



โครงการ  
การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ      ภาวะสำหรับการแยกอีนันทิโอเมอร์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี  
Conditions for separation of enantiomers by gas chromatography

ชื่อนิสิต            นางสาวณิชารีย์ คำวอน

ภาควิชา            เคมี

ปีการศึกษา        2560

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาวะสำหรับการแยกอิแนนทิโอเมอร์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี

Conditions for separation of enantiomers by gas chromatography

โดย

นางสาวณิชารีย์ คำวอน

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

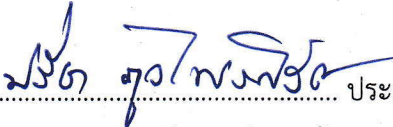
ปีการศึกษา 2560

โครงการ ภาวะสำหรับการแยกอิแนนทีโอเมอร์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี

โดย นางสาวณิชารีย์ คำวอน

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี  
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ

  
..... ประธานกรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร.ปรีชา ภูวไพโรศิริศาล)

  
..... อาจารย์ที่ปรึกษา  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรุณศิริ ชิตางกูร)

  
..... กรรมการ  
(อาจารย์ ดร.มนพิชา ศรีสะอาด)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

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

วันที่ ..... เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2561

คุณภาพของการเขียนรายงานเล่มนี้อยู่ในระดับ  ดีมาก  ดี  พอใช้

ชื่อโครงการ                    ภาวะสำหรับการแยกอีแนนทีโอเมอร์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี  
ชื่อนิสิตในโครงการ        นางสาวณิชารีย์ คำออน                    เลขประจำตัว 5733091623  
ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา        ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรุณศิริ ชิตางกูร  
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2560

### บทคัดย่อ

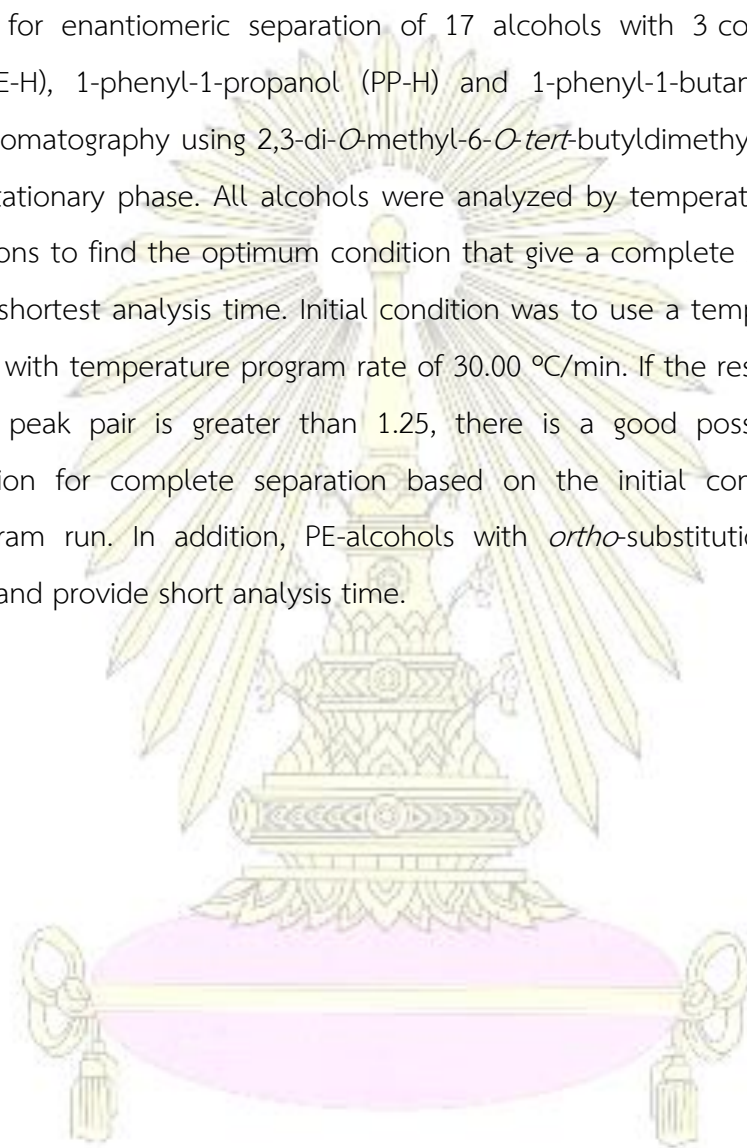
งานวิจัยนี้ศึกษาภาวะสำหรับการแยกอีแนนทีโอเมอร์ของแอลกอฮอล์รวม 17 ชนิด ที่มีโครงสร้างหลักคือ 1-phenylethanol (PE-H), 1-phenyl-1-propanol (PP-H) และ 1-phenyl-1-butanol (PB-H) ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี โดยใช้ 2,3-di-*O*-methyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- $\beta$ -CD ผสมใน OV-1701 เป็นเฟสคงที่ โดยทำการวิเคราะห์ทั้งรูปแบบโปรแกรมอุณหภูมิและอุณหภูมิคงที่ เพื่อหาภาวะที่สามารถแยกคู่อีแนนทีโอเมอร์ออกจากกันได้อย่างสมบูรณ์และใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยที่สุด พบว่าการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมอุณหภูมิจาก 50 ถึง 200 °C ที่อัตรา 30.00 °C/min หากการแยกของคู่อีแนนทีโอเมอร์มีค่า  $R_s > 1.25$  จะมีโอกาสสูงที่จะแยกคู่อีแนนทีโอเมอร์ได้อย่างสมบูรณ์ จากนั้นเลือกใช้ภาวะอุณหภูมิคงที่โดยอาศัยข้อมูลเบื้องต้นจากภาวะโปรแกรมอุณหภูมิ นอกจากนี้สารกลุ่ม PE มีหมู่แทนที่ในตำแหน่ง *ortho* จะส่งผลให้แยกคู่อีแนนทีโอเมอร์ได้ดีและใช้เวลาน้อย

คำสำคัญ:    อีแนนทีโอเมอร์, ไฮโคลเดกซ์ทริน, แก๊สโครมาโทกราฟี

Project Title            Conditions for separation of enantiomers by gas chromatography  
Student Name            Miss Nicharee Khamwon            Student ID 5733091623  
Advisor Name            Assistant Professor Dr. Aroonsiri Shitangkoon  
Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic Year 2017

### Abstract

Conditions for enantiomeric separation of 17 alcohols with 3 core structures (1-phenylethanol (PE-H), 1-phenyl-1-propanol (PP-H) and 1-phenyl-1-butanol (PB-H)) were studied by gas chromatography using 2,3-di-*O*-methyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- $\beta$ -CD mixed in OV-1701 as a stationary phase. All alcohols were analyzed by temperature program and isothermal conditions to find the optimum condition that give a complete separation of the enantiomers with shortest analysis time. Initial condition was to use a temperature program from 50 to 200 °C with temperature program rate of 30.00 °C/min. If the resolution between the enantiomeric peak pair is greater than 1.25, there is a good possibility to obtain isothermal condition for complete separation based on the initial condition from the temperature program run. In addition, PE-alcohols with *ortho*-substitution promote the enantioselectivity and provide short analysis time.



Keywords: enantiomer, cyclodextrin, gas chromatography

## กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรุณศิริ ชิตางกูร อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการที่ให้ความรู้และคำแนะนำในการดำเนินงานวิจัย รวมถึงคำชี้แนะในการเขียนรายงานฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ปรีชา ภูไพบรศิริศาล และอาจารย์ ดร.มนพิชา ศรีสะอาด ที่ให้เกียรติเป็นกรรมการสอบและชี้ข้อบกพร่องของเล่มรายงาน และขอขอบคุณพี่สมเกียรติ โดบุญพา ที่สอนการใช้เครื่องมือ และให้คำแนะนำเรื่องต่างๆ ในงานวิจัยนี้

ผู้วิจัยขอขอบคุณโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ ฝ่ายวิชาการ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประจำปีการศึกษา 2560 สำหรับทุนสนับสนุนงานวิจัย และขอขอบคุณภาควิชาเคมี ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และอุปกรณ์เครื่องมือในการทำโครงการวิจัยนี้



## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ซ
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	1
1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการเสนอโครงการ	1
1.2 วัตถุประสงค์และขอบเขตงานวิจัย	2
1.3 แก๊สโครมาโทกราฟี (gas chromatography, GC)	2
1.4 ไซโคลเดกซ์ทรีน (cyclodextrin, CD)	3
1.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
<b>บทที่ 2 การทดลอง</b>	7
2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์	7
2.2 แก๊สและสารเคมี	7
2.3 ไคร้ลแอลกอฮอล์	7
2.4 การวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี	9
<b>บทที่ 3 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง</b>	11
3.1 การแยกอีแนนท์ไอเมอร์ด้วยโปรแกรมอุณหภูมิ	11
3.2 การแยกอีแนนท์ไอเมอร์ด้วยอุณหภูมิคงที่	17
<b>บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง</b>	22
เอกสารอ้างอิง	23
ภาคผนวก	25
ประวัติผู้วิจัย	30

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1.1	สมบัติหลักของแอลฟา, บีตาและแกมมาไซโคลเดกซ์ทริน	4
2.1	โครงสร้างและชื่อแอลกอฮอล์ที่ใช้ในการวิเคราะห์	7
3.1	retention time ( $t_R$ ), elution temperature และ resolution (Rs) ของ PE-H ที่อัตรา ต่างๆ	13
3.2	elution temperature และ resolution (Rs) ของการแยกคู่อิแนนท์ไอเมอร์ของ แอลกอฮอล์ 17 ชนิด (โปรแกรมอุณหภูมิ: 50 °C ถึง 200 °C อัตราการเพิ่มอุณหภูมิคงที่ 30.00 °C/min)	16
3.3	ภาวะในการแยกอิแนนท์ไอเมอร์ได้สมบูรณ์ ( $R_s = 1.5$ ) ด้วยอุณหภูมิคงที่สูงที่สุดและเวลาใน การแยกด้วยโปรแกรมอุณหภูมิ อัตรา 30.00 °C/min	19





## สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1.1 โครงสร้างของ 2,3-di- <i>O</i> -methyl-6- <i>O</i> - <i>tert</i> -butyldimethylsilyl- $\beta$ -cyclodextrin แสดงตำแหน่งของหมู่แทนที่บนหน่วยกลูโคสและภาพด้านบนแสดงให้เห็นโพรงตรงกลาง	2
1.2 โครงสร้างทางเคมีของแอลฟา, บีตาและแกมมาไซโคลเดกซ์ทริน	4
1.3 การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนอินคลูชันของสเตียรอยด์กับไซโคลเดกซ์ทริน	4
1.4 ลักษณะและรูปร่างของบีตาไซโคลเดกซ์ทริน	5
3.1 elution temperature ของอิแนนทิโอเมอร์ตัวสุดท้ายและ resolution (Rs) ของการแยกคู่อิแนนทิโอเมอร์ของแอลกอฮอล์ 17 ชนิด (โปรแกรมอุณหภูมิ: 50 °C ถึง 200 °C, อัตรา 3.32 °C/min)	12
3.2 โครมาโทแกรมของ PE-2Br (โปรแกรมอุณหภูมิ: 50 °C ถึง 200 °C, อัตรา 3.32 °C/min)	13
3.3 โครมาโทแกรมของ PE-H (โปรแกรมอุณหภูมิ: 50 °C ถึง 200 °C, อัตรา 3.32, 10.00, 15.00, 20.00 และ 30.00 °C/min)	14
3.4 elution temperature ของอิแนนทิโอเมอร์ตัวสุดท้ายในการแยกอิแนนทิโอเมอร์ของแอลกอฮอล์ 17 ชนิดที่อัตรา 3.32, 10.00, 15.00, 20.00 และ 30.00 °C/min	15
3.5 Rs ของการแยกอิแนนทิโอเมอร์ของแอลกอฮอล์ 17 ชนิดที่อัตรา 3.32, 10.00, 15.00, 20.00 และ 30.00 °C/min	15
3.6 โครมาโทแกรมของ PE-3F และ PB-H (โปรแกรมอุณหภูมิ: 50 °C ถึง 200 °C, อัตรา 30.00 °C/min)	17
3.7 โครมาโทแกรมของ PE-H ที่อุณหภูมิ 160, 150, 140, 135 และ 130 °C	18
3.8 retention ของอิแนนทิโอเมอร์ตัวสุดท้าย ( $k'_2$ ) ของอิแนนทิโอเมอร์แอลกอฮอล์ 17 ชนิดที่ Rs = 1.5 ณ อุณหภูมิคงที่	21
3.9 elution temperature ของอิแนนทิโอเมอร์ตัวสุดท้ายของแอลกอฮอล์ 11 ชนิดที่เหมาะสมสำหรับคอลัมน์นี้ด้วยโปรแกรมอุณหภูมิ (อัตรา 30.00 °C/min) และอุณหภูมิคงที่ (Rs = 1.5)	21

# บทที่ 1

## บทนำ

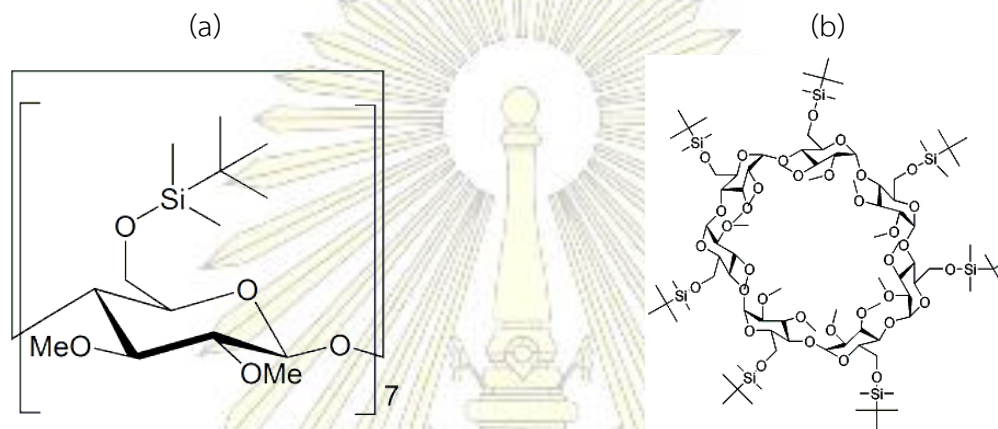
### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

อีนันทีโอเมอร์ (enantiomers) คือสเตอริโอไอโซเมอร์ (stereoisomer) ที่เป็นภาพสะท้อนในกระจก (mirror images) และไม่สามารถซ้อนทับกันได้สนิท (non-superimposable) ซึ่งคู่ของอีนันทีโอเมอร์จะมีสมบัติทางกายภาพและทางเคมีเหมือนกันทุกประการ เช่น ความหนาแน่น จุดหลอมเหลว จุดเดือดที่เหมือนกัน แต่จะมีผลกระทบต่อระนาบแสงโพลาไรซ์ (plane-polarized light) ที่แตกต่างกัน โดยจะหมุนในทิศทางตรงข้ามกัน แต่มีปริมาณเท่ากัน โดยอีนันทีโอเมอร์ตัวหนึ่งจะหมุนระนาบแสงไปทางขวา (+) และอีกตัวหนึ่งจะหมุนระนาบแสงไปทางซ้าย (-) สำหรับสารผสมราซีมิก (racemic mixture) ซึ่งมีคู่อีนันทีโอเมอร์ทั้งสองชนิดอยู่อย่างละครึ่งๆ กัน จะไม่เกิดการหมุนของระนาบแสงโพลาไรซ์ เนื่องจากเกิดการหักล้างกันหมด [1] โดยทั่วไปแต่ละอีนันทีโอเมอร์จะมีสมบัติฤทธิ์ทางชีวภาพ หรือการนำไปใช้ประโยชน์ที่แตกต่างกันไป สำหรับอุตสาหกรรมยา อีนันทีโอเมอร์เดี่ยวจะให้ฤทธิ์ที่พึงประสงค์ดีกว่าการใช้สารผสมราซีมิก อีกทั้งยังสามารถลดผลข้างเคียงจากสมบัติที่ไม่พึงประสงค์ของอีกอีนันทีโอเมอร์หนึ่งด้วย [2]

ไซโคลเดกซ์ทริน (cyclodextrins, CDs) เป็น cyclic oligosaccharides ที่ประกอบด้วยหน่วยของกลูโคสหลายหน่วยเชื่อมกันเป็นวงที่ตำแหน่ง 1,4 CDs ส่วนใหญ่ที่พบ ได้แก่  $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD และ  $\gamma$ -CD ซึ่งประกอบด้วยกลูโคส 6, 7 และ 8 หน่วย ตามลำดับ CDs มีโพรงตรงกลางเป็นส่วนไม่ชอบน้ำหรือไม่มีขั้ว และผิวด้านนอกเป็นส่วนชอบน้ำหรือมีขั้ว โครงสร้างที่เป็นเอกลักษณ์นี้ ทำให้ CDs มีความสามารถในการเกิด inclusion complex กับสารประกอบหลากหลายชนิด รวมถึงสารที่มีสมบัติไครัล (chiral) ด้วย จึงนิยมนำ CDs มาใช้ประโยชน์ในด้านอุตสาหกรรมยา เคมีเกษตร และอุตสาหกรรมอาหาร นอกจากนี้ ยังสามารถใช้ CDs เป็น chiral stationary phase หรือ chiral additive สำหรับการแยกสารจำพวกอีนันทีโอเมอร์หรือวิเคราะห์ความบริสุทธิ์ของอีนันทีโอเมอร์ด้วย [3]

แก๊สโครมาโทกราฟี (gas chromatography, GC) เป็นเทคนิคการแยกสารผสม เหมาะสำหรับสารที่กลายเป็นไอได้ง่ายและเสถียรต่อความร้อน [4] ซึ่ง GC มีการควบคุมตัวแปรต่างๆ ที่ส่งผลต่อการแยก ได้แก่ อัตราเร็วของแก๊ส ขนาดของคอลัมน์ ชนิดของเฟสคงที่ [5] รวมถึงอุณหภูมิที่เป็นตัวแปรที่สำคัญที่สุดที่ส่งผลต่อเวลาและการแยกของสาร โดยการควบคุมอุณหภูมิของ GC สามารถทำได้ทั้งรูปแบบโปรแกรมอุณหภูมิ (ปรับเปลี่ยนอัตราการเพิ่มอุณหภูมิ) และอุณหภูมิคงที่ (เปลี่ยนอุณหภูมิ) ซึ่งข้อดีของรูปแบบโปรแกรมอุณหภูมิคือ สารทุกตัวจะถูกชะออกมาทั้งหมดด้วยความกว้างของพีคที่เท่าๆ กัน ดังนั้น สารที่ออกมาช้ากว่า จะไม่เกิดการแพร่กระจายมากเหมือนกับในรูปแบบอุณหภูมิคงที่ รูปแบบโปรแกรมอุณหภูมินี้มักถูกใช้ในการตรวจสอบธรรมชาติของสารตัวอย่าง (ช่วงการระเหย จำนวนองค์ประกอบ ความเหมาะสมของเฟสคงที่) ดังนั้นการวิเคราะห์ด้วยวิธีดังกล่าวจึงต้องควบคุมตัวแปรที่ใช้ ได้แก่ อุณหภูมิเริ่มต้น อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ อุณหภูมิสุดท้าย เป็นต้น [6]

สำหรับการแยกคู่อิแนนท์โอเมอร์ซึ่งเป็นสารที่มีสมบัติทางกายภาพเหมือนกัน จึงแยกออกจากกันได้ยาก ผู้วิจัยมักจะต้องลองผิดลองถูกในการเลือกชนิดเฟสคงที่ของ GC รวมถึงการหาอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการแยก งานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาหาภาวะสำหรับการแยกอิแนนท์โอเมอร์ที่เหมาะสมด้วย GC โดยใช้เฟสคงที่เป็นอนุพันธ์ไซโคลเดกซ์ทรินชนิด 2,3-di-*O*-methyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- $\beta$ -CD (รูปที่ 1.1) ที่มีรายงานว่าใช้แยกอิแนนท์โอเมอร์ได้หลากหลายชนิด [7] โดยเลือกทดสอบกับสารกลุ่มแอลกอฮอล์รวม 17 ชนิด ที่มีโครงสร้างหลักเป็น 1-phenylethanol (PE-H), 1-phenyl-1-propanol (PP-H) และ 1-phenyl-1-butanol (PB-H) ซึ่งมีชนิดของหมู่แทนที่ (Me, F, Br, Cl) และตำแหน่งของหมู่แทนที่บนวงแอร์แมติก (*ortho*, *meta*, *para*) แตกต่างกัน



รูปที่ 1.1 โครงสร้างของ 2,3-di-*O*-methyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- $\beta$ -cyclodextrin (a) แสดงตำแหน่งของหมู่แทนที่บนหน่วยกลูโคส และ (b) ภาพด้านบนแสดงให้เห็นโพรงตรงกลาง [8]

## 1.2 วัตถุประสงค์และขอบเขตของการวิจัย

- เพื่อหาภาวะเบื้องต้นที่ง่ายและรวดเร็วสำหรับการวิเคราะห์อิแนนท์โอเมอร์ของแอลกอฮอล์ด้วย GC ที่ใช้ 2,3-di-*O*-methyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- $\beta$ -cyclodextrin เป็นเฟสคงที่
- เพื่อหาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์อิแนนท์โอเมอร์ของแอลกอฮอล์โดยใช้อุณหภูมิคงที่

## 1.3 แก๊สโครมาโทกราฟี (gas chromatography, GC) [9, 10]

แก๊สโครมาโทกราฟีหรือ GC เป็นเทคนิคที่ใช้สำหรับแยกสารผสมที่เป็นสารระเหยได้ง่าย โดยเปลี่ยนสารตัวอย่างให้กลายเป็นไอที่อุณหภูมิหนึ่ง ไอที่เกิดขึ้นจะถูกนำเข้าสู่คอลัมน์โดยอาศัยการพาไปของเฟสเคลื่อนที่ หรือ carrier gas ตาม flow rate ที่ต้องการ ภายในคอลัมน์บรรจุด้วยสารที่ทำหน้าที่ในการแยก เรียกว่า เฟสคงที่ (stationary phase) สารผสมจะถูกแยกออกเป็นส่วนๆ ที่คอลัมน์นี้ ด้วยความแตกต่างของสมบัติทางเคมี โครงสร้าง น้ำหนักโมเลกุล จุดเดือดสารที่แยกได้ผ่านออกไปสู่ส่วนตรวจวัด (detector) ทำให้เกิดสัญญาณไฟฟ้า ส่งไปยังระบบประมวลผล (data system) ซึ่งสามารถคำนวณและรายงานผลออกมาเป็นโครมาโทแกรม ให้ทราบถึงองค์ประกอบหรือเทียบปริมาณของสารตัวอย่างได้

ส่วนประกอบที่สำคัญของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี คือ

(1) carrier gases หรือแก๊สพา มีหน้าที่นำแก๊สตัวอย่างจากจุดฉีด (injection port) ผ่านเข้าสู่คอลัมน์และไปยัง detector แก๊สที่ใช้งานกับเครื่อง GC เป็นแก๊สเฉื่อยที่ไม่ทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของสารตัวอย่าง เช่น แก๊สฮีเลียม ไฮโดรเจน หรือไนโตรเจน

(2) injector port เป็นส่วนที่ใช้ในการฉีดสารตัวอย่างเข้าสู่คอลัมน์ โดยทั่วไปส่วนที่ฉีดสารตัวอย่างเข้าไป (inlet) มักจะมีตัวให้ความร้อน (heater) ติดตั้งอยู่ด้วย เพื่อให้สารตัวอย่างกลายเป็นไอ

(3) column หรือคอลัมน์ เป็นส่วนที่ใช้แยกสารตัวอย่าง คอลัมน์ที่ใช้กันทั่วไปใน GC นั้นมีอยู่ 2 ประเภท คือ packed column และ capillary column โดยในงานวิจัยนี้จะเลือกใช้ capillary column เนื่องจากให้ประสิทธิภาพในการแยกสารได้มากกว่า packed column ซึ่งคอลัมน์จะบรรจุอยู่ใน oven เป็นส่วนที่ควบคุมอุณหภูมิของคอลัมน์ โดยอุณหภูมิของคอลัมน์มีส่วนสำคัญต่อการแยกสาร เมื่ออุณหภูมิของคอลัมน์เพิ่มขึ้นจะทำให้องค์ประกอบของสารมีการเคลื่อนที่เร็วขึ้น ช่วยให้การวิเคราะห์เร็วขึ้น ในขณะที่เมื่ออุณหภูมิของคอลัมน์ลดลงจะช่วยให้เกิดการแยกองค์ประกอบต่างๆ ดีขึ้น ดังนั้นควรเลือกอุณหภูมิที่เหมาะสมกับสารที่ต้องการวิเคราะห์เพื่อให้เกิดการแยกที่ดี และใช้เวลาไม่นานเกินไป

อุณหภูมิของ oven นั้นสามารถปรับเปลี่ยนได้ 2 แบบคือ

- อุณหภูมิคงที่ (isothermal)

คือ การควบคุม oven ให้มีอุณหภูมิคงที่ตลอดการวิเคราะห์ โดยอุณหภูมิคงที่มักใช้กับสารที่มี retention ใกล้เคียงกัน แต่จะทำให้ความกว้างของพีคเพิ่มขึ้น ดังนั้นอุณหภูมิคงที่จึงเหมาะสำหรับการวิเคราะห์ด้วยจำนวนของสารตัวอย่างที่จำกัดหรือมีสมบัติใกล้เคียงกัน

- โปรแกรมอุณหภูมิ (temperature program)

คือ การควบคุม oven ให้มีการปรับเพิ่มอุณหภูมิระหว่างการวิเคราะห์ โดยส่วนมากจะใช้วิธีนี้เมื่อสารตัวอย่างมีองค์ประกอบจำนวนมาก ซึ่งจะวิเคราะห์ได้ดีกับสารที่มี retention แตกต่างกันและให้พีคที่ค่อนข้างสมมาตร ข้อเสียของวิธีนี้คือ ต้องใช้เวลาในการเย็นลงของ oven (equilibrium time) ก่อนการวิเคราะห์ครั้งถัดไป

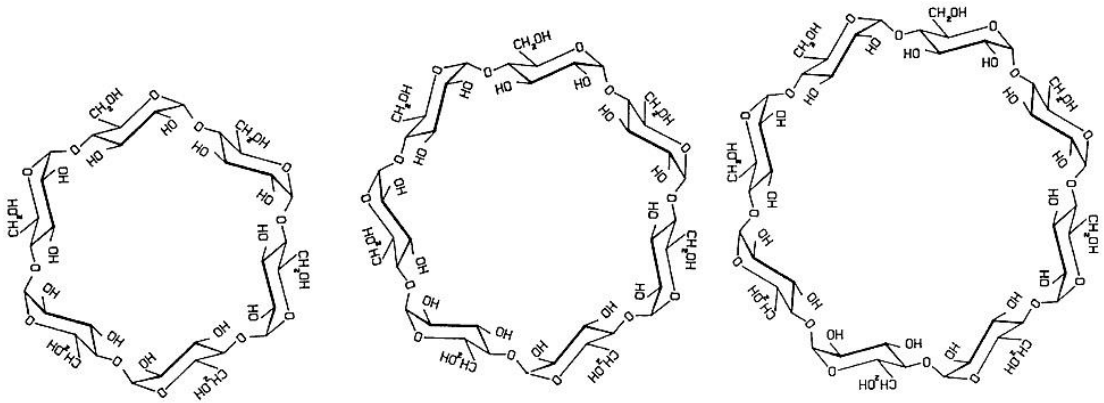
(4) detector หรือส่วนตรวจวัด เป็นอุปกรณ์ที่ใช้สำหรับตรวจวัดสารที่ถูกแยกออกมาจากคอลัมน์แล้วส่งสัญญาณไฟฟ้าไปยังระบบประมวลผล

(5) data system หรือระบบประมวลผล เป็นส่วนที่ประมวลผลและข้อมูลต่างๆ ด้วยระบบคอมพิวเตอร์ซึ่งคำนวณและรายงานผลเป็น retention time คือเวลาที่สารแต่ละชนิดใช้ผ่านคอลัมน์จากจุดเริ่มต้นถึงจุดสูงสุดของของพีคที่ได้จากโครมาโทแกรม ซึ่ง retention time สามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพเพื่อระบุว่าเป็นสารชนิดใดเมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน นอกจากนี้ลักษณะและขนาดของพีคที่ได้จากโครมาโทแกรมใช้เป็นข้อมูลสำหรับการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณได้

#### 1.4 ไซโคลเดกซ์ทริน (cyclodextrin, CD)

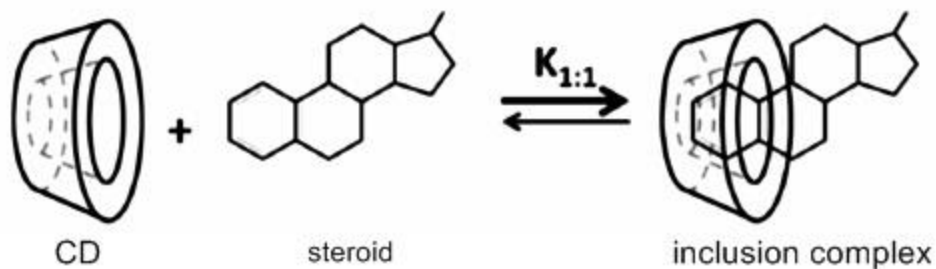
ไซโคลเดกซ์ทรินหรือ CD เป็นวงโอลิโกแซ็กคาไรด์ (cyclic oligosaccharides) ที่ประกอบด้วยกลูโคสเชื่อมกันด้วยพันธะ  $\alpha$ -1,4-glycosidic ส่วนใหญ่จะพบ CD ที่ประกอบด้วยกลูโคสจำนวน 6, 7 และ 8 หน่วย มีชื่อ

เรียกว่า  $\alpha$ -,  $\beta$ - และ  $\gamma$ -CD ตามลำดับ [11] (รูปที่ 1.2) CD มีลักษณะเป็นวงคล้ายโดนัท โดยหมู่ไฮดรอกซิลอยู่ที่ C-2, C-3 และ C-6 ซึ่งจะอยู่ด้านนอกวงแหวน ทำให้ผิวด้านนอกเป็นส่วนที่ชอบน้ำหรือมีขี้ผึ้ง และมีโพรงด้านในเป็นส่วนไม่ชอบน้ำหรือไม่มีขี้ผึ้ง [12]



รูปที่ 1.2 โครงสร้างทางเคมีของแอลฟา, บีตาและแกมมาไซโคลเดกซ์ทริน [13]

CD สามารถเกิดการรวมตัวกับสารเป็น inclusion complex ได้ (รูปที่ 1.3) คือสามารถจับโมเลกุลของสารที่วิเคราะห์ที่มีความเป็นขี้ผึ้งต่ำกว่าน้ำหรือไม่มีขี้ผึ้งได้ด้วย พันธะไฮโดรเจนหรือ *แรงแวนเดอร์วาลส์* สมบัติหลักของไซโคลเดกซ์ทรินทั้ง 3 ชนิดดังแสดงในตารางที่ 1.1

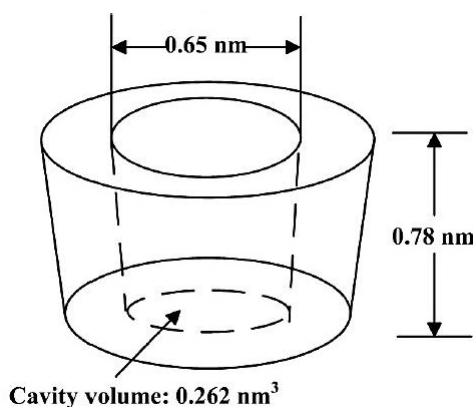


รูปที่ 1.3 การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนอินคลูชันของสเตียรอยด์กับไซโคลเดกซ์ทริน [14]

ตารางที่ 1.1 สมบัติหลักของแอลฟา, บีตาและแกมมาไซโคลเดกซ์ทริน [11]

physical property	$\alpha$ -CD	$\beta$ -CD	$\gamma$ -CD
no. of glucose units	6	7	8
mass	972	1135	1297
solubility in water, g 100 mL at room temp	14.5	1.85	23.2
cavity diameter, nm	0.47-0.53	0.60-0.65	0.75-0.83
height of torus, nm	$0.79 \pm 0.01$	$0.79 \pm 0.01$	$0.79 \pm 0.01$
volume of cavity, nm <sup>3</sup>	0.174	0.262	0.427

$\beta$ -CD (รูปที่ 1.4) เป็นไซโคลเดกซ์ทรินที่นิยมนำไปใช้งานมากที่สุด เนื่องจากพันธะไฮโดรเจนใน  $\alpha$ -CD จะไม่สมบูรณ์เพราะมีกลูโคสหนึ่งหน่วยอยู่ในตำแหน่งที่บิดเบี้ยวไป ส่วน  $\gamma$ -CD มีโครงสร้างที่ยึดหยุ่นมากกว่า จึงทำให้มีความสามารถละลายน้ำมากที่สุดไซโคลเดกซ์ทรินทั้ง 3 ชนิด รวมทั้ง  $\beta$ -CD ยังมีความสามารถในการละลายน้ำต่ำที่สุดและโครงสร้างค่อนข้างแข็งแรงอีกด้วย [15] นอกจากนี้แล้ว CD ยังสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างกว้างขวาง เช่น ด้านอาหาร เครื่องสำอาง เกษษกรรม การวิเคราะห์ทางเคมีและการแยกด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี เป็นต้น



รูปที่ 1.4 ลักษณะและรูปร่างของปีตาไซโคลเดกซ์ทริน [16]

### 1.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการแยกแอมโมเนียมไอโอเมอร์ประเภทต่างๆ ด้วย GC ที่ใช้อนุพันธ์ไซโคลเดกซ์ทรินเป็นเฟสคงที่ ได้แก่

ปี 1996 Shitangkoon และคณะ [17] รายงานการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ heptakis (2,3-di-*O*-methyl)- $\beta$ -CD ผสมใน OV-1701-vi โดยเปลี่ยนหมู่แทนที่เป็นชนิดต่างๆ ที่ตำแหน่ง primary 6-*O*-substituent ได้แก่ heptakis (2,3,6-tri-*O*-methyl)- $\beta$ -CD (BMe); heptakis (6-deoxy-6-fluoro-2,3-di-*O*-methyl)- $\beta$ -CD (BFMe); heptakis (2,3-di-*O*-methyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl)- $\beta$ -CD (BSiMe); heptakis (2,3-di-*O*-methyl)- $\beta$ -CD; heptakis (2,3-di-*O*-methyl-6-*O*-propyldimethylsilyl)- $\beta$ -CD (BSiPMe); heptakis (2,3-di-*O*-methyl-6-*O*-pentyl)- $\beta$ -CD (BPMe) และ heptakis (2,3-di-*O*-methyl-6-*O*-triisopropylsilyl)- $\beta$ -CD (BTIPSM) แล้วนำไปทดสอบแยกแอมโมเนียมไอโอเมอร์ประเภทต่างๆ เช่น การแยกแอมโมเนียมไอโอเมอร์ประเภท  $\alpha$ -pinene (non-polar) ที่อุณหภูมิคงที่เท่ากับ 80 °C ในคอลัมน์ BMe และ BSiMe พบว่า ที่คอลัมน์ BMe สามารถให้ selectivity สูงกว่าคอลัมน์ BSiMe เล็กน้อย แต่ประสิทธิภาพในการแยกสารในคอลัมน์ BSiMe มากกว่าคอลัมน์ BMe นอกจากนี้ยังทราบว่า ชนิดของหมู่แทนที่ส่งผลต่อการวิเคราะห์ที่อุณหภูมิต่ำสุดด้วย เช่น หมู่แทนที่ silyl ether (BSiMe) กับหมู่แทนที่ alkyl ether (BPMe) พบว่า สามารถวิเคราะห์ที่อุณหภูมิต่ำสุดได้เท่ากับ 80 และ 120 °C ตามลำดับ

ปี 1999 Vetter และคณะ [18] รายงานการแยกแอมโมเนียมไอโอเมอร์ประเภท organochlorine จำนวน 26 ชนิดด้วย GC โดยใช้เฟสคงที่เป็น heptakis (6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-2,3-di-*O*-methyl)- $\beta$ -CD ( $\beta$ -

TBDM) ผสมใน OV-1701 จำนวน 2 คอลัมน์ โดยคอลัมน์แรกเป็น pure  $\beta$ -TBDM 99% ส่วนอีกคอลัมน์จะเป็น silylated  $\beta$ -TBDM โดยใช้แก๊สฮีเลียมเป็นแก๊สพา อุณหภูมิของส่วนฉีดสารตัวอย่าง 230 °C ใช้เครื่องตรวจวัดประเภท electron-capture detectors (ECD) และใช้โปรแกรมอุณหภูมิ ผลการทดลองพบว่า คอลัมน์ silylated  $\beta$ -TBDM เป็นเฟสคงที่ดีกว่าคอลัมน์ pure  $\beta$ -TBDM เนื่องจากคอลัมน์ silylated  $\beta$ -TBDM สามารถแยกอีแนนทิโอเมอร์ออกจากกันได้ 24 นาที (16 นาทีที่ถูกแยกอย่างสมบูรณ์) แต่คอลัมน์ pure  $\beta$ -TBDM สามารถแยกอีแนนทิโอเมอร์ออกจากกันได้เพียง 6 นาที (4 นาทีที่ถูกแยกอย่างสมบูรณ์)

ปี 2005 Takahisa และคณะ [19] รายงานการแยกสารอีแนนทิโอเมอร์ประเภทแอลกอฮอล์, แอลดีไฮด์, กรดคาร์บอกซิลิก, คีโตน, เอสเทอร์ และสารประกอบซัลเฟอร์รวม 125 ชนิดด้วย GC โดยใช้เฟสคงที่เป็น octakis (2,3-di-*O*-methoxymethyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl)- $\gamma$ -CD (2,3-MOM-6-TBDMS- $\gamma$ -CD) ผสมใน polysiloxane OV-1701-vi มีแก๊สไฮโดรเจนเป็นแก๊สพาและใช้เครื่องตรวจวัดเป็น FID ผลการวิจัยพบว่า เฟสคงที่ชนิด 2,3-MOM-6-TBDMS- $\gamma$ -CD มีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์สารได้ดีและหลากหลาย

ปี 2016 Shi และคณะ [20] รายงานการแยกสารอีแนนทิโอเมอร์ 17 ชนิดของ 2-arylcarboxylic acid esters โดยใช้เฟสคงที่เป็นอนุพันธ์ของ  $\beta$ -CD ทั้งหมด 7 คอลัมน์ โดยใช้แก๊สฮีเลียมเป็นแก๊สพา เครื่องตรวจวัดเป็น FID และใช้อุณหภูมิคงที่ พบว่า เฟสคงที่ 2,6-di-*O*-pentyl-3-*O*-butyryl- $\beta$ -CD มีความสามารถในการแยกสารประเภท 2-phenylpropionates (7 ชนิด) ได้ดีกว่าเฟสคงที่ชนิดอื่น ในทำนองเดียวกัน เฟสคงที่ 2,3,6-tri-*O*-methyl- $\beta$ -CD มีความสามารถในการแยกสารประเภท 2-(4-substituted phenyl) propionates (7 ชนิด) ได้ดีกว่าเฟสคงที่ชนิดอื่น และสารประเภท 2-phenylbutyrates (3 ชนิด) มีเพียง methyl 2-phenylbutyrate ที่สามารถแยกได้ในเฟสคงที่ 2,3,6-tri-*O*-methyl- $\beta$ -CD ส่วน ethyl และ isopropyl 2-phenylbutyrates ไม่สามารถวิเคราะห์ได้ทั้ง 7 คอลัมน์

จากงานวิจัยข้างต้น พบว่า เฟสคงที่ที่เป็นอนุพันธ์ของไซโคลเดกซ์ทริน สามารถแยกสารประกอบได้หลากหลาย และแยกได้อย่างสมบูรณ์ แต่ยังไม่มีความสนใจในการเลือกเฟสคงที่และภาวะที่เหมาะสมต่อการแยกอีแนนทิโอเมอร์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี ดังนั้นในงานวิจัยนี้ จึงสนใจหาภาวะเบื้องต้นที่ง่ายและรวดเร็ว และภาวะที่เหมาะสมด้วยอุณหภูมิคงที่ เพื่อใช้เวลาในการวิเคราะห์ให้น้อยที่สุด



## บทที่ 2 การทดลอง

### 2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- gas chromatograph (GC) รุ่น Agilent 7890 series พร้อม split injector และ flame ionization detector (FID)
- GC syringe ขนาด 10  $\mu\text{L}$
- ขวดบรรจุสารขนาดเล็ก (vial) ขนาด 2 mL

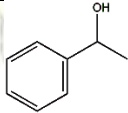
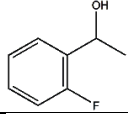
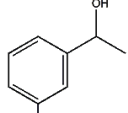
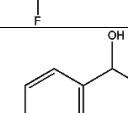
### 2.2 แก๊สและสารเคมี

- hydrogen gas, air zero gas, nitrogen gas จากบริษัท ลินด์ (ประเทศไทย) จำกัด (มหาชน)
- ตัวทำละลายอินทรีย์สำหรับการวิเคราะห์ด้วย GC ได้แก่ dichloromethane (A.C.S. grade) และ pentane (ultra resi-analyzed grade)
- *n*-alkanes ได้แก่ pentadecane และ hexadecane จาก J.T. Baker

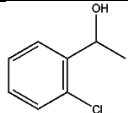
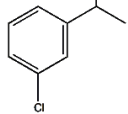
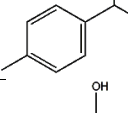
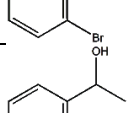
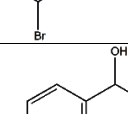
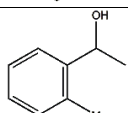
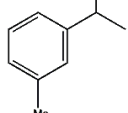
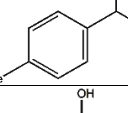
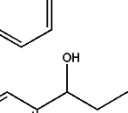
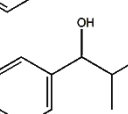
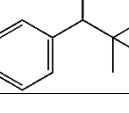


### 2.3 ไครัลแอลกอฮอล์

ราซีมิกแอลกอฮอล์ 17 ชนิด ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ สังเคราะห์จากรีดักชันของคีโตนด้วย  $\text{NaBH}_4$  โดยมรกต จงจิตรวัฒนา [21] สำหรับการวิเคราะห์ด้วย GC จะละลายราซีมิกแอลกอฮอล์แต่ละชนิดใน dichloromethane ให้มีความเข้มข้นประมาณ 5-10 mg/mL ชื่อและโครงสร้างของแอลกอฮอล์ทั้ง 17 ชนิด แสดงดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 โครงสร้างและชื่อแอลกอฮอล์ที่ใช้ในการวิเคราะห์

ลำดับที่	โครงสร้างของสาร	ชื่อย่อ	ชื่อเต็ม
1		PE-H	1-phenylethanol
2		PE-2F	1-(2-fluorophenyl)ethanol
3		PE-3F	1-(3-fluorophenyl)ethanol
4		PE-4F	1-(4-fluorophenyl)ethanol



ลำดับที่	โครงสร้างของสาร	ชื่อย่อ	ชื่อเต็ม
5		PE-2Cl	1-(2-chlorophenyl)ethanol
6		PE-3Cl	1-(3-chlorophenyl)ethanol
7		PE-4Cl	1-(4-chlorophenyl)ethanol
8		PE-2Br	1-(2-bromophenyl)ethanol
9		PE-3Br	1-(3-bromophenyl)ethanol
10		PE-4Br	1-(4-bromophenyl)ethanol
11		PE-2Me	1-(2-methoxyphenyl)ethanol
12		PE-3Me	1-(3-methylphenyl)ethanol
13		PE-4Me	1-(4-methylphenyl)ethanol
14		PP-H	1-phenyl-1-propanol
15		PB-H	1-phenyl-1-butanol
16		Me-PP	2-methyl-1-phenyl-1-propanol
17		diMe-PP	2,2-dimethyl-1-phenyl-1-propanol

## 2.4 การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี

### 2.4.1 คอลัมน์

ใช้แคปิลารีคอลัมน์ (capillary column) ซึ่งเคลือบด้วยเฟสคงที่ คือ 2,3-di-*O*-methyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- $\beta$ -CD (30.0%) ผสมใน OV-1701

ความยาว	: 14.93 เมตร
เส้นผ่านศูนย์กลาง	: 0.25 มิลลิเมตร
ความหนาของฟิล์มเฟสคงที่	: 0.25 ไมโครเมตร

### 2.4.2 การปรับสภาวะและการทดสอบประสิทธิภาพของคอลัมน์

ปรับสภาวะคอลัมน์ก่อนการใช้งาน โดยตั้งอุณหภูมิคอลัมน์คงที่ที่ 220 °C จนกระทั่ง baseline คงที่ จากนั้นทดสอบประสิทธิภาพคอลัมน์ที่อุณหภูมิต่างๆ ในช่วงของการวิเคราะห์ (100-210 °C) โดยฉีดสารละลาย *n*-alkanes ใน pentane บันทึกเวลา ( $t_R$ ) และความกว้างของพีก ( $w_h$ ) เพื่อคำนวณหาประสิทธิภาพของคอลัมน์ ( $N$ , plates/m) ตามสมการที่ (1)

$$N = 5.54 \left( \frac{t_R}{w_h} \right)^2$$

สมการที่ (1)

### 2.4.3 การแยกไอแชนท์โอเมออร์

ภาวะการทดลอง

carrier gas	: hydrogen, velocity 50 cm/sec
injector	: split (split ratio 100:1)
injector temperature	: 250 °C
detector	: flame ionization detector (FID)
detector temperature	: 250 °C
hydrogen	: 35.0 mL/min
air	: 350.0 mL/min
make up gas	: 30.0 mL/min (nitrogen)

ในการทดลองนี้ จะแยกไอแชนท์โอเมออร์โดยใช้การควบคุมอุณหภูมิของคอลัมน์ทั้งแบบโปรแกรมอุณหภูมิและแบบอุณหภูมิคงที่

#### โปรแกรมอุณหภูมิ

- ตั้งอุณหภูมิคอลัมน์จาก 50 °C จนถึง 200 °C ด้วยอัตราการเพิ่มอุณหภูมิ (temperature program rate) ที่ 3.32 °C/min ตามวิธีของ Grob [22]

- ฉีดสารละลายราซีมิกแอลกอฮอล์ 0.2-0.4  $\mu\text{L}$  บันทึกเวลา ( $t_R$ ) และความกว้างของพีค ( $w_h$ ) โดยสารละลายราซีมิกแอลกอฮอล์แต่ละชนิด จะฉีดซ้ำอย่างน้อย 2 ครั้ง
- เปลี่ยนอัตราการเพิ่มอุณหภูมิเป็น 10.00, 15.00, 20.00 และ 30.00  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  ตามลำดับ
- คำนวณอุณหภูมิที่พีคปรากฏ (elution temperature) และความสมบูรณ์ของการแยก (resolution,  $R_s$ ) ของคู่อิแนนทิโอเมอร์ ดังสมการที่ (2) และ (3)

### อุณหภูมิคงที่

- ตั้งอุณหภูมิกอลัมน์แบบคงที่ ในช่วง 90-210  $^{\circ}\text{C}$  อุณหภูมิที่ใช้จะขึ้นอยู่กับสารแต่ละชนิด โดยจะใช้ข้อมูลเบื้องต้นจากการวิเคราะห์แบบโปรแกรมอุณหภูมิ
- ฉีดสารละลายราซีมิกแอลกอฮอล์ 0.2-0.4  $\mu\text{L}$  บันทึกเวลา ( $t_R$ ) และความกว้างของพีค ( $w_h$ ) โดยสารละลายราซีมิกแอลกอฮอล์แต่ละชนิด จะฉีดซ้ำอย่างน้อย 2 ครั้ง
- คำนวณ retention factor ( $k'$ ), selectivity ( $\alpha$ ) และความสมบูรณ์ของการแยก ( $R_s$ ) ของคู่อิแนนทิโอเมอร์ดังสมการที่ (3)-(5)
- ทำการทดลองซ้ำ โดยเพิ่มหรือลดอุณหภูมิทีละ 2 หรือ 5 หรือ 10  $^{\circ}\text{C}$  จนคู่อิแนนทิโอเมอร์แยกจากกันได้อย่างสมบูรณ์ โดยมีค่า  $R_s \geq 1.5$

$$\text{elution temperature} = T_i + (\text{ramp rate} \times t_f) \quad \text{สมการที่ (2)}$$

$$R_s = 1.177 \times \left( \frac{t_{R,2} - t_{R,1}}{W_{h,2} + W_{h,1}} \right) \quad \text{สมการที่ (3)}$$

$T_i$  = อุณหภูมิเริ่มต้น (initial temperature)

$t_f$  = เวลาของพีคที่ออกมาทีหลัง (time of more retained enantiomer)

$$k' = \left( \frac{t_R - t_M}{t_M} \right) \quad \text{สมการที่ (4)}$$

$$\alpha = \frac{k'_2}{k'_1} = \left( \frac{t_{R,2} - t_M}{t_{R,1} - t_M} \right) \quad \text{สมการที่ (5)}$$

### บทที่ 3

#### ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

คู่อิแนนท์ไอเมอร์ซึ่งเป็นสารที่มีสมบัติทางกายภาพเหมือนกัน จึงแยกออกจากกันได้ยาก ดังนั้น การเลือกชนิดเฟสคงที่ของ GC รวมถึงการหาอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการแยก จึงยังไม่มีแนวทางที่ชัดเจน และใช้เวลาทดลองค่อนข้างมาก ในงานวิจัยนี้มุ่งหวังจะหาภาวะเบื้องต้นที่รวดเร็วและหาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแยกคู่อิแนนท์ไอเมอร์ โดยศึกษาการแยกคู่อิแนนท์ไอเมอร์ของแอลกอฮอล์ 17 ชนิดด้วย GC ที่ใช้ 2,3-di-*O*-methyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- $\beta$ -CD ผสมใน OV-1701 เป็นเฟสคงที่ โดยแอลกอฮอล์ที่นำมาศึกษามีโครงสร้างหลักเป็น 1-phenylethanol (PE-H), 1-phenyl-1-propanol (PP-H) และ 1-phenyl-1-butanol (PB-H) มีชนิดของหมู่แทนที่ (Me, F, Cl, Br) และตำแหน่งของหมู่แทนที่บนวงแอรอแมติก (*ortho*, *meta*, *para*) แตกต่างกันไป เนื่องจากแอลกอฮอล์แต่ละชนิด มีสมบัติทางกายภาพแตกต่างกัน เช่น จุดเดือด การกลายเป็นไอ เป็นต้น จึงเป็นการยากในการทำนายอุณหภูมิคอลัมน์ที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ ดังนั้นจึงเริ่มการวิเคราะห์ด้วย โปรแกรมอุณหภูมิคอลัมน์เพื่อหาภาวะเบื้องต้น

#### 3.1 การแยกคู่อิแนนท์ไอเมอร์ด้วยโปรแกรมอุณหภูมิ

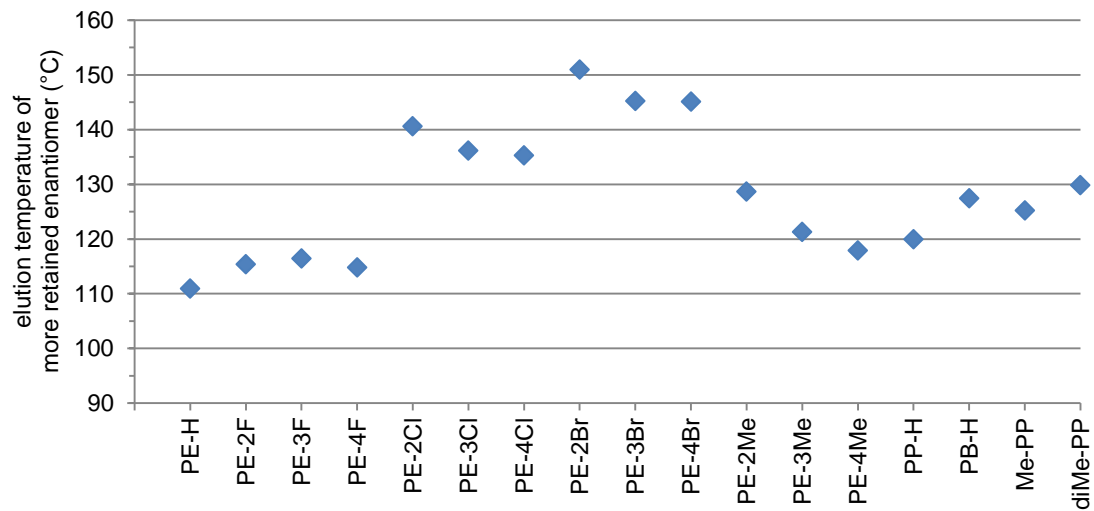
วิเคราะห์คู่อิแนนท์ไอเมอร์ของแอลกอฮอล์แต่ละชนิดด้วยโปรแกรมอุณหภูมิ ใช้อุณหภูมิคอลัมน์เริ่มต้น 50 °C ตั้งอัตราการเพิ่มอุณหภูมิคอลัมน์ (temperature program rate) ที่ 3.32 °C/min จนถึง 200 °C ตามวิธีมาตรฐานของ Grob [22] โดยคู่อิแนนท์ไอเมอร์ของแอลกอฮอล์แต่ละชนิดจะปรากฏพีคที่เวลาแตกต่างกัน หากสามารถแยกคู่อิแนนท์ไอเมอร์ออกจากกันได้ จะปรากฏพีค 2 พีค ที่มีลักษณะของพีคคล้ายกันทั้งความสูงและพื้นที่ใต้พีค จากนั้นคำนวณอุณหภูมิคอลัมน์ที่ปรากฏพีคทั้งสอง (elution temperature) และค่า resolution (Rs) ซึ่งแสดงถึงความสมบูรณ์ของการแยกระหว่างคู่อิแนนท์ไอเมอร์ หาก Rs มีค่ามากกว่า 1.5 แสดงว่าคู่อิแนนท์ไอเมอร์แยกออกจากกันได้สมบูรณ์ ตัวอย่างเช่น วิเคราะห์แอลกอฮอล์ PE-H ด้วยภาวะการทดลองข้างต้น ปรากฏ 2 พีคที่เวลา 17.814 และ 18.351 นาที คำนวณ elution temperature ได้เท่ากับ 109.16 และ 110.95 °C ตามลำดับ และคำนวณค่า Rs เท่ากับ 5.10 แสดงว่าคู่อิแนนท์ไอเมอร์แยกออกจากกันได้สมบูรณ์ดี สำหรับแอลกอฮอล์ชนิดอื่นๆ ก็ทำการทดลองในทำนองเดียวกัน

เมื่อพิจารณา elution temperature ของคู่อิแนนท์ไอเมอร์ตัวสุดท้าย (more retained enantiomer) ของแอลกอฮอล์ทั้ง 17 ชนิด (รูปที่ 3.1 (a)) พบว่า มีความสัมพันธ์ของแรงกระทำระหว่างแอลกอฮอล์กับเฟสคงที่ดังนี้

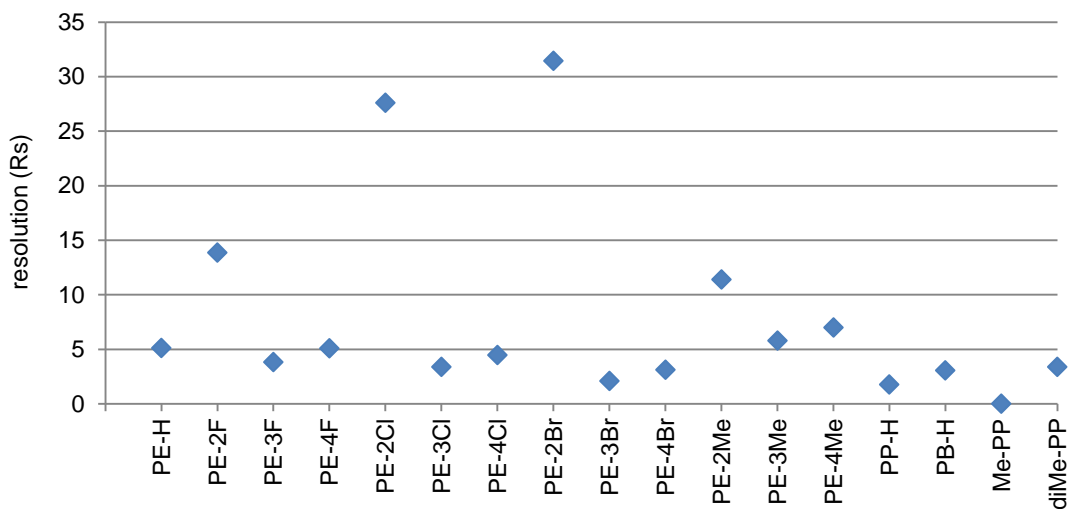
- แอลกอฮอล์ในกลุ่ม PE ที่มีหมู่แทนที่บนวงแอรอแมติก (ไม่ขึ้นกับชนิดและตำแหน่งของหมู่แทนที่) จะมี elution temperature สูงกว่าของ PE-H
- ชนิดของหมู่แทนที่ของสารกลุ่ม PE มีผลต่อ elution temperature โดย elution temperature ของ PE-Br > PE-Cl > PE-Me > PE-F

- ผลของตำแหน่งของหมู่แทนที่บนวงแโรแมติกของสารกลุ่ม PE พบว่า หมู่แทนที่ที่ตำแหน่ง *ortho* ส่งผลให้มี elution temperature สูงกว่าหมู่แทนที่ที่ตำแหน่ง *meta* หรือ *para* เช่น PE-2Me > PE-3Me > PE-4Me หรือ PE-2Br > PE-4Br > PE-3Br เป็นต้น ยกเว้นหมู่ fluoro ที่ตำแหน่ง *meta* จะให้ elution temperature สูงกว่าที่ตำแหน่ง *ortho* หรือ *para* เล็กน้อย
- แอลกอฮอล์ที่มีจำนวนคาร์บอนในโครงสร้างหลักมากขึ้น จะมี elution temperature สูงขึ้น ดังนั้น PB-H > PP-H > PE-H

(a)



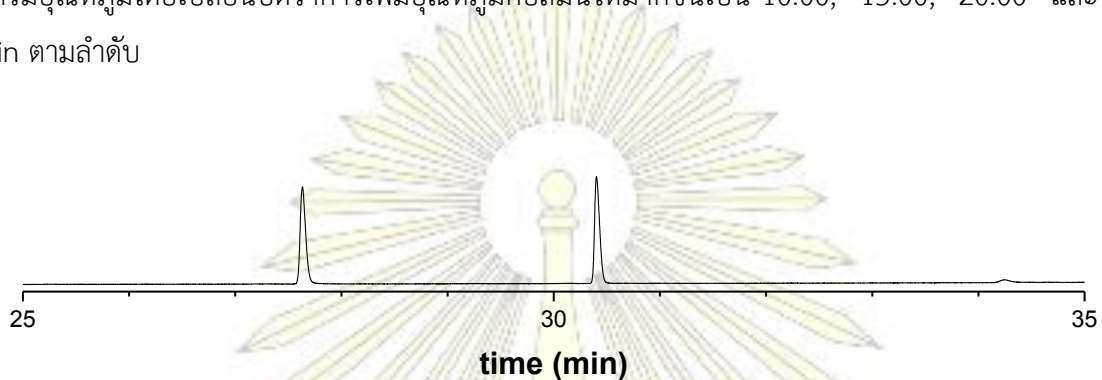
(b)



รูปที่ 3.1

(a) elution temperature ของอีแนนทิโอเมอร์ตัวสุดท้ายและ (b) resolution (Rs) ของการแยกคู่อีแนนทิโอเมอร์ของแอลกอฮอล์ 17 ชนิด (โปรแกรมอุณหภูมิ: 50 °C ถึง 200 °C, อัตรา 3.32 °C/min)

เมื่อพิจารณาค่า  $R_s$  ซึ่งแสดงถึงความสมบูรณ์ของการแยกระหว่างคู่อิแนนท์ไอเมอร์ของแอลกอฮอล์ทั้ง 17 ชนิด (รูปที่ 3.1 (b)) พบว่า เฟสคงที่ชนิดนี้สามารถแยกคู่อิแนนท์ไอเมอร์ของแอลกอฮอล์ 16 ชนิดได้อย่างสมบูรณ์ ( $R_s \geq 1.5$ ) มีเพียงสาร Me-PP ชนิดเดียวเท่านั้นที่ไม่สามารถแยกคู่อิแนนท์ไอเมอร์ออกจากกันได้ (ปรากฏฟีกเดียว) ซึ่งคู่อิแนนท์ไอเมอร์ของ PE-2Br แยกออกจากกันได้ดีที่สุดที่สุด มีค่า  $R_s$  สูงถึง 31.43 (รูปที่ 3.2) นอกจากนี้ยังพบว่า สารกลุ่ม PE-R ที่มีหมู่แทนที่ในตำแหน่ง *ortho* จะมีค่า  $R_s$  มากกว่า PE-R ที่มีหมู่แทนที่ในตำแหน่ง *meta* หรือ *para* อย่างเห็นได้ชัด จากรูปที่ 3.1 (b) จะเห็นว่า ค่า  $R_s$  ของอิแนนท์ไอเมอร์ส่วนใหญ่มีค่าค่อนข้างสูง (แยกได้ดีมาก) และยังใช้เวลาในการวิเคราะห์ค่อนข้างนาน (สูงสุด 30.402 นาที) จึงจะลดเวลาการวิเคราะห์แบบโปรแกรมอุณหภูมิโดยเปลี่ยนอัตราการเพิ่มอุณหภูมิคอลัมน์ให้มากขึ้นเป็น 10.00, 15.00, 20.00 และ 30.00 °C/min ตามลำดับ

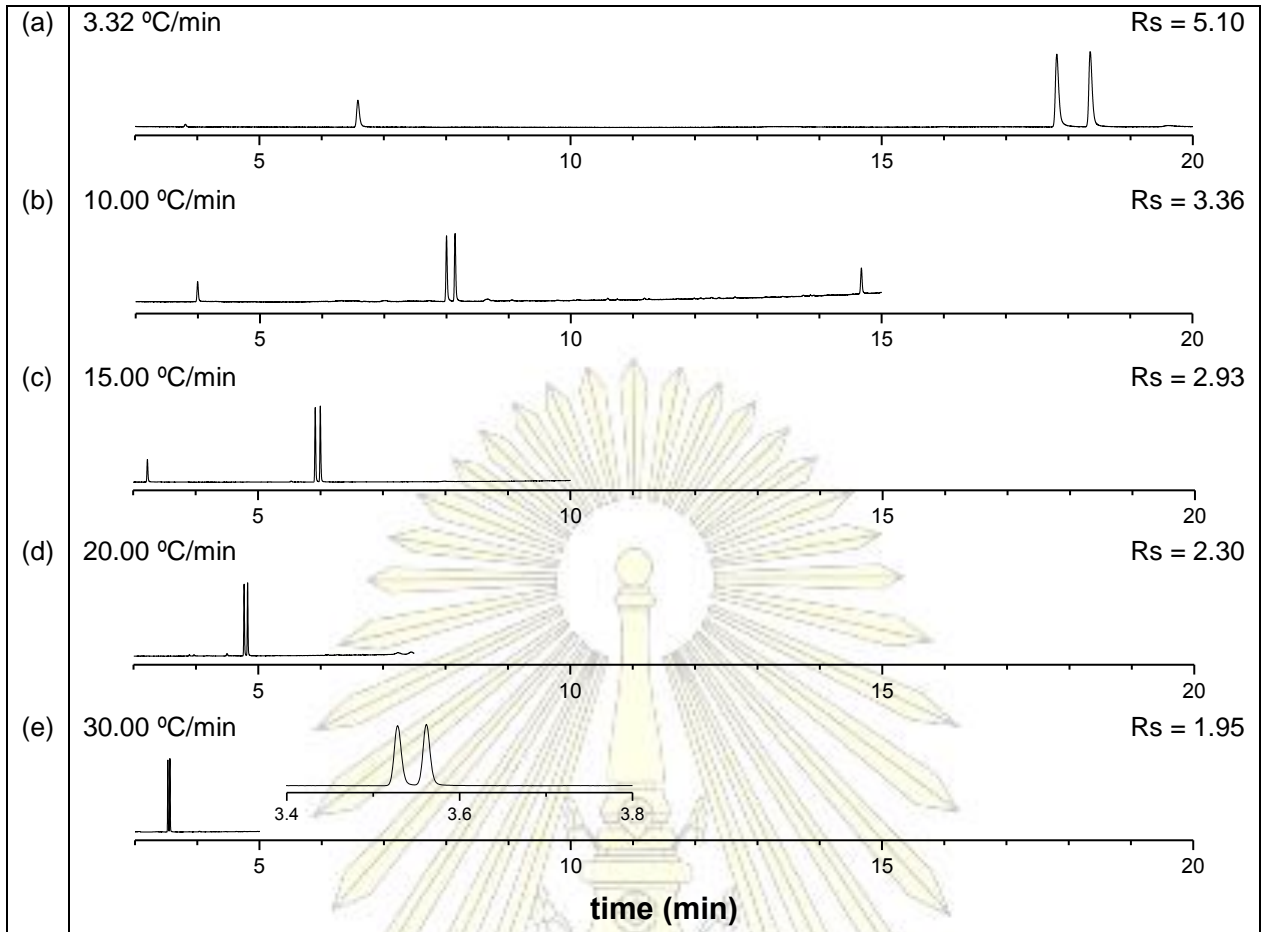


รูปที่ 3.2 โครมาโทแกรมของ PE-2Br (โปรแกรมอุณหภูมิ: 50 °C ถึง 200 °C, อัตรา 3.32 °C/min)

เมื่อเปลี่ยนอัตราการเพิ่มอุณหภูมิคอลัมน์ของการวิเคราะห์แบบโปรแกรมอุณหภูมิ จาก 3.32 °C/min เป็น 10.00, 15.00, 20.00 และ 30.00 °C/min ตามลำดับ พบว่าสามารถลดเวลาในการวิเคราะห์ลงได้ประมาณ 5 เท่า (จาก 18.351 นาที เหลือเพียง 3.562 นาที) แต่ค่า  $R_s$  ของการแยกคู่อิแนนท์ไอเมอร์จะมีค่าลดลง (ตารางที่ 3.1 และรูปที่ 3.3) นอกจากนี้เมื่อคำนวณ elution temperature ของฟีกที่ปรากฏ พบว่ามีค่า elution temperature สูงขึ้น (ตารางที่ 3.1) อย่างไรก็ตาม คู่อิแนนท์ไอเมอร์ของสาร PE-H ยังสามารถแยกจากกันได้ อย่างสมบูรณ์แม้จะใช้อัตราการเพิ่มอุณหภูมิที่ 30.00 °C/min

ตารางที่ 3.1 retention time ( $t_R$ ), elution temperature และ resolution ( $R_s$ ) ของ PE-H ที่อัตราต่างๆ

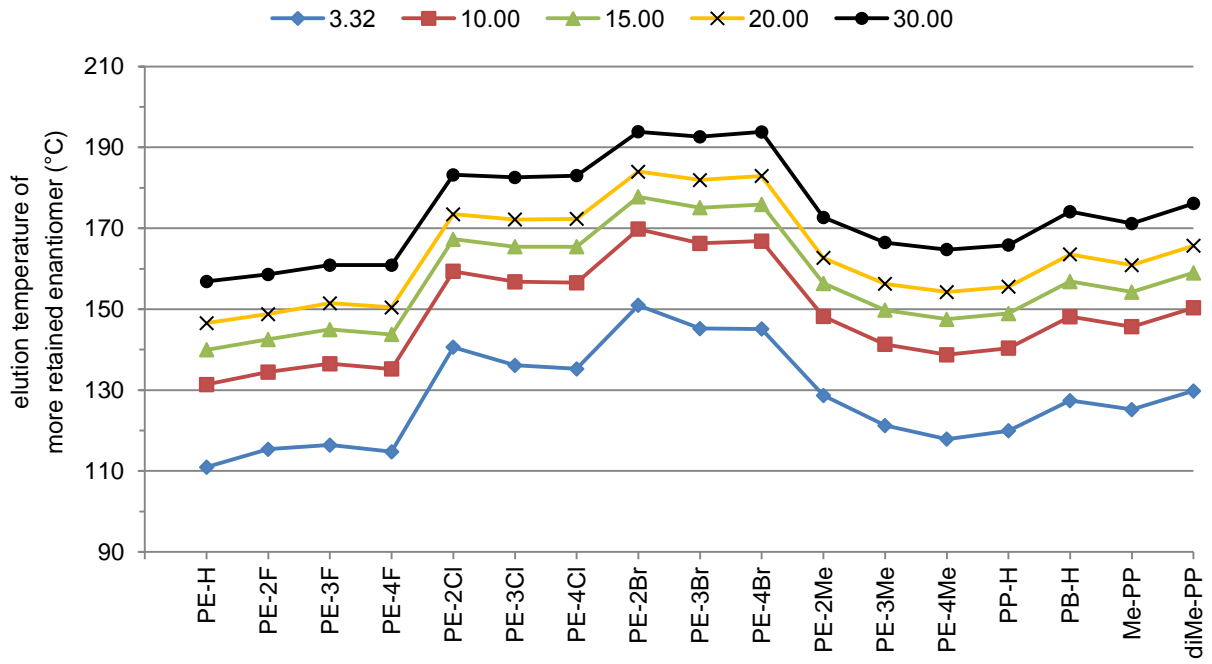
rate (°C/min)	$t_{R,1}$ (min)	$t_{R,2}$ (min)	elution temp <sub>1</sub> (°C)	elution temp <sub>2</sub> (°C)	$R_s$
3.32	17.814	18.351	109.16	110.95	5.10
10.00	8.000	8.138	130.00	131.38	3.36
15.00	5.915	5.997	138.73	139.96	2.93
20.00	4.773	4.829	145.46	146.58	2.30
30.00	3.528	3.562	155.84	156.86	1.95



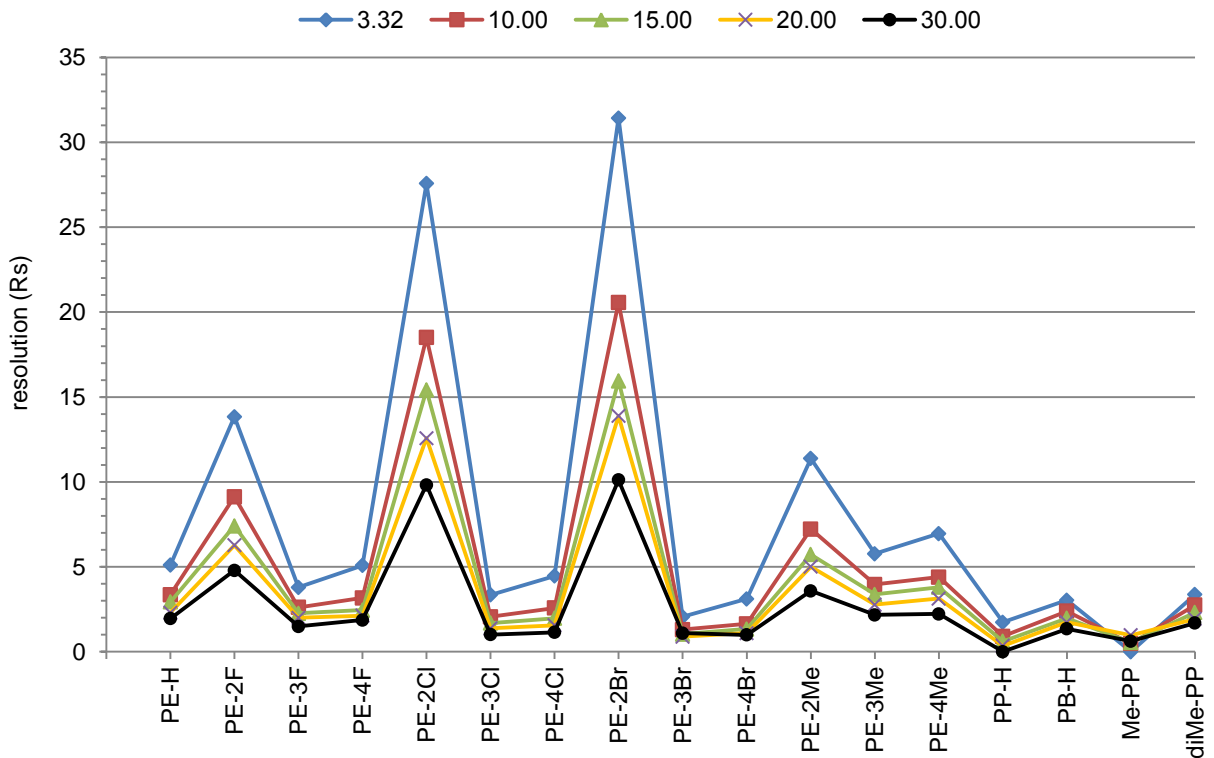
**รูปที่ 3.3** โครมาโทแกรมของ PE-H (โปรแกรมอุณหภูมิ: 50 °C ถึง 200 °C, อัตรา (a) 3.32, (b) 10.00, (c) 15.00, (d) 20.00 และ (e) 30.00 °C/min)

เมื่อเปรียบเทียบ elution temperature ของแอลกอฮอล์ทั้ง 17 ชนิด ที่วิเคราะห์แบบโปรแกรมอุณหภูมิ ด้วยอัตราการเพิ่มอุณหภูมิต่างกัน (รูปที่ 3.4) พบว่าให้ผลการทดลองคล้ายคลึงกับสาร PE-H เมื่ออัตราการเพิ่มอุณหภูมิมิค่ามากขึ้น elution temperature ก็จะเพิ่มขึ้นด้วย โดยมีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นใกล้เคียงกัน ในสารทุกตัวที่วิเคราะห์ เช่น เมื่อเพิ่มอัตราจาก 10.00 °C/min เป็น 20.00 °C/min พบว่า สารทุกตัวมี elution temperature เพิ่มขึ้นประมาณ 14-16 °C หรือ เมื่อเพิ่มอัตราจาก 15.00 °C/min เป็น 30.00 °C/min พบว่า สารทุกตัวมี elution temperature เพิ่มขึ้นประมาณ 16-18 °C เป็นต้น

เมื่อเปรียบเทียบค่า Rs ของแอลกอฮอล์ทั้ง 17 ชนิด ที่วิเคราะห์แบบโปรแกรมอุณหภูมิด้วยอัตราการเพิ่มอุณหภูมิต่างกัน (รูปที่ 3.5) พบว่า เมื่ออัตราการเพิ่มอุณหภูมิมิค่ามากขึ้น ส่งผลให้ Rs มีค่าลดลง และมีแนวโน้มคล้ายคลึงกัน ยกเว้นสาร PE-3Br และ Me-PP ที่มีค่า Rs ค่อนข้างต่ำ จึงไม่สามารถหาแนวโน้มของ Rs ของสาร 2 ชนิดนี้ได้ (รูปที่ 3.5)



รูปที่ 3.4 elution temperature ของอีแนนทิโอเมอร์ตัวสุดท้ายในการแยกอีแนนทิโอเมอร์ของ แอลกอฮอล์ 17 ชนิดที่อัตรา 3.32, 10.00, 15.00, 20.00 และ 30.00 °C/min



รูปที่ 3.5 Rs ของการแยกอีแนนทิโอเมอร์ของแอลกอฮอล์ 17 ชนิดที่อัตรา 3.32, 10.00, 15.00, 20.00 และ 30.00 °C/min

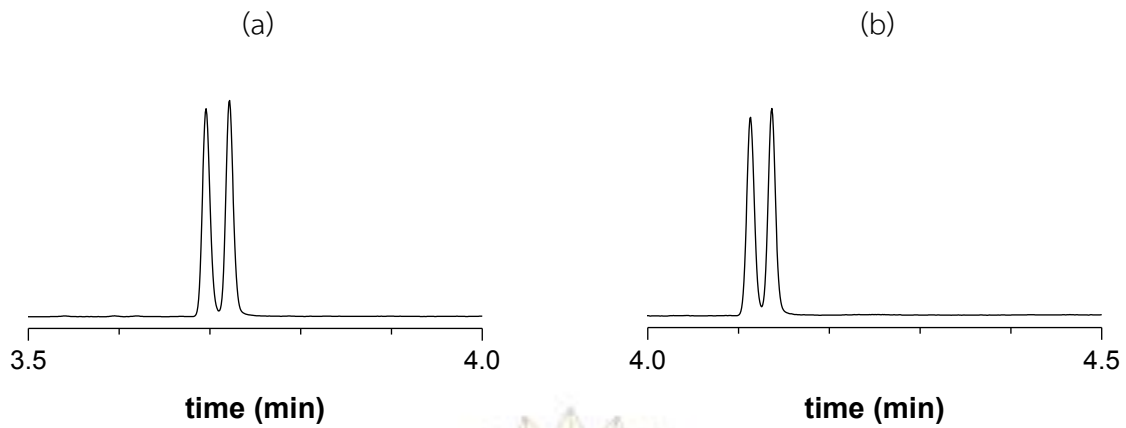


เมื่อพิจารณาผลการวิเคราะห์ที่อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 30.00 °C/min (ตารางที่ 3.2) พบว่าสามารถแยกคู่อินทรีย์โอเมอร์ของแอลกอฮอล์ได้อย่างสมบูรณ์ ( $R_s \geq 1.5$ ) จำนวน 9 ชนิด ได้แก่ PE-H, PE-2F, PE-4F, PE-2Cl, PE-2Br, PE-2Me, PE-3Me, PE-4Me และ diMe-PP ส่วนคู่อินทรีย์โอเมอร์ที่แยกออกจากกันได้ แต่ไม่สมบูรณ์ ( $R_s < 1.5$ ) มี 7 ชนิด ได้แก่ PE-3F, PE-3Cl, PE-4Cl, PE-3Br, PE-4Br, PB-H และ Me-PP แต่สาร PE-3F และ PB-H มี  $R_s$  เท่ากับ 1.49 และ 1.35 ตามลำดับ ซึ่งแยกได้เกือบสมบูรณ์ (รูปที่ 3.6) ส่วนสาร PP-H เป็นสารเพียงชนิดเดียวที่ไม่สามารถแยกคู่อินทรีย์โอเมอร์ได้ และโครมาโทแกรมปรากฏเพียง 1 พีค

**ตารางที่ 3.2** elution temperature และ resolution ( $R_s$ ) ของการแยกคู่อินทรีย์โอเมอร์ของแอลกอฮอล์ 17 ชนิด (โปรแกรมอุณหภูมิ: 50 °C ถึง 200 °C อัตราการเพิ่มอุณหภูมิลดลง 30.00 °C/min)

alcohol	$t_{R,1}$ (min)	$t_{R,2}$ (min)	$w_{h,1}$ (min)	$w_{h,2}$ (min)	elution temp <sub>1</sub> (°C)	elution temp <sub>2</sub> (°C)	$R_s$
PE-H	3.528	3.562	0.0102	0.0103	155.84	156.86	1.95
PE-2F	3.539	3.620	0.0105	0.0094	156.17	158.60	4.79
PE-3F	3.696	3.722	0.0103	0.0102	160.88	161.66	1.49
PE-4F	3.665	3.697	0.0106	0.0095	159.95	160.91	1.87
PE-2Cl	4.275	4.440	0.0104	0.0094	178.25	183.20	9.82
PE-3Cl	4.402	4.420	0.0102	0.0107	182.06	182.60	1.01
PE-4Cl	4.413	4.434	0.0109	0.0108	182.39	183.02	1.14
PE-2Br	4.617	4.795	0.0106	0.0101	188.51	193.85	10.12
PE-3Br	4.737	4.755	0.0093	0.0101	192.11	192.65	1.09
PE-4Br	4.777	4.794	0.0101	0.0102	193.31	193.82	0.99
PE-2Me	4.030	4.090	0.0096	0.0101	170.90	172.70	3.58
PE-3Me	3.846	3.883	0.0097	0.0103	165.38	166.49	2.17
PE-4Me	3.786	3.825	0.0104	0.0102	163.58	164.75	2.23
PP-H	3.861	3.861	0.0126	0.0126	165.83	165.83	-
PB-H	4.113	4.137	0.0105	0.0105	173.39	174.11	1.35
Me-PP	4.030	4.040	0.0091	0.0099	170.90	171.20	0.62
diMe-PP	4.175	4.204	0.0099	0.0102	175.25	176.12	1.69

หมายเหตุ - ไม่สามารถแยกคู่อินทรีย์โอเมอร์ออกจากกันได้ (ปรากฏพีคเดียว)

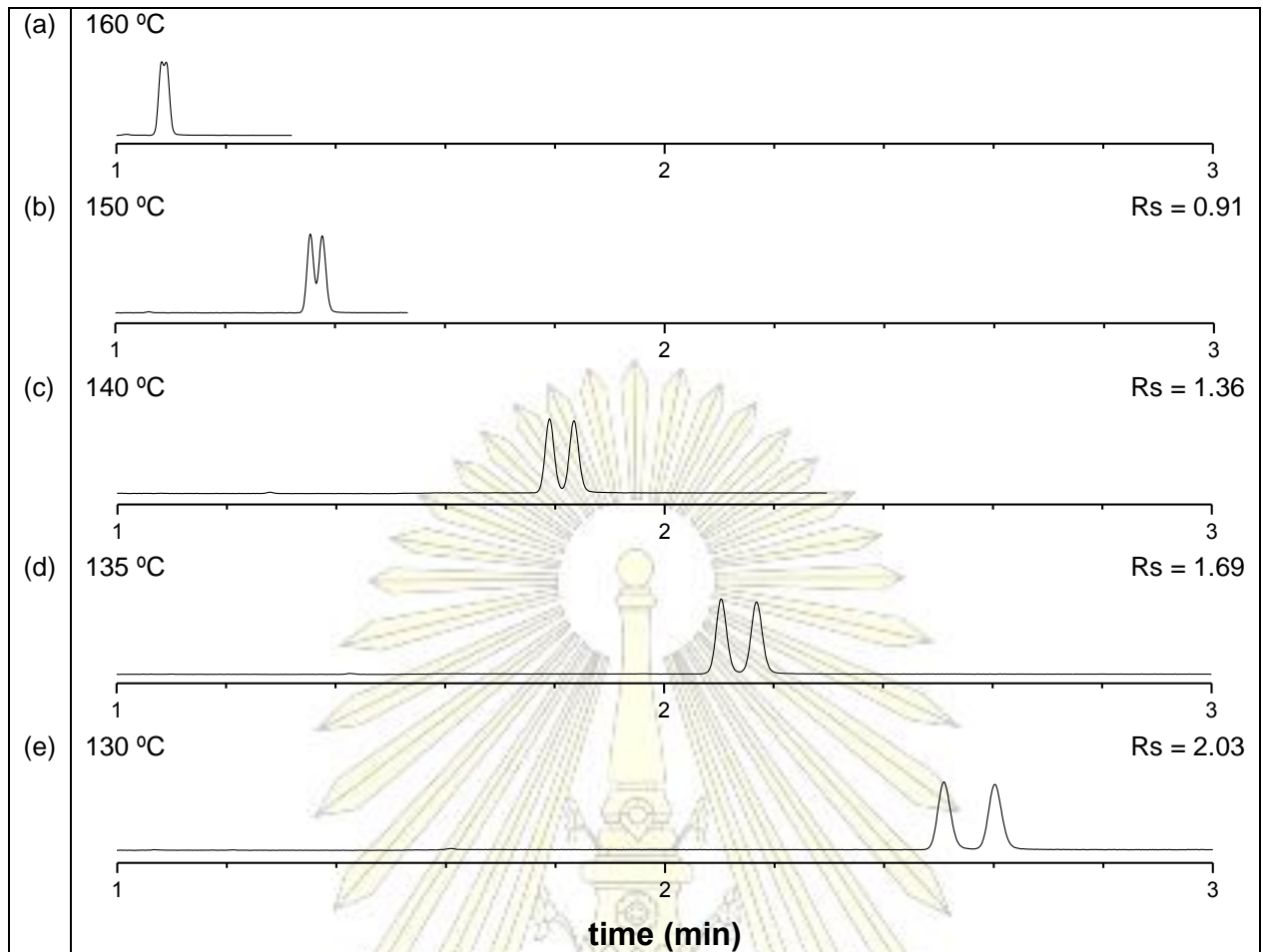


รูปที่ 3.6 (a) โครมาโทแกรมของ PE-3F และ (b) PB-H (โปรแกรมอุณหภูมิ: 50 °C ถึง 200 °C, อัตรา 30.00 °C/min)

### 3.2 การแยกไอออนด้วยอุณหภูมิคงที่

ถึงแม้ว่าการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมอุณหภูมิจะสามารถแยกไอออนออกจากกันได้ดี แต่การใช้โปรแกรมอุณหภูมียังคงมีข้อเสีย คือ หลังการวิเคราะห์เสร็จสิ้น ต้องรอเวลาให้คอลัมน์เย็นลงเพื่อกลับสู่อุณหภูมิเริ่มต้นก่อนการวิเคราะห์ครั้งถัดไป (cooling time) ทำให้ใช้เวลาในการวิเคราะห์รวมมากขึ้น ส่วนการวิเคราะห์ด้วยอุณหภูมิคงที่ สามารถวิเคราะห์สารตัวอย่างได้อย่างต่อเนื่อง เพราะไม่มีการปรับเปลี่ยนอุณหภูมิระหว่างการวิเคราะห์ นอกจากนี้การแยกไอออนที่มีองค์ประกอบเพียง 2 ชนิด และเป็นสารที่มีสมบัติใกล้เคียงกันมาก จึงเหมาะที่จะวิเคราะห์ด้วยอุณหภูมิคงที่มากกว่า แต่การเลือกอุณหภูมิคงที่ที่เหมาะสม จำเป็นต้องอาศัยข้อมูลจากการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมอุณหภูมิ

จากข้อมูล elution temperature ที่ได้จากการแยกไอออนด้วยโปรแกรมอุณหภูมิที่ใช้อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 30.00 °C/min จึงเลือกตั้งค่าอุณหภูมิคงที่ที่ใกล้เคียงกับ elution temperature ของไอออนตัวสุดท้าย เช่น สาร PE-H มี elution temperature ของไอออนตัวสุดท้าย เท่ากับ 156.86 °C จึงเริ่มการทดลองแบบอุณหภูมิคงที่ที่ 160 °C แต่พบว่า PE-H ใช้เวลาน้อยมาก และเห็นการแยกเพียงเล็กน้อย (ยังไม่สามารถคำนวณค่า Rs ได้) จึงปรับลดหรือเพิ่มอุณหภูมิของคอลัมน์ทีละ 10 °C จนสามารถแยกไอออนของ PE-H ได้อย่างสมบูรณ์ (ให้ได้ค่า  $R_s \geq 1.5$ ) และใช้เวลาน้อยที่สุด สำหรับ PE-H พบว่า เมื่อใช้อุณหภูมิคงที่ที่ 150, 140 และ 130 °C การแยกของไอออนจะค่อยๆ ดีขึ้น โดยมี  $R_s$  เท่ากับ 0.91, 1.36 และ 2.03 ตามลำดับ (รูปที่ 3.7) จึงปรับลดหรือเพิ่มอุณหภูมิของคอลัมน์ทีละ 5 หรือ 2 °C ในช่วงอุณหภูมิ 130 ถึง 140 °C โดยพบว่าอุณหภูมิที่สูงที่สุดที่สามารถแยกไอออนของ PE-H ได้อย่างสมบูรณ์คือ 135 °C ( $R_s = 1.69$ ) โดยใช้เวลาเพียง 2.169 นาที (รูปที่ 3.7 (d)) ซึ่งรวดเร็วกว่าการใช้โปรแกรมอุณหภูมิที่อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 30.00 °C/min ที่ใช้เวลา 3.562 นาที (ยังไม่นับรวม cooling time) สำหรับแอลกอฮอล์ตัวอื่นๆ ก็ทำการทดลองในทำนองเดียวกัน



รูปที่ 3.7 โครมาโทแกรมของ PE-H ที่อุณหภูมิ (a) 160, (b) 150, (c) 140, (d) 135 และ (e) 130 °C

ตารางที่ 3.3 สรุปภาวะการแยกคู่อิแนนท์ไอเมอร์ของแอลกอฮอล์ทั้ง 17 ชนิด ด้วยอุณหภูมิคงที่สูงสุดที่ให้การแยกสมบูรณ์ พร้อมเปรียบเทียบเวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์กับการแยกด้วยโปรแกรมอุณหภูมิที่ใช้อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 30.00 °C/min พบว่าสำหรับสารส่วนใหญ่ สามารถแยกคู่อิแนนท์ไอเมอร์ได้อย่างสมบูรณ์ด้วยการวิเคราะห์แบบอุณหภูมิคงที่ และยังใช้เวลาวิเคราะห์น้อยกว่าการใช้โปรแกรมอุณหภูมิ ยกเว้น PE-3Br และ PE-4Br ที่ใช้เวลาในการวิเคราะห์ด้วยอุณหภูมิคงที่มากกว่าโปรแกรมอุณหภูมิ แต่จะพบว่าการใช้โปรแกรมอุณหภูมิที่อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 30.00 °C/min ไม่สามารถแยกคู่อิแนนท์ไอเมอร์ของสารทั้งสองได้อย่างสมบูรณ์ สำหรับสาร PP-H พบว่าสามารถแยกสารออกจากกันได้อย่างสมบูรณ์ด้วยอุณหภูมิคงที่ และใช้เวลาวิเคราะห์มากที่สุด (17.545 นาที,  $K_2 = 30.39$ ) จากแอลกอฮอล์ทั้ง 17 ชนิดที่นำมาศึกษา มีเพียงสาร Me-PP เท่านั้น ที่ไม่สามารถแยกคู่อิแนนท์ไอเมอร์ออกจากกันได้อย่างสมบูรณ์ ไม่ว่าจะใช้อุณหภูมิคงที่ที่อุณหภูมิใดก็ตาม

**ตารางที่ 3.3** ภาวะในการแยกอีแนนทีโอเมอร์ได้สมบูรณ์ ( $R_s = 1.5$ ) ด้วยอุณหภูมิคงที่สูงสุดและเวลาในการแยกด้วยโปรแกรมอุณหภูมิ อัตรา  $30.00\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$

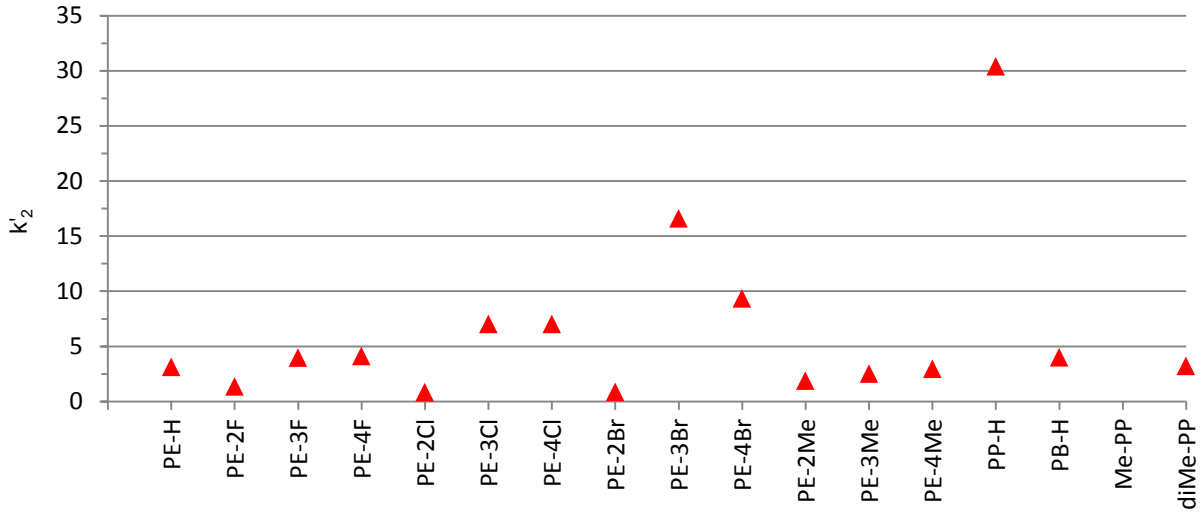
สาร	ภาวะอุณหภูมิคงที่					โปรแกรมอุณหภูมิ		
	temp ( $^{\circ}\text{C}$ )	$t_{R,2}$ (min)	$k'_2$	$\alpha$	$R_s$	temp <sub>2</sub> ( $^{\circ}\text{C}$ )	$t_{R,2}$ (min)	$R_s$
PE-H	135	2.169	3.12	1.04	1.69	156.86	3.562	1.95
PE-2F	155	1.217	1.35	1.05	1.67	158.60	3.620	4.79
PE-3F	135	2.603	3.96	1.04	1.66	161.66	3.722	1.49
PE-4F	133	2.705	4.09	1.04	1.57	160.91	3.697	1.87
PE-2Cl	195	0.922	0.81	1.08	1.51	183.20	4.440	9.82
PE-3Cl	145	4.178	7.00	1.03	1.59	182.60	4.420	1.01
PE-4Cl	145	4.197	7.01	1.04	1.71	183.02	4.434	1.14
PE-2Br	205	0.955	0.84	1.04	1.62	193.85	4.795	10.12
PE-3Br	138	9.272	16.59	1.03	1.71	192.65	4.755	1.09
PE-4Br	145	6.740	9.32	1.03	1.71	193.82	4.794	0.99
PE-2Me	163	1.479	1.87	1.04	1.50	172.70	4.090	3.58
PE-3Me	150	1.830	2.51	1.04	1.58	166.49	3.883	2.17
PE-4Me	145	2.058	2.93	1.04	1.70	164.75	3.825	2.23
PP-H	100	17.545	30.39	1.04	1.84	165.83	3.861	-
PB-H	148	2.594	3.98	1.03	1.53	174.11	4.137	1.35
Me-PP	*	*	*	*	*	171.20	4.040	0.62
diMe-PP	155	2.177	3.20	1.04	1.68	176.12	4.204	1.69

หมายเหตุ \* ไม่มีอุณหภูมิคงที่ใดที่ทำให้สามารถแยกคู่อิแนนทีโอเมอร์ออกจากกันได้อย่างสมบูรณ์ ( $R_s = 1.5$ )  
 - ไม่สามารถแยกคู่อิแนนทีโอเมอร์ออกจากกันได้ (ปรากฏพิคเดียว)

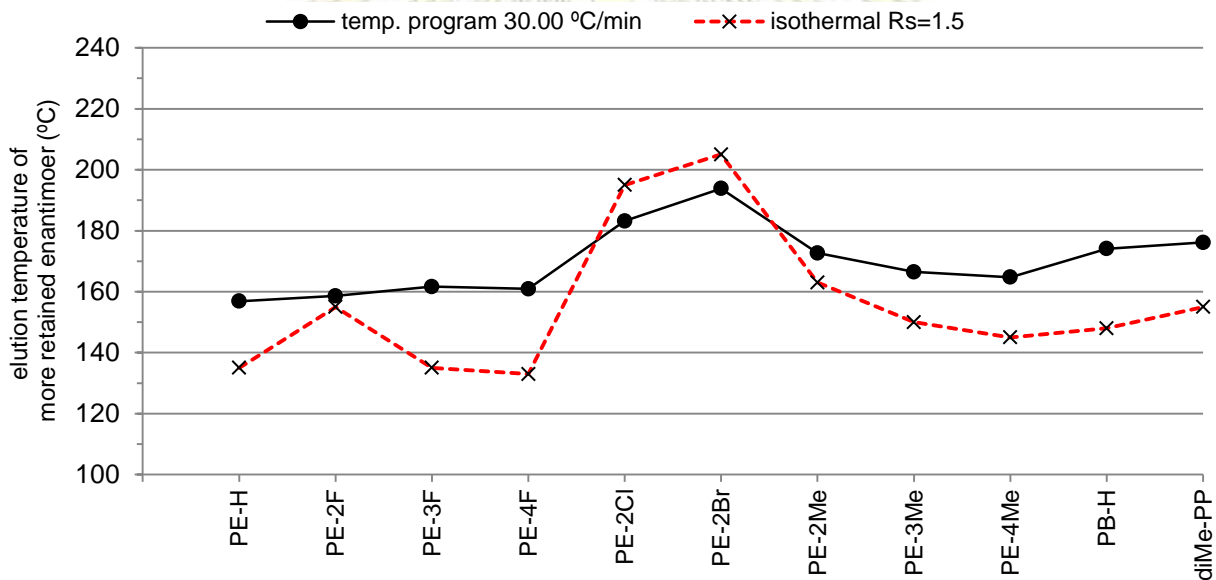
เมื่อพิจารณาคู่ไอแนนทีโอเมอร์ของแอลกอฮอล์ที่แยกได้อย่างสมบูรณ์ด้วยภาวะอุณหภูมิคงที่ จากตารางที่ 3.3 พบว่า สารที่ใช้เวลาวิเคราะห์น้อย ( $t_{R,2}$  หรือ  $k'_2$  น้อย) จะเป็นสารกลุ่ม PE ที่มีหมู่แทนที่ที่ตำแหน่ง *ortho* แสดงว่าแอลกอฮอล์ที่มีโครงสร้างคล้ายคลึงกันนี้ น่าจะสามารถแยกได้ดีด้วยเฟสคงที่ชนิดนี้ สำหรับสารที่ใช้เวลาวิเคราะห์มาก ( $k'_2 > 5$ ) ได้แก่ PE-3Cl, PE-4Cl, PE-3Br, PE-4Br และ PP-H รวมถึงสารที่แยกไม่สมบูรณ์ คือ Me-PP (ตารางที่ 3.3 และ รูปที่ 3.8) พบว่าสารเหล่านี้มี  $R_s < 1.5$  เมื่อวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมอุณหภูมิที่อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 30.00 °C/min จึงอาจสรุปได้ว่า สารเหล่านี้ไม่เหมาะที่จะนำมาแยกด้วยเฟสคงที่ชนิด 2,3-di-*O*-methyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- $\beta$ -CD ควรเปลี่ยนชนิดของเฟสคงที่เพื่อให้มีค่าการแยกที่ดีขึ้น และใช้เวลาวิเคราะห์น้อยลง

จากนั้น เปรียบเทียบอุณหภูมิคงที่สูงสุดที่ให้การแยกสมบูรณ์ กับ elution temperature ที่ได้จากโปรแกรมอุณหภูมิที่อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 30.00 °C/min ของไอแนนทีโอเมอร์ตัวสุดท้ายของแอลกอฮอล์ 11 ชนิดที่แยกได้อย่างสมบูรณ์และใช้เวลาสั้น ( $k'_2 < 5$ ) ได้ดังรูปที่ 3.9 พบว่าสารส่วนใหญ่มี elution temperature มากกว่าอุณหภูมิคงที่ ยกเว้น PE-2Cl และ PE-2Br นอกจากนี้ สารกลุ่ม PE ที่มีหมู่แทนที่ที่ตำแหน่ง *ortho* ได้แก่ PE-2F, PE-2Cl, PE-2Br และ PE-2Me จะมีผลต่างระหว่าง elution temperature กับอุณหภูมิคงที่ค่อนข้างน้อย ในช่วง -10 ถึง +10 °C ส่วนสารชนิดอื่น (PE-H, PE-3F, PE-4F, PE-3Me, PE-4Me, PB-H, diMe-PP) มี elution temperature มากกว่าอุณหภูมิคงที่ ประมาณ +20 ถึง +30 °C ซึ่งข้อมูลจากการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมอุณหภูมิที่อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 30.00 °C/min ประกอบกับโครงสร้างของแอลกอฮอล์ที่ศึกษา น่าจะใช้เป็นแนวทางในการเลือกภาวะอุณหภูมิคงที่ที่เหมาะสมได้รวดเร็วยิ่งขึ้น





รูปที่ 3.8 retention ของอิแนนทิโอเมอร์ตัวสุดท้าย ( $k'_2$ ) ของอิแนนทิโอเมอร์แอลกอฮอล์ 17 ชนิดที่  $R_s = 1.5$  ณ อุณหภูมิคงที่



รูปที่ 3.9 elution temperature ของอิแนนทิโอเมอร์ตัวสุดท้ายของแอลกอฮอล์ 11 ชนิดที่เหมาะสมสำหรับคอลัมน์นี้ด้วยโปรแกรมอุณหภูมิ (อัตรา 30.00 °C/min) และอุณหภูมิคงที่ ( $R_s = 1.5$ )

## บทที่ 4

### สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ศึกษาภาวะสำหรับการแยกไอแนนทีโอเมอร์ของแอลกอฮอล์รวม 17 ชนิด ที่มีโครงสร้างหลักคือ 1-phenylethanol (PE-H), 1-phenyl-1-propanol (PP-H) และ 1-phenyl-1-butanol (PB-H) ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี โดยใช้ 2,3-di-*O*-methyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- $\beta$ -CD (30.0%) ผสมใน OV-1701 เป็นเฟสคงที่ ซึ่งทำการวิเคราะห์ทั้งรูปแบบโปรแกรมอุณหภูมิและอุณหภูมิคงที่ เพื่อหาภาวะที่สามารถแยกไอแนนทีโอเมอร์ออกจากกันได้อย่างสมบูรณ์และใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยที่สุด และศึกษาผลของโครงสร้างหลักของสารรวมถึงชนิดของหมู่แทนที่ (Me, F, Cl, Br) และตำแหน่งของหมู่แทนที่ (*ortho*, *meta*, *para*) บนวงแอร์แมติกที่ส่งผลต่อการแยกไอแนนทีโอเมอร์

เมื่อแยกไอแนนทีโอเมอร์ของแอลกอฮอล์ด้วยโปรแกรมอุณหภูมิ ที่อัตราการเพิ่มอุณหภูมิต่างๆ ได้แก่ 3.32, 10.00, 15.00, 20.00 และ 30.00 °C/min พบว่า เมื่ออัตราการเพิ่มอุณหภูมิมียิ่งมากขึ้น จะทำให้สารออกมาเร็วขึ้น ลดเวลาวิเคราะห์ได้ รวมถึงทำให้ elution temperature เพิ่มขึ้นด้วย แต่มีค่า Rs ลดลง ในงานวิจัยนี้ จึงเลือกใช้อัตรา 30.00 °C/min เป็นภาวะเบื้องต้นในการคัดกรอง (screening condition) พบว่า สามารถแยกไอแนนทีโอเมอร์ของแอลกอฮอล์ 9 ชนิดได้อย่างสมบูรณ์ (พิจารณาจากค่า  $R_s \geq 1.5$ ) ได้แก่ PE-H, PE-2F, PE-4F, PE-2Cl, PE-2Br, PE-2Me, PE-3Me, PE-4Me และ diMe-PP โดยสาร PE-2Br ให้ค่า Rs สูงที่สุด ( $R_s = 10.12$ ) ส่วนสารที่เหลืออีก 8 ชนิด ได้แก่ PE-3F, PE-3Cl, PE-4Cl, PE-3Br, PE-4Br, PP-H, PB-H และ Me-PP เป็นสารที่แยกออกจากกันได้อย่างไม่สมบูรณ์ ( $R_s < 1.5$ )

เมื่อแยกไอแนนทีโอเมอร์ของแอลกอฮอล์ด้วยอุณหภูมิคงที่ โดยเลือกอุณหภูมิสูงสุดที่สามารถแยกไอแนนทีโอเมอร์ออกจากกันได้อย่างสมบูรณ์ ( $1.5 \leq R_s \leq 2.0$ ) พบว่าการใช้ภาวะอุณหภูมิคงที่ที่สามารถลดเวลาในการวิเคราะห์สารลงได้เกือบทุกชนิด ยกเว้น PE-3Br และ PE-4Br ส่วนสาร PP-H ที่ไม่สามารถแยกได้ด้วยโปรแกรมอุณหภูมิที่อัตรา 30.00 °C/min แต่สามารถแยกได้เมื่อใช้อุณหภูมิคงที่ โดยสารที่มีหมู่แทนที่ตำแหน่ง *ortho* (PE-2F, PE-2Cl, PE-2Br, PE-2Me) จะใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยที่สุดเมื่อเทียบกับสารที่มีหมู่แทนที่ในตำแหน่งอื่น

โดยสรุป สามารถเสนอแนวทางเบื้องต้นในการหาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแยก ไอแนนทีโอเมอร์กลุ่มแอลกอฮอล์ที่มีโครงสร้างหลักคือ 1-phenylethanol สำหรับเฟสคงที่ 2,3-di-*O*-methyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- $\beta$ -CD คือ เริ่มจากการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมอุณหภูมิจาก 50 °C ถึง 200 °C ที่อัตรา 30.00 °C/min หากการแยกของไอแนนทีโอเมอร์  $R_s < 1.25$  จะมีโอกาสน้อยที่จะแยกไอแนนทีโอเมอร์ได้อย่างสมบูรณ์ด้วยภาวะอุณหภูมิคงที่ หรือแยกได้สมบูรณ์แต่ใช้เวลานาน หากการแยกของไอแนนทีโอเมอร์  $R_s > 1.25$  จะมีโอกาสสูงที่จะแยกไอแนนทีโอเมอร์ได้อย่างสมบูรณ์ โดยหากสารมีหมู่แทนที่ในตำแหน่ง *ortho* จะใช้อุณหภูมิคงที่ที่ใกล้เคียงกับ elution temperature จากภาวะโปรแกรมอุณหภูมิเป็นภาวะเริ่มต้นได้ หากเป็นสารอื่น ควรใช้อุณหภูมิคงที่ที่ต่ำกว่า elution temperature จากภาวะโปรแกรมอุณหภูมิตั้งน้อย 20 ถึง 30 °C เป็นภาวะเริ่มต้น ในงานวิจัยนี้ได้ทดสอบการแยกไอแนนทีโอเมอร์ของแอลกอฮอล์เพียง 17 ชนิด ซึ่งหากเพิ่มจำนวนสารที่ใช้ในการวิเคราะห์ จะช่วยสนับสนุนผลการทดลองและอาจพบแนวโน้มในการหาภาวะที่เหมาะสมได้ดียิ่งขึ้น

## เอกสารอ้างอิง

1. Roos, G.; Roos, C. Isomers and stereochemistry. *Organic Chemistry Concepts*. **2015**, 43–54.
2. Chhabra, N.; Aseri, M. L.; Padmanabhan D. A review of drug isomerism and its significance International. *Journal of Applied and Basic Medical Research*. **2013**, 3(1), 16-18.
3. Yin, X.; Siu, C. N.; Timothy, T. Y. T.; Yong, W. Recent development of cyclodextrin chiral stationary phases and their applications in chromatography. *Journal of Chromatography A*. **2012**, 1269, 52–68.
4. Schurig, V. Separation of enantiomers by gas chromatography. *Journal of Chromatography A*. **2001**, 906, 275–299.
5. Hinshaw, J. Improving GC performance systematically. *LCGC North America*. **2017**, 35(3), 174–179.
6. Watson, D. W. The secrets of successful temperature programming. *LCGC North America*. **2017**, 35(8), 534.
7. Ramos, M. D. C. K. V.; Teixeira, L. H. P.; Neto, F. R. D. A.; Barreiro, E. J.; Rodrigues, C. R.; Fraga, C. A. M. Chiral separation of  $\gamma$ -butyrolactone derivatives by gas chromatography on 2,3-di-*O*-methyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- $\beta$ -cyclodextrin. *Journal of Chromatography A*. **2003**, 985, 321–331.
8. Heptakis (2,3-di-*O*-methyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl)- $\beta$ -cyclodextrin. (ออนไลน์). แหล่งที่มา : [www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty\\_EN\\_CB82545174.htm](http://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB82545174.htm) (สืบค้นเมื่อ 27 เมษายน 2561).
9. ต้นกล้า อินสว่าง. 2015. แนะนำเครื่องมือวิจัย Chromatography, ultramicrotome, particle size analyzer. (ออนไลน์). แหล่งที่มา : <http://mdresearch.kku.ac.th/files/news/filesnews/IEgrflgJ5tKqdsU.pdf>. (สืบค้นเมื่อ 3 มีนาคม 2561).
10. GC method development. (ออนไลน์). แหล่งที่มา : <https://www.agilent.com/cs/library/support/documents/f3964554214.pdf>. (สืบค้นเมื่อ 3 มีนาคม 2561).
11. Donpuksa, S.; Rimphanitchayakit, V. Cyclodextrin and cyclodextrin glycosyltransferase. *Journal of Science and Technology Mahasarakham University*. **2012**, 31(6), 837-843.
12. Szejtli, V. Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry. *Chemical Review*. **1998**, 98, 1743-1753.



13. Szejtli, V. Past, present, and future of cyclodextrin research. *Pure and Applied Chemistry*. **2004**, 76(10), 1825–1845.
14. Jansook, P.; Ogawa N.; Loftsson, T. Cyclodextrins: structure, physicochemical properties and pharmaceutical applications. *International Journal of Pharmaceutics*. **2018**, 535, 272–284.
15. ปิยาณี ลิ้มโสภารธรรม. 2007. การเตรียม  $\beta$ -cyclodextrin ที่เชื่อมกับผ้าฝ้ายสำหรับใช้ในงานด้านสิ่งทอ. (ออนไลน์). แหล่งที่มา : [http://www.thapra.lib.su.ac.th/thesis/showthesis\\_th.asp?id=0000002580](http://www.thapra.lib.su.ac.th/thesis/showthesis_th.asp?id=0000002580). (สืบค้นเมื่อ 26 มีนาคม 2561).
16. Fan, B.; Wei, G.; Zhang, Z.; Qiao, N. Characterization of a supramolecular complex based on octadecylamine and  $\beta$ -cyclodextrin and its corrosion inhibition properties in condensate water. *Corrosion Science*. **2014**, 83, 75–85.
17. Shitangkoon, A.; Vigh, G. Systematic modification of the separation selectivity of cyclodextrin-based gas chromatographic stationary phases by varying the size of the 6-*O*-substituents. *Journal of Chromatography A*. **1996**, 738, 31–42.
18. Vetter, W.; Klobes, U.; Luckas, B.; Hottinger, G. Use of 6-*O*-*tert*-butyldimethylsilylated  $\beta$ -cyclodextrins for the enantioseparation of chiral organochlorine compounds. *Journal of Chromatography A*. **1999**, 846, 375–381.
19. Takahisa, E.; Engel, K.-H. 2,3-Di-*O*-methoxymethyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- $\beta$ -cyclodextrin: a new class of cyclodextrin derivatives for gas chromatographic separation of enantiomers. *Journal of Chromatography A*. **2005**, 1063, 181–192.
20. Shi, Z.; Liu, F.; Mao, J. The CGC enantiomer separation of 2-arylcarboxylic acid esters by using  $\beta$ -cyclodextrin derivatives as chiral stationary phases. *Analytica Chimica Acta*. **2016**, 912, 156-162.
21. Jongjitwattana, M. Enantiomeric separation of alcohols by gas chromatography using beta-cyclodextrin derivative as stationary phase. Master's Thesis, Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, 2014.
22. Grob, K. Making and manipulating capillary columns for gas chromatography. **1986**, 193.

ภาคผนวก

ตารางที่ A1 elution temperature และ resolution (Rs) ของการแยกคู่อิแนนท์ไอเมอร์ของแอลกอฮอล์ 17 ชนิด (โปรแกรมอุณหภูมิ: 50 °C ถึง 200 °C อัตราการเพิ่มอุณหภูมิต่อนาที 3.32 °C/min)

alcohol	$t_{R,1}$ (min)	$t_{R,2}$ (min)	$w_{h,1}$ (min)	$w_{h,2}$ (min)	elution temp <sub>1</sub> (°C)	elution temp <sub>2</sub> (°C)	Rs
PE-H	17.814	18.351	0.0628	0.0611	109.16	110.95	5.10
PE-2F	18.320	19.691	0.0594	0.0572	110.84	115.40	13.84
PE-3F	19.607	19.996	0.0613	0.0596	115.12	116.41	3.79
PE-4F	18.987	19.504	0.0606	0.0593	113.06	114.77	5.08
PE-2Cl	24.717	27.273	0.0577	0.0514	132.09	140.58	27.57
PE-3Cl	25.613	25.932	0.0571	0.0551	135.06	136.12	3.35
PE-4Cl	25.232	25.675	0.0594	0.0576	133.80	135.27	4.46
PE-2Br	27.633	30.402	0.0539	0.0498	141.77	150.97	31.43
PE-3Br	28.469	28.667	0.0567	0.0562	144.55	145.21	2.06
PE-4Br	28.323	28.637	0.0587	0.0601	144.06	145.11	3.11
PE-2Me	22.543	23.690	0.0623	0.0563	124.87	128.68	11.38
PE-3Me	20.864	21.459	0.0629	0.0584	119.29	121.27	5.77
PE-4Me	19.683	20.436	0.0666	0.0608	115.37	117.87	6.96
PP-H	20.892	21.063	0.0567	0.0587	119.38	119.95	1.74
PB-H	23.008	23.314	0.0602	0.0584	126.41	127.43	3.04
Me-PP	22.649	22.649	0.0545	0.0545	125.22	125.22	-
diMe-PP	23.727	24.032	0.0532	0.0532	128.80	129.81	3.37

หมายเหตุ

- ไม่สามารถแยกคู่อิแนนท์ไอเมอร์ออกจากกันได้ (ปรากฏฟีกเดียว)

ตารางที่ A2 elution temperature และ resolution (Rs) ของการแยกคู่อิแนนท์ไอโซเมอร์ของแอลกอฮอล์ 17 ชนิด (โปรแกรมอุณหภูมิ: 50 °C ถึง 200 °C อัตราการเพิ่มอุณหภูมิคอลัมน์ 10.00 °C/min)

alcohol	$t_{R,1}$ (min)	$t_{R,2}$ (min)	$w_{h,1}$ (min)	$w_{h,2}$ (min)	elution temp <sub>1</sub> (°C)	elution temp <sub>2</sub> (°C)	Rs
PE-H	8.000	8.138	0.0243	0.0241	130.00	131.38	3.36
PE-2F	8.100	8.445	0.0237	0.0208	131.00	134.45	9.13
PE-3F	8.550	8.653	0.0233	0.0231	135.50	136.53	2.61
PE-4F	8.398	8.521	0.0238	0.0218	133.98	135.21	3.17
PE-2Cl	10.268	10.936	0.0215	0.0210	152.68	159.36	18.50
PE-3Cl	10.600	10.678	0.0229	0.0217	156.00	156.78	2.06
PE-4Cl	10.556	10.655	0.0236	0.0218	155.56	156.55	2.57
PE-2Br	11.255	11.980	0.0216	0.0199	162.55	169.80	20.56
PE-3Br	11.577	11.627	0.0226	0.0226	165.77	166.26	1.30
PE-4Br	11.617	11.683	0.0239	0.0234	166.17	166.83	1.64
PE-2Me	9.546	9.810	0.0227	0.0218	145.46	148.19	7.22
PE-3Me	8.980	9.133	0.0230	0.0225	139.80	141.33	3.96
PE-4Me	8.693	8.874	0.0249	0.0236	136.93	138.74	4.39
PP-H	9.005	9.038	0.0206	0.0222	140.05	140.38	0.91
PB-H	9.728	9.816	0.0219	0.0215	147.28	148.16	2.39
Me-PP	9.549	9.566	0.0192	0.0222	145.49	145.66	0.48
diMe-PP	9.937	10.034	0.0208	0.0209	149.37	150.34	2.74

ตารางที่ A3 elution temperature และ resolution (Rs) ของการแยกคู่อิแนนท์ไอโซเมอร์ของแอลกอฮอล์ 17 ชนิด (โปรแกรมอุณหภูมิ: 50 °C ถึง 200 °C อัตราการเพิ่มอุณหภูมิคอลัมน์ 15.00 °C/min)

alcohol	$t_{R,1}$ (min)	$t_{R,2}$ (min)	$w_{h,1}$ (min)	$w_{h,2}$ (min)	elution temp <sub>1</sub> (°C)	elution temp <sub>2</sub> (°C)	Rs
PE-H	5.915	5.997	0.0164	0.0165	138.73	139.96	2.93
PE-2F	5.966	6.170	0.0162	0.0162	139.49	142.55	7.41
PE-3F	6.270	6.333	0.0165	0.0163	144.05	145.00	2.26
PE-4F	6.182	6.252	0.0169	0.0167	142.73	143.78	2.45
PE-2Cl	7.417	7.819	0.0159	0.0148	161.26	167.29	15.41
PE-3Cl	7.651	7.697	0.0158	0.0162	164.77	165.46	1.69
PE-4Cl	7.641	7.697	0.0173	0.0162	164.62	165.46	1.97
PE-2Br	8.084	8.519	0.0169	0.0152	171.26	177.79	15.95
PE-3Br	8.311	8.340	0.0164	0.0163	174.67	175.10	1.04
PE-4Br	8.357	8.394	0.0164	0.0160	175.36	175.91	1.34
PE-2Me	6.935	7.093	0.0171	0.0154	154.03	156.40	5.72
PE-3Me	6.561	6.652	0.0161	0.0156	148.42	149.78	3.38
PE-4Me	6.397	6.502	0.0168	0.0141	145.96	147.53	3.80
PP-H	6.579	6.596	0.0145	0.0181	148.69	148.94	0.61
PB-H	7.069	7.123	0.0159	0.0164	156.04	156.85	1.97
Me-PP	6.935	6.950	0.0154	0.0165	154.03	154.25	0.55
diMe-PP	7.205	7.267	0.0155	0.0161	158.08	159.01	2.31

ตารางที่ A4 elution temperature และ resolution (Rs) ของการแยกคู่อิแนนท์ไอโซเมอร์ของแอลกอฮอล์ 17 ชนิด (โปรแกรมอุณหภูมิ: 50 °C ถึง 200 °C อัตราการเพิ่มอุณหภูมิคอลัมน์ 20.00 °C/min)

alcohol	$t_{R,1}$ (min)	$t_{R,2}$ (min)	$w_{h,1}$ (min)	$w_{h,2}$ (min)	elution temp <sub>1</sub> (°C)	elution temp <sub>2</sub> (°C)	Rs
PE-H	4.773	4.829	0.0143	0.0143	145.46	156.86	2.30
PE-2F	4.800	4.939	0.0138	0.0123	146.00	148.78	6.27
PE-3F	5.032	5.075	0.0127	0.0126	150.64	151.50	2.00
PE-4F	4.975	5.022	0.0124	0.0137	149.50	150.44	2.12
PE-2Cl	5.896	6.174	0.0137	0.0123	167.92	173.48	12.58
PE-3Cl	6.078	6.109	0.0126	0.0138	171.56	172.18	1.38
PE-4Cl	6.079	6.116	0.0136	0.0144	171.58	172.32	1.56
PE-2Br	6.400	6.701	0.0135	0.0120	178.00	184.02	13.89
PE-3Br	6.577	6.597	0.0135	0.0129	181.54	181.94	0.89
PE-4Br	6.622	6.647	0.0142	0.0129	182.44	182.94	1.09
PE-2Me	5.528	5.634	0.0126	0.0123	160.56	162.68	5.01
PE-3Me	5.249	5.313	0.0138	0.0134	154.98	156.26	2.77
PE-4Me	5.141	5.213	0.0130	0.0141	152.82	154.26	3.13
PP-H	5.270	5.277	0.0122	0.0114	155.40	155.54	0.35
PB-H	5.639	5.678	0.0136	0.0128	162.78	163.56	1.74
Me-PP	5.523	5.544	0.0123	0.0131	160.46	160.88	0.97
diMe-PP	5.739	5.784	0.0136	0.0139	164.78	175.25	1.93

ตารางที่ A5 ภาวะในการแยกอีแนนทีโอเมอร์ได้สมบูรณ์ ( $R_s = 2.0$ ) ด้วยอุณหภูมิคงที่สูงสุดและเวลาในการแยกด้วยโปรแกรมอุณหภูมิ อัตรา 30.00 °C/min

สาร	ภาวะอุณหภูมิคงที่					โปรแกรมอุณหภูมิ		
	temp (°C)	$t_{R,2}$ (min)	$k'_2$	$\alpha$	$R_s$	temp <sub>2</sub> (°C)	$t_{R,2}$ (min)	$R_s$
PE-H	130	2.602	3.92	1.05	2.03	156.86	3.562	1.95
PE-2F	150	1.389	1.68	1.07	2.15	158.60	3.620	4.79
PE-3F	130	3.180	5.02	1.04	1.95	161.66	3.722	1.49
PE-4F	128	3.301	5.18	1.04	1.94	160.91	3.697	1.87
PE-2Cl	190	1.005	0.97	1.09	2.00	183.20	4.440	9.82
PE-3Cl	138	5.739	9.95	1.04	2.04	182.60	4.420	1.01
PE-4Cl	140	5.209	8.92	1.04	2.07	183.02	4.434	1.14
PE-2Br	200	1.044	1.04	1.08	2.23	193.85	4.795	10.12
PE-3Br	128	15.846	28.67	1.04	2.00	192.65	4.755	1.09
PE-4Br	140	8.548	15.25	1.04	2.01	193.82	4.794	0.99
PE-2Me	158	1.720	2.33	1.05	1.98	172.70	4.090	3.58
PE-3Me	145	2.161	3.15	1.05	1.99	166.49	3.883	2.17
PE-4Me	140	2.445	3.62	1.05	2.09	164.75	3.825	2.23
PP-H	95	23.561	40.48	1.04	2.18	165.83	3.861	-
PB-H	138	3.848	6.33	1.04	2.00	174.11	4.137	1.35
Me-PP	*	*	*	*	*	171.20	4.040	0.62
diMe-PP	150	2.602	3.98	1.04	1.95	176.12	4.204	1.69

หมายเหตุ

\* ไม่มีอุณหภูมิคงที่ใดที่ทำให้สามารถแยกคู่อีแนนทีโอเมอร์ออกจากกันได้อย่างสมบูรณ์ ( $R_s = 2.0$ )

- ไม่สามารถแยกคู่อีแนนทีโอเมอร์ออกจากกันได้ (ปรากฏฟีกเดียว)

## ประวัติผู้วิจัย

นางสาวณิชารีย์ คำวอน เกิดเมื่อวันที่ 10 เดือน มีนาคม พ.ศ.2539 ที่จังหวัดนครสวรรค์ สำเร็จการศึกษา  
ชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนตากลีประศาสน์ จังหวัดนครสวรรค์ เมื่อปีการศึกษา 2556 เข้าศึกษาต่อ  
ในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2557  
ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ บ้านเลขที่ 10/21 หมู่ 1 ตำบลตากฟ้า อำเภอดตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์ รหัสไปรษณีย์  
60190 อีเมล nicharee.kh@hotmail.com

