



โครงการ  
การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ      น้ำมันหอมระเหยจากกุหลาบและกรรมวิธีการสกัดน้ำหอม  
Rose essential oil and method of the extraction

ชื่อนิสิต            นางสาวชัชชร กุลฉัตรภากรณ์

ภาควิชา            เคมี

ปีการศึกษา        2560

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

น้ำมันหอมระเหยจากกุหลาบและกรรมวิธีการสกัดน้ำหอม  
Rose essential oil and method of the extraction

โดย

นางสาวธชชร์ กุลฉัตรภากรณ์

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2560

โครงการ น้ำมันหอมระเหยจากกุหลาบและกรรมวิธีการสกัดน้ำหอม

โดย นางสาวชัชชร กุลฉัตรภากรณ์

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี  
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ

..... *ชัชชัย ต่หาชาติ* ..... ประธานกรรมการ  
(ศาสตราจารย์ ดร.ชัชชัย ตันจุลานี)

..... *Solump* ..... อาจารย์ที่ปรึกษา  
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุรัชชัย พรภาคกุล)

..... *Th* ..... กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร.ธรรมบุญ หนูจักร)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

..... หัวหน้าภาควิชาเคมี  
(รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิชัย พาราสุข)

วันที่ ..... เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2561

คุณภาพของการเขียนรายงานเล่มนี้อยู่ในระดับ  ดีมาก  ดี  พอใช้

ชื่อโครงการ น้ำมันหอมระเหยและกรรมวิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหย  
ชื่อนิสิตในโครงการ นางสาวชัชกร กุลฉัตรภากรณ์ เลขประจำตัว 5733095123  
ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.สุรัชย์ พรภคกุล  
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2560

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ศึกษา น้ำมันหอมระเหยจากกุหลาบมอญพันธุ์แดงประเสริฐ (*Rosa damascena* Mill.) พื้นที่เพาะปลูก อำเภอบางเลน จังหวัดนครปฐม และกรรมวิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากต้นกุหลาบมอญพันธุ์แดงประเสริฐ โดยดอกกุหลาบแช่เย็น ดอกกุหลาบสด ใบสด และลำต้นสดใช้วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนที่อุณหภูมิห้อง เฮกเซนที่อุ่นร้อน และเพนเทน และสกัดดอกกุหลาบสดด้วยวิธีการสกัดแบบซอกเลตโดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซน สารสกัดที่ได้มีสีเหลืองลักษณะเป็นขี้ผึ้ง และมีกลิ่นของกุหลาบโดยเฉพาะอย่างยิ่งสารสกัดจากใบจะให้กลิ่นที่ชัดเจนที่สุด เมื่อทำการสกัดซ้ำด้วยเอทานอลได้เป็นสารละลายสีเหลืองที่เรียกว่า absolute rose oil ผลการทดลอง ได้ปริมาณสารสกัดจากส่วนดอกทั้งสองวิธีอยู่ที่ 0.1% - 1.4% ส่วนใบ 0.7% - 1.0% ส่วนลำต้น 0.9% - 1.2% โดยที่ ปัจจัยที่เกี่ยวข้องในการสกัด มีอัตราส่วนของพืชต่อตัวทำละลายควรใช้อัตราส่วนที่น้อยปริมาณสารสกัดจึงจะได้มากขึ้น อุณหภูมิของตัวทำละลายส่งผลโดยเฮกเซนที่อุ่นร้อนจะให้ปริมาณสารสกัดมากกว่าเฮกเซนที่อุณหภูมิห้อง ดอกสดจะให้ปริมาณสารสกัดที่มากกว่าดอกที่เก็บแช่แข็ง ส่วนระยะเวลาในการสกัด ยิ่งใช้เวลาในการสกัดนานขึ้น ปริมาณของสารสกัดจากใบสดและลำต้นสดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนและเพนเทนยิ่งได้มากขึ้น แต่ระยะเวลาที่นานขึ้นไม่มีผลในการสกัดดอกกุหลาบด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ในการสกัดด้วยวิธีซอกเลต ที่ 8 ชั่วโมง ได้ปริมาณสารสกัดมากกว่าที่ 6 ชั่วโมง เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบของสารสกัดน้ำมันหอมระเหยกุหลาบมอญเทคนิคโปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรเมทรี ( $^1\text{H}$  NMR) และ เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมทรี (GC-MS) พบว่า ส่วนดอก ใบ และลำต้น ประกอบด้วยสารฟีนิลเอทิลแอลกอฮอล์เป็นหลักและสารชนิดอื่นๆ ทำให้ ฟีนิลเอทิลแอลกอฮอล์ น่าจะเป็นสารเฉพาะสำคัญที่ให้กลิ่นกุหลาบของดอกกุหลาบมอญพันธุ์แดงประเสริฐ เนื่องจากเป็นสารชนิดเดียวที่พบว่า เป็นสารให้กลิ่น อีกทั้งสารสกัดจากใบให้กลิ่นกุหลาบที่แรงกว่าและจากโครมาโทแกรมพบว่า ประกอบด้วย องค์ประกอบของสารอยู่หลายชนิด

คำสำคัญ: *Rosa damascena* Mill., กุหลาบมอญพันธุ์แดงประเสริฐ, กรรมวิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหย



Project Title                Rose essential oil and method of the extraction  
Student Name                Miss Tachasorn Kulchatpakorn                Student ID 5733095123  
Advisor Name                Associate Professor Dr. Surachai Pornpakakul, Ph.D.  
Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic Year 2017

### Abstract

The objectives of this research were to study rose essential oil from Damask Rose “Daeng Pra Sert” (*Rosa damascena* Mill.), collected from Bang Len district, Nakorn Pathom province, and extraction methods of its essential oil. Fresh flowers, freezing flowers, fresh leaves and fresh stems of rose were extracted by soaking in hexane, pentane and hot hexane and with hexane in Soxhlet extractor. The solvent extractions gave a yellow waxy residue. Re-extraction with ethanol in order to remove the wax, gave yellowish rose absolute. The percentage of the crude extraction from the flowers, fresh leaves and fresh stem was 0.1-1.4, 0.7-1.0 and 0.9-1.2, respectively. Higher ratio of solvent and plant in the extraction process resulted in higher yield and a hot hexane extraction resulted in more yield than room temperature hexane. The fresh flowers gave more yield than the freezing flowers. The longer extraction time resulted in higher yield for leaves and stems in hexane and pentane extraction which the longer extraction time for flowers in hexane showed no effect on the yield. Soxhlet extraction for 8 hours get more yield than for 6 hours. Chemical composition of the rose oil was examined by  $^1\text{H}$  NMR and GC-MS spectrometry. The results showed that the extracts from three parts of the rose comprised of phenyl ethyl alcohol together with other. This indicated that characteristic rose odor of “Daeng Pra Sert” rose should be caused by phenyl ethyl alcohol since it is the only one displaying rose odor. Furthermore, the essential oil of fresh leaves gave the stronger scent of rose and the GC-MS chromatogram showed that it comprised of wide variety of compounds.

Keyword: *Rosa damascena* Mill., Damask Rose “Daeng Pra Sert” and method of essential oil extraction

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเล่มนี้ได้รับความอนุเคราะห์จากคณาจารย์ นิสิต และเจ้าหน้าที่ของคณะวิทยาศาสตร์ ภาควิชาเคมี ที่ได้ให้ความช่วยเหลือเป็นอย่างดี ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.สุรชัย พรภคกุล ที่กรุณาให้ความรู้ คำปรึกษา และคำแนะนำที่ดี ที่เป็นประโยชน์ต่อการศึกษาและงานวิจัย ตลอดจนช่วยชี้แนะแนวทางในการแก้ปัญหาต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นใน ระหว่างการวิจัย รวมทั้งตรวจทานและแก้ไขการเขียนรายงานฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร.วัชชัย ต้นทุลานี ที่ให้เกียรติเป็นประธาน กรรมการสอบ และ รองศาสตราจารย์ ดร.ธรรมนุญ หนูจักร ที่ให้เกียรติเป็นกรรมการสอบ ได้ให้คำแนะนำ และความอนุเคราะห์ เครื่องมือที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความสะดวก ด้าน สถานที่ทำงานวิจัยตลอดจนเครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จ ลงได้ ขอขอบคุณเพื่อนนิสิตและพี่นิสิตปริญญาเอก โดยเฉพาะ นางสาวนุสรา ภูมิใจ และ นางสาวณัฐฐา รัตนปัญญา ที่ได้ให้ความรู้เกี่ยวกับเทคนิคต่าง ๆ คำแนะนำในการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ และช่วยเหลือตลอดระยะเวลาที่ทำการวิจัย

## สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ซ
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	<b>1</b>
1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการเสนอโครงการ	1
1.2 ข้อมูลทางพฤกษศาสตร์ของกุหลาบมอญ	2
1.3 วัตถุประสงค์และขอบเขตงานวิจัย	3
1.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
1.5 หลักการและทฤษฎี	4
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	6
<b>บทที่ 2 การทดลอง</b>	<b>7</b>
2.1 วัตถุประสงค์	7
2.2 รายการเครื่องมือ อุปกรณ์	8
2.3 รายการสารเคมี	9
2.4 วิธีการทดลอง	9
<b>บทที่ 3 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง</b>	<b>15</b>
3.1 ผลการทดลองการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากต้นกุหลาบมอญ	15
3.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยกุหลาบมอญ โดยใช้เทคนิคนิวเคลียร์ แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรเมทรี (NMR)	23
3.3 การวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยกุหลาบมอญ โดยใช้เทคนิคเฮดสเปซโซลิตเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมทรี (GC-MS) แบบ อัตโนมัติเปอร์ลิควิด (Autosampler liquid)	24
3.4 การวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยกุหลาบมอญ โดยใช้เทคนิคเฮดสเปซโซลิตเฟสไมโครเอ็กแทรกชัน/แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมทรี (HP-SPME/GC-MS)	26
<b>บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง</b>	<b>30</b>
เอกสารอ้างอิง	31
ประวัติผู้วิจัย	32



## สารบัญตาราง

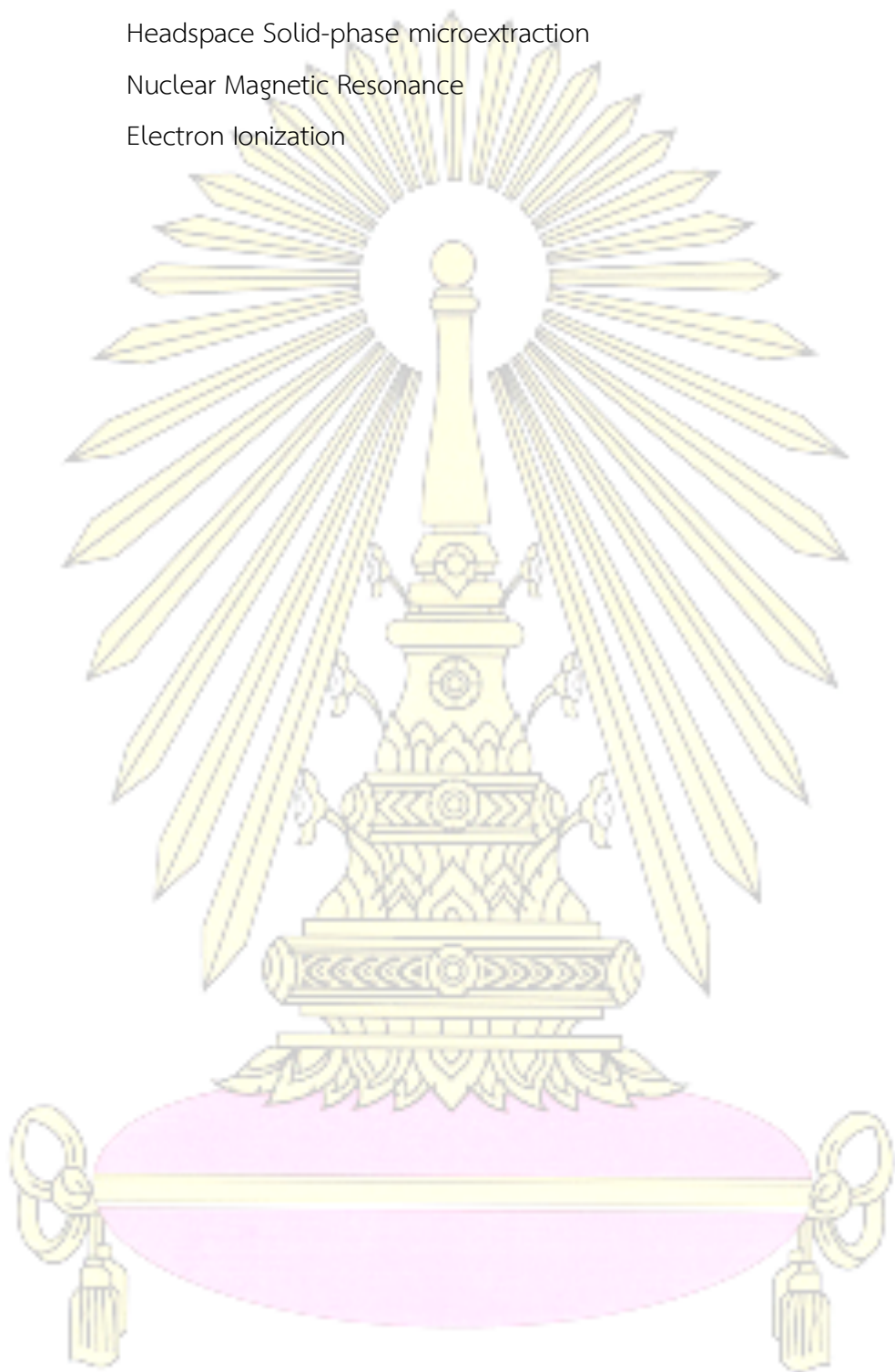
ตารางที่ 3-1 การสกัดด้วยวิธีแช่ด้วยตัวทำละลาย	15
ตารางที่ 3-2 การสกัดด้วยวิธีซอกเลตโดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซน	17
ตารางที่ 3-3 ผลการสกัดด้วยตัวทำละลาย ที่ระยะเวลาการสกัด 24 ชั่วโมง	18
ตารางที่ 3-4 ผลการสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ที่ระยะเวลาการสกัด 3 ชั่วโมง	18
ตารางที่ 3-5 ผลการสกัดด้วยตัวทำละลายเพนเทน ที่ระยะเวลาการสกัด 3 ชั่วโมง	19
ตารางที่ 3-6 ผลการสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ที่ระยะเวลาการสกัด 5 ชั่วโมง	20
ตารางที่ 3-7 ผลการสกัดด้วยตัวทำละลายเพนเทน ที่ระยะเวลาการสกัด 5 ชั่วโมง	21
ตารางที่ 3-8 ผลการสกัดด้วยวิธีซอกเลตโดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซน	21
ตารางที่ 3-9 สารที่พบในสารสกัดน้ำมันหอมระเหยจากกุหลาบด้วยเทคนิค แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี (GC-MS) แบบอโต้แซมเปอริลควิด (Autosampler liquid) ของสารสกัดน้ำมันหอมระเหยกุหลาบส่วนดอกด้วยวิธีแช่ด้วยตัวทำละลาย	24
ตารางที่ 3-10 สารที่พบในสารสกัดน้ำมันหอมระเหยจากกุหลาบด้วยเทคนิค เฮดสเปซโซลิดเฟสไมโครเอ็กแทรกชัน/แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี (HP-SPME/GC-MS) ของสารสกัดน้ำมันหอมระเหยกุหลาบส่วนใบด้วยวิธีแช่ด้วยตัวทำละลาย	26
ตารางที่ 3-11 สารที่พบในสารสกัดน้ำมันหอมระเหยจากกุหลาบด้วยเทคนิค เฮดสเปซโซลิดเฟสไมโครเอ็กแทรกชัน/แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี (HP-SPME/GC-MS) ของสารสกัดน้ำมันหอมระเหยกุหลาบส่วนดอกด้วยวิธีแช่ด้วยตัวทำละลาย	27
ตารางที่ 3-12 สารที่พบในสารสกัดน้ำมันหอมระเหยจากกุหลาบด้วยเทคนิค เฮดสเปซโซลิดเฟสไมโครเอ็กแทรกชัน/แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี (HP-SPME/GC-MS) ของสารสกัดน้ำมันหอมระเหยกุหลาบส่วนลำต้นด้วยวิธีแช่ด้วยตัวทำละลาย	28

## สารบัญรูป

รูปที่ 1-1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นและดอกกุหลาบมอญ	2
รูปที่ 1-2 การสกัดน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ	4
รูปที่ 1-3 เครื่องโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี (GC-MS)	5
รูปที่ 1-4 ส่วนประกอบอุปกรณ์โซลิตเฟสไมโครเอ็กแทรคชัน	6
รูปที่ 2-1 กลีบดอกกุหลาบแบบแช่เย็น	9
รูปที่ 2-2 กลีบดอกกุหลาบสด	9
รูปที่ 2-3 การเตรียมตัวอย่างดอกสดแบบใช้ทั้งดอก	9
รูปที่ 2-4 ขั้นตอนการสกัดด้วยวิธีการแช่ด้วยตัวทำละลายเพนเทน	10
รูปที่ 2-5 การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากกลีบดอกกุหลาบสดด้วยวิธีชอกเลต	11
รูปที่ 3-1 สารสกัดด้วยวิธีแช่ด้วยตัวทำละลายจากส่วนดอกด้วยตัวทำละลายเฮกเซน	15
รูปที่ 3-2 สารสกัดด้วยวิธีแช่ด้วยตัวทำละลายจากส่วนดอกหลังระเหยตัวทำละลาย	15
รูปที่ 3-3 สเปกตรัม $^1\text{H}$ NMR จากเครื่อง Varian company, USA ของสารสกัดส่วนดอกด้วยวิธีแช่ด้วยตัวทำละลาย โดยใช้ $\text{CDCl}_3$	22
รูปที่ 3-4 โครมาโทแกรมเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี (GC-MS) แบบอโต้แซมเปิลริควิด (Autosampler liquid) ของสารสกัดน้ำมันหอมระเหยกุหลาบส่วนดอกด้วยวิธีแช่ด้วยตัวทำละลาย	23
รูปที่ 3-5 โครมาโทแกรมเทคนิคเฮดสเปซโซลิตเฟสไมโครเอ็กแทรคชัน/แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี (HP-SPME/GC-MS) ของน้ำมันหอมระเหยจากกุหลาบส่วนใบด้วยวิธีแช่ด้วยตัวทำละลายเฮกเซน	25
รูปที่ 3-6 โครมาโทแกรมเทคนิคเฮดสเปซโซลิตเฟสไมโครเอ็กแทรคชัน/แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี (HP-SPME/GC-MS) ของน้ำมันหอมระเหยจากกุหลาบส่วนดอกด้วยวิธีแช่ด้วยตัวทำละลายเฮกเซน	26
รูปที่ 3-7 โครมาโทแกรมเทคนิคเฮดสเปซโซลิตเฟสไมโครเอ็กแทรคชัน/แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี (HP-SPME/GC-MS) ของน้ำมันหอมระเหยจากกุหลาบส่วนลำต้นด้วยวิธีแช่ด้วยตัวทำละลายเฮกเซน	27

## คำย่อและสัญลักษณ์ที่ใช้

GC-MS	Gas chromatograph-Mass spectrometer
HS-SPME	Headspace Solid-phase microextraction
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
EI	Electron Ionization



## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการเสนอโครงการ

สுகุณบำบัด (aromatherapy) เป็นธุรกิจการให้บริการรูปแบบหนึ่งในประเทศไทย พบได้ตามสถานเสริมความงามและแหล่งท่องเที่ยว ที่ได้รับความนิยมในกลุ่มคนที่ต้องการผ่อนคลายความเครียด และผู้คนในปัจจุบันหันมาให้ความสนใจกับสารให้ความหอมที่มาจากธรรมชาติมากขึ้น ด้วยคุณสมบัติของน้ำมันหอมระเหย ที่เป็นสารอินทรีย์มีองค์ประกอบสลับซับซ้อน ได้จากการสกัดน้ำมันที่พืชหรือพืชสมุนไพรสร้างขึ้น โดยเก็บไว้ในส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น เมล็ด ดอก ใบ ผล เปลือก ลำต้น หรือที่รากและเหง้า เป็นต้น ลักษณะทั่วไปของน้ำมันหอมระเหย เป็นของเหลวใส ไม่มีสีหรือมีสีอ่อน ๆ มีกลิ่นหอมเฉพาะตัว ระเหยได้ง่ายที่อุณหภูมิปกติ เมื่อได้รับความร้อนน้ำมันจะระเหยได้ดียิ่งขึ้น กลิ่นของน้ำมันหอมระเหยจะมีคุณสมบัติที่แตกต่างกันขึ้นกับองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยที่อยู่ในพืชแต่ละชนิด กลิ่นของน้ำมันหอมระเหยจะกระตุ้นสมองส่วนที่มีผลต่ออารมณ์ การสูดดมน้ำมันหอมระเหยจะช่วยให้เข้าถึงสมดุลของอารมณ์ที่เป็นสุข ซึ่งมีผลในการบำบัดโรคที่เป็นปัญหาทางร่างกายโดยเฉพาะโรคที่เกี่ยวข้องกับความเครียด [1,2] คุณสมบัติของน้ำมันหอมระเหยแต่ละกลิ่นจะมีประโยชน์แตกต่างกัน เช่น คาโรโมไมล์ กุหลาบ ไม้จันทร์ ช่วยให้คลายกังวล ส่วนสาระแน่มะกรูด ตะไคร้ ส้ม กระดังงา จะช่วยลดอาการประสาทตึงเครียด กระตุ้นร่างกายและจิตใจ ทำให้รู้สึกสดชื่น

กุหลาบ เป็นไม้ดอกที่สวยงาม มีกลิ่นหอม เป็นที่รู้จักและดอกไม้ที่ได้รับความนิยมจากทุกคน กุหลาบมอญ โดยทั่วไปใช้ในการร้อยพวงมาลัย ใช้ในการร้อยพวงอุบะดอกไม้ในงานมงคลหรือใช้ประกอบในงานพิธีต่าง ๆ อย่างในงานมงคลสมรส สำหรับการใช้งานในด้านอาหาร กลีบดอกยังนำไปชุบแป้งทอด รับประทานเป็นผักร่วมกับน้ำพริกได้ หรือใช้ทำเป็น “ยำดอกกุหลาบ” กลีบดอกสดนำมาแช่ลอยน้ำสำหรับทำขนม แต่งหน้าขนม เช่น นำมาแต่งหน้าขนมตะโก้ หรือนำมาใช้โรยบนท่อนอ้อยควั่น เพิ่มเพิ่มความสวยงามให้กับอาหารให้ดูน่ารับประทานยิ่งขึ้น อีกทั้งกลีบดอกใช้ทำเป็นชากุหลาบ ด้วยการใช้กลีบกุหลาบที่ตากแห้งแล้วนำมาชงในน้ำเดือด ก็จะได้ชากุหลาบสีสดสวยงามที่มีสรรพคุณช่วยบำรุงหัวใจ แก้อาการอ่อนเพลีย และเป็นยาระบายอ่อนๆ นอกจากนี้กลีบดอกสดมีน้ำมันหอมระเหย นำมากลั่นให้น้ำมันกุหลาบ น้ำมันกุหลาบมอญเองสามารถนำมาสกัดเป็นหัวน้ำหอม ทำเป็นบุหงาเครื่องหอม และยังใช้เป็นส่วนผสมของน้ำดอกไม้เทศ (หัวน้ำหอมที่ทำจากดอกกุหลาบชนิดหนึ่ง) เนื่องจากน้ำมันกุหลาบมอญเป็นสารที่มีความปลอดภัยในการใช้จึงเป็นที่นิยมมากในการนำมาใช้ในการแต่งกลิ่นเครื่องสำอาง แต่งกลิ่นยา แต่งกลิ่นอาหารและขนม

สำหรับการวิจัยนี้จะเลือกใช้กุหลาบมอญพันธุ์แดงประเสริฐหรือชมพูประเสริฐ (*Rosa damascena* Mill.) เนื่องจากเป็นสายพันธุ์ที่แข็งแรง ต้นจะเจริญเติบโตดีมาก ด้านทานโรคและแมลง เพราะมีใบหนา เลี้ยงง่าย ชอบแดดจัดอย่างน้อยวันละ 6 ชั่วโมงเหมาะกับสภาพภูมิอากาศร้อนของประเทศไทยเป็นที่สุด ขยายพันธุ์ในเมืองไทยมานานขนาดดอกประมาณ 3-4 นิ้ว ออกดอกง่าย ให้ผลผลิตทั้งปี และจะออกดอกดกมากในบางช่วง เช่นในฤดูฝน หรือปลูกในที่ที่มีความชื้นสูง และให้กลิ่นหอมแรงมากที่สุด ผู้วิจัยสนใจศึกษา กรรมวิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากกุหลาบมอญพันธุ์แดงประเสริฐ ด้วยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายและวิธีการสกัดแบบซอกเลต เพราะเป็นวิธีที่สามารถใช้ตัวอย่างและสารเคมีในปริมาณน้อย วิธีการทำง่าย อุปกรณ์ที่ใช้ราคาไม่แพง



ไม่เปลือกพื้นที่ รวมถึงศึกษาปัจจัยที่ส่งผลในการสกัดและองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยจากกุหลาบมอญพันธุ์แดงประเสริฐ

## 1.2 ข้อมูลทางพฤกษศาสตร์ของกุหลาบมอญ



รูปที่ 1-1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นและดอกกุหลาบมอญ

กุหลาบมอญ หรือกุหลาบออน (เงี้ยว-แม่ฮ่องสอน) หรือต้นยี่สุ่น (ภาคกลาง) มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Rosa damascena* Mill. วงศ์ Rosaceae ชื่อสามัญคือ Rose, Damask rose โดย *Rosa damascena* Mill. เป็นกุหลาบพันธุ์ผสม ระหว่าง *Rosa gallica* L. กับ *Rosa phoenicia* Boiss. หรือ *Rosa moschata* Herrm. เป็นกุหลาบสายพันธุ์เดียวกับ Bulgarian rose ที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในดามัสกัสนครหลวงของประเทศซีเรีย

กุหลาบมอญเป็นกุหลาบพันธุ์พื้นเมืองของหงสาวดี (เมืองของชาวมอญในอดีต) โดยเป็นดอกไม้ที่ทรงโปรดของสมเด็จพระนเรศวร พระองค์ทรงนำกลับมาปลูกหลังจากเสร็จสงครามที่เมืองมอญ โดยต้นกุหลาบมอญน่าจะถือเป็นกุหลาบพื้นเมืองของไทยได้ เพราะเข้ามาในเมืองไทยนานจนปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมและสภาพอากาศได้เป็นอย่างดี สามารถแพร่พันธุ์ได้เองตามธรรมชาติ มีบันทึกกล่าวไว้ว่า ได้มีการนำกุหลาบมอญเข้ามาปลูก ราวปี พ.ศ. 2112-2133 ในสมัยกรุงศรีอยุธยา โดยบันทึกว่า กุหลาบมอญนี้เป็น ไม้ทรงโปรดของสมเด็จพระนเรศวรมหาราช ซึ่งทรงนำมาจากหัวเมืองมอญในครั้งเข้าตีเมืองมอญจึงได้ชื่อว่า “กุหลาบมอญ”

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกุหลาบมอญพันธุ์แดงประเสริฐ เป็นไม้พุ่มขนาดเล็กสูง 1-2 เมตร ลำต้นและกิ่งก้านมีหนามแหลม ใบเป็นใบประกอบแบบขนนก รูปไข่ กว้าง 2-4 ซม. ยาว 3-5 ซม. ปลายใบแหลม โคนใบมน ขอบใบจักเป็นฟันเลื่อย ออกดอกเป็นช่อ ผลเป็นผลกลุ่ม ดอกสีชมพูหรือสีแดง ออกเป็นช่อที่ปลายกิ่งอยู่รวมเป็นกระจุก 3-5 ดอก มีกลีบเลี้ยง 5 กลีบ มีกลีบดอกจำนวนมากเรียงซ้อนกันหลายชั้น เมื่อดอกบานมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.5-7 ซม. ดอกดกและบานได้หลายวัน ออกดอกตลอดปีมีกลิ่นหอมแรงมาก [3,4] กุหลาบมอญพันธุ์แดงประเสริฐ ยังมีชื่อเรียกอีกชื่อ

หนึ่ง ว่ากุหลาบชมพูประเสริฐ ที่มาของการเรียกเป็นสองชื่อคือ ในช่วงฤดูร้อนสีของดอกจะเป็นสีแดงเข้ม จึงถูกเรียกชื่อ ในช่วงฤดูร้อนว่า กุหลาบแดงประเสริฐ แต่เมื่อ เข้าสู่ฤดูหนาวกลีบดอกจะเปลี่ยนเป็นสีชมพู [5]

### 1.3 วัตถุประสงค์และขอบเขตของการวิจัย

สกัดน้ำมันหอมระเหยจากกุหลาบมอญพันธุ์แดงประเสริฐ (*Rosa damascena* Mill.) จากส่วนของดอก ใบและ ลำต้น เปรียบเทียบปัจจัยในการสกัดน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย และวิธีการสกัดด้วยซอก เลต จากนั้นวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหย เปรียบเทียบว่าส่วนใดให้องค์ประกอบทางเคมีของ น้ำมันหอมระเหยออกมามากที่สุด

### 1.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

โดยจากงานวิจัยของ Khan และคณะ [6] สามารถทำการสกัดดอกกุหลาบ *Rosa centifolia* เปรียบเทียบกับ *Rosa damascena* ด้วยวิธีการสกัดแบบซอกเลตด้วยตัวทำละลายเฮกเซนบริสุทธิ์ 95% และการกลั่น (distillation) วิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยจากกุหลาบทั้งสองสายพันธุ์ด้วยเทคนิคลิควิดแก๊สโครมาโทกราฟี (Liquid gas chromatography) ออกมาได้ สารหอมระเหยที่เป็นองค์ประกอบสำคัญในกุหลาบทั้งสองสายพันธุ์นี้ คือ Geraniol, Eugenol, Rhodinol, Citrnellol, Linolool, Phenyl ethyl alcohol, Rhodinyl acetate

Gavahian และคณะ [7] บอกว่ามีวิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหยอยู่หลายวิธี เช่น การสกัดด้วยน้ำ (hydrodistillation) การสกัดด้วยไอน้ำ (steam distillation) และการสกัดด้วยตัวทำละลาย (organic solvent extraction) แต่ในงานวิจัยนี้ทำการทดลองและเปรียบเทียบข้อดี ข้อเสียของวิธีสกัดน้ำมันหอมระเหยจาก peppermint (*Menthapiperita L.*) ทั้งการสกัดด้วยน้ำ (hydrodistillation) การสกัดด้วยไอน้ำ (steamdistillation) แล้วทำการ วิเคราะห์องค์ประกอบของสารที่ได้จากแต่ละวิธีด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมทรี (GC-MS) แล้วพบว่า น้ำมันหอมระเหยจากวิธีการสกัดทั้งสองมีความใกล้เคียงกันทั้งด้านกายภาพ และองค์ประกอบทางเคมี

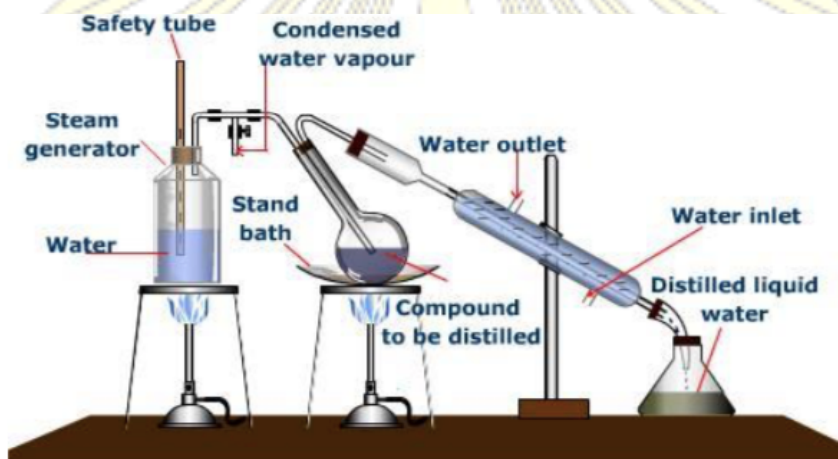
จากบทความของ Boskabady และคณะ [8] และบทความของ Mohaddese [9] นอกจากกุหลาบมอญสายพันธุ์ *Rosa Damascena* Mill. จะเป็นไม้ดอกที่สวยงามและให้กลิ่นหอมแล้ว กุหลาบมอญยังมีคุณสมบัติอื่น ๆ ในด้าน การแพทย์อีก เช่น คุณสมบัติในการ ด้านเชื้อเอดส์ ด้านเชื้อแบคทีเรีย ด้านสารอนุมูลอิสระ ระงับอาการไอ เป็นยานอน หลับ และบรรเทาอาการโรคเบาหวาน เป็นต้น

## 1.5 หลักการและทฤษฎี

### 1.5.1 กรรมวิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหย

กรรมวิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหยในปัจจุบันมีอยู่หลายวิธี เช่น การกลั่นด้วยน้ำ (Hydrodistillation) การกลั่นด้วยไอน้ำ (Steam distillation) การสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction) อองเฟลอราจ (enfleurage) โคโฮบชัน (Cohobation) เป็นต้น

การกลั่นด้วยไอน้ำ (Steam distillation) เป็นวิธีการสกัดด้วยรูปแบบหนึ่งของการกลั่น ใช้สำหรับตัวอย่างพืชที่ไวกับการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ โดยวิธีนี้เป็นหนึ่งในวิธีที่เก่าแก่และได้รับการยอมรับอย่างกว้างขวางว่าเป็นวิธีในการแยกน้ำมันหอมระเหยจากตัวอย่างพืช วิธีนี้จะใช้ไอน้ำเป็นตัวไปทำลายหรือแทรกตัวเข้าไปในช่องหรือรูของตัวอย่างเพื่อให้ น้ำมันหอมระเหยในตัวอย่างถูกปล่อยออกมาแทน ไอน้ำจะถูกควบแน่นและจะได้น้ำมันหอมระเหย จุดเดือดของเทคนิคนี้จะอยู่ที่ช่วง 150 องศาเซลเซียส จนถึง 300 องศาเซลเซียส เพื่อให้สารระเหยระเหยที่อุณหภูมิใกล้เคียงกับจุดเดือดของน้ำ



รูปที่ 1-2 การสกัดน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ

การสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction) หรือเรียกว่าการสกัดของเหลวด้วยของเหลว เป็นวิธีการแยกสาร โดยอาศัยการละลายของสารในแต่ละส่วน คือเลือกใช้ตัวทำละลายของเหลวสองชนิดที่ไม่สามารถละลายเข้าด้วยกันได้ ตัวอย่างเช่น น้ำ และตัวทำละลายอินทรีย์ โดยการสกัดด้วยตัวทำละลาย ใช้ในกระบวนการผลิตน้ำหอม การทำน้ำมันพืช หรือไบโอดีเซล อีกทั้งเหมาะสำหรับการสกัดที่ไม่อยากให้ตัวอย่างพืชเกิดความเสียหาย ทำให้ได้น้ำมันหอมระเหยปริมาณมากขึ้น ปริมาณและคุณภาพของสารสกัดขึ้นอยู่กับตัวทำละลายและความร้อนที่ใช้ เป็นวิธีที่เป็นที่นิยมมากเพราะเป็นวิธีสกัดที่ง่าย ราคาไม่แพง และให้ประสิทธิภาพในการสกัดดี แต่มีข้อเสียคือใช้ระยะเวลานานในการสกัด และใช้ตัวทำละลายปริมาณมาก



### 1.5.2 เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี (gas chromatograph-mass spectrometer)

การวิเคราะห์โดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี เป็นเทคนิคที่ใช้ในการวิเคราะห์หาสารประกอบอินทรีย์ต่างๆ ได้ทั้งวิเคราะห์เชิงคุณภาพ และเชิงปริมาณ ให้ข้อมูลที่มีความแม่นยำสูง โดยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี อาศัยเทคนิคการแยกองค์ประกอบของสารผสม โดยอาศัยความแตกต่างของอัตราการเคลื่อนที่ของแต่ละองค์ประกอบของสารผสมบนเฟสคงที่ (Stationary phase) ภายใต้การพาของเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) แก๊สดำพา คือ แก๊สฮีเลียม เมื่อสารที่ต้องการวิเคราะห์ผ่านเข้าสู่เครื่อง GC สารดังกล่าวจะถูกเปลี่ยนเป็นไอ และส่วนไอของสารผสมจะถูกพาเข้าสู่คอลัมน์โดยแก๊สฮีเลียม ซึ่งภายในคอลัมน์จะเกิดการแยกสารผสมโดยอาศัยเกิดอันตรกิริยาระหว่างสารที่อยู่ภายในคอลัมน์ และสารผสม จากนั้นโมเลกุลของสารเชิงเดี่ยวจะถูกพาเข้าสู่เครื่องแมสสเปกโตรมิเตอร์ (Mass Spectrometer) โมเลกุลของสารเชิงเดี่ยวจะได้รับพลังงานจากลำแสงอิเล็กตรอนพลังงานสูงทำให้เกิดการแตกตัวอยู่ในรูปประจุ เรียกว่า “ Molecular ion ”,  $M^+$  [10]



รูปที่ 1-3 เครื่องโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี (GC-MS)

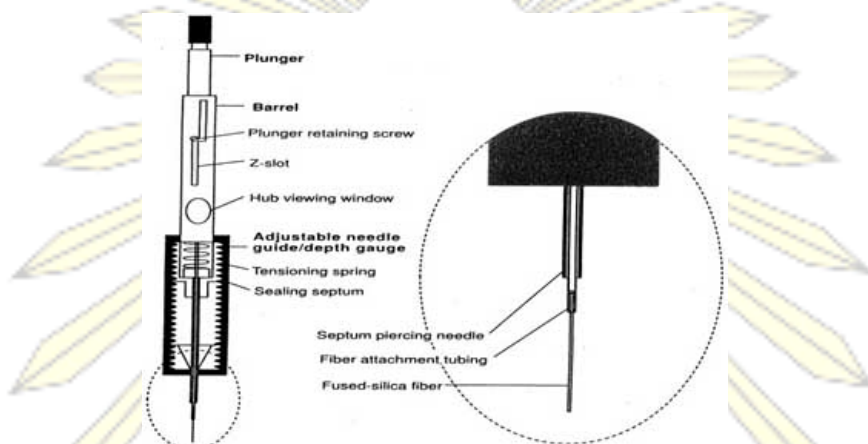
### 1.5.3 เทคนิคเฮดสเปซ-โซลิดเฟสไมโครเอกซ์แทรกชัน (Headspace Solid-phase microextraction gas chromatography)

ในปี ค.ศ. 1990 โดย Arthur C.L. และ Pawliszyn J. [11] ได้พัฒนาเทคนิค HS-SPME ขึ้นซึ่งเป็นเทคนิคการสกัดสารระเหยง่ายในตัวอย่าง (ของแข็ง ของเหลว หรือแก๊ส) ที่บรรจุอยู่ในขวดเก็บตัวอย่างให้ออกมาอยู่ในเฮดสเปซ (headspace, HS) เพื่อให้ไฟเบอร์ของ SPME ดูดซับสารระเหยง่ายจากเฮดสเปซ แล้วจึงปล่อยสารระเหยง่ายดังกล่าวเข้าสู่ส่วนปล่อยสารของเครื่อง GC ดังนั้นหลักการของ HS-SPME ประกอบด้วย 2 ขั้นตอน คือ (1) Extraction Step โดยพอลิเมอร์ที่เคลือบอยู่บนไฟเบอร์จะทาหน้าที่ดูดซับสารระเหยง่าย จากตัวอย่างบริเวณเฮดสเปซในขวดเก็บตัวอย่าง (2) Desorption Step นำไฟเบอร์ที่ดูดซับสารตัวอย่างมา วิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS เพื่อปลดปล่อยสารตัวอย่างออกจากไฟเบอร์ที่บริเวณส่วนฉีดสารของเครื่อง GC- MS

ข้อดีของการเตรียมสารโดยเทคนิค HS-SPME คือ เป็นเทคนิคที่ง่าย มีประสิทธิภาพสูง และไม่ต้องใช้ตัวทำละลายในการสกัดสาร ข้อดีของการเตรียมสารโดยเทคนิค HS-SPME คือ เป็นอุปกรณ์ที่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศ มีราคาแพง การใช้งานต้องระมัดระวัง เนื่องจากไฟเบอร์ค่อนข้างเปราะ และหักง่าย และในตัวอย่างที่เป็นของแข็งผลของ สารรบกวน (matrix effect) จะส่งผลต่อการวิเคราะห์ค่อนข้างมาก

หลักการทางานของ SPME ประกอบด้วย 2 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนการสกัดสาร และขั้นตอนการปลดปล่อยสาร  
ขั้นตอนการสกัดสารประกอบด้วย 3 ขั้นตอน

- 1) เจาะเข็ม SPME ผ่าน septum ของขวดบรรจุสารตัวอย่าง
- 2) ปล่อยให้ไฟเบอร์ออกมาจาก septum piercing needle ลงไปในบริเวณเฮดสเปซเพื่อให้เกิดการดูดซับของสารระเหยง่ายบนไฟเบอร์
- 3) เก็บไฟเบอร์เข้าไปใน septum piercing needle และดึงเข็ม SPME ออกจากขวดบรรจุสารตัวอย่างเพื่อเข้าสู่ขั้นตอนการปลดปล่อยสาร



รูปที่ 1-4 ส่วนประกอบอุปกรณ์โซลิดเฟสไมโครเอกซ์แทรกชัน

#### 1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เรียนรู้หลักการและกรรมวิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหย
2. ได้สารสกัดน้ำมันหอมระเหยจากต้นกุหลาบมอญพันธุ์แดงประเสริฐ
3. รู้องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยจากต้นกุหลาบมอญพันธุ์แดงประเสริฐ
4. เปรียบเทียบตัวแปรต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องในการสกัด และสามารถสรุปผลได้ว่าตัวแปรใดบ้างที่มีผลทำให้ได้สารสกัดออกมามีปริมาณและคุณภาพมากที่สุด



## บทที่ 2 การทดลอง

### 2.1 วัตถุประสงค์

ลำต้น ใบ และดอกของต้นกุหลาบมอญพันธุ์แดงประเสริฐ (*Rosa damascena* Mill.)  
พื้นที่เพาะปลูก อำเภอ บางเลน จังหวัด นครปฐม

### 2.2 รายการเครื่องมือ อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. เครื่องกลั่นระเหยสารสุญญากาศแบบหมุน (rotary evaporator)
3. เครื่อง นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรเมทรี (NMR) Varian company, USA
4. เครื่อง นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรเมทรี (NMR) Bruker, Germany
5. เครื่อง แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมทรี (GC-MS) Agilent รุ่น 7890A GC system & 7000B GC/MS Triple Quad
6. อุปกรณ์โซลิดเฟสไมโครเอ็กซ์แทรกชัน (solid phase microextraction) ของ Supelco (50/30  $\mu$ m DVB/CAR/PDMS)
7. ตู้ทำความเย็น (refrigerator) อุณหภูมิ -24 องศาเซลเซียส
8. ตู้ทำความเย็น (refrigerator) อุณหภูมิ -17 องศาเซลเซียส
9. ตู้อบเครื่องแก้ว (hot air oven) อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส
10. เตาให้ความร้อน (hot plate)
11. ชุดเครื่องกลั่นอย่างง่าย : เครื่องควบแน่น (condenser) ข้อต่อสำหรับลดความดัน (vacuum adaptor) ขวดหรือภาชนะสำหรับเก็บของเหลวที่กลั่นได้ (receiving flask) และเตาหลุมให้ความร้อน (heating mantle)
12. ชุดเครื่องกลั่นแบบซอกเลต : เครื่องควบแน่น (condenser) ข้อต่อสำหรับลดความดัน (vacuum adaptor) ชุดสกัดซอกเลต (Soxhlet) ถังชาแทนหลอดกระดาษกรองสำหรับการสกัด (extraction thimble) และเตาหลุมให้ความร้อน (heating mantle)
13. โถดูดความชื้น (desiccator)
14. ขวดก้นกลมขนาด 25, 50, 100, 250 มิลลิลิตร
15. กระจกบอขวดขนาด 50, 100 มิลลิลิตร
16. ปีกเกอร์ขนาด 50, 100 มิลลิลิตร
17. ขวดรูปชมพู่ขนาด 50, 100 มิลลิลิตร
18. แท่งแก้วคน
19. หลอดทดลอง นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรเมทรี พร้อมฝาปิด
20. หลอดหยด

- 21.ขวดเก็บสารพร้อมฝาปิด
- 22.ขวดขนาด 1.5 มิลลิลิตร (vial)
- 23.ซ็อนตักสาร
- 24.กระดาษกรอง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 125 มิลลิลิตร
- 25.กรวยแก้ว
- 26.อลูมิเนียมฟอยด์
- 27.แผ่นพาราฟิล์ม (Bemis Flexible Packaging, Neenah, WI 54956)

### 2.3 รายการสารเคมี

1. เฮกเซนเกรดงานวิเคราะห์ทางเคมี (Analytical Reagent grade)
2. เฮกเซนกลั่น : เฮกเซนเกรดงานวิเคราะห์ทางเคมีนำมากลั่นด้วยการกลั่นอย่างง่าย
3. เพนเทนเกรดงานวิเคราะห์ทางเคมี (Analytical Reagent grade)
4. เพนเทนกลั่น : เพนเทนเกรดงานวิเคราะห์ทางเคมีนำมากลั่นด้วยการกลั่นอย่างง่าย
5. เอทานอลเกรดงานวิเคราะห์ทางเคมี (Analytical Reagent grade)
6. เอทานอลกลั่น : เอทานอลเกรดงานวิเคราะห์ทางเคมีนำมากลั่นด้วยการกลั่นอย่างง่าย
7. เอทานอลเกรดงานวิเคราะห์ทางแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas Chromatography grade)
8. คลอโรฟอร์ม D1 (Deuteriochloroform, CDCl<sub>3</sub>)
9. ซิลิกาเจล (0.063-200 mm, Merck 1.0773)

### 2.4 วิธีการทดลอง

#### 2.4.1 ขั้นตอนการเก็บตัวอย่าง

เริ่มเก็บต้นกุหลาบมอญพันธุ์แดงประเสริฐพื้นที่เพาะปลูก อำเภอบางเลน จังหวัด นครปฐม ตั้งแต่ช่วงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2560 - เดือนเมษายน พ.ศ. 2561 โดยเก็บในช่วงเวลาประมาณ เจ็ดโมง ถึง แปดโมงเช้า โดยตัวอย่างจะเก็บไว้ในถุงพลาสติก เขียนระบุวันและเวลาที่เก็บตัวอย่าง แล้วแบ่งเป็น ตัวอย่างสดที่นำไปทดลองภายในวันนั้น ตัวอย่างแช่เย็นเก็บในตู้ทำความเย็นที่อุณหภูมิ -17 องศาเซลเซียสจนกว่าจะนำมาทดลอง และตัวอย่างแช่เย็นเก็บในตู้ทำความเย็นที่อุณหภูมิ - 24 องศาเซลเซียสจนกว่าจะนำมาทดลอง

## 2.4.2 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างในการสกัด

ตัวอย่างของต้นกุหลาบมอญพันธุ์แดงประเสริฐ ที่นำมาทดลองมีสามส่วนได้แก่ ดอก ใบ และลำต้น นำมาฝั่ ประมาณ 8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง ในการเตรียมตัวอย่างดอก จะมีทั้ง ดอกสดที่ใช้ทั้งดอก ดอกสดที่เอาแต่กลีบ ดอกสดแช่เย็นที่ใช้ทั้งดอกและดอกสดแช่เย็นที่เอาแต่กลีบ ตัดตัวอย่างออกให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ ซึ่งน้ำหนักตัวอย่าง แล้วแบ่งออกเป็น 3 ส่วน ให้มีน้ำหนักเท่า ๆ กัน ใส่ตัวอย่างลงในขวดรูปชมพู่ ขวดที่ 1, 2 และ 3 แล้วจดบันทึกน้ำหนัก ส่วนการเตรียมตัวอย่างใบและลำต้น จะมี ใบสด ลำต้นสด และใบกับลำต้นสดรวมกัน ตัดตัวอย่างออกให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ ซึ่งน้ำหนักตัวอย่าง แล้วแบ่งออกเป็น 3 ส่วน ให้มีน้ำหนักเท่า ๆ กัน ใส่ตัวอย่างลงในขวดรูปชมพู่ ขวดที่ 1, 2 และ 3 แล้วจดบันทึกน้ำหนักเช่นเดียวกัน ตัวทำละลายที่ใช้ในการทดลองคือ เฮกเซน เพนเทน และเอทานอล ซึ่งนำไปกลั่นก่อนด้วยการกลั่นอย่างง่าย



รูปที่ 2-1 กลีบดอกกุหลาบแบบแช่เย็น



รูปที่ 2-2 กลีบดอกกุหลาบสด



รูปที่ 2-3 การเตรียมตัวอย่างดอกสดแบบใช้ทั้งดอก

## 2.4.3 ขั้นตอนการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากกุหลาบมอญด้วยวิธีแช่ด้วยตัวทำละลาย

### 2.4.3.1 การสกัดด้วยตัววิธีแช่ด้วยตัวทำละลายที่อุณหภูมิห้อง

ดวงตัวทำละลาย เฮกเซน ด้วยกระบอกตวง โดยอัตราส่วนพืชต่อตัวทำละลายที่ใช้สำหรับส่วนดอกสด และ ดอกที่เก็บแช่เย็นได้แก่ 24, 64, 80, 90, 130, 150, 209 (มิลลิกรัม/ลิตร) ไบสดใช้อัตราส่วน 35 และ 97 (มิลลิกรัม/ลิตร) ลำต้นสดใช้อัตราส่วน 8 และ 39 (มิลลิกรัม/ลิตร) ไบและลำต้นสดรวมกันใช้ 50 (มิลลิกรัม/ลิตร) ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ที่มีตัวอย่าง อัตราส่วนละสามขวด ปิดปากขวดด้วยแผ่นพาราฟิล์ม จากนั้นนำขวดก้นกลมที่เตรียมไว้สำหรับการสกัด ไปแช่และจัดบันทึกน้ำหนัก

ดวงตัวทำละลาย เพนเทน ด้วยกระบอกตวง โดยอัตราส่วนพืชต่อตัวทำละลายที่ใช้สำหรับส่วนดอกสดได้แก่ 48, 70, 80 (มิลลิกรัม/ลิตร) ไบสด 30 (มิลลิกรัม/ลิตร) ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ที่มีตัวอย่าง อัตราส่วนละสามขวด ปิดปากขวดด้วยแผ่นพาราฟิล์ม จากนั้นนำขวดก้นกลมที่เตรียมไว้สำหรับการสกัด ไปแช่และจัดบันทึกน้ำหนัก

แช่ตัวทำละลายทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30-31 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง 5 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมง เมื่อครบจำนวนชั่วโมง เทตัวทำละลายจากขวดตัวอย่างใส่ขวดก้นกลม แล้วระเหยตัวทำละลายโดยใช้เครื่องกลั่นระเหยสารสุญญากาศแบบหมุน (rotary evaporator) ทำให้ครบทั้งสามขวดต่อหนึ่งอัตราส่วน จากนั้นนำขวดก้นกลมทั้งสามขวดไปแช่และจัดบันทึกน้ำหนัก ทำการสกัดซ้ำแบบเดิม อีกสองครั้ง



รูปที่ 2-4 ขั้นตอนการสกัดด้วยวิธีการแช่ด้วยตัวทำละลายเพนเทน

### 2.4.3.2 การสกัดด้วยตัววิธีแช่ด้วยตัวทำละลายร้อน

ตั้งเตาให้ความร้อน ที่อุณหภูมิพอดีกับจุดเดือดของตัวทำละลายเฮกเซน ประมาณ 69 องศาเซลเซียส นำเฮกเซนมาตั้งบนเตาให้ความร้อน จนเฮกเซนเดือด จากนั้นดวงตัวทำละลาย เฮกเซนร้อนด้วยกระบอกตวงโดยใช้อัตราส่วน 90 (มิลลิกรัม/ลิตร) ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ที่มีตัวอย่าง อัตราส่วนละสามขวด ปิดปากขวดด้วยแผ่นพาราฟิล์ม

เตรียมซังและจดบันทึกน้ำหนักขวดกันกลมไว้สำหรับใส่สกัด จากนั้นอุ่นขวดรูปชมพู่ที่มีตัวอย่างที่อุณหภูมิประมาณ 69 องศาเซลเซียส บนเตาให้ความร้อนโดยปิดฝาขวดเอาไว้ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เมื่อครบจำนวนชั่วโมง เทตัวทำละลายใส่ขวดกันกลม แล้วระเหยตัวทำละลายโดยใช้เครื่องกลั่นระเหยสารสูญญากาศแบบหมุน (rotary evaporator) ทำให้ครบทั้งสามขวด แล้วนำขวดกันกลมไปซังและจดบันทึกน้ำหนัก ทำการสกัดซ้ำแบบเดิมอีกสองครั้ง

#### 2.4.3.3 การสกัดด้วยวิธีชอกเลต (Soxhlet extraction apparatus)

ตัวอย่างของต้นกุหลาบมอญพันธุ์แดงประเสริฐ ที่นำมาทดลองคือกลีบดอกสดนำมาฝั้ประมาณ 8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง นำไปซังแล้วจดบันทึกน้ำหนัก ใส่กลีบดอกที่ซังลงในถุงชา แล้วใส่ลงไปในอุปกรณ์สกัดชอกเลต จากนั้นดวงตัวทำละลายเฮกเซนด้วยกระบอกตวง ใช้อัตราส่วนพืชต่อตัวทำละลาย 90 (มิลลิกรัม/ลิตร) ใส่ลงในขวดกันกลม แล้วตั้งอุปกรณ์การกลั่น เป็นเวลา 6 ชั่วโมงและ 8 ชั่วโมง หลังจากได้สารสกัด นำไประเหยตัวทำละลายโดยใช้เครื่องกลั่นระเหยสารสูญญากาศแบบหมุน (rotary evaporator) แล้วนำขวดกันกลมและสารสกัดที่เหลือไปซังและจดบันทึกน้ำหนัก



รูปที่ 2-5 การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากกลีบดอกกุหลาบสดด้วยวิธีชอกเลต

#### 2.4.3.4 การสกัดซ้ำด้วยเอทานอล

สกัดสารตัวอย่างด้วยเอทานอลที่กลั่นแบบอย่างง่าย โดยเทเอทานอลประมาณ 5 มิลลิลิตร ลงในขวดกันกลม ที่มีสารสกัดหลังระเหยตัวทำละลายแล้ว เพื่อละลายสารสกัดให้ได้เป็น น้ำมันหอมระเหย ที่เรียกว่า absolute rose oil แล้วรินสารละลายตัวอย่างจากขวดกันกลมใส่ลงในขวดขนาดเล็ก จากนั้นระเหยเอทานอลออก บนเตาให้ความร้อน

#### 2.4.3.5 การคำนวณหาปริมาณสารสกัด (% yield hexane crude extract)

ใช้สูตร น้ำหนักของสารที่สกัดได้ (กรัม) / ปริมาณตัวอย่างที่ใช้ในการสกัด (กรัม) \* 100 คำนวณหาปริมาณสารสกัดของการทดลอง แต่ละครั้งของการสกัดออกมา ทำการพิจารณาค่าปริมาณสารสกัด ก่อนจะหาค่าเฉลี่ยของการทดลอง แล้วเปรียบเทียบผลการทดลองของแต่ละวิธี

#### 2.4.4 ขั้นตอนการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากกุหลาบมอญ โดยใช้เทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรเมทรี (NMR)

ใช้ข้อต้นตำสาร ชูดสารตัวอย่างมาประมาณ 3-5 มิลลิกรัม แล้วละลายสารให้กลายเป็นของเหลว ด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม-D1 ประมาณ 3-5 มิลลิตร จากนั้นใช้หลอดหยด ดูดสารละลายใส่หลอดทดลอง นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรเมทรี แล้วปิดฝาให้สนิท ตัดฉลากตัวอย่างให้เรียบร้อย แล้วนำเข้าเครื่อง นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรเมทรี (NMR) นำสเปกตรัมที่ได้มาวิเคราะห์องค์ประกอบของสารในน้ำมันหอมระเหยจากกุหลาบมอญและจัดบันทึกข้อมูล

#### 2.4.5 ขั้นตอนการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากกุหลาบมอญ โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมทรี (GC-MS) แบบอโต้แซมเปิลริควิด (Autosampler liquid)

ใช้เอทานอลเกรดงานวิเคราะห์ทางเคมี 1.5 มิลลิตร ละลายสารตัวอย่างที่เหลือในข้อ 2.4.3.4 แล้วใส่ในขวดขนาด 1.5 มิลลิตร (vial)

ตั้งค่าสถานะของเครื่องให้เหมาะสมกับตัวอย่าง โดยในการทดลองนี้จะกำหนดสถานะของเครื่องดังนี้

คอลัมน์: HP-5ms 30 m x 0.25 mm, film thickness 0.25  $\mu$ m

แก๊สตัวพา: ฮีเลียม

อุณหภูมิเตาให้ความร้อน: 40 องศาเซลเซียส ถึง 300 องศาเซลเซียส ที่ 5 องศาเซลเซียส/นาที

อุณหภูมิที่ฉีด: 260 องศาเซลเซียส

ปริมาตรที่ฉีด: 1.0  $\mu$ l, Split Ratio 10 : 1

เครื่องตัวจับ: MS, EI -7o eV, ion source temperature 230 องศาเซลเซียส โหมดสแกน m/z 45-350

เทเอทานอลเกรดงานวิเคราะห์ทางเคมี ใส่ขวด (vial) ขนาด 1.5 มิลลิตร ให้ฉีดเข้าเครื่องก่อนเป็นขวดแรก (blank) แล้วตามด้วยขวดตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ นำโครมาโทแกรมที่ได้มาดูองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยแล้ว ทำการเปรียบเทียบองค์ประกอบของสารที่สกัดจากแต่ละส่วนของต้นกุหลาบมอญ

#### 2.4.6 ขั้นตอนการวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยกุหลาบมอญโดยใช้เทคนิคเฮดสเปซโซลิตเฟสไมโครเอ็กแทรกชัน / แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมทรี (HP-SPME/GC-MS)

ตั้งค่าสถานะเครื่องให้เหมาะสมกับตัวอย่าง โดยในการทดลองนี้จะกำหนดสถานะของเครื่อง

คอลัมน์: HP-5ms 30 m x 0.25 mm, film thickness 0.25  $\mu$ m

แก๊สตัวพา: ฮีเลียม

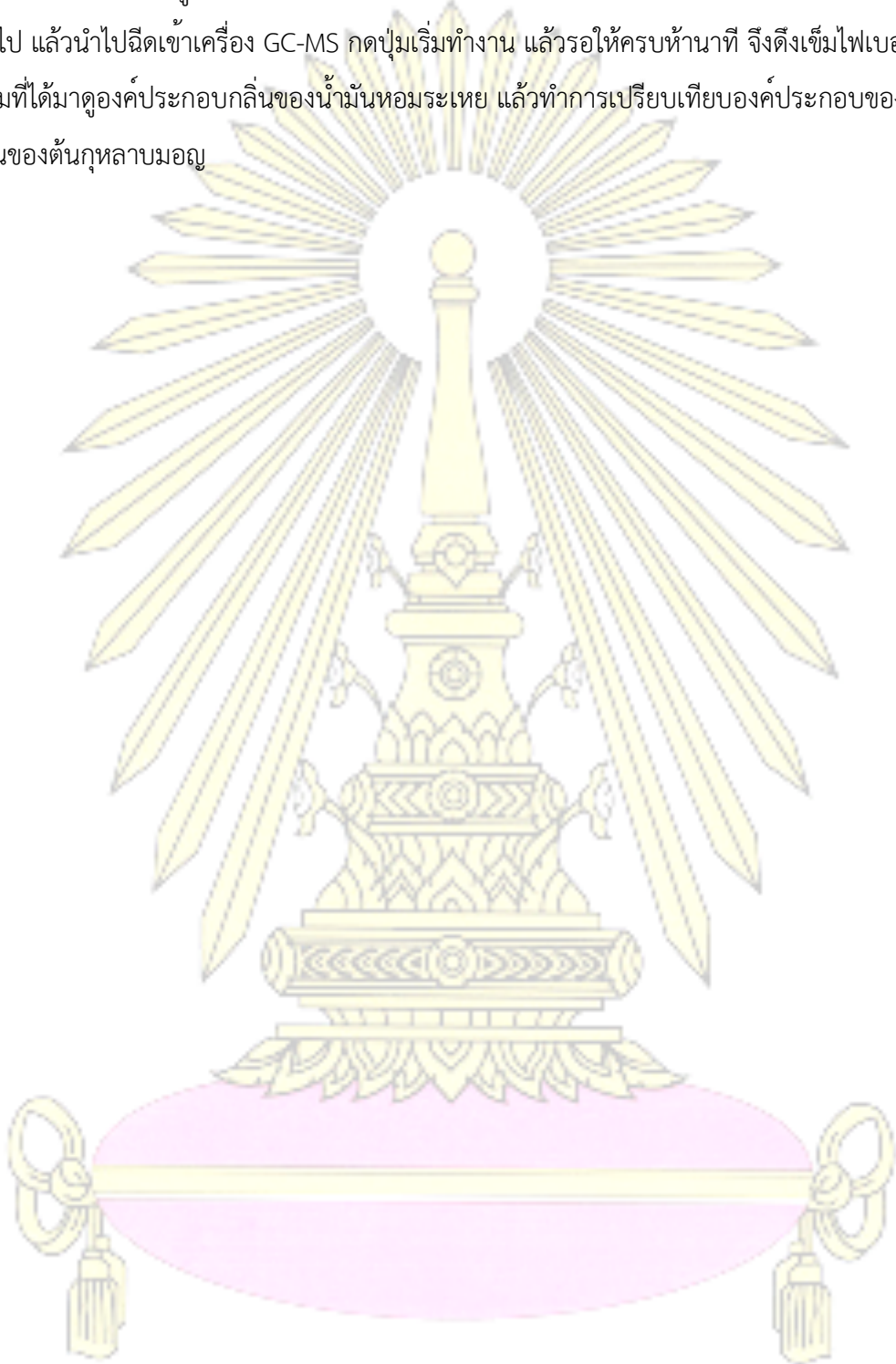
อุณหภูมิเตาให้ความร้อน: 40 องศาเซลเซียส ถึง 200 องศาเซลเซียส ที่ 5 องศาเซลเซียส/นาที และจาก 200 องศาเซลเซียส ถึง 250 องศาเซลเซียส ที่ 5 องศาเซลเซียส/นาที

อุณหภูมิที่ฉีด: 260 องศาเซลเซียส Split Ratio 10 : 1

เครื่องตัวจับ: MS, EI -7o eV, ion source temperature 230 องศาเซลเซียส โหมดสแกน m/z 35-350



ใช้ SPME ไฟเบอร์ (50/30  $\mu\text{m}$  DVB/CAR/PDME, Stable flex) เป็นไฟเบอร์เปล่าให้ฉีดเข้าเครื่องก่อน เป็นตัวแรก (blank) จากนั้นเตรียมตัวอย่างโดยนำแผ่นอะลูมิเนียมฟอยด์ห่อปิดปากขวดตัวอย่างที่ต้องการทดสอบให้เรียบร้อย ใช้เข็มฉีดยาเจาะรูลงไปที่แผ่นอะลูมิเนียมฟอยด์ ใช้ SPME ไฟเบอร์ (50/30  $\mu\text{m}$  DVB/CAR/PDME, Stable flex) จิ้มลงไปตรงนั้น เลื่อนให้ไฟเบอร์ดูดซับสารออกมา จับเวลาดังตั้งไว้ ครึ่งชั่วโมง เมื่อครบครึ่งชั่วโมง ทำการเลื่อนไฟเบอร์กลับเข้าไป แล้วนำไปฉีดเข้าเครื่อง GC-MS กดปุ่มเริ่มทำงาน แล้วรอให้ครบห้านาที จึงดึงเข็มไฟเบอร์ออก นำโครมาโทแกรมที่ได้มาดูองค์ประกอบกลิ่นของน้ำมันหอมระเหย แล้วทำการเปรียบเทียบองค์ประกอบของกลิ่นที่สกัดจากแต่ละส่วนของต้นกุหลาบมอญ



### บทที่ 3

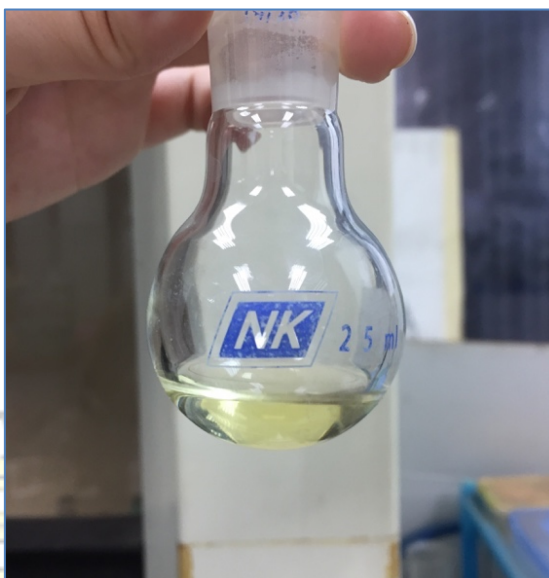
#### ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

##### 3.1 ผลการทดลองการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากต้นกุหลาบมอญ

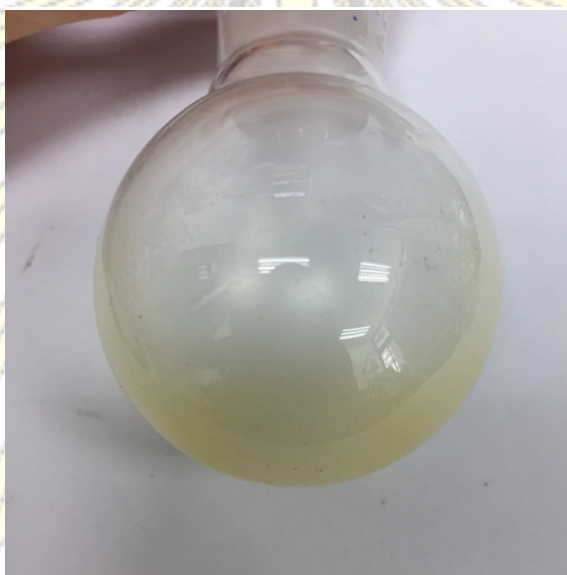
ส่วนของต้นกุหลาบมอญพันธุ์แดงประเสริฐที่นำมาสกัด มีดอกใบ และลำต้น ตัวอย่างที่ทดลองมีทั้งแบบสด และแบบเก็บแช่เย็นในตู้ทำความเย็น ก่อนนำมาสกัดโดยแช่ด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction) แบบธรรมดา และตัวทำละลายร้อน ได้แก่ เฮกเซนและเพนเทนที่กลั่นแล้ว และสกัดกลีบดอกกุหลาบสดด้วยวิธีชอกเลต (Soxhlet extraction) ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนที่กลั่นแล้ว สารสกัดที่ได้เป็นของเหลวใสสีเหลือง โดยสารสกัดจากดอกกุหลาบจะให้สารละลายสีเหลือง หรือสีเหลืองอ่อน สารสกัดจากใบ ให้สารละลายสีเหลืองเข้มที่สุด สารสกัดจากลำต้นให้สารละลายสีเหลืองจางจนเกือบไม่มีสี เมื่อเข้าเครื่องกลั่นระเหยสารสูญญากาศแบบหมุน (rotary evaporator) ระเหยตัวทำละลายให้แห้ง ได้สารสกัดของแข็งสีเหลืองแห้งเป็นขี้ผึ้งติดตามรอบ ๆ ขวดก้นกลม โดยที่ปริมาณของสารสกัดด้วยวิธีแช่ด้วยตัวทำละลายแต่ละครั้งทำทั้งหมด 3 ชั่วโมง อ้างอิงข้อมูลจากตารางที่ 3-1 ส่วนดอกอยู่ที่ 0.1% - 1.4% ส่วนใบ 0.7% - 1.0% ส่วนลำต้น 0.9% - 1.2% ส่วนการสกัดด้วยวิธีชอกเลตส่วนดอกด้วยเฮกเซน ที่ 6 ชั่วโมง และ 8 ชั่วโมง ข้อมูลจากตารางที่ 3-8 ได้ปริมาณสารสกัดที่ 0.1% และ 0.9%

หลังจากนั้น ทำการสกัดซ้ำด้วยเอทานอลที่กลั่นแล้ว เพื่อแยกให้ได้น้ำมันหอมระเหยที่เรียกว่า absolute rose oil ได้เป็นสารละลายใสสีเหลือง นำไปหาองค์ประกอบของสารสกัดด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี (GC-MS) แบบอโต้แซมเปิลริควิด (Autosampler liquid) นอกจากนี้สารสกัดที่ได้หลังจากระเหยตัวทำละลาย มีกลิ่นที่ชัดเจน จึงนำไปทดสอบเพิ่มด้วยเทคนิคเฮดสเปซโซลิดเฟสไมโครเอ็กแทรกชัน/แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี (HP-SPME/GC-MS)

เมื่อวิเคราะห์ผลของกรรมวิธีการสกัดด้วยการแช่ตัวทำละลายของแต่ละครั้งแล้วนำมาเปรียบเทียบปัจจัยต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องในการสกัดแล้วดูผลของปริมาณสารสกัดที่ได้ ถ้าเทียบแค่ปริมาณสารสกัดจากข้อมูลในตารางที่ 3-4 เทียบกับตารางที่ 3-5 และตารางที่ 3-6 เทียบกับตารางที่ 3-7 ไม่สามารถตัดสินได้ชัดเจนว่าตัวทำละลายเพนเทนหรือเฮกเซนดีกว่ากันในการสกัด เนื่องจากผลของปริมาณสารสกัดไม่ได้แตกต่างกันอย่างชัดเจน ดังนั้นควรดูผลข้อมูลการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารสกัดจากการทำเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี (GC-MS) เพื่อดูว่าองค์ประกอบของสารจากการใช้ตัวทำละลายชนิดไหนให้ผลแตกต่างกันหรือไม่ ด้านอัตราส่วนของพืชต่อตัวทำละลาย ถ้าอัตราส่วนมีค่าน้อย มีแนวโน้มจะได้ปริมาณสารสกัดที่เพิ่มมากขึ้นอ้างอิงจากข้อมูลในตารางที่ 3-1 ตัวทำละลายเฮกเซนที่อุ่นร้อนส่งผลให้ได้ปริมาณสารสกัดมากกว่าเฮกเซนที่อุณหภูมิปกติแค่เล็กน้อยเท่านั้นจากข้อมูลในตารางที่ 3-4 ส่วนการใช้ดอกสดและดอกแห้งแข็ง ดอกแห้งแข็งให้ปริมาณสารสกัดที่น้อยกว่าดอกสด เนื่องจากดอกสด ปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่ยังสะสมอยู่ในพืชมีมากกว่า ระยะเวลาในการสกัดที่นานขึ้นส่งผลให้ได้ค่าปริมาณสารสกัดที่มากขึ้นในวิธีสกัดแช่ด้วยตัวทำละลายของส่วนใบและลำต้น แต่การสกัดในส่วนดอกระยะเวลาที่นานขึ้นไม่ค่อยส่งผลกับปริมาณของสารสกัด ในวิธีการสกัดจากส่วนดอกด้วยวิธีชอกเลต ชั่วโมงในการสกัดที่นานขึ้นหมายถึงตัวอย่างจะสกัดซ้ำด้วยตัวทำละลายเฮกเซนบ่อยขึ้น จึงได้ค่าปริมาณสารสกัดแบบ 8 ชั่วโมงมากกว่าแบบ 6 ชั่วโมง ดังนั้นในกรรมวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายควรใช้ตัวอย่างพืชสด ใช้อัตราส่วนพืชต่อตัวทำละลายที่พอดีกัน อย่าให้มากเกินไปหรือน้อยเกินไป



รูปที่ 3-1 สารสกัดด้วยวิธีแช่ด้วยตัวทำละลายจากส่วนดอกด้วยตัวทำละลายเฮกเซน



รูปที่ 3-2 สารสกัดด้วยวิธีแช่ด้วยตัวทำละลายจากส่วนดอกหลังระเหยตัวทำละลาย

ตารางที่ 3-1 การสกัดด้วยวิธีแช่ด้วยตัวทำละลาย

ตัวอย่าง	วันที่เก็บ ตัวอย่าง	ตัวทำ ละลาย	ระยะเวลาใน การสกัด (ชั่วโมง)	อัตราส่วนพืชต่อตัวทำ ละลาย (มิลลิกรัม/ลิตร)	ปริมาณสาร สกัดรวม (% yield)
1. ดอกกุหลาบสีแดงแช่แข็งที่ -17 องศาเซลเซียส	3/10/60	เฮกเซน	24	-	0.203
2. ดอกกุหลาบสด	15/12/60	เฮกเซน	24	-	0.610
3. ดอกกุหลาบแช่แข็งที่ -17 องศาเซลเซียส	22/10/60	เฮกเซน	24	64	0.445
4. ดอกกุหลาบสดสีชมพู	21/01/61	เฮกเซน	24	24	0.770

ตัวอย่าง	วันที่เก็บ ตัวอย่าง	ตัวทำ ละลาย	ระยะเวลาใน การสกัด (ชั่วโมง)	อัตราส่วนพืชต่อตัว ทำละลาย (มิลลิกรัม/ลิตร)	ปริมาณสารสกัดรวม (% yield)
5. ดอกกุหลาบสดสีชมพู	21/01/61	เพนเทน	24	48	0.228
6. ใบสด	21/01/61	เฮกเซน	24	97	1.553
7. ลำต้นสด	21/01/61	เฮกเซน	24	40	0.428
8. ดอกกุหลาบสดสีชมพูเข้ม	28/01/61	เฮกเซน	24	210	0.307
9. ดอกกุหลาบสดใช้ทั้งดอก	4/02/61	เฮกเซน	24	130	0.449
10. ดอกกุหลาบสดสีชมพูเข้มใช้ ทั้งดอก	16/02/61	เฮกเซน	24	90	0.332
11. ใบและลำต้นสด	16/02/61	เฮกเซน	24	51	1.221
12. ดอกกุหลาบสดสีชมพู	20/04/61	เฮกเซน	3	76	0.654
13. ดอกกุหลาบสดสีชมพู	20/04/61	เฮกเซน	3	76	0.908
14. ดอกกุหลาบสดสีชมพู	20/04/61	เฮกเซน	3	74	1.391
15. ใบสด	20/04/61	เฮกเซน	3	35	0.761
16. ใบสด	20/04/61	เฮกเซน	3	35	0.806
17. ใบสด	20/04/61	เฮกเซน	3	35	0.902
18. ลำต้นสด	20/04/61	เฮกเซน	3	9	0.924
19. ลำต้นสด	20/04/61	เฮกเซน	3	9	1.020
20. ลำต้นสด	20/04/61	เฮกเซน	3	8	1.240
21. ดอกกุหลาบสีแดงแซ่แข็งที่ -24 องศาเซลเซียส	11/02/61	เฮกเซน	3	150	0.339
22. ดอกกุหลาบสีแดงแซ่แข็งที่ -24 องศาเซลเซียส	11/02/61	เฮกเซน	3	150	0.347
23. ดอกกุหลาบสีแดงแซ่แข็งที่ -24 องศาเซลเซียส	11/02/61	เฮกเซน	3	150	0.321
24. ดอกกุหลาบสดสีชมพู	22/04/61	เฮกเซนที่ 69 องศา เซลเซียส	3	92	0.425
25. ดอกกุหลาบสดสีชมพู	22/04/61	เฮกเซนที่ 69 องศา เซลเซียส	3	92	0.256

ตัวอย่าง	วันที่เก็บ ตัวอย่าง	ตัวทำ ละลาย	ระยะเวลาใน การสกัด (ชั่วโมง)	อัตราส่วนพืชต่อตัว ทำละลาย (มิลลิกรัม/ลิตร)	ปริมาณสารสกัดรวม (% yield)
26.ดอกกุหลาบสดสีชมพู	22/04/61	เฮกเซนที่ 69 องศา เซลเซียส	3	92	0.290
27.ดอกกุหลาบสดสีชมพู	24/04/61	เพนเทน	3	81	0.16 ± 0.01
28.ดอกกุหลาบสดสีชมพู	24/04/61	เพนเทน	3	81	0.19 ± 0.09
29.ดอกกุหลาบสดสีชมพู	24/04/61	เพนเทน	3	81	0.19 ± 0.08
30.ใบสด	24/04/61	เพนเทน	3	30	0.8 ± 0.1
31.ใบสด	24/04/61	เพนเทน	3	30	0.7 ± 0.1
32.ใบสด	24/04/61	เพนเทน	3	30	1.0 ± 0.1
33.ดอกกุหลาบสดสีชมพู	26/04/61	เฮกเซน	5	77	0.145 ± 0.006
34.ดอกกุหลาบสดสีชมพู	26/04/61	เฮกเซน	5	76	0.14 ± 0.01
35.ดอกกุหลาบสดสีชมพู	26/04/61	เฮกเซน	5	76	0.14 ± 0.02
36.ดอกกุหลาบสดสีชมพู	26/04/61	เพนเทน	5	72	0.21 ± 0.03
37.ดอกกุหลาบสดสีชมพู	26/04/61	เพนเทน	5	71	0.21 ± 0.02
38.ดอกกุหลาบสดสีชมพู	26/04/61	เพนเทน	5	72	0.19 ± 0.04

ตารางที่ 3-2 การสกัดด้วยวิธีซอกเลตโดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซน

ตัวอย่าง	วันที่เก็บ ตัวอย่าง	ระยะเวลาในการสกัด (ชั่วโมง)	อัตราส่วนพืชต่อตัว ทำละลาย (มิลลิกรัม/ลิตร)	ปริมาณสารสกัดรวม (% yield)
1.ดอกกุหลาบสด	18/12/60	8	-	0.958
2.ดอกกุหลาบสดสีแดง	21/01/60	6	92	0.180

ตารางที่ 3-3 ผลการสกัดด้วยตัวทำละลาย ที่ระยะเวลาการสกัด 24 ชั่วโมง

ตัวอย่าง	ตัวทำละลาย	อัตราส่วนพืชต่อตัวทำละลาย (มิลลิกรัม/ลิตร)	น้ำหนักสารสกัดที่สกัดซ้ำ 3 ครั้ง (มิลลิกรัม)	ปริมาณสารสกัดรวม (% yield)
1. ดอกกุหลาบสีแดงแห้งที่ -17 องศาเซลเซียส	เฮกเซน	-	21.1	0.203
2. ดอกกุหลาบสด	เฮกเซน	-	21.3	0.610
3. ดอกกุหลาบแห้งแห้งที่ -17 องศาเซลเซียส	เฮกเซน	64	28.7	0.445
4. ดอกกุหลาบสดสีชมพู	เฮกเซน	24	27.9	0.770
5. ดอกกุหลาบสดสีชมพู	เพนเทน	48	13.7	0.228
6. ใบสด	เฮกเซน	97	174.8	1.553
7. ลำต้นสด	เฮกเซน	40	17.0	0.428
8. ดอกกุหลาบสดสีแดง	เฮกเซน	210	67.6	0.307
9. ดอกกุหลาบสดสีชมพูเข้ม	เฮกเซน	130	69.8	0.449
10. ดอกกุหลาบสดสีชมพูเข้มใช้ทั้งดอก	เฮกเซน	90	75.0	0.332
11. ใบและลำต้นสด	เฮกเซน	51	62.4	1.221

ตารางที่ 3-4 ผลการสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ที่ระยะเวลาการสกัด 3 ชั่วโมง

ตัวอย่าง	อัตราส่วนพืชต่อตัวทำละลาย (มิลลิกรัม/ลิตร)	อุณหภูมิตัวทำละลาย (องศาเซลเซียส)	สกัดครั้งที่ 1 (มิลลิกรัม)	สกัดครั้งที่ 2 (มิลลิกรัม)	สกัดครั้งที่ 3 (มิลลิกรัม)	ปริมาณสารสกัดรวม (% yield)
12. ดอกกุหลาบสดสีชมพู	76	30-31	-	-	25.3	0.654
13. ดอกกุหลาบสดสีชมพู	76	30-31	-	-	35.2	0.908
14. ดอกกุหลาบสดสีชมพู	74	30-31	-	-	51.3	1.391
15. ใบสด	35	30-31	-	-	13.5	0.761
16. ใบสด	35	30-31	-	-	14.3	0.806

ตัวอย่าง	อัตราส่วน พืชต่อตัวทำ ละลาย (มิลลิกรัม/ ลิตร)	อุณหภูมิ ตัวทำละลาย (องศา เซลเซียส)	สกัดครั้งที่ 1 (มิลลิกรัม)	สกัดครั้งที่ 2 (มิลลิกรัม)	สกัดครั้งที่ 3 (มิลลิกรัม)	ปริมาณสาร สกัดรวม (% yield)
17.ใบสด	35	30-31	-	-	16.0	0.902
18.ลำต้นสด	9	30-31	-	-	4.5	0.924
19.ลำต้นสด	9	30-31	-	-	5.0	1.020
20.ลำต้นสด	8	30-31	-	-	5.0	1.240
21.ดอกกุหลาบสีแดงแช่ แข็งที่ -24 องศา เซลเซียส	150	30-31	-	23.4	27.6	0.339
22.ดอกกุหลาบสีแดงแช่ แข็งที่ -24 องศา เซลเซียส	150	30-31	-	23.9	28.3	0.347
23.ดอกกุหลาบสีแดงแช่ แข็งที่ -24 องศา เซลเซียส	150	30-31	-	24.5	23.8	0.321
24.ดอกกุหลาบสดสีชมพู	92	69	-	-	19.6	0.425
25.ดอกกุหลาบสดสีชมพู	92	69	-	-	11.8	0.256
26.ดอกกุหลาบสดสีชมพู	92	69	-	-	13.3	0.290

ตารางที่ 3-5 ผลการสกัดด้วยตัวทำละลายเพนเทน ที่ระยะเวลาการสกัด 3 ชั่วโมง

ตัวอย่าง	อัตราส่วน พืชต่อตัวทำ ละลาย (มิลลิกรัม/ ลิตร)	อุณหภูมิ ตัวทำ ละลาย (องศา เซลเซียส)	สกัดครั้งที่ 1 (มิลลิกรัม)	สกัดครั้งที่ 2 (มิลลิกรัม)	สกัดครั้งที่ 3 (มิลลิกรัม)	ปริมาณสาร สกัดรวม (% yield)
27.ดอกกุหลาบสดสีชมพู	81	30-31	12.7	12.7	14.2	0.16 ± 0.01
28.ดอกกุหลาบสดสีชมพู	81	30-31	9.5	13.9	23.0	0.19 ± 0.09

ตัวอย่าง	อัตราส่วน พืชต่อตัวทำ ละลาย (มิลลิกรัม/ ลิตร)	อุณหภูมิ ตัวทำ ละลาย (องศา เซลเซียส)	สกัดครั้งที่ 1 (มิลลิกรัม)	สกัดครั้งที่ 2 (มิลลิกรัม)	สกัดครั้งที่ 3 (มิลลิกรัม)	ปริมาณสาร สกัดรวม (% yield)
29.ดอกกุหลาบสดสีชมพู	81	30-31	10.0	13.8	23.0	0.19 ± 0.08
30.ใบสด	30	30-31	17.2	13.5	13.0	0.9 ± 0.1
31.ใบสด	30	30-31	9.9	14.5	12.2	0.7 ± 0.1
32.ใบสด	30	30-31	17.2	15.1	18.8	1.0 ± 0.1

**ตารางที่ 3-6 ผลการสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ที่ระยะเวลาการสกัด 5 ชั่วโมง**

ตัวอย่าง	อัตราส่วน พืชต่อตัว ทำละลาย (มิลลิกรัม/ ลิตร)	อุณหภูมิ ตัวทำละลาย (องศา เซลเซียส)	สกัดครั้งที่ 1 (มิลลิกรัม)	สกัดครั้งที่ 2 (มิลลิกรัม)	สกัดครั้งที่ 3 (มิลลิกรัม)	ปริมาณสาร สกัดรวม (% yield)
33.ดอกกุหลาบสดสีชมพู	77	30-31	6.9	7.3	7.5	0.145 ± 0.006
34.ดอกกุหลาบสดสีชมพู	76	30-31	6.3	6.6	7.3	0.14 ± 0.01
35.ดอกกุหลาบสดสีชมพู	76	30-31	6.5	6.7	8.0	0.14 ± 0.02



ตารางที่ 3-7 ผลการสกัดด้วยตัวทำละลายเพนเทน ที่ระยะเวลาการสกัด 5 ชั่วโมง

ตัวอย่าง	อัตราส่วน พืชต่อตัว ทำละลาย (มิลลิกรัม/ ลิตร)	อุณหภูมิ ตัวทำละลาย (องศา เซลเซียส)	สกัดครั้งที่ 1 (มิลลิกรัม)	สกัดครั้งที่ 2 (มิลลิกรัม)	สกัดครั้งที่ 3 (มิลลิกรัม)	ปริมาณสาร สกัดรวม (% yield)
36.ดอกกุหลาบสดสีชมพู	72	30-31	7.1	8.8	9.0	0.21 ± 0.03
37.ดอกกุหลาบสดสีชมพู	71	30-31	7.5	8.1	8.8	0.21 ± 0.02
38.ดอกกุหลาบสดสีชมพู	72	30-31	6.0	7.8	8.9	0.19 ± 0.04

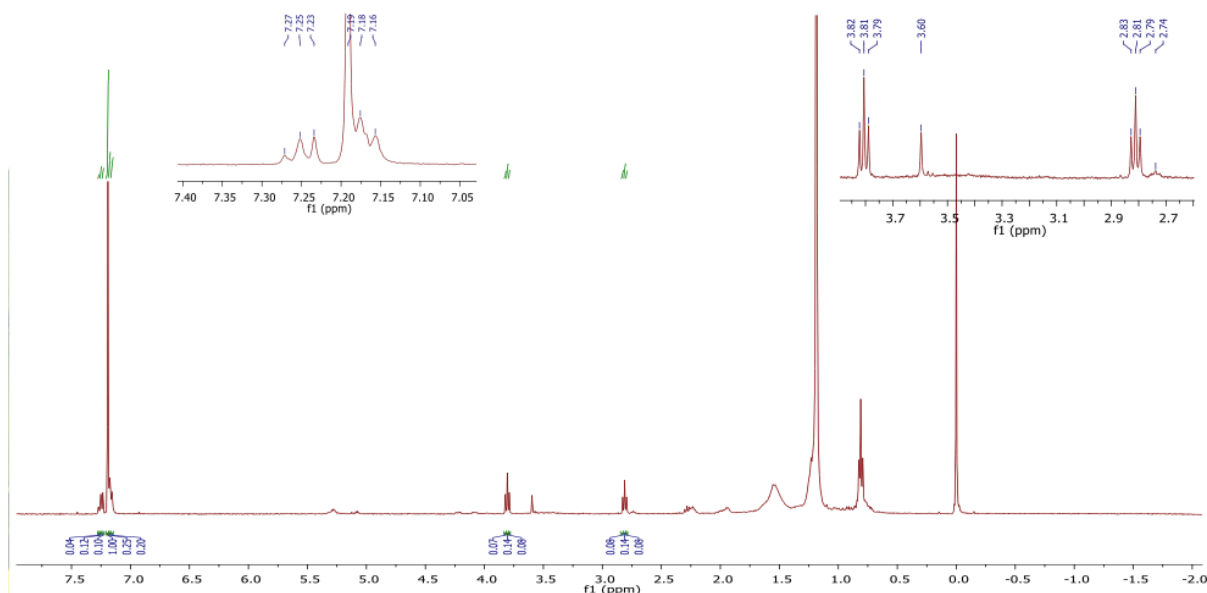
ตารางที่ 3-8 ผลการสกัดด้วยวิธีชอกเลตโดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซน

ตัวอย่าง	อัตราส่วนพืชต่อตัวทำ ละลาย (มิลลิกรัม/ ลิตร)	ระยะเวลาในการ สกัด (ชั่วโมง)	อุณหภูมิ ตัวทำละลาย (องศาเซลเซียส)	สารสกัด (มิลลิกรัม)	ปริมาณสาร สกัดรวม (% yield)
1.ดอกกุหลาบสด	-	8	30-31	25.1	0.958
2.ดอกกุหลาบสด สีแดง	92	6	30-31	25.5	0.180

### 3.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยกุหลาบมอญ โดยใช้เทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรเมทรี (NMR)

จากผลการทดลอง เมื่อนำสารสกัดหลังจากระเหยตัวทำละลาย ด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารสูญญากาศแบบหมุน มาละลายด้วยตัวทำละลาย คลอโรฟอร์ม D1 ( $\text{CDCl}_3$ ) นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรเมทรี (NMR) Varian company, USA ผลของ  $^1\text{H}$  NMR พบว่า สเปกตรัมของสารสกัดขึ้นพีคที่ 0-2 ppm. ประมาณ 3 ppm. และ 4 ppm. และที่ 7 ppm.

จากการวิเคราะห์สเปกตรัม ใช้ TMS หาพีคของ  $\text{CDCl}_3$  ที่ใช้เป็นตัวทำละลาย ได้ว่า พีคของ  $\text{CDCl}_3$  อยู่ที่ 7.26 ppm. แต่พีคให้สัญญาณค่อนข้างสูงผู้วิจัยจึงคิดว่าจะต้องมีสารที่เป็นพวก อะโรมาติก อยู่ด้วยเนื่องจาก สารพวกอะโรมาติก จะให้สัญญาณในช่วง 7-8 ppm. ซึ่งอาจจะซ้อนทับกับพีคของ  $\text{CDCl}_3$  พีคในช่วง 0-1 ppm. น่าจะเป็นสารพวกแอลเคน เป็นตัวทำละลายเฮกเซน ที่ใช้ในการสกัดน้ำมันหอมระเหย เพราะให้ค่าสัญญาณที่สูงที่สุดและพีคที่เป็นหัวตัดแสดงว่ามีความเข้มข้นมาก คือยังเหลือตัวทำละลายเฮกเซนที่ใช้ในการสกัดอยู่ ยังระเหยออกไม่หมด แล้วพีคมีการแบ่งเป็น 3 พีค ซึ่งพีคของเฮกเซนก็มีการแบ่งพีคด้วยเนื่องจากเป็นไฮโดรคาร์บอนที่มีสมมาตร ส่วนที่ประมาณ 2 ppm. มีค่าความเข้มของสัญญาณต่ำ และดูจากค่าน่าจะเป็นสารพวกแอลกอฮอล์ เพราะแอลกอฮอล์ มี ค่า chemical shift ในช่วง 1-4 ppm. และพีคที่ ประมาณ 3 ppm. กับ 4 ppm. ที่มีความสูงของพีคที่ใกล้เคียงกันอาจจะเป็นสารพวกเดียวกันหรือคล้ายกัน จากการวิเคราะห์แต่ละพีค และที่ผู้วิจัยได้ทำการค้นคว้าองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยมาจาก Bulgarian rose oil ของบริษัท Bulgarian OrganiRose Co. ซึ่งได้รับการทดสอบมาตรฐาน จากบริษัท M/S Nishant Aromas และน้ำมันหอมระเหยจากงานวิจัยของ Rusanov และคณะ มีความเป็นไปได้ว่าจะเป็นสาร ฟีนิลเอทิลแอลกอฮอล์ ที่เป็นองค์ประกอบหลักของ น้ำมันหอมระเหยจากกุหลาบ ซึ่งเมื่อทำการหาข้อมูลและเทียบพีคต่าง ๆ กับ สารฟีนิลเอทิลแอลกอฮอล์ ที่เป็นตัวสารมาตรฐานจาก CAS database list พบว่า เป็นฟีนิลเอทิลแอลกอฮอล์จริง

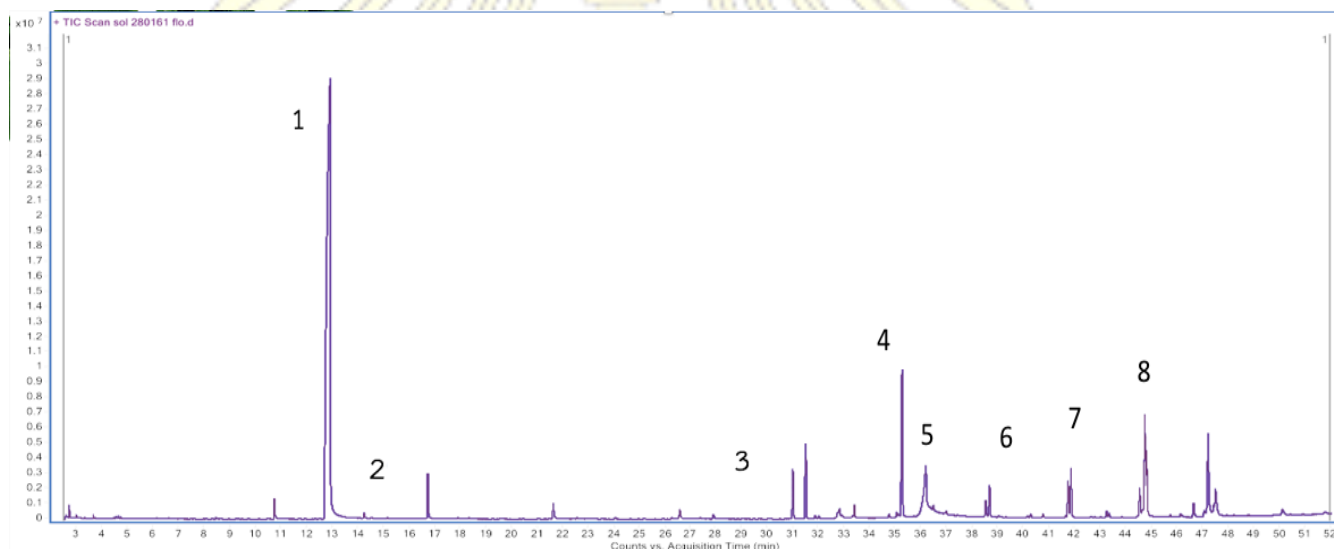


รูปที่ 3-3 สเปกตรัม  $^1\text{H}$  NMR จากเครื่อง Varian company, USA ของสารสกัดส่วนดอกด้วยวิธีแช่ด้วยตัวทำละลาย โดยใช้  $\text{CDCl}_3$

### 3.3 การวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยกุหลาบมอญโดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี (GC-MS) แบบอัตโนมัติแชมเปอร์ลิควิด (Autosampler liquid)

เมื่อได้ผลขององค์ประกอบจากสเปกตรัมของ NMR ผู้วิจัยจึงทำการสกัดสารซ้ำด้วยเอทานอลที่กลั่นแล้ว เพื่อให้ได้เป็น absolute rose oil ที่เป็นของเหลว นำมาศึกษาองค์ประกอบของสารในน้ำมันหอมระเหย ว่าจากวิธีการสกัดแบบต่าง ๆ ที่มีปัจจัยต่างกันหรือเหมือนกัน อย่างเช่น ตัวทำละลาย อุณหภูมิ ตัวอย่างที่มีทั้งดอก ใบสด และลำต้นสด เป็นต้น แล้วดูว่าผลที่ได้จากการทดลองสกัดในงานวิจัยนี้ ให้องค์ประกอบออกมาเป็นอย่างไร องค์ประกอบของสารที่ได้เหมือนกัน ต่างกัน หรือ ใกล้เคียงกับ น้ำมันหอมระเหยจากกุหลาบที่ใช้กรรมวิธีการสกัดอื่น ๆ ที่มีงานวิจัยมาก่อนหน้านี้หรือไม่

การสกัดซ้ำด้วยเอทานอล เพื่อให้ได้เป็น absolute rose oil ก่อนทำการฉีดสารตัวอย่างเข้าเครื่อง แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี (GC-MS) ให้ผลตามโครมาโทแกรมดังรูปที่ 3-4 และทำการยืนยันสารแต่ละพีคจากข้อมูลของ NIST Library ได้ว่า องค์ประกอบที่มีปริมาณมากที่สุด อยู่ในช่วงพีคที่ 13 นาที เป็นพีคของ ฟีนิลเอทิลแอลกอฮอล์ เป็นการยืนยันผลจากการทำนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโตรเมทรี (NMR) ว่าเป็นสาร ฟีนิลเอทิลแอลกอฮอล์ จริง และพบสารอื่นเพิ่มเติม



รูปที่ 3-4 โครมาโทแกรมเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี (GC-MS) แบบอัตโนมัติแชมเปอร์ลิควิด (Autosampler liquid) ของสารสกัดน้ำมันหอมระเหยกุหลาบส่วนดอกด้วยวิธีแช่ด้วยตัวทำละลาย

ตารางที่ 3-9 สารที่พบในสารสกัดน้ำมันหอมระเหยจากกุหลาบด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรเมทรี (GC-MS) แบบอโต้แซมเปอรัลลิควิด (Autosampler liquid) ของสารสกัดน้ำมันหอมระเหยกุหลาบ ส่วนดอกด้วยวิธีแช่ด้วยตัวทำละลาย

พีคที่	สารประกอบ	เวลา (นาที.)	พื้นที่ใต้พีค (%)	NIST Library matching (%)
1	Phenyl ethyl alcohol	12.899	60.50729662	89.4
2	Beta-phenethyl acetate	16.709	1.673403526	54.0
3	9-Nonadecene	30.986	1.907653592	11.2
4	Heneicosane	35.246	6.717089625	49.3
5	Alpha-linoleic acid	36.176	9.895555721	38.0
6	Docosane	38.656	2.025622012	1.00
7	Octacosane	41.831	4.015939979	12.8
8	Oxalic acid	44.712	9.823637112	8.26

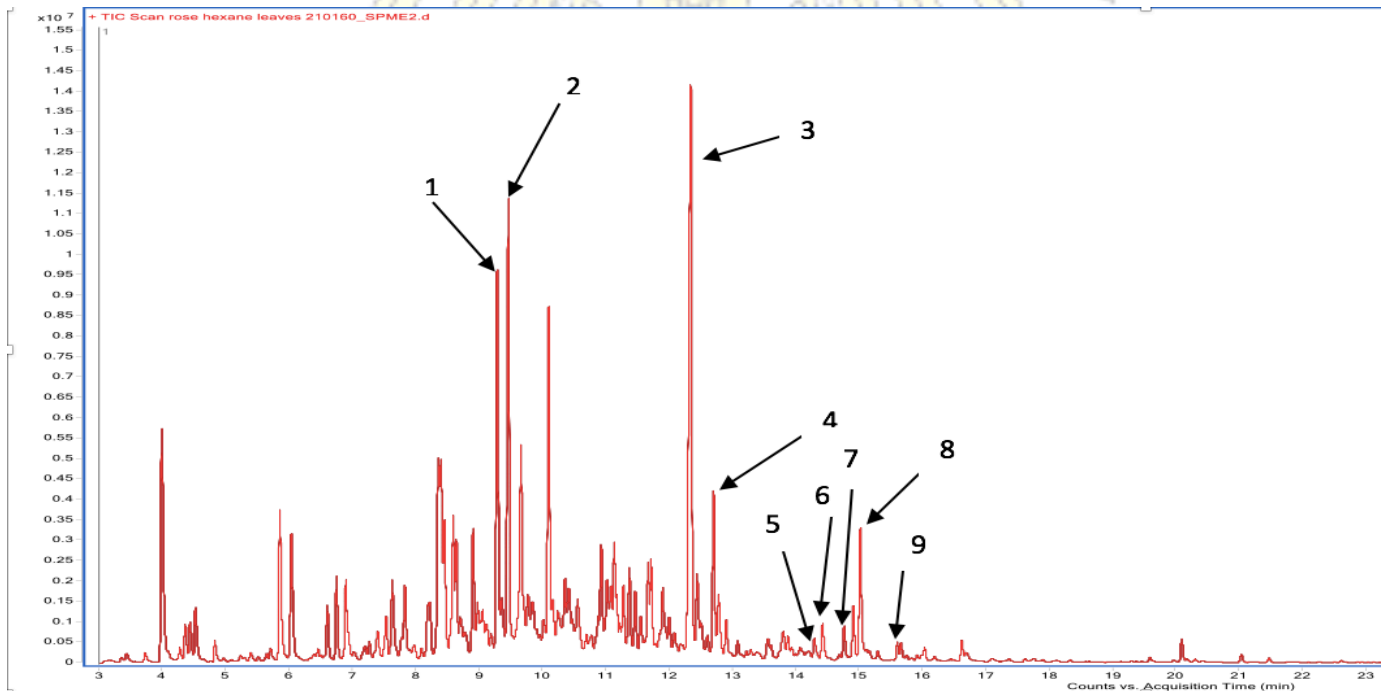
จากการวิเคราะห์โครมาโทแกรม พบว่าตัวทำละลายในการสกัดที่ห้องค์ประกอบของสารออกมามากกว่าคือ ตัวทำละลายเฮกเซน โครมาโทแกรมของเพนเทนพบสารเฉพาะกลุ่มไฮโดรคาร์บอน ไม่พบสารอื่น ซึ่งเมื่อดูในด้ำน ปริมาณของสารสกัดที่ได้จากการทดลองของตัวทำละลายเฮกเซนที่ให้ปริมาณมากกว่า หรือบางการทดลองได้เท่ากับ กับตัวทำละลายเพนเทน แต่การที่ตัวทำละลายเฮกเซนสามารถสกัดสารออกมาได้มากกว่าของเพนเทน ทำให้การใช้ตัว ทำละลายเฮกเซนในการสกัดด้วยวิธีการแช่ด้วยตัวทำละลายดีกว่าการใช้ตัวทำละลายเพนเทน ตัวทำละลายเฮกเซน ร้อน ให้ผลโครมาโทแกรมใกล้เคียงกับเฮกเซนที่อุณหภูมิห้อง ระยะเวลาในการสกัดไม่มีผลใด ๆ กับสารที่พบในโครมา โทแกรม ทุกระยะเวลาของการสกัด ยังพบสาร ฟีนิลเอทิลแอลกอฮอล์ที่เป็นองค์ประกอบหลักและไฮโดรคาร์บอน แต่ ไม่เห็นความแตกต่างของพีคจากการใช้ดอกสด ใบสด และลำต้นสดในการสกัด ส่วนองค์ประกอบของสารที่พบเพิ่มขึ้น ในโครมาโทแกรม นอกเหนือจาก ฟีนิลเอทิลแอลกอฮอล์ มีอยู่หลายชนิดอย่างเช่นสารตามตารางที่ 3- เมื่อเทียบผลโคร มาโทแกรมจากการทดลองในแต่ละครั้งเจอสารใหม่เพิ่มขึ้นเล็กน้อย แต่สารที่พบเจอในโครมาโทแกรมของทุกตัวอย่าง คือ ฟีนิลเอทิลแอลกอฮอล์ และสารพวกไฮโดรคาร์บอน (9-Nonadecene, Heneicosane, Docosane, Octacosane) สารของน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากกรรมวิธีแช่ด้วยตัวทำละลายและสกัดด้วยขอกเลตจากการทดลองนี้ องค์ประกอบของสารส่วนใหญ่ต่างกับองค์ประกอบน้ำมันหอมระเหยจากกุหลาบที่ได้จากงานวิจัยอื่นหรือจากของ บริษัท มีเหมือนกันแค่บางชนิดเท่านั้นและไม่สามารถได้สารชนิดเดียวกันครบทุกตัว เนื่องจากกรรมวิธีที่ใช้ในการสกัดที่ ต่างกัน การสกัดน้ำมันหอมระเหยตามโรงงานอุตสาหกรรม ห้องวิจัยอื่น ๆ หรือ ตามบริษัท ไม่มีข้อจำกัดในเรื่องพื้นที่

สามารถใช้วัสดุดีบในปริมาณมาก สารเคมีปริมาณมากได้ มีการใช้เครื่องมือ หรืออุปกรณ์ เทคโนโลยีขนาดใหญ่ช่วยในการสกัด แต่การทดลองที่ผู้วิจัยทำในครั้งนี้ ใช้วิธีสกัดแช่ด้วยตัวทำละลาย และการสกัดด้วยชอกเลต ซึ่งเป็นกรรมวิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหยที่สามารถทำเองได้ง่ายที่สุด มีอุปกรณ์ไม่ซับซ้อน ราคาไม่แพง ใช้พื้นที่น้อย ใช้วัสดุดีบครั้งละปริมาณน้อยได้ เพื่อได้ใช้สารเคมีปริมาณน้อยลง

### 3.4 การวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยกุหลาบมอญโดยใช้เทคนิคเฮดสเปซโซลิดเฟสไมโครเอ็กแทรกชัน/แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี (HP-SPME/GC-MS)

เนื่องจาก หลังทำการสกัดและระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารสุญญากาศแบบหมุน ผู้วิจัยได้กลิ่นของกุหลาบ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกลิ่นของสารสกัดจากใบกุหลาบ ที่ให้กลิ่นแรงกว่าจากส่วนดอกและลำต้น ดังนั้นจึงสนใจวิเคราะห์หาสารที่ระเหยออกมาจากสารสกัดของน้ำมันหอมระเหย ทั้งดอก ใบ และลำต้น โดยใช้เทคนิคเฮดสเปซโซลิดเฟสไมโครเอ็กแทรกชัน/แก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรเมทรี (HP-SPME/GC-MS) แสดงผลดังโครมาโทแกรม รูปที่ 3-5, รูปที่ 3-6, และรูปที่ 3-7

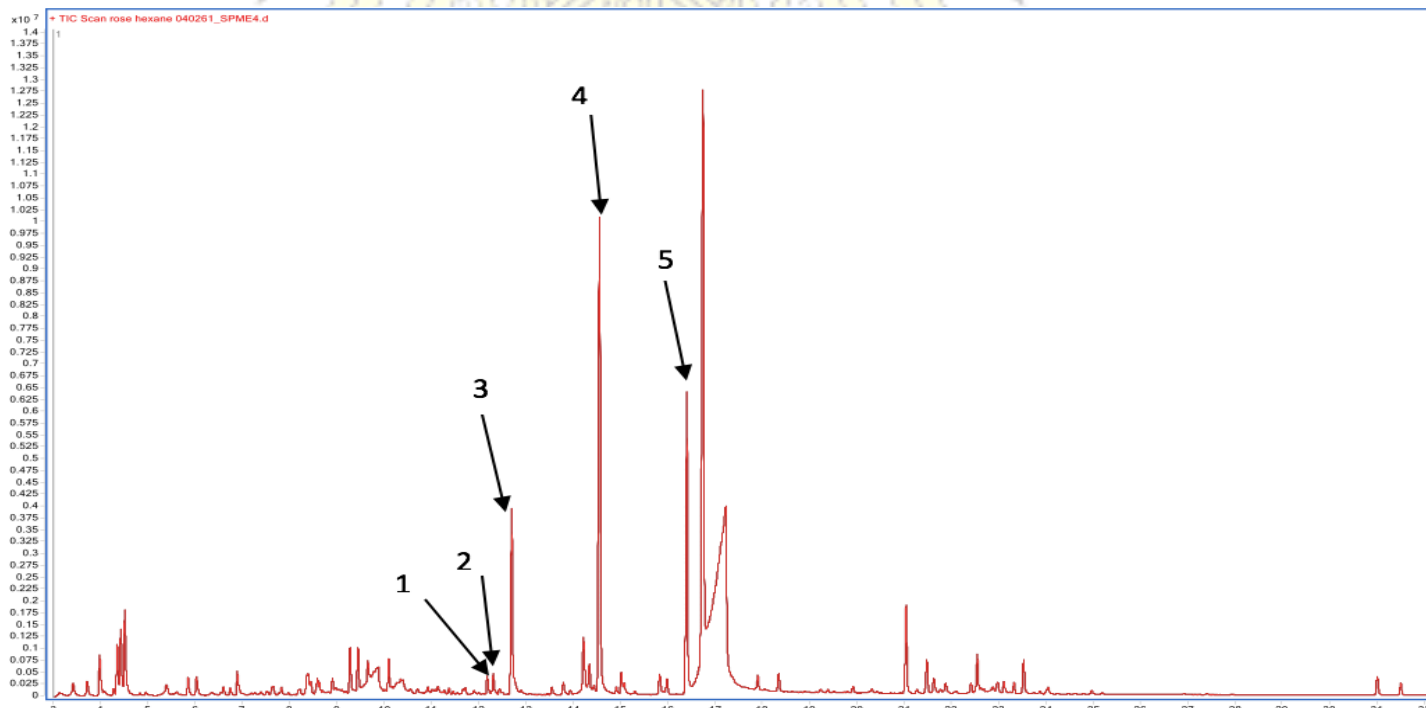
ผลของการทดลองได้ว่า โครมาโทแกรมของสารสกัดจากแต่ละส่วนของต้นกุหลาบมอญพันธุ์แดงประเสริฐได้ผลต่างกัน โดยโครมาโทแกรมของส่วนใบมีสารอยู่มากที่สุด รองลงมาเป็นส่วนดอก และสุดท้ายเป็นสารสกัดจากส่วนลำต้น โดยโครมาโทแกรมจากเทคนิคเฮดสเปซโซลิดเฟสไมโครเอ็กแทรกชัน/แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี (HP-SPME/GC-MS) และข้อมูลจาก NIST library ทำให้ได้องค์ประกอบของสารเพิ่มขึ้นและมากกว่าสารที่ได้จากเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี (GC-MS) แบบบอโต้แซมเปอ์ลิควิด (Autosampler liquid)



รูปที่ 3-5 โครมาโทแกรมเทคนิคเฮดสเปซโซลิดเฟสไมโครเอ็กแทรกชัน/แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี (HP-SPME/GC-MS) ของน้ำมันหอมระเหยจากกุหลาบส่วนใบด้วยวิธีแช่ด้วยตัวทำละลายเฮกเซน

ตารางที่ 3-10 สารที่พบในสารสกัดน้ำมันหอมระเหยจากกุหลาบด้วยเทคนิคเฮดสเปซโซลิดเฟสไมโครเอ็กแทรกชัน/แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี (HP-SPME/GC-MS) ของสารสกัดน้ำมันหอมระเหยกุหลาบส่วนใบ ด้วยวิธีแช่ด้วยตัวทำละลาย

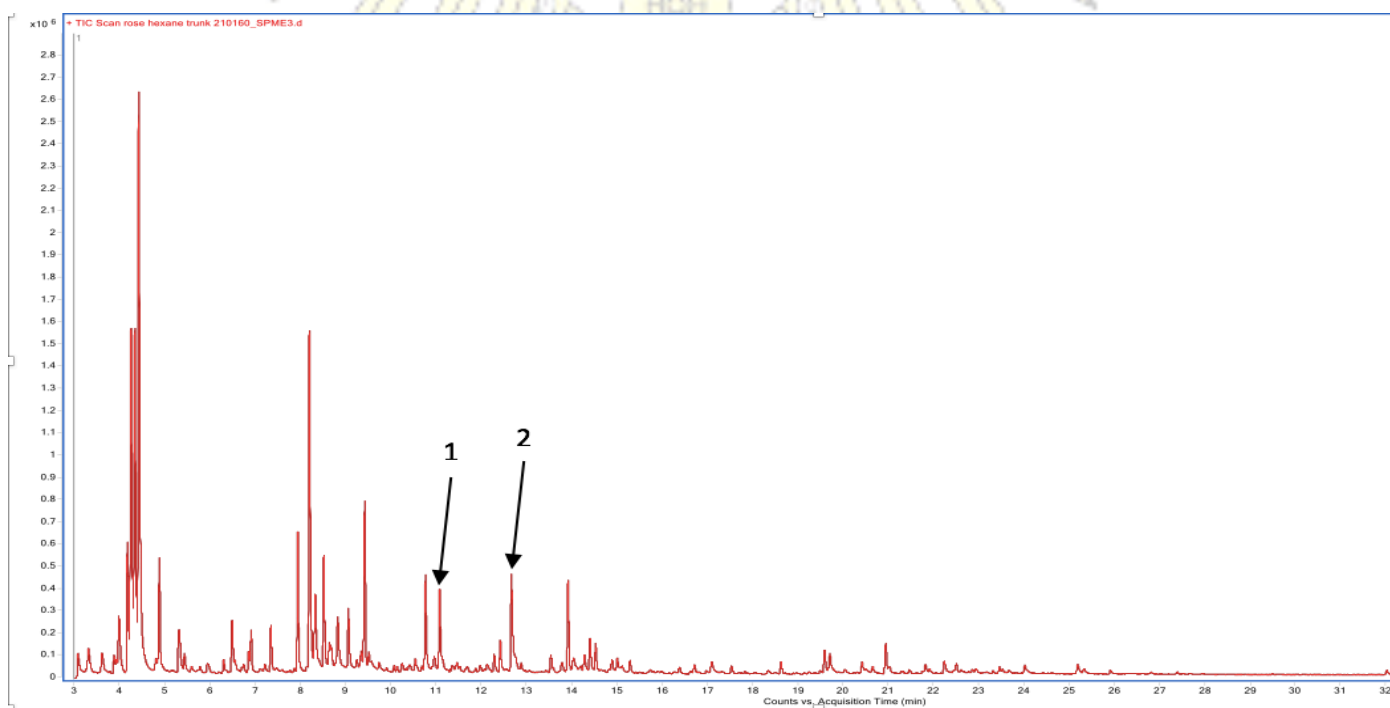
พีคที่	สารประกอบ	เวลา (นาที.)	พื้นที่ใต้พีค (%)	NIST Library matching (%)
1	Benzene 1,2,4 trimethyl	9.279	18.00319542	29.1
2	Decane	9.455	21.66745313	31.7
3	1,6-octadien-3-ol, 3,7-dimethyl	12.331	38.75555815	44.1
4	Phenyl ethyl alcohol	12.692	7.367777122	87.0
5	Epoxylinalool	14.282	1.184874783	88.5
6	Epoxylinalool	14.409	2.054272936	88.5
7	Alpha-terpineol	14.896	2.588201282	45.3
8	Methyl salicylate	15.004	6.749749456	82.1
9	3-cyclohexene-1-acetaldehyde, alpha,4-dimethyl	15.588	1.628917716	83.4



รูปที่ 3-6 โครมาโทแกรมเทคนิคเฮดสเปซโซลิดเฟสไมโครเอ็กแทรกชัน/แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี (HP-SPME/GC-MS) ของน้ำมันหอมระเหยจากกุหลาบส่วนดอกด้วยวิธีแช่ด้วยตัวทำละลายเฮกเซน

ตารางที่ 3-11 สารที่พบในสารสกัดน้ำมันหอมระเหยจากกุหลาบด้วยเทคนิคเฮดสเปซโซลิตเฟสไมโครเอ็กแทรกชัน/แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี (HP-SPME/GC-MS) ของสารสกัดน้ำมันหอมระเหยกุหลาบส่วนดอก ด้วยวิธีแช่ด้วยตัวทำละลาย

พีคที่	สารประกอบ	เวลา (นาที.)	พื้นที่ใต้พีค (%)	NIST Library matching (%)
1	Benzoic acid, methyl ester	12.169	1.615853483	71.4
2	Beta-linalool	12.295	1.736499889	16.9
3	Phenyl ethyl alcohol	12.685	17.78882564	88.2
4	Benzeneacetic acid, methyl ester	14.545	48.51482375	92.2
5	Benzeneacetic acid, ethyl ester	16.387	28.45899673	81.0



รูปที่ 3-7 โครมาโทแกรมเทคนิคเฮดสเปซโซลิตเฟสไมโครเอ็กแทรกชัน/แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี (HP-SPME/GC-MS) ของน้ำมันหอมระเหยจากกุหลาบส่วนลำต้นด้วยวิธีแช่ด้วยตัวทำละลายเฮกเซน

ตารางที่ 3-12 สารที่พบในสารสกัดน้ำมันหอมระเหยจากกุหลาบด้วยเทคนิคเฮดสเปซโซลิดเฟสไมโครเอ็กแทรกชัน/แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี (HP-SPME/GC-MS) ของสารสกัดน้ำมันหอมระเหยกุหลาบส่วนลำต้นด้วยวิธีแช่ด้วยตัวทำละลาย

พีคที่	สารประกอบ	เวลา (นาที.)	พื้นที่ใต้พีค (%)	NIST Library matching (%)
1	2- octenal (E)	11.07	22.7914488	44.9
2	Phenyl ethyl alcohol	12.659	30.2124976	83.8

จากโครมาโทแกรมเทคนิคเฮดสเปซโซลิดเฟสไมโครเอ็กแทรกชัน/แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี (HP-SPME/GC-MS) สามารถแยกให้เห็นความแตกต่างของการสกัดด้วยวิธีแช่ด้วยตัวทำละลายจากส่วนดอกใบและลำต้นได้ สารสกัดจากลำต้นที่เหมือนจะให้ปริมาณของสารสกัดมากกว่าส่วนดอก และใบ แต่กลับมีสารน้อยที่สุด ส่วนโครมาโทแกรมของส่วนใบ พบสารอยู่มากที่สุดสอดคล้องกับการทดลองปริมาณของสารสกัด ที่ได้ค่ามากรองจากลำต้น และกลิ่นของสารสกัดที่ชัดเจนมากที่สุด แต่ทั้งสามส่วนยังคงยืนยันผลของการสกัดด้วยวิธีแช่ด้วยตัวทำละลายว่า ไม่ว่าจะทำการสกัดโดยใช้ส่วนใดจากต้นกุหลาบมอญพันธุ์แดงประเสริฐ จะได้สาร ฟินิลเอทิลแอลกอฮอล์ ส่วนสารที่ได้เพิ่มขึ้นมาในเทคนิคนี้ มีสารที่ตรงกับน้ำมันหอมระเหยจากกุหลาบของงานวิจัยอื่น และบริษัทเพิ่มมากขึ้น อย่างส่วนของดอกจะพบสารที่เพิ่มขึ้นมาที่ตรงกัน คือ alfa-Guaiene, beta-Caryophyllene, beta-Cubebene และ Borneol ส่วนของใบที่พบเพิ่มขึ้น คือ beta-Linalool (ซึ่งเป็นสารจำพวกพิมเสนแบบ Borneol) ในส่วนของลำต้นไม่พบสารอื่น ๆ ที่เพิ่มเติมจากเทคนิคก่อนหน้านี้ เนื่องจากการทำเทคนิคนี้ ผู้วิจัยจะยังไม่ทำการสกัดสารซ้ำด้วยเอทานอล เพื่อไม่ให้กลิ่นของเอทานอลไปรบกวนกลิ่นของสารสกัด ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่า วิธีการสกัดซ้ำด้วยเอทานอลที่ทำให้สารสกัดเป็น absolute rose oil มีผลทำให้องค์ประกอบของสารสกัด เปลี่ยนแปลงไป หรือระเหยหายไป ทำให้สารบางอย่างตรวจไม่พบและไม่สามารถแยกความแตกต่างของสารสกัดแต่ละส่วนเมื่อใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี (GC-MS) แบบอโต้แซมเปอรัลลิควิด (Autosampler liquid)





## บทที่ 4

### สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองสกัดน้ำมันหอมระเหยจากดอกกุหลาบมอญพันธุ์แดงประเสริฐโดยส่วนที่นำมาสกัดคือดอกสด ดอกแห้งเย็น ใบสดและลำต้นสด ด้วยวิธีการแช่ด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction) ตัวทำละลายที่ใช้ มีเฮกเซน กลิ่น เพนเทนกลิ่น โดยเฮกเซนที่ใช้มีที่อุณหภูมิปกติ 30 องศาเซลเซียสและเฮกเซนร้อนอุณหภูมิ 69 องศาเซลเซียสและวิธีการสกัดดอกสดด้วยซอกเลต (Soxhlet extraction) ใช้ตัวทำละลายเฮกเซน ที่ 6 และ 8 ชั่วโมง พบว่าทั้งสองวิธีให้ สารสกัดเป็นสารละลายใสสีเหลือง และเมื่อระเหยตัวทำละลายออก ได้สารเป็นของแข็งลักษณะเป็นขี้ผึ้งสีเหลืองและ สารสกัดให้กลิ่นชัดเจน หลังการสกัดซ้ำด้วยเอทานอลที่กลั่นแล้วได้สารละลายใสสีเหลืองอ่อน โดยผลของปัจจัยต่าง ๆ ในวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายพบว่า การใช้อัตราส่วนพืชต่อตัวทำละลายที่ต่ำ ๆ จะให้ปริมาณสารสกัดมากกว่า ผลของอุณหภูมิตัวทำละลายมีผลเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ดอกแห้งเย็นให้ปริมาณสารสกัดน้อยกว่าการใช้ดอกสด ระยะเวลาในการสกัดแช่ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนและเพนเทนยิ่งมาก ปริมาณสารสกัดที่ได้จะมากขึ้นด้วย เหมือนกันกับวิธีสกัดดอกกุหลาบแบบซอกเลตด้วยตัวทำละลายเฮกเซน แต่ระยะเวลาไม่มีผลกับการสกัดดอกด้วยวิธีการแช่ด้วยตัวทำละลาย โดยปริมาณสารสกัดจากส่วนดอกทั้งสองวิธีอยู่ที่ 0.1% - 1.4% ส่วนใบ 0.7% - 1.0% ส่วนลำต้น 0.9% - 1.2% จากเทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรเมทรี (NMR) พบสารฟีนิลเอทิลเป็นองค์ประกอบในสารสกัด จากโครมาโทแกรมของเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโทรเมทรี (GC-MS) แบบอโต้แซมเปอรัลลิควิด (Autosampler liquid) สารสกัดที่จากตัวทำละลายเฮกเซน พบสารมากชนิดที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยมากกว่าตัวทำละลายเพนเทน ดังนั้นตัวทำละลายที่เหมาะสมกับการสกัดควรใช้เฮกเซนซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่ได้ค้นคว้ามา จากเทคนิคเฮดสเปซโซลิดเฟสไมโครเอ็กแทรกชัน/แก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโทรเมทรี (HP-SPME/GC-MS) พบฟีนิลเอทิลแอลกอฮอล์ ที่จัดว่าเป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยจากดอกกุหลาบในทั้งดอก ใบ และลำต้น คือ แต่ สารสกัดที่ได้จากใบมีสารมากที่สุดและให้กลิ่นแรงที่สุด รองลงมาเป็นสารสกัดที่ได้จากดอก และเป็นลำต้น แต่เมื่อเทียบสารสกัดที่ได้กับน้ำมันหอมระเหยจากกุหลาบของบริษัทและจากงานวิจัย พบสารที่เหมือนกันเพียงแค่บางชนิดเท่านั้น เพราะกรรมวิธีการสกัดที่ใช้ต่างกัน



## เอกสารอ้างอิง

1. A. Babar; A.A. Naser; S. Saiba; A. Aftab; K.A. Shah; A. Firoz. Essential Oils Used in Aromatherapy: A systemic review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, **2015**, *5*, 601-611.
2. M. Babashahi; S. Fayazi; N. Aghel; M.H. Haghizadeh. Effect of Aromatherapy on Anxiety Level among Preoperative Patients. *Jundishapur Scientific Medical Journal*, **2010**, *9*, 507-516.
3. แหล่งเรียนรู้ข้อมูลสมุนไพร <http://thaiherbal.org>
4. กองบรรณาธิการ. กุหลาบออร์แกนิกส์ ง่ายๆ สไตล์ สามพรานริเวอร์ไซด์. ต้นไม้และสวน **2017-05-19**
5. นายเกษตร. “กุหลาบชมพูประเสริฐ” พันธุ์โบราณหอมมาก. *สำนักพิมพ์ ไทยรัฐ, ไทยรัฐออนไลน์* <https://www.thairath.co.th/content/147403>, **2011-04-09**.
6. M.K. Aslam; R. Shoaib-Ur. Extraction and Analysis of Essential Oil of Rosa Species. *International Journal of Agriculture & Biology*, **2005**, *6*, 973-974.
7. M. Gavahian; R. Farhoosh; A. Farahnaky; K. Javidnia; F. Shahidi. Comparison of Extraction Parameters and Extracted Essential Oils from *Menthapiperita L.* Using Hydro Distillation and Steam Distillation. *International Food Research Journal*, **2015**, *22*, 283-288.
8. B.H. Mohammad; S.N. Mohammad; S. Zahra; A. Somayeh. Pharmacological Effects of Rosa Damascena. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, **2011**, *4*, 295-307.
9. M. Mohaddese. Rosa damascene as holy ancient herb with novel applications. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, **2016**, *6*, 10-16.
10. สืบค้นเมื่อวันที่ 19 เมษายน พ.ศ. 2560 <http://www.env.eng.chula.ac.th/?q=content/gas-chromatograph-mass-spectrometer-gcms>.
11. Zhouyao, Z.; Janusz, P. Headspace Solid-Phase Microextraction. *Anal. Chem.* 1993, *65*, 1843-1852.



## ประวัติผู้วิจัย

นางสาวธชชร กุลฉัตรภากรณ์ เกิดเมื่อวันที่ 17 เดือน กรกฎาคม พ.ศ. 2538 ที่จังหวัด กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจาก โรงเรียน สามเสนวิทยาลัย จังหวัด กรุงเทพมหานคร เมื่อปี การศึกษา 2556 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์-มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2557 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ บ้านเลขที่ 119/120 ตำบล/แขวง ไทรม้า อำเภอ/เขต เมือง จังหวัด นนทบุรี รหัสไปรษณีย์ 11000 อีเมล K.tachasorn@gmail.com

