

บทที่ 2

การทดลองและผลการทดลอง

2.1 พืชตัวอย่าง

นารากิขนาดซึ่งตากแห้ง จากอำเภอพนมสารคาม จังหวัดฉะเชิงเทรา
มาดเป็นผงละเอียด

2.2 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

2.2.1 Rotary vacuum evaporator

ของบริษัท Tokyo Rikakikai ประเทศญี่ปุ่น

2.2.2 Fisher John Melting point Apparatus

ของบริษัท Fisher Scientific

2.2.3 Infrared Spectrophotometer Model 781

ของบริษัท Perkin Elmer ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.2.4 Mass Spectrometer Model JMS-DX 300

ของบริษัท Jeol ประเทศญี่ปุ่น

2.2.5 Fourier Transform Nuclear Magnetic Resonance

Spectrometer Model JNM-FX 90 Q

ของบริษัท Joel ประเทศญี่ปุ่น

2.2.6 Welch Duo-Seal Vacuum pump Model 1400

ของบริษัท Sargent Welch Scientific Co., Ltd.

ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.3 สารเคมี

2.3.1 ตัวทำละลาย กลั่นจากคอมเมอร์เชียลเกรด ได้แก่

เฮกเซน, คลอโรฟอร์ม, เมทานอล, เอทานอล, แอซิโตน

2.3.2 ตัวดูดซับ ได้แก่

ซิลิกาเจลชนิด 60 Art 7731 ของบริษัท E.Merck

สำหรับทีนแลร์โครมาโทกราฟี

ซิลิกาเจลชนิด 60 Art 9385 ของบริษัท E.Merck

สำหรับควิคคอล์มโครมาโทกราฟี

ซิลิกาเจลชนิด 60 Art 7734 ของบริษัท E.Merck

สำหรับคอล์มโครมาโทกราฟี

2.4 เทคนิคต่าง ๆ ที่ใช้ในการทดลอง

2.4.1 ทีนแลร์โครมาโทกราฟี (TLC)

ตัวดูดซับ	ซิลิกาเจลชนิด 60 Art 7731 ผสมในอัตราส่วน 30 กรัม / น้ำ 70 มิลลิลิตร
ตัวทำละลาย	คลอโรฟอร์ม : แอซิโตน 90 : 10 (โดยปริมาตร)
ความหนาของซิลิกาเจล	0.25 มิลลิเมตร
ขนาดของแผ่นกระจก	5 x 20 เซนติเมตร, 10 x 20 เซนติเมตร, 20 x 20 เซนติเมตร
กระดาษกรอง	เบอร์ 1 (แผ่นใหญ่)

วิธีทดลอง

เตรียมแผ่นกระจกใส่ในรางที่ใช้สำหรับวางเพลท เช็ดด้วยแอซิโตน และเมทานอลตามลำดับ (เพื่อให้แผ่นกระจกสะอาดและซิลิกาเจลเกาะติดได้ดี)

ผสมซิลิกาเจลกับน้ำ เขย่าให้เข้ากันอย่างรวดเร็ว (ภายใน 5 นาที) แล้วเทลงใน Desaga Spreader ซึ่งปรับความหนาที่ 0.25 มิลลิเมตร ลากผ่านให้ซิลิกาเจลเคลือบบนแผ่นกระจกอย่างสม่ำเสมอ บดอย่าให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำบอบที่อุณหภูมิ 110 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จะได้โครมาโทเพลท (Chromatoplate)

สำหรับภาชนะที่ Develop ใช้อ่างแก้วสี่เหลี่ยมผืนผ้ามีฝาปิดขนาด 8 x 25 เซนติเมตร ใส่กระดาษกรองให้แนบผิวทั้ง 3 ด้าน ของอ่างแก้ว เติมตัวทำละลายลงไป ปิดฝา

แล้วเอียงให้ตัวทาละลายซึมผ่านกระดาษกรองทั่วทั้งแผ่น เพื่อให้ภายในอ่างแก้วอึดตัวด้วยไอของตัวทาละลาย

นำแผ่นโครมาโทเพลทมาแฉกด้วยกระดาษ โดยใช้หลอด Capillary tube ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.05 เซนติเมตร แฉกที่ตรงกลางที่ต้องการตรวจสอบบนโครมาโทเพลท ให้แต่ละจุดห่างกันไม่น้อยกว่า 1 เซนติเมตร ด้านบนขีด Solvent front ห่างจากจุดที่แฉกสารประมาณ 10-15 เซนติเมตร บดอย่าให้แห้งแล้วนำไป Develop โดยจุ่มโครมาโทเพลทลงในอ่างแก้วที่อึดตัวด้วยตัวทาละลาย ปิดฝาห้องให้ตัวทาละลายซึมขึ้นไปถึงขีด Solvent front จึงนำโครมาโทเพลทออกทิ้งไว้ให้ตัวทาละลายระเหยแห้ง แล้วนำไปใส่ในภาชนะปิดที่ใส่เกลือดีไฮดรอกไซด์ ทิ้งไว้สักครู่ ตำแหน่งของสาร จะปรากฏเป็นจุดสีน้ำตาลอย่างชัดเจน

2.4.2 ควิกคอลัมน์โครมาโทกราฟี (Quick Column Chromatography)

ตัวดูดซับ ซิลิกาเจลชนิด 60 Art 9385

ตัวทาละลาย เฮกเซน, คลอโรฟอร์ม, เมทานอล

ชนิดคอลัมน์ Sintered glass เบอร์ 3 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 13 เซนติเมตร

กระดาษกรอง เบอร์ 1

วิธีทดลอง

วิธีนี้เป็นการแยกสารออกเป็นกลุ่มใหญ่ก่อน เพื่อความรวดเร็วในการแยกสารออกเป็นกลุ่มย่อย ด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีต่อไป

นำ Sintered glass วางบนขวดดูดซึ่งต่อกับปั๊มแล้ววางกระดาษกรองซึ่งตัดขอบให้พอดีแล้วลงไป โดยให้ขอบกระดาษติดแนบกับขอบ Sintered glass บรรจุซิลิกาเจลลงไปให้สูงประมาณ 4-5 เซนติเมตร กดให้แน่นและปรับผิวหน้าให้เรียบสม่ำเสมอ เทตัวทาละลายเฮกเซนลงไป ขณะทดลองเปิดปั๊มให้ตลอดเวลา เพื่อให้ตัวทาละลายไหลผ่านขวดดูด ให้ซิลิกาเจลอัดตัวแน่นยิ่งขึ้น

นำสิ่งสกปรกที่ต้องการแยกมาคลุกซิลิกาเจลให้เข้ากัน (อัตราส่วนสิ่งสกปรก 1 กรัม/ซิลิกาเจล 10 กรัม) โดยต้องบดและร่อนให้สิ่งสกปรกและซิลิกาเจลเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วบรรจุลงในคอลัมน์และปรับผิวหน้าให้เรียบ วางแผ่นกระดาษกรองซึ่งตัดด้านในเป็นรูปพื้นปาลลงไว้ เพื่อรักษาระดับผิวหน้าให้เรียบขณะเทตัวทาละลาย

ต่อจากนั้นเทตัวทาละลายผ่านคอลัมน์อย่างช้า ๆ โดยเริ่มจากเฮกเซน, คลอโรฟอร์ม, คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (อัตราส่วนโดยปริมาตร 99:1, 98:2, 97:3, 96:4 และ 95:5) และเมทานอล เก็บตัวทาละลายที่ผ่านออกมาครั้งละ 300 มิลลิลิตร

2.4.3 คอลัมน์โครมาโทกราฟี (Column Chromatography)

ตัวดูดซับ	ซิลิกาเจลชนิด 60 Art 7734 (น้ำหนักซิลิกา 30 กรัม / สารที่ต้องการแยก 1 กรัม)
ชนิดคอลัมน์	คอลัมน์แก้ว ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4.5 เซนติเมตร ยาว 120 เซนติเมตร
ตัวทาละลาย	คลอโรฟอร์ม, เมทานอล
อัตราส่วนตัวทาละลาย	คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (อัตราส่วนโดยปริมาตร)
	99 : 1
	98 : 2
	97 : 3
	96 : 4
	95 : 5

ปริมาตรของตัวทาละลายที่รองรับแต่ละครั้ง 50 มิลลิลิตร

วิธีทดลอง

นำคอลัมน์แก้วมาอุดปลายล่างซึ่งเร็ววเล็กด้วยสำลีเพียงเล็กน้อย แล้วบรรจุตัวทาละลายคลอโรฟอร์มลงไปประมาณ 1/3 ของคอลัมน์ เปิดที่เปิดปิดปลายล่างให้ตัวทาละลายไหลผ่านออกมาเพื่อไล่ฟองอากาศออกไป

ผสมซิลิกาเจลกับคลอโรฟอร์ม คนให้เข้ากันแล้วเทลงในคอลัมน์ เปิดที่เปิดปิดให้ตัวทาละลายไหลออกไปอย่างช้า ๆ พร้อมกับเคาะคอลัมน์เบา ๆ อย่างสม่ำเสมอ เพื่อให้ซิลิกาเจลอัดตัวกันแน่นยิ่งขึ้น เทซิลิกาเจลจนหมด (ต้องระวังอย่าให้มีฟองอากาศค้างในคอลัมน์ แต่ถ้ามีให้ใช้แท่งแก้วยาว คนลงไป ฟองอากาศก็จะลอยตัวขึ้นมา) จากนั้นปล่อยให้ตัวทาละลายส่วนบนของผิวซิลิกาเจลลดลงจนเหลือประมาณ 0.1 เซนติเมตร จึงปิดที่เปิดปิดด้านล่างให้หลอดหยดสารดูดสารที่ต้องการแยก แล้วค่อย ๆ หยดสารลงไป โดยรักษาระดับผิวหน้าของซิลิกาเจลให้เรียบเสมอ เปิดที่เปิดปิดด้านล่าง ให้สารที่ต้องการแยกซึมเข้าในซิลิกาเจลช้า ๆ จนเหลือประมาณ

0.1 เซนติเมตร (ระวางอย่าให้ผิวหน้าแห้ง) ตัดกระดาษกรองให้พอดี แล้ววางซ้อนบนผิวหน้า วัสดุสีปิ๊ดอีกชั้นหนึ่ง

ต่อจากนั้นใช้ตัวทาละลายกระดาษที่ต้องการแยกออกมา โดยเริ่มจาก คลอโรฟอร์ม, คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (ในอัตราส่วนต่าง ๆ ดังกล่าว) และรองรับตัวทาละลายซึ่งถูกชะออกมาในปริมาณเท่า ๆ กัน จนกว่าสารที่ต้องการแยกจะถูกชะออกมาจนหมด

นำตัวทาละลายที่แยกออกมาได้ ไปกลั่นระเหยตัวทาละลายที่มากเกินไปออก แล้วนำมา ทำ TLC เพื่อหาตำแหน่งของสาร จากนั้นรวมสารที่แยกได้เป็นกลุ่ม ๆ โดยอาศัยตำแหน่งของ สารในการแบ่งกลุ่ม และทำการแยกสารให้บริสุทธิ์ต่อไป

2.5 การสกัด

นำรากพืชขนาดซึ่งตากแห้งแล้ว มาบดเป็นผงละเอียดแล้วนำมาแช่สกัดด้วยตัวทาละลาย 95 % เอทานอล แช่ไว้ 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมากรองแยกกากออก และดำเนินการตามขั้นตอนต่อไปนี้

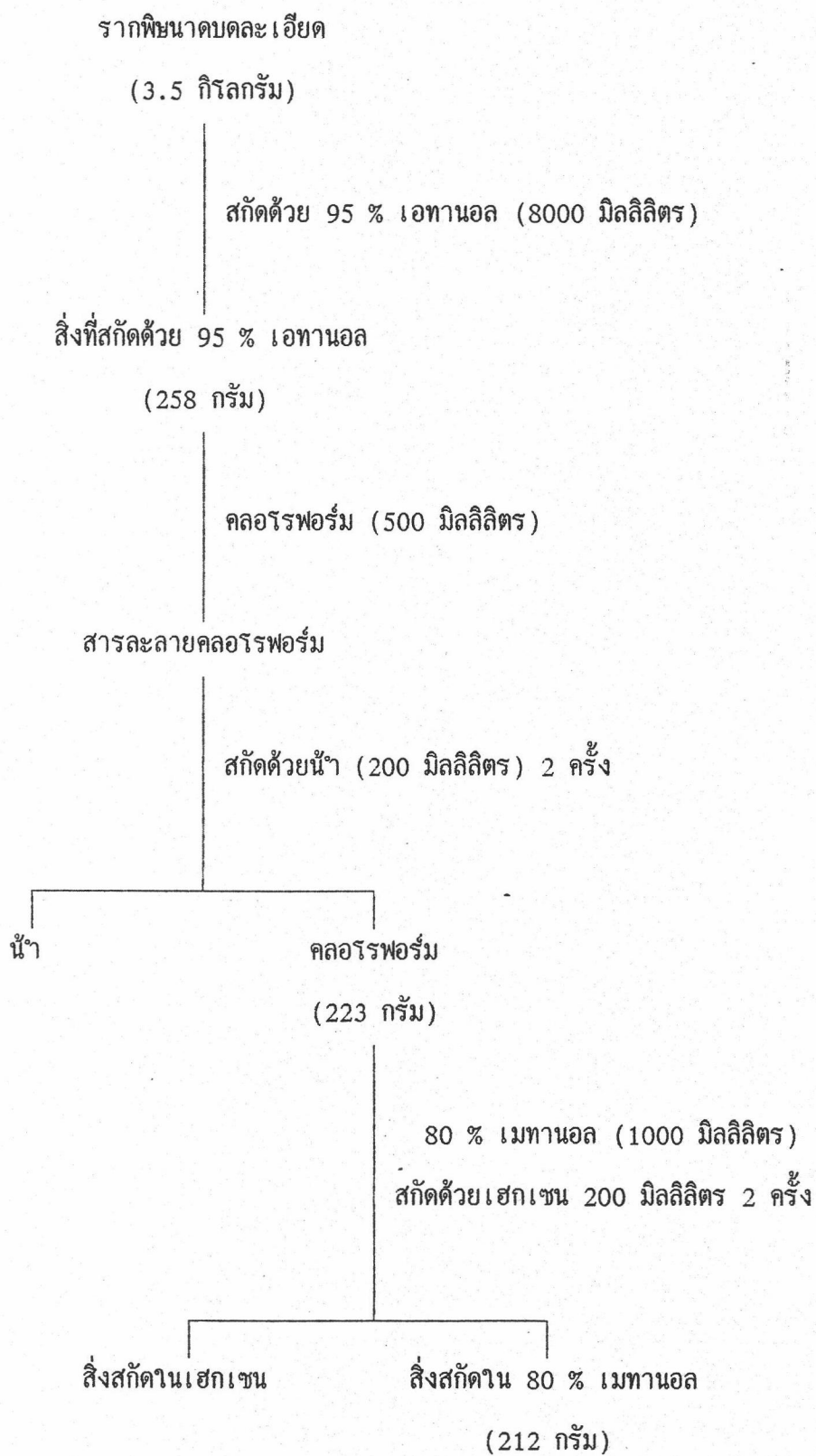
2.5.1 นำสารละลายที่สกัดออกมาได้ ไปกลั่นแบบลดความดัน ด้วยเครื่องระเหย สูญญากาศแบบหมุนจนแห้ง จะได้สิ่งสกัดขึ้นเหน็ดสีน้ำตาล 258 กรัม ต่อจากนั้นนำไปละลายใน คลอโรฟอร์มปริมาตร 500 มิลลิลิตร โดยกวนบนอ่างน้ำเดือดให้สิ่งสกัดละลายในคลอโรฟอร์ม จนเข้ากันดี แล้วนำมากรองเพื่อให้สะอาดขึ้น

2.5.2 นำสิ่งสกัดในสารละลายคลอโรฟอร์ม มาเขย่ากับน้ำปริมาตร 200 มิลลิลิตร 2 ครั้ง เพื่อขจัดสาร inorganic ออกไป เก็บส่วนของคลอโรฟอร์มไปกลั่นแบบลดความดันเพื่อ ระเหยตัวทาละลายออกจนแห้ง จะได้สิ่งสกัดขึ้นเหน็ดสีน้ำตาล 223 กรัม

2.5.3 นำสิ่งสกัดมาละลายใน 80 % เมทานอล ในน้ำปริมาตร 1 ลิตร แล้วสกัด ด้วยเฮกเซนปริมาตร 200 มิลลิลิตร 2 ครั้ง เพื่อขจัดส่วนของ oil และ wax ที่เจือปนอยู่

2.5.4 นำสิ่งสกัดใน 80 % เมทานอลในน้ำ มากลั่นแบบลดความดันเพื่อระเหย ตัวทาละลายออกจนแห้ง จะได้สิ่งสกัดขึ้นเหน็ดสีน้ำตาล 212 กรัม

แผนภาพที่ 1 แสดงขั้นตอนการสกัดรากพืชขนาดโดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ



ในการทาวิจัยครั้งนี้จะศึกษาสิ่งสกัดใน 80 % เมทานอล

2.6 การแยกสารของสิ่งสกัดจาก 80 % เมทานอล ของรากพืชชนิด

นำสิ่งสกัดจาก 80 % เมทานอล มาระเหยเมทานอลออกจะได้ Crude product สีน้ำตาลเข้มหนัก 212 กรัม จากนั้นนำมา 22.04 กรัม ใช้เทคนิคของควิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี แล้วผ่านตัวทาละลายชนิดต่าง ๆ โดยใช้ปริมาตร 300, 500 มิลลิลิตร ตามความเหมาะสม

ตัวทาละลายที่ใช้

1. เฮกเซน
2. คลอโรฟอร์ม
3. คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (อัตราส่วนโดยปริมาตร)

99 : 1

98 : 2

97 : 3

96 : 4

95 : 5

4. เมทานอล

ผลการแยกสารของสิ่งสกัดจาก 80 % เมทานอลแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1

ลำดับ ส่วนที่	ตัวทาละลาย (อัตราส่วนโดยปริมาตร)	ตัวทาละลาย ที่ใช้ (มิลลิลิตร)	ลักษณะของสาร	น้ำหนัก (กรัม)
1	เฮกเซน	300	น้ำมันสีน้ำตาลอ่อน	0.93
2	คลอโรฟอร์ม	300	ของแข็งสีน้ำตาล	2.95
3	คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (99:1)	500	ของแข็งสีน้ำตาลเข้ม	2.54
4	คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (98:2)	500	ของแข็งสีน้ำตาลเข้ม	3.68
5	คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (97:3)	500	ของแข็งสีน้ำตาลเข้ม	4.72
6	คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (96:4)	500	ของแข็งสีน้ำตาลเข้ม	2.38
7	คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (95:5)	500	ของแข็งสีน้ำตาลเข้ม	1.80
8	เมทานอล	300	ของแข็งสีดำ	2.74

หลังจากนั้นนำแต่ละลำดับส่วนไปแยกให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ดังต่อไปนี้

2.6.1 การแยกสารลำดับส่วนที่ 2 จากควิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี

นำสารลำดับส่วนที่ 2 จากข้อ 2.6 หน้า 2.95 กรัม มาทำการแยกโดยใช้เทคนิคของคอลัมน์โครมาโทกราฟี และรองรับสารละลายไว้ครั้งละ 50 มิลลิลิตร

ผลการแยกสารของลำดับส่วนที่ 2 จากควิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีแสดงในตารางที่ 2.2 ตารางที่ 2.2

ตัวทำละลาย (อัตราส่วนโดยปริมาตร)	ลำดับส่วนที่	ลักษณะของสาร	น้ำหนัก (กรัม)
คลอโรฟอร์ม	1-4	น้ำมันสีเหลืองอ่อน	0.03
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (99:1)	5-10	น้ำมันสีเหลืองปนของแข็งสีขาว	0.37
	11-16	ของแข็งสีเหลือง	0.55
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (98:2)	17-26	ของแข็งสีเหลือง	0.83
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (97:3)	27-38	คราบของแข็งสีเหลืองเข้ม	0.24
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (96:4)	39-50	คราบน้ำมันสีน้ำตาลอ่อน	0.39

ทำ TLC แล้วนำลำดับส่วนที่ 11-16 และ 17-26 มารวมกันและทำการแยกโดยใช้เทคนิคของคอลัมน์โครมาโทกราฟีอีกครั้ง และรองรับสารละลายที่ชะครั้งละ 50 มิลลิลิตร

ผลการแยกสารของลำดับส่วนที่ 11-16 และ 17-26 แสดงในตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3

ตัวทำละลาย (อัตราส่วนโดยปริมาตร)	ลำดับส่วนที่	ลักษณะของสาร	น้ำหนัก (กรัม)
คลอโรฟอร์ม	1-3	ของแข็งสีเหลืองอ่อน	0.04
	4-10	ของแข็งสีเหลือง	0.34
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (99:1)	11-16	ของแข็งสีเหลือง	0.54
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (98:2)	17-23	ของแข็งสีเหลืองบนน้ำมันสีเหลือง	0.23
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (97:3)	24-30	น้ำมันสีเหลืองเข้ม	0.14
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (96:4)	31-36	น้ำมันสีเหลืองเข้ม	0.11

หลังจากทำ TLC แล้ว นำสารลำดับส่วนที่ 4-10 และ 11-16 มารวมกัน นำไปกลั่นแบบลดความดันเพื่อระเหยตัวทำละลายออกบางส่วน ตั้งทิ้งไว้ให้ตกผลึก จะปรากฏเป็นของแข็งสีเหลืองอ่อนในน้ำหนัก 0.54 กรัม เป็นสารที่ 1 มีสมบัติดังนี้

ลักษณะ ของแข็งอสัณฐานสีเหลือง ใส

จุดหลอมเหลว 59-60 °C

R_f 0.75 (คลอโรฟอร์ม : แอซีโตน 9 : 1 โดยปริมาตร)

2.6.2 การแยกสารลำดับส่วนที่ 3 จากควิคคอลลัมน์โครมาโทกราฟี

นำสารลำดับส่วนที่ 3 จากข้อ 2.6 หน้า 2.54 กรัม มาทำการแยกโดยใช้เทคนิคของคอลัมน์โครมาโทกราฟี แล้วรองรับสารละลายที่ชะครั้งละ 50 มิลลิลิตร

ผลการแยกสารของลำดับส่วนที่ 3 จากควิคคอลลัมน์โครมาโทกราฟีแสดงในตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4

ตัวทาละลาย (อัตราส่วนโดยปริมาตร)	ลำดับส่วนที่	ลักษณะของสาร	น้ำหนัก (กรัม)
คลอโรฟอร์ม	1-4	น้ำมันสีเหลืองอ่อน	0.03
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (99:1)	5-10	น้ำมันสีเหลืองปนของแข็งสีเหลือง	0.04
	11-16	น้ำมันสีเหลืองปนของแข็งสีเหลือง	0.08
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (98:2)	17-24	ของแข็งสีเหลือง	0.29
	25-34	น้ำมันสีเหลืองเข้ม	0.57
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (97:3)	35-39	คราบน้ำมันสีเหลืองเข้ม	0.09
	40-45	คราบน้ำมันสีเหลืองอ่อน	0.07
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (96:4)	46-53	คราบน้ำมันสีน้ำตาล	0.34
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (95:5)	54-63	คราบสีน้ำตาล	0.21

หลังจากทำ TLC แล้ว นำสารลำดับส่วนที่ 11-16, 17-24 และ 25-34 มารวมกัน ทำการแยกสารโดยใช้คอลัมน์โครมาโทกราฟีอีกครั้ง และรับสารละลายที่ชะครั้งละ 50 มิลลิลิตร ผลการแยกสารของลำดับส่วนที่ 11-16, 17-24 และ 25-34 แสดงในตารางที่ 2.5

ตารางที่ 2.5

ตัวทำละลาย (อัตราส่วนโดยปริมาตร)	ลำดับส่วนที่	ลักษณะของสาร	น้ำหนัก (กรัม)
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (99:1)	1-4	คราบน้ำมันสีเหลือง	0.03
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (98:2)	5-10	ของแข็งสีขาว	0.05
	11-20	ของแข็งสีน้ำตาล	0.07
	21-32	คราบน้ำตาลปนของแข็งสีน้ำตาล	0.23
	33-45	ของแข็งสีน้ำตาล	0.17
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (97:3)	46-59	ของแข็งสีน้ำตาล	0.17
	60-74	คราบน้ำมันสีน้ำตาล	0.12
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (96:4)	75-99	คราบน้ำตาล	0.05

ทำ TLC แล้วนำลำดับส่วนที่ 11-20, 21-32 และ 33-45 มารวมกันและกลั่นแบบลดความดันเพื่อระเหยตัวทำละลายออกบางส่วน ที่งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ประมาณ 48 ชั่วโมง จะปรากฏของแข็งสีน้ำตาลอ่อน นำไปกรอง แล้วนำของแข็งที่ได้มาละลายในคลอโรฟอร์มปริมาตรเล็กน้อย ที่งไว้ 48 ชั่วโมง นำไปกรอง และตกผลึกซ้ำอีกครั้งในคลอโรฟอร์ม จะได้ของแข็งอสีฐานสีน้ำตาลหนัก 0.39 กรัม เป็นสารที่ 2 มีสมบัติดังนี้

ลักษณะ ของแข็งอสีฐานสีน้ำตาลอ่อน
จุดหลอมเหลว 169-172 °C
R_f 0.63 (คลอโรฟอร์ม : แอซีโตน 9 : 1 โดยปริมาตร)

2.6.3 การแยกสารลำดับส่วนที่ 4 จากควิคคอลลัมน์โครมาโทกราฟี

นำสารลำดับส่วนที่ 4 หนัก 3.68 กรัม จากข้อ 2.6 มาทำการแยกด้วยเทคนิคคอลลัมน์โครมาโทกราฟี แล้วรองรับสารที่ชะครั้งละ 50 มิลลิลิตร

ผลการแยกสารลำดับส่วนที่ 4 จากควิคคอลลัมน์โครมาโทกราฟี แสดงในตารางที่ 2.6

ตารางที่ 2.6

ตัวทำละลาย (อัตราส่วนโดยปริมาตร)	ลำดับส่วนที่	ลักษณะของสาร	น้ำหนัก (กรัม)
คลอโรฟอร์ม	1-4	คราบน้ำมันสีเหลืองอ่อน	0.12
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (99:1)	5-10	น้ำมันสีเหลือง	0.19
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (98:2)	11-20	คราบน้ำมันสีเหลืองปนของแข็งสีส้ม	0.23
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (97:3)	21-30	คราบน้ำมันสีส้มปนของแข็งสีขาว	0.95
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (96:4)	31-40	ของแข็งสีขาว	0.20
	41-48	ของแข็งสีขาว	0.29
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (95:5)	49-58	คราบน้ำมันสีส้ม	0.03
	59-60	คราบน้ำมันสีส้มอ่อน	0.11

ทำ TLC แล้วนำลำดับส่วนที่ 21-30, 31-40 และ 41-48 มารวมกันเติมตัวทำละลาย คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (95:5) ปริมาตรเล็กน้อยแล้วนำไปอยู่ในอ่างน้ำร้อน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 48 ชั่วโมง จะปรากฏผลึกรูปเข็มสีขาวนวลเป็นมันวาวเกิดขึ้น นำไปกรองผ่านที่กรองดูดโดยใช้กระดาษกรองเบอร์ 1 แล้วล้างผลึกด้วยคลอโรฟอร์มปริมาตรเล็กน้อย จนผลึกสะอาดดี ตักผลึกซ้ำอีกครั้งแล้วทิ้งไว้ให้แห้งจะได้ผลึกรูปเข็มสีขาวหนัก 0.59 กรัม เป็นสารที่ 3 มีสมบัติดังนี้

ลักษณะ ผลึกรูปเข็ม สีขาว มันวาว

จุดหลอมเหลว 234-235 °C (สลายตัว)

R_f 0.45 (คลอโรฟอร์ม : แอซีโตน 9 : 1 โดยปริมาตร)

2.6.4 การแยกสารลำดับส่วนที่ 5 จากควิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี

นำสารลำดับส่วนที่ 5 จากข้อ 2.6 หนัก 4.72 กรัม มาทำการแยกโดยเทคนิคของคอลัมน์โครมาโทกราฟี แล้วรองรับสารละลายที่ชะครั้งละ 50 มิลลิลิตร

ผลการแยกสารของลำดับส่วนที่ 5 จากควิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีแสดงในตารางที่ 2.7

ตารางที่ 2.7

ตัวทาละลาย (อัตราส่วนโดยปริมาตร)	ลำดับส่วนที่	ลักษณะของสาร	น้ำหนัก (กรัม)
คลอโรฟอร์ม	1-4	คราบน้ำมันสีเหลืองอ่อน	0.10
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (99:1)	5-10	คราบน้ำมันสีเหลือง	0.09
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (98:2)	11-16	คราบน้ำมันสีเหลืองบนของแข็งสีขาว	0.26
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (97:3)	17-24	คราบน้ำมันสีส้มบนของแข็งสีขาว	0.34
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (96:4)	25-34	คราบน้ำมันสีส้มบนของแข็งสีขาว	1.72
	35-45	คราบน้ำมันสีส้มอ่อน	0.14
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (95:5)	46-58	คราบน้ำมันสีส้มอ่อน	0.83
	59-93	คราบน้ำมันสีน้ำตาล	0.75
	94-109	คราบน้ำมันสีดำ	0.47

ทำ TLC แล้วนำลำดับส่วนที่ 17-24, 25-34, 35-45 และ 46-58 มารวมกัน
นำไปกลั่นแบบลดความดัน เพื่อระเหยตัวทาละลายออกไปบางส่วน จากนั้นนำมาแยกด้วยเทคนิค
คอลัมน์โครมาโทกราฟีอีกครั้ง และรองรับสารละลายที่ชะครั้งละ 50 มิลลิลิตร

ผลการแยกของสารลำดับส่วนที่ 17-24, 25-34, 35-45 และ 46-58 แสดงใน
ตารางที่ 2.8

ตารางที่ 2.8

ตัวทาละลาย (อัตราส่วนโดยปริมาตร)	ลำดับส่วนที่	ลักษณะของสาร	น้ำหนัก (กรัม)
คลอโรฟอร์ม	1-4	คราบน้ำมันสีเหลืองอ่อน	0.05
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (99:1)	5-10	คราบน้ำมันสีเหลือง	0.01
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (98:2)	11-19	คราบน้ำมันสีส้มปนของแข็งสีน้ำตาล	0.02
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (97:3)	20-34	คราบน้ำมันสีส้มปนของแข็งสีน้ำตาล	0.49
	35-48	คราบน้ำมันสีส้มปนของแข็งสีน้ำตาล	0.59
	49-63	น้ำมันสีส้มปนของแข็งสีขาว	0.23
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (96:4)	64-93	น้ำมันสีส้มปนของแข็งสีขาว	0.67
	93-101	คราบน้ำมันสีส้ม	0.34
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (95:5)	102-110	คราบน้ำมันสีส้มอ่อน	0.41
	111-119	คราบน้ำมันสีเหลืองใส	0.17

นำลำดับส่วนที่ 35-48, 49-63 และ 64-93 มารวมกันแล้วนำไปกลั่นแบบลดความดัน เพื่อระเหยตัวทาละลายออกบางส่วน จากนั้นทิ้งไว้ 48 ชั่วโมง จะปรากฏของแข็งขุ่นสีน้ำตาล เกิดขึ้น นำมาตกผลึกซ้ำโดยใช้ตัวทาละลาย คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (95:5 โดยปริมาตร) จำนวนเล็กน้อยแล้วตั้งทิ้งไว้อีกครั้งให้ตกผลึกใหม่ 48 ชั่วโมง จะปรากฏของแข็งสีขาวแยกตัวออกมาจากสารละลายสีน้ำตาล นำไปกรองด้วยเครื่องกรองแบบดูด และล้างให้สะอาดด้วย คลอโรฟอร์มปริมาตรเล็กน้อย ตกผลึกซ้ำอีกครั้ง บ่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้องจะได้ของแข็งสีขาวหนัก 0.87 กรัม เป็นสารที่ 4 มีลักษณะดังนี้

ลักษณะ ของแข็งสีขาว เม็ดกลม

จุดหลอมเหลว 169-171 °C

R_f 0.60 (คลอโรฟอร์ม : แอซีโตน 9 : 1 โดยปริมาตร)

2.6.5 การแยกสารลำดับส่วนที่ 6 จากควิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี

นำสารลำดับส่วนที่ 6 จากข้อ 2.6 หน้า 2.38 กรัม มาทำการแยกโดยใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี แล้วรองรับสารละลายที่ชะครั้งละ 50 มิลลิลิตร

ผลการแยกสารลำดับส่วนที่ 6 จากควิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีแสดงในตารางที่ 2.9 ตารางที่ 2.9

ตัวทาละลาย (อัตราส่วนโดยปริมาตร)	ลำดับส่วนที่	ลักษณะของสาร	น้ำหนัก (กรัม)
คลอโรฟอร์ม	1-6	คราบน้ำมันสีเหลือง	0.05
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (99:1)	7-12	คราบน้ำมันสีเหลืองอ่อน	0.09
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (98:2)	13-23	คราบน้ำมันสีเหลืองปนของแข็งสีขาว	0.18
	24-29	คราบน้ำมันสีส้ม	0.17
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (97:3)	30-38	คราบน้ำมันสีส้มอ่อน	0.12
	39-44	คราบน้ำมันสีส้มปนของแข็งสีน้ำตาล	0.19
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (96:4)	45-60	คราบน้ำมันสีน้ำตาล	0.17
	61-70	คราบน้ำมันสีส้มเข้ม	0.05
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (95:5)	71-86	คราบน้ำมันสีส้มเข้ม	0.15
	87-98	คราบของแข็งสีน้ำตาล	0.30
	99-111	คราบของแข็งสีดำ	0.23

ทำ TLC แล้วนำสารลำดับส่วนที่ 30-38, 39-44, 45-60, 61-70 และ 71-86 มารวมกัน แล้วนำไปกลั่นแบบลดความดัน เพื่อระเหยตัวทาละลายออกบางส่วน และใช้เทคนิคทางคอลัมน์โครมาโทกราฟีอีกครั้ง ให้นำได้สารบริสุทธิ์โดยรองรับสารละลายที่ชะครั้งละ 50 มิลลิลิตร

ผลการแยกสารลำดับส่วนที่ 30-38, 39-44, 45-60, 61-70 และ 71-86 แสดงในตารางที่ 2.10

ตารางที่ 2.10

ตัวทาละลาย (อัตราส่วนโดยปริมาตร)	ลำดับส่วนที่	ลักษณะของสาร	น้ำหนัก (กรัม)
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (99:1)	1-8	คราบน้ำมันสีเหลือง	0.05
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (98:2)	9-12	คราบน้ำมันสีส้มปนของแข็งสีน้ำตาล	0.10
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (97:3)	13-28	คราบน้ำมันสีส้มปนของแข็งสีน้ำตาล	0.15
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (96:4)	29-40	คราบน้ำมันสีส้มปนของแข็งสีน้ำตาล	0.11
	41-50	คราบน้ำมันสีส้ม	0.13
คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (95:5)	51-63	คราบน้ำมันสีน้ำตาล	0.05

ทำ TLC แก้วนาสารละลายส่วนที่ 13-28, 29-40 และ 41-50 มารวมกันแล้วนำไปกลั่นแบบลดความดัน เพื่อระเหยตัวทาละลายออกบางส่วน จากนั้นนำมาตั้งทิ้งไว้ในที่มืด ประมาณ 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง จะปรากฏผลึกรูปเข็มสีน้ำตาลใส เกาะกันเป็นกลุ่ม ๆ ในคราบน้ำมันสีน้ำตาล ใช้ Spectular ที่สะอาดชุบผลึกเหล่านี้ออกมาละลายในคลอโรฟอร์มเพื่อล้างผลึกให้สะอาด จากนั้นนำไปกรองด้วยเครื่องกรองตุลล้างผลึกด้วยคลอโรฟอร์มอีกครั้งปริมาตรเล็กน้อย จนผลึกสะอาดดี ตกผลึกซ้ำอีกครั้งด้วยตัวทาละลาย คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (95 : 5) โดยปริมาตร จะได้ผลึกหนัก 0.27 กรัม เป็นสารที่ 5 มีลักษณะดังนี้

ลักษณะ	ผลึกรูปเข็ม สีน้ำตาลใส
จุดหลอมเหลว	227-229 °C
R _f	0.53 (คลอโรฟอร์ม:แอซีโตน 9 : 1 โดยปริมาตร)

2.7 การตรวจสอบสมบัติทางเคมี กายภาพ และสเปกโทรสโกปี

2.7.1 การตรวจสอบสมบัติทางเคมี กายภาพ และสเปกโทรสโกปีของสารที่ 1

สมบัติทางเคมีและกายภาพ

ลักษณะ	เป็นของแข็งอสัณฐานสีเหลือง ใส เพราะ ไม่มีกลิ่น
จุดหลอมเหลว	59–60 °C
R _f	0.75 (คลอโรฟอร์ม : แอซิโตน 9 : 1 โดยปริมาตร)
องค์ประกอบทางเคมี	C 70.35 % H 6.85 % O 21.91 %
สูตรโมเลกุล	C ₂₆ H ₃₀ O ₆
น้ำหนักโมเลกุล	438
DBE	12

สมบัติทางสเปกโทรสโกปี

อินฟราเรดสเปกตรัม (KBr) รูปที่ 2 แสดงการดูดกลืนที่ความถี่ 3500 (O-H), 2950 (C-H), 1650 (C=O) และ 1310 (C-O) cm⁻¹

โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (CDCl₃) รูปที่ 3 ปรากฏสัญญาณของโปรตอนที่ δ 12.20 (s, 1H), 7.32 (s, 2H) ppm แสดงถึงโปรตอนที่เกาะกับออกซิเจนของหมู่ไฮดรอกซีในวงแฉะแมติก สัญญาณที่ 7.04 (t, 1H), 6.48 (d, 2H), 6.44 (s, 2H) ppm แสดงถึงโปรตอนของวงแฉะแมติก สัญญาณที่ 5.00 (d, 1H), 4.63 (d, 2H) ppm แสดงถึงโปรตอนที่เกาะกับคาร์บอนที่ต่อกันด้วยพันธะคู่ สัญญาณที่ 3.38 (s, 3H) ppm แสดงถึงโปรตอนในหมู่เมทอกซี (-OCH₃) สัญญาณที่ 1.63 (s, 3H), 1.59 (s, 3H) และ 1.26 (s, 3H) ppm แสดงถึงโปรตอนในหมู่เมทิล (-CH₃)

คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (CDCl₃) รูปที่ 4 ปรากฏสัญญาณ 26 สัญญาณของคาร์บอน 26 อะตอม คือ ที่ δ 197.76 ppm แสดงถึงคาร์บอนที่ต่อด้วยพันธะคู่กับออกซิเจนของหมู่คาร์บอนิล (C=O) สัญญาณที่ 147.92, 131.99, 122.89 และ 110.32 ppm แสดงถึงคาร์บอนที่ต่อกับพันธะคู่ สัญญาณที่ 158.18, 130.01, 108.59, 102.92 และ 93.42 ppm

แสดงถึงคาร์บอนที่ต่อกับพันธะคู่ในวงแอรอแมติก สัญญาณที่ 25.56, 18.74 และ 17.67 ppm แสดงถึงคาร์บอนของหมู่เมทิล ($-\text{CH}_3$)

แมสสเปคตรัม รูปที่ 10 ปรากฏพีคของไอออนเชิงโรมเลกุล (M^+) m/e 438 มีพีคการแตกตัวที่สำคัญคือ m/e 369, 315, 297, 179 และ 149

2.7.2 การตรวจสอบสมบัติทางเคมี กายภาพ และสเปคโตรสโคปีของสารที่ 2 สมบัติทางเคมีและกายภาพ

ลักษณะ	เป็นของแข็งอสัญฐานสีน้ำตาลอ่อน เปราะ มีกลิ่นหอม
จุดหลอมเหลว	143-145 °C
R_f	0.63 (คลอโรฟอร์ม : แอซีโตน 9 : 1 โดยปริมาตร)
องค์ประกอบทางเคมี	C 70.35 % H 6.85 % O 21.91 %
สูตรโมเลกุล	$\text{C}_{25} \text{H}_{28} \text{O}_7$
น้ำหนักโมเลกุล	440
DBE	12

สมบัติทางสเปคโตรสโคปี

อินฟราเรดสเปคตรัม (KBr) รูปที่ 11 แสดงการดูดกลืนที่ความถี่ 3400 (O-H), 2950 (C-H), 1650 (C=O), 1600, 1480 (C=C แอรอแมติก), 1375 (C-H), 1300 (C-O), 1080 (O-H) cm^{-1}

โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปคตรัม (DMSO) รูปที่ 12 ปรากฏสัญญาณของโปรตอนที่ 12.22 (s, 1H), 10.58 (s, 1H), และ 9.57 (s, 2H) ppm แสดงถึงโปรตอนที่เกาะกับออกซิเจนของหมู่ไฮดรอกซี ในวงแอรอแมติก (-OH) สัญญาณที่ 6.95 (t, 2H), 6.33 (d, 2H), 5.93 (s, 1H) และ 5.85 (d, 1H) ppm แสดงถึงโปรตอนที่เกาะอยู่กับวงแอรอแมติก สัญญาณที่ 4.86 (s, 1H) และ 4.51 (t, 2H) ppm แสดงถึงโปรตอนที่เกาะกับคาร์บอนที่ต่อกับพันธะคู่ สัญญาณที่ 1.50 (d, 3H), 1.43 (s, 3H) และ 1.21 (s, 3H) ppm แสดงถึงโปรตอนในหมู่เมทิล ($-\text{CH}_3$)

คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (DMSO) รูปที่ 13 ปรากฏสัญญาณ 26 สัญญาณของคาร์บอน 26 อะตอม ที่ 197.98 ppm แสดงถึงคาร์บอนที่ต่อกับออกซิเจนด้วยพันธะคู่ในหมู่คาร์บอนิล (C=O) สัญญาณที่ 147.91, 130.60, 123.47 และ 110.38 ppm แสดงถึงคาร์บอนที่ต่อกันด้วยพันธะคู่ สัญญาณที่ 106.75, 101.58 และ 94.85 ppm แสดงถึงคาร์บอนที่ต่อกับพันธะคู่ในวงแอรแมติก สัญญาณที่ 25.53, 18.42 และ 17.58 ppm แสดงถึงคาร์บอนของหมู่เมทิล ($-CH_3$)

แมสสเปกตรัม รูปที่ 18 ปรากฏพีคของไอออนเชิงบวก (M^+) m/e 440 มีพีคของการแตกตัวที่สำคัญคือ m/e 408, 301, 283, 267, 219, 165 และ 69

2.7.3 การตรวจสอบสมบัติทางเคมี กายภาพ และสเปกโทรสโกปีของสารที่ 3

สมบัติทางเคมี และกายภาพ

ลักษณะ	เป็นผลึกรูปเข็ม สีขาว มันวาว
จุดหลอมเหลว	234-235 °C (สลายตัว)
R _f	0.45 (คลอโรฟอร์ม : แอซีโตน 9 : 1 ภัยปริมาณ)
องค์ประกอบทางเคมี	C 67.92 % H 6.43 % O 25.64 %
สูตรโมเลกุล	C ₂₅ H ₂₈ O ₇
น้ำหนักโมเลกุล	440
DBE	12

สมบัติทางสเปกโทรสโกปี

อินฟราเรดสเปกตรัม (KBr) รูปที่ 19 แสดงการดูดกลืนที่ความถี่ 3425 (O-H), 2900, 2940 (C-H), 1640 (C=O), 1600, 1500 (C=C แอโรแมติก) และ 1150 (C-O) cm^{-1}

โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (DMSO) รูปที่ 20 ปรากฏสัญญาณของโปรตอนที่ 12.58 (s, 1H), 10.58 (s, 1H), 9.47 (s, 2H) และ 9.25 (s, 1H) ppm แสดงถึงโปรตอนที่เกาะกับออกซิเจนของหมู่ไฮดรอกซี ในวงแอรแมติก (-OH) สัญญาณที่ 4.97 (t, 1H), 4.58 (s, 1H) และ 4.50 (s, 1H) ppm แสดงถึงโปรตอนที่เกาะกับคาร์บอนที่ต่อกันด้วยพันธะคู่

(c=c) สัญญาณที่ 1.64 (s,3H), 1.59 (s,3H) และ 1.51 (s,3H) ppm เป็นสัญญาณของโปรตอนในหมู่เมทิล ($-CH_3$)

คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (DMSO) รูปที่ 21 ปรากฏสัญญาณ 25 สัญญาณของคาร์บอนทั้ง 25 อะตอมที่ 197.95 ppm แสดงถึงคาร์บอนที่ต่อกับออกซิเจน ของหมู่คาร์บอนิล (C=O) สัญญาณที่ 130.56, 129.76, 123.46 และ 110.72 ppm แสดงถึงคาร์บอนที่ต่อกับพันธะคู่ สัญญาณที่ 25.49, 18.41 และ 17.55 ppm แสดงถึงคาร์บอนของหมู่เมทิล ($-CH_3$)

แมสสเปกตรัม รูปที่ 26 ปรากฏพีคของไอออนเชิงโรมเลขที่ (M^+) m/e 440 มีพีคของการแตกตัวที่สำคัญคือ m/e 422, 317, 315, 299, 219, 191, 165, 126, 109, 81 และ 66

2.7.4 การตรวจสอบสมบัติทางเคมี กายภาพ และสเปกโทรสโคปีของสารที่ 4 สมบัติทางเคมีและกายภาพ

ลักษณะ	เป็นผลึกของแข็งรูปร่างกลม สีขาว (ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตร)
จุดหลอมเหลว	169-171 °C
R _f	0.60 (คลอโรฟอร์ม : แอซิโตน 9 : 1 โดยปริมาตร)
องค์ประกอบทางเคมี	C 73.58 % H 7.07 % O 22.64 %
สูตรโมเลกุล	C ₂₅ H ₂₈ O ₆
น้ำหนักโมเลกุล	424
DBE	12

สมบัติทางสเปกโทรสโคปี

อินฟราเรดสเปกตรัม (KBr) รูปที่ 27 แสดงการดูดกลืนที่ความถี่ 3400 (O-H), 2950 (C-H), 1300 (C-O), 1300 (C-O), 1280, 1340 และ 1010 (C-O) cm^{-1}

โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (DMSO) รูปที่ 28 ปรากฏสัญญาณของโปรตอนที่ 12.23 (s,1H), 10.56 (s,1H), 9.55 (s,2H) ppm แสดงถึงโปรตอนที่เกาะกับออกซิเจน

ของหมู่ไฮดรอกซี ในวงแอโรแมติก สัญญาที่ 6.99 (t,1H), 6.37 (d,2H) ppm แสดงถึงโปรตอนของวงแอโรแมติก สัญญาที่ 4.90 (t,1H), 4.51 (s,1H), 4.00 (t,1H) ppm แสดงถึงโปรตอนที่เกาะกับคาร์บอนซึ่งต่อกันด้วยพันธะคู่ สัญญาที่ 1.54 (s,3H), 1.50 (s,3H) และ 1.43 (s,3H) ppm แสดงถึงโปรตอนในหมู่เมทิล (-CH₃)

คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (DMSO) รูปที่ 29 ปรากฏสัญญา 25 สัญญาของคาร์บอน 25 อะตอม ที่ δ 198.06 ppm แสดงถึงคาร์บอนที่ต่อกับออกซิเจนด้วยพันธะคู่ของหมู่คาร์บอนิล สัญญาที่ 158.11, 147.71, 123.38 และ 106.42 ppm แสดงถึงคาร์บอนที่ต่อกับพันธะคู่ สัญญาที่ 102.27, 94.55 และ 94.00 ppm แสดงถึงคาร์บอนที่ต่อกันด้วยพันธะคู่ในวงแอโรแมติก สัญญาที่ 25.62, 18.46 และ 17.72 ppm แสดงถึงคาร์บอนของหมู่เมทิล (-CH₃)

แมสสเปกตรัม รูปที่ 34 ปรากฏพีคของไอออนเชิงบวก (M^+) m/e 424 มีการแตกตัวที่สำคัญคือ m/e 409, 406, 301, 288, 283, 219, 165, 136, 123 และ 69

2.7.5 การตรวจสอบสมบัติทางเคมี กายภาพ และสเปกโทรสโคปีของสารที่ 5

สมบัติทางเคมีและกายภาพ

ลักษณะ	เป็นผลึกรูปเข็ม สีน้ำตาลใส
จุดหลอมเหลว	227-229 °C
R _f	0.53 (คลอโรฟอร์ม : เมทานอล 9 : 1 โดยปริมาตร)
องค์ประกอบทางเคมี	C 66.17 %
	H 4.41 %
	O 29.41 %
สูตรโมเลกุล	C ₁₅ H ₁₀ O ₅
น้ำหนักโมเลกุล	270
DBE	10

สมบัติทางสเปกโทรสโคปี

อินฟราเรดสเปกตรัม (KBr) รูปที่ 35 แสดงการดูดกลืนที่ความถี่ 3490 (O-H), 1620, 1500 (C=C, แอโรแมติก), 1450 (C-H) และ 1315 (C-O) cm⁻¹

โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (DMSO) รูปที่ 36 ปรากฏสัญญาณของโปรตอนที่ δ 10.18 (s, 1H), 9.60 (s, 1H) ppm เป็นไฮดรอกซีโปรตอนของวงแอรโรแมติก สัญญาณที่ 7.59 (d, 1H), 6.37 (d, 1H) ppm เป็นโปรตอนที่เกาะกับคาร์บอนในวงแอรโรแมติกที่เกิด Couple กัน สัญญาณที่ 7.20 (s, 1H), 6.46 (s, 1H) และ 6.01 (s, 2H) ppm แสดงถึงโปรตอนที่เกาะอยู่กับวงแอรโรแมติกเช่นกัน สัญญาณที่ 3.41 (s, 2H) ppm แสดงถึงโปรตอนในหมู่ ($-\text{CH}_2-$)

คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (DMSO) รูปที่ 37 ปรากฏสัญญาณ 15 สัญญาณของคาร์บอนทั้ง 15 คาร์บอน คือสัญญาณที่ δ 158.39, 155.51 ppm เป็นของคาร์บอนในวงแอรโรแมติกที่เกิดพันธะกับหมู่ไฮดรอกซี ส่วนสัญญาณอื่น ๆ คือที่ 152.78, 147.87, 145.00, 143.95, 126.57, 122.90, 108.97, 107.16, 103.36, 102.97, 99.21 และ 93.21 ppm เป็นของคาร์บอนในวงแอรโรแมติก

แมสสเปกตรัม รูปที่ 43 ปรากฏพีคของไอออนเชิงบวก (M^+) m/e 270 มีการแตกตัวที่สำคัญคือ m/e 241, 212, 284, 155, 77 และ 69