รหัสโครงการ SUT1-102-44-12-42

รายงานการวิจัย

การสกัดและการหาองค์ประกอบของรงควัตถุกลุ่มแอนทราควิโนนจากครั่ง

Extraction and Characterization of Anthraquinone Dyes from Stick Lac

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

รหัสโครงการ SUT1-102-44-12-42

รายงานการวิจัย

การสกัดและการหาองค์ประกอบของรงควัตถุกลุ่มแอนทราควิโนนจากครั่ง

Extraction and Characterization of Anthraquinone Dyes from Stick Lac

คณะผู้วิจัย
หัวหน้าโครงการ
รองศาสตราจารย์ ดร. เสาวณีย์ รัตนพานี
สาขาวิชาเคมี
สำนักวิชาวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2544
ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว
พฤษภาคม 2548

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่สนับสนุนงบประมาณโครงการวิจัยนี้ ขอขอบคุณศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี รวมทั้งสาขาวิชาเคมี สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ที่เอื้อเฟื้อเครื่องมือ อุปกรณ์การวิจัยและสถานที่ในการทำวิจัย

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทคัดย่อ

จากการศึกษาการสกัดครั่งดิบจากแหล่งที่มา 2 จังหวัดคือ จังหวัดนครราชสีมาและจังหวัดสุรินทร์ โดยการสกัดด้วยน้ำร้อนที่ 60-75°C และอัลตราโซนิกที่ 60°C พบว่าได้ครั่งสกัดหยาบในปริมาณที่ใกล้เคียงกันทั้งแหล่งที่มาและวิธีการสกัด กล่าวคือได้ครั่งสกัดหยาบ(crude extract) ในช่วง 4.2-4.6 % แต่ปริมาณของกรดแลคคาอิกรวมที่สกัดได้จากครั่งสกัดหยาบที่มาจากจังหวัดนครราชสีมาโดยใช้น้ำร้อน(74.8%) จะสูงกว่าครั่งที่มาจากจังหวัดสุรินทร์ทั้งที่สกัดด้วยน้ำร้อน (60.1%) และสกัดด้วยวิธีอัลตราโซนิก (69.8%) จากนั้นได้ทำการแยกกรดแลคคาอิกรวมที่สกัดได้โดยใช้โครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณกรดแลคคาอิก A, B และ C โดยใช้ HPLC ซึ่งพบว่าเงื่อนไขการวิเคราะห์ที่เหมาะสมมีดังนี้คือ mobile phase ประกอบด้วย 50 mM $NH_4H_2PO_4$-CH_3OH (85:15); pH = 7.8 (ปรับ pH ด้วย 28% NH_3 solution) คอลัมน์ที่ใช้คือ EconosilC18 (10 µm, 250 x 4.6 mm i.d.) อัตราการไหล 0.80 mL/ min และใช้เครื่องตรวจวัดปริมาณเป็น UV detector ที่ความยาวคลื่น 400 nm

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Abstract

Extraction of raw sticklac obtained from Nakorn Ratchasima and Surin provinces by hot water (60 -75°C) and ultrasonic (60°C) yielded nearly the same amount of crude extract in the range of 4.2-4.6% for both sources and methods. But the total laccaic acids extracted by hot water (74.8%) from the crude extract of Nakorn Ratchasima province yielded higher amount than those from Surin province both by hot water extraction (60.1%) and by ultrasonic(69.8%). Laccaic acid A, B and C were separated from the extracted laccaic acid by column chromatography and the quantity were then determined by HPLC. The optimum condition for the analysis are as followed: mobile phase consists of 50 mM $NH_4H_2PO_4$-CH_3OH (85:15); pH = 7.8 (pH was adjusted with 28% NH_3 solution), Econosil C18 (10 μm, 250 x 4.6 mm i.d.) was used as column and the flow rate was 0.80 mL/ min with UV detector at wavelength 400 nm.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญรูป	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 วิธีดำเนินการ	4
บทที่ 3 ผลการทดลอง	7
บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง	16
บรรณานุกรม	18
ประวัติผู้วิจัย	19

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 3.1 เปรียบเทียบผลของแหล่งของครั่งดิบที่นำมาสกัดโดยใช้น้ำร้อน 7

ตารางที่ 3.2 เปรียบเทียบผลการสกัดครั่งดิบที่มาจากจังหวัดสุรินทร์โดยการใช้น้ำร้อน และการใช้อัลตราโซนิก 8

ตารางที่ 3.3 ร้อยละของครั่งดิบที่สกัดได้โดยใช้น้ำร้อนและอัลตราโซนิกพร้อมทั้งร้อยละของไขมันที่แยกออกและร้อยละของ Lac dyeที่สกัดได้ 8

ตารางที่ 3.4 องค์ประกอบของ Lac dye ที่สกัดได้จากครั่งที่มาจาก จังหวัดนครราชสีมา โดยใช้น้ำร้อน 10

ตารางที่ 3.5 องค์ประกอบของ Lac dye ที่สกัดได้จากครั่งที่มาจากจ.สุรินทร์โดยใช้น้ำร้อน 12

ตารางที่ 3.6 องค์ประกอบของ Lac dye ที่สกัดได้จากครั่งที่มาจากจ.สุรินทร์ โดยใช้อัลตราโซนิก 14

ตารางที่ 4.1 สรุปผลการแยกองค์ประกอบของสีครั่งสกัด 17

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญรูป

		หน้า
รูปที่ 3.1	HPLC chromatogram ของสาร laccaic acids บริสุทธิ์จาก บริษัทWako ประเทศญี่ปุ่น	9
รูปที่ 3.2	HPLC chromatograms ของสารสกัดที่แยกได้ 3 fractions ซึ่งสกัดโดยใช้น้ำร้อน (ครั่งจากจังหวัดนครราชสีมา)	11
รูปที่ 3.3	HPLC chromatograms ของสารสกัดที่แยกได้ 3 fractions ซึ่งสกัดโดยใช้น้ำร้อน (ครั่งจากจังหวัดสุรินทร์)	13
รูปที่ 3.4	HPLC chromatograms ของสารสกัดที่แยกได้ 3 fractions ซึ่งสกัดโดยใช้อัลตราโซนิก (ครั่งจากจังหวัดสุรินทร์)	15

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 1
บทนำ

สีแดงจากครั่ง (lac dye) ใช้ในการแต่งสีของอาหาร เครื่องสำอางค์ และย้อมผ้ามาแต่ครั้งโบราณกาลในหลายแหล่งของโลกโดยเฉพาะในแถบเอเชีย เช่น อินเดีย ศรีลังกา และประเทศไทย สีแดงจากครั่งได้จากส่วนที่ละลายน้ำของครั่ง (stick lac) ซึ่งเกิดจากการขับถ่ายของแมลง Coccus Laccae (Laccifer lacca Kerr) สีแดงในส่วนที่ละลายน้ำนี้มีองค์ประกอบของ laccaic acid อยู่หลายชนิดปะปนกันด้วยองค์ประกอบที่แตกต่างกัน ขึ้นกับแหล่งของการเกิดครั่ง ชนิดของต้นไม้ที่ครั่งเจริญเติบโต (ฉำฉา หรือพยูง) แหล่งกำเนิดของต้นไม้ เป็นต้น ด้วยเหตุนี้จึงเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้เมื่อนำสีจากครั่งไปทำการย้อมผ้าทั้งฝ้าย และไหมจะส่งผลให้การย้อมในแต่ละครั้งให้เฉดสีที่แตกต่างกันและไม่สามารถควบคุมเฉดสีให้ได้ตามต้องการ จึงเป็นปัญหาแก่เกษตรกรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่ใช้เวลาว่างให้เกิดประโยชน์และหารายได้เสริมให้กับครอบครัวโดยการผลิตผ้าและย้อมสีผ้าเป็นอุตสาหกรรมในครัวเรือน ซึ่งเป็นภูมิปัญญาท้องถิ่นประสบปัญหา ในด้านการผลิต หากได้ทำการวิจัยพื้นฐานเพื่อหาองค์ประกอบต่างๆ ของสีจากครั่ง จะสามารถช่วยให้ควบคุมการย้อมสีให้ได้เฉดสีตามต้องการ ซึ่งจะทำให้ผลผลิตเป็นที่ต้องการของผู้บริโภคโดยเฉพาะการส่งออกซึ่งจะสามารถนำเงินตราเข้าสู่ประเทศและช่วยให้ความเป็นอยู่ของเกษตรกรที่ยากจนในแถบภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีความเป็นอยู่ดีขึ้น

งานวิจัยหลักที่เกี่ยวข้อง และคล้ายคลึงกับงานวิจัยที่ทำ

ดังได้กล่าวแล้วว่าองค์ประกอบของสีแดงจากครั่งขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น แหล่งของการเกิดครั่ง ชนิดของต้นไม้ที่ครั่งเจริญเติบโต และแหล่งกำเนิดของต้นไม้ เป็นต้น จึงได้มีผู้ทำการศึกษาวิธีการแยกและการวิเคราะห์องค์ประกอบของสีจากครั่งพอรวบรวมสรุปได้ดังนี้

Pandhare และคณะ (1)ได้ทำการสกัดสารสีจากครั่งโดยใช้น้ำ พบว่ามี lac A เป็นองค์ประกอบหลัก (major product)

Pandhare และคณะ (2) ได้ศึกษา ^{1}H-NMR ของ laccaic acid A พบว่า lac A คือ 1,3,4,6-tetrahydroxy-2-[2′-hydroxy-5′-(β-acetamidoethyl)-phenyl]-9,10-anthraquinone-7,8-dicarboxylic acid โดยมีสูตรโมเลกุลเป็น $C_{26}H_{19}O_{12}$ นอกจากนี้ยังพบว่า UV-VIS absorption spectrum ของ laccaic acid A คล้ายคลึงกันกับ crude laccaic acid ที่อยู่ในเอทธานอล

Rama Rao และคณะ (3) ได้ทำการแยก laccaic acid โดยใช้ผง cellulose และชะด้วย 1-butanol-acetic acid-water (6:1:2) พบว่า laccaic acid A และ B เป็นองค์ประกอบหลัก และแยกจากกันได้ยาก ส่วนองค์ประกอบรองคือ laccaic acid C และ E

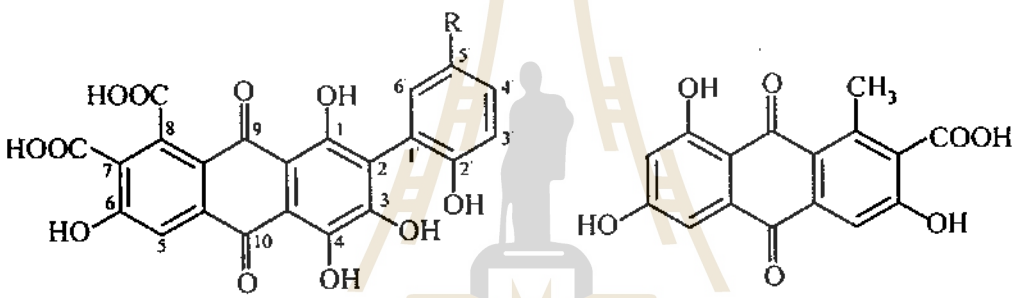
Mehandale และคณะ(4) พบ laccaic acid D

Hisada, K. และคณะ(5) ได้ทำการแยกสีจากครั่งในอาหารโดยการใช้เอธานอล-น้ำ-กรดออกซาลิค ในอัตราส่วน 30:10:10 และทำการแยกโดยใช้พอลิเอไมด์ และวิเคราะห์หาปริมาณโดยใช้เทคนิค TLC และ HPLC

Hu และคณะ(6) พบ laccaic acid F จากครั่งที่เกิดในประเทศไทย

Haque, M. Z. และคณะ (7) ได้ทำการแยกสีจากครั่งที่มาจากประเทศบังกลาเทศ และทำการหาองค์ประกอบโดยการใช้ Chromatography ซึ่งพบว่าสามารถแยกองค์ประกอบหลักของ laccaic acid ได้ 3 ชนิด

Sakar,P.C.และคณะ(8)ได้ทำการหาปริมาณของ laccaic acid โดยใช้วิธีทาง Spectrophotometric เพื่อนำผลไปใช้ในอุตสาหกรรมครั่ง และในปีเดียวกัน Oka, H. และคณะ(9) ประสบความสำเร็จในการแยกองค์ประกอบของครั่งโดยใช้High-speedcounter current chromatography และทำการวิเคราะห์โดย HPLC และ electrospray tandem mass spectrometry เป็นผลสำเร็จ ซึ่งโครงสร้างของ laccaic acid แสดงได้ดังนี้



Laccaic acid A $R = CH_2CH_2NHCOCH_3$ MW 537

Laccaic acid B $R = CH_2CH_2OH$ MW 496

Laccaic acid C $R = CH_2CHCOOH$ (NH$_2$) MW 539

Laccaic acid D MW 314

Laccaic acid E $R = CH_2CH_2NH_2$ MW 495

Laccaic acid F $R = CH_2CH_2OCOCH_3$ MW 538

รูปที่ 1.1 **องค์ประกอบทางเคมีของ** laccaic acid

จะเห็นได้ว่าการแยกและวิเคราะห์องค์ประกอบของครั่ง ยังมีวิธีการวิเคราะห์ที่ค่อนข้างจำกัด ผู้วิจัยจึงได้พยายามที่จะหาวิธีการแยกและวิเคราะห์องค์ประกอบของสีจากครั่งโดยวิธี HPLC เพื่อเป็น

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

โครงการนำร่อง หากวิธีการนี้ได้ผลเป็นที่น่าพอใจก็จะสามารถศึกษาถึงรายละเอียดในระดับโครงสร้าง ทำให้สามารถทราบโครงสร้างขององค์ประกอบต่างๆ ของสีจากครั่งที่มีในประเทศไทย ซึ่งจะเป็นประโยชน์ทั้งในแง่การนำไปใช้เป็นสารปรุงแต่งสีในอาหาร เครื่องสำอางค์ และการย้อมผ้าให้มีคุณภาพต่อไป

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการแยกรงควัตถุกลุ่มแอนทราควิโนนจากครั่งที่ได้จากต้นฉำฉา
2. เพื่อศึกษาวิธีการวิเคราะห์หาองค์ประกอบของรงควัตถุกลุ่มแอนทราควิโนนที่แยกได้

ขอบเขตของการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาความเป็นไปได้ในการแยก และการหาองค์ประกอบของรงควัตถุกลุ่มแอนทราควิโนนจากครั่งที่ได้ จากต้นฉำฉา

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1. ทำให้ทราบถึงวิธีการแยกรงควัตถุส่วนที่ละลายน้ำออกจากครั่งได้อย่างมีประสิทธิภาพ
2. ทำให้ทราบองค์ประกอบของรงควัตถุกลุ่มแอนทราควิโนนจากครั่ง
3. สามารถนำผลการศึกษาไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อนำไปพัฒนาและควบคุมคุณภาพการย้อมผ้าโดยใช้สีจากครั่งได้อย่างมีประสิทธิภาพ

หน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้

เป็นความรู้พื้นฐานสำหรับงานวิจัยระดับสูงซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาและพัฒนาวิธีการย้อมผ้าด้วยสีจากครั่ง และกลุ่มแม่บ้านทอผ้าในจังหวัดนครราชสีมาและจังหวัดใกล้เคียงจะได้รับประโยชน์โดยรวม

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 2
วิธีดำเนินการ

2.1 สารเคมี (Chemicals)

- สารมาตรฐานกรดแลคคาอิด A [15979-35-8], B [17249-00-2] และ C [23241-56-7] จากบริษัท Wako Company (Osaka, Japan)
- Methanol, analytical reagent grade, Sigma-Aldrich Chemical Co. Inc.
- Ethyl acetate, analytical reagent grade, Sigma-Aldrich Chemical Co. Inc.
- Acetic acid, analytical reagent grade, Sigma-Aldrich Chemical Co. Inc.
- Chloroform, reagent grade, Sigma-Aldrich Chemical Co. Inc.
- Cellulose microcrystalline powder, 20 micron, CAS # 9004-34-6, Aldrich Chemical Company, Australia

2.2 แหล่งของครั่งดิบ (Source of stick lac)

ครั่งดิบซื้อจาก ร้านอ้วนการเกษตร อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมาและร้านน้องหญิง อำเภอเมือง จังหวัดสุรินทร์ โดยเป็นครั่งที่เพาะบนต้นฉำฉา ซึ่งเป็นครั่งดิบที่เก็บในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2545

2.3 การสกัดครั่งดิบ (Extraction of lac dye)

ได้ทำการสกัดครั่ง 2 วิธี ดังนี้

2.3.1 การสกัดครั่งดิบโดยใช้น้ำร้อนที่ 60-75 °c

นำครั่งดิบบดละเอียดที่ผ่านตะแกรงร่อนขนาด 18 mesh จำนวน 500 กรัม ใส่ในน้ำปราศจากอิออน (deionized water) 1.5 ลิตรที่ 60-75 °c เป็นเวลา 1 ชั่วโมง กรองสารละลายสีครั่งและทำให้เข้มข้นภายใต้การลดความดันด้วยเครื่อง Rotary Evaporator จากนั้นนำไปทำให้แห้งด้วยเครื่อง Freeze dryer (Heto FD3 model S/N 492497-B, Cat No. 837107, Denmark) ชั่งน้ำหนักแห้งของครั่งสกัดหยาบ (crude lac extract)

2.3.2 การสกัดครั่งดิบโดยใช้อัลตราโซนิกที่ 60 °c

นำครั่งดิบบดละเอียดที่ผ่านตะแกรงร่อนขนาด 18 mesh จำนวน 500 กรัม ใส่ในน้ำปราศจากอิออน (deionized water) 1.5 L ใช้อ่างอัลตราโซนิก(Ultrasonic Cleaner,Model-575 HT, frequency 38.5-40.0 kHz, the average power 135 atttage, peak power 405, Crest Ultrasonic Corp., Trenton, NJ,USA) ที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง กรองสารละลายสีครั่งและทำให้สารละลายเข้มข้นภายใต้การลด

ความดันด้วยเครื่อง Rotary Evaporator จากนั้นนำไปทำให้แห้งด้วยเครื่อง Freeze dryer (Heto FD3 model S/N 492497-B, Cat No. 837107, Denmark) ชั่งน้ำหนักแห้งของครั่งสกัดหยาบ

2.4 การแยกไขมันออกจากครั่งสกัดหยาบ (De-fatting of crude lac extract)

ชั่งครั่งสกัดหยาบ (crude lac extract) จากข้อ 2.3 มาประมาณ 10 กรัม(ทราบน้ำหนักที่แน่นอน) และ คลอโรฟอร์ม (chloroform) 300 มิลลิลิตร มารีฟลักซ์ (reflux) ที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากเย็นแล้วกรองตัวทำละลายออกไป ส่วนที่เป็นของแข็งคือครั่งสกัดหยาบที่แยกไขมันออกแล้ว (de-fatted lac dye) จากนั้นนำมาทำให้แห้งด้วย high vacuum pump เป็นเวลา 1 คืน บันทึกผลน้ำหนักครั่งสกัดหยาบที่แยกไขมันออกแล้ว

2.5 การแยกองค์ประกอบสีครั่งสกัดหยาบที่ผ่านการแยกไขมันออกแล้ว (Separation of lac dye components)

นำครั่งสกัดหยาบที่แยกไขมันออกแล้ว (de-fatted lac dye) มา 10 กรัม(ทราบน้ำหนักที่แน่นอน) สกัดด้วยเมทานอล (methanol) ปริมาตร 300 มิลลิลิตร ใน Soxhlet apparatus จนกระทั่งเมทานอลใน Soxhlet ไม่มีสี (7 วัน) จากนั้นระเหยเมทานอลออกภายใต้การลดความดันด้วยเครื่อง Rotary Evaporator และทำให้แห้งด้วย high vacuum pump จนน้ำหนักคงที่ บันทึกผลน้ำหนักที่ชั่งได้ (คำนวนหาร้อยละของกรดแลคคาอิก (laccaic acid) ที่สกัดได้ด้วยเมทานอลจากครั่งสกัดหยาบที่แยกไขมันออกแล้ว) นำสีครั่งแห้งที่สกัดด้วยเมทานอลมาทำการแยกองค์ประกอบด้วยวิธีทาง column chromatography โดยชั่งสีครั่งแห้งหนักประมาณ 1 กรัม(ทราบน้ำหนักที่แน่นอน) ผสมกับเมทานอล 10 มิลลิลิตร และ cellulose power (cellulose microcrystalline powder) ประมาณ 2 กรัม ผสมให้เข้ากัน จากนั้นระเหยตัวทำละลายออกภายใต้การลดความดันด้วยเครื่อง Rotary Evaporator และทำให้แห้งด้วย high vacuum pump เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นนำสีครั่งแห้งที่ผสมกับ cellulose มาทำให้เป็น slurry ด้วยการเติมชั้นอินทรีย์ของตัวทำละลายผสมระหว่างเอธิลอะซิเตด, กรดอะซิติก และน้ำ (ethyl acetate:acetic acid:water, E:A:W) ในอัตราส่วน 4:1:5 นำไป load ลงใน cellulose column (60 กรัม, ขนาด column 3.0 x 50 cm) ชะคอลัมน์ด้วยชั้นอินทรีย์ของตัวทำละลายผสมระหว่างเอธิลอะซิเตด, กรดอะซิติก และน้ำ (ethyl acetate:acetic acid:water, E:A:W) ในอัตราส่วน (4:1:5) จนกระทั่งตัวชะ (eluant) ไม่มีสี จากนั้นเปลี่ยนตัวชะคอลัมน์เป็นตัวทำละลายผสมระหว่างเมทานอล, กรดอะซิติก และน้ำ (methanol:acetic acid:water, M:A:W) ในอัตราส่วน 90:5:5 นำแต่ละ fraction ที่เก็บได้มาระเหยตัวทำละลายและล้างด้วยน้ำจนกระทั่งน้ำล้างเป็นกลาง นำไปทำให้แห้งด้วย high vacuum pump จนน้ำหนักคงที่ บันทึกน้ำหนักของสาร(กรดแลคคาอิก)ที่แยกได้

2.6 การทำกรดแลคคาอิกที่แยกได้จาก cellulose columnให้บริสุทธิ์ (Purification of laccaic acids)

เติมน้ำลงในกรดแลคคาอิกที่แยกได้จาก cellulose column และทำให้เป็นกรดด้วย conc. HCl ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง กรดแลคคาอิกจะตกตะกอนแยกออกมา จากนั้นทำการกรองและล้างด้วยน้ำหลายๆ ครั้ง จนกระทั่งน้ำล้างเป็นกลาง นำไปทำให้แห้งด้วย high vacuum pumpจนกระทั่งน้ำหนักคงที่ บันทึกน้ำหนักของกรดแลคคาอิกบริสุทธิ์ที่แยกได้

2.7 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของกรดแลคคาอิกที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์แล้ว

(Chemical composition analysis of the purified laccaic acids)

กรดแลคคาอิกที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ในแต่ละ Fraction จะนำมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิคทาง HPLC (High Performance Liquid Chromatography) ดังนี้

เครื่อง HPLC ที่ใช้เป็นรุ่น A Waters™ 600 Controller (Waters, Australia) with a Waters 486 Tunable Absorbance Detector operated at 400 nm โดยในการวิเคราะห์ครั้งนี้ใช้ column เป็น Econosil C18 (reverse phase column, 10 µm, 250 x 4.6 mm i.d. Part No. 40147, Lot No. 260882 Waters, Australia) และmobile phaseที่ใช้คือ 50 mM $NH_4H_2PO_4$-CH_3OH(85:15), pH 7.8 (ปรับค่าพีเอชด้วย 28% aqueous NH_3 solution) ด้วยอัตราการไหล (flow rate) 0.80 mL/min โดยพบว่าสามารถให้ผลการแยกระหว่าง standard laccaic acid A, B และ C ที่ retention time 26.0, 15.3 และ 4.8 นาที ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงในบทที่ 3

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 3
ผลการทดลอง

3.1 ผลการสกัดครั่งดิบ, การแยกไขมันและการสกัดกรดแลคคาอิกจากครั่งสกัดหยาบที่ผ่านการแยกไขมันออกแล้วด้วยเมทานอล

ได้ทำการศึกษาเป็น 2 ส่วน คือ การศึกษาถึงแหล่งที่มาของครั่งดิบและศึกษาถึงวิธีสกัดครั่งดิบโดยใช้น้ำร้อนและอัลตราโซนิก โดยใช้ครั่งดิบจากจังหวัดนครราชสีมาและจังหวัดสุรินทร์ แล้วนำมาสกัดแยกสีครั่งโดยใช้น้ำร้อนและอัลตราโซนิก ตามวิธีการดังกล่าวข้างต้น จากนั้นหาร้อยละของ crude extract ที่แยกได้ และการแยกไขมันออกด้วยการ reflux ด้วยคลอโรฟอร์ม และทำการสกัดกรดแลคคาอิก (laccaic acid) อีกครั้งด้วยเมทานอลใน Soxhlet apparatus ก่อนแยกองค์ประกอบด้วย cellulose column และ หาองค์ประกอบเบื้องต้นโดยใช้ HPLC

3.1.1 ผลของแหล่งครั่งดิบ

ครั่งดิบจากจังหวัดนครราชสีมาและจังหวัดสุรินทร์ ที่นำมาสกัดแยกสีครั่งโดยใช้น้ำร้อน ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 เปรียบเทียบผลของแหล่งของครั่งดิบที่นำมาสกัดโดยใช้น้ำร้อน

แหล่งของครั่งดิบ	จ.นครราชสีมา	จ. สุรินทร์
วิธีการสกัด	ใช้น้ำร้อน	ใช้น้ำร้อน
เวลาที่ใช้สกัด(ชั่วโมง)	1	1
อุณหภูมิ (^{0}C)	60-75	60-75
% Crude extract *	4.3	4.6
% Wax removal **	4.5	7.0
% Laccaic acid ที่สกัดด้วยเมทานอล	74.8	60.1

หมายเหตุ * คิดจากครั่งดิบ

** คิดจาก crude extract

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3.1.2 ผลของวิธีที่ใช้ในการสกัดครั่งดิบ

ได้นำครั่งดิบจากจังหวัดสุรินทร์ มาสกัดแยกสีครั่งโดยใช้น้ำร้อน เปรียบเทียบกับการใช้อัลตราโซนิก ดังวิธีการดังกล่าวแล้วข้างต้น ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 เปรียบเทียบผลการสกัดครั่งดิบที่มาจากจังหวัดสุรินทร์โดยการใช้น้ำร้อนและการใช้อัลตราโซนิก

วิธีการสกัด	ใช้น้ำร้อน	อัลตราโซนิก
เวลาที่ใช้สกัด(ชั่วโมง)	1 hour	1 hour
อุณหภูมิ (^{o}C)	60-75 ^{o}C	60 ^{o}C
% Crude extract	4.6	4.2
% Wax removal	7.0	7.7
% Laccaic acid ที่สกัดด้วยเมทานอล	60.1	69.8

หมายเหตุ เลือกใช้ครั่งจากจ.สุรินทร์เพราะหาได้ง่ายกว่า จ.นครราชสีมา

3.1.3 เปรียบเทียบผลของแหล่งครั่งดิบและวิธีการสกัดครั่งดิบ

ได้ทำการเปรียบเทียบผลของแหล่งครั่งดิบและวิธีการสกัดครั่งดิบ ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 ร้อยละของครั่งดิบที่สกัดได้โดยใช้น้ำร้อนและอัลตราโซนิกพร้อมทั้งร้อยละของไขมันที่แยกออกและร้อยละของ Lac dyeที่สกัดได้

วิธีการสกัด	ใช้น้ำร้อน	ใช้น้ำร้อน	ใช้อัลตราโซนิก
แหล่งครั่งดิบ	จ.นครราชสีมา	จ.สุรินทร์	จ.สุรินทร์
เวลาที่ใช้ในการสกัด	1 ชั่งโมง	1 ชั่วโมง	15 นาที
อุณหภูมิ(^{o}C)	60-75 ^{o}C	60-75 ^{o}C	60 ^{o}C
% Crude extract	4.3	4.6	4.2
% Lac dyeหลังจากแยก wax ออก	95.5	93.0	92.3
% Wax ที่แยกออก	4.5	7.0	7.7
% Lac dye ที่สกัดด้วยเมทธานอล	74.8	60.1	69.8

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3.2 ผลการศึกษาหาองค์ประกอบของสารที่สกัดได้โดยใช้ HPLC

ก่อนอื่นได้ทำการศึกษาหาเงื่อนไขของการวิเคราะห์ Laccaic acid บริสุทธิ์ (จาก บริษัท Wako ประเทศญี่ปุ่น) โดยใช้ HPLC ซึ่งจะใช้สารนี้เป็นสารมาตรฐานและจะใช้ chromatogramที่ได้เป็นตัวเทียบสัมพัทธ์กับchromatogram ของสารที่สกัดได้จากครั่งดิบ ซึ่งพบว่ามีเงื่อนไขการทดลองที่เหมาะสมที่สุดเป็นดังนี้ :-

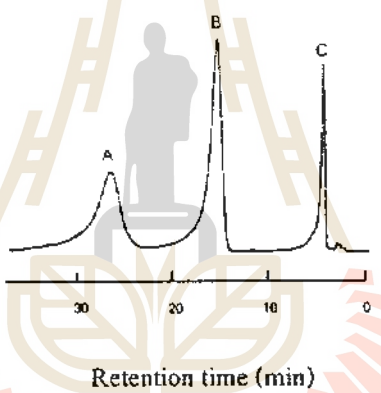
-mobile phase ประกอบด้วย 50 mM $NH_4H_2PO_4$-CH_3OH (85:15); pH 7.8 (adjusting pH with 28% NH_3 solution)

-Column : EconosilC18 (10 μm, 250 x 4.6 mm i.d.)

-Flow rate : 0.80 mL/ min

-Detection : UV 400 nm

ได้ Chromatogram ดังรูปที่ 3.1 ซึ่งจะเห็นได้ว่า laccaic acid A, B และ C แยกกันได้ดี โดยมี retention time เป็น 26.0, 15.3 และ 4.8 ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 HPLC chromatogram ของสาร laccaic acids บริสุทธิ์จาก บริษัทWako ประเทศญี่ปุ่น peak A= laccaic acid A; peakB = laccaic acid B และ peak C = laccaic acid C. HPLC conditions: column, Econosil C18 (10 μm, 250 x 4.6 mm i.d.);mobile phase, 50 mM $NH_4H_2PO_4$–CH_3OH (85:15); pH 7.8 (adjusting pH with 28% aqueous NH_3 solution); flow rate of 0.80 mL/min; detection, UV 400 nm.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3.3 ผลการแยกองค์ประกอบของสีครั่ง

การแยกองค์ประกอบของสีครั่ง(ที่ได้จากจังหวัดนครราชสีมาซึ่งสกัดโดยใช้น้ำร้อนและจากจังหวัดสุรินทร์โดยใช้น้ำร้อนและใช้อัลตราโซนิก) ด้วยเทคนิค column chromatography สามารถเก็บ fraction ได้ 3 fractions แสดงดังตารางที่ 3.4 ตารางที่ 3.5 และ ตารางที่ 3.6 ตามลำดับ เมื่อนำแต่ละ fraction ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์แล้วมาทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC โดยใช้เงื่อนไขการทดลองดังหัวข้อ 3.2 ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 3.2 รูปที่ 3.3 และรูปที่ 3.4 ตามลำดับ พบว่า fraction 1 เกิดพีคที่ retention time 20.5 และ 13.5 นาที ตามลำดับ หลังจาก spike สารมาตรฐานกรดแลคคาอิก A (standard laccaic acid A) ลงไปใน fraction นี้พบว่า peak area ที่ retention time 20.5 นาที เพิ่มขึ้น และในทำนองเดียวกันได้ทำการ spike สารมาตรฐานกรดแลคคาอิก B (standard laccaic acid B) ลงไปใน fraction นี้ พบว่า peak area ที่ retention time 13.5 นาที เพิ่มขึ้น จึงอาจสรุปได้ว่า fraction ที่ 1 มีองค์ประกอบของ laccaic acid A และ laccaic acid B ผสมกันอยู่ ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 3.4 ,3.5 และ 3.6

3.3.1 ผลการหาองค์ประกอบของ lac dye ที่สกัดได้จากครั่งจาก จ.นครราชสีมาโดยใช้น้ำร้อน

ผลการแยกองค์ประกอบต่างๆของ lac dye โดยใช้ column chromatograghy และการวิเคราะห์เบื้องต้นเพื่อหาองค์ประกอบที่แยกได้โดยใช้ HPLC แสดงในตารางที่ 3.4และรูปที่ 3.2

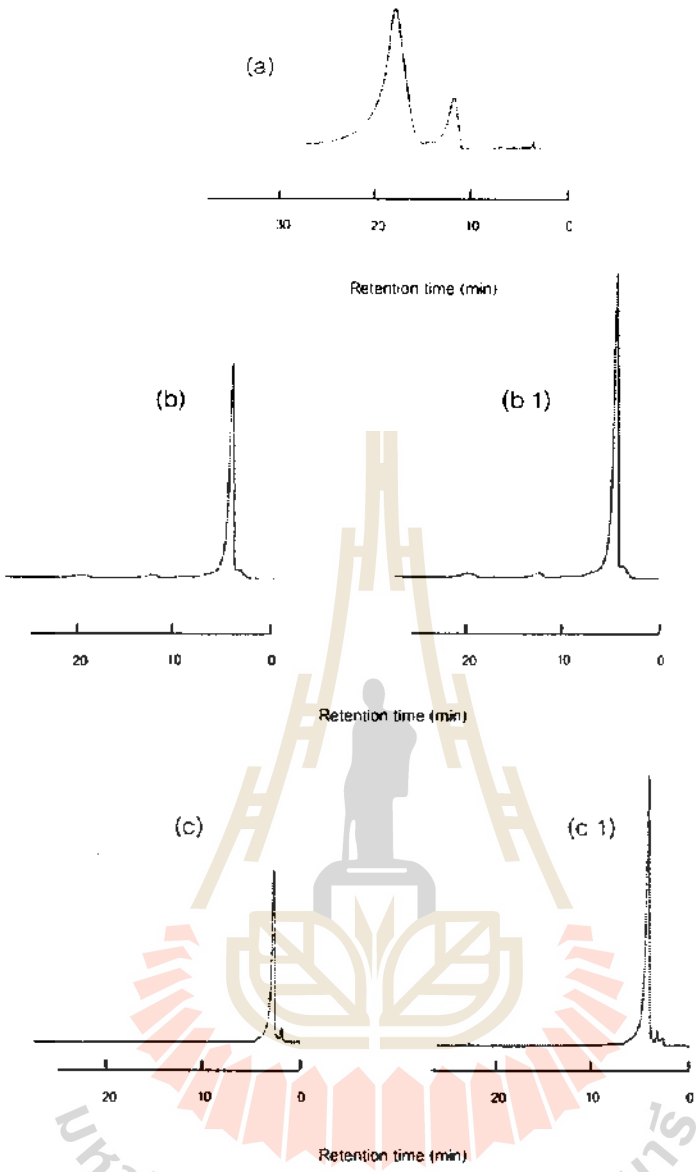
ตารางที่ 3.4 องค์ประกอบของ Lac dye ที่สกัดได้จากครั่งที่มาจาก จ.นครราชสีมาโดยใช้น้ำร้อน

Fraction	ปริมาตรของ eluant (mL)	สารที่สกัดได้ (g)	Fractionของ crude (%)	องค์ประกอบ	Eluant
1	1291	0.39	35.8	Laccaic acid A and trace of B	E:A:W[a]
2	102	0.33	30.3	Laccaic acid C	M:A:W[b]
3	926	0.10	14.7	Laccaic acid C	M:A:W[b]

[a] E:A:W was the organic phase of ethyl acetate : acetic acid : water (4:1:5).

[b] M:A:W was the solvent system of methanol : acetic acid : water (90:5:5).

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



รูปที่ 3.2 HPLC chromatograms ของสารสกัดที่แยกได้ 3 fractions ซึ่งสกัดโดยใช้น้ำร้อน (ครั่งจาก จ.นครราชสีมา) : (a) fraction 1 (b) fraction 2; (b 1) fraction 2 spiking with standard laccaic acid C; (c) fraction 3; and (c 1) fraction 3 spiking with standard laccaic acid C.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3.3.2 ผลการหาองค์ประกอบของ lac dye ที่สกัดได้จากครั่งจาก จ.สุ

ผลการแยกองค์ประกอบต่างๆของ lac dye โดยใช้ column
วิเคราะห์เบื้องต้นเพื่อหาองค์ประกอบที่แยกได้โดยใช้ HPLC แสดงในตารางที่ 3.

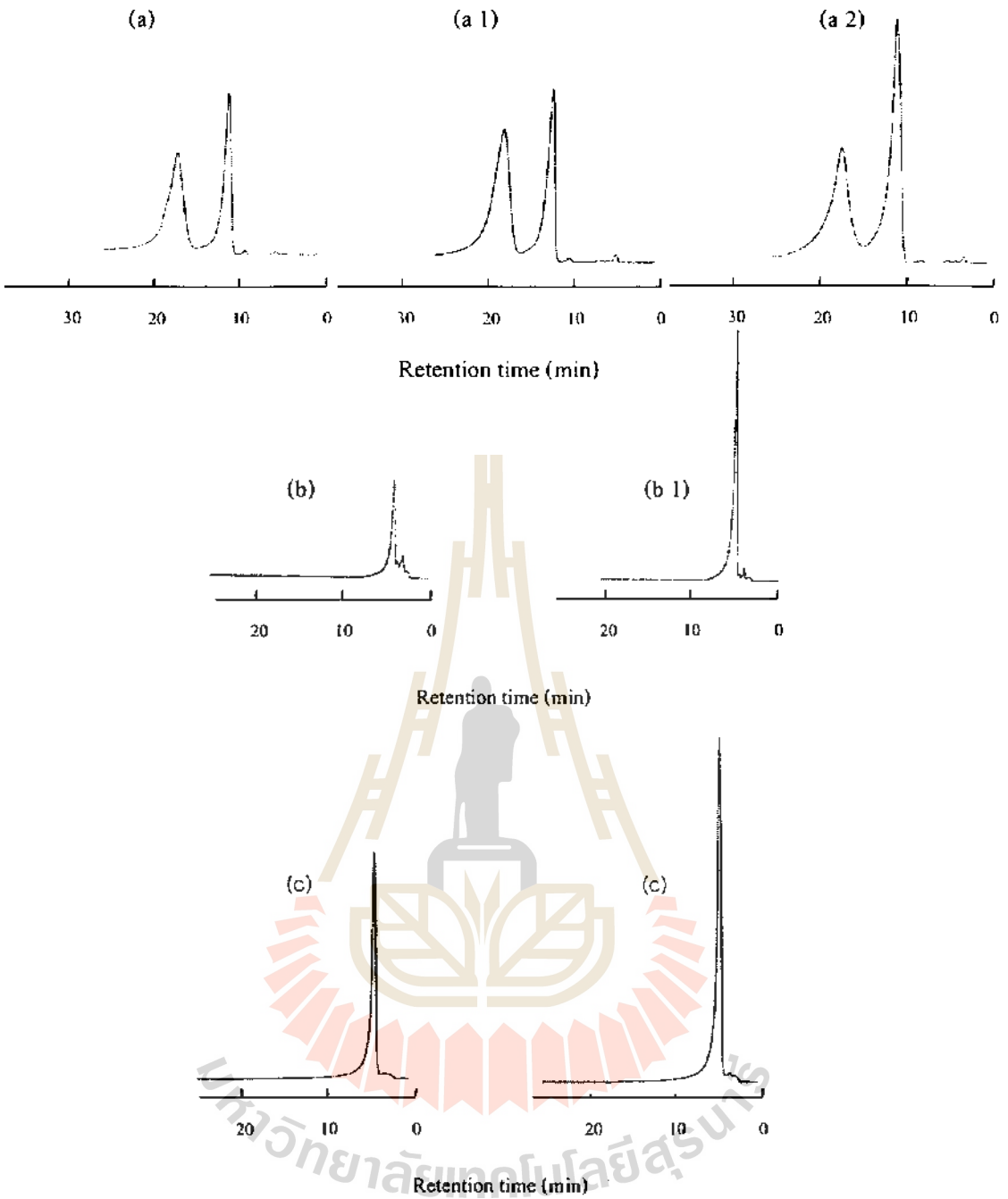
ตารางที่ 3.5 องค์ประกอบของ Lac dye ที่สกัดได้จากครั่งที่มาจาก จ.สุรินทร์โดยใช้น้ำร้อน

Fraction	Volume of eluant (mL)	Total amount (g)	Fraction of crude (%)	Component	Eluant
1	1268	0.46	45.1	Laccaic acids A and B	E:A:W[a]
2	90	0.16	15.7	Laccaic acid C	M:A:W[b]
3	770	0.15	14.7	Laccaic acid C	M:A:W[b]

[a] E:A:W was the organic phase of ethyl acetate : acetic acid : water (4:1:5).

[b] M:A:W was the solvent system of methanol : acetic acid : water (90:5:5).

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



รูปที่ 3.3 HPLC chromatograms ของสารสกัดที่แยกได้ 3 fractions ซึ่งสกัดโดยใช้น้ำร้อน (ครั่งจาก จ. สุรินทร์): (a) fraction 1; (a 1) fraction 1 spiking with standard laccaic acid A; (a 2) fraction 1 spiking with standard laccaic acid B;(b) fraction 2; (b 1) fraction 2 spiking with standard laccaic acid C; (c) fraction 3; and (c 1) fraction 3 spiking with standard laccaic acid C.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3.3.3 ผลการหาองค์ประกอบของ lac dye ที่สกัดได้จากครั่งจาก จ.สุรินทร์โดยอัลตราโซนิก

ผลการแยกองค์ประกอบต่างๆของ lac dye โดยใช้ column chromatograghy และการวิเคราะห์เบื้องต้นเพื่อหาองค์ประกอบที่แยกได้โดยใช้ HPLC แสดงในตารางที่ 3.6และรูปที่ 3.4

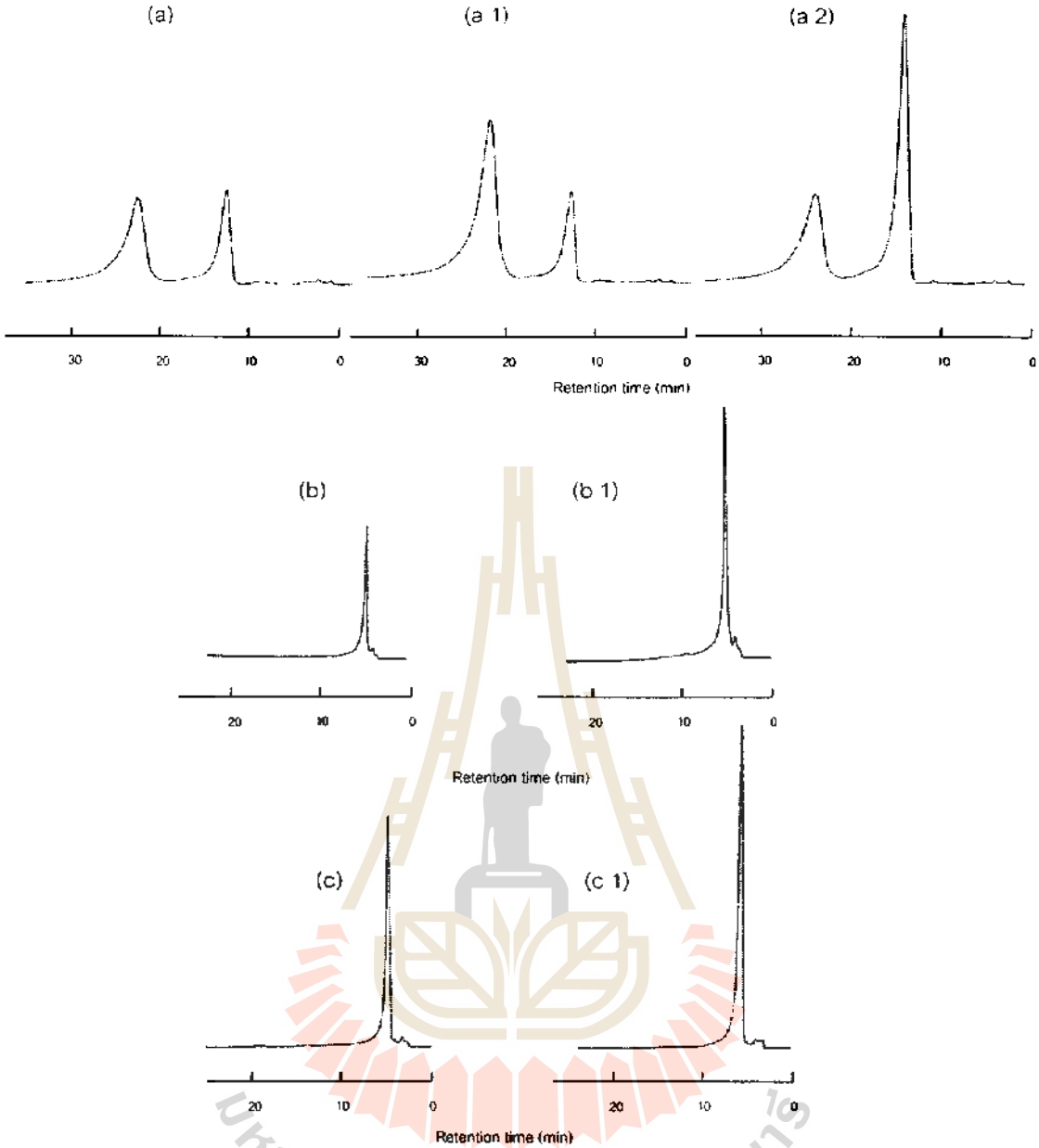
ตารางที่ 3.6 องค์ประกอบของ Lac dye ที่สกัดได้จากครั่งที่มาจาก จ.สุรินทร์โดยใช้อัลตราโซนิก

Fraction	ปริมาตรของ eluant (mL)	ปริมาณสาร(g)	Fraction ของ crude (%)	องค์ประกอบ	Eluant
1	2116	0.71	26.9	Laccaic acid A with trace of laccaic acid B	E:A:W[a]
2	200	0.35	13.3	Laccaic acid C	M:A:W[b]
3	900	0.14	5.3	Laccaic acid C	M:A:W[b]

[a] E:A:W was the organic phase of ethyl acetate : acetic acid : water (4:1:5).

[b] M:A:W was the solvent system of methanol : acetic acid : water (90:5:5).

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



รูปที่ 3.4 HPLC chromatograms ของสารสกัดที่แยกได้ 3 fractions ซึ่งสกัดโดยใช้อัลตราโซนิก (ครั้งจาก จ.สุรินทร์): (a) fraction 1; (a 1) fraction 1 spiking with standard laccaic acid A;(a 2) fraction 1 spiking with standard laccaic acid B; (b) fraction 2;(b1)fraction2spiking with standard laccaic acid C; (c) fraction 3; and (c 1) fraction 3 spiking with standard laccaic acid C.

บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาหาองค์ประกอบของสีครั่ง โดยใช้แหล่งครั่งจาก 2 จังหวัด และสกัดโดยวิธีที่ต่างกัน ได้ผลพอสรุปได้ดังนี้

4.1 แหล่งของครั่งดิบ

จากตารางที่ 3.1 พบว่าครั่งที่มาจากจังหวัดนครราชสีมา และจังหวัดสุรินทร์เมื่อสกัดโดยใช้น้ำร้อนที่ 60 -75°C ได้ร้อยละของสารสกัด (% crude extract) ไม่ต่างกัน แต่ร้อยละของขี้ผึ้งที่ถูกกำจัดออก (% wax removal)มาพบว่าครั่งจาก จังหวัดสุรินทร์มีมากกว่าครั่งจาก จังหวัดนครราชสีมา นอกจากนี้ยังพบว่าครั่งที่มาจากจังหวัดนครราชสีมา มีร้อยละของกรดแลคคาอิก(สีครั่ง) มากกว่า(74.8%) ครั่งที่มาจากจังหวัดสุรินทร์ (60.1%) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปริมาณของกรดแลคคาอิกในครั่งขึ้นกับท้องถิ่นที่พบ ดังนั้นในการทดลองควรใช้ครั่งที่มาจากจังหวัดนครราชสีมาเพราะให้ร้อยละของกรดแลคคาอิกมากกว่าครั่งจากจังหวัดสุรินทร์ อย่างไรก็ตามฤดูกาลในการเก็บเกี่ยวครั่งและระยะเวลาในการเก็บรักษาครั่งหลังการเก็บเกี่ยวก็น่าจะมีผลต่อปริมาณของกรดแลคคาอิกในครั่งด้วย ซึ่งควรมีการศึกษาต่อไป

4.2 วิธีการสกัด

จากตารางที่ 3.2 พบว่าครั่ง(ที่มาจากจังหวัดสุรินทร์)ที่สกัดโดยใช้น้ำร้อนที่ 60 -75°Cและสกัดโดยใช้อัลตราโซนิกที่ 60 °Cได้ร้อยละของสารสกัด (% crude extract)และ ร้อยละของขี้ผึ้งที่ถูกกำจัดออก(% wax removal)ไม่ต่างกัน แต่การสกัดโดยใช้อัลตราโซนิกที่ 60°C ได้ร้อยละของกรดแลคคาอิก (69.8%) มากกว่าการสกัดโดยใช้น้ำร้อนที่ 60-75°C(ได้ 60.1%) ซึ่งหมายความว่าการสกัดโดยอัลตราโซนิกจะให้ปริมาณเนื้อสี(กรดแลคคาอิก)มากกว่าการสกัดโดยใช้น้ำร้อน แต่อย่างไรก็ตามการเลือกใช้วิธีการสกัดที่เหมาะสมควรอยู่ในดุลยพินิจของผู้ใช้ว่ามีความพร้อมและความจำเป็นเพียงใด

ตารางที่ 4.1 เป็นตารางสรุปเปรียบเทียบปริมาณของกรดแลคคาอิกรวม (total laccaic acid) รวมทั้ง laccaic acid A, B และ C ที่มาจากแหล่งที่ต่างกันและใช้วิธีสกัดที่ต่างกัน

ตารางที่ 4.1 สรุปผลการแยกองค์ประกอบของสีครั่งสกัด

Fraction	Component	น้ำหนักของlaccaic acid(mg) สกัดด้วยน้ำร้อน (จ.นครราชสีมา)	น้ำหนักของ laccaicacid(mg) สกัดด้วยน้ำร้อน (จ.สุรินทร์)	น้ำหนักของ laccaic acid(mg) สกัดโดยอัลตราโซนิก (จ.สุรินทร์)
1	Laccaic acidAผสมกับ Laccaic acid Bเล็กน้อย	54.0	35.4	107.0
2	Laccaic acid C	6.5	1.5	8.0
3	Laccaic acid C	10.0	12.5	35.0
	%laccaic acid A:B:C	4.31:0.64:1.51	2.01:1.46:1.37	2.44:1.63:1.63
	%total of laccaic acid (by weight of extract)	6.47	4.84	5.70

จากตาราง 4.1 เมื่อพิจารณา ร้อยละของกรดแลคคาอิกรวม(%total of laccaic acid) และอัตราส่วนร้อยละของกรดแลคคาอิก(% laccaic acid A:B:C) พอสรุปได้ดังนี้

-กรดแลคคาอิกรวม ของครั่งที่มาจากจ.นครราชสีมาและสกัดด้วยน้ำร้อนจะมีปริมาณรวมสูงกว่าครั่งจากจ.สุรินทร์ ส่วนครั่งจากจ.สุรินทร์เมื่อสกัดด้วยวิธีอัลตราโซนิกให้ปริมาณกรดแลคคาอิกรวมสูงกว่าสกัดด้วยน้ำร้อน

-กรดแลคคาอิก A ของครั่งที่มาจากจ.นครราชสีมา เมื่อสกัดด้วยน้ำร้อน จะมีปริมาณ สูงกว่าครั่งที่มาจากจ.สุรินทร์ประมาณ 2 เท่า

-กรดแลคคาอิก B ของครั่งที่มาจากจ.สุรินทร์เมื่อสกัดด้วยน้ำร้อนและอัลตราโซนิกจะมีปริมาณที่ใกล้เคียงกัน แต่จะมีปริมาณมากกว่าครั่งที่มาจากจ.นครราชสีมาประมาณ 2 เท่า

-กรดแลคคาอิก C จะมีปริมาณที่ใกล้เคียงกันทั้งแหล่งที่มาและวิธีการสกัด

การศึกษาครั้งนี้เป็นเพียงการศึกษาเบื้องต้น เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานให้ผู้สนใจนำไปใช้ประโยชน์ ซึ่งควรมีการศึกษาต่อไปทางด้าน Mass spectroscopy และ NMR spectroscopy เพื่อทราบโครงสร้างของกรดแลคคาอิกต่างๆด้วย

บรรณานุกรม

1. Pandhare, E.D., Rama Rao, A.V., Srinivsan, R., and Venkataraman, K. (1966). Pigments. **Tetrahedron (Suppl.)** 8: 229-339
2. Pandhare, E.D., Rama Rao, A.V., and Shaikh, I. N. (1969). Lac pigments: part III- Isolation of laccaic acid A&B& the constitution of laccaic acid A. **Indian Journal of Chemistry** 7: 977-986
3. Rama Rao, A.V., Shaikh, I. N., and Venkataraman, K. (1969). Laccaic acid C, the first natural anthraquinone with an amino acid side chain. **Indian Journal of Chemistry** 7: 188-189
4. Mehandale,A. R., Shaikh, I. N., and Venkataraman, K. (1968). Desoxyerythrolaccin and laccaic acid D. **Tetrahedron Letters** 18:2231-2234
5. Hisada, K.; Terada, H. and Miyabe, M., *Nagoya-shi Eisei Kenkyushoho* (1999), 45, 17-19
6. Hu, D., Hasegawa, A., and Nakatsuka. S. I. (1997). Isolation and structure determination of laccaic acid F from lac-dye produced from Thai stick lac. **Heterocyclic Communications** 3 (4): 327-330
7. Haque, M.Z.; Faruq, M.O. and Ali, M.U., (1998), *J. Bangladesh Chem. Soc.* 45, 129-134.
8. Sarkar, P.C.; Prasad, K.M. and Shrivastava, A.K., (1998), *J. Indian Chem. Soc.* 75(3), 183-184.
9. Oka, H., et al., (1998), *J. Chromatogr.*, A 813(1), 71-77.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล รองศาสตราจารย์ ดร. เสาวณีย์ รัตนพานี

Associate Professor Dr. SAOWANEE RATTANAPHANI

เกิด 15 กรกฎาคม 2490 จ.ฉะเชิงเทรา

การศึกษา ปริญญาตรี วท.บ (เคมี) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 2513

ปริญญาเอก Ph.D (เคมีฟิสิกัล) มหาวิทยาลัยแอสตัน ประเทศอังกฤษ 2516

ตำแหน่งวิชาการ รองศาสตราจารย์ สาขาวิชาเคมี สำนักวิชาวิทยาศาสตร์

ตำแหน่งบริหาร หัวหน้าสถานวิจัย สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

งานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ

1. S. J. Moss and **S. Rattanaphani,** " Reaction of Ground State Oxygen Atoms with cis- and trans- 1,2-Difluoroethene" **J. Chem. Soc., Faraday Trans.** 1982,78,3052

2. B. Purachat, S. Liawruangrath, P. Sooksamiti, **S. Rattanaphani** and D. Buddhasukh, "Univariate and Simplex Optimization for Flow-Injection Spectrophotometer Determination of Copper Using Nitroso-R Salt as A Complexing agent", **Anal.** Sci., 2001, 7, 443

3. M. Chairat, **S. Rattanaphani,** J. B. Bremner, V. Rattanaphani and D. F. Perkins, " An Absorption Spectroscopic Investigation of The Interaction of Lac Dyes With Metal Ions" **Dyes and Pigments,** 2004,63,141-150

4. M. Chairat, **S. Rattanaphani,** J. B. Bremner, and V. Rattanaphani" An Adsorption and Kinetics Study of Lac Dyeing on Silk " **Dyes and Pigments,** 2005,64,231-241

งานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการในประเทศ

1. V. Rattanaphani **S. Rattanaphani** and A. Chinsuttiprapa " Zinc Hydroxystannate and Zinc Stannate Prepared from Mineral Cassiterite and Their Fire Retarding Effect on Some Polymers" **Chiang Mai j. Sci.,**1003,30(2), 133-137

ผลงานวิจัยเผยแพร่ในการประชุมวิชาการระดับนานาชาติ

1. C. Septhum, **S. Rattanaphani,** J. B. Bremner snd V. Rattanaphani " Spectroscopic Investigation of Complexes of Morin with Alum" *The International Conference on Smart Materials (Smart-mat-'04)*, 1-3 December 2004, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand

2. M. Chairat, J.B. Bremner, V. Rattanaphani, and **S.Rattanaphani**, Spectroscopic investigation of The Interaction of Lac Dyes With Metal Ions (poster presentation). *The Inaugural Austral-Asian Biospectroscopy Conference (ABC)*. 3-7 February 2003, Suranaree University of Technology. Nakhon Rachasima, Thailand.

3. S. Liawruangrath, W. Thanasarakhan, V. Hotavitaya and **S.Rattanaphani**, Determination of Lead Cadmium Zinc and Copper in Milk Samples by Atomic Absorption Spectrophotometry (poster presentation). *The Inaugural Austral-Asian Biospectroscopy Conference (ABC)*. 3-7 February 2003, Suranaree University of Technology. Nakhon Rachasima, Thailand

4. B. Liawruangrat, S. Liawruangrath, S. Wangkarn and **S.Rattanaphani**, Isolation and Characterization of Essential Oil from Pomelo (Citrus grandis Osb.) Peels and Iested Its Masquito Repellent Property (poster presentation), *The Inaugural Austral-Asian Biospectroscopy Coference (ABC)*, 3-7 February 2003, Suranaree University of Technology. Nakhon Rachasima, Thailand

5. **S. Rattanaphani, V.**Rattanaphani, and S. Liawruangrath, Gas Liquid Chromatographic Determination of Some Organochlorine Pesticide Residues in Soil Samples (poster presentation). *Safe Drinking Water Conterence, 24-29 February 2003*, Novotel Hotel, Chiang Mai,Thailand.

6. **S. Rattanaphani** "Monitoring of Some Organochorine Pesticides Residues in Ping River in 1993-1994", *International Conference on Water Resources Management in intermontane Basins*,2-6 Feb. 1999, Chiang Mai,Thailand.

7. **S. Rattanaphani** and A. Chaisena, "Monitoring of Some Organochorine Pesticides Residues in Ping River", *The 3rd International Symposium of ETERNNET-APR: Conservation of the Hydropheric Environment*, 1996, V 11-95.

ผลงานวิจัยเผยแพร่ในการประชุมวิชาการภายในประเทศ

1. S. Kruaneter; **S. Rattanaphani** , V. Rattanaphani and S. Liawruangrath, " Synthesis Modification and Characterization of Superconductor $Bi_2Ca_2Sr_2Cu_3O_x$" 30th Congress Sci. Tech, 19-21 Oct. 2004, Bangkok, Thailand.

2. **S. Rattanaphani** , V. Rattanaphani and S. Liawruangrath, "Studies on the Improvement of Superconductivity of the Superconducting Oxides $Bi_2Ca_2Sr_2Cu_3O_x$"
29th Congress Sci. Tech, 20-22 Oct. 2003 , Khon Kan University, Khon Kan, Thailand.

3. V. Rattanaphani , **S. Rattanaphani** and S. Liawruangrath, "Monitoring of Some Organochlorine Pesticides Residues in Mae Kuank River Lumphun" 29th Congress Sci. Tech. 20-22 Oct. 2003 , Khon Kan University, Khon Kan, Thailand.

4. **S. Rattanaphani**, V.Rattanaphani, U. Tengtaroenkul and S. Liawruangrath, Monitoring of Some Organochlorine Pesticide Residues in Maekong River. (poster presentation). *The* 28th *Congress on Science and Technology of Thailand,* 24-26 October 2002, Queen Sirikit National Convention Center, Bangkok, Thailand.

5. V.Rattanaphani, **S. Rattanaphani**, , J. Siripitayananon, C. Sangphugdee and S. Liawruangrath, Synthesis and Studies of Effects of Lead Dopping to The Superconductors of The Yttrium System, YBa2 Cu307-x (poster presentation). *The* 28th *Congress on Science and Technology of Thailand.* 24-26 October 2002, Queen Sirikit National Convention Center, Bangkok, Thailand.

6. B. Purachat, S. Liawruangrath, P. Sooksamiti, **S. Rattanaphani** and D. Buddhasukh, "Study of Copper Adsorption on Lopburi and Synthetic Zeolites from Perlite", 27th Congress Sci. Tech, 2001, Songkla, Thailand.

7. **S. Rattanaphani** , V. Rattanaphani, C. Sangphagdee, J. Siripitayananon and S. Liawruangrath "Comparative Preparation of High Critical Temperature Superconductor of Bismuth System by Solid State Reaction and Sol-Gel Method" 27th Congress Sci. Tech, 2001, Songkla, Thailand.

8. **S. Rattanaphani** "Studies on Effect of Heat Treatments on the Properties of the Bismuth System Superconductors Prepared by Evaporation to Dryness", 26th Congress Sci. Tech, 2000, Bangkok, Thailand.

9. V. Rattanaphani; **S. Rattanaphani**; P. Sooksamiti and S. Liawruangrath, "Determination of Some Heavy Metals in Soil Sample in Agricultural Areas Amphur Chom Thong, Chiangmai Province by Absorption Spectrophotometry", 26th Congress Sci. Tech, 2000, Bangkok, Thailand.

10. C. Sangphagdee; S. Liawruangrath and **S. Rattanaphani**, "Some Organochlorine Pesticide Residues in Water and Fish Samples from Agricultural Field", 26th Congress Sci. Tech, 2000, Bangkok, Thailand.

11. **S. Rattanaphani**, "Monitoring of Some Organochlorine Pesticide Residues in Mae Klang River", 25th Congress, Sci. Tech., Thailand, 1999.

12. S. Kruaneter, **S. Rattanaphani** and S. Liawruangrath, "Preparation and Analysis of High T_c Superconductor Bismuth Systems", 23rd Congress Sci. Tech., Thailand, 1997.