รายงานวิจัย

การสกัดสารออกฤทธิ์ทางยาจากทองพันชั่ง

Extraction of pharmaceutical action from *Rhinacanthus nasutus Kurz*

นายสุรัตน์ บุญพึ่ง สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม คณะวิชาเทคโนโลยีเคมี

ดร. ปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม คณะวิชาเทคโนโลยีเคมี

BTC-Library
3 2000 00068663 6

วิทยบริการและเทคโนโลยีสารสนเทศ
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ

สนับสนุนโดยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพที่ได้สนับสนุนทุนวิจัยงบประมาณเงินผลประโยชน์ประจำปี 2548 สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรมและสาขาวิชาเคมีที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์การทดลองและสถานที่ในการทำวิจัย และขอขอบคุณ ผศ.จารุรัตน์ นิยมเกียรติกุลที่ให้ความสะดวกและคำแนะนำในการใช้เครื่องวิเคราะห์สาร

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการสกัดรูตินจากทองพันชั่ง การทดลองแบ่งออกเป็น 4 ส่วน ส่วนแรกเป็นการหาตัวทำละลายที่สามารถสกัดรูตินได้ดีที่สุด โดยตัวทำละลายที่ใช้ คือ เอทานอล เมทานอล และน้ำ ตัวทำละลายที่ดีที่สุดคือ เมทานอล ส่วนที่สองเป็นการศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีต่อปริมาณรูตินที่สกัดได้ จากการทดลองพบว่ายิ่งอุณหภูมิสูงจะยิ่งสกัดรูตินได้ดี ส่วนที่สามเป็นการศึกษาอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักทองพันชั่งต่อปริมาตรตัวทำละลาย ซึ่งพบว่าในปริมาณน้ำหนักทองพันชั่งเท่ากัน เมื่อเพิ่มปริมาตรของตัวทำละลายจะสามารถสกัดรูตินได้ดี ส่วนที่สี่เป็นการศึกษาปริมาณรูตินสูงสุดจากส่วนต่างๆ ของทองพันชั่ง พบว่าในใบของทองพันชั่งมีปริมาณรูตินมากกว่าในลำต้นและก้าน โดยในใบมีรูติน 126 ไมโครกรัมต่อกรัมทองพันชั่ง ส่วนในลำต้นและก้านมีรูติน 12.6 ไมโครกรัมต่อกรัมทองพันชั่ง

615.321
ส247ร
2548
เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 0160
วัน เดือน ปี 29 มิ.ย.52
B.178054

615.321
ส247ร 2548
0825
B178054

- ทองพันชั่ง (พืช)
- สารสกัดจากพืช
- ทองพันชั่ง -- วิจัย
- ทองพันชั่ง -- ยา

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ข
บทคัดย่อ	ค
สารบัญ	ง
รายการตาราง	ฉ
รายการรูปประกอบ	ช
บทที่	
1. บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่ได้จากการวิจัย	2
2. วารสารปริทัศน์	3
2.1 ข้อมูลทางพฤกษศาสตร์ของทองพันชั่ง	3
2.2 ประโยชน์ของทองพันชั่ง	4
2.3 สารเคมีที่พบในทองพันชั่ง	4
2.4 รูติน	7
2.5 ฤทธิ์ทางชีวภาพของทองพันชั่ง	8
2.6 การสกัด	14
3. การทำวิจัย	19
3.1 อุปกรณ์และสารเคมี	19
3.2 วิธีการทดลอง	20

บทที่	หน้า
4. ผลการวิจัยและอภิปรายผล	24
4.1 การศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสม	24
4.2 การศึกษาผลอุณหภูมิในการสกัดที่มีต่อปริมาณรูตินที่สกัดได้	25
4.3 การศึกษาอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักทองพันชั่งต่อปริมาตรตัวทำละลายที่เหมาะสม	26
4.4 การศึกษาปริมาณรูตินสูงสุดที่สกัดได้จากส่วนต่างๆ ของทองพันชั่ง	27
5. สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	28
5.1 สรุปผลการวิจัย	28
5.2 ข้อเสนอแนะ	29
เอกสารอ้างอิง	30
ภาคผนวก	32
ก. โครมาโทกราฟฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง	33
ข. ข้อมูลผลการทดลองและการคำนวณ	42
ค. กราฟมาตรฐานรูตินและพื้นที่พีคที่อ่านได้จากเครื่อง HPLC	45
ง. โครมาโทแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC	46
จ. ข้อมูลจากเครื่อง ยูวี-วิสิเบิล สเปกโตโฟโตมิเตอร์	56
ฉ. สภาพขั้วของตัวทำละลาย	58
ประวัตินักวิจัย	66

รายการตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ผลของสารสกัดใบทองพันชั่งในการลดความดันโลหิตในหนูขาว	8
2.2 ผลการต้านเชื้อไวรัสของไรนาแคนติน ซี และไรนาแคนติน ดี	10
2.3 ผลการต้านเชื้อไวรัสของไรนาแคนติน อีและไรนาแคนติน เอฟ	11
2.4 ฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งของสารกลุ่ม แนฟโทควิโนน และ ฟลาโวนอยด์	12
2.5 ผลของสารในกลุ่มแนฟโทควิโนน และฟลาโวนอยด์ที่พบในทองพันชั่ง ต่อการเกาะกลุ่มของเกร็ดเลือดที่ถูกเหนี่ยวนำโดยวิธีการต่างๆ	13
ข.1.1 ข้อมูลการวิเคราะห์ปริมาณรูตินจากสารสกัดทองพันชั่ง 10 กรัมโดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ	42
ข.1.2 ข้อมูลการวิเคราะห์ปริมาณรูตินสารสกัดทองพันชั่ง 10 กรัม ที่อุณหภูมิต่างๆ	42
ข.1.3 ข้อมูลการวิเคราะห์ปริมาณรูตินจากสารสกัดทองพันชั่ง 10 กรัม โดยใช้อัตราส่วนระหว่างน้ำหนักทองพันชั่งต่อปริมาตรตัวทำละลายต่างๆ	43
ข.1.4 ข้อมูลการวิเคราะห์ปริมาณรูตินสูงสุดจากสารสกัดทองพันชั่ง 10 กรัม โดยใช้ส่วนต่างๆ ของทองพันชั่ง	43
ค.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณรูตินที่ความเข้มข้นต่างๆ	45
จ.1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานรูตินที่ละลายในน้ำ เอทานอลและเมทานอล ความเข้มข้น 10 พีพีเอ็ม ที่ช่วงความยาวคลื่น 200-400 นาโนเมตร	57
ฉ.1 ตัวอย่างสภาพขั้วของตัวทำละลาย	58

รายการรูป

รูป	หน้า
2.1 ต้นทองพันชั่ง	3
2.2 โครงสร้างของไรนาแคนติน –เอ, -บี, -โอ และ –พี	5
2.3 โครงสร้างของรูติน	7
3.1 ชุดสกัดซอกเลต	21
3.2 เครื่อง ยูวี -วิสิเบิล สเปกโตโฟโตมิเตอร์	22
3.3 การวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวแบบสมรรถนะสูง	23
4.1 ปริมาณรูติน (ไมโครกรัม/กรัมของทองพันชั่ง) ของสารสกัดโดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ	24
4.2 ปริมาณรูติน (ไมโครกรัม/กรัมทองพันชั่ง) ของสารสกัดที่อุณหภูมิต่างๆ	25
4.3 ปริมาณรูติน (ไมโครกรัม/กรัมทองพันชั่ง) ของสารสกัดที่อัตราส่วนระหว่างน้ำหนักทองพันชั่งต่อปริมาตรตัวทำละลายต่างๆ	26
4.4 ปริมาณรูตินสูงสุด (ไมโครกรัม/กรัมทองพันชั่ง) ของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของทองพันชั่ง	27
ก.1 เครื่องมือพื้นฐานของเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวแบบสมรรถนะสูง	35
ค.1 กราฟมาตรฐานรูติน	45
ง.1.1 โครมาโทแกรมของพีคสารละลายมาตรฐานรูตินความเข้มข้น 2 พีพีเอ็ม	46
ง.1.2 โครมาโทแกรมของพีคสารละลายมาตรฐานรูตินความเข้มข้น 4 พีพีเอ็ม	47
ง.1.3 โครมาโทแกรมของพีคสารละลายมาตรฐานรูตินความเข้มข้น 6 พีพีเอ็ม	47
ง.1.4 โครมาโทแกรมของพีคสารละลายมาตรฐานรูตินความเข้มข้น 8 พีพีเอ็ม	48
ง.1.5 โครมาโทแกรมของพีคสารละลายมาตรฐานรูตินความเข้มข้น 10 พีพีเอ็ม	48
ง.2.1 โครมาโทแกรมของพีคสารสกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย	49
ง.2.2 โครมาโทแกรมของพีคสารสกัดโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย	50
ง.2.3 โครมาโทแกรมของพีคสารสกัดโดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย	50
ง.2.4 โครมาโทแกรมของพีคสารสกัดด้วยเอทานอลที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส	51

รายการรูป (ต่อ)

รูป		หน้า
ง.2.5	โครมาโทแกรมของพืคสารสกัดด้วยเอทานอลที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส	51
ง.2.6	โครมาโทแกรมของพืคสารสกัดด้วยเอทานอลที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส	52
ง.2.7	โครมาโทแกรมของพืคสารสกัดด้วยเอทานอลที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส	52
ง.2.8	โครมาโทแกรมของพืคสารสกัดด้วยเอทานอลที่อัตราส่วนระหว่างน้ำหนักทองพันชั่งต่อปริมาตรตัวทำละลาย 1:5	53
ง.2.9	โครมาโทแกรมของพืคสารสกัดด้วยเอทานอลที่อัตราส่วนระหว่างน้ำหนักทองพันชั่งต่อปริมาตรตัวทำละลาย 1:10	53
ง.2.10	โครมาโทแกรมของพืคสารสกัดด้วยเอทานอลที่อัตราส่วนระหว่างน้ำหนักทองพันชั่งต่อปริมาตรตัวทำละลาย 1:20	54
ง.2.11	โครมาโทแกรมของพืคสารสกัดด้วยเอทานอลที่อัตราส่วนระหว่างน้ำหนักทองพันชั่งต่อปริมาตรตัวทำละลาย 1:40	54
ง.2.12	โครมาโทแกรมของพืคสารสกัดจากใบทองพันชั่งด้วยเมทานอล	55
ง.2.13	โครมาโทแกรมของพืคสารสกัดจากก้านทองพันชั่งด้วยเมทานอล	55
จ.1	ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานรูตินที่ละลายในน้ำ เอทานอลและเมทานอล ความเข้มข้น 10 พีพีเอ็ม	56

บทที่ 1

บทนำ

สมุนไพรไทยมีมากมายหลายชนิดและกำลังได้รับความสนใจในการศึกษาวิจัยอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน ทองพันชั่งเป็นสมุนไพรที่มีตัวยาที่มีประโยชน์หลายตัวและยังมีผู้ศึกษาในด้านของการสกัดและปริมาณสารออกฤทธิ์ไม่มากนัก คณะผู้วิจัยจึงได้ทำวิจัยเรื่องนี้ขึ้นเพื่อเป็นข้อมูลในการประยุกต์ใช้สำหรับผู้สนใจต่อไป

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบันสมุนไพรได้มีบทบาทกับชีวิตมนุษย์มากขึ้น และได้นำมาใช้ประโยชน์กันอย่างแพร่หลาย ไม่ว่าจะเป็นอาหารบำรุงร่างกาย เครื่องสำอาง ยารักษาโรค เครื่องดื่ม และยังช่วยส่งเสริมความมั่นคงทางเศรษฐกิจของชาติอีกด้วย เพราะในแต่ละปีประเทศไทยมีมูลค่าการใช้สมุนไพรภายในประเทศมูลค่ากว่า 500 ล้านบาท

ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีภูมิอากาศเหมาะสมต่อการเจริญงอกงามของพืชนานาชนิด จึงมีสมุนไพรนับแสนชนิดที่มีประโยชน์และการนำสมุนไพรมาใช้นั้นมีมาตั้งแต่โบราณ ซึ่งส่วนใหญ่จะได้รับอิทธิพลมาจากประเทศอินเดีย การใช้สมุนไพรที่ผ่านมา มักไม่ค่อยคำนึงถึงการควบคุมปริมาณสารออกฤทธิ์ทางยาในสมุนไพรนั้นๆ การนำสมุนไพรไปใช้ประโยชน์ถ้าใช้ปริมาณน้อยเกินไปอาจทำให้เกิดการดื้อยา และในทางกลับกันการใช้ในปริมาณที่มากเกินไปอาจทำให้เกิดอันตรายต่อผู้ใช้ได้ ดังนั้นการวัดปริมาณสารออกฤทธิ์ทางยาในสมุนไพรจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง เพราะนอกจากทำให้ทราบปริมาณสารออกฤทธิ์ทางยาในสมุนไพรนั้นๆ แล้วยังสามารถนำข้อมูลที่ได้ไปประยุกต์ใช้สมุนไพรในปริมาณที่เหมาะสม ในงานวิจัยนี้จะทำการสกัดสารออกฤทธิ์ทางยาในทองพันชั่ง

ทองพันชั่งหรือเรียกอีกชื่อว่า หญ้ามันไก่ เป็นสมุนไพรที่รู้จักและใช้เป็นยาบำบัดโรคเป็นเวลานานจนมีการรวบรวมเป็นตำราแผนโบราณ ทองพันชั่งมีสรรพคุณมากมายเช่น รักษาความดันโลหิตสูง รักษาโรคมะเร็ง แก้ผมร่วง รักษาโรคนิ่ว รักษาโรคกลากเกลื้อน และดับพิษไข้เป็นต้น

สารเคมีที่พบในทองพันชั่งประกอบด้วยรูติน (Rutin) ไรนาแคนติน (Rhihanacanthin) และออกซีเมทิลแอนทราควิโนน (Oxymethylanthraquinone) รูตินมีคุณสมบัติ ช่วยป้องกันเส้นเลือดฝอยเปราะ ต่อต้านภูมิแพ้ ต่อต้านการอักเสบ ดับพิษไข้ และกำจัดสารก่อมะเร็ง

ในการวิจัยนี้จะทำการสกัดรูตินในใบและลำต้นของทองพันชั่งเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณรูตินโดยใช้เครื่องโครมาโทกราฟของเหลวแบบสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatograghy, HPLC)

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อหาตัวทำลายที่เหมาะสมในการสกัดรูตินจากทองพันชั่ง

1.2.2 เพื่อศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสม ในการสกัดรูตินจากทองพันชั่ง

1.2.3 เพื่อหาอัตราส่วนของปริมาตรของตัวทำละลายต่อน้ำหนักของทองพันชั่งที่เหมาะสมในการรูตินทองพันชั่ง

1.2.4 เพื่อหารูตินสูงสุดที่สกัดได้จากส่วนต่างๆของต้นทองพันชั่ง

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1.3.1 ศึกษาตัวทำลายที่เหมาะสมในการสกัดรูติจากทองพันชั่ง ตัวทำละลายที่ใช้คือ น้ำ เอทานอล และเมทานอล

1.3.2 หาอัตราส่วนของตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัด โดยใช้อัตราส่วนของน้ำหนักของทองพันชั่งต่อปริมาตรตัวทำละลายดังนี้ 1:5, 1:10, 1:20 และ 1:40

1.3.3 ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดรูตินจากทองพันชั่งโดยใช้อุณหภูมิที่ 40, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส

1.3.4 สกัดรูตินในใบและลำต้นของทองพันชั่งเพื่อเปรียบเทียบด้านปริมาณ

1.3.5 ทำการวิเคราะห์หาปริมาณรูตินที่สกัดได้จากทองพันชั่งด้วยเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวแบบสมรรถนะสูง

1.4 ประโยชน์ที่ได้จากการวิจัย

1.4.1 ทราบสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดรูติน

1.4.2 ทราบตัวสกัดที่เหมาะสมสำหรับสภาวะที่เหมาะสมที่จะสามารถสกัดสารได้มากที่สุด

1.4.3 สามารถนำผลการวิจัยไปประยุกต์ในการใช้ทองพันชั่งในรูปของยาสมุนไพรโดยปริมาณไม่เกินขนาด

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 ข้อมูลทางพฤกษศาสตร์ของทองพันชั่ง [14]

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Rhinacanthus riasutus (Linn.) Kurz*

ชื่อวงศ์ Acanthaceae

ชื่อพื้นเมืองอื่นๆ หญ้ามันไก่, ทองพันชั่ง

รูปที่ 2.1 ต้นทองพันชั่ง

ทองพันชั่งเป็นพืชล้มลุกกึ่งไม้พุ่มเตี้ย มีความสูงไม่เกิน 1.5 เมตร มักแตกหน่อและแผ่กิ่งก้านออกเป็นกอ ลำต้นและกิ่งก้านมีขนประปรายทั่วไป ใบเป็นใบเดี่ยวรูปมน กว้าง 2-3 เซนติเมตร ยาว 4-6 เซนติเมตร โคนและปลายใบสอบเรียวออกเป็นคู่ๆ ตรงข้ามกัน ดอกสีขาว ออกช่อสั้นๆ ตามง่ามใบ

ทองพันชั่งเป็นพืชที่ไม่ชอบร่มเงามากนัก ชอบที่ดินปนทราย การระบายน้ำดีไม่ขังแฉะ แต่ต้องคอยรดน้ำให้ดินชุ่มอยู่เสมอใบจึงจะงาม เพราะถ้าดินขาดน้ำหรือถูกแดดมากไปใบจะมีจุดสีเหลือง ทองพันชั่งขยายพันธุ์ได้โดยใช้เมล็ดเพาะหรือเอากิ่งปัก

การนำทองพันชั่งมาใช้ ควรเก็บใบและรากจากต้นที่สมบูรณ์แข็งแรง คือใบไม่มีจุดเหลือง มีสีเขียวสดเป็นมัน และควรเลือกเก็บจากต้นที่มีอายุเกิน 1 ปีหรือออกดอกแล้ว

2.2 ประโยชน์ของทองพันชั่ง

2.2.1 ตำราแผนไทย

สรรพคุณของทองพันชั่งในการบำบัดรักษาโรคต่างๆ ตามตำรายาแผนไทย แบ่งเป็นแต่ละส่วนของพืชต่อไปนี้คือ รากใช้รักษาโรคผิวหนัง กลากเกลื้อน รักษาโรคมะเร็ง ดับพิษไข้ แก้พิษงู พยาธิวงแหวนตามผิวหนัง แก้น้ำเหลืองเสีย ผื่นคัน ขับพยาธิตามผิวหนังหรือบาดแผล รักษาอาการไส้เลื่อน ปัสสาวะผิดปกติ ต้นใช้บำรุงร่างกาย รักษาอาการผมร่วง ใบใช้ดับพิษไข้ รักษาโรคผิวหนัง กลากเกลื้อน โรคไขข้ออักเสบ โรคมะเร็ง โรคความดันโลหิตสูง โรคพยาธิวงแหวนตามผิวหนัง อาการผมร่วง ปวดฝี แก้พิษ ถอนพิษ แก้อักเสบ และบำรุงร่างกาย

2.2.2 งานสาธารณสุขมูลฐาน

ทองพันชั่งใช้ในการรักษากลากเกลื้อนโดยใช้ใบหรือราก ตำให้ละเอียด แช่เหล้าหรือแอลกอฮอล์ 7 วัน นำน้ำยาที่ได้มาทาวันละ 3-4 ครั้งจนกว่าจะหาย เมื่อหายแล้วให้ทาต่ออีก 7 วัน เมื่อมีอาการแพ้ซึ่งสังเกตได้จาก เมื่อทาแล้วจะมีเม็ดตุ่มขึ้น เมื่อตุ่มแตกจะมีน้ำเหลืองซึมออกมา ผิวหนังเปื่อยมากขึ้นทำให้โรคกำเริบลุกลาม ควรหยุดทาทันที

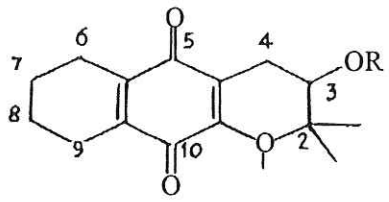
2.3 สารเคมีที่พบในทองพันชั่ง

สารประกอบที่พบในส่วนต่างๆ ของทองพันชั่งมีด้วยกันหลายกลุ่มได้แก่

2.3.1 แนฟโทควิโนน (Naphthoquinones)

ปัจจุบันพบสารในกลุ่มนี้ 17 ชนิด ได้แก่

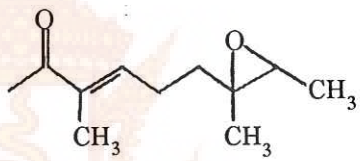
ไรนาแคนติน-เอ, -บี, -ซี, -ดี, -จี, -เอช, -ไอ, -เจ, -เค, -แอล, -เอ็ม, -เอ็น, -โอ, -พี, -คิว [1,16] ไรนาแคนโตน และ 3,4-ไดไฮโดร-3,4–ไดเมทิล-2H-แนฟโท-(2,3-บี)ไพแรน-5,10-ไดวัน (3,4-dihydro-3,3-dimethyl-2H-naphtho-{2,3-B}pyran-5,10-dione) [12,13] ไรนาแคนติน -เอ, -บี, -โอ และ พี มีโครงสร้างหลักเหมือนกัน ต่างกันที่หมู่ R ตามรูปที่ 2.2



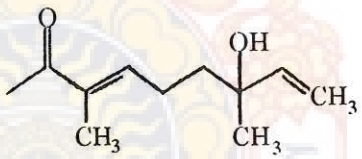
โครงสร้างโมเลกุลของไรนาแคนติน

ไรนาแคนติน เอ : R = H

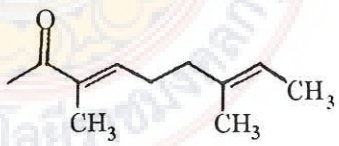
ไรนาแคนติน โอ : R =



ไรนาแคนติน พี R =



ไรนาแคนติน บี R =



รูปที่ 2.2 โครงสร้างของไรนาแคนติน –เอ, -บี, -โอ และ -พี

2.3.2 แอนทราควิโนน (Anthraquinone)

ได้แก่ 2- เมทิลแอนทราควิโนน (2-methylanthraquinone) โดยพบในส่วนใบและต้นของทองพันชั่ง [10]

2.3.3 เบนซีนอยด์ (Benzenoid)

โดยพบสารกลุ่มในเบนซีนอยด์ 6 ชนิดคือ พี -ไฮดรอกซี เบนซอลดีไฮด์ (p-hydroxy-benzaldehyde) เมทิลวานิลเลต (Methyl-vanillate) และสริงกอลดีไฮด์ (Syringaldehyde) จะพบในรากและส่วนที่พบในใบและลำต้นจะประกอบด้วย 2- เมโทซี -4 -โพรพิโอนิล (2-methoxy-4-propionyl-phenol) และสารผสมระหว่างกรดสริงกิก (Syringic acid) กับกรดวานิลลิก (Vanillic acid)

2.3.4 ไตรเทอร์พินอยด์ (Triterpenoid)

พบสารในกลุ่มนี้ 3 ชนิดคือ เบต้าอไมริน (β-amyrin) และกลูตินอล (Glutinol) พบในใบและลำต้นทองพันชั่ง ส่วนลูโพล (Lupeol) พบในราก ใบและลำต้นทองพันชั่ง

2.3.5 คูมาริน (Coumarin)

พบสารในกลุ่มนี้ 2 ชนิดคือ เพียรัพโตริน (Praeruptorin) ซึ่งพบในส่วนรากทองพันชั่ง และอัมเบลลิฟเฟอร์โรน (Umbelliferone) พบในใบและลำต้นทองพันชั่ง

2.3.6 ฟลาโวนอยด์ (Flavoniod)

พบสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ 2 ชนิดคือ โวโกนิน (Wogonin) โอโรไซลิน (Oroxylin)

2.3.7 ไกลโคไซด์ (Glycoside)

พบสารในกลุ่มไกลโคไซด์ 4 ชนิด ซึ่งพบในส่วนใบและลำต้นทองพันชั่ง โดยสารที่พบเป็นสารผสมระหว่าง stigmasterol- β-D-glucopyranoside กับ stigmasteroi-β-D-glucopyranoside,3,4-dimethoxyphenol-β-D-glucopyranoside,3,4,5-trimethoxyphenol-β-D-glucopyranoside

2.3.8 คาร์โบไฮเดรท (Carbohydrate)

ได้แก่ เมทิล แอลฟา ดี กาแลคโตไพแรนโนไซด์ (Methyl-α-D-galactopyranoside) พบในใบและลำต้นทองพันชั่ง [10]

2.3.9 เอไมด์ (Amide)

ได้แก่ แอลลานโทอิน (Allantoin) พบในรากทองพันชั่ง [10]

2.3.10 คลอโรฟีลล์ (Chlorophyll)

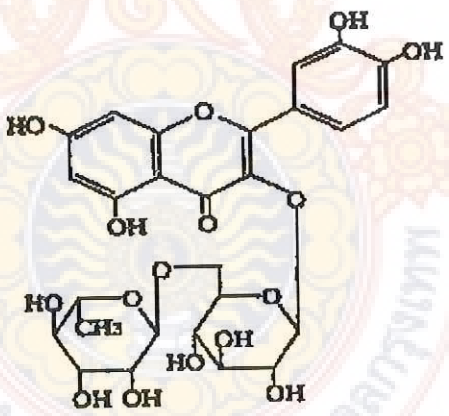
ได้แก่ เมทิล ฟีโอฟอร์ไบด์ เอ (Methyl pheophorbide-A) พบในใบและลำต้นทองพันชั่ง [10]

2.4 รูติน [11]

รูตินเป็นสารไบโอฟลาโวนอยด์พบในพืช ผักผลไม้ ผลไม้เปลือกแข็ง สารไบโอฟลาโวนอยด์ จะช่วยป้องกันเส้นเลือดฝอยแตก ป้องกันการเกิดรอยฟกซ้ำ ในความเป็นจริงสารไบโอฟลาโวนอยด์จำเป็นต่อประสิทธิภาพของวิตามินซีรวม สารไบโอฟลาโวนอยด์มีคุณสมบัติช่วยต่อต้านไวรัส ต่อต้านการอักเสบและป้องกันภูมิแพ้ นอกจากนั้นยังมีประโยชน์ช่วยในการต่อต้านการแพร่เชื้อ ต่อต้านอนุมูลอิสระและไข้หวัด สารนี้อาจ จะพิจารณาให้เป็นวิตามินเพราะมีสมบัติคล้ายวิตามิน และในบางครั้งจะถูกอ้างอิงเป็นวิตามิน

รูตินมีลักษณะเป็นผลึกรูปเข็ม ประกอบด้วยน้ำ 3 โมเลกุล สามารถทำให้ปราศจากน้ำได้ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส ความดัน 10 มิลลิเมตรปรอทเป็นเวลา 24 ชั่วโมง รูติน 1 กรัมละลายได้ในน้ำประมาณ 8 ลิตร และละลายในน้ำร้อนประมาณ 200 มิลลิลิตร ละลายในเมทานอลที่เดือด 7 มิลลิลิตร

รูตินมีสูตรโมเลกุล คือ $C_{27}H_{30}O_{16}$ และมีน้ำหนักโมเลกุล 610.53 ดอลตัน มีสูตรโครงสร้างดังนี้



รูปที่ 2.3 โครงสร้างของรูติน

2.4.1 ข้อควรระวังในการใช้รูตินี [17]

หญิงมีครรภ์และหญิงที่มีบุตรใหม่ๆ ควรหลีกเลี่ยงการใช้รูตินเพราะมีผลต่อระบบน้ำเหลือง และระบบสร้างน้ำนม

2.4.2 ขนาดการใช้

ควรใช้ไม่เกินวันละ 500 มิลลิกรัมหรือใช้ 2 วันครั้ง สำหรับผู้ที่เป็นโรคเส้นเลือดขอดควรใช้ 2 วันต่อครั้งหรือวันละ 250 มิลลิกรัม

2.4.3 สภาวะคงตัวของรูติน [6, 5]

รูตินที่สกัดได้จากพืชควรเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จะคงตัวได้นาน 1 เดือน รูตินในของเหลวของร่างกายมนุษย์ถ้าเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จะคงตัวได้ 24 ชั่วโมง และถ้าเก็บที่ -20 องศาเซลเซียส จะคงตัวได้ 1 เดือน

2.5 ฤทธิ์ทางชีวภาพของทองพันชั่ง [5]

2.5.1 ฤทธิ์ลดความดันโลหิต

จากรายงานการศึกษาโดยใช้สารสกัดใบทองพันชั่งด้วยน้ำ ทำการทดสอบในหนูขาวไม่จำกัดเพศ น้ำหนักตัวประมาณ 200-250 กรัม โดยให้สารสกัดใบทองพันชั่งทาง เอกเทอร์นอลจูกูล่าแวน (External jugular vein) ในขนาดต่างๆ กันคือ 25, 50, 100, 200 และ 400 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่าฤทธิ์ลดความดันโลหิตจะเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มขนาดของสารสกัด และจะลดความดันโลหิตมากที่สุดเมื่อใช้สารสกัดในขนาด 400 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ใช้เวลานานกว่า 60 นาที จึงจะทำให้ความดันโลหิตกลับคืนสู่ระดับปกติก่อนให้สารสกัด ดังรายละเอียดในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ผลของสารสกัดใบทองพันชั่งในการลดความดันโลหิตในหนูขาว

ขนาด (มก./กก. น้ำหนักตัว)	จำนวนหนูขาว (ตัว)	ความดันโลหิต* (MABP) ระยะ control (มม. ปรอท)	หลังจากให้สารสกัด (มม. ปรอท)	% ความดันโลหิตลด	ระยะเวลาในการออกฤทธิ์ (นาที)
25	4	145.00 ± 3.33	101.50 ± 8.13	30.04 ± 4.05***	~5
50	4	142.50 ± 0.84	84.33 ± 5.18	40.84 ± 3.39***	~20
100	4	137.50 ± 4.12	75.00 ± 2.36	45.30 ± 2.50**	~25
200	4	131.67 ± 3.63	64.67 ± 4.62	51.50 ± 2.24**	~35
400	4	152.22 ± 8.18	21.11 ± 1.74	86.07 ± 2.26**	>60

*ค่าที่แสดงเป็นค่า mean±S.E. MABP = mean arterial blood pressure **P<0.001 ***P<0.005

2.5.2 ฤทธิ์ต้านเชื้อรา (Antifungal activity)

มีการศึกษาฤทธิ์ต่อต้านเชื้อราของทองพันชั่ง 6 ชนิดได้แก่ แมกซิโรสโปลัมยิปซัม (Maxirosporum gypseum) ไทรโคฟีทอนรับรัม (Trichophyton rubrum) (สาเหตุของโรคกลาก) อีปีเดอร์โมฟีทอน ฟลอคโคซัม แคนดิด้า อัลบิแคนส์ (Candida albicans) (สาเหตุของการตกขาว) คลิพโตคอคคัด นีโอฟอร์แมน (Cryptococcus neoformans) และแซคคาโรไมเซส เอสพี (Saccharomyces sp.) ด้วยวิธีเปเปอร์ดิส และวัดความกว้างของพื้นที่ว่างเทียบกับมาตรฐานคือ กีสโอฟูวิน (Griseofulvin) และไนสตาติน (Nystatin) โดยใช้สารสกัดจากกิ่งและใบทองพันชั่งซึ่งสกัดด้วยน้ำ แอลกอฮอล์ และคลอโรฟอร์ม พบว่าสารสกัดด้วยน้ำมีฤทธิ์น้อยมาก ส่วนสารสกัดด้วยแอลกอฮอล์ และคลอโรฟอร์ม มีฤทธิ์ต้านเชื้อราได้ดีพอสมควร

นอกจากนี้ยังมีการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อราของไรนาแคนโทน (Rhinacanthone) (O-quinone) ในการยับยั้งการเติบโตของสปอร์ (Spore germination) ของไพริคูลาเรีย โอไรซ่า (Pyricularia oryzae) (เป็นตัวก่อให้เกิดโรคในข้าว) พบว่าไรนาแคนโทน 10 พีพีเอ็มสามารถยับยั้งได้ 100% ในขณะที่ พี-ควินโนน ไม่แสดงผลแม้จะใช้ในขนาด 1,000 พีพีเอ็มก็ตาม

2.5.3 ฤทธิ์ต้านเชื้อไวรัส (Antiviral activity)

ปี 1996 Sendl และคณะได้ทำการศึกษาการต้านเชื้อไวรัสของ ไรนาแคนตินซี และไรนาแคนตินดี ทำการทดสอบต่อเชื้อไวรัสไซโตเมกาโร (Cytomegalovirus) ทั้งของหนู (mCMV) และมนุษย์ (hCMV) ไวรัสอินเฟรนซ่าชนิดเอ (Influenza virus type A) (Flu-A) ไวรัสเฮอร์เปสซิมเพลกชนิด 2 (Herpes simplex virus type 2) (HSV-2) และไวรัสเรสปิราโทรีซินไซทอล (Respiratory syncytial Virus) (RSV) เทียบกับยาแผนปัจจุบันคือ แกนซิโครไวร์ (Gancyclovir) อะแมนตาดีน (Amantadine) อะโครไวร์ (Acyclovir) และไรบาวิรีน (Ribavirin) พบว่าไรนาแคนตินซี และไรนาแคนตินดี แสดงฤทธิ์ในการต้าน mCMV และ hCMV ได้ดีเมื่อเทียบกับยาแผนปัจจุบัน แต่ไม่แสดงผลในการต้านเชื้อ Flu-A, HSV-2 และ RSV ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ผลการต้านเชื้อไวรัสของไรนาแคนติน ซี และไรนาแคนตินดี

สารประกอบ	ไวรัส	Assay	EC_{50}(μg/mL)[a]	IC_{50}(μg/mL)[b]	SI[c]	n
ไรนาแคนตินซี	mCMV[d]	CPE[e]	1.1 ± 0.2	8.0 ± 3.0	7.3	4
	mCMV	Plaque[f]	0.57	2.6	4.6	1
	mCMV[g]	Plaque	0.02	0.56	28	1
	Flu-A[h]	HAI[i]	_	0.2 ± 0.2	NOSI	2
	HSV-2[j]	CPE	_	0.03	NOSI	1
	RSV[k]	CPE		0.3	NOSI	1
ไรนาแคนติน ดี	mCMV	CPE	9.5 ± 1.6	49 ± 4.8	5.2	4
	mCMV	Plaque	9.5	35	4	1
	hCMV	Plaque	0.22	0.75	3	1
	FluA	HAI	_	0.78	NOSI	2
	HSV-2	CPE	_	<0.8	NOSI	1
แกนซิโครไวร์	MCMV	CPE	5.1 ± 0.4	>100	>20	20
	mCMV	Plaque	13.8 ± 5.2	>100	>7.2	2
	hCMV	plaque	3.4 ± 1.1	>1000	>290	4
อะแมนตาดีน	Flu-A	HAI	0.054 ± 0.004	56 ± 10	1040	12
อะโครไวร์	HSV-2	CPE	2.3 ± 0.3	>10	>4.3	14
ไรบาวิรีน	RSV	CPE	1.8 ± 0.2	35 ± 4.6	19	23

[a]Antiviral activity. [b]Cytotoxicity. [c]Selective Index=Ic/EC. [d]Murine CMV. [e]Cytopathic effect. [f]Plaque- neutralization. [g]Human CMV. [h]Influenza virus type A. [i]Hemadsorption inhibition. [j]Herpes simplex virus type 2. [k]Respiratory syncytial virus.

และจากการศึกษาของเคอร์นาน (Kernan) และคณะในปี 1997 ถึงฤทธิ์ต้านเชื้อไวรัสของไรนาแคนติน -อี และไรนาแคนติน –เอฟ โดยทำการทดสอบแบบ in vitro กับเชื้อ Flu-A และ HSV-2 พบว่าสารทั้ง 2 ชนิดมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อ Flu-A แต่ไม่มีผลต่อเชื้อ HSV-2 ดังตารางที่ 3

จากการศึกษานี้เองทำให้ทราบว่า ไรนาแคนติน -อี และไรนาแคนติน-เอฟ มีผลยับยั้งกระบวนการ อินเฟรนซ่าไบโอซินเทติค (Influenza biosynthetic) จึงมีฤทธิ์ต้านเฉพาะ Flu-A ซึ่งต่างจากลิกแนนตัวอื่นๆ และโพโดฟิลโลโตซีน ที่มีผลยับยั้งไมโครทูบูฟอร์เมชันหรือกรดนิวคลีอิก

เมตาบอลิซึม (Nucleic acid metabolism) จึงป้องกันการ เรพลิเคชัน (Replication) ของไวรัสได้ทำให้สารดังกล่าวต้านเชื้อไวรัสได้หลายชนิด

ตารางที่ 2.3 ผลการต้านเชื้อไวรัสของ ไรนาแคนติน อี และ ไรนาแคนตินเอฟ

สารประกอบ	ไวรัส	EC_{50} [a]	IC_{50} [b]	SI [c]	N [d]
ไรนาแคนติน-อี	Flu-A[e]	1.7	44	26	1
	Flu-A[f]	7.4 ± 2.0	102 ± 64	15	2
	HSV-2[g]	_	17	_	1
ไรนาแคนติน-	Flu_A[e]	< 0.94	17	> 18	1
เอฟ	Flu_A[f]	3.1	21	6.8	1
	HSV-2[g]	_	4.4	_	1
	Flu-A[e]	0.054 ± 0.004	56 ± 10	1000	12
อะแมนตาดีน[h]	Flu-A[f]	3.7 ± 1.2	>200	>59	4
ไรบาวิรีน[h]	HSV-2[g]	1.5 ± 0.2	>100	>60	2
อะโครไวร์[h]					

[a]Antiviral activity, μg/mL, 50% effective concentration. [b]Cytotoxicity, μg/mL, 50% inhibitory concentration. [c]Selective index=IC_{50}/EC_{50}. [d]Number of assays. [e]Influenza virus type A, hemadsorption inhibition assay. [f]Influenza virus type A, cytopathic effect assay. [g]Herpes simplex virus type 2, CPE assay. [h]Antiviral reference controls.

2.5.4 ความเป็นพิษต่อเซลล์ (Cytotoxicity)

มีการศึกษาถึงความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารประกอบที่พบในทองพันชั่ง พบว่าสารกลุ่มแนฟโทควิโนนหลายชนิดแสดงฤทธิ์เป็นพิษต่อเซลล์

ปี 1988 วูและคณะทำการศึกษาฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งของ ไรนาแคนติน -เอ และ บี โดยใช้ KB tissue culture assay พบว่าไรนาแคนติน-บี มีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งโดยมีค่า ED_{50} เท่ากับ 3.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรในขณะที่ไรนาแคนตินเอไม่มีฤทธิ์

นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งของสารในกลุ่มแนฟโทควิโนนและฟลาโวนอยด์ (โวโกนิน) โดยใช้เซลล์มะเร็งชนิด KB, P-388, A-549, HT-29 และ HL-60 พบว่า

สารแนฟโทควิโนนทุกชนิดที่ใช้ในการทดลองมีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งชนิด KB, P-388, A-549, HT-29, และ HL-60 ดังตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 ฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งของสารกลุ่ม แนฟโทควิโนน และ ฟลาโวนอยด์

สารประกอบ	Cell line EC_{50}(μg/mL)				
	KB	P-388	A-549	HT-29	HL-60
ไรนาแคนติน-เอ	6.75	0.72	3.06	2.17	1.16
ไรนาแคนติน-บี	8.01	0.35	6.50	3.01	2.57
ไรนาแคนติน-ซี	6.26	0.26	0.35	0.68	0.68
ไรนาแคนติน-ดี	25.0	3.79	8.26	8.89	11.8
ไรนาแคนติน-จี	4.45	0.14	0.75	0.57	1.14
ไรนาแคนติน-เอช	23.8	6.43	9.97	11.5	8.87
ไรนาแคนติน-ไอ	13.2	4.88	7.18	6.30	5.12
ไรนาแคนติน-เค	17.3	3.17	16.4	7.75	6.81
ไรนาแคนติน-เอ็ม	19.2	3.95	8.90	10.1	19.9
ไรนาแคนติน-เอ็น	4.80	0.71	1.97	2.67	1.38
ไรนาแคนติน-คิว	>50	0.61	3.61	7.60	8.90
โวโกนิน	4.46	1.70	4.14	3.35	4.66

2.5.5 <u>ฤทธิ์ต้านการเกาะกลุ่มกันของเกร็ดเลือด</u> (Antiplatelet aggregation)

จากการศึกษาของวูและคณะในปี 1998 ถึงฤทธิ์ต้านการเกาะกลุ่มกันของเกร็ดเลือดของสารกลุ่มแนฟโทควิโนนและฟลาโวนอยด์แบบ in vitro โดยใช้เลือดกระต่ายที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการเกาะกลุ่มกันของเกร็ดเลือดด้วยสาร 4 ชนิดคือทรอมบิน (Thrombin; Thr) กรดอะแลกซิโดนิค (Arachidonic acid; AA) คอลลาเจน (Collagen; Col) และแพททิเลท แอคติเวชันแฟคเตอร์ (Platelet activation factor; PAF) พบว่าไรนาแคนติน-เอ -บี -ซี และโวโกนิน (Wogonin) มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกร็ดเลือดที่ถูกเหนี่ยวนำโดยคอลลาเจน (70-100%) และพบว่ามีเพียงไรนาแคนติน-บีที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกร็ดเลือดที่ถูกเหนี่ยวนำโดย PAF แต่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกร็ดเลือดโดยการเหนี่ยวนำของกรดอะแลกซิโดนิคได้น้อยมาก ในขณะที่

สารตัวอื่นมีฤทธิ์ค่อนข้างดี และจากการทดลองไม่มีสารตัวใดที่สามารถยับยั้งการเกาะกลุ่มเกร็ดเลือดที่ถูกเหนี่ยวนำโดยทรอมบิน (Thrombin) ได้เลยดังตารางที่ 2.5

ตารางที่ 2.5 ผลของสารในกลุ่มแนฟโทควิโนน และฟลาโวนอยด์ที่พบในทองพันชั่งต่อการเกาะกลุ่มของเกร็ดเลือดที่ถูกเหนี่ยวนำโดยวิธีการต่าง ๆ

สารประกอบ(μg/ml)	Induced inhibition (%)			
	Thr (0.1 U/ml)	AA (100 μM)	Col (10 μg/ml)	PAF (2μg/ml)
ไรนาแคนติน-เอ (100)	2.30 ± 2.2	100 ± 1.1	100 ± 0.5**	13.1 ± 3.3
(50)		12.5 ± 2.9	100 ± 0.5**	
(20)		2.80 ± 2.8	29.0 ± 2.4**	
(10)			2.30 ± 1.6	
ไรนาแคนติน-บี (100)	0.88 ± 1.6	7.45 ± 5.6**	100 ± 0.5**	63.1 ± 8.5
(50)		22.7 ± 4.7#	87.8 ± 4.8**	
(20)		0.24 ± 1.9	0.92 ± 1.4**	
ไรนาแคนติน-ซี (100)	1.75 ± 1.2	100 ± 1.1	75.2 ± 7.3**	8.50 ± 2.2*
ไรนาแคนติน-จี (100)	0.22 ± 1.4	42.6 ± 8.9*	13.8 ± 2.6#	10.7 ± 2.1#
ไรนาแคนติน-เอช (100)	0.11 ± 1.3	54.8 ± 4.4**	31.0 ± 3.9**	11.4 ± 2.1#
ไรนาแคนติน-ไอ (100)	0.66 ± 1.5	54.9 ± 8.2#	10.8 ± 1.8#	22.2 ± 3.9#
ไรนาแคนติน-เค (100)	0.44 ± 1.7	36.8 ± 8.9*	17.0 ± 1.6#	12.0 ± 2.2#
ไรนาแคนติน-เอ็ม (100)	0.55 ± 2.4	100 ± 1.1**	5.40 ± 1.3*	9.40 ± 2.7*
ไรนาแคนติน-คิว (100)	0.02 ± 2.3	54.6 ± 11*	20.4 ± 3.7#	6.88 ± 2.3
โวโกนิน(100)	0.66 ± 2.3	100 ± 1.1	72.5 ± 3.9	8.60 ± 4.0

plateles were preincubated with compound or DMSO (0.5%, Control) at 37 C for 3 min; the inducer was added. Values are mean ± s.e.m. (n=3-4). *p<0.05 P<0.01 **P<0.001 were compared with the respective control.

2.5.6 ฤทธิ์ในการดึงดูดแมลง (Insect sex attractant and signaling)

มีการศึกษาฤทธิ์ในการดึงดูดแมลงของสารสกัดรากทองพันชั่งด้วยอีเทอร์ พบว่าให้ผลต่อแมลงเมดิเตอร์เรเนียนฟลุทฟลายตัวผู้ (Mediterranean fruit fly) และแมลง Aspiculurus แต่ให้ผลไม่แน่นอนในแมลงวันผลไม้ (Oriental fruit flies) (Dacusc dorsalis) ทั้งสองเพศ

2.5.7 ฤทธิ์ในการเป็นฮอร์ไมนที่มีฤทธิ์ยังยั้งการเจริญเติบโตของตัวอ่อนเจริญเติบโตของตัวอ่อน (Juvenile hormone)

มีการศึกษาฤทธิ์ในการเป็นฮอร์ไมนที่มีฤทธิ์ยังยั้งการเจริญเติบโตของตัวอ่อนของสารสกัดรากทองพันชั่งด้วยอีเทอร์ในขนาด 500.00 µp/ สัตว์ทดลอง พบว่าสารสกัดดังกล่าวมีฤทธิ์ทำให้ตัวอ่อนของตัวมวน (Oncopeltus fasciatus) ไม่เจริญเติบโต แต่เมื่อใช้ในขนาด 250.0 µp/สัตว์ทดลอง จะไม่ได้ผล

2.5.8 ความเป็นพิษของทองพันชั่ง

มีการศึกษาความเป็นพิษแบบเฉียบพลัน (Acute toxicity) ของทองพันชั่ง โดยป้อนสารสกัดทองพันชั่ง (50% EtOH) ให้หนูถีบจักร โดยการฉีดสารสกัดเข้าใต้ผิวหนังในขนาด 10 กรัมต่อกิโลกรัมเทียบเป็น 3333 เท่าของขนาดที่ใช้ในตำรายา พบว่าไม่แสดงอาการเป็นพิษในหนูถีบจักร ในเวียดนามทำการศึกษาโดยให้หนูกินใบทองพันชั่งในขนาด 0.5-1 กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว (เทียบในมนุษย์จะเท่ากับการได้รับทองพันชั่ง 25-50 กรัมหรือ 1 กำมือ) ไม่พบความเป็นพิษแต่อย่างใด

2.6 การสกัด

2.6.1 การสกัดของแข็งด้วยของเหลว (Solid – liquid extraction) [3]

โดยทั่วไปกระบวนการสกัดสารแบ่งออกเป็น 3 ส่วนคือ

1) การละลายตัวถูกละลายที่ละลายอยู่ภายในตัวของแข็งด้วยตัวทำละลาย

ขั้นตอนนี้โดยทั่วไปแล้วจะต้องใช้เวลานานและใช้จำนวนตัวทำละลายที่เพียงพอ สามารถเร่งให้ขั้นตอนนี้เร็วขึ้นด้โดยการทำให้ของแข็งมีขนาดเล็กลง ส่วนการกวนให้ของแข็งเคลื่อนที่ในตัวทำละลายมีผลน้อยมากต่อการถ่ายเทมวลสาร แต่จะช่วยให้อนุภาคของแข็งอยู่ในสภาวะแขวนลอยในตัวทำละลาย ซึ่งจะช่วยในเรื่องการถ่ายเทความร้อนได้ดีถ้าตัวถูกละลายที่เป็นของเหลวละลายได้ในตัวทำละลาย โดยที่การละลายจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วถ้าตัวทำละลายเกาะอยู่รอบๆ อนุภาคของแข็ง ในทางตรงกันข้ามถ้าตัวถูกละลายเกาะอยู่รอบๆ อนุถาคของแข็งซึ่งล้อมรอบด้วยผนังที่ดูดซึมตัวทำละลายได้น้อยการละลายจะเกิดขึ้นช้ามาก กรณีหลังพบมากกว่ากรณีแรกเช่น น้ำมันพืชที่อยู่ในเมล็ดพืชชนิดต่างๆ การแพร่ของตัวทำละลายผ่านผนังเมมเบรนจะเป็นตัวควบคุมอัตรา

เร็วของการละลาย การกวนสำหรับกรณีหลังนี้มีผลต่อการละลายน้อย แต่ในกรณีที่ตัวถูกละลายอยู่รอบๆ อนุภาคของแข็งการกวนจะช่วยเพิ่มการถ่ายเทมวลสาร

2) การแพร่ของตัวถูกละลายจากภายในอนุภาคของแข็งสู่อนุภาคด้านนอก

ขั้นตอนนี้ถูกควบคุมด้วยการแพร่และอัตราเร็วในการสกัดรวมจะขึ้นอยู่กับอัตราการแพร่ต่างๆ ในอนุภาคของแข็ง

3) การแพร่ของตัวถูกละลายที่อยู่รอบๆ อนุภาคของแข็งออกไปสู่ตัวทำละลาย

ขั้นตอนนี้มีลักษณะคล้ายๆ ของผสมระหว่างตัวถูกละลายชนิดหนึ่งในของเหลวที่ย่อมมีการแพร่จากความเข้มข้นสูงไปสู่ความเข้มข้นต่ำซึ่งโดยทั่วไปขั้นตอนนี้จะไม่ใช่ตัวควบคุมกระบวนการ ใน กระบวนการสกัดน้ำมันออกจากเมล็ดสะเดา กลไกที่สำคัญที่จะทำให้น้ำมันเคลื่อนที่ออกจากเมล็ดสะเดาคือกระบวนการแพร่ ซึ่งเกิดขึ้นเนื่องจากความแตกต่างของความเข้มข้นของน้ำมันกับตัวทำละลาย โดยน้ำมันที่พบอยู่ในเนื้อเมล็ดสะเดาจะถูกละลายโดยตัวทำละลายแล้วจึงแพร่ออกจากเมล็ดไปยังภายนอกซึ่งมีปริมาณสะเดาที่ต่ำกว่า ถ้าเมล็ดสะเดามีความต้านทานการแพร่สูงการแพร่ก็จะเป็นไปได้ยากทำให้อัตราการสกัดต่ำ ดังนั้นการเพิ่มอัตราการสกัดสามารถทำได้โดยการลดความต้านทานการแพร่ที่มีอยู่เมล็ดสะเดา เพราะกระบวนการแพร่ที่เกิดขึ้นเมล็ดสะเดาเป็นกลไกสำคัญที่ควบคุมระบบการสกัดให้มีคุณภาพ

2.6.2 <u>การสกัดของเหลวด้วยของเหลว</u> (Liquid-liquid extraction)

กระบวนการสกัดของเหลวด้วยของเหลว เป็นกระบวนการแยกสารซึ่งอยู่ในรูปของสารละลายโดยอาศัยหลักความแตกต่างความสามารถในการละลายของตัวถูกละลายในตัวทำละลาย ดังนั้นในกระบวนการจะมีสารที่ต้องการแยกอยู่ในตัวทำละลายชนิดหนึ่งเป็นสารตั้งต้นและใช้ตัวทำละลายอีกชนิดหนึ่งเป็นตัวสกัด โดยที่ตัวทำละลายแต่ละชนิดจะไม่ละลายซึ่งกันและกันหรือละลายได้น้อยมาก ทำให้ภายหลังการสกัดจะเกิดของเหลวสองเฟสแยกชั้นกันและตัวถูกละลายส่วนใหญ่จะเกิดการถ่ายเทมวลข้ามเฟสไปยังตัวทำละลายใหม่ เรียกเฟสนี้ว่าสารสกัดหรือเอกแทรกส์ (Extract) ส่วนสารตั้งต้นที่เหลือเรียกว่ากากหรือราฟฟิเนท (Raffinate)

2.6.3 <u>การสกัดสารจากธรรมชาติ</u>

การแยกสารบางชนิดออกจากสารผสมโดยใช้ตัวทำละลายสกัดออกมานั้นเป็นเทคนิคที่ใช้กันมากในเคมีอินทรีย์ สารผสมที่นำมาสกัดอาจเป็นสารจากธรรมชาติ สารจากการสังเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ หรือสารจากผลิตภัณฑ์ในอุตสาหกรรม การสกัดสารด้วยวิธีนี้อาศัยสมบัติของการละลายของสารที่ต่างกันในตัวทำละลายอินทรีย์

<u>การสกัดสารจากของแข็ง</u>

สารผสมที่เป็นของแข็งนั้นมีมากมายโดยผลิตภัณฑ์ธรรมชาติทั้งที่เป็นพืชและสัตว์ ตัวอย่างเช่น ใบไม้ ดอกไม้เปลือกไม้ รากไม้ เมล็ดและอื่นๆ การสกัดโดยทั่วไปจะทำให้แห้ง เมื่อขจัดน้ำออกแล้วจึงบดให้ละเอียดเพื่อทำให้พื้นที่ผิวมากซึ่งการสกัดออกมาได้มาก จากนั้นจึงนำไปแช่ในตัวทำละลายที่อุณหภูมิปกติหรือต้มที่อุณหภูมิของจุดเดือดของตัวทำละลายที่ใช้สกัด ตัวทำละลายซึ่งได้แก่ เฮกเซน อีเธอร์ เมทิลคลอไรด์ คลอโรฟอร์ม แอลกอฮอล์ต่างๆ หรือน้ำ เมื่อแช่หรือต้มในระยะหนึ่งจึงกรองเอาของแข็งออกและนำสารละลายที่ได้ไประเหยเอาตัวทำละลายออกจะได้สารสกัดขั้นต้น ของแข็งที่เหลืออาจนำไปสกัดต่อได้อีกในกรณีที่สกัดขั้นแรกด้วยตัวทำละลายไม่มีขั้ว เมื่อสกัดครั้งต่อไปใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วสูงขึ้น วิธีนี้จะทำให้ได้สารสกัดขั้นต้นมีสารผสมต่างชนิดกันได้ เมื่อนำไปแยกต่อจะได้สารที่บริสุทธิ์ ซึ่งสามารถนำไปวิเคราะห์โครงสร้างในขั้นต่อไป

การสกัดสารจากของเหลว

เป็นการแยกสารประกอบจากของเหลวโดยใช้ของเหลวเป็นตัวสกัด ของเหลวในระบบจะแยกเป็น 2 เฟส ของเหลวสองเฟสนี้จะไม่ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน และสามารถแยกจากกันได้ การแยกจะอาศัยการถ่ายโอนมวลสารจากของเหลวหนึ่งไปยังอีกของเหลวหนึ่ง การเพิ่มประสิทธิภาพการถ่ายโอนมวลสารที่ต้องการแยกทำได้โดยการเติม "Salting out" agent ลงในสารตั้งต้นหรือเติม "Complexing agent" ลงในตัวทำละลาย โดยทั่วไปนิยมแยกสารโดยการสกัดหากกระบวนการกลั่นเพื่อใช้ในการแยกสารที่ต้องการมีราคาแพง นอกจากนี้หากการระเหยสัมพัทธ์ (relative volatility) ของสารผสมในระบบมีค่าในช่วง 1.0 - 1.2 หรือในกรณีที่สารต้องการแยกสามารถถูกทำลายได้ง่ายด้วยความร้อน เช่น สารปฏิชีวนะ การแยกโดยสกัดจะมีความเหมาะสมกว่าการแยกโดยใช้กระบวนการกลั่น

2.6.4 การสกัดแบบต่อเนื่อง

มีบ่อยครั้งที่สารอินทรีย์ที่เกิดในธรรมชาติมีเป็นจำนวนน้อย และจำเป็นต้องใช้ตัวทำละลายสำหรับการสกัดเป็นจำนวนมาก หรือสารอินทรีย์นั้นในตัวทำละลายอินทรีย์อินทรีย์ได้น้อยเป็นต้น ซึ่งการใช้เครื่องมือสกัดแบบธรรมดานั้นแยกไม่ได้ผลดี ดังนั้นต้องอาศัยเครื่องมือที่สามารถสกัดได้ติดต่อกันไปโดยใช้เครื่องสกัดแบบซอกเลต (Soxhlet extractor) ซึ่งเป็นท่อแก้วสำหรับบรรจุของแข็งที่ต้องการสกัด ข้างหนึ่งมีแขนเพื่อให้ไอของตัวทำละลายจากขวดที่อยู่ด้านล่างระเหยขึ้นสู่ส่วนบน ส่วนด้านบนจะต่อกับเครื่องควบแน่น ด้านข้างอีกด้านหนึ่งเป็นท่อแก้วที่ขดเป็นสองชั้น เมื่อไอของตัวทำละลายควบแน่นลงมาจะค้างในเครื่องซอกเลตทำให้แช่สารเอาไว้ เมื่อสารละลายมีระดับสูงพอจะเกิดความดันที่ทำให้สารละลายนั้นไหลกลับสู่ขวดต้มด้านล่างดังรูปที่ 3.1

2.6.5 การสกัดพืชสมุนไพร [4]

2.6.5.1 การเตรียมพืชสมุนไพร

ก่อนนำใบพืชมาสกัดควรทำให้แห้งก่อน วิธีการทำให้แห้งโดยคงคุณภาพของสมุนไพร ควรจะทำให้แห้งโดยวิธีที่รวดเร็วและใช้อุณหภูมิต่ำๆ เพราะอุณหภูมิที่สูงจะทำให้สารสำคัญสลายหรือเปลี่ยนแปลงไปได้ การทำให้แห้งอาจจะทำได้โดย

การทำให้แห้งในอากาศ (Air drying) ซึ่งเป็นการทำให้แห้งในอากาศ อาจจะเป็นการทำให้แห้งในที่ร่มหรือตากแดด

การทำให้แห้งโดยใช้ความร้อน (Artificial heat) เป็นการทำให้แห้ง โดยใช้ความร้อนจากพลังงานอื่น ๆ เช่น ไฟฟ้า ได้แก่การทำให้แห้งโดยใช้ตู้อบ ซึ่งจะมีการควบคุมอากาศที่ผ่านเข้าออกและอุณหภูมิ วิธีนี้จะสามารถควบคุมอุณหภูมิได้แน่นอน

2.6.5.2 วิธีสกัดสมุนไพร

การแช่จนยุ่ย (Maceration) คือกระบวนการสกัดองค์ประกอบสำคัญจากพืชสมุนไพร โดยการแช่ผงสมุนไพรในน้ำยาสกัด จนกระทั่งน้ำยาสกัดสามารถแทรกซึมเข้าไปละลายองค์ประกอบภายในผงสมุนไพรออกมาได้ วิธีการแช่จนยุ่ย คือแช่ผงสมุนไพรในน้ำยาสกัดที่เหมาะสมเป็นเวลา 2-4 วัน หรือตามกำหนดในเภสัชตำรับ หรือจนกระทั่งองค์ประกอบที่ต้องการละลายออกมาหมด หลังจากนั้นจึงกรองแยกกากสมุนไพรออกจากน้ำยาสกัดและปรับปริมาตรสารสกัดตามต้องการ

การไหลซึม (Percolation) คือกระบวนการสกัดองค์ประกอบสำคัญจากพืชสมุนไพร โดยปล่อยให้น้ำยาสกัดไหลผ่านผงสมุนไพรอย่างช้า ๆ พร้อมกับละลายเอาองค์ประกอบจากผงสมุนไพรออกมา วิธีการไหลซึม คือบรรจุผงสมุนไพรที่ทำให้ชื้นด้วยน้ำยาสกัดโดยแช่ผงสมุนไพรในน้ำยาสกัดและทิ้งไว้เป็นระยะเวลาพอสมควร แล้วจึงปล่อยให้น้ำยาสกัดไหลผ่านผงสมุนไพรในอัตราเร็วพอเหมาะ พร้อมกับเติมน้ำยาสกัดใหม่ลงไปเรื่อยๆ จนองค์ประกอบที่ต้องการในผงสมุนไพรละลายออกมาจนหมด

การสกัดแบบต่อเนื่อง (Continuous extraction) คือ กระบวนการสกัดองค์ประกอบจากสมุนไพร ในทำนองเดียวกัน การไหลซึม แตกต่างกันที่ว่าขบวนการนี้จะต้องใช้ความร้อนเข้าช่วย และใช้เครื่องมือที่เป็นระบบปิดเรียกว่าเครื่องสกัดแบบ ซอกเลต (soxhlet extractor) โดยที่เมื่อน้ำยาสกัดไหลผ่านผงสมุนไพรที่บรรจุอยู่ใน extractor แล้วลงมารวมกันในขวดแก้วที่ได้รับความร้อนจนน้ำยาสกัดระเหยขึ้นไป และควบแน่นตกลงมาผ่านผงสมุนไพรซ้ำแล้วซ้ำอีกไปเรื่อย ๆ จนกระทั่งองค์ประกอบในสมุนไพรถูกสกัดออกมาหมด วิธีการสกัดที่ดีที่สุดสำหรับพืชสมุนไพรแต่ละชนิดนั้น ขึ้นกับธรรมชาติของพืชสมุนไพร

2.6.5.3 <u>การเลือกตัวทำละลาย</u>

การเลือกตัวทำละลายในการเตรียมสารสกัดขึ้นกับความสามารถในการละลายองค์ประกอบสำคัญที่ต้องการและองค์ประกอบอื่น ๆ ที่ไม่ต้องการ และขึ้นกับชนิดของสารสกัดที่ต้องการเตรียมอีกด้วย อาจจะเป็นตัวทำละลายเดียวหรือเป็นของผสมของตัวทำละลายต่างๆ ก็ได้ โดยทั่วไปตัวทำละลายควรมีคุณสมบัติดังนี้คือ

- มีความสามารถในการละลายองค์ประกอบสำคัญมากที่สุด และไม่ละลายหรือละลายองค์ประกอบอื่น ๆ ได้น้อย
- หาง่าย ราคาถูก
- ไม่เป็นพิษต่อร่างกาย
- มีความคงตัวดี
- ไม่ทำปฏิกิริยากับองค์ประกอบสำคัญในพืชสมุนไพร นอกเหนือจากที่ต้องการจะให้เป็น
- ไม่ระเหยง่ายจนเกินไป หรือติดไฟง่าย
- น้ำยาสกัดที่นิยมใช้ในการเตรียมสารสกัด ได้แก่ น้ำ แอลกอฮอล์ กลีเซอรีน และสารผสมของตัวทำละลายดังกล่าว นอกจากนี้อาจจะให้กรดหรือด่างเติมลงในน้ำยาสกัดเพื่อปรับความเป็นกรด-ด่าง ของน้ำยาสกัดให้เหมาะสมยิ่งขึ้น ตัวทำละลายอื่นๆ ก็ใช้บ้างบางกรณี เช่น อีเธอร์ คลอโรฟอร์ม

น้ำ ถึงแม้ว่าจะเป็นตัวทำละลายที่ดี หาง่าย ราคาถูก แต่การใช้เฉพาะน้ำอย่างเดียวเป็นน้ำยาสกัดพืชสมุนไพร มีข้อเสียหลายประการ เช่น สามารถละลายองค์ประกอบที่ไม่ต้องการออกมาได้มาก เกิดการบูดเสียของสารสกัดเนื่องจากจุลินทรีย์ได้ง่าย และการทำให้สารสกัดในน้ำเข้มข้นจะต้องใช้ความร้อนสูงในการระเหยไล่น้ำออกไป ซึ่งอาจจะทำให้องค์ประกอบสำคัญบางตัวสลายตัวได้

แอลกอฮอล์ เป็นตัวทำละลายที่ดีมาก และยังมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้อีกด้วย นอกจากนี้แอลกอฮอล์ระเหยได้ง่ายกว่าน้ำ แต่แอลกอฮอล์ราคาแพงกว่าน้ำมาก

กลีเซอรีน เป็นตัวทำละลายที่ดีขององค์ประกอบหลายชนิดในพืชสมุนไพร เช่น แทนนินและผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการออกซิเดชันของแทนนิน นอกจากนี้กลีเซอรีนยังมีคุณสมบัติเป็นสารกันบูดได้ด้วย เนื่องจากกลีเซอรีน ระเหยที่อุณหภูมิสูง ดังนั้นจะยังคงอยู่ในสารสกัดขั้นสุดท้ายจึงไม่ควรใช้กลีเซอรีนในการเตรียมสารสกัดในกรณีที่ไม่ต้องการให้มีกลีเซอรีนอยู่ กลีเซอรีนมักใช้เป็นตัวทำละลายร่วมกับน้ำหรือแอลกอฮอล์ในการใช้เป็นน้ำยาสกัด

นอกจากตัวทำละลายต่างๆ ที่กล่าวมาแล้ว ตัวทำละลายอินทรีย์อีกหลายชนิด เช่น เฮกเซน คลอโรฟอร์ม อีเธอร์ อะซิโตน ก็อาจใช้ในการสกัดพืชสมุนไพรได้ ซึ่งมีวัตถุประสงค์แตกต่างกันออกไป เช่น เฮกเซน อีเทอร์ ใช้สกัดพืชสมุนไพรในครั้งแรกเพื่อขจัดองค์ประกอบพวกไขมัน และขี้ผึ้งออกไปก่อนเพื่อสะดวกในการสกัดพืชสมุนไพรต่อไปด้วยตัวทำละลายที่ต้องการ นอกจากนี้อาจใช้ในกรณีที่ต้องการสกัดองค์ประกอบสำคัญในพืชสมุนไพรเฉพาะอย่างที่ละลายได้ดี

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....
วัน เดือน ปี.....

บทที่ 3

การทำวิจัย

ในการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางยาจากทองพันชั่งครั้งนี้มีอุปกรณ์ สารเคมีที่ใช้ และวิธีการทดลองดังนี้

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 <u>สารเคมี</u>

1. รูติน (Rutin , 3,3,4,5,7 – pentahydroxyflovone-3-rutinoside , quercetin-3-rutinoside) (Fluka)
2. อะซิโตไนไตรด์ (Acetonenitrile) (HPLC Grade)
3. กรดฟอสฟอริก(Phosphoric acid) (HPLC Grade)
4. กรดอะซิติก(Acetic acid) (HPLC Grade)
5. เมทานอล (Methanol)
6. เอทานอล (Ethanol)
7. น้ำกลั่น

3.1.2 <u>เครื่องแก้วและอุปกรณ์</u>

1. บีกเกอร์(Beaker) ขนาด 50, 100, 500 และ 1000 ml
2. เทอร์โมมิเตอร์ (Thermomiter)
3. ขวดรูปชมพู่ (Flask)
4. จุกยาง
5. อลูมิเนียมฟอยล์ (Aluminium foil)
6. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง
7. อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)
8. ชุดสกัดซอกเลต
9. ชุดกรองสารสำหรับ HPLC

3.1.3 เครื่องมือ

1. เครื่องโครมาโทกราฟของเหลวแบบสมรรถนะ
(High Performance Liquid Chromatography, HPLC)
2. เครื่องยูวี -วิสิเบิล สเปกโตโฟโตมิเตอร์

3.2 วิธีการทดลอง

การศึกษาการสกัดรูตินจากทองพันชั่งด้วยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย การทดลองแบ่งออกเป็น 4 ตอน คือ ตอนที่ 1 ศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสม ตอนที่ 2 ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสม ตอนที่ 3 ศึกษาอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักทองพันชั่งต่อปริมาตรตัวทำละลายที่เหมาะสม และตอนที่ 4 เพื่อศึกษาปริมาณรูตินสูงสุดที่สกัดได้จากส่วนต่างๆ ของทองพันชั่ง

3.2.1 การสกัดรูตินจากทองพันชั่งที่สภาวะต่างๆ

การทดลองตอนที่ 1 ศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสม

นำทองพันชั่ง 10 กรัมแช่ในตัวทำละลายชนิดต่างๆ คือ น้ำ เอทานอล และเมทานอล ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำสารที่สกัดได้ไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 เมื่อกรองเสร็จนำไปกรองด้วยชุดกรองสารสำหรับเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวแบบสมรรถนะสูงอีกครั้ง เมื่อทำการกรองเสร็จแล้วนำไปวิเคราะห์ด้วย เครื่องโครมาโทกราฟของเหลวแบบสมรรถนะสูง

การทดลองตอนที่ 2 ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสม

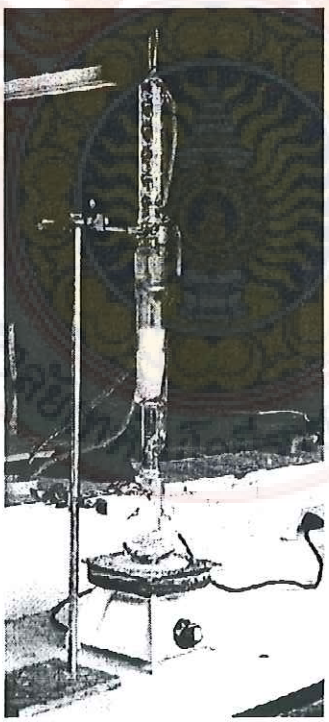
นำเอทานอลปริมาตร 100 มิลลิลิตร ไปควบคุมอุณหภูมิต่างๆ คือ 40, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เมื่อควบคุมอุณหภูมิได้ตามกำหนดแล้ว หลังจากนั้นนำทองพันชั่ง 10 กรัม แช่ลงในเอทานอลควบคุมอุณหภูมิเป็นเวลา 20 นาที เมื่อครบเวลาแล้วนำสารที่สกัดได้ไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 หลังจากนั้นนำไปกรองด้วยชุดกรองสารสำหรับ เครื่องโครมาโทกราฟของเหลวแบบสมรรถนะสูงอีกครั้ง เมื่อกรองเสร็จแล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวแบบสมรรถนะสูง

การทดลองตอนที่ 3 ศึกษาอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักทองพันชั่งต่อปริมาตรตัวทำละลายที่เหมาะสม

นำทองพันชั่ง 10 กรัมแช่ในเอทานอลที่ปริมาตรต่างๆ ดังนี้ 50, 100, 200 และ 400 มิลลิลิตร หรือคิดเป็นอัตราส่วนได้ดังนี้ 1:5, 1:10, 1:20 และ 1:40 เป็นเวลา 3 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 หลังจากนั้นกรองด้วยชุดกรองสารสำหรับเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวแบบสมรรถนะสูงอีกครั้ง เมื่อกรองเสร็จแล้วนำไปวิเคราะห์ด้วย เครื่องโครมาโทกราฟของเหลวแบบสมรรถนะสูง

การทดลองตอนที่ 4 ศึกษาปริมาณรูตินสูงสุดที่สกัดได้จากส่วนต่างๆทองพันชั่ง

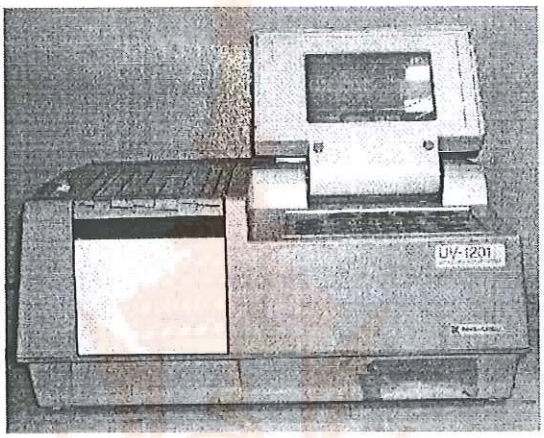
นำทองพันชั่ง 10 กรัมใส่ในทิมเบิล สกัดด้วยชุดสกัดซอกเลต เป็นเวลา 3 ชั่วโมง โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ปริมาตร 180 มิลลิลิตร เมื่อครบเวลาที่กำหนดแล้วนำสารที่สกัดได้ไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 หลังจากนั้นกรองด้วยชุดกรองสารสำหรับ เครื่องโครมาโทกราฟของเหลวแบบสมรรถนะสูง อีกครั้ง เมื่อทำการกรองเสร็จแล้วนำไปวิเคราะห์ด้วย เครื่องโครมาโทกราฟของเหลวแบบสมรรถนะสูง ทำการทดลองซ้ำโดยใช้ลำต้นและก้านมาสกัด โดยทำการติดตั้งชุดสกัดซอกเลตดังรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 ชุดสกัดซอกเลต

3.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณรูตินด้วยเครื่องโครมาโทกราฟฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography)

ก่อนการวิเคราะห์ด้วย เครื่องโครมาโทกราฟของเหลวแบบสมรรถนะสูง (HPLC) ต้องหาความยาวคลื่นสูงสุดที่เครื่องตรวจวัดสามารถตรวจจับได้โดยใช้เครื่อง ยูวี -วิสิเบิล สเปกโตโฟโตมิเตอร์ ซึ่งแสดงในรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.2 เครื่อง ยูวี -วิสิเบิล สเปกโตโฟโตมิเตอร์

เมื่อได้ความยาวคลื่นที่เหมาะสมแล้วทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวแบบสมรรถนะสูง ยี่ห้อ SHIMADZU รุ่น V6.12 SP5 โดยคอลัมน์ที่ใช้ คือ Inertsil ODS 3V ยาว 250 x 4.6 มิลลิเมตร ขนาด 5 ไมโครเมตร

ซึ่งสภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์ [5] คือ

เครื่องมือที่ใช้ : ยี่ห้อ SHIMADZU รุ่น V6.12 SP5

คอลัมน์ : Inertsil ODS 3V ยาว 250x4.6 มิลลิเมตรขนาด 5 ไมโครเมตร

สารละลายตัวชะ : ตัวชะ A คือ อะซิโตไนไตรล์

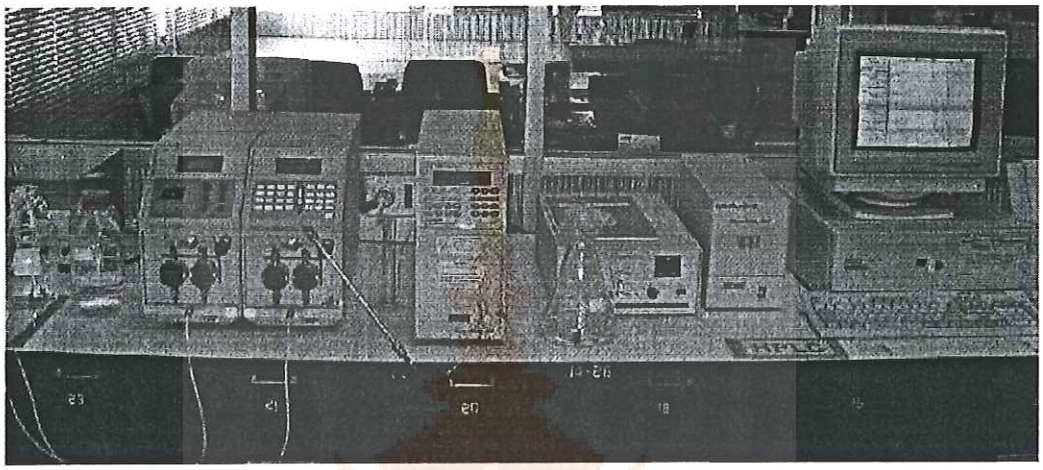
ตัวชะ B คือ แอมโมเนียมอะซิเตทต่อ EDTA 0.3 มิลลิโมลาร์ ต่อกรดอะซิติก (29:70:1 v/v) โดยใช้อัตราส่วนA ต่อ B เป็น 25 ต่อ 75 โดยปริมาตร

ความยาวคลื่นที่ใช้ : 260 นาโนเมตร

อัตราการไหลของตัวชะ : 1 มิลลิลิตรต่อนาที

อุณหภูมิของคอลัมภ์ : 25 องศาเซลเซียส

การติดตั้งเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวแบบสมรรถนะสูงในการวิเคราะห์ปริมาณรูตินที่ได้จากการทดลองแสดงดัง รูปที่ 3.3



รูปที่ 3.3 การวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวแบบสมรรถนะสูง

ในการวิเคราะห์ปริมาณรูตินจากสารสกัดทำได้โดย การสร้างกราฟมาตรฐานรูตินที่ความเข้มข้นต่างๆ ตั้งแต่ 2-14 มิลลิกรัมต่อลิตร วัดพื้นที่ใต้พีคแล้วนำมาพลอตกราฟ จะได้กราฟมาตรฐานรูติน

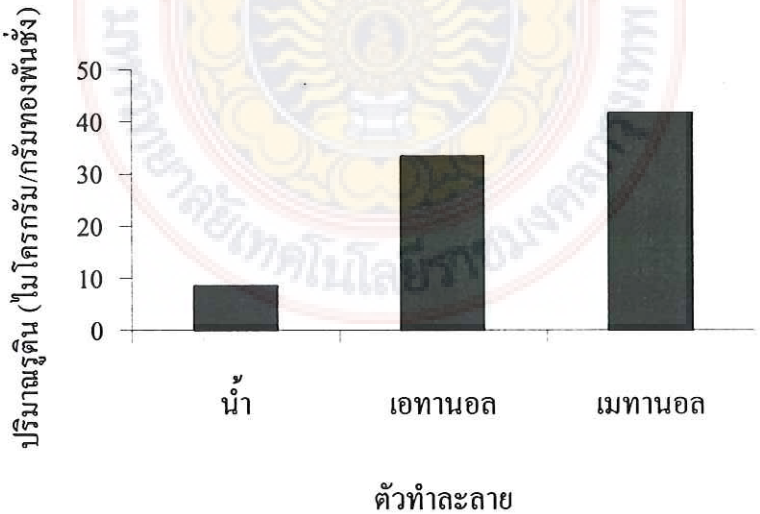
บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาการสกัดรูตินจากทองพันชั่งด้วยวิธีการสกัดของแข็งด้วยของเหลวและการสกัดแบบต่อเนื่องคือ สกัดด้วยเครื่องสกัดซอกเลตเพื่อหาปริมาณรูตินสูงสุดและวิเคราะห์ปริมาณรูตินด้วยเครื่องโครมาโทกราฟแบบสมรรถนะสูง การทดลองแบ่งออกเป็น 4 ตอน คือ ตอนที่ 1 ศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสม ตอนที่ 2 ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสม ตอนที่ 3 ศึกษาอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักทองพันชั่งต่อปริมาตรตัวทำละลายที่เหมาะสม และตอนที่ 4 ศึกษาปริมาณรูตินสูงสุดที่สกัดได้จากส่วนต่างๆของทองพันชั่งและเปรียบเทียบปริมาณ จากการทำวิจัยได้ผลดังนี้

4.1 การศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสม

สกัดใบทองพันชั่งด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ คือ น้ำ เอทานอล และเมทานอล เพื่อหาตัวทำละลายที่สกัดรูตินออกมาได้ดีที่สุด โดยนำทองพันชั่ง 10 กรัม แช่ในตัวทำละลาย ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำสารที่สกัดได้วิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ผลที่ได้แสดงดังรูปที่ 4.1

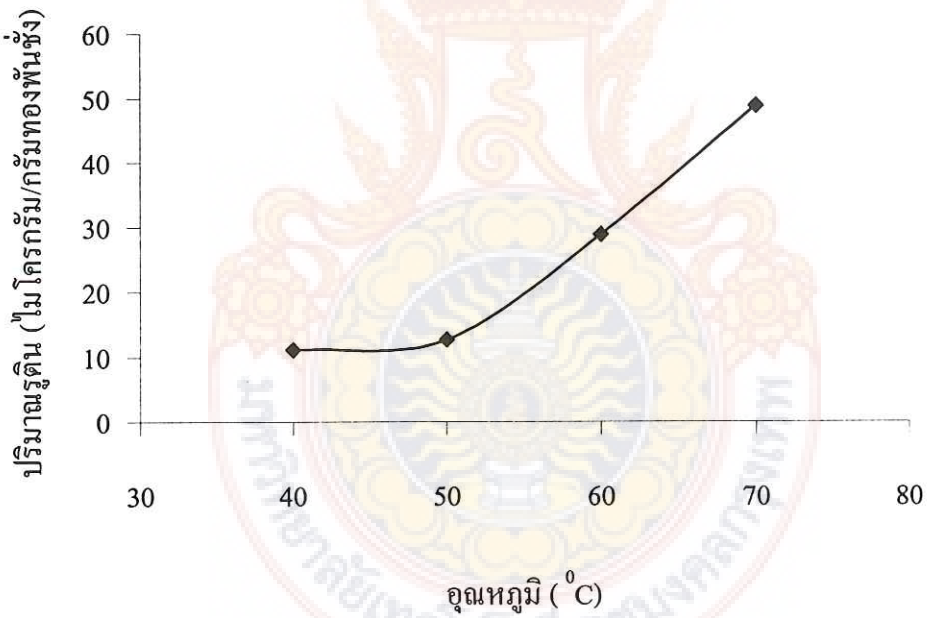


รูปที่ 4.1 ปริมาณรูติน (ไมโครกรัม/กรัมของทองพันชั่ง) ของสารสกัดโดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ

จากผลการทดลองลองพบว่าเมทานอลเป็นตัวทำละลายที่ดีที่สุด รองลงมา คือเอทานอล และน้ำ ตามลำดับ โดยเมทานอลสามารถสกัดสารรูตินได้ในปริมาณ 41.5 ไมโครกรัมต่อกรัมทองพันชั่ง โดยเนื่องจากเอทานอลและเมทานอลจะมีโครงสร้างโมเลกุลที่คล้ายคลึงกับโมเลกุลของรูตินมากกว่าน้ำคือจะมีหมู่ไฮดรอกซิล จึงทำให้รูตินละลายในเอทานอลและเมทานอลได้ดีกว่าน้ำ และเมทานอลจะมีสภาพขั้วสูงกว่าเอทานอลจึงทำให้รูตินละลายในเมทานอลได้ดีกว่า

4.2 การศึกษาผลของอุณหภูมิในการสกัดที่มีต่อปริมาณรูตินที่สกัดได้

สกัดใบทองพันชั่งด้วยเอทานอลควบคุมอุณหภูมิต่างๆ คือ 40, 50, 60 และ70 องศาเซลเซียส เพื่อหาแนวโน้มของอุณหภูมิที่มีผลต่อการสกัด โดยนำเอทานอลปริมาตร 100 มิลลิลิตรแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิต่างๆ หลังจากนั้นเติมทองพันชั่ง 10 กรัม ที่ควบคุมอุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 20 นาที และทำการวัดปริมาณรูตินด้วยเครื่อง HPLC ผลที่ได้แสดงในรูปที่ 4.2

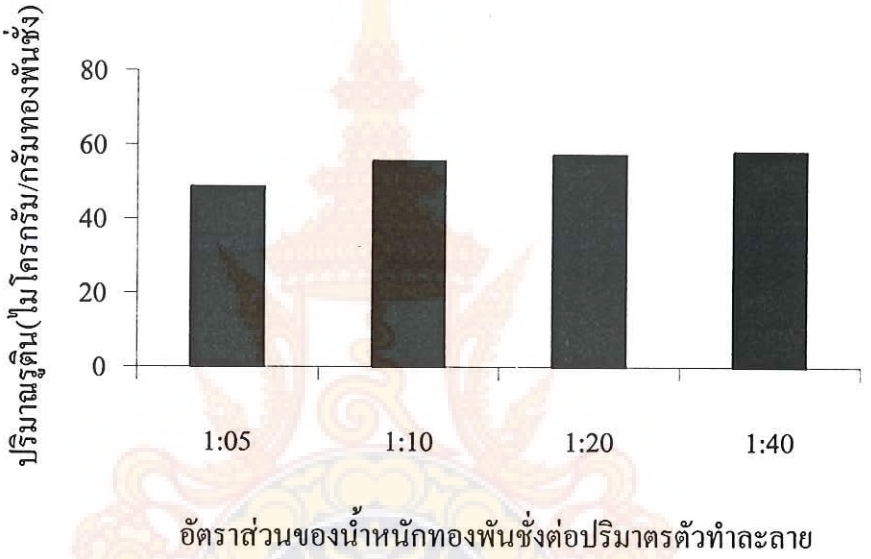


รูปที่ 4.2 ปริมาณรูติน (ไมโครกรัม/กรัมทองพันชั่ง) ของสารสกัดที่อุณหภูมิต่างๆ

จากผลการทดลองพบว่าความสามารถในการสกัดสารรูตินจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น โดยที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสสามารถสกัดรูตินได้ปริมาณมากที่สุดคือ 48.9 ไมโครกรัมต่อกรัมทองพันชั่ง รองลงมาคือ 60, 50 และ 40 องศาเซลเซียสตามลำดับ โดยผลที่ได้มาจากอุณหภูมิสูงขึ้นจะทำให้ความสามารถในการละลายของรูตินเพิ่มขึ้นซึ่งทำให้สกัดรูตินได้ดี

4.3 การศึกษาอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักทองพันชั่งต่อปริมาตรตัวทำละลายที่เหมาะสม

สกัดใบทองพันชั่งด้วยเอทานอล โดยใช้อัตราส่วนระหว่างน้ำหนักทองพันชั่งต่อปริมาตรตัวทำละลาย (กรัมต่อลิตร) ที่แตกต่างกัน คือ 1:5 , 1:10, 1:20 และ 1:40 เพื่อหาอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักทองพันชั่งต่อปริมาตรตัวทำละลายที่สามารถสกัดรูตินได้ดีที่สุด โดยนำทองพันชั่ง 10 กรัมแช่ในเอทานอลที่มีปริมาตร 50, 100, 200 และ 400 มิลลิลิตรที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 ชั่วโมง และนำไปวิเคราะห์ปริมาณรูตินด้วยเครื่อง HPLC ผลที่ได้แสดงในรูปที่ 4.3



รูปที่ 4.3 ปริมาณรูติน (ไมโครกรัม/กรัมทองพันชั่ง) จากสารสกัดที่อัตราส่วนระหว่างน้ำหนักทองพันชั่งต่อปริมาตรตัวทำละลายต่างๆ

จากผลการทดลองพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาตรของตัวทำละลาย (อัตราส่วนลดลง) ทำให้สามารถสกัดรูตินได้ในปริมาณมากขึ้น โดยที่ปริมาตรเอทานอล 400 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1:40) สามารถสกัดรูตินได้ปริมาณมากที่สุด คือ 58.2 ไมโครกรัมต่อกรัมทองพันชั่ง รองลงมาคือ 200, 100 และ 50 ตามลำดับ โดยผลที่ได้มาจากปริมาณหรือจำนวนโมลของตัวทำละลายมากจะสามารถแพร่เข้าไปละลายตัวถูกละลายที่อยู่ในอนุภาคของแข็งได้มากกว่าปริมาณตัวทำละลายน้อยจึงส่งผลให้ปริมาณตัวถูกละลายที่ได้มีปริมาณสูงกว่า และอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักทองพันชั่งต่อปริมาตรตัวทำละลายที่เหมาะสม คือ 1:10 เพราะถ้าเป็น 1 :5 จะมีปริมาณรูตินที่เหลืออยู่ในใบทองพันชั่งมาก แต่ถ้าเป็นอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักทองพันชั่งต่อปริมาตรตัวทำละลาย 1:20 และ 1:40 ต้องใช้ตัวทำละลายเพิ่มขึ้น 2 - 3 เท่า แต่ปริมาณรูตินเพิ่มขึ้นเพียง 1.7 และ 2.7 ไมโครกรัมต่อกรัมทองพันชั่ง ตามลำดับ และ

ยังเปลืองพลังงานในการระเหยตัวทำละลายออก (ในกรณีที่ต้องการทำให้สารตัวอย่างมีความเข้มข้นมากขึ้น)

4.4 ศึกษาปริมาณรูตินสูงสุดที่สกัดได้จากส่วนต่างๆ ของทองพันชั่ง

สกัดทองพันชั่งด้วยชุดสกัดซอกเลต โดยใช้ส่วนของทองพันชั่งที่ต่างกัน คือ ลำต้นและใบ เพื่อหาปริมาณรูตินสูงสุดจากส่วนทั้งสองของทองพันชั่งและเปรียบเทียบปริมาณรูตินที่ได้ โดยนำทองพันชั่ง 10 กรัมใส่ในทิมเบิล สกัดด้วยเมทานอล ปริมาตร 180 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำสารที่สกัดได้ไปกรองและวิเคราะห์ปริมาณรูตินด้วยเครื่อง HPLC ผลที่ได้แสดงในรูปที่ 4.4

รูปที่ 4.4 ปริมาณรูตินสูงสุด (ไมโครกรัม/กรัมทองพันชั่ง) ของสารสกัดจากส่วนต่างๆของทองพันชั่ง

จากผลการทดลองพบว่าในส่วนใบของทองพันชั่งมีปริมาณรูตินมากกว่าในส่วนลำต้นโดยปริมาณรูตินสูงสุดที่สกัดได้ในใบ คือ 126 ไมโครกรัมต่อกรัมทองพันชั่ง และในส่วนลำต้นคือ 12.6 ไมโครกรัมต่อกรัมทองพันชั่ง

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการสกัดรูตินจากทองพันชั่งด้วยวิธีสกัดของแข็งด้วยของเหลวและการสกัดแบบต่อเนื่อง คือ สกัดด้วยเครื่องสกัดซอกเลต เพื่อหาปริมาณรูตินสูงสุดและวิเคราะห์ปริมาณรูตินด้วยเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวแบบประสมรรถนะสูง โดยการทดลองแบ่งออกเป็น 4 ตอน คือ ตอนที่ 1 ศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสม ตอนที่ 2 ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสม ตอนที่ 3 ศึกษาอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักทองพันชั่งต่อปริมาตรของตัวทำละลายที่เหมาะสม และตอนที่ 4 ศึกษาปริมาณรูตินสูงสุดที่สกัดได้จากส่วนต่างๆ ของทองพันชั่งและเปรียบเทียบปริมาณ ซึ่งจากผลการทดลองสรุปได้ดังนี้

5.1 สรุปผลการวิจัย

5.1.1 <u>การศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสม</u>

การสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ เอทานอล เมทานอล และ น้ำ พบว่าเมทานอลสามารถสกัดรูตินได้ดีที่สุด รองลงมาคือ เอทานอลและน้ำตามลำดับ โดยเมทานอลสามารถสกัดรูตินออกมาได้ในปริมาณ 41.5 ไมโครกรัมต่อกรัมทองพันชั่ง

5.1.2 <u>การศึกษาผลของอุณหภูมิในการสกัดที่มีต่อปริมาณรูตินที่สกัดได้</u>

ในการสกัดโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายและสกัดที่อุณหภูมิต่างๆ ดังนี้ 40, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส พบว่าอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส สามารถสกัดรูตินได้ดีที่สุด รองลงมาคือ 60, 50 และ 40 องศาเซลเซียส ตามลำดับ โดยที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส สามารถสกัดรูตินออกมาได้ในปริมาณ 48.9 ไมโครกรัมต่อกรัมทองพันชั่ง ซึ่งสรุปได้ว่ายิ่งอุณหภูมิสูงจะยิ่งสกัดได้ดี ทั้งนี้กระทำที่ความดันบรรยากาศ อุณหภูมิสูงสุดจึงไม่เกินจุดเดือดของตัวสกัด

5.1.3 <u>การศึกษาอัตราส่วนระว่างน้ำหนักทองพันชั่งต่อปริมาตรตัวทำละลายที่เหมาะสม</u>

ในการสกัดโดยใช้อัตราส่วนระหว่างน้ำหนักทองพันชั่งต่อปริมาตรตัวทำละลายต่างๆ ดังนี้ 1:5, 1:10, 1:20, และ 1:40 พบว่าอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักทองพันชั่งต่อปริมาตรตัวทำละลายที่ 1:40 สามารถสกัดรูตินได้ดีที่สุด คือ 58.2 ไมโครกรัมต่อกรัมทองพันชั่ง รองลงมาคือ 1:20, 1:10 และ 1:5 ตามลำดับ ซึ่งสรุปได้ว่ายิ่งอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักทองพันชั่งต่อปริมาตร

ตัวทำละลายลดลงจะยิ่งสกัดรูตินได้ดี และอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักทองพันชั่งต่อปริมาตรตัวทำละลายที่เหมาะสม คือ 1:10

5.1.4 <u>การศึกษาปริมาณรูตินสูงสุดที่สกัดได้จากส่วนต่างๆ ของทองพันชั่ง</u>

นำทองพันชั่ง 10 กรัมมาสกัดด้วยชุดสกัดซอกเลต เป็นเวลา 3 ชั่วโมงโดยทองพันชั่งได้มาจากส่วนต่างๆ คือ ใบ ลำต้นและก้าน พบว่าในส่วนใบของทองพันชั่งมีปริมาณรูตินมากกว่าในลำต้นและก้าน โดยปริมาณรูตินในใบมี 126 ไมโครกรัมต่อกรัมทองพันชั่ง และปริมาณรูตินในลำต้นและก้านมี 12.6 ไมโครกรัมต่อกรัมทองพันชั่ง

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ในการเก็บตัวอย่างของทองพันชั่งมาสกัดควรเก็บส่วนที่มีลักษณะเดียวกันแนะนำว่าควรเก็บใบที่อยู่บริเวณส่วนโคนของลำต้น เพ ราะว่าใบที่อยู่ในบริเวณนี้จะมีอายุมากกว่าส่วนยอดดังนั้นจึงน่าที่จะมีสารเคมีมากกว่า การที่เราเก็บตัวอย่างจากส่วนยอดปนกับโคนหรือกลางลำต้นทองพันชั่งอาจทำให้ผลการวิเคราะห์มีความผิดพลาดสูง

5.2.2 ในการสกัดควรใช้ใบทองพันชั่งแห้ง เพราะง่ายต่อการเก็บสารตัวอย่างและไม่ต้องเสียเวลากำจัดคลอโรฟีลล์ออกในกรณีที่การวิเคราะห์ต้องการทำให้สารตัวอย่างบริสุทธิ์

5.2.3 ควรทำการทดลองซ้ำในการทดลองตอนที่ 1 และตอนที่ 3 เพราะข้อมูลในตอนที่ 1 ในการสกัดโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายและตอนที่ 3 การสกัดโดยใช้อัตราส่วน 1:10 ข้อมูลที่ได้ไม่สัมพันธ์กันทั้งที่เป็นสภาวะเดียวกัน (ตารางที่ ก.1 และ ก3) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากข้อมูลได้มาจากการทำการทดลองคนละครั้ง ซึ่งวัตถุดิบที่ใช้ไม่ได้มาจากต้นเดียวกันจึงทำให้ปริมาณรูตินที่ได้ไม่เท่ากัน แต่อย่างไรก็ดีการสรุปผลในข้อ 5.1 ก็ยังเป็นจริงเพราะสรุปจากแนวโน้มของข้อมูลที่ได้ในแต่ละการทดลองซึ่งมีวัตถุประสงค์ที่แยกกันชัดเจนอยู่แล้ว

เอกสารอ้างอิง

1. นภาพร ยังวิเศษ, 2536, **เรื่องการสกัดและวิเคราะห์สารอินทรีย์บางตัวจากทองพันชั่ง**, ภาควิชาเคมี, คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
2. นันทวัน บุณยะประภัสร, 2530, **ก้าวไปกับสมุนไพร เล่ม 3**, กรุงเทพฯ : ธรรกมลการพิมพ์
3. นิพนธ์ ตังคณานุรักษ์, สมชายเอื้อพัฒนานุกูล และคณิตา ตังคณานุรักษ์, **เทคนิคการแยกสารด้วยวิธีโครมาโทกราฟฟี**, หน้า 1-107.
4. มหาวิทยาลัยรามคำแหง, 2542, **คู่มือการเรียนรู้ด้วยตนเองเรื่อง ลิดควิดโครมาโทกราฟฟีชั้นสูง**, สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยรามคำแหง.
5. วรรณดี แต้โสตภิตกุล, 2538, **การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของพืชสมุนไพรที่ใช้ลดความดันโลหิต**. เชียงใหม่เภสัชกรรม 4(1) : 23-30.
6. อาภรณ์ สุราฤทธิ์, 2543, **เรื่องการสกัดนิมบินจากน้ำมันสะเดาโดยวิธีสกัดของเหลวด้วยของเหลว**, ภาควิชาวิศวกรรมเคมี, คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.
7. Chen, G., Zhange, H.W. and Ye, J.N., 2000, "Determination of rutin and quercetin in plants by capillary electrophoresis with electrochemical detection", **Journal of Analytica Chimica Acta**, vol. 423, pp 69-76.
8. Kazuo, I.H., takashi, F.T. and Yasuji, K.Y., 2001, "Determine of rutin in human by Hight Performance Liquid Chromatography utilizing solid phase extraction and ultraviolet detection", **Journal of Chromatography b**, vol. 759, pp.161-168.
9. Kodama, O., Ichikawa, H. and Akatsuka, M.T., 1993, "Isolation and identification of and antifungal nathopyran derivative from Rhinacanthus nasuthus", **Journalof Natural Product**, vol. 2, pp 292-294.
10. Kuwahara, S., Awia, N. and Kodama, O., 1995, "A revised structure for Rhinacanthone", **Journal of Natural Product**, vol. 9, pp 1455-1458.

11. Sendl, A., Chen, J.L., Jolad, S.D., Stoddart, C., Rozhon, E. and Kernan, M.,1996, "Two new napthoquinonees with antiviral activity from Rhinacanthus nasuthus", **Journal of Natural Product**, vol.8, pp 808-811.

12. Wu , T.S., Tien, J.J., Yeh, M.Y. and Lee, K.H., 1988, "Isolation and cytotoxicity of rhinacanthin -A and -B, Two napthoquinone, from Rhinacanthus nasutus", **Phytochemistry**, Vol.12, pp 3787-3788.

13. Wu, T.S., Hsu, H.C., Wu, P.L., Leu, Y.L., Chan, Y.Y., Chan, C.Y., Yeh, M.Y. and Tien, H.J., 1998a, "Napthoquinone esters from the root of Rhinacanthus nasatus", **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, vol.3, pp 413 –418.

14. Wu,T.S., Hsu, H.C., Teng, C.M. and Wu, Y.C., 1998b, "Rhinacanthin – Q, a napthoquinone from the Rhinacanthus nasatus and its biological activity", **Phytochemistry**, vol.7, pp 2001-2003.

15. Wu, T.S., Yang, C.C., Wu, PIL. AndLiu, L.K., 1995, "A quinal and steroids from the leaves and stem of Rhinacanthus nasuthus", **Phytochemistry**, vol.4, pp 1247-1249.

16. http:// www.pdrhealth.com/drug_info/nmdrugprofiles/nutsupdrugs/rut_0230. shtml, 7 เมษายน 2547

ภาคผนวก ก

โครมาโทกราฟฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

(High Performance Liquid Chromatography) [15]

บทนำ

จากการที่เราทราบว่าโครมาโทกราฟฟีของเหลวแบบธรรมดา นั้นใช้คอลัมน์ขนาดใหญ่มีเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 1-10 ซั่วโมงและมีความยาวของคอลัมน์ 10-100 เซนติเมตร ภายในคอลัมน์นั้นจะบรรจุเฟสที่อยู่กับที่มีอนุภาคค่อนข้างใหญ่ที่ใช้เป็นตัวดูดซับ (Adsorbent) เช่น อะลูมินา (Alumina) หรือซิลิกาเจล (Siliga gel) หรืออาจจะใช้เฟสของเหลวที่เคลือบบนโซลิดซับพอร์ทก็ได้ เมื่อนำไปใช้แยกสารผสมจะต้องอีลูทด้วยเฟสที่เคลื่อนที่ที่เหมาะสม ซึ่งเฟสที่เคลื่อนที่นี้จะเคลื่อนที่พาสารถูกดูดซับได้น้อยบนผิวของเฟสที่อยู่กับที่ให้ผ่านออกมาจากคอลัมน์ตามแรงโน้มถ่วงของโลก ซึ่งเกิดขึ้นช้ามากจะได้รีโซลูชั่นต่ำ ยิ่งในกรณีที่สารผสมมีส่วนประกอบซับซ้อนมากจะแยกตัวด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟฟีของเหลวแบบธรรมดาจะไม่ได้ผล สิ้นเปลืองเวลา การทำปริมาณวิเคราะห์ให้ผลที่ไม่ถูกต้อง จึงได้มีการพัฒนาระบบโครมาโทกราฟฟีของเหลวแบบธรรมดาให้มีประสิทธิภาพในการแยกสารผสมออกจากกันให้เร็วขึ้นเหมือนกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟฟี ก็โดยการใช้ลูกสูบคุณภาพสูงอัดเฟสที่เคลื่อนที่ด้วยความดันสูงเพื่อช่วยให้ของเหลวไหลเร็วขึ้น และได้ใช้ขนาดเฟสที่อยู่กับที่ให้มีขนาดเล็กลงสำหรับบรรจุลงในคอลัมน์เพื่อให้พื้นที่ผิวสัมผัสของเฟสที่อยู่กับที่เกิดแรงกระทำต่อสารผสมที่ต้องการแยกให้มากขึ้น ภายใต้สภาวะดังกล่าวทำให้โครมาโทกราฟฟีของเหลวมีสมรรถนะสูงจึงเรียกว่า โครมาโทกราฟฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

โครมาโทกราฟฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง จัดเป็นเทคนิคการแยกและวิเคราะห์สารที่อาศัยหลักการเดียวกับแก๊สโครมาโทกราฟฟี เพียงแต่ต่างกันที่เฟสที่เคลื่อนที่โดยโครมาโทกราฟฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง นั้นใช้เฟสที่เคลื่อนที่เป็นของเหลว

ทั้งเครื่องโครมาโทกราฟฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูงและเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟฟีต่างเป็นเทคนิคที่มีสมรรถนะสูง เพียงแต่ว่าเทคนิค เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟฟี จะใช้แยกหรือวิเคราะห์เฉพาะสารที่ระเหยกลายเป็นไอ และไม่สลายตัวที่อุณหภูมิสูงหรือใช้แยกสารที่ทำเป็นอนุพันธ์ที่ระเหยเป็นไอได้ สำหรับเทคนิคโครมาโทกราฟฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง สามารถแยกสารผสมที่อาจมีมวลโลเลกุลสูงๆ หรือทั้งผลิตภัณฑ์สารอินทรีย์และอนินทรีย์ได้ ความแตกต่างที่

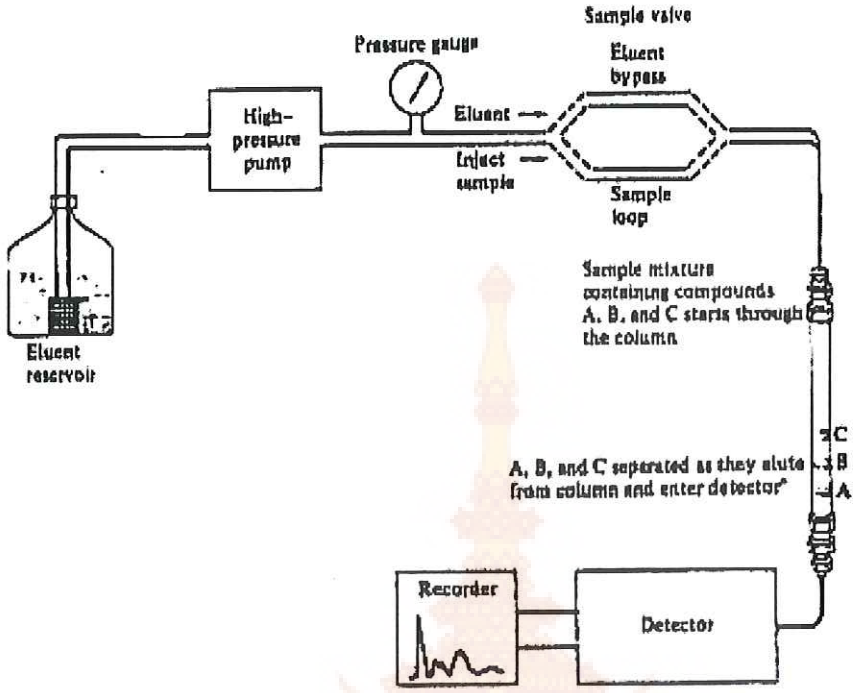
สำคัญระหว่างเทคนิคโครมาโทกราฟฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง และแก๊สโครมาโทกราฟฟี มีด้วยกัน 3 ข้อ

1. สัมประสิทธิ์การแพร่ (Diffusion coefficient) ของสารตัวอย่างในเฟสที่เคลื่อนที่ในเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวแบบสมรรถนะสูง จะน้อยกว่าเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟฟี หรือกล่าวว่าอัตราการแพร่ของสารในของเหลวจะต่ำกว่าในแก๊ส (3×10^3) ถึง (3×10^4) เท่า

2. ความหนืดของของเหลวที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ในเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวแบบสมรรถนะสูง จะมีค่ามากกว่าในเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟฟีหรือกล่าวว่าในเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวแบบสมรรถนะสูง ของเหลวมีความหนืดมากกว่าแก๊ส 20 – 30 เท่า

3. แรงดันภายใต้ความดันจะมีผลต่อเฟสที่เคลื่อนที่ (เฟสของเหลว) น้อยกว่าเฟสที่เคลื่อนที่เป็นแก๊ส

ในการวิเคราะห์สารด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง เฟสเคลื่อนที่จะถูกอัดด้วยลูกสูบคุณภาพสูงเข้าสู่คอลัมน์ด้วยอัตราการไหล 1 - 5 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อนาที ถ้าองค์ประกอบของเฟสที่เคลื่อนที่มีเพียงองค์ประกอบเดียวและคงที่ จะเรียกขบวนการนี้ว่าไอโซคราติกอีลูชัน (Isocratic elution) ในทางกลับกันถ้าองค์ประกอบของเฟสที่เคลื่อนที่มีการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบขณะที่แยกสาร จะเรียกขบวนการนี้ว่า เกรเดียนต์ อีลูชัน (Gradient elution) ลักษณะการทำเกรเดียนต์ อีลูชันจะเหมือนกับการทำโปรแกรมอุณหภูมิ หลังจากที่เฟสเคลื่อนที่ผ่านตลอดในคอลัมน์สารที่ถูกแยกจะออกจากคอลัมน์เข้าสู่เครื่องตรวจวัดสัญญาณ อย่างไรก็ตามสารบางชนิดไม่สามารถจะตรวจจับได้ด้วยเทคนิคเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวแบบสมรรถนะสูง จึงจะต้องมีการเปลี่ยนให้สารดังกล่าวมาอยู่ในรูปที่ตรวจวัดได้หลังจากที่ผ่านคอลัมน์มาแล้ว เรียกขบวนการนี้ว่า post – column dramatization เทคนิคโครมาโทกราฟฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ทั้งสองเฟสจะสามารถเกิดแรงกระทำต่อสารตัวอย่าง แรงกระทำอาจเป็นพันธะไฮโดรเจนซึ่งไม่เกิดขึ้นเลยในเฟสเคลื่อนที่ที่เป็นแก๊ส แต่อาจจะเกิดขึ้นกับเฟสที่เคลื่อนที่ ในเทคนิคโครมาโทกราฟฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง จึงกล่าวได้ว่าการแยกสารด้วยเทคนิคเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวแบบสมรรถนะสูง สามารถแยกสารผสมได้เร็วมากให้ผลที่ถูกต้องและแยกได้ดีในสภาวะเหมาะสมกว่าเทคนิค GC



รูปที่ ก.1 เครื่องมือพื้นฐานของเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวแบบสมรรถนะสูง

ส่วนประกอบของเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวแบบสมรรถนะสูง

เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง โดยทั่วไปมีส่วนประกอบดังนี้

1. ภาชนะใส่เฟสที่เคลื่อนที่ (Solvent reservoir)
2. ปั๊มที่มีความดันสูง (High – pressure pump) ใช้สำหรับอัดของเหลวที่เป็นเฟสที่เคลื่อนที่เข้าสู่คอลัมน์ด้วยความดันสูง พร้อมกับอุปกรณ์วัดความดัน (Pressure gauge) เพื่อวัดความดันของปั๊มก่อนเข้าสู่คอลัมน์
3. บริเวณที่ฉีดสารตัวอย่าง (Sample injection system)
4. คอลัมน์สำหรับแยกสาร (Column)
5. ตัววัดสัญญาณ (Detector)
6. เครื่องบันทึกข้อมูล (Recorder)

ส่วนประกอบต่างๆ ดังกล่าวข้องต้นพอจะกล่าวรายละเอียดได้ดังนี้

ภาชนะที่บรรจุเฟสที่เคลื่อนที่ (Mobile phase reservoir) เป็นขวดสำหรับใส่ตัวทำละลายที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ ในทางวิเคราะห์ขวดที่บรรจุเฟสเคลื่อนที่นี้ควรมีขนาดความ จุประมาณ 1 ลิตร ในปัจจุบันขวดที่ใส่เฟสเคลื่อนที่นี้จะมีอุปกรณ์ที่ใช้ในการไล่อากาศที่ละลายอยู่ เช่น แก๊สออกซิเจน จุดประสงค์ของการไล่อากาศที่ละลายอยู่ในเฟสเคลื่อนที่นี้ก็คือต้องการกำจัดแก๊สออกซิเจนซึ่งอาจจะทำปฏิกิริยากับเฟสเคลื่อนที่บางชนิดได้ หรือแม้แต่กับเฟสคงที่ที่อยู่ในคอลัมน์ นอกจากนั้นยังเป็นการลดโอกาสที่จะทำให้เกิดฟองอากาศในเครื่องตรวจหาขณะการทดลองอยู่ การไล่แก๊สที่ละลายอยู่นี้จะต้องทำเมื่อตัวทำละลายเป็นพวกสารมีขั้วและมีบางบริษัทที่ผลิตเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวแบบสมรรถนะสูง สามารถใช้กับระบบที่ไม่ต้องไล่แก๊สก่อนได้

ระบบของปั๊มในเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวแบบสมรรถนะสูงมีความต้านทานการไหลของเฟสเคลื่อนที่ที่จะไหลผ่านคอลัมน์ซึ่งมีอนุภาคขนาดเล็กบรรจุอยู่ ความต้านทานการไหลที่ว่านี้จะมากเมื่อใช้อนุภาคเล็กๆ และคอลัมน์มีขนาดเล็กอีกด้วยจึงจำเป็นจะต้องใช้ความดันที่สูงดันเฟสเคลื่อนที่ให้ไหลไป ปั๊มชนิดนี้แบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ

1) เมชานิคอล ปั๊ม (Mechanical pump) เป็นปั๊มที่ควบคุมให้อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่มีค่าคงที่

2) นิวเมติค ปั๊ม (Pneumatic pump) เป็นปั๊มที่ควบคุมให้ความดันของการไหลของเฟสที่เคลื่อนที่มีค่าคงที่

1) เมชานิคอล ปั๊ม ปั๊มประเภทนี้แบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ

(1) สริงปั๊ม (Syringe pump) ปั๊มชนิดนี้มีลักษณะเป็นกระบอกสูบ ซึ่งจะบรรจุตัวทำละลายไว้แล้วมีก้านสูบ ซึ่งจะเคลื่อนที่เป็นแบบสกรูผ่านกล่องเกียร์โดยมีมอเตอร์เป็นตัวควบคุมอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่โดยจะไปทำให้ก้านสูบเคลื่อนที่เร็วขึ้นหรือช้าลง

(2) ปั๊มแบบชักลูกสูบ (Reciprocating pumps) ปั๊มชนิดนี้เป็นที่นิยมใช้กันมาก ก้านสูบของปั๊มจะเคลื่อนที่เข้าออกตลอดเวลาการทำงาน เมื่อลูกสูบเคลื่อนที่เข้าจะเป็นการดันเฟสเคลื่อนที่ให้เข้าสู่คอลัมน์ และเมื่อเคลื่อนออกจะดึงเอาเฟสเคลื่อนที่จาก รีเซอเวอร์ เข้าสู่ลูกสูบผ่านวาล์วการควบคุมอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่กระทำได้โดยการปรับอัตราการชักลูกสูบผ่านมอเตอร์และคอมพิวเตอร์

2) นิวเมติค ปั๊ม

ปั๊มชนิดนี้เป็นปั๊มทีนิยมใช้กันอย่างกว้างขวางอีกชนิดหนึ่งในสมัยใหม่ ซึ่งเป็นปั๊มชนิดง่ายความดันของแก๊สจะกระทำต่อภาชนะที่ยืดหยุ่นได้ ซึ่งภายในบรรจุด้วยเฟสเคลื่อนที่เครื่อง LC ที่ใช้ปั๊มชนิดนี้จึงจะช่วยลดปัญหาเนื่องจากการละลายของแก๊สที่ความดันสูง และการเกิด

ฟองอากาศหรือต่อภาชนะที่บรรจุเฟสเคลื่อนที่ ปั๊มชนิดนี้สามารถให้ความดันได้สูงสุดประมาณ 3,000 พีเอสไอ ซึ่งขีดจำกัดของมันขึ้นอยู่กับความดันของแก๊สที่ใช้ โดยทั่วไปแล้ว ไดเรค เพรสเชอร์ ปั๊ม (Direct–pressure pump) ที่ใช้กันในท้องตลาดมีความสามารถในการให้ความดันได้สูงสุดประมาณ 1,500 พีเอสไอ ทั้งนี้เพื่อความปลอดภัยของการใช้งานของแก๊สที่ถูกอัดที่ความกดดันสูง

อุปกรณ์ที่ใช้ตรวจวัดความดัน (Pressure Monitoring Devices)

อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับตรวจวัดความดันซึ่งอยู่ระหว่างทางเข้าของคอลัมน์กับปั๊ม อุปกรณ์ตรวจวัดนี้จะบอกความดันของเฟสเคลื่อนที่ก่อนเข้าสู่คอลัมน์ ความดันนี้จะเป็นสิ่งที่บอกว่าการอุดตันหรือไม่ หรือการทำงานของปั๊มล้มเหลวหรือไม่ นอกจากนี้การทราบความดันของเครื่องจะช่วยทำให้การปรับพารามิเตอร์ต่างๆ เป็นไปอย่างเหมาะสมที่สุด

อุปกรณ์ที่ใช้ตรวจวัดความดัน ปัจจุบันมีอยู่ 2 ชนิด คือ

1) สายส่งความดัน (Pressure transducer) อุปกรณ์ชนิดนี้ราคาค่อนข้างแพง แต่ให้ความถูกต้องดีและสามารถติดตั้งร่วมกับอุปกรณ์ที่ใช้เตือนเมื่อมีความดันต่ำเกินไปหรือสูงเกินไปหรือติดตั้งร่วมกับเครื่องตัดการทำงานของปั๊ม

2) โบดอนทิว (Bourdon tube) อุปกรณ์นี้ราคาค่อนข้างถูก การทำงานก็ให้ความถูกต้องต่ำและไม่สามารถติดตั้งร่วมกับอุปกรณ์ที่ใช้ป้องกันการทำงานผิดปกติของปั๊มได้

อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับทำเกรเดียนต์ อีลูชัน (Gradient elution)

โดยทั่วไปการแยกสารผสมที่ซับซ้อนและมีค่า k' แตกต่างกันมากๆ มักจะมีปัญหาเสมอ วิธีที่สะดวกที่สุดในการแก้ปัญหา คือการใช้เกรเดียนต์ อีลูชัน ใน LC การทำเกรเดียนต์ อีลูชัน จะทำได้โดยการเปลี่ยนองค์ประกอบของเฟสเคลื่อนที่ คือ ความเป็นกรด-เบส (pH) และความแข็งแรงของไอออน (Ionic strength) ของเฟสเคลื่อนที่ซึ่งดีกว่าเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ สารบางตัวที่แยกไม่ออกด้วยวิธีการไอโซเครติค อีลูชัน (Isocratic elution) แต่เมื่อใช้เกรเดียนต์ อีลูชัน ก็สามารถแยกออกได้

เครื่องตรวจวัด (Detector)

สิ่งที่ต้องการสำหรับเครื่องตรวจวัดใน LC สมัยใหม่ คือ ความไวของเครื่องตรวจวัดซึ่งสามารถทำการตรวจวัดสิ่งที่ออกมาจากคอลัมน์ได้อย่างต่อเนื่อง ดังนั้นเครื่องตรวจวัดในอุดมคติของ LC สมัยใหม่ควรจะมีลักษณะดังต่อไปนี้ คือ

- มีความไวสูงและให้สัญญาณตอบรับ (Response) ที่คาดคะเนได้
- ให้สัญญาณตอบรับได้กับสารทุกชนิด
- ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิและอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่
- เชื่อถือได้และง่ายต่อการใช้งาน

- ความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและสัญญาณตอบรับของเครื่องตรวจวัดมีสภาพเชิงเส้น (Linearity) ในช่วงกว้าง

- ไม่ทำลายสารตัวอย่าง

- ใช้ข้อมูลเกี่ยวกับคุณภาพวิเคราะห์สำหรับพีคที่ต้องการตรวจสอบ

ยูวี – วิสิเบิล ดีเทคเตอร์ (UV – VIS Detectors)

หลักการทำงานของเครื่องตรวจหาชนิดนี้อาศัยการดูดกลืนแสงยูวีของสารตัวอย่าง เครื่องชนิดนี้เป็นที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางในโครมาโทกราฟฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง เพราะเครื่องตรวจนี้มีลักษณะที่พิเศษ คือ ไม่ไวต่อการเปลี่ยนแปลงของการไหลและอุณหภูมิ แต่ค่อนข้างจะมีความไวสูงกับสารประกอบอินทรีย์เป็นส่วนใหญ่ ในปัจจุบันยูวี – วิสิเบิล ดีเทคเตอร์ ที่นิยมใช้ในโครมาโทกราฟของเหลวแบบสมรรถนะสูง แบ่งออกได้เป็น 3 ชนิด คือ

1) ดีเทคเตอร์ที่ต้องกำหนดความยาวคลื่น(Fixed – wavelength UV detector) ดีเทคเตอร์ชนิดนี้ประกอบด้วย เซลล์สำหรับบรรจุสารตัวอย่าง (Flow - through cell) และแหล่งกำเนิดแสง (Light source) ที่ใช้เป็นแบบหลอดที่ทำด้วยปรอทที่ความดันต่ำ ซึ่งจะให้แสงที่เปล่งออกมาที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร โดยทำให้เป็นลำแสงด้วยเลนส์ที่ทำด้วยควอทซ์ แล้วให้แสงนี้ผ่านเซลล์ของสารละลายมาตรฐานและสารตัวอย่าง แสงที่ผ่านออกมาจะผ่านการกรองด้วยฟิลเตอร์แล้วจึงจะผ่านไปยังโฟโตเซลล์ (Photo cell) หรือโฟโตไอโอด 2 ตัว โดยทั่วไป flow - through cell จะมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 มิลลิเมตร และยาว 10 มิลลิเมตร และมีปริมาตร 8 ไมโครลิตร

นอกจาก mercury lamp แล้วอาจใช้แหล่งกำเนิดแสงอย่างอื่นที่ใช้ได้กับ Fixed – wavelength detector

2) วาเรียเบิล ยูวี-วิส ดีเทคเตอร์ (Variable UV – VIS detectors) ดีเทคเตอร์ชนิดนี้ค่อนข้างจะมีประโยชน์ในการนำมาใช้เป็น แอลซี ดีเทคเตอร์ (LC detector) ซึ่งประกอบด้วย D_2 และ W lamps หลอดทั้งสองนี้สามารถใช้วัดแสงได้ในช่วง 190 - 800 นาโนเมตร นอกจากนี้ยังมีโมโนโครเมเตอร์ เพื่อใช้สำหรับเลือกความยาวคลื่นตามที่ต้องการได้ ดังนั้นเครื่องดีเทคเตอร์นี้จึงมีประโยชน์มาก สามารถใช้ตรวจหาสารตัวอย่างได้ทั่วไป เพราะสามารถเลือกความยาวคลื่นที่สารตัวอย่างดูดกลืนแสงได้ดีที่สุด และเหมาะมากในการนำมาใช้กับเกรเดียนต์ อีลูชัน และตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่นำมาใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่จะไม่ดูดกลืนแสงยูวี เช่น อะซีโตไนไตรล์

3) โฟโตไดโอด แอเรดีเทคเตอร์ (Photodiode array detectors ,PDA) ดีเทคเตอร์ชนิดนี้จัดว่าเป็น โซลิดสเตท ดีเทคเตอร์ ซึ่งประกอบไปด้วยโฟโตไดโอดจำนวนมาก สามารถวัดแสงได้หลายๆ ความยาวคลื่น ในขณะเดียวกันระบบทางเดินของแสงจะแตกต่างจากยูวี - วิสิเบิล สเปกโตโฟโตมิเตอร์โดยทั่วไป กล่าวคือระบบทางเดินของแสงจะเป็นแบบย้อนแสง (Reverse

Optic) คือแสงจากแหล่งกำเนิด หรือจากหยอดยูวีจะผ่านไปยังเซลล์สำหรับบรรจุสารตัวอย่าง ก่อนที่จะไปยังโมโนโครเมเตอร์หรือเกรตติง เมื่อแสงที่ตกกระทบบนเกรตติงจะกระจายออกไปเป็นความยาวคลื่นต่างๆ แล้วจะไปตกกระทบกับแผงของโฟโตไดโอด เนื่องจากเครื่องดีเทคเตอร์นี้สามารถค้นหาความยาวคลื่นของยูวี (Scan UV- VIS spectrum) ได้รวดเร็วมาก (ประมาณ 10 m sec.ต่อ1 สเปกตรัม) ดังนั้นการนำเอาเครื่องดีเทคเตอร์มาใช้กับเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวแบบสมรรถนะสูง จะทำให้ทราบข้อมูลของพีคต่างๆ ในยูวีสเปกตรัมที่อยู่ในโครมาโทแกรมได้อย่างดี เหล่านี้สามารถเก็บเข้าไว้ในคอมพิวเตอร์ ซึ่งสามารถนำออกมาใช้เมื่อไหร่ก็ได้

เครื่องดิฟเฟอเรนเชียล รีฟรัทมิเตอร์ (Differential refract meters)

เป็นเครื่องมือที่ได้รับความนิยมมากในเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวแบบสมรรถนะสูง รองมาจากเครื่องยูวี ดีเทคเตอร์ ซึ่งใช้ตรวจสอบความแตกต่างของดรรชนีหักเห (Refractive index, RI) อย่างต่อเนื่องระหว่างเฟสเคลื่อนที่กับเฟสเคลื่อนที่ที่สารประกอบของตัวถูกละลายอยู่ขณะผ่านออกจากคอลัมน์ เนื่องจากดีเทคเตอร์ชนิดนี้จัดอยู่ในแบบบลังค์ ปอปเปอร์ตี้ (Bulk property) ดังนั้นมันจึงได้สัญญาณกับตัวทำละลายได้ทั้งหมด ตราบที่ตัวถูกละลายมีค่าดรรชนีหักเหต่างจากเฟสเคลื่อนที่เครื่องวัด RI ที่ผลิตออกมาสู่ตลาด ที่สำคัญๆ มีอยู่ 3 ชนิด คือ

1) เฟรสเนล รีฟรัทมิเตอร์ (Fresnel refract meters)

2) ดีเฟรชชัน รีฟรัทมิเตอร์ (Deflection refract meters)

3) อินเตอร์เฟอร์โรเมทริค รีฟรัทมิเตอร์ (Interferometric refract meters)

หลักการและทำงานของเครื่องดีเทคเตอร์นี้อยู่บนฐานของ กฎของเฟรสเนล (Fresnel' s law reflection) ซึ่งกล่าวว่า ปริมาณของแสงที่สะท้อนออกมาที่แก้วและของเหลวที่ประกบกันอยู่จะแปรเปลี่ยนตามมุมของแสงที่ตกกระทบและค่าดรรชนีหักเหของของเหลวและของแก้วนั้น เพื่อให้ได้สภาพไวของเครื่องสูงสุด และเป็นเชิงเส้น (Linearity) นั้นต้องให้มุมตกกระทบของแสงบนแก้วที่อยู่กับของเหลวน้อยกว่ามุมวิกฤตเล็กน้อย การลดความไม่แน่นอนของสัญญาณที่เกิดจากสัญญาณรบกวนและอุณหภูมิให้มีน้อยที่สุดนั้นทำได้ด้วยการวัดเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าดรรชนีหักเหของสารตัวอย่างกับสารละลายเปรียบเทียบอยู่ตลอดเวลา

เครื่อง ดีเฟรชชัน รีฟรัทมิเตอร์ (Deflection refract meters)

เป็นดีเทคเตอร์ที่ธรรมดาที่สุดของ RI แสงจากแหล่งกำเนิดแสง จะถูกจำกัดด้วยการผ่านเครื่องกั้นแสง แล้วแสงที่ออกมาจะถูกรวบรวมให้เป็นลำแสงโดยผ่านเลนส์ต่อไปยังเซลล์ของเครื่องดีเทคเตอร์ ในเซลล์นี้จะมีที่สำหรับใส่สารตัวอย่างและสารละลายเปรียบเทียบแยกออกจากกันด้วยแผ่นแก้วที่ตัดทแยงมุม เมื่อส่วนประกอบของเฟสเคลื่อนที่ในเซลล์ที่ใส่สารตัวอย่างเปลี่ยนไปค่าดรรชนีหักเหก็จะเปลี่ยนแปลงไปด้วย ทำให้แสงที่ออกมากระทบกระจก อี เกิดการเบนไปแล้วทำ

ให้แสงที่ไปตกกระทบบนโฟโตดีเทคเตอร์ เอฟ เกิดการเบนไปด้วยค่าดรรชนีหักเหที่แตกต่างกันจากการที่แสงผ่านสารตัวอย่างและสารเปรียบเทียบจะออกมาเป็นสัญญาณไฟฟ้าจากดีเทคเตอร์แล้วเข้าเครื่องขยายและส่งต่อไปยังเครื่องบันทึกเพื่อบันทึกโครมาโทแกรม

เครื่อง อินเตอร์เฟอร์โรเมทริค รีฟรัทมิเตอร์ (Interferometric refract meters)

เป็นดีเทคเตอร์ที่ใช้หลักการของ เชียร์ริ่งอินเตอร์เฟอร์โรมิเตอร์(Shearing interferometer) ในการวัดลำแสงจากแหล่งกำเนิดแสง จะถูกแบ่งออกเป็น 2 ลำแสงด้วย บลีม สปลิทเตอร์ (Beam splitter) แล้วถูกโฟกัสด้วยเลนส์ให้ลำแสงอ่านสารตัวอย่างและผ่านสารละลายเปรียบเทียบ ซึ่งปกติจะใส่ในเซลล์ขนาด 5 ไมโครลิตร กว้าง 3.2 มิลลิเมตร หลังจากนั้นลำแสงจะถูกนำมารวมกันด้วยเลนส์ และ บลีม สปลิทเตอร์ชุดที่สอง เพื่อให้แสงตกลงบนอินเตอร์เฟอร์โรมิเตอร์ ดีเทคเตอร์ ค่าดรรชนีหักเหที่ต่างกันของสารตัวอย่างและสารละลายเปรียบเทียบทำให้เกิดความแตกต่างของระยะทางที่แสงผ่าน ซึ่งวัดได้ด้วยอินเตอร์เฟอร์โรมิเตอร์ เป็นเศษส่วนของความยาวคลื่นแสง

ลักษณะเฉพาะของเครื่องดีเทคเตอร์ประเภทนี้สามารถใช้ได้กับตัวถูกละลายได้แทบทุกชนิด แต่มีสภาพไวต่ำไม่เหมาะที่จะนำมาใช้ในการตรวจหาสามารถที่มีปริมาณน้อยๆ ดีเทคเตอร์นี้ไวต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ จึงจำเป็นจะต้องควบคุมให้อุณหภูมิของเซลล์ของสาร แต่ดีเทคเตอร์ชนิดนี้ไม่ไหวต่อการเปลี่ยนแปลงของการไหล เป็นเครื่องที่ใช้ง่าย เชื่อถือได้ ไม่มีการทำลายสาร แต่ไม่เหมาะจะใช้กับเกรเดียนต์ อีลูชัน สำหรับการเพิ่มสภาพไวของดีเทคเตอร์นี้ สามารถทำได้โดยพิจารณาจากการเลือกใช้เฟสเคลื่อนที่ให้มีค่า RI ต่างจากสารตัวอย่างที่สนใจน้อยที่สุด ถึงแม้ว่าเครื่องดีเทคเตอร์นี้จะมีขนาดจำกัดบางในบางกรณี เช่น การใช้กับเกรเดียนต์ อีลูชัน ไม่ได้ก็ตาม แต่ก็ยังที่ที่นิยมใช้กันมากในเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวแบบสมรรถนะสูง โดยเฉพาะใช้เป็นดีแตอร์สำหรับแก๊สโครมาโทกราฟฟี

ดีเทคเตอร์ฟลูออเรสเซนต์ (Fluorescent Detector)

ดีเทคเตอร์ชนิดนี้จะมีสภาพไวสูงและเฉพาะ (Selective) เนื่องจากมันมีความสามารถในการวัดฟลูออเรสเซนต์ที่ได้ออกมาจากตัวถูกละลายบางชนิดเมื่อถูกกระตุ้น (Excited) ด้วยแสงยูวี แสงยูวีจากแหล่งกำเนิดให้ผ่านเครื่องกรองแสงหรือโมโนโครเมเตอร์ เพื่อให้แสงที่มีความยาวคลื่นตามที่ต้องการผ่านเข้าไปยังเซลล์ที่ใส่สารตัวอย่างที่ออกมาจากคอลัมน์ สารตัวอย่างจะให้ฟลูออเรสเซนต์ออกมาซึ่งมีความยาวคลื่นเฉพาะจะผ่านไปยังฟิลเตอร์หรือโมโนโครเมเตอร์เพื่อตัดแสงที่ไม่ต้องการออก จากนั้นจึงให้แสงผ่านเข้าไปยังดีเทคเตอร์ซึ่งเป็นโฟโตเซลล์ ดีเทคเตอร์ชนิดนี้มีประโยชน์มากเมื่อนำมาใช้ตรวจหาสาร ในสารตัวอย่างทางชีวภาพต่างๆ ที่มีปริมาณน้อยๆ เป็นต้น

เครื่อง คอนดัคติวิตี้ ดีเทคเตอร์ (Conductivity Detector)

ดีเทคเตอร์ชนิดนี้นำมาใช้ในการตรวจหาตัวถูกละลายที่มีประจุในเฟสเคลื่อนที่ที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ ดีเทคเตอร์นี้ไวต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิมาก ดังนั้นเวลาใช้งานจะต้องควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ตลอดเวลา เฟสเคลื่อนที่ออกจากคอลัมน์เข้าสู่ Conductivity cell เพื่อวัดค่าสเปสซิฟิคคอนดัคติวิตี้ (Specific conductivity) อย่างต่อเนื่อง ดีเทคเตอร์นี้จะให้ คอนดัคติวิตี้ที่เป็นเส้นตรงในช่วงของความเข้มข้นที่กว้างดีเทคเตอร์นี้เหมาะที่จะใช้กับระบบไอโซเครติค อีลูชัน (Isocratic elution) มากกว่าใช้ในระบบ เกรเดียนต์ อีลูชัน เนื่องจากเฟสเคลื่อนที่ในระบบ เกรเดียนต์ทำให้เบสไลน์ (Baseline) เกิดการเปลี่ยนแปลงได้ จึงทำให้มีข้อจำกัดอยู่บ้าง

ภาคผนวก ข

ข้อมูลผลการทดลองและการคำนวณ

ข.1 ข้อมูลผลการทดลอง

ข.1.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณรูตินของสารสกัดโดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ

ตารางที่ ข.1.1 ข้อมูลการวิเคราะห์ปริมาณรูตินจากสารสกัดทองพันชั่ง 10 กรัมโดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ

ตัวทำละลาย	พื้นที่พีค	ความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)	ปริมาณรูติน (ไมโครกรัมต่อกรัมทองพันชั่ง)
น้ำ	25,912	0.850	8.50
เอทานอล	94,854	3.330	33.30
เมทานอล	121,258	4.150	41.50

สกัดที่อุณหภูมิห้อง โดยใช้ตัวทำละลายปริมาตร 100 มิลลิลิตร (หรืออัตราส่วน 1:10) เวลา 3 ชั่วโมง

ข.1.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณรูตินของสารสกัดที่อุณหภูมิต่างๆ

ตารางที่ ข.1.2 ข้อมูลการวิเคราะห์ปริมาณรูตินสารสกัดทองพันชั่ง 10 กรัม ที่อุณหภูมิต่างๆ

อุณหภูมิ (^{o}C)	พื้นที่พีค	ความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)	ปริมาณรูติน (ไมโครกรัมต่อกรัมทองพันชั่ง)
40	31,788	1.11	11.10
50	38,752	1.27	12.70
60	82,115	2.89	28.90
70	141,573	4.89	48.90

ตัวทำละลายคือ เอทานอล ปริมาตร 100 มิลลิลิตร (หรืออัตราส่วน 1:10) เวลา 20 นาที

ข.1.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณรูตินของสารสกัดโดยใช้อัตราส่วนระหว่างน้ำหนักทองพันชั่ง ปริมาตรตัวทำละลายต่างๆ

ตารางที่ ข.3 ข้อมูลการวิเคราะห์ปริมาณรูตินจากสารสกัดทองพันชั่ง 10 กรัม โดยใช้อัตราส่วนระหว่างน้ำหนักทองพันชั่งต่อปริมาตรตัวทำละลายต่างๆ

อัตราส่วน	พื้นที่พีค	ความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)	ปริมาณรูติน (ไมโครกรัมต่อกรัมทองพันชั่ง)
1:5	294,557	9.70	48.50
1:10	159,125	5.55	55.5
1:20	75,132	2.82	57.2
1:40	43,126	1.45	58.2

ตัวทำละลายคือ เอทานอล สกัดที่อุณหภูมิห้อง เวลา 3 ชั่วโมง

ข.1.4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณรูตินสูงสุดที่สกัดได้จากส่วนต่างๆ ของทองพันชั่ง โดยสกัดด้วย Soxhlet

ตารางที่ ข.4 ข้อมูลการวิเคราะห์ปริมาณรูตินสูงสุดจากสารสกัดทองพันชั่ง 10 กรัม โดยใช้ส่วนต่างๆ ของทองพันชั่ง

ส่วนต่างๆของทองพันชั่ง	พื้นที่พีค	ความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)	ปริมาณรูติน (ไมโครกรัมต่อกรัมทองพันชั่ง)
ลำต้น	22,098	0.7	12.6
ใบ	199,269	7	126.0

ตัวทำละลายคือเมทานอล ปริมาตร 180 มิลลิลิตร เวลา 3 ชั่งโมง

ข.2 การคำนวณหาปริมาณรูติน

- ตัวอย่างการคำนวณปริมาณรูตินที่สกัดด้วยเมทานอล ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

นำพื้นที่ พีค ที่วัดได้จาก HPLC อ่านค่าความเข้มข้นจากรูป ค.1

อ่านจากรูปที่ ค.1 ได้ความเข้มข้น 4.15 มิลลิกรัมต่อลิตร (ppm)

ในสารสกัดเมทานอล 1000 มิลลิลิตร มีรูติน 4.15 มิลลิกรัม

ในสารสกัดเมทานอล 100 มิลลิลิตร มีรูติน (4.15 x 100) / 1000 = 0.4150 มิลลิกรัมหรือ 415 ไมโครกรัม

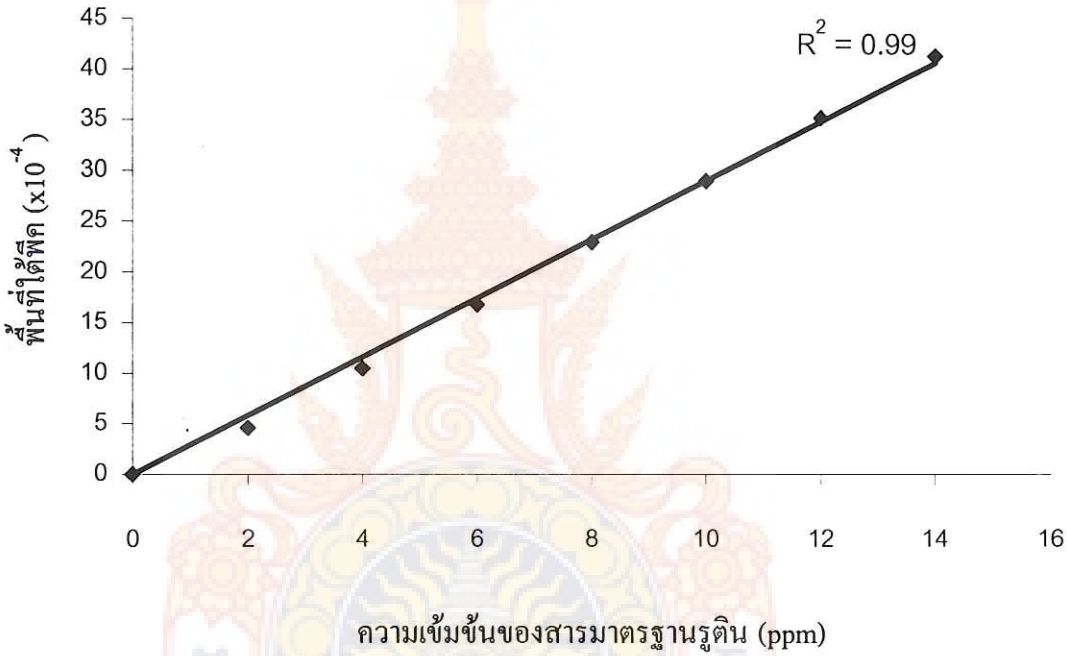
จากการสกัดใช้ทองพันชั่ง 10 กรัม

ในทองพันชั่ง 10 กรัมมีปริมาณรูติน 415 ไมโครกรัม

ในทองพันชั่ง 1 กรัมมีปริมาณรูติน 415 /10 = 41.5 ไมโครกรัม/กรัมทองพันชั่ง

ภาคผนวก ค

กราฟมาตรฐานรูตินและพื้นที่ใต้พีคที่อ่านได้จากเครื่อง HPLC



รูปที่ ค.1 กราฟมาตรฐานรูติน

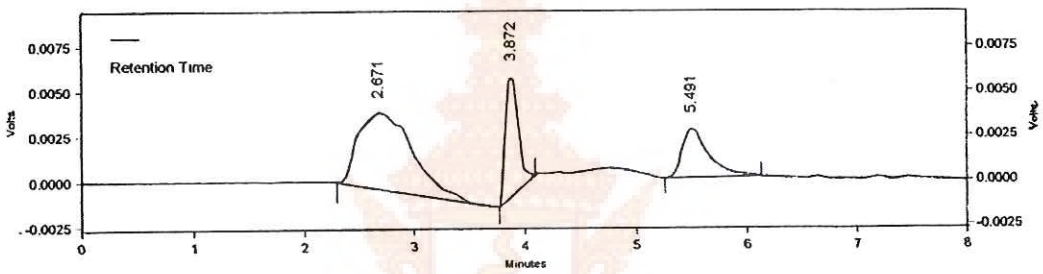
ตารางที่ ค.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณรูตินที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้น(พีพีเอ็ม)	พื้นที่ใต้พีค
2	45,976
4	104,646
6	167,468
8	229,004
10	289,889
12	351,593
14	412,428

ภาคผนวก ง

โครมาโทแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

ง.1 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานรูติน

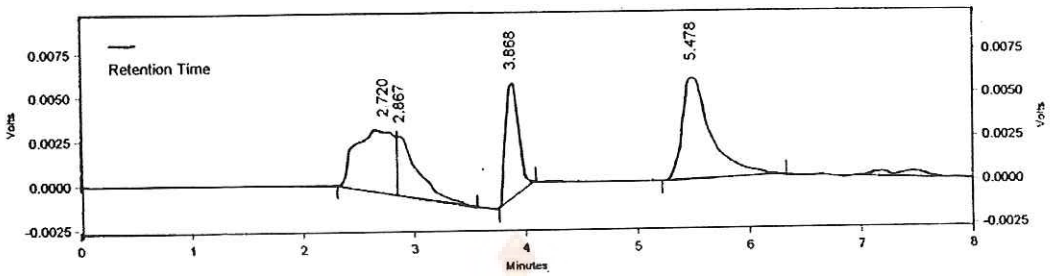


Detector A (260nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent
1	2.671	147710	60.05	4209	31.02
2	3.872	52295	21.26	6660	49.09
3	5.491	45976	18.69	2697	19.88
Totals		245981	100.00	13566	100.00

รูปที่ ง.1.1 โครมาโทแกรมของพีคสารละลายมาตรฐานรูตินความเข้มข้น 2 พีพีเอ็ม

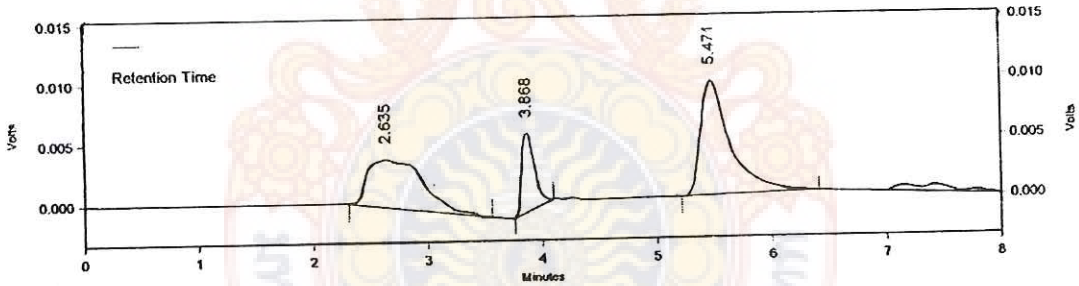
จากรูปที่ ง.1.1 พบว่าโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานรูตินจะประกอบด้วยพีคที่ชัดเจน 3 พีค ซึ่งแต่ละพีคเราไม่สามารถทราบได้ว่าพีคใดเป็นพีคของสารมาตรฐานรูติน ดังนั้นจึงได้ทำการเตรียมสารมาตรฐานรูตินที่หลายๆ ความเข้มข้น แล้วสังเกตผลที่ได้ว่าพีคใดที่เปลี่ยนพื้นที่ใต้พีคตามความเข้มข้น ก็แสดงว่าเป็นสารมาตรฐานรูติน ส่วนพีคที่เหลือเป็นพีคของตัวทำละลาย



Detector A
(260nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent
1	2.720	78906	28.50	3446	18.03
2	2.867	42146	15.22	3247	16.99
3	3.868	51141	18.47	6564	34.34
4	5.478	104646	37.80	5855	30.64
Totals		276839	100.00	19112	100.00

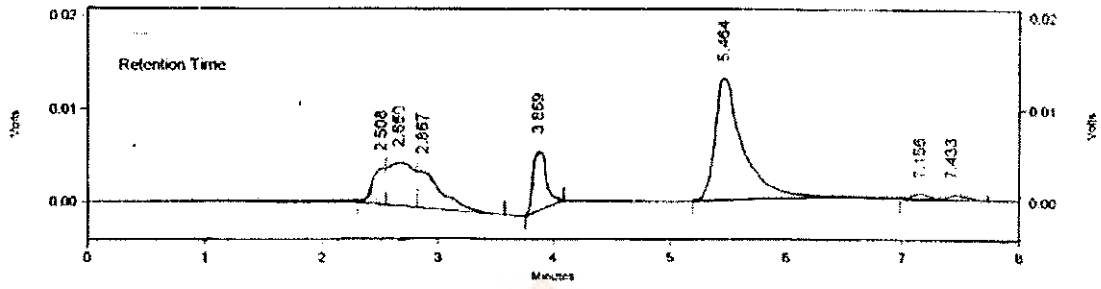
รูปที่ ง.1.2 โครมาโทแกรมของพีคสารละลายมาตรฐานรูตินความเข้มข้น 4 พีพีเอ็ม



Detector A
(260nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent
1	2.635	136235	38.34	4029	20.00
2	3.868	51604	14.52	6568	32.61
3	5.471	167468	47.13	9544	47.39
Totals		355307	100.00	20141	100.00

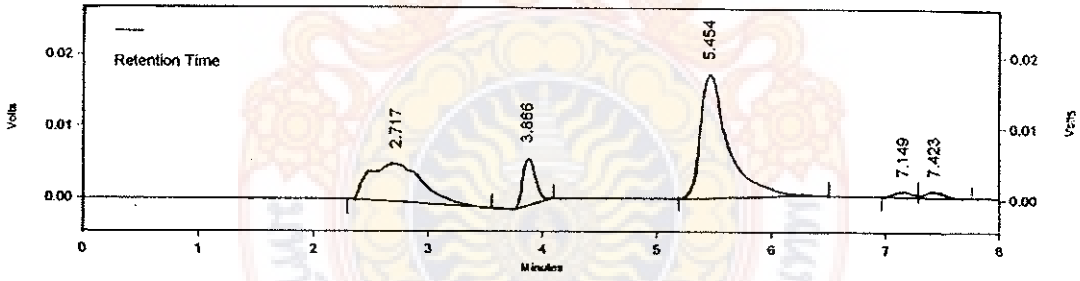
รูปที่ ง.1.3 โครมาโทแกรมของพีคสารละลายมาตรฐานรูตินความเข้มข้น 6 พีพีเอ็ม



Detector A
(260nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent
1	2.508	31266	6.97	3950	11.82
2	2.660	69323	15.46	4574	13.68
3	2.867	53065	11.83	4038	12.08
4	3.869	51686	11.53	6564	19.64
5	5.464	229004	51.07	13198	39.48
6	7.156	6009	1.34	515	1.54
7	7.433	8066	1.80	590	1.77
Totals		448419	100.00	33429	100.00

รูปที่ ง.1.4 โครมาโทแกรมของพีคสารละลายมาตรฐานรูตินความเข้มข้น 8 พีพีเอ็ม



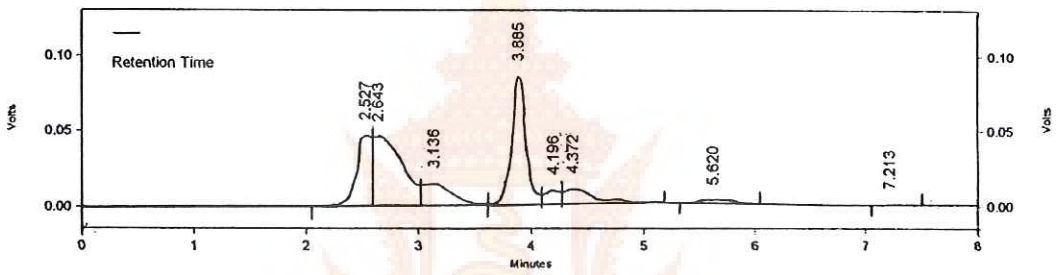
Detector A
(260nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent
1	2.717	170313	32.14	5260	17.39
2	3.866	51728	9.76	6528	21.58
3	5.454	289889	54.70	17062	56.41
4	7.149	7705	1.45	648	2.14
5	7.423	10310	1.95	749	2.48
Totals		529944	100.00	30247	100.00

รูปที่ ง.1.5 โครมาโทแกรมของพีคสารละลายมาตรฐานรูตินความเข้มข้น 10 พีพีเอ็ม

จากรูปที่ ง.1.2 - ง.1.5 พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารมาตรฐานรูตินขึ้นเรื่อยๆ พื้นที่ใต้พีคของพีคที่ 3 จะเพิ่มขึ้นตามสัดส่วนการเพิ่มความเข้มข้นของสารมาตรฐานรูติน ส่วนพีคที่ 1 และ 2 พื้นที่ใต้พีคจะไม่เปลี่ยนแปลงหรือเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย แสดงให้เห็นว่าพีคที่ 3 เป็นพีคของสารมารตฐานรูตินซึ่งพีคที่ 3 จะเกิดขึ้นที่เวลา 5.454-5.491 นาที ดังนั้น Retention time ของรูติน คือ 5.5 ± 0.1 นาที

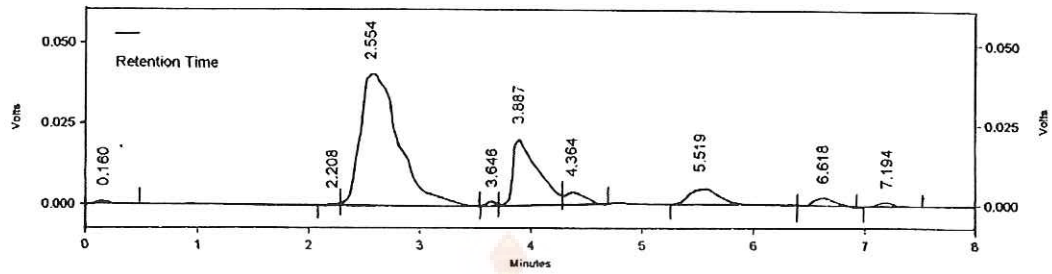
ง.2 โครมาโทแกรมของสารตัวอย่าง



Detector A (260nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent
1	2.527	479970	18.93	46512	21.83
2	2.643	784318	30.93	45509	21.36
3	3.136	245358	9.68	14422	6.77
4	3.885	729749	28.78	85558	40.15
5	4.196	80661	3.18	9217	4.33
6	4.372	185346	7.31	9711	4.56
7	5.620	25912	1.02	1778	0.83
8	7.213	4242	0.17	382	0.18
Totals		2535556	100.00	213089	100.00

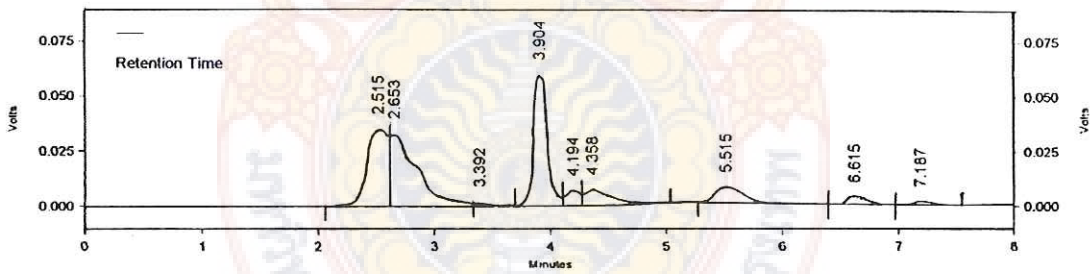
รูปที่ ง.2.1 โครมาโทแกรมของพีคสารสกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย



Detector A
(260nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent
1	0.160	7807	0.53	632	0.84
2	2.208	3677	0.25	478	0.64
3	2.554	961403	65.86	40473	53.80
4	3.646	4850	0.33	1010	1.34
5	3.887	307010	21.03	20536	27.30
6	4.364	43981	3.01	3659	4.86
7	5.519	94854	6.50	5332	7.09
8	6.618	25413	1.74	2224	2.96
9	7.194	10865	0.74	883	1.17
Totals		1459861	100.00	75227	100.00

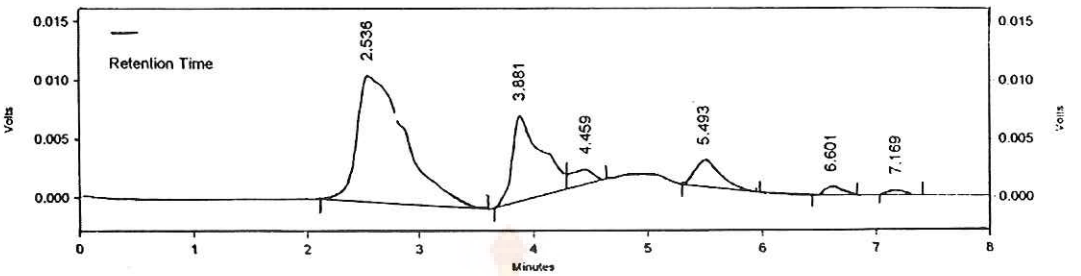
รูปที่ ง.2.2 โครมาโทแกรมของพืดสารสกัดโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย



Detector A
(260nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent
1	2.515	432408	24.31	34870	23.07
2	2.653	516404	29.03	32848	21.73
3	3.392	3194	0.18	353	0.23
4	3.904	491825	27.65	59413	39.31
5	4.194	51073	2.87	6290	4.16
6	4.358	112455	6.32	6422	4.25
7	5.515	121258	6.82	6936	4.59
8	6.615	34805	1.96	2853	1.89
9	7.187	15383	0.86	1144	0.76
Totals		1778804	100.00	151129	100.00

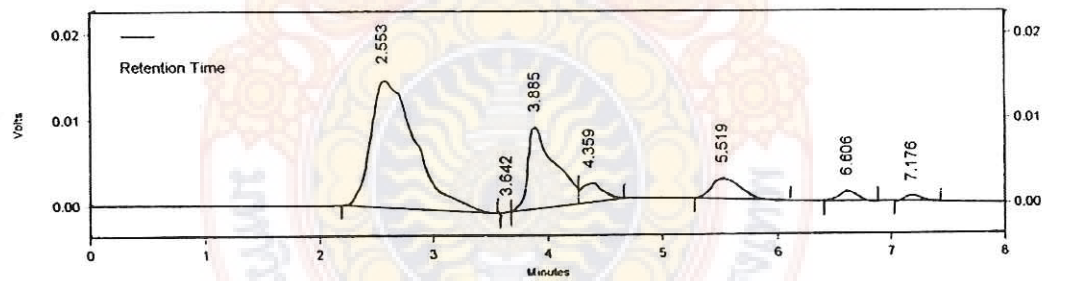
รูปที่ ง.2.3 โครมาโทแกรมของพืดสารสกัดโดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย



Detector A
(260nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent
1	2.536	328692	63.81	10759	48.24
2	3.881	128131	24.87	7278	32.63
3	4.459	17069	3.31	1194	5.35
4	5.493	31788	6.17	2192	9.83
5	6.601	6339	1.23	592	2.66
6	7.169	3113	0.60	289	1.30
Totals		515132	100.00	22305	100.00

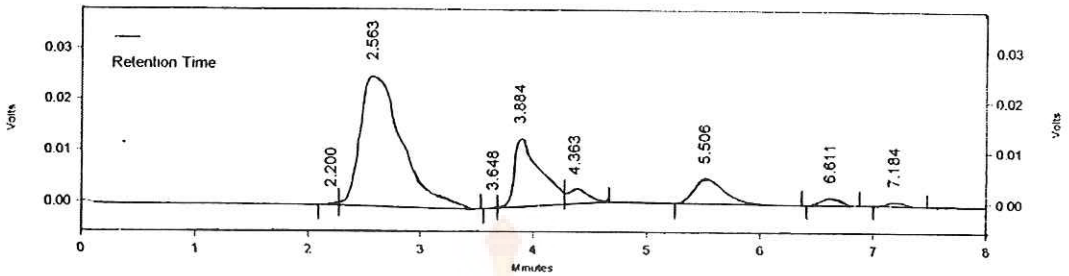
รูปที่ ง.2.4 โครมาโทแกรมของพืดสารสกัดด้วยเอทานอลที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส



Detector A
(260nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent
1	2.553	403438	63.12	14882	48.97
2	3.642	270	0.04	78	0.26
3	3.885	153664	24.04	9531	31.36
4	4.359	25892	4.05	2078	6.84
5	5.519	38752	6.06	2320	7.63
6	6.606	12592	1.97	1111	3.65
7	7.176	4521	0.71	394	1.30
Totals		639129	100.00	30394	100.00

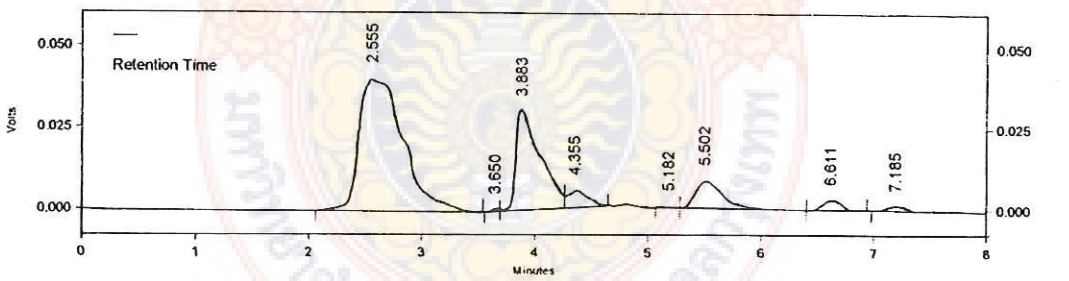
รูปที่ ง.2.5 โครมาโทแกรมของพืดสารสกัดด้วยเอทานอลที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส



Detector A (260nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent
1	2.200	2878	0.29	383	0.78
2	2.563	654303	65.14	25529	52.21
3	3.648	2213	0.22	509	1.04
4	3.884	207006	20.61	13202	27.00
5	4.363	33028	3.29	2553	5.22
6	5.506	82115	8.17	4713	9.64
7	6.611	15508	1.54	1386	2.83
8	7.184	7450	0.74	624	1.28
Totals		1004502	100.00	48898	100.00

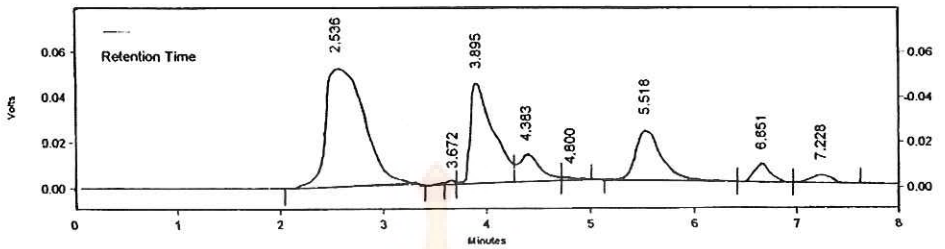
รูปที่ ง.2.6 โครมาโทแกรมของพืคสารสกัดด้วยเอทานอลที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส



Detector A (260nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent
1	2.555	1103336	61.29	40630	45.67
2	3.650	2608	0.14	588	0.66
3	3.883	442552	24.58	30090	33.82
4	4.355	60929	3.38	5005	5.63
5	5.182	2747	0.15	348	0.39
6	5.502	141573	7.86	8319	9.35
7	6.611	32699	1.82	2861	3.22
8	7.185	13765	0.76	1129	1.27
Totals		1800209	100.00	88971	100.00

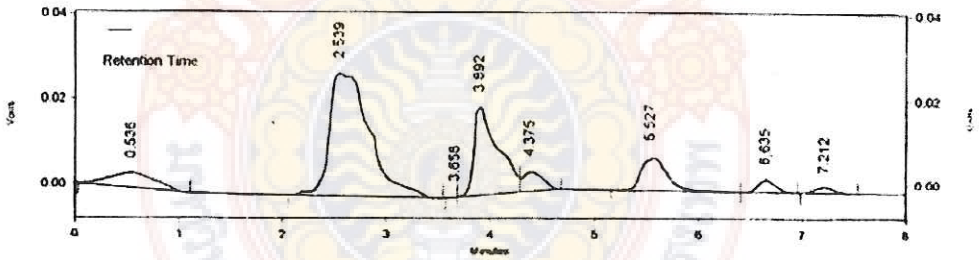
รูปที่ ง.2.7 โครมาโทแกรมของพีคสารสกัดด้วยเอทานอลที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส



Detector A (260nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent
1	2.536	1384370	52.93	52717	36.50
2	3.672	1954	0.07	477	0.33
3	3.895	661483	25.29	44461	30.78
4	4.383	167263	6.39	11436	7.92
5	4.800	10963	0.42	1047	0.72
6	5.518	294557	11.26	22615	15.66
7	6.651	66054	2.53	7990	5.53
8	7.228	29021	1.11	3698	2.56
Totals		2615665	100.00	144441	100.00

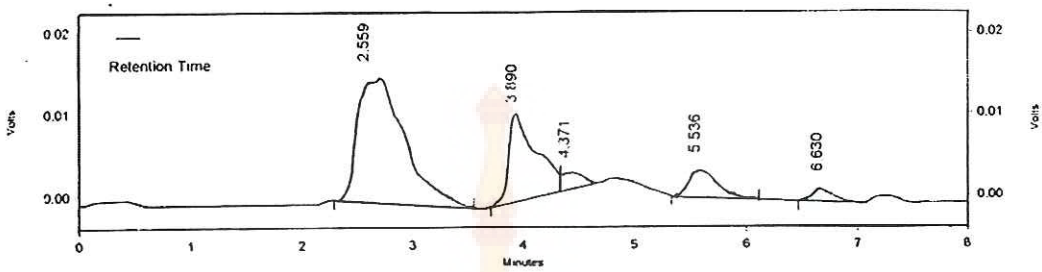
รูปที่ ง.2.8 โครมาโทแกรมของพีคสารสกัดด้วยเอทานอลที่อัตราส่วน 1:5



Detector A (260nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent
1	0.536	102766	6.84	3448	4.82
2	2.539	779093	51.88	28724	40.19
3	3.658	1007	0.007	252	0.35
4	3.892	337668	22.48	20920	29.27
5	4.375	62977	4.19	4897	6.85
6	5.527	159125	10.60	8557	11.97
7	6.635	41031	2.73	3298	4.61
8	7.212	18130	1.21	1374	1.92
Totals		1501797	100.00	71469	100.00

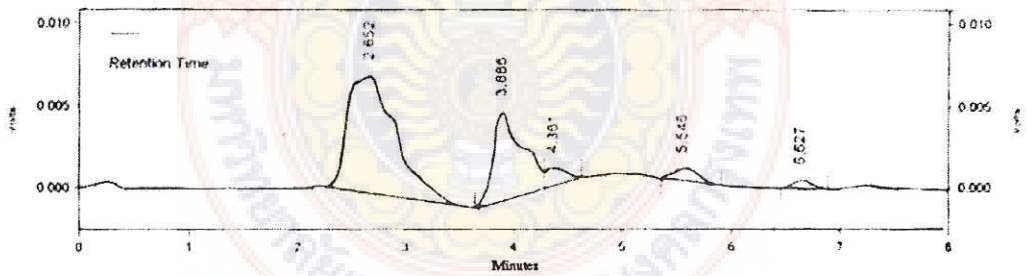
รูปที่ ง.2.9 โครมาโทแกรมของพีคสารสกัดด้วยเอทานอลที่อัตรสวน 1:10



Detector A
(260nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent
1	2.559	442622	56.60	14900	48.16
2	3.890	172831	22.10	10092	32.62
3	4.371	56227	7.19	2067	6.68
4	5.536	75132	9.61	2666	8.62
5	6.630	35217	4.50	1217	3.93
Totals		782029	100.00	30941	100.00

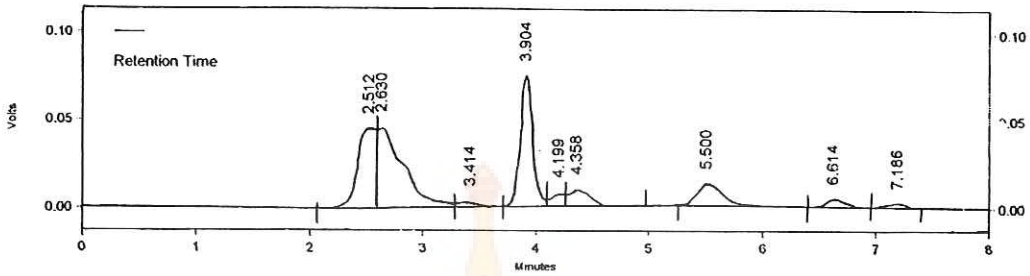
รูปที่ ง.2.10 โครมาโทแกรมของพีคสารสกัดด้วยเอทานอลที่อัตราส่วน 1:20



Detector A
(260nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent
1	2.652	401375	60.13	7122	47.87
2	3.886	159452	23.89	5463	36.72
3	4.361	45223	6.78	1062	7.14
4	5.546	43126	6.46	757	5.09
5	6.627	18293	2.74	472	3.17
Totals		667469	100.00	14876	100.00

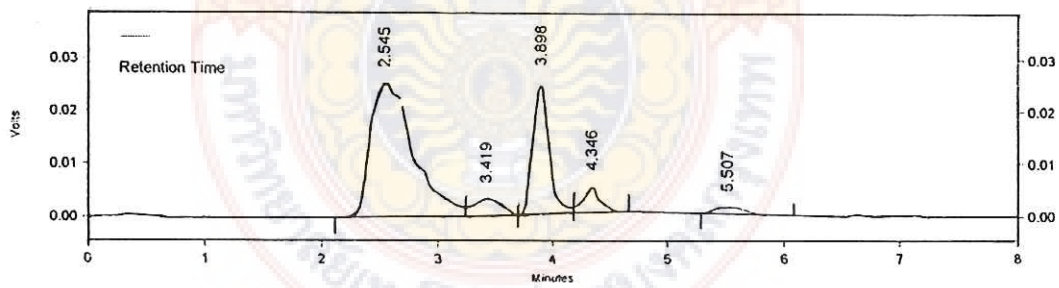
รูปที่ ง.2.11 โครมาโทแกรมของพีคสารสกัดด้วยเอทานอลที่อัตราส่วน 1:40



Detector A
(260nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent
1	2.512	513668	22.27	44372	22.31
2	2.630	734988	31.86	45183	22.71
3	3.414	16859	0.73	1462	0.73
4	3.904	587342	25.46	74661	37.53
5	4.199	58734	2.55	7031	3.53
6	4.358	121512	5.27	8572	4.31
7	5.500	199269	8.64	11860	5.96
8	6.614	49712	2.15	4007	2.01
9	7.186	24892	1.08	1777	0.89
Totals		2306978	100.00	198924	100.00

รูปที่ ง.2.12 โครมาโทแกรมของพืคสารสกัดจากใบทองพันชั่งด้วยเมทานอล



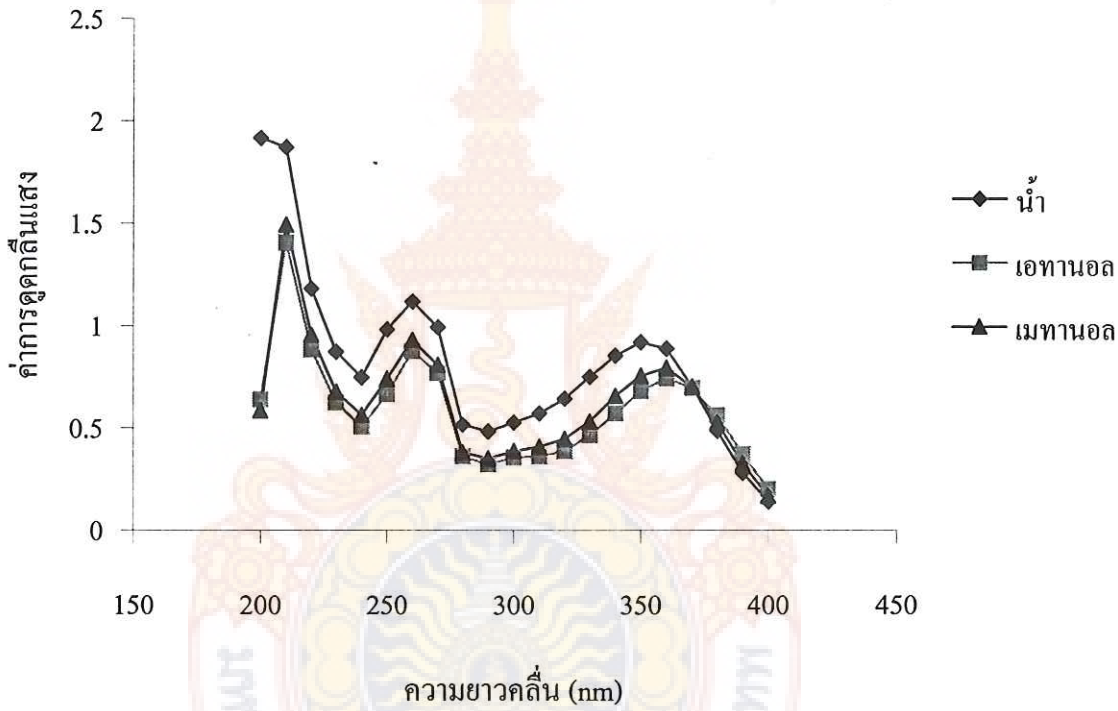
Detector A
(260nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area Percent	Height	Height Percent
1	2.545	654415	63.72	25431	42.19
2	3.419	54580	5.31	3327	5.52
3	3.898	241222	23.49	25334	42.03
4	4.346	54709	5.33	4976	8.25
5	5.507	22098	2.15	1208	2.00
Totals		1027025	100.00	60276	100.00

รูปที่ ง.2.13 โครมาโทแกรมของพืคสารสกัดจากก้านทองพันชั่งด้วยเมทานอล

ภาคผนวก จ

ข้อมูลจากเครื่อง ยูวี-วิสิเบิล สเปกโตโฟโตมิเตอร์



รูปที่ จ.1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานรูตินที่ละลายในน้ำ เอทานอล และเมทานอล ความเข้มข้น 10 ppm

ตาราง จ.1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานรูตินที่ละลายในน้ำ เอทานอล และเมทานอล ความเข้มข้น 10 ppm ที่ช่วงความยาวคลื่น 200-400 nm

ความยาวคลื่น	ค่าการดูดกลืนแสง		
(nm)	ละลายในน้ำ	ละลายในเอทานอล	ละลายในเมทานอล
200	1.917	0.614	0.585
210	1.872	1.407	1.495
220	1.181	0.885	0.958
230	0.874	0.624	0.680
240	0.751	0.509	0.565
250	0.984	0.666	0.743
260	1.119	0.877	0.932
270	0.996	0.771	0.810
280	0.517	0.361	0.383
290	0.485	0.323	0.353
300	0.529	0.357	0.388
320	0.647	0.388	0.449
330	0.753	0.466	0.535
340	0.856	0.574	0.660
350	0.922	0.683	0.759
360	0.890	0.746	0.797
370	0.707	0.697	0.702
380	0.486	0.563	0.529
390	0.281	0.373	0.325
400	0.141	0.200	0.166

ภาคผนวก ฉ

ตัวอย่างสภาพขั้วของตัวทำละลาย

ตารางที่ ฉ.1 ตัวอย่างสภาพขั้วของตัวทำละลาย [16]

ตัวทำละลาย	สภาพขั้วของตัวทำละลาย
เมทานอล	5.1
เอทานอล	4.3
อะซิโตไนไตรด์	5.8
ไดคลอโรมีเทน	3.1
คลอโรฟอร์ม	4.1
น้ำ	10.2

ประวัตินักวิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย

1. ชื่อ นายสุรัตน์ บุญพึ่ง

Mr. Surat Boonpung

2. ตำแหน่งปัจจุบัน

2.1 อาจารย์ 1 ระดับ 5 แผนกวิชาเคมีอุตสาหการ

2.2 หัวหน้าหน่วยควบคุมเอกสารและข้อมูล สำนักงานประกันคุณภาพการศึกษา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ วิทยาเขตเทคนิคกรุงเทพฯ

3. หน่วยงานที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ e-mail

แผนกวิชาเคมีอุตสาหการ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ วิทยาเขตเทคนิคกรุงเทพฯ

โทรศัพท์ 0 2286 3991 – 5 ต่อ 1195, 1210, 1201 โทรสาร 0 2286 3991 – 5 ต่อ 1195

e-mail : bsurat@rit.ac.th

4. ประวัติการศึกษา

ปีที่จบการศึกษา	ระดับปริญญา	อักษรย่อปริญญาและชื่อเต็ม	สาขาวิชา	วิชาเอก	ชื่อสถาบันการศึกษา	ประเทศ
2538	โท	วศ.ม. วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต	วิศวกรรมเคมี	วิศวกรรมเคมี	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ไทย
2527	ตรี	วศ.บ. วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต	วิศวกรรมเคมี	วิศวกรรมเคมี	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	ไทย

5. สาขาวิชาที่มีความชำนาญพิเศษ

การเขียนโปรแกรมคอมพิวเตอร์, การจำลองระบบด้วยคอมพิวเตอร์, การควบคุมอัตโนมัติ, การสกัดสมุนไพร

6. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ : ระบุสถานภาพในการทำวิจัยว่าเป็นหัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละเรื่อง

6.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย : ชื่อแผนงาน

-

6.2 หัวหน้าโครงการวิจัย : ชื่อโครงการวิจัย

- การนำขยะพลาสติกกลับมาใช้ใหม่โดยกระบวนการไพโรไลซิส
- การศึกษาการดูดซับไอออนของโลหะหนักด้วยเปลือกถั่วลิสง
- การศึกษาคุณสมบัติด้านเชื้อเพลิงของสารที่ได้จากการนำขยะพลาสติกกลับมาใช้ใหม่โดยกระบวนการไพโรไลซิส
- การสกัดสารออกฤทธิ์ทางยาจากทองพันชั่ง
- การสร้างอีบูลิโอมิเตอร์ชนิดความเข้มข้นสูง

6.3 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว : ชื่อเรื่อง ปีที่พิมพ์ และ สถานภาพในการทำวิจัย

Trichaiyaporn, S., W. Tanakulrungsank and S. Boonpung, "Selective Aromatization of Propane on Metallosilicate Catalysts", Journal of Science Faculty, Chiengmai University, 23(2), 42, 1996 (ผู้ร่วมวิจัย) ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน ปี 2539

สุรัตน์ บุญพึ่ง, "การควบคุมแบบระบบของถัง 2 ถัง", วิทยานิพนธ์ปริญญาโท จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2538 (หัวหน้าโครงการ) ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณภาควิชาวิศวกรรมเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปี 2534

สุรัตน์ บุญพึ่ง และ บำรุง ตอนสุข, "การนำขยะพลาสติกกลับมาใช้ใหม่โดยกระบวนการไพโรไลซิส", เอกสารประกอบการประชุมสัมมนาทางวิชาการ สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล ครั้งที่ 17, 2543 (หัวหน้าโครงการ) ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณวัสดุฝึก ปี 2542

สุรัตน์ บุญพึ่ง, วณิภา นาคลดา, ณัฐยา พรสวัสดิ์ และวีระยา วงวาส, "การศึกษาการดูดซับไอออนของโลหะหนักด้วยเปลือกถั่วลิสง" (หัวหน้าโครงการ) ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณวัสดุฝึก ปี 2547

สุรัตน์ บุญพึ่ง และวราภรณ์ ธนะกุลรังสรรค์ "การสร้างอีบูลลิโอมิเตอร์วัดปริมาณแอลกอฮอล์ความเข้มข้นสูง" (หัวหน้าโครงการ) ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณผลประโยชน์ ปี 2548

สุรัตน์ บุญพึ่ง และปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง "การสกัดสารออกฤทธิ์ทางยาจากทองพันชั่ง (หัวหน้าโครงการ) ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณผลประโยชน์ ปี 2548

สุรัตน์ บุญพึ่ง, เสาวลักษณ์ สุดใจ และพรรัมภา แสนวิเศษ "การศึกษาคุณสมบัติด้านเชื้อเพลิงของสารที่ได้จากการนำขยะพลาสติกกลับมาใช้ใหม่โดยกระบวนการไพโรไลซิส" (หัวหน้าโครงการ) ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณวัสดุฝึก ปี 2547-2548.

ปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง, สุรัตน์ บุญพึ่ง, มาริสา จินะดิษฐ์ และ วราภรณ์ ธนะกุลรังสรรค์ "การผลิตกระถางเพาะชำจากธรรมชาติ" (ผู้ร่วมวิจัย) ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณผลประโยชน์ ปี 2548.

<u>การสัมมนาภายในประเทศ</u>

สุรัตน์ บุญพึ่ง และ บำรุง ตอนสุข, "การนำขยะพลาสติกกลับมาใช้ใหม่โดยกระบวนการไพโรไลซิส", การประชุมสัมมนาทางวิชาการ สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล ครั้งที่ 17, 2543 ศูนย์ประชุมแห่งชาติ สิริกิติ์ (หัวหน้าโครงการ)

สุรัตน์ บุญพึ่ง , วณิภานาคลดา, "การศึกษาการดูดซับไอออนของโลหะหนักด้วยเปลือกถั่วลิสง" การประชุมสัมมนาทางวิชาการ สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล ครั้งที่ 21, 28 – 30 มีนาคม 2548, โรงแรมเชียงใหม่ภูคำ, อำเภอเมือง, จังหวัดเชียงใหม่. (หัวหน้าโครงการ)

สุรัตน์ บุญพึ่ง, เสาวลักษณ์ สุดใจ และพรรัมภา แสนวิเศษ "การศึกษาคุณสมบัติด้านเชื้อเพลิงของสารที่ได้จากการนำขยะพลาสติกกลับมาใช้ใหม่โดยกระบวนการไพโรไลซิส" การประชุมสัมมนาทางวิชาการ สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล ครั้งที่ 21, 28 – 30 มีนาคม 2548, โรงแรมเชียงใหม่ภูคำ, อำเภอเมือง, จังหวัดเชียงใหม่. (หัวหน้าโครงการ)

ปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง มาริสา จินะดิษฐ์ สุรัตน์ บุญพึ่ง วราภรณ์ ธนะกุลรังสรรค์ ธิดารัตน์ มานิตย์ และ อุษาวดี ไม้คง การผลิตกระถางต้นไม้จากวัสดุเหลือใช้ทางเกษตร การประชุมสัมมนาทางวิชาการ สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล ครั้งที่ 21 ระหว่างวันที่ 28 – 30 มีนาคม 2548 ณ โรงแรมเชียงใหม่ ภูคำ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่

6.4 งานวิจัยที่กำลังทำ : ชื่อข้อเสนอการวิจัย แหล่งทุน และสถานภาพในการทำวิจัยว่าได้ทำการวิจัยลุล่วงแล้วประมาณร้อยละเท่าใด

ปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง, สุรัตน์ บุญพึ่ง, มาริสา จินะดิษฐ์, จิรพล กลิ่นบุญ และ วราภรณ์ ธนะกุลรังสรรค์ "กระถางต้นไม้จากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร" (ผู้ร่วมวิจัย) ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน ปี 2548 ทำการวิจัยลุล่วงแล้ว 70%

ปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง, โสริยา ชิโนดม, สุรัตน์ บุญพึ่ง และ มาริสา จินะดิษฐ์ "กระถางต้นไม้ชำร่วยจากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร" (ผู้ร่วมวิจัย) ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณผลประโยชน์ ปี 2548 ทำการวิจัยลุล่วงแล้ว 70%

1. ชื่อ นางสาวปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง

Miss Pathumthip Tonthubthimthong

2. ตำแหน่งปัจจุบัน

2.1 ทางด้านวิชาการ อาจารย์ 2 ระดับ 7

2.2 ทางด้านบริหาร หัวหน้าแผนกวิจัย ฝ่ายวิจัยและฝึกอบรม
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ วิทยาเขตเทคนิคกรุงเทพฯ

3. หน่วยงานที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ e-mail

แผนกวิชาเคมีอุตสาหการ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ วิทยาเขตเทคนิคกรุงเทพฯ
โทรศัพท์ 0 2286 3991 – 5 ต่อ 1195, 1210, 1201 โทรสาร 0 2286 3991 – 5 ต่อ 1195
e-mail : pathumthip@rit.ac.th, tpathumthip@hotmail.com, tpathumthip@yahoo.com

4. ประวัติการศึกษา

ปีที่จบการศึกษา	ระดับปริญญา	อักษรย่อปริญญาและชื่อเต็ม	สาขาวิชา	วิชาเอก	ชื่อสถาบันการศึกษา	ประเทศ
2545	เอก	วศ.ด. วิศวกรรมศาสตรดุษฎีบัณฑิต	วิศวกรรมเคมี	วิศวกรรมเคมี	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี	ไทย
2538	โท	วท.ม. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต	เคมีเทคนิค	เคมีเทคนิค	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ไทย
2531	ตรี	วท.บ. วิทยาศาสตรบัณฑิต	เคมี	เคมี	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	ไทย

5. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

การดูดซับ การสกัดด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวด

6. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพในการทำวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละเรื่อง

6.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย : ชื่อแผนงานวิจัย

-

6.2 หัวหน้าโครงการวิจัย : ชื่อโครงการวิจัย

- การพัฒนากระถางต้นไม้จากใยมะพร้าว
- การสกัดสารนิมบินจากเมล็ดสะเดา
- กระถางต้นไม้ชำร่วยจากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร
- การผลิตกระถางเพาะชำจากธรรมชาติ
- กระถางต้นไม้จากวัสดุเหลือใช้ทางเกษตร

6.3 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว : ชื่อผลงานวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่ และแหล่งทุน (อาจมากกว่า 1 เรื่อง)

ปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง, มาริสา จินะดิษฐ์, สุรัตน์ บุญพึ่งและจิรพล กลิ่นบุญ "การพัฒนากระถางต้นไม้จากใยมะพร้าว" (หัวหน้าโครงการ) ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเครือข่ายภูมิภาคกลางตอนล่าง ประจำปีงบประมาณ 2547.

ปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง, "การสกัดสารนิมบินจากเมล็ดสะเดา" (หัวหน้าโครงการ) ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณผลประโยชน์ ปี 2548.

ปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง, สุรัตน์ บุญพึ่ง, มาริสา จินะดิษฐ์ และ วราภรณ์ ธนะกุลรังสรรค์ "การผลิตกระถางเพาะชำจากธรรมชาติ" (หัวหน้าโครงการ) ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณผลประโยชน์ ปี 2548.

สุรัตน์ บุญพึ่ง และปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง "การสกัดสารออกฤทธิ์ทางยาจากทองพันชั่ง" (ผู้ร่วมวิจัย) ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณผลประโยชน์ ปี 2548

International Journal

Tonthubthimthong, P., Chuaprasert, S., Douglas, P. and Luewisuttichat, W., Wittaya Teppaitoon and La-eid Pengsopa, 2004, "Nimbin Extraction from Neem Seeds using Supercritical CO_2 and a Supercritical CO_2 -Methanol Mixture", Journal of Supercritical fluids, 30 : 287-301. (ผู้วิจัย)

Tonthubthimthong, P., Chuaprasert, S., Douglas, P. and Luewisuttichat, W., 2001, "Supercritical CO_2 Extraction of Nimbin from Neem Seeds-an Experimental Study", Journal of Food Engineering.47: 289-293. (ผู้วิจัย)

International & Regional Conference

Tonthubthimthong, P., Ajchariyapagorn, A., Douglas, S., Douglas, P. L. and Pongamphai, S., "Simulation of Nimbin Extraction by Using Aspen Plus", the 88th Canadian Chemistry Conference and Exhibition, May 28-June 1, 2005, Saskatoon Centennial Convention Centre, Saskatoon, Saskatchewan, Canada. (ผู้ร่วมวิจัย)

Tonthubthimthong, P., Chinadit, M., Boonpung, S., Supanya, C., Tanuwong, S. and Tanakulrungsank, W., "Cultivate Flowerpot Production from Agricultural Waste Materials", The 3rd EMSES International Symposium Eco-Energy and Material Science and Engineering Symposium, April 6-9, 2005, Lotus Hotel Pang Suan Kaew, Chiangmai, Thailand. (ผู้วิจัย)

Tonthubthimthong, P., Chuaprasert, S., Douglas, P., Luewisuttichat, W., Teppaitoon, W. and Pengsopa, L., "Nimbin Extraction from Neem Seed using Supercritical CO_2 and a Supercritical CO_2 – Methanol Mixture" International Conference on Innovations in Food Processing Technology and Engineering., December 11 – 13, 2002, AIT, Thailand. (ผู้วิจัย)

Tonthubthimthong, P., Chuaprasert, S., Douglas, P., Luewisuttichat, W., Teppaitoon W. and Pengsopa, L., "Effect of Particle Size, Methanol:CO_2 Ratio and Temperature on Nimbin Extraction from Neem Seeds using Supercritical CO_2", Canadian Society for Chemical Engineering 2001 Conference, October 17, 2001, Halifax, Nova Scotia, Canada. (ผู้วิจัย)

Tonthubthimthong, P., Chuaprasert, S. and Luewisuttichat, W., "Extraction of Medicinal Substances from Neem Seeds using Supercritical Fluid Extraction-A Preliminary Study", Ragional Symposium on Chemical Engineering 1999, November 22-24, 1999, B.P. Smilar Beach Hotel, Songkla, Thailand. (ผู้วิจัย)

Local Conference

ปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง, มาริสา จินะดิษฐ์, สุรัตน์ บุญพึ่ง, วราภรณ์ ธนะกุลรังสรรค์, ธิดารัตน์ มานิตย์ และอุษาวดี ไม้คง "การผลิตกระถางต้นไม้จากวัสดุเหลือใช้ทางเกษตร" การประชุมสัมมนาทางวิชาการ สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล ครั้งที่ 21, 28 – 30 มีนาคม 2548, โรงแรมเชียงใหม่ภูคำ, อำเภอเมือง, จังหวัดเชียงใหม่. (ผู้วิจัย)

ชัชวาลย์ สุขมั่น, ปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง, ก ฤษณ์ หวังเจริญกุลชัย และ คมเดช งามสมจิตร "การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไวน์สะระแหน่" การประชุมสัมมนาทางวิชาการ สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล ครั้งที่ 21, 28 – 30 มีนาคม 2548, โรงแรมเชียงใหม่ภูคำ, อำเภอเมือง, จังหวัดเชียงใหม่. (ผู้ร่วมวิจัย)

ปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง, จุฑาลักษณ์ จีระรัตนกุล และ ประทุมรัตน์ แสนพล , การปรับปรุงคุณภาพของแป้งมันสำปะหลังโดยการดัดแปรแป้งด้วยสารโซเดียมไตโพลีฟอสเฟต, การประชุมสัมมนาทางวิชาการ สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล ครั้งที่ 20, 11 – 13 กุมภาพันธ์ 2547, โรงแรมอมรินทร์ ลากูน, อำเภอเมือง, จังหวัดพิษณุโลก. (ผู้วิจัย)

ปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง , สุภาภรณ์ เชื้อประเสริฐ, วิไล ลือวิสุทธิชาติ, วิทยา เทพไพฑูรย์ และ ละเอียด เพ็งโสภา, การสกัดนิมบินจากเมล็ดสะเดาโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดและคาร์บอนไดออกไซด์-เมทานอลวิกฤตยิ่งยวด, 2546, การประชุมวิชาการและงานแสดงผลิตภัณฑ์วิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 29, 20-22 ตุลาคม 2546, ศูนย์ประชุมอเนกประสงค์กาญจนาภิเษก, มหาวิทยาลัยขอนแก่น, จังหวัดขอนแก่น. (ผู้วิจัย)

ปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง , สุภาภรณ์ เชื้อประเสริฐ, วิไล ลือวิสุทธิชาติ, วิทยา เทพไพฑูรย์ และ ละเอียด เพ็งโสภา, การสกัดนิมบินจากเมล็ดสะเดาโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด : ผลของขนาดอนุภาค, อัตราส่วนระหว่างเมทานอลต่อคาร์บอนไดออกไซด์ และอุณหภูมิ, การประชุมวิชาการวิศวกรรมเคมีและเคมีประยุกต์แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 12, 8-9 พฤศจิกายน 2545, โรงแรมโซทวิน ทาวเวอร์, กรุงเทพฯ. (ผู้วิจัย)

ปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง, สุภาภรณ์ เชื้อประเสริฐ และ วิไล ลือวิสุทธิชาติ, การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารนิมบินจากเมล็ดสะเดาโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด, 2543, การประชุมวิชาการวิศวกรรมเคมีและเคมีประยุกต์แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 10, 26-28 ตุลาคม 2543, ไบเทค, บางนา, กรุงเทพฯ. (ผู้วิจัย)

6.4 งานวิจัยที่กำลังทำ : ชื่อข้อเสนอการวิจัย แหล่งทุน และสถานภาพในการทำวิจัยว่าได้ทำการวิจัยลุล่วงแล้วประมาณร้อยละเท่าใด

ปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง, สุรัตน์ บุญพึ่ง, มาริสา จินะดิษฐ์, วราภรณ์ ธนะกุลรังสรรค์, ไชยยันต์ ไชยยะ และ ฉันทมณี วังสะจันทานนท์ "กระถางต้นไม้จากวัสดุเหลือใช้ทางเกษตร" (หัวหน้าโครงการ) ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน ปี 2548 ทำการวิจัยลุล่วงแล้วประมาณ 70 %

ปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง, โสริยา ชิโนดม, สุรัตน์ บุญพึ่ง, มาริสา จินะดิษฐ์, ไชยยันต์ ไชยยะ และ ฉันทมณี วังสะจันทานนท์ "กระถางต้นไม้ชำร่วยจากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร" (หัว

หน้าโครงการ) ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณผลประโยชน์ ปี 2548 ทำการวิจัยลุล่วงแล้วประมาณ 70 %

พรประสิทธิ์ คงบุญ, ปทุมทิพย์ ต้นทับทิมทอง, มณฑล ชูโชนาค และสมจิตร์ สุขสวัสดิ์, "การกลั่นเอทานอลโดยใช้พลังงานแสงอาทิตย์" (ผู้ร่วมวิจัย) ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณผลประโยชน์ ปี 2548 ทำการวิจัยลุล่วงแล้วประมาณ 50 %