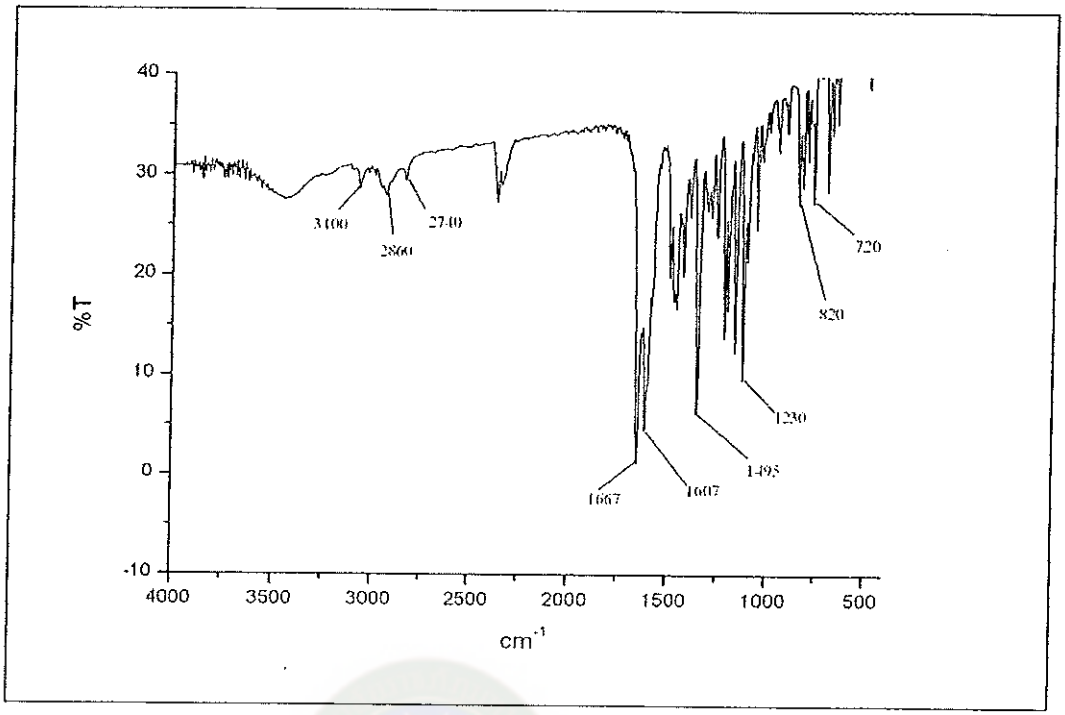
ภาคผนวก

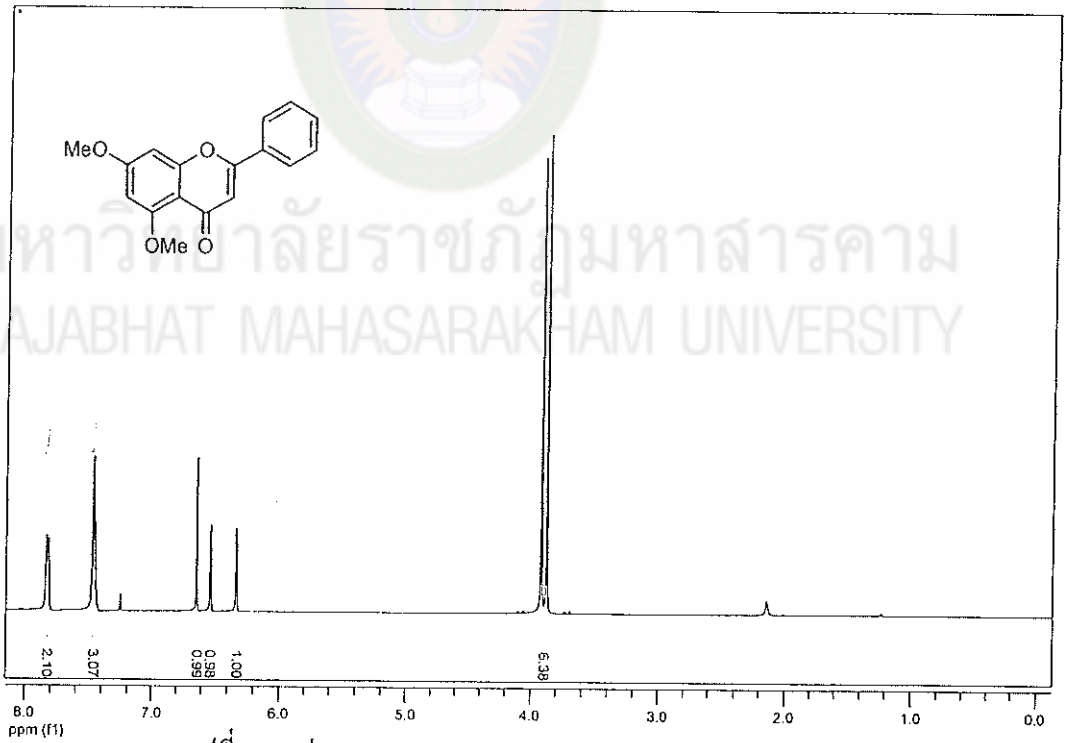
มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ภาคผนวก ก
แสดงสเปคตรัมจากผลการวิเคราะห์

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

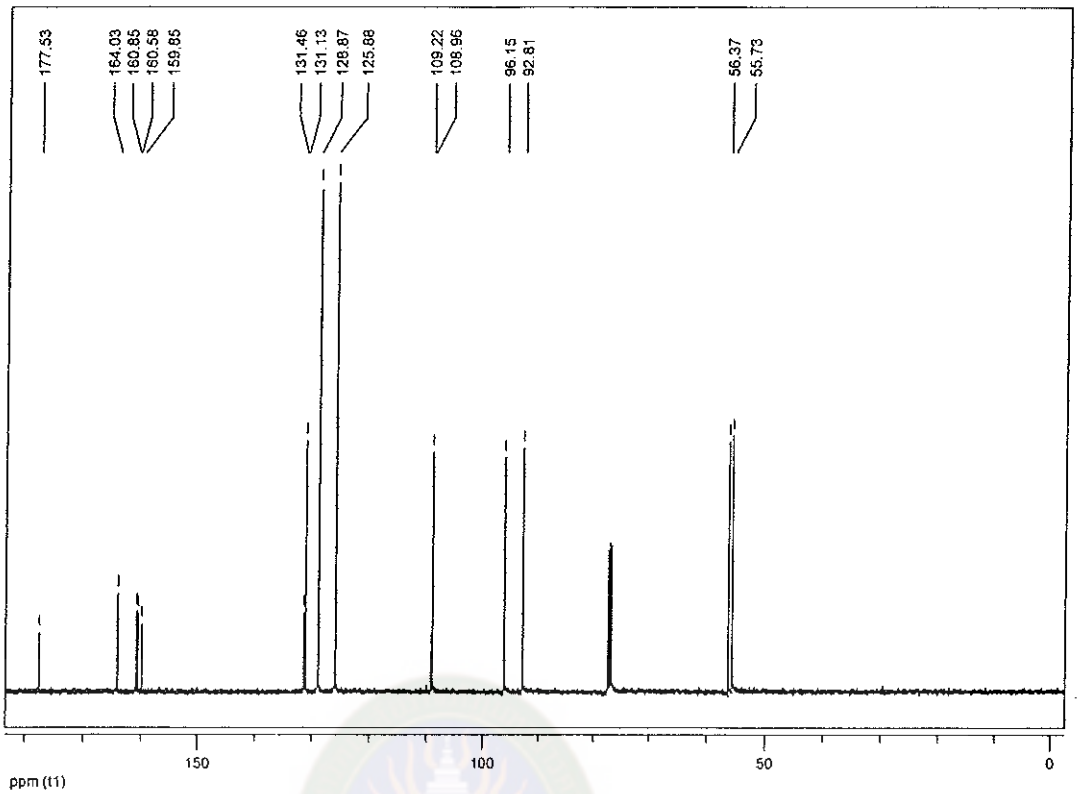


รูปที่ ก (1) IR spectrum ของ 5,7-dimethoxyflavone (1)

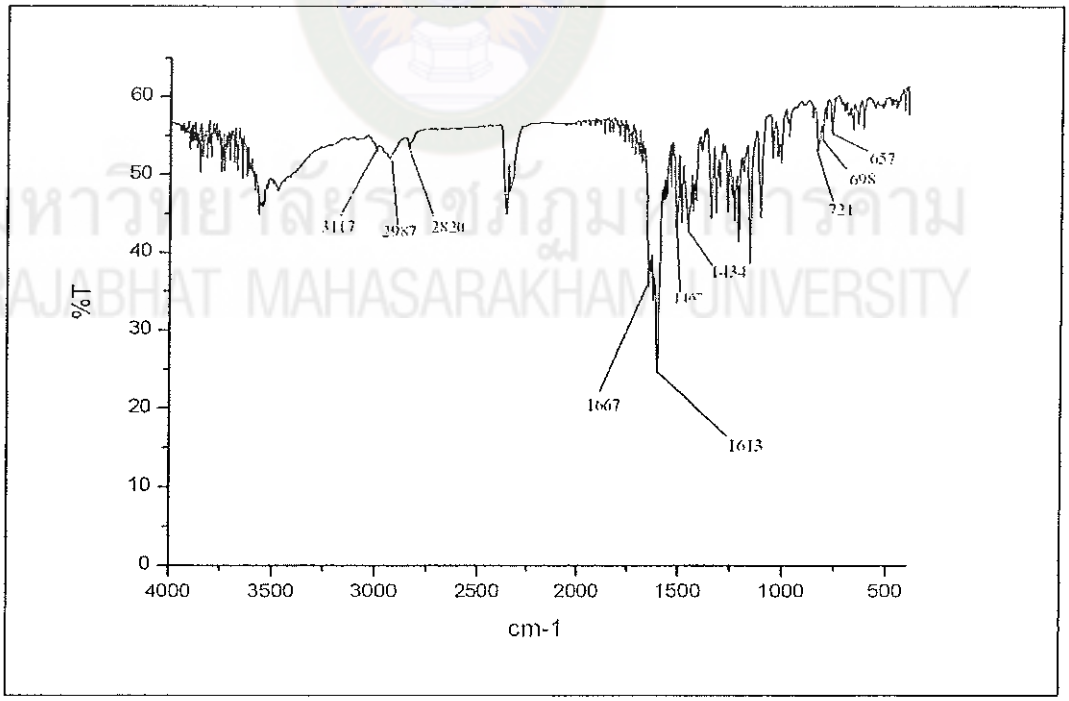


รูปที่ ก (2) ^{1}H-NMR spectrum ของ 5,7-dimethoxyflavone (1).

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

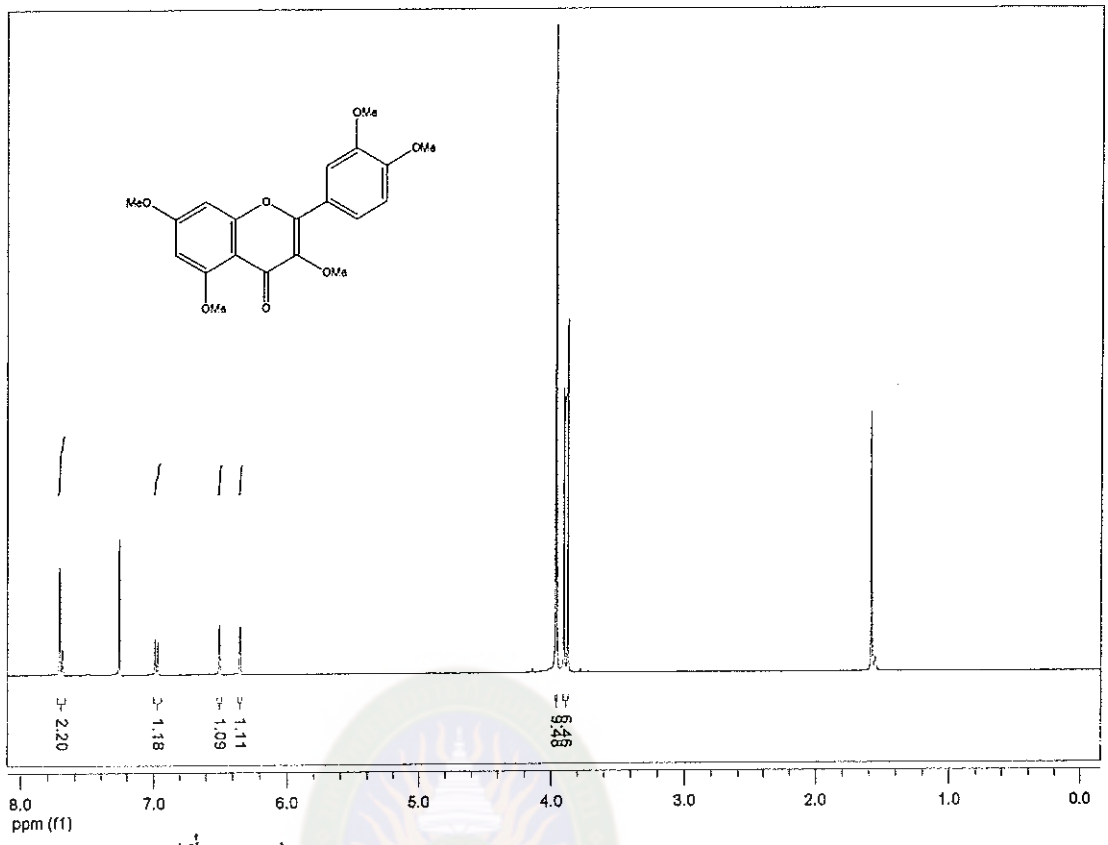


รูปที่ ก (3) ^{13}C-NMR spectrum ของ 5,7-dimethoxyflavone (1).

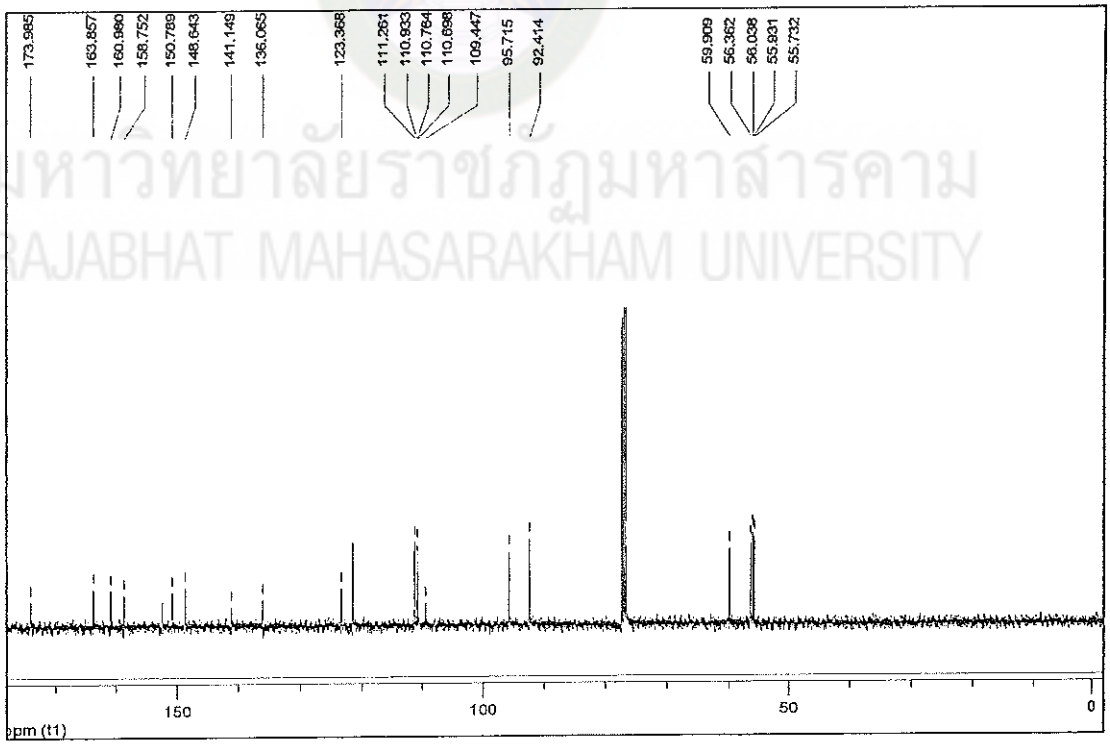


รูปที่ ก (4) IR spectrum ของ 3,5,7,3',4'-pentamethoxyflavone (2)

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

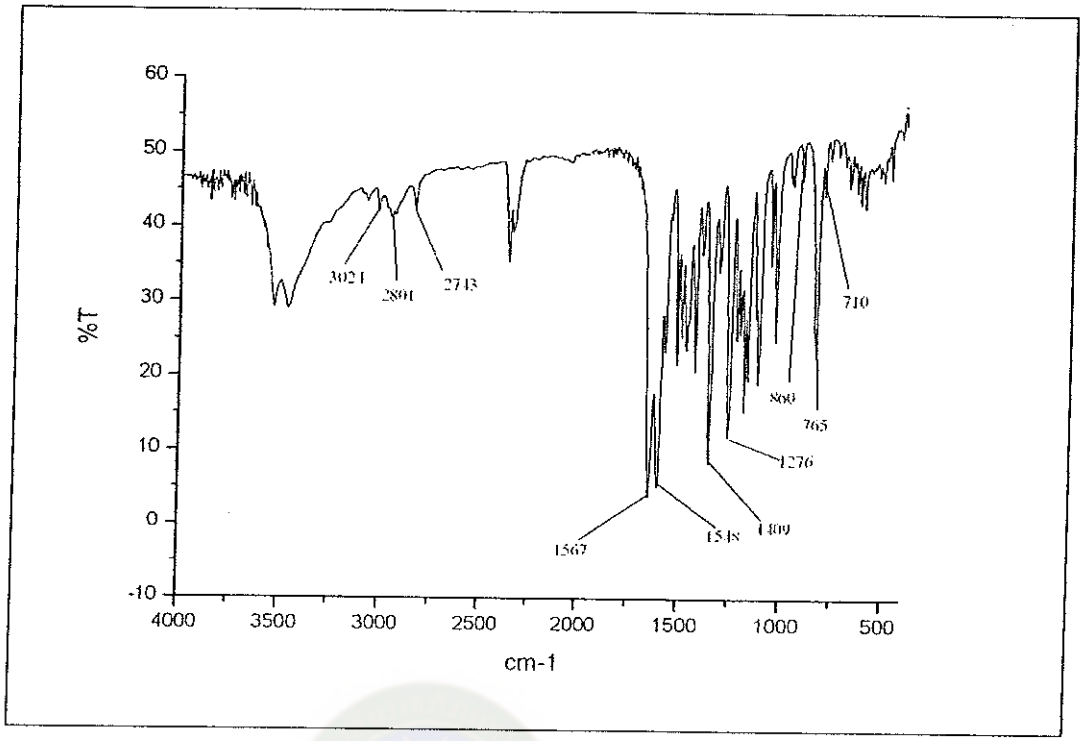


รูปที่ ก (5) ^{1}H-NMR spectrum ของ 3,5,7,3',4'-pentamethoxyflavone (**2**)

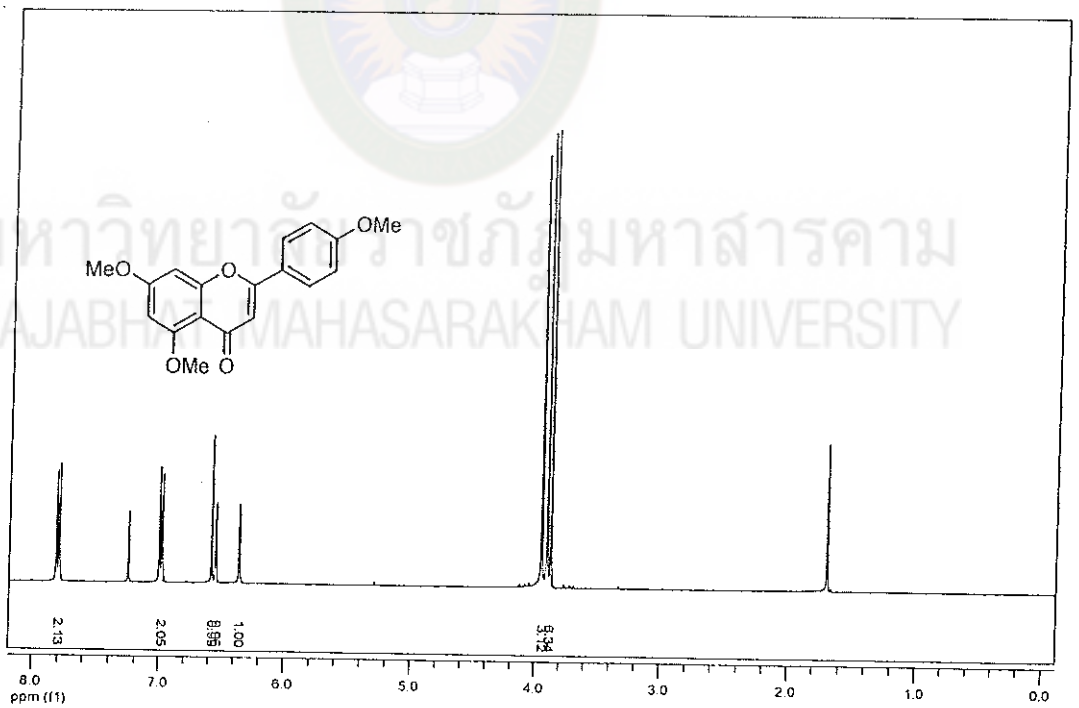


มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

รูปที่ ก (6) ^{13}C-NMR spectrum ของ 3,5,7,3',4'-pentamethoxyflavone (**2**)

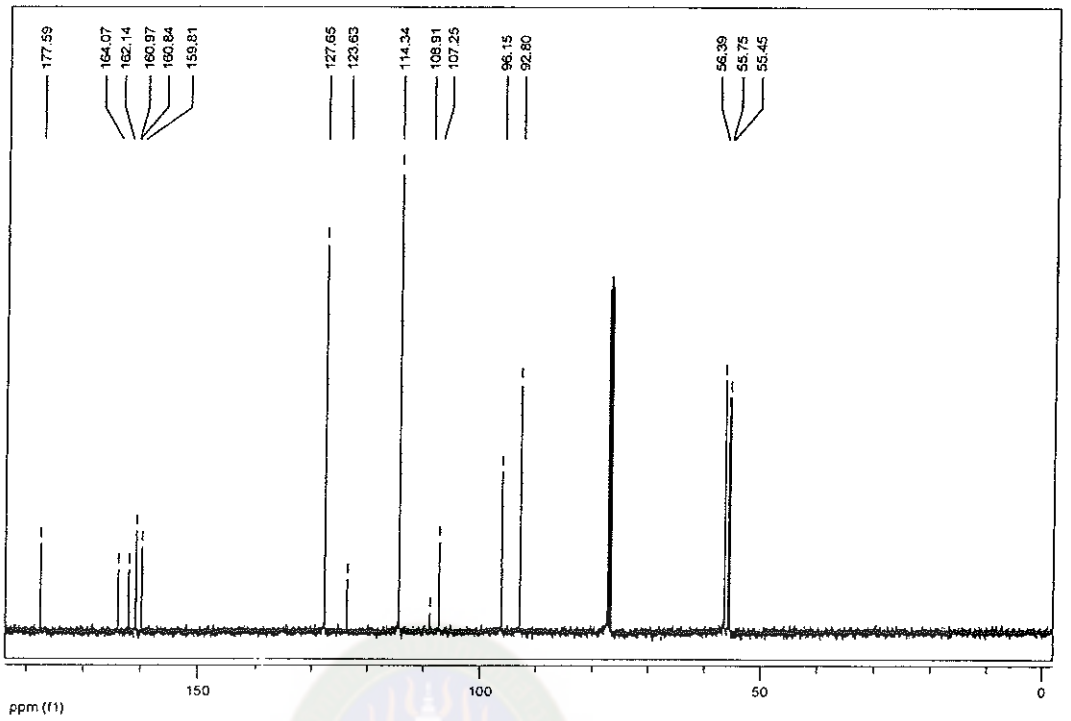


รูปที่ ก (7) IR spectrum ของ 5,7,4'-trimethoxyflavone (3).



รูปที่ ก (8) ^{1}H-NMR spectrum ของ 5,7,4'-trimethoxyflavone (3).

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

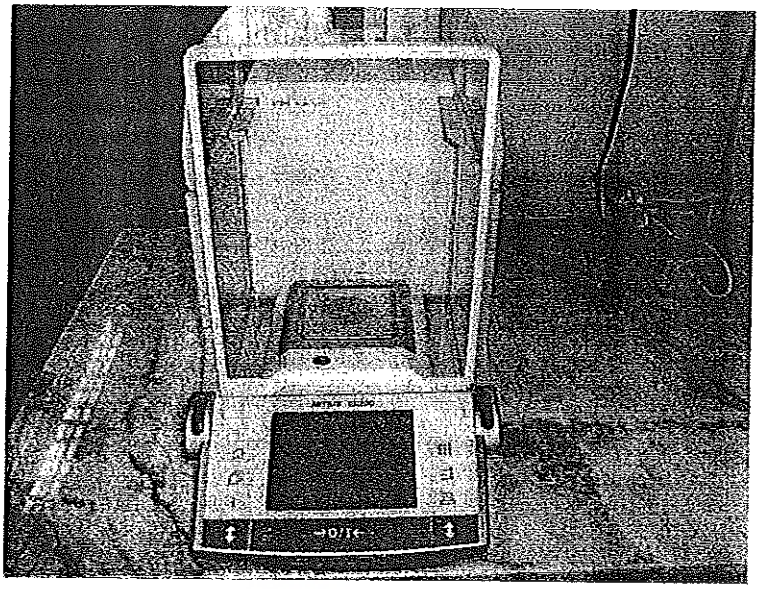


รูปที่ ก (9) ^{13}C-NMR spectrum ของ 5,7,4'-trimethoxyflavone (3).

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ภาคผนวก ข
รูปเครื่องมือที่ใช้วิจัย

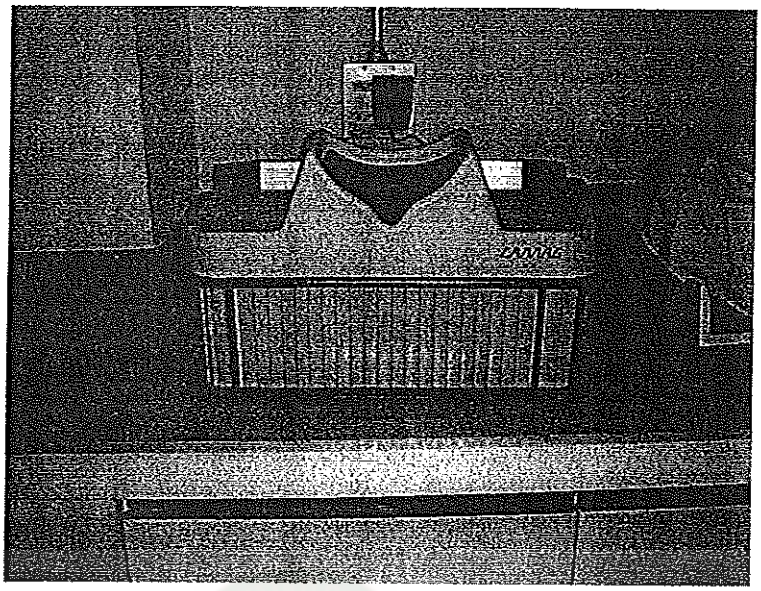
มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY



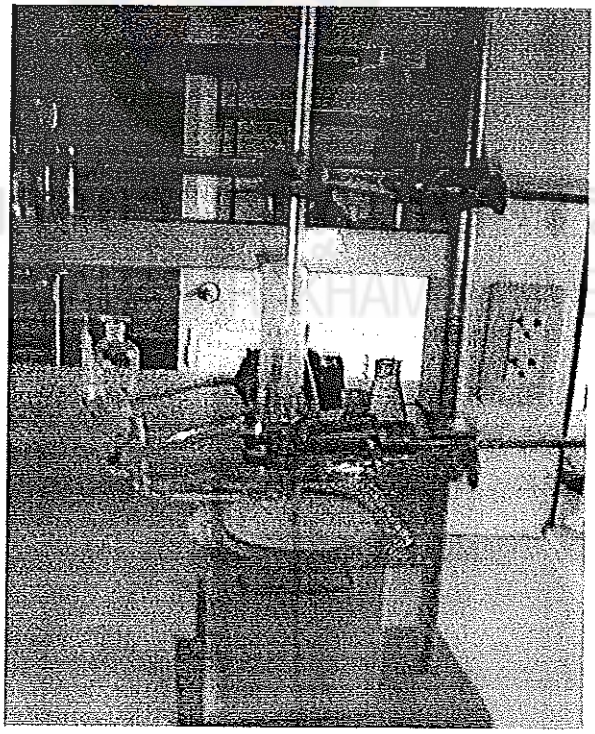
รูปที่ ข (1) เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง

รูปที่ ข (2) เครื่อง Infrared Spectroscopy

มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา
RAJABHAT SUAN SUNANDHA UNIVERSITY

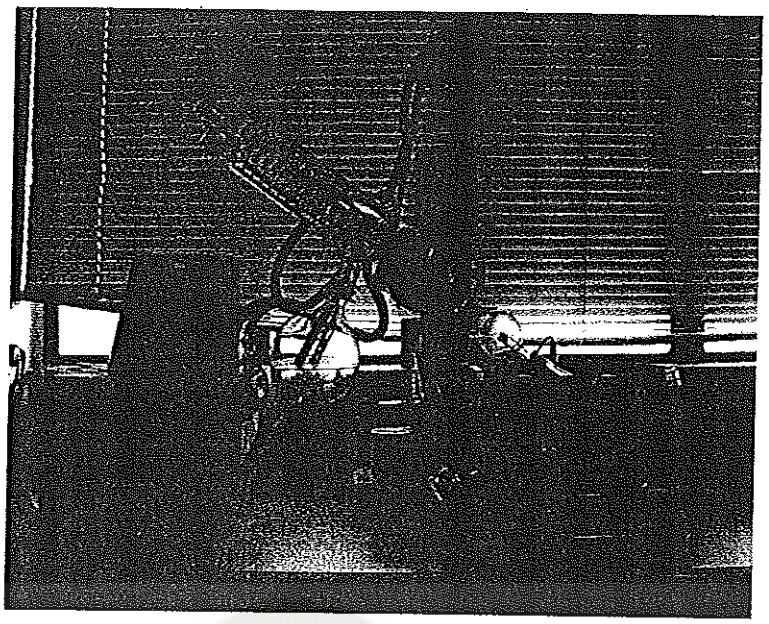


รูปที่ ข (3) UV-lamp



รูปที่ ข (4) ชุดหาจุดหลอมเหลว

มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี
RAJABHAT RAMPHAIPHANNEE UNIVERSITY

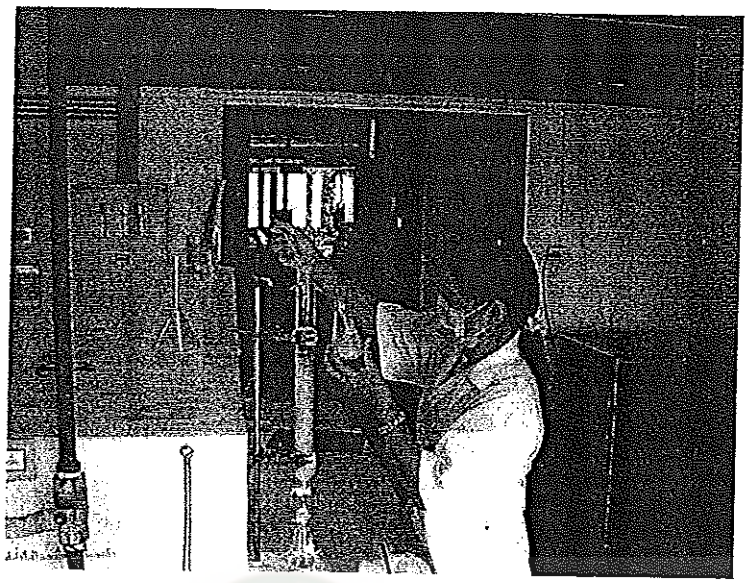


รูปที่ ข (5) เครื่อง Rotary evaporator

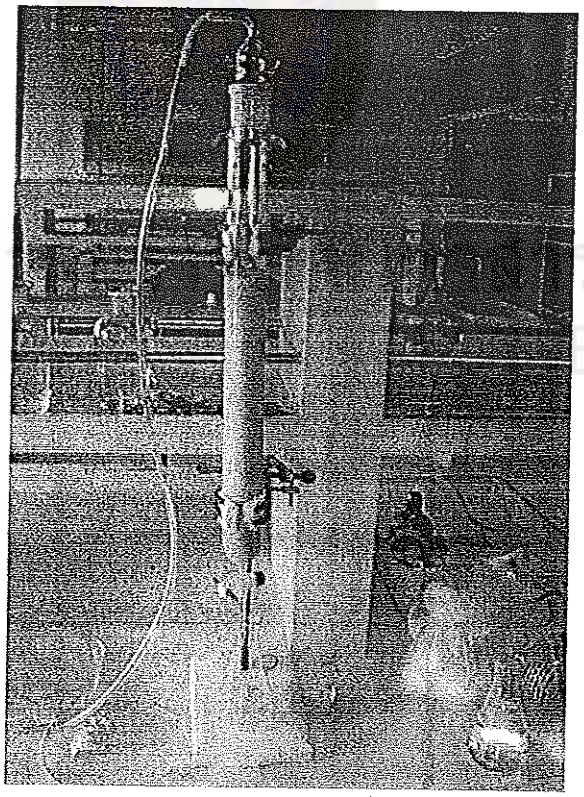
มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ภาคผนวก ง
เครื่องอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

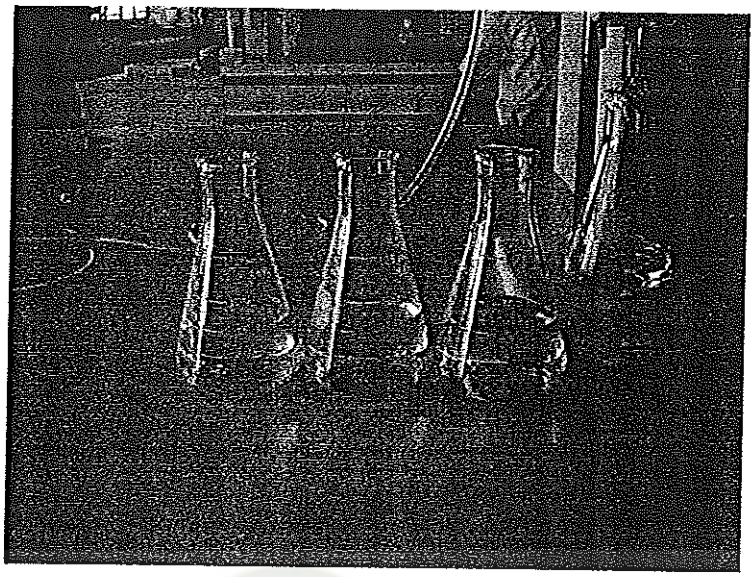


รูปที่ ค (1) แพ็คคอลัมน์

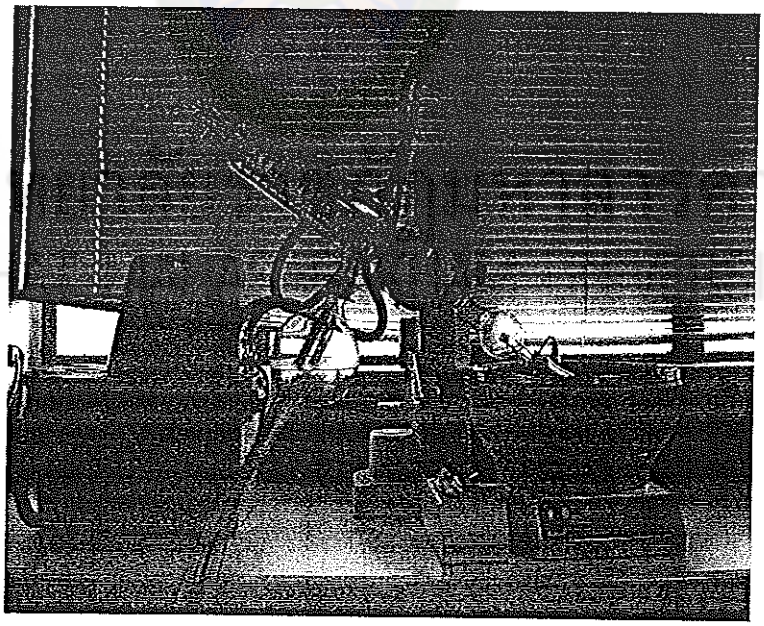


รูปที่ ค (2) ชะคอลัมน์ด้วยตัวทำละลาย

มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี
RAJABHAT RAJAPHRUEK UNIVERSITY

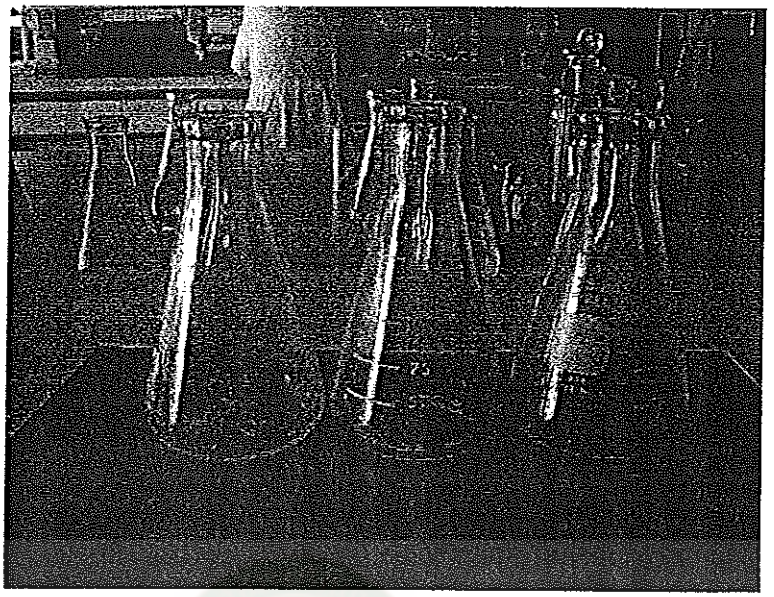


รูปที่ ค (3) ลักษณะสารที่ผ่านคอลัมน์



รูปที่ ค (4) ระเหยแห้ง

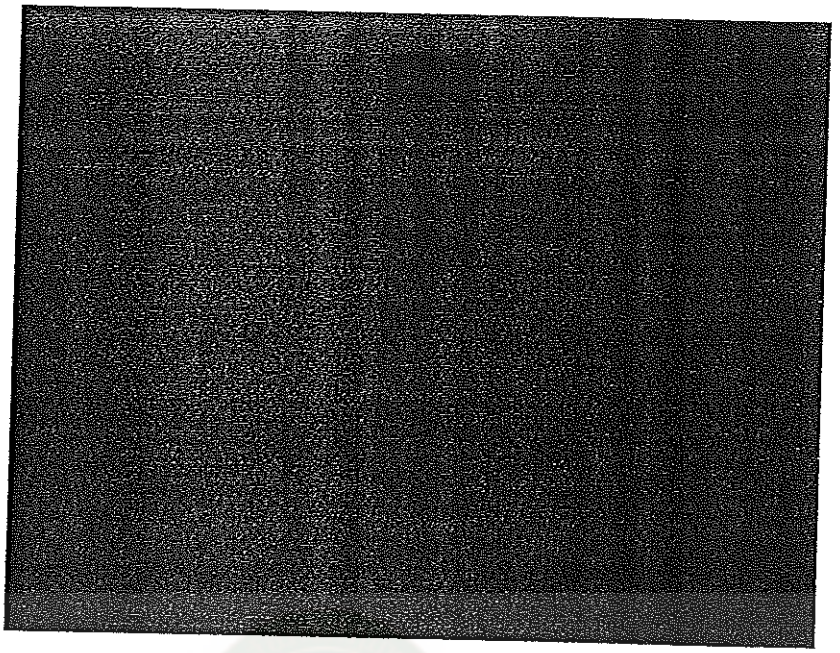
มหาวิ ราม
RAJABH ITY



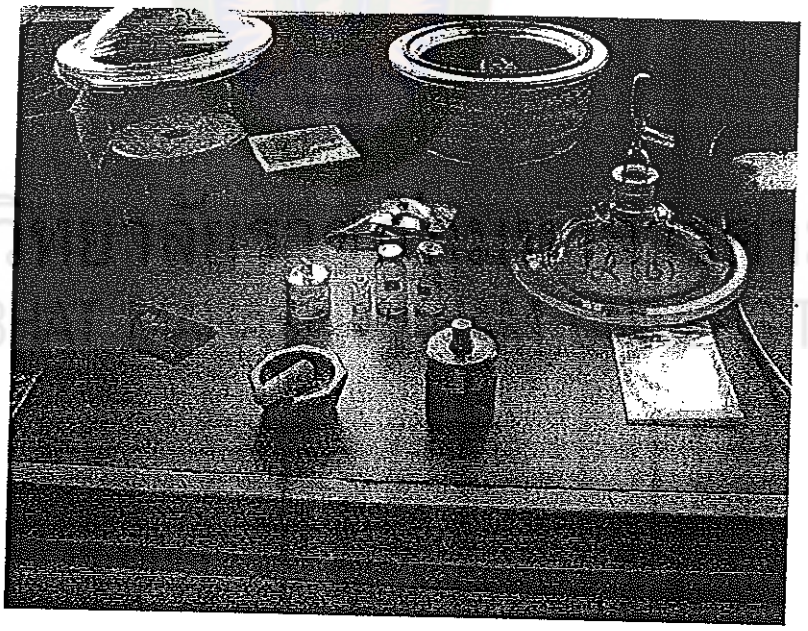
รูปที่ ค (5) ลักษณะสารที่ระเหยแห้งแล้ว

รูปที่ ค (6) ตรวจสอบสารด้วย TLC

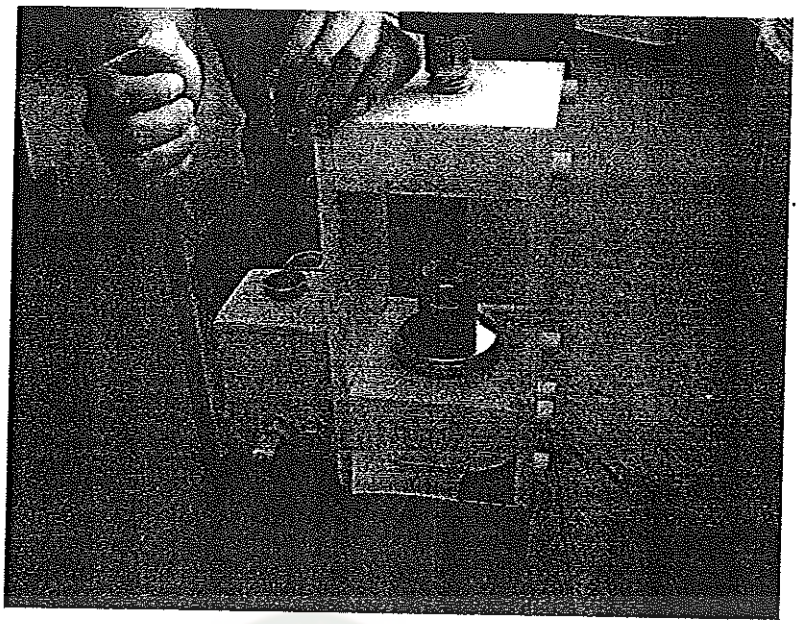
มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY



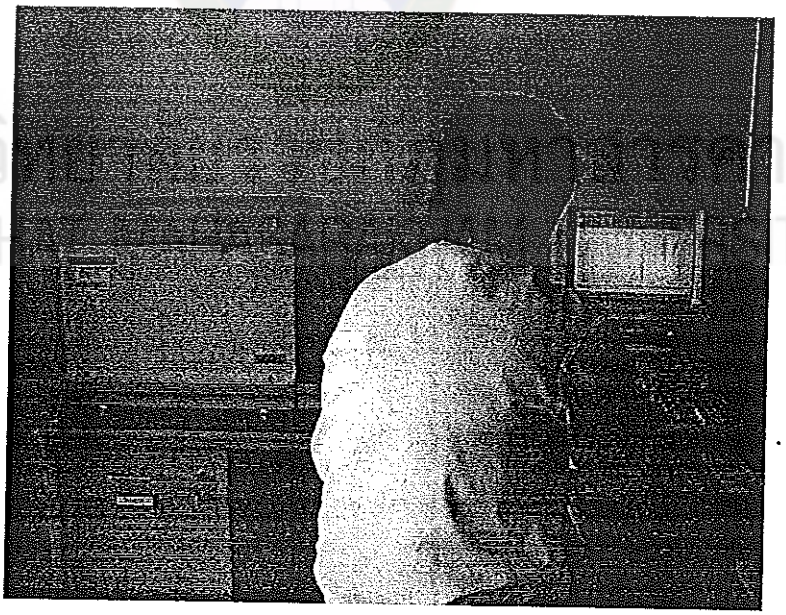
รูปที่ ค (7) การเรืองแสงของสารบนแผ่น TLC



รูปที่ ค (8) อุปกรณ์ในการเตรียมอัดด้วย KBr



รูปที่ ค (9) การอัดแผ่น KBr ด้วยเครื่องไฮโดริก



รูปที่ ค (10) วิเคราะห์ด้วยวิธี IR

มหาวิ ราชภัฏ RAJABHAT UNIVERSITY

ภาคผนวก ง
เครื่องอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

เครื่องอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

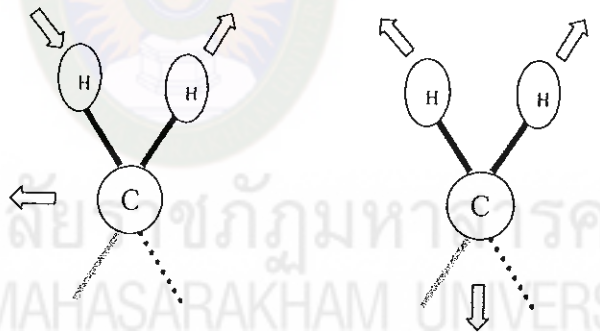
(Infrared Spectroscopy)

โมเลกุลของสารอินทรีย์ซึ่งประกอบด้วยอะตอมที่ยึดต่อกันด้วยพันธะเคมี ซึ่งโดยปกติแล้วอะตอมเหล่านี้จะเกิดการเคลื่อนไหวหรือสั่น (vibrate) อยู่ตลอดเวลา การสั่นแบบพื้นฐานของพันธะเคมีมีอยู่ 2 แบบ คือ การยืด (stretching) และการงอ (bending) พลังงานในช่วงของ IR ระหว่าง 4000-400 cm^{-1} จะมีผลต่อการสั่นของพันธะเคมีแต่ละชนิดแตกต่างกันไป จากความแตกต่างของพลังงานที่มีผลต่อการสั่นของพันธะเคมีแต่ละชนิด ทำให้สามารถจำแนกชนิดของหมู่ฟังก์ชันในองค์ประกอบของสารนั้น ๆ ได้

รูปแบบของการสั่น

1. การสั่นแบบยืด (stretching vibration, υ)

เป็นการยืดเข้าออกระหว่างอะตอม ทั้งแบบสมมาตร (symmetry, υ_s) และแบบอสมมาตร (asymmetry, υ_{as}) ตัวอย่างของการยืดของ $-CH_2-$ ทั้งสองแบบแสดงได้ดังนี้

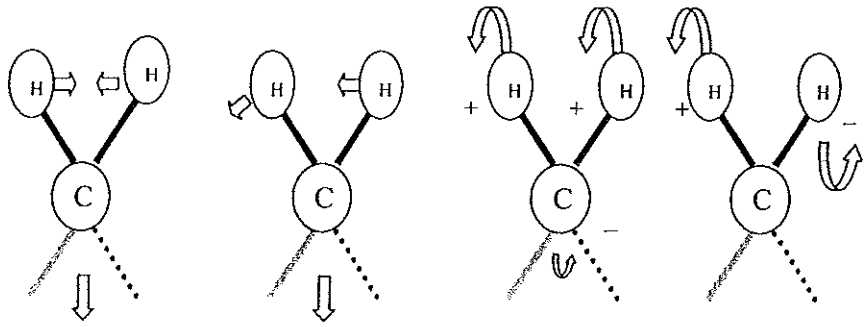


การยืดแบบอสมมาตร, υ_{as} การยืดแบบสมมาตร, υ_s

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

2. การสั่นแบงอ (bending vibration)

การสั่นแบบงอของพันธะมีอยู่ 2 แบบคือ การงอในระนาบ (in-plane bending) และการงอนอกระนาบ (out-of-plane bending) ซึ่งการสั่นแต่ละแบบยังมีการงอในทิศทางที่แตกต่างกัน ดังตัวอย่างการสั่นแบบงอของ $-CH_2-$



การงอแบบกรรไกร (scissoring.δ_s) การโคลง (rocking,ρ) + ขึ้นจากระนาบ การกระดิก (wagging, ω) - ลงไปจากระนาบ การบิด (twisting, τ)

การสั่นแบบงอในระนาบ การสั่นแบบงอนอกระนาบ

คุณสมบัติของพันธะและค่าการดูดกลืนแสง

ถ้าพิจารณาว่าการสั่นแบบยืดของพันธะเคมีที่เชื่อมต่อระหว่างอะตอม 2 อะตอม เป็นแบบ simple harmonic oscillator ที่ประกอบด้วยมวล 2 มวลต่อกันด้วยสปริง โดยมีค่าคงตัวของแรงสปริงเป็น K (force constant) ความถี่ของการสั่นของพันธะสามารถเขียนเป็นสมการได้ดังนี้

$$\bar{\nu} = \frac{1}{2\pi c}\sqrt{\frac{K}{\mu}}$$

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

C เป็นความเร็วแสง (ซ.ม. / วินาที)

จากกฎของฮุค (Hook's law) สำหรับการสั่นของสปริงให้ค่า μ ซึ่งเรียกว่า reduced mass เป็น

$$\mu = \frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2}$$

โดย m_1 และ m_2 เป็นมวลของอะตอมทั้งสอง มีหน่วยเป็นกรัม จะได้เป็น

$$\bar{\nu} = \frac{1}{2\pi c}\sqrt{\frac{K}{m_1 m_2 / m_1 + m_2}}$$

โดยค่า K เป็นค่าคงที่ในหน่วย ไดน์/ซม. กำหนดว่าค่าคงที่ของพันธะเดี่ยว พันธะคู่และพันธะสาม เป็น 5×10^5, 10×10^5 และ 15×10^5 ไดน์/ซม. ตามลำดับ

สำหรับนักเคมีอินทรีย์จะใช้ข้อมูลจาก IR สเปกตรัม เพื่อวิเคราะห์หมูฟังก์ชันซึ่งเป็นเอกลักษณ์ของสารประกอบอินทรีย์ โดยไม่มีความจำเป็นต้องใช้ผลการคำนวณแต่อย่างใด ผลที่ได้จากการคำนวณเป็นเพียงค่าคาดหมายเท่านั้น ค่าความถี่ที่ทำให้เกิดการสั่นของพันธะจะเพิ่มขึ้นตามความแข็งแรงพันธะและเมื่อขนาดของมวลของอะตอมทั้งสองมีค่าลดลง จากสิ่งนี้พอสรุปได้ว่า

1. การยืดของพันธะจะใช้พลังงานสูงกว่าการงอ กล่าวคือความถี่สูง (ค่า cm^{-1}มาก) เนื่องจากมีค่า K สูงกว่า

2. พลังงานที่ใช้ในการสั่นของพันธะ จะเพิ่มขึ้นตามชนิดของพันธะและทำให้ความถี่สูงขึ้นด้วย ดังนี้ พันธะสาม > พันธะสอง > พันธะเดี่ยว

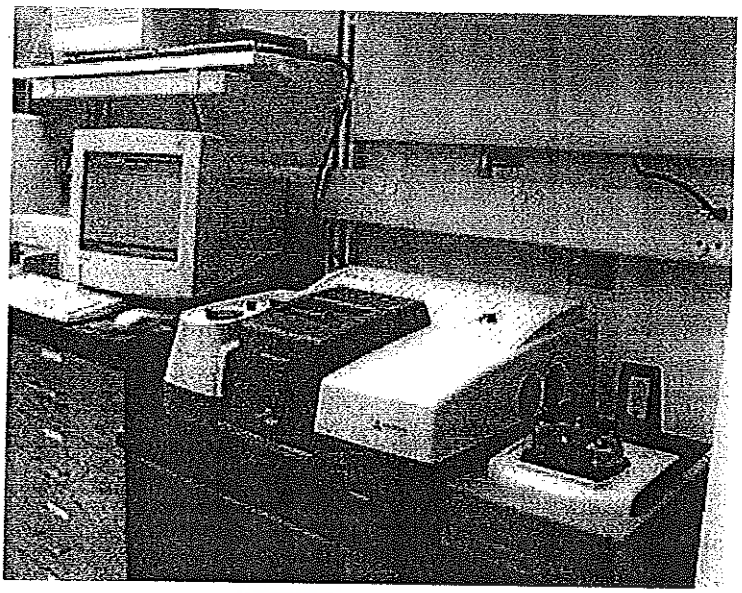
$$\xleftarrow{\text{K เพิ่ม}}$$

$$C \equiv C > C = C > C - C$$

3. ไฮบริไดเซชันมีความสัมพันธ์กับค่า K และไฮบริไดเซชันทำให้ความแข็งแรงของพันธะเพิ่มขึ้นดังนี้ $sp > sp^2 > sp^3$ ทำให้ต้องใช้พลังงานในการสั่นพันธะที่มี sp สูงกว่า sp^2 และ sp^3 ความถี่จึงสูงกว่าด้วย

4. อะตอมที่ก่อพันธะที่มีค่ามวลรวมน้อยจะมีผลทำให้ต้องใช้พลังงานสูงในการสั่นพันธะจึงมีค่าความถี่สูง

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY



รูปที่ ง (1) เครื่องอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

ที่มา: http://epsc.wustl.edu/admin/resources/insituplanetary/isp_ir_lab.htm.

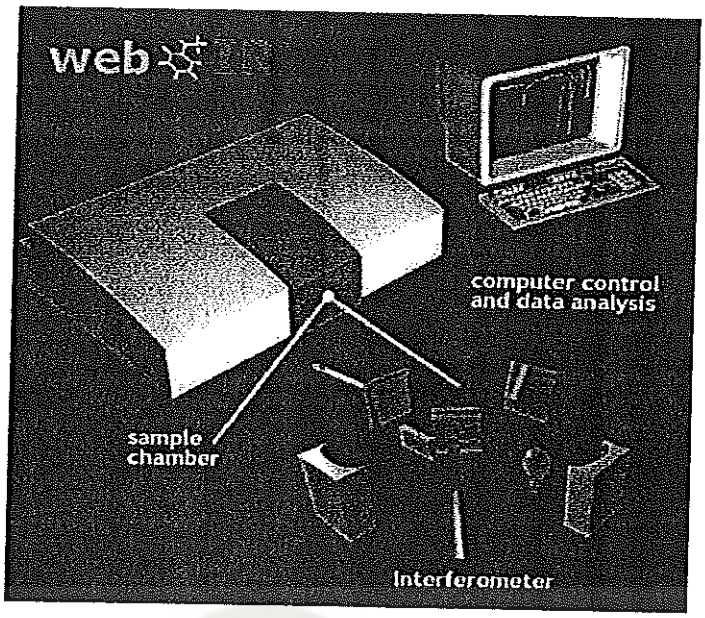
เครื่อง IR สเปกโทรโฟโตมิเตอร์

ส่วนประกอบหลักของเครื่อง IR จะคล้ายกับเครื่อง UV สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ เพียงแต่แหล่งกำเนิดแสงและสมบัติการวิเคราะห์ในเครื่อง IR จะมีความละเอียดกว่าเครื่อง UV โดยจะประกอบด้วยส่วนหลัก ๆ 3 ส่วนคือ

1. แหล่งกำเนิดรังสี IR
2. โมโนโครเมเตอร์
3. อุปกรณ์วัดและบันทึกผล

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

แหล่งกำเนิดรังสี IR เป็นแท่งลวดขนาดเล็กที่ทำให้เกิดความร้อนด้วยกระแสไฟฟ้า ถ้าเป็นวัสดุที่ได้จากส่วนผสมของธาตุ Zirconium , Thallium หรือ Cecium เรียก Nernst filament แต่ถ้าเป็น silicon carbide จะเรียกว่า Nernst Globar ทั้งนี้เพื่อเป็นเกียรติแก่ Walther H. Nernst (1864-1961) ผู้ประดิษฐ์ซึ่งได้รับรางวัลโนเบลสาขาเคมีในปี ค.ศ. 1920 ลำรังสีจะถูกแยกเป็น 2 ทางสู่เซลล์บรรจุสารอ้างอิง (reference) และเซลล์บรรจุสารตัวอย่าง ลำแสงทั้งสองจะผ่านอุปกรณ์ตัดรังสีซึ่งจะสลับกัน ผ่านไปยังโมโนโครเมเตอร์และต่อไปที่เครื่องตรวจรับสัญญาณ (detector) และส่งผลไปที่เครื่องบันทึกผลต่อไป ส่วนประกอบของเครื่อง IR ทั่วไปแสดงดังรูป



รูปที่ ง (2) ส่วนประกอบของเครื่องอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

ที่มา: http://www.scienceofspectroscopy.info/edit/index.php?title=Infrared_Spectroscopy

การเตรียมสารตัวอย่าง

สำหรับการเตรียมสารตัวอย่าง

เป็นวิธีที่นิยมใช้มาก เป็นการทำให้อยู่ในรูปของแผ่น KBr โดยผสมสารตัวอย่างกับผง KBr (อยู่ในสภาพแห้ง) บดละเอียดให้เข้ากันแล้วนำไปอัดเป็นแผ่นบางใสซึ่งแสงสามารถผ่านทะลุได้ เนื่องจาก KBr จะดูดกลืนรังสี IR ในช่วง 400 cm^{-1}. จึงไม่รบกวนค่าความถี่การดูดกลืนรังสี IR ของสารอินทรีย์ทั่วไป

MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ภาคผนวก จ

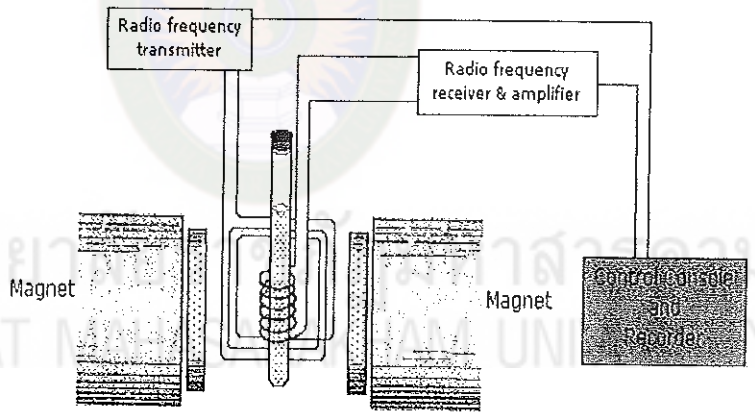
^{1}H และ ^{13}C นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์เปกโทรสโกปี

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

^{1}H และ ^{13}C นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์เปกโทรสโกปี

(^{1}H and ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy)

^{1}H-NMR และ ^{13}C-NMR สเปคตรัมเป็นผลที่ได้จากการที่นิวเคลียส (^{1}H และ ^{13}C) ดูดกลืนรังสีแม่และเหล็กไฟฟ้าในความถี่แถบคลื่นวิทยุ ซึ่งสามารถบอกได้ว่านิวเคลียสที่ดูดกลืนพลังงานนั้นมีสภาพแวดล้อมทางเคมีอย่างไร และมีอยู่กี่นิวเคลียส ตลอดจนเกาะอยู่ตำแหน่งใดในโมเลกุล การวัดสัญญาณของนิวเคลียสที่ตำแหน่งต่างๆ จะใช้เทียบกับสาร TMS (Tetramethylsilane) ซึ่งกำหนดให้ตำแหน่งที่ 0 ppm สัญญาณของ ^{1}H และ ^{13}C ในสารประกอบอินทรีย์จะมีตำแหน่งสูงกว่า 0 ppm จึงมีค่าเป็นบวกทั้งหมด ดังนั้น ^{1}H-NMR และ ^{13}C-NMR จึงมีประโยชน์มากในการวิเคราะห์โครงสร้างของสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติเพราะบอกให้ทราบถึงจำนวนไฮโดรเจน และคาร์บอนในโมเลกุล ตลอดทั้งตำแหน่งต่างๆ ในโมเลกุล ซึ่งทำให้ทราบถึงสเตอริโอเคมีของโครงสร้างด้วย ตำแหน่งต่างๆ ของไฮโดรเจน และคาร์บอน ใน NMR



รูปที่ จ (1) องค์ประกอบหลักของเครื่อง NMR spectrometer

ที่มา: http://share.psu.ac.th/blog/secpin/5348

ภาคผนวก ฉ
คอลัมน์โครมาโทรกราฟี

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ภาคผนวก ช
โครมาโทรกราฟีแบบแผ่นบาง

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ประโยน์ของโครมาโทรกราฟีแบบแผ่นบาง

1. ใช้วิเคราะห์เบื้องต้นว่าสารสกัดนั้นๆ มีสารกี่ชนิดหรืออาจบอกได้ว่ามีสารประเภทใด

2. ใช้หาระบบของตัวทำละลาย (Solvent system) สำหรับการแยกสาร โดยวิธีคอลัมน์โครมาโทรกราฟี

3. ใช้ตรวจสอบตัวชะ ที่ได้จากคอลัมน์โครมาโทรกราฟี เพื่อรวมส่วนที่เหมือนกันเข้าด้วยกัน

4. ใช้ตรวจสอบว่าสารบริสุทธิ์หรือไม่ ทำได้โดยเปลี่ยนระบบของตัวทำละลายที่ต่างกันอย่างน้อย 3 ระบบ ถ้าทั้งสามระบบพบว่ามีสารเพียงสารเดียวในโครมาโทรแกรม แสดงว่าสารนั้นบริสุทธิ์

5. ใช้ตรวจสอบว่าสารสองชนิดเป็นสารเดียวกันหรือไม่ โดยการทำ TLC ผสม (mix–TLC) คือทำ TLC 3 ชุด จุดที่ 1 และ 3 เป็นสารสองสารตามลำดับส่วนจุดกลางจะเป็นของผสมระหว่างทั้งสอง ถ้าโครมาโทรแกรมพบว่าจุดทั้งสามมีค่า R_f เท่ากัน แสดงว่าสารทั้งสองเป็นสารตัวเดียวกัน

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY