



รายงานวิจัย
ทุนวิจัยอุดหนุนจากงบประมาณแผ่นดิน ประจำปี 2538

เรื่อง
สารอัลลีโลพาธิคจากวัชพืชไทย

โดย
อุดม กักพล, สันติ ทิพยางค์ และ วรินทร์ ชำศิริ
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

572
ข785 ล



รายงานวิจัย
ทุนวิจัยอุดหนุนจากงบประมาณแผ่นดิน ประจำปี 2538

เรื่อง

สารอัลลีโลพาธิคจากวัชพืชไทย

โดย

อุดม กักพล, สันติ ทิพยางค์ และ วรินทร์ ชาศิริ
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณคณะกรรมการวิจัย คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้
อนุมัติทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน ประจำปี 2538 ขอขอบคุณภาควิชาเคมี และฝ่าย-
วิจัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้การสนับสนุนให้ใช้สถานที่ และอุปกรณ์ในการวิจัย แก่หน่วย
ปฏิบัติการวิจัยผลิตภัณฑ์ธรรมชาติโดยตลอด ขอขอบคุณ รศ.ดร.พิพัฒน์ พัฒนผลไพบูรณ์ ภาควิชา-
พฤกษศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในการระบุชื่อทางพฤกษศาสตร์ ขอขอบคุณ คุณชอุ่ม
เปรมัมย์เชิฐ และ ดร. ศิริพร ชิงสนธิพร กองพฤกษศาสตร์ และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร ในการ
เก็บพืชตัวอย่าง และให้ความร่วมมือในการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสิ่งสกัด และสารที่แยกได้
และสุดท้ายขอขอบคุณ ศาสตราจารย์ ดร. T.Onta จากคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัย Tohoku
ประเทศญี่ปุ่น ในการทำ High Resolution Mass Spectra เพื่อประโยชน์การวิเคราะห์สูตรโครง
สร้างของสารที่แยกได้

ผู้เขียนขอรำลึกในความกรุณาและขอขอบคุณเป็นอย่างสูง

บทคัดย่อ

ในการเสาะหาสารอัลลิโลพาธิคจากวัชพืชไทย และพืชเศรษฐกิจ พบว่าสิ่งสกัดจากหญ้า-ค้อนกลอง และต้นงา แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าว จึงทำการสกัดแยกและใช้การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวในการติดตามหาสารอัลลิโลพาธิค จากต้นงา และหญ้าค้อนกลอง

จากการแยกสิ่งสกัดของต้นงาด้วยเฮกเซน และคลอโรฟอร์ม โควีซีคอลัมน์โครมาโทกราฟี พบสาร 7 ชนิด ได้แก่ของผสม ไฮโดรคาร์บอนโซ่ตรง (C_{29} - C_{34}), ของผสมเอสเทอร์โซ่ตรง (C_{28} - C_{34}), ของผสมแอลกอฮอล์โซ่ตรง (C_{28} - C_{34}), ของผสมของ campesterol, β -sitosterol และ stigmasterol, sesamin, สารประกอบประเภทเอสเทอร์ของไตรเทอร์พีนอยด์ และของผสมกรดโซ่ตรง (C_{12} - C_{21}) นอกจากนี้การแยกสิ่งสกัดด้วยเมทานอล ยังพบสารอีก 3 ชนิด ได้แก่สารประกอบประเภท acetate lactone, sesamolol และสารประกอบประเภท flavone, พบว่า sesamolol ที่ความเข้มข้น 0.005 กรัม : เซลลูโลส 1.5 กรัม แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวมากที่สุด โดยจะยับยั้งในส่วนราก 100% และกาบใบ 82.78% ตามลำดับ รองลงมาคือ sesamin โดยพบว่าที่ความเข้มข้น 0.010 จะยับยั้งทั้งรากและกาบใบ 100% , ของผสมของสเตอรอยด์ที่ความเข้มข้น 0.005 จะยับยั้งราก 100% และกาบใบ 38.02%, ของผสมกรดโซ่ตรงที่ความเข้มข้น 0.005 จะยับยั้งราก 95.08% และกาบใบ 90.50% และของผสมเอสเทอร์โซ่ตรง ที่ความเข้มข้น 0.005 จะยับยั้งราก 83.61% และกาบใบ 74.79 ตามลำดับ

สำหรับหญ้าค้อนกลองสามารถแยกสารจากสิ่งสกัดเฮกเซนได้ 7 ชนิด คือ ของผสมของ ไฮโดรคาร์บอนโซ่ตรง (C_{26} - C_{34}), ของผสมของเอสเทอร์โซ่ตรง, ของผสมของแอลกอฮอล์โซ่ตรง (C_{23} , C_{25} , C_{27} , C_{30} , C_{33}), สารประกอบไตรเทอร์พีนอยด์ (friedelan- 3β -ol), ของผสมของแอลกอฮอล์โซ่ตรง (C_{26} , C_{27} , C_{29} , C_{30} , C_{33}), สารประกอบสเตอรอยด์ (stigmasterol) และของผสมของกรดอินทรีย์โซ่ตรง (C_{19} - C_{25}) จากการแยกสิ่งสกัดคลอโรฟอร์ม สามารถแยกสารได้ 3 ชนิดคือ สารประกอบสเตอรอยด์ไกลโคไซด์ (stigmasteryl-3-O- β -D-glucopyranoside) และสารประกอบ เฟลโวนอยด์ 2 ชนิด 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5-hydroxy-3,6,7-trimethoxy-4-H-1-benzopyran-4-one และ 2-(3-methoxy-4-hydroxyphenyl)-5,6-dihydroxy-3,7-dimethoxy-4-H-1-benzopyran-4-one นอกจากนี้ในการแยกสิ่งสกัดเอทิลแอลกอฮอล์และบิวทานอลยังพบสารประกอบเฟลโวนอยด์อีกหนึ่งชนิดคือ 2-(3,4-dihydroxy-phenyl)-5,6-dihydroxy-3,7-dimethoxy-4H-1-benzopyran-4-one จากสารทั้งหมดที่แยกได้ พบว่าของผสมของกรดอินทรีย์โซ่ตรงเป็นสารเพียงชนิดเดียวที่แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวในส่วนรากและกาบใบ ที่ความเข้มข้น 0.005 กรัม : เซลลูโลส 1.5 กรัม สามารถยับยั้งการงอกของรากและกาบใบได้ 97.70% และ 98.77% ตามลำดับ

Abstract

In the search for allelopathic substances from Weeds and economical plants, it has been found that crude extracts from the whole plant of sesamum indicum L. and sphaeranthus africanus Linn. have strong inhibition effect on rice growth.

Fractionation of crude hexane and chloroform of Sesamum indicum L. via column chromatography led to the isolation of seven compounds: a mixture of long chain hydrocarbons (C_{29} - C_{34}), a mixture of long chain esters, a mixture of long chain alcohols (C_{29} - C_{34}), a mixture of campesterol, β -sitosterol and stigmasterol, sesamin, an ester of triterpenoid compound and a mixture of long chain acids (C_{12} - C_{24}). Fractionation of the crude methanol via quick column chromatography led to the isolation of three compounds: an acetate lactone, sesamol and a flavone. The sesamol has the highest rice growth inhibiting effects (100% and 82.78% inhibition at dose 0.005 gm/1.5 gm of cellulose on root and leaf, respectively). While the sesamin at dose 0.010 inhibited 100% on both root and leaf, a mixture of steroids at dose 0.005 inhibited 100% and 38.02%, a mixture of long chain carboxylic acids at dose 0.005 inhibited 95.08% and 90.50% and a mixture of long chain esters at dose 0.005 inhibited 83.61% and 74.79% showed lower rice growth inhibiting effects to the rice root and leaf, respectively.

Fractionation of crude hexane extract of sphaeranthus africanus Linn. led to the isolation of seven group of compounds: a mixture of straight long chain hydrocarbons (C_{26} - C_{34}), a mixture of straight long chain esters, a mixture of straight long chain alcohols (C_{23} , C_{25} , C_{27} , C_{30} , C_{33}), a triterpenoid compound (friedelan- 3β -ol), a mixture of straight long chain alcohols (C_{26} , C_{27} , C_{29} , C_{30} , C_{33}), a steroid compound (stigmasterol) and a mixture of straight long chain carboxylic acids (C_{19} - C_{25}). Fractionation of crude chloroform extract led to the isolation of three compounds: a steroidal glycoside compound (stigmasteryl- $3-O-\beta$ -D-glucopyranoside) and two flavonoid compounds 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5-hydroxy-3,6,7-trimethoxy-4H-1-benzopyran-4-one and 2-(3-methoxy-4-hydroxyphenyl)-5,6-dihydroxy-3,7-dimethoxy-4H-1-benzopyran-4-one. Fractionation of crude ethylacetate and butanol extract led to the isolation of an additional flavonoid compound 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,6-dihydroxy-3,7-dimethoxy-4H-1-Benzopyran-4-one. Only a mixture of straight long chain carboxylic acids showed the highest rice growth inhibiting effects (97.70% and 98.77% inhibition at dose 0.005 gm/1.5 gm of cellulose on root and leaf, respectively).

สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญเรื่อง	ง
คำนำ	1
1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของต้นงา	2
1.2 องค์ประกอบทางเคมี	8
1.3 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของหญ้าน้ำค้อนกลอง	12
วิธีดำเนินการวิจัยและผลการทดลอง	14
I. องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของต้นงา	14
2.1 พืชตัวอย่าง	14
2.2 การสกัด	14
2.3 การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ	16
2.4 การแยกสาร	20
2.5 การตรวจหาสูตรโครงสร้าง	40
2.6 การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่แยกได้	71
II. องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของหญ้าน้ำค้อนกลอง	76
3.1 พืชตัวอย่าง	76
3.2 การสกัด	76
3.3 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ	79
3.4 การตรวจหาสูตรโครงสร้าง	90
3.6 การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่แยกได้	121
สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	126
4.1 สารอัลลิโลพาธิคจากต้นงา	126
4.2 สารอัลลิโลพาธิคจากหญ้าน้ำค้อนกลอง	127



คำนำ

วัชพืช (weed) คือพืชที่เจริญเติบโตในท้องที่ที่ไม่ต้องการ หรือพืชที่ขึ้นผิดที่ ซึ่งก่อให้เกิดความเสียหายอย่างใหญ่หลวงต่อการเกษตร การป่าไม้และระบบนิเวศน์อื่นๆ มีการศึกษาวิจัยและพยายามนำวัชพืชมาให้ประโยชน์ เช่น ใช้เป็นอาหารสัตว์ เป็นยากลางบ้าน และเป็นวัตถุคิบในการทำกระดาษหรือเส้นใย งานวิจัยอีกแขนงหนึ่งที่ได้ได้รับความสนใจเป็นอย่างมากในปัจจุบัน ก็คือการเสาะหาสารเคมีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากวัชพืช

อัลลีโลพาธิค (allelopathy) เป็นกระบวนการที่สารเคมี (allelopathic dundysnvr) ในพืชชนิดหนึ่งถูกปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อม และสามารถมีผลกระทบในทางบวกหรือลบต่อพืช โดยพืชนั้น อาจจะเป็นชนิดหรือต่างชนิดกันก็ได้ ได้มีการศึกษาถึงผลทางอัลลีโลพาธิคในการเกษตรเป็นจำนวนมาก เพื่อที่จะนำมาพัฒนา ปรับปรุงระบบการเกษตร ให้ได้ผลผลิตมากขึ้น โดยต้นทุนลดลง และไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม ยกตัวอย่าง เช่น H. G. Ng ได้ศึกษาและรายงานว่ สารสกัดจากใบสดของสาบเสือ (*Eupatorium odoratum* Linn.) สามารถยับยั้งการงอกของหญ้าตีนตุ๊กแก (*Tridox procumbers* Linn.), เมล็ดสาบเสือ และ *Borreria articularis* F. M. Aston และคณะ ได้สกัดสารจากหัวทรงกระเทียม (*Eleocharis* spp.) และพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่ายฉัตร (*Hydrilla verticillta* Presl.) และแหวนปากเป็ด (*Potamogeton pertinatus* Linn.) เป็นต้น

วัชพืชและพืชที่จะใช้ในการศึกษา ได้แก่ หญ้าค้อนกลอง และ งา ทั้งนี้เพราะเกษตรกรพบว่า บริเวณที่ปลูกหญ้าค้อนกลองจะทำให้ต้นข้าวเจริญเติบโตช้ากว่าบริเวณอื่น และบริเวณที่หญ้าค้อนกลองเจริญเติบโตอยู่จะไม่มีวัชพืชอื่นใดขึ้น ส่วนงาเกษตรในภาคกลางนิยมปลูกเป็นพืชหมุนเวียนในนาข้าว เพราะงาเป็นพืชที่มีศัตรูพืชรบกวนน้อย และพบว่าการเจริญเติบโตของข้าวในบริเวณที่เคยปลูกงามาก่อนจะมีการเจริญเติบโตแตกต่างกว่าบริเวณอื่น จึงคาดว่าทั้งหญ้าค้อนกลองและงาจะเป็นพืชที่มีสารบางชนิด (สารอัลลีโลพาธิค) ที่มีผลต่อการเจริญของพืชข้างเคียง จึงได้คัดเลือก งา (*Sesamum indicum* Linn.) และหญ้าค้อนกลอง (*Spaeranthus africanus*) เป็นพืชเพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและเสาะหาสารที่มีฤทธิ์ต่อต้านการเจริญเติบโตของต้นข้าว

1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของต้นงา

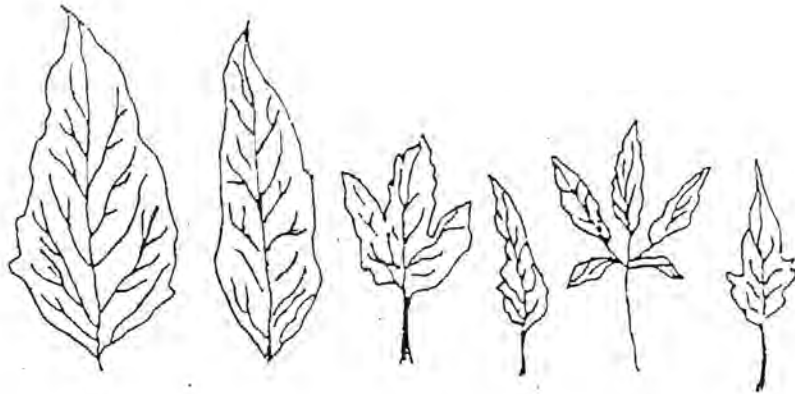
" งา " มีชื่อสามัญว่า sesame หรือ sesamum เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Pedaliaceae จัดอยู่ใน genus sesamum ซึ่งมี species มากกว่า 36 species โดยงาที่ปลูกกันนาน ปัจจุบันมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า Sesamum indicum L. นอกจากนี้ในประเทศอินเดียยังนิยมปลูกพันธุ์ป่า 2 ชนิด ได้แก่ S. prostratum และ S. laciniatum (1)

" งา " เป็นพืชล้มลุกชนิดหนึ่ง มีลักษณะเป็นไม้พุ่มเนื้ออ่อน ปลูกอยู่ในเขตร้อนชื้น และเขตกึ่งร้อนชื้นเป็นส่วนใหญ่ หรือแม้แต่ในเขตกึ่งแห้งแล้งก็สามารถปลูกได้ โดยขึ้นได้ทั้งในที่ราบและที่สูงเหนือระดับน้ำทะเล 1000 เมตร (2) ลักษณะของต้นจะสูงประมาณ 60-130 ซม. อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตอยู่ระหว่าง 25-27 องศาเซลเซียส (3) มีแหล่งกำเนิดในเขตร้อนของทวีปแอฟริกา (Tropical africa) โดยสามารถค้นพบพันธุ์ป่าได้มากมายหลายชนิด จากทวีปแอฟริกาได้แพร่กระจายเข้าสู่ประเทศบราซิล, ประเทศแถบทวีปอเมริกา และประเทศอินเดียโดยผ่านทางอ่าวเบงกอล เอเชีย ต่อมาได้กลายเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญในประเทศทางแถบอ่าวเบงกอลด้วย สำหรับทวีปทางแถบเอเชีย ประเทศญี่ปุ่นและจีนนิยมปลูกมากทางด้านตะวันออกและตะวันตกของประเทศซึ่งได้รับอิทธิพลมาจากประเทศอินเดียนั่นเอง สำหรับประเทศไทยได้มีการปลูกงามาแต่โบราณ โดยประเทศพม่าเป็นประเทศแรกที่นำเข้ามาปลูกทางด้านฝั่งชายแดนไทย (1)

ส่วนประกอบต่าง ๆ ของงา มีดังนี้

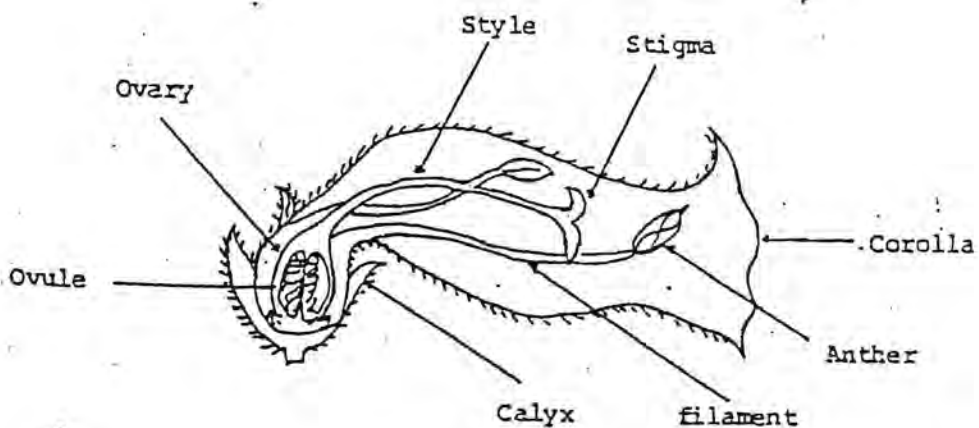
ราก (Root) งามีระบบรากแบบ tap root system ขนาด รูปร่าง และความยาวของรากจะแปรผันไปตามชนิดของงาและสภาพดินฟ้าอากาศ งาที่ปลูกในเขตร้อนชื้นจะมีอัตราส่วนระหว่างรากต่อลำต้น (root/shoot ratio) สูงกว่าเมื่อปลูกในเขตแห้งแล้ง นอกจากนี้ยังพบว่า งาที่ให้อัตราส่วนระหว่างรากต่อลำต้นมากก็จะให้เปอร์เซ็นต์น้ำมันเมล็ดสูงกว่างาที่ให้อัตราส่วนระหว่างรากต่อลำต้นน้อย

ใบ (Leaves) ยาวประมาณ 5 ซม. มีขนที่ก้นหน้าใบและหลังใบ โดยจะมีรูปร่างลักษณะต่าง ๆ กัน ตั้งแต่ยาวเป็นรูปใบหอกหรือกลมรี ส่วนสีของใบจะมีตั้งแต่สีเขียวจนถึงสีเขียวเข้ม บางพันธุ์อาจจะมีสีเหลือง นอกจากนี้ความอุดมสมบูรณ์ของดินยังมีอิทธิพลต่อสีและปริมาณขนของใบ เช่นถ้าปลูกในที่ที่มีความอุดมสมบูรณ์สูง ใบจะมีสีน้ำเงินและมีขนค่อนข้างมาก เป็นต้น



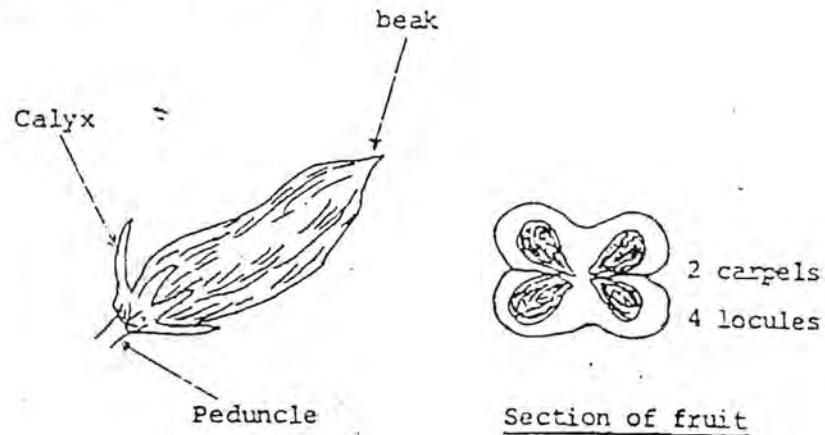
รูปที่ 1 ชนิดของใบงาพันธุ์ต่าง ๆ

ดอก (Flowers) ดอกงาจะเกิดตามซอกใบ ๆ ละ 1-3 ดอก กลีบดอกเชื่อมติดกันเป็นท่อยาว (corolla tube) คล้ายระฆัง ยาวประมาณ 3 ซม. ปลายดอกแยกออกเป็น 5 กลีบ มีทั้งสีชมพู ขาว ขาวอมม่วง และม่วงอ่อน



รูปที่ 2 ลักษณะต่าง ๆ ของดอกงา

ผล (Fruits) มีลักษณะเป็นกระเปาะหรือฝัก (capsules) รูปร่างและขนาดของฝักจะแปรผันไปตามพันธุ์ มีตั้งแต่รูปทรงแบนและทรงกระบอก ยาวประมาณ 2-3 ซม. เส้นผ่านศูนย์กลาง 1 ซม. ฝักจะมีร่องตามความยาว สามารถแบ่งเป็นพูได้ 4-8 พู เมื่อฝักแก่ปลายฝักจะแตกออกเมล็ดงาก็สามารถร่วงหลุดออกมาได้



รูปที่ 3 ลักษณะต่าง ๆ ของฝักงา

เมล็ด (Seeds) มีลักษณะเหมือนไข่ที่เกาะติดกับผนังรังไข่ส่วนกลาง (central placenta) เปลือกหุ้มเมล็ดมีตั้งแต่สีขาว น้ำตาลอ่อน เทา น้ำตาลเข้มจนถึงสีดำ ผิวของเมล็ดมีทั้งเรียบและขรุขระ โดยที่ 1000 เมล็ด จะหนักประมาณ 1.9-3.5 กรัม (1,4)



รูปที่ 4 ภาพแสดงส่วนต่าง ๆ ของต้นงาขาวร้อยเอ็ด

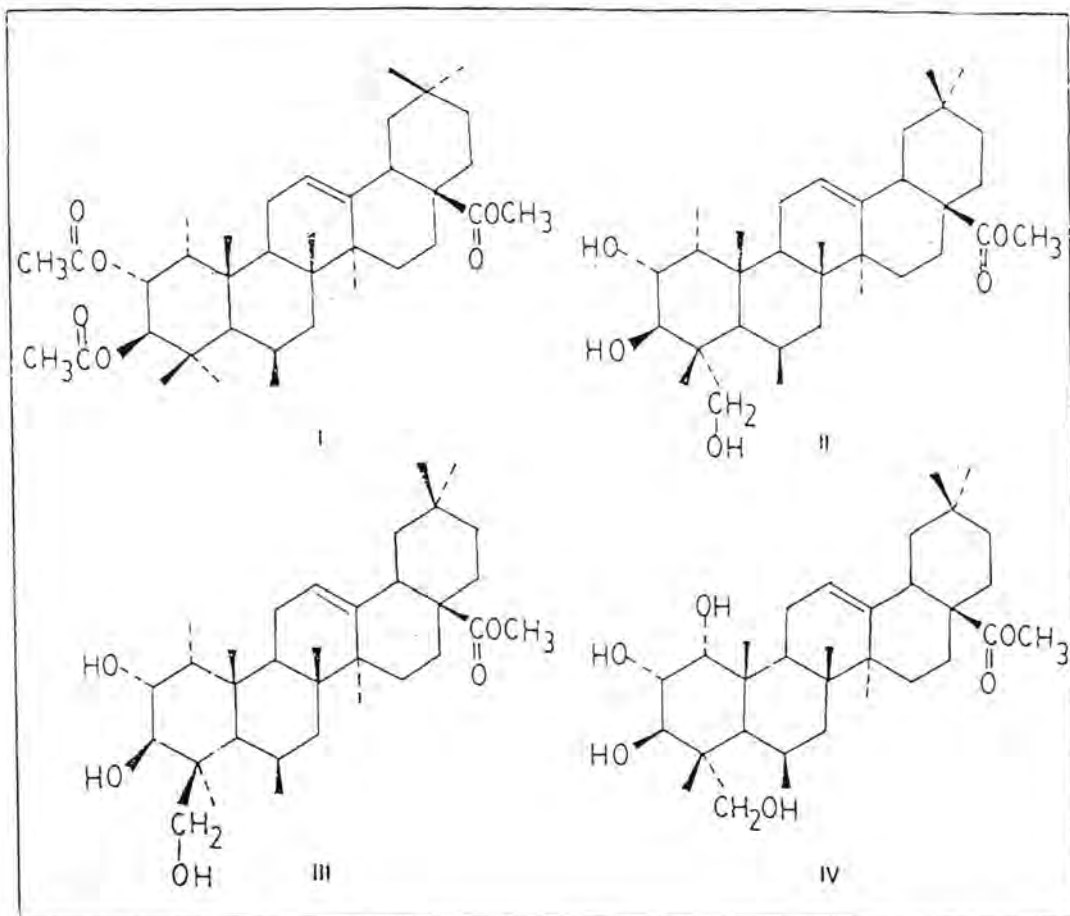
ร่างกายแข็งแรง สดชื่น มีอายุยืน ในประเทศญี่ปุ่นยังเชื่อว่าน้ำมันงาเป็นยาอายุวัฒนะ (5) นอกจากนี้ น้ำมันงายังสามารถรักษาโรคน้ำกัดเท้า, เป็นยาทาแก้อาการไหม้เกรียมของผิวหนัง หรือทาแทนครีมกันผิวแห้ง, เป็นยาช่วยระบายท้อง, ป้องกันพิษจากแอลกอฮอล์ และทำให้เนื้อสุรา ส่วนประโยชน์ทางด้านอุตสาหกรรมสามารถใช้น้ำมันงาเป็นตัวละลายสิ่งสกปรกที่ได้จากดอกไม้เทศรั่ม ซึ่งจะทำให้เพิ่มฤทธิ์ในการฆ่าแมลงได้ดีขึ้น, ใช้น้ำมันอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง, อุตสาหกรรมยา โดยเป็นส่วนผสมอย่างหนึ่งในการเตรียมยาแวนตะกอน เพื่อช่วยยืดอายุของยาให้ยาวนานขึ้น, อุตสาหกรรมน้ำมัน ใช้น้ำมันงาในน้ำมันเชื้อเพลิง (gasoline) จะช่วยเพิ่มกำลังเครื่องยนต์และช่วยประหยัดน้ำมัน สำหรับในอุตสาหกรรมทำช็อกโกแลต จะใช้เป็นส่วนประกอบแทนโคโคบัตเตอร์ (cocoa butter) ในการทำช็อกโกแลตแข็ง (2)

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของวงศ์ Pedaliaceae มีผู้ทำการวิจัยไว้สรุปได้ดังตารางที่ 1

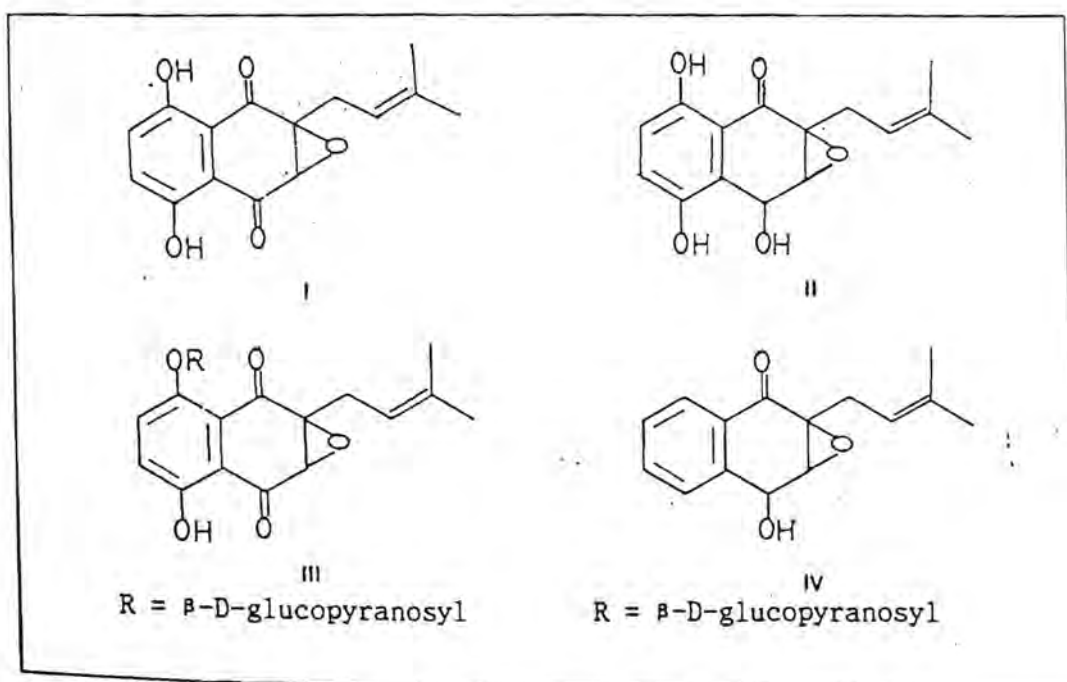
"งา" จัดอยู่ในประเภทพืชไร่จากพวกพืชน้ำมัน ที่มีคุณภาพดี สีสวย และมีกลิ่นหอม โดยมีน้ำมันเป็นองค์ประกอบ อย่างต่ำร้อยละ 35 นอกจากนี้ยังประกอบไปด้วยโปรตีน ร้อยละ 20-25 สำหรับคุณค่าทางด้านโภชนาการ น้ำมันงาจะมีส่วนช่วยลดไขมันที่อุดตันในเส้นเลือด เพราะมีการคาไขมันไม่อิ่มตัวเป็นจำนวนมาก ดังนั้นจึงนิยมนำน้ำมันงามาเกี่ยวข้องกับ การปรุงอาหาร โดยใส่ส่วนผสมใน "งา" นั้นจะมีประโยชน์เทียบเท่ากับถั่วเหลือง นอกจากนี้ น้ำมันงายังมีคุณสมบัติพิเศษ คือ เมื่ออุณหภูมิลดต่ำลง น้ำมันงาจะแข็งตัวจับเป็นไข มีกลิ่นและสีคงที่ ไขมันที่เห็นนั้น เนื่องจากมีสารกันหืนหรือกันปฏิกิริยากับออกซิเจน (antioxidant) บนอยู่ในน้ำมันงา ซึ่งสามารถทำให้แข็งตัวได้โดยวิธีเติมไฮโดรเจน เพื่อทำเนยเทียม ครีมช้น นอกจากนี้คุณสมบัติที่ดีดังกล่าวแล้ว น้ำมันงายังสามารถใช้ประโยชน์ได้ทั้งทางตรงและทางด้านอุตสาหกรรม ประโยชน์ที่ได้รับจากน้ำมันงาทางตรงคือสามารถใช้เป็นยาสมุนไพร โดยเชื่อว่าน้ำมันงาสามารถช่วยละลายไขมันในโลหิต ในประเทศอินเดียนิยมใช้น้ำมันงาชะโลมร่างกายเพื่อให้มีน้ำมันซึมเข้าผิวหนังทำให้

ตารางที่ 1 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของวงศ์ Pedaliaceae มีผู้ทำวิจัยไว้พอสมควรดังนี้

ชื่อวิทยาศาสตร์	ส่วนของพืช	สารที่พบ	Ref.
<u>S. laciniatum</u> Klein	ใบ	<ol style="list-style-type: none"> 1. methyl 2δ,3β-diacetoxyolean-12-en-28-oate (I) 2. methyl 2δ,3β,23-trihydroxyolean-12-en-28-oate (II) 3. methyl 2δ,3β,24-trihydroxyolean-12-en-28-oate (III) 4. methyl 12,2δ,3β,23-tetrahydroxyolean-12-en-28-oate (IV) 	6
<u>S. angolense</u> Welw	ราก	<ol style="list-style-type: none"> 1. 3,6 dihydroxy-13-(3-methyl-2-butenyl)-naphth [2,3-b] oxirene-2,7(1aH,7aH)-dione (I) 2. 7,7a-dihydro-3,6,7-trihydroxy-1a-(3-methyl-2-butenyl)-naphth [2,3-b] oxirene-2(1aH)-one (II) 3. glucosides (III) and (IV) 	7



รูปที่ 5 สารประกอบประเภท olean-12-en-28-oate ที่พบใน *S. laciniatum* Klein



รูปที่ 6 สารประกอบประเภท naphthoxirene derivatives และ glucosides ที่พบใน

1.2 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของ Sesamum indicum L.

น้ำมันงา (sesame oil)

ในปี ค.ศ.1924 Jamieson G.S. and Boughman W.F. (8) ได้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันงา ซึ่งมีลักษณะเป็นน้ำมันสีเหลือง พบว่ามี glycerides เป็นส่วนประกอบเป็นร้อยละดังนี้ oleic 48.1 ; linolic 36.8 ; palmitic 7.7 ; stearic 4.6 ; arachidic 0.4 ; lignoceric 0.04

ในปี ค.ศ.1928 Adriant W. and Dordrecht. Z. (9) ได้ศึกษาเกี่ยวกับน้ำมันงา โดยนำมาสกัดด้วย เอทานอล, บีโตรีเลียนอีเธอร์ และคลอโรฟอร์ม พบสาร 3 ชนิด คือ

- ก. [1,4-bis(3,4 methylenedioxyphenyl)] tetrahydro-1H,3H-furo [3,4-c]furan-3-ol โดยมีชื่อสามัญว่า sesamin (I)
- ข. (3,4-methylenedioxy)phenylcarbarnates โดยมีชื่อสามัญว่า sesamol (II)
- ค. [tetrahydro-1-(3,4-methylenedioxy-phenoxy)]-4-(3, 4-methylenedioxy-phenyl)-1H,3H-furo[3,4-c]furan โดยมีชื่อสามัญว่า sesamolin (III)

ในปี ค.ศ.1972 Tsuchida, M. และคณะ (10) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการแยกอนุพันธ์ของ trihydroxyoctadecenoates จากน้ำมันงา โดยใช้คอลัมน์โครมาโทกราฟี และ ทินแลร์โครมาโทกราฟี พบสาร 4 ชนิด คือ

- ก. methyl 9,10,13-trihydroxy-trans-11-octadecenoates (IV)
- ข. methyl 9,10,13-trihydroxy-cis-11-octadecenoates (V)
- ค. methyl 9,12,13-trihydroxy-trans-10-octadecenoates (VI)
- ง. methyl 9,12,13-trihydroxy-cis-10-octadecenoates (VII)

ในปี ค.ศ.1979 Yoshida, M. และคณะ (11) ได้พัฒนาการแยก sesamol และ sesamin จากน้ำมันงา โดยการใช้ คอลัมน์โครมาโทกราฟี ที่ใช้อลูมินาเป็นตัวดูดซับ กับ high performance liquid chromatography ซึ่งสามารถแยก sesamol ได้ 0.01-0.29 % และ sesamin ได้ 0.01-0.38 % ตามลำดับ

เมล็ดงา (sesame seeds)

ในปี ค.ศ.1957 Ravindra N. and Giri K.V. (12) ได้ศึกษาการแยกส่วนของโปรตีนออกจากเมล็ดงา โดยใช้วิธี electrophoresis ซึ่งขึ้นกับค่า พี-เอช (pH) ถ้า pH อยู่ในช่วง 10-12 จะได้ α -globulin เป็นผลิตภัณฑ์หลัก แต่ถ้าใช้ pH เท่ากับ 8 ก็จะได้ β -globulin เป็นผลิตภัณฑ์หลักแทน

ในปี ค.ศ.1972 Vijayalakshmi, B. และคณะ (13) ได้ทำการแยกส่วนที่เป็น phospholipids โดยการใช้ silicic acid chromatography ซึ่งใช้ตัวทำละลายผสมระหว่างคลอโรฟอร์มกับเมทานอล เป็นตัวระเหยคอลัมน์ พบสาร 4 ชนิด คือ

- ก. phosphatidic acid 3.5% (I)
- ข. phosphatidylethanol amine 11.9% (II)
- ค. phosphoinositide 24.8% (III)
- ง. phosphatidyletholine 39.3% (IV)

ในปี ค.ศ.1973 Kinoshita, S. and Yamanishi, T. (14) ได้ศึกษาส่วนประกอบส่วนที่เป็นเบส โดยนำมาสกัดด้วย ไดเอทิลอีเธอร์ พบสาร 2 ตัว คือ

- ก. pyrazines โดยใช้ gas chromatog-mass spectrometer ในการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสาร (V)
- ข. 2,3-cyclopentane-6-methyl-pyrazine (VI)

ในปี ค.ศ.1978 Prakash, V. and Nandi, P.K. (15) ได้พัฒนาการแยก α -globulin โดยใช้ polyacrylamide gel electrophoresis, DEAE-cellulose chromatography, gel filtration และการวัดความเร็วของการตกตะกอน

ในปี ค.ศ.1987 Murui, T. and Ide, A. (16) ได้ศึกษาส่วนที่มีไขมันในเมล็ดงาที่ละลายในคลอโรฟอร์ม มาสกัดด้วยน้ำและแยกสารที่ได้โดยใช้คอลัมน์โครมาโทกราฟี

ที่มีซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ ซึ่งใช้อัตราส่วนระหว่างเอซีโตนต่อเมทานอล เป็นตัวชะลอกลับน้ พบสารประกอบประเภท furan 3 ชนิด คือ

- ก. tetrahydro-1-[(3-methoxy-4-hydroxy) phenyl]-4-[3,4-methylenedioxy-phenyl]-1H,3H-furo[3,4-c]furan (VII)
- ข. tetrahydro-1-[(3-methoxy-4-hydroxy) phenoxy]-4-[3,4-methylenedioxy-phenyl]-1H,3H-furo[3,4-c]furan (VIII)
- ค. [1,4-(3,4-meyhylenedioxy-phenyl)-(1-hydroxy-3, 4-methylene dioxy-phenyl)]tetrahydro-1H,3H-furo[3,4-c]furan-3-ol (IX)

ในปี ค.ศ.1988 Murui, T. and Ide, A. (17) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการแยก glycosides (X) โดยนำมาสกัดด้วยเมทานอล และแยกแต่ละส่วนด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี ที่มีซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ

ในปีเดียวกัน Singh, S. and Khanna, S.K. (18) ได้ศึกษาเกี่ยวกับโปรตีนเพิ่มเติม โดยนำมาสกัดด้วย น้ำ, 10%ไซเดียมคลอไรด์, 80%เอทานอล และ 0.2%ไซเดียมไฮดรอกไซด์ จะได้ albumin, globulin, prolamin และ glutelin. ตามลำดับ

ส่วนรากของงา (sesame root)

ในปี ค.ศ.1989 Tanda, A. และคณะ (19) ได้ศึกษาเกี่ยวกับรากของงา โดยพบกรดอะมิโน (free amino acid) ที่สำคัญ 7 ตัว คือ aspartic acid, glutamic acid, valine, proline, serine, glycine และ leucine.

ต้นงา (sesame)

ในปี ค.ศ.1973 Jain, S.C. and Khanna, P. (20) ได้ศึกษาส่วนที่เป็นเนื้อเยื่อของต้นงา โดยพบสเตอรอยด์ 4 ชนิด ที่สามารถพิสูจน์เอกลักษณ์ได้ คือ

- ก. β -sitosterol (I)
- ข. cholesterol (II)
- ค. lanosterol (III)
- ง. stigmasterol (IV)

ในปี ค.ศ.1976 Wankhede, D.B. และ Tharanathan, R.N. (21) พบว่าทั้งงาขาวและงาดำ ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตที่สำคัญ 8 ชนิด คือ D-glucose, D-galactose, D-fructose, sucrose, raffinose, stachyose, planteose, sesamose

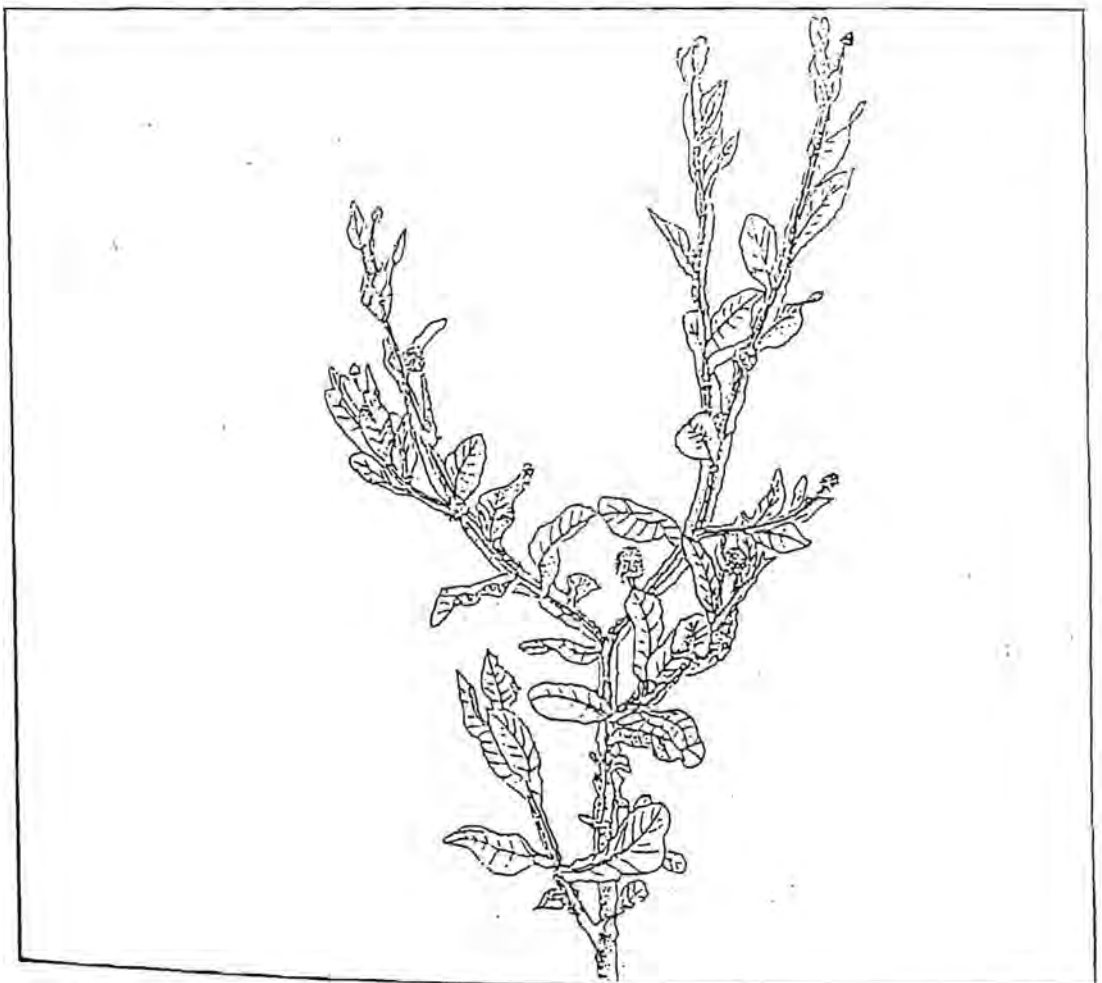
ในปี ค.ศ.1981 Jain, S.C. (22) ได้นำส่วนที่เป็นเนื้อเยื่อของต้นงามา สกัดด้วยเมทานอลได้ของเหลวหนืดสีเหลือง จากนั้นนำมาสกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์และอีเทอร์ จะได้ pedaliin (V)

1.3 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของหญ้าค้อกลอง

"หญ้าค้อกลอง" มีชื่อทางพฤกษศาสตร์ว่า *Sphaeranthus africanus* Linn. มีชื่อสามัญว่า Ox's tough pursland (23) เป็นพืชที่อยู่ใน Family Compositae จัดอยู่ใน Genus *sphaeranthus* ซึ่งมีพืชอยู่ประมาณ 40 species กระจายอยู่ทั่วไปทางตอนบนของทวีปแอฟริกา ทางตอนใต้ของทวีปเอเชีย และ ทวีปออสเตรเลีย species ที่พบเป็นจำนวนมากและ วัสดุมีผู้วิจัยแล้วเป็นจำนวนมากได้แก่ *Sphearanthus indicus* Linn. (24)

"หญ้าค้อกลอง" ที่พบในประเทศไทย มีชื่อต่างกันตามบริเวณที่พบ เช่น หญ้าค้อกลอง (อยุธยา); การบูร (ราชบุรี); ผักคราดหัวแหวน (ปัตตานี); ระงับ (สุพรรณบุรี); สาบแรง (สุราษฎร์); สุ่มแบ (มาเลเซีย - ปัตตานี)

"หญ้าค้อกลอง" เป็นไม้ล้มลุกเนื้ออ่อน อายุหนึ่งปี ลำต้นตั้งตรง สูงประมาณ 15-45 เซนติเมตรบางครั้งจะทอดนอนไปกับพื้น มีส่วนประกอบต่าง ๆ ที่สำคัญดังต่อไปนี้ (25)



รูปที่ 7 ลักษณะของหญ้าค้อกลอง

ลำต้น ลำต้นส่วนล่าง มีสีเขียวบนน้ำตาล ส่วนตอนบนนั้นสีเขียว ลำต้นมีปึก 3-4 ปึก แตกกิ่ง ก้านมาก มักแตกกิ่งที่โคนต้นแล้วชูขึ้น เกี้ยง หรือ มีขนนุ่ม มีกลิ่นน้ำมัน

ใบ ใบออกเรียงสลับกันรูปไข่กลับ หรือรูปขอบขนาน กว้าง 0.5-3.5 เซนติเมตร ยาว 2-11 เซนติเมตร ปลายกลมมนและมีติ่ง โคนสอบแคบติดกับลำต้น ขอบใบจักเป็นซี่ฟันกลมตื้น ๆ และ บางทีจะ เป็นคลื่นเล็กน้อย หนายากที่ขอบใบเรียบ เมื่ออ่อนมีขน เมื่อแก่ เกี้ยง มีต่อมเล็ก ๆ

ดอก ดอกเป็นกระจุกเล็ก ออกเป็นช่อที่ปลายยอดและตรงข้ามใบ ก้านช่อดอกมีปึก ยาวถึง 2 เซนติเมตรดอกสีขาวออกเขียวหรือด้านหนึ่งมีจุดแต้มสีม่วงริ้วประดับรูปช้อน วงในปลายกลมจักเป็นซี่ฟันไม่ชัด วงนอกปลายแหลม ดอกวงนอกเป็นดอกเพศเมีย มีประมาณ 12 ดอก กลีบดอก ยาวประมาณ 1 มิลลิเมตร เชื่อมติดกันเป็นรูปท่อ เกสรเมียเล็ก บาง เกี้ยง ดอกวงในเป็นดอกสมบูรณ์เพศมี 1-4 ดอก ส่วนมากมี 2-3 ดอก กลีบดอกยาวประมาณ 1-2 มิลลิเมตร เชื่อมต่อกันเป็นรูปกรวยแกมรูปท่อ ปลายมี 5 แฉก อับเรณูและเกสรเมียบีสีขาว ท่อเกสรเมียมียวนสีขาว ยกเว้นที่ปลายยอด

ผล ผลแห้งรูปทรงกระบอก ยาว 1 มิลลิเมตร

นิเวศวิทยา พบขึ้นตามที่ชื้นแฉะ หนอง บึง บางครั้งพบตามหาดทราย

สรรพคุณ ถ้านำมาทั้งต้นจะสามารถบรรเทาอาการบวมและปวด หรืออาจใช้เป็นยาพอกแผล ขับพยาธิ ช่วยเจริญอาหาร ขับปัสสาวะ แต่ถ้านำเฉพาะส่วนใบมาคั้นเอาแต่น้ำ น้ำคั้นนี้ เป็นยาอมกลั้วคอ แก้คอเจ็บได้ (26)

จากการศึกษาเอกสารอ้างอิง พบว่าการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของหญ้าค้อนกลอง ยังไม่มีผู้ใดได้ทำการวิจัย แต่ได้มีผู้วิจัยองค์ประกอบทางเคมีของพืชที่อยู่ใน genus เดียวกันกับหญ้าค้อนกลอง คือ *Sphaeranthus indicus* Linn., *Sphaeranthus bullatus* Linn. *Shpaeranthus kirkii* Linn. และ *Sphaeranthus suaveolens* Linn

วิธีดำเนินการวิจัย และ ผลการทดลอง

I. องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของต้นงา

2.1 พืชตัวอย่าง

นางาขาวร้อยเอ็ด(ทั้งต้น)มาทำการทดลอง โดยเริ่มปลูกงาขาวร้อยเอ็ดในราวเดือนเมษายน เมื่ออายุครบ 2 เดือน จึงทำการเก็บเกี่ยวได้ หลังจากนั้นจึงนำมาตากแห้งแล้วนำมาสกัดด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ เพื่อวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของงาขาวร้อยเอ็ดต่อไป

2.2 การสกัด

ทำการสกัดงาขาวร้อยเอ็ดแห้งด้วยตัวทำละลายต่อไปนี้ คือ เฮกเซน, คลอโรฟอร์ม เมทานอล และเอทิลเอซิเตต ตามลำดับ ขั้นตอนการสกัดแสดงดังแผนภาพที่ 1

2.2.1 การสกัดด้วยเฮกเซน

นางาขาวร้อยเอ็ด (ทั้งต้น) ที่ตากแห้งและบดละเอียด หนัก 4.9 กก. มาสกัดด้วยเฮกเซนจำนวน 30 ลิตรที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 สัปดาห์ แล้วนำสารละลายที่สกัดได้มากรองและกลั่นแยกเฮกเซนออกจนเกือบหมด นำเฮกเซนที่กลั่นแยกได้มาสกัดงาขาวร้อยเอ็ดอีก ทำเช่นนี้ซ้ำอีกหลาย ๆ ครั้ง จนกระทั่งสารละลายเฮกเซนที่กรองได้ไม่มีสีจึงหยุดสกัด จะได้สิ่งสกัดานเฮกเซน มีลักษณะเป็นน้ำมันสีน้ำตาลแดงหนืดข้นหนัก 138.72 กรัม (2.83 % โดยน้ำหนักของงาขาวร้อยเอ็ดแห้ง) จากนั้นจึงนำไปแยกหาสารโดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีต่อไป

2.2.2 การสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม

นางาขาวร้อยเอ็ดที่สกัดด้วยเฮกเซนแล้ว มาสกัดต่อด้วยคลอโรฟอร์ม จำนวน 30 ลิตร เช่นเดียวกับข้อ 2.6.1 จะได้สิ่งสกัดานคลอโรฟอร์ม มีลักษณะเป็นของแข็งสีเขียวอมน้ำตาล หนัก 65.78 กรัม (1.34 % โดยน้ำหนักของงาขาวร้อยเอ็ดแห้ง)

2.2.3 การสกัดด้วยเมทานอล

นางาขาวร้อยเอ็ดที่สกัดด้วยคลอโรฟอร์มแล้ว มาสกัดต่อด้วยเมทานอลจำนวน 30 ลิตร เช่นเดียวกับข้อ 2.2.1 โดยช่วงของการกลั่นแยกเมทานอลนั้นจะใช้วิธีการกลั่นแบบลดความดัน จะได้สิ่งสกัดานเมทานอล มีลักษณะเป็นน้ำมันสีน้ำตาลอมดำข้นหนัก 150.14 กรัม

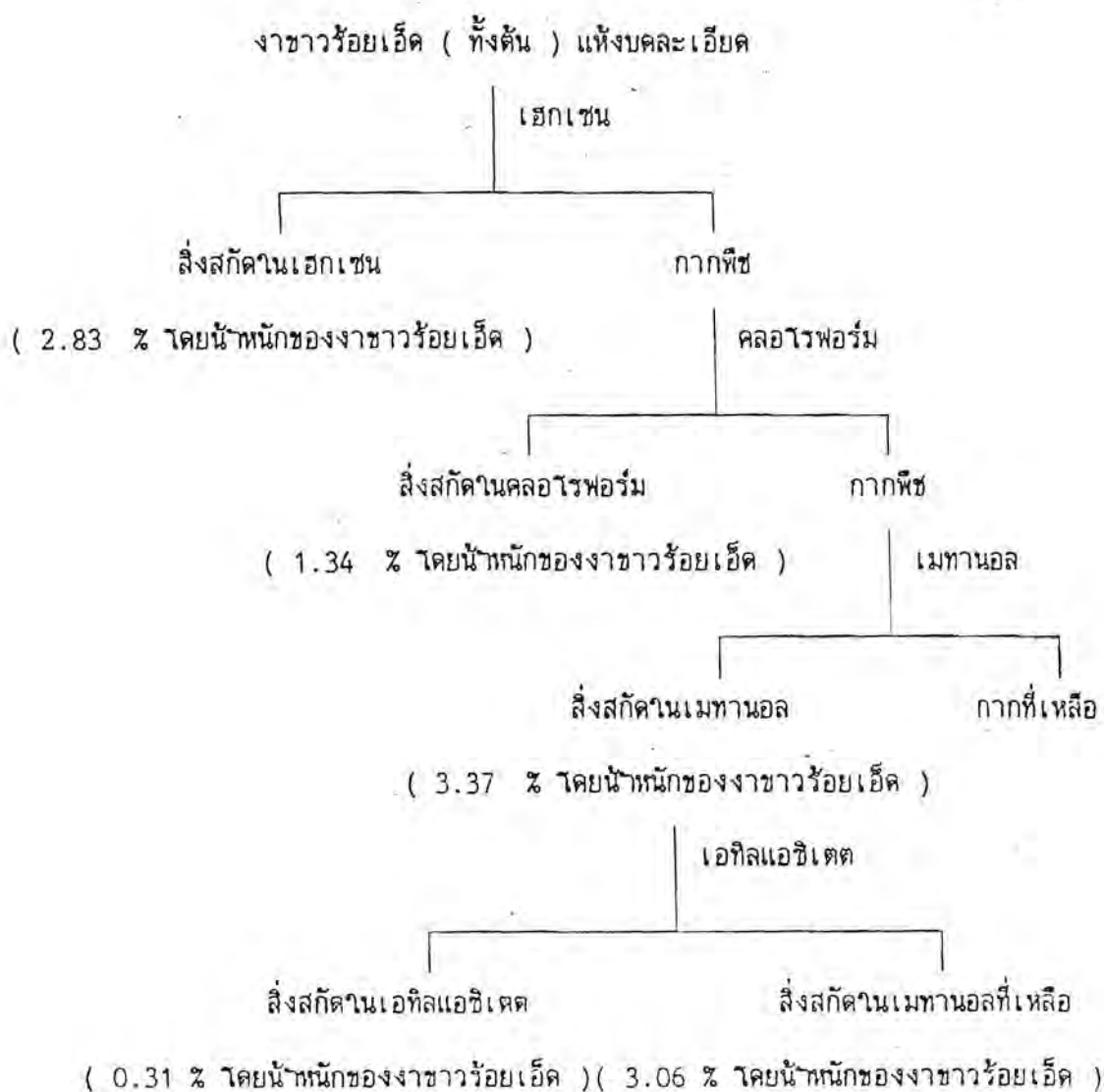


(3.06 % โดยน้ำหนักของงาขาวร้อยละแห้ง)

2.2.4 การสกัดด้วยเอทิลเอซิเตต

นำสิ่งสกัดที่ได้ในเมทานอล มาสกัดด้วยเอทิลเอซิเตต จำนวน 500 ซม.³ เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำสารละลายที่สกัดได้มาล้างแยกเอทิลเอซิเตต สำหรับขั้นตอนในการสกัดซ้ำ ทำเช่นเดียวกับข้อ 2.6.1 จะได้สิ่งสกัดในเอทิลเอซิเตต มีลักษณะเป็นของแข็ง สีเขียวอมเหลืองหนัก 14.99 กรัม (0.31 % โดยน้ำหนักของงาขาวร้อยละแห้ง)

แผนภาพที่ 1 ขั้นตอนการสกัดงาขาวร้อยละแห้ง



2.3 การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ

2.3.1 การศึกษาความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าว (27, 28)

การเตรียมเมล็ดข้าว นำเมล็ดข้าวพันธุ์ กข 23 (indicator plant) มาแช่ทิ้งไว้ประมาณ 2 คืน เพื่อให้เมล็ดข้าวงอกส่วนรากออกมา สำหรับเมล็ดข้าวที่ใช้ในการทดลองจะมีความยาวของราก ประมาณ 1-2 มม.

การเตรียมสารทดลอง นำสารที่จะมาทดสอบ ละลายในตัวทำละลายที่เหมาะสม เตรียมสารละลายตามความเข้มข้นที่ต้องการ 3 ความเข้มข้น นำสารละลายที่ได้มาแต่ละความเข้มข้นใส่ในหลอดแก้วเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 ซม. สูง 12 ซม. ซึ่งบรรจุด้วยเซลลูโลส (cellulose powder) จำนวน 1.5 กรัม จากนั้นปิดหลอดแก้วด้วยกระดาษอลูมิเนียม นำไปอบในตู้อบแห้งสุญญากาศ (vacuum drier) เพื่อให้ตัวทำละลายระเหยออกไปเหลือแต่สารที่สกัดได้จากต้นงา อบอยู่ประมาณ 1 วัน จากนั้นนำหลอดแก้วเหล่านี้ออกมาคน เพื่อให้สารที่สกัดจากต้นงาคลุกเคล้ากับเซลลูโลส เติมน้ำลงใบหลอดละ 4 ซม.³ นำเมล็ดข้าวตัวอย่างที่เตรียมได้มาปลูกลงในหลอดแก้ว หลอดละ 6 เมล็ด ปิดฝาหลอดแก้วด้วยพลาสติกใส ส่วนกรรมวิธีเปรียบเทียบทำเช่นเดียวกันแต่ไม่ใส่สารที่สกัดจากงาหรือยีสต์ ทุกกรรมวิธีทำซ้ำ 3 ครั้ง นำหลอดแก้วดังกล่าวนี้ไปเก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิโดยตั้งอุณหภูมิไว้ประมาณ 30 องศาเซลเซียส ให้แสงตลอด 24 ชม. เป็นเวลา 7 วัน จึงวัดผล

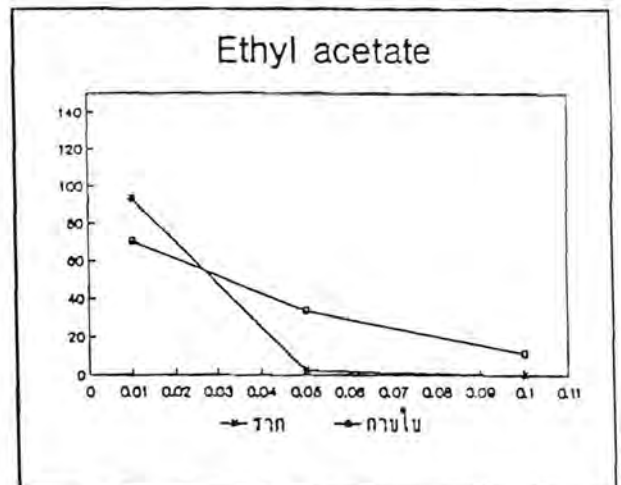
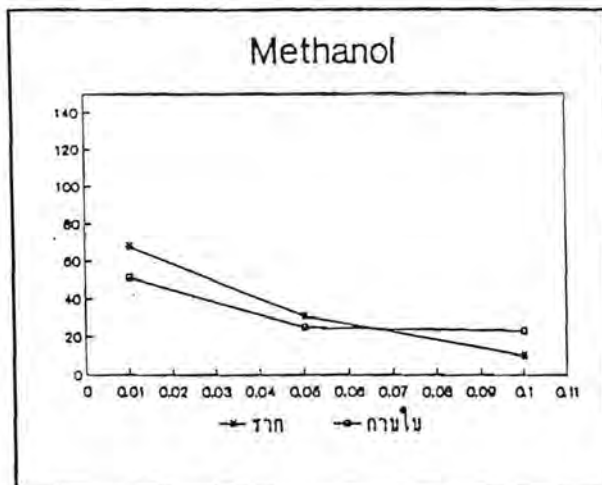
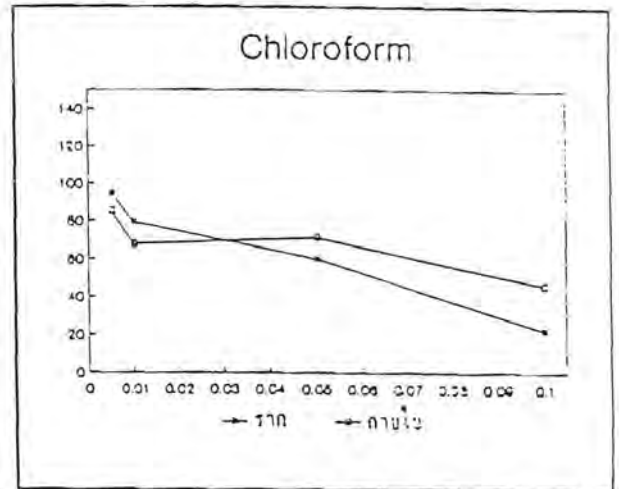
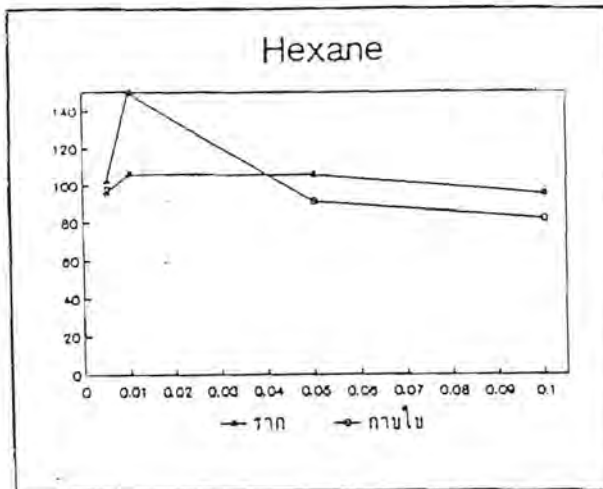
การวัดผล นำต้นข้าวมาล้างให้สะอาด เพื่อวัดความยาวของรากและความยาวของกาบใบที่ 2 ของต้นข้าวอ่อน ซึ่งจะได้เป็นค่าเฉลี่ยของเมล็ดข้าว 18 เมล็ด ใน 1 ความเข้มข้น เปรียบเทียบกับความยาวเฉลี่ยของรากและกาบใบที่ 2 ของต้นข้าวที่งอกในหลอดที่บรรจุเฉพาะเซลลูโลสซึ่งใช้เป็นความยาวมาตรฐานมีค่าเท่ากับ 100 % ถ้าความยาวของรากและกาบใบที่ 2 ใกล้เคียงกับความยาวมาตรฐาน แสดงว่าสิ่งสกัดนั้นไม่มีผลต่อการยับยั้งการงอกของเมล็ดข้าว แต่ถ้าความยาวแตกต่างกับความยาวมาตรฐาน แสดงว่าสิ่งสกัดนั้นมีผลในการยับยั้งการงอกของเมล็ดข้าว

ผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าว ของสิ่งสกัดจากงาหรือยีสต์ แสดงดังตารางที่ 4

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าว ของสิ่งสกัด จากต้นงาขาววัยเห็ด ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

รหัส	สิ่งสกัด	ส่วนของต้นข้าวที่ศึกษา	เปอร์เซ็นต์ความยาวที่ความเข้มข้นต่าง ๆ			
			0.005	0.01	0.05	0.10
S ₁	เฮกเซน	ราก	95.70	105.87	105.63	95.31
		กาบใบ	100.73	149.64	91.11	82.16
S ₂	คลอโรฟอร์ม	ราก	94.68	79.04	60.21	22.36
		กาบใบ	84.74	67.46	71.15	46.45
S ₃	เมทานอล	ราก	-	67.99	30.49	10.00
		กาบใบ	-	51.17	24.71	22.97
S ₄	เอทิลแอลกอฮอล์	ราก	-	93.01	2.27	0.00
		กาบใบ	-	70.42	33.29	11.14

จากผลการทดสอบที่แสดงในตารางที่ 2 พบว่า สิ่งสกัดจากเอทิลแอลกอฮอล์ ซึ่งมีองค์ประกอบ 0.31% โดยน้ำหนักต้นงาแห้ง และความเข้มข้น 0.10 กรัม:เซลลูโลส 1.5 กรัม มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวมากที่สุด รองลงมาคือสิ่งสกัดจากเมทานอล, สิ่งสกัดจากคลอโรฟอร์ม และสิ่งสกัดจากเฮกเซน ตามลำดับ จากนั้นนำมาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความยาวของรากและกาบใบ โดยเทียบกับความยาวของรากและกาบใบของต้นข้าวอ่อน เมื่อไม่ได้รับสารเหล่านี้ กับความเข้มข้นของสิ่งสกัดที่ใช้ โดยแกนตั้งเป็นเปอร์เซ็นต์ความยาวของรากและกาบใบ ส่วนแกนนอนเป็นความเข้มข้นของสิ่งสกัดที่ใช้ (กรัม:เซลลูโลส 1.5 กรัม) ดังในรูปที่ 8.



แกนตั้ง - เปอร์เซ็นต์ความยาว

แกนนอน - ความเข้มข้นของสาร (กรัม: เซลลูโลส 1.5 กรัม)

รูปที่ 8. กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์ความยาวของรากและกาบไซของต้นข้าว เมื่อได้รับสิ่งสกัดจาก ต้นงาขาวร้อยเอ็ด ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

2.3.2 การศึกษาความเป็นพิษต่อปลา (27, 29)

การเตรียมปลา นำปลาหางนกยูงขนาดความยาว 2 ซม. ใส่ในถ้วยที่มีน้ำ 200 ซม.³ ถ้วยละ 7 ตัว ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 2-3 ชม. เพื่อให้ปลาปรับตัว

การเตรียมสารทดสอบ นำสารที่จะทดสอบ มาละลายด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม โดยเตรียมสารละลายตามความเข้มข้นที่ต้องการ 3 ความเข้มข้น ใส่สารละลายลงในจานเพาะเชื้อที่มีกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 ขนาด 4 x 4 ซม.² โดยที่ 1 ความเข้มข้นจะใส่ในจานเพาะเชื้อ 3 จาน ส่วนที่ใช้เป็นมาตรฐานจะไม่ใส่สารที่ทดสอบ จากนั้นปล่อยทิ้งไว้ 1 คืน เพื่อให้ตัวทำละลายระเหยออกไปหมดก่อน แล้วจึงนำไปใส่ในถ้วยเลี้ยงปลาที่จัดเตรียมไว้ โดยตัดกระดาษกรองในจานเพาะเชื้อให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ บันทึกจำนวนปลาที่ตายเมื่อเวลาผ่านไป 1 วัน ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อปลาของสิ่งสกัดจากต้นงาขาววัยเห็ด ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

รหัส	สิ่งสกัด	เบอร์เซ็นต์จำนวนปลาที่ตายที่ความเข้มข้นต่าง ๆ		
		0.01	0.05	0.10
S ₁	เฮกเซน	0.00	0.00	14.28
S ₂	คลอโรฟอร์ม	14.28	14.28	14.28
S ₃	เมทานอล	0.00	0.00	28.57
S ₄	เอทิลแอลกอฮอล์	0.00	14.28	14.28

2.4 การแยกสารของสิ่งสกัด

2.4.1 การแยกสารของสิ่งสกัดในเฮกเซน โดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี

นำสิ่งสกัดในเฮกเซน จากข้อ 2.1.1 มาแยกโดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยแบ่งทำ 2 ครั้ง ๆ ละ 35.72 กรัม และ 50.03 กรัม ตามลำดับ ใช้ซิลิกาเจลหนัก 420.10 กรัม และ 508.90 กรัม ตามลำดับ ซะคอลัมน์ด้วยตัวทาละลายเรียงตามความมีขั้วจากน้อยไปหามากคือ เฮกเซน สารละลายผสมระหว่างเฮกเซนกับไดคลอโรมีเทน ไดคลอโรมีเทน สารละลายผสมระหว่างไดคลอโรมีเทนกับเมทานอล เมทานอล เก็บสารละลายที่ชะออกมาครั้งละ 800 ซม.³ ในการทำครั้งที่ 1 และ 1000 ซม.³ ในการทำครั้งที่ 2 นำแต่ละส่วนที่ได้ไปกลั่นแบบธรรมดา เพื่อไล่ตัวทาละลายออกให้เหลือปริมาตรประมาณ 10-15 ซม.³ จากนั้นนำสารละลายแต่ละส่วน (fraction) มาทดสอบว่ามีองค์ประกอบทางเคมีเหมือนกันหรือไม่โดยใช้กินแลร์โครมาโทกราฟี ตามวิธีการในข้อ 2.5.3 รวมส่วนที่เหมือนกันเข้าด้วยกัน แล้วนำใบทาให้บริสุทธิ์มากยิ่งขึ้นโดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีซ้ำ, วิธีถ่านกัมมันต์คอลัมน์โครมาโทกราฟีและวิธีการตกผลึก ผลการแยกสารของสิ่งสกัดในเฮกเซนแสดงดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงผลการแยกสารของสิ่งสกัดในเฮกเซน โดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี

รหัส	ตัวทาละลาย (อัตราส่วนโดยปริมาตร)	ลำดับส่วนที่	ลักษณะสาร	น้ำหนักสาร (กรัม)
S ₁₁	เฮกเซน	1-14	ของแข็งอสัณฐานสีขาว	1.23
S ₁₂	เฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน 9:1	15-26	น้ำมันสีเหลืองปนของแข็งสีขาว	1.68
S ₁₃	"	27-33	น้ำมันสีส้มปนของแข็งสีขาว	0.25
S ₁₄	เฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน 4:1	34-36	น้ำมันสีส้มปนของแข็งสีขาว	2.67

ตารางที่ 4 (ต่อ)

รหัส	ตัวทาละลาย (อัตราส่วนโดยปริมาตร)	ลำดับส่วนที่	ลักษณะสาร	น้ำหนักสาร (กรัม)
S ₁₅	เฮกเซน:โดคลอโรมีเทน 3:2	37-47	น้ำมันสีเหลือง	54.94
S ₁₆	เฮกเซน:โดคลอโรมีเทน 1:1	48-59	น้ำมันสีเหลืองปนผลึกรูปเข็ม	3.56
S ₁₇	เฮกเซน:โดคลอโรมีเทน 2:3	60-69	น้ำมันสีน้ำตาลอมส้มปนผลึกรูป เข็มสีเหลืองอ่อน	0.59
S ₁₈	โดคลอโรมีเทน	70-102	น้ำมันสีเขียวอมน้ำตาล	4.20
S ₁₉	โดคลอโรมีเทน:เมทานอล 9:1	103-104	น้ำมันสีเขียวอมน้ำตาล	2.07
		105-108	น้ำมันสีเขียวเข้ม	3.44
S ₁₁₀	โดคลอโรมีเทน:เมทานอล 3:2 เมทานอล	109-118	น้ำมันสีเขียวอ่อน	0.92
		119-121	น้ำมันสีเขียวอ่อน	2.69
		122-131	น้ำมันสีเขียวขุ่น	1.49

2.4.2 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

นำแต่ละส่วนที่แยกได้ ในข้อ 2.4.1 มาทดสอบความสามารถในการยับยั้ง
การเจริญเติบโตของต้นข้าวอ่อน ตามวิธีการในข้อ 2.3.1 ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าว ในแต่ละส่วน
ที่แยกได้จากสิ่งสกปรกดินแฮกเซน ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

รหัส	ส่วนของ ต้นข้าว ที่ศึกษา	เปอร์เซ็นต์ความยาวที่ความเข้มข้นต่าง ๆ					
		0.001	0.005	0.01	0.02	0.05	0.10
S ₁₁	ราก	-	-	142.18	-	126.22	122.40
	กาบใบ	-	-	177.27	-	206.45	223.34
S ₁₂	ราก	-	124.33	133.34	-	116.61	-
	กาบใบ	-	224.20	219.59	-	210.02	-
S ₁₃	ราก	-	144.92	141.15	-	142.66	-
	กาบใบ	-	221.63	206.94	-	188.39	-
S ₁₄	ราก	-	135.81	131.62	-	148.66	137.41
	กาบใบ	-	220.27	216.52	-	204.18	224.50
S ₁₅	ราก	-	113.74	144.92	-	122.73	119.60
	กาบใบ	-	209.83	217.01	-	223.15	208.48
S ₁₆	ราก	-	128.61	87.88	-	34.52	3.32
	กาบใบ	-	208.67	167.87	-	163.45	89.07
S ₁₇	ราก	-	142.02	101.39	-	83.06	64.52
	กาบใบ	-	185.81	173.34	-	166.15	154.54
S ₁₈	ราก	-	115.34	106.21	-	61.95	18.33
	กาบใบ	-	182.06	153.75	-	168.92	148.40

ตารางที่ 5 (ต่อ)

รหัส	ส่วนของ ดินข้าว ที่ศึกษา	เปอร์เซ็นต์ความยาวที่ความเข้มข้นต่าง ๆ					
		0.001	0.005	0.01	0.02	0.05	0.10
S ₁₉	ราก	100.87	99.77	89.13	83.98	-	-
	กาบใบ	98.44	-	91.93	88.82	-	-
S ₁₀	ราก	102.34	100.00	99.77	95.07	-	-
	กาบใบ	93.48	96.09	92.25	88.99	-	-

จากผลการทดสอบที่แสดงในตารางที่ 5 พบว่าแต่ละส่วนที่แยกได้จากสิ่งสกปรกในเฮกเซน มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของดินข้าวอ่อนแตกต่างกัน โดยพบว่า S₁₉ ซึ่งมีองค์ประกอบ $1.82 \times 10^{-1}\%$ โดยน้ำหนักดินงาแห้ง และความเข้มข้น 0.02 กรัม:เซลลูโลส 1.5 กรัม แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของดินข้าวมากที่สุด รองลงมาคือ S₁₆, S₁₈ และ S₁₇ ซึ่งมีองค์ประกอบ $1.17 \times 10^{-1}\%$, $1.39 \times 10^{-1}\%$, $1.95 \times 10^{-2}\%$ โดยน้ำหนักดินงาแห้ง ตามลำดับ โดยพิจารณาที่ความเข้มข้นเดียวกันคือ 0.10 กรัม:เซลลูโลส 1.5 กรัม

2.4.3 การแยกสารให้มีความบริสุทธิ์มากขึ้น

โดยเลือกพิจารณาในแต่ละส่วนที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพสูงมาทำการแยกสาร ด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีซ้ำ และวิธีถ่านกัมมันต์คอลัมน์โครมาโทกราฟี ดังนี้

2.4.3.1 การแยกสารของลำดับส่วนที่ 70-102 (S₁₈)

นำสารลำดับส่วนที่ 70-102 จากข้อ 2.4.1 ซึ่งมีลักษณะเป็นน้ำมันสีเขียวอมน้ำตาลหนัก 4.20 กรัม มาทำการแยกด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจลหนัก 80.45 กรัมเป็นตัวดูดซับ จากนั้นชะคอลัมน์ด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ แล้วเก็บสารละลายที่ชะออกมาครั้งละ 200 ซม.³ โดยเก็บแต่ละส่วนเช่นเดียวกับข้อ 2.4.1 ผลการแยกสารแสดงดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ผลการแยกสารของลำดับส่วนที่ 70-102 โดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีซ้ำ

ตัวทำละลาย (อัตราส่วนโดยปริมาตร)	ลำดับส่วนที่	ลักษณะสาร	น้ำหนักสาร (กรัม)
เฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (1:1)	1-8	คราบตะกอนสีเหลืองอมส้ม	0.04
เฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (1:1), (2:3) และ (3:7)	9-40	น้ำมันสีเขียวอมน้ำตาลปนผลึก สีเหลืองอ่อนแวววาว	1.89
เฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (1:4)	41-55 56	น้ำมันสีเขียวอมน้ำตาล น้ำมันสีเขียวอมเหลือง	0.48 0.47
ไดคลอโรมีเทน	57-58	คราบน้ำมันสีเขียวอ่อน	0.03
ไดคลอโรมีเทน:เมทานอล (9:1)	59-60	น้ำมันสีน้ำตาลมีลักษณะเป็น เม็ดกลม	0.38

ตารางที่ 6 (ต่อ)

ตัวทาละลาย (อัตราส่วนโดยปริมาตร)	ลำดับส่วนที่	ลักษณะสาร	น้ำหนักสาร (กรัม)
ไตรคลอโรมีเทน:เมทานอล (1:4)	61-63	น้ำมันสีเหลืองอมเขียวขุ่น ของแข็งสีเหลือง	0.02
เมทานอล	64-66	น้ำมันสีเหลืองขุ่น	0.08

2.4.3.2 การแยกสารของลำดับส่วนที่ 103-104 (S₁₉)

นำสารลำดับส่วนที่ 103-104 จากข้อ 2.4.1 ซึ่งมีลักษณะเป็น
น้ำมันสีเขียวอมน้ำตาลหนัก 2.07 กรัม มาทำการแยกด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้
ซิลิกาเจลหนัก 41.00 กรัมเป็นตัวดูดซับ จากนั้นชะคอลัมน์ด้วยตัวทาละลายต่าง ๆ แล้วเก็บ
สารละลายที่ชะออกมาครั้งละ 100 ซม.³ โดยเก็บแต่ละส่วนเช่นเดียวกับข้อ 2.4.1 ผลการ
แยกสารแสดงดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ผลการแยกสารของลำดับส่วนที่ 103-104 โดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีซ้ำ

ตัวทาละลาย (อัตราส่วนโดยปริมาตร)	ลำดับส่วนที่	ลักษณะสาร	น้ำหนักสาร (กรัม)
เฮกเซน: ไดคลอโรมีเทน (1:9)	1-32	ของแข็งสีขาวอมเหลือง	0.06
ไดคลอโรมีเทน: เมทานอล (19:1) และ (13:2)	33-52	น้ำมันสีเขียวปนของแข็งสีขาว	0.52
ไดคลอโรมีเทน: เมทานอล (9:1) และ (11:9)	53-68	น้ำมันสีน้ำตาลอมเหลือง	0.32

2.4.3.3 การแยกสารของลำดับส่วนที่ 33-52

นำสารลำดับส่วนที่ 33-52 จากตารางที่ 7 ลักษณะเป็นน้ำมันสีเขียวปนของแข็งสีขาวหนัก 0.52 กรัม มาขจัดสีของคลอโรฟิลล์และเม็ดสีต่าง ๆ โดยใช่วิธีดำนกัมมันต์คอลัมน์โครมาโทกราฟี ซึ่งประกอบด้วย zelite หนัก 6.40 กรัม ผสมกับ activated charcoal หนัก 1.99 กรัมเป็นตัวดูดซับ ตามวิธีการในข้อ 2.5.4 จากนั้นชะคอลัมน์ด้วยตัวทาละลายต่าง ๆ แล้วเก็บสารละลายที่ชะออกมาครั้งละ 200 ซม.³ โดยเก็บแต่ละส่วนเช่นเดียวกับข้อ 2.8.1 ผลการแยกสารแสดงดังตารางที่

ตารางที่ 8 ผลการแยกสารลำดับส่วนที่ 33-52 โดยวิธีถ่านกัมมันต์คอลัมน์โครมาโทกราฟี

ตัวทาละลาย (อัตราส่วนโดยปริมาตร)	ลำดับส่วนที่	ลักษณะสาร	น้ำหนักสาร (กรัม)
เฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (2:3)	1-3	ของแข็งสีขาว	0.24
ไดคลอโรมีเทน	4-8	คราบน้ำมันสีเขียวอมดำ	0.03
ไดคลอโรมีเทน:เมทานอล (9:1)	9-12	คราบน้ำมันสีเขียว	0.02
	13-15	คราบน้ำมันสีเหลืองอมเขียว	0.02
ไดคลอโรมีเทน:เมทานอล (1:1)และ(1:4)	16-22	คราบน้ำมันสีเหลือง	0.01

2.4.3.4 การแยกสารของลำดับส่วนที่ 105-108 (S₁₉)

นำสารลำดับส่วนที่ 105-108 จากข้อ 2.4.1 ซึ่งมีลักษณะเป็นน้ำมันสีเขียวชั้นหนัก 3.44 กรัม มาทำการแยกด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจลหนัก 63.78 กรัมเป็นตัวดูดซับ จากนั้นชะคอลัมน์ด้วยตัวทาละลายต่าง ๆ แล้วเก็บสารละลายที่ชะออกมาครั้งละ 200 ซม.³ โดยเก็บแต่ละส่วนเช่นเดียวกับข้อ 2.4.1 ผลการแยกสารแสดงดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 ผลการแยกสารของลำดับส่วนที่ 105-108 โดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีซ้ำ

ตัวทาละลาย (อัตราส่วนโดยปริมาตร)	ลำดับส่วนที่	ลักษณะสาร	น้ำหนักสาร (กรัม)
เฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (1:4)	1-4	น้ำมันสีเหลืองบนของแข็งสีขาว	0.15
เฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (1:9)	5-6	น้ำมันสีเหลือง	0.35
	7-17	น้ำมันสีเขียวบนผลึกสีเหลืองอ่อน	0.68
ไดคลอโรมีเทน	18-21	น้ำมันสีเขียวขุ่น	0.08
ไดคลอโรมีเทน:เมทานอล (19:1)	22-24	น้ำมันสีเขียวขุ่น	1.44
ไดคลอโรมีเทน:เมทานอล (9:1)	25-26	น้ำมันสีเขียวอมเหลือง	0.22
ไดคลอโรมีเทน:เมทานอล (4:1)	27-29	น้ำมันสีเขียวอมน้ำตาล	0.12
ไดคลอโรมีเทน:เมทานอล (1:1)และ(1:4)	30-33	น้ำมันสีเหลืองขุ่น	0.24

2.1.4 การแยกสารของสิ่งสกัดานคลอโรฟอร์ม



2.1.4.1 การแยกสารของสิ่งสกัดานคลอโรฟอร์ม โดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี

นำสิ่งสกัดานคลอโรฟอร์มหนัก 65.78 กรัม จากข้อ 2.2.2 มาแยกด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยแบ่งมาเท่ากับ 37.22 กรัม ซึ่งใช้ซิลิกาเจล หนัก 473.00 กรัม ละเอียดด้วยตัวทาละลายเรียงตามความมีขี้จากน้อยไปหามากคือ เฮกเซน สารละลายผสมระหว่างเฮกเซนกับคลอโรฟอร์ม คลอโรฟอร์ม สารละลายผสมระหว่างคลอโรฟอร์มกับเมทานอล เมทานอล เก็บสารละลายครั้งละ 800 ซม.³ นำแต่ละส่วน (fraction) ที่ได้ไปกลั่นเบนธรรมาเพื่อใส่ตัวทาละลายออกให้เหลือปริมาตรประมาณ 10-15 ซม.³ จากนั้นนำสารละลายแต่ละส่วนมาทดสอบว่ามีองค์ประกอบทางเคมีเหมือนกันหรือไม่ โดยใช้วิธีทินเลอร์โครมาโทกราฟีตามวิธีการในข้อ 2.5.3 รวมส่วนที่เหมือนกันเข้าด้วยกันแล้วนำไปทำให้บริสุทธิ์มากยิ่งขึ้นโดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีซ้ำ, วิธีถ่านกัมมันต์คอลัมน์โครมาโทกราฟีและวิธีการตกผลึก ผลการแยกสารของสิ่งสกัดานคลอโรฟอร์มแสดงดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 ผลการแยกสารของสิ่งสกัดานคลอโรฟอร์ม โดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี

รหัส	ตัวทาละลาย (อัตราส่วนโดยปริมาตร)	ลำดับส่วนที่	ลักษณะสาร	น้ำหนักสาร (กรัม)
S ₂₁	เฮกเซน เฮกเซน:คลอโรฟอร์ม (9:1)และ(4:1)	1-35	น้ำมันสีน้ำตาลหนืด	1.76
S ₂₂	เฮกเซน:คลอโรฟอร์ม (4:1)และ(3:1)	36-50	น้ำมันสีส้มอมน้ำตาลปนของแข็ง สีขาว	2.10
S ₂₃	เฮกเซน:คลอโรฟอร์ม (3:1)	51-58	น้ำมันสีน้ำตาลปนผลึกหยาบ เข้ม สีขาว	2.46

ตารางที่ 10 (ต่อ)

รหัส	ตัวอย่าง (อัตราส่วนโดยปริมาตร)	ลำดับส่วนที่	ลักษณะสาร	น้ำหนักสาร (กรัม)
S ₂₄	เฮกเซน:คลอโรฟอร์ม (7:3)(3:2)และ(11:9)	59-100	น้ำมันสี เขียวอมน้ำตาล	1.34
S ₂₅	เฮกเซน:คลอโรฟอร์ม (11:9)	101-120	น้ำมันสี เขียวอมน้ำตาล	0.62
S ₂₆	เฮกเซน:คลอโรฟอร์ม (11:9)และ(1:1)	121-136	น้ำมันสี เขียวอมเหลือง	0.61
S ₂₇	เฮกเซน:คลอโรฟอร์ม (9:11)และ(2:3)	137-163	น้ำมันสี เขียวอมเหลือง	0.55
S ₂₈	เฮกเซน:คลอโรฟอร์ม (3:7)และ(1:4)	164-199	น้ำมันสี เขียวปนของแข็งสีขาว	0.59
S ₂₉	คลอโรฟอร์ม	200-204	น้ำมันสี เขียวอมดำ	16.45
S ₂₁₀	คลอโรฟอร์ม:เมทานอล	205-209	น้ำมันสี เขียวอมดำ	1.55
S ₂₁₁	(19:1)	210-218	น้ำมันสี เขียวอมน้ำตาล	1.12
S ₂₁₂	คลอโรฟอร์ม:เมทานอล (9:1)และ(17:3)	219-230	น้ำมันสีน้ำตาลปนของแข็งสี น้ำตาล	1.80
S ₂₁₃	คลอโรฟอร์ม:เมทานอล (4:1),(2:3)และ(1:4)	231-252	น้ำมันสีน้ำตาลหนืด	2.76

2.4.4.2 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

โดยนำแต่ละส่วนที่แยกได้มาข้อ 2.9.1 มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวอ่อน ตามวิธีการในข้อ 2.7.1 ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 11

ตารางที่ 11 ผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าว ในแต่ละส่วนที่แยกได้จากสิ่งสกัดในคลอโรฟอร์ม ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

รหัส	ส่วนของต้นข้าวที่ศึกษา	เปอร์เซ็นต์ความยาวที่ความเข้มข้นต่าง ๆ					
		0.001	0.005	0.01	0.02	0.05	0.10
S ₂₁	ราก	105.16	108.75	119.29	-	99.53	-
	กาบใบ	88.35	89.32	83.77	-	91.93	-
S ₂₂	ราก	91.17	-	75.61	-	60.67	66.92
	กาบใบ	106.45	-	100.73	-	106.28	96.97
S ₂₃	ราก	-	85.53	92.03	-	82.01	70.53
	กาบใบ	-	94.36	92.89	-	87.47	67.07
S ₂₄	ราก	108.29	121.09	126.74	119.08	-	-
	กาบใบ	141.80	98.29	86.05	83.62	-	-
S ₂₅	ราก	102.66	115.64	131.98	120.34	-	-
	กาบใบ	102.69	106.10	145.71	88.35	-	-
S ₂₆	ราก	90.47	67.28	70.71	-	29.94	-
	กาบใบ	102.69	96.18	87.85	-	84.91	-

ตารางที่ 11. (ต่อ)

รหัส	ส่วนของ คันขั้ว ที่ศึกษา	เปอร์เซ็นต์ความยาวที่ความเข้มข้นต่าง ๆ					
		0.001	0.005	0.01	0.02	0.05	0.10
S ₂₇	ราก	93.12	73.74	66.46	-	10.86	-
	กาบใบ	102.37	88.82	79.22	-	74.00	-
S ₂₈	ราก	97.27	90.63	63.49	48.94	-	-
	กาบใบ	101.23	82.80	83.77	67.13	-	-
S ₂₉	ราก	-	85.61	81.55	-	73.03	89.29
	กาบใบ	-	102.69	100.35	-	87.67	83.12
S ₂₁₀	ราก	-	87.35	74.97	-	85.31	76.55
	กาบใบ	-	93.72	93.22	-	82.48	82.30
S ₂₁₁	ราก	91.00	65.98	50.19	-	9.83	-
	กาบใบ	81.01	68.60	63.23	-	4.08	-

ตารางที่ 11 (ต่อ)

รหัส	ส่วนของ ดินข้าว ที่ศึกษา	เปอร์เซ็นต์ความยาวที่ความเข้มข้นต่าง ๆ							
		0.001	0.005	0.0087	0.01	0.0175	0.02	0.05	0.10
S ₂ 12	ราก	-	-	91.24	-	69.98	-	42.60	20.25
	กาบใบ	-	-	78.05	-	67.63	-	52.96	44.01
S ₂ 13	ราก	91.64	109.15	-	115.72	-	108.13	-	-
	กาบใบ	88.99	88.35	-	78.08	-	65.95	-	-

จากผลการทดสอบที่แสดงในตารางที่ 11 พบว่าแต่ละส่วนที่แยกได้จากสิ่งสกปรกในคลอง-
 ราวพร้อมมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของดินข้าวอ่อนแตกต่างกัน โดยพบว่า S₂11 ซึ่งมี
 ionic strength $4.04 \times 10^{-2}\%$ โดยน้ำหนักดินงาแห้ง และความเข้มข้น 0.05 กรัม:เซลลูโลส 1.5
 แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งมากที่สุด รองลงมาคือ S₂12 มี ionic strength $6.49 \times 10^{-2}\%$ โดยน้ำ
 หนักดินงาแห้ง และความเข้มข้น 0.10 กรัม:เซลลูโลส 1.5 กรัม, S₂8 มี ionic strength
 $2.13 \times 10^{-2}\%$ โดยน้ำหนักดินงาแห้ง และความเข้มข้น 0.02 กรัม:เซลลูโลส 1.5 กรัม, S₂7
 และ S₂6 ที่มี ionic strength $1.98 \times 10^{-2}\%$ และ $2.20 \times 10^{-2}\%$ โดยน้ำหนักดินงาแห้ง ตามลำดับ
 โดยพิจารณาที่ความเข้มข้นเดียวกันคือ 0.05 กรัม:เซลลูโลส 1.5 กรัม

2.4.5 การแยกสารของสิ่งสกัดในเมทานอล

2.4.5.7 การแยกสารของสิ่งสกัดในเมทานอล โดยวิธีคอลลัมน์โครมาโทกราฟี

หลังจากนำสิ่งสกัดในเมทานอล จากข้อ 2.2.3 มาสกัดด้วยเอทิลเอซิเตต ตามวิธีการในข้อ 2.6.4 จะได้สิ่งสกัดในเมทานอลที่เหลือหนัก 150.14 กรัม นำมาแยกด้วยวิธี คอลลัมน์โครมาโทกราฟี โดยแบ่งสิ่งสกัดในเมทานอลมาเท่ากับ 49.98 กรัม ซึ่งใช้ซิลิกาเจล หนัก 850.00 กรัมเป็นตัวดูดซับ ชะลอด้วยตัวทำละลายเรียงตามความมีขั้วน้อยไปหามากคือ เฮกเซน สารละลายผสมระหว่างเฮกเซนกับไดคลอโรมีเทน ไดคลอโรมีเทน สารละลายผสม ระหว่างไดคลอโรมีเทนกับเมทานอล เมทานอล เก็บสารละลายที่ชะออกมาครั้งละ 800 ซม.³ นำแต่ละส่วน (fraction) ที่ได้ไปกลั่นแบบธรรมดา เพื่อไล่ตัวทำละลายออกให้เหลือปริมาณ ประมาณ 10-15 ซม.³ จากนั้นนำสารละลายแต่ละส่วนมาทดสอบว่ามีองค์ประกอบทางเคมี เหมือนกันหรือไม่โดยใช้ทินเนอร์โครมาโทกราฟี ตามวิธีการดังกล่าวแล้ว รวมส่วนที่เหมือนกัน เข้าด้วยกัน แล้วนำไปทาให้บริสุทธิ์มากยิ่งขึ้นโดยวิธีการตกผลึก, หรือการใช้ high performance liquid chromatography ผลการแยกสารของสิ่งสกัดในเมทานอล แสดงดัง ตารางที่ 12

ตารางที่ 12 ผลการแยกสารของสิ่งสกัดในเมทานอล โดยวิธีคอลลอยด์โครมาโทกราฟี

รหัส	ตัวทำละลาย (อัตราส่วนโดยปริมาตร)	ลำดับส่วนที่	ลักษณะสาร	น้ำหนักสาร (กรัม)
S ₃₁	โศคลอโรมีเทน	1-7	คราบสีเหลืองอมเขียว	0.07
	โศคลอโรมีเทน: เมทานอล (19:1)	8-12	น้ำมันสีน้ำตาลปนของแข็งสีขาว หนืด	2.25
S ₃₂	โศคลอโรมีเทน: เมทานอล (19:1) และ (9:1)	13-27	น้ำมันสีน้ำตาลปนของแข็งสี เหลือง	9.52
S ₃₃	โศคลอโรมีเทน: เมทานอล (9:1) และ (4:1)	28-45	น้ำมันสีน้ำตาลหนืดปนของแข็งสี เหลือง	25.77
S ₃₄	โศคลอโรมีเทน: เมทานอล (4:1)	46-57	น้ำมันสีน้ำตาลแดงหนืด	3.71
S ₃₅	โศคลอโรมีเทน: เมทานอล (7:3)	58-61	น้ำมันสีน้ำตาลแดงหนืด	2.50
S ₃₆	โศคลอโรมีเทน: เมทานอล (3:2)	62-71	น้ำมันสีน้ำตาลแดงหนืด	2.69
S ₃₇	โศคลอโรมีเทน: เมทานอล (1:1), (2:3) และ (3:7)	72-93	น้ำมันสีน้ำตาลแดงหนืด	0.29
S ₃₈	โศคลอโรมีเทน: เมทานอล (1:4) และ เมทานอล	94-102	น้ำมันสีน้ำตาลขุ่นหนืด	1.19

2.4.5.2 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

โดยนำแต่ละส่วนที่แยกได้ ในข้อ 2.4.5.1 มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวอ่อน ตามวิธีการในข้อดังกล่าวแล้ว การทดสอบแสดงดังตารางที่ 13

ตารางที่ 13 ผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าว ในแต่ละส่วนที่แยกได้จากสิ่งสกัดในเมทานอล ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

รหัส	ส่วนของต้นข้าว ที่ศึกษา	เปอร์เซ็นต์ความยาวที่ความเข้มข้นต่าง ๆ		
		0.01	0.05	0.10
S ₃₁	ราก	57.64	22.24	24.64
	กาบใบ	94.35	87.37	61.79
S ₃₂	ราก	86.97	0.00	0.00
	กาบใบ	89.70	25.91	0.00
S ₃₃	ราก	126.43	6.28	7.95
	กาบใบ	73.00	77.30	48.47
S ₃₄	ราก	165.25	70.05	8.32
	กาบใบ	96.32	78.22	79.14
S ₃₅	ราก	145.29	75.60	34.38
	กาบใบ	100.92	77.30	77.61
S ₃₆	ราก	120.33	123.66	40.11
	กาบใบ	114.42	79.75	65.64

จากผลการทดสอบที่ส่งในตารางที่ 13 พบว่า ในแต่ละส่วนที่แยกได้จากสิ่งสกัดในเมทานอล มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวอ่อนแตกต่างกัน โดยพบว่า S_32 ซึ่งมีองค์ประกอบ $5.84 \times 10^{-1} \%$ โดยน้ำหนักต้นงาแห้ง แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งมากที่สุด รองลงมาคือ S_33 และ S_34 ซึ่งมีองค์ประกอบ 1.58% และ $2.29 \times 10^{-1} \%$ โดยน้ำหนักต้นงาแห้ง ตามลำดับ โดยจะพิจารณาที่ความเข้มข้นเดียวกันคือ 0.10 กรัม : เซลลูโลส 1.5 กรัม

การแยกสารให้มีความบริสุทธิ์มากขึ้น

โดยเลือกพิจารณาในแต่ละส่วนที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพสูง มาทำการแยกด้วยวิธี high performance liquid chromatography

2.4.6 การแยกสารของสิ่งสกัดในเอทิลแอลกอฮอล์

2.4.6.1 การแยกสารของสิ่งสกัดในเอทิลแอลกอฮอล์โดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี

นำสิ่งสกัดในเอทิลแอลกอฮอล์หนัก 14.99 กรัม มาทำการแยกด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยแบ่งมาทำ 2 ครั้ง ๗ ละ 6.69 กรัม และ 8.03 กรัม ซึ่งใช้อลูมินาอลูมินา NO.1076 หนัก 81.42 กรัม และใช้ซิลิกาเจล หนัก 79.88 กรัม ตามลำดับ เซลล์สกัดด้วยตัวทำละลายเรียงตามความมีขั้วน้อยไปหามากคือ เฮกเซน สารละลายผสมระหว่างเฮกเซนกับคลอโรมีเทน ไดคลอโรมีเทน สารละลายผสมระหว่าง ไดคลอโรมีเทนกับเมทานอล เมทานอล เก็บสารละลายที่ชะออกมาครั้งละ 150 ซม³ นำแต่ละส่วน (fraction) ที่ได้ไปกลั่นแบบธรรมดาเพื่อไล่ตัวทำละลายออกให้เหลือประมาณ 10-20 ซม³ จากนั้น นำสารประกอบที่ได้แต่ละส่วนมาทดสอบว่ามีองค์ประกอบทางเคมีเหมือนกันหรือไม่ โดยใช้วิธีทินแลร์ โครมาโทกราฟี ตามวิธีการในข้อ 2.5.3 รวมส่วนที่เหมือนกันเข้าด้วยกัน แล้วนำไปทำให้บริสุทธิ์มากยิ่งขึ้นโดยวิธี คอลัมน์โครมาโทกราฟีซ้ำ และวิธีการตกผลึก ผลการแยกสารของสิ่งสกัด ในเอทิลแอลกอฮอล์ แสดงดังตารางที่ 14

ตารางที่ 14 ผลการแยกสารลำดับส่วนที่ 219-230 โดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี

ตัวทาละลาย (อัตราส่วนโดยปริมาตร)	ลำดับส่วนที่	ลักษณะสาร	น้ำหนักสาร (กรัม)
เฮกเซน: ไดคลอโรมีเทน (3:17)	1-2	น้ำมันสีน้ำตาลทึบ	0.09
	3-5	คราบสีขาว	0.01
เฮกเซน: ไดคลอโรมีเทน (3:17) และ ไดคลอโรมีเทน	6-9	น้ำมันสีน้ำตาลเข้ม	0.01
ไดคลอโรมีเทน: เมทานอล (19:1)	10-12	น้ำมันสีเขียวขุ่น	0.02
ไดคลอโรมีเทน: เมทานอล (9:1)	13-16	น้ำมันสีเขียวอ่อน	0.14
ไดคลอโรมีเทน: เมทานอล (4:1)	17-20	น้ำมันสีเขียวอมเหลือง	0.77
ไดคลอโรมีเทน: เมทานอล (7:3) และ (1:1)	21-24	น้ำมันสีน้ำตาลขุ่น	0.06
ไดคลอโรมีเทน: เมทานอล (1:1) และ (1:4)	25-32	น้ำมันสีน้ำตาลอมเขียว	0.55

2.4.6.2 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

โดยนำแต่ละส่วนที่แยกได้ ในข้อ 2.4.6.1 มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวอ่อน ตามวิธีการ (27, 28) ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 15

ตารางที่ 15 ผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าว ในแต่ละส่วนที่แยกได้จากสิ่งสกัดในเอทิลเอซิเตต ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

รหัส	ส่วนของต้นข้าว ที่ศึกษา	เปอร์เซ็นต์ความยาวที่ความเข้มข้นต่าง ๆ		
		0.001	0.005	0.010
S ₄₁	ราก	31.87	0.00	0.88
	กาบใบ	136.43	100.77	63.56
S ₄₂	ราก	69.67	27.47	0.00
	กาบใบ	177.52	136.43	122.48
S ₄₃	ราก	47.69	15.16	0.00
	กาบใบ	165.12	135.64	48.06
S ₄₄	ราก	85.26	38.11	3.85
	กาบใบ	115.98	62.83	39.41
S ₄₅	ราก	94.42	75.83	6.11
	กาบใบ	123.79	100.74	62.08
S ₄₆	ราก	91.50	104.78	96.41
	กาบใบ	98.14	108.18	104.83
S ₄₇	ราก	94.29	95.62	82.07
	กาบใบ	103.72	93.32	91.45

2.5 การตรวจหาสูตรโครงสร้างของสารที่แยกได้ในสิ่งสกัดด้วยเฮกเซน, คลอโรฟอร์ม, เมทานอลและเอทิลเอซิเตต ของคั้นงาขาววัยเห็ด

2.5.1 การตรวจหาสูตรโครงสร้างของสาร ก

สาร ก มีลักษณะเป็นผลึกแวววาวสีขาวหนัก 1.23 กรัม (4.10×10^{-2} % โดยน้ำหนักของงาขาววัยเห็ดแห้ง) จุดหลอมเหลว 65-67 องศาเซลเซียส มีค่า R_f เท่ากับ 0.94 [เฮกเซน:โตคลอโรมีเทน (9:1)] สาร ก ได้จากคอลัมน์โครมาโทกราฟีของสิ่งสกัดจากเฮกเซน ซึ่งถูกชะด้วยเฮกเซน และทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกด้วยเอซิเตน-เฮกเซน ซึ่งจากการทดสอบทางเคมี พบว่า สาร ก จะให้ผลลบกับปฏิกิริยา Liebermann-Burchard, 2,4 DNP, 5% $FeCl_3$ และ Br_2 ใน CCl_4 แสดงว่า สาร ก ไม่ใช่สารประกอบประเภทสเตอรอยด์หรือไตรเทอร์พีนอยด์, ไม่มีหมู่คาร์บอนิลในโมเลกุล, ไม่ใช่สารประกอบฟีนอล แต่เป็นสารที่อ้อมตัว

อินฟราเรดสเปกตรัม (รูปที่ 9) จะปรากฏเฉพาะแถบการดูดกลืนของหมู่ CH_3 และ CH_2 เท่านั้น ซึ่งสอดคล้องกับการทดสอบทางปฏิกิริยาเคมี จากข้อมูลดังกล่าว สาร ก น่าจะเป็นสารประกอบประเภทไฮโดรคาร์บอนไซโตรง ซึ่งเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับสเปกตรัมของสารประกอบไฮโดรคาร์บอนไซโตรง พบว่ามีลักษณะเหมือนกัน (29)

จากข้อมูลดังกล่าวทั้งหมด แสดงว่า สาร ก น่าจะเป็นสารประกอบประเภทไฮโดรคาร์บอนไซโตรง ซึ่งสามารถทำการยืนยันพิสูจน์โครงสร้างของ สาร ก ได้ โดยนำมาเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานไฮโดรคาร์บอนไซโตรง ด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี (รูปที่ 20) พบว่า สาร ก ให้ค่า retention time เท่ากับ 13.51, 17.36, 22.36, 29.30, 38.16 และ 45.44 นาที ตามลำดับ และจากกราฟการเทียบมาตรฐาน (รูปที่ 10) ก็พบว่า สาร ก เป็นของผสมของสารประกอบไฮโดรคาร์บอนไซโตรง 6 ชนิด ซึ่งแสดงดังตาราง 16

ตารางที่ 16 ไฮโดรคาร์บอนโซ่ตรงชนิดต่าง ๆ ใน สาร ก

ชื่อสารประกอบ	สูตรโมเลกุล	สูตรโครงสร้าง	มวลโมเลกุล	ปริมาณสาร (%)
nonacosane	C ₂₉ H ₆₀	CH ₃ -(CH ₂) ₂₇ -CH ₃	408	1.98
triacontane	C ₃₀ H ₆₂	CH ₃ -(CH ₂) ₂₈ -CH ₃	422	1.03
hentriacontane	C ₃₁ H ₆₄	CH ₃ -(CH ₂) ₂₉ -CH ₃	436	26.12
dotriacontane	C ₃₂ H ₆₆	CH ₃ -(CH ₂) ₃₀ -CH ₃	450	7.34
tritriacontane	C ₃₃ H ₆₈	CH ₃ -(CH ₂) ₃₁ -CH ₃	464	62.63
tetratriacontane	C ₃₄ H ₇₀	CH ₃ -(CH ₂) ₃₂ -CH ₃	478	0.88

2.5.2 การตรวจหาสูตรโครงสร้างของสาร ข

สาร ข มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาวหนัก 0.06 กรัม (2.10×10^{-3} g โดยน้ำหนักของงาขาวร้อยเอ็ดแห้ง) จุดหลอมเหลว 80-81 องศาเซลเซียส มีค่า R_F เท่ากับ 0.90 [เฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (9:1)] สาร ข ได้จากการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีของสิ่งสกัดจากเฮกเซน ซึ่งถูกชะด้วยเฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (9:1) และทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกด้วยไดคลอโรมีเทน-เมทานอล ซึ่งจากการทดสอบทางเคมี พบว่า สาร ข จะให้ผลลบกับ 5% FeCl₃ และ Br₂ ใน CCl₄ แสดงว่า สาร ข เป็นไฮโดรคาร์บอนอิ่มตัว แต่เป็นสารที่อิ่มตัวตามลำดับ

อินฟราเรดสเปกตรัม แสดงแถบการดูดกลืนแสง อันได้แก่ แถบการดูดกลืนแสงของหมู่คาร์บอนิลของเอสเทอร์ที่ความถี่ 1730 ซม.⁻¹ และลักษณะเฉพาะของไฮโดรคาร์บอน

ตาราง 17 แอลกอฮอล์ไฮดรอกซิลชนิดต่าง ๆ ของ สาร 17

ชื่อสารประกอบ	สูตรโมเลกุล	สูตรโครงสร้าง	มวลโมเลกุล	ปริมาณสาร (%)
octacosanol	C ₂₈ H ₅₈ O	CH ₃ -(CH ₂) ₂₇ -OH	410	1.21
nonacosanol	C ₂₉ H ₆₀ O	CH ₃ -(CH ₂) ₂₈ -OH	424	0.53
triacontanol	C ₃₀ H ₆₂ O	CH ₃ -(CH ₂) ₂₉ -OH	438	32.15
hentriacontanol	C ₃₁ H ₆₄ O	CH ₃ -(CH ₂) ₃₀ -OH	452	3.38
dotriacontanol	C ₃₂ H ₆₆ O	CH ₃ -(CH ₂) ₃₁ -OH	466	60.03
tritriacontanol	C ₃₃ H ₆₈ O	CH ₃ -(CH ₂) ₃₂ -OH	480	0.15
tetratriacontanol	C ₃₄ H ₇₀ O	CH ₃ -(CH ₂) ₃₃ -OH	494	2.54

และเนื่องจากการไฮโดรไลส์ สาร ๒ ในส่วนของกรด พบว่าปริมาณสารที่ได้มีน้อยมาก ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า สาร ๒ เป็นสารประกอบเอสเทอร์ระหว่างแอลกอฮอล์ไฮดรอกซิล (C₂₈-C₃₄) กับกรดไฮดรอกซิล ซึ่งไม่สามารถระบุจำนวนคาร์บอนได้ ดังตารางที่ 17

2.5.3 การตรวจหาสูตรโครงสร้างของสาร ค

สาร ค มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาวหนัก 0.03 กรัม (1.05×10^{-3} g โดยน้ำหนักของงาขาวร้อยเอ็ดแห้ง) จุดหลอมเหลว 81-82 องศาเซลเซียส มีค่า R_F เท่ากับ 0.49 [เฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (9:1)] สาร ค ได้จากการทำคอลลิมนโครมาโทกราฟีของสิ่งสกัดจากเฮกเซนและคลอโรฟอร์ม ซึ่งถูกชะด้วยเฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (4:1) และเฮกเซน:คลอโรฟอร์ม (4:1) กับ (3:1) ตามลำดับ และทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกด้วยไดคลอโรมีเทน-เมทานอล และจากการทดสอบทางเคมี พบว่า สาร ค จะให้ผลลบกับ 5% FeCl₃ และ Br₂ ใน CCl₄ แสดงว่า สาร ค ไม่ใช่สารประกอบฟีนอล แต่เป็นสารที่อิ่มตัว

อินฟราเรดสเปกตรัม (รูปที่ 11) แสดงแถบการดูดกลืนแสง ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของหมู่แอลกอฮอล์ปฐมภูมิ ที่ความถี่ $3500-3100 \text{ cm}^{-1}$ และ $1050 \text{ (C-O)} \text{ cm}^{-1}$ นอกจากนั้นจะพบเพียงแถบการดูดกลืนของหมู่ CH_3 และ CH_2 ที่ต่อกันเป็นโซ่ตรงยาวเท่านั้น ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับอินฟราเรดสเปกตรัมของแอลกอฮอล์โซ่ตรงยาวทั่วไป พบว่ามีลักษณะเหมือนกัน

สำหรับข้อมูลการดูดกลืนแสงของ สาร ค แสดงดังตาราง 18

ตารางที่ 18 แสดงแถบการดูดกลืนที่สำคัญจากอินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร ค

แถบการดูดกลืน (cm^{-1})	ความเข้ม	แสดงลักษณะ
3500-3100	ปานกลาง	O-H สั่นแบบยืดของ R-OH
2910, 2840	สูง	C-H สั่นแบบยืดของ CH_2 , CH_3
1460	ปานกลาง	C-H สั่นแบบงอของ CH_2 , CH_3
1050	ปานกลาง	C-O สั่นแบบยืดและ O-H สั่นแบบงอ
730-720	ปานกลาง	C-H สั่นแบบงอแบบโค้งของ $(-\text{CH}_2-)_n$, $n \geq 4$

จากข้อมูลดังกล่าวทั้งหมด แสดงว่า สาร ค น่าจะเป็นสารประกอบประเภทแอลกอฮอล์โซ่ตรง ซึ่งสามารถทำการยืนยันพิสูจน์โครงสร้างของ สาร ค ได้ โดยนำมาเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานแอลกอฮอล์โซ่ตรง ด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี พบว่า สาร ค จะให้ค่า retention time เท่ากับ 5.15, 8.10, 13.19, 17.54 และ 22.10 นาที ตามลำดับ และจากกราฟการเทียบมาตรฐาน พบว่า สาร ค เป็นของผสมของสารประกอบแอลกอฮอล์โซ่ตรง 5 ชนิด แสดงดังตาราง 19

ตาราง 19 แอลกอฮอล์ไฮโดรเจนชนิดต่าง ๆ ใน สาร ก

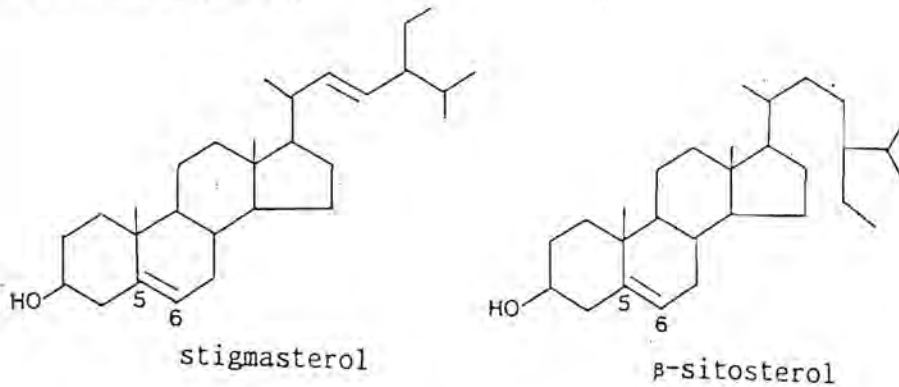
ชื่อสารประกอบ	สูตรโมเลกุล	สูตรโครงสร้าง	มวลโมเลกุล	ปริมาณสาร (%)
octacosanol	C ₂₈ H ₅₈ O	CH ₃ -(CH ₂) ₂₇ -OH	410	3.37
triacontanol	C ₃₀ H ₆₂ O	CH ₃ -(CH ₂) ₂₈ -OH	438	3.08
dotriacontanol	C ₃₂ H ₆₆ O	CH ₃ -(CH ₂) ₂₉ -OH	466	25.29
tritriacontanol	C ₃₃ H ₆₈ O	CH ₃ -(CH ₂) ₃₀ -OH	480	7.39
tetratriacontanol	C ₃₄ H ₇₀ O	CH ₃ -(CH ₂) ₃₁ -OH	494	60.87

2.5.4 การตรวจหาสูตรโครงสร้างของสาร ก

สาร ก มีลักษณะเป็นผลึกรูปเข็มสีขาวหนัก 0.80 กรัม (2.70×10^{-2} % โดยน้ำหนักของงาขาววัยเฮ็ดแห้ง) จุดหลอมเหลว 140-143 องศาเซลเซียส มีค่า R_f เท่ากับ 0.67 [เฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (3:2)] สาร ก ได้จากการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีของสิ่งสกัดจากเฮกเซน, คลอโรฟอร์มและเอทิลเอซิเตต ซึ่งถูกชะด้วยเฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (1:1) เฮกเซน:คลอโรฟอร์ม (3:1) และเฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (2:3) กับ (3:7) ตามลำดับ จากนั้นทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกด้วยเฮกเซน ซึ่งจากการทดสอบทางเคมี พบว่า สาร ก จะให้สารละลายสีเขียวกับปฏิกิริยา Liebermann-Burchard และพอกจางสี Br₂ ใน CCl₄ แสดงว่า สาร ก น่าจะเป็นสารประกอบประเภทสเตอรอยด์และไม่อิ่มตัว

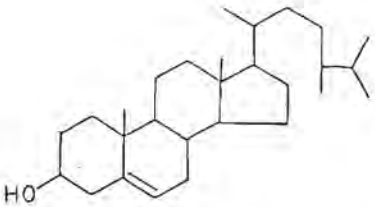
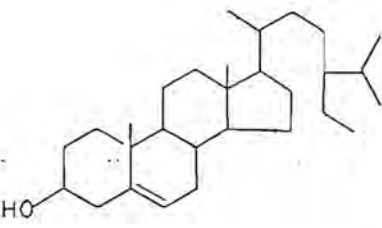
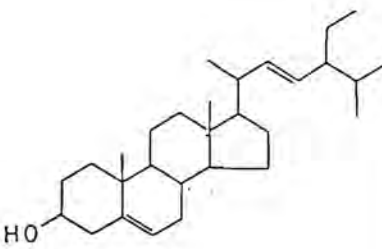
อินฟราเรดสเปกตรัม (รูปที่ 12) แสดงแถบการดูดกลืนแสงที่เป็นลักษณะของหมู่ไฮดรอกซิลที่ความถี่ 3600-3300 ซม.⁻¹ นอกจากนี้ยังแสดง disubstitued vinyl ที่ความถี่ 970, 960 ซม.⁻¹ และ trisubstitued vinyl ที่ความถี่ 840, 800 ซม.⁻¹

แสดง $-\underline{\text{C}}\text{H}=\text{C}$, ที่ δ 129.18 และ 138.24 ppm แสดง $-\underline{\text{C}}\text{H}=\underline{\text{C}}\text{H}-$ และที่ δ 140.67 ppm จะแสดง $-\text{C}\text{H}=\underline{\text{C}}$ โดยในที่นี้ได้ทำการเปรียบเทียบกับสเปกตรัมของ stigmasterol และ β -sitosterol (31-33)



จากข้อมูลที่กล่าวมาทั้งหมด แสดงว่า สาร ง น่าจะเป็นสารประกอบประเภท สเตอรอยด์ ดังนั้นจึงทำการยืนยันโครงสร้างของ สาร ง อีกครั้ง โดยการเปรียบเทียบกับ สารละลายมาตรฐานของสเตอรอยด์ ด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี พบว่า สาร ง ให้ค่า retention time เท่ากับ 18.78, 19.75 และ 22.65 นาที ซึ่งตรงกับ retention time ของ campesterol, stigmasterol และ β -sitosterol ตามลำดับ และเมื่อ พิจารณาจุดหลอมเหลวของ สาร ง พบว่า มีค่าอยู่ระหว่างจุดหลอมเหลวของ β -sitosterol (136-137 องศาเซลเซียส), campesterol (157-158 องศาเซลเซียส) และ stigmasterol (170 องศาเซลเซียส) จึงสรุปได้ว่า สาร ง เป็นของผสมของ 9.77 % campesterol, 35.69 % β -sitosterol และ 54.54 % stigmasterol ดังตารางที่ 20

ตาราง 20 สเตอรอยด์ชนิดต่าง ๆ ของ สาร ง

ชื่อสารประกอบ	สูตรโมเลกุล	สูตรโครงสร้าง	มวลโมเลกุล	%
campesterol	$C_{28}H_{50}O$		400	9.77
β -sitosterol	$C_{29}H_{50}O$		414	35.69
stigmasterol	$C_{29}H_{48}O$		412	54.54

2.5.5 การตรวจหาสูตรโครงสร้างของสาร จ

สาร จ ลักษณะเป็นผลึกรูปเข็มสีเหลืองอ่อนหนัก 0.30 กรัม (9.9×10^{-3} % โดยน้ำหนักของงาขาวร้อยเอ็ดแห้ง) จุดหลอมเหลว 120-121 องศาเซลเซียส มีค่า R_f เท่ากับ 0.93 [เฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (3:2)] ได้จากการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีของสิ่งสกัดจากเฮกเซน ซึ่งถูกชะด้วยเฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (2:3) และจากการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีซ้ำของลำดับส่วนที่ 105-108 ของสิ่งสกัดจากเฮกเซนเช่นกัน ซึ่งสามารถทำให้บริสุทธิ์ได้โดยการตกผลึกด้วยเฮกเซน-ไดคลอโรมีเทน และจากการทดสอบทางเคมีพบว่า สาร จ จะให้สารละลายสีม่วงแดงกับปฏิกิริยา Liebermann-Burchard และฟอกจางสี Br_2 ใน CCl_4 แสดงว่า สาร จ น่าจะเป็นสารประกอบประเภทไตรเทอร์พีนอยด์และไม่อิ่มตัว

อินฟราเรดสเปกตรัม (รูปที่ 13) แสดงแถบการดูดกลืนแสง ซึ่งเป็นลักษณะของสารประกอบประเภทแอโรมาติก ที่ความถี่ 3070 (C-H) และ 1600, 1490 และ 1440 (C=C) cm^{-1} นอกจากนี้ที่ความถี่ 1250, 1020 cm^{-1} จะแสดงลักษณะของ C-O ที่ลิ้นแบบยึดแบบสมมาตร โดยที่ข้อมูลการดูดกลืนแสงของ สาร จ

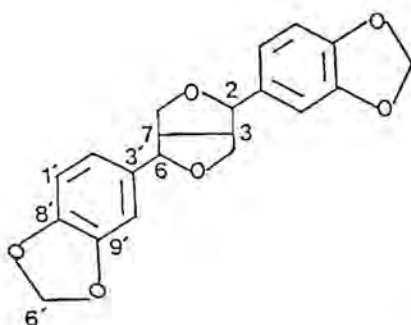
โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (รูปที่ 14) ปรากฏสัญญาณของโปรตอน ซึ่งแสดงลักษณะเฉพาะของหมู่เมทาโนและหมู่เมทิลีนใน furanofuran type ที่ δ 3.02 (2H, m, CH), 3.85 (2H, dd, CH_2) และ 4.23 (2H, dd, CH_2) ppm ตามลำดับ ส่วนสัญญาณของหมู่เมทาโนที่ต่อกับวงแอโรมาติก จะปรากฏสัญญาณที่ 4.72 (d, 2H) ppm สำหรับสัญญาณของ 6 โปรตอนของวงแอโรมาติก จะให้สัญญาณที่ 6.79 และ 6.84 (6H, m, CH) ppm และโปรตอนของหมู่เมทิลีนที่ δ 5.94 (2H, s, CH_2) แสดงถึงการต่อกับส่วนที่ค่อนข้างโพลาร์

คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (รูปที่ 15) ปรากฏสัญญาณ 10 สัญญาณของคาร์บอน 20 คาร์บอน และจากผลการทำ DEPT-135 และ DEPT-90 คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม พบเมโทน์คาร์บอน (-CH-) ซึ่งจะปรากฏสัญญาณที่ δ 54.24, 85.69, 106.41, 108.09 และ 109.06 ppm ส่วนเมทิลีนคาร์บอน (-CH₂-) จะปรากฏ 2 สัญญาณที่ δ 71.61 และ 100.99 ppm และสำหรับควอเตอร์นารีคาร์บอน 3 อะตอม ปรากฏสัญญาณที่ δ 134.99, 147.00 และ 147.88 ppm

แมสสเปกตรัม (รูปที่ 16) ปรากฏพีคของไอออนเชิงบวกเลขคู่ (M⁺) ที่ m/e 354 และจากการวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์องค์ประกอบของธาตุ สามารถนำมาคำนวณหาสูตรโมเลกุลได้เป็น C₂₀H₁₈O₆ โดยพบว่า จำนวนของโปรตอนและคาร์บอนจะสอดคล้องกับข้อมูลของโปรตอนและคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม และจากสูตรโมเลกุล สามารถคำนวณความไม่อิ่มตัว (double bond equivalent) เท่ากับ 12

จากข้อมูลดังกล่าวมาทั้งหมด พบว่า สาร จ น่าจะเป็นสารประกอบประเภท furanofuran type ดังนั้นจึงทำการเปรียบเทียบจุดหลอมเหลวของ สาร จ กับสารประกอบประเภท furanofuran type ที่พบใน *Sesamum indicum* L. พบว่า สาร จ มีจุดหลอมเหลวตรงกับ sesamin คือ 120-121 องศาเซลเซียส จากนั้นจึงเปรียบเทียบข้อมูลทางสเปกตรัมของ สาร จ กับ sesamin (34) เพื่อยืนยันสูตรโครงสร้างของ สาร จ

สูตรโครงสร้างของ sesamin เป็นดังนี้



2.5.6 การตรวจหาสูตรโครงสร้างของสาร ฉ

สาร ฉ มีลักษณะเป็นของแข็งอัสฐานสีขาวหนัก 0.51 กรัม (1.7×10^{-2} % โดยน้ำหนักของงาขาวซอยเฮ็คแห้ง) จุดหลอมเหลว 236-239 องศาเซลเซียส มีค่า R_f เท่ากับ 0.89 [ไดคลอโรมีเทน:เมทานอล (19:1)] สาร ฉ ได้จากด้านกัมมันต์คอลัมน์โครมาโทกราฟีของสิ่งสกัดจากเฮกเซนและคลอโรฟอร์ม ซึ่งถูกชะด้วยเฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน และทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกด้วยไดคลอโรมีเทน-เมทานอล ซึ่งจากการทดสอบทางปฏิกิริยาเคมี พบว่า สาร ฉ ให้สารละลายสีม่วงกับปฏิกิริยา Liebermann-Burchard และพอกจางสี Br_2 ใน CCl_4 แสดงว่า สาร ฉ น่าจะเป็นสารประกอบประเภทไตรเทอร์พีนอยด์และไม่อิ่มตัว

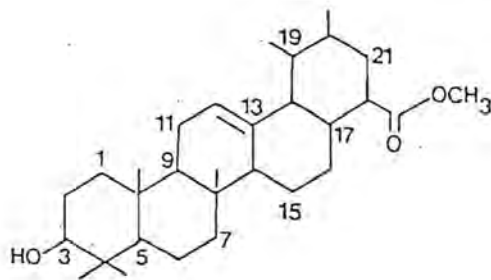
อินฟราเรดสเปกตรัม (รูปที่ 17) แสดงแถบการดูดกลืนแสง ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของหมู่แอลกอฮอล์ปฐมภูมิ ที่ความถี่ $3500-3200 \text{ cm}^{-1}$ และที่ความถี่ 1690 cm^{-1} จะแสดงลักษณะเฉพาะของหมู่คาร์บอนิล ซึ่งข้อมูลการดูดกลืนแสงของ สาร ฉ .

โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (รูปที่ 18) ปรากฏสัญญาณของโปรตอนที่ δ 0.59-2.18 (m, CH_3, CH_2 และ CH) ppm ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของสารประกอบประเภทไตรเทอร์พีนอยด์ ส่วนสัญญาณของหมู่ไฮดรอกซี จะปรากฏสัญญาณที่ δ 2.51-2.95 ($H, s, -OH$) ppm และสัญญาณของพันธะคู่ จะปรากฏสัญญาณที่ δ 5.13 ($2H, d, -CH=CH-$) ppm

คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (รูปที่ 19) ปรากฏสัญญาณของคาร์บอน 27 สัญญาณ และจากผลการทำ DEPT-135 และ DEPT-90 คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม พบเมทิลคาร์บอน ($-CH_3$) ซึ่งจะปรากฏสัญญาณที่ δ 27.98, 39.11, 47.16, 52.41, 54.90, 77.70, 77.84 และ 124.84 ppm ส่วนเมทิลีนคาร์บอน ($-CH_2-$) จะปรากฏ 8 สัญญาณ ที่ δ 18.00, 23.90, 26.86, 27.67, 30.36, 32.70, 36.44 และ 38.34 ppm และสำหรับควอเตอร์นารีคาร์บอน 5 อะตอม ปรากฏสัญญาณที่ δ 38.71, 40.97, 41.70, 138.01 และ 179.44 ppm ส่วนเมทิลคาร์บอน จะปรากฏสัญญาณที่ δ 15.15, 15.59, 16.77, 20.95, 23.22, 27.98 และ 52.41 ppm โดยานที่นี้ได้ทำการเปรียบเทียบกับสเปกตรัมของ α -amyrin (32)

แมสสเปกตรัม (รูปที่ 20) ปรากฏพีคของไอออนเชิงโมเลกุล (M^+) ที่ M/E 456 และจากการวิเคราะห์หาเบอร์เซนต์องค์ประกอบของธาตุ สามารถนำมาคำนวณหาสูตรโมเลกุลได้เป็น $C_{30}H_{48}O_3$ โดยพบว่า จำนวนของโปรตอนและคาร์บอน จะสอดคล้องกับข้อมูลของโปรตอนและคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม และจากสูตรโมเลกุล สามารถคำนวณหาความไม่อิ่มตัว ได้เท่ากับ 7

จากข้อมูลดังกล่าวมาทั้งหมด แสดงว่า สาร ฉ คือสารประกอบประเภท เอสเทอร์ของไตรเทอร์พีนอยด์ สูตรโครงสร้างของ สาร ฉ ที่น่าจะเป็นไปได้คือ





2.5.7 การตรวจหาสูตรโครงสร้างของสาร ซ

สาร ซ มีลักษณะเป็นผลึกสีขาวหนัก 0.06 กรัม (2.10×10^{-3} % โดยน้ำหนักของงาขาวร้อยเอ็ดแห้ง) จุดหลอมเหลว 82-84 องศาเซลเซียส มีค่า R_f เท่ากับ 0.02 [เฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (9:1)] สาร ซ ได้จากการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีซ้ำของสิ่งสกัดจากเฮกเซน ซึ่งถูกชะด้วยเฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (1:4) และทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกด้วยไดคลอโรมีเทน-เมทานอล ซึ่งจากการทดสอบทางเคมี พบว่า สาร ซ จะให้ผลลบกับปฏิกิริยา 5% $FeCl_3$ และ Br_2 ใน CCl_4 แสดงว่า สาร ซ ไม่ใช่สารประกอบประเภทฟีนอล และเป็นสารอิ่มตัว

อินฟราเรดสเปกตรัม (รูปที่ 21) แสดงแถบการดูดกลืนแสง ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของหมู่คาร์บอนิลที่ 3500-3200 และ 1710 cm^{-1} นอกจากนี้ยังพบแถบการดูดกลืนแสงของหมู่ CH_3 และ CH_2 ที่ต่อกันเป็นโซ่ตรงยาว

จากข้อมูลดังกล่าว ชี้ให้เห็นว่า สาร ซ น่าจะเป็นสารประกอบประเภทกรดไขมัน ซึ่งสามารถทำการยืนยันโครงสร้างของ สาร ซ ได้ด้วยการทำแก๊สโครมาโทกราฟีเปรียบเทียบ แต่เนื่องจากสารประกอบประเภทกรดไขมันไม่สามารถทำการวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟีได้โดยตรง ต้องทำ methylation สาร ซ ด้วย $BF_3/MeOH$ ให้อยู่ในรูปของ methyl ester (สาร 1ซ) ก่อนแล้วจึงนำวิเคราะห์ และจากการวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟีของ สาร 1ซ เปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน methyl ester ของกรดไขมัน ที่มีจำนวนคาร์บอน 12, 16 และ 18 พบว่า สาร 1ซ ให้ค่า retention time เท่ากับ 1.73, 3.72, 4.53, 5.89, 7.68, 10.00, 13.12 และ 17.28 ตามลำดับ และจากการเทียบกราฟมาตรฐาน (รูปที่ 47) พบว่า สาร ซ เป็นของผสมของสารประกอบกรดไขมัน 8 ชนิด แสดงดังตารางที่ 21

ตารางที่ 21 กรดไขมันตรงชนิดต่าง ๆ ของ สาร ๕

ชื่อสารประกอบ	สูตรโมเลกุล	สูตรโครงสร้าง	มวล โมเลกุล	ปริมาณสาร (%)
dodecanoic acid	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	CH ₃ -(CH ₂) ₉ -CH ₂ -COOH	200	40.60
hexadecosanoic acid	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	CH ₃ -(CH ₂) ₁₃ -CH ₂ -COOH	256	18.97
heptadecosanoic acid	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	CH ₃ -(CH ₂) ₁₄ -CH ₂ -COOH	270	0.42
octadecosanoic acid	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	CH ₃ -(CH ₂) ₁₅ -CH ₂ -COOH	284	0.19
doicosanoic acid	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	CH ₃ -(CH ₂) ₁₇ -CH ₂ -COOH	312	3.29
heneicosanoic acid	C ₂₁ H ₄₂ O ₂	CH ₃ -(CH ₂) ₁₈ -CH ₂ -COOH	326	6.12
dodecosanoic acid	C ₂₂ H ₄₄ O ₂	CH ₃ -(CH ₂) ₁₉ -CH ₂ -COOH	340	18.22
tetraacosanoic acid	C ₂₄ H ₄₈ O ₂	CH ₃ -(CH ₂) ₂₁ -CH ₂ -COOH	368	12.19

2.5.8 การตรวจสอบสูตรโครงสร้างของสาร ๕

สาร ๕ มีลักษณะเป็นผลึกรูปสี่เหลี่ยมหนัก 0.58 กรัม (3.6×10^{-2} % โดยน้ำหนักของงาขาวร้อยเอ็ดแห้ง) จุดหลอมเหลว 196-199 องศาเซลเซียส มีค่า R_f เท่ากับ 0.09 [ไดคลอโรมีเทน:เมทานอล (19:1)] สาร ๕ ได้จากการทำควิควอลิมน์โคโรมาโทกราฟีของสิ่งสกัดจากเมทานอล ที่ถูกชะด้วยไดคลอโรมีเทน:เมทานอล (19:1) และทำหับบริสุทธิ์โดยการตกผลึกด้วยไดคลอโรมีเทน-เมทานอล ซึ่งจากการทดสอบทางปฏิกิริยาเคมี พบว่า สาร ๕ ให้สารละลายสีเดียวกับปฏิกิริยา Liebermann-Burchard และตะกอนสีเหลืองกับ 2,4-DNP แสดงว่า สาร ๕ น่าจะเป็นสารประกอบประเภทสเตอรอยด์และมีหมู่คาร์บอนิลในโมเลกุล

อินฟราเรดสเปกตรัม (รูปที่ 22) แสดงแถบการดูดกลืนแสง ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของหมู่แอลกอฮอล์ (-OH) ที่ความถี่ 3400-3300 cm^{-1} นอกจากนี้ที่ 1730 cm^{-1} ยังแสดงลักษณะของหมู่คาร์บอนิล ซึ่งข้อมูลการดูดกลืนแสงของ สาร ๘ แสดงดังตาราง 24

ตาราง 24 แสดงแถบการดูดกลืนที่สำคัญจากอินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร ๘

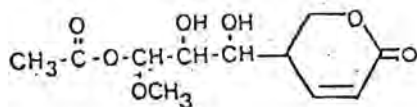
แถบการดูดกลืน (cm^{-1})	ความเข้ม	แสดงลักษณะ
3400-3300	สูง	O-H สั่นแบบยืดของ R-OH
3005	ต่ำ	C-H สั่นแบบยืดของแอลคีน
2940, 2960	ปานกลาง	C-H สั่นแบบยืดของ CH_3 , CH_2
1730	สูง	C=O สั่นแบบยืดของเอสเทอร์
1445	ปานกลาง	C-H สั่นแบบงอของ CH_2
1380	ปานกลาง	C-H สั่นแบบงอของ CH_3
1250	สูง	C-O สั่นแบบยืดไม่สมมาตรของ =C-O-C
1060, 1070, 1090	สูง	C-O สั่นแบบยืดแบบสมมาตรของ =C-O-C
940	ปานกลาง	O-H สั่นแบบงอนอกระนาบ
880	ปานกลาง	C-H สั่นแบบงอนอกระนาบของ R-CH=CH-R

โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (รูปที่ 23) ปรากฏสัญญาณของโปรตอนแสดงลักษณะเฉพาะที่ δ 3.13 (3H, s, CH_3) ppm ซึ่งเป็นสัญญาณของหมู่เมทิล ส่วนสัญญาณของหมู่เมทอกซี จะปรากฏสัญญาณที่ δ 3.78 (3H, s, CH_3) ppm สำหรับสัญญาณของหมู่ไฮดรอกซี จะปรากฏสัญญาณที่ δ 3.84-3.94 (m, -OH) ppm และสัญญาณของหมู่เมทิล ปรากฏสัญญาณที่ δ 2.52-2.81, 4.34-4.50 และ 4.72 ppm ส่วน 5.13 ppm จะเป็นสัญญาณของ CH=CH

คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (รูปที่ 24) ปรากฏสัญญาณ 10 สัญญาณของคาร์บอน 11 คาร์บอน และจากผลการทำ DEPT-135 และ DEPT-90 คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม พบเมทิลคาร์บอน (-CH₃) ซึ่งจะปรากฏสัญญาณที่ δ 41.53, 43.57, 52.17, 73.11 และ 78.38 ppm ส่วนเมทิลีนคาร์บอน (-CH₂-) จะปรากฏ 1 สัญญาณที่ δ 66.24 ppm และสำหรับควอเตอร์นารีคาร์บอน 2 อะตอม ปรากฏสัญญาณที่ δ 169.80 และ 172.55 ppm สุกท้ายเมทิลคาร์บอน จะปรากฏสัญญาณที่ δ 22.99 และ 50.18 ppm

แมสสเปกตรัม (รูปที่ 53) ปรากฏพีคของไอออนเชิงโมเลกุล (M⁺) ที่ M/E 261 และจากการวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์องค์ประกอบของธาตุ สามารถคำนวณหาสูตรโมเลกุลได้เป็น C₁₁H₁₆O₇ โดยพบว่าจำนวนของโปรตอนและคาร์บอน จะสอดคล้องกับข้อมูลของโปรตอนและคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม และจากสูตรโมเลกุล สามารถคำนวณความไม่อิ่มตัวเท่ากับ 4

จากข้อมูลดังกล่าว แสดงว่า สาร ๕ เป็นสารประกอบประเภท acetate lactone ที่มีหมู่แทนที่เป็นเอสเทอร์, ไฮดรอกซีและเมทอกซี สูตรโครงสร้างของ สาร ๕ ที่น่าจะเป็นไปได้คือ



2.5.9 การตรวจหาสูตรโครงสร้างของสาร ๗

สาร ๗ มีลักษณะเป็นผลึกแวววาวสีเหลืองหนัก 0.14 กรัม ($8.6 \times 10^{-3}\%$ โดยน้ำหนักของงาขาวร้อยละแห้ง) จุดหลอมเหลว 89-91 องศาเซลเซียส มีค่า R_f เท่ากับ 0.95 [เฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (3:2)] สาร ๗ ได้จากการทำควิควอลิมน์โครมาโทกราฟีของสิ่งสกัดจากเมทานอล ซึ่งถูกชะด้วยไดคลอโรมีเทน:เมทานอล (19:1) และ (9:1) และทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกด้วยไดคลอโรมีเทน-เมทานอล ซึ่งจากการทดสอบทางเคมี พบว่า สาร ๗ จะให้สารละลายสีม่วงแดงกับปฏิกิริยา Liebermann-Burchard และพอกจางสี Br_2 ใน CCl_4 แสดงว่า สาร ๗ น่าจะเป็นสารประกอบประเภทไตรเทอร์พีนอยด์และไม่อิ่มตัว

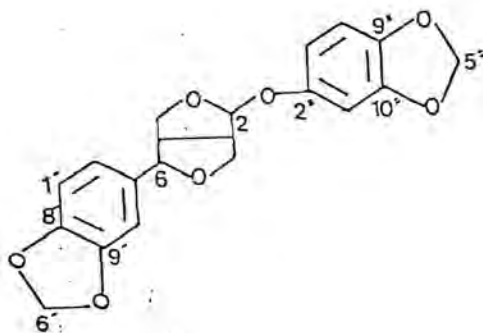
อินฟราเรดสเปกตรัม (รูปที่ 25) แสดงแถบการดูดกลืนแสง ซึ่งเป็นลักษณะของสารประกอบประเภทแอโรมาติก ที่ 1600, 1500 และ 1490 cm^{-1} นอกจากนี้ยังแสดงลักษณะของ C-O ที่ 1250, 1070, 1050, 1040, และ 1010 cm^{-1}

โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (รูปที่ 26) ปรากฏสัญญาณของโปรตอน ซึ่งแสดงลักษณะเฉพาะของหมู่เมทิล และหมู่เมทิลีนใน furanofuran type ที่ δ 3.23 (H,q, CH), 5.45 (H,s,CH) ppm และ 3.89 (2H,dd,CH₂) ppm ตามลำดับ ส่วน 3 โปรตอนของแอโรมาติก จะปรากฏสัญญาณที่ δ 6.87 (3H,m,CH) ppm แต่สำหรับ 3 โปรตอนของวงแอโรมาติกที่ต่อกับออกซิเจนอะตอม ปรากฏสัญญาณที่ δ 6.45 (H,dd,CH), 6.57 (H,d,CH) และ 6.68 (H,d,CH) ppm ตามลำดับ และที่ δ 5.94 (2H,s,CH₂) ppm จะเป็นสัญญาณของหมู่เมทิลีนที่ต่อกับออกซิเจนอะตอม 2 อะตอม

คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (รูปที่ 27) บปรากฏสัญญาณของ 19 สัญญาณ ของคาร์บอน 20 คาร์บอน และจากผลการทำ DEPT-135 และ DEPT-90 คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม พบเมทิลคาร์บอน (-CH-) ซึ่งปรากฏสัญญาณที่ δ 52.72, 53.25, 87.03, 100.18, 106.54, 106.94, 108.01, 108.18, 109.00 และ 119.64 ppm ส่วนเมทิลีนคาร์บอน (-CH₂-) จะปรากฏ 4 สัญญาณที่ δ 69.83, 71.25, 101.07 และ 101.22 ppm และสำหรับควอเตอร์นารีคาร์บอน 5 อะตอม ปรากฏสัญญาณที่ δ 134.45, 142.69, 147.35, 148.01 และ 151.85 ppm

แมสสเปกตรัม (รูปที่ 28) บปรากฏพีคของไอออนเชิงโมเลกุล (M⁺) ที่ M/E 370 และจากการวิเคราะห์หาองค์ประกอบของธาตุ สามารถคำนวณหาสูตรโมเลกุลได้เป็น C₂₀H₁₈O₇ โดยพบว่า จำนวนของคาร์บอนและโปรตอน จะสอดคล้องกับข้อมูลของโปรตอน และ คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม และจากสูตรโมเลกุล สามารถคำนวณหาความไม่อิ่มตัว ได้ เท่ากับ 12

จากข้อมูลดังกล่าวมาทั้งหมด แสดงว่า สาร ๗ เป็นสารประกอบประเภท furanofuran type ดังนั้นจึงนำ สาร ๗ มาเปรียบเทียบกับจุดหลอมเหลวกับสารประกอบประเภท furanofuran type ที่พบใน *sesamum indicum* L. พบว่า สาร ๗ มีจุดหลอมเหลวตรงกับ sesamolin คือ 89-91 องศาเซลเซียส จากนั้นจึงทำการเปรียบเทียบข้อมูลทางสเปกตรัมของ สาร ๗ กับ sesamolin (35) เพื่อยืนยันสูตรโครงสร้างของ สาร ๗ สูตรโครงสร้างของ sesamolin เป็นดังนี้



2.5.10 ก. ตรวจวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสาร ฅ

สาร ฅ มีลักษณะเป็นของแข็งอัญฐานสีเหลืองหนัก 0.03 กรัม ($1.86 \times 10^{-3}\%$ โดยน้ำหนักของงาขาวร้อยเอ็ดแห้ง) จุดหลอมเหลว 216-220 องศาเซลเซียส มีค่า R_f เท่ากับ 0.03 [ไดคลอโรมีเทน:เมทานอล (7:3)] สาร ฅ ได้จากการทำ preparative HPLC ของลำดับส่วนที่ 28-45 ที่ได้จากการทำควิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ของสิ่งสกัดจากเมทานอล และทำหับวิธีที่โดยการตกผลึกด้วยคลอโรฟอร์ม-เมทานอล ซึ่งจากการทดสอบทางเคมี พบว่า สาร ฅ จะให้ตะกอนสีเหลืองกับ 2,4-DNP และพอกจางสี Br_2 ใน CCl_4 แสดงว่า สาร ฅ มีหมู่คาร์บอนิลในโมเลกุลและเป็นสารไม่อิ่มตัว

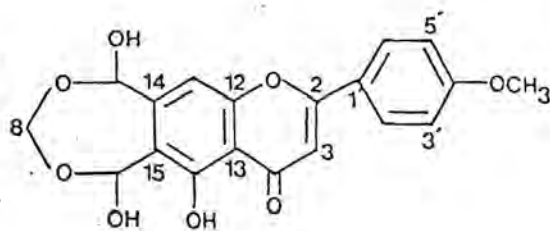
อินฟราเรดสเปกตรัม (รูปที่ 29) แสดงแถบการดูดกลืนแสง ซึ่งจะแสดงลักษณะเฉพาะของหมู่แอลกอฮอล์ปฐมภูมิ ที่ $3500-3000 \text{ cm}^{-1}$ และ $1090-1050 \text{ cm}^{-1}$ นอกจากนี้ยังแสดงลักษณะเฉพาะของหมู่คาร์บอนิล ที่ 1690 cm^{-1}

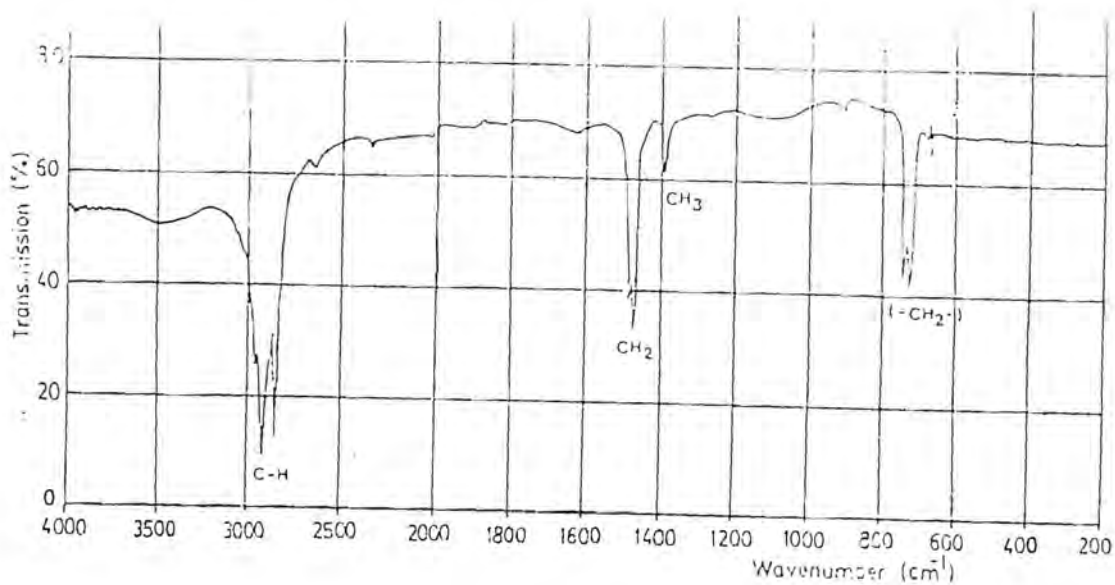
โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (รูปที่ 30) ปรากฏสัญญาณของโปรตอน แสดงลักษณะเฉพาะที่ δ 3.98 (2H, s, CH_2) ppm ซึ่งเป็นสัญญาณของหมู่เมทิลีน สำหรับสัญญาณของหมู่ไฮดรอกซี จะปรากฏสัญญาณที่ δ 4.98-5.33 (H, m, -OH) และ 13.23 (H, s, -OH) ppm และสัญญาณของโปรตอนของวงแหวนมาติกจะให้สัญญาณที่ δ 6.87 (H, s, CH), 6.92 (H, d, CH), 7.43 (H, d, CH) และ 8.14 (H, s, CH) ppm ตามลำดับ

คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (รูปที่ 31) ปรากฏสัญญาณของคาร์บอน 17 สัญญาณ และจากผลการทำ DEPT-135 และ DEPT-90 คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม พบเมทิลคาร์บอน (-CH-) ซึ่งจะปรากฏสัญญาณที่ δ 91.64, 102.76, 114.82, 128.17, 145.83 และ 149.87 ppm ส่วนเมทิลีนคาร์บอน (-CH₂-) จะปรากฏ 1 สัญญาณที่ δ 100.83 ppm และสำหรับควอเตอร์นารีคาร์บอน 9 อะตอม ปรากฏสัญญาณที่ δ 104.94, 121.51, 151.75, 152.65, 158.57, 161.98, 162.53, 163.50 และ 182.19 ppm ส่วนเมทิลคาร์บอน จะปรากฏสัญญาณที่ δ 56.61 ppm โดยในที่นี้ได้ทำการเปรียบเทียบกับสเปกตรัมของ acacetin

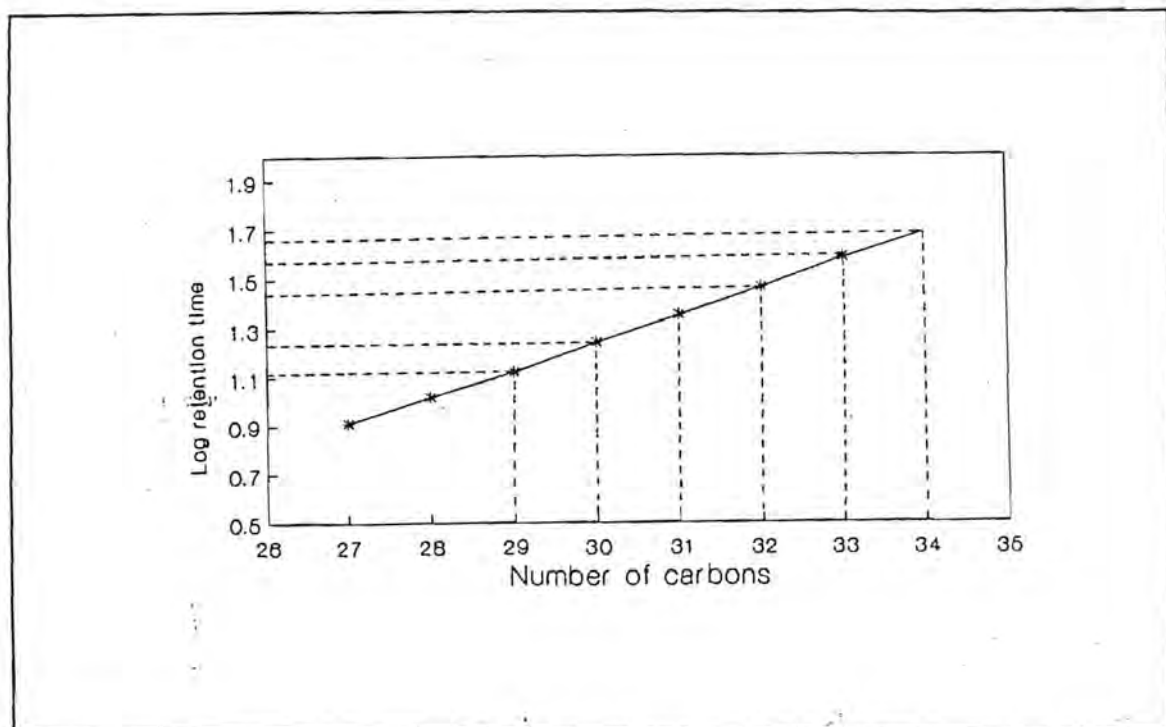
แมสสเปกตรัม (รูปที่ 32) ปรากฏพีคของไอออนเชิงโมเลกุล (M⁺) ที่ M/E 372 และจากการวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์องค์ประกอบของธาตุ สามารถคำนวณหาสูตรโมเลกุลได้เป็น C₁₉H₁₆O₈ โดยพบว่า จำนวนโปรตอนและคาร์บอน จะสอดคล้องกับข้อมูลของโปรตอนและคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม และจากสูตรโมเลกุล สามารถคำนวณความไม่อิ่มตัว ได้เท่ากับ 12

จากข้อมูลดังกล่าวมาทั้งหมด แสดงว่า สาร ๕ คือสารประกอบประเภท flavone สูตรโครงสร้างของ สาร ๕ ที่น่าจะเป็นไปได้คือ

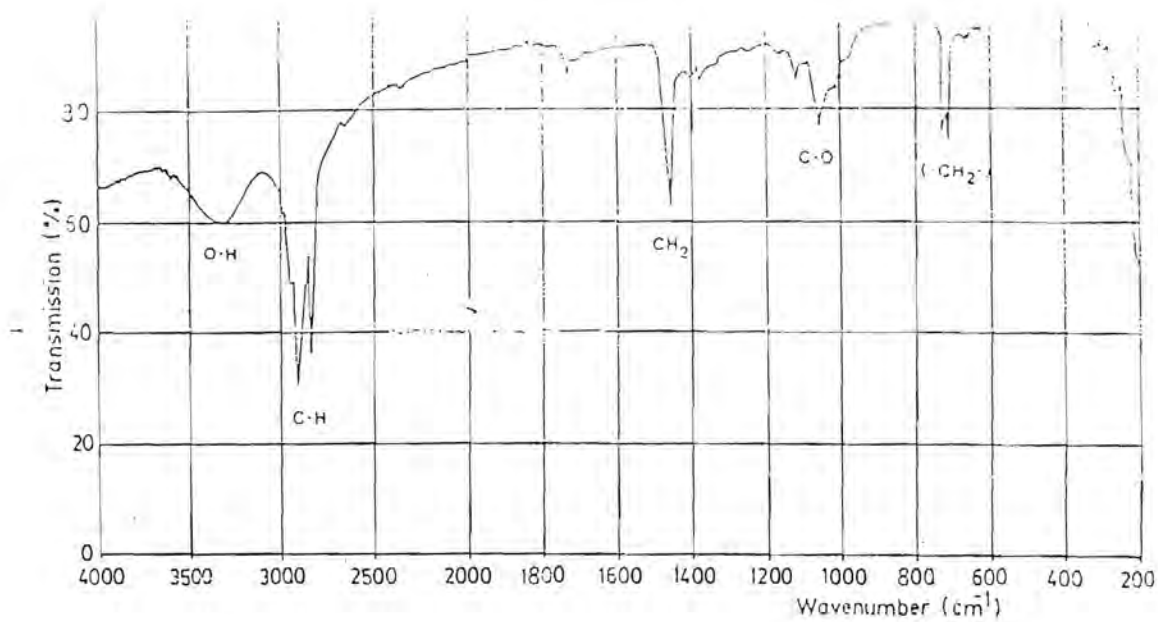




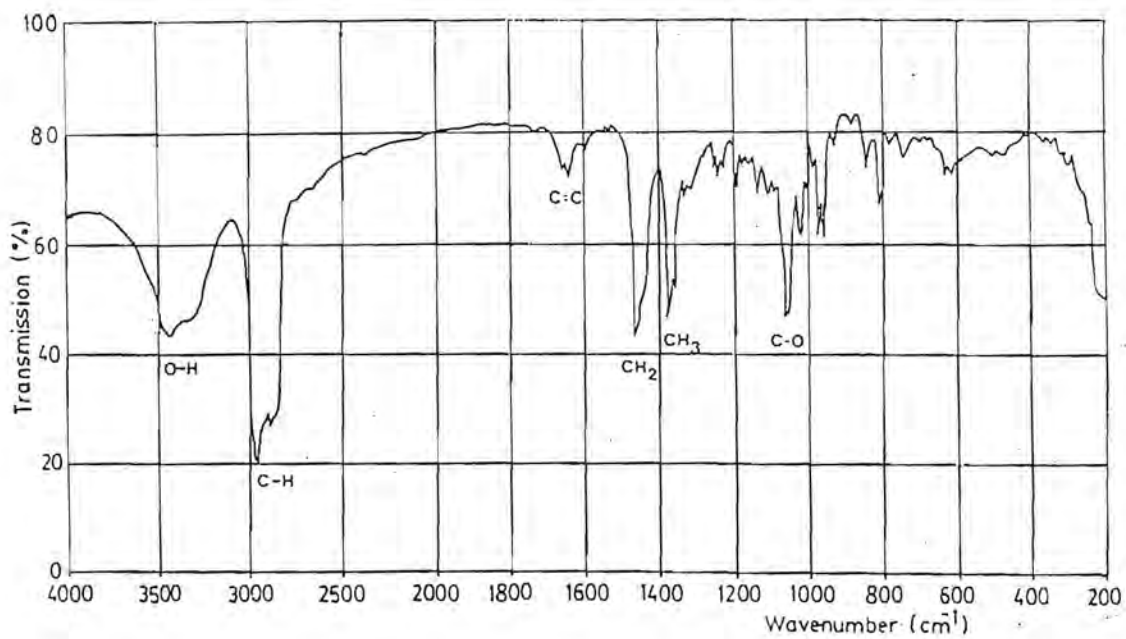
รูปที่ 9 อินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร ก



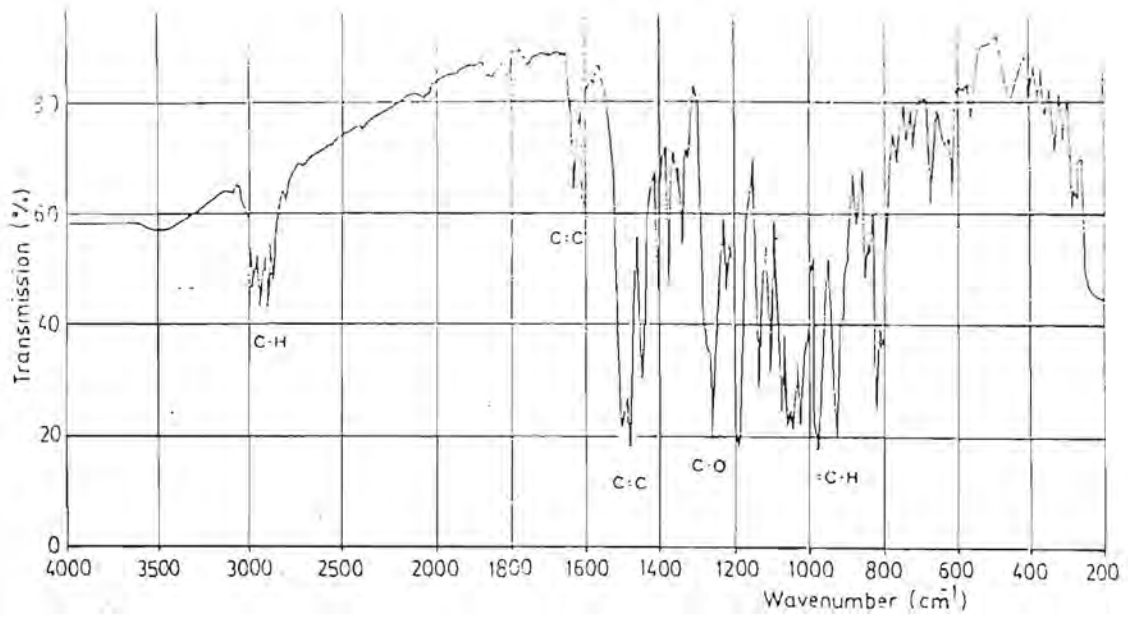
รูปที่ 10 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง log retention time กับจำนวนคาร์บอนของไฮโดรคาร์บอนจัดตรงมาตรฐาน



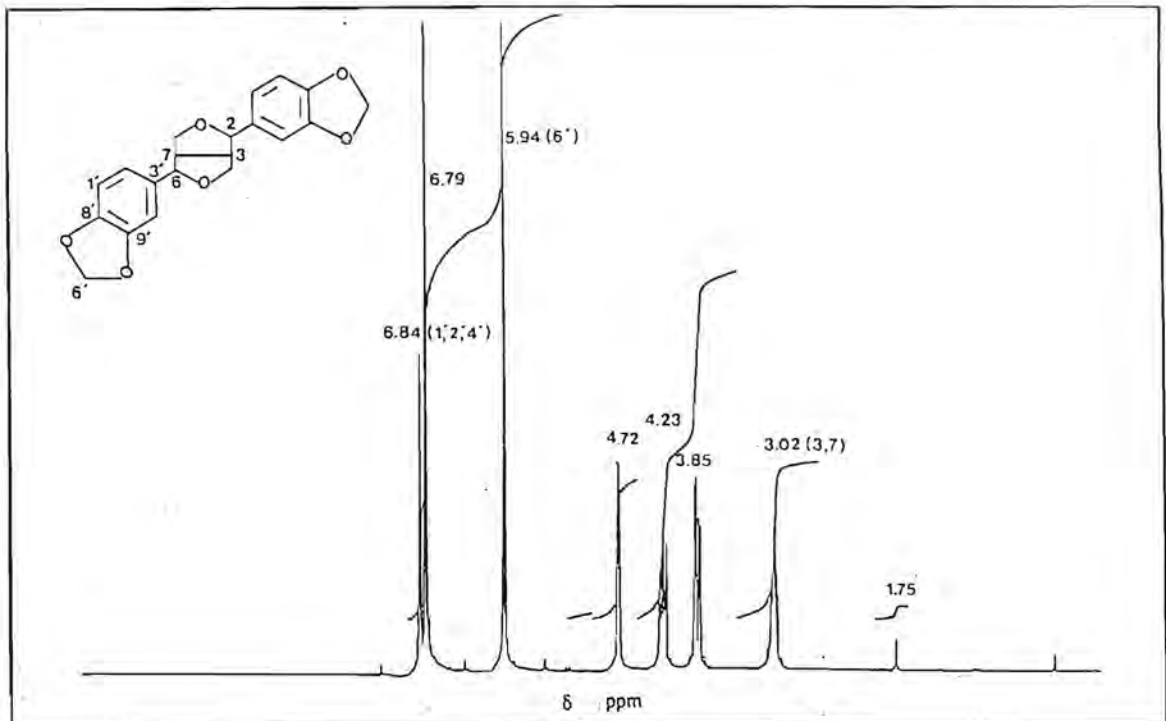
รูปที่ 11 อินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร ก



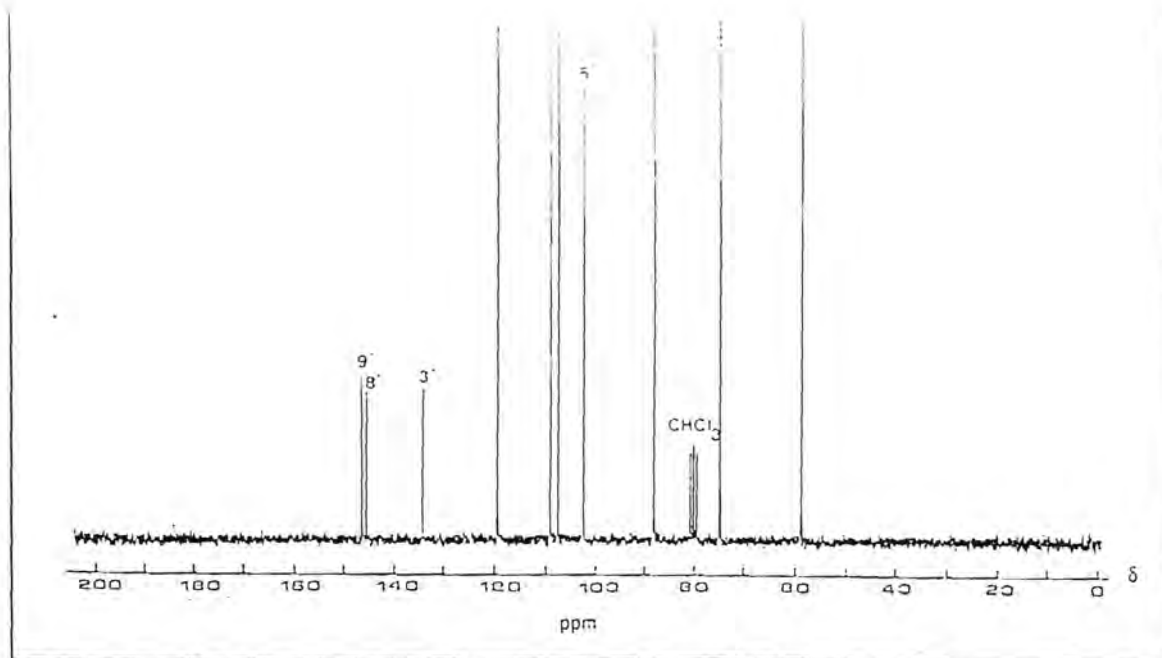
รูปที่ 12 อินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร ง



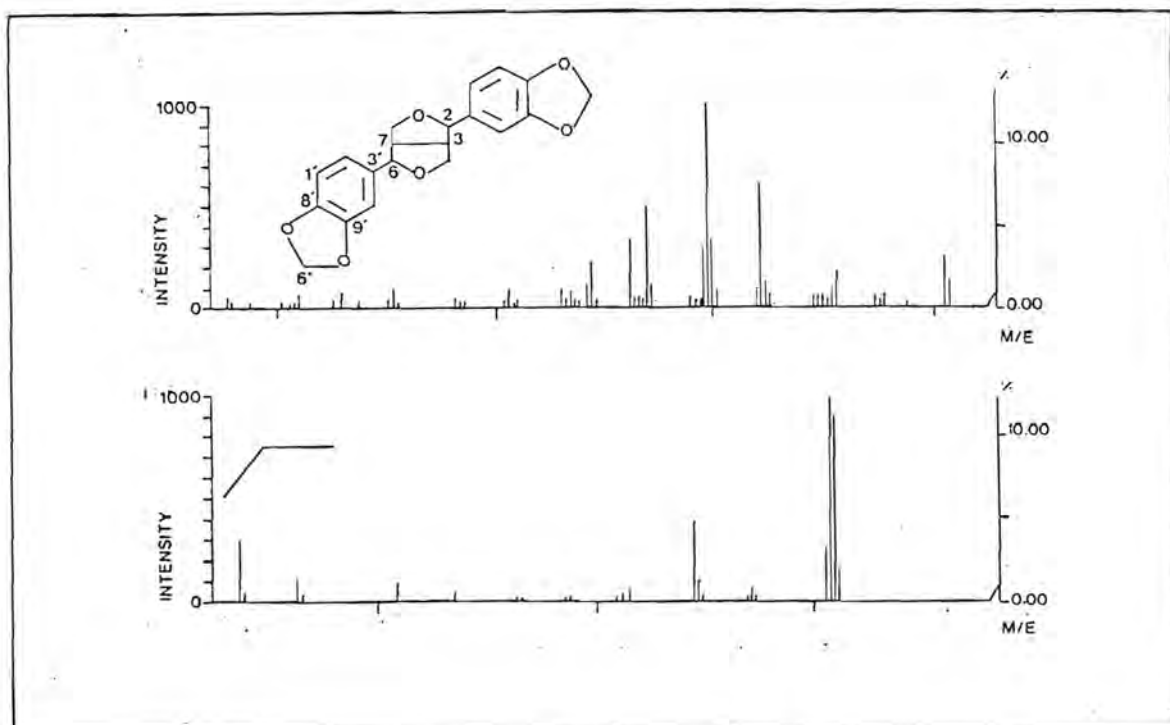
รูปที่ 13 อินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร จ



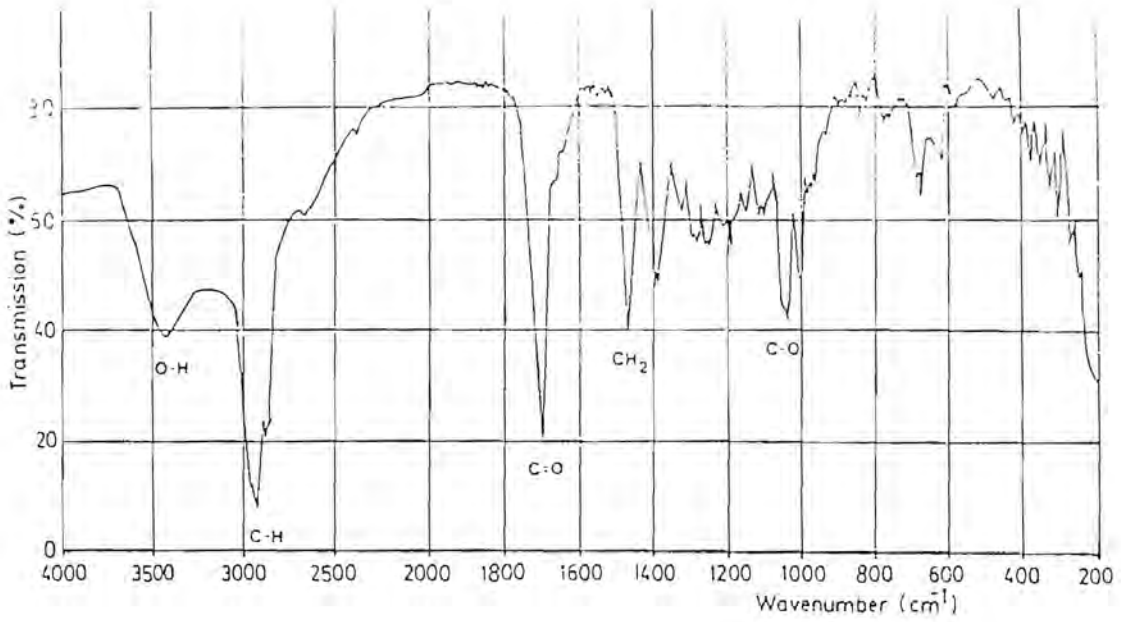
รูปที่ 14 โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของ สาร จ



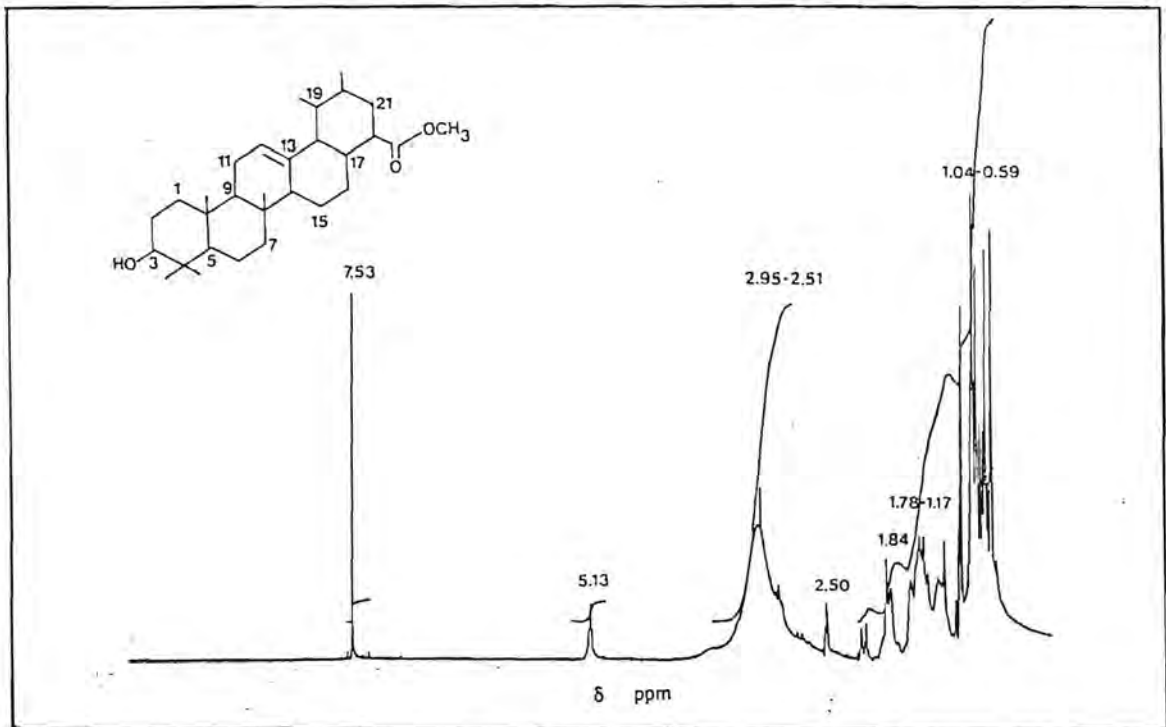
รูปที่ 15 คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของ สาร จ



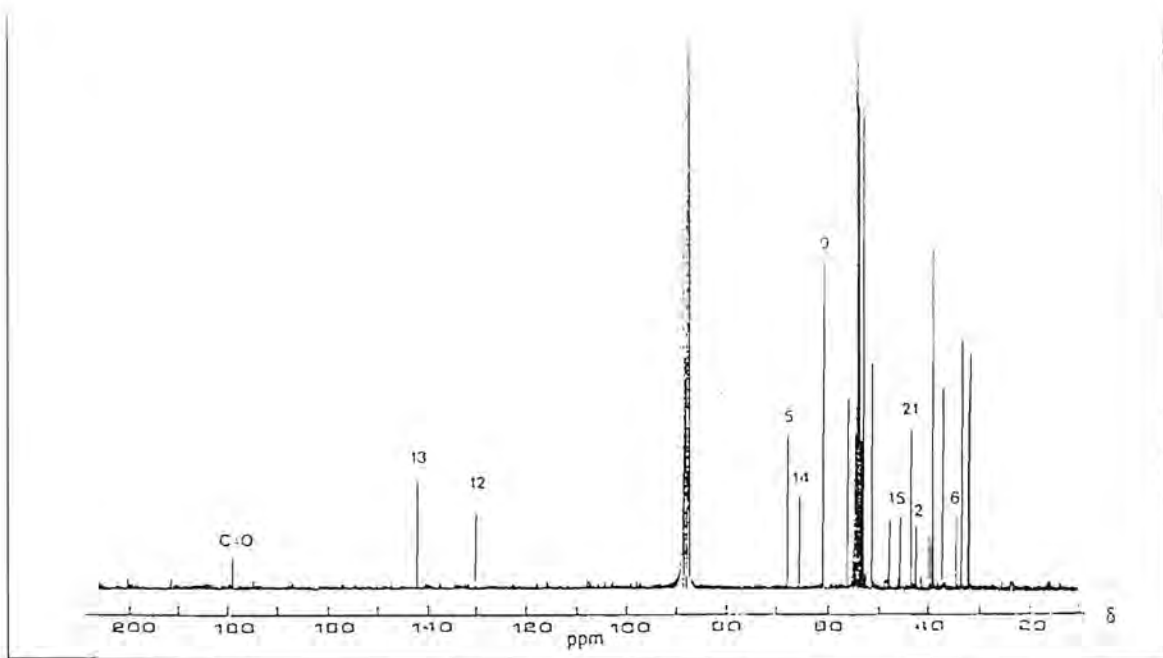
รูปที่ 16 แมสสเปกตรัมของ สาร จ



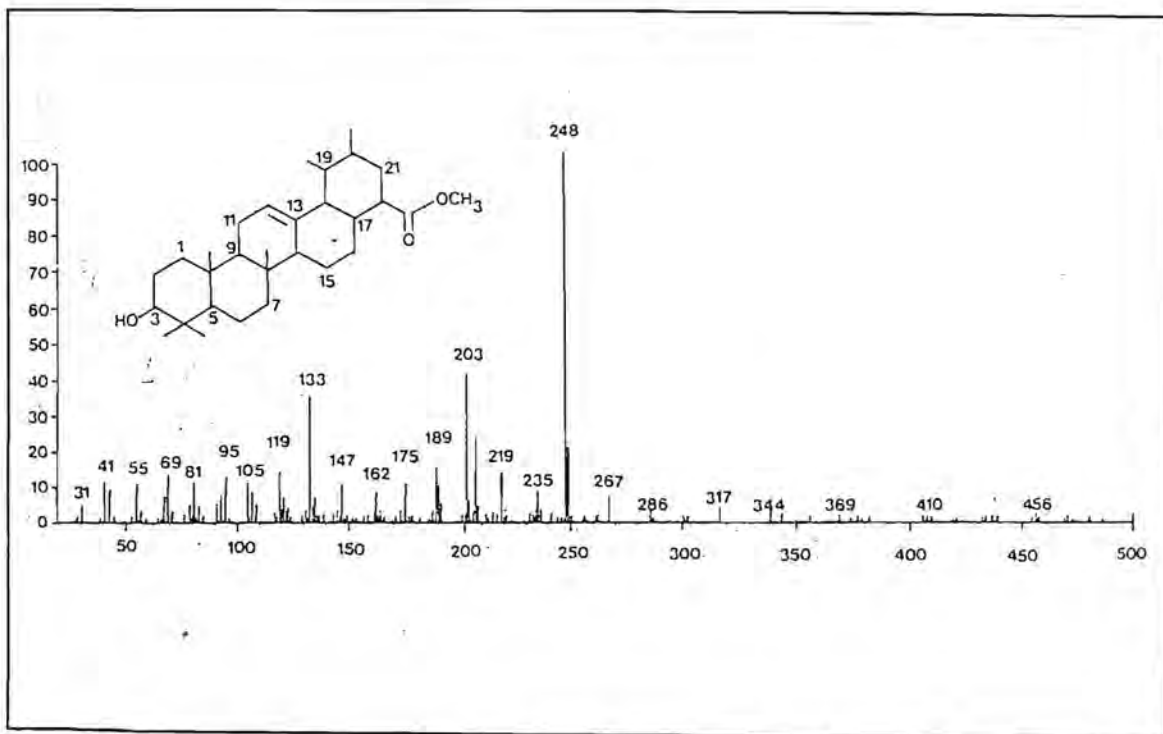
รูปที่ 17 อินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร ๑



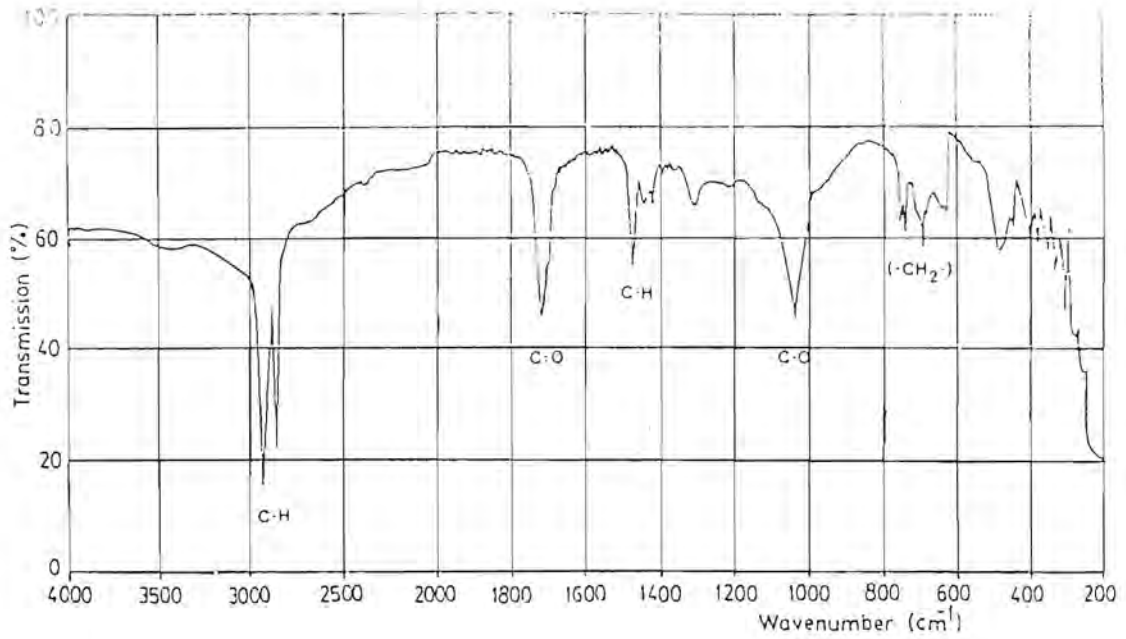
รูปที่ 18 โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของ สาร ๑



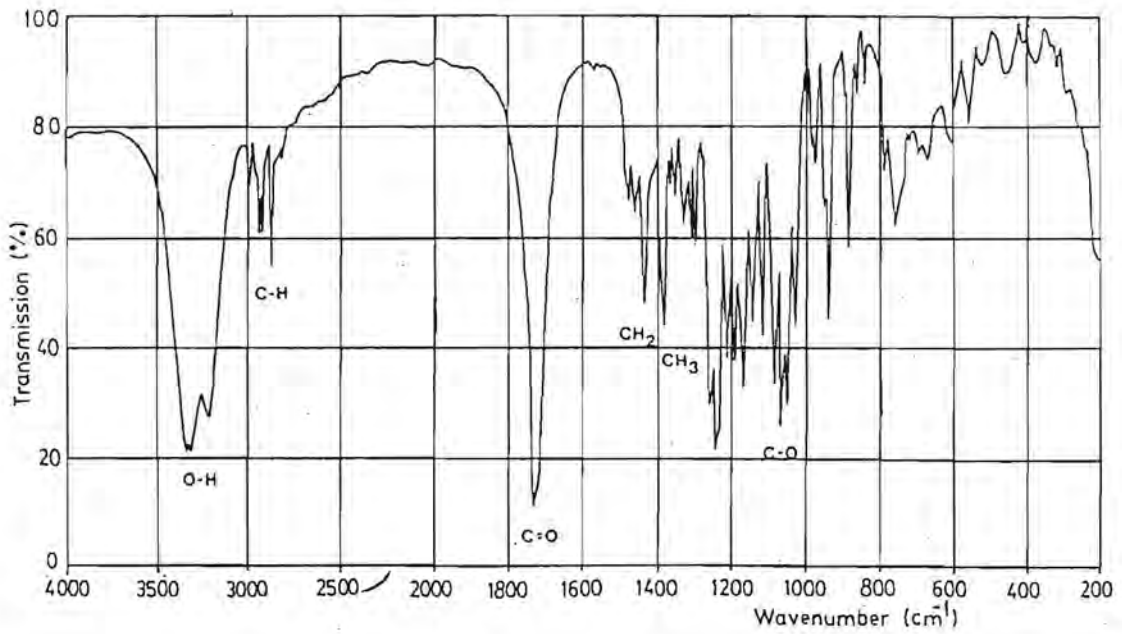
รูปที่ 19 คาร์บอน-13 เอ็มเอ็มอาร์สเปกตรัมของ สาร ๑



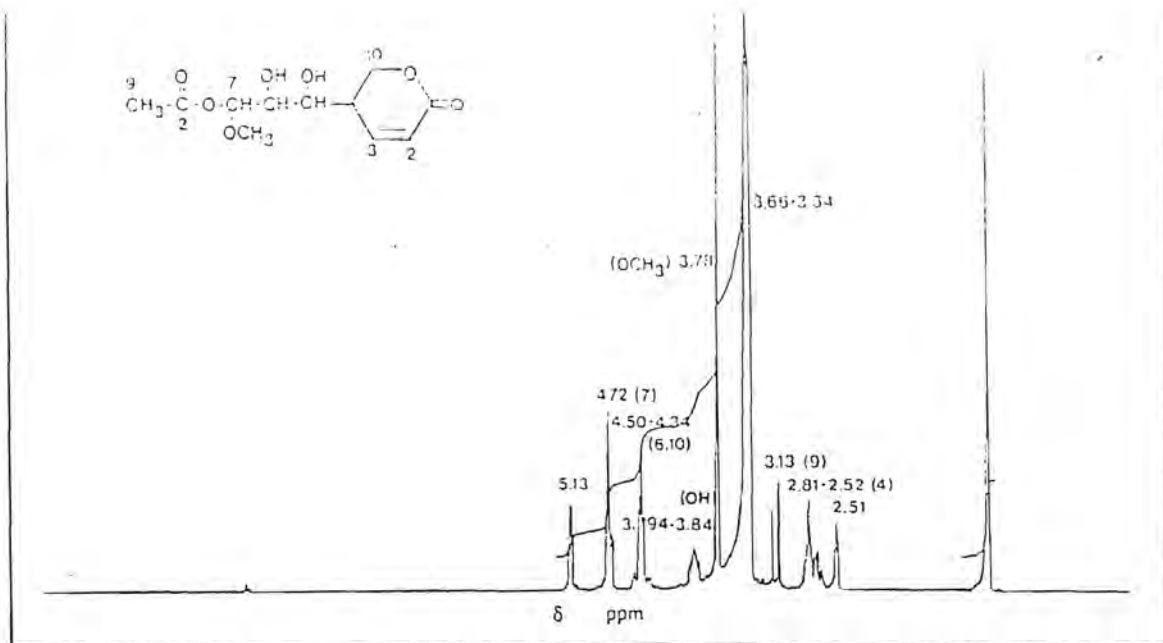
รูปที่ 20 แมสสเปกตรัมของ สาร ๑



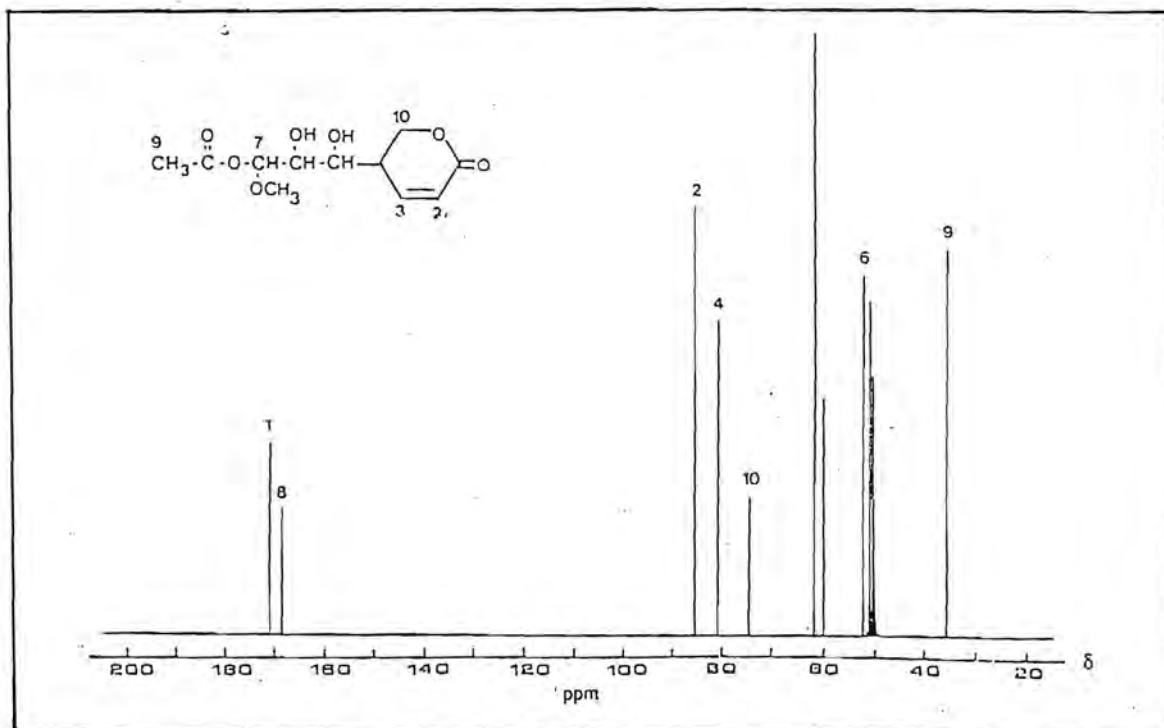
รูปที่ 21 อินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร ข



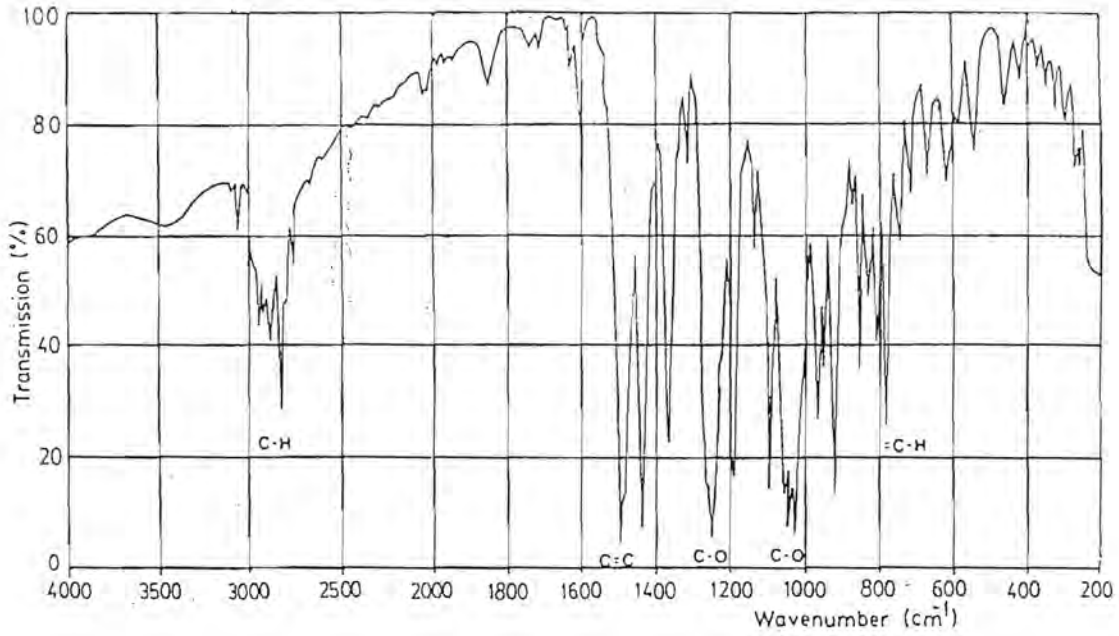
รูปที่ 22 อินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร ฉ



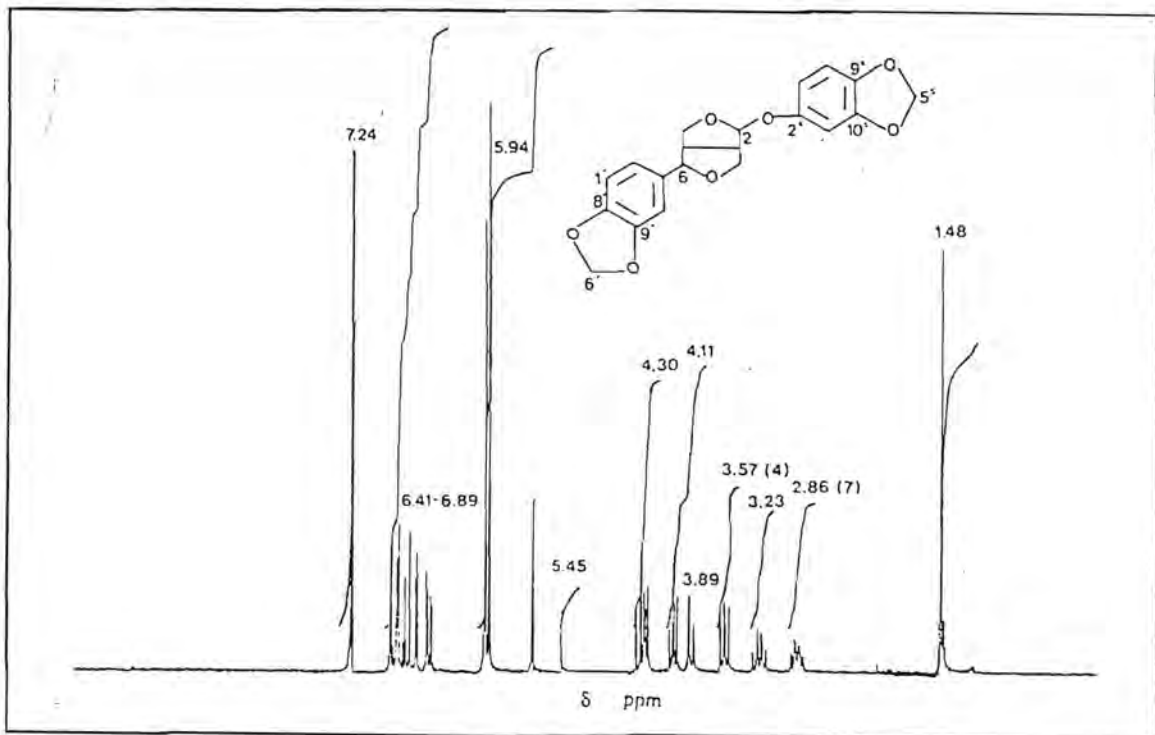
รูปที่ 23 โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของ สาร ๕



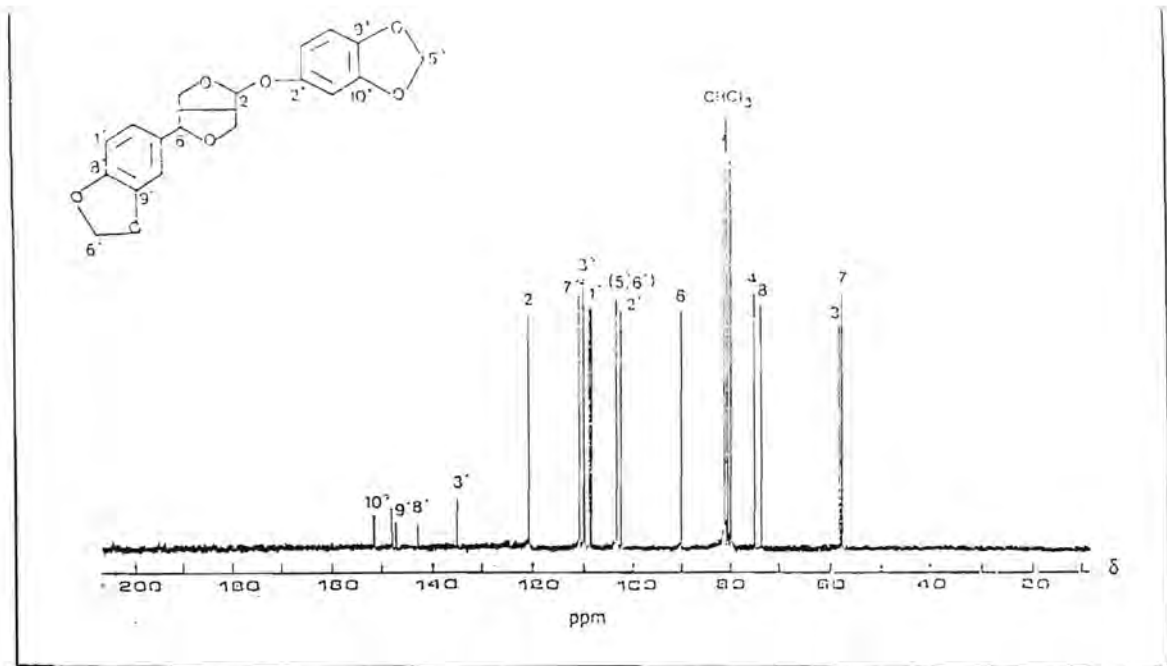
รูปที่ 24 คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของ สาร ๕



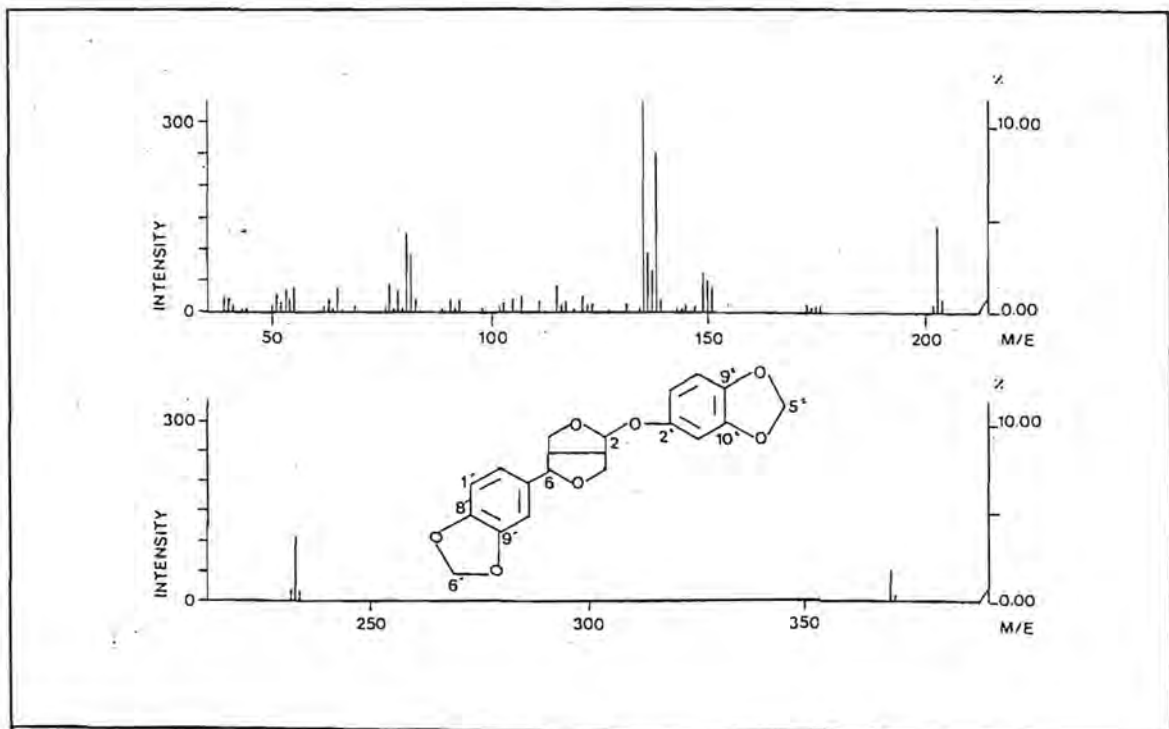
รูปที่ 25 อินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร ๕



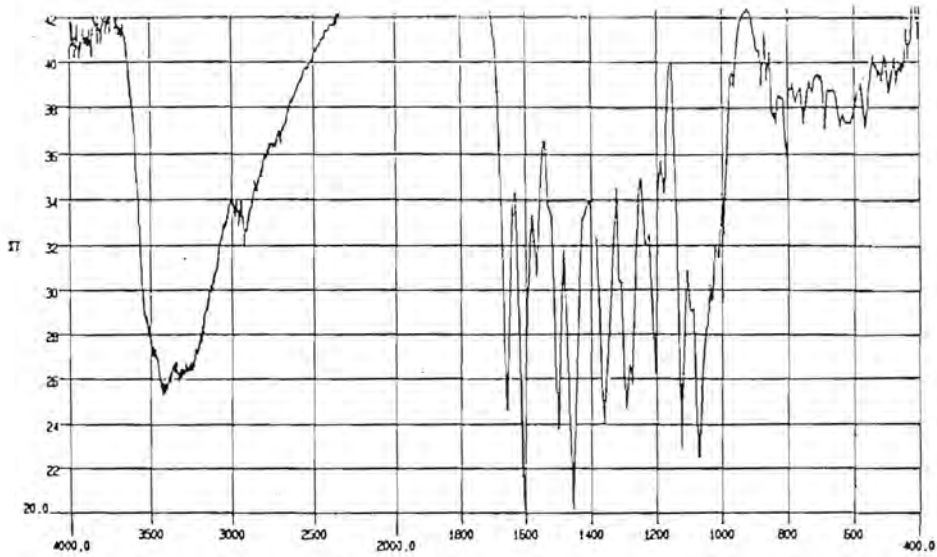
รูปที่ 26 โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของ สาร ๕



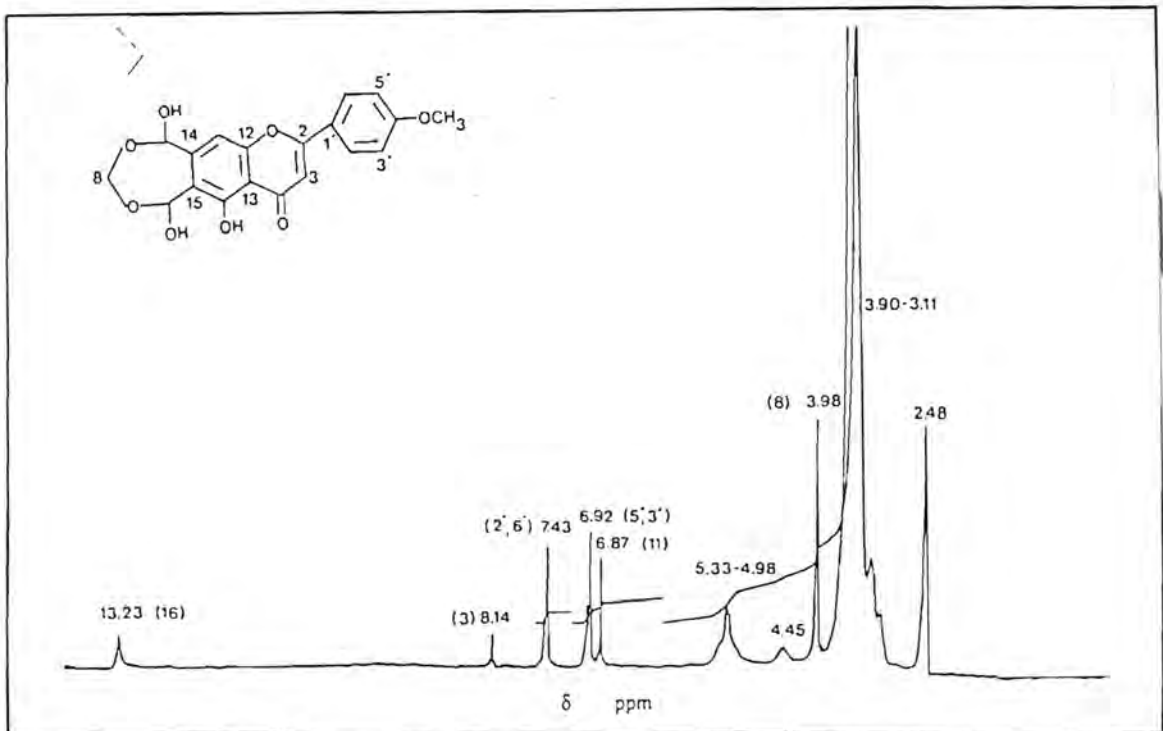
รูปที่ 27 คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของ สาร ๗



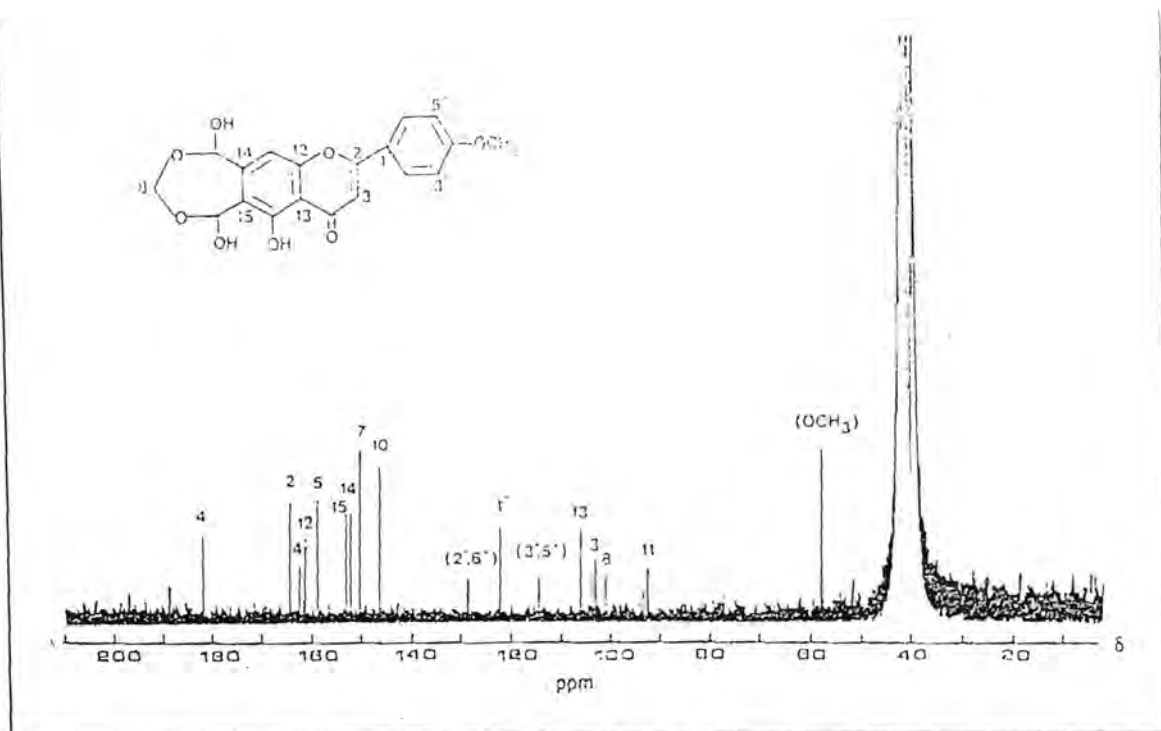
รูปที่ 28 แมสสเปกตรัมของ สาร ๗



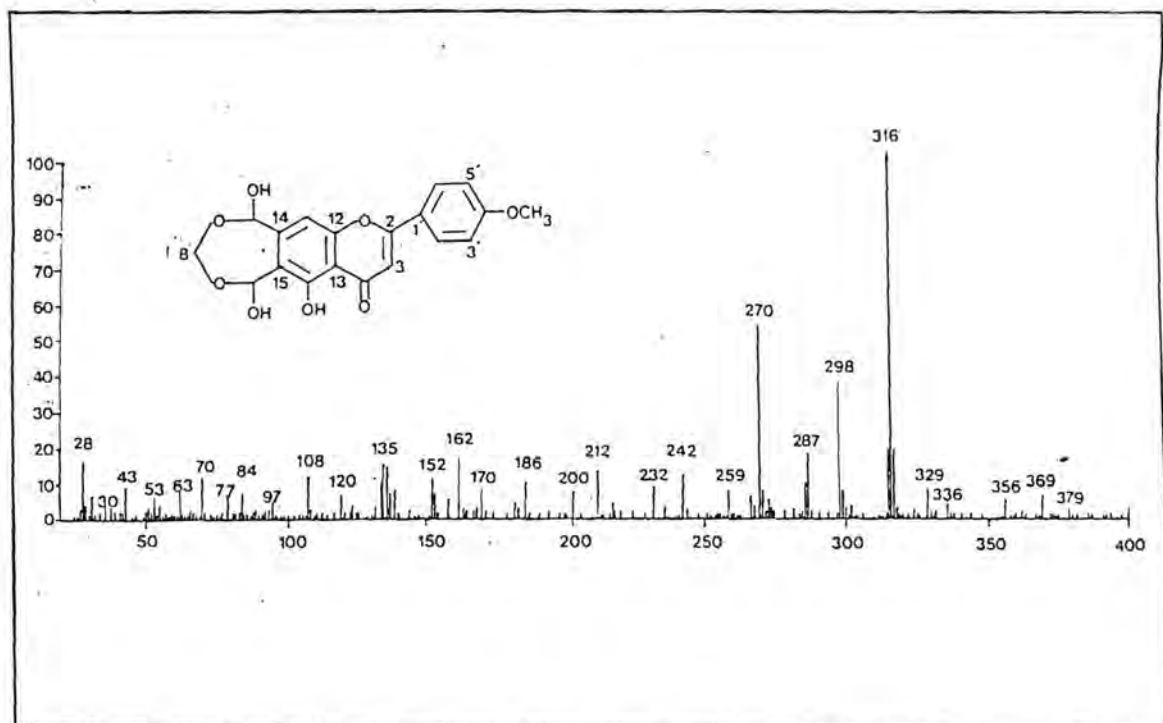
รูปที่ 29 อินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร ๗



รูปที่ 30 โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของ สาร ๘



รูปที่ 31 คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของ สาร ๗



รูปที่ 32 แมสสเปกตรัมของ สาร ๗

2.6 การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่แยกได้

2.6.1 การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าว

การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวอ่อน ของ สาร ก, สาร ข, สาร ค, สาร ง, สาร จ, สาร ฉ, สาร ช, สาร ฅ, สาร ฎ และ สาร ฏ ตามวิธีการในข้อ 2.3.1 แสดงผลการทดสอบดังตารางที่ 25

ตารางที่ 25 ผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวอ่อน ของ สาร ก, สาร ข, สาร ค, สาร ง, สาร จ, สาร ฉ, สาร ช, สาร ฅ, สาร ฎ, และ สาร ฏ

สารประกอบ	ความเข้มข้น (กรัม:เซลลูโลส 1.5 กรัม)	% ความยาว		% การยับยั้ง	
		ราก	กานใบ	ราก	กานใบ
<u>สาร ก</u>	0.005	141.11	156.11	0.00	0.00
	0.01	136.11	136.65	0.00	0.00
	0.05	106.50	131.22	0.00	0.00
<u>สาร ข</u>	0.0005	54.09	98.76	45.91	1.24
	0.001	29.51	38.43	70.49	61.57
	0.005	16.39	25.21	83.61	74.79
<u>สาร ค</u>	0.0005	442.62	77.68	0.00	22.32
	0.001	291.80	73.97	0.00	26.03
	0.005	296.72	45.87	0.00	54.13

ตารางที่ 25 (ต่อ)

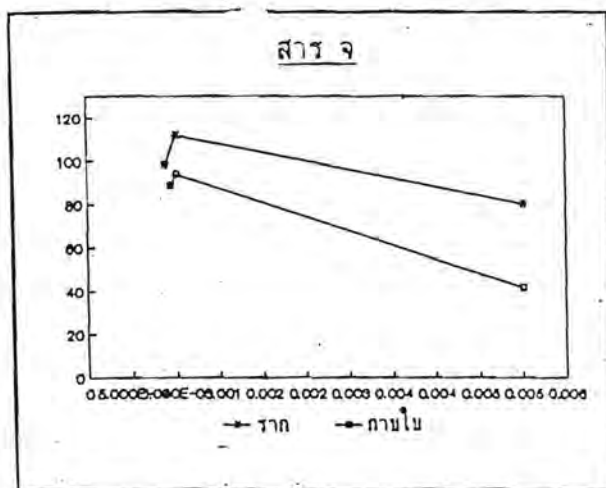
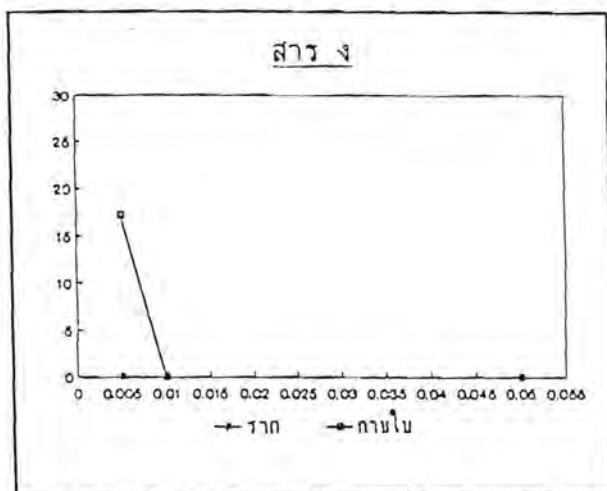
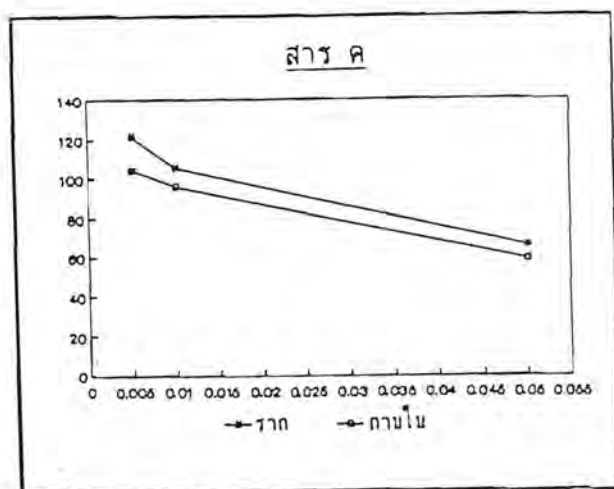
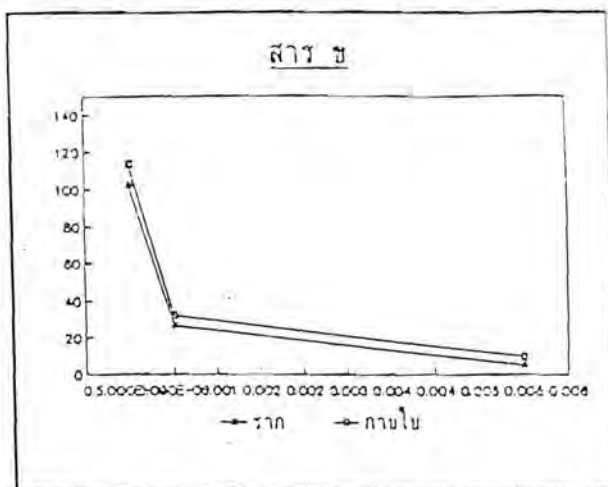
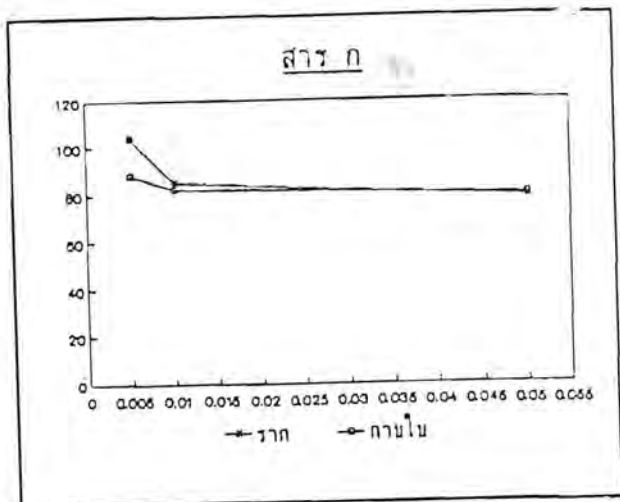
สารประกอบ	ความเข้มข้น (กรัม : เซลลูโลส 1.5 กรัม)	% ความยาว		% การยับยั้ง	
		ราก	กานับ	ราก	กานับ
<u>สาร ง</u>	0.005	0.00	61.98	100.00	38.02
	0.01	0.00	44.21	100.00	55.79
	0.05	0.00	26.03	100.00	73.97
<u>สาร จ</u>	0.005	68.85	47.11	31.15	52.89
	0.01	0.00	0.00	100.00	100.00
	0.05	0.00	0.00	100.00	100.00
<u>สาร ฉ</u>	0.005	103.94	88.08	0.00	11.92
	0.01	85.08	82.45	14.92	17.55
	0.05	78.56	79.80	21.44	20.20
<u>สาร ช</u>	0.0005	102.19	113.57	0.00	0.00
	0.001	26.23	31.82	73.77	68.18
	0.005	4.92	9.50	95.08	90.50
<u>สาร ซ</u>	0.005	121.61	104.30	0.00	0.00
	0.01	105.48	96.03	0.00	3.97
	0.05	65.52	58.61	34.48	41.39



ตารางที่ 25 (ต่อ)

สารประกอบ	ความเข้มข้น (กรัม:เซลลูโลส 1.5 กรัม)	% ความยาว		% การยับยั้ง	
		ราก	กานาบ	ราก	กานาบ
สาร ๗	0.005	0.00	17.22	100.00	82.78
	0.01	0.00	0.00	100.00	100.00
	0.05	0.00	0.00	100.00	100.00
สาร ๘	0.0005	103.00	89.73	47.00	60.27
	0.001	111.49	93.71	0.00	6.29
	0.005	80.45	41.72	19.55	58.28

จากผลการทดสอบที่แสดงดังตารางที่ 25 พบว่า สารบริสุทธิ์แต่ละตัวแสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวอ่อนแตกต่างกัน โดยพบว่า สาร ๗ ซึ่งมีองค์ประกอบ $8.60 \times 10^{-3}\%$ โดยน้ำหนักต้นงาแห้ง และความเข้มข้น 0.005 กรัม:เซลลูโลส 1.5 กรัม แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งมากที่สุด รองลงมาคือ สาร จ, สาร ง, สาร ช และ สาร ซ ซึ่งสามารถนำมาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความยาวของราก และกานาบ โดยเทียบกับความยาวของราก และกานาบของต้นข้าวอ่อนเมื่อไม่ได้รับสารเหล่านี้ กับความเข้มข้นของสารที่แยกได้ โดยแกนตั้งเป็นเปอร์เซ็นต์ความยาวของราก และกานาบ ส่วนแกนนอนเป็นความเข้มข้นของสารที่แยกได้ (กรัม:เซลลูโลส 1.5 กรัม) ดังแสดงในรูปที่ 33



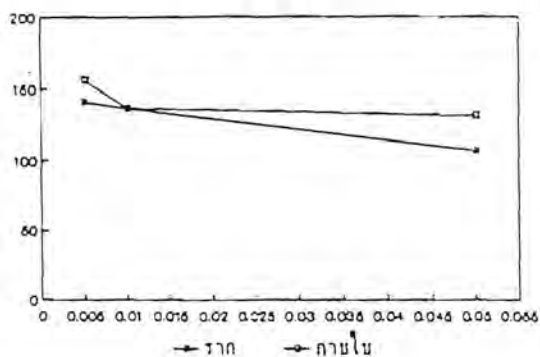
แกนตั้ง - เบอร์เซ็นต์ความยาว

แกนนอน - ความเข้มข้นของสาร (กรัม:เซลลูโลส 1.5 กรัม)

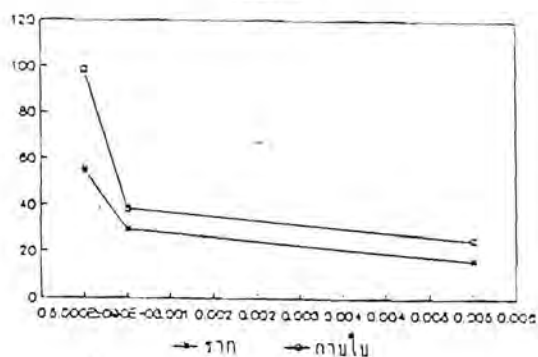
รูปที่ 33 กราฟแสดงเบอร์เซ็นต์ความยาวของรากและกาบใบของต้นข้าว เมื่อได้รับ สาร ก-

สาร ข ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

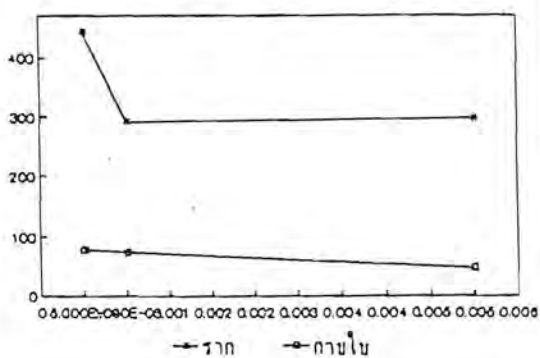
สาร จ



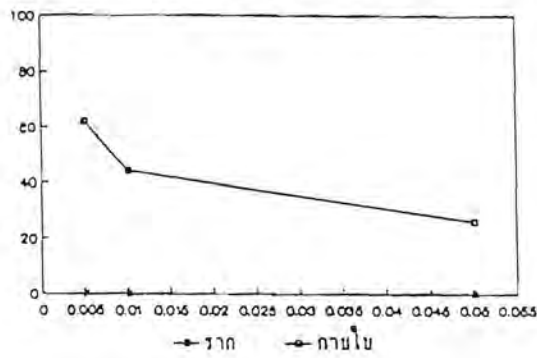
สาร ช



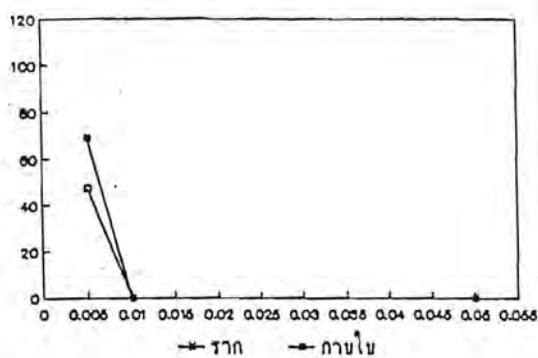
สาร ฉ



สาร ฅ



สาร ฆ



แกนตั้ง - เปอร์เซ็นต์ความยาว

แกนนอน - ความเข้มข้นของสาร (กรัม: เซลลูโลส 1.5 กรัม)

II. องค์ประกอบทางเคมี และ ฤทธิ์ทางชีวภาพของหญ้าค้อนกลอง

3.1 พืชตัวอย่าง

หญ้าค้อนกลอง (ทั้งต้น) มาจากการทดลอง หญ้าค้อนกลองจะขึ้นเป็นจำนวนมากในช่วงหลังจากที่ขาวนาเสร็จสิ้นการทำนาปีแล้วประมาณ 2 เดือนคือในราวเดือนมกราคม หญ้าค้อนกลองมีเลขนาต้นคือ 085404-87-154 (กรมป่าไม้ ประเทศไทย) ได้มาจากแปลงทดลอง กองพฤกษศาสตร์และพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ มหาวิทยาลัย-เกษตรศาสตร์ เก็บในเดือนมีนาคม

3.2 การสกัด

สกัดหญ้าค้อนกลองแห้งด้วยตัวทำละลายต่อไปนี้คือ เอทานอล, เฮกเซน, คลอโรฟอร์ม, เอทิลแอลกอฮอล์ และบิวทานอล ขั้นตอนการสกัดแสดงดังแผนภาพที่ 2

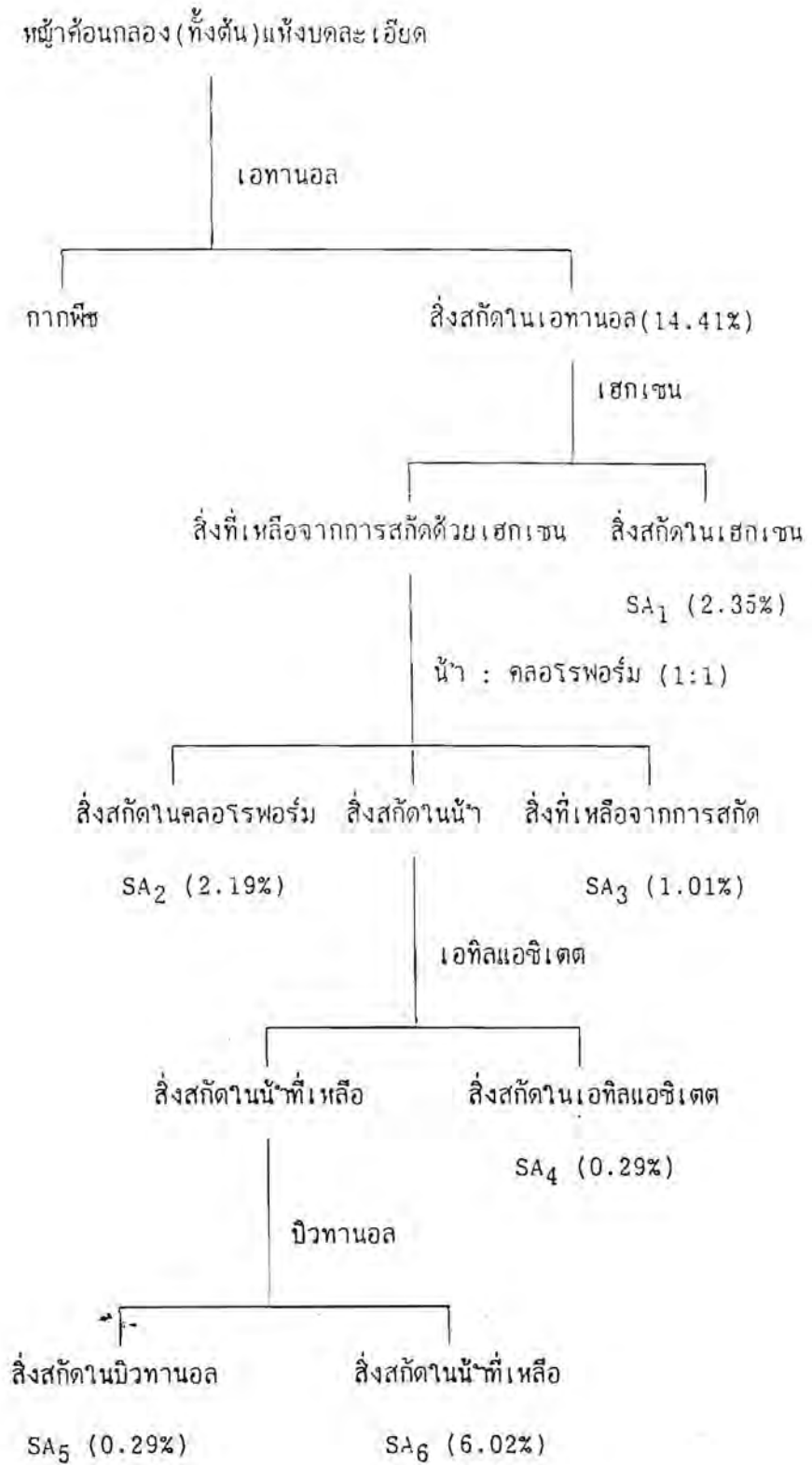
3.2.1 การสกัดด้วยเอทานอล

หญ้าค้อนกลอง (ทั้งต้น) ที่ตากแห้งและบดละเอียดหนัก 5.1 กก. มาสกัดด้วยเอทานอลจำนวน 30 ลิตรที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 สัปดาห์ แล้วนําสารละลายที่สกัดมากรองและกลั่นแยกเอทานอลออกจนเกือบหมด นำเอทานอลที่กลั่นแยกได้มาสกัดหญ้าค้อนกลองอีก ทำเช่นนี้ซ้ำอีกหลาย ๆ ครั้ง จนกระทั่งสารละลายเอทานอลที่กรองได้ไม่มีสีจึงหยุดสกัด จะได้สิ่งสกัดในเอทานอล มีลักษณะเป็นสารสีน้ำตาลทึบหนัก 735 กรัม (14.41 % น้ำหนักโดยน้ำหนัก) จากนั้นจึงนำสิ่งสกัดดิบที่ได้นี้ไปสกัดด้วยเฮกเซนต่อไป

3.2.2 การสกัดด้วยเฮกเซน

นำสิ่งสกัดของหญ้าค้อนกลองที่สกัดได้จากเอทานอล มาสกัดต่อด้วยเฮกเซนจำนวน 3 ลิตร เช่นเดียวกับข้อ 2.7.1 จะได้สิ่งสกัดในเฮกเซน มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาวอม น้ำตาล หนัก 120 กรัม (2.35 % น้ำหนักโดยน้ำหนัก)

แผนภาพที่ 2



3.2.3 การสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์

นำสิ่งสกัดที่ได้ในน้ำ มาสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ จำนวน 500 ซม.³ เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำสารละลายที่สกัดได้มากลั่นแยกเอทิลแอลกอฮอล์ สำหรับขั้นตอนในการสกัดซ้ำ ทำเช่นเดียวกับข้อ 2.7.1 จะได้สิ่งสกัดในเอทิลแอลกอฮอล์ มีลักษณะเป็นของแข็งสีน้ำตาลเข้มหนัก 14.9 กรัม (0.29 % น้ำหนักโดยน้ำหนัก)

3.2.4 การสกัดด้วยบิวทานอล

นำสิ่งสกัดที่เหลือจากข้อ 2.7.4 มาสกัดด้วยบิวทานอล จำนวน 500 ซม.³ เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำสารละลายที่สกัดได้มากลั่นแยกบิวทานอล สำหรับขั้นตอนในการสกัดซ้ำทำเช่นเดียวกับข้อ 2.7.1 จะได้สิ่งสกัดในบิวทานอล มีลักษณะเป็นของแข็งสีน้ำตาลเข้มหนัก 20.05 กรัม (0.39 % น้ำหนักโดยน้ำหนัก)

3.2.5 การสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม - น้ำ

นำสารที่เหลือจากการสกัดใน 2.7.2 มาละลายด้วยคลอโรฟอร์ม จำนวน 500 ซม.³ ใส่ลงใน liquid - liquid extractor ซึ่งมีคลอโรฟอร์มจำนวน 500 ซม.³ จากนั้นเติมน้ำลงไปในปริมาณ 1000 ซม.³ สกัดด้วยคลอโรฟอร์มหลาย ๆ ครั้ง ครั้งละ 500 ซม.³ จนกระทั่งสารละลายในชั้นคลอโรฟอร์มไม่มีสี แยกสารละลายสองชั้นออกจากกัน

นำสารละลายในชั้นคลอโรฟอร์มมากรองผ่าน anhyd. Na₂SO₄ เพื่อกำจัดน้ำที่ปนออกมา จากนั้นกลั่นใส่คลอโรฟอร์มออกจากสารละลายโดยวิธีกลั่นแบบธรรมดา ได้สิ่งสกัดชั้นสีดาหนัก 112 กรัม (2.19 % น้ำหนักโดยน้ำหนัก) ซึ่งจะนำไปทำการแยกโดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีต่อไป

นำสารละลายในชั้นน้ำไปกลั่นใส่น้ำออกโดยวิธีกลั่นลดความดันด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน ได้สารที่สกัดด้วยน้ำสีน้ำตาลหนัก 350 กรัม (6.86 % น้ำหนักโดยน้ำหนัก)

3.3 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

ผลการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าว ของสิ่งสกัดต่างๆ ตามวิธีที่กล่าวมาแล้ว พบว่าสิ่งสกัดในคลอโรฟอร์ม (SA_2) มีฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวมากที่สุด รองลงมาคือสิ่งสกัดในเอทิลแอลกอฮอล์ ดังกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความยาวรากและกาบใบ เปรียบเทียบกับความยาวรากและกาบใบของต้นข้าวอ่อน เมื่อไม่ได้รับสารเหล่านี้กับความเข้มข้นของสิ่งสกัดที่ใช้ โดยแกนตั้งเป็นเปอร์เซ็นต์ความยาวของรากและกาบใบ ส่วนแกนนอนเป็นความเข้มข้นของสิ่งสกัดที่ใช้ (กรัม : เซลลูโลส และกรัม) ดังรูป

3.4 การแยกและติดตามฤทธิ์ทางชีวภาพ

3.4.1 การแยกสิ่งสกัดในเฮกเซน (SA_1)

ผลการแยกสิ่งสกัดเฮกเซนด้วยซิลิกาเซลคอลัมน์โครมาโทกราฟีแล้วรวมเป็นหน่วยย่อยโดยเลข TLC ได้ 11 หน่วยย่อย ($SA_{1,1}$ - $SA_{1,11}$) ดังตารางที่ 22 ผลการทดสอบความสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวพบว่า $SA_{1,8}$ มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวมากที่สุดรองลงมาคือ $SA_{1,7}$ และ $SA_{1,9}$ ดังตารางที่ 23

3.4.2 การแยกสารของสิ่งสกัดในคลอโรฟอร์ม (SA_2)

ผลการแยกและรวมเป็นหน่วยย่อยโดยคอลัมน์ซิลิกาเจล ด้านกัมมันต์และวิธีตกผลึกแยกเป็น 13 หน่วยย่อย ($SA_{2,1}$ - $SA_{2,13}$) ดังตารางที่ 24 เมื่อทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวของทั้ง 13 หน่วยย่อย พบว่า $SA_{2,6}$ แสดงฤทธิ์ยับยั้งมากที่สุด 100% ทุกความเข้มข้นของใบและราก รองลงมาคือ $SA_{2,7}$ $SA_{2,8}$ $SA_{2,5}$ และ $SA_{2,8}$ ตามลำดับ ดังตารางที่ 25

ตารางที่ 22 แสดงผลการแยกสารของสิ่งสกัดในเฮกเซน โดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี

รหัส	ตัวทำละลาย (อัตราส่วนโดยปริมาตร)	ลำดับส่วนที่	ลักษณะสาร	น้ำหนักสาร (กรัม)
SA ₁ 1	เฮกเซน	1 - 6	ของแข็งอสีฐานสีขาว	8.11
SA ₁ 2	เฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (9:1)	7 - 12	น้ำมันสีเหลืองปนของแข็งสีขาว	3.85
SA ₁ 3	เฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (17:3)	13 - 16	น้ำมันสีเหลืองปนของแข็งสีขาว	2.22
SA ₁ 4	เฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (4:1)	17 - 19	น้ำมันสีส้มปนของแข็งสีขาว	2.13
SA ₁ 5	เฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (7:3)	20 - 22	น้ำมันสีแดงม่วงปนของแข็งใส รูปหกเหลี่ยม	3.71
SA ₁ 6	เฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (3:2)	23 - 28	น้ำมันสีเหลืองปนผลึกรูปเข็ม	4.73
SA ₁ 7	เฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (1:1)	29 - 35	คราบของแข็งสีน้ำตาลปนดำ	1.07
SA ₁ 8	เฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (2:3)	36 - 66	น้ำมันสีดาปนของแข็งสีเขียว	22.68
SA ₁ 9	ไดคลอโรมีเทน	67 - 70	ของแข็งสีน้ำตาลดำ	4.39
SA ₁ 10	ไดคลอโรมีเทน:เมทานอล (9:1)	71 - 77	ของแข็งสีเขียวอมน้ำตาล	2.39
SA ₁ 11	ไดคลอโรมีเทน:เมทานอล (1:1)	78 - 83	ของแข็งสีเขียวดำ	2.85

ตารางที่ 23 ผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าว ในแต่ละส่วน

ที่แยกได้จากสิ่งสกัดเฮกเซน ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

รหัส	ส่วนขอ ต้นข้าว ที่ศึกษา	เปอร์เซ็นต์ความยาวที่ความเข้มข้นต่าง ๆ		
		0.005	0.01	0.05
SA ₁ 1	ราก	113.59	79.34	90.53
	กาบใบ	99.45	84.62	65.10
SA ₁ 2	ราก	27.08	14.93	31.13
	กาบใบ	86.31	57.41	73.76
SA ₁ 3	ราก	106.02	99.01	80.20
	กาบใบ	102.55	99.25	97.11
SA ₁ 4	ราก	79.16	70.43	34.72
	กาบใบ	81.75	111.46	96.95
SA ₁ 5	ราก	97.92	29.51	27.77
	กาบใบ	96.53	46.87	49.42
SA ₁ 6	ราก	81.21	23.42	14.23
	กาบใบ	92.21	52.14	42.1
SA ₁ 7	ราก	21.87	3.13	0.00
	กาบใบ	0.00	0.00	0.00
SA ₁ 8	ราก	0.00	0.00	0.00
	กาบใบ	0.00	0.00	0.00
SA ₁ 9	ราก	0.00	2.69	0.00
	กาบใบ	0.00	7.98	0.00
SA ₁ 10	ราก	116.26	85.02	89.06
	กาบใบ	74.20	83.05	76.17
SA ₁ 11	ราก	77.96	79.12	57.65
	กาบใบ	110.16	96.04	87.91

ตารางที่ 24 ผลการแยกสารของสิ่งสกัดในคลอโรฟอร์ม โดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี

รหัส	ตัวทำละลาย (อัตราส่วนโดยปริมาตร)	ลำดับส่วนที่	ลักษณะสาร	น้ำหนักสาร (กรัม)
SA ₂ 1	เฮกเซน:คลอโรฟอร์ม (7:3)	1- 3	ของแข็งสีน้ำตาลอ่อน	3.94
SA ₂ 2	เฮกเซน:คลอโรฟอร์ม (2:3)และ(1:4)	4-10	ของแข็งสีน้ำตาล	10.12
SA ₂ 3	เฮกเซน:คลอโรฟอร์ม (1:9)	11-18	ของแข็งสีน้ำตาล	0.57
SA ₂ 4	คลอโรฟอร์ม	19-25	ของแข็งสีน้ำตาล	6.45
SA ₂ 5	คลอโรฟอร์ม:เมทานอล (19:1)	26-42	ของแข็งสีน้ำตาล	10.51
SA ₂ 6	คลอโรฟอร์ม:เมทานอล (19:1)	43-54	ของแข็งสีน้ำตาล	26.28
SA ₂ 7	คลอโรฟอร์ม:เมทานอล (9:1)	55-72	ของแข็งสีขาว เทาปนของแข็ง สีน้ำตาล	3.84
SA ₂ 8	คลอโรฟอร์ม:เมทานอล (4:1)	73-86	ของแข็งสีน้ำตาล	1.05

ตารางที่ 24 (ต่อ)

รหัส	ตัวทำละลาย (อัตราส่วนโดยปริมาตร)	ลำดับส่วนที่	ลักษณะสาร	น้ำหนักสาร (กรัม)
SA ₂ 9	คลอโรฟอร์ม: เมทานอล (7:3)	87-90	ของแข็งสีน้ำตาลดำ	1.25
SA ₂ 10	คลอโรฟอร์ม: เมทานอล (3:2)	91-100	ของแข็งสีน้ำตาลดำ	2.17
SA ₂ 11	คลอโรฟอร์ม: เมทานอล (1:1)	101-112	ของแข็งสีน้ำตาลดำ	3.27
SA ₂ 12	คลอโรฟอร์ม: เมทานอล (3:2)	113-120	ของแข็งสีน้ำตาลดำ	4.21
SA ₂ 13	เมทานอล	121-135	ของแข็งสีน้ำตาลแดง	5.62

ตารางที่ 25 ผลการทดสอบความสามารถการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าว ในแต่ละส่วน
ที่แยกได้จากสิ่งสกัดในคลอโรฟอร์ม ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

รหัส	ส่วนของ ต้นข้าว ที่ศึกษา	เปอร์เซ็นต์ความยาวที่ความเข้มข้นต่าง ๆ		
		0.001	0.05	0.1
SA ₂ 1	ราก	139.85	134.78	144.69
	กาบใบ	113.92	109.01	68.85
SA ₂ 2	ราก	97.68	106.67	110.36
	กาบใบ	87.69	96.71	101.08

รหัส	ส่วนของ ต้นข้าว ที่ศึกษา	เปอร์เซ็นต์ความยาวที่ความเข้มข้นต่าง ๆ		
		0.001	0.05	0.1
SA ₂₃	ราก	187.08	159.44	152.06
	กาบใบ	100.54	99.99	91.25
SA ₂₄	ราก	94.93	34.33	7.14
	กาบใบ	93.70	77.59	24.04
SA ₂₅	ราก	5.76	0.00	0.00
	กาบใบ	44.26	20.76	0.00
SA ₂₆	ราก	0.00	0.00	0.00
	กาบใบ	0.00	0.00	0.00
SA ₂₇	ราก	9.91	0.00	0.00
	กาบใบ	0.00	0.00	0.00
SA ₂₈	ราก	72.58	0.00	0.00
	กาบใบ	9.02	0.00	0.00
SA ₂₉	ราก	79.37	0.00	0.00
	กาบใบ	81.41	10.11	2.46
SA ₂₁₀	ราก	115.66	89.85	10.82
	กาบใบ	87.69	71.31	49.18
SA ₂₁₁	ราก	135.01	121.88	46.31
	กาบใบ	92.06	87.15	91.24
SA ₂₁₂	ราก	153.68	151.60	48.60
	กาบใบ	104.64	88.79	77.86
SA ₂₁₃	ราก	125.57	125.79	117.96
	กาบใบ	104.64	96.71	97.81

ตารางที่ 26 ผลการแยกสารของสิ่งสกัดเอทิลเอซิเตต โดยวิธีรีฟลอคอลัมน์โครมาโทกราฟี

รหัส	ตัวทำละลาย (อัตราส่วนโดยปริมาตร)	ลำดับส่วนที่	ลักษณะสาร	น้ำหนักสาร (กรัม)
SA ₄ 1	เฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (1:1)	1-12	ของแข็งสีน้ำตาล	0.32
SA ₄ 2	เฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (2:3)และ(3:7)	13-29	น้ำมันสีน้ำตาลอมส้ม	0.42
SA ₄ 3	เฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (1:4)และ(1:9)	30-45	น้ำมันสีน้ำตาลแดง	1.26
SA ₄ 4	ไดคลอโรมีเทน: เมทานอล (19:1)	46-56	น้ำมันสีน้ำตาล	3.26
SA ₄ 5	ไดคลอโรมีเทน: เมทานอล (9:1)และ(4:1)	57-60	น้ำมันสีน้ำตาลหนืด	3.75
SA ₄ 6	ไดคลอโรมีเทน: เมทานอล (7:3)และ(3:2)	61-80	ตะกอนสีน้ำตาลอมดำ	3.60
SA ₄ 7	ไดคลอโรมีเทน: เมทานอล (1:1)และ(1:4)	81-100	ตะกอนสีน้ำตาล	2.73

ตารางที่ 26 ผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าว ในแต่ละส่วน
ที่แยกได้จากสิ่งสกัดในเอทิลแอลกอฮอล์ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

รหัส	ส่วนของต้นข้าว ที่ศึกษา	เปอร์เซ็นต์ความยาวที่ความเข้มข้นต่าง ๆ		
		0.001	0.005	0.010
SA ₄ 1	ราก	98.21	86.15	45.12
	กาบใบ	102.21	98.25	63.56
SA ₄ 2	ราก	86.42	57.47	20.00
	กาบใบ	107.52	126.21	92.48
SA ₄ 3	ราก	97.69	65.16	42.21
	กาบใบ	115.12	125.64	47.06
SA ₄ 4	ราก	82.36	68.11	33.85
	กาบใบ	115.98	73.86	35.26
SA ₄ 5	ราก	104.42	95.75	55.33
	กาบใบ	123.79	100.34	62.45
SA ₄ 6	ราก	85.23	74.28	96.36
	กาบใบ	96.23	88.18	94.12
SA ₄ 7	ราก	104.29	95.62	85.15
	กาบใบ	93.72	83.32	71.45

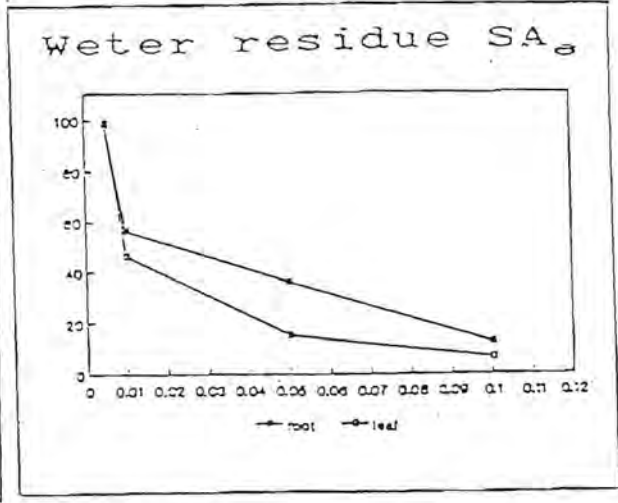
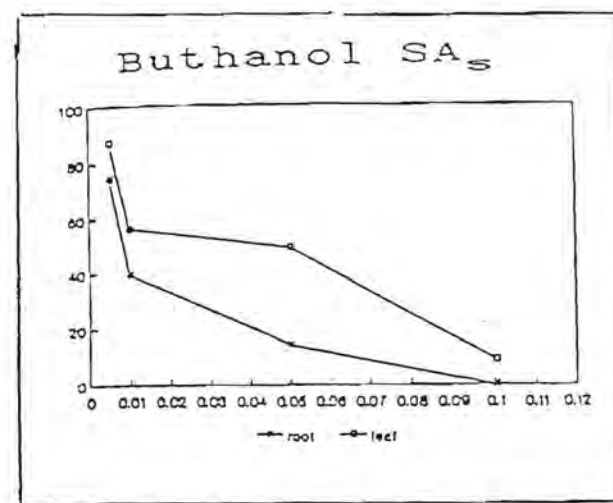
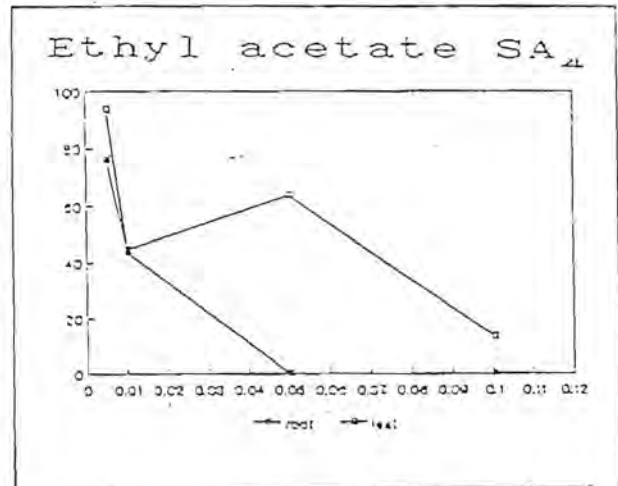
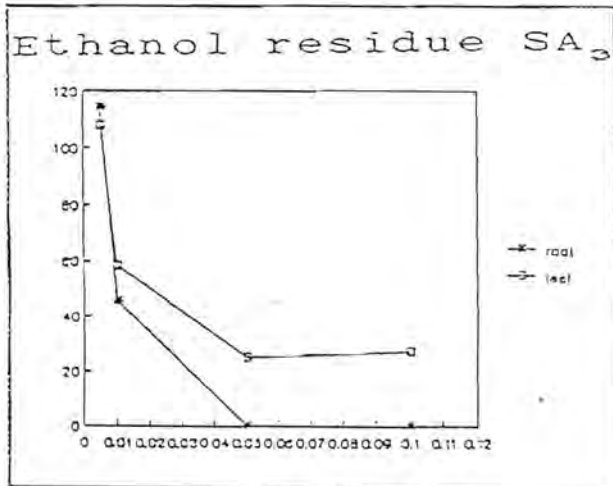
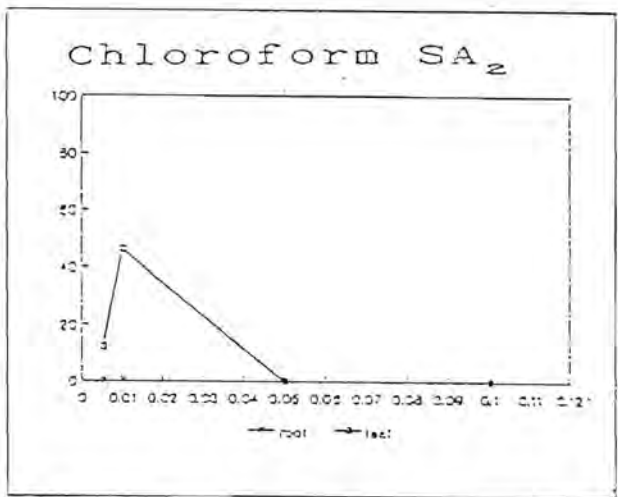
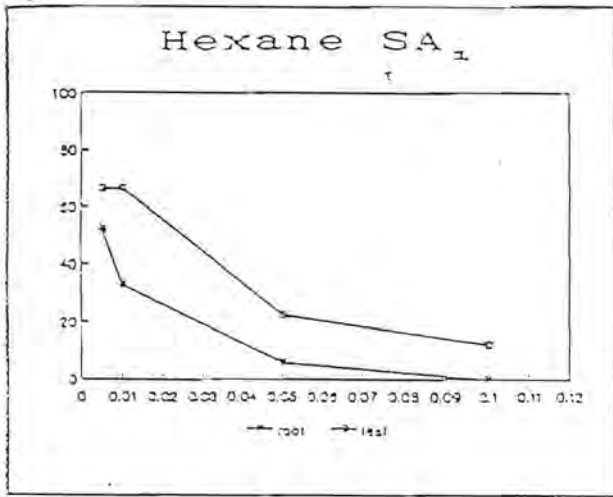
ตารางที่ 27 ผลการแยกสารของสิ่งสกัดบัวทานอล โดยวิธีคอกอลัมน์โครมาโทกราฟี

รหัส	ตัวทาละลาย (อัตราส่วนโดยปริมาตร)	ลำดับส่วนที่	ลักษณะสาร	น้ำหนักสาร (กรัม)
SA ₅ 1	เฮกเซน: ไดคลอโรมีเทน (1:1)	1-16	ของแข็งสีน้ำตาล	1.52
SA ₅ 2	เฮกเซน: ไดคลอโรมีเทน (2:3) และ (3:7)	17-25	น้ำมันสีน้ำตาลอมส้ม	1.32
SA ₅ 3	เฮกเซน: ไดคลอโรมีเทน (1:4) และ (1:9)	26-40	น้ำมันสีน้ำตาลแดง	2.26
SA ₅ 4	ไดคลอโรมีเทน: เมทานอล (19:1)	41-52	น้ำมันสีน้ำตาลปนของแข็ง สีเหลือง	4.56
SA ₅ 5	ไดคลอโรมีเทน: เมทานอล (9:1) และ (4:1)	53-60	น้ำมันสีน้ำตาลหนืด	5.05
SA ₅ 6	ไดคลอโรมีเทน: เมทานอล (7:3) และ (3:2)	61-80	ตะกอนสีน้ำตาลอมดำ	4.12
SA ₅ 7	ไดคลอโรมีเทน: เมทานอล (1:1) และ (1:4)	81-100	ตะกอนสีน้ำตาล	1.25

ตารางที่ 28 ผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าว ในแต่ละส่วน
ที่แยกได้จากสิ่งสกัดบิวทานอล ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

รหัส	ส่วนของต้นข้าว ที่ศึกษา	เปอร์เซ็นต์ความยาวที่ความเข้มข้นต่าง ๆ		
		0.001	0.005	0.010
SA ₅ 1	ราก	102.23	98.23	55.23
	กาบใบ	97.35	100.25	86.23
SA ₅ 2	ราก	112.56	98.47	26.35
	กาบใบ	135.25	145.23	55.55
SA ₅ 3	ราก	99.83	86.79	56.45
	กาบใบ	156.23	176.56	92.63
SA ₅ 4	ราก	97.71	87.36	57.77
	กาบใบ	115.98	73.86	35.26
SA ₅ 5	ราก	104.36	93.69	90.23
	กาบใบ	123.79	100.34	62.45
SA ₅ 6	ราก	99.39	75.55	66.66
	กาบใบ	146.36	98.18	94.12
SA ₅ 7	ราก	115.54	98.88	87.78
	กาบใบ	145.55	142.23	99.99

กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์ความยาวของรากและกาบของต้นข้าว เมื่อได้รับสิ่งสกัดจาก
หญ้าค้อนกลอง ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ



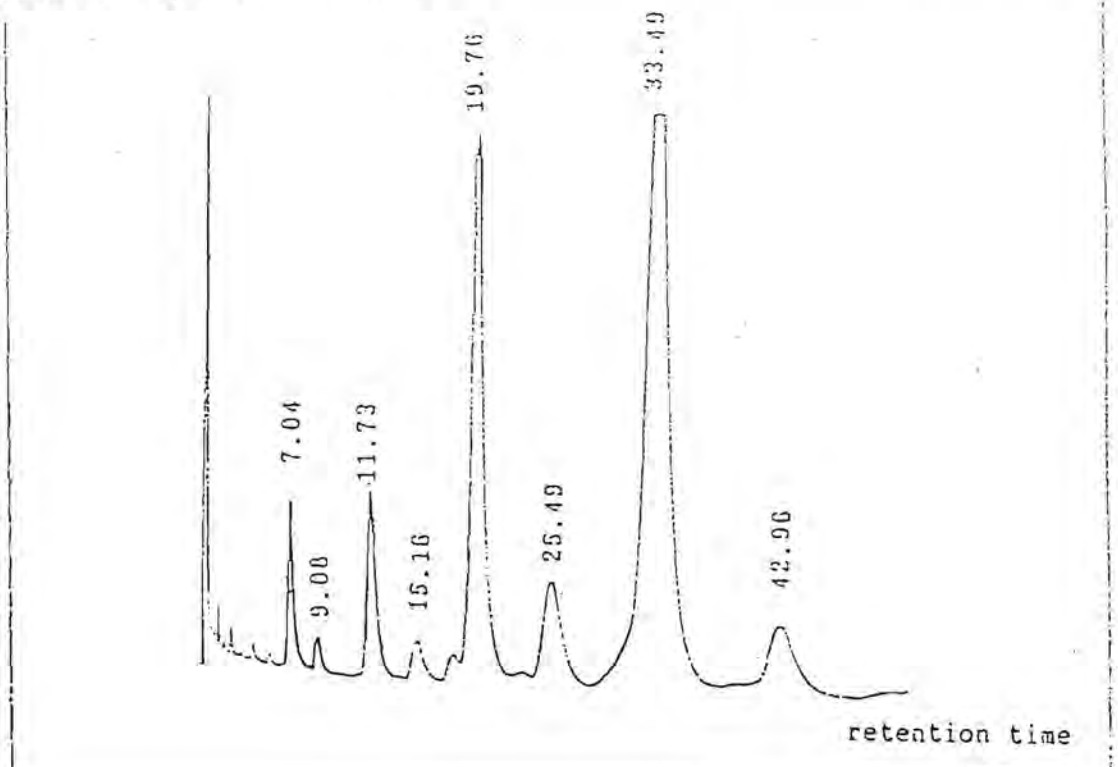
แกนตั้ง - เปอร์เซ็นต์ความยาว

แกนนอน - ความเข้มข้นของสาร (กรัม: เซลลูโลส 1.5 กรัม)

3.5 การวิเคราะห์ปริมาณและ การตรวจหาสูตรโครงสร้างของสารที่มีเอกลักษณ์

3.5.1 การตรวจหาสูตรโครงสร้างของสาร 1

สาร 1 มีลักษณะ เป็นของแข็งสีขาวแวววาว ได้จากลำดับส่วนที่ 1-6 (SA₁) ในการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีของแข็งที่เฮกเซน (ตารางที่ 22) ซึ่งถูกชะด้วยเฮกเซน เมื่อนำ สาร 1 มาตกผลึกด้วยเอทิลเอซิเตตร้อน จะได้แผ่นผลึกสีขาวหนัก 0.79 กรัม (0.015 % น้ำหนักโดยน้ำหนัก) จุดหลอมเหลว 64.0-65.0 องศาเซลเซียส TLC ให้ค่า R_F เท่ากับ 0.93 [เฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (9:1)] สาร 1 ละลายได้ดีในเฮกเซน และไดคลอโรมีเทน สาร 1 ให้ผลลบกับปฏิกิริยา Liebermann-Burchard, 2,4-DNP, 5% FeCl₃ และ Br₂ ใน CCl₄ แสดงว่า สาร 1 ไม่ใช่สารประกอบประเภท สเตอรอยด์หรือ ไตรเทอร์ทีนอยด์ ไม่มีหมู่คาร์บอนิลในโมเลกุล, ไม่ใช่สารประกอบจากพาทินอล แต่เป็นสารที่อิมิดาจากการทดสอบด้วยรีเอเจนต์ต่าง ๆ และข้อมูลทางสเปกตรัม พบว่า สาร 1 น่าจะเป็นสารประกอบประเภทไฮโดรคาร์บอนระจัดตรง เมื่อนำ สาร 1 มาวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี (คอลัมน์ OV-1 2%, อุณหภูมิของคอลัมน์ 250 องศาเซลเซียส, อุณหภูมิ injection 290 องศาเซลเซียส และการไหลของ N₂ 50 มิลลิลิตร/นาที) โดยเปรียบเทียบกับของผสมมาตรฐานไฮโดรคาร์บอนระจัดตรง



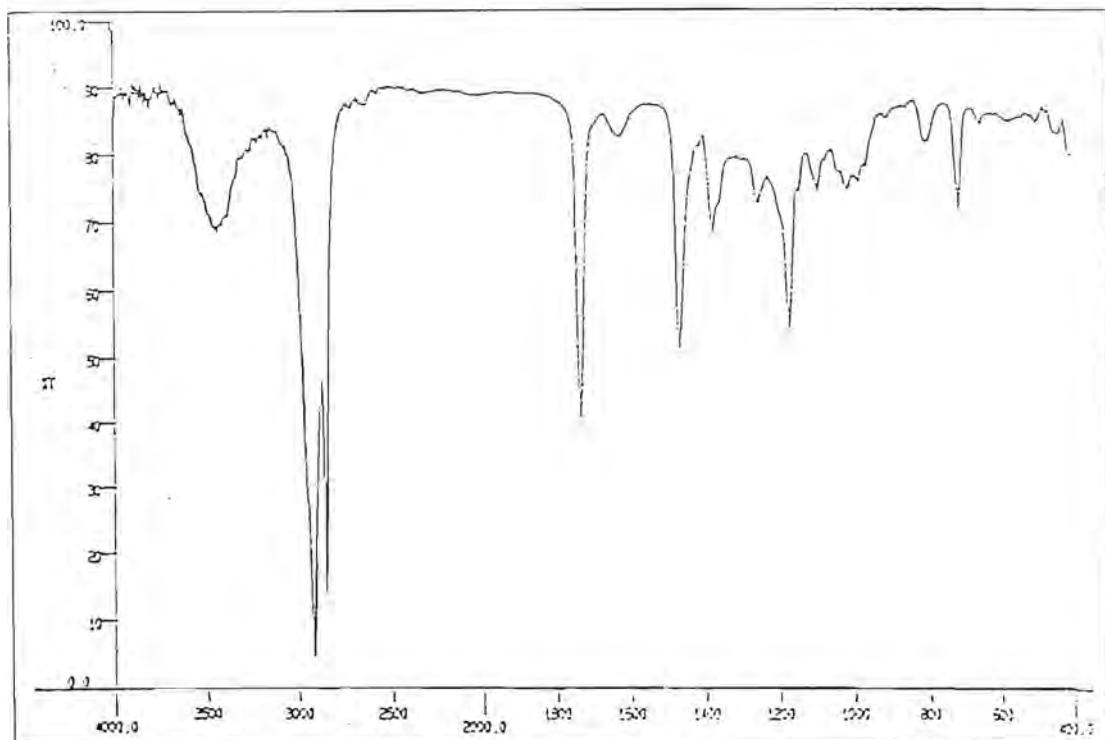
ชื่อสารประกอบ	สูตรโมเลกุล	สูตรโครงสร้าง	มวลโมเลกุล	ปริมาณสาร (%)
hexacosane	C ₂₆ H ₅₄	CH ₃ -(CH ₂) ₂₄ -CH ₃	366	4.33
heptacosane	C ₂₇ H ₅₆	CH ₃ -(CH ₂) ₂₅ -CH ₃	380	1.23
octacosane	C ₂₈ H ₅₈	CH ₃ -(CH ₂) ₂₆ -CH ₃	394	17.51
nonacosane	C ₂₉ H ₆₀	CH ₃ -(CH ₂) ₂₇ -CH ₃	408	2.25
triacontane	C ₃₀ H ₆₂	CH ₃ -(CH ₂) ₂₈ -CH ₃	422	27.51
hentriacontane	C ₃₁ H ₆₄	CH ₃ -(CH ₂) ₂₉ -CH ₃	436	4.17
dotriacontane	C ₃₂ H ₆₆	CH ₃ -(CH ₂) ₃₀ -CH ₃	450	23.70
tritriacontane	C ₃₃ H ₆₈	CH ₃ -(CH ₂) ₃₁ -CH ₃	464	3.36
tetratriacontane	C ₃₄ H ₇₀	CH ₃ -(CH ₂) ₃₂ -CH ₃	478	10.85

3.2.2 การทาสาร 2 ให้บริสุทธิ์และการตรวจหาสูตรโครงสร้าง

สาร 2 มีลักษณะเป็นของแข็งอสีฐานสีขาวอยู่ในน้ำมันสีเหลือง ซึ่งได้จากลำดับส่วนที่ 7-12 (SA₁2) ในการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีของสิ่งสกัดเฮกเซน (ตารางที่ 22) ซึ่งถูกชะด้วย เฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (9:1) เมื่อนำ สาร 2 มาตกผลึกด้วยแอซีโตนร้อน จะได้ของแข็งอสีฐานสีขาวหนัก 0.23 กรัม (4.46×10^{-3} % โดยน้ำหนักของหย้าก่อนกลองบดแห้ง) จุดหลอมเหลว 65.0-66.0 องศาเซลเซียส TLC ให้ค่า R_f เท่ากับ 0.96 [เฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (9:1)] สาร 2 ละลายได้ดีในไดคลอโรมีเทนและคลอโรฟอร์ม แต่ละลายได้น้อยในเฮกเซน, เมทานอลและเอทานอล สาร 2 ให้ผลลบกับปฏิกิริยา Liebermann-Burchard แสดงว่า สาร 2 ไม่ใช่สารประกอบประเภท สเตอรอยด์หรือไตรเทอร์พีนอยด์ ให้ผลลบกับ 2,4-DNP แสดงว่าไม่มีหมู่คาร์บอนิลของอัลดีไฮด์หรือคีโตนในโมเลกุล, นอกจากนี้ยังให้ผลลบกับ 5% FeCl₃ และ Br₂ ใน CCl₄ แสดงว่า สาร 2 ไม่ใช่สารประกอบฟีนอล แต่เป็นสารที่อิ่มตัว

อินฟราเรดสเปกตรัม (รูปที่ 32) แสดงแถบการดูดกลืนแสงของ สาร 2

หมู่คาร์บอนิลของเอสเทอร์ที่มีความถี่ 1734 cm^{-1} และแถบการดูดกลืนแสงอื่น ๆ ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของสารไฮดรคาร์บอน ข้อมูลการดูดกลืนแสงของ สาร 2 แสดงไว้ดังตารางที่ 3.5



รูปที่ 32 แสดงอินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร 2

ตารางที่ 3.5 แสดงแถบการดูดกลืนแสงที่สำคัญจากอินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร 2

แถบการดูดกลืนแสง (cm^{-1})	ความเข้ม	แสดงลักษณะ
2918, 2851	สูง	C-H สันแบบยืดของ $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_3$
1734	สูง	C=O สันแบบยืดของเอสเทอร์
1470	ปานกลาง	C-H สันแบบงอของ $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_3$
1174	ปานกลาง	C-O สันแบบยืด
720	ปานกลาง	C-H สันแบบงอแบบโกลงของ $(-\text{CH}_2-)_n$, $n > 4$

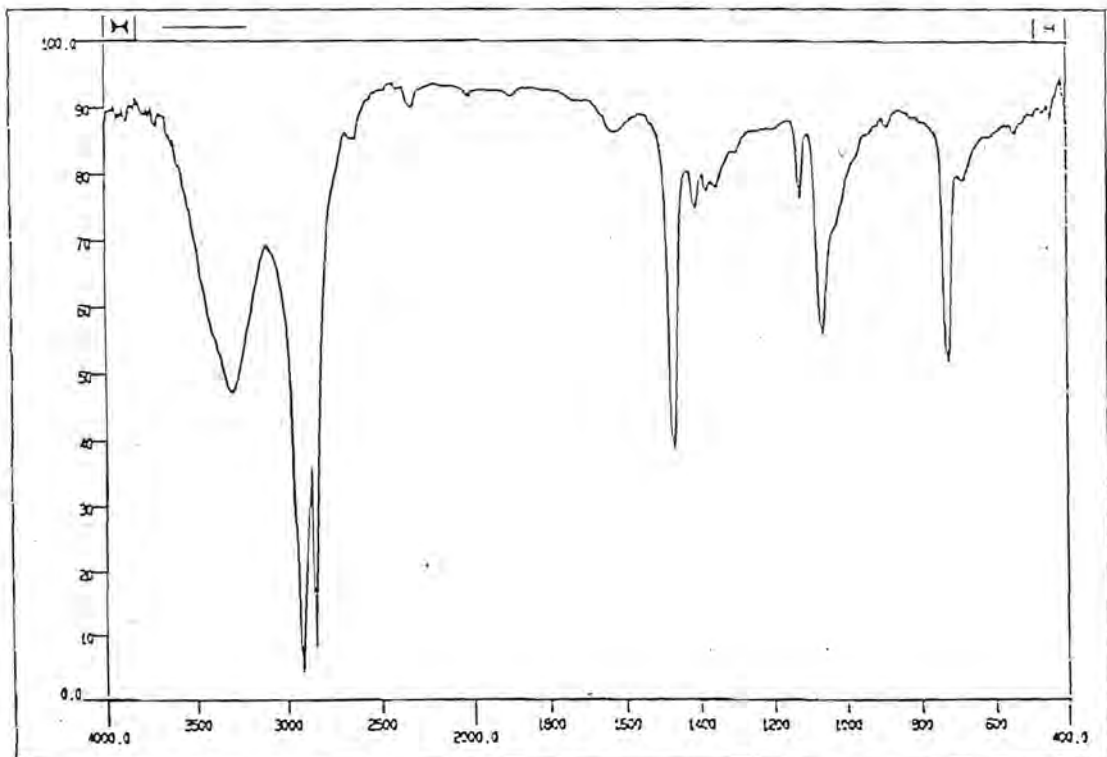
จากข้อมูลดังกล่าวทั้งหมดข้างต้น แสดงว่า สาร 2 น่าจะเป็น



สาร 3

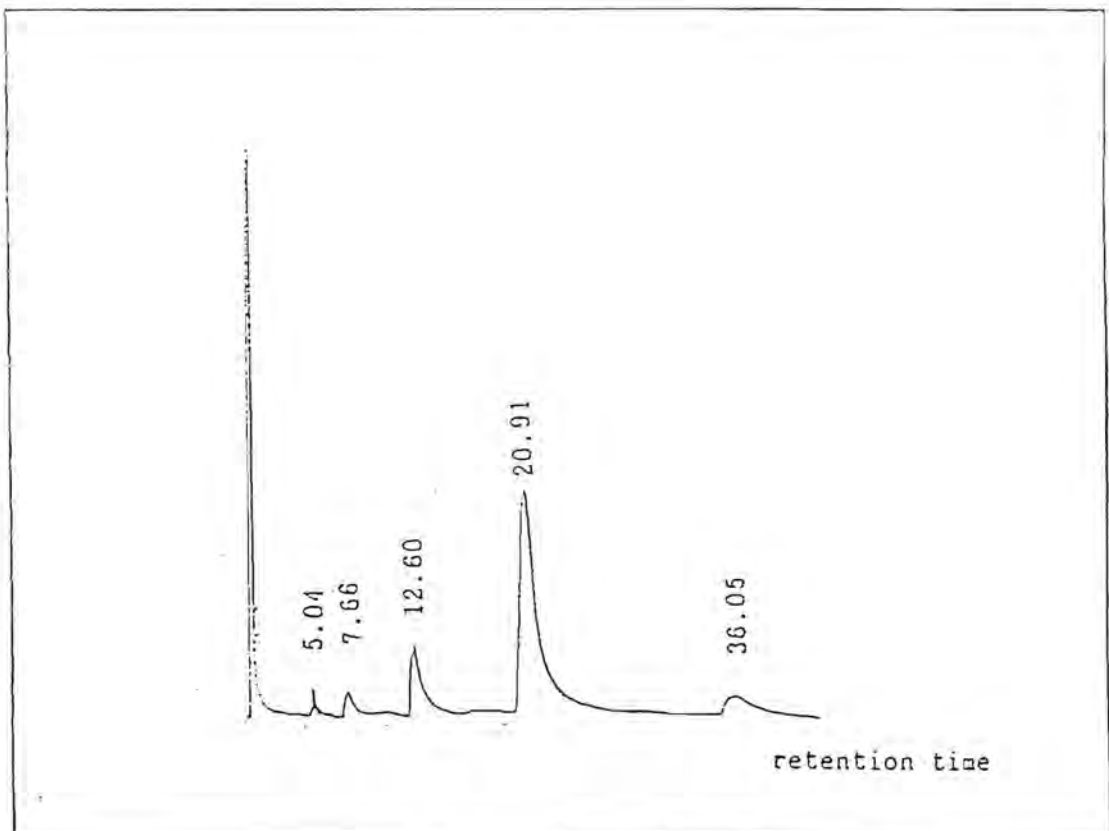
สาร 3 มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาวนวลมีน้ำหนักโมเลกุล 176.16 จาก
สเปกตรัม IR (5.13) ในการทดลองอินฟราเรดที่แสดงในตารางที่ 22 ซึ่งดูจะ
คล้ายเฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน(17:3) เมื่อนำ สาร 3 มาคอลลีกด้วยไดคลอโรมีเทน-เมทานอล
จะให้ของแข็งสีขาวหนัก 1.03 กรัม (2.06×10^{-2} % น้ำหนักโดยน้ำหนัก) จุดหลอมเหลว
77.0-78.0 องศาเซลเซียส TLC ให้ค่า R_f เท่ากับ 0.54 [เฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน(1:1)]
สาร 3 ละลายได้ดีในไดคลอโรมีเทนและคลอโรฟอร์ม ละลายได้น้อยในเฮกเซน, เมทานอล และ
เอทานอล นอกจากนี้ยังให้ผลลบกับ 5% $FeCl_3$ และ Br_2 ใน CCl_4 แสดงว่า สาร 3 ไม่ใช่
สารประกอบอะโรมาติก แต่เป็นสารที่อิ่มตัว

อินฟราเรดสเปกตรัม (รูปที่ 33) แสดงแถบการดูดกลืนแสง ซึ่งเป็น
ลักษณะเฉพาะของหมู่แอลกอฮอล์ปฐมภูมิ ที่ความถี่ 3500-3100 cm^{-1} (OH) และ 1063 cm^{-1}
(C-O) นอกจากนี้พบแถบการดูดกลืนของหมู่ $-CH_3$ และ $-CH_2-$ ที่ต่อกันเป็นโซ่ตรงยาวเท่านั้น
เมื่อเปรียบเทียบกับอินฟราเรดสเปกตรัมของสารประกอบอะโรมาติกแอลกอฮอล์โซ่ตรงยาวทั่วไป พบ
ว่ามีลักษณะเหมือนกันทุกประการ (36)



รูปที่ 33 แสดงอินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร 3

จากการทดสอบด้วยรีเอเจนต์ต่าง ๆ และข้อมูลอินฟราเรดสเปกตรัม พบว่า สาร 3 น่าจะเป็นสารประกอบประเภทแอลกอฮอล์จัดตรง เมื่อนำ สาร 3 มาวิเคราะห์ด้วย แก๊สโครมาโทกราฟี (คอลัมน์ OV-1 2%, อุณหภูมิคอลัมน์ 250 องศาเซลเซียส, อุณหภูมิ injection 290 องศาเซลเซียส และการไหลของ N_2 50 มิลลิลิตร/นาที) โดยเปรียบเทียบ กับของผสมมาตรฐานของแอลกอฮอล์จัดตรง ที่มีจำนวนคาร์บอน 14, 16, 18, 20 และ 24 ได้แก๊สโครมาโทแกรม (รูปที่ 36) ซึ่งสร้างขึ้นโดยอาศัยความสัมพันธ์ระหว่างค่า \log retention time กับจำนวนคาร์บอนของของผสมมาตรฐานแอลกอฮอล์จัดตรง เมื่อนำค่า \log retention time ของ สาร 3 มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานเท่าที่ทราบ จำนวนคาร์บอนของ สาร 3 ได้



รูปที่ 36 แสดงแก๊สโครมาโทแกรมของ สาร 3

ตารางที่ 31 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาการไหลออก (retention time) ของสารประกอบต่าง ๆ กับปริมาณสารประกอบ

สาร	retention time (นาที)	log retention time	จำนวน คาร์บอน	ปริมาณสาร %
สาร 3	5.04	0.702	23	0.49
	7.66	0.884	25	3.26
	12.60	1.100	27	14.49
	20.91	1.320	30	66.74
	36.05	1.557	33	12.06

จากข้อมูลในตารางที่ 31 และการเทียบกับกราฟมาตรฐาน

ทำให้ทราบว่า สาร 3 เป็นของผสมของสารประกอบแอลกอฮอล์สังเคราะห์ 5 ชนิด ดังแสดงไว้ใน
ตารางที่ 32

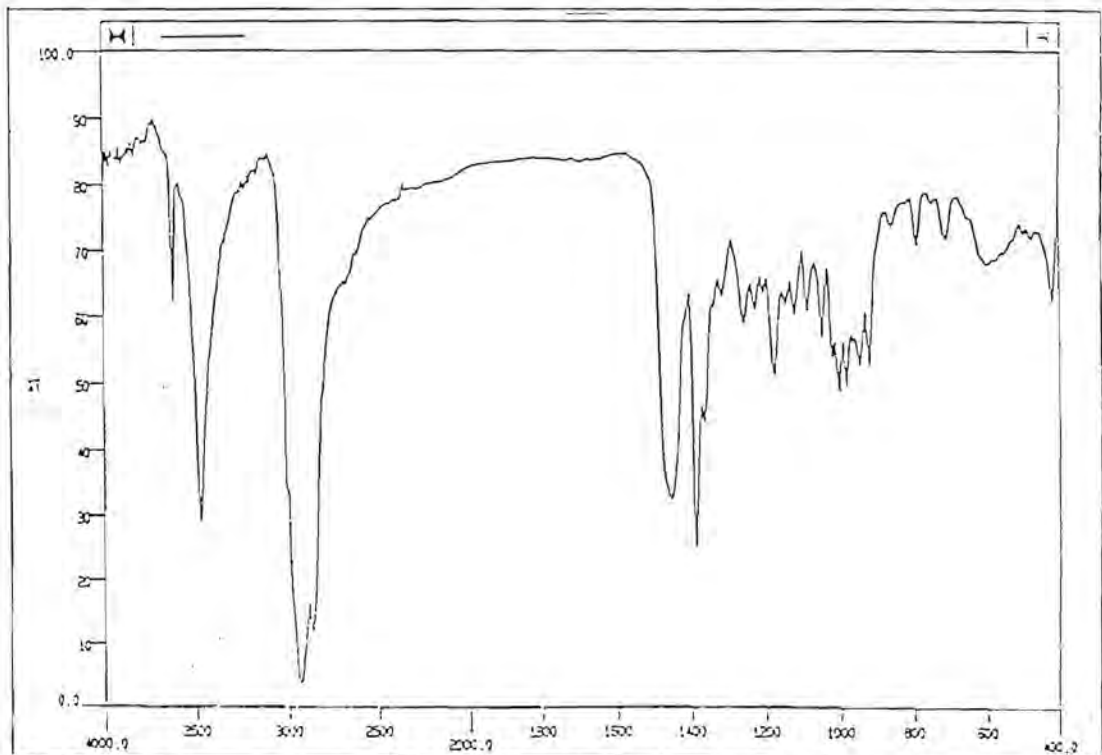
ตารางที่ 32 แอลกอฮอล์สังเคราะห์ชนิดต่าง ๆ ใน สาร 3

ชื่อสารประกอบ	สูตรโมเลกุล	สูตรโครงสร้าง	มวลโมเลกุล	ปริมาณสาร (%)
propacosanol	$C_{23}H_{48}O$	$CH_3-(CH_2)_{22}-OH$	340	0.49
pentacosanol	$C_{25}H_{52}O$	$CH_3-(CH_2)_{24}-OH$	368	3.26
heptacosanol	$C_{27}H_{56}O$	$CH_3-(CH_2)_{26}-OH$	396	14.49
triacontanol	$C_{30}H_{62}O$	$CH_3-(CH_2)_{29}-OH$	438	66.74
tritriacontanol	$C_{33}H_{68}O$	$CH_3-(CH_2)_{32}-OH$	480	12.06

3.2.4 การทาสาร 4 ให้บริสุทธิ์และการตรวจหาสารโครงสร้าง

สาร 4 มีลักษณะ เป็นผลึกของแข็งสีขาวมีสีรูปหกเหลี่ยมอยู่ในน้ำมันสีเหลืองที่ได้จากลำดับส่วนที่ 17-19 (SA_{14}) จากการทาลอสมันโรครมาโทกราฟีของสิ่งสกัดเฮกเซน (ตารางที่ Z2) ซึ่งถูกชะด้วยของผสมระหว่างเฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (4:1) เมื่อนำ สาร 4 มาตกผลึกด้วยไดคลอโรมีเทน-เฮกเซน จะได้ของแข็งอสัณฐานสีขาวหนัก 0.03 กรัม (6.0×10^{-2} % น้ำหนักโดยน้ำหนัก) จุดหลอมเหลว 278.0-280.0 องศาเซลเซียส TLC ให้ค่า R_f เท่ากับ 0.66 [ไดคลอโรมีเทน:เฮกเซน(1:1)] สาร 4 ละลายได้ดีใน ไดคลอโรมีเทน และคลอโรฟอร์ม ละลายได้น้อยในเฮกเซน, เมทานอล และเอทานอล นอกจากนี้ยังให้สารละลายสีม่วงแดงกับปฏิกิริยา Liebermann-Burchard ให้ผลลบกับ 5% $FeCl_3$ และ 2,4-DNP และไม่พอกจางสี Br_2 ใน CCl_4 แสดงว่า สาร 4 น่าจะเป็นสารประกอบประเภทไตรเทอร์ทีนอยด์อิมิตัว

อินฟราเรดสเปกตรัม (รูปที่ 37) แสดงแถบการดูดกลืนแสง ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของหมู่ไฮดรอกซิล(-OH) ที่ความถี่ 3500-3200 cm^{-1}

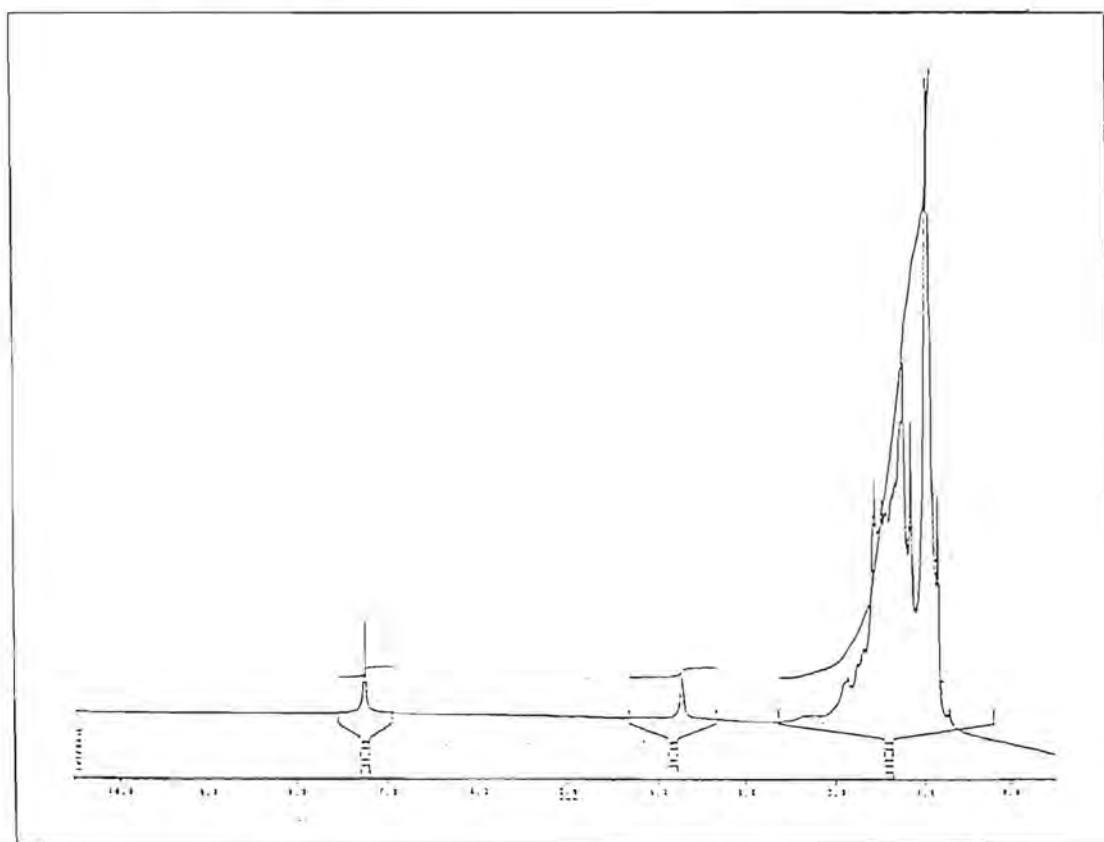


รูปที่ 37 แสดงอินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร 4

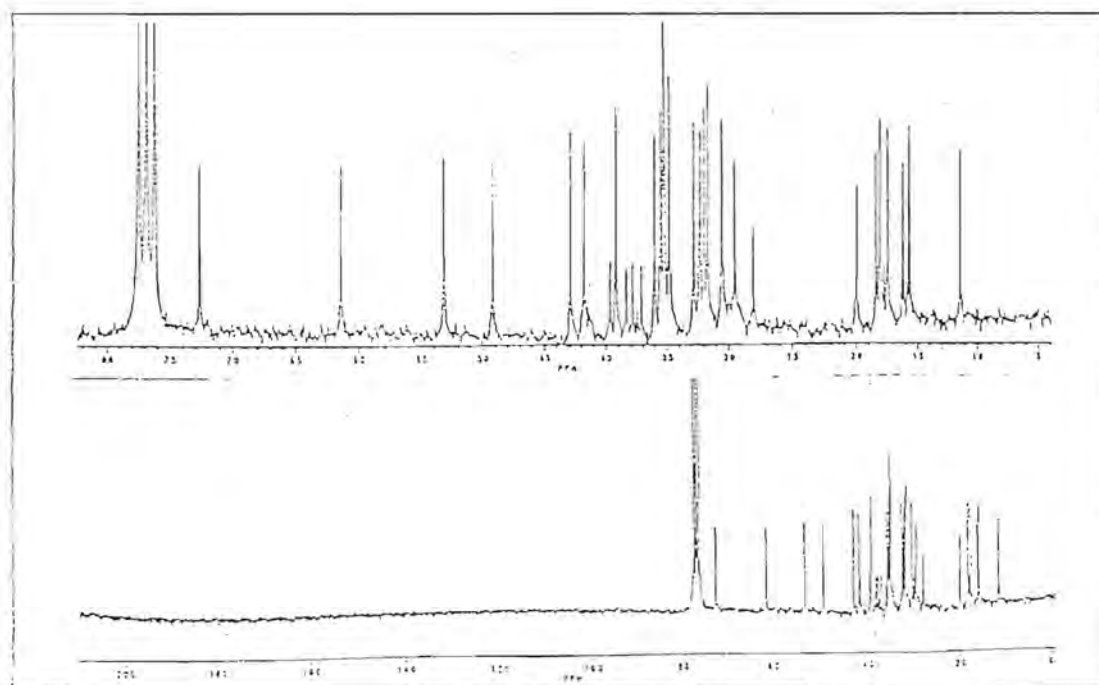
โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (CDCl_3) บราวกวลัญญาของโปรตอน

ที่ δ (ppm): 0.85-1.56 (๓, $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-$ และ $-\text{CH}<$) และที่ δ (ppm): 3.72 (1H, s,

$>\text{CH}-\text{CH}_2$) ดังรูปที่ 38 (37)



รูปที่ 38 แสดงโปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของ สาร 4

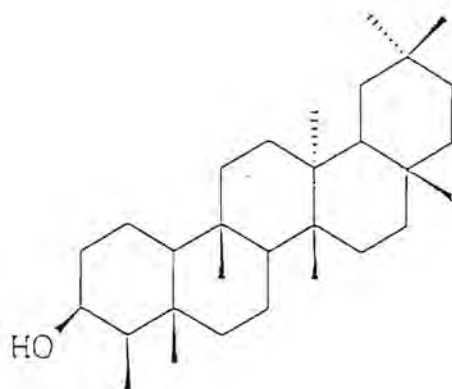


แมสสเปกตรัมปรากฏที่ของไอออนเชิงบวกเลขคู่ m/e ที่ m/e

เช่น m/e 428 (base peak), 423(3.15), 413(11.34), 395(3.32), 369 (2.15), 276(23.15), 243(6.22), 231(15.55), 213(14.52), 207(11.27), 205(23.26), 165(1.51), 153(3.43) และ 155(72.73)

เมื่อพิจารณาการแตกตัวเป็นชิ้นส่วนของ สาร 4 พบว่ามีรูปแบบการแตกเป็นชิ้นส่วนเช่นเดียวกับ friedelan-3 β -ol ทุกประการ (38).

แมสสเปกตรัม ปรากฏที่ของไอออนเชิงบวกเลขคู่ (m/e) ที่ m/e 428 เมื่อนำค่าจำนวนมวลสูตรโมเลกุลได้เป็น $C_{30}H_{52}O$ ซึ่งพบว่า สอดคล้องกับข้อมูลของโปรตอนและคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม เพราะฉะนั้น สาร 4 คือ friedelan-3 β -ol ซึ่งมีสูตรโครงสร้างดังนี้



สาร 4 friedelan-3 β -ol

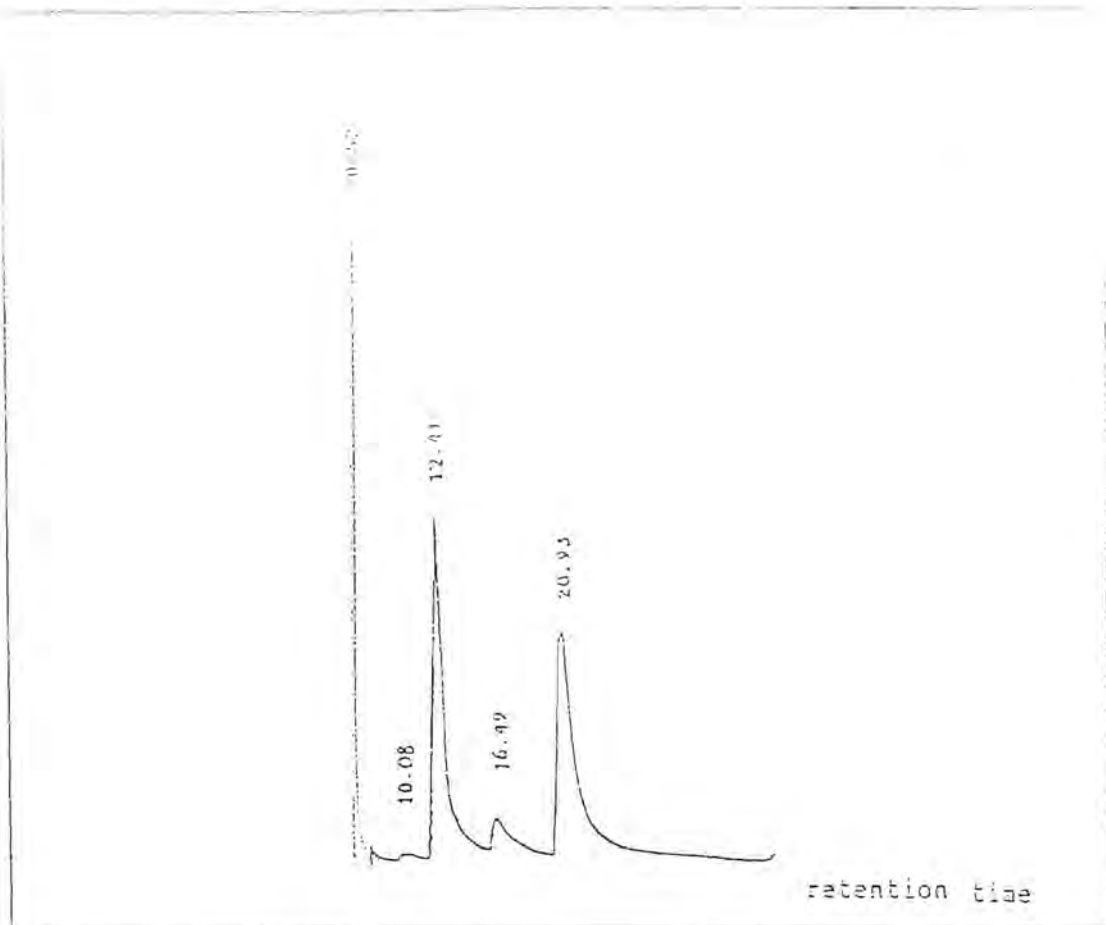
2.2.5 การหาสาร 5 ในเนื้อไก่ปรุงและอาหารสัตว์ผสมสำเร็จ

สาร 5 มีลักษณะเป็นของแข็งอสัณฐานสีขาวขุ่นอยู่ในน้ำมันสีส้ม ใต้จากลำดับส่วนที่ 20-22 (SA₂5) ในอาหารคอกสัตว์สูตรมาตรฐานที่ของสิ่งสกัดเฮกเซน (ตารางที่ 26) ซึ่งถูกชะด้วยเฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (7:3) เมื่อนำ สาร 5 มาตกผลึกด้วยตัวทำละลายหลายผสมระหว่างไดคลอโรมีเทนกับเมทานอล จะได้ของแข็งอสัณฐานสีขาวหนัก 3.71 กรัม (7.42×10^{-2} % น้ำหนักโดยน้ำหนัก) จุดหลอมเหลว 77.0-78.0 องศาเซลเซียส TLC ให้ค่า R_f เท่ากับ 0.55 [เฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน(7:1)] สาร 5 ละลายได้ดีในไดคลอโรมีเทนและคลอโรฟอร์มละลายน้อยในเฮกเซน, เมทาแอล และเอทานอล นอกจากนี้ยังให้ผลลบกับ 5% FeCl_3 และ Br_2 ใน CCl_4 แสดงว่า สาร 5 ไม่ใช่สารประกอบจากพวกฟีนอล แต่เป็นสารที่อื่นตัว

อินฟราเรดสเปกตรัม แสดงแถบการดูดกลืนแสง เช่นเดียวกับ สาร 3

ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของหมู่แอลกอฮอล์ปฐมภูมิ ที่ความถี่ 3500-3100 cm^{-1} (OH) และ 1062 cm^{-1} (C-O) นอกจากนี้พบเพียงแถบการดูดกลืนของหมู่ $-\text{CH}_3$ และ $-\text{CH}_2-$ ที่ต่อกันเป็นโซ่ตรงยาวเท่านั้น เมื่อเปรียบเทียบกับอินฟราเรดสเปกตรัมของแอลกอฮอล์โซ่ตรงยาวทั่วไป พบว่ามีลักษณะเหมือนกันทุกประการ 36

จากการทดสอบด้วยรีเอเจนต์ต่าง ๆ และข้อมูลอินฟราเรดสเปกตรัม พบว่า สาร 5 น่าจะเป็นสารประกอบประเภทแอลกอฮอล์โซ่ตรง เมื่อนำ สาร 5 มาวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี (ผังรูปที่ 40) ได้ค่า retention time 10.08, 12.41, 16.49, 20.93 และ 36.05 นาที เมื่อนำค่า log retention time ของ สาร 5 มาเทียบกับกราฟมาตรฐาน ทำให้ทราบจำนวนคาร์บอนของ สาร 5 ได้ว่า เป็นของผสมของสารประกอบแอลกอฮอล์โซ่ตรง 5 ชนิด



รูปที่ 40 แสดง แก๊สโครมาโทแกรมของ สาร 5

ตารางที่ 33 แอลกอฮอล์จัดตรงชนิดต่าง ๆ ใน สาร 5

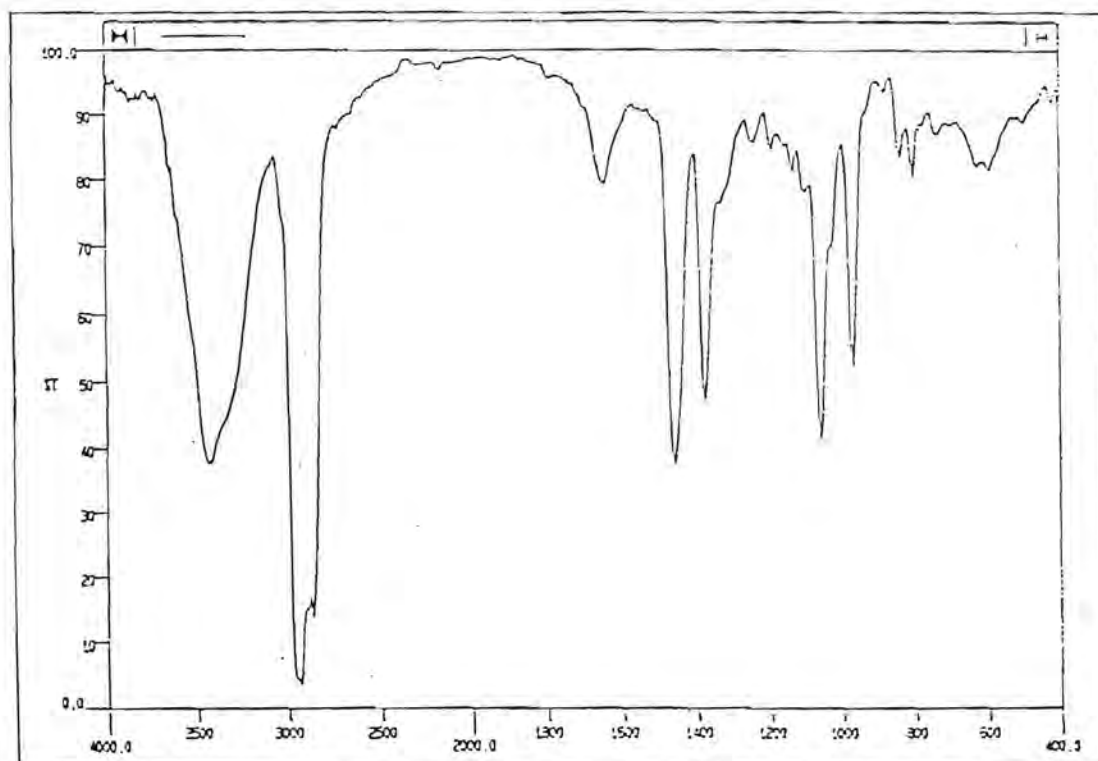
ชื่อสารประกอบ	สูตรโมเลกุล	สูตรโครงสร้าง	มวลโมเลกุล	ปริมาณสาร (%)
hexacosanol	$C_{26}H_{54}O$	$CH_3-(CH_2)_{25}-OH$	382	0.29
heptacosanol	$C_{27}H_{56}O$	$CH_3-(CH_2)_{26}-OH$	396	39.67
nonacosanol	$C_{29}H_{60}O$	$CH_3-(CH_2)_{28}-OH$	424	8.61
triacontanol	$C_{30}H_{62}O$	$CH_3-(CH_2)_{29}-OH$	438	44.04
tritriacontanol	$C_{33}H_{68}O$	$CH_3-(CH_2)_{32}-OH$	480	6.89

2.4 การสังเคราะห์และสารละลายของสารประกอบ 6

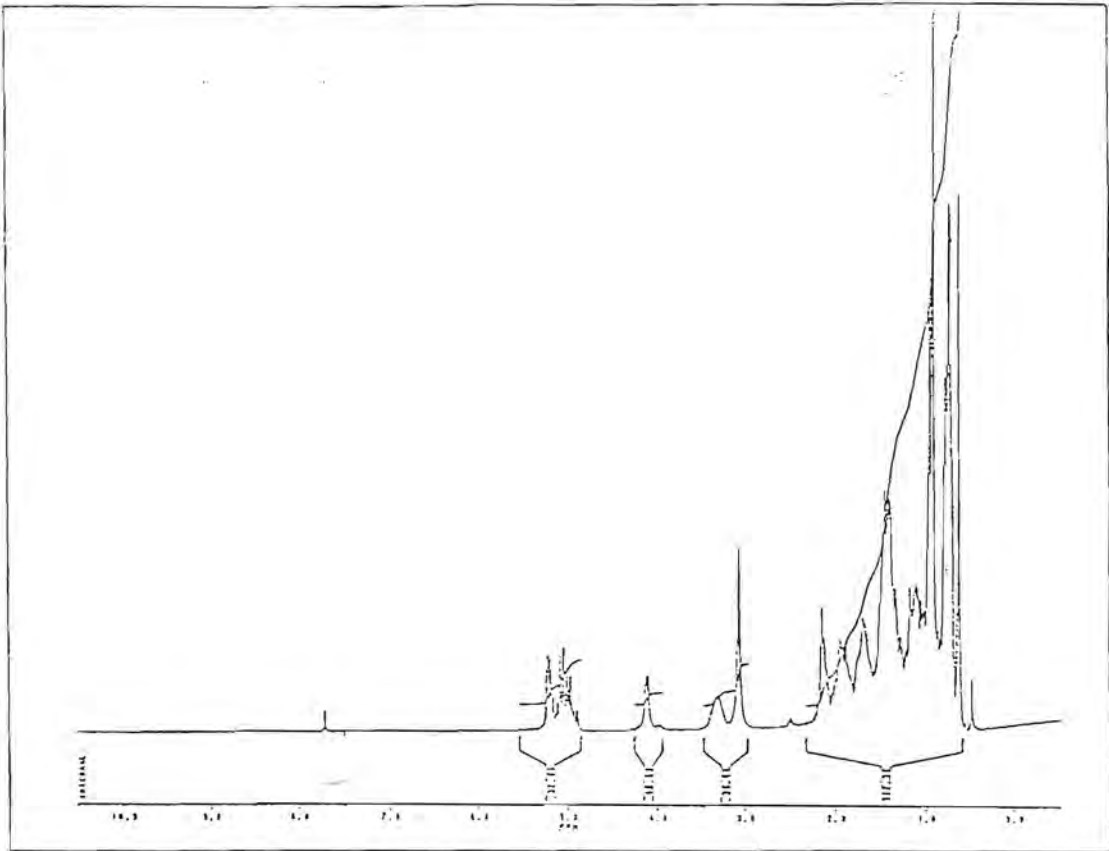
สาร 6 ใช้สำหรับเป็นลิแกนด์ ซึ่งมีขนาดโมเลกุลที่มีผลต่อสีของ วัสดุ

สารประกอบที่ 23-23 (S4,5) ในกรมการคอลลอยด์และสารละลายของสิ่งสกปรกเฮกเซน (ตารางที่ 22) ซึ่งถูกชะล้างเฮกเซน:โทลลอโรมีเทน (3:2) ซึ่งเมื่อนำ สาร 6 มาคลอเคล็ดด้วยเฮกเซน จะ ได้ผลลิแกนด์เชิงสีขาวหนัก 1.32 กรัม (2.64×10^{-2} g น้ำหนักโดยน้ำหนัก) จุดหลอมเหลว 163.0 -164.0 องศาเซลเซียส TLC ให้ค่า R_f เท่ากับ 0.62 [เฮกเซน:โทลลอโรมีเทน (3:2)] สาร 6 ละลายได้ดีในโทลลอโรมีเทน คลอโรฟอร์ม, อีเทอร์, เมทานอล, เอทานอล, แอซีโตนและเอทิลเอซีเตต ละลายได้น้อยในเฮกเซน สาร 6 ให้สารละลายสีเขียวกับปฏิกิริยา Liebermann-Burchard และพอกจางสี Br_2 ใน CCl_4 แสดงว่า สาร 6 น่าจะเป็น สารประกอบประเภทสเตอรอยด์ที่ไม่อิ่มตัว

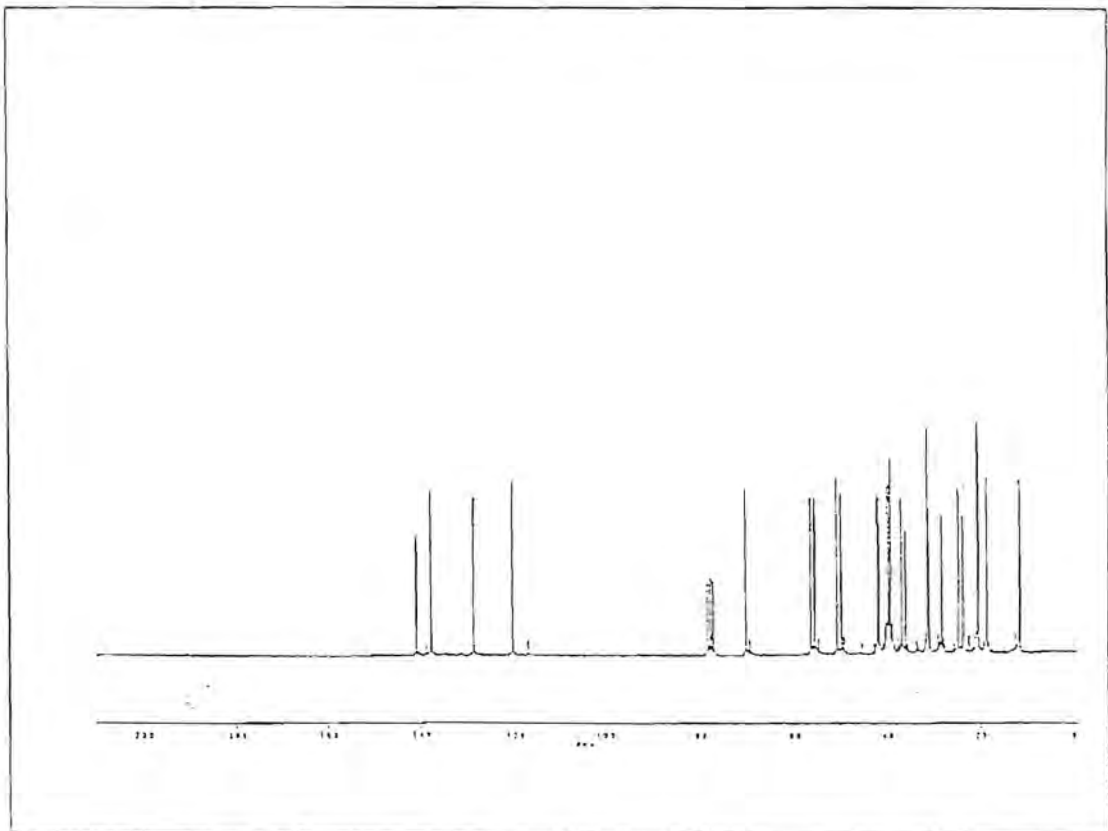
อินฟราเรดสเปกตรัม (รูปที่ 41 แสดงแถบการดูดกลืนแสงที่เป็น ลักษณะของหมู่ไฮดรอกซิลที่ความถี่ 3600-3300 cm^{-1} นอกจากนี้ยังแสดง disubstituted vinyl ที่ความถี่ 969 cm^{-1} และ trisubstituted vinyl ที่ความถี่ 838 และ 302 cm^{-1} ข้อมูลการดูดกลืนแสงของ สาร 6



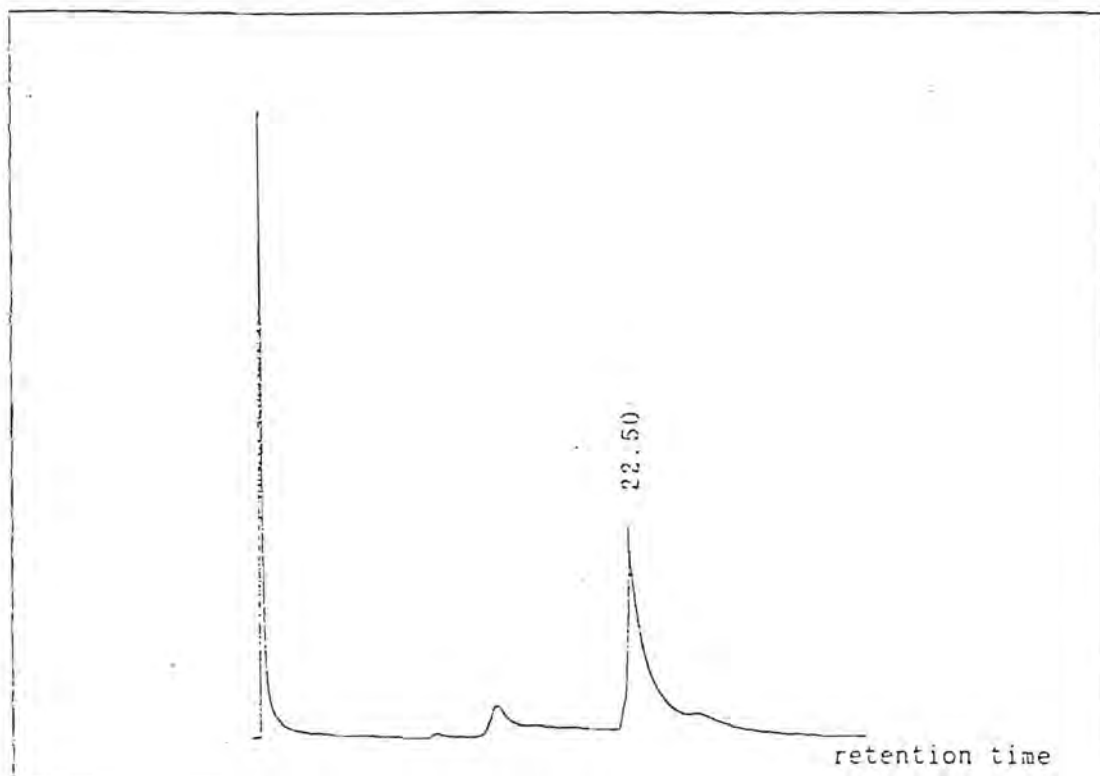
รูปที่ 41 แสดง อินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร 6



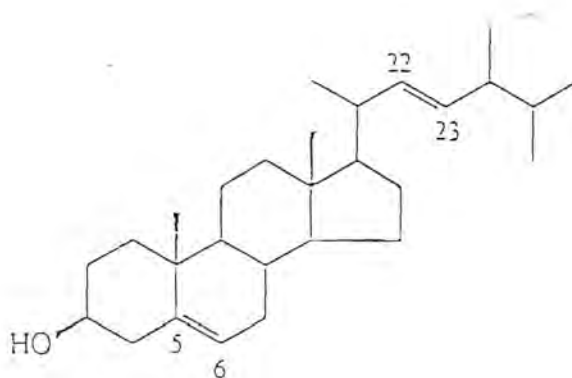
รูปที่ 42 แสดง โปรตอนเอ็มอาร์สเปกตรัมของ สาร 6



รูปที่ 43 แสดง คาร์บอน-13 เอ็มเอ็มอาร์สเปกตรัมของ สาร 6



รูปที่ 44 แสดง แก๊สโครมาโทแกรมของ สาร 6



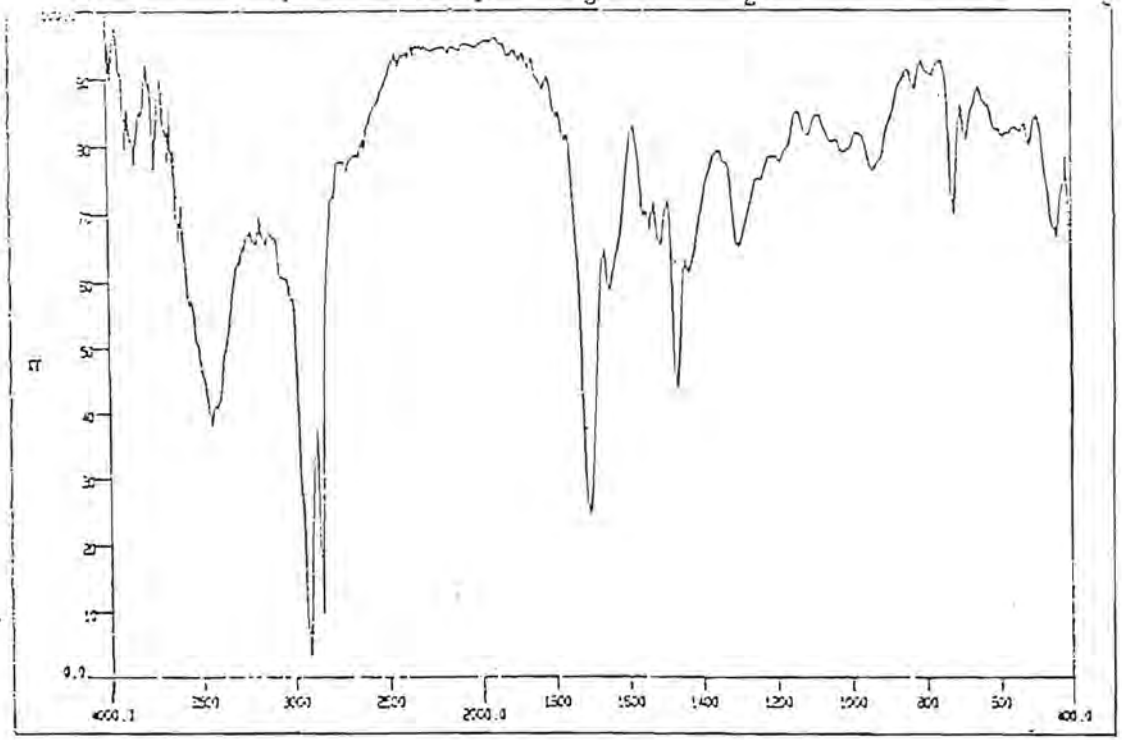
สาร 6 stigmasterol

เพื่อเป็นการยืนยันถึงโครงสร้างของ สาร 6 ได้ทำการเปรียบเทียบ
 การ์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของ สาร 6 กับ stigmasterol และ β -sitosterol

สาร 7

สาร 7 มีลักษณะ เป็นของแข็งสีขาวขุ่น มีน้ำหนักโมเลกุล 174 จากสเปกตรัม IR (3400) ตรวจจับด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีของแข็งเฟส (ตารางที่ 22) ตรวจจับด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟีด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีจะ ถูกชะด้วยตัวทำละลายหลายผสมระหว่าง เฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (1:1 - 3:7) ซึ่งเป็นลำดับส่วนที่ 6-20 หลังจากนั้นนำมาทำหับวิธีด้วยวิธีด้านกัมมันต์คอลัมน์โครมาโทกราฟี ซึ่ง สาร 7 จะออกมาที่ลำดับส่วน 11-25 ตรวจจับด้วยไดคลอโรมีเทนเป็นตัวชะ (เมื่อนำ สาร 7 มาตกผลึกด้วยไดคลอโรมีเทน-เมทานอล ได้ผลึกสีขาวหนัก 0.03 กรัม (6.00×10^{-4} % น้ำหนักโดยน้ำหนัก) จุดหลอมเหลว 73.0-74.0 องศาเซลเซียส TLC ในที่ค่า R_f เท่ากับ 0.03 [เฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (9:1)] สาร 7 ละลายได้น้อยในไดคลอโรมีเทน และคลอโรฟอร์ม แต่ไม่ละลายในเมทานอล, เอทานอล และแอซีโตน นอกจากนี้ยังให้ผลกับ 5% $FeCl_3$ และ Br_2 ใน CCl_4 แสดงว่า สาร 7 ไม่ใช่สารประกอบประเภทที่นอลแต่เป็น สารอิมิตัว

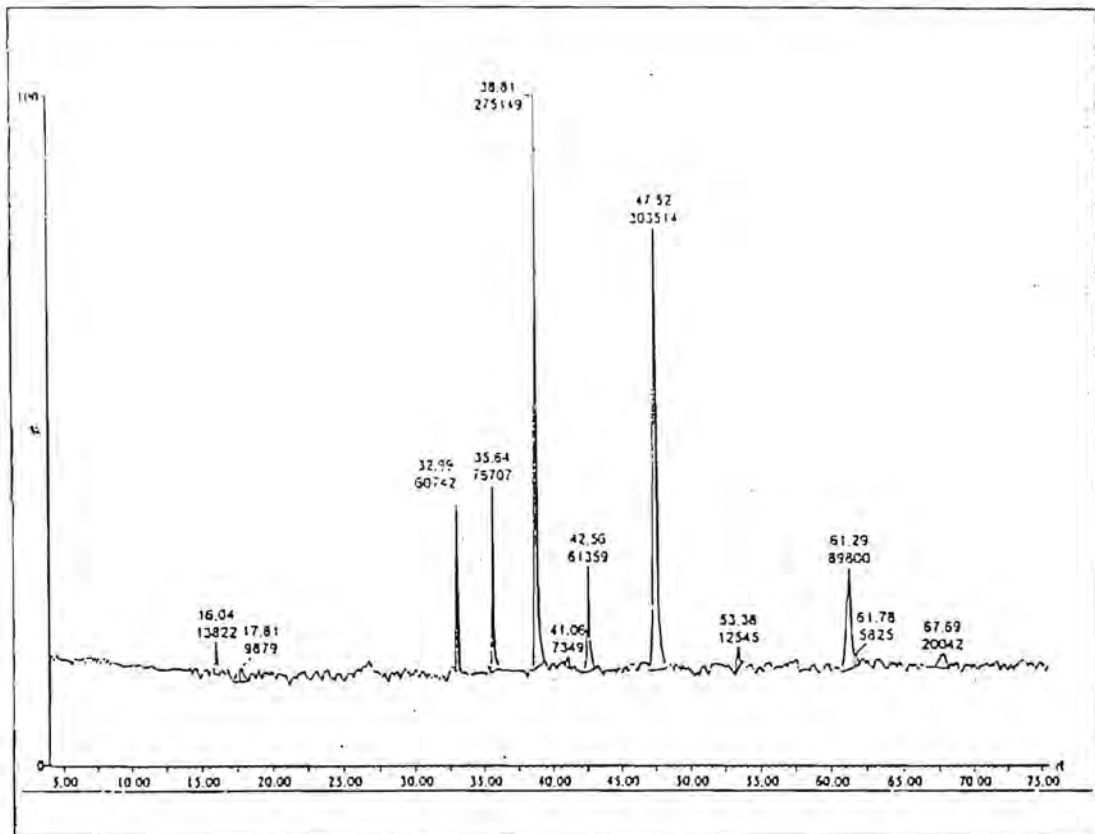
อินฟราเรดสเปกตรัม (รูปที่ 45) แสดงแถบการดูดกลืนแสง ซึ่งเป็น ลักษณะเฉพาะของหมู่ไฮดรอกซิลที่ 3500-3200 cm^{-1} และ หมู่คาร์บอนิลที่ 1705 cm^{-1} นอกจากนี้ยังพบแถบการดูดกลืนแสงของหมู่ $-CH_3$ และ $-CH_2-$ ที่ต่อกันเป็นโซ่ตรงยาว



รูปที่ 45 อินฟราเรดสเปกตรัมของสาร 7

จากข้อมูลคือ สาร 7 ซึ่งที่เห็นใน สาร 7 น่าจะเป็นสารประกอบประเภท กรดอินทรีย์โซ่ตรง เพื่อความสะดวกในการหาสูตรโครงสร้างของ สาร 7 จึงจะพ้องเปลี่ยน กรดอินทรีย์โซ่ตรงเป็นอนุพันธ์ methyl ester ซึ่งอนุพันธ์ methyl ester ของกรดอินทรีย์โซ่ตรง จะง่ายต่อการวิเคราะห์โดยใช้สารมาตรฐานที่สกัดมาจากกราฟิ-แมสสเปก-โทรเมตรีเตอร์

เมื่อนำอนุพันธ์ของกรดอินทรีย์โซ่ตรง มาวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้าง ด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมตรี (คอลัมน์ชนิด OV-1 อุณหภูมิคอลัมน์ 150.0-180.0 องศาเซลเซียส, อัตราการไหลอุณหภูมิ 4.0 องศาเซลเซียส/นาที, อุณหภูมิ injection 280.0 องศาเซลเซียส และการไหลของ N₂ 50 มิลลิลิตร/นาที) ได้ผลการทดลองดังรูปที่ 46 ซึ่งมี สามารถทราบจำนวนคาร์บอนของ methyl ester ของ สาร 7



รูปที่ 46 แสดง แก๊สโครมาโทแกรม ของ สาร 7

ตารางที่ 34

เลขที่	Retention time (นาที)	จำนวนคาร์บอน	ปริมาณสาร (%)
312	39.99	20	6.98
326	35.64	21	8.82
340	38.82	22	31.64
354	42.56	23	7.05
368	47.54	24	34.90
396	61.31	26	10.33

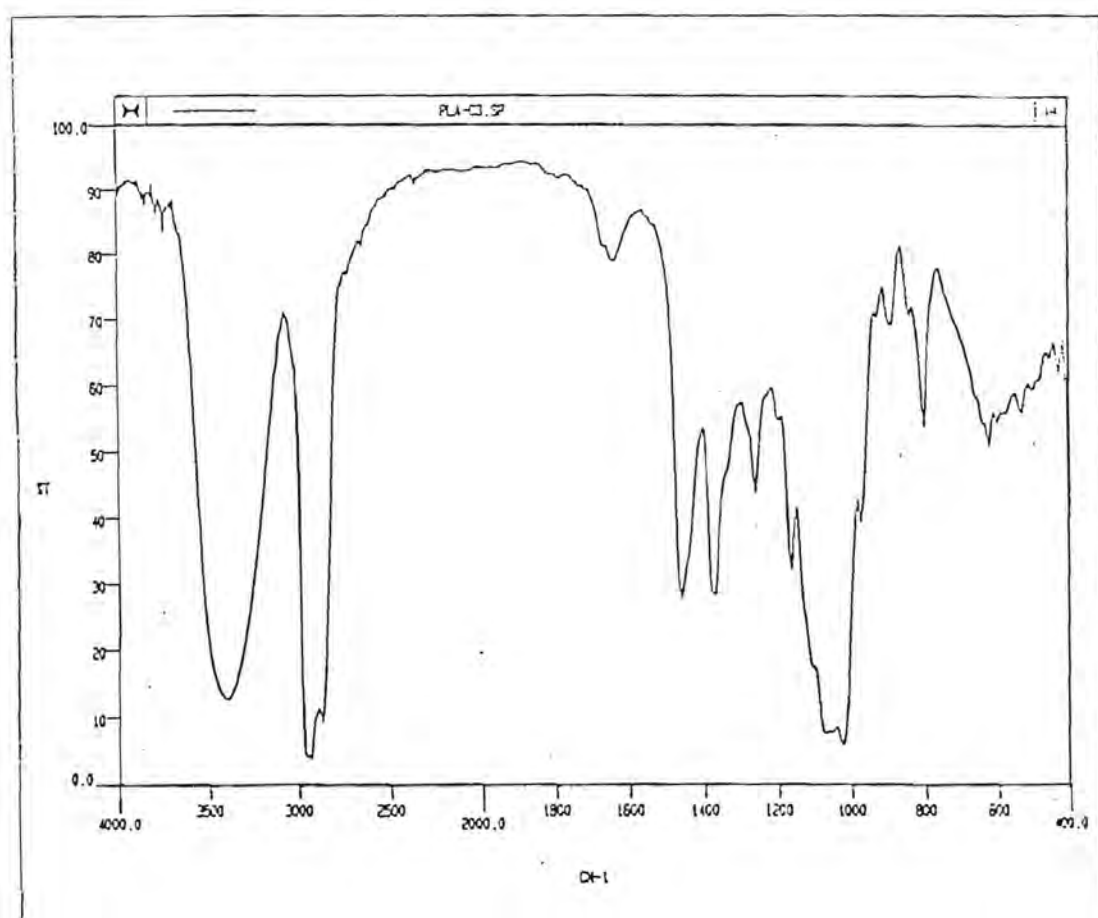
จากสมบัติทางกายภาพและเคมี ข้อมูลทางสเปกโทรสโกปี และ
 โครมาโทกราฟี พบว่า สาร 7 เป็นของผสมของกรดอินทรีย์โซ่ตรง แสดงดังตารางที่ 34

ตารางที่ 35 กรดอินทรีย์โซ่ตรงชนิดต่าง ๆ ของ สาร 7

ชื่อสารประกอบ	สูตรโมเลกุล	สูตรโครงสร้าง	มวล โมเลกุล	ปริมาณสาร (%)
nonadecanoic acid	$C_{19}H_{36}O_2$	$CH_3-(CH_2)_{16}-CH_2-COOH$	298	6.98
doicosanoic acid	$C_{20}H_{40}O_2$	$CH_3-(CH_2)_{17}-CH_2-COOH$	312	8.82
heneicosanoic acid	$C_{21}H_{42}O_2$	$CH_3-(CH_2)_{18}-CH_2-COOH$	326	31.64
dodecosanoic acid	$C_{22}H_{44}O_2$	$CH_3-(CH_2)_{19}-CH_2-COOH$	340	7.05
tricosanoic acid	$C_{23}H_{46}O_2$	$CH_3-(CH_2)_{20}-CH_2-COOH$	354	34.90
pentacosanoic acid	$C_{25}H_{48}O_2$	$CH_3-(CH_2)_{22}-CH_2-COOH$	380	10.33

๒.๒.๒. การวิเคราะห์โครงสร้างของสาร ๒๒๗ โดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์

สาร ๒๒๗ เป็นผลึกสีขาว ละลายได้ดีในเอทานอล ซึ่งจัดอยู่ในประเภทที่ 55-72 (สารพิษ SA₂7) จากการทดสอบสีน้ำตาลอมดำของสิ่งตกตะกอนจากสาร (สารข้างที่ 23) กระจายตัวที่ละลายหลายผสมระหว่าง เมทานอล:ไดคลอโรฟอร์ม (1:9) เมื่อทดสอบสีด้วยเอทานอล ร้อนได้สารที่มีลักษณะเป็นผงละเอียดสีขาวหนัก 0.45 กรัม (0.09% น้ำหนักโดยน้ำหนัก) จุดหลอมเหลว 270.0-279.0 องศาเซลเซียส (สลายตัว) TLC ให้ค่า R_f เท่ากับ 0.22 (เมทานอล:ไดคลอโรฟอร์ม (1:9)) สลายได้ดีใน เอทานอลร้อน สาร ๘ ให้สารละลายสีเขียวกับปฏิกิริยา Liebermann-Burchard, ออกจางสี Br_2 ใน CCl_4 , ให้ผลลบกับ 2,4-DNP และ 5% $FeCl_3$ แสดงว่าสารนี้มีโครงสร้างของสารประกอบสเตอรอยด์ที่ไม่อิ่มตัว แต่ไม่ใช่สารประกอบจากพวกฟีนอล และไม่มีหมู่คาร์บอนิลอยู่ในโมเลกุล



รูปที่ 47 แสดงอินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร 8

จากผลการอ้างอิงรายงานว่า ลักษณะแถบการดูดกลืนแสงของ -OH ที่กว้างระหว่าง 3500-3200 cm^{-1} และที่ 1261, 1197, 1165, 1073 และ 1025 cm^{-1} แสดง C-O สันแบบกึ่งของน้ำตาลซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของไกลโคไซด์ และที่ 891 cm^{-1} แสดงแอนนเมอริกริกริปรตอนที่มีทิศทางตามแนวแกนของน้ำตาลที่เป็นเปิด้าไอโซเมอริ (anomeric axial proton of β -sugar) (69) เมื่อนำข้อมูลดังกล่าวมาเปรียบเทียบกับสเปกตรัมของ สาร 8 พบว่า สาร 8 น่าจะเป็นไกลโคไซด์

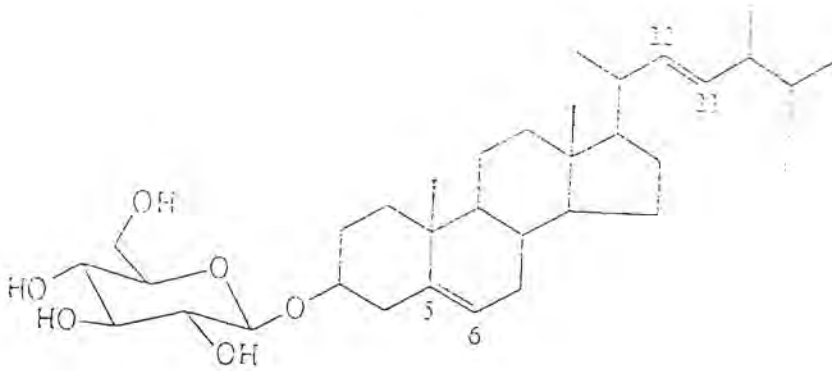
เมื่อนำ สาร 8 มาทำปฏิกิริยาไฮดรอลิซิส

จะได้ส่วน aglycone เป็นผลึกรูปเข็มสีขาว (สาร 8.1) หนัก 0.10 กรัม มีจุดหลอมเหลว 167.0-168.0 องศาเซลเซียส มีค่า R_f เท่ากับ 0.62 (โตคลอโรมีเทน:เฮกเซน (2:3)) ละลายได้ดีใน โตคลอโรมีเทน และคลอโรฟอร์ม ละลายได้น้อยในเมทานอล และเฮกเซน ให้สารละลายสีเขียวกับปฏิกิริยา Liebermann-Burchard, พอกจางสี Br_2 ใน CCl_4 , ให้ผลลบกับ 2,4-DNP และ 5% FeCl_3 แสดงว่า สาร 8.1 เป็นสารประกอบสเตอรอยด์ที่ไม่อินตัว แต่ไม่ใช่สารประกอบจากพวกฟีนอล และไม่มีหมู่คาร์บอนิล

อินพราเรดสเปกตรัมของ สาร 8.1 พบว่ามีลักษณะคล้ายกับอินพราเรด-สเปกตรัมของ สาร 6 (รูปที่ 41) จากข้อมูลอินพราเรดสเปกตรัม แสดงว่า สาร 8.1 น่าจะเป็นสารประกอบประเภทสเตอรอยด์ จึงทำการยืนยันสูตรโครงสร้างของ สาร 8.1 ด้วยการวิเคราะห์เปรียบเทียบด้วยเทคนิคจีแอลซี (gas-liquid chromatography) ทำเช่นเดียวกับ สาร 6 ใดๆของผสมสเตอรอยด์ที่ใช้เป็นมาตรฐานคือ cholesterol, campesterol, β -sitosterol และ stigmasterol จากการวิเคราะห์พบว่า สาร 8.1 มีค่า retention time เป็น 22.50 นาที ซึ่งเมื่อเทียบกับสเตอรอยด์มาตรฐานแล้วพบว่า เท่ากับ stigmasterol

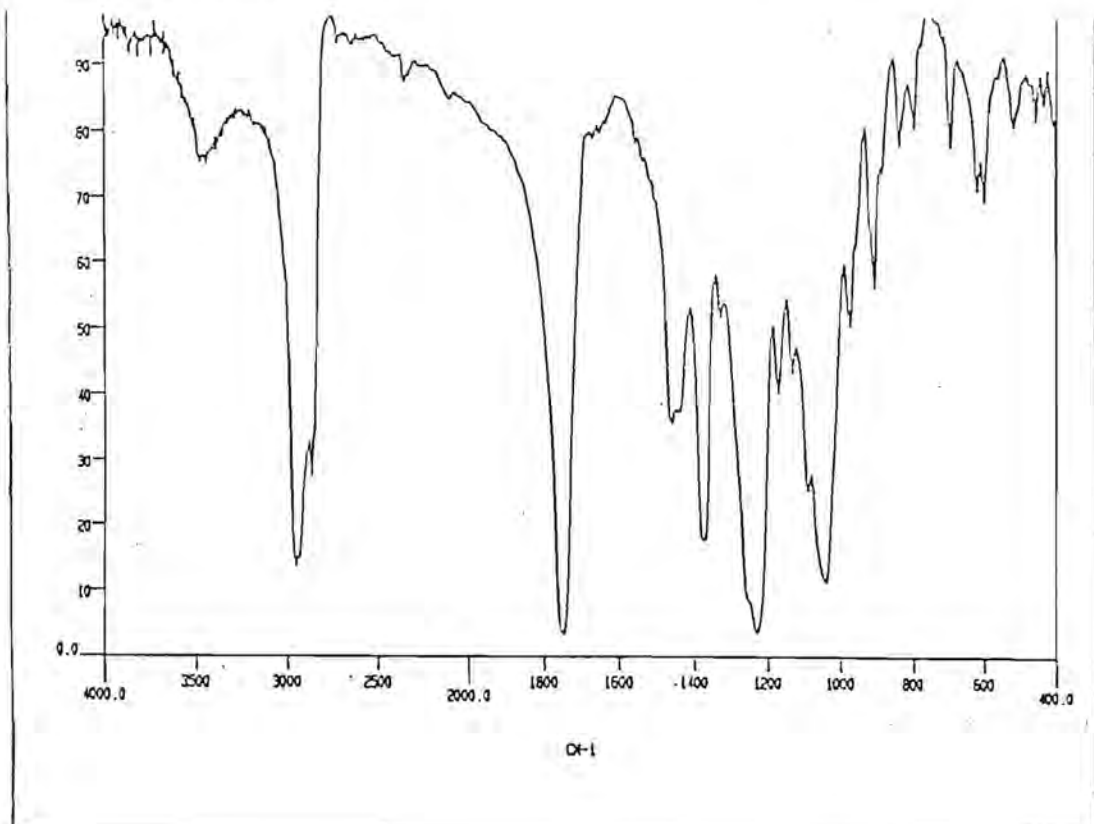
จากข้อมูลข้างต้นยืนยันได้แน่ๆว่า สาร 8.1 คือ stigmasterol

จากการศึกษาน้ำตาลในชั้นน้ำ (สาร 8.2) โดยให้ paper chromatography เปรียบเทียบกับสารละลายน้ำตาลมาตรฐาน พบว่าค่า R_f ของ สาร 8.2 เท่ากับ 0.28 ซึ่งเท่ากับกับน้ำตาลมาตรฐาน glucose แสดงว่า สาร 8.2 คือ glucose จากข้อมูลทั้งหมดจึงสรุปได้ว่า สาร 8 คือ stigmasteryl-3-O- β -D-glucopyranoside ซึ่งมีสูตรโครงสร้าง



สาร 8 stigmasteryl-3-O- β -D-glucopyranoside

เพื่อเป็นการยืนยันสูตรโครงสร้างของ สาร 8 ได้ทำการเตรียมอนุพันธ์แอซีเตตของ สาร 8 ได้ผลึกรูปเข็มสีขาว (สาร 8.3) จุดหลอมเหลว 166.0-168.0 องศาเซลเซียส ละลายได้ดีในคลอโรฟอร์ม, ไดคลอโรมีเทน ละลายได้น้อยใน เฮกเซน, เมทานอล และเอทานอล

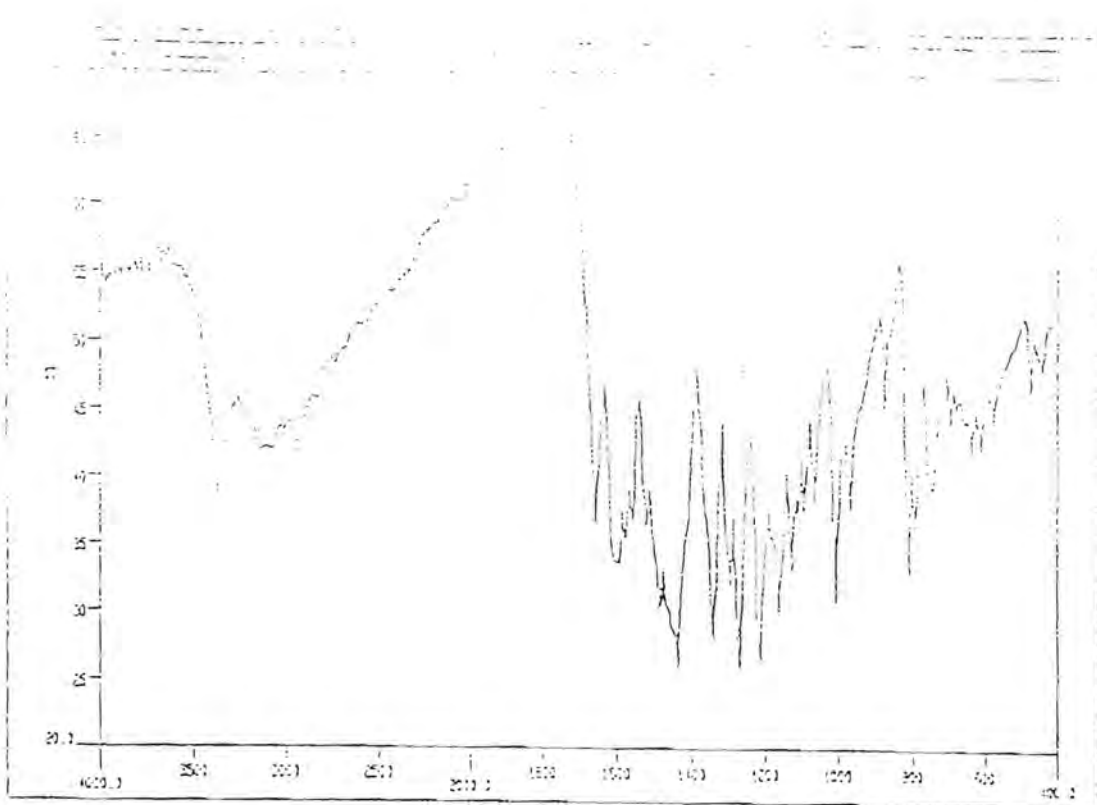


3.2.2 การหาลำดับ 9 โดยใช้วิธีสีและปริมาตรของสารประกอบ

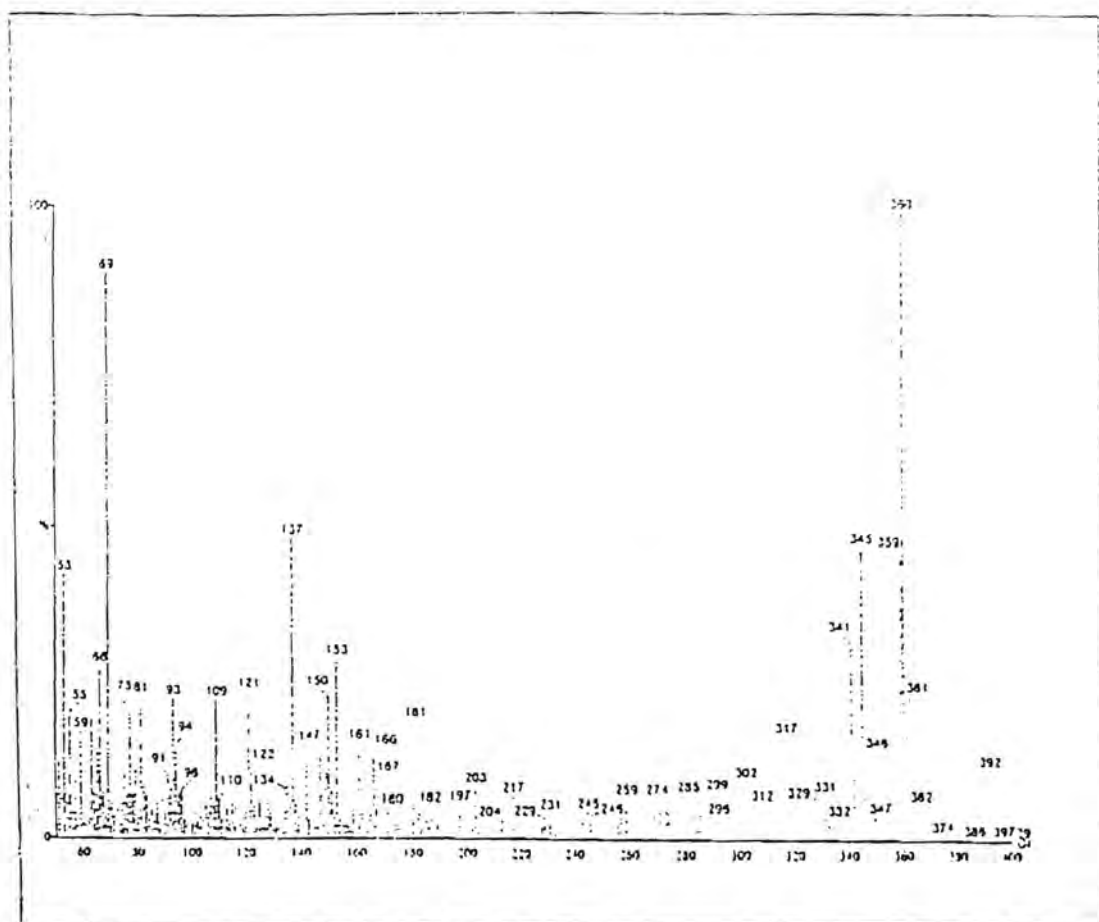
สาร 9 มีลักษณะเป็นของแข็งสีน้ำตาลเหลืองอยู่ในน้ำมันสีน้ำตาล ได้จากลำดับส่วน 25-42 (ส่วนย่อย SA₂₅) ซึ่งถูกชะด้วย คลอโรฟอร์ม:เมทานอล (19:1) ในการทำคอลัมน์รีโครมาโทกราฟีของสิ่งสกัดคลอโรฟอร์ม (ตารางที่ 2.7) เมื่อนำ SA₂₅ มาทำการแยกด้วยวิธีคอลัมน์รีโครมาโทกราฟีซ้ำจะได้ สาร 9 ซึ่งจะมีลักษณะเป็นผลึกรูปเข็มสีเหลืองใส ได้จากลำดับส่วน 30-39 ซึ่งถูกชะด้วย ไดคลอโรมีเทน ในการทำคอลัมน์รีโครมาโทกราฟีซ้ำ เมื่อนำ สาร 9 มาตกผลึกด้วยตัวทำละลายผสมระหว่างเมทานอลและกับไดคลอโรมีเทน จะได้ผลึกรูปเข็มสีเหลืองใสหนัก 0.225 กรัม (4.5×10^{-3} % น้ำหนักโดยน้ำหนัก) จุดหลอมเหลว 240.0-242.0 องศาเซลเซียส TLC ให้ค่า R_F เท่ากับ 0.55 [ไดคลอโรมีเทน:เมทานอล (1:1)] สาร 9 ละลายได้ดีในเมทานอลร้อน ละลายได้น้อยในไดคลอโรมีเทน, คลอโรฟอร์ม, เฮกเซนและเอทานอล สาร 9 ให้ผลกลับปฏิกิริยา Liebermann-Burchard แสดงว่า สาร 9 ไม่มีสารประกอบประเภทสเตอรอยด์หรือไตรเทอร์ปีนอยด์ สาร 9 สามารถพอกจางสี Br₂ ใน CCl₄ และให้ตะกอนสีเหลืองกับ 2,4-DNP แสดงว่า สาร 9 เป็นสารประกอบประเภทไม้อื่นตัวและมีหมู่คาร์บอนิลในวงหกเหลี่ยม นอกจากนี้ สาร 9 ให้สารละลายสีแดงเลือดนกกับ Cyanidin test แสดงว่า สาร 9 น่าจะเป็นสารประกอบประเภทฟลาโวนอยด์ ชนิดฟลาโวนอล (Flavonol)

อินฟราเรดสเปกตรัม (รูปที่ 3.38) แสดงแถบการดูดกลืนแสงที่กว้าง ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) ที่ 3500-3000 ซม.⁻¹ นอกจากนี้ยังแสดงแถบการดูดกลืนแสงที่เป็นลักษณะเฉพาะของหมู่คาร์บอนิลของสารประกอบประเภท conjugated ketone (72) ที่ 1653 ซม.⁻¹

จากแมสสเปกตรัม บรากภูทิกของไอออนเชิงบวก (M⁺) ที่ m/e 360 (100.0%) ซึ่งแสดงให้เห็นว่า สาร 9 น่าจะมีมวลโมเลกุลเป็น 360 เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลปริมาตรและคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ทำให้ทราบว่า สาร 9 ประกอบด้วย คาร์บอน 18 อะตอมแต่สัญญาณที่ปรากฏนั้นมีเพียง 17 สัญญาณ จะสังเกตเห็นว่า ที่ δ 151.66 ppm มีความเข้มสูงมากซึ่งน่าจะเกิดจากการซ้อนทับกันของ 2 สัญญาณ, ไฮดรเจน 15 อะตอม (จาก -CH=)



รูปที่ 49 แสดงอินทราเรคสเปกตรัมของ สาร 9

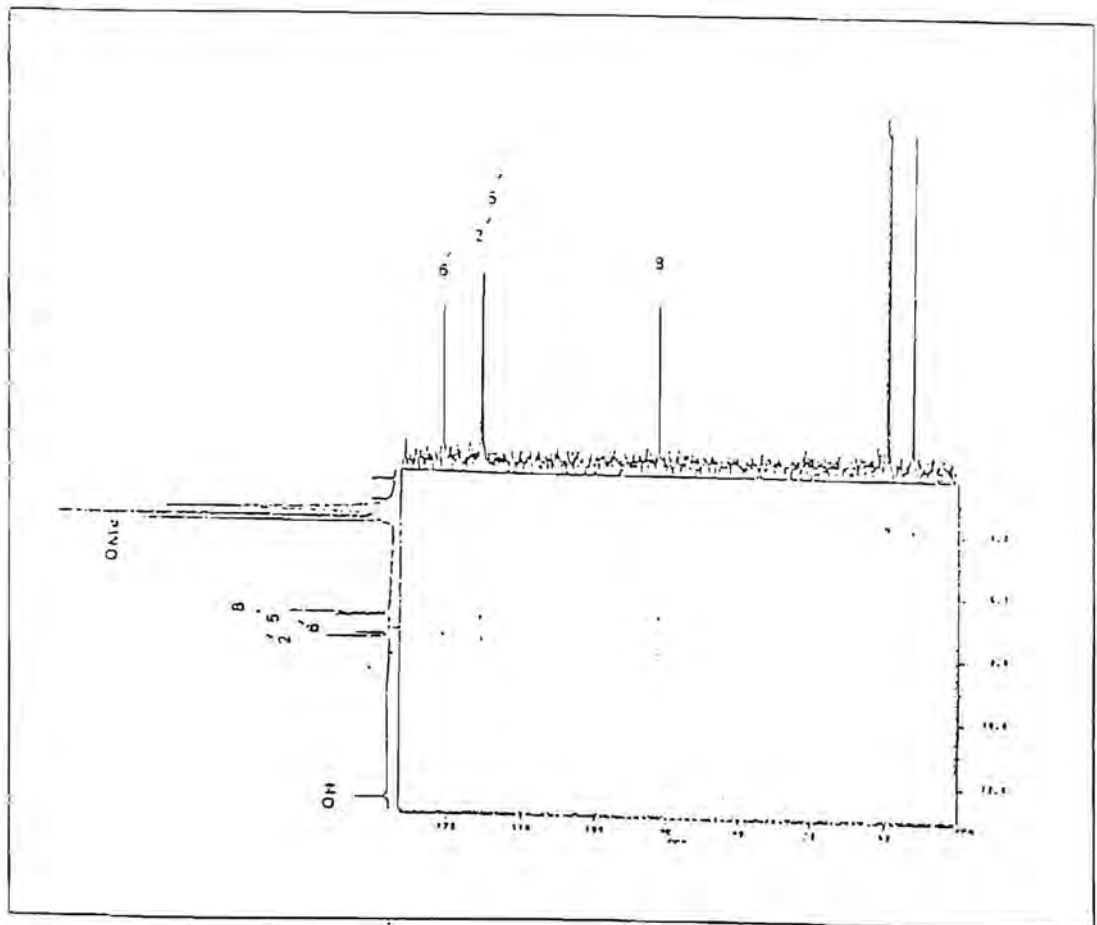


รูปที่ 50 แสดงแมสสเปกตรัมของ สาร 9

1 อะตอม, จาก $-COCH_3$ 3 หมู่ ทำกับ 3 อะตอม และจาก $-CH_2-$ 2 หมู่ ทำกับ 2 อะตอม, จาก ออกซิเจน 5 อะตอม (จากโปรตอนที่เป็นอินทรีย์บนคาร์บอนที่มี $-COCH_3$ 3 หมู่ ทำกับ 1 อะตอม, จาก $-OH$ 2 หมู่ ทำกับ 2 อะตอม) เมื่อรวมมวลอะตอมของ 13C ทั้งหมด คาร์บอน และออกซิเจน ที่ปรากฏสัญญาณให้ทั้งหมดมวลได้เท่ากับ 311 ซึ่งยังขาดอยู่คือ 43 ซึ่งเมื่อพิจารณาจากโครงสร้างของสารประกอบเพอร์ออกไซด์ที่พบโดยทั่วไปจะต้องมีออกซิเจนคือ 2 อะตอมคือ ออกซิเจนของหมู่คาร์บอนิล ($>C=O$) และ ของอีเทอร์ ($C-O-C$)

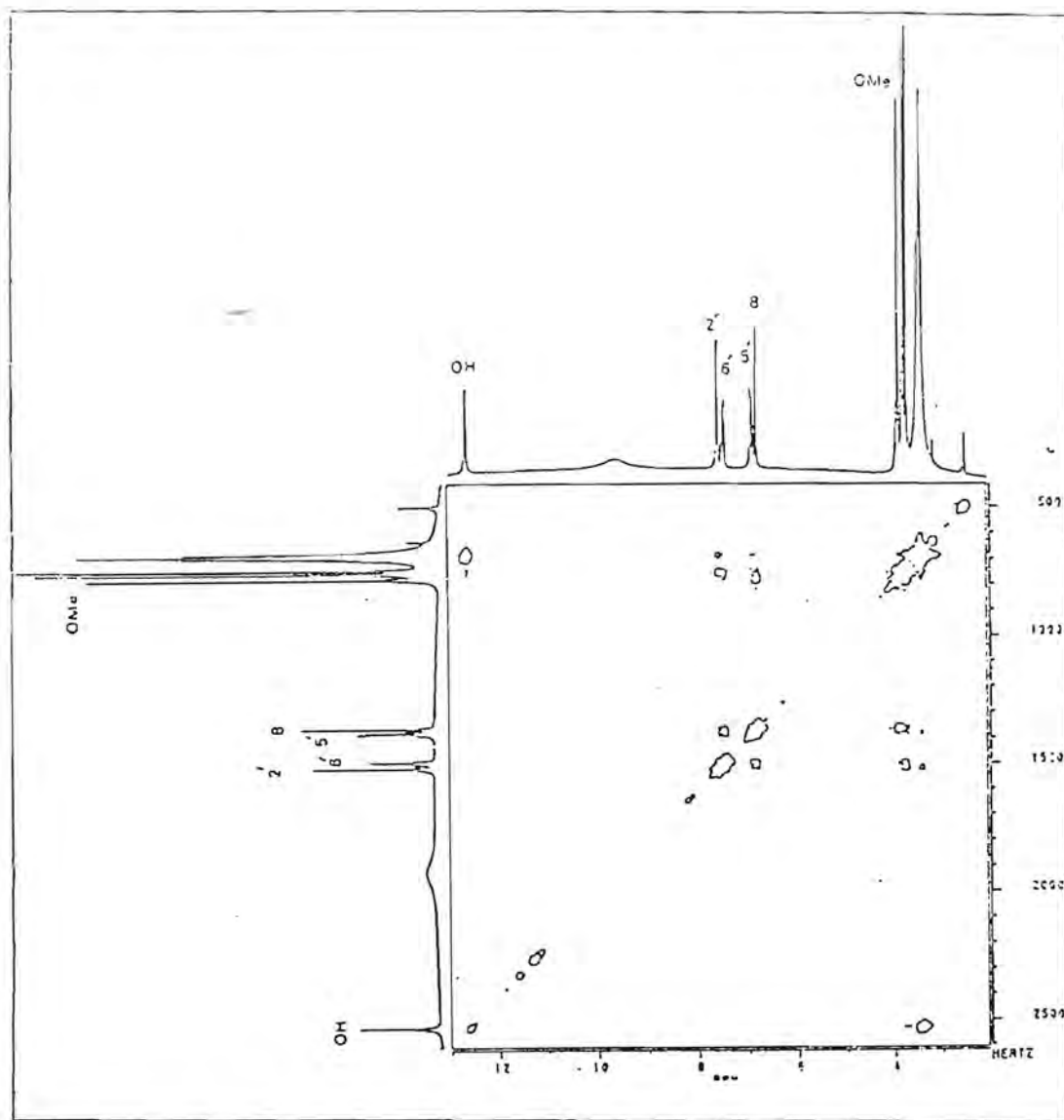
รูปที่ 51 แสดงโปรตอน-คาร์บอน-13 (ppm) (รูปที่ 51) ของสารประกอบ

เมทิลที่ 5 (ppm): 2.71, 2.77 และ 2.81 สอดคล้องกับสัญญาณของเมทิลที่ คาร์บอนที่ 6 (ppm): 53.93, 59.58 และ 56.23 สอดคล้องกับ โปรตอนที่ 5 (ppm): 6.51 สอดคล้องสัญญาณของคาร์บอนที่ 6 (ppm): 91.06, โปรตอนที่ 5 (ppm): 6.39 สอดคล้องสัญญาณของคาร์บอนที่ 5 (ppm): 115.80, โปรตอนที่ 5 (ppm): 7.47 สอดคล้องสัญญาณของคาร์บอนที่ 6 (ppm): 120.61 และโปรตอนที่ 5 (ppm): 7.58 สอดคล้องสัญญาณของคาร์บอนที่ 6 (ppm): 115.70



รูปที่ 51 แสดงโปรตอน-คาร์บอน-13 CHCORR ของ สาร 9

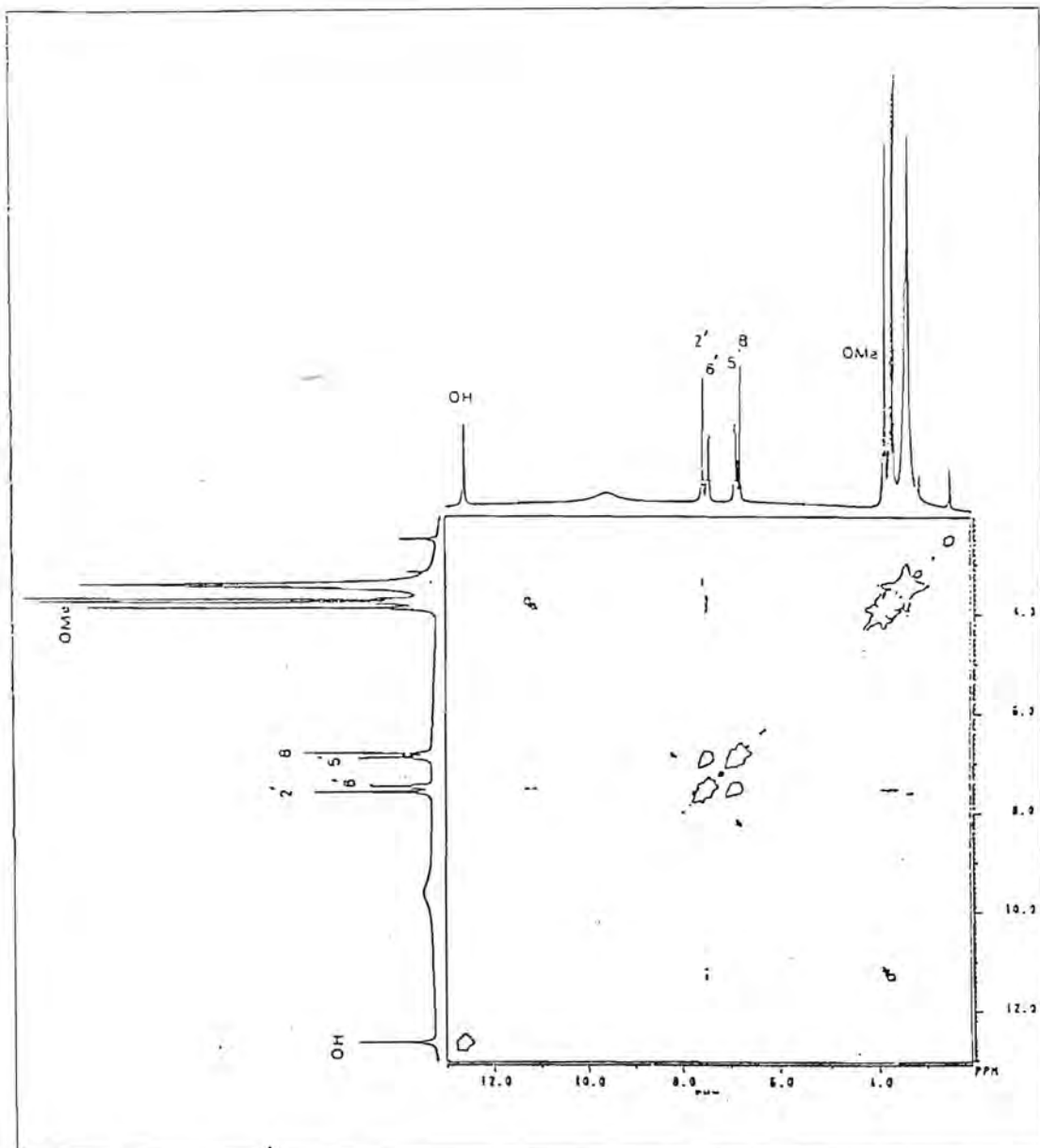
โปรตอน-โปรตอน NOESY รูปที่ 52 แสดงโปรตอน-โปรตอน NOESY ของสาร 9
 ปรากฏว่า โปรตอน δ (ppm): 6.83 อยู่ใกล้กับโปรตอน δ (ppm): 7.47, โปรตอน δ
 (ppm): 6.61 อยู่ใกล้กับโปรตอน δ (ppm): 3.81, โปรตอน δ (ppm): 7.47 อยู่ใกล้กับ
 โปรตอน δ (ppm): 3.71 และ โปรตอน δ (ppm): 3.77 อยู่ใกล้กับโปรตอน δ (ppm):
 12.63



รูปที่ 52 แสดงโปรตอน-โปรตอน NOESY ของ สาร 9

รูปที่ 53 แสดงโปรตอน-โปรตอน COSY ของ สาร 9

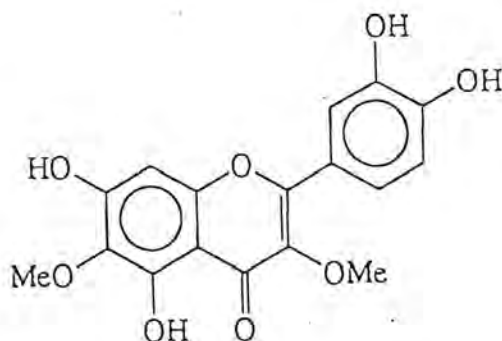
สาร 9 โปรตอน δ (ppm): 6.59 อยู่กับโปรตอน δ (ppm): 7.47 และ โปรตอน δ (ppm): 7.47 อยู่กับโปรตอน δ (ppm): 3.71



รูปที่ 53 แสดงโปรตอน-โปรตอน COSY ของ สาร 9

จากการศึกษาเอกสารอ้างอิง 39 พบว่า สาร 9 เป็น 3,6,7-trimethyl ether ของ chrysofenol และ quercetin ซึ่งมีค่ามวลโมเลกุลที่ใกล้เคียงกับค่าที่พบได้แก่ 345.345 ซึ่งเป็นการแตก $-CH_3$ ออกจาก คาร์บอนตำแหน่งที่ 5 แสดงว่าคาร์บอนตำแหน่งที่ 6 มีหมู่แทนที่เป็นหมู่เมทอกซี, พบ m/e 317 เป็นการแตก CH_3CO -ออกจากมวลโมเลกุลซึ่งแสดงว่าคาร์บอน ตำแหน่งที่ 3 มีหมู่แทนที่เป็นหมู่เมทอกซี, พบขึ้น m/e 302 เป็นการยืนยันว่า คาร์บอน ตำแหน่งที่ 6 ของ ring A มีหมู่แทนที่เป็นหมู่เมทอกซี, พบ m/e 137 ซึ่งแสดงให้เห็นว่า โครงสร้างของ ring B มีหมู่แทนที่เป็นหมู่ไฮดรอกซี 2 หมู่ และ พบ m/e 181 เป็นการยืนยันว่า คาร์บอนตำแหน่งที่ 7 ของ ring A มีหมู่แทนที่เป็นหมู่เมทอกซี จากการพิจารณาการแตกตัวของ โครงสร้างของ สาร 9 ทำให้สามารถยืนยันได้ว่าเป็นดังที่เสนอไว้ข้างต้น

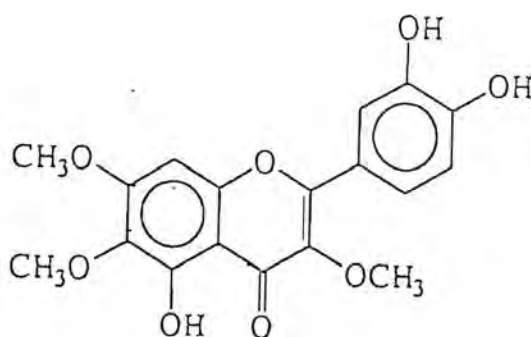
จากการศึกษาเอกสารอ้างอิง 40 พบว่า สาร 9 มีชื่อสามัญว่า Chrysosplenol D หรือ quercetasetin -3,6,7-trimethyl ether มีจุดหลอมเหลว 238.0-240.0 องศาเซลเซียส ปรอทอนเอ็นเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (DMSO- d_6) แสดงสัญญาณที่ δ (ppm): 7.60(1H, *d*, $J = 2.5$ Hz, $-CH=$), 7.5(1H, *dd*, $J = 9.0, 2.5$ Hz, $-CH=$), 6.83(1H, *d*, $J = 9.0$ Hz, $-CH=$), 6.5 (1H, *s*, $-CH=$), 3.90 (3H, *s*, $-OCH_3$) และ 3.85 (3H, *s*, $-OCH_3$) อย่างไรก็ตามพบว่าข้อมูลเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมที่รายงานไว้ นั้นยังไม่สมบูรณ์ ยังไม่ได้รายงาน คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม จากการศึกษาดูเอกสารอ้างอิง พบว่าไม่มีรายงาน ข้อมูลทางสเปกโทรสโกปีของสารประกอบที่มีสูตรโครงสร้างใกล้เคียงกับ สาร 9 คือ Axillarin (35) ซึ่งทำให้สามารถช่วยในการยืนยันสูตรโครงสร้างของ สาร 9



แสดงสูตรโครงสร้างของ Axillarin

จากการเปรียบเทียบ คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของ สาร 9 กับ Axillarin พบว่า สารทั้งสองไม่ใช่สารเดียวกัน แต่มีความคล้ายคลึงกันมากโดย เฉพาะอย่างยิ่งใน ring B ส่วน ring A สาร 9 และ Axillarin จะมีคาร์บอนตำแหน่งที่ 8 ไม่ถูกแทนที่เหมือนกัน และใน สาร 9 ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 7 มีค่าเคมีกัลซีฟิที่ต่ำกว่าปกติแสดงว่า คาร์บอนตำแหน่งที่ 7 จะต้องต่อกับหมู่ เมทอกซี ไม่ใช่ หมู่ไฮดรอกซี ซึ่งจะสอดคล้องกับข้อมูลจาก แมสสเปกตรัม จากการเปรียบเทียบข้อมูลทำให้สามารถกำหนดตำแหน่งของสัญญาณคาร์บอนได้

จากข้อมูลดังกล่าวมาทั้งหมดสามารถสรุปได้ว่า สาร 9 คือสารประกอบ ประเภทฟลาโวนอล มีชื่อสามัญว่า quercetagenin-3,6,7-trimethyl ether หรือ 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5-hydroxy-3,6,7-trimethoxy-4H-1-benzopyran-4-one



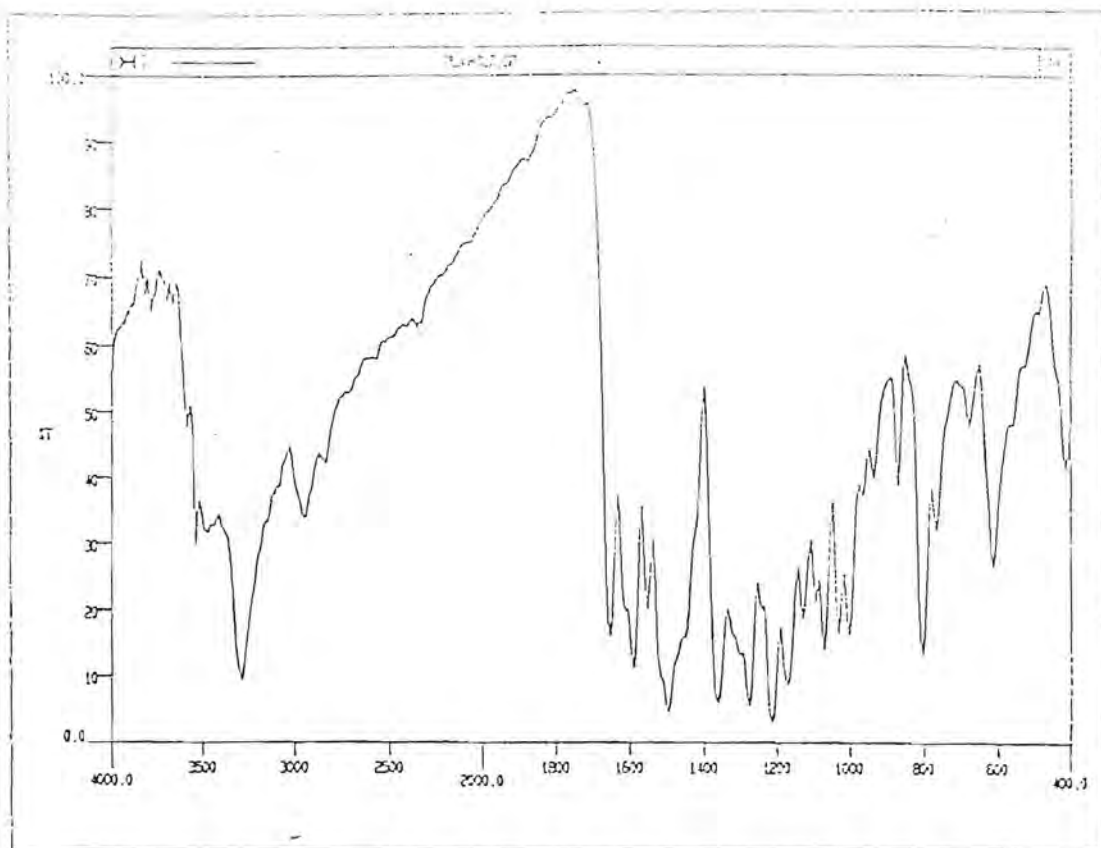
แสดงโครงสร้างของ สาร 9

2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5-hydroxy-3,6,7-trimethoxy-4H-1-benzopyran-4-one

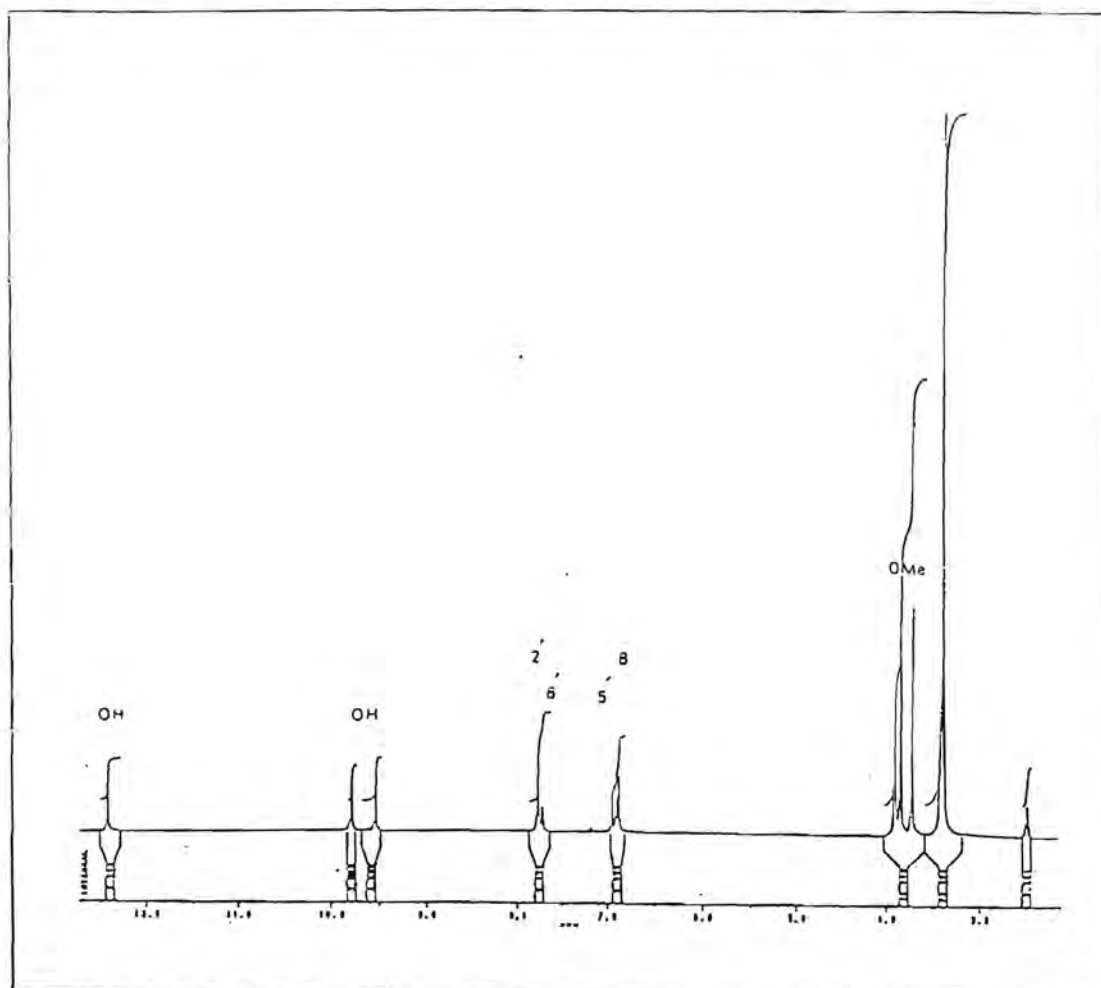
3.2.16 การวิเคราะห์สาร 10 ว่าเป็นสีม่วงเข้มและการตรวจหาสารประกอบฟีนอล

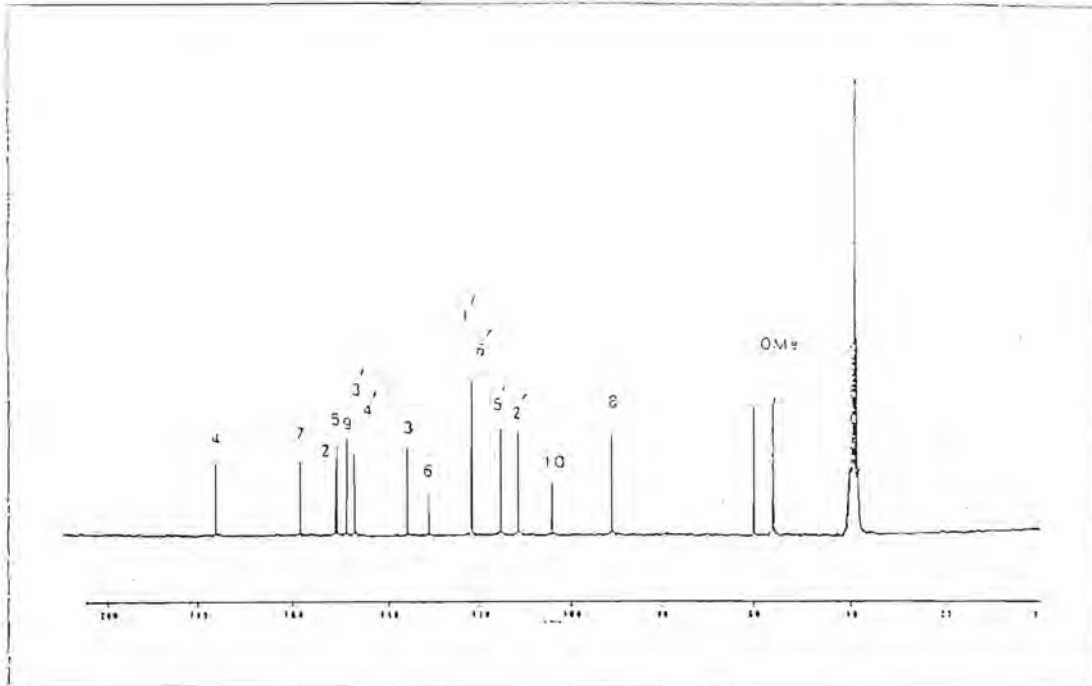
สาร 10 มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาวฐานสี่เหลี่ยมอยู่ในขวดสีน้ำตาล ให้จากลำดับส่วน 43-54 (ส่วนย่อย SA₂6) ซึ่งถูกชะด้วย คลอโรฟอร์ม:เมทานอล (19:1) ในการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีของสีสกัดคลอโรฟอร์ม เมื่อวันที่ SA₂6 มาทำการแยกด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีเข้า สาร 10 จะมีลักษณะเป็นผลึกรูปเข็มสีเหลือง 1 ได้จากลำดับส่วน 11-29 ซึ่งถูกชะด้วย เฮกเซน:ไดคลอโรมีเทน (1:9) (ตารางที่ 2.11) เมื่อวันที่ สาร 10 มาตกผลึกด้วยไดคลอโรมีเทนร้อน จะได้ผลึกรูปเข็มสีเหลืองหนัก 0.155 กรัม (3.1×10^{-3} % น้ำหนักต่อน้ำหนัก) จุดหลอมเหลว 218.0-220.0 องศาเซลเซียส TLC ให้ค่า R_f เท่ากับ 0.65 [ไดคลอโรมีเทน:เมทานอล (19:1)] สาร 10 ละลายได้ดีในไดคลอโรมีเทน และคลอโรฟอร์ม ละลายได้ไ้โยยใน เฮกเซน, เมทานอล และเอทานอล นอกจากนี้ยังให้ผลลบกับปฏิกิริยา Liebermann-Burchard แสดงว่า สาร 10 ไม่ใช่สารประกอบประเภทสเตอรอยด์หรือไตรเทอร์พีนอยด์ สาร 10 สามารถพอกจางสี Br₂ ใน CCl₄ และให้ตะกอนสีเหลืองกับ 2,4-DNP แสดงว่า สาร 10 เป็นสารประกอบประเภทไม่อิ่มตัวและมีหมู่คาร์บอนิลในวงเลกุล นอกจากนี้ สาร 10 ให้สารละลายสีแดงเลือดนกกับ Cyanidin test แสดงว่า สาร 10 น่าจะเป็นสารประกอบประเภทฟลาโวนอยด์ ชนิดฟลาโวนอล (flavonol)

อินฟราเรดสเปกตรัม (รูปที่ 54) แสดงแถบการดูดกลืนแสงที่กว้าง ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) ที่ 3500-3000 ซม.⁻¹ นอกจากนี้ยังแสดงแถบการดูดกลืนแสงที่เป็นลักษณะเฉพาะของหมู่คาร์บอนิลของ conjugated ketone ที่ 1653 ซม.⁻¹

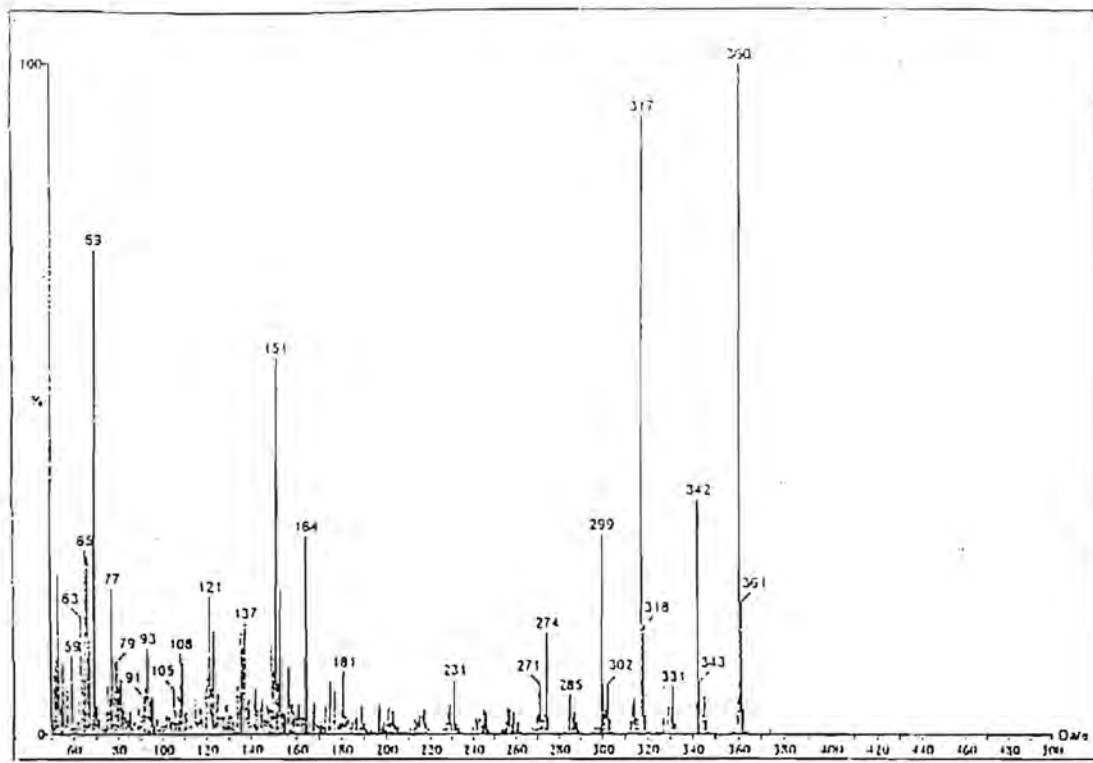


รูปที่ 54 แสดงอินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร 10





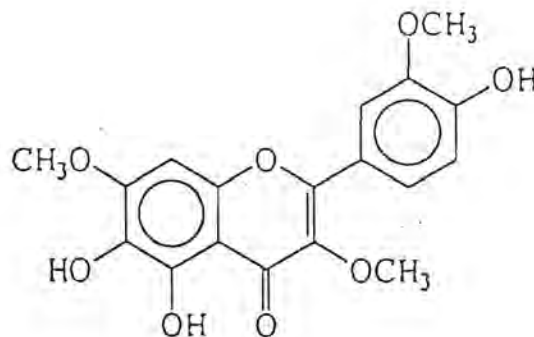
รูปที่ 56 แสดงคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของ สาร 10



รูปที่ 57 แสดงแมสสเปกตรัมของ สาร 10

จาก เมสสเปกตรัม บวกรวมพื้นที่ของไอออนเชิงรวมเลขคู่ (M^+) ที่ m/e 330 (100.0%) ซึ่งแสดงให้เห็นว่า สาร 10 น่าจะมีมวลรวมเลขคู่เป็น 360 เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลปริมาตรและคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ทาให้ทราบว่า สาร 10 ประกอบด้วย คาร์บอน 17 อะตอม, ไฮดรเจน 16 อะตอม (จาก $-CH=$ 4 อะตอม, จาก $-OCH_3$ 3 หมู่ เท่ากับ 9 อะตอม และจาก $-OH$ 3 หมู่ เท่ากับ 3 อะตอม) และออกซิเจน 6 อะตอม (จาก $-OCH_3$ 3 หมู่ เท่ากับ 3 อะตอม, จาก $-OH$ 3 หมู่ เท่ากับ 4 อะตอม) เมื่อรวมมวลอะตอมของไฮดรเจน คาร์บอน และออกซิเจน ตามจำนวนที่ปรากฏสัญญาณนั้นได้ค่าเท่ากับ 316 อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาจากรโครงสร้างของสารประกอบฟลาโวนอยส์ที่พบโดยทั่วไปจะมี ออกซิเจนอีก 2 อะตอมจาก หมู่คาร์บอนิล ($-C=O$) และ จากอีเทอร์ ($C-O-C$) เมื่อเทียบกับมวลรวมเลขคู่ที่คาดว่าจะจะเป็นไปได้ จากข้อมูลเมสสเปกตรัมพบว่ายังขาดอีกเท่ากับ 12 จะต้องเป็นคาร์บอน 1 อะตอมเท่านั้น เพราะฉะนั้น สาร 10 จึงน่าจะมีคาร์บอน 18 อะตอม, มีออกซิเจน 8 อะตอม และ ไฮดรเจน 16 อะตอมและน่าจะมีสูตรมวลเป็น $C_{18}H_{16}O_8$ มีมวลรวมเลขคู่เท่ากับ 360 จากสูตรมวลที่คาดไว้พบว่าจำนวนปริมาตร คาร์บอน และ

จากข้อมูลดังกล่าวมาทั้งหมดสามารถสรุปแสดงว่า สาร 10 คือ สารประกอบประเภท flavanol ชื่อสามัญว่า Chrysosphenol-C หรือ quercetageitin-3, 3',7-trimethyl ether หรือ ตามระบบ IUPAC จะเรียกได้ว่า 2-(3-methoxy-4-hydroxyphenyl)-5,6-dihydroxy-3,7-dimethoxy-4H-1-benzopyran-4-one



สาร 10

2-(3-methoxy-4-hydroxyphenyl)-5,6-dihydroxy-3,7-dimethoxy-4H-1-benzopyran-4-one

3.6 การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่แยกได้

3.6.1 การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าว

การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าว

อ่อน ของ สาร 1, สาร 2, สาร 3, สาร 4, สาร 5, สาร 6, สาร 7, สาร 8, สาร 9,

สาร 10 และ สาร 11

จากการทดสอบที่แสดงดังตารางที่ 2.22 พบว่า สารบริสุทธิ์แต่ละ

ตัวแสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวอ่อนต่างกัน โดยพบว่า สาร 7 ซึ่งมี

องค์ประกอบ 4.01×10^{-3} น้ำหนักโดยน้ำหนัก และความเข้มข้น 0.005 กรัม:เฮกโตลิตร 1.5

กรัม แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งมากที่สุด รองลงมาคือ สาร 2, สาร 8, สาร 9, สาร 10 และ

สาร 11 ซึ่งแสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวอ่อนได้ไม่มากพอ ๆ กัน ซึ่ง

สามารถนำมาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความยาวของราก และกาบใบ

โดยเทียบกับความยาวของรากและกาบใบของต้นข้าวอ่อนเมื่อไม่ได้รับสารเหล่านี้ กับความเข้มข้น

ของสารที่แยกได้ โดยแกนตั้งเป็นเปอร์เซ็นต์ความยาวของราก และกาบใบ ส่วนแกนนอนเป็น

ความเข้มข้นของสารที่แยกได้ (กรัม:เฮกโตลิตร 1.5 กรัม) ดังแสดงในรูปที่ 58.

36

สารประกอบ
 สาร 1, สาร 2, สาร 3, สาร 4, สาร 5, สาร 6, สาร 7, สาร 8,
 สาร 9, สาร 10 และ สาร 11

สารประกอบ	ความเข้มข้น (กรัม: เวกูลูโรลส์ 1.5 กรัม)	% ความยาว		% การยับยั้ง	
		ราก	กวางใบ	ราก	กวางใบ
สาร 1	0.001	139.02	147.56	0.00	0.00
	0.005	120.56	125.00	0.00	0.00
	0.01	111.12	122.98	0.00	0.00
สาร 2	0.001	78.21	99.21	21.79	0.79
	0.005	42.51	67.26	57.49	32.74
	0.01	26.77	45.32	73.23	54.68
สาร 3	0.001	126.42	98.42	0.00	1.58
	0.005	122.68	87.32	0.00	12.68
	0.01	99.61	54.23	0.39	45.77
สาร 5	0.001	131.23	97.87	0.00	2.13
	0.005	122.02	65.66	0.00	34.34
	0.01	100.79	55.54	0.00	44.46

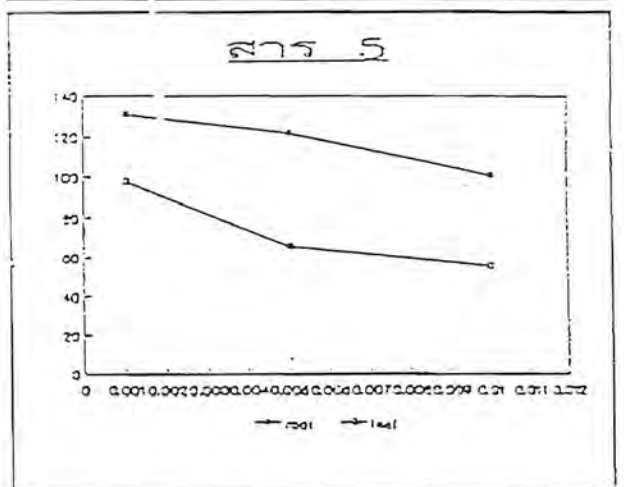
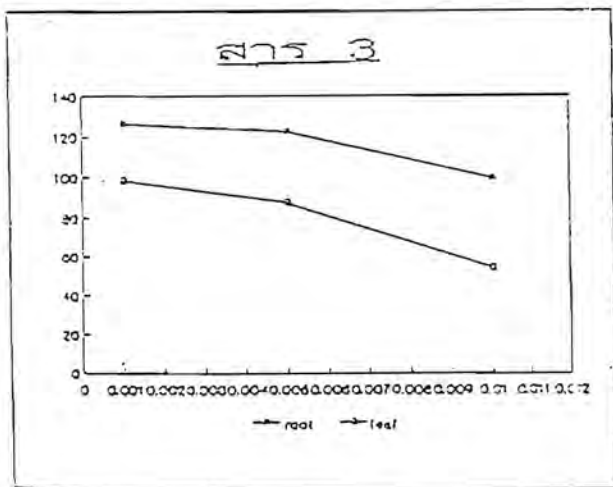
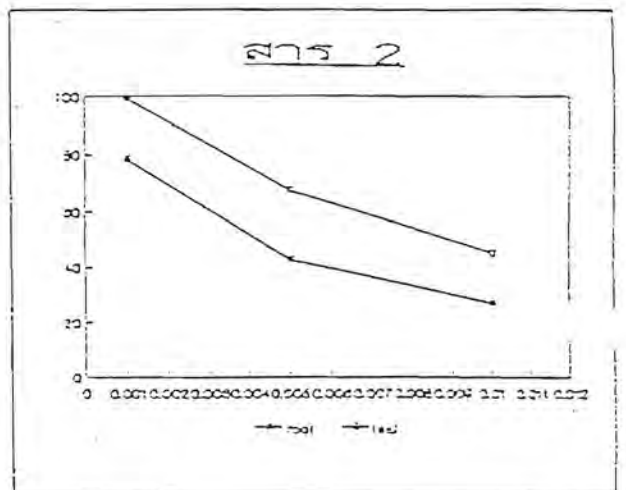
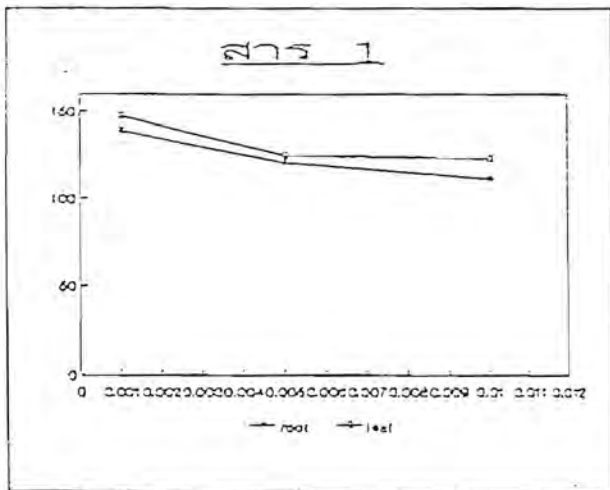
* หมายเหตุ เนื่องจาก สาร 4 ที่แยกออกมาได้มีปริมาณน้อยมากจึงไม่สามารถนำมาทดสอบฤทธิ์

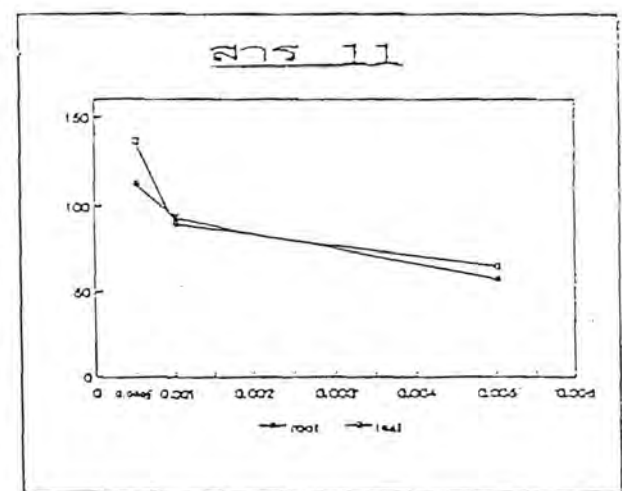
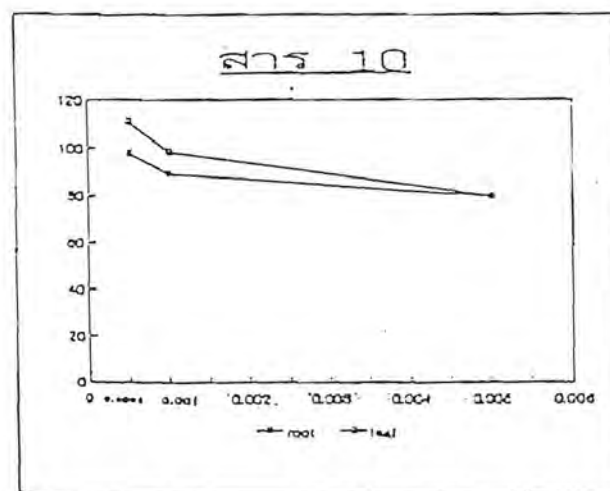
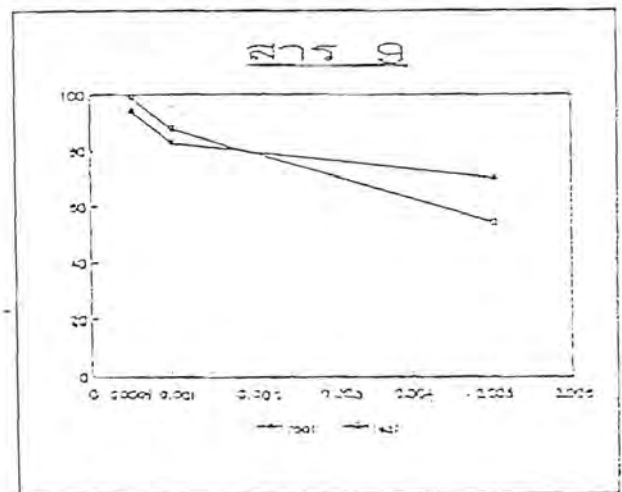
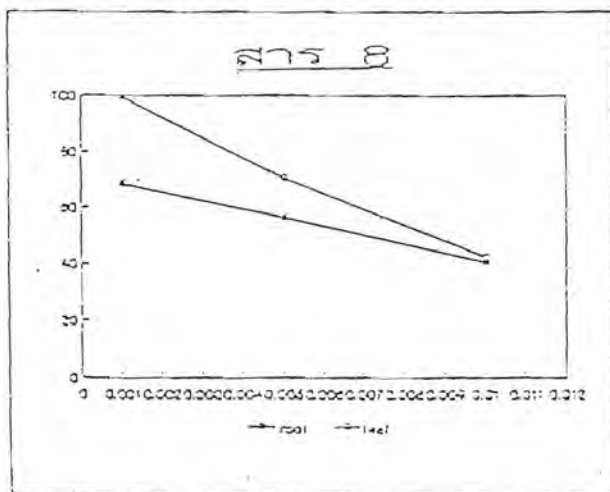
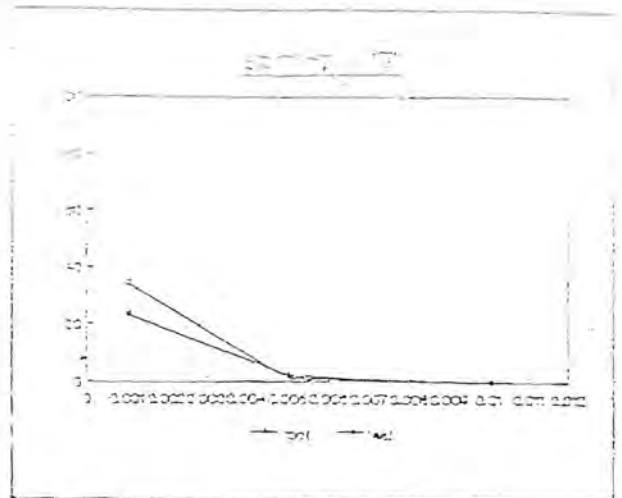
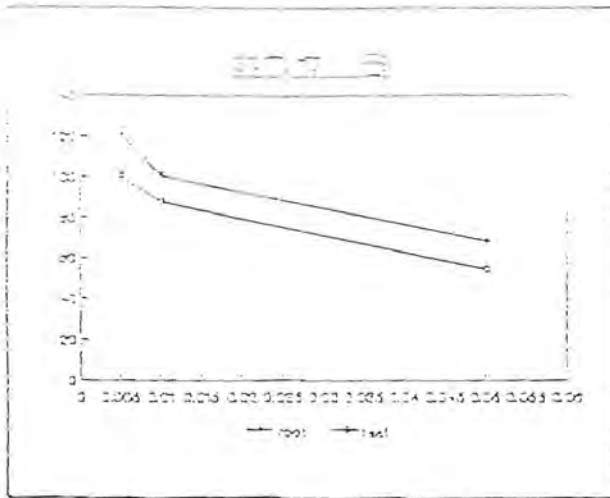


สารประกอบ	สารเคมี, ปริมาณ (กรัม: เซลลูโลส 1.50 กรัม)	สารประกอบ		สารประกอบ	
		สาร	ปริมาณ	สาร	ปริมาณ
<u>สาร 6</u>	0.005	121.21	100.35	0.00	0.00
	0.01	100.65	87.82	0.00	12.13
	0.05	68.21	54.21	31.79	45.79
<u>สาร 7</u>	0.001	23.06	34.17	76.94	65.83
	0.005	2.30	1.23	97.70	98.77
	0.01	0.00	0.00	100.00	100.00
<u>สาร 8</u>	0.001	58.51	99.56	31.49	0.44
	0.005	56.23	70.51	44.77	29.49
	0.01	40.23	42.13	59.77	57.87
<u>สาร 9</u>	0.0005	94.23	99.23	5.77	0.77
	0.001	82.75	87.69	17.25	12.31
	0.005	69.96	54.23	30.04	45.77
<u>สาร 10</u>	0.0005	97.89	111.20	2.11	0.00
	0.001	89.23	98.45	10.77	1.55
	0.005	79.56	80.21	20.44	19.79

สารที่ 11	ความเข้มข้น	ค่าเฉลี่ย			
		ราก	ลำต้น	ใบ	ผล
	0.0025	112.67	136.56	9.00	0.00
	0.001	93.54	89.93	6.45	10.07
	0.005	57.23	64.78	42.77	35.22

รูปที่ 58 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์ความยาวของรากและกามใบของต้นข้าว เมื่อได้รับ สาร 1- สาร 11 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ





แกนนตั้ง - เปอร์เซนต์ความยาว

แกนนอน - ความเข้มข้นของสาร (กรัม:เซลลูโลส 1.5 กรัม)

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การศึกษาสารอัลลิโลพาทิกจากต้นงา

การหาสารอัลลิโลพาทิกของต้นงา โดยการสกัดและแยกสิ่งสกปรกควบคู่กับการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของต้นข้าว โดยเริ่มต้นสกัดต้นงาขาว ร้อยเมล็ดด้วยเฮกเซน ตามด้วยคลอโรฟอร์ม, เมทานอล และเอทิลเอซิเตต จากนั้นนำไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยพบว่าสิ่งสกปรกในเอทิลเอซิเตตซึ่งมีองค์ประกอบ 0.31% โดยน้ำหนักต้นงาแห้ง และความเข้มข้น 0.10 กรัม : เซลลูโลส 1.5 กรัม มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวมากที่สุด รองลงมาคือสิ่งสกปรกจากเมทานอล, คลอโรฟอร์มและเฮกเซน ซึ่งมีองค์ประกอบ 2.83%, 1.34% และ 2.83% โดยน้ำหนักต้นงาแห้ง ตามลำดับการแยกสิ่งสกปรกเฮกเซน, คลอโรฟอร์ม, เมทานอล และเอทิลเอซิเตต จากต้นงาขาว ร้อยเอ็ดโดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบต่างๆ สามารถแยกสารได้ทั้งหมด 10 ชนิด ดังนี้คือ ของผสมของไฮโดรคาร์บอนโซ่ตรง ($C_{29}-C_{34}$) มีองค์ประกอบ $4.10 \times 10^{-2}\%$ โดยน้ำหนักต้นงาแห้ง, ของผสมของเอสเทอร์โซ่ตรง ของกรดโซ่ตรง และแอลกอฮอล์โซ่ตรง ($C_{28}-C_{34}$) มีองค์ประกอบ $1.05 \times 10^{-3}\%$ โดยน้ำหนักของต้นงาแห้ง, ของผสมของ β -sitosterol, campesterol และ stigmasterol มีองค์ประกอบ $2.70 \times 10^{-2}\%$ โดยน้ำหนักของต้นงาแห้ง, sesamin มีองค์ประกอบ $9.90 \times 10^{-3}\%$ โดยน้ำหนักต้นงาแห้ง, สารประกอบประเภทเอสเทอร์ของไตรเทอร์พีนอยด์ ที่มีองค์ประกอบ $1.70 \times 10^{-2}\%$ โดยน้ำหนักต้นงาแห้ง, ของผสมของกรดโซ่ตรง ($C_{12}-C_{24}$) มีองค์ประกอบ $1.03 \times 10^{-3}\%$ โดยน้ำหนักต้นงาแห้ง, สารประกอบประเภท acetate lactone มีองค์ประกอบ $3.60 \times 10^{-2}\%$ โดยน้ำหนักต้นงาแห้ง, sesamolin มีองค์ประกอบ $8.60 \times 10^{-3}\%$ โดยน้ำหนักต้นงาแห้ง และสารประกอบประเภท flavone ที่มีองค์ประกอบ $1.86 \times 10^{-3}\%$ โดยน้ำหนักต้นงาแห้ง ดังแผนภาพที่ 3

จากสารทั้งหมดที่แยกได้ พบว่ามีสาร 5 ชนิด ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวในส่วนรากและกาบใบตามลำดับ ดังนี้คือ sesamolin ที่มีความเข้มข้น 0.005 กรัม : เซลลูโลส 1.5 กรัม สามารถยับยั้งการงอกของรากและกาบใบได้ 100% และ 82.78% ตามลำดับ รองลงมาคือ sesamin, ของผสมของ β -sitosterol, campesterol และ stigmasterol, ของผสมกรดโซ่ตรง และของผสมเอสเทอร์โซ่ตรง

4.2 การศึกษาสารอัลลิโพลาคของหนุ้าค้อนกลอง

สกัดหนุ้าค้อนกลองด้วยเอทานอล แล้วนำมาสกัดด้วยเฮกเซน, คลอโรฟอร์ม เอทิลเอซิเตต และบิวทานอล ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีของแข็งที่เหลือจากการสกัดด้วย คลอโรฟอร์มและน้ำ และของแข็งที่เหลือจากการสกัดด้วยบิวทานอลและน้ำ (แผนภาพ ที่ 1.1) เมื่อนำสิ่งสกัดต่างๆ ไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้น พบว่าสิ่งสกัดคลอโร-ฟอร์ม ซึ่งมีองค์ประกอบ 2.19% (น้ำหนักโดยน้ำหนัก) ที่ความเข้มข้น 0.10 กรัม : เซล-ลูโลส 1.5 กรัม มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของรากและกาบใบของต้นข้าวมากที่สุด รองลงมาคือ สิ่งสกัดเอทิลเอซิเตต, เอทานอลที่เหลือ, เฮกเซน, บิวทานอล และน้ำที่เหลือ ซึ่งมีองค์ประกอบ 0.29% , 1.01% , 2.35% , 0.29% และ 6.02% (น้ำหนักโดย น้ำหนัก) ตามลำดับ

จากการแยกสิ่งสกัดเฮกเซนด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีพบว่าสิ่งสกัดย่อยในส่วน SA₁7 SA₁8 และ SA₁9 สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวได้สูงมาก และการแยกสิ่งสกัดคลอโรฟอร์มด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีพบว่าสิ่งสกัดย่อยในส่วน SA₂5, SA₂6, SA₂7, SA₂8 และ SA₂9 สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของ ต้นข้าวได้สูงมากเช่นกัน ซึ่งถ้านำเอาส่วนต่างๆ เหล่านี้มาใช้ประโยชน์ในการเกษตร โดย นำมาทดสอบกับวัชพืชต่างๆ ซึ่งง่ายต่อการสกัดและมีปริมาณค่อนข้างมาก ใช้สารในปริ-มาณน้อยก็สามารถออกฤทธิ์ได้เต็มที่ จึงน่าที่จะทำการทดลองทางเกษตรต่อไป

เมื่อนำสิ่งสกัดต่างๆ มาแยกโดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี ซึ่งสามารถแยกสารได้ ทั้งหมด 11 ชนิด โดยสิ่งสกัดเฮกเซนสามารถแยกสารได้ 7 ชนิดดังนี้คือ ของผสมของ ไฮโดรคาร์บอนไซ้ตรง (C₂₆-C₃₄) มีองค์ประกอบ 1.05 x 10⁻² % น้ำหนักโดยน้ำหนัก, ของผสมของเอสเทอร์ไซ้ตรง มีองค์ประกอบ 4.46 x 10⁻³ % น้ำหนักโดยน้ำหนัก, ของผสมของแอลกอฮอล์ไซ้ตรง (C₂₃, C₂₅, C₂₇, C₃₀, C₃₃) มีองค์ประกอบ 2.06 x 10⁻² % น้ำหนักโดยน้ำหนัก, สารประกอบไตรเทอร์พีนอยด์ friedelan 3,β-ol ที่มีองค์ประกอบ 6.00 x 10⁻⁴ % น้ำหนักโดยน้ำหนัก, ของผสมของแอลกอฮอล์ไซ้ตรง (C₂₆, C₂₇, C₂₉, C₃₀, C₃₃), มีองค์ประกอบ 7.42 x 10⁻² % น้ำหนักโดยน้ำหนัก, สารประกอบสเตอรอยด์ชนิด stigmasterol มีองค์ประกอบ 2.64 x 10⁻² % น้ำหนักโดยน้ำหนัก, ของผสมของกรดอินทรีย์ไซ้ตรง (C₁₉-C₂₅) มีองค์ประกอบ 4.02 x 10⁻³ % น้ำหนักโดยน้ำหนัก สิ่งสกัดคลอโรฟอร์มสามารถแยกสารได้ 3 ชนิดคือ สารประกอบสเตอรอยด์ไกลโคไซด์ stigmasteryl-3-0-β-D-glucopyranoside มีองค์ประกอบ 0.09% น้ำหนักโดยน้ำหนัก

และสารประกอบประเภทเฟลโวนอยด์ 2 ชนิด 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5-hydroxy-3,6,7-trimethoxy-4H-1-Benzopyran-4-one มีองค์ประกอบ $4.50 \times 10^3\%$ น้ำหนักโดยน้ำหนัก และ 2-(3-methoxy-4-hydroxyphenyl)-5,6-dihydroxy-3-7-dimethoxy-4H-1-Benzopyran-4-one มีองค์ประกอบ $3.10 \times 10^3\%$ น้ำหนักโดยน้ำหนัก สังกัดเอทิลแอสซิเตดและบิวทานอลสามารถแยกสารได้ 1 ชนิดคือสารประกอบประเภทเฟลโวนอยด์ 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,6-dihydroxy-3,7-dimethoxy-4H-1-Benzopyran-4-one มีองค์ประกอบ $2.50 \times 10^3\%$ น้ำหนักโดยน้ำหนัก

จากสารทั้งหมดที่แยกได้ ดังแผนภาพที่ 4.1, 4.2, 4.3 พบว่ามีเพียงสารชนิดเดียวที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวในส่วนรากและกาบใบ คือของผสมของกรดอินทรีย์ไซโครง (C_{19} - C_{25}) ซึ่งมีองค์ประกอบ $4.02 \times 10^3\%$ น้ำหนักโดยน้ำหนัก โดยพบว่าที่ความเข้มข้น 0.005 กรัม : เซลลูโลส 1.5 กรัม สามารถยับยั้งการงอกของรากและกาบใบได้ 97.70% และ 98.77% ตามลำดับ

ส่วนย่อยที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพสูงคือ SA_{2,6}, SA_{2,7}, และ SA_{2,8} แต่สารบริสุทธิ์ที่แยกได้ในส่วนนี้เป็นสารที่ไม่มีฤทธิ์การยับยั้งต้นข้าว องค์ประกอบส่วนน้อยที่เหลือของส่วนนี้จึงน่าสนใจที่จะทำการศึกษาต่อไป

แผนภาพที่ 3 สารที่แยกได้จากสิ่งสกัดต่าง ๆ ของต้นงาขาววัยเด้ง

สิ่งสกัดจากเฮกเซน, คลอโรฟอร์ม, เมทานอลและเอทิลเอซิเตต จากต้นงาขาววัยเด้ง

ไตรมาโทกราฟีแบบต่าง ๆ, ซีลีกาเจล

(เฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล)

- สาร ก ผลึกแวววาวสีขาว จุดหลอมเหลว 65-67 องศาเซลเซียส
คือของผสมของไฮโดรคาร์บอนไซโตรง (C₂₈-C₃₂)
- สาร ข ของแข็งอสัณฐานสีขาว จุดหลอมเหลว 80-81 องศาเซลเซียส
คือของผสมของเอสเทอร์ไซโตรง
- สาร ค ของแข็งอสัณฐานสีขาว จุดหลอมเหลว 81-82 องศาเซลเซียส
คือของผสมของแอลกอฮอล์ไซโตรง (C₂₈-C₃₄)
- สาร ง ผลึกรูปเข็มสีขาว จุดหลอมเหลว 140-143 องศาเซลเซียส
คือของผสมของ β -sitosterol, campesterol และ stigmasterol
- สาร จ ผลึกรูปเข็มสีเหลืองอ่อน จุดหลอมเหลว 120-121 องศาเซลเซียส
คือ sesamin
- สาร ฉ ของแข็งอสัณฐานสีขาว จุดหลอมเหลว 236-239 องศาเซลเซียส
คือสารประกอบประเภทเอสเทอร์ของไตรเทอร์พีนอยด์
- สาร ช ของแข็งอสัณฐานสีขาว จุดหลอมเหลว 82-84 องศาเซลเซียส
คือของผสมของกรดไซโตรง
- สาร ฅ ผลึกรูปสี่เหลี่ยม จุดหลอมเหลว 196-199 องศาเซลเซียส
คือสารประกอบประเภท acetate lactone
- สาร ฌ ผลึกแวววาวสีเหลือง จุดหลอมเหลว 89-91 องศาเซลเซียส
คือ sesamolin
- สาร ฎ ของแข็งอสัณฐานสีเหลือง จุดหลอมเหลว 216-220 องศาเซลเซียส
คือ sesamol

แผนผังที่ 1.1 สารที่แยกได้จากใบไม้สีน้ำตาลของพืชสกุล *Podocarpus*

สิ่งสกัดแยกได้จากพืชสกุล *Podocarpus*

แยกโดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี (ซิลิกาเจล/
เฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล)

- สาร 1 ผลึกแวววาวสีขาว จุดหลอมเหลว 64.0-65.0 องศาเซลเซียส
คือของผสมของไฮดรคาร์บอนระเหยง่าย (C_{25} - C_{34})
- สาร 2 ของแข็งอสีนฐานสีขาว จุดหลอมเหลว 65.0-66.0 องศาเซลเซียส
คือของผสมของเอสเทอร์ระเหยง่าย
- สาร 3 ของแข็งอสีนฐานสีขาว จุดหลอมเหลว 77.0-78.0 องศาเซลเซียส
คือของผสมของแอลกอฮอล์ระเหยง่าย (C_{23} , C_{25} , C_{27} , C_{30} , C_{33})
- สาร 4 ผลึกรูปหกเหลี่ยมสีขาวใส จุดหลอมเหลว 278.0-280.0 องศาเซลเซียส
คือสารประกอบไตรเทอร์พีนอยด์ friedelan-3 β -ol
- สาร 5 ของแข็งอสีนฐานสีขาว จุดหลอมเหลว 77.0-78.0 องศาเซลเซียส
คือของผสมของแอลกอฮอล์ระเหยง่าย (C_{26} , C_{27} , C_{29} , C_{30} , C_{33})
- สาร 6 ผลึกรูปเข็มสีขาว จุดหลอมเหลว 163.0-164.0 องศาเซลเซียส
คือ สารประกอบสเตอรอยด์ชนิด stigmasterol
- สาร 7 ของแข็งอสีนฐานสีขาว จุดหลอมเหลว 73.0-74.0 องศาเซลเซียส
คือของผสมของกรดระเหยง่าย (C_{19} - C_{25})

แผนภาพที่ 4.2 สารที่แยกได้จากสิ่งสกัดของเหง้าของ *Andropogon squarrosus*

สิ่งสกัดกลองโกรมพร้อมจำพวกน้ำตาลกลอง

แยกโดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี (ซิลิกาเจล/ เฮกเซน
ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล)

สาร 8 ของแข็งสีน้ำตาลสีขาว สลายตัวที่ 247.0-250.0 องศาเซลเซียส

คือ สารประกอบสเตอรอยด์ไกลโคไซด์

stigmasteryl-3-O-β-D-glucopyranoside

สาร 9 ของแข็งสีน้ำตาลสีเหลือง จุดหลอมเหลว 240.0-242.0 องศาเซลเซียส

คือ สารประกอบประเภท เฟลโวนอยด์ 2-(3,4-dihydroxy-phenyl)-5-

hydroxy-3,6,7-trimethoxy-4H-1-Benzopyran-4-one

สาร 10 ของแข็งสีน้ำตาลสีเหลือง จุดหลอมเหลว 218.0-220.0 องศาเซลเซียส

คือสารประกอบประเภท เฟลโวนอยด์ 2-(3-methoxy-4-hydroxyphenyl)-

5,6-dihydroxy-3,7-dimethoxy-4H-1-Benzopyran-4-one

แผนภาพที่ 4.3 สารที่แยกได้จากสิ่งสกัดเอทิลเอซิติเตตและบิวทานอลของเหง้ากลอง

สิ่งสกัดเอทิลเอซิติเตตและบิวทานอลจากเหง้ากลอง

แยกโดยควิกคอลัมน์โครมาโทกราฟี (ซิลิกาเจล/ เฮกเซน
ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล)

สาร 11 ของแข็งสีน้ำตาลสีเหลือง สลายตัวที่ 280.0-282.0 องศาเซลเซียส

คือสารประกอบประเภท เฟลโวนอยด์ 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,6-

dihydroxy-3,7-dimethoxy-4H-1-Benzopyran-4-one



เอกสารอ้างอิง

1. อนันต์ ผลธานี, "งา, ละหุ่ง และการปลูกพืชแซม," ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 12-24, 2526.
2. เนตา เกตุवास, "งาและประโยชน์น้ำมันงา," วารสารวิทยาศาสตร์ ปีที่ 41, ฉบับที่ 4 222-223, 2530.
3. เสถียร บุญฤทธิ์, "การผลิตเมล็ดงา," ฝ่ายขยายเมล็ดพันธุ์พืช กองขยายพันธุ์พืช กองส่งเสริมการเกษตร, 1-4, 2523.
4. ประสิทธิ์ ใจสีล, "แนวทางการปรับปรุงพันธุ์งา," แก่นเกษตร, ปีที่ 14, ฉบับที่ 6 พฤศจิกายน-ธันวาคม, 325-328, 2529.
5. เขาวมาลย์และคณะ, "การใช้ประโยชน์จากงา," แก่นเกษตร, ปีที่ 14, ฉบับที่ 6 พฤศจิกายน-ธันวาคม, 331, 2529.
6. Krishnaswamy, N.R., Nageswara Rao, G., and Omanat, P. & Rareendrant, K., "Triterpene Acids from Sesamum laciniatum Klein," Indian J. Chem., 30B, 769-772, 1991.
7. Olivier, P., and Helen, S.E.G., "Two New Antifungal Naphthoxirene Derivatives and their Glucosides from Sesamum angolense WELW," Helvetica Chemica Acta., 70, 1551-1557, 1987.
8. Jamieson, G.S., and Baughman, W.F., "Chemical Composition of Sesame Oil," J. Am. Chem. Soc., 46, 775-778, 1924.
9. Adriant, W., and Dordrecht, Z., "Sesamin and Sesamolin," Untersuch Lebensm., 56, 187-194, 1928.

10. Tsuchida, M., Minra, T., and Miyaki, K., "Identification of Trihydroxyoctadecenoates Derived from UV-irradiated or Autoxidized Sesame Oil and Methylinoleate and Mechanism of their Formation," Yukagaku, 21(5), 269-274, 1972.
11. Yoshida, M., and Kashimoto, T., "Determination of Sesamolin and Sesamin in Sesame Oil," Osaka-furitsu Kendu Eisel Kenkyusho Kenkyu Hokoku. Shoku hin Eisei Hen, 10,41-46, 1979.
12. Ravindra, N., and Givi, K.V., "Physicochemical Investigation on Indigenous Seed Protein II Fractionation, Isolation, and Electrophoresis Characterization of Sesame Globulins," J. Sci. Ind. Research (India), 16C, 51-58, 1957.
13. Vijayalakshmi, B., Rao, S., Venkols, "Nature of Sesame Seed Phospholipids," J. Oil Technol Ass. India, 4(2), 53-58, 1972.
14. Kinoshita, S., and Yamanishi, T., "Identification of Basic Aroma Compounds of Roasted Sesame Seeds," Nippon Nogei Kagaku Kaishi, 47(11), 737-739, 1973.
15. Prakash, V., and Nandi, P.K., "Isolation and Characterization of α -globulin of Sesame Seed," J. Agric. Food Chem., 26(2), 320-323, 1978.
16. Murui, T., and Ide, A., "Anticarcinogenic Glycosides with Aglycones Extracted from Sesame Seeds," Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP, PP. 1-6, 1987.
17. Murui, T., and Ide, A., "Isolation of Glycosides from Sesame Seeds," Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP, PP. 1-5, 1988.

18. Singh, S., and Khanna, S.K., "Fractionation and Characterization of Sesame (Sesamun indicum L.) Protein," Indian J. Nutr Diet., 25(2), 55-59, 1988.
19. Tanda, A.S., Atwal, A.S., and Bajaj, Y. P. S., "In Vitro Inhibition of Root Knot Nematode Meloidogyne Incognita by Sesame Root Exudate and Its Amino Acids," Nematologica, 35(1), 115-124, 1989.
20. Jain, S.C., and Khanna, P., "Production of Sterols from Sesamum indicum Tissue Cultures," Indian J. Pharm., 35(5), 163-164, 1973.
21. Wankhede, D.B., and Tharanathan, R.N., "Sesame (Sesamum indicum) carbohydrates," J. Agric. Food Chem., 24(3), 655-699, 1976.
22. Jain, S.C., "Isolation of Pedalin from Sesamum indicum L. Tissue Cultures," Agric. Biol. Chem., 45(9), 2127, 1981
23. เต็ม สมิตินันท์. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย (ชื่อพฤกษศาสตร์-ชื่อพื้นเมือง)
กรุงเทพมหานคร: สภาเกษมทรัพย์ แพนนี, 2523. หน้า 312.
24. Helm, C. Flowering plants of the world. London & Sydney: Viteywood, 1978. pp.263-268.
25. อาภาพ บงบุญเกิด. วัชพืชบางชนิดในนาข้าว (Some Weeds in Paddy Field).
สาขาพฤกษศาสตร์ กองวิชาการ กรมวิชาการเกษตร: 2518. หน้า 60.
26. Perry, L.M. Medicinal Plants of East and Southeast Asia
Attributed Properties and Uses. London: The Mit Press, 1980. pp.98.

27. Chandrasena, P.P.N.K., and Perera, D.N., "The Allelopathic Potential of Torpedograss (Panicum repens L.) Proceeding 2," The Eleventh Conference of the Asian-Pacific Weed Science Society, 581-591, Taipei, Republic of China, 1987.
28. Premasthira, C., Zungsonthiporn, S., and Harada, J., "Plant Growth Inhibiting Effects of Weed Species with Reference to Allelopathy Proceeding I," The Tenth Conference of the Asian-Pacific Weed Science Society, 458-462, Thailand, 1985.
29. Pouchert, C.J., The Aldrich Library of Infrared Spectra, Chemical Company, USA., 2nd ed., 1975.
30. Pouchert, C.J., Sadtler Standard ¹³C NMR Spectra, Sadtler Research Laboratories, 1976.
31. David, Y. Eugene, G. and Sergio, N., "Pharmaceuticals for the Topical Treatment of Skin Inflammatory Disorders," Eur. Pat. Appl. EP, 178, 62.3 (CL. A61K35/78), April 23, 1986.
32. วรินทร์ ชาศิริ, "องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของโงกทางใบเล็ก," วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, ภาควิชาเคมี, บัณฑิตวิทยาลัย, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, หน้า 157-160, 2531.
33. Gogrej, N.B. and Thakur, M.S., "Plant Growth Promotor," Brit. UK. Pat. App. GB. 2, 144, 728, March, 13, 1985.
34. Greger, H., and Hofer, O., "New Unsymmetrically Substituted Tetrahydrofuran Lignans from Artemisia Absinthium," Tetrahedron, 36, 3551-3558, 1980.
35. Haslam, E., "The Stereochemistry of Sesamolol," J. Chem. Soc. (C),

36. Pouchert, C.J. The aldrich library of infrared spectra, 2nd ed.
U.S.A.: Aldrich Chemical Company, 1975.
37. ประไพพิศ กิจชนะชัย. องค์ประกอบทางเคมีในกิ่งชะเอม. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร-
มหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2531.
38. Shannon, J.S. Studies in mass spectrometry, Triterpenoid:
Ifflatonio acid. Aust. J. Chem. 15 (1963): pp. 683-689.
39. Oscar, B., Macro, A.J., Juan, F.S. and Juan, S.P. 8-Methoxy-
flavones and coumarins from *Artemisia incanescens*.
Phytochemistry. 25 (1986): pp. 2357-2360.
40. Rodriguez, E., Carman, N.J., Vander, V.G., McReynolds, J.H. and
Mabry, T.J. Methoxylated flavonoids from *artemisia*.
Phytochemistry. 11 (1972): pp. 3509-3514.

