



โครงการ การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ การประยุกต์ใช้โครมาโตกราฟีแบบเยื่อบางเพื่อปรับปรุงการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำหอมที่ซับซ้อนด้วยเทคนิค solid phase microextraction และ gas chromatography-mass spectrometry

Application of thin layer chromatography for improved analysis of complex perfume sample with solid phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry

ชื่อนิสิต นางสาวปาณิสรา เชษฐนรกุล เลขประจำตัว 5933064923
ภาควิชา เคมี
ปีการศึกษา 2562

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การประยุกต์ใช้โครมาโตกราฟีแบบเยื่อบางเพื่อปรับปรุงการวิเคราะห์
ตัวอย่างน้ำหอมที่ซับซ้อนด้วยเทคนิค solid phase
microextraction และ gas chromatography-mass
spectrometry

Application of thin layer chromatography for
improved analysis of complex perfume sample with
solid phase microextraction and gas
chromatography-mass spectrometry

โดย

นางสาวปาณิสรา เชษฐนรกุล

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2562

โครงการ การประยุกต์ใช้โครมาโตกราฟีแบบเยื่อบางเพื่อปรับปรุงการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำหอมที่ซับซ้อนด้วย
เทคนิค solid phase microextraction และ gas chromatography-mass spectrometry

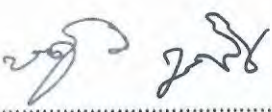
โดย นางสาวปาณิสรา เซษฐนรกุล

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย


คณะกรรมการสอบโครงการ

- | | |
|--|------------------|
| 1. รองศาสตราจารย์ ดร. ปกรณ์ วรรณสุภากุล | ประธานกรรมการ |
| 2. ศาสตราจารย์ ดร. วิทยา เรืองพรวิสุทธิ์ | กรรมการ |
| 3. อาจารย์ ดร.ชฎิล กุลสิงห์ | อาจารย์ที่ปรึกษา |

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี



(อาจารย์ ดร.ชฎิล กุลสิงห์)
อาจารย์ที่ปรึกษา



(รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิชัย พาราสุข)
หัวหน้าภาควิชาเคมี

วันที่ 10 เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2563

ชื่อโครงการ	การประยุกต์ใช้โครมาโตกราฟีแบบเยื่อบางเพื่อปรับปรุงการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำหอมที่ซับซ้อนด้วยเทคนิค solid phase microextraction และ gas chromatography-mass spectrometry		
ชื่อนิสิตในโครงการ	นางสาวปาณิสรา เชษฐนรกุล	เลขประจำตัว	5933064923
ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ ดร.ชฎิล กุลสิงห์		
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2562			

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้มีการพัฒนาวิธีการในการวิเคราะห์ที่ง่ายและมีประสิทธิภาพ ในการแยกสิ่งรบกวนต่อการวิเคราะห์สารระเหยง่ายในตัวอย่างน้ำหอม วิธีการนี้ได้ถูกนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำหอมที่มีเมทริกซ์ของน้ำมันกฤษณาสังเคราะห์มารบกวน โดยใช้เทคนิคโครมาโตกราฟีแผ่นเคลือบบาง (TLC) ในการแยกสารบนแผ่นซิลิกาเจลและการเลือกตัดอย่างจำเพาะในบริเวณของแผ่นที่มีสารเป้าหมายก่อนการนำไปวิเคราะห์ต่อไป สภาวะ TLC ที่เลือกใช้คือ ระบบตัวทำละลายผสมระหว่างเฮกเซนและเอทิลอะซิเตต (อัตราส่วนปริมาตร 6: 1) และลดความซับซ้อนของตัวอย่าง โดยตัดแผ่น TLC อย่างจำเพาะออกเป็น 4 ส่วน ก่อนการสกัดสารระเหยง่ายโดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยวิภูภาคของแข็งระดับจุลภาค (HS-SPME) เตรียมตัวอย่างเพื่อเลือกสกัดสารกลุ่มระเหยง่ายโดยการให้ความร้อนอุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 15 นาที และวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโตกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี (GC-MS) ถ้าไม่ได้เตรียมตัวอย่างด้วยวิธี TLC ที่พัฒนาขึ้นมา พบว่าสารประกอบ Cyclohexene, 1-methyl-5-(1-methylethenyl)-, (R)-; 1-Propanol, 2-(2-hydroxypropoxy)-; γ -Terpinene; 7-Octen-2-ol, 2,6-dimethyl-; 2,4-Heptadienal, 2,4-dimethyl- และ cis-Thujopsene ในน้ำหอมถูกบดบังโดยสารประกอบ Limonene, Linalool, α -Ionone และ α -Guaiene จากเมทริกซ์ของน้ำมันกฤษณาสังเคราะห์ แต่เมื่อนำวิธี TLC มาประยุกต์แยกวิเคราะห์ 4 ส่วน ทำให้สามารถแยกวิเคราะห์และระบุพืชของสารในน้ำหอมจากการถูกบดบังของเมทริกซ์ได้สำเร็จ นอกจากนี้การนำเทคนิค TLC แบบจำเพาะมาใช้โดยตรงกับแก๊สออนไลน์เซอร์ เครื่องวิเคราะห์แก๊สวิเคราะห์สารเป้าหมายบนแผ่น TLC อย่างจำเพาะโดยไม่ผ่าน HS-SPME เป็นการเสนอแนวทางในการวิเคราะห์สารประกอบให้กลิ่นเป้าหมายบนแผ่น TLC โดยตรงซึ่งเป็นวิธีการที่ง่าย รวดเร็วและใช้เครื่องมือราคาคุ้มค่า

คำสำคัญ: โครมาโตกราฟีแบบเยื่อบาง, จำเพาะ, gas analyzer

Project Title Application of thin layer chromatography for improved analysis of complex perfume sample with solid phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry

Student Name Miss Panisara Chedthanorrakul Student ID 5933064923

Advisor Name Chadin Kulsing, Ph.D.

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic Year 2019

Abstract

This study developed a simple, and effective method to remove the interferences from volatile compounds in perfume. The technique was applied for analysis of the perfume spiked into the synthetic agarwood sample with strong matrix interference by using thin layer chromatography (TLC) for separation and selective cut of the fraction containing target compounds on the silica gel plate prior to further analysis. Selected TLC condition was using hexane and ethyl acetate (6:1 volume ratio) solvent. The sample complexity was reduced by selective cuts of 4 regions. The target parts were then sampled by solid phase micro extraction (SPME) using 15 min extraction time and 80 °C extraction temperature and analyzed by GC-MS analysis. Without the developed TLC approach, perfume compound peaks of Cyclohexene, 1-methyl-5-(1-methylethenyl)-, (R)-; 1-Propanol, 2-(2-hydroxypropoxy)-; γ -Terpinene; 7-Octen-2-ol, 2,6-dimethyl-; 2,4-Heptadienal, 2,4-dimethyl-, and cis-Thujopsene were not identified due to the interferences from the peaks of Limonene, Linalool, α -Ionone and α -Guaiene in the agarwood. Application of the developed TLC method allowed selective extraction and successful identification of these hindered perfume compounds from the matrix. Furthermore, the selective TLC extraction followed by direct detection of targeted odor compounds with Gas Analyzer without use of SPME was demonstrated. This method is thus simple, and fast with cost-effective instrument.

Keywords: thin layer chromatography, selective, gas analyzer

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความกรุณาจากอาจารย์ ดร.ชฎิล กุลสิงห์ อาจารย์ที่ปรึกษา ที่กรุณาสละเวลา ให้ความรู้ คำแนะนำ ตลอดจนให้ความช่วยเหลือในการปรับปรุงแก้ไข ข้อบกพร่องด้วยความเอาใจใส่มาอย่างดีโดยตลอด ขอขอบคุณรองศาสตราจารย์ ดร. ปกรณ์ วรรณสุภากุล และ ศาสตราจารย์ ดร. วิทยา เรืองพรวิสุทธิ์ ที่ยินดีสละเวลาในการตรวจทานแก้ไข และให้เกียรติเป็นกรรมการในการสอบโครงการการเรียนการสอนเพื่อประสบการณ์ในครั้งนี้

ผู้วิจัยขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้เงินทุนสนับสนุนบางส่วนในการทำวิจัย รวมทั้งรุ่นพี่ในห้องปฏิบัติการทุกท่านที่คอยให้คำปรึกษา คำแนะนำ และให้กำลังใจตลอดในการทำงานวิจัย สุดท้ายนี้ผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่า งานวิจัยฉบับนี้จะเป็นประโยชน์แก่บุคลากรทางการศึกษา และผู้สนใจทั่วไปไม่มากนัก

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ฌ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจ	1
1.2 วัตถุประสงค์และขอบเขตงานวิจัย	2
1.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	2
1.4 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง	4
1.4.1 สารเคมีที่ให้กลิ่นในน้ำหอม	4
1.4.2 เทคนิค thin layer chromatography (TLC)	4
1.4.3 เทคนิค solid-phase microextraction (SPME)	8
1.4.4 แก๊สโครมาโทกราฟี/แมสสเปกโตรเมตรี (GC-MS)	9
1.4.5 เครื่อง gas analyzer	11
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	12
บทที่ 2 การทดลอง	13
2.1 รายการเครื่องมือ อุปกรณ์	13
2.2 รายการสารเคมี	13
2.3 วิธีการทดลอง	14
2.3.1 การเตรียมแผ่น TLC (TLC separation)	14
2.3.2 การเตรียมตัวอย่างผสมน้ำหอมและน้ำมันกฤษณา	14
2.3.3 การสกัดแยก TLC อย่างจำเพาะ (Selective TLC extraction)	15
2.3.4 การวิเคราะห์สารระเหยในตัวอย่างน้ำหอมด้วยเครื่อง GC-MS	15
2.3.5 การวิเคราะห์ตัวอย่างผสมของน้ำหอมและน้ำมันกฤษณาด้วยเทคนิค TLC โดยการวิเคราะห์โดยตรงด้วย gas analyzer	16

บทที่ 3 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง	18
3.1 การประยุกต์ใช้เทคนิค TLC ในการวิเคราะห์ตัวอย่างผสมน้ำหอมและน้ำมันกฤษณาอย่างจำเพาะ	18
3.2 การวิเคราะห์ตัวอย่างผสมของน้ำหอมและน้ำมันกฤษณาบน TLC โดยตรงด้วย gas analyzer	27
บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง	34
เอกสารอ้างอิง	35
ภาคผนวก	37
ประวัติผู้วิจัย	43

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 3.1 volatile compound profiles ของสารตัวอย่างผสมน้ำหอมและน้ำมันกฤษณา	21
ตารางที่ 3.2 กลุ่มสารระเหยที่สนใจและให้กลิ่นหลักในตัวอย่างผสมน้ำหอมและน้ำมันกฤษณา ที่ตรวจพบจากGC-MS ในแต่ละ fractions	28
ตารางที่ ก-1 intensity และ elapsed time และ m/z ของสารตัวอย่างผสมน้ำหอมและ น้ำมันกฤษณาที่ตรวจวัดด้วย gas analyzer	38
ตารางที่ ก-2 volatile compound profiles ของสารตัวอย่างน้ำหอมที่สกัดด้วย SPME โดยตรง	39

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 1.1 ประสิทธิภาพในการชะสารตัวอย่างของตัวทำละลายอินทรีย์	6
รูปที่ 1.2 ลำดับสภาพชั้นของตัวทำละลายอินทรีย์	6
รูปที่ 1.3 การทำให้ภายในภาชนะอิมิตัวด้วยไอของตัวทำละลายเคลื่อนที่ก่อนวางแผ่น TLC	7
รูปที่ 1.4 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างโดยเทคนิค SPME	8
รูปที่ 1.5 ส่วนประกอบหลักของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี	10
รูปที่ 1.6 เครื่อง gas analyzer, Hidden HPR-20 R&D system	12
รูปที่ 2.1 การเตรียมแผ่น TLC	14
รูปที่ 2.2 การ load ตัวอย่างลงบนแผ่น TLC	14
รูปที่ 2.3 ขั้นตอนการสกัดแยก TLC อย่างจำเพาะ	15
รูปที่ 2.4 การตัดแผ่น TLC แบ่งออกเป็น ส่วน ๆ	16
รูปที่ 2.5 การถ่ายโอนส่วนของกลุ่มสารระเหยง่ายจากตัวอย่างผสมของน้ำหอมและน้ำมันกฤษณา บนแผ่น TLC	17
รูปที่ 2.6 ขั้นตอนในการคัดเลือกกลุ่มสารระเหยที่สนใจจาก volatile compound profiles น้ำหอม บนแผ่น TLC ที่ถูกตัดอย่างจำเพาะ 4 ส่วน ที่ตรวจพบจาก GC-MS เพื่อใช้ในการเลือก วิเคราะห์สารระเหยที่สนใจโดยตรงด้วย gas analyzer	17
รูปที่ 3.1 (ก) โครมาโทแกรมของน้ำหอม	18
รูปที่ 3.1 (ข) โครมาโทแกรมของตัวอย่างผสมน้ำหอมที่ถูกพีคของเมทริกซ์บดบังจากน้ำมันกฤษณา	18
รูปที่ 3.2 สารประกอบในน้ำหอมหลายแห่งที่ถูกบดบังจากเมทริกซ์ของน้ำมันกฤษณา	19
รูปที่ 3.3 โครมาโทแกรมของ Plate A แต่ละส่วนถูกวิเคราะห์แยกด้วย HS-SPME และ GC-MS	20
รูปที่ 3.4 intensity profile ของ m/z ของ 101, 105, 108, 117, 120, 121, 122, 132, 134, 136, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 172, 176, 182, 184, 196, 198 ที่ตรวจวัดจาก ตัวอย่างด้วย gas analyzer ของทุกแผ่น TLC (9ส่วน)	31
รูปที่ 3.5 การเทียบตำแหน่งที่ถูกตรวจวัดกลุ่มสารตัวอย่างบนแผ่น TLC โดยแบ่งระยะทางทุกๆ 1 cm	32
รูปที่ 3.6 EIC ของ m/z = 122 จาก GC-MS	32

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

กลิ่นหอมเป็นการรวมตัวของศิลป์และศาสตร์ของสารประกอบอินทรีย์ ทุกวันนี้กลิ่นหอมถูกนำไปใช้ในทุก ๆ ด้านของชีวิตประจำวันของเรา อย่างเช่น น้ำหอม [1] น้ำหอมกลายเป็นองค์ประกอบหลักในการแต่งตัวและช่วยสร้างบุคลิกให้กับเราได้ไม่มากนักน้อย เสน่ห์ของหลายๆ คนไม่เพียงแต่จะอยู่ที่บุคลิกและความเฉพาะตัวของคน ๆ นั้น ความหอมของกลิ่นกายก็กลายเป็นส่วนหนึ่งของเอกลักษณ์เฉพาะตัวได้ด้วยเช่นกัน แต่เดิมนั้นการผลิตน้ำหอมส่วนใหญ่ถูกผลิตจากการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากแหล่งธรรมชาติ เช่น ใบไม้ เปลือกไม้ ดอกไม้ และเครื่องเทศ เป็นต้น แต่ในปัจจุบันนี้ น้ำหอมเป็นสินค้าที่มีอัตราการแข่งขันในตลาดที่สูงขึ้น [2] ส่งผลให้นักเคมีต่างพยายามพัฒนาสูตรใหม่ ๆ อย่างต่อเนื่องเพื่อให้ได้น้ำหอมที่มีกลิ่นที่เป็นที่ต้องการของตลาดด้านกลิ่นหอมในรูปแบบใหม่ ๆ เพื่อตอบสนองความต้องการของตลาดน้ำหอม ทั้งนี้ส่วนใหญ่แล้วน้ำหอมที่ถูกผลิตขึ้นในปัจจุบันจะเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของสารสังเคราะห์มากกว่า เนื่องจากมีการควบคุมคุณภาพและกระบวนการผลิตที่ดี อีกทั้งผลิตภัณฑ์ที่ได้จากธรรมชาติอาจทำซ้ำได้ยาก ดังนั้นจึงเป็นเรื่องง่ายกว่าที่จะเลียนแบบกลิ่นหอมจากธรรมชาติด้วยสารที่สังเคราะห์ขึ้นมา [3]

ดังที่กล่าวไปข้างต้น ทำให้น้ำหอมในตลาดปัจจุบันมีส่วนผสมที่ซับซ้อนและมีองค์ประกอบทางเคมีระเหยง่ายเป็นจำนวนมาก (>100 สาร) งานวิจัยนี้จึงมีความต้องการพัฒนาแนวทางในการวิเคราะห์ที่ง่าย คุ่มค่า มีประสิทธิภาพ และแยกสิ่งรบกวนต่อการวิเคราะห์สารระเหยง่ายในตัวอย่างน้ำหอมด้วยการประยุกต์วิธีวิเคราะห์กับตัวอย่างน้ำหอมที่มีเมทริกซ์ของน้ำมันกฤษณาสังเคราะห์มารบกวน โดยใช้เทคนิค thin layer chromatography (TLC) ในการแยกสารที่อาศัยคุณสมบัติความมีขั้วของสารและอาศัยความแตกต่างในการเคลื่อนที่ของสารผ่านเฟสคงที่บนแผ่น TLC เทคนิคดังกล่าวจัดเป็นการวิเคราะห์สารเบื้องต้นที่ใช้อุปกรณ์ไม่ซับซ้อน วิธีการง่าย มีความไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) และยังสามารถทำการวิเคราะห์สารตัวอย่างได้หลาย ๆ ตัวในเวลาเดียวกัน นอกจากนี้การเลือกใช้เทคนิค TLC โดยตัดแต่ละพีคบนแผ่น TLC อย่างจำเพาะออกเป็นส่วนๆ จะสามารถลดความซับซ้อนก่อนการวิเคราะห์สารระเหยง่าย ด้วยเทคนิคโดยทั่วไปเช่น gas chromatography (GC) พิกซึ่งอาจเกิดปัญหาในการวิเคราะห์ด้วยการฉีดตัวอย่างน้ำหอมที่ซับซ้อนเข้าเครื่อง GC โดยอาจจะเกิดสัญญาณเมทริกซ์รบกวน โดยการเตรียมตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์ด้วย GC จะใช้เทคนิค headspace solid phase micro extraction (HS-SPME) เพื่อเลือกสกัดสารกลุ่มระเหยง่ายใน HS ของตัวอย่างมาเกาะที่ไมโครไฟเบอร์แยกออกจากสารกลุ่มที่ระเหยยากและลดปริมาณตัวทำละลาย เช่นน้ำและเอทานอลในตัวอย่างน้ำหอม ทำให้พีคที่ได้มีสัญญาณรบกวนน้อยลงก่อนการวิเคราะห์ต่อด้วยเทคนิค GC ที่อาศัยหลักในการแยกสารที่เกี่ยวข้องกับสมดุลการกระจายตัวขององค์ประกอบต่าง ๆ ในตัวอย่างระหว่างวัฏภาค 2 ชนิด คือ วัฏภาคเคลื่อนที่ซึ่งทำหน้าที่พาองค์ประกอบตัวอย่างให้เคลื่อนที่ผ่านวัฏภาคนิ่งซึ่งทำหน้าที่แยกสารผสมให้ออกจากกัน อาศัยความแตกต่างของการเกิดอันตรกิริยาระหว่างองค์ประกอบตัวอย่างแต่ละชนิดกับวัฏภาคนิ่งและใช้ตัวตรวจวัดด้วยวิธีแมสสเปกโตรเมตรีที่มีความจำเพาะต่อตัววัดชนิดสารเคมี มีสภาพไว (sensitivity) ในการตรวจวัดสูงและให้ข้อมูล

แมสสเปกตรัม (mass spectrum) ของสารที่สามารถใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์สารได้อย่างมีประสิทธิภาพ [4]

เทคนิคการเตรียมตัวอย่างด้วย TLC ส่วนใหญ่ได้ถูกรายงานคู่กับ LC [5,6] ในขณะที่การนำเทคนิค TLC มาใช้คู่กับ GC-MS ยังเป็นโจทย์วิจัยที่นักศึกษาอยู่ โดยเทคนิคทั้งสองนี้จะช่วยในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารระเหยง่ายในน้ำหอมที่ชัดเจนมากขึ้นเป็นการเสริมประสิทธิภาพในการแยกซึ่งกันและกันระหว่าง TLC และ GC แบบทวิคูณเช่นจำนวนสารในจุดมคติที่แยกได้ทั้งหมด \sim (จำนวนแผ่นที่ตัดได้จาก TLC) \times (จำนวนที่แยกได้จาก GC) โดยลดความซับซ้อนของสารเคมีที่แยกได้เบื้องต้นด้วยการตัดแผ่น TLC อย่างจำเพาะและใช้เทคนิค HS-SPME เป็นตัวกลางเชื่อมระหว่างเทคนิค TLC และ GC-MS ในการวิเคราะห์

นอกจากนี้ในงานวิจัยยังได้แสดงให้เห็นถึงการประยุกต์ใช้ TLC ในการวิเคราะห์โดยตรง โดยไม่ผ่านเทคนิค HS-SPME ด้วยเครื่องวิเคราะห์ก๊าซ (gas analyzer) โดยมี MS เป็นเครื่องตรวจวัดค่ามวลต่อประจุ (m/z) เป้าหมายได้หลายๆ ค่าในเวลาอันรวดเร็ว ซึ่งเป็นเครื่องมือที่น่าสนใจด้วยการใช้งานที่ง่ายสำหรับการวิเคราะห์อย่างต่อเนื่องแบบ on line ของแก๊สและไอระเหยที่ความดันบรรยากาศ

1.2 วัตถุประสงค์และขอบเขตของการวิจัย

1. พัฒนาแนวทางการวิเคราะห์ที่ง่ายและคุ้มค่าในการเตรียมตัวอย่างเพื่อแยกสิ่งรบกวน และลดความซับซ้อนของตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์ด้วย GC-MS โดยใช้เทคนิค TLC
2. เสนอแนวทางในการประยุกต์ใช้ TLC ในการวิเคราะห์โดยตรงด้วย gas analyzer

1.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

งานวิจัยที่เกี่ยวกับการพัฒนาแนวทางในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีที่สนใจของสารระเหยง่ายอย่างจำเพาะในน้ำหอมผสมน้ำมันกฤษณาสังเคราะห์ที่ซับซ้อนด้วยเทคนิค thin layer chromatography (TLC) และเทคนิค gas chromatography (GC) ดังนี้

จากตัวอย่างงานวิจัยที่ผ่านมาได้มีการศึกษาและประยุกต์ใช้เทคนิค TLC โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่าง essential oil, phenolic acids และ flavonoids จาก *S. lavandulifolia* การประยุกต์การใช้เทคนิค TLC ทำให้ได้ fingerprints อย่างง่ายจากแผ่น TLC โดยอาศัยการแยกสารจากความแตกต่างของคุณสมบัติความมีขั้วของสารทำให้การเคลื่อนที่ของสารผ่านเฟสคงที่มีระยะทางต่างกัน และเปรียบเทียบความสามารถในการวิเคราะห์ระหว่างระบบ one-dimensional TLC-MS (1D TLC-MS) และ ระบบ two-dimensional TLC-LC-MS (2D TLC-LC-MS) พบว่าการประยุกต์ใช้เทคนิค TLC กับระบบ 2D TLC-LC-MS ให้ข้อมูลที่ถูกต้องเกี่ยวกับองค์ประกอบของตัวอย่าง essential oil, phenolic acids และ flavonoids มากกว่าระบบ 1D TLC-MS อีกทั้งสามารถระบุข้อมูลเชิงคุณภาพของสารและได้ลักษณะ fingerprint ที่ดีกว่า [5,6]

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการแยกของกลุ่ม complex secondary metabolites และ anti-radical activity ในตัวอย่างผลไม้ตระกูล *Eryngium planum* และ *Eryngium amethystinum* โดยประยุกต์ใช้เทคนิค TLC วิเคราะห์ร่วมกับเทคนิค high performance liquid chromatography (HPLC) ทำให้สามารถเพิ่มมิติในการแยกและกำจัด impurity ก่อนการวิเคราะห์ต่อด้วย electrospray ionization time-of-flight MS (ESI-TOF-MS) และได้แมสสเปกตรัมของกลุ่มสารเป้าหมายที่ต้องการวิเคราะห์ชัดเจนมากยิ่งขึ้น [7]

Simona และคณะ [8] ศึกษาการเตรียมตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์สารกลุ่ม volatile organic compounds (VOCs) บนตัวอย่างผ้าด้วยการใช้เทคนิค HS-SPME ควบคู่กับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS โดยศึกษาความสามารถในการสกัดสารกลุ่ม VOCs ของวัสดุที่เคลือบอยู่บน SPME fiber ถึงความจำเพาะกับกลุ่มตัวอย่างที่สนใจ ประสิทธิภาพในการสกัดด้วยเทคนิค HS-SPME นั้นขึ้นอยู่กับทางเลือกชนิดของไฟเบอร์ที่เหมาะสม จากการศึกษาพบว่า SPME fiber ชนิด DVB/CAR/PDMS นั้นมีประสิทธิภาพมากที่สุดในการสกัดสารกลุ่ม VOCs

ตัวอย่างในการวิเคราะห์ที่มีความซับซ้อนนั้นอาจมีเมทริกซ์เป็นอุปสรรคในการศึกษาจึงเป็นการยากที่จะระบุถึงข้อมูลเชิงคุณภาพได้อย่างชัดเจน Aurélien และคณะ [9] จึงได้ทำการศึกษาและเสนอวิธีในการแก้ปัญหาการวิเคราะห์ตัวอย่างที่ซับซ้อนและมีเมทริกซ์รบกวน อย่างเช่น การศึกษาหาสารก่อภูมิแพ้ในน้ำหอม โดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์ multi-dimensional gas chromatography (MD-GC) เป็นเทคนิคที่มีการใช้คอลัมน์สองคอลัมน์ที่มีคุณสมบัติในการแยกสารต่างกัน เพื่อช่วยให้การแยกของสารมีประสิทธิภาพมากขึ้นเทียบกับ GC แบบหนึ่งมิติ เทคนิค MD-GC สามารถแยกเมทริกซ์ออกจากตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์อีกทั้งสามารถตรวจหาสารก่อภูมิแพ้ในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณในตัวอย่างได้ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาในรูปแบบเดียวกันกล่าวคือ Chiara และคณะ [10] ศึกษาการแยกและประสิทธิภาพของ comprehensive two-dimensional gas chromatography (GC × GC) ควบคู่ไปกับการวิเคราะห์ m/z ของสารด้วย quadrupole mass spectrometry (QMS) สำหรับการวิเคราะห์สารก่อภูมิแพ้ในน้ำหอม และสามารถระบุสารเป้าหมายโดยการเทียบกับฐานข้อมูลจาก NIST

จากงานวิจัยที่ผ่านมาจะเห็นว่า มีการประยุกต์ใช้เทคนิค TLC ร่วมกับเทคนิค LC แต่ยังไม่มีการนำไปประยุกต์ใช้กับเทคนิค GC อีกทั้งจะเห็นว่าการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำหอมที่ซับซ้อนนั้นนิยมใช้เทคนิค MD-GC ในการวิเคราะห์ซึ่งเป็นเทคนิคที่ต้องใช้อุปกรณ์เชื่อม (interface) ระหว่างสองคอลัมน์ที่ซับซ้อนและมีราคาสูง ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงสนใจพัฒนาวิธีวิเคราะห์ที่ง่าย สะดวก และมีประสิทธิภาพในการแยกองค์ประกอบทางเคมีที่ซับซ้อนโดยใช้เทคนิคการตัดแผ่น TLC หลังการแยกอย่างจำเพาะตรงตำแหน่งที่มีสารเป้าหมายอยู่เพื่อลดความซับซ้อนก่อนการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS และ gas analyzer

1.4 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

1.4.1 สารเคมีที่ให้กลิ่นในน้ำหอม [1]

ปัจจุบันสารให้กลิ่นมากกว่า 3,000 ชนิดไม่ว่าจะเป็นกลิ่นจากธรรมชาติหรือกลิ่นจากสารเคมีสังเคราะห์นั้นล้วนแต่มีคุณสมบัติในการให้กลิ่นหอม โดยในน้ำหอมนั้นมีสารเคมีที่ให้กลิ่นหอมเป็นองค์ประกอบอยู่มากมาย ซึ่งแบ่งได้ตามแหล่งที่มา ลักษณะของกลิ่น และ โครงสร้างทางเคมีของสารให้กลิ่น ดังนี้

แหล่งที่มาของสารเคมีให้กลิ่นหอม ประกอบด้วยแหล่งที่มาจากพืช (เช่น เปลือก, ดอกไม้, ผล, ราก, ใบไม้, เรซิน, เมล็ด, ไม้) สัตว์ (เช่น Ambergris, Castoreum, Civet, Musk) ไส้เค้น และ สาหร่าย

ลักษณะของกลิ่น สามารถแบ่งได้เป็น Floral (เช่น Jasmine, Rose) Citrus (เช่น Lemon, Orange) Fruity (เช่น Peach, Apple) Green (เช่น Grass, Leaves) Woody (เช่น Dry wood, Trees) Oriental (เช่น Vanilla, Ambergris) Spice (เช่น Cinnamon, Thyme) Animal (เช่น Musk, Civer) และ Leather (เช่น Leather, Tobacco)

โครงสร้างทางเคมีของสารระเหยง่ายที่ให้กลิ่น ประกอบด้วย Alcohols (เช่น cis-3-hexenol) Monoterpene alcohols (เช่น linalool) Sesquiterpene alcohols (เช่น famesol) Lactones (เช่น γ -undecalactone) Terpeneketones (เช่น β -ionone) Aldehydes (เช่น 2,6-nonadienal) Terpenaldehydes (เช่น citral) Monoterpene hydrocarbons (เช่น limonene) Ketone (เช่น cyclohexanone) Esters (เช่น methyl salicylate) Phenols (เช่น eugenol) Terpeneesters (เช่น linalyl acetate) Oxides (เช่น encalyptol) และ Sesquiterpene hydrocarbons (เช่น α -farnesene)

1.4.2 เทคนิค thin layer chromatography (TLC)

การตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค TLC เป็นการแยกสารแบบง่าย ๆ ด้วยหลักโครมาโทกราฟีที่อาศัยเฟสคงที่และเฟสเคลื่อนที่ความสามารถในการแยกสารเกิดจากสมบัติของการมีขั้วของแต่ละสารที่แตกต่างกัน จึงมีความจำเพาะและทำให้การเคลื่อนที่ของสารบนแผ่น TLC มีระยะทางที่แตกต่างกัน เทคนิคการแยกสารด้วย TLC นี้เป็นที่นิยมกันอย่างมาก เพราะเป็นวิธีการที่มีความจำเพาะสูง ทำได้ง่าย สะดวกรวดเร็วและประหยัดกว่าวิธีการแยกสารแบบอื่น ๆ นับเป็นการวิเคราะห์เบื้องต้นที่มีประสิทธิภาพวิธีหนึ่ง

1.4.2.1 หลักการของ TLC

TLC เป็นเทคนิคที่เกี่ยวข้องกับการกระจายของสารระหว่างวัฏภาคหนึ่งซึ่งเป็นตัวดูดซับที่เคลือบอยู่บนแผ่นแก้วหรือแผ่นพลาสติกแข็ง และตัวทำละลายซึ่งเป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ที่เคลื่อนผ่านตัวดูดซับ TLC จึงจัดเป็น solid-liquid adsorption chromatography เช่นเดียวกับคอลัมน์โครมาโทกราฟี

หลักการของ TLC นั้น คือวัฏภาคหนึ่งจะถูกเคลือบติดไว้ที่แผ่นกระจก แผ่นอลูมิเนียม หรือแผ่นพลาสติกบาง ๆ สารจะถูกแต้มไว้ที่ใกล้ๆ ปลายด้านหนึ่งของแผ่นโดยใช้หลอดแคปิลลารีหรือไมโครปิเปต จากนั้นจึงนำแผ่นดังกล่าวไปวางลงในภาชนะที่ใส่วัฏภาคเคลื่อนที่ไว้ตั้ง ๆ เมื่อตัวทำละลายถูกดูดซึมขึ้นไปตามตัวดูดซับด้วย capillary action ก็จะทำให้สารตัวอย่างขึ้นไปด้วย จึงเกิดการแยกของสารเกิดขึ้น ตัวอย่างเช่น หากใช้ซิลิกาเป็นวัฏภาคหนึ่งและใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วต่ำเป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ สารที่มีขั้วน้อยจะละลายได้ดีในวัฏภาคเคลื่อนที่จึงเคลื่อนที่ขึ้นไปพร้อมกับวัฏภาคเคลื่อนที่ ส่วนสารที่มีขั้วมากจะถูกดูดซับไว้ที่วัฏภาคหนึ่งหรือซิลิกาจึงไม่เคลื่อนที่หรือเคลื่อนที่ได้น้อยจึงเกิดการแยกขึ้นในระบบ

1.4.2.2 การเลือกใช้ตัวทำละลายสำหรับเทคนิค TLC

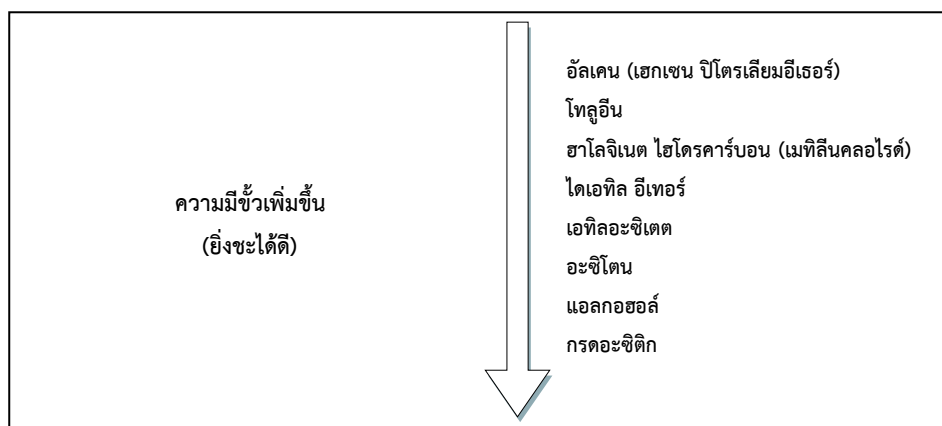
ประสิทธิภาพในการแยกสารจะดีหรือไม่ อยู่ที่การเลือกใช้ระบบตัวทำละลายที่เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ ดังรูปที่ 1.1 รวมไปถึงปริมาณของสารตัวอย่าง (ปริมาตรและความเข้มข้น) และระยะทางในการเคลื่อนที่ของสาร เนื่องจากสารผสมที่อยู่ในสารตัวอย่างมีสภาพขั้วที่แตกต่างกัน หากเป็นสารที่มีขั้วมากก็就会被ดูดซับไว้ที่ซิลิกาเจลได้ดีจึงไม่เคลื่อนที่หรือเคลื่อนที่ได้น้อย ส่วนสารที่มีสภาพขั้วต่ำซึ่งละลายได้ดีในตัวทำละลายที่เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ก็จะเคลื่อนที่ไปกับวัฏภาคเคลื่อนที่ได้ดี จึงทำให้เกิดการแยกในระบบ

ตัวทำละลายที่เหมาะสมที่จะใช้เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ อาจเป็นระบบตัวทำละลายเดี่ยวหรือเป็นระบบตัวทำละลายผสมก็ได้ การเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมมีขั้นตอนในการเลือกดังนี้ เนื่องจากปกติแผ่น TLC จะมีวัฏภาคหนึ่งเป็นซิลิกาเจล (silica gel) ซึ่งมีขั้วสูง ตัวทำละลายที่จะเลือกจะมีสภาพขั้วต่ำกว่า ดังนั้นจึงควรเลือกตัวทำละลายที่มีขั้วต่างกันมาหลาย ๆ ชนิดและละลายเป็นเนื้อเดียวกัน เช่น โปิโตรเลียมอีเทอร์ เบนซีน อีเทอร์ และเมทานอล เรียงลำดับตามจากสภาพขั้วต่ำไปยังสภาพขั้วสูง การใช้กรดคาร์บอกซิลิก เช่น กรดอะซิติกก็สามารถใช้ได้แต่จะใช้อัตราส่วนที่ต่ำเพราะกรดมีฤทธิ์กัดกร่อนและมีขั้วสูงมาก เมทิลีนคลอไรด์และคลอโรฟอร์มเป็นตัวทำละลายที่ดีแต่มีความเป็นพิษจึงควรใช้เท่าที่จำเป็นเท่านั้น

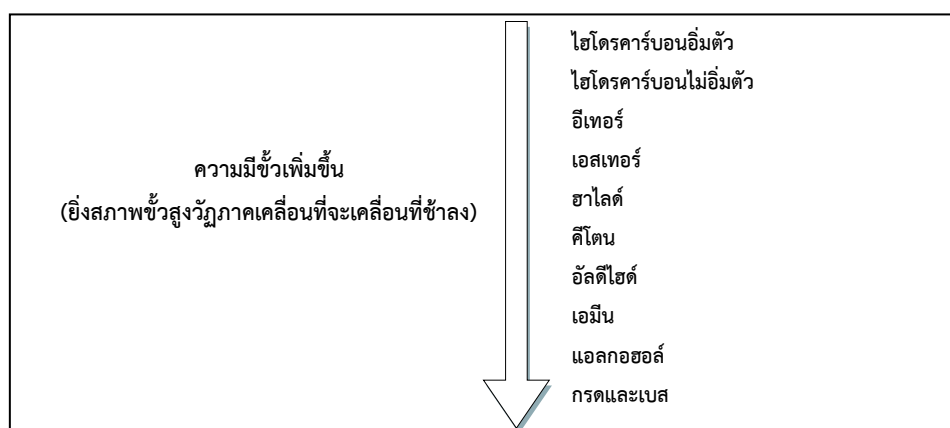
เมื่อเรียงลำดับความขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์แล้ว ดังรูปที่ 1.2 ให้วางแผ่น TLC ที่แต้มสารตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ลงบนแผ่น TLC แล้ววางลงในตัวทำละลายแต่ละชนิด ๆ ละแผ่น หาค่า Retention Factor ($R_f = \text{ระยะทางที่สารเคลื่อนที่ได้} / \text{ระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่ได้}$) ของแต่ละสารในตัวทำละลายแต่ละชนิดแล้วจึงเลือกตัวทำละลายที่สามารถแยกสารได้ดีที่สุด

หากระบบตัวทำละลายเดี่ยวไม่สามารถแยกสารได้ชัดเจน จะต้องเลือกใช้ระบบตัวทำละลายผสม โดยการผสมตัวทำละลายไม่มีขั้ว เช่น เฮกเซน กับตัวทำละลายมีขั้ว เช่น เอทิล อะซิเตต หรืออะซิโตน ในอัตราส่วนต่าง ๆ แล้วเลือกอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุด

ระบบตัวทำละลายผสมที่นิยมใช้กันมากคือ เริ่มต้นตัวทำละลายผสมระหว่างเอทิลอะซิเตต (EtOAc)/เฮกเซน (hexane) ในอัตราส่วน 1:1 จากนั้นจึงปรับอัตราส่วนให้ได้ตามความเหมาะสม แต่การปรับอัตราส่วนจะมีผลกับค่า Rf ของสารด้วย



รูปที่ 1.1 ประสิทธิภาพในการชะสารตัวอย่างของตัวทำละลายอินทรีย์



รูปที่ 1.2 ลำดับสภาพขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์

1.4.2.3 แผ่น TLC สำเร็จรูป

ในปัจจุบัน เพื่อความสะดวกในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค TLC จึงมีผู้ผลิตแผ่น TLC สำเร็จรูปขึ้นมาจำหน่าย ข้อดีของแผ่น TLC สำเร็จรูป คือ ผิวของของแข็งดูดซับจะเรียบ เป็นเนื้อเดียวกันและอัดแน่นฉาบบนแผ่นแก้ว พลาสติก และอะลูมิเนียม ซึ่งวัสดุที่ใช้เป็นแผ่นสำหรับฉาบตัวดูดซับนี้มีข้อดีและข้อเสียที่แตกต่างกันดังนี้

1.4.2.3.1. แผ่น TLC ที่ใช้แผ่นแก้วเป็นแผ่นสำหรับฉาบตัวดูดซับ ข้อดีคือ แก้วไม่ทำปฏิกิริยากับสารเคมี และหาได้ง่าย แต่มีข้อเสีย คือ แก้วมีความเปราะบาง แตกได้ง่าย มีขนาดใหญ่และมีน้ำหนักมาก ต้องใช้แก้วหนา 1.3 มิลลิเมตร และจำเป็นจะต้องใช้วัสดุอื่น ๆ มาห่อหุ้มเพื่อป้องกันไม่ให้แผ่นแก้วแตกอีกด้วย

1.4.2.3.2. แผ่น TLC ที่ใช้แผ่นพลาสติกเป็นแผ่นสำหรับฉาบตัวดูดซับ จะใช้แผ่นโพลีเอสเตอร์ที่มีความหนาประมาณ 0.2 มิลลิเมตร ข้อดีคือมีความทนต่อทำลายได้เกือบทุกชนิด เนื่องจากแผ่นที่ฉาบได้จะมีความบาง จึงใช้พื้นที่ในการจัดเก็บน้อย สามารถใช้กรรไกรตัดได้ตามขนาดที่ต้องการใช้ และยังสามารถตัดส่วนของสารตัวอย่างที่แยกออกแต่ละส่วนแล้วออกไปเพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อได้อีก การใช้แผ่น TLC ที่ฉาบบนแผ่นพลาสติกนี้ต้องใช้ในระบบที่มีอุณหภูมิไม่เกิน 160 C

1.4.2.3.3. แผ่น TLC ที่ใช้แผ่นอะลูมิเนียมเป็นแผ่นสำหรับตัวดูดซับ แผ่นอะลูมิเนียมที่ใช้จะความหนาเพียงประมาณ 0.15 มิลลิเมตรเท่านั้น จึงตัดด้วยกรรไกรได้ง่ายกว่าการตัดแผ่น TLC แบบพลาสติก โดยส่วนมากผู้ผลิตจะผลิตแผ่น TLC ขนาดประมาณ 20 cm x 20 cm ซึ่งก็สามารถตัดตามขนาดที่ต้องการใช้ได้เช่นเดียวกันกับแบบแผ่นพลาสติก

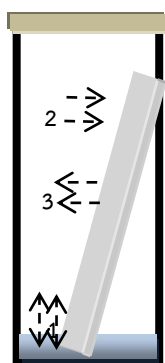
1.4.2.4 ขั้นตอนการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค TLC

1.4.2.4.1. การเตรียมภาชนะ TLC อาจเป็นบีกเกอร์หรือโอแก้วที่มีขนาดเหมาะสมกับแผ่น TLC ที่ใช้สำหรับการวางแผ่น TLC และเติมตัวทำละลาย

1.4.2.4.2 เตรียมตัวทำละลายผสมที่เหมาะสมกับสารที่ต้องการจะแยก

1.4.2.4.3 เติมตัวทำละลายในภาชนะที่เป็นเฟสเคลื่อนที่ กะประมาณให้ระดับของตัวทำละลายสูงจากกันภาชนะไม่เกินระดับที่ขีดไว้บนแผ่น TLC ให้เส้นที่ขีดไว้อยู่เหนือระดับตัวทำละลายเล็กน้อย ปิดฝาให้สนิทแล้วตั้งไว้สักครู่เพื่อให้ไอของตัวทำละลายอิ่มตัวในระบบ

การทำให้ภายในภาชนะอิ่มตัวด้วยไอของตัวทำละลายเคลื่อนที่ เป็นการป้องกันไม่ให้ตัวดูดซับที่เป็นเฟสที่อยู่กับที่แห้งก่อนที่จะทำการทดลองเสร็จ โดยเมื่อวางแผ่น TLC ลงในภาชนะที่อิ่มตัวด้วยไอของตัวทำละลายเคลื่อนที่ของแข็งที่เป็นตัวดูดซับส่วนด้านบนที่ยังไม่เปียกด้วยตัวทำละลายเคลื่อนที่จะดูดซับไอระเหยที่อยู่ภายในภาชนะไว้จนตัวดูดซับอิ่มตัวด้วยไอของตัวทำละลายเคลื่อนที่ ตัวทำละลายเคลื่อนที่ที่ซึมผ่านตัวดูดซับจากด้านล่างจะระเหยออกจากตัวดูดซับได้ช้าลงหรือไม่ระเหยออกไป ทำให้ตัวทำละลายเคลื่อนที่ เคลื่อนที่ผ่านตัวดูดซับได้เร็วขึ้น ผลการแยกจึงมีประสิทธิภาพดีกว่าและเร็วกว่าการที่ไม่ได้ทำให้ภายในภาชนะอิ่มตัวด้วยไอของตัวทำละลายเคลื่อนที่เสียก่อน ดังกระบวนการที่เกิดขึ้นต่อไปนี้ ดังรูปที่ 1.3



รูปที่ 1.3 การทำให้ภายในภาชนะอิ่มตัวด้วยไอของตัวทำละลายเคลื่อนที่ก่อนวางแผ่น TLC

1.4.2.5 การอ่านผลหรือตรวจสอบผลการ develop แผ่น TLC

การอ่านแผ่น TLC ภายใต้แสง UV ซึ่งต้องใช้ตัวดูดซับที่ฟลูออเรสเซนต์ (Fluorescent indicator) ซึ่งเมื่อแผ่น TLC กระทบแสง UV ที่ช่วงความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร จะสะท้อนแสงออกมาเป็นสีเขียว ดังนั้นเมื่อมีสารตัวอย่างที่สามารถดูดซับแสง UV ได้ตรงจุดของสารบนแผ่น TLC ก็จะทำให้เกิดการเรืองแสงของแผ่น TLC เกิดเป็นจุดสีม่วงขึ้นที่จุดนั้น ๆ จึงทำให้สามารถสังเกตเห็นจุดของสารตัวอย่างที่ develop ได้

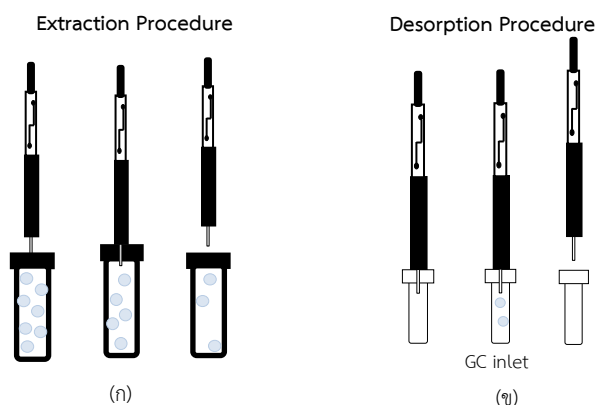
1.4.3 เทคนิค solid-phase microextraction (SPME) [4]

Solid-phase microextraction (SPME) เป็นเทคนิคในการเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์สาร โดยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี (GC) หรือ GC/แมสสเปกโตรเมตรี (GC-MS) ที่ได้รับความนิยมมาก เนื่องจาก SPME เป็นเทคนิคที่ง่ายต่อการใช้งาน และที่เป็นเทคนิคการเตรียมตัวอย่างที่สามารถลดปริมาณ หรือกำจัดตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัดตัวอย่าง (solventless sample preparation technique) เทคนิคนี้ถูกพัฒนาขึ้นมาครั้งแรกในปี ค.ศ. 1989 ที่ The University of Waterloo (Ontario, Canada) โดย Professor Pawliszyn และคณะ จากนั้นบริษัท Supelco (Bellefonte, PA) ได้นำไปผลิตและจำหน่ายในปี ค.ศ. 1993 ทำให้เทคนิค SPME ได้รับความนิยมและถูกนำมาใช้แพร่หลายในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ทางเคมีอย่างต่อเนื่อง

1.4.3.1 หลักการของการเตรียมตัวอย่างโดยเทคนิค SPME

ขั้นตอนการสกัด (extraction step) ดังแสดงในรูปที่ 1.4 (ก) สารที่สนใจถูกดูดซับมาที่ไมโครไฟเบอร์ (microfiber) SPME ซึ่งทำด้วย fused silica และเคลือบด้วยวัสดุภาคนิ่ง (stationary phase) ที่คล้ายคลึงกับวัสดุภาคนิ่งใน GC สารที่ต้องการสกัดสามารถดูดซับมาอยู่ที่วัสดุภาคนิ่งซึ่งเคลือบอยู่ที่ผิวของไฟเบอร์ (fiber) ได้ 2 วิธี คือ (ก) โดยการจุ่มไฟเบอร์ในสารละลายตัวอย่างซึ่งมักมีน้ำเป็นตัวทำละลาย (aqueous sample) โดยตรงเรียกเทคนิคนี้ “direct immersion technique” หรือ (ข) โดยให้ไฟเบอร์อยู่ในพื้นที่เหนือสารละลายตัวอย่าง (headspace) หรือเหนือ ตัวอย่างของแข็ง ซึ่งบรรจุอยู่ในขวดตัวอย่างซึ่งปิดสนิทด้วยฝาปิดทำด้วยยางกันรั่ว (rubber septum) เรียกเทคนิคหลังนี้ว่า “headspace technique”

ขั้นตอน desorption เป็นขั้นตอนการนำไฟเบอร์ SPME ที่ผ่านขั้นตอนการสกัดสารเข้าสู่จุดฉีด (injection port) เพื่อนำสารที่สกัดได้โดยไฟเบอร์เข้าสู่เครื่อง GC หรือ GC-MS ดังแสดงในรูปที่ 1.4 (ข)



รูปที่ 1.4 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างโดยเทคนิค SPME

สารที่มีแนวโน้มที่จะดูดซับบนวัสดุภาคนิ่งเคลื่อนที่บนผิวของไฟเบอร์ SPME ได้ดีกว่าจะถูกดูดซับหรือสกัดมาที่ไฟเบอร์ได้ในปริมาณมากกว่า สภาพไฟในการตรวจวัดสารและปริมาณของสารที่มาดูดซับอยู่ที่ไฟเบอร์ยังขึ้นอยู่กับระยะเวลา และอุณหภูมิของการปล่อยให้สารที่สนใจในตัวอย่างอยู่ในสมดุลในขวด SPME เรียกว่า equilibration time และ equilibration temperature และยังขึ้นอยู่กับระยะเวลาและอุณหภูมิของการปล่อยให้สารที่สนใจในตัวอย่างเคลื่อนที่มาดูดซับอยู่ที่ไฟเบอร์เรียกว่า extraction time และ extraction temperature รวมถึงอุณหภูมิของจุดฉีดและระยะเวลาในการให้สารที่ดูดซับอยู่ที่ไฟเบอร์ถูกปลดปล่อยออกมาสู่จุดฉีด (desorption time และ desorption temperature) นอกจากนี้สภาพไฟในการตรวจวัดยังขึ้นอยู่กับ การเลือกชนิดของไฟเบอร์ให้เหมาะสมกับสารที่ต้องการวัด

1.4.4 แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี (Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS) [4]

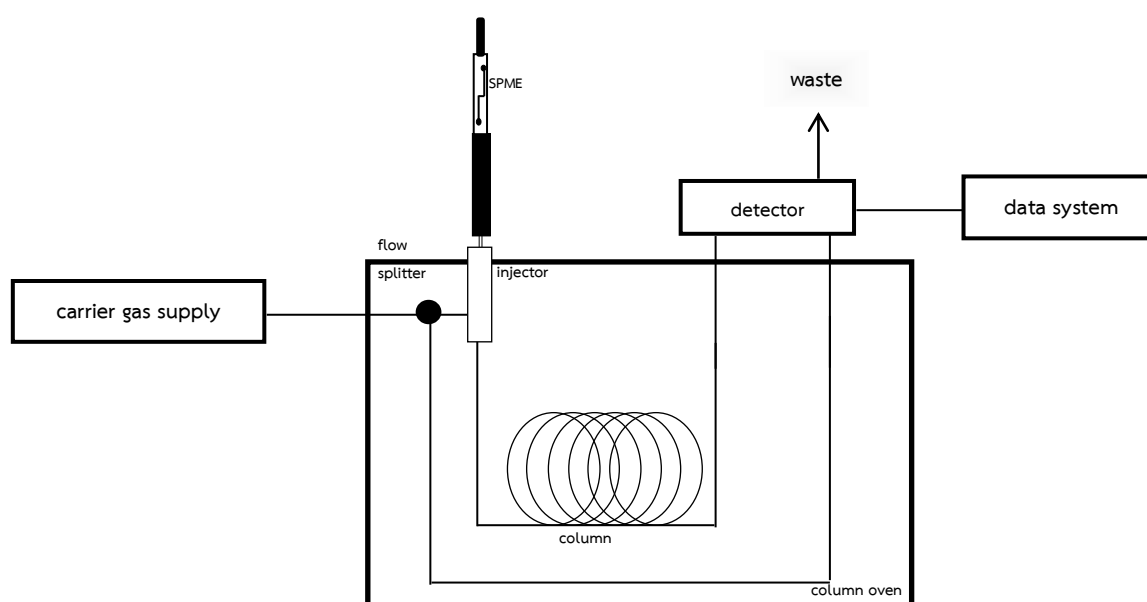
แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี (Gas Chromatography-Mass Spectrometry) เป็นเทคนิคในการวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณสาร ที่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลาย เนื่องจากเป็นเทคนิคที่มีความสามารถในการแยกสารผสมซึ่งเป็นไอได้ง่ายให้ออกเป็นองค์ประกอบเดี่ยว ๆ ด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟีซึ่งมีความสามารถในการแยกสูง องค์ประกอบของสารแต่ละชนิดที่ผ่านการแยกแล้วจะถูกตรวจด้วยวิธีแมสสเปกโตรเมตรีที่มีความจำเพาะ (specificity) ต่อการตรวจวัด และ ให้ข้อมูลแมสสเปกตรัม (mass spectrum) ของสารที่สามารถใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์สารได้อย่างมีประสิทธิภาพ

1.4.4.1 หลักการแก๊สโครมาโทกราฟี

โครมาโทกราฟี (chromatography) เป็นเทคนิคการแยกสารที่เกี่ยวข้องกับสมดุลการกระจายตัวขององค์ประกอบต่าง ๆ ในตัวอย่างระหว่างวัฏภาค 2 ชนิดด้วยกัน คือ วัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) ซึ่งทำหน้าที่พาองค์ประกอบตัวอย่างให้เคลื่อนที่ผ่านวัฏภาคนิ่ง (stationary phase) ซึ่งทำหน้าที่แยกสารผสมให้ออกจากกัน โดยอาศัยความแตกต่างของแรงที่เกิดขึ้นจากการเกิดอันตรกิริยาระหว่างองค์ประกอบตัวอย่างแต่ละชนิดกับวัฏภาคนิ่ง ความแตกต่างของแรงดังกล่าวเป็นผลเนื่องจากความแตกต่างของคุณสมบัติทางเคมีและ/หรือคุณสมบัติทางฟิสิกส์ของสาร ทำให้สารแต่ละชนิดมีการเคลื่อนที่ผ่านวัฏภาคนิ่งด้วยอัตราการเคลื่อนย้าย (migration rate) ที่แตกต่างกัน นำไปสู่การแยกของสารผสมให้ออกเป็นองค์ประกอบเดี่ยว ๆ ได้ในที่สุด

สำหรับแก๊สโครมาโทกราฟี (gas chromatography) เป็นเทคนิคหนึ่งในโครมาโทกราฟีที่ใช้แก๊สเฉื่อยทำหน้าที่เป็นแก๊สพา (carrier gas) เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ เหมาะที่จะนำมาประยุกต์ใช้แยกสารที่ระเหยง่าย (volatility) และมีเสถียรภาพทางความร้อน (thermal stability) ในเทคนิคนี้ตัวอย่างจะถูกนำเข้าสู่ระบบและเกิดการระเหยเป็นไอที่จุดฉีด (injector) ดังแสดงในรูปที่ 1.5 และใช้คอมพิวเตอร์ในการควบคุมและสื่อสารกับส่วนประกอบต่าง ๆ รับสัญญาณข้อมูลจากดีเทคเตอร์ (detector) ตลอดจนใช้ประมวลผล การเลือกใช้ชนิดดีเทคเตอร์สำหรับ GC โดยทั่วไปขึ้นอยู่กับชนิดของสาร ความเข้มข้นและความซับซ้อนขององค์ประกอบในตัวอย่าง

วัสดุเคลื่อนที่ในเทคนิค GC เป็นแก๊สเฉื่อยที่มีความบริสุทธิ์สูง (>99%) ได้แก่ ไนโตรเจน ฮีเลียม หรือ ไฮโดรเจนโดยทั่วไปนิยมใช้แก๊สฮีเลียมเป็นแก๊สพา แก๊สพาใน GC ทำหน้าที่ผสมกับตัวอย่างที่กลายเป็นไอที่จุดฉีด และ พองค์ประกอบของตัวอย่างเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ที่ใช้แยกสารที่มีลักษณะเป็นท่อบรรจุด้วยอนุภาคของวัสดุชนิดหนึ่ง องค์ประกอบต่าง ๆ ในตัวอย่างโดยทั่วไปจะถูกแยกออกจากคอลัมน์ตามลำดับของจุดเดือดและ/หรือความมีขั้วของ สาร และถูกตัววัดโดยดีเทคเตอร์ที่เหมาะสม ผลที่ได้จากการแยกและตรวจวัดสารที่ออกมาจากคอลัมน์ในเทคนิคโคร มาโทกราฟี เรียกว่า “โครมาโทแกรม” (chromatogram) ซึ่งให้ข้อมูลที่สำคัญอยู่ 2 ชนิดคือ เวลาที่สารแต่ละชนิดถูก หนียวรั้งอยู่ในคอลัมน์เรียกว่า “รีเทนชันไทม์” (retention time) เป็นข้อมูลที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพหรือขึ้นอยู่กับ ชนิดของสาร ข้อมูลสำคัญอีกอย่างหนึ่ง คือ ความสูงหรือพื้นที่พีค (peak) การที่ผลการแยกของสารในเทคนิค GC ปรากฏให้เห็นเป็นพีคในโครมาโทแกรม (chromatogram) นั้นเป็นผลเนื่องจากการกระจายตัวขององค์ประกอบแต่ละ ชนิดในคอลัมน์ภายหลังการแยก หากการแยกเป็นไปตามอุดมคติจะได้พีคของสารแต่ละชนิดที่มีลักษณะเป็นระฆังคว่ำที่ สมมาตร (symmetric peak) โดยการปรับสภาวะต่าง ๆ ให้เหมาะสมต่อการแยก ได้แก่ อัตราการไหลของแก๊สพา การ เลือกคอลัมน์ ชนิดของวัสดุชนิดหนึ่ง ความหนาของฟิล์ม (film thickness) ความยาวของคอลัมน์ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง ของคอลัมน์ ปริมาณของตัวอย่าง ตลอดจนโปรแกรมอุณหภูมิของคอลัมน์ ผลการปรับสภาวะต่าง ๆ ที่เหมาะสมจะทำให้ สามารถแยกองค์ประกอบต่าง ๆ ของตัวอย่างให้ออกจากกันได้ นั่นคือ สารแต่ละชนิดจะมีรีเทนชันไทม์ที่แตกต่างกัน เป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัวซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการยืนยันหาชนิดและปริมาณสาร



รูปที่ 1.5 ส่วนประกอบหลักของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

1.4.4.2 หลักการของแมสสเปกโตรเมตรี

แมสสเปกโตรเมตรี (mass spectrometry) เป็นเทคนิคการวิเคราะห์ที่ใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารประกอบที่ไม่ทราบชนิดและใช้ในการเชื่อมโยงกับโครงสร้างของโมเลกุลได้เป็นอย่างดี โดยอาศัยหลักการเคลื่อนที่ของมวลที่ประจุ (charged particle) ซึ่งหมายถึง ไอออน ในสนามไฟฟ้าหรือสนามแม่เหล็ก พฤติกรรมการเคลื่อนที่ดังกล่าวขึ้นอยู่กับค่ามวลต่อประจุของไอออน (mass to charge ratio) การทราบประจุของไอออนจะทำให้สามารถทราบค่ามวลของไอออนนั้นๆ ได้

กระบวนการที่เกิดขึ้นในส่วนของแมสสเปกโตรมิเตอร์ เริ่มต้นโดยไอออนถูกผลิตขึ้นจากโมเลกุลของสารที่ถูกนำเข้ามาที่แหล่งกำเนิดไอออน ไอออนที่เกิดขึ้นถูกแยกโดยหน่วยวิเคราะห์มวลและถูกนับจำนวนโดยดีเทคเตอร์ วิธีการแตกตัวเป็นไอออน (ionization method) ที่สำคัญ ได้แก่ การแตกตัวของโมเลกุลเป็นไอออนโดยอิเล็กตรอน (electron ionization, EI) ซึ่งรูปแบบการแตกตัวเป็นการกำหนดชนิด และ ความอุดม (abundance) ของไอออนที่เกิดขึ้น ไอออนเหล่านี้อาจอยู่ใน 2 รูปแบบหลัก ๆ ด้วยกัน คือ (1) ไอออนโมเลกุล (molecular ion) ซึ่งเป็นไอออนที่มีมวลเท่ากับโมเลกุลของสารในสภาพเริ่มต้น หรือทำให้ทราบโมเลกุลสาร เช่น เกิดจากโมเลกุลสูญเสียอิเล็กตรอนจำนวน 1 ตัวทำให้ได้ไอออนโมเลกุลที่เกิดขึ้นมีประจุเป็นบวก (2) ไอออนย่อย (fragment ion) ที่เกิดจากการแตกหักของโครงสร้างจาก EI ที่มี m/z ลดลง ผลจากการวิเคราะห์มวลสารโดยเทคนิคแมสสเปกโตรเมตรี คือ แมสสเปกตรัมซึ่งเป็นกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่ามวลต่อประจุ เรียกว่า m/z กับความอุดมของไอออน (ion abundance) เป็นข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อการทราบมวลโมเลกุล โครงสร้างโมเลกุลของสาร และสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ

1.4.5 เครื่อง gas analyzer

Gas analyzer เป็นเครื่องมือในการวิเคราะห์แก๊สแบบ real time และต่อเนื่อง โดยจะใช้สำหรับการวิเคราะห์แก๊สเป็นหลักและไอระเหยความดันบรรยากาศ และมี quartz inert capillary (QIC) เป็นระบบอินเตอร์เฟสในการให้ความร้อนและดูดแก๊สเข้าไปผ่านสาย capillary มีความเร็วในการตอบสนองน้อยกว่า 300 milliseconds (ms) สำหรับแก๊สและไอระเหยจึงเหมาะสำหรับการทำงานที่อาศัยความไวในการทดสอบ limit of detection (LOD) ในการวิเคราะห์อยู่ที่ 5 ppb และสามารถตรวจวัดมวลแก๊สได้ในช่วง 0 – 200 amu ตรวจวัดวิเคราะห์มวลไอออนและค่ามวลต่อประจุด้วย quadrupole mass spectrometer (qMS) และทำการประมวลผลโดย MASsoft PC software ซึ่งเครื่อง gas analyzer ที่ใช้ในการทดลองนี้เป็นรุ่น HPR-20 R&D ยี่ห้อ Hiden Analytical ดังแสดงในรูปที่ 1.6



รูปที่ 1.6 เครื่อง gas analyzer, Hidden HPR-20 R&D system

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีที่สนใจของสารระเหยง่ายอย่างจำเพาะด้วยเทคนิค thin layer chromatography (TLC) และ เทคนิค gas chromatography (GC) การวิจัยนี้ทำให้ทราบถึงวิธีการอย่างง่ายในการเตรียมสารที่มีความเลือกจำเพาะ (selectivity) ด้วยเทคนิค thin layer chromatography (TLC) และ เทคนิค gas chromatography (GC) ร่วมทั้งการวิเคราะห์โดยตรงด้วย gas analyzer

บทที่ 2 การทดลอง

2.1 รายการเครื่องมือ อุปกรณ์

1. Solid phase micro extraction fiber (50/30 μm DVB/CAR/PDMS, grey, Sigma-Aldrich, Bellefonte, PA)
2. TLC Silica gel 60 F₂₅₄ 25 Aluminum sheets 20 cm x 20 cm x 0.15 m (Merck, Germany)
3. เครื่อง GC-QqQMS (7890A-7000, Agilent technologies Inc.)
4. เครื่องแก้ว ได้แก่ ปีกเกอร์ กระจกนาฬิกา กระจกบอขวด
5. ฟาอะลูมิเนียม (Thermo Fisher Scientific, USA)
6. อ่างควบคุมอุณหภูมิ
7. ขวด glass vial ขนาด 2, 20 มิลลิลิตร (Thermo Fisher Scientific, USA)
8. ไมโครปิเปต และ ปิเปตทิป ขนาด 20 μL (Eppendorf, Germany)
9. ชุดขาตั้งและแคลมป์จับ
10. กรรไกร
11. เครื่อง gas analyzer (Hiden Analytical Limited HPR-20 R&D, England)

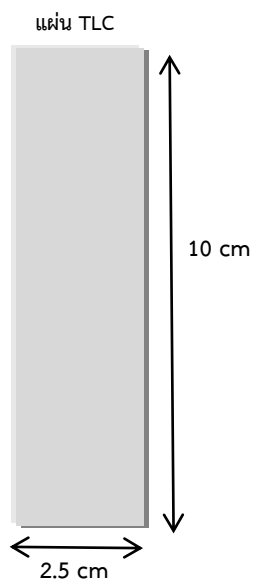
2.2 รายการสารเคมี

1. เอทิล อะซีเตท (Merck, Germany)
2. เอทานอล (Merck, Germany)
3. เฮกเซน (Merck, Germany)
4. น้ำหอม (Local supermarket, Thailand)
5. น้ำมันกฤษณา (Local supermarket, Thailand)
6. สารมาตรฐานแอลเคน C₈-C₂₀ (Sigma Aldrich, USA)

2.3 วิธีการทดลอง

2.3.1 การเตรียมแผ่น TLC (TLC separation)

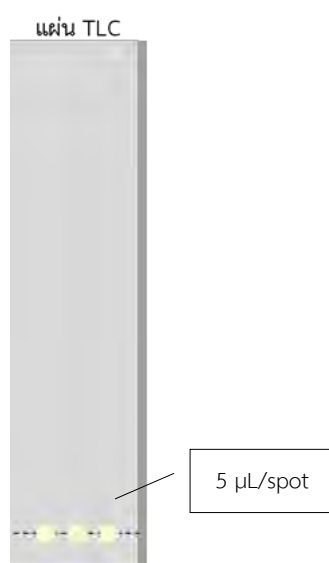
เตรียมแผ่น TLC ตัดด้วยกรรไกรให้มีขนาด ความกว้าง 2.5 ซม. x ความยาว 10 ซม. ดังรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 การเตรียมแผ่น TLC

2.3.2 การเตรียมตัวอย่างผสมน้ำหอมและน้ำมันกฤษณา

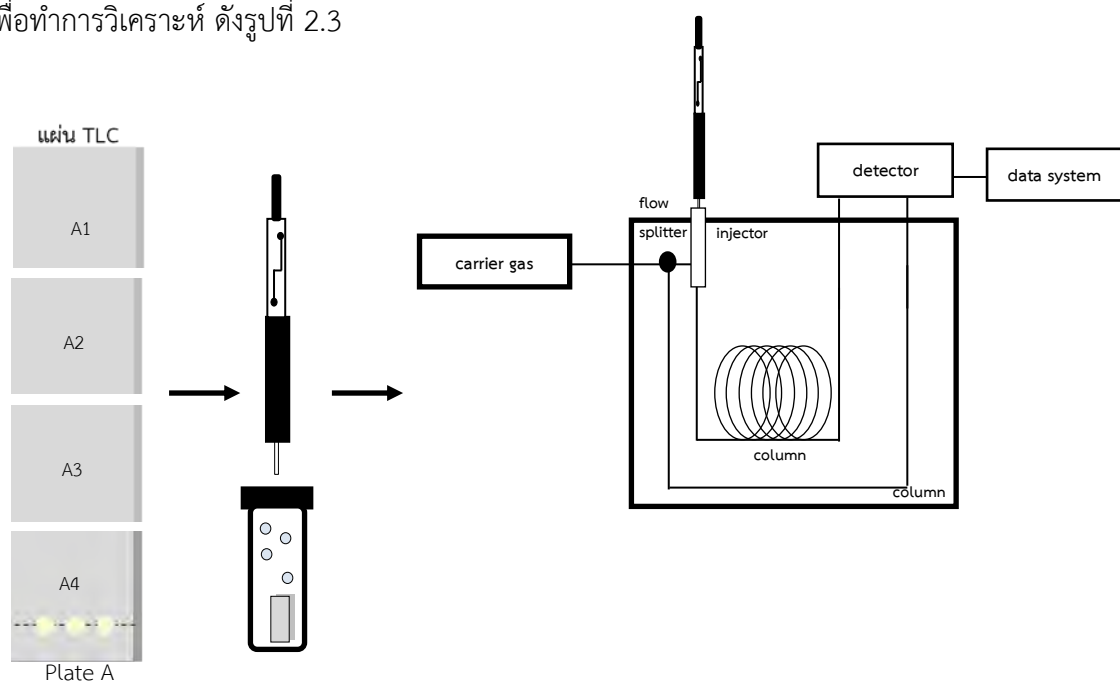
เตรียมตัวอย่างผสมน้ำหอมและน้ำมันกฤษณาโดยอัตราส่วน น้ำหอม 5 μL : น้ำมันกฤษณา 15 μL และ load ตัวอย่างน้ำหอมลงบนแผ่น TLC ด้วยไมโครปิเปตขนาด 20 μL ปริมาตร 5 $\mu\text{L}/\text{spot}$ ทั้งหมด 3 spot ดังรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 การ load ตัวอย่างลงบนแผ่น TLC

2.3.3 การสกัดแยก TLC อย่างเลือกจำเพาะ (Selective TLC extraction)

การแยกตัวอย่างน้ำหอมบนแผ่น TLC ด้วยระบบตัวทำละลายผสม EtOAc : hexane อัตราส่วน 1:6 โดยปริมาตร ในปีกเกอร์และปิดภาชนะด้วยกระจกนาฬิกา เป็นเวลา 10 นาที เมื่อครบกำหนดเวลาทำการตัดแผ่น TLC แบ่งออกเป็น 4 ส่วน แต่ละส่วนยาว 2.5 cm (ให้ชื่อว่าเทคนิค Plate A) แบ่งแต่ละส่วนใส่ขวด vial ขนาด 20 mL ปิดด้วยฝาลูมิเนียมบีบจนแน่นสนิท แยกสกัดแต่ละ fraction ด้วย HS-SPME ที่ผ่านการทำความสะอาด ไฟเบอร์ SPME ก่อนสกัด ให้ความร้อนอุณหภูมิ 80°C (extraction temperature) เป็นเวลา 15 นาที (extraction time) เพื่อให้เกิดสมดุลระหว่างสารตัวอย่างกับไอของสารบริเวณเฮดสเปซ สกัดแยกสารระเหยได้ออกจากตัวอย่างและนำไปฉีดเข้าเครื่อง GC-MS เพื่อทำการวิเคราะห์ ดังรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 ขั้นตอนการสกัดแยก TLC อย่างเลือกจำเพาะ

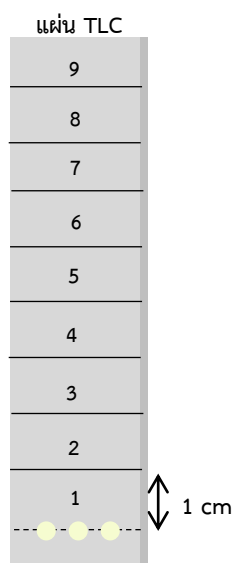
2.3.4 การวิเคราะห์สารระเหยในตัวอย่างน้ำหอมด้วยเครื่อง GC-MS

การคายซับ (desorption) เพื่อให้สารตัวอย่างออกจากไฟเบอร์ นำ holder ดึงออกจากขวดสารตัวอย่างที่สกัดทางผ่านเซปตัมของ injection port ของเครื่อง GC กดปลาย holder เพื่อให้ไฟเบอร์ไพล์ออกจากปลายเข็มก่อนกด start เครื่อง GC ทันที สารที่ถูกดูดซับไว้บนไฟเบอร์จะถูกความร้อนของส่วน injection port ทำให้เกิดการคายซับสารในลักษณะของไอเป็นเวลา 5 นาที (desorption time) แล้วถูกแก๊สตัวพา (helium 99.999%) ของ GC พาเข้าคอลัมน์ (HP-5 MS capillary column (30 m \times 0.25 mm i.d., 0.25 μm film thickness; J&W Scientific, USA) เพื่อให้เกิดการแยก

โดยตั้งสภาวะของเครื่อง GC ดังนี้ อุณหภูมิของ injection port 200 °C อัตราการไหลของแก๊สตัวพา 2.25 mL min⁻¹ โหมดการฉีดสารตัวอย่าง split mode อุณหภูมิของคอลัมน์เป็นแบบ temperature program โดยตั้งอุณหภูมิเริ่มต้นคงที่ที่ 40 °C เป็นเวลา 2 นาที แล้วเพิ่มด้วยอัตราการเพิ่ม 7 °C ต่อนาที จนถึงอุณหภูมิ 260 °C ตรวจวิเคราะห์ด้วย GC-QqQMS (7890A-7000, Agilent technologies Inc.) ส่วนควบคุมการทำงานและประมวลผลข้อมูลและ peak integration โดยโปรแกรม Agilent MassHunter และ โปรแกรม Mass Spectrum Library ของ NIST ที่ใช้สำหรับสืบค้นเปรียบเทียบข้อมูล Mass Spectrum ของสารตัวอย่างกับฐานข้อมูล

2.3.5 การวิเคราะห์ตัวอย่างผสมของน้ำหอมและน้ำมันกฤษณาด้วยเทคนิค TLC โดยการวิเคราะห์โดยตรงด้วย gas analyzer

การศึกษาวินิจฉัยตัวอย่างผสมของน้ำหอมและน้ำมันกฤษณาบนแผ่น TLC โดยตรงด้วย gas analyzer โดยไม่ผ่านเทคนิค HS-SPME ตัวอย่างผสมของน้ำหอมและน้ำมันกฤษณาถูกแยกเบื้องต้นด้วยระบบตัวทำละลายผสม EtOAc : hexane ในอัตราส่วน 1:6 โดยปริมาตร และทำการตัดแผ่น TLC แบ่งออกเป็น ส่วน ๆ แต่ละส่วนยาว 1 cm ทั้งหมด 9 ส่วน นับจากจุดเริ่มต้นในการ load สารตัวอย่างลงบนแผ่น TLC ดังรูปที่ 2.4



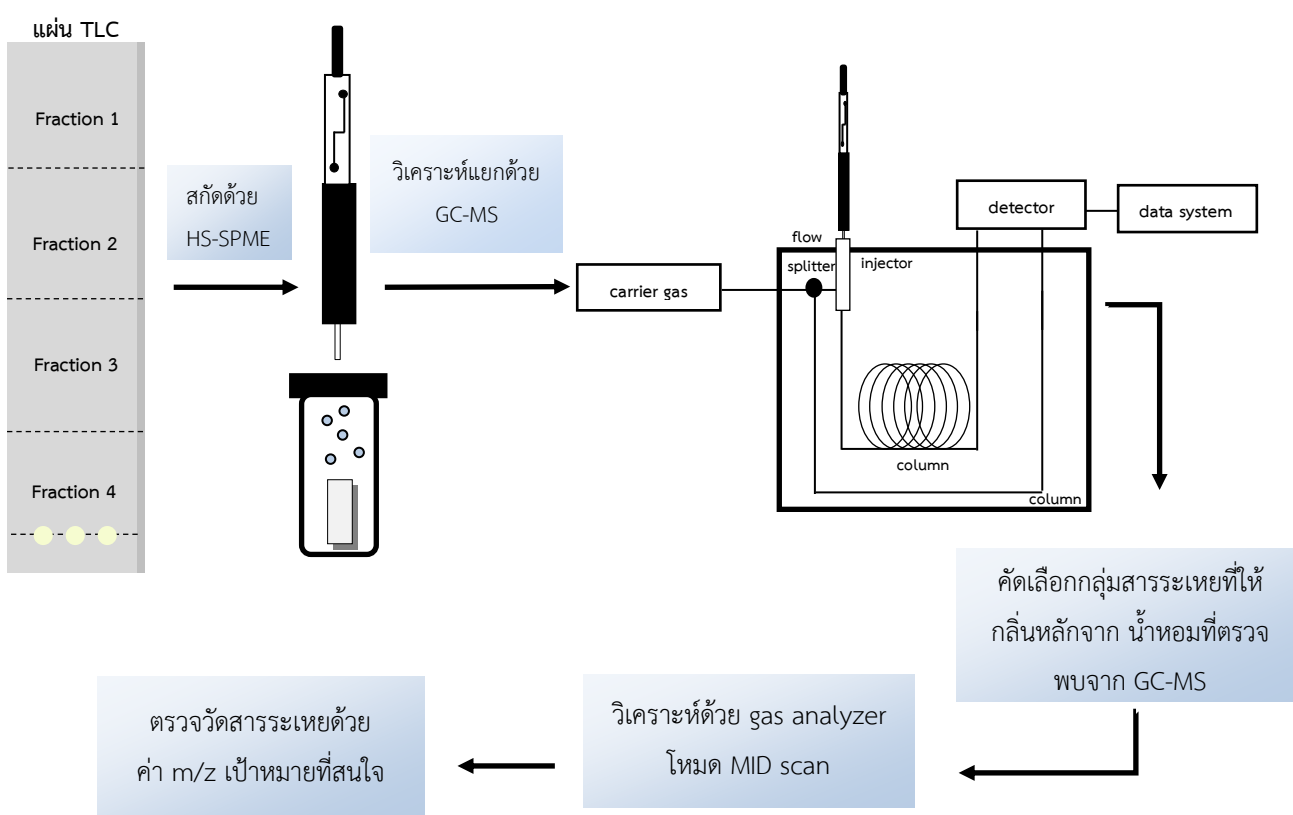
รูปที่ 2.4 การตัดแผ่น TLC แบ่งออกเป็น ส่วน ๆ

การถ่ายโอนส่วนของกลุ่มสารระเหยง่ายจากตัวอย่างผสมของน้ำหอมและน้ำมันกฤษณาบนแผ่น TLC ที่ถูกตัดแบ่งออกเป็น ส่วน ๆ ด้วยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C เข้าไปในส่วนของ QIC capillary ที่ถูกใช้เป็นอินเทอร์เฟซ และเชื่อมต่อโดยตรงกับระบบสุญญากาศของ Hiden gas analysis system และ quadrupole mass analyzer เป็นตัวตรวจวัดในการวิเคราะห์ ดังรูปที่ 2.5



รูปที่ 2.5 การถ่ายโอนส่วนของกลุ่มสารระเหยง่ายจากตัวอย่างผสมของน้ำหอมและน้ำมันกฤษณาบนแผ่น TLC

ทำการคัดเลือกกลุ่มสารระเหยที่สนใจโดยถูกคัดเลือกจาก volatile compound profiles น้ำหอมบนแผ่น TLC ที่ถูกตัดอย่างจำเพาะ 4 ส่วนและแต่ละส่วนยาว 2.5 cm และแยกสกัดแต่ละ fraction ด้วย HS-SPME ในการแยกเอาสารระเหยได้ออกจากตัวอย่าง ซึ่งจะช่วยให้การวิเคราะห์ดีขึ้นในเรื่องของความเลือกจำเพาะ (selectivity) ก่อนนำไปวิเคราะห์แยกด้วย GC-MS และคัดเลือกกลุ่มสารระเหยที่สนใจซึ่งเป็นกลุ่มสารระเหยที่ให้กลิ่นหลักในน้ำหอมที่ตรวจพบจาก GC-MS ในแต่ละ fractions และศึกษาลักษณะกลิ่น ค่า retention time และค่า m/z ของกลุ่มสารระเหยที่สนใจ เพื่อทำการวิเคราะห์โดยตรงด้วย gas analyzer โดยใช้โหมด MID scan (multiple ion detection scan) ในการตรวจวิเคราะห์ m/z เป้าหมายที่มีความสัมพันธ์กับสารระเหยที่สนใจใน HS ของตัวอย่าง ดังรูปที่ 2.6



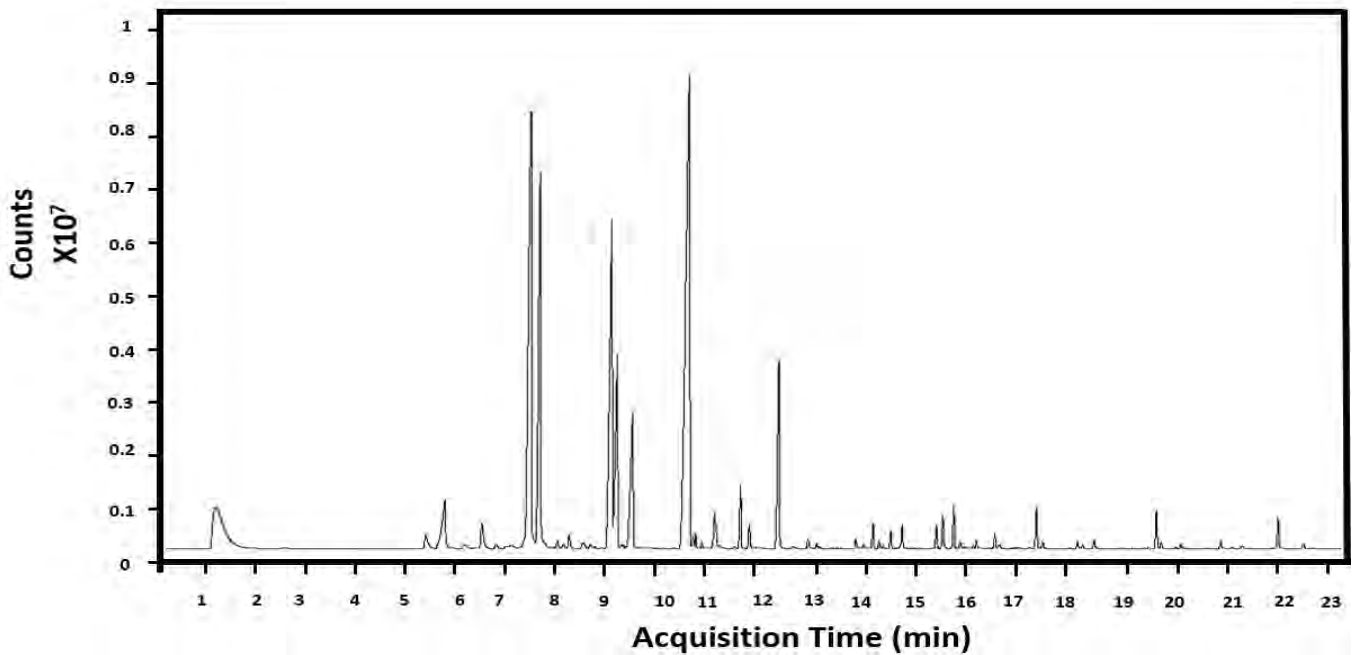
รูปที่ 2.6 ขั้นตอนในการคัดเลือกกลุ่มสารระเหยที่สนใจจาก volatile compound profiles น้ำหอมบนแผ่น TLC ที่ถูกตัดอย่างจำเพาะ 4 ส่วน ที่ตรวจพบจาก GC-MS เพื่อใช้ในการเลือกวิเคราะห์สารระเหยที่สนใจโดยตรงด้วย gas analyzer

บทที่ 3

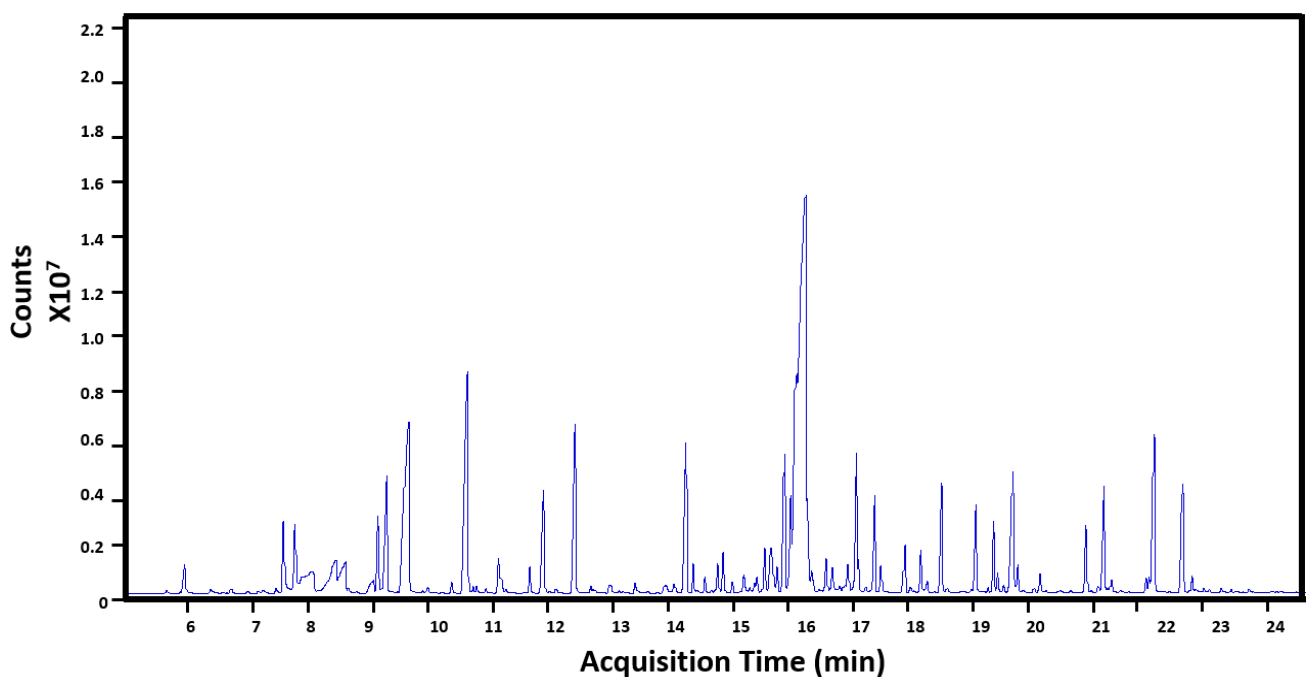
ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

3.1 การประยุกต์ใช้เทคนิค TLC ในการวิเคราะห์ตัวอย่างผสมน้ำหอมและน้ำมันกฤษณาอย่างจำเพาะ

จากการวิเคราะห์ด้วย SPME-GC-MS โดยตรงแสดงให้เห็นถึงการรบกวนของเมทริกซ์จากน้ำมันกฤษณา ทำให้โครมาโทแกรมของน้ำหอม ดังรูปที่ 3.1 (ก) ที่ได้ถูกบดบังโดยพีคของเมทริกซ์ส่งผลเชิงลบต่อการระบุสารประกอบหลายแห่งในตัวอย่างน้ำหอม ดังภาพที่ 3.1 (ข)

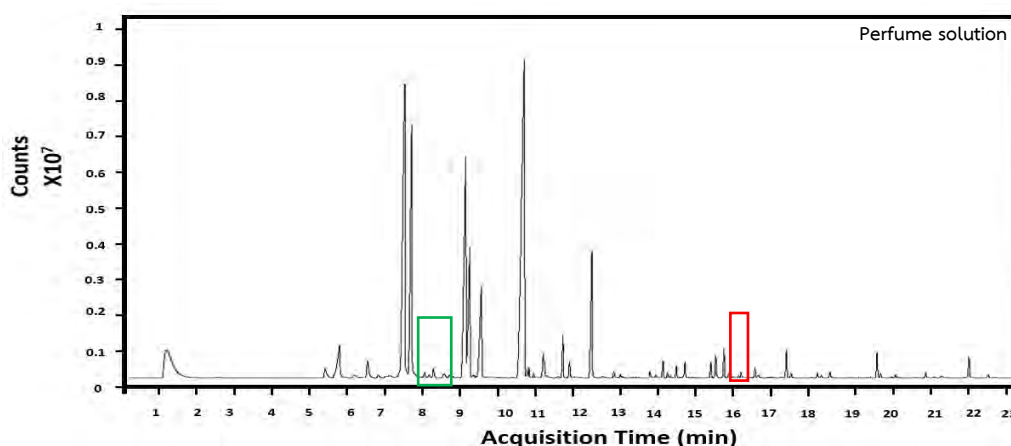


รูปที่ 3.1 (ก) โครมาโทแกรมของน้ำหอม

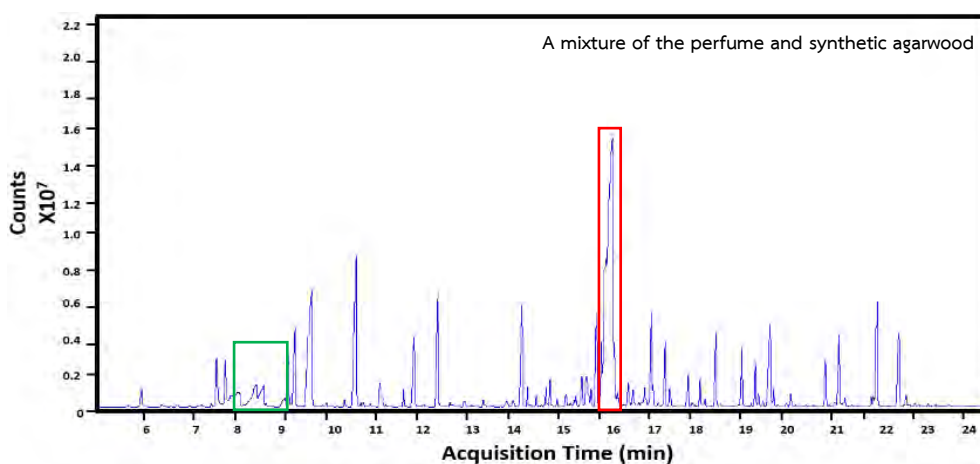


รูปที่ 3.1 (ข) โครมาโทแกรมของตัวอย่างผสมน้ำหอมที่ถูกพีคของเมทริกซ์บดบังจากน้ำมันกฤษณา

สารประกอบในน้ำหอมหลายแห่งที่พีคถูกบดบังจากเมทริกซ์โดยรวมทั้งหมด สารประกอบเหล่านี้คือ Cyclohexene, 1-methyl-5-(1-methylethenyl)-(R)-; 1-Propanol, 2-(2-hydroxypropoxy)-; γ -Terpinene; 7-Octen-2-ol, 2,6-dimethyl- และ 2,4-Heptadienal, 2,4-dimethyl- ดังรูปที่ 3.2 (ก) ในกรอบสีเขียว และ cis-Thujopsene ดังรูปที่ 3.2 (ก) ในกรอบสีแดง ซึ่งเป็นจุดที่ถูกขัดขวางโดยสารประกอบ Limonene และ Linalool ดังรูปที่ 3.2 (ข) ในกรอบสีเขียว และ α -Ionone; α -Guaiene ดังรูปที่ 3.2 (ข) ในกรอบสีแดง จากน้ำมันกฤษณา ตามลำดับ



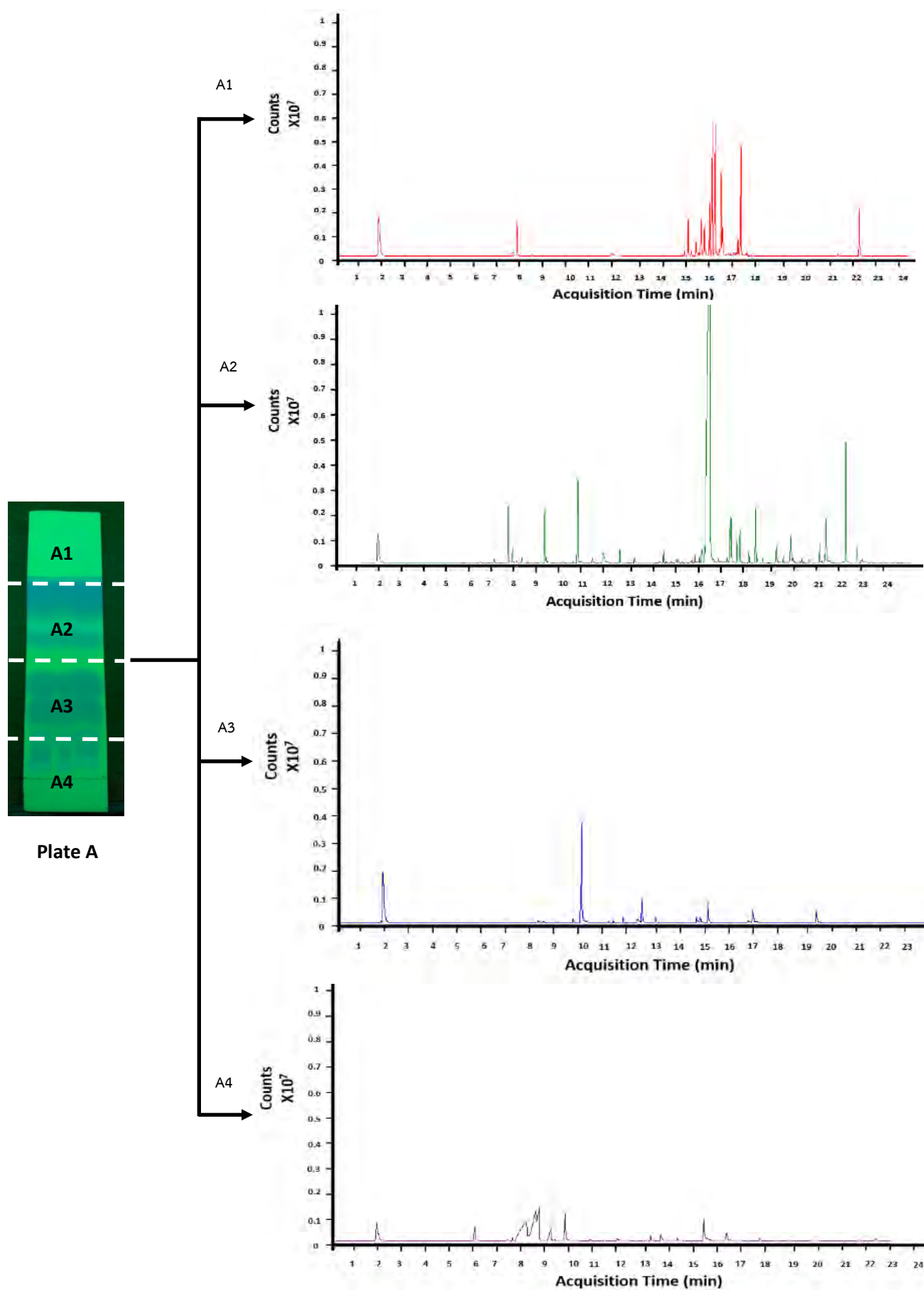
(ก)



(ข)

รูปที่ 3.2 สารประกอบในน้ำหอมหลายแห่งที่ถูกบดบังจากเมทริกซ์ของน้ำมันกฤษณา

จึงได้นำวิธีการ Plate A ที่พัฒนาขึ้นมาใช้ในการสกัดสารประกอบน้ำหอมที่ถูกบดบังจากเมทริกซ์ของน้ำมันกฤษณาด้วยการคัดเลือกก่อนการวิเคราะห์ SPME-GC-MS โดยประยุกต์การตัดแผ่น TLC อย่างจำเพาะ 4 ส่วนที่เท่ากัน หลังจากการแยกด้วยระบบตัวทำละลาย ethylacetate:hexane (1:6) และเรียก TLC แต่ละส่วนว่า A1, A2, A3 และ A4 (ดู Plate A ในส่วนการทดลองข้อ 2.3.3) ผลลัพธ์ดังแสดงในรูปที่ 3.3 เพื่อแสดงให้เห็นถึงการสกัดแบบเลือกอย่างจำเพาะของส่วนประกอบของสารระเหยง่ายตัวอย่างที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับแต่ละส่วนที่ถูกเลือกวิเคราะห์ และได้ volatile compound profiles ดังแสดงในตารางที่ 3.1



รูปที่ 3.3 โครมาโทแกรมของ Plate A แต่ละส่วนถูกวิเคราะห์แยกด้วย HS-SPME และ GC-MS

ตารางที่ 3.1 volatile compound profiles ของสารตัวอย่างผสมน้ำหอมและน้ำมันกฤษณา

Compound	I_{lit}^*	$\log P^{**}$	Odor description	The mixture***	Peak area			
					A1	A2	A3	A4
2-Buten-1-ol, 3-methyl-, acetate	918	1.65	sweet fresh banana fruity	909237				
Butane, 1,4-dioxy-	940	1.84					67889	1702285
Benzaldehyde	962	1.48	strong sharp sweet bitter almond cherry	612118		336057	78610	
Propanoic acid, 3-ethoxy-, ethyl ester	971	1.082		54377				43078
Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-methylethyl)-	974	3.94	woody terpene citrus pine spice	443911	63248	72063		
β -Myrcene	991	4.17	peppery terpene spicy	214126	40184	399808	16336	
Ethanol, 2-(2-ethoxyethoxy)-	1007	-0.54	slightly ethereal	298137				109063
2-Propanol, 1-(2-methoxypropoxy)-	1010	-0.446		507418				311405
Benzene, 1-methoxy-4-methyl-	1021	2.66	naphthyl, phenolic, camphoraceous, minty	6737752	549253	5327321		
Cyclohexanol, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)-, (1 α ,2 α ,5 β)-	1026	3.21	minty menthol spearmint herbal				54352	
Cyclohexene, 1-methyl-5-(1-methylethenyl)-, (R)-	1027	4.449		15508477	3118854	1266613		
Benzyl alcohol	1036	1.1	floral rose phenolic balsamic				341477	
β -Ocimene	1037	4.418	sweet herbal			209053		
1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-, (Z)-	1038	4.19	tropical, green, terpy and woody		17862			
2-Propanol, 1,1'-oxybis-	1038	-0.589	slight alcoholic					10707938
Benzeneacetaldehyde	1045	1.78	honey, floral rose, sweet				162294	
1-Propanol, 2-(2-hydroxypropoxy)-	1046	-0.598	slight alcoholic					17782747
1,3,7-Octatriene, 3,7-dimethyl-	1047	4.142	fruity floral wet cloth				504812	
γ -Terpinene	1060	4.5	terpy, sweet, citrus, with tropical and lime		204747	79517		
7-Octen-2-ol, 2,6-dimethyl-	1064	2.99	fresh citrus lime floral clean cologne weedy	326820			109326	
Propane, 1,1,3-triethoxy-	1076	1.61		6172401				2806591
Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)-	1088	4.47	sweet, fresh, piney citrus, woody		15489	117081		
2,4-Heptadienal, 2,4-dimethyl-	1090	1.891	fatty, green, oily			51659		
Benzoic acid, methyl ester	1094	2.12	phenolic wintergreen almond floral	7029773	69589	4785892		42909
Linalool	1099	2.97	Citrus, orange, floral, terpy, waxy and rose	13963878		291073	459447	11129

(10)

Compound	I _{lit} *	logP**	Odor description	The mixture***	Peak area			
					A1	A2	A3	A4
Phenylethyl Alcohol	1116	1.36	Sweet, floral, fresh, rosey, honey	41618603			10997587	3676680
2,4,6-Octatriene, 2,6-dimethyl-, (E,Z)-	1131	4.392	sweet, floral, nut, herbal tropical			72375		
1,3,3-Trimethylcyclohex-1-ene-4-carboxaldehyde, (+,-)-	1138	2.758		690177		85281		
Bicyclo[3.1.1]heptan-3-ol, 6,6-dimethyl-2-methylene-, [1S-(1 α ,3 α ,5 α)]-	1139	2.379	warm woody balsamic fennel				35350	
Isopulegol	1146	2.724	Minty, cooling, medicinal, woody				11824	
3-Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 1,3,4-trimethyl-	1154	2.758		988164		153041		
Acetic acid, phenylmethyl ester	1164	1.96	weet, fruity and floral	36980130		7797514	165353	117400
Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-	1169	3.216	cooling mentholic minty				257032	
Benzoic acid, ethyl ester	1171	2.640	Sweet, wintergreen, fruity	330730		138466		
Levomenthol	1175	3.400	peppermint cooling mentholic minty	450990				
Bicyclo[3.1.0]hexan-3-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-, [1S-(1 α ,3 α ,4 α ,5 α)]-	1176	2.044	cedarleaf thujonic	304451				
Ethanol, 1-(2-butoxyethoxy)-	1187	1.287						49288
α -Terpineol	1189	2.67	pine terpene lilac citrus woody floral				495155	
L- α -Terpineol	1190	2.67	pine terpene lilac citrus woody floral	4920049				
Methyl salicylate	1192	2.55	wintergreen mint		704071			
Cyclohexanol, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)-	1197	2.613	terpineol lilac				30469	
Dodecane	1200	6.1			62799			
Decanal	1206	3.97	Sweet, aldehydic, orange, waxy and citrus					6190
Benzene, 1,2,4-triethyl-	1207	3.37			25193			
Benzaldehyde, 4-bromo-	1217	2.26			1300269	2611882	514320	623579
Benzene, (2,2-dimethoxyethyl)-	1222	1.692	green foliage floral rosy earthy mushroom	2157633				
Citronellol	1228	3.3	Floral, rosy, sweet, citrus	12460216			1755427	
Neral	1240	3.17	sweet citral lemon peel	330120				9726
Geraniol	1255	3.56	Floral, sweet, rosey, fruity				519703	29199

(10)

Compound	I _{lit} *	logP**	Odor description	The mixture***	Peak area			
					A1	A2	A3	A4
Linalyl acetate	1257	3.93	Sweet, green, floral and spicy with a clean, woody	20878176		1202299		
2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (E)-	1270	3.45	citrus lemon					15873
Cinnamaldehyde, (E)-	1270	1.9	sweet spicy					79745
6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, formate	1276	3.8	Sweet, green, waxy, floral, apricot, citrus, fruity			94902		
Cyclohexanemethanol, 4-hydroxy- α , α ,4-trimethyl-	1279	1.056						421795
Anethole	1286	3.39	sweet anise	1181656		639373		
Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, acetate	1294	4.182	Tea-like, slightly cooling, minty and fruity			32706		
Indole	1295	2.14	floral, slightly naphtha				176241	9135
Propanoic acid, 2-methyl-, phenylmethyl ester	1305	2.861	Sweet, fruity, powdery with tropical woody			26630		
Benzofuran, 2,3-dihydro-2-methyl-	1306	3.22	burnt phenolic					1063864
2-Propen-1-ol, 3-phenyl-, (E)-	1310	1.95	Cinnamon spice, floral, green	1221011			73896	
Cyclohexanol, 4-(1,1-dimethylethyl)-, acetate, trans-	1322	4.23	woody cedar floral oily herbal balsam green fruity			40726		
Piperonal	1330	1.05	Cherry, vanilla, sweet cherry	2512404			517595	17279
Cyclohexene, 4-ethenyl-4-methyl-3-(1-methylethenyl)-1-(1-methylethyl)-, (3R-trans)-	1338	6.446	sweet herbal woody		74376			
Methyl anthranilate	1343	1.88	Fruity, concord grape			229106	419873	247344
α -Cubebene	1351	6.263	herbal waxy		49581			
6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetate	1354	4.220	Floral, rosy, green, fatty, citrus	15936662		1067433		
Eugenol	1357	2.27	Sweet, spicy, clove like, woody	2303507		239463	2045106	11346
1,2,4-Metheno-1H-indene, octahydro-1,7a-dimethyl-5-(1-methylethyl)-, [1S-(1 α ,2 α ,3 α ,4 α ,5 α ,7 α ,8S*)]-	1368	5.864				34132		

(ต่อ)

Compound	I _{lit} *	logP**	Odor description	The mixture***	Peak area			
					A1	A2	A3	A4
4-tert-Butylcyclohexyl acetate	1368	4.23	woody cedar floral oily herbal balsam green fruity	1257444		132835		
1,2,4-Methanoazulene, decahydro-1,5,5,8a-tetramethyl-, [1S-(1 α,2 α,3αβ,4 α,8αβ,9R*)]-	1374	4.732	strong moss woody	214761	180899	32939		
Lavandulyl propionate	1375	2.665	delicate farnesol-like			314491		
Copaene	1376	5.71	woody spicy honey		366033			
4,7-Methanoazulene, 1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro-1,4,9,9-tetramethyl-, [1S-(1 α,4 α,7 α)]-	1381	6.129		3398968	3726963	259233		
Geranyl acetate	1382	4.04	Floral, rosy, waxy, herbal and green	2315222				
Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis(1-methylethenyl)-, [1S-(1 α,2β,4β)]-	1391	5.772	herbal waxy fresh	926432	438877	143723		
Diphenyl ether	1404	4.21	geranium leaf green phenolic			151006		
Vanillin	1404	1.21	sweet vanilla creamy chocolate	2151537			89231	3371933
Longifolene	1405	6.392	sweet woody rose medical fir needle	266330	332113	42995		
1H-3a,7-Methanoazulene, 2,3,4,7,8,8a-hexahydro-3,6,8,8-tetramethyl-, [3R-(3α,3α β,7 β,8a α)]-	1411	6.308	woody cedar sweet fresh	1838772	4021434	426096		
1,8-Nonadiene, 2,7-dimethyl-5-(1-methylethenyl)-	1414	4.75			1242024			
α -lonone	1416	3.995	sweet woody floral	6908246				
Caryophyllene	1419	6.777	Spicy, woody and terpenic		3160344	787463		7227
cis-Thujopsene	1429	6.053		1692269	4203550	645757	16038	3125
Naphthalene, 1-methoxy-	1434	3.45					1280672	1039208
α -Guaiene	1439	6.602	sweet woody balsam peppery	12802357	11611253	1492617		36057
Coumarin	1441	1.39	sweet				281489	
1,1,4,7-Tetramethyl-1a,2,3,4,6,7,7a,7b-octahydro-1H-cyclopropa[e]azulene	1447	4.27			10278514			
4,4-Dimethyl-3-(3-methylbut-3-enylidene)-2-methylenebicyclo[4.1.0]heptane	1455	4.5					11018	
1H-3a,7-Methanoazulene, 2,3,6,7,8,8a-hexahydro-1,4,9,9-tetramethyl-, (1 α,3α α,7 α,8a β)-	1457	6.308			6904401			
Himachala-2,4-diene	1462	6.734			2346781			
3-(4-Isopropylphenyl)-2-methylpropionaldehyde	1466	3.428	floral cyclamen fresh				33272	69091

(ต่อ)

Compound	I _{lit} *	logP**	Odor description	The mixture***	Peak area			
					A1	A2	A3	A4
Azulene, 1,2,3,3a,4,5,6,7-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1R-(1 α,3a β,4 α,7 β)]-	1473	6.895			341447			
α Isomethyl ionone	1480	4.079	woody violet floral	2593305		264325		
(1R,4aS,8aR)-1-Isopropyl-4,7-dimethyl-1,2,4a,5,6,8a-hexahydronaphthalene	1482	6.436			101128			
β -Guaiene	1490	6.333	sweet woody		318865			
Caparratriene	1493	5.28					81974	
Benzohydroxamic acid, 2TMS derivative	1494	3.73						8145
Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-4a,8-dimethyl-2-(1-methylethenyl)-, [2R-(2 α,4a α,8a β)]-	1494	6.409		2891643				
Bicyclo[5.3.0]decane, 2-methylene-5-(1-methylvinyl)-8-methyl-	1495	4.58			268509			
Naphthalene, 1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydro-1,8a-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1S-(1 α,7 α,8a α)]-	1499	6.494	sweet fresh citrus grapefruit woody			417222		
Azulene, 1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1S-(1 α,7 α,8a β)]-	1505	6.628		14832748	1698406	3105452	12427	13994
Butylated Hydroxytoluene	1513	5.1	mild phenolic camphor			2879314		
Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-, (1 α,4a β,8a α)-	1513	6.8	fresh woody		106112			
(2S,4aR,8aR)-4a,8-Dimethyl-2-(prop-1-en-2-yl)-1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydronaphthalene	1517				81956			
1-Penten-3-one, 1-(2,6,6-trimethyl-2-cyclohexen-1-yl)-	1524	4.535	sweet fruity floral	565775				
cis-Calamenene	1531	6.227			77638			
Lilial	1533	4.216	floral green	8819709		1872473	86962	
Benzenemethanol, α -(trichloromethyl)-, acetate	1538	3.527	heavy deep rose floral		1075897			
Isoamyl salicylate	1538	4.37	floral herbal woody orchid metallic	2012349		2999621		
Naphthalene, 1,2,4a,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, [1S-(1 α,4a β,8a α)]-	1538	6.557	woody dry		57602			
1,5-Cyclodecadiene, 1,5-dimethyl-8-(1-methylethylidene)-, (E,E)-	1557	6.388	woody earthy spicy		108114			
2-Buten-1-ol, 2-ethyl-4-(2,2,3-trimethyl-3-cyclopenten-1-yl)-	1559	4.3	woody sandalwood greasy oily waxy				45467	

(ต่อ)

Compound	I _{lit} *	logP**	Odor description	The mixture***	Peak area			
					A1	A2	A3	A4
Anthracene, tetradecahydro-	1561	4.39		834567				
Anisyl butyrate	1569	2.906	buttery anisic floral sweet tropical fruity	4578177				
Tricyclo[4.4.0.0(2,7)]dec-3-ene-3-methanol, 1-methyl-8-(1-methylethyl)-	1574	5.71	woody spicy honey			214184		
Benzoic acid, 2-hydroxy-, pentyl ester	1583	4.561	herbal floral clover azalea green sweet chocolate			4684928		8956
Diethyl Phthalate	1594	2.42		11068293	90667	452091	1195338	37803
Guaiol	1596			352021				
Benzophenone	1635	3.18	balsam rose metallic	9080020		1985911	26007	15309
10,10-Dimethyl-2,6-dimethylenebicyclo[7.2.0]undecan-5 β -ol	1644							7986
Cyclopentaneacetic acid, 3-oxo-2-pentyl-, methyl ester	1649	2.653	Sweet, fruity, floral, citrus	1269281			47371	
Longiverbenone	1649			524349				
Cinnamaldehyde, α -pentyl-	1662	4.357	Sweet, floral, fruity, tropical and green			725330		52878
5-Azulenemethanol, 1,2,3,3a,4,5,6,7-octahydro- α, α,3,8-tetramethyl-, [3S-(3 α,3a β,5 α)]-	1667	4.771	spicy				91645	111576
(-)-Isolongifolol, methyl ether	1672	4.12		15793753		330825		
3,7-Cyclodecadien-1-one, 3,7-dimethyl-10-(1-methylethylidene)-, (E,E)-	1693	4.76		1901418		470987		
(1R,7S,E)-7-Isopropyl-4,10-dimethylenecyclodec-5-enol	1695			372202		92400		
1H-Indene, 2,3-dihydro-1,1,3-trimethyl-3-phenyl-	1714	5.715		338710		365761		
2,6-Diisopropyl-naphthalene	1728	5.09			63211			
Octanal, 2-(phenylmethylene)-	1755	4.866	fresh floral green jasmin herbal waxy	6197035		1714522	33646	24919
Benzyl Benzoate	1762	3.97	faint sweet balsam oily herbal	12987705		3660439	46910	72520
Benzoic acid, 3,4,5-trimethoxy-	1772	1.9			225780			
Cuparenal	1775	6.21			59475			
Ethanone, 1-(2,3,4,7,8,8a-hexahydro-3,6,8,8-tetramethyl-1H-3a,7-methanoazulen-5-yl)-	1780	5.655	woody vetiver amber leather musk cedar	202133				
Isopropyl myristate	1827	7.253	faint oily fatty	18614409	4111485	11146140	59238	205677

(ต่อ)

Compound	I_{lit}^*	$\log P^{**}$	Odor description	The mixture***	Peak area			
					A1	A2	A3	A4
trans- β -Ionone	1846	3.995	floral woody sweet fruity berry tropical beeswax	2523907				
Cyclopenta[<i>g</i>]-2-benzopyran, 1,3,4,6,7,8-hexahydro-4,6,6,7,8,8-hexamethyl-	1851	4.53		15090242	52818	2018107		34013
Benzoic acid, 2-hydroxy-, phenylmethyl ester	1869	4.209	balsam clean herbal oily sweet			260986		
1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester	1870	4.5						24023

* literature retention index (I_{lit})** logarithmic partitioning coefficient ($\log P$)

*** The sample without TLC Plate

แต่ละส่วนที่ถูกเลือกวิเคราะห์เฉพาะส่วนจาก Plate A ดังตารางที่ 3.1 พบว่าสามารถระบุพีคของสารประกอบที่สนใจจากการถูกบดบังได้ ดังนี้ ที่ fraction A1 และ A2 สามารถพบ Cyclohexene, 1-methyl-5-(1-methylethenyl)-,(R)- ที่ fraction A4 สามารถพบ 1-Propanol, 2-(2-hydroxypropoxy)- ที่ fraction A1 และ A2 สามารถพบ γ -Terpinene ที่ fraction A3 สามารถพบ 7-Octen-2-ol, 2,6-dimethyl- ที่ fraction A2 สามารถพบ 2,4-Heptadienal, 2,4-dimethyl- และที่ fraction A1-A4 สามารถพบ cis-Thujopsene แต่ส่วนใหญ่จะปรากฏพีคที่ fraction A1

จะเห็นได้ว่าการถูกสกัดแบบคัดเลือกวิเคราะห์ สามารถแยกระบุพีคที่สนใจได้สำเร็จ จากเดิมที่มีผลการรบกวนของเมทริกซ์จากกฤษณานั้นไม่สามารถพบพีคของสารดังกล่าว แต่ด้วย method ที่พัฒนาขึ้นทำให้สามารถพบพีคของสารประกอบที่ถูกบดบัง ตามที่กล่าวข้างบนได้

3.2 การวิเคราะห์ตัวอย่างผสมของน้ำหอมและน้ำมันกฤษณาบน TLC โดยตรงด้วย gas analyzer

การวิเคราะห์ด้วย gas analyzer เพื่อแสดงวิธีการสกัด TLC โดยตรงแบบไม่ใช้ HS-SPME โดยการถ่ายโอนของกลุ่มสารระเหยง่ายจากตัวอย่างผสมน้ำหอมและน้ำมันกฤษณาบนแผ่น TLC ที่ถูกเลือกตัดจำเพาะหลังจากถูกแยก (ดูในส่วนการทดลองข้อ 2.3.5) เข้าไปใน QIC capillary ที่ถูกใช้เป็นอินเทอร์เฟสจากนั้นสารสกัดจะถูกดูดเข้าสู่ระบบสุญญากาศของ Hiden gas analysis system โดยตรงพร้อมวิเคราะห์และระบุกลุ่มสารด้วย quadrupole mass analyzer

การศึกษาคัดเลือกรูปแบบการระเหยที่สนใจจาก volatile compound profiles ของตัวอย่างน้ำหอมผสมน้ำมันกฤษณาบนแผ่น TLC ที่ตรวจพบจาก GC-MS ในแต่ละ fractions เพื่อใช้เป็นโปรไฟล์ในการสกัด TLC โดยตรง ได้ผลการศึกษาดังตารางที่ 3.2 โดยกลุ่มสารที่สนใจเป็นสารระเหยที่หนักเป็นหลัก ๆ ที่พบในตัวอย่าง

ตารางที่ 3.2 กลุ่มสารระเหยที่สนใจและให้กลิ่นหลักในตัวอย่างผสมน้ำหอมและน้ำมันกฤษณาที่ตรวจพบจาก GC-MS ในแต่ละ fractions

All Fraction ^a			
Compound	Odor description	m/z	time (min)
β -Pinene	peppery terpene spicy	136.234	6.951
Benzene, 1-methoxy-2-methyl-	sweet nutty floral earthy walnut	122.167	7.547
3-Carene	citrus terpenic herbal pine	136.238	7.737
Benzoic acid, methyl ester	phenolic wintergreen almond floral	136.150	9.111
Linalool	citrus orange floral terpy waxy rose	154.249	9.202
Acetic acid, phenylmethyl ester	sweet floral fruity jasmin fresh	150.177	10.544
Anethole	sweet anise licorice medicinal	148.205	13.006
Indole	pungent floral slightly naphtha	117.148	13.217
Benzofuran, 2,3-dihydro-2-methyl-	burnt phenolic	134.175	13.408
Methyl anthranilate	fruity grape orange flower neroli	151.165	14.072
6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetate	Floral rosy green fatty citrus	198.302	14.250
Eugenol	Sweet spicy clove woody	164.204	14.370
2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetate, (Z)-	floral rosy sweet soapy citrus	196.289	14.820
Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis(1-methylethenyl)-, [1S-(1 α ,2 β ,4 β)]-	herbal waxy fresh	204.351	15.058
Vanillin	sweet vanilla creamy chocolate	152.1473	15.182
1H-3a,7-Methanoazulene, 2,3,4,7,8,8a-hexahydro-3,6,8,8-tetramethyl-, [3R-(3 α ,3a β ,7 β ,8a α)]-	woody cedar sweet fresh	204.356	15.475
Caryophyllene	sweet woody spice clove dry	204.356	15.598
Azulene, 1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1S-(1 α ,7 α ,8a β)]-	weet woody dry guaiacwood spicy	204.3511	17.123
Butylated Hydroxytoluene	mild phenolic camphor	220.355	17.181
Lilial	floral muguet watery green	204.312	17.419
Isoamyl salicylate	floral herbal woody orchid metallic	208.257	17.552
Benzoic acid, 2-hydroxy-, pentyl ester	herbal floral clover azalea green sweet chocolate	208.254	18.223
Benzophenone	balsam rose metallic powdery geranium	182.222	19.132
Benzyl Benzoate	Sweet balsamic floral with fruity	212.248	21.271
Isopropyl myristate	oily fatty	270.456	22.121

All Fraction^a = total TLC plates

Fraction A1 ^b			
Compound	Odor description	m/z	time (min)
Benzene, 1-methoxy-4-methyl-	naphthyl phenolic camphoraceous minty	122.164	7.551
γ -Terpinene	terpy sweet citrus with tropical and lime	136.234	8.361
Copaene	woody spicy honey	204.356	14.778
Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis(1-methylethenyl)-, [1S-(1 α ,2 β ,4 β)]-	herbal waxy fresh	204.351	15.062
Longifolene	sweet woody rose medical fir needle	204.351	15.364

(ต่อ)

Fraction A1			
Compound	Odor description	m/z	time (min)
1H-3a,7-Methanoazulene, 2,3,4,7,8,8a-hexahydro-3,6,8,8-tetramethyl-, [3R-(3 α ,3a β ,7 β ,8a α)]-	woody cedar sweet fresh	204.351	15.485
Caryophyllene	spicy, woody and terpenic	204.351	15.607
α -Guaiene	sweet woody balsam peppery	204.351	15.948
β -Guaiene	sweet woody	204.351	16.846
Isopropyl myristate	faint oily fatty	270.451	22.114

Fraction A1^b = the sample of TLC Plate A1

Fraction A2 ^c			
Compound	Odor description	m/z	time (min)
Benzaldehyde	strong sharp sweet bitter almond cherry	106.121	6.341
β -Myrcene	peppery terpene spicy	136.234	6.948
Benzene, 1-methoxy-4-methyl-	naphthyl, phenolic, camphoraceous, minty	122.164	7.544
B-Ocimene	sweet herbal	136.234	7.912
1,3,7-Octatriene, 3,7-dimethyl-	fruity floral wet cloth	136.234	8.132
Benzoic acid, methyl ester	phenolic wintergreen almond floral	136.148	9.117
Linalool	citrus, orange, floral, terpy, waxy and rose	154.249	9.201
Acetic acid, phenylmethyl ester	sweet, fruity and floral	150.175	10.558
Methyl salicylate	wintergreen mint	152.417	11.188
Linalyl acetate	sweet, green, floral and spicy with a clean, woody	196.286	12.382
Anethole	sweet anise	148.202	13.002
Methyl anthranilate	fruity, concord grape	151.163	14.082
6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetate	floral, rosy, green, fatty, citrus	198.302	14.251
Eugenol	sweet, spicy, clove like, woody	164.201	14.377
4-tert-Butylcyclohexyl acetate	woody cedar floral oily herbal balsam green fruity	198.302	14.595
Caryophyllene	spicy, woody and terpenic	204.351	15.597
α -Guaiene	sweet woody balsam peppery	204.351	15.921
Naphthalene, 1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydro-1,8a-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1S-(1 α ,7 α ,8a α)]-	sweet fresh citrus grapefruit woody	204.351	17.007
Butylated Hydroxytoluene	mild phenolic camphor	220.350	17.187
Lilial	floral green	204.312	17.428
Isoamyl salicylate	floral herbal woody orchid metallic	208.254	17.558
Benzenemethanol, α -(trichloromethyl)-, acetate	heavy deep rose floral	267.536	17.945
Benzoic acid, 2-hydroxy-, pentyl ester	herbal floral clover azalea green sweet chocolate	208.254	18.233
Benzophenone	balsam rose metallic powdery geranium	182.222	19.127
Cinnamaldehyde, α -pentyl-	sweet, floral, fruity, tropical and green	202.292	19.426
Octanal, 2-(phenylmethylene)-	sweet, floral, green, citrus and fruity	216.319	20.991
Benzyl Benzoate	faint sweet balsam oily herbal	212.248	21.274
Isopropyl myristate	faint oily fatty	270.451	22.131
Cyclopenta[g]-2-benzopyran, 1,3,4,6,7,8-hexahydro-4,6,6,7,8,8-hexamethyl-	strong diffusive sweet floral musk	258.404	22.607

Fraction A2^c = the sample of TLC Plate A2

(ต่อ)

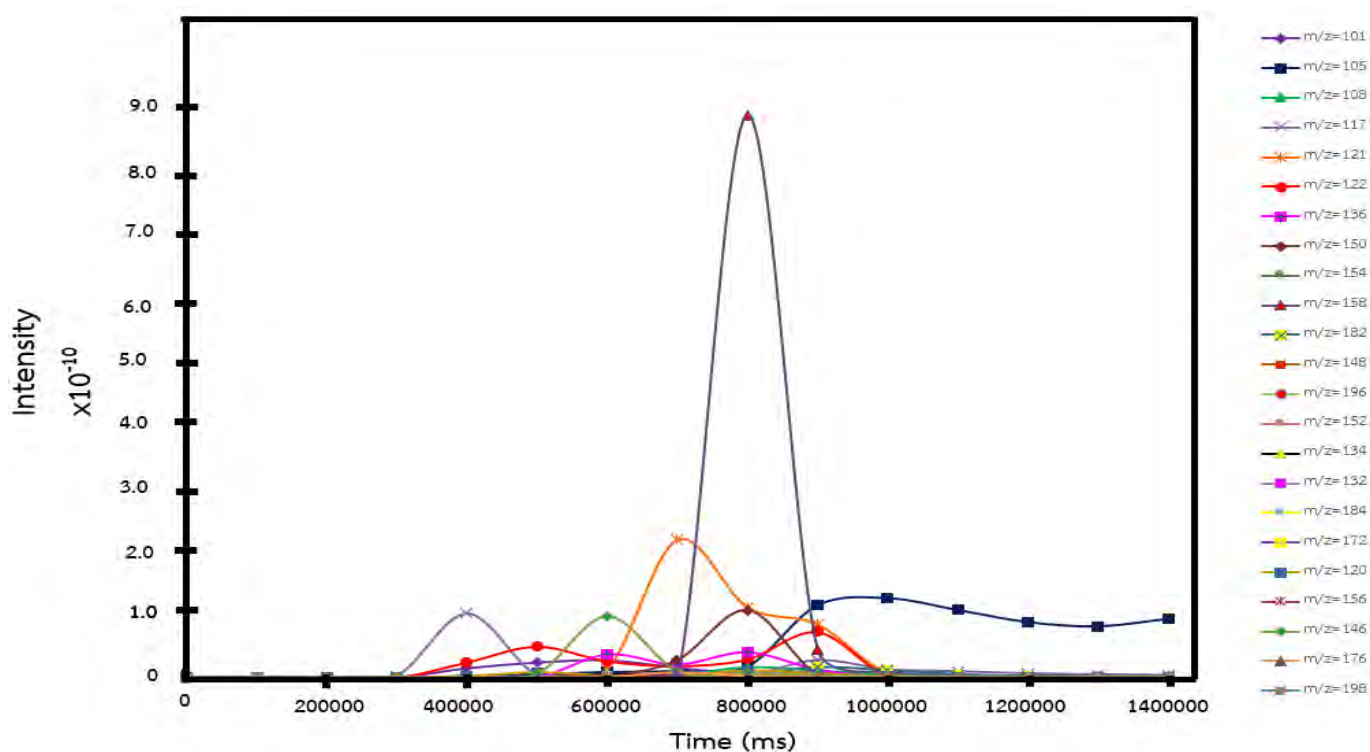
Fraction A3 ^d			
Compound	Odor description	m/z	time (min)
Benzene, 1-methoxy-4-methyl-	naphthyl, phenolic, camphoraceous, minty	122.164	7.561
Benzyl alcohol	floral rose phenolic balsamic	108.138	7.839
Benzeneacetaldehyde	Honey, floral rose, sweet	120.149	8.028
7-Octen-2-ol, 2,6-dimethyl-	fresh citrus lime floral clean cologne weedy	156.265	8.607
Linalool	citrus, orange, floral, terpy, waxy and rose	154.249	9.198
Phenylethyl Alcohol	sweet, floral, fresh, rosey, honey	122.164	9.530
Acetic acid, phenylmethyl ester	sweet, fruity and floral	150.175	10.546
Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-	cooling mentholic minty	156.265	10.735
α -Terpineol	pine terpene lilac citrus woody floral	154.253	11.105
Citronellol	floral, rosy, sweet, citrus	156.265	11.836
Geraniol	floral, sweet, rosey, fruity	154.249	12.354
Indole	floral, slightly naphtha	117.148	13.179
Piperonal	cherry, vanilla, sweet cherry	150.131	13.931
Methyl anthranilate	fruity, concord grape	151.163	14.07
Eugenol	sweet, spicy, clove like, woody	164.201	14.369
Vanillin	sweet vanilla creamy chocolate	152.147	15.281
Coumarin	sweet hay	146.143	15.898

Fraction A3^d = the sample of TLC Plate A3

Fraction A4 ^e			
Compound	Odor description	m/z	time (min)
Ethanol, 2-(2-ethoxyethoxy)-	slightly ethereal	134.174	7.203
2-Propanol, 1,1'-oxybis-	slight alcoholic	134.174	7.901
1-Propanol, 2-(2-hydroxypropoxy)-	slight alcoholic	134.174	8.511
Benzoic acid, methyl ester	phenolic wintergreen almond floral	136.148	9.126
Linalool	citrus, orange, floral, terpy, waxy and rose	154.249	9.222
Phenylethyl Alcohol	sweet, floral, fresh, rosey, honey	122.164	9.542
Acetic acid, phenylmethyl ester	sweet, fruity and floral	150.175	10.547
Benzofuran, 2,3-dihydro-2-methyl-	burnt phenolic	134.175	13.416
Methyl anthranilate	fruity, concord grape	151.163	14.088
Vanillin	sweet vanilla creamy chocolate	152.147	15.157
5-Azulenemethanol, 1,2,3,3a,4,5,6,7-octahydro- $\alpha,\alpha,3,8$ -tetramethyl-, [3S-(3 $\alpha,3\alpha\beta,5\alpha$)]-	spicy	222.366	19.742
Isopropyl myristate	faint oily fatty	270.451	22.111

Fraction A4^e = the sample of TLC Plate A4

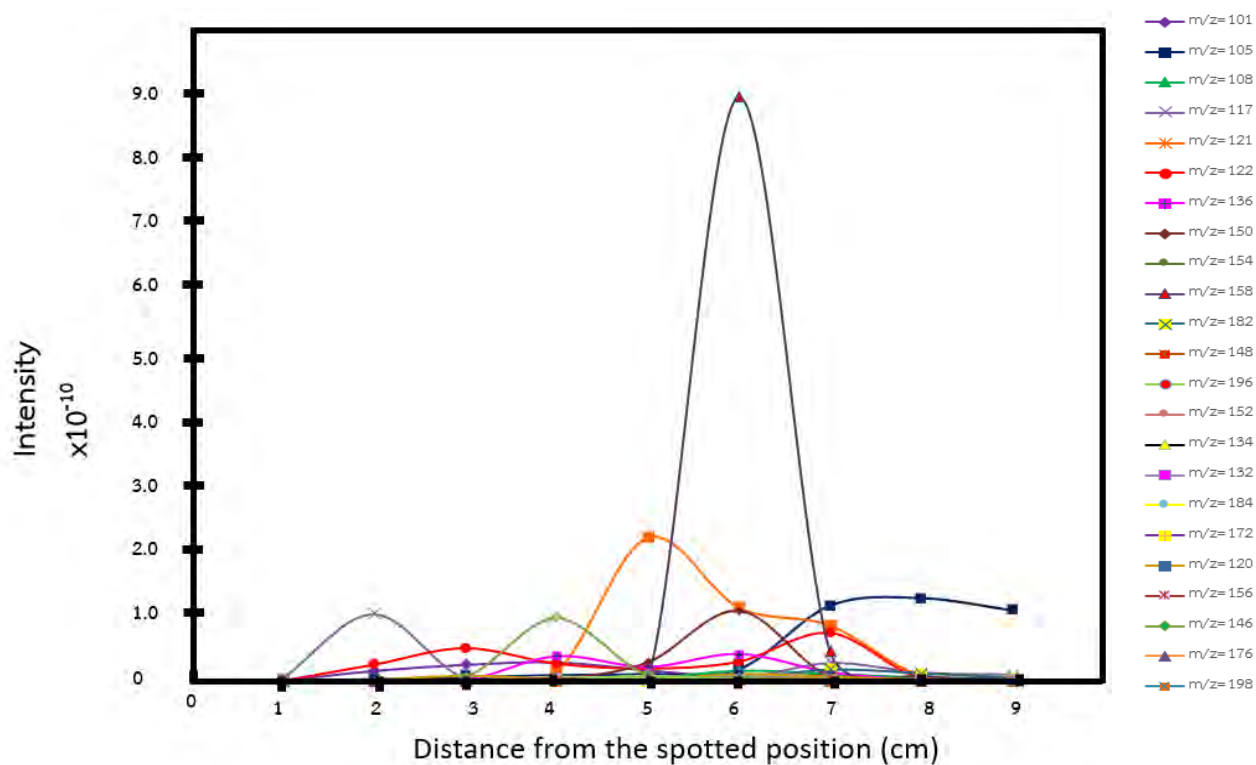
ผลการศึกษารันตัวอย่างบนแผ่น TLC ที่ระยะทางต่างๆทุกๆ 1 cm บนแผ่น TLC (9 ส่วน) ซึ่งถูกตัดแยกก่อนการตรวจวัดด้วย gas analyzer โดยตรงด้วยโหมด MID scan เพื่อตรวจวัดค่า m/z เป้าหมายที่ซึ่งสัมพันธ์กับสารระเหยกลุ่มที่สนใจจากตารางที่ 3.2 ได้ผลลัพธ์ ดังแสดงในรูปที่ 3.4 พบค่า m/z ที่ตรวจวัดได้ดังนี้ 101, 105, 108, 117, 120, 121, 122, 132, 134, 136, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 172, 182, 184, 196 และ 198



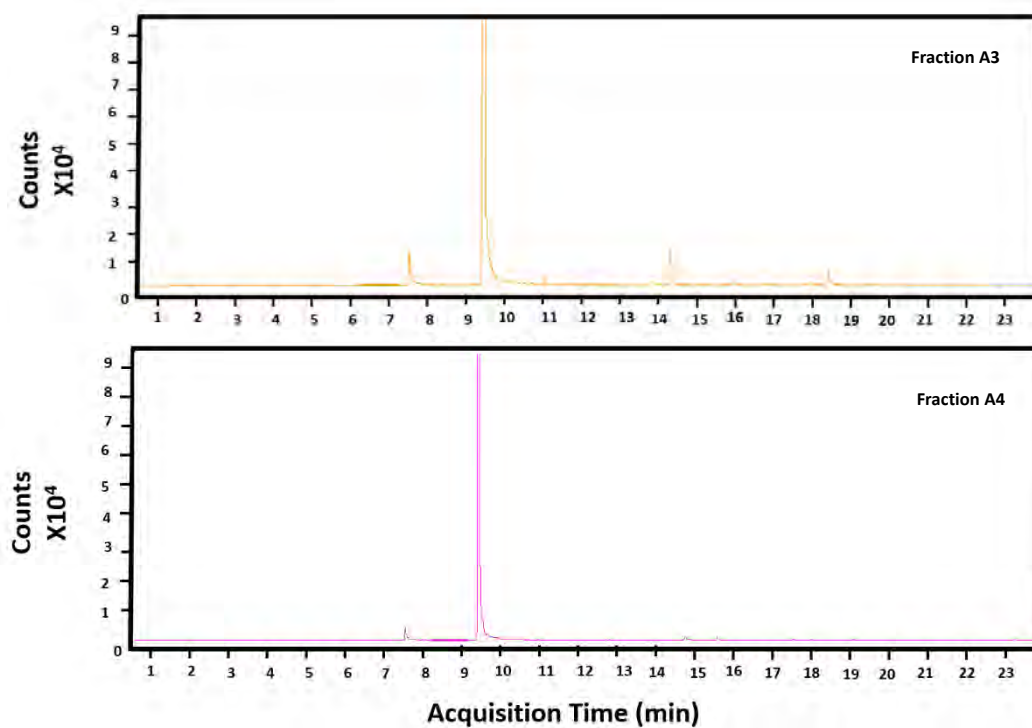
รูปที่ 3.4 intensity profile ของ m/z ของ 101, 105, 108, 117, 120, 121, 122, 132, 134, 136, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 172, 176, 182, 184, 196, 198 ที่ตรวจวัดจากตัวอย่างด้วย gas analyzer ของทุกแผ่น TLC (9ส่วน)

จากการศึกษาค่า m/z ที่สนใจนั้นมีได้หลายสารใน GC-MS ที่มีค่า m/z ซ้ำกันแต่เป็นสารคนละชนิด ดังนั้นแล้วค่า m/z ที่ตรวจวัดได้จาก gas analyzer จึงไม่สามารถระบุได้อย่างแน่ชัดว่าค่า m/z ดังกล่าวเป็นสารชนิดใด จึงมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อระบุค่า m/z ที่ซ้ำเป็นของสารชนิดใด โดยการเทียบตำแหน่งที่ถูกตรวจวัดกลุ่มสารตัวอย่างดังกล่าวบนแผ่น TLC ในแต่ละ fraction ควบคู่กับการทำ extracted ion chromatogram (EIC) จาก GC-MS

ตัวอย่างเช่น Benzene, 1-methoxy-2-methyl-, Benzene, 1-methoxy-4-methyl- และ Phenylethyl Alcohol พบว่ามีค่า $m/z = 122$ เท่ากันจาก GC-MS และ gas analyzer สามารถตรวจพบค่ามวล $m/z = 122$ ได้ที่ความยาว 2-7 cm ของแผ่น TLC เวลาที่ถูกตรวจพบ 6.59-15.39 นาที หรือที่ fraction A1-A4 จาก GC-MS ได้ผลลัพธ์ดังรูปที่ 3.5 เมื่อทำ EIC ที่ $m/z = 122$ ของทุก fraction จาก GC-MS ได้ผลดังรูปที่ 3.6



รูปที่ 3.5 การเทียบตำแหน่งที่ถูกตรวจวัดกลุ่มสารตัวอย่างบนแผ่น TLC โดยแบ่งระยะทางทุกๆ 1 cm



รูปที่ 3.6 EIC ของ $m/z=122$ จาก GC-MS

จาก EIC พบว่าค่า $m/z = 122$ ให้พื้นที่พีคมากที่สุด ที่ acquisition time เท่ากับ 9.53 และ 9.54 นาที จาก fraction A3 และ A4 ตามลำดับ ซึ่งหากเทียบเวลาและ fraction ในการตรวจวัดจากตารางที่ 3.2 การตรวจพบสารที่มีค่า $m/z = 122$ จะทำให้ความน่าจะเป็นของค่า $m/z = 122$ คือ Phenylethyl alcohol

จากการวิเคราะห์ดังกล่าวเพื่อแสดงให้เห็นถึงการศึกษาสารที่สนใจโดยสามารถตัดแผ่น TLC หลังถูกแยก เลือก fraction เฉพาะส่วนที่มีกลุ่มสารที่สนใจไปวิเคราะห์โดยตรงด้วย gas analyzer ที่มีความจำเพาะ และค่า m/z โดยไม่ผ่าน HS-SPME และ GC-MS ซึ่งเป็นการประหยัดเวลาและลดความซับซ้อนในการวิเคราะห์

บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองเพื่อพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ที่ง่ายและมีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์และแยกสิ่งรบกวนต่อการวิเคราะห์หาค่าองค์ประกอบทางเคมีและสารระเหยง่ายในตัวอย่งน้ำหอมด้วยเทคนิค Thin layer chromatography (TLC) เมื่อประยุกต์วิธีการวิเคราะห์ดังกล่าวกับตัวอย่างผสมน้ำหอมและน้ำมันกฤษณาสังเคราะห์ พบว่าสารระเหยง่ายทั้งหมดในน้ำหอมที่พีคถูกเมทริกซ์บดบังโดยรวมทำให้ยากต่อการตรวจพบ คือ Cyclohexene, 1-methyl-5-(1-methylethenyl)-(R)-; 1-Propanol, 2-(2-hydroxypropoxy)-; γ -Terpinene; 7-Octen-2-ol, 2,6-dimethyl-, 2,4-Heptadienal, 2,4-dimethyl- และ cis-Thujopsene แต่เมื่อนำวิธีการสกัดวิเคราะห์แบบคัดเลือกอย่างจำเพาะแผ่น TLC ทำให้ระบุพบสารระเหยตัวอย่างที่พีคถูกเมทริกซ์บดบังในแต่ละ fraction ซึ่งลดความซับซ้อนของตัวอย่างจากเมทริกซ์ลงก่อนการวิเคราะห์ด้วย SPME-GC-MS และสามารถระบุชนิดของสารประกอบที่ถูกเมทริกซ์บดบังได้สำเร็จ

การนำเทคนิค gas analyzer มาวิเคราะห์บนแผ่น TLC โดยไม่ผ่าน HS-SPME นั้นเป็นการเสนอแนวทางในการวิเคราะห์สารประกอบให้กลิ่นเป้าหมายบนแผ่น TLC โดยตรง พบว่าสามารถวิเคราะห์สารที่สนใจโดยใช้ค่าสัญญาณ m/z ที่ถูกตรวจพบจาก gas analyzer และการตัด TLC เฉพาะบริเวณที่มีสารที่สนใจทำให้การวิเคราะห์สารที่สนใจมีความ selective มากขึ้นจัดเป็น method ที่ง่ายภายในเวลาอันรวดเร็วและใช้เครื่องมือราคาถูก

เอกสารอ้างอิง

- [1] Abedi, G., Talebpour, Z., Jamechenarboo, F., The survey of analytical methods for sample preparation and analysis of fragrances in cosmetics and personal care products, *Trends in Analytical Chemistry*, 2018, 102, 41-59.
- [2] Chisvert, A., Salvador, A., 6.1. Perfumes in Cosmetics. Regulatory Aspects and Analytical Methods for Fragrance Ingredients and other Related Chemicals in Cosmetics, in A. Salvador and A. Chisvert (Eds.), *Analysis of Cosmetic Products*, Elsevier B.V., Amsterdam, 2007, pp. 243-256.
- [3] พรรณพร กะตะจิตต์. (2016). บทความเคมี: เคมีของน้ำหอม. SCIMATH: คลังความรู้ SciMath. Retrieved from. <https://www.scimath.org/article-chemistry/item/7851-2018-02-22-02-20-01> (accessed 08.02.20).
- [4] แม้น อมรสิทธิ์ และคณะ, หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ Principles and Techniques of Instrumental Analysis PART II Chromatography and Others, บริษัทชวณพิมพ์, กรุงเทพมหานคร, 2555.
- [5] Sajewicz, M., Wojtal, Ł., Natić, M., Staszek, D., Waksmundzka-Hajnos, M., Kowalska, T., TLC-MS VERSUS TLC-LC-MS FINGERPRINTS OF HERBAL EXTRACTS. PART I. ESSENTIAL OILS, *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 2011, 34(10-11), 848-863.
- [6] Sajewicz, M., Staszek, D., Natić, M., Wojtal, Ł., Waksmundzka-Hajnos, M., Kowalska, T., TLC-MS VERSUS TLC-LC-MS FINGERPRINTS OF HERBAL EXTRACTS. PART II. PHENOLIC ACIDS AND FLAVONOIDS, *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 2011, 34(10-11), 864-887.
- [7] Wojtanowski, K. K., Mroczek, T., Study of a complex secondary metabolites with potent anti-radical activity by two dimensional TLC/HPLC coupled to electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry and bioautography, *Analytical Chimica Acta*, 2018, 104-115.

- [8] Gherghel, S., Morgan, R. M., Arrebola-Liébanas, J., Romero-González, R., Blackman, C. S., Garrido-Frenich, A., Parkin, I. P., Development of a HS-SPME/GC–MS method for the analysis of volatile organic compounds from fabrics for forensic reconstruction applications, *Forensic Science International*, 2018, 290, 207-218.
- [9] Rey, A., Corbi, E., Pérès, C., David, N., Determination of suspected fragrance allergens extended list by two-dimensional gas chromatography–mass spectrometry in ready-to-inject samples, *Journal of Chromatography A*, 2015, 1404, 95–103.
- [10] Cordero, C., Bicchi, C., Joulain, D., Rubiolo, P., Identification, quantitation and method validation for the analysis of suspected allergens in fragrances by comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled with quadrupole mass spectrometry and with flame ionization detection, *Journal of Chromatography A*, 2007, 1150, 37–49.

ภาคผนวก

ตารางที่ ก-1 intensity และ elapsed time และ m/z ของสารตัวอย่างผสมน้ำหอมและน้ำมันกฤษณาที่ตรวจวัดด้วย gas analyzer

Elapsed time (min)	Time (ms)	TLC length	m/z=101	m/z=105	m/z=108	m/z=117	m/z=121	m/z=122	m/z=136	m/z=150
0:00:03	3786	0.00	-6.77E-14	1.74E-13	1.28E-13	2.15E-13	1.34E-13	-7.42E-14	-1.55E-13	-1.88E-13
0:01:47	107765	0.00	-2.55E-13	1.82E-13	3.33E-14	6.02E-14	-8.71E-14	-1.14E-13	-7.53E-15	-2.82E-13
0:03:31	211745	0.00	-9.46E-14	-6.45E-15	2.35E-13	1.08E-13	-1.29E-14	-4.09E-14	-3.33E-14	3.98E-14
0:05:15	315655	1.00	1.08E-13	4.30E-13	1.88E-13	3.39E-12	1.88E-13	4.50E-13	1.01E-13	2.23E-13
0:06:59	419635	2.00	1.51E-11	2.79E-12	4.16E-13	1.02E-10	7.05E-13	2.48E-11	2.96E-13	3.02E-13
0:08:43	523615	3.00	2.46E-11	5.54E-12	1.42E-12	3.94E-12	2.80E-12	4.99E-11	8.80E-13	1.95E-13
0:10:27	627595	4.00	2.83E-11	9.18E-12	1.89E-12	3.22E-12	1.44E-11	2.66E-11	3.76E-11	2.38E-12
0:12:11	731645	5.00	1.61E-11	1.09E-11	3.85E-12	3.86E-12	2.19E-10	1.90E-11	2.13E-11	2.77E-11
0:13:55	835555	6.00	5.56E-12	1.82E-11	1.67E-11	3.29E-12	1.12E-10	2.95E-11	4.10E-11	1.07E-10
0:15:39	939535	7.00	9.44E-12	1.15E-10	1.13E-11	2.76E-11	8.52E-11	7.30E-11	1.32E-11	5.90E-12
0:17:23	1043725	8.00	4.44E-12	1.26E-10	5.23E-12	1.30E-11	7.96E-12	3.21E-12	1.57E-12	2.14E-12
0:19:07	1147635	9.00	3.36E-12	1.08E-10	2.34E-12	9.86E-12	3.20E-12	1.48E-12	1.01E-12	1.10E-12
0:20:51	1251685	0.00	2.27E-12	8.85E-11	2.45E-12	6.52E-12	1.67E-12	1.21E-12	5.38E-13	4.77E-13
0:22:35	1355595	0.00	2.51E-12	8.18E-11	1.79E-12	4.96E-12	1.04E-12	9.74E-13	4.36E-13	5.85E-13
0:24:19	1459645	0.00	2.37E-12	9.36E-11	1.56E-12	3.90E-12	1.09E-12	1.41E-12	2.01E-13	2.62E-13

Elapsed time (min)	Time (ms)	TLC length	m/z=154	m/z=158	m/z=182	m/z=148	m/z=196	m/z=152	m/z=134	m/z=132
0:00:03	3786	0.00	-1.41E-13	-6.02E-14	1.88E-13	1.69E-13	3.44E-14	0.00E+00	1.88E-13	1.55E-13
0:01:47	107765	0.00	-4.62E-14	2.55E-13	2.76E-13	6.77E-14	6.77E-14	-2.56E-13	1.95E-13	3.49E-13
0:03:31	211745	0.00	-4.73E-14	-2.09E-13	3.33E-14	-2.82E-13	4.09E-14	-1.47E-13	-1.29E-14	3.02E-13
0:05:15	315655	1.00	2.35E-13	-6.67E-14	4.09E-14	-1.15E-13	3.33E-14	4.77E-13	3.49E-13	6.11E-13
0:06:59	419635	2.00	3.33E-14	6.77E-14	-6.02E-14	-1.34E-13	-2.76E-13	3.02E-13	4.57E-13	1.15E-12
0:08:43	523615	3.00	3.70E-13	1.47E-13	-1.01E-13	-6.45E-15	-1.40E-14	4.43E-13	1.21E-12	1.61E-12
0:10:27	627595	4.00	5.64E-12	1.08E-12	1.08E-13	4.84E-13	-1.54E-13	2.34E-12	6.13E-12	3.31E-12
0:12:11	731645	5.00	1.16E-12	1.55E-12	5.81E-12	1.71E-12	3.03E-13	7.36E-12	3.31E-12	2.77E-12
0:13:55	835555	6.00	9.68E-13	8.94E-10	4.30E-12	4.93E-12	1.54E-13	3.33E-12	7.36E-12	8.20E-12
0:15:39	939535	7.00	1.49E-12	4.53E-11	1.69E-11	7.00E-12	1.08E-13	2.72E-12	3.31E-12	3.57E-12
0:17:23	1043725	8.00	7.05E-13	9.77E-12	1.17E-11	8.20E-13	1.29E-14	1.48E-12	1.14E-12	1.60E-12
0:19:07	1147635	9.00	9.20E-13	3.87E-12	5.15E-12	3.96E-13	1.95E-13	1.38E-12	8.33E-13	1.01E-12
0:20:51	1251685	0.00	5.91E-13	3.11E-12	2.02E-12	1.00E-13	1.61E-13	8.87E-13	2.62E-13	1.02E-12
0:22:35	1355595	0.00	6.59E-13	2.10E-12	9.41E-13	1.40E-14	1.08E-13	7.26E-13	4.77E-13	7.26E-13
0:24:19	1459645	0.00	4.03E-13	1.66E-12	6.45E-13	2.35E-13	-2.69E-14	8.66E-13	3.43E-13	7.19E-13

Elapsed time (min)	Time (ms)	TLC length	m/z=184	m/z=172	m/z=120	m/z=156	m/z=146	m/z=176	m/z=198
0:00:03	3786	0.00	-1.40E-14	0.00E+00	2.28E-13	1.01E-13	-2.69E-14	-1.29E-14	-6.02E-14
0:01:47	107765	0.00	1.08E-13	-1.27E-13	9.46E-14	2.48E-13	7.42E-14	-2.75E-13	-1.34E-13
0:03:31	211745	0.00	1.08E-13	-9.35E-14	1.08E-13	-2.15E-13	2.15E-13	2.55E-13	-4.73E-14
0:05:15	315655	1.00	-4.62E-14	1.21E-13	3.90E-13	-2.69E-14	1.54E-13	1.47E-13	1.08E-13
0:06:59	419635	2.00	1.95E-13	1.47E-13	2.58E-12	-1.61E-13	-8.06E-14	5.38E-14	-8.06E-14
0:08:43	523615	3.00	2.69E-14	9.46E-14	8.61E-12	4.98E-13	6.23E-12	7.31E-14	-1.69E-13
0:10:27	627595	4.00	-3.36E-13	-1.40E-14	3.32E-12	4.16E-12	9.69E-11	1.11E-12	1.21E-13
0:12:11	731645	5.00	-3.02E-13	3.98E-14	2.15E-12	1.34E-12	1.02E-11	7.92E-12	-2.82E-13
0:13:55	835555	6.00	2.02E-13	2.14E-12	1.13E-11	1.13E-12	6.11E-12	2.45E-12	-2.01E-13
0:15:39	939535	7.00	3.57E-13	9.47E-13	6.61E-12	1.14E-12	3.71E-12	8.26E-13	4.73E-14
0:17:23	1043725	8.00	3.97E-13	6.39E-13	2.32E-12	6.86E-13	2.14E-12	3.57E-13	1.34E-13
0:19:07	1147635	9.00	2.69E-13	4.71E-13	1.14E-12	7.32E-13	1.43E-12	-6.02E-14	2.02E-13
0:20:51	1251685	0.00	1.88E-13	5.51E-13	6.59E-13	5.38E-13	1.11E-12	-1.34E-13	6.59E-13
0:22:35	1355595	0.00	8.06E-14	2.09E-13	8.47E-13	5.38E-13	1.12E-12	3.23E-13	2.09E-13
0:24:19	1459645	0.00	3.23E-13	1.95E-13	6.45E-13	2.21E-13	4.50E-13	1.47E-13	3.97E-13

ตารางที่ ก-2 volatile compound profiles ของสารตัวอย่างน้ำหอมที่สกัดด้วย SPME โดยตรง

Compound	Time (min)	I_{lit}^*	$\log P^{**}$	Odor description	Peak area
2-Buten-1-ol, 3-methyl-, acetate	5.637	918	1.65	sweet, fresh, banana, fruity, jasmin	1159198
Butane, 1,4-diethoxy-	6.009	940	1.84		4836532
Benzaldehyde	6.376	962	1.48	strong sharp sweet, almond, cherry, nutty and woody	366030
Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-methylethyl)-	6.728	974	3.94	woody, spicy, citrus and terpy with green	1821579
β -Myrcene	6.998	991	4.17	terpy, herbaceous, woody with a rosy celery and carrot nuance	282290
2-Propanol, 1-(2-methoxypropoxy)-	7.303	1010	-0.22		562159
Benzene, 1-methoxy-4-methyl-	7.682	1021	2.66	powdery and nutty	36034128
Cyclohexene, 1-methyl-5-(1-methylethenyl)-, (R)-	7.859	1027	4.45		20691147
Cyclohexene, 1-methyl-5-(1-methylethenyl)-, (R)-	8.09	1046	4.45		24948
1-Propanol, 2-(2-hydroxypropoxy)-	8.199	1046	-0.24		350141
1-Propanol, 2-(2-hydroxypropoxy)-	8.318	1046	-0.24		194506

Compound	Time (min)	t_{lit}^*	$\log P^{**}$	Odor description	Peak area
γ -Terpinene	8.42	1060	4.50	sweet, citrus, with tropical and lime nuances	627495
Acetophenone	8.562	1065	1.58	sweet, cherry pit, marzipan and coumarinic	5084
7-Octen-2-ol, 2,6-dimethyl-	8.69	1064	2.99	fresh, citrus, lime, floral, clean	450480
2,4-Heptadienal, 2,4-dimethyl-	8.825	1090	2.49	fatty, green, oily, aldehydic with a vegetative nuance	302268
Bicyclo[3.1.0]hexan-2-ol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-, (1 α ,2 β ,5 α)-	9.042	1070	2.35	cooling, minty, eucalyptol, green and terpy with a spicy nuance	32782
Benzoic acid, methyl ester	9.245	1094	2.12	wintergreen, almond, floral cananga	34366674
1,5-Cyclodecadiene, (E,Z)-	9.454	1100	3.45		172080
Phenylethyl Alcohol	9.65	1116	1.36	sweet, floral, fresh and bready with a rosey honey nuance	9401820
2-Cyclohexen-1-ol, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-, trans-	9.87	1140	2.53	dry woody musty	12988
1,2-Dihydrolinalool	9.977	1120	2.97	rose woody citrus blueberry weedy	44176
Limonene oxide, trans-	10.078	1138	3.20	green, citrus, fruity	2978
Camphor	10.235	1145	2.38		24587
Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, cis-	10.44	1164	2.75	minty	49265
Acetic acid, phenylmethyl ester	10.749	1164	1.96	sweet, floral, fruity, jasmin, fresh	50169126
Benzoic acid, ethyl ester	10.814	1171	2.12	wintergreen, almond, floral cananga	296163
Cyclohexanol, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-	10.864	1178	2.58		332313
Bicyclo[3.1.0]hexan-3-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-, [1S-(1 α ,3 α ,4 α ,5 α)]-	10.985	1176	2.05		220378
Benzenemethanol, α -methyl-, acetate	11.241	1194	2.30	green, fruity and musty with seedy, berry nuances	2439383
3,5-Decadiyne, 2,2-dimethyl-	11.445	1217	3.23		6578
6-Methyl-2-heptanol, 2-methylpropionate	11.615	1222			74034
Benzene, (2,2-dimethoxyethyl)-	11.743	1222	1.69	green ,floral, rosy, earthy	2359187
Citronellol	11.909	1228	3.30	floral, rosy, sweet, citrus	1011817
Cyclohexanol, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)-, (1 α ,2 α ,5 β)-	12.046	1226	3.21	minty menthol spearmint herbal	22841
Neral	12.162	1240	3.17	citrus lemon	17433
D-Carvone	12.24	1246	3.07	spice mint bread caraway	4160
Linalyl acetate	12.484	1257	3.93	sweet, green, floral and spicy with a clean, woody, terpy and citrus nuance	9090443
Naphthalene, 1,2,3,4-tetrahydro-1,1,6-trimethyl-	12.682	1258	4.96		4645
4-Hexen-1-ol, 5-methyl-2-(1-methylethenyl)-, acetate, (R)-	12.966	1289	3.51		4645
Anethole	13.051	1286	3.39	sweet, anise	455737
Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, acetate	13.218	1294	4.18	tea minty fruity	246936
ortho tert-Butyl cyclohexyl acetate	13.616	1321	4.23	fruity woody green apple herbal	13535

Compound	Time (min)	t_{lit}^*	$\log P^{**}$	Odor description	Peak area
Cyclohexanol, 4-(1,1-dimethylethyl)-, acetate, trans-	13.973	1322	4.23	floreale, fruity, woody	408519
Methyl anthranilate	14.125	1343	1.88	fruity grape orangeflower neroli	162224
6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetate	14.308	1354	4.22	floral, green, rose, fruity, citrus, woody, tropical fruit	902404
Eugenol	14.428	1357	2.27	sweet, spicy, clove like, woody	273269
2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetate, (Z)-	14.508	1364	3.24	floral, rose, lavender, green, waxy	74281
4-tert-Butylcyclohexyl acetate	14.654	1368	3.15	floreale, fruity, woody	618661
α -Damascone	14.756	1384	3.436	floral, rose, apple, fruity, black currant	26972
Geranyl acetate	14.875	1382	4.04	floral rose lavender green waxy	931607
Di-epi- α -cedrene-(I)	15.017	1382	4.27	woody, cedar, sweet, fresh	10562
Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis(1-methylethenyl)-, [1S-(1 α , 2 β , 4 β)]-	15.109	1391	5.77	sweet	28345
2-Cyclopenten-1-one, 3-methyl-2-(2-pentenyl)-, (Z)-	15.203	1394	2.90	woody, herbal and floral, with a citrus nuance	31634
1H-3a,7-Methanoazulene, 2,3,4,7,8,8a-hexahydro-3,6,8,8-tetramethyl-, [3R-(3 α , 3a β , 7 β , 8a α)]-	15.331	1411	6.30	woody cedar, sweet, fresh	6645
1H-3a,7-Methanoazulene, 2,3,4,7,8,8a-hexahydro-3,6,8,8-tetramethyl-, [3R-(3 α , 3a β , 7 β , 8a α)]-	15.534	1411	6.30	woody cedar, sweet, fresh	892133
Caryophyllene	15.658	1419	6.77	sweet, woody, spice clove dry	1415084
cis-Thujopsene	15.874	1429	6.05		1554925
Acetic acid, cinnamyl ester	16.001	1446	2.26	sweet, floral, cinnamon, spicy	257261
1H-Cyclopropa[a]naphthalene, decahydro-1,1,3a-trimethyl-7-methylene-, [1aS-(1a α , 3a α , 7a β , 7b α)]-	16.089	1435			40097
1H-Benzocycloheptene, 2,4a,5,6,7,8,9,9a-octahydro-3,5,5-trimethyl-9-methylene-, (4aS-cis)-	16.188	1449	6.78		13084
Humulene	16.259	1454	6.59	woody	75795
3-(4-Isopropylphenyl)-2-methylpropionaldehyde	16.317	1466	3.42	floral, cyclamen, fresh, rhubarb, musty, green	252353
(1R,4S,5S)-1,8-Dimethyl-4-(prop-1-en-2-yl)spiro[4.5]dec-7-ene	16.437	1475			14566
Azulene, 1,2,3,3a,4,5,6,7-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1R-(1 α , 3a β , 4 α , 7 β)]-	16.579	1473	6.89	musty	26848
α Isomethyl ionone	16.669	1480	4.07	woody, violet floral, orris powdery	536323
3-Buten-2-one, 4-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)-	16.76	1491	3.99	sweet, fruity, woody, berry-like with floral and seedy nuances	158405
Butanoic acid, 1,1-dimethyl-2-phenylethyl ester	16.837	1493	4.08	floral, green, herbal, fruity, plum, prune	15975
(1S,4aR,8aS)-1-Isopropyl-7-methyl-4-methylene-1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydronaphthalene	16.957	1496	6.54	floral, green, fruity, spicy and waxy with a seedy, berry nuance	9364
4H-Inden-4-one, 1,2,3,5,6,7-hexahydro-1,1,2,3,3-pentamethyl-	17.035	1508	4.50	rich spicy, musk, woody, clean	30320
α -Farnesene	17.114	1508	6.13	woody, citrus, herbal, lavender, bergamot, myrrh, neroli, green	36221
Benzene, 1-methyl-4-(1,2,2-trimethylcyclopentyl)-, (R)-	17.169	1505	6.21		14741
1-Penten-3-one, 1-(2,6,6-trimethyl-2-cyclohexen-1-yl)-	17.344	1524	4.39	floral violet sweet powdery woody	85222

Compound	Time (min)	I_{lit}^*	$\log P^{**}$	Odor description	Peak area
Lilial	17.48	1533	4.21	fresh, green, floral	1541486
Isoamyl salicylate	17.598	1538	4.37	floral, herbal, woody, orchid, metallic	266823
1,3-Benzodioxole-5-propanal, α -methyl-	18.102	1542	1.36	floral, watery, fresh, green	37238
Benzoic acid, 2-hydroxy-, pentyl ester	18.27	1583	4.56	herbal, floral, clover, azalea, green, sweet, chocolate	256200
2H-2a,7-Methanoazuleno[5,6-b]oxirene, octahydro-3,6,6,7a-tetramethyl-	18.369	1585	4.92	woody, amber, tobacco, sandalwood, fresh	140626
Diethyl Phthalate	18.59	1594	2.42		399370
2H-2,4a-Methanonaphthalen-8(5H)-one, 1,3,4,6,7,8a-hexahydro-1,1,5,5-tetramethyl-	18.935	1613	4.50	dry woody, patchouli, cedar, earthy, tobacco incense	4514
1H-Benzocyclohepten-7-ol, 2,3,4,4a,5,6,7,8-octahydro-1,1,4a,7-tetramethyl-, cis-	19.007	1610	4.59		9909
9-Cedranone	19.155	1618	3.67	woody cedar	37036
3-Epi-cedrenol, methyl ether	19.333	1654			12446
8-Methylnonanoic acid, tert-butyl(dimethylsilyl) ester	19.405	1637			10001
Cyclopentaneacetic acid, 3-oxo-2-pentyl-, methyl ester	19.563	1649	2.65	floral, oily, jasmin, green, lactic, tropical natural	34373
3-Epi-cedrenol, methyl ether	19.656	1654			61132
(-)-Isolongifolol, methyl ether	19.893	1672	4.12		229353
3,7-Cyclodecadien-1-one, 3,7-dimethyl-10-(1-methylethylidene)-, (E,E)-	20.277	1693	4.76		183435
Tricyclo[6.3.1.0(2,5)]dodecan-1-ol, 4,4,8-trimethyl-, acetate, [1R-(1 α ,2 α ,5 β ,8 β)]-	20.378	1704	5.44	woody, dry, earthy, amber, fruity, spicy	12433
Tricyclo[6.3.1.0(2,5)]dodecan-1-ol, 4,4,8-trimethyl-, acetate, [1R-(1 α ,2 α ,5 β ,8 β)]-	20.451	1704	5.44	woody, dry, earthy, amber, fruity, spicy	783
(E)-3-((4S,7R,7aR)-3,7-Dimethyl-2,4,5,6,7,7a-hexahydro-1H-inden-4-yl)-2-methylacrylaldehyde	20.501	1716	5.24		3566
Curcumenol	20.617	1735	3.14	fresh fatty	6730
Undecanedioic acid, dimethyl ester	20.794	1749	2.84		19276
Octanal, 2-(phenylmethylene)-	21.044	1755	4.86	fresh, floral, green, jasmin, herbal, waxy	356092
Squamulose	21.374	1771	2.84		2539
Ethanone, 1-(2,3,4,7,8,8a-hexahydro-3,6,8,8-tetramethyl-1H-3a,7-methanoazulen-5-yl)-	21.467	1780	5.65	woody, vetiver, amber, leather, musk, cedar	129708
Ethanone, 1-(2,3,4,7,8,8a-hexahydro-3,6,8,8-tetramethyl-1H-3a,7-methanoazulen-5-yl)-	21.627	1780	5.65	woody, vetiver, amber, leather, musk, cedar	19235
Isopropyl myristate	22.161	1827	7.253	faint oily fatty	1156403
Isopropyl myristate	22.337	1827	7.253	faint oily fatty	4585
Cyclopenta[g]-2-benzopyran, 1,3,4,6,7,8-hexahydro-4,6,6,7,8,8-hexamethyl-	22.656	1851	5.3	strong diffusive sweet floral musk	279920

* literature retention index (I_{lit})

** logarithmic partitioning coefficient ($\log P$)

ประวัติผู้วิจัย

นางสาวปานิสรา เชษฐนรกุล เกิดเมื่อวันที่ 8 เดือนสิงหาคม พ.ศ. 2540 ที่จังหวัดสมุทรปราการ สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนเตรียมอุดมศึกษาน้อมเกล้า จังหวัดสมุทรปราการ เมื่อปีการศึกษา 2558 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2559 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ บ้านเลขที่ 1 หมู่ 12 ตำบลบางหัวเสือ อำเภอพระประแดง จังหวัดสมุทรปราการ รหัสไปรษณีย์ 10130 อีเมล Panisara.chedthanorrakul@gmail.com