

## บทที่ 4

## รายงานผลและอภิปรายผลการศึกษา

การวิจัยนี้ทำการศึกษา 3 ขั้นตอน คือ การหาวัตถุดิบเคลื่อนที่ที่เหมาะสมในการแยก nicotine จากสารสกัด การสกัด nicotine จากใบยาสูบ และการสังเคราะห์ nicotinic acid

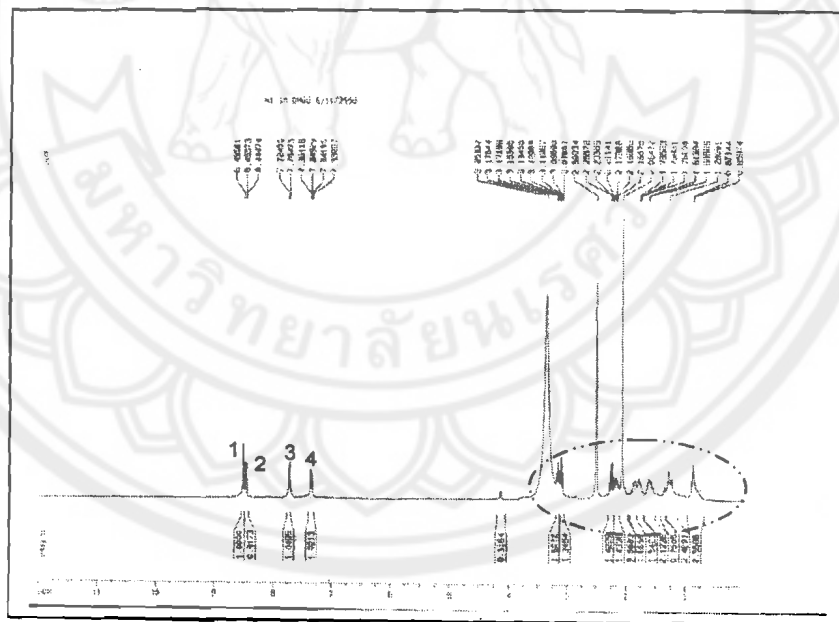
## 1. การหาวัตถุดิบเคลื่อนที่ที่เหมาะสมในการแยก nicotine จากสารสกัด

ในการตรวจเอกลักษณ์สารสกัดและสารที่สังเคราะห์ได้ในหลายขั้นตอนจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องใช้วัตถุดิบเคลื่อนที่ที่สามารถแยกสารที่ต้องการและไม่ต้องการได้อย่างชัดเจน จึงได้ทำการทดลองหาวัตถุดิบที่เหมาะสม พบว่าวัตถุดิบที่เหมาะสมคือ Methanol และ Dichloromethane อัตราส่วน 8:2

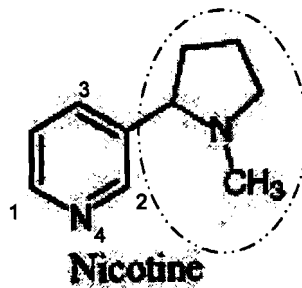
## 2. การสกัด nicotine จากใบยาสูบ

## 2.1 การสกัด nicotine จากใบยาสูบ 1 kg.

สกัดแยก nicotine ออกจากใบยาสูบโดยใช้การหมักกับสุราขาว หลังจากนั้นนำมาสกัดด้วย ethyl acetate เพื่อแยกออกจากชั้นน้ำ หลังจากนั้นนำมาผ่าน Column chromatography เพื่อให้ได้ nicotine ที่บริสุทธิ์ ได้สารที่มีลักษณะเป็นของเหลวหนืด สีน้ำตาลเข้ม มีน้ำหนัก 84 mg. คิดเป็นผลผลิตร้อยละ เท่ากับ 0.024 w/w ผล TLC เมื่อส่องภายใต้แสง UV 254 nm เกิดจุดทึบแสงของสารตัวอย่าง(สารสกัดจากใบยาสูบ) ( $R_f = 0.48$ ) เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน ( $R_f = 0.46$ )



รูปที่ 4-5 แสดงผลการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารสกัดจากใบยาสูบ ด้วย NMR



รูปที่ 4-6 แสดงโครงสร้างของ nicotine

ข้อมูลการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารที่สกัดได้จากใบยาสูบ 1 kg. สามารถสรุปได้ว่าสารที่สกัดได้เป็น nicotine จริง

## 2.2 การสกัด nicotine จากใบยาสูบ 5 kg.

สกัดแยก nicotine ออกจากใบยาสูบโดยใช้การหมักกับสุราขาว หลังจากนั้นนำมาสกัดด้วย ethyl acetate เพื่อแยกออกจากชั้นน้ำ หลังจากนั้นนำมาผ่าน Column chromatography เพื่อให้ได้ nicotine ที่บริสุทธิ์ โดยใช้ Silica gel เป็นวัสดุภาคคงที่ และ Methanol และ Dichloromethane อัตราส่วน 8:2 โดยปริมาตร เป็นวัสดุภาคเคลื่อนที่ ได้ปริมาณ nicotine เท่ากับ 9.493 g. ลักษณะของสารที่ได้ เป็นของเหลวข้นหนืด สีน้ำตาลเข้ม พบว่าในชั้นตอนนี้มีสารตะกอนสีขาวเกิดขึ้น คาดว่าอาจจะเป็นตะกอนของ silica gel ซึ่งละลายลงมาพร้อมกับวัสดุภาคเคลื่อนที่ โดยเมื่อพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค TLC ได้ผลดังนี้

ตารางที่ 4-2 ตารางเปรียบเทียบค่า Rf จากการพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค TLC ระหว่าง Nicotine standard กับสารสกัด ( Mobile phase คือ Methanol : Dichloromethane = 8 : 2 )

สาร	Rf
Nicotine standard	0.46
สารสกัด	0.48

เนื่องจาก methanol ความเข้มข้นสูงเกินกว่า 20 % จะละลาย silica gel ได้ จึงนำสาร 9.493 g. ที่ได้มาผ่าน Column chromatography ใหม่อีกครั้ง โดยเปลี่ยนวัสดุภาคเคลื่อนที่ให้มีอัตราส่วนของ methanol ลดลง เป็น Methanol ต่อ Dichloromethane อัตราส่วน 2:8 เพื่อป้องกันซิลิกาเจลละลายออกมาพร้อมกับสารสกัด ได้สารที่มีลักษณะเป็นของเหลวหนืด สีน้ำตาลเข้ม น้ำหนัก 1.242 g. คิดเป็นผลิตภัณฑ์ร้อยละผลของ nicotine ที่ได้คือ ร้อยละ 0.024 w/w โดยเมื่อตรวจเอกลักษณ์ด้วยเทคนิค TLC ได้ผลดังนี้

ตารางที่ 4-3 ตารางเปรียบเทียบค่า Rf จากการพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค TLC ระหว่าง Nicotine standard กับ สารสกัด ( Mobile phase คือ Methanol : Dichloromethane = 2 : 8 )

สาร	Rf
Nicotine standard	0.74
สารสกัด	0.76

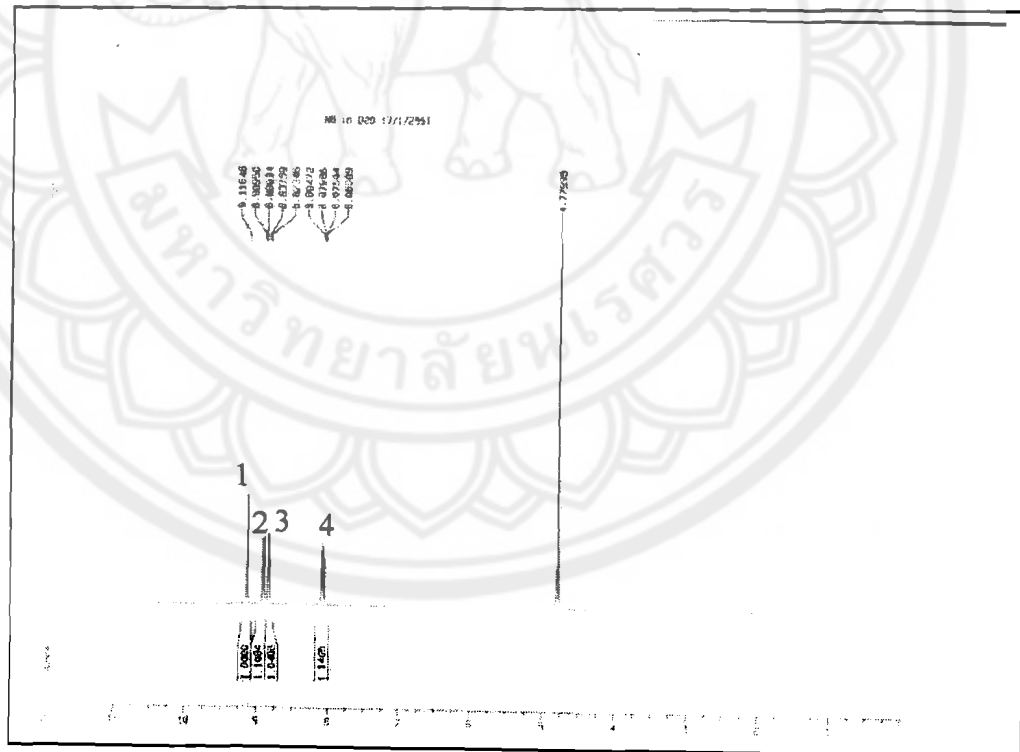
### 3. การสังเคราะห์ nicotinic acid

สังเคราะห์ nicotinic acid โดยนำ nicotine 1.242 g. มาทำปฏิกิริยา oxidation กับ  $\text{KMnO}_4$  10.009 g. ทำที่อุณหภูมิ 80-90 °C เป็นเวลา 16 ชั่วโมง นำสารที่ทำปฏิกิริยามากรองด้วยกระดาษกรอง นำมาสกัดด้วย Acetone นำตะกอนมาสกัดด้วย methanol ได้ส่วนที่เป็นสารละลายในชั้น methanol และ ตะกอนสีขาว 3.178 g. นำสารละลายในชั้น methanol มาระเหยแห้งภายใต้ความดันต่ำ ได้สารที่มีลักษณะของแข็งสีขาว นำไปผ่าน column ขนาดเล็กเพื่อกรองเอาสิ่งเจือปนออก โดยใช้ methanol ต่อ dichloromethane อัตราส่วน 2:8 เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ นำสารละลายที่ผ่าน column แล้วมาระเหยแห้งภายใต้ความดันต่ำจนแห้ง ได้ตะกอนสีขาวหนัก 330 mg. เมื่อตรวจเอกลักษณ์ด้วยเทคนิค TLC ได้ผลดังนี้

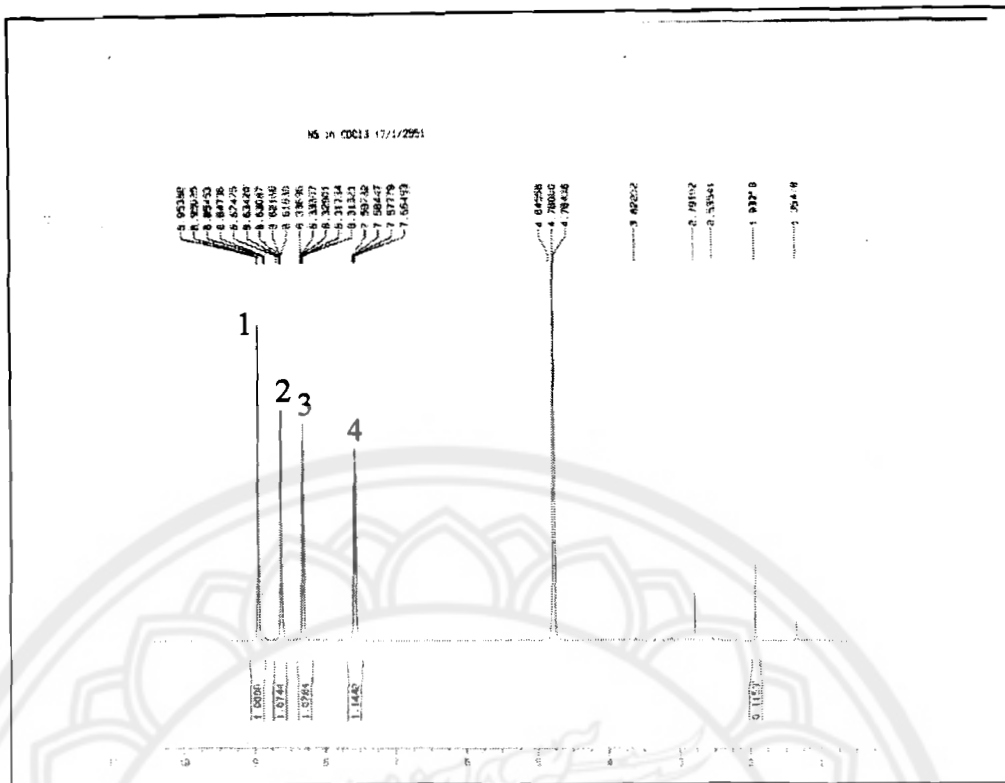
ตารางที่ 4-4 ตารางเปรียบเทียบค่า Rf จากการพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค TLC ระหว่าง Nicotinic acid standard กับ สารที่ได้จากการสังเคราะห์ ( Mobile phase คือ Methanol : Dichloromethane = 2 : 8 )

สาร	Rf
Nicotinic acid standard	0.89
สารที่ได้จากการสังเคราะห์	0.85

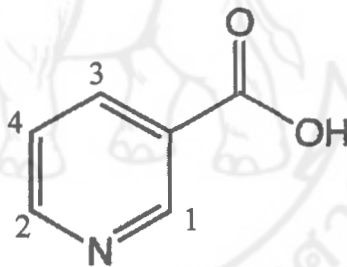
พิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค proton nuclear magnetic resonance โดยเปรียบเทียบระหว่างสารมาตรฐาน nicotinic acid กับสารที่สังเคราะห์ได้ ให้ผลดังนี้



รูปที่ 4-7 แสดงผลการพิสูจน์เอกลักษณ์ของ nicotinic acid standard ด้วย NMR



รูปที่ 4-8 แสดงผลการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารที่สังเคราะห์ได้ ด้วย NMR

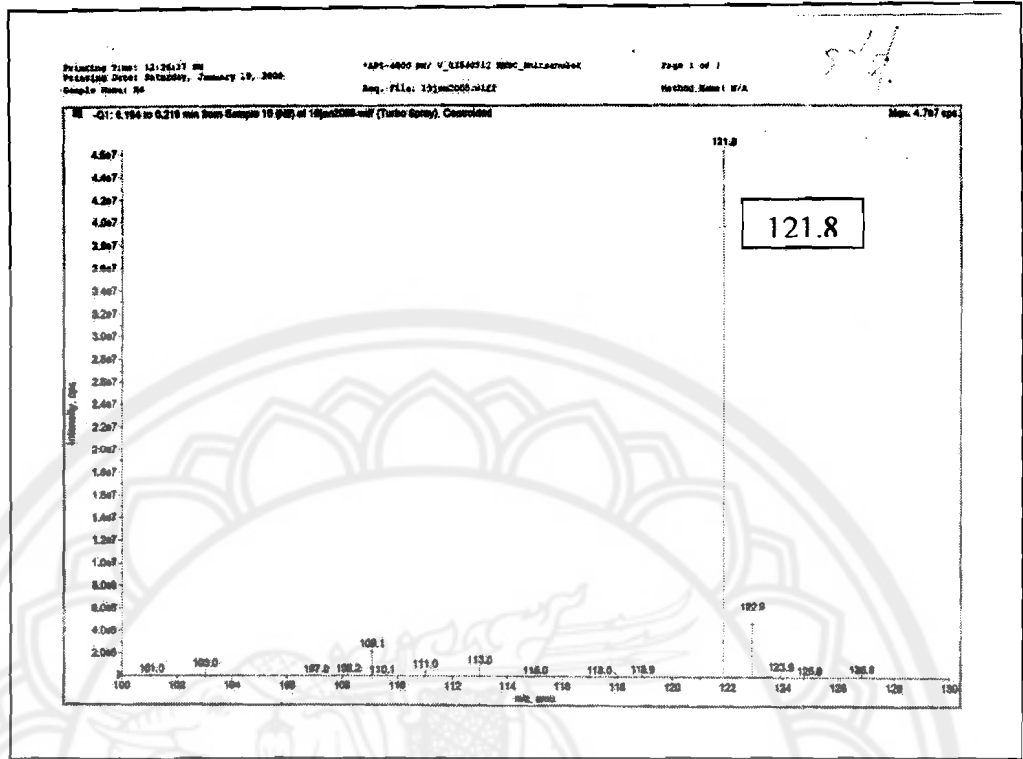


รูปที่ 4-9 แสดงโครงสร้างของ nicotinic acid

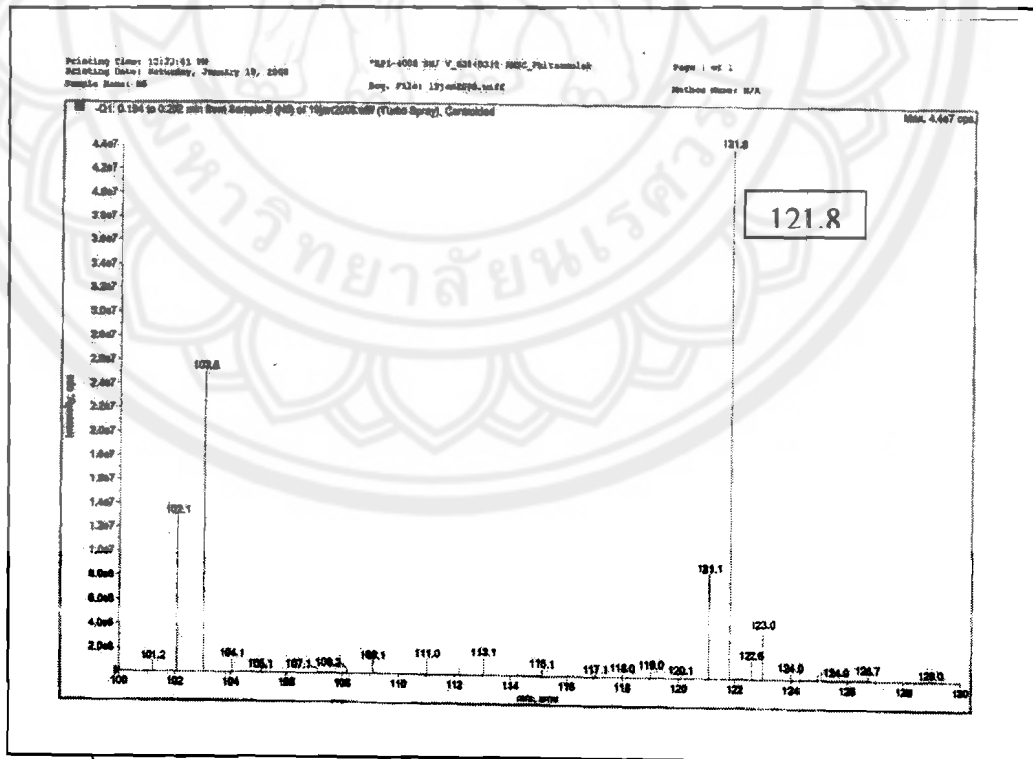
จากการเปรียบเทียบข้อมูลการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสาร nicotinic acid standard กับ สารที่สังเคราะห์ได้ พบว่ามีลักษณะเหมือนกัน ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่า สารที่สังเคราะห์ได้มีวง pyridine เหมือน nicotinic acid

นำสารที่ได้มาตรวจเอกลักษณ์ด้วยเทคนิค atomic absorption spectrophotometry ได้ผลดังนี้  
- ลักษณะสีม่วง ซึ่งตรงกับสีของ ไอออนโพแทสเซียม

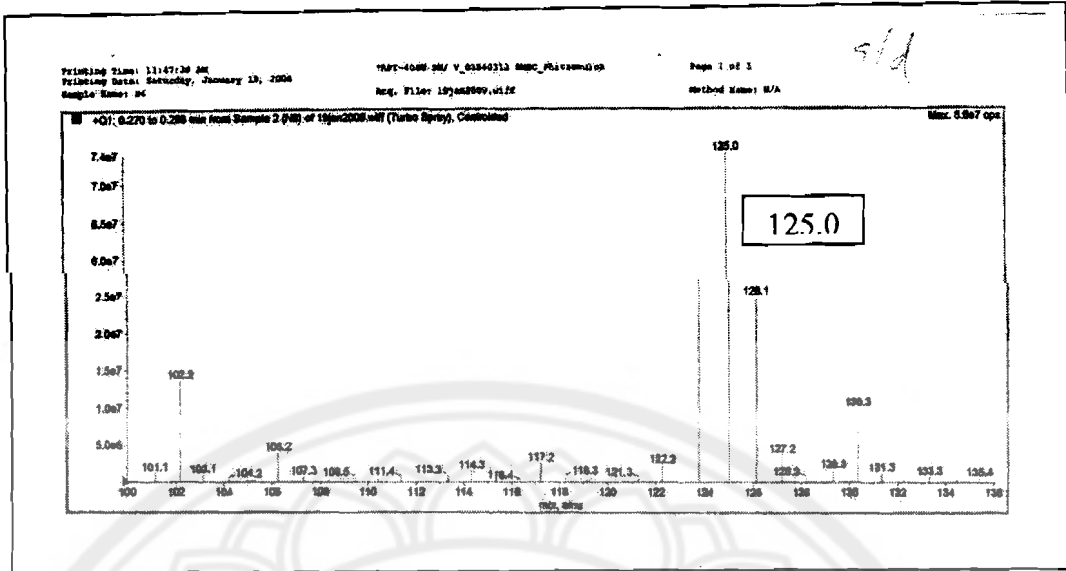
พิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค mass spectrometry (MS) โดยเปรียบเทียบระหว่างสารมาตรฐาน nicotinic acid กับสารที่สังเคราะห์ได้ ให้ผลดังนี้



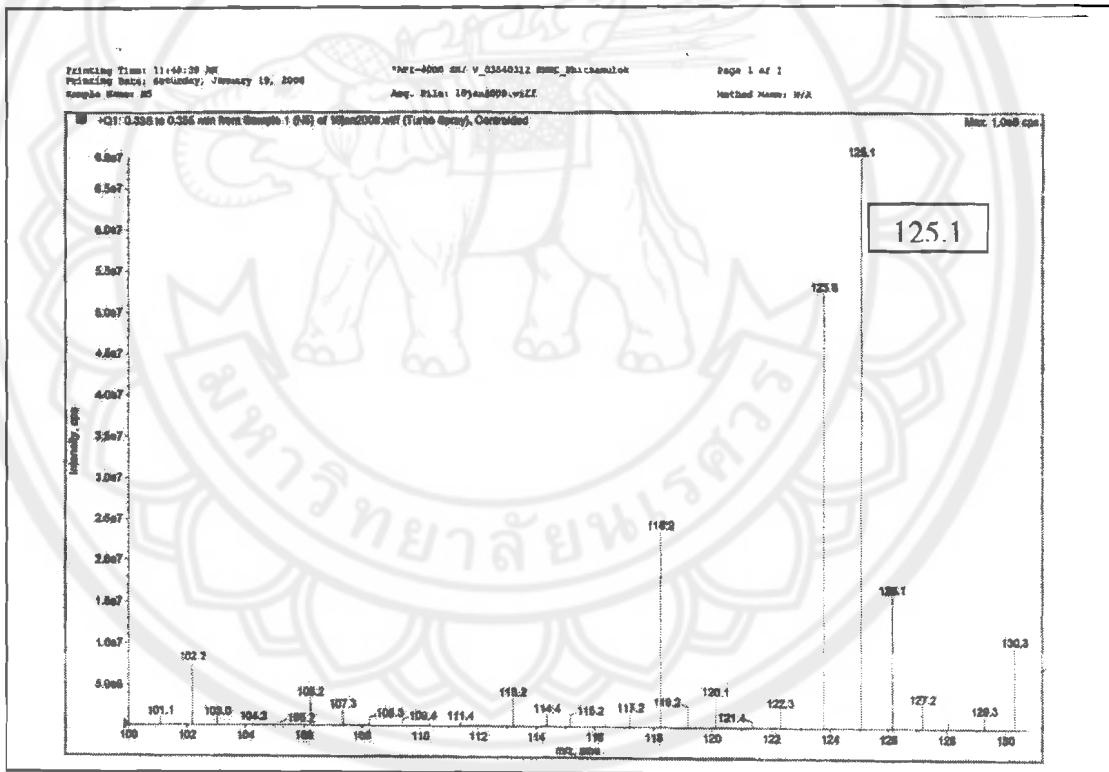
รูปที่ 4-10 แสดงผลการพิสูจน์เอกลักษณ์ของ nicotinic acid standard ด้วย mass spectrometry (-)



รูปที่ 4-11 แสดงผลการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารที่สังเคราะห์ได้ ด้วย mass spectrometry (-)



รูปที่ 4-12 แสดงผลการพิสูจน์เอกลักษณ์ของ nicotinic acid standard ด้วย mass spectrometry (+)



รูปที่ 4-13 แสดงผลการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารที่สังเคราะห์ได้ ด้วย mass spectrometry (+)

จากการเปรียบเทียบข้อมูลการพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วย mass spectrometry ของสาร nicotinic acid standard กับ สารที่สังเคราะห์ได้ พบว่ามีลักษณะคล้ายคลึงกัน ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่า สารที่สังเคราะห์ได้คือ Potassium nicotinate

นำสารมาทดสอบความเป็นกรดต่าง โดยเทียบกับสารมาตรฐาน nicotinic acid ได้ผลดังนี้

Standard nicotinic acid pH = 3 มีคุณสมบัติเป็นกรด

สารที่สังเคราะห์ได้ pH = 6 มีคุณสมบัติเป็นกลาง

จากการเปรียบเทียบข้อมูลการพิสูจน์เอกลักษณ์เทคนิคทั้งหมด เพียงพอที่จะสรุปได้ว่า สามารถสังเคราะห์ nicotinic acid ได้อยู่ในรูปเกลือ potassium สารที่สังเคราะห์ได้คือ Potassium nicotinate

#### 4. อภิปรายผลการทดลอง

##### 4.1 ขั้นตอนการสกัด nicotine จากใบยาสูบ

ตารางที่ 4-5 ตารางเปรียบเทียบวิธีสกัด nicotine จากใบยาสูบ

วิธี	วิธีของผู้วิจัย สกัดด้วยตัวทำละลายตรง	วิธีของนิเวศน์ อุดมรัตน์ (ม.ช.)	
		วิธีกลั่น	สกัดด้วยตัวทำละลายตรง
%yield	0.024	0.19-1.55 (Spectrophotometry), 0.27-1.73(Titrate)	0.68
ปริมาณเริ่มต้น	5 kg.	0.2-0.3 g.	3.5-4.5 g.
อุปกรณ์	ถัง stainless	ชุดเครื่องกลั่นไอน้ำ	funnel
Solvent	สุราขาว 40 ดีกรี	NaOH, น้ำ, HCl	Benzene, Chloroform
วิธีวิเคราะห์	แยกให้บริสุทธิ์, ชั่ง	สารละลายผสม, Spectrophotometry, Titrate	สารละลายผสม, Spectrophotometry, Titrate

จากผลการทดลองดังตารางที่ 5 พบว่าสามารถสกัด nicotine โดยใช้สุราขาวเป็นตัวทำละลายได้ แต่ผลิตภัณฑ์ของ nicotine ยังน้อยกว่าวิธีกลั่น และ วิธีสกัดด้วยตัวทำละลายตรง ของนิเวศน์ อุดมรัตน์ อย่างไรก็ตาม วิธีของผู้วิจัยยังมีข้อดี ในประเด็นของ การใช้ตัวทำละลายที่มีความเป็นพิษต่ำ และ การแยกสารให้บริสุทธิ์ ก่อนการวิเคราะห์

วิธีสังเคราะห์	วิธีของผู้วิจัย	วิธีของ James Fleekert
สารตั้งต้น	ใช้ nicotine ที่สกัดได้จากใบยาสูบ	Nicotine
สารผลิตภัณฑ์	Potassium nicotinate	Potassium nicotinate
%yield	35 %	55%

จากผลการทดลองดังตารางที่ 6 พบว่าวิธีของผู้วิจัยสามารถสังเคราะห์ Potassium nicotinate จาก nicotine ที่สกัดจากใบยาสูบได้ แต่ผลผลิตร้อยละที่ได้ยังไม่สูงนัก อย่างไรก็ตาม วิธีของผู้วิจัยยังมีข้อดี ในประเด็นของ การใช้  $\text{KMnO}_4$  เป็นตัวทำปฏิกิริยา ซึ่งมีความเป็นพิษต่ำและมีราคาถูก และการใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย มีความปลอดภัยต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม

