บทที่ 4

ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 การทดสอบหาความเข้มข้นของไคโตซานที่เหมาะสมในการยับยั้งเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* ในสภาพ *In vitro*

จากการทดสอบหาความเข้มข้นของไคโตซานในการยับยั้งเชื้อ *C. gloeosporioides* โดยผสมไคโตซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ในอาหาร PDA แล้ววางเชื้อ *C. gloeosporioides* บนอาหาร PDA เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25°C วัดการเจริญเติบโตของโคโลนีของเชื้อราทุกๆ 2 วัน พบว่าชุดที่ผสมไคโตซาน 1.00 เปอร์เซ็นต์ ชุดที่ผสมไคโตซานจากเห็ดหอม 0.10 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับไคโตซาน 0.50 เปอร์เซ็นต์ ชุดที่ผสมไคโตซานจากเห็ดหอม 0.10 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับไคโตซาน 0.75 เปอร์เซ็นต์และชุดที่ผสมไคโตซานจากเห็ดหอม 0.10 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับไคโตซาน 1.00 เปอร์เซ็นต์ไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อราตลอดระยะเวลาของการเพาะเลี้ยง ส่วนชุดที่ผสมไคโตซานจาก เห็ดหอม 0.10 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับไคโตซาน 0.10 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่ผสมไคโตซานจากเห็ดหอม 0.10 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับไคโตซาน 0.25 เปอร์เซ็นต์ พบการเจริญของเชื้อราในวันที่ 4 และ 6 ของการเพาะเชื้อ ชุดที่ผสมไคโตซาน 0.50 และ 0.75 เปอร์เซ็นต์ พบการเจริญของเชื้อราในวันที่ 8 และ 10 ของการเพาะเชื้อ ตามลำดับ ชุดที่ผสมไคโตซานจากเห็ดหอม 0.10 เปอร์เซ็นต์ พบการเจริญของเชื้อราในวันที่ 8 ของการเพาะเชื้อ ในขณะที่ชุดควบคุมและชุดที่ผสมไคโตซาน 0.10 และ 0.25 เปอร์เซ็นต์ในอาหาร PDA พบการเจริญเติบโตของเชื้อราตั้งแต่วันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง (ตาราง 4.1)

จากการทดสอบหาความเข้มข้นของไคโตซานในการยับยั้งเชื้อ *C. gloeosporioides* ในห้องทดลองแล้วจึงทำการคัดเลือกความเข้มข้นของไคโตซานเพื่อนำไปทดลองกับมะม่วง ซึ่งความเข้มข้นของไคโตซานที่เลือกมาใช้ในการทดลองได้แก่ ไคโตซาน 0.50, 0.75 และ 1.00 เปอร์เซ็นต์ และ ไคโตซานจากเห็ดหอม 0.10 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับไคโตซาน 0.50 เปอร์เซ็นต์ ไคโตซานจากเห็ดหอม 0.10 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับไคโตซาน 0.75 เปอร์เซ็นต์ และไคโตซานจากเห็ดหอม 0.10 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับไคโตซาน 1.00 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไคโตซานที่ความเข้มข้นต่างๆ เหล่านี้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ดีจึงได้นำมาทดลองอีกครั้ง เพื่อศึกษาผลของสารเคลือบผิวไคโตซานที่ความเข้มข้นต่างๆ บนผลมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4.1 ความสามารถของไคโตซานในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนจานอาหาร PDA ที่ความเข้มข้นต่างๆ

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา (%)				
	2 วัน	4 วัน	6 วัน	8 วัน	10 วัน
ชุดควบคุม ไม่ผสมไคโตซาน	95a	82ab	64bc	51c	44c
ชุดควบคุม ผสมสารละลายกรดอะซิติก 1 เปอร์เซ็นต์	100a	97a	89ab	85ab	83ab
ไคโตซาน 0.10เปอร์เซ็นต์	95a	84ab	68bc	54c	46c
ไคโตซาน 0.25เปอร์เซ็นต์	97a	88ab	80ab	74bc	70bc
ไคโตซาน 0.50เปอร์เซ็นต์	100a	100a	100a	98a	95a
ไคโตซาน 0.75เปอร์เซ็นต์	100a	100a	100a	100a	98a
ไคโตซาน 1.00เปอร์เซ็นต์	100a	100a	100a	100a	100a
ไคโตซานจากเห็ดหอม 0.10 เปอร์เซ็นต์	100a	100a	100a	98a	96a
ไคโตซานจากเห็ดหอม 0.10 เปอร์เซ็นต์ + ไคโตซาน 0.10เปอร์เซ็นต์	100a	97a	93a	88ab	85ab
ไคโตซานจากเห็ดหอม 0.10 เปอร์เซ็นต์ + ไคโตซาน 0.25เปอร์เซ็นต์	100a	100a	98a	95a	92a
ไคโตซานจากเห็ดหอม 0.10 เปอร์เซ็นต์ + ไคโตซาน 0.50เปอร์เซ็นต์	100a	100a	100a	100a	100a
ไคโตซานจากเห็ดหอม 0.10 เปอร์เซ็นต์ + ไคโตซาน 0.75เปอร์เซ็นต์	100a	100a	100a	100a	100a
ไคโตซานจากเห็ดหอม 0.10 เปอร์เซ็นต์ + ไคโตซาน 1.00เปอร์เซ็นต์	100a	100a	100a	100a	100a
$LSD_{0.05}$	1.00	1.25	1.31	1.46	1.52
Min	95	82	64	51	44
Max	100	100	100	100	100

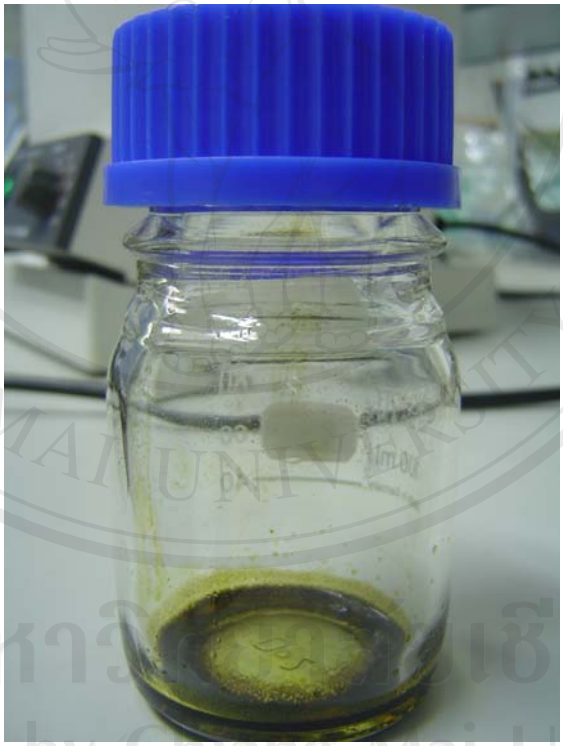
หมายเหตุ : ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 2 การตรวจหาสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยวิธี PTLC bioassay

2.1 การสกัดสารและการแยกสารโดยวิธี Preparative Thin Layer Chromatography (PTLC)

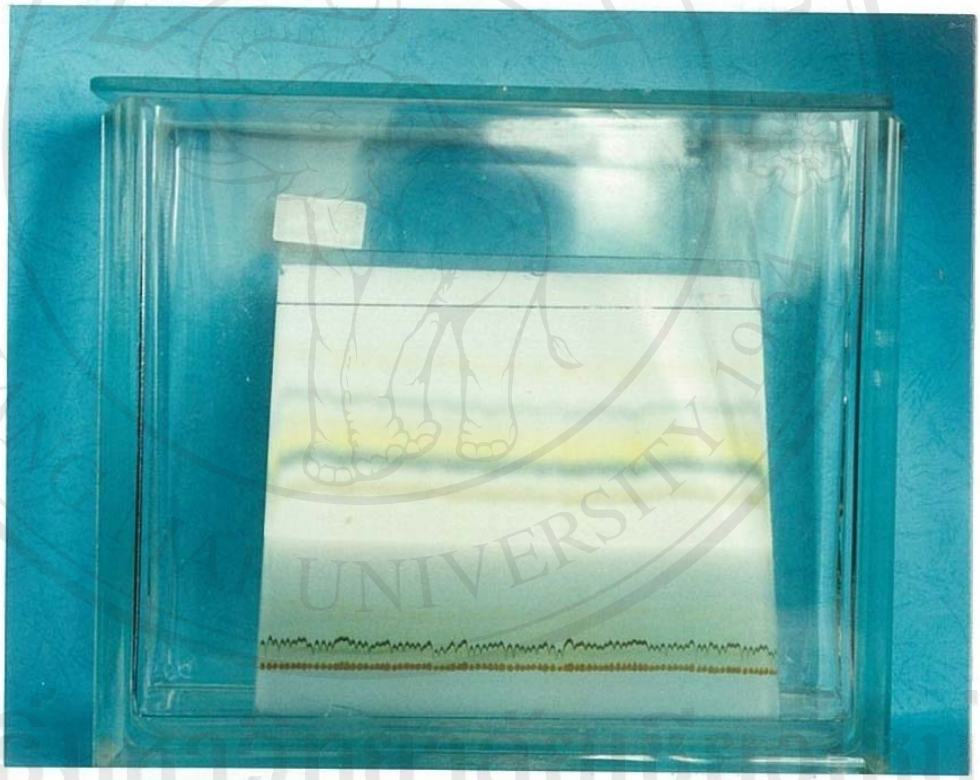
จากการสกัดสารสกัดหยาบจากผิวเปลือกมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์อายุ 90, 100, 110 และ 120 วัน ที่ผ่านกรรมวิธีต่างๆ พบว่า สารสกัดหยาบที่ได้มีลักษณะเป็นของเหลวสีน้ำตาลเข้ม มีลักษณะเหนียวหนืด (ภาพ 4.1)



ภาพ 4.1 สารสกัดหยาบที่สกัดได้จากเปลือกมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

หลังจากได้สารสกัดหยาบในแต่ละกรรมวิธีแล้วแล้วนำมา spot บนแผ่น TLC ทิ้งไว้ใน tank ให้สารละลายอิ่มตัวเป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง ผลลักษณะของโครมาโตแกรมที่ได้บนแผ่น TLC แสดงลักษณะของ สีน้ำตาลอ่อน สีเขียวเข้ม สีเหลืองเข้ม สีเขียวอมเหลือง และสีเหลืองอ่อน ดังภาพ 4.2



ภาพ 4.2 ลักษณะโครมาโตแกรมของสารสกัดหยาบบนแผ่น Thin Layer Chromatography

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.2 การตรวจสอบหาสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยวิธี PTLC bioassay

จากการตรวจสอบหาสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยการนำ spore suspension ของเชื้อรามา spray บนแผ่น TLC ที่ spot สารสกัดหยาบแล้วนำใส่กล่องบ่มเชื้อที่เตรียมไว้ ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 3 คืน พบว่า บนแผ่น TLC เกิดแถบสารที่ต้านการเจริญเติบโตของเชื้อรา 2 แถบคือ ที่ R_f 0.68 และที่ R_f 0.10 – 0.30 ทั้งนี้แถบสารที่สนใจและเห็นได้ชัดที่สุดอยู่มีค่า R_f อยู่ในช่วง 0.10 – 0.30 (ภาพ 4.3)

ภาพ 4.3 แถบสารที่ต้านการเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่ R_f 0.68 และที่ R_f 0.10 – 0.30

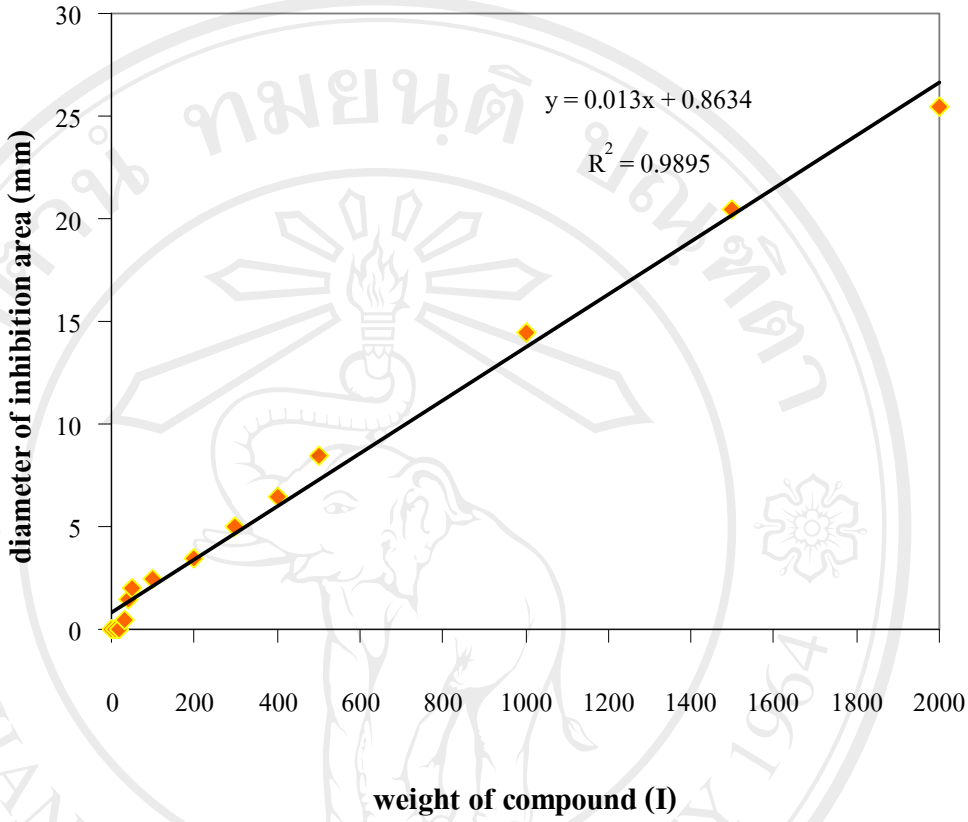
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของสารเคลือบผิวไคโตซานในการกระตุ้นการสร้างสารต้านเชื้อราของมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์

3.1 การทำ calibration curve

การนำสารสกัดหยาบที่ได้จากมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์อายุ 120 วันที่เคลือบผิวด้วย ไคโตซานจากเห็ดหอม 0.10 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับไคโตซาน 0.50 เปอร์เซ็นต์ มาทำ TLC 2 ครั้ง ขูดแถบสารที่มี R_f อยู่ในช่วง 0.10 – 0.30 ซึ่งมีความบริสุทธิ์ค่อนข้างสูง เรียกสารนี้ว่า สาร (I) แล้วเตรียมสารที่ความเข้มข้น 0, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 1000, 1500 และ 2000 µg (ตาราง 4.2) จากนั้นนำมา spot บนแผ่น TLC แล้วนำไปทดสอบกับเชื้อ *C. gloeosporioides* พบว่า ปริมาณสาร (I) ตั้งแต่ 30 µg สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ เชื้อราได้ โดยบนแผ่น TLC แสดงบริเวณที่เกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราซึ่งมีขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อคือ 0.5 0.15 2.0 2.5 3.5 5.0 6.5 และ 8.5 mm ตามลำดับ (ภาพ 4.5, 4.6 และ 4.7) นำผลที่ได้ไป plot กราฟระหว่างขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของ inhibition area (mm) กับน้ำหนักของสาร (µg) พบว่า ขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อมีความสัมพันธ์กับปริมาณสาร (I) สูงในทางบวก ซึ่งมีค่าสหสัมพันธ์ (r) = 0.9895 และ ได้สมการพยากรณ์ y = 0.013x + 0.8634 (ภาพ 4.4) ซึ่งจากกราฟแสดงว่า ปริมาณสาร (I) ที่เพิ่มมากขึ้นสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้มากขึ้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 4.4 calibration curve ของสาร (I)

สมการพยากรณ์ y = 0.013x + 0.8634

y = diameter of inhibition area (mm)

x = weight of compound (I) (µg)

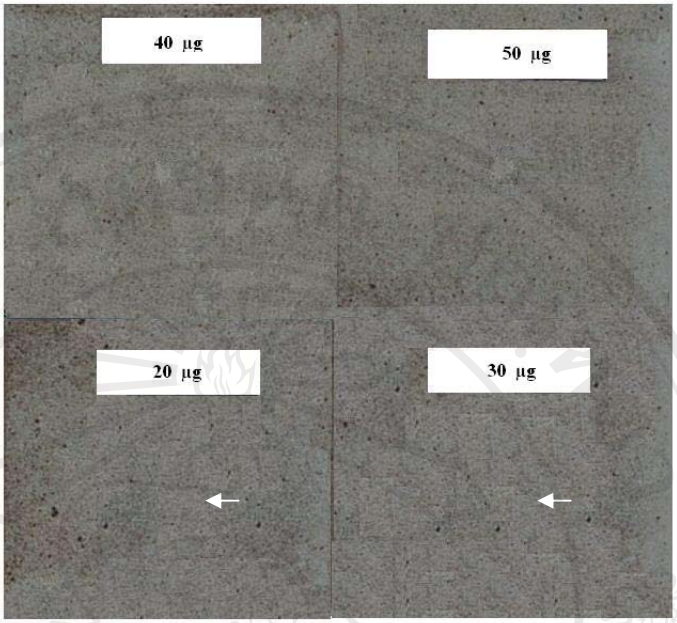
diameter of inhibition area (mm) มีความสัมพันธ์กับ weight of compound (I) (µg) สูงในทางบวก ซึ่งมีค่าสหสัมพันธ์ (r) = 0.9895

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

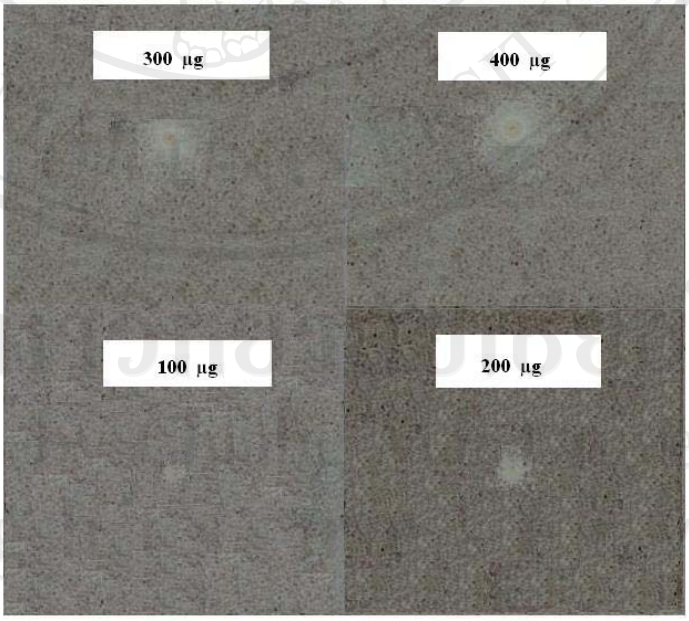
ตารางที่ 4.2 ความสามารถของสาร (I) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ของมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์อายุ 120 วัน เคลือบผิวด้วยไคโตซานจากเห็ดหอม 0.10 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับไคโตซาน 0.50 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของสาร (I) µg/ml	ปริมาณของสาร (I) บน PTLC plate (µg)	ขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (mm)
0	0	-
100	10	-
200	20	-
300	30	0.5
400	40	1.5
500	50	2.0
1000	100	2.5
2000	200	3.5
3000	300	5.0
4000	400	6.5
5000	500	8.5
10000	1000	14.5
15000	1500	20.5
20000	2000	25.5

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

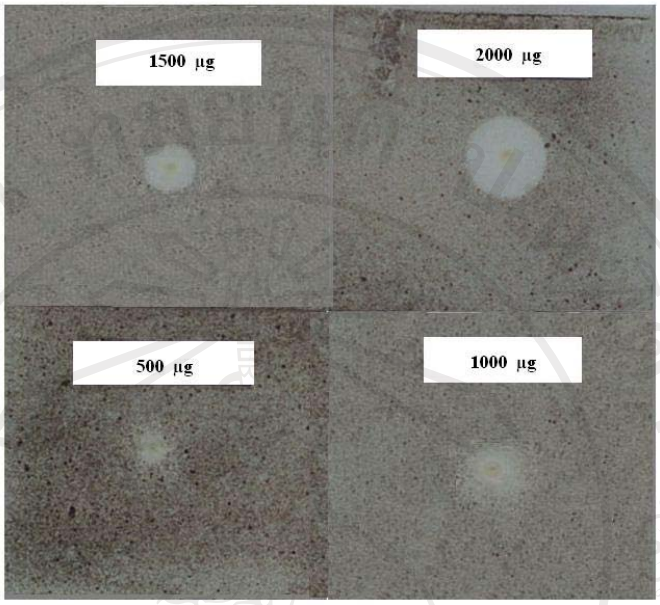


ภาพ 4.5 การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. gloeosporioides* เมื่อใช้ปริมาณสาร(I) 20, 30, 40 และ 50 µg ปรากฏบริเวณยับยั้งรอบจุดที่หยดสาร



ภาพ 4.6 การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. gloeosporioides* เมื่อใช้ปริมาณสาร(I) 100, 200, 300 และ 400 µg ปรากฏบริเวณยับยั้งรอบจุดที่หยดสาร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



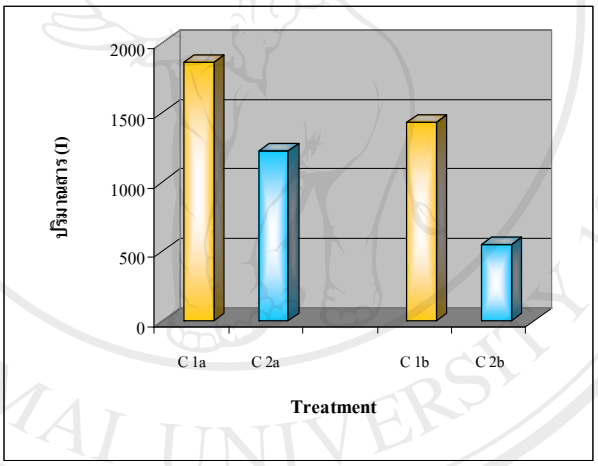
ภาพ 4.7 การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. gloeosporioides* เมื่อใช้ปริมาณสาร (I) 500, 1000, 1500 และ 2000 µg ปรากฏบริเวณยับยั้งรอบจุดที่หยดสาร

3.2 การเปรียบเทียบปริมาณสาร (I) ในมะม่วงทั้ง 4 ช่วงอายุ ที่ผ่านกรรมวิธีต่างๆ

จากการนำเปลือกมะม่วงอายุ 90, 100, 110 และ 120 วัน ที่ผ่านกรรมวิธีต่างๆ มาทำการสกัดสารสกัดหยาบ นำสารสกัดหยาบที่ได้มาแยกโดยวิธี TLC ขูดแถบที่มี R_f ในช่วง 0.10 – 0.30 มารวมกัน เมื่อได้สาร (I) นำมาละลายในไดคลอโรมีเธน นำสารละลายที่ได้มา spot ลงบนแผ่น TLC จากนั้นนำมา spray ด้วยเชื้อรา พบว่า เมื่อนำสาร (I) ปริมาณ 0.0010 กรัม ของมะม่วงทุกช่วงอายุที่ผ่านกรรมวิธีต่างๆ มาหาความสามารถในการยับยั้งเชื้อราพบว่า มะม่วงชุดที่เคลือบผิวด้วยไคโตซานจากเห็ดหอม 0.10 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับไคโตซาน 1.00 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ดีที่สุด โดยมะม่วงที่อายุ 120 วันมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อเป็น 2.3 เท่า ของชุดควบคุม และเมื่อทำการเทียบหาปริมาณสาร (I) จากน้ำหนักเปลือกสด 1 กรัม ของมะม่วงที่อายุ 90 วันและ 120 วัน พบว่ามะม่วงชุดที่เคลือบผิวด้วยไคโตซาน 0.50 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณสาร (I) ลดลงร้อยละ 41.17 (ของน้ำหนักเปลือกสด) ชุดที่เคลือบผิวด้วยไคโตซาน 0.75 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณสาร (I) ลดลงร้อยละ 38.55 (ของน้ำหนักเปลือกสด) ชุดที่เคลือบผิวด้วยไคโตซาน 1.00 เปอร์เซ็นต์ มี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ปริมาณสาร (I) ลดลง ร้อยละ 26.91 (ของน้ำหนักเปลือกสด) ชุดที่เคลือบผิวด้วยไคโตซานจากเห็ดหอม 0.10 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับไคโตซาน 0.50 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณสาร (I) ลดลงร้อยละ 18.63 (ของน้ำหนักเปลือกสด) ชุดที่เคลือบผิวด้วยไคโตซานจากเห็ดหอม 0.10 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับไคโตซาน 0.75 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณสาร (I) ลดลงร้อยละ 22.56 (ของน้ำหนักเปลือกสด) ชุดที่เคลือบผิวด้วยไคโตซาน จากเห็ดหอม 0.10 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับไคโตซาน 1.00 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณสาร (I) ลดลงร้อยละ 23.29 (ของน้ำหนักเปลือกสด) และ ชุดควบคุมมีปริมาณสาร (I) ลดลงร้อยละ 55.22 (ของน้ำหนักเปลือกสด) ซึ่งทั้งนี้ปริมาณสาร (I) จากน้ำหนักเปลือกสด 1 กรัมของมะม่วงอายุ 120 วัน ของชุดที่ เคลือบผิวด้วยไคโตซานจากเห็ดหอม 0.10 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับไคโตซาน 1.00 เปอร์เซ็นต์ มีมากกว่าชุดควบคุมถึง 2.6 เท่า



ภาพ 4.8 ปริมาณสาร (I) ของมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์ชุดที่เคลือบผิวด้วยไคโตซาน 1.00 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับไคโตซานจากเห็ดหอม 0.10 เปอร์เซ็นต์ (C 1) กับชุดควบคุม (C 2) ที่อายุ 90 วัน (a) และ 120 วัน (b)

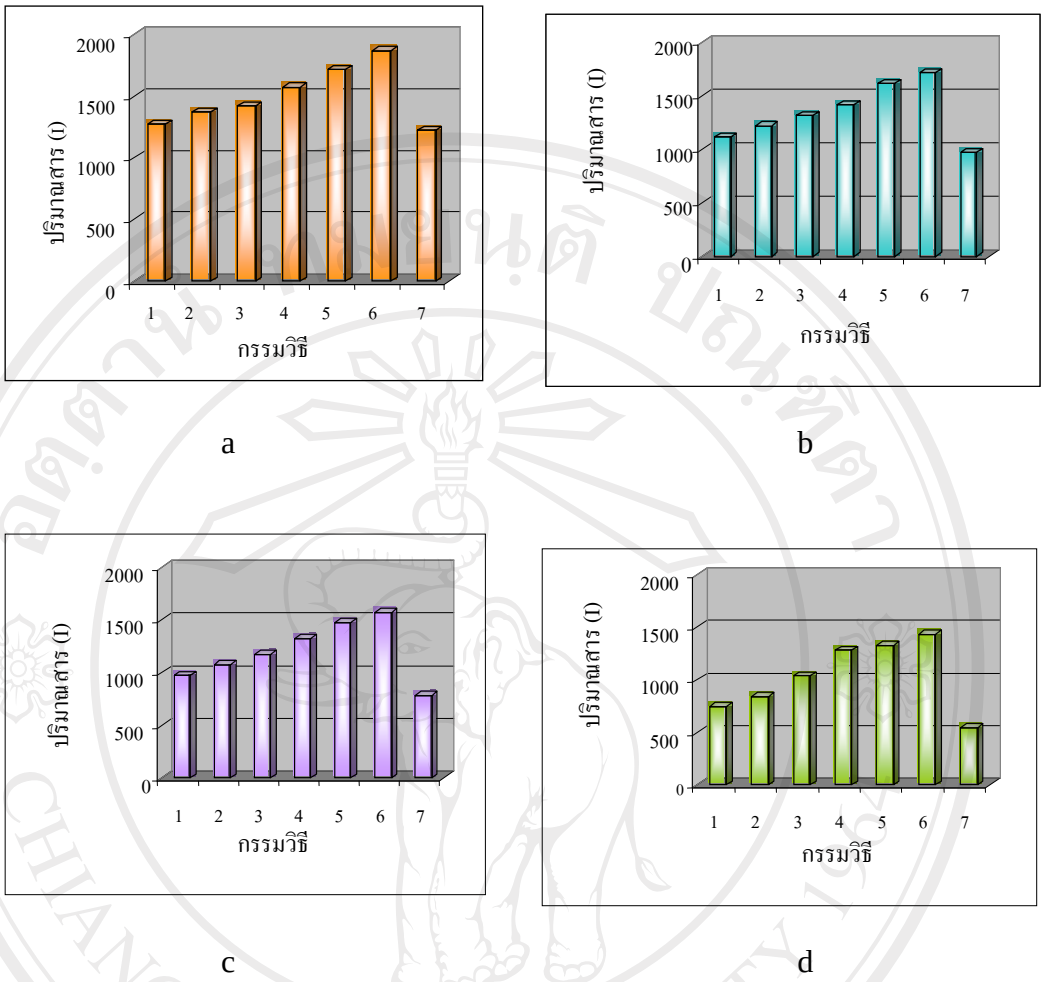
Treatment C 1a มะม่วงที่เคลือบผิวด้วยไคไคโตซานจากเห็ดหอม 0.10% ร่วมกับไคโตซาน 1.00% ที่อายุ 90 วัน

Treatment C 1b มะม่วงที่เคลือบผิวด้วยไคไคโตซานจากเห็ดหอม 0.10% ร่วมกับไคโตซาน 1.00% ที่อายุ 120 วัน

Treatment C 2a มะม่วงที่จุ่มน้ำเปล่า (control) ที่อายุ 90 วัน

Treatment C 2b มะม่วงที่จุ่มน้ำเปล่า (control) ที่อายุ 120 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 4.9 ปริมาณสาร (I) ของมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์อายุ 90 วัน (a), 100 วัน (b), 110 วัน (c) และ 120 วัน (d) ที่ผ่านการเคลือบผิวด้วยกรรมวิธีต่างๆ

กรรมวิธีที่ 1 เคลือบผิวด้วยไคโตซาน 0.50 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 2 เคลือบผิวด้วยไคโตซาน 0.75 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 3 เคลือบผิวด้วยไคโตซาน 1.00 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 4 เคลือบผิวด้วยไคโตซานจากเห็ดหอม 0.10 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับไคโตซาน 0.50 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 5 เคลือบผิวด้วยไคโตซานจากเห็ดหอม 0.10 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับไคโตซาน 0.75 เปอร์เซ็นต์

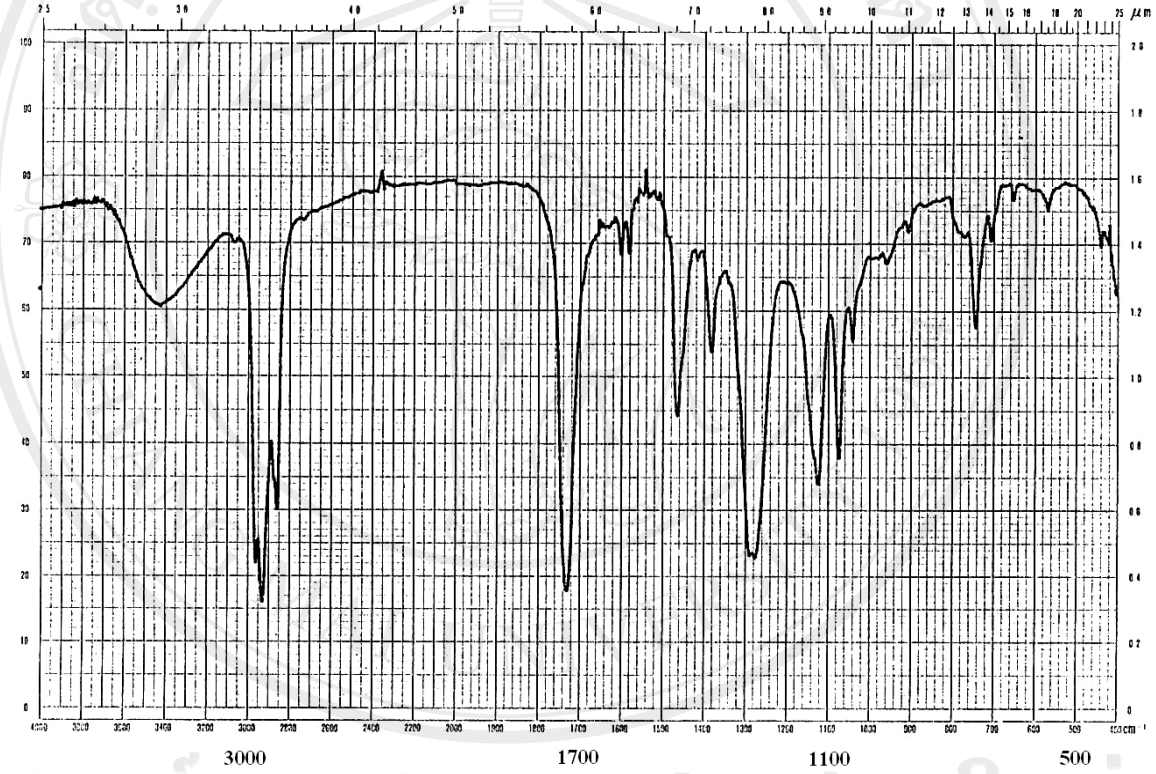
กรรมวิธีที่ 6 เคลือบผิวด้วยไคโตซานจากเห็ดหอม 0.10 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับไคโตซาน 1.00 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 7 ชุดควบคุม (control) จุ่มน้ำเปล่า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.3 การศึกษาโครงสร้างของสารต้านเชื้อราที่มี R_f อยู่ในช่วง 0.10 – 0.30 โดยใช้เครื่องมือทาง spectroscopy และ chromatography

การศึกษาและวิเคราะห์หาสารที่เป็นองค์ประกอบจากแถบสารที่มี R_f อยู่ในช่วง 0.10 – 0.30 โดยใช้ Infrared spectrophotometer (IR) ได้ IR spectrum ดังภาพ 4.10



ภาพ 4.10 IR spectrum ของสาร (I) วิเคราะห์โดย Infrared spectrophotometer

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

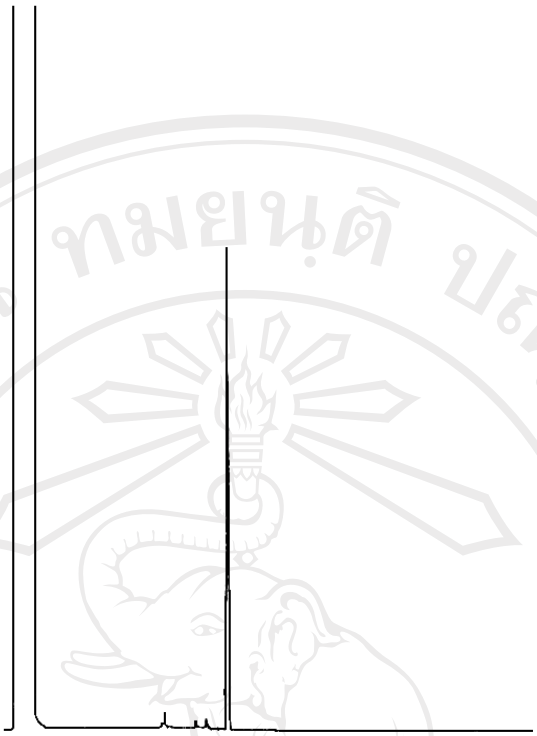
การวิเคราะห์โดยวิธี Gas Chromatography (GC)

สภาวะที่ใช้หาสารที่เป็นองค์ประกอบในแถบสารที่มี R_f อยู่ในช่วง $0.10 - 0.30$ โดยเครื่อง Gas Chromatograph (GC)

Column	Caplilary length 30 m
Stationary phase	DB 1
Carrier gas	He
Flow rate	30 kg/cm
Injection volume	2 µl
Detector	Flame Ionization Detector (FID)
Injection temperature	270^{o}C
Detection temperature	280^{o}C
Initial temperature	50^{o}C : 0 min
Range of temperature	50–270 ^{o}C rate 20 ^{o}C / min

ปริมาตรตัวอย่างที่ฉีด 2 ไมโครลิตร / ครั้ง โดยใช้หลอดฉีดขนาด 5 ไมโครลิตร ได้โครมาโตรแกรมที่มีสารเพียงสารเดียวที่ Retention (R.T.) = 11.195 นาที (ภาพ 4.11)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



start OMATOPAC C-R6A FILE stop
SAMPLE NO 0 METHOD
REPORT NO 7567

PKNO	TIME	AREA	MK	IDNO	CONC	NAME
1	0.56	277017			5.1766	
2	0.788	242563	V		4.5328	
3	1.812	4800641	V		89.7093	
4	4.485	382			0.0071	
5	6.515	93			0.0017	
6	6.963	36			0.0007	
7	7.553	88			0.0016	
8	7.865	310			0.0058	
9	8.015	530	V		0.0099	
10	8.1	86	V		0.0016	
11	8.335	80	V		0.0015	
12	8.533	86	V		0.0016	
13	8.667	59	V		0.0011	
14	8.845	141	V		0.0026	
15	9.103	75	V		0.0014	
16	9.292	83	V		0.0016	
17	9.518	446	V		0.0083	
18	10.04	580			0.0108	
19	10.373	62			0.0012	
20	10.595	85	V		0.0016	
21	11.195	27893			0.5212	**สาร (I)**
	TOTAL	5351334			100	

ภาพ 4.11 โครมาโตรแกรมของสาร (I) วิเคราะห์โดย Gas Chromatography

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์โดยวิธี Gas Chromatograph – Mass Spectrometer (CG – MS)

สภาวะที่ใช้หาสารที่เป็นองค์ประกอบในแถบสารที่มี R_f อยู่ในช่วง 0.10 – 0.30 โดยเครื่อง Chromatograph – Mass Spectrometer (CG – MS)

CG

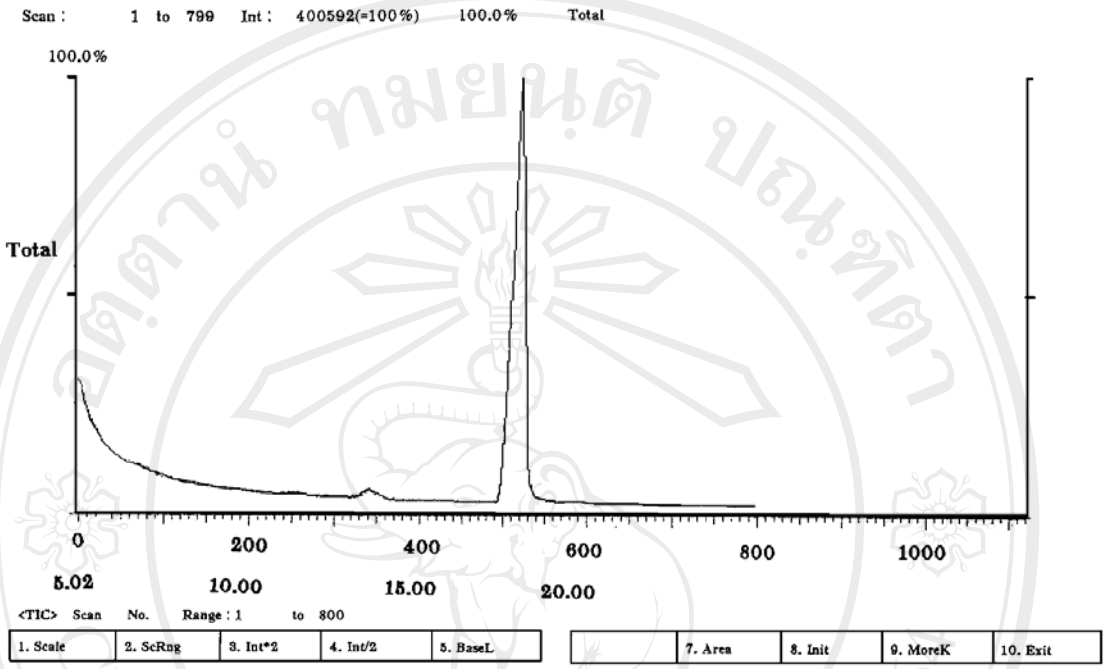
Column	Caplilary length 30 m
Stationary phase	DB 1
Detector	Flame Ionization Detector (FID)
Injection temperature	270 ^{o}C
Detection temperature	280 ^{o}C

MS

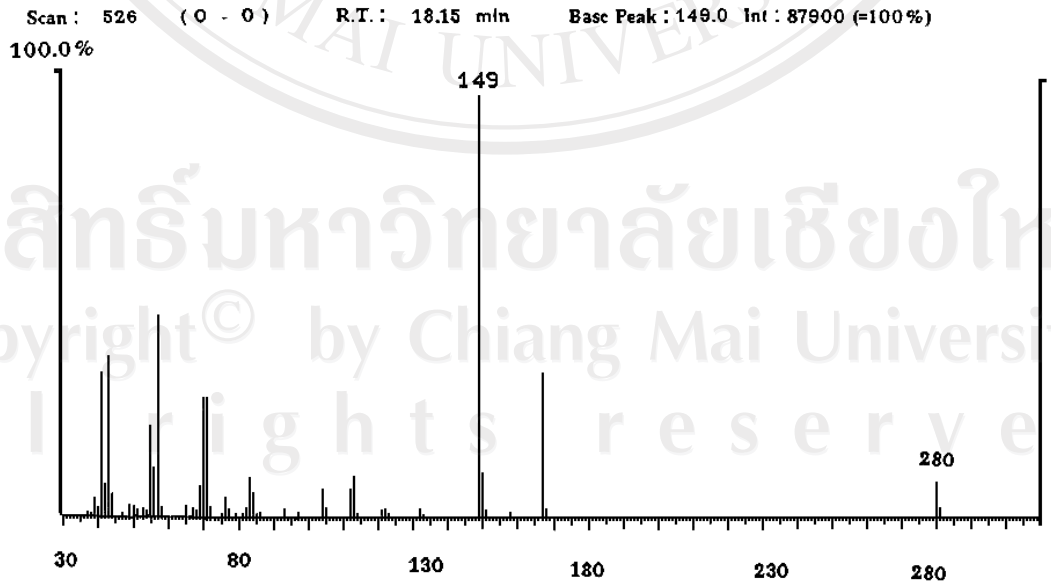
Ionization mode	Cl^{+}
Ion source temperature	210 ^{o}C
Ionization current	300 µA
Emission current	1.8 mA
Acceleration voltage	3 kV
Electron multiplier	130
Ionization voltage	70 eV

หลังจากฉีดสาร (I) เข้าไปในเครื่อง Chromatograph – Mass Spectrometer พบว่ามีเพียงสารเดียวที่ Retention (R.T.) = 18 นาที (ภาพ 4.12) และเมื่อนำสารที่ตำแหน่งนี้มาวิเคราะห์ด้วย Mass Spectrometer พบว่ามี base peak ที่ 149 และน้ำหนักมากที่สุดที่ 280 (ภาพ 4.13)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



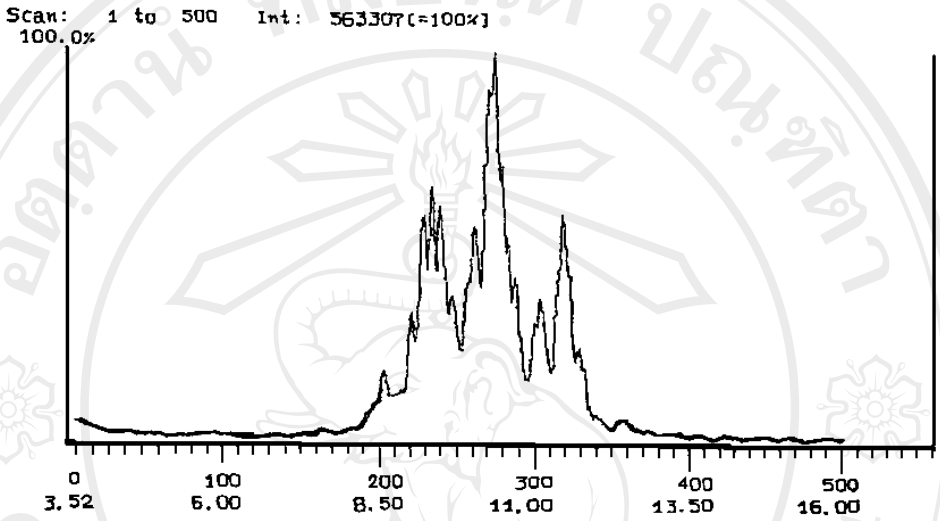
ภาพ 4.12 โครมาโตรแกรมของสาร (I) วิเคราะห์โดย Gas Chromatograph–Mass Spectrometer



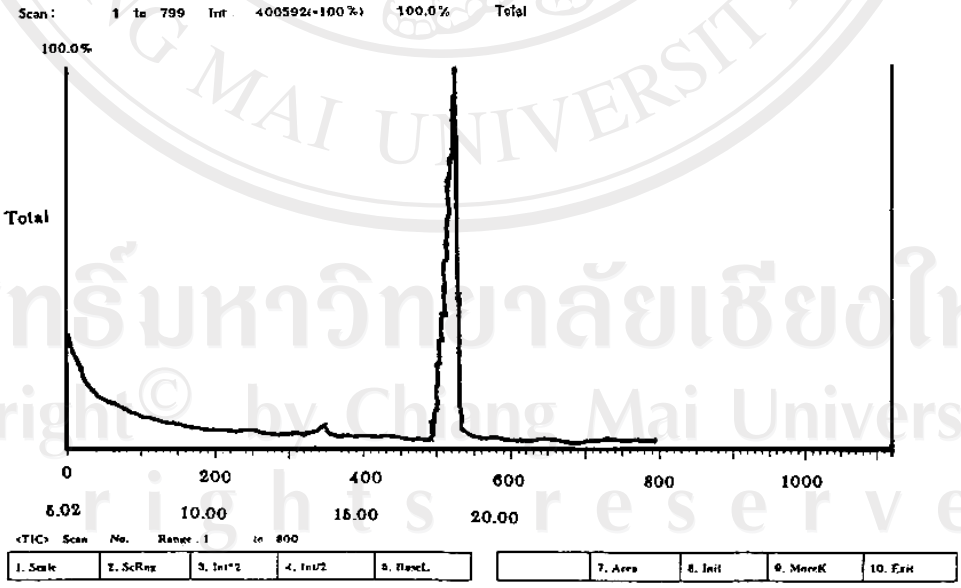
ภาพ 4.13 แมสสเปตรัมของสาร (I)วิเคราะห์โดย Gas Chromatograph – Mass Spectrometer

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากการวิเคราะห์พบว่า โครมาโตรแกรมจาก GC Infrared spectrum และ Mass spectrum ใกล้เคียงกับโครมาโตรแกรมจาก GC Infrared spectrum และ Mass spectrum ของ di-2-ethylhexyl phthalate ดังภาพ 4.14 ,4.15 และ 14.6



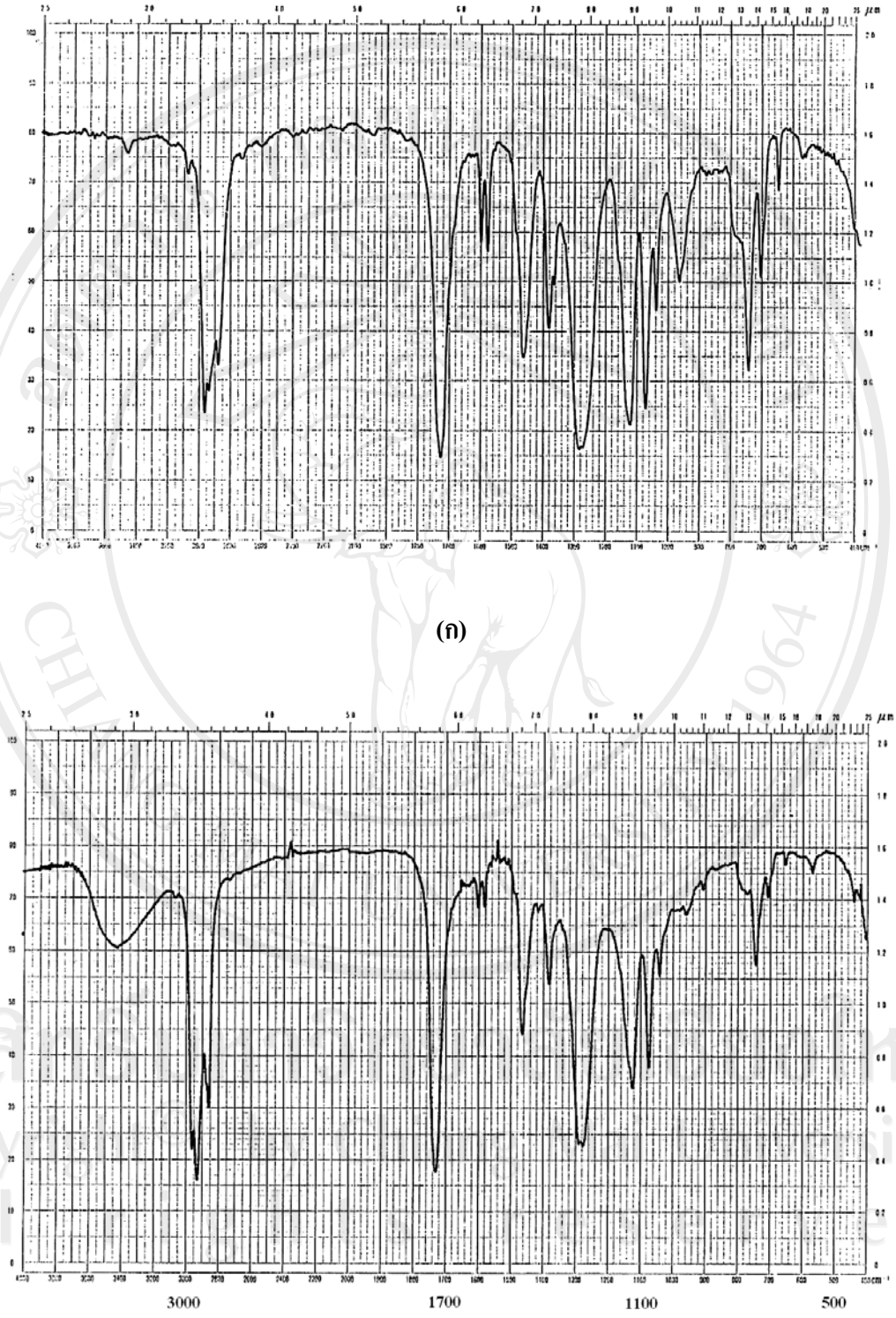
(ก)



(ข)

ภาพ 14.4 โครมาโตรแกรมของ di-2-ethylhexyl phthalate (ก) และ สาร (I) (ข)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

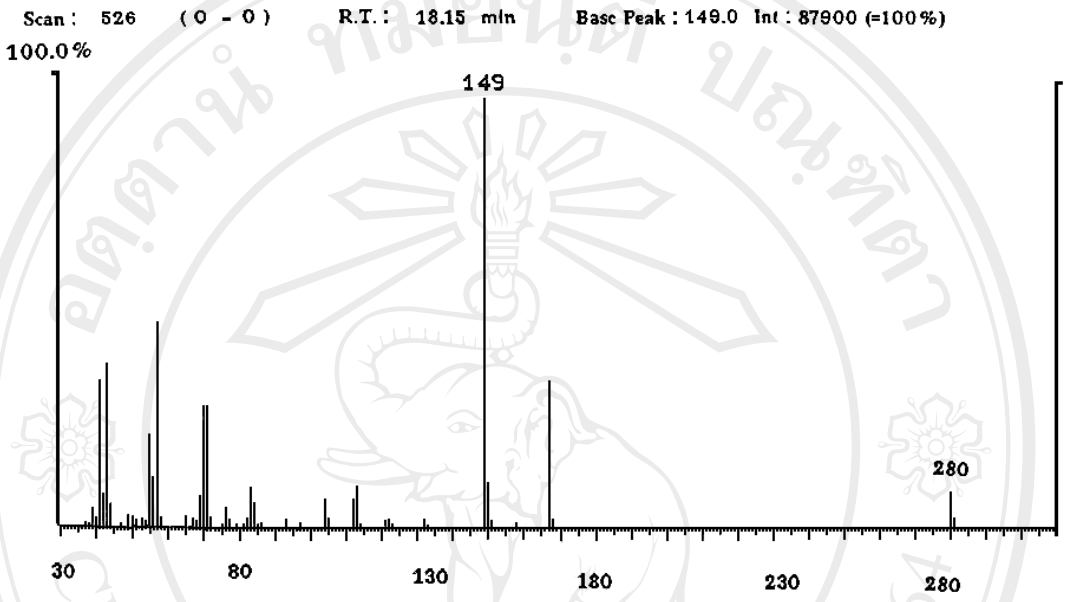


(ก)

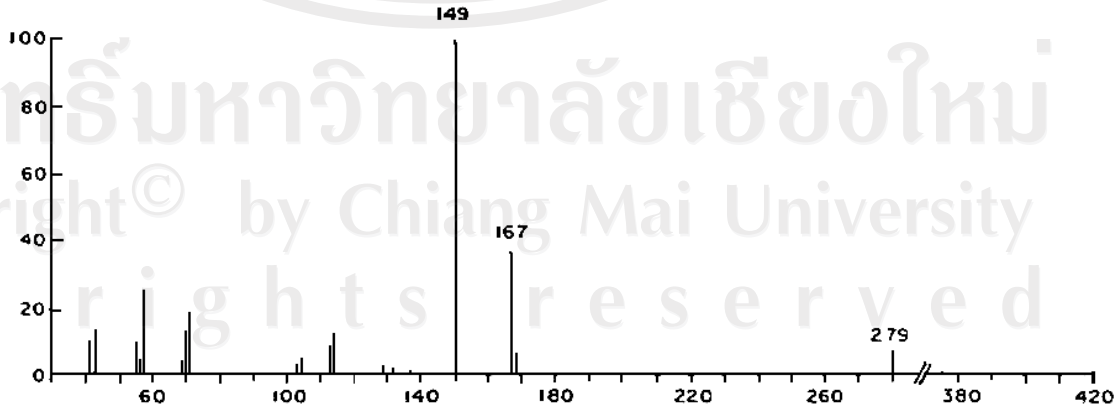
(ข)

ภาพ 4.15 Infrared spectrum ของ di-2-ethylhexyl phthalate (ก) และ สาร (I) (ข)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



(ก)



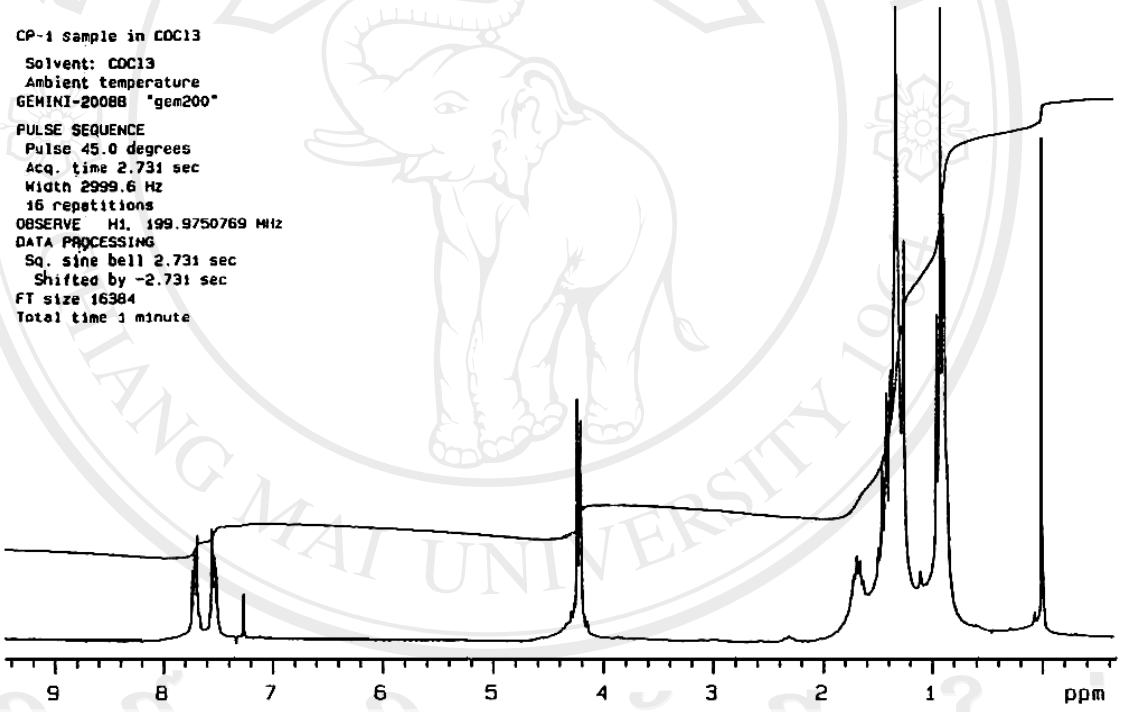
(ข)

ภาพ 4.16 Mass spectrum ของ di-2-ethylhexyl phthalate (ก) และ สาร (I) (ข)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์โดยวิธี Magnetic Resonance spectrometer (^{1}H – NMR)

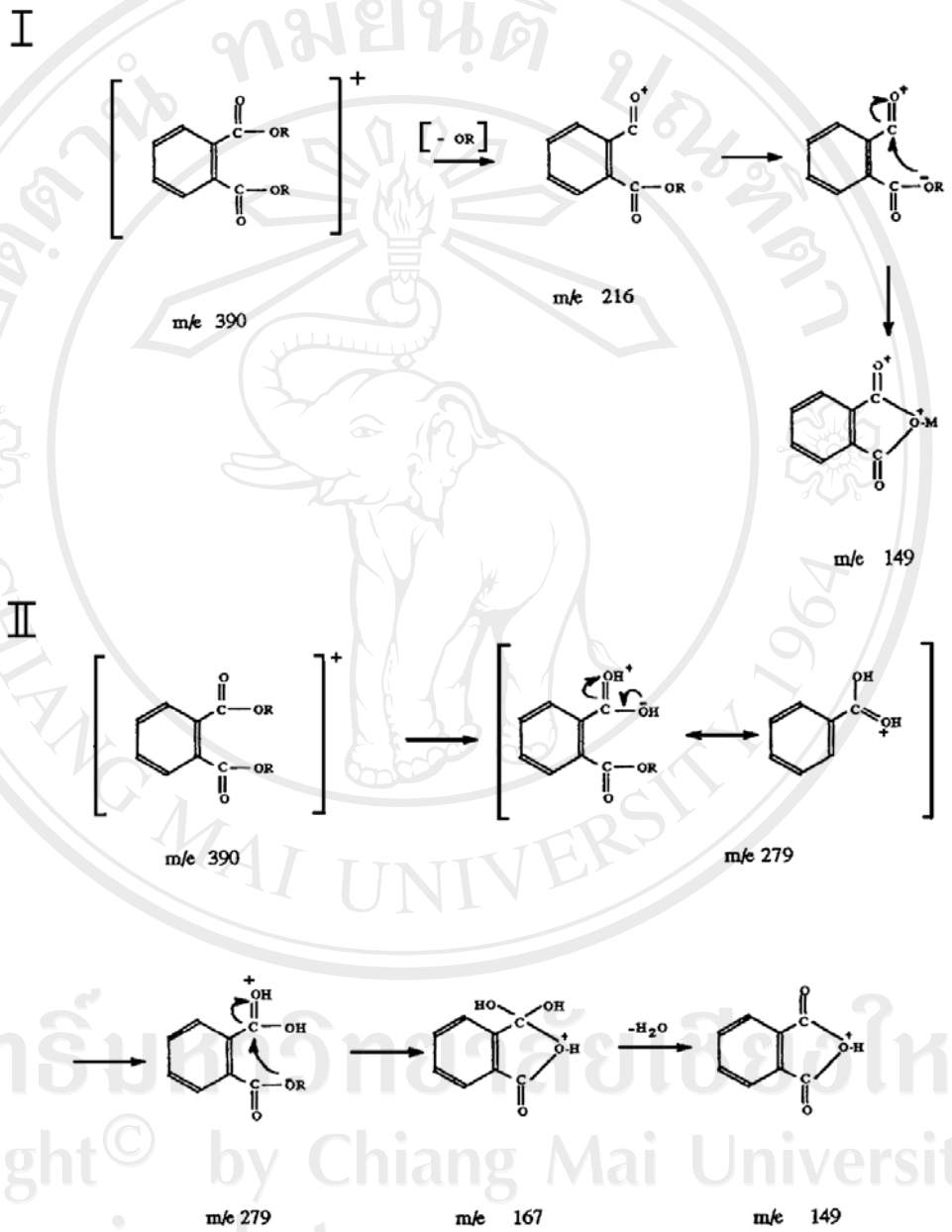
นำสาร (I) ใน deuterochloroform ($CDCl_3$) มาวิเคราะห์โดยใช้ ^{1}H – NMR ได้สเปกตรัมดังภาพ 4.17 ซึ่งลักษณะสเปกตรัมประกอบด้วยสัญญาณ 3 ชุดคือ ที่ประมาณ 7.6 ppm, 4.2 ppm และ 1.3 ppm



ภาพ 4.17 สเปกตรัมของสาร (I) วิเคราะห์โดย ^{1}H – NMR spectrometer

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ผลการวิเคราะห์สาร (I) โดย mass Spectrometer พบว่าสาร (I) น่าจะเป็นสารพวก phthalate ester ซึ่งมีการแตกตัวดังนี้



ภาพ 4.18 การแตกตัวของสาร phthalate ester

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved