิกาอิราษเจ้า (รัชกาลที่ 1) ทรงสถาปนา ไว่ล่งมาแล้ว 30 ปี ได้ชำระสูตรไตรปิฎกมาก การปฏิสังขรณ์ใช้เวลา 4 ปี ตั้งแต่ พ.ศ.2371-2375 และพระบาทสมเด็จพระนั่งเกล้าเจ้าอยู่หัวมีพระราชปณิธานพิเศษ มุ่งหวังให้พระอารามนี้เป็นมหาวิทยาลัยแห่งการศึกษาสำหรับพสกนิกรทั่วไป เพราะภาวะการศึกษาในสมัยนั้นอยู่ในขอบเขตจำกัด กล่าวคือ ส่วนสามัญศึกษามีที่เรียนอยู่ตามวัดทั่วไป แต่ส่วนวิสามัญศึกษาอันเป็นวิชาชีพของคนทั้งหลายยังศึกษากันเฉพาะแต่ในสกุล ผู้อยู่นอกสกุลโดยเฉพาะที่เป็นพลเมืองสามัญไม่มีโอกาสได้เรียนรู้ รัชกาลที่ 3 จึงทรงพระกรุณาโปรดเกล้าฯ ให้เสาะหาเลือกสรรสรรพศิลปวิทยาการอันเป็นวิชาชีพชั้นสูงซึ่งสมควรจะเล่าเรียนเป็นชั้นวิสามัญศึกษา ในการรวบรวมสรรพตำราที่จะนำมาเป็นต้นฉบับ จารึกครั้งนั้นได้รับความยุ่งยากลำบากมิใช่น้อยเพราะเจ้าของตำรามักหวงความรู้ไม่ยอมให้ตำราที่แท้จริง หรือมีวิปลาดคลาดเคลื่อนหรือไม่ เหมาะสมที่จะเผยแพร่ พระเจ้าอยู่หัวรัชกาลที่ 3 จึงโปรดเกล้าฯ แต่งตั้งผู้เชี่ยวชาญเป็นกรรมการตรวจตรา แก้ไข ใช้ของเดิมบ้างหรือประชุมผู้รู้หลักในวิชานั้น ๆ ให้แต่งขึ้นใหม่บ้าง ตำราบางอย่าง เช่น ตำรายาถึงกับต้องให้เจ้าของสาบานว่าเคยใช้ได้ผลดีจริงแล้วโปรดให้จารึกลงบนแผ่นศิลาประดับไว้ในบริเวณ วัดพระเชตุพน เพื่อให้เป็นสำนักศึกษาหาความรู้ด้วยตนเอง ทั้งเป็นประโยชน์แก่สาธารณชนทั่วไป มีผู้เล่าต่อกันว่าผู้ใดได้เข้าไปในบริเวณวัดพระเชตุพนฯ สมัยนั้นเปรียบเหมือนได้เข้าไปในดักศิลาจนครึกว่าได้ นับเป็นมหาวิทยาลัยแห่งแรกของไทยและเป็นมหาวิทยาลัยเปิด ในกระบวนการเรื่องที่จารึกไว้มีหลายอย่าง รวมทั้งตำราแผนหมอนวด หมวดบริหารร่างกาย จารึกคำโคลงถวายสัตย์ตน มีภาพปั้นประกอบ จารึกบอกสมุฏฐานของโรค วิธีรักษาโรคเด็กและผู้ใหญ่ ตำรายาต่าง ๆ และวิชาเภสัชเรื่องสมุนไพรอย่างพร้อมมูล ตลอดจนต้นไม้ที่เป็นยาสมุนไพรที่ใช้ปรุงยาและหาได้ยากไม่ค่อยมีผู้รู้จักก็นำมาปลูกไว้เป็นอันมาก เวลาว่างมาการพิมพ์หนังสือแบบปัจจุบันแพร่หลายขึ้น ความรู้ด้านต่าง ๆ ถูกพิมพ์ไว้ให้สะดวกในการที่จะหยิบอ่านได้ ศิลาจารึกเหล่านั้นจึงเป็นโบราณวัตถุสมควรที่จะรักษาไว้มิให้ชำรุดแตกหักเพื่อเป็นสมบัติอันล้ำค่าของชาติสืบไป แต่ปัจจุบันนี้ในบริเวณพระมหาเจดีย์ประจำรัชกาล 4 พระองค์ ได้จัดตั้งโรงเรียนแพทย์แผนโบราณขึ้นตั้งแต่ปี พ.ศ.2500 และตามระเบียบที่ประดิษฐานศิลาจารึกบางส่วนถูกใช้เป็นสถานบริการนวด แผนโบราณ และจำหน่ายยาแผนโบราณ เป็นการปิดโอกาสที่จะให้ผู้สนใจเข้าไปศึกษาหาความรู้จากศิลาจารึกต่าง ๆ ปัจจุบันวัดพระเชตุพนฯ มีสภาพเป็นแหล่งท่องเที่ยวและให้บริการบางอย่างซึ่งผิดไปจากพระราชประสงค์ของพระเจ้าอยู่หัวรัชกาลที่ 3 แต่ที่ยังเห็นว่าการก่อให้เกิดประโยชน์บ้างก็คือมีโรงเรียนแพทย์แผนโบราณที่จะสอนวิชาแพทย์แผนโบราณมิให้เสื่อมสูญไป

ในรัชกาลสมเด็จพระนั่งเกล้าเจ้าอยู่หัว รัชกาลที่ 3 ยังมีวัดราชโอรสาราม ซึ่งเป็นแหล่งอนุรักษ์ ตำรายาไทยโบราณ ซึ่งพระบาทสมเด็จพระนั่งเกล้าเจ้าอยู่หัวทรงกรุณาโปรดเกล้าฯ ให้จารึกตำรายาไทยบนแผ่นหินอ่อนรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า กว้างประมาณ 30 เซนติเมตร ประดับบนกำแพงพระวิหารพุทธไสยาสน์ และที่ศาลารายเล็ก ปลูกติดกับกำแพงแก้วหน้าพระ

อุโบสถ ทั้งนี้เพื่อเป็นวิทยาทานแก่พสกนิกร ที่จะได้นำไปใช้ประโยชน์ในการรักษาและเป็นการอนุรักษ์ตำรายาไทยมิให้สูญสิ้นไป

ด้านการป้องกันและบำบัดโรคในสมัยรัชกาลที่ 1 ถึง 3 นั้น ยังคงใช้วิธีเดียวกับสมัยอยุธยา คือนอกจากใช้วิธีการทางไสยศาสตร์เพื่อให้เกิดกำลังใจและความเชื่อมั่นว่าอำนาจสิ่งศักดิ์สิทธิ์จะช่วยรักษาโรคภัยไข้เจ็บให้หายได้แล้ว วิธีหลักของการรักษาก็คือการใช้เครื่องสมุนไพร ดังปรากฏในตำรายาจากแผ่นศิลาจารึกวัดราชโอรส ที่กล่าวสรรพคุณของสมุนไพรไว้หลายอย่าง เช่น บางตอนที่ว่า เอาขมิ้นอ้อย 108 แวน บรเพชร 108 แวน ก้านสะเดา 108 แวน ใบมะนาว 108 ใบ ผักราชพฤกษ์ 3 พัก ต้ม 3 เอา 1 กินแก้ไข้เมื่อยขบทุกข้อกระดูก แต่ในรัชกาลที่ 3 ก็มีการเปลี่ยนแปลงไปใช้วิธีของแพทย์ฝรั่งบ้าง เช่น การปลูกฝีป้องกันไข้ทรพิษ การป้องกันและรักษาโรคไข้จับสั่น ก็ใช้ยาควินิน ซึ่งได้ผลชะงักกว่าสมุนไพร แต่ก็นับว่าในรัชกาลที่ 3 นี้ไม่ค่อยมีการเปลี่ยนแปลงมากนัก เพราะรัฐยังไม่ได้เข้าไปจัดการให้กับประชาชน แต่นับได้ว่าเป็นการเริ่มยุคที่การแพทย์แผนตะวันตกเริ่มเข้ามามีบทบาทในการรักษาพยาบาลของคนไทยเป็นยุคหัวเลี้ยวหัวต่อระหว่างการแพทย์แผนโบราณและแผนปัจจุบัน

รัชกาลพระบาทสมเด็จพระจอมเกล้าเจ้าอยู่หัว รัชกาลที่ 4 เป็นยุคที่ประเทศชาติบ้านเมืองได้เริ่มเปลี่ยนแปลง ปรับปรุงเข้าสู่ยุคใหม่อย่างกว้างขวาง เลิกคตินิยมที่มุ่งเจริญรอยตามแบบอย่างครั้งกรุงศรีอยุธยาที่เคยทำมาในยุคต้น คือ ตั้งแต่รัชกาลที่ 1 ถึงรัชกาลที่ 3 โดยหันมามุ่งหน้าพัฒนาตามแบบตะวันตก เป็นยุคแห่งการเปิดประเทศ เปิดประตูค้ากับประเทศตะวันตกครั้งใหญ่คราวแรกเป็นยุคแห่งการพัฒนาเศรษฐกิจของประเทศครั้งใหญ่คราวหนึ่ง และเข้าใจว่าการแพทย์แผนตะวันตกที่เริ่มเข้ามาในปลายรัชกาลที่ 3 ก็ได้รับการสนับสนุนในรัชกาลที่ 4 นี้ เช่น ในด้านการสุติกรรมแบบตะวันตก แต่ก็ไม่สามารถโน้มน้าวให้ประชาชนเปลี่ยนความนิยมมาใช้ในการแพทย์แผนตะวันตกได้มาก เพราะการรักษาพยาบาลตามแผนไทยโบราณได้กลายเป็นประเพณีและวัฒนธรรมอย่างหนึ่งที่ฝังแน่นในชีวิตคนไทยเสียแล้วการที่จะเปลี่ยนแปลงต้องใช้เวลานาน อีกทั้งในเรื่องการรักษาพยาบาลนี้ยังปล่อยให้ประชาชนจัดการกับตัวเอง รัฐยังไม่เข้าไปจัดการให้ประชาชนจึงยึดถือตามวิธีเดิม

รัชสมัยของพระปรมินทรมหาจุฬาลงกรณ์ รัชกาลที่ 5 เนื่องจากพระบาทสมเด็จพระพุทธเจ้าหลวงทรงเห็นความจำเป็นที่จะต้องทะนุบำรุงให้คัมภีร์แพทย์เป็นหลักฐานแพร่หลายต่อไปในกาลภายหน้า จึงได้ทรงพระกรุณาโปรดเกล้าฯ ให้ประชุมแพทย์หลวงที่เป็นเจ้านายและขุนนาง ข้าราชการ ให้นำพระคัมภีร์แพทย์ต่าง ๆ มาทำการตรวจสอบให้ตรงกันกับของเดิม การอัญเชิญประวัติคัมภีร์แพทย์อันเป็นตำรายาไทยหลายสมัยใช้ต่อ ๆ กันมา ซึ่งสถิติ ณ สถานที่ต่าง ๆ กันมาชุมนุมกัน นับว่าเป็นความยากลำบากอย่างมากที่จะหาซื้อพระคัมภีร์ หรือหาหลักฐานที่เกิด ผู้เรียบเรียง ตลอดจนตำราเล่มใดเกิดก่อนหลัง คัมภีร์แพทย์หรือพระตำราก็คือตำรายาที่เดิม ได้จารึกเป็นอักขระในใบลานเหมือนพระคัมภีร์ธรรมะหรือคัมภีร์ เทศน์ และผูกเป็นเล่มลาน คัมภีร์เดิมโดยมากเป็นภาษาขอม มอญ และภาษาไทยโบราณ ท่านอาจารย์

ผู้เชี่ยวชาญได้แปลคัดลอกใหม่ลงในสมุดข่อย เรียกว่าตำรา บางครั้งเรียกพระคัมภีร์แพทย์ เนื่องจากมีลักษณะคล้ายพระคัมภีร์ธรรมะนั้นเอง และเพื่อความศักดิ์สิทธิ์จึงเรียกด้วยความยกย่องเคารพบูชา หรืออีกประการหนึ่ง ในสมัยนั้นเจ้านายหลายพระองค์เป็นแพทย์ทรงมีคุณวุฒิ และทรงพระปรีชาสามารถในการรักษาและประกอบโอสถ ตำรับตำราถูกนำมาถวายในวังเป็นอันมาก พระมหากษัตริย์ทรงมีพระคลังยา และคลังพระตำรา ซึ่งเรียกว่า คลังพระตำราหลวงข้างพระที่ เมื่อได้พระราชทานให้ใครก็เรียกพระตำรา ในสมัยรัชกาลที่ 5 นี้ คล้ายคลึงกับในสมัยรัชกาลที่ 3 ที่มีการรวบรวมพระคัมภีร์แพทย์ แพทย์หลวงที่ได้ทรงกรุณาโปรดเกล้าแต่งตั้งให้ทำการตรวจสอบพระคัมภีร์แพทย์ที่นำมาจากที่ต่าง ๆ ได้จัดการสอบชำระพระคัมภีร์แพทย์ทั้งหมดให้เป็นที่ยึดถือ มีหลักฐานจดบันทึกไว้ในหอสมุดหลวง แต่โดยมากยังคงใช้กันในหมู่แพทย์หลวง

ปี พ.ศ.2431 ได้ตั้งโรงพยาบาลศิริราช ในคราวนั้นท่านอาจารย์แพทย์ไทยแผนโบราณหลายท่าน เช่น ท่านอาจารย์คุณพระสิทธิวิทยา (คุณหมอหนู) ได้รับตำแหน่งนายแพทย์ใหญ่ในโรงพยาบาลศิริราช เมื่อได้ทรงพระกรุณาโปรดเกล้าฯ ตั้งโรงเรียนราชแพทยาลัย ขึ้นแล้ว ในปี พ.ศ.2432 เมื่อแรกตั้งมีแพทย์มิชชันนารีอเมริกันเป็นอาจารย์สอน หลักสูตรเดิมให้นักเรียนเรียนเฉพาะวิชาแพทย์ฝรั่ง แต่เมื่อแพทย์ประกาศนียบัตรออกไปทำงานตามหัวเมืองก็เกิดปัญหาที่ว่าเรียนแต่วิชาแพทย์ฝรั่ง ไม่ได้เรียนวิชาแพทย์ไทย พอยาฝรั่งหมดก็ไม่มีความรู้ที่จะออกไปเก็บสมุนไพร อีกทั้งพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว รัชกาลที่ 5 ยังมีพระราชกระแสพระราชทานแก่กรมหมื่นดำรงราชานุภาพ ในทำนองให้ความคิดเห็นว่า หมอฝรั่งนั้นดีจริง แต่ควรให้ยาไทยสูญไปหรือ ดังนั้นในปี พ.ศ.2436 เป็นต้นไปจึงมีหลักสูตรวิชาแพทย์ไทยเพิ่มเติมขึ้นอีก แต่เป็นเพียงหลักสูตรเลือก คือ ให้นักเรียนแพทย์มีสิทธิ์จะเรียน หรือไม่เรียนก็ได้ คุณหมอหนูซึ่งได้เลื่อนบรรดาศักดิ์เป็นพระยาประเสริฐศาสตร์ธำรง ก็ได้เป็นอาจารย์สอนวิชาแพทย์ไทย ร่วมกับแพทย์ไทยแผนโบราณท่านอื่นๆ ได้แก่ คุณหมอนิ่ม คุณหมอลง และอีกหลายท่าน แต่การเปิดสอนทั้ง 2 แบบเช่นนี้ทำให้เกิดความขัดแย้งระหว่างหมอไทยและหมอฝรั่ง ต่อมาในปี พ.ศ.2450 จึงกำหนดให้วิชาแพทย์แผนไทยเป็นวิชาหนึ่งที่นักเรียนต้องสอบผ่านจึงจะได้รับประกาศนียบัตร

ในด้านการรักษาพยาบาลและป้องกันโรคระบาดในรัชกาลที่ 5 ได้มีการปรับปรุงและประกาศเป็นนโยบายหลักตั้งแต่ พ.ศ.2449 เป็นต้นมา เมื่อครั้งที่เริ่มมีการก่อตั้งโรงพยาบาลนั้นทางโรงพยาบาลอนุญาตให้คนไข้เลือกวิธีการรักษาพยาบาลได้ตามใจชอบว่าจะใช้แผนไทยหรือตะวันตก ดังนั้นยาที่ใช้ในโรงพยาบาลศิริราช แจกจ่ายไปตามโรงพยาบาลอื่น ๆ ของกรมพยาบาล ถ้าเป็นยาต้มก็ให้โรงพยาบาล แต่ละแห่งทำขึ้นใช้เอง

โรงพยาบาลต่าง ๆ นอกเหนือจากโรงพยาบาลศิริราช และโรงพยาบาลบางรัก จะใช้วิธีการรักษาแบบแผนยาไทยแต่อย่างเดียว

ในสมัยรัชกาลที่ 5 มีตำนานเกี่ยวกับการนำพืชสมุนไพรบางชนิดจากต่างประเทศเข้ามา เมืองไทยเป็นครั้งแรก เช่น ต้นยูคาลิปตัส กล่าวคือ เมื่อครั้งที่สมเด็จพระพุทธเจ้าหลวงทรงพระกรุณาโปรดเกล้าฯ ให้สร้างทางรถไฟสายนครราชสีมา ต้องตัดผ่านดงพญาไฟ คนงานเกิดไข้ป่าตายมาก แพทย์ฝรั่งกราบทูล แนะนำวิธีป้องกันให้แก่พระวรวงศ์เธอพระองค์เจ้าสายสนิทวงศ์ ว่าให้ปลูกต้นยูคาลิปตัส 2 ข้างทางรถไฟลึกเข้าไปในป่าตลอดแนวทางรถไฟในบริเวณดงพญาไฟ กลิ่นใบยูคาลิปตัสจะได้ระเหยเข้าไปในดงที่อัปชั้นอากาศจับเชื้อโรคมาลาเรียได้ แต่ปลูกแล้วก็ตายหมดแม้แต่ที่ปลูกในบริเวณหัวลำโพงก็ตายหมด และอีกครั้งหนึ่งเมื่อทรงพระกรุณาโปรดเกล้าฯ ให้สร้างพระราชวังสวนดุสิต แต่เป็นบริเวณรกมากมียุ่งกันปอง จึงปรากฏมีไข้มาลาเรีย จึงทรงพระกรุณาโปรดเกล้าฯ ให้สั่งต้นยูคาลิปตัสมาปลูกและกิ่งกงามติอยู่ ที่เขาดินวนา จนทุกวันนี้ สมัยนั้นเรียกต้นกันไข่หรือต้นน้ำมันเขียว

ในสมัยรัชกาลที่ 5 นี้ ยังไม่มีการประกาศใช้พระราชบัญญัติเกี่ยวกับการรักษาพยาบาลโดยตรง มีการผ่อนปรนไปตามความพอใจของประชาชน เพราะประชาชนยังกลัวและยังไม่ยอมรับการแพทย์แผนตะวันตก แต่ก็เห็นว่าในรัชกาลนี้เป็นจุดเริ่มต้นในการเปลี่ยนแปลงการแพทย์ของไทย จากแพทย์แผนโบราณ ที่ใช้กันมาช้านาน มาเป็นการแพทย์แผนตะวันตก กล่าวคือมีการก่อตั้งโรงพยาบาลขึ้นแล้ว

ในสมัยพระบาทสมเด็จพระมงกุฎเกล้าเจ้าอยู่หัว รัชกาลที่ 6 (พ.ศ.2453-พ.ศ.2468) จึงได้มีการประกาศพระราชบัญญัติการรักษาพยาบาล เพราะเห็นว่าประชาชนมีความคุ้นเคยและได้เห็นผลการรักษาพยาบาลตามแบบแผนตะวันตกแล้ว แต่ในเวลานั้นการแพทย์ไทยแผนโบราณก็ยังมีผู้นิยมใช้ติดต่อกันมาเช่นเดิม โดยเฉพาะตามหัวเมือง แต่ความนิยมในการรักษาตามแบบแผนตะวันตก ก็มีผู้นิยมเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เพราะเห็นผลว่าออกฤทธิ์เร็ว กินง่าย และใช้ได้หลายวิธี ถึงกระนั้นก็ตามเมื่อถึงสมัยสงครามโลกครั้งที่ 1 ในรัชกาลที่ 6 นี้ ในคราวนั้นถึงแม้จะมีสงครามโลกเกิดขึ้น แต่ประชาชนคนไทยไม่ค่อยรู้สึกเดือดร้อนในเรื่องการรักษาโรคมากมายนัก เพราะเหตุที่ประชาชนยังไม่ค่อยนิยมใช้ยาสมัยใหม่อย่างมากมายเท่าระยะสงครามโลกครั้งที่ 2

ในสมัยรัชกาลที่ 7 ภายหลังเปลี่ยนแปลงการปกครองจากระบอบสมบูรณาญาสิทธิราชย์มาเป็นระบอบประชาธิปไตย พ.ศ.2475 ประเทศไทยก็มีคณะรัฐบาลขึ้นบริหารประเทศ คณะรัฐบาลชุดต่าง ๆ ก็ได้วางนโยบายของรัฐบาลในด้านต่าง ๆ สำหรับในด้านสาธารณสุขนั้นส่วนมากเป็นการขยายการบำบัดโรค และการอนามัยให้แพร่หลายยิ่งขึ้น จวบจนกระทั่งถึงรัฐบาลคณะที่ 9 และ 10 มีจอมพลแปลก พิบูลสงคราม เป็นนายกรัฐมนตรี ก็ได้มีเหตุการณ์สำคัญบังเกิดขึ้นในประวัติศาสตร์ชาติไทย กล่าวคือมีการตื่นตัวสร้างชาติครั้งยิ่งใหญ่ตามแผนการนำไทยไปสู่ความเป็นมหาอำนาจของ พณฯ จอมพล ป. พิบูลสงคราม คือช่วง พ.ศ.2482-2497 แม้จะเป็นช่วงเวลาสั้นแต่ก็มีอิทธิพลต่อโครงสร้างทางความคิด วัฒนธรรม การแต่งกาย การกินอยู่ ภาษา วรรณคดี ตลอดจนขนบธรรมเนียมประเพณีต่าง ๆ ของคนไทยทั่ว

ประเทศ นโยบายสร้างชาติของจอมพล ป. นั้นมีความหมายกว้างใหญ่ไพศาล แต่พื้นฐานนั้นคือสร้างพลเมืองดีซึ่งรวมถึงการมีอนามัยดีด้วย ในช่วงเวลานั้นได้เกิดสงครามโลกครั้งที่ 2 ขึ้นในยุโรป (พ.ศ.2485) ถึงแม้สงครามโลกครั้งที่ 2 จะสงบลงในต้นปี พ.ศ.2488 แต่ปลายปี พ.ศ.2484 ก็เกิดสงครามอันใหญ่หลวงขึ้น ในทวีปเอเชีย นโยบายของคณะรัฐบาลชุดที่ 9 ไม่อาจใช้ได้ คณะรัฐบาลจึงลาออก และจัดตั้งคณะรัฐบาลชุดที่ 10 ขึ้น และเรียกร้องให้ทุกคนเสียสละ รัฐบาลชุดนี้ นอกจากจะสนใจในการบำรุงเศรษฐกิจให้ดียิ่งขึ้นแล้ว ยังสนใจในการบำรุงรักษอนามัยของราษฎรเพื่อให้มีอายุยืนและมีกำลังแข็งแรง

ในปี พ.ศ.2485 จึงจัดตั้งกระทรวงสาธารณสุข นโยบายของกระทรวงสาธารณสุข นอกจากจะมีการจัดป้องกันและกำจัดโรคสำคัญ ส่งเสริมเด็กเกิดใหม่ให้มีอนามัยดี จัดสถานพยาบาลเพิ่มขึ้น ฯลฯ แล้วยังมีนโยบายที่เด่นชัดเกี่ยวกับสมุนไพร กล่าวคือมีนโยบายที่จะจัดให้มีการตรวจค้นหาความรู้ในเรื่องสรรพคุณยาสมุนไพร และยาอื่น ๆ ภายในประเทศ เพื่อนำมาดัดแปลงเป็นยาแผนปัจจุบัน และจะขยายการทำยาให้มากขึ้น และมีปริมาณมากขึ้น ๆ ได้มีพระราชกฤษฎีกาจัดวางระเบียบราชการ กรมวิทยาศาสตร์ ในกระทรวงสาธารณสุข พ.ศ.2485 ซึ่งเป็นกรมที่มีหน้าที่รับผิดชอบในเรื่องการศึกษาสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้แบ่งส่วนราชการออกเป็น 6 กอง กองหนึ่งที่สำคัญคือ กองเภสัชกรรม ซึ่งแบ่งออกเป็น 6 แผนก แผนกที่เกี่ยวข้องกับสมุนไพรมี 3 แผนก คือ

1. แผนกพฤกษเคมี ทำหน้าที่สืบสวนคุณสมบัติพืชสมุนไพรในทางเคมี ตรวจค้นหาตัวยาสสำคัญจากพืชสมุนไพร วิเคราะห์ตัวยาสสำคัญเพื่อให้ทราบคุณสมบัติแน่นอน สืบสวนตรวจค้นและทดลองพืชมีพิษ

2. แผนกสมุนไพร ทำหน้าที่สืบสวนตรวจค้นพืชสมุนไพรที่มีกำเนิดในประเทศ เพื่อทราบชื่อพื้นเมืองและทางวิทยาศาสตร์ ตรวจค้นสมุนไพรว่าชนิดใดที่อาจใช้เป็นประโยชน์ทางยาได้ ชนิดนั้น ๆ มีประโยชน์อย่างไร มีแหล่งกำเนิดอยู่ที่ไหน และจะนำเอาส่วนไหนมาใช้ทำยา แยกสมุนไพรออกเป็นพวก เป็นหมู่ และทำอนุกรมไว้ให้ค้นหาได้โดยสะดวก เก็บสมุนไพรไว้เป็นตัวอย่างทำสวนสมุนไพร ไว้เป็นตัวอย่างและสำหรับทำการศึกษา และเพื่อขยายพันธุ์ที่ดีต่อไป

3. แผนกโรงงานเภสัชกรรม ทำยาจากพืชสมุนไพร และเภสัชวัตถุ ที่มีกำเนิดในประเทศ ซึ่งได้ทดลองแล้วว่ามีความปลอดภัยในการบำบัดโรค ให้พอกับความต้องการทั้งปริมาณและชนิด ส่วนกองโอสถศาลานั้นเมื่อย้ายจากสถานที่ตั้งเดิมใกล้สะพานนพวงศ์มาอยู่ในบริเวณกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ยศเสแล้ว ช่วงนี้อยู่ในระหว่างสงครามโลกครั้งที่ 2 แต่เมื่อสงครามสงบลงก็ได้ยกเลิกการผลิตยาแผนโบราณเสีย ทั้งนี้ไม่ทราบสาเหตุและเหตุผลที่ทำเช่นนั้น ทั้ง ๆ ที่ในช่วงเวลาที่เพิ่งจะผ่านสงครามโลกครั้งที่ 2 นั้น เราได้รับบทเรียนถึงความยากลำบากที่ต้องประสบปัญหาการขาดแคลนยาแผนปัจจุบัน ดังนั้นน่าจะเร่ง ส่งเสริมการผลิตและใช้ยาสมุนไพรให้มากขึ้นแทนที่จะยกเลิกการผลิตยาแผนโบราณ

ในระหว่าง พ.ศ.2485-2486 ที่เกิดสงครามในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้นั้น นายแพทย์อวย เกตุสิงห์ ได้ไปช่วยทำวิจัยที่โรงพยาบาลสตึบ หายารักษามาลาเรียและบิด อาจจะนับได้ว่าเป็นงานวิจัย เกี่ยวกับสมุนไพรครั้งแรกในประเทศไทย

หลังสงครามโลกครั้งที่ 2 เป็นยุคที่ประเทศไทยต้องเผชิญกับปัญหาการขาดแคลนยาแผนปัจจุบัน และเมื่อกระทรวงสาธารณสุขมีนโยบายที่จะนำเอาสมุนไพรต่าง ๆ ในประเทศมาผลิตเป็นยารักษาโรค โดยให้โรงงานเภสัชกรรมดำเนินการดังกล่าว ในครั้งนั้น ดร.ตัว ลพานุกรม ได้เดินทางไปประเทศเยอรมัน เพื่อขอตัวศาสตราจารย์ ดร.ชาร์เลอร์ (charler) ผู้เชี่ยวชาญสมุนไพรของบริษัทเบเยอร์ประเทศเยอรมันมาทำการวิจัย สมุนไพรของไทย เพื่อนำมาผลิตเป็นยารักษาโรคต่าง ๆ (มาตั้งแต่ พ.ศ.2482 ถึง 2490) และรัฐบาลได้สร้างสวนสมุนไพรขึ้นที่เขาสอยดาว ตำบลโป่งน้ำร้อน จังหวัดจันทบุรี สวนสมุนไพรแห่งนี้ ศาสตราจารย์ ดร.ชาร์เลอร์ และนายเสีี่ยม พงษ์บุตรอด ได้มีส่วนช่วยเหลือแนะนำรัฐบาลในยุคนั้นในการสร้างสวนสมุนไพรแห่งนี้ด้วย ศาสตราจารย์ ดร.ชาร์เลอร์ ได้เขียนเรื่องคุณสมบัติของยาไทยเกือบ 400 ชนิด ซึ่งได้ทำการวิจัยแล้วโดยละเอียด หนังสือชุดนี้จัดพิมพ์ขึ้นเป็นตำรับเภสัชศาสตร์ ทั้งภาษาเยอรมันและภาษาอังกฤษอย่างสมบูรณ์ แต่ไม่ยอมจำหน่ายให้ชาวต่างประเทศ

ในปี พ.ศ.2488 ซึ่งเป็นระยะหลังสงครามโลกครั้งที่ 2 สิ้นสุดลงไม่มากนัก เกิดการตื่นตัวในการค้นคว้าสมุนไพรไทย เพราะมีประสบการณ์ในระหว่างสงคราม ตลอดจนยามปกติว่าราษฎรไทยมีฐานะยากจนไม่มีเงินซื้อยาฝรั่งที่แพงเกินไปได้ ประชาชนจำนวนไม่น้อยหันกลับไปพึ่งยาไทย อีกครั้งหนึ่ง ท่านนายแพทย์ อวย เกตุสิงห์ ได้เขียนบทความชื่อว่า “การค้นคว้าสมุนไพรไทย” เสนอแนะวิธีการแก้ไขการขาดแคลนยาด้วยเวลาอันสั้น คือช่วยให้ราษฎรทุกครัวเรือนมีสวนสมุนไพรน้อย ๆ ของตัวเอง อย่างน้อยก็ให้มียาที่จำเป็นหรือที่จะต้องใช้อยู่ ๆ หลายขนาน มีการแบ่งกันปลูก และแบ่งกันใช้ นับว่าเป็นแนวความคิดที่มองการไกลและทันสมัยมาก แต่น่าเสียดายที่ไม่มีการดำเนินงานอย่างจริงจังให้เกิดการเปลี่ยนแปลงไปในทางที่ดีขึ้นทั้ง ๆ ที่ฝรั่งเพิ่งมาตื่นตัวในปี พ.ศ.2492 ภายหลังที่แนวความคิดของท่านนายแพทย์อวย เกตุสิงห์ ถูกเสนอไปแล้วถึง 4 ปี และชาวต่างประเทศก็ได้เข้ามาแสหากำไรไทย และสมุนไพรไปใช้เป็นจำนวนมาก สำหรับในประเทศไทยนั้นกระทรวงสาธารณสุขมีนโยบายแน่นอนที่จะต้องมีการศึกษาสมุนไพร จึงนับว่ายุคนี้เป็นยุคของการเริ่มต้นงานวิจัยเกี่ยวกับยาสมุนไพร

3. การจำแนกพืชสมุนไพร

รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ (2540 : 26-31) ได้จำแนกพืชสมุนไพรไว้ดังนี้

3.1 จำแนกสมุนไพรตามลักษณะการใช้ แบ่งออกเป็น 2 พวก คือ พวกที่หนึ่ง ยาใช้สำหรับรับประทาน และพวกที่สอง ยาใช้สำหรับภายนอก

3.1.1 ยาใช้สำหรับรับประทาน ได้แก่

3.1.1.1 ยาถ่ายพยาธิ เช่น ทับทิม มะขาม พักทอง หมาก มะระไทย กระเทียม

3.1.1.2 ยาระบาย ยาถ่าย เช่น มะละกอ แม่งลัก มะขาม

3.1.1.3 ยาแก้ท้องอืด ท้องเฟ้อ ท้องขึ้น เช่น กระเทียม ขิง กระเพรา กานพลู ข่า จันทน์เทศ พริกไทย กระวาน ไพล

3.1.1.4 ยาแก้ท้องร่วง ท้องเดิน เช่น ฝรั่ง ทับทิม มังคุด ลางสาด มะตูม กระชาย

3.1.1.5 ยาแก้บิด เช่น กระชาย ไพล ข่าพลู

3.1.1.6 ยาช่วยย่อย เช่น มะละกอ สับปะรด บอระเพ็ด

3.1.1.7 ยาแก้ไข้ ลดความร้อน เช่น หอม แคนบ้าน บอระเพ็ด

3.1.1.8 ยาแก้ไข้มาลาเรีย เช่น ขิงโคนา มะฮอกกานี ประทัดใหญ่

3.1.1.9 ยาแก้ปวดศีรษะข้างเดียว เช่น กระเทียม แคนบ้าน บัวบก

3.1.1.10 ยาแก้ไอ ขับเสมหะ เช่น กระเทียม มะนาว มะแว้งต้น มะแว้งเครือ ยูคาลิปตัส

3.1.1.11 ยาแก้เจ็บคอ เช่น ถั่วเขียว บัวบก ลิ่นมังกร ไมยราบ

3.1.1.12 ยาขับปัสสาวะ เช่น ขึ้นฉ่าย สับปะรด ตะไคร้ ข่าโพด เดยหอม พยับเมฆ

3.1.1.13 ยาขมเจริญอาหาร เช่น มะระ ขึ้นฉ่าย ขิง สะเดา บอระเพ็ด

3.1.1.14 ยาบำรุงหัวใจ เช่น มะกรูด กระชาย เดยหอม

3.1.1.15 ยาป้องกันเหน็บชา เช่น ข่าอนามัย

3.1.1.16 ยาแก้ลมประสาท เช่น ขี้เหล็ก ไมยราบ พวงชมพูดอกขาว

3.1.1.17 ยารักษาหิด เช่น บวบเหลี่ยม ลำโพง ป๊อป หญ้าคา ไพล

3.1.1.18 ยาแก้คันหรือแก้เลือดออกตามไรฟัน (ลักปิดลักเปิด) เช่น มะนาว ฝรั่ง ส้มต่าง ๆ มะละกอ มะกอก มะขามป้อม ผักบางชนิด

3.1.1.19 ยาเพิ่มน้ำนมในสตรีหลังคลอด เช่น กุยช่าย กระเพรา หัวปลี ผักโขมหนาม

3.1.1.20 ยาขับประจำเดือน เช่น เทียนบ้าน แก้ว เจตมูลเพลิงแดง คัดเค้า ผ้าย

3.1.1.21 ยาลดไขมันในเส้นเลือด เช่น หอมใหญ่ คำฝอย กระเจี๊ยบแดง

- 3.1.1.22 ยาลดความดัน เช่น บัวบก ขึ้นฉ่าย มะขาม
- 3.1.1.23 ยาแก้เบาหวาน เช่น มะระ ตำลึง เดยหอม หว้า อินทนิลน้ำ
- 3.1.1.24 ยาแก้จืด เช่น น้อยหน่า มะเขือมอญ ผักไห้
- 3.1.1.25 ยารักษาโรคเลือดจาง เช่น กระชาย สิงห์โมรา
- 3.1.1.26 ยาแก้ช้ำใน (พลาตตกหลัง) เช่น บัวบก
- 3.1.1.27 ยาแก้ไอเป็นเลือด เช่น ว่านกาบหอย หนุมานประสานกาย
- 3.1.1.28 ยาแก้ไอเป็นเสมหะ เช่น ขิง ยอ
- 3.1.1.29 ยาทำให้อาเจียน เช่น บวบเหลี่ยม คุณ

3.1.2 ยาใช้สำหรับภายนอก ได้แก่

- 3.1.2.1 ยารักษาเหา เช่น น้อยหน่า ยาสูบ ผักเสี้ยน เลี่ยน
- 3.1.2.2 ยารักษาหิด เช่น น้อยหน่า ชะมดต้น กะทกรก แสมสาร
- 3.1.2.3 ยารักษากลากเกลื้อน เช่น กระเทียม ข่า ผักบุง กะเพรา ชุมเห็ดเทศ
- 3.1.2.4 ยารักษาโรคผิวหนังและผื่นคัน เช่น เลี่ยน เจตมูลเพลิงขาว ขมิ้นชัน

สะเดาอินเดีย ยาสูบ

- 3.1.2.5 ยารักษาหูด เช่น กะเพรา มะม่วงหิมพานต์ พญาไร้ใบ

น้ำมันราชสีห์ใหญ่ สลัดได

- 3.1.2.6 ยารักษา น้ำกัดเท้า เช่น หมากรูด มังคุด สีเสียดขาว สีเสียดขาว
- 3.1.2.7 ยาปิดขมับหรือทาบรรเทาอาการปวดศีรษะ เช่น ว่านหางจระเข้

ขี้กาแดง

- 3.1.2.8 ยาแก้ปวดฟัน เช่น กานพลู มะขามเทศ
- 3.1.2.9 ยาช่วยทำให้ฟันทน เช่น ข่อย มะพลับ
- 3.1.2.10 ยาระงับกลิ่นปาก เช่น ฝรั่ง กานพลู
- 3.1.2.11 ยารักษาแผลในปาก เช่น แดงโม หว้า หน้างวงช้าง โทงเทง
- 3.1.2.12 ยารักษาทางทวาร เช่น ขบา พุดตาน ตะลิงปลิง ผกากรอง
- 3.1.2.13 ยาแก้ปวด เช่น ตำลึง พุดตาน ว่านบหากาศ เสดดพังพอน
- 3.1.2.14 ยาแก้ลมพิษ เช่น พลุ ข่า หน้างวงช้าง
- 3.1.2.15 ยาแก้แพ้ แก้อักเสบ ปวดบวม และแมลงสัตว์กัดต่อย เช่น

ผักบุงทะเล ตำลึง เสดดพังพอน หอม เท้ายายม่อม ผักเสี้ยนผี

- 3.1.2.16 ยาหยอดหูเป็นฝี หูอักเสบ เช่น ลางสาด หูเสือจีน ปอทะเล

ดินตะขบ

- 3.1.2.17 ยาพอกฝี เช่น ผักเสี้ยน ด้อยดิ่ง คว่ำตายหงายเป็น โศกกระออม
- 3.1.2.18 ยาแก้เจ็บคอ เช่น ไพล เทียนกิ่ง

3.1.2.19 ยาถอนพิษรักษาแผลน้ำร้อนลวก เช่น ชา ผักบั้งไทย บัวบก
ยาสูบ ชัน แดงโม พุดตาน ว่านหางจระเข้

3.1.2.20 ยารักษาชันนะตุและผิวหนังศีรษะเป็นผื่นคัน เช่น มะคำดีควาย
ขมิ้นชัน มะระ

3.1.2.21 ยารักษาแผลเรื้อรัง เช่น แผลพวยน้ำ ผักเบี้ยใหญ่ ชันสน

3.1.2.22 ยาห้ามเลือดใส่แผลสด เช่น หนุมานั่งแท่น ฝรั่ง เห้วหมู กะเม็ง
บัวบก มะนาว ผักคราด หัวแหวน

3.1.2.23 ยาใช้ดมน้ำอาบหลังคลอด เช่น ไพล ส้มโอ มะขาม หนามคู่
หนามเมี่ยง ส้มป่อย

3.1.2.24 สมุนไพรที่ช่วยสระผมให้สะอาดยิ่งขึ้น เช่น มะกรูด ส้มป่อย บวบขม

3.1.2.25 สมุนไพรใช้ฆ่าแมลงไล่แมลง เช่น เทียน ยาสูบ หางไหล มหาหงส์

3.1.2.26 สมุนไพรใช้เบื่อปลา เช่น หางไหล สลัดได หวายดิน มันแกว

3.1.2.27 สมุนไพรใช้ไล่แมลงวันทอง เช่น กะเพรา เดหลี

3.2 จำแนกสมุนไพรตามฤทธิ์ที่พืชสมุนไพรมีผลต่อระบบต่าง ๆ ของร่างกาย
จัดแบ่งเป็นหมวด ๆ ได้เป็น 9 หมวด คือ

หมวด 1 มีฤทธิ์ต่อโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหาร

1.1 แก้แผลในปาก ลิ้นเป็นฝ้าและร้อนใน เช่น แดงโม มะระ กะเม็งตัวเมีย
โองเทง แผลพวย ว่านกาบหอย หนุ่ยวงช้าง ลั่นทมแดง

1.2 แก้ปวดฟันและรากฟันเป็นหนอง เช่น แดงโม ฝรั่ง มะระ กะเม็งตัวเมีย
ดาวเรือง ผกากรอง ผักคราดหัวแหวน ผักบั้ง แผลพวย ฟ้าทะลายโจร

1.3 แก้ก้างปลาหรือกระดูกไก่ติดคอ เช่น เทียน บัวบก

1.4 ยาขับลม เช่น ดาวเรือง ผกากรอง

1.5 แก้บิดและท้องเสีย เช่น แดงโม ฝรั่ง เปลือกเมล็ดมะขาม เทียน
กะเม็งตัวเมีย น้ำนมราชสีห์ บานไม่รู้โรย บัวบก ปีกแมลงสาบ ฟ้าทะลายโจร ว่านกาบหอย

1.6 แก้อาหารเป็นพิษ เช่น บัวบก ผักบั้ง

1.7 ยาระบาย ยาถ่าย เช่น ดาวเรือง มะขาม ลั่นทมแดง

1.8 ยาขับพยาธิ เช่น ดาวเรือง โองเทง น้ำนมราชสีห์ ใบมะระ

1.9 แก้วริดสีดวงทวาร เช่น ดาวเรือง น้ำนมราชสีห์เล็ก ผักบั้ง ผักเบี้ยใหญ่

1.10 แก้ไส้ติ่งอักเสบเฉียบพลัน เช่น ผักเบี้ยใหญ่ ฟ้าทะลายโจร

1.11 แก้วดับอักเสบเป็นฝีเช่น เช่น โองเทง บัวบก พุทธรักษา ฟ้าทะลายโจร

หมวด 2 มีฤทธิ์ต่อโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินหายใจ

2.1 แก้เจ็บคอ ต่อมทอลซิลอักเสบและหลอดลมอักเสบ เช่น ดาวเรือง เทียน
โองเทง น้ำนมราชสีห์ บานไม่รู้โรย บัวบก ผักคราดหัวแหวน แพร่เชียงไต้ ฟ้าทะลายโจร

2.2 แก้อไและขับเสมหะ เช่น แดงโม เทียน บานไม่รู้โรย ปีกแมลงสาบ
พุดตาน

2.3 แก้อบหืด เช่น โทงเทง บานไม่รู้โรย

2.4 แก้อคตีบ เช่น กะเม็งตัวเมีย

2.5 แก้อกรน เช่น ดาวเรือง บัวบก ผักเบี้ยใหญ่ ฟ้าทะลายโจร

2.6 แก้วณโรคปอด ฝิ่นปอดและปอดอักเสบ เช่น กะเม็งตัวเมีย ทองพันชั่ง
น้ำมันราชสี ผกากรอง ฟ้าทะลายโจร หยั่งวงช้าง

หมวด 3 มีฤทธิ์ต่อโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินปัสสาวะและระบบสืบพันธุ์

3.1 แก้วมน้ำและขับปัสสาวะ เช่น กะเม็งตัวเมีย ดาวเรือง แดงโม เทียน
โทงเทง น้ำมันราชสี บานไม่รู้โรย บัวบก

3.2 แก้อโรคติดต่อในทางเดินปัสสาวะ เช่น กะเม็งตัวเมีย ขบา แดงโต น้ำ
นมราชสี ปีกแมลงสาบ ผักบุง ผักเบี้ยใหญ่ แพงพวย ฟ้าทะลายโจร

3.3 ขับประจำเดือน บีมดลูก ช่วยคลอดและขับรก เช่น แก้ว เทียน
ผักเบี้ยใหญ่

3.4 แก้อกเลือด เช่น พุดตาน พุทธรักษา

หมวด 4 มีฤทธิ์ต่อโรคเกี่ยวกับผิวหนัง

4.1 แก้อบาดแผลสดและห้ามเลือด เช่น กะเม็งตัวเมีย ขบา น้ำมันราชสี
บัวบก ผักบุง ใบฝรั่ง ดอกพุทธรักษา สาบเสือ

4.2 แก้อแผลฟกช้ำจากการพลัดตกหกล้มหรือถูกกระทบกระแทก เช่น แก้ว
เทียน บัวบก ผกากรอง แพงพวย

4.3 แก้อแมลงหรือสัตว์มีพิษกัดต่อย เช่น ผักบุง ผักเบี้ยใหญ่ พุดตาน

4.4 แก้อแผลไฟลวกหรือน้ำร้อนลวก เช่น แดงโม พุดตาน ฟ้าทะลายโจร

4.5 แก้อผิวหนังเป็นผื่นคัน แผลเน่าเปื่อยและฝีหรือแผลเป็นหนอง เช่น ขบา
กะเม็งตัวเมีย แก้ว ดาวเรือง ทองพันชั่ง เทียน โทงเทง บัวบก ฝรั่ง ผกากรอง ผักบุง
ผักเบี้ยใหญ่ พุดตาน แพงพวย แพรเชียงไ้ มะระ ฟ้าทะลายโจร

4.6 แก้อโรคผิวหนังเป็นกลากและเกลื้อน เช่น ทองพันชั่ง น้ำมันราชสี

4.7 แก้อกลากน้มน เช่น บัวบก แพงพวย

4.8 ใช้กัดหูดหรือตาปลา เช่น น้ำมันราชสี

4.9 แก้อูกัด เช่น เทียน ผักบุง พุดตาน แพงพวย ฟ้าทะลายโจร

4.10 ยาซาเฉพาะที่ เช่น แก้ว ผักคราดหัวแหวน

4.11 แก้อโรคเรื้อน เช่น ฟ้าทะลายโจร

หมวด 5 แก้อไข้ เช่น ผกากรอง มะขาม มะระ

หมวด 6 แก้อไข้จับสั่น เช่น น้ำมันราชสี

หมวด 7 แก้วปวด

7.1 แก้วปวดเมื่อยและปวดเอว เช่น แก้ว แดงโม เทียน บัวบก

7.2 แก้วปวดหัวข้างเดียว เช่น กะเม็งตัวเมีย

หมวด 8 แก้วอาการอักเสบจากการติดเชื้อ

8.1 แก้วอาการเยื่อตาอักเสบ ตาแดง และตาเจ็บ เช่น ชบา บานไม่รู้โรย บัวบก

พุตตาน

8.2 แก้วอาการหูอักเสบและปวดหู เช่น ดาวเรือง ฟ้าทะลายโจร

8.3 แก้วโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ เช่น บัวบก ฟ้าทะลายโจร

8.4 แก้วคางทูม เช่น ชบา ผกากรอง พุดตาน

8.5 แก้วสุวัด เช่น พุดตาน น้ำนมราชสี

หมวด 9 อื่น ๆ

9.1 แก้วด้านมอักเสบ เช่น ดาวเรือง น้ำนมราชสี

9.2 แก้วต่อมน้ำเหลืองบวมอักเสบ เช่น ผักเบี้ยใหญ่

9.3 ลดความดันโลหิตสูง เช่น ฟ้าทะลายโจร

3.3 จำแนกสมุนไพรตามสรรพคุณ จัดแบ่งได้เป็น 14 ประเภท คือ

3.3.1 ยาระบาย

3.3.2 ยาแก้ท้องอืด ท้องเฟ้อ ขับลม

3.3.3 ยาแก้ท้องเดิน

3.3.4 ยาแก้ปวดท้อง

3.3.5 ยาแก้บิดปวดเบ่ง

3.3.6 ยาถ่ายพยาธิ

3.3.7 ยาแก้ไข้ ลดความร้อน

3.3.8 ยาแก้ไข้ ขับเสมหะ

3.3.9 ยาขับปัสสาวะ

3.3.10 ยาแก้ลม บำรุงหัวใจ

3.3.11 ยาระงับอาการปวดฟัน

3.3.12 ยาแก้โรคผิวหนัง กลาก เกลื้อน

3.3.13 ยาแก้เหา ไร โลน

3.3.14 ยาแก้พิษแมลงกัดต่อย

3.4 จำแนกสมุนไพร โดยใช้ส่วนของพืชที่นำมาใช้ทำยา จัดแบ่งได้ดังนี้คือ

3.4.1 สมุนไพรที่ได้จากรากและส่วนที่อยู่ใต้ดิน เช่น

อะโคไนต์ (Aconite) เป็นยาสมุนไพรที่ได้จากรากของพืช <i>Aconitum napellus</i>	
คอลชิคัม (Colchicum)	" <i>Colchicum autumnake</i>
โสม	" <i>Panax schinseng</i>
ชะเอม	" <i>Glycyrrhiza glabra</i>
ระย่อม	" <i>Rauwolfia serpentina</i> Benth

3.4.2 สมุนไพรที่ได้จากเปลือกไม้ เช่น ควินิน โมก

3.4.3 สมุนไพรที่ได้จากเนื้อไม้ เช่น กฤษณา การบูร แสมสาร

3.4.4 สมุนไพรที่ได้จากใบ เช่น

หางจระเข้	ได้จากใบ <i>Aloe barbadensis</i> Mill.
โคคาลิปตัส (Cocalyptus)	ได้จากใบโคลา
ยูคาลิปตัส (Eucalyptus)	ได้จากใบ <i>Eucalyptus globulus</i> Labill.
มะขามแขก	ได้จากใบ <i>Cassia</i> app.
ลำโพง	ได้จากใบ <i>Datura metal</i> Linn.

3.4.5 สมุนไพรที่ได้จากดอก เช่น กานพลู (*Eugenia caryophyllus* Bull & Harrison).

3.4.6 สมุนไพรที่ได้จากผลและเมล็ด เช่น

ฝิ่น (<i>Papaver somniferum</i> Linn).
ละหุ่ง (<i>Ricinus communis</i> Linn).
กระเบา (<i>Hydnocarpus anthelminthicus</i> Pierre).
สลอด (<i>Croton tiglium</i> Linn).

4. การสกัดและการแยกองค์ประกอบทางเคมี

ในการสกัดองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรนั้นจะต้องเลือกตัวทำละลายให้เหมาะสมกับสารที่ต้องการจะแยก ซึ่งมีหลักที่ควรพิจารณาในการเลือกตัวทำละลายดังต่อไปนี้ (ประเสริฐ ศรีไพโรจน์. 2539 : 92)

1. สารที่มีสมบัติคล้ายคลึงกันย่อมละลายในตัวทำละลายที่คล้ายคลึงกัน
2. ตัวทำละลายอินทรีย์จะละลายตัวละลายอินทรีย์
3. นำใช้เป็นตัวทำละลายสารประกอบอินทรีย์รวมทั้งเกลือของกรดและเบสอินทรีย์
4. กรดอินทรีย์ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์และสามารถสกัดโดยใช้สารละลายเบส เช่น NaOH, Na₂CO₃ หรือ NaHCO₃ ก็ได้

ตัวทำละลายอินทรีย์ที่นิยมใช้ในการสกัดที่มีคุณสมบัติเบากว่าน้ำ และที่มีคุณสมบัติหนักกว่าน้ำ ได้แก่ คลอโรฟอร์ม เอทิลีนไดคลอไรด์ เมทิลีนคลอไรด์ เตตระคลอโรมีเทน

ตาราง 1 แสดงคุณสมบัติของตัวทำละลายบางชนิดที่ใช้สกัดสาร

ตัวทำละลาย	สมบัติ
ไดเอทิลอีเทอร์	เป็นตัวทำละลายที่ดี ดูนํ้าได้ 15% สามารถเกิดเป็นเฟ้อร้อกไซต์ได้ง่าย
เมทิลีนคลอไรด์	เกิดเป็นอิมัลชันแต่ทำให้แห้งได้ง่าย
ปิโตรเลียมอีเทอร์	เป็นตัวทำละลายที่ดีสำหรับสารที่โมเลกุลไม่มีขั้ว ทำให้แห้งได้ง่าย
เบนซีน	เกิดอิมัลชัน
เอทิลีนแอซีเตด	เป็นตัวทำละลายที่ดีสำหรับสารที่โมเลกุลมีขั้ว ดูนํ้าได้ดี
2-บิวทานอล	เป็นตัวทำละลายที่ดีสำหรับสารที่โมเลกุลมีขั้ว ทำให้แห้งได้ง่าย
เตตระคลอโรมีเทน	เป็นตัวทำละลายที่ดีสำหรับสารที่โมเลกุลไม่มีขั้ว ทำให้แห้งได้ง่าย
คลอโรฟอร์ม	เกิดอิมัลชัน ทำให้แห้งได้ง่าย
ไดไอโซโพรพิลอีเทอร์	เกิดเป็นสารพวกเฟ้อร้อกไซต์ได้ง่าย

4.1 การแยกสารด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี

โครมาโทกราฟี คือเทคนิคที่ใช้ในการแยกสารประกอบออกจากกันโดยอาศัยคุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของสารประกอบนั้น ๆ โดยหลักการที่ว่าสารประกอบแต่ละชนิดสามารถแบ่งแยกตัวเองให้อยู่ในส่วน mobile phase และส่วน stationary phase ได้แตกต่างกันหรือกล่าวได้อีกอย่างว่า ความสามารถในการแยกสารผสมออกจากกันเนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาต่อกัน (interaction) ขึ้นระหว่างสารประกอบในสารผสมและ stationary phase ซึ่งแตกต่างกันไปตามชนิดของสารและปฏิกิริยาต่อกันเหล่านี้อาจจะเป็น adsorption หรือ partition (Brain. K.R. and Turner. T.D. 1975)

4.1.1 โครมาโทกราฟีชนิดดูดซับ (Adsorption chromatography)

คือ โครมาโทกราฟีที่มี stationary phase เป็นของแข็งและมี mobile phase เป็นของเหลว หรือก๊าซ ในกรณีที่ mobile pahse เป็นของเหลว กลไกการแยกเกิดขึ้นโดยอาศัยคุณสมบัติในการถูกดูดซับของสารประกอบแต่ละชนิดโดย stationary phase และคุณสมบัติในการละลาย mobile phase เมื่อสารประกอบในของผสมสัมผัสกับส่วน stationary phase ก็จะถูกดูดซับโดย stationary phase มากน้อย ตามชนิดของสารประกอบเหล่านั้น เมื่อ mobile phase เคลื่อนที่ผ่านสารประกอบที่ติดอยู่บน stationary phase ก็จะละลายเอาสารประกอบออกมาด้วย สารประกอบชนิดที่ละลายได้ดีก็จะละลายออกมาก่อนและเคลื่อนที่ไปพร้อมกับ

mobile phase สารประกอบที่ละลายได้รองลงมาก็จะค่อย ๆ ถูกปลดปล่อย จาก stationary phase เรื่อย ๆ สารประกอบแต่ละชนิดมีคุณสมบัติในการละลายใน mobile phase ต่างกัน ดังนั้น จึงทำให้เกิดการแยกของสารประกอบในของผสมขึ้น (Shriner, R.L. : 1980 : 347-377)

แรงที่เกี่ยวข้องกับการแยกในโครมาโทกราฟีชนิด adsorption มี 2 ชนิดด้วยกัน (Bobbitt. J.M. et al. 1968 : 7-8) แรงชนิดแรกต้องมีแนวโน้มที่สามารถทำให้สารมีการละลายและเคลื่อนที่ไปกับ mobile phase ได้ ปรากฏการณ์นี้เรียก elution ตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีคุณสมบัติที่ดีและก่อให้เกิดแรงชนิดนี้ ได้แก่ ตัวทำละลายชนิด nonprotomic ตัวอย่างเช่น สารประกอบไฮโดรคาร์บอน อีเธอร์ และสารประกอบพวคาร์บอนิล

แรงกระทำชนิดที่สอง เป็นลักษณะของการแทนที่โมเลกุลของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ทำหน้าที่เป็น mobile phase และมีแนวโน้มที่จะถูกดูดซับได้ดีกว่า จึงเกิดการแย่งที่ตรงแหล่งการดูดซับของ stationary phase และขับสารประกอบของสารผสมออกไป ตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเช่นนี้ ได้แก่ ตัวทำละลายที่มีขั้ว เช่น อัลกอฮอล์ หรือ น้ำ เมื่อปรากฏการณ์นี้เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องและเคลื่อนที่ตามกันไปเรื่อย ๆ ในที่สุดสารประกอบต่าง ๆ ก็จะถูกแยกออกจากกันและตามกันไปตามลำดับ

4.1.2 โครมาโทกราฟีชนิดแบ่งละลาย (Partition chromatography)

คือ โครมาโทกราฟีที่มีทั้ง stationary phase และ mobile phase เป็นของเหลวทั้งคู่ แต่ต้องเป็นของเหลวที่ไม่ผสมกัน กลไกการแยกเกิดขึ้นโดยอาศัยคุณสมบัติในการละลายของสารประกอบในของเหลวชนิดต่าง ๆ ซึ่งชนิดหนึ่งคือ stationary phase และอีกชนิดหนึ่งคือ mobile phase เมื่อสารประกอบในสารผสมสัมผัสกับ stationary phase ก็จะละลายอยู่ใน stationary phase ซึ่งเป็นของเหลวที่เคลือบอยู่บน solid support ในลักษณะฟิล์มบาง ๆ เมื่อ mobile phase เคลื่อนที่ผ่านสารประกอบที่ละลายได้ดี สารประกอบ นั้นก็จะละลายเข้ามาอยู่ในชั้น mobile phase ได้ก่อนและเคลื่อนที่ไปพร้อมกับ mobile phase สารประกอบที่ ละลายได้รองลงมาก็ค่อย ๆ เข้ามาอยู่ใน mobile phase ตามลำดับ สารประกอบแต่ละชนิดมีค่า partition coefficients ต่างกัน ดังนั้นจึงทำให้เกิดการแยกขึ้น (Robbitt, J.M. et. al. 1968 : 8-9)

4.1.3 โครมาโทกราฟีเยื่อบาง (Thin layer chromatography : TLC)

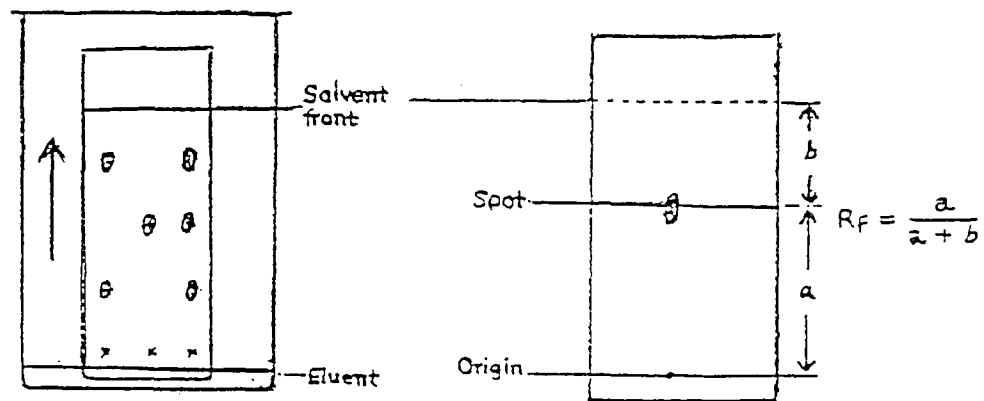
คือโครมาโทกราฟีชนิดที่ stationary phase แผ่นเป็นแผ่นบาง ๆ บนสิ่งรองรับซึ่งอาจ จะเป็นแผ่นแก้ว แผ่นโลหะ แผ่นพลาสติกเหนียว หรือแผ่นอลูมิเนียมก็ได้ TLC เป็นได้ทั้งโครมาโทกราฟีชนิด adsorption และ partition เมื่อหยดสารละลายของสารผสมที่ต้องการแยกลงบน stationary phase และนำไปจุ่มลงใน mobile phase หรือ developing solvent ที่บรรจุอยู่ในถังแช่ (chamber) mobile phase จะค่อย ๆ เคลื่อนที่ขึ้นไปตาม stationary phase พร้อมกับละลายและพาเอาสารประกอบที่ละลายได้ไปด้วย สารประกอบ อื่น ๆ ก็จะถูกปลดปล่อยจาก stationary phase ตามลำดับ แนวที่ mobile phase เคลื่อนที่ไปได้ไกลที่สุดบน แผ่น TLC

เรียกว่า solvent front ระยะทางที่สารประกอบต่าง ๆ เคลื่อนที่ออกมาจากจุดเริ่มต้นจะแตกต่างกัน และต่ำกว่าระดับของ solvent front ทั้งนี้ขึ้นกับว่า retardation factor (R_f) ของสารประกอบแต่ละชนิดนั้น R_f คืออัตราส่วนของระยะทางในการเคลื่อนที่ไปของสารประกอบจากจุดเริ่มต้นต่อระยะทางของ solvent ที่เคลื่อนที่ไป สารประกอบแต่ละชนิดจะมีค่า R_f เฉพาะตัวในสภาวะหนึ่ง ๆ ดังนั้นจึงเป็นค่าคงที่ที่จะใช้ในการ ตรวจเอกลักษณ์ของสารประกอบต่าง ๆ ได้วิธีหนึ่ง

4.1.3.1 ปัจจัยที่มีผลต่อค่า R_f

ค่า R_f ของสารแต่ละชนิดจะมีค่าคงที่เฉพาะในสภาวะหนึ่ง ๆ เสมอ แต่ก็มีการปัจจัย หลายอย่าง (Prochazka, Z. et al, 1979: 112-115; Okerholm; R.A, 1980: 69 -78) ที่มีอิทธิพลและส่งผลต่อค่า R_f ปัจจัยเหล่านี้ได้แก่

- (1) Solvent system ที่เลือกใช้ว่าประกอบด้วยชนิดไหน อัตราส่วน ระยะเวลาที่เตรียม และปริมาณที่ใช้
- (2) ทิศทางการเคลื่อนที่ของ mobile phase ว่าเป็นแบบไหน
- (3) ระยะเวลาที่ใช้ในการปฏิบัติ
- (4) ถังแช่มีการอิมมัวด้วยไอระเหยของ mobile phase มากน้อยแค่ไหน
- (5) ความชื้นของแผ่น TLC หรือของบรรยากาศภายในถังแช่
- (6) อุณหภูมิของระบบขณะกำลังปฏิบัติ
- (7) ความเข้มข้นมากหรือน้อยของสารตัวอย่างที่ใช้
- (8) ธรรมชาติและคุณสมบัติของโครงสร้างของสารตัวอย่างชนิดนั้น ๆ



ก.

ข.

ภาพประกอบ 3 แสดงเทคนิคการศึกษาโครมาโทกราฟีเยื่อบาง

ก. วิธีการของเทคนิคการศึกษา ข. การคำนวณหาค่า R_f

4.1.3.2 วิธีการปฏิบัติ

หยดสารตัวอย่างลงบนแผ่น TLC โดยหยดห่างจากปลายขอบด้านหนึ่งของแผ่น TLC ประมาณ 2 เซนติเมตร การหยดอาจใช้หลอดแก้วเล็ก ๆ หรือเข็มฉีดยา ปล่อยให้หยดของสารตัวอย่างระเหยจนแห้งจากนั้นนำแผ่น TLC มาหย่อนลงในถังซึ่งมี mobile phase อยู่และมีปริมาตรสูงจากก้นถังแช่ประมาณ 1 เซนติเมตร วางแผ่น TLC ในแนวตั้งและให้ปลายขอบของแผ่น TLC ด้านที่หยดสารตัวอย่างไว้จุ่มอยู่ใน mobile phase ปิดฝาทันทีและปล่อยให้ mobile phase เคลื่อนตัวขึ้นตามผิวบางของ stationary phase โดยอำนาจของแรงดูดแคปิลลารี (capillary) ที่งัวจนกระทั่ง solvent front ขึ้นมาถึงระดับ สูงประมาณ 10 เซนติเมตร mobile phase จะทำให้เกิดการแยกของสารผสมในหยดสารตัวอย่างออกจากกันเป็นจุด ๆ ที่ระยะทางต่าง ๆ กัน ถ้าเป็นสารที่มีสีก็สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า แต่ถ้าเป็นสารที่ไม่มีสีจะต้องใช้วิธีการอื่นช่วยทำให้มองเห็นว่าจุดเหล่านั้นอยู่ตรงตำแหน่งไหน

4.1.3.3 สารดูดซับ (adsorbent) ที่ใช้เป็นวัฏภาคอยู่กับที่ (Brain, K.R. and Turner, T.D. 1975 : 113-114, 131-133)

สารดูดซับซึ่งใช้เป็นวัฏภาคอยู่กับที่ (stationary phase) ของโครมาโทกราฟีผิวบาง ที่นิยมใช้ได้แก่

(1) ซิลิกา เจล (silica gel)

(2) อลูมินา, อลูมิเนียม ออกไซด์ (alumina, aluminium oxide)

(3) ไคเซลกัวร์ (kieselguhr)

(4) เซลลูโลส (cellulose)

(1) ซิลิกา เจล เป็นสารอนินทรีย์ที่มีลักษณะเป็นผงละเอียด ทำจากกรดซิลิซิก (silicic acid) ผสมกับ binder เช่น แคลเซียมซัลเฟต จำนวน 13% มีความเป็นกรดเล็กน้อยเหมาะกับการแยกสารที่มีความเป็นกรดหรือเป็นกลาง หากใช้แยกสารที่มีความเป็นกลางควรใช้ mobile phase ประเภทตัวทำละลายอินทรีย์ถ้าใช้แยกสารที่มีความเป็นกรดควรเติมกรดน้ำส้มลงไปใน mobile phase เล็กน้อย (Bobbitt. J.M. 1968 : 47-57) แต่หากใช้แยกสารที่มีความเป็น base ควรเติมแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ หรือไอเททิลลามีน ซึ่งมีความเป็น base อย่างอ่อนลงใน mobile phase

การเตรียม slurry จะใช้อัตราส่วนของซิลิกา เจล ต่อน้ำในปริมาณ 1 : 2

(2) อลูมินา, อลูมิเนียม ออกไซด์ เป็นสารอนินทรีย์ที่นิยมใช้รองลงมาจากซิลิกา เจล ทำจากสารผสมของอลูมิเนียมออกไซด์ กับ binder เช่น แคลเซียมซัลเฟต จำนวน 10% มีคุณสมบัติเป็น base จึงเหมาะกับการใช้แยกสารที่มีความเป็น base การเตรียม slurry จะใช้อัตราส่วนของอลูมินาต่อน้ำใน ปริมาณ 30 : 40

(3) ไคเซลกัวร์ เป็นสารอนินทรีย์จาก diatomaceous earth ลักษณะเป็นผงละเอียด มีสมบัติคล้ายซิลิกา เจล แต่มี active surface น้อยกว่า ทำให้บริสุทธิ์ด้วยกรดเกลือเจือจางและล้างด้วยน้ำ มี binder เช่น แคลเซียมซัลเฟต ผสมอยู่ 13% นิยมใช้สำหรับการแยกสารที่มีโมเลกุลชนิดมีขั้วมาก ๆ เช่น กรดอะมิโน คาร์โบไฮเดรต เป็นต้น

(4) เซลลูโลส เป็นสารอินทรีย์อนุพันธ์ของคาร์โบไฮเดรตทำจากส่วนเซลลูโลสของพืชอยู่ในสภาพผง การใช้อาจจะไม่ต้องผสมกับตัวยึดเกาะก็ได้ มีอยู่ 2 ชนิดคือ fibrous cellulose และ microcrystalline cellulose (Mike O. 1979 : 161-166) นิยมใช้สำหรับการแยกสารชนิดมีขั้ว เช่น อัลคาลอยด์ กรดอะมิโน น้ำตาล สีย้อมธรรมชาติและฟอสเฟต เป็นต้น

4.1.3.4 Mobile phase

Mobile phase เป็นของเหลวซึ่งอาจจะเป็นตัวทำละลายบริสุทธิ์ชนิดเดียว หรือส่วน ผสมของตัวทำละลายหลายชนิด การเลือกใช้ mobile phase ได้อย่างเหมาะสมกับระบบจะเป็นสิ่งที่สำคัญมาก เนื่องจาก mobile phase เป็นองค์ประกอบของ chromatographic system ที่เลือกใช้เหมาะสมได้ยากกว่าองค์ประกอบอื่น ๆ เพราะมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องหลายอย่าง สิ่งที่ช่วยต่อการเลือก mobile phase มีดังนี้ คือ

(1) โดยการพิจารณาจาก eluotropic series ของตัวทำละลายในตาราง 2 ถ้าสาร ตัวอย่างเป็นสารประกอบชนิดมีขั้วควรเลือกใช้ตัวทำละลายชนิดมีขั้ว ในทำนองเดียวกัน ถ้าสารตัวอย่างเป็นสารประกอบไม่มีขั้ว ก็ควรเลือกใช้ตัวทำละลายชนิดไม่มีขั้วเป็น mobile

phase การเพิ่มความมีขั้วของ mobile phase อาจทำได้โดยการผสมกันระหว่างตัวทำละลายชนิดมีขั้วสูง เข้ากับตัวทำละลายชนิดไม่มีขั้วหรือชนิดมีขั้วต่ำกว่าในอัตราส่วนต่าง ๆ กัน

(2) โดยพิจารณาถึงกลไกที่เกิดขึ้นในโครมาโทกราฟีนั้น ๆ ว่าเป็นชนิดดูดซับ หรือแบ่งละลาย ก็จะทำให้สามารถเลือก mobile phase ที่เหมาะสมได้

ตาราง 2 แสดง Eluotropic series ของตัวทำละลายต่าง ๆ

ไม่มีขั้ว	ปิโตรเลียม อีเธอร์
	ไซโคลเฮกเซน
	คาร์บอนเตตระคลอไรด์
	เบนซีน
	เมทิลีนคลอไรด์
	คลอโรฟอร์ม
	เอทิลอีเธอร์
	เอทิลอะซิเตต
	ฟิรทีน
	อะซิโตน
	โพรพานอล
	เอทานอล
	เมทานอล
	น้ำ
มีขั้ว	กรดน้ำส้ม

4.1.4 โครมาโทกราฟีคอลัมน์ (Column chromatography ; CC)

โครมาโทกราฟีคอลัมน์ คือ โครมาโทกราฟีชนิดที่มี stationary phase อยู่ในลักษณะเป็นคอลัมน์โดยบรรจุอยู่ในภาชนะรูปทรงกระบอกคอลัมน์โครมาโทกราฟี ใช้สำหรับแยกสารผสมที่มีปริมาณมาก หลักการที่ทำให้เกิดการแยกของสารประกอบต่าง ๆ คือ สารประกอบในสารผสมจะเคลื่อนที่ในลักษณะเป็น bands ผ่าน คอลัมน์ของ stationary phase อาจจะมีกลไกเป็นแบบ adsorption หรือ partition ก็ได้

ถ้าเป็นโครมาโทกราฟีชนิด adsorption การแยกของสารประกอบเกิดจากแรงรวมที่ เกิดขึ้นระหว่าง adsorbent surface, solutes และ mobile phase ส่วนโครมาโทกราฟีชนิด partition เกิดจากขบวนการที่เกี่ยวข้องกับการกระจายตัวของ solutes ในระหว่างของเหลวสองชนิดที่ไม่ผสมกัน (คือ stationary phase ซึ่งเคลือบอยู่บน solid support กับ

mobile phase) หรือเกี่ยวข้องกับค่า partition coefficient ของ solutes จะนั้นอัตราความเร็วที่สารประกอบแต่ละชนิดเคลื่อนที่ลงมาตามคอลัมน์จึงถูกควบคุมโดยแรงรวมในขบวนการ adsorption หรือ partition

การเลือก chromatographic system สำหรับคอลัมน์โครมาโทกราฟีที่ได้จากการทดลองขั้นแรกในโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง ซึ่งจะทำให้เห็นได้ว่าควรเลือกทำโครมาโทกราฟีชนิด adsorption หรือ partition พร้อมทั้งอาจได้ solvent system สำหรับใช้เป็น mobile phase นอกจากนี้ข้อมูลจากโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง จะบอกถึงรายละเอียดต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับความสัมพันธ์ของสารผสมที่ต้องการแยก จึงสามารถจำลองรูปแบบมาใช้ในคอลัมน์โครมาโทกราฟีได้

4.1.4.1 วิธีการปฏิบัติ

หยดสารผสมที่ต้องการแยกลงบนส่วนยอดของคอลัมน์ซึ่งมี stationary phase บรรจุอยู่ และ elute ด้วย mobile phase ในกรณีโครมาโทกราฟีชนิด adsorption สารประกอบในสารผสมชนิดไหนที่สามารถถูกดูดซับได้ดีโดย stationary phase จะยังติดอยู่ในส่วนบนของคอลัมน์ สารประกอบที่ถูกดูดซับได้น้อยกว่าก็จะกระจายตัวเป็น bands เคลื่อนที่ลงไปตามคอลัมน์พร้อมกับ mobile phase สารประกอบใดที่ไม่ถูกดูดซับเลยก็จะเคลื่อนผ่านลงไปยังอย่างรวดเร็ว สำหรับสารประกอบส่วนที่ถูกดูดซับไว้ใน stationary phase นั้น การที่จะแยกให้ออกมาได้จะต้องเลือกใช้ mobile phase ชนิดที่สามารถ ไปลดการดูดซับของสารประกอบเหล่านั้นลง ก็จะถูกแยกออกมาได้

ส่วนโครมาโทกราฟีชนิด partition การแยกของสารประกอบจะขึ้นกับค่า partition coefficient สารประกอบใดละลายได้ดีใน mobile phase ก็จะเคลื่อนที่ไปได้เร็วกว่าสารประกอบที่ละลาย ได้น้อยกว่า เช่นเดียวกับสารประกอบใดละลายได้ดีใน stationary phase ก็จะเคลื่อนที่ไปช้ากว่าสารประกอบที่ละลายได้น้อยกว่า mobile phase ที่ใช้จะเริ่มต้นด้วยตัวทำละลายที่มีขั้วต่ำและค่อย ๆ เพิ่มความมีขั้วให้ สูงขึ้นไปเรื่อย ๆ จนกระทั่งแยกสารออกมาได้ตามต้องการเก็บ eluate จากคอลัมน์ด้วยหลอดแก้วเป็นระยะ ๆ ปริมาณที่เก็บแต่ละครั้งตามความเหมาะสม (10-20 มิลลิลิตร) eluate ที่เกิดได้จะนำไปตรวจสอบหา องค์ประกอบทางเคมีต่อไป

4.1.4.2 สารดูดซับที่ใช้เป็นวัฏภาคอยู่กับที่

สารดูดซับที่ใช้ในโครมาโทกราฟีคอลัมน์จะมีคุณสมบัติต่าง ๆ เหมือนกับสารดูดซับที่ใช้ใน TLC แต่แตกต่างกันที่ขนาดของเมล็ดเท่านั้น อัตราส่วนของสารดูดซับที่ใช้ในการแยกต่อสารผสมโดยทั่วไปจะใช้ในอัตราส่วน 1 : 2 (Shriner. R.L. 1980: 374-377) สารดูดซับที่นิยมใช้ได้แก่ อลูมินา และ ซิลิกา เจล

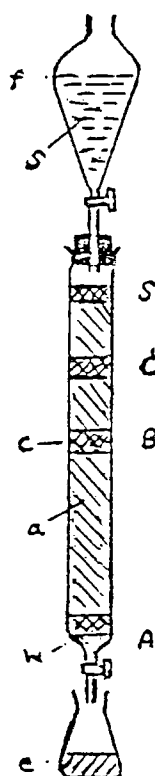
(1) อลูมินา ที่ใช้อยู่มี 3 ชนิด คือ basic alumina acidic alumina และ neutral alumina

- basic alumina เหมาะสำหรับใช้แยกสารประกอบอินทรีย์ต่าง ๆ โดยเฉพาะ สารประกอบที่มีสมบัติเป็นด่าง

- acidic alumina จะใช้สำหรับแยกสารประกอบที่มีสมบัติเป็นกรด

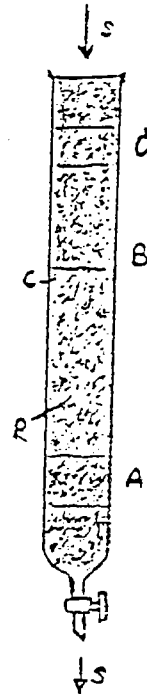
- neutral alumina มีสมบัติเป็นกลางจึงเหมาะสำหรับการแยกสารที่เป็นกลาง ทั้งหมด

(2) ซิลิกา เจล เป็นสารดูดซับที่นิยมใช้มากที่สุดและสามารถใช้ได้กับ cluting solvent ทุกชนิด แต่ถ้าน้ำน้อย ซิลิกา เจล จะพองตัวเนื่องจากเกิดพันธะไฮโดรเจนกับ cluting solvents ทำให้อัตราการไหลช้าลงจึงเป็นข้อจำกัดในการใช้ของซิลิกา เจล



ภาพประกอบ 4 แสดงวิธีการปฏิบัติโครมาโทกราฟีคอลัมน์ชนิด adsorption

a - ตัวดูดซับ, c - คอลัมน์, e - eluate, f - กรวยแยก, s - eluent, w - ไยแก้ว
สารผสม A, B และ C ซึ่งเริ่มแรกจะถูกดูดซับอยู่ตรงตำแหน่ง S และถูกแยกออกเป็นอาณาบริเวณที่อิสระต่อกันโดย elute ด้วย mobile phase ที่เหมาะสม สารทั้งสามจะเคลื่อนที่ออกไปจากคอลัมน์ตามลำดับ



ภาพประกอบ 5 แสดงวิธีการปฏิบัติโครมาโทกราฟีคอลัมน์ partition

c - คอลัมน์, p - supporter แห่อยู่ใน stationary phase และบรรจุอยู่ในคอลัมน์ เมื่อเริ่มหยดสารผสม A, B และ C ลงบนส่วนยอดของคอลัมน์และ elute ด้วย mobile phase ในระหว่างขบวนการดำเนินไป จะเกิดการกระจายตัวของสารทั้งสาม โดยสารที่ละลายได้ดีที่สุดใน S จะถูก elute ออกมาก่อน

4.1.5 โครมาโทกราฟีแบบก๊าซ (Gas Chromatography, GC)

โครมาโทกราฟีแบบก๊าซเป็นเทคนิคอีกชนิดหนึ่งที่ใช้สำหรับแยกสารผสมแบ่งออกได้เป็น 2 วิธี คือ (แม้น อมรสิทธิ์ และ อมร เพชรสม. 2535 : 811-844)

1) ก๊าซ-ของแข็งโครมาโทกราฟี (Gas-Solid Chromatography หรือ GSC)

วิธีนี้ใช้เฟสคงที่เป็นของแข็งที่สามารถดูดซับ (adsorption) สารที่เป็นก๊าซซึ่งต้องการแยกได้และไม่มีสารอื่นใดเคลือบอยู่ ส่วนใหญ่แล้ววิธีนี้ค่อนข้างจะแคบเพราะใช้แยกเฉพาะสารที่เป็นก๊าซหรือสารที่เป็นโมเลกุลเล็ก ๆ เท่านั้น ดังนั้นคอลัมน์ที่ใช้มักจะบรรจุด้วย active solids เช่น Molecular sieves หรือ porous polymers, silica gel, alumina และ activated carbon เป็นต้น

2) ก๊าซ-ของเหลวโครมาโทกราฟี (Gas-Liquid Chromatography)

สารที่เป็นก๊าซหรือไอของสารที่ผสมกันอยู่ เมื่อผ่านคอลัมน์จะสามารถแยกออกจากกันได้ด้วยการกระจายตัวที่แตกต่างกันของก๊าซหรือไอระหว่างเฟสเคลื่อนที่กับเฟสคงที่ที่มีของเหลว (liquid phase) ฌาอยู่บนของแข็ง หรือมีค่า partition coefficient ต่างกัน วิธีนี้เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมใช้กันอย่างกว้างขวาง สำหรับแยกสารที่เป็นก๊าซหรือสารที่สามารถเปลี่ยนให้เป็นไอหรือก๊าซเฟสได้ที่อุณหภูมิกำหนด

การแยกสารจะประสบความสำเร็จขึ้นอยู่กับองค์ประกอบที่สำคัญ 2 อย่าง คือ

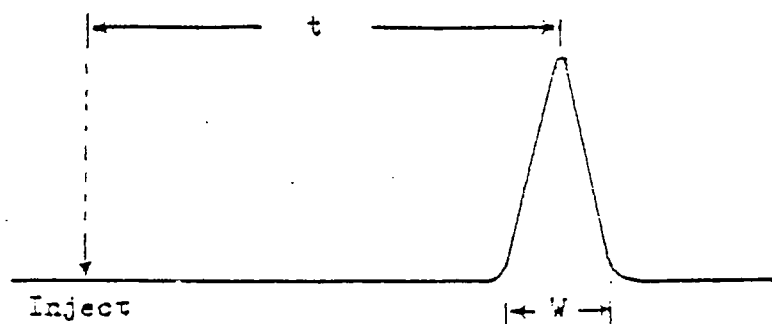
1) Column efficiency ขึ้นอยู่กับสารที่บรรจุใน column คือ Stationary phase มีสัดส่วน และขนาดที่พอเหมาะ รวมทั้งวิธีการบรรจุสาร stationary phase เข้าไปใน column

2) Resolution การแยกสารผสมตัวอย่างออกจากกันอย่างสมบูรณ์ ซึ่งขึ้นอยู่กับ การเลือก column ที่เหมาะสม operating conditions และ ขนาดของสารตัวอย่างที่จะฉีดเข้าเครื่องมือ

Column efficiency

คอลัมน์ (column) ที่ pack ด้วย stationary phase แล้ว ควรตรวจดูว่ามี efficiency ดีพอหรือไม่ โดยดูจาก curve ที่ plot ระหว่าง HETP กับ carrier gas flow rate (H_{ETP} = Height equivalent to a theoretical plate ซึ่งได้มาจาก number of theoretical plates (N))

จากการเลือกสารที่เหมาะสมชนิดหนึ่งฉีดเข้าไปในคอลัมน์ ในปริมาณที่คงที่ พร้อมกับใช้ operating conditions คงที่ จะได้ chromatogram ดังแสดงในภาพประกอบ 6



ภาพประกอบ 6 Chromatogram ของสารชนิดหนึ่งแสดงเวลา (t) การเคลื่อนที่ของสารนั้นใน column และความกว้าง (W) ของฐาน peak

$$\text{Number of theoretical plates } N = 6 \left| \frac{t}{w} \right|^2$$

N = Number of theoretical plates

t = Retention time เวลาการเคลื่อนที่ของสารจาก Injector port ผ่าน column จนถึง detector

w = ความกว้างของฐาน peak

$$\text{H.E.T.P} = \frac{L}{N}$$

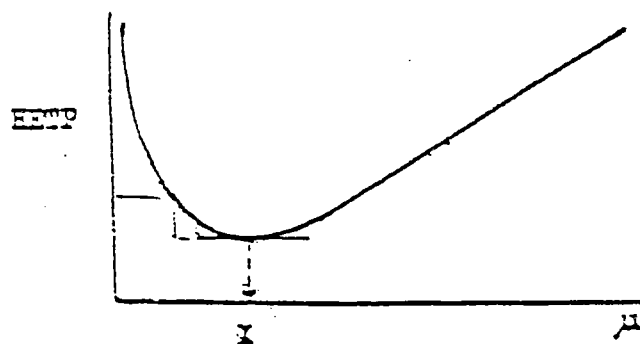
เมื่อ H.E.T.P. = Height equivalent to a theoretical plate

L = ความยาวของ column

คอลัมน์ที่ดีนั้น N ต้องมีค่าสูงมาก หมายความว่า ในการแยกสารนั้น peak ที่แสดงออกมาต้องมีฐาน peak ที่แคบที่สุด เมื่อใช้เวลา Retention time นานที่สุด

คอลัมน์ที่ดีนั้น H.E.T.P. ต้องมีค่าน้อยที่สุด เนื่องจาก N มีค่ามากที่สุด และความยาวของ คอลัมน์ (L) ควรจะสั้นที่สุด ในทางปฏิบัติ นั้น L จะมีค่าคงที่สำหรับ คอลัมน์ นั้น ๆ ใน

การฉีดสารแต่ละครั้ง N จะเปลี่ยนค่าไปตาม flow rate ของ carrier gas ดังนั้น H.E.T.P. ก็เปลี่ยนค่าไปตาม flow rate (μ) ด้วย ซึ่งสามารถนำมาเขียน graph ได้ ดังแสดงในภาพประกอบ 7



ภาพประกอบ 7 กราฟของ H.E.T.P. กับอัตราการไหลของก๊าซพา (μ) X เป็นค่า flow rate ที่เหมาะสม (H.E.T.P. น้อยที่สุด) ที่ทำให้ column มีประสิทธิภาพสูงที่สุด

H.E.T.P. สามารถใช้ Rate theory ซึ่งพัฒนาโดย Van Deemter เพื่อพิจารณาหาความเหมาะสมของสิ่งต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับ chromatography โดย

$$\text{H.E.T.P.} = A + \frac{B}{\mu} + G\mu$$

เมื่อ A = Eddy diffusion

B = Molecular diffusion

C = Mass transfer

Van Deemter equation ข้างบนนี้ สามารถเขียนขยายความได้ดังนี้

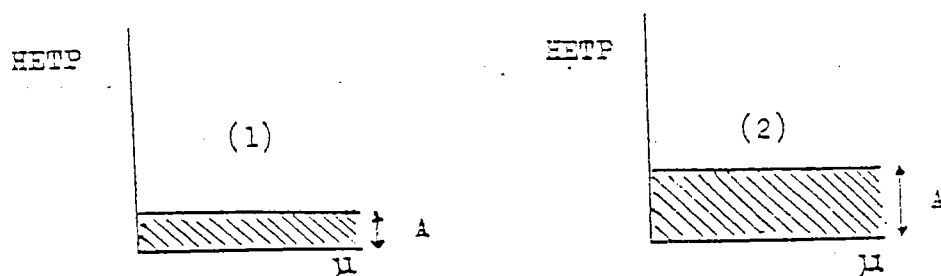
$$\text{H.E.T.P.} = 4\lambda r + \frac{2YD_g}{\mu} + \frac{8Kd^2}{\pi^2 (1+K)^2 Dr}$$

$$A = 4\lambda r$$

เมื่อ λ = ค่าคงที่อันเกี่ยวกับความสม่ำเสมอในการ pack

r = ขนาดเฉลี่ยของ Solid support

เทอม A จะเกี่ยวข้องกับ solid support โดยเฉพาะค่า r ควรจะมีขนาดเล็กที่สุด เพื่อค่า A จะได้มีค่าน้อยที่สุด สามารถเขียนเปรียบเทียบกับ H.E.T.P. ได้ ดังแสดงใน ภาพประกอบ 8



ภาพประกอบ 8 แสดงค่า Eddy diffusion ของ solid support

- (1) คอลัมน์ ดี เนื่องจาก solid support มีขนาดเล็ก
- (2) คอลัมน์ ไม่ดี เนื่องจาก solid support มีขนาดที่ใหญ่กว่า

อย่างไรก็ดี ถ้า solid support มีขนาดเล็กมาก ความดันของ carrier gas ต้องสูงมาก ซึ่งอาจทำให้เกิดการ leak ในส่วนใดส่วนหนึ่ง ปกติ solid support ที่ใช้ขนาดเล็กที่สุด ประมาณ 100-120 mesh

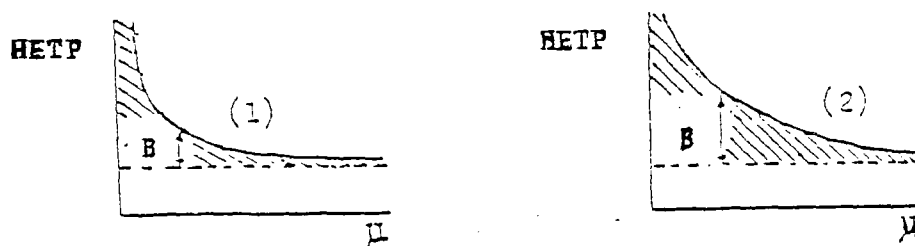
$$B = 2\gamma D_g$$

เมื่อ γ = Correction factor ค่าคงที่ที่เกี่ยวข้องกับการเคลื่อนที่ของ carrier gas ใน column

D_g = Diffusion coefficient ของส่วนที่เป็นก๊าซ

เทอม B ส่วนใหญ่เกี่ยวข้องกับ carrier gas ค่า D_g ควรจะน้อยที่สุด เพื่อค่า B จะได้มีค่าน้อยที่สุดด้วย ทั้งสารตัวอย่างที่ฉีดเข้าไปและ carrier gas ถ้ามีการกระจายตัวของ Molecule มาก ทำให้เกิด peak ที่มีฐานกว้าง (broadening) เป็น column ที่มีประสิทธิภาพไม่ดี การเลือกใช้ carrier gas ที่มีความหนาแน่นสูง จะมี D_g น้อยลง เช่น N_2 CO_2 มี D_g น้อยกว่า H_2 He ค่า H.E.T.P. อันเกิดจากเทอม B โดยการเปลี่ยนแปลง flow rate สามารถเขียนเป็น graph ดังแสดงในภาพประกอบ 9

ค่า H.E.T.P. จะลดลงตาม flow rate ของ carrier gas ที่เพิ่มขึ้น



ภาพประกอบ 9 แสดงค่า Molecular diffusion ของ carrier gas

- (1) คอลัมน์ ดี เนื่องจากการใช้ carrier gas ที่มี Molecular weight มาก
- (2) คอลัมน์ ไม่ดี เนื่องจากการใช้ carrier gas ที่มี Molecular weight น้อย

$$C = \frac{8}{\pi^2} \times \frac{K}{(1+K)^2} \times \frac{d^2}{D_1}$$

เมื่อ K = Capacity factor คือ ปริมาณของสารตัวอย่างที่สามารถเคลื่อนที่เข้าไปใน Liquid phase เทียบกับใน gas phase

d = ความหนาของ Liquid phase บน solid support

D_1 = Diffusion coefficient ของส่วนที่เป็น Liquid phase

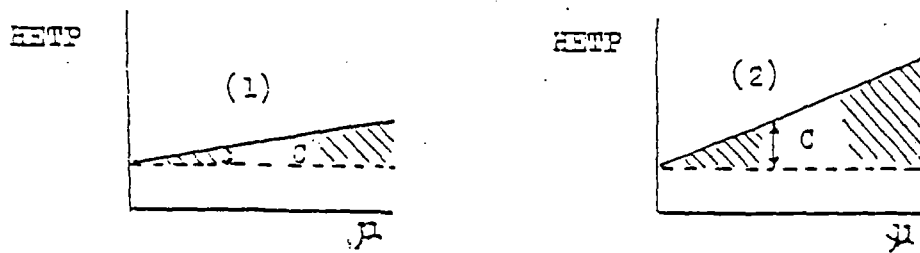
เทอม C เกี่ยวข้องกับ liquid phase และจะมีค่าน้อยที่สุด

เมื่อ K มีค่ามากที่สุด คือ การเลือก liquid phase ที่เหมาะสมกับสารตัวอย่าง เพื่อใช้สารตัวอย่างนั้นเคลื่อนที่ผ่านเข้าไปใน liquid phase มากที่สุด ค่า K จะคงที่ สำหรับ liquid phase ชนิดหนึ่งกับสารตัวอย่างนั้น

d มีค่าน้อยที่สุด คือ ให้ liquid phase ฉาบบน Solid support ให้บางที่สุด หรืออีกนัยหนึ่ง จำนวนร้อยละของ liquid phase ที่ใช้ควรมีค่าน้อยที่สุด

D_1 มีค่ามากที่สุด คือ การกระจายตัวของ molecule ของ liquid phase มีมากที่สุด หรือสาร liquid phase นี้ ต้องมีความหนืด (Viscosity) น้อยที่สุด

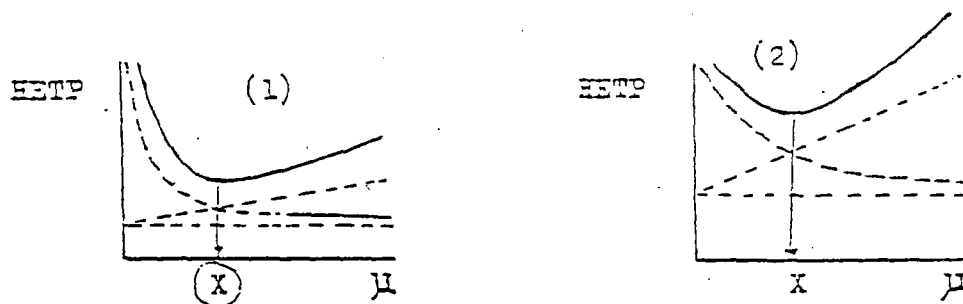
ค่า H.E.T.P. อันเกิดจากเทอม C จะมีค่าน้อยลง เมื่อ flow rate ของ carrier gas มีค่าลดลง ดังแสดงในภาพประกอบ 10



ภาพประกอบ 10 แสดงค่า Mass transfer ของ Liquid phase

- (1) คอลัมน์ ดี เนื่องจากการเลือก liquid phase และบริเวณการใช้ที่เหมาะสม
- (2) คอลัมน์ ไม่ดี

จากค่าของ A B และ C ใน Van Deemter equation สามารถเขียนเป็น graph โดยสรุปดังแสดงในภาพประกอบ 11



ภาพประกอบ 11 แสดงประสิทธิภาพของ คอลัมน์

- (1) คอลัมน์ มีประสิทธิภาพดี
- (2) คอลัมน์ มีประสิทธิภาพไม่ดี

เส้นประ เป็นกราฟทางทฤษฎี

เส้นทึบ เป็นกราฟผลรวมจากการทดลอง

สรุป column efficiency ได้ว่า ในการเตรียม คอลัมน์ เพื่อให้มีประสิทธิภาพดีที่สุดนั้น ต้องคำนึงถึงสิ่งต่าง ๆ ดังนี้

(1) เลือก liquid phase ให้เหมาะสมกับสารตัวอย่าง นำไป coat บน solid support โดยใช้ liquid phase น้อยที่สุด

(2) ใช้ solid support ที่มีขนาดเล็ก (100-200 mesh)

(3) ใช้ carrier gas ที่เหมาะสม สำหรับ Detector การใช้ carrier gas ที่มี Molecular weight มาก ทำให้ คอลัมน์มี efficiency ดี แต่เวลาที่ใช้ในการแยกสารจะนานขึ้น

(4) ใช้ carrier gas flow rate ที่ถูกต้อง

ส่วนประกอบของเครื่องโครมาโทกราฟีแบบก๊าซ

1) ถังก๊าซที่ใช้บรรจุตัวพา (carrier gas) เพื่อจะพาไอของสารตัวอย่างผ่านเข้าไปยังคอลัมน์ ได้แก่ ไนโตรเจน ฮีเลียม และอาร์กอน เป็นต้น

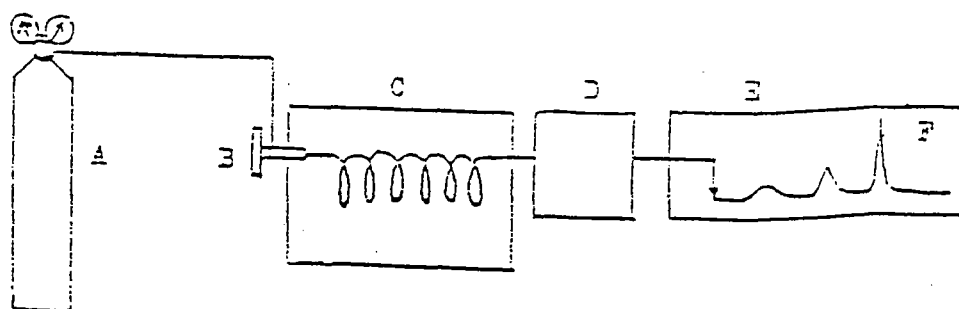
2) ส่วนที่จะฉีดสารตัวอย่างเข้าไป (injection port)

3) คอลัมน์ (column) ซึ่งเป็นส่วนที่สำคัญที่สุดที่ใช้สำหรับแยกสาร

4) ดีเทคเตอร์ (detector) เป็นส่วนที่ใช้สำหรับตรวจวัดสารแต่ละชนิดที่ถูกแยกออกมาจากคอลัมน์

5) ส่วนที่ใช้ประมวลผลและข้อมูลต่าง ๆ ได้แก่ อินทิเกรเตอร์ เครื่องบันทึกโครมาโทแกรม หรือ data processor หรือคอมพิวเตอร์

ส่วนประกอบของเครื่องโครมาโทกราฟีแบบก๊าซแสดงดังภาพประกอบ 12



ภาพประกอบ 12 แสดงส่วนประกอบที่สำคัญของเครื่องโครมาโทกราฟีแบบก๊าซ

1) ก๊าซพา (Carrier Gas)

เป็นก๊าซที่ใช้สำหรับพาสารตัวอย่างที่ถูกทำให้เป็นไอหรือก๊าซเฟสแล้วที่ injection port ให้เข้าสู่คอลัมน์ต่อไป ก๊าซพานี้จะต้องมีการควบคุมอัตราการไหล (flow rate) ให้

คงที่เสมอ โดยสามารถเลือกใช้อัตราการไหลให้เหมาะสมได้ตามต้องการ อัตราการไหลของก๊าซพามีส่วนสำคัญต่อการวิเคราะห์ทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องควบคุมให้คงที่

ก๊าซพาก็ใช้กันโดยทั่วไป ได้แก่ ก๊าซไนโตรเจน ฮีเลียม หรือก๊าซไฮโดรเจน ลักษณะที่ดีของก๊าซพาควรจะเป็นดังนี้ คือ

(1) ควรมีสสมบัติเฉื่อย เพื่อป้องกันการเกิดปฏิกิริยากับสารตัวอย่างหรือตัวทำละลายหรือเฟสคงที่

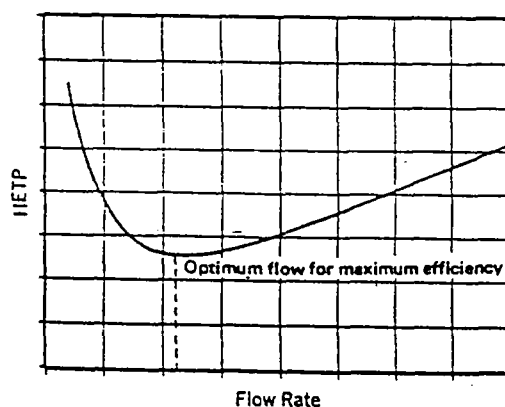
(2) เป็นก๊าซที่มีการแพร่น้อยและมีมวลโมเลกุลต่ำ

(3) สามารถจัดหาได้ง่ายและมีความบริสุทธิ์สูง

(4) ราคาไม่แพง

(5) เป็นก๊าซที่เหมาะสมสำหรับใช้กับดีเทคเตอร์ได้ ก๊าซพาท่อออกจากท่อก๊าซควรทำให้บริสุทธิ์ขึ้น โดยให้ผ่านท่อที่บรรจุด้วย molecular sieve เพื่อช่วยขจัดไอน้ำหรือไฮโดรคาร์บอน

นอกจากนี้ ประสิทธิภาพของคอลัมน์ (column efficiency) ยังขึ้นอยู่กับ การเลือกใช้อัตราการไหลของก๊าซพาซึ่งคอลัมน์แต่ละชนิดจะมีค่าอัตราการไหลที่เหมาะสมที่สุด (optimum flow rate) ต่าง ๆ กัน และสามารถหาได้โดยทำการทดลองง่าย ๆ คือ ทำ Van Deemter plot ซึ่งเป็นการเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ของค่า H.E.T.P. กับอัตราการไหลของก๊าซ optimum flow rate คืออัตราการไหลของก๊าซที่ค่า H.E.T.P. ต่ำที่สุด หรือมีจำนวนเพลท (plate) สูงสุด



ภาพประกอบ 13 แสดง Van Deemter plot

2) ส่วนที่จะฉีดสารตัวอย่างเข้าไป (injection port)

การนำสารตัวอย่างฉีดเข้าไปในเครื่อง GC เพื่อวิเคราะห์นั้นมีการแตกต่างกันไปแล้วแต่ชนิดของสารตัวอย่าง เช่น เป็นก๊าซ ของเหลว หรือของแข็ง ถ้าเป็นของเหลวหรือของแข็งสารนั้นระเหยยากหรือง่ายคอลัมน์ที่ใช้เป็นอะไร เช่น เป็น packed column หรือ capillary

column การออกแบบเครื่องมือในส่วนนี้จะแตกต่างกันออกไปเพื่อให้ทำงานได้ตามวัตถุประสงค์และมีประสิทธิภาพ โดยทั่วไปส่วนที่ฉีดสารตัวอย่างเข้าไป (inlet) จะมีเครื่องให้ความร้อน (heater) ประกอบอยู่ด้วยเพื่อให้สารตัวอย่างกลายเป็นไอ ปริมาณของสารตัวอย่างที่ใช้ก็มักจะน้อย

(1) Gas Sample Inlet

โดยทั่วไปตัวอย่างที่เป็นก๊าซมักจะใช้ฉีดเข้าไปด้วย gas-tight syringes แต่วิธีที่ดีที่สุดใช้ gas sampling valve ก๊าซตัวอย่างจะฉีดเข้าไปเก็บไว้ในลูป (loop) เมื่อหมุน sampling valve ก๊าซตัวอย่างจะถูกฉีดเข้าไปในคอลัมน์วิธีการนี้จะให้ค่า reproducibility ดีกว่า 0.5 เปอร์เซ็นต์

(2) Liquid Sample Inlets

สารตัวอย่างที่เป็นของเหลวโดยมากจะใช้ microsyringe ฉีดเข้าไป ผ่าน silicone septum ไปยังปลายของคอลัมน์ หรืออาจใช้วิธีฉีดเข้าไปที่ flash vaporizer สารตัวอย่างจะถูกเปลี่ยนให้เป็นไอ โดยความร้อนจาก heater block เทคนิคต่าง ๆ ที่ใช้ในการฉีดสารเข้าไปขึ้นอยู่กับชนิดของสารตัวอย่างและคอลัมน์ วิธีการที่ใช้วิเคราะห์อาจเป็น isothermal หรือ temperature programmed ทั้งนี้สิ่งที่สำคัญต้องคำนึงถึงคือ retention time จะต้อง reproducible และให้การแยกที่ดี (good resolution)

โดยทั่วไป อุณหภูมิของ injection port ควรจะต้องสูงพอที่จะทำให้สารกลายเป็นไอ แต่ให้ต่ำกว่าอุณหภูมิจำกัด (temperature limit) ของลิควิดเฟสที่ใช้ในคอลัมน์ และไม่ควรใช้อุณหภูมิสูงเกินไป เพราะอาจทำให้ลิควิดเฟสระเหยออกไปหรือเกิดการสลายตัว ซึ่งจะทำให้เกิด base line ไม่คงที่และเกิดการดริฟท์ (drift)

(3) สารตัวอย่างที่เป็นของแข็ง (Solid Sample)

การวิเคราะห์ตัวอย่างที่เป็นของแข็งด้วยเทคนิค GC นั้น กระทำได้ค่อนข้างยากกว่าสารตัวอย่างที่เป็นก๊าซหรือเป็นของเหลว เพราะต้องใช้อุณหภูมิในการเปลี่ยนให้เป็นไอสูงกว่า อย่างไรก็ตามวิธีวิเคราะห์ด้วย GC นั้น ก็สามารถทำได้โดยนำสารตัวอย่างที่เป็นของแข็งนั้นไปละลายในตัวทำละลายเสียก่อน แล้วจึงทำตามวิธีในข้อ (2) ทั้งนี้ตัวทำละลายที่เลือกใช้จะต้องละลายสารตัวอย่างได้หมด ไม่รวมชะล้าง (co-elute) กับสารใดสารหนึ่งในตัวอย่างนั้น และไม่ทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่างนั้นด้วย ในบางกรณีอาจใช้อุปกรณ์ที่สามารถเปลี่ยนสารที่เป็นของแข็งให้สลายตัวเป็นก๊าซ (pyrolysis equipment) โดยเผาที่อุณหภูมิสูงถึง 1,000 องศาเซลเซียส เมื่อเปลี่ยนให้เป็นก๊าซแล้วจึงนำเข้าเครื่อง GC ต่อไป

(4) ใช้ Headspace Analysis

ในกรณีที่สารตัวอย่างเป็นของแข็งหรือของเหลวโดยที่มีสารที่ระเหยได้และระเหยไม่ได้ ถ้าต้องการจะหาส่วนที่ระเหยได้ สามารถทำได้โดยใช้ headspace technique ซึ่งต่าง

จากเทคนิค GC ทั่วไปตรงที่วิธีการใช้ sample injection เท่านั้น คือ จะนำส่วนที่เป็นไอซึ่งอยู่เหนือส่วนที่ไม่ระเหยที่เป็นของแข็งหรือของเหลวนั้นไปฉีดเข้าเครื่อง GC ต่อไป การวิเคราะห์สารตัวอย่างที่เป็นของเหลวนี้จะได้ผลถูกต้องสมบูรณ์จะต้องประกอบด้วยขั้นตอนต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

ก. จะต้องรู้ปริมาณของสารตัวอย่างที่จะใส่ในขวด (vial) ที่ทราบขนาดผ่าขวดจะเป็น septum ที่เป็นยางปิด ขวดที่ใส่สารตัวอย่างจะต้องแช่ในอ่างน้ำที่อุณหภูมิคงที่ (80-90 องศาเซลเซียส)

ข. เมื่อได้สมดุลแล้ว นำไอของสารตัวอย่างที่ทราบปริมาณแน่นอนไปวิเคราะห์ด้วย GC ต่อไป head space vessel

5) เครื่องฉีดสารตัวอย่างอัตโนมัติ (Automatic Samples หรือ Autosamplers)

สำหรับในกรณีที่มีสารตัวอย่างจำนวนมาก ๆ และต้องทำการวิเคราะห์ติดต่อกันเป็นเวลานาน การใช้เครื่องฉีดอัตโนมัติจึงเหมาะสมดี เพราะทำให้สะดวกและได้ผลวิเคราะห์ถูกต้องดีด้วย ด้วยเหตุนี้จึงทำให้มีผู้นิยมใช้กันเป็นจำนวนมาก บริษัทผู้ผลิตเครื่อง GC ทั้งหลายจึงประดิษฐ์เครื่องมือนี้ออกมาขายทั่วไป มีทั้งชนิดที่สามารถโปรแกรมเวลาในการฉีดสารตัวอย่างได้ด้วย และมีชนิดที่ใช้ syringe และให้สารตัวอย่างไหลผ่าน syringe เป็นต้น นอกจากนี้ยังสามารถเลือกจำนวนครั้งของการวิเคราะห์แต่ละสารตัวอย่างได้ สารตัวอย่างจะใส่ไว้ในถาด (tray) ที่หมุนได้ แต่ถ้าสารตัวอย่างเป็นก๊าซก็จะใช้เป็น automatic gas-sampling valves เช่น ในการวิเคราะห์ตัวอย่างก๊าซจากโรงแยกก๊าซธรรมชาติ เป็นต้น

6) ระบบใส่สารตัวอย่างสำหรับ capillary columns

เนื่องจากคอลัมน์ชนิดนี้เป็นชนิดหลอดเล็ก (capillary tube) ทำให้มีความจุสารตัวอย่างต่ำ เมื่อเทียบกับคอลัมน์ชนิดบรรจุด้วยสารบางชนิด (packed column) ในทางปฏิบัติจริงมีเทคนิคที่ใช้กันอยู่กับคอลัมน์ชนิดนี้ 3 แบบ คือ

(1) split injection

(2) splitless หรือ direct injection

(3) "cool" on-column injection

ลักษณะเฉพาะของเทคนิคเหล่านี้ได้สรุปไว้ในตาราง 3

ตาราง 3 แสดงลักษณะเฉพาะของระบบฉีดสารตัวอย่างที่เป็นแบบ split, splitless และ on-column injections

split	splitless	on-column
- ใช้วิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (Major component analysis)	- ใช้วิเคราะห์สารปริมาณน้อยๆ (trace analysis)	- ใช้วิเคราะห์สารปริมาณน้อยๆ (trace analysis)
- ใช้เป็นเทคนิคการระเหยสาร อย่างรวดเร็ว	- ใช้เป็นเทคนิคการระเหยสาร อย่างรวดเร็ว	- ใช้เป็นเทคนิคฉีดสารแบบเย็น (cool) โดยสารที่ฉีดจะไม่เป็น ไอ
- เป็นเทคนิคฉีดสารอย่างรวดเร็ว	- เป็นเทคนิคฉีดสารช้า ๆ	- เป็นเทคนิคฉีดสารอย่างรวดเร็ว
- ใช้อัตโนมัติได้	- ใช้อัตโนมัติได้	- ใช้ฉีดด้วยมือ (manual)
- ใช้กับงานประจำ	- ใช้กับวิธีการยุ่งยาก	- ใช้กับงานประจำ
- ใช้หาปริมาณทางอ้อม	- ใช้หาปริมาณได้โดยตรง	- ใช้หาปริมาณได้โดยตรง

(1) Split Injection เนื่องจากการยากที่จะฉีดสารจำนวนน้อย ๆ (0.001-0.5 μL) เข้าไปใน capillary column จึงทำให้ระบบนี้ได้พัฒนาขึ้น โดยสารที่ฉีดเข้าไปจะถูกเปลี่ยนให้เป็นไอ ๆ ของสารจะมีการผสมกันก่อนที่จะถึงจุดแบ่งแยกสารตัวอย่าง ที่จุดนี้ไอของสารตัวอย่างส่วนน้อยและปริมาณแน่นอนจะเข้าไปในคอลัมน์ แต่ส่วนใหญ่จะถูกระบายออกไป

ส่วนที่เข้าคอลัมน์คำนวณได้จาก split ratio ดังสมการ

$$\text{split ratio} = \frac{\text{ส่วนที่ระบายออกไป}}{\text{ส่วนที่เข้าคอลัมน์}}$$

split ratio จะมีค่าแตกต่างกันไปจาก 10 ถึง 1,000 ต่อ 1

(2) Splitless Injection โดยทั่วไปแล้ว splitless injection เป็นเทคนิคที่มีประโยชน์มากในการวิเคราะห์สารปริมาณน้อย ๆ (trace analysis) โดยที่สารตัวอย่างจะถูกทำให้เจือจางด้วยตัวทำละลาย แล้วได้สารตัวอย่างทั้งหมดเข้าสู่คอลัมน์ การใช้เทคนิคนี้ให้ความถูกต้องดี แต่บางครั้งต้องใช้เวลาและยุ่งยากพอสมควร

(3) "Cool" On-Column Injection ระบบ cool on-column มีลักษณะคล้ายกับ splitless injection และใช้ในการวิเคราะห์สารปริมาณน้อย ๆ (trace analysis) สำหรับระบบนี้สารตัวอย่างทั้งหมดจะเข้าสู่คอลัมน์โดยยังไม่เป็นไอ เทคนิคนี้เป็นวิธีที่ให้ผลถูกต้องที่สุด และอุปกรณ์ก็ทำได้ง่าย ๆ

การฉีดสารตัวอย่างเข้าในคอลัมน์โดยใช้เทคนิคนี้จะต้องคำนึงถึงหลัก 3 ประการด้วยกัน คือ

- (1) การฉีดสารจะต้องกระทำที่อุณหภูมิต่ำกว่าจุดเดือดของตัวทำละลาย เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการกลายเป็นไอของตัวทำละลายในขณะฉีดสาร
- (2) การฉีดสารจะต้องกระทำด้วยความรวดเร็ว
- (3) ปริมาณของสารตัวอย่างที่จะฉีดเข้าไปควรมีขนาด 2 μL หรือน้อยกว่า แต่ถ้าใช้สารตัวอย่างมากกว่านี้จะทำให้ความกว้างของแถบโครมาโทแกรม (band width) ที่จุดเริ่มต้นกว้าง

3) คอลัมน์ (Columns)

คอลัมน์ถือเป็นหัวใจของการแยกสารด้วยเทคนิคทาง GC เมื่อก๊าซผสมหรือไอของสารที่ปนกันอยู่ในสารตัวอย่าง ผ่านคอลัมน์สารที่บรรจุในคอลัมน์เปล่านั้นจะทำหน้าที่เป็นตัวแยก ก๊าซหรือไอผสมเหล่านั้นออกจากกันเป็นส่วน ๆ ดังนั้น โครมาโทแกรมที่ได้จะดีหรือไม่จึงขึ้นอยู่กับ ชนิดของคอลัมน์มาก

การที่จะเลือกใช้คอลัมน์ให้สามารถแยกสารตัวอย่างให้ได้ดีที่สุดนั้น ไม่มีวิธีไหนที่สามารถจะบอกได้ นอกจากจะบอกได้กว้าง ๆ แล้วลองใช้ดูหรืออาจได้จากประสบการณ์เท่านั้น

(1) ประเภทของคอลัมน์ (Type of Columns)

คอลัมน์ที่ใช้กันทั่วไปใน GC นั้นมี 2 ประเภท คือ

ก. packed columns มีอยู่ 2 ชนิด คือ partition column และ adsorption column สำหรับ partition column เป็นคอลัมน์เปล่านั้นที่บรรจุด้วยอนุภาคของแข็งซึ่งมีสมบัติเฉื่อย (inert solid particles) แล้วฉาบผิว (coated) ด้วยสารอินทรีย์บางชนิดที่เรียกว่า liquid phase (ซึ่งจะได้กล่าวต่อไป) อีกชนิดหนึ่งเป็นคอลัมน์ที่บรรจุด้วยอนุภาคของสารดูดซับ (adsorptive particles) เช่น alumina, activated charcoal, silica gel หรือ molecular sieves เป็นต้น

ข. capillary columns คอลัมน์ชนิดนี้ โดยทั่วไปเป็นหลอดรูเล็ก ๆ กลวง ทำด้วยเหล็กกล้า หรือเหล็กไร้สนิม แก้ว quartz (fused silica) มีรัศมีภายใน 0.6-0.6 มิลลิเมตร ภายในฉาบผิวด้วย liquid phase เป็นฟิล์มบาง ๆ ตลอดรูเล็ก ๆ ซึ่งอาจมีความยาว 25-100 เมตร คอลัมน์ชนิดนี้แม้ว่าจะมีประสิทธิภาพ (efficiency) ของคอลัมน์ต่อหน่วยความยาวค่อนข้างต่ำ แต่สามารถใช้คอลัมน์ยาวมากได้ เพราะมี pressure drop เพียงเล็กน้อย ดังนั้น เมื่อใช้คอลัมน์ยาวมาก ๆ จึงทำให้ประสิทธิภาพในการแยกมีค่าสูง และเมื่อใช้ภาวะที่เหมาะสม แล้ว capillary column จะมีประสิทธิภาพในการแยกดีที่สุด

(2) Liquid Phase

liquid phase เป็นสารเคมีที่ใช้ฉาบ (coated) บน solid support เพื่อใช้เป็นตัวทำหน้าที่ยแยกสารตัวอย่างและใส่ไว้ในคอลัมน์ การจะเลือก liquid phase ให้ดีที่สุดสำหรับแยกสารนั้นไม่มีกฎเกณฑ์ที่แน่นอน โดยมากการเลือกคอลัมน์ที่เหมาะสมที่สุดขึ้นอยู่กับความชำนาญหรือได้จากการลองใช้ดู อย่างไรก็ตาม การเลือกใช้คอลัมน์ก็มีหลักทั่ว ๆ ไปอยู่บ้าง และอาจเลือกคอลัมน์จากข้อมูลของผู้ที่ได้เคยใช้แยกมาแล้ว

liquid phase ควรจะมีสมบัติดังนี้

ก. ควรเป็นตัวทำละลาย (solvent) ที่ดี เมื่อละลายได้ดี การชะ (elute) ออกจากคอลัมน์จะช้า ทำให้การแยกได้ผลดี

ข. ควรจะละลายสารต่าง ๆ ได้แตกต่างกัน จึงจะทำให้การแยกสารต่าง ๆ ออกจากกันได้ดี

ค. ต้องเป็นสารที่อยู่ตัวหรือไม่ระเหยในช่วงของอุณหภูมิที่ต้องใช้งาน เพราะจะทำให้คอลัมน์มีอายุการใช้งานได้นาน

ง. ต้องไม่ทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่างหรือกับเฟสเคลื่อนที่

จ. ควรจะมีสภาพขั้ว (polarity) ใกล้เคียงกับสารตัวอย่าง จะทำให้การแยกได้ผลดี ดังคำที่กล่าวว่า "like separates like"

(3) การเลือก liquid phase

ก่อนที่จะเลือก liquid phase เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ ควรจะต้องทราบเสียก่อนว่าสารตัวอย่างนั้นมีองค์ประกอบเป็นสารประเภทไหนบ้าง โครงสร้างเป็นอย่างไร มีจุดเดือดอยู่ในช่วงเท่าใด ยังมีข้อมูลเกี่ยวกับสารละลายมากเท่าใด จะทำให้ง่ายต่อการเลือกคอลัมน์ หรือ liquid phase มากขึ้นเท่านั้น โดยทั่วไปในการแยกที่มีประสิทธิภาพของสารธรรมดา ๆ แล้ว liquid phase ควรจะต้องมีโครงสร้างทางเคมีคล้ายกับองค์ประกอบที่จะแยกในสารผสม นั่นคือ องค์ประกอบในสารตัวอย่างจะต้องมีการละลายได้บ้างใน liquid phase เพื่อให้มีการแยกเกิดขึ้น Ewell และคณะ ได้จำแนกสารเคมีออกเป็น 5 พวก (classes) ได้แก่

พวกที่ 1 (class I) ได้แก่ สารเคมีที่มีขั้วมาก (most polar) เช่น น้ำ ไกลคอล กลีเซอรอล อะมิโนแอลกอฮอล์ ไฮดรอกซีแอซิด พอลิฟีนอล ไดเบสิกแอซิด เป็นต้น สารเหล่านี้เป็นสารที่สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนได้

พวกที่ 2 (class II) ได้แก่ สารเคมีที่มีขั้ว (polar) เช่น แอลกอฮอล์ กรดไขมัน ฟีนอล อะมิโนปรูมูมิและทุติยภูมิ ออกซิม (oximes) สารประกอบพวกไนโตรที่มี α -H อะตอม ไนทริลที่มี α -H อะตอม แอมโมเนีย กรดไฮโดรฟลูออริก ไฮดราซีน ไฮโดรเจนไซยาไนด์

เป็นต้น สารเหล่านี้ล้วนเป็นสารที่ประกอบด้วย donor atom (O N F) และประกอบด้วย active hydrogen atom

พวกที่ 3 (class III) ได้แก่ สารเคมีที่มีสภาพขั้วปานกลาง (intermediate polarity) เช่น อีเธอร์ คีโตน อัลดีไฮด์ เอสเทอร์ อะมีนตติยภูมิ (tertiary amines) สารประกอบไนโตรที่ไม่มี α -H อะตอม ไนทริลที่ไม่มี α -H อะตอม เป็นต้น สารเหล่านี้โมเลกุลจะประกอบด้วย donor atom แต่ไม่มี active hydrogen atom เหมือนพวกที่ 2

พวกที่ 4 (class IV) ได้แก่ สารเคมีที่มีสภาพขั้วต่ำ (low polarity) เช่น คลอโรฟอร์ม ไดคลอโรมีเทน 1,1 ไดคลอโรอีเทน 1,2 ไดคลอโรอีเทน อะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน โอลิฟีนิกไฮโดรคาร์บอน เป็นต้น สารพวกนี้โมเลกุลจะประกอบด้วย active hydrogen atom แต่ไม่มี donor atom

พวกที่ 5 (class V) ได้แก่ สารเคมีที่ไม่มีขั้ว (non-polar) เช่น ไฮโดรคาร์บอนอิ่มตัว คาร์บอนไดซัลไฟด์ เมอร์แคปแทน ซัลไฟด์ แฮโลคาร์บอนที่ไม่ได้อยู่ในพวกที่ 4 เช่น คาร์บอนเตตระคลอไรด์ สารเหล่านี้จะไม่สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนได้เลย

สำหรับ liquid phases ได้จัดเข้าเป็นพวกเพื่อให้เหมาะที่จะใช้แยกสารเคมีที่ได้จัดไว้เป็นพวกแล้วดังกล่าว (พวกที่ 1 ถึงพวกที่ 5) โดยแบ่ง liquid phase ออกเป็น 4 พวก (A B C และ D) ได้แก่

พวก A (Polar)

FFAP

20 M-TPA

Carbowaxes

Versamid 900

Ucons

Theed

Mannitol

Diglycerol

พวก B (Intermediate Polarity)

Tetracyanoethyl pentaerythritol

Ethofat

XE-60

XF-1150

Amine 220

Epon 1001

พวก C (Intermediate polarity)

All polyesters

Didutyl tetrachlorophthalate

SAIB

Tricresyl phosphate

พวก D (Non polar)

SE-30

SF-96

DC-200

Dow 11

STAP	Squalane
Benzyl cyanide	Hexadecane
Lexan	Apiezon
Propylene carbonate	OV-1
QF-1	
Polyphenyl ether	
Dimethylsulfolane	
OV-17	

จากการจัดสารเคมี (solute) และ liquid phases ออกเป็นพวก เพื่อให้ดูง่ายว่าสารเคมีชนิดไหนละลายได้ดีใน liquid phases อะไร ถ้ามีการละลายได้ดีก็จะทำให้การแยกดีด้วย (like dissolves like หรือ like separates like) นั่นคือ

แยกสารพวก 1 2 และ 3 ควรเลือกใช้ liquid phase พวก A หรือ B

แยกสารพวก 3 ควรเลือกใช้ liquid phase พวก C

แยกสารพวก 4 ควรเลือกใช้ liquid phase พวก C หรือ D

แยกสารพวก 5 ควรเลือกใช้ liquid phase พวก C หรือ D

(4) ปริมาณของลิควิดเฟส

ในกรณีที่ต้องการเตรียม packing material เอง โดยใช้ลิควิดเฟสไปเคลือบ (coated) บาง ๆ ที่ผิวของ solid support นั้น ปัจจุบันนิยมใช้ลิควิดเฟสเพียง 2-10 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก เพื่อให้ได้คอลัมน์ที่มีประสิทธิภาพดีและแยกได้รวดเร็ว ถ้าใช้ teflon support ควรใช้ลิควิดเฟสไม่เกิน 10 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก และถ้าเป็น glass bead ซึ่งมีพื้นที่ผิวน้อยควรใช้ลิควิดเฟสน้อยกว่า 0.25 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก เพราะปริมาณของลิควิดเฟสที่ใช้มีผลต่อค่า retention time ของโครมาโทแกรมเมื่อใช้อุณหภูมิคงที่

(5) อุณหภูมิของคอลัมน์ (column temperature)

อุณหภูมิของคอลัมน์มีส่วนสำคัญอย่างมากต่อการแยกสารตัวอย่าง หรือค่า partition coefficient ถ้าเพิ่มอุณหภูมิของคอลัมน์ขึ้นจะทำให้องค์ประกอบของสารมีการเคลื่อนที่เร็วขึ้น และช่วยทำให้การวิเคราะห์เร็วขึ้น โดยทั่วไปแล้วการทำให้อุณหภูมิของคอลัมน์ลดลงจะช่วยทำให้การแยก (resolution) ขององค์ประกอบต่าง ๆ ดีขึ้น ดังนั้นจึงควรเลือกใช้อุณหภูมิของคอลัมน์ให้เหมาะสม คือให้ได้การแยกที่ดี และ retention time ไม่นานเกินไป อุณหภูมิที่เลือกใช้มักจะเป็นอุณหภูมิของจุดเดือดโดยเฉลี่ยของสารตัวอย่างนั้น หรือเลือกใช้อุณหภูมิที่ต่ำสุดและสูงสุดที่สารนั้นจะกลายเป็นก๊าซเฟส และจะต้องไม่ใช่อุณหภูมิของคอลัมน์สูงกว่าอุณหภูมิสูงสุดของลิควิดเฟส

(liquid phase) ที่กำหนดไว้ มิฉะนั้นลิควิดเฟสอาจจะสลายตัวแล้วระเหยออกไปทำให้เปอร์เซ็นต์ลิควิดเฟสเปลี่ยนไป ในที่สุดคอลัมน์อาจจะเสียได้

Temperature programming

Temperature programming คือการควบคุมการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของ column ขณะที่ทำการวิเคราะห์หรือแยกสาร

การใช้อุณหภูมิกับ column มีอยู่ 3 วิธี คือ

ก. Isothermal temperature คือ การทำให้ column มีอุณหภูมิคงที่ตลอดการวิเคราะห์ ใช้กับสารผสมที่มีคุณสมบัติทางกายภาพ เช่น จุดเดือดไม่ต่างกันมากนัก

ข. Linear temperature program คือ การเพิ่มอุณหภูมิของ column ในอัตราที่คงที่ตลอดการวิเคราะห์ เช่น ให้อุณหภูมิเพิ่มขึ้นในอัตรา 40 องศาเซลเซียสต่อนาที โดยตั้งอุณหภูมิเริ่มต้นและอุณหภูมิสูงสุดที่ต้องการไว้ ตั้งอุณหภูมิเริ่มต้น 100 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิสูงสุด 250 องศาเซลเซียส เมื่อฉีดสารตัวอย่างเข้าไปใน column แล้ว ให้เครื่องมือเริ่มเพิ่มอุณหภูมิในอัตรา 4 องศาเซลเซียสต่อนาที จน column มีอุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียส เครื่องจะหยุด program และจบการแยกสารนั้น การวิเคราะห์โดยการเพิ่มอุณหภูมิแบบนี้ ใช้กับสารผสมที่มีคุณสมบัติทางกายภาพ เช่น มีจุดเดือดต่างกันมาก ซึ่งวิธีนี้จะทำให้ใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยลง และได้ peak บน chromatogram ดีขึ้น

ค. Multi-linear temperature program คือ การใช้ isothermal และ linear temperature program สลับกัน เมื่อฉีดสารผสมตัวอย่างแล้ว ยังใช้อุณหภูมิคงที่ คือ isothermal 100 องศาเซลเซียส ในช่วงเวลาหนึ่ง แล้วเริ่ม program 4 องศาเซลเซียสต่อนาทีไปจนถึงอุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส ใช้อุณหภูมินี้ไปอีกช่วงเวลาหนึ่ง แล้ว program 10 องศาเซลเซียสต่อนาทีไปจนถึงอุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียส และใช้อุณหภูมินี้จนจบการแยกสารการวิเคราะห์ โดยการเปลี่ยนอุณหภูมิแบบนี้ใช้กับสารผสมที่มีคุณสมบัติทางกายภาพ เช่น จุดเดือดใกล้เคียงกันมากและต่างกันมาก ผลรวมอยู่ด้วยกัน การใช้ isothermal temperature อย่างเดียวที่อุณหภูมิต่ำ จะใช้เวลาในการวิเคราะห์มากและสารที่แยกออกมาทีหลังจะให้ peak ที่กว้าง และถ้าใช้ที่อุณหภูมิสูง สารที่มีจุดเดือดต่ำหรือใกล้เคียงกันจะให้ peak เป็น peak เดียวกัน

4) เครื่องตรวจจับ (Detectors)

เป็นเครื่องที่สามารถบอกว่ามีสารที่ต้องการวิเคราะห์หรือมีสารอื่นที่แตกต่างไปจากก๊าซพาออกมาจากคอลัมน์หรือไม่ ถ้ามีก็จะสามารถวัดได้ว่ามีปริมาณเท่าใดได้ด้วย ดังนั้น ดีเทคเตอร์จึงต้องเป็นเครื่องมือที่มีลักษณะเฉพาะสามารถให้สัญญาณกับสารต่าง ๆ ได้ ให้สภาพไวที่สูงพอ มีการตอบสนองที่ดีในช่วงความเข้มข้นของสารที่กว้างพอ และมีหลากหลายชนิดแล้วแต่งานของห้องปฏิบัติการนั้น

GC ดีเทคเตอร์ที่พบเห็นและใช้กันมากในปัจจุบันนี้ ได้แก่

- (1) Thermal Conductivity Detector (TCD)
- (2) Flame Ionization Detector (FID)
- (3) Electron Capture Detector (ECD)
- (4) Nitrogen Phosphorus Detector (NPD)
- (5) Flame Photometric Detector (FPD)
- (6) Electrolytic Conductivity Detector (ELCD, Hall)
- (7) Photoionization Detector (PID)
- (8) Mass Selective Detector (MSD)
- (9) Infrared Detector (IRD)
- (10) Atomic Emission Detector (AED)
- (11) Helium Ionization Detector (HID)
- (12) Redox Chemiluminescence Detector (RCD)
- (13) Thermionic Detector (TD)

ลักษณะเฉพาะที่ต้องการของดีเทคเตอร์

ดีเทคเตอร์ที่จะใช้ในการตรวจหาสารในเครื่อง GC นั้น ควรจะต้องมีลักษณะเฉพาะในการตอบสนองต่อสารเคมีที่ต้องการวิเคราะห์ดังต่อไปนี้ คือ

(1) ควรจะต้องให้สภาพไวสูง (high sensitivity) นั่นคือ การตอบสนอง (response) ต่อปริมาณสารควรจะต้องมาก เพื่อที่จะได้สามารถตรวจหาปริมาณของสารน้อย ๆ ได้ หรือมีค่า MDL (minimum detectable level) ต่ำ ๆ ซึ่งในทางปฏิบัติจะหมายถึงปริมาณของสารที่สามารถทำให้เกิดความสูงของพีคได้เป็น 2 หรือ 3 เท่าของพีคจากสัญญาณรบกวน (signal/noise = 2 หรือ 3)

(2) ควรมีความเฉพาะต่อการตรวจหาสาร (selectivity) บ้าง เช่น สารต่างประเภทกันควรให้การตอบสนองที่แตกต่างกัน ถ้าดีเทคเตอร์ใดให้การตอบสนองต่อสารทุกประเภทเหมือน ๆ กัน ดีเทคเตอร์นั้นก็จัดเป็นประเภททั่วไป (universal detector) และถ้าดีเทคเตอร์ที่ให้การตอบสนองเฉพาะสารใดสารหนึ่งจะทำให้ดีเทคเตอร์นั้นสามารถตรวจหาสารนั้น ๆ ได้อย่างดีในของผสม ซึ่งเป็นสิ่งที่ต้องการ

(3) ควรจะต้องมี Dynamic Range ที่กว้าง คือ ดีเทคเตอร์นั้นควรให้ผลการวิเคราะห์เชิงปริมาณมีช่วงความเข้มข้นที่กว้างพอที่จะวัดได้อย่างถูกต้อง

(4) ในทางปฏิบัติ ดีเทคเตอร์ควรจะต้องมีเสถียรภาพ (stability) และความเที่ยง (reproducibility) ที่ดีด้วย มิฉะนั้นค่าที่วัดได้จะไม่มีความถูกต้องและแตกต่างกันจึงใช้ไม่ได้ต่อไปนี้เป็น การเปรียบเทียบลักษณะเฉพาะของดีเทคเตอร์ชนิดต่าง ๆ ที่ใช้กันทั่วไป ดังแสดงในตาราง 4

ตาราง 4 แสดงลักษณะเฉพาะทั่ว ๆ ไป (general characteristics) ของดีเทคเตอร์ชนิดต่าง ๆ

ชื่อ	ประเภท	ความเฉพาะในการตรวจหา	MDL (S/N = 2)	Linear Dynamic Range
FID	Selective	สารที่แตกตัวเป็นไอออนได้ด้วยเปลวไฟไฮโดรเจน/อากาศ	5 pg C./sec.	10^7
TCD	Universal	สารทุกชนิดที่ให้การนำความร้อนแตกต่างจากก๊าซพา	400 pg/ml ก๊าซพา	10^6
ECD	Selective	Gas-phase electrophores	0.1 pg Cl/sec. (can be varied)	10^4
PID	Selective	สารประกอบที่แตกตัวเป็นไอออนได้ด้วยแสงยูวี	2 pg C/sec.	10^7
Thermionic	Selective	สารประกอบพวกไนโตรเจนและฟอสฟอรัส	0.4 pg. N/sec. 0.2 pg. P/sec.	10^4
ELCD	Selective	สารประกอบพวกแฮโลเจน ไนโตรเจน และซัลเฟอร์	0.5 pg.Cl/sec. 2 pg. S/sec. 4 pg. N/sec.	10^6 10^4 10^4
FPD	Selective	สารประกอบพวกฟอสฟอรัสและซัลเฟอร์	20 pg. S/sec. 0.9 pg. P/sec.	10^3 10^4
FTIR	Universal	Molecular vibrations	1000 pg. of strong absorber	10^3
MSD	Universal	สารชนิดใด ๆ ก็ได้	10 pg. - 10 ng. (depending on SIM) VS Scan	10^5
AED	Universal	ธาตุชนิดใด ๆ ก็ได้	0.1-20 pg. /sec (depending on element	10^4

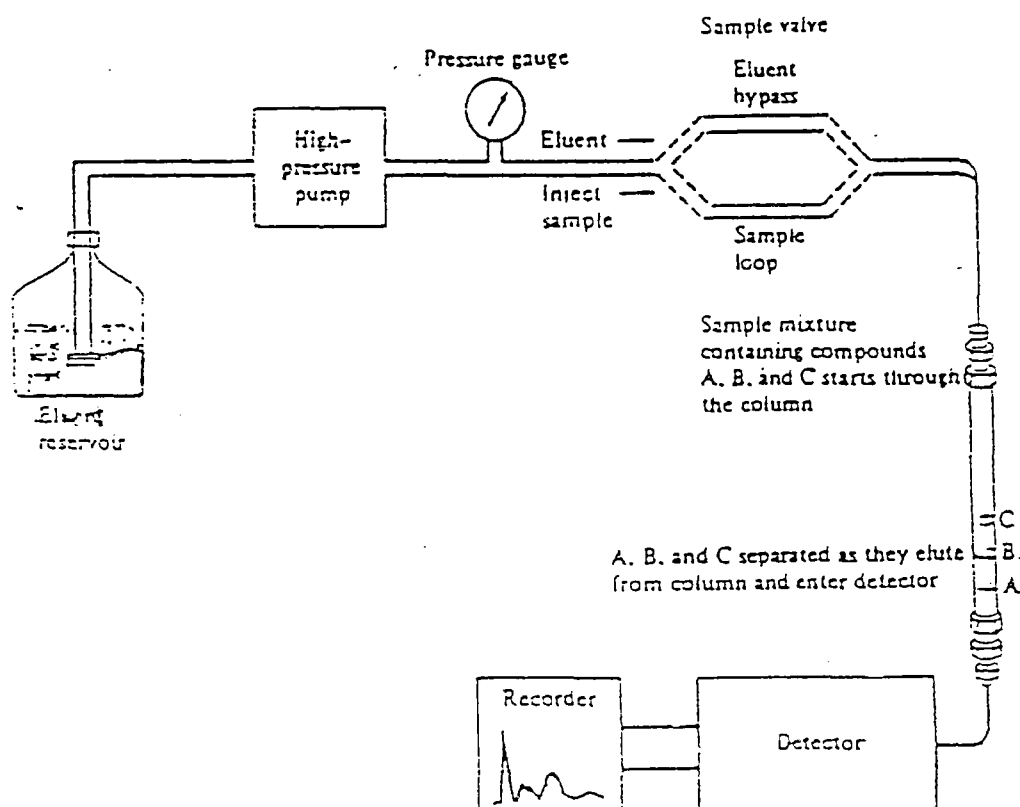
ดีเทคเตอร์ต่าง ๆ ดังที่กล่าวมานี้จะเห็นว่าบางชนิดเป็นดีเทคเตอร์ชนิดไม่มีการทำลาย (non-destructive) เช่น TCD PID IRD เป็นต้น บางชนิดจะเป็นชนิดทำลายสารได้ (destructive) เช่น FID NPD FPD เป็นต้น นอกจากนี้ จะเห็นได้อีกว่าดีเทคเตอร์บางชนิดมีลักษณะเฉพาะ เช่น การตรวจวัดขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสาร เช่น TCD PID และ IRD ดีเทคเตอร์บางชนิดการตอบสนอง (response) ขึ้นอยู่กับปริมาณของสารประกอบในช่วงเวลาที่กำหนดให้ เช่น FID FPD เป็นต้น

4.2.6 โครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)

มีส่วนประกอบดังนี้ (ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 2534 : 34-74)

- 1) ภาชนะเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase)
- 2) ปั๊มความดันสูง (pump)
- 3) บริเวณฉีดสารตัวอย่าง (injector)
- 4) คอลัมน์สำหรับแยกสาร (column)
- 5) ตัววัดสัญญาณ (detector)
- 6) เครื่องบันทึกข้อมูล (recorder)

แสดงได้ดังภาพประกอบ 14



ภาพประกอบ 14 แสดงส่วนประกอบของเครื่องโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง

1) ภาชนะใส่เฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) เป็นสารละลายที่ใช้นำสารที่ต้องการวิเคราะห์ผ่านเข้าไปในคอลัมน์ เพื่อทำการแยก การเลือกชนิดของ mobile phase ขึ้นกับสิ่งต่อไปนี้คือ

(1) **System compatibility** หมายถึง ความสามารถในการละลายซึ่งกันและกันระหว่าง mobile phase นั่นคือ ระบบของ mobile phase อันใหม่ต้องเข้ากันได้กับ mobile phase เก่า ถ้าเข้ากันไม่ได้ก็ต้องล้างระบบเก่าด้วย mobile phase ที่เป็นตัวกลาง (intermediate solvent) ก่อน ซึ่งเป็น mobile phase ที่ละลายได้ทั้งใน mobile phase เก่าและใหม่ สาเหตุที่ต้องกระทำเช่นนี้ก็เพื่อป้องกันการเกิด colloid ใน cell ของ detector ซึ่งจะทำให้เกิด drift หรือ noise

Godfrey ได้ศึกษาการละลายของสารละลายจากสารที่ละลายในไขมันได้น้อยไปมาก และตั้งเป็นจำนวนตัวเลขขึ้น เรียก "miscibility number" (M) ซึ่งมีค่าตั้งแต่ 1-31 ดังตาราง 5 และจากค่านี้จะบอกถึงการละลายซึ่งกันและกันของสารละลายแต่ละคู่ได้ดังนี้

ก. เมื่อ $M \leq 15$ สารละลายแต่ละคู่จะละลายซึ่งกันและกันได้ในทุกสัดส่วนที่อุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส

ข. เมื่อ $M = 16$ สารละลายแต่ละคู่จะมีอุณหภูมิของสารละลายที่จำเพาะระหว่าง 25 –75 องศาเซลเซียส

ค. เมื่อ ≥ 17 สารละลายแต่ละคู่โดยทั่วไปจะไม่ละลายซึ่งกันและกัน

ง. เมื่อ M มี 2 ค่า ค่าแรก (มักน้อยกว่า 16) จะละลายซึ่งกันและกันกับสารละลายที่ละลายในไขมันได้มาก ส่วนค่าหลัง (มักมากกว่า 16) จะละลายซึ่งกันและกันกับสารละลายที่ละลายในไขมันได้น้อย

ตาราง 5 แสดงค่า “miscibility number” ของตัวทำละลาย

Solvent	Miscibility Number (M)
Acetic acid	14
Ethylene glycol	2
Glycerol	1
Formamide	3
Acetic anhydride	12, 19
Furfural	11, 17
Acetonitrile	11, 17
Methanol	12
Ethanol	14
Dimethyl formamide	12
I-Propanol	15
iso-Propanol	15
Methyl ethyl ketone	17
2-Butanol	16
I-Butanol	15
Cyclohexanol	16
Pyridine	16
Dimethyl sulfoxide	9

ตาราง 5 (ต่อ)

Solvent	Miscibility Number (M)
Methyl acetate	15, 17
Ethyl acetate	19
Dioxane	17
Tetrahydrofuran	17
Butyl acetate	22
Chloroform	19
Ethyl ether	23
1-Octanol	17
Trichloroethylene	20
Benzene	21
Chlorobenzene	21
Mesitylene	24
Toluene	23
Tetrachloroethylene	25
Isopropyl ether	26
p-Xylene	24
Carbon tetrachloride	24
Carbon disulfide	26
Cyclohexane	28
Decane	29
Octane	29
Hexane	29
iso-Octane	29
Heptane	29

(2) คอลัมน์ การเลือกชนิดของ mobile phase ขึ้นกับสารที่ใช้บรรจุในคอลัมน์ ถ้าสารที่บรรจุในคอลัมน์เป็น bonded phase เช่น RP-18 mobile phase ที่ใช้ก็ต้องมี

polarity สูงกว่า เช่น น้ำ acetonitrile และ methanol เป็นต้น แต่ถ้าสารที่ใช้บรรจุคอลัมน์มี polarity สูง ควรใช้ mobile phase ที่เป็นสาร non-polar

(3) **Solubility with the samples mobile phase** ที่ใช้ควรละลายตัวอย่างได้ เพราะถ้าไม่ละลายส่วนที่เป็นตะกอนจะติดอยู่ที่ syringe หรือ injection valve หรือที่ส่วนบนของ คอลัมน์ทำให้ mobile phase ไหลผ่านไปไม่ได้เนื่องจากความดันกลับสูงมาก (HPLC ควรมีความดันไม่เกิน 3,000 psi) ถ้าตัวอย่างไม่สามารถละลายใน mobile phase ก็ควรเลือกละลายในสารละลายที่ละลายได้ดีที่สุด และเตรียมให้มีความเข้มข้นสูง ๆ จากนั้นจึงดูดมาเพียงเล็กน้อยและทำให้เจือจางด้วย mobile phase

(4) **Solvent quality solvent** มักมี stabilizers รวมอยู่ด้วย เช่น ใน chlorinated solvent หรือ chloroform มี methanol หรือ ethanol อยู่มากกว่า 1.0 เปอร์เซ็นต์ (v/v) เพื่อป้องกันการเกิดกรด HCl และ phosgene เมื่อ chloroform ระเหยไป เพราะกรด HCl ที่เกิดขึ้นสามารถกัดกร่อนส่วนที่เป็น stainless steel ได้ ในสารละลาย tetrahydrofuran (THF) มี butylated hydroxytoluene (BHT) เป็น stabilizer เพื่อป้องกันการเกิด peroxide ดังนั้นสารละลายแต่ละชนิดและของแต่ละบริษัทจะมีส่วนประกอบแตกต่างกันไป จึงควรบันทึกไว้ด้วยว่าใช้ solvent เกรดใด และมี stabilizers อยู่ในปริมาณเท่าใด เพื่อให้ผลการทดลองแต่ละครั้งเหมือนเดิม solvent เหล่านี้โดยมากมักบรรจุภายใต้บรรยากาศของก๊าซไนโตรเจน นอกจากนั้น stabilizers ที่ปนอยู่ก็ยังมีส่วนต่อ chromatography อีกด้วย

(5) **น้ำ** น้ำกลั่นที่ใช้โดยทั่วไปถ้าไม่สะอาดจะมีเชื้อจุลินทรีย์ปนอยู่ จึงต้องกรองด้วยแผ่นกรองที่มีขนาดของรูพรุน 2 ไมโครเมตร หรือเติม 0.02 เปอร์เซ็นต์ sodium azide หรือ acetonitrile ลงไปในน้ำ และควรเก็บในภาชนะที่เป็นแก้วมากกว่าพลาสติก เพราะปัญหาของ metal ion จากแก้วน้อยกว่าปัญหาที่เกิดจาก organic impurities ในพลาสติก หรืออาจใช้ HPLC water

(6) **Physical properties** คุณสมบัติทางกายภาพของสารละลายก็เป็นองค์ประกอบสำคัญของการเลือก mobile phase เช่น

Detector compatibility เป็นค่าความยาวคลื่นสูงที่สารละลายจะยอมให้แสงผ่านอย่างมีนัยสำคัญ (significant light) หรือเกิดการหักเหแสง ซึ่งสารแปลกปลอมที่อยู่ในสารละลายสามารถทำให้ค่าความยาวคลื่นต่ำสุดนี้เปลี่ยนแปลงได้ภายในช่วง 50-100 นาโนเมตร เช่น n-hexane เดิมให้แสงผ่านได้จนถึง 190 นาโนเมตร แต่เมื่อมีสาร olefins (เช่น 1-hexene) จะทำให้สารละลายดูดแสงต่ำจนถึง 260 นาโนเมตร เท่านั้น

Solvent reactivity สารละลายที่ใช้ต้องไม่ทำปฏิกิริยากับตัวอย่าง หรือ เกิด polymerization กับ stationary phase ดังนั้นสารจำพวก aldehydes, olefins และ sulfur compounds (ยกเว้น dimethylsulfoxide) จึงไม่นิยมใช้ใน LC

Boiling point & viscosity สารละลายที่ boiling point ต่ำ มักมีความหนืดน้อยและใช้กับ reciprocating pump ยาก เพราะจะรวมตัวกันเป็นฟองอากาศใน piston chamber ทำให้ความแม่นยำของการวัดไม่ดี ทั้งยังระเหยง่าย ทำให้อัตราส่วนของ mobile phase เปลี่ยนแปลงไป โดยทั่วไปจึงนิยมใช้สารละลายที่ boiling point สูงกว่าอุณหภูมิที่ใช้การแยก 20–50 องศาเซลเซียส และมีความหนืดไม่เกิน 0.5 cP ที่อุณหภูมิของการแยก

Polarity of pure solvents polarity ของสารละลาย มีค่าตั้งแต่ต่ำกว่า -2 สำหรับ nonpolar 3M Fluorochemicals จนถึงค่า 10.2 ของน้ำ ซึ่ง polar มาก และความแรง (strength) ของสารละลายจะขึ้นกับ polarity ด้วย โดย solvent strength จะเพิ่มขึ้นตาม solvent polarity ใน normal phase partition LC และใน adsorption LC ขณะที่ใน reverse phase LC solvent strength จะลดลงเมื่อ polarity เพิ่มขึ้น

(7) **Gradient elution** ในการวิเคราะห์ด้วย gradient elution ควรใช้ solvent ชนิด HPLC grade แต่ถ้าใช้ isocratic elution สามารถใช้ solvent เป็น AR grade ได้ ในระบบของ gradient elution ซึ่งมี solvent อย่างน้อยที่สุด 2 ชนิด (A และ B) หรือ 3-4 ชนิด ที่เปลี่ยนค่าอัตราส่วนของ A/B ตั้งแต่ 20-80 เปอร์เซ็นต์ ควรคำนึงถึงเรื่องการละลายและความสามารถในการย้อนกลับมาที่เปอร์เซ็นต์ตั้งต้น เพราะถ้าเปลี่ยนแปลงค่าเปอร์เซ็นต์ ในช่วงกว้าง การกลับมาสู่สารละลายตั้งต้นเดิมจะใช้เวลานานมาก ซึ่งถ้าเป็นไปได้ควรย้อน gradient กลับมาสู่เปอร์เซ็นต์ตั้งต้นอย่างช้า ๆ เพื่อยืดอายุการใช้งานของคอลัมน์

การทำ gradient elution แบ่งออกได้เป็น 2 แบบ คือ

- High pressure gradient formers เป็นการผสมสารละลาย 2 ชนิด มีความดันสูง สารละลายจากปั๊มที่มีแรงดันสูงของทั้ง 2 ปั๊ม จะผสมกับที่ mixing chamber ก่อนไหลเข้าสู่คอลัมน์

- Low pressure gradient formers การทำ gradient แบบนี้สารละลาย 2-3 ชนิด จะผสมกันที่ความดันบรรยากาศก่อน จากนั้นจึงเข้าสู่คอลัมน์ โดยใช้ single-high pressure pump

ข้อควรระวังเกี่ยวกับ Mobile phase

(1) ควรเตรียมใหม่ทุกครั้งเพื่อให้ผลการแยกเหมือนเดิม สารที่เตรียมและ ค้างคืนไว้ไม่ควรนำกลับมาใช้ใหม่ เพราะจะทำให้ค่า retention time, resolution หรือ peak height เปลี่ยนแปลงไป ถ้าจะเก็บค้างคืนควรแช่เย็น และปิดฝาให้มิดชิด

(2) เลือกใช้ mobile phase ให้เหมาะสมกับชนิดของคอลัมน์ เช่น ไม่ควรใช้ pH ต่ำกว่า 2 หรือมากกว่า 8 เพราะ silica gel จะละลายได้ที่ pH มากกว่า 3

(3) ไม่ควรใช้ mobile phase ที่เป็นสารละลายบัฟเฟอร์ที่มี halogen ion อยู่ด้วย เช่น KCl, NaCl และ NH_4Cl หรือ mobile phase ที่ทำให้เกิด halogen ion เพราะสามารถ กัดกร่อน flow line ที่ทำจาก stainless steel ได้

(4) วิธีที่ใช้เตรียม mobile phase ที่มี solvent หลายชนิดผสมกันอยู่ มีความ สำคัญเช่นกัน เพราะถ้าดวงและผสมสารด้วยวิธีต่างกันแล้ว สัดส่วนของสารจะไม่เหมือนกัน ทำให้ ผลที่ได้ต่างกัน เช่น การเตรียม 50 เปอร์เซ็นต์ เมทานอล ในน้ำ ถ้าดวง เมทานอล 50 ลูกบาศก์ เซนติเมตร รวมกับน้ำ 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร สุดท้ายจะได้ปริมาตรทั้งหมดน้อยกว่า 100 ลูกบาศก์ เซนติเมตร ซึ่งต่างจากการดวง เมทานอล 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วเติมน้ำจนได้ปริมาตรรวม เป็น 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร ดังนั้นควรบันทึกไว้ด้วยว่าเตรียมอย่างไร เพื่อให้ผลเหมือนเดิมทุก ครั้ง

2) บั๊มความดันสูง (pump) เป็นส่วนที่ใช้ในการดูดสารละลายจากภาชนะใส่เฟส เคลื่อนที่เข้าสู่คอลัมน์และผ่านไปยัง detector บั๊มที่ดีควรมีลักษณะที่เรียงตามลำดับจากความสำคัญ มากไปน้อย ดังนี้

- (1) เปลี่ยนชนิดของ mobile phase ได้ง่าย
- (2) อัตราการไหลแต่ละครั้งคงที่
- (3) เกิด baseline pulsation ที่ detector น้อยที่สุด
- (4) สามารถทำงานที่ความดันสูง ๆ 3,000-6,000 psi (ประมาณ 210-240 กิโลกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร) ได้
- (5) สามารถดูดสารละลายด้วยอัตราการไหลต่ำ ๆ ที่ 0.5-2 ลูกบาศก์ เซนติเมตรต่อวินาที แต่ในช่วง 0-10 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อวินาที ก็ต้องทำงานได้ด้วย
- (6) ทนต่อสารเคมีได้
- (7) มี safety pressure limit
- (8) วัดหรือปรับอัตราการไหลของสารละลายได้ง่าย
- (9) สามารถเปลี่ยนไปใช้งานแบบ gradient ได้
- (10) ใช้ปริมาณของ mobile phase น้อย ๆ ได้

(11) dead volume ของ pump ต่ำ เพื่อทำ recycle ได้รวดเร็ว

(12) ขั้นตอนการบำรุงรักษาน้อย และมีราคาถูก

3) บริเวณฉีดสารตัวอย่าง (Injector) เป็นส่วนที่ใช้น้ำตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์เข้าสู่คอลัมน์ sample injector ที่ดี ควรมีลักษณะดังนี้

(1) ใช้ฉีดตัวอย่างชนิดใดก็ได้

(2) สะดวกต่อการใช้

(3) ปริมาณของตัวอย่างที่ฉีดแต่ละครั้งเท่ากัน

(4) ฉีดตัวอย่างขณะที่มีแรงดันกลับสูง ๆ ได้ ประมาณ 4,000-5,000 psi

4) คอลัมน์สำหรับแยกสาร (Column) เป็นส่วนประกอบที่สำคัญที่สุดของ HPLC โดยทั่วไปสารที่ใช้บรรจุในคอลัมน์จะเป็น silica gel ซึ่งมีหน้าที่ดูดซับ (adsorb) หรือ partition หรือทั้ง 2 อย่างพร้อมกัน สารที่ใช้บรรจุในคอลัมน์อาจใช้วิธีการเคลือบบน supporter แต่ปัจจุบันได้ใช้วิธีการที่เรียกว่า Bonded phase แทน โดยใช้สารอินทรีย์บางชนิด เช่น octadecylsilane (ODS) ไปทำปฏิกิริยากับ supporter

ขนาดของอนุภาคของ stationary phase ที่ใช้บรรจุในคอลัมน์ ควรมีขนาดเล็ก ซึ่งจะทำให้การแยกได้ peak ที่แยกจากกันชัดเจน

อนุภาคที่มีขนาดเล็กมากและมี porosity ลดลง พื้นผิวหน้าจะเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับน้ำหนัก อัตราการแลกเปลี่ยนระหว่าง mobile phase และ stationary phase ก็เพิ่มขึ้น ทำให้ค่า N เพิ่มขึ้น คอลัมน์ชนิดนี้มีประสิทธิภาพ 60,000 plates/เมตร ดังนั้นค่า HETP ก็จะลดลงอย่างมากทำให้การแยกได้ผลดี

นอกจากอนุภาคมีขนาดเล็กแล้ว ยังจะต้องมีขนาดสม่ำเสมอเพื่อให้บรรจุในคอลัมน์ได้ดีเท่ากันทุกส่วนตลอดทั้งคอลัมน์ ซึ่งจะทำให้อัตราการไหลของ mobile phase คงที่สม่ำเสมอ

ขนาดของคอลัมน์

(1) เส้นผ่าศูนย์กลางของคอลัมน์ การใช้คอลัมน์ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเล็ก จะทำให้ใช้ mobile phase น้อยลง และวิเคราะห์สารที่มีจำนวนน้อย ๆ ได้ ใน GC พบว่าถ้าเส้นผ่าศูนย์กลางของคอลัมน์ลดลง ประสิทธิภาพของคอลัมน์จะสูงขึ้น แต่หลักการนี้อาจใช้ไม่ได้กับ HPLC เพราะปรากฏว่าถ้าลดขนาดของคอลัมน์ลงอาจมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นหรือลดลงได้ ที่เป็นเช่นนั้นเพราะในคอลัมน์ขนาดเล็กจะมี unpacked space มาก ทำให้สารที่ต้องการวิเคราะห์ผ่านไปโดยไม่เกิด partition กับ stationary phase บริเวณที่จะเกิด unpacked space คือบริเวณผนังของคอลัมน์

ปัจจุบันมีการใช้คอลัมน์ที่ทำด้วยวัสดุอื่น เช่น พลาสติกแทน stainless steel ทำให้ unpacked space ลดลง และอัตราการไหลของ mobile phase สม่าเสมอ

(2) ความยาวของคอลัมน์ คอลัมน์ที่ใช้ใน HPLC มีความยาวปริมาณ 25 เซนติเมตร ในกรณีที่ต้องใช้คอลัมน์มาต่อกันตั้งแต่ 2 ถึง 3 คอลัมน์ ก็สามารถทำได้และไม่เกิด dead volume

Dead volume คือปริมาณของสารตรงบริเวณที่ออกมาจากคอลัมน์อันแรก แล้วมากระจายตัวที่ตรงบริเวณนั้น ทำให้เหมือนกับว่าฉีดยาเข้าไปใหม่ การเกิด dead volume ใน HPLC พบว่ามีน้อยมากหรือไม่มีเลย เพราะ mobile phase เป็นของเหลว ดังนั้นการกระจายตัวของสารที่จะวิเคราะห์ต่ำมาก แต่ใน GC มักจะเกิด dead volume ตรงบริเวณรอยต่อได้

ชนิดของคอลัมน์ แบ่งออกตาม separation mode ของ HPLC ได้เป็น

- | | |
|---------------------------|--|
| (1) adsorption column | |
| (2) partition column | <div style="display: inline-block; vertical-align: middle;"> <div style="display: inline-block; vertical-align: middle;">normal phase columne</div>
 <div style="display: inline-block; vertical-align: middle;">reversed phase column</div> </div> |
| (3) ion exchange column | <div style="display: inline-block; vertical-align: middle;"> <div style="display: inline-block; vertical-align: middle;">anion exchange column</div>
 <div style="display: inline-block; vertical-align: middle;">cation exchange column</div> </div> |
| (4) size exclusion column | <div style="display: inline-block; vertical-align: middle;"> <div style="display: inline-block; vertical-align: middle;">aqueous "gel filt-reation"(GFC column)</div>
 <div style="display: inline-block; vertical-align: middle;">non-aqueucus "gel permeation"
(GPC column)</div> </div> |

ข้อควรคำนึงถึงในการใช้คอลัมน์ ได้แก่

(1) สารละลายที่ใช้เป็น mobile phase อันดับแรกคือ เลือกใช้ solvent ที่เหมาะสมเพื่อให้ได้คอลัมน์ที่มีประสิทธิภาพสูงและผลที่ออกมาดี นั่นคือ peak แยกออกจากกันทั้งหมด และไม่กว้าง solvent ที่มีน้ำหรือ preservative ชนิดอื่นปนอยู่ จะทำให้ liquid-solid silica column และ alumina column มีประสิทธิภาพลดลง โดยทำให้ resolution และ selectivity มีค่าน้อยลง solvent เหล่านี้ สามารถทำลายพันธะระหว่าง liquid phase กับ solid support ของ nonpermanent bonded column ได้ เช่น น้ำ และแอลกอฮอล์ น้ำหนักโมเลกุลต่ำ จะทำให้พันธะทางเคมีของ C_8 แตกออก ซึ่งแก้ไขปัญหานี้ได้โดยเติม liquid phase จำนวนเล็กน้อยลงใน mobile phase หรือใช้ precolumn ที่มี liquid phase อยู่ในปริมาณสูง ปัญหาเช่นนี้จะไม่เกิดกับ permanently bonded liquid partition phase แต่อย่างไรก็ตาม pH ของ solvent ก็เป็นสิ่งที่สำคัญ ซึ่งควรใช้ในช่วง pH 2.0-8.0 ที่ pH มากกว่า 7.0 silica จะเริ่มเกิดการละลายที่ pH 7.5 silica จะละลายในช่วง ppm ในระบบที่เป็น acetonitrile/water และ methanol/water และละลายถึง ppt (part per

thousand) ที่ pH 8.5 เมื่อ silica ละลายเพิ่มขึ้น ประสิทธิภาพของคอลัมน์จะลดลงเนื่องจากเกิดช่องว่าง (void) ขึ้นในคอลัมน์ ทำให้ peak ที่ออกมากว้าง resolution ไม่ดี หรือ peak แฉก (split peak) ส่วนที่ pH ต่ำกว่า 2.0 พันธะ silicon-carbon bonds ระหว่าง solid support และ liquid phase จะแตกออกจากกัน

(2) กรอง (filter) ปัญหาสำคัญที่เป็นตัวทำลายคอลัมน์หรือตะกอนและสารตกค้างต่าง ๆ ที่อยู่บริเวณส่วนหัวของคอลัมน์ เพราะทำให้แรงดันกลับสูงและ peak ผิดปกติไป การป้องกันทำได้โดยการกรอง solvent และตัวอย่างก่อนใช้ คอลัมน์ในปัจจุบันนี้มีทั้ง inlet และ outlet filter ซึ่งมีขนาดของรูพรุนเล็กกว่า เส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของ packing คอลัมน์ Dupont รุ่นแรก ๆ ที่ inlet filter มีขนาดของรูพรุนใหญ่กว่าทาง outlet ดังนั้นถ้ากลับทิศทางการ flow ของคอลัมน์ จะทำให้มีอนุภาคผ่านเข้าไปติดที่ detector ได้ เมื่อแรงดันกลับของคอลัมน์สูง สามารถแก้ไขได้โดยถอด end fitting และนำ frit มา sonicate ด้วย 6 N.HNO₃ หรือล้างคอลัมน์แบบ back flushing แต่วิธีหลังนี้ไม่ควรทำ เพราะ packing ในคอลัมน์จะเปลี่ยนแปลงไป ทำให้ประสิทธิภาพคอลัมน์ลดลง และ chromatogram ของตัวอย่างเดิมเปลี่ยนไป

การดูแลรักษาคอลัมน์ในแต่ละวัน วิธีดังกล่าวต่อไปนี้ ถ้าได้ปฏิบัติเป็นประจำแล้วอายุของคอลัมน์จะนานขึ้น และช่วยแก้ปัญหาที่เกิดขึ้นในระบบได้

(1) ระหว่างเปิดเครื่องครั้งแรกในแต่ละวัน ควรเพิ่ม flow rate และความดันคอลัมน์ทีละน้อย ๆ เพื่อป้องกันคอลัมน์เสื่อมและเกิด void ขึ้น

(2) ก่อนฉีดสารตัวอย่าง ต้องรอนคอลัมน์ถึงสมดุลด้วย mobile phase ก่อน โดยดูจาก baseline บน recorder ที่ต่อจาก detector

(3) ก่อนฉีดสารควรตรวจสอบรอยรั่วตามข้อต่อต่าง ๆ ซึ่งโดยมากมักรั่วเพียงเล็กน้อย และตรวจพบได้ก็ต่อเมื่อใช้มือแตะจะรู้สึกเย็น เนื่องจาก solvent ระเหยไป ถ้ามีรอยรั่วเกิดขึ้นแล้วมักจะมีผลต่อ baseline คือทำให้เกิด drift มีอากาศเข้าไปในระบบ และสามารถมีผลกระทบต่อค่าความสูงและพื้นที่ของ peak ทำให้ผลการหาปริมาณแต่ละครั้งไม่เท่ากัน

(4) ไม่ควรขันข้อต่อต่าง ๆ แน่นจนเกินไป เพราะจะทำให้เกิดรอยรั่ว และถึงแม้ว่าจะขันต่อไปอีกก็ไม่สามารถหยุดรอยรั่วนั้นได้ เมื่อมีรอยรั่วเกิดขึ้นควรขันเพิ่มอีกเพียงเล็กน้อย และถ้ายังรั่วอยู่ควรถอดออกมาทั้งหมดแล้วจึงใส่กลับเข้าไปใหม่

(5) ห้ามวางคอลัมน์ในทิศทางที่มีกระแสลมแรง หรือมีแสงแดดส่องถึง เพราะทำให้อุณหภูมิของคอลัมน์มีการเปลี่ยนแปลง ซึ่งจะปรากฏเป็น drift บน recorder ที่ต่อกับ detector

(6) ถ้าต้องการวิเคราะห์เพื่อควบคุมคุณภาพ (quality control) ของสารควรแยกคอลัมน์เฉพาะสำหรับสารแต่ละตัว เพื่อป้องกันการปะปนกัน รวมทั้งยังช่วยยืดอายุการใช้งานของคอลัมน์ด้วย เนื่องจากใช้สารละลายเพียงระบบเดียว

(7) เมื่อฉีดตัวอย่างที่มีการเติมสารปนเปื้อนลงไป ควรล้างคอลัมน์ด้วย solvent ที่เหมาะสม ประมาณ 200-300 มิลลิลิตร โดยใช้ flow rate ต่ำ ๆ และล้างข้ามคืน รุ่งเช้าจึง re-equilibrate ใหม่ ด้วย mobile phase ซึ่งอาจใช้เวลานานถึง 30 นาที

(8) ขณะวางหรือจับคอลัมน์ควรกระทำอย่างเบามือ ไม่กระแทกแรง ๆ เพราะจะทำให้การเรียงตัวของ packing ภายในคอลัมน์เกิดการเปลี่ยนแปลงได้

(9) เก็บคอลัมน์ที่ใช้แล้วแยกออกจากคอลัมน์ใหม่ และจัดบันทึกไว้เรียบร้อย ไม่ควรเก็บคอลัมน์ไว้ในที่ชื้นหรือในที่อุณหภูมิที่ทำให้คอลัมน์ และ packing เกิดการขยายและหดตัวเข้าไปซ้ำมา เพราะจะทำให้เกิดช่องว่างขึ้นในคอลัมน์ได้ ดังนั้นควรเก็บที่อุณหภูมิระหว่าง 15-30 องศาเซลเซียส และเก็บในสภาพเปียก (wet) เช่น เก็บ LSC column ด้วย dry solvent หรือเก็บ reversed phase column ใน 100 เปอร์เซ็นต์ organic solvent เป็นต้น ไม่ควรปล่อยให้คอลัมน์แห้ง เพราะจะทำให้เกิดช่องว่างขึ้นในคอลัมน์เนื่องจากการหดตัว และแตก (crack) ของ packing ถ้าเก็บคอลัมน์ไว้นานมากกว่า 1 สัปดาห์ ควรเก็บด้วย solvent ดังต่อไปนี้ คือ

silica gel column : hexane, i-octane

reversed phase column : methanol

ion exchange column : H₂O (+0.005% NaNO₃) หรือ methanol

polar bonded column : hexane หรือ methanol (ขึ้นกับ mode)

ตามปรกติคอลัมน์ที่เป็น silica gel จะใช้ได้นาน 6-12 เดือน และ reversed phase column นาน 2-6 เดือน แต่ขึ้นอยู่กับการใช้งานของคอลัมน์ด้วย

5) ตัววัดสัญญาณ (Detector) เมื่อเปลี่ยนเฟสเคลื่อนที่พาสารตัวอย่าง หรือ สารตัวอย่างออกจากคอลัมน์จะเข้าสู่ตัววัดสัญญาณได้ถูกเปลี่ยนแปลงไปเป็นสัญญาณทางไฟฟ้า ตัววัดสัญญาณที่ใช้ใน HPLC มีดังนี้

(1) ตัววัดสัญญาณแบบอัลตราไวโอเลตและวิสิเบิล (UV-Vis light detector)

ปัจจุบันเป็นตัวตรวจวัดที่ใช้กันอย่างกว้างขวาง มีความไวต่อการตอบสนองสูง มีช่วงเส้นตรงกว้าง (wide linear range) ความแปรปรวนของอุณหภูมิ (temperature fluctuations) ไม่มีผลต่อการตอบสนอง เหมาะต่อการทำ gradient elution สารที่ดูดกลืนคลื่นแสงอัลตราไวโอเลต ส่วนมากจะเป็นพวกที่มีอิเล็กตรอนที่พันธะคู่ (π -bonding electrons) และพวกที่มีอิเล็กตรอนไม่ร่วมพันธะ (unshared electron) เช่น โอลิฟิน สารประกอบอะโรมาติก (aromatic compounds) สารประกอบที่มีอยู่ในโมเลกุล การดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่นหนึ่งจะเป็นไปตามกฎของแอมเบิร์ตและเบียร์ (Lambert-Beer law)

$$A = \epsilon bc$$

A = แอ็บซอร์เบ้นซ์ (Absorbance)

b = ความหนาของเซลล์ที่บรรจุสาร (cuvete) (ซม.)

c = เป็นความเข้มข้นของสาร

ϵ = เป็นโมลลาร์ แอ็บซอร์ปติวิตี (molar absorptivity) ($\text{dm}^3/\text{mol-cm}$)

ตัววัดสัญญาณชนิดนี้อยู่ในเครื่องโครมาโตกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง มี 2 แบบ คือ แบบที่ตรึง (fixed) ความยาวคลื่น และระบบที่ปรับความยาวคลื่นได้

(2) ตัววัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescenc Detectors)

สารประกอบบางชนิดสามารถเกิดการเรืองแสงได้เมื่อได้รับการกระตุ้นแสงที่มีความยาวคลื่นที่เหมาะสม ได้แก่ สารประกอบที่มีวงแหวนของระบบเบนซีนที่อยู่ติดกัน (polynuclear aromatic hydrocargon)

(3) ตัววัดสัญญาณโดยอาศัยสมบัติทางเคมีไฟฟ้า (Electrochemical Detectors, EC Detectors)

ตัววัดสัญญาณชนิดนี้วัดคุณสมบัติทางเคมีไฟฟ้า (Electrochemical) ได้แก่ เทคนิคโพลารोगราฟี (polarography) แอมเปโรเมตรี (amperrometey) กูลอมเมตรี (colometry) สภาพการนำไฟฟ้า (conductometry) ในปัจจุบันนิยมใช้ตัววัดสัญญาณชนิด แอมเปโรเมตริก และสภาพการนำไฟฟ้า

(4) ตัววัดสัญญาณชนิดวัดดัชนีหักเหของสาร (Refractive Index, Detectors RI, Detectors)

ตัววัดสัญญาณชนิดนี้วัดค่าความแตกต่างของค่าดัชนีหักเหของสารที่ออกมาจากคอลัมน์ เมื่อเทียบกับเฟสเคลื่อนที่ จัดเป็นตัววัดสัญญาณชนิดยูนิเวอร์ซัล (universal)

(5) ตัววัดสัญญาณชนิดโฟโตไดโอด อาร์เรย์ (Photodiode array)

ตัววัดสัญญาณชนิดนี้จะทำจากสารกึ่งตัวนำ (semiconductor) ชนิด P และ N (P, N type) นำมาต่อกันด้วยวงจร reverse biased ทำให้รอยต่อ PN (PN junction) ที่เกิดบน (silicon ship) อันเนื่องมาจากวงจร reverse biase เกิดเป็นชั้นเดพลีชัน (depletion layer) ซึ่งจะลดการนำไฟฟ้าตรงรอยต่อเกือบเป็นศูนย์ เมื่อแสงตกบริเวณนี้จะทำให้เกิดช่องว่าง (holes) และอิเล็กตรอน (electron) ให้กระแสไฟฟ้าที่เป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณความเข้มของแสง

6) เครื่องบันทึกข้อมูล (recorder โดยทั่วไปที่นิยมใช้เพื่อเก็บผลวิเคราะห์ คือ strip chart recorder เพราะสามารถใช้เก็บและเรียกข้อมูลกลับคืนมาได้ รวมทั้งนำไปใช้กับเครื่องมืออื่น ๆ ได้ วิธีการใช้เครื่อง recorder นี้ แต่ละชนิดก็จะแตกต่างกันไป แต่ปัญหาที่เกิดขึ้นโดยทั่วไป

มักจะเหมือนกัน คือเกิดจากความผิดพลาดของผู้ใช้เป็นส่วนใหญ่ นาน ๆ ครั้งจึงจะเกิดจากการทำงานผิดพลาดของเครื่อง ตัวอย่างเช่น

- (1) ถ้า recorder ปิดไม่มีไฟเข้า ตรวจสอบว่าเสียบปลั๊กและเปิดเครื่องหรือยัง
- (2) ถ้า peak ใหญ่หรือเล็กมากเกินไป ตรวจสอบให้แน่ใจว่า detector และ recorder ตั้งอยู่ตรงตำแหน่ง output-input ที่มีลิโวลต์ เท่ากันหรือไม่ รวมทั้งตรวจสอบดู attenuation ของ detector ด้วย
- (3) ถ้าเปิดเครื่องแล้วไม่มี peak ตรวจสอบว่า output จาก detector ต่อกับ recorder ตรงตำแหน่งที่ถูกต้องหรือไม่
- (4) กระดาษเคลื่อนไปไม่ได้หรือไม่สม่ำเสมอ ตรวจสอบว่าใช้กระดาษถูกต้องหรือไม่ เพราะกระดาษของแต่ละบริษัทบางครั้งใช้แทนกันไม่ได้
- (5) ปากกาเคลื่อนไปมาตลอดเวลา (noisy pen) อาจเกิดจาก
 - ก. ตั้ง gain สูงเกินไป
 - ข. ไม่ได้ต่อสาร ground หรือ shield ของ recorder
 - ค. ตรวจสอบว่าต่อสายจาก detector มาตรงตำแหน่งถูกต้องหรือไม่
 - ง. ตำแหน่ง ground ต่อไว้ไม่ถูกต้อง
 - จ. slide wire สกปรก ควรทำความสะอาดด้วยน้ำยาที่บริษัทให้มาหรือใช้สำลีชุบแอลกอฮอล์เช็ด
- (6) กระดาษหมดม้วน กระดาษบางชนิดเมื่อใกล้หมดม้วนจะมีสีบอกไว้ แต่ถ้าไม่มีสีก็ควรตรวจสอบก่อนเริ่มต้นวิเคราะห์ และเตรียมกระดาษไว้ให้เพียงพอ

ความปลอดภัยในการใช้เครื่อง HPLC

solvent เป็นสารอันตรายมากที่สุดและใช้บ่อย โดยใช้เป็น mobile phase ใช้เตรียมตัวอย่าง ใช้ล้าง และทำความสะอาด ปริมาตรที่ใช้อาจเป็น 2-3 มิลลิลิตร จนถึงหลาย ๆ ลิตรต่อครั้ง อันตรายเกิดจากไอระเหยของสารที่เป็นพิษ ซึ่งอาจสูดดมหรือดูดซึมเข้าทางผิวหนัง และติดไฟได้ ผู้ใช้ HPLC ที่ทำงานกับ solvent ควรระวังดังนี้

- (1) เก็บขวด solvent ในที่ที่เหมาะสม
- (2) ต้องแน่ใจในเรื่องความปลอดภัยของภาชนะที่ใช้เก็บสารซึ่งต้องเหมาะสมกับ solvent เพื่อป้องกันการปนเปื้อน
- (3) เตรียม mobile phase solvent ทุกชนิดในที่ที่อากาศถ่ายเทดี เช่น ในตู้ดูดควัน เพราะการเตรียม mobile phase เป็นลิตร ๆ ไอสารที่เป็นพิษจะลงมืออยู่เสมอขณะเท ผสมหรือ degas solvent

(4) เตรียมตัวอย่างในที่ที่อากาศถ่ายเทได้ดี เช่น ในตู้ดูดควัน เพราะแม้ว่าจะใช้ solvent ปริมาณน้อยก็ตาม แต่ก็ต้องเปิดขวด mobile phase ที่เป็น stock หรือ solvent ชนิดอื่น ๆ ซึ่งที่ใช้เวลานานพอที่จะทำให้ไอพิษของสารระเหยออกมาได้

(5) ปิดฝาภาชนะที่ใช้เก็บ mobile phase เพื่อป้องกันไม่ให้สัดส่วนเปลี่ยนแปลง ถ้ามี solvent มากกว่า 1 ชนิด และกันไม่ให้สารระเหย อาจใช้จุกปิดเจาะรูตรงกลางสำหรับต่อท่อเข้าปั๊ม หรือใช้ aluminum foil

(6) ล้างและไล่หัวปั๊มด้วยความระมัดระวังในที่ที่มีอากาศถ่ายเทดี เช่น กรณีใช้เมทานอลไล่ฟองอากาศออกจากปั๊ม

(7) ไม่ควรให้ solvent ตกค้างอยู่บนผิวหนัง เมื่อตรวจสอบรอยรั่วด้วยมือหรือเมื่อร่างกายส่วนหนึ่งส่วนใดได้รับ solvent ควรรีบล้างออกทันทีด้วยน้ำจำนวนมาก ๆ สารที่ใช้ล้างคอลัมน์ เช่น DMSO สามารถดูดซึมได้รวดเร็ว และตกค้างอยู่ได้นานหลายวัน แม้ว่าโดนที่ผิวหนังในปริมาณน้อย ๆ ก็ตาม แต่ก็ตรวจพบได้ที่ปากในเวลาอันรวดเร็ว

(8) ปิดฝาภาชนะที่ใช้สำหรับ drain ทั้งหมด รวมทั้ง sample waste จาก injector ด้วย อาจเป็นจุกหรือ aluminum foil ส่วนอีกวิธีหนึ่งที่ช่วยให้ปลอดภัยยิ่งขึ้นอีกคือ ต่อท่อตรงจาก detector ไปยังตู้ดูดควันเลย

(9) ไม่ควรทิ้ง solvent จากเข็มลงบนพื้น แม้เพียง 2-3 ไมโครลิตร ก็ตาม แต่ก็ทำให้เกิดไอสารที่อันตรายขึ้นกับอากาศในห้องทดลองได้

(10) ไม่ควรตั้งเครื่อง HPLC ในพื้นที่ที่ไฟ ประกายไฟ หรือความร้อนสูงได้แก่ ตะเกียงเบนเซน ตู้อบ หรือแม้แต่ใกล้กับเครื่อง GC โดยเฉพาะที่เป็น flame ionization detector

(11) ควรทิ้ง solvent ที่ใช้แล้วและไม่ต้องการลงในภาชนะที่เหมาะสม organic solvent ส่วนใหญ่จะทิ้งรวมกันในขวดเดียวได้ ยกเว้น halogenated solvent เช่น CHCl_3 และ CH_2Cl_2 ควรเก็บแยกต่างหากจาก waste อื่น เพราะทำปฏิกิริยารุนแรงได้ ถ้ามี acetone อยู่ solvent เช่น dioxane, ether และ THF สามารถเกิด explosive peroxide ได้ ดังนั้นภาชนะเหล่านี้ควรปิดฝาให้ดี และ neutralize ด้วย aqueous sodium sulfite หรือสารละลายของ ferrous salt

(12) เขียนฉลากติดกำกับขวด solvent และตัวอย่างทุกชนิด

Detector ปัญหาสำคัญคือ ตาอาจถูกทำลาย เนื่องจาก UV source lamp ดังนั้น ผู้ใช้ไม่ควรมอง lamp ด้วยตาเปล่า ควรสวมแว่นตาป้องกัน นอกจากนั้น UV lamp ของ detector บางชนิดจะปล่อยโอโซนออกมา ซึ่งเป็นปัญหาต่อการหายใจ จึงควรต่อ vacuum ไว้เหนือ lamp ของ detector เหล่านั้น

หลักเกณฑ์ทั่วไปที่ควรปฏิบัติตามอยู่เสมอ ได้แก่

- (1) ไม่ควรทำงานตามลำพังคนเดียว
- (2) ไม่ควรกิน ดื่ม หรือสูบบุหรี่ในห้องทดลอง
- (3) สวมเสื้อคลุม และรองเท้านิรภัย
- (4) ใช้อุปกรณ์ที่ถูกต้องในการซ่อมเครื่องมือ
- (5) ศึกษาทางออกทั้งหมด และที่ตั้งของอุปกรณ์รักษาความปลอดภัย
- (6) อ่านวิธีทำก่อนเริ่มต้นทำงานทุกครั้ง

5. องค์ประกอบทางเคมีในพืชสมุนไพร

5.1 น้ำมันหอมระเหย (Essential Oil)

น้ำมันหอมระเหย อาจจะเรียกว่า ethereal oil หรือ essential oil พบได้ในส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น ดอก ใบ ผล กลีบเลี้ยง เป็นต้น ตามปกติน้ำมันหอมระเหยจะไม่มีสี แต่เมื่อตั้งทิ้งไว้นาน ๆ อาจจะถูกออกซิไดซ์ ทำให้สีเข้มขึ้น ดังนั้นจึงควรเก็บไว้ในขวดสีชาที่ปิดสนิท เก็บไว้ในที่แห้ง และเย็น

น้ำมันหอมระเหยประกอบด้วยส่วนประกอบทางเคมีที่สลับซับซ้อน อาจจะแบ่งน้ำมันหอมระเหยตามชนิดขององค์ประกอบใหญ่ ๆ ได้ดังนี้

5.1.1 Hydrocarbon volatile oils ได้แก่ น้ำมันหอมระเหยที่มี hydrocarbon เป็นองค์ประกอบหลัก ตัวอย่างของสารที่จัดเป็น hydrocarbon monocyclic terpene ได้แก่ limonene ซึ่งพบได้ในน้ำมันจากมินต์ ส้ม กระวาน และน้ำมันสน และ p-cymene ซึ่งพบในน้ำมันจากลูกผักชีอบเชย นอกจากนี้พวก dicyclic monoterpene เช่น pinene ซึ่งพบได้ในน้ำมันยูคาลิปตัส น้ำมันดอกส้ม และน้ำมันลูกผักชี ก็พบมากเช่นกัน

5.1.2 Alcohol volatile oils ได้แก่ น้ำมันหอมระเหยที่มีแอลกอฮอล์เป็นองค์ประกอบหลัก ที่สำคัญได้แก่ น้ำมันมินต์ น้ำมันจากลูกผักชี ลูกกระวาน ดอกส้ม ดอกกุหลาบ และน้ำมันสน ตัวอย่างของแอลกอฮอล์ที่พบบ่อย ๆ ได้แก่ geraniol citronellol ซึ่งเป็น acyclic alcohol ส่วน menthol และ α -terpineol เป็น monocyclic alcohol เป็นต้น

5.1.3 Aldehyde volatile oils ได้แก่น้ำมันหอมระเหยที่มีสารจำพวกแอลดีไฮด์เป็นองค์ประกอบหลัก น้ำมันหอมระเหยที่จัดอยู่ในกลุ่มนี้ที่สำคัญ ได้แก่ น้ำมันอบเชย น้ำมันจากส้มมะนาว และตะไคร้หอม ตัวอย่างของ aldehyde ที่พบ ได้แก่ geranial, neral และ citronellal เป็นต้น

5.1.4 Ketone volatile oils มีสารจำพวก ketones เป็นองค์ประกอบหลัก ตัวอย่างของ ketones ที่พบได้แก่ menthone, carvone piperitone และ pulegone ซึ่งเป็น monocyclic termene ketone นอกจากนี้ยังพบ camphor tenchone และ thujone ซึ่งเป็น dicyclic ketones น้ำมันหอมระเหยที่สำคัญในกลุ่มนี้ได้แก่ การบูร และมินต์

5.1.5 Phenol volatile oils มีสารจำพวก phenol เป็นองค์ประกอบหลัก phenol ที่พบได้แก่ eugenol thymol carvacrol เป็นต้น น้ำมันหอมระเหยในกลุ่มนี้ได้แก่ น้ำมันกานพลู thyme oil, creosate, pine tar และ juniper tar

5.1.6 Phenolic ether volatile oils มีสารจำพวก phenolic ether เป็นองค์ประกอบหลัก ตัวอย่างของน้ำมันหอมระเหยในกลุ่มนี้ได้แก่ น้ำมันโป๊ยกั๊กซึ่งพบสาร anethole น้ำมันจันทน์เทศ และน้ำมัน sassafras ซึ่งพบสาร safrole เป็นต้น

5.1.7 Oxide volatile oils มีสารจำพวก oxides เป็นองค์ประกอบหลัก ตัวอย่างของสาร oxide ที่พบในน้ำมันหอมระเหย ได้แก่ cineole (eucalyptol) ซึ่งพบในน้ำมันยูคาลิปตัส

5.1.8 Ester volatile oils มีสารจำพวก esters เป็นองค์ประกอบหลัก ตัวอย่างของสารจำพวกเอสเตอร์ที่พบ ได้แก่ allyl isothiocyanate พบในน้ำมันมัสตาด (mustard oil) และ methyl salicylate พบได้ใน wintergreen oil

วิธีการแยกน้ำมันหอมระเหยจากพืช

การแยกน้ำมันหอมระเหยจากพืชทำได้ 5 วิธีใหญ่ ๆ คือ

วิธีที่ 1 โดยการกลั่น (Distillation) แบ่งออกเป็น

1.1 กลั่นด้วยน้ำ (water distillation) วิธีนี้มักใช้กับพืชแห้งและสารในพืชไม่สลายเมื่อถูกความร้อน เช่น การกลั่นน้ำมันสน

1.2 กลั่นด้วยน้ำและไอน้ำ (water and steam distillation) ใช้กับพืชสด หรือพืชแห้ง ซึ่งอาจจะถูกทำลายได้ด้วยความร้อน เช่น การกลั่นน้ำมันอบเชย กานพลู โดยการหมักพืชในน้ำแล้วผ่านไอน้ำเข้าไป น้ำ และน้ำมันจะถูกกลั่นออกมาด้วยกัน

1.3 กลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation) ใช้กับพืชสด เช่น การกลั่นน้ำมันมินต์ ในระหว่างการกลั่นน้ำมันหอมระเหยที่อุณหภูมิสูงๆ องค์ประกอบบางชนิดในน้ำมันหอมระเหยจะถูกย่อย (hydrolyse) ให้เกิดการสลายตัวได้ การกลั่นที่ดีควรกลั่นให้ไอน้ำกระจายตัวแทรกเข้าไปในพืชมากที่สุด แต่ทำให้เกิดการสลายตัวของสารต่าง ๆ น้อยที่สุด

วิธีที่ 2 โดยการบีบ (Expression)

น้ำมันหอมระเหยบางชนิด เช่น น้ำมันจากผิวส้ม (orange oil) น้ำมันจากผิวมะนาว (lemon oil) จะสลายตัวได้เมื่อถูกความร้อน จึงใช้การบีบน้ำมันแทนการกลั่น

วิธีที่ 3 โดยวิธี Enfleurage

วิธีนี้เคยใช้มากในอุตสาหกรรมการทำน้ำหอม เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยในกลีบดอกไม้มักมีปริมาณน้อย จึงใช้การบีบไม่ได้ผล วิธีนี้ทำได้โดยใช้น้ำมันไม่ระเหย หรือไขมันชนิดที่ไม่มีกลิ่น นำมาแผ่เป็นฟิล์มบาง ๆ บนกระจก นำกลีบดอกไม้มาโปรยบนฟิล์มนี้ ตั้งทิ้งไว้ 2-3 ชั่วโมง แล้วเก็บกลีบดอกไม้ออก โปรยกลีบดอกไม้ชุดใหม่ลงไปแทน เพื่อให้ไขมันดูดซับน้ำมันหอมระเหยจากกลีบดอกไม้ไว้ จากนั้นนำไขมันที่ได้มาสกัดด้วยแอลกอฮอล์ เพื่อแยกน้ำมันหอมระเหยออกมา

วิธีที่ 4 โดยการสกัด (Extraction)

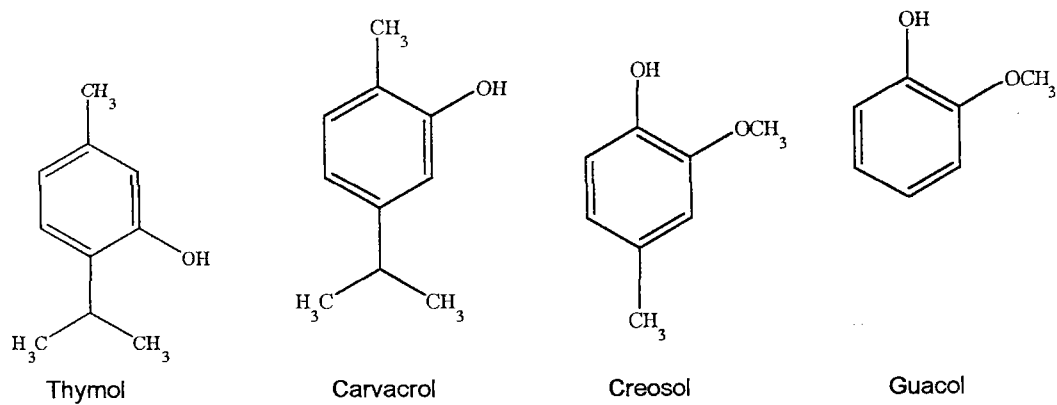
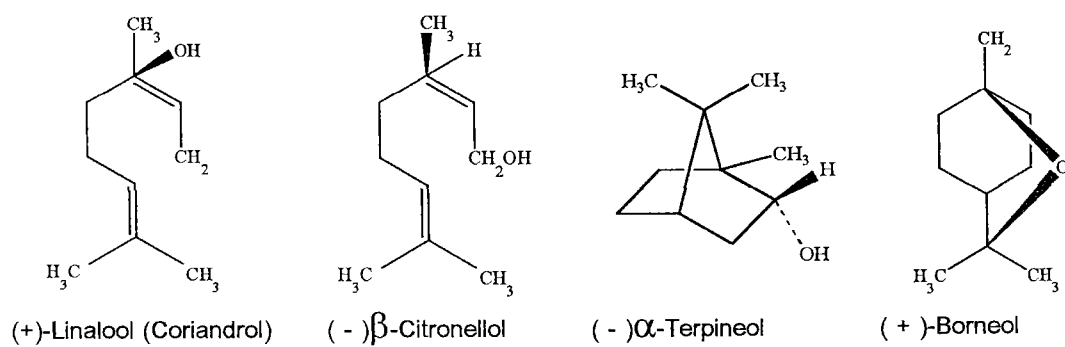
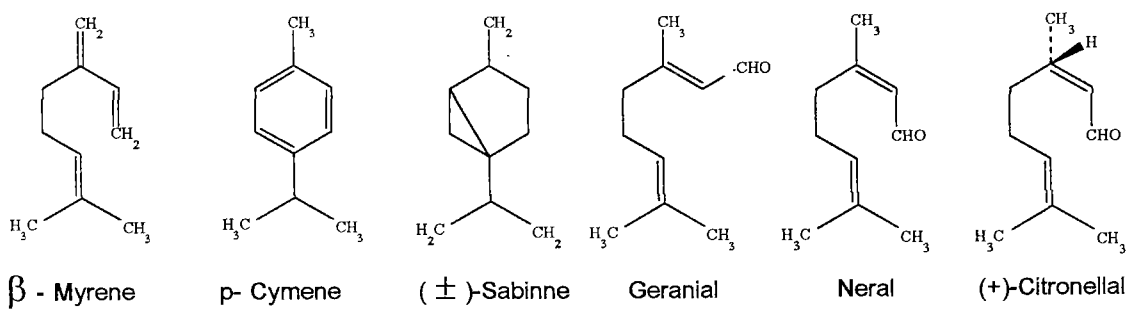
ปัจจุบันในอุตสาหกรรมน้ำมันจะใช้วิธีสกัดน้ำมันหอมระเหยจากพืชโดยใช้ตัวทำละลาย (solvents) ที่เหมาะสม เช่น เบ็นซีน หรือ ปีโตรเลียมอีเทอร์ โดยวิธีนี้น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จะมีกลิ่นคงเดิมเพราะไม่เกิดการสลายตัวเนื่องจากใช้อุณหภูมิต่ำข้อเสียของวิธีสกัดก็คือราคาแพง

วิธีที่ 5 Destructive distillation

ใช้กับการกลั่นน้ำมันจากต้นไม้ในวงศ์ Pinaceae และ Cupressaceae โดยนำมาเผาในที่ที่อากาศไม่เพียงพอ จะเกิดการสลายตัวได้สารระเหยออกมาซึ่งจะแยกได้เป็น 2 ชั้น คือ ชั้นน้ำซึ่งประกอบด้วย methyl alcohol และ crude acetic acid กับชั้นของน้ำมันดิน (tarry liquid) เช่น pine tar หรือ juniper tar ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของไม้

ประโยชน์ของน้ำมันหอมระเหย

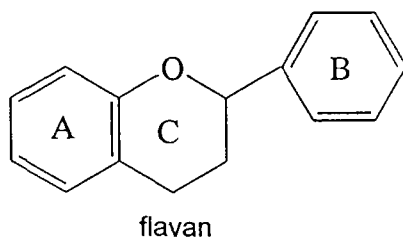
น้ำมันหอมระเหยได้ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง เช่น น้ำหอม และใช้แต่งกลิ่นในเครื่องสำอางและในตำรับยา นอกจากนี้ น้ำมันหอมระเหยบางชนิดยังมีคุณสมบัติขบถมใช้เป็นสารฆ่าเชื้อโรค (antiseptic) แก้ปวดท้องได้อีกด้วย เช่น น้ำมันอบเชย น้ำมันกานพลู น้ำมันจากผิวมะนาว น้ำมันมินต์ เป็นต้น



ภาพประกอบ 15 สูตรโครงสร้างขององค์ประกอบบางชนิดในน้ำมันหอมระเหย

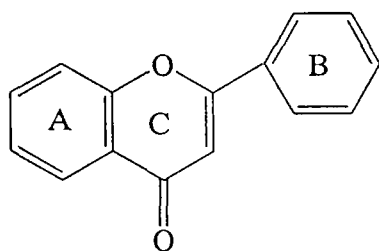
5.2 ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids)

ฟลาโวนอยด์เป็นกลุ่มสารที่พบได้ทั่วไปในอาณาจักรพืช สารในกลุ่มนี้ส่วนมากจะมีสี โดยจะพบมากที่สุดสีของดอกไม้ ฟลาโวนอยด์ที่พบในธรรมชาติมักอยู่ในรูปกลัยโคไซด์ (glycoside) ทำให้ละลายได้ดีในน้ำและสะสมอยู่ใน vacuole หรือ cell sap สารฟลาโวนอยด์มีสูตรโครงสร้างหลักเป็นฟลาเวน (flavan) หรือ 2-ฟีนิลเบนโซไพแรน (2-phenyl benzopyran) ประกอบด้วยคาร์บอน 15 อะตอม เรียงกันเป็นระบบ $C_6-C_3-C_6$

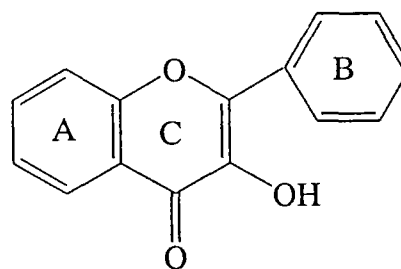


การแบ่งกลุ่มของฟลาโวนอยด์

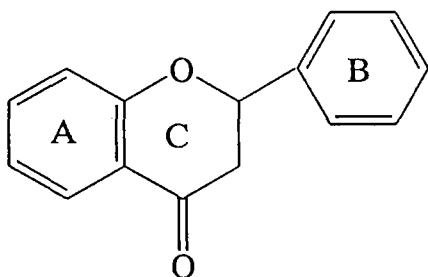
สารกลุ่มฟลาโวนอยด์จำแนกออกเป็นกลุ่มย่อย โดยอาศัยความแตกต่างของโครงสร้าง โดยเฉพาะในวง C ซึ่งเป็นวงที่มีออกซิเจน โดยอาจอยู่ในรูปอีเทอร์ รูปคีโตน หรือมีกลุ่มไฮดรอกซิลอยู่ในโมเลกุล มีการแบ่งเป็นกลุ่มได้ดังนี้



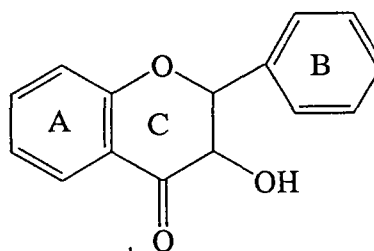
ฟลาโวน (flavones)



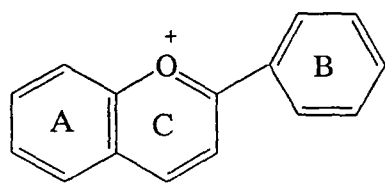
ฟลาโวนอล (flavonols)



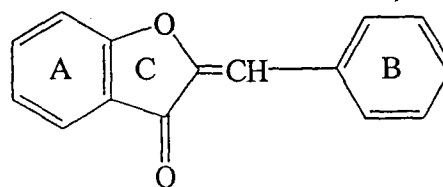
ฟลาโวนอล (flavonols)



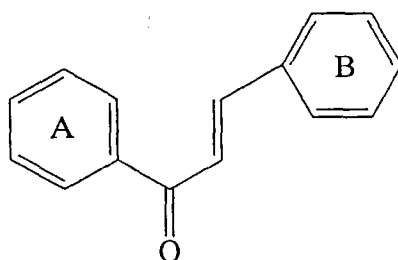
ฟลาวาโนล (flavanonols)



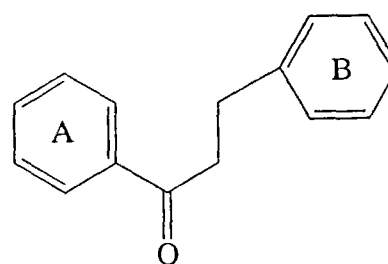
แอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins)



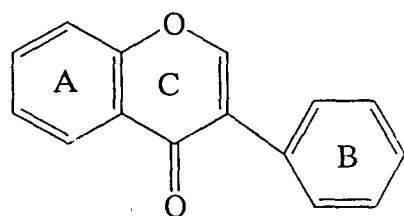
ออโรน (ourones)



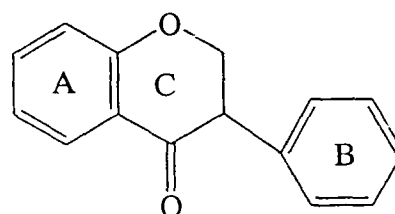
ชาลโคน (chalcones)



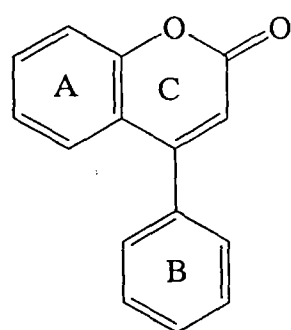
ไดไฮโดรชาลโคน (dihydrochalcones)



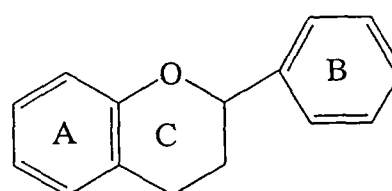
ไอโซฟลาโวน (isoflavones)



ไอโซฟลาวานอน (isoflavanones)

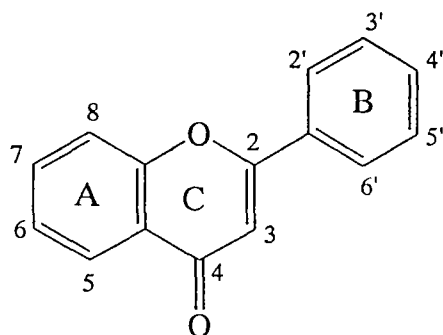


นีโอฟลาโวนอยด์ (neoflavonoids)

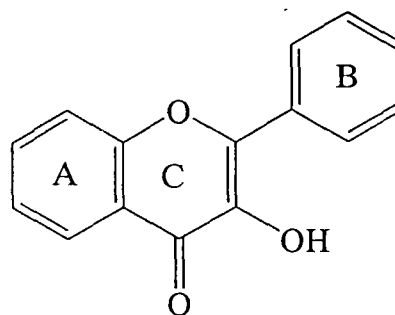


ฟลาแวน (flavans)

1) สารกลุ่ม Flavones และ Flavonols

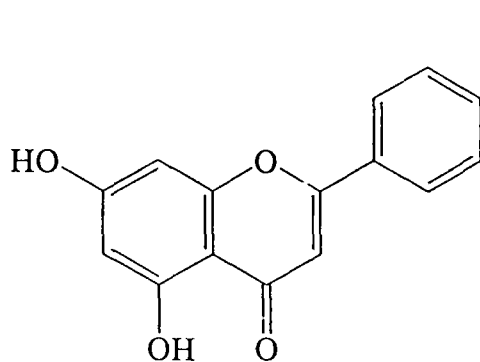


flavones



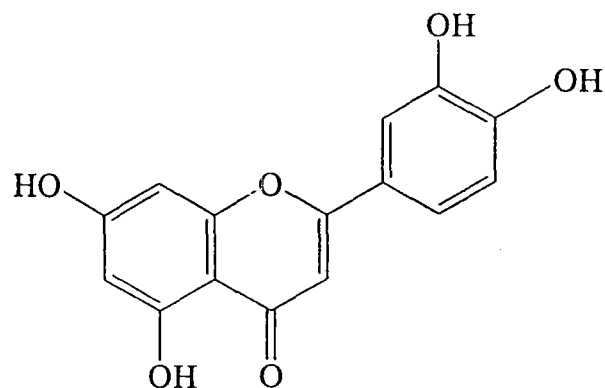
flavonols

ตัวอย่างสารกลุ่ม flavones



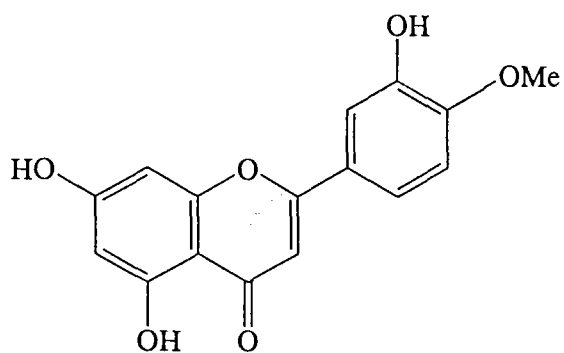
chrysin

Oroxylum indicum (Bignoniaceae)



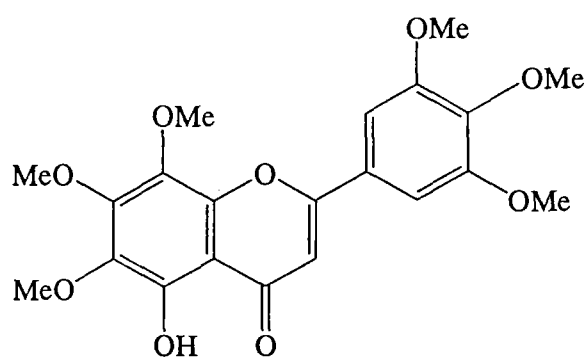
luteolin

Vernonia pectoralis (Compositae)



diosmetin

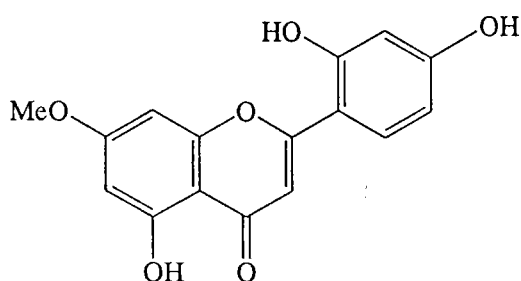
Lippia citriodora (Verbenaceae)



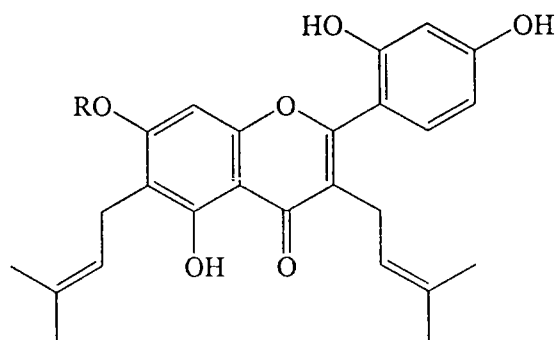
gardenin A

Gardenia lucida (Rubiaceae)

นอกจากนี้อาจมีหมู่แทนที่เป็น isoprene unit เช่น พบใน flavonoid ที่แยกได้จากพืชตระกูล *Artocarpus*, *Morus* และ *Tephrosia* โดย isoprene unit จะอยู่ในรูป dimethylallyl group ตัวอย่างเช่น artocarpin (5, 2', 4'-trihydroxy-7-methoxy-3, 6-di-dimethylallylflavone)



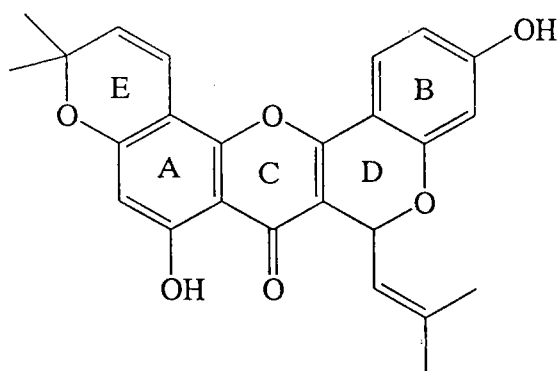
artocarpetin



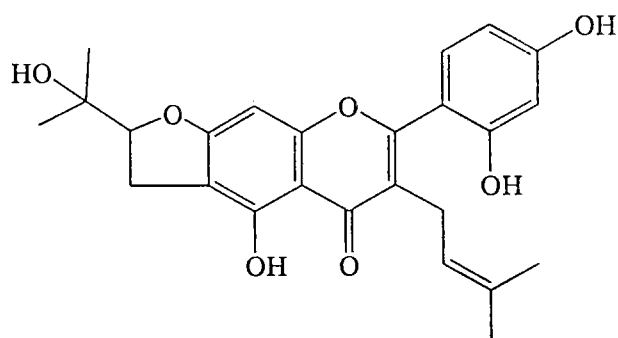
artocarpin : R = Me

mulberrin : R = H

บางครั้ง dimethylallyl group ที่เข้าแทนที่มีการจัดเรียงตัวเกิดเป็นวง pyran จึงเรียกสารชนิดนี้ว่า pyranoflavone เช่น cyclomorusin จากเปลือกกรากของต้นหม่อน *Morus alba* L. (Moraceae) หรืออาจเรียงตัวเป็นวง furan จะเรียกว่า furanoflavone เช่น mulberranol

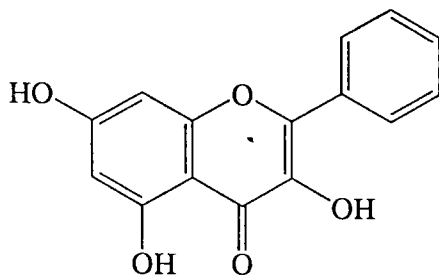


ctckinirysin

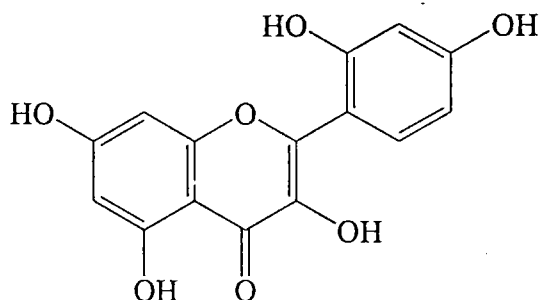


mulberranol

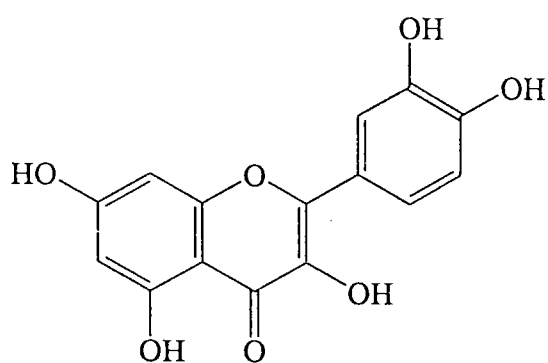
ตัวอย่างสารกลุ่ม flavonols



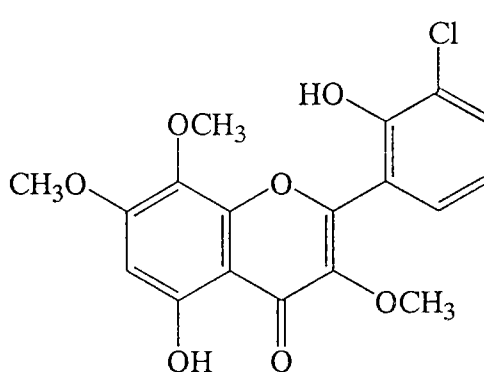
Galangin

alpinia officinarum (Zingiberaceae)

chlorflavonin

Aspergillus candidus

quercetin

Primula spp. (Primulaceae)

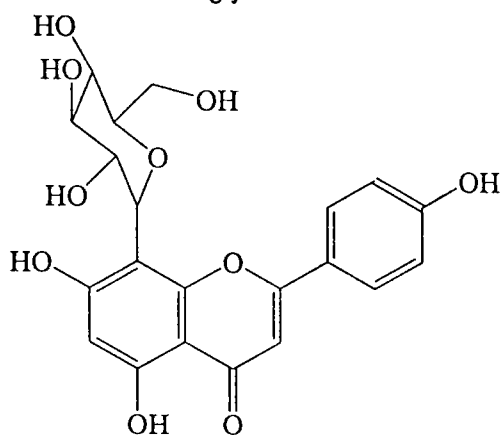
chlorflavonin

Aspergillus candidus

flavonol O-glycosides มักพบการแทนที่ที่ตำแหน่ง 3-, 7-, หรือ 3- 7- ส่วน flavone O-glycosides มักพบการแทนที่ที่ตำแหน่ง 5 หรือ 7 ส่วน C-glycosides จะพบที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 6 และ 8 เท่านั้น ชนิดของน้ำตาลที่มาต่อมีทั้ง pentose, hexose และ uronic acid อัตราส่วนของ glycoside และ aglycone จะขึ้นอยู่กับระยะการเจริญเติบโตและส่วนต่าง ๆ ของพืช และถ้าโมเลกุลมีจำนวน methoxy group มาก ทำให้มี lipophilicity สูง จึงมักจะไม่ใช่ในรูปแบบของ glycoside

จากการค้นพบสารกลุ่มนี้เป็นจำนวนมาก พบว่าโครงสร้างของ flavone หรือ flavonol ที่พบบ่อย ๆ เช่น apigenin, kaempferol และ quercetin จะเป็นเหมือนโครงสร้างหลัก (prototypes) ที่จะถูกเปลี่ยนแปลงไปเป็น flavonoids ชนิดอื่น ๆ การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นได้

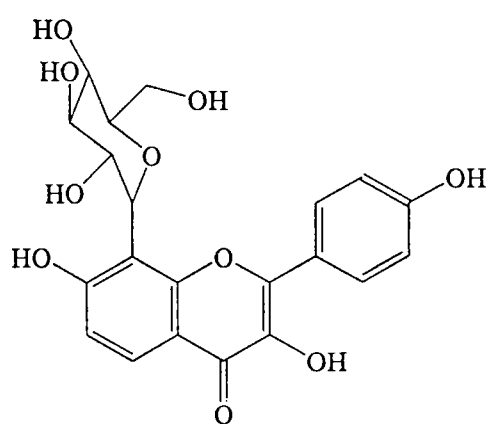
แก่ การเกิด dehydroxylation, methylation, oxygenation, cyclization และ prenylation รวม
ถึงการเกิดเป็น glycosides



vitexin (5, 7, 4'-triOH-8-C-Glc-flavone)

= 8-C-Glucosylapigenin

Vitex spp. (Verbenaceae)

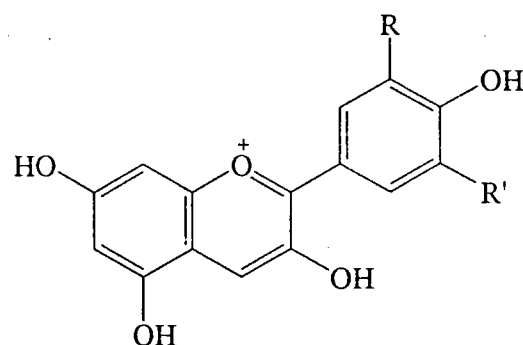
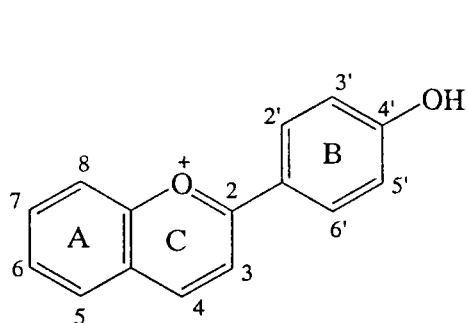


3, 7, 4'-triOH-8-C-Glc-flavonol

= 8-C-Glucosyl-5-deoxykaempferol

Pterocarpus spp. (Papilionaceae)

2) สารกลุ่ม Anthocyanins

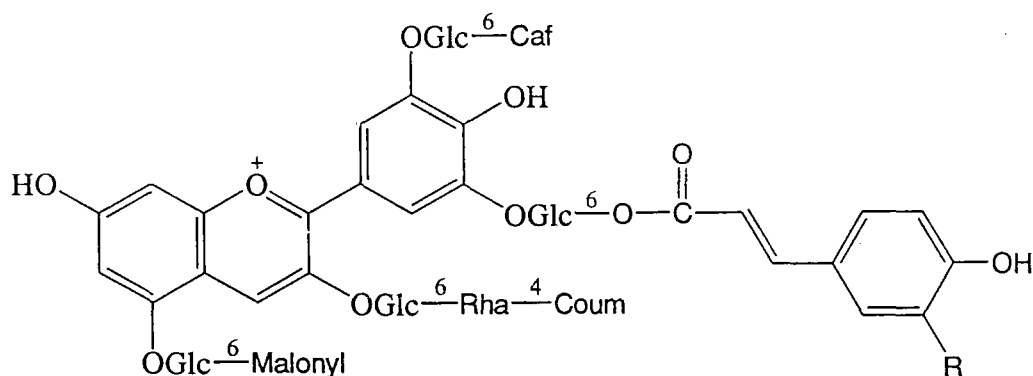


anthocyanins เป็น water-soluble glycosides และ acylglycosides ของ anthocyanidins ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ 2-phenylbenzopyrylium หรือ flavylium cation เป็นสารที่มีสีต่าง ๆ เช่น สีชมพู สีแดง สีม่วง และสีน้ำเงิน ซึ่งสีและความเข้มของสีจะเปลี่ยนแปลงไปตามสภาวะความเป็นกรดด่าง และหมู่แทนที่สาร anthocyanins ที่พบในธรรมชาติจะมีส่วนของ aglycone หรือ anthocyanidins แตกต่างกัน 6 ชนิด ดังตาราง 6

ตาราง 6 ตารางแสดงหมู่แทนที่ในสารแอนโทไซยานิน

Type of anthocyanidins	R	R'	Plant species
Pelargonidin	H	H	<i>Pelargonium</i> (Geraniaceae), <i>Punica granatum</i> (Punicaceae)
Cyanidin	OH	H	<i>Zea mays</i> , <i>Papaver somnifera</i> , <i>Malpighia glabra</i> , <i>Rosa</i> spp.
Delphinidin	OH	OH	<i>Delphinium</i> spp., <i>Viola</i> spp.
Peonidin	OCH ₃	H	<i>Paeonia suffruticosum</i> (Ranunculaceae)
Petunidin	OH	OCH ₃	<i>Petunia hybrida</i>
Malvidin	OCH ₃	OCH ₃	<i>Malva sylvestris</i> , <i>Vitis vinifera</i>

ตัวอย่างสารกลุ่ม anthocyanins

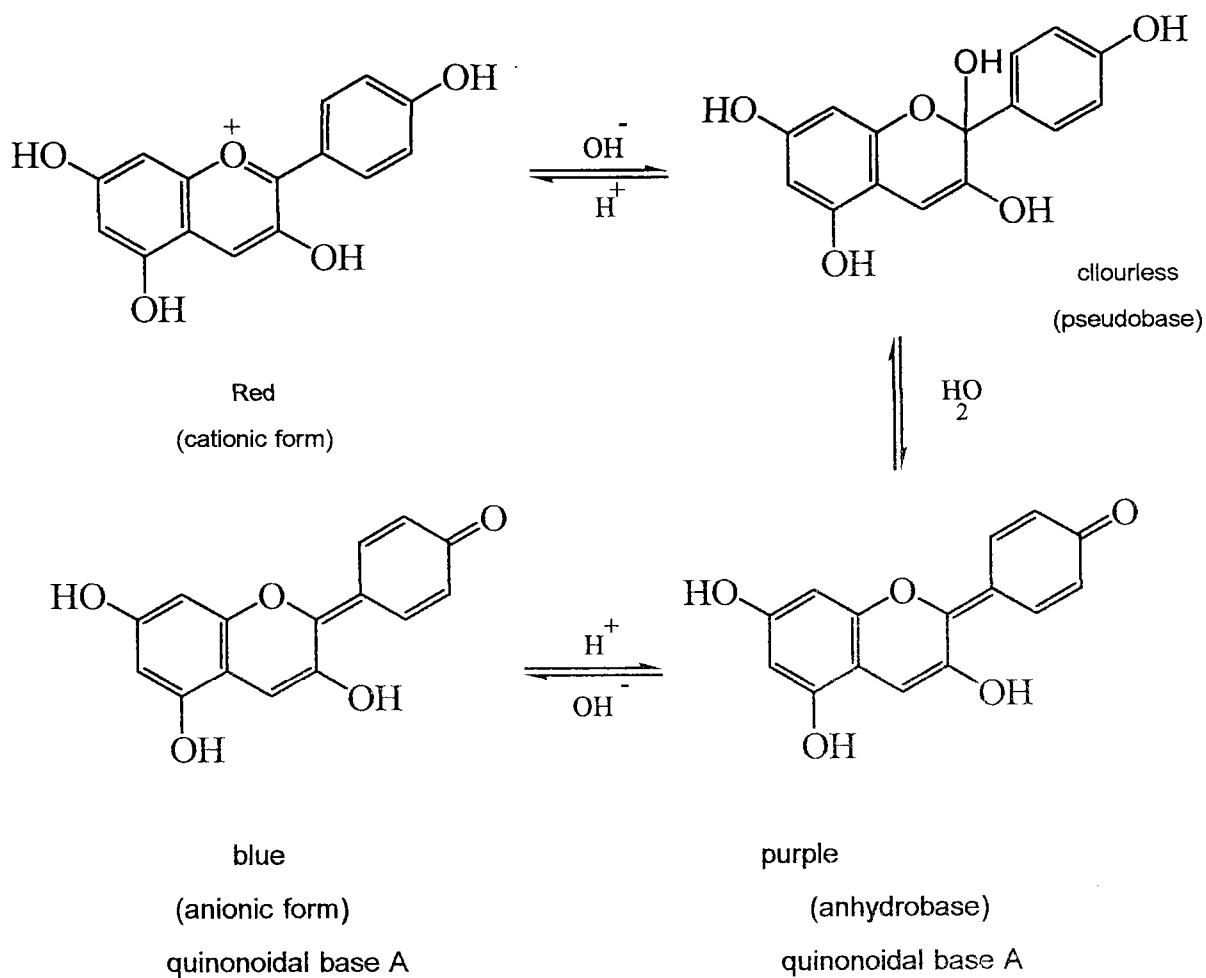


Lobelinin A (R = H)

Lobelinin B (R = OMe)

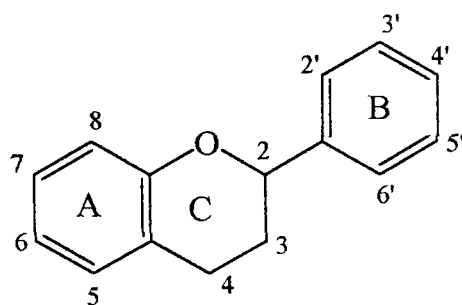
Lobelia erinus (Lobeliaceae)

การเปลี่ยนสีหรือความเข้มของสีตามสภาวะความเป็นกรดต่าง ทำให้สารกลุ่มนี้มีคุณสมบัติเป็น self indicator โดยเกิดจากการเปลี่ยนแปลงลักษณะของประจุ (ion) เช่น blue ternatins จากดอกอัญชัน *Clitoria ternatea* ในสภาวะที่เป็นกรด anthocyanins จะมีประจุบวกและมีสีแดง ส่วนในสภาวะต่างจะมีประจุลบและมีสีน้ำเงิน ดังภาพประกอบ 16



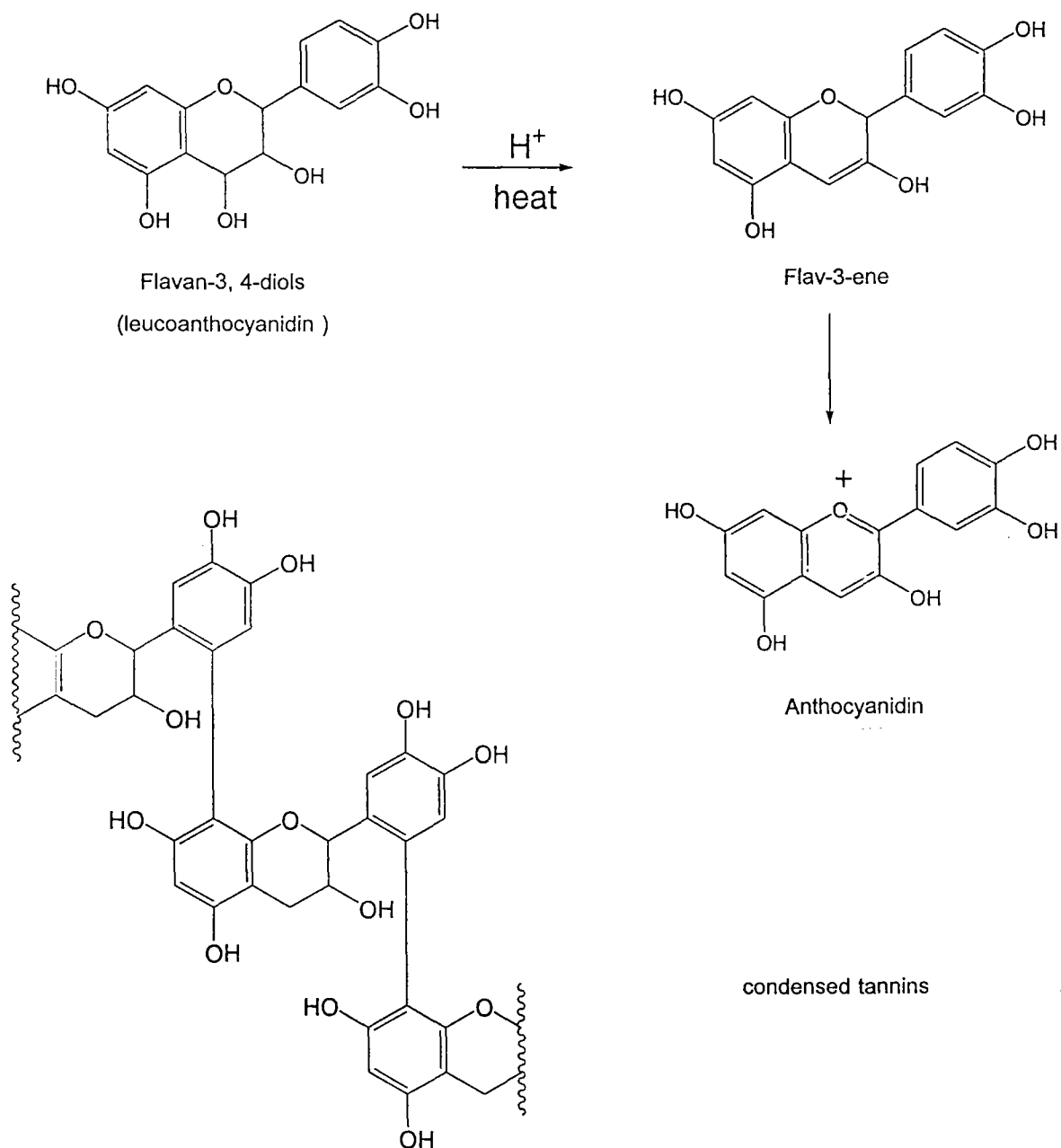
ภาพประกอบ 16 แสดงการเปลี่ยนแปลงของสารกลุ่ม anthocyanins ในสภาวะความเป็นกรดต่างๆ

3) สารกลุ่ม Flavans

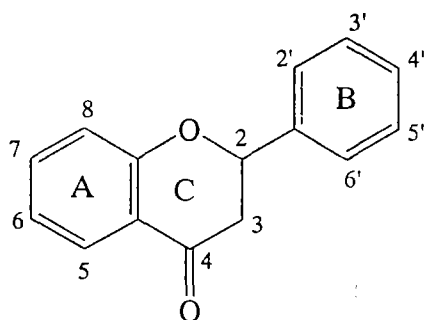


Flavan-3, 4-diols
(Leucoanthocyanidin)

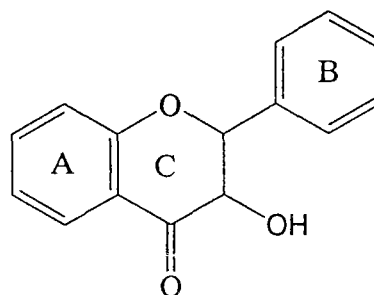
สารในกลุ่มนี้ได้แก่ flavan, flavan-3-ols และ leucoanthocyanidins (flavan-4-ols และ flavan-3, 4-diols) เป็นสารที่ไม่มีสี มักพบอยู่ในรูป aglycone สารกลุ่ม leucoanthocyanidins เมื่ออยู่ในสภาวะที่เป็นกรดและมีความร้อนจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูป anthocyanidins สารกลุ่มนี้จะเป็นหน่วยย่อยของ condensed tannins



4) สารกลุ่ม Flavanones และ Flavanonols

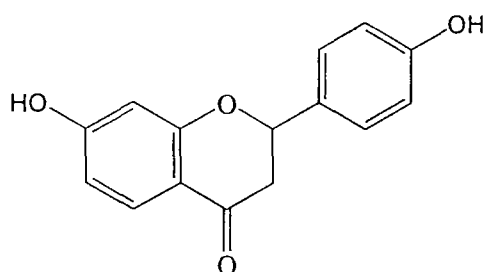


flavanones

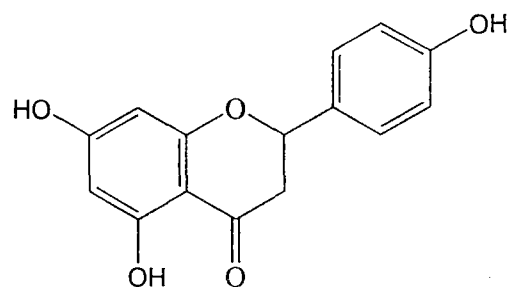


flavanonols

ตัวอย่างสารกลุ่ม flavanones

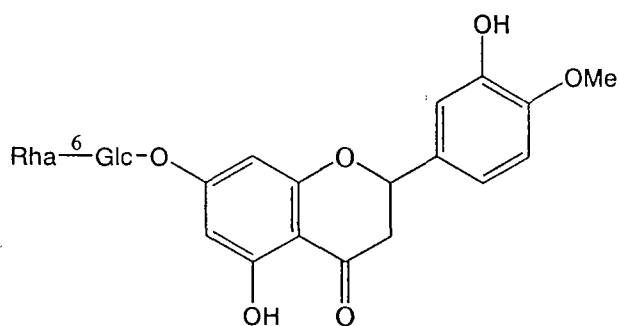


liquiritigenin



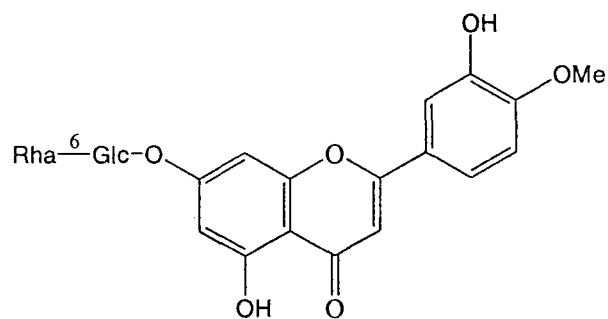
naringenin

สารกลุ่มนี้อาจอยู่ในรูปอิสระหรือรูป glycosides และมักจะพบอยู่ร่วมกับ flavones ที่มีโครงสร้างหลักเหมือนกัน เช่น hesperidin กับ diosmin และ naringin กับ rhoifolin เป็นต้น



hesperidin

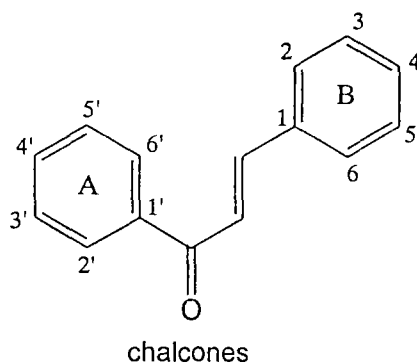
Barosma betulina (Rutaceae)



diosmin

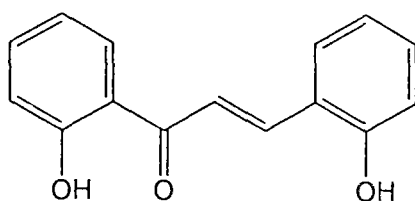
Barosma betulina (Rutaceae)

5) สารกลุ่ม Chalcones



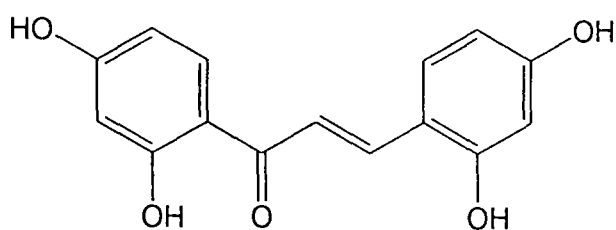
พบมากในพืชวงศ์ Compositae และ Leguminosae เป็นสาร intermediate ที่สำคัญในชีวสังเคราะห์ของ flavonoids กลุ่มต่าง ๆ การแบ่งกลุ่มของ chalcones อาศัยการแทนที่ในวง A ดังนี้

(1) Chalcones having one A-ring oxygenation



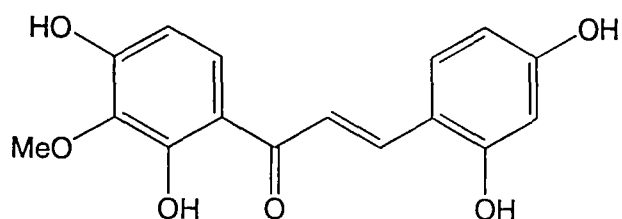
2, 2'-Dihydroxychalcone

(2) Chalcones with a resorcinol-based A-ring



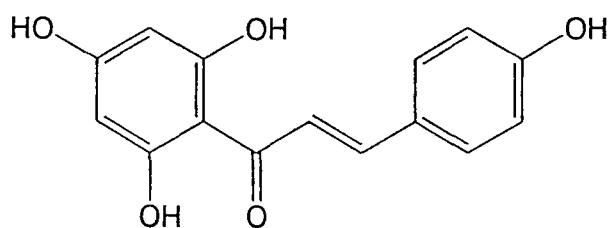
2', 4', 4'-trihydroxychalcone (isoliquiritigenin)
isoliquiritin (4-O-Glc-isoliquiritigenin)

(3) Resorcinol-based A-ring chalcones having 3'-oxygenation



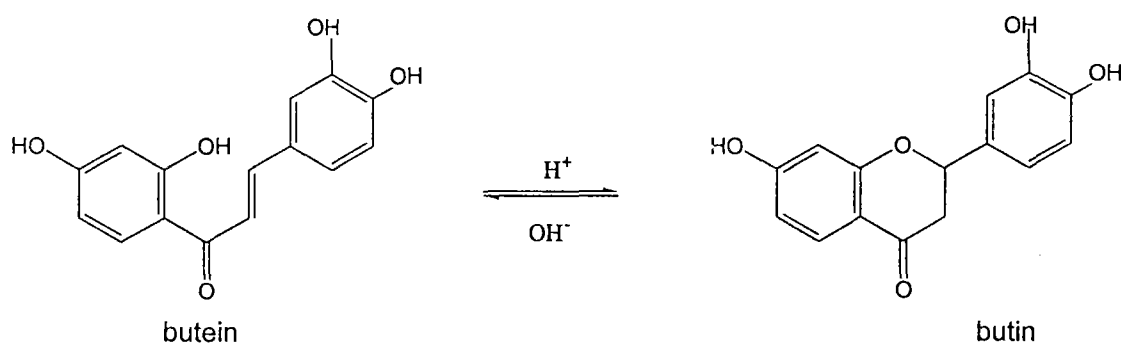
2', 4', 4'-trihydroxy-3'-methoxychalcone
(kulkanin A)

(4) Chalcones having a phloroglucinol-based A-ring

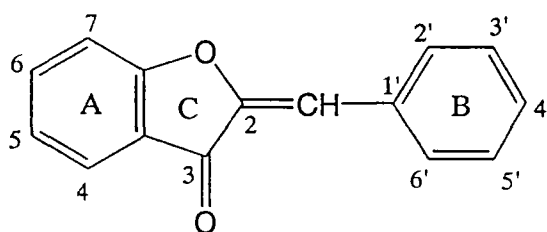


2', 4', 6', 4-tetrahydroxychalcone (isosalipurpol)

เมื่ออยู่ในสารละลายที่เป็นกรด chalcone จะเปลี่ยนแปลงไปเป็น flavanone และจะเกิดปฏิกิริยาย้อนกลับในสภาวะที่เป็นด่าง เช่น การเปลี่ยนแปลงระหว่าง 4', 6', 3, 4-tetrahydroxy chalcone และ 7, 3', 4'-trihydroxyflavanone



6) สารกลุ่ม Aurones



aurones

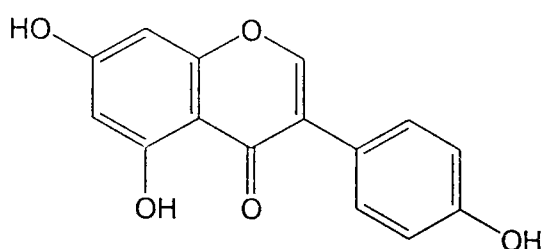
Aurones มีสูตรโครงสร้างหลักเป็น 2-benzylidenecoumaranone ถ้ามีกลุ่ม hydroxyl ที่ตำแหน่ง 2 จะเรียกว่า auronols การให้ตำแหน่งคาร์บอนของ aurones และ auronols จะแตกต่างจาก flavonoids กลุ่มอื่น ๆ โดยเมื่อพิจารณาจากชีวิตสังเคราะห์จะพบว่า ตำแหน่งที่ 4 ของ aurones จะเทียบได้กับตำแหน่งที่ 5 ของ flavonoids กลุ่มอื่น ๆ และตำแหน่งที่ 2' ของ

chalcones มักพบสารกลุ่มนี้ในพืชวงศ์ Compositae มีสีเหลืองทอง แต่เมื่ออยู่ในสภาวะที่เป็นด่างจะเปลี่ยนเป็นสีแดงกุหลาบ

7) สารกลุ่ม Isoflavonoids

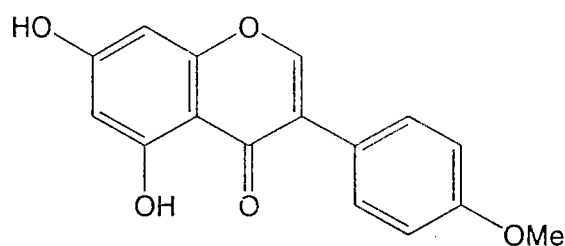
เป็นสาร flavonoids ที่มีโครงสร้างหลักเป็น 3-phenylchroman เกิดจากจัดเรียงตัวใหม่ของ flavonoid 2-phenylchroman โดยวิธี 1, 2-aryl rearrangement ส่วนมากพบในพืชวงศ์ Papilionaceae สารกลุ่มนี้มีฤทธิ์ทางชีวภาพหลายด้าน เช่น estrogenic effect, insecticidal และ antimicrobial เป็นต้น เมื่อแบ่งตามลักษณะสูตรโครงสร้างสามารถแบ่งสารกลุ่ม isoflavonoids ได้มากกว่า 16 กลุ่ม เช่น

(1) Isoflavones



genistein

Trifolium spp.



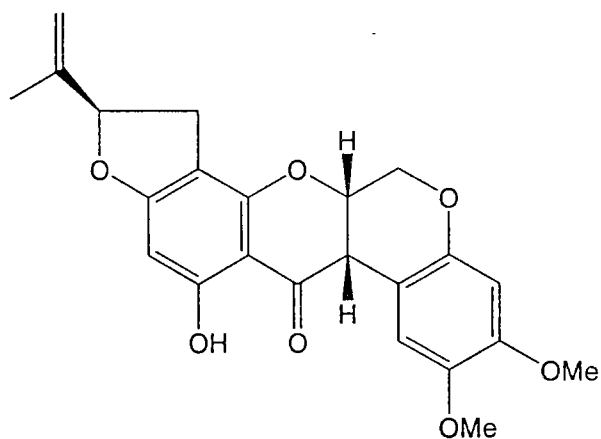
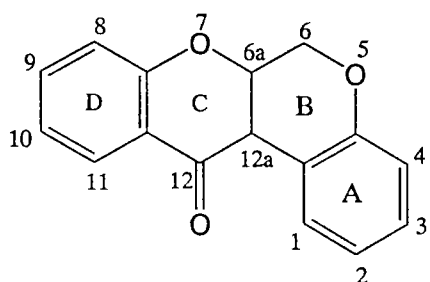
biochanin A

Trifolium spp.

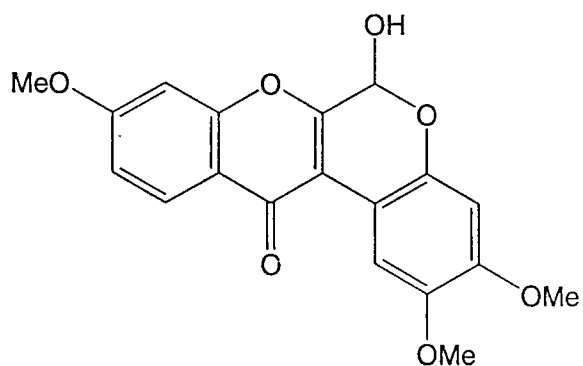
(2) Isoflavanones

พบสารกลุ่มนี้ได้น้อยมากในธรรมชาติ อาจเนื่องมาจากสารกลุ่ม isoflavanones เป็นสาร intermediates ระหว่าง isoflavones และ pterocarpan หรือ isoflavan phytoalexins

(3) Rotenoids



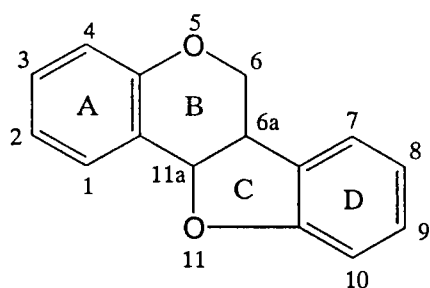
rotenone

Derris elliptica (Papilionaceae)

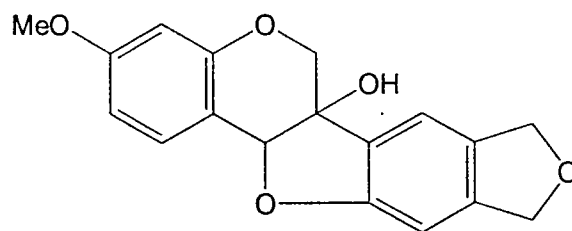
stemonal

Stemona collinsae (Stemonaceae)

(4) Pterocarpans



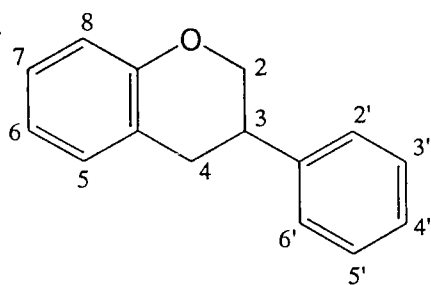
pterocarpan



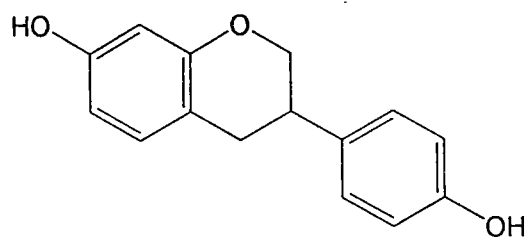
pisatin

Pisum sativum (Papilionaceae)

(5) Isoflavans



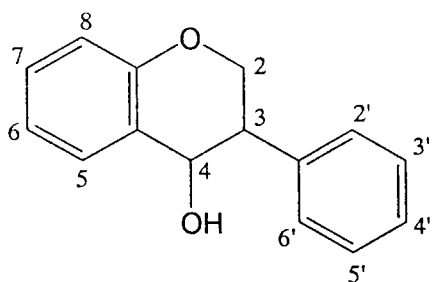
isoflavan



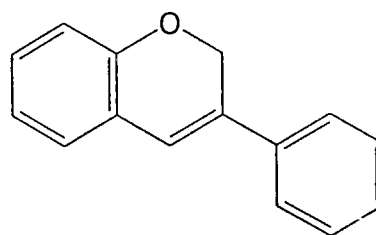
equol

เป็น metabolite ของ formonetin

(6) Isoflavanols และ isoflav-3-enes

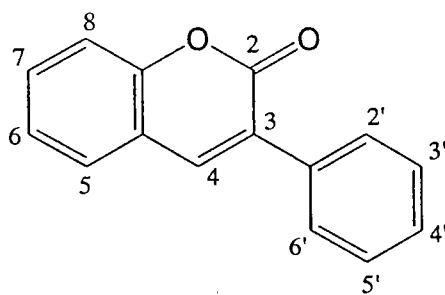


isoflavanols

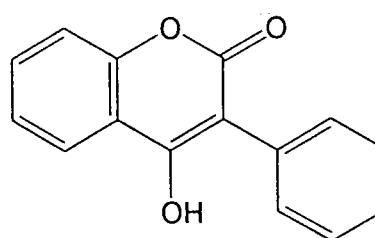


isoflav-3-enes

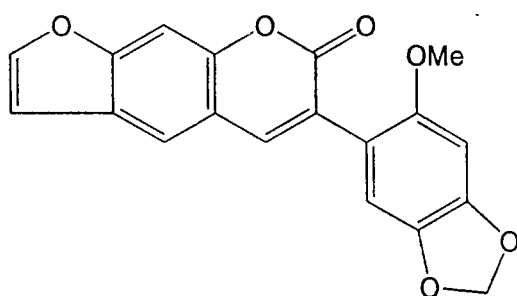
(7) 3-Arylcoumarins



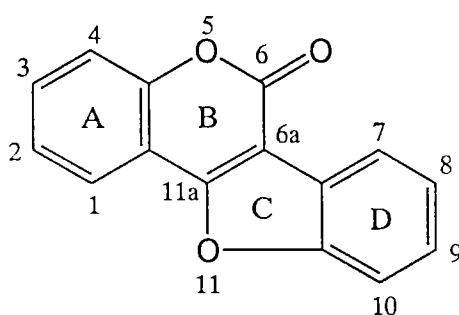
3-arylcoumarins



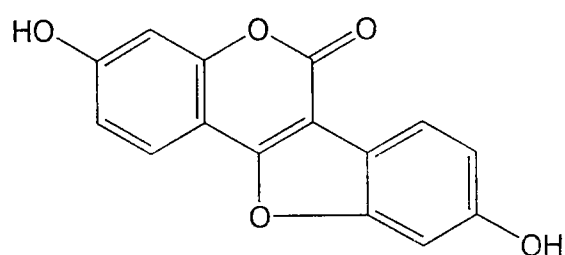
3-aryl-4-hydroxycoumarins

pachyrrhizin *Pachyrrhizus*

(8) Coumestans



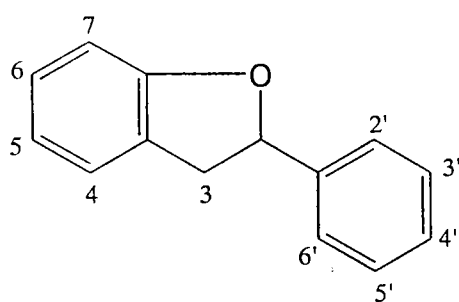
coumestans



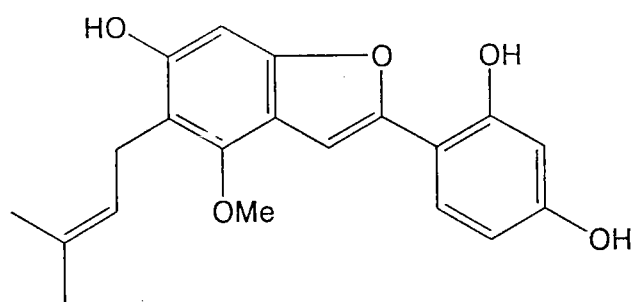
coumestrol

Derris, Glycine และ Pueraria

(9) 2-Arylbenzofurans



2-arylbenzofuran



licocoumarone

Glycyrrhiza spp.

การแยกสกัดสารฟลาโวนอยด์จากพืช

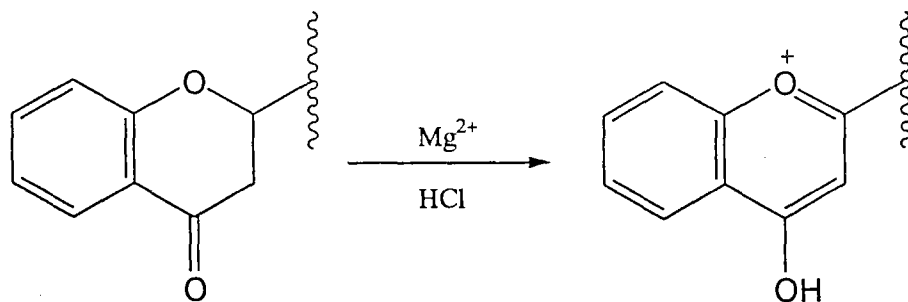
เทคนิคการสกัดและแยกสารต่าง ๆ จากพืช โดยทั่วไปใช้หลักการของความ
สามารถในการละลาย (solubility) ของสารแต่ละชนิดในตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvent) การ

สกัดจึงเป็นการนำตัวทำละลายที่เหมาะสมไปละลายสารออกจากพืช โดยทั่วไปนิยมสกัดแยกสารส่วนใหญ่ของมาก่อน โดยใช้ ethanol และ methanol แล้วจึงนำสารสกัดมาแยกอีกครั้งหนึ่ง

โดยทั่วไปนิยมสกัดครั้งแรกด้วย methanol ผสมน้ำ (9:1) นาน 6-12 ชั่วโมง แล้วกรองนำกากที่เหลือมาสกัดต่อด้วย methanol ผสมน้ำ (1:1) จากนั้นนำสารสกัดทั้งสองส่วนมารวมกัน ระเหยโดยใช้เครื่องกลั่นภายใต้ความดันต่ำ ให้เหลือปริมาตรประมาณ 1 ใน 3 นำมาสกัดเอาสารปนเปื้อนที่มีขุ่นน้อยออก เช่น ไขมัน chlorophyll และ carotenoids โดยใช้ตัวทำละลายที่มีขุ่นน้อย เช่น hexane หรือ ether โดยวิธีการ partition สารสกัดด้วย hexane หรือ ether จะต้องตรวจสอบก่อนว่ามีสาร flavonoids อยู่หรือไม่ ก่อนที่จะทิ้งไป วิธีการสกัดนี้ใช้ได้กับ flavonoids เกือบทุกชนิด ยกเว้น anthocyanins และ flavonoids ที่มีขุ่นน้อย การสกัด anthocyanins ต้องใช้พืชสดและนำมาปั่นด้วย 1 เปอร์เซ็นต์ HCl ใน methanol ส่วน flavonoids ที่มีขุ่นน้อย นิยมสกัดด้วยตัวทำละลาย hexane หรือ ether แล้วจึงแยกต่อด้วยวิธีทาง chromatography

การตรวจสอบสารฟลาโวนอยด์

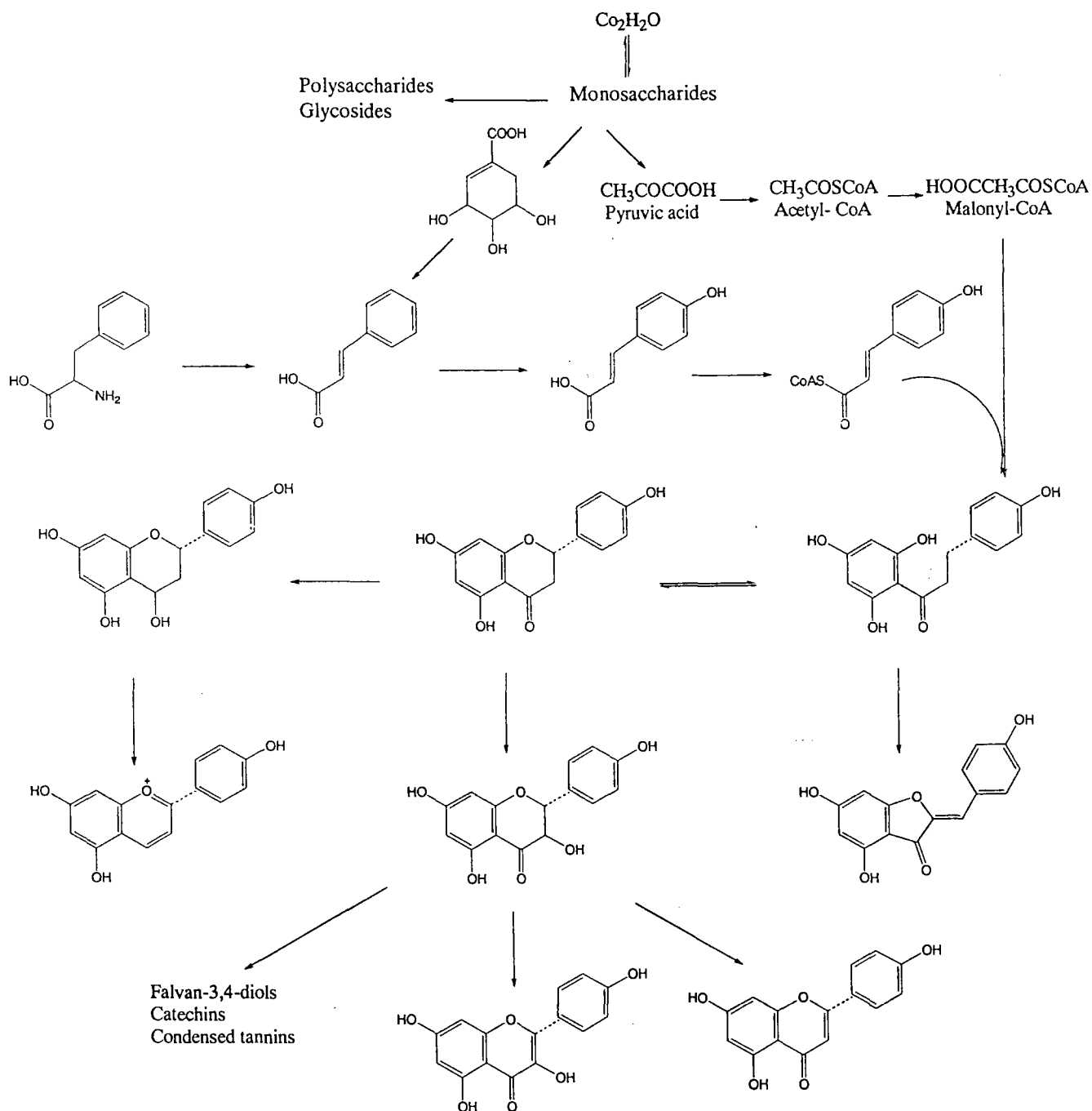
นิยมใช้ Shinoda's test ซึ่งเป็นการตรวจสอบ benzo- γ -pyrone nucleus วิธีการตรวจสอบทำโดยนำสารสกัดพืชที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์มาเติม magnesium ribbon ชิ้นเล็ก ๆ ลงไป 2-3 ชิ้น แล้วหยด HCl 3-4 หยด ดูสีที่เกิดขึ้นภายใน 1-2 นาที การเปลี่ยนแปลงนี้เกิดจากปฏิกิริยา reduction ตรงหมู่ carbonyl ทำให้เกิดเป็นโครงสร้างที่มีลักษณะคล้ายกับโครงสร้างของ anthocyanins



การตรวจสอบด้วยวิธีอื่น ๆ ได้แก่ การสังเกตสีภายใต้แสง UV การอ้งไอ แอมโมเนียแล้วสังเกตสีภายใต้แสง UV และการใช้น้ำยาฟ่นตรวจสอบ (spraying reagent) ตัวอย่าง เช่น เมื่อตรวจสอบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ภายใต้แสง UV ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร เห็นเป็นสีม่วง และเมื่ออ้งไอ ammonia ได้สีเหลืองหรือเหลืองอมเขียว อาจอนุมานได้ว่าเป็นสารกลุ่ม flavone หรือ flavonol ที่มี hydroxy group ที่ตำแหน่งที่ 5 แต่ถ้าดูภายใต้ UV ได้สีฟ้า แล้วอ้งไอ ammonia ได้สีเหลืองอมเขียวหรือฟ้าอมเขียว อาจสรุปได้ว่าเป็น flavone หรือ flavanone ที่ไม่มี hydroxy group ที่ตำแหน่งที่ 5

ชีวสังเคราะห์ของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์

มีชีวสังเคราะห์จาก mixed biosynthesis คือ polyketide pathway และ shikimate pathway สารชนิดแรกในวิถีชีวสังเคราะห์นี้คือ chalcone แสดงดังภาพประกอบ 17



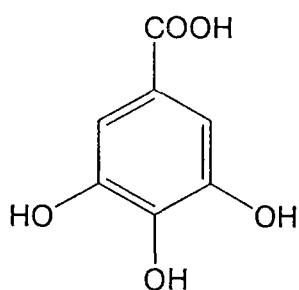
ภาพประกอบ 17 แสดงชีวสังเคราะห์ของฟลาโวนอยด์

5.3 แทนนิน (Tannins)

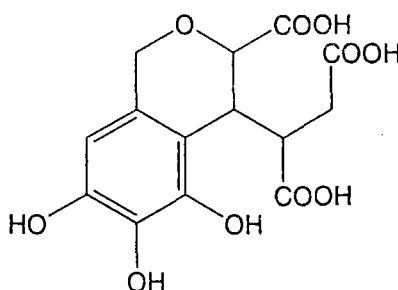
แทนนินเป็นสารจำพวก phenolic compounds ที่มีโครงสร้างซับซ้อน พบได้เฉพาะในพืช คำว่าแทนนินหมายถึงสารจากพืชที่สามารถเข้ารวมตัวกับโปรตีนของหนังสัตว์ (animal hide) ทำให้ไม่เกิดการเน่าเปื่อยตามธรรมชาติ จึงนำมาใช้ทำผลิตภัณฑ์เครื่องหนัง ดังนั้นแทนนินจึงไม่รวมไปถึง phenolic compounds อื่น ๆ ที่ให้ปฏิกิริยาบางอย่างของแทนนิน ซึ่งสารเหล่านี้มักมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ เช่น gallic acid, catechin และ chebulic acid เป็นต้น เรียกโดยรวมว่า pseudotannin ส่วน true tannin จะมีน้ำหนักโมเลกุลตั้งแต่ 1,000-5,000 แทนนินอาจมีน้ำตาลมาเชื่อมอยู่ในรูปของ glycoside ได้

การแบ่งกลุ่มของแทนนิน

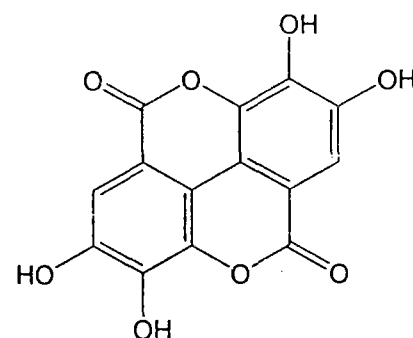
1) Hydrolysable tannins



gallic acid



chebulic acid



ellagic acid

คุณสมบัติของ hydrolysable tannins

- hydrolysable tannins สามารถถูก hydrolyse โดยกรดหรือน้ำย่อย เช่น tannase
- เมื่อทำปฏิกิริยากับ iron salts จะได้สารละลายสีฟ้า หรือน้ำเงิน เช่นเดียวกับ gallic acid
- เมื่อนำมากลั่นแห้ง (dry distillation) จะได้ pyrogallol

การสกัดสารกลุ่มแทนนิน

แทนนินเป็นสารที่ละลายน้ำ แต่อาจจะได้เป็น colloical solution มีฤทธิ์เป็นกรด สามารถละลายได้ในสารละลายต่างเจือจาง, alcohol, glycerol และ acetone ละลายได้น้อยใน organic solvent อื่น ๆ ดังนั้นในการสกัดสารกลุ่มแทนนินจึงนิยมสกัดพืชด้วย alcohol หรือนำมาต้มกับน้ำ แล้วจึงนำไปทดสอบกลุ่มของแทนนิน

การตรวจสอบสารกลุ่มแทนนิน

- 1) All tannins + gelatin
+ alkaloidal solution
+ heavy metal ion solution
+ albumin
+ starch

ผลบวกจะเกิดการตกตะกอน

- 2) All tannins + potassium ferricyanide TS. + NH_4OH

ผลบวกจะเกิดสารประกอบเชิงซ้อนสีแดง

- 3) Hydrolysable tannins + Ferric chloride solution $\rightarrow$ ตะกอนสีน้ำเงิน-ดำ

Condensed tannins + Ferric chloride solution $\rightarrow$ ตะกอนสีเขียว-น้ำตาล

การทดสอบนี้จะได้ผลบวกกับสารพวก polyphenolic compound อื่น ๆ ด้วย

- 4) Hydrolysable tannins + Br_2 water $\rightarrow$ ไม่เกิดการตกตะกอน

Condensed tannins + Br_2 water $\rightarrow$ เกิดการตกตะกอน

- 5) Hydrolysable tannins + lime water $\rightarrow$ ตะกอนสีน้ำเงินอมเทา

- 6) Condensed tannins + 40% formaldehyde + dil. HCl $\rightarrow$ ตะกอนสีแดง

- 7) Condensed tannins + vanillin solution + HCl $\rightarrow$ สารสีแดงเลือนตก

- 8) True tannins + Goldbeater's skin test $\rightarrow$ สีน้ำตาล

แหล่งของแทนนินในธรรมชาติ

- 1) Hydrolysable tannins

Gallotannins : Rhubarb, Clove, Red rose petal, Chinese Galls, Turkish Galls

Ellagitannins : Pomegranate, Myrobalans, Eucalyptus leaves, Chestnut, Oak bark

2) Condensed tannins

เปลือก : Cinnamon, Wild Cherry, Willow, Acacia, Oak, Hamamelis

รากและเหง้า : Male Fern

เมล็ด : Cocoa, Guarana, Kola, Areca

ใบ : Hamamelis, Tea

สารสกัด : Catechu, Acacia

3) Pseudotannins

Gallic acid : Rhubarb

Catechin : Acacia, Cocoa, Guarana

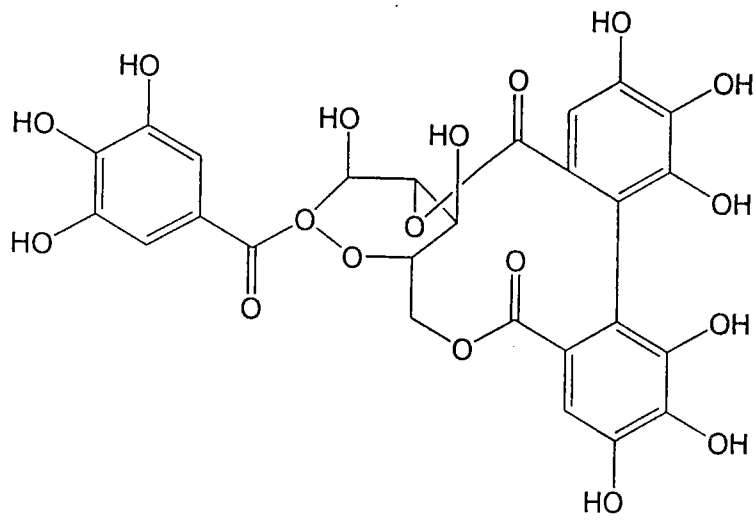
Chlorogenic acid : Mate, Coffee, Nux Vomica

Ipecacuanhic acid : Ipecacuanha

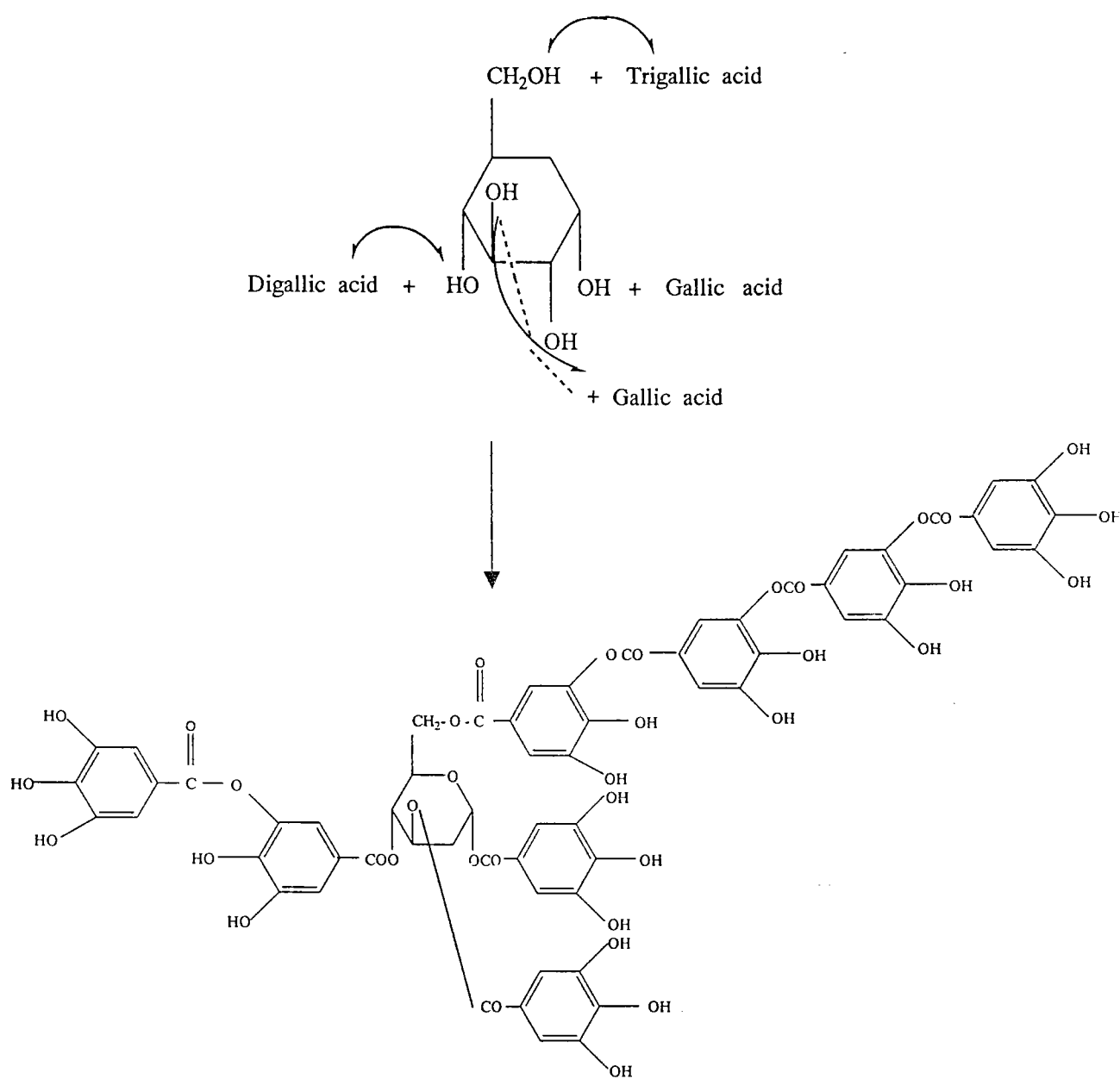
ประโยชน์ของแทนนิน

แทนนินมีรสฝาด จึงใช้เป็นยาฝาดสมาน (astringent) ในตำรายาแผนโบราณจะรวมสมุนไพรที่มีแทนนินไว้ในตำรายาที่ใช้แก้ท้องเสีย และเนื่องจากแทนนินสามารถตกตะกอนโปรตีน จึงนำมาใช้ในอุตสาหกรรมฟอกหนัง ใช้ในอุตสาหกรรมเบียร์, น้ำหมัก, สีย้อม, กระดาษ และผ้าไหม ใช้เป็น antidote ของโลหะหนักและสารกลุ่ม alkaloids เป็นต้น ฤทธิ์ทางชีวภาพด้านอื่น ๆ ได้แก่ ulcer treatment, antimicrobial, antivenom, antineoplasm และ antihypertensive

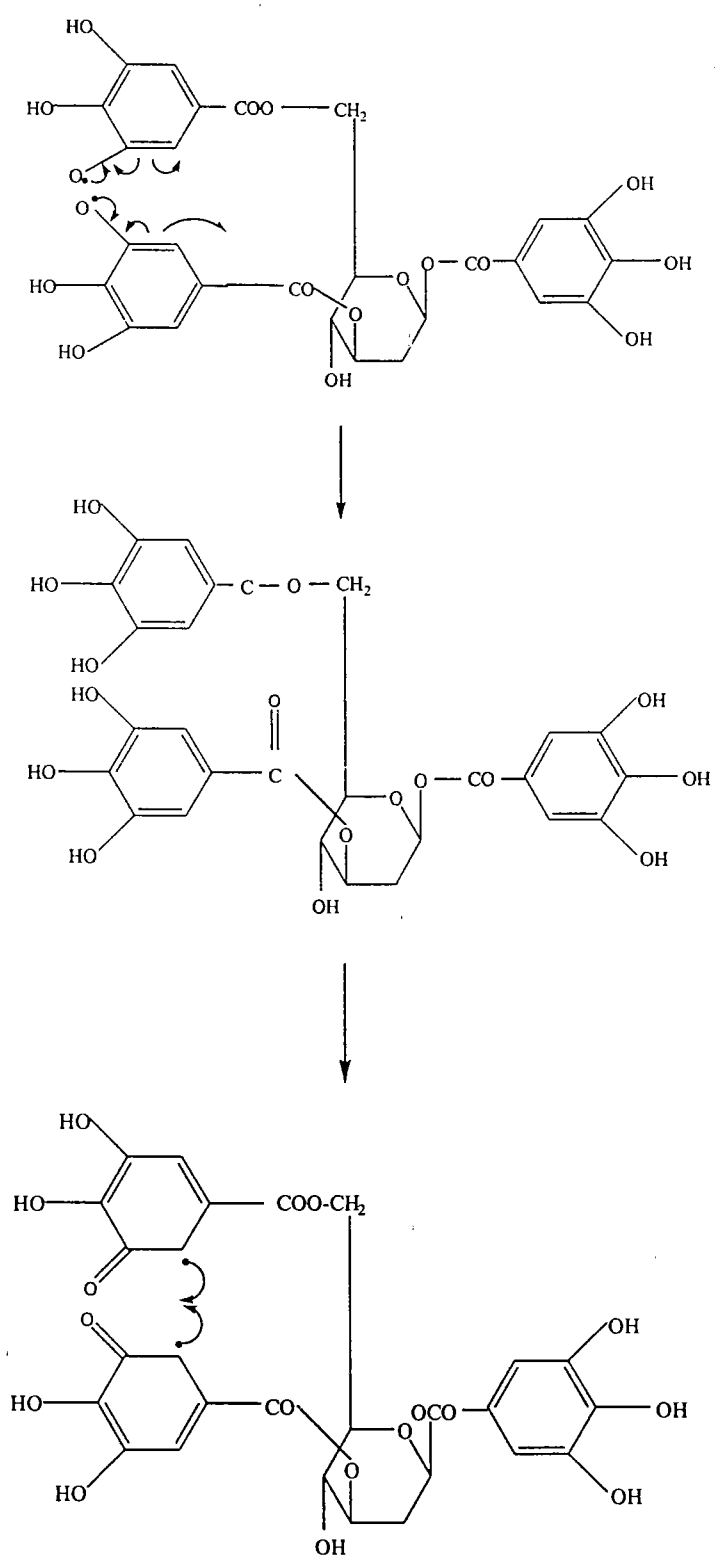
ในทางเภสัชกรรมนิยมใช้ tannic acid แต่งรสยาลดกรดและช่วยลดกรดได้ด้วย ในยาเตรียมที่ต้องการฤทธิ์ haemostatic และ anti-inflammatory เช่นในน้ำยาบ้วนปาก (mouthwash) และยาเตรียมรักษาแผลและอาการอักเสบของผิวหนังและเยื่อผิวหนัง เช่น แผลจากไฟไหม้ (burns) จะมีแทนนินเป็นส่วนประกอบประมาณ 0.5-2 เปอร์เซ็นต์ สำหรับความเป็นพิษพบว่า แทนนินอาจก่อให้เกิดมะเร็งได้ จึงไม่ควรใช้แทนนินเป็นประจำ นอกจากนี้พบว่าเมื่อให้ tannic acid ในสัตว์ทดลองติดต่อกันเป็นเวลานานจะทำให้เกิด focal coagulative necrosis ที่กล้ามเนื้อหัวใจ



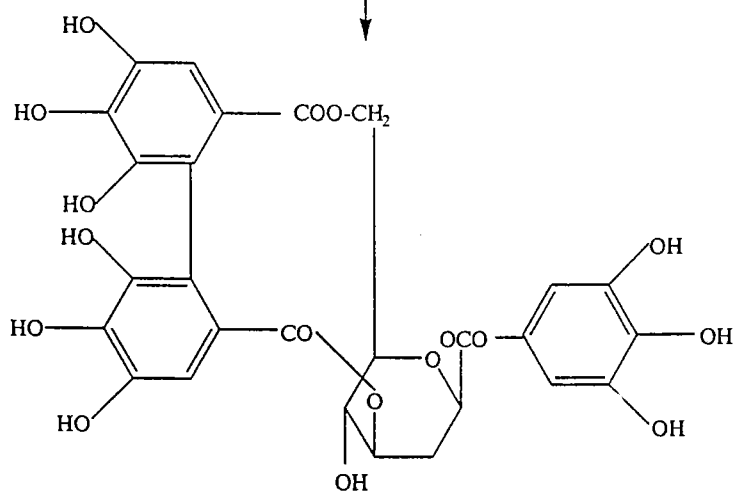
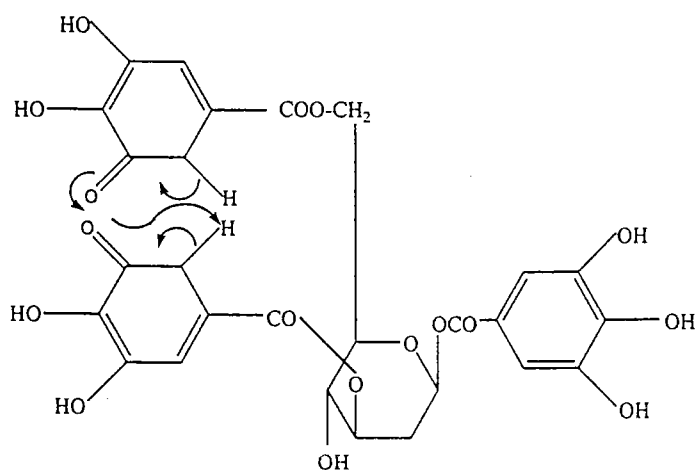
คอร์ลาจินซึ่งเป็นกรดแทนนิกจากเปลือกไม้ไผ่



Turkish tannin



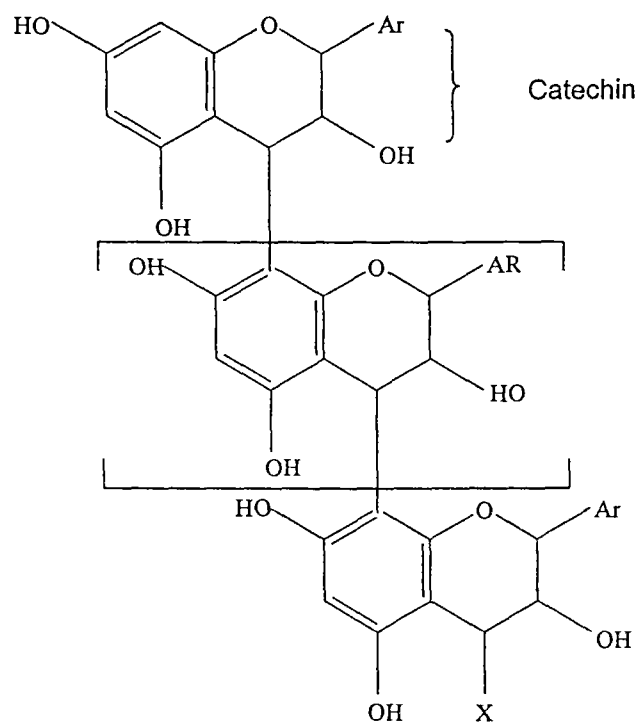
oxidative coupling of phenol



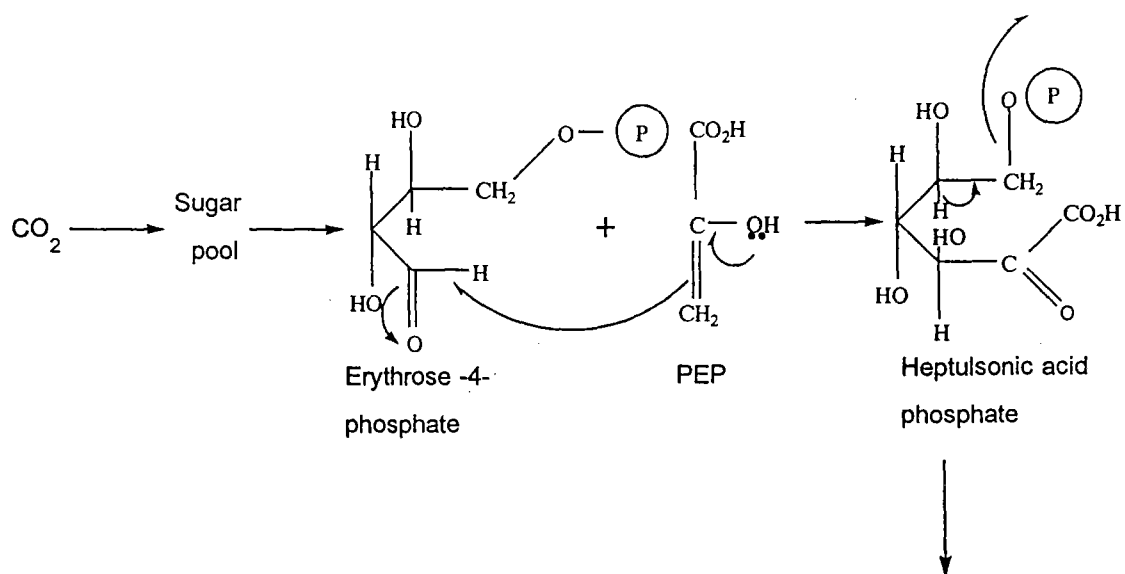
Corilagin

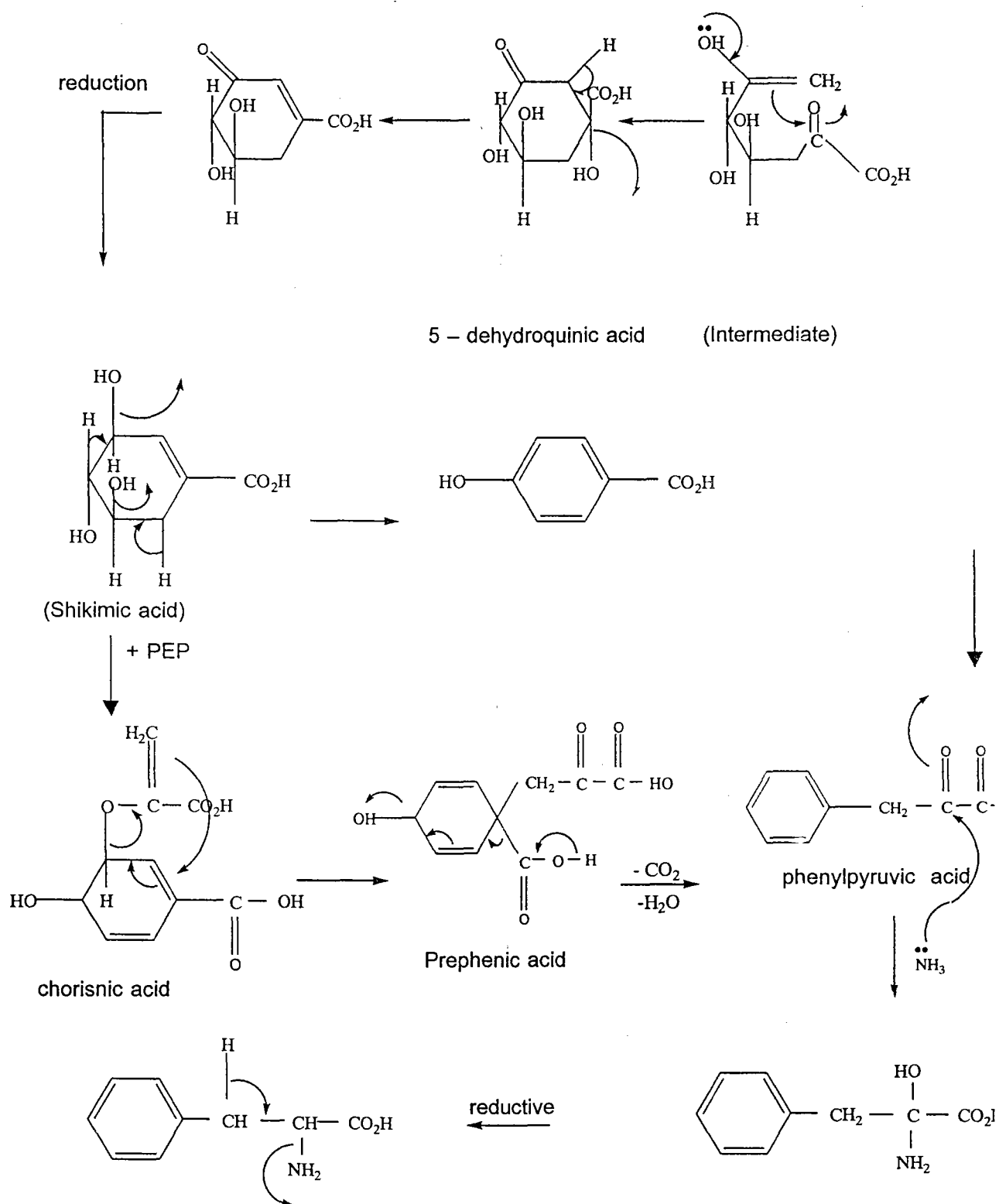
ภาพประกอบ 18 แสดงชีวสังเคราะห์ของ Hydrolysable tannin

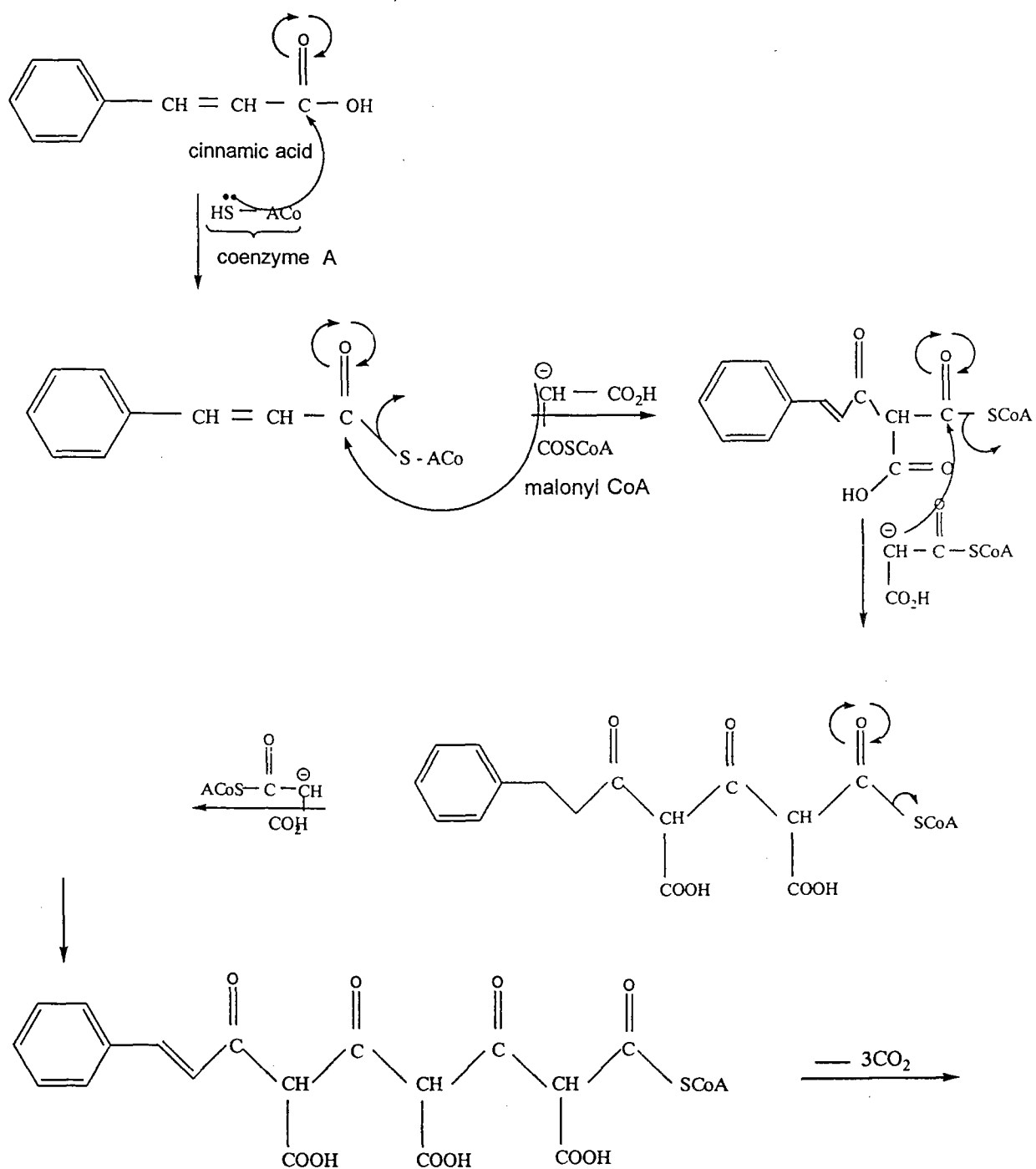
ชีวสังเคราะห์ของ Condensed tannin

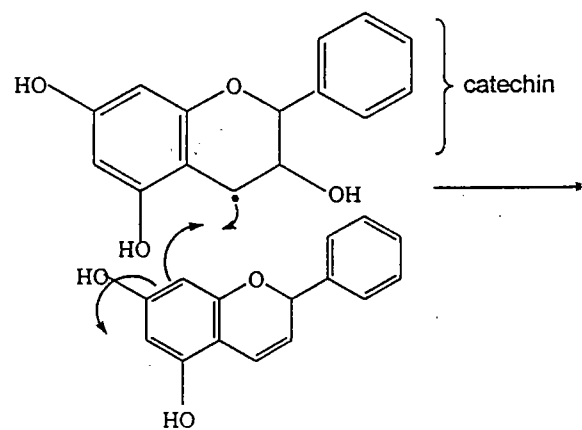
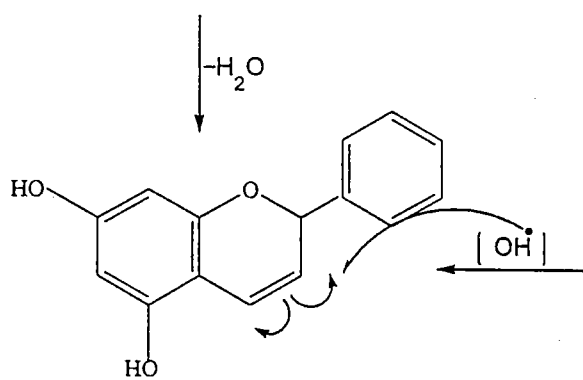
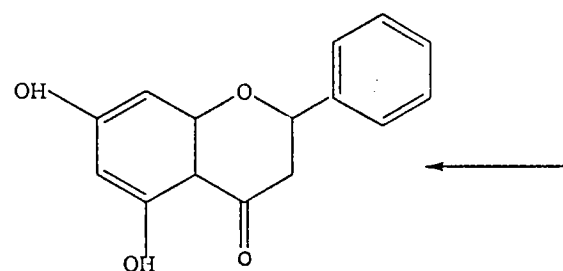
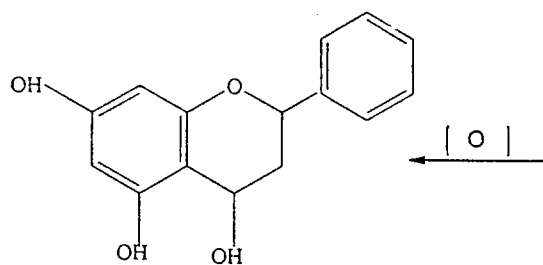
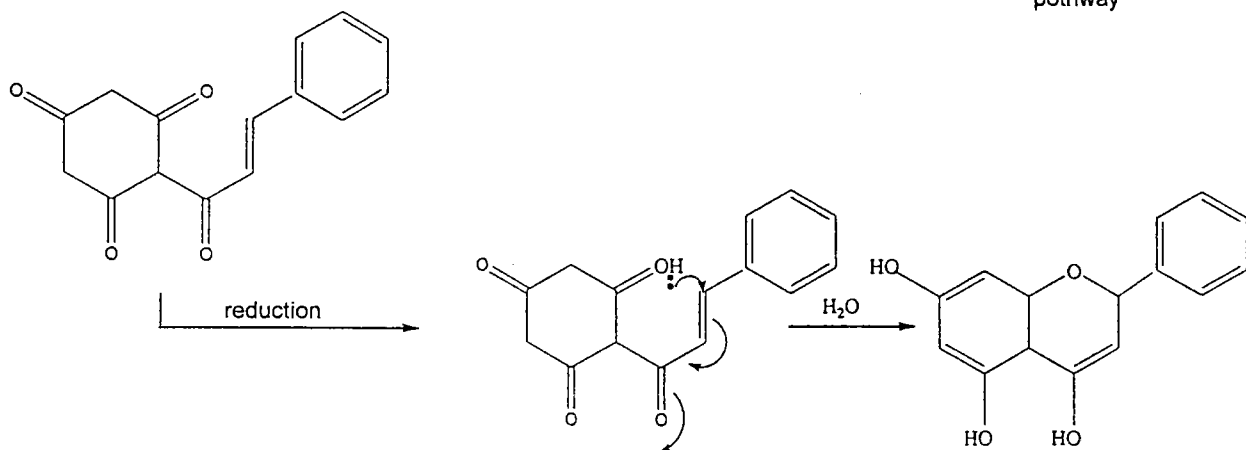
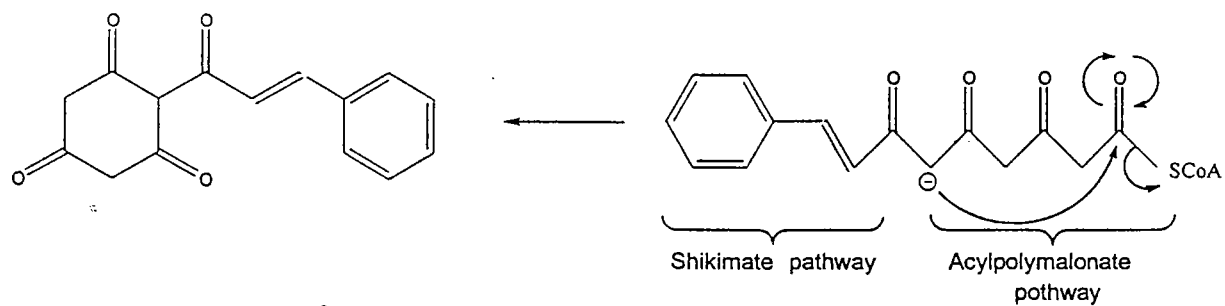


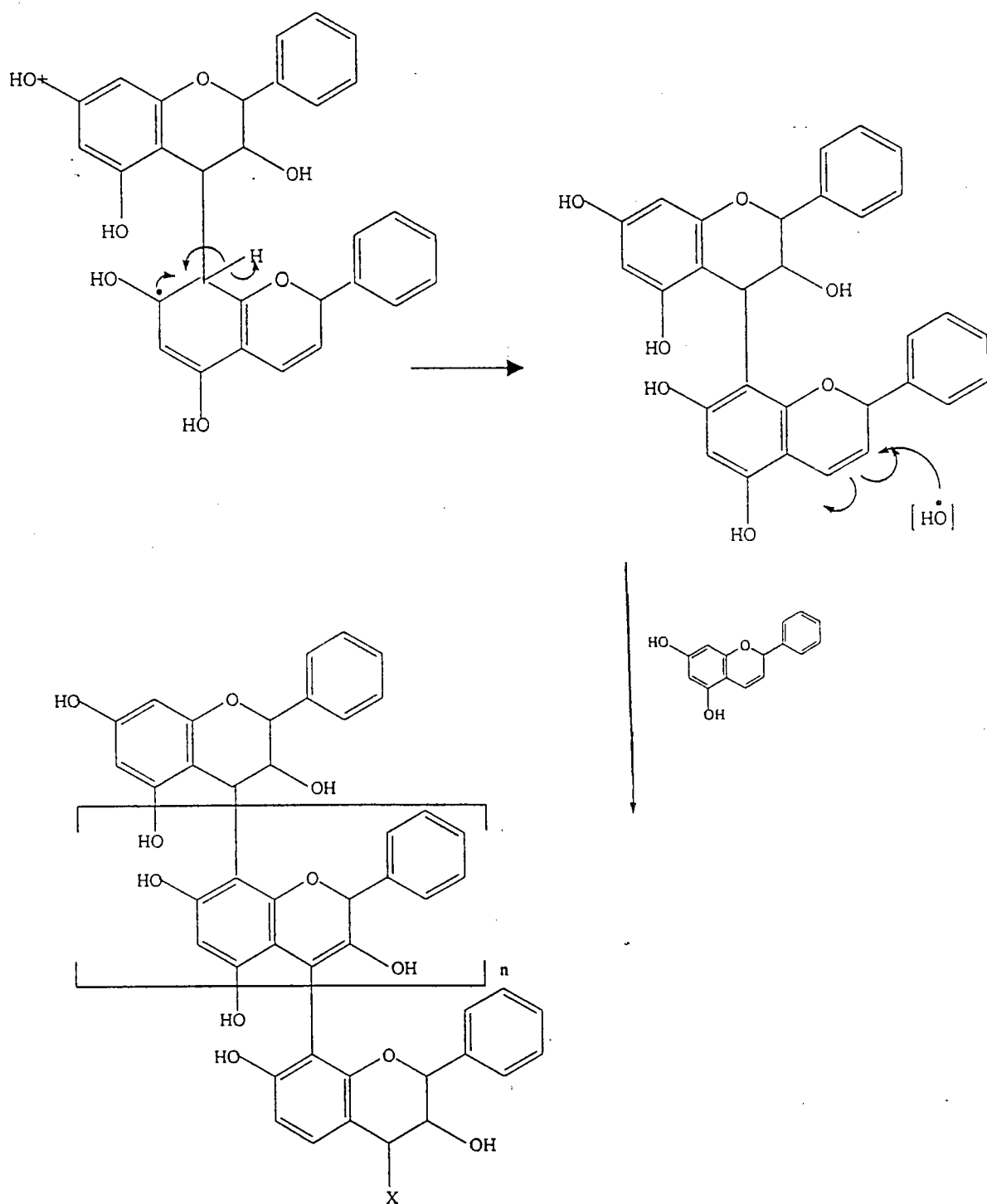
1) Shikimate pathway











ภาพประกอบ 19 แสดงชีวสังเคราะห์ของ Condensed tannin

5.4 ซาโปนิน (Saponins)

saponins เป็นสารประกอบพวก glycosides ซึ่งละลายน้ำได้ พบกระจายทั่วไปในพืชชั้นสูงและสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในทะเล saponins เป็นสารประกอบโมเลกุลใหญ่ เมื่อถูก hydrolyse ด้วยกรดจะได้ส่วน aglycone หรือ genin ซึ่งเรียกว่า sapogenin และส่วนน้ำตาลซึ่งอาจพบในรูป uronic acid หรือ normal sugar saponins ส่วนใหญ่จะมีรสเผ็ด ขม หรือเฝื่อน แต่บางชนิดมีรสหวาน เช่นที่พบในชะเอมเทศ

สารกลุ่มซาโปนินมีคุณสมบัติที่สำคัญ 2 ประการ คือ

1) ลดแรงตึงผิวของน้ำ เมื่อนำ saponins มาละลายน้ำแล้วเขย่าจะเกิดฟอง คุณสมบัตินี้เป็นที่รู้จักและใช้ประโยชน์กันมาแต่โบราณ โดยใช้เป็นสารซักฟอก (detergent) เช่น ลูกประคำดีควาย (Soap nut) *Sapindus rarak* A.DC. วงศ์ Sapindaceae และ Soapdark *Quillaja saponaria* Molina วงศ์ Rosaceae

2) ทำให้เม็ดเลือดแดงแตก (haemolysis) ดังนั้นจะเกิดความเป็นพิษได้ถ้ามี saponins เข้าสู่กระแสเลือด ซึ่งอาจทำให้ตายได้ถ้ามีปริมาณ 0.5-3 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม

ฤทธิ์และการนำไปใช้ประโยชน์

1) สารละลายความเข้มข้นน้อย ๆ สามารถทำให้เหงือกของปลาไม่ทำงาน จึงมีการใช้ซาโปนินบางชนิดเป็นยาเบื่อปลา

2) เมื่อรับประทานเข้าไปในปริมาณมาก ๆ จะทำให้ระคายเคืองต่อเยื่อบุทางเดินอาหารทำให้คลื่นไส้ อาเจียน

3) ช่วยเพิ่มการดูดซึมของตัวยาอื่น ๆ เช่น alkaloids, glycosides และเกลือแร่บางชนิด

4) กระตุ้นให้การทำงานของ ciliary epithelium เพิ่มมากขึ้น และเป็น secretolytic ทำให้มีฤทธิ์ในการขับเสมหะ

5) มีฤทธิ์เป็น antiinflammation และลด capillary permeability

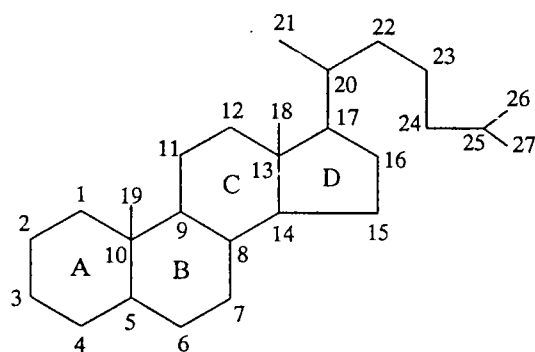
6) ใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ steroid hormones

7) บางชนิดใช้ยาฆ่าแมลง (insecticide) และยาฆ่าหอย (molluscicide)

ชนิดของซาโปนิน

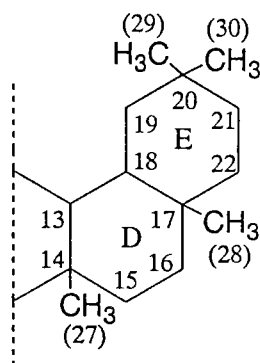
ซาโปนิน แบ่งได้เป็น 2 ชนิด ตามลักษณะโครงสร้างของ aglycones ได้แก่

1) Steroidal saponins มี sapogenin เป็นสารจำพวก steroids



steroid skeleton

2) Triterpenoid saponins มี sapogenin เป็นสารจำพวก triterpenoids



triterpenoid skeleton

Steroidal saponins

ส่วนใหญ่ที่พบมักจะมีสูตรโครงสร้างเป็น 6 ring ซึ่งเรียกโครงสร้างดังกล่าวว่า spiroketal steroid nucleus ซาโปนินชนิดนี้พบได้น้อยในธรรมชาติ มักจะพบในพืชใบเลี้ยงเดี่ยว เช่น พืชวงศ์ Dioscoreaceae (Genus *Dioscorea*), Amaryllidaceae (genus *Agave*) และ Liliaceae (genus *Yucca* และ *Trillium*) ในธรรมชาติ steroidal saponins ทุกตัวจะพบในรูป กลัยโคไซด์ (แต่ triterpenoid saponins จะพบทั้งในรูปกลัยโคไซด์ และ free triterpenes), steroidal saponins มักเป็นที่สนใจของนักวิทยาศาสตร์มากกว่า triterpenoid saponins เนื่องจากสูตรโครงสร้างของ steroidal sapogenin มีความสัมพันธ์กับสารจำพวก sex hormones, cortisone และ cardiac glycosides จึงอาจใช้ steroidal sapogenins เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ steroid hormones ซึ่งจะช่วยประหยัดค่าใช้จ่าย และเวลาในการสังเคราะห์สารเหล่านี้ได้มาก ตัวอย่างของ steroidal sapogenins ได้แก่ diosgenin พบใน *Dioscorea* spp., digitogenin พบใน *Digitalis purpurea*, hecogenin พบใน *Agave* spp., yamogenin พบใน *Dioscorea* spp., sarsapogenin

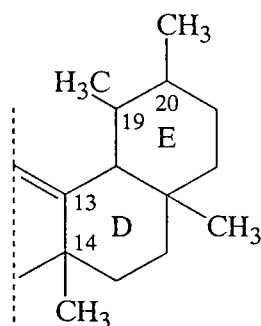
พบใน *Yucca* spp. และ *Smilax* spp. และ sarmentogenin พบได้ใน *Strophanthus* spp. เป็นต้น

Triterpenoid saponins

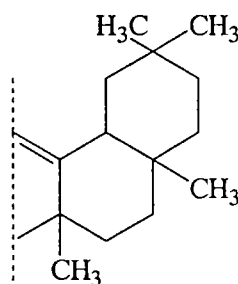
ส่วนใหญ่พบเป็น pentacyclic rings ในธรรมชาติ พบทั้งในรูปกลัยโคไซด์ และรูป sapogenin อิสระ พบได้น้อยในพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ส่วนมากพบในพืชใบเลี้ยงคู่ โดยเฉพาะในพืชวงศ์ Caryophyllaceae, Sapindaceae, Polygonaceae และ Sapotaceae., triterpenoid saponins อาจแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม ตามชนิดของ sapogenin ดังนี้

1) α -amyrin type (ursane triterpenoid type)

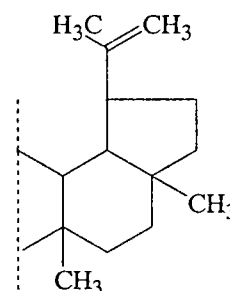
2) β -amyrin type (oleanane triterpenoid type)



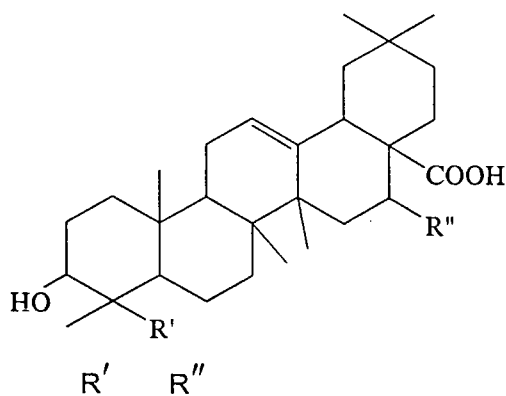
α -amyrin



β -amyrin



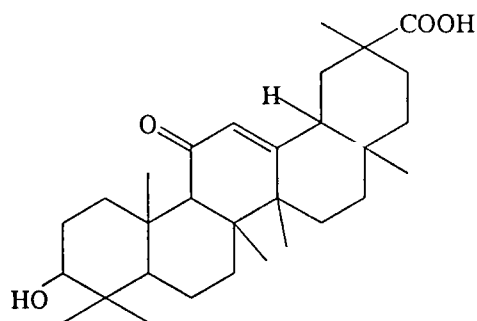
lupeol



R' R''

oleanolic acid CH₃ H

quillaic acid CHO OH



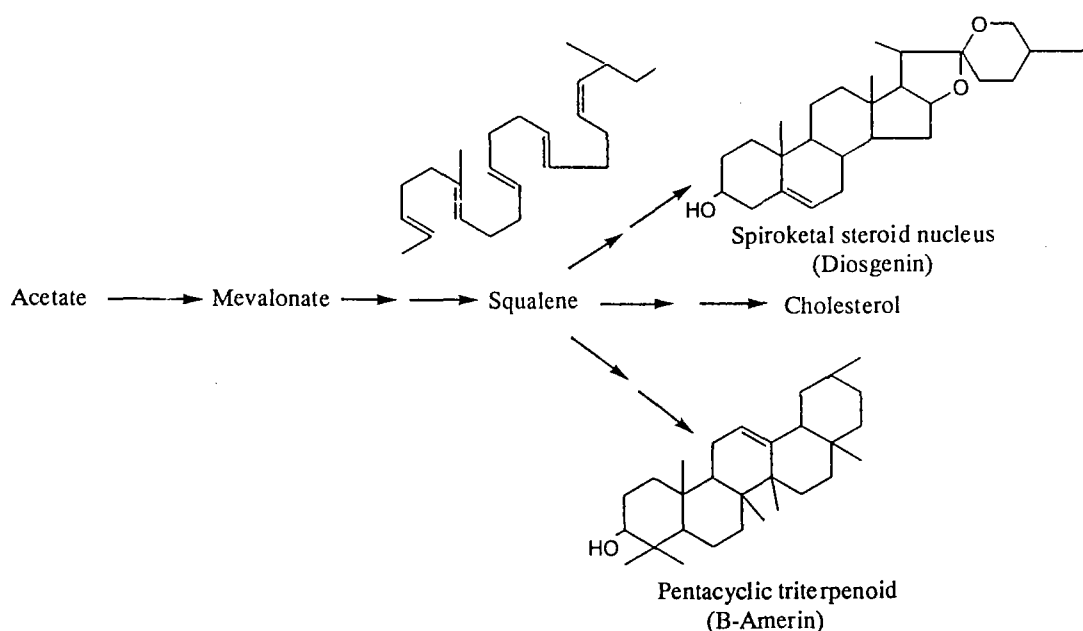
glycyrrhetic acid

3) Lupeol type (lupane triterpenoid type)

Triterpenoid saponins ที่พบมากจะเป็นแบบ β -amyrin type ตัวอย่างของ triterpenoid saponins และ sapogenins ได้แก่ glycyrrhizic acid (glycyrrhetic acid + 2 glucuronic acid) พบในรากชะเอม (*Glycyrrhiza glabra* Linn. var. *Glandulifera* Wald et. Kit.), oleanolic acid พบในดอกตูมของกานพลู, quillaia saponin (quillaiac acid + glucuronic acid) พบใน soap bark (*Quillaja saponaria*) วงศ์ Rutaceae

ชีวสังเคราะห์ของซาโปนิน

ทั้ง steroid และ triterpenoid sapogenins มีชีวสังเคราะห์คล้ายกัน คือเกิดจากการจับกันแบบ head-to-tail ของ acetate units ผ่าน mevalonic acid และ squalene แสดงดังภาพประกอบ 20



ภาพประกอบ 20 แสดงชีวสังเคราะห์ของ sapogenins

คุณสมบัติของซาโปนิน

ซาโปนินมีคุณสมบัติหลายประการซึ่งสามารถใช้เป็นหลักเบื้องต้นในการทดสอบซาโปนินในพืชได้ คุณสมบัติเหล่านี้ได้แก่

1) ทำให้เม็ดเลือดแดงแตกได้ (hemolysis) เมื่อฉีดสารเหล่านี้เข้ากระแสเลือดของคนหรือสัตว์จะมีพิษอย่างแรง แต่ถักรับประทานเข้าไปจะไม่เกิดพิษ นอกจากซาโปนินแล้ว สารอื่น ๆ ที่อาจทำให้เม็ดเลือดแดงแตกได้เช่นกันได้แก่ solanine alkaloid และ toxin จากพืชและสัตว์บางชนิด

2) เมื่อเขย่าแรง ๆ กับน้ำจะทำให้เกิดฟองรูปหกเหลี่ยม (honeycomb froth) ซึ่งอยู่ได้คงทนไม่น้อยกว่า 30 นาที สารอื่น ๆ ที่อาจทำให้เกิดฟองได้แก่ โปรตีน กรดในพืช (plant acids) บางชนิด แต่ฟองดังกล่าวไม่คงทน ถ้าเป็นฟองที่เกิดจากโปรตีน เมื่อต้มสารสกัดฟองจะสลายไป ถ้าเป็นฟองที่เกิดจากกรดในพืช ฟองดังกล่าวจะหายไป เมื่อเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตลงในสารสกัด ถ้าเป็นฟองที่เกิดจากสบู่ เมื่อเติมกรดลงไปฟองก็จะสลายไป

3) มีพิษต่อปลา เนื่องจากทำให้เกิด paralysis ที่เหงือกของปลา

คุณสมบัติดังกล่าวเป็นคุณสมบัติของซาโปนินกลับโคไซด์ แต่ sapogenins จะไม่มีคุณสมบัติเหล่านี้ การย่อยซาโปนินกลับโคไซด์อาจทำได้โดยใช้กรด หรือเอนไซม์ ซาโปนินเป็นสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง การแยกซาโปนินจากพืชให้บริสุทธิ์ทำได้ยาก ซาโปนินละลายได้ในน้ำและแอลกอฮอล์ แต่ไม่ละลายในอีเทอร์ จึงมักสกัดซาโปนินด้วยน้ำร้อน หรือ 80 เปอร์เซ็นต์ แอลกอฮอล์ และอาจตกผลึกโดยใช้อีเทอร์

ปฏิกิริยาที่ใช้ทดสอบเพื่อแยกว่าเป็น steroidal saponins หรือ triterpenoid saponins ทำได้โดยใช้ Liebermann Burchard (L-B) test โดยเติม 2-3 หยดของน้ำยา acetic anhydride-sulphuric acid mixture (19:1) ลงในสารสกัดที่ต้องการทดสอบซึ่งอยู่ในสภาวะที่ปราศจากน้ำ

ถ้าเป็น - steroidal sapogenin → สีน้ำเงินหรือสีน้ำเงินแกมเขียว

- triterpenoid sapogenin → แดงชมพูหรือม่วง

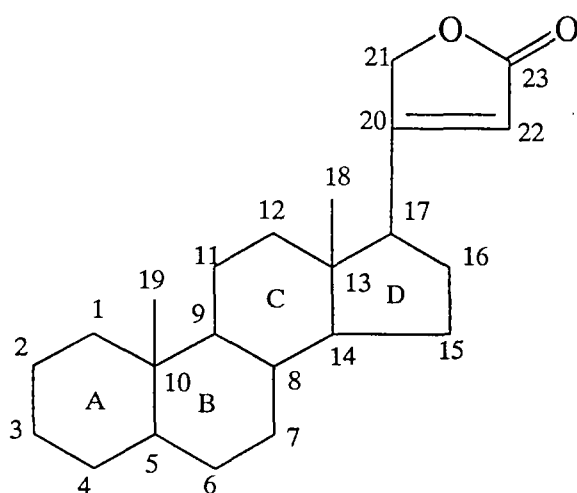
อย่างไรก็ตามการทำ L-B test โดยตรงกับผงยาหรือสารสกัดสีที่เกิดขึ้นอาจเปลี่ยนแปลงไปบ้างเนื่องจากมีสารอื่นปะปน

5.5 คาร์ดิแอกกลัยโคไซด์ (Cardiac glycosides)

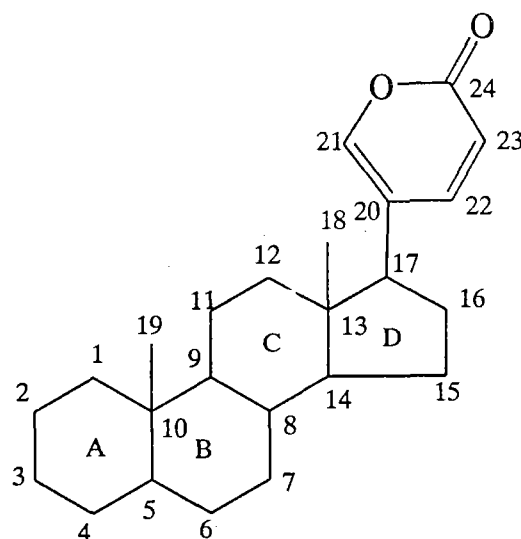
Cardiac glycosides เป็น glycoside ที่ออกฤทธิ์ต่อกล้ามเนื้อหัวใจโดยตรง โดยมีผลไปกระตุ้นการทำงานของกล้ามเนื้อหัวใจ ทำให้บีบตัวแรงขึ้น (positive inotropic effect) แต่จะดันข้างลง สารกลุ่มนี้มีความสำคัญทางการแพทย์ ใช้รักษาโรค congestive heart failure โดยมีการใช้มาตั้งแต่ปี ค.ศ.1785 ในตำรายาของตะวันตก มีการใช้ cardiac glycosides จากพืชในสกุล *Digitalis* หลายชนิด โดยเฉพาะ *Digitalis purpurea* (Foxglove) ซึ่งก่อนหน้านี้จะมีการรักษาโดยใช้รับประทานหนังกางคกที่ตากแห้งแล้วนำมาบดเป็นผง นอกจากนี้ยังมีการนำพืชที่มี cardiac glycosides มาใช้ทำนํ้ายาสำหรับลูกดอกอาบยาพิษร่วมกับสารพิษจากพืชชนิดอื่น ๆ สารในธรรมชาติที่ออกฤทธิ์ต่อหัวใจนอกจาก cardiac glycosides แล้ว ยังมีสารกลุ่ม alkaloids บางชนิด เช่น quinidine และ ajmaline ซึ่งนำมาใช้รักษาโรค cardiac arrhythmias

สูตรโครงสร้างของ cardiac glycosides

Cardiac glycosides มีโครงสร้างหลักเป็น steroid nucleus ซึ่งอาจเป็น C_{23} หรือ C_{24} steroidal glycosides โดยมีน้ำตาลมาเชื่อมต่อกับคาร์บอนตำแหน่งที่ 3 ของ nucleus ซึ่งจะเป็นชนิด O-glycoside เมื่อพิจารณาตามลักษณะของ aglycone สามารถแบ่งได้เป็น 2 แบบ คือ cardenolides และ bufadienolides (bufadienolides) ดังตัวอย่างในตาราง 7



cardenolide



bufadienolide

ตาราง 7 เจนินของคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์บางชนิด

Genins	Carbon ring numbering							
	1	3	5	10	11	12	14	16
<i>Cardenolides</i>								
digitoxigenin	OH	H	CH ₃			OH		
gitoxigenin	OH	H	CH ₃			OH	OH	
gitaloxigenin	OH	H	CH ₃			OH	OCHO	
digoxigenin	OH	H	CH ₃		OH	OH		
diginitoxigenin	OH		CH ₃		OH	OH	OH	
strophanthidin	OH	OH	CHO			OH		
ouabagenin		OH	OH	OH	CH ₂ OH	OH		OH
<i>Bufadienolides</i>								
scillarenin	OH	H	CH ₃			OH		
hellebrigenin	OH	OH	CHO			OH		

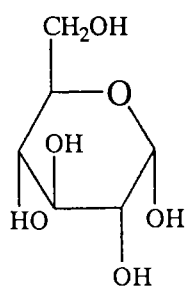
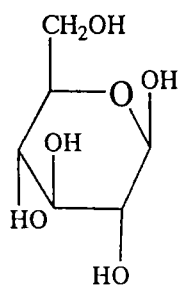
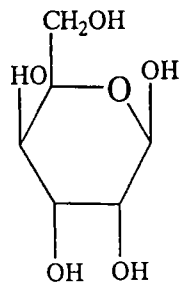
Stereochemistry มีความสำคัญต่อการออกฤทธิ์ ดังนี้

1) ตรงคาร์บอนตำแหน่งที่ 17 จะมี unsaturated lactone ring ซึ่งอาจเป็น 5-membered (cardenolides) หรือ 6-membered ring (bufadienolides) มาเชื่อมต่อด้วย β -linkage

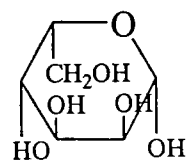
2) คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 และ 14 มีหมู่ hydroxy หรือน้ำตาลมาเชื่อม โดยมี β -orientation

3) ring A/B และ C/D เชื่อมต่อกันแบบ cis-configuration

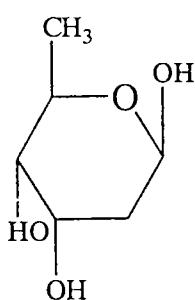
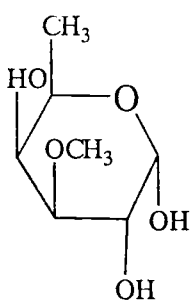
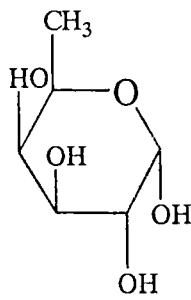
น้ำตาลเชื่อมต่อกับ aglycone ที่ C₃ ด้วย β -linkage น้ำตาลที่พบมีทั้ง normal sugar และ deoxy-sugar ซึ่งพบเฉพาะใน cardiac glycoside เท่านั้น อาจมีน้ำตาลมาเชื่อมต่อกับ aglycone 1-4 โมเลกุล

 α -D-glucose β -D-glucose

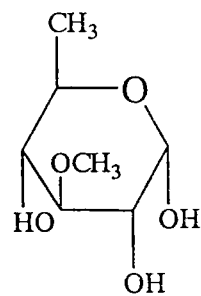
D-gulose



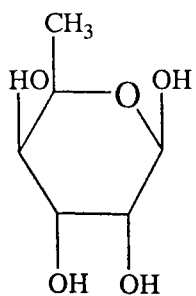
L-gulose

 α -D-digitoxose β -D-digitalose

D-fucose

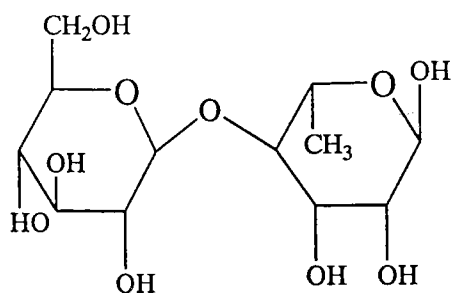


D-thevetose



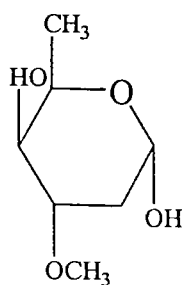
D-gulomethylose

(D-antiarose, 6-deoxy-D-gulose)

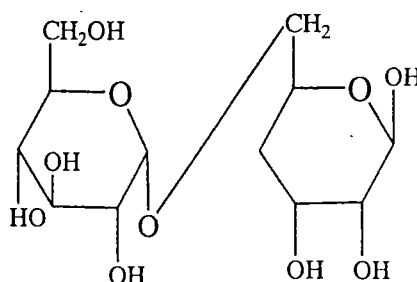


scillabiose

(4-O-D-glucopyranosyl-L-rhamnose)



D-sarmentose



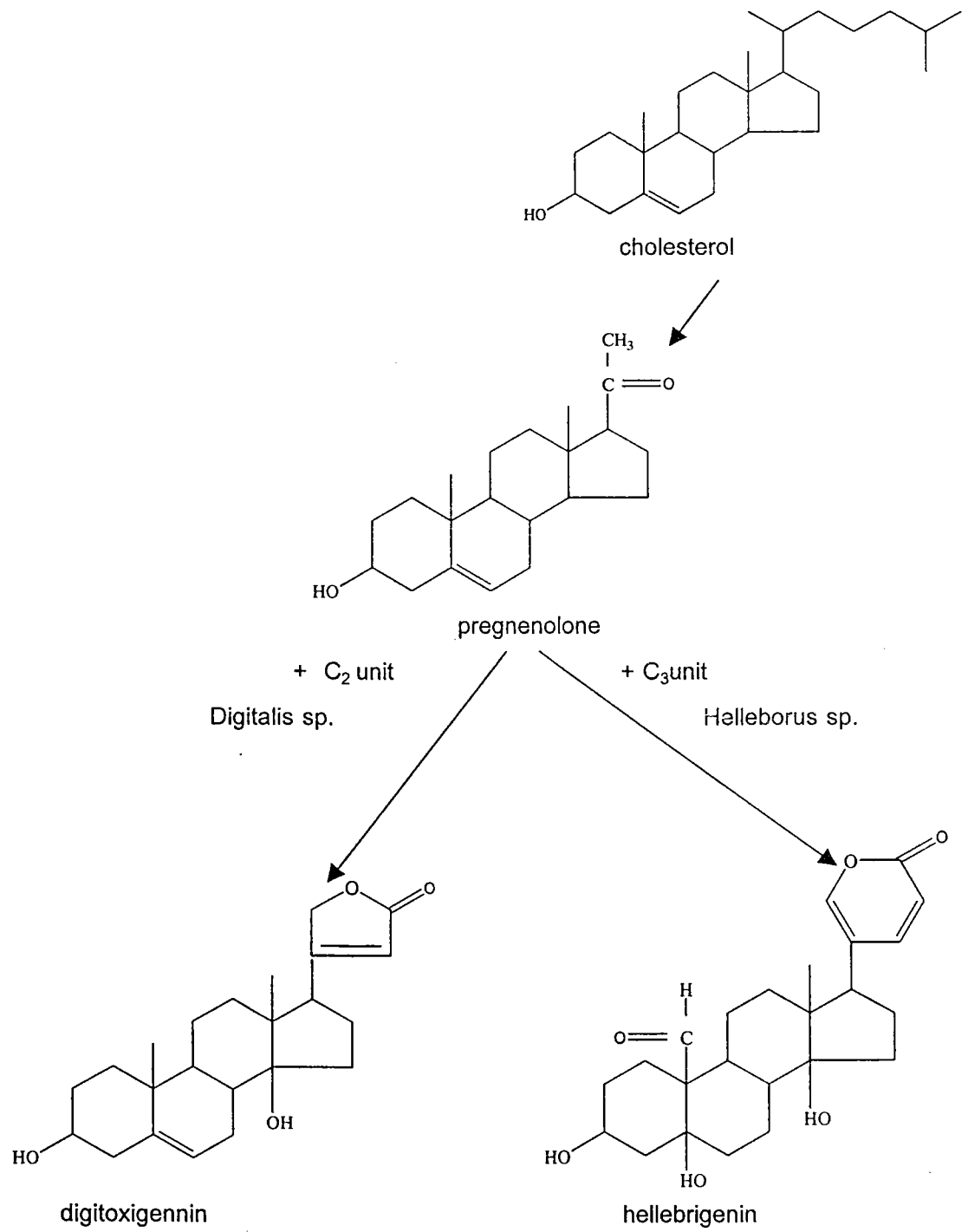
gentiobiose

(6-O-D-glucopyranosyl-D-glucose)

ชีวสังเคราะห์ของคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์

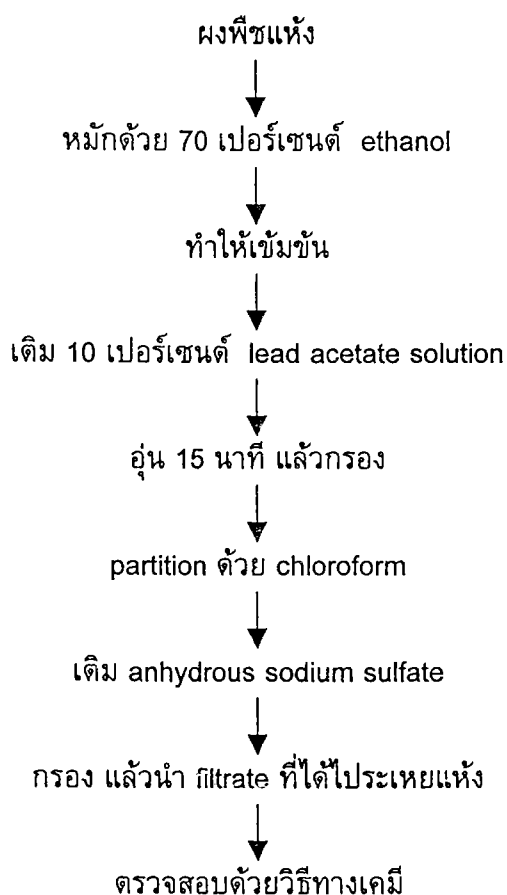
aglycones ของ cardiac glycosides มีชีวสังเคราะห์มาจาก mevalonic acid โดยเกิดการรวมตัวได้เป็น C_{21} steroid (pregnenolone) แล้วจึงมีการเชื่อมต่อด้วย C_2 และ C_3 unit ได้เป็น cardenolides และ bufadienolides ตามลำดับ แสดงดังภาพประกอบ 21

mevalonic acid $\longrightarrow$ farnesyl pyrophosphate $\longrightarrow$ squalene $\longrightarrow$ lanosterol



ภาพประกอบ 21 แสดงชีวสังเคราะห์ของคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์

การตรวจสอบคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์



ภาพประกอบ 22 แสดงการตรวจสอบ คาร์ดิแอกกลัยโคไซด์

เนื่องจากไม่มีน้ำยาเคมีที่ใช้ทดสอบสารกลุ่ม cardiac glycosides โดยเฉพาะ จึงมีการทดสอบโดยการตรวจสอบโครงสร้างในแต่ละส่วน ได้แก่ unsaturated lactone ring, steroid nucleus และ deoxy-sugar ซึ่งถ้าได้ผลบวกทุกการตรวจสอบ ก็จะสรุปได้ว่าอาจมีสารกลุ่ม cardiac glycosides อยู่ในตัวอย่างพืชนั้น

ปฏิกิริยาการเกิดสี (Color reaction test)

1) unsaturated lactone ring ใช้ Kedde's reagent ได้สีม่วง หรือ Raymond's reagent ได้สีน้ำเงิน

2) steroid nucleus ใช้ Lieberman-Burchard test จะเกิดสีต่าง ๆ จากสีชมพู เปลี่ยนเป็นสีแดง ม่วง สีนํ้าตาล และสีเขียว

3) deoxy-sugar ใช้ Keller-Kiliani test จะเกิดสีนํ้าตาลแดงตรงรอยต่อระหว่างชั้น ของของเหลว

ตาราง 8 แสดงส่วนประกอบของรีเอเจนต์ที่ใช้ทดสอบปฏิกิริยาการเกิดสีของ คาร์ดิแอกกลัยโคไซด์

รีเอเจนต์	ส่วนประกอบ
Kedde	3, 5-Dinitrobenzoic acid - alkali
Raymond	<i>m</i> -Dinitrobenzene - alkali
Kiliani	Ferric sulfate - sulfuric acid
Keller	Ferric chloride - acetic acid
Keller-Kiliani	Ferric chloride - sulfuric acid - acetic acid
Liebermann-Burchard	Acetic anhydride - sulfuric acid

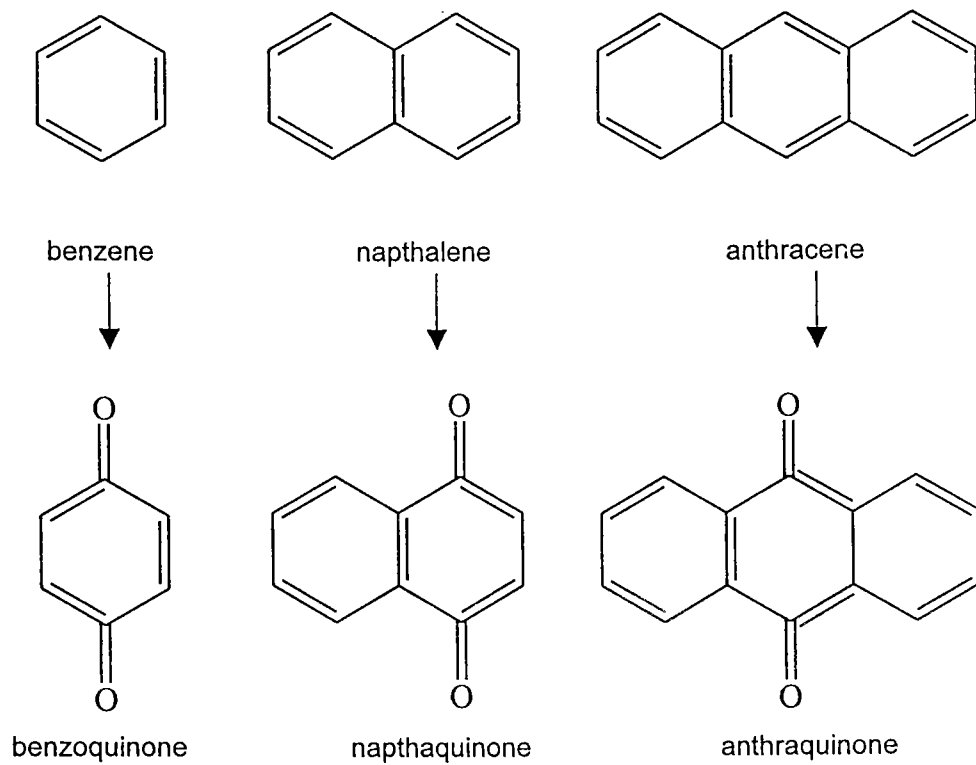
5.6 แอนทราควิโนน

สารจำพวก quinones เป็นสารมีสีที่พบในธรรมชาติ มีสีเหลือง ส้ม แดงเข้ม จนถึงเกือบดำ แต่ไม่ได้มีส่วนแต่งสีส่นให้กับธรรมชาติเหมือน pigments อื่น ๆ เช่น flavonoids หรือ anthocyanins สารประกอบ quinones มีโครงสร้างเป็น aromatic diketone ประกอบด้วย benzene ring ตั้งแต่ 1 ring ขึ้นไป และมีหมู่คีโตน 2 หมู่ อยู่ในตำแหน่ง para ซึ่งกันและกัน quinones พบในธรรมชาติทั้งในรูปแบบอิสระและในรูปแบบกลัยโคไซด์ซึ่งสามารถถูก hydrolysed ได้ด้วยการด่าง หรือเอนไซม์ สีของ quinones จะเปลี่ยนได้ตาม pH ในกรดสีของ quinones จะออกเหลืองหรือสีส้ม และจะเปลี่ยนไปทางสีแดงเมื่ออยู่ในด่าง

quinones ที่ใช้ประโยชน์ทางยาจะมีฤทธิ์ทางแก้โรคผิวหนัง กลาก เคลื่อน ใช้เป็นยาระบาย (laxative) และเป็นยาถ่าย (purgative)

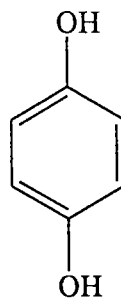
การแบ่งกลุ่มของ quinones

quinones แบ่งกลุ่มตามสูตรโครงสร้างได้เป็น benzoquinones, naphthaquinones และ anthraquinones และในโครงสร้างมักจะมี phenolic hydroxy group



1) Benzoquinones

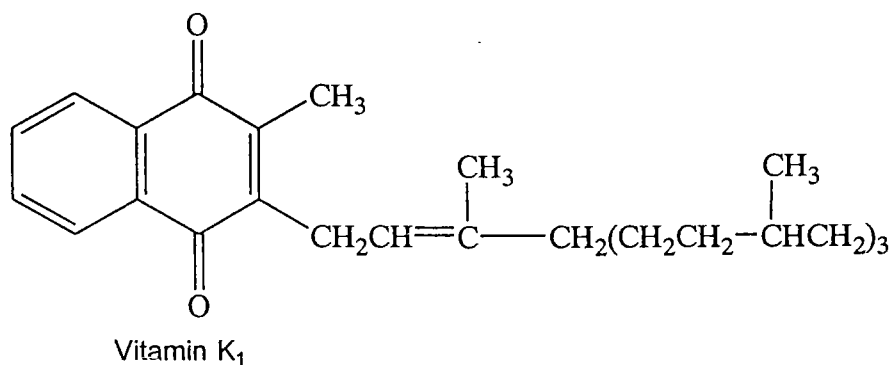
พบมากในราก ในรูป aglycone ในพืชชั้นสูงพบได้บ้างแต่มักจะพบในรูป reduced form ที่เรียกว่า hydroquinones



hydroquinones

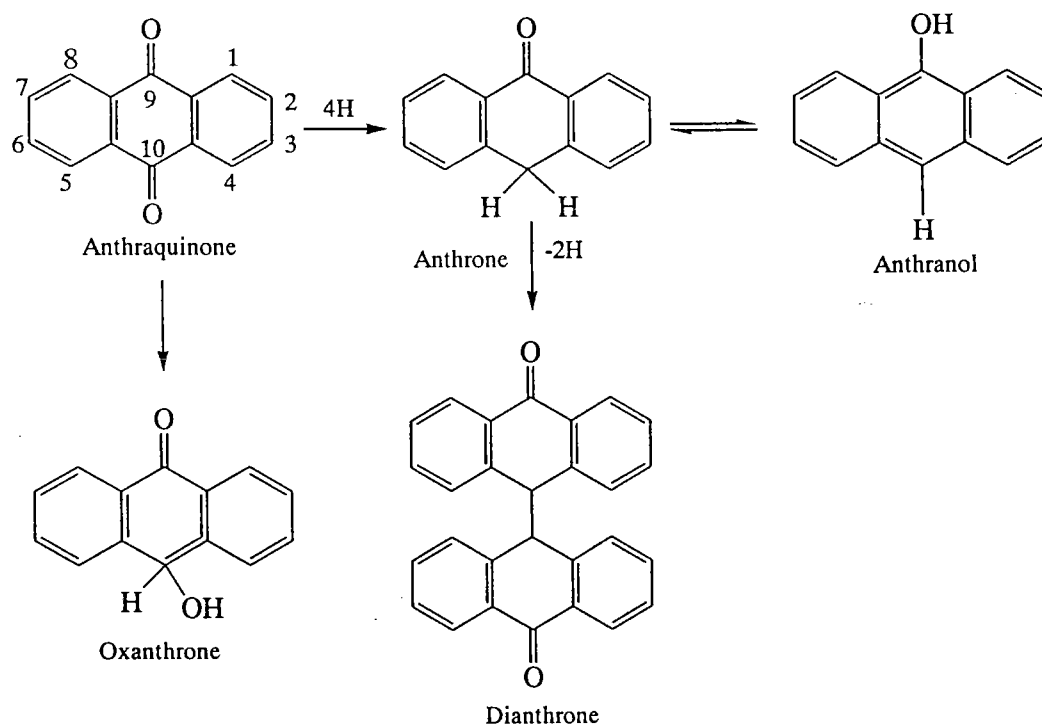
2) napthaquinones

มีสีเหลือง ส้ม พบในธรรมชาติทั้งในรูปแบบอิสระ และในรูปแบบกลัยโคไซด์ ที่พบมากได้แก่ vitamin K₁ ใน Chloroplast



3) Anthraquinones

เป็น quinones กลุ่มใหญ่ที่สุด มีการนำมาใช้ประโยชน์ทางยามากที่สุด ปกติมีสีแดงส้ม แต่บางทีอาจมีสีตั้งแต่เหลืองจนถึงน้ำตาลเกือบดำ พบในธรรมชาติทั้งในรูปแบบอิสระ และในรูปแบบกลัยโคไซด์ แต่ในธรรมชาติมักพบในรูปแบบกลัยโคไซด์ นอกจากนี้ยังพบในรูปแบบ reduced form ต่าง ๆ ได้แก่ anthrone, anthranol, oxanthrone และในรูปแบบ dimer เช่น dianthrone



เคมีของ Anthraquinones

Anthraquinones มีโครงสร้างพื้นฐานประกอบด้วย 3 วงแหวน (3-ring system) เป็นสารที่มีสีแดง-ส้ม แต่อาจจะพบได้ตั้งแต่สีเหลืองถึงสีน้ำตาล ส่วน aglycone ของ anthraquinones ละลายได้ดีในด่าง ให้สีชมพู-แดง ละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น benzene, ether และ chloroform anthraquinones เกือบทุกตัวจะมีจุดหลอมเหลวสูง และบางตัวยังสามารถระเหิดได้ด้วย anthraquinones ที่พบในพืชชั้นสูงส่วนใหญ่จะถูก hydroxylated ที่ C-1 และ C-2 ในธรรมชาติจะพบในรูป glycoside เป็นส่วนใหญ่และมักจะพบเป็นชนิด O-glycoside ส่วนน้อยพบเป็น C-glycoside เช่น aloin (barbaloin) น้ำตาลที่พบส่วนมากเป็น glucose, primeverose อาจพบ rhamnose ได้บ้าง anthraquinones glycosides ที่พบอาจมี aglycone เป็น reduced form ของ anthraquinones ได้

จากการศึกษาทางเภสัชวิทยาพบว่า free anthranol เป็นสารที่ออกฤทธิ์เป็นยาถ่ายหรือยาระบาย การที่ anthraquinones มีฤทธิ์เป็นยาระบายได้เนื่องจากถูก reduced ให้เป็น free anthranol โดยแบคทีเรียในลำไส้ anthraquinones ออกฤทธิ์เป็น stimulant cathartic โดยการเพิ่ม tone ของกล้ามเนื้อ เนื้อเรียบที่ผนังลำไส้ใหญ่

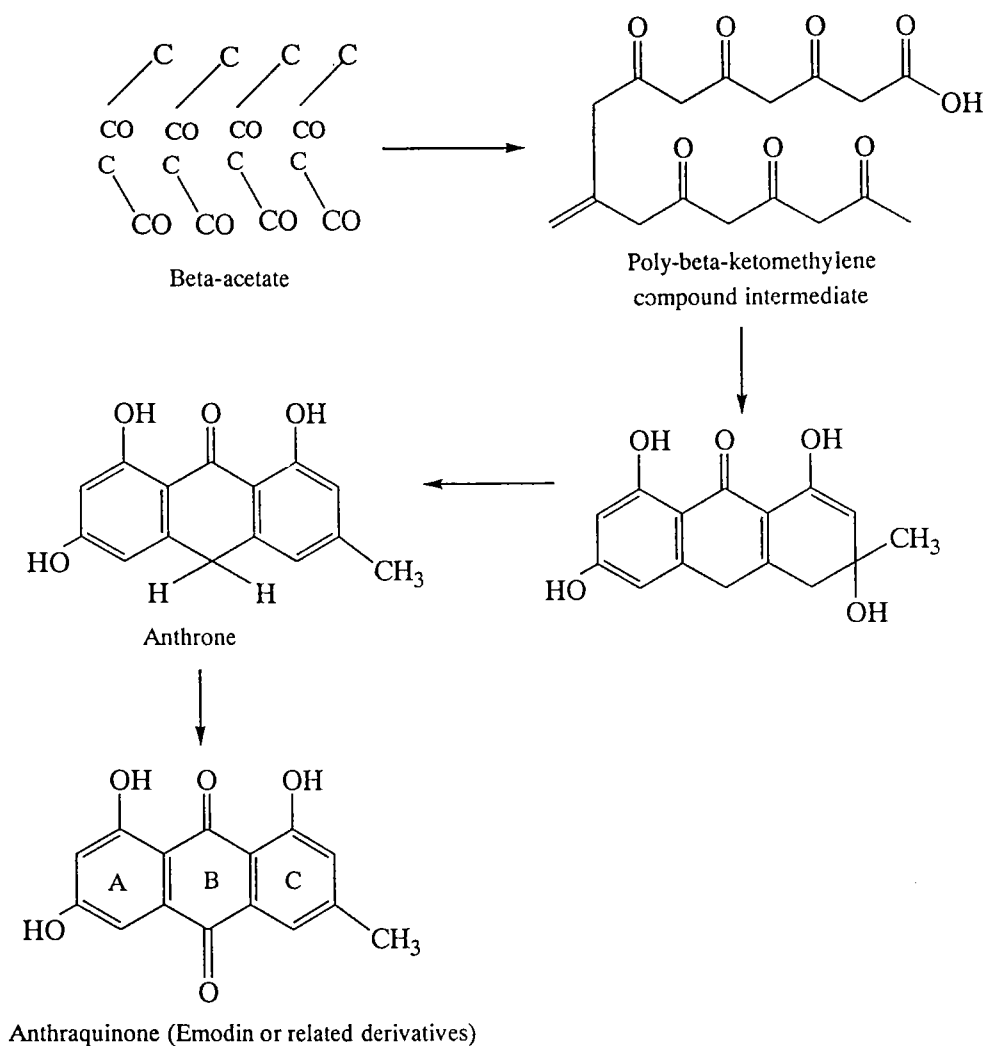
ชีวสังเคราะห์ของ Anthraquinones

Anthraquinones มักถูกดัดแปลงมาจาก acetate, shikimate และ mavalonate

ชีวสังเคราะห์ของ Anthraquinones เป็นไปได้ 2 แบบ คือ

1) acetate-malonate route

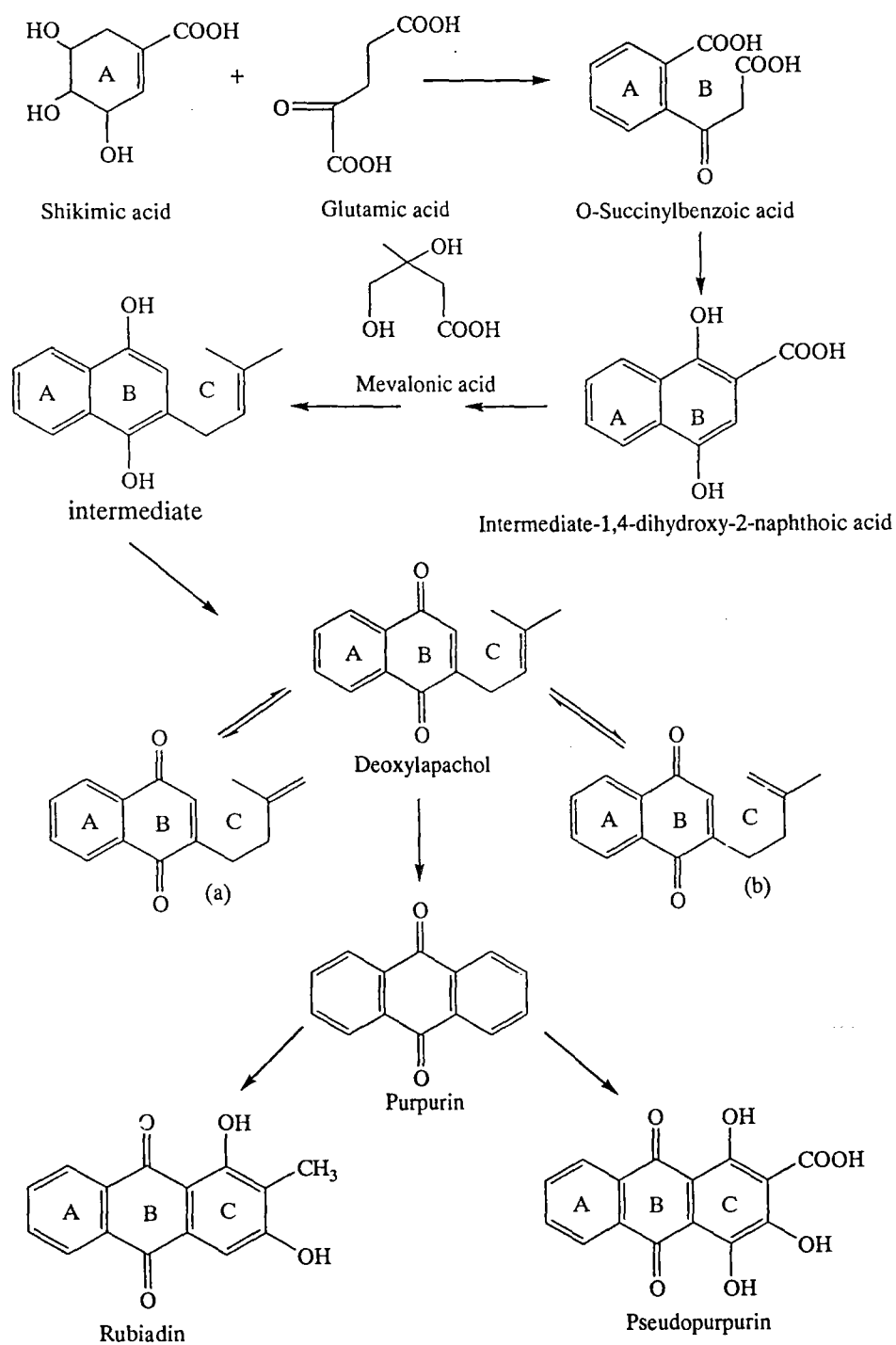
มีสารตั้งต้นเป็น acetate และ melonate ผ่าน aromatic polyketides ตัวอย่าง Anthraquinones ที่ได้จากขบวนการชีวสังเคราะห์แบบนี้ ได้แก่ emodin, chrysophanol เป็นต้น ชีวสังเคราะห์ของแอนทราควิโนนที่มีสารตั้งต้นจากอะซิเตตและมาโลเนต แสดงดังภาพประกอบ 23



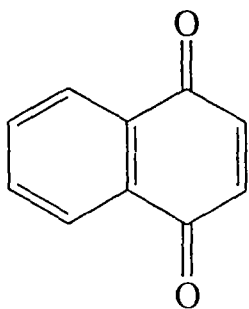
ภาพประกอบ 23 แสดงชีวสังเคราะห์ของแอนทราควิโนนที่มีสารตั้งต้นจากอะซิเตตและมาโลเนต

2) shikimate and mevalonate route

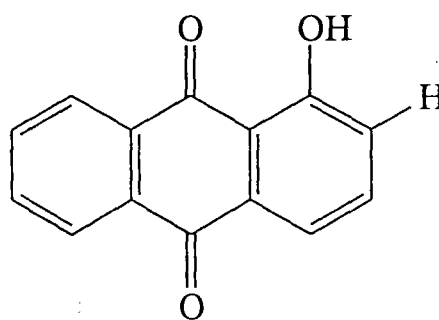
Anthraquinones ที่ได้จาก pathway นี้ จะมีการ substituted เฉพาะใน ring C เท่านั้น มักพบในพืชวงศ์ Rubiaceae พบบ้างในวงศ์ Bignoniaceae และ Verbenaceae ตัวอย่างเช่น แอนทราควิโนน เช่น alizarin และ tectoquinone เป็นต้น ชีวสังเคราะห์ของแอนทราควิโนนที่มีสารตั้งต้นจากชิคิเมตและเมวาโลเนต แสดงดังภาพประกอบ 24



ภาพประกอบ 24 แสดงชีวสังเคราะห์ของแอนทราควิโนนที่มีสารตั้งต้นจากชิคิเมตและเมวาโลเนต



1,4-Naphthaquinone



Allizarin

การกระจายตัวของ Anthraquinones

Anthraquinones ในพืชชั้นสูง พบได้ทั้งในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและพืชใบเลี้ยงคู่ พืชใบเลี้ยงเดี่ยวพบได้ในวงศ์ Liliaceae ส่วนพืชใบเลี้ยงคู่พบได้ในวงศ์ Rubiaceae, Leguminosae, Polyporaceae, Rhamnaceae, Ericaceae, Eupobiaceae, Lythraceae, Saxifragaceae, Scrophulariaceae และ Verbenaceae นอกจากนี้ยังพบได้ใน Lichen, fungi โดยเฉพาะจาก *Aspergillus* และ *Penicillium*

การตรวจสอบเบื้องต้น

1) Borntrager's test

โดยย่อย anthraquinone glycosides ด้วยสารละลายกรดหรือด่าง จะได้ anthraquinone aglycone จากนั้นแยก aglycone ออกจากสารอื่น ๆ โดยการเขย่ากับตัวทำละลายอินทรีย์ จากนั้นแยกชั้นตัวทำละลายอินทรีย์ นำมาเติมด่าง จะได้สีชมพูแดงในชั้นต่างจากการเกิดเกลือของ anthraquinones โดยปฏิกิริยานี้จะให้ผล positive กับ Naphthaquinones ด้วย

ถ้าในตัวอย่างที่นำมาทดสอบมี reduced form ของ anthraquinones จะได้เกิดสีชมพูแดงในชั้นต่างทันที แต่จะเห็นสารละลายเรืองแสงสีเขียวเหลือง จากนั้นเมื่อ oxidation เกิดขึ้นสมบูรณ์แล้วจะเกิดสีชมพูแดงเช่นกัน

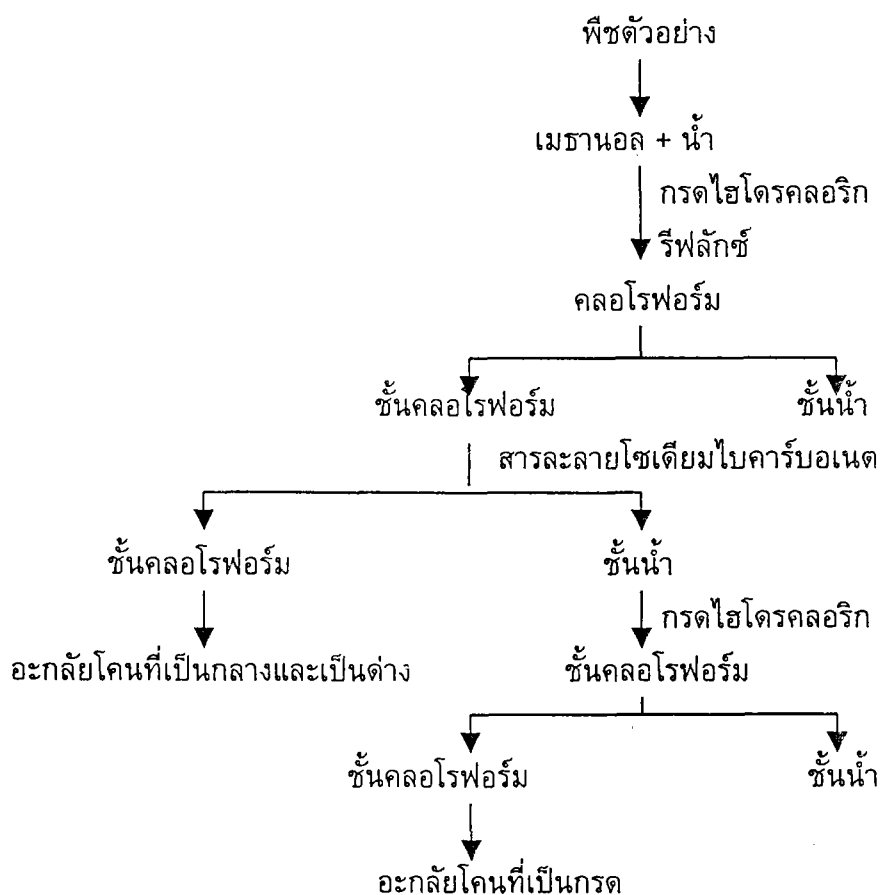
Anthraquinone C-glycosides จะย่อยได้ยากโดยกรดหรือด่าง ดังนั้นต้องเติม Hydroge peroxide หรือใช้ Ferric Chloride เพื่อย่อยให้เป็น aglycone เรียกวิธีนี้ว่า Modified Borntrager's test

2) Sublimation

วิธีนี้ใช้กับ anthraquinones ที่ระเหิดได้ ทำได้โดยการเผาผงยาที่อุณหภูมิ 160-180 องศาเซลเซียส anthraquinones จะระเหิด จากนั้นทำได้ anthraquinones รวมตัวกันตก

ผลึกโดยใช้ความเย็นช่วย จะเกิดเป็นผลึกหรือหยดย่น้ำมัน จากนั้นหยดสารละลายที่เป็นต่าง เช่น Ammonium hydroxide หรือ Potassium Hydroxide ลงไป ผลบวกจะเกิดเป็นสีชมพูแดง

การสกัด Anthraquinones



ภาพประกอบ 25 แสดงขั้นตอนการสกัดแอนทราควิโนน

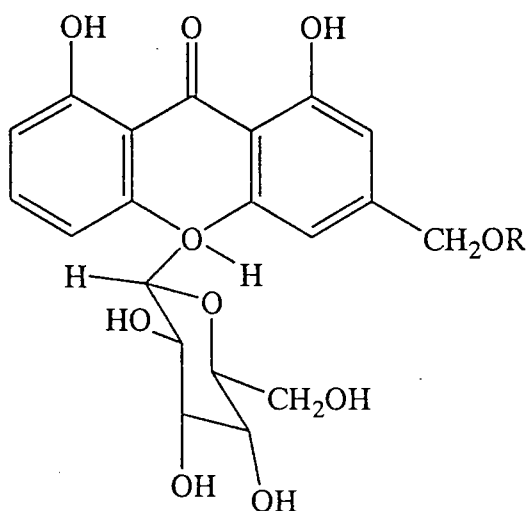
ตัวอย่างสมุนไพรที่มี Anthraquinones

- ว่านหางจระเข้ (Aloe), *Aloe barbadensis* Mill., *A. Vera* L., *A. indica* Royle

วงศ์ : Liliaceae

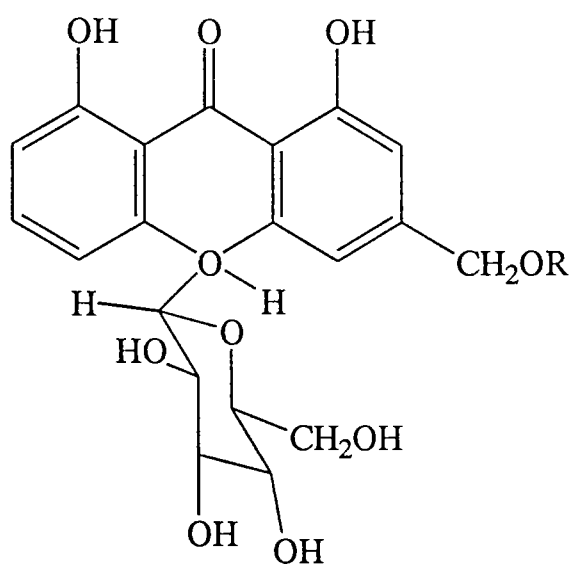
ส่วนที่ใช้ : ยางจากใบ

สารสำคัญ : Aloin A, Aloinoside A, Aloin B, Aloinoside B, Aloe-emodin



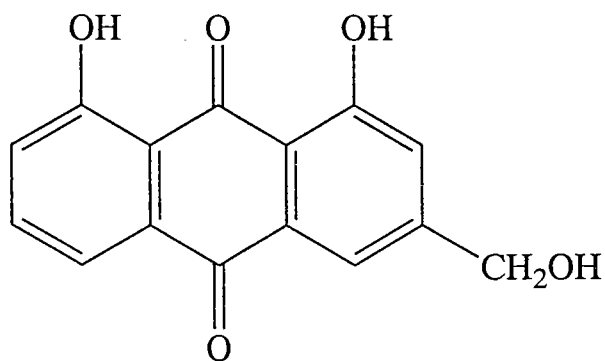
Aloin A : R = H

Aloinoside A : R = α -Rhamnose



Aloin B : R = H

Aloinoside B : R = α -Rhamnose



Aloe-emodin

ประโยชน์ : ใช้เป็นยาระบาย

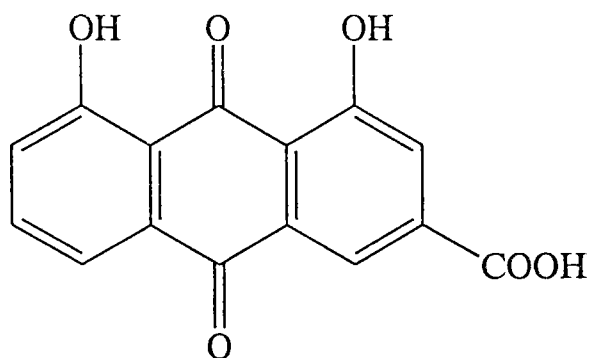
- ฝักกุ่ม (Golden Shower-Pod, Cassia Pod, Indian Laburnum. Pod), *Cassia*

Fistula L.

วงศ์ : Caesalpiniaceae

ส่วนที่ใช้ : dried ripe fruit

สารสำคัญ : Rhein



Rhein

ประโยชน์ : ใช้เป็นยาระบาย

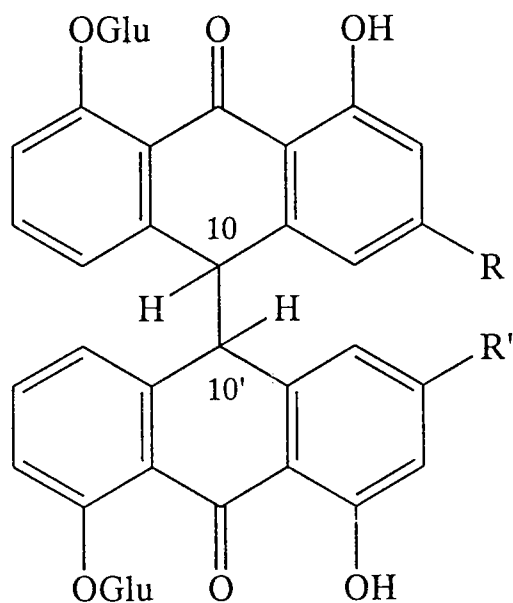
- ใบมะขามแขก (Senna Leaf), ฝักมะขามแขก (Senna Pod)

Cassia senna L. (*C. acutifolia* L.) เรียกว่า Alexandrian senna

Cassia angustifolia L. เรียกว่า Tinnevely senna

วงศ์ : Caesalpiniaceae

สารสำคัญ : Sennoside A, Sennoside B, Sennoside C, Sennoside D



Sennoside A : R, R' = COOH (+) - Form 10-10' (trans)

Sennoside B : R, R' = COOH 10-10' (meso)

Sennoside C : R = COOH, R' = CH₂OH (+) - Form 10-10' (trans)

Sennoside D : R = COOH, R' = CH₂OH 10-10' (meso)

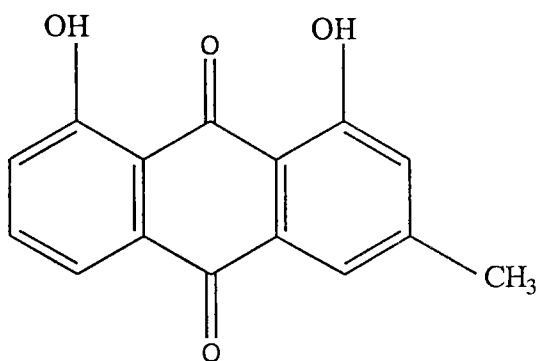
ประโยชน์ : ใช้เป็นยาระบาย ชาลดความอ้วน

- ชุมเห็ดเทศ (Candle Bush, Ringworm Senna), *Cassia alata* L.

วงศ์ : Caesalpiniaceae

ส่วนที่ใช้ : ใบ

สารสำคัญ : Chrysophanic acid (Chrysophanol), Rhein



Chrysophanic

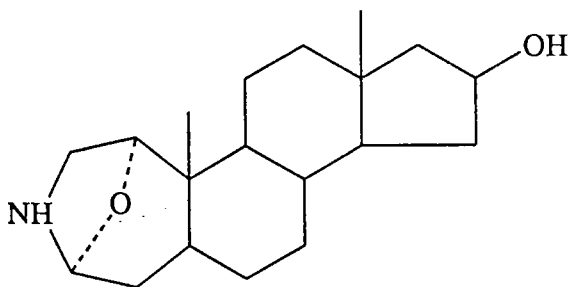
ประโยชน์ : ใช้เป็นยาระบาย รักษากลาก

5.7 แอลคาลอยด์ (Alkaloids)

แอลคาลอยด์ เป็นกลุ่มสารที่มีความสำคัญทั้งในด้านเป็นยารักษาโรค และเป็นพิษ แอลคาลอยด์เป็นส่วนใหญ่มิฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ปัจจุบันนี้มีแอลคาลอยด์มากกว่า 5,000 ชนิด ส่วนใหญ่จะพบในพืช อาจพบได้บ้างในสัตว์จุลินทรีย์

แหล่งที่พบแอลคาลอยด์

1) Salamander alkaloids เช่น samandarine และ samandaridine จากต่อมที่ผิวหนังของ Salamander (*Salamandra maculasa* Laurenti)



Sarnanarine

2) Anuran Alkaloids เช่น Batrachotoxin และ homobatrachotoxin จากผิวหนังของ Columbian arrow-poison frog (*Phyllohates surotaenia*)

3) Mammalian alkaloids เช่น muscopyridine จาก ชมดเขี้ยว (Musk Deer) *Moschus moschiferus*

4) Arthropod alkaloids เช่น Glomerin จาก *Glomeris marginata*

5) Marine alkaloids เช่น hyellazole และ 6-chlorohyellazole จาก blue alge, tetrodotoxin จาก goby fish (*Gobius criniger*)

6) Club Moss Alkaloids เช่น Lycopodine (*Lycopodium compienatum* L.), annotinine (*L. annotium* L.)

7) Fungal alkaloids เช่น ergotamine และ ergometine จาก *Claviceps purpurea*

8) Bacterial Alkaloids ได้แก่ pyocyanine (*Pseudomonas aeruginosa*), tabtoxin (*P. tabaci*)

9) Plant Alkaloids แหล่งที่พบแอลคาลอยด์มากที่สุดคือพืชดอก (Angiosperms) และพบในพืชใบเลี้ยงคู่มากกว่าพืชใบเลี้ยงเดี่ยว

วงศ์ที่พบมากในพืชใบเลี้ยงคู่ ได้แก่ Apocynaceae, Loganiaceae, Rubiaceae, Solanaceae, Papaveraceae, Minispermaceae, Ranunculaceae, Compositae, Lauraceae และ Rutaceae

วงศ์ที่พบมากในพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ได้แก่ Liliaceae และ Amarylidaceae

หน้าที่ของแอลคาลอยด์ในพืช

หน้าที่ของแอลคาลอยด์ในพืชยังไม่ทราบแน่ชัดมีนักวิทยาศาสตร์หลายท่านได้ตั้งข้อสังเกตว่าแอลคาลอยด์ อาจทำหน้าที่บางอย่างในพืช เช่น

1) เป็น end product ที่ได้จากกระบวนการทำลายพิษ (detoxification) ของสารต่าง ๆ ที่มีในพืช

2) ช่วยป้องกันพืชจากสัตว์และแมลงต่าง ๆ ที่จะทำลายพืช เนื่องจากแอลคาลอยด์ส่วนใหญ่มีรสขมและเป็นพิษ

3) ช่วยควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

4) เป็นแหล่งสะสมไนโตรเจนในพืชเพื่อใช้สร้างโปรตีน

คุณสมบัติของแอลคาลอยด์

- 1) แอลคาลอยด์ส่วนใหญ่มักมีรสขม เช่น ควินิน (Quinine)
- 2) แอลคาลอยด์ส่วนใหญ่เป็นผลึกไม่มีสี ยกเว้นชนิดที่มี Conjugated double bond เช่น berberine ซึ่งมีสีเหลือง แอลคาลอยด์บางตัวไม่มีออกซิเจนอยู่ในโมเลกุล อาจพบเป็นของเหลวที่อุณหภูมิปกติ เช่น Nicotine, Coniine
- 3) แอลคาลอยด์สามารถรวมตัวกับทั้งกรดอินทรีย์ และกรดอนินทรีย์อยู่ในรูปเกลือในธรรมชาติ มักพบอยู่ในรูปเกลือของกรดอินทรีย์
- 4) แอลคาลอยด์ในรูปอิสระ (free base) ส่วนมากจะไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น คลอโรฟอร์ม อีเทอร์ ส่วนเกลือของแอลคาลอยด์จะมีคุณสมบัติในการละลายน้ำได้ แต่ไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ ยกเว้นเกลือของแอลคาลอยด์ที่เป็นต่างอ่อนบางชนิด ซึ่งจะสามารถละลายได้ในคลอโรฟอร์ม แต่ไม่ละลายในอีเทอร์
- 5) แอลคาลอยด์ส่วนใหญ่สามารถ form double salt กับสารที่มีโลหะหนัก เช่น พรอท ทองแดง แพลตตินัม และแคดเมียม เป็นต้น ได้เกลือที่ไม่ละลายน้ำจึงสามารถใช้น้ำยาที่มีโลหะหนักเหล่านี้ในการตรวจสอบหาแอลคาลอยด์ได้

วิธีการเรียกชื่อแอลคาลอยด์

- 1) เรียกชื่อตามพืชที่พบแอลคาลอยด์นั้นเป็นครั้งแรก เช่น Cocaine ได้จาก *Erythroxylon coca*, Atropine จาก *Atropa belladonna* เป็นต้น
- 2) เรียกชื่อตามฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เช่น Emetine มาจากภาษากรีกว่า "Emetikos" แปลว่าอาเจียน
- 3) เรียกชื่อตามนักวิทยาศาสตร์ เช่น Spegazzinine ได้มาจากชื่อนักพฤกษศาสตร์ที่ตั้งชื่อพืชที่พบแอลคาลอยด์ ชนิดนี้ได้แก่ *Aspidosperma chakensis* Spegzzini เป็นต้น

การแบ่งกลุ่มของแอลคาลอยด์

สามารถแบ่งแอลคาลอยด์ ออกเป็นกลุ่ม ตามสารตั้งต้น และตามโครงสร้าง ได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ

- 1) Protoalkaloids เป็นแอลคาลอยด์ที่มีการชีวสังเคราะห์มาจากกรดอะมิโน หรืออนุพันธ์ของกรดอะมิโน มี N-atom อยู่นอก Heterocyclic ring เช่น ephedrine, mescaline, chochicine เป็นต้น
- 2) True alkaloids (Heterocyclic alkaloids) เป็นแอลคาลอยด์ที่มีการชีวสังเคราะห์มาจากกรดอะมิโน หรืออนุพันธ์ของกรดอะมิโน มี N-atom อยู่ใน Heterocycle ring ส่วนมากจะมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา morphine, strychnine เป็นต้น

3) Pseudo alkaloids เป็นสารที่มีการชีวสังเคราะห์มาจากสารจำพวก terpenes และ steroid เช่น skytanthine, aconitine, solanidine เป็นต้น

ประโยชน์ของแอลคาลอยด์

- 1) ยาระงับอาการปวด ได้แก่ morphine, codeine
- 2) ยาชาเฉพาะที่ ได้แก่ cocaine
- 3) ยาที่มีผลต่อระบบทางเดินหายใจ ได้แก่ aminophylline, theophylline, ephedrine, pseudoephedrine
- 4) ยาที่มีผลต่อระบบทางเดินหายใจ ได้แก่ papaverine, atropine, hyoscyamine, hyoscine
- 5) ยาที่มีผลต่อระบบเลือดและหัวใจ ได้แก่ reserpine, quinidine
- 6) ยาที่มีฤทธิ์ต่อตา ได้แก่ atropine, hyoscyamine, hyoscine
- 7) ยาที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อมาลาเรีย ได้แก่ cinchona alkaloids เช่น quinidine, cinchonine, cinchonidine
- 8) ยารักษาโรคมะเร็ง ได้แก่ vinblastine, vincristine

น้ำยาที่ใช้ในการทดสอบแอลคาลอยด์

น้ำยาที่ใช้ทดสอบแอลคาลอยด์ในพืชมี 2 แบบ ได้แก่

- 1) น้ำยาดกตะกอนแอลคาลอยด์ (Alkaloidal precipitants)
- 2) น้ำยาพ่น หรือชุบ (Spray or dip reagents)

น้ำยาดกตะกอนแอลคาลอยด์

จะมีคุณสมบัติในการรวมตัวกับแอลคาลอยด์ได้เกลือ หรือสารประกอบเชิงซ้อนที่ไม่ละลายน้ำจึงตกตะกอนน้ำยาที่นิยมใช้มีหลายชนิด ดังแสดงในตาราง 9

ปฏิกิริยาดกตะกอนระหว่างแอลคาลอยด์กับน้ำยาดกตะกอน แบ่งเป็น 4 ประเภท คือ

- 1) ปฏิกิริยาระหว่างแอลคาลอยด์กับกรดที่มีโมเลกุลสูงได้เกลือที่ไม่ละลายน้ำ เช่น น้ำยาที่ประกอบด้วย phosphotungstic acid, silicotungstic acid, phosphomolybdic acid
- 2) พวกที่ทำปฏิกิริยากับแอลคาลอยด์ได้ตะกอน loose complexes เช่น Wagner's, Bouchardate's
- 3) เกิดสารประกอบเชิงซ้อนที่ไม่ละลายน้ำ จาก addition product ระหว่างไนโตรเจนในโมเลกุลของแอลคาลอยด์ กับน้ำยาที่มีโลหะหนัก เช่น น้ำยา Mayer's, Valser's, Marme's และ Dragendorff's

4) พวก organic acid ทำปฏิกิริยากับแอลคาลอยด์ ได้ตะกอนซึ่งเป็นเกลือ เช่น น้ำยา Hager's (picric acid)

ปฏิกิริยาระหว่างแอลคาลอยด์กับน้ำยาทดสอบต่าง ๆ เป็นปฏิกิริยาที่ไม่เฉพาะเจาะจงจึงมีสารอื่น ๆ ในพืชอีกมากมายที่อาจตกตะกอนกับน้ำยาทดสอบได้เช่นเดียวกับแอลคาลอยด์ เราเรียกว่า "false positive"

สารที่ทำให้เกิด false positive ได้แก่ protein, glycosides, carbohydrates, betaine, choline, purines, methylated amines, tannins, ammonium salts, coumarin, scopoletin, bergapten, malto, kojic acid, meliternatin, chalcone, digitoxigenin

ในทางตรงข้ามอาจเกิด "false negative" ได้คือ แอลคาลอยด์บางชนิดซึ่งมีไนโตรเจนอยู่นอก ring (พวก amine หรือ protoalkaloids) และสารพวก quaternary alkaloids และ amine oxides จะตรวจไม่พบ ถ้าผ่านวิธี acid-base shaking

น้ำยาฟั่น หรือ ชุบ

ที่ใช้กันมาก ได้แก่ Modified Dragendorff's reagent หรือ Dragendorff's spray reagent เป็นน้ำยาทดสอบแอลคาลอยด์ในรูปอิสระจะได้สีส้ม แต่สารบางชนิดอาจให้ false positive ได้ เช่น พวก conjugated carbonyl group (ketone, aldehyde, lactone) ดังนั้น เพื่อป้องกันการเกิด false positive จึงควรสกัดสารให้บริสุทธิ์ก่อนนำมาทดสอบจะช่วยลดการรบกวนของสารเหล่านี้

ตาราง 9 ตารางแสดงน้ำยาดกตะกอนแอลคาลอยด์ที่นิยมใช้

ชื่อ	ส่วนประกอบ	สีของตะกอน
Bouchardat	Iodine-potassium iodide	-
Dragendorff	Bismuth potassium iodide	ส้ม
Ecolle	Siicotungetic acid	-
Gold Chloride	Chlorauric acid	เหลือง
Hage	Picric acid	เหลือง
Kraut	Iodine-Zinc Chloriodide	น้ำตาล
Marme	cadmium potassium iodide	ขาว
Mayer	Potassium nercuric iodide	ขาว
Platinum Chloride	Chloroplat nic acid	เหลือง
Scheibler	Phosphotungstic acid	-
Sonnenschein	Ammoniure	-
	phosphomolybdate	
Valser	Potassium nercuric iodide	ขาว
Wagner	Iodine-potassium iodide	น้ำตาลแดง
	Bismuth artimony iodide	-
	Bromauric acid	-
	Bromoplatinic acid	-
	Bromothalic acid	-
	Picrolonic acid	-
	Sodium tatrphenylborob	-
	Trinitroresorcinol	-

การสำรวจ สกัดแยก การพิสูจน์ชนิด และการหาปริมาณของแอลคาลอยด์

การสำรวจหาแอลคาลอยด์

การสำรวจหาแอลคาลอยด์นอกสถานที่ (Field test for alkaloids in plants)

- 1) การประเมินผลด้วยประสาทสัมผัส (Organoleptic evaluation)
- 2) การสำรวจโดยใช้กระดาษทดสอบแอลคาลอยด์ (Alkaloid test paper)

3) การทดสอบบนกระดาษกรอง โดยใช้ยาหยด (Spot test on paper using liquid reagent)

4) การทดสอบในหลอดทดลอง

การสำรวจหาแอลคาลอยด์ในห้องปฏิบัติการ เมื่อสำรวจหาแอลคาลอยด์จากพืช นอกสถานที่แล้วนำพืชดังกล่าวมาตรวจสอบอีกครั้งว่ามีแอลคาลอยด์ใดบ้างในห้องปฏิบัติการ ซึ่งจะให้ผลค่อนข้างแน่นอนว่าวิธีทดสอบนอกสถานที่อาจทำได้หลายวิธี การสำรวจหาแอลคาลอยด์แสดงดังภาพประกอบ 26 และ ภาพประกอบ 27

การสกัด (Extraction)

การสกัดแยกแอลคาลอยด์ออกจากสารอื่น ๆ ทำได้ไม่ยากนัก เนื่องจากแอลคาลอยด์มีคุณสมบัติในการละลายต่างกัน ถ้าอยู่ในรูปเกลือหรือรูปอิสระแอลคาลอยด์อิสระจะละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ไม่ละลายน้ำ ส่วนแอลคาลอยด์รูปเกลือละลายได้ในน้ำไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์

การสกัดแอลคาลอยด์จากพืชทำได้หลายวิธีดังนี้

วิธีที่ 1 สกัดด้วยน้ำหรือแอลกอฮอล์เจือกรด จะได้แอลคาลอยด์ออกมาในรูปเกลือเป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับการสกัดแอลคาลอยด์ทางอุตสาหกรรม เนื่องจากค่าใช้จ่ายต่ำ แต่การใช้น้ำสกัดจะทำให้ลดปริมาณได้ยากมักเกิดฟองและอาจมีสารอื่นปนออกมา

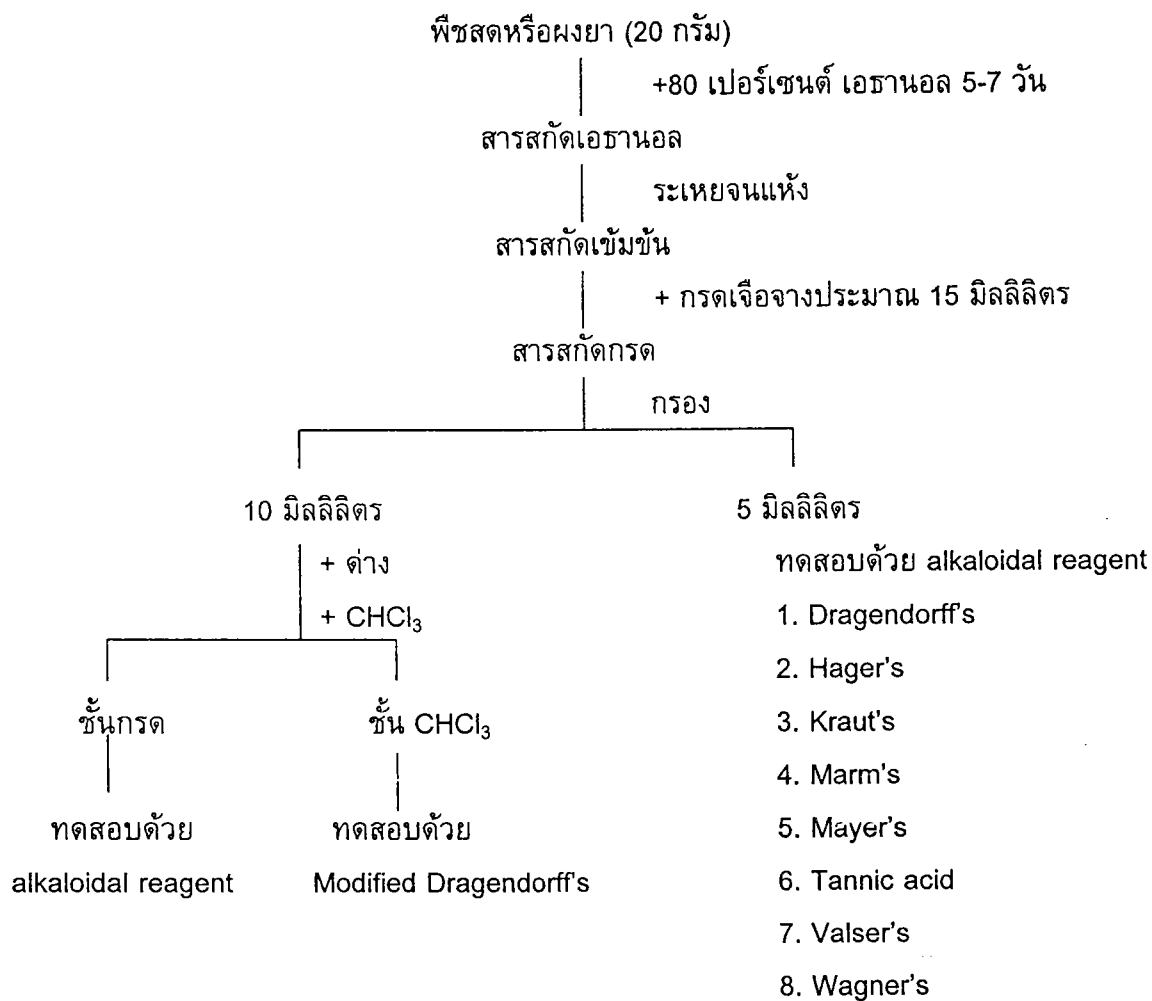
วิธีที่ 2 สกัดด้วยตัวทำละลาย เช่น คลอโรฟอร์ม อีเทอร์ ไดคลอโรมีเทน โดยทำให้ผงยาอยู่ในสภาพต่าง ๆ (จะได้แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น หรือ ปูนขาวก็ได้) วิธีนี้จะได้แอลคาลอยด์ในรูปอิสระ ซึ่งเหมาะสำหรับสกัดแอลคาลอยด์จากพืชปริมาณน้อย เช่น ในการวิจัย ไม่นิยมใช้ทางอุตสาหกรรม เพราะค่าใช้จ่ายสูง

วิธีที่ 3 สกัดด้วยแอลกอฮอล์ เช่น เอทานอล เททานอล เป็นต้น แอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลายที่สามารถสกัดแอลคาลอยด์ได้ทั้งในรูปเกลือและรูปอิสระ จึงเป็นที่นิยมใช้ในการสกัดแอลคาลอยด์จากพืช

วิธีที่ 4 สกัดด้วย Prollius fluid (เป็นตัวทำละลายหลายตัวรวมกัน) ได้แก่ ether-chloroform-ethanol-ammonium hydroxide ในอัตราส่วน 25:8:2.5:1 จะได้แอลคาลอยด์ในรูปอิสระ การสกัดวิธีนี้จะสูญเสียแอลคาลอยด์พวกเกลือ quaternary และ N-oxide ซึ่งไม่ละลายในตัวทำละลายนี้

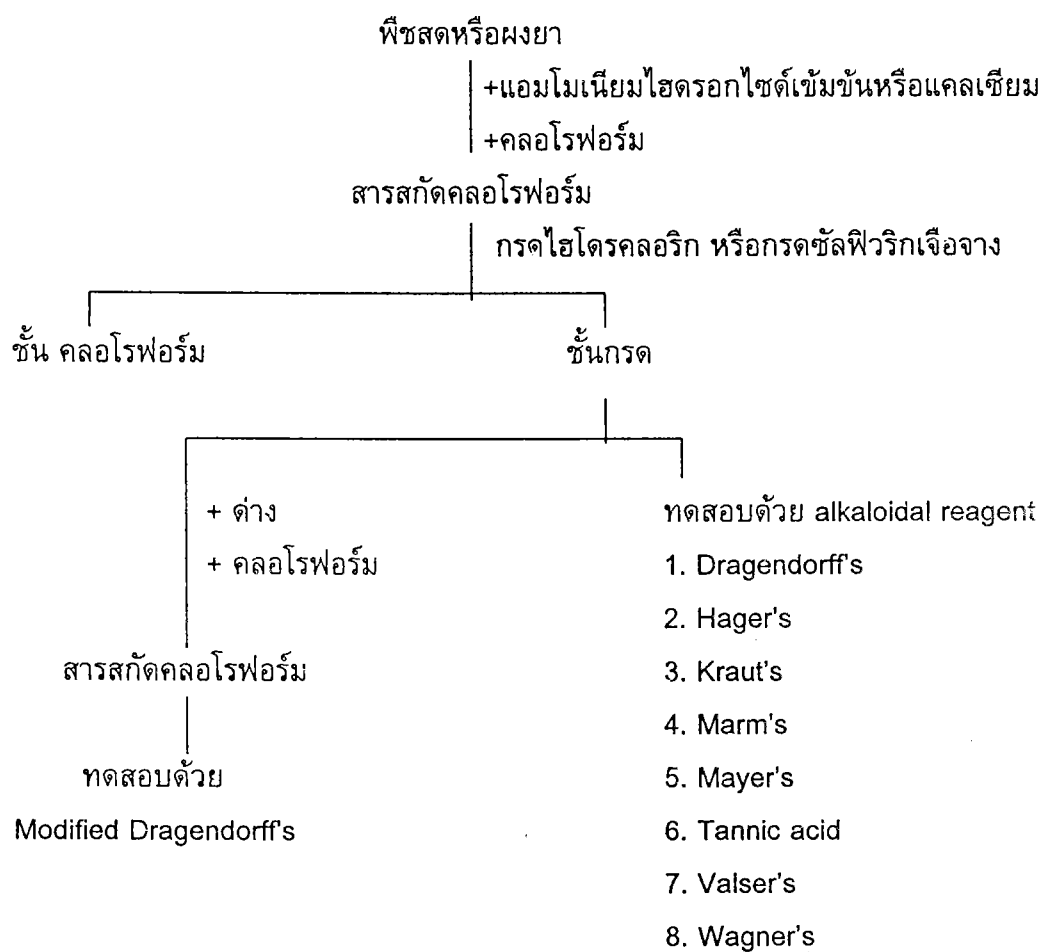
หลังจากได้สารสกัดแอลคาลอยด์แล้ว ขั้นตอนต่อไปจะต้องทำให้แอลคาลอยด์บริสุทธิ์ขึ้น (purification)

วิธีการสำรวจหาแอลคาลอยด์ในพืชวิธีที่ 1



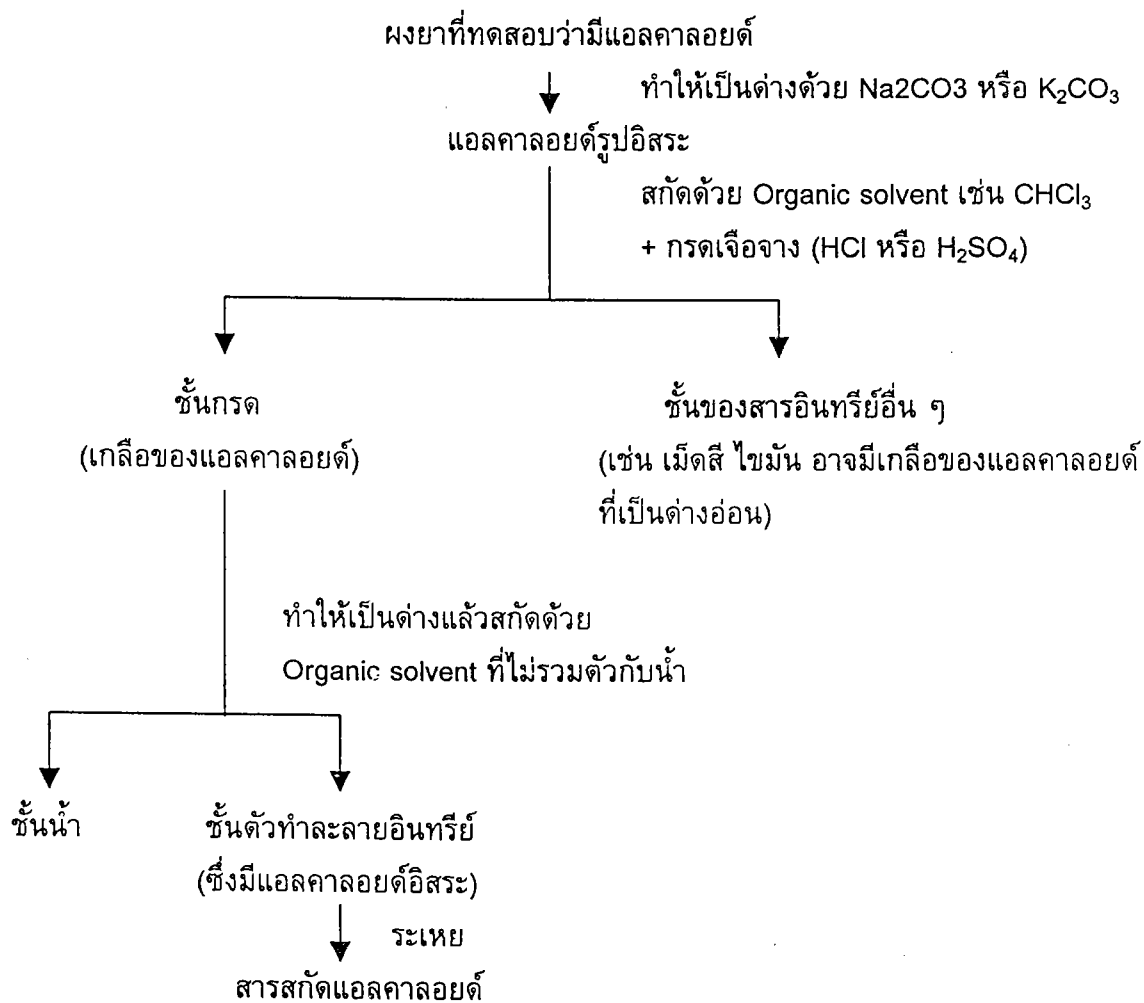
ภาพประกอบ 26 แสดงขั้นตอนการสำรวจหาแอลคาลอยด์ในพืชวิธีที่ 1

วิธีการสำรวจหาแอลคาลอยด์ในพืชวิธีที่ 2



ภาพประกอบ 27 แสดงขั้นตอนการสำรวจหาแอลคาลอยด์ในพืชวิธีที่ 2

การสกัดและแยกแอลคาลอยด์จากพืชโดยวิธี Stas-Otto



ภาพประกอบ 28 แสดงขั้นตอนการสกัดและแยกแอลคาลอยด์โดยวิธี Stas-Otto

การแยกและทำให้บริสุทธิ์ (Separation and purification)

- วิธีทางโครมาโตกราฟี
- วิธีทางเคมี
- วิธีทางกายภาพ

การพิสูจน์ชนิดของแอลคาลอยด์

- คุณสมบัติทางกายภาพ เช่น melting point, boiling point, freezing point, refraction index, optical rotation, specific gravity
- คุณสมบัติทางเคมี โดยการ form สีกับน้ำยาเฉพาะ เช่น Tropane alkaloids จะให้สีม่วงกับน้ำยา Vitali-Morin's หรือให้สีเขียวกับน้ำยา Schaer's ดังตาราง 10
- คุณสมบัติทางโครมาโตกราฟี เช่น paper chromatography, thin layer chromatography, gas chromatography, high pressure liquid chromatography หรือ electrophoresis โดยเปรียบเทียบค่า Rf หรือ Rt กับน้ำยามาตรฐาน (authentic compound)
- คุณสมบัติทางสเปกโตรสโกปี ใช้ในการหาสูตรโครงสร้างทางเคมีของสารต่าง ๆ เช่น H-NMR ¹³C-NMR, infrared, mass spectra ของ NMR (nuclear magnetic resonance)

ตาราง 10 การพิสูจน์ชนิดแอลคาลอยด์โดยใช้คุณสมบัติทางเคมี

กลุ่มแอลคาลอยด์	น้ำยา/การทดสอบ	ผลของปฏิกิริยา
1. Tropane alkaloids	1. Vitali-Morin's	สีม่วง กับ atropine scopolamine ยกเว้น cocaine
	2. Schaer's	สีเขียว กับ alkaloids ทั้งกลุ่ม สีม่วงน้ำเงิน กับ cocaine
2. Quinoline alkaloids	1. Thalleioquin test	สีน้ำเงินเปลี่ยนเป็นสีแดง
	2. Erythroquin test	สีแดง
	3. David test	สีแดงเฉพาะ quinidine
3. Purine alkaloid	1. Murexide test	สีม่วงชมพู
4. Alkaloidal amine	1. Chen's test	สีม่วง
	2. Ninhydrin	สีม่วง
	3. Benzaldehyde	ได้กลิ่น benzaldehyde
	formation	

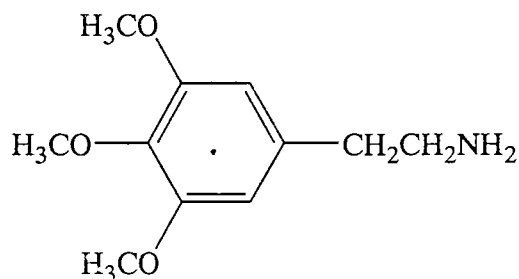
ตาราง 10 (ต่อ)

กลุ่มแอลคาลอยด์	น้ำยา/การทดสอบ	ผลของปฏิกิริยา
5. Isoquinoline alkaloids	1. Iodic acid test 2. Solubility test	สีน้ำเงินสดเฉพาะ morphine morphine จะละลายแต่ codeine ไม่ละลาย
6. Indole alkaloids	1. potassium dichromate/H ₂ SO ₄ 2. potassium ferrocyanide 3. Sodium molybdate/H ₂ SO ₄ 4. Vanilline/HCL 5. Sodium hydroxide T.S.	สีม่วงน้ำเงิน กับ strychnine ตะกอนของเกลือ strychnine ไม่ละลายในสารละลายกรด แต่เกลือของ brucine ละลายได้ดี สีเหลืองกับ reserpine สีชมพูกับ reserpine สีชมพู กับ physostigmine
7. Imidazole alkaloid	1. Helch's test 2. Ekkert's test	สีม่วงน้ำเงิน กับ pilocarpine สีเขียว กับ pilocarpine

ชนิดของแอลคาลอยด์

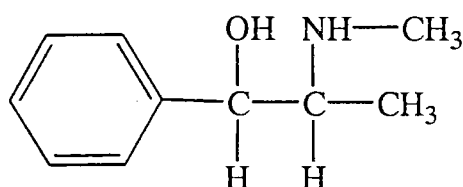
1) Protoalkaloids

(1) Mescaline

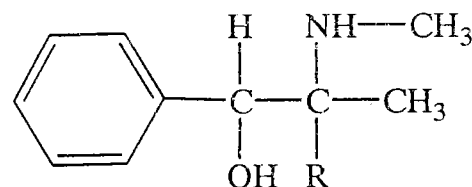


ได้จากดอกของ Peyote (*Lophophora williamsii* Coult.) วงศ์ Cactaceae เป็น Hallucinogenic alkaloid แอลคาลอยด์ชนิดนี้ละลายน้ำได้เล็กน้อย ละลายได้ดีในแอลกอฮอล์ คลอโรฟอร์ม และเกือบไม่ละลายในอีเทอร์

(2) Ephedrine และ Pseudoephedrine



Ephedrine



Pseudoephedrine

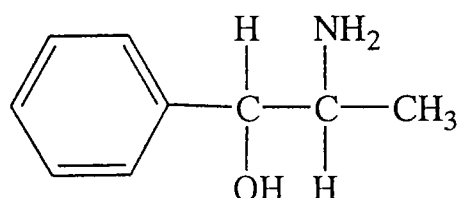
Ephedrine และ Pseudoephedrine เป็น Diastereoisomer กัน Ephedrine เป็น Erythro ส่วน Pseudoephedrine เป็น configuration สกัดได้จากต้น Ma-Huang (*Ephedra equisetina* Bunge.) วงศ์ Ephedraceae

Ephedrine มีลักษณะเป็นผลึกรูปดาว หรือรูปเข็ม ละลายได้ในน้ำ แอลกอฮอล์ คลอโรฟอร์ม อีเทอร์ และในน้ำมันหลายชนิด

ประโยชน์ทางยาของ Ephedrine เป็น Adrenagic alkaloid ใช้เป็นยาขนาด หลอดลมกระตุ้นระบบประสาท Sympathetic, Vasoconstrictor, Cardiac stimulant, Mydriatic, CNS stimulant รับประทานครั้งละ 25-50 มิลลิกรัม. ทุก 3-4 ชั่วโมง หรือใช้ในรูปของเกลือ เช่น Ephedrine SO₄ และ Ephedrine HCL ส่วน pseudoephedrine นั้นฤทธิ์ทาง cardiac stimulant,

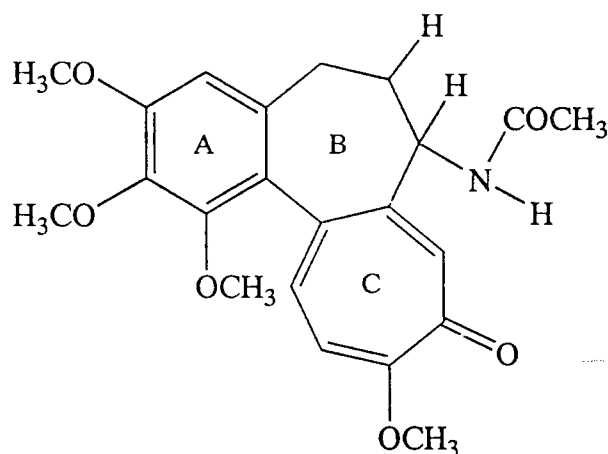
mydriatic และ CNS-stimulant น้อยกว่า ephedrine แต่ฤทธิ์ทาง vasoconstrictor และ bronchodilator เท่า ephedrine ขนาดที่ใช้ 30-60 มิลลิกรัม ทุก ๆ 3-4 ชั่วโมง

(3) Norpseudoephedrine (Ketine หรือ Cathine)



พบที่ใบของต้น Kat (*Catha edulis* Forst. วงศ์ Celastraceae) ประมาณ 0.27 เปอร์เซ็นต์ มีฤทธิ์กระตุ้นประสาทส่วนกลาง (CNS stimulant) และลดความอยากอาหาร (Anorexia, appetite depressant)

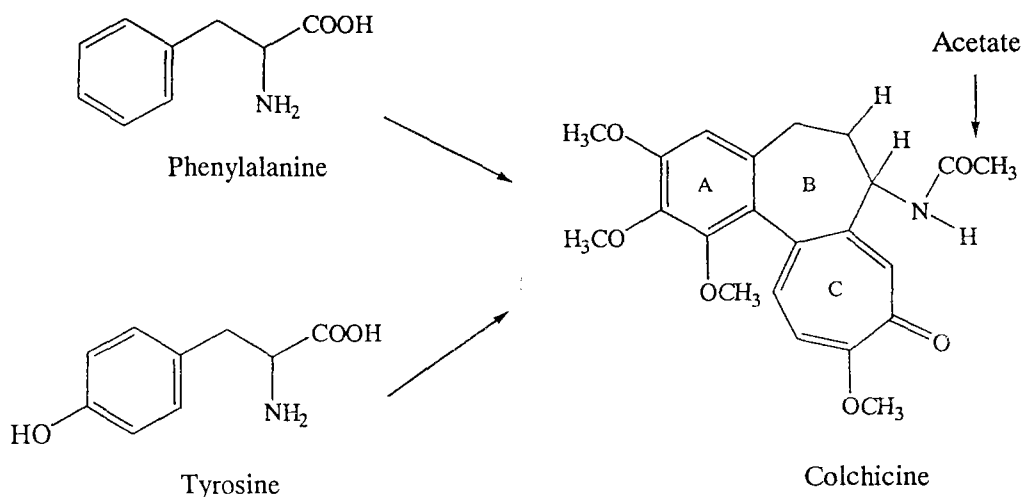
(4) Colchicine



สูตรโครงสร้างประกอบไปด้วย 3 ring (A, B และ C) โดย ring A เป็น 6 เหลี่ยม ส่วน ring B และ C เป็น 7 เหลี่ยม ring C เรียกเป็น Tropolone ring ซึ่งจะพบได้น้อยมากในพืชชั้นสูง ปกติจะพบใน Mould metabolism

Colchicine เป็นแอลคาลอยด์ที่ต่างจากแอลคาลอยด์อื่น ๆ ตรงที่ ไม่มีฤทธิ์เป็นด่างจึงไม่สามารถทำปฏิกิริยากับกรดเพื่อให้เกิดเกลือของแอลคาลอยด์เหมือนกับแอลคาลอยด์ชนิดอื่น แต่ Colchicine สามารถตกตะกอนกับพวก Alkaloidal reagent หลายตัว จึงจัด Colchicine ไว้ในพวกแอลคาลอยด์ปกติ Colchicine จะตกผลึกสีเหลืองอ่อนในคลอโรฟอร์ม เบนซีน ละลายได้ดีในน้ำ แอลกอฮอล์ และคลอโรฟอร์ม ละลายเพียงเล็กน้อยในปิโตรเลียมอีเทอร์

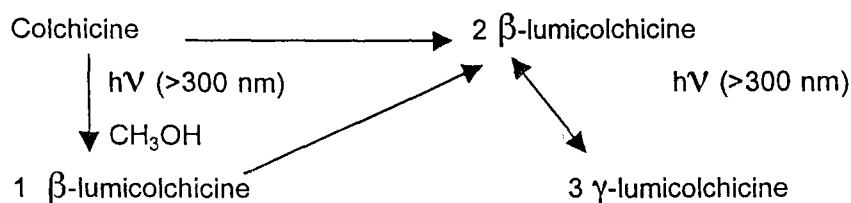
การชีวสังเคราะห์ของคอลชิซิน Colchicine



ภาพประกอบ 29 แสดงชีวสังเคราะห์ของคอลชิซิน

จะเห็นว่า ring A และคาร์บอนตำแหน่ง 5, 6 และ 7 ของ Colchicine มาจากกระบวนการเปลี่ยนแปลงของ Phenylalanine โดยผ่าน Cinnamic acid ส่วน Tropolone ring และไนโตรเจนอะตอม นั้นมาจาก Tyrosine รายละเอียดของขบวนการชีวสังเคราะห์นี้ยังไม่มีผู้อธิบายไว้

Colchicine เมื่อถูกแสงจะเกิด lumnitransformation ได้แอลคาลอยด์ 3 ชนิด คือ α , β , γ -lumicolchicine



Colchicine ได้จากพืชชนิดต่าง ๆ ในสกุล Colchicum ซึ่งส่วนมากจะได้จากต้น *Colchicum autumnale* Linne. วงศ์ Liliaceae และอาจจะพบในสกุลอื่นของพืชวงศ์นี้ เช่น พบในดอกตี่หว้าวาน (*Gloriosa superba*)

ประโยชน์ของ Clochicine

- (1) ใช้เป็นยาบำบัดโรคไขข้ออักเสบ (goat) ทำให้รูปของยาเม็ด (0.6 มิลลิกรัม/เม็ด) หรือในรูปของยาฉีดเข้าหลอดเลือดขนาด 0.5-1 มิลลิกรัม วันละ 1-2 ครั้ง
- (2) มีฤทธิ์บำบัดโรคมะเร็งในเลือด แต่ฤทธิ์นี้ผลที่ได้ยังไม่แน่นอนนัก และต้องใช้งานขนาดสูงมาก ใกล้เคียง กับ toxic dose
- (3) colchicine ทำให้เกิด double chromosome ในทางพันธุศาสตร์
- (4) colchicine เป็นตัวกระตุ้นให้พืชสร้างแอลคาลอยด์ให้มีปริมาณสูงขึ้น ซึ่งเคยมีรายงานว่ามันสามารถทำให้ปริมาณสูงขึ้นถึง 150 เท่า

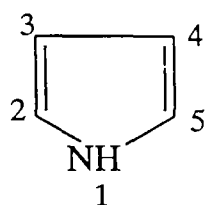
พิษของ colchicine

จะทำให้เกิดการระคายเคืองต่อระบบทางเดินอาหาร ทำให้ปวดท้อง คลื่นไส้ อาเจียน ท้องร่วง มีผลต่อกระดูก ทำให้เกิด agranulocytosis ถ้าใช้นาน ๆ เป็นอันตรายต่อระบบเลือดทำลายหลอดเลือด และไต ทำให้ช็อคและเป็นอัมพาต

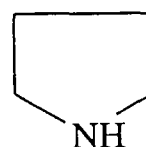
2) Heterocyclic alkaloids

ที่พบทั่ว ๆ ไปแบ่งออกเป็นกลุ่มต่างๆ ตามนิวเคลียสของสูตรโครงสร้าง ได้ดังนี้

- Pyrrole-Pyrrolidine alkaloids เช่น hygrine และ stachydrine

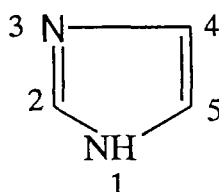


Pyrrole



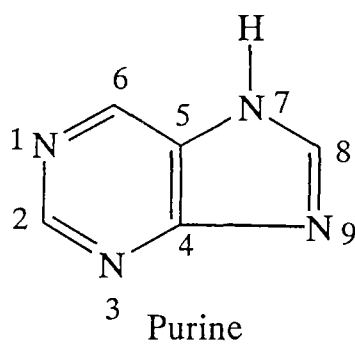
Pyrrolidine

- Imidazole alkaloids เช่น pilocarpine และ isopilocarpine

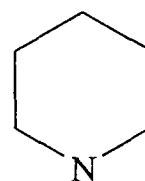
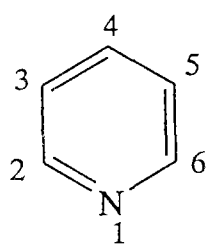


Imidazole

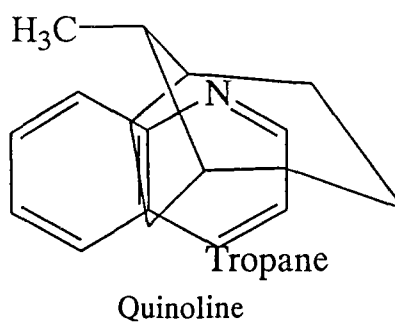
- Purine alkaloids เช่น caffeine และ theophylline



- Pyridine-piperidine alkaloids เช่น arecoline และ nicotine

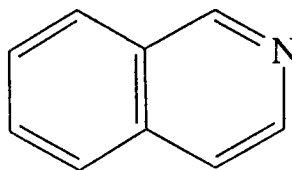


- Tropane alkaloids เช่น atropine และ cocaine

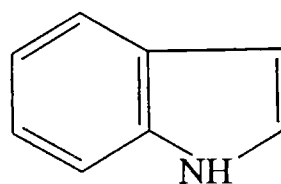


- Quinoline alkaloids เช่น quinine และ cinchonine

- Isoquinoline alkaloids เช่น morphine และ codeine



Isoquinoline

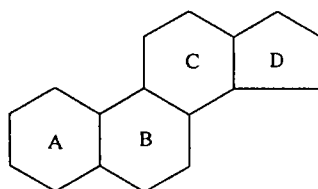


Indole

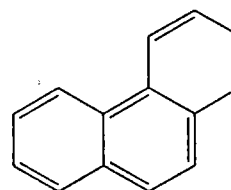
- Indole alkaloids เช่น strychnine และ reserpine

5.8 สเตอรอยด์ (Steroides)

Steroids เป็นสารประกอบอินทรีย์ เกิดจาก isoprene 6 หน่วย มาเชื่อมต่อกันและมีโครงสร้างหลักเป็น cyclopentanoperhydrophenanthrene ซึ่ง ring A, B, และ C จะอยู่ในลักษณะ chair conformation การเชื่อมต่อกันระหว่าง ring A และ B จะมีได้ 2 แบบ คือ *trans* และ *cis*

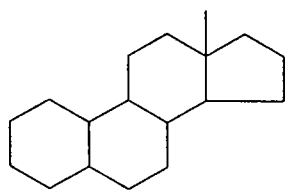


steroid nucleus

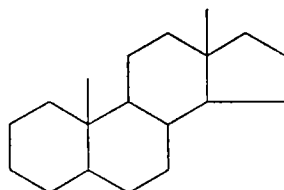


phenanthrene

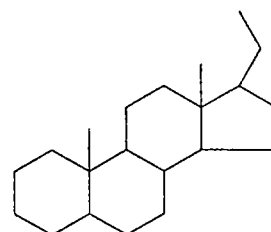
โครงสร้างหลักของสเตอรอยด์ ชนิดต่าง ๆ



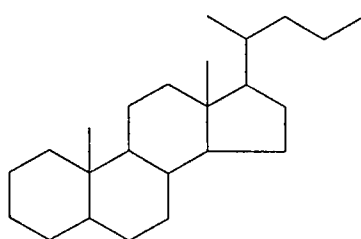
estrane



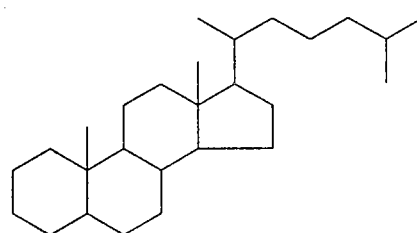
androstane



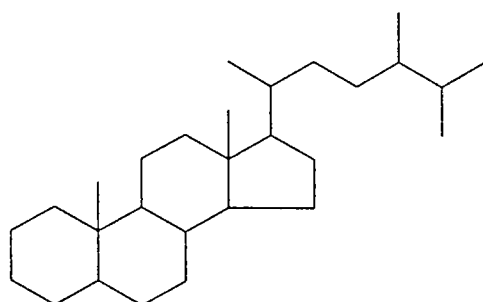
pregnane



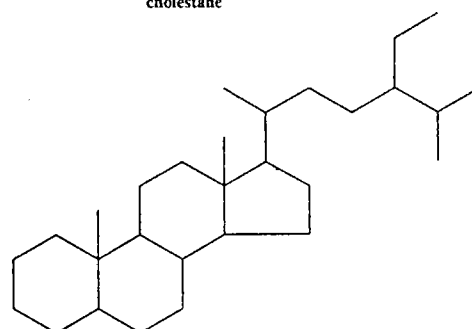
cholane



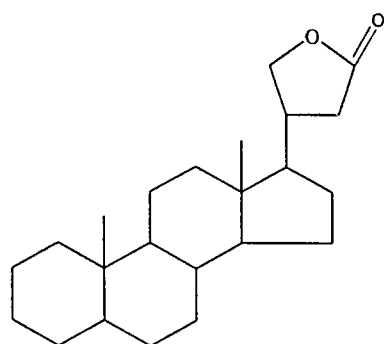
cholestane



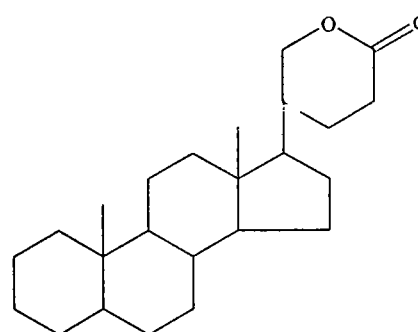
ergostane



stigmastane



cardenolide



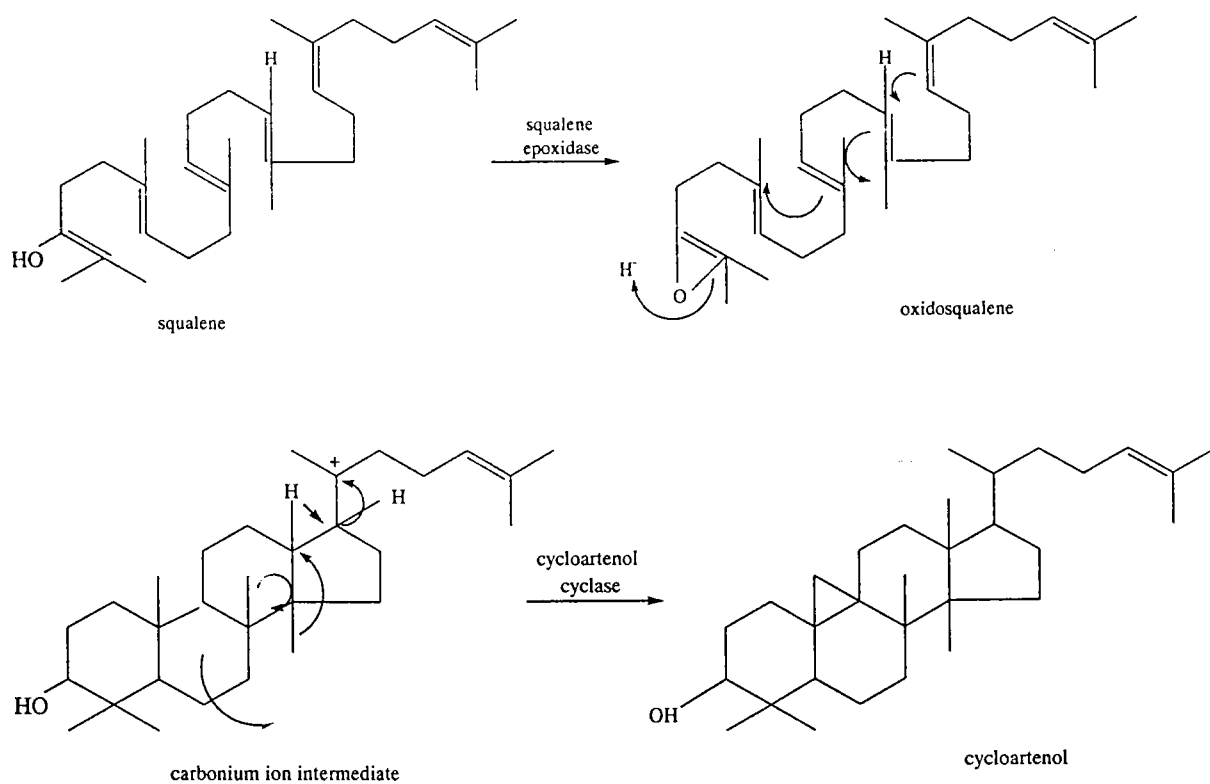
bufanolide

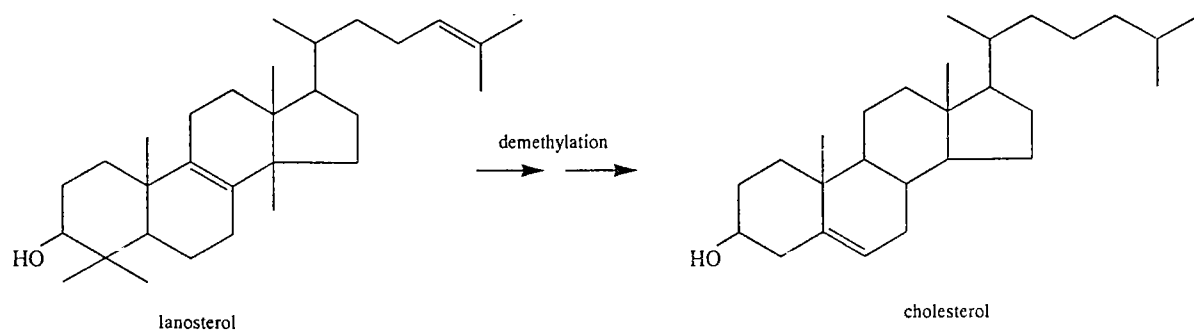
ภาพประกอบ 30 แสดงโครงสร้างหลักของสเตอรอยด์ชนิดต่าง ๆ

การแบ่งกลุ่มของ steroids จากธรรมชาติตามแหล่งที่มาและฤทธิ์ ทางชีวภาพ ได้ดังนี้

- 1) สเตอรอล (sterols)
- 2) วิตามินดี (vitamins D)
- 3) กรดน้ำดี (bile acids)
- 4) สเตอรอยด์ล ฮอร์โมน (steroidal hormones)
- 5) สเตอรอยด์ล ซาโปนิน (steroidal saponins)
- 6) สเตอรอยด์ล แอลคาลอยด์ (steroidal alkaloids)
- 7) คาร์ดิแอกกลัยโคไซด์ (cardiac glycoside)

ชีวสังเคราะห์ของสเตอรอยด์

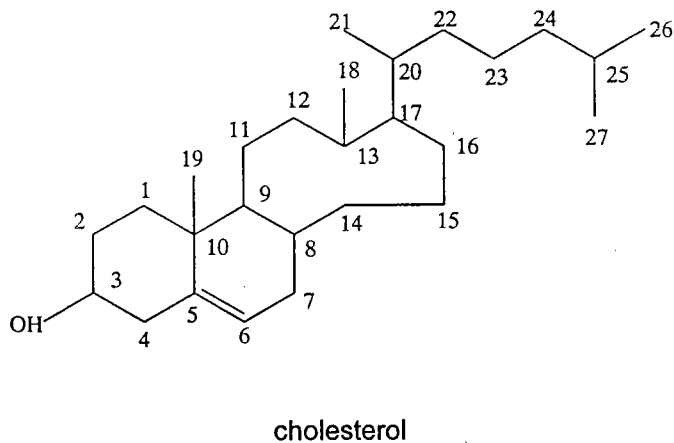




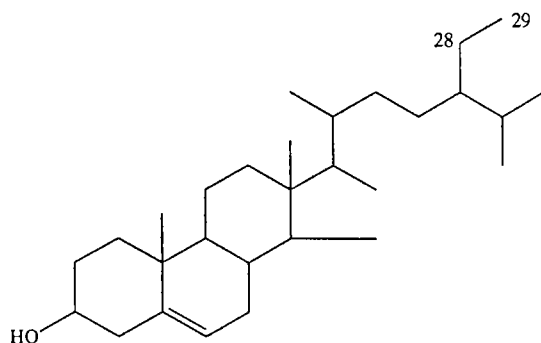
ภาพประกอบ 31 แสดงชีวสังเคราะห์ของสเตอรอยด์

1) Sterols

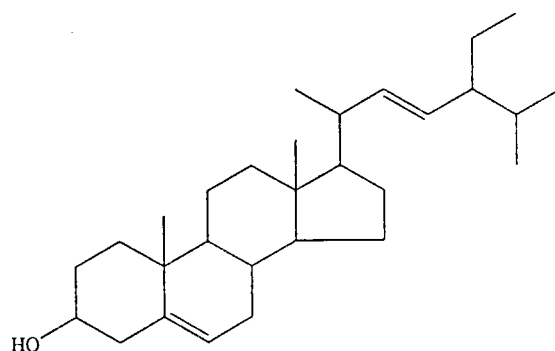
เป็นกลุ่มของ sterols ที่มีโครงสร้างประกอบด้วยคาร์บอน 27 – 29 อะตอม โดยมี aliphatic side chain มาเชื่อมต่อที่ตำแหน่ง 17 ส่วนมากมีหมู่ hydroxyl ที่ตำแหน่ง 3 เป็น β - configuration และการเชื่อมต่อกันระหว่าง ring A และ ring B จะเป็นแบบ trans สารกลุ่มนี้พบได้ทั้งชนิด zoosterols , phytosterols และ mycosterols



sterols ที่พบได้ทั่วไปในพืชชั้นสูงเกือบทุกชนิด คือ β - sitosterol และ stigmasterol ส่วนมากจะพบอยู่ร่วมกับ sterols อื่น ๆ

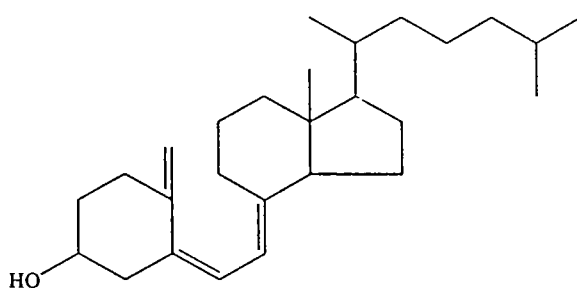


β - sitosterol
(Stigmasta-5-en-3 β -ol)

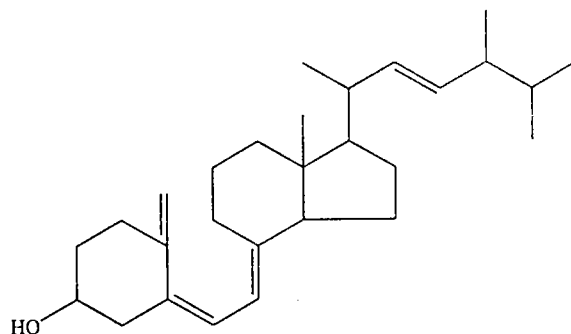


stigmasterol
(Stigmasta-5,22-dien-3 β -ol)

2) Vitamin D

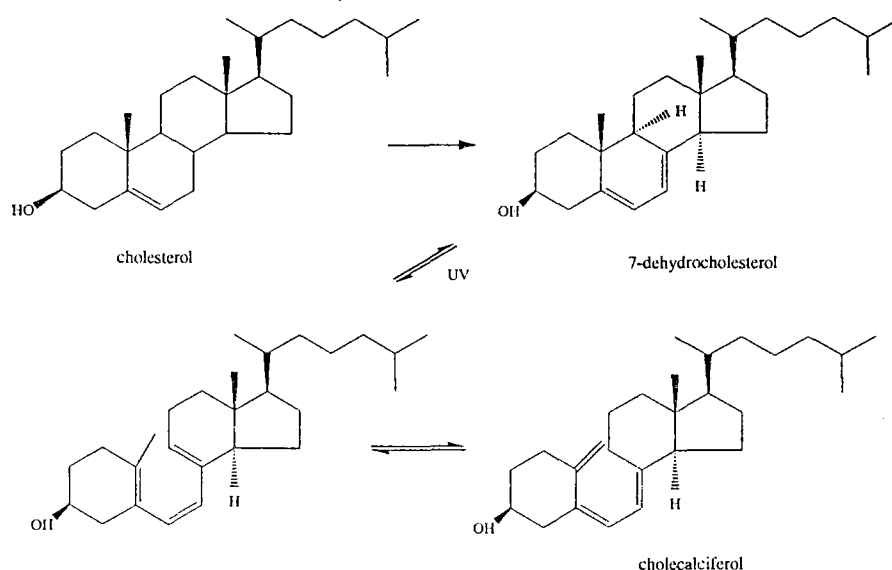


vitamin D₃ (Cholecalciferol)



vitamin D₂ (Ergocalciferol)

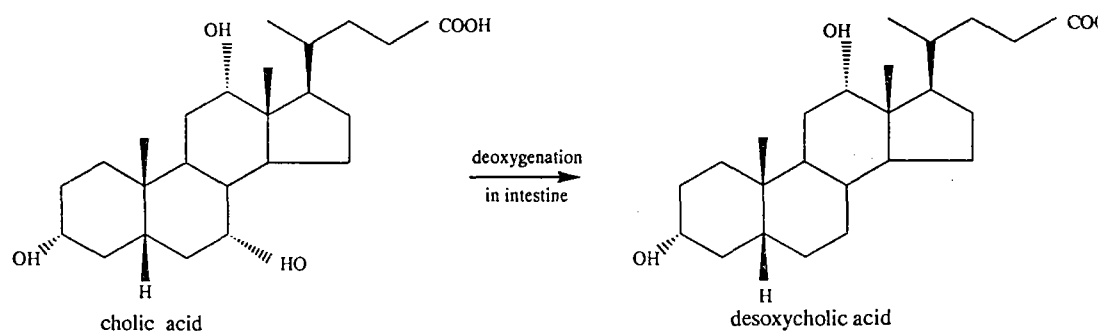
vitamin D₃ จะพบได้เฉพาะในสัตว์ชั้นสูงเท่านั้น โดยเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของ 7 -dehydrocholesterol เมื่อผิวหนังถูกแสงแดด ดังภาพประกอบ 32 ส่วน vitamin D₂ จะพบได้ในพืชและยีสต์ที่ได้รับรังสี อัลตราไวโอเลตUV จากแสงแดด วิตามินดีมีบทบาทสำคัญคือ ช่วยในการดูดซึมแคลเซียมฟอสฟอรัสและการเสริมสร้างกระดูกและมีผลโดยตรงต่อ metabolism ของฟอสฟอรัส ถ้าขาดวิตามินดีจะทำให้เกิดโรค rickets ในเด็ก และเกิดโรค osteomalacia ในผู้ใหญ่ แหล่งที่สำคัญของวิตามิน D₃ คือ น้ำมันตับปลา แต่ vitamin D₃ จะออกฤทธิ์เมื่อถูกเปลี่ยนแปลงไปเป็น hydroxylated metabolites 2 ชนิด คือ 25-hydroxy และ 1,25 - dihydroxycholecalciferol



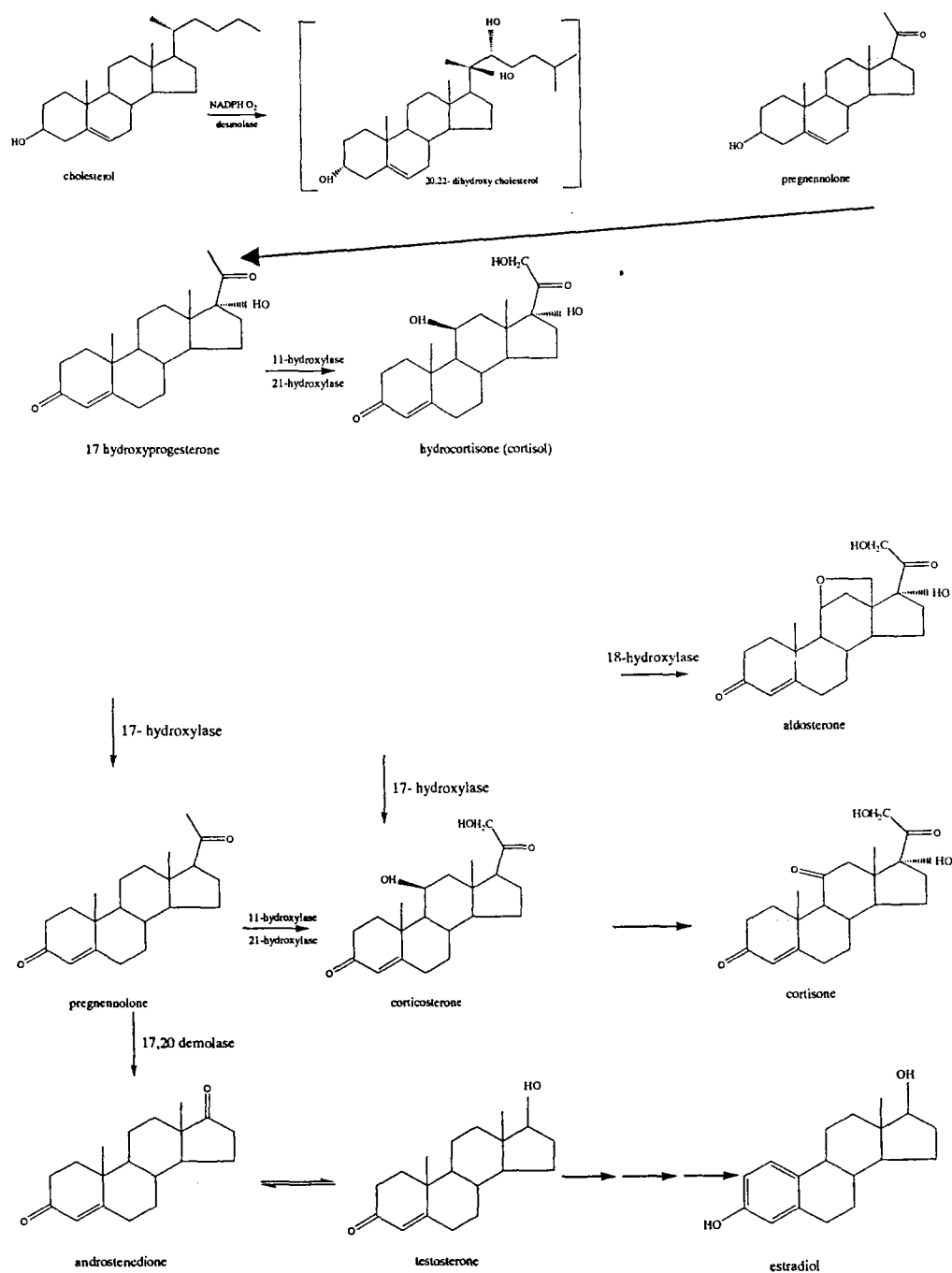
ภาพประกอบ 32 แสดงการเปลี่ยนแปลงจาก cholesterol ไปเป็น vitamin D₃

3) Bile acids

เป็น sterols ที่มีโครงสร้างเป็น C₂₄ cholane group โดยมี side chain ที่ตำแหน่ง 17 ประกอบด้วยคาร์บอน 5 อะตอม ตำแหน่งที่ 24 เป็น carboxylic acid การเชื่อมต่อระหว่าง ring A และ B เป็นแบบ cis พบในน้ำดีของสัตว์ที่เลี้ยงลูกด้วยนม ส่วนชนิด C₂₇₋₂₈ bile acids จะพบในสัตว์เลื้อยคลานและสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ bile acids ที่พบในตับของมนุษย์คือ cholic acid และ chenodeoxycholic acid นอกจากนี้จะพบ deoxycholic acid และ lithocholic acid ปริมาณเล็กน้อยในน้ำดี



ชีวสังเคราะห์ของ steroidal hormones



ภาพประกอบ 33 ชีวสังเคราะห์ของสเตอรอยด์ล ฮอร์โมน

6. หลักสูตรวิชาเคมีของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ

วิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ (Chemistry of Natural Products) เป็นวิชาเลือกวิชาหนึ่งในสาขาเคมี หลักสูตรวิทยาศาสตร์ของสถาบันราชภัฏได้ปรับปรุงหลักสูตรใหม่ พ.ศ. 2543 ขึ้นมาเพื่อให้สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงของวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี วิชาเคมีของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติเป็นวิชาที่ศึกษาเกี่ยวกับการสกัด การแยก ลักษณะโครงสร้างและชีวสังเคราะห์ของสารประกอบที่เกิดขึ้นในธรรมชาติ เช่น น้ำมันหอมระเหย ฟลาโวนอยด์ แทนนิน ซาโปนิน คาร์ดิแอกกลัยโคไซด์ แอนทราควิโนน ซาโปนิน แอลคาลอยด์ สเตอรอยด์ และสารอื่น ๆ ที่น่าสนใจและปฏิบัติการเกี่ยวกับการสกัดและแยกองค์ประกอบเคมีจากพืชสมุนไพร

7. กิจกรรมปฏิบัติการวิทยาศาสตร์

7.1 ความสำคัญของกิจกรรมปฏิบัติการวิทยาศาสตร์

กิจกรรมปฏิบัติการวิทยาศาสตร์เป็นองค์ประกอบสำคัญส่วนหนึ่งของการเรียนการสอนวิชาวิทยาศาสตร์ ดังที่แอนเดอร์สัน (Anderson 1976 : 59-60) ได้กล่าวเกี่ยวกับความสำคัญของกิจกรรมปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ไว้สรุปได้ว่าการทำปฏิบัติการวิทยาศาสตร์เปิดโอกาสให้มีการเรียนรู้ถึงวิธีการคิดอย่างมีหลักเกณฑ์ เพื่อนำไปสู่การแก้ปัญหาในชีวิตประจำวัน ช่วยให้เกิดความรู้สึกซาบซึ้งต่อบทบาทของนักวิทยาศาสตร์ในการค้นคว้าหาความรู้ ช่วยให้เข้าใจถึงขอบข่ายของวิชาวิทยาศาสตร์

นอกจากนี้ ลูเนตตา และคณะ (Lunetta and et. al 1981 : 22-25) ได้กล่าวถึงความสำคัญของกิจกรรมปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ไว้สรุปได้ว่ากิจกรรมปฏิบัติการวิทยาศาสตร์มีส่วนช่วยให้นักเรียนมีความเข้าใจในธรรมชาติของวิทยาศาสตร์ ช่วยส่งเสริมพัฒนาการทางสติปัญญา ช่วยให้นักเรียนเกิดมโนทัศน์ทางวิทยาศาสตร์ และโดยเฉพาะอย่างยิ่งช่วยพัฒนาเจตคติต่อวิทยาศาสตร์ในเชิงนิมาน (positive)

7.2 จุดมุ่งหมายในการเรียนการสอนปฏิบัติการวิทยาศาสตร์

แอนเดอร์สัน (Anderson 1976 : 60-79) ได้กล่าวถึงจุดมุ่งหมายของการเรียนการสอนปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ สรุปได้ดังนี้

- 1) เพื่อส่งเสริมให้นักเรียนมีความรู้ความเข้าใจในกิจกรรมของมนุษย์ที่เกี่ยวกับวิทยาศาสตร์
- 2) เพื่อปลูกฝังทักษะการสืบสอบ ซึ่งจะช่วยให้นักเรียนสามารถนำไปใช้แก้ปัญหาอื่น ๆ ได้

3) เพื่อช่วยให้นักเรียนเกิดความรู้สึกซาบซึ้งและเลียนแบบบทบาทของนักวิทยาศาสตร์

4) เพื่อช่วยให้นักเรียนมีพัฒนาการทั้งทางด้านความรู้สึกซาบซึ้งต่อความมีระเบียบของความรู้ทางวิทยาศาสตร์ และทางด้านความเข้าใจในธรรมชาติของทฤษฎีและแบบจำลองทางวิทยาศาสตร์

ซูลแมน และ ทาเมอร์ (Avi, Hofstein & Vincent N. 1987 : 260; citing Shulman & Tamir.1982 : 203. *Instructional Science education.*) ได้กำหนดจุดมุ่งหมายของการเรียนการสอนปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ สรุปได้ดังนี้

- 1) เพื่อปลูกฝังให้เกิดความสนใจ เจตคติ ความพึงพอใจ ความมีใจกว้าง และความอยากรู้อยากเห็นในวิชาวิทยาศาสตร์
- 2) เพื่อพัฒนาความคิดริเริ่มสร้างสรรค์และความสามารถในการแก้ปัญหา
- 3) เพื่อส่งเสริมความคิดแบบวิทยาศาสตร์และวิธีการทางวิทยาศาสตร์
- 4) เพื่อพัฒนาความเข้าใจเกี่ยวกับมโนทัศน์และความสามารถทางสติปัญญา
- 5) เพื่อพัฒนาความสามารถทางการปฏิบัติการ

7.3 การเรียนการสอนปฏิบัติการวิทยาศาสตร์

7.3.1 บทบาทของครูในการเรียนการสอนปฏิบัติการวิทยาศาสตร์

โฮฟ (Hoff 1950 : 173-175) กล่าวเกี่ยวกับบทบาทของครู สรุปได้ว่าครูทำหน้าที่เป็นผู้คอยดูแลช่วยเหลือนักเรียนเมื่อนักเรียนต้องการความช่วยเหลือ โดยครูควรอยู่ในห้องที่นักเรียนทำการทดลองตลอดเวลาและควรยืนอยู่ในตำแหน่งที่นักเรียนทุกคนสามารถมองเห็นได้ทั่วถึง

ประวิตร ชูศิลป์ (2524 : 5-6) กล่าวว่า บทบาทของครูมีอยู่ 3 ตอน ด้วยกันคือ

ตอนที่ 1 การอธิบายก่อนทดลอง (Pre-lab discussion) ครูจะต้องเตรียมคำถามต่าง ๆ เพื่อกระตุ้นให้นักเรียนอยากรู้อยากเห็น คิด สงสัย หรือแนะแนวทางเพื่อให้นักเรียนได้สืบเสาะหาคำตอบต่อไป ตลอดจนให้คำแนะนำต่าง ๆ

ตอนที่ 2 การให้นักเรียนปฏิบัติการทดลอง (Experiment period) ครูจะต้องคอยดูแลให้คำแนะนำต่าง ๆ อย่างใกล้ชิด คอยกระตุ้น สนับสนุน และเป็นที่ยปรึกษาอยู่ด้วย ไม่ปล่อยให้ นักเรียน ปฏิบัติการทดลองตามลำพัง

ตอนที่ 3 การอภิปรายผลการทดลอง (Post-lab discussion) ครูจะต้องเตรียมคำถามต่าง ๆ เพื่อช่วยให้นักเรียนสามารถใช้ข้อมูลหรือผลการทดลองที่รวบรวมได้สรุปเป็นกฎเกณฑ์ ทฤษฎี หรือหลักการต่าง ๆ รวมทั้งอภิปรายถึงข้อผิดพลาดของการทดลองที่อาจเป็นไปได้ด้วย

7.3.2 ประเภทของการจัดกิจกรรมปฏิบัติการวิทยาศาสตร์

สำหรับการให้นักเรียนทำปฏิบัติการวิทยาศาสตร์นั้น โดยทั่วไปอาจจัดได้ 2 แบบ คือ

7.3.2.1 การทดลองแบบสำเร็จรูป (Structured laboratory)

7.3.2.2 การทดลองแบบไม่กำหนดแนวทาง (Unstructured laboratory)

สเปียร์ส และดีน (Spears & Dean. 1977 : 34-35) ได้กล่าวเกี่ยวกับการจัดกิจกรรมการทดลองแบบสำเร็จรูป และแบบไม่กำหนดแนวทาง สรุปได้ดังนี้

การทดลองแบบสำเร็จรูป (Structured laboratory) เป็นรูปแบบที่เก่าแก่ ซึ่งในการทดลองแบบนี้จะมีคำสั่งและวิธีปฏิบัติการทดลองมาให้นักเรียน และเป็นการปฏิบัติการทดลองเพื่อพิสูจน์หลักการในบทเรียนที่ได้เรียนไปแล้ว

การทดลองแบบไม่กำหนดแนวทาง (Unstructured laboratory) เป็นรูปแบบที่อยู่บนพื้นฐานของการสืบสอบ (Inquiry model) ซึ่งเน้นให้นักเรียนได้ค้นและสืบสอบในหลักการที่กำลังวิเคราะห์วิจารณ์กันในห้องเรียน

นอกจากนี้ สเปียร์ส และดีน ยังได้เปรียบเทียบขั้นตอนในการทำการทดลองทั้งสองแบบไว้ สรุปได้ดังนี้

การทดลองแบบสำเร็จรูป	การทดลองแบบไม่กำหนดแนวทาง
1. กำหนดปัญหาให้ก่อนพบกันในชั้นเรียน	1. กำหนดปัญหาให้ก่อนพบกันในชั้นเรียน
2. แนะนำหรือชี้แจงให้นักเรียนทราบถึงเครื่องมือที่จะใช้	2. แนะนำหรือชี้แจงให้นักเรียนทราบถึงเครื่องมือที่จะใช้
3. กำหนดวิธีปฏิบัติการทดลองเพื่อแก้ปัญหา	3. ชักถามนักเรียนเพื่อหาทางแก้ปัญหา
4. ให้นักเรียนตอบคำถามเกี่ยวกับข้อมูลที่ได้	4. ให้นักเรียนแสดงข้อสรุปจากข้อมูลที่ได้
5. ให้นักเรียนลงความเห็นจากข้อมูลและให้อธิบายข้อความเห็น	

สวัณท์ นิยมคำ (2517 : 142-144) กล่าวเกี่ยวกับการจัดกิจกรรมการทดลองแบบสำเร็จรูป และการทดลองแบบไม่กำหนดแนวทาง ไว้ดังนี้

1) การทดลองแบบสำเร็จรูป (Structured laboratory) การทดลองแบบนี้ครูเป็นผู้กำหนดปัญหา บอกวิธีการแก้ปัญหาและอื่น ๆ ไว้เสร็จ นักเรียนเพียงแต่ทำตามคำสั่งในคู่มือการทดลอง (lab direction)

2) การทดลองแบบไม่กำหนดแนวทาง (Unstructured laboratory) การทดลองแบบนี้ นักเรียนเป็นผู้ค้นหาคำตอบโดยครูกำหนดปัญหาให้ เมื่อได้แนวทางแล้วจึงแยกย้ายกันทำ

การทดลอง แล้วนำผลที่ได้มาอภิปรายหน้าชั้นอีกครั้งหนึ่ง การทดลองแบบนี้เป็นการส่งเสริมสมรรถภาพทางด้านความคิด ควรให้นักเรียนวางแผนการทดลองก่อนแล้วจึงลงมือทำการทดลองตามแบบที่กำหนดไว้ การวางแผนการทดลองควรอยู่ในฐานะเป็นพี่เลี้ยง ซึ่งการวางแผนการทดลองประกอบด้วย การกำหนดปัญหา การตั้งสมมติฐาน และการสร้างแบบการทดลองตามลำดับ

8. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

8.1 งานวิจัยที่เกี่ยวกับการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพร

ดัยามา และโฮริกุชิ (Deyama and Horiguchi . 1974 : 4) ได้ทำการวิเคราะห์สารเคมีและน้ำมันหอมระเหยจากดอกกานพลูโดยโครมาโทกราฟีแบบก๊าซพบว่ามียูจีนอลเป็นองค์ประกอบร้อยละ 80.87

ประทีป พุตระกูล (2521:102 - 104) ได้ทำการศึกษาหาปริมาณเซนโนไซด์ในใบและฝักมะขามแขกในประเทศไทย มะขามแขกที่ใช้ในการวิเคราะห์มี 2 พันธุ์ ได้แก่พันธุ์ *C.angustifolia* และพันธุ์ *C.acutifolia* การเปรียบเทียบปริมาณ เซนโนไซด์ในใบและฝักใช้ปริมาณเซนโนไซด์รวมซึ่งหาโดยวิธีการของ Muller, Christ, Kuhn และการแยกหาปริมาณ เซนโนไซด์ เอและบี ใช้วิธีโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง (TLC plate) ซึ่งดัดแปลงวิธีการมาจากวิธีการของ Saad M. khafagy และคณะควบคุมด้วยสารมาตรฐานเซนโนไซด์เอและบี จากการศึกษาวิจัยพบว่า

1. ใบและฝักมะขามแขกพันธุ์ *C. angustifolia* และพันธุ์ *C. acutifolia* ทั้ง 2 พันธุ์ ใบอ่อนและฝักอ่อนมีเปอร์เซ็นต์เซนโนไซด์รวมสูงกว่าใบแก่และฝักแก่ โดยมะขามแขกพันธุ์ *C. acutifolia* ใบอ่อน (อายุ 1 เดือน) และฝักอ่อน (อายุ 7 วัน) มีเปอร์เซ็นต์ เซนโนไซด์ 2.833 และ 6.724 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

2. มะขามแขกพันธุ์ *C. angustifolia* ฝักมีเปอร์เซ็นต์เซนโนไซด์สูงกว่าใบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05

3. มะขามแขกพันธุ์ *C. acutifolia* มีเปอร์เซ็นต์เซนโนไซด์สูงกว่าใบอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

4. ฝักมะขามแขกพันธุ์ *C. angustifolia* มีเปอร์เซ็นต์เซนโนไซด์สูงกว่าฝักมะขามแขกพันธุ์ *C. acutifolia* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05

5. ใบมะขามแขกพันธุ์ *C. angustifolia* มีเปอร์เซ็นต์เซนโนไซด์ต่ำกว่าใบมะขามแขกพันธุ์ *C. acutifolia* อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

6. ฝักมะขามแขกที่เกษตรกรเก็บขาย ซึ่งส่วนใหญ่เป็นพันธุ์ *C. angustifolia* มีเปอร์เซ็นต์ เซโนโนไซด์ 3.386 เปอร์เซ็นต์ และจะให้ปริมาณ เซโนโนไซด์ เท่ากับ 0.404 กรัม ต่อ 100 ฝักซึ่งเป็น เปอร์เซ็นต์และปริมาณ เซโนโนไซด์ ฝักอายุระหว่าง 21 – 28 วัน ของพันธุ์ *C. angustifolia*

7. ใบและฝักมะขามแขกพันธุ์ *C. angustifolia* และพันธุ์ *C. acutifolia* ใบอ่อนและฝักอ่อนมีเปอร์เซ็นต์เซโนโนไซด์เอและบีสูงกว่าใบแก่และฝักแก่ทั้งสองพันธุ์และโดยเฉลี่ย ฝักมีเซโนโนไซด์เอและบีสูงกว่าใบ โดยมะขามแขกพันธุ์ *C. angustifolia* ใบอ่อน (อายุ 1 เดือน) มีเซโนโนไซด์เอและบี 2.863 เปอร์เซ็นต์ ฝักอ่อน (อายุ 7 วัน) มีเซโนโนไซด์เอและ บี 3.909 เปอร์เซ็นต์ มะขามแขกพันธุ์ *C. acutifolia* ใบอ่อน (อายุ 1 เดือน) มีเซโนโนไซด์เอและบี 2.692 เปอร์เซ็นต์ ฝักอ่อน (อายุ 7 วัน) มี เซโนโนไซด์เอและบี 4.163 เปอร์เซ็นต์

จินตนา สุทธชยานนท์ (2534 : บทคัดย่อ) ได้ศึกษาฤทธิ์ด้านเชื้อของใบชุมเห็ดเทศ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อแยกสารสำคัญจากใบชุมเห็ดเทศเพื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ด้านเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคผิวหนัง กลากเปลี่ยนจากการทดลองสกัดผงใบชุมเห็ดเทศด้วยกรดและแอลกอฮอล์ พบว่า สารสำคัญได้แก่ aloe – emodin , rhein เมื่อนำสารทั้งสองชนิด และสารสกัดเข้มข้นเอธานอล ไปทดสอบประสิทธิภาพในการต้านเชื้อราโดยวิธี disc diffusion โดยใช้ Tolnaftate เป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบ พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อรา *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum gypsum*, *Trichophyton rubrum* ได้

สำรวย ขำทรัพย์ (2534 : 29) ได้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีบางชนิดจากหัวร้อยรู โดยเทคนิคทางโครมาโทกราฟี และวิเคราะห์โครงสร้างของสารโดยเทคนิคสเปกโทรสโกปีพบว่าใน สารสกัดเฮกเซนและคลอโรฟอร์มประกอบด้วยสารเบต้าไซโตสเตอรอล

มัลลิกา ไตรเดช (2537:บทคัดย่อ) ได้ทำการวิจัยหาปริมาณแอนทราควิโนนในพืชพวก *Cassia* ชนิดต่าง ๆ จากการศึกษาพบว่าพืชที่มีปริมาณ แอนทราควิโนนสูงกว่า 400 มิลลิกรัม เปอร์เซ็นต์ได้แก่ ใบมะขามแขก และพืชที่มีปริมาณ แอนทราควิโนน ปริมาณ 200 – 400 มิลลิกรัม เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ ใบชุมเห็ดเทศ ใบกาลพฤกษ์ ดอกคูณและฝักคูณ

วิชชุดา น้อยมณีและศุภสิทธิ์ จัตรวิราคม (2537 : บทคัดย่อ) ได้ทำการศึกษาสารคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์ของรำเพย จากส่วนของใบใช้วิธีการสกัดต่อเนื่องด้วย Soxhlet apparatus และวิธี percolation ด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม และเมล็ดใช้ในส่วนของเนื้อในเมล็ดที่สกัดแยกไขมันออกแล้วนำมาสกัดด้วยตัวทำละลายเช่นเดียวกับใบ การทำแยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน พบว่าระบบที่ใช้แยกสารที่เหมาะสม คือ chloroform : acetone อัตราส่วน 65 : 35 และตรวจพบสาร nerifolin และ peruvoside

8.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับกิจกรรมปฏิบัติการวิทยาศาสตร์

บีสลีย์ (Beasley. 1979 : 5428-A) ได้ศึกษาผลของการฝึกทักษะปฏิบัติการเคมี โดยใช้วิธีปฏิบัติจริง และวิธีการติดต่อการปฏิบัติการทดลองเคมีของนักศึกษาที่เรียนวิชาเคมีพื้นฐานเพื่อศึกษา

1. ผลของการฝึกทักษะด้วยการปฏิบัติการทดลองอย่างเดียว
2. ผลของการฝึกทักษะด้วยการคิดอย่างเดียว
3. ผลของการฝึกทักษะด้วยการทดลองและการคิดร่วมกัน

ผู้วิจัยแบ่งนักศึกษาออกเป็นกลุ่มทดลอง และกลุ่มควบคุม โดยกลุ่มทดลองแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มย่อย เพื่อศึกษาผลของการฝึกทักษะทั้ง 3 แบบ เกณฑ์ในการประเมินมี 2 เกณฑ์ คือ ความถูกต้อง แม่นยำ (accuracy) และความคงที่แน่นอน (precision) โดยใช้วิธีการสังเกตพฤติกรรมของนักศึกษาขณะทำการทดลองเป็นเวลา 3 สัปดาห์ แล้วนำข้อมูลมาวิเคราะห์หาความแปรปรวนผลการวิจัยพบว่า

1. ทักษะปฏิบัติการทดลองของนักศึกษาที่ได้รับการฝึกทักษะแบบต่าง ๆ ทั้ง 3 กลุ่มย่อย ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ
2. นักศึกษาที่ได้รับการฝึกทักษะปฏิบัติการทดลอง แตกต่างจากกลุ่มที่ไม่ได้รับการฝึกอย่างมีนัยสำคัญ

ลูเวิร์ส (Louwerse.. 1982 : 1915 A) ได้ศึกษาเปรียบเทียบผลของการให้นักเรียนทำการทดลองด้วยตนเอง กับการให้นักเรียนสังเกตดูการสาธิตการทดลองของครู ที่มีต่อผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนวิชาวิทยาศาสตร์ เจตคติต่อวิทยาศาสตร์และทักษะกระบวนการทางวิทยาศาสตร์ ของนักเรียนระดับมัธยมศึกษา ตัวอย่างประชากรประกอบด้วยนักเรียนเกรด 10-12 จากโรงเรียนมัธยมศึกษาตอนปลาย ในรัฐฟลอริดา จำนวน 92 คน ให้เรียนเนื้อหาวิชาและการทดลองที่เหมือนกันโดยครูคนเดียวกัน แต่ตอนทำการทดลองแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มหนึ่งให้ทำการทดลองแบบสืบเสาะหาความรู้ด้วยตนเอง อีกกลุ่มหนึ่งให้คอยสังเกตดูครูที่ทำการสาธิตการทดลอง จากผลการวิจัยพบว่า ผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนวิชาวิทยาศาสตร์ เจตคติต่อวิทยาศาสตร์และทักษะกระบวนการทางวิทยาศาสตร์ ของกลุ่มที่ทำการทดลองด้วยตนเอง กับกลุ่มที่สังเกตดูครูสาธิตการทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

แมคมีน (McMeen 1983 : 130A) ได้ทำการศึกษาบทบาทของการเรียนการสอนปฏิบัติการแบบสืบสอบ ในการช่วยให้เกิดพัฒนาการทางสติปัญญา ด้านความรู้ ความเข้าใจตัวอย่างประชากรเป็นนักศึกษาวิทยาลัยครูที่เรียนวิชาเคมีพื้นฐาน ประกอบด้วยกลุ่มควบคุมจำนวน 73 คน ให้เรียนเคมีโดยการสอบแบบเดิม หรือการบรรยายและให้ทำปฏิบัติการแบบที่กำหนดวิธีปฏิบัติการ

มาให้ และกลุ่มทดลองจำนวน 49 คน ให้เรียนเคมีโดยให้ทำปฏิบัติการแบบสืบสอบเวลาที่ใช้ในการทดลอง 10 สัปดาห์ เครื่องมือที่ใช้ในการวัดพัฒนาการทางสติปัญญา คือ แบบวัดการคิดเชิงเหตุผล โดยให้นักศึกษาทั้ง 2 กลุ่มทำแบบวัดนี้ก่อนและหลังการทดลอง จากผลการวิจัยพบว่าทั้งกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองมีพัฒนาการทางสติปัญญาด้านความรู้ความเข้าใจเพิ่มขึ้น และกลุ่มทดลองมีพัฒนาการทางสติปัญญาด้านความรู้ความเข้าใจเพิ่มขึ้นสูงกว่ากลุ่มควบคุม

อัลรูวาซิด (Al-Ruwashid, 1984 : 1357A) ได้ทำการศึกษาผลของการเรียนการสอนวิชาเคมีที่ใช้การบรรยายอย่างเดียว และที่ใช้การบรรยายกับการทำปฏิบัติการที่มีต่อผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนวิชาเคมี เจตคติต่อวิทยาศาสตร์และเจตคติเชิงวิทยาศาสตร์ของนักศึกษาในวิทยาลัยรียาร์ด ประเทศซาอุดีอาระเบีย ตัวอย่างประชากรประกอบด้วยนักศึกษาที่เรียนวิชาเคมี 041 ที่วิทยาลัยรียาร์ด จำนวน 128 คน แบ่งเป็นกลุ่มที่สอนโดยการบรรยายอย่างเดียว 62 คนและกลุ่มที่สอนโดยการบรรยายกับการทำปฏิบัติการ 66 คนเวลาที่ใช้ในการทดลอง 1 ภาคเรียน เครื่องมือที่ใช้คือแบบทดสอบวัดผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนวิชาเคมี และแบบวัดเจตคติเชิงวิทยาศาสตร์ ให้นักศึกษาทั้ง 2 กลุ่ม ทำแบบทดสอบและแบบวัดก่อนและหลังการเรียน จากผลการวิจัยพบว่า

1. การเรียนการสอนแบบที่ใช้การบรรยายกับการทำปฏิบัติการ มีผลทำให้ผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนวิชาเคมีของนักศึกษาเพิ่มขึ้นมากกว่าการเรียนการสอนแบบที่ใช้การบรรยายอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

2. การเรียนการสอนแบบที่ใช้การบรรยายกับการทำปฏิบัติการ มีผลทำให้เจตคติเชิงวิทยาศาสตร์ และเจตคติต่อวิทยาศาสตร์ของนักศึกษาเพิ่มขึ้นมากกว่าการเรียนการสอนแบบที่ใช้การบรรยายอย่างเดียว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

3. ผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนวิชาเคมี เจตคติเชิงวิทยาศาสตร์กับเจตคติต่อวิทยาศาสตร์ของนักศึกษาแต่ละกลุ่มมีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สมมติฐานการวิจัย

1. เอกสารประกอบการปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เรื่องการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรในท้องถิ่น สำหรับหลักสูตรวิทยาศาสตร์ของสถาบันราชภัฏแต่ละบทปฏิบัติการมีความสอดคล้องระหว่างวัตถุประสงค์กับเนื้อหา

2. บทปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เรื่องการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรในท้องถิ่น สำหรับหลักสูตรวิทยาศาสตร์ของสถาบันราชภัฏซึ่งประกอบด้วยวัตถุประสงค์ หลักการ/ทฤษฎี อุปกรณ์/เครื่องมือ และสารเคมี วิธีการทดลองแต่ละบทปฏิบัติการมีความสอดคล้องระหว่างวัตถุประสงค์กับวิธีการทดลอง

3. รายงานผลและคำถามท้ายการทดลองบทปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เรื่องการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรในท้องถิ่น สำหรับหลักสูตรวิทยาศาสตร์ ของสถาบันราชภัฏแต่ละบทปฏิบัติการมีความสอดคล้องระหว่างวัตถุประสงค์กับคำถามท้ายการทดลอง

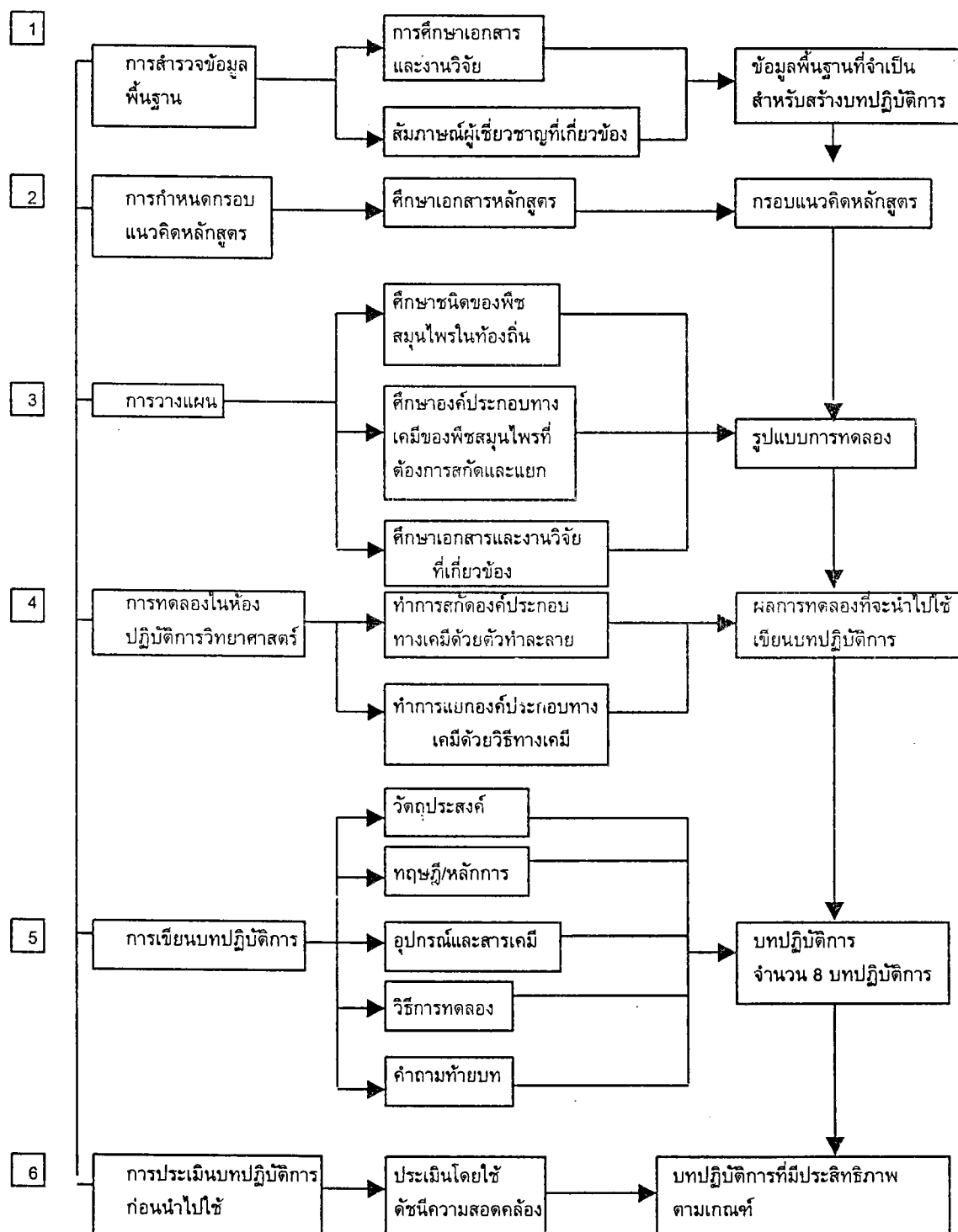
บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการพัฒนาบทปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เรื่องการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรในท้องถิ่น สำหรับหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิตของสถาบันราชภัฏโดยศึกษาวิธีสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรในท้องถิ่น ซึ่งผู้วิจัยได้ดำเนินการตามลำดับดังนี้

1. การสำรวจข้อมูลพื้นฐาน
2. การกำหนดกรอบแนวคิดหลักสูตร
3. การวางแผนการทดลอง
4. การทดลองในห้องปฏิบัติการทดลองวิทยาศาสตร์
5. การพัฒนาบทปฏิบัติการ
6. การประเมินบทปฏิบัติการก่อนนำไปใช้

ในแต่ละขั้นตอนมีกิจกรรมย่อยซึ่งแสดงเป็นแผนภาพได้ดังนี้



ภาพประกอบ 34 แสดงขั้นตอนในการพัฒนาบทปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เรื่องการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรในท้องถิ่น

จากภาพประกอบ 34 มีรายละเอียดในการศึกษาดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 การสำรวจข้อมูลพื้นฐาน

ขั้นตอนนี้เป็นการสำรวจข้อมูลพื้นฐานเพื่อที่จะนำข้อมูลที่ได้มาสร้างเป็นบทปฏิบัติการ โดยการศึกษาเอกสารและงานวิจัย วิเคราะห์คำอธิบายรายวิชาของวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติในส่วนที่เป็นเนื้อหาที่สมควรจะนำมาสร้างบทปฏิบัติการ สัมภาษณ์อาจารย์ผู้สอนวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เพื่อนำข้อมูลที่ได้มาสร้างบทปฏิบัติการ และกำหนดจำนวนบทปฏิบัติการที่จะสร้างให้เหมาะสมกับเนื้อหาและเวลาที่ใช้ในการเรียนการสอน

ขั้นตอนที่ 2 การกำหนดกรอบแนวคิดหลักสูตร

ขั้นตอนนี้ผู้วิจัยได้ศึกษาเอกสารหลักสูตรวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติเพื่อพัฒนาเป็นบทปฏิบัติการให้นักศึกษาได้ใช้เรียนเป็นภาคปฏิบัติ โดยทิศทางการทดลองมีลักษณะเป็นการค้นหาคำตอบเพื่อตรวจสอบทฤษฎีและทดลองให้เสร็จภายในเวลาที่กำหนด โดยที่บทปฏิบัติการนี้ต้องการให้นักศึกษาฝึกทักษะปฏิบัติ ทักษะกระบวนการทางวิทยาศาสตร์ เพื่อให้นักศึกษาจะได้เกิดเจตคติทางวิทยาศาสตร์ และเกิดความรู้ความเข้าใจในภาคทฤษฎียิ่งขึ้น และสามารถนำความรู้ที่ได้ไปใช้ในการวิจัยเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์ธรรมชาติในขั้นสูงต่อไป

ขั้นตอนที่ 3 การวางแผนการทดลอง

ขั้นตอนนี้เป็นการวางแผนการทดลองโดยการศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัด และแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพร ศึกษาพืชสมุนไพรที่มีในท้องถิ่นว่ามีชนิดใดบ้าง แต่ละชนิดมีองค์ประกอบทางเคมีประเภทใด แล้วเลือกพืชสมุนไพรที่จะนำมาใช้ในการทดลอง โดยพืชสมุนไพรที่เลือกมานั้นมีการวิจัยพบว่ามีองค์ประกอบทางเคมีที่ต้องการอยู่ แล้ววางแผนการทดลองสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรในท้องถิ่นแต่ละชนิด

ขั้นตอนที่ 4 การทดลองในห้องปฏิบัติการทดลองวิทยาศาสตร์

ขั้นตอนนี้ผู้วิจัยได้ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ เพื่อสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีบางประเภทจากพืชสมุนไพร ซึ่งจะนำไปใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาบทปฏิบัติการองค์ประกอบทางเคมีที่ทำการสกัดและแยก มีดังนี้

- 1) น้ำมันหอมระเหย
- 2) ฟลาโวนอยด์
- 3) แทนนิน
- 4) ซาโปนิน
- 5) คาร์ดิแอกกลัยโคไซด์
- 6) แอนทราควิโนน
- 7) แอลคาลอยด์
- 8) สเตอรอยด์

ผู้วิจัยได้ทำการทดลองโดยใช้เครื่องมืออุปกรณ์ และสารเคมีในห้องปฏิบัติการ ของศูนย์
วิทยาศาสตร์ สถาบันราชภัฏเพชรบุรีวิทยาการณ ในพระบรมราชูปถัมภ์ ดังนี้

เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1) เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

- เครื่องกลั่นไอน้ำ
- เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน
- เครื่องส่องรังสีเหนือม่วง
- เครื่องยูวีวิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-VIS Spectrophotometer)
ยี่ห้อ SHIMADZU รุ่น UV1601
- เครื่องโครมาโทกราฟีแบบก๊าซ ยี่ห้อ SHIMADZU รุ่น GC-148
- เครื่องโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง ยี่ห้อ SHIMADZU
รุ่น LC-110 Avp
- เครื่องปั่นไฟฟ้า
- เครื่องชั่งเชิงวิเคราะห์ทศนิยม 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ METTLER TOLEDO
รุ่น AG 245

2) อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

- แผ่นสไลด์ ขนาด 2.5×7.5 เซนติเมตร
- แผ่นกระจกขนาด 20×20 เซนติเมตร
- ขวดโหลแก้ว
- คอลัมน์แก้ว
- ขวดวัดปริมาตร
- ปิเปตพร้อมลูกยาง
- บีกเกอร์
- หลอดหยด
- กรวยแยก
- ข้อนดักสาร
- แท่งแก้วคน
- กรวยแก้ว
- กระดาษกรอง
- ชุดกรองแบบบุชเนอร์
- โกร่งบดสาร

3) สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

(1) สารเคมีที่ใช้ในการสกัดองค์ประกอบทางเคมีในพืชสมุนไพร

- เฮกเซน
- คลอโรฟอร์ม
- เมทานอล

(2) สารเคมีที่ใช้ในการแยกองค์ประกอบทางเคมี

- ซิลิกาเจล สำหรับโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง
- ซิลิกาเจล สำหรับโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์
- โซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส
- เฮกเซน
- เมทิลีนคลอไรด์
- คลอโรฟอร์ม
- เอธิลอะซิเตต
- อะซิโตน
- เมทานอล

(3) สารเคมีและรีเอเจนต์ที่ใช้ทดสอบปฏิกิริยาเคมี

- สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ (FeCl_3)
- ดราเจนดอร์ฟ รีเอเจนต์ (Dragendorff's reagent)
- เมเยอร์ รีเอเจนต์ (Mayer's reagent)
- แวกเนอร์ รีเอเจนต์ (Wagner's reagent)
- เคดเดส์ รีเอเจนต์ (Kedde's reagent)
- กรดกำมะถันเข้มข้น (Conc. H_2SO_4)
- กรดแอซิดิกแอนไฮไดรด์ (acetic anhydride)
- เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 (95% ethanol)
- แมกนีเซียม (Mg)
- กรดเกลือเข้มข้น (Conc. HCl)
- น้ำกลั่น

(4) พืชสมุนไพรที่ใช้ในการทดลอง

- ดอกกานพลู
- ผลพริกไทยดำ
- เปลือกผลมังคุด
- ใบชุมเห็ดเทศ
- ผลมะคำดีควาย

- ดอกกระเจี๊ยบแดง
- หัวร้อยรู
- เมล็ดรำเพย

วิธีการทดลอง

1) การสกัดและแยกน้ำมันหอมระเหยจากดอกกานพลู

ตอนที่ 1 การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากดอกกานพลู

วิธีการทดลอง

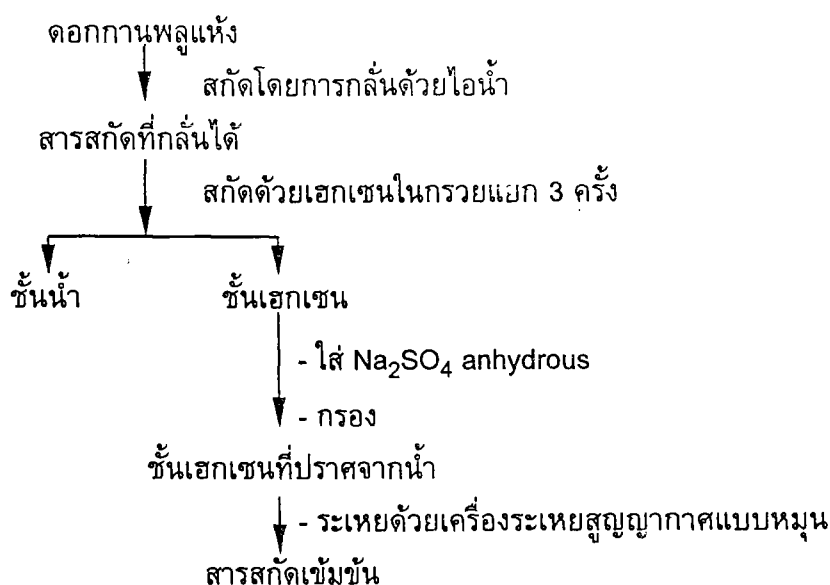
(1) นำดอกกานพลูสดล้างน้ำให้สะอาด ผึ่งแดดให้แห้งแล้วนำมาชั่งให้ได้ น้ำหนักประมาณ 300 กรัม

(2) นำดอกกานพลูจากข้อ (1) มาปั่นให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ หรือโขลกให้ละเอียดแล้วนำไปสกัดโดยใช้เครื่องกลั่นด้วยไอน้ำ

(3) นำสารสกัดจากข้อ (2) มาสกัดด้วยเฮกเซนในกรวยแยก แยกเอาชั้นเฮกเซน สกัดซ้ำอีก 3 ครั้ง รวมชั้นเฮกเซนเข้าด้วยกัน

(4) นำชั้นเฮกเซนจากข้อ (3) มาใส่โซเดียมซัลเฟตที่ปราศจากน้ำ (Na_2SO_4 anhydrous) ลงไปในอัตราส่วนสารละลาย 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร ต่อโซเดียมซัลเฟตที่ปราศจากน้ำ 1 กรัม เพื่อดูดน้ำที่อาจมีหลงเหลืออยู่ในเฮกเซน กรองแยกเอาโซเดียมซัลเฟตที่ปราศจากน้ำ ออกนำชั้นเฮกเซนไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน จนได้สารสกัดเข้มข้น นำมาชั่งด้วยเครื่องชั่งเชิงวิเคราะห์ทศนิยม 4 ตำแหน่ง บันทึกน้ำหนัก

การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากดอกกานพลูแสดงได้ดังภาพประกอบ 35



ภาพประกอบ 35 แสดงขั้นตอนการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากดอกกานพลู

ตอนที่ 2 การแยกน้ำมันหอมระเหยจากดอกกานพลู

วิธีการทดลอง

(1) นำสารสกัดเข้มข้นที่ได้จากตอนที่ 1หนัก 0.10 กรัม ละลายในคลอโรฟอร์ม 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร ให้เป็นสารละลายเนื้อเดียวกัน

(2) นำสารละลายจากข้อ (1) มาจุด (spot) ลงบนแผ่นสไลด์ที่เคลือบด้วยซิลิกาเจล ปล่อยให้แห้ง แล้วนำไปจุ่มในภาชนะที่อิมมัตด้วยไอของตัวทำละลาย โดยเริ่มจากตัวทำละลายไม่มีขั้ว แล้วค่อย ๆ เพิ่มขั้วขึ้นตามลำดับ ดังนี้

เฮกเซน → เมธิลีนคลอไรด์ → คลอโรฟอร์ม → เอธิลอะซิเตต → อะซิโตน → เอทานอล

การหาระบบตัวทำละลายที่สามารถแยกน้ำมันหอมระเหยจากดอกกานพลูตัวอย่างการเพิ่มขั้วแสดงดังตาราง 11

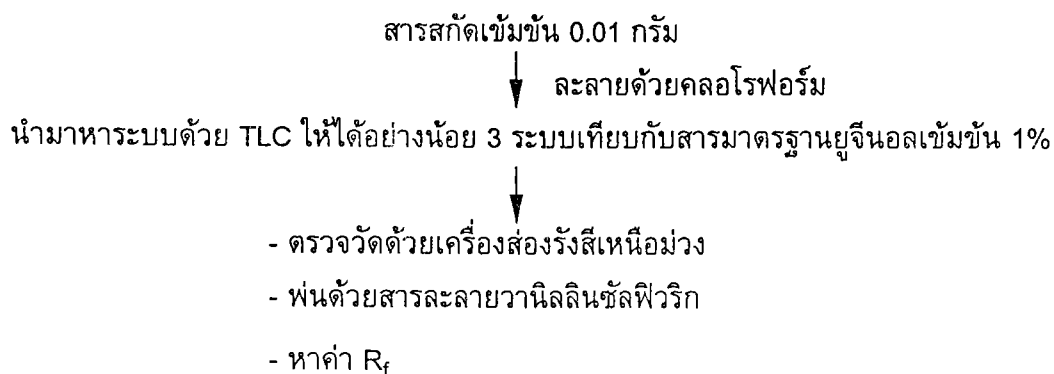
ตาราง 11 แสดงการแยกน้ำมันหอมระเหยจากดอกกานพลูด้วยเฮกเซน และเมธิลีนคลอไรด์

ตัวทำละลาย	ปริมาตรของตัวทำละลาย (ชม. ³)
เฮกเซน	10
เฮกเซน : เมธิลีนคลอไรด์	9 : 1
เฮกเซน : เมธิลีนคลอไรด์	8 : 2
เฮกเซน : เมธิลีนคลอไรด์	7 : 3
เฮกเซน : เมธิลีนคลอไรด์	6 : 4
เฮกเซน : เมธิลีนคลอไรด์	4 : 6
เฮกเซน : เมธิลีนคลอไรด์	3 : 7
เฮกเซน : เมธิลีนคลอไรด์	2 : 8
เฮกเซน : เมธิลีนคลอไรด์	1 : 9

(3) ในการหาระบบตัวทำละลายที่สามารถแยกน้ำมันหอมระเหยจากดอกกานพลู ได้ทำการทดลองโดยเทียบกับสารมาตรฐาน คือ ยูจีนอล (Eugenol) เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ แล้วทำการตรวจวัดโดยเครื่องส่องรังสีเหนือม่วง (UV-lamp) ความยาวคลื่น 254 และ 366 นาโนเมตร และพ่นด้วยสารละลายวานิลลิน ซัลฟิวริกเอเจนต์ (Vanillin-H₂SO₄ reagent) คำนวณค่าอัตราส่วนการเคลื่อนที่ของยูจีนอลต่อตัวทำละลายที่เคลื่อนที่ (R_f) เทียบกับน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากดอกกานพลู

(4) เมื่อทำการทดลองหาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมได้แล้ว ทำการทดลองตามข้อ (2) และ (3) ซ้ำให้ได้ระบบตัวทำละลายอื่นที่แตกต่างไปจากข้อ (3) ที่สามารถแยกน้ำมันหอมระเหยจากดอกกานพลู 3 ระบบโดยแต่ละระบบทำซ้ำ 3 ครั้ง

การแยกน้ำมันหอมระเหยจากดอกกานพลูแสดงได้ดังภาพประกอบ 36



ภาพประกอบ 36 แสดงขั้นตอนการแยกน้ำมันหอมระเหยจากดอกกานพลู

ตอนที่ 3 การแยกและหาปริมาณน้ำมันหอมระเหยจากดอกกานพลูด้วย

เทคนิคโครมาโทกราฟีแบบก๊าซ

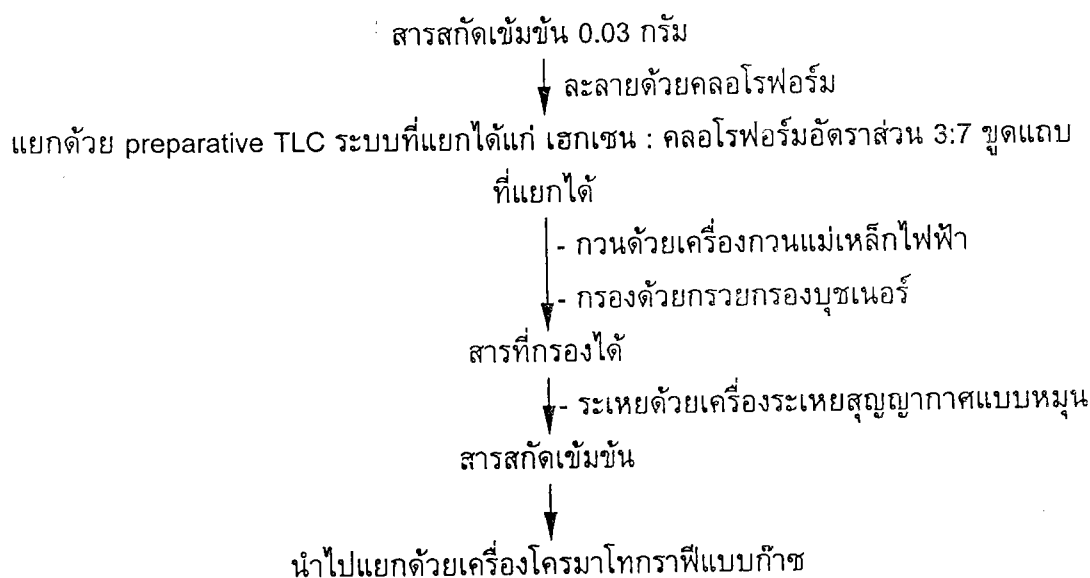
วิธีการทดลอง

- (1) นำสารสกัดเข้มข้นที่ได้จากตอนที่ 1หนัก 0.30 กรัมละลายด้วยคลอโรฟอร์ม จำนวน 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร ละลายให้เป็นเนื้อเดียวกัน
- (2) ใช้สำลีที่สะอาดพันปลายหลอดหยดเล็กน้อย แล้วนำไปจุ่มในสารละลายในข้อ (1) แล้วนำไปลากลงบนแผ่นกระจกขนาด 20×20 เซนติเมตร ทิ้งไว้ให้แห้ง นำไปจุ่มในภาชนะที่อ้อมตัวด้วยไอของตัวทำละลายระบบใดระบบหนึ่งที่หาได้จากตอนที่ 2 เมื่อตัวทำละลายซึมขึ้นมาถึงขอบบนของแผ่นกระจกแล้ว เอาแผ่นกระจกออกทิ้งไว้ให้แห้ง ตรวจด้วยเครื่องส่องรังสียูวี บันทึกผลใช้อุปกรณ์ที่มีปลายแหลม เช่น เข็ม ชีดเส้นแบ่งแถบแต่ละแถบออกจากกัน
- (3) ขูดแถบ (band) ที่ได้ลงบนแผ่นกระดาษที่สะอาด แล้วนำไปถ่ายใส่ในขวดรูปชมพูนขนาด 250 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติมคลอโรฟอร์มลงไปให้ท่วมสาร นำไปกวนโดยใช้เครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า (Magnetic stirrer) ประมาณ 5 นาที แล้วกรองด้วยกรวยบุชเนอร์ นำไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน จนได้สารสกัดเข้มข้น
- (4) ถ้าแยกสารได้มากกว่า 1 แถบทำการทดลองตามข้อ (3) ทุกแถบ
- (5) นำสารสกัดเข้มข้นที่ได้จากแต่ละแถบมาตรวจสอบดูว่ามีน้ำมันหอมระเหยอยู่ในแถบใด โดยเทียบกับสารมาตรฐาน คือ ยูจีนอล วิธีการทดลองเหมือนตอนที่ 2
- (6) เมื่อตรวจสอบทราบแล้วว่าน้ำมันหอมระเหยอยู่แถบใดให้ทำการทดลองตามข้อ (2) (3) (4) และ (5) ซ้ำ 3 ครั้ง
- (7) นำสารสกัดเข้มข้นที่มีน้ำมันหอมระเหยอยู่ ไปทำการแยกโดยใช้เครื่องโครมาโทกราฟีแบบก๊าซ แล้วทดลองหาสภาวะที่เหมาะสม โดยเริ่มจากแบบไอโซ-

เทอร์มอล (Isothermal) ลิเนียร์ (Linear) และมัลติลิเนียร์ (Multi-linear) โดยเทียบกับสารมาตรฐานยูจีนอล

(8) เปรียบเทียบโครมาโทแกรมระหว่างสารที่สกัดได้จากดอกกานพลูกับสารมาตรฐาน และ Retention time ของสารทั้งสอง บันทึกผล

(9) หาปริมาณของยูจีนอลในดอกกานพลูจากโครมาโทแกรมที่ได้ การแยกและหาปริมาณน้ำมันหอมระเหยจากดอกกานพลูด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบก๊าซแสดงได้ดังภาพประกอบ 37



ภาพประกอบ 37 แสดงขั้นตอนการแยกและหาปริมาณน้ำมันหอมระเหยจากดอกกานพลูด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบก๊าซ

2) การสกัดและแยกฟลาโวนอยด์จากดอกกระเจี๊ยบแดง

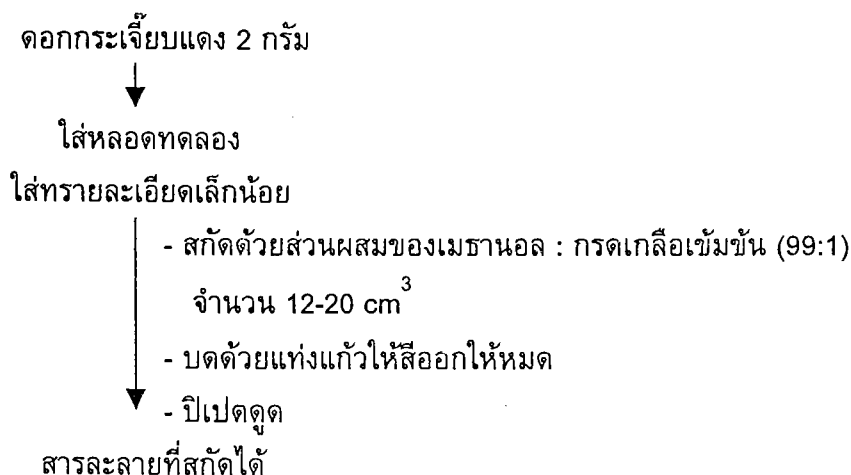
ตอนที่ 1 การสกัดฟลาโวนอยด์จากดอกกระเจี๊ยบแดง

วิธีการทดลอง

(1) นำดอกกระเจี๊ยบแดงหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ หนัก 2 กรัม ใส่ในหลอดทดลอง ใส่ทรายละเอียดที่สะอาดลงไปเล็กน้อย

(2) เติมสารละลายผสมของเมทานอล : กรดเกลือเข้มข้น ในอัตราส่วน 99:1 โดยปริมาตร เติมลงไป 12-20 ลูกบาศก์เซนติเมตร บดด้วยแท่งแก้วให้สีออกมาจากดอกกระเจี๊ยบแดงให้หมด ใช้มีเบตดูดสารละลายเก็บไว้ในหลอดทดลอง

การสกัดฟลาโวนอยด์จากดอกกระเจี๊ยบแดง แสดงดังภาพประกอบ 38



ภาพประกอบ 38 แสดงขั้นตอนการสกัดฟลาโวนอยด์จากดอกกระเจี๊ยบแดง

ตอนที่ 2 การแยกฟลาโวนอยด์ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

วิธีการทดลอง

- (1) แบ่งสารละลายที่สกัดได้จากตอนที่ 1 มา 2 ลูกบาศก์เซนติเมตร
- (2) ใช้หลอดแคปพิลลารีจุ่มลงในสารละลายที่ได้ในข้อ (1) แล้วนำไปจุ่มบนแผ่นสไลด์ที่เคลือบด้วยซิลิกาเจล ทั้งไว้ให้แห้ง แล้วนำไปจุ่มในภาชนะที่อิมมัตด้วยไอของตัวทำละลาย โดยเริ่มจากตัวทำละลายไม่มีขั้ว และค่อย ๆ เพิ่มขั้วของตัวทำละลายขึ้นตามลำดับ เพื่อหาระบบที่เหมาะสมที่สามารถแยกฟลาโวนอยด์จากดอกกระเจี๊ยบแดง โดยหาให้ได้อย่างน้อย 2 ระบบ

(3) เมื่อหาระบบที่เหมาะสมได้แล้ว นำระบบนี้ไปใช้เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ในการแยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

วิธีการแยกฟลาโวนอยด์ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง แสดงได้ดังภาพประกอบ 39



ภาพประกอบ 39 แสดงขั้นตอนการแยกฟลาโวนอยด์ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

ตอนที่ 3 การแยกฟลาโวนอยด์จากดอกกระเจี๊ยบแดงด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

วิธีการทดลอง

(1) นำตัวทำละลายของระบบที่แยกได้จากตอนที่ 2 ใส่ในคอลัมน์แก้ว ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร ยาว 25 เซนติเมตร โดยปลายคอลัมน์อุดด้วยสำลีที่สะอาดและใส่ทรายละเอียดลงไปเล็กน้อย และให้ผิวหน้าของทรายเรียบเสมอกัน ใส่ตัวทำละลายลงไปประมาณหนึ่งในสี่ของคอลัมน์

(2) นำซิลิกาเจลสำหรับคอลัมน์โครมาโทกราฟี หนัก 20 กรัม ใส่บีกเกอร์ขนาด 250 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใส่ตัวทำละลายลงไป 150 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใช้แท่งแก้วคนไม่ให้มีฟองอากาศ แล้วค่อย ๆ เทซิลิกาใส่คอลัมน์พร้อมกับเปิดให้ตัวทำละลายไหลออกไป ใส่ซิลิกาลงไปจนได้ความสูงประมาณสามในสี่ของคอลัมน์ และอย่าให้ในคอลัมน์มีฟองอากาศ เมื่อซิลิกามีปริมาณคงที่แล้วใส่ทรายละเอียดลงไปเล็กน้อยเพื่อป้องกันไม่ให้ผิวหน้าของซิลิกากระเทือน และให้ปริมาตรของตัวทำละลายอยู่ระดับเดียวกับทรายละเอียด

(3) นำสารสกัดจากดอกกระเจี๊ยบแดงที่ได้จากตอนที่ 1 มา 3 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใช้หลอดหยดดูดสารสกัดแล้วค่อย ๆ หยดใส่ข้าง ๆ คอลัมน์ให้รอบ ให้สารสกัดค่อย ๆ ซึมผ่านทรายลงไป ระวังอย่าให้สารละลายไหลออกจากคอลัมน์ ส่วนบนแห้งเพราะจะทำให้ตัวดูดซับแตกและเกิดช่องว่างระหว่างตัวดูดซับได้

(4) เมื่อสารสกัดซึมผ่านทรายลงไปหมดแล้ว ค่อย ๆ เทตัวทำละลายไปจนสารสกัดเกิดการแยกเป็นแถบ (band) เก็บสารที่แยกออกจากคอลัมน์แต่ละแถบใส่ภาชนะไว้ บันทึกสีของสารที่แยกได้ และนำไปทดสอบในตอนต่อไป

วิธีการแยกฟลาโวนอยด์จากดอกกระเจี๊ยบแดงด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ แสดงได้ดังภาพประกอบ 40

คอลัมน์แก้วเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 ซม. ยาว 25 ซม.

- ใส่ซิลิกาเจลสำหรับคอลัมน์โครมาโทกราฟี
- ระบบที่ใช้แยก ได้แก่ n-butanol : glacial acetic acid : H₂O = 6 : 1.5 : 2.5

เก็บสารที่แยกได้ใส่ภาชนะไว้ครั้งละ 30 cm³

ภาพประกอบ 40 แสดงขั้นตอนการแยกฟลาโวนอยด์จากดอกกระเจี๊ยบแดงด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

ตอนที่ 4 การทดสอบฟลาโวนอยด์

วิธีการทดลอง

(1) การทดสอบด้วยปฏิกิริยาชิโนดา (Shinoda reaction) ไชยานิดิน

(Cyanidin reaction)

ทดสอบโดยนำสารละลายที่แยกได้จำนวน 3 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใส่หลอดทดลอง ใส่วงแหวนแมกนีเซียม 3-4 อัน (0.1 กรัม) แล้วจึงเติมกรดเกลือเข้มข้นจำนวน 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร สังเกตผล ทั้งให้หลอดทดลองเย็น เติมน้ำกลั่นลงไปปริมาตรเท่ากับสารละลายที่มีอยู่ในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่นแอลกอฮอล์จำนวน 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร เขย่า ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น สังเกตสีแต่ละชั้น บันทึกผล

(2) การทดสอบแอนโทไซยานิน

นำสารละลายที่แยกได้จำนวน 3 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติมน้ำกลั่น กรดเกลือเข้มข้น 2 กรัมสมมูลต่อลูกบาศก์เซนติเมตร จำนวน 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร สังเกตผล ค่อย ๆ เติมน้ำกลั่นแอมโมเนียทีเอส (ammonia T.S.) ทีละหยด เขย่า สังเกตผล

การทดสอบฟลาโวนอยด์ที่สกัดได้จากดอกกระเจี๊ยบแดง แสดงดังภาพ

ประกอบ 41

การทดสอบด้วยปฏิกิริยาชิโนดาและไชยานิดิน

สารละลายที่แยกได้จำนวน 3 cm³

- ใส่วงแหวนแมกนีเซียม 3-4 อัน (0.1 กรัม)
- เติมน้ำกลั่นเข้มข้นจำนวน 1 cm³
- สังเกตผล

↓
ทั้งสารละลายให้เย็น

- เติมน้ำกลั่นปริมาตรเท่ากับสารละลายที่มีอยู่
- เติมน้ำกลั่นแอลกอฮอล์ จำนวน 1 cm³
- เขย่าตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น

↓
สังเกตสีแต่ละชั้น

การทดสอบแอนโธไซยานิน

สารละลายที่แยกได้จำนวน 3 cm^3

- เติมสารละลายกรดเกลือเข้มข้น 2 N จำนวน 1 cm^3
- ▼ - เขย่า สังเกตผล

สารละลายเปลี่ยนเป็นสีแดง

- เติมสารละลายแอมโมเนียทีเอส ทีละหยด
- เขย่า
- ▼ สังเกตผล

ภาพประกอบ 41 แสดงขั้นตอนการทดสอบฟลาโวนอยด์ที่สกัดได้จากดอกกระเจี๊ยบแดง ด้วยปฏิกิริยาไซยานิดิน และการทดสอบแอนโธไซยานิน

3) การสกัดและแยกแทนนินจากเปลือกผลมังคุด

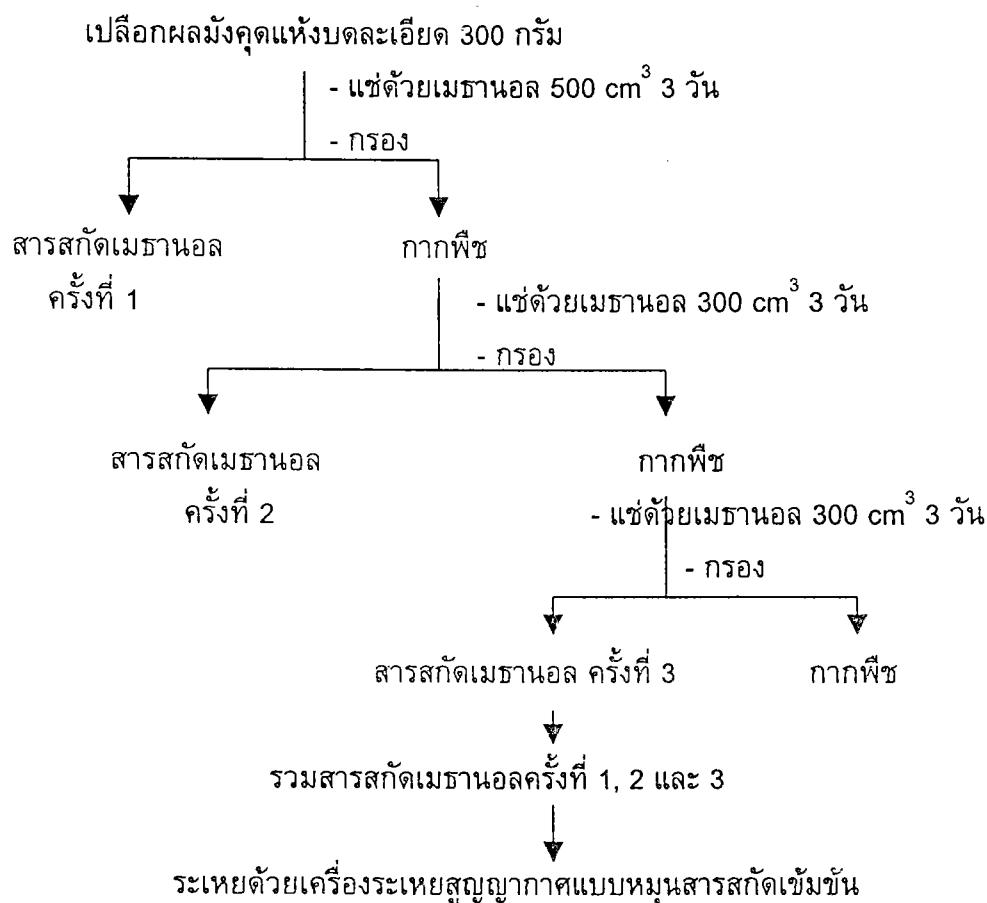
ตอนที่ ▼ การสกัดแทนนินจากเปลือกผลมังคุด

วิธีการทดลอง

(1) นำเปลือกผลมังคุดมาผึ่งแดดให้แห้ง บดละเอียดหนัก 300 กรัม ใส่ในขวดโหลแก้ว ใส่เมธานอลลงไปสกัดจำนวน 500 ลูกบาศก์เซนติเมตร ปิดฝาภาชนะ ทิ้งไว้ 3 วัน ระหว่างนี้เขย่าขวดโหลบ้างเป็นครั้งคราว เพื่อให้ตัวทำละลายสัมผัสกับพืชได้ทั่วถึง

(2) เมื่อครบกำหนด 3 วัน กรองแยกเมธานอลเก็บไว้ นำเปลือกผลมังคุดที่เหลือไปสกัดซ้ำด้วยเมธานอล จำนวน 300 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วทำซ้ำเช่นเดียวกับข้อ (1) อีก 2 ครั้ง ๆ ละ 3 วัน กรองรวมสารสกัดที่กรองได้ นำสารสกัดที่ได้ไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน จนได้สารสกัดเข้มข้น นำไปชั่ง บันทึกน้ำหนัก

วิธีการสกัดแทนนินจากเปลือกผลมังคุด แสดงดังภาพประกอบ 42



ภาพประกอบ 42 แสดงขั้นตอนการสกัดแทนนินจากเปลือกผลมังคุด

ตอนที่ 2 การแยกแทนนินจากเปลือกผลมังคุด

วิธีการทดลอง

(1) นำสารสกัดเข้มข้นที่ได้จากตอนที่ 1 หนัก 0.10 กรัม ละลายในเมทานอล 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร จนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน

(2) นำสารละลายจากข้อ (1) มาจุด (spot) ลงบนแผ่นสไลด์ที่เคลือบด้วยซิลิกาเจล ปล่อยให้แห้ง แล้วนำไปจุดในภาชนะที่อิมมัลด้วยไอของตัวทำละลาย เพื่อหาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสม โดยเริ่มจากตัวทำละลายไม่มีขั้วแล้วค่อย ๆ เพิ่มขั้วขึ้นตามลำดับ จนกระทั่งสามารถ หาระบบตัวทำละลายที่แยกแทนนินจากเปลือกผลมังคุดได้อย่างน้อย 3 ระบบ โดยเทียบกับสารมาตรฐาน คือ แกลโลแทนนิน (Gallo tannin) ที่ชื่อกรดแทนนิก (tannic acid) เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ และแคทีคอล (catechol) เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ และตรวจวัดด้วยเครื่องส่องรังสีเหนือม่วง (UV-lamp) ที่ความยาวคลื่น 254 และ 366 นาโนเมตร

(3) ทำการทดลองตามข้อ (2) ซ้ำ 3 ครั้ง

วิธีการแยกแทนนินจากเปลือกผลมังคุดแสดงได้ดังภาพประกอบ 43

สารสกัดเข้มข้น

↓ ละลายในเมทานอล 10 cm³

นำไปหาระบบด้วย TLC ให้ได้อย่างน้อย 3 ระบบ เทียบกับสารละลายมาตรฐาน tannic acid, catechol และ Disento

↓

ตรวจวัดด้วยเครื่องส่องรังสีเหนือม่วงที่ความยาวคลื่น 254 nm และ 366 nm

ภาพประกอบ 43 แสดงขั้นตอนการแยกแทนนินจากเปลือกผลมังคุด

ตอนที่ 3 การทดสอบด้วยปฏิกิริยาเคมี

วิธีการทดลอง

(1) นำสารสกัดเข้มข้นจากตอนที่ 1หนัก 10 กรัม สกัดด้วยสารละลายโซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนตเข้มข้น 1 โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร จำนวน 200 ลูกบาศก์เซนติเมตร กรองทำการสกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง ด้วยสารละลายโซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต เข้าด้วยกัน

(2) นำชั้นโซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต จากข้อ (1) มาปรับให้เป็นกรดด้วยสารละลายกรดเกลือ เข้มข้น จนเปลี่ยนสีกระดาษลิตมัสจากน้ำเงินเป็นแดง สกัดชั้นสารละลายที่ปรับให้เป็นกรดด้วยปิโตรเลียมอีเธอร์ 2 ครั้ง ๆ ละ 200 ลูกบาศก์เซนติเมตร แยกเอาชั้นน้ำ รวมชั้นน้ำในการสกัดแต่ละครั้งเข้าด้วยกัน

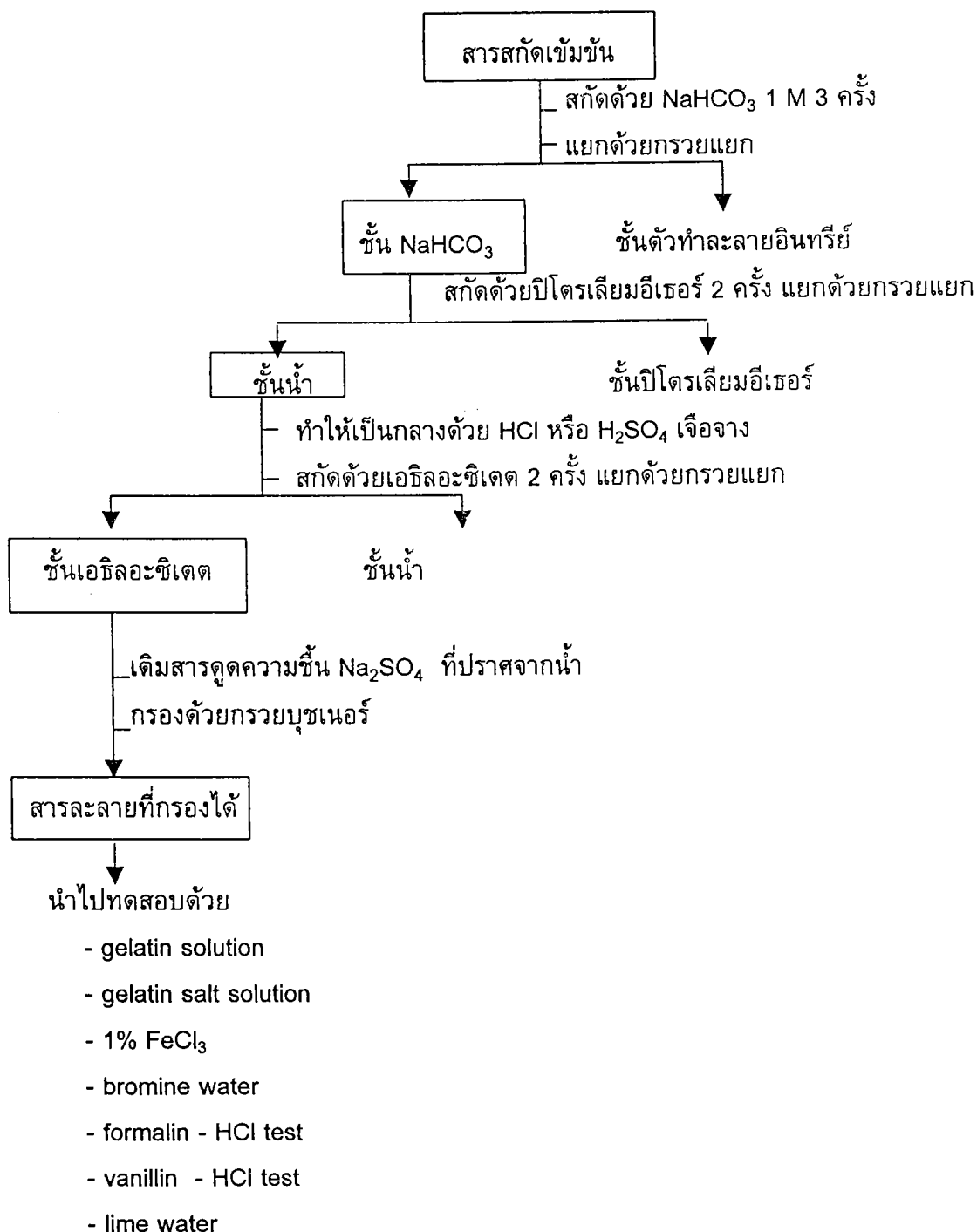
(3) ทำสารละลายชั้นน้ำจากข้อ (2) ให้เป็นกลางด้วยกรดเกลือ เข้มข้น 1 โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร ทดสอบด้วยกระดาษลิตมัส

(4) นำสารละลายที่เป็นกลางมาสกัดด้วยเอธิลอะซิเตตในกรวยแยก 2 ครั้ง ๆ ละ 200 ลูกบาศก์เซนติเมตร แยกเอาชั้นเอธิลอะซิเตต

(5) นำสารละลายเอธิลอะซิเตตจากข้อ (4) มาใส่โซเดียมซัลเฟตที่ปราศจากน้ำหนัก 38 กรัม (อัตราส่วนสารละลาย : โซเดียมซัลเฟตที่ปราศจากน้ำเท่ากับ 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร : 1 กรัม) กรองแยกโซเดียมซัลเฟตที่ปราศจากน้ำออก

(6) นำสารละลายที่กรองได้จากข้อ (5) ไปทดสอบปฏิกิริยาเคมีกับสารละลายเจลาติน (gelatin solution) สารละลายเจลาตินซอลท์ (gelatin salt solution) สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (1 เปอร์เซ็นต์ FeCl₃) น้ำโบรมีน (bromine water) การทดสอบฟอร์มาลิน-กรดไฮโดรคลอริก (formalin-HCl test) การทดสอบวานิลลิน-กรดไฮโดรคลอริก (vanillin-HCl test) และน้ำปูนใส (lime water)

การทดสอบสารแทนนินที่แยกได้จากเปลือกผลมังคุดด้วยปฏิกิริยาเคมี
แสดงได้ดังภาพประกอบ 44



ภาพประกอบ 44 แสดงขั้นตอนการแยกแทนนินจากเปลือกผลมังคุด และทดสอบด้วย
ปฏิกิริยาเคมี

4) การสกัดและแยกซาโปนินจากผลมะคำดีควาย

ตอนที่ 1 การสกัดซาโปนินจากผลมะคำดีควาย

วิธีการทดลอง

(1) นำผลมะคำดีควายแห้งหนัก 150 กรัม บดให้ละเอียดห่อด้วยผ้าขาวบาง ใส่ขวดโหลแก้ว สกัดด้วยเฮกเซน 200 ลูกบาศก์เซนติเมตร ตั้งทิ้งไว้ 3 วัน ในระหว่างที่แช่ไว้นี้เขย่าบ้างเป็นครั้งคราว เมื่อให้ตัวทำละลายสัมผัสกับพืชอย่างทั่วถึงขั้นตอนนี้เป็นการสกัดไขมันออกจากผลมะคำดีควาย

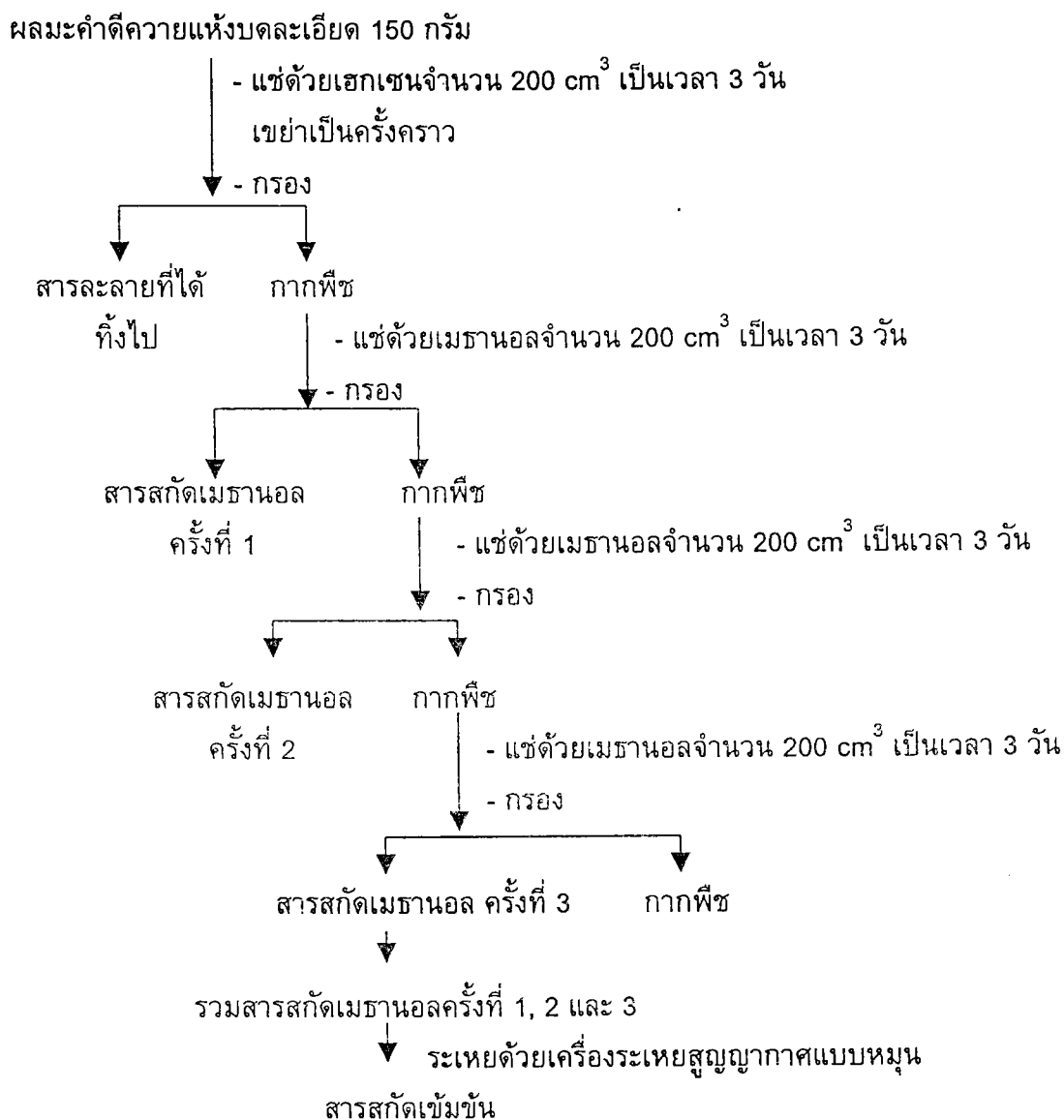
(2) เมื่อครบกำหนดแล้ว กรองสารละลายทิ้งไป นำผลมะคำดีควายมาสกัดต่อด้วยเมทานอล 200 ลูกบาศก์เซนติเมตร ตั้งทิ้งไว้ 3 วัน เขย่าบ้างเป็นครั้งคราว

(3) เมื่อครบกำหนด กรองแยกเอาสารละลายเก็บไว้ นำผลมะคำดีควายมาสกัดซ้ำด้วยเมทานอล 200 ลูกบาศก์เซนติเมตร ตั้งทิ้งไว้ 3 วัน

(4) เมื่อครบกำหนด กรองแยกเอาสารละลายเก็บไว้ นำผลมะคำดีควายมาสกัดซ้ำด้วยเมทานอล 200 ลูกบาศก์เซนติเมตร ตั้งทิ้งไว้ 3 วัน การสกัดครั้งนี้สารละลายสีจะเริ่มจางลง

(5) เมื่อครบกำหนด กรองแยกเอาสารละลายไปรวมกับสารละลายที่กรองได้จากข้อ (3) (4) แล้วนำไประเหยตัวทำละลายโดยใช้เครื่องระเหยสูญญากาศแบบหมุน จนได้สารสกัดเข้มข้น บันทึกน้ำหนัก

การสกัดซาโปนินจากผลมะคำดีควาย แสดงดังภาพประกอบ 45



ภาพประกอบ 45 แสดงขั้นตอนการสกัดชาโปนินจากผลมะคำดีควาย

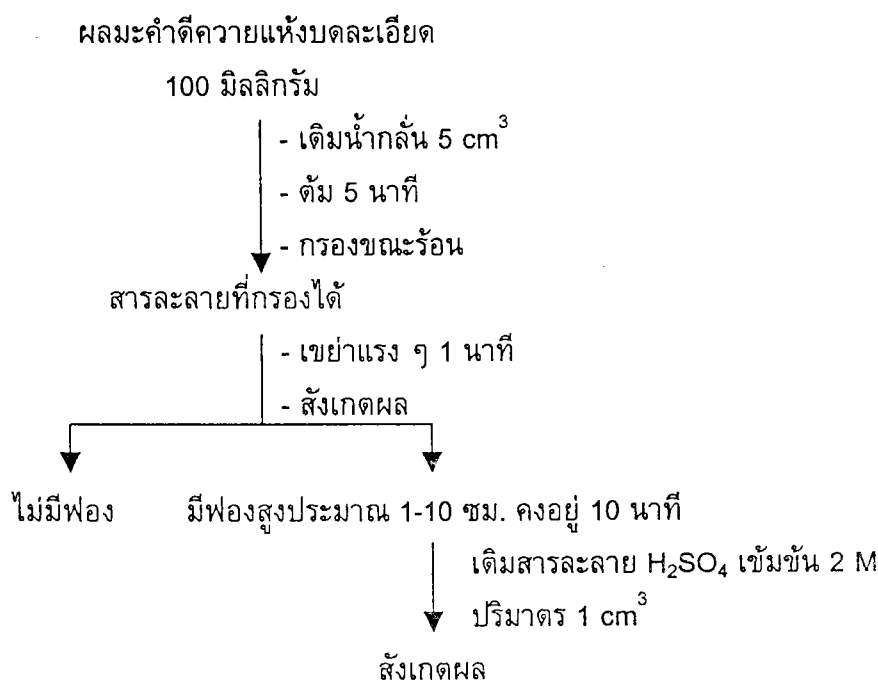
ตอนที่ 2 การตรวจสอบชาโปนินที่สกัดได้จากผลมะคำดีควาย

(1) การทดสอบฟอง

วิธีการทดลอง

นำผลมะคำดีควายแห้งบดละเอียด 100 มิลลิกรัม เติมน้ำกลั่นร้อน 5 ลูกบาศก์เซนติเมตร นำไปต้มบนหม้ออังไอน้ำ 5 นาที กรองขณะร้อน ทิ้งให้เย็น เขย่าแรง ๆ 1 นาที สังเกตผล และสรุป ถ้ามีฟองสูง 1-10 เซนติเมตร และคงทนอยู่นาน 10 นาที ให้เติมสารละลายกรดซัลฟิวริก เข้มข้น 2 โมลต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ปริมาตร 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร สังเกตผลว่าฟองยังคงอยู่หรือไม่

การตรวจสอบซาโปนินจากผลมะคำดีควายด้วยการทดสอบการเกิด
ฟองแสดงดังภาพประกอบ 46



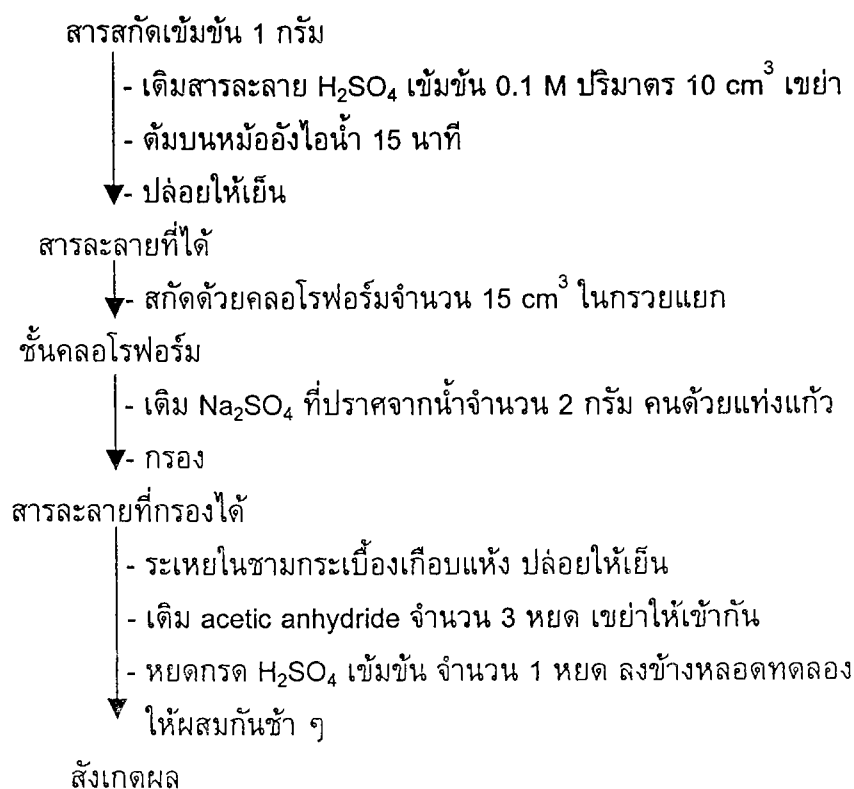
ภาพประกอบ 46 แสดงขั้นตอนการตรวจสอบซาโปนินที่สกัดจากผลมะคำดีควายด้วยการ
ทดสอบฟอง

(2) การทดสอบสีด้วยปฏิกิริยาไลเบร์แมน-เบอร์ชาร์ด (Libermann-
Berchard reaction)

วิธีการทดลอง

นำสารสกัดเข้มข้นจากตอนที่ 1 หนัก 1 กรัม เติมสารละลายกรด
ซัลฟูริกเข้มข้น 0.1 โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร จำนวน 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร เขย่าให้เข้ากัน
ต้มบนหม้ออังไอน้ำ 15 นาที ปล่อยให้สารละลายเย็นลง สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม 15 ลูกบาศก์
เซนติเมตร แยกชั้นคลอโรฟอร์ม เติมโซเดียมซัลเฟตปราศจากน้ำ 2 กรัม คนด้วยแท่งแก้ว กรอง
นำสารละลายที่กรองได้ไประเหยใน حمامกระเบื้องจนเกือบแห้ง ปล่อยให้เย็น เติมอะซิติกแอนไฮ-
ไดรด์ 3 หยด เขย่าให้เข้ากัน ค่อย ๆ หยดกรดซัลฟูริกเข้มข้น 1 หยดลงข้างภาชนะ เพื่อให้สาร
ทั้งสองผสมกันช้า ๆ สังเกตการเปลี่ยนแปลง

การตรวจสอบซาโปนินจากผลมะคำดีควายด้วยการทดสอบสีด้วย
ปฏิกิริยาไลเบร์แมน-เบอร์ชาร์ด แสดงดังภาพประกอบ 47



ภาพประกอบ 47 แสดงขั้นตอนการตรวจสอบซาโปนินที่สกัดได้จากผลมะคำดีควาย
ด้วยการทดสอบสีด้วยปฏิกิริยาไลเบอร์แมน-เบอร์ชาร์ด

ตอนที่ 3 การแยกซาโปนินจากผลมะคำดีควายด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบ
เยื่อบาง

วิธีการทดลอง

(1) นำสารสกัดเข้มข้นที่ได้จากตอนที่ 1 หนัก 0.10 กรัม ละลายด้วย
เมทานอล 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร ละลายให้เป็นเนื้อเดียวกัน

(2) ใช้หลอดแคปพิลลารีจุ่มลงในสารละลายที่ได้จากข้อ (1) แล้วจุดลงบน
แผ่นสไลด์ที่เคลือบด้วยซิลิกาเจล ปล่อยให้แห้งแล้วนำไปจุ่มในภาชนะที่อิมมัตด้วยไอของตัวทำ
ละลาย โดยเริ่มจากตัวทำละลายไม่มีขั้วและค่อย ๆ เพิ่มขั้วของตัวทำละลายขึ้นตามลำดับ
เพื่อหาระบบที่เหมาะสมที่สามารถแยกซาโปนินจากผลมะคำดีควาย และหาให้ได้อย่างน้อย 3
ระบบ เพื่อยืนยันว่าสารตัวอย่างที่แยกได้เป็นสารชนิดเดียวกัน

(3) เมื่อหาระบบที่เหมาะสมได้แล้ว นำสารมาตรฐาน คือ ซาโปนิน หนัก
10 มิลลิกรัม ละลายในเอทานอลเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 1 มิลลิลิตร ละลายให้เป็นเนื้อ
เดียวกัน

(4) นำสารละลายมาตรฐานจากข้อ (3) มาจุดลงบนแผ่นสไลด์เทียบกับสารตัวอย่างที่สกัดได้จากผลมะคำดีควายที่ได้จากข้อ (1) โดยใช้ระบบที่หาได้ในข้อ (2) ตรวจวัดด้วยเครื่องส่องรังสีเหนือม่วง ความยาวคลื่น 254 และ 366 นาโนเมตร และฉีดพ่นด้วยสารละลายฟอสโฟโมลิบดีก อะนิซัลดีไฮด์ (Phosphomolybdic anisaldehyde) ถ้าเป็นชาโปนินจะปรากฏจุดสีน้ำเงินเทา

(5) ทำการทดลองตามข้อ (2) (3) และ (4) ซ้ำ 3 ครั้ง บันทึกผลวิธีการแยกชาโปนินจากผลมะคำดีควายด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง แสดงได้ดังภาพประกอบ 48



ภาพประกอบ 48 แสดงขั้นตอนการแยกชาโปนินจากผลมะคำดีควายด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

5) การสกัดและแยกคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากเมล็ดรำเพย

ตอนที่ 1 การสกัดคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากเมล็ดรำเพย

วิธีการทดลอง

(1) นำเมล็ดรำเพยแห้งบดละเอียดหนัก 5 กรัม สกัดด้วยเฮกเซนจำนวน 20 ลูกบาศก์เซนติเมตร เพื่อสกัดไขมันออก ตั้งทิ้งไว้ 1 วัน

(2) เมื่อครบกำหนด กรองแล้วนำกากพืชมาสกัดต่อด้วยเอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 40 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วนำมาทำให้ร้อนบนเตาไฟฟ้าที่อุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส พร้อมคนตลอดเวลาประมาณ 15-20 นาที แล้วกรองสารสกัดผ่านสำลี

(3) นำสารละลายที่กรองได้จากข้อ (2) มาเติมสารละลายเลดอะซิเตตเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 25 ลูกบาศก์เซนติเมตร เขย่าให้เข้ากัน ทำให้อนบนเตาไฟฟ้าประมาณ 15 นาที โดยคนตลอดเวลา

(4) ทำให้เย็น กรองด้วยกรวยกรอง

(5) นำสารละลายที่ได้มาสกัดด้วยคลอโรฟอร์มในกรวยแยก 3 ครั้ง ๆ ละ 30, 20 และ 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร ตามลำดับ

(6) นำสารสกัดคลอโรฟอร์มที่ได้จากข้อ (5) มาดูน้ำหนักและความชื้นออกด้วยโซเดียมซัลเฟตที่ปราศจากน้ำ โดยใส่ลงไปในส่วนสารละลายต่อโซเดียมซัลเฟตที่ปราศจากน้ำ เท่ากับ 10 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อ 1 กรัม ใช้แท่งแก้วคน

(7) กรองโดยใช้กรวยกรองผ่านกระดาษกรองที่แห้งใส่ในชามระเหย ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 เซนติเมตร

(8) นำชามระเหยไปวางบนหม้ออังไอน้ำเพื่อระเหยคลอโรฟอร์มออกไป ให้เหลือประมาณ 1/10 ของปริมาณเดิม

การสกัดคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากเมล็ดรำเพยแสดงดังภาพประกอบ 49

เมล็ดรำเพยแห้งบดละเอียด 5 กรัม

↓ - สกัดด้วยเฮกเซนจำนวน 20 cm³ แช่ทิ้งไว้ 1 วัน
- กรอง
กากพืช

↓ - สกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ ปริมาตร 40 cm³
- ทำให้อุ่นบนเตาไฟฟ้าอุณหภูมิ 50°C
- คนตลอดเวลาเป็นเวลา 15-20 นาที
↓ - กรองผ่านสำลี

สารละลายที่กรองได้
↓ - เติมสารละลายเลดอะซิเตตเข้มข้น 10% ปริมาตร 25 cm³
- เขย่า ทำให้อุ่นบนเตาไฟฟ้า คนตลอดเวลา เป็นเวลา 15 นาที
↓ - ทำให้เย็น กรอง

สารละลายที่กรองได้
↓ - สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม 3 ครั้ง ๆ ละ 30, 20 และ 10 cm³
ตามลำดับ

รวมชั้นคลอโรฟอร์มเข้าด้วยกัน
↓ - เติมสารดูดความชื้น Na₂SO₄ ที่ปราศจากน้ำ
↓ - กรองด้วยกระดาษกรอง

สารละลายที่กรองได้
↓ - ใส่ชามระเหย ระเหยบนหม้ออังไอน้ำให้เหลือปริมาณ
ประมาณ 1 ใน 10 ของปริมาณเดิม

สารสกัดเข้มข้น

ภาพประกอบ 49 แสดงขั้นตอนการสกัดคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากเมล็ดรำเพย

ตอนที่ 2 การตรวจสอบคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์ด้วยปฏิกิริยาการเกิดสี

(1) ตรวจสอบประกอบของสเตอรอยด์ (steroidal moiety)

วิธีการทดลอง

- (1.1) นำสารสกัดเข้มข้นที่ได้จากตอนที่ 1 บีบออกมา 2 ลูกบาศก์ เซนติเมตร ใส่ในชามระเหยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร
- (1.2) นำไประเหยบนหม้ออังไอน้ำอีกเล็กน้อยจนเกือบแห้ง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น

(1.3) เติมน้ำอะซิติกแอโนไฮไดร 3 หยด ผสมให้เข้ากันดี

(1.4) ค่อย ๆ หยดกรดกำมะถันเข้มข้น ลงข้าง ๆ ชามระเหยจำนวน 1 หยด ให้สารผสมกัน สังเกตสีที่เกิดขึ้นทันที และสังเกตสีเมื่อตั้งทิ้งไว้ 30 นาที เทียบกับสารละลายมาตรฐาน คือสารละลายจากยาเม็ด ลาน็อกซิน (Lanoxin) ขององค์การเภสัชกรรม และ ไดโกซิน (Digoxin) ของบริษัท Glaxo Wellcome

(2) ตรวจสอบไม่อมตัวของแลคโตนที่คาร์บอนตำแหน่ง 17 (butenolide)

วิธีการทดลอง

- (2.1) นำสารสกัดเข้มข้นที่ได้จากตอนที่ 1 บีบออกมา 2 ลูกบาศก์ เซนติเมตร ใส่ในชามระเหยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร นำไประเหยบนหม้ออังไอน้ำจนสารสกัดเกือบแห้ง ปลอຍให้เย็น
- (2.2) เติมน้ำเคดส์เรเจนต์ (Kedde's reagent) ลงไป 0.5 ลูกบาศก์ เซนติเมตร และเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 2 กรัมสมมูลต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ลงไป สังเกตสี

(3) ตรวจสอบน้ำตาลดีออกซี (deoxy sugar)

วิธีการทดลอง

(3.1) บีบสารสกัดเข้มข้นที่ได้จากตอนที่ 1 ใส่หลอดทดลองจำนวน 3 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติมน้ำเฟอร์ริกคลอไรด์รีเวเจนต์ ปริมาตร 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 1 นาที

(3.2) เอียงหลอดทดลองทำมุม 45 องศา หยดกรดกำมะถันเข้มข้นลงไป 5-6 หยด ลงข้างหลอดทดลอง เพื่อให้ค่อย ๆ ลงไปข้าง ๆ หลอดทดลองและให้แยกชั้นออกเป็นสองชั้น ตั้งหลอดทดลองให้ตรง สังเกตสีที่เกิดขึ้นระหว่างชั้นของสารละลาย

การตรวจสอบคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์ด้วยปฏิกิริยาเคมีแสดงดังภาพประกอบ 50

ตรวจสอบส่วนประกอบของสเตอรอยด์ (steroidal moiety)

สารสกัดเข้มข้น ปริมาตร 2 cm³

- ใส่ขามระเหย
- นำไประเหยบนหม้ออังไอน้ำจนเกือบแห้ง
- ▼ - ทิ้งไว้ให้เย็น

สารสกัดเข้มข้น

- เติม acetic anhydride จำนวน 3 หยด ผสมให้เข้ากัน
- ค่อย ๆ หยดกรด H₂SO₄ เข้มข้น ลงข้างขามระเหย
- ▼ จำนวน 1 หยด ให้สารผสมกัน

สังเกตสีที่เกิดขึ้นทันที และตั้งทิ้งไว้ 30 นาที

สังเกตสีที่เปลี่ยนแปลงไปเทียบกับสารละลาย

มาตรฐานจากยาลาน็อกซิน (Lanoxin) และไดโกซิน (Digoxin)

ตรวจสอบความไม่อิ่มตัวของแลคโตนที่คาร์บอนตำแหน่ง 17 (Butenolide)

สารสกัดเข้มข้น ปริมาตร 2 cm³

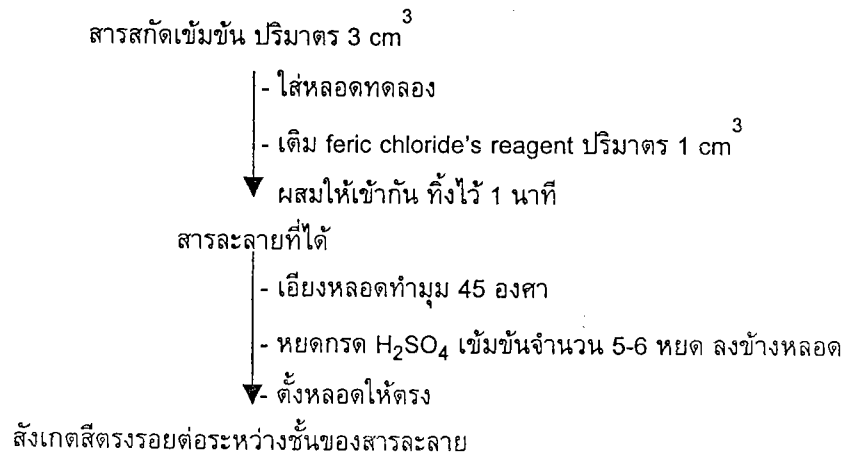
- ใส่ขามระเหย
- ระเหยบนหม้ออังไอน้ำจนเกือบแห้ง
- ▼ - ปล่อยให้เย็น

สารสกัดเข้มข้น

- เติม Kedde's reagent ปริมาตร 0.5 cm³
- เติมสารละลาย NaOH เข้มข้น 2 N
- ▼

สังเกตสี

ตรวจน้ำตาลดีออกซี (deoxy sugar)



ภาพประกอบ 50 แสดงขั้นตอนการตรวจสอบคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์ด้วยปฏิกิริยาเคมี

ตอนที่ 3 การแยกคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากเมลิธราเพอโดยวิธีโครมาโท

กราฟีแบบเยื่อบาง

วิธีการทดลอง

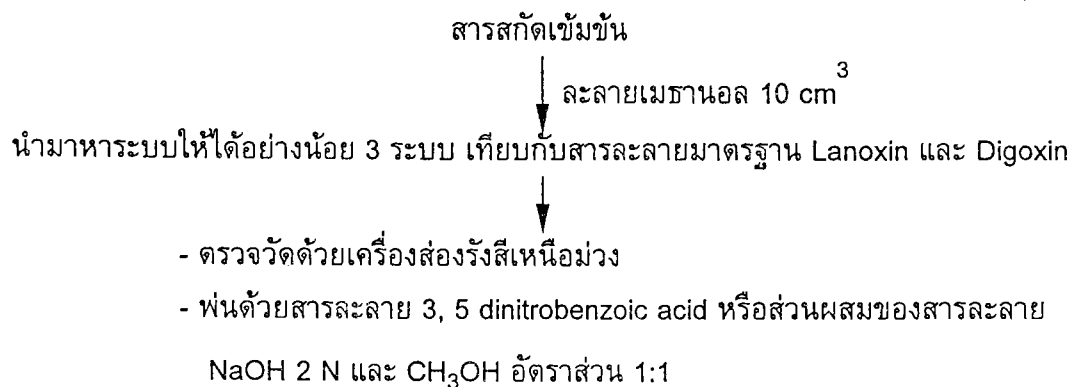
(1) นำสารสกัดเข้มข้นที่ได้จากตอนที่ 1 หนัก 0.1 กรัม ละลายด้วยเมทานอล 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร ให้เป็นสารละลายเนื้อเดียวกัน

(2) นำหลอดแคปพิลลารีจุ่มลงไปในการละลายที่ได้จากข้อ (1) แล้วนำไปจุดบนบนแผ่นสไลด์ที่เคลือบด้วยซิลิกาเจล ทิ้งไว้ให้แห้งแล้วนำแผ่นสไลด์ไปจุ่มในภาชนะที่อิมมัตด้วยไอของตัวทำละลาย โดยเริ่มจากตัวทำละลายไม่มีขั้ว แล้วค่อย ๆ เพิ่มขั้วของตัวทำละลายขึ้นตามลำดับ เพื่อหาระบบที่เหมาะสมที่สามารถแยกคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากเมลิธราเพอได้ และหาให้ได้ 2 ระบบขึ้นไป

(3) เมื่อหาระบบได้แล้วนำสารมาตรฐาน คีอาร์กษาโรคหัวใจชื่อ ลาน็อกซิน (lanoxin) ขององค์การเภสัชกรรม และไดโกซิน (Digoxin) ของบริษัท Glaxo Wellcome หนัก 0.25 มิลลิกรัม ละลายในน้ำ 5 ลูกบาศก์เซนติเมตร ให้เป็นเนื้อเดียวกัน

(4) นำสารละลายมาตรฐานจากข้อ (3) มาจุดบนแผ่นสไลด์เทียบกับสารตัวอย่างที่สกัดได้จากเมลิธราเพอที่ได้จากตอนที่ 1 ดูองค์ประกอบที่แยกได้ว่าตรงกับสารมาตรฐานหรือไม่ โดยตรวจวัดด้วยเครื่องส่องรังสีเหนือม่วง บันทึกผล หรืออาจตรวจสอบโดยใช้สารละลายกรด 3, 5 ไดไนโตรเบนโซอิก เข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ในเมทานอล หรือส่วนผสมของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 2 กรัมสมมูลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร และ เมทานอล อัตราส่วน 1:1 (เตรียมใหม่ ๆ) โดยฉีดพ่นลงไป สังเกตสีที่เกิดขึ้น

วิธีการแยกคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากเมล็ดรำเพยโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง แสดงได้ดังภาพประกอบ 51



ภาพประกอบ 51 แสดงขั้นตอนการแยกคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากเมล็ดรำเพยโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

6) การสกัดและแยกแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศ

ตอนที่ 1 การสกัดแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศ

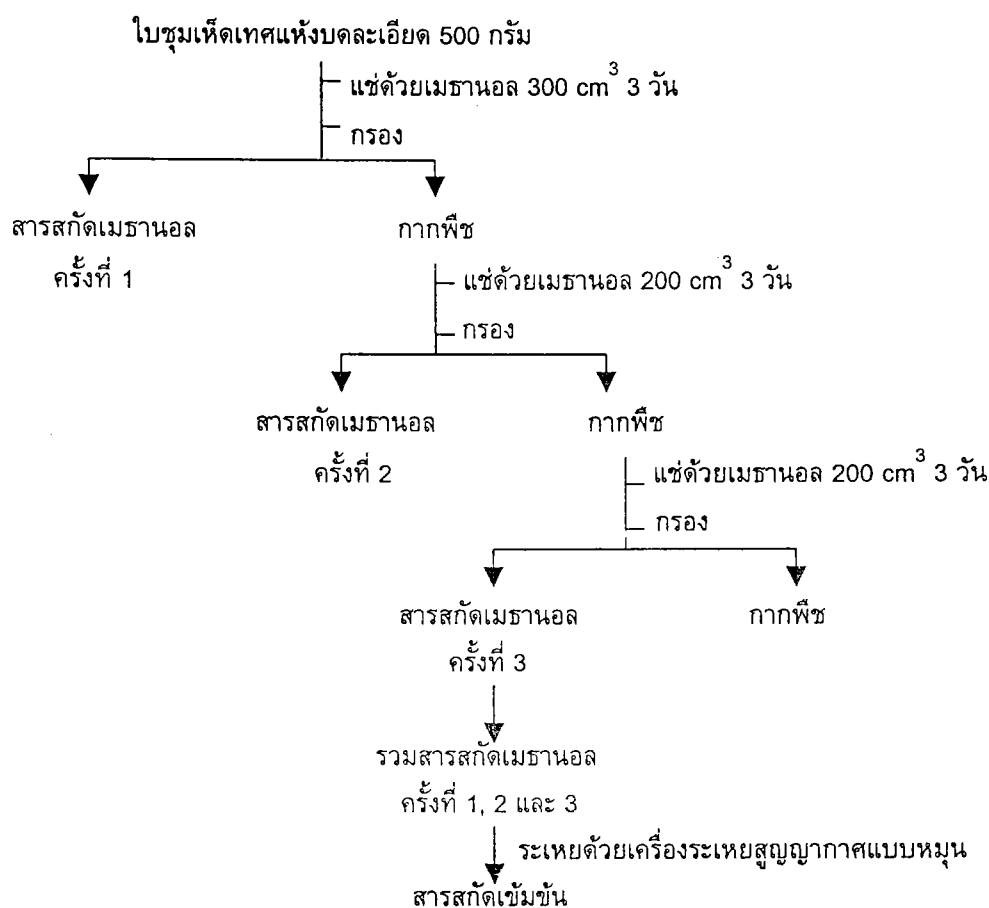
วิธีการทดลอง

(1) นำใบชุมเห็ดเทศมาล้างให้สะอาด ผึ่งแดดให้แห้ง บดให้ละเอียดหนัก 500 กรัม ห่อใส่ผ้าขาวบาง ใส่ในขวดโหลแก้ว ใส่เมทานอลลงไปสกัด 300 ลูกบาศก์เซนติเมตร ปิดฝาภาชนะ ตั้งทิ้งไว้ 3 วัน เขย่าบ้างเป็นครั้งคราว เพื่อให้ตัวทำละลายสัมผัสกับพืชอย่างทั่วถึง

(2) เมื่อครบกำหนดแล้ว กรองแยกเอาสารละลายออก เอาส่วนที่เป็นกากพืชมาสกัดซ้ำด้วยเมทานอล 200 ลูกบาศก์เซนติเมตร ตั้งทิ้งไว้ 3 วัน

(3) เมื่อครบกำหนดแล้ว กรองแยกเอาสารละลายออก เอาส่วนที่เป็นกากพืชมาสกัดซ้ำด้วยเมทานอล 200 ลูกบาศก์เซนติเมตร ตั้งทิ้งไว้ 3 วัน จะได้สารละลายสีจางลง กรองรวมสารละลายที่สกัดได้จากข้อ (1), (2) และ (3) เข้าด้วยกัน นำไประเหยด้วยเครื่องระเหยสูญญากาศแบบหมุน จนได้สารสกัดเข้มข้น นำไปชั่ง บันทึกน้ำหนัก

การสกัดแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศ แสดงดังภาพประกอบ 52



ภาพประกอบ 52 แสดงขั้นตอนการสกัดแอนแทรกสจากไบซุมเห็ดเทศ

ตอนที่ 2 การแยกแอนแทรกสจากไบซุมเห็ดเทศ และตรวจสอบด้วยปฏิกิริยาทางเคมี

(1) การแยกและทดสอบความบริสุทธิ์ของสารประกอบกลัยโคไซด์

วิธีการทดลอง

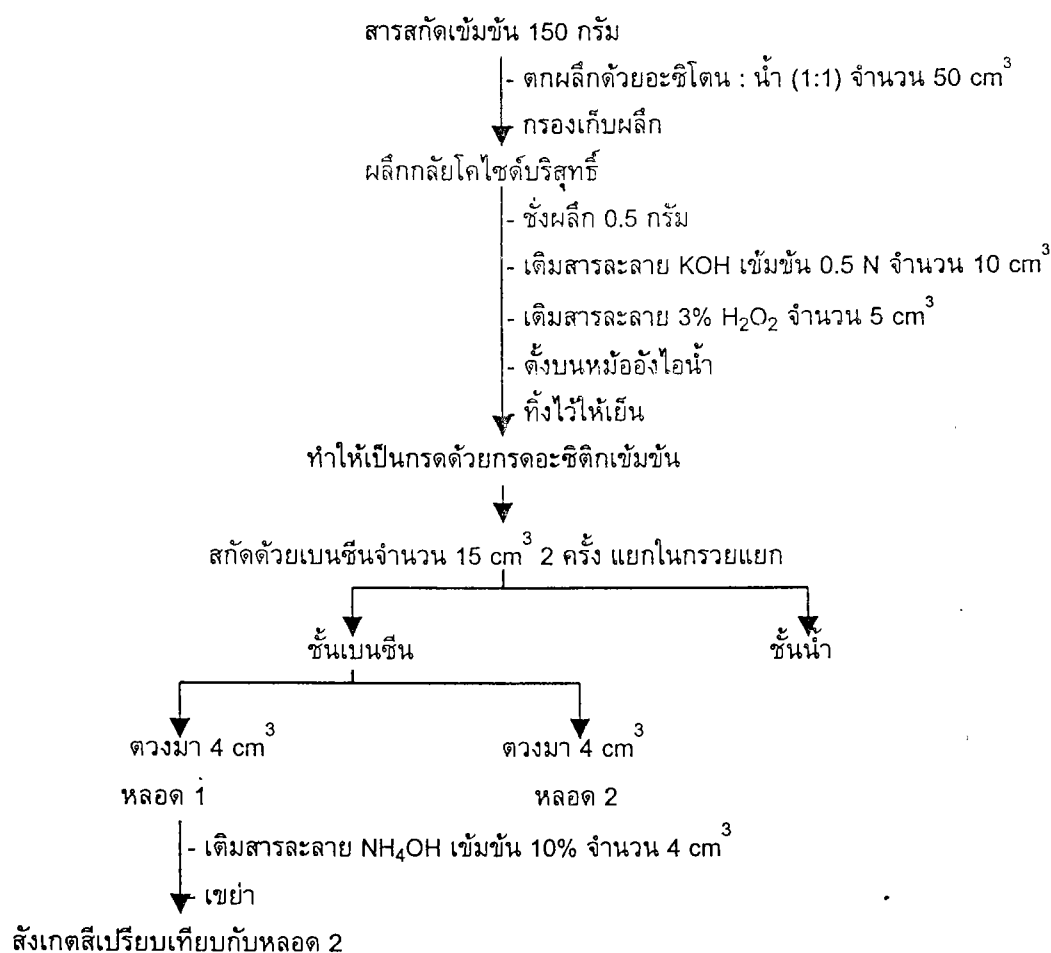
(1.1) นำสารสกัดเข้มข้นที่ได้จากตอนที่ 1 หนัก 150 กรัม นำมาตกผลึกในส่วนผสมของอะซิโตน : น้ำ ในอัตราส่วน 1:1 จำนวน 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร จะได้สารประกอบกลัยโคไซด์ที่บริสุทธิ์

(1.2) นำผลึกที่ได้จากข้อ (1.1) หนัก 0.5 กรัม เติมน้ำละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 0.5 กรัมสมมูล จำนวน 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร และสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 5 ลูกบาศก์เซนติเมตร นำไปตั้งบนหม้ออังไอน้ำเป็นเวลา 10-15 นาที

(1.3) ทิ้งให้เย็น กรองปรับสารละลายให้เป็นกรดด้วยกรดน้ำส้มสายชูเข้มข้น (Glacial acetic acid) ที่ละ 1-2 หยด ทดสอบด้วยกระดาษลิตมัสจนเปลี่ยนสีจากน้ำเงินเป็นแดง

(1.4) ถ่ายสารละลายที่เป็นกรดในข้อ (1.3) ลงในกรวยแยก สกัดด้วยเบนซีนจำนวน 15 ลูกบาศก์เซนติเมตร แยกเอาชั้นเบนซีน สกัดซ้ำด้วยเบนซีนจำนวน 15 ลูกบาศก์เซนติเมตร แยกเอาชั้นเบนซีนไปรวมกับการสกัดครั้งแรก

(1.5) ถ่ายสารละลายที่สกัดได้ที่อยู่ในชั้นเบนซีน ลงในหลอดทดลอง 2 หลอดๆ ละ 4 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติมสารละลาย แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 4 ลูกบาศก์เซนติเมตร ลงไปในหลอดหนึ่ง เขย่า สังเกตสีที่เกิดขึ้น หลอดที่สองเก็บไว้เป็นหลอดเปรียบเทียบ ถ้าในตัวอย่างพืชมีแอนทราควิโนนจะได้สีเหลืองในชั้นของเบนซีนและหลังจากเติมสารละลาย แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ลงไปเขย่าจะได้สีแดง หรือสีชมพูในชั้นของต่าง การแยกแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศและตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสารประกอบกลัยโคไซด์ด้วยปฏิกิริยาเคมีแสดงดังภาพประกอบ 53



ภาพประกอบ 53 แสดงขั้นตอนการแยกแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศ และตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสารประกอบกลัยโคไซด์ (purified glycoside) ด้วยปฏิกิริยาเคมี

(2) การแยกและทดสอบส่วนที่เป็นอะกลัยโคน (aglycone)

วิธีการทดลอง

(2.1) นำสารสกัดเข้มข้นที่ได้จากตอนที่ 1 หนัก 100 กรัม มาต้มกับกรดน้ำส้มสายชูเข้มข้น จำนวน 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

(2.2) ถ่ายสารที่ได้จากข้อ (2.1) ใส่กรวยแยกแล้วสกัดด้วยส่วนผสมของเอทานอล : เบนซีน ในอัตราส่วน 1:1 จำนวน 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร และสารละลายกรดเกลือเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 5 ลูกบาศก์เซนติเมตร แยกเอาชั้นเบนซีนซึ่งมีส่วนที่เป็นอะกลัยโคนอยู่

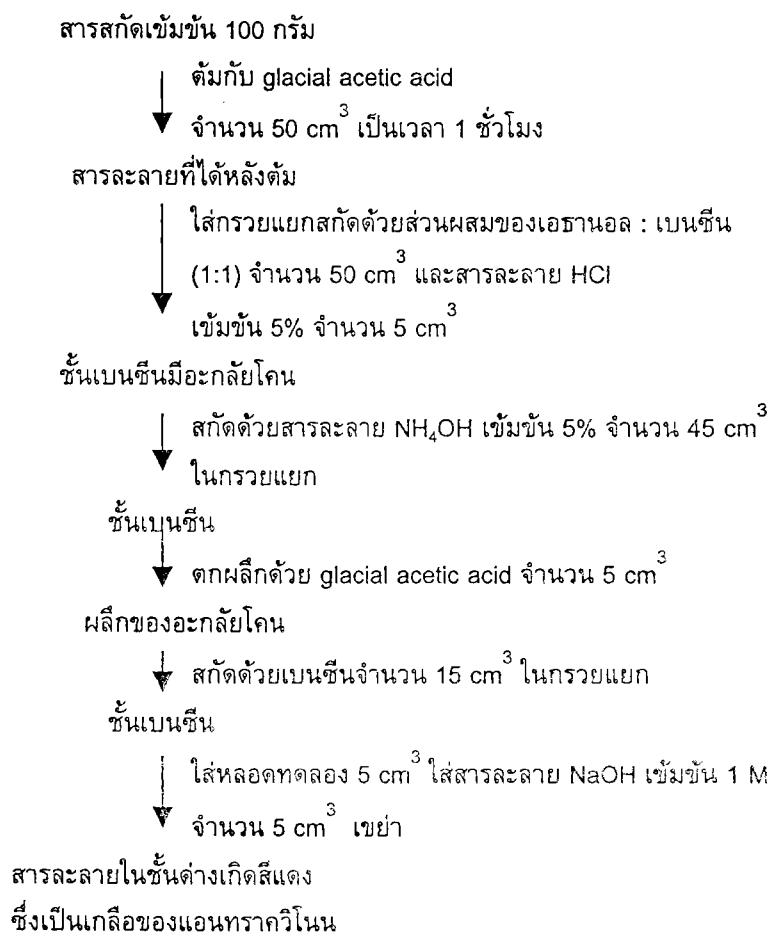
(2.3) นำส่วนที่เป็นอะกลัยโคนในชั้นเบนซีนมาสกัดด้วยสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์จำนวน 45 ลูกบาศก์เซนติเมตรในกรวยแยก แยกเอาชั้นเบนซีน

(2.4) นำสารที่ได้จากข้อ (2.3) มาตกผลึกด้วยกรดน้ำส้มสายชูเข้มข้น จำนวน 5 ลูกบาศก์เซนติเมตร จะได้ผลึกของอะกลัยโคน

(2.5) แยกส่วนของอะกลัยโคนออกจากสารละลายที่เป็นกรดด้วย เบนซีนจำนวน 15 ลูกบาศก์เซนติเมตร โดยใส่ในกรวยแยก แยกเอาชั้นเบนซีน

(2.6) แบ่งสารละลายจากข้อ (2.5) ใส่หลอดทดลอง 5 ลูกบาศก์-เซนติเมตร ใส่สารละลาย โซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 1 โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตรลงไป 5 ลูกบาศก์-เซนติเมตร จะเกิดสีแดงในชั้นของด่าง เนื่องจากเกิดเกลือของแอนทราควิโนน (anthraquinone salt)

การแยกแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศ และตรวจสอบอะกลัยโคน (aglycone) ด้วยปฏิกิริยาเคมีแสดงดังภาพประกอบ 54



ภาพประกอบ 54 แสดงขั้นตอนการแยกแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศ และตรวจสอบอะกลัยโคน (aglycone) ด้วยปฏิกิริยาเคมี

ตอนที่ 3 การแยกแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

วิธีการทดลอง

(1) นำสารสกัดเข้มข้นที่ได้จากตอนที่ 1 น้ำหนัก 0.10 กรัม ละลายในเมทานอล 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร ให้เป็นเนื้อเดียวกัน

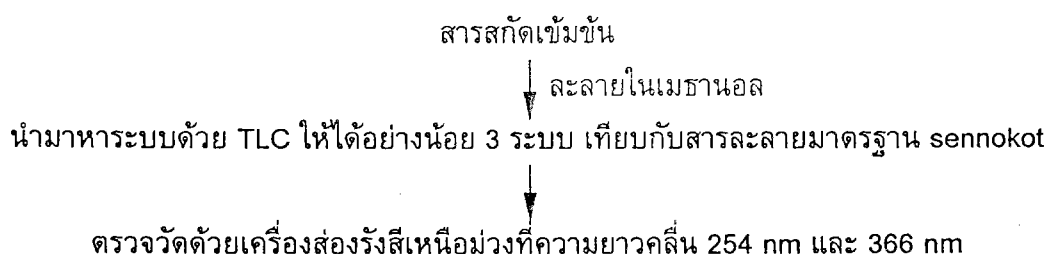
(2) นำหลอดแคปิลลารี (capillary) จุ่มลงไปในสารละลายที่ได้จากข้อ (1) แล้วนำมาจุด (spot) ลงบนแผ่นสไลด์ที่เคลือบด้วยซิลิกาเจลจีเอฟ ทิ้งไว้ให้แห้งแล้วนำไปจุ่มในภาชนะที่อ้อมด้วยไอของตัวทำละลายโดยเริ่มจากตัวทำละลายไม่มีขั้วและค่อย ๆ เพิ่มขั้วของตัวทำละลายขึ้นตามลำดับ เพื่อหาระบบที่เหมาะสมที่สามารถแยกสารประกอบได้จากใบชุมเห็ดเทศ

(3) ทำการทดลองตามข้อ (2) ซ้ำเพื่อหาระบบที่สามารถแยกแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศให้ได้มากกว่า 1 ระบบ เพื่อยืนยันว่าสารที่แยกได้เป็นสารที่ต้องการแยกจริง

(4) เมื่อหาระบบที่สามารถแยกแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศได้แล้ว นำสารมาตรฐานคือยาระบายมะขามแขก ชื่อเซนโนค็อต (sennokot) มา 1 เม็ดหนัก 0.2 มิลลิกรัม ละลายในเมทานอล 5 ลูกบาศก์เซนติเมตร ให้เป็นเนื้อเดียวกัน

(5) นำสารละลายมาตรฐานจากข้อ (4) มาจุดลงบนแผ่นสไลด์เทียบกับสารตัวอย่างที่สกัดได้จากใบชุมเห็ดเทศที่ได้ในข้อ (1) คูณองค์ประกอบที่แยกได้ว่าตรงกันหรือไม่โดยตรวจวัดด้วยเครื่องส่องรังสีเหนือม่วง (UV-lamp) บันทึกผล

(6) ทำการทดลองตามข้อ (2), (3), (4) และ (5) ซ้ำ 3 ครั้ง บันทึกผล
วิธีการแยกแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง แสดงได้ดังภาพประกอบ 55



ภาพประกอบ 55 แสดงขั้นตอนการแยกแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

7) การสกัดและแยกแอลคาลอยด์จากผลพริกไทยดำ

ตอนที่ 1 การตรวจหาแอลคาลอยด์ในผลพริกไทยดำ

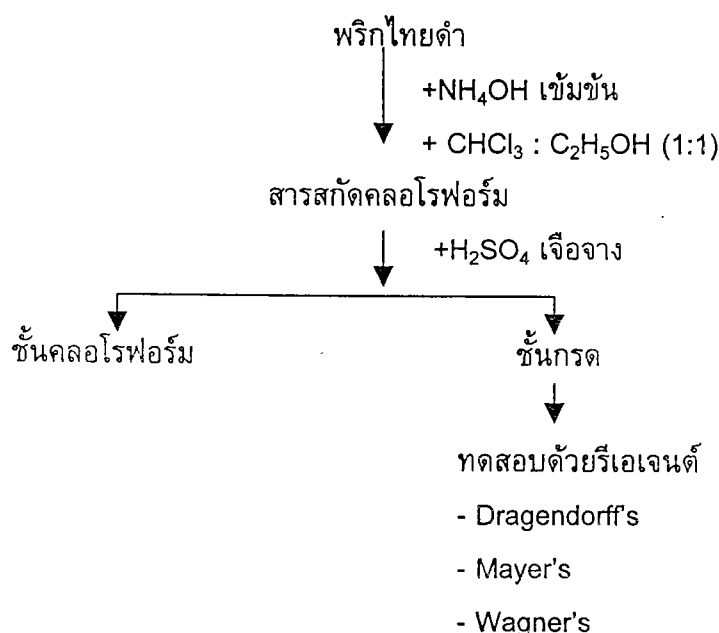
(1) นำผลพริกไทยดำที่บดละเอียดหนัก 30 กรัม ค่อย ๆ หยดสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 28 เปอร์เซ็นต์ ลงไปจนขึ้นคนให้เข้ากัน

(2) สกัดด้วยส่วนผสมของคลอโรฟอร์มต่อเอทานอล (1:1) จำนวน 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใส่ในภาชนะปิดฝาให้สนิท ทำการสกัด 3 ครั้ง ๆ ละ 2 วัน เขย่าบ้างเป็นครั้งคราว จนสีของสารละลายจางลง กรองด้วยกรวยบุชเนอร์

(3) นำสารสกัดที่ได้จากข้อ (2) ใส่ในกรวยแยก เติมสารละลายกรดซัลฟิวริก เข้มข้น 0.5 กรัมสมมูลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร จำนวน 20 ลูกบาศก์เซนติเมตร ลงไป

แยกชั้นกรดนำไปทดสอบด้วยรีเอเจนต์ 3 ชนิด คือ ดร่าเจนดอร์ฟรีเอเจนต์ เมเยอร์รีเอเจนต์ และ แวกเนอร์รีเอเจนต์ สังเกตผล บันทึกผลการทดลอง

การตรวจหาแอลคาลอยด์ในผลพริกไทยดำ แสดงได้ดังภาพประกอบ 56



ภาพประกอบ 56 แสดงขั้นตอนการตรวจหาแอลคาลอยด์ในผลพริกไทยดำ

ตอนที่ 2 การทำกราฟมาตรฐาน (Standard curve) จากปิเปอรีน (piperine)

บริสุทธิ์

(1) ชั่งปิเปอรีนที่บริสุทธิ์มา 0.0100 กรัม ละลายด้วยคลอโรฟอร์ม ในขวดวัดปริมาตร ขนาด 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร

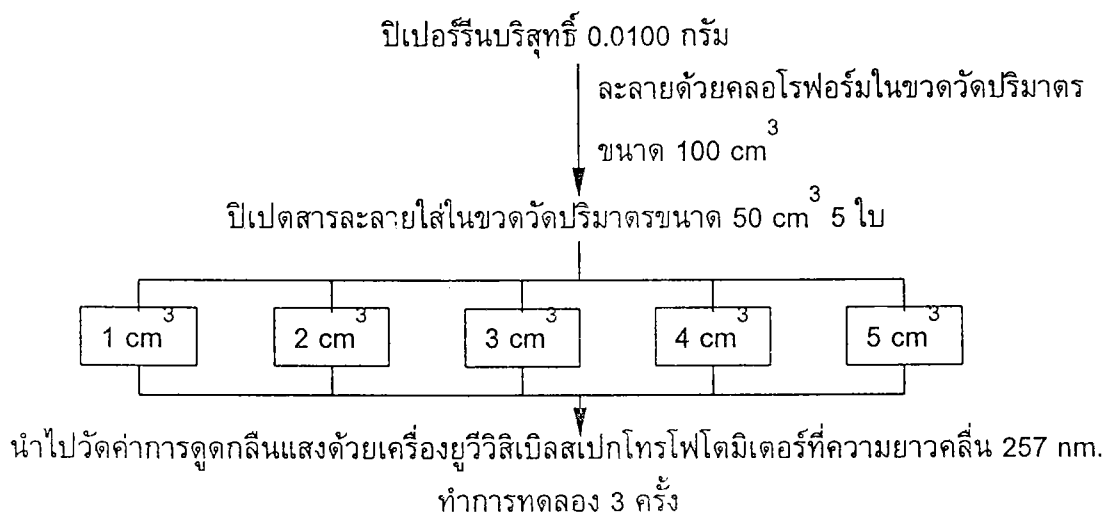
(2) ปิเปตสารละลายในข้อ (1) มาเจือจางด้วยคลอโรฟอร์มในขวดวัด ปริมาตรขนาด 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร โดยนำมา 1, 2, 3, 4 และ 5 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้ว ปรับปริมาตรด้วยคลอโรฟอร์ม จะได้สารละลายมาตรฐานปิเปอรีนที่มีความเข้มข้น 2, 4, 6, 8 และ 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

(3) นำสารละลายที่มีความเข้มข้น 2, 4, 6, 8 และ 10 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร จากข้อ (2) ไปหาค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) โดยเครื่องยูวีวิสิเบิลสเปกโตร โฟ โทมิเตอร์ (UV-VIS Spectrophotometer) ยี่ห้อ SHIMAZU รุ่น UV-1601 ที่ความยาวคลื่น 257 นาโนเมตร

(4) เมื่อได้ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นแล้วนำ ไปสร้างกราฟมาตรฐาน ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน

(5) ทำการทดลองตามข้อ (3) ซ้ำ 3 ครั้ง

การทำการกราฟมาตรฐาน (Standard curve) จากปิเปอรีน (piperine) บริสุทธิ์แสดงได้ดังภาพประกอบ 57



ภาพประกอบ 57 แสดงขั้นตอนการทำการกราฟมาตรฐานจากปิเปอรีนบริสุทธิ์

ตอนที่ 3 วิเคราะห์หาปริมาณปิเปอรีนในผลพริกไทยดำ

(1) บดผลพริกไทยดำให้ละเอียดด้วยโกร่งบดสารหนัก 1.00 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติมน้ำละลายแอมโมเนีย (อัตราส่วนแอมโมเนีย : น้ำ = 1 : 2) ลงไป 40 ลูกบาศก์เซนติเมตร ทำให้อุ่นบนหม้ออังไอน้ำที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 นาที ปั่นให้เย็นแล้วนำไปกรองโดยใช้กรวยบุชเนอร์ แล้วปรับปริมาตรด้วยสารละลายแอมโมเนีย ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร จนได้ปริมาตร 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร

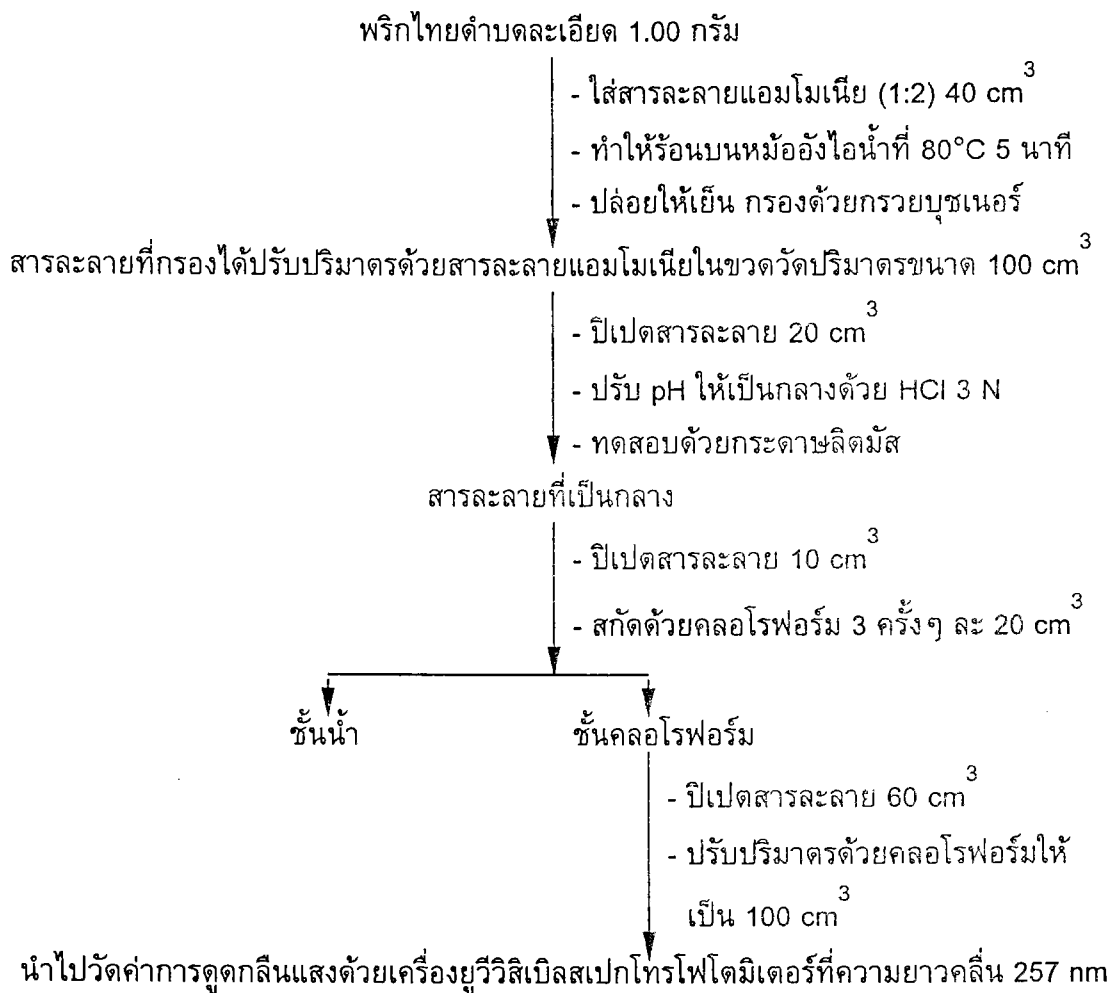
(2) ปิเปตสารละลายในข้อ (1) มา 20 ลูกบาศก์เซนติเมตร ปรับพีเอช (pH) ให้เป็นกลางด้วยกรดเกลือ เข้มข้น 3 กรัมสมมูลต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ทดสอบด้วยกระดาษลิตมัส

(3) ปิเปตสารละลายในข้อ (2) มา 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใส่กรวยแยกสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม 3 ครั้ง ๆ ละ 20 ลูกบาศก์เซนติเมตร รวมชั้นคลอโรฟอร์มเข้าด้วยกัน ปิเปตมา 60 ลูกบาศก์เซนติเมตร ปรับปริมาตรด้วยคลอโรฟอร์มให้เป็น 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร

(4) ปิเปตสารละลายในข้อ (3) มา 30 ลูกบาศก์เซนติเมตร ปรับปริมาตรด้วยคลอโรฟอร์มให้เป็น 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 257 นาโนเมตร นำไปเทียบกับกราฟมาตรฐานแล้วคำนวณหาปริมาณของปิเปอรีนในพริกไทยดำ

(5) ทำการทดลองตามข้อ (4) ซ้ำ 3 ครั้ง

- (6) หาค่าเฉลี่ยปริมาณปิเปอรินที่ได้เป็นไมโครกรัม / มิลลิลิตร
 (7) คำนวณหาปริมาณคิดเป็นร้อยละของปิเปอรินในพริกไทยดำ
 วิเคราะห์หาปริมาณปิเปอรินในผลพริกไทยดำแสดงได้ดังภาพประกอบ 58



ภาพประกอบ 58 แสดงขั้นตอนการวิเคราะห์หาปริมาณปิเปอรินในผลพริกไทยดำ

8) การสกัดและแยกสเตอรอยด์จากหัวร้อยรู

ตอนที่ 1 การสกัดสเตอรอยด์จากหัวร้อยรู

วิธีการทดลอง

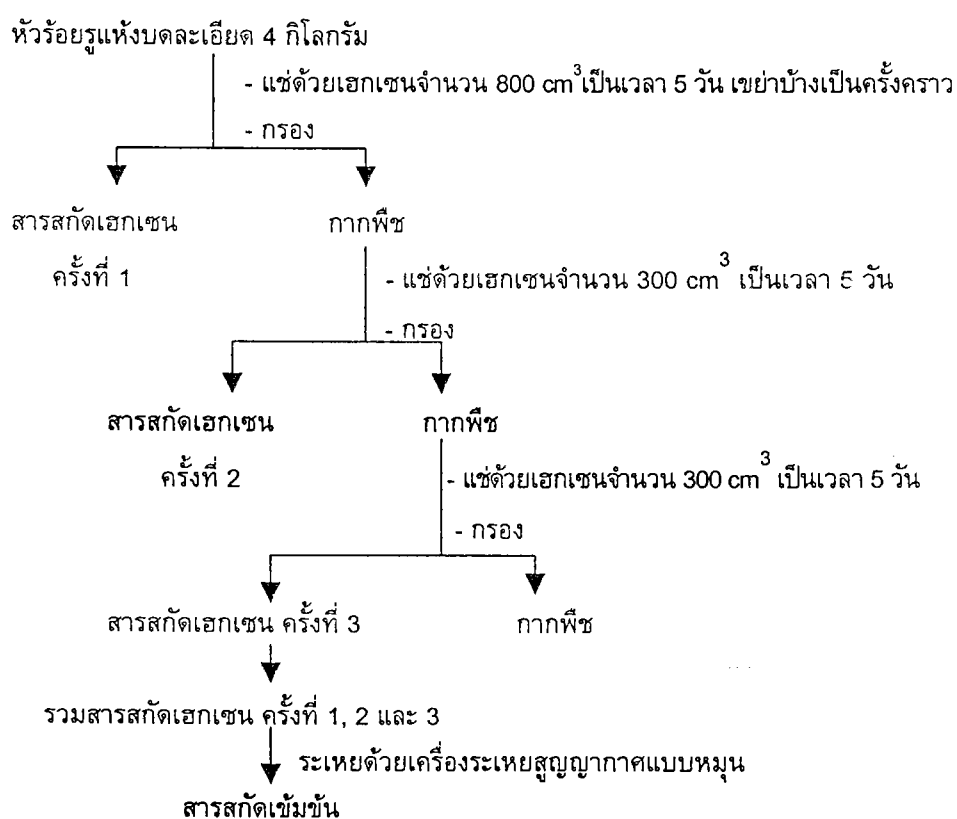
- (1) นำหัวร้อยรูแห้งบดละเอียดหนัก 4 กิโลกรัม ห่อด้วยผ้าขาวบาง แฉในขวดโหลแก้ว สกัดด้วยเฮกเซนจำนวน 800 ลูกบาศก์เซนติเมตร ปิดฝาให้สนิท ตั้งทิ้งไว้ 5 วัน เขย่าบ้างเป็นครั้งคราว

(2) เมื่อครบกำหนด กรองแยกเอาสารสกัดเก็บไว้ เอาส่วนที่เป็นหัวร่อยรู สกัดซ้ำด้วยเฮกเซน จำนวน 300 ลูกบาศก์เซนติเมตร ตั้งทิ้งไว้ 5 วัน

(3) เมื่อครบกำหนด กรองแยกเอาสารสกัดเก็บไว้ แล้วสกัดซ้ำด้วย เฮกเซนจำนวน 300 ลูกบาศก์เซนติเมตร ตั้งทิ้งไว้ 5 วัน

(4) เมื่อครบกำหนดกรองเอาสารที่สกัดได้รวมกับสารสกัดในข้อ (2) และ (3) แล้วนำไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน จนได้สารสกัดเข้มข้น นำไปชั่ง บันทึกรน้ำหนัก

การสกัดสเตอรอยด์จากหัวร่อยรูแสดงดังภาพประกอบ 59



ภาพประกอบ 59 แสดงขั้นตอนการสกัดสเตอรอยด์จากหัวร่อยรู

ตอนที่ 2 การแยกสเตอรอยด์จากหัวร่อยรู

วิธีการทดลอง

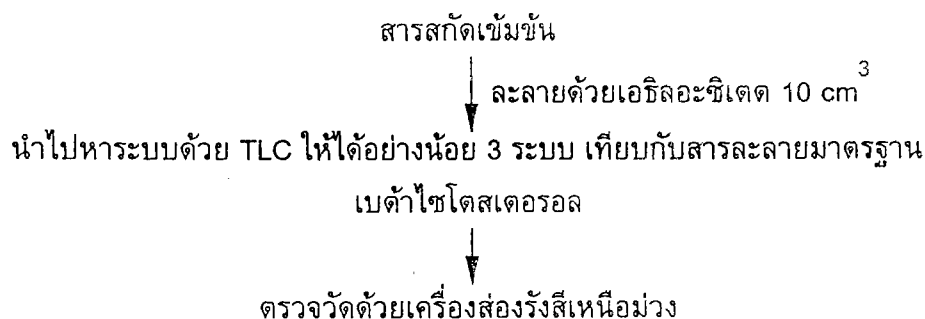
(1) นำสารสกัดเข้มข้นที่ได้จากตอนที่ 1หนัก 0.10 กรัม ละลายด้วยตัวทำละลายเอธิลอะซิเตต ปริมาตร 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร ให้เป็นสารละลายเนื้อเดียวกัน

(2) นำหลอดแคปพิลลารี จุ่มลงไปในการละลายที่ได้จากข้อ (1) แล้วนำไปจุดลงบนแผ่นสไลด์ที่เคลือบด้วยซิลิกาเจลจีเอฟ 254 ทิ้งไว้ให้แห้ง แล้วนำแผ่นสไลด์ไปจุ่มในภาชนะที่อิมมัตด้วยไอของตัวทำละลาย โดยเริ่มจากตัวทำละลายไม่มีขั้ว แล้วค่อย ๆ เพิ่มขั้วของตัวทำละลายขึ้นตามลำดับ เพื่อหาระบบที่เหมาะสมที่สามารถแยกสเตอรอยด์จากหัวร้อยรูได้ และหาให้ได้ 2 ระบบขึ้นไป เพื่อยืนยันว่าสารตัวอย่างที่แยกได้เป็นสารชนิดเดียวกัน

(3) เมื่อหาระบบได้แล้วนำสารมาตรฐาน คือ เบต้า-ไซโตสเตอรอล (β -sitosterol) หนัก 0.15 กรัม ละลายในตัวทำละลายเอธิลอะซิเตต 5 ลูกบาศก์เซนติเมตร ให้เป็นเนื้อเดียวกัน

(4) นำสารละลายมาตรฐานจากข้อ (3) มาจุดลงบนแผ่นสไลด์เทียบกับสารตัวอย่างที่สกัดได้จากหัวร้อยรูที่ได้จากข้อ (1) ดูองค์ประกอบที่แยกได้ว่าตรงกับสารมาตรฐานหรือไม่ โดยตรวจวัดด้วยเครื่องส่องรังสีเหนือม่วง บันทึกผล

(5) ทำการทดลองตามข้อ (2) (3) และ (4) ซ้ำ 3 ครั้ง บันทึกผล
วิธีการแยกสเตอรอยด์จากหัวร้อยรู แสดงได้ดังภาพประกอบ 60



ภาพประกอบ 60 แสดงขั้นตอนการแยกสเตอรอยด์จากหัวร้อยรู

ตอนที่ 3 การแยกสเตอรอยด์จากหัวร้อยรูด้วยโครมาโทกราฟีแบบของเหลว
สมรรถนะสูง

วิธีการทดลอง

(1) นำสารสกัดเข้มข้นที่ได้จากตอนที่ 1 หนัก 1 กรัม ละลายด้วยตัวทำละลายเอธิลอะซิเตต จำนวน 80 ลูกบาศก์เซนติเมตร ละลายให้เป็นเนื้อเดียวกัน

(2) ใช้สำลีที่สะอาดพันปลายหลอดหยดเล็กน้อย แล้วนำไปจุ่มในการละลายในข้อ (1) นำไปลาก (apply) ลงบนแผ่นกระจกขนาด 20×20 เซนติเมตร ที่เคลือบด้วย ซิลิกาเจล ทิ้งไว้ให้แห้ง นำแผ่น TLC ที่ลากแล้วไปจุ่มในภาชนะที่อิมมัตด้วยไอของตัวทำละลายระบบใดระบบหนึ่งที่ได้จากตอนที่ 2 ในการทดลองนี้เลือกตัวทำละลายผสมระหว่างเฮกเซน :

คลอโรฟอร์ม ในอัตราส่วน 2:8 เมื่อตัวทำละลายเข้มข้นมาถึงขอบบนของแผ่นกระจกแล้วเอาแผ่นกระจกออก ทิ้งให้แห้งตรวจด้วยเครื่องส่องรังสีเหนือม่วง บันทึกผล

(3) ขูดแถบ (band) ที่ได้ถ่ายลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 ลูกบาศก์ เซนติเมตร เติมตัวทำละลายเอธิลอะซิเตตลงไปให้ท่วมผงซิลิกาเจลที่ขูดออกมา นำไปกวนโดยใช้เครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า (Magnetic stirrer) ประมาณ 5 นาที แล้วกรองด้วยกรวยบุชเนอร์ นำไประเหยด้วยเครื่องระเหยสูญญากาศแบบหมุน จนได้สารสกัดเข้มข้น

(4) ถ้าแยกสารได้มากกว่า 1 แถบ ให้ทำการทดลองตามข้อ(3) ทุกแถบ

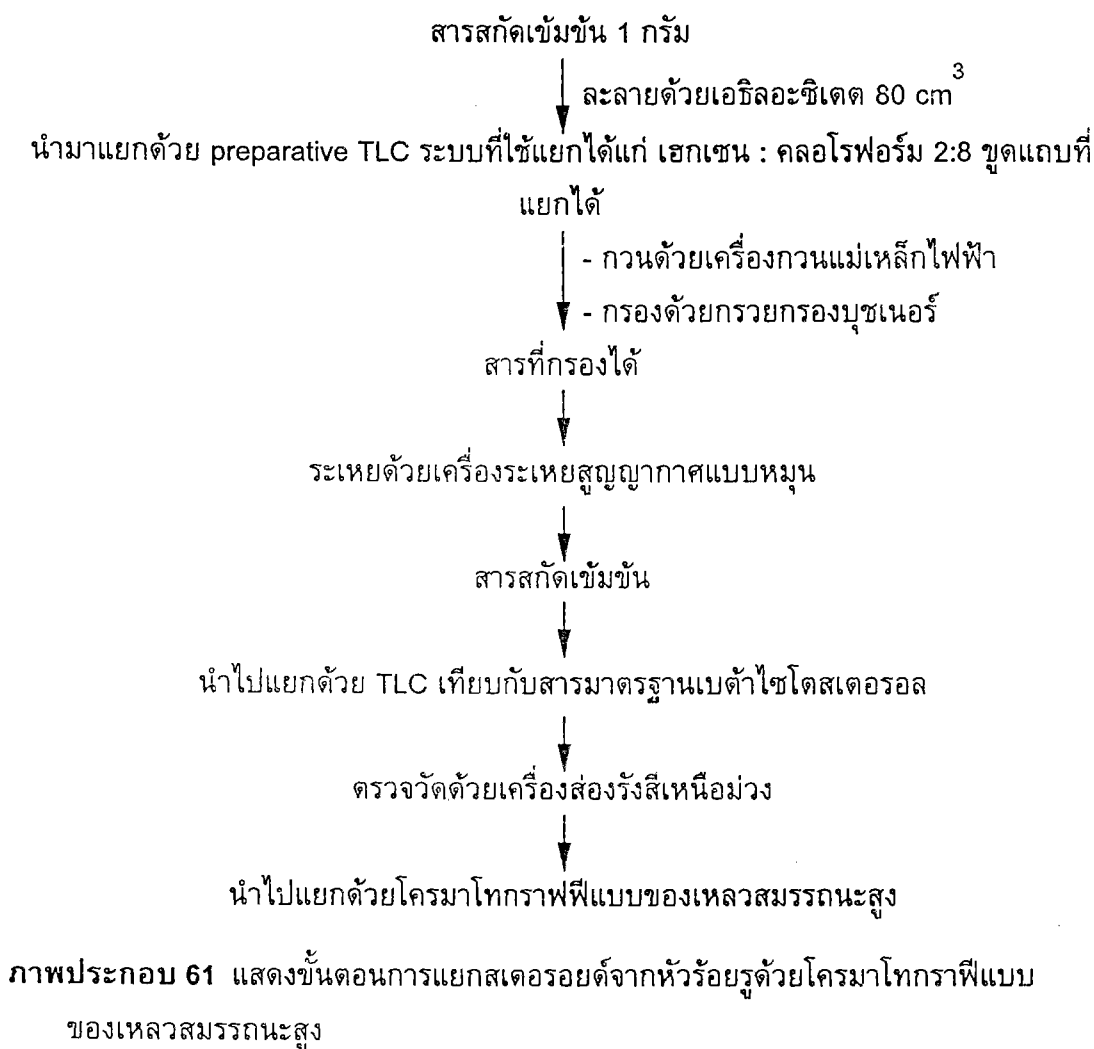
(5) นำสารสกัดเข้มข้นที่ได้จากแต่ละแถบมาตรวจสอบดูว่ามีสเตอรอยด์ อยู่ในแถบใด โดยเทียบกับสารมาตรฐาน คือเบต้า-ไซโตสเตอรอล วิธีการทดลองเหมือนตอนที่ 2

(6) เมื่อตรวจสอบทราบแล้วว่าสเตอรอยด์อยู่แถบใด ทำการทดลองตามข้อ (5) ซ้ำ 3 ครั้ง

(7) นำสารสกัดเข้มข้นที่มีสเตอรอยด์อยู่ ไปทำการแยกโดยใช้เครื่องโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง โดยใช้ระบบเกรเดียนท์ (Gradient) ด้วยตัวทำละลายระบบใดระบบหนึ่งที่ได้ โดยใช้สารมาตรฐาน คือเบต้าไซโตสเตอรอล

(8) เปรียบเทียบโครมาโทแกรมระหว่างสารที่สกัดได้จากหัวรื้ออยู่กับสารมาตรฐาน และ retention time ของสารทั้งสอง บันทึกผล และหาปริมาณเบต้าไซโตสเตอรอลจากโครมาโทแกรมที่ได้

วิธีการแยกสเตอรอยด์จากหัวรื้อด้วยโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง แสดงได้ดังภาพประกอบ 61



ขั้นตอนที่ 5 การพัฒนาทปฏิบัติการเรื่องการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมี จากพืชสมุนไพรในท้องถิ่นจากผลการทดลอง

เมื่อทำการทดลองและได้ผลการทดลองแล้ว ผู้วิจัยได้นำผลการทดลองมาเป็นข้อมูลตั้งต้นในการพัฒนาทปฏิบัติการ เรื่องการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรในท้องถิ่น สำหรับนักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรของสถาบันราชภัฏ โดยผู้วิจัยได้พัฒนาให้มีเนื้อหาครอบคลุมเรื่องการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพร องค์ประกอบทางเคมีที่ทำการสกัดและแยกเป็นสารอินทรีย์ที่พบในพืชสมุนไพร ได้แก่ แอลคาลอยด์ น้ำมันหอมระเหย แทนนิน แอนทราควิโนน ซาโปนิน ฟลาโวนอยด์ สเตอรอยด์ และคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์ โดยพัฒนาจากการศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพร และจากผลการทดลองในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์แนวทางในการพัฒนาทปฏิบัติการ แสดงดังตาราง 12

ตาราง 12 แนวทางในการพัฒนาบปปฏิบัติการ

บปปฏิบัติการที่	เรื่อง	เนื้อหาที่นำเสนอ	ข้อมูลที่เกี่ยวข้อง
1	การสกัดและแยกยูจีนอลจากดอกกานพลูด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบก๊าซ	- การสกัดยูจีนอลจากดอกกานพลู - การแยกยูจีนอลจากดอกกานพลู - ชีวิตสังเคราะห์ของน้ำมันหอมระเหย	- ศึกษาค้นคว้าจากเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดและแยกน้ำมันหอมระเหยจากพืช - ศึกษาเทคนิคการแยกสารโดยใช้เครื่องโครมาโทกราฟีแบบก๊าซ - ศึกษาชีวิตสังเคราะห์ของน้ำมันหอมระเหย
2	การสกัดและแยกแอนโธไซยานินจากดอกกระเจี๊ยบแดงด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์	- การสกัดแอนโธไซยานินจากดอกกระเจี๊ยบแดง - การแยกแอนโธไซยานินจากดอกกระเจี๊ยบแดงด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง - การแยกแอนโธไซยานินจากดอกกุหลาบแดง ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ - ชีวิตสังเคราะห์ของแอนโธไซยานิน	- ศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดแยกฟลาโวนอยด์จากพืช - ศึกษาการแยกฟลาโวนอยด์จากพืชด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง - ศึกษาการแยกฟลาโวนอยด์จากพืชด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ - ศึกษาชีวิตสังเคราะห์แอนโธไซยานิน
3	การสกัดและแยกแทนนินจากเปลือกผลมังคุดด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง	- การสกัดแทนนินจากเปลือกผลมังคุด - การแยกแทนนินจากเปลือกผลมังคุดด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง - ชีวิตสังเคราะห์ของแทนนิน	- ศึกษาค้นคว้าจากเอกสาร และงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดและแยกแทนนินจากพืช - ศึกษาเทคนิคการแยกสารด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง - ศึกษาชีวิตสังเคราะห์ของแทนนิน

ตาราง 12 (ต่อ)

บทปฏิบัติการที่	เรื่อง	เนื้อหาที่น่าสนใจ	ข้อมูลที่เกี่ยวข้อง
4	การสกัดและแยกซาโปนินจากผลมะคำดีควายด้วยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง	- การสกัดซาโปนินจากผลมะคำดีควาย - การแยกซาโปนินจากผลมะคำดีควายด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง - ชีวิตสังเคราะห์ของซาโปนิน	- ศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดและแยกซาโปนินจากพืช - ศึกษาการแยกซาโปนินจากพืชด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง
5	การสกัดและแยกคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากเมล็ดรำเพยโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง	- การสกัดคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากเมล็ดรำเพย - การแยกคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากเมล็ดรำเพยด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง - ชีวิตสังเคราะห์ของคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์	- ศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดและแยกคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากพืช - ศึกษาการแยกคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากพืชด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง - ศึกษาชีวิตสังเคราะห์ของคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์
6	การสกัดและแยกแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบางและปฏิกิริยาเคมี	- การสกัดแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศ - การแยกแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง - การแยกแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศด้วยปฏิกิริยาเคมี - ชีวิตสังเคราะห์ของแอนทราควิโนน	- ศึกษาเอกสาร และงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดและแยกแอนทราควิโนนจากพืช - ศึกษาการแยกแอนทราควิโนนจากพืชด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง - ศึกษาการสกัดและแยกแอนทราควิโนนจากพืชด้วยปฏิกิริยาเคมี - ศึกษาชีวิตสังเคราะห์ของแอนทราควิโนน

ตาราง 12 (ต่อ)

บทปฏิบัติการที่	เรื่อง	เนื้อหาที่น่าสนใจ	ข้อมูลที่เกี่ยวข้อง
7	การสกัดและแยกปิเปอรินจากผลพริกไทยดำด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปี	- การสกัดปิเปอรินจากผลพริกไทยดำ - การแยกปิเปอรินจากผลพริกไทยดำ - ชีวิตสังเคราะห์ของแอลคาลอยด์	- ศึกษาค้นคว้าจากเอกสาร และงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดและแยกแอลคาลอยด์จากพืช - ศึกษาเทคนิคการใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-VIS. Spectrophotometer) - ศึกษาชีวิตสังเคราะห์ของแอลคาลอยด์
8	การสกัดและแยกเบต้า-ไซโตสเตอรอลจากหัวร้อยรูด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง	- การสกัดเบต้าไซโตสเตอรอลจากหัวร้อยรู - การแยกเบต้าไซโตสเตอรอลจากหัวร้อยรูด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง - การแยกเบต้าไซโตสเตอรอลจากหัวร้อยรูด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง - ชีวิตสังเคราะห์ของเบต้า-ไซโตสเตอรอล	- ศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดและแยกสเตอรอยด์จากพืช - ศึกษาการแยกสเตอรอยด์จากพืชด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง - ศึกษาการแยกสเตอรอยด์จากพืชด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง - ศึกษาชีวิตสังเคราะห์ของสเตอรอยด์

วิธีการพัฒนาบทปฏิบัติการ

จากข้อมูลที่ได้จากการศึกษาเอกสารงานวิจัย และผลการทดลองทั้งหมด ผู้วิจัยได้นำมาพัฒนาเป็นบทปฏิบัติการเกี่ยวกับการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรในท้องถิ่น จำนวน 8 บทปฏิบัติการ แต่ละบทปฏิบัติการประกอบด้วยส่วนต่าง ๆ ดังนี้

- ชื่อบทปฏิบัติการ
- เอกสารประกอบบทปฏิบัติการ (ใบความรู้)
- หลักการ/ทฤษฎี
- วัตถุประสงค์
- อุปกรณ์/เครื่องมือและสารเคมี
- วิธีการทดลอง
- รายงานผลการทดลอง
- คำถามท้ายการทดลอง

ซึ่งสรุปเป็นขั้นตอนการพัฒนาได้ดังนี้

1. ศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ซึ่งประกอบด้วยหลักสูตรวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ โดยพิจารณาจุดมุ่งหมายของหลักสูตร ขอบข่าย และรายละเอียดของเนื้อหาวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ รวมทั้งเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับองค์ประกอบทางเคมีของพืชสมุนไพร การสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพร

2. สัมภาษณ์อาจารย์ผู้สอนวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติเพื่อศึกษาหาข้อมูลในการกำหนดเนื้อหา จำนวนบทปฏิบัติการให้เหมาะสมกับเวลาที่ใช้ในการเรียนการสอน

3. วิเคราะห์คำอธิบายรายวิชาของวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เพื่อนำมากำหนดจุดมุ่งหมาย และกิจกรรมของบทปฏิบัติการที่จะพัฒนาขึ้น

4. กำหนดวัตถุประสงค์ของบทปฏิบัติการแต่ละบท

5. พัฒนาบทปฏิบัติการ 8 บทปฏิบัติการใช้เวลาในการสอนบทปฏิบัติการละ

4 คาบ ดังนี้

- | | |
|-------------------|--|
| บทปฏิบัติการที่ 1 | เรื่อง การสกัดและแยกยูจีนอลจากดอกกานพลู ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบก๊าซ |
| บทปฏิบัติการที่ 2 | เรื่อง การสกัดและแยกแอนโธไซยานินจาก ดอกกระเจี๊ยบแดงด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ |
| บทปฏิบัติการที่ 3 | เรื่อง การสกัดและแยกแทนนินจากเปลือกผลมังคุด ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง และปฏิกิริยาเคมี |

- บทปฏิบัติการที่ 4 เรื่อง การสกัดและแยกซาโปนินจากผลมะคำดีควาย
ด้วยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง
- บทปฏิบัติการที่ 5 เรื่อง การสกัดและแยกคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากเมล็ด
รำเพยด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง
- บทปฏิบัติการที่ 6 เรื่อง การสกัดและแยกแอนทราควิโนนจากใบ
ชุมเห็ดเทศด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง
และปฏิกิริยาเคมี
- บทปฏิบัติการที่ 7 เรื่อง การหาปริมาณปิเปอรินจากพริกไทยดำ
ด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปี
- บทปฏิบัติการที่ 8 เรื่อง การสกัดและแยกเบต้าไซโตสเตอรอลจาก
หัวร้อยรูด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบของเหลว
สมรรถนะสูง

6. นำบทปฏิบัติการทั้ง 8 บทปฏิบัติการที่เขียนเสร็จเรียบร้อยแล้ว เสนอต่อคณะกรรมการที่ปรึกษาปริญญาโท นำมาปรับปรุงแก้ไขตามข้อเสนอแนะของคณะกรรมการที่ปรึกษาปริญญาโท แล้วนำบทปฏิบัติการที่ปรับปรุงแก้ไขแล้วไปให้ผู้เชี่ยวชาญจำนวน 11 ท่าน คือ ศาสตราจารย์ ดร.สำเริง บุญเรืองรัตน์ รองศาสตราจารย์ ดร.ประเสริฐ ศรีไพโรจน์ รองศาสตราจารย์ ดร.ทรงศักดิ์ เพชรมิตร รองศาสตราจารย์ ดร.ระมัด โชชัย รองศาสตราจารย์ ดร.ไพโรจน์ กลิ่นพิทักษ์ รองศาสตราจารย์ ดร.สุวิมล เขียวแก้ว ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิชัย ใจวิสุทธิहरษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มานพ มัทธูรศ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รัตนา สนั่นเมือง ดร.พลสันห์ โพธิ์ศรีทอง และ ดร.บรรชา รัตนวัย พิจารณาความสอดคล้องเกี่ยวกับเนื้อหาหลักการ/ทฤษฎี วัตถุประสงค์ อุปกรณ์/เครื่องมือและสารเคมี วิธีทดลอง รายงานผลการทดลอง คำถามท้ายการทดลอง โดยผู้เชี่ยวชาญประเมินบทปฏิบัติการโดยใช้แบบประเมินดัชนีความสอดคล้อง โดยประเมิน 3 ส่วน คือ

ส่วนที่ 1 เอกสารประกอบบทปฏิบัติการ

ส่วนที่ 2 บทปฏิบัติการ

ส่วนที่ 3 รายงานผลการทดลองและคำถามท้ายการทดลอง

ขั้นตอนที่ 6 การประเมินบทบาทปฏิบัติการ

$$\text{ใช้สูตร } IOC = \frac{\sum R}{N}$$

เมื่อ IOC = ดัชนีความสอดคล้อง

$\sum R$ = ผลรวมของคะแนนความคิดเห็นของผู้เชี่ยวชาญ

N = จำนวนผู้เชี่ยวชาญ

(พวงรัตน์ ทวีรัตน์. 2538 : 116-117)

บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

การวิจัยเรื่อง การพัฒนาบทปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เรื่องการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรในท้องถิ่น สำหรับนักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตร์ของสถาบันราชภัฏ ได้ดำเนินการวิจัยเป็น 3 ตอน คือ

ตอนที่ 1 การทดลองในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ เพื่อศึกษาวิธีการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรในท้องถิ่น

ตอนที่ 2 การพัฒนาบทปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ จากผลการทดลองที่ได้จากตอนที่ 1

ตอนที่ 3 การประเมินบทปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ โดยการประเมินดัชนีความสอดคล้อง

ผู้วิจัยขอเสนอผลการวิเคราะห์ข้อมูลทั้ง 3 ขั้นตอน ดังนี้

ตอนที่ 1 การทดลองในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์
วิเคราะห์ข้อมูลทางการทดลองจะนำเสนอตามลำดับดังต่อไปนี้

1. การสกัดและแยกน้ำมันหอมระเหยจากดอกกานพลู
2. การสกัดและแยกฟลาโวนอยด์จากดอกกระเจี๊ยบแดง
3. การสกัดและแยกแทนนินจากเปลือกผลมังคุด
4. การสกัดและแยกซาโปนินจากผลมะคำดีควาย
5. การสกัดและแยกคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากเมล็ดรำเพย
6. การสกัดและแยกแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศ
7. การสกัดและแยกแอลคาลอยด์จากพริกไทยดำ
8. การสกัดและแยกสเตอรอยด์จากหัวร้อยรู

1. การสกัดและแยกน้ำมันหอมระเหยจากดอกกานพลู

ผู้วิจัยได้ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ เพื่อศึกษาวิธีการสกัดและแยกน้ำมันหอมระเหยจากดอกกานพลู โดยมีขั้นตอนดังนี้

1.1 นำดอกกานพลูแห้งมาล้างด้วยไอน้ำ

1.2 นำสารสกัดจากดอกกานพลูมาแยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบางโดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานยูจีนอล

1.3 นำสารที่แยกได้จากโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบางมาแยกและหาปริมาณยูจีนอลด้วยโครมาโทกราฟีแบบก๊าซ

จากการทดลองสกัดและแยกน้ำมันหอมระเหยคือยูจีนอลจากดอกกานพลูด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบก๊าซ ได้แบ่งการทดลองเป็น 3 ตอน ดังนี้

ตอนที่ 1 การสกัดยูจีนอลจากดอกกานพลูโดยการกลั่นด้วยไอน้ำได้น้ำหนักของน้ำมันหอมระเหยรวมที่สกัดได้ (crude oil) เท่ากับ 2.20 กรัม

ตอนที่ 2 การแยกยูจีนอลจากดอกกานพลูด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบางน้ำหนักของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้เท่ากับ 1.2 กรัม

ตอนที่ 3 การแยกยูจีนอลจากดอกกานพลูด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบก๊าซสภาวะของเครื่องเป็นดังนี้

Column : DB - 1 (Length 30 meters ; I.D. 0.25 mm. ; Film 0.25 μ m)

Flow rate : 30 ml / min

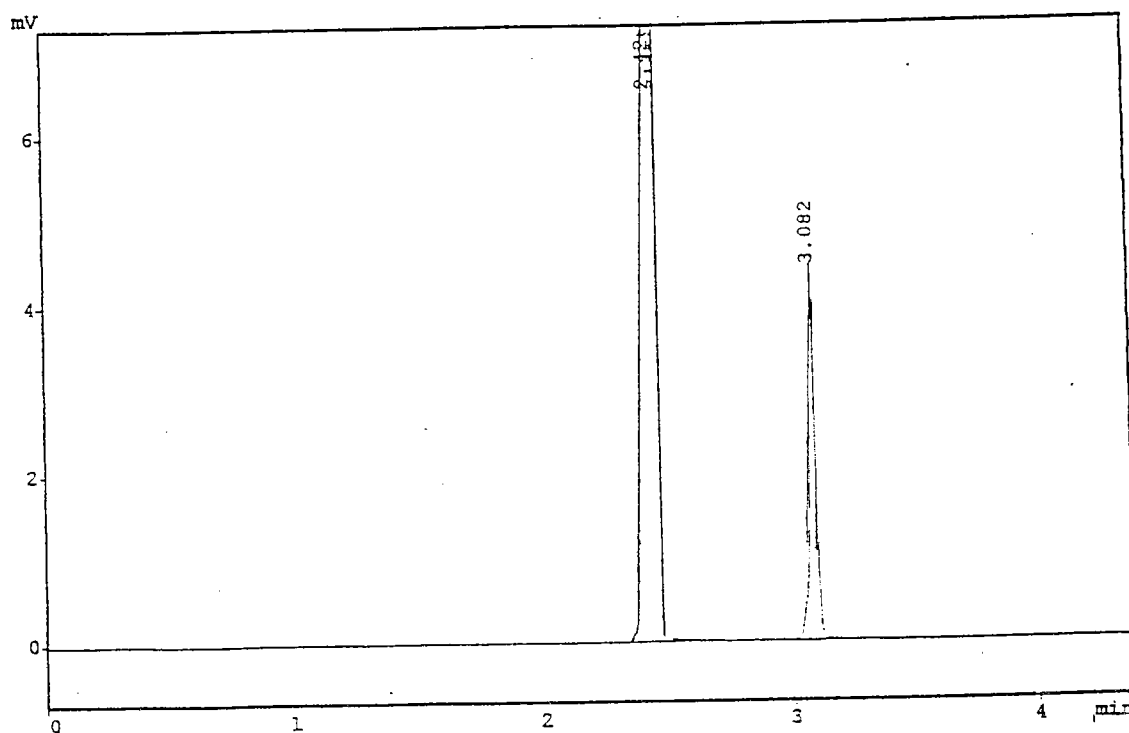
Column oven : 220 ° C

SPL : 253 ° C

Detector (FID) : 250 ° C

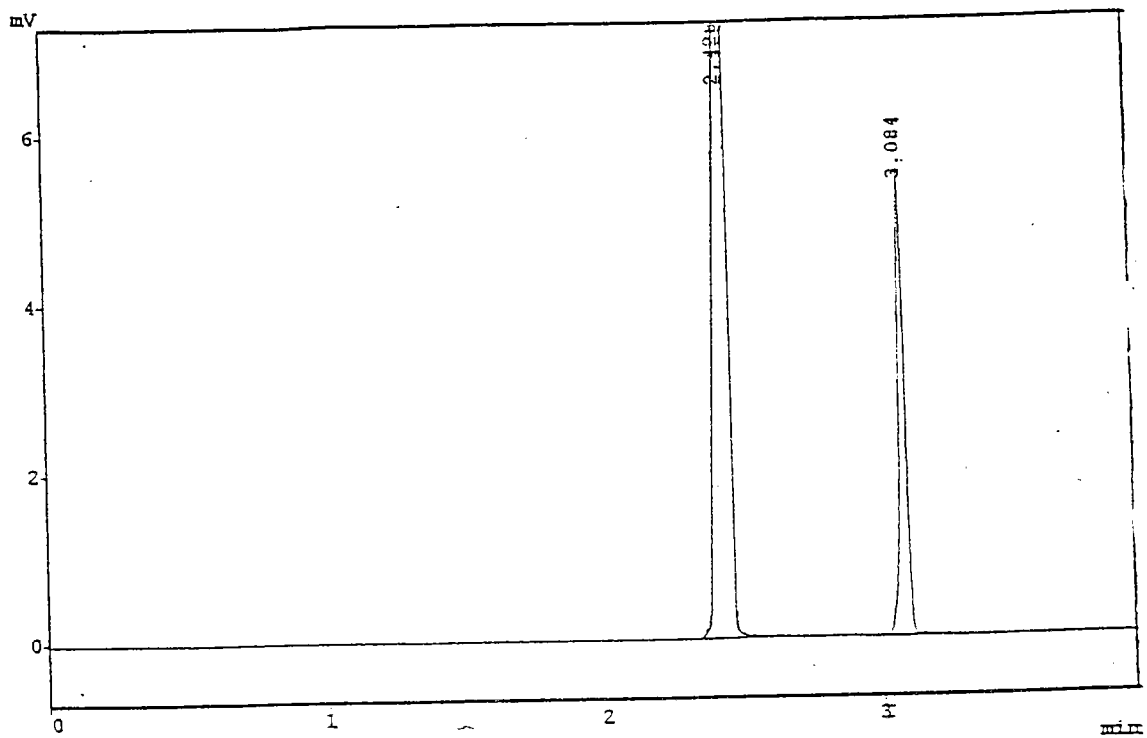
Carrier gas : Helium

ผลการทดลองแสดงดังภาพประกอบ 62, 63, 64, 65, 66 และ 67



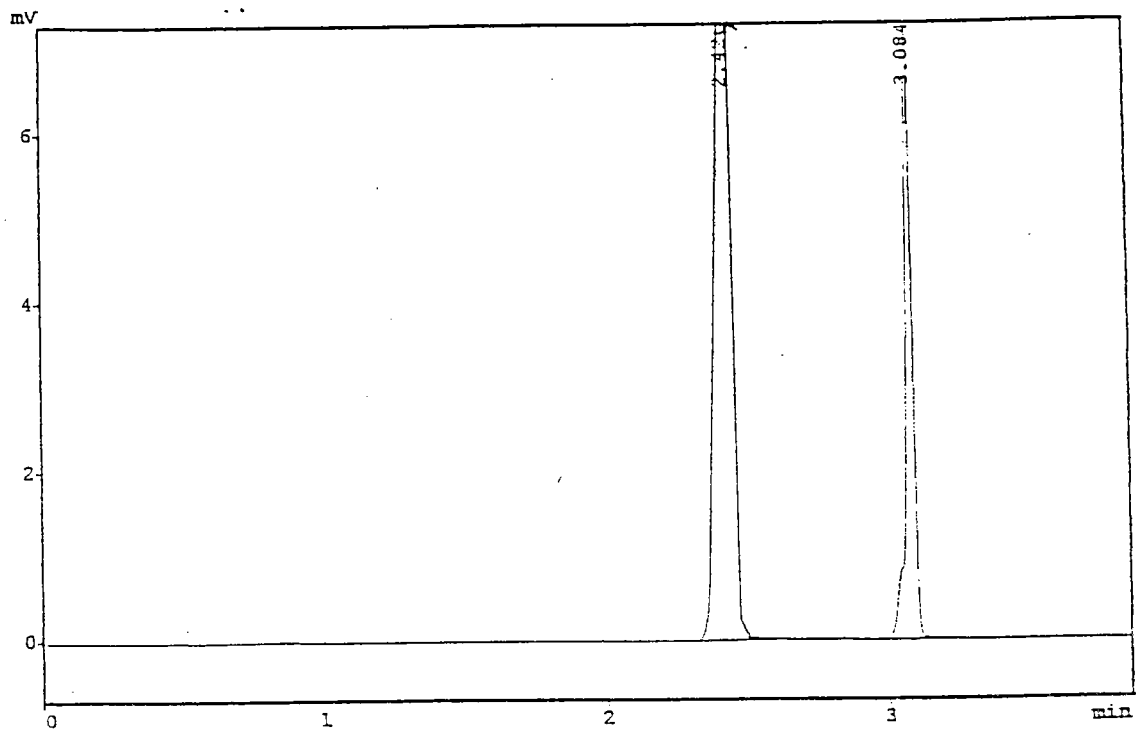
ภาพประกอบ 62 แสดงโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานยูจีนอล ความเข้มข้น
0.01056 ppm นิต 1 ไมโครลิตร

จากภาพประกอบ 62 พบว่าเวลาที่ใช้ในการแยกสารละลายมาตรฐานยูจีนอล
ความเข้มข้น 0.01056 ppm เท่ากับ 3.082 นาที



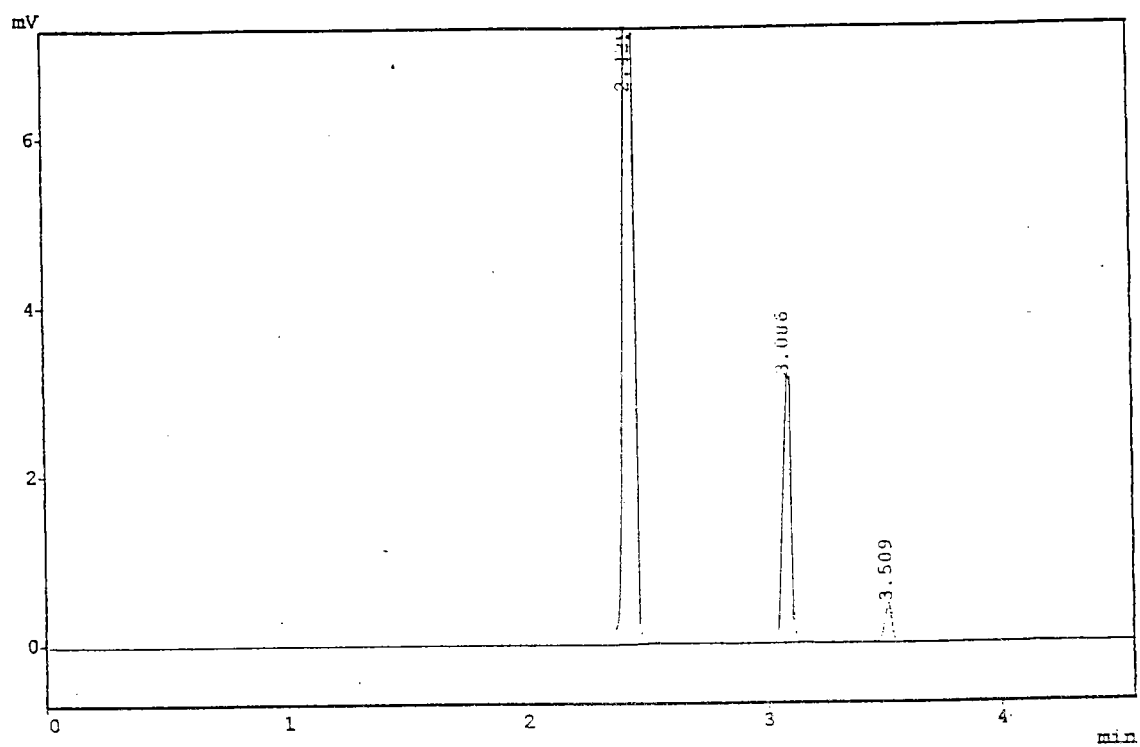
ภาพประกอบ 63 แสดงโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานยูจีนอลความเข้มข้น
0.01320 ppm นีต 1 ไมโครลิตร

จากภาพประกอบ 63 พบว่าเวลาที่ใช้ในการแยกสารละลายมาตรฐานยูจีนอล
ความเข้มข้น 0.01320 ppm เท่ากับ 3.084 นาที



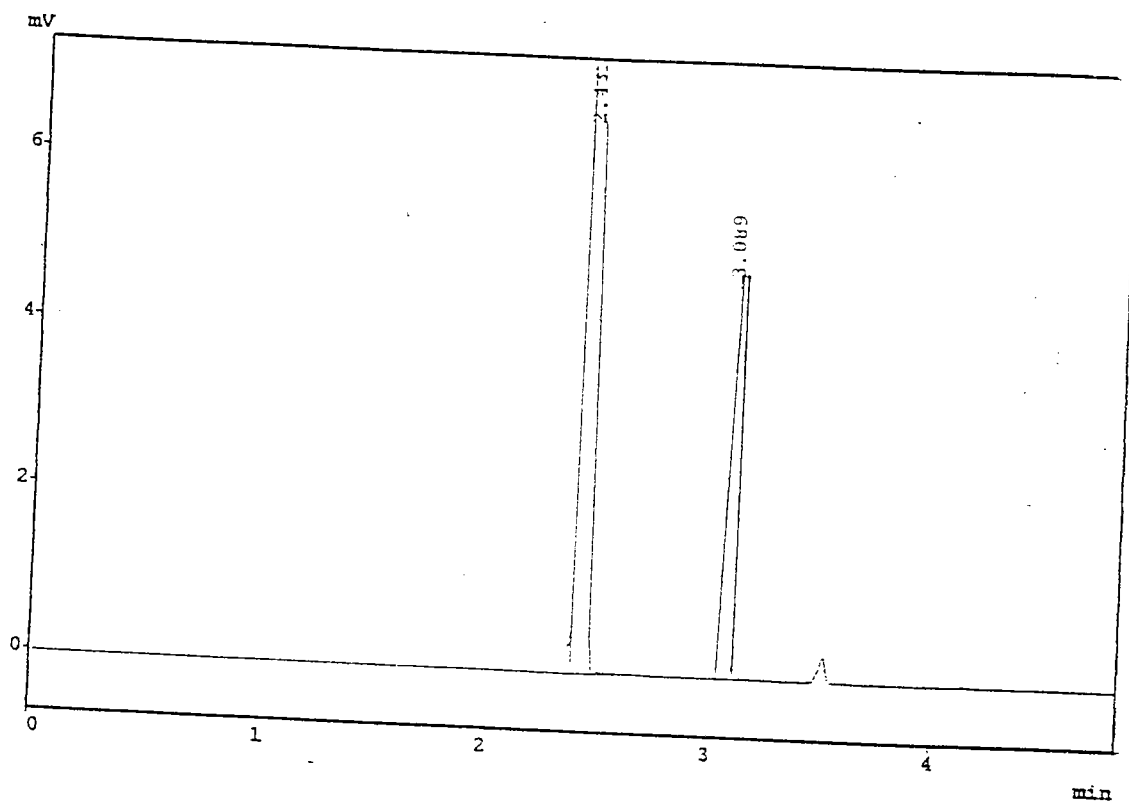
ภาพประกอบ 64 แสดงโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน ยูจีนอลความเข้มข้น
0.01584 ppm ฉีด 1 ไมโครลิตร

จากภาพประกอบ 64 พบว่าเวลาที่ใช้ในการแยกสารละลายมาตรฐานยูจีนอล
ความเข้มข้น 0.01584 ppm เท่ากับ 3.084 นาที



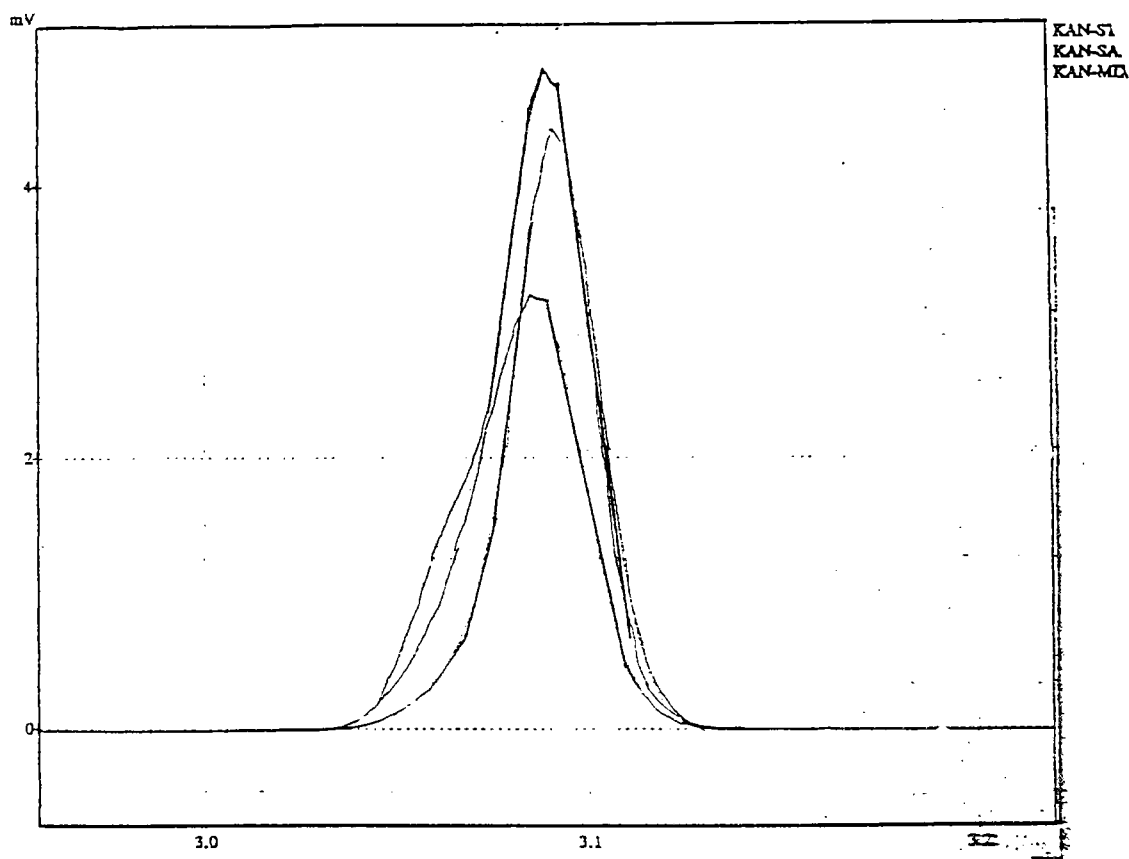
ภาพประกอบ 65 แสดงโครมาโทแกรมของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากดอกกานพลู

จากภาพประกอบ 65 พบว่าเวลาที่ใช้ในการแยกน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากดอกกานพลู เท่ากับ 3.086 นาทีและมีปริมาณ 0.0099 ppm



ภาพประกอบ 66 แสดงโครมาโทแกรมที่ได้จากการเติมสารละลายมาตรฐานยูจีนอล ปริมาตร 0.5 ไมโครลิตร และน้ำมันหอมระเหยจากดอกกานพลู ปริมาตร 0.5 ไมโครลิตร

จากภาพประกอบ 66 พบว่าเมื่อผสมสารละลายมาตรฐานยูจีนอลกับน้ำมันหอมระเหย ที่สกัดได้จากดอกกานพลู ใช้เวลาในการแยก 3.089 นาที และมีพื้นที่พีคเพิ่มสูงขึ้นจาก 6817 เป็น 9737



ภาพประกอบ 67 แสดงกราฟที่ได้จากการซ้อนทับของโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานยูจีนอล น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากดอกกานพลูและการเติมสารละลายมาตรฐานยูจีนอลกับ น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากดอกกานพลู

จากภาพประกอบ 67 พบว่ากราฟที่ได้จากการซ้อนโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานยูจีนอล น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากดอกกานพลูและการเติมสารละลายมาตรฐานยูจีนอลกับน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากดอกกานพลูซ้อนทับกันพอดีแสดงว่าเป็นสารเดียวกัน

2. การสกัดและแยกฟลาโวนอยด์จากดอกกระเจี๊ยบแดง

ผู้วิจัยได้ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์เพื่อศึกษาวิธีการสกัดและแยก ฟลาโวนอยด์จากดอกกระเจี๊ยบแดง โดยมีขั้นตอนดังนี้

2.1 นำดอกกระเจี๊ยบแดงมาสกัดด้วยส่วนผสมของเมทานอลและกรดไฮโดรคลอริก

2.2 นำสารสกัดได้จาก ข้อ 2.1 มาแยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

2.3 นำสารสกัดจากข้อ 2.1 มาแยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์โดยใช้ระบบที่แยกได้จากโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

2.4 นำสารสกัดที่แยกได้จากข้อ 2.3 มาตรวจสอบด้วยปฏิกิริยาเคมีจากการทดลองสกัดและแยกฟลาโวนอยด์คือแอนโธไซยานินจากดอกกระเจี๊ยบแดงได้แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ตอน ดังนี้

ตอนที่ 1 การสกัดแอนโธไซยานินจากดอกกระเจี๊ยบแดงสารที่ได้จากดอกกระเจี๊ยบแดงมีสีแดงเข้ม

ตอนที่ 2 การแยกแอนโธไซยานินจากดอกกระเจี๊ยบแดงด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง ผลการทดลองเมื่อแยกสารสกัดจากดอกกระเจี๊ยบแดงด้วยตัวทำละลายผสมของ เอ็นบิวทานอล : กรดเกลเซียลอะซิติก : น้ำ ในอัตราส่วน 6 : 1.5 : 2.5 พบว่าแยกสารแยกได้ 1 จุด เมื่อนำไปส่องรังสียูวีที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร และอังก์กับไอแอมโมเนียพบว่าสารที่แยกได้มีสีฟ้าเทา

ตอนที่ 3 การแยกแอนโธไซยานินด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ จากการแยกแอนโธไซยานินด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ใช้คอลัมน์เส้นผ่านศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร ยาว 30 เซนติเมตรความยาวของซิลิกาที่บรรจุในคอลัมน์ เท่ากับ 20 เซนติเมตร แยกสารได้ 3 แถบคือสีม่วงสีน้ำเงินและฟ้า เก็บสารที่แยกได้ให้หลอดทดลอง หลอดละ 10 ลูกบาศก์เซนติเมตรจำนวน 24 หลอดสารละลายในหลอดทดลองที่แยกได้มีสีชมพูม่วงและสีจะจางลงตามลำดับ

ตอนที่ 4 การตรวจสอบแอนโธไซยานินด้วยปฏิกิริยาเคมี

1) การทดสอบชิโนดา (Shinoda test) เมื่อใส่สารละลายที่แยกได้จากตอนที่ 3 ในหลอดทดลองเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นและใส่โลหะแมกนีเซียมลงไป 3-4 อันจะเกิดฟองก๊าซขึ้นและมีการคายความร้อน

2) เมื่อใส่สารละลายที่แยกได้จากตอนที่ 3 ในหลอดทดลองเติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ นำไปต้มนาน 1 นาทีพบว่าสารละลายที่ได้มีสีแดง

3) เมื่อใส่สารละลายที่แยกได้ในหลอดทดลองเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 2 นอร์มัล จะได้สารละลายสีแดงและเมื่อค่อย ๆ เติมสารละลายแอมโมเนียลงไปทีละหยดพบว่าสารละลายเปลี่ยนจากสีแดงเป็นน้ำเงิน

3. การสกัดและแยกแทนนินจากเปลือกผลมังคุด

ผู้วิจัยได้ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ เพื่อศึกษาวิธีการสกัดและแยกแทนนินจากเปลือกผลมังคุด โดยมีขั้นตอนดังนี้

3.1 นำเปลือกผลมังคุดแห้งมาสกัดด้วยเอทานอลระเหยตัวทำละลาย ออกจนได้สารสกัดเข้มข้น

3.2 นำสารสกัดเข้มข้นจากข้อ 3.1 มาแยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบางโดยเทียบกับสารละลายมาตรฐาน แคทีคอล (Catechol) กรดแทนนิก (Tannic acid) และยาไดเซนโต (Disento)

3.3 นำสารสกัดเข้มข้นจากข้อ 3.1 มาแยกและตรวจสอบแทนนินด้วยปฏิกิริยาเคมีจากการทดลองสกัดและแยกแทนนินจากเปลือกผลมังคุด ได้แบ่งการทดลองเป็น 3 ตอน ดังนี้

ตอนที่ 1 การสกัดแทนนินจากเปลือกผลมังคุด ได้สารสกัดเข้มข้นหนัก 120 กรัม

ตอนที่ 2 การแยกแทนนินจากเปลือกผลมังคุดด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง ได้ผลการทดลองแสดง ดังตาราง 13

ตาราง 13 แสดงระบบที่ใช้แยก อัตราส่วนและค่า R_f ของสารมาตรฐานแทนนินและสารที่สกัดได้จากเปลือกผลมังคุด

ระบบที่ใช้แยก	อัตราส่วน	ค่า R_f			สารตัวอย่าง
		สารละลายมาตรฐาน	Catechol	Tannic acid	Disento
เอธิลอะซิเตต : เมทานอล	4 : 6	0.878	0.878	0.878	0.878
เมทานอล : เอธิลอะซิเตต : คลอโรฟอร์ม	7 : 1 : 1	0.787	0.772	0.787	0.787
เมทานอล : เอธิลอะซิเตต : คลอโรฟอร์ม : กรดไฮโดรคลอริก (0.5 M)	7 : 1 : 1 : 1	0.818	0.803	0.818	0.818
เมทานอล : คลอโรฟอร์ม : เฮกเซน	7 : 2 : 1	0.787	0.787	0.787	0.787
เมทานอล : คาร์บอนเตตระคลอไรด์	3 : 7	0.909	0.893	0.893	0.893

จากตาราง 13 พบว่าระบบที่สามารถแยกแทนนินจากเปลือกผลมังคุดได้ดังนี้

ระบบที่ 1 ได้แก่ เอธิลอะซิเตต : เมทานอล อัตราส่วน 4 : 6 มีค่า R_f ของสารละลายมาตรฐานแคทีคอล (Catechol) กรดแทนนิก (Tannic acid) ไดเซนโต (Disento) และสารตัวอย่างเท่ากับ 0.878 , 0.878 , 0.878 และ 0.878 ตามลำดับ

ระบบที่ 2 ได้แก่ เมทานอล : เอธิลอะซิเตต : คลอโรฟอร์ม อัตราส่วน 7 : 1 : 1 มีค่า R_f ของสารละลายมาตรฐานแคทีคอล (Catechol) กรดแทนนิก (Tannic acid) ไดเซนโต (Disento) และสารตัวอย่างเท่ากับ 0.787 , 0.772 , 0.787 และ 0.787 ตามลำดับ

ระบบที่ 3 ได้แก่ เมทานอล : เอธิลอะซิเตต : คลอโรฟอร์ม : กรดไฮโดรคลอริก (0.5) อัตราส่วน 7 : 1 : 1 : 1 มีค่า R_f ของสารละลายมาตรฐานแคทีคอล (Catechol) กรดแทนนิก

(Tannic acid) ไตเซนโต (Disento) และสารตัวอย่างเท่ากับ 0.818 , 0.803 , 0.818 และ 0.818 ตามลำดับ

ระบบที่ 4 ได้แก่ เมธานอล : เฮกเซน : เฮกเซน อัตราส่วน 7 : 2 : 1 มีค่า R_f ของ สารละลายมาตรฐานแคทีคอล (Catechol) กรดแทนนิก (Tannic acid) ไตเซนโต (Disento) และสารตัวอย่างเท่ากับ 0.787 , 0.787 , 0.87 , และ 0.787 ตามลำดับ

ระบบที่ 5 ได้แก่ เมธานอล : คาร์บอนเตตระคลอไรด์ อัตราส่วน 3 : 7 มีค่า R_f ของ สารละลายมาตรฐานแคทีคอล (Catechol) กรดแทนนิก (Tannic acid) ไตเซนโต (Disento) และสารตัวอย่างเท่ากับ 0.909 , 0.893 , 0.893 และ 0.893 ตามลำดับ

ตอนที่ 3 การแยกและตรวจสอบแทนนินด้วยปฏิกิริยาเคมีได้ผลการทดลองแสดงดัง ตาราง 14

ตาราง 14 แสดงผลการทดลองที่ได้จากการแยกแทนนินจากเปลือกผลมังคุดและตรวจสอบด้วย ปฏิกิริยาเคมี

สารละลายที่ใช้ทดสอบ	ผลการทดลอง
1. หลอดควบคุม	ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง
2. สารละลายเจลาติน	เกิดตะกอนขาวขุ่น
3. สารละลายเจลาติน-เกลือแกง	เกิดตะกอนขาวขุ่น
4. สารละลายเฟอริกคลอไรด์ 1 %	สารละลายสีน้ำเงินเขียว
5. น้ำโบรมีน	เกิดตะกอนสีเทา
6. การทดสอบฟอร์มาลิน-กรดกลู	เกิดตะกอนสีแดง
7. การทดสอบวานิลิน-กรดกลู	สารละลายสีส้มแดง
8. น้ำปูนใส	เกิดตะกอนสีน้ำเงินเทา

จากตาราง 14 ผลจากการทดสอบสารสกัดจากเปลือกผลมังคุดและตรวจสอบด้วย ปฏิกิริยาเคมี ได้ผลการทดสอบเป็นบวก (Positive test) แสดงว่าเป็นแทนนิน

4. การสกัดแยกแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศ

ผู้วิจัยได้ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ เพื่อศึกษาวิธีการสกัดและ แยกแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศ โดยมีขั้นตอนดังนี้

4.1 นำผลมะคำดีควายแห้งมาสกัดด้วยเฮกเซนเพื่อสกัดไขมันออก แล้วนำไปสกัดต่อด้วยเมทานอล ระเหยตัวทำละลายออกจนได้สารสกัดเข้มข้น

4.2 นำสารสกัดเข้มข้นจากข้อ 4.1 มาตรวจสอบด้วยปฏิกิริยาเคมี

4.3 นำสารสกัดเข้มข้นจากข้อ 4.1 มาแยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบางโดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานชาโปนิน

จากการสกัดและแยกชาโปนินจากผลมะคำดีควาย ได้แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ตอนดังนี้

ตอนที่ 1 การสกัดชาโปนินจากผลมะคำดีควายด้วยเมทานอล ได้สารสกัดเข้มข้นหนัก 75 กรัม

ตอนที่ 2 การตรวจสอบชาโปนินที่ได้จากผลมะคำดีควายด้วยปฏิกิริยาเคมี

1) การทดสอบฟอง หลังจากนำผลมะคำดีควายเติมน้ำกลั่น ต้มบนหม้ออังไอน้ำ 5 นาทีกรองขณะร้อน ปล่อยให้เย็นเขย่าสารละลายอย่างแรง 1 นาที พบว่าสารละลายเกิดฟองสูงประมาณ 1 เซนติเมตร หลังจากเติมกรดซัลฟิวริก ลงไปแล้วต้ม 5 นาทีปล่อยให้เย็นเขย่าแรง ๆ 1 นาที พบว่าสารละลายเกิดฟองลักษณะคล้ายรวงผึ้งสูงประมาณ 2 เซนติเมตร

2) การทดสอบสีด้วยปฏิกิริยาไลเบอร์แมน – เบอร์ชาร์ด หลังจากหยดอะซิติกแอนไฮไดรด์ 3 หยด เขย่าให้เข้ากันค่อย ๆ หยดกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1 หยด ลงข้างภาชนะให้สารทั้งสองผสมกันช้า ๆ พบว่าได้สีชมพูม่วง

ตอนที่ 3 การแยกชาโปนินจากผลมะคำดีควายด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง ผลการทดลองแสดงดังตาราง 15

ตาราง 15 แสดงระบบที่ใช้แยก อัตราส่วนและค่า R_f ที่ใช้แยกชาโปนินจากผลมะคำดีควาย

ระบบที่ใช้แยก	อัตราส่วน	ค่า	R_f
		สารมาตรฐานชาโปนิน	สารตัวอย่าง
อะซิโตน : เมทานอล	1 : 8 : 1	0.877	0.876
เอธิลอะซิเตต : เมทานอล : น้ำ	4 : 3 : 3	0.877	0.876
อะซิโตน : เมทานอล : น้ำ กรดอะซิติก (0.5 M)	5 : 4 : 1 : 1	0.873	0.873

จากตาราง 15 พบว่าระบบที่ใช้แยกชาโปนินจากผลมะคำดีควายมี 3 ระบบ

ระบบที่ 1 ได้แก่ อะซิโตน : เมทานอล : น้ำอัตราส่วน 1 : 8 : 1 มีค่า R_f ของสารมาตรฐาน และสารตัวอย่างเท่ากับ 0.877 และ 0.876 ตามลำดับ

ระบบที่ 2 ได้แก่ เอธิลอะซิเตต : เมทานอล : น้ำอัตราส่วน 4 : 3 : 3 มีค่า R_f ของสารมาตรฐานและสารตัวอย่างเท่ากับ 0.877 และ 0.876 ตามลำดับ

ระบบที่ 3 ได้แก่ อะซิโตน : เมทานอล : น้ำ : กรดอะซิติก (0.5 M) อัตราส่วน 4 : 4 : 2 : 1 มีค่า R_f ของสารมาตรฐานและสารตัวอย่าง เท่ากับ 0.873 และ 0.873 ตามลำดับ

5. การสกัดและแยกคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากเมล็ดรำเพย

ผู้วิจัยได้ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์เพื่อศึกษาวิธีการสกัดและแยก คาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากเมล็ดรำเพย โดยมีขั้นตอนดังนี้

5.1 นำเมล็ดรำเพยแห้งที่แกะเปลือกออกแล้วนำมาสกัดด้วยเฮกเซนเพื่อสกัดไขมันออกนำมาสกัดต่อด้วยคลอโรฟอร์ม ระเหยตัวทำละลายออกจนได้สารสกัดเข้มข้น

5.2 นำสารสกัดเข้มข้นจากข้อ 5.1 มาตรวจสอบคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์โดยปฏิกิริยาการเกิดสีโดยตรวจสอบที่เป็น Steroidal moiety , unsaturated lactone ที่ C_{17} และ deoxy sugar

5.3 นำสารสกัดเข้มข้นจากข้อ 5.1 มาแยกคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์ด้วยโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบางโดยเทียบกับสารละลายมาตรฐาน ลาโนอกซิน และ ไดโกซิน

จากการทดลองสกัดและแยกคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากเมล็ดรำเพยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ตอนดังนี้

ตอนที่ 1 การสกัดคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากเมล็ดรำเพย เมื่อทำการสกัดคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากเมล็ดรำเพยมาสกัดด้วยเฮกเซนเพื่อสกัดไขมันออก แล้วนำมาสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม เมื่อระเหยคลอโรฟอร์มออกหมดแล้ว เหลือสารสกัดเข้มข้นไม่มีสีมีปริมาตร 5 ลูกบาศก์เซนติเมตร

ตอนที่ 2 การตรวจสอบคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์โดยปฏิกิริยาการเกิดสี

1) ตรวจ Steroidal moiety ผลการทดลองแสดงดังตาราง 16

ตาราง 16 แสดงผลการตรวจ Steroidal moiety ในสารสกัดเข้มข้นจากเมล็ดรำเพย
สารละลายจากยาลาน็อกซิน และ ไตโกซิน

สารที่ใช้ในการทดสอบ	ผลการทดลอง
สารสกัดเข้มข้นจากเมล็ดรำเพย	มีสีแดงกุหลาบ เมื่อตั้งทิ้งไว้ 30 นาทีสีจะเปลี่ยนเป็นสีแดง ม่วง น้ำเงินและสีเขียวตามลำดับ
สารละลายจากยาลาน็อกซิน	มีสีแดงกุหลาบ น้ำเงิน และเขียวตามลำดับ
สารละลายจากยาไตโกซิน	มีสีแดงกุหลาบ น้ำเงิน และเขียวตามลำดับ

จากตาราง 16 พบว่าเมื่อนำสารสกัดเข้มข้นจากเมล็ดรำเพย สารละลายจากยาลาน็อกซิน และสารละลายจากยา ไตโกซิน มาตรวจหา Steroidal moiety ได้ผลการทดสอบเป็นบวก แสดงว่ามี Steroidal moiety

2) ตรวจ Unsaturated lactone ที่ C₁₇ (butenolide) เมื่อนำสารสกัดเข้มข้นจากตอนที่ 1 มาเติมเคดเดส์ รีเอเจนต์ (Kedde's reagent) ลงไปเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 2 โมล/ลิตร ลงไปจะได้สารละลายสีม่วง แสดงว่ามี Unsaturated lactone ที่ C₁₇ (butenolide)

3) การตรวจน้ำตาลดีออกซี (Deoxy sugar) เมื่อนำสารสกัดเข้มข้นจากตอนที่ 1 มาเติมเฟอริกคลอไรด์รีเอเจนต์ลงไปผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 1 นาที แล้วหยดกรดซัลฟิวริก เข้มข้นลงไป 5-6 หยด ลงข้างหลอดทดลอง พบว่าสารละลายแยกเป็น 2 ชั้นตรงรอยต่อระหว่างชั้นมีสีน้ำตาล และสารละลายชั้นบนเป็นสีเขียวอ่อน แสดงว่ามีน้ำตาลดีออกซี

ตอนที่ 3 การแยกคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากเมล็ดรำเพยโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง ผลการทดลองแสดงดังตาราง 17

ตาราง 17 แสดงระบบที่ใช้ในการแยก อัตราส่วน และค่า R_f ของสารละลายจากยาลาน็อกซิน และ ไตโกซิน และสารสกัดจากเมล็ดรำเพย

ระบบที่ใช้แยก	อัตราส่วน	R _f		
		ลาน็อกซิน	ไตโกซิน	สารสกัดจากเมล็ดรำเพย
อะซิโตน : เมทานอล	2 : 8	0.80	0.80	0.80
เมทานอล : น้ำ : กรดอะซิติก (0.5 M)	8 : 2 : 0.5	0.825	0.830	0.830
เอธิลอะซิเตต : อะซิโตน : เมทานอล	1 : 1 : 8	0.815	0.815	0.815
อะซิโตนไนไตรต์ : น้ำ	1 : 9	0.861	0.861	0.861

จากตาราง 17 พบว่าระบบที่ใช้แยกคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากเมลิตร้าเพยมี 4 ระบบได้แก่

ระบบที่ 1 ได้แก่ อะซิโตน : เมทานอล อัตราส่วน 2 : 8 มีค่า R_f ของสารมาตรฐาน ลานีอกซิน และสารมาตรฐาน ไดโกซิน และสารสกัดจากเมลิตร้าเพย เท่ากับ 0.80 , 0.80 และ 0.80 ตามลำดับ

ระบบที่ 2 ได้แก่ เมทานอล : น้ำ : กรดอะซิติก (0.5 M) อัตราส่วน 8 : 2 : 0.5 มีค่า R_f ของสารมาตรฐาน ลานีอกซิน และสารมาตรฐาน ไดโกซิน และสารสกัดจากเมลิตร้าเพย เท่ากับ 0.825 , 0.830 และ 0.830 ตามลำดับ

ระบบที่ 3 ได้แก่ เอธิลอะซิเตต : อะซิโตน : เมทานอล อัตราส่วน 1 : 1 : 8 มีค่า R_f ของสารมาตรฐาน ลานีอกซิน สารมาตรฐาน ไดโกซิน และสารสกัดจากเมลิตร้าเพย เท่ากับ 0.815 , 0.815 และ 0.815 ตามลำดับ

ระบบที่ 4 ได้แก่ อะซิโตนไครด์ : น้ำ อัตราส่วน 1 : 9 มีค่า R_f ของสารมาตรฐาน ลานีอกซิน สารมาตรฐาน ไดโกซิน และสารสกัดจากเมลิตร้าเพย เท่ากับ 0.861 , 0.861 และ 0.861 ตามลำดับ

6. การสกัดแยกแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศ

ผู้วิจัยได้ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ เพื่อศึกษาวิธีการสกัดและแยกแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศ โดยมีขั้นตอนดังนี้

6.1 นำใบชุมเห็ดเทศแห้งมาสกัดด้วยเมทานอลระเหยตัวทำละลายออกจนได้สารสกัดเข้มข้น

6.2 นำสารสกัดเข้มข้นจากข้อ 6.1 มาแยกและตรวจสอบด้วยปฏิกิริยาเคมี

6.3 นำสารสกัดเข้มข้น จากข้อ 6.1 มาแยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบางโดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานเซนโนค็อต (Sennokot)

จากการสกัดและแยกแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศ ได้แบ่งการทดลองเป็น 3 ขั้นตอน ดังนี้

ตอนที่ 1 การสกัดแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศ เมื่อสกัดสารจากใบชุมเห็ดเทศด้วยเมทานอล ได้สารสกัดเข้มข้นหนัก 45 กรัม

ตอนที่ 2 การแยกแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศและตรวจสอบด้วยปฏิกิริยาการเกิดสี

การแยกและการทดสอบ purified glycoside และส่วนที่เป็น aglycone ผลการทดลองแสดงดังตาราง 18

ตาราง 18 แสดงผลการทดลองการทดสอบแอนทราควิโนนจากสารสกัดจากใบชุมเห็ดเทศ

สารสกัดในชั้นเบนซีน	ผลการทดลอง
ใส่สารละลาย แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ 1 โมล/ลิตร	ได้สีชมพูแดงในชั้นของล่าง
ไม่ใส่สารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ 1 โมล/ลิตร	ได้สารละลายสีเหลือง
ใส่สารละลาย แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ 1 โมล/ลิตร	ได้สารละลายสีแดงในชั้นของล่าง

จากตาราง 18 พบว่าเมื่อทดสอบสารสกัดจากใบชุมเห็ดเทศด้วยปฏิกิริยาเคมีได้ผลการทดสอบเป็นบวก (positive test) แสดงว่าในสารสกัดจากใบชุมเห็ดเทศมีแอนทราควิโนน

ตอนที่ 3 การแยกแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง ผลการทดลองแสดงดังตาราง 19

ตาราง 19 แสดงระบบที่ใช้แยก อัตราส่วนและค่า R_f ที่ใช้แยกแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศ

ระบบที่ใช้แยก	อัตราส่วน	ค่า R_f	
		เซนโนค็อต	สารตัวอย่าง
ไดคลอโรมีเทน : คลอโรฟอร์ม : เอทิลอะซิเตต	1 : 1 : 8	0.833	0.833
เฮกเซน : อะซิโตน : กรดอะซิติก (0.5M)	6 : 4 : 0.5	0.565	0.570
เฮกเซน : เอทิลอะซิเตต	1 : 9	0.565	0.570

จากตาราง 19 พบว่าระบบที่ใช้แยกแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศมี 3 ระบบ ระบบที่ 1 ได้แก่ ไดคลอโรมีเทน : คลอโรฟอร์ม : เอทิลอะซิเตต อัตราส่วน 1 : 1 : 8 มีค่า R_f ของสารมาตรฐานและสารตัวอย่าง เท่ากับ 0.833 และ 0.833 ตามลำดับ

ระบบที่ 2 ได้แก่ เฮกเซน : อะซิโตน : กรดอะซิติก (0.5M) อัตราส่วน 6 : 4 : 0.5 8 มีค่า R_f ของสารมาตรฐานและสารตัวอย่าง เท่ากับ 0.565 และ 0.570 ตามลำดับ

ระบบที่ 3 ได้แก่ เฮกเซน : เอทิลอะซิเตต อัตราส่วน 1 : 9 มีค่า R_f ของสารมาตรฐานและสารตัวอย่าง เท่ากับ 0.565 และ 0.570 ตามลำดับ

7. การสกัดและแยกแอลคาลอยด์จากผลพริกไทยดำ

ผู้วิจัยได้ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ เพื่อศึกษาวิธีการสกัดและแยกแอลคาลอยด์จากผลพริกไทยดำ โดยมีขั้นตอนดังนี้

7.1 นำผลพริกไทยดำมาทำให้เป็นเบสแล้วสกัดด้วยส่วนผสมของคลอโรฟอร์มและเอทานอล

7.2 นำสารสกัดจากข้อ 7.1 มาสกัดต่อด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก

7.3 นำสารสกัดที่แยกได้จากข้อ 7.2 มาตรวจสอบว่ามีแอลคาลอยด์หรือไม่โดยนำไปทดสอบกับรีเอเจนต์ต่าง ๆ ได้แก่ ดราเจนดอร์ฟ เมเยอร์และแวกเนอร์

7.4 นำสารสกัดที่แยกได้จากข้อ 7.3 มาวิเคราะห์หาปริมาณปิเปอรินในผลพริกไทยดำ ด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปี

จากการทดลองสกัดและแยกแอลคาลอยด์ คือ ปิเปอรินจากผลพริกไทยดำและวิเคราะห์หาปริมาณโดยใช้เทคนิคสเปกโทรสโกปี ได้แบ่งการทดลองเป็น 3 ตอนดังนี้

ตอนที่ 1 การตรวจหาแอลคาลอยด์ในผลพริกไทยดำ โดยปฏิกิริยาเคมี เพื่อทำการตรวจสอบเบื้องต้นแสดงผลการทดลองในตาราง 20

ตาราง 20 ผลการตรวจหาแอลคาลอยด์ในผลพริกไทยดำ

รีเอเจนต์ที่ใช้ทดสอบ	ผลการทดลอง
ดราเจนดอร์ฟ รีเอเจนต์	เกิดตะกอนสีส้ม
เมเยอร์ รีเอเจนต์	เกิดตะกอนสีขาวขุ่น
แวกเนอร์ รีเอเจนต์	เกิดตะกอนสีน้ำตาล

จากตาราง 20 เมื่อทำการทดสอบสารที่สกัดได้จากผลพริกไทยดำด้วยดราเจนดอร์ฟ รีเอเจนต์ได้ตะกอนสีส้ม ทดสอบกับเมเยอร์ รีเอเจนต์ ได้ตะกอนสีขาวขุ่น และทดสอบกับแวกเนอร์ รีเอเจนต์ ได้ตะกอนสีน้ำตาล

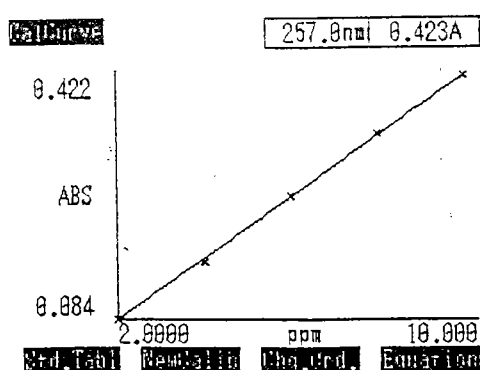
ตอนที่ 2 การสร้างกราฟมาตรฐาน จากปิเปอรีนบริสุทธิ์ ปรากฏผลการทดลองดังตาราง 21

ตาราง 21 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานปิเปอรีนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน ปิเปอรีน	ค่าการดูดกลืนแสง			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
2 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร	0.084	0.084	0.084	0.084
4 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร	0.164	0.164	0.164	0.164
6 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร	0.255	0.255	0.255	0.255
8 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร	0.342	0.342	0.342	0.342
10 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร	0.422	0.422	0.422	0.422

จากตาราง 21 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานปิเปอรีนความเข้มข้น 2, 4, 6, 8 และ 10 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร มีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.084, 0.164, 0.255, 0.342 และ 0.422 ตามลำดับ

กราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน



ภาพประกอบ 68 แสดงกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานปิเปอรีน

จากภาพประกอบ 68 พบว่าค่า r^2 เท่ากับ 0.9994 แสดงว่าความเข้มข้นของสารละลายกับการดูดกลืนแสงมีความสัมพันธ์กันสูงมาก

ตอนที่ 3 วิเคราะห์หาปริมาณปีเปอริน ในผลพริกไทยดำ ผลการทดลองแสดงดังตาราง 22

ตาราง 22 แสดงความเข้มข้นของปีเปอรินจากสารสกัดจากผลพริกไทยดำด้วยคลอโรฟอร์ม

ค่าการดูดกลืนแสง	ความยาวคลื่น (nm)	ความเข้มข้นของปีเปอริน ($\mu\text{g} / \text{ml}$)
0.064	257	1.5090

จากตาราง 22 พบว่าสารสกัดจากผลพริกไทยดำด้วยคลอโรฟอร์มที่มีความยาวคลื่น 257 นาโนเมตรมีค่าการดูดกลืนแสง 0.064 มีความเข้มข้นเท่ากับ 1.5090 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร

8. การสกัดและแยกสเตอรอยด์จากหัวร้อยรู

ผู้วิจัยได้ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์เพื่อศึกษาวิธีการสกัดและแยก สเตอรอยด์จากหัวร้อยรู โดยมีขั้นตอนดังนี้

8.1 นำหัวร้อยรูแห้งมาสกัดด้วยเฮกเซน ระเหยตัวทำละลายออกจนได้สารสกัดเข้มข้น

8.2 นำสารสกัดเข้มข้นจากข้อ 8.1 มาแยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบางโดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานเบต้าไซโตสเตอรอล

8.3 นำสารละลายที่แยกได้จากข้อ 8.2 มาแยกและหาปริมาณเบต้าไซโตสเตอรอลด้วยโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง

จากการทดลองสกัดและแยกสเตอรอยด์คือเบต้าไซโตสเตอรอลจากหัวร้อยรูด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง ได้แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ตอนดังนี้

ตอนที่ 1 การสกัดเบต้าไซโตสเตอรอลจากหัวร้อยรู เมื่อสกัดหัวร้อยรูด้วยเฮกเซน เมื่อระเหยตัวทำละลายออกแล้วได้สารสกัดเข้มข้นหนัก 8.5 กรัม

ตอนที่ 2 การแยกเบต้าไซโตสเตอรอลจากหัวร้อยรูด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบางเมื่อนำสารสกัดเข้มข้นจากหัวร้อยรูที่สกัดด้วยเฮกเซน มาทำการแยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง ผลการทดลองพบว่าระบบที่สามารถแยกเบต้าไซโตสเตอรอลจากหัวร้อยรูได้ มี 3 ระบบ แสดงดังตาราง 23

ตาราง 23 แสดงระบบที่ใช้แยก อัตราส่วนและค่า R_f ของสารมาตรฐานเบต้าไซโตสเตอรอล และสารตัวอย่าง

ระบบที่ใช้แยก	อัตราส่วน	ค่า R_f	
		สารมาตรฐานเบต้าไซโตสเตอรอล	สารตัวอย่าง
เฮกเซน : คลอโรฟอร์ม	2 : 8	0.182	0.184
เฮกเซน : เมทิลีนคลอไรด์			
คลอโรฟอร์ม : เอทิลอะซิเตต	2 : 5 : 2 : 1	0.872	0.90
เอทานอล : น้ำ	9.5 : 0.5	0.787	0.787

จากตาราง 23 พบว่าระบบที่สามารถแยกเบต้าไซโตสเตอรอลจากหัวร่อยมี 3 ระบบ ระบบที่ 1 ได้แก่ เฮกเซน : คลอโรฟอร์ม อัตราส่วน 2 : 8 มีค่า R_f ของสารมาตรฐานเบต้าไซโตสเตอรอลและสารตัวอย่าง เท่ากับ 0.732 และ 0.732 ตามลำดับ

ระบบที่ 2 ได้แก่เฮกเซน : เมทิลีนคลอไรด์ : คลอโรฟอร์ม : เอทิลอะซิเตต อัตราส่วน 2 : 5 : 2 : 1 มีค่า R_f ของสารมาตรฐานเบต้าไซโตสเตอรอลและสารตัวอย่างเท่ากับ 0.754 และ 0.754 ตามลำดับ

ระบบที่ 3 ได้แก่ เอทานอล : น้ำ อัตราส่วน 9.5 : 0.5 มีค่า R_f ของสารมาตรฐานเบต้าไซโตสเตอรอลและสารตัวอย่างเท่ากับ 0.782 และ 0.782 ตามลำดับ

เมื่อแยกเบต้าไซโตสเตอรอลจากหัวร่อย ด้วยโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง แยกสารได้ 2 แถบ เมื่อนำแต่ละแถบไปเทียบกับสารมาตรฐานเบต้าไซโตสเตอรอลแล้วพบว่าแถบที่ 1 ตรงกับสารละลายมาตรฐานเบต้าไซโตสเตอรอล

ตอนที่ 3 การแยกเบต้าไซโตสเตอรอลด้วยโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง จากการทดลองแยกเบต้าไซโตสเตอรอลด้วยโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) พบว่าสภาวะที่สามารถแยกเบต้าไซโตสเตอรอลจากหัวร่อยเป็นดังนี้

Column : C_{18} (Inertsil ODS – 3 , 5 μ m, 4.6 I.D. x 250 mm)

Eluent : Ethanol : H_2O = 94 :6

Flow rate : 1 ml / min

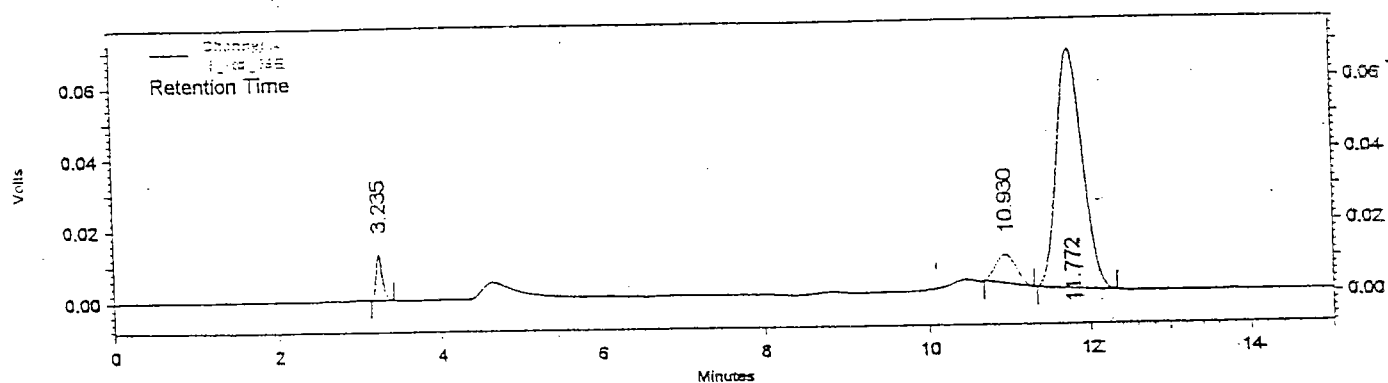
Detector : UV – visible spectrophotometer at 253 nm.

Sample volume : 5 μ l

Retention time standard : 11.772 min

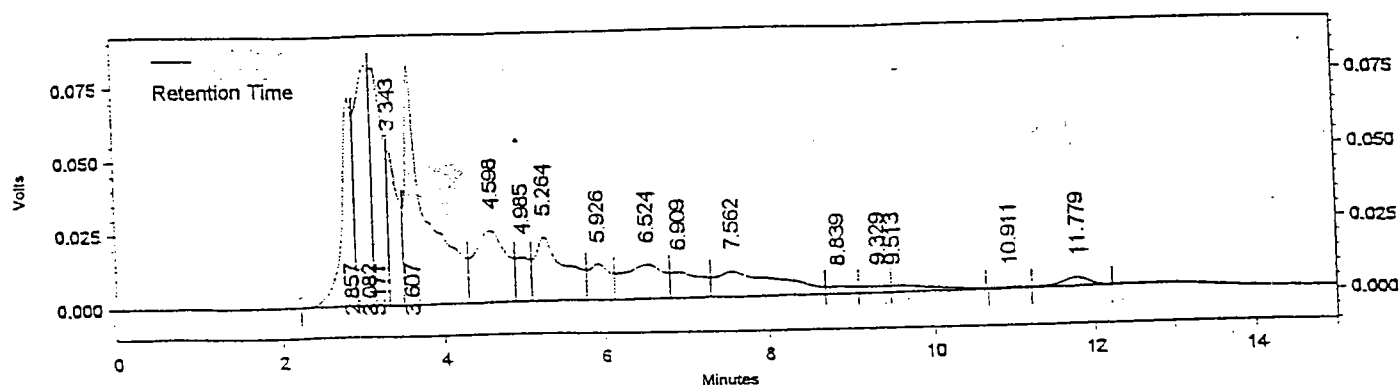
Retention sample : 11.779 min

ผลการแยกด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูงแสดงดังภาพประกอบ 69, 70, 71, 72 และ 73 ตามลำดับ



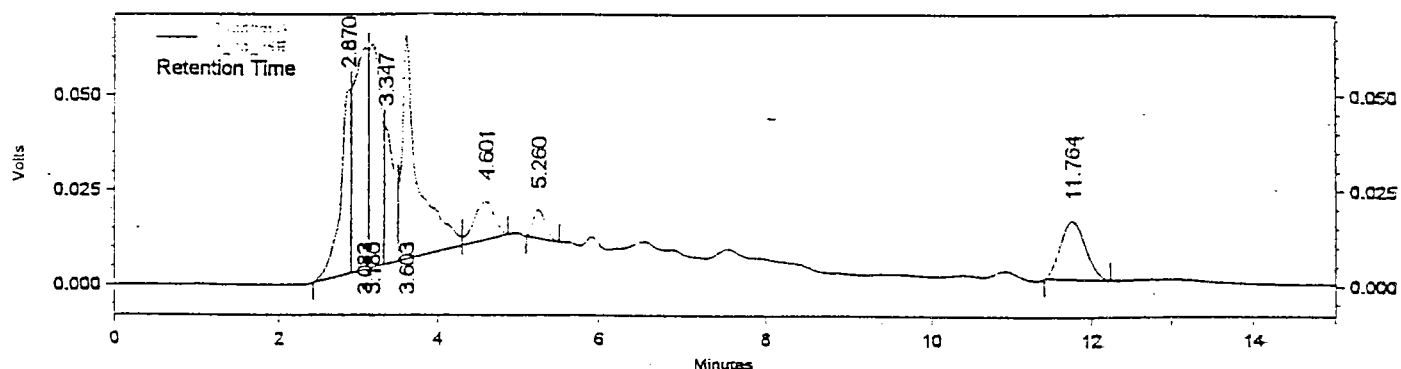
ภาพประกอบ 69 แสดงโครมาโทแกรมที่ได้จากการแยกสารละลายมาตรฐาน
เบต้าไฮโดสเตอรอล

จากภาพประกอบ 69 พบว่า เวลาที่ใช้ในการแยก (Retention time) สารละลาย
มาตรฐานเบต้าไฮโดสเตอรอล เท่ากับ 11.772 นาที



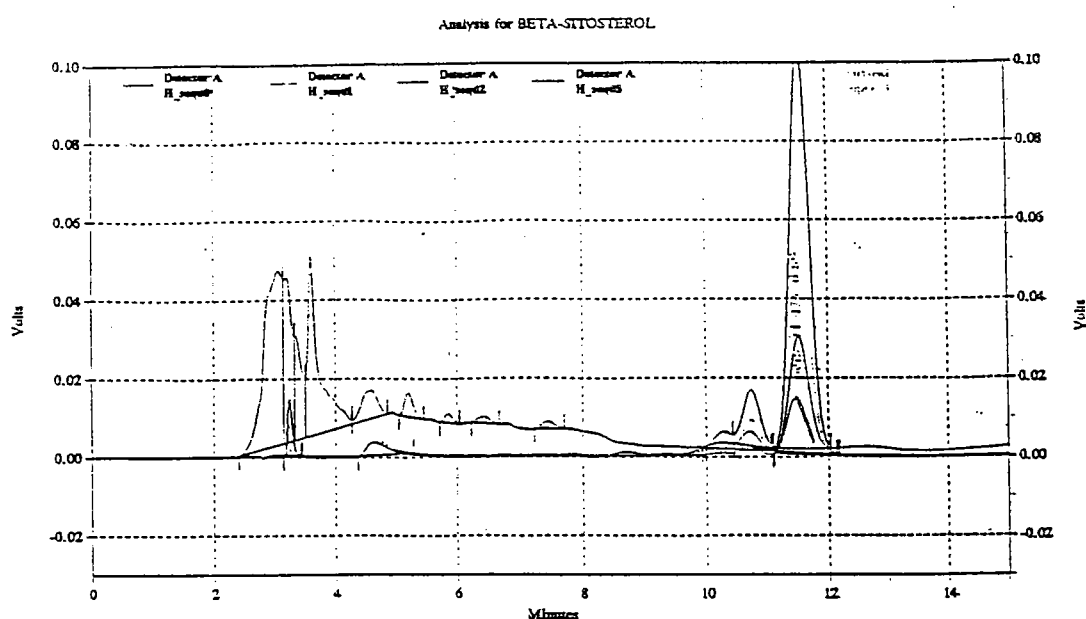
ภาพประกอบ 70 แสดงโครมาโทแกรมที่ได้จากการแยกสารที่สกัดจากหัวร้อยู

จากภาพประกอบ 70 พบว่าเวลาที่ใช้ในการแยก (Retention time) สารที่สกัดจากหัวร้อยูเท่ากับ 11.779 นาทีและมีปริมาณเบต้าไซโตสเตอรอลเท่ากับ 0.008 ppm.



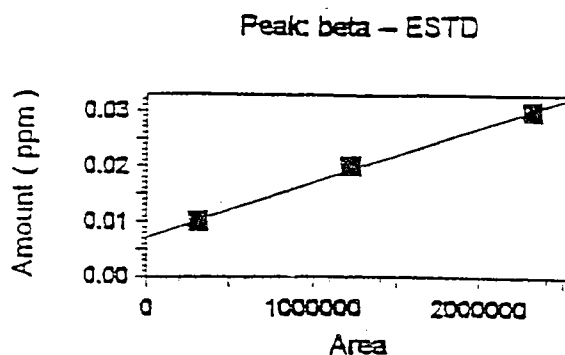
ภาพประกอบ 71 แสดงโครมาโทแกรมที่ได้จากการผสม สารละลายมาตรฐานเบต้าไซโตสเตอรอลกับสารที่สกัดได้จากหัวร้อยู

จากภาพประกอบ 71 พบว่าเมื่อผสมสารละลายมาตรฐานเบต้าไซโตสเตอรอลกับสารที่สกัดได้จากหัวร้อยูโครมาโทแกรมที่ได้มีพื้นที่ใต้พีกสูงขึ้นจาก 66766 เป็น 337057 และเวลาที่ใช้ในการแยกเท่ากับ 11.764 นาที



ภาพประกอบ 72 แสดงโครมาโทแกรมที่ได้จากการซ้อนโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานเบต้าไซโตสเตอรอล สารที่สกัดได้จากหัวร้อยูและสารผสมระหว่างสารละลายมาตรฐานเบต้าไซโตสเตอรอลกับสารที่สกัดได้จากหัวร้อยู

จากภาพประกอบ 72 พบว่าโครมาโทแกรมที่ได้จากการซ่อนโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานเบต้าไซโตสเตอรอล สารที่สกัดได้จากหัวร่อและสารผสมระหว่างสารละลายมาตรฐานเบต้าไซโตสเตอรอลกับสารที่สกัดได้จากหัวร่อรูดทับกันพอดีแสดงว่าเป็นสารเดียวกัน



ภาพประกอบ 73 แสดงกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานเบต้าไซโตสเตอรอลที่ความเข้มข้น 0.01 ppm , 0.02 ppm และ 0.03 ppm ตามลำดับ

ตอนที่ 2 การพัฒนาบทปฏิบัติการวิทยาศาสตร์

จากผลการทดลองในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ที่ได้จากตอนที่ 1 นำมาพัฒนาเป็นบทปฏิบัติการจำนวน 8 บทปฏิบัติการ โดยมีขั้นตอนในการพัฒนาดังนี้

1. ศึกษาเอกสาร ตำราและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีประเภทต่างๆที่มีในพืชนำมาเขียนให้สอดคล้องกับเอกสารประกอบบทปฏิบัติการ (ใบความรู้)

2. นำผลที่ได้จากการทดลองในห้องปฏิบัติการมาเขียนให้สอดคล้องกับบทปฏิบัติการซึ่งประกอบด้วยวัตถุประสงค์ หลักการ/ทฤษฎี อุปกรณ์/เครื่องมือและสารเคมี วิธีการทดลอง

3. นำวิธีการทดลองมาเขียนให้สอดคล้องกับรายงานผลและคำถามท้ายการทดลอง

บทปฏิบัติการ จำนวน 8 บทปฏิบัติการ มีดังนี้

บทปฏิบัติการที่ 1 การสกัดและแยกยูจีนอลจากดอกกานพลูด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบก๊าซ

ในบทปฏิบัติการนี้ พืชตัวอย่างได้แก่ ดอกกานพลู นำมาพัฒนาเป็นบทปฏิบัติการ 3 ตอนได้แก่

ตอนที่ 1 การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากดอกกานพลูด้วยการกลั่นด้วยไอน้ำ

ตอนที่ 2 การแยกน้ำมันหอมระเหยจากดอกกานพลูด้วยโครมาโทกราฟีแบบ

เยื่อบาง

ตอนที่ 3 การแยกและหาปริมาณ น้ำมันหอมระเหยจากดอกกานพลูด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบก๊าซ

บทปฏิบัติการที่ 2 การสกัดและแยกแอนโธไซยานินจากดอกกระเจี๊ยบแดงด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

ในบทปฏิบัติการนี้ พืชตัวอย่างได้แก่ ดอกกระเจี๊ยบแดงนำมาพัฒนาเป็นบทปฏิบัติการ 4 ตอนได้แก่

ตอนที่ 1 การสกัดฟลาโวนอยด์จากดอกกระเจี๊ยบแดงด้วยตัวทำละลายผสมระหว่างเมทานอลและกรดไฮโดรคลอริก

ตอนที่ 2 การแยกฟลาโวนอยด์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

ตอนที่ 3 การแยกฟลาโวนอยด์จากดอกกระเจี๊ยบแดงด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

ตอนที่ 4 การทดสอบฟลาโวนอยด์ด้วยปฏิกิริยาไซยานิดิน และทดสอบแอนโธไซยานินด้วยปฏิกิริยาชิโนดา

บทปฏิบัติการที่ 3 การสกัดและแยกแทนนินจากเปลือกผลมังคุดด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

ในบทปฏิบัติการนี้ พืชตัวอย่างได้แก่ เปลือกผลมังคุดนำมาพัฒนาเป็นบทปฏิบัติการ 3 ตอนได้แก่

ตอนที่ 1 การสกัดแทนนินจากเปลือกผลมังคุดด้วยเมทานอล

ตอนที่ 2 การแยกแทนนินจากเปลือกผลมังคุดด้วยโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

ตอนที่ 3 การทดสอบด้วยปฏิกิริยาเคมี โดยนำสารสกัดที่ได้ไปทดสอบกับรีเอเจนต์ต่าง ๆ ได้แก่ สารละลายเจลาติน สารละลายเจลาติน - กลีเซอรอล สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์เข้มข้น 1% น้ำโบรมีน การทดสอบฟอร์มาลิน - กรดไฮโดรคลอริก การทดสอบวานิลลิน - กรดไฮโดรคลอริกและน้ำปูนใส

บทปฏิบัติการที่ 4 การสกัดและแยกซาโปนินจากผลมะคำดีควายโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

ในบทปฏิบัติการนี้ พืชตัวอย่างได้แก่ ผลมะคำดีควายนำมาพัฒนาเป็นบทปฏิบัติการ 3 ตอนได้แก่

ตอนที่ 1 การสกัดซาโปนินจากผลมะคำดีควายด้วยเมทานอล

ตอนที่ 2 การตรวจสอบซาโปนินที่สกัดได้ จากผลมะคำดีควาย โดยการทดสอบฟอง และการทดสอบสีด้วยปฏิกิริยาไลเบอร์แมน - เบอร์ชาด

ตอนที่ 3 การแยกซาโปนินจากผลมะคำดีควายด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

บทปฏิบัติการที่ 5 การสกัดและแยกคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากเมล็ดรำเพยโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

ในบทปฏิบัติการนี้ พืชตัวอย่างได้แก่ เมล็ดรำเพย นำมาพัฒนาเป็นบทปฏิบัติการ 3 ตอนได้แก่

ตอนที่ 1 การสกัดคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากเมล็ดรำเพยด้วยคลอโรฟอร์ม

ตอนที่ 2 การตรวจสอบคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์ด้วยปฏิกิริยาการเกิดสี โดยตรวจสอบประกอบของสเตอรอยด์ ตรวจสอบความไม่อิ่มตัวของแลคโตน ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 17 และตรวจสอบน้ำตาลดีออกซี

ตอนที่ 3 การแยกคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากเมล็ดรำเพยด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

บทปฏิบัติการที่ 6 การสกัดและแยกแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบางและปฏิกิริยาเคมี

ในบทปฏิบัติการนี้ พืชตัวอย่างได้แก่ ใบชุมเห็ดเทศนำมาพัฒนาเป็นบทปฏิบัติการ 3 ตอนได้แก่

ตอนที่ 1 การสกัดแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศด้วยเมทานอล

ตอนที่ 2 การแยกแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศโดยทำการแยกและทดสอบความบริสุทธิ์ของสารประกอบกลัยโคไซด์ ทำการแยกและทดสอบส่วนที่เป็นอะกลัยโคน และตรวจสอบด้วยปฏิกิริยาเคมี

ตอนที่ 3 การแยกแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

บทปฏิบัติการที่ 7 การสกัดและแยกบีเปอรินจากผลพริกไทยดำด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปี

ในบทปฏิบัติการนี้ พืชตัวอย่างได้แก่ ผลพริกไทยดำ นำมาพัฒนาเป็นบทปฏิบัติการ 3 ขั้นตอนได้แก่

ตอนที่ 1 การสำรวจหาแอลคาลอยด์ในผลพริกไทยดำ โดยใช้รีเอเจนต์ 3 ชนิด คือ ดราเจนดอร์ฟ รีเอเจนต์ เมเยอร์รีเอเจนต์ และ แวกเนอร์รีเอเจนต์

ตอนที่ 2 การทำกราฟมาตรฐานจากบีเปอริน บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปี

ตอนที่ 3 การวิเคราะห์หาปริมาณบีเปอรินในผลพริกไทยดำด้วย เทคนิคสเปกโทรสโกปีด้วยเครื่องยูวีวิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์

บทปฏิบัติการที่ 8 การสกัดและแยกเบต้าไซโตสเตอรอลจากหัวร้อยรูด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง

ในบทปฏิบัติการนี้ พืชตัวอย่างได้แก่ หัวร้อยรู นำมาพัฒนาเป็นบทปฏิบัติการ 3 ตอนได้แก่

ตอนที่ 1 การสกัดสเตอรอยด์จากหัวร้อยรูด้วยเฮกเซน

ตอนที่ 2 การแยกสเตรอยด์จากหัตถ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

ตอนที่ 3 การแยกสเตรอยด์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบของเหลว

สมรรถนะสูง

ตอนที่ 3 การประเมินประสิทธิภาพบทปฏิบัติการ

ผู้วิจัยได้นำบทปฏิบัติการทั้ง 8 บทปฏิบัติการ ไปให้ผู้เชี่ยวชาญทางด้านเคมีและวิทยาศาสตร์ศึกษา 11 ท่านประเมินโดยใช้แบบประเมินดัชนีความสอดคล้อง (IOC) แล้วนำผลการประเมินมาวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

ความคิดเห็นของผู้เชี่ยวชาญจำนวน 11 ท่าน ที่มีต่อบทปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ ประเมินโดยใช้แบบประเมินดัชนีความสอดคล้อง

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลในส่วนนี้ แสดงดังตาราง 24

ตาราง 24 แสดงค่าดัชนีความสอดคล้องของแต่ละส่วนของบทปฏิบัติการที่ได้จากการประเมินโดยผู้เชี่ยวชาญ

องค์ประกอบที่เสนอ	บทปฏิบัติการที่							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1. เอกสารประกอบบทปฏิบัติการ (ใบความรู้)								
1.1 เนื้อหาสมบูรณ์	0.78	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.89	0.78
1.2 เนื้อหามีความต่อเนื่องกัน	0.89	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.78
1.3 เนื้อหาเหมาะสมกับเวลาที่กำหนด	0.67	1.00	1.00	0.78	1.00	1.00	0.78	0.89
1.4 ความสั้นยาวของเนื้อหาเหมาะสม	0.67	1.00	1.00	1.00	1.00	0.89	0.78	0.89
1.5 เนื้อหาสอดคล้องกับวัตถุประสงค์การ ทดลอง	0.89	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.89
1.6 การใช้ภาษา								
1.6.1 ไม่วกวน	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.89
1.6.2 ชวนอ่าน	0.67	0.67	0.78	0.87	0.67	0.78	0.78	0.78
1.6.3 เข้าใจง่าย	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.89	0.89	0.67
2. บทปฏิบัติการ								
2.1 วัตถุประสงค์								
2.1.1 มีความชัดเจน	0.78	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.89
2.1.2 ประเมินผลได้	0.89	1.00	0.89	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

ตาราง 24 (ต่อ)

องค์ประกอบที่เสนอ	บทปฏิบัติการที่							
	1	2	3	4	5	6	7	8
2.2 หลักการ / ทฤษฎี								
2.2.1 มีความชัดเจน	0.78	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.89	1.00
2.2.2 สอดคล้องกับบทปฏิบัติการ	0.78	0.89	0.89	0.87	0.89	0.89	0.89	0.67
2.2.3 เหมาะสมกับระดับของนักศึกษา	0.89	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.89	0.89
2.2.4 ความสั้นยาวของทฤษฎี / หลักการ เหมาะสม	0.67	1.00	0.78	1.00	1.00	1.00	0.78	0.89
2.3 อุปกรณ์ / เครื่องมือและสารเคมี								
2.3.1 เหมาะสมกับระดับนักศึกษา	0.89	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.89
2.3.2 อุปกรณ์ / เครื่องมือและสารเคมี ครอบคลุมกับการทดลอง	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.87	1.00
2.3.3 อุปกรณ์ / เครื่องมือและสารเคมี เหมาะสมกับเรื่องที่ทำการทดลอง	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.89
2.4 วิธีการทดลอง								
2.4.1 เหมาะสมกับเวลาที่ใช้	0.56	0.78	0.78	1.00	1.00	1.00	0.78	0.78
2.4.2 มีความยากง่ายพอเหมาะ	0.56	0.89	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.78
2.4.3 ส่งเสริมให้นักศึกษาคิดเป็น	0.67	0.67	0.78	0.56	0.56	0.67	0.56	0.67
2.4.4 ก่อให้เกิดความคิดรวบยอด	0.56	0.89	0.89	0.89	0.89	0.89	0.78	0.78
2.4.5 เรียงลำดับกิจกรรมเหมาะสม	0.78	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.89
2.4.6 ส่งเสริมให้นักศึกษามีทักษะ ปฏิบัติการทดลอง	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.89
2.4.7 นักศึกษาแต่ละคนมีส่วนร่วม ในกิจกรรมการทดลอง	0.67	0.89	0.89	0.89	0.89	0.89	0.78	0.78
3. รายงานผลการทดลองและคำถามท้าย การทดลอง								
3.1 เอกสารรายงานผลการทดลองเหมาะสม	1.00	1.00	0.78	1.00	1.00	0.89	0.78	0.89
3.2 คำถามท้ายการทดลอง								
3.2.1 ความสั้นยาวของคำถามเหมาะสม	0.89	1.00	1.00	0.89	1.00	1.00	0.89	0.89
3.2.2 จำนวนข้อในคำถามเหมาะสม	0.78	1.00	0.89	1.00	0.78	1.00	0.78	0.89
3.2.3 คำถามสอดคล้องกับการทดลอง	0.78	1.00	1.00	0.78	0.78	1.00	0.89	0.67
3.2.4 คำถามสอดคล้องกับวัตถุประสงค์	0.78	1.00	0.78	0.78	0.78	1.00	0.89	0.56

ตาราง 24 (ต่อ)

องค์ประกอบที่เสนอ	บทปฏิบัติการที่							
	1	2	3	4	5	6	7	8
3.2.5 คำถามส่งเสริมด้านทักษะ								
กระบวนการวิทยาศาสตร์	0.56	1.00	0.89	1.00	1.00	0.89	0.89	0.67
3.2.6 คำถามส่งเสริมการคิดแก้ปัญหา	0.67	0.78	0.89	0.89	0.67	0.89	0.89	0.78
3.2.7 คำถามส่งเสริมความคิดสร้างสรรค์	0.56	0.56	0.78	0.78	0.67	0.67	0.67	0.56
3.2.8 คำถามส่งเสริมความคิด	0.56	0.89	0.78	0.78	0.78	0.78	0.67	0.67
วิจารณ์ญาณ								

จากตาราง 24 สรุปความคิดเห็นของผู้เชี่ยวชาญที่มีต่อบทปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณท์ธรรมชาติ เรื่อง การสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรจำนวน 8 บทปฏิบัติการ ประเมินโดยใช้ดัชนีความสอดคล้อง ความคิดเห็นเฉลี่ยของผู้เชี่ยวชาญที่มีต่อบทปฏิบัติการที่พัฒนาขึ้น ทั้ง 3 ส่วนของแต่ละบทปฏิบัติการ คือเอกสารประกอบบทปฏิบัติการ (ใบความรู้) บทปฏิบัติการ รายงานผลและคำถามท้ายการทดลองมีความสอดคล้องระหว่างวัตถุประสงค์กับเนื้อหา วัตถุประสงค์กับวิธีการทดลองและวัตถุประสงค์กับคำถามท้ายการทดลองตามลำดับ พบว่าค่าดัชนีความสอดคล้องสูงกว่า 0.5 ทั้ง 3 ส่วนของบทปฏิบัติการ แสดงว่าบทปฏิบัติการที่พัฒนาขึ้นมีคุณภาพ สามารถนำมาใช้ประกอบการสอนได้ตรงตามวัตถุประสงค์ที่ได้กำหนดไว้เป็นอย่างดี

บทที่ 5

สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

การศึกษาครั้งนี้เป็นการพัฒนาบทปฏิบัติการ วิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เรื่อง การสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรในท้องถิ่นสำหรับนักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตร์ของสถาบันราชภัฏ โดยทำการทดลองในห้องปฏิบัติการซึ่งเป็นการวิจัยเชิงทดลอง และศึกษาประสิทธิภาพของบทปฏิบัติการที่พัฒนาขึ้น โดยสรุปสาระสำคัญและผลการศึกษาค้นคว้าได้ดังนี้

ความมุ่งหมายในการศึกษาค้นคว้า

1. เพื่อศึกษาวิธีสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย ฟลาโวนอยด์ แทนนิน ชาโปนิน คาร์ดิแอกกลัยโคไซด์ แอนทราควิโนน แอลคาลอยด์ สเตอรอยด์ จากพืชสมุนไพรในท้องถิ่น
2. เพื่อพัฒนาบทปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เรื่องการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรในท้องถิ่น สำหรับหลักสูตรวิทยาศาสตร์ของสถาบันราชภัฏ

สมมติฐานของการศึกษาค้นคว้า

1. เอกสารประกอบบทปฏิบัติการ วิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เรื่องการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรในท้องถิ่น สำหรับนักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตร์ของสถาบันราชภัฏแต่ละบทปฏิบัติการมีความสอดคล้องระหว่างวัตถุประสงค์กับเนื้อหา
2. บทปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เรื่องการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรในท้องถิ่น สำหรับนักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตร์ของสถาบันราชภัฏซึ่งประกอบด้วยวัตถุประสงค์ ทฤษฎี/หลักการ อุปกรณ์/เครื่องมือและสารเคมี วิธีการทดลอง แต่ละบทปฏิบัติการมีความสอดคล้องระหว่างวัตถุประสงค์กับวิธีการทดลอง
3. รายงานผลการทดลอง และคำถามท้ายการทดลองของบทปฏิบัติการวิชาเคมี ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เรื่องการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรในท้องถิ่น สำหรับนักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตร์ของสถาบันราชภัฏ แต่ละบทปฏิบัติการมีความสอดคล้องระหว่างวัตถุประสงค์กับคำถามท้ายการทดลอง

วิธีดำเนินการศึกษาค้นคว้า

ในการศึกษาค้นคว้าเพื่อพัฒนานาบทปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เรื่อง การสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมี จากพืชสมุนไพรในท้องถิ่น สำหรับนักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิตของสถาบันราชภัฏ มีขั้นตอนการศึกษาค้นคว้า 3 ตอน ในแต่ละตอนดำเนินการโดยสรุปดังนี้

ตอนที่ 1 การทดลองในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ โดยใช้อุปกรณ์/เครื่องมือและสารเคมีในห้องปฏิบัติการตามขั้นตอนการทดลองที่ได้ศึกษาค้นคว้า เพื่อสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพร

ตอนที่ 2 จากผลการทดลองที่ศึกษานำมาพัฒนาเป็นนาบทปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ จำนวน 8 บทปฏิบัติการ

ตอนที่ 3 นำบทปฏิบัติการที่พัฒนาไปหาประสิทธิภาพประเมินโดยใช้ดัชนีความสอดคล้อง (IOC) โดยผู้เชี่ยวชาญ 11 คน ประเมินทั้ง 3 ส่วนของบทปฏิบัติการ คือ เอกสารประกอบบทปฏิบัติการ (ใบความรู้) บทปฏิบัติการ รายงานผลและคำถามท้ายการทดลองได้ค่าดัชนีความสอดคล้องระหว่างวัตถุประสงค์กับเนื้อหา วัตถุประสงค์กับวิธีการทดลอง วัตถุประสงค์กับคำถามท้ายการทดลองว่ามีค่าดัชนีความสอดคล้องสูงกว่า 0.5

วิธีการทดลอง

ผู้วิจัยได้ดำเนินการทดลองตามขั้นตอนการทดลองทั้ง 3 ตอน โดยสรุปได้ดังนี้

ตอนที่ 1 การทดลองในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์

โดยทดลองนำพืชมาสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมี คือ น้ำมันหอมระเหย ฟลาโวนอยด์ แทนนิน ซาโปนิน คาร์ดิแอกกลัยโคไซด์ แอนทราควิโนน แอลคาลอยด์ สเตอรอยด์ โดยใช้เทคนิคทางเคมีต่าง ๆ ได้แก่ การสกัดด้วยตัวทำละลาย การแยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง โครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ โครมาโทกราฟีแบบก๊าซ โครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง การสกัดและแยกด้วยปฏิกิริยาเคมี การหาปริมาณสารด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปี

ตอนที่ 2 การพัฒนานาบทปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากผลการทดลองที่ได้จากห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ โดยดำเนินการดังนี้

พัฒนานาบทปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เรื่องการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพร โดยนำผลการทดลองในห้องปฏิบัติการมาเขียนเป็นบทปฏิบัติการ จำนวน 8 บทปฏิบัติการและให้ครอบคลุมเนื้อหาวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เพื่อให้

นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรของสถาบันราชภัฏใช้ในการเรียนการสอนภาคปฏิบัติในวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ

บทปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เรื่องการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพร จำนวน 8 บทปฏิบัติการ มีดังนี้

บทปฏิบัติการที่ 1 การสกัดและแยกยูจีนอลจากดอกกานพลูด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบก๊าซ

บทปฏิบัติการที่ 2 การสกัดและแยกแอนโธไซยานินจากดอกกระเจี๊ยบแดงด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

บทปฏิบัติการที่ 3 การสกัดและแยกแทนนินจากเปลือกผลมังคุดด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

บทปฏิบัติการที่ 4 การสกัดและแยกซาโปนินจากผลมะคำดีควายด้วยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

บทปฏิบัติการที่ 5 การสกัดและแยกคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากเมล็ดรำเพยด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

บทปฏิบัติการที่ 6 การสกัดและแยกแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง และปฏิกิริยาเคมี

บทปฏิบัติการที่ 7 การสกัดและแยกปีเปอร์นจากพริกไทยดำด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปี

บทปฏิบัติการที่ 8 การสกัดและแยกเบต้าไซโตสเตอรอลจากหัวร้อยรูด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง

ตอนที่ 3 การหาประสิทธิภาพของบทปฏิบัติการ

ผู้วิจัยได้นำบทปฏิบัติการทั้ง 8 บทปฏิบัติการไปให้ผู้เชี่ยวชาญทางด้านเคมีและทางด้านวิทยาศาสตร์ศึกษาประเมินโดยใช้ดัชนีความสอดคล้อง (IOC)

การวิเคราะห์ข้อมูล

ผู้วิจัยประเมินบทปฏิบัติการที่พัฒนาขึ้นโดยใช้แบบประเมินดัชนีความสอดคล้องโดยผู้เชี่ยวชาญจำนวน 11 คน

โดยใช้สูตร

$$IOC = \frac{\sum R}{N}$$

เมื่อ IOC = ดัชนีความสอดคล้อง

ΣR = ผลรวมของคะแนนความคิดเห็นของผู้เชี่ยวชาญ

N = จำนวนผู้เชี่ยวชาญ

(พวงรัตน์ ทวีรัตน์. 2538 : 116-117)

ผลการศึกษาค้นคว้า

ผลการศึกษาว่าแต่ละตอน สรุปได้ดังนี้

ตอนที่ 1 การทดลองในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์

1.1 การสกัดและแยกน้ำมันหอมระเหยจากพืช

ผู้วิจัยได้นำดอกกานพลูแห้งมาสกัดน้ำมันหอมระเหยโดยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ แล้วทำการแยกน้ำมันหอมระเหย คือ ยูจีนอล ออกจากน้ำมันกานพลูโดยใช้เครื่องโครมาโทกราฟีแบบก๊าซจากการทดลองพบว่าสภาวะที่ทำการแยกยูจีนอลได้คือ

Column : DB - 1 (Length 30 meters ; I.D. 0.25 mm. ; Film 0.25 μ m)

Flow rate : 30 ml/min

Column oven : 220°C

SPL : 253°C

Detector (FID) : 250°C

Carrier gas : Helium

เมื่อฉีดสารละลายมาตรฐานเข้าเครื่องโครมาโทกราฟีแบบก๊าซ พบว่าเวลาที่สามารถแยกสารละลายมาตรฐานยูจีนอลความเข้มข้น 0.01056 ppm, 0.0132 ppm และ 0.01584 ppm เท่ากับ 3.082 นาที 3.084 นาที และ 3.084 นาทีตามลำดับ และเมื่อแยกน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากดอกกานพลูโดยการกลั่นด้วยไอน้ำที่สภาวะเดียวกับสารละลายมาตรฐาน จากโครมาโทแกรมพบว่าเวลาที่สามารถแยกยูจีนอล ออกมาได้เท่ากับ 3.086 นาที และมีปริมาณยูจีนอลเท่ากับ 0.0099 ppm / μ l คิดเป็นร้อยละ 93.26

1.2 การสกัดและแยกฟลาโวนอยด์จากพืช

ผู้วิจัยได้ทดลองนำดอกกระเจี๊ยบแดงมาสกัดแยกฟลาโวนอยด์คือ แอนโทไซยานิน โดยสกัดด้วยตัวทำละลายผสมของเมทานอลและกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น สารแอนโทไซยานินจะถูกสกัดออกมาสีสีแดงเข้ม เมื่อนำไปแยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง ระบบที่ใช้ได้แก่ เอ็น-บิวทานอล : กรดกลูเซอิลอะซิติก : น้ำ ในอัตราส่วน 6 : 1.5 : 2.5 พบว่าแยกสารได้ 1 จุด นำไปส่องรังสียูวีที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตรและอังก์กับไอแอมโมเนีย พบว่าสารที่แยกได้มีสีเทา เมื่อนำมาแยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ พบว่าสารที่แยกได้มีสีม่วง

สีน้ำเงินและสีฟ้าและเมื่อนำไปทดสอบกับปฏิกิริยาเคมี คือ การทดสอบซิงโครดา ทดสอบกับกรด และทดสอบกรด-ด่าง ผลการทดสอบพบว่าได้ผลการทดลองเป็นบวกแสดงว่าสารที่สกัดและแยกได้จากดอกกระเจียวแดงเป็นแอนโทไซยานิน

1.3 การสกัดและแยกแทนนินจากพืช

ผู้วิจัยได้ทดลองนำเปลือกผลมังคุดแห้งมาสกัดด้วยเมทานอล แล้วนำมาแยกด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบางพบว่าระบบที่สามารถแยกแทนนินจากเปลือกผลมังคุดได้มี 5 ระบบสารมาตรฐานที่ใช้เทียบได้แก่ แคทีคอล , กรดแทนนิก และ ไดเซนโต พบว่า ค่า R_f ของสารตัวอย่างและสารมาตรฐานในแต่ละระบบมีค่าเท่ากันแสดงว่าเป็นสารเดียวกันระบบที่แยกแทนนินจากเปลือกผลมังคุด ได้แก่

ระบบที่ 1 เอธิลอะซิเตต : เมทานอล

4 : 6

ระบบที่ 2 เมทานอล : เอธิลอะซิเตต : คลอโรฟอร์ม

7 : 1 : 1

ระบบที่ 3 เมทานอล:เอธิลอะซิเตต : คลอโรฟอร์ม : กรดไฮโดรคลอริก (0.5 M)

7 : 1 : 1 : 1

ระบบที่ 4 เมทานอล : คลอโรฟอร์ม : เฮกเซน

7 : 2 : 1

ระบบที่ 5 เมทานอล : คาร์บอนเตตระคลอไรด์

3 : 7

และเมื่อแยกและตรวจสอบแทนนินด้วยปฏิกิริยาเคมีโดยใช้รีเอเจนต์ต่าง ๆ

คือ สารละลายเจลาติน สารละลายเจลาติน-เกลียวแกง สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์เข้มข้น 1% น้ำโบรมีน การทดสอบฟอร์มาลิน-กรดเกลือ การทดสอบวานิลลิน-กรดเกลือและน้ำปูนใส ผลการทดลองพบว่าได้ผลการทดสอบเป็นบวก(positive test) แสดงว่าสารที่แยกได้นั้นเป็นแทนนิน

1.4 การสกัดและแยกซาโปนินจากพืช

ผู้วิจัยได้ทดลองนำผลมะคำดีควายแห้งมาสกัดด้วยเฮกเซนในครั้งแรกเพื่อสกัดไขมันออก แล้วจึงนำมาสกัดด้วยเมทานอล เมื่อนำสารสกัดเข้มข้นที่ได้มาทดสอบการเกิดฟอง ผลการทดลองพบว่าหลังเขย่าสารละลายจะเกิดฟองและเมื่อเติมกรดลงไปนำไปต้มปล่อยให้เย็น เขย่าแรงๆ สารละลายจะเกิดฟองสูงขึ้นกว่าเดิมลักษณะคล้ายรวงผึ้ง นำสารสกัดเข้มข้นที่ได้ไปทดสอบปฏิกิริยา ลิเบอร์แมน-เบอร์ชาร์ด ได้ผลการทดสอบเป็นบวก (positive test) แสดงว่าสารที่สกัดได้เป็นซาโปนิน และเมื่อนำสารที่สกัดได้ไปแยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบางโดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานซาโปนินผลการทดลองพบว่าระบบที่สามารถแยกซาโปนินจากผลมะคำดีควายมี 3 ระบบได้แก่

ระบบที่ 1 อะซิโตน : เมทานอล : น้ำ

1 : 8 : 1

ระบบที่ 2 เอธิลอะซิเตต : เมทานอล : น้ำ

4 : 3 : 3

ระบบที่ 3 อะซิโตน : เมทานอล : น้ำ : กรดอะซิติก (0.5 โมล/ลิตร)

5 : 4 : 1 : 1

ผลการทดลองพบว่า ค่า R_f ของสารมาตรฐานซาโปนินและของสารตัวอย่างมีค่าเท่ากันแสดงว่าเป็นสารเดียวกัน

1.5 การสกัดและแยกคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากพืช

ผู้วิจัยได้ทดลองนำเมล็ดราเพยแห้งมาแกะเปลือกออกแล้วเอาเนื้อในเมล็ดมาสกัดด้วยเฮกเซนเพื่อสกัดไขมันออก แล้วนำมาสกัดด้วยคลอโรฟอร์มเมื่อระเหยตัวทำละลายออกจนเหลือสารสกัดเข้มข้น แล้วนำไปทดสอบด้วยปฏิกิริยาเคมีเพื่อตรวจสอบส่วนที่เป็น steroidal moiety โดยเปรียบเทียบกับยารักษาโรคหัวใจ ลาน็อกซิน ขององค์การเภสัชกรรม และ ไดโกซิน ของบริษัท Glaxo wellcome ผลการทดลองพบว่าได้ผลการทดสอบเป็นบวก และนำสารสกัดเข้มข้นที่ได้ไปตรวจสอบส่วนที่เป็น unsaturated lactone ที่ C_{17} (butenolide) ผลการทดลอง พบว่าผลการทดสอบเป็นบวกและเมื่อนำสารสกัดเข้มข้นที่ได้ไปตรวจสอบน้ำตาลดีออกซี ผลการทดลองพบว่าได้ผลการทดลองเป็นบวก

ผู้วิจัยได้ทดลองนำสารสกัดเข้มข้นที่ได้ไปแยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบางโดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานยารักษาโรคหัวใจ ลาน็อกซิน และ ไดโกซิน พบว่าระบบที่เหมาะสมที่สามารถแยกคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากเมล็ดราเพยมี 4 ระบบได้แก่

ระบบที่ 1 อะซิโตน : เมทานอล

2 : 8

ระบบที่ 2 เมทานอล : น้ำ : กรดอะซิติก (0.5 นอร์มัล)

8 : 2 : 0.5

ระบบที่ 3 เอธิลอะซิเตต : อะซิโตน : เมทานอล

1 : 1 : 8

ระบบที่ 4 อะซิโตนในไทรล์ : น้ำ

1 : 9

ผลการทดลองพบว่าเมื่อแยกคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์ด้วยตัวทำละลายทั้ง 4

ระบบสารมาตรฐานและสารตัวอย่างในแต่ละระบบมีค่า R_f เท่ากัน แสดงว่าเป็นสารเดียวกัน

1.6 การสกัดและแยกแอนทราควิโนนจากพืช

ผู้วิจัยได้ทดลองนำใบชุมเห็ดเทศแห้งมาสกัดด้วยเมธานอลเมื่อระเหยตัวทำละลายจนเหลือสารสกัดเข้มข้นและตรวจสอบด้วยปฏิกิริยาเคมี คือทดสอบ purified glycoside และ aglycone ผลการทดลองได้ผลการทดสอบเป็นบวก (positive test) และแยกแอนทราควิโนนด้วยโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบางเทียบกับสารมาตรฐานคือ ยาระบาย เซนโนค็อด พบว่าระบบที่สามารถแยก แอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศได้มี 3 ระบบ ได้แก่

ระบบที่ 1 เมธิลีนคลอไรด์ : คลอโรฟอร์ม : เอธิลอะซิเตต

1 : 1 : 8

ระบบที่ 2 เฮกเซน : อะซิโตน : กรดอะซิติก (0.5 โมล / ลิตร)

6 : 4 : 0.5

ระบบที่ 3 เฮกเซน : เอธิลอะซิเตต

1 : 9

เมื่อทำการแยกด้วยทั้ง 3 ระบบนี้แล้วพบว่าค่า R_f ของสารมาตรฐานและสารตัวอย่างในแต่ละระบบมีค่าเท่ากัน แสดงว่าเป็นสารเดียวกัน

1.7 การสกัดและแยกแอลคาลอยด์จากพืช

ผู้วิจัยได้ทดลองสกัดปิเปอริน (piperine) ซึ่งเป็นแอลคาลอยด์ประเภทหนึ่ง โดยสกัดจากผลพริกไทยดำ เมื่อสกัดปิเปอรินจากผลพริกไทยดำแล้วตรวจสอบด้วยรีเอเจนต์ 3 ชนิด ได้แก่ ดราเจนดอร์ฟ (Dragendoff's reagent) เมเยอร์ (Meyer's reagent) และแวกเนอร์ (Wagner's reagent) พบว่าได้ผลการทดสอบเป็นบวก (positive test) และเมื่อนำปิเปอรินที่สกัดจากผลพริกไทยดำไปหาปริมาณ โดยใช้เครื่องยูวีวิสิเบิลสเปกโทโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 257 นาโนเมตร ทำการวัดค่าแอมซอร์บแนนซ์ (absorbance) 3 ครั้ง ได้ค่าแอมซอร์บแนนซ์ เฉลี่ย เท่ากับ 0.064 และวิเคราะห์หาปริมาณปิเปอรินในผลพริกไทยดำโดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน (standard curve) ของสารละลายมาตรฐานปิเปอรินความเข้มข้น 2, 4, 6, 8 และ 10 ppm ที่ความยาวคลื่น 257 นาโนเมตรนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มาเขียนกราฟได้กราฟเส้นตรงที่ผ่านจุดศูนย์และมีค่า $r^2 = 0.9994$ แสดงว่าความเข้มข้นของสารละลายกับการดูดกลืนแสงมีความสัมพันธ์ทางบวกสูงมาก กราฟนี้มีความแม่นยำสูงมาก กราฟมาตรฐานปิเปอรินที่สร้างขึ้นนี้นำไปใช้ในการหาปริมาณปิเปอรินที่สกัดได้จากผลพริกไทยดำได้เท่ากับ 1.5090 ppm/cm³ คิดเป็นร้อยละ 3.78

1.8 การสกัดและแยกสเตอรอยด์จากพืช

ผู้วิจัยได้ทำการทดลองนำผลหัวร้อยรูแห้งมาทำการแยกสเตอรอยด์ คือ เบต้าไซโตสเตอรอลโดยสกัดด้วยเฮกเซน เมื่อระเหยตัวทำละลายออกจนได้สารสกัดเข้มข้น แล้วนำไปแยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบางเพื่อให้ได้สารบริสุทธิ์ขึ้น ระบบที่ใช้แยกได้แก่ เฮกเซน :

คลอโรฟอร์มในอัตราส่วน 2 : 8 จากการทดลองพบว่าสามารถแยกสารได้สองแถบและแถบที่มี เบต้า - ไฮโดรสเตอร์อล คือแถบที่ 2 (นับจากข้างล่าง) โดยเทียบกับสารมาตรฐานเบต้าไฮโดรสเตอร์อลแล้วพบว่ามีค่า R_f เท่ากัน แล้วจึงนำตัวทำละลายในระบบนี้มาแยกเพื่อให้ได้สารที่บริสุทธิ์ขึ้น แล้วจึงนำไปแยกต่อยด้วย เครื่องโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูงพบว่า สภาวะที่เหมาะสมที่ทำการแยกเบต้าไฮโดรสเตอร์อล เป็นดังนี้

Column : C 18 (Inertsil ODS – 3, 5 μ m ,4.6 I.D. x 250 mm)
 Eluent : Ethanol : H₂O = 94 : 6
 Flow rate : 1 ml / min
 Detector : UV – visible spectrophotometer at 253 nm.
 Sample volume : 5 μ l
 Retention time standard : 11.772 min
 Retention time sample : 11.779 min

และวิเคราะห์หาปริมาณเบต้าไฮโดรสเตอร์อลได้เท่ากับ 0.008 ppm / μ l คิดเป็นร้อยละ 0.16

ตอนที่ 2 การพัฒนาบทปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ

ผู้วิจัยได้นำผลการวิจัยที่ได้ในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์พัฒนาเป็นบทปฏิบัติการ จำนวน 8 บทปฏิบัติการ ในแต่ละบทปฏิบัติการประกอบด้วย 3 ส่วนได้แก่

ส่วนที่ 1 เอกสารประกอบบทปฏิบัติการ (ใบความรู้)

ส่วนที่ 2 บทปฏิบัติการ ประกอบด้วย

- 2.1 วัตถุประสงค์
- 2.2 หลักการ/ทฤษฎี
- 2.3 อุปกรณ์/เครื่องมือ
- 2.4 สารเคมี
- 2.5 วิธีการทดลอง

ส่วนที่ 3 รายงานผลการทดลองและคำถามท้ายการทดลอง

บทปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เรื่องการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพร จำนวน 8 บทปฏิบัติการ มีดังนี้

บทปฏิบัติการที่ 1 การสกัดและแยกยูจีนอลจากดอกกานพลูด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบก๊าซ

บทปฏิบัติการที่ 2 การสกัดและแยกแอนโทไซยานินจากดอกกระเจี๊ยบแดงด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

บทปฏิบัติการที่ 3 การสกัดและแยกแทนนินจากเปลือกผลมังคุดด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

บทปฏิบัติการที่ 4 การสกัดและแยกซาโปนินจากผลมะคำดีควายด้วยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

บทปฏิบัติการที่ 5 การสกัดและแยกคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากเมล็ดรำเพยด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

บทปฏิบัติการที่ 6 การสกัดและแยกแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง และปฏิกิริยาเคมี

บทปฏิบัติการที่ 7 การสกัดและแยกบีเปอรินจากพริกไทยดำด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปี

บทปฏิบัติการที่ 8 การสกัดและแยกเบต้าไซโตสเตอรอลจากหัวร้อยรูด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง

ตอนที่ 3 การหาประสิทธิภาพของบทปฏิบัติการ

ผู้วิจัยนำบทปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติเรื่องการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพร ไปให้ผู้เชี่ยวชาญทางด้านเคมีและวิทยาศาสตร์ศึกษา จำนวน 11 ท่านประเมินโดยใช้แบบประเมินดัชนีความสอดคล้อง (IOC) ได้ค่าเฉลี่ยความคิดเห็นของผู้เชี่ยวชาญที่มีต่อส่วนต่าง ๆ ของบทปฏิบัติการสูงกว่า 0.5 จึงสรุปได้ว่าบทปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เรื่องการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรมีประสิทธิภาพสามารถนำมาใช้ประกอบการสอนได้ตรงตามวัตถุประสงค์ที่ได้กำหนดไว้เป็นอย่างดี

อภิปรายผลการศึกษาค้นคว้า

ผู้วิจัยขอเสนอการอภิปรายเป็น 3 ตอนดังนี้

ตอนที่ 1 การทดลองในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์

จากการทดลองสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรสามารถอภิปรายได้ดังนี้

1.1 การสกัดและแยกน้ำมันหอมระเหยจากพืช

พืชตัวอย่างที่นำมาสกัดและแยกน้ำมันหอมระเหยได้แก่ ดอกกานพลูแห้งโดยนำมากลั่นด้วยไอน้ำ แล้วนำสารสกัดที่กลั่นได้ไปแยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบางโดยมีสารละลายยูจีนอลเป็นสารมาตรฐาน พบว่าระบบที่สามารถแยกยูจีนอลจากน้ำมันที่สกัดได้จากดอกกานพลู มี 3 ระบบ โดยทุกระบบมีค่า R_f ของสารมาตรฐานยูจีนอล และน้ำมันที่สกัดได้จากดอกกานพลูเท่ากัน แสดงว่า น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากดอกกานพลู คือ ยูจีนอลเพราะได้

ทำการแยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง ถึง 3 ระบบแล้วได้ค่า R_f เท่ากันและเมื่อนำไปแยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบก๊าซ (Gas Chromatography) พบว่าสารละลายมาตรฐานยูจีนอลและสารที่สกัดได้จากดอกกานพลูมีค่า Retention time เท่ากัน และเมื่อผสมสารละลายมาตรฐานยูจีนอลและสารที่สกัดได้จากดอกกานพลู พบว่าโครมาโทแกรมที่ได้มีพื้นที่พิกเพิ่มสูงขึ้น และโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานยูจีนอล และสารที่สกัดได้จากดอกกานพลูซ้อนทับกันพอดี แสดงว่าเป็นสารเดียวกัน และเมื่อหาปริมาณยูจีนอลในน้ำมันกานพลูพบว่ามีปริมาณ 0.0099 ppm/ μ l คิดเป็นร้อยละ 93.26 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ เพียวร์ เหมือนวงษ์ญาติ (2537:111) ที่พบว่าในน้ำมันกานพลูประกอบด้วยยูจีนอล ประมาณ 70-90 เปอร์เซ็นต์ และสอดคล้องกับการวิจัยของดะยามาและ โฮริกุชิ (Deyama and Horiguchi. 1974 : 4) ที่ได้ทำการวิเคราะห์สารเคมีในน้ำมันหอมระเหยจากดอกกานพลูโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบก๊าซพบว่า ยูจีนอลเป็นองค์ประกอบร้อยละ 80.87 แต่ในการวิจัยนี้ได้ปริมาณยูจีนอลมากกว่าที่ศึกษาไว้ อาจเป็นเพราะ สารตัวอย่างมีการเก็บมาอย่างดีโดยป้องกันการสูญเสีย น้ำมันหอมระเหย และอาจจะเป็นเพราะแหล่งของพืชตัวอย่างปลูกจากแหล่งที่มีธรรมชาติแตกต่างกันอาจส่งผลต่อองค์ประกอบของชนิดน้ำมันหอมระเหยแตกต่างกันโดยจากผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่าปริมาณยูจีนอลที่พบในประเทศไทยมีปริมาณสูงกว่า

1.2 การสกัดและแยกฟลาโวนอยด์จากพืช

พืชตัวอย่างที่นำมาสกัดและแยกฟลาโวนอยด์ ได้แก่ ดอกกระเจี๊ยบแดงโดยนำมาสกัด และแยกแอนโธไซยานินโดยสกัดด้วยตัวทำละลายผสมระหว่างเอ็น-บิวทานอล : กรดกลูเซอิลอะซิติก : น้ำ ในอัตราส่วน 6 : 1.5 : 2.5 และเมื่อนำไปแยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง พบว่าสามารถแยกสารได้ 1 จุด และเมื่อนำไปส่องรังสีเหนือม่วงและอองไอแอมโมเนียพบว่ามีสารที่แยกได้มีสีฟ้าเทาและเมื่อ นำสารสกัดจากดอกกระเจี๊ยบแดงมาแยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ พบว่าสามารถแยกสารได้ 3 แถบมีสีม่วง สีน้ำเงิน และสีฟ้า เมื่อนำมาตรวจสอบด้วยปฏิกิริยาเคมีคือการทดสอบ ชิโนดา (Shinoda test) พบว่าสารละลายมีสีแดง เมื่อนำมาทำปฏิกิริยากับกรดไฮโดรคลอริก พบว่าได้สารละลายสีแดง และนำไปทำปฏิกิริยากับสารละลายแอมโมเนียพบว่ามีสารละลายเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีน้ำเงิน แสดงว่าสารที่แยกได้เป็นแอนโธไซยานินเพราะเม็ดสีแอนโธไซยานินมีสีแดง ม่วง ฟ้า มีสีแดงในสารละลายกรด เมื่อ pH สูงขึ้น (6.5-8) ได้สีม่วงของ anhydro base และได้สีฟ้าหรือน้ำเงินเมื่อเกิดเป็น salt form ที่ pH สูงขึ้นไปอีก (อ้อมบุญล้วนรัตน์. 2536 : 105-111) สีแดงของแอนโธไซยานิน มีลักษณะเป็นประจุ (ionic) สีที่เกิดขึ้นจะขึ้นอยู่กับ pH ของสารละลายและจากการศึกษาของเพียวร์ เหมือนวงษ์ญาติ (2537 : 93-94) สำนักงานคณะกรรมการการสาธารณสุขมูลฐาน (2530 : 19) และ ฮารุนา เอ.เค (Haruna,A.K. 1995 : abstract) พบว่าในใบประดับและกลีบรองดอกของกระเจี๊ยบแดงมีสารสีแดง คือ แอนโธไซยานิน

1.3 การสกัดและแยกแทนนินจากพืช

พืชตัวอย่างที่นำมาสกัดและแยกแทนนินได้แก่ เปลือกผลมังคุด โดยนำมาสกัดด้วยเมธานอลและแยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง พบว่าระบบที่สามารถแยกแทนนินจากเปลือก ผลมังคุดมี 5 ระบบ โดยที่แต่ละระบบ ค่า R_f ของสารมาตรฐานคือ catechol และ tannic acid เมื่อเทียบกับสารที่สกัดจากเปลือกผลมังคุดมีค่าเท่ากัน แสดงว่าเป็นสารเดียวกัน ซึ่งสอดคล้องกับการวิจัยของ เฮม เอฟ มาฮู เจ และ มาทรอด แอล (Heim F, Maheu J & Matrod L, 1989 : 1256-7) ที่ได้ทำการศึกษพบว่าเปลือกผลมังคุดมีแทนนิน มีฤทธิ์ฝาดสมานและช่วยแก้อาการท้องเสีย (Martindale, 1989 : 779) เมื่อนำสารสกัดจากเปลือกผลมังคุดมาตรวจสอบด้วยรีเอเจนต์ต่าง ๆ คือ สารละลายเจลาติน สารละลายเจลาติน-เกลือก แอง สารละลายเฟอริกคลอไรด์เข้มข้น 1 % น้ำโบรมีน การทดสอบฟอร์มาลิน-กรดเกลือก การทดสอบวานิลลิน-กรดเกลือกและน้ำปูนใส พบว่าได้ผลการทดสอบเป็นบวก แสดงว่าสารที่สกัดได้จากเปลือกผลมังคุดเป็นแทนนิน (อ้อมบุญ ล้วนรัตน์, 2536 : 114-119) และสอดคล้องกับการศึกษาของ พเยาว์ เหมือนวงษ์ญาติ (2537 : 68-70) ที่พบว่าเปลือกผลมังคุดมีแทนนิน

1.4 การสกัดและแยกซาโปนินจากพืช

พืชตัวอย่างที่นำมาสกัดและแยกซาโปนิน ได้แก่ มะคำดีควายโดยนำผลแห้งมาสกัดด้วย เฮกเซนก่อนในตอนแรก เพื่อสกัดไขมันออกแล้วนำมาสกัดต่อด้วยเมธานอล นำสารที่สกัดได้มาทดสอบฟอง (Froth test) พบว่าเกิดฟองมีลักษณะคล้ายรวงผึ้ง และเมื่อนำมาทดสอบสีด้วยปฏิกิริยา ลิเบอร์แมน-เบอร์ชาร์ด (Lieberman-Burchard) พบว่าได้ผลการทดสอบเป็นบวกคือได้สีชมพูม่วง แสดงว่าเป็นซาโปนิน (อ้อมบุญ ล้วนรัตน์, 2536 : 150-153) และเมื่อนำมาแยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง พบว่าระบบที่สามารถแยก ซาโปนินจากผลมะคำดีควายได้มี 3 ระบบ โดยที่แต่ละระบบ ค่า R_f ของสารมาตรฐานซาโปนินและสารที่สกัดจากผลมะคำดีควาย มีค่าเท่ากัน แสดงว่าเป็นสารเดียวกันซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (2530 : 59) และ พเยาว์ เหมือนวงษ์ญาติ (2537 : 136-137) ที่พบว่าในผลมะคำดีควายมีซาโปนินเป็นองค์ประกอบและทำให้เกิดฟองเมื่อเขย่ากับน้ำ

1.5 การสกัดและแยกคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากพืช

พืชตัวอย่างที่นำมาสกัดและแยกคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์ ได้แก่ เมล็ดรำเพยโดยแกะเปลือกออกแล้วนำมาสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม แล้วนำมาตรวจสอบคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์ด้วยปฏิกิริยาเคมีย์ เพื่อตรวจสอบองค์ประกอบ 3 ส่วน ของคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์ ได้แก่ ส่วนที่เป็น steroid ทดสอบด้วยปฏิกิริยา Liebermann-Burchard ส่วนที่เป็น unsaturated lactone ทดสอบด้วย Kedde's reagent และส่วนที่เป็น deoxy sugar ทดสอบด้วยปฏิกิริยา Keller-Kiliani ซึ่งให้ผลการทดสอบเป็นบวกทุกปฏิกิริยาซึ่งเป็นไปตามทฤษฎี เนื่องจากโครงสร้างของ

คาร์ดิแอกกลัยโคไซด์ เป็นสารพวก steroid ซึ่งมีนิวเคลียสเป็น cyclopentanoperhydrophenanthrene ที่ C₁₇ มี α , β -unsaturated lactone ring (5- หรือ 6-membered ring) ที่ C₁₄ มี -OH ต่ออยู่ในตำแหน่ง β วงแหวน C และ D ต่อติดกันที่ C₁₃ - C₁₄ เป็น cis-isomer ที่ C₃ มี deoxy sugar ต่ออยู่ด้วยหนึ่งโมเลกุลหรือมากกว่าหนึ่งโมเลกุล ดังนั้นเมื่อผลการทดสอบให้ผลเป็นบวกทั้ง 3 ปฏิกริยา แสดงว่ามีคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์ (เกษร วีรชาติ. 2543 : 2-3) และเมื่อนำสารสกัดจากเมล็ดร่ำเพมาแยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง พบว่าระบบที่สามารถแยกคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากเมล็ดร่ำเพมี 4 ระบบโดยที่แต่ละระบบสารมาตรฐานที่ได้จากยารักษาโรคหัวใจ ลาน็อกซิน และ ไดโกซิน และสารที่สกัดได้จากเมล็ดร่ำเพ มีค่า R_f เท่ากัน แสดงว่าเป็นสารเดียวกัน ซึ่งสอดคล้องกับการวิจัยของ วิชุดา น้อยมณี และ ศุภสิทธิ์ จัตุรวิราคม (2537 : บทคัดย่อ) ที่ได้ศึกษาสาร cardiac glycosides ของร่ำเพ และพบว่าเมล็ดร่ำเพ มีองค์ประกอบเป็น cardiac glycoside คือ peruvoside และ nerifolin

1.6 การสกัดและแยกแอนทราควิโนนจากพืช

พืชตัวอย่างที่นำมาสกัดและแยกแอนทราควิโนนได้แก่ใบชุมเห็ดเทศโดยนำมาสกัดและแยก sennoside ซึ่งเป็นสารแอนทราควิโนนโดยนำมาสกัดด้วยเมทานอลและนำไปตรวจสอบส่วนที่เป็น purified glycoside และส่วนที่เป็น aglycone ด้วยปฏิกริยาเคมี พบว่าให้ผลการทดสอบเป็นบวกคือได้สารละลายสีชมพู-แดงในชั้นต่าง เนื่องจากเกิดเกลือของแอนทราควิโนน (วันดี กฤษณพันธ์. 2536 : 81-83) และเมื่อนำสารสกัดจากใบชุมเห็ดเทศไปแยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบางพบว่าสามารถแยกได้ 3 ระบบโดยที่แต่ละระบบ ค่า R_f ของสารมาตรฐานคือยาระบายมะขามแขก (senokot) และสารที่สกัดจากใบชุมเห็ดเทศมีค่าเท่ากันแสดงว่าสารที่สกัดจากใบชุมเห็ดเทศ และสารมาตรฐานที่ได้จากยาระบายมะขามแขก (senokot) เป็นสารเดียวกันและเป็น เซนโนไซด์ ซึ่งยาระบายมะขามแขก (senokot) 1 เม็ดมี เซนโนไซด์ อยู่ 7.๖ มิลลิกรัม ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ ประทีป พูตระกูล (2521:18) ที่ได้ทำการศึกษหาปริมาณเซนโนไซด์ในใบและฝักมะขามแขก ในประเทศไทย และพบว่าในใบและฝักมะขามแขก มีเซนโนไซด์เอ และ บี เป็นองค์ประกอบการศึกษาของสำนักงานคณะกรรมการ การสาธารณสุข มูลฐาน (2530) พบว่าในใบชุมเห็ดเทศมีสารแอนทราควิโนน และในใบมะขามแขกมีสารแอนทราควิโนน คือ เซนโนไซด์ (sennoside) และสอดคล้องกับการศึกษาของเพยาร์ เหมือน วงษ์ญาติ (2537 :79-81) ที่พบว่าในใบมะขามแขกมีสาร แอนทราควิโนน และที่พบมากคือ เซนโนไซด์ เอ และ บี และสอดคล้องกับงานวิจัยของ ซาเทนเดอร์ เค. ยาดาบ และ สุไรบี. คาลิดาร์ (Yadav & Kalidhar. 1994 : abstract) ที่ได้ทำการศึกษา แอนทราควิโนนในชุมเห็ดเทศและพบว่าในใบชุมเห็ดเทศมีแอนทราควิโนน คือ Alquinone เป็นองค์ประกอบ และสอดคล้องกับงานวิจัยของเฮมลตา และ สุไรบี. คาลิดาร์ (Hemlata & Suraj B. Kalidher. 1992 : 601) ที่ได้ศึกษา แอนทราควิโนน ในชุมเห็ดเทศ และพบว่าในใบชุมเห็ดเทศมี

แอนทราควิโนน คือ อะลาทีโนน (Alatinone) เป็นองค์ประกอบและสอดคล้องกับงานวิจัยของ เอส ริวเทียนชัย (S. Raewthianchai, et.al. 1980 : abstract) ที่ได้ทำการทดลองและเปรียบเทียบคุณภาพของแอนทราควิโนนในชุมเห็ดเทศแต่ละชนิด พบว่ามีแอนทราควิโนนเป็นองค์ประกอบอยู่และจากการ ศึกษาวิจัยของ มัลลิกา ไตรเดช (2537 : บทคัดย่อ) ที่ได้ทำการวิจัยหาปริมาณ แอนทราควิโนนในพืชพวก Cassia ชนิดต่าง ๆ จากการศึกษาพบว่าพืช ที่มีปริมาณแอนทราควิโนนสูงกว่า 400 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ได้แก่ ใบมะขามแขก และพืชที่มีปริมาณแอนทราควิโนน ปริมาณ 200-400 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ได้แก่ ใบชุมเห็ดเทศ ใบกาลพฤกษ์ ดอกกูดและ ผักกูด

1.7 การสกัดและแยกแอลคาลอยด์จากพืช

พืชตัวอย่างที่นำมาสกัดและแยกแอลคาลอยด์ ได้แก่พริกไทยดำ โดยนำมาสกัดและแยกปิเปอรินโดยเทคนิคสเปกโทรสโกปี โดยทำให้อยู่ในสภาพที่เป็นต่าง เพื่อเปลี่ยนแอลคาลอยด์ให้อยู่ในรูปอิสระ และจึงทำการสกัดด้วยตัวทำละลายผสมของคลอโรฟอร์มและเอทานอล ปรับสารละลายให้เป็นกรดด้วยกรดซัลฟิวริก เข้มข้น 0.5 นอร์มัล แล้วนำชั้นกรดที่มีแอลคาลอยด์มาตรวจสอบด้วย ดราเจนดอร์ฟ รีเอเจนต์ (Dragendorff's reagent) แวกเนอร์รีเอเจนต์ (Wagner reagent) และเมเยอร์รีเอเจนต์ (Mayer's reagent) ผลปรากฏว่าได้ตะกอนสีส้มและตะกอนสีขาวขุ่น ตามลำดับ ตะกอนที่ได้นี้เกิดจากในน้ำยาทั้งสองชนิดมีโลหะหนัก คือ บิสมัท และปรอท ซึ่งไปทำปฏิกิริยากับไนโตรเจนในโมเลกุลของแอลคาลอยด์ ให้เป็น addition product ที่ไม่ละลายน้ำ และเมื่อตรวจสอบด้วยแวกเนอร์รีเอเจนต์ (Wagner's reagent) ได้ตะกอนสีน้ำตาล เนื่องจากในน้ำยาดังกล่าวนั้นมีธาตุฮาโลเจน (Halogen) คือไอโอดีน ซึ่งจะไปทำปฏิกิริยากับแอลคาลอยด์ เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนและตกตะกอน และเมื่อนำไปหาปริมาณปิเปอรินโดยเทคนิค สเปกโทรสโกปี กราฟมาตรฐานที่ได้เป็นกราฟเส้นตรงที่ผ่านจุดศูนย์และมีค่า $r^2 = 0.9994$ แสดงว่า ค่าความเข้มข้นของสารละลายกับการดูดกลืนแสงมีความสัมพันธ์ทางบวกสูงมาก แสดงว่ากราฟนี้มีความแม่นยำสูงมาก และเมื่อวิเคราะห์หาปริมาณปิเปอรินในผลพริกไทยดำปรากฏว่ามีปริมาณ 1.5090 ppm/cm³ คิดเป็นร้อยละ 3.78 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ พเยาว์ เหมือนวงษ์ญาติ (2537 : 118) และ วันดี กฤษณพันธ์ (2535 : 78) ที่ศึกษาพบว่า ในพริกไทยมีปิเปอริน 2-5 เปอร์เซ็นต์

1.8 การสกัดและแยกสเตอรอยด์จากพืช

พืชตัวอย่างที่นำมาสกัดและแยกสเตอรอยด์ ได้แก่หัวร้อยรู โดยนำมาสกัดด้วย เฮกเซน แล้วทำการแยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบางโดยเทียบกับสารมาตรฐานคือ เบต้าไซโตสเตอรอล (β -sitosterol) พบว่าค่า R_f ของสารมาตรฐานและสารที่สกัดได้จากหัวร้อยรู มีค่าเท่ากัน และเมื่อนำมาแยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) พบว่า

เวลาที่ใช้แยกสารมาตรฐาน เบต้าไฮโดสเตอร์รอลมีค่าเท่ากับ 11.772 นาที เวลาที่ใช้ในการแยกสารสกัดจากห้วยรือรมีค่าเท่ากับ 11.779 นาที และเมื่อนำสารละลายมาตรฐานเบต้าไฮโดสเตอร์รอลผสมกับสารที่สกัดจากห้วยรือรมพบว่าเวลาที่ใช้ในการแยกเท่ากับ 11.746 นาที และมีพื้นที่พีคสูงขึ้นจาก 66766 เป็น 337057 แสดงว่าสารที่สกัดจากห้วยรือรมและสารมาตรฐานเป็นสารเดียวกัน และเมื่อนำสารละลายมาตรฐานเบต้าไฮโดสเตอร์รอล สารที่สกัดได้จากห้วยรือรม และสารผสมระหว่างสารละลายมาตรฐานเบต้าไฮโดสเตอร์รอลกับสารที่สกัดได้จากห้วยรือรมซ้อนทับกันพอดีแสดงว่าเป็นสารเดียวกัน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ สำรวัย ชำทรัพย์ (2534 : 29) ได้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีบางชนิดจากห้วยรือรมโดยเทคนิคทางโครมาโทกราฟี และวิเคราะห์โครงสร้างของสารโดยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี พบว่าในสารสกัดเฮกเซนและคลอโรฟอร์มประกอบด้วยสารเบต้าไฮโดสเตอร์รอล

ตอนที่ 2 การพัฒนาบทปฏิบัติการจากผลการทดลองที่ได้จากตอนที่ 1

ผู้วิจัยได้นำผลการทดลองที่ได้จากการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชทั้ง 8 ชนิดมาพัฒนาเป็นบทปฏิบัติการ ในแต่ละบทปฏิบัติการประกอบด้วย 3 ส่วน คือส่วนที่เป็นเอกสารประกอบบทปฏิบัติการ หรือใบความรู้ซึ่งจะช่วยให้ นักศึกษามีความรู้ในเรื่องที่จะทำการทดลองส่วนที่สองเป็นบทปฏิบัติการซึ่งประกอบด้วย วัตถุประสงค์ ทฤษฎี/หลักการ อุปกรณ์/เครื่องมือสารเคมีและวิธีการทดลอง ซึ่งบทปฏิบัติการนี้นักศึกษาได้ทำการทดลอง การทดลองเป็นกิจกรรมที่มีความสำคัญมากในการเรียนการสอนวิทยาศาสตร์ จุดมุ่งหมายหนึ่งของการสอนวิทยาศาสตร์จะเน้นที่การพัฒนาวิธีการทดลอง การสอนวิทยาศาสตร์สมัยก่อน ๆ นิยมสอนให้นักเรียนท่องจำข้อเท็จจริง กฎ หลักการ หรือทฤษฎี ถ้ามีการทดลองจะเป็นการทดลองเพื่อทดสอบหรือยืนยันข้อเท็จจริงในลักษณะนี้แล้วจะทำให้ นักเรียนเข้าใจเนื้อหา นั้น ๆ ถูกต้อง ดังนั้นการจัดกิจกรรมการเรียนการสอนวิทยาศาสตร์ในปัจจุบัน จึงได้เน้นที่การพัฒนาวิธีการทดลองและรูปแบบของบทปฏิบัติการเป็นส่วนใหญ่ ทั้งนี้เพื่อเป็นการส่งเสริมสมรรถภาพความคิดของคน และสอดคล้องกับธรรมชาติของวิทยาศาสตร์ การปรับปรุงแนวทางในการสอนใหม่นี้ เน้นการหาแนวทางให้นักเรียนสามารถแก้ปัญหาได้ด้วยตนเองหรือคิดค้นหาคำตอบได้ด้วยตนเอง โดยใช้การทดลองเป็นศูนย์กลางในการเรียนการสอน การสอนวิทยาศาสตร์แบบทดลองเป็นการสอนเพื่อจัดประสบการณ์ในการทดลองให้กับนักเรียน โดยมีวัตถุประสงค์ให้นักเรียนรู้จักคิด ค้นคว้าเกิดความรู้และประสบการณ์ในการทำงานตามขั้นตอนของกระบวนการทางวิทยาศาสตร์ สามารถออกแบบการทดลอง จัดทำข้อมูล แปลความหมายข้อมูล และประเมินผลการทดลองของตนเองได้ (สมสุข ธีระพิจิตร. 2526 : 23-24) ในส่วนท้ายของบทปฏิบัติการเป็นรายงานผลการทดลองและคำถามท้ายการทดลอง การใช้คำถามช่วยให้นักเรียนมีส่วนร่วมในการเรียนการสอน การถามช่วยให้มีการค้นคว้าหาความรู้ใหม่ ๆ เพิ่มเติม เป็นการปลูกฝังนิสัยรักการค้นคว้าซึ่งสอดคล้องกับวิธีการเรียนการสอนวิทยาศาสตร์ในปัจจุบัน (จันทร์เพ็ญ เชื้อพานิช. 2526 : 310) ดังนั้นการทดลองจึงเป็นหัวใจสำคัญของการเรียนการสอนวิทยาศาสตร์ เพราะ

กิจกรรมปฏิบัติการทดลองจะเป็นสื่อสำคัญที่ทำให้นักเรียนเข้าใจทฤษฎี สามารถเรียนรู้จนเกิดมโนคติ เกิดทักษะกระบวนการทางวิทยาศาสตร์มากกว่าให้นักเรียนท่องจำจากตำรา (จำแลง เชื้อภักดี. 2538 : 23) การทำกิจกรรมปฏิบัติการทดลองแสดงให้เห็นถึงปรากฏการณ์ต่าง ๆ หลักการและการนำหลักการไปใช้ช่วยให้นักเรียนมีความรู้ความเข้าใจ ข้อเท็จจริง หลักการโมโนทัศน์และข้อสรุปต่าง ๆ ทางวิทยาศาสตร์ช่วยพัฒนาทักษะต่าง ๆ นิสัยในการทำงานและเจตคติต่อวิทยาศาสตร์ (Richardson. 1957 : 70-73) และช่วยให้นักเรียนมีความเข้าใจในธรรมชาติของวิทยาศาสตร์ ช่วยส่งเสริมพัฒนาการทางสติปัญญาและช่วยให้นักเรียนเกิดมโนทัศน์ทางวิทยาศาสตร์ (Lunetta and et.al1981:22-25)

ตอนที่ 3 การหาประสิทธิภาพของบทปฏิบัติการ

จากการนำบทปฏิบัติการ เรื่องการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรที่พัฒนาขึ้นทั้ง 8 บทปฏิบัติการไปให้ผู้เชี่ยวชาญทางด้านเคมีและวิทยาศาสตร์ศึกษาจำนวน 11 ท่านประเมินโดยใช้แบบประเมินดัชนีความสอดคล้อง ผลการวิเคราะห์ข้อมูลปรากฏว่าแต่ละด้านของบทปฏิบัติการได้แก่เอกสารประกอบบทปฏิบัติการ (ใบความรู้) บทปฏิบัติการ และรายงานผลการทดลองรวมถึงคำถามท้ายการทดลองมีความสอดคล้องกันในระดับมากทุกด้านซึ่งเป็นไปตามสมมติฐานที่ตั้งไว้ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะเหตุผล 2 ประการ

ประการแรก บทปฏิบัติการเรื่องการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรในห้องถื่นนี้เป็นบทปฏิบัติการที่พัฒนาขึ้นเพื่อนำไปใช้ในการเรียนวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติภาคปฏิบัติซึ่งวิชานี้เป็นวิชาเลือกหนึ่งในหลักสูตรวิทยาศาสตร์สาขาเคมีของสถาบันราชภัฏเป็นบทปฏิบัติการที่สอดคล้องกับสภาพแวดล้อมของแต่ละท้องถิ่นซึ่งมีพืชสมุนไพรอยู่มากมาย การพัฒนาบทปฏิบัติการนี้เป็นการนำภูมิปัญญาท้องถิ่นที่มีคุณค่ามาศึกษาโดยใช้กระบวนการทางวิทยาศาสตร์ ซึ่งสอดคล้องกับพระราชบัญญัติสถาบันราชภัฏ พ.ศ. 2538 ที่กำหนดให้การเรียนการสอนในระดับบัณฑิตศึกษา ต้องมุ่งที่การศึกษาค้นคว้าและวิจัยเพื่อสร้างองค์ความรู้ขึ้นจากภูมิปัญญาพื้นฐานที่มีอยู่แล้วอย่างมากมายในห้องถื่น ซึ่งทำให้ผลการวิจัยมีความหมายต่อการพัฒนาวิถีชีวิตและคุณภาพชีวิตอย่างมีสัมพันธภาพกับประวัติศาสตร์ความเป็นมาของท้องถิ่น โดยที่พัฒนาดังกล่าวนี จะทำให้ภูมิปัญญาท้องถิ่นได้รับการสืบทอดมา ปรับปรุงให้มีคุณค่ายิ่งขึ้น อันจะยังผลให้คนในท้องถิ่นเกิดความสำนึกและภาคภูมิใจในอันที่จะรักษาและพัฒนาท้องถิ่นของตนบนพื้นฐานแห่งชีวิตของท้องถิ่นนั้น ๆ สืบไป (จรรยา ถาวรจักรี. 2538 : 8) และสอดคล้องกับ อมร รักษาสัตย์ (2537: 7) และอารีรัตน์ วัฒนสิน (2534:2) ที่กล่าวว่าหลักสูตรวิทยาศาสตร์จะต้องบรรจุเนื้อหาที่เป็นประโยชน์ต่อท้องถิ่นและมีการปฏิบัติจริง

ประการที่สอง บทปฏิบัติการนี้เป็นบทปฏิบัติการที่นักเรียนได้ทำการทดลองด้วยตนเอง ทำให้นักเรียนได้ฝึกทักษะปฏิบัติและใช้กระบวนการทางวิทยาศาสตร์ในการทดลอง การปฏิบัติการทดลองจะทำให้นักเรียนมีทักษะกระบวนการทางวิทยาศาสตร์สูงขึ้นและทำให้ผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนสูงขึ้นซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ เคนเนธ (ถนอมศรี ดุลยธรรม. 2532 :

28 อ้างอิงมาจาก Kennith. 1975) ที่พบว่านักเรียนที่ได้รับการสอนวิทยาศาสตร์ โดยใช้ทักษะกระบวนการทางวิทยาศาสตร์จะมีทักษะกระบวนการทางวิทยาศาสตร์ดีกว่านักเรียนที่ได้รับการสอนแบบธรรมดา และสอดคล้องกับงานวิจัยของอรอุมา ละมุล (2541 : 123) ที่ได้พัฒนาบทปฏิบัติการวิทยาศาสตร์เรื่อง ความสามารถของวัสดุธรรมชาติในการดูดซับโลหะหนักที่ใช้สอนในวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม สำหรับนักเรียนระดับมัธยมศึกษาปีที่ 6 ซึ่งผลการวิจัยพบว่าคะแนนผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนและทักษะปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ของนักเรียนมีค่าสูง การทดลองถือว่าเป็นหัวใจของการเรียนวิทยาศาสตร์แบบสืบเสาะหาความรู้ เพราะจะเป็นแกนนำไปสู่การฝึกผู้เรียน ในแง่ทักษะกระบวนการต่าง ๆ ทางวิทยาศาสตร์ (ทบวงมหาวิทยาลัย. 2525 : 116) กิจกรรมปฏิบัติการทดลองเป็นกิจกรรมที่มุ่งให้ผู้เรียนได้ปฏิบัติหรือทดลองว่ามีอะไรเกิดขึ้นหรือได้จัดทำกับสิ่งนั้นแล้วเกิดข้อสงสัยสามารถหาคำตอบด้วยตัวเองได้ ทำให้ผู้เรียนรู้จักใช้ความรู้ ความคิด มีเหตุผล มีขั้นตอนในการปฏิบัติ รู้จักใช้วิธีการทางวิทยาศาสตร์ (Backer, Guy and Eve. 1990 : 2 ; บุปผชาติ ทัพพิกรณ์. 2538 : 5) ในกิจกรรมการเรียนการสอนกำหนดให้จัดกิจกรรมแบบปฏิบัติการทดลอง จึงเหมาะสมที่จะส่งเสริมความรู้ให้เกิดขึ้นแก่ผู้เรียน เพราะองค์ประกอบสำคัญของการเรียนรู้ (Gagne. 1986 : 154) และทักษะปฏิบัติการทดลองวิทยาศาสตร์จะทำให้ผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนวิทยาศาสตร์สูงขึ้น(ราเมศ เลียบสือตระกูล. 2530 : บทคัดย่อ)

จากเหตุผลดังกล่าวจึงทำให้บทปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เรื่องการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรแต่ละด้านมีความสอดคล้องกันในระดับมากสามารถนำไปใช้ในการเรียนการสอนได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ข้อเสนอแนะ

จากผลการศึกษาครั้งนี้ ผู้วิจัยมีข้อเสนอแนะดังนี้

1. ข้อเสนอแนะทั่วไป

1.1 ในการพัฒนาบทปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เรื่องการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรในห้องปฏิบัติการ ได้พัฒนาขึ้นตามกรอบหลักสูตรวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ ซึ่งมีทั้งการเรียนภาคทฤษฎีและภาคปฏิบัติการทดลอง ผู้วิจัยได้พัฒนาบทปฏิบัติการขึ้นมาเพื่อใช้ในการเรียนการสอนภาคปฏิบัติการทดลอง เพื่อให้นักศึกษาจะได้ทดลองสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพร บทปฏิบัติการนี้อาจไม่ส่งเสริมความคิดสร้างสรรค์หรือส่งเสริมให้นักศึกษาคิดเป็นเท่าที่ควร เพราะนักศึกษาต้องทำตามวิธีการทดลองที่กำหนดไว้ในบทปฏิบัติการเพื่อให้เสร็จภายในเวลาที่กำหนด และเป็นไปตามกรอบหลักสูตรที่กำหนดไว้ ดังนั้นเพื่อเป็นการส่งเสริมให้นักศึกษาเกิดความคิดสร้างสรรค์และคิดเป็น

เป็นการเรียนการสอนที่เน้นผู้เรียนเป็นสำคัญ จึงควรให้นักศึกษาไปศึกษาวิจัยต่อในวิชา
โครงการวิจัยทางเคมีโดยให้นักศึกษาหาพืชตัวอย่างมาเอง แล้วออกแบบและทดลองสกัดและ
แยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชนั้นออกมาให้ได้ ซึ่งวิธีการนี้จะส่งเสริมให้นักศึกษามีโอกาส
พัฒนาความคิดสร้างสรรค์มากยิ่งขึ้น

1.2 ในการทดลองสกัดและแยกคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากเมล็ดรำเพยหรือพืช
ชนิดอื่นต้องทำการทดลองอย่างระมัดระวังไม่ให้เข้าสู่ร่างกายเพราะเป็นอันตรายต่อสุขภาพ

1.3 นักศึกษาที่เลือกเรียนวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ ควรมีพื้นฐานความรู้วิชา
เคมีอินทรีย์ 1 และเคมีอินทรีย์ 2 มาก่อน เพราะนักศึกษาจะได้มีความรู้ในเรื่องคุณสมบัติ
โครงสร้างและปฏิกิริยาของสารอินทรีย์ ที่เป็นองค์ประกอบในพืช และนอกจากนี้นักศึกษาควรมี
ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับการใช้อุปกรณ์เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ ได้แก่ โครมาโทกราฟีแบบ
เยื่อบาง โครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ โครมาโทกราฟีแบบก๊าซ โครมาโทกราฟีแบบของเหลว
สมรรถนะสูง เพื่อจะได้มีทักษะในการใช้เครื่องมือในการทดลอง

1.4 ควรจัดให้วิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติเรียนเป็นคาบเรียนสุดท้ายของวันที่มีการ
เรียนการสอน เพราะนักศึกษาจะได้มีเวลาทดลองได้เต็มที่โดยไม่ต้องห่วงว่าจะต้องไปเรียนวิชาอื่น ๆ
ต่อ

1.5 ควรแยกปฏิบัติการทดลองเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติออกเป็น 1 วิชา แยกจาก
ทฤษฎี โดยเรียนทฤษฎี 3 หน่วยกิตสัปดาห์ละ 3 คาบและเรียนปฏิบัติ 1 หน่วยกิตสัปดาห์ละ 4-
6 คาบ เพื่อให้นักศึกษาจะได้เรียนทฤษฎีและปฏิบัติการทดลองได้ครอบคลุม

1.6 ครู-อาจารย์ที่จะนำบทปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติไปใช้ในการเรียน
การสอนควรให้นักศึกษาหาพืชที่จะนำมาทดลองเองและให้นักศึกษาทำการศึกษาพืชเหล่านั้น
อย่างละเอียดในทุกๆ ด้าน ให้นักศึกษาหาเวลาว่างนอกเวลาเรียนสกัดสารจากพืช เพื่อที่
นักศึกษาจะได้มีทักษะในการสกัดพืช ด้วยตนเอง

2. ข้อเสนอแนะในการวิจัย

2.1 ควรมีการศึกษาผลการใช้บทปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เรื่อง
การสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรที่พัฒนาขึ้นเกี่ยวกับทักษะกระบวนการ
วิทยาศาสตร์ ทักษะปฏิบัติและความคิดขั้นสูงหลังการเรียนโดยใช้บทปฏิบัติการที่พัฒนาขึ้น

2.2 ควรทำการวิจัยสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีชนิดอื่น ๆ เช่น คูมาริน
โปรตีน จากพืชสมุนไพรที่มีอยู่มากมายในท้องถิ่น เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

2.3 ควรทำการวิจัยเกี่ยวกับการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีในพืชที่มีอยู่ทั่วไป
ทั่วทุกภาคของประเทศไทย แล้วจัดกลุ่มพืชที่มีองค์ประกอบทางเคมีเหมือนกันเข้าไว้ด้วยกัน
เพื่อทำการวิจัยในขั้นสูงต่อไป

2.4 ควรทำการวิจัยเกี่ยวกับการนำพืชสมุนไพรมาใช้ประโยชน์ในชีวิตประจำวัน
เช่น ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากธรรมชาติ ยารักษาโรค เป็นต้น

2.5 ควรทำการวิจัยเกี่ยวกับการสร้างจิตสำนึกและตระหนักในการอนุรักษ์พืช
สมุนไพรซึ่งเป็นภูมิปัญญาที่มีคุณค่าให้คงอยู่สืบต่อไป

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

- กระแส วัชรปาน. (2536). *สมุนไพรรักษาไข้ประสพการณ์จากแพทย์*. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์รวมพรรณ.
- เกศรินทร์ ฑีฆายุ. (2533). *การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีบางชนิดจากรากพุดน้อย*. กรุงเทพฯ : ปริญญานิพนธ์ กศ.ม.(เคมี). กรุงเทพฯ : บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. ถ่ายเอกสาร.
- ก่องกานดา ชยามฤต. (2528). *สมุนไพรไทย ตอนที่ 4*. กรุงเทพฯ : ชูติมาการพิมพ์.
- จัญญู ถาวรจักร์. (2538). "บทบาทของสถาบันราชภัฏกับการเป็นสถาบันอุดมศึกษาเพื่อพัฒนาท้องถิ่น," ใน เอกสารประกอบการสัมมนา เรื่องการประชุมปฏิบัติการวางแผนพัฒนาอาชีพ ระหว่างวันที่ 18-19 เมษายน 2538 ณ โรงแรมมิตรพันธ์. ปทุมธานี : สถาบันราชภัฏเพชรบุรี วิทยาลัยการณในพระบรมราชูปถัมภ์.
- จินดา หวังบุญสกุล. (2527). *การศึกษาพฤกษเคมีในเปลือกรากของต้นสอ่งฟ้าแดง*. วิทยานิพนธ์ ภ.ม. (เภสัชศาสตร์). กรุงเทพฯ : บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. ถ่ายเอกสาร
- จินตนา สุทธชยานนท์. (2534). *ฤทธิ์ต้านเชื้อราของใบชุมเห็ดเทศ*. กรุงเทพฯ : โครงการวิจัยเภสัชศาสตร์บัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
- จำแลง เชื้อภักดี. (2538, มกราคม). "การจัดการเรียนการสอนที่ช่วยให้เกิดโครงการวิทยาศาสตร์," *วารสารครูวิทยาศาสตร์*. 3 (11) : 23.
- เจริญ สุขพงษ์. (2533). *คู่มือแนะนำลักษณะและประโยชน์ของสมุนไพร*. กรุงเทพฯ : เจ้าพระยา.
- ชิดชนก ชมพฤกษ์. (2541). *พืชผักสมุนไพร*. กรุงเทพฯ : พิมพ์ศพรินทร์ตั้งเซ็นเตอร์จำกัด

- ชัยวัฒน์ คุประตกุล. (2535, ตุลาคม). "การศึกษาวิทยาศาสตร์ไทยศตวรรษ 21," วารสารก้าวหน้าไกล.
3(6) : 28 – 31.
- ดวงใจ ลิ้มสกุล. (2539, กันยายน). "สมุนไพรพืชล้มลุกราคาถูก," กรมวิทยาศาสตร์บริการ.
44(142) : 3 – 5.
- นิพนธ์ กินาวงศ์ และคนอื่น ๆ. (2529). รายงานการวิจัยการสำรวจพืชสมุนไพรตามแนวถนน
พระร่วงตั้งแต่จังหวัดกำแพงเพชร ถึง อำเภอศรีสัชนาลัย จังหวัดสุโขทัย. พิษณุโลก.
- บุญชู ธรรมทัศนานนท์. (2524). สมุนไพรไทย-เทศ. กรุงเทพฯ : ธนาศิลป์.
- บุศบรรณ ณ สงขลา. (2525). สมุนไพรไทย ตอนที่ 1. กรุงเทพฯ : กรมป่าไม้.
- บัญญัติ สุขศรีงาม . (2519). ประสิทธิภาพของกากพลูในการยับยั้งการเจริญของ *Salmonella spp.*
ชลบุรี : ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ บางแสน.
- ประทีป พุดระกุล. (2521). การหาปริมาณ เซโนไซด์ในใบและฝักมะขามแขกในประเทศไทย.
ปริญญาานิพนธ์ กศ.ม. (เคมี). กรุงเทพฯ : บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ประสานมิตร. ถ่ายเอกสาร.
- ประเสริฐ สุทธิประสิทธิ์. (2525). การศึกษาสภาพการใช้สมุนไพรของประชาชนในเขตภาคเหนือ
ตอนใต้ 7 จังหวัด. พิษณุโลก. ถ่ายเอกสาร.
- ประเสริฐ ศรีโพโรจน์. (2539). เทคนิคทางเคมี. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์ประกายพรึก.
- ปราโมทย์ ศรีภิรมย์. (2524). ชุมชุมสมุนไพรไทย. กรุงเทพฯ : หอสมุดกลาง.
- พยอม ดันติวัฒน์. (2521). สมุนไพร. กรุงเทพฯ : สมาคมสมุนไพรแห่งประเทศไทย.
- เพียว เหมือนวงษ์ญาติ. (2524). คู่มือการใช้สมุนไพร. กรุงเทพฯ : สารมวลชนจำกัด.

พร้อมจิต ศรลัมภ์ และคนอื่น ๆ. (2532). *สมุนไพรและยาที่ควรรู้*. กรุงเทพฯ : อาร์ดีพี.

_____. (2526). *คู่มือการใช้สมุนไพร*. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : อาร์ดีพี.

_____. (2529). *ตำราวิทยาศาสตร์สมุนไพร*. กรุงเทพฯ : ศูนย์การพิมพ์พลชัย.

_____. (2530). *คู่มือการใช้สมุนไพร*. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ : เรือนแก้ว.

"พระราชบัญญัติสถาปนาราชบัณฑิตยสถาน พ.ศ. 2539," (2538, 24 มกราคม). *ราชกิจจานุเบกษา*. เล่ม 112 ตอนที่ 4 ก.

เพ็ญจันทร์ ประดับมุข. (2532). *มิติทางสังคมวัฒนธรรมของการใช้สมุนไพรในชุมชน ; ศึกษาเฉพาะกรณีหมู่บ้านหนึ่งในจังหวัดยโสธร*. วิทยานิพนธ์ สค.ม. (สังคมศาสตร์). กรุงเทพฯ : บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล. ถ่ายเอกสาร.

ภูมิพิชญ์ สุขาวรรณ. (2535). *พืชสมุนไพรใช้เป็นยา* เล่ม 3. กรุงเทพฯ : อักษรพิพัฒน์ จำกัด.

รุจิณาท อรรถสิทธิ์. (2535, กันยายน). "สมุนไพรมหัศจรรย์แห่งธรรมชาติ," *สารคดี*. 8(91) : 136-156.

รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ. (2540). *พืชเครื่องเทศและสมุนไพร*. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

ลีนา ผู้พัฒนาพงศ์. (2530). *สมุนไพรไทย ตอนที่ 5*. กรุงเทพฯ : ชุติมาการพิมพ์.

ลัดดาวัลย์ บุญรัตน์การกิจ. (2535). *สมุนไพรนำใช้* เล่ม 1. กรุงเทพฯ : แท่นทองปรีณดิ้งเซอร์วิส.

ล้วน สายยศ และอังคณา สายยศ. (2539). *เทคนิคการวัดผลการเรียนรู้*. กรุงเทพฯ : สุวีริยาสาส์น.

วิชัย ดิสสระ. (2533). *การพัฒนาหลักสูตรและการสอน*. กรุงเทพฯ : ภาควิชาหลักสูตรและการสอน คณะศึกษาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร.

วิสุทธิ ไบไม้. (2537). "มนุษย์กับสมดุลของธรรมชาติ," ใน หนังสือ 30 ปีสู่วิทยาศาสตร์ที่ยั่งยืน.

เชียงใหม่ : คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

_____. (2538). สถานภาพความหลากหลายทางชีวภาพในประเทศไทย. กรุงเทพฯ. :

สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.).

วันดี กฤษณพันธ์. (2536). ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ เล่มที่ 1,2. กรุงเทพฯ : ภาควิชา

เภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

_____. (2537). เกร็ดความรู้สมุนไพร. กรุงเทพฯ : เมดิคัลมีเดียจำกัด.

_____. (2537). สมุนไพรน่ารู้. กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

_____. (2538). สมุนไพรสารพัดประโยชน์. กรุงเทพฯ : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

_____. (2539). เกร็ดความรู้สมุนไพร. กรุงเทพฯ : บริษัทเฟื่องฟ้าพรินต์ติ้งจำกัด.

วันดี กฤษณพันธ์, เอมอร โสมนะพันธุ์ และ เสาวณี สุริยาภณานนท์. (2541). สมุนไพรในสวนครัว.

กรุงเทพฯ : เฟื่องฟ้าพรินต์ติ้ง จำกัด.

สถาบันการแพทย์แผนไทย กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. (2542). ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับการแพทย์แผนไทยว่าด้วยสมุนไพรกับการแพทย์แผนไทย. กรุงเทพฯ : องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก.

สนอง ทองปาน. (2540). การศึกษาประสิทธิภาพของระบบบำบัดน้ำเสียแบบใช้พลังงานตัวเองบำบัด

ตัวเอง : กรณีศึกษาเพื่อพัฒนาบทปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ให้สัมพันธ์กับสิ่งแวดล้อม.

ปริญญาณิพนธ์ กศ.ด. (วิทยาศาสตร์ศึกษา). กรุงเทพฯ : บัณฑิตวิทยาลัย

มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. ถ่ายเอกสาร.

สุนทรี สิงหนุตตรา. (2535). สรรพคุณสมุนไพร 200 ชนิด. กรุงเทพฯ : บริษัทคุณ 39 จำกัด.

- สุรางค์ หอมจันทร์. (2538). การศึกษาทางพฤกษเคมีของเปลือกต้นชะเอมป่า. วิทยานิพนธ์
ภ.ม. (เภสัชศาสตร์). กรุงเทพฯ : บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
ถ่ายเอกสาร.
- สุวิมล ไชราช. (2529). การศึกษาแอนทราควิโนนในรากขมิ้นทุ่ง. วิทยานิพนธ์ ภ.ม.
(เภสัชศาสตร์). กรุงเทพฯ : บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. ถ่ายเอกสาร.
- สุวัฒน์ นิยมคำ. (2517). การสอนวิทยาศาสตร์แบบพัฒนาความคิด. กรุงเทพฯ : วัฒนาพานิช.
- _____. (2531). ทฤษฎีและทางปฏิบัติในการสอนวิทยาศาสตร์แบบสืบเสาะหาความรู้ เล่ม 1.
กรุงเทพฯ : บริษัทเจเนอรัลบีคส์ เซนเตอร์.
- _____. (2531). ทฤษฎีและทางปฏิบัติในการสอนวิทยาศาสตร์แบบสืบเสาะหาความรู้ เล่ม 2.
กรุงเทพฯ : บริษัทเจเนอรัลบีคส์ เซนเตอร์.
- สรศักดิ์ เหลียวไชยพันธุ์. (2528). การศึกษาทางพฤกษเคมีของต้นหมอน้อย. วิทยานิพนธ์ ภ.ม.
(เภสัชศาสตร์). เชียงใหม่ : บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. ถ่ายเอกสาร
- สำนักงานสาธารณสุขมูลฐาน, กระทรวงสาธารณสุข. (2530). สมุนไพรในงานสาธารณสุขมูลฐาน
สำหรับบุคลากรทางสาธารณสุข. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์องค์การทหารผ่านศึก.
- สำรวย ขำทรัพย์. (2534). การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีบางชนิด จากหัวร้อยรู. วิทยานิพนธ์
กศ.ม.(เคมี). กรุงเทพฯ : บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร.
ถ่ายเอกสาร.
- สำลี ใจดี และคนอื่น ๆ. (2525). การใช้สมุนไพร 1. กรุงเทพฯ : สารมวลชนจำกัด.

อรอุมา ละมุล . (2541). การพัฒนาทปฏิบัติการวิทยาศาสตร์เรื่องความสามารถของวัสดุธรรมชาติในการดูดซับโลหะหนักที่ใช้สอนในวิชาวิทยาศาสตร์ให้สัมพันธ์กับสิ่งแวดล้อม. สำหรับนักเรียนระดับชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 6 . ปรินญานิพนธ์ กศ.ม.(วิทยาศาสตร์ศึกษา). กรุงเทพฯ : บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. ถ่ายเอกสาร.

Al-Ruwashid, Mohammed Suliman Abdulrahman. (1984, November). "The Effects of a Lecture-only and Lecture-Laboratory Approach on Riyadh Junior College, Saudi Arabia Chemistry Students' Achievement and Attitudes," *Dissertation Abstracts International*. 45(10) : 1357.

Anderson, Roger O. (1976). *The Experience of Science : A New Perspective for Laboratory Teaching*. New York : Teacher College Press Columbia University.

Beasley, Warren Frederick. (1979, March). "The Effect of Physical and Mental Practice of Psychomotor Skills on Chemistry Student Laboratory Performance," *Dissertation Abstracts International*. 39(9) : 5428.

Bobbitt, J.M. et al. (1968). *Introduction to Chromatography*. Van Nostrand : Reinhold Company.

Brain, K.R. & Turner, T.D. (1975). *The Practical Evaluation of Phytopharmaceuticals : Separation and Identification of Constituents*. Bristol : Wright-Scientifica.

Deyama, T. & T.Horiguchi. (1974, April). "Study of the Component of the Essential Oil of Clove (*Engenia caryophyllata* Thunberg)," *Food Science and Technology Abstracts*. 6(4) : 4.

Harborne JB. (1984). *Phytochemical Methods: a Guide to Modern Techniques of Plants Analysis*, 2nd ed. London : Chapman and Hill

Haruna A.K. (1997, August). "Cathartic Activity of Soborodo : The Aqueous Extract of Calyx of *Hibiscus sabdariffa* L.," *Phytochemistry*. 11(8) : 307-308.

Hemlata & Suraj B.Kalidhar. (1992). *Alatinone, An Anthroquinone from cassia alata*.

Hisar : Haryana Agriculture University

Hofstein, Avi & Lunetta, Vincent N. (1982, Summer)). "The Role of the Laboratory in Science Teaching : Neglected Aspects of Research," *Review of Education Research*. 52 (12) : 201-217.

H. Wagne r. S. Bladt & E.M Zgainski . (1984). *Plant Drug Analysis*, Springer – Verlag, Berlin. Heidelberg New York. : John Wiley & Sons.

Ikan, Raphael. (1991). *Natural Products: a Laboratory Guide*. San Diego, Calif : Academic Press.

J.Mann & et.al. (1994). *Natural Products : Their Chemistry and Biological Significance*. Harlow England : Longman Scientific & Technical.

Kerlinger, F.N. (1988). *Foundation of Behavioral Research*. New York : Holt, Rinehart and Winston.

List P.H. & Schmidt P.C. (1989). *Phytopharmaceutical Technology*. London : Heyden and Son.

Lunetta, Vincent N., Hoftein Avi., & Gidding Geoffery. (1981, January). "Evaluating Science Laboratory Skills," *The Science Teacher*. 48(7) : 22-25.

Macek K.ed. (1972). *Pharmaecutical Applications of Thin – layer and Paper Chomatography*. New York : Elsevier Publishing.

Mahabussarakum W. et al. (1982). *Chemical Constituents of Garcinia Mangostana and Their Antibacterial Activities*. Symposium on Sciences and Technology of Thailand, 8th Bangkok : Thailand.

- Mahabusarakum W. et al. (1983). "Screening of Antibacterial Activity of Chemicals from *Garcinia mangostana*," *Warasan Songkhla Nakkharin*. 5(4) : 337-339.
- Mahabusarakum W, Wiriyaichitra P & Phongpaichit S. (1984, October). *Antibacterial Activity of Chemical Constituents from Garcinia mangostana and their Derivatives*. Sumposium on Sciences and Technology of Thailand, 10th, Chiangmai : Thailand.
- Manitto, Paolo. (1981). *Biosynthesis of Natural Products*. Chichester : Horwood.
- Martindale. (1989). *The Extra Pharmacopocia*. Reynolds JEF, ed. London : The Pharmaceutical Press.
- McMeen & Joy Lee Windle. (1983, July). "The Role of the Chemistry Inquiry-Oriented Laboratory Approach in Facilitating Cognitive Growth and Development". *Dissertation Abstracts International*. 44(11) : 130.
- Natori S , Ikekawa N & Suzuki M. (1981) . *Advances in Natural Products Chemistry: Extraction and Isolation of Biologically Active Compounds*. New York: John Wiley & Sons.
- N.R. Farnsworth. (1966, March). "Biological and Phytochemical Screening of Plants," *Journal of Pharmaceutical Science*. 55(3) : 243-265.
- Ogunji Eo & Ehyoba AA. (1993, July). *Laxative Activity of Cassia alata*. (Leguminosae) Oil Leaf Thailand : Fitoterapia. 64(5) : 437-439.
- Okerholm, R.A. (1980). *Chromatography ; Remington's Pharmaceutical Science*. Pennsylvania : Mack Publishing Company Easton.
- Pelletier SW. (1970). *Chemistry of the Alkaloids*. New York : Van Nostrans, Reinhold Co.

- Pelletier SW. (1983). "Alkaloids," *Chemical and Biological Perspectives*. New York : A Wiley Interscience Publication.
- Prochazka, Z.et.al. (1979). *Paper Chromatography; Laboratory Handbook of Chromatograph and Allied Methods*. New York : Ellis Horwood.
- Raewthianchai S, Wacharothyangkul W & Chumsri P. (1980). *The Experimental and Comparative in Anthraquinones Quality of Cassia Species*. Special Project for the Degree of B.Sc. (Pharm), Faculty of Pharmacy, Mahidol Univ, Bangkok : Thailand.
- Rahman, Atta.ur. (1988). *Studies in Natural Products Chemistry*. Amsterdam : Elsevier.
- Rai PP. (1978, October). "Anthracene Derivative in Leaves and fruits of *Cassia alata*," *Curr Sci.* 47(8) : 271-272.
- R.H.Thomson. (1985). *The Chemistry of Natural Products*. New York : Chapman and Hall.
- Richardson, Jonh S. (1957). *Science Teaching in Secondary School*. New Jersey : Puntice-Hall Inc.
- Ross M.S.F. & Brain K. R. (1977). *An Introduction to Phytopharmacy*, Pitman Medical Publishing Co., Ltd., London.
- Satyender K. Yadaw & Suraj B. Kalidhar. (1994). *Alquinone : Anthraquinone form Cassia alata*. Hisar : Haryana Agricultural University,
- Siandernsuk J, Deekijsermph S & Jaruprechachan V. (1989, May). "Comparison of the Efficiency In Diarrhocal Treatment Between the Leaf of Guava (*Psidium guajava* L.) and the Fruit Hull of Mangosteen (*Garcina mangostana* L.)," *J Pharm Sci.* 16(2) : 32-35.

- Sindermsuk J & Deekijsermphonng S. (1989, May). "The Antibacterial Activities of Crude Extract from the Fruit Hull of *Garcinia mangostana* on Enteric Pathogens and Intestinal Commensal," *Bull Dept Med Serv.* 14(6) : 421-426.
- Sinsaku Natori, Nobuo Ikekawa & Makoto Suruki. (1981). *Advances in Natural Products Chemistry : Extraction and Isolation of Biologically Active Compounds.* Tokyo : Kodansha.
- Smith RM. & Sadaquat A. (1979, December). "Anthraquinones from the Leaves of *Cassia alata* from Fiji," *NZJ Sci.* 22(2) : 123-3.
- Smitimand T. (1980). *Thai Plant Names.* Bangkok : Royal Forest Department.
- Spears, Jacqueline & Zollmany Dran. (1977, January). "The Influence of Structured versus Unstructured Laboratory on Students' Understanding the Process of Science," *Journal of Research in Science Teaching.* 14(5) : 34-35.
- Stahl E. (1969). *Thin – Layer Chromatography.* A Laboratory Handbook 2nd ed. Berlin : Springer – Verlag.
- Stephen, Hanession, . (1983). *Total Synthesis of Natural Poducts : the Chiron Approach.* Oxford : Pergamon Press.
- Steven M. Colegate & Russell J. Molyneux. (1993). *Bioactive Natural Products : Detection , Isolation and Structural Determination.* Boca Ration, Fla : CRC Press.
- Trease GE & Evans WC. (1983). *Pharmacognosy .* 12th ed. Oxford : Bailliere Tindall.
- Tyler VE, Brady LR & Robbers JE. (1981). *Pharmacognosy.* 8th ed. Philadelphia : Lea & Febiger.

- Thamlikitkul V. et.al. (1990, January). "Randomized Controlled Trial of Cassia Alata Linn. For Constipation," *J. Med Ass.* 73(4) : 217-221.
- T. Robinson. (1981). *The Organic Constituents of Higher Plants*. 4th edition. Cordus Press, North Amherst, Mass. 0105 g
- William O.F. (1989). *Principles of Medicinal Chemistry*. 3rd ed. Philadelphia : Lea & Febiger.
- W.C. Evans. Trease & Evans. (1989). *Pharmacognosy*. 13th ed. London : Bailliere Tindall.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

- **รายนามผู้เชี่ยวชาญตรวจเครื่องมือวิจัย**
- **สำเนาหนังสือขอความอนุเคราะห์เพื่อความสะดวกในการทำปริญญานิพนธ์**

รายนามผู้เชี่ยวชาญ

รายนามผู้เชี่ยวชาญที่ให้ความอนุเคราะห์ แนะนำ ตรวจสอบ และแก้ไขเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

1. ดร.พลสันต์ โพธิ์ศรีทอง สถาบันราชภัฏ
2. ดร.บรรชา รัตนวัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
3. รองศาสตราจารย์ ดร.ประเสริฐ ศรีไพโรจน์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
4. รองศาสตราจารย์ ดร.ไพโรจน์ กลิ่นพิทักษ์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี
5. รองศาสตราจารย์ ดร.ทรงศักดิ์ เพชรมิตร มหาวิทยาลัยมหิดล
6. รองศาสตราจารย์ ดร.ระมัด โชชัย สถาบันราชภัฏกำแพงเพชร
7. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รัตนา สนั่นเมือง มหาวิทยาลัยนเรศวร
8. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิชัย ใจวิสุทธิ์हरणा สถาบันราชภัฏกำแพงเพชร
9. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มานพ มัทธุรศ สถาบันราชภัฏพระนคร
10. รองศาสตราจารย์ ดร.สุวิมล เขี้ยวแก้ว มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี
11. ศาสตราจารย์ ดร.สำเริง บุญเรืองรัตน์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ



ที่ ทม 1007/ 5537

บัณฑิตวิทยาลัย

มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

สุขุมวิท 23 กรุงเทพฯ 10110

13 ธันวาคม 2542

เรื่อง ขอเชิญเป็นผู้เชี่ยวชาญ

เรียน เลขาธิการสถาบันราชภัฏ

สิ่งที่ส่งมาด้วย แบบประเมินบทบาทวิชาการ

เนื่องด้วย นางสาวศิริกานต์ ผาสุข นิสิตระดับปริญญาเอก สาขาวิทยาศาสตร์ศึกษา มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ กำลังดำเนินการทำวิทยานิพนธ์ เรื่อง "การพัฒนาบทบาทวิชาการเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เรื่อง การสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรในท้องถิ่น สำหรับนักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตร์ของสถาบันราชภัฏ" โดยมี รองศาสตราจารย์ ดร.ณัฐพงษ์ เจริญพิทย์ รองศาสตราจารย์ ดร.สมสรร วงษ์อยู่น้อย และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ยงยุทธ ตันกุลเวสส เป็นคณะกรรมการควบคุมการทำวิทยานิพนธ์ ในกรณีนี้ บัณฑิตวิทยาลัยขอเรียนเชิญ ดร. พลสันห์ โพธิ์ศรีทอง เป็นผู้เชี่ยวชาญตรวจเครื่องมือการวิจัย

จึงเรียนมาเพื่อขอความอนุเคราะห์จากท่าน ได้โปรดพิจารณาให้ข้าราชการในสังกัดเป็นผู้เชี่ยวชาญให้ นางสาวศิริกานต์ ผาสุข ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการพัฒนาคุณภาพการศึกษา และขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้ด้วย

ขอแสดงความนับถือ

(ศาสตราจารย์ ดร.เสริมศักดิ์ วิศาลาภรณ์)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ปฏิบัติราชการแทนอธิการบดี

สำนักงานคณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

โทร. 258-4119, 664-1000 ต่อ 5644, 5646

โทรสาร. 258-4119



บันทึกข้อความ

ส่วนราชการ.....บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ โทร. 5644, 5646
 ที่.....ทม 1007/ ๑๕๖๔.....วันที่.....๑๖ ธันวาคม 2542
 เรื่อง.....ขอเชิญเป็นผู้เชี่ยวชาญ

เรียน คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

เนื่องด้วย นางสาวศิริกานต์ ผาสุข นิสิตระดับปริญญาเอก สาขาวิทยาศาสตร์ศึกษา มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ กำลังดำเนินการทำวิทยานิพนธ์ เรื่อง "การพัฒนาทบปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติเรื่อง การสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรในท้องถิ่น สำหรับนักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตร์ของสถาบันราชภัฏ" โดยมี รองศาสตราจารย์ ดร.ณัฐพงษ์ เจริญพิทย รองศาสตราจารย์ ดร.สมสรร วงษ์อยู่น้อย และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ยงยุทธ ตันกุลเวสส เป็นคณะกรรมการควบคุมการทำวิทยานิพนธ์ ในการนี้ บัณฑิตวิทยาลัยขอเรียนเชิญ รองศาสตราจารย์ ดร.ประเสริฐ ศรีไพโรจน์ และ ดร.บรรชา รัตนวัย เป็นผู้เชี่ยวชาญตรวจเครื่องมือการวิจัย

จึงเรียนมาเพื่อขอความอนุเคราะห์จากท่าน ได้โปรดพิจารณาให้ข้าราชการในสังกัดเป็นผู้เชี่ยวชาญให้ นางสาวศิริกานต์ ผาสุข ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการพัฒนาคุณภาพการศึกษา และขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้ด้วย

(ศาสตราจารย์ ดร. เสริมศักดิ์ วิศาลาภรณ์)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย



ที่ ทม 1012/ ๐๔ ๖/๕

บัณฑิตวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
สุขุมวิท 23 กรุงเทพฯ 10110

๙ สิงหาคม 2543

เรื่อง ขอเชิญเป็นผู้เชี่ยวชาญ

เรียน คณบดีคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี

สิ่งที่ส่งมาด้วย เอกสารประกอบบทปฏิบัติการฯ

เนื่องด้วย นางสาวศิริกานต์ ผาสุข นิสิตระดับปริญญาเอก สาขาวิทยาศาสตร์ศึกษา มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ได้รับอนุมัติให้ดำเนินการทำปริญญานิพนธ์ เรื่อง "การพัฒนาบทปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เรื่อง การสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรในท้องถิ่น สำหรับนักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตร์ของสถาบันราชภัฏ" โดยมี รองศาสตราจารย์ ดร.ณัฐพงษ์ เจริญพิทย์ รองศาสตราจารย์ ดร.สมสรร วงษ์อยู่น้อย และ รองศาสตราจารย์ ดร.ยงยุทธ ตันฑุลเวสส เป็นคณะกรรมการควบคุมการทำปริญญานิพนธ์ ในการนี้บัณฑิตวิทยาลัยขอเรียนเชิญ รองศาสตราจารย์ ดร.ไพโรจน์ กลิ่นพิทักษ์ เป็นผู้เชี่ยวชาญตรวจบทปฏิบัติการวิทยาศาสตร์

จึงเรียนมาเพื่อขอความอนุเคราะห์จากท่าน ได้โปรดพิจารณาให้ข้าราชการในสังกัดเป็นผู้เชี่ยวชาญให้ นางสาวศิริกานต์ ผาสุข ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการพัฒนาคุณภาพการศึกษ และขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้ด้วย

ขอแสดงความนับถือ

(ศาสตราจารย์ ดร.เสริมศักดิ์ วิศาลาภรณ์)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

สำนักงานคณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

โทร. 258-4119, 664-1000 ต่อ 5726, 5646

โทรสาร 258 4110

ที่ ทม 1012/ 1011



บัณฑิตวิทยาลัย

มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

สุขุมวิท 23 กรุงเทพฯ 10110

๖ มิถุนายน 2543

เรื่อง ขอเชิญเป็นผู้เชี่ยวชาญ

เรียน คณบดีคณะวิทยาศาสตร์เขตร้อน

สิ่งที่ส่งมาด้วย บทปฏิบัติการวิทยาศาสตร์

เนื่องด้วย นางสาวศิริกานต์ ผาสุข นิสิตรดับปริญญาเอก สาขาวิทยาศาสตร์ศึกษา มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ได้รับอนุมัติให้ดำเนินการทำปริญญานิพนธ์เรื่อง "การพัฒนาบทปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เรื่อง การสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรในท้องถิ่นสำหรับนักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรของสถาบันราชภัฏ" โดยมี รองศาสตราจารย์ ดร.ณัฐพงษ์ เจริญพิทย์ รองศาสตราจารย์ ดร.สมสรร วงษ์อยู่น้อย และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ยงยุทธ ตันทุลเวส เป็นคณะกรรมการควบคุมการทำปริญญานิพนธ์ ในการนี้ บัณฑิตวิทยาลัยขอเรียนเชิญ รองศาสตราจารย์ ดร.ทรงศักดิ์ เพชรมิตร เป็นผู้เชี่ยวชาญตรวจบทปฏิบัติการวิทยาศาสตร์

จึงเรียนมาเพื่อขอความอนุเคราะห์จากท่าน ได้โปรดพิจารณาให้ข้าราชการในสังกัดเป็นผู้เชี่ยวชาญให้ นางสาวศิริกานต์ ผาสุข ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการพัฒนาคุณภาพการศึกษา และขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้ด้วย

ขอแสดงความนับถือ

(ศาสตราจารย์ ดร.เสริมศักดิ์ วิศาลาภรณ์)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

สำนักงานคณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

โทร. 258-4119, 664-1000 ต่อ 5644, 5664

โทรสาร. 258-4119

ที่ ทม 1012/ ๒๕๔๖ ๕



บัณฑิตวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
สุขุมวิท 23 กรุงเทพฯ 10110

๔๓ มิถุนายน 2543

เรื่อง ขอเชิญเป็นผู้เชี่ยวชาญ

เรียน อธิการบดี สถาบันราชภัฏกำแพงเพชร

สิ่งที่ส่งมาด้วย บทปฏิบัติการวิทยาศาสตร์

เนื่องด้วย นางสาวศิริกานต์ ผาสุข นิสิตระดับปริญญาเอก สาขาวิทยาศาสตร์ศึกษา มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ได้รับอนุมัติให้ดำเนินการทำปริญญานิพนธ์เรื่อง "การพัฒนาบทปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เรื่อง การสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรในท้องถิ่นสำหรับนักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตร์ของสถาบันราชภัฏ" โดยมี รองศาสตราจารย์ ดร.ณัฐพงษ์ เจริญพิทย์ รองศาสตราจารย์ ดร.สมสรร วงษ์อยู่น้อย และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ยงยุทธ ตันจุลเวสส เป็นคณะกรรมการควบคุมการทำปริญญานิพนธ์ ในการนี้บัณฑิตวิทยาลัยขอเรียนเชิญ รองศาสตราจารย์ ดร.ระมัด โชชัย เป็นผู้เชี่ยวชาญตรวจสอบบทปฏิบัติการวิทยาศาสตร์

จึงเรียนมาเพื่อขอความอนุเคราะห์จากท่าน ได้โปรดพิจารณาให้ข้าราชการในสังกัดเป็นผู้เชี่ยวชาญให้ นางสาวศิริกานต์ ผาสุข ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการพัฒนาคุณภาพการศึกษา และขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้ด้วย

ขอแสดงความนับถือ

(ศาสตราจารย์ ดร.เสริมศักดิ์ วิศาลาภรณ์)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

สำนักงานคณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

โทร. 258-4119, 664-1000 ต่อ 5644, 5664

โทรสาร. 258-4119

ที่ ทม 1012/ 1476



บัณฑิตวิทยาลัย

มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

สุขุมวิท 23 กรุงเทพฯ 10110

๒ มิถุนายน 2543

เรื่อง ขอเชิญเป็นผู้เชี่ยวชาญ

เรียน คณะบดีคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

สิ่งที่ส่งมาด้วย บทปฏิบัติการวิทยาศาสตร์

เนื่องด้วย นางสาวศิริกานต์ ผาสุข นิสิตระดับปริญญาเอก สาขาวิทยาศาสตร์ศึกษา มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ได้รับอนุมัติให้ดำเนินการทำปริญญานิพนธ์เรื่อง "การพัฒนาบทปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เรื่อง การสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรในท้องถิ่นสำหรับ นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตร์ของสถาบันราชภัฏ" โดยมี รองศาสตราจารย์ ดร.ณัฐพงษ์ เจริญพิทย์ รองศาสตราจารย์ ดร.สมสรร วงษ์อยู่น้อย และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ยงยุทธ ตันทุลเวส เป็นคณะกรรมการควบคุมการทำปริญญานิพนธ์ ในการนี้ บัณฑิตวิทยาลัยขอเรียนเชิญ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รัตนา สนั่นเมือง เป็นผู้เชี่ยวชาญตรวจบทปฏิบัติการวิทยาศาสตร์

จึงเรียนมาเพื่อขอความอนุเคราะห์จากท่าน ได้โปรดพิจารณาให้ข้าราชการในสังกัดเป็นผู้เชี่ยวชาญให้ นางสาวศิริกานต์ ผาสุข ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการพัฒนาคุณภาพการศึกษา และขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้ด้วย

ขอแสดงความนับถือ

(ศาสตราจารย์ ดร.เสริมศักดิ์ วิศาลาภรณ์)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

สำนักงานคณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

โทร. 258-4119, 664-1000 ต่อ 5644, 5664

โทรสาร. 258-4119

ที่ ทม 1012/๖๕๐๖6



บัณฑิตวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
สุขุมวิท 23 กรุงเทพฯ 10110

๔/3 มิถุนายน 2543

เรื่อง ขอเชิญเป็นผู้เชี่ยวชาญ

เรียน คณะบดีคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏกำแพงเพชร

สิ่งที่ส่งมาด้วย บทปฏิบัติการวิทยาศาสตร์

เนื่องด้วย นางสาวศิริกานต์ ผาสุข นิสิตระดับปริญญาเอก สาขาวิทยาศาสตร์ศึกษา มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ได้รับอนุมัติให้ดำเนินการทำปริญญานิพนธ์เรื่อง "การพัฒนาระบบปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เรื่อง การสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรในท้องถิ่นสำหรับนักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรของสถาบันราชภัฏ" โดยมี รองศาสตราจารย์ ดร.ณัฐพงษ์ เจริญพิทย์ รองศาสตราจารย์ ดร.สมสรร วงษ์อยู่น้อย และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ยงยุทธ ตันทุลเวส เป็นคณะกรรมการควบคุมการทำปริญญานิพนธ์ ในการนี้ บัณฑิตวิทยาลัยขอเรียนเชิญ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิชัย ใจวิสุทธิहरษา เป็นผู้เชี่ยวชาญตรวจบทปฏิบัติการวิทยาศาสตร์

จึงเรียนมาเพื่อขอความอนุเคราะห์จากท่าน ได้โปรดพิจารณาให้ข้าราชการในสังกัดเป็นผู้เชี่ยวชาญให้ นางสาวศิริกานต์ ผาสุข ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการพัฒนาคุณภาพการศึกษา และขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้ด้วย

ขอแสดงความนับถือ

(ศาสตราจารย์ ดร.เสริมศักดิ์ วิศาลาภรณ์)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

สำนักงานคณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

โทร. 258-4119, 664-1000 ต่อ 5644, 5664

S. 1012/65066



บัณฑิตวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
สุขุมวิท 23 กรุงเทพฯ 10110

ที่ ทม 1012/ ๐๕๐๓ 7

๔3 มิถุนายน 2543

เรื่อง ขอเชิญเป็นผู้เชี่ยวชาญ

เรียน อธิการบดี สถาบันราชภัฏพระนคร

สิ่งที่ส่งมาด้วย บทปฏิบัติการวิทยาศาสตร์

เนื่องด้วย นางสาวศิริกานต์ ผาสุข นิสิตระดับปริญญาเอก สาขาวิทยาศาสตร์ศึกษา มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ได้รับอนุมัติให้ดำเนินการทำวิทยานิพนธ์เรื่อง "การพัฒนาบทปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เรื่อง การสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรในท้องถิ่นสำหรับนักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตร์ของสถาบันราชภัฏ" โดยมี รองศาสตราจารย์ ดร.ณัฐพงษ์ เจริญพิทย์ รองศาสตราจารย์ ดร.สมสรร วงษ์อยู่น้อย และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ยงยุทธ ตันทุลเวส เป็นคณะกรรมการควบคุมการทำวิทยานิพนธ์ ในการนี้ บัณฑิตวิทยาลัยขอเรียนเชิญ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มานพ มัทธูรศ เป็นผู้เชี่ยวชาญตรวจบทปฏิบัติการวิทยาศาสตร์

จึงเรียนมาเพื่อขอความอนุเคราะห์จากท่าน ได้โปรดพิจารณาให้ข้าราชการในสังกัดเป็นผู้เชี่ยวชาญให้ นางสาวศิริกานต์ ผาสุข ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการพัฒนาคุณภาพการศึกษา และขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้ด้วย

ขอแสดงความนับถือ

(ศาสตราจารย์ ดร.เสริมศักดิ์ วิศาลาภรณ์)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

สำนักงานคณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

โทร. 258-4119, 664-1000 ต่อ 5644, 5664

โทรสาร. 258-4119

ที่ ทม 1012/ 1๙๙๕



บัณฑิตวิทยาลัย

มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

สุขุมวิท 23 กรุงเทพฯ 10110

๓๐ มิถุนายน 2543

เรื่อง ขอเชิญเป็นผู้เชี่ยวชาญ

เรียน คณะบดีคณะศึกษาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี

สิ่งที่ส่งมาด้วย บทปฏิบัติการวิทยาศาสตร์

เนื่องด้วย นางสาวศิริกานต์ ผาสุข นิสิตระดับปริญญาเอก สาขาวิทยาศาสตร์ศึกษา มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ได้รับอนุมัติให้ดำเนินการทำปริญญานิพนธ์เรื่อง "การพัฒนาบทปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เรื่อง การสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรในท้องถิ่นสำหรับนักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรของสถาบันราชภัฏ" โดยมี รองศาสตราจารย์ ดร.ณัฐพงษ์ เจริญพิทย์ รองศาสตราจารย์ ดร.สมสรร วงษ์อยู่น้อย และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ยงยุทธ ตันทุลเวส เป็นคณะกรรมการควบคุมการทำปริญญานิพนธ์ ในการนี้บัณฑิตวิทยาลัยขอเรียนเชิญ รองศาสตราจารย์ ดร.สุวิมล เขียวแก้ว เป็นผู้เชี่ยวชาญตรวจบทปฏิบัติการวิทยาศาสตร์

จึงเรียนมาเพื่อขอความอนุเคราะห์จากท่าน ได้โปรดพิจารณาให้ข้าราชการในสังกัดเป็นผู้เชี่ยวชาญให้ นางสาวศิริกานต์ ผาสุข ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการพัฒนาคุณภาพการศึกษา และขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้ด้วย

ขอแสดงความนับถือ

(ศาสตราจารย์ ดร.เสริมศักดิ์ วิศาลาภรณ์)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

สำนักงานคณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

โทร. 258-4119, 664-1000 ต่อ 5644, 5664

โทรสาร. 258-4119



บันทึกข้อความ

ส่วนราชการ.....บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ โทร. 5644, 5646
 ที่.....มท 1007/ 5540.....วันที่.....13 ธันวาคม 2542
 เรื่อง.....ขอเชิญเป็นผู้เชี่ยวชาญ.....
 ,เรื่อง.....

เรียน ศาสตราจารย์ ดร.สำเร็จ บุญเรืองรัตน์

เนื่องด้วย นางสาวศิริกานต์ ผาสุข นิสิตระดับปริญญาเอก สาขาวิทยาศาสตร์ศึกษา มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ กำลังดำเนินการทำวิทยานิพนธ์ เรื่อง "การพัฒนาบทปฏิบัติการวิชาเคมี ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติเรื่อง การสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรในท้องถิ่น สำหรับนักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตร์ของสถาบันราชภัฏ" โดยมี รองศาสตราจารย์ ดร.ณัฐพงษ์ เจริญพิทย์ รองศาสตราจารย์ ดร.สมสรร วงษ์อยู่น้อย และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ยงยุทธ ตัณฑลเวสส เป็นคณะกรรมการควบคุมการทำวิทยานิพนธ์ ในการนี้ บัณฑิตวิทยาลัยขอเรียนเชิญท่าน เป็นผู้เชี่ยวชาญ ตรวจสอบเครื่องมือการวิจัย

จึงเรียนมาเพื่อขอความอนุเคราะห์จากท่าน ได้โปรดพิจารณาเป็นผู้เชี่ยวชาญให้ นางสาวศิริกานต์ ผาสุข ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการพัฒนาคุณภาพการศึกษา และขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง มา ณ โอกาสนี้ด้วย

(ศาสตราจารย์ ดร.เสริมศักดิ์ วิศาลาภรณ์)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ภาคผนวก ข
บทปฏิบัติการวิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ
เรื่องการสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพร

เอกสารประกอบบทปฏิบัติการ (ใบความรู้)

สาระสำคัญ

น้ำมันหอมระเหย (volatile oils, essential oils) พบได้ในส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น ดอก ใบ ผล กลีบเลี้ยง เป็นต้น ตามปกติน้ำมันหอมระเหยจะไม่มีสีแต่เมื่อตั้งทิ้งไว้นาน ๆ อาจจะถูกออกซิไดส์ ทำให้สีเข้มขึ้น ดังนั้นจึงควรเก็บไว้ในขวดสีชาที่ปิดสนิทเก็บไว้ในที่แห้งและเย็น

น้ำมันหอมระเหยประกอบด้วยส่วนประกอบทางเคมีที่สลับซับซ้อน อาจจะแบ่งน้ำมันหอมระเหยตามชนิดขององค์ประกอบใหญ่ๆ ได้ดังนี้

1. Hydrocarbon volatile oils ได้แก่ น้ำมันหอมระเหย ที่มี hydrocarbon เป็นองค์ประกอบหลัก ตัวอย่างของสารที่จัดเป็น hydrocarbon monocyclic terpene ได้แก่ limonene ซึ่งพบได้ในน้ำมันจากมินต์ ส้ม กระวานและน้ำมันสน และ p-cymene ซึ่งพบในน้ำมันจากลูกผักชี อบเชย นอกจากนี้พวก dicyclic monoterpene เช่น pinene ซึ่งพบได้ในน้ำมันยูคาลิปตัส น้ำมันดอกส้ม และน้ำมันลูกผักชี ก็พบมากเช่นกัน

2. Alcohol volatile oils ได้แก่ น้ำมันหอมระเหยที่มีแอลกอฮอล์เป็นองค์ประกอบหลัก ที่สำคัญได้แก่ น้ำมันมินต์ น้ำมันจากลูกผักชี ลูกกระวาน ดอกส้ม ดอกกุหลาบและน้ำมันสน ตัวอย่างของแอลกอฮอล์ที่พบบ่อยๆ ได้แก่ geraniol, citronellol ซึ่งเป็น acyclic alcohol ส่วน menthol และ α -terpineol เป็น monocyclic alcohol เป็นต้น

3. Aldehyde volatile oils ได้แก่ น้ำมันหอมระเหยที่มีสารจำพวกแอลดีไฮด์เป็นองค์ประกอบหลัก น้ำมันหอมระเหยที่จัดอยู่ในกลุ่มนี้ที่สำคัญ ได้แก่ น้ำมันอบเชย น้ำมันจากส้ม มะนาวและตะไคร้หอม ตัวอย่างของ aldehyde ที่พบ ได้แก่ geranial, neral และ citronellal เป็นต้น

4. Ketone volatile oils มีสารจำพวก ketones เป็นองค์ประกอบหลัก ตัวอย่างของ ketones ที่พบได้แก่ menthone, carvone piperitone และ pulegone ซึ่งเป็น monocyclic terpene ketone นอกจากนี้ยังพบ camphor, tenchone และ thujone ซึ่งเป็น dicyclic ketones น้ำมันหอมระเหย ที่สำคัญในกลุ่มนี้ ได้แก่ การบูร และมินท์

5. Phenol volatile oils มีสารจำพวก phenol เป็นองค์ประกอบหลัก phenol ที่พบได้แก่ น้ำมันกานพลู thyme oil, cresate, pine star และ juniper tar

6. Phenolic ether volatile oils มีสารจำพวก phenolic ether volatile oils มีสารจำพวก phenolic ether เป็นองค์ประกอบหลัก ตัวอย่างของน้ำมันหอมระเหยในกลุ่มนี้ ได้แก่ น้ำมันโป๊ยกั๊กซึ่งพบสาร anethole น้ำมันจันทร์เทศ และน้ำมัน sassafras ซึ่งพบสาร safrole เป็นต้น

7. Oxide volatile oils มีสารจำพวก oxides เป็นองค์ประกอบหลัก ตัวอย่างของสาร oxide ที่พบในน้ำมันหอมระเหย ได้แก่ cineole (eucalyptol) ซึ่งพบในน้ำมันยูคาลิปตัส

8. Ester volatile oils มีสารจำพวก esters เป็นองค์ประกอบหลัก ตัวอย่างของสารจำพวกเอสเทอร์ที่พบได้แก่ allyl isothiocyanate พบในน้ำมันมัสตาร์ด (mustard oil) และ methyl salicylate พบได้ใน wintergreen oil

วิธีการแยกน้ำมันหอมระเหยจากพืช

การแยกน้ำมันหอมระเหยจากพืช ทำได้ 5 วิธีใหญ่ๆ คือ

วิธีที่ 1 โดยการกลั่น (distillation) แบ่งออกเป็น

1.1 กลั่นด้วยไอน้ำ (water distillation) วิธีนี้มักใช้กับพืชแห้งและสารในพืชไม่สลายเมื่อถูกความร้อน เช่น การกลั่นด้วยน้ำมันสน

1.2 กลั่นด้วยน้ำและไอน้ำ (water and steam distillation) ใช้กับพืชสด หรือพืชแห้ง ซึ่งอาจจะถูกทำลายได้ด้วยความร้อน เช่น การกลั่นน้ำมันโอบเชย กานพลู โดยการหมักพืชในน้ำแล้วผ่านไอน้ำเข้าไป น้ำและน้ำมันจะถูกกลั่นออกมาด้วยกัน

1.3 กลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation) ใช้กับพืชสด เช่น การกลั่นน้ำมันมินท์ ในระหว่างการกลั่นน้ำมันหอมระเหยที่อุณหภูมิสูงๆ องค์ประกอบบางชนิดในน้ำมันหอมระเหยจะถูกสลายตัวด้วยน้ำ (hydrolyse) การกลั่นที่ดีควรกลั่นให้ไอน้ำกระจายตัวแทรกเข้าไปในพืชมากที่สุด แต่ทำให้เกิดการสลายตัวของสารต่างๆ น้อยที่สุด

วิธีที่ 2 โดยการบีบ (expression)

น้ำมันหอมระเหยบางชนิด เช่น น้ำมันจากผิวส้ม (orange oil) น้ำมันจากผิวมะนาว (lemon oil) จะสลายตัวได้เมื่อถูกความร้อน จึงใช้การบีบน้ำมันแทนการกลั่น

วิธีที่ 3 โดยวิธีเอนฟลูเรจ (enfleurage)

วิธีนี้เคยใช้มากในอุตสาหกรรมการทำน้ำหอม เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยในกลีบดอกไม้มีปริมาณน้อย จึงใช้การบีบไม่ได้ผล วิธีนี้ทำได้โดยใช้น้ำมันไม่ระเหยหรือไขมัน ชนิดไม่มีกลิ่น นำมาแผ่เป็นฟิล์มนี้ โปรงกลีบดอกไม้ลงไป ตั้งทิ้งไว้ 2-3 ชั่วโมง แล้วเก็บกลีบดอกไม้ ออก โปรงกลีบดอกไม้ชุดใหม่ลงแทน เพื่อให้ไขมันดูดซับน้ำมันหอมระเหยจากกลีบดอกไม้ไว้ จากนั้นนำไขมันที่ได้มาสกัดด้วยแอลกอฮอล์ เพื่อแยกน้ำมันหอมระเหยออกมา

วิธีที่ 4 โดยการสกัด (extraction)

ปัจจุบันในอุตสาหกรรมน้ำหอมจะใช้วิธีสกัดน้ำมันหอมระเหยจากพืชโดยใช้ตัวทำละลาย (solvents) ที่เหมาะสม เช่น เบนซีน หรือ ปิโตรเลียมอีเทอร์ โดยวิธีนี้น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จะมีกลิ่นคงเดิม เพราะไม่เกิดการสลายตัว เนื่องจากใช้อุณหภูมิต่ำ ข้อเสียของวิธีสกัดก็คือราคาแพง

วิธีที่ 5 โดยการกลั่นทำลาย (destructive distillation)

ใช้กับการกลั่นน้ำมันจากต้นไม้ในวงศ์ Pinaceae และ Cupressaceae โดยนำมาเผาในที่ที่มีอากาศไม่เพียงพอจะเกิดการสลายตัวได้สารระเหยออกมาซึ่งจะแยกได้เป็น 2 ชั้น คือ ชั้นน้ำ ซึ่งประกอบด้วย methyl alcohol และ crude acetic acid กับชั้นของน้ำมันดิน (tarry liquid) เช่น pine tar หรือ juniper tar ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของไม้

ประโยชน์ของน้ำมันหอมระเหย

น้ำมันหอมระเหยได้ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางเช่น น้ำหอม และใช้แต่งกลิ่นในเครื่องสำอางและในตำรับยา นอกจากนี้ น้ำมันหอมระเหยบางชนิดยังมีคุณสมบัติขบلمใช้เป็นสารฆ่าเชื้อโรค (antiseptic) แก้ปวดท้องได้อีกด้วย เช่น น้ำมันอบเชย น้ำมันกานพลู น้ำมันจากผิวมะนาว น้ำมันมินต์ เป็นต้น

บทปฏิบัติการที่ 1

เรื่อง การสกัดและแยกยูจีนอลจากน้ำมันกานพลูด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบก๊าซ

วัตถุประสงค์

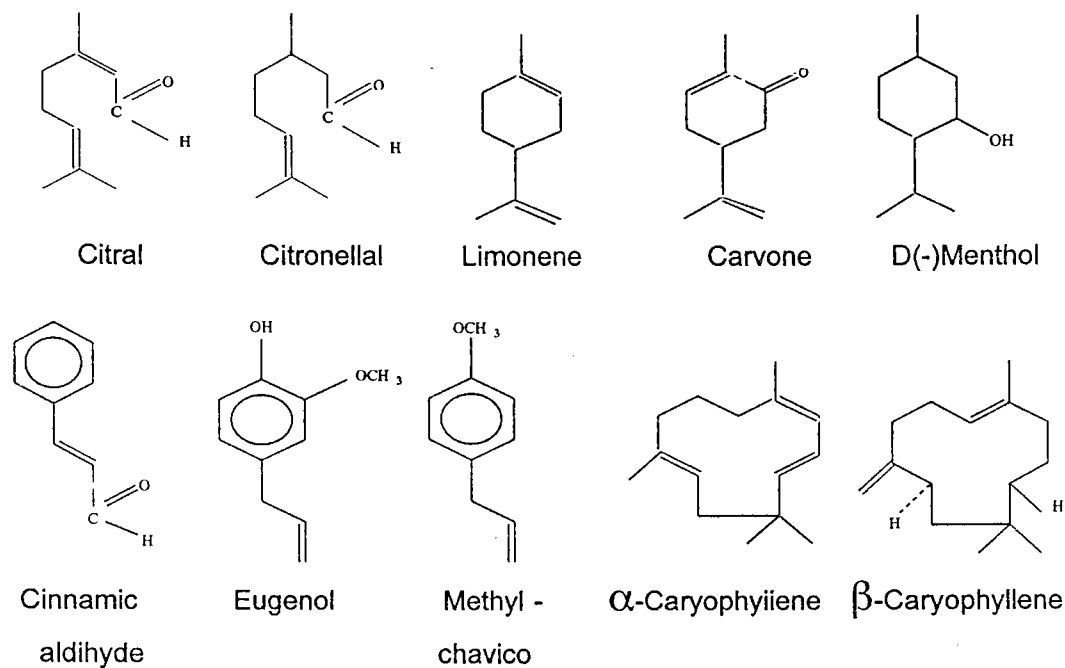
1. เพื่อศึกษาวิธีการสกัดน้ำมันกานพลูโดยการกลั่นด้วยไอน้ำ
2. เพื่อศึกษาวิธีการแยกยูจีนอลด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง
3. เพื่อศึกษาวิธีการแยกยูจีนอลด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบก๊าซ
4. เพื่อหาปริมาณยูจีนอลที่มีในน้ำมันกานพลู

หลักการ/ทฤษฎี

น้ำมันกานพลู เป็นน้ำมันสีเหลืองอ่อนใสได้จากการนำดอกกานพลูมากลั่นด้วยไอน้ำ ในน้ำมันกานพลูประกอบด้วย ยูจีนอล (eugenol) ประมาณร้อยละ 70-90 ที่เหลือเป็น eugenol acetate และ carophyllene (พเยาว์ เหมือนวงษ์ญาติ. 2537 : 111)

ประโยชน์ของน้ำมันกานพลูใช้เป็นยาฆ่าเชื้อโรค ใส่ฟันเพื่อฆ่าเชื้อและเป็นยาชาเฉพาะแห่ง ช่วยระงับอาการปวดฟัน ขับลม แต่งกลิ่น

ยูจีนอลเป็นน้ำมันหอมระเหย (essential oil) มีฤทธิ์ลดการบีบตัวของลำไส้ ทำให้อาการปวดท้องลดลง ช่วยขับน้ำดี ลดอาการจุกเสียดที่เกิดจากการย่อยไม่สมบูรณ์ ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย เช่น เชื้อบิดไม่มีตัว เชื้อไทฟอยด์ และเชื้อหนองเป็นต้น ในทางอุตสาหกรรม ใช้ยูจีนอล เป็นสารตั้งต้นในการเตรียมน้ำมัน เครื่องสำอางของยูจีนอล



ภาพแสดงสูตรโครงสร้างของน้ำมันหอมระเหยชนิดต่าง ๆ

อุปกรณ์ / เครื่องมือและสารเคมี

อุปกรณ์ / เครื่องมือ

1. ขวดรูปชมพู่
2. ปีเปต
3. ขวดวัดปริมาตร
4. ปีกเกอร์
5. ชุดกลั่นด้วยไอน้ำ
6. ชุดกรองบุชเนอร์
7. กรวยแยก
8. เครื่องระเหยสูญญากาศแบบหมุน
9. แผ่นสไลด์ขนาด 2.5 X 7.5 ซม. ที่เคลือบด้วยซิลิกาเจล จีเอฟ254
10. แผ่นกระจกขนาด 20 X 20 ซม. ที่เคลือบด้วยซิลิกาเจล จีเอฟ254
11. เครื่องส่องรังสีเหนือม่วง (UV – Lamp)
12. เครื่องโครมาโทกราฟีแบบก๊าซ (Gas chromatography) ยี่ห้อ SHIMADZU รุ่น GC- 14 B
13. เครื่องชั่งเชิงวิเคราะห์ทศนิยม 4 ตำแหน่ง

สารเคมี

1. เฮกเซน
2. โซเดียมซัลเฟตที่ปราศจากน้ำ
3. คลอโรฟอร์ม
4. สารละลายวานิลลิน - ซัลฟิวริก
5. สารละลายมาตรฐานยูจีนอล

พืชตัวอย่าง

ดอกกานพลูแห้ง

ตอนที่ 1 การสกัดน้ำมันกานพลูจากดอกกานพลูโดยการกลั่นด้วยไอน้ำ

วิธีการทดลอง

1. นำดอกกานพลูแห้ง ซึ่งมาประมาณ 300 กรัม
2. นำดอกกานพลูจากข้อ 1) มาโขลกให้ละเอียดแล้วนำไปสกัดโดยใช้เครื่องกลั่นด้วยไอน้ำ
3. นำสารสกัดจากข้อ 2) มาสกัดด้วยเฮกเซนในกรวยแยก โดยใส่เฮกเซนลงไปประมาณ 2 เท่าของสารสกัด แยกเอาชั้นเฮกเซน สกัดซ้ำอีก 3 ครั้ง รวมชั้นเฮกเซนเข้าด้วยกัน
4. นำชั้นเฮกเซนจากข้อ 3) มาใส่โซเดียมซัลเฟตที่ปราศจากน้ำ ในอัตราส่วน โซเดียมซัลเฟตที่ปราศจากน้ำ 1 กรัมต่อสารละลาย 10 ซม.³ กรองแยกชั้นเฮกเซนไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน จนได้สารสกัดเข้มข้น
5. นำสารสกัดเข้มข้นที่ได้ไปชั่งด้วยเครื่องชั่งเชิงวิเคราะห์ทศนิยม 4 ตำแหน่ง บันทึกผล

ตอนที่ 2 การแยกยูจีนอลจากน้ำมันกานพลูด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

วิธีการทดลอง

1. นำสารสกัดที่ได้จากตอนที่ 1หนัก 0.30 กรัมละลายในคลอโรฟอร์ม 100 ซม.³ ให้เป็นสารละลายเนื้อเดียวกัน
2. ใช้สำลีที่สะอาดพันปลายหลอดหยดเล็กน้อย นำไปจุ่มในสารละลายในข้อ 1) แล้วนำไปวางลงบนแผ่นกระจกที่เคลือบด้วยซิลิกาเจลขนาด 20 X 20 เซนติเมตร ทิ้งไว้ให้แห้ง นำ

ไปจุ่มในภาชนะที่อิมมัลด้วยไอของตัวทำละลายผสม ระหว่าง เฮกเซนต่อคลอโรฟอร์มในอัตราส่วน 3 : 7 จนตัวทำละลายซึมขึ้นมาถึงขอบบนกระจก นำแผ่นกระจกออกมาจากภาชนะปล่อยให้ตัวสารละลายแห้ง นำไปส่องด้วยเครื่องส่องรังสีเหนือม่วง สังเกตผล ใช้อุปกรณ์แหลมๆ เช่น เข็มขีดระหว่างแถบ แต่ละแถบที่ปรากฏบนแผ่นกระจก ทำซ้ำโดยใช้แผ่นกระจกในการนำมาแยกจำนวน 10 แผ่น

3. แยกแถบแต่ละแถบออกจากกัน แต่ละแถบมาเติมคลอโรฟอร์มลงไปพอท่วมสารคนด้วยเครื่องคนแม่เหล็ก กรองแยกซิลิกาออกด้วยชุดกรองบุชเนอร์

4. นำสารละลายที่กรองได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุนจนได้สารสกัดเข้มข้น นำไปชั่งด้วยเครื่องชั่งเชิงวิเคราะห์ทศนิยม 4 ตำแหน่ง บันทึกผล

5. แบ่งสารจากข้อ 4) มาละลายด้วยคลอโรฟอร์ม ทดสอบว่าสารที่แยกได้จากข้อ 3) แต่ละแถบว่าแถบใดเป็นยูจีนอล โดยนำสารที่ได้มาจุดบนแผ่นสไลด์ที่เคลือบด้วยซิลิกาเจล จีเอฟ 254 เทียบกับสารละลายมาตรฐานยูจีนอล ระบบตัวทำละลายที่ใช้คือ เฮกเซน : คลอโรฟอร์ม อัตราส่วน 3 : 7 ตรวจสอบด้วยสารละลายวานิลลินซัลฟิวริก บันทึกผล

ตอนที่ 3 การวิเคราะห์ยูจีนอลจากดอกกานพลูด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบก๊าซ

วิธีการทดลอง

1. นำสารสกัดเข้มข้นที่ได้จากตอนที่ 2 มาละลายด้วยคลอโรฟอร์มปริมาตร 5 ซม.³ จนได้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน

2. ใช้ไมโครไซริงค์ดูดสารละลายจากข้อ 1) ปริมาตร 1 ไมโครลิตรฉีดเข้าเครื่องโครมาโทกราฟีแบบก๊าซ สภาพของเครื่องเป็นดังนี้

Column : DB - 1 (Length 30 meters ; I.D. 0.25 mm. ; Film 0.25 μ m)

Flow rate : 30 ml / min

Carrier gas : Helium

Column oven : 220 °C

SPL : 253 °C

Detector (FID) : 250 °C

3. วิเคราะห์หาปริมาณ ยูจีนอลในน้ำมันกานพลูจากโครมาโทแกรมที่ได้ในหน่วยไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

รายงานการทดลองบทปฏิบัติการที่ 1

เรื่อง การสกัดและแยกยูจีนอลจากดอกกานพลูด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบก๊าซ

วัน / เดือน / ปีกลุ่มที่..... เวลาที่ใช้ในการทดลอง.....

ชื่อผู้ทดลอง

1.
2.

วัตถุประสงค์

.....

ผลการทดลอง

- ตอนที่ 1 การกลั่นน้ำมันกานพลูจากดอกกานพลูโดยการกลั่นด้วยไอน้ำ
 น้ำหนักของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้ เท่ากับ กรัม
- ตอนที่ 2 การแยกยูจีนอลจากดอกกานพลูด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง
 น้ำหนักของน้ำมันหอมระเหยที่แยกได้ เท่ากับ กรัม
- ตอนที่ 3 การแยกยูจีนอลจากดอกกานพลูด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบก๊าซ
 ปริมาณของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้ เท่ากับ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
 ค่า Retention Time ของสารมาตรฐานยูจีนอลเท่ากับ
 ค่า Retention Time ของยูจีนอลในสารตัวอย่างเท่ากับ

สรุปผลการทดลอง

.....

อภิปรายผลการทดลอง

.....

.....

.....

คำถามท้ายการทดลอง

1. ในการสกัดยูจีนอลจากดอกกานพลู ถ้าเราไม่ใช้การสกัดโดยการกลั่นด้วยไอน้ำเราอาจใช้วิธีการสกัดแบบใดแทนได้ เพราะเหตุใด

.....

.....

.....
2. ในการแยกสารผสมด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบางใช้หลักการใด และมีวัฏภาคใดเข้ามาเกี่ยวข้องบ้าง แต่ละวัฏภาคทำหน้าที่อย่างไร จงอธิบาย

.....

.....

.....
3. ถ้าเราต้องการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากผิวมะกรูด เราควรใช้วิธีการสกัดแบบใด จึงจะได้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยมากที่สุด เพราะเหตุใด

.....

.....

.....
4. จงบอกประโยชน์ของน้ำมันหอมระเหยต่อไปนี้
 - น้ำมันกระเพรา
 - น้ำมันอบเชย
 - น้ำมันมะกรูด
 - น้ำมันผิวส้ม

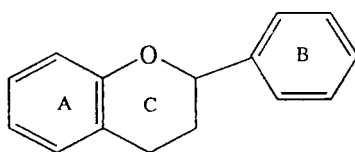
เอกสารอ้างอิง

- บัญญัติ สุขศรีงาม. (2519). *ประสิทธิภาพของกานพลูในการยับยั้งการเจริญของ Salmonella spp.* ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒบางแสน.
- ปรมา สัสดีพันธ์ และ ประรัชญา ผาสุข. (2535). *ฤทธิ์ต้านจุลชีพของกานพลูภายหลังการกลั่นน้ำมันหอมระเหยออก.* กรุงเทพฯ : โครงการพิเศษเภสัชศาสตร์บัณฑิต มหาวิทยาลัยมหิดล.
- เพยาร์ เหมือนวงษ์ญาติ. (2537). *สมุนไพรก้าวหน้าใหม่.* กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์เมดิคัลมีเดีย.
- เสมอพงศ์ จันเดชา และวินัย ศานติวงษ์การ. (2536). *การสกัดเปรียบเทียบน้ำมันหอมระเหยและสารสำคัญจากกานพลูที่ได้จากในและนอกประเทศ.* กรุงเทพฯ : โครงการพิเศษเภสัชศาสตร์บัณฑิต มหาวิทยาลัยมหิดล.
- สำนักงานคณะกรรมการสาธารณสุขมูลฐาน. (2530). *สมุนไพรใกล้ตัว.* กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก.
- Ali , Md . Ahad . et.al. (1996). *Sereening of different : solvent extracts of clove (Flower bud of Syrigium aromatica) for antibactereal activity.* Bangladesh J. Sci. Ind.Res .31 (2) : 141-146.
- Trease CE. Evans WC. (1989). *Pharmacognosy.* 13th ed. London : Baillire Tindall.
- United States. (1980). *Pharmacopoeia.* 20th rev. Rockville , Md : United State Pharmacopoeial Convention.

เอกสารประกอบบทปฏิบัติการ (ใบความรู้)

สาระสำคัญ

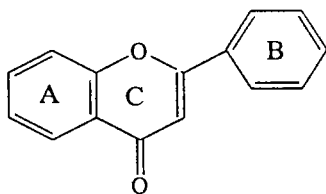
ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) เป็นสารที่พบได้ทั่วไปในอาณาจักรพืช สารในกลุ่มนี้ส่วนมากจะมีสีโดยจะพบมากที่สุดในสีของดอกไม้ ฟลาโวนอยด์ที่พบในธรรมชาติมักอยู่ในรูปกลัยโคไซด์ (glycoside) ทำให้ละลายได้ดีในน้ำและสะสมอยู่ใน vacuole หรือ cell sap สารฟลาโวนอยด์มีสูตรโครงสร้างหลักเป็นฟลาเวน (flavan) หรือ 2-ฟีนิลเบนโซไพแรน (2-phenyl benzopyran) ประกอบด้วยคาร์บอน 15 อะตอมเรียงกันเป็นระบบ $C_6 - C_3 - C_6$ ดังรูป



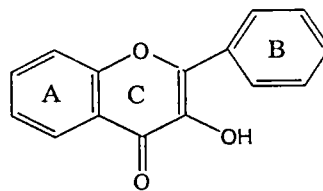
flavan

การแบ่งกลุ่มของฟลาโวนอยด์

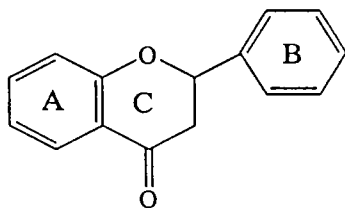
สารกลุ่มฟลาโวนอยด์จำแนกออกเป็นกลุ่มย่อย โดยอาศัยความแตกต่างของโครงสร้าง โดยเฉพาะในวง C ซึ่งเป็นวงที่มีออกซิเจน โดยอาจอยู่ในรูปอีเทอร์ รูปคีโตน หรือมีกลุ่มไฮดรอกซิลอยู่ในโมเลกุล มีการแบ่งกลุ่มได้ดังนี้



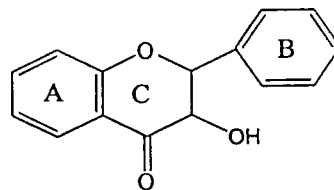
ฟลาโวน (flavones)



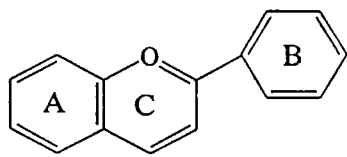
ฟลาโวนอล(flavonols)



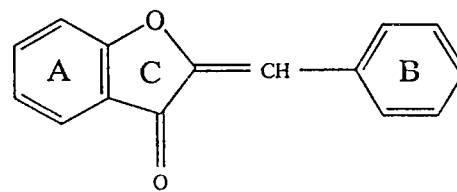
ฟลาวาโนน(flavones)



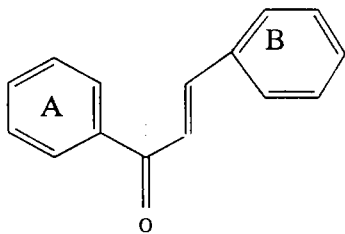
ฟลาวาโนนอล(flavanonols)



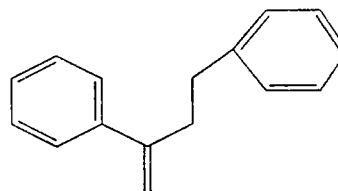
แอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins)



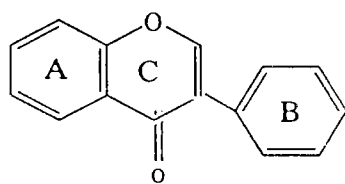
ออโรน (aurones)



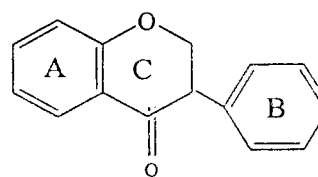
ซาลโคน (chalcones)



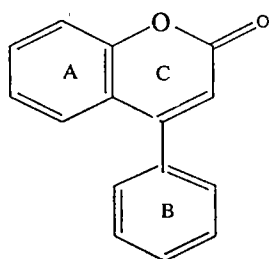
ไดไฮโดรซาลโคน(dihydrochalcones)



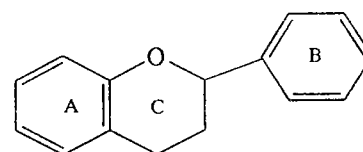
ไอโซฟลาโวน(isoflavones)



ไอโนฟลาวาโนน(isoflavanones)



นีโอฟลาโวนอยด์(neoflavonoids)



ฟลาแวน(flavans)

สารกลุ่ม ฟลาโวน และฟลาโวนอล

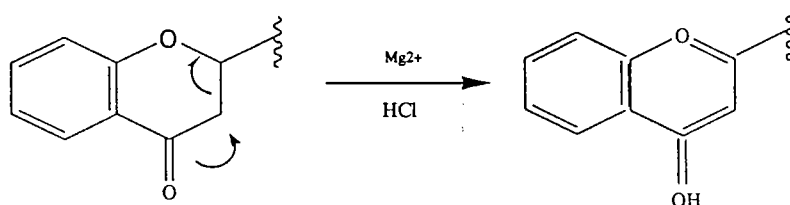
การแยกสกัดสารฟลาโวนอยด์

เทคนิคการสกัดและแยกสกัดต่าง ๆ จากพืช โดยทั่วไปใช้หลักของความสามารถในการละลาย (solubility) ของสารแต่ละชนิดในตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvent) การสกัดจึงเป็นการนำตัวทำละลายที่เหมาะสมไปละลายสารออกจากพืช โดยทั่วไปนิยมสกัดแยกสารส่วนใหญ่ออกมาก่อนโดยใช้ ethanol และ methanol แล้วจึงนำสารสกัดแยกอีกครั้งหนึ่ง

โดยทั่วไปนิยมสกัดครั้งแรกด้วย methanol ผสมน้ำ (9:1) นาน 6 – 12 ชั่วโมงแล้วกรองนำเอากากที่ที่เหลือมาสกัดต่อด้วย methanol ผสมน้ำ (1 : 1) จากนั้นนำสารสกัดทั้งสองส่วนมารวมกัน ระเหยโดยใช้เครื่องกลั่นภายใต้ความดันต่ำ ให้เหลือปริมาตรประมาณ 1 ใน 3 นำมาสกัดเอาสารปนเปื้อนที่มีขั้วน้อยออกเช่น ไขมัน chlorophyll และ carotenoids โดยใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วน้อย เช่น hexane หรือ ether โดยวิธีการ partition สารสกัดด้วย hexane หรือ ether จะต้องตรวจสอบว่ามีสาร flavonoids อยู่หรือไม่ ก่อนที่จะทิ้งไป วิธีการสกัดนี้ใช้ได้ดีกับ flavonoids เกือบทุกชนิด ยกเว้น anthocyanins และ flavonoids ที่มีขั้วน้อย นิยมสกัดด้วยตัวทำละลาย hexane หรือ ether แล้วจึงแยกต่อด้วยวิธีการทาง chromatography

การตรวจสอบสารฟลาโวนอยด์

นิยมใช้ Shinoda' s test ซึ่งเป็นการตรวจสอบ benzo- γ -pyron nucleus วิธีการตรวจสอบโดยนำสารสกัดพืชที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์ มาเติม magnesium ribbon ชิ้นเล็ก ๆ ลงไป 2 – 3 ชิ้นแล้วหยด HCl 3-4 หยด ดูสีที่เกิดขึ้นภายใน 1 – 2 นาที การเปลี่ยนแปลงนี้เกิดจากปฏิกิริยา reduction ตรงหมู่ carbonyl ทำให้เกิดโครงสร้างที่มีลักษณะคล้ายกับโครงสร้างของ anthocyanins



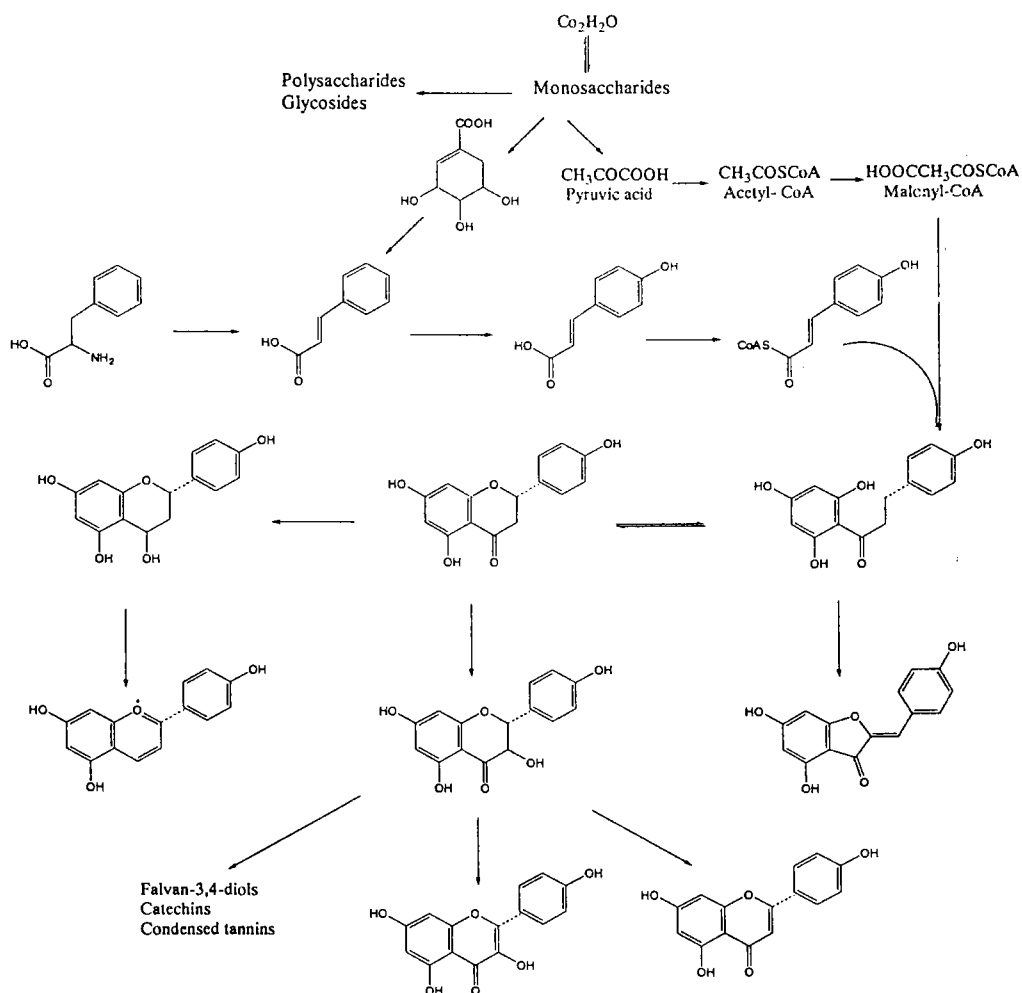
การตรวจสอบด้วยวิธีอื่น ๆ ได้แก่ การสังเกตสีภายใต้รังสีเหนือม่วง การอ้งไอแอมโมเนียแล้วสังเกตสีภายใต้รังสีเหนือม่วง และการใช้น้ำยาฟ่นตรวจสอบ (spraying reagent) ตัวอย่างเช่น เมื่อตรวจสอบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ภายใต้รังสียูวี ความยาวคลื่น 365 nm เห็นเป็นสีม่วง และเมื่ออ้งไอแอมโมเนียได้สีเหลืองหรือสีเหลืองอมเขียว อาจจำแนกได้ว่าเป็นสารกลุ่ม flavonoids หรือ flavonol ที่มี hydroxy group ที่ตำแหน่งที่ 5 แต่ถ้าดูภายใต้รังสียูวี ได้สี

ฟ้า แล้วอั้งไอแอมโมเนีย ได้สีเหลืองอมเขียวหรือฟ้ามเขียวอาจสรุปได้ว่าเป็น flavone หรือ flavonone ที่ไม่มี hydroxy group ที่ตำแหน่งที่ 5

การวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างโดยอาศัยข้อมูลทาง UV spectroscopy ทำให้ทราบได้ว่าเป็นฟลาโวนอยด์กลุ่มใดและมีหมู่ hydroxy หรือ methoxyl เชื่อมต่อกับคาร์บอนใด โดยการเติม shift reagent หรือน้ำยาที่ทำให้ยอดการดูดกลืนแสง ($\lambda_{\max}$) ของสารเปลี่ยนแปลงไปโดยทั่วไป UV spectrum ของฟลาโวนอยด์ประกอบด้วยยอดการดูดกลืน 2 ยอด ในช่วงความยาวคลื่น 240-285 นาโนเมตร และ 300-550 นาโนเมตร

ชีวสังเคราะห์ของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์

มีชีวสังเคราะห์จาก mixed biosynthesis คือ polyketide pathway และ shikimate pathway สารชนิดแรกในวิถีชีวสังเคราะห์นี้คือ chalcone



บทปฏิบัติการที่ 2

เรื่อง การสกัดและแยกแอนโธไซยานินจากดอกกระเจี๊ยบแดงด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

วัตถุประสงค์

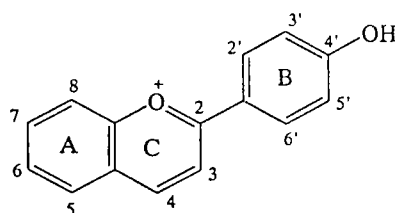
เพื่อศึกษาวิธีการสกัดแอนโธไซยานินจากดอกกระเจี๊ยบแดง

1. เพื่อศึกษาวิธีการแยกแอนโธไซยานินจากดอกกระเจี๊ยบแดงด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์
2. เพื่อตรวจสอบแอนโธไซยานินด้วยปฏิกิริยาเคมี

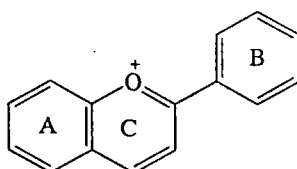
หลักการ/ทฤษฎี

แอนโธไซยานินเป็นสารพวงฟลาโวนอยด์ มีลักษณะเป็นเม็ดสีที่ละลายน้ำให้สีแดง ม่วง ฟ้ำ มีในใบ ดอก ผล น้ำผลไม้และในเหล้าองุ่น มีความคงตัวดีจึงมีความสำคัญในเชิงธุรกิจ แอนโธไซยานินเป็นกลัยโคไซด์ของ anthocyanidin ซึ่งมีโครงสร้างเป็น Flavylium salt ได้มาจาก catechin และ proanthocyanidin ซึ่งเป็นสารที่ไม่มีสี มักพบในพืชชั้นสูง เมื่อต้มสารจำพวก proanthocyanidin กับกรดจะให้ anthocyanidin

Anthocyanins



แอนโธไซยานิน



แอนโธไซยานิดิน(antnocyandins)

เม็ดสีแอนโธไซยานินทั่วไปมีสีแดงในสารละลายกรด เมื่อ pH สูงขึ้น (6.5 – 8) ได้สีม่วงของ anhydro base และได้สีฟ้าเมื่อเกิดเป็น salt form ที่ pH สูงขึ้นในธรรมชาติมีสีจากแอนโธไซยานินมากมาย เนื่องจากมีการเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับโลหะ ฟีนอลและ

แทนนิน รวมทั้งชนิดของอะกลัยโคน และปริมาณน้ำตาลในโมเลกุลความเข้มข้นของเมดสีนั้น และการรวมตัวกับสารอื่น ๆ เช่นฟลาโวนอยด์กลุ่มอื่น ๆ

กระเจี๊ยบแดง มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Hibiscus sabdariffa* Linn. วงศ์ Malvaceae จากการศึกษาพบว่าใบอ่อนมีกรดอินทรีย์ เช่น กรดฟอร์มิก มาลิก ฯลฯ ทำให้มีรสเปรี้ยวมี วิตามิน เอ ซี และแร่ธาตุต่าง ๆ ใบประดับ กลีบรองดอกสีแดงเข้มมีสารสีแดงพวก แอนโทไซยานิน และมีกรดอินทรีย์หลายชนิด เช่นกรดซิตริก ทาร์ทาริก ออกซาลิก มาลิก ฯลฯและมีสารอื่น ๆ เช่น hibiscetin, gossypetin, pectin และอื่น ๆ ประโยชน์ทางยาใช้ขับปัสสาวะและใช้ลดความดัน (เพยาร์ เหมือนวงศ์ญาติ. 2537 : 93 – 94

อุปกรณ์ / เครื่องมือและสารเคมี

อุปกรณ์/เครื่องมือ

1. หลอดทดลอง
2. กระบอกตวง
3. ปิเปต
4. แท่งแก้ว
5. หลอดแคพพิลลารี
6. สไลด์
7. คอลัมน์แก้ว ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 ซม. ยาว 25 ซม.
8. สำลี
9. หลอดหยด
10. เครื่องชั่งแบบวิเคราะห์ทศนิยม 4 ตำแหน่ง
11. เครื่องส่องรังสีเหนือม่วง

สารเคมี

1. เมทานอล
2. กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1 %
3. เอ็น – บิวทานอล
4. กรดเกลเซียลอะซิดิก
5. น้ำกลั่น
6. ทรายละเอียดยที่เป็นกลาง
7. ซิลิกาเจลสำหรับคอลัมน์โครมาโทกราฟี
8. แมกนีเซียม

พืชตัวอย่าง

ดอกกระเจี๊ยบแดง

ตอนที่ 1 การสกัดแอนโธไซยานินจากดอกกระเจี๊ยบแดง

วิธีการทดลอง

1. นำดอกกระเจี๊ยบแดงหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ชั่งมา 2 กรัม ใส่ในหลอดทดลองใส่ทรายละเอียดที่สะอาดลงไปเล็กน้อย
2. เติมสารละลายผสมของเมทานอล : กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น ในอัตราส่วน 99 : 1 โดยปริมาตร เติมลงไป 12 – 20 ซม.³ บดด้วยแท่งแก้วให้สีออกมาจากดอกกระเจี๊ยบให้หมด ใช้ปิเปตดูดสารละลายเก็บไว้ในหลอดทดลอง บันทึกผล

ตอนที่ 2 การแยกแอนโธไซยานินจากดอกกระเจี๊ยบแดงด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี

แบบเยื่อบาง

วิธีการทดลอง

1. แบ่งสารละลายที่สกัดได้จากตอนที่ 1 มา 2 ซม.³ ใช้หลอดแคบฟิลลารีจุ่มลงในสารละลาย แล้วนำไปจุดลงบนแผ่นสไลด์ที่เคลือบด้วยซิลิกาเจล GF 254 ปลอยไว้ ให้แห้ง
2. นำแผ่นสไลด์ จากข้อ 1) นำไปจุ่มในภาชนะที่อ้อมตัวด้วยไอของตัวทำละลายผสมของ เอ็น-บิวทานอล : กรดกลูเซอริก : น้ำ ในอัตราส่วน 6 : 1.5 : 2.5
3. เมื่อตัวทำละลายซึมขึ้นมาถึงขอบบนของสไลด์ นำแผ่นสไลด์ออกปลอยให้แห้งแล้วไปส่องรังสียูวี บันทึกผล

ตอนที่ 3 การแยกแอนโธไซยานินด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

วิธีการทดลอง

1. บรรจุซิลิกาเจล สำหรับคอลัมน์โครมาโทกราฟี ลงในคอลัมน์แก้วระวังอย่าให้มีฟองอากาศ โดยใช้ตัวทำละลายผสมของ เอ็น-บิวทานอล : กรดกลูเซอริก : น้ำ ในอัตราส่วน 6 : 1.5 : 2.5 ให้ได้ความสูงของซิลิกาเจลประมาณ 3 ใน 4 ของคอลัมน์ ใส่ทรายละเอียดลงบนผิวหน้าของซิลิกาเจลเล็กน้อยเพื่อป้องกันผิวหน้าของซิลิกากระเทือน
2. นำสารสกัดจากดอกกระเจี๊ยบแดงที่ได้จากตอนที่ 1 มา 3 ซม.³ ใช้หลอดหยดดูดสารสกัดแล้วค่อยๆ หยดใส่ข้างๆ คอลัมน์ ให้รอบ ให้สารสกัดค่อยๆ ซึมผ่านทรายลงไป
3. เมื่อสารสกัดซึมผ่านทรายลงไปหมดแล้ว ค่อย ๆ เทตัวทำละลายลงไป จนสารสกัดเกิดการแยก เก็บสารที่แยกได้ใส่ภาชนะโดยเก็บไว้ครั้งละ 30 ซม.³ บันทึกสีของสารที่แยกได้

ตอนที่ 4 การตรวจสอบแอนโรไซยานินด้วยปฏิกิริยาเคมี

1. การทดสอบชิโนดา (Shinoda test) นำสารละลายที่แยกได้จากตอนที่ 3 ใส่หลอดทดลอง 3 ซม.³ เติมกรด HCl เข้มข้น ปริมาตร 1 ซม.³ และใส่โลหะแมกนีเซียมหนัก 0.1 กรัม ลงไป 3-4 อัน สังเกตการเปลี่ยนแปลง บันทึกผล
2. นำสารละลายที่แยกได้จากตอนที่ 3 ใส่หลอดทดลอง 3 ซม.³ เติมสารละลายกรด HCl เข้มข้น 1 % จำนวน 1 ซม.³ นำไปต้มนาน 1 นาที สังเกตการเปลี่ยนแปลง บันทึกผล
3. นำสารสกัด 1 ซม.³ เติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 2 นอร์มัล สังเกตการเปลี่ยนแปลงค่อย ๆ เติมสารละลายแอมโมเนียทีเอส ทีละหยด สังเกตการเปลี่ยนแปลง

การเตรียมรีเอเจนต์

สารละลายแอมโมเนียทีเอส

แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์	35.7 ซม. ³
----------------------	-----------------------

น้ำกลั่น	100.0 ซม. ³
----------	------------------------

รายงานการทดลองบทปฏิบัติการที่ 2

เรื่อง การสกัดและแยกแอนโธไซยานินจากดอกกระเจี๊ยบแดงด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

วัน/เดือน/ปีกลุ่มที่..... เวลาที่ใช้ในการทดลอง.....

ชื่อผู้ทดลอง

1

2

วัตถุประสงค์

.....

ผลการทดลอง

ตอนที่ 1 การสกัดแอนโธไซยานินจากดอกกระเจี๊ยบแดง

ดอกกระเจี๊ยบแดงที่สกัดได้มีสี.....

ตอนที่ 2 การแยกแอนโธไซยานินด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

แยกสารได้.....จุด เมื่อส่องด้วยรังสียูวีสารที่แยกได้มีสี.....

ตอนที่ 3 การแยกแอนโธไซยานินด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

สารที่แยกได้มีสี.....

ตอนที่ 4 การตรวจสอบแอนโธไซยานินด้วยปฏิกิริยาเคมี

1. การทดสอบชิโนดา (Shinoda test) ผลการทดลอง

.....
 2. ผลการทดลอง

3. เมื่อเติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 2 นอร์มัล ลงไปได้สี.....

และเมื่อเติมสารละลายแอมโมเนียที่เอสลงไปที่ละหยดได้สี.....

สรุปผลการทดลอง

.....

.....

.....

อภิปรายผลการทดลอง

.....

.....

.....

.....

คำถามท้ายบท

1. เรามีวิธีการทดสอบได้อย่างไรว่าในพืชมีสารแอนโทไซยานินอยู่

.....

.....

.....
2. โครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์มีหลักการในการแยกสารผสมอย่างไรและจัดเป็นโครมาโทกราฟีประเภทใด เพราะเหตุใด

.....

.....

.....
3. จงยกตัวอย่างพืชที่มี flavonoid มา 5 ตัวอย่าง และบอกวิธีการทดสอบมาด้วย

.....

.....

.....

.....
4. ในการแยก สารแอนโทไซยานินจากดอกกระเจี๊ยบแดงด้วยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์สารที่แยกได้แต่ละสีเป็นสารประเภทใด เพราะเหตุใด

.....

.....

.....

.....

5. ในการสกัดแอนโทไซยานินจากดอกกระเจี๊ยบแดง ควรใช้ตัวทำละลายชนิดใดจึงจะเหมาะสมและดีที่สุด เพราะเหตุใด

.....

.....

.....

.....

เอกสารอ้างอิง

- พเยาว์ เหมือนวงษ์ญาติ. (2537). *สมุนไพรแก้วใหม่*. กรุงเทพฯ : บริษัทเมดิคัลมีเดีย จำกัด.
- อ้อมบุญ ล้วนรัตน์. (2529). *ฟลาโวนอยด์คอมพาวด์.เภสัชวินิจฉัย เล่ม 2*. กรุงเทพฯ :
ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์มหาวิทยาลัยมหิดล.
- มยุรี เนดิน้อย และวีระสิงห์ เมืองมั่น . (2533, กรกฎาคม-กันยายน). “ การศึกษา
เปรียบเทียบประสิทธิภาพของกระเจี๊ยบแดง และโปแตสเซียมซัลเฟตต่อการลดปัจจัย
เสี่ยงในการเกิดนิ่วทางเดินปัสสาวะ”. *รวมาริบดีเวชสาร* . 13 (3) 25-29.
- ภูมิพิชญ์ สุขาวรรณ. (2535). *พืชสมุนไพรใช้เป็นยา เล่ม 3*. กรุงเทพฯ : บริษัทอักษราพิพัฒน์
จำกัด.
- Haruna , A.K. (1997, May). “Cathartic Activity of Soborodo : the Aqueous Extract
of calyx of Hibiscus sabdariffa L. *Phytother . Res* . 11(8) : 307-308.
- Haruna ,A.K. (1997, October). “chemical constituents of H. sabdariffa . Annual
Proceedings of Scientific Conference,”. *Nat. Scien . conf* . 2 (15) : 226-232.
- T. robinson. (1981). *The Organic constituents of Higher Plants*. 4th edition. Cordus
press, Noth Amherst.

เอกสารประกอบบทปฏิบัติการ (ใบความรู้)

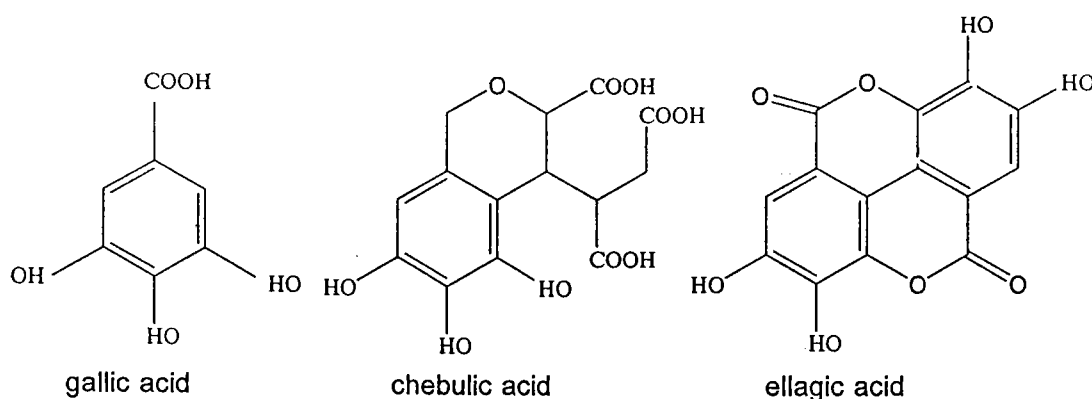
สาระสำคัญ

แทนนินเป็นสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) มีโครงสร้างซับซ้อน พบได้เฉพาะในพืช คำว่าแทนนินหมายถึงสารจากพืชที่สามารถเข้ารวมตัวกับโปรตีนหนังสัตว์ (animal hide) ทำให้ไม่เกิดการเน่าเปื่อยตามธรรมชาติ จึงนำมาใช้ทำผลิตภัณฑ์เครื่องหนัง ดังนั้นแทนนินจึงไม่รวมไปถึงสารประกอบฟีนอลิกอื่น ๆ ที่ให้ปฏิกิริยาบางอย่างของแทนนิน ซึ่งสารเหล่านี้มักมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ เช่น gallic acid, catechin และ chebulic acid เป็นต้น เรียกโดยรวมว่า pseudotannin ส่วน true tannin จะมีน้ำหนักโมเลกุลตั้งแต่ 1,000-5,000 แทนนินอาจมีน้ำตาลมาเชื่อมอยู่ในรูปของกลัยโคไซด์ได้

แทนนินแบ่งเป็น 2 ประเภทตามส่วนประกอบของโครงสร้าง คือ

1. ไฮโดรไลเซเบิล แทนนิน (Hydrolysable tannin or Gallotannin)

เป็นสาร amorphous มีสีน้ำตาลนวลเป็นเอสเตอร์ของ กรดฟีนอลิก พวก กรด แกลลิก และ กรดแอลลาจิกกับน้ำตาล เมื่อต้มกับกรดหรือถูกกับน้ำย่อย (tannase) จะถูกสลายตัวด้วยน้ำออกเป็นส่วนประกอบย่อยๆ

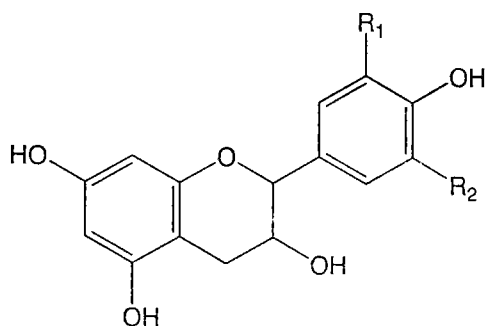


คุณสมบัติของไฮโดรไลเซเบิล แทนนิน

- 1) ถูกสลายตัวด้วยน้ำโดยกรดหรือน้ำย่อย เช่น tannase
- 2) ทำปฏิกิริยากับเกลือของเหล็กจะได้สารละลายสีฟ้า หรือน้ำเงิน เช่นเดียวกับกรดแกลลิก
- 3) เมื่อนำมากลั่นแห้ง (dry distillation) จะได้ไพโรแกลลอล

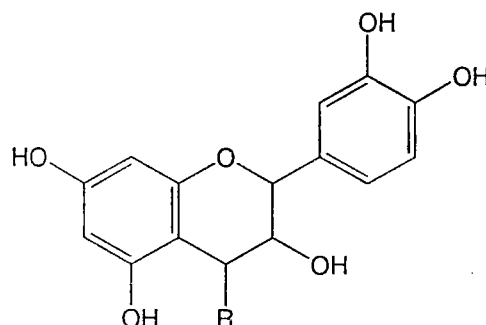
2. คอนเดนส์แทนนิน (Condensed tannin)

เป็นแทนนินที่มีโครงสร้างสัมพันธ์กับฟลาแวน-3-อล (flavan-3-ol) หรือ คาทีชิน (catechin) หรือ ฟลาแวน-3, 4-ไดออล (flavan-3,4-diols) หรือ อิวโคแอนโทไซยานิน (leucoanthocyanidin) อาจเรียกแทนนินชนิดนี้ว่า แคทคอลแทนนิน (catechol tannins) หรือ โปรแอนโทไซยานิน (proanthocyanidins)



catechin : R = H

melacacidin : R = OH



gallocatechin $R_1 = OH, R_2 = OH$

afzelechin $R_1 = R_2 = H$

คุณสมบัติของคอนเดนส์แทนนิน

1) โมเลกุลของคอนเดนส์แทนนิน ไม่ถูกสลายตัวด้วยน้ำ โดยกรดหรือน้ำยอย แต่จะเกิดปฏิกิริยาโพลีเมอไรเซชัน (polymerisation) ได้สารที่ไม่ละลายน้ำมีสีแดงเรียกว่า ฟลอบาฟีน (phlobaphene)

2) เมื่อนำไปกลั่นแห้งจะได้ แคทคอล (catechol)

3) เมื่อทำปฏิกิริยากับเกลือของเหล็ก จะได้สารละลายสีเขียวเหมือนกับ แคทคอล

การตรวจสอบแทนนินด้วยปฏิกิริยาเคมี โดยทดสอบกับสารละลายต่อไปนี้

1) สารละลายเจลาติน (gelatin solution) ถ้ามีแทนนินจะเกิดตะกอนขาวขุ่น

2) สารละลายเจลาติน-เกลือแกง (gelatin salt solution) ถ้ามีแทนนินจะเกิดตะกอนขาวขุ่น

3) สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ เข้มข้น 1 % (ferric chloride) ถ้ามีแทนนินจะได้สีน้ำเงินเขียว

4) น้ำโบรมีน (bromine water) ถ้ามี แทนนินจะได้ตะกอนเบาสีอ่อน

5) การทดสอบฟอร์มาลิน-กรดเกลือ (formalin-HCl test) ถ้ามีตะกอนจะเกิดตะกอนสีแดงไม่ละลายในน้ำร้อน

6) การทดสอบวานิลลิน-กรดเกลือแทนนิน (Vanillin-HCl test) ถ้ามีแทนนินจะได้สีแดง

7) น้ำปูนใส (Lime water) ถ้ามีแทนนินจะได้สีเหลืองบนน้ำเงินเทา

การสกัดสารกลุ่มแทนนิน

แทนนินเป็นสารที่ละลายน้ำ แต่อาจจะได้เป็นสารละลายคอลลอย มีฤทธิ์เป็นกรด สามารถละลายได้ในสารละลายต่าง เจือจาง , แอลกอฮอล์ , กลีเซอรอล และ อะซีโตน ละลายได้น้อยในตัวทำละลายอินทรีย์อื่น ๆ ดังนั้นในการสกัดสารกลุ่มแทนนินจึงนิยมสกัดพืชด้วยแอลกอฮอล์ หรือนำมาต้มกับน้ำ แล้วจึงนำไปทดสอบกลุ่มของแทนนิน

การตรวจสอบกลุ่มของแทนนิน

1. แทนนินทุกชนิดทำปฏิกิริยากับเจลาติน สารละลายแอลคาลอยด์ล สารละลายไอออนของโลหะหนัก แอลบูมิน และน้ำแป้ง ผลการทดสอบเป็นบวก (positive test) จะเกิดการตกตะกอน

2. แทนนินทุกชนิดทำปฏิกิริยากับโปแตสเซียมเฟอโรไซยาไนด์ และแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ผลบวกจะเกิดสารประกอบเชิงซ้อนสีแดง

3. ไฮโดรไลเซเบิลแทนนิน ทำปฏิกิริยากับสารละลายเฟอริกคลอไรด์ ผลการทดสอบเป็นบวกจะได้ตะกอนสีน้ำเงิน-ดำ

คอนเดนส์แทนนินทำปฏิกิริยากับสารละลายเฟอริกคลอไรด์ ผลการทดสอบเป็นบวก จะได้ตะกอนสีเขียว-น้ำตาล

การทดสอบนี้จะให้ผลบวกกับสารประกอบฟีนอลิกอื่น ๆ ด้วย

4. ไฮโดรไลเซเบิลแทนนินทำปฏิกิริยากับน้ำโบรมีน ผลการทดสอบเป็นบวกจะไม่เกิดตะกอน

คอนเดนส์แทนนินทำปฏิกิริยากับน้ำโบรมีน ผลการทดสอบเป็นบวกจะเกิดการตกตะกอน

5. ไฮโดรไลเซเบิลแทนนินทำปฏิกิริยากับน้ำปูนใส ผลการทดสอบเป็นบวกจะได้ตะกอนสีน้ำเงินอมเทา

6. คอนเดนส์แทนนินทำปฏิกิริยากับสารละลายฟอร์มัลดีไฮด์ เข้มข้น 40% ผลการทดสอบเป็นบวกจะได้ตะกอนสีแดง

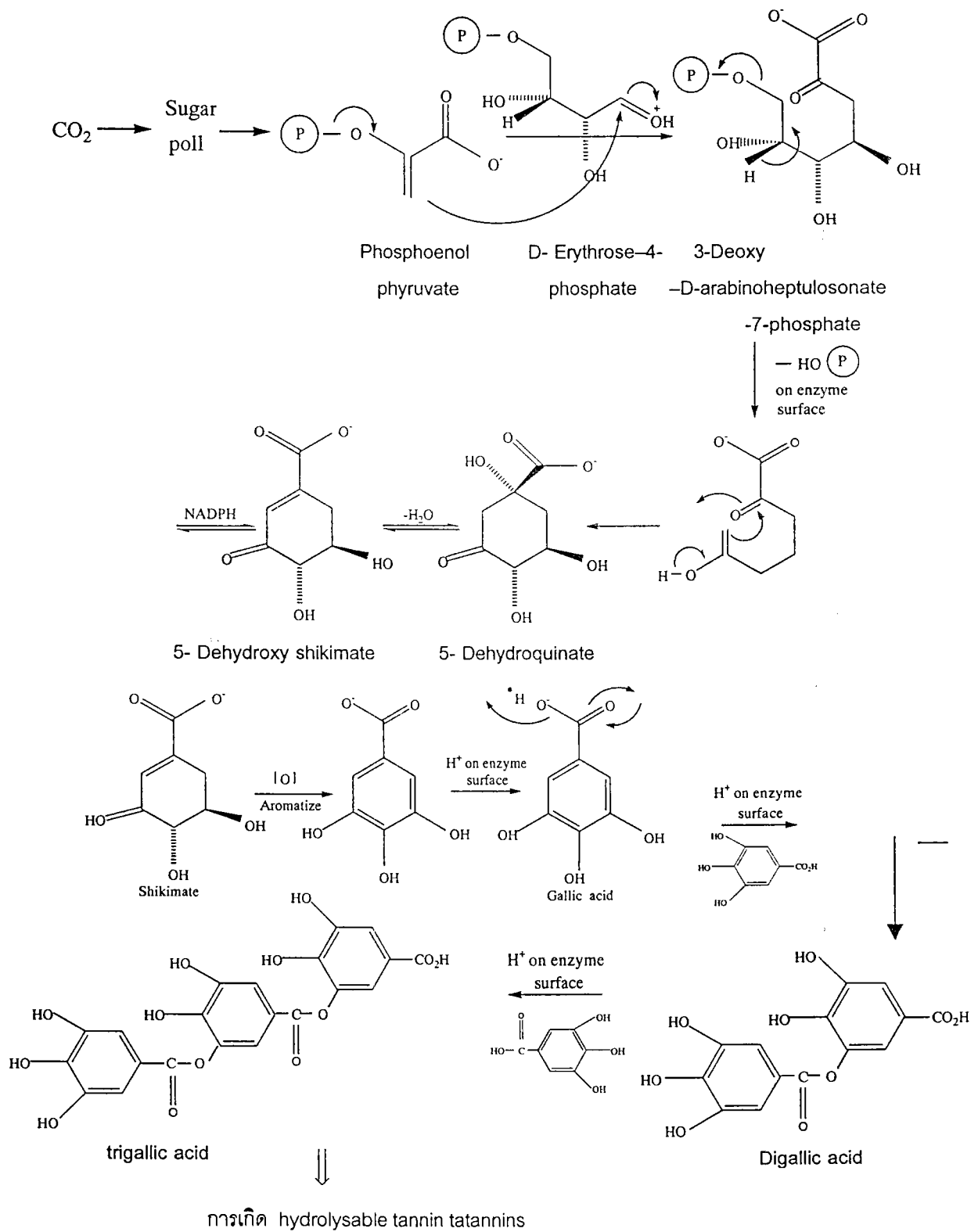
7. คอนเดนส์แทนนินทำปฏิกิริยากับสารละลายวานิลลินและสารละลายกรดเกลือ ผลการทดสอบเป็นบวกจะได้สารสีแดงเลือดนก

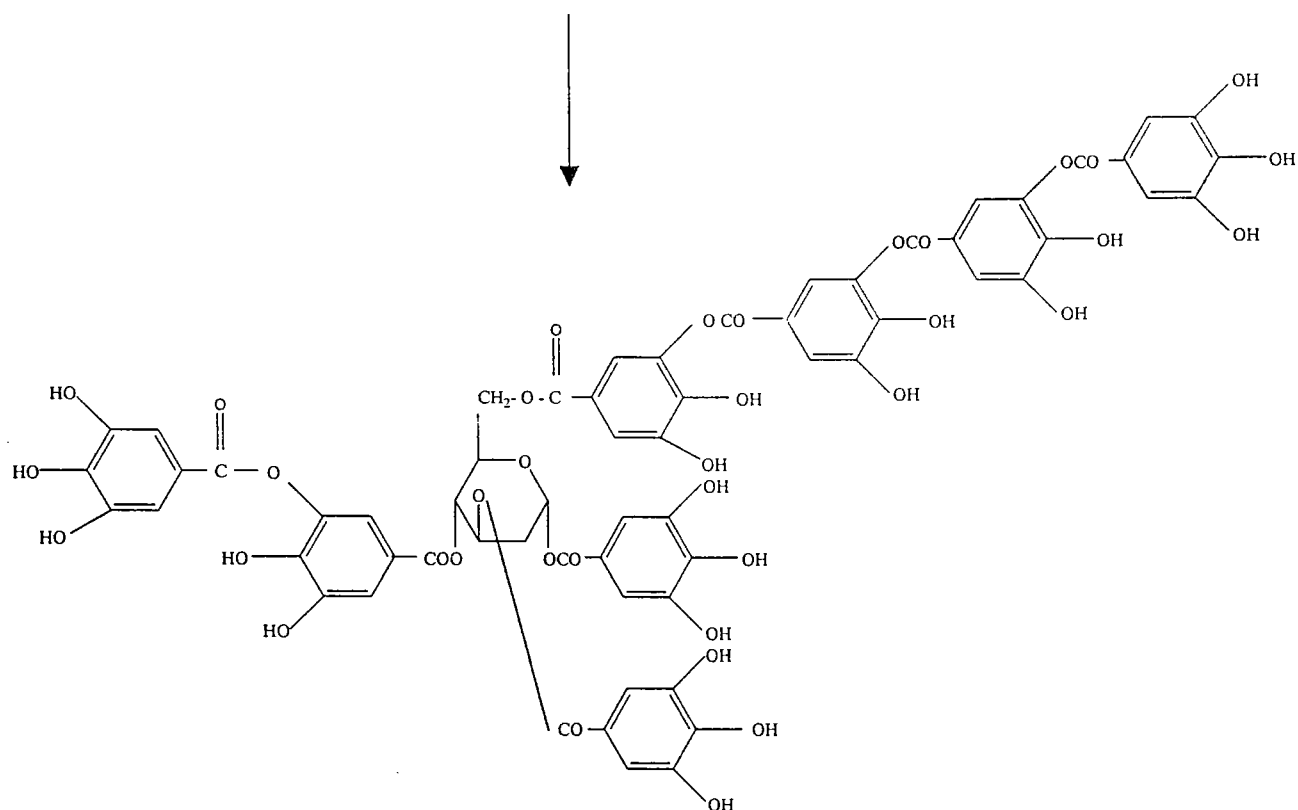
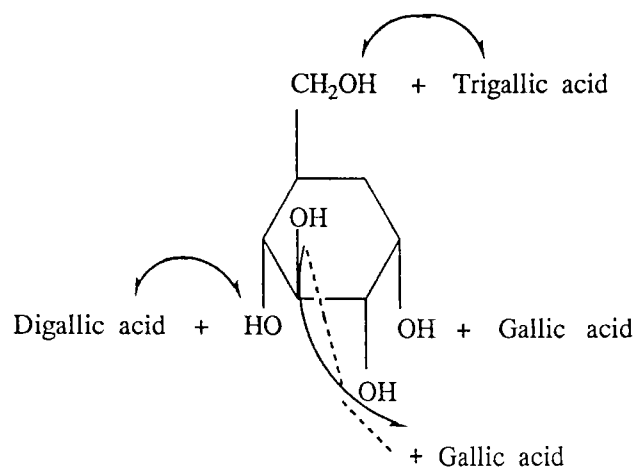
ประโยชน์ของแทนนิน

แทนนินมีรสฝาด จึงใช้เป็นยาฝาดสมาน (astringent) ในตำรายาแผนโบราณจะรวมสมุนไพรที่มีแทนนินไว้ในตำรายาแก้ท้องเสีย และเนื่องจากแทนนินสามารถตกตะกอนโปรตีน จึงนำมาใช้ในอุตสาหกรรมฟอกหนัง ใช้ในอุตสาหกรรมเบียร์ , น้ำหมัก, สีย้อม , กระดาษ และผ้าไหม ใช้เป็นสารแก้พิษ (antidote) ของโลหะและสารกลุ่มแอลคาลอยด์ (alkaloids) เป็นต้น ฤทธิ์ทางชีวภาพด้านอื่น ๆ ได้แก่ ulcer treatment, antimicrobial, antineoplasm และ antihypertensive

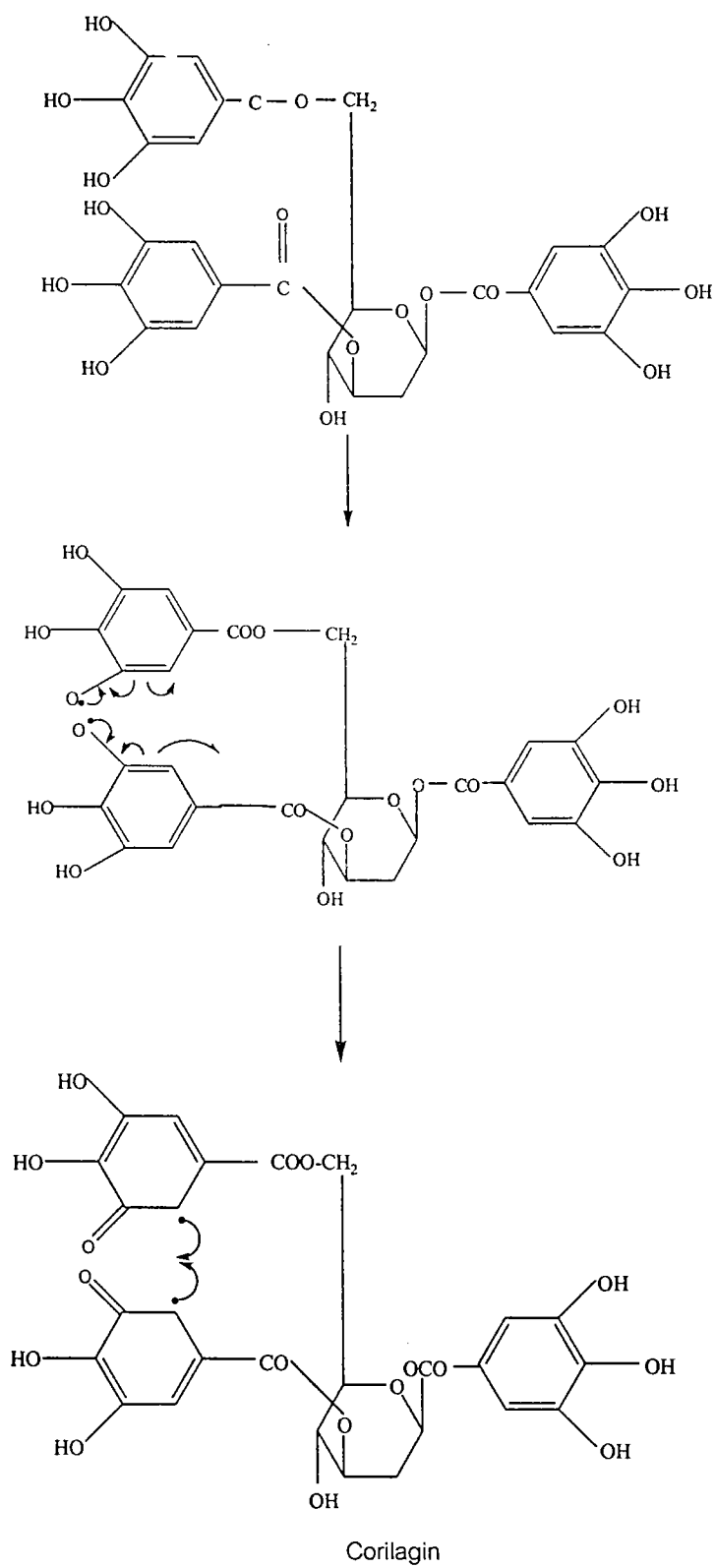
ในทางเภสัชนิยมใช้กรดแทนนินแต่งรสยาลดกรดและช่วยลดกรดได้ด้วย ในยาเตรียมที่ต้องการฤทธิ์ haemostatic และ anti – inflammatory เช่นในน้ำยาบ้วนปาก (mouthwash) และยาเตรียมรักษาแผลและอาการอักเสบของผิวหนังและเยื่อผิวหนัง เช่นแผลจากไฟไหม้ (burns) จะมีแทนนินเป็นส่วนประกอบประมาณร้อยละ 0.5-2 สำหรับความเป็นพิษพบว่า แทนนินอาจก่อให้เกิดมะเร็งได้ จึงไม่ควรใช้แทนนินเป็นประจำ นอกจากนี้พบว่าเมื่อให้กรดแทนนินในสัตว์ทดลองติดต่อกันเป็นเวลานาน จะทำให้เกิด focal coagulative necrosis ที่กล้ามเนื้อหัวใจ

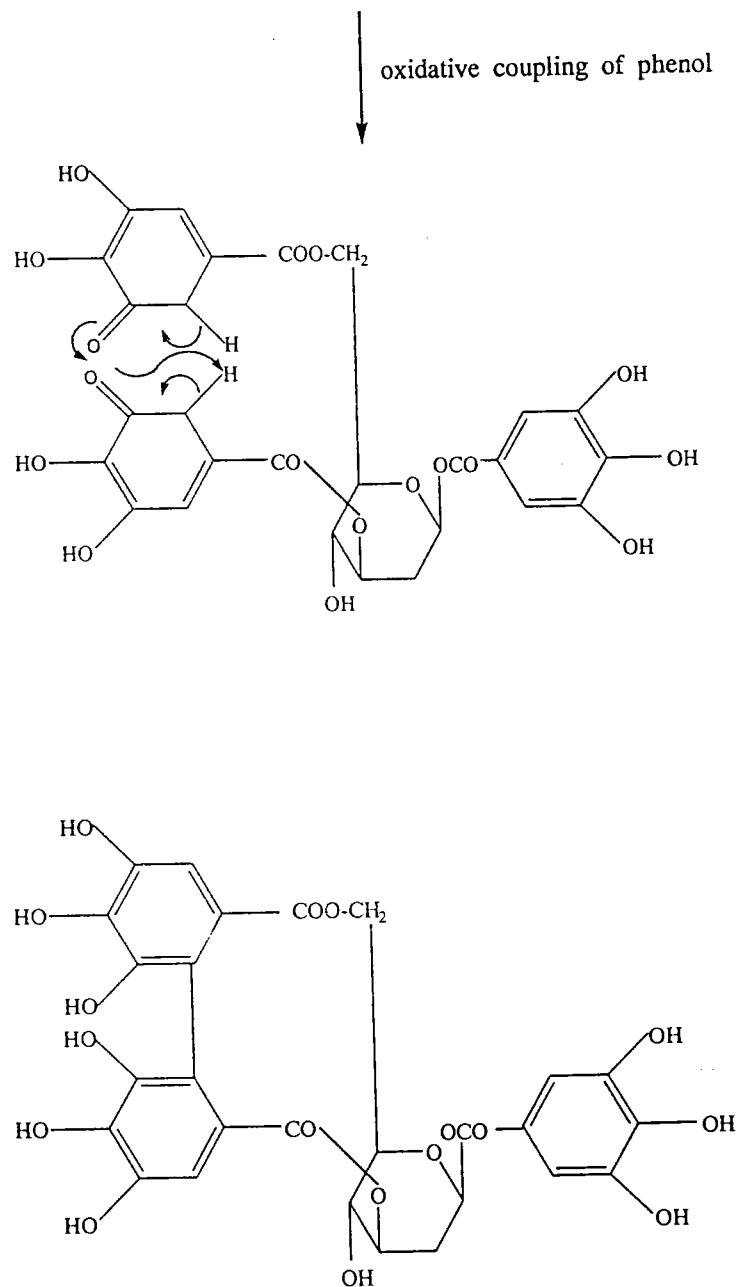
ชีวสังเคราะห์ของไฮโดรไลเซเบิลแทนนิน





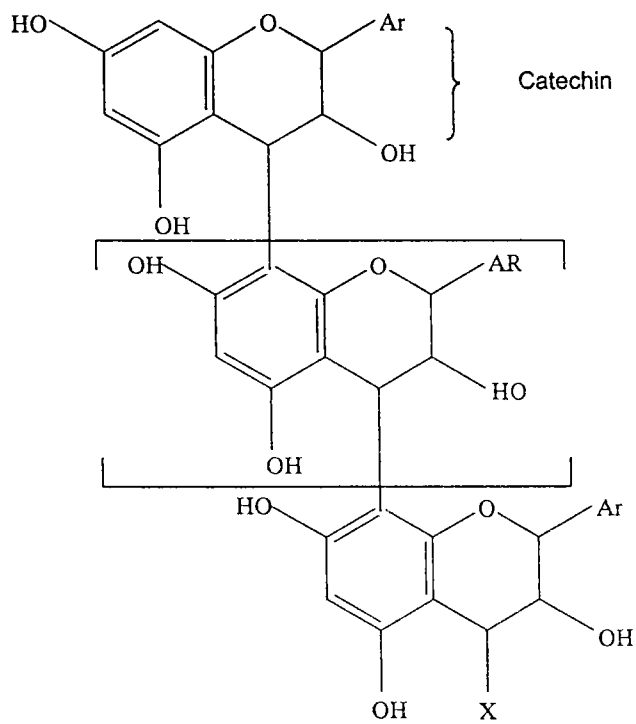
Turkish tannin



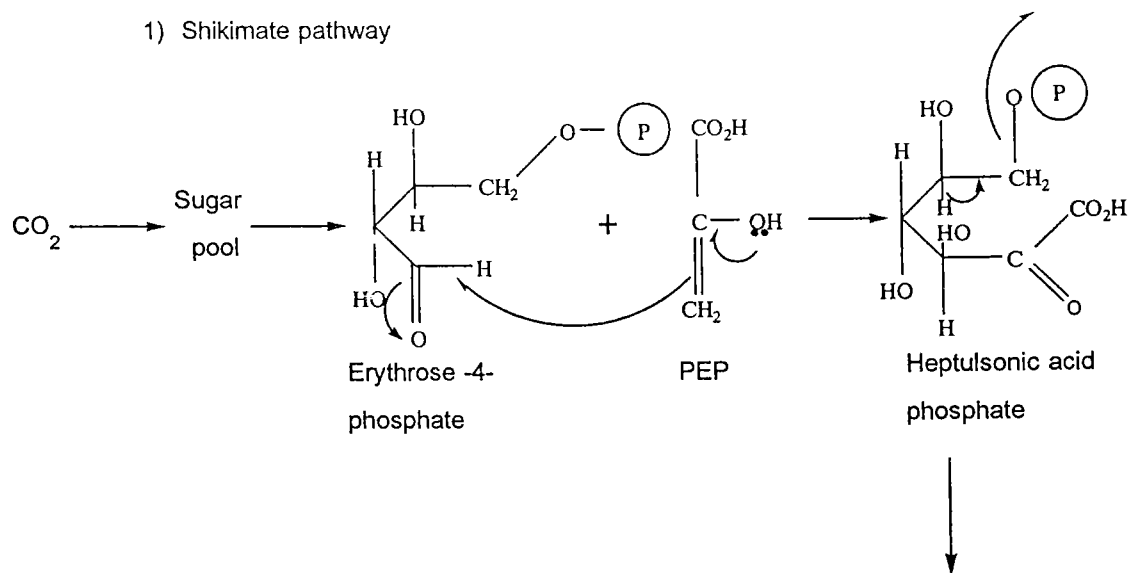


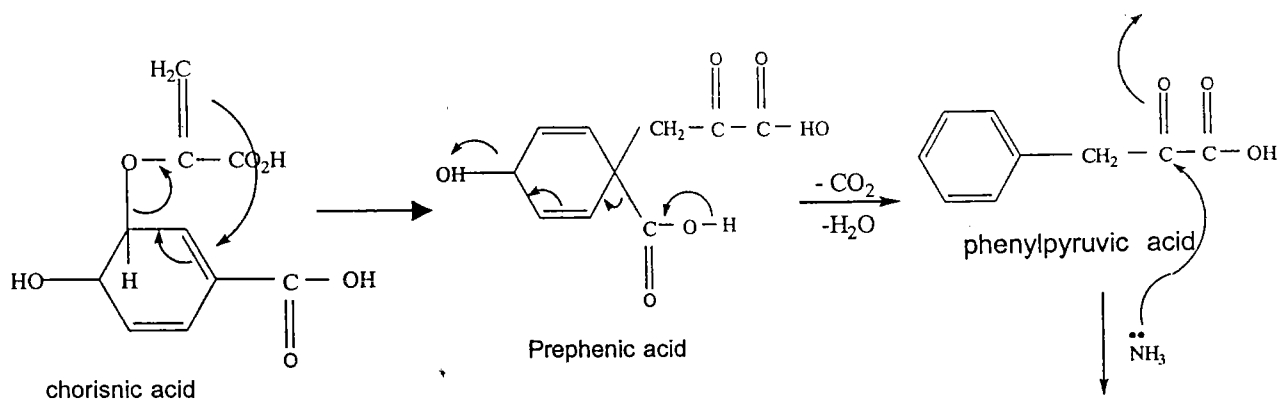
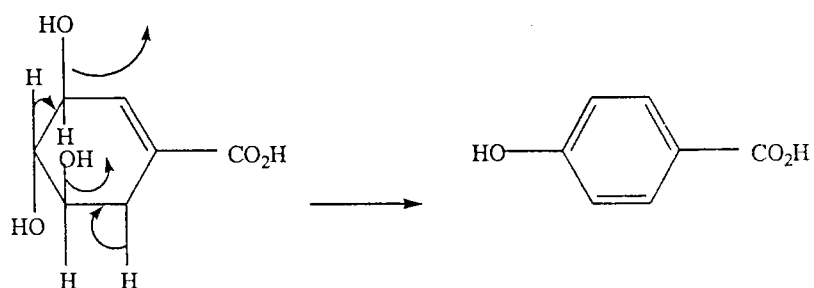
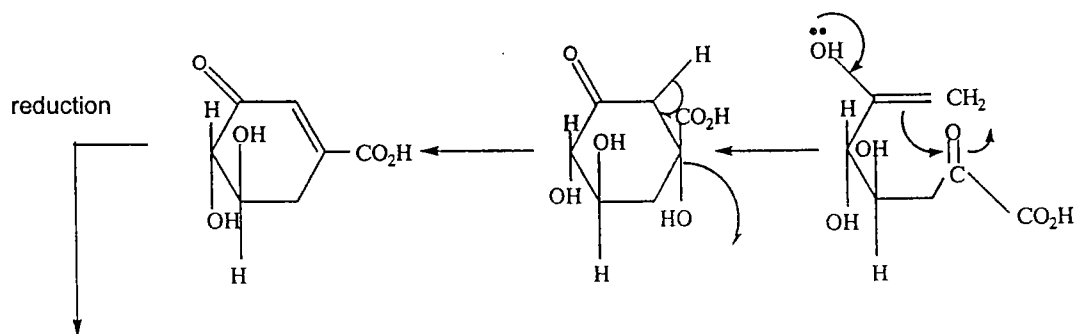
ภาพ แสดงชีวสังเคราะห์ของไฮโดรไลเซเบิลแทนนิน

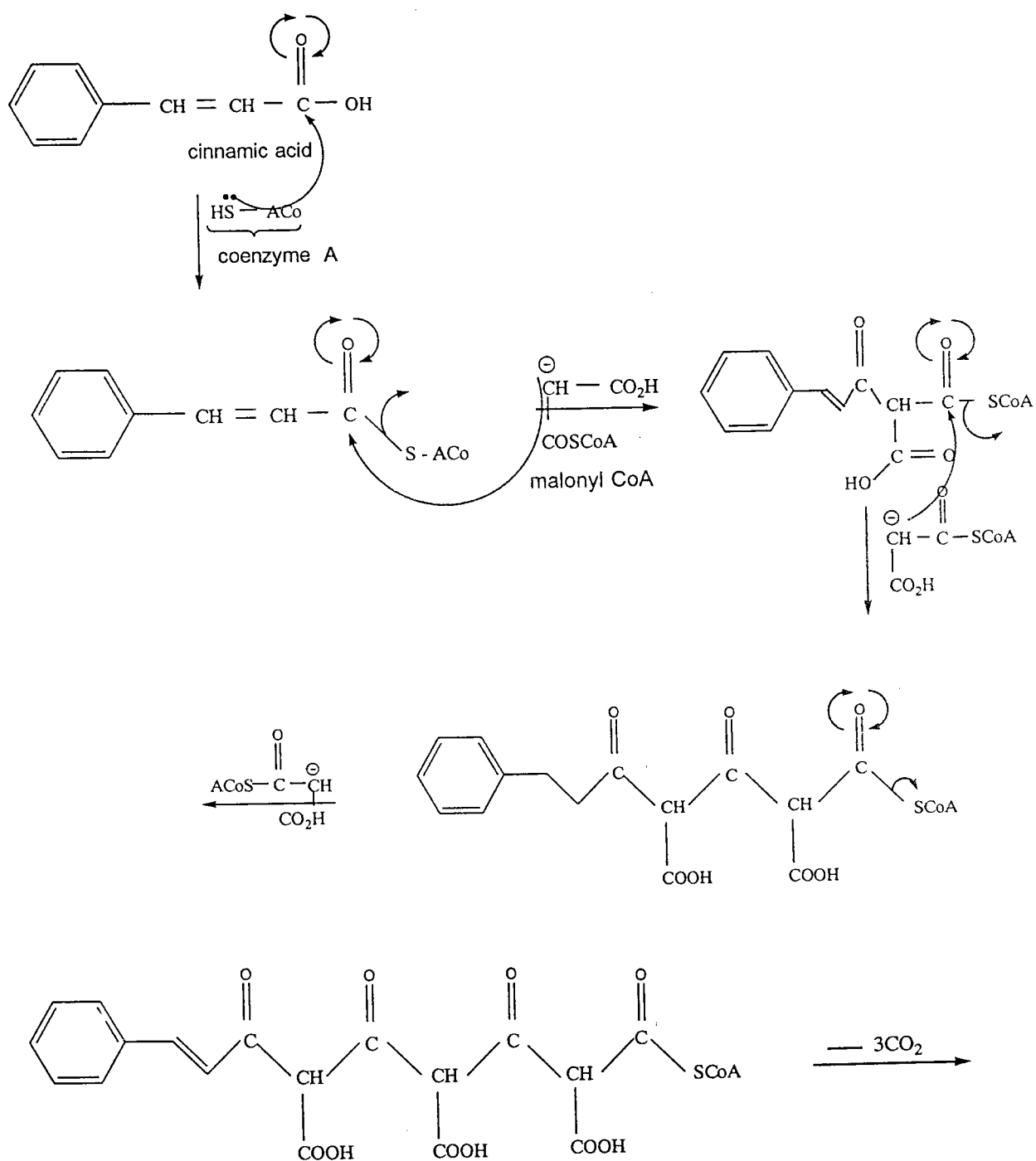
ชีวสังเคราะห์ของ Condensed tannin

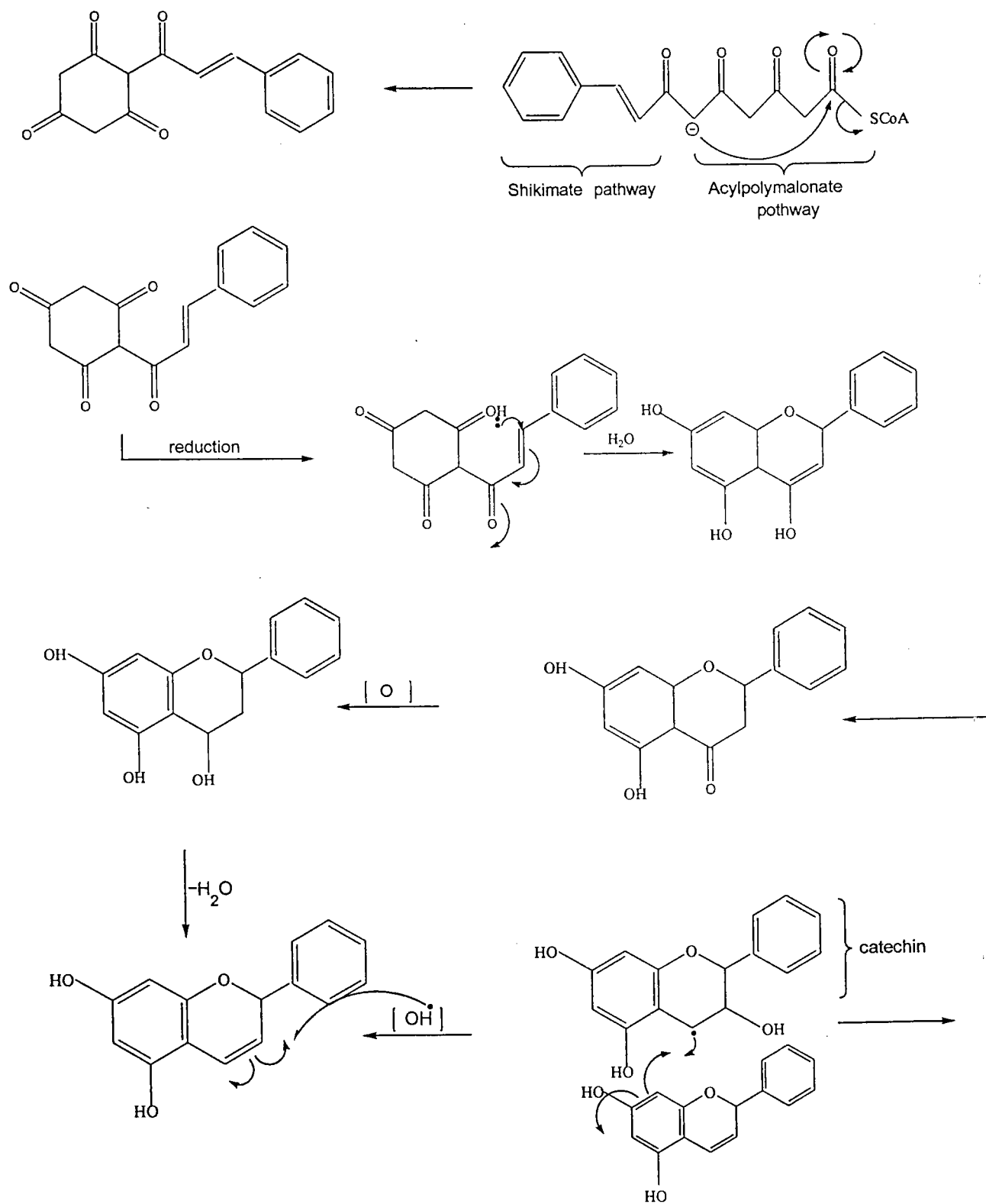


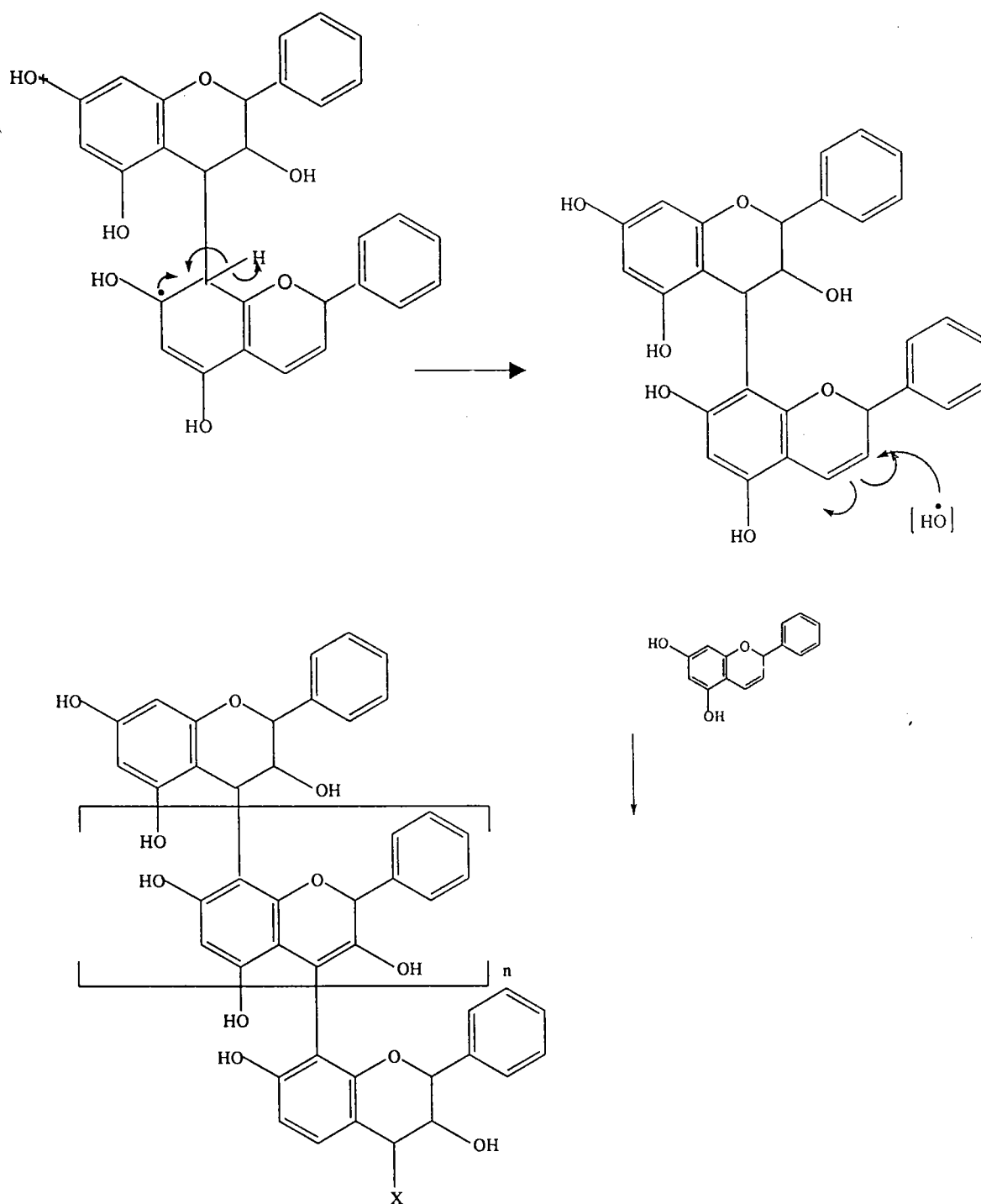
1) Shikimate pathway











ภาพ แสดงชีวสังเคราะห์ของคอนเดนส์แทนนิน

บทปฏิบัติการที่ 3

เรื่อง การสกัดและแยกแทนนินจากเปลือกผลมังคุดด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาวิธีการสกัดแทนนินจากเปลือกผลมังคุด
2. เพื่อศึกษาวิธีการแยกแทนนินจากเปลือกผลมังคุดด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

เยื่อบาง

3. เพื่อตรวจสอบแทนนินที่แยกได้ด้วยปฏิกิริยาการทางเคมี

หลักการ/ทฤษฎี

แทนนิน (Tannin) เป็นสารจำพวกโพลีฟีนอล ที่มีโครงสร้างสลับซับซ้อนมีอยู่แพร่หลายในพืชเกือบทุกวงศ์ พืชที่มีปริมาณแทนนินมากพอสมควร มักจะมีการสะสมเฉพาะแห่ง เช่นที่ใบ ผล เปลือก หรือลำต้น มักจะพบแทนนินในผลดิบซึ่งจะหายไปเมื่อผลสุก

แทนนินมีรสฝาด จึงใช้เป็นยาฝาดสมาน (astringent) ในตำรายาแผนโบราณจะรวมสมุนไพรที่มีแทนนินไว้ในตำรายาที่แก้ท้องเสีย แทนนินสามารถเข้ารวมตัวกับโปรตีนในหนังสือทำให้ไม่เกิดการเน่าเปื่อยตามธรรมชาติและยังทำให้หนังเป็นเงางามและทนทาน จึงใช้ในอุตสาหกรรมฟอกหนัง ใช้ในอุตสาหกรรมเบียร์ น้ำหมัก สีย้อม กระดาษและผ้าไหมและยังใช้ในการรักษา การเป็นพิษที่เกิดจากแอลคาลอยด์ (alkaloid poisoning) ด้วยโดยที่แทนนินไปทำให้แอลคาลอยด์หมดฤทธิ์ ด้วยการเข้ารวมตัวกันเกิดเป็นแทนเนต (tannate) ที่ไม่ละลายนอกจากนี้ยังใช้กรดแทนนิกเป็นสีย้อมได้ด้วย

มังคุดมีชื่อวิทยาศาสตร์ *Garcinia mangostana* Linn, อยู่ในวงศ์ Guttiferae มังคุดประกอบด้วยแร่ธาตุและวิตามินหลายชนิด เปลือกผลแห้งมีสารแทนนิน ตำรายาไทยใช้เปลือกมังคุดรักษา

1. อาการท้องเดิน ใช้เปลือกผลตากแห้ง ต้มกับน้ำปูนใสหรือฝนกับน้ำรับประทาน
2. บิด (ปวดเบ่ง มีมูกและอาจมีเลือดด้วย) ใช้เปลือกผลแห้งประมาณครึ่งผล (4 กรัม) ย่างไฟให้เกรียม ฝนกับน้ำปูนใสประมาณครึ่งแก้ว หรือบดเป็นผงละลายน้ำข้าว หรือน้ำสุกรับประทานทุก 2 ชั่วโมง

อุปกรณ์ / เครื่องมือและสารเคมี

อุปกรณ์ / เครื่องมือ

1. ปีกเกอร์
2. กรวยแยก
3. ชุดกรองบุชเนอร์
4. กระดาษกรอง
5. สไลด์
6. กระบอกตวง
7. เครื่องชั่งวิเคราะห์ทศนิยม 4 ตำแหน่ง
8. หลอดทดลอง
9. แก้วพร้อมฝาปิด
10. เครื่องส่องรังสีเหนือม่วง

สารเคมี

1. เมทานอล
2. เอธิลอะซิเตต
3. คลอโรฟอร์ม
4. กรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 1 โมล / ลิตร
5. สารละลายแคทาคอล เข้มข้น 1 %
6. สารละลายกรดแทนนิก เข้มข้น 1 %
7. สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ เข้มข้น 1 %
8. โซเดียมซัลเฟตที่ปราศจากน้ำผลึก
9. สารละลายไบคาร์บอเนต เข้มข้น 1 %
10. ปีโตรเลียมอีเธอร์
11. ขาดังพร้อมที่หนีบ

พืชตัวอย่าง

เปลือกมังคุด

ตอนที่ 1 การสกัดแทนนินจากเปลือกผลมังคุด

วิธีการทดลอง

1. นำเปลือกผลมังคุดที่ฝั่งแดดแห้ง บดละเอียดซึ่งมา 300 กรัมห่อใส่ผ้าขาวบาง ใส่โหลแก้วใส่เมธานอลลงไปพอท่วมปิดฝาทิ้งไว้ 3 วัน ระหว่างนี้เขย่าขวดบ้างเป็นครั้งคราว
2. เมื่อครบกำหนด 3 วันกรองแยกเมธานอลเก็บไว้ นำกากที่เหลือกรองสกัดซ้ำด้วยเมธานอลอีก 2 ครั้งๆ ละ 3 วันรวมสารสกัดที่กรองได้ไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน จนได้สารสกัดเข้มข้น ชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งวิเคราะห์ (ขั้นตอนนี้อาจารย์เตรียมไว้ให้)

ตอนที่ 2 การแยกแทนนินจากเปลือกผลมังคุดโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

วิธีการทดลอง

1. นำสารสกัดเข้มข้นจากตอนที่ 1 น้ำหนัก 0.10 กรัมละลายในเมธานอล 10 ซม.³ จนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน
2. นำสารละลายจากข้อ 1 มาจุด (spot) ลงบนแผ่นสไลด์ ที่เคลือบด้วยซิลิกาเจล GF254 แล้วจุดสารละลายมาตรฐาน 1% แคทีคอล และ 1% กรดแทนนิน และยาแก้ท้องเสีย ไดเซนโต 1 เม็ด (855 มิลลิกรัม) ลงไปบนแผ่นสไลด์แผ่นเดียวกัน ทั้งให้แห้งแล้วนำไปจุดลงในภาชนะที่อ้อมตัวด้วยตัวทำละลาย 5 ระบบได้แก่

(1) เอธิลอะซิเตต : เมธานอล

4 : 6

(2) เมธานอล : เอธิลอะซิเตต : คลอโรฟอร์ม

7 : 1 : 1

(3) เมธานอล:เอธิลอะซิเตต:คลอโรฟอร์ม:กรดไฮโดรคลอริก (0.5 โมล/ลิตร)

7 : 1 : 1 : 1

(4) เมธานอล : คลอโรฟอร์ม : เฮกเซน

7 : 2 : 1

(5) เมธานอล : คาร์บอนเตตระคลอไรด์

3 : 7

- 3) เมื่อตัวทำละลายซึมขึ้นถึงขอบบนของสไลด์ ยกแผ่นสไลด์ออกโรให้แห้ง นำไปส่องเครื่องส่องรังสียูวีที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร บันทึกผลหาค่า R_f ของแต่ละระบบ

ตอนที่ 3 การแยกและตรวจสอบแทนนินด้วยปฏิกิริยาเคมี

วิธีการทดลอง

1. นำสารสกัดเข้มข้นจากตอนที่ 1 ซึ่งมา 10 กรัมสกัดด้วยสารละลาย NaHCO_3 เข้มข้น 1 โมล/ลิตร จำนวน 100 ซม.³ กรอง ทำการสกัดซ้ำอีก 2 ครั้งรวมชั้นโซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต

2. นำชั้นโซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต จากข้อ 1) มาสกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ในกรวยแยก 2 ครั้ง ๆ ละ 100 ซม.³ แยกเอาชั้นโซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต

3. ทำสารละลายชั้นโซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต จากข้อ 2) ให้เป็นกลางด้วยกรดเกลือ เข้มข้น 1 โมล/ลิตร ทดสอบด้วยกระดาษลิตมัส

4. นำสารละลายที่เป็นกลางมาสกัดด้วย เอทิลอะซิเตตในกรวยแยก 2 ครั้ง ๆ ละ 100 ซม.³ แยกเอาชั้นเอทิลอะซิเตต

5. นำสารละลายเอทิลอะซิเตตจากข้อ 4 มาใส่โซเดียมซัลเฟตที่ปราศจากน้ำลงไป (อัตราส่วนสารละลาย : โซเดียมซัลเฟตที่ปราศจากน้ำ = 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร : 1 กรัม) กรองแยกโซเดียมออก

6. นำสารละลายที่กรองได้จากข้อ 5) ทำการทดสอบดังนี้

หลอดที่ 1 ใช้เป็นหลอดควบคุม

หลอดที่ 2 เติมสารละลายเจลาติน 2 – 3 หยด

หลอดที่ 3 เติมสารละลายเจลาติน-เกลือแกง 2 – 3 หยด

หลอดที่ 4 เติมสารละลายเฟอริกคลอไรด์ เข้มข้น 1% 2 – 3 หยด

หลอดที่ 5 เติมน้ำโบรมีน 5 – 6 หยด

หลอดที่ 6 การทดสอบฟอร์มอลิน-กรดเกลือ

เติมสารละลายฟอร์มอลิน เข้มข้น 40 % 3 หยด และ สารละลายกรดเกลือ

เข้มข้น 10 % หยดต้มในหม้ออังไอน้ำ 1 – 2 นาที

หลอดที่ 7 การทดสอบวานิลลิน-กรดเกลือ

เติม วานิลลินรีเอเจนต์ 1 ลูกบาศก์เดซิเมตร และ กรดเกลือ

เข้มข้น 1 หยด

หลอดที่ 8 เติมน้ำปูนใส 5 ซม.³

สังเกตแต่ละหลอด บันทึกผล

การเตรียมรีเอเจนต์

สารละลายเจลาตินเข้มข้น 1% (Gelatin Solution 1%)

เจลาติน	1.0 กรัม
น้ำกลั่น	100.0 ซม. ³

สารละลายเจลาติน-เกลือแกง (Gelatin Salt reagent)

สารละลายเจลาติน	50.0 ซม. ³
สารละลายโซเดียมคลอไรด์ 10 %	50.0 ซม. ³

น้ำโบรมีน (Bromine water)

โพแทสเซียมโบรมेट	3 กรัม
โพแทสเซียมโบรไมด์	15 กรัม
น้ำกลั่น	1,000 ซม. ³

เวลาที่จะทดสอบใช้สารละลายที่เตรียมไว้ 5 ส่วนผสมกับการดเกลือเข้มข้น HCl 1 ส่วน เตรียมแล้วใช้ทันที

สารละลายวานิลลิน (Vanillin reagent)

วานิลลิน	10 กรัม
เอซิลแอลกอฮอล์	100 ซม. ³

น้ำปูนใส (Lime Water หรือ Calcium Hydroxide Solution)

แคลเซียมไฮดรอกไซด์	3 กรัม
โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์	5.0 กรัม
น้ำกลั่น	1,000 ซม. ³

รายงานการทดลองปฏิบัติการที่ 3

เรื่อง การสกัดและแยกแทนนินจากเปลือกผลมังคุดด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

วัน / เดือน / ปีกลุ่มที่..... เวลาที่ใช้ในการทดลอง.....

ชื่อผู้ทดลอง

1.
2.

วัตถุประสงค์

.....

ผลการทดลอง

ตอนที่ 1 การสกัดแทนนินจากเปลือกผลมังคุด

น้ำหนักของสารสกัดเข้มข้น เท่ากับ.....กรัม

ตอนที่ 2 การแยกแทนนินจากเปลือกผลมังคุดด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

ระบบที่	ค่า Rf			สารตัวอย่าง
	สารมาตรฐาน			
	แคทีคอล	กรดแทนนิก	ไดเซนโต	
1				
2				
3				
4				
5				

ตอนที่ 3 การแยกและตรวจสอบแทนนินด้วยปฏิกิริยาเคมี

สารละลายที่ใช้ทดสอบ	ผลการทดลอง
1. หลอดควบคุม	
2. สารละลายเจลาติน	
3. สารละลายเจลาติน-เกลือแกง	
4. สารละลายเฟอริกคลอไรด์ 1%	
5. น้ำโบรมีน	
6. การทดสอบฟอร์มัลลิน-กรดเกลือ	
7. กรดทดสอบวานิลลิน-กรดเกลือ	
8. น้ำปูนใส	

สรุปผลการทดลอง

.....

.....

.....

อภิปรายผลการทดลอง

.....

.....

.....

คำถามท้ายการทดลอง

1. Hydrolysable tannin และ Condensed tannin คืออะไรและแทนนินทั้ง 2 ชนิดนี้แตกต่างกันอย่างไร จงอธิบาย

.....

.....

.....

.....

2. ถ้ามีพีชอยู่ชนิดหนึ่งและสงสัยว่าจะมีแทนนินหรือไม่สามารถทดสอบได้ด้วยวิธีใด จงอธิบาย

.....

.....

.....

.....

3. ในการสกัดแทนนินจากเปลือกผลมังคุดไม่ใช่เอธานอลสกัดจะใช้ตัวทำละลายอื่นได้หรือไม่ เพราะเหตุใด

.....

.....

.....

.....

4. ค่า R_f คืออะไร สารที่มีค่า R_f เท่ากันเป็นสารเดียวกันหรือไม่ เพราะเหตุใด และค่า R_f ของแต่ละสารขึ้นอยู่กับปัจจัยใดบ้าง

.....

.....

.....

.....

.....

เอกสารอ้างอิง

- จริยา สินเดิมสุข และคณะ. (2532, มิถุนายน). "ฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกมังคุดต่อกลุ่มแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคท้องร่วงและกลุ่มแบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้". *กรมการแพทย์*. 14(6) : 421.
- จริยา สินเดิมสุข และคณะ. (2532, ตุลาคม-ธันวาคม). *เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการรักษาโรคอุจจาระร่วงในผู้ป่วยและเปลือกมังคุด*. *เภสัชศาสตร์*, 16 (2) 45-52.
- บงกชวรรณ สุดพาหะ และคณะ. (2540). "การศึกษาผลของสารสกัดจากเปลือกมังคุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ Methicillin - Resistant *Staphylococcus aureus*". *เทคนิคการแพทย์เชียงใหม่*. 30 (ฉบับพิเศษ) : 20-25.
- เสาวลักษณ์ พงษ์ไพจิตรและคณะ. (2537, ตุลาคม-ธันวาคม). "ฤทธิ์ของสารสกัดเปลือกมังคุดต่อ *Staphylococcus aureus* ที่ดื้อยา methicillin (MRSA) และ *Enterococcus species*". *สงขลานครินทร์*. 16 (4) 399-405.
- อ้อมบุญ ล้วนรัตน์. (2529). *โพลีฟีนอลลิคคอมพาวนด์*. *เภสัชวินิจฉัยเล่ม 2*. กรุงเทพฯ : ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
- N.R. Farnsworth. (1966, March). *Biological and phytochemical Screening of plants*. *Journal of physiochemical Scienc*. 55(3) : 264-265.
- W.C. Evans . Trease & Evans . (1989). *Pharmacognosy* . 13th edition , London, Bailliere Tindall.
- Geeha Gopalakrishnan. et.al. (1997). "Evaluation of the Antifungal Activity of Natural Xanthenes from *Garcinia mangostana* and their Synthetic Derivatives". *Journal Natural Product*. 60(12) : 519 – 524.

เอกสารประกอบบทปฏิบัติการ (ใบความรู้)

สาระสำคัญ

ซาโปนิน (saponins) เป็นสารประกอบพวก กลัยโคไซด์ (glycosides) ซึ่งละลายน้ำได้ พบกระจายทั่วไปในพืชชั้นสูงและสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่อาศัยอยู่ในทะเล ซาโปนิน เป็นสารประกอบโมเลกุลใหญ่ เมื่อถูก สลาย (hydrolyse) ด้วยกรดจะได้ส่วน อะกลัยโคน (aglycone) หรือ เจนิน (genin) ซึ่งเรียกว่า ซาโปเจนิน (sapogenin) และส่วนน้ำตาลซึ่งอาจพบในรูปกรด ยูโรนิก (uronic acid) ส่วนใหญ่จะมีรสเผ็ด ขม หรือฝื่อน แต่บางชนิดมีรสหวานเช่นที่พบในชะเอมเทศ

สารกลุ่ม saponins มีคุณสมบัติที่สำคัญ 2 ประการ คือ

1. ลดแรงตึงผิวของน้ำ เมื่อนำซาโปนินมาละลายน้ำแล้วเขย่าจะเกิดฟองคุณสมบัตินี้เป็นที่รู้จักและใช้ประโยชน์กันมาแต่โบราณ โดยใช้เป็นสารซักฟอก (detergent) เช่น ลูกมะค่าตีควาย

2. ทำให้เม็ดเลือดแดงแตก (haemolysis) ดังนั้นจะเกิดความเป็นพิษได้ถ้ามีซาโปนินเข้าสู่กระแสเลือด ซึ่งอาจทำให้ตายได้ถ้ามีปริมาณ 0.5 – 3 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม

สูตรโครงสร้าง

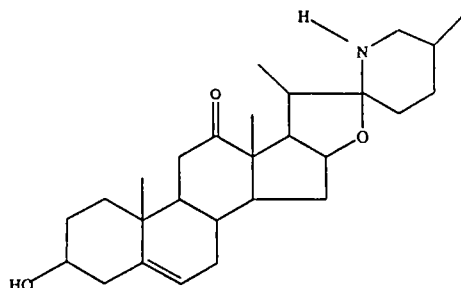
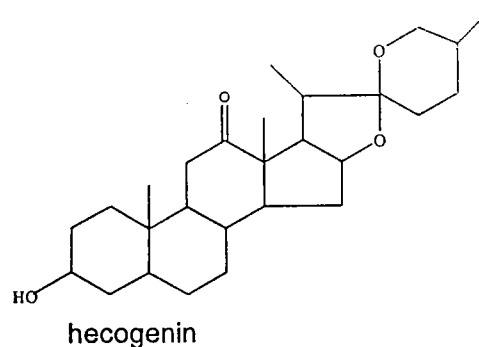
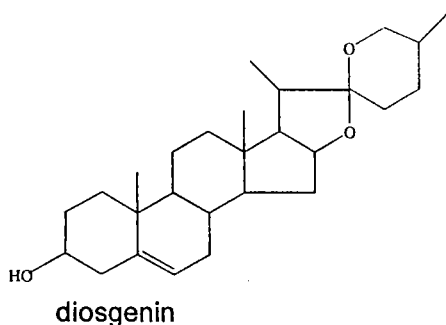
โครงสร้างของซาโปนิน ประกอบด้วย 2 ส่วน คือ น้ำตาลและ อะกลัยโคน ที่เรียกว่า ซาโปเจนิน เมื่อพิจารณาตามโครงสร้างของส่วน Sapogenin สามารถแบ่ง ซาโปนิน ได้ออกเป็น 2 ชนิด คือ สเตอรอยด์ซาโปนิน (steroidal saponins ; C₂₇ , tetracyclic triterpenoids) และ ไตรเทอร์พีนอยด์ ซาโปนิน (triterpenoid saponins ; C₃₀ pentacyclic triterpenoids) ซึ่ง ซาโปเจนิน ทั้งสองชนิดมีสารชีวสังเคราะห์ผ่านทาง กรดเมวาโลนิก (mevalonic acid pathway) ได้เป็นหน่วยไอโซพรีน (isoprene unit) ซึ่งจะเชื่อมต่อกัน 6 หน่วย โดยมีการจัดเรียงตัวได้เป็น สควาลีน (squalene) ซึ่งเป็น สารต้นตอ (precursor) ที่สำคัญของสารกลุ่ม ไตรเทอร์พีนอยด์ และ สเตอรอยด์ ส่วนน้ำตาลจะเชื่อมต่อกับ ซาโปนิน ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 ซึ่งปกติจะมี หมู่ไฮดรอกซิล อยู่

สเตอรอยด์ล ซาโปนิน (Steroidal saponins or neutral saponins)

สารกลุ่มนี้จะพบในธรรมชาติน้อยกว่าสารพวก เพนตะไซคลิกไตรเทอพีนอยด์ (pentacyclic triterpenoids) โดยพบในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวหลายวงศ์ เช่น วงศ์ Dioscoreaceae (Dioscorea), Agavaceae (Agave, Cordyline), Liliaceae (Yucca, Trillium, Smilax) ส่วนพืชใบเลี้ยงคู่ที่พบได้แก่ Papilionaceae (Fenugreek) Scrophulariaceae (Digitalis) และ Apocynaceae (Strophanthus) เนื่องจาก สเตอรอยด์ล ซาโปนิน มีโครงสร้างใกล้เคียงกับ สเตอรอยด์ ที่ใช้เป็นยาหลายชนิด จึงมีการนำสารกลุ่มนี้ในรูป ซาโปนิน มาใช้เป็นสารตั้งต้นในการทำ สารกึ่งสังเคราะห์ (semisynthesis) หรือ สังเคราะห์บางส่วน (partial synthesis) โดยมีข้อกำหนดคือ สเตอรอยด์ล ซาโปนิน (steroidal sapogenin) ที่ใช้เป็นสารตั้งต้นจะต้องมีหมู่ ไฮดรอกซิล (hydroxyl) ที่ตำแหน่งที่ 3 และ 11 หรือสามารถทำให้มีหมู่ ไฮดรอกซิล ที่ตำแหน่งนั้นได้ง่าย

สารประกอบซาโปเจนินที่ใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ steroids ได้แก่

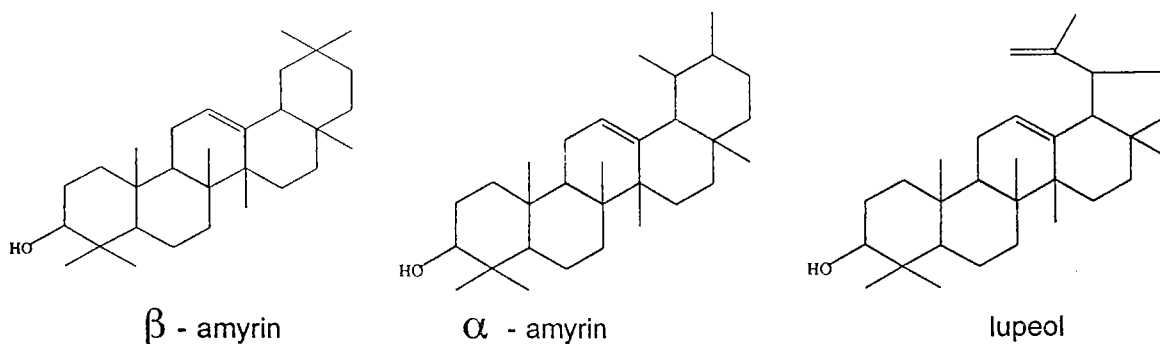
1. ไดออสเจนิน (Diosgenin) และ โบโตเจนิน (botogenin) จาก Dioscorea spp.
2. ฮีโคเจนิน (hecogenin) มาโนเจนิน (manogenin) และ จิโตเจนิน (gitogenin) จาก Agave spp
3. ซาร์ซาโปเจนิน (sarsapogenin) และ สมิลาเจนิน (smilagenin) จาก Smilax spp
4. ซิโตสเตอรอล (sitosterol) จาก vegetable oil



solasodine จาก Solanum spp.

ไตรเทอพีนอยด์ ซาโปนิน (Triterpenoid saponin or acid saponins)

พบมากในพืชใบเลี้ยงคู่ โดยเฉพาะพืชวงศ์ Caryophyllaceae , Sapindaceae, Sapotaecae และ Polygalaceae พืชวงศ์อื่นๆ ได้แก่ Papilionaceae , Berberidaceae, Rosaceae , Araliaceae , Umbelliferae , Primulaceae , Mrytaceae และ Rubiaceae เป็นต้น ไตรเทอพีนอยด์ ซาโปนิน ส่วนใหญ่จะมีโครงสร้างเป็น pentacyclic ซึ่งแบ่งออกเป็น 3 แบบ คือ α - amyrin (Ursane series) เบต้า อะไมริน (β - amyrin ; Oleanane series) และ ลูพ็อล (lupeol ; Lupane series) ในพืชบางชนิดเช่น โสม จะมี ซาโปนิน มีโครงสร้างเป็น เดตระไฮคลิก ซึ่งจัดอยู่ใน อนุกรมดามารีน (Dammarane series) ในโมเลกุลของ ไตรเทอพีนอยด์ ซาโปนิน มักพบการแทนที่หมู่ เมทิล (methyl group) ด้วยหมู่ คาร์บอกซิล (carboxyl group) ที่ตำแหน่ง 4,17 หรือ 20



ฤทธิ์และการนำไปใช้ประโยชน์

1. สารละลายความเข้มข้นน้อย ๆ สามารถทำให้เหงือกของปลาไม่ทำงาน จึงมีการใช้ซาโปนิน บางชนิดเป็นยาเบื่อปลา
2. เมื่อรับประทานเข้าไปปริมาณมาก ๆ จึงทำให้ระคายเคืองต่อเยื่อบุทางเดินอาหาร ทำให้คลื่นไส้ อาเจียน
3. ช่วยเพิ่มการดูดซึมของตัวยาอื่นๆ เช่น แอลคาลอยด์ กลัยโคไซด์ และเกลือแร่ บางชนิด
4. กระตุ้นให้การทำงานของ ซีเลียรี อีพิทีเรียม (ciliary epithelium) เพิ่มขึ้น และเป็น ซีครีโตลิติก (secretolytic) ทำให้มีฤทธิ์ในการขับเสมหะ
5. มีฤทธิ์ด้านการอักเสบ (antiinflammation)
6. ใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ สเตอรอยด์ ฮอร์โมน
7. บางชนิดใช้เป็นสารฆ่าแมลง (insecticide) และเป็นสารฆ่าหอย (molluscicide)

บทปฏิบัติการที่ 4

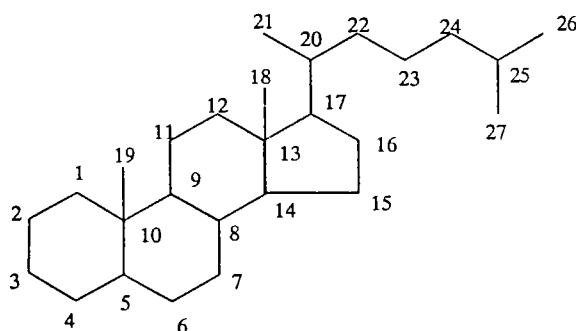
เรื่อง การสกัดและแยกซาโปนินจากผลมะคำดีควายโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

วัตถุประสงค์

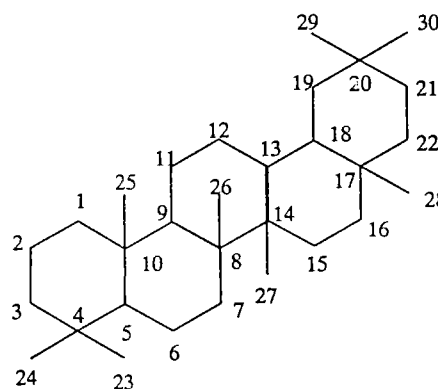
1. เพื่อศึกษาวิธีการสกัดซาโปนินจากผลมะคำดีควาย
2. เพื่อศึกษาวิธีการแยกซาโปนินจากผลมะคำดีควายด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง
3. เพื่อตรวจสอบซาโปนินด้วยปฏิกิริยาทางเคมี

หลักการ / ทฤษฎี

ซาโปนิน (saponin) เป็นสารประกอบพอลกกลัยโคไซด์ ซึ่งละลายน้ำได้พบกระจายทั่วไปในพืชชั้นสูงและสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในทะเล โครงสร้างของซาโปนินประกอบด้วย 2 ส่วนคือ น้ำตาลและ อะกลัยโคน (ซาโปเจนิน) เมื่อพิจารณาตามโครงสร้างของส่วน ซาโปเจนิน สามารถแบ่ง ซาโปนิน ได้เป็น 2 ชนิด คือ steroidal saponins (C_{27} , tetracyclic triterpenoids) และ ไตรเทอพีนอยด์ ซาโปนิน (triterpenoid saponins); (C_{30} , pentacyclic triterpenoids) ซึ่ง ซาโปนิน ทั้งสองชนิดมีชีวสังเคราะห์ผ่านทาง กรดเมวาโลนิค (mevalonic acid pathway) ได้เป็นหน่วยไอโซพรีน (isoprene unit) ซึ่งจะเชื่อมต่อกัน 6 หน่วย โดยมีการจัดเรียงตัวได้เป็นสควาลีน (squalene) ซึ่งเป็น สารต้นต่อ ที่สำคัญของกลุ่ม ไตรเทอพีนอยด์ และ สเตอรอยด์ ส่วนน้ำตาลจะเชื่อมต่อกับ ซาโปนิน ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 ซึ่งปกติจะมี หมู่ไฮดรอกซิล อยู่



steroidal skeleton



pentacyclic triterpenoid skeleton

มะคำดีควาย มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Sapindus emarginatus well* วงศ์ Sapindaceae ผลมะคำดีควายมีรสขม แก้พิษไข้ ดับพิษร้อน ลูกต้มแล้วเกิดฟอง สุมหัวเด็กแก้หวัด แก้วรังแค ใช้ซักผ้าและสระผมได้ เนื่องจากผลเขย่าหรือตีกับน้ำจะเกิดฟองใช้สระผม รักษาหนังศีรษะเป็นชั้นๆ การใช้อย่าใช้บ่อยและจำนวนมาก ถ้าใช้แล้วต้องล้างออกให้หมด มิฉะนั้นอาจทำให้ ผมร่วงได้ ขณะสระผมอย่าทำน้ำยาเข้าตา ตาจะอักเสบ แพทย์ตามชนบทใช้ผลสุ่มให้เป็นถ่านปิ้งเป็นยาดับพิษร้อนภายในร่างกาย ยาชาจากเนื้อมะคำดีควาย ใช้ล้างหน้ารักษาสิว นอกจากนั้นน้ำที่เป็นฟองฆ่าแมลง เบื่อปลา น้ำจากเนื้อของผลที่ดีเป็นฟองใช้ล้างเครื่องเพชร ซักผ้าไหม จากการศึกษาวิจัยพบว่าเนื้อผลมี saponin , emarginatoside, quercetin , β - sitosterol (เพียวี เหมือนนวงษ์ญาติ , 2537 ; 136)

อุปกรณ์ / เครื่องมือและสารเคมี

อุปกรณ์ / เครื่องมือ

1. กรวยกรอง
2. กระดาษกรอง
3. หลอดทดลอง
4. หม้ออังไอน้ำ
5. แผ่นให้ความร้อน
6. แท่งแก้ว
7. ขามกระเบื้อง
8. สไลด์
9. หลอดแคพพิลลารี
10. แก้วพร้อมฝาปิด
11. เครื่องส่องรังสีเหนือม่วง
12. เครื่องชั่งเชิงวิเคราะห์ตณนิยม 4 ตำแหน่ง
13. กระดาษกรอง

สารเคมี

1. กรดซัลฟิวริก เข้มข้น 0.1 โมล/ลูกบาศก์เดซิเมตร
2. กรดซัลฟิวริก เข้มข้น 2 โมล/ลูกบาศก์เดซิเมตร
3. กรดซัลฟิวริก เข้มข้น 98 %
4. โซเดียมซัลเฟตที่ปราศจากน้ำ
5. อะซิติกแอนไฮไดรด์

6. สารละลายมาตรฐานซาโปนิน
7. 70 % เมทานอล
8. สารละลายฟอสโฟโมลิบดิก อะนิลีนไฮไดรด์
9. น้ำกลั่น

พืชตัวอย่าง

ผลมะคำดีควาย

ตอนที่ 1 การสกัดซาโปนินจากผลมะคำดีควาย

วิธีการทดลอง

1. นำผลมะคำดีควายแห้งซึ่งมา 150 กรัมบดให้ละเอียดห่อด้วยผ้าขาวบางใส่ขวดโหลแก้ว สกัดด้วยเฮกเซน 200 ซม.³ ตั้งทิ้งไว้ 3 วัน เขย่าบ้างเป็นครั้งคราว
2. กรอง นำกากที่เหลือมาสกัดด้วยเมทานอล 200 ซม.³ ตั้งทิ้งไว้ 3 วัน
3. กรอง นำกากที่เหลือมาสกัดด้วยเมทานอล 200 ซม.³ ตั้งทิ้งไว้ 3 วัน
4. กรอง นำกากที่เหลือมาสกัดด้วยเมทานอล 200 ซม.³ ตั้งทิ้งไว้ 3 วัน
5. กรอง นำสารละลายที่ได้จากการกรองในข้อ 2) 3) และ 4) มารวมกันแล้วนำไประเหยตัวทำละลายโดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุนจนได้เป็นสารสกัดเข้มข้น นำไปชั่งน้ำหนัก บันทึกผล (ขั้นตอนนี้อาจารย์เตรียมไว้ให้นักศึกษา)

ตอนที่ 2 การตรวจสอบซาโปนินที่สกัดได้จากผลมะคำดีควายด้วยปฏิกิริยาเคมี

1. การทดสอบฟอง

วิธีการทดลอง

- 1.1 ชั่งผลมะคำดีควายบดละเอียด 100 มิลลิกรัม เติมน้ำกลั่น 5 ซม.³ ต้มบนหม้ออังไอน้ำ 5 นาที
- 1.2 กรองขณะร้อน ปล่อยให้เย็น เขย่าสารละลายอย่างแรง 1 นาที สังเกตการเปลี่ยนแปลง
- 1.3 เติมสารละลายกรดซัลฟิวริก เข้มข้น 2 โมล / ลูกบาศก์เดซิเมตร ปริมาตร 1 ซม.³ ต้ม 5 นาที ปล่อยให้เย็นเขย่าอย่างแรง 1 นาที สังเกตการเปลี่ยนแปลง

2. การทดสอบสีด้วยปฏิกิริยาไลเบอร์แมน – เบอร์ชาร์ด

วิธีการทดลอง

2.1 นำสารสกัดเข้มข้นจากตอนที่ 1 มา 1 กรัม เติมน้ำละลายกรดซัลฟิวริกเจือจาง 10 ซม.³ เขย่าให้เข้ากัน ต้มบนหม้ออังไอน้ำ 15 นาที ปล่อยให้เย็น

2.2 สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม 15 ซม.³ เติมน้ำโซเดียมซัลเฟตที่ปราศจากน้ำ 2 กรัม คนด้วยแท่งแก้ว

2.3 กรองนำสารละลายที่กรองได้ไประเหยใน حمامกระเบื้อง จนเกือบแห้ง ปล่อยให้เย็น

2.4 เติมน้ำอะซิติกแอนไฮไดรด์ 3 หยด เขย่าให้เข้ากัน ค่อย ๆ หยดกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1 หยด ลงข้างภาชนะให้สารทั้งสองผสมกันช้า ๆ สังเกตการเปลี่ยนแปลง

ตอนที่ 3 การแยกซาโปนินจากสารสกัดผลมะคำดีควายด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

วิธีการทดลอง

1. ชั่งสารสกัดเข้มข้นที่ได้จากตอนที่ 1 น้ำหนัก 0.10 กรัม ละลายด้วยเมทานอล 10 ซม.³ ให้เป็นสารละลายเนื้อเดียวกัน

2. ใช้หลอดแคปพิลลารี จุ่มลงในสารละลายที่ได้จากข้อ 1) แล้วจุดลงบนแผ่นสไลด์ที่เคลือบด้วยซิลิกาเจล จี เอฟ 254 ปล่อยให้แห้ง

3. ชั่งซาโปนินมา 10 มิลลิกรัม ละลายในเอทานอล เข้มข้น 70 % จำนวน 1 ซม.³ ละลายให้เป็นเนื้อเดียวกัน

4. นำสารละลายที่ได้จากข้อ 3) มาจุดลงบนแผ่นสไลด์แผ่นเดียวกับที่จุดสารในข้อ 2) ไว้ ให้แต่ละจุดห่างกันประมาณ 1 ซม. ปล่อยให้แห้ง

5. ทำซ้ำข้อ 2) 3) และ 4) โดยใช้สไลด์อีก 2 แผ่น รวมเป็น 3 แผ่น

6. นำแผ่นสไลด์ในข้อ 5) ไปจุ่มในภาชนะที่อิมมัตด้วยไอของตัวทำละลาย 3 ระบบ แผ่นละระบบ คือ

ระบบที่ 1 อะซิโตน : เมทานอล : น้ำ

1 : 8 : 1

ระบบที่ 2 เอธิลอะซิเตต : เมทานอล : น้ำ

4 : 3 : 3

ระบบที่ 3 อะซิโตน : เมทานอล : น้ำ : กรดอะซิติก (0.5 โมล/ลิตร)

5 : 4 : 1 : 1

7. เมื่อตัวทำละลายเข้มข้นมาถึงขอบบนของสไลด์ นำสไลด์ออกมาจากภาชนะ ปล่อยให้แห้ง นำไปส่องรังสีเหนือม่วง บันทึกผล
8. สำหรับสไลด์ที่ไม่เห็นการแยกของสารให้ ฉีดพ่นด้วยสารละลายฟอสโฟโมลิบดีกอะนิซัลดีไฮด์ สังเกตการเปลี่ยนแปลง บันทึกผล
9. หาค่า R_f ของสารมาตรฐานและสารตัวอย่างในแต่ละระบบ

การเตรียมรีเอเจนต์

1. สารละลายฟอสโฟโมลิบดีก – อีลดีไฮด์ (Phosphomolybdic – anisaldehyde)
ละลายกรดฟอสโฟโมลิบดีก 1 กรัม ในอะนิซัลดีไฮด์ – กรดซัลฟิวริก 10 ซม.³ สเปรย์แล้วอบที่ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 – 10 นาที ถ้ามีซาโปนินจะปรากฏจุดสีน้ำเงินเทา
2. สารละลายอะนิซัลดีไฮด์ – กรดซัลฟิวริก (Anisaldehyde – H_2SO_4)
ผสมอะนิซัลดีไฮด์ 0.5 ซม.³ กับกรดเกลเซียลอะซิดิก 10 ซม.³ เมทานอล 85 ซม.³ และกรดซัลฟิวริก 5 ซม.³ ตามลำดับ

รายงานการทดลองบทปฏิบัติการที่ 4

เรื่อง การสกัดและแยกชาโปนินจากผลมะคำดีควายโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

วัน / เดือน / ปีกลุ่มที่..... เวลาที่ใช้ในการทดลอง.....

ชื่อผู้ทดลอง

1

2

วัตถุประสงค์

.....

ผลการทดลอง

ตอนที่ 1 การสกัดชาโปนินจากผลมะคำดีควาย

น้ำหนักของสารสกัดเข้มข้น เท่ากับ.....กรัม

ตอนที่ 2 การตรวจสอบชาโปนินที่สกัดได้จากผลมะคำดีควาย

1. การทดสอบฟอง

สารละลายหลังต้ม	ผลการทดลองหลังการเขย่า
ก่อนเติมกรด ซัลฟิวริก	
หลังเติมกรด ซัลฟิวริก	

2.การทดสอบสีด้วยปฏิกิริยาไลเบอร์แมน – เบอร์ชาร์ด

เมื่อหยดกรดซัลฟิวริกเข้มข้นลงข้างภาชนะให้สารทั้งสองผสมกันเกิดการเปลี่ยนแปลง คือ.....

ตอนที่ 3 การแยกขาโปนินจากสารสกัดผลมะคำดีควายด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบ
เยื่อบาง

ระบบที่	ค่า R_f	
	สารมาตรฐาน	สารตัวอย่าง
1		
2		
3		

สรุปผลการทดลอง

.....

.....

.....

อภิปรายผลการทดลอง

.....

.....

.....

.....

คำถามท้ายการทดลอง

1. กลัยโคน และ อะกลัยโคน คืออะไรมีโครงสร้างแตกต่างกันอย่างไร

.....

.....

.....

2. ถ้ามีพีชอยู่ชนิดหนึ่ง และสงสัยว่าจะมีขาโปนินหรือไม่ เราจะทดสอบได้ด้วยวิธีใด จงเขียน
แผนภาพแสดงการทดสอบ

.....

.....

.....

.....

3. ซาโปนินที่พบในพืชมีประโยชน์ และโทษอย่างไร จงอธิบาย

.....

.....

.....

4. เพราะเหตุใดในครั้งแรกเราจึงใช้เฮกเซนสกัดสารจากผลมะคำดีควายก่อนที่จะสกัดด้วย
เมทานอล

.....

.....

.....

.....

เอกสารอ้างอิง

พเยาว์ เหมือนวงษ์ญาติ. (2537). *สมุนไพรก้าวใหม่*. กรุงเทพฯ : บริษัทเมดิคัลมีเดียจำกัด.

สุรพล ประมงค์และคณะ. (2532, มกราคม-มีนาคม). "การใช้ผลมะคำดีควายเป็นยาเบื่อปลาที่ระดับความเค็มต่างๆ". *วารสารสงขลานครินทร์*. 11(2) : 91-94.

สำนักงานคณะกรรมการสาธารณสุขมูลฐาน. (2530). *สมุนไพรใกล้ตัว*. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก.

Chung , Myung - Sook et.al. (1997). "Deracpliction of raceharidi and polyol constituents of canninate Sweet – tasting plants : isolation of the requiterpcne glycoside mukusoqioside II b as sweet principle of Sapindus rarak" *Phytochem . Anal*. 8(2) .49-54.

E. Stahl. (1978). *Chromatographische and mikroskopische Analyze von Drogen* , Gustav Fischer Verlag-Stuttgart New York.

Rismijana, Jenni et. al. (1996, August). "Use of Sapindus rarak as a collecting agent in deinking". *Berita Selulosa*. 32 (2) : 2-6.

Souwalak phongpaichit, et.al. (1992, June). Antifungal Activities of Extracts from Maesa ramentaeca , Sapindus rarak and Sapindus emarginatus". *Songklanakarin J . Sci . Technol* . 14(4) : 361 – 366.

เอกสารประกอบบทปฏิบัติการ (ใบความรู้)

สาระสำคัญ

คาร์ดิแอกกลัยโคไซด์ (Cardiac glycosides)

เป็นกลัยโคไซด์ที่ออกฤทธิ์ที่กล้ามเนื้อหัวใจ โดยไปเพิ่มแรงบีบตัว (tone) ของกล้ามเนื้อหัวใจ ใช้รักษาโรคหัวใจวาย (congestive heart failure) ผลในการรักษาขึ้นอยู่กับชนิดของอะกลัยโคน และชนิด (และจำนวน) ของน้ำตาล น้ำตาลจะช่วยให้ กลัยโคไซด์ละลายได้ดีขึ้น เป็นผลให้การดูดซึม และการกระจายตัวของสารในร่างกายเพิ่มขึ้น จึงช่วยให้การออกฤทธิ์ของสารดียิ่งขึ้น

กลัยโคไซด์ในกลุ่มนี้เป็น O-glycosides มีส่วน อะกลัยโคน เป็น steroid nucleus แต่คาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จะมีลักษณะโครงสร้างที่แตกต่างไปจากสเตอรอยด์ล กลัยโคไซด์ ชนิดอื่นๆ คือ

1. ที่ C-17 มี unsaturated lactone ring ซึ่งอาจจะเป็นชนิด α - β unsaturated-5- membered lactone ring หรือชนิด double unsaturated-6- membered lactone ring ก็ได้ แต่ในธรรมชาติมักพบชนิด 5- membered lactone ring
2. ที่ C-3 และ C-14 มีหมู่ไฮดรอกซิล เป็นแบบ β -forms โดยที่ตำแหน่ง C₃ เป็นตำแหน่งที่เชื่อมกับน้ำตาล
3. การเชื่อม (fusion) ระหว่าง วงแหวน A กับ B และ C กับ D จะเป็นแบบ cis-configuration
4. น้ำตาลที่พบในคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์มีจำนวนมากที่เป็นน้ำตาลชนิดดีออกซี

ชนิดของคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์

คาร์ดิแอกกลัยโคไซด์อาจแบ่งตาม อะกลัยโคน จะแบ่งคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์ตามชนิดของ unsaturated lactone ring ที่ C-17 ได้เป็น 2 กลุ่ม ดังนี้

ชนิดที่ 1 cardenolide เมื่อ lactone ring ที่ C-17 เป็นชนิด 5- membered lactone ring ตัวอย่าง อะกลัยโคน ในกลุ่มนี้ ได้แก่ digitoxigenin

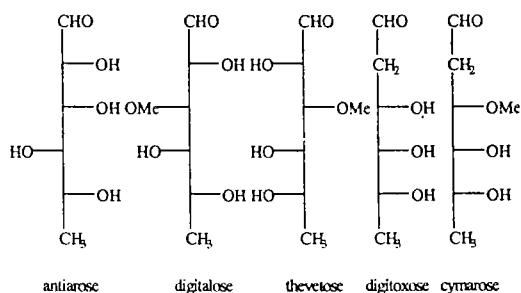
ชนิดที่ 2 bufadienolide หรือ bufanolide เมื่อวงแหวนดังกล่าวเป็นชนิด 6- membered lactone ring ตัวอย่าง aglycone ในกลุ่มนี้ เช่น scillarenin

ในธรรมชาติพบว่าคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์ชนิด cardenolide พบได้มากกว่า และใช้ประโยชน์ในการรักษามากกว่า

เมื่อแบ่งตามจำนวนน้ำตาลที่มาจับในโมเลกุลอาจแบ่งได้ดังนี้ เช่น

- Monoglycoside เมื่อมีน้ำตาล 1 โมเลกุล ตัวอย่างของกลัยโคไซด์ เช่น ouabain = ourbagenin + rhamnose
- Diglycoside เมื่อมีน้ำตาล 2 โมเลกุล เช่น K-strophanthin = strophanthidin + cymarose + glucose
- Triglyceride เมื่อมีน้ำตาล 3 โมเลกุล เช่น acetylglitoxin + 3 โมเลกุลของ digitoxose เป็นต้น

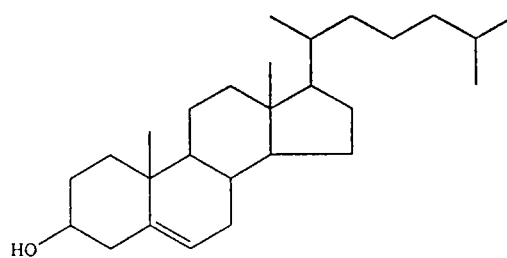
น้ำตาลที่พบในคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์อาจเป็น hexose เช่น glucose หรือเป็น pentose เช่น rhamnose และพบว่าน้ำตาลอาจจะเป็น mono-, di-, tri-, หรือ tetrasaccharides ก็ได้ นอกจากนี้ยังพบน้ำตาลจำนวนไม่น้อยที่เป็น deoxy sugars ซึ่งเป็นน้ำตาลที่มีจำนวนออกซิเจนน้อยกว่าปกติ เช่น น้ำตาล antiarose (deoxyglucose), digitalose(methyl ether ของ antiarose), digitoxose (deoxyhexose) และ cymarose (methyl ether ของ digitoxose) เป็นต้น



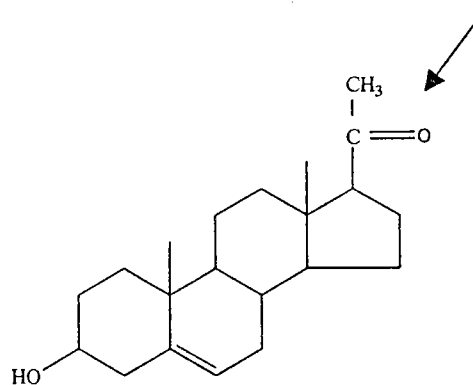
ชีวสังเคราะห์ของคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์

ส่วน aglycone ของคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จะตั้งต้นมาจาก mevalonic acid ในขั้นตอนสุดท้ายกลัยโคไซด์ ชนิด cardenolides จะเกิดจากการรวมตัวกันของ C_{21} steroid กับ C_2 unit สำหรับกลัยโคไซด์ชนิด bufadienolides จะเกิดจากการรวมตัวกันของ C_{21} steroid กับ C_3 unit

mevalonic acid $\longrightarrow$ farnesyl pyrophosphate $\longrightarrow$ squalene $\longrightarrow$ lanosterol



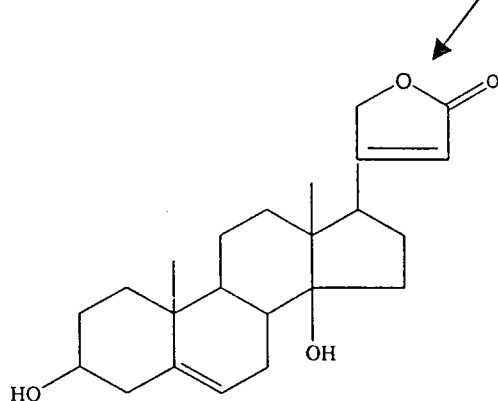
cholesterol



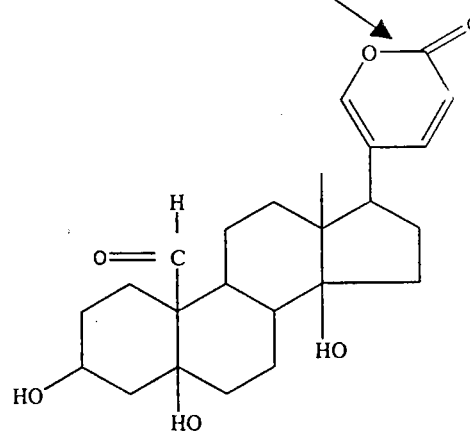
pregnenolone

+ C₂ unit
Digitalis sp.

+ C₃ unit
Helleborus sp.



digitoxigenin



hellebrigenin

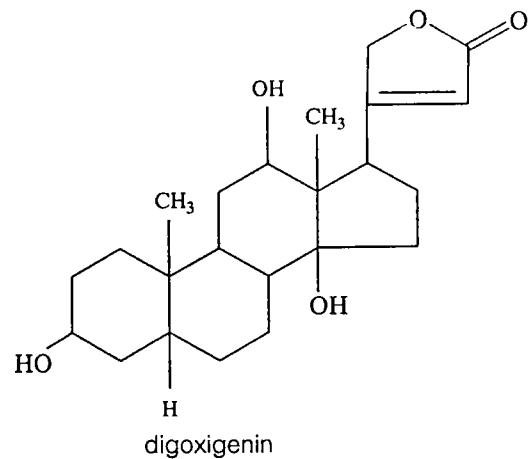
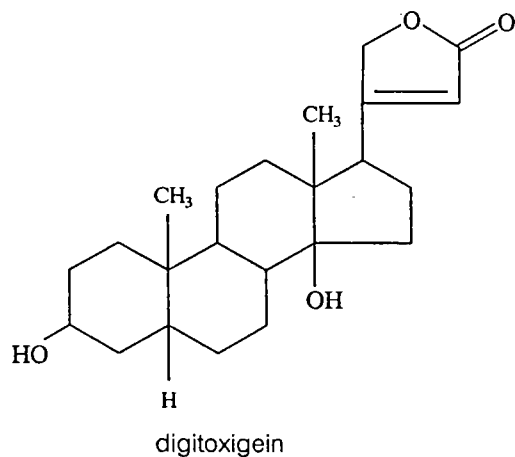
ภาพ แสดงชีวสังเคราะห์ของคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์

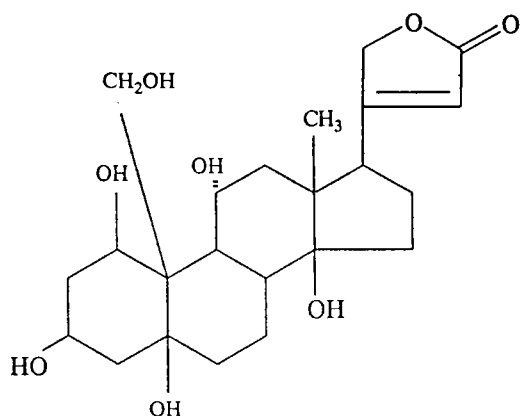
การกระจายตัวของคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์

คาร์ดิแอกกลัยโคไซด์ พบได้ในพืชหลายวงศ์ซึ่งไม่ค่อยจะมีความสัมพันธ์กัน วงศ์ของพืช ที่พบกลัยโคไซด์ชนิดนี้บ่อยๆ ได้แก่ Apocynaceae, Asclepiadaceae, Liliaceae, Ranunculaceae, Euphorbiaceae, Tiliaceae, Celastraceae, Leguminosae และ Scrophulariaceae

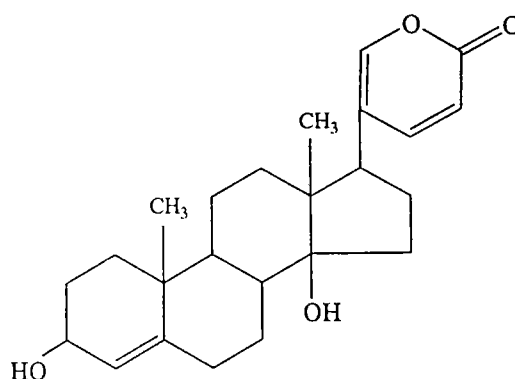
กลัยโคไซด์จากพืชที่นำมาใช้รักษาโรคหัวใจ

1. digitoxin (digitoxigenin + 3 digitoxose) เป็นคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์ที่ได้จาก *Digitallis purpurea* L.D. *lanata* Ehrhart และ species อื่นๆ (วงศ์ Scrophulariaceae) เป็นสารที่ออกฤทธิ์แรง และมีพิษสูง ใช้เป็นยาบำรุงหัวใจ
2. digoxin (digoxigenin + 3 digitoxose) ได้จากใบของ *D. lanata* เป็นสารออกฤทธิ์แรง ใช้รักษา congestive heart failure และ cardiac tachyarrhythmia
3. ouabain หรือ G – strophanthin (ouabagenin + rhamnose) ได้จากเมล็ดของ *Strophanthus gratus* Baillon หรือจากเนื้อไม้ของ *Acokanthera schimperi* Schwf (วงศ์ Apocynaceae) เป็นสารที่ออกฤทธิ์ได้รวดเร็ว ใช้รักษาโรคหัวใจวายเฉียบพลัน (acute cardiac failure)
4. scillaren A (scillarenin A + rhamnose + glucose) ได้จากส่วนใบ (scale) บนหัวใต้ดิน (bulb) ของ squill (*Urginea maritima* Baker) วงศ์ Liliacea ใช้เป็นยาขับเสมหะที่ออกฤทธิ์บำรุง หัวใจและมีฤทธิ์ขับปัสสาวะด้วย





ouabagenin



scillarenin

การตรวจสอบและการสกัดคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากพืช

การตรวจสอบคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์ในพืช ทำได้โดยอาศัยปฏิกิริยาเคมีเฉพาะต่อส่วนต่างๆ ของคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์ ได้แก่

1. การตรวจสอบ unsaturated lactone ring ที่ C-17 โดยอาศัยน้ำยาทดสอบชื่อ Baljet (2, 4, 6 - trinitro - phenol) หรือ Kedde' (3, 5 - dinitrobenzoic acid) หรือ Raymond (m-dinitrobenzene) หรือ น้ำยา Legal (sodium nitroprusside) น้ำยาทดสอบเหล่านี้จะทำปฏิกิริยากับ active methylene group ใน unsaturated lactone ring โดย ผลการทดสอบเป็นบวก จะให้สีตามลำดับดังนี้ orange - purple - blue - violet การตรวจสอบ unsaturated lactone ring นี้เป็นการตรวจที่สำคัญ และนิยมใช้มากที่สุด

2. การตรวจสอบ deoxy sugar moiety น้ำยาตรวจสอบที่ใช้ ได้แก่ Kiliani ferric chloride - acetic acid), Tollens (silver nitrate - ammonia) และ Perez (xanthydrol) ในกรณี que ผลการตรวจสอบเป็น - อาจหมายถึงสารอยู่ในรูปของ aglycone ได้เช่นกัน

3. การตรวจสอบ steroid nucleus ปฏิกิริยาตรวจสอบที่นิยมใช้ คือ Liebermann-Buchard test (acetic anhydride - sulfuric acid) และ Carr - Price (antimony trichloride - acetic anhydride)

ในการสรุปผลว่ามีคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์ในพืชหรือไม่นั้น เมื่อได้ผลการทดสอบเป็นบวกกับปฏิกิริยา หนึ่งแล้วจะต้องทำ confirm test เพื่อตรวจสอบหาส่วนอื่นอีก 2 ส่วนที่เหลือด้วย ถ้าผลการตรวจสอบได้ผลการทดสอบเป็นลบ กับ Kedde หรือ

Legal reagent แต่ได้ผลการทดสอบเป็นบวก กับ Liebermann-Buchard กับ Keller อาจแสดงว่าในพืชมี digitanol glycoside (เช่น diginin, digifolein) เนื่องจาก กลัยโคไซด์พวกนี้ไม่มี α - β unsaturated lactone ring ที่ C-17 ซึ่งเป็นผลให้ไม่มีฤทธิ์ต่อหัวใจ

บทปฏิบัติการที่ 5

เรื่อง การสกัดและแยกคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากเมล็ดรำเพยโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

วัตถุประสงค์

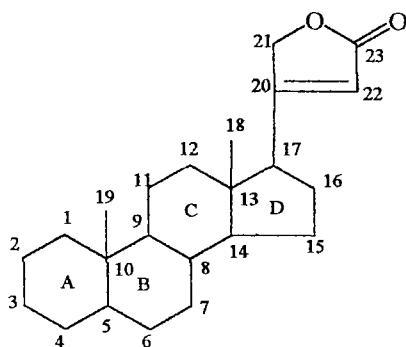
1. เพื่อศึกษาการสกัด คาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากเมล็ดรำเพย
2. เพื่อศึกษาวิธีการแยกคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากสารสกัดเมล็ดรำเพยด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง
3. เพื่อตรวจสอบคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์ด้วยปฏิกิริยาเคมี

หลักการ / ทฤษฎี

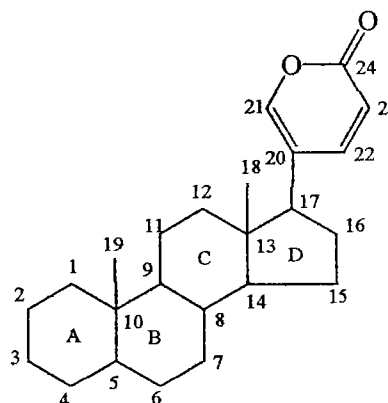
คาร์ดิแอกกลัยโคไซด์ (cardiac glycoside) เป็นกลัยโคไซด์ที่ออกฤทธิ์ต่อกล้ามเนื้อโดยตรง โดยมีผลไปกระตุ้นการทำงานของกล้ามเนื้อหัวใจ ทำให้บีบตัวแรงขึ้น (positive inotropic effect) แต่จะเต้นช้าลง สารกลุ่มนี้มีความสำคัญทางการแพทย์ ใช้รักษาโรค congestive heart failure

คาร์ดิแอกกลัยโคไซด์มี steroid nucleus ซึ่งอาจเป็น C_{23} หรือ C_{24} steroidal glycoside โดยมีน้ำตาลมาเชื่อมต่อกับคาร์บอนตำแหน่งที่ 3 ของนิวเคลียส ซึ่งจะเป็นชนิด O-glycoside เมื่อพิจารณาตามลักษณะของ อะกลัยโคน สามารถแบ่งได้เป็น 2 แบบ คือ cardenolides และ bufanilides (bufadienolides)

รำเพย เป็นพืชในวงศ์ Apocynaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Thevetia Peruviana* (Pers) K. Schum. จากการศึกษพบว่ารำเพยมีสาร cardenolides อยู่ในเมล็ด



cardenolide



bufadienolide

อุปกรณ์ / เครื่องมือและสารเคมี

อุปกรณ์/เครื่องมือ

1. ขวดรูปชมพู่
2. ปีกเกอร์
3. กรวยกรอง
4. กระดาษกรอง
5. แท่งแก้ว
6. เต้าไฟฟ้า
7. สำลี
8. กรวยแยก
9. ชามระเหย
10. หม้ออังไอน้ำ
11. สไลด์
12. แก้วพร้อมฝาปิด
13. เครื่องส่องรังสีเหนือม่วง
14. เครื่องชั่งเชิงวิเคราะห์ทศนิยม 4 ตำแหน่ง

สารเคมี

1. เฮกเซน
2. เอธิลแอลกอฮอล์
3. เลดอะซิเตด
4. คลอโรฟอร์ม
5. โซเดียมซัลเฟตที่ปราศจากน้ำ
6. อะซิติกแอนไฮไดรด์
7. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น
8. เคดเดสรีเอเจนต์ (kedd' reagent)
9. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์
10. เพอริกคลอไรด์
11. อะซิโตน
12. เมทานอล
13. เอธิลอะซิเตด
14. กรดอะซิติกเข้มข้น
15. อะซิโตนไทล์

16. น้ำกลั่น
17. ยาลาน็อกซิน (Lanoxin) ขององค์การเภสัชกรรม
18. ยาไดโกซิน (Digoxin) ของ Glaxo wellcome
19. สารละลายกรด 3,5 ไดไนโตรเบนโซอิก

พืชตัวอย่าง

เมลิ็ดร่าเพย

ตอนที่ 1 การสกัดคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากเมลิ็ดร่าเพย

วิธีการทดลอง

1. นำเมลิ็ดร่าเพยแห้งบดให้ละเอียดซึ่งมา 5 กรัม สกัดด้วยเฮกเซนจำนวน 20 ซม.³ เพื่อสกัดไขมันออก ตั้งทิ้งไว้ 1 วัน
2. เมื่อครบกำหนด กรอง แล้วสกัดต่อด้วยเอธิลแอลกอฮอล์จำนวน 40 ซม.³
3. นำสารละลายจากข้อ 2) มาทำให้ร้อนบนเตาไฟฟ้าที่อุณหภูมิประมาณ 50-60 องศาเซลเซียส พร้อมคนตลอดเวลา ประมาณ 15 – 20 นาทีแล้วกรองเอาสารสกัดผ่านสำลี
4. นำสารละลายที่กรองได้จากข้อ 3) มาเติมสารละลายเคอะซิเดตเข้มข้นร้อยละ 10 จำนวน 25 ซม.³ เขย่าให้เข้ากันทำให้ร้อนบนเตาไฟฟ้า ประมาณ 15 นาทีโดยคนตลอดเวลา
5. ทำให้เย็นกรองด้วยกรวยกรอง
6. นำสารละลายที่ได้มาสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม ในกรวยแยก 3 ครั้ง ๆ ละ 30 , 20 , และ 10 ซม.³ ตามลำดับ
7. นำสารสกัดคลอโรฟอร์มที่ได้จากข้อ 6) มาดูดน้ำและความชื้นออกด้วยโซเดียมซัลเฟตที่ปราศจากน้ำ โดยใส่ไปในอัตราส่วนสารละลายต่อโซเดียมซัลเฟตที่ปราศจากน้ำ เท่ากับ 10 ซม.³ ต่อ 1 กรัม ใช้แท่งแก้วคน
8. กรองโดยใช้กรวยกรองผ่านกระดาษกรองที่แห้ง ใส่ในชามระเหยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 ซม.
9. นำชามระเหยไปวางบนหม้ออังไอน้ำเพื่อระเหยคลอโรฟอร์มออกไปให้เหลือประมาณ 1/10 ของปริมาตรเดิม บันทึกผล

ตอนที่ 2 การตรวจสอบคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์โดยปฏิกิริยาการเกิดสี

1. ตรวจ steroidal moiety

วิธีการทดลอง

1.1 นำสารสกัดเข้มข้นจากตอนที่ 1) บีบประมาณ 2 ซม.³ ใส่ในขามระเหย ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 ซม.

1.2 นำไปประเหยบนหม้ออังไอน้ำอีกเล็กน้อยจนเกือบแห้ง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น

1.3 เติมน้ำอะซิติกแอโนไฮไดร 3 หยด ผสมให้เข้ากันดี

1.4 ค่อย ๆ หยดกรดกำมะถันเข้มข้น ลงข้าง ๆ ขามระเหยจำนวน 1 หยด ให้สารผสมกันสังเกตสีที่เกิดขึ้นทันที และสังเกตสีเมื่อตั้งทิ้งไว้ 30 นาที เทียบกับสารละลายมาตรฐาน คือ สารละลายจากยาลาน็อกซินขององค์การเภสัชกรรมและโคโคซิน ของ บริษัท Glaxo Wellcome

2. ตรวจ Unsaturated lactone ที่ C₁₇ (butenolide)

วิธีการทดลอง

2.1 บีบสารสกัดเข้มข้นที่ได้จากตอนที่ 1 มา 2 ซม.³ ใส่ขามระเหยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 ซม. นำไปประเหยบนหม้ออังไอน้ำจนได้สารสกัดเกือบแห้ง ปล่อยให้เย็น

2.2 เติมนีเคดเดส์ (Kedde's reagent) ลงไป 0.5 ซม.³ และเติมน้ำละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 2 นอร์มัล ลงไปสังเกตสี

3) ตรวจน้ำตาลดีออกซี (deoxy sugar)

วิธีการทดลอง

3.1 บีบสารสกัดเข้มข้นที่ได้จากตอนที่ 1 ใส่หลอดทดลองจำนวน 3 ซม.³ เติมน้ำเพอร์ริกคลอไรด์รีเอเจนต์ จำนวน 1 ซม.³ ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 1 นาที

3.2 เอียงหลอดทดลองทำมุม 45 องศาเซลเซียส หยดกรดซัลฟิวริกเข้มข้นลงไป 5-6 หยด ลงข้างหลอดทดลอง เพื่อให้ค่อย ๆ ลงไปข้าง ๆ หลอดทดลองและให้แยกออกเป็นสองชั้น ตั้งหลอดทดลองให้ตรง สังเกตสีที่เกิดขึ้นระหว่างชั้นของสารละลาย

ตอนที่ 3 การแยกคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากสารสกัดเมล็ดรำเพยโดย

วิธีโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

วิธีการทดลอง

1. นำสารสกัดเข้มข้นที่ได้จากตอนที่ 1 หนัก 0.1 กรัมละลายด้วยเมทานอล 10 ซม.³ ให้เป็นสารละลายเนื้อเดียวกัน

2. นำหลอดแคพพิลลารี จุ่มลงไปในการละลายที่ได้จากข้อ 1) แล้วนำไปจุดลงบนแผ่นสไลด์เคลือบด้วยซิลิกาเจล จีเอฟ 254 ทิ้งไว้ให้แห้งแล้วนำแผ่นสไลด์ไปจุ่มในภาชนะที่อ้อมตัวด้วยไอของตัวทำละลาย 4 ระบบคือ

ระบบที่ 1 อะซิโตน : เมทานอล

2 : 8

ระบบที่ 2 เมทานอล : น้ำ : acetic acid (0.5 นอร์มัล)

8 : 2 : 0.5

ระบบที่ 3 เอธิลอะซิเตต : อะซิโตน : เมทานอล

1 : 1 : 8

ระบบที่ 4 อะซิโตนไไตรล์ : น้ำ

1 : 9

3. นำสารมาตรฐาน คือ ยารักษาโรคหัวใจ ชื่อ ลาน็อกซิน (Lanoxin) ขององค์การเภสัชกรรม และ ไดโกซิน (Digoxin) ของ บริษัท Glaxo Wellcome หนัก 0.25 มิลลิกรัม ละลายในน้ำ 5 ซม.³ ให้เป็นเนื้อเดียวกัน

4. นำสารละลายจากข้อ 3) มาจุดลงบนแผ่นสไลด์เทียบกับสารตัวอย่างที่สกัดได้จากเมล็ดรำเพยที่ได้จากตอนที่ 1 ต้องประกอบที่แยกได้ว่าตรงกับสารมาตรฐานหรือไม่ โดยตรวจวัดด้วยเครื่องส่องรังสีเหนือม่วง บันทึกผล หรืออาจตรวจสอบโดยใช้สารละลายกรด 3, 5 ไดโนไตรเบนโซอิก เข้มข้น 2 % ในเมทานอล (สารตรวจสอบชุดที่ 1) หรือส่วนผสมของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 2 นอร์มัล และเมทานอล อัตราส่วน 1 : 1 (เตรียมใหม่ๆ) (สารตรวจสอบชุดที่ 2) โดยฉีดพ่นลงไป สังเกตสีที่เกิดขึ้น

การเตรียมรีเอเจนต์

เคดเดสรีเอเจนต์ (Kedde's reagent)

สารละลาย 2 % ของ 3,5 dinitrobenzoic acid ในเมทานอล (methanol)

รายงานการทดลองบทปฏิบัติการที่ 5

เรื่อง การสกัดและแยกคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากเมล็ดลำแพย

วัน / เดือน / ปีกลุ่มที่..... เวลาที่ใช้ในการทดลอง.....

ชื่อผู้ทดลอง

1.
2.

วัตถุประสงค์

.....

ผลการทดลอง

ตอนที่ 1 การสกัดคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากเมล็ดลำแพย

ปริมาตรของสารสกัดที่ได้ หลังจากการระเหยคลอโรฟอร์มออกไปเท่ากับ ซม.³
 สารสกัดที่ได้มีสี.....

ตอนที่ 2 การตรวจสอบคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์โดยปฏิกิริยาการเกิดสี

1) ตรวจ steroidal moiety

เมื่อหยดกรดซัลฟิวริกเข้มข้นลงไปให้สารผสมกัน สารที่ได้มี.....
 เพราะ.....

เมื่อตั้งทิ้งไว้ 30 นาทีมีสี.....เพราะ.....

2) ตรวจ unsaturated lactone ที่ C₁₇ (butenolide)

เมื่อเติมเคเดเตสรีเอเจนต์ และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 2 นอร์มัล ลงไปมีสี.....เพราะ.....

3) ตรวจน้ำตาลดีออกซี

เมื่อสารละลายแยกเป็น 2 ชั้นตรงรอยต่อของสารละลายมีสี.....
 เพราะ.....

ตอนที่ 3 การแยกคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากสารสกัดเมล็ดร่ำเพยโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

ระบบที่	R_f		
	ลานีอกซิน	ไดโกซิน	สารตัวอย่าง
1			
2			
3			
4			

สรุปผลการทดลอง

.....

.....

.....

.....

อภิปรายผลการทดลอง

.....

.....

.....

.....

คำถามท้ายการทดลอง

1. โครงสร้างคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์ ประกอบด้วยส่วนที่สำคัญ ๆ อะไรบ้างแต่ละส่วนมีโครงสร้างแตกต่างกันอย่างไร

.....

.....

.....

.....

2. ในการทดสอบว่าพืชมีคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์หรือไม่ เราอาจทดสอบได้โดยวิธีใด จงเขียนแผนภาพแสดงการทดสอบแต่ละวิธี

.....

.....

.....

.....

3. ยารักษาโรคหัวใจที่นำมาเป็นสารมาตรฐานนั้น สามารถทราบได้อย่างไรว่ามีคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์ จงอธิบายและบอกวิธีทดสอบ

.....

.....

.....

.....

.....

4. จงอธิบายความหมายของคำต่อไปนี้

- glycoside
- deoxy suger
- unsaturated lactone

.....

.....

.....

.....

.....

.....

เอกสารอ้างอิง

ถนนอมศรี วงศ์รัตนาสถิตย์. (2530). *เภสัชวินิจฉัยเล่ม 3*. กรุงเทพฯ : ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย มหาวิทยาลัยมหิดล.

_____. (2534). *ยาและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีฤทธิ์ต่อระบบหัวใจและหลอดเลือด*
ใน วีณา จิรัจฉริยากุล บรรณาธิการ : ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ.

Brain KB, Turner TD. (1975). *The Practical Evaluation of phytopharmaceuticals*.
Bristol : Wright Scientecnica.

Maeek K. ed. (1972). *Pharmaceutical Applications of Thin – layer and paper chromatography*. New York : Elsevier Publishing.

Stahl E. (1973). *Drug Analysis by chromatography and Microscopy, A Practical Supplement to Pharmacopocias*. Pensylvania : Ann Arbor Science Publishers.

Wagner H, Bladt S & Zgainski Em. (1984). *Plant Drug Analysis*. Berlin : Springer – Verlag.

เอกสารประกอบบทปฏิบัติการ (ใบความรู้)

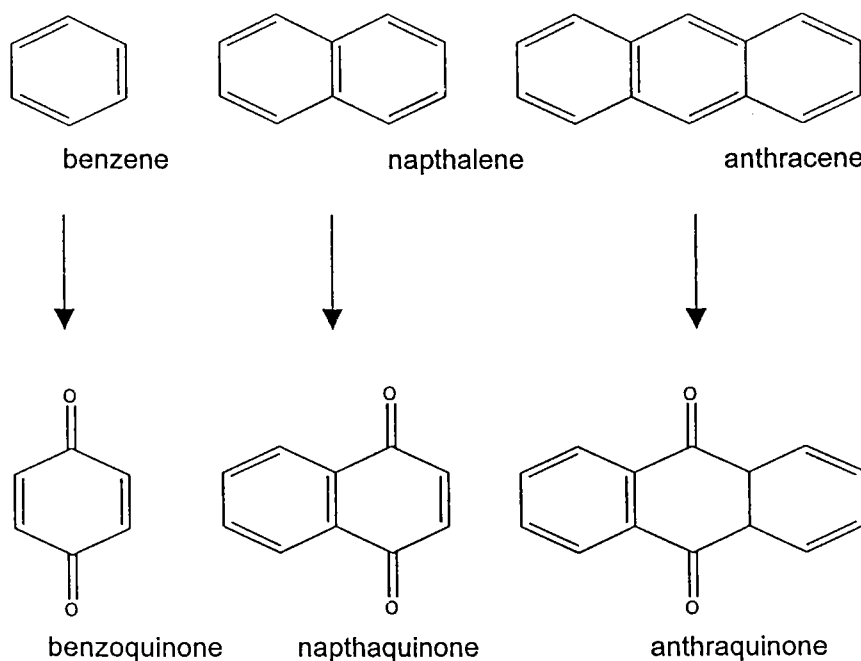
สาระสำคัญ

สารจำพวกควิโนน (quinones) เป็นสารที่มีสีพบในธรรมชาติ มีสีเหลือง ส้ม แดงเข้ม จนถึงเกือบดำ แต่ไม่ได้มีส่วนแต่งสีส่นให้กับธรรมชาติเหมือนรงควัตถุ (pigments) อื่น ๆ เช่น ฟลาโวนอยด์ หรือ เอนโซไซยานิน สารประกอบควิโนน มีโครงสร้างเป็น aromatic diketone ประกอบด้วยวงแหวนเบนซีน (benzene ring) ตั้งแต่ 1 วง ขึ้นไป และมีหมู่คีโตน 2 หมู่ อยู่ในตำแหน่ง para ซึ่งกันและกัน ควิโนนพบในธรรมชาติทั้งในรูปแบบอิสระและในรูปแบบกลัยโคไซด์ซึ่งสามารถถูกสลายตัวด้วยน้ำ (hydrolysed) ได้ด้วยกรด ด่าง หรือเอนไซม์ สีของควิโนนจะออกเหลืองหรือสีส้ม และจะเปลี่ยนไปทางสีแดงเมื่ออยู่ในด่าง

ควิโนนที่ใช้ประโยชน์ทางยาจะมีฤทธิ์ทางแก้โรคผิวหนัง กลาก เกื้อน ใช้เป็นยาระบาย (laxative) และเป็นยาถ่าย (purgative)

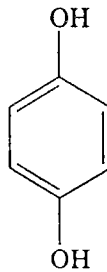
การแบ่งกลุ่มของควิโนน

ควิโนนแบ่งตามสูตรโครงสร้างได้เป็น เบนโซควิโนน (benzoquinones), แนฟทาควิโนน (naphthaquinones) และ แอนทราควิโนน (anthraquinones) และในโครงสร้างมักจะมีไฮดรอกซีฟีนอลิก (phenolic hydroxy group)



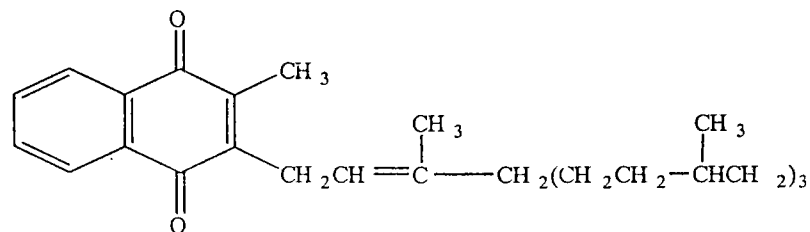
1. เบนโซควิโนน (Benzoquinones)

พบมากในรา ในรูปอะกลัยโคน ในพืชชั้นสูงพบได้บ้างแต่มักจะพบในรูปที่ถูกรีดิวซ์ (reduced form) ที่เรียกว่า ไฮโดรควิโนน (hydroquinones)



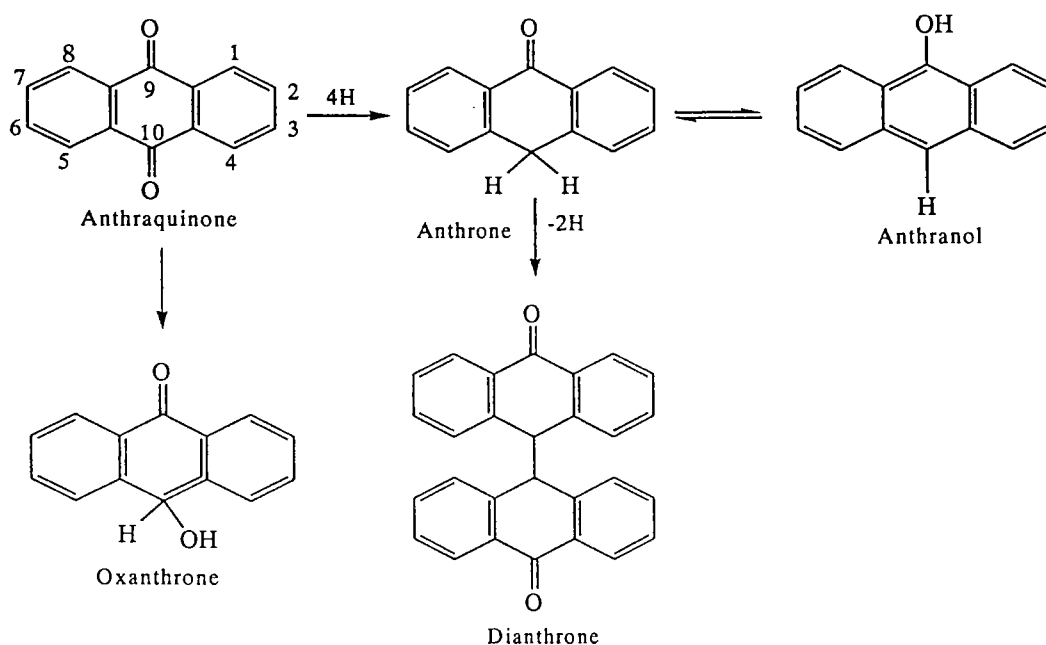
2. แนพธาคิวโนน (Naphthaquinones)

มีสีเหลือง ส้ม พบในธรรมชาติทั้งในรูปแบบอิสระ และในรูปแบบกลัยโคไซด์ ที่พบมากได้แก่ วิตามินเคหนึ่ง (vitamin K₁), คลอโรพลาสต์ (chloroplast)



3. แอนทราควิโนน (Anthraquinones)

เป็นควิโนนกลุ่มใหญ่ที่สุด มีการนำมาใช้ประโยชน์ทางยามากที่สุด ปกติมีสีแดง ส้ม แต่บางที่มีสีตั้งแต่เหลืองจนถึงน้ำตาลเกือบดำพบในธรรมชาติทั้งในรูปอิสระและในรูปแบบกลัยโคไซด์ แต่ในธรรมชาติมักอยู่ในรูปกลัยโคไซด์ นอกจากนี้ยังพบในรูปที่ถูกรีดิวซ์ต่าง ๆ ได้แก่ anthrone, anthranol, oxanthrone และในรูป dimer เช่น dianthranol



เคมีของแอนทราควิโนน

แอนทราควิโนนมีโครงสร้างพื้นฐานประกอบด้วย 3 วงแหวน (3 - ring system) เป็นสารที่มีสีแดง-ส้ม แต่อาจจะพบได้ตั้งแต่สีเหลืองถึงสีน้ำตาล ส่วนอะกลัยโคน ของ แอนทราควิโนน ละลายได้ดีในด่างให้สีชมพู-แดง ละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เบนซีน, อีเทอร์ และ คลอโรฟอร์ม แอนทราควิโนนเกือบทุกตัวจะมีจุดหลอมเหลวสูง และบางตัวยังสามารถระเหิดได้ด้วยแอนทราควิโนนที่พบในพืชชั้นสูงส่วนใหญ่จะถูกเติมหมู่ไฮดรอกซิล ที่ C-1 และ C-2 ในธรรมชาติจะพบในรูปกลัยโคไซด์เป็นส่วนใหญ่ และมักจะพบเป็นชนิด O-glycoside ส่วนน้อยพบเป็น C-glycoside เช่น aloin (berbaloin) น้ำตาลที่พบส่วนมากเป็น glucose , primeverose อาจพบ rhamnose ได้บ้าง แอนทราควิโนนที่พบอาจมีอะกลัยโคนเป็น reduced form ของแอนทราควิโนนได้

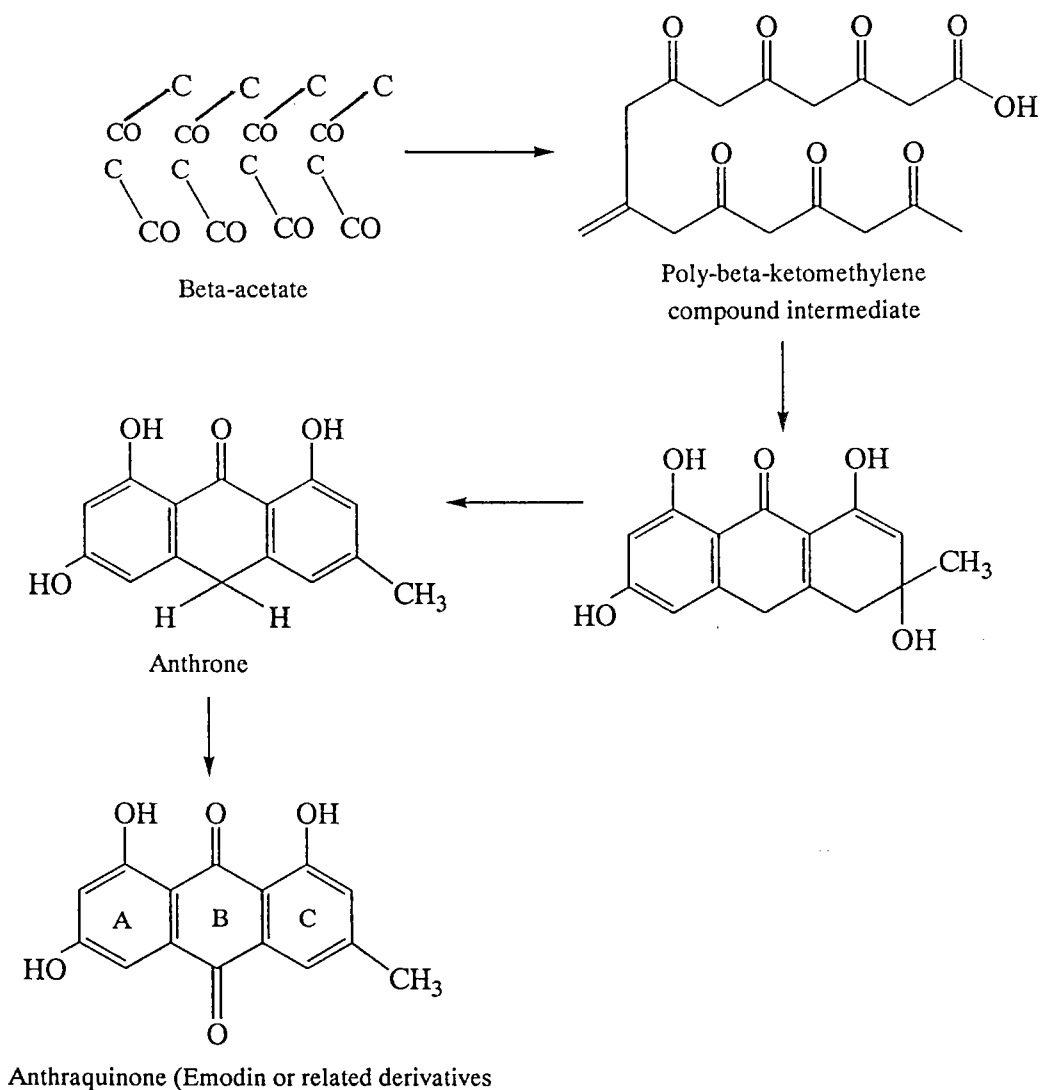
จากการศึกษาทางเภสัชวิทยาพบว่า free anthranol เป็นสารที่ออกฤทธิ์เป็นยาถ่ายหรือยาระบาย การที่แอนทราควิโนนมีฤทธิ์เป็นยาระบาย ได้เนื่องจากถูก reduced ให้เป็น free anthranol โดยแบคทีเรียในลำไส้ anthraquinones ออกฤทธิ์เป็น stimulant cathartic โดยการเพิ่ม tone ของกล้ามเนื้อเรียบที่ผนังลำไส้ใหญ่

ชีวสังเคราะห์ของแอนทราควิโนน

แอนทราควิโนนมักถูกดัดแปลงมาจาก acetate, shikimate และ mavalonate
ชีวสังเคราะห์ของแอนทราควิโนน เป็นไปได้ 2 แบบ คือ

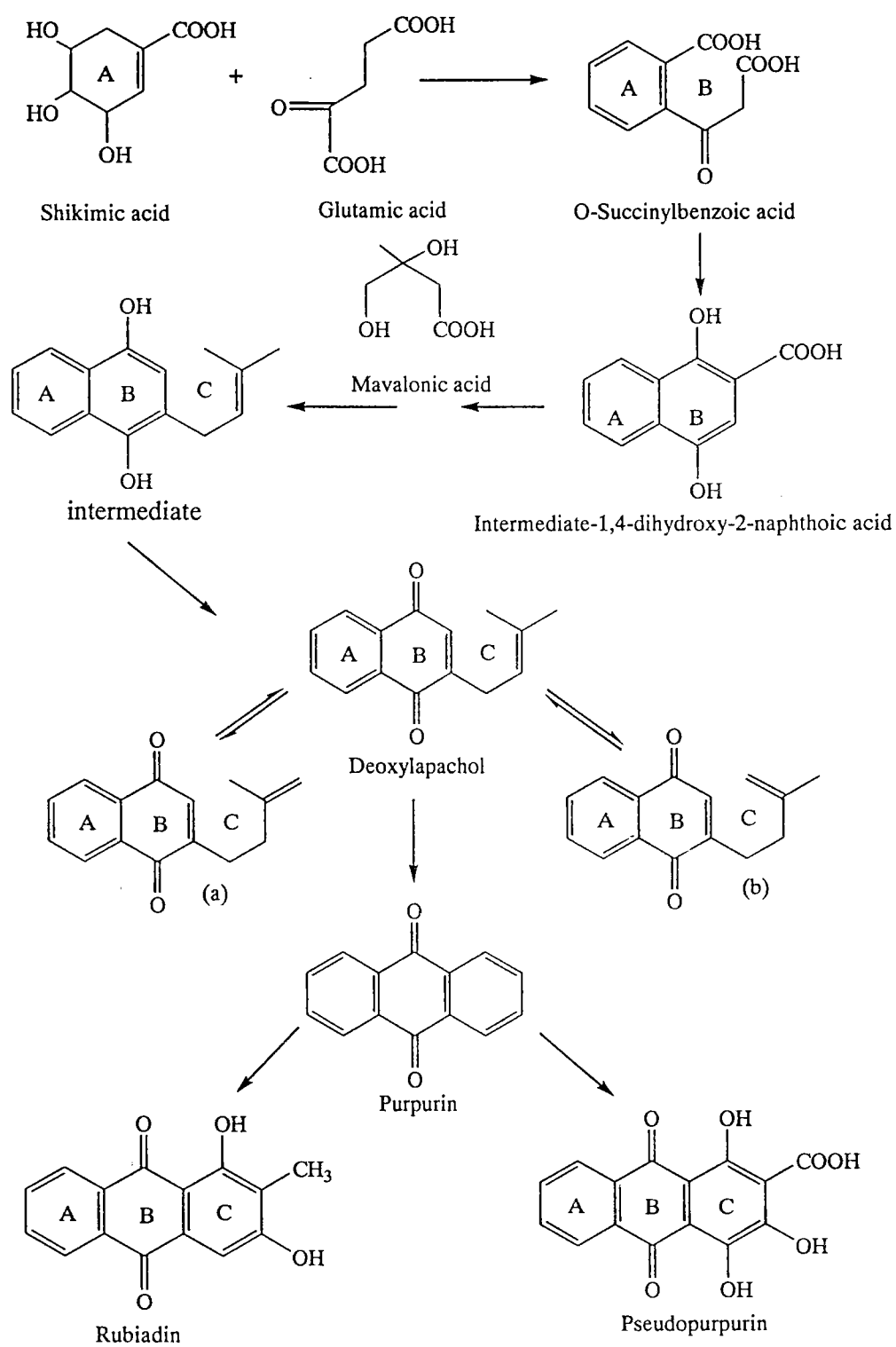
1. acetate – malonate route

มีสารตั้งต้นเป็น acetate และ malonate ผ่าน aromatic polyketides ตัวอย่างแอนทราควิโนนที่ได้จากกระบวนการชีวสังเคราะห์แบบนี้ ได้แก่ emodin , chrysophanol เป็นต้น



2. shikamate and mevalonate route

แอนทราควิโนนที่ได้จากวิธีนี้ จะมีการ substituted เฉพาะในวงแหวน C เท่านั้น มักพบ ในพืชวงศ์ Rubiaceae พบบ้างในวงศ์ Bignoniaceae และ Verbenaceae ตัวอย่างแอนทราควิโนน เช่น alizarin และ tectoquinone เป็นต้น



การกระจายตัวของแอนทราควิโนน

แอนทราควิโนนในพืชชั้นสูงพบได้ทั้งในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและพืชใบเลี้ยงคู่ พืชใบเลี้ยงเดี่ยว พบได้ในวงศ์ Liliaceae ส่วนพืชใบเลี้ยงคู่พบได้ในวงศ์ Rubiaceae, Leguminosae, Polyporeae, Rhamnaceae, Ericaceae, Eupobiaceae, Lythraceae, Saxifragaceae, Scrophulariaceae และ Verbenaceae นอกจากนี้ยังพบได้ใน Lichen, fungi โดยเฉพาะจาก *Aspergillus* และ *Penicillium*

การตรวจสอบเบื้องต้น

1. Borntrager's test

โดยย่อยแอนทราควิโนนด้วยสารละลายกรดหรือด่าง จะได้แอนทราควิโนนอะกลัยโคน จากนั้นแยกอะกลัยโคนออกจากสารอื่น ๆ โดยการเขย่ากับตัวทำละลายอินทรีย์ จากนั้นแยกชั้นตัวทำละลายอินทรีย์ นำมาเติมด่าง จะได้สีชมพูแดงในชั้นต่าง เนื่องจากเกิดเกลือของแอนทราควิโนน โดยความเข้มของสีขึ้นอยู่กับปริมาณของแอนทราควิโนน โดยปฏิกิริยานี้จะให้ผลการทดสอบเป็นบวกกับแอนทราควิโนนด้วย

ถ้าในตัวอย่างที่นำมาทดสอบมี reduced form ของแอนทราควิโนน จะไม่เกิดสีชมพูแดงในชั้นต่างทันที แต่จะเห็นสารละลายเรืองแสงสีเขียวเหลือง จากนั้นเมื่อปฏิกิริยาออกซิเดชันเกิดขึ้นสมบูรณ์แล้วเกิดสีชมพูแดงเช่นกัน

Anthraquinones C – glycosides จะย่อยได้ยากโดยกรดหรือด่าง ดังนั้นต้องเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ หรือใช้ เพอร์ริกคลอไรด์ เพื่อย่อยให้เป็นอะกลัยโคน เรียกวิธีนี้ว่า Modified Borntrager's test

2. Sublimation

วิธีนี้ใช้กับแอนทราควิโนนที่ระเหิดได้ ทำได้โดยการเผาผงยาที่อุณหภูมิ 160-180 องศาเซลเซียส แอนทราควิโนนจะระเหิด จากนั้นทำให้แอนทราควิโนนรวมตัวกันตกผลึกโดยใช้ความเย็นช่วย จะเป็นผลึกหรือหยดน้ำมัน จากนั้นหยดสารละลายที่เป็นด่าง เช่น แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ หรือ โซเดียมไฮดรอกไซด์ ลงไป ผลการทดสอบเป็นบวกจะเกิดเป็นสีชมพูแดง

บทปฏิบัติการที่ 6

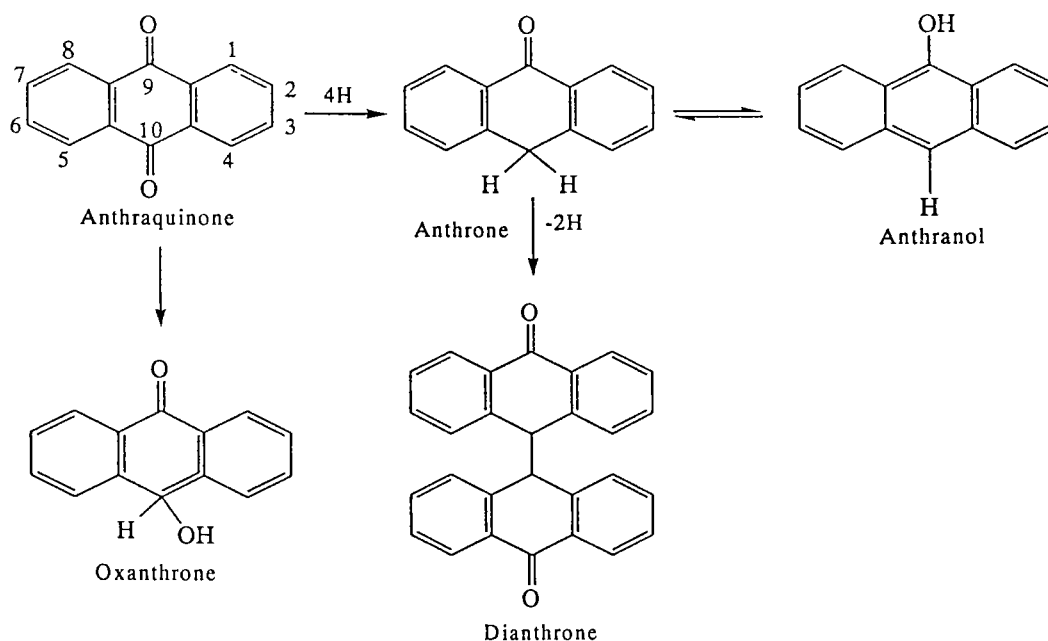
เรื่อง การสกัดและแยกแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบางและปฏิกิริยาเคมี

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาวิธีการสกัดแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศ
2. เพื่อศึกษาวิธีการสกัดแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง
3. เพื่อศึกษาวิธีการแยกแอนทราควิโนนด้วยปฏิกิริยาเคมี

หลักการ / ทฤษฎี

แอนทราควิโนน (anthraquinone) มีโครงสร้างพื้นฐานประกอบด้วย 3 วงแหวน (3-ring system) เป็นสารที่ออกฤทธิ์เป็นยาถ่ายหรือยาระบาย ในธรรมชาติพบได้ในรูปอิสระและในรูป กลัยโคไซด์ ส่วนมากพบเป็นชนิด O - Glycosides มีบ้างที่พบในรูป C - Glycosides เช่น บาบาลอีน (barbaloin) และยังสามารถพบในรูปของ reduced form เช่น Oxanthrones, Anthranols, Anthrones และ Dianthrone

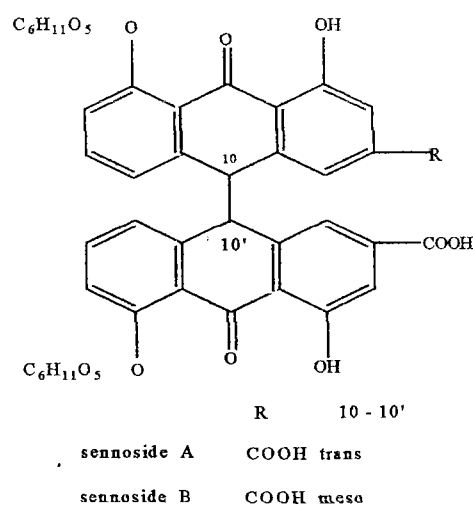
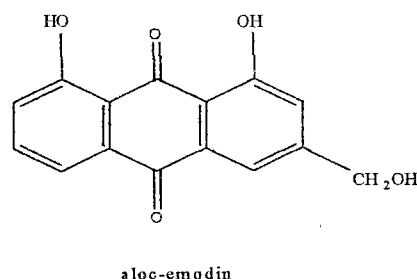
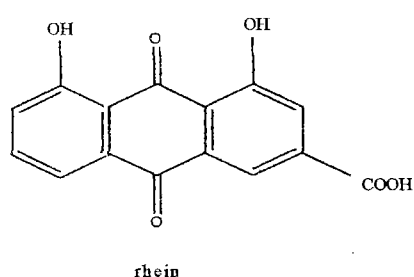


แอนทราควิโนนเป็นสารที่มีสีเหลือง - น้ำตาล ส่วนอะกลัยโคนของแอนทราควิโนนละลายได้ดีในด่างให้สีชมพู-แดง ละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เบนซีน, อีเทอร์และคลอโรฟอร์ม แอนทราควิโนนเกือบทุกตัวมีจุดหลอมเหลวสูง พบได้ทั้งในพืช แมลง และจุลชีพ ในพืชชั้นสูงพบได้ทั้งในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและพืชใบเลี้ยงคู่ ตัวอย่างพืชที่พบแอนทราควิโนน เช่น ใบและฝักมะขามแขก ใบชุมเห็ดเทศ ฝักถั่ว เปลือกใบว่านหางจระเข้ เป็นต้น

แอนทราควิโนนส่วนใหญ่ใช้เป็นยาถ่าย ยาระบาย ใช้เป็นยารักษาเชื้อราที่ผิวหนังและใช้เป็นสีย้อม การที่ anthraquinone มีฤทธิ์เป็นยาระบายได้เนื่องจากถูกรีดิวส์ให้เป็น free anthranol โดยแบคทีเรียในลำไส้

ชุมเห็ดเทศ มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Cassia alata* Linn. วงศ์ Leguminosae ตำรายาไทยใช้ใบตำทาแก้กลากเกลื้อน โรคผิวหนัง ดอกและใบ ต้มทานแก้อาการท้องผูกปัจจุบันชุมเห็ดเทศจัดเป็นสมุนไพรในโครงการสาธารณสุขมูลฐานชนิดหนึ่งโดยใช้เป็นยาระบายและรักษาโรคกลาก

สารสำคัญในใบชุมเห็ดเทศ เป็นสารพวกแอนทราควิโนน เช่น เซนไนไซด์ A, B, C, D, rhein , aloe - emodin เป็นต้น.



อุปกรณ์ / เครื่องมือและสารเคมี

อุปกรณ์ / เครื่องมือ

1. ปีกเกอร์
2. ขวดรูปชมพู่
3. หม้ออังไอน้ำ
4. กรวยกรอง
5. กระดาษกรอง
6. กรวยแยก
7. หลอดทดลอง
8. หลอดแคปพิลลารี
9. สไลด์
10. แก้วพร้อมฝาปิด
11. เครื่องส่องรังสีเหนือม่วง
12. เครื่องชั่งเชิงวิเคราะห์ตุนิยม 4 ตำแหน่ง
13. กระบอกตวง

สารเคมี

1. อะซีโตน
2. สารละลายโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 5 %
3. สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เข้มข้น 3 %
4. น้ำกลั่น
5. เบนซีน
6. สารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 5 %
7. สารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 10 %
8. กรดเกลี้ยงละเอียด
9. เอทานอล
10. สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.5 %
11. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1 โมล/ลิตร

พืชตัวอย่าง

ใบชุมเห็ดเทศ

ตอนที่ 1 การสกัดแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศ

วิธีการทดลอง

1. นำใบชุมเห็ดเทศแห้ง ชั่งมา 500 กรัม บดให้ละเอียด ห่อใส่ผ้าขาวบางใส่ในขวดโหลแก้ว ใส่เมธานอลลงไปสกัด 200 ซม.³ ปิดฝาภาชนะตั้งทิ้งไว้ 5 วัน เขย่าเป็นครั้งคราว
2. กรองแยกเอาสารละลายออก เอาส่วนที่เป็นกากพืชมาสกัดซ้ำด้วยเมธานอล 200 ซม.³ ตั้งทิ้งไว้ 5 วัน
3. กรองแยกเอาสารละลายรวมกับสารละลายที่กรองได้จากข้อ 1) และข้อ 2)
4. นำไประเหยด้วยเครื่องระเหยสูญญากาศแบบหมุน จนได้สารสกัดเข้มข้นนำไปชั่งน้ำหนัก บันทึกผล (ขั้นตอนนี้อาจารย์เตรียมไว้ให้)

ตอนที่ 2 การแยกแอนทราควิโนนจากสารสกัดใบชุมเห็ดเทศและตรวจสอบด้วยปฏิกิริยาการเกิดสี

1. การแยกและการทดสอบกลัยโคไซด์ที่บริสุทธิ์ (purified glycoside)

วิธีการทดลอง

- 1.1 นำสารสกัดเข้มข้นที่ได้จากตอนที่ 1 น้ำหนัก 150 กรัม นำมาตกผลึกในส่วนผสมของอะซิโตน : น้ำ ในอัตราส่วน 1 : 1 จำนวน 50 ซม.³ จะได้กลัยโคไซด์ที่บริสุทธิ์ (purified glycoside)
- 1.2 นำผลึกที่ได้จากข้อ 1.1) มา 0.5 กรัม เติมสารละลายโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 0.5 นอร์มัล จำนวน 10 ซม.³ และสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เข้มข้น 3 % จำนวน 5 ซม.³ นำไปตั้งบนหม้ออังไอน้ำเป็นเวลา 10-15 นาที
- 1.3 ทิ้งให้เย็น กรอง ทำสารละลายที่กรองได้ให้เป็นกรดด้วยกรดอะซิติกเข้มข้น (glacial acetic acid) ทดสอบด้วยกระดาษลิตมัส
- 1.4 ถ่ายสารละลายที่เป็นกรดในข้อ 1.3) ลงในกรวยแยกสกัดด้วยเบนซีน จำนวน 15 ซม.³ แยกเอาชั้นเบนซีนไปรวมกับการสกัดครั้งแรก
- 1.5 ถ่ายสารละลายที่สกัดได้ที่อยู่ในชั้น เบนซีนลงในหลอดทดลอง 2 หลอด ๑ ละ 4 ซม.³ เติมสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 10 % จำนวน 4 ซม.³ ลงไปในหลอดหนึ่ง เขย่า สังเกตสีที่เกิดขึ้น อีกหลอดหนึ่งเก็บไว้เปรียบเทียบ

2. การแยกและการทดสอบส่วนที่เป็นอะกลัยโคน (aglycone)

วิธีการทดลอง

2.1 นำสารสกัดที่ได้จากตอนที่ 1หนัก 100 กรัม มาต้มกับ กรดอะซิกเข้มข้น จำนวน 50 ซม.³ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

2.2 ถ่ายสารจากข้อ 2.1) ใส่กรวยแยกแล้วสกัดด้วยส่วนผสมของ เอทานอล : เบนซีน ในอัตราส่วน 1 : 1 จำนวน 50 ซม.³ และสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.5 % จำนวน 5 ซม.³ แยกเอาชั้นเบนซีนซึ่งมีส่วนที่เป็นอะกลัยโคนอยู่

2.3 นำส่วนที่เป็นอะกลัยโคน ในชั้นเบนซีนมาสกัดด้วยสารละลายแอมโมเนียม ไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 5 % จำนวน 45 ซม.³ ในกรวยแยก แยกเอาชั้นเบนซีน

2.4 นำสารที่ได้จากข้อ 2.3) มาตกผลึกด้วย glacial acetic acid จำนวน 5 ซม.³ จะได้ผลึกของอะกลัยโคน

2.5 แยกส่วนของอะกลัยโคนออกจากสารละลายที่เป็นกรดด้วยเบนซีนจำนวน 15 ซม.³ โดยใส่ในกรวยแยก แยกเอาชั้นเบนซีน

2.6 แบ่งสารละลายจากข้อ 2.5) ใส่หลอดทดลอง 5 ซม.³ ใส่สารละลายโซเดียม ไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 1 โมล/ลิตร ลงไป 5 ซม.³ เขย่า สังเกตสีในชั้นของต่างเนื่องจากเกิดเกลือ ของแอนทราควิโนน (anthraquinones salt)

ตอนที่ 3 การแยกแอนทราควิโนนจากสารสกัดใบชุมเห็ดเทศด้วยวิธีโครมาโทกราฟี แบบเยื่อบาง

วิธีการทดลอง

1. นำสารสกัดเข้มข้นจากตอนที่ 1หนัก 0.10 กรัม ละลายในเมทานอล 10 ซม.³ ละลายให้เป็นเนื้อเดียวกัน

2. นำหลอดแคพพิลลารี จุ่มลงในสารละลายที่ได้จากข้อ 1) แล้วนำมาจุดลงบน แผ่นสไลด์ที่เคลือบด้วยซิลิกาเจล จีเอฟ 254

3. นำสารละลายมาตรฐาน คือ ยาระบายมะขามแขก ชื่อ เวนโนค็อต (sennokot) มา 1 เม็ดหนัก 0.2 มิลลิกรัม ละลายในเมทานอล 5 ซม.³ ให้เป็นเนื้อเดียวกัน

4. นำสารละลายจากข้อ 3) มาจุดลงบนแผ่นสไลด์ที่มีสารตัวอย่างอยู่ ปลอ่ยให้สารที่ จุดไว้แห้ง แล้วนำไปจุ่มในภาชนะที่อ้อมตัวด้วยไอของตัวทำละลาย 3 ระบบคือ

ระบบที่ 1 ไคคลอโรมีเทน : คลอโรฟอร์ม : เอธิลอะซิเตต

1 : 1 : 8

ระบบที่ 2 เฮกเซน : อะซิโตน : กรดอะซิติก (0.5 โมล/ลูกบาศก์เดซิเมตร)

6 : 4 : 0.5

ระบบที่ 3 เฮกเซน : เอธิลอะซิเตต

1 : 9

5. ปล่อยให้ตัวทำละลายซึมขึ้นมาถึงขอบบนของสไลด์ นำสไลด์ออกมาจากภาชนะ ปล่อยให้แห้ง นำไปส่องรังสีเหนือม่วง บันทึกผลหาค่า R_f ของสารตัวอย่างและสารมาตรฐานในแต่ละระบบ

รายงานการทดลองบทปฏิบัติการที่ 4

เรื่อง การสกัดและแยกแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบ
เยื่อบางและปฏิกิริยาเคมี

วัน / เดือน / ปี **กลุ่มที่** **เวลาที่ใช้ในการทดลอง**

ชื่อผู้ทดลอง

1

2

วัตถุประสงค์

.....
.....
.....

ผลการทดลอง

ตอนที่ 1 การสกัดแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศ

น้ำหนักของสารสกัดเข้มข้น เท่ากับ กรัม

ตอนที่ 2 การแยกแอนทราควิโนนจากสารสกัดใบชุมเห็ดเทศและตรวจสอบด้วยปฏิกิริยา
การเกิดสี

1. การแยกและทดสอบกลัยโคไซด์ที่บริสุทธิ์ (purified glycoside)

สารสกัดในชั้นเบนซีน เมื่อใส่สารละลาย 10 % NH_4OH มีสี

สารสกัดในชั้นเบนซีนเมื่อไม่ใส่สารละลาย 10 % NH_4OH มีสี

2. การแยกและทดสอบส่วนที่เป็นอะกลัยโคน (aglycone)

สารสกัดในชั้นเบนซีนเมื่อใส่สารละลายไฮเดียมไฮดรอกไซด์มีสี

ตอนที่ 3 การแยกแอนทราควิโนนจากสารสกัดใบชุมเห็ดเทศด้วยโครมาโทกราฟีแบบ
เยื่อบาง

ระบบที่	ค่า R_f	
	สารมาตรฐาน	สารตัวอย่าง
1		
2		
3		

สรุปผลการทดลอง

.....

.....

.....

อภิปรายผลการทดลอง

.....

.....

.....

.....

คำถามท้ายการทดลอง

1. O – Glycoside และ C – Glycoside หมายถึงอะไร และกลัยโคไซด์ทั้งสองชนิดนี้ แตกต่างอย่างไร

.....

.....

.....

2. Borntrager' s test คืออะไร มีประโยชน์อย่างไร และจงเขียนแผนภาพแสดง Bontrager's test

.....

.....

.....

ในการสกัดแยกแอนทราควิโนนจากชุมเห็ดเทศ เราทำสารละลายให้เป็นกรดก่อนสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์เพราะเหตุใด ถ้าใส่ด่างลงไปจะได้หรือไม่ เพราะเหตุใด

.....

.....

.....

3. sennoside A และ sennoside B คืออะไร มีโครงสร้างต่างกันอย่างไร และมีประโยชน์อย่างไร

.....

.....

.....

เอกสารอ้างอิง

- มัลลิกา ไตรเดช. (2537). การศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อราของสารสกัดจากใบชุมเห็ดเทศ.
กรุงเทพฯ : โครงการพิเศษเภสัชศาสตร์บัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์มหาวิทยาลัยมหิดล.
- วันดี กฤษณพันธ์. (2534). พฤษเคมีเบื้องต้น. ใน วีณา จิรัญรียากุล. บรรณาธิการยาและ
ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ. กรุงเทพฯ : Text and Journal Co.
- สำนักงานสาธารณสุขมูลฐาน. (2530). สมุนไพรใกล้ตัว. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์องค์การ
สงเคราะห์ทหารผ่านศึก.
- อ้อมบุญ ล้วนรัตน์. (2531). แอนทราควิโนนกลัยโคไซด์. ในคู่มือปฏิบัติการพฤษเคมี.
กรุงเทพฯ : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
- Ogunti EO. & Elujoba AA. (1993m April). *Laxative activity of cassia alata*.
(Leguminosae) oil leaf Thailand : Fitoterapia. 64(5) : 437-439.
- Raipp. (1978, May). *Anthracene derivative in leaves and fruits of cassia alata*. Curr
Sci : 47 (8) 271-272.
- Smith RM. & Sadaquat A. (1979, October). *Anthraquinones From the leaves of cassia
alata from Fiji*. NZJ Sci. 22(2) : 123.
- Thamlikitkul V. et al. (1987, March). "Randomized controlled trial of Cassia Alata Linn.
For constipation,". *J Med. Ass*. 73(4) : 217-221.

เอกสารประกอบบทปฏิบัติการ (ใบความรู้)

สาระสำคัญ

แอลคาลอยด์ (alkaloid) เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบมีฤทธิ์เป็นด่างส่วนใหญ่จะพบแอลคาลอยด์ในพืชชั้นสูงโดยเฉพาะพืชใบเลี้ยงคู่ วงศ์ที่พบแอลคาลอยด์ ได้แก่ Apocynaceae, Papaveraceae, Papalioneae, Rubiaceae, Rutaceae, Menispermaceae, Ranunculaceae, Lauraceae, Solanaceae, Loganiaceae, Berberidaceae และ Compositae พืชใบเลี้ยงเดี่ยวที่พบแอลคาลอยด์ ได้แก่พืชในวงศ์ Liliaceae และ Amaryllidaceae

คุณสมบัติของแอลคาลอยด์ มีดังนี้

1. แอลคาลอยด์มักมีรสขม เช่น ควินิน (quinone)
2. แอลคาลอยด์ส่วนใหญ่ จะเป็นผลึกไม่มีสียกเว้นชนิดที่มี conjugated double bond เช่น berberine ซึ่งมีสีเหลือง นอกจากนั้นแอลคาลอยด์บางตัวซึ่งไม่มีออกซิเจนอยู่ในโมเลกุล อาจจะเป็นของเหลวที่อุณหภูมิปกติ เช่น nicotine และ coniine เป็นต้น
3. แอลคาลอยด์สามารถรวมตัวกับกรดทั้งอินทรีย์และกรดอนินทรีย์ เกิดเป็นเกลือในธรรมชาติมักพบอยู่ในรูปของเกลือของกรดอินทรีย์
4. แอลคาลอยด์ในรูปอิสระ (free base) จะไม่ละลายน้ำ หรือละลายได้เพียงเล็กน้อย แต่สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น คลอโรฟอร์ม อีเทอร์ ส่วนเกลือของแอลคาลอยด์ จะมีคุณสมบัติในการละลายตรงกันข้ามกับเบสอิสระ (free base) คือสามารถละลายน้ำได้ดีแต่ไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ ยกเว้นเกลือของแอลคาลอยด์ในอีเทอร์
5. แอลคาลอยด์ส่วนใหญ่จะสามารถเกิดเป็นเกลือสองเชิง (double salt) กับสารที่มีโลหะหนัก เช่น โปรท แคดเมียม ทอง และ แพลทตินัม เป็นต้น ได้เกลือซึ่งมักจะไม่ละลายน้ำ จึงสามารถใช้ยาที่มีโลหะหนักเหล่านี้ตรวจหาแอลคาลอยด์ได้

หน้าที่ของแอลคาลอยด์ในพืช

ยังไม่ทราบแน่ชัด มีผู้สันนิษฐานว่า แอลคาลอยด์อาจทำหน้าที่บางอย่างในพืช เช่น

1. ช่วยป้องกันพืชจากสัตว์และแมลงต่าง ๆ เนื่องจากแอลคาลอยด์ส่วนใหญ่มีรสขมและมีพิษ
2. เป็นแหล่งสะสมไนโตรเจนในพืชเพื่อใช้สร้างโปรตีน
3. ช่วยควบคุมการเจริญเติบโตของพืช หรือการออกของเมล็ดพืชบางชนิด
4. เป็นสารที่ได้จากการ detoxication ซึ่งเกิดขึ้นได้ในกระบวนการเมแทบอลิซึมของพืช

ประเภทของแอลคาลอยด์

การจัดแบ่งกลุ่มแอลคาลอยด์อาจทำได้ 4 วิธีคือ

1. แบ่งตาม taxonomic system เป็นการแบ่งกลุ่มแอลคาลอยด์ตามกลุ่มของพืชที่มีแอลคาลอยด์นั้นๆ เช่น cinchona alkaloids, solanum alkaloids เป็นต้น

2. แบ่งตาม therapeutic system เป็นการแบ่งตามคุณสมบัติทางเภสัชวิทยา เช่น mydriatic alkaloids ได้แก่ atropine, hyoscine miotic alkaloids ได้แก่ pilocarpine, protoveratrine เป็นต้น

3. แบ่งตาม biogenetic system เป็นการแบ่งตามชนิดของสารตั้งต้นของแอลคาลอยด์ สามารถแบ่งแอลคาลอยด์ได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ คือ

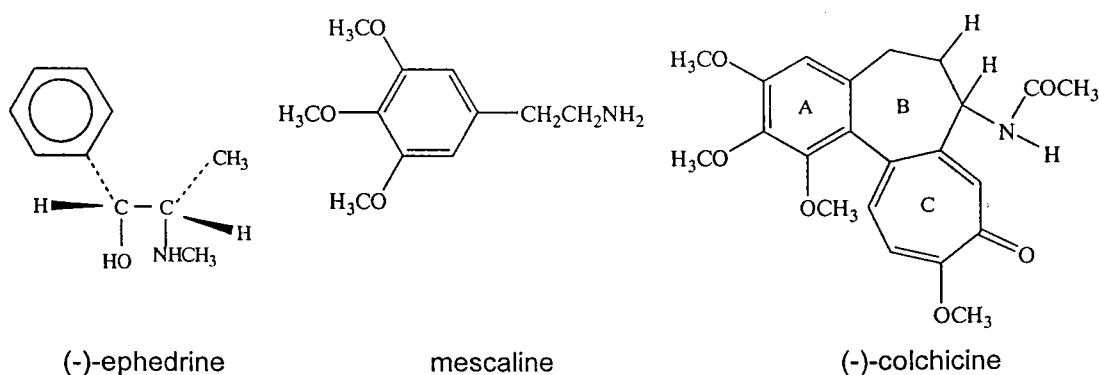
3.1 Protoalkaloids เป็นแอลคาลอยด์ที่มีสารตั้งต้นมาจากการดอะมิโนหรืออนุพันธ์ของกรดอะมิโน แต่แอลคาลอยด์เหล่านี้จะมีไนโตรเจนอยู่นอก ring เช่น colchicine

3.2 Truealkaloids เป็นแอลคาลอยด์ที่มีชีวสังเคราะห์มาจากการดอะมิโน หรืออนุพันธ์ของกรดอะมิโน และมีไนโตรเจนอยู่ใน heterocyclic ring ตัวอย่างเช่น morphine, caffeine

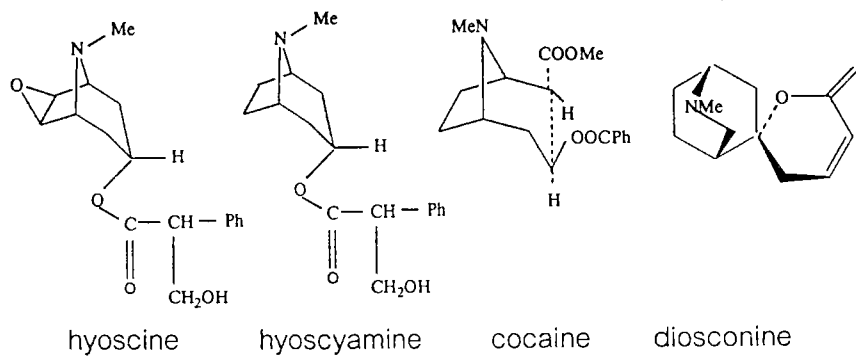
3.3 Pseudo alkaloids เป็นสารชีวสังเคราะห์มาจากสารจำพวก terpenes และ steroids ตัวอย่างเช่น β -skatanthine, aconitine, solanidine เป็นต้น

4. แบ่งตาม chemical system เป็นการแบ่งกลุ่มตามสูตรโครงสร้างทางเคมี วิธีนี้เป็นวิธีที่นิยมใช้มากที่สุด อาจแบ่งแอลคาลอยด์ออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ

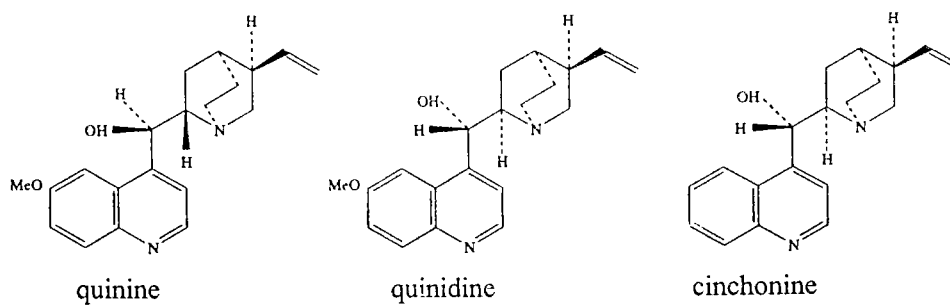
4.1 Non-heterocyclic alkaloids หรือ alkaloidal amines ได้แก่แอลคาลอยด์ที่มีไนโตรเจนอยู่นอก ring เช่น ephedrine, mescaline, colchicine เป็นต้น



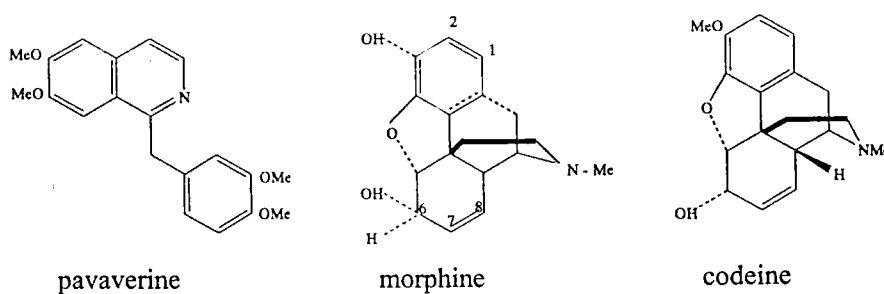
4.2.5 กลุ่ม tropane alkaloids เช่น hyoscyine , hyoscyamine , cocaine , และ dioscorine



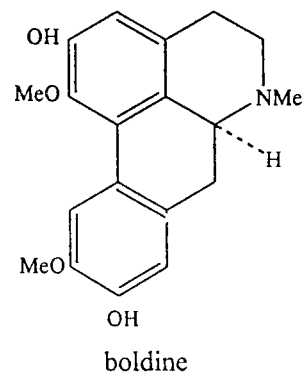
4.2.5 กลุ่ม quinoline เช่น quinine , quinidine , cinchonine



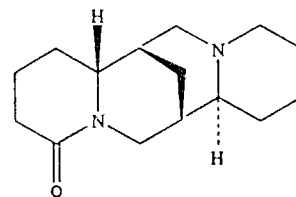
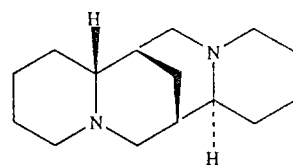
4.2.6 กลุ่ม isoquinoline เช่น papaverine , morphine , codeine และ berberine



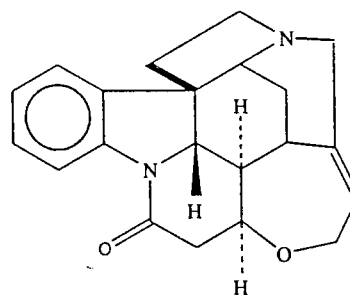
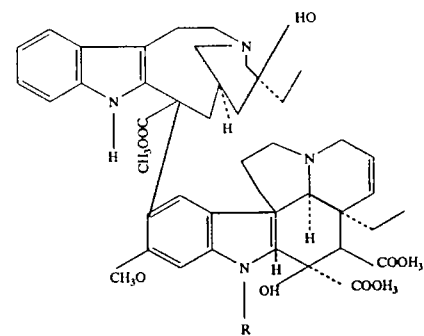
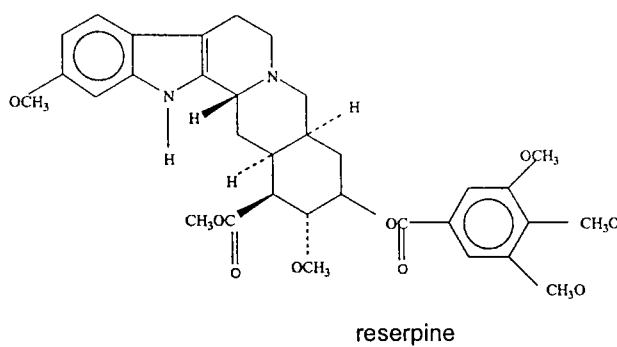
4.2.7 กลุ่ม aporphine เช่น boldine



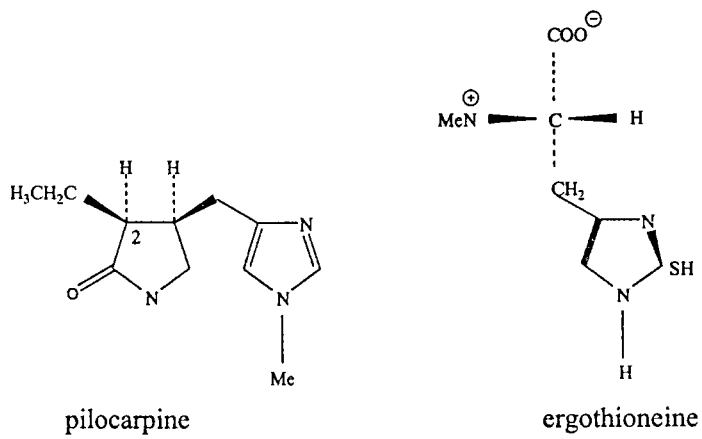
4.2.8 กลุ่ม nor – lupinane เช่น sprateine , lupanine



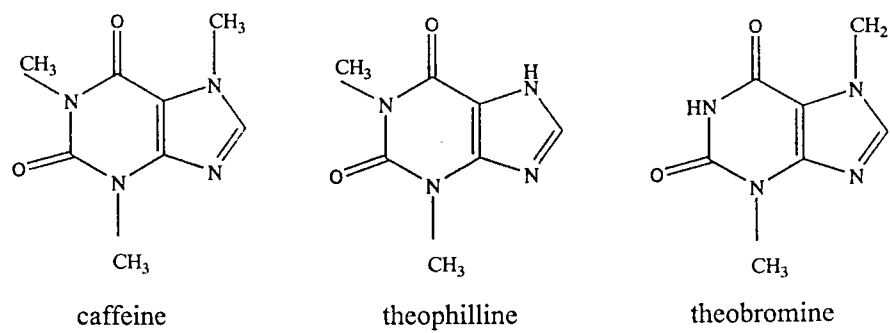
4.2.9 กลุ่ม indole หรือ benzopyrrole เช่น reserpine , strychnine, vinblastine



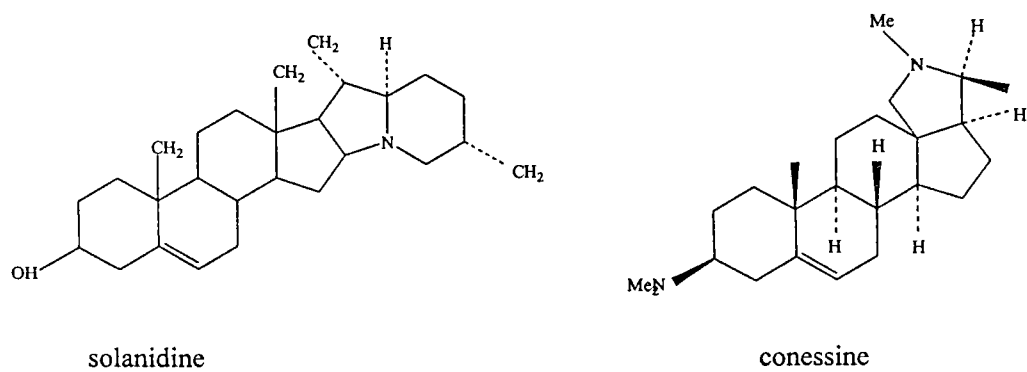
4.2.10 กลุ่ม imidazole หรือ glyoxaline เช่น pilocarpine , ergothioneine



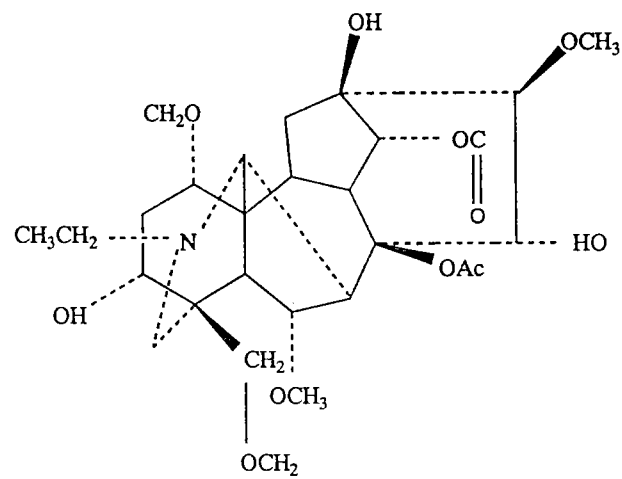
4.2.11 กลุ่ม purine เช่น caffeine , theobromine , theophylline



4.2.12 กลุ่ม steroid เช่น solanidine , conessine



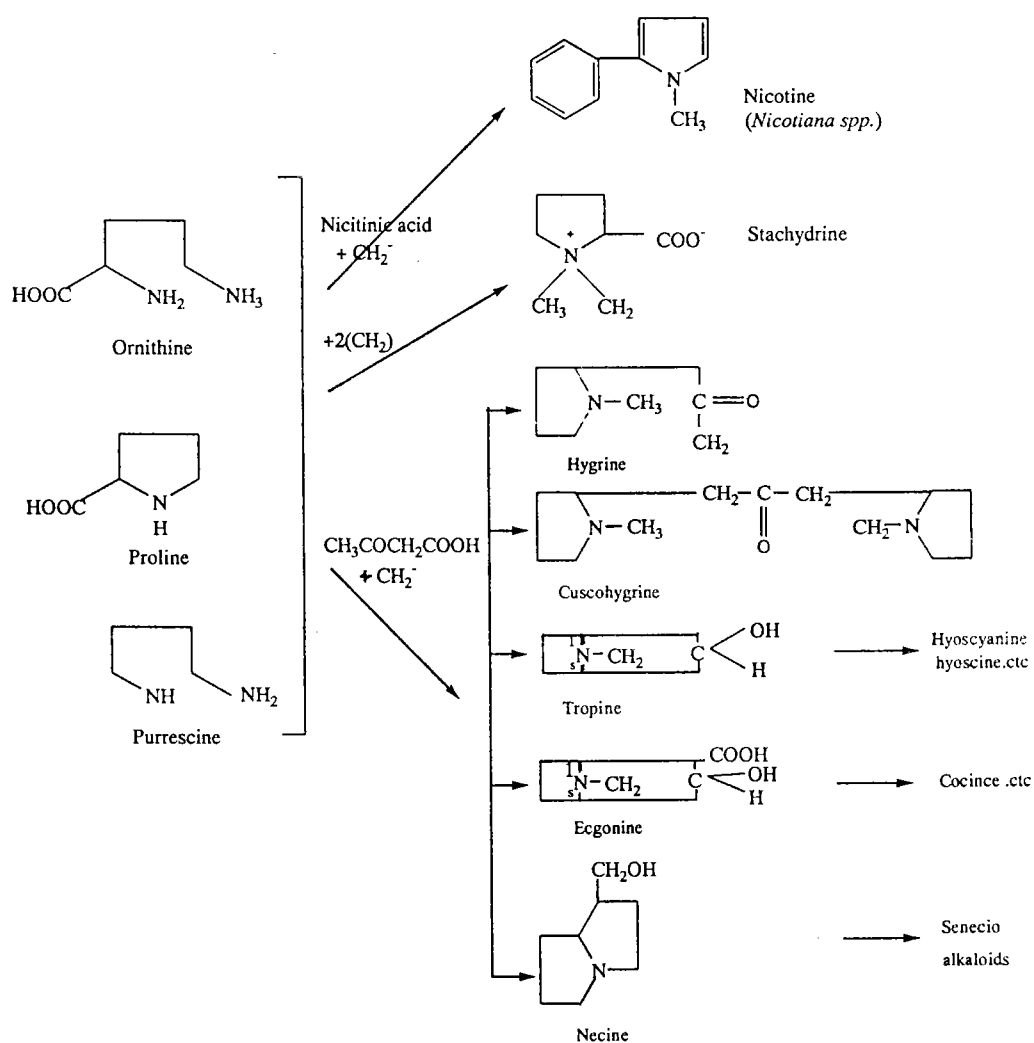
4.2.13 กลุ่ม terpenoid เช่น actinidine , aconitine เป็นต้น



aconitine

ชีวสังเคราะห์ของแอลคาลอยด์ในพืช

สารตั้งต้นในการสังเคราะห์แอลคาลอยด์มีหลายชนิด ขึ้นอยู่กับชนิดของแอลคาลอยด์ สารตั้งต้นส่วนใหญ่ ได้แก่ กรดอะมิโนชนิดต่าง ๆ เช่น ornithine, lysine, tyrosine, phenylalanine, tryptophan, histidine และ anthranilic acid เป็นต้น รวมทั้งสารพวก terpenes บางชนิด ตัวอย่างการสังเคราะห์แอลคาลอยด์จาก ornithine



ภาพ แสดงชีวสังเคราะห์ของแอลคาลอยด์ในพืช

การสกัดแอลคาลอยด์จากพืช สามารถทำได้หลายวิธีคือ

1. สกัดด้วยน้ำหรือแอลคาลอยด์เจือกรด จะได้แอลคาลอยด์ เป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับการสกัดแอลคาลอยด์ทางอุตสาหกรรม เนื่องจากค่าใช้จ่ายต่ำแต่การใช้น้ำจะทำให้ลดปริมาณได้ยาก มักเกิดฟอง และอาจมีสารอื่นเจือปนออกมา

2. สกัดด้วยตัวทำละลายที่ไม่รวมตัวกับน้ำ เช่น คลอโรฟอร์ม อีเทอร์ ไดคลอโรมีเทน การสกัดด้วยวิธีนี้จะต้องทำผงพืชให้อยู่ในสภาพต่าง เพื่อเปลี่ยนแอลคาลอยด์ให้อยู่ในรูปอิสระ แล้วจึงทำการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ วิธีนี้เหมาะสำหรับการสกัดแอลคาลอยด์จากพืชปริมาณน้อยเช่น การวิจัย แต่ไม่นิยมใช้ในทางอุตสาหกรรม เนื่องจากค่าใช้จ่ายสูง

3. สกัดด้วยตัวทำละลายที่ผสมกับน้ำได้ เช่น เอทานอล เมทานอล แอลกอฮอล์ เป็นตัวทำละลายที่สามารถสกัดแอลคาลอยด์ได้ทั้งในรูปเกลือและรูปอิสระ จึงเป็นที่นิยมใช้ในการสกัดแอลคาลอยด์จากพืช

การทดสอบเบื้องต้น

พืชแต่ละชนิดจะสร้างและสะสมแอลคาลอยด์แตกต่างกัน เช่น ในเปลือกชิงโกนามีควินิน สูงได้ถึงร้อยละ 15 ใบตูบอยเซียมีแอลคาลอยด์ไฮออสซีน (hyoscyne) ในปริมาณร้อยละ 0.5-2 ใบลำโพงมีแอลคาลอยด์อาร์โทรปีน (atropine) เพียงร้อยละ 0.1-0.2 นอกจากนี้ปริมาณแอลคาลอยด์ในพืชยังขึ้นอยู่กับการเพาะปลูก อายุของพืช อุณหภูมิ แสงสว่าง ฤดูกาล ความชื้นในอากาศ ลมและปริมาณน้ำในดิน เป็นต้น

พริกไทยดำมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Piper nigrum* Linn. เป็นพืชวงศ์ Piperaceae ในพริกไทยดำมีสารทำให้มีกลิ่นฉุนเผ็ดร้อน ได้แก่ แอลคาลอยด์ชื่อปิเปอรีน (piperrine) ซึ่งมีอยู่ประมาณร้อยละ 2-5 เมื่อสลายตัวจะให้แอลคาลอยด์ที่เป็นของเหลวชื่อ ปิเปอริดีน และ กรดพิกริก (picric acid) (เพียวี เหมือนวงษ์ญาติ. 2537 : 118-119)

พริกไทยใช้เป็นยาขับลม แก้อาการท้องขึ้นท้องเฟ้อ แก้ไข้ ช่วยกระตุ้นน้ำย่อย ทำให้เจริญอาหารปิเปอรีนมีฤทธิ์กระตุ้นประสาท มีฤทธิ์ในการฆ่าแมลงวัน สารสกัดแอลกอฮอล์จากพริกไทยดำมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา

บทปฏิบัติการที่ 7

เรื่อง การหาปริมาณปิเปอรินในผลพริกไทยดำโดยเทคนิคสเปกโทรสโกปี

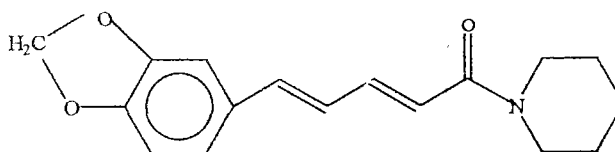
วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาวิธีการสำรวจหาแอลคาลอยด์จากผลพริกไทยดำ
2. เพื่อศึกษาวิธีการสกัดปิเปอรินจากผลพริกไทยดำ
3. เพื่อศึกษาวิธีการแยกปิเปอริน จากผลพริกไทยดำ
4. เพื่อหาปริมาณปิเปอรินใน ผลพริกไทยดำโดยเทคนิคสเปกโทรสโกปี

หลักการ/ทฤษฎี

ปิเปอริน (piperine) เป็นแอลคาลอยด์ในกลุ่มไพรีดีน พิเพอริดีน (pyridine-piperidine alkaloids) ปิเปอรินมีคุณสมบัติเป็นต่างเนื่องจากมีไนโตรเจนอยู่ในโมเลกุล พบในผลดิบของพริกไทยหรือได้จากส่วนเนื้อในเมล็ด (Kernel) ของผลพริกไทย (*Piper nigrum* Lin) และพบในตีปลี (*Piper longum* Lin.) และพริกหาง (*Piper cubeba* Lin.) ซึ่งอยู่ในวงศ์ Piperaceae

ปิเปอรินเป็นแอลคาลอยด์ที่ทำให้พริกไทยมีกลิ่นฉุนเผ็ดร้อน ซึ่งมีอยู่ประมาณร้อยละ 2-5



piperine

ปิเปอรินมีฤทธิ์กระตุ้นประสาท มีฤทธิ์ในการฆ่าแมลงวัน พริกไทยใช้เป็นยาร้อนขับลม แก้อาการท้องขึ้นอืดเฟ้อ แก้ไขช่วยกระตุ้นน้ำย่อย ทำให้เจริญอาหาร

อุปกรณ์/เครื่องมือ

1. ปีกเกอร์
2. ขวดรูปชมพู่
3. ขวดวัดปริมาตร
4. หลอดทดลอง
5. กรวยแยก
6. ชุดกรองบุชเนอร์
7. กระดาษกรอง
8. โกร่งบดสาร
9. หลอดทดลอง
10. แท่งแก้วคนสาร
11. ปีเปตขนาด 10 ซม.³
12. หม้ออังไอน้ำ
13. ตะเกียงเบนเสน
14. เครื่อง ยูวี วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV – VIS Spectrophotometer) ยี่ห้อ SHIMADZU รุ่น UV – 1601
15. เครื่องชั่งเชิงวิเคราะห์ ทศนิยม 4 ตำแหน่ง

สารเคมี

1. สารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 28 %
2. คลอโรฟอร์ม
3. เอทานอล
4. สารละลายกรดซัลฟิวริก เข้มข้น 0.5 นอร์มัล
5. ดราเจนดอร์ฟเฟอร์เอเจนต์ (Dragendorff' s reagent)
6. เมเยอร์รีเอเจนต์ (Mayer' s reagent)
7. แวกเนอร์รีเอเจนต์ (Wagner' s reagent)
8. ปีเปอริน (Piperine) บริสุทธิ์
9. สารละลายกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 3 นอร์มัล
10. กระดาษลิตมัสสีแดงและน้ำเงิน
11. น้ำกลั่น

พืชตัวอย่าง

ผลพริกไทยดำ

ตอนที่ 1 การตรวจหาแอลคาลอยด์ในผลพริกไทยดำ

วิธีการทดลอง

1. นำผลพริกไทยดำที่บดละเอียด ชั่งมา 30 กรัมค่อย ๆ หยดสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 28 เปอร์เซ็นต์ ลงไปจนขึ้นคนให้เข้ากัน
2. สกัดด้วยส่วนผสมของคลอโรฟอร์มต่อเอทานอล (1:1) จำนวน 100 ซม.³ ใส่ภาชนะปิดฝาให้สนิท เก็บไว้ 2 วัน เขย่าบ้างเป็นครั้งคราว
3. กรองสารสกัดจากข้อ 2) ด้วยกรวยบุชเนอร์แล้วสกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง ๆ ละ 2 วัน
4. รวมสารสกัดแต่ละครั้งเข้าด้วยกันใส่ในขวดรูปชมพู่ (การทดลอง ข้อ 1) - 4) อาจารย์เตรียมไว้ให้นักศึกษา)
5. นำสารสกัดที่ได้จากข้อ 4) ใส่ในกรวยแยกเติมสารละลายกรด H_2SO_4 เข้มข้น 0.5 นอร์มัล จำนวน 20 ซม.³ ลงไปสกัด แยกชั้นกรดใส่ขวดรูปชมพู่ไว้
6. ปิเปตสารละลายชั้นกรดจากข้อ 5) ใส่หลอดทดลอง 3 หลอด ๆ ละ 5 ซม.³ เติมสารละลายตราเจนดอร์ฟรีเอเจนต์, เมเยอร์รีเอเจนต์ และแวกเนอร์รีเอเจนต์ ลงในสารละลายหลอดที่ 1, 2 และ 3 หลอดละ 3 ซม.³ ตามลำดับ สังเกตผล

ตอนที่ 2 การทำกราฟมาตรฐาน (standard curve) จากปิเปอรีน (Piperine)

ที่บริสุทธิ์

วิธีการทดลอง

1. ชั่งปิเปอรีนที่บริสุทธิ์มา 0.0100 กรัม ละลายด้วยคลอโรฟอร์มในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 ซม.³
2. ปิเปตสารละลายในข้อ 1) มาเจือจางด้วยคลอโรฟอร์มในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 ซม.³ โดยนำมา 1, 2, 3, 4 และ 5 ซม.³ แล้วปรับปริมาตรด้วยคลอโรฟอร์ม จะได้สารละลายมาตรฐานปิเปอรีนที่มีความเข้มข้น 2, 4, 6, 8 และ 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ
3. นำสารละลายที่มีความเข้มข้น 2, 4, 6, 8 และ 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จากข้อ 2) ไปหาค่าการดูดกลืนแสง โดยเครื่องยูวีวิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 257 นาโนเมตร

4. เมื่อได้ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานในแต่ละความเข้มข้น แล้วนำไปสร้างกราฟมาตรฐาน ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน

ตอนที่ 3 วิเคราะห์หาปริมาณปิเปอรินในผลพริกไทยดำ

วิธีการทดลอง

1. บดพริกไทยดำให้ละเอียดด้วยโกร่งบดสาร ชั่งมา 1.00 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 100 ซม.³ เติมสารละลาย แอมโมเนีย (อัตราส่วนแอมโมเนีย : น้ำ = 1 : 2) ลงไป 40 ซม.³ ทำให้อุ่นบนหม้ออังไอน้ำที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ปลอຍให้เย็นแล้วนำไปกรอง โดยใช้กรวยบุชเนอร์ แล้วปรับปริมาตรด้วยสารละลายแอมโมเนียในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 ซม.³ จนได้ปริมาตร 100 ซม.³
2. ปิเปตสารละลายในข้อ 1) มา 20 ซม.³ ปรับให้เป็นกลางด้วยกรด HCl เข้มข้น 3 นอร์มัล ทดสอบด้วยกระดาษลิตมัส
3. ปิเปต สารละลายในข้อ 2) มา 10 ซม.³ ใส่ในกรวยแยกสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม 3 ครั้ง ๆ ละ 20 ซม.³ รวมชั้นคลอโรฟอร์มเข้าด้วยกัน ปิเปตมา 60 ซม.³ ปรับปริมาตรด้วยคลอโรฟอร์มให้เป็น 100 ซม.³
4. ปิเปตสารละลายในข้อ 3) มา 30 ซม.³ ปรับปริมาตรด้วยคลอโรฟอร์มให้เป็น 100 ซม.³ แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 257 นาโนเมตรนำไปเทียบกับกราฟมาตรฐาน แล้วคำนวณหาปริมาณของปิเปอรินในผลพริกไทยดำ บันทึกลง
5. ทำการทดลองซ้ำข้อ 4) 3 ครั้ง
6. คำนวณหาปริมาณของปิเปอรินในผลพริกไทยดำ บันทึกลง
7. หาค่าเฉลี่ยปริมาณปิเปอรินที่ได้ และคำนวณหาปริมาณร้อยละของปิเปอรินในผลพริกไทยดำ บันทึกลง

วิธีเตรียมรีเอเจนต์

ดราเนตอร์ฟรีเอเจนต์

บิสม์สไนเตรต	8.0 กรัม
กรดไนตริก (30% w/ v)	12.0 ซม. ³
โพแทสเซียมไอโอไดร์	27.2 กรัม
น้ำกลั่น	100.0 ซม. ³

ละลายบิสม์สไนเตรตในกรดไนตริกนำโพแทสเซียมไอโอไดร์ละลายในน้ำ 50 มิลลิลิตร เทสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดร์ ลงในบิสม์สไนเตรตเติมน้ำลงจนได้ 100 มิลลิลิตร

เมเยอร์รีเอเจนต์

เมอร์คิวริกคลอไรด์	1.36 กรัม
โพแทสเซียมไอโอไดร์	5.0 กรัม
น้ำกลั่น	100 ซม. ³

ละลายเมอร์คิวริกคลอไรด์ ในน้ำ 60 มิลลิลิตร ละลาย โพแทสเซียมไอโอไดร์ในน้ำ 10 มิลลิลิตร เทสารละลายเมอร์คิวริกคลอไรด์ลงในสารละลาย โพแทสเซียมไอโอไดร์เติมน้ำให้ได้ 100 มิลลิลิตร

แวกเนอร์รีเอเจนต์

ผลึกไอโอดีน	1.27 กรัม
โพแทสเซียมไอโอไดร์	20 กรัม
น้ำกลั่น	100 ซม. ³

ละลายโพแทสเซียมไอโอไดร์ในน้ำ แล้วค่อยเติมไอโอดีนลงไปจนละลายหมดเติมน้ำให้ครบ 100 ซม.³

รายงานการทดลองบทปฏิบัติการที่ 7

เรื่อง การหาปริมาณปิเปอรินในผลพริกไทยดำโดยเทคนิคสเปกโทรสโกปี

วัน / เดือน / ปีกลุ่มที่..... เวลาที่ใช้ในการทดลอง.....

ชื่อผู้ทดลอง

1.

2.

วัตถุประสงค์

.....

ผลการทดลอง

ตอนที่ 1 การสำรวจหาแอลคาลอยด์ในผลพริกไทยดำ

รีเอเจนต์ที่ใช้ทดสอบ	ผลการทดลอง
ดราเจนดอร์ฟรีเอเจนต์	
เมเยอร์รีเอเจนต์	
แวกเนอร์รีเอเจนต์	

ตอนที่ 2 การสร้างกราฟมาตรฐานจากปิเปอรินบริสุทธิ์

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน ปิเปอริน	ค่าการดูดกลืนแสง (Abs)			ความยาวคลื่น (nm)
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
2 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร				
4 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร				
6 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร				
8 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร				
10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร				

แสดงกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ตอนที่ 3 การวิเคราะห์หาปริมาณปีเปอรินในผลพริกไทยดำ

สารสกัดจากผลพริกไทยดำด้วยคลอโรฟอร์ม

ค่าการดูดกลืนแสง			ความยาวคลื่น(nm)	ความเข้มข้นของปีเปอริน ($\mu\text{g} / \text{ml}$)
ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3		

ค่าเฉลี่ยปริมาณปีเปอรินในผลพริกไทยดำเท่ากับ..... $\mu\text{g} / \text{ml}$

ปริมาณร้อยละของปีเปอรินในผลพริกไทยดำเท่ากับ.....

สรุปผลการทดลอง

.....

.....

.....

.....

.....

.....

อภิปรายผลการทดลอง

.....

.....

.....

.....

.....

คำถามท้ายการทดลอง

1. การที่เราใส่สารละลาย NH_4OH เข้มข้นลงในผลพริกไทยดำ ก่อนทำการสกัดด้วย คลอโรฟอร์มจะทำให้สารในพริกไทยดำเกิดปฏิกิริยาอย่างไร และเปลี่ยนโครงสร้างอย่างไร จงอธิบาย

.....

.....

2. ถ้าเราต้องการตรวจสอบว่าพืชชนิดหนึ่งมีแอลคาลอยด์หรือไม่ เราอาจตรวจสอบเบื้องต้นได้อย่างไร จงอธิบายและเขียนแผนภาพประกอบ

.....

.....

.....

3. จงเขียนแผนภาพแสดงการสกัดแอลคาลอยด์จากผลพริกไทยดำ

.....

.....

.....

4. จงเปรียบเทียบปริมาณแอลคาลอยด์ที่วิเคราะห์ได้ เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณที่พบในธรรมชาติ และจงอธิบายถึงสาเหตุที่ทำให้เกิดความแตกต่าง

.....

.....

.....

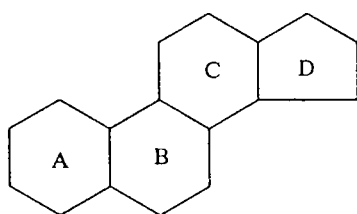
เอกสารอ้างอิง

- พเยาว์ เหมือนวงษ์ญาติ. (2537). *สมุนไพรก้าวใหม่*. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์เมดิคัลมิเดีย.
- นันทวัน บุญยะประกัศร และคณะ. (2532). *เภสัชวินิจฉัย เล่ม 1*. กรุงเทพฯ : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
- วันดี กฤษณะพันธ์. (2535). *ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ*. กรุงเทพฯ : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
- _____. (2538). *สมุนไพรสารพัดประโยชน์*. กรุงเทพฯ : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
- _____. (2539). *เกร็ดความรู้สมุนไพร*. กรุงเทพฯ : บริษัทเฟื่องฟ้าพรินติ้งจำกัด.
- อ้อมบุญ ล้วนรัตน์ และคณะ. (2536). *การสกัดและตรวจสอบสารสำคัญจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ*. กรุงเทพฯ : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
- Fransworth, N.R. (1966, March). "Biological and Phytochemical Screening of plant". *Journal of pharmaceutical Sciences*. 55 (8) : 243-265.
- Hesse M. (1978). *Alkaloid Chemistry*. New York : A Wiley-Interscience Publication.
- Pelletier SW. (1983). *Alkaloids : Chemical and Biological Perspectives*. New York : A Wiley-Interscience Publication.
- Trease G.E. and Evans W. C. (1978). *Pharmacognosy*. London : Bailliere Tindall.

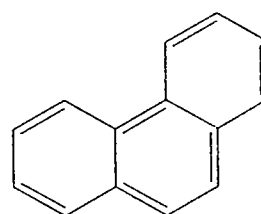
เอกสารประกอบบทปฏิบัติการ (ใบความรู้)

สารสำคัญ

สเตอรอยด์เป็นสารประกอบอินทรีย์ เกิดจากไอโซพรีน (isoprene) 6 หน่วย มาเชื่อมต่อกันและมีโครงสร้างหลักเป็น cyclopentanoperhydropenanthrene ซึ่งวงแหวน A, B, และ C จะอยู่ในลักษณะ โครงรูปแบบเก้าอี้ (chair conformation) การเชื่อมต่อกันระหว่างวงแหวน A และ B จะมีได้ 2 แบบ คือ ทรานส์ (*trans*) และ ซิส (*cis*)

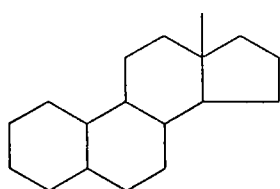


steroid nucleus

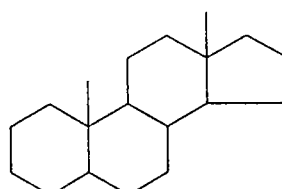


phenanthrene

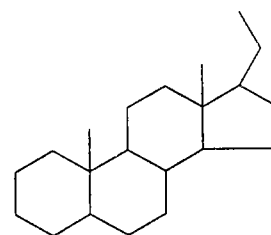
โครงสร้างหลักของสเตอรอยด์ชนิดต่าง ๆ



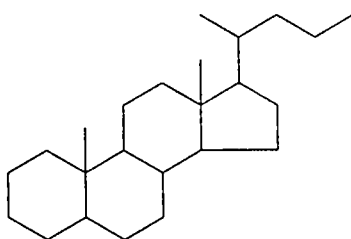
estrane



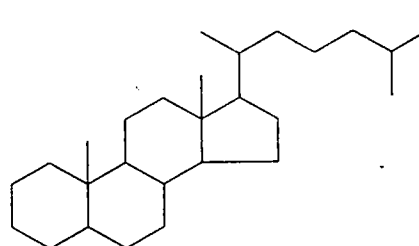
androstane



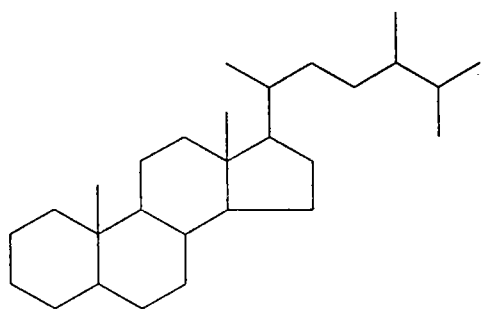
pregnane



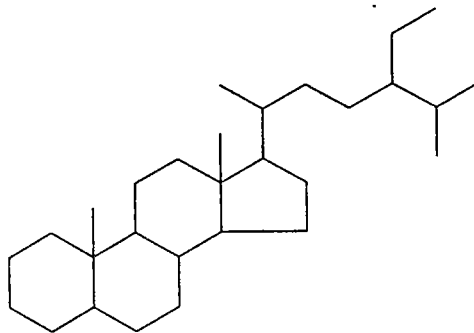
cholane



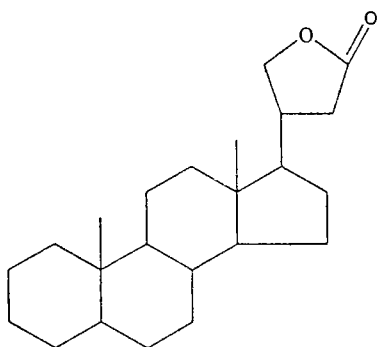
cholestane



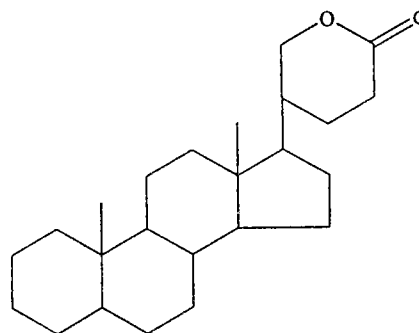
ergostane



stigmastane



cardenolide

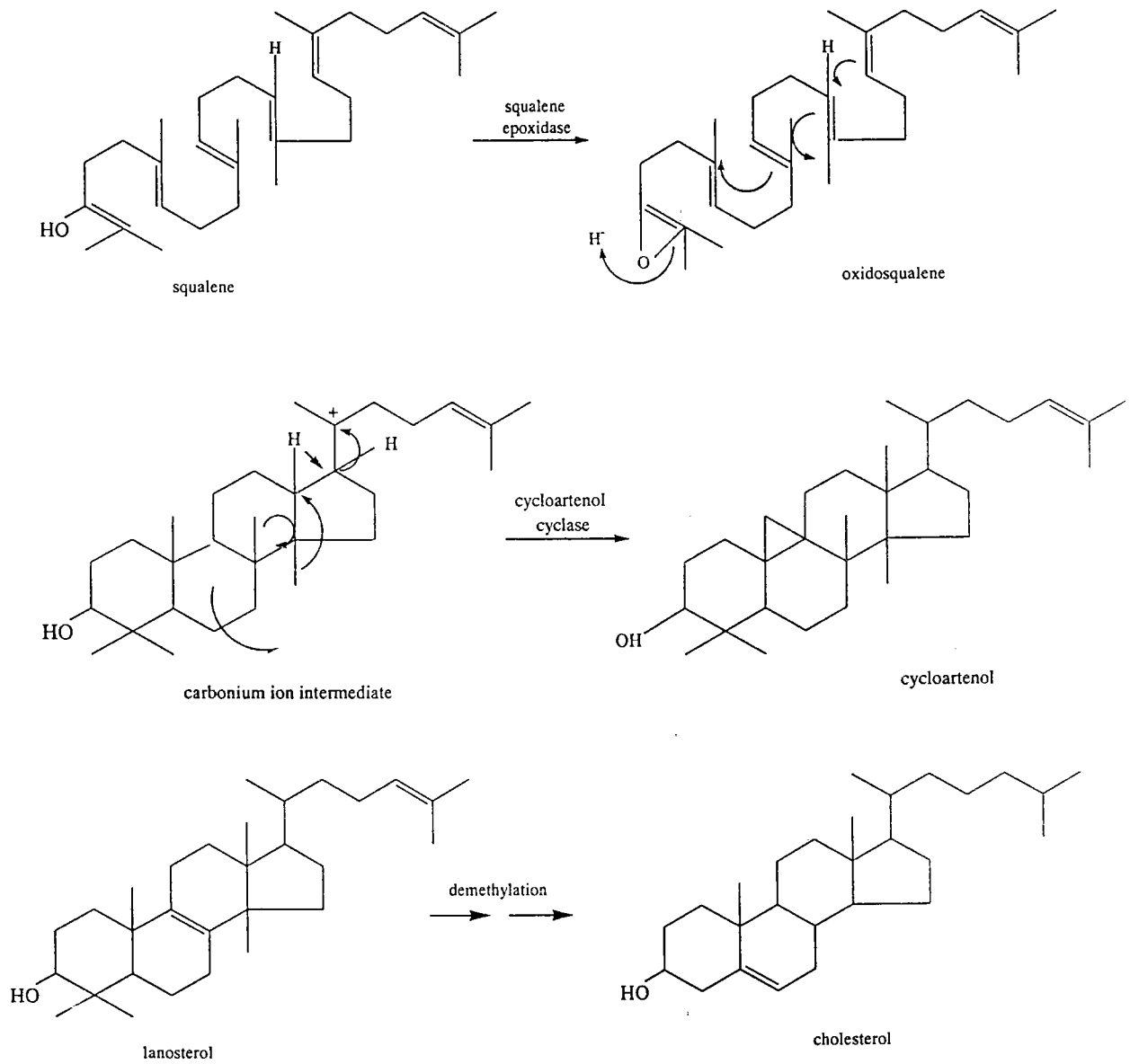


bufalenolide

การแบ่งกลุ่มของ steroids จากธรรมชาติตามแหล่งที่มาและฤทธิ์ ทางชีวภาพ ได้ดังนี้

1. sterols
2. vitamins D
3. bile acids
4. steroidal hormones
5. steroidal saponins
6. steroidal alkaloids
7. cardiac glycoside

ชีวสังเคราะห์ของสเตอรอยด์



บทปฏิบัติการที่ 8

เรื่อง การสกัดและแยกเบต้าไซโตสเตอรอล จากหัวรื่อยูด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง

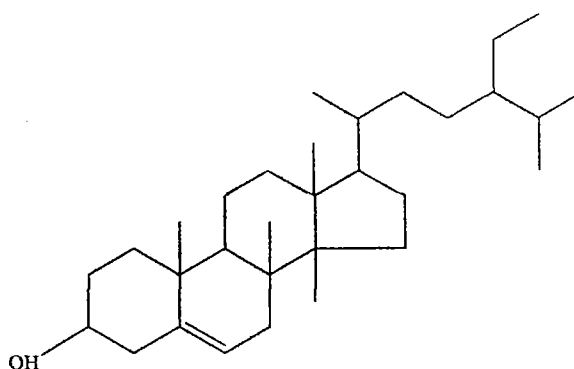
วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาวิธีการสกัดเบตาไซโตสเตอรอลจากหัวรื่อยู
2. เพื่อศึกษาวิธีการแยกเบตาไซโตสเตอรอลจากสารสกัดหัวรื่อยูด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบางและแบบของเหลวสมรรถนะสูง
3. เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณเบตาไซโตสเตอรอลที่มีในหัวรื่อยู

หลักการ/ทฤษฎี

สเตอรอล (Sterols) เป็นกลุ่มของสเตอรอยด์ ที่มีโครงสร้างประกอบด้วยคาร์บอน 27 – 29 อะตอม โดยมี aliphatic side chain มาเชื่อมต่อกับคาร์บอนตำแหน่ง 17 ส่วนมากมีหมู่ไฮดรอกซิล ที่ตำแหน่ง 3 เป็น β -configuration และการเชื่อมต่อกันระหว่างวงแหวน A และ B จะเป็นแบบ trans

เบตาไซโตสเตอรอล (β -sitosterol) เป็นสเตอรอลที่พบได้ทั่วไปในพืชชั้นสูงเกือบทุกชนิด



β - sitosterol

หัวรื่อยู มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Hydrophytum formicarium* Jack วงศ์ Rubiaceae หัวรื่อยูมีสมบัติในการรักษาโรคต่าง ๆ ได้ เช่น เป็นยาบำรุงหัวใจขับพยาธิในท้อง แก้พิษในข้อและกระดูก (ปราโมทย์ ศรีภิรมย์, 2524 : 92) รักษาโรคเบาหวานตามตำรับพระวัย จต. ตาลโย วัดเทพพนมยงค์ จังหวัดสระบุรี (นพรัตน์ พัฒนเงิน, 2527 : 44) และจากการ

ศึกษาวิจัย พบว่า สารสกัดเฮกเซนของหัวร้อยรูมีเบต้าไซโตสเตอรอล เป็นองค์ประกอบ (สำรวจ ขำทรัพย์. 2534 : บทคัดย่อ).

อุปกรณ์/เครื่องมือและสารเคมี

อุปกรณ์ / เครื่องมือ

1. ปีกเกอร์
2. หลอดแคปพิลลารี
3. สไลด์
4. กระบอกตวง
5. เครื่องส่องรังสีเหนือม่วง
6. เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน
7. เครื่องชั่งเชิงวิเคราะห์ตนิยม 4 ตำแหน่ง
8. เครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า
9. ชุดกรองบุชเนอร์
10. แผ่นกระจกขนาด 20 X 20 เซนติเมตร
11. เครื่องโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง

สารเคมี

1. เอทิลอะซิเตต
2. เฮกเซน
3. คลอโรฟอร์ม
4. เบต้าไซโตสเตอรอล
5. เอธานอลสำหรับเครื่องโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)
6. น้ำกลั่นสำหรับเครื่องโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)

ตอนที่ 1 การสกัดเบตาไซโตสเตอรอลจากหัวร้อยรู

วิธีการทดลอง

1. นำหัวร้อยรูแห้งบดละเอียดหนัก 4 กิโลกรัม ห่อด้วยผ้าขาวบางแช่ในขวดโหลแก้ว ใส่เฮกเซนพอท่วมพืช ปิดฝาให้สนิทตั้งทิ้งไว้ 5 วันเขย่าเป็นครั้งคราว
2. กรองแยกเอาสารสกัดเก็บไว้ ส่วนกากนำมาสกัดด้วยเฮกเซน ตั้งทิ้งไว้ 5 วัน
3. กรองแยกเอาสารสกัดเก็บไว้ ส่วนกากนำมาสกัดด้วยเฮกเซน ตั้งทิ้งไว้ 5 วัน
4. กรองรวมสารสกัดในข้อ 2) , 3) และ 4) เข้าด้วยกัน นำไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุนจนได้สารสกัดเข้มข้นนำไปชั่งน้ำหนัก บันทึกผล (ขั้นตอนนี้อาจารย์เตรียมไว้ให้)

ตอนที่ 2 การแยกเบตาไซโตสเตอรอลจากสารสกัดหัวร้อยรูด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

วิธีการทดลอง

1. นำสารสกัดเข้มข้นที่ได้จากตอนที่ 1 ซึ่งมา 1 กรัมละลายด้วยเอธิลอะซิเตตปริมาตร 80 ซม.³ ละลายให้เป็นเนื้อเดียวกัน
 2. ใช้สำลีที่สะอาดพันปลายหลอดหยดเล็กน้อย แล้วนำไปลากบนแผ่นกระจกขนาด 20 X 20 เซนติเมตร ที่เคลือบด้วยซิลิกาเจล ปลอຍให้แห้งแล้วนำไปจุ่มในภาชนะที่อิมมิดด้วยไอของตัวทำละลายผสมระหว่างเฮกเซน : คลอโรฟอร์มในอัตราส่วน 2 : 8
 3. เมื่อตัวทำละลายซึมขึ้นมาถึงขอบบนของแผ่นกระจก นำแผ่นกระจกออกปลอຍให้แห้งตรวจด้วยเครื่องส่องรังสีเหนือม่วง บันทึกผลใช้อุปกรณ์แหลม ๆ เช่นเข็มขีดแยกแต่ละแถบ (band) ที่แยกได้
 4. ขูดแถบ (band) ที่แยกได้ลงในขวดรูปชมพู่ เติมเอธิลอะซิเตตลงไปให้ท่วมสารนำไปกวนโดยใช้เครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า ประมาณ 5 นาที
 5. กรองด้วยชุดกรองบุชเนอร์ นำไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุนจนได้สารสกัดเข้มข้น
 6. ถ้าแยกสารได้มากกว่า 1 แถบ ให้ทำการทดลองตามข้อ 4) และ 5) ทุกแถบ
 7. นำสารสกัดเข้มข้นที่ได้จากแต่ละแถบมาตรวจสอบดูว่ามีเบตาไซโตสเตอรอลอยู่ในแถบใด โดยเทียบกับสารมาตรฐาน คือ เบตาไซโตสเตอรอล (β - sitosterol) โดยละลายเบตาไซโตสเตอรอล 0.15 กรัม ในเอธิลอะซิเตต 5 ซม.³ วิธีการทดลองเหมือนข้อ 2), 3), 4) และ 5)
- ตอนที่ 2 แต่ใช้แผ่น สไลด์แทนแผ่นกระจก

ตอนที่ 3 การแยกเบตาไซโตสเตอรอลด้วยโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง วิธีการทดลอง

1. นำสารละลายที่แยกได้จากตอนที่ 2 ข้อ 5) ที่มีเบตาไซโตสเตอรอลอยู่ มาแยกด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง สภาพของเครื่องเป็นดังนี้

Column : C 18 (Inertsil ODS – 3, 5 μ m ,4.6 I.D. x 250 mm)

InJect 5 μ l

Solvent system : Gradient elution

Mobile phase : Ethanol : H₂O = 94 : 6

Flow rate : 1 ml / min

Detector : UV – VISIBLE spectrophotometer

2. เปรียบเทียบโครมาโทแกรมของสารที่สกัดได้จากหัวร้อยชูและสารมาตรฐานเบตาไซโตสเตอรอล และเปรียบเทียบเวลาที่สารอยู่ในคอลัมน์ (retention time) ของสารทั้งสอง บันทึกผล

3. วิเคราะห์หาปริมาณของเบตาไซโตสเตอรอลที่มีในหัวร้อยชูเป็นไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร บันทึกผล

รายงานการทดลองบทปฏิบัติการที่ 8

เรื่อง การสกัดและแยกเบตาไซโตสเดอรอลจากหัวร้อยูด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี
แบบของเหลวสมรรถนะสูง

วัน / เดือน / ปีกลุ่มที่..... เวลาที่ใช้ในการทดลอง.....

ชื่อผู้ทดลอง

1.
2.

วัตถุประสงค์

.....
.....
.....

ผลการทดลอง

ตอนที่ 1 การสกัดเบตาไซโตสเดอรอลจากหัวร้อยู

น้ำหนักของสารเข้มข้น เท่ากับกรัม

ตอนที่ 2 การแยกเบตาไซโตสเดอรอลจากหัวร้อยูด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

แยกสารได้ทั้งหมด.....แถบ

แถบที่มีเบตาไซโตสเดอรอลคือแถบที่

ตอนที่ 3 การแยกเบตาไซโตสเดอรอลด้วยโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง

ปริมาณเบตาไซโตสเดอรอลที่มีในหัวร้อยู เท่ากับ.....ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ค่า Retention time ของเบตาไซโตสเดอรอลที่แยกได้จากหัวร้อยู เท่ากับ

ค่า Retention time ของเบตาไซโตสเดอรอลที่ใช้เป็นสารมาตรฐาน เท่ากับ.....

สรุปผลการทดลอง

.....
.....
.....
.....

อภิปรายผลการทดลอง

.....

.....

.....

คำถามท้ายการทดลอง

1. สเตอโรยด์ คืออะไร มีกี่ประเภท แต่ละประเภทมีโครงสร้างแตกต่างกันอย่างไร

.....

.....

.....

2. เครื่องโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) มีส่วนประกอบที่สำคัญอะไรบ้าง แต่ละส่วนมีหน้าที่อย่างไร จงอธิบาย

.....

.....

.....

3. สารพวกสเตอโรยด์ เรานำมาใช้ประโยชน์เป็นยารักษาโรคได้หรือไม่ และมีข้อควรระวังอย่างไรในการนำมาใช้เป็นยารักษาโรค

.....

.....

.....

4. การแยกสารด้วย HPLC โดยใช้ Reverse phase มีหลักการอย่างไรและเหมาะกับการแยกสารประเภทใด

.....

.....

.....

เอกสารอ้างอิง

สำรวย ขำทรัพย์. (2534). *การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีบางชนิดจากหัวร้อยรู*. ปริญญา
นิพนธ์กศ.ม.(เคมี). กรุงเทพฯ : บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ประสานมิตร. ถ่ายเอกสาร.

J. Mann .et al. (1994). *Natural products : their chemistry and Biological significance*.
New York : John Wiley.

ภาคผนวก ค
แบบประเมินบทบาทปฏิบัติการ วิชาเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ

คำชี้แจงเกี่ยวกับการตอบแบบประเมิน

บทปฏิบัติการเรื่อง การสกัดและแยกองค์ประกอบทางเคมีจากพืชสมุนไพรในท้องถิ่น
ประกอบด้วย

ส่วนที่ 1 เอกสารประกอบบทปฏิบัติการ (ใบความรู้)

ส่วนที่ 2 บทปฏิบัติการ ซึ่งประกอบด้วย

- วัตถุประสงค์
- หลักการ / ทฤษฎี
- อุปกรณ์ / เครื่องมือและสารเคมี
- วิธีการทดลอง

ส่วนที่ 3 เอกสารรายงานผลการทดลองและคำถามท้ายการทดลอง

โปรดประเมินโดยใช้แบบประเมินดัชนีความสอดคล้อง โดยประเมินความสอดคล้องด้านต่าง ๆ ดังนี้

- ความสอดคล้องด้านเอกสารประกอบบทปฏิบัติการระหว่างวัตถุประสงค์กับเนื้อหา
- ความสอดคล้องด้านบทปฏิบัติการระหว่างวัตถุประสงค์กับวิธีการทดลอง
- ความสอดคล้องด้านเอกสารรายงานผลการทดลองและคำถามท้ายการทดลองระหว่างวัตถุประสงค์กับคำถามท้ายการทดลอง

ให้ท่านพิจารณาว่าแต่ละด้าน ที่กำหนดให้มีความสอดคล้องหรือไม่ ให้ท่านพิจารณาให้คะแนนดังต่อไปนี้

- + 1 ถ้าท่านแน่ใจว่าสอดคล้อง
- 0 ถ้าท่านไม่แน่ใจว่าสอดคล้อง
- 1 ถ้าแน่ใจว่าไม่สอดคล้อง

แล้วประเมินโดยใช้ดัชนีความสอดคล้องที่แนบมานี้ และขอความกรุณาส่งแบบประเมินดัชนีความสอดคล้องที่ได้ประเมินแล้วกลับมาภายในวันที่ 30 มิถุนายน 2543 และขอขอบคุณเป็นอย่างสูง

แบบประเมินดัชนีความสอดคล้อง

บทปฏิบัติการที่ 1

เรื่อง การสกัดและแยกยูจีนอลจากดอกกานพลูด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบก๊าซ

รายการ	คะแนนที่พิจารณา			ข้อเสนอแนะ
	+1	0	-1	
1. ด้านเอกสารประกอบบทปฏิบัติการ (ใบความรู้)				
1.1 เนื้อหาสมบูรณ์				
1.2 เนื้อหามีความต่อเนื่องกัน				
1.3 เนื้อหาเหมาะสมกับเวลาที่กำหนด				
1.4 ความสั้นยาวของเนื้อหาเหมาะสม				
1.5 เนื้อหาสอดคล้องกับวัตถุประสงค์การทดลอง				
1.6 การใช้ภาษา				
1.6.1 ไม่วกวน				
1.6.2 ชวนอ่าน				
1.6.3 เข้าใจง่าย				
2. ด้านบทปฏิบัติการ				
2.1 วัตถุประสงค์				
2.1.1 มีความชัดเจน				
2.1.2 ประเมินผลได้				
2.2 หลักการ / ทฤษฎี				
2.2.1 มีความชัดเจน				
2.2.2 สอดคล้องกับบทปฏิบัติการ				
2.2.3 เหมาะสมกับระดับของนักศึกษา				
2.2.4 ความสั้นยาวของทฤษฎี / หลักการเหมาะสม				
2.3 อุปกรณ์ / เครื่องมือและสารเคมี				
2.2.1 เหมาะสมกับระดับนักศึกษา				
2.3.2 อุปกรณ์ / เครื่องมือและสารเคมี				
ครอบคลุมกับการทดลอง				
2.3.3 อุปกรณ์ / เครื่องมือและสารเคมี เหมาะสม				
กับ เรื่องที่ทำการทดลอง				

รายการ	คะแนนที่พิจารณา			ข้อเสนอแนะ
	+1	0	-1	
2.4 วิธีการทดลอง				
2.4.1 เหมาะสมกับเวลาที่ใช้				
2.4.2 มีความยากง่ายพอเหมาะ				
2.4.3 ส่งเสริมให้นักศึกษาคิดเป็น				
2.4.4 ก่อให้เกิดความคิดรวบยอด				
2.4.5 เรียงลำดับกิจกรรมเหมาะสม				
2.4.6 ส่งเสริมให้นักศึกษามีทักษะปฏิบัติการทดลอง				
2.4.7 นักศึกษาแต่ละคนมีส่วนร่วมในกิจกรรมการทดลอง				
3. เอกสารรายงานผลการทดลองและคำถามท้ายการทดลอง				
3.1 เอกสารรายงานผลการทดลองเหมาะสม				
3.2 คำถามท้ายการทดลอง				
3.2.1 ความสั้นยาวของคำถามเหมาะสม				
3.2.2 จำนวนข้อในคำถามเหมาะสม				
3.2.3 คำถามสอดคล้องกับการทดลอง				
3.2.4 คำถามสอดคล้องกับวัตถุประสงค์				
3.2.5 คำถามส่งเสริมด้านทักษะกระบวนการวิทยาศาสตร์				
3.2.6 คำถามส่งเสริมการคิดแก้ปัญหา				
3.2.7 คำถามส่งเสริมความคิดสร้างสรรค์				
3.2.8 คำถามส่งเสริมความคิดวิจารณ์ญาณ				

แบบประเมินดัชนีความสอดคล้อง

บทปฏิบัติการที่ 2

เรื่อง การสกัดและแยกแอนโธไซยานินจากดอกกระเจี๊ยบแดงด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

รายการ	คะแนนที่พิจารณา			ข้อเสนอแนะ
	+1	0	-1	
1. ด้านเอกสารประกอบบทปฏิบัติการ (ใบความรู้)				
1.1 เนื้อหาสมบูรณ์				
1.2 เนื้อหามีความต่อเนื่องกัน				
1.3 เนื้อหาเหมาะสมกับเวลาที่กำหนด				
1.4 ความสั้นยาวของเนื้อหาเหมาะสม				
1.5 เนื้อหาสอดคล้องกับวัตถุประสงค์การทดลอง				
1.6 การใช้ภาษา				
1.6.1 ไม่วกวน				
1.6.2 ชวนอ่าน				
1.6.3 เข้าใจง่าย				
2. ด้านบทปฏิบัติการ				
2.1 วัตถุประสงค์				
2.1.1 มีความชัดเจน				
2.1.2 ประเมินผลได้				
2.2 หลักการ / ทฤษฎี				
2.2.1 มีความชัดเจน				
2.2.2 สอดคล้องกับบทปฏิบัติการ				
2.2.3 เหมาะสมกับระดับของนักศึกษา				
2.2.4 ความสั้นยาวของทฤษฎี / หลักการเหมาะสม				
2.3 อุปกรณ์ / เครื่องมือและสารเคมี				
2.2.1 เหมาะสมกับระดับนักศึกษา				
2.3.2 อุปกรณ์ / เครื่องมือและสารเคมี				
ครอบคลุมกับการทดลอง				
2.3.3 อุปกรณ์ / เครื่องมือและสารเคมี เหมาะสม				
กับ เรื่องที่ทำการทดลอง				

รายการ	คะแนนที่พิจารณา			ข้อเสนอแนะ
	+1	0	-1	
2.4 วิธีการทดลอง				
2.4.1 เหมาะสมกับเวลาที่ใช้				
2.4.2 มีความยากง่ายพอเหมาะ				
2.4.3 ส่งเสริมให้นักศึกษาคิดเป็น				
2.4.4 ก่อให้เกิดความคิดรวบยอด				
2.4.5 เรียงลำดับกิจกรรมเหมาะสม				
2.4.6 ส่งเสริมให้นักศึกษามีทักษะปฏิบัติการทดลอง				
2.4.7 นักศึกษาแต่ละคนมีส่วนร่วมในกิจกรรมการทดลอง				
3. เอกสารรายงานผลการทดลองและคำถามท้ายการทดลอง				
3.1 เอกสารรายงานผลการทดลองเหมาะสม				
3.2 คำถามท้ายการทดลอง				
3.2.1 ความสั้นยาวของคำถามเหมาะสม				
3.2.2 จำนวนข้อในคำถามเหมาะสม				
3.2.3 คำถามสอดคล้องกับการทดลอง				
3.2.4 คำถามสอดคล้องกับวัตถุประสงค์				
3.2.5 คำถามส่งเสริมด้านทักษะกระบวนการวิทยาศาสตร์				
3.2.6 คำถามส่งเสริมการคิดแก้ปัญหา				
3.2.7 คำถามส่งเสริมความคิดสร้างสรรค์				
3.2.8 คำถามส่งเสริมความคิดวิจารณ์ญาณ				

แบบประเมินดัชนีความสอดคล้อง

บทปฏิบัติการที่ 3

เรื่อง การสกัดและแยกแทนนินจากเปลือกผลมังคุดด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง

รายการ	คะแนนที่พิจารณา			ข้อเสนอแนะ
	+1	0	-1	
1. ด้านเอกสารประกอบบทปฏิบัติการ (ใบความรู้)				
1.1 เนื้อหาสมบูรณ์				
1.2 เนื้อหามีความต่อเนื่องกัน				
1.3 เนื้อหาเหมาะสมกับเวลาที่กำหนด				
1.4 ความสั้นยาวของเนื้อหาเหมาะสม				
1.5 เนื้อหาสอดคล้องกับวัตถุประสงค์การทดลอง				
1.6 การใช้ภาษา				
1.6.1 ไม่วกวน				
1.6.2 ชวนอ่าน				
1.6.3 เข้าใจง่าย				
2. ด้านบทปฏิบัติการ				
2.1 วัตถุประสงค์				
2.1.1 มีความชัดเจน				
2.1.2 ประเมินผลได้				
2.2 หลักการ / ทฤษฎี				
2.2.1 มีความชัดเจน				
2.2.2 สอดคล้องกับบทปฏิบัติการ				
2.2.3 เหมาะสมกับระดับของนักศึกษา				
2.2.4 ความสั้นยาวของทฤษฎี / หลักการเหมาะสม				
2.3 อุปกรณ์ / เครื่องมือและสารเคมี				
2.2.1 เหมาะสมกับระดับนักศึกษา				
2.3.2 อุปกรณ์ / เครื่องมือและสารเคมี				
ครอบคลุมกับการทดลอง				
2.3.3 อุปกรณ์ / เครื่องมือและสารเคมี เหมาะสม				
กับ เรื่องที่ทำการทดลอง				

รายการ	คะแนนที่พิจารณา			ข้อเสนอแนะ
	+1	0	-1	
2.4 วิธีการทดลอง				
2.4.1 เหมาะสมกับเวลาที่ใช้				
2.4.2 มีความยากง่ายพอเหมาะ				
2.4.3 ส่งเสริมให้นักศึกษาคิดเป็น				
2.4.4 ก่อให้เกิดความคิดรวบยอด				
2.4.5 เรียงลำดับกิจกรรมเหมาะสม				
2.4.6 ส่งเสริมให้นักศึกษามีทักษะปฏิบัติการทดลอง				
2.4.7 นักศึกษาแต่ละคนมีส่วนร่วมในกิจกรรมการทดลอง				
3. เอกสารรายงานผลการทดลองและคำถามท้ายการทดลอง				
3.1 เอกสารรายงานผลการทดลองเหมาะสม				
3.2 คำถามท้ายการทดลอง				
3.2.1 ความสั้นยาวของคำถามเหมาะสม				
3.2.2 จำนวนข้อในคำถามเหมาะสม				
3.2.3 คำถามสอดคล้องกับการทดลอง				
3.2.4 คำถามสอดคล้องกับวัตถุประสงค์				
3.2.5 คำถามส่งเสริมด้านทักษะกระบวนการวิทยาศาสตร์				
3.2.6 คำถามส่งเสริมการคิดแก้ปัญหา				
3.2.7 คำถามส่งเสริมความคิดสร้างสรรค์				
3.2.8 คำถามส่งเสริมความคิดวิจารณ์ญาณ				

แบบประเมินดัชนีความสอดคล้อง

บทปฏิบัติการที่ 4

เรื่อง การสกัดและแยกชาไปนินจากผลมะคำดีควายด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟฟีแบบเยื่อบาง

รายการ	คะแนนที่พิจารณา			ข้อเสนอแนะ
	+1	0	-1	
1. ด้านเอกสารประกอบบทปฏิบัติการ (ใบความรู้)				
1.1 เนื้อหาสมบูรณ์				
1.2 เนื้อหามีความต่อเนื่องกัน				
1.3 เนื้อหาเหมาะสมกับเวลาที่กำหนด				
1.4 ความสั้นยาวของเนื้อหาเหมาะสม				
1.5 เนื้อหาสอดคล้องกับวัตถุประสงค์การทดลอง				
1.6 การใช้ภาษา				
1.6.1 ไม่วกวน				
1.6.2 ชวนอ่าน				
1.6.3 เข้าใจง่าย				
2. ด้านบทปฏิบัติการ				
2.1 วัตถุประสงค์				
2.1.1 มีความชัดเจน				
2.1.2 ประเมินผลได้				
2.2 หลักการ / ทฤษฎี				
2.2.1 มีความชัดเจน				
2.2.2 สอดคล้องกับบทปฏิบัติการ				
2.2.3 เหมาะสมกับระดับของนักศึกษา				
2.2.4 ความสั้นยาวของทฤษฎี / หลักการเหมาะสม				
2.3 อุปกรณ์ / เครื่องมือและสารเคมี				
2.2.1 เหมาะสมกับระดับนักศึกษา				
2.3.2 อุปกรณ์ / เครื่องมือและสารเคมี ครอบคลุมกับการทดลอง				
2.3.3 อุปกรณ์ / เครื่องมือและสารเคมี เหมาะสม กับ เรื่องที่ทำการทดลอง				

รายการ	คะแนนที่พิจารณา			ข้อเสนอแนะ
	+1	0	-1	
2.4 วิธีการทดลอง				
2.4.1 เหมาะสมกับเวลาที่ใช้				
2.4.2 มีความยากง่ายพอเหมาะ				
2.4.3 ส่งเสริมให้นักศึกษาคิดเป็น				
2.4.4 ก่อให้เกิดความคิดรวบยอด				
2.4.5 เรียงลำดับกิจกรรมเหมาะสม				
2.4.6 ส่งเสริมให้นักศึกษามีทักษะปฏิบัติการทดลอง				
2.4.7 นักเรียนแต่ละคนมีส่วนร่วมในกิจกรรมการทดลอง				
3. เอกสารรายงานผลการทดลองและคำถามท้ายการทดลอง				
3.1 เอกสารรายงานผลการทดลองเหมาะสม				
3.2 คำถามท้ายการทดลอง				
3.2.1 ความสั้นยาวของคำถามเหมาะสม				
3.2.2 จำนวนข้อในคำถามเหมาะสม				
3.2.3 คำถามสอดคล้องกับการทดลอง				
3.2.4 คำถามสอดคล้องกับวัตถุประสงค์				
3.2.5 คำถามส่งเสริมด้านทักษะกระบวนการวิทยาศาสตร์				
3.2.6 คำถามส่งเสริมการคิดแก้ปัญหา				
3.2.7 คำถามส่งเสริมความคิดสร้างสรรค์				
3.2.8 คำถามส่งเสริมความคิดวิจารณ์ญาณ				

แบบประเมินดัชนีความสอดคล้อง

บทปฏิบัติการที่ 5

เรื่อง การสกัดและแยกคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์จากเมล็ดรำเพยด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี

แบบย่อบาง

รายการ	คะแนนที่พิจารณา			ข้อเสนอแนะ
	+1	0	-1	
1. ด้านเอกสารประกอบบทปฏิบัติการ (ใบความรู้)				
1.1 เนื้อหาสมบูรณ์				
1.2 เนื้อหามีความต่อเนื่องกัน				
1.3 เนื้อหาเหมาะสมกับเวลาที่กำหนด				
1.4 ความสั้นยาวของเนื้อหาเหมาะสม				
1.5 เนื้อหาสอดคล้องกับวัตถุประสงค์การทดลอง				
1.6 การใช้ภาษา				
1.6.1 ไม่วกวน				
1.6.2 ชวนอ่าน				
1.6.3 เข้าใจง่าย				
2. ด้านบทปฏิบัติการ				
2.1 วัตถุประสงค์				
2.1.1 มีความชัดเจน				
2.1.2 ประเมินผลได้				
2.2 หลักการ / ทฤษฎี				
2.2.1 มีความชัดเจน				
2.2.2 สอดคล้องกับบทปฏิบัติการ				
2.2.3 เหมาะสมกับระดับของนักศึกษา				
2.2.4 ความสั้นยาวของทฤษฎี / หลักการเหมาะสม				
2.3 อุปกรณ์ / เครื่องมือและสารเคมี				
2.2.1 เหมาะสมกับระดับนักศึกษา				
2.3.2 อุปกรณ์ / เครื่องมือและสารเคมี				
ครอบคลุมกับการทดลอง				
2.3.3 อุปกรณ์ / เครื่องมือและสารเคมี เหมาะสม				
กับ เรื่องที่ทำการทดลอง				

รายการ	คะแนนที่พิจารณา			ข้อเสนอแนะ
	+1	0	-1	
2.4 วิธีการทดลอง				
2.4.1 เหมาะสมกับเวลาที่ใช้				
2.4.2 มีความยากง่ายพอเหมาะ				
2.4.3 ส่งเสริมให้นักศึกษาคิดเป็น				
2.4.4 ก่อให้เกิดความคิดรวบยอด				
2.4.5 เรียงลำดับกิจกรรมเหมาะสม				
2.4.6 ส่งเสริมให้นักศึกษามีทักษะปฏิบัติการทดลอง				
2.4.7 นักศึกษาแต่ละคนมีส่วนร่วมในกิจกรรมการทดลอง				
3. เอกสารรายงานผลการทดลองและคำถามท้ายการทดลอง				
3.1 เอกสารรายงานผลการทดลองเหมาะสม				
3.2 คำถามท้ายการทดลอง				
3.2.1 ความสั้นยาวของคำถามเหมาะสม				
3.2.2 จำนวนข้อในคำถามเหมาะสม				
3.2.3 คำถามสอดคล้องกับการทดลอง				
3.2.4 คำถามสอดคล้องกับวัตถุประสงค์				
3.2.5 คำถามส่งเสริมด้านทักษะกระบวนการวิทยาศาสตร์				
3.2.6 คำถามส่งเสริมการคิดแก้ปัญหา				
3.2.7 คำถามส่งเสริมความคิดสร้างสรรค์				
3.2.8 คำถามส่งเสริมความคิดวิจารณ์ญาณ				

แบบประเมินดัชนีความสอดคล้อง

บทปฏิบัติการที่ 6

เรื่อง การสกัดและแยกแอนทราควิโนนจากใบชุมเห็ดเทศด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี

แบบเยื่อบาง และปฏิกิริยาเคมี

รายการ	คะแนนที่พิจารณา			ข้อเสนอแนะ
	+1	0	-1	
1. ด้านเอกสารประกอบบทปฏิบัติการ (ใบความรู้)				
1.1 เนื้อหาสมบูรณ์				
1.2 เนื้อหามีความต่อเนื่องกัน				
1.3 เนื้อหาเหมาะสมกับเวลาที่กำหนด				
1.4 ความสั้นยาวของเนื้อหาเหมาะสม				
1.5 เนื้อหาสอดคล้องกับวัตถุประสงค์การทดลอง				
1.6 การใช้ภาษา				
1.6.1 ไม่วกวน				
1.6.2 ชวนอ่าน				
1.6.3 เข้าใจง่าย				
2. ด้านบทปฏิบัติการ				
2.1 วัตถุประสงค์				
2.1.1 มีความชัดเจน				
2.1.2 ประเมินผลได้				
2.2 หลักการ / ทฤษฎี				
2.2.1 มีความชัดเจน				
2.2.2 สอดคล้องกับบทปฏิบัติการ				
2.2.3 เหมาะสมกับระดับของนักศึกษา				
2.2.4 ความสั้นยาวของทฤษฎี / หลักการเหมาะสม				
2.3 อุปกรณ์ / เครื่องมือและสารเคมี				
2.2.1 เหมาะสมกับระดับนักศึกษา				
2.3.2 อุปกรณ์ / เครื่องมือและสารเคมี				
ครอบคลุมกับการทดลอง				
2.3.3 อุปกรณ์ / เครื่องมือและสารเคมี เหมาะสม				
กับ เรื่องที่ทำการทดลอง				

รายการ	คะแนนที่พิจารณา			ข้อเสนอแนะ
	+1	0	-1	
2.4 วิธีการทดลอง				
2.4.1 เหมาะสมกับเวลาที่ใช้				
2.4.2 มีความยากง่ายพอเหมาะ				
2.4.3 ส่งเสริมให้นักศึกษาคิดเป็น				
2.4.4 ก่อให้เกิดความคิดรวบยอด				
2.4.5 เรียงลำดับกิจกรรมเหมาะสม				
2.4.6 ส่งเสริมให้นักศึกษามีทักษะปฏิบัติการทดลอง				
2.4.7 นักศึกษาแต่ละคนมีส่วนร่วมในกิจกรรมการทดลอง				
3. เอกสารรายงานผลการทดลองและคำถามท้ายการทดลอง				
3.1 เอกสารรายงานผลการทดลองเหมาะสม				
3.2 คำถามท้ายการทดลอง				
3.2.1 ความสั้นยาวของคำถามเหมาะสม				
3.2.2 จำนวนข้อในคำถามเหมาะสม				
3.2.3 คำถามสอดคล้องกับการทดลอง				
3.2.4 คำถามสอดคล้องกับวัตถุประสงค์				
3.2.5 คำถามส่งเสริมด้านทักษะกระบวนการวิทยาศาสตร์				
3.2.6 คำถามส่งเสริมการคิดแก้ปัญหา				
3.2.7 คำถามส่งเสริมความคิดสร้างสรรค์				
3.2.8 คำถามส่งเสริมความคิดวิจารณ์ญาณ				

แบบประเมินดัชนีความสอดคล้อง

บทปฏิบัติการที่ 7

เรื่อง การสกัดและแยกปิเปอรินจากผลพริกไทยดำด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปี

รายการ	คะแนนที่พิจารณา			ข้อเสนอแนะ
	+1	0	-1	
1. ด้านเอกสารประกอบบทปฏิบัติการ (ใบความรู้)				
1.1 เนื้อหาสมบูรณ์				
1.2 เนื้อหามีความต่อเนื่องกัน				
1.3 เนื้อหาเหมาะสมกับเวลาที่กำหนด				
1.4 ความสั้นยาวของเนื้อหาเหมาะสม				
1.5 เนื้อหาสอดคล้องกับวัตถุประสงค์การทดลอง				
1.6 การใช้ภาษา				
1.6.1 ไม่วกวน				
1.6.2 ชวนอ่าน				
1.6.3 เข้าใจง่าย				
2. ด้านบทปฏิบัติการ				
2.1 วัตถุประสงค์				
2.1.1 มีความชัดเจน				
2.1.2 ประเมินผลได้				
2.2 หลักการ / ทฤษฎี				
2.2.1 มีความชัดเจน				
2.2.2 สอดคล้องกับบทปฏิบัติการ				
2.2.3 เหมาะสมกับระดับของนักศึกษา				
2.2.4 ความสั้นยาวของทฤษฎี / หลักการเหมาะสม				
2.3 อุปกรณ์ / เครื่องมือและสารเคมี				
2.2.1 เหมาะสมกับระดับนักศึกษา				
2.3.2 อุปกรณ์ / เครื่องมือและสารเคมี				
ครอบคลุมกับการทดลอง				
2.3.3 อุปกรณ์ / เครื่องมือและสารเคมี เหมาะสม				
กับ เรื่องที่ทำการทดลอง				

รายการ	คะแนนที่พิจารณา			ข้อเสนอแนะ
	+1	0	-1	
2.4 วิธีการทดลอง				
2.4.1 เหมาะสมกับเวลาที่ใช้				
2.4.2 มีความยากง่ายพอเหมาะ				
2.4.3 ส่งเสริมให้นักศึกษาคิดเป็น				
2.4.4 ก่อให้เกิดความคิดรวบยอด				
2.4.5 เรียงลำดับกิจกรรมเหมาะสม				
2.4.6 ส่งเสริมให้นักศึกษามีทักษะปฏิบัติการทดลอง				
2.4.7 นักศึกษาแต่ละคนมีส่วนร่วมในกิจกรรมการทดลอง				
3. เอกสารรายงานผลการทดลองและคำถามท้ายการทดลอง				
3.1 เอกสารรายงานผลการทดลองเหมาะสม				
3.2 คำถามท้ายการทดลอง				
3.2.1 ความสั้นยาวของคำถามเหมาะสม				
3.2.2 จำนวนข้อในคำถามเหมาะสม				
3.2.3 คำถามสอดคล้องกับการทดลอง				
3.2.4 คำถามสอดคล้องกับวัตถุประสงค์				
3.2.5 คำถามส่งเสริมด้านทักษะกระบวนการวิทยาศาสตร์				
3.2.6 คำถามส่งเสริมการคิดแก้ปัญหา				
3.2.7 คำถามส่งเสริมความคิดสร้างสรรค์				
3.2.8 คำถามส่งเสริมความคิดวิจารณ์ญาณ				

แบบประเมินดัชนีความสอดคล้อง

บทปฏิบัติการที่ 8

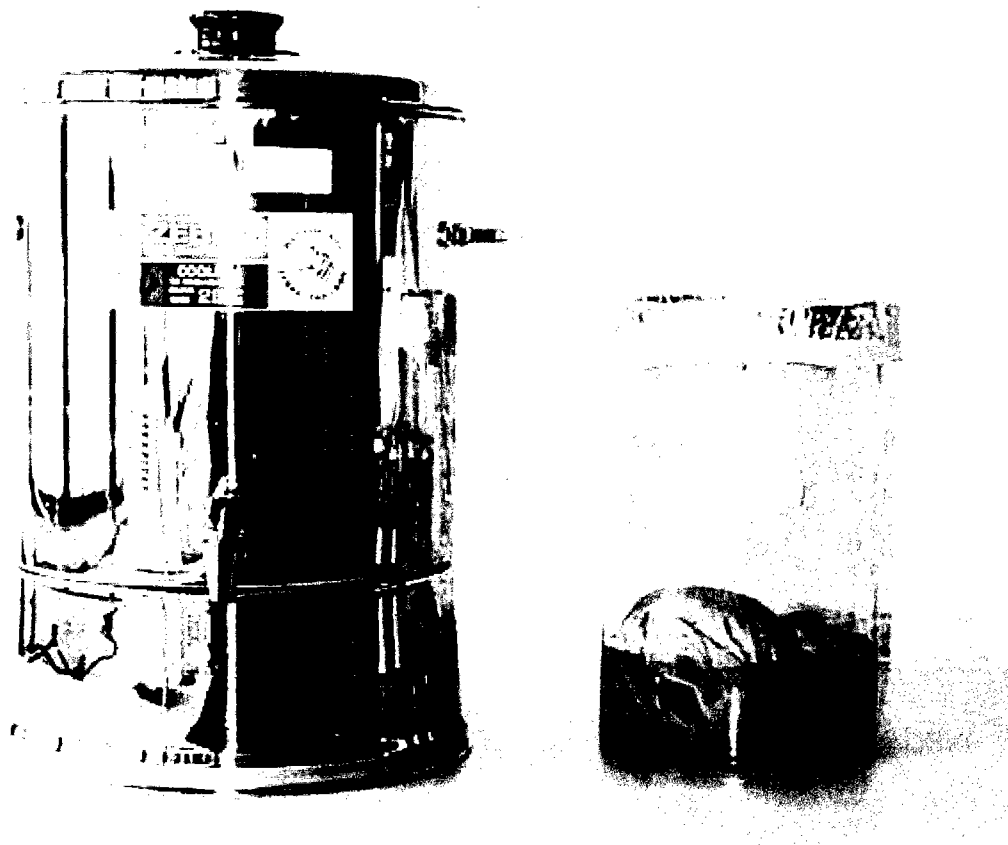
เรื่อง การสกัดและแยกเบต้าไซโตสเตอรอล จากหัวร้อยด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี

แบบของเหลวสมรรถนะสูง

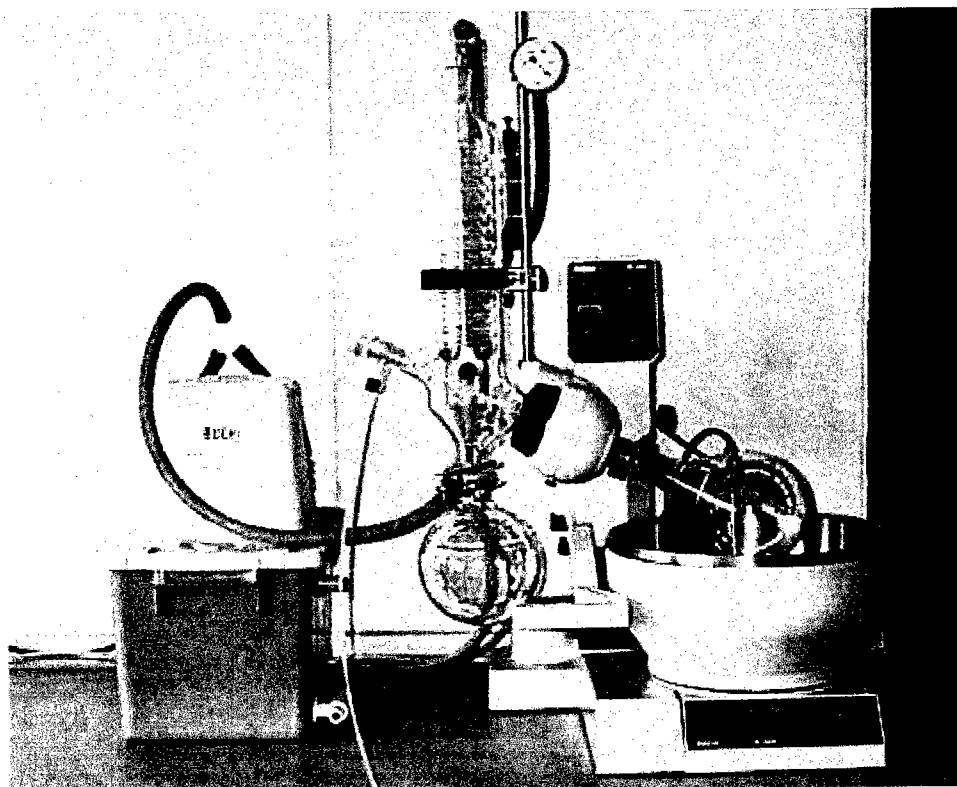
รายการ	คะแนนที่พิจารณา			ข้อเสนอแนะ
	+1	0	-1	
1. ด้านเอกสารประกอบบทปฏิบัติการ (ใบความรู้)				
1.1 เนื้อหาสมบูรณ์				
1.2 เนื้อหามีความต่อเนื่องกัน				
1.3 เนื้อหาเหมาะสมกับเวลาที่กำหนด				
1.4 ความสั้นยาวของเนื้อหาเหมาะสม				
1.5 เนื้อหาสอดคล้องกับวัตถุประสงค์การทดลอง				
1.6 การใช้ภาษา				
1.6.1 ไม่วกวน				
1.6.2 ชวนอ่าน				
1.6.3 เข้าใจง่าย				
2. ด้านบทปฏิบัติการ				
2.1 วัตถุประสงค์				
2.1.1 มีความชัดเจน				
2.1.2 ประเมินผลได้				
2.2 หลักการ / ทฤษฎี				
2.2.1 มีความชัดเจน				
2.2.2 สอดคล้องกับบทปฏิบัติการ				
2.2.3 เหมาะสมกับระดับของนักศึกษา				
2.2.4 ความสั้นยาวของทฤษฎี / หลักการเหมาะสม				
2.3 อุปกรณ์ / เครื่องมือและสารเคมี				
2.3.1 เหมาะสมกับระดับนักศึกษา				
2.3.2 อุปกรณ์ / เครื่องมือและสารเคมี ครอบคลุมกับการทดลอง				
2.3.3 อุปกรณ์ / เครื่องมือและสารเคมี เหมาะสม กับ เรื่องที่ทำการทดลอง				

รายการ	คะแนนที่พิจารณา			ข้อเสนอแนะ
	+1	0	-1	
2.4 วิธีการทดลอง				
2.4.1 เหมาะสมกับเวลาที่ใช้				
2.4.2 มีความยากง่ายพอเหมาะ				
2.4.3 ส่งเสริมให้นักศึกษาคิดเป็น				
2.4.4 ก่อให้เกิดความคิดรวบยอด				
2.4.5 เรียงลำดับกิจกรรมเหมาะสม				
2.4.6 ส่งเสริมให้นักศึกษามีทักษะปฏิบัติการทดลอง				
2.4.7 นักศึกษาแต่ละคนมีส่วนร่วมในกิจกรรมการทดลอง				
3. เอกสารรายงานผลการทดลองและคำถามท้ายการทดลอง				
3.1 เอกสารรายงานผลการทดลองเหมาะสม				
3.2 คำถามท้ายการทดลอง				
3.2.1 ความสั้นยาวของคำถามเหมาะสม				
3.2.2 จำนวนข้อในคำถามเหมาะสม				
3.2.3 คำถามสอดคล้องกับการทดลอง				
3.2.4 คำถามสอดคล้องกับวัตถุประสงค์				
3.2.5 คำถามส่งเสริมด้านทักษะกระบวนการวิทยาศาสตร์				
3.2.6 คำถามส่งเสริมการคิดแก้ปัญหา				
3.2.7 คำถามส่งเสริมความคิดสร้างสรรค์				
3.2.8 คำถามส่งเสริมความคิดวิจารณ์ญาณ				

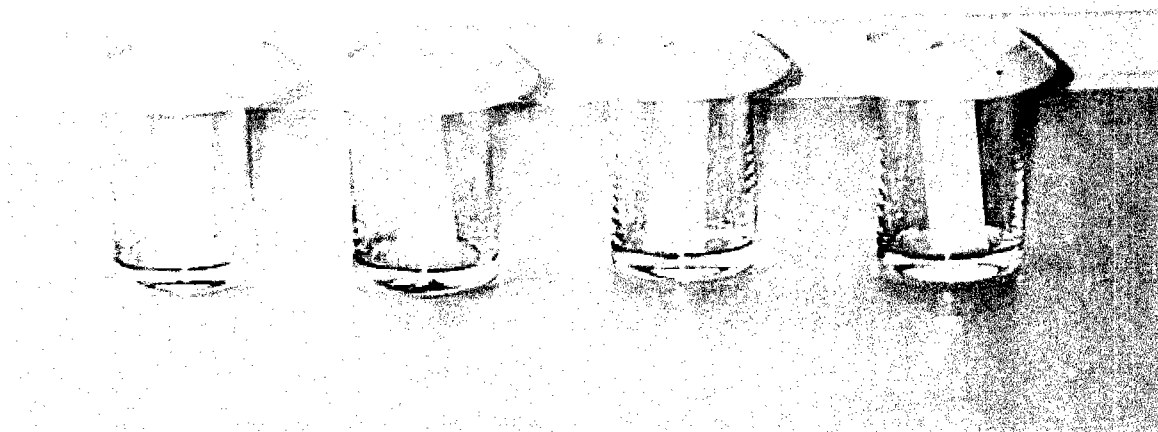
ภาคผนวก ง
ภาพ อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง



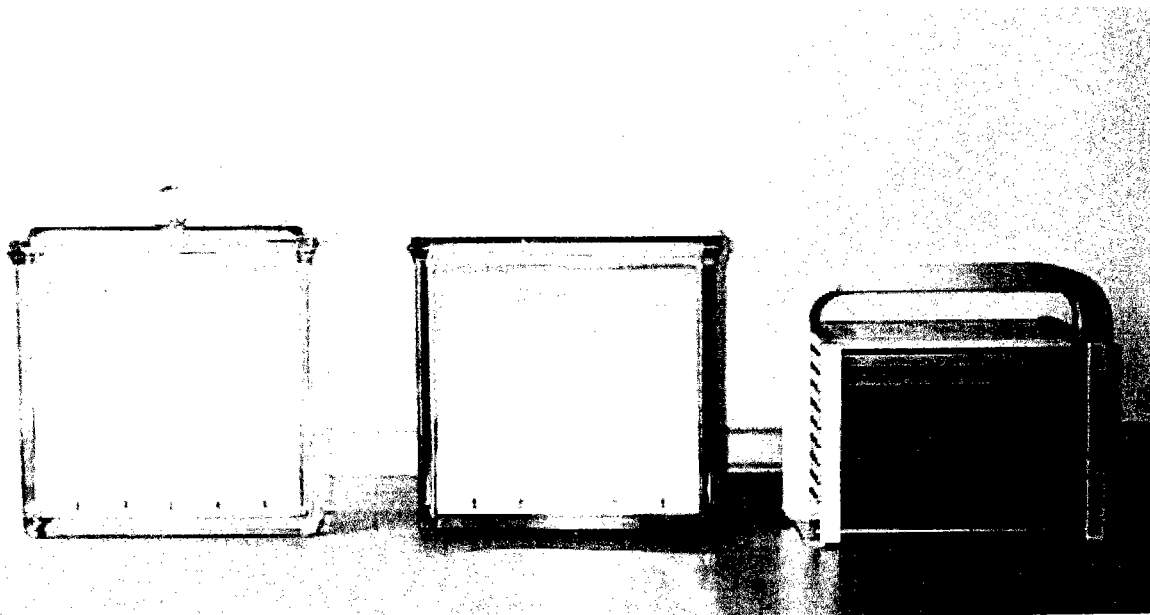
ภาชนะแช่พืชสมุนไพร



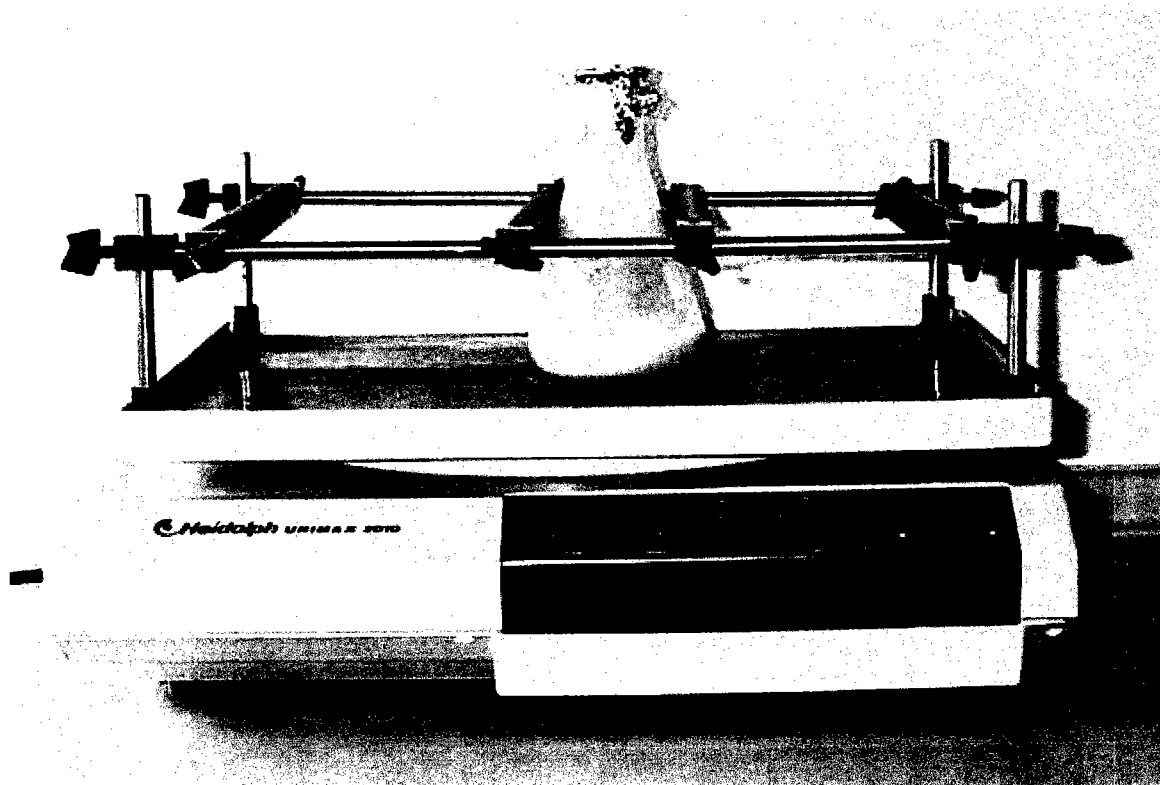
เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน



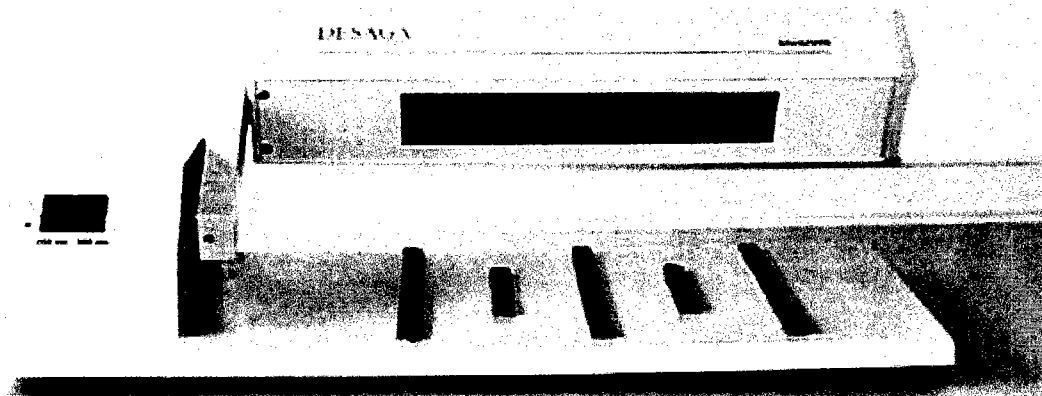
ชุดโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง (ไมโครสไลด์)



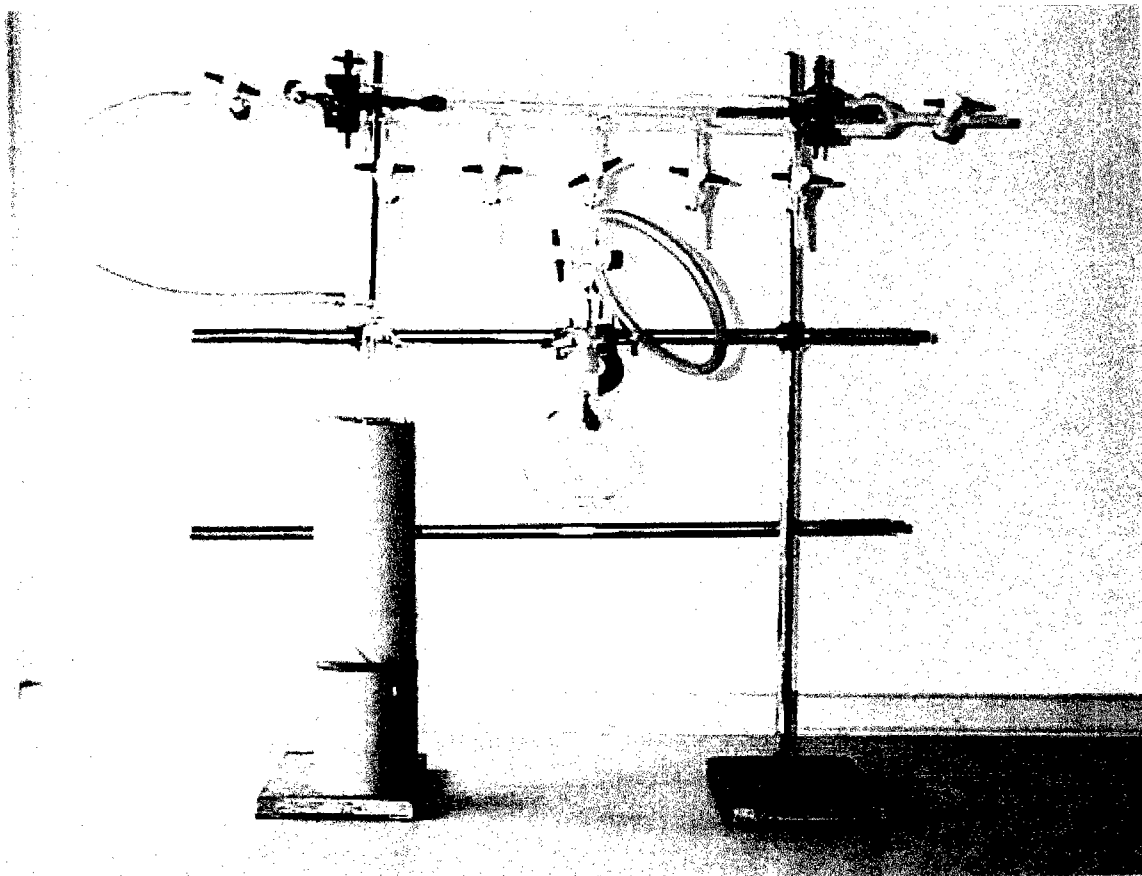
ชุดโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง (preparative TLC)



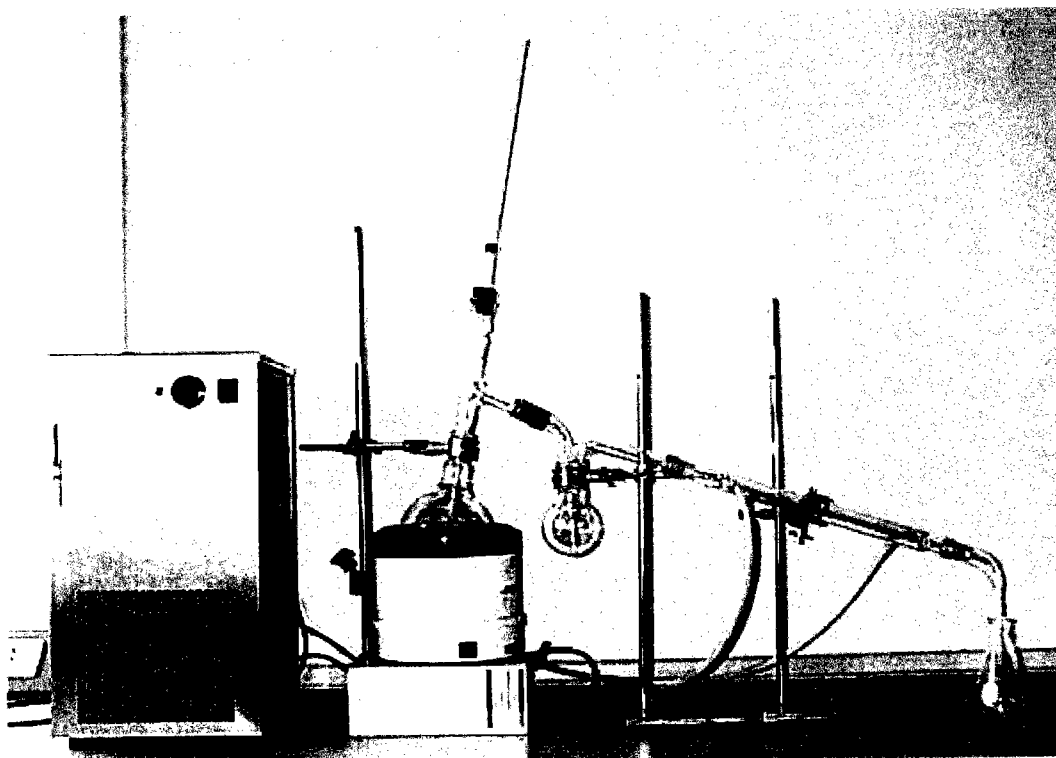
เครื่องเขย่า



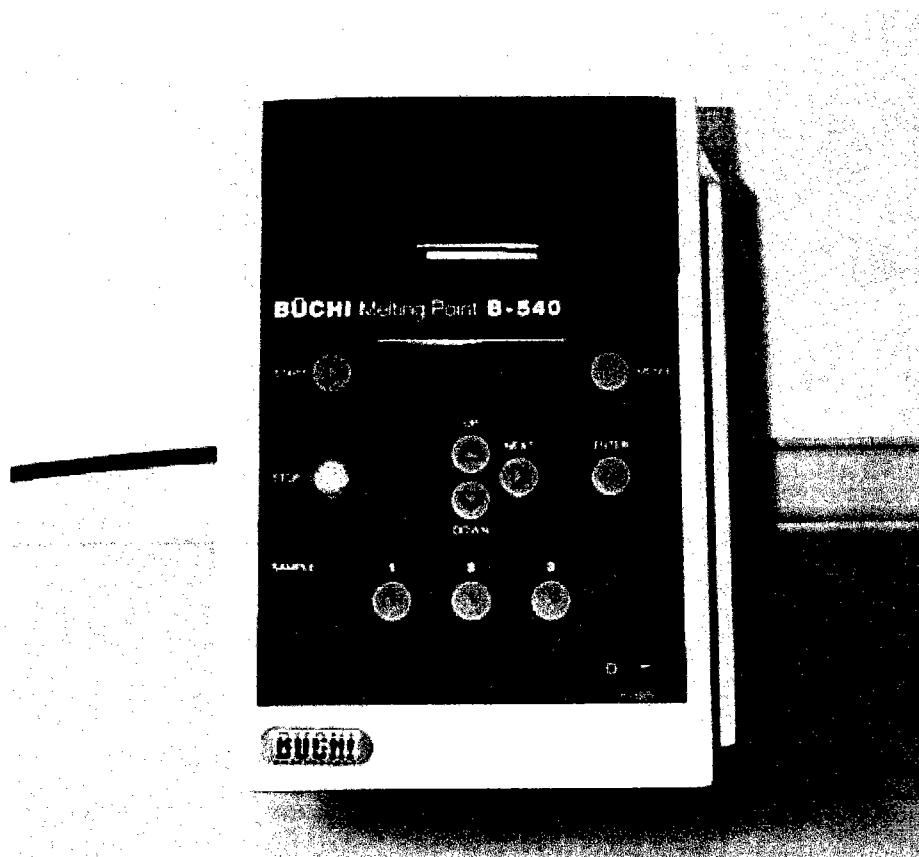
เครื่องส่องรังสีเหื่อม่วง



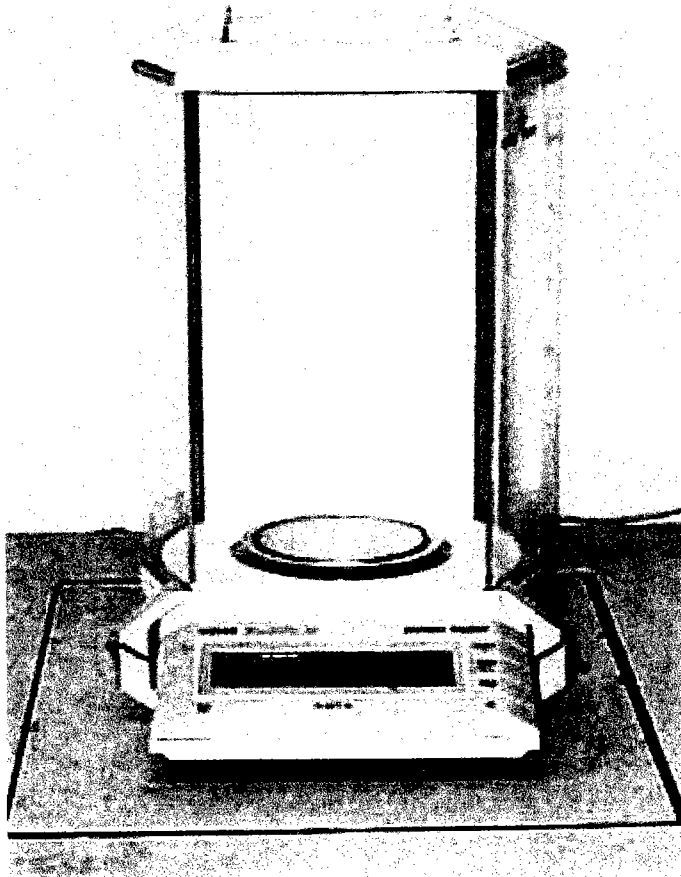
เครื่องระเหยตัวทำละลาย



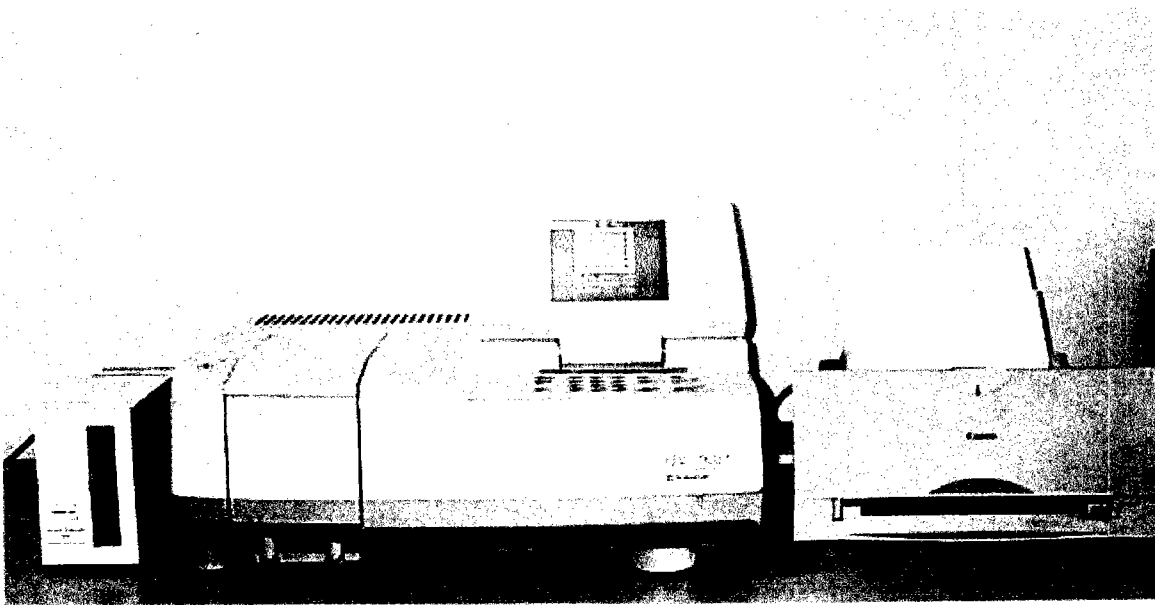
เครื่องกลั่นด้วยไอน้ำ



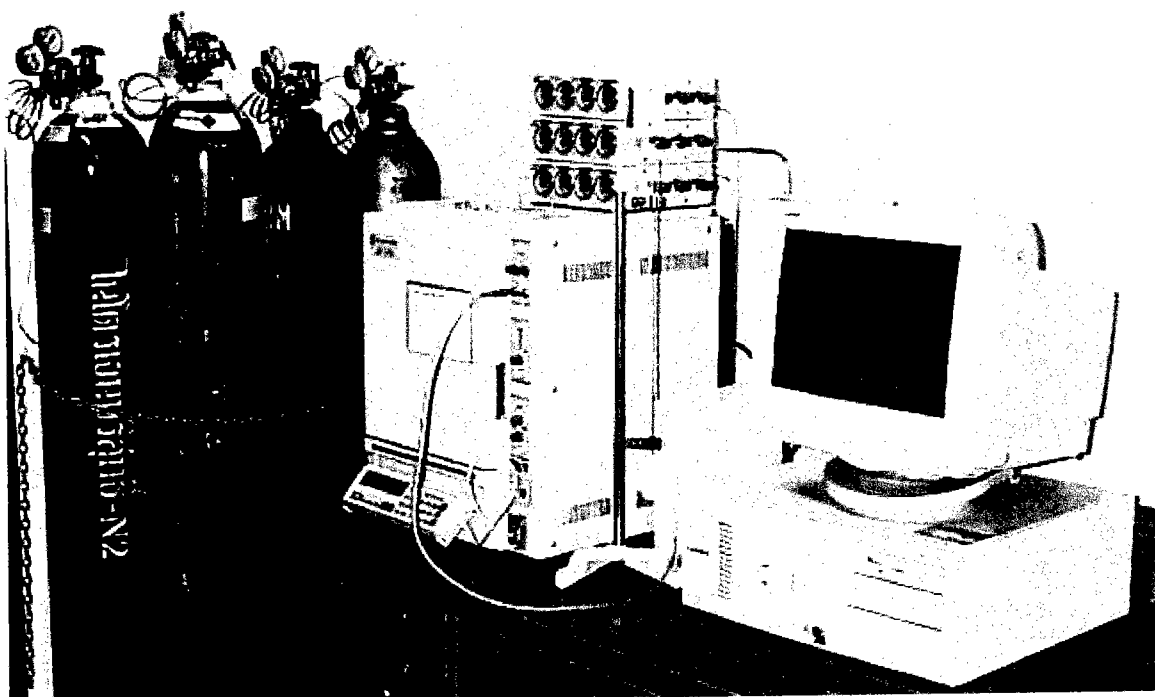
เครื่องหาจุดเดือดจุดหลอมเหลว



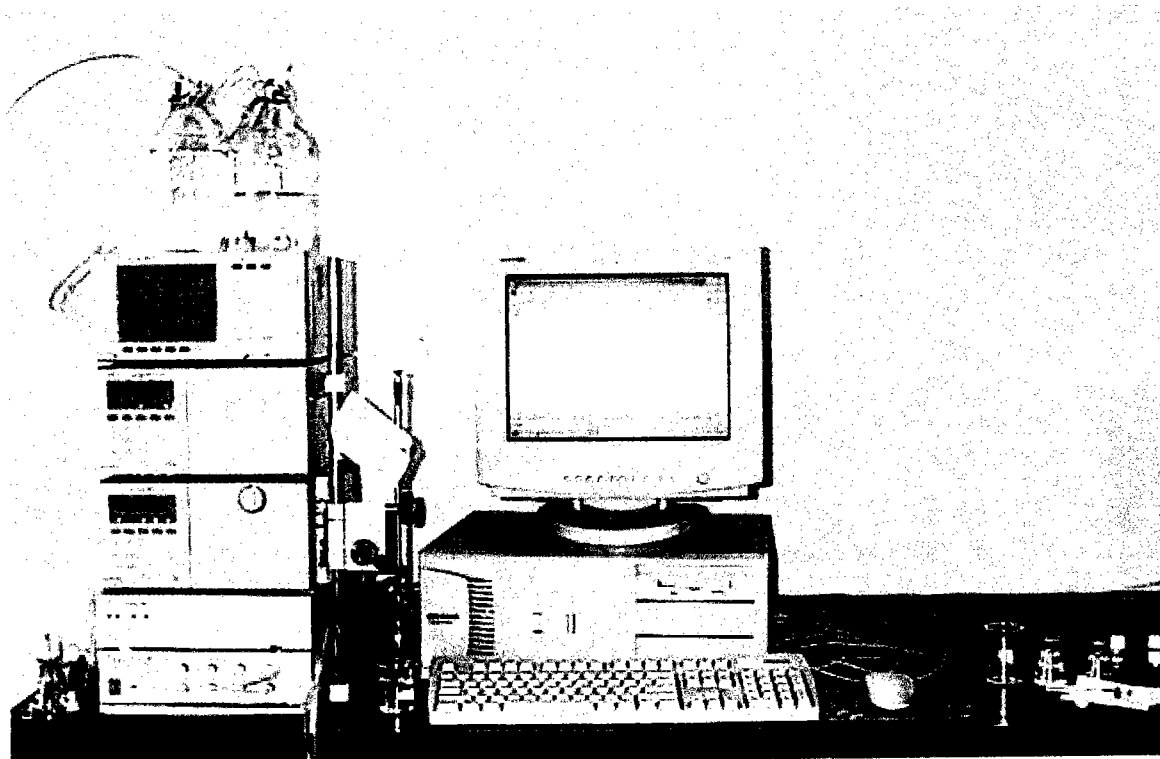
เครื่องชั่งเชิงวิเคราะห์



เครื่อง ยูวีวิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์
(UV – visible spectrophotometer)



เครื่องโครมาโทกราฟีแบบก๊าซ
(Gas Chromatography)



เครื่องโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง
(High Performance Liquid Chromatography)

ภาคผนวก จ
ภาพพืชสมุนไพร



พริกไทย

ชื่อสามัญ	พริกไทย
ชื่อวิทยาศาสตร์	<i>Piper nigrum</i> Linn.
ชื่อท้องถิ่น	พริกน้อย(ภาคเหนือ)
วงศ์	Piperaceae
ลักษณะของพืช	เป็นไม้เลื้อยมีทั้งต้นตัวผู้และต้นตัวเมีย ลำต้นมีข้อและมีปล้องชัดเจน ใบเดี่ยวออกสลับ รูปไข่หรือรี ปลายใบแหลม โคนใบมน หรือแหลม เล็กน้อย ขนาดใบกว้าง 3.5 – 6 ซม. ยาว 7 - 10 ซม. ก้านใบยาว 10 - 20 มม. ดอกออกเป็นช่ออยู่ตามข้อตรงกับใบ ช่อดอกตัวเมีย มีกลีบประดับรูปเกือบกลมขนาด 4 – 5 มม. ติดอยู่ตามแกนช่อดอก รองรับดอก รังไข่กลมปลายเกสรแยก 3 - 5 แฉก ช่อดอกตัวผู้ มีดอกที่มีเกสรตัวผู้ 2 อัน ผลอยู่รวมกันเป็นช่อยาว 5 - 15 ซม. ผลรูปทรงกลมขนาด 3 - 6 มม. แก่แล้วมีสีดำ ภายในมี 1 เมล็ด
ส่วนที่ใช้เป็น	ผล (ซึ่งเรียกว่า พริกไทยดำ) หรือเมล็ด(ซึ่งเรียกว่าพริกไทยร้อนหรือพริกไทยขาว)
ประโยชน์ทางสมุนไพร	ใช้แก้อาการปวดท้อง ท้องอืด ท้องเฟ้อ
วิธีใช้	ใช้ผลหรือเมล็ดทำเป็นผง ครั้งละ 0.5 ช้อนชา หรือหนัก 0.5– 1 กรัม ผสมน้ำสุกรับประทาน วันละ 3 ครั้ง เหมาะสำหรับผู้ใหญ่
การขยายพันธุ์	ใช้ปักชำ โดยทั่วไปนิยมปลูกโดยใช้ค้าง ก่อนปลูกเตรียมดิน โดยขุดหลุม ขนาดกว้าง 40 ซม. ยาว 60 ซม. ใช้ปุ๋ยคอกผสมดิน รองก้นหลุม นำยอดพันธุ์ลงปลูกในหลุม ยอดพันธุ์นั้นใช้ลำต้นส่วนยอดหรือส่วนอื่นที่ไม่แก่จัด อายุ 1 ปี มีขนาดยาว 40 - 50 ซม. และมีข้ออยู่ 5 - 7 ข้อ ปักชำไว้ จนออกรากแข็งแรงก่อนนำลงปลูก หรือตัดยอดลงปลูกเลยก็ได้ อีกวิธีหนึ่งอาจปลูกโดยไม่ใช้ค้างก็ได้ เนื่องจากการปลูกโดยใช้ค้างมีต้นทุนสูง

แต่มีข้อเสีย คือ ผลผลิตจะน้อยกว่า โดยวิธีแรก การปลูกวิธีนี้มีการเตรียม พันธุ์แตกต่างจากวิธีแรก เล็กน้อย โดยตัดกิ่งพันธุ์ออกเป็นข้อ ๆ ทุกข้อ การตัดระหว่างกลางของแต่ละปล้อง นำไปชำในแปลงปักชำซึ่งอยู่ในที่ร่ม ไร่ไร หลังจากนั้น 1 - 2 เดือนจึงขุดใส่ถุง ต่อมาอีก 1 เดือนจึงนำไปปลูก เช่นเดียวกับวิธีแรกพริกไทยเป็นพืชที่ต้องการ ความเอาใจใส่ดูแลอย่างใกล้ชิด เมื่อเริ่มปลูกต้องบังร่มให้ รดน้ำวันเว้นวัน เมื่ออายุ 1 เดือน จึงเอาร่ม บังออก การปลูกใช้ค้ำ เมื่อต้นเริ่มแตกยอดอ่อน และยาวพอสมควร ต้อง ใช้เชือกฟาง หรือเถาวัลย์ผูกยอดอ่อนให้แนบค้ำ ปลิดยอดอ่อนที่ไม่แข็งแรงออกบ้าง เหลือยอดที่สมบูรณ์ที่สุดไว้เพียงต้นละ 2 - 3 ยอด เพื่อไม่ให้แย่งอาหารกัน การผูกยอด และตัดแต่งนี้ ต้องทำทุกสัปดาห์ จนกว่าพริกไทยจะสูงถึงยอดค้ำ พรุนดินและใส่ปุ๋ยคอกหลังกำจัดวัชพืช รอบโคนต้น ในฤดูแล้งควรคลุมโคนต้นด้วย หญ้าฟาง เหลือเปลือกถั่วเพื่อ ช่วยรักษาความชุ่มชื้นในดิน และเป็นปุ๋ยให้พริกไทยเมื่อน้ำสลายนอกจาก นี้ ต้องคอยระวังโรค และแมลงศัตรู ให้ด้วย สำหรับการปลูกโดยไม่ใช้ค้ำ หลังจากปลูก 30 - 50 วัน ต้องคอยเด็ดยอดที่โผล่มาจากดิน ตามโคนต้น ทั้ง เพื่อให้กิ่งแขนงแตกกิ่งก้านสาขามากขึ้นเมื่อต้นออกดอกก่อนอายุ 1 ปี ควรเด็ดดอกทิ้งให้หมด ถ้าปล่อยให้ต้นจะแคะแกรน เมื่อต้นยังเล็กหมั่น ถอนวัชพืชที่โคนต้น เมื่อต้นเจริญเติบโตแตกกิ่งแขนงออกจากกิ่งเดิม ต้อง หาไม้เล็ก ๆ มาไว้ค้ำยันกิ่งแขนงเดิมให้ตั้งตรง จนกว่าจะแข็งแรงพอ ที่จะ พยุงลำต้นได้ ทุก ๆ ปี ควรใส่ปุ๋ยอย่างน้อยปีละ 2 ครั้ง นอกจากนี้ ก็ต้อง คอยระวังโรคและแมลงให้ด้วย

สภาพดินฟ้าอากาศ

ขึ้นได้ในดินทั่วไป แต่ชอบดินที่มีอินทรีย์สูง มีการระบายน้ำดีชอบอากาศ อบอุ่นและชื้น ควรปลูกในฤดูฝน



ชุมเห็ดเทศ

ชื่อสามัญ	ชุมเห็ดเทศ
ชื่อวิทยาศาสตร์	<i>Cassia alata</i> Linn.
ชื่อท้องถิ่น	ชุมเห็ด, ชุมเห็ดควาย, ชุมเห็ดใหญ่(ภาคกลาง) ขี้คาก, ลัยมันหลวง, หมากกะลิงเทศ (ภาคเหนือ), ส้มเห็ด (เชียงราย), จุมเห็ด (มหาสารคาม), ตะสีพอ (กะเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอน)
วงศ์	Leguminosae
ลักษณะพืช	เป็นไม้พุ่มขนาดเล็กสูง 1 - 5 เมตร แตกแขนงมาก ใบประกอบด้วยใบย่อย 8 - 20 คู่ รูปไข่หรือ รูปไข่ขอบขนาน ปลายใบมน หรือหยักเว้าเล็กน้อย ริมใบแดงดอกออกเป็นช่อ สีเหลืองใหญ่ ผลเป็นฝักแบบยาว 12 - 18 ซม. สีดำมีปีกตามยาวของฝัก 4 ปีก ภายในเมล็ดรูปสามเหลี่ยม 50 - 70 เมล็ด
ส่วนที่ใช้เป็นยา	ใบสดหรือแห้ง, ดอกสด
ประโยชน์ทางสมุนไพร	ใบชุมเห็ดเทศมีสารแอนทราควิโนน (anthraquinone) ช่วยขับถ่าย ชุมเห็ดเทศใช้เป็นยารักษาอาการดังนี้ 1. แก้อาการท้องผูก 2. ถ่านพยาธิลำไส้ 3. รักษาโรคผิวหนังชนิดกลาก
รสและสรรพคุณยาไทย	รสเบื่อเย็น ใบตำทาแก้กลากเกลื้อน โรคผิวหนัง ดอกและใบต้มทานแก้ท้องผูก

วิธีใช้

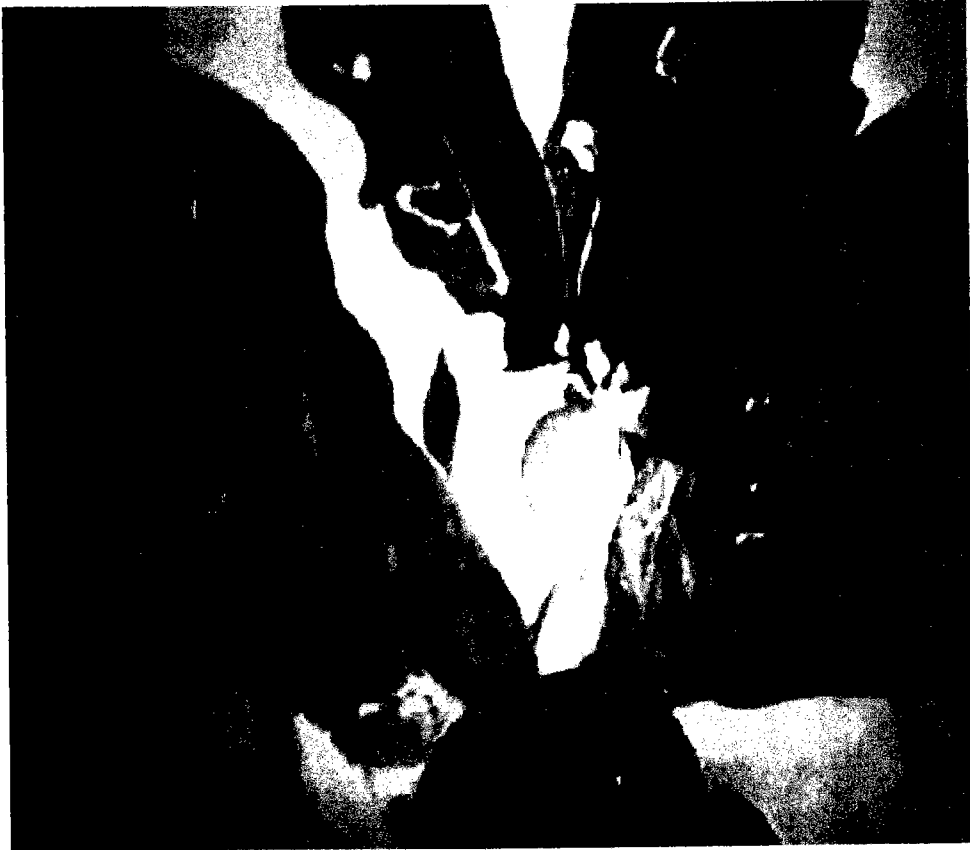
1. แก้อาการท้องผูกโดยใช้ใบสดหรือใบแห้งประมาณ 12 ใบตำน้ดื่มครั้งละแก้ว หรือใช้ดอกสดประมาณ 3 ช่อลวกรับประทาน
2. ถ่ายพยาธิตัวตืดโดยใช้ใบสดประมาณ 1 กำมือ (ประมาณ 20 กรัม) ต้มเอาน้ำดื่ม
3. แก้อาการผิวหนังชนิดกลากโดยใช้ใบสดขยี้ถูนาน ๆ และบ่อยครั้ง
4. ฝีและแผลพุพอง ใช้ใบชุมเห็ดเทศและก้านสด 1 กำมือ ต้มกับน้ำพอท่วมยาแล้วเคี่ยวให้เหลือ 1 ใน 3 ชะล้างบริเวณที่เป็นวันละ 2 ครั้ง เช้า-เย็น ถ้าเป็นมากให้ใช้ 10 กำมือต้มอาบ

การขยายพันธุ์

โดยการเพาะเมล็ด ปลูกขึ้นง่าย โดยอาจใช้วิธีขุดหลุมหยอดเมล็ดเลยหรือเพาะเป็นกล้าแล้วย้ายไปก็ได้เป็นพันธุ์ไม้ที่ไม่ต้องการเอาใจใส่สามารถปล่อยให้เจริญเองได้ตามธรรมชาติ

สภาพดินฟ้าอากาศ

ขึ้นได้ทั่วไปในดินแทบทุกชนิด โดยเฉพาะในดินร่วนซุย เป็นพืชที่ชอบน้ำและดินชุ่มมาก ไม่ชอบร่ม



ประคำดีควาย

ชื่อสามัญ	ประคำดีควาย
ชื่อวิทยาศาสตร์	Sapindus rarak A.DC.
ชื่อท้องถิ่น	มะคำดีควาย(ภาคกลาง,ภาคใต้)มะซัก,หมักซัก,ส้มปล่อยเทศ(ภาคเหนือ) ชะแซ ชะเหล่เต(กะเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอน)
วงศ์	Sapindaceae
ลักษณะของพืช	เป็นไม้ยืนต้น ใบติดกับลำต้นแบบสลับ ใบยาว 20 - 40 ซม. ประกอบด้วย ใบย่อย 6 - 12 คู่ ใบย่อยรูปร่างรียาว หรือขอบใบค่อนข้างขนานกัน ปลายใบและโคนใบแหลมบางครั้งตัวใบอาจเรียวโค้งและมีเนื้อใบสองข้าง ไม่เท่ากัน เนื้อใบเรียบ ขนาดกว้าง 2 - 4 ซม.ยาว 5 - 10 ซม. ดอกออก รวมกันเป็นช่อ ยาว 10 - 20 ซม. ดอกสีขาวอมเหลืองหรืออมเขียว ขนาด 5 มม. ผลรูปทรงเกือบกลมขนาด 1 - 2 ซม. สีส้ม ภายในมีเมล็ดขนาดใหญ่ 1 เมล็ด
ส่วนที่ใช้เป็นยา	ผลสดหรือแห้ง
รสและสรรพคุณยาไทย	รสขม แก้กาฬภายใน แก้พิษไข้ ดับพิษร้อน ลูกตำแล้วเกิดฟอง สุมหัวเด็ก แก้หวัด แก้วรังแค และใช้ซักผ้าและสระผมได้ ใช้รักษาโรคผิวหนังจำพวก พุพอง น้ำเหลืองเสีย
ประโยชน์ทางสมุนไพร	ลูกมีสารชื่อ ซาโปนิน (Saponin) ทำให้เกิดฟอง ใช้รักษาชันนะตุที่หัวเด็ก ได้ โดยเอาผลประมาณ 5 ผล ทบพอแตก ต้มกับน้ำประมาณ 1 ถ้วย ทาที่ หนังศีรษะ บริเวณที่เป็นวันละ 2 ครั้ง เช้าเย็น จนกว่าจะหาย
วิธีใช้	ใช้ 10 - 15 ผล ต้มกับน้ำพอประมาณ นำเฉพาะน้ำมาชะล้างหรือแช่ บริเวณที่เป็นแผลนาน 5 นาที ทั้งเวลาเช้าและเวลาเย็น

การขยายพันธุ์	ใช้เมล็ดแช่น้ำก่อนนำไปเพาะเพื่อให้งอกได้เร็วขึ้นแล้วนำไปเพาะในกระบะเพาะ หรือเพาะในถุงพลาสติกจนต้นกล้าสูงประมาณ ๓๐ ซม. จึงนำไปปลูกลงในหลุมควรวุแลต้นกล้าที่ปลูกใหม่ ๆ ซึ่งมีแมลงพวกเพลี้ยจักจั่นกัดกินใบ ถ้ามีแมลงมากควรฉีดด้วยยาฆ่าแมลง
สภาพดินฟ้าอากาศ	ขึ้นได้ในดินร่วนหรือดินร่วนปนทราย



กาฬพฤ

ชื่อสามัญ	กานพลู
ชื่อวิทยาศาสตร์	Bullock et Harrison
ชื่อท้องถิ่น	จันจิ(ภาคใต้)
วงศ์	Myrtaceae
ลักษณะของพืช	เป็นไม้ยืนต้นขนาด 5 - 14 เมตร ใบเดี่ยวติดกับลำต้นแบบตรงข้ามเนื้อใบหนาเป็นมัน เมื่อส่องกับแสงแดดจะเห็นจุดน้ำมัน ตัวใบรีรูปไข่เกือบขอบขนาน ปลายใบ และโคนใบแหลม ใบมีขนาดกว้าง 2 - 5 ซม. ยาว 6 - 13 ซม. ดอกออกเป็นช่อตามปลายกิ่งประมาณ 3 - 20 ดอก เมื่อแก่ดอกจะยาว 1 - 2 ซม. สีแดงออกชมพู ผลรูปรี หรือรูปไข่ สีแดงเข้มยาว 2 - 3 ซม. ภายในมีเมล็ด 1 - 2 เมล็ด
คุณค่าด้านอาหาร	ดอกกานพลูแห้งเป็นเครื่องเทศ ช่วยแต่งกลิ่นอาหาร ประกอบด้วยสารอาหารหลายอย่าง มีแคลเซียมและฟอสฟอรัสมาก ช่วยบำรุงกระดูก และฟันให้แข็งแรง
ส่วนที่ใช้เป็นยา	ดอก (ดอกกานพลูที่ดีจะต้องเป็นดอกที่มีได้สกัดเอาน้ำมันออกและมีกลิ่นหอม รสเผ็ดร้อน)
ประโยชน์ทางสมุนไพร	ดอกแห้งมีน้ำมันหอมระเหยมากชื่อ ยูจีนอล (Eugenol) 1. ช่วยขับลม แก้อาการท้องอืด ท้องเฟ้อ และแน่นจุกเสียด โดยใช้ดอกแห้งประมาณ 5 - 8 ดอก (0.12 - 0.6 กรัม) ต้มหรืออบเป็นผงรับประทาน (ดอกกานพลู 3 ดอก ทูบแล้วแช่ในน้ำเดือด 1 ขวดเหล้าใช้ขงนมเด็กจะช่วยป้องกันไม่ให้เด็กท้องขึ้นท้องเฟ้อได้) 2. แก้อาการปวดฟันโดยกลั่นเอาน้ำมันใส่ฟันหรือใช้ทั้งดอกเคี้ยว แล้วอมไว้ตรงฟันที่ปวดเพื่อระงับอาการปวดฟัน

การขยายพันธุ์

ใช้ทั้งการเพาะเมล็ด และตอนกิ่ง ขุดหลุมให้กว้างประมาณ 60 ซม. ยาว 60 ซม. ลึก 60 ซม. ตากดินไว้ประมาณ 1 สัปดาห์ เพื่อให้แสงแดดฆ่าเชื้อโรคในดิน จากนั้นใส่ปุ๋ยคอกหรือปุ๋ยอินทรีย์ รองก้นหลุม นำต้นกล้าลงปลูก แล้วจึงกลบและพรวนดินที่โคนต้น เพื่อป้องกันน้ำขัง กานพลูไม่ชอบน้ำขังเมื่อปลูกใหม่ ๆ ต้องทำร่มให้ด้วย คอยดูแลการระบายน้ำให้ดีอย่าให้น้ำขัง กานพลูที่สมบูรณ์ จะให้ผลเมื่ออายุย่างเข้าปีที่ 4 และจะให้ผลผลิตสูงขึ้นเรื่อย ๆ ในอายุประมาณ 20 ปี

สภาพดินฟ้าอากาศ

ชอบดินที่อุดมสมบูรณ์ด้วยอาหารพืช และควรปลูกในฤดูฝน



มั่งคุด

ชื่อสามัญ	มังคุด
ชื่อวิทยาศาสตร์	<i>Garcinia mangostana</i> Linn.
ชื่อท้องถิ่น	แมงคุด
วงศ์	Guttiferae
ลักษณะของพืช	เป็นไม้ยืนต้นที่อาจพบได้สูงถึง 10 เมตร มียางเหลืองข้น ใบเดี่ยวขนาดใหญ่ เนื้อใบหนาและเป็นมัน ดอกมีทั้งดอกตัวผู้และตัวเมีย ดอกตัวผู้สีเหลืองอมแดง หรือสีม่วง ออกเป็นช่อ ดอกตัวเมียมักออกเดี่ยวหรือเป็นคู่ สีชมพูเข้ม ผลรูปค่อนข้างกลม ขนาดใหญ่ ไม่เกิน 10 ซม. เปลือกผลหนาและเรียบ สีน้ำตาลแดงหรือสีอิฐมีส่วนปลายของเกสรตัวเมียและกลีบรองกลีบดอก ขยายติดอยู่ที่ผลด้วย ภายในผล มีเมล็ด 4 - 7 เมล็ด
ส่วนที่ใช้เป็นยา	เปลือกผลแห้ง
ประโยชน์ทางสมุนไพร	เปลือกผลแห้ง มีสารแทนนิน (tannin) ช่วยแก้อาการท้องเสีย เปลือกมังคุดใช้เป็นยารักษา 1. แก้อาการท้องเดิน (ที่ไม่ใช่บิดหรืออหิวาตกโรค) 2. แก่บิด (ปวดเบ่งและมีมูก หรืออาจมีเลือดด้วย)
วิธีใช้	1. แก้อาการท้องเดิน (ที่ไม่ใช่บิดหรืออหิวาตกโรค) โดยใช้เปลือกผลตากแห้งตำกับน้ำปูนใส 2. แก่บิด (ปวดเบ่งและมีมูก หรืออาจมีเลือดด้วย) โดยใช้เปลือกผลตากแห้งประมาณผลครึ่ง (4 กรัม) ย่างไฟให้เกรียมผ่นกับน้ำปูนใสประมาณครึ่งแก้วหรือบดเป็นผงละลายน้ำข้าว (น้ำข้าวเช็ด) หรือน้ำสุกรับประทานทุก 2 ชั่วโมง

การขยายพันธุ์

ใช้เพาะเมล็ดหรือการตอนกิ่ง แต่ที่นิยมกันมากได้แก่การตอนกิ่งซึ่งการตอนกิ่งควรเริ่มตอนในระยะเริ่มฤดูฝน และกิ่งตอนจะออกรากภายในระยะเวลา 30 - 45 วัน ถ้าไม้มังคุดจะต้องมีอายุอย่างน้อย 3 ปีนับจากวันเพาะ และแตกแขนงมาจากยอดจึงนำไปปลูกลงได้ โดยขุดหลุมให้ใหญ่พอควร แล้วใส่ปุ๋ยคอก หรือปุ๋ยอินทรีย์ไว้ก้นหลุม เมื่อนำต้นมังคุดลงปลูกต้องกลบดินให้แน่นและมีไม้ยึดลำต้นกันโยก ถ้าแดดจัดต้องพรางแสงแดดในระยะแรกปลูกด้วย แม้มังคุดโตแล้ว ก็ต้องมีร่มไม้อื่น เป็นร่มเงาให้ร่มเงาจำเป็นสำหรับมังคุดมาก ในระยะแรกปลูกถ้าฝนไม่ตกควรให้น้ำอย่างน้อยวันละ 2 ครั้ง และคอยกำจัดวัชพืชบริเวณรอบต้นบ้าง ต้นมังคุดจะให้ผลเมื่ออายุประมาณ 10 ปี

สภาพดินฟ้าอากาศ

ขึ้นได้ในดินเกือบทุกประเภท ชอบดินเหนียวปนทรายและอากาศร้อนชื้น



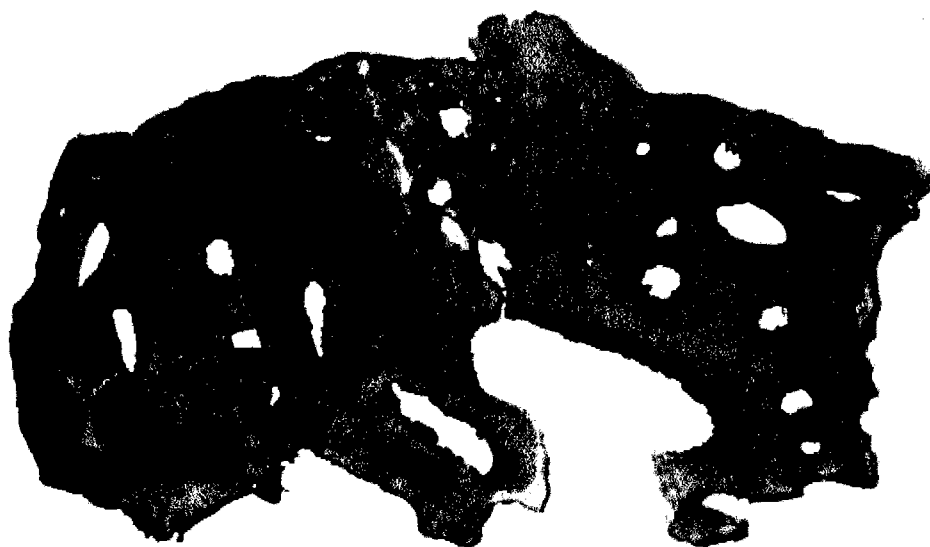
กระเจี๊ยบแดง

ชื่อสามัญ	กระเจี๊ยบ
ชื่อวิทยาศาสตร์	Hibiscus sabdariffa Linn.
ชื่อท้องถิ่น	กระเจี๊ยบ, กระเจี๊ยบเปรี้ยว(ภาคกลาง), ผักกึ่งเค็ง, ส้มกึ่งเค็ง(ภาคเหนือ), ส้มตะแลงแครง(ตาก), ส้มปู้(เงี้ยว- แม่ฮ่องสอน)
วงศ์	Malvaceae
ลักษณะของพืช	กระเจี๊ยบเป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก สูงราว 3 - 6 ศอก กิ่งก้านมีสีม่วงแดงใบมีหลายแบบ ขอบใบเรียบ บางครั้งมีหยักเว้า 3 หยัก ดอกสีชมพู ตรงกลางมีสีเข้มกว่าส่วนนอกของกลีบดอกร่วงโรยไป กลีบรองดอกและกลีบเลี้ยงจะเจริญขึ้น มีสีม่วงแดงเข้มหุ้มเมล็ดไว้ภายในใช้เมล็ดปลูก
ลักษณะทั่วไป	ดอกมีสีชมพูตรงกลางมีสีเข้มกว่าส่วนนอกดอกจะออกบริเวณ ก้านใบ ก้านดอกจะสั้นกลีบรองดอกจะมีลักษณะ เป็นปลายแหลม มี ประมาณ 8 - 12 กลีบ กลีบเลี้ยงจะแผ่ขยายติดกัน ออกหุ้มเมล็ด ไว้มีสีแดง มีลักษณะที่หักงอมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 6 ซม.
ผล	เป็นรูปรีปลายแหลม ผลยาวประมาณ 2.5 ซม. ห่อหุ้มด้วยกลีบเลี้ยง
เมล็ด	ส่วนในของเมล็ดรูปไต เป็นสีน้ำตาลเป็นจำนวนมาก
การขยายพันธุ์	ใช้เมล็ดในการขยายพันธุ์จะปลูกขึ้นได้ดีในดินที่ร่วนซุยและดินเหนียวที่อุ้มน้ำได้ดี
ส่วนที่ใช้เป็นยา	ยอด , ใบ , กลีบเลี้ยง , เมล็ด ยอดและใบ ใช้สด กลีบเลี้ยง ใช้ตากแห้งและใบสด เมล็ด ใช้เมล็ดที่ตากแห้ง

- ประโยชน์ทางสมุนไพร กลิบบรองดอกและกลีบเลี้ยงมีสารชื่อแอนโธไซยานิน (Anthocyanin) จึงทำให้มีสีม่วงแดง เพราะประกอบด้วยกรดอินทรีย์ พวก Fatty acid
1. ยอดและใบ ช่วยย่อยอาหาร ละลายเสมหะ ขับปัสสาวะหล่อลื่นลำไส้ เป็นยาบำรุงธาตุและ ยาระบายใช้ภายนอกคือตำพอกฝี ต้มน้ำชะล้างแผล ใช้ภายนอก โดยเอา ใบตำให้ละเอียดแล้วนำมาประคบฝีตำเอาน้ำมา ล้างแผล
 2. กลีบเลี้ยง ทำให้สดชื่น ขับปัสสาวะ ขับน้ำดี ลดไข้ แก้ไอ แก้หืด แก้กระหายน้ำวิธีใช้ โดยใช้ชงน้ำร้อนหรือต้มน้ำกิน ใช้เมล็ด ที่แห้ง แล้วประมาณ 5 - 10 กรัม
 3. เมล็ด ลดไขมันในเลือด บำรุงเลือด บำรุงธาตุ ขับน้ำดี ขับปัสสาวะ แก้ปัสสาวะขัด และเจ็บ เป็นยาระบาย วิธีใช้บดให้ละเอียดเป็นผง ผสมกิน หรือต้มน้ำกิน ใช้เมล็ดที่แห้ง

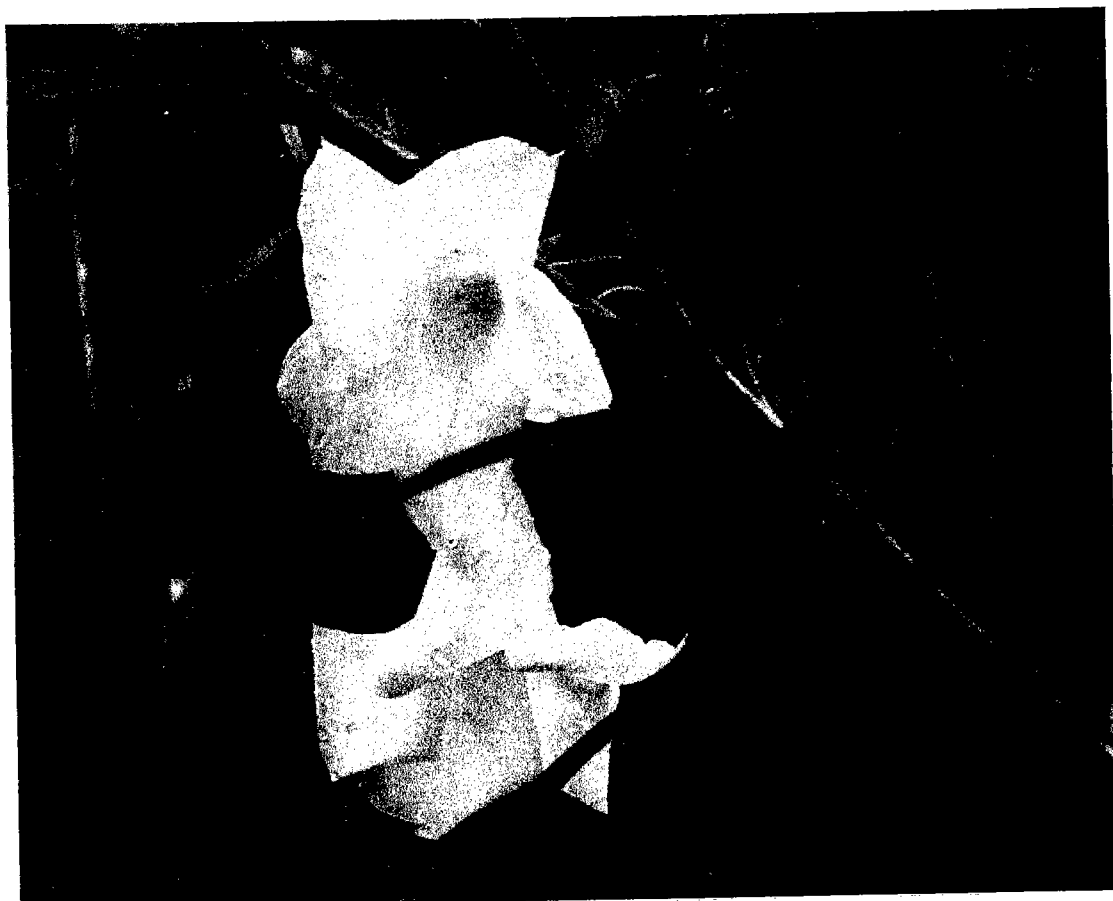
ข้อมูลทางคลินิก

การรักษาคนไข้ที่เป็นโรคนี้วและโรคทางเดินปัสสาวะอักเสบนั้น ใช้กลีบเลี้ยงที่แห้งประมาณ 100 กรัม ใส่น้ำประมาณ 5 ลิตร ใส่น้ำตาล และเกลือเล็กน้อยแล้วต้มให้เดือดใช้เวลาประมาณ 15 นาที แบ่งกินวันละ 3 ครั้งคนไข้ที่เป็นโรคนี้วในไต หรือโรคทางเดินปัสสาวะ อักเสบเนื่องจากสาเหตุอื่น เช่นหลังจากผ่าตัดต่อมลูกหมากหรือท่อปัสสาวะตีบ ประมาณ 25 ราย มีผลคือปัสสาวะมีค่าเป็น กรด ต่าง (pH) ลดลงกว่ามากถึง 1.52 มีค่าความเป็นกรด มากขึ้น การที่ปัสสาวะมีกรดมากนั้นเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับคนไข้ที่เป็นนี้วประเภท แคลเซียมมาก เพราะช่วยลดอัตราการเป็นนี้วซ้ำหลังการผ่าตัด หรือช่วยป้องกันการติดเชื้อซ้ำอีก ก็มีคนไข้บางคนที่ยื่นน้ำ กระเจี๊ยบแดงแล้วเกิดอาการท้องเสียบ้าง จึงเป็นยาช่วยระบายไปด้วย ในปัจจุบันนี้ จะมีการใช้กระเจี๊ยบแดงได้อย่างสะดวกคือจะมีลักษณะ เป็นผง ใช้กินครั้งละ 1 ช้อนชา โดยผสมกับน้ำอุ่นประมาณ 1 แก้ว กินหลังอาหารวันละ 3 ครั้ง ช่วยลดการติดเชื้อทางเดิน ปัสสาวะด้วย



หัวร้อยรู

ชื่อสามัญ	หัวร้อยรู
ชื่อวิทยาศาสตร์	Hydnophytum formicarum Jack
ชื่อท้องถิ่น	กระเช้าผีมด (สญ) ; ปุ่มฟ้า (ตอ) ; ร้อยรู (ปน)
วงศ์	RUBIACEAE
ลักษณะของพืช	ไม้กาฝากเกาะอาศัยพรรณไม้อื่น สูง 25 - 60 ซม. โคนต้นโปร่งพอง คล้ายหัว ใบเดี่ยว เรียงตรงข้าม รูปวงรี หรือรูปใบหอก กว้าง 2 - 7 ซม. ยาว 4 - 15 ซม. หูใบอยู่ระหว่างก้านใบ ดอกช่อออกที่กิ่ง กลีบดอกสีขาว ผลสด รูปไข่ เมื่อสุกมีสีส้ม
ประโยชน์ทางสมุนไพร	ตำรายาไทยใช้ต้นตำกินถ่ายพยาธิ บำรุงหัวใจแก้พิษในกระตูด (โรคกระตูดมีอาการเจ็บปวด กระตูดเปราะผิวหนังเป็นจ้ำ ผื่น อาจ เป็นแผลกินลึกถึงกระตูดได้) แก้พิษประดง (อาการโรคผิวหนัง มีผื่นคัน มาก มักมีไข้ร่วมด้วย) ยาพื้นบ้านใช้ต้น แก้วปวดเข่า ข้อเท้าปวดบวม ผสม กับสมุนไพรอื่นตำน้ำดื่ม รักษาโรคปอด ผสมกับรากทองพันชั่ง หัวข้าวเย็นเหนือ หัวข้าวเย็นใต้ ต้นกำแพงเจ็ดชั้น แก่นสัก และหญ้าชันกาด ทั้งต้น ตำน้ำดื่ม รักษาเบาหวาน
สาระสำคัญ	ในส่วนหัวซึ่งเป็นลำต้นในดินมีสารเบต้าไซโทสเตอรอล



รำเพย

ชื่อสามัญ	Yellow Oleander
ชื่อวิทยาศาสตร์	Thevetia peruviana Schum.
ชื่อท้องถิ่น	ยี่โถฝรั่ง กระบอก
วงศ์	APOCYNACEAE
ลักษณะของพืช	ลำพายเป็นไม้พุ่มขนาดกลาง มียางสีขาวเป็นพิษ สูงประมาณ 3 - 3.5 เมตร ใบเป็นใบเดี่ยวลักษณะ ใบแคบเรียว คล้ายใบยี่โถ แตกเวียนรอบกิ่งเป็นช่วงค่อนข้างถี่ ใบกว้างประมาณ 1 ซม. ยาวประมาณ 10 - 12 ซม. ดอกออกเป็นช่อ ห้อยยักนาน ดอกมีลักษณะเป็นกรวย มีกลีบ 5 กลีบ กลีบเรียงซ้อนทับกัน โคนดอกเป็นหลอด มีกลีบเลี้ยงยาวแหลม 5 กลีบ ดอกมีหลายสี เช่น เหลือง ส้ม ขาว ผลมีลักษณะกลม ปลายผลแบน มีรอยหยักเป็น 2 แฉก
ประโยชน์ทางสมุนไพร	1. เปลือก ใช้รักษาไข้มาเลเรีย แก้ไข้ เป็นยาถ่าย ใช้เพิ่มความดันโลหิตสูง 2. ใบและเมล็ด ใช้เป็นยาถ่าย ยาทำแท้ง
สารระสำคัญ	ในเมล็ดมีสารคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์ ชื่อ peruvoside และ nerifolin

ประวัติย่อผู้วิจัย

ประวัติย่อผู้วิจัย

ชื่อ	นางสาวศิริกานต์ ผาสุข
เกิดวันที่	15 ธันวาคม 2502
สถานที่เกิด	อำเภออินทร์บุรี จังหวัดสิงห์บุรี
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	120/274 หมู่บ้านอัมรินทร์นิเวศ 3 ถนนสายไหม เขตสายไหม กรุงเทพ
ตำแหน่งหน้าที่ปัจจุบัน	อาจารย์ 2 ระดับ 7
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏเพชรบุรีวิทยาสงครณ ในพระบรมราชูปถัมภ์
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ.2519	มัธยมศึกษาปีที่ 3 จาก โรงเรียนสิงห์บุรี จังหวัดสิงห์บุรี
พ.ศ.2521	มัธยมศึกษาปีที่ 5 จากโรงเรียนสตรีวัดระฆัง กรุงเทพ
พ.ศ.2525	กศ.บ. (เคมี) จาก มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ บางเขน
พ.ศ.2532	คม. การศึกษาวิทยาศาสตร์ (เคมี) จาก จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ.2543	กศ.ด. (วิทยาศาสตร์ศึกษา) จาก มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ