

บทที่ 2

การทดลอง

2.1 วิธีการทดลอง

2.1.1 Thin layer chromatography (TLC)

เตรียม chromatoplates โดยใช้ silica gel GF₂₅₄ (type 60 for thin layer chromatography Art. 7730) ของบริษัท E. Merck, Darmstadt เป็น adsorbent ผสม adsorbent 30 กรัมต่อน้ำกลั่น 60 cm³ ในขวดรูปกรวยขนาด 150 cm³ เขย่า 2-3 นาที เทใส่ Desaga spreader ที่ปรับให้มีความหนา 0.25 mm เคลือบลงบนแผ่นแก้วขนาด 20 x 20 cm ซึ่งล้างสะอาดด้วยน้ำ และเช็ดด้วย acetone จะได้ chromatoplates 5 แผ่น ปล่อยให้แห้ง 30 นาที แล้ว activated ในตู้อบอุณหภูมิ 105° C 30 นาที เก็บไว้ใน desiccator

ละลายสารด้วยตัวทำละลายที่ดีที่สุด ใช้หลอด capillary ดูดสารจุดลงบน chromatoplate ห่างจากขอบล่างประมาณ 2 cm แต่จะจุดห่างกันประมาณ 1.5 cm ปล่อยให้แห้ง แล้วจุ่มลงในถังแก้ว (tank) ที่อ้อมตัวด้วยโอของตัวทำละลาย 150 cm³ ปิดฝา ถังแก้วทิ้งให้ตัวทำละลายซึมขึ้นไปจนถึงระดับที่ห่างจากขอบบน 1 cm จึงเอาออก ทำให้แห้ง นำไปดูด้วยแสง UV ที่ความยาวคลื่น 254 nm ซึ่ง plate จะเรืองแสง บริเวณมีสารจะทึบเห็นเป็นจุดต่าง ๆ กรณีที่สารมีพันธะเป็นพันธะคู่เล็กน้อยมักจะไม่ค่อยเห็นเรืองแสง ต้องนำไปใส่ในแท่งค์ที่บรรจุ iodine สารจะเกิด weak complex กับ iodine เป็นสีน้ำตาล หรือพ่นด้วยสารละลาย 25 % (w/w) H₂SO₄ แล้วอบที่อุณหภูมิ 110° C

2.1.2 Column chromatography

ใช้หลอดแก้วสม่ำเสมอ เส้นผ่าศูนย์กลาง 4 cm ยาว 90 cm เป็น column ที่ปลายล่างมีที่ปรับอัตราการไหลของสารละลาย ในการเตรียม column เริ่มโดยใส่สารสีชมพู benzene ลงไปก่อน เติม benzene ให้เหนือสารสี จนสารสีไม่มีฟองอากาศ ผสม

silica gel 60 (Art. 7734 for column chromatography ใช้ปริมาณ adsorbent ต่อสาร 30:1 โดยน้ำหนัก) กับ benzene จนเป็น slurry เทใส่ column พร้อมกับปล่อยให้ตัวทำละลายไหลออกจน adsorbent ไม่ลุดตัวลงอีก ปล่อยให้ไหลต่อไปจนเหลือตัวทำละลายอยู่เหนือ adsorbent 1.5 cm เคลือบ silica gel ชนิดเดียวกัน (ในปริมาณน้อยที่สุด) ด้วยสารที่ต้องการแยก โรย silica gel ที่มีสารเคลือบอยู่นี้ ลงใน column ปรับผิวให้เรียบ ใส่สำลีสัมที่ผิวบน

2.1.3 เคมีภัณฑ์และเครื่องมือ

2.1.3.1 การสกัดและการเตรียม Derivatives

สารเคมีที่ใช้ได้แก่ acetone, methanol, ethanol, chloroform ชนิด commercial grade ส่วน acetic anhydride เป็นชนิด laboratory grade โดยนำมากลั่นก่อนใช้ และ sodium acetate, potassium carbonate, methyl sulfate เป็นชนิด analytical grade, pH paper ของ Whatman-BDH.

หาจุดหลอมเหลวใช้ Fisher Johns melting point apparatus

UV spectra บันทึกด้วยเครื่อง Double Beam Spectrophotometer Model SP 800 ของบริษัท Pye Unicam, England

IR spectra บันทึกด้วยเครื่อง IR Spectrometer Model A-302 ของบริษัท JASCO Spectroscopic Co., Ltd., Japan.

^1H NMR spectra บันทึกด้วยเครื่อง NMR Spectrometer ของบริษัท Varian 250 MHz, U.S.A.

^{13}C NMR spectra บันทึกด้วยเครื่อง NMR Spectrometer Bruker WH-90 Instrument, Germany.

2.1.3.2 การวิเคราะห์สาร Dihydroxynaphthalene และการวิเคราะห์หาปริมาณ diospyrol

สารประกอบมาตรฐานที่ใช้คือ 1, 8 - dihydroxynaphthalene (HPLC grade) และ 2, 3 - dihydroxynaphthalene (analytical grade) ของ Fluka

ก. Potentiometric Titration

สารเคมีที่ใช้ได้แก่ 0.1 N. tetrabutylammonium hydroxide (analytical grade) ของ Fluka, pyridine (analytical grade) ของ Mallinckrodt

วัดค่าศักย์ไฟฟ้าของสารละลายด้วยเครื่อง PHM 83 Autocal pH Meter ของบริษัท Radiometer, Denmark และ Electrode ที่ใช้เป็น combined electrode model PCE-J

microburet ของ Wertheim Tol. $\pm 0.03 \text{ cm}^3$ 20° C

ข. Titration ด้วยการใช้อินดิเคเตอร์

สารเคมีที่ใช้เหมือนในข้อ ก. indicator ที่ใช้คือ azo violet (สารละลายอิมิตัวของ p-nitrobenzeneazoresorcinol ใน benzene) ซึ่งเตรียมขึ้นในห้องปฏิบัติการได้ดังนี้

ละลาย 0.1 กรัม p-nitroaniline ใน 3 cm^3 ของ conc.HCl เติมน้ำ 10 cm^3 เพื่อให้สารละลายเจือจาง ทำให้เย็นที่ 0° C แล้วเติม 0.1 กรัม sodium nitrite ซึ่งละลายในน้ำ 5 cm^3 อย่างช้า ๆ จะได้สารละลายใสไม่มีสีคือ diazonium salt เก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 5° C

ละลาย 0.1 กรัม resorcinol ใน 5 cm^3 ของ 5% NaOH ทำให้สารละลายเย็นจัด แล้วเทลงในสารละลาย diazonium salt อย่างช้า ๆ คนตลอดเวลา จะได้ p-nitrobenzeneazoresorcinol ซึ่งมีสีแดงเกิดขึ้น กรองแล้วนำไปตกผลึกใหม่ใน ethanol

microburet ของบริษัท Wertheim Tol. $\pm 0.03 \text{ cm}^3$
 20° C

ค. Back Titration

สารเคมีที่ใช้ได้แก่ acetic anhydride ชนิด laboratory grade นำมากลั่นก่อนใช้ sodium acetate, n-butanol ชนิด analytical grade, phenolphthalein (1 กรัมใน 100 cm^3 ของ 95 % w/w alcohol) และ

009646

สารละลาย sodium hydroxide มาตรฐาน ซึ่งเตรียมโดยซึ่ง sodium hydroxide
แล้วนำไปละลายในน้ำกลั่น standardize ด้วย potassium hydrogen phthalate
(analytical grade) ใช้ phenolphthalein เป็น indicator

2.2 การสกัด

ผลมะเกลือที่ใช้ในการศึกษาต่อไปนี้เก็บมาที่เวลาต่าง ๆ กัน

วิธีที่ 1

ซึ่งมะเกลือแล้วนำมาตำในครกหินจนแหลก แล้วด้วย ethanol กรองสารละลาย
ethanol ด้วยผ้าขาวบาง นำสารละลายไประเหยด้วยเครื่อง rotary evaporator ได้
crude เป็นสารสีเหลือง มีลักษณะเหนียว ผลที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1

น้ำหนักมะเกลือ (กก.)	ethanol (ลิตร)	น้ำหนักผลิตภัณฑ์ที่สกัดได้ (กรัม)	% ผลิตภัณฑ์
0.60 (75 ลูก)	1.3	74	12.33
1.2 (190 ลูก)	1.75	170.96	14.25
6.3 (1,176 ลูก)	7.5	854.57	13.56
1.062 (300 ลูก)	2.0	142.87	13.45
1.020 (270 ลูก)	2.5	134.91	13.23
2.097 (430 ลูก)	3.2	298.63	14.24
1.913 (432 ลูก)	3.5	272.06	14.22
2.753 (616 ลูก)	3.5	407.64	14.81

วิธีที่ 2

ชั่งมะเกลือ 140 กรัม นำมาคั่วในครกหินจนแตก แช่ด้วย ether 250 cm³ เดิมกรด HCl เข้มข้น 20 cm³ ทิ้งไว้ 1 คืน รินสารละลาย ether ออก แช่ด้วย ether อีก 2 ครั้ง ครั้งละ 250 cm³ เอาสารละลาย ether ที่ได้มารวมกัน แล้วนำไประเหย ether ออก ได้ผลิตภัณฑ์เป็นผงสีขาวนวล

ทำเหมือนเดิมอีก 2 ครั้ง โดยเปลี่ยนจากการเติมกรด HCl เป็นเกลือแกง 3 กรัม และอีกครั้งเติมกรด HCl เข้มข้น 20 cm³ และเกลือแกง 3 กรัม ผลที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 2

ตารางที่ 2

น้ำหนักมะเกลือ (กก.)	ether (ลิตร)	สาร ที่เติม	น้ำหนักผลิตภัณฑ์ที่ สกัดได้ (กรัม)	% ผลิตภัณฑ์
0.14 (40 ลูก)	0.25x3	HCl	3.37	2.40
0.14 (46 ลูก)	0.25x3	NaCl	2.95	2.11
0.14 (43 ลูก)	0.25x3	HCl+NaCl	2.92	2.08

วิธีที่ 3

นำมะเกลือมาคั่วในครกหินให้แตก สกัดด้วย ethanol แล้วกรองด้วยผ้าขาวบาง และผ้าดิบ นำสารละลาย ethanol ที่กรองได้มาเติมน้ำ 3 เท่าตัว แล้วเติมกรด HCl เข้มข้นจนมี pH 3 ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน ไซฟอนเอาสารละลายใส ๆ ออก กรองตะกอน แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 70° C ผลที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 3

ตารางที่ 3

น้ำหนักมะเกลือ (กก.)	ethanol (ลิตร)	น้ำ (ลิตร)	น้ำหนักผลิตภัณฑ์ที่สกัดได้ (กรัม)	% ผลิตภัณฑ์
3	2.7	8.1	29.26	0.98
2.5	2.4	7.2	29.41	1.18

วิธีที่ 4

นำผลมะเกลือ 11.76 กิโลกรัม ที่ตำให้แหลกไปคั้นด้วยน้ำหลาย ๆ ครั้ง รวมน้ำคั้น
ที่ได้ 33.6 ลิตร กรองด้วยผ้าขาวบางและผ้าดิบตามลำดับ นำสารละลายที่กรองได้มาเติมกรด
HCl เข้มข้นจนมี pH ประมาณ 2 และเติมเกลือแกง 50 กรัม ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน ไซฟอน
เอาน้ำใส ๆ ออก ตะกอนที่ได้ทำให้เป็นค่า pH ประมาณ 8 โดยใช้ sodium bicarbonate
แล้วสกัดด้วย ether หลาย ๆ ครั้ง รวมเป็นจำนวน 30 ลิตร นำสารละลาย ether ที่สกัด
ได้ล้างด้วยกรดเกลือเจือจาง จากนั้นทำให้ปราศจากน้ำด้วย anhydrous sodium sulfate
กรอง แล้วนำไประเหยเอา ether ออก ได้ผลิตภัณฑ์เป็นผงสีขาวมวลหนัก 144.5 กรัม
(1.23%)

วิธีที่ 5

นำมะเกลือที่ตำแหลกคั้นกับน้ำหลาย ๆ ครั้ง หลังจากกรองด้วยผ้าขาวบางและผ้าดิบ
นำสารละลายมาเติมกรด HCl เข้มข้นและเกลือแกง ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน ไซฟอนเอาน้ำใส ๆ
ออก กรองตะกอน นำตะกอนไปอบที่ 100° C สกัดผลิตภัณฑ์ที่ได้ด้วย ether โดยใช้เครื่อง
คนแม่เหล็กคนสารละลาย กรองสารละลาย นำไประเหยตัวทำละลายออก ผลที่ได้แสดงไว้
ในตารางที่ 4

ตารางที่ 4

น้ำหนักมะเกลือ (กก.)	น้ำ (ลิตร)	กรด HCl เข้มข้น (cm ³)	เกลือแกง (กรัม)	ผลิตภัณฑ์ที่สกัด ได้จากน้ำ		% ของผลิตภัณฑ์ใน ether
				กรัม	%	
2	4	100	10	48.49	2.42	1.53
2	4	100	10	38.68	1.93	1.23
0.96	2.5	50	10	17.53	1.83	1.14

วิธีที่ 6

นำมะเกลือที่ตำแหลกคั้นกับน้ำหลาย ๆ ครั้ง เติมกรด HCl เข้มข้นและเกลือแกงลงในสารละลายที่กรองได้ นำไปอุ่นที่ 45° C ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน ใช้ฟอนเฮอน้ำใส ๆ ออกกรองตะกอนด้วยผ้าดิบ แล้วนำมาอัดในเครื่องอัด นำตะกอนที่ได้อบที่ 100° C จนแห้ง สกัดผลิตภัณฑ์ที่ได้ด้วย ethanol หรือ acetone โดยเติมตัวทำละลายอินทรีย์ครั้งละ 200 cm³ ลงในผลิตภัณฑ์ทั้งหมด ใช้เครื่องคนแม่เหล็กคนสารละลาย 10 นาที กรองตะกอนออก แล้วนำไปสกัดซ้ำด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดเดียวกันอีกหลาย ๆ ครั้ง จนตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้สกัดใสไม่มีสี เติมน้ำปริมาตร 3 เท่าตัวของสารละลายลงในสารละลายที่กรองได้ กรองตะกอนแล้วนำตะกอนไปอบที่อุณหภูมิ 100° C ผลที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 5

ตารางที่ 5

การทดลอง	น้ำหนักมะเกลือ (กก.)	น้ำ (ลิตร)	กรด HCl (cm ³)	ethanol (ลิตร)	acetone (ลิตร)	น้ำหนักผลิตภัณฑ์ ที่สกัดได้ (กรัม)	% ผลิตภัณฑ์
1	4.0	7	100	1.5	-	33.63	0.84
2	4.7	7	100	1.6	-	34.25	0.73
3	5.0	8	100	1.8	-	40.01	0.80
4	5.0	8	100	1.8	-	39.04	0.78
5	2.0	4	45	1.2	-	17.57	0.88
6	6.0	9	100	-	1.3	47.79	0.80

วิธีที่ 7

นำผลมะเกลือ 140 กรัมที่ตำแหลกไปคั้นกับน้ำ 0.5 ลิตร กรองด้วยผ้าขาวบางและ
ผ้าดิบตามลำดับ นำสารละลายที่ได้มาตกตะกอนด้วยกรด HCl เข้มข้น โดยทำให้สารละลายมี
pH ประมาณ 2 กรองตะกอนที่ได้ ล้างตะกอนให้เป็นกลางด้วยน้ำกลั่น นำตะกอนไปอบให้
แห้งในตู้อบที่ 70° C ผลที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 6

ตารางที่ 6

น้ำหนักมะเกลือ (กก.)	น้ำ (ลิตร)	น้ำหนักผลิตภัณฑ์ที่สกัดได้ (กรัม)	% ผลิตภัณฑ์
0.14 (45 ลูก)	0.5	2.01	1.43
0.14 (42 ลูก)	0.5	2.10	1.50
0.14 (47 ลูก)	0.5	1.89	1.35

วิธีที่ 8

ทำเหมือนวิธีที่ 7 แต่ใช้ glacial acetic acid แทนกรด HCl ผลที่ได้
แสดงไว้ในตารางที่ 7

ตารางที่ 7

น้ำหนักมะเกลือ (กก.)	น้ำ (ลิตร)	น้ำหนักผลิตภัณฑ์ที่สกัดได้ (กรัม)	% ผลิตภัณฑ์
0.14 (45 ลูก)	0.5	1.68	1.20
0.14 (48 ลูก)	0.5	2.11	1.51
0.14 (41 ลูก)	0.5	2.04	1.46

วิธีที่ ๑

นำมะเกลือที่ตำแหลกคั้นกับน้ำหลาย ๆ ครั้ง หลังจากกรองด้วยผ้าดิบแล้ว นำสารละลายที่กรองได้มาเติมกรด HCl เข้มข้นและเกลือแกง แล้วนำไปอุ่นที่อุณหภูมิต่าง ๆ ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน ไซฟอนเอาน้ำใส ๆ ออก กรองตะกอนด้วยผ้าดิบ แล้วนำไปอัดในเครื่องอัด เพื่อให้ตะกอนแห้งยิ่งขึ้น นำตะกอนไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 100°C ผลที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ ๘

ตารางที่ ๘

การทดลอง	น้ำหนักมะเกลือ (กก.)	น้ำ (ลิตร)	กรด HCl เข้มข้น (cm^3)	เกลือแกง (กรัม)	อุ่นให้ ร้อน ($^{\circ}\text{C}$)	ผลิตภัณฑ์ที่สกัดได้ จากน้ำ	
						กรัม	%
1	24.79	52	480	31	-	435.00	1.75
2	10.00	22	150	15	50	296.92	2.97
3	13.916	20	245	23	-	398.44	2.86
4	10.84	20	150	11	50	205.64	1.90
5	11.55	21	150	11	-	188.90	1.64
6	10.00	17	130	15	50	185.60	1.86
7	10.00	16	120	15	-	180.00	1.80

- หมายเหตุ ก. ผลมะเกลือที่ใช้ในการสกัดเก็บจากสวนพฤษชาติ จังหวัดสระบุรี มีผลใหญ่กว่ามะเกลือที่ใช้ในการทดลองทุกครั้ง (เก็บจากจังหวัดชลบุรี) การทดลองที่ 2 และ 3
- ข. นำไปกรองตะกอนโดยวิธี Filter press การทดลองที่ 1
- ค. ไม่ได้นำสารละลายที่กรองได้ไปอุ่น การทดลองที่ 1, 3, 5 และ 7

วิธีที่ 10

นำผลมะเกลือ 4.96 กิโลกรัม ที่ทำให้แตกไปคั้นด้วยน้ำหลาย ๆ ครั้ง รวมน้ำที่คั้นได้ 10 ลิตร ใส่กรด HCl เข้มข้น 200 cm³ หลังจากนั้นนำสารละลายไปอุ่นที่ 80° C ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน ไซฟอนเอาน้ำใส ๆ ออก นำตะกอนที่ได้ไปทำ Freeze dry ได้ผลิตภัณฑ์เป็นผงสีเขียวน้ำหนัก 77.40 กรัม (1.56 %)

2.3 การแยก diospyrol

นำ crude ที่ได้จากการสกัดด้วย ether ไปละลายใน methanol ร้อนจำนวนมาก เกินพอ ฟอกสีด้วยถ่าน กรองขณะร้อน แล้วระเหยเอา methanol ออกด้วยเครื่อง rotary evaporator ได้ diospyrol สีขาว นำไปบรรจุใส่ของอะลูมิเนียมที่ภายในเคลือบด้วยพลาสติก ขนาดของ 9 x 11 cm ของละประมาณ 3 กรัม ภายในของใส่ก๊าซไนโตรเจนแทนที่อากาศ แล้วใช้ความร้อนปิดปากของให้สนิท นำไปหาปริมาณ diospyrol เมื่อเวลาผ่านไป 0 เดือน 3 เดือน 6 เดือน และ 10 เดือน ตามลำดับ

2.4 การเตรียม Derivatives (14, 15)

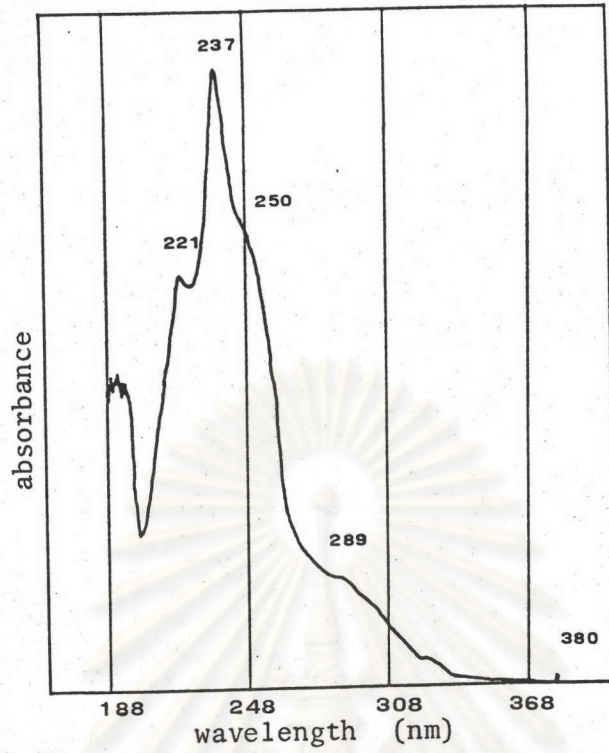
2.4.1 Acetylation of diospyrol

ผสม diospyrol 5 กรัม sodium acetate 8 กรัม และ acetic anhydride 50 cm³ ลงในขวดก้นกลมขนาด 500 cm³ ท่อด้วย reflux condenser ตั้งทิ้งไว้ให้ปฏิกิริยาดำเนินไปที่อุณหภูมิสารละลายเดือดเป็นเวลา 1 ชม. เทสารละลายที่ได้ลงในน้ำป่นน้ำแข็ง คนให้ทั่ว จะได้ตะกอนสีเหลืองเกิดขึ้น กรองตะกอน ล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่น จนน้ำที่ล้างมีคุณสมบัติเป็นกลาง นำไปฟอกสีด้วยถ่านใน methanol แล้วแยกด้วย column chromatography ใช้ benzene เป็น eluent เก็บสารละลายครั้งละ 1 ลิตร นำสารละลายที่ได้ไปกลั่น เอาตัวทำละลายออกจนเหลือสารละลายในขวดกลั่นประมาณ 25 cm³ ถ่ายใส่ flask ตั้งทิ้งไว้ให้ตกผลึก ได้ผลึกรูปปริซึม สีขาว มีจุดหลอมเหลว 237° C ; UV $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ nm : 221, 237, 250, 289 ; IR $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$ cm⁻¹ : 2,925, 2,850 (CH₃), 1,765 (C=O), 1,635, 1,610, 1,580, 1,450 (C=C ของ aromatic), 1,200 (C-O)

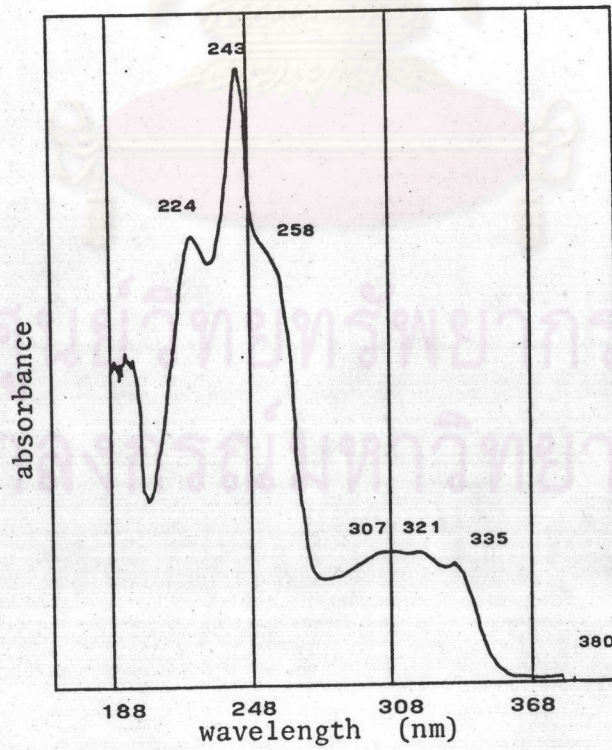
2.4.2 Methylation of diospyrol

ผสม diospyrol 8 กรัม potassium carbonate 25 กรัม methyl sulfate 16 กรัม และ acetone 200 cm³ ลงในขวดก้นกลมขนาด 500 cm³ ที่ติดตั้งด้วย reflux condenser ไว้ด้วย ตั้งทิ้งไว้ให้ปฏิกิริยาดำเนินไปที่อุณหภูมิสารละลายเดือดเป็นเวลา 10 ชม. เติสารละลายที่ได้ลงในน้ำบนน้ำแข็ง คนให้ทั่ว ได้สารละลายขาวขุ่น เติม sodium hydroxide จนสารละลายมีคุณสมบัติเป็นด่าง เกิดตะกอนสีเหลืองเข้ม กรองตะกอน ล้างตะกอน ด้วยน้ำกลั่น จนน้ำที่ล้างมีคุณสมบัติ เป็นกลาง นำไปฟอกสีด้วยถ่านใน benzene แล้วแยกด้วย column chromatography ใช้ benzene เป็น eluent เก็บสารละลายครั้งละ 1 ลิตร นำสารละลายที่ได้ไปกลั่น เอาตัวทำละลายออกจนเหลือสารละลายในขวดกลั่นประมาณ 25 cm³ ถ่ายใส่ flask ตั้งทิ้งไว้ให้ตกผลึก ได้ผลึกเป็นเม็ด สีขาว มีจุดหลอมเหลว 235° C ; UV $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ nm : 224, 243, 258, 307, 321, 335; IR $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$ cm⁻¹ : 2,900 (CH₃), 1,625 (C=C ของ aromatic) 1,105, 1,080 (C-O)

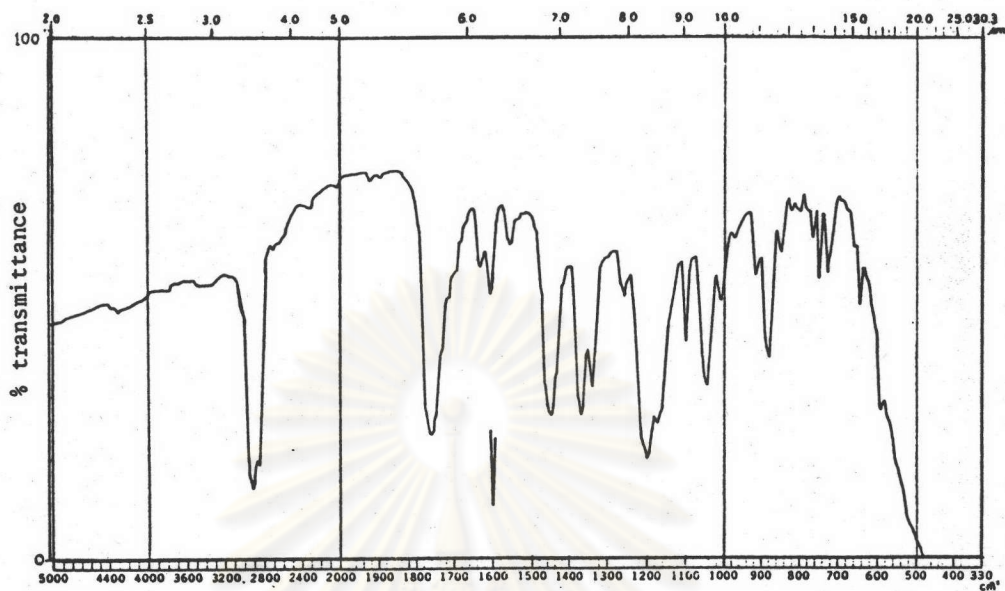
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



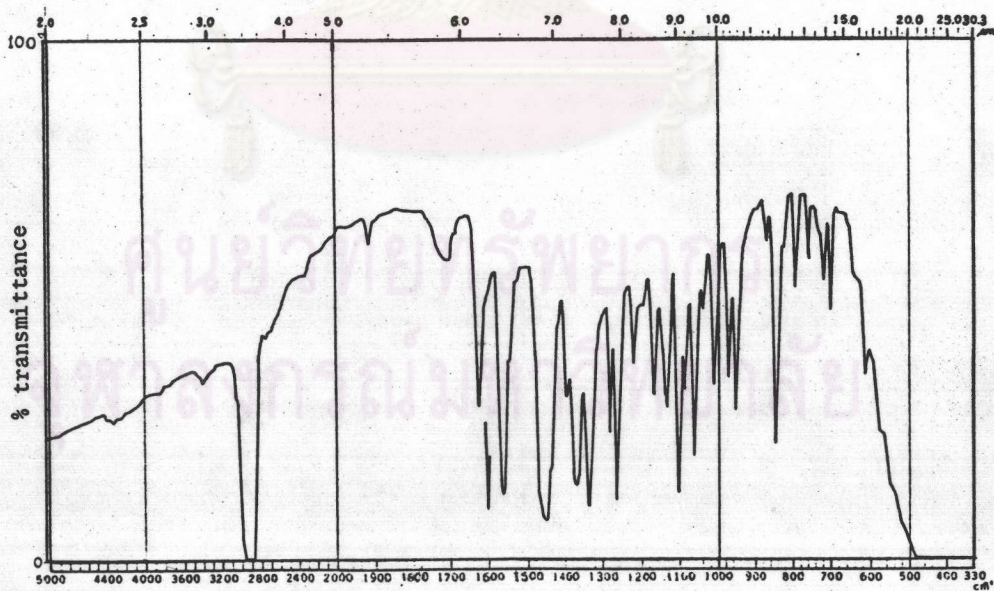
รูปที่ 1 UV spectrum ของ acetyl derivative



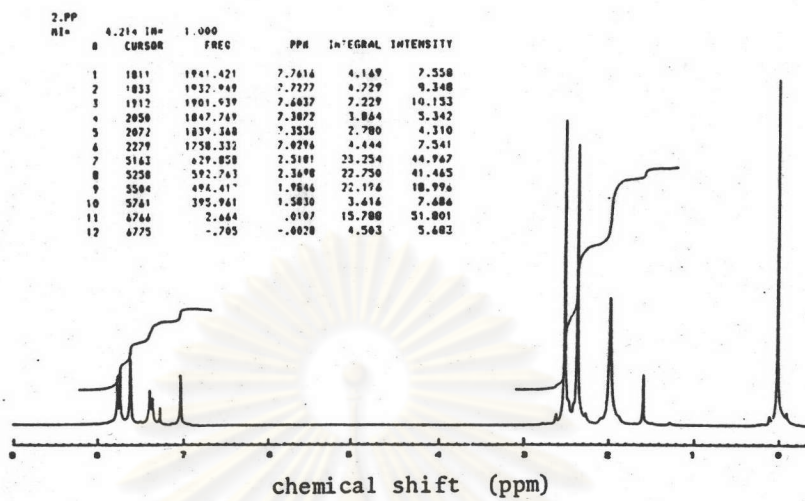
รูปที่ 2 UV spectrum ของ methyl derivative



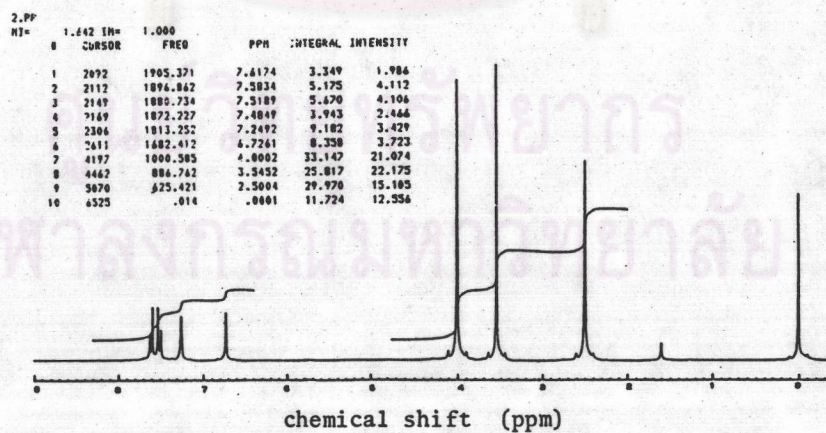
รูปที่ 3 IR spectrum ของ acetyl derivative



รูปที่ 4 IR spectrum ของ methyl derivative

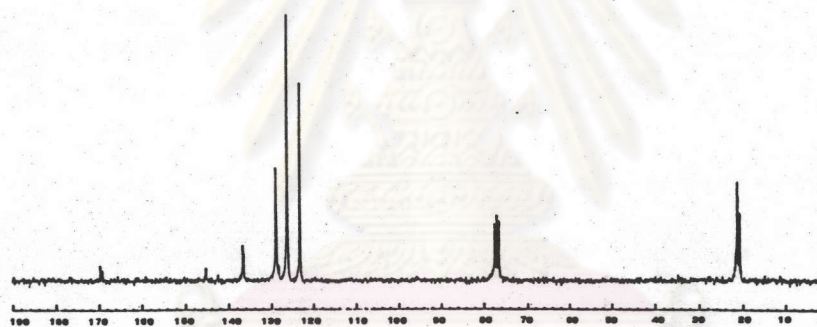


รูปที่ 5 ^1H NMR spectrum ของ acetyl derivative

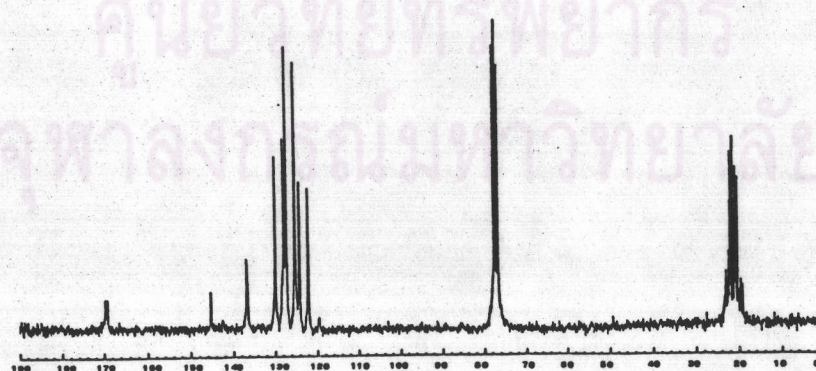


รูปที่ 6 ^1H NMR spectrum ของ methyl derivative

#	.03a IN# CURSOR	1.000 FREQ	PPM	INTEGRAL	INTENSITY
1	2136	10269.491	169.4371	.377	1.251
2	2153	10418.514	169.1444	.500	.834
3	2968	9130.407	145.1750	.409	1.051
4	3260	8589.725	134.5704	1.655	2.719
5	3267	8577.049	134.3588	.961	2.149
6	3513	8122.049	129.1350	1.093	1.209
7	3520	8108.462	128.9244	1.777	2.235
8	3528	8094.951	128.7938	10.454	8.506
9	3548	8057.897	128.1147	.753	1.274
10	3598	7964.977	126.5373	.469	1.021
11	3670	7924.105	125.5975	23.194	19.507
12	3724	7732.092	122.4346	11.687	14.825
13	5259	4892.880	77.7732	.317	.394
14	5269	4874.621	77.5029	3.596	4.282
15	5279	4856.020	77.2072	.514	1.220
16	5281	4851.847	77.1400	.584	1.335
17	5286	4843.036	77.0007	2.542	4.938
18	5292	4831.760	76.8215	.681	1.370
19	5297	4822.036	76.6669	.431	.934
20	5303	4811.311	76.4963	2.520	4.496
21	5308	4802.748	76.3602	.536	.995
22	7165	1367.790	21.7469	.847	1.017
23	7170	1358.264	21.5954	.646	1.273
24	7180	1340.281	21.3095	6.177	7.483
25	7184	1329.231	21.1330	4.661	6.494
26	7194	1314.241	20.8923	.798	1.298
27	7203	1298.028	20.6377	4.528	5.170
28	7213	1279.193	20.3387	.279	.970



chemical shift (ppm)

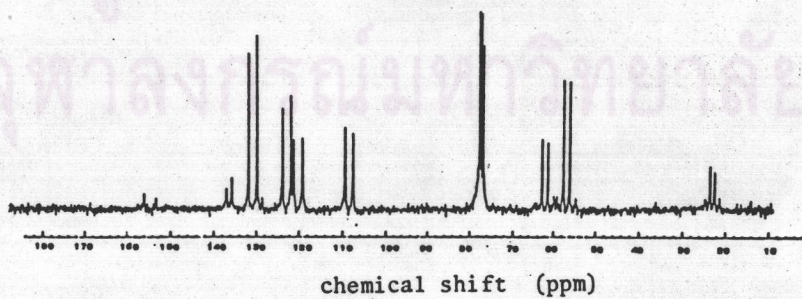
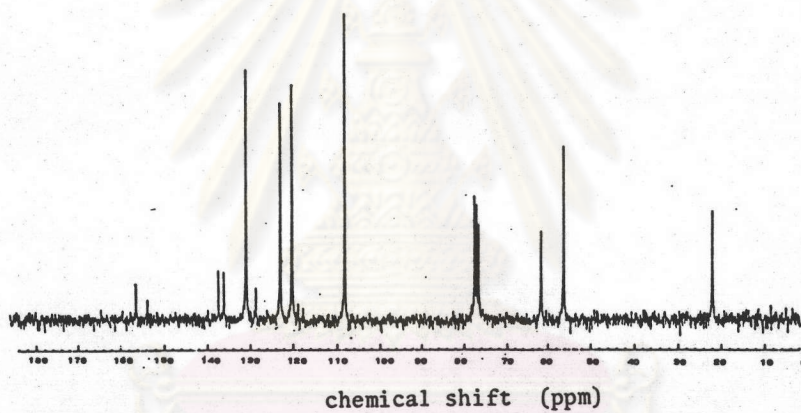


chemical shift (ppm)

รูปที่ 7

¹³C NMR spectra ของ acetyl derivative

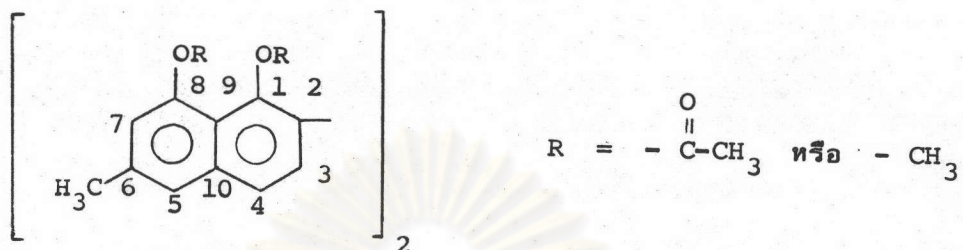
	.837 IN=	1.000			
8	CURSOR	FREQ	PPM	INTEGRAL	INTENSITY
1	2591	9827.795	156.2548	1.051	1.357
2	2677	9668.349	153.7197	.215	.837
3	3238	8631.039	137.2272	1.429	1.902
4	3282	8550.393	135.9450	1.785	1.849
5	3450	8238.747	130.9904	2.454	1.437
6	3459	8221.932	130.7227	14.544	9.255
7	3534	8083.097	128.5154	1.031	1.257
8	3733	7715.916	122.6774	14.757	8.084
9	3815	7563.418	120.2528	.819	1.197
10	3824	7547.599	120.0013	13.556	8.697
11	4215	6823.394	108.4870	.947	.857
12	4228	6799.701	108.1103	15.819	11.387
13	5269	4874.499	77.5019	6.329	4.637
14	5276	4861.487	77.2973	.953	1.135
15	5280	4854.375	77.1810	1.356	1.231
16	5284	4842.880	76.9983	6.944	4.329
17	5303	4810.704	76.4867	6.034	3.424
18	5813	3867.851	61.4960	1.761	1.145
19	5816	3862.350	61.4086	3.727	3.343
20	5996	3529.319	56.1136	11.710	6.474
21	7158	1380.251	21.9450	.832	1.077
22	7163	1371.600	21.8074	6.227	4.736



รูปที่ 8

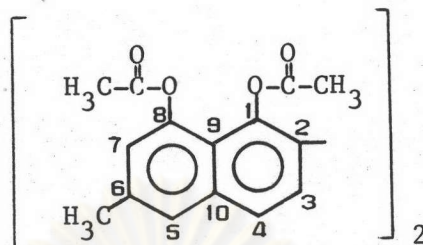
 ^{13}C NMR spectra ของ methyl derivative

ตารางที่ ๑ ^1H NMR spectra ของ acetyl และ methyl derivatives
(ใน CDCl_3 solution, ค่า chemical shift เป็น ppm เทียบจาก TMS ที่ เป็น
internal standard)



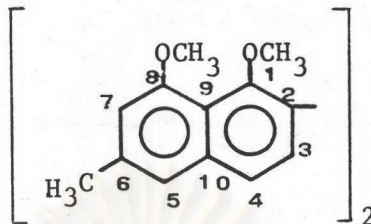
ตำแหน่งของ proton	Acetyl Derivative	Methyl Derivative
1- และ 1'- -OAc หรือ -OMe	1.98	3.54
3- และ 3'- -H	7.38 , 7.35 J = 8.47 Hz	7.51 , 7.48 J = 8.50 Hz
4- และ 4'- -H	7.76 , 7.72 J = 8.40 Hz	7.61 , 7.58 J = 8.50 Hz
5- และ 5'- -H	7.60	7.24
6- และ 6'- -CH ₃	2.51	2.50
7- และ 7'- -H	7.02	6.72
8- และ 8'- -OAc หรือ OMe	2.36	4.00

ตารางที่ 10 ^{13}C NMR spectrum ของ acetyl derivative
(ใน CDCl_3 Solution)



ตำแหน่งของ carbon	chemical shift (ppm)
3- และ 3'- (-CH)	122.93
4- และ 4'- (-CH)	125.98 , 126.63
5- และ 5'- (-CH)	128.11 , 128.70
7- และ 7'- (-CH)	128.92 , 129.13
1- และ 1'- ; 8- และ 8'- (-C)	145.17
11- และ 11'- (-CH ₃)	20.68 , 20.89
กลุ่มของ C-2, C-2'	
C-6, C-6', C-9, C-9'	136.36 , 136.57
C-10 และ C-10' (-C)	
กลุ่มของ $-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-$	169.14 , 169.63
กลุ่มของ $-\text{CH}_3$ (ที่ติดกับ $-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-$)	21.13 , 21.30
	21.59 , 21.74

ตารางที่ 11 ^{13}C NMR spectrum ของ methyl derivative
(ใน CDCl_3 solution)



ตำแหน่ง carbon	chemical shift (ppm)
1- และ 1'- (-C)	156.25
3- และ 3'- (-CH)	108.11 , 108.48
4- และ 4'- (-CH)	120.00 , 120.25
5- และ 5'- (-CH)	122.67 , 128.51
7- และ 7'- (-CH)	130.72 , 130.99
8- และ 8'- (-C)	153.71
11- และ 11'- (-CH ₃)	21.80 , 21.94
กลุ่มของ C-2, C-2'	
C-6, C-6', C-9, C-9'	135.94 , 137.22
C-10 และ C-10' (-C)	
กลุ่มของ -OCH ₃	56.11 , 61.40 และ 61.49

2.4.3 การเปลี่ยนแปลงของ diospyrol เมื่อมีเกลือของโลหะและในสารละลายกรด

นำผลมะเกลือมาสกัดด้วย ethanol กรอง นำสารละลายที่กรองได้มา เติมน้ำเป็นปริมาตร 3 เท่าตัว แบ่งใส่ขวดรูปกรวยขนาด 50 cm³ 9 ขวด โดยให้มีปริมาตร เท่า ๆ กัน เติมเกลือของโลหะชนิดต่าง ๆ และกรด HCl ลงไป ทิ้งไว้ 7 วัน จึงนำมา กรองตะกอน ปลอ่ยให้ถูกออกซิเจนในอากาศ ปรากฏผลดังนี้

ตารางที่ 12 ผลการเปลี่ยนแปลงของ diospyrol เมื่อมีเกลือของโลหะและ/หรือใน สารละลายกรด

สารที่เติมลงไป	อุณหภูมิร้อน (°C)	เวลาที่ปลอ่ยให้ถูกออกซิเจนในอากาศ					
		7 วัน	13 วัน	18 วัน	40 วัน	48 วัน	50 วัน
1 CaCl ₂	-	ดำ	-	-	-	-	-
2 CaCl ₂	60	ดำ	-	-	-	-	-
3 CaCl ₂ +HCl	-	น้ำตาลอ่อน	น้ำตาลเข้ม	น้ำตาลเข้ม	ดำ	-	-
4 MgCl ₂	-	เขียวคล้ำ	เกือบดำ	ดำ	-	-	-
5 MgCl ₂	60	ดำ	-	-	-	-	-
6 MgCl ₂ +HCl	-	น้ำตาลเขียว	น้ำตาลเขียว	น้ำตาลเขียว	น้ำตาลเข้ม	ดำ	-
7 HCl	-	น้ำตาลเขียว	น้ำตาลเขียว	น้ำตาลเขียว	น้ำตาลเข้ม	น้ำตาลเข้ม	ดำ
8 CuSO ₄	-	ดำ	-	-	-	-	-
9*	-	น้ำตาลอ่อน	น้ำตาลเข้ม	น้ำตาลเข้ม	ดำ	-	-

* เป็น BLANK

2.4.4 การเปลี่ยนแปลงของ diospyrol ในสารละลายต่าง

นำ diospyrol ที่สกัดด้วย ethanol ประมาณ 0.05 กรัม ใส่ในขวดรูปกรวยขนาด 50 cm³ 4 ขวด แล้วเติมสารละลายต่างชนิดต่าง ๆ ลงไป สังเกตการเปลี่ยนแปลงของ diospyrol

ตารางที่ 13 ผลการเปลี่ยนแปลงของ diospyrol ในสารละลายต่าง

สารละลายต่าง ๆ	ผลการทดลอง
1 M NaOH	ดำทันที ละลายในสารละลายหมด
สารละลายอิ่มตัวของ Ca(OH) ₂	ดำทันที ละลายในสารละลายเล็กน้อย
สารละลายอิ่มตัวของ Ba(OH) ₂	ดำทันที ละลายในสารละลายเล็กน้อย
5% (w/w) NaHCO ₃	ดำทันที ละลายในสารละลายเล็กน้อย

2.5 การศึกษาเบื้องต้นในการวิเคราะห์สาร Dihydroxynaphthalene

เนื่องจากสูตรของ diospyrol มีรูปแบบทำนองเดียวกันกับ 1, 8-dihydroxynaphthalene ในการศึกษาครั้งนี้จึงใช้ 1, 8-dihydroxynaphthalene และ 2,3-dihydroxynaphthalene ซึ่งมีตำแหน่งของหมู่ไฮดรอกซิลอยู่ติดกัน

2.5.1 Potentiometric Titration (18)

การวิเคราะห์นี้ใช้การวัดค่าศักย์ไฟฟ้าในขณะที่ทำการไตเตรท โดยการวัดค่าศักย์ไฟฟ้าของสารละลายที่ถูกไตเตรททุก ๆ ครั้งที่มีการเติม titrant ลงไป นำข้อมูลที่ได้ไป เขียนกราฟที่เรียกว่า Titration Curve ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างศักย์ไฟฟ้ากับปริมาณ titrant โดยให้ค่าศักย์ไฟฟ้าที่อ่านได้เป็นแกน y และปริมาณ titrant ที่เติมเป็นแกน x จาก Titration Curve นี้สามารถหา end point ของการไตเตรท และนำไปคำนวณหาความเข้มข้นของตัวอย่างได้ ในการวิเคราะห์นี้ใช้ combined electrode สำหรับวัดค่าศักย์ไฟฟ้าของสารละลาย

ทำการหาปริมาณสารประกอบมาตรฐานได้โดยหยดสารละลาย 0.1 M tetrabutylammonium hydroxide จาก microburet ลงในบีกเกอร์ขนาด 250 cm³ ซึ่งมีสารประกอบมาตรฐานประมาณ 0.05-0.1 กรัมละลายอยู่ใน pyridine 50 cm³ ภายใต้บรรยากาศไนโตรเจน วัดศักย์ไฟฟ้าของสารละลายด้วย combined electrode นำเอาข้อมูลที่ได้อ่านเขียนกราฟระหว่างศักย์ไฟฟ้าที่อ่านได้กับปริมาตร titrant ที่เติมลงไป (ผลการทดลองแสดงในหน้า 38, 39) และหา end point เพื่อนำไปคำนวณหาปริมาณของสารประกอบมาตรฐาน

2.5.2 Visual Titration (18)

อาศัยหลักการไตเตรทของกรดและเบส โดยใช้สารละลาย 0.1 M tetrabutylammonium hydroxide ไตเตรทโดยตรงกับสารประกอบ phenolic ตัวอย่างของการศึกษานี้ และมี azo violet เป็น indicator ซึ่งจะเปลี่ยนสีจากสีส้มในสารละลายที่เป็นกรดไปเป็นสีเขียวในสารละลายที่เป็นด่าง

ในการปฏิบัติซึ่งสารประกอบมาตรฐานประมาณ 0.1 กรัมในขวดรูปกรวยขนาด 150 cm³ ละลายด้วย pyridine 25 cm³ เติม azo violet indicator 2 หยด และไตเตรทอย่างรวดเร็วด้วยสารละลาย 0.1 M tetrabutylammonium hydroxide จนกระทั่งสีของสารละลายเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเขียว ที่จุดนี้คือ end point

จากการทดสอบพบว่าสารประกอบมาตรฐาน 1 ไมลทำปฏิกิริยาพอดีกับ titrant (tetrabutylammonium hydroxide) 1 ไมล หรือ 2 หมู่ของไฮดรอกซิลต่อ 1 ไมล ของ titrant

ดังนั้นน้ำหนักของสารประกอบมาตรฐานจะหาได้จากความสัมพันธ์ต่อไปนี้

$$\begin{aligned} \text{น้ำหนักสารประกอบ} &= \frac{X \times \text{ความเข้มข้นของ titrant} \times \text{น้ำหนักโมเลกุลของสารประกอบมาตรฐาน}}{\text{มาตรฐาน}} && 1,000 \\ &= \frac{X \times 0.1 \times 160.18}{1000} && \text{กรัม} \end{aligned}$$

$X = \text{cm}^3$ ของสารละลาย tetrabutylammonium hydroxide ที่ทำปฏิกิริยาพอดีกับสารประกอบมาตรฐาน

ผลการทดลองแสดงในหน้า 40

2.5.3 Back Titration (19)

โดยการทำ acetylation หมู่ไฮดรอกซิลของสารประกอบมาตรฐานด้วย acetic anhydride ที่มากเกินไป แล้วไตเตรทหาปริมาณของกรดที่เหลือจากการทำปฏิกิริยา และนำเอาไปหักออกจากผลที่ได้จากการทดลองที่เป็น Blank จะได้ค่าของกรดที่เข้าทำปฏิกิริยา โดยตรงกับสารประกอบมาตรฐาน ในการทดลองนี้ใช้สารละลาย sodium hydroxide มาตรฐานเป็น titrant, phenolphthalein เป็น indicator

ทำ acetylation ของสารประกอบมาตรฐาน ซึ่งหนักประมาณ 0.5 กรัม ด้วย acetic anhydride 25.00 cm³ และ sodium acetate 4.00 กรัม หลังจาก reflux 1 ชม. เติมน้ำ 10.00 cm³ ผ่าน condenser และ reflux ต่ออีก 10 นาที ปล่อยให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง เติมน-butanol 10.00 cm³ ผ่าน condenser อีก 15.00 cm³ ล้างข้าง ๆ flask ใส่ phenolphthalein (1% ใน 95% alcohol) 1 cm³ แล้วนำไปไตเตรทกับสารละลาย sodium hydroxide มาตรฐาน

ในขณะเดียวกันทำ Blank สำหรับเป็นตัวเทียบไปพร้อม ๆ กันด้วย

สารละลาย sodium hydroxide มาตรฐาน 2 โมลจะทำปฏิกิริยาพอดีกับ acetic anhydride 1 โมลหรือ acetic acid 2 โมลและสารประกอบมาตรฐาน 1 โมล จะทำปฏิกิริยาพอดีกับ acetic anhydride 1 โมล หรือ acetic acid 2 โมล คำนวณหา น้ำหนักของสารประกอบได้ดังความสัมพันธ์ต่อไปนี้

$$\frac{\text{น้ำหนักสารประกอบ}}{\text{มาตรฐาน}} = \frac{X \times Y \times \text{น้ำหนักโมเลกุลของสารประกอบมาตรฐาน}}{2 \times 1000}$$

$$\frac{X \times Y \times 160.18}{2 \times 1000} \quad \text{กรัม}$$

$$X = (\text{cm}^3 \text{ ของสารละลาย sodium hydroxide ที่ทำปฏิกิริยาพอดีกับ acetic acid ใน Blank}) - (\text{cm}^3 \text{ ของสารละลาย sodium hydroxide มาตรฐานที่ทำปฏิกิริยาพอดีกับ acetic acid ที่เหลือจากการทำ acetylation})$$

$$Y = \text{ความเข้มข้นของสารละลาย sodium hydroxide มาตรฐาน}$$

ผลการทดลองแสดงในหน้า 41

116646388

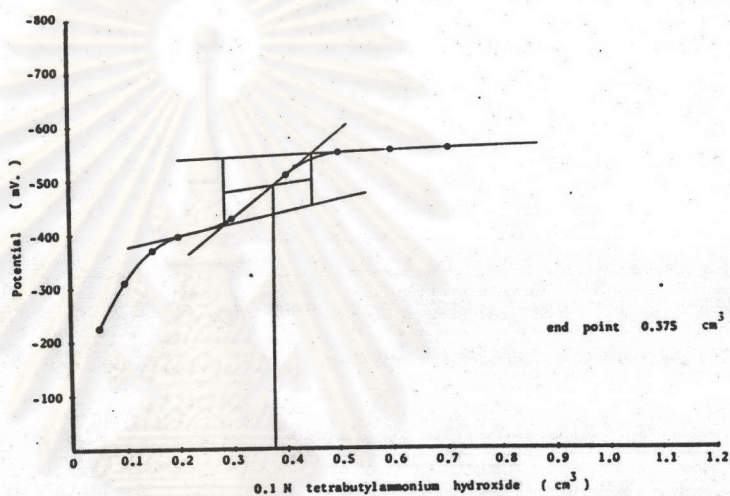
จากการทดสอบวิธีการทั้งสามโดยใช้สารประกอบมาตรฐานทั้งสอง ปรากฏว่า
ให้ผลการทดลองใกล้เคียงกับความจริงมาก มีเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อนไม่เกิน 3 % จึงได้
ใช้วิธีการทั้งสาม เป็นมาตรฐานในการวิเคราะห์หาปริมาณของ diospyrol ต่อไป



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 14 ผลการทำ Blank โดย Potentiometric Titration ทำการไตเตรท pyridine ด้วย 0.1 M tetrabutylammonium hydroxide

titrant (cm ³)	mV.
0.00	-80
0.05	-226
0.10	-310
0.15	-372
0.20	-398
0.25	-408
0.30	-430
0.35	-468
0.40	-512
0.45	-540
0.50	-551
0.55	-552
0.60	-554
0.65	-556
0.70	-558



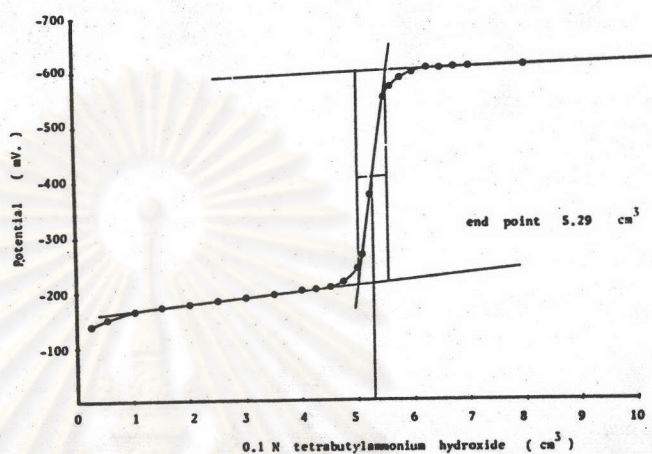
รูปที่ 9 Titration Curve ของ Blank

end point = 0.375 cm³

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 15 ผลการหาปริมาณ 1,8-dihydroxynaphthalene โดย Potentiometric Titration

titrant (cm ³)	mV.
0.00	-82
0.25	-140
0.50	-150
1.00	-165
1.50	-172
2.00	-172
2.50	-180
3.00	-182
3.50	-195
4.00	-200
4.25	-205
4.50	-208
4.75	-212
5.00	-240
5.25	-370
5.50	-562
5.75	-585
6.00	-592
6.25	-600
6.50	-600
6.75	-602
7.00	-602
7.50	-602
8.00	-602



รูปที่ 10 Titration Curve

น้ำหนัก 1, 8-dihydroxynaphthalene = 0.0800 กรัม

end point จริง = 5.29 - 0.375 cm³

= 4.915 cm³

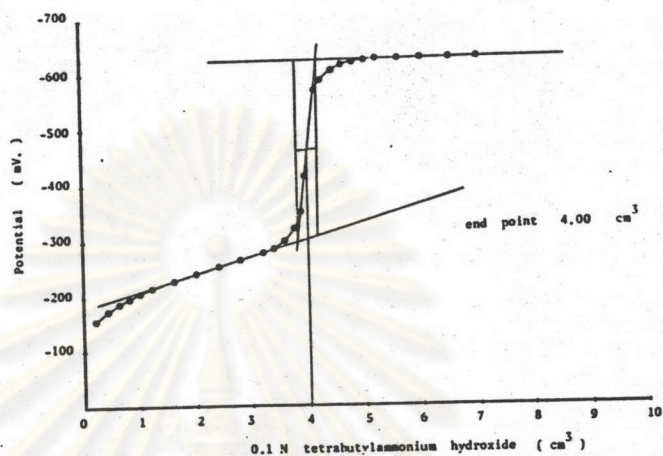
น้ำหนัก 1, 8-dihydroxynaphthalene ที่ทำได้ = $\frac{0.1 \times 4.915 \times 160.08}{1000}$

= 0.0787 กรัม

∴ error = 1.62%

ตารางที่ 16 ผลการหาปริมาณ 2, 3-dihydroxynaphthalene โดย Potentiometric Titration

titrant (cm ³)	mV.
0.0	-100
0.1	-141
0.2	-157
0.4	-175
0.6	-168
0.8	-195
1.0	-203
1.2	-213
1.4	-221
1.6	-228
1.8	-235
2.0	-241
2.2	-247
2.4	-252
2.6	-258
2.8	-264
3.0	-270
3.2	-277
3.4	-285
3.6	-297
3.8	-321
3.9	-351
4.0	-481
4.1	-570
4.2	-591
4.3	-605
4.4	-610
4.5	-615
4.6	-618
4.7	-620
4.8	-622
5.0	-625
5.2	-628
5.4	-628
5.6	-629
6.0	-629
6.5	-628
7.0	-628
7.5	-626
8.0	-622



รูปที่ 11 Titration Curve

น้ำหนัก 2,3-dihydroxynaphthalene = 0.0591 กรัม

$$\text{end point จริง} = 4.00 - 0.375 = 3.625 \text{ cm}^3$$

$$\text{น้ำหนัก 2,3-dihydroxynaphthalene ที่หาได้} = \frac{0.1 \times 3.625 \times 160.18}{1000}$$

$$= 0.0581 \text{ กรัม}$$

$$\therefore \text{error} = 1.69\%$$

Titration ด้วยการใช้อินดิเคเตอร์

ตารางที่ 17 ผลการหาปริมาณ 1, 8- dihydroxynaphthalene โดย Visual Titration

น้ำหนักสารประกอบ มาตรฐาน (กรัม)	titrant (cm ³)	blank (cm ³)	titrant ที่ใช้จริง (cm ³)	น้ำหนัก Standard ที่ทำได้ (กรัม)	% error
0.1127	6.70	0.2	6.50	0.1124	0.27
0.0868	5.60	0.2	5.40	0.0865	0.34
0.0803	5.20	0.2	5.00	0.0801	0.25

ตารางที่ 18 ผลการหาปริมาณ 2, 3-dihydroxynaphthalene โดย Visual Titration

น้ำหนักสารประกอบ มาตรฐาน (กรัม)	titrant (cm ³)	blank (cm ³)	titrant ที่ใช้จริง (cm ³)	น้ำหนัก Standard ที่ทำได้ (กรัม)	% error
0.0835	5.00	0.2	4.80	0.0830	0.60
0.1080	6.40	0.2	6.20	0.1073	0.65
0.0925	5.50	0.2	5.30	0.0917	0.86

ตารางที่ 19 ผลการหาปริมาณ 1, 8-dihydroxynaphthalene โดย Back Titration

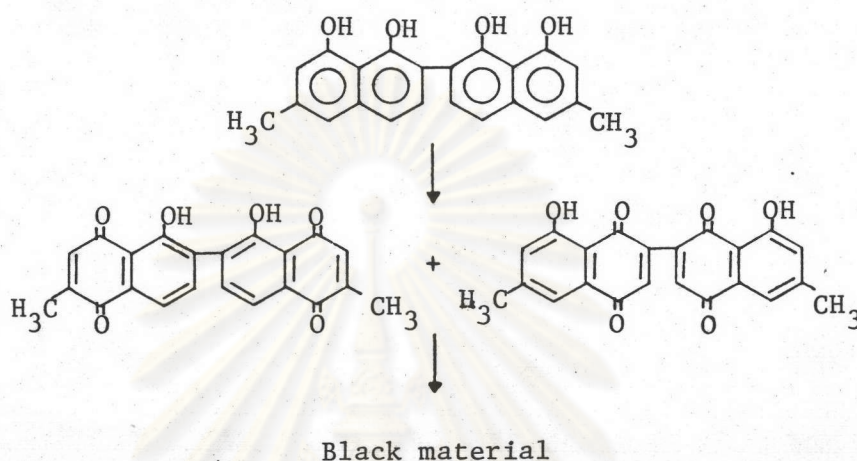
น้ำหนักสารประกอบ มาตรฐาน (กรัม)	ปริมาตร NaOH (cm ³)				ปริมาตร 1.06 M NaOH ที่ใช้จริง (cm ³)	น้ำหนักสารประกอบ มาตรฐานที่หาได้ (กรัม)	% error
	blank		สารประกอบมาตรฐาน				
	5.35 M	1.06 M	5.35 M	1.06 M			
0.4400	94.00	25.10	94.00	20.00	5.10	0.4344	1.27
0.5000	94.00	25.70	94.00	20.00	5.70	0.4855	2.90

ตารางที่ 20 ผลการหาปริมาณ 2, 3-dihydroxynaphthalene โดย Back Titration

น้ำหนักสารประกอบ มาตรฐาน (กรัม)	ปริมาตร NaOH (cm ³)				ปริมาตร 1.06 M NaOH ที่ใช้จริง (cm ³)	น้ำหนักสารประกอบ มาตรฐานที่หาได้ (กรัม)	% error
	blank		สารประกอบมาตรฐาน				
	5.35 M	1.06 M	5.35 M	1.06 M			
0.4700	94.00	25.00	94.00	19.60	5.40	0.4600	2.13
0.5280	94.00	25.50	94.00	19.40	6.10	0.5196	1.59

2.6 การหาปริมาณ diospyrol

เนื่องจาก diospyrol เป็นสารประกอบที่ถูกออกซิไดส์ได้ง่ายในอากาศ และเมื่อถูกออกซิไดส์แล้วจะเปลี่ยนเป็นสารประกอบพวก quinones ดังนี้



จะเห็นว่าในผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการออกซิเดชันนั้นยังคงมีหมู่ไฮดรอกซิลเหลืออยู่ แต่จำนวนหมู่ไฮดรอกซิลนั้นจะน้อยลงกว่าของสารตั้งต้น ดังนั้น เมื่อเกิดการออกซิไดส์ไปจนถึงที่สุดแล้ว หมู่ไฮดรอกซิลนี้ไม่จะมีเหลืออยู่เลย อย่างไรก็ตามการหาปริมาณของ diospyrol ที่แยกได้ใหม่ ๆ และที่เก็บเอาไว้ไม่ได้เป็นค่าที่แท้จริง แต่เป็นค่าที่สัมพันธ์กับ oxidative product โดยถือว่าในตอนเริ่มแรกนั้นมี phenolic-OH 100 % หรือเกือบ 100 % แต่เมื่อถูกออกซิไดส์แล้วจำนวนหมู่ phenolic-OH จะลดลงไปเรื่อย ๆ ซึ่งในขณะเดียวกันการออกฤทธิ์ในการฆ่าไส้เดือนหรือยับยั้งพยาธิก็ลดลงด้วย จะถึงระยะหนึ่งที่จำนวนหมู่ phenolic-OH ต่ำมากจนกระทั่งหมดฤทธิ์ในการฆ่าไส้เดือน ฉะนั้นในการหาปริมาณนี้จึงเป็นการหาว่า diospyrol ที่เก็บเอาไว้เป็นเวลานานเท่าไรที่ยังคงใช้เป็นยาถ่ายได้ หรืออีกนัยหนึ่งก็คือชี้ถึงวิธีการเก็บ diospyrol เนื่องจากหมู่ไฮดรอกซิลในสารประกอบเริ่มต้น (diospyrol) และผลิตภัณฑ์ (quinones) นั้นเป็นชนิดเดียวกับพวก phenol ดังนั้นจึงใช้หลักการในการหาปริมาณของพวกสารประกอบ phenol เป็นหลักในการหาปริมาณของ diospyrol และ quinones ที่เกี่ยวข้อง ซึ่งมีหลายวิธี เช่น Potentiometric Titration (18), Visual Titration (18), Back Titration (19), Colorimetry (18), Gas Chromatography (18) เป็นต้น แต่วิธี Colorimetry และ Gas Chromatography ไม่สามารถกระทำได้

เพราะวิธี Colorimetry นั้นใช้หาปริมาณ phenol ในช่วงความเข้มข้น ppm และ sub-ppm ส่วน Gas Chromatography นั้นจะต้องทำให้สารประกอบ phenol นั้น เปลี่ยนสถานะเป็นก๊าซ จึงจะสามารถวัดได้ แต่ diospyrol เมื่อถูกความร้อนจะเกิดการสลายตัว ดังนั้นวิธีที่เหมาะสมที่ใช้ในการศึกษานี้ ได้แก่ 3 วิธีแรกที่กล่าวข้างบน พร้อมกับได้ทำการทดลองความเป็นไปได้ด้วยการใช้ 1, 8-dihydroxynaphthalene และ 2, 3-dihydroxynaphthalene ซึ่งมีลักษณะของหมู่ phenolic-OH เหมือนกัน หรือใกล้เคียงกับ diospyrol มากที่สุด ดังที่ปรากฏอยู่ในหัวข้อ 2.5 ให้ผลใกล้เคียงกันมีเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อนไม่เกิน 3 %

2.6.1 Potentiometric Titration

ซึ่ง diospyrol ประมาณ 0.1 กรัมในบีกเกอร์ 250 cm³ ละลายด้วย pyridine 50 cm³ ทำการไตเตรทภายใต้บรรยากาศไนโตรเจน โดยหยดสารละลาย 0.1 M tetrabutylammonium hydroxide จาก microburet วัดศักย์ไฟฟ้าของสารละลายด้วย combined electrode นำเอาข้อมูลที่ได้ไปพลอตกราฟระหว่างศักย์ไฟฟ้าที่อ่านได้กับปริมาตร titrant ที่เติมลงไป และหา end point เพื่อนำไปคำนวณหาปริมาณของ diospyrol

ผลการทดลองแสดงอยู่ในหน้า 45-47, 49-51, 53-55 และ 57-59

2.6.2 Visual Titration

ซึ่ง diospyrol ประมาณ 0.1 กรัมในขวดปกรวยขนาด 150 cm³ ละลายด้วย pyridine 25 cm³ หยด azo violet indicator 2 หยดและไตเตรทอย่างรวดเร็วด้วยสารละลาย 0.1 M tetrabutylammonium hydroxide จนกระทั่งสารละลายเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเขียว นำปริมาตรของสารละลาย titrant ที่ใช้ไปคำนวณหาปริมาณของ diospyrol

โดยวิธี Potentiometric Titration และ Visual Titration พบว่า 1 โมลของ diospyrol ทำปฏิกิริยาพอดีกับ 2 โมลของ titrant หรือ 4 หมู่ของไฮดรอกซิลต่อ 2 โมลของ titrant ดังนั้นน้ำหนัก diospyrol สามารถหาได้จาก

$$\text{น้ำหนัก diospyrol} = \frac{X \times \text{ความเข้มข้นของ titrant} \times \text{น้ำหนักโมเลกุลของ diospyrol}}{2 \times 1000}$$

$$= \frac{X \times 0.1 \times 346}{2 \times 1000} \quad \text{กรัม}$$

X = cm^3 ของสารละลาย tetrabutylammonium hydroxide ที่ทำปฏิกิริยาพอดีกับ diospyrol

ผลการทดลองแสดงอยู่ในหน้า 48, 52, 56 และ 60

2.6.3 Back Titration

นำ diospyrol ประมาณ 1.0 กรัมไปทำ acetylation กับ acetic anhydride 25.00 cm^3 และ sodium acetate 4.00 กรัม หลังจาก reflux 1 ชม. เติมน้ำ 10.00 cm^3 ผ่าน condenser และ reflux ต่ออีก 10 นาที ปล่อยให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง เติมน-butanol 10.00 cm^3 ผ่าน condenser อีก 15.00 cm^3 ล้างข้าง ๆ flask ใส่ phenolphthalein (1 กรัมใน 100 cm^3 ของ 95 % w/w alcohol) แล้วนำไปไตเตรทกับสารละลาย sodium hydroxide มาตรฐาน

ขณะเดียวกันทำ Blank เทียบไปพร้อม ๆ กันด้วย

ปรากฏว่าสารละลาย sodium hydroxide มาตรฐาน 2 โมลจะทำปฏิกิริยาพอดีกับ acetic anhydride 1 โมล หรือ acetic acid 2 โมล และ diospyrol 1 โมล จะทำปฏิกิริยาพอดีกับ acetic anhydride 2 โมล หรือ acetic acid 4 โมล น้ำหนัก diospyrol จึงคำนวณได้จาก

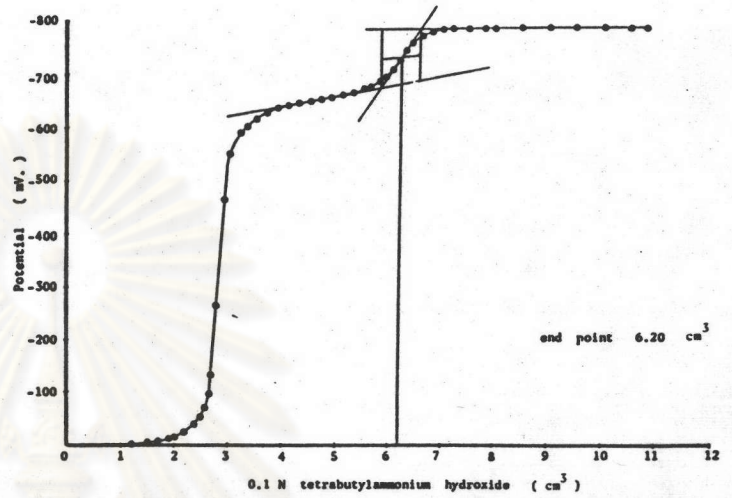
$$\begin{aligned} \text{น้ำหนัก diospyrol} &= \frac{X \times Y \times \text{น้ำหนักโมเลกุลของ diospyrol}}{4 \times 1000} \\ &= \frac{X \times Y \times 346}{4 \times 1000} \end{aligned}$$

X = (cm^3 ของ sodium hydroxide ที่ทำปฏิกิริยาพอดีกับ acetic acid ใน Blank) - (cm^3 ของ sodium hydroxide ที่ทำปฏิกิริยาพอดีกับ acetic acid ที่เหลือจากการทำ acetylation)

Y = ความเข้มข้นของสารละลาย sodium hydroxide มาตรฐาน
ผลการทดลองแสดงอยู่ในหน้า 48, 52, 56 และ 60

ตารางที่ 21 ผลการหาปริมาณ diospyrol โดย Potentiometric Titration เมื่อเก็บ
ไว้ที่เวลา 0 เดือน (ครั้งที่ 1)

titrant (cm ³)	mV.	titrant (cm ³)	mV.
0.0	0	5.1	-665
0.5	0	5.2	-667
1.0	0	5.3	-670
1.2	0	5.4	-673
1.5	-5	5.5	-678
1.7	-8	5.6	-682
1.9	-12	5.7	-688
2.0	-15	5.8	-691
2.2	-21	5.9	-699
2.4	-36	6.0	-707
2.5	-52	6.1	-717
2.6	-70	6.2	-731
2.7	-134	6.3	-750
2.8	-226	6.4	-765
2.9	-466	6.5	-770
3.0	-553	6.6	-776
3.2	-594	6.7	-780
3.5	-619	6.8	-784
3.6	-626	6.9	-786
3.7	-630	7.0	-789
3.8	-634	7.1	-789
3.9	-638	7.5	-789
4.0	-640	7.7	-789
4.1	-643	8.0	-790
4.2	-645	8.5	-793
4.3	-647	9.0	-793
4.4	-651	9.5	-793
4.5	-652	10.0	-792
4.6	-654	10.5	-790
4.7	-657	11.0	-786
4.8	-658	11.5	-785
4.9	-660	12.0	-785
5.0	-662		



รูปที่ 12 Titration Curve

น้ำหนัก diospyrol = 0.1080 กรัม

end point จริง = 6.20 - 0.375 cm³

= 5.825 cm³

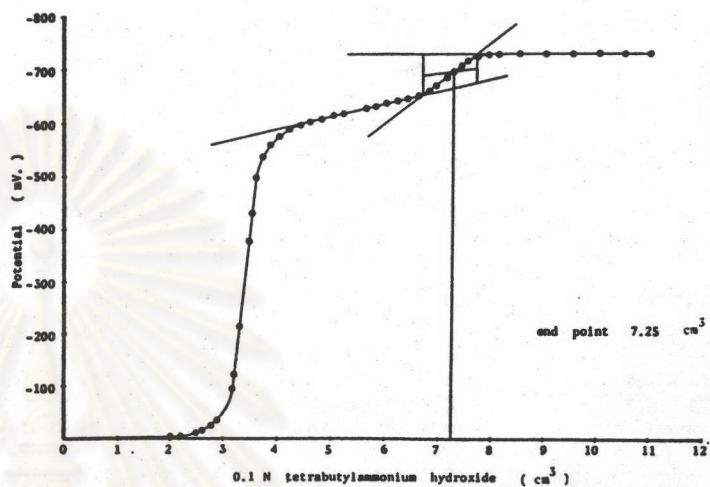
∴ น้ำหนัก diospyrol ที่เหลืออยู่ = 0.1008 กรัม

= 93.33%

ตารางที่ 22 ผลการหาปริมาณ diospyrol โดย Potentiometric Titration

เมื่อเก็บไว้ที่เวลา 0 เดือน (ครั้งที่ 2)

titrant (cm ³)	mV.	titrant (cm ³)	mV.
0.0	0	6.3	-642
1.0	0	6.4	-645
2.0	-4	6.5	-649
2.5	-12	6.6	-650
2.6	-18	6.7	-655
2.8	-25	6.8	-660
2.9	-33	6.9	-671
3.1	-97	7.0	-679
3.2	-122	7.1	-685
3.3	-214	7.2	-690
3.4	-377	7.3	-700
3.5	-430	7.4	-708
3.6	-496	7.5	-717
3.7	-536	7.6	-722
3.8	-563	7.7	-726
3.9	-572	7.8	-726
4.0	-577	7.9	-726
4.2	-588	8.0	-726
4.4	-594	8.2	-726
4.8	-606	8.5	-726
5.0	-613	9.0	-726
5.2	-616	9.5	-726
5.6	-626	10.0	-726
6.0	-636	10.5	-725
6.2	-640	11.0	-725



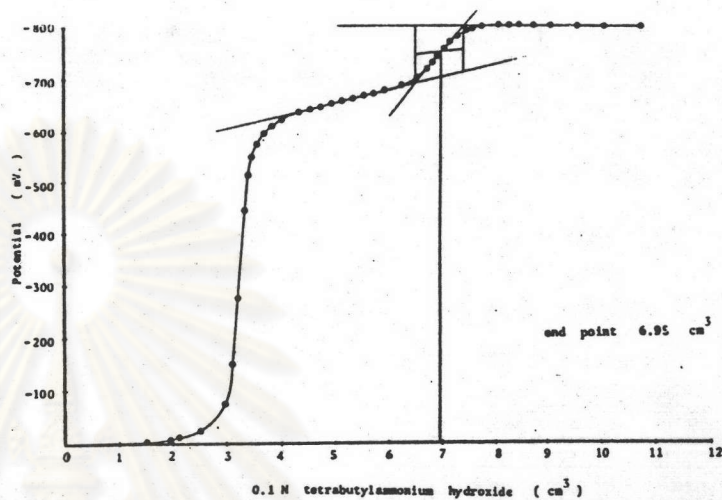
รูปที่ 13 Titration Curve

น้ำหนัก diospyrol = 0.1248 กรัม
 end point จริง = 7.25 - 0.375 cm³
 = 6.875 cm³
 ∴ น้ำหนัก diospyrol ที่เหลืออยู่ = 0.1189 กรัม
 = 95.27%

ตารางที่ 23 ผลการหาปริมาณ diospyrol โดย Potentiometric Titration

เมื่อเก็บไว้ที่เวลา 0 เดือน (ครั้งที่ 3)

titrant (cm ³)	mV.	titrant (cm ³)	mV.
0.0	0	5.7	-673
1.0	0	5.9	-680
1.5	-4	6.0	-681
2.1	-13	6.2	-689
2.5	-23	6.5	-702
3.0	-73	6.7	-718
3.1	-150	6.9	-740
3.2	-274	7.0	-756
3.3	-444	7.2	-783
3.4	-515	7.4	-794
3.5	-577	7.5	-797
3.6	-600	7.7	-800
3.7	-607	8.0	-802
3.8	-613	8.2	-802
3.9	-621	8.3	-802
4.0	-625	8.4	-802
4.2	-635	8.5	-802
4.3	-638	8.6	-800
4.5	-643	9.5	-800
4.7	-648	10.0	-800
4.9	-655	10.2	-799
5.0	-657	10.5	-800
5.1	-658	10.9	-799
5.2	-660	11.0	-799
5.3	-662	11.5	-799
5.5	-668	12.0	-800



รูปที่ 14 Titration Curve

น้ำหนัก diospyrol = 0.1200 กรัม
 end point จริง = 6.95 - 0.375 cm³
 = 6.575 cm³
 ∴ น้ำหนัก diospyrol ที่เหลืออยู่ = 0.1137 กรัม
 = 94.75%

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

$$\begin{aligned} \text{โดย Potentiometric Titration ทหา \% diospyrol ที่เหลืออยู่ได้} &= \frac{93.33 + 95.27 + 94.75}{3} \\ &= 94.45 \% \end{aligned}$$

ตารางที่ 24 ผลการหาปริมาณ diospyrol เมื่อเก็บไว้ที่เวลา 0 เดือน โดย Visual Titration

น้ำหนัก diospyrol (กรัม)	titrant (cm ³)	blank (cm ³)	titant ที่ใช้จริง (cm ³)	น้ำหนัก diospyrol ที่ทำได้ (กรัม)	%
0.0800	4.60	0.20	4.40	0.0761	95.15
0.1000	5.72	0.20	5.52	0.0955	95.50
0.0901	5.08	0.20	4.88	0.0844	93.67
เฉลี่ย =					94.77

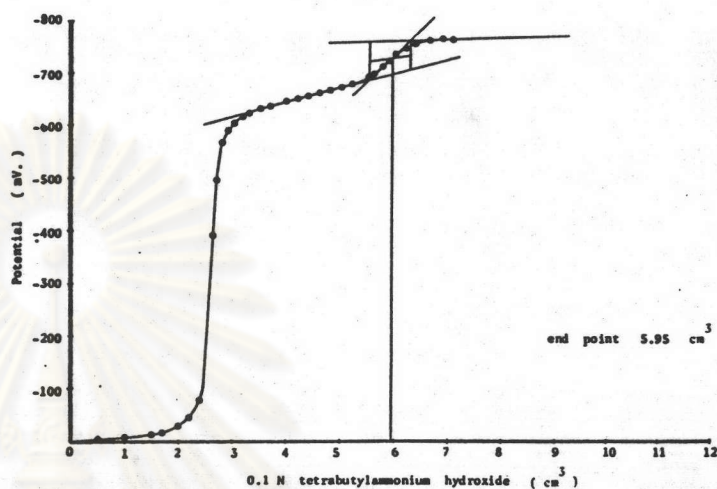
ตารางที่ 25 ผลการหาปริมาณ diospyrol เมื่อเก็บไว้ที่เวลา 0 เดือน โดย Back Titration

น้ำหนัก diospyrol (กรัม)	ปริมาตร NaOH (cm ³)				ปริมาตร 1.06 M NaOH ที่ใช้จริง (cm ³)	น้ำหนัก diospyrol ที่ทำได้ (กรัม)	%
	blank		diospyrol				
	5.36 M	1.06 M	5.36 M	1.06 M			
3.2685	85.00	60.60	85.00	27.70	32.90	3.0268	92.60
1.3829	90.00	38.30	90.00	24.20	14.10	1.2972	93.80
1.5778	90.00	38.90	90.00	23.10	15.80	1.4536	92.13
เฉลี่ย =						92.84	

$$\begin{aligned} \% \text{ diospyrol ที่เหลืออยู่ (จาก 3 วิธี)} &= \frac{94.45 + 94.77 + 92.84}{3} \\ &= 94.02 \% \end{aligned}$$

ตารางที่ 26 ผลการหาปริมาณ diospyrol โดย Potentiometric Titration เมื่อเก็บ
ไว้ที่เวลา 3 เดือน (ครั้งที่ 1)

titrant (cm ³)	mV.	titrant (cm ³)	mV.
0.0	0	5.1	-676
0.5	-3	5.2	-679
1.0	-6	5.3	-682
1.5	-12	5.5	-692
1.7	-16	5.6	-698
2.0	-26	5.7	-704
2.2	-43	5.8	-712
2.4	-78	5.9	-722
2.6	-390	6.0	-735
2.7	-495	6.1	-742
2.8	-568	6.2	-748
2.9	-590	6.3	-752
3.0	-605	6.4	-755
3.1	-610	6.5	-760
3.2	-616	6.6	-762
3.3	-620	6.7	-764
3.5	-630	6.8	-766
3.7	-635	6.9	-766
4.0	-644	7.0	-766
4.2	-650	7.5	-775
4.4	-655	7.8	-778
4.6	-660	8.0	-777
4.8	-665	8.5	-778
5.0	-672	9.0	-778



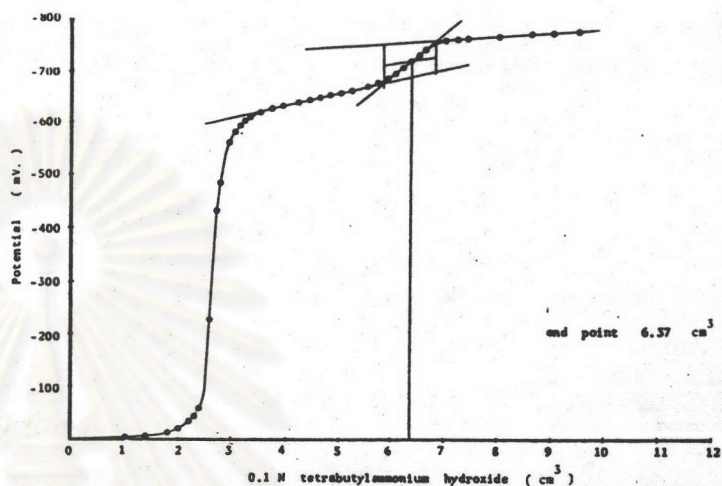
รูปที่ 15 Titration Curve

น้ำหนัก diospyrol = 0.1032 กรัม
 end point จริง = 5.95 - 0.375 cm³
 = 5.575 cm³
 ∴ น้ำหนัก diospyrol ที่เหลืออยู่ = 0.0964 กรัม
 = 93.41%

ตารางที่ 27 ผลการหาปริมาณ diospyrol โดย Potentiometric Titration

เมื่อเก็บไว้ที่เวลา 3 เดือน (ครั้งที่ 2)

titrant (cm ³)	mV.	titrant (cm ³)	mV.
0.0	0	5.2	-664
0.5	0	5.3	-666
1.0	-1	5.4	-669
1.4	-6	5.5	-674
1.8	-13	5.6	-677
2.0	-20	5.7	-680
2.1	-25	5.8	-684
2.2	-32	5.9	-689
2.3	-42	6.0	-694
2.4	-58	6.1	-702
2.5	-207	6.2	-708
2.6	-226	6.3	-717
2.7	-433	6.4	-725
2.8	-484	6.5	-734
2.9	-561	6.6	-744
3.0	-584	6.7	-752
3.1	-598	6.8	-755
3.2	-605	6.9	-760
3.3	-611	7.0	-761
3.4	-616	7.1	-763
3.5	-620	7.2	-764
3.6	-623	7.3	-764
3.7	-627	7.4	-766
3.8	-630	7.5	-767
3.9	-633	8.0	-775
4.0	-635	8.2	-775
4.2	-640	8.4	-775
4.4	-645	8.6	-775
4.6	-650	9.0	-776
4.8	-655	9.5	-777
5.0	-659	10.0	-777
5.1	-662		



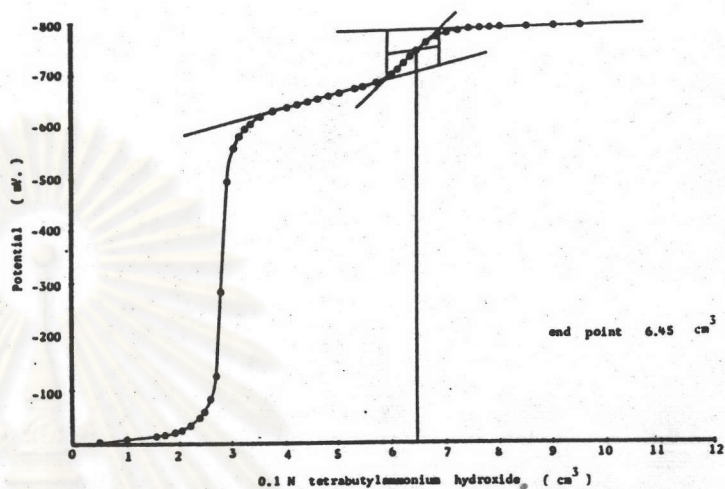
รูปที่ 16 Titration Curve

น้ำหนัก diospyrol = 0.1092 กรัม
 end point จริง = $6.37 - 0.375 \text{ cm}^3$
 = 5.995 cm^3
 ∴ น้ำหนัก diospyrol ที่เหลืออยู่ = 0.1037 กรัม
 = 94.96%

ตารางที่ 28 ผลการหาปริมาณ diospyrol โดย Potentiometric Titration

เมื่อเก็บไว้ที่เวลา 3 เดือน (ครั้งที่ 3)

titrant (cm ³)	mV.	titrant (cm ³)	mV.
0.0	0	5.0	-663
0.5	-2	5.2	-668
1.0	-6	5.3	-672
1.5	-13	5.4	-675
1.7	-16	5.5	-679
1.9	-21	5.6	-682
2.0	-23	5.7	-686
2.2	-30	5.8	-690
2.3	-37	5.9	-695
2.4	-46	6.0	-700
2.5	-56	6.1	-712
2.6	-82	6.2	-723
2.7	-141	6.3	-737
2.8	-283	6.4	-743
2.9	-493	6.5	-753
3.0	-559	6.6	-763
3.1	-581	6.7	-770
3.2	-597	6.8	-775
3.3	-607	6.9	-778
3.4	-614	7.0	-780
3.5	-620	7.2	-785
3.6	-627	7.4	-791
3.7	-629	7.6	-792
3.8	-632	7.8	-793
3.9	-634	8.0	-794
4.0	-637	8.5	-797
4.2	-642	9.0	-799
4.4	-647	9.5	-799
4.6	-652	10.0	-798
4.8	-657	11.0	-796



รูปที่ 17 Titration Curve

น้ำหนัก diospyrol = 0.1130 กรัม
 end point จริง = 6.45 - 0.375 cm³
 = 6.075 cm³
 ∴ น้ำหนัก diospyrol ที่เหลืออยู่ = 0.1051 กรัม
 = 93.01%

$$\begin{aligned} \text{โดย Potentiometric Titration ทหา \% diospyrol ที่เหลืออยู่ได้} &= \frac{93.41 + 94.96 + 93.01}{3} \\ &= 93.79 \% \end{aligned}$$

ตารางที่ 29 ผลการหาปริมาณ diospyrol เมื่อเก็บไว้ที่เวลา 3 เดือน โดย Visual Titration

น้ำหนัก diospyrol (กรัม)	titrant (cm ³)	blank (cm ³)	titrant ที่ใช้จริง (cm ³)	น้ำหนัก diospyrol ที่ทำได้ (กรัม)	%
0.0912	5.10	0.20	4.90	0.0848	92.98
0.0844	4.70	0.20	4.50	0.0778	92.18
0.0853	4.80	0.20	4.60	0.0796	93.32
เฉลี่ย =					92.83

ตารางที่ 30 ผลการหาปริมาณ diospyrol เมื่อเก็บไว้ที่เวลา 3 เดือน โดย Back Titration

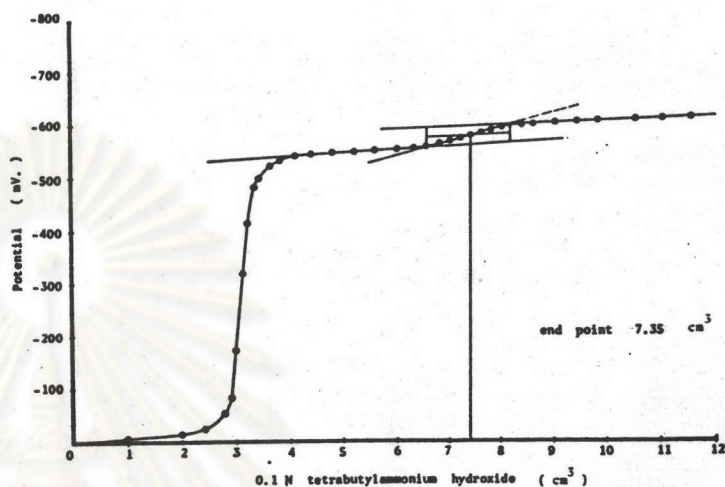
น้ำหนัก diospyrol (กรัม)	ปริมาณ NaOH (cm ³)				ปริมาณ 1.02 M NaOH ที่ใช้จริง (cm ³)	น้ำหนัก diospyrol ที่ทำได้ (กรัม)	%
	blank		diospyrol				
	5.28 M	1.02 M	5.28 M	1.02 M			
1.0026	50.00	237.60	50.00	227.30	10.30	0.9147	91.24
1.0195	90.00	30.50	90.00	20.00	10.50	0.9325	91.47
1.1841	90.00	30.30	90.00	18.00	12.30	1.0924	92.25
เฉลี่ย =						91.65	

$$\begin{aligned} \% \text{ diospyrol ที่เหลืออยู่ (จาก 3 วิธี)} &= \frac{93.79 + 92.83 + 91.65}{3} \\ &= 92.76 \% \end{aligned}$$

ตารางที่ 31 ผลการหาปริมาณ diospyrol โดย Potentiometric Titration

เมื่อเก็บไว้ที่เวลา 6 เดือน (ครั้งที่ 1)

titrant (cm ³)	mV.	titrant (cm ³)	mV.
0.0	0	5.7	-613
1.0	-1	5.9	-617
1.5	-2	6.0	-618
2.0	-6	6.1	-620
2.2	-11	6.2	-621
2.4	-15	6.3	-621
2.5	-20	6.4	-624
2.7	-32	6.5	-625
2.8	-40	6.6	-625
2.9	-58	6.7	-630
3.0	-95	6.8	-634
3.1	-180	6.9	-637
3.2	-340	7.0	-642
3.3	-454	7.1	-645
3.4	-510	7.2	-650
3.5	-541	7.3	-655
3.6	-553	7.4	-658
3.7	-564	7.5	-659
3.8	-570	7.6	-660
3.9	-572	7.7	-662
4.0	-577	7.8	-662
4.2	-584	7.9	-665
4.4	-591	8.0	-655
4.6	-595	8.2	-655
4.8	-499	8.4	-655
5.0	-643	8.6	-655
5.1	-606	9.0	-667
5.2	-606	9.5	-667
5.4	-610	10.0	-667
5.5	-611	11.0	-667



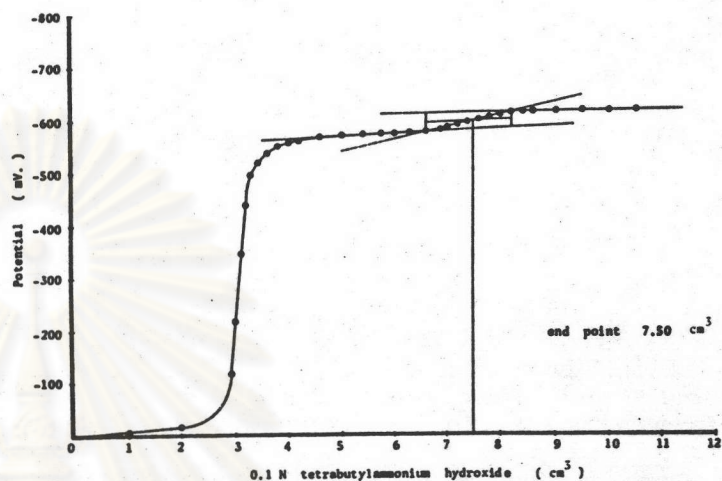
รูปที่ 18 Titration Curve

น้ำหนัก diospyrol = 0.1353 กรัม
 end point จริง = 7.35 - 0.375 cm³
 = 6.975 cm³
 ∴ น้ำหนัก diospyrol ที่เหลืออยู่ = 0.1207 กรัม
 89.21%

ตารางที่ 32 ผลการหาปริมาณ diospyrol โดย Potentiometric Titration

เมื่อเก็บไว้ที่เวลา 6 เดือน (ครั้งที่ 2)

titrant (cm ³)	mV.	titrant (cm ³)	mV.
0.0	0	6.0	-574
1.0	-5	6.2	-576
2.0	-15	6.3	-576
2.5	-32	6.4	-576
2.7	-47	6.7	-577
2.8	-65	6.8	-578
2.9	-130	6.9	-581
3.0	-214	7.0	-585
3.1	-346	7.1	-589
3.2	-439	7.2	-590
3.3	-495	7.3	-592
3.4	-522	7.4	-595
3.5	-533	7.5	-597
3.6	-540	7.6	-600
3.7	-546	7.7	-602
3.8	-551	7.8	-604
3.9	-554	7.9	-607
4.0	-556	8.0	-610
4.2	-560	8.2	-610
4.4	-566	8.4	-615
4.6	-568	8.6	-615
4.8	-571	9.0	-615
5.0	-572	9.5	-617
5.2	-573	10.0	-618
5.4	-574	10.5	-618
5.6	-574	11.0	-618
5.8	-574		



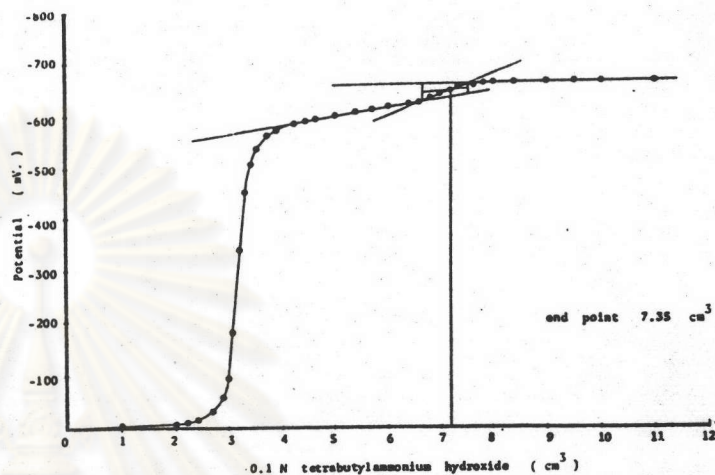
รูปที่ 19 Titration Curve

น้ำหนัก diospyrol = 0.1375 กรัม
 end point จริง = 7.50 - 0.375 cm³
 = 7.125 cm³
 ∴ น้ำหนัก diospyrol ที่เหลืออยู่ = 0.1233 กรัม
 = 89.67%

ตารางที่ 33 ผลการหาปริมาณ diospyrol โดย Potentiometric Titration

เมื่อเก็บไว้ที่เวลา 6 เดือน (ครั้งที่ 3)

titrant (cm ³)	mV.	titrant (cm ³)	mV.
0.0	0	6.6	-556
1.0	-4	6.7	-559
2.0	-13	6.8	-563
2.5	-26	6.9	-565
2.8	-50	7.0	-566
2.9	-82	7.1	-569
3.0	-171	7.2	-574
3.1	-317	7.3	-575
3.2	-412	7.4	-577
3.3	-475	7.5	-579
3.4	-496	7.6	-582
3.5	-515	7.7	-585
3.6	-523	7.8	-589
3.7	-526	7.9	-593
3.8	-532	8.0	-593
3.9	-534	8.1	-596
4.0	-536	8.2	-598
4.1	-533	8.4	-598
4.3	-540	8.5	-599
4.4	-542	8.6	-600
4.6	-544	8.8	-601
4.8	-545	9.0	-605
5.0	-546	9.2	-606
5.2	-546	9.4	-603
5.4	-548	9.6	-608
5.6	-550	9.8	-609
5.8	-552	10.0	-609
6.0	-553	10.5	-609
6.1	-553	11.0	-611
6.2	-554	11.5	-611
6.3	-554	12.0	-611
6.4	-554	13.0	-611
6.5	-555	14.0	-609



รูปที่ 20 Titration Curve

น้ำหนัก diospyrol = 0.1372 กรัม
 end point จริง = 7.35 - 0.375 cm³
 = 6.975 cm³
 ∴ น้ำหนัก diospyrol ที่เหลืออยู่ = 0.1207 กรัม
 = 87.97%

โดย Potentiometric Titration ทหา % diospyrol ที่เหลืออยู่ได้ = $\frac{89.21 + 89.67 + 87.97}{3}$
 = 88.95 %

ตารางที่ 34 ผลการหาปริมาณ diospyrol เมื่อเก็บไว้ที่เวลา 6 เดือน โดย Visual Titration

น้ำหนัก diospyrol (กรัม)	titrant (cm ³)	blank (cm ³)	titrant ที่ใช้จริง (cm ³)	น้ำหนัก diospyrol ที่ทำได้ (กรัม)	%
0.1102	5.95	0.20	5.75	0.0995	90.27
0.0971	5.15	0.20	4.95	0.0856	88.16
0.0998	5.40	0.20	5.20	0.0900	90.18
เฉลี่ย					= 89.54

ตารางที่ 35 ผลการหาปริมาณ diospyrol เมื่อเก็บไว้ที่เวลา 6 เดือน โดย Back Titration

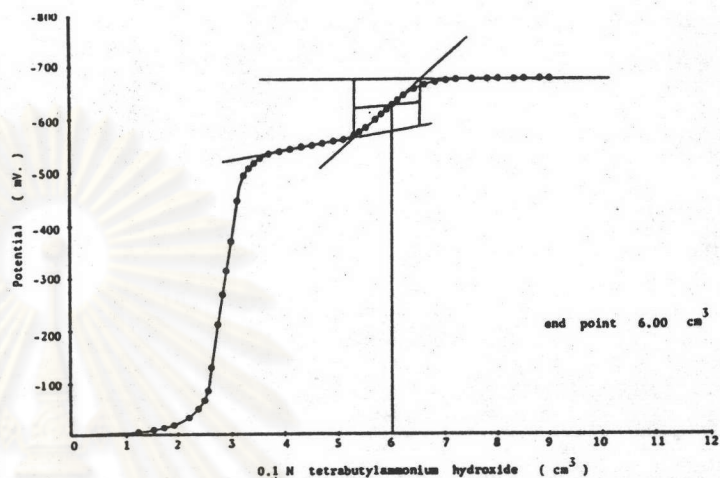
น้ำหนัก diospyrol (กรัม)	ปริมาตร NaOH (cm ³)				ปริมาตร 1.03 M NaOH ที่ใช้จริง (cm ³)	น้ำหนัก diospyrol ที่ทำได้ (กรัม)	%
	blank		diospyrol				
	5.12 M	1.03 M	5.12 M	1.03 M			
1.0000	90.00	67.70	90.00	58.10	9.60	0.8608	86.08
1.0009	90.00	68.20	90.00	58.50	9.70	0.8697	86.90
1.0000	90.00	68.00	90.00	58.50	9.50	0.8518	85.18
เฉลี่ย						= 86.05	

% diospyrol ที่เหลืออยู่ (จาก 3 วิธี) = $\frac{88.95 + 89.54 + 86.05}{3}$
 = 88.18 %

ตารางที่ 36 ผลการหาปริมาณ diospyrol โดย Potentiometric Titration

เมื่อเก็บไว้ที่เวลา 10 เดือน (ครั้งที่ 1)

titrant (cm ³)	mV.	titrant (cm ³)	mV.
0.0	0	4.8	-555
0.5	0	4.9	-557
1.0	-3	5.0	-560
1.2	-5	5.1	-562
1.5	-10	5.2	-565
1.7	-13	5.3	-570
1.9	-17	5.4	-575
2.0	-21	5.5	-578
2.2	-31	5.6	-590
2.4	-47	5.7	-599
2.6	-130	5.8	-607
2.7	-210	5.9	-617
2.8	-217	6.0	-625
2.9	-314	6.1	-635
3.0	-370	6.2	-645
3.1	-445	6.3	-651
3.2	-495	6.4	-656
3.3	-509	6.5	-660
3.4	-520	6.6	-665
3.5	-527	6.7	-667
3.6	-531	6.8	-670
3.7	-533	6.9	-670
3.8	-535	7.0	-671
3.9	-538	7.2	-673
4.0	-540	7.5	-675
4.1	-541	7.8	-676
4.2	-544	8.0	-677
4.3	-546	8.3	-677
4.4	-548	8.5	-676
4.5	-550	8.8	-676
4.6	-551	9.0	-675
4.7	-553	10.0	-675



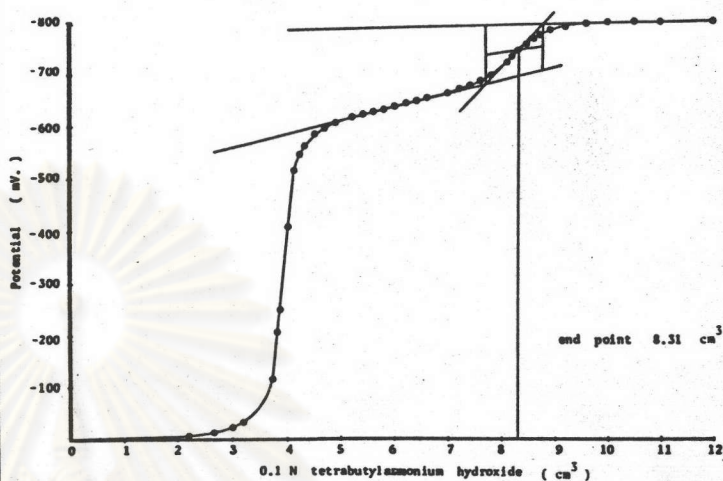
รูปที่ 21 Titration Curve

น้ำหนัก diospyrol = 0.1052 กรัม
 end point จริง = 6.00 - 0.375 cm³
 = 5.625 cm³
 ∴ น้ำหนัก diospyrol ที่เหลืออยู่ = 0.0973 กรัม
 = 92.49%

ตารางที่ 37 ผลการหาปริมาณ diospyrol โดย Potentiometric Titration

เมื่อเก็บไว้ที่เวลา 10 เดือน (ครั้งที่ 2)

titrant (cm ³)	mV.	titrant (cm ³)	mV.
0.0	0	7.0	-661
1.0	-1	7.1	-665
1.5	-2	7.2	-669
2.0	-5	7.3	-671
2.5	-10	7.4	-675
3.0	-21	7.5	-679
3.2	-30	7.6	-685
3.5	-60	7.7	-690
3.6	-77	7.8	-695
3.7	-121	7.9	-700
3.8	-206	8.0	-710
3.9	-298	8.1	-719
4.0	-405	8.2	-729
4.1	-520	8.3	-740
4.2	-545	8.4	-753
4.3	-563	8.5	-761
4.4	-571	8.6	-765
4.5	-585	8.7	-772
4.6	-590	8.8	-776
4.7	-596	8.9	-780
4.8	-600	9.0	-782
4.9	-603	9.2	-786
5.0	-607	9.4	-789
5.2	-615	9.6	-791
5.4	-620	9.8	-793
5.6	-625	10.0	-794
5.8	-630	10.5	-796
6.0	-636	11.0	-796
6.2	-640	11.5	-796
6.4	-645	12.0	-796
6.6	-651	13.0	-795
6.8	-656		



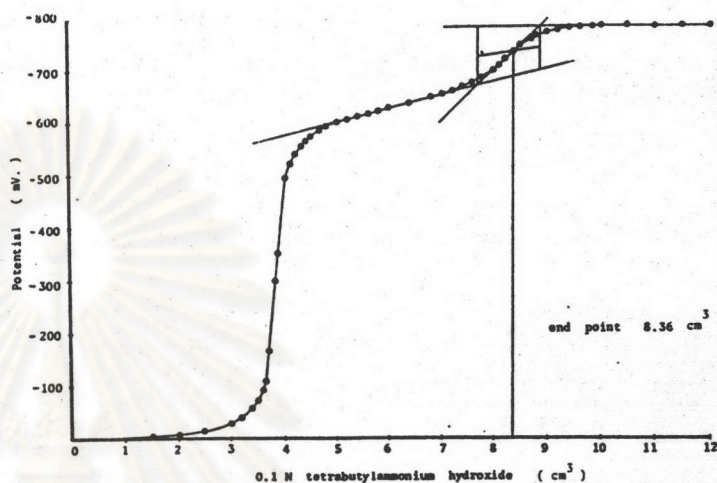
รูปที่ 22 Titration Curve

น้ำหนัก diospyrol = 0.1465 กรัม
 end point จริง = 8.31 - 0.375 cm³
 = 7.935 cm³
 ∴ น้ำหนัก diospyrol ที่เหลืออยู่ = 0.1373 กรัม
 = 93.72%

ตารางที่ 38 ผลการหาปริมาณ diospyrol โดย Potentiometric Titration

เมื่อเก็บไว้ที่เวลา 10 เดือน (ครั้งที่ 3)

titrant (cm ³)	mV.	titrant (cm ³)	mV.
0.0	0	6.6	-644
1.0	-2	6.8	-650
1.5	-5	7.0	-656
2.0	-8	7.1	-659
2.5	-15	7.2	-662
2.7	-19	7.3	-665
2.9	-24	7.4	-670
3.0	-28	7.5	-673
3.2	-38	7.6	-679
3.4	-56	7.7	-682
3.5	-72	7.8	-687
3.6	-92	7.9	-695
3.7	-165	8.0	-701
3.8	-300	8.1	-713
3.9	-351	8.2	-725
4.0	-489	8.3	-731
4.1	-520	8.4	-742
4.2	-540	8.5	-752
4.3	-556	8.6	-758
4.4	-565	8.7	-764
4.5	-575	8.8	-769
4.6	-580	8.9	-773
4.7	-586	9.0	-777
4.8	-592	9.2	-780
4.9	-596	9.4	-784
5.0	-600	9.6	-786
5.2	-606	9.8	-788
5.4	-614	10.0	-790
5.6	-618	10.5	-791
5.8	-624	11.0	-792
6.0	-630	11.5	-793
6.2	-634	12.0	-792
6.4	-639	13.0	-791



รูปที่ 23 Titration Curve

น้ำหนัก diospyrol = 0.1486 กรัม
 end point จริง = 8.36 - 0.375 cm³
 = 7.985 cm³
 ∴ น้ำหนัก diospyrol ที่เหลืออยู่ = 0.1381 กรัม
 = 92.93%

$$\begin{aligned} \text{โดย Potentiometric titration ทหา \% diospyrol ที่เหลืออยู่ได้} &= \frac{92.49+93.72+92.93}{3} \\ &= 93.05 \% \end{aligned}$$

ตารางที่ 39 ผลการหาปริมาณ diospyrol เมื่อเก็บไว้ที่เวลา 10 เดือน โดย

Visual Titration

น้ำหนัก diospyrol (กรัม)	titrant (cm ³)	blank (cm ³)	titrant ที่ใช้จริง (cm ³)	น้ำหนัก diospyrol ที่หาได้ (กรัม)	%
0.1193	6.60	0.2	6.40	0.1107	92.79
0.1019	5.70	0.2	5.50	0.0952	93.42
0.0950	5.25	0.2	5.05	0.0874	92.00
เฉลี่ย					= 92.74

$$\begin{aligned} \% \text{ diospyrol ที่เหลืออยู่ (จาก 2 วิธี)} &= \frac{93.05 + 92.74}{2} \\ &= 92.90 \% \end{aligned}$$

ตารางที่ 40 ผลการหาปริมาณ diospyrol ด้วย Potentiometric Titration, Visual Titration และ Back Titration ที่เวลา 0, 3, 6 และ 10 เดือน ตามลำดับ

เวลา (เดือน)	Potentiometric Titration	Visual Titration	Back Titration	เฉลี่ย
0	94.45%	94.77%	92.84%	94.02%
3	93.79%	92.83%	91.65%	92.76%
6	88.95%	89.54%	86.05%	88.18%
10	93.05%	92.74%	-	92.90%

2.7 การทดสอบฤทธิ์ในการฆ่าไส้เดือนของสารแสดงฤทธิ์

ได้ส่งสารแสดงฤทธิ์ที่เก็บไว้เป็นเวลา 3 เดือนไปทดสอบฤทธิ์ในการฆ่าไส้เดือนที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ซึ่งผลการทดสอบปรากฏอยู่ในตารางที่ 41

ตารางที่ 41 ผลการทดสอบฤทธิ์ของสารแสดงฤทธิ์ที่สกัดได้มาโดยวิธีการต่าง ๆ เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 3 เดือน (เตรียมสารแขวนลอยที่มีความเข้มข้น 0.5 กรัมใน 100 cm³ ของสารทดสอบที่มี carboxymethylcellulose 0.5 % อยู่ด้วย)

ตัวทำละลายที่ใช้สกัด หรือพาสารออกมา	เวลาที่ใช้ในการฆ่าไส้เดือนตายหมด 6 ตัว (นาที)
สารที่สกัดโดยกรมวิทยาศาสตร์	60
ether	60
ethanol	60
น้ำ	150

ศูนย์วิทยุทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย