



โครงการ
การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ ภาวะสำหรับการแยกไอแนนทิโอเมอร์ของแอลกอฮอล์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี
Conditions for enantiomeric separation of alcohols by gas chromatography

ชื่อนิสิต นางสาวชุตติกาญจน์ โห่งทับทิม เลขประจำตัว 5833022423
ภาควิชา เคมี
ปีการศึกษา 2561

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการทางวิชาการที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการทางวิชาการที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of senior projects in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the senior project authors' files submitted through the faculty.

ภาวะสำหรับการแยกอิแนนทิโอเมอร์ของแอลกอฮอล์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี
Conditions for enantiomeric separation of alcohols
by gas chromatography

โดย
นางสาวชุติกัญจน์ โห่งทับติม

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2561

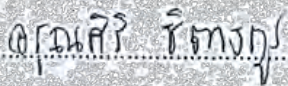
โครงการ ภาวะสำหรับการแยกอีแนนทีโอเมอร์ของแอลกอฮอล์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี

โดย นางสาวชุตติกาญจน์ โห่งทับทิม

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย


คณะกรรมการสอบโครงการ


..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ยงศักดิ์ ศรีธนาอนันต์)


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


..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มนพิชา ศรีสะอาด)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี


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

วันที่ 24 เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2562

ชื่อโครงการ ภาวะสำหรับการแยกอีแนนทีโอเมอร์ของแอลกอฮอล์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี
ชื่อนิสิตในโครงการ นางสาวชุตติกาญจน์ โห่งทับทิม เลขประจำตัว 5833022423
ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อรุณศิริ ชิตางกูร
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2561

บทคัดย่อ

ศึกษาภาวะสำหรับการแยกอีแนนทีโอเมอร์ของแอลกอฮอล์ในรูปอนุพันธ์ไตรเมทิลไซลิลจำนวน 32 ชนิด ที่มีโครงสร้างหลักในกลุ่ม 1-phenylethanol และ 1-phenyl-1-propanol ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี ที่ใช้ heptakis(2,3-di-O-methyl-6-O-tert-butyl-dimethylsilyl)- β -CD เป็นเฟสคงที่ชนิดโครัล เพื่อหาภาวะเบื้องต้นที่รวดเร็วที่นำไปสู่ภาวะอุณหภูมิคงที่ที่เหมาะสมในการแยกคู่อิแนนทีโอเมอร์ได้สมบูรณ์และใช้เวลาน้อย พบว่าควรเริ่มจากการวิเคราะห์แอลกอฮอล์ด้วยโปรแกรมอุณหภูมิจาก 40 ถึง 220 °C ที่อัตรา 30.00 °C/min หากไม่ปรากฏการแยกหรือการแยกมีค่า Rs (resolution) น้อยกว่า 0.7 ควรเปลี่ยนชนิดเฟสคงที่ กรณีที่สารแยกได้ มีค่า Rs ไม่น้อยกว่า 0.7 ให้เลือกภาวะอุณหภูมิคงที่ให้ต่ำกว่า elution temperature ที่ได้จากโปรแกรมอุณหภูมิ ไม่น้อยกว่า 30 °C เป็นค่าเริ่มต้น ในงานวิจัยนี้ สามารถแยกคู่อิแนนทีโอเมอร์ของ 1-(4-fluorophenyl)propanol หรือ pF-PP ได้สมบูรณ์และใช้เวลาน้อยที่สุด (2.04 นาที)

คำสำคัญ: แอลกอฮอล์, อิแนนทีโอเมอร์, ไฮโคลเดกซ์ทริน, แก๊สโครมาโทกราฟี

Project Title Conditions for enantiomeric separation of alcohols by gas chromatography

Student Name Miss Chutikan Hongtabtim Student ID 5833022423

Advisor Name Assistant Professor Dr. Aroonsiri Shitangkoon

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic Year 2018

Abstract

Conditions for enantiomeric separation of 32 trimethylsilyl-derivatized alcohols with two core structures (1-phenylethanol and 1-phenyl-1-propanol) were studied by gas chromatography using heptakis(2,3-di-*O*-methyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl)- β -CD as a chiral stationary phase. This study aimed to determine a fast screening condition leading to the optimum isothermal condition for complete enantiomeric separation with short analysis time. The enantiomeric analysis of an alcohol was started with temperature program from 40 to 220 °C at 30.00 °C/min. If no separation was observed or resolution (R_s) was less than 0.7, the stationary phase should be changed. If the resolution of 0.7 or higher was obtained, the isothermal temperature of at least 30 °C lower than elution temperature could be used as a starting point. From this work, 1-(4-fluorophenyl)propanol or pF-PP could be completely separated into their enantiomers with the shortest analysis time (2.04 minutes).

Keywords: alcohol, enantiomer, cyclodextrin, gas chromatography

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรุณศิริ ชิตางกูร อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการที่กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำและคำปรึกษาในการดำเนินงานวิจัย รวมถึงคำชี้แนะในการเขียนรายงานจนเสร็จสมบูรณ์ ขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ยงศักดิ์ ศรีธนาอนันต์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มนพิชา ศรีสะอาด ที่ให้เกียรติเป็นกรรมการสอบและชี้ข้อบกพร่องของเล่มรายงาน และขอขอบคุณพี่สุชาดา ม่วงศรี ที่ให้คำแนะนำและความช่วยเหลือต่างๆ ในงานวิจัยนี้

ผู้วิจัยขอขอบคุณโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ ฝ่ายวิชาการ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประจำปีการศึกษา 2561 สำหรับทุนสนับสนุนงานวิจัย และขอขอบคุณภาควิชาเคมี ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และอุปกรณ์เครื่องมือในการทำโครงการวิจัยนี้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ซ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการเสนอโครงการ	1
1.2 วัตถุประสงค์และขอบเขตของงานวิจัย	2
1.3 ทฤษฎีและหลักการ	3
1.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	6
1.5 ประโยชน์ที่จะได้จากงานวิจัย	8
บทที่ 2 การทดลอง	9
2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์	9
2.2 แก๊สและสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย	9
2.3 ไคร้ลแอลกอฮอล์	9
2.4 การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี	13
บทที่ 3 ผลการทดลองและการอภิปรายผลการทดลอง	16
3.1 การวิเคราะห์ฮีแนนทีโอเมอร์โดยใช้โปรแกรมอุณหภูมิ	16
3.2 การวิเคราะห์ฮีแนนทีโอเมอร์โดยใช้อุณหภูมิคงที่	21
บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง	29
เอกสารอ้างอิง	31
ภาคผนวก	33
ประวัติผู้วิจัย	37

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1.1 สมบัติทางกายภาพของ α -, β - และ γ -cyclodextrins	6
2.1 โครงสร้างและชื่อของแอลกอฮอล์ที่ใช้	10
3.1 retention time (t_R), elution temperature และ resolution (Rs) ของแอลกอฮอล์ (ในรูปอนุพันธ์ TMS) 32 ชนิด โดยโปรแกรมอุณหภูมิ อัตรา 3.35 และ 30.00 °C/min	17
3.2 ภาวะในการแยกคู่อิแนนท์โอเมอร์ได้สมบูรณ์ (Rs ใกล้เคียง 1.5 และ 2.0) ด้วยอุณหภูมิคงที่ และเวลาในการแยกด้วยโปรแกรมอุณหภูมิที่อัตรา 30.00 °C/min	25
A1 elution temperature และ resolution (Rs) ของการแยกคู่อิแนนท์โอเมอร์ของแอลกอฮอล์ 32 ชนิด (โปรแกรมอุณหภูมิ 40 °C ถึง 220 °C อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 3.35 °C/min)	33
A2 elution temperature และ resolution (Rs) ของการแยกคู่อิแนนท์โอเมอร์ของแอลกอฮอล์ 32 ชนิด (โปรแกรมอุณหภูมิ 40 °C ถึง 220 °C อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 30.00 °C/min)	34
A3 ภาวะการแยกคู่อิแนนท์โอเมอร์ได้สมบูรณ์ resolution ใกล้เคียง 1.5 ($R_s \cong 1.5$) ของแอลกอฮอล์ 32 ชนิด	35
A4 ภาวะการแยกคู่อิแนนท์โอเมอร์ได้สมบูรณ์ resolution ใกล้เคียง 2.0 ($R_s \cong 2.0$) ของแอลกอฮอล์ 32 ชนิด	36

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1.1 โครงสร้างของ heptakis(2,3-di-O-methyl-6-O-tert-butyl-dimethylsilyl)- β -CD หรือ BSiMe (a) แสดงตำแหน่งของหมู่แทนที่บนหน่วยกลูโคส และ (b) ภาพด้านบนแสดงโพรงตรงกลาง	2
1.2 โครงสร้างทางเคมีของ α -, β - และ γ -cyclodextrins	5
1.3 สารประกอบเชิงซ้อน (inclusion complex) ของแอสไพรินกับไซโคลเดกซ์ทริน	6
2.1 (a) การสังเคราะห์แอลกอฮอล์และ (b) การเตรียมอนุพันธ์ไตรเมทิลซิลิล (TMS)	10
3.1 โครมาโทแกรมของอนุพันธ์ TMS ของ PP (โปรแกรมอุณหภูมิ : 40 °C ถึง 220 °C, อัตรา 3.35 และ 30.00 °C/min)	18
3.2 elution temperature ของอีแนนทิโอเมอร์ตัวสุดท้ายของอนุพันธ์ TMS ของแอลกอฮอล์ 32 นาที ที่อัตรา 3.35 และ 30.00 °C/min	20
3.3 R_s ของการแยกอีแนนทิโอเมอร์ของอนุพันธ์ TMS ของแอลกอฮอล์ 32 นาที ที่อัตรา 3.35 และ 30.00 °C/min	20
3.4 โครมาโทแกรมของ 4HN ที่อุณหภูมิคงที่ช่วง 170 ถึง 140 °C	23
3.5 โครมาโทแกรมของ pTFMe-PE ที่อุณหภูมิคงที่ช่วง 130 ถึง 90 °C	24
3.6 retention ของอีแนนทิโอเมอร์ตัวสุดท้าย (k'_2) ของอนุพันธ์ TMS ของแอลกอฮอล์ 25 นาที ที่ $R_s = 1.5$ และ $R_s = 2.0$ ที่อุณหภูมิคงที่	27
3.7 elution temperature ของอีแนนทิโอเมอร์ตัวสุดท้ายของอนุพันธ์ TMS ของแอลกอฮอล์ 20 นาทีที่เหมาะสมสำหรับคอลัมน์นี้ด้วยโปรแกรมอุณหภูมิ (อัตรา 30.00 °C/min) และที่อุณหภูมิคงที่ ($R_s = 1.5$).....	28

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการเสนอโครงการ

อิมเมอร์ (enantiomers) คือสเตอริโอไอโซเมอร์ (stereoisomer) ที่เป็นภาพสะท้อนในกระจกและไม่สามารถซ้อนทับกันได้อย่างสนิท (non-superimposable mirror image) ซึ่งคู่ของอิมเมอร์จะมีสมบัติทางกายภาพและทางเคมีที่เหมือนกัน เช่น ความหนาแน่น จุดหลอมเหลว และจุดเดือด แต่คู่ของอิมเมอร์จะมีความจำเพาะหรือเกิดปฏิกิริยาได้ต่างกันทางชีวภาพ ที่เรียกว่า stereospecific [1] และคู่ของอิมเมอร์จะมีผลกระทบต่อระนาบแสงโพลาไรซ์ (plane-polarized light) ที่แตกต่างกันด้วย โดยคู่ของอิมเมอร์จะหมุนระนาบแสงโพลาไรซ์เท่ากัน แต่ในทิศทางตรงกันข้าม สำหรับสารผสมราซีมิก (racemic mixture) ซึ่งมีคู่ของอิมเมอร์ผสมในปริมาณที่เท่ากัน จะไม่เกิดการหมุนระนาบแสงโพลาไรซ์ [2]

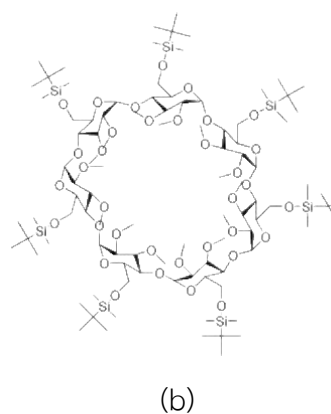
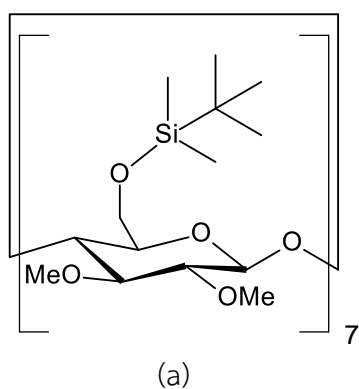
ด้วยคู่ของอิมเมอร์อาจมีสมบัติทางชีวภาพ ความจำเพาะ หรือมีฤทธิ์ที่แตกต่างกัน สำหรับการใช้ประโยชน์ทางชีวภาพจึงนิยมใช้อิมเมอร์เดี่ยวแทนการใช้สารผสมราซีมิก ซึ่งจำเป็นต้องมีการวิเคราะห์ความบริสุทธิ์ของอิมเมอร์เดี่ยวด้วย โดยงานวิจัยนี้เลือกใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีในการวิเคราะห์อิมเมอร์ แต่การมีสมบัติทางกายภาพและทางเคมีที่เหมือนกัน ทำให้การวิเคราะห์ปริมาณอิมเมอร์แต่ละชนิด หรือแยกคู่อิมเมอร์ออกจากกันทำได้ยาก ดังนั้นจึงจำเป็นต้องเลือกชนิดเฟสคงที่ของแก๊สโครมาโทกราฟีและหาภาวะการแยกที่เหมาะสมต่อไป

แก๊สโครมาโทกราฟี (gas chromatography, GC) เป็นเทคนิคการแยกที่เหมาะสมสำหรับสารอินทรีย์ที่เสถียรต่อความร้อน สามารถแยกสารที่มีองค์ประกอบหลายชนิด ที่มีจุดเดือด ความดันไอ และ/หรือความมีขั้วแตกต่างกันได้ [3] โดยอุณหภูมิเป็นหนึ่งในตัวแปรที่สำคัญสำหรับ GC ซึ่งส่งผลต่อเวลาในการวิเคราะห์และคุณภาพการแยกของสาร เทคนิค GC สามารถวิเคราะห์ได้ทั้งแบบอุณหภูมิคงที่และแบบโปรแกรมอุณหภูมิ ซึ่งข้อดีของโปรแกรมอุณหภูมิคือ สารทุกตัวจะออกมาทั้งหมดด้วยความกว้างของพีคที่ใกล้เคียงกัน ทำให้สารที่ออกมาช้ากว่าจะไม่เกิดการกระจายมากเหมือนพีคจากการวิเคราะห์ด้วยอุณหภูมิคงที่ โปรแกรมอุณหภูมิมักใช้ในการตรวจสอบธรรมชาติของสารตัวอย่าง (เช่น ช่วงอุณหภูมิสำหรับการแยก จำนวนองค์ประกอบ ความเหมาะสมของเฟสคงที่) ดังนั้นการวิเคราะห์ด้วยวิธีดังกล่าวจึงต้องควบคุมตัวแปรที่ใช้ให้เหมาะสมคือ อุณหภูมิเริ่มต้น อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ อุณหภูมิสุดท้าย และเวลาที่ใช้ [4]

ไซโคลเดกซ์ทริน (cyclodextrin, CD) เป็น oligosaccharide ที่ประกอบด้วยกลูโคสเชื่อมต่อกันเป็นวงด้วยพันธะ α -1,4-glycosidic โครงสร้างของ CD มีโพรงตรงกลางเป็นส่วนที่ไม่มี

ข้าว และมีหมู่ฟังก์ชันด้านนอกเป็นส่วนที่มีขั้ว โครงสร้างที่เป็นเอกลักษณ์นี้ ทำให้ CD มีความสามารถในการเกิด inclusion complex กับสารได้หลายชนิด อีกทั้ง CD มีสมบัติไครัล จึงสามารถนำมาใช้เป็นเฟสคงที่ (stationary phase) ในเทคนิคทางโครมาโทกราฟี สำหรับแยกสารจำพวกอีนานทิโอเมอร์ รวมถึงไอโซเมอร์ต่างๆ ได้หลากหลาย [5]

งานวิจัยนี้จึงสนใจหาภาวะที่เหมาะสมและรวดเร็วสำหรับการแยกคู่อีนานทิโอเมอร์ของ แอลกอฮอล์ (วิเคราะห์ในรูปอนุพันธ์ trimethylsilyl, TMS) ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี ที่มีเฟสคงที่คือ heptakis(2,3-di-*O*-methyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl)- β -CD หรือ BSiMe (รูปที่ 1.1) ซึ่งเป็นเฟสคงที่ที่มีรายงานว่าสามารถวิเคราะห์อีนานทิโอเมอร์ได้หลากหลายประเภท [6] โดยจะทดสอบหาภาวะเบื้องต้นสำหรับการแยกคู่อีนานทิโอเมอร์ของแอลกอฮอล์ (ในรูปอนุพันธ์ TMS) ด้วยโปรแกรมอุณหภูมิจากนั้นหาภาวะอุณหภูมิคงที่ที่เหมาะสมในการแยกคู่อีนานทิโอเมอร์ของแอลกอฮอล์ (ในรูปอนุพันธ์ TMS) ได้สมบูรณ์และรวดเร็ว



รูปที่ 1.1 โครงสร้างของ heptakis(2,3-di-*O*-methyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl)- β -CD หรือ BSiMe (a) แสดงตำแหน่งของหมู่แทนที่บนหน่วยกลูโคส และ (b) ภาพด้านบนแสดงโครงสร้างกลาง [7]

1.2 วัตถุประสงค์และขอบเขตของงานวิจัย

เพื่อหาภาวะเบื้องต้นที่รวดเร็วและภาวะอุณหภูมิกิ่งที่ที่เหมาะสม สำหรับการแยกอีนานทิโอเมอร์ของแอลกอฮอล์ (ในรูปอนุพันธ์ trimethylsilyl) ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี ที่ใช้เฟสคงที่ไครัลชนิด heptakis(2,3-di-*O*-methyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl)- β -CD หรือ BSiMe

1.3 ทฤษฎีและหลักการ

1.3.1 แก๊สโครมาโทกราฟี (gas chromatography, GC) [8, 9, 10]

แก๊สโครมาโทกราฟี (GC) เป็นเทคนิคสำหรับวิเคราะห์กลุ่มของสารอินทรีย์ที่สามารถระเหยได้ง่าย (volatile organic compounds) และสารอินทรีย์ที่สามารถระเหยได้ปานกลาง (semi-volatile organic compounds) โดยแก๊สโครมาโทกราฟีเป็นเทคนิคการแยกองค์ประกอบของสารผสม โดยอาศัยความแตกต่างของการกระจายตัวของแต่ละองค์ประกอบของสารผสม ระหว่างเฟสคงที่ (stationary phase) และเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) เมื่อสารที่ต้องการวิเคราะห์ผ่านเข้าสู่เครื่อง GC สารดังกล่าวจะถูกเปลี่ยนสถานะจากของเหลวเป็นแก๊ส และเฟสเคลื่อนที่จะพาสารเข้าสู่คอลัมน์ที่บรรจุเฟสคงที่

ทั้งนี้ในแยกสารผสมให้เป็นสารเชิงเดี่ยวนั้น อาศัยความแตกต่างของน้ำหนักโมเลกุล จุดเดือด โครงสร้างของสาร และสมบัติทางเคมีในการเกิดแรงกระทำกับเฟสคงที่ ซึ่งหลังจากที่สารแต่ละชนิดถูกแยกเป็นส่วนๆ จะใช้เวลาอยู่ภายในคอลัมน์แตกต่างกัน จากนั้นสารเชิงเดี่ยวแต่ละชนิดจะผ่านเข้าสู่อุปกรณ์วัดสัญญาณ (detector) และแปรผลออกมาเป็นโครมาโทแกรม (chromatogram) ซึ่งสารเชิงเดี่ยวแต่ละสารจะมีระยะเวลาที่อยู่ในคอลัมน์ (retention time) เฉพาะตัว และใช้ในการระบุชนิดสารได้

เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี มีส่วนประกอบ ดังนี้

1. แก๊สพา มีหน้าที่พาสารตัวอย่างที่อยู่ในรูบ่อหรือแก๊สจาก injection port เข้าสู่คอลัมน์ และไปยัง detector แก๊สที่ใช้ร่วมกับเครื่อง GC เป็นแก๊สเฉื่อยที่ไม่ทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่าง โดยทั่วไปนิยมใช้ แก๊สฮีเลียม ไฮโดรเจน หรือไนโตรเจน

2. ระบบฉีดสารตัวอย่าง (injector port) เป็นส่วนที่ใช้ในการฉีดสารตัวอย่างเข้าคอลัมน์ โดยทั่วไปส่วนที่ฉีดสารตัวอย่างเข้าไป (inlet) จะมีตัวให้ความร้อน (heater) ประกอบอยู่ด้วย เพื่อให้สารตัวอย่างกลายเป็นไอ ปริมาณสารตัวอย่างที่ใช้มักจะน้อยมาก

3. คอลัมน์ (column) เป็นส่วนที่สำคัญที่สุดของการแยกสาร โดยจะบรรจุเฟสคงที่ ทำหน้าที่แยกสารผสมออกจากกัน คอลัมน์ GC ที่ใช้กันทั่วไปมีอยู่ 2 ประเภท คือ packed column และ capillary column โดยในงานวิจัยนี้จะเลือกใช้ capillary column ซึ่งมีลักษณะเป็นท่อเล็กและกลวง ทำจาก fused silica มีเฟสคงที่เคลือบที่ผนังคอลัมน์ด้านใน ซึ่งคอลัมน์จะบรรจุอยู่ใน oven เป็นส่วนที่ควบคุมอุณหภูมิของคอลัมน์ โดยอุณหภูมิของคอลัมน์มีส่วนสำคัญต่อการแยกสาร หากเพิ่มอุณหภูมิของคอลัมน์จะทำให้องค์ประกอบของสารเคลื่อนที่เร็วขึ้น ช่วยให้การวิเคราะห์เร็วขึ้น ในขณะที่ลดอุณหภูมิของคอลัมน์ลงจะช่วยให้เกิดการแยกองค์ประกอบต่างๆ ดีขึ้น ดังนั้นควรเลือกอุณหภูมิที่เหมาะสมกับสารที่ต้องการวิเคราะห์เพื่อให้เกิดการแยกที่ดี และใช้เวลาวิเคราะห์ไม่นานเกินไป

ส่วนที่ควบคุมอุณหภูมิของคอลัมน์นั้น มี 2 แบบคือ

- อุณหภูมิคงที่ (isothermal)

คือ การควบคุม oven ให้มีอุณหภูมิคงที่ตลอดการวิเคราะห์ โดยอุณหภูมิคงที่มักใช้กับสารที่มี retention ใกล้เคียงกัน แต่จะทำให้ความกว้างของพีคเพิ่มขึ้น ดังนั้นอุณหภูมิคงที่จึงเหมาะสำหรับการวิเคราะห์ด้วยจำนวนของสารตัวอย่างที่จำกัดหรือมีสมบัติใกล้เคียงกัน

- โปรแกรมอุณหภูมิ (temperature program)

คือ การควบคุม oven ให้มีการปรับเพิ่มอุณหภูมิต่างๆระหว่างการวิเคราะห์ โดยส่วนมากจะใช้วิธีนี้เมื่อสารตัวอย่างมีองค์ประกอบจำนวนมาก ซึ่งจะวิเคราะห์ได้ดีกับสารที่มี retention แตกต่างกันและให้พีคที่ค่อนข้างสมมาตร ข้อเสียของวิธีนี้คือ ต้องเสียเวลารอให้คอลัมน์เย็นลง (oven equilibrium time) ก่อนการวิเคราะห์ครั้งถัดไป

4. เครื่องตรวจวัด (detector) เป็นอุปกรณ์ที่ใช้สำหรับตรวจวัดสารที่ถูกแยกออกมาจากคอลัมน์ เครื่องตรวจวัดต้องมีลักษณะเฉพาะ สามารถให้สัญญาณกับสารชนิดต่างๆได้ มีเสถียรภาพและความเที่ยงที่ดี ให้สภาพไวที่สูงพอ มีการตอบสนองที่ดีในช่วงความเข้มข้นของสารที่กว้างพอ และมีหลากหลายชนิด ในงานวิจัยนี้เลือกใช้ flame ionization detector (FID) ซึ่งเป็นเครื่องตรวจวัดที่ให้สภาพไวที่ดีกับสารอินทรีย์

5. ส่วนแปรสัญญาณ เครื่องจะบันทึกสัญญาณด้วยเครื่องบันทึก (computer) ที่ต่อเข้ากับเครื่อง GC และแปรผลที่ได้ออกมาในรูปแบบโครมาโทแกรม

1.3.2 ตัวแปรที่เกี่ยวข้องกับเทคนิค GC

- k' (retention factor) หมายถึง อัตราส่วนระหว่างเวลาที่สารใช้ในเฟสคงที่และเวลาที่สารใช้ในเฟสเคลื่อนที่ คำนวณได้จาก

$$k' = \left(\frac{t_R - t_M}{t_M} \right)$$

เมื่อ t_R คือ เวลาที่สารใช้ในการเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ (retention time)

t_M คือ เวลาที่เฟสเคลื่อนที่ใช้ในการเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์

- N (efficiency) หมายถึง ประสิทธิภาพของคอลัมน์ คำนวณได้จาก

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

เมื่อ w_h คือ ความกว้างของพีคที่ความสูงครึ่งหนึ่ง (width at half-height)

- α (selectivity) หมายถึง ค่าที่บอกถึงการแยกออกจากกันของสารสองชนิด คำนวณได้จาก

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

เมื่อ $t_{R,1}$ และ $t_{R,2}$ คือ retention time ของพีคที่ 1 และ 2 ตามลำดับ

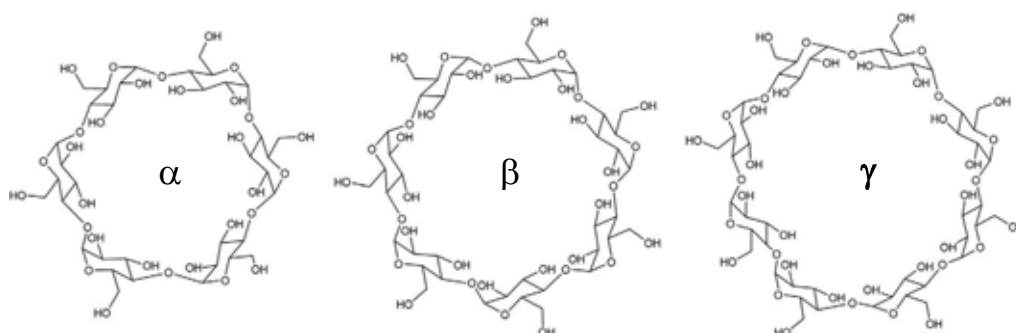
- R_s (resolution) หมายถึง ความสมบูรณ์ของการแยกของพีคสองพีคที่อยู่ติดกันในโครมาโทแกรม คำนวณได้จาก

$$R_s = 1.177 \times \left(\frac{t_{R,2} - t_{R,1}}{w_{h,2} + w_{h,1}} \right)$$

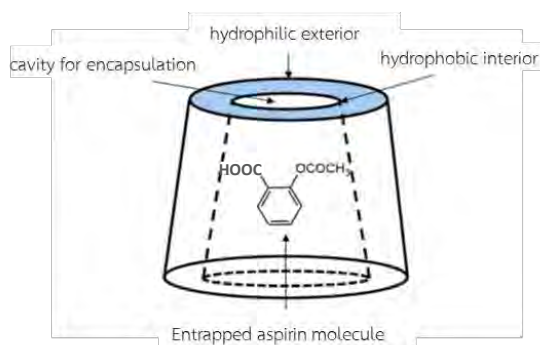
เมื่อ $w_{h,1}$ และ $w_{h,2}$ คือ ความกว้างของพีคที่ความสูงครึ่งหนึ่ง ของพีคที่ 1 และ 2 ตามลำดับ

1.3.3 ไซโคลเดกซ์ทริน (cyclodextrin, CD) [11, 12]

ไซโคลเดกซ์ทรินหรือ CD เป็นวงโอลิโกแซ็กคาไรด์ (cyclic oligosaccharides) ที่ประกอบด้วยกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ α -1,4-glycosidic CD ส่วนใหญ่ที่พบจะมี 3 ชนิด คือ α -, β - และ γ -CDs ซึ่งประกอบด้วยกลูโคส 6, 7 และ 8 หน่วย ตามลำดับ (รูปที่ 1.2) โครงสร้างของ CD มีโพรงด้านในเป็นส่วนที่ไม่มีขั้ว ซึ่งสามารถจับโมเลกุลที่ไม่มีขั้วได้ และมีหมู่ไฮดรอกซิลอยู่ด้านนอกวง ทำให้ผิวด้านนอกเป็นส่วนที่มีขั้ว ทำให้ CD สามารถจับกับโมเลกุลของสารที่ไม่มีขั้วเกิดเป็น inclusion complex ได้ (รูปที่ 1.3) นอกจากนี้ CD ยังมีสมบัติไครัลเนื่องจาก D-glucose ในโครงสร้างของ CD มีไครัลคาร์บอน 5 อะตอม จึงสามารถใช้ CD และอนุพันธ์ในการแยกสารจำพวกอินแนทไอโซเมอร์ และไอโซเมอร์ด้วยเทคนิคทางโครมาโทกราฟี สมบัติทางกายภาพของ CD ทั้ง 3 ชนิด แสดงดังตารางที่ 1.1



รูปที่ 1.2 โครงสร้างทางเคมีของ α -, β - และ γ -cyclodextrins [11]



รูปที่ 1.3 สารประกอบเชิงซ้อน (inclusion complex) ของแอสไพรินกับไซโคลเดกซ์ทริน [11]

ตารางที่ 1.1 สมบัติทางกายภาพของ α -, β - และ γ -cyclodextrins [11]

properties	α -CD	β -CD	γ -CD
molecular weight (g/mol)	972	1135	1297
number of glucopyranose units	6	7	8
outer diameter (Å)	13.7–14.6	15.3	16.9–17.5
cavity diameter (Å)	4.7–5.7	6.0–7.8	8.3–9.5
water solubility at 25 °C (g/100 mL)	14.5	1.85	23.2

β -CD สามารถใช้ประโยชน์ได้อย่างกว้างขวาง เช่น ด้านอาหาร ด้านเครื่องสำอาง ด้านเภสัชกรรมและด้านเกษตรกรรม เนื่องจาก β -CD มีขนาดที่เหมาะสมที่สามารถจับกับโมเลกุลของสารได้หลากหลาย แต่มีการละลายน้ำค่อนข้างต่ำ จึงมีการดัดแปลงโครงสร้างของ β -CD เพื่อปรับปรุงสมบัติการละลาย โดยการเปลี่ยนหมู่ไฮดรอกซิลของคาร์บอนที่ตำแหน่ง 2, 3 และ 6 บนกลูโคสไปเป็นหมู่อื่นๆ [12] ให้เหมาะสมกับการใช้งานแต่ละประเภท

1.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ตัวอย่างงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้อนุพันธ์ไซโคลเดกซ์ทรินเป็นเฟสคงที่ สำหรับแก๊สโครมาโทกราฟีในการแยกสารประเภทต่างๆ ได้แก่

ปี 2003 Chen และ Shi [13] รายงานการสังเคราะห์อนุพันธ์ไซโคลเดกซ์ทริน 3 ชนิด ซึ่งมีหมู่แทนที่บนตำแหน่งที่ 6 ของ 2,3-di-O-pentyl- β -cyclodextrin เป็นหมู่ acyl ที่แตกต่างกัน (ได้แก่ valeryl, heptanoyl, และ octanoyl) และศึกษาสมบัติการแยกของอนุพันธ์ดังกล่าว โดยใช้เป็นเฟสคงที่สำหรับ capillary gas chromatography ใช้ FID เป็นเครื่องตรวจวัด ใช้อุณหภูมิคงที่ พบว่าความยาวของสายโซ่คาร์บอนของหมู่ acyl ที่ตำแหน่ง 6 ของ CD มีผลต่อความสามารถในการ

แวกอีนานโทโอเมอร์ ซึ่งในอนุพันธ์ไซโคลเดกซ์ทรินทั้ง 3 ชนิด มี 2,3-di-O-pentyl-6-O-valeryl- β -cyclodextrin ที่สามารถแวกอีนานโทโอเมอร์ 15 ชนิดที่ใช้ทดสอบได้ดีที่สุด ทำให้ทราบว่าแวกอีนานโทโอเมอร์มีความสัมพันธ์กับโครงสร้างของ CD

ปี 2005 Shi และคณะ [14] รายงานการสังเคราะห์อนุพันธ์ไซโคลเดกซ์ทริน 4 ชนิด ได้แก่ 2,6-di-O-pentyl-3-O-allyl- β -cyclodextrin, 2,3-di-O-pentyl-6-O-allyl- β -cyclodextrin, 2,6-di-O-pentyl-3-O-propyl- β -cyclodextrin และ 2,3-di-O-pentyl-6-O-propyl- β -cyclodextrin ซึ่งเป็น β -CD ที่มีหมู่แทนที่บนตำแหน่ง 3, 6 เป็นหมู่ allyl และหมู่ propyl แล้วนำไปใช้เป็นเฟสคงที่สำหรับ capillary gas chromatography ใช้ FID เป็นเครื่องตรวจวัด ใช้อุณหภูมิคงที่ เพื่อศึกษาความสามารถในการแยก พบว่าสามารถแยกสารกลุ่ม disubstituted benzene isomers เช่น *o*-, *m*-, *p*-cresols และ *o*-, *m*-, *p*-xylenes ได้ดี รวมไปถึงสามารถแวกอีนานโทโอเมอร์ได้บางชนิด เช่น อีแนนโทเมอร์ของ allethron acetate, propargyllone acetate และ 2-bromopropionic acid methyl ester และจากผลการแวกอีนานโทโอเมอร์ทำให้พบว่าอนุพันธ์ β -CD ทั้ง 4 ชนิด ให้ผลการแยกที่เหมือนกัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่า CD ที่มีหมู่แทนที่บนตำแหน่ง 3 และ 6 เป็นหมู่ allyl และหมู่ propyl มีผลต่อการแวกอีนานโทโอเมอร์น้อยมาก รวมถึงพันธะคู่ของหมู่ allyl ก็ไม่มีบทบาทสำคัญต่อการแยก ซึ่งแตกต่างจากผลที่ได้จากการใช้ CD ที่มีหมู่แทนที่เป็น acyl ที่มีรายงานมาก่อนหน้านี้

ปี 2015 Pragadheesh และคณะ [15] รายงานการศึกษาบทบาทของหมู่แทนที่บนอนุพันธ์ไซโคลเดกซ์ทริน ต่อความจำเพาะกับอีแนนโทเมอร์ (enantioselectivity) โดยใช้ GC ที่มีเฟสคงที่เป็นอนุพันธ์ β -CD และ γ -CD ชนิดต่างๆ ใช้เครื่องตรวจวัดเป็น FID และใช้ temperature program mode แยกสารกลุ่มไครัลเทอร์พินอยด์ในน้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูล *Mentha spicata* พบว่า 2,3-diethyl-6-*tert*-butyldimethylsilyl- β -cyclodextrin (TBDE- β -CD) สามารถแยกไครัลเทอร์พินอยด์ทุกตัวได้ดี ยกเว้น carvone โดย carvone สามารถแยกได้ดีด้วย 2,3-diacetoxy-6-*tert*-butyldimethylsilyl- β -cyclodextrin (TBDA- β -CD) และยังพบว่าลำดับการแยกของสาร sabinene, menthone, terpinen-4-ol และ menthol จะเปลี่ยนหากเปลี่ยนคอลัมน์จาก β -CD เป็น γ -CD ส่วน carvone พบว่าลำดับการแยกเปลี่ยนเมื่อเปลี่ยนหมู่แทนที่ที่ตำแหน่ง 2, 3 ของ CD ซึ่งทำให้ทราบว่าเลือกใช้ β -CD และ γ -CD ให้เหมาะสมและการมีหมู่แทนที่บนตำแหน่ง 2, 3 และ 6 ของ CD ที่แตกต่างกัน ส่งผลต่อการแยก

ปี 2016 Shi และคณะ [16] รายงานการศึกษากการใช้ capillary gas chromatography (CGC) ที่มีเฟสคงที่เป็นอนุพันธ์ของ β -CD แตกต่างกัน 7 ชนิด สำหรับแวกคู่อีแนนโทโอเมอร์ 17 ชนิดของ 2-arylcarboxylic acid esters โดยใช้เครื่องตรวจวัดเป็น FID และใช้อุณหภูมิคงที่ พบว่าอีแนนโทเมอร์ 7 ชนิด ของ 2-phenylpropionates ไซโคลเดกซ์ทรินที่มีหมู่แทนที่เป็น alkyl กับ acyl โดยเฉพาะ 2,6-di-O-pentyl-3-O-butyryl- β -cyclodextrin มีความสามารถในการแยกดีกว่า

ไซโคลเดกซ์ทรินตัวอื่นๆ และสำหรับอีนานทิโอเมอร์ 7 ชนิด ของ 2-(4-substituted phenyl)propionates ไซโคลเดกซ์ทรินที่มีความสามารถในการแยกดีที่สุดคือ 2,3,6-tri-O-methyl- β -cyclodextrin ส่วนอีนานทิโอเมอร์ 3 ชนิด ของ 2-phenylbutyrates มีเพียง methyl 2-phenylbutyrate ที่สามารถแยกได้ด้วยไซโคลเดกซ์ทริน 3 ชนิด ขณะที่ ethyl 2-phenylbutyrate และ isopropyl 2-phenylbutyrate ไม่สามารถใช้ไซโคลเดกซ์ทรินทั้ง 7 ชนิด แยกได้เลย ซึ่งทำให้ทราบว่าผลการแยก มีความสัมพันธ์อย่างมากกับโครงสร้างของ 2-arylcarboxylic acid esters และโครงสร้างของไซโคลเดกซ์ทริน

จากงานวิจัยที่ผ่านมา มีการสังเคราะห์อนุพันธ์ไซโคลเดกซ์ทรินเพื่อใช้เป็นเฟสคงที่สำหรับ แก๊สโครมาโทกราฟีจำนวนมากและสามารถแยกสารได้หลากหลายชนิด แต่มีรายงานเพียงชนิดเฟสคงที่ ชนิดของสารที่ทดลอง และภาวะที่ใช้แยกเท่านั้น โดยมักไม่รายงานเวลาที่ใช้ (k') หรือความสมบูรณ์ของการแยก (R_s) แต่ยังไม่มียานการหาภาวะการแยกที่เหมาะสมและรวดเร็ว สำหรับการแยกอีนานทิโอเมอร์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงสนใจหาภาวะเบื้องต้นที่ง่ายและรวดเร็ว และภาวะที่เหมาะสมด้วยอุณหภูมิคงที่ เพื่อให้ได้การแยกที่สมบูรณ์และใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยที่สุด

1.5 ประโยชน์ที่จะได้จากงานวิจัย

ทราบภาวะที่เหมาะสมและรวดเร็วสำหรับการแยกคู่อีนานทิโอเมอร์ของแอลกอฮอล์ (ในรูปอนุพันธ์ trimethylsilyl) ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟีที่มีเฟสคงที่คือ heptakis(2,3-di-O-methyl-6-O-*tert*-butyldimethylsilyl)- β -CD หรือ BSiMe

บทที่ 2

การทดลอง

2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

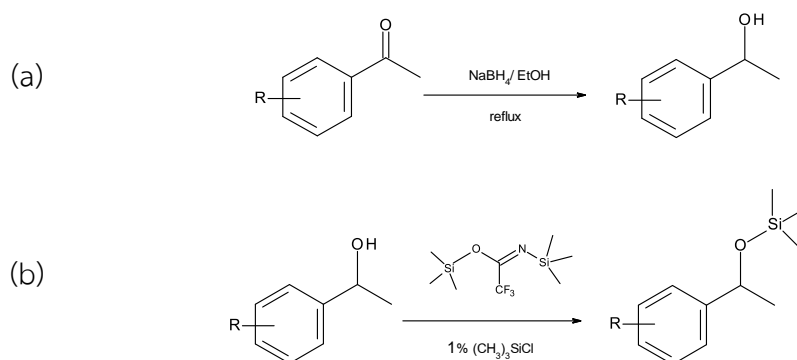
- เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (gas chromatograph, GC) รุ่น Agilent 7890 series พร้อม split injector และ flame ionization detector (FID)
- GC syringe ขนาด 10 μ L
- ขวดบรรจุสารขนาดเล็ก (vial) ขนาด 2 mL

2.2 แก๊สและสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

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

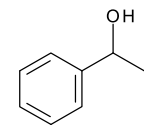
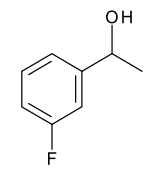
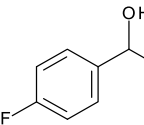
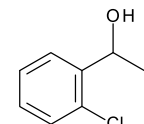
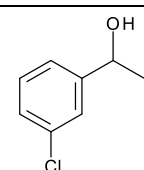
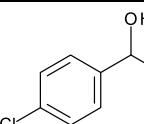
2.3 ไครัลแอลกอฮอล์

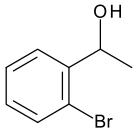
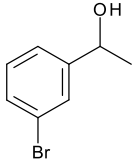
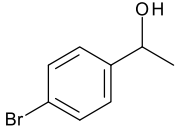
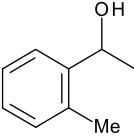
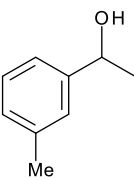
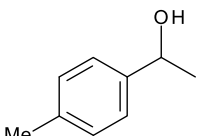
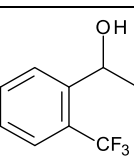
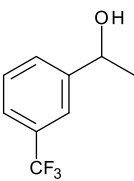
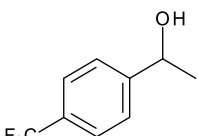
แอลกอฮอล์ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ เตรียมโดยมรกต จงจิตวัฒนา [17] โดยใช้คีโตนเป็นสารตั้งต้น ทำปฏิกิริยารีดักชันด้วย NaBH_4 จะได้แอลกอฮอล์ จากนั้นเตรียมแอลกอฮอล์ให้อยู่ในรูปอนุพันธ์ไตรเมทิลไซลิล (trimethylsilyl, TMS) โดยทำปฏิกิริยากับสารละลายผสมของ *N,O*-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide กับ 1% trimethylchlorosilane (BSTFA + 1% TMCS) ปฏิกิริยาการเตรียมแสดงดังรูปที่ 2.1 ก่อนการวิเคราะห์ด้วย GC จะละลายอนุพันธ์ TMS ของแอลกอฮอล์แต่ละชนิดใน dichloromethane ให้มีความเข้มข้นประมาณ 5-10 mg/mL ชื่อและโครงสร้างของแอลกอฮอล์ทั้ง 32 ชนิด แสดงดังตารางที่ 2.1

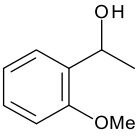
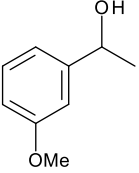
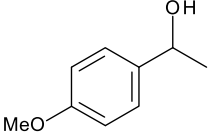
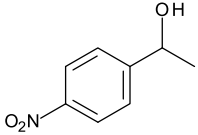
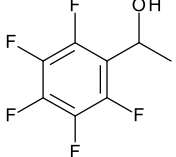
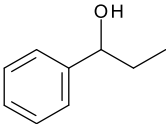
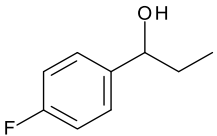
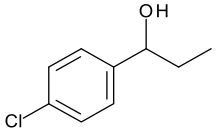
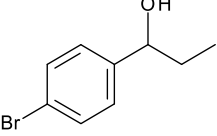
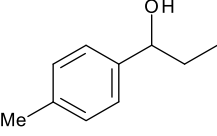


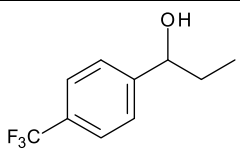
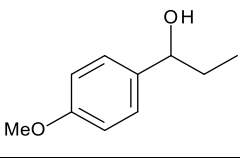
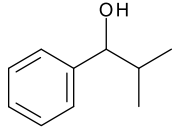
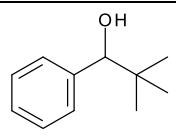
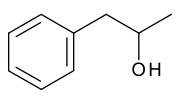
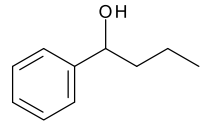
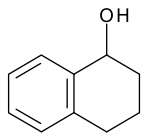
รูปที่ 2.1 (a) การสังเคราะห์แอลกอฮอล์และ (b) การเตรียมอนุพันธ์ไตรเมทิลซิลิล (TMS)

ตารางที่ 2.1 โครงสร้างและชื่อของแอลกอฮอล์ที่ใช้

ลำดับที่	โครงสร้างของแอลกอฮอล์	ชื่อย่อ	ชื่อเต็ม
1		PE	1-phenylethanol
2		mF-PE	1-(3-fluorophenyl)ethanol
3		pF-PE	1-(4-fluorophenyl)ethanol
4		oCl-PE	1-(2-chlorophenyl)ethanol
5		mCl-PE	1-(3-chlorophenyl)ethanol
6		pCl-PE	1-(4-chlorophenyl)ethanol

ลำดับที่	โครงสร้างของแอลกอฮอล์	ชื่อย่อ	ชื่อเต็ม
7		oBr-PE	1-(2-bromophenyl)ethanol
8		mBr-PE	1-(3-bromophenyl)ethanol
9		pBr-PE	1-(4-bromophenyl)ethanol
10		oMe-PE	1-(2-methylphenyl)ethanol
11		mMe-PE	1-(3-methylphenyl)ethanol
12		pMe-PE	1-(4-methylphenyl)ethanol
13		oTFMe-PE	1-(2-(trifluoromethyl)phenyl)ethanol
14		mTFMe-PE	1-(3-(trifluoromethyl)phenyl)ethanol
15		pTFMe-PE	1-(4-(trifluoromethyl)phenyl)ethanol

ลำดับที่	โครงสร้างของแอลกอฮอล์	ชื่อย่อ	ชื่อเต็ม
16		oOMe-PE	1-(2-methoxyphenyl)ethanol
17		mOMe-PE	1-(3-methoxyphenyl)ethanol
18		pOMe-PE	1-(4-methoxyphenyl)ethanol
19		pNO ₂ -PE	1-(4-nitrophenyl)ethanol
20		5F-PE	1-(pentafluorophenyl)ethanol
21		PP	1-phenyl-1-propanol
22		pF-PP	1-(4-fluorophenyl)propanol
23		pCl-PP	1-(4-chlorophenyl)propanol
24		pBr-PP	1-(4-bromophenyl)propanol
25		pMe-PP	1-(4-methylphenyl)propanol

ลำดับที่	โครงสร้างของแอลกอฮอล์	ชื่อย่อ	ชื่อเต็ม
26		pTFMe-PP	1-(4-(trifluoromethyl)phenyl)propanol
27		pOMe-PP	1-(4-methoxyphenyl)propanol
28		Me-PP	2-methyl-1-phenyl-1-propanol
29		diMe-PP	2,2-dimethyl-1-phenyl-1-propanol
30		P2P	1-phenyl-2-propanol
31		PB	1-phenyl-1-butanol
32		4HN	1,2,3,4-tetrahydro-1-naphthol

2.4 การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี

2.4.1 คอลัมน์

ใช้แคปิลารีคอลัมน์ (capillary column) ซึ่งเคลือบด้วยเฟสคงที่ผสมของอนุพันธ์ไซโคลเดกซ์ทรินชนิด heptakis(2,3-di-O-methyl-6-O-tert-butyl-dimethylsilyl-β-CD) หรือ BSiMe (30.0%) ใน polysiloxane OV-1701

ความยาว	: 14.91 เมตร
เส้นผ่านศูนย์กลาง	: 0.25 มิลลิเมตร
ความหนาของฟิล์มเฟสคงที่	: 0.25 ไมโครเมตร

2.4.2 การปรับสภาวะและการทดสอบประสิทธิภาพของคอลัมน์

ปรับสภาวะคอลัมน์ก่อนการใช้งาน โดยตั้งอุณหภูมิคอลัมน์คงที่ที่ 200 °C รอจนกระทั่ง baseline คงที่ จากนั้นทดสอบประสิทธิภาพคอลัมน์ที่อุณหภูมิต่างๆ ในช่วงของการวิเคราะห์ (60-220 °C) โดยฉีดสารละลาย *n*-alkanes ใน pentane บันทึกเวลา (t_R) และความกว้างของพีค (w_h) เพื่อคำนวณหาประสิทธิภาพของคอลัมน์ (N , plates/m) ตามสมการที่ (1)

$$N = 5.54 \left(\frac{t_R}{w_h} \right)^2 \quad \text{สมการที่ (1)}$$

2.4.3 การแยกอีแนนทีโอเมอร์

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	: 40.0 mL/min
air	: 400.0 mL/min
make up nitrogen	: 40.0 mL/min

ในการทดลองนี้ จะวิเคราะห์คู่อิแนนทีโอเมอร์ของแอลกอฮอล์ที่อยู่ในรูปอนุพันธ์ไตรเมทิลซิลิล (TMS) โดยเริ่มจากการใช้โปรแกรมอุณหภูมิเพื่อหาภาวะเบื้องต้น จากนั้นจะวิเคราะห์คู่อิแนนทีโอเมอร์โดยใช้อุณหภูมิคงที่ เพื่อหาภาวะที่สามารถแยกคู่อิแนนทีโอเมอร์ได้สมบูรณ์ ข้อมูลจากการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมอุณหภูมิและอุณหภูมิคงที่ จะใช้เป็นแนวทางในการหาภาวะที่สามารถแยกคู่อิแนนทีโอเมอร์ได้สมบูรณ์และรวดเร็ว

การวิเคราะห์แบบโปรแกรมอุณหภูมิ

- ตั้งอุณหภูมิคอลัมน์จาก 40 °C จนถึง 220 °C ด้วยอัตราการเพิ่มอุณหภูมิ (temperature program rate) ที่ 3.35 °C/min ตามวิธีของ Grob [18]
- ฉีดสารละลายของแอลกอฮอล์ 0.2-0.4 μ L บันทึกเวลา (t_R) และความกว้างของพีค (w_h) ทำซ้ำอย่างน้อย 2 ครั้ง
- คำนวณอุณหภูมิที่พีคปรากฏ (elution temperature) และความสมบูรณ์ของการแยก (resolution, R_s) ของคู่อิแนนทีโอเมอร์ ดังสมการที่ (2) และ (3)
- ทำการทดลองซ้ำ แต่เปลี่ยนอัตราการเพิ่มอุณหภูมิเป็น 30.00 °C/min

elution temperature = $T_i + (\text{temperature program rate} \times t_R)$ สมการที่ (2)

T_i = อุณหภูมิเริ่มต้น (initial temperature)

t_R = retention time

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

การวิเคราะห์แบบอุณหภูมิคงที่

- ตั้งอุณหภูมิคอลัมน์แบบคงที่ ในช่วง 40-170 °C อุณหภูมิที่ใช้จะขึ้นอยู่กับสารแต่ละชนิด โดยจะใช้ข้อมูลเบื้องต้นจากการวิเคราะห์แบบโปรแกรมอุณหภูมิ
- ฉีดสารละลายของแอลกอฮอล์ 0.2-0.4 μL บันทึกเวลา (t_R) และความกว้างของพีค (w_h) ทำซ้ำอย่างน้อย 2 ครั้ง
- คำนวณความสมบูรณ์ของการแยก (resolution, R_s), retention factor (k') และ selectivity (α) ของคู่อิแนนทิโอเมอร์ดังสมการที่ (3)-(5)
- ทำการทดลองซ้ำ โดยปรับเพิ่มหรือลดอุณหภูมิคอลัมน์ จนคู่อิแนนทิโอเมอร์แยกจากกันได้อย่างสมบูรณ์ และมีค่า R_s ใกล้เคียง 1.5 และ 2.0

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

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

บทที่ 3

ผลการทดลองและการอภิปรายผลการทดลอง

เนื่องจากคู่อิแนนท์โอเมอร์มีสมบัติทางกายภาพและทางเคมีเหมือนกัน ทำให้การวิเคราะห์หรือการแยกคู่อิแนนท์โอเมอร์ออกจากกันมักทำได้ยาก งานวิจัยนี้จึงสนใจจะหาภาวะเบื้องต้นที่รวดเร็ว เพื่อนำไปสู่การหาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแยกคู่อิแนนท์โอเมอร์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี โดยงานวิจัยนี้ศึกษาการแยกคู่อิแนนท์โอเมอร์ของแอลกอฮอล์จำนวน 32 ชนิด (วิเคราะห์ในรูปอนุพันธ์ trimethylsilyl, TMS) ที่มีชนิดและตำแหน่งของหมู่แทนที่แตกต่างกัน และมีโครงสร้างหลักเป็น 1-phenylethanol (PE) และ 1-phenyl-1-propanol (PP) โดยใช้เฟสคงที่ชนิดโครัลคือ heptakis(2,3-di-O-methyl-6-O-tert-butyl-dimethylsilyl)- β -CD หรือ BSiMe เนื่องจากแอลกอฮอล์แต่ละชนิดมีสมบัติทางกายภาพ (เช่น จุดเดือด, ความดันไอ, สภาพขั้ว) ที่แตกต่างกัน จึงยากที่จะเลือกอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ จึงจะเริ่มจากการวิเคราะห์คู่อิแนนท์โอเมอร์ของแอลกอฮอล์ด้วยโปรแกรมอุณหภูมิ เพื่อหาภาวะเบื้องต้นสำหรับการแยก แล้วนำข้อมูลจากการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมอุณหภูมิมาใช้ในการเลือกอุณหภูมิคงที่ที่เหมาะสมต่อไป

3.1 การวิเคราะห์คู่อิแนนท์โอเมอร์โดยใช้โปรแกรมอุณหภูมิ

วิเคราะห์คู่อิแนนท์โอเมอร์ของอนุพันธ์ TMS ของแอลกอฮอล์แต่ละชนิดด้วยโปรแกรมอุณหภูมิ ใช้อุณหภูมิเริ่มต้น 40 °C จนถึง 220 °C โดยใช้อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 3.35 °C/min ตามวิธีของ Grob [18] ซึ่งคู่อิแนนท์โอเมอร์ของอนุพันธ์ TMS ของแอลกอฮอล์แต่ละชนิดจะปรากฏพีคที่เวลาแตกต่างกัน หากคู่อิแนนท์โอเมอร์แยกออกจากกันได้ จะปรากฏ 2 พีค ที่มีลักษณะคล้ายกัน ทั้งความสูงและพื้นที่ใต้พีค โดยสามารถคำนวณอุณหภูมิที่พีคปรากฏ (elution temperature) และความสมบูรณ์ของการแยก (resolution, R_s) ได้ หาก R_s มีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 1.5 แสดงว่าคู่อิแนนท์โอเมอร์แยกออกจากกันอย่างสมบูรณ์

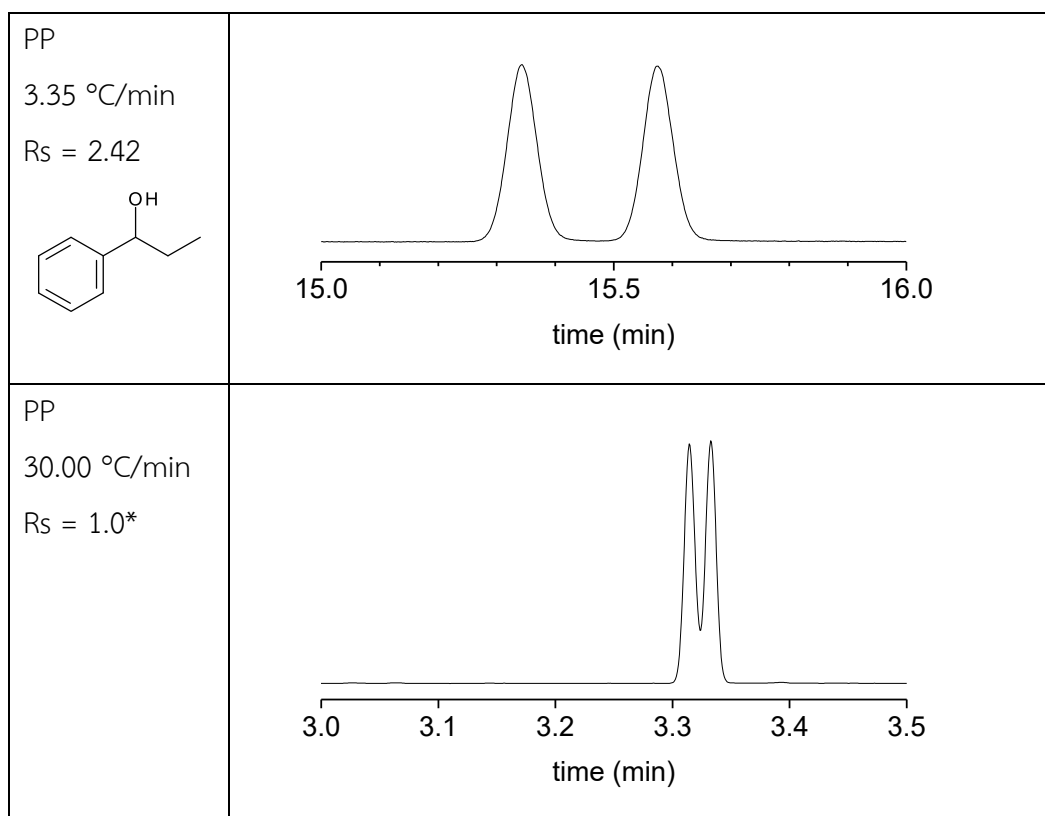
ผลการวิเคราะห์แบบโปรแกรมอุณหภูมิ โดยใช้อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 3.35 °C/min (ตารางที่ 3.1) พบว่าจากคู่อิแนนท์โอเมอร์ของอนุพันธ์ TMS ของแอลกอฮอล์ที่ทดสอบทั้งหมด 32 ชนิด เฟสคงที่ชนิดนี้สามารถแยกคู่อิแนนท์โอเมอร์ได้อย่างสมบูรณ์ ($R_s \geq 1.5$) จำนวน 20 ชนิด, สามารถแยกคู่อิแนนท์โอเมอร์ได้ แต่ไม่สมบูรณ์ ($R_s \leq 1.5$) จำนวน 10 ชนิด และไม่สามารถแยกคู่อิแนนท์โอเมอร์ได้เลย จำนวน 2 ชนิด (PE และ oME-PE) แต่การวิเคราะห์แบบโปรแกรมอุณหภูมิ ด้วยอัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 3.35 °C/min ใช้เวลาในการวิเคราะห์ค่อนข้างนาน (ไม่ต่ำกว่า 10 นาที และสูงสุดประมาณ 33 นาที ขึ้นกับชนิดของสาร) จึงสนใจจะลดเวลาการวิเคราะห์เบื้องต้นแบบโปรแกรมอุณหภูมิ โดยเพิ่มอัตราการเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นเป็น 30.00 °C/min

ตารางที่ 3.1 retention time (t_R), elution temperature และ resolution (R_s) ของ แอลกอฮอล์ (ในรูปอนุพันธ์ TMS) 32 ชนิด โดยโปรแกรมอุณหภูมิ อัตรา 3.35 และ 30.00 °C/min

สาร	rate = 3.35 °C/min			rate = 30.00 °C/min		
	$t_{R,2}$ (min)	elution temp ₂ (°C)	R_s	$t_{R,2}$ (min)	elution temp ₂ (°C)	R_s
PE	13.245	84.37	-	3.064	131.92	-
mF-PE	14.074	87.15	1.95	3.146	134.38	0.84
pF-PE	14.502	88.58	2.39	3.198	135.94	1.38
oCl-PE	16.941	96.75	0.70*	3.552	146.56	-
mCl-PE	19.870	106.56	1.47	3.869	156.07	-
pCl-PE	21.416	111.74	3.40	4.031	160.93	1.14
oBr-PE	19.711	106.03	1.34	3.895	156.85	0.60*
mBr-PE	22.884	116.66	1.09	4.237	167.11	-
pBr-PE	24.782	123.02	2.64	4.433	172.99	1.16
oMe-PE	15.398	91.58	-	3.360	140.80	-
mMe-PE	15.813	92.97	0.60*	3.383	141.49	-
pMe-PE	16.696	95.93	1.95	3.488	144.64	0.70*
oTFMe-PE	11.447	78.35	0.80*	2.840	125.20	-
mTFMe-PE	13.997	86.89	1.91	3.094	132.82	0.60*
pTFMe-PE	16.149	94.10	3.49	3.321	139.63	0.97
oOMe-PE	19.675	105.91	1.86	3.840	155.20	0.80*
mOMe-PE	21.610	112.39	0.87	4.067	162.01	-
pOMe-PE	22.790	116.35	1.38	4.201	166.03	-
pNO ₂ -PE	32.615	149.26	2.30	5.338	200.14	0.80*
5F-PE	10.285	74.45	1.07	2.666	119.98	-
PP	15.575	92.18	2.42	3.333	139.99	1.00*
pF-PP	16.848	96.44	4.66	3.462	143.86	1.77
pCl-PP	23.389	118.35	4.96	4.254	167.62	1.50
pBr-PP	26.524	128.86	3.85	4.636	179.08	1.35
pMe-PP	18.667	102.53	3.00	3.717	151.51	1.21
pTFMe-PP	17.625	99.04	3.34	3.517	145.51	1.00*
pOMe-PP	24.592	122.38	2.27	4.413	172.39	0.70*
Me-PP	16.114	93.98	2.21	3.434	143.02	0.80*
diMe-PP	16.943	96.76	2.47	3.549	146.47	0.83
P2P	17.439	98.42	1.38	3.568	147.04	0.70*
PB	18.172	100.88	2.43	3.653	149.59	0.97
4HN	25.814	126.48	4.31	4.558	176.74	1.63

หมายเหตุ * ข้อมูลจากโครมาโทแกรมไม่สามารถคำนวณค่า R_s ได้ ค่า R_s ที่รายงานเป็นค่าที่ได้จากการประมาณโดยเทียบกับเอกสารอ้างอิง [19]

พบว่าเมื่อเพิ่มอัตราการเพิ่มอุณหภูมิจาก 3.35 °C/min เป็น 30.00 °C/min สามารถลดเวลาในการวิเคราะห์หลังได้มาก (เหลือเพียง 2.6-5.3 นาที) แต่ความสมบูรณ์ของการแยกคู่อิแนนท์โอเมอร์จะลดลงด้วย เห็นจากค่า R_s ที่มีค่าลดลง (ตารางที่ 3.1) โดยสามารถแยกคู่อิแนนท์โอเมอร์ได้อย่างสมบูรณ์ ($R_s \geq 1.5$) เพียง 3 ชนิด (pF-PP, pCl-PP, 4HN) และไม่สามารถแยกคู่อิแนนท์โอเมอร์ได้เลย จำนวนถึง 10 ชนิด ตัวอย่างการแยกคู่อิแนนท์โอเมอร์ของอนุพันธ์ TMS ของ PP เปรียบเทียบที่อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 3.35 °C/min และ 30.00 °C/min (รูปที่ 3.1) จะเห็นว่า ที่อัตรา 30.00 °C/min ใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยกว่าที่อัตรา 3.35 °C/min ถึง 5 เท่า แต่ค่า R_s ของการแยกคู่อิแนนท์โอเมอร์มีค่าลดลง



รูปที่ 3.1 โครมาโทแกรมของอนุพันธ์ TMS ของ PP (โปรแกรมอุณหภูมิ : 40 °C ถึง 220 °C, อัตรา 3.35 และ 30.00 °C/min)

เมื่อเปรียบเทียบ elution temperature ของอนุพันธ์ TMS ของแอลกอฮอล์ทั้ง 32 ชนิด และค่า R_s ของการแยก ที่วิเคราะห์แบบโปรแกรมอุณหภูมิด้วยอัตราการเพิ่มอุณหภูมิเท่ากับ 3.35 และ 30.00 °C/min (รูปที่ 3.2 และ 3.3 ตามลำดับ) พบว่าเมื่ออัตราการเพิ่มอุณหภูมิมียิ่งมากขึ้น elution temperature จะเพิ่มขึ้นด้วย โดยอนุพันธ์ TMS ของแอลกอฮอล์ทั้ง 32 ชนิด มีแนวโน้ม

การเพิ่มขึ้นของ elution temperature ใกล้เคียงกัน คือประมาณ 45-51 °C และพบว่า มีความสัมพันธ์ของแรงกระทำระหว่างอนุพันธ์ TMS ของแอลกอฮอล์กับเฟสคงที่ ดังนี้

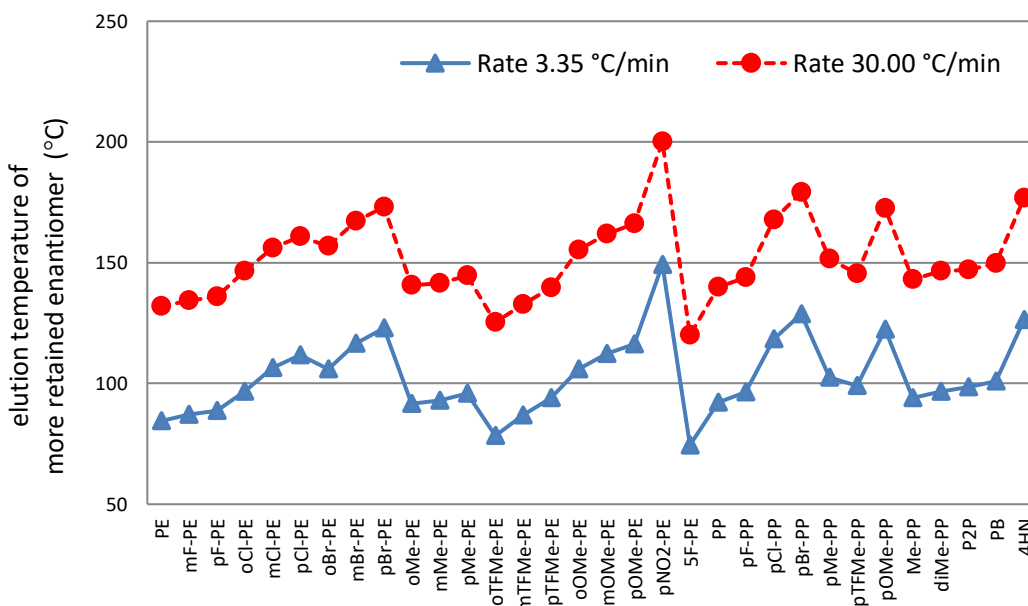
สำหรับอนุพันธ์ TMS ของแอลกอฮอล์กลุ่ม PE พบแนวโน้ม ดังนี้

- ชนิดของหมู่แทนที่ มีผลต่อ elution temperature โดย elution temperature ของอนุพันธ์ TMS ของแอลกอฮอล์ $\text{NO}_2\text{-PE} > \text{Br-PE} > \text{OMe-PE} > \text{Cl-PE} > \text{Me-PE} > \text{TFMe-PE} > \text{F-PE} > \text{PE} > \text{5F-PE}$
- ตำแหน่งของหมู่แทนที่บนวงแอโรแมติก มีผลต่อ elution temperature โดยอนุพันธ์ TMS ของแอลกอฮอล์ที่มีหมู่แทนที่ที่ตำแหน่ง *para* จะมี elution temperature สูงกว่าอนุพันธ์ที่มีหมู่แทนที่ที่ตำแหน่ง *meta* และอนุพันธ์ที่มีหมู่แทนที่ที่ตำแหน่ง *ortho*

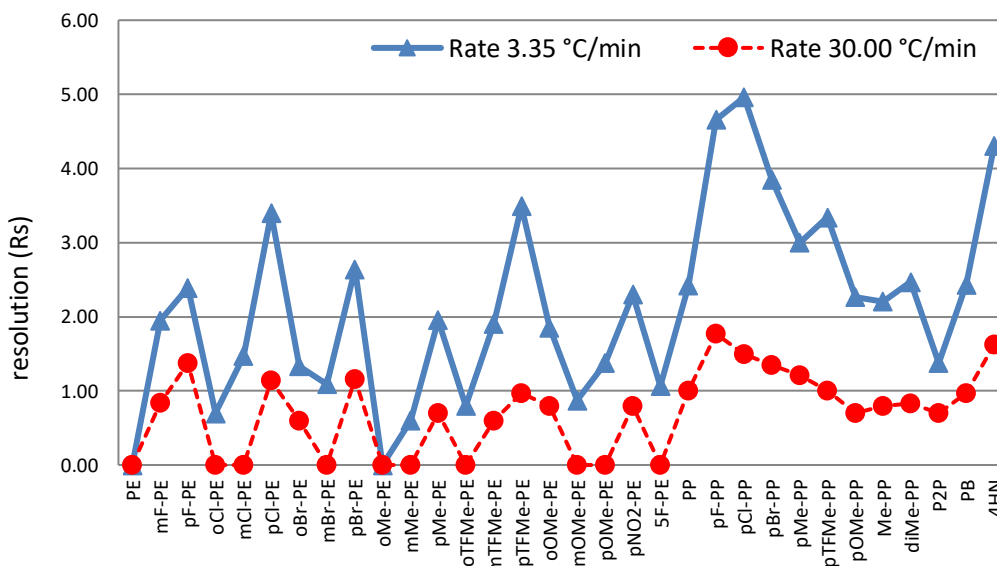
สำหรับอนุพันธ์ TMS ของแอลกอฮอล์กลุ่ม PP พบแนวโน้ม ดังนี้

- ชนิดของหมู่แทนที่ มีผลต่อ elution temperature โดย elution temperature ของอนุพันธ์ TMS ของแอลกอฮอล์ $\text{Br-PP} > \text{OMe-PP} > \text{Cl-PP} > \text{Me-PP} > \text{TFMe-PP} > \text{F-PP} > \text{PP}$

และพบว่าโครงสร้างหลักของสารมีผลต่อ elution temperature โดย elution temperature ของอนุพันธ์ TMS ของแอลกอฮอล์ $4\text{HN} > \text{PB} > \text{P2P} > \text{diMe-PP} > \text{Me-PP} > \text{PP} > \text{PE}$ โดยแนวโน้มของสารทุกตัวเหมือนกันทั้งที่อัตราการเพิ่มอุณหภูมิเท่ากับ 3.35 และ 30.00 °C/min ซึ่งน่าจะ เป็นไปตามแนวโน้มจุดเดือดของสาร ร่วมกับควมมีขั้วของหมู่แทนที่ที่ส่งผลต่อแรงกระทำกับเฟสคงที่ สารที่มีจุดเดือดสูง และ/หรือมีขั้วสูง จะมีแรงกระทำกับเฟสคงที่มากกว่า จึงออกมาช้าหรือออกมาที่ elution temperature สูงกว่า



รูปที่ 3.2 elution temperature ของอีแนนทิโอเมอร์ตัวสุดท้ายของอนุพันธ์ TMS ของแอลกอฮอล์ 32 ชนิด ที่อัตรา 3.35 และ 30.00 °C/min



รูปที่ 3.3 Rs ของการแยกอีแนนทิโอเมอร์ของอนุพันธ์ TMS ของแอลกอฮอล์ 32 ชนิด ที่อัตรา 3.35 และ 30.00 °C/min

พิจารณา resolution (Rs) ของอนุพันธ์ TMS ของแอลกอฮอล์ทั้ง 32 ชนิด ที่วิเคราะห์แบบโปรแกรมอุณหภูมิด้วยอัตราการเพิ่มอุณหภูมิเท่ากับ 3.35 °C/min และ 30.00 °C/min (รูปที่ 3.3) พบว่า เมื่อเพิ่มอัตราการเพิ่มอุณหภูมิจะส่งผลให้ Rs มีค่าลดลง โดยสำหรับที่อัตราการเพิ่มอุณหภูมิเท่ากับ 3.35 °C/min สามารถแยกคู่อิแนนท์โอเมอ์ของสาร 20 ชนิด ได้สมบูรณ์ (Rs \geq 1.5) ขณะที่เมื่ออัตราการเพิ่มอุณหภูมิเท่ากับ 30.00 °C/min พบว่าสามารถแยกคู่อิแนนท์โอเมอ์ของสารได้อย่างสมบูรณ์เพียง 3 ชนิด โดยมีอนุพันธ์ TMS ของแอลกอฮอล์ที่ไม่สามารถแยกได้เลย (ปรากฏที่เดียว) 10 ชนิด ได้แก่ อนุพันธ์ TMS ของแอลกอฮอล์ PE, oCl-PE, mCl-PE, mBr-PE, oMe-PE, mMe-PE, oTFMe-PE, mOMe-PE, pOMe-PE และ 5F-PE

นอกจากนี้เป็นที่น่าสังเกตว่าอนุพันธ์ TMS ของแอลกอฮอล์ส่วนใหญ่ที่มีหมู่แทนที่ที่ตำแหน่ง *para* จะมีค่า Rs มากกว่าอนุพันธ์ที่มีหมู่แทนที่ที่ตำแหน่ง *ortho* และ *meta* ทั้งนี้ น่าจะเป็นผลจากโครงสร้างของตำแหน่ง *ortho* และ *meta* อยู่ใกล้ตำแหน่ง stereogenic center ที่มีหมู่ O-TMS ขนาดใหญ่ จึงอาจขัดขวางการแยก ยกเว้นอนุพันธ์ TMS ของ OMe-PE ซึ่งตัวที่มีหมู่แทนที่ที่ตำแหน่ง *ortho* จะมีค่า Rs มากกว่าตัวที่มีหมู่แทนที่ที่ตำแหน่ง *para* และ *meta*

3.2 การวิเคราะห์คู่อิแนนท์โอเมอ์โดยใช้อุณหภูมิคงที่

ภาวะในการแยกที่เหมาะสม ควรจะให้การแยกที่ดีที่สุดและใช้เวลาในการวิเคราะห์ให้น้อย ซึ่งจากการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมอุณหภูมิ พบว่าสารส่วนใหญ่ไม่สามารถแยกได้สมบูรณ์ที่อัตราการเพิ่มอุณหภูมิสูง หรือถ้าหากแยกได้สมบูรณ์ที่อัตราการเพิ่มอุณหภูมิต่ำก็จะใช้เวลานาน อีกทั้งการใช้โปรแกรมอุณหภูมียังต้องเสียเวลารอให้คอลัมน์เย็นตัวลงก่อนการวิเคราะห์ครั้งถัดไป จึงจะใช้ข้อมูลจากการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมอุณหภูมิ มาเป็นแนวทางในการเลือกอุณหภูมิกิ่งที่ที่เหมาะสม โดยหวังว่าจะสามารถหาภาวะการแยกที่สมบูรณ์และใช้เวลาในการวิเคราะห์ให้น้อยที่สุด ซึ่งการวิเคราะห์ด้วยอุณหภูมิกิ่งที่ไม่มีการปรับเปลี่ยนอุณหภูมิระหว่างการวิเคราะห์ จึงสามารถวิเคราะห์สารได้อย่างต่อเนื่อง และเหมาะสมกับสารที่มีสมบัติใกล้เคียงกัน

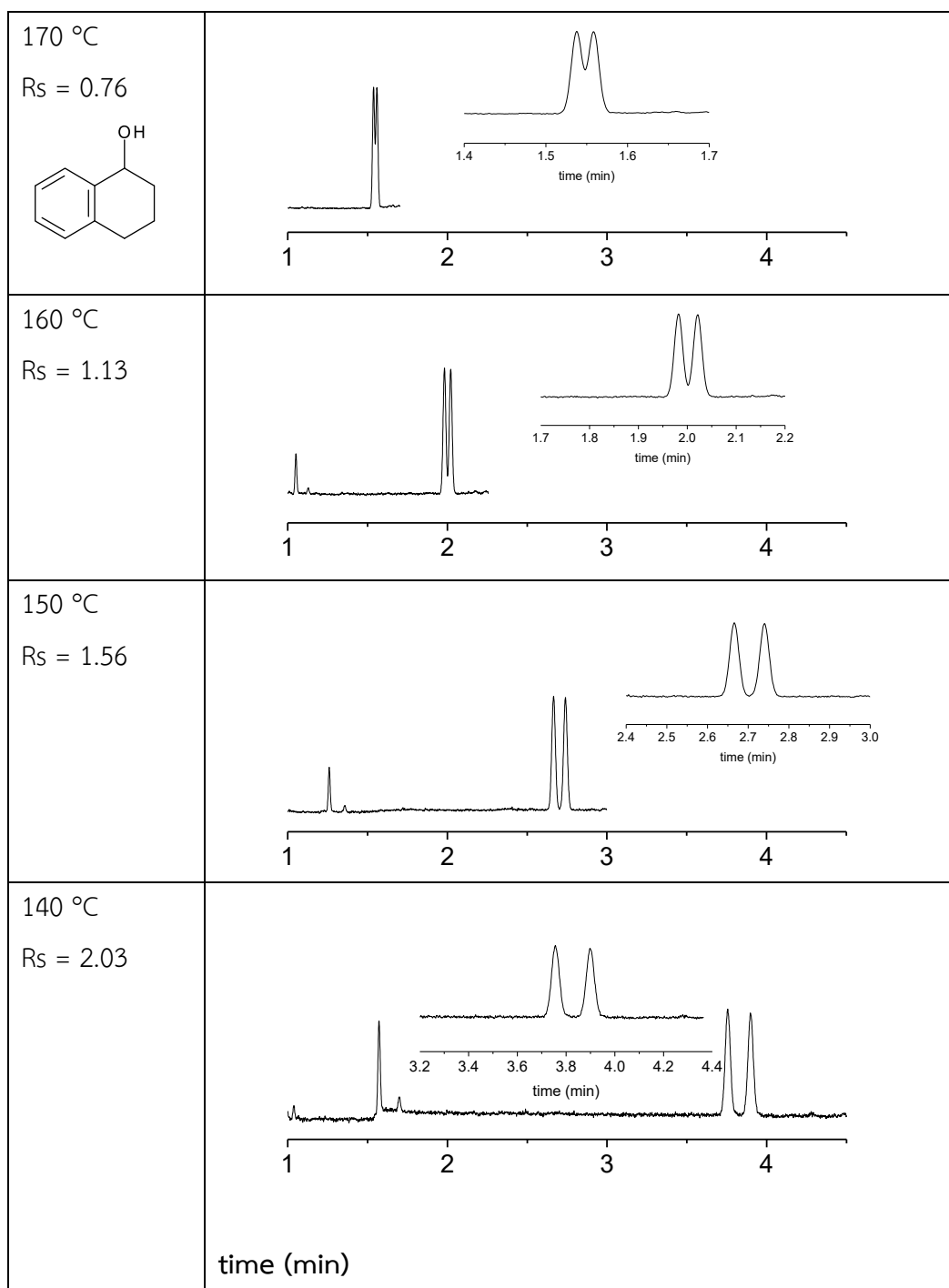
จากข้อมูลการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมอุณหภูมิกิ่งที่ใช้อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 30.00 °C/min จึงเริ่มเลือกอุณหภูมิกิ่งที่ใกล้เคียงกับ elution temperature ของคู่อิแนนท์โอเมอ์ตัวสุดท้าย โดยจะปรับลดหรือเพิ่มอุณหภูมิทีละ 10 °C จนสามารถแยกคู่อิแนนท์โอเมอ์ได้สมบูรณ์ (ได้ค่า Rs \geq 1.5) และใช้เวลาน้อยสุด ยกตัวอย่าง เช่น

อนุพันธ์ TMS ของแอลกอฮอล์ 4HN มี elution temperature ของคู่อิแนนท์โอเมอ์ตัวสุดท้าย เท่ากับ 176.74 °C จึงเริ่มการทดลองแบบอุณหภูมิกิ่งที่ 170 °C พบว่าสามารถแยกคู่อิแนนท์โอเมอ์ได้แต่ยังไม่สมบูรณ์ (Rs = 0.76) จึงปรับลดอุณหภูมิทีละ 10 °C จนสามารถแยกคู่อิแนนท์โอเมอ์ได้สมบูรณ์ โดยเมื่อใช้อุณหภูมิกิ่งที่ 160, 150 และ 140 °C จะได้การแยกของคู่อิ

แนนนีโอเมอร์ที่ดีที่สุดคือ ได้ค่า R_s เท่ากับ 1.13, 1.56, 2.03 ตามลำดับ (รูปที่ 3.4) ซึ่งจะเห็นว่า อุณหภูมิที่สูงที่สุดที่สามารถแยกคู่อิแนนีโอเมอร์ของ 4HN ได้สมบูรณ์ โดยมี R_s ใกล้เคียง 1.5 คือ $150\text{ }^{\circ}\text{C}$ (ได้ $R_s = 1.56$) สำหรับสารที่แยกได้สมบูรณ์และใช้เวลาวิเคราะห์ที่ไม่นาน (k'_2 น้อยกว่า 20) จะหาอุณหภูมิที่สามารถแยกคู่อิแนนีโอเมอร์ได้ โดยมี R_s ใกล้เคียง 2.0 ด้วย เนื่องจากเป็นค่าที่มักใช้ในอุตสาหกรรมและให้การแยกที่ชัดเจนมากกว่าที่ $R_s = 1.5$ โดยอุณหภูมิที่สามารถแยกคู่อิแนนีโอเมอร์ของ 4HN ได้ โดยมี R_s ใกล้เคียง 2.0 คือ $140\text{ }^{\circ}\text{C}$ (ได้ $R_s = 2.03$) ซึ่งที่อุณหภูมิกว่าทั้งสองใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยกว่าการใช้โปรแกรมอุณหภูมิ

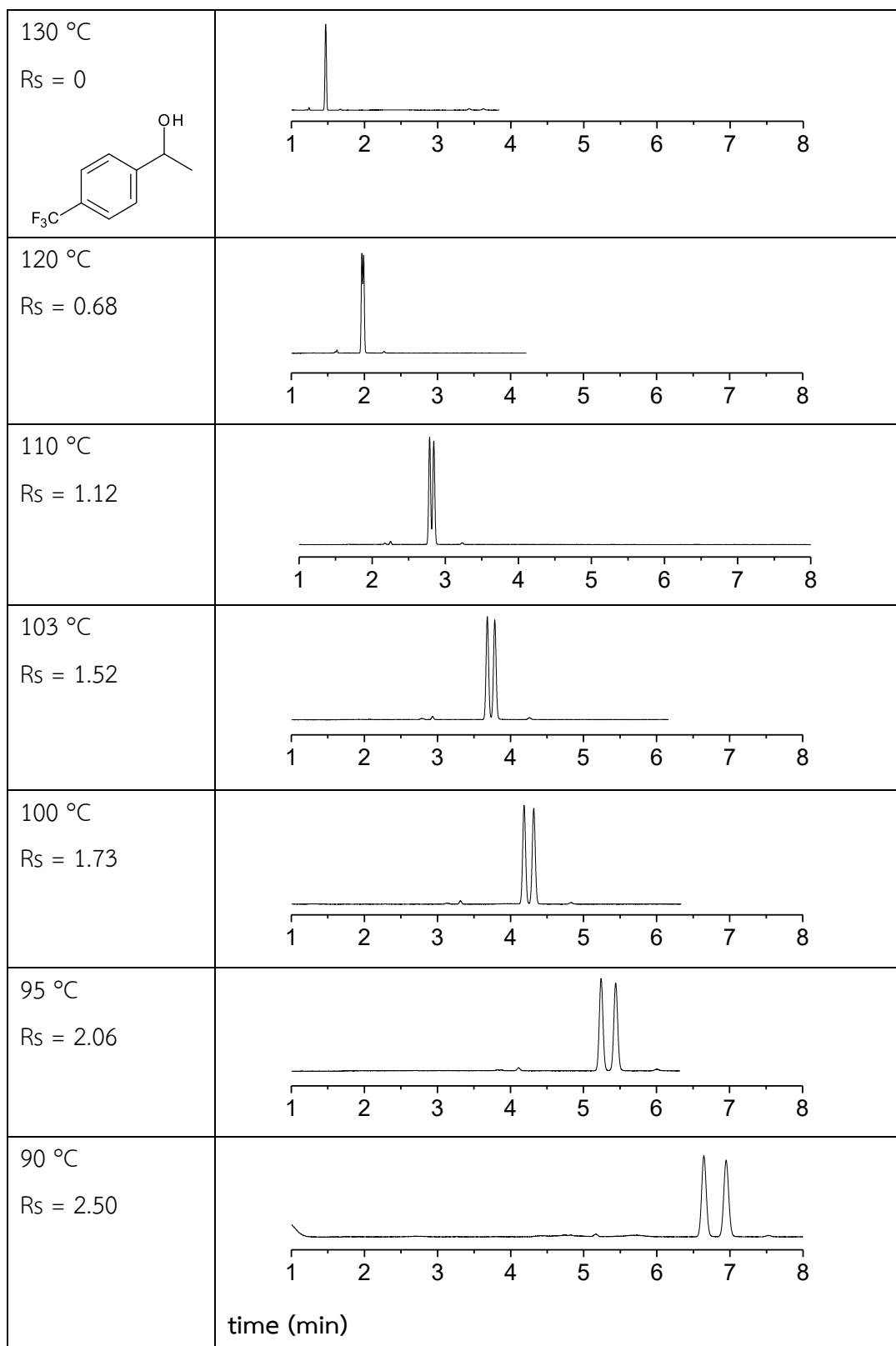
สำหรับอนุพันธ์ TMS ของแอลกอฮอล์ pTFMe-PE มี elution temperature ของอิแนนีโอเมอร์ตัวสุดท้าย เท่ากับ $139.63\text{ }^{\circ}\text{C}$ จึงเริ่มการทดลองแบบอุณหภูมิกว่าที่ $130\text{ }^{\circ}\text{C}$ พบว่าไม่สามารถแยกคู่อิแนนีโอเมอร์ได้ (ปรากฏฟีกเดียว) จึงปรับลดอุณหภูมิกว่า $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ โดยเมื่อใช้อุณหภูมิกว่าที่ $120, 110, 100$ และ $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ จะได้การแยกของคู่อิแนนีโอเมอร์ที่ดีที่สุดคือ ได้ค่า R_s เท่ากับ 0.68, 1.12, 1.73 และ 2.50 ตามลำดับ (รูปที่ 3.5) จากนั้นจึงปรับลดหรือเพิ่มอุณหภูมิกว่า 5 หรือ $3\text{ }^{\circ}\text{C}$ ในช่วง 100 ถึง $110\text{ }^{\circ}\text{C}$ เพื่อหาอุณหภูมิกว่าที่สูงที่สุดที่สามารถแยกคู่อิแนนีโอเมอร์ของ pTFMe-PE ได้สมบูรณ์ โดยมี R_s ใกล้เคียง 1.5 คือ $103\text{ }^{\circ}\text{C}$ (ได้ $R_s = 1.52$; $t_{R,2} = 3.79$ นาที) และอุณหภูมิกว่าที่ให้ R_s ใกล้เคียง 2.0 คือ $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ (ได้ $R_s = 2.06$; $t_{R,2} = 5.44$ นาที) โดยที่อุณหภูมิกว่าทั้งสองสามารถแยกคู่อิแนนีโอเมอร์ของ pTFMe-PE ได้อย่างสมบูรณ์และใช้เวลาไม่นาน ขณะที่การวิเคราะห์แบบโปรแกรมอุณหภูมิกว่าอัตรา $30.00\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ไม่สามารถแยกคู่อิแนนีโอเมอร์ได้สมบูรณ์ ($R_s = 0.97$)

สำหรับอนุพันธ์ TMS ของแอลกอฮอล์ตัวอื่นๆ ก็ทำการทดลองในทำนองเดียวกัน โดยจะแสดงอุณหภูมิกว่าที่ให้การแยกที่สมบูรณ์ (ค่า R_s ใกล้เคียง 1.5 และ 2.0) รวมถึงเวลาในการวิเคราะห์และผลการแยกเปรียบเทียบกับวิธีการวิเคราะห์แบบโปรแกรมอุณหภูมิกว่าใช้อัตราการเพิ่มอุณหภูมิกว่า $30.00\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ดังตารางที่ 3.2 ในการวิเคราะห์แบบอุณหภูมิกว่าที่ หากลดอุณหภูมิกว่าจนมีค่า k' มากกว่า 20 แต่ยังไม่ปรากฏฟีกเดียว แสดงว่าเฟสคกที่ BSiMe นี้ไม่เหมาะสมสำหรับการแยกคู่อิแนนีโอเมอร์ของสารดังกล่าว จะไม่ทำการทดลองที่อุณหภูมิกว่าต่ำลงอีก



รูปที่ 3.4

โครมาโทแกรมของ 4HN ที่อุณหภูมิคงที่ช่วง 170 ถึง 140 °C



รูปที่ 3.5 โครมาโทแกรมของ pTFMe-PE ที่อุณหภูมิคงที่ช่วง 130 ถึง 90 °C

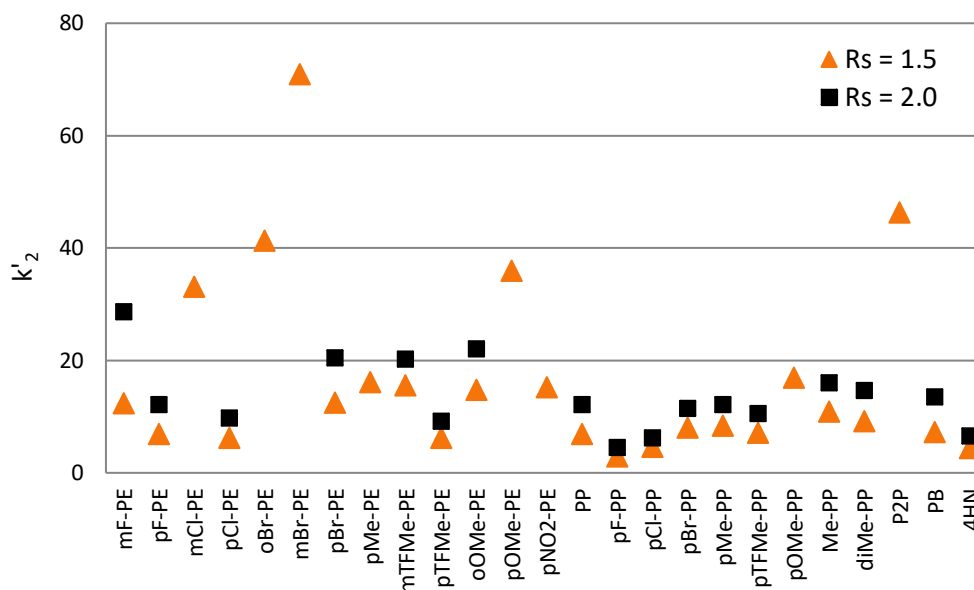
ตารางที่ 3.2 ภาวะในการแยกไอโซเมอร์ได้สมบูรณ์ (R_s ใกล้เคียง 1.5 และ 2.0) ด้วย อุณหภูมิคงที่และเวลาในการแยกด้วยโปรแกรมอุณหภูมิที่อัตรา 30.00 °C/min

สาร	โปรแกรมอุณหภูมิ			อุณหภูมิคงที่ ($R_s \cong 1.5$)				อุณหภูมิคงที่ ($R_s \cong 2.0$)			
	temp ₂ (°C)	t _{R,2} (min)	R _s	temp (°C)	t _{R,2} (min)	k' ₂	R _s	temp (°C)	t _{R,2} (min)	k' ₂	R _s
PE	131.92	3.064	-	-	-	-	-	-	-	-	-
mF-PE	134.38	3.146	0.84	82	7.278	12.35	1.58	66	16.900	28.65	2.09
pF-PE	135.94	3.198	1.38	96	4.190	6.88	1.54	84	7.181	12.20	2.02
oCl-PE	146.56	3.552	-	-	-	-	-	-	-	-	-
mCl-PE	156.07	3.869	-	85	18.454	33.11	1.54	-	-	-	-
pCl-PE	160.93	4.031	1.14	125	3.714	6.21	1.54	115	5.581	9.73	2.07
oBr-PE	156.85	3.895	0.60*	80	23.197	41.33	1.50	-	-	-	-
mBr-PE	167.11	4.237	-	82	39.239	71.00	1.57	-	-	-	-
pBr-PE	172.99	4.433	1.16	122	6.999	12.56	1.54	112	11.165	20.43	2.03
oMe-PE	140.80	3.360	-	-	-	-	-	-	-	-	-
mMe-PE	141.49	3.383	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pMe-PE	144.64	3.488	0.70*	87	9.261	16.18	1.56	-	-	-	-
oTFMe-PE	125.20	2.840	-	-	-	-	-	-	-	-	-
mTFMe-PE	132.82	3.094	0.60*	77	9.117	15.55	1.51	72	11.948	20.26	2.02
pTFMe-PE	139.63	3.321	0.97	103	3.785	6.20	1.52	95	5.441	9.23	2.06
oOMe-PE	155.20	3.840	0.80*	100	8.327	14.74	1.51	92	12.345	22.03	2.02
mOMe-PE	162.01	4.067	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pOMe-PE	166.03	4.201	-	94	19.749	35.98	1.52	-	-	-	-
pNO ₂ -PE	200.14	5.338	0.80*	146	8.262	15.26	1.52	-	-	-	-
5F-PE	119.98	2.666	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PP	139.99	3.333	1.00*	100	4.171	6.90	1.54	88	7.128	12.20	2.03
pF-PP	143.86	3.462	1.77	124	2.039	2.96	1.56	114	2.863	4.52	2.09
pCl-PP	167.62	4.254	1.50	139	2.869	4.61	1.58	132	3.698	6.21	2.02
pBr-PP	179.08	4.636	1.35	138	4.615	8.03	1.54	130	6.434	11.54	2.04
pMe-PP	151.51	3.717	1.21	108	4.908	8.38	1.55	100	6.979	12.22	2.02
pTFMe-PP	145.51	3.517	1.00*	106	4.276	7.14	1.50	98	6.161	10.62	2.07
pOMe-PP	172.39	4.413	0.70*	115	9.332	16.98	1.54	-	-	-	-
Me-PP	143.02	3.434	0.80*	93	6.349	10.89	1.54	85	9.219	16.01	2.04
diMe-PP	146.47	3.549	0.83	100	5.397	9.22	1.58	90	8.421	14.68	2.05
P2P	147.04	3.568	0.70*	70	26.598	46.33	1.58	-	-	-	-
PB	149.59	3.653	0.97	109	4.342	7.32	1.53	96	7.704	13.48	2.09
4HN	176.74	4.558	1.63	150	2.740	4.39	1.56	140	3.899	6.62	2.03

หมายเหตุ * ข้อมูลจากโครมาโทแกรมไม่สามารถคำนวณค่า R_s ได้ ค่า R_s ที่รายงานเป็นค่าที่ได้จากการประมาณโดยเทียบกับเอกสารอ้างอิง [19]

จากตารางที่ 3.2 เมื่อใช้เฟสคงที่ชนิด BSiMe เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์คู่อิแนนท์ไอโอเมอร์ของอนุพันธ์ TMS ของแอลกอฮอล์ด้วยภาวะโปรแกรมอุณหภูมิที่อัตรา 30.00 °C/min กับภาวะอุณหภูมิคงที่ที่ให้การแยกคู่อิแนนท์ไอโอเมอร์สมบูรณ์ พบว่า

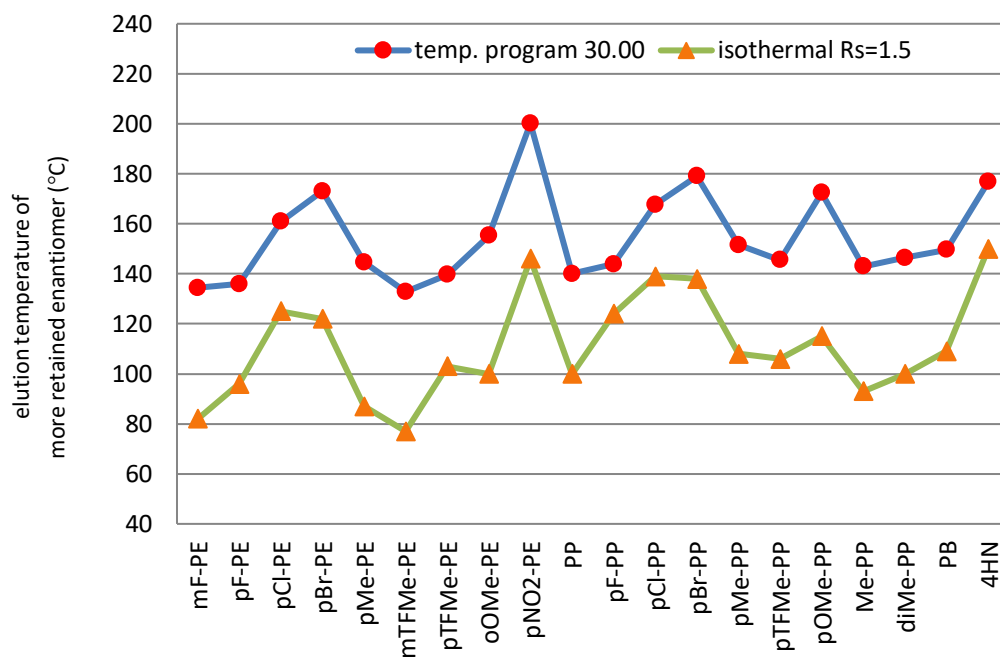
- สามารถแยกคู่อิแนนท์ไอโอเมอร์ได้สมบูรณ์ โดยให้ค่า R_s ใกล้เคียง 1.5 จำนวน 25 ชนิด และให้ค่า R_s ใกล้เคียง 2.0 จำนวน 17 ชนิด โดยได้เปรียบเทียบกับค่า k'_2 ที่ภาวะอุณหภูมิคงที่ดังกล่าว แสดงในรูปที่ 3.6
- สามารถแยกคู่อิแนนท์ไอโอเมอร์ได้สมบูรณ์ (R_s ใกล้เคียง 1.5) และมีค่า k'_2 น้อยกว่า 20 จำนวน 20 ชนิด โดยสารส่วนใหญ่ (19 จาก 20 ชนิด) มีค่า $R_s \geq 0.7$ เมื่อวิเคราะห์ด้วยภาวะโปรแกรมอุณหภูมิที่อัตรา 30.00 °C/min โดยมีสาร mTFME-PE เพียงชนิดเดียวเท่านั้น ที่มีค่า $R_s = 0.60^*$ เมื่อวิเคราะห์ด้วยภาวะโปรแกรมอุณหภูมิที่อัตรา 30.00 °C/min และยังสามารถแยกคู่อิแนนท์ไอโอเมอร์ได้สมบูรณ์ที่ 77 °C ($k'_2 = 15.55$; $R_s = 1.51$) นอกจากนี้เมื่อเทียบกับผลการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมอุณหภูมิที่อัตรา 3.35 °C/min พบว่าสารทั้ง 20 ชนิดนี้ ทุกตัวมีค่า $R_s \geq 1.5$ (ตารางที่ 3.1)
- สารที่ไม่สามารถหาภาวะอุณหภูมิคงที่ที่แยกคู่อิแนนท์ไอโอเมอร์ได้สมบูรณ์ หรือหากแยกได้สมบูรณ์จะใช้เวลานาน (k'_2 มากกว่า 20 ได้แก่ mCl-PE, oBr-PE, mBr-PE, pOMe-PE, และ P2P) พบว่าส่วนใหญ่เป็นสารที่วิเคราะห์ด้วยภาวะโปรแกรมอุณหภูมิที่อัตรา 30.00 °C/min และปรากฏเพียงพิกเดียว หรือแยกได้ แต่มีค่า $R_s < 0.7$ ยกเว้นสาร P2P มีค่า $R_s = 0.70^*$ เมื่อวิเคราะห์ด้วยภาวะโปรแกรมอุณหภูมิที่อัตรา 30.00 °C/min นอกจากนี้เมื่อเทียบกับผลการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมอุณหภูมิที่อัตรา 3.35 °C/min พบว่าสารในกลุ่มนี้ ทุกตัวมีค่า $R_s < 1.5$ (ตารางที่ 3.1)
- สารที่สามารถแยกคู่อิแนนท์ไอโอเมอร์ได้สมบูรณ์ (R_s ใกล้เคียง 1.5) และมีค่า k'_2 น้อยกว่า 5 จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ pF-PP, pCl-PP และ 4HN พบว่าเป็นสารที่วิเคราะห์ด้วยภาวะโปรแกรมอุณหภูมิที่อัตรา 30.00 °C/min และมีค่า $R_s \geq 1.5$
- เมื่อพิจารณาสารในกลุ่ม PE พบว่า สารที่มีหมู่แทนที่ในตำแหน่ง *para* จะส่งเสริมการแยกมากกว่าหมู่แทนที่ในตำแหน่ง *meta* และ/หรือ *ortho* โดยสารที่มีหมู่แทนที่ในตำแหน่ง *para* เกือบทุกชนิดสามารถแยกได้สมบูรณ์และใช้เวลาน้อยกว่า ยกเว้น pOMe-PE เท่านั้น
- เมื่อเปรียบเทียบโครงสร้างของสารในกลุ่ม PE กับ PP พบว่า โครงสร้างแบบ PP จะส่งเสริมการแยกให้ดีขึ้น โดยสารในกลุ่ม *para*-PP เกือบทุกชนิดสามารถแยกได้สมบูรณ์และใช้เวลาน้อยกว่า *para*-PE ยกเว้น pTFMe-PP ที่ใช้เวลามากกว่า pTFMe-PE เล็กน้อย



รูปที่ 3.6 retention ของอีแนนทีโอเมอร์ตัวสุดท้าย (k'_2) ของอนุพันธ์ TMS ของแอลกอฮอล์ 25 ชนิด ที่ $R_s = 1.5$ และ $R_s = 2.0$ ที่อุณหภูมิคงที่

จากนั้นพิจารณาอนุพันธ์ TMS ของแอลกอฮอล์ที่สามารถแยกคู่อีแนนทีโอเมอร์ได้อย่างสมบูรณ์ โดยมีค่า R_s ใกล้เคียง 1.5 ด้วยภาวะอุณหภูมิคงที่และใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อย ($k'_2 < 20$) จำนวน 20 ชนิด (ข้อมูลจากตารางที่ 3.2) โดยเปรียบเทียบ elution temperature ของอีแนนทีโอเมอร์ตัวสุดท้ายของอนุพันธ์ TMS ของแอลกอฮอล์ที่ได้จากโปรแกรมอุณหภูมิที่อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 30.00 °C/min กับอุณหภูมิคงที่สูงสุดที่ทำให้การแยกสมบูรณ์ (R_s ใกล้เคียง 1.5) ดังรูปที่ 3.7 พบว่าสามารถใช้ elution temperature และค่า R_s ที่ได้จากโปรแกรมอุณหภูมิที่อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 30.00 °C/min เป็นแนวทางในการหาอุณหภูมิคงที่ที่เหมาะสม ได้ดังนี้

- สารที่วิเคราะห์ด้วยภาวะโปรแกรมอุณหภูมิที่อัตรา 30.00 °C/min และมีค่า $R_s \geq 1.5$ (ได้แก่ pF-PP, pCl-PP และ 4HN) จะมีภาวะอุณหภูมิคงที่ต่ำกว่า elution temperature ในช่วง 20-29 °C จึงเสนอว่าควรเริ่มตั้งภาวะอุณหภูมิคงที่ต่ำกว่า elution temperature ประมาณ 30 °C
- สารที่วิเคราะห์ด้วยภาวะโปรแกรมอุณหภูมิที่อัตรา 30.00 °C/min และมีค่า $R_s \cong 0.7-1.5$ จะมีภาวะอุณหภูมิคงที่ต่ำกว่า elution temperature ในช่วง 35-58 °C ขึ้นกับค่า R_s จึงเสนอว่าควรเริ่มตั้งภาวะอุณหภูมิคงที่ต่ำกว่า elution temperature ประมาณ 40-50 °C



รูปที่ 3.7

elution temperature ของอีแนนทิโอเมอร์ตัวสุดท้ายของอนุพันธ์ TMS ของแอลกอฮอล์ 20 ชนิดที่เหมาะสมสำหรับคอลัมน์นี้ด้วยโปรแกรมอุณหภูมิ (อัตรา 30.00 °C/min) และที่อุณหภูมิคงที่ ($R_s = 1.5$)

บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ศึกษาภาวะสำหรับการแยกคู่อิแนนท์ไอเมอร์ของแอลกอฮอล์ (วิเคราะห์ในรูปแบบอนุพันธ์ trimethylsilyl, TMS) จำนวน 32 ชนิด ที่มีโครงสร้างหลักเป็น 1-phenylethanol (PE) และ 1-phenyl-1-propanol (PP) ที่มีชนิดและตำแหน่งของหมู่แทนที่แตกต่างกัน ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี ใช้แคปิลารีคอลัมน์ความยาว 14.91 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.25 มิลลิเมตร เคลือบด้วยเฟสคงที่ คือ heptakis(2,3-di-O-methyl-6-O-tert-butyl-dimethylsilyl)- β -CD (หรือ BSiMe) ผสมใน polysiloxane OV-1701 หนา 0.25 ไมโครเมตร โดยทำการวิเคราะห์ทั้งแบบโปรแกรมอุณหภูมิและอุณหภูมิคงที่ เพื่อใช้เป็นแนวทางในการหาภาวะที่สามารถแยกคู่อิแนนท์ไอเมอร์ออกจากกันได้อย่างสมบูรณ์และรวดเร็ว รวมถึงศึกษาผลของโครงสร้างหลักของสาร, ชนิดและตำแหน่งของหมู่แทนที่ที่มีผลต่อการแยกคู่อิแนนท์ไอเมอร์

เมื่อแยกคู่อิแนนท์ไอเมอร์ของแอลกอฮอล์ด้วยโปรแกรมอุณหภูมิ ที่อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 3.35 และ 30.00 °C/min พบว่าเมื่อใช้อัตราการเพิ่มอุณหภูมิที่สูงขึ้น สามารถลดเวลาในการวิเคราะห์ลงได้ แต่ความสามารถในการแยกคู่อิแนนท์ไอเมอร์จะลดลงด้วย (R_s ลดลง) และมีค่า elution temperature สูงขึ้นด้วย ในงานวิจัยนี้เลือกใช้อัตราการเพิ่มอุณหภูมิที่ 30.00 °C/min เป็นภาวะเบื้องต้น เนื่องจากใช้เวลาวิเคราะห์น้อย พบว่า สามารถแยกคู่อิแนนท์ไอเมอร์ของสารที่ทดสอบได้ 22 ชนิด โดยแยกได้สมบูรณ์ ($R_s \geq 1.5$) เพียง 3 ชนิด จากนั้นนำค่า elution temperature ที่ได้จากโปรแกรมอุณหภูมิไปใช้เป็นแนวทางในการตั้งอุณหภูมิเริ่มต้น สำหรับการวิเคราะห์แบบอุณหภูมิคงที่

จากการวิเคราะห์คู่อิแนนท์ไอเมอร์ของแอลกอฮอล์ด้วยอุณหภูมิคงที่ พบว่าสามารถหาภาวะที่เหมาะสมที่แยกคู่อิแนนท์ไอเมอร์ได้อย่างสมบูรณ์จำนวน 25 ชนิด โดยมีสาร 20 ชนิดที่ แยกได้สมบูรณ์และมี $k'_2 < 20$ และมีสาร 3 ชนิดที่ใช้เวลาน้อยมาก ($k'_2 < 5$; $t_{R,2} < 3$ นาที) ได้แก่ pF-PP, pCl-PP และ 4HN นอกจากนี้ พบว่าโครงสร้างของสารส่งผลต่อการแยก โดยสารกลุ่ม PE ที่มีหมู่แทนที่ในตำแหน่ง *para* ส่วนใหญ่จะแยกได้สมบูรณ์และใช้เวลาน้อยกว่าสาร PE ที่มีหมู่แทนที่ในตำแหน่ง *meta* และ/หรือ *ortho* และเมื่อเปรียบเทียบกับสารที่มีหมู่แทนที่ในตำแหน่ง *para* เหมือนกัน พบว่า *para*-PP มักแยกได้สมบูรณ์และใช้เวลาน้อยกว่า *para*-PE

จากข้อมูลการวิเคราะห์คู่อิแนนท์ไอเมอร์ของแอลกอฮอล์ด้วยเฟสคงที่ชนิด BSiMe ทั้งแบบโปรแกรมอุณหภูมิและอุณหภูมิคงที่ สามารถใช้เป็นแนวทางในการหาภาวะที่เหมาะสมและรวดเร็ว โดยไม่ต้องอาศัยการลองผิดลองถูกมากนัก เริ่มจากการวิเคราะห์สารเบื้องต้นด้วยโปรแกรมอุณหภูมิที่อัตรา 30.00 °C/min หากสารปรากฏพีกเดียวหรือแยกได้ด้วยค่า $R_s < 0.7$ มีแนวโน้มว่าจะไม่

สามารถหาภาวะที่แยกคู่ไอออนโทเมอร์ให้สมบูรณ์ได้ หรือแยกได้แต่ใช้เวลานาน จึงควรเปลี่ยนชนิดเฟสคงที่ หากสารแยกได้ด้วยค่า $R_s \geq 0.7$ จะมีโอกาสสูงที่จะแยกคู่ไอออนโทเมอร์ให้สมบูรณ์ได้ โดยเลือกภาวะอุณหภูมิคงที่ให้ต่ำกว่า elution temperature ที่ได้จากโปรแกรมอุณหภูมิ ไม่น้อยกว่า $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ เป็นค่าเริ่มต้น ก่อนปรับเพิ่มหรือลดอุณหภูมิให้เหมาะสมต่อไป ข้อมูลจากงานวิจัยนี้ น่าจะเป็นแนวทางเบื้องต้นในการเลือกอุณหภูมิคงที่ได้เหมาะสมและรวดเร็วยิ่งขึ้น ซึ่งหากเพิ่มจำนวนสารและประเภทของสารที่วิเคราะห์ให้มากขึ้น จะช่วยสนับสนุนผลการทดลองและอาจให้แนวโน้มในการหาภาวะที่เหมาะสมได้ถูกต้องยิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

1. Ouellette, R. J.; Rawn, J. D. Stereochemistry. *Organic Chemistry*. **2014**, 241-286.
2. Roos, G.; Roos, C. Isomers and stereochemistry. *Organic Chemistry Concepts*. **2015**, 43-54.
3. Stauffer, E.; Dolan, J. A.; Newman, R. Gas Chromatography and Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Fire Debris Analysis*. **2008**, 235-293.
4. Watson, D. W. The secrets of successful temperature programming. *LCGC North America*. **2017**, 35(8), 534-534.
5. Valle, E. M. M. D. Cyclodextrins and their uses: A review. *Process Biochemistry*. **2004**, 39(9), 1033-1046.
6. 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 γ -butyrolactone derivatives by gas chromatography on 2,3-di-O-methyl-6-O-tert-butyl dimethylsilyl- β -cyclodextrin. *Journal of Chromatography A*. **2003**, 985, 321-331.
7. heptakis(2,3-di-O-methyl-6-O-tert-butyl dimethylsilyl- β -cyclodextrin). https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB82545174.htm (accessed Apr 29, 2019).
8. Gas Chromatography, GC. <http://www.env.eng.chula.ac.th/?q=content/gas-chromatography-gc>. (accessed Jan 30, 2019).
9. แม้น อมรสิทธิ์ และคณะ. Principle and Techniques of Instrumental Analysis PART II Chromatography and others. ชวนพิมพ์, 2553, 243-303.
10. GC method development. <https://www.agilent.com/cs/library/support/documents/f3964554214.pdf>. (accessed Jan 30, 2019).
11. Singh, N.; Sahu, O. Sustainable cyclodextrin in textile applications. *The Impact and Prospects of Green Chemistry for Textile Technology*. **2019**, 83-105.

12. Cheirsilp, B.; Rakmai, J. Inclusion complex formation of cyclodextrin with its guest and their applications. *Biology, Engineering and Medicine*. **2016**, 2(1), 1-6.
13. Chen, G.; Shi, X. Capillary gas chromatographic properties of three new cyclodextrin derivatives with acyl groups in the 6-position of β -cyclodextrin. *Analytica Chimica Acta*. **2003**, 498(1-2), 39-46.
14. Shi, X.; Liang, P.; Gao, X. The capillary gas chromatographic properties of four β -cyclodextrin derivatives with allyl groups or propyl groups on 3-position or 6-position of β -cyclodextrin. *Analytica Chimica Acta*. **2005**, 548(1-2), 86-94.
15. Pragadheesh, V. S.; Yadav, A.; Chanotiya, C. S. Role of substituents in cyclodextrin derivatives for enantioselective gas chromatographic separation of chiral terpenoids in the essential oils of *Mentha spicata*. *Journal of Chromatography B*. **2015**, 1002, 30-41.
16. Shi, X.; Liu, F.; Mao, J. The CGC enantiomer separation of 2-arylcarboxylic acid esters by using β -cyclodextrin derivatives as chiral stationary phases. *Analytica Chimica Acta*. **2016**, 912, 156-162.
17. 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.
18. Grob, K. Making and manipulating capillary columns for gas chromatography. **1986**, 193.
19. Sewell, P. A.; Clarke, B. *Chromatographic Separations*, John Wiley & Sons, Singapore, **1991**, 111-112.

ภาคผนวก

ตารางที่ A1 elution temperature และ resolution (Rs) ของการแยกคู่อิแนนท์ไอเมอร์ของ แอลกอฮอล์ 32 ชนิด (โปรแกรมอุณหภูมิ 40 °C ถึง 220 °C อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 3.35 °C/min)

สาร	t _{R,1} (min)	t _{R,2} (min)	W _{h,1} (min)	W _{h,2} (min)	elution temp ₁ (°C)	elution temp ₂ (°C)	Rs
PE	13.245	-	0.0598	-	84.37	-	-
mF-PE	13.890	14.074	0.0545	0.0564	86.53	87.15	1.95
pF-PE	14.273	14.502	0.0562	0.0566	87.81	88.58	2.39
oCl-PE	16.883	16.941	0.0543	0.0547	96.56	96.75	0.70*
mCl-PE	19.723	19.870	0.0586	0.0591	106.07	106.56	1.47
pCl-PE	21.073	21.416	0.0596	0.0593	110.59	111.74	3.40
oBr-PE	19.575	19.711	0.0591	0.0608	105.58	106.03	1.34
mBr-PE	22.775	22.884	0.0575	0.0602	116.30	116.66	1.09
pBr-PE	24.515	24.782	0.0597	0.0593	122.13	123.02	2.64
oMe-PE	15.398	-	0.0649	-	91.58	-	-
mMe-PE	15.777	15.813	0.0546	0.0538	92.85	92.97	0.60*
pMe-PE	16.503	16.696	0.0590	0.0573	95.29	95.93	1.95
oTFMe-PE	11.372	11.447	0.0598	0.0593	78.10	78.35	0.80*
mTFMe-PE	13.813	13.997	0.0566	0.0569	86.27	86.89	1.91
pTFMe-PE	15.816	16.149	0.0574	0.0548	92.98	94.10	3.49
oOMe-PE	19.481	19.675	0.0618	0.0612	105.26	105.91	1.86
mOMe-PE	21.525	21.610	0.0565	0.0584	112.11	112.39	0.87
pOMe-PE	22.648	22.790	0.0604	0.0611	115.87	116.35	1.38
pNO ₂ -PE	32.383	32.615	0.0599	0.0587	148.48	149.26	2.30
5F-PE	10.187	10.285	0.0540	0.0542	74.13	74.45	1.07
PP	15.343	15.575	0.0561	0.0566	91.40	92.18	2.42
pF-PP	16.384	16.848	0.0583	0.0589	94.89	96.44	4.66
pCl-PP	22.886	23.389	0.0603	0.0590	116.67	118.35	4.96
pBr-PP	26.145	26.524	0.0596	0.0563	127.59	128.86	3.85
pMe-PP	18.372	18.667	0.0583	0.0574	101.55	102.53	3.00
pTFMe-PP	17.299	17.625	0.0579	0.0569	97.95	99.04	3.34
pOMe-PP	24.363	24.592	0.0602	0.0587	121.62	122.38	2.27
Me-PP	15.887	16.114	0.0602	0.0609	93.22	93.98	2.21
diMe-PP	16.688	16.943	0.0604	0.0611	95.90	96.76	2.47
P2P	17.303	17.439	0.0571	0.0591	97.97	98.42	1.38
PB	17.926	18.172	0.0582	0.0608	100.05	100.88	2.43
4HN	25.353	25.814	0.0647	0.0613	124.93	126.48	4.31

ตารางที่ A2 elution temperature และ resolution (Rs) ของการแยกคู่อิแนนท์ไอเมอร์ของ แอลกอฮอล์ 32 ชนิด (โปรแกรมอุณหภูมิ 40 °C ถึง 220 °C อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 30.00 °C/min)

สาร	t _{R,1} (min)	t _{R,2} (min)	W _{h,1} (min)	W _{h,2} (min)	elution temp ₁ (°C)	elution temp ₂ (°C)	Rs
PE	3.064	-	0.0110	-	131.92	-	-
mF-PE	3.131	3.146	0.0106	0.0105	133.93	134.38	0.84
pF-PE	3.174	3.198	0.0102	0.0103	135.22	135.94	1.38
oCl-PE	3.552	-	0.0136	-	146.56	-	-
mCl-PE	3.869	-	0.0169	-	156.07	-	-
pCl-PE	4.011	4.031	0.0103	0.0104	160.33	160.93	1.14
oBr-PE	3.888	3.895	0.0099	0.0099	156.64	156.85	0.60*
mBr-PE	4.237	-	0.0133	-	167.11	-	-
pBr-PE	4.412	4.433	0.0106	0.0107	172.36	172.99	1.16
oMe-PE	3.360	-	0.0123	-	140.80	-	-
mMe-PE	3.383	-	0.0108	-	141.49	-	-
pMe-PE	3.463	3.488	0.0104	0.0102	143.89	144.64	0.70*
oTFMe-PE	2.840	-	0.0192	-	125.20	-	-
mTFMe-PE	3.089	3.094	0.0100	0.0078	132.67	132.82	0.60*
pTFMe-PE	3.304	3.321	0.0102	0.0104	139.12	139.63	0.97
oOMe-PE	3.827	3.840	0.0105	0.0102	154.81	155.20	0.80*
mOMe-PE	4.067	-	0.0114	-	162.01	-	-
pOMe-PE	4.201	-	0.0157	-	166.03	-	-
pNO ₂ -PE	5.315	5.338	0.0103	0.0100	199.45	200.14	0.80*
5F-PE	2.666	-	0.0193	-	119.98	-	-
PP	3.306	3.333	0.0108	0.0106	139.18	139.99	1.00*
pF-PP	3.430	3.462	0.0107	0.0106	142.90	143.86	1.77
pCl-PP	4.227	4.254	0.0107	0.0105	166.81	167.62	1.50
pBr-PP	4.612	4.636	0.0107	0.0102	178.36	179.08	1.35
pMe-PP	3.695	3.717	0.0107	0.0107	150.85	151.51	1.21
pTFMe-PP	3.491	3.517	0.0108	0.0101	144.73	145.51	1.00*
pOMe-PP	4.392	4.413	0.0106	0.0095	171.76	172.39	0.70*
Me-PP	3.414	3.434	0.0114	0.0105	142.42	143.02	0.80*
diMe-PP	3.533	3.549	0.0115	0.0111	145.99	146.47	0.83
P2P	3.548	3.568	0.0102	0.0103	146.44	147.04	0.70*
PB	3.635	3.653	0.0109	0.0110	149.05	149.59	0.97
4HN	4.528	4.558	0.0109	0.0108	175.84	176.74	1.63

หมายเหตุ * ข้อมูลจากโครมาโทแกรมไม่สามารถคำนวณค่า Rs ได้ ค่า Rs ที่รายงานเป็นค่าที่ได้จากการประมาณโดยเทียบกับเอกสารอ้างอิง [19]

ตารางที่ A3 ภาวะการแยกคู่ไอโซเมอร์ได้สมบูรณ์ resolution ใกล้เคียง 1.5 ($R_s \cong 1.5$)
ของแอลกอฮอล์ 32 ชนิด

สาร	temp (°C)	$t_{R,1}$ (min)	$t_{R,2}$ (min)	$W_{h,1}$ (min)	$W_{h,2}$ (min)	k'_2	α	R_s
PE	-							
mF-PE	82	7.061	7.278	0.0796	0.0816	12.35	1.03	1.58
pF-PE	96	4.076	4.190	0.0428	0.0443	6.88	1.03	1.54
oCl-PE	-							
mCl-PE	85	17.929	18.454	0.1966	0.2034	33.11	1.03	1.54
pCl-PE	125	3.618	3.714	0.0358	0.0377	6.21	1.03	1.54
oBr-PE	80	22.556	23.197	0.2466	0.2560	41.33	1.03	1.50
mBr-PE	82	38.093	39.239	0.4212	0.4359	71.00	1.03	1.57
pBr-PE	122	6.807	6.999	0.0722	0.0744	12.56	1.03	1.54
oMe-PE	-							
mMe-PE	-							
pMe-PE	87	8.989	9.261	0.1003	0.1044	16.18	1.03	1.56
oTFMe-PE	-							
mTFMe-PE	77	8.851	9.117	0.1017	0.1056	15.55	1.03	1.51
pTFMe-PE	103	3.683	3.785	0.0388	0.0401	6.20	1.03	1.52
oOMe-PE	100	8.096	8.327	0.0883	0.0917	14.74	1.03	1.51
mOMe-PE	-							
pOMe-PE	94	19.197	19.749	0.2082	0.2186	35.98	1.03	1.52
pNO2-PE	146	8.042	8.262	0.0834	0.0873	15.26	1.03	1.52
5F-PE	-							
PP	100	4.058	4.171	0.0427	0.0437	6.90	1.03	1.54
pF-PP	124	1.984	2.039	0.0199	0.0215	2.96	1.04	1.56
pCl-PP	139	2.793	2.869	0.0286	0.0280	4.61	1.03	1.58
pBr-PP	138	4.497	4.615	0.0443	0.0460	8.03	1.03	1.54
pMe-PP	108	4.775	4.908	0.0499	0.0511	8.38	1.03	1.55
pTFMe-PP	106	4.161	4.276	0.0439	0.0461	7.14	1.03	1.50
pOMe-PP	115	9.070	9.332	0.0989	0.1009	16.98	1.03	1.54
Me-PP	93	6.164	6.349	0.0695	0.0722	10.89	1.03	1.54
diMe-PP	100	5.246	5.397	0.0556	0.0571	9.22	1.03	1.58
P2P	70	25.817	26.598	0.2841	0.2979	46.33	1.03	1.58
PB	109	4.225	4.342	0.0440	0.0460	7.32	1.03	1.53
4HN	150	2.666	2.740	0.0278	0.0282	4.39	1.03	1.56

ตารางที่ A4 ภาวะการแยกคู่ไอโซเมอร์ได้สมบูรณ์ resolution ใกล้เคียง 2.0 ($R_s \cong 2.0$)
ของแอลกอฮอล์ 32 ชนิด

สาร	temp (°C)	$t_{R,1}$ (min)	$t_{R,2}$ (min)	$W_{h,1}$ (min)	$W_{h,2}$ (min)	k'_2	α	R_s
PE	-							
mF-PE	66	16.224	16.900	0.1864	0.1949	28.65	1.00	2.09
pF-PE	84	6.924	7.181	0.0728	0.0773	12.20	1.04	2.02
oCl-PE	-							
mCl-PE	-							
pCl-PE	115	5.386	5.581	0.0538	0.0573	9.73	1.04	2.07
oBr-PE	-							
mBr-PE	-							
pBr-PE	112	10.754	11.165	0.1161	0.1219	20.43	1.04	2.03
oMe-PE	-							
mMe-PE	-							
pMe-PE	-							
oTFMe-PE	-							
mTFMe-PE	72	11.528	11.948	0.1318	0.1132	20.26	1.04	2.02
pTFMe-PE	95	5.241	5.441	0.0565	0.0578	9.23	1.04	2.06
oOMe-PE	92	11.944	12.345	0.1144	0.1194	22.03	1.04	2.02
mOMe-PE	-							
pOMe-PE	-							
pNO ₂ -PE	-							
5F-PE	-							
PP	88	6.873	7.128	0.0721	0.0759	12.20	1.04	2.03
pF-PP	114	2.757	2.863	0.0293	0.0303	4.52	1.05	2.09
pCl-PP	132	3.573	3.698	0.0359	0.0371	6.21	1.04	2.02
pBr-PP	130	6.214	6.434	0.0625	0.0643	11.54	1.04	2.04
pMe-PP	100	6.735	6.979	0.0699	0.0720	12.22	1.04	2.02
pTFMe-PP	98	5.937	6.161	0.0622	0.0653	10.62	1.04	2.07
pOMe-PP	-							
Me-PP	85	8.892	9.219	0.0908	0.0977	16.01	1.04	2.04
diMe-PP	90	8.115	8.421	0.0860	0.0899	14.68	1.04	2.05
P2P	-							
PB	96	7.424	7.704	0.0779	0.0801	13.48	1.04	2.09
4HN	140	3.756	3.899	0.0410	0.0420	6.62	1.04	2.03

ประวัติผู้วิจัย

นางสาวชุตติกาญจน์ โห่งทับทิม เกิดเมื่อวันที่ 2 เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2539 ที่จังหวัดพิจิตร สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนบางมูลนากภูมิวิทยาคม จังหวัดพิจิตร เมื่อปี การศึกษา 2557 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2558

ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ บ้านเลขที่ 81/1 หมู่ 9 ตำบลบางไผ่ อำเภอบางมูลนาก จังหวัด พิจิตร รหัสไปรษณีย์ 66120 อีเมล panhongfa@hotmail.co.th