

## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 แมลงวันบ้าน

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Musca domestica* Linn.

วงศ์ Muscidae

ชื่อสามัญ House fly

แมลงวันบ้าน เป็นแมลงที่มีการแพร่กระจาย อย่างกว้างขวางทั่วโลก โดยพบตามบ้านเรือน กองขยะ และคอกสัตว์ ในประเทศไทยพบแมลงวันบ้านทุกจังหวัด พบมากในช่วงฤดูร้อน

#### รูปร่าง ลักษณะ ( morphology )

แมลงวันบ้านตัวเต็มวัย ตัวผู้มีความยาว 5.6-6.5 มิลลิเมตร ส่วนตัวเมียมีความยาว 6.5-7.5 มิลลิเมตร ส่วนอกมีสีเทาถึงสีเทาเข้ม มีแถบทึบเข้มตามยาว 4 แถบ ส่วนท้องมีสีเหลืองเป็นพื้น และมีแถบตามยาว สีดำ พาดตรงแนวกกลางของส่วนท้อง ซึ่งกระจายออกบนปล้องท้องที่ 4 ส่วนท้องประกอบด้วยปล้อง 5 ปล้อง แต่จะมองเห็นได้ 4 ปล้อง เพราะปล้องแรกมีขนาดเล็ก ในแมลงวันบ้าน ตัวเมียปล้องท้าย ๆ จะสร้างอวัยวะวางไข่ (ovipositor) แมลงวันบ้านมีหนวดแบบ aristate มีขนมากมายทั้งด้านบน และด้านล่างจนถึงปลายของขนหนวด (อาคม, 2538) ตารวม แยกห่างกัน ตาตัวเมียจะแยกห่างกันมากกว่าตาตัวผู้ ปากแบบดูด ปีก 1 คู่ (พรพิมล, 2542)

#### วงจรชีวิต ( life cycle )

ไข่แมลงวันบ้านมีสีขาว รูปร่างรียาว ยาวประมาณ 1 มิลลิเมตร ตัวเมีย วางไข่ประมาณกองละ 75-150 ใบ ตัวเมียตัวหนึ่งวางไข่ 5-6 กองตลอดช่วงชีวิต ที่อุณหภูมิระหว่าง 25-35 °C ไข่จะฟักเป็นตัวภายใน 8-12 ชั่วโมง ถ้าอุณหภูมิสูงกว่านี้ ไข่จะฟักเป็นตัวเร็วขึ้น

แมลงวันบ้าน มีระยะตัวหนอน (maggot) 3 ระยะ (instar) ตัวอ่อนระยะแรก มีความยาวประมาณ 2 มิลลิเมตร ระยะนี้ปกติใช้เวลา 24-36 ชั่วโมง อาจนานถึง 3 หรือ 4 วันได้ ตัวอ่อนระยะที่ 2 ใช้เวลาประมาณ 24 ชั่วโมงถึง 3 วัน ตัวอ่อนระยะ 3 เจริญเต็มที่มีความยาวประมาณ 12 มิลลิเมตร มีปล้องที่มองเห็นได้ 12 ปล้อง ระยะนี้นาน 3-4 วัน ระยะดักแด้มีความยาว 6-8 มิลลิเมตรช่วงระยะ

ดักแค้ ปกตินานประมาณ 14-28 วันอาจนานกว่านี้ หากสภาพภายนอกไม่เหมาะสม ภายใต สภาวะที่ เหมาะสมมาก อาจใช้เวลาเพียง 4-5 วัน อาคม (2538)

แมลงวันบ้านตัวเต็มวัย ใช้เวลาในการเจริญ ประมาณ 10-14 วัน จะมีการเจริญทางเพศที่ สมบูรณ์ ถ้าอุณหภูมิค่าประมาณ  $16^{\circ}\text{C}$  อาจกินเวลานานถึง 44-48 วัน แมลงวันบ้านกินอาหารของ เหลว เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งประกอบด้วยน้ำตาลและโปรตีน ด้วยวิธีช้อนเอาของเหลวในกระเพาะ อาหาร (vomit-drop) ออกมาบนอาหาร ซึ่ง vomit-drop นี้เองที่แมลงสามารถแพร่เชื้อโรคได้ โรค ร้ายแรงที่แพร่โดยแมลงวันบ้านได้แก่ ไทฟอยด์ พาราไทฟอยด์ *Bacillary dysentery* อหิวาตกโรค โรคแอนแทรกซ์ โรคเดินมอักเสบของโค และเยื่อตาอักเสบ (conjunctivitis) แมลงวันบ้านอาจนำ เชื้อโปรโตซัวพวก *Trypanosome hippicum* โดยการพา ซึ่งเชื่อดังกล่าว ทำให้เกิดโรคของม้า ใน ประเทศปานามา ซึ่งเรียกโรคนี้ว่า murrins แมลงวันบ้านสามารถนำไข่ และหนอนพยาธิ *Diphyllobothrium latum*, *Taenia solium*, *Hymenolepis nana* เป็นต้น นอกจากนี้แมลงวันบ้านยังเป็น intermediate host ของพยาธิตัวกลมที่พบในกระเพาะอาหารม้า เช่นพยาธิ *Draschia megastoma* และ *Habronema muscae* และพยาธิตัวคืดที่พบในไก่และสัตว์ปีกเช่น *Choanotaenia infundibulum*, *Railletina tetragona* และ *R. cesticillus* (อาคม, 2538)

ที่ผ่านมา มีผู้ศึกษาเกี่ยวกับสารสกัดจากพืช ที่ใช้กำจัดแมลงวันบ้าน กันอย่างกว้างขวาง เลาจนาและประคอง (2520) พบว่าสารสกัดด้วยน้ำ จากรากของหนอนตายหยาก *Stemona curtisii* Hook.F. เมื่อผสมในอาหาร อัตราส่วน 0.04, 0.08, 0.16, 0.32 และ 0.64 กรัมต่อน้ำหนักอาหาร 30 กรัม เลี้ยงหนอนแมลงวัน พบว่า ค่า  $LC_{50}$  เท่ากับ 0.12 กรัม ต่อ น้ำหนักอาหาร 30 กรัม ลักษณะ การตาย เหมือนกับหนอน ที่ได้รับสารพิษ คือลำตัวมีสีเขียวคล้ำ ถึงน้ำตาลดำ ตัวหนอนที่รอดตาย จะเจริญเป็น ดักแค้ ที่มีลักษณะผิดปกติ คือ ตามปล้องของผนังดักแค้ จะโป่งนูนออกมา สมาคมพฤกษศาสตร์แห่งประเทศไทย (2522) (อ้างถึง Mathur and Saxena, 1983) รายงานว่า ว่าน น้ำ *Acorus calamus* Linn. สามารถใช้ กำจัดแมลงวันได้ โดย จะยับยั้ง การดูดกิน และ ทำให้ เป็น หนัน ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย (2534) รายงานว่า สารจำพวกเอสเทอร์ ในดอกไพรทรีม ซึ่งเรียกโดย รวมว่า ไพรทรีนส์ หรือไพรทรอยด์ ใช้กำจัดแมลงวันได้ซึ่งทำให้แมลงสลบอย่างรวดเร็ว มีความ เป็นพิษต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมต่ำ

แก้ว (2539) พบว่า ปลาเค็มที่แช่ในสารสกัดด้วย sodium chloride จากเมล็ดสะเดา *Azadirachta indica* A.Juss.Var. *saimensis* Valetton ความเข้มข้นร้อยละ 3.0, 6.0, 10.0, 15.0 และ 20.0 กรัม/ลิตร มีการเกิดหนอนแมลงวันบ้านน้อยกว่าปลาเค็มที่แช่ในสารละลาย Sodium chloride ที่ไม่มีเมล็ดสะเดาผสม เมื่อเพิ่มปริมาณ เมล็ดสะเดาพบ ว่า หนอนแมลงวันลดลง แต่ยัง ไม่ สามารถกำหนดแน่นอน ถึงความเข้มข้นที่เหมาะสม ที่ใช้ลดหนอนแมลงวันได้ เนื่องจาก ขึ้นอยู่กับ

ปัจจัยหลายอย่าง เช่น อุณหภูมิ แสงแดด ความชื้น

กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร (2539) รายงานว่าเมล็ดน้อยหน่า *Annona squamosa* เมล็ดสลัด *Croton tiglium* เมล็ดมันแกว *Pachyrhizus argulatus* และ เมล็ดแสลงใจ *Strychnos vomica* กำจัดแมลงวันได้ ซึ่งตรงกับที่ Mukerjee and Govind (1958) พบว่าเมล็ดน้อยหน่าที่สกัดด้วย ether มีฤทธิ์ฆ่าตัวเต็มวัย ของแมลงวัน *Musca nebula* น้อยกว่า DDT ประมาณ 7 เท่า สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (2541) พบว่าหน่อไม้หาวชื่อ มีพิษในการกำจัดหนอนแมลงวันบ้านสูงที่สุด โดยการผสมสารสกัดในอาหาร รองลงมาคือ หน่อไม้ จากไผ่เหลือง และไผ่ล่ำมะลอก โดยมีค่า  $LC_{50}$  ที่ 72 ชั่วโมง เท่ากับ 1.83, 2.64 และ 2.73 กรัมใน อาหาร 30 กรัม

พรพิมล ( 2542) รายงานว่าสารกำจัดแมลงประเภท ไพรีทรอยด์ สังเคราะห์เจือจางในน้ำ เมื่อนำมาทดสอบกับหนอนแมลงวัน โดยวิธีการจุ่มตัวหนอนในสารละลาย 30 วินาที พบว่า deltamethrin 2.5%, bifenthrin 2.5%, etofenprox 20%, thetacypmethrin 5%, permethrin 38.4% และ zetacypermethrin 10% มีค่า  $LC_{50}$  ที่ 24 ชั่วโมงเท่ากับ 0.51, 1.07, 2.54, 2.70, 4.66 และ 5.42 กรัม/ลิตร ตามลำดับ และวิธีผสมสารฆ่าแมลงกับอาหารอัตราส่วน 1:1 ให้หนอนแมลงวันบ้านกิน พบว่าค่า  $LC_{50}$  ที่ 24 ชั่วโมงของ etofenprox 20%, deltamethrin 2.5 %, permethrin 38.4 %, bifenthrin 2.5 %, thetacypmethrin 5%, zetacypermethrin 10 %, มีค่าเท่ากับ 0.16, 0.25, 0.25, 0.42, 0.89 และ 1.00 กรัม/ลิตร ตามลำดับ

## 2.2 กานพลู

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Eugenia caryophyllus* Bullock & Harrison

วงศ์ Myrtaceae

ชื่อสามัญ Clove

ชื่ออื่น ๆ จันจิ (ภาคเหนือ) ดอกจันทร์ (เชียงใหม่)

### ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

กานพลูเป็นไม้ยืนต้น สูงประมาณ 5-15 เมตร ใบเป็นใบเดี่ยว เรียงตรงกันข้าม รูปวงรี หรือรูปหอก ขอบใบเป็นคลื่น ใบอ่อนมีสีแดงหรือสีน้ำตาลแดง เมื่อส่องกับแสงแดดจะเห็นจุดน้ำมัน (นิจศิริ, 2534) ดอกออกเป็นช่อ ช่อดอกมีส่วนขยอยู่ในระดับเดียวกัน ดอกอ่อน มีสีเขียว เมื่อดอกเริ่มแก่จะเปลี่ยนเป็นสีแดงเข้ม ช่วงเวลาที่นิยมเก็บดอกกานพลู คือช่วงที่ดอกตูม ตอนที่ดอกเริ่มเปลี่ยน จากสีเขียวเป็นสีแดง (ประมาณช่วงเดือนมิถุนายน-กุมภาพันธ์) (สำนักงานสาธารณสุขมูลฐานและอื่นๆ, 2537)

### การเจริญและการขยายพันธุ์

กานพลูเป็นพืชเมืองร้อน ชอบความชื้นสูง โดยค่าเฉลี่ยของฝนตกปีละประมาณ 150-250 เซนติเมตร จะเจริญได้ดีเมื่อปลูกใกล้ทะเล กานพลูขึ้นได้ตั้งแต่ระดับน้ำทะเล จนถึงสูง 800-900 เมตร ขยายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ด โดยต้องเพาะทันทีหลังเก็บเมล็ดลงจากต้น ถ้าเก็บเมล็ดนานเกินหนึ่งสัปดาห์ อัตราการงอกจะลดลง เมล็ดจะงอกหลังจากหว่านลงดินประมาณ 4-5 สัปดาห์ กานพลูจะเริ่มออกดอก เมื่ออายุประมาณ 8 ปี และดอกจะออกในปริมาณสูงสุด เมื่ออายุประมาณ 15-20 ปี ต้นกานพลูมีอายุขึ้นถึง 60 ปี ต้นหนึ่งให้ดอกกานพลูแห้งหนัก 3.5-8 กิโลกรัม ต่อปี (นิจศิริ, 2534)

### ประสิทธิภาพในการกำจัดแมลง และจุลินทรีย์

John (1976) พบว่าดอกกานพลู สามารถยับยั้งการเจริญ ของ แบคทีเรีย ได้

นิจศิริ (2534) พบว่าน้ำมันจากดอกกานพลู ซึ่งประกอบด้วย eugenol เป็นองค์ประกอบหลัก ใช้ได้สูงได้ รวมถึงมีฤทธิ์ต้านเชื้อ แบคทีเรียหลายชนิด เช่นแบคทีเรียในลำไส้ แบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคบิดชนิดไม่มีตัว แบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคไทฟอยด์ แบคทีเรียที่ทำให้เป็นหนอง โดย eugenol จะเข้าไปขัดขวางกระบวนการละลายของไขมัน ที่ cell membrane ของเชื้อจุลินทรีย์ ทำให้ osmotic barrier ลดลง ขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ โดยทำให้เอนไซม์และโปรตีนอื่น ๆ เสียสภาพไป เซลล์จึงถูกทำลาย นอกจากนี้ eugenol ยังสามารถยับยั้งเชื้อราที่เป็นสาเหตุโรคกลากได้ เมื่อใช้ความเข้มข้น 1:8,000-1:16,000 eugenol และ eugenol acetate ยังสามารถฆ่าพยาธิ *Trichomonas vaginalis* ซึ่งเป็นสาเหตุของการตกขาว

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (2537) รายงานว่า eugenol ในน้ำมันกานพลู สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียในลำไส้ได้

ขจรศักดิ์ (2539) พบว่า ดอกกานพลู บดละเอียด ที่แช่ใน ethanol 12 ชั่วโมง ความเข้มข้นมากกว่า 10.0 กรัม/ลิตร สามารถยับยั้งการเจริญ ของเชื้อราสาเหตุโรคพืช และเชื้อราสาเหตุโรคผิวหนัง ได้ดี กานพลูยังเป็น 1 ในสารสกัดพืช 13 ชนิดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดี เมื่อเปรียบเทียบกับ สารสกัดพืช 345 ชนิด (Wilson *et al.*, 1997)

เมธี (2542) พบว่าดอกกานพลูบดละเอียด 50 กรัม/ลิตร ที่แช่ในน้ำ 12 ชั่วโมงมีแนวโน้มในการป้องกัน การถูกทำลายจากแมลงศัตรูพืช และยับยั้งเชื้อรา *Diplocarpon rosae* Wolf . ที่เป็นสาเหตุของโรคใบจุดสีดำในกุหลาบได้ดี เมื่อปลูกกุหลาบในสภาพที่ได้รับแสง

นอกจากนี้ วรรณภู (2543) พบว่าดอกกานพลูบดละเอียดที่แช่ในน้ำ 12 ชั่วโมง สามารถกำจัดแมลงวันบ้านในระยะไข่ได้ดีเมื่อใช้ความเข้มข้น 50.0 กรัม/ลิตร สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (2537) รายงานว่า eugenol ในน้ำมันกานพลูสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียในลำไส้ได้

## 2.3 สารกัม

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Mammea siamensis* Kost.

วงศ์ Guttiferae

ชื่ออื่น ๆ สารกัมแนน (เชียงใหม่) สร้อยพิ (ใต้) ทรพี (จันทบุรี) (ท้องถิ่นคา, 2540)

### ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

สารกัม มีลักษณะเป็นไม้ยืนต้นขนาดใหญ่ สูงประมาณ 10-15 เมตร ลักษณะเรือนยอดเป็นพุ่มทึบ ลำต้นมียางสีเหลืองอ่อน ใบเดี่ยว เรียงตรงกันข้าม ใบค่อนข้างหนา เส้นใบย่อยสานกันเป็นร่างแห มีสีเขียวเข้ม ใบอ่อนเป็นมัน ลักษณะใบยาว ๆ ลักษณะรูปไข่ ตอนโคนใบเรียวเล็ก ปลายใบกว้าง สุดปลายใบมน ริมใบเรียบ อาจมีดิ่งสั้น ๆ หรือหยักเว้าตื้น ๆ โคนใบสอบ เรียวคอกออกเดี่ยว ๆ หรือ ออกเป็นกระจุกตามกิ่ง มีเกสรตัวผู้สีเหลืองมากมาย กลีบดอกสีขาวนวล มี 6 กลีบ กลิ่นหอม ออกดอกในฤดูหนาว รังไข่มีสองช่อง แต่ละช่องมีไข่ สองเมล็ด ผลเป็นรูปกระสวยยาวประมาณ 2.5 เซนติเมตร

### การเจริญและการขยายพันธุ์

มีการแพร่กระจายในเขตร้อน ของแอฟริกาและเอเชีย ในประเทศไทย พบตามป่าเบญจพรรณ และป่าดิบในภาคเหนือ ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงใต้ และภาคใต้ สูงจาก ระดับน้ำทะเล 20-400 เมตร

### ประสิทธิภาพในการกำจัดแมลง และจุลินทรีย์

Plank (1944) กล่าวว่า เมื่อแช่เมล็ดสารกัมบดละเอียดใน gasoline 24 ชั่วโมง ความเข้มข้นในช่วง 112.5 ถึง 225.0 กรัม/ลิตรที่อุณหภูมิห้อง แล้วกรองเอากากออก สารนี้สามารถ ผ่านแมลงวันได้ ขจรศักดิ์ (2539) พบว่าเมล็ดสารกัมบดละเอียด ที่แช่ใน ethanol 12 ชั่วโมง สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ดี และ เชื้อรา สาเหตุโรคผิวหนังได้บ้าง เมื่อใช้ความเข้มข้น มากกว่า 10.0 กรัม/ลิตร

ในปี ค.ศ. 1969 Finnegan และMerkel (อ้างโดย วุฒิกรณ์, 2539)พบว่า mammein เป็นสารในเมล็ดทุกของสารกัมที่มีพิษต่อแมลง วุฒิกรณ์ (2539) พบว่า เมล็ดสารกัมบดละเอียด ที่แช่น้ำ 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง ความเข้มข้น 25.0 กรัม/ลิตร มีประสิทธิภาพในการกำจัด เพลี้ยอ่อนดีมาก โดยไม่ต่างจากยาฆ่าแมลง mevinphos วรรณภู (2543)พบว่าเมล็ดสารกัมบดละเอียดที่แช่น้ำ 12 ชั่วโมง สามารถกำจัดแมลงวันบ้านระยะคักเค้ได้ดีเมื่อใช้ความเข้มข้น 50.0 กรัม/ลิตร

## 2.4 ขั้นตอนในการสกัดแยกและพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารจากพืช

อนุศักดิ์ (2538) พบว่าการสกัดสารจากพืช มีขั้นตอนการดำเนินการดังนี้

### 1.การเตรียมตัวอย่างพืช

เริ่มจากตรวจสอบชนิดของพืชที่ทำการศึกษาให้ถูกต้อง ทำความสะอาดเอาสิ่งสกปรกออกให้หมด โดยตัดส่วนที่เป็นโรคทิ้งไป

### 2.การสกัดสาร

ทำได้หลายวิธีขึ้นกับชนิดของสารที่ต้องการสกัด

2.1 Maceration เป็นการสกัดสารโดยการแช่ตัวทำละลายลงไปในตัวอย่างพืช โดยทำการคนบ่อย ๆ สามารถ สกัดสารซ้ำได้หลายครั้ง

2.2 Percolation เป็นการสกัดสารแบบต่อเนื่อง โดยการแช่ตัวทำละลายจนอิ่มตัว ระดับตัวทำละลายสูงกว่าพืช 0.5 เซนติเมตร ไซเอสารสกัดออกด้านล่าง พร้อมกับเติมตัวทำละลายด้านบนไม่ให้แห้ง

2.3 Soxhlet apparatus เป็นการสกัดแบบต่อเนื่อง โดยใช้ตัวทำละลาย ที่มีจุดเดือดต่ำ เมื่อตัวทำละลาย สัมผัสความร้อน จะระเหยขึ้นไป และกลั่นตัวตกลงมายัง chimney ซึ่งบรรจุตัวอย่างพืช เมื่อระดับตัวทำละลาย สูงถึงระดับที่เกิดกาลักน้ำ สารสกัดจะไหลย้อนกลับไปในขวดบรรจุตัวทำละลาย

2.4 Liquid-liquid extraction เป็นการสกัดสารจากสารละลายที่เป็นของเหลว ด้วยตัวทำละลายอีกชนิดหนึ่งซึ่งไม่ผสมกัน

### 3.การทำให้สารสกัดเข้มข้น

3.1 Free evaporation คือการระเหยแห้ง โดยใช้ความร้อนจาก water bath

3.2 Ultra filtration เป็นการกรองโดยผ่านรูของ membrane โดยปกติสารที่ต้องการศึกษาจะต้องมีขนาดใหญ่กว่ารูของ membrane

3.3 Distillation in vacuum เป็นวิธีการระเหยแห้ง โดยการกลั่นตัวทำละลายออก ที่อุณหภูมิ ต่ำและลดความดันให้เกิดเป็นสูญญากาศ โดยใช้ vacuum pump เครื่องมือนี้เรียกว่า rotary evaporator ประกอบด้วย 3 ส่วนคือ distillation flask, condenser และ receiving flask โดยที่ distillation flask จะหมุนอยู่ตลอดเวลาที่ทำงาน และแช่อยู่ใน water bath เพื่อให้การกระจายของ ความร้อนทั่วถึง และสม่ำเสมอ (ขจรศักดิ์, 2539)

#### 4.การแยกองค์ประกอบของสาร

ทำได้หลายวิธีเช่น อาศัยความเป็นกรด-เบสในการแยก จุดเดือดที่ต่างกัน ในที่นี้จะกล่าวถึงเพียงการแยกสารด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟี (chromatography)

โครมาโตกราฟี เป็นวิธีการแยกสารโดยอาศัยหลักการกระจายตัวของสารระหว่าง 2 วัฏภาค ซึ่งไม่ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน คือ วัฏภาคคงที่และ วัฏภาคเคลื่อนที่ สารจะเคลื่อนไปบนวัฏภาคคงที่ โดยอาศัยการพาของวัฏภาคเคลื่อนที่ หากสารมีปฏิกิริยากับวัฏภาคคงที่ได้ดี สารก็จะเคลื่อนที่ได้ช้า หากสารมีปฏิกิริยากับวัฏภาคเคลื่อนที่ได้ดี สารก็จะเคลื่อนที่ได้เร็ว โดยหลักการนี้ทำให้แยกสารออกจากกันได้

โครมาโตกราฟีแบ่งได้เป็น 2 ชนิดคือ

1. Adsorption chromatography ใช้ วัฏภาคคงที่เป็นของแข็ง ได้แก่ alumina หรือ silica gel โดย mobile phase ที่ใช้อาจเป็นก๊าซหรือของเหลวก็ได้ ได้แก่ column chromatography, thin layer chromatography

2. Partition chromatography ใช้ วัฏภาคคงที่เป็นของเหลว ซึ่งถูกพองด้วยของแข็ง (supporter) ที่มีรูพรุนเช่น cellulose ส่วน mobile phase อาจเป็นก๊าซหรือของเหลวก็ได้ ส่วนมากมักเป็นของเหลวผสมเพราะจะต้องทำให้อึดตัวได้แก่ paper chromatography gas-liquid partition chromatography

#### Thin Layer Chromatography

เพ็ญ (2539) กล่าวว่า Thin Layer Chromatography (TLC) จะใช้ของแข็งเป็นวัฏภาคคงที่เป็นชั้นบาง ๆ หนา 0.25-1 มิลลิเมตร เคลือบบนแผ่นกระจก หยดสารบนวัฏภาคคงที่ด้วย capillary tube เมื่อตัวทำละลายระเหยไป สารจะติดอยู่บนวัฏภาคคงที่ นำแผ่นสไลด์ใส่ภาชนะที่มีตัวทำละลายโดยให้ระดับของตัวทำละลาย อยู่ต่ำกว่าจุดของสาร เมื่อเปิดภาชนะเพื่อให้ภายในภาชนะอึดตัวด้วยไอของตัวทำละลาย ตัวทำละลายจะซึมขึ้นมายังบนตามแนวตั้ง สารต่างชนิดกันจะเคลื่อนที่ตามตัวทำละลายขึ้นมายด้วยอัตราเร็วที่ต่างกัน ทำให้สารแยกออกจากกันได้ ตัวทำละลายแต่ละชนิดจะให้อัตราเร็วในการแยกสารต่างๆ ออกจากตัวจุด (eluting power) ไม่เท่ากัน ตัวทำละลายที่มีขั้วมาก (polar) จะยิ่งพาสารต่างๆ เคลื่อนที่ได้เร็วมาก ตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว non polar ใช้แยกสารที่ถูกดูดซับออกมาก่อน ส่วนตัวทำละลายที่มีขั้วมาก ใช้สำหรับแยกสารที่ถูกดูดซับขึ้นตามลำดับ ตัวทำละลายที่ใช้มากเรียงตามลำดับของ eluting power หรือ polarity จากน้อยไปหามากคือ hexane > carbon tetrachloride > toluene > benzene > dichloromethane > chloroform > diethyl ether > ethyl

acetate > acetone > 1-propanol > ethanol > methanol > น้ำ (เผด็จ, 2539) วิธี TLC เป็นวิธีแยกสารจำนวนน้อยออกจากกัน และสำหรับใช้เป็นข้อมูลประกอบการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสาร เนื่องจากถ้าใช้วัสดุภาคคงที่ และระบบตัวทำละลายเหมือนกัน ที่อุณหภูมิและ สภาวะเดียวกัน สารหนึ่งจะมีค่า rate of flow หรือ ค่า  $R_f$  value คงที่ นั่นคือ อัตราส่วนของระยะทางที่สารเคลื่อนที่ ต่อระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่

$$R_f \text{ value} = \frac{\text{ระยะทางที่สารเคลื่อนที่}}{\text{ระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่}}$$

## 5.การตรวจสอบเอกลักษณ์

ในการตรวจสอบเอกลักษณ์โดยเทคนิค spectroscopy เป็นวิธีการซึ่งอาศัยแม่เหล็กไฟฟ้า ซึ่งถูกสารดูดกลืน (absorb) และเปล่ง (emit) ออกมาจากสาร ซึ่งสารแต่ละชนิดจะมีลักษณะเฉพาะตัวแตกต่างกัน เราจึงใช้หลักการนี้จำแนกสารออกจากกันได้ การตรวจสอบเอกลักษณ์ของสาร ซึ่งมีผู้ศึกษาสูตรโครงสร้างแล้ว อาจทำได้โดยการเปรียบเทียบกับสารตัวอย่างที่รู้โครงสร้าง (authentic sample) หรือเปรียบเทียบจาก spectrum ที่มีรายงานไว้ในเอกสารต่าง ๆ (อนุศักดิ์, 2538)

5.1 Ultraviolet and Visible Spectroscopy สารอินทรีย์บางชนิดสามารถดูดกลืนแสง UV และ VIS ได้ สารละลายเจือจางมีสีจะดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 200-700 nm ส่วนสารไม่มีสีพิจารณาความยาวช่วงคลื่นที่มีการดูดกลืนแสงสูงสุด และต่ำสุด จะไม่เท่ากันในสารแต่ละชนิด

5.2 Infrared Spectroscopy (IR) เป็นการวัดพลังงานที่ใช้ในการสั่น ของพันธะภายในโมเลกุล การสั่นของพันธะจะแตกต่างกัน ตามชนิดของพันธะ ด้วยหลักการนี้ สามารถตรวจสอบชนิดของหมู่ฟังก์ชันของสารได้

5.3 Nuclear Magnetic Resonance (NMR) เป็นการศึกษาการดูดกลืนพลังงานของนิวเคลียส บอกได้ว่านิวเคลียสที่ถูกดูดกลืนพลังงาน มีสภาพแวดล้อมทางเคมีอย่างไร มีจำนวนนิวเคลียสเท่าไร และเกาะอยู่ตำแหน่งใดในโมเลกุล ให้ข้อมูลเกี่ยวกับโครงสร้างได้ดี

5.4 Mass Spectroscopy (MS) เป็นวิธีการทางฟิสิกส์ ซึ่งทำให้สารกลายเป็นไอออน แล้วแยกไอออน กับส่วนที่เกิดจากการเสื่อมสลายของไอออนออกจากกันตามค่า มวลต่อประจุ ของไอออนเหล่านั้น เป็นวิธีการเฉพาะในการหาโครงสร้างของสาร

5.5 Gas Chromatography - Mass Spectroscopy (GC-MS) เป็นเทคนิคผสมระหว่าง Gas Chromatography ซึ่งปกติใช้ในการแยกสารที่ค่อนข้างจะระเหยได้ง่าย (volatile substances) กับ Mass Spectroscopy ซึ่งเป็นเทคนิคที่ใช้ในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ (qualitative analysis) ที่สามารถบอกเอกลักษณ์ของสารที่วิเคราะห์ได้ (บัณฑิต, 2542)

## 2.5 การแยกสารจากกานพลูและสารภี

### 2.5.1 การแยกสารจากกานพลู

ดาลัด (2526) พบว่า เมื่อนำน้ำมันกานพลู ที่ได้จากการกลั่นด้วยไอน้ำ และกลั่นด้วย สารละลาย Surfactant มาทำการแยกสารด้วยวิธี TLC เปรียบเทียบกับ eugenol บริสุทธิ์ โดยใช้ silica gel  $G_{60}$  เป็น stationary phase มี petroleum ether: ethyl acetate อัตราส่วน 90:10 เป็น mobile phase และทำการ detect สีด้วยไอของ ไอโอดีน พบสาร 2 ตัว คือสารที่มีค่า  $R_f = 0.23$  ซึ่งมีค่า  $R_f$  เท่ากับ eugenol บริสุทธิ์ และสารที่มีค่า  $R_f = 0.59$

นิจศิริ (2534) พบว่าเมื่อทำการกลั่นดอกกานพลูแห้งด้วยไอน้ำ จะได้น้ำมันกานพลู 14 ถึง 20 % ซึ่งสารส่วนใหญ่ที่เป็นองค์ประกอบของน้ำมันกานพลูคือ eugenol พบถึง 70-90% นอกจากนี้ยังพบ eugenyl acetate, caryophyllene ซึ่งเมื่อรวมกับ eugenol พบเป็นร้อยละ 99 ของน้ำมันกานพลู สำหรับสารอื่นที่พบปริมาณน้อยในน้ำมันกานพลูคือ methyl n-amylketone มีกลิ่นเฉพาะ methyl salicylate, methyl benzoate, methyl alcohol, benzyl alcohol, furfuryl alcohol, furfural,  $\alpha$ -methyl furfural, dimethyl furfural,  $\beta$ -pinene, carbinol และ vanillin ซึ่งน้ำมันที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายจะไม่มี caryophyllene แต่จะมี epoxydihydrocaryophyllene แทน

นอกจากน้ำมันกานพลูที่ได้จากการกลั่นดอกกานพลูแห้งด้วยไอน้ำจะได้ galloannic acid ร้อยละ 10-13 สารอื่น ๆ ที่พบปริมาณต่ำคือ triterpene acid และ ester คือ oleanolic acid สารพวก chromone คือ eugenin, glycosides ของ sitosterol คือ stigmasterol และ campesterol

ถนอมศรี (2538) พบว่าเมื่อทำการแยกสารจากสารสกัดดอกกานพลู ใน methanol โดยวิธี TLC เมื่อใช้ silica gel  $GF_{254}$  เป็น stationary phase และใช้ chloroform:methanol อัตราส่วน 1:1 เป็น mobile phase ตรวจสอบการเกิดสีโดยส่องภายใต้ UV 254 และ 365 พบสาร 12 แถบ

### 2.5.2 การแยกสารจากสารภี

วุฒิกรณ (2539) ทำการแยกสารจากสารสกัดเมล็ดสารภี ใน ethanol โดยวิธี TLC เมื่อใช้ silica gel  $GF_{254}$  เป็น stationary phase และใช้ toluene:ethyl acetate:diethylamine อัตราส่วน 140:40:20 เป็น mobile phase แยกสารได้ 6 แถบ มีค่า  $R_f$  ดังนี้คือ  $R_{f1} = 0.13$   $R_{f2} = 0.14$   $R_{f3} = 0.21$   $R_{f4} = 0.29$   $R_{f5} = 0.58$   $R_{f6} = 0.80$

Tinuma *et al.* (1996) รายงานว่าพบ furanoxanthones 2 ชนิดใหม่คือ acuminols A และ B ในลำต้นของ *Mammea acuminata* โดยการสกัดด้วย benzene, acetone, 70% methanol จากนั้นแยกด้วย TLC และตรวจสอบเอกลักษณ์ด้วย UV, NMR

Tosa *et al.* (1997) รายงานว่าพบ xanthone ชนิดใหม่คือ 2-7 dihydroxyxanthone จากลำต้น และเปลือกของ *Mammea acuminata* โดยการสกัดด้วย benzene, acetone, 70% methanol ทำการแยกด้วย TLC ตรวจสอบเอกลักษณ์ด้วย UV, NMR

ก่องกานดา (2540) กล่าวว่าเมล็ดสารก็มี acrid resin 7% เป็นองค์ประกอบ

Horborne (1998) กล่าวว่ามีการแยก xanthone โดยวิธี TLC โดยใช้ silica gel เป็น stationary phase ส่วน mobile phase ใช้ chloroform : acetic acid 4:1, chloroform-benzene 7:3, chloroform : ethyl acetate (หลายอัตราส่วน) xanthone ละลายน้ำได้ ดูดกลืน UV ที่ 230-245, 250-265, 305-330, 340-400 nm คล้าย flavonoids xanthone ที่ชื่อ mangiferin ละลายใน ethanol ดูดกลืน UV ที่ 242, 258, 316, 364 nm

Poobrasert *et al.* (1998) พบ xanthone ชนิดใหม่คือ 1,2-dimethoxy-5 hydroxyxanthone จากกิ่งของ *Mammea siamensis* โดยการสกัดด้วย 95 % methanol น้ำ และ petroleum ether จากนั้นสกัดด้วย chloroform : methanol 1 : 1 และล้างด้วย 1 % sodium chloride เพื่อกำจัด tannin เมื่อทำให้แห้งและนำมาแยกด้วย semi-preparative RP- HPLC นอกเหนือจาก xanthone 6 ชนิด ที่พบมาก่อนนั้นคือ 5-hydroxy-1-methoxy-, 1, 3-dimethoxy-5-hydroxy-, 2, 5-dihydroxy-1-methoxy-, 1, 7-dihydroxy-, 1, 3, 7-trihydroxy-and 3, 5-dihydroxy-1-methoxyxanthone ดอกของ *Mammea siamensis* พบ phenylcoumarins 2 ชนิดคือ 6-butyryl-5-hydroxy-4-phenylseselin และ 6-butyryl-5, 7-dihydroxy-8-(3, 3-dimethylallyl) -4- phenylcoumarin ใบของ *Mammea siamensis* พบ ochrocarpus proanthocyanidin ซึ่งมีฤทธิ์เป็น piscicidal และ molluscicidal

เบญจลักษณ์ (2544) ทำการแยกสารจากสารสกัดเมล็ดสารที่สด ใน ethanol 95% โดยวิธี TLC เมื่อใช้ silica gel เป็น stationary phase และใช้ toluene:ethyl acetate อัตราส่วน 60:40 เป็น mobile phase แยกสารได้ 7 แถบ มีค่า  $R_f$  ดังนี้คือ  $R_{f1}=0$   $R_{f2}=0.56$   $R_{f3}=0.50$   $R_{f4}=0.69$   $R_{f5}=0.79$   $R_{f6}=0.84$   $R_{f7}=0.94$  นอกจากนี้ยังศึกษาโดยใช้สารจากสารสกัดเมล็ดสารที่สดใน dichloromethane ใช้ toluene:ethyl acetate อัตราส่วน 80:20 เป็น mobile phase แยกสารได้ 6 แถบ มีค่า  $R_f$  ดังนี้คือ  $R_{f1}=0$   $R_{f2}=0.26$   $R_{f3}=0.45$   $R_{f4}=0.58$   $R_{f5}=0.74$   $R_{f6}=0.86$