



โครงการ การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ	การวิเคราะห์สารระเหยง่ายในใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลักด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรีร่วมกับเฮดสเปซโซลิดเฟสไมโครเอ็กซ์แทรกชัน Analysis of volatile compounds in holy basil, Thai basil and hoary basil leaves using gas chromatography-mass spectrometry combined with headspace solid phase microextraction
ชื่อนิสิต	นายรัชกฤษ บุญรัตน์สมัย
ภาควิชา	เคมี
ปีการศึกษา	2560

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การวิเคราะห์สารระเหยง่ายในใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลักด้วย
เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรีร่วมกับเฮดสเปซโซลิดเฟส
ไมโครเอกซ์แทรกชัน

Analysis of volatile compounds in holy basil, Thai basil and
hoary basil leaves using gas chromatography-mass spectrometry
combined with headspace solid phase microextraction

โดย
นายรัชกฤษ บุญรัตน์สมัย


รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2560


โครงการ การวิเคราะห์สารระเหยง่ายในใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลักด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรีร่วมกับเฮดสเปซโซลิดเฟสไมโครเอกซ์แทรกชัน


โดย นายรัชกฤช บุญรัตนสมัย

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ

 ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุรัชย์ พรภคกุล)

 อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ ดร.ธรรมนูญ หนูจักร)

 กรรมการ
(อาจารย์ ดร.ชฎิล กุลสิงห์)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

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

วันที่ เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2561

คุณภาพของการเขียนรายงานเล่มนี้อยู่ในระดับ ดีมาก ดี พอใช้

ชื่อโครงการ การวิเคราะห์สารระเหยง่ายในใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลักด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรีร่วมกับเฮดสเปซโซลิดเฟสไมโครเอกซ์แทรกชัน

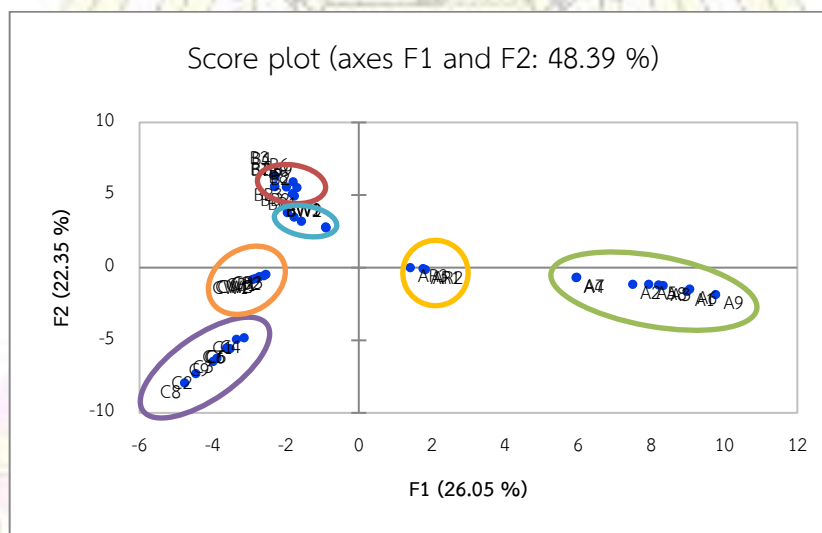
ชื่อนิสิตในโครงการ นายรัชกฤษ บุญรัตน์สมัย เลขประจำตัว 5733102923

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.ธรรมนุญ หนูจักร

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2560

บทคัดย่อ

ได้วิเคราะห์และเปรียบเทียบสารระเหยง่ายในใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลักด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี (GC-MS) ร่วมกับเทคนิคเฮดสเปซโซลิดเฟสไมโครเอกซ์แทรกชัน (HS-SPME) โดยใช้แคปิลลารีคอลัมน์ประเภท HP-5MS ขนาด 30 m x 0.25 mm x 0.25 μ m โดยวิเคราะห์ที่ละตัวแปร (single factor optimization) เพื่อหาภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลักด้วย HS-SPME พบว่าสภาวะที่เหมาะสมของ HS-SPME คือ อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดเท่ากับ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดเท่ากับ 45 นาที จากการพิสูจน์ทราบเอกลักษณ์ของสารระเหยง่ายในใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก โดยเปรียบเทียบแมสสเปกตรัมกับฐานข้อมูล NIST14 สามารถพิสูจน์ทราบเอกลักษณ์ของสารระเหยง่ายได้ทั้งหมด 74 ชนิด เมื่อใช้วิธีเคโมเมทริกซ์ชนิดการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (PCA) พบว่าสามารถจำแนกกลุ่มของตัวอย่างออกเป็น 6 กลุ่ม คือ ตัวอย่างใบกะเพราสด ใบโหระพาสด ใบแมงลักสด ใบกะเพราคั่ว ใบโหระพาลวกและน้ำที่ผ่านการลวก ใบแมงลักลวกและน้ำที่ผ่านการลวก ด้วยรูปแบบ PCA ที่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงบ่งชี้ได้ว่าสามารถใช้วิธี HS-SPME-GC-MS ร่วมกับวิธีเคโมเมทริกซ์ในการวิเคราะห์และเปรียบเทียบสารระเหยง่ายในใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลักได้



คำสำคัญ: ใบกะเพรา, ใบโหระพา, ใบแมงลัก, สารระเหยง่าย, เฮดสเปซโซลิดเฟสไมโครเอกซ์แทรกชัน, แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี, เคโมเมทริกซ์

Project Title Analysis of volatile compounds in holy basil, Thai basil and hoary basil leaves using gas chromatography-mass spectrometry combined with headspace solid phase microextraction

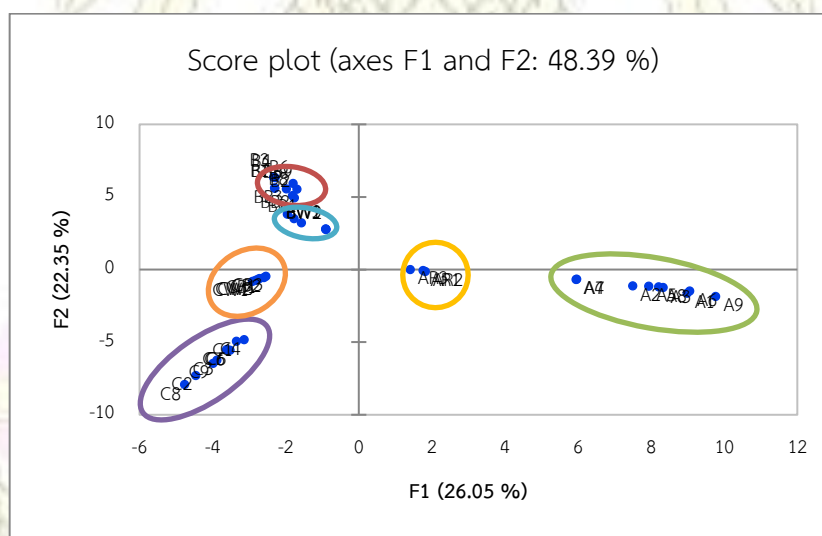
Student Name Mr. Tatchakrit Boonrattanasamai Student ID 5733102923

Advisor Name Associate Professor Thumnoon Nhujak, Ph.D.

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic Year 2017

Abstract

Volatile compounds in holy basil, Thai basil and hoary basil leaves were determined by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) combined with headspace solid phase microextraction (HS-SPME) using a capillary column of HP-5MS (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm). Using an experimental design called single factor optimization, the following suitable HS-SPME conditions were obtained: extraction temperature of 60 °C, extraction time of 45 minutes and desorption time of 5 minutes. Seventy-four volatile compounds were identified by comparing their mass spectra with those in the NIST14 database. Using principal component analysis (PCA), holy basil, Thai basil and hoary basil leaves were classified into six groups with different patterns in PCA, fresh holy basil leaves, fresh Thai basil leaves, fresh hoary basil leaves, roasted holy basil leaves, scalded Thai basil leaves with the boiled water and hoary basil leaves with the boiled water. This indicates that HS-SPME-GC-MS combined with chemometrics can be used to determine the volatile compounds in holy basil, Thai basil and hoary basil leaves.



Keywords: Holy basil, Thai basil, Hoary basil, Volatile compounds, Headspace solid phase microextraction, Gas chromatography-mass spectrometry, Chemometrics

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ธรรมบุญ หนูจักร อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการที่ท่านได้ใส่ใจดูแล ช่วยเหลือ และให้คำแนะนำในการแก้ไขปัญหาต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นตลอดระยะเวลาในการทำวิจัย รวมทั้งท่านได้ให้คำปรึกษาในการเขียนรายงานฉบับนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.สุรัชย์ พรภคกุล ที่ท่านได้ให้คำปรึกษา และคำแนะนำเพิ่มเติมเกี่ยวกับเนื้อหาที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยนี้ อีกทั้งท่านยังได้กรุณาสละเวลาเพื่อตรวจทาน แก้ไข และให้เกียรติเป็นประธานกรรมการในการสอบงานวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.ชฎิล กุลสิงห์ ที่ท่านได้ให้คำปรึกษา และคำแนะนำเพิ่มเติมเกี่ยวกับเนื้อหาที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยนี้ อีกทั้งท่านยังได้กรุณาสละเวลาเพื่อตรวจทาน แก้ไข และให้เกียรติเป็นกรรมการในการสอบงานวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณ คุณภูวดล ธรรมราชฤทธิ์ ที่คอยให้คำปรึกษาชี้แนะ ให้ความรู้ในการใช้เครื่องมือ และให้ความช่วยเหลือทุกด้านที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้การสนับสนุนการดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบพระคุณภาคิวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์ และสารเคมี ต่าง ๆ ที่ใช้ในงานวิจัยครั้งนี้ ตลอดจนบุคลากรฝ่ายต่าง ๆ ที่คอยให้ความช่วยเหลือโดยตลอดมา

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ญ
สัญลักษณ์และคำย่อ	ฎ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการเสนอโครงการ	1
1.2 วัตถุประสงค์และขอบเขตงานวิจัย	2
1.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
1.4 วัตถุประสงค์และขอบเขตของงานวิจัย	9
1.5 ประโยชน์ที่ได้รับจากงานวิจัย	9
บทที่ 2 การทดลอง	10
2.1 การหาอัตราการเพิ่มอุณหภูมิคอลัมน์ (temperature ramp rate)	11
2.2 การหาอัตราส่วนของสารที่เข้าคอลัมน์ (splitless and split ratio)	11
2.3 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างไบกะเพรา ไบโหระพา และใบแมงลักด้วยเทคนิคเฮดสเปซ โดยการวิเคราะห์ทีละตัวแปร (single factor optimization)	12
2.4 การระบุชนิดสารระเหยง่ายที่สำคัญซึ่งจะใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่างไบกะเพรา ไบโหระพา และใบแมงลัก	13
2.5 การวิเคราะห์ตัวอย่างไบกะเพรา ไบโหระพา และใบแมงลัก	13
2.6 การวิเคราะห์ตัวอย่างไบกะเพรา ไบโหระพา และใบแมงลักที่ผ่านกระบวนการทำอาหาร (cooking process)	14
2.7 การประมวลผลโดยวิธีเคโมเมทริกซ์	15
บทที่ 3 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง	16
3.1 การหาอัตราการเพิ่มอุณหภูมิคอลัมน์ (temperature ramp rate)	16
3.2 การหาอัตราส่วนของสารที่เข้าคอลัมน์ (splitless and split ratio)	17
3.3 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างไบกะเพรา ไบโหระพา และใบแมงลักด้วยเทคนิคเฮดสเปซ โดยการวิเคราะห์ทีละตัวแปร (single factor optimization)	19
3.4 การระบุชนิดสารระเหยง่ายที่สำคัญซึ่งจะใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่างไบกะเพรา ไบโหระพา และใบแมงลัก	22

3.5 การระบุชนิดสารระเหยง่ายที่สำคัญซึ่งจะใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่างใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลักจากการผ่านกระบวนการทำอาหาร	27
3.6 การประมวลผลโดยวิธีเคโมเมทริกซ์	33
บทที่ 4 สรุปลผลการทดลอง	37
เอกสารอ้างอิง	38
ภาคผนวก	40
ประวัติผู้วิจัย	55



สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 3-1 สารระเหยง่ายที่สำคัญ 75 สาร ในตัวอย่างใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก, ค่า retention time (RT), เลข CAS No. และค่า linear retention index (LRI)	23
ตารางที่ 3-2 ก) สารระเหยง่ายและค่า % change ของตัวอย่างใบกะเพราจากการผ่านกระบวนการทำอาหาร	27
ตารางที่ 3-2 ข) สารระเหยง่ายและค่า % change ของตัวอย่างใบโหระพาจากการผ่านกระบวนการทำอาหาร	28
ตารางที่ 3-2 ค) สารระเหยง่ายและค่า % change ของตัวอย่างใบแมงลักจากการผ่านกระบวนการทำอาหาร	29
ตารางที่ 3.6 ก) สัญลักษณ์ที่ใช้ในการประมวลผลโดยวิธีเคโอมเมทริกซ์ของใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลักสด	33
ตารางที่ 3.6 ข) สัญลักษณ์ที่ใช้ในการประมวลผลโดยวิธีเคโอมเมทริกซ์ของใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลักจากการผ่านกระบวนการทำอาหาร	33
ตารางที่ A-1 แสดง %Normalization ของสารระเหยง่ายลำดับที่ 1-15 ในตัวอย่างใบกะเพราสด และใบกะเพราคั่ว	40
ตารางที่ A-2 แสดง %Normalization ของสารระเหยง่ายลำดับที่ 16-30 ในตัวอย่างใบกะเพราสด และใบกะเพราคั่ว	41
ตารางที่ A-3 แสดง %Normalization ของสารระเหยง่ายลำดับที่ 31-45 ในตัวอย่างใบกะเพราสด และใบกะเพราคั่ว	42
ตารางที่ A-4 แสดง %Normalization ของสารระเหยง่ายลำดับที่ 46-60 ในตัวอย่างใบกะเพราสด และใบกะเพราคั่ว	43
ตารางที่ A-5 แสดง %Normalization ของสารระเหยง่ายลำดับที่ 61-74 ในตัวอย่างใบกะเพราสด และใบกะเพราคั่ว	44
ตารางที่ A-6 แสดง %Normalization ของสารระเหยง่ายลำดับที่ 1-15 ในตัวอย่างใบโหระพาสด ใบโหระพาลวก และน้ำลวก	45
ตารางที่ A-7 แสดง %Normalization ของสารระเหยง่ายลำดับที่ 16-30 ในตัวอย่างใบโหระพาสด ใบโหระพาลวก และน้ำลวก	46
ตารางที่ A-8 แสดง %Normalization ของสารระเหยง่ายลำดับที่ 31-45 ในตัวอย่างใบโหระพาสด ใบโหระพาลวก และน้ำลวก	47
ตารางที่ A-9 แสดง %Normalization ของสารระเหยง่ายลำดับที่ 46-60 ในตัวอย่างใบโหระพาสด ใบโหระพาลวก และน้ำลวก	48
ตารางที่ A-10 แสดง %Normalization ของสารระเหยง่ายลำดับที่ 61-74 ในตัวอย่างใบโหระพาสด ใบโหระพาลวก และน้ำลวก	49

ตารางที่ A-11 แสดง %Normalization ของสารระเหยง่ายลำดับที่ 1-15 ในตัวอย่างใบแมงลักสด ใบแมงลักลวก และน้ำลวก	50
ตารางที่ A-12 แสดง %Normalization ของสารระเหยง่ายลำดับที่ 16-30 ในตัวอย่างใบแมงลักสด ใบแมงลักลวก และน้ำลวก	51
ตารางที่ A-13 แสดง %Normalization ของสารระเหยง่ายลำดับที่ 31-45 ในตัวอย่างใบแมงลักสด ใบแมงลักลวก และน้ำลวก	52
ตารางที่ A-14 แสดง %Normalization ของสารระเหยง่ายลำดับที่ 46-60 ในตัวอย่างใบแมงลักสด ใบแมงลักลวก และน้ำลวก	53
ตารางที่ A-15 แสดง %Normalization ของสารระเหยง่ายลำดับที่ 61-74 ในตัวอย่างใบแมงลักสด ใบแมงลักลวก และน้ำลวก	54



สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 1-1 ส่วนประกอบอุปกรณ์โซลิตเฟสไมโครเอกซ์แทรกชัน	4
รูปที่ 1-2 ขั้นตอนการสกัดสาร	4
รูปที่ 1-3 ขั้นตอนการปลดปล่อยสาร	5
รูปที่ 1-4 รูปแสดงการวิเคราะห์ด้วยเมทริกซ์ของการวิเคราะห์ข้อมูลแบบ PCA	7
รูปที่ 1-5 การจัดกลุ่มข้อมูลด้วย PCA	7
รูปที่ 1-6 loading plot ของ PCA	8
รูปที่ 1-7 score plot ของ PCA	8
รูปที่ 3-1 a) โครมาโทแกรมของตัวอย่างใบกะเพรา ด้วยอัตราการเพิ่มอุณหภูมิคอลัมน์ 2.5 องศาเซลเซียสต่อนาที	16
รูปที่ 3-1 b) โครมาโทแกรมของตัวอย่างใบกะเพรา ด้วยอัตราการเพิ่มอุณหภูมิคอลัมน์ 3 องศาเซลเซียสต่อนาที	16
รูปที่ 3-1 c) โครมาโทแกรมของตัวอย่างใบกะเพรา ด้วยอัตราการเพิ่มอุณหภูมิคอลัมน์ 4 องศาเซลเซียสต่อนาที	16
รูปที่ 3-2 ก) โครมาโทแกรมที่วิเคราะห์ด้วยสภาวะ splitless a) ใบกะเพรา b) ใบโหระพา และ c) ใบแมงลัก	17
รูปที่ 3-2 ข) โครมาโทแกรมที่วิเคราะห์ด้วยสภาวะ split ratio 5:1 a) ใบกะเพรา b) ใบโหระพา และ c) ใบแมงลัก	18
รูปที่ 3-2 ค) โครมาโทแกรมที่วิเคราะห์ด้วยสภาวะ split ratio 10:1 a) ใบกะเพรา b) ใบโหระพา และ c) ใบแมงลัก	18
รูปที่ 3-3 ก) กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดสารระเหยง่ายในตัวอย่างใบกะเพรา กับ พื้นที่ใต้พีกรวมของสารในโครมาโทแกรมเฉลี่ย	19
รูปที่ 3-3 ข) กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดสารระเหยง่ายในตัวอย่างใบโหระพา กับ พื้นที่ใต้พีกรวมของสารในโครมาโทแกรมเฉลี่ย	20
รูปที่ 3-3 ค) กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดสารระเหยง่ายในตัวอย่างใบแมงลัก กับ พื้นที่ใต้พีกรวมของสารในโครมาโทแกรมเฉลี่ย	20
รูปที่ 3-3 ง) กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในการสกัดสารระเหยง่ายในตัวอย่างใบกะเพรา กับ พื้นที่ใต้พีกรวมของสารในโครมาโทแกรมเฉลี่ย	21
รูปที่ 3-3 จ) กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในการสกัดสารระเหยง่ายในตัวอย่างใบโหระพา กับ พื้นที่ใต้พีกรวมของสารในโครมาโทแกรมเฉลี่ย	21
รูปที่ 3-3 ฉ) กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในการสกัดสารระเหยง่ายในตัวอย่างใบแมงลัก กับ พื้นที่ใต้พีกรวมของสารในโครมาโทแกรมเฉลี่ย	22

รูปที่ 3-4 โคโรมาโทแกรมของสารระเหยง่ายที่สำคัญทั้งหมดที่สกัดได้จากตัวอย่าง a) ใบกะเพรา b) ใบโหระพา และ c) ใบแมงลัก	26
รูปที่ 3-5 ก) โคโรมาโทแกรมของสารระเหยง่ายในตัวอย่าง a) ใบกะเพราสด เปรียบเทียบกับ b) ใบกะเพราที่ผ่านกระบวนการทำอาหารโดยการคั่ว	31
รูปที่ 3-5 ข) โคโรมาโทแกรมของสารระเหยง่ายของตัวอย่างตัวอย่าง a) ใบโหระพาสด เปรียบเทียบ กับ b) ใบโหระพาที่ผ่านกระบวนการทำอาหารโดยการลวกและ c) น้ำลวก	32
รูปที่ 3-5 ค) โคโรมาโทแกรมของสารระเหยง่ายของตัวอย่างตัวอย่าง a) ใบแมงลักสดเปรียบเทียบกับ b) ใบแมงลักที่ผ่านกระบวนการทำอาหารโดยการลวกและ c) น้ำลวก	32
รูปที่ 3.6 ก) กราฟแสดงผล PCA ในการจัดกลุ่มตัวอย่างใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก และจากการผ่านกระบวนการทำอาหาร	34
รูปที่ 3.6 ข) กราฟแสดงผล PCA ในการจัดกลุ่มตัวอย่างใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลักสด	35
รูปที่ 3.6 ค) กราฟแสดงผล PCA ในการจัดกลุ่มตัวอย่างใบกะเพราสด ใบกะเพราที่ผ่าน กระบวนการทำอาหารโดยการคั่ว	35
รูปที่ 3.6 ง) กราฟแสดงผล PCA ในการจัดกลุ่มตัวอย่างใบโหระพาสด ใบโหระพาที่ผ่าน กระบวนการทำอาหารโดยการลวกและน้ำลวก	36
รูปที่ 3.6 จ) กราฟแสดงผล PCA ในการจัดกลุ่มตัวอย่างใบแมงลักสด ใบแมงลักที่ผ่านกระบวนการ ทำอาหารโดยการลวกและน้ำลวก	36



สัญลักษณ์และคำย่อ

GC-FID	=	gas chromatography with flame ionization detector
GC-MS	=	gas chromatography–mass spectrometry
HS-SPME	=	headspace–solid phase microextraction
MLR	=	multiple linear regression
PCA	=	principal component analysis
PLS	=	partial least square



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

พืชสกุล *Ocimum* อยู่ในกลุ่มของวงศ์ Lamiaceae ซึ่งมีมากกว่า 150 สายพันธุ์ หรือที่เรารู้จักกันในชื่อ พืชสกุลกะเพรา – โหระพา พืชสกุลนี้นิยมปลูกและเจริญเติบโตได้ดีในบริเวณที่อยู่ระหว่างเขตกึ่งร้อนกับเขตอบอุ่น (temperate region) โดยในแอฟริกาที่มีจำนวนสายพันธุ์มากที่สุด^[1] ในทวีปเอเชีย พบในประเทศอินเดีย ปากีสถาน อิหร่าน ไทย เป็นต้น พืชสกุลกะเพรา – โหระพานิยมนำมาประกอบอาหาร เช่น ใช้ทำซอสเปสโตในประเทศอิตาลี ใช้ทำน้ำสลัด เป็นต้น และยังนำมาทำเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น โลชั่นทาผิว น้ำยาสระผม น้ำหอม และสบู่^[2]

พืชสกุลกะเพรา – โหระพา เป็นพืชที่มีกลิ่นเป็นเอกลักษณ์เฉพาะ เนื่องจากมีองค์ประกอบของสารระเหยง่าย (volatile compounds) หลายชนิดเป็นองค์ประกอบ ในประเทศไทยนิยมนำส่วนของใบสดมาใช้ประกอบอาหารเพื่อปรุงแต่งกลิ่นให้อาหารให้มีกลิ่นหอมที่มีเอกลักษณ์ เช่น ผัดกะเพรา นิยมใส่ใบกะเพรา ลาบ นิยมใส่ใบโหระพา ขนมจีนนิยมนำใบแมงลัก โดยใบของพืชทั้ง 3 ชนิด น่าจะมีองค์ประกอบและปริมาณของสารระเหยที่แตกต่างกันออกไป^[3] ดังนั้นการสกัดสารระเหยง่ายจากใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก และตรวจสอบด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี ซึ่งเป็นวิธีที่เหมาะสมในการวิเคราะห์องค์ประกอบของใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก ซึ่งเป็นสารอินทรีย์ที่ระเหยง่าย น่าจะทำให้สามารถพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารระเหยง่ายได้ แล้วจึงนำข้อมูลที่ได้มาเปรียบเทียบ และจัดกลุ่มข้อมูลซึ่งจะช่วยบอกความเหมือนและความต่างของสารระเหยง่ายในใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลักได้

เนื่องจากการศึกษาเกี่ยวกับการวิเคราะห์สารระเหยง่ายในใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก ยังไม่เป็นที่แพร่หลาย ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะศึกษา และเปรียบเทียบสารระเหยง่ายของใบทั้ง 3 ชนิด โดยเลือกใช้เทคนิคเฮดสเปซโซลิดเฟสไมโครเอ็กซ์แทรกชัน (headspace-solid phase microextraction, HS-SPME) ซึ่งเป็นเทคนิคการสกัดและเก็บสารตัวอย่างที่ได้รับความนิยมมากในด้านเคมีวิเคราะห์ เนื่องจากเป็นเทคนิคที่ทำได้ง่าย ใช้เวลาน้อย และไม่มีการใช้ตัวทำละลายทำให้เกิดของเสียน้อย จากนั้นแยกตรวจวัดสารระเหยง่ายโดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี (gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS) ซึ่งเป็นวิธีที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารประกอบอินทรีย์ที่กลายเป็นไอได้ง่าย การตรวจวัดด้วยแมสสเปกโตรเมตรีนั้นสามารถทำนายชนิดขององค์ประกอบที่มีอยู่ในสารได้ค่อนข้างถูกต้องโดยอาศัยการเปรียบเทียบข้อมูลทางมวลและรูปแบบการแตกตัวจำเพาะของสารกับฐานข้อมูลที่มีอยู่ นอกจากนี้ยังสามารถวิเคราะห์ได้ทั้งในเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพได้ด้วย และยังได้นำวิธีเคมิเมตริกซ์ (chemometrics) ซึ่งเป็นวิธีที่เกี่ยวข้องกับสถิติหลายตัวแปร (multivariate statistical analysis)^[4] มาช่วยในการออกแบบการทดลอง การประมวลผลการทดลอง และการจัดกลุ่มข้อมูล เนื่องจากผลการวิเคราะห์ที่ได้จาก GC-MS มีจำนวนมากและ

ซับซ้อน การนำเทคนิคเคโมเมทริกซ์มาประยุกต์ใช้จะทำให้สามารถระบุความแตกต่างของสารระเหยง่ายในใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลักได้อย่างถูกต้องมากยิ่งขึ้น

1.2 วัตถุประสงค์และขอบเขตของการวิจัย

Arthur และ Pawliszyn^[5] ได้พัฒนาเทคนิคเฮดสเปซ-โซลิดเฟสไมโครเอกซ์แทรกชัน (HS-SPME) ซึ่งเป็นวิธีที่สามารถตรวจวัดสารระเหยง่ายในอาหาร และเครื่องดื่มได้ โดยเป็นเทคนิคในการสกัดสารระเหยง่ายในตัวอย่างไว้บนของแข็งขนาดเล็ก และเก็บสารตัวอย่างที่ได้รับความนิยมมากในด้านเคมีวิเคราะห์ เนื่องจากเป็นเทคนิคที่ทำได้ง่าย ประหยัดเวลา และไม่ต้องใช้ตัวทำละลายในการสกัดสาร อีกทั้งยังเป็นเทคนิคที่ใช้ได้กับสารตัวอย่างที่มีคุณสมบัติเป็นสารระเหยง่ายที่อยู่ในรูปของแข็ง ของเหลว และแก๊ส^[6]

เทคนิค HS-SPME ได้ประสบความสำเร็จในการวิเคราะห์องค์ประกอบสารระเหยง่ายในอาหาร เช่น Vichi และคณะ^[7] ได้ใช้เทคนิค HS-SPME ร่วมกับ GC-FID วิเคราะห์สารประกอบระเหยง่ายในน้ำมันมะกอก Ibanez และคณะ^[8] ใช้เทคนิค HS-SPME ร่วมกับ GC-MS เพื่อวิเคราะห์สารประกอบระเหยง่ายในผลไม้ เช่น ราสเบอร์รี่ สตรอเบอร์รี่ แบล็คเบอร์รี่ กล้วย และมะม่วง และเปรียบเทียบปริมาณสารระเหยง่ายเหล่านั้นระหว่างผลไม้สดกับผลไม้ที่ถูกลำมาเก็บไว้ Klima'nkova' และคณะ^[9] ได้พัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์สารประกอบระเหยง่ายของใบโหระพา 5 สายพันธุ์ที่ผ่านการปลูกแบบอินทรีย์ โดยใช้ HS-SPME ร่วมกับ GC-MS พบว่ามีสารประกอบระเหยง่าย 5 ชนิดหลักที่พบในใบโหระพา คือ Linalool, methyl chavicol, eugenol, bergamotene, และ methyl cinnamate โดยโหระพาทั้ง 5 สายพันธุ์มีปริมาณที่แตกต่างกัน นอกจากนี้ยังพบว่าใบโหระพาแห้งและแช่เย็น มีองค์ประกอบของ sesquiterpenes, hydrocarbons, benzenoid compounds, และ monoterpene hydrocarbons น้อยกว่าที่พบในใบโหระพาสด

เนื่องจากข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์สารระเหยง่ายจัดเป็นข้อมูลที่มีความซับซ้อนและมีจำนวนมาก ดังนั้นการพิจารณาและการประมวลผลข้อมูลจึงต้องอาศัยเทคนิคทางเคโมเมทริกซ์มาช่วยในการจำแนกข้อมูล ซึ่งเคโมเมทริกซ์เป็นเทคนิคที่อาศัยหลักการที่เกี่ยวข้องกับสถิติหลายตัวแปร เพื่อใช้ในการจัดแบ่งกลุ่มตามความเหมือนและความต่างกันของสารตัวอย่างจากข้อมูลของสารเคมีที่ตรวจวัดได้จาก GC-MS

ตัวอย่างงานวิจัยที่ใช้เทคนิคทาง GC-MS ร่วมกับเคโมเมทริกซ์ เช่น Olsson และคณะ^[10] ได้วิเคราะห์หาปริมาณของ ochratoxin A และ deoxynivalenol ในข้าวบาร์เลย์ที่มีกลิ่นและไม่กลิ่น โดยใช้เทคนิค GC-MS และนำข้อมูลของสารระเหยที่ได้มาประมวลผลด้วยวิธีเคโมเมทริกซ์ชนิด PCA และ PLS เพื่อบอกความแตกต่างของปริมาณของ ochratoxin A และ deoxynivalenol ในข้าวบาร์เลย์ที่มีกลิ่นและไม่กลิ่นได้

Cheng และคณะ^[11] ได้ศึกษาสารระเหยง่ายในผลหยางเหมย (bayberry) 3 สายพันธุ์ คือ Biqi, Dongkui และ Fenhongzhong ที่ถูกเก็บเป็นเวลาต่าง ๆ โดยใช้เทคนิค GC-MS และนำข้อมูลของสารระเหยที่ได้มาประมวลผลด้วยวิธีเคโมเมทริกซ์ชนิด PCA เพื่อบอกความแตกต่างของหยางเหมยแต่ละสายพันธุ์ได้

Freitas และคณะ^[12] ได้ศึกษาสารระเหยง่ายที่ให้กลิ่นของกาแพที่ใช้กระบวนการคั่ว และกระบวนการผลิตที่เหมือนกัน แต่มาจากแหล่งผลิตที่แตกต่างกันทั้งหมด 8 แหล่ง โดยใช้เทคนิค GC-MS แล้วนำข้อมูลของสารระเหยง่ายที่ได้จากการวิเคราะห์มาประมวลผลด้วยวิธีเคโมเมทริกซ์ชนิด PCA เพื่อบอกความแตกต่างของกาแพที่มาจากแหล่งผลิตที่แตกต่างกันได้

Venskutonis และคณะ^[13] ได้ศึกษาผลของรังสีเบต้าและแกมมา และเวลาในการเก็บตัวอย่างที่ส่งผลกับองค์ประกอบของสารระเหยง่ายในใบโหระพา พบว่ามีสารระเหยง่าย 65 ชนิด ที่สามารถระบุได้จากการสกัด โดยมี methylchavicol เป็นองค์ประกอบหลักถึง 88% และพบว่าองค์ประกอบหลักสารประกอบระเหยง่ายในใบโหระพามีปริมาณลดลงระหว่างการเก็บตัวอย่าง และมีผลเพียงเล็กน้อยกับปริมาณของ methyl-chavicol, methyleugenol และ 1,8-cineole

Chang และคณะ^[14] ได้ศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีผลต่อสารประกอบระเหยง่ายในน้ำมันของใบโหระพา พบว่าโหระพาที่ปลูกที่อุณหภูมิ 25°C มีปริมาณสารประกอบระเหยง่ายในน้ำมันหอมระเหยมากกว่าโหระพาที่ปลูกที่อุณหภูมิ 15°C และอุณหภูมิมีผลต่อองค์ประกอบของสารระเหยง่ายในน้ำมันหอมระเหย พบว่าในสภาวะอุ่นทำให้มีการสะสมของ eugenol เพิ่มขึ้น 4 เท่า ส่งผลกับรสชาติเฉพาะของโหระพา นอกจากนี้มีการวิเคราะห์เชิงประสาทสัมผัสด้วยผู้ผ่านการอบรมเชิงประสาทสัมผัส พบว่า 18 คน จาก 21 คน รับรู้ความแตกต่างของความเข้มข้นของสารระเหยง่ายในน้ำมันหอมระเหยของใบโหระพา

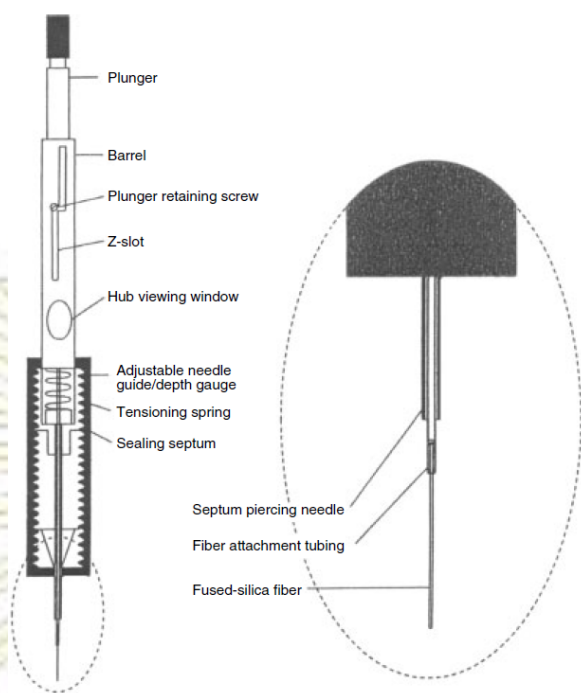
1.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1.3.1 เทคนิคเฮดสเปซ-โซลิดเฟสไมโครเอกซ์แทรกชัน (HS-SPME)

ในปี ค.ศ. 1990 Arthur C.L. และ Pawliszyn J.^[15] ได้พัฒนาเทคนิค HS-SPME ขึ้นซึ่งเป็นเทคนิคการสกัดสารระเหยง่ายในตัวอย่าง (ของแข็ง ของเหลว หรือแก๊ส) ที่บรรจุอยู่ในขวดเก็บตัวอย่างที่มีพื้นที่ว่าง เรียกว่าเฮดสเปซ (headspace, HS) เพื่อให้ไฟเบอร์ของ SPME ดูดซับสารระเหยง่ายจากเฮดสเปซ ดังรูปที่ 1-1 แล้วจึงปล่อยสารระเหยง่ายดังกล่าวเข้าสู่ส่วนปล่อยสารของเครื่อง GC ดังนั้นหลักการของ HS-SPME ประกอบด้วย 2 ขั้นตอน^[16] คือ (1) Extraction Step โดยพอลิเมอร์ที่เคลือบอยู่บนไฟเบอร์จะทำหน้าที่ดูดซับสารระเหยง่ายจากตัวอย่างบริเวณเฮดสเปซในขวดเก็บตัวอย่าง (2) Desorption Step นำไฟเบอร์ที่ดูดซับสารตัวอย่างมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS เพื่อปลดปล่อยสารตัวอย่างออกจากไฟเบอร์ที่บริเวณส่วนปล่อยสารของเครื่อง GC-MS

ข้อดีของการเตรียมสารโดยเทคนิค HS-SPME คือ เป็นเทคนิคการสกัดที่ง่าย มีประสิทธิภาพสูง ใช้เวลาน้อย และไม่ต้องใช้ตัวทำละลายในการสกัดสารทำให้เกิดของเสียน้อย

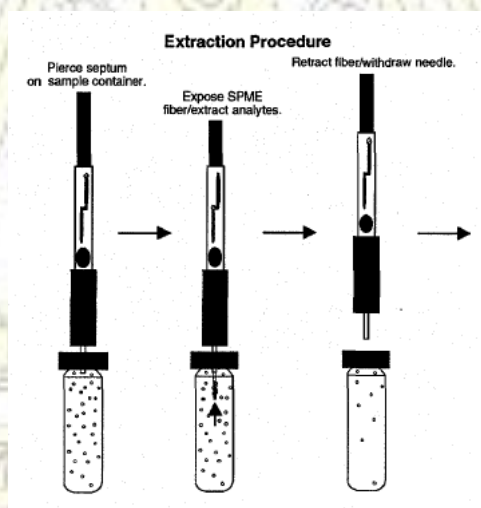
ข้อด้อยของการเตรียมสารโดยเทคนิค HS-SPME คือ เป็นอุปกรณ์ที่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศ มีราคาสูง การใช้งานต้องระมัดระวัง เนื่องจากไฟเบอร์ค่อนข้างเปราะหักง่าย โดยเฉพาะในตัวอย่างที่เป็นของแข็งผลของสารรบกวน (matrix effect) จะส่งผลต่อการวิเคราะห์ค่อนข้างมาก



รูปที่ 1-1 ส่วนประกอบอุปกรณ์โพลีเอทิลีนไมโครเอกซ์แทรกชัน^[18]

หลักการทำงานของ SPME ประกอบด้วย 2 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนการสกัดสาร (Extraction) และ ขั้นตอนการปลดปล่อยสาร (Desorption)

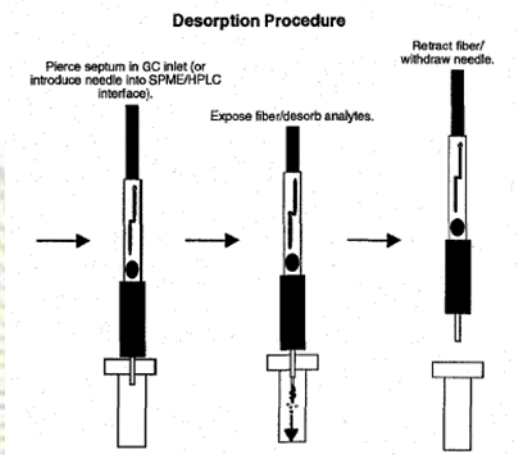
ขั้นตอนการสกัดสารประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ดังรูปที่ 1-2



รูปที่ 1-2 ขั้นตอนการสกัดสาร^[19]

- 1) เจาะเข็ม SPME ผ่าน septum ของขวดบรรจุสารตัวอย่าง หลังจากปล่อยให้อยู่ในสภาวะสมดุลของสารระเหยง่ายใน HS ของตัวอย่าง
- 2) ปล่อยให้ไฟเบอร์ออกมาจาก septum piercing needle ลงไปในบริเวณ เฮดสเปซ เพื่อให้เกิดการดูดซับของสารระเหยง่ายบนไฟเบอร์
- 3) เก็บไฟเบอร์เข้าไปใน septum piercing needle และดึงเข็ม SPME ออกจากขวดบรรจุสารตัวอย่าง เพื่อเข้าสู่ขั้นตอนการปลดปล่อยสาร

ขั้นตอนการปลดปล่อยสารประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ดังรูปที่ 1-3



รูปที่ 1-3 ขั้นตอนการปลดปล่อยสาร^[19]

- 1) นำ septum piercing needle เจาะเข้าไปที่ส่วนฉีดสารของเครื่อง GC-MS ที่อุณหภูมิสูง
- 2) ปล่อยให้ไฟเบอร์ออกมาจาก septum piercing needle เพื่อปลดปล่อยสารที่ต้องการวิเคราะห์ให้เข้าสู่ส่วนฉีดสารของเครื่อง GC-MS
- 3) เมื่อครบกำหนดเวลาที่ปลดปล่อยสารออกจากไฟเบอร์จนหมด ให้เก็บไฟเบอร์เข้าไปใน septum piercing needle และนำเข็ม SPME ออกจากส่วนฉีดสารของเครื่อง GC-MS

1.3.2 แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี (GC-MS)

เป็นเทคนิคที่ใช้ในการวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณสารที่กลายเป็นไอได้ง่าย ซึ่งเป็นวิธีที่ได้รับความนิยมอย่างมาก เนื่องจากมีประสิทธิภาพสูง มีความจำเพาะ (specificity) ต่อการวัดสูง มีสภาพไว (sensitivity) ในการวัดสูง และให้ข้อมูลแมสสเปกตรัม (mass spectrum) ของสารที่สามารถใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์สารได้อย่างมีประสิทธิภาพ

1.3.2.1 หลักการแก๊สโครมาโทกราฟี

โครมาโทกราฟี เป็นเทคนิคการแยกสารที่เกี่ยวข้องกับสมดุลการกระจายตัว (distribution) ขององค์ประกอบต่าง ๆ ในตัวอย่างระหว่างวัฏภาค (phase) 2 ชนิด คือ วัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) ซึ่งทำหน้าที่พาองค์ประกอบของตัวอย่างให้เคลื่อนที่ผ่านวัฏภาคนิ่ง (stationary phase) ซึ่งทำหน้าที่แยกสารผสมออกจากกัน โดยอาศัยความแตกต่างของการเกิดอันตรกิริยา (interaction) ระหว่างองค์ประกอบตัวอย่างแต่ละชนิดกับวัฏภาคนิ่ง โดยความแตกต่างดังกล่าวเป็นผลจากความแตกต่างของคุณสมบัติทางเคมีของสาร ทำให้สารผสมเกิดการแยกออกเป็นองค์ประกอบต่างๆ ในที่สุด สำหรับแก๊สโครมาโทกราฟี (gas chromatography) เป็นเทคนิคหนึ่งในโครมาโทกราฟีที่ใช้แก๊สพา (carrier gas) เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ เหมาะสำหรับการใช้แยกสารที่ระเหยง่าย (volatility) และมีเสถียรภาพทางความร้อน (thermal stability) โดยแก๊สพาจะต้องมีความบริสุทธิ์สูง ซึ่งแก๊สที่นิยมใช้เป็นแก๊สพา คือ ไนโตรเจน ฮีเลียม หรือ ไฮโดรเจน โดยทั่วไปนิยมใช้แก๊สฮีเลียมสำหรับคอลัมน์แคปิลลารี (capillary column) เมื่อตัวอย่างที่กลายเป็นไอที่จุดฉีด (injection port) แก๊สพาจะพา

องค์ประกอบของตัวอย่างเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์แคปิลลารี ซึ่งเป็นท่อปลายเปิดที่ผนังด้านในเคลือบด้วยวัสดุอินทรีย์ซึ่งโดยทั่วไปเป็นวัสดุของเหลว (liquid phase) ที่สามารถทนอุณหภูมิของเตาคอลัมน์ (column oven) ได้สูง องค์ประกอบในตัวอย่างจะถูกแยกออกจากคอลัมน์ตามลำดับของจุดเดือด หรือความมีขั้วของสาร และตรวจวัดด้วยดีเทคเตอร์ (detector) ที่เหมาะสม ผลที่ได้จากการแยกและตรวจวัดสารที่ออกมาจากคอลัมน์เรียกว่า โครมาโทแกรม (chromatogram) ซึ่งให้ข้อมูลที่สำคัญ 2 ชนิด คือ รีเทนชันไทม์ (retention time) เป็นเวลาที่สารแต่ละชนิดถูกรังอยู่ในคอลัมน์ เป็นข้อมูลที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพหรือบ่งบอกชนิดของสารเทียบกับรีเทนชันไทม์ของสารมาตรฐาน อีกชนิดหนึ่ง คือ ความสูงหรือพื้นที่ของพีก (peak) การที่ผลการแยกของสารในเทคนิค GC ปรากฏให้เห็นเป็นพีกในโครมาโทแกรม (chromatogram) นั้นเป็นผลจากการกระจายตัวขององค์ประกอบแต่ละชนิดในคอลัมน์ภายหลังการแยก ซึ่งสารแต่ละชนิดจะมีรีเทนชันไทม์ที่แตกต่างกันเป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัวซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณสาร^[20]

1.3.3 เคมีเมทริกซ์

เคมีเมทริกซ์ คือ วิธีการประมวลผลข้อมูลที่ถูกนำมาใช้อย่างมากในทางเคมีวิเคราะห์ ซึ่งเป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับใช้จัดกลุ่มผลการทดลองที่มีปริมาณมาก และกรองข้อมูลที่สำคัญออกมาโดยใช้ความรู้พื้นฐานทางสถิติ การนำเสนอข้อมูลของเคมีเมทริกซ์สามารถแบ่งออกได้ 2 วิธี ได้แก่ unsupervised method และ supervised method^[21]

1.3.3.1 Unsupervised method

เป็นหลักการที่สามารถประยุกต์ใช้ทางเคมีได้โดยตรง โดยเป็นหลักการวิเคราะห์ข้อมูลเชิงสำรวจซึ่งสามารถใช้จัดกลุ่มของตัวอย่าง แบ่งออกเป็น 2 วิธี ได้แก่ hierarchiral cluster analysis (HCA) และ principal component analysis (PCA)

1.3.3.2 Supervised method

หลักการของการวิเคราะห์ข้อมูลแบบ supervised นั้นจะต้องสกัดกลุ่มของข้อมูลก่อนจึงจะสามารถจัดกลุ่มของข้อมูลในระดับของคลาส (class) ได้ อีกทั้งยังเป็นวิธีการทำนายและจัดกลุ่มของข้อมูลที่ยังไม่ทราบกลุ่มได้อีกด้วย

1.3.4 Principal Component Analysis (PCA)

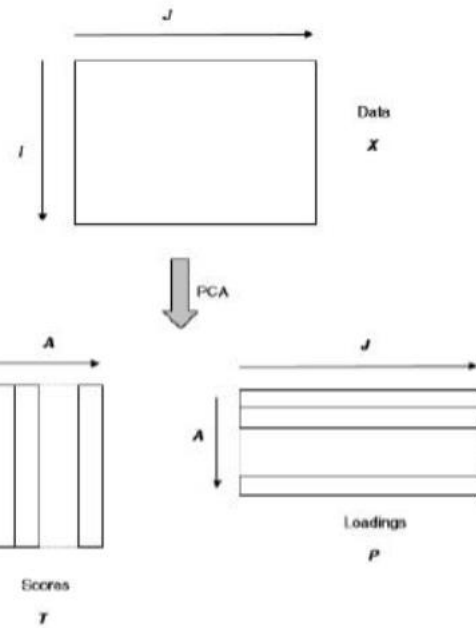
เป็นวิธีการศึกษาความสัมพันธ์ของข้อมูลเพื่อหาสิ่งที่คล้ายคลึง และแตกต่างกันของชุดข้อมูล วิธีนี้สามารถลดปริมาณตัวแปรเมื่อข้อมูลนั้นมีความสัมพันธ์กัน โดย PCA จะประมวลผลข้อมูลในรูปแบบทางคณิตศาสตร์ คือ เมทริกซ์ โดยที่มีรูปแบบของสมการ คือ

$$X = T \cdot P + E$$

โดย T เรียกว่า score คือ ข้อมูลที่อยู่ในแนวแถว

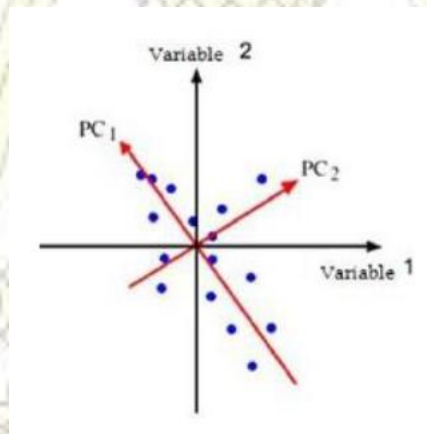
P เรียกว่า loading คือ ข้อมูลที่อยู่ในแนวคอลัมน์

และจำนวนคอลัมน์ในเมทริกซ์ T จะมีจำนวนเท่ากับจำนวนแถวในเมทริกซ์ P ดังรูปที่ 1-4



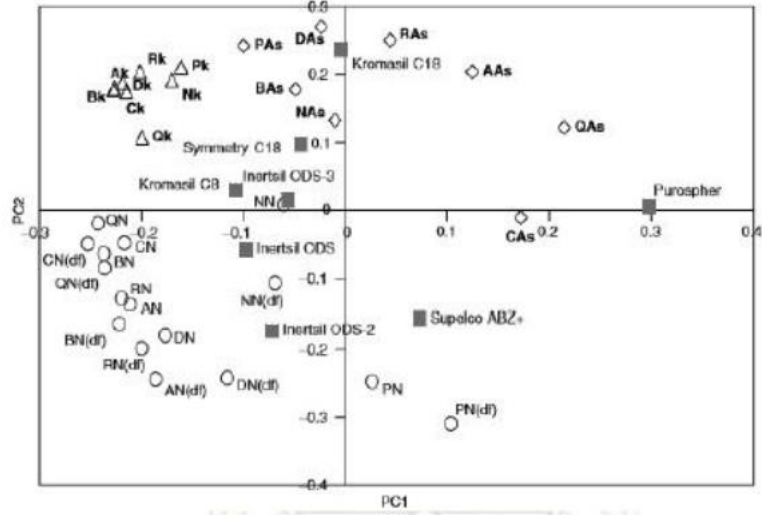
รูปที่ 1-4 รูปแสดงการวิเคราะห์ด้วยเมทริกซ์ของการวิเคราะห์ข้อมูลแบบ PCA^[21]

สำหรับการวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้สิ่งที่จำเป็น คือ ชุดข้อมูลที่อยู่ในแนวคอลัมน์เรียกว่าตัวแปร (variable) เป็นปริมาณของสารชนิดต่าง ๆ ที่ตรวจวัดได้ และข้อมูลที่อยู่ในแนวแถวเรียกว่าตัวอย่าง (sample) ซึ่งเป็นชนิดของตัวอย่างที่ใช้ศึกษา และต้องใช้แกน PC1 และ PC2 ที่ลากผ่านจุดสำคัญขององค์ประกอบหลักในการอธิบายจุดสำคัญในกราฟ ดังรูปที่ 1-5

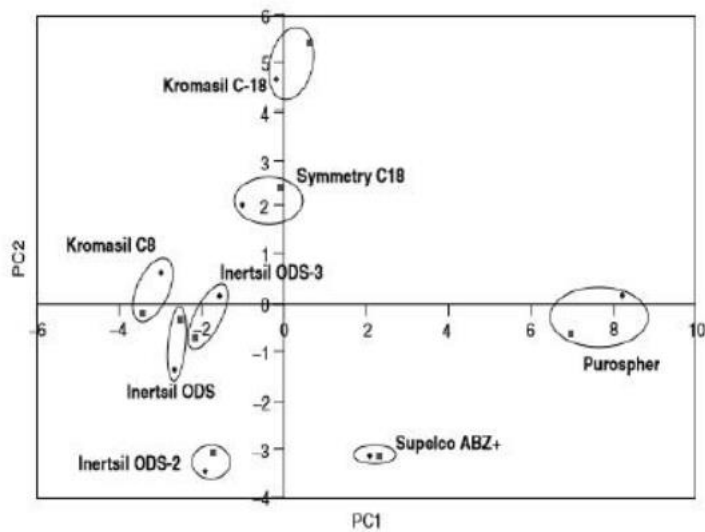


รูปที่ 1-5 การจัดกลุ่มข้อมูลด้วย PCA^[22]

การประมวลผลด้วย PCA ข้อมูลจากการประมวลผลของหนึ่งตัวอย่างจะแทนด้วยจุดหนึ่งจุด ดังนั้น ข้อมูลที่มีองค์ประกอบคล้ายกันจะมีตำแหน่งใกล้เคียงกัน และข้อมูลที่แตกต่างกันจะมีตำแหน่งที่กระจายตัวออกไป ซึ่งสามารถแบ่งกราฟผลของ PCA ออกได้ 2 แบบ ได้แก่ loading plot และ score plot ดังรูปที่ 1-6 และรูปที่ 1-7 ตามลำดับ



รูปที่ 1-6 loading plot ของ PCA^[21]



รูปที่ 1-7 score plot ของ PCA^[21]

1.4 วัตถุประสงค์และขอบเขตของงานวิจัย

วัตถุประสงค์

เพื่อวิเคราะห์และเปรียบเทียบสารระเหยง่ายในใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลักด้วยเทคนิค HS-SPME-GC-MS

ขอบเขตงานวิจัย

- ทาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์สารระเหยง่ายในใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลักด้วยเทคนิค HS-SPME-GC-MS
- วิเคราะห์ตัวอย่างใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลักด้วยเทคนิค HS-SPME-GC-MS
- ประมวลผลที่ได้จากการวิเคราะห์ตัวอย่างใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก โดยวิธีทางสถิติ และ Chemometrics

1.5 ประโยชน์ที่ได้รับจากงานวิจัย

ความต่างของชนิดและปริมาณของสารระเหยง่ายที่อยู่ในใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก



บทที่ 2

การทดลอง

เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1. เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์ประกอบด้วย
 - 1.1 เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีของ Agilent รุ่น 7890A
 - 1.2 ตัวตรวจวัดแมสสเปกโตรมิเตอร์ของ Agilent รุ่น 7000
2. คอลัมน์กะพิลลารี (capillary column) HP-5MS (30m x 0.25mm x 0.25 μ m)
3. อุปกรณ์โซลิดเฟสไมโครเอกซ์แทรกชัน (solid phase microextraction) ของ Supelco (50/30 μ m DVB/CAR/PDMS)
4. ขวด (vial) ขนาด 20 มิลลิลิตร
5. ฟาอะลูมิเนียม (crimp)
6. เครื่องหนีงฟาอะลูมิเนียม (crimper)
7. เครื่องให้ความร้อน (hot plate)
8. เครื่องชั่งน้ำหนัก (Analytical balance)

สารเคมี

1. แก๊สฮีเลียม
2. ตัวอย่างใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก



2.1 การหาอัตราการเพิ่มอุณหภูมิ (temperature ramp rate)

2.1.1 กำหนดสภาวะของเครื่อง GC-MS

อุณหภูมิของเตาอบ	40	องศาเซลเซียส
อุณหภูมิของส่วนฉีดสาร	260	องศาเซลเซียส
อุณหภูมิของแหล่งกำเนิดไอออน	230	องศาเซลเซียส
อุณหภูมิของ MS quadrupole	150	องศาเซลเซียส
อัตราการไหลของแก๊สฮีเลียม	2.00	มิลลิลิตรต่อนาที
อัตราการไหลของแก๊สตัวพา	51.282	เซนติเมตรต่อวินาที

2.1.2 กำหนดสภาวะอุณหภูมิในคอลัมน์ของเครื่อง GC-MS

อุณหภูมิเริ่มต้น	40	องศาเซลเซียส
อุณหภูมิมกลาง	200	องศาเซลเซียส
อุณหภูมิสุดท้าย	250	องศาเซลเซียส
เวลาเริ่มต้น	0	นาที
เวลากลาง	0	นาที
เวลาสุดท้าย	4	นาที
อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 1	4	องศาเซลเซียสต่อนาที
อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 2	50	องศาเซลเซียสต่อนาที

2.1.3 ชั่งตัวอย่างไบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลักส่วนที่หั่นเป็นชิ้นเล็ก 0.500 ± 0.001 กรัม ลงในขวดบรรจุ (vial) ขนาด 20 มิลลิลิตร จากนั้นปิดขวดด้วยฝาอะลูมิเนียม

2.1.4 หาอัตราการเพิ่มอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดสารระเหยง่ายในตัวอย่างไบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก โดยสกัดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ซึ่งจะกำหนดเวลาในการสกัดไว้ที่ 45 นาที โดยเริ่มทดลองจากอัตราการเพิ่มอุณหภูมิคอลัมน์ 2.5, 3 และ 4 องศาเซลเซียสต่อนาที แต่ละอัตราการเพิ่มอุณหภูมิทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง นำสารระเหยง่ายที่สกัดได้ฉีดเข้าเครื่อง GC-MS ปลดปล่อยสารในส่วนปลดปล่อยสารของเครื่อง GC-MS เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นพิจารณาโครมาโทแกรมของแต่ละอุณหภูมิ

2.1.5 หาพื้นที่ใต้พีคของสารรวม (total peak area) ในแต่ละโครมาโทแกรม และเลือกอุณหภูมิในการสกัดที่ให้โครมาโทแกรมที่มีพื้นที่ใต้พีคของสารรวมมากที่สุด

2.2 การหาอัตราส่วนของสารที่เข้าคอลัมน์ (splitless and split ratio)

2.2.1 กำหนดสภาวะของเครื่อง GC-MS ดังการทดลองที่ 2.1.1 และกำหนดสภาวะอุณหภูมิในคอลัมน์ของเครื่อง GC-MS ดังการทดลองที่ 2.1.2

- 2.2.2 ชั่งตัวอย่าง ดังการทดลองที่ 2.1.3 แล้วไปให้ความร้อนด้วยเครื่องให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 นาที โดยระหว่างให้ความร้อนใช้อุปกรณ์ HS-SPME สำหรับดูดซับสารระเหยง่าย และปลดปล่อยสารในส่วนปลดปล่อยสารของเครื่อง GC-MS เป็นเวลา 5 นาที
- 2.2.3 ตั้งสภาวะของเครื่อง GC-MS เป็น splitless และทดลองฉีดสารสกัดระเหยง่ายในตัวอย่างใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลักเข้าเครื่อง GC-MS จากนั้นพิจารณาโครมาโทแกรมที่ได้
- 2.2.4 ตั้งสภาวะของเครื่อง GC-MS เป็น split ratio และทดลองฉีดสารสกัดระเหยง่ายในตัวอย่างใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลักเข้าเครื่อง GC-MS โดยเริ่มการทดลองจากค่า split ratio 5:1 10:1 และจากนั้นพิจารณาโครมาโทแกรมของแต่ละอัตราส่วนแล้วนำผลที่ได้มาเปรียบเทียบกับกัน

Split ratio คำนวณได้จากสูตร

$$\text{Split ratio} = \frac{(\text{อัตราการไหลของสารที่ฉีดเข้าสู่คอลัมน์} + \text{อัตราการไหลของสารที่ฉีดทิ้งทาง split vent})}{\text{อัตราการไหลของสารที่ฉีดเข้าสู่คอลัมน์}}$$

- 2.2.5 เลือกอัตราส่วนของสารที่ฉีดเข้าสู่คอลัมน์ที่ให้โครมาโทแกรมที่มีลักษณะของพีกแยกออกจากกันได้มากที่สุด และเห็นพีกชัดเจน เพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

2.3 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก ด้วยเทคนิคเฮดสเปซ โดยการวิเคราะห์ทีละตัวแปร (single factor optimization)

- 2.3.1 กำหนดสภาวะของเครื่อง GC-MS ดังการทดลองที่ 2.1.1 และกำหนดสภาวะอุณหภูมิในคอลัมน์ของเครื่อง GC-MS ดังการทดลองที่ 2.1.2 และชั่งตัวอย่าง ดังการทดลองที่ 2.1.3
- 2.3.2 หาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดสารระเหยง่ายในตัวอย่างใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก โดยเริ่มสกัดที่อุณหภูมิ 45, 60 และ 75 องศาเซลเซียส ซึ่งจะกำหนดเวลาในการสกัดไว้ที่ 45 นาที โดยแต่ละอุณหภูมิทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง นำสารระเหยง่ายที่สกัดได้ฉีดเข้าเครื่อง GC-MS ปลดปล่อยสารในส่วนปลดปล่อยสารของเครื่อง GC-MS เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นพิจารณาโครมาโทแกรมของแต่ละอุณหภูมิ
- 2.3.3 หาพื้นที่ใต้พีกของสารรวม (total peak area) ในแต่ละโครมาโทแกรม และเลือกอุณหภูมิในการสกัดที่ให้โครมาโทแกรมที่มีพื้นที่ใต้พีกของสารรวมมากที่สุด
- 2.3.4 หาเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสารระเหยง่ายในตัวอย่างใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก โดยเริ่มสกัดที่เวลา 15, 30 และ 45 นาที ซึ่งจะกำหนดอุณหภูมิในการสกัดไว้ตามที่เลือกจากการทดลองที่ 2.3.3 โดยแต่ละเวลาทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง นำสารระเหยง่ายที่สกัดได้ฉีดเข้าเครื่อง GC-MS ปลดปล่อยสารในส่วนปลดปล่อยสารของเครื่อง GC-MS เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นพิจารณาโครมาโทแกรมของแต่ละเวลา

2.3.5 หาพื้นที่ใต้พีกของสารรวม (total peak area) ในแต่ละโครมาโทแกรม และเลือกเวลาในการสกัดที่ให้โครมาโทแกรมที่มีพื้นที่ใต้พีกของสารรวมมากที่สุด

2.4 การระบุชนิดสารระเหยง่ายที่สำคัญซึ่งจะใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่างไบกะเพรา ไบโหระพา และใบแมงลัก

2.4.1 นำโครมาโทแกรมของสารระเหยง่ายในตัวอย่างไบกะเพรา ไบโหระพา และใบแมงลัก ที่ได้จากการสกัดในสถานะที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 2.2.5 และ 2.3.5 มาเลือกพีกของสารระเหยง่ายที่สำคัญซึ่งใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่างไบกะเพรา ไบโหระพา และใบแมงลัก

2.4.2 ระบุชนิดสารระเหยง่ายที่สำคัญโดยเปรียบเทียบข้อมูลสารดังกล่าวกับ mass spectrum library NIST14 ซึ่งเป็นซอฟต์แวร์ที่ติดตั้งไว้กับเครื่อง GC-MS และเปรียบเทียบค่า linear retention index (LRI) ของสารระเหยง่ายที่สำคัญ ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบค่า retention time (RT) ของสารดังกล่าวกับสารละลายมาตรฐานอัลเคนไซ่ตรง C₈-C₂₀ ความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อลิตรในเฮกเซน กับงานวิจัยอื่นๆ

$$\text{โดย } LRI = 100n + 100[(t-t_n)/(t_{n+1}-t_n)]$$

t คือ retention time ของสาร (อยู่ระหว่าง C_n และ C_{n+1})

t_n คือ retention time ของ C_n

t_{n+1} คือ retention time ของ C_{n+1}

2.5 การวิเคราะห์ตัวอย่างไบกะเพรา ไบโหระพา และใบแมงลัก

2.5.1 กำหนดสถานะของเครื่อง GC-MS ดังการทดลองที่ 2.1.1 และกำหนดสถานะอุณหภูมิในคอลัมน์ของเครื่อง GC-MS ดังการทดลองที่ 2.1.2 และชั่งตัวอย่าง ดังการทดลองที่ 2.1.3 แล้วนำไปให้ความร้อนด้วยเครื่องให้ความร้อนที่อุณหภูมิ และเวลาที่ได้จากการทดลองที่ 2.3.2 และ 2.3.4 โดยทำการทดลองซ้ำ 9 ครั้ง

2.5.2 นำสารสกัดระเหยง่ายที่สกัดได้ฉีดเข้าเครื่อง GC-MS ปลดปล่อยสารในส่วนปลดปล่อยสารของเครื่อง GC-MS เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นพิจารณาโครมาโทแกรมของตัวอย่างไบกะเพรา ไบโหระพา และใบแมงลัก

2.5.3 หาพื้นที่ใต้พีกของสารระเหยง่ายที่สำคัญที่เลือกไว้จากการทดลองที่ 2.4.1 ในโครมาโทแกรม

- 2.6 การวิเคราะห์ตัวอย่างใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก ที่ผ่านกระบวนการทำอาหาร (cooking process)
- 2.6.1 กำหนดสถานะของเครื่อง GC-MS ดังการทดลองที่ 2.1.1 และกำหนดสถานะอุณหภูมิในคอลัมน์ของเครื่อง GC-MS ดังการทดลองที่ 2.1.2
- 2.6.2 ชั่งตัวอย่างใบโหระพา และใบแมงลัก ประมาณ 6 กรัม จากนั้นแบ่งออกเป็น 2 ส่วน
- 2.6.2.1 ส่วนแรกนำมาหั่นเป็นชิ้นเล็ก 0.500 ± 0.001 กรัม ลงในขวดบรรจุ (vial) ขนาด 20 มิลลิลิตร จากนั้นปิดขวดด้วยฝาอะลูมิเนียมแล้วนำไปให้ความร้อนด้วยเครื่องให้ความร้อนที่อุณหภูมิ และเวลาที่ได้จากการทดลองที่ 2.3.2 และ 2.3.4
- 2.6.2.2 ส่วนที่สองนำมาลวกกับน้ำ Milli Q ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิประมาณ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นแยกใบออกจากน้ำต้ม โดยนำมาหั่นเป็นชิ้นเล็ก 0.500 ± 0.001 กรัม ลงในขวดบรรจุ (vial) ขนาด 20 มิลลิลิตร จากนั้นปิดขวดด้วยฝาอะลูมิเนียมแล้วนำไปให้ความร้อนด้วยเครื่องให้ความร้อนที่อุณหภูมิ และเวลาที่ได้จากการทดลองที่ 2.3.3 และ 2.3.5
- 2.6.2.3 ส่วนน้ำต้มนำมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 นาที แล้วเปิดน้ำต้มปริมาตร 2.00 มิลลิลิตร ลงในขวดบรรจุ (vial) ขนาด 20 มิลลิลิตร ที่มีเกลือ NaCl น้ำหนัก 0.8 กรัม จากนั้นปิดขวดด้วยฝาอะลูมิเนียมแล้วนำไปให้ความร้อนด้วยเครื่องให้ความร้อนที่อุณหภูมิ และเวลาที่ได้จากการทดลองที่ 2.3.2 และ 2.3.4
- 2.6.3 ชั่งตัวอย่างใบกะเพรา ประมาณ 3 g จากนั้นแบ่งออกเป็น 2 ส่วน
- 2.6.3.1 ส่วนแรกนำมาหั่นเป็นชิ้นเล็ก 0.500 ± 0.001 กรัม ลงในขวดบรรจุ (vial) ขนาด 20 มิลลิลิตร จากนั้นปิดขวดด้วยฝาอะลูมิเนียมแล้วนำไปให้ความร้อนด้วยเครื่องให้ความร้อนที่อุณหภูมิ และเวลาที่ได้จากการทดลองที่ 2.3.2 และ 2.3.4
- 2.6.3.2 ส่วนที่สองนำมาคั่วแห้ง เป็นเวลา 2 นาที โดยนำมาหั่นเป็นชิ้นเล็ก 0.500 ± 0.001 กรัม ลงในขวดบรรจุ (vial) ขนาด 20 มิลลิลิตร จากนั้นปิดขวดด้วยฝาอะลูมิเนียมแล้วนำไปให้ความร้อนด้วยเครื่องให้ความร้อนที่อุณหภูมิ และเวลาที่ได้จากการทดลองที่ 2.3.2 และ 2.3.4
- 2.6.4 นำสารสกัดระเหยง่ายที่สกัดได้ฉีดเข้าเครื่อง GC-MS ปลดปล่อยสารในส่วนปลดปล่อยสารของเครื่อง GC-MS เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นพิจารณาโครมาโทแกรมของตัวอย่างใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลักที่ผ่านกระบวนการทำอาหาร ในแต่ละส่วนทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง
- 2.6.5 หาพื้นที่ใต้พีคของสารระเหยง่ายที่สำคัญที่เลือกไว้จากการทดลองที่ 2.4.1 ในโครมาโทแกรม

2.7 การประมวลผลโดยวิธีเคโมเมตริกซ์

2.7.1. นำพื้นที่ใต้พีคของสารระเหยง่ายที่สำคัญที่ได้จากการทดลองที่ 2.5.3 มาคำนวณ Normalized area

$$\text{โดย Normalized area} = \frac{\text{พื้นที่ใต้พีคของสารนั้น ๆ}}{\text{พื้นที่ใต้พีครวมของสารทั้งหมด}}$$

2.7.2 นำข้อมูลที่ได้ไปประมวลผลด้วยวิธีเคโมเมตริกซ์ชนิด PCA โดยใช้โปรแกรม XLSTAT 2018 เพื่อจัดกลุ่มตัวอย่างใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก

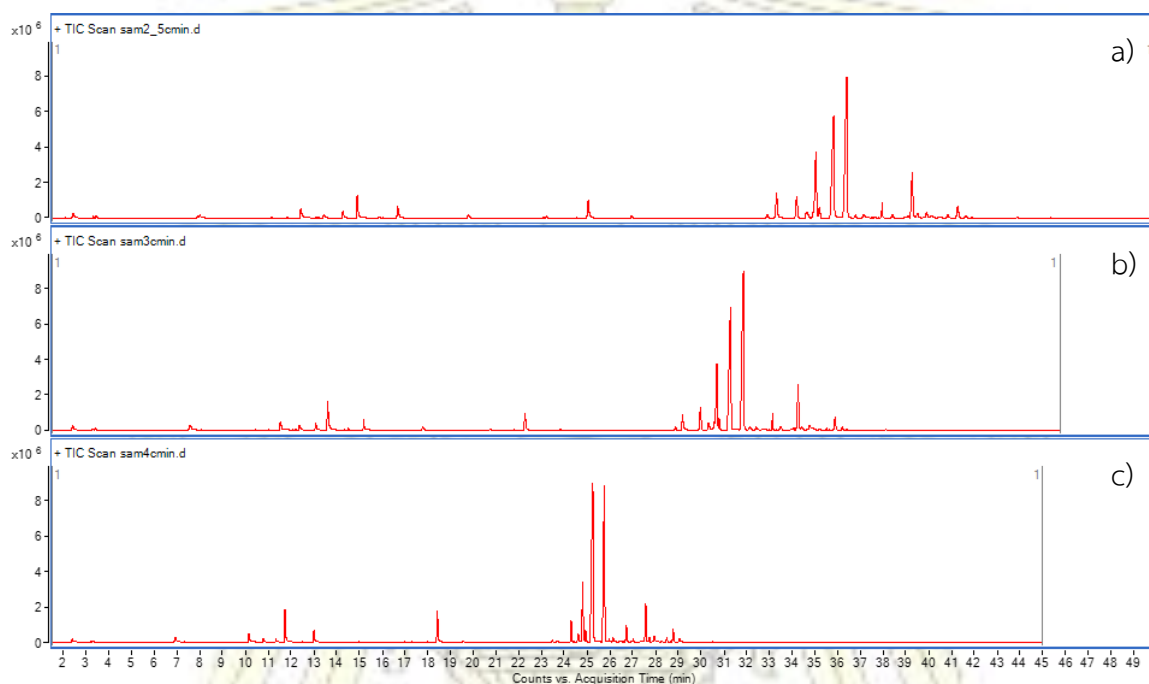


บทที่ 3

ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

3.1 การหาอัตราการเพิ่มอุณหภูมิคอลัมน์ (temperature ramp rate)

วิเคราะห์ตัวอย่างใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก น้ำหนัก 0.500 ± 0.001 กรัม โดยเตรียมตัวอย่างใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลักด้วยเทคนิค HS-SPME ตามการทดลองที่ 2.1 และสถานะของ HS-SPME ดังนี้ อุณหภูมิเฮตสเปซ 60 องศาเซลเซียส เวลาที่ใช้ในการดูดซับ 45 นาที และเวลาที่ใช้ในการปลดปล่อยสารระเหยง่ายในเครื่อง GC-MS เป็นเวลา 5 นาที โดยเปลี่ยนอัตราการเพิ่มอุณหภูมิคอลัมน์ 2.5 3 และ 4 องศาเซลเซียสต่อนาที



รูปที่ 3-1 โครมาโทแกรมของตัวอย่างใบกะเพรา ด้วยอัตราการเพิ่มอุณหภูมิคอลัมน์

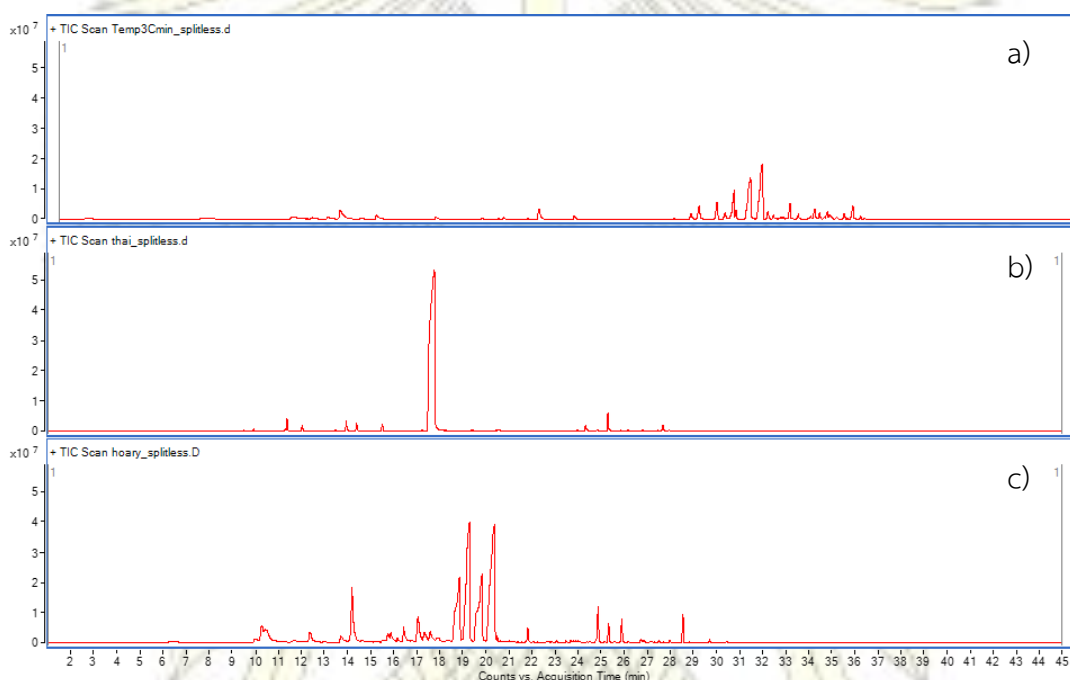
a) 2.5 องศาเซลเซียสต่อนาที b) 3 องศาเซลเซียสต่อนาที และ c) 4 องศาเซลเซียสต่อนาที

จากโครมาโทแกรมที่วิเคราะห์ด้วยอัตราการเพิ่มอุณหภูมิคอลัมน์ พบว่า อัตราการเพิ่มอุณหภูมิที่ทำให้สารแยกออกจากกันได้ดี และเวลาที่วิเคราะห์เหมาะสม คือ อัตราการเพิ่มอุณหภูมิที่ 3 องศาเซลเซียสต่อนาที ดังแสดงในรูปที่ 3-1 a)

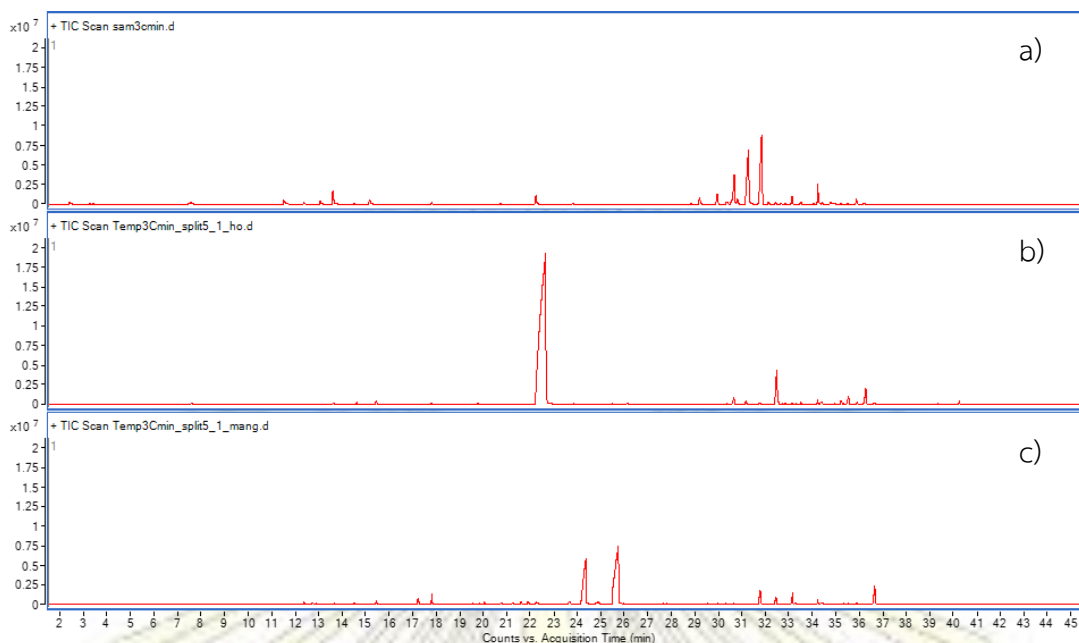
3.2 การหาอัตราส่วนเข้าคอลัมน์ (splitless and split ratio)

วิเคราะห์ตัวอย่างใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก น้ำหนัก 0.500 ± 0.001 กรัม โดยเตรียมตัวอย่างใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลักด้วยเทคนิค HS-SPME ตามการทดลองที่ 2.2 และสภาวะของ HS-SPME ดังนี้ อุณหภูมิเฮดสเปซ 60 องศาเซลเซียส เวลาที่ใช้ในการดูดซับ 45 นาที และเวลาที่ใช้ในการปลดปล่อยสารระเหยง่ายในเครื่อง GC-MS 5 นาที โดยเปลี่ยนอัตราส่วนของสารที่เข้าคอลัมน์ด้วยสภาวะ splitless และ split ratio อัตราส่วน 5:1 10:1

จากโครมาโทแกรมที่วิเคราะห์ด้วยสภาวะ splitless ซึ่งเป็นสภาวะที่สารระเหยง่ายทั้งหมดจะถูกพาเข้าสู่คอลัมน์ พบว่าโครมาโทแกรมของสารไม่สามารถแยกออกจากกันได้อย่างสมบูรณ์ เนื่องจากมีปริมาณของสารระเหยง่ายที่ถูกพาเข้าสู่คอลัมน์มากแสดงดังรูปที่ 3-2 ก)

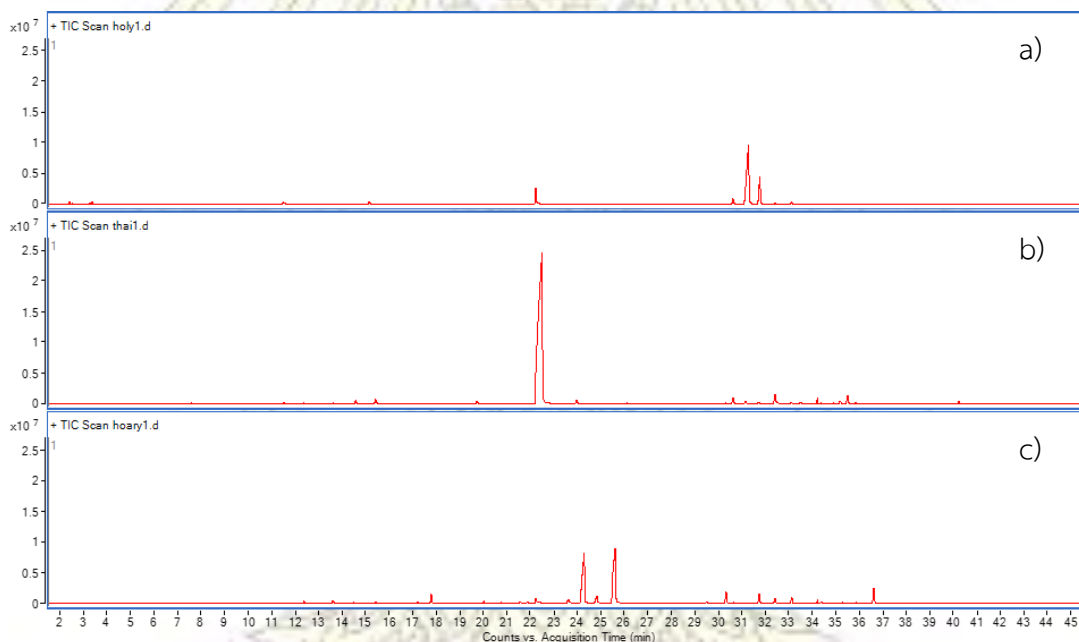


รูปที่ 3-2 ก) โครมาโทแกรมที่วิเคราะห์ด้วยสภาวะ splitless
a) ใบกะเพรา b) ใบโหระพา และ c) ใบแมงลัก



รูปที่ 3-2 ข) โครมาโทแกรมที่วิเคราะห์ด้วยสภาวะ split ratio 5:1

a) ไบกะเพรา b) ไบโหระพา และ c) ไบแมงลัก



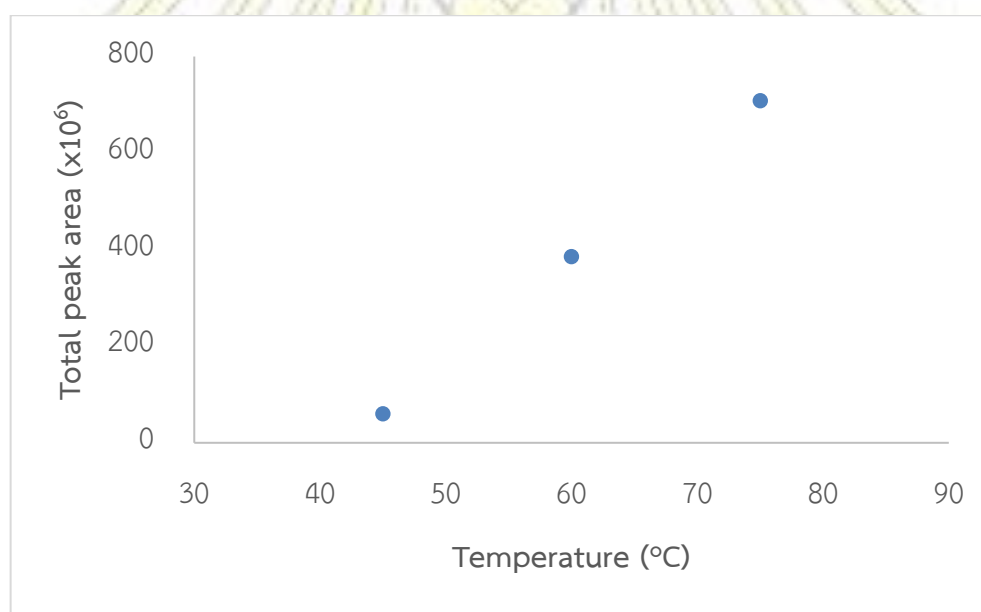
รูปที่ 3-2 ค) โครมาโทแกรมที่วิเคราะห์ด้วยสภาวะ split ratio 10:1

a) ไบกะเพรา b) ไบโหระพา และ c) ไบแมงลัก

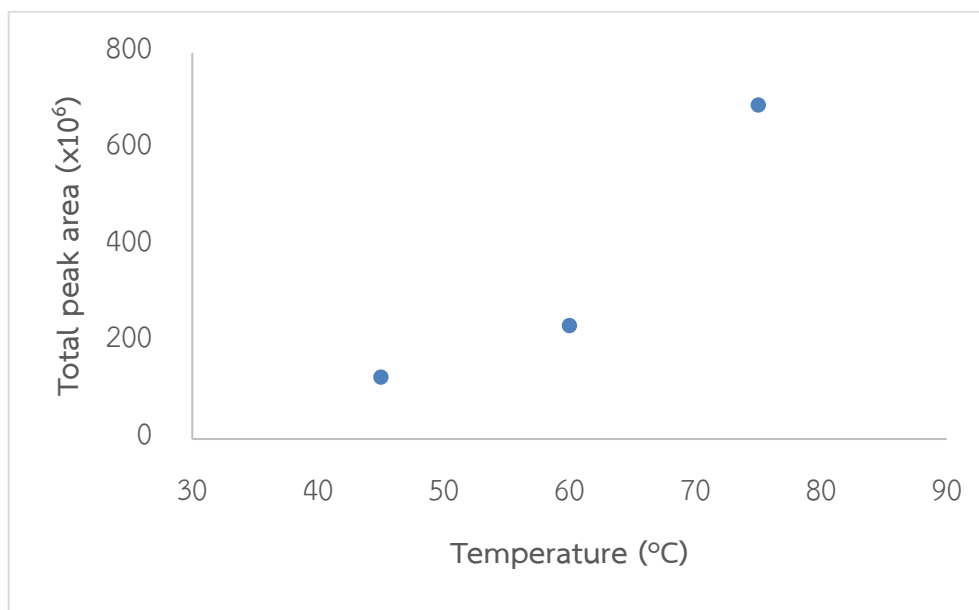
จากโครมาโทแกรมที่วิเคราะห์ด้วยสภาวะ split ratio พบว่า อัตราส่วนที่ทำให้สารแยกออกจากกันได้ดีที่สุด คือ อัตราส่วน 10:1 ดังแสดงในรูปที่ 3-2 ค) หมายความว่าถ้าฉีดสารเข้าเครื่อง GC-MS 10 ส่วน จะมีสารที่เข้าคอลัมน์ 1 ส่วน ซึ่งการที่สารเข้าสู่คอลัมน์มากเกินไปจะทำให้แยกสารออกจากกัน得不สมบูรณ์ และถ้าหากมีสารเข้าสู่คอลัมน์น้อยเกินไปจะทำให้ตรวจวัดสารได้ไม่ถูกต้องครบถ้วน ดังนั้นจึงทำการทดลองด้วยสภาวะ split ratio ที่อัตราส่วน 10:1

3.3 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก ด้วยเทคนิค เฮตสเปซ โดยการวิเคราะห์ทีละตัวแปร (single factor optimization)

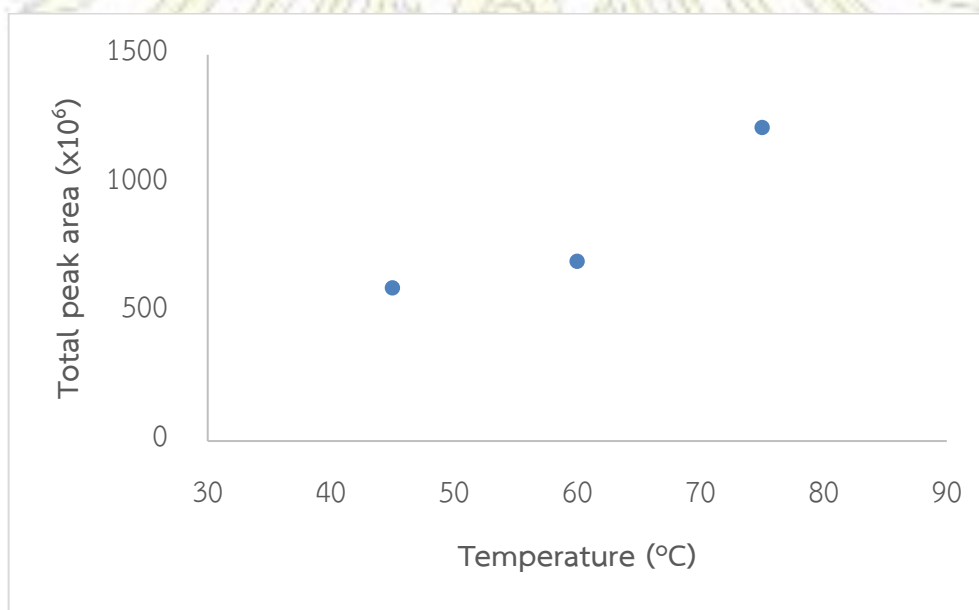
จากการหาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก ด้วย HS-SPME โดยการวิเคราะห์ทีละตัวแปร (single factor optimization) ซึ่งเริ่มจากการหาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดสารระเหยง่าย โดยเริ่มสกัดที่อุณหภูมิ 45, 60 และ 75 องศาเซลเซียส กำหนดเวลาในการสกัดไว้ที่ 45 นาที แต่ละอุณหภูมิทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง แล้วนำพื้นที่ใต้พีกรวมของสารในโครมาโทแกรมมาเฉลี่ย พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดสารระเหยง่ายในตัวอย่างใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก คือ 60 องศาเซลเซียส เนื่องจากให้พื้นที่ใต้พีกรวมของสารในโครมาโทแกรมมาเฉลี่ยเหมาะสม และไม่ทำให้ตัวอย่างใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลักเสียหายมากเกินไป แสดงดังรูปที่ 3-3 ก) - ค) จากนั้นหาเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสารระเหยง่ายในตัวอย่างใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก โดยเริ่มสกัดที่เวลา 15 30 และ 45 นาที ซึ่งจะกำหนดอุณหภูมิในการสกัดไว้ที่ 60 องศาเซลเซียส แต่ละเวลาทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง แล้วนำพื้นที่ใต้พีกรวมของสารในโครมาโทแกรมมาเฉลี่ย พบว่าเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสารระเหยง่ายในตัวอย่างใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก คือ 45 นาที เนื่องจากให้พื้นที่ใต้พีกรวมของสารในโครมาโทแกรมมาเฉลี่ยมากที่สุดแสดงดังรูปที่ 3-3 ง) - ฉ)



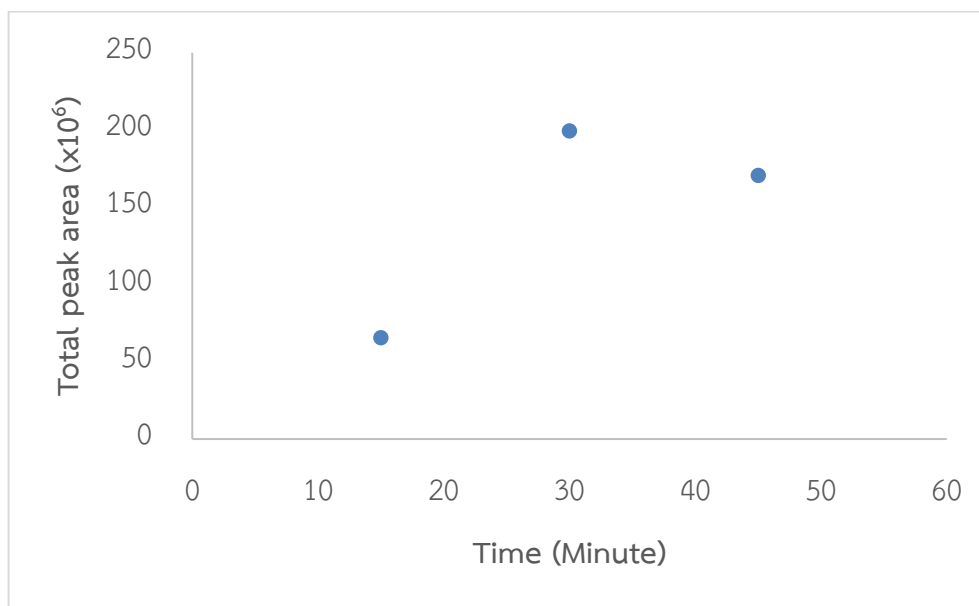
รูปที่ 3-3 ก) กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดสารระเหยง่ายในตัวอย่างใบกะเพรา กับ พื้นที่ใต้พีกรวมของสารในโครมาโทแกรมมาเฉลี่ย



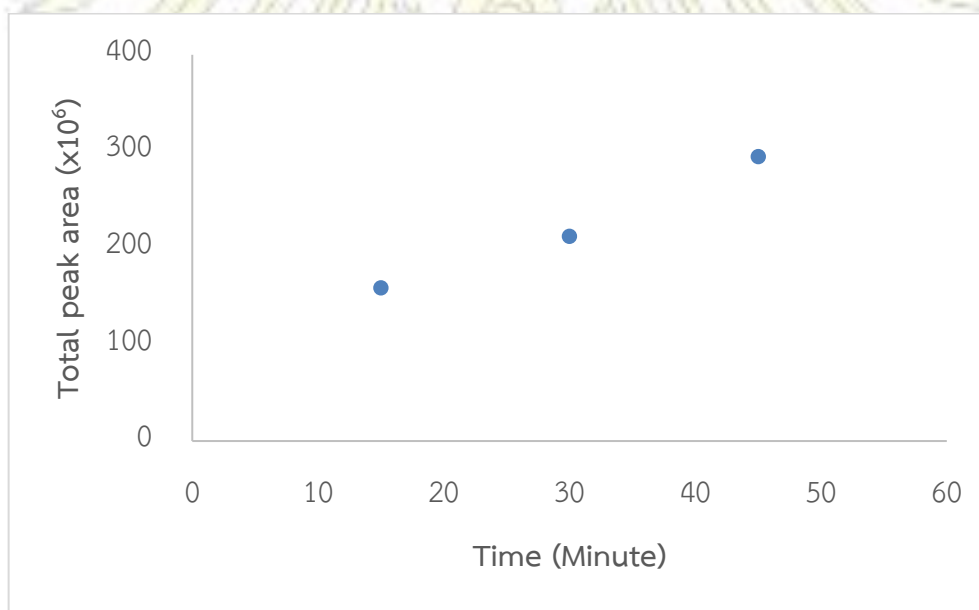
รูปที่ 3-3 ข) กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดสารระเหยง่ายในตัวอย่าง ใบโหระพา กับ พื้นที่ใต้พีกรวมของสารในโครมาโทแกรมเฉลี่ย



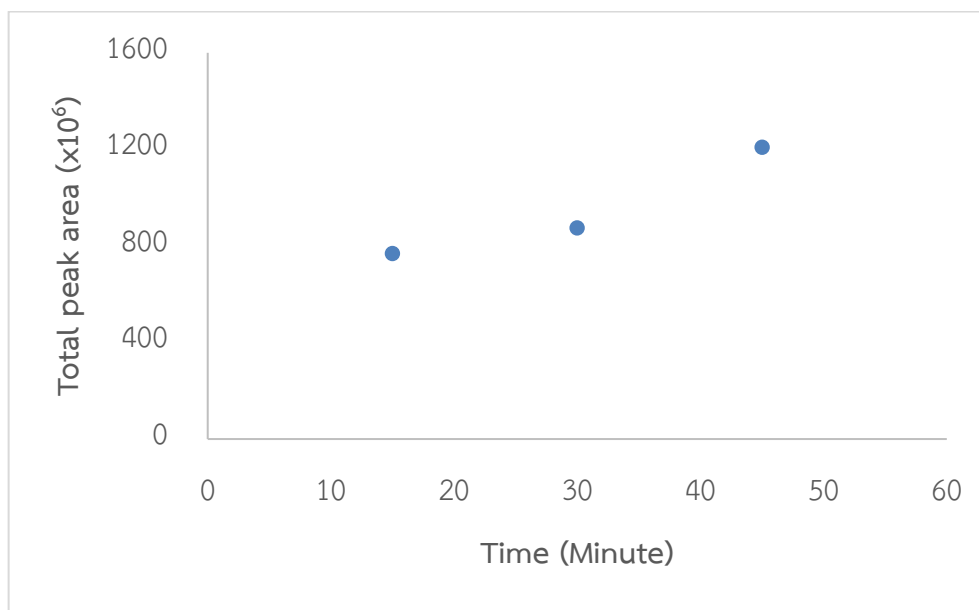
รูปที่ 3-3 ค) กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดสารระเหยง่ายในตัวอย่างใบแมงลัก กับ พื้นที่ใต้พีกรวมของสารในโครมาโทแกรมเฉลี่ย



รูปที่ 3-3 ง) กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในการสกัดสารระเหยง่ายในตัวอย่างใบกะเพรา กับ พื้นที่ใต้พีกรวมของสารในโครมาโทแกรมเฉลี่ย



รูปที่ 3-3 จ) กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในการสกัดสารระเหยง่ายในตัวอย่างใบโหระพา กับ พื้นที่ใต้พีกรวมของสารในโครมาโทแกรมเฉลี่ย



รูปที่ 3-3 ฉ) กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในการสกัดสารระเหยง่ายในตัวอย่างใบแมงลัก กับ พื้นที่ใต้พีคกรวมของสารในโครมาโทแกรมเฉลี่ย

3.4 การระบุชนิดสารระเหยง่ายที่สำคัญซึ่งจะใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่างใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก

เมื่อนำโครมาโทแกรมของสารระเหยง่ายในตัวอย่างใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก ที่ได้จากการสกัดในสภาวะที่เหมาะสม ตัวอย่างใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก ใช้อุณหภูมิในการสกัด 60 องศาเซลเซียส และเวลาในการสกัด 45 นาที ใช้เวลาในการปลดปล่อยสารในเครื่อง GC-MS เป็นเวลา 5 นาที แต่แต่ละตัวอย่างทำการทดลองซ้ำ 9 ครั้ง เมื่อนำโครมาโทแกรมของสารระเหยง่ายในตัวอย่างใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก มาพิจารณาเลือกพีคของสารระเหยง่ายที่สำคัญ พบว่ามีสารระเหยง่ายที่สำคัญทั้งหมด 74 สาร ดังตารางที่ 3-1 และมีลักษณะโครมาโทแกรมของสารระเหยทั้งหมดดังรูปที่ 3-4 โดยองค์ประกอบหลักของสารระเหยง่ายในตัวอย่างทั้ง 3 ชนิด คือ

ใบกะเพรา : methyleugenol (60.54%), caryophyllene (24.88%)
และ benzeneacetaldehyde (2.14%)

ใบโหระพา : estragole (88.52%), trans- α -bergamotene (3.49%)
และ γ -cadinene (1.09%)

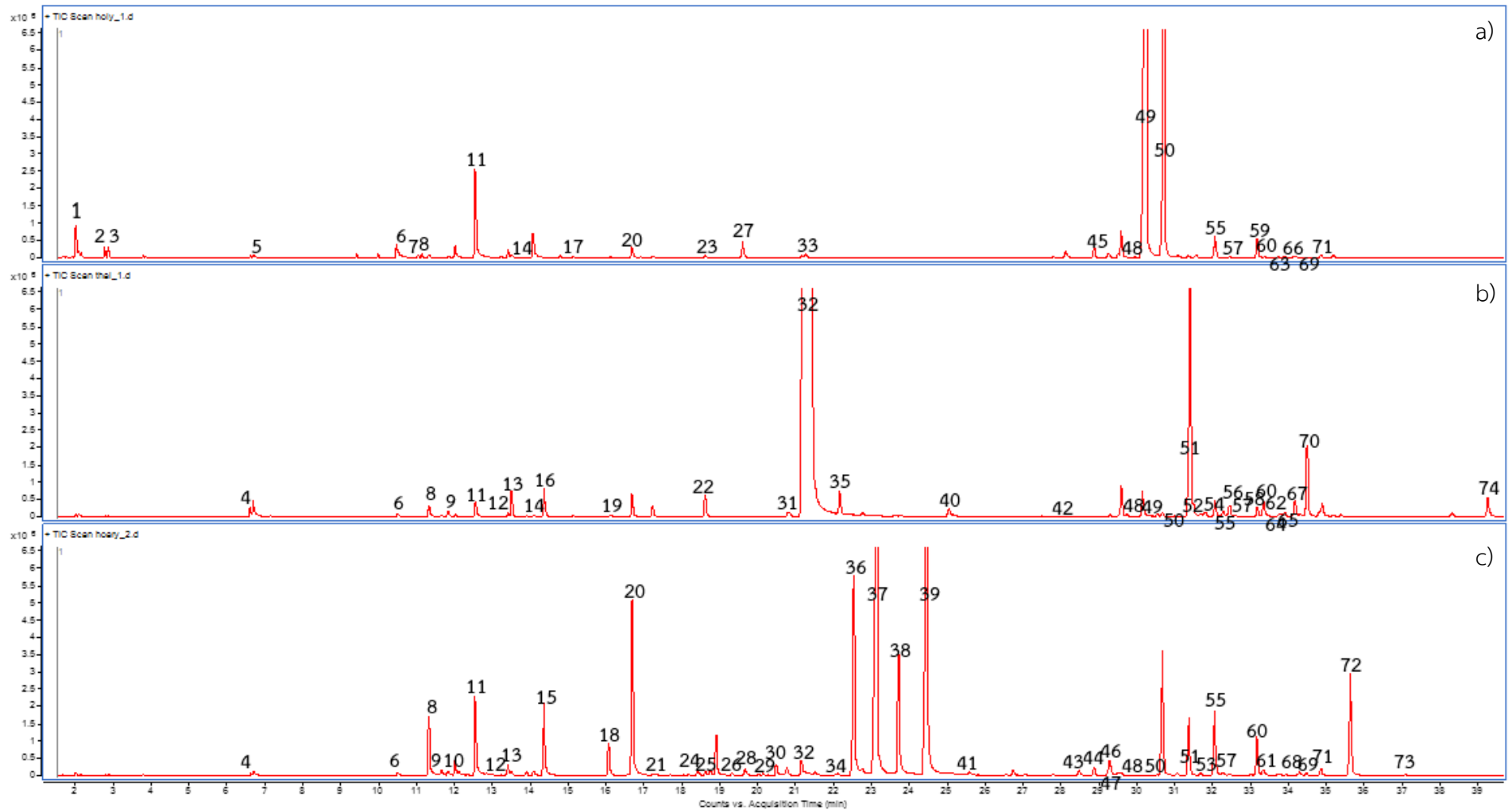
ใบแมงลัก : β -citral (27.08%), linalool (5.28%) และ cis-geraniol 5.02%)

ตารางที่ 3-1 สารระเหยง่ายที่สำคัญ 74 สาร ในตัวอย่างใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก, ค่า retention time (RT), เลข CAS No. และค่า linear retention index (LRI)

No.	RT (min)	Compound	CAS No.	LRI		
				Exp	Database	
1	2.12	2-propanethiol	75-33-2	579	566	±6(15)
2	2.75	3-methylbutanal	590-86-3	647	652	±5(214)
3	2.85	2-methylbutanal	96-17-3	657	662	±8(146)
4	6.67	trans-3-hexenol	928-97-2	853	852	±3(41)
5	6.68	cis-3-hexenol	928-96-1	853	857	±3(169)
6	10.46	benzaldehyde	100-52-7	958	962	±3(416)
7	11.12	(-)- β -pinene	18172-67-3	974	974	±2(619)
8	11.30	1-octen-3-ol	3391-86-4	979	980	±2(355)
9	11.63	3-octanone	106-68-3	987	986	±3(101)
10	11.81	β -myrcene	123-35-3	991	991	±2(841)
11	12.52	cis-3-hexenyl acetate	3681-71-8	1008	1005	±2(74)
12	13.38	D-sylvestrene	1461-27-4	1027	1027	±3(19)
13	13.48	eucalyptol	470-82-6	1029	1032	±2(580)
14	14.07	benzeneacetaldehyde	122-78-1	1042	1045	±4(378)
15	14.33	α -ocimene	502-99-8	1048	1047	±5(38)
16	14.34	trans- β -ocimene	3779-61-1	1048	1049	±2(548)
17	14.76	γ -terpinene	99-85-4	1058	1060	±3(739)
18	16.04	fenchone	1195-79-5	1086	1096	±N/A(1)
19	16.10	(E)- β -terpinolene	586-62-9	1087	1088	±2(607)
20	16.66	linalool	78-70-6	1100	1099	±2(976)
21	17.29	β -pinene hydroxide	473-54-1	1114	1135	±11(2)
22	18.59	(+)-2-bornanone	464-49-3	1142	1143	±9(4)
23	18.59	(-)-camphor	464-48-2	1142	1142	±3(2)
24	18.61	myroxide	28977-57-3	1143	1141	±3(2)
25	18.88	trans-chrysanthemal	20104-05-6	1149	1153	±N/A(1)

No.	RT (min)	Compound	CAS No.	LRI		
				Exp	Database	
26	19.30	trans-chrysanthenol	38043-83-3	1158	1162	±22(4)
27	19.58	borneol	507-70-0	1164	1167	±2(422)
28	19.64	cis-chrysanthenol	55722-60-6	1165	1162	±1(28)
29	20.12	(Z)-cinerone	17190-71-5	1176	1184	±N/A(1)
30	20.46	(Z)-3,7-dimethyl-3,6-octadienal	55722-59-3	1183	1184	±N/A(1)
31	20.74	α -terpineol	98-55-5	1189	1189	±2(811)
32	21.13	estragole	140-67-0	1198	1196	±1(86)
33	21.25	dodecane	112-40-3	1200	1200	
34	22.10	β -cyclocitral	432-25-7	1219	1220	±3(75)
35	22.14	fenchyl acetate	13851-11-1	1220	1223	±4(19)
36	22.50	cis-geraniol	106-25-2	1229	1228	±2(174)
37	23.15	β -citral	106-26-3	1243	1240	±3(168)
38	23.71	trans-geraniol	106-24-1	1256	1255	±3(343)
39	24.50	α -citral	5392-40-5	1274	1276	±N/A(1)
40	25.02	anethole	104-46-1	1285	1286	±2(6)
41	26.53	4,7,7-trimethylbicyclo[4.1.0]hept-3-en-2-one	81800-50-2	1319	1314	±N/A(1)
42	27.76	α -cubebene	17699-14-8	1349	1351	±2(338)
43	28.46	cis-geranyl acetate	141-12-8	1366	1364	±3(151)
44	28.85	α -copaene	3856-25-5	1375	1376	±2(698)
45	28.86	Ylangene	14912-44-8	1372	1372	±2(170)
46	29.26	lavandulyl propionate	59550-34-4	1385	1375	±N/A(1)
47	29.47	β -cubebene	13744-15-5	1390	1389	±2(260)
48	29.56	β -elemene	515-13-9	1392	1391	±2(521)
49	30.13	methyleugenol	93-15-2	1405	1402	±3(166)
50	30.65	caryophyllene	87-44-5	1418	1419	±3(983)
51	31.35	trans- α -bergamotene	13474-59-4	1436	1435	±3(183)
52	31.46	α -guaiene	3691-12-1	1438	1439	±2(126)

No.	RT (min)	Compound	CAS No.	LRI		
				Exp	Database	
53	31.65	D-isogermacrene	317819-80-0	1443	1448	±4(4)
54	31.66	aromandendrene	489-39-4	1443	1440	±1(5)
55	32.04	humulene	6753-98-6	1453	1454	±3(792)
56	32.26	(E)- β -farnesene	18794-84-8	1458	1457	±2(254)
57	32.42	cis-muurolo-4(15),5-diene	157477-72-0	1462	1463	±4(52)
58	32.57	(1R,4R,5S)- α -acoradiene	729602-94-2	1466	1475	±N/A(1)
59	32.98	β -chamigrene	18431-82-8	1476	1476	±2(49)
60	33.15	D-germacrene	23986-74-5	1480	1481	±3(690)
61	33.32	(Z)- β -caryophyllene	13877-93-5	1484	1490	±14(2)
62	33.32	γ -muurolene	30021-74-0	1485	1477	±3(392)
63	33.34	β -selinene	17066-67-0	1485	1486	±3(349)
64	33.77	(+)-ledene	21747-46-6	1496	1493	±4(114)
65	33.88	β -guaiene	88-84-6	1498	1490	±3(69)
66	33.88	1,2-dimethoxy-4-(1-propenyl)-benzene	93-16-3	1498	1492	±9(16)
67	34.15	δ -guaijene	3691-11-0	1505	1505	±3(51)
68	34.28	β -bisabolene	495-61-4	1509	1509	±3(312)
69	34.46	epicubebol	23445-02-5	1513	1515	±2(63)
70	34.47	γ -cadinene	39029-41-9	1514	1513	±2(485)
71	34.83	δ -cadinene	483-76-1	1523	1524	±2(751)
72	35.60	(E)- α -bisabolene	25532-79-0	1543	1512	±8(18)
73	37.06	caryophyllene oxide	1139-30-6	1581	1581	±2(669)
74	39.24	τ -cadinol	5937-11-1	1648	1640	±2(241)



รูปที่ 3-4 โครมาโทแกรมของสารระเหยง่ายที่สำคัญทั้งหมดที่สกัดได้จากตัวอย่าง a) ไบกะเพรา b) ไบโหระพา และ c) ไบแมงลัก

3.5 การระบุชนิดสารระเหยง่ายที่สำคัญซึ่งจะใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่างใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลักจากการผ่านกระบวนการทำอาหาร

จากการวิเคราะห์ตัวอย่างใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก โดยใช้การทดลองที่ 2.6 ซึ่งทำการวิเคราะห์หาสารระเหยง่ายในใบสด ใบคั่ว (ใบกะเพรา) ใบลวกและน้ำที่ผ่านการลวก (ใบโหระพาและใบแมงลัก) โดยทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง จากนั้นนำโครมาโทแกรมของสารระเหยง่ายในตัวอย่างใบสด ใบคั่ว ใบลวก และน้ำที่ผ่านการลวก มาวิเคราะห์และเปรียบเทียบพีคของสารระเหยง่ายที่สำคัญ ดังตารางที่ 3-5 ก) - ค) และมีลักษณะโครมาโทแกรมของสารระเหยทั้งหมดดังรูปที่ 3-5 ก) - ค) โดยทำการหาพื้นที่ใต้พีคของใบสด ใบคั่ว ใบลวก และน้ำที่ผ่านการลวก แล้วนำมาหาค่า Normalized area เพื่อใช้เปรียบเทียบปริมาณของสารระเหยง่ายที่เปลี่ยนแปลง (%change)

จากการทดลองพบว่าสารระเหยง่ายส่วนใหญ่มีค่า %change เป็นค่าลบ เนื่องจากการผ่านกระบวนการทำอาหารเป็นการให้ความร้อนโดยตรง ทำให้สารระเหยง่ายในใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก ระเหยออกไปบางส่วน ส่วนสารระเหยง่ายที่มีค่า %change เป็นค่าบวก เนื่องจากสารระเหยง่ายสามารถละลายในน้ำได้ จึงพบสารระเหยง่ายที่มีค่า %change ค่าบวก ในใบโหระพาและใบแมงลักลวก กับน้ำลวก

ตารางที่ 3-2 ก) สารระเหยง่ายและค่า % change ของตัวอย่างใบกะเพราจากการผ่านกระบวนการทำอาหาร

No.	Compound	holy basil		%change
		fresh	Roasted	Roasted
1	2-Propanethiol	0.17	0.00	ไม่พบ
2	3-methylbutanal	0.45	0.00	ไม่พบ
3	2-methylbutanal	0.49	0.00	ไม่พบ
4	cis-3-hexenol	0.14	0.00	ไม่พบ
5	benzaldehyde	1.40	0.00	ไม่พบ
6	(-)- β -pinene	0.14	0.00	ไม่พบ
7	1-octen-3-ol	0.18	0.11	-40.0
8	cis-3-hexenyl acetate	1.76	0.00	ไม่พบ
9	benzeneacetaldehyde	2.14	0.00	ไม่พบ
10	γ -terpinene	0.17	0.00	ไม่พบ
11	linalool	0.66	0.00	ไม่พบ
12	(-)-camphor	0.16	0.00	ไม่พบ
13	borneol	0.93	0.00	ไม่พบ
14	dodecane	0.32	0.43	36.6
15	ylangene	0.67	1.58	134
16	β -elemene	1.23	18.87	1433

No.	Compound	holy basil		%change
		fresh	Roasted	Roasted
17	methyleugenol	60.55	0.00	ไม่พบ
18	caryophyllene	24.88	68.02	173
19	humulene	1.53	6.73	340
20	cis-muurolo-4(15),5-diene	0.03	0.00	ไม่พบ
22	D-germacrene	1.27	4.27	236
23	β -selinene	0.05	0.00	ไม่พบ
24	1,2-dimethoxy-4-(1-propenyl)-benzene	0.12	0.00	ไม่พบ
25	epicubebol	0.07	0.00	ไม่พบ
26	γ -cadinene	0.24	0.00	ไม่พบ

ตารางที่ 3-2 ข) สารระเหยง่ายและค่า % change ของตัวอย่างใบโหระพาจากการผ่านกระบวนการทำอาหาร

No.	Compound	Thai basil			%change	
		fresh	boiled	water	boiled	water
1	trans-3-hexenol	0.12	0.00	0.00	ไม่พบ	ไม่พบ
2	benzaldehyde	0.09	0.00	0.00	ไม่พบ	ไม่พบ
3	1-octen-3-ol	0.19	0.25	0.00	34.7	ไม่พบ
4	3-octanone	0.02	1.16	0.00	4592	ไม่พบ
5	cis-3-hexenyl acetate	0.13	0.01	0.00	-91.3	ไม่พบ
6	D-sylvestrene	0.08	0.91	0.00	971	ไม่พบ
7	eucalyptol	0.47	0.38	0.83	-18.7	78.9
8	benzeneacetaldehyde	0.03	0.00	0.00	ไม่พบ	ไม่พบ
9	trans- β -ocimene	0.57	4.80	0.03	736	-94.6
10	(E)- β -terpinolene	0.05	0.32	0.08	510.5	48.9
11	(+)-2-bornanone	0.36	0.11	1.31	-70.4	266
12	α -terpineol	0.13	0.00	0.49	ไม่พบ	273
13	estragole	88.52	79.31	92.62	-10.4	4.63
14	fenchyl acetate	0.30	1.71	0.20	476	-32.4
15	anethole	0.17	0.00	0.00	ไม่พบ	ไม่พบ
16	α -cubebene	0.02	0.00	0.00	ไม่พบ	ไม่พบ

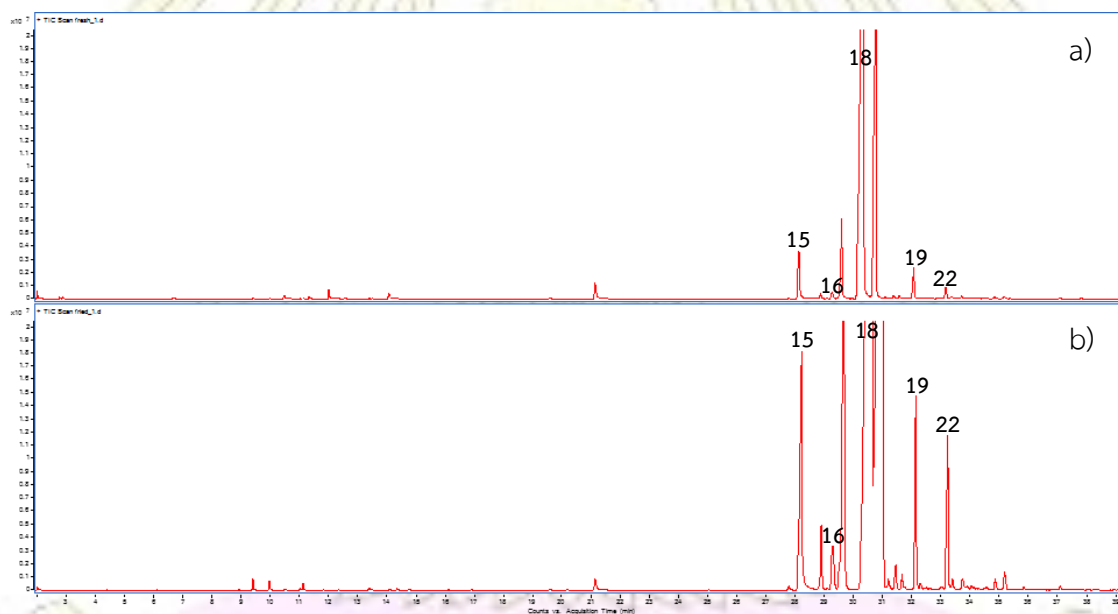
No.	Compound	Thai basil			%change	
		fresh	boiled	water	boiled	water
17	β -elemene	0.45	1.21	0.01	167	-98.6
18	methyleugenol	0.44	0.65	3.83	49.2	772
19	caryophyllene	1.17	0.00	0.00	ไม่พบ	ไม่พบ
20	trans- α -bergamotene	3.49	4.60	0.00	31.6	ไม่พบ
21	α -guaiene	0.19	0.00	0.00	ไม่พบ	ไม่พบ
22	aromandendrene	0.04	0.00	0.00	ไม่พบ	ไม่พบ
23	humulene	0.22	0.50	0.00	132	ไม่พบ
24	(E)- β -famesene	0.10	0.00	0.00	ไม่พบ	ไม่พบ
25	cis-muurola-4(15),5-diene	0.15	0.29	0.00	96.0	ไม่พบ
26	(1R,4R,5S)- α -acoradiene	0.05	0.00	0.00	ไม่พบ	ไม่พบ
27	D-germacrene	0.19	0.63	0.00	232	ไม่พบ
28	γ -muurolene	0.23	0.00	0.00	ไม่พบ	ไม่พบ
29	(+)-ledene	0.05	0.00	0.00	ไม่พบ	ไม่พบ
30	β -guaiene	0.11	0.00	0.00	ไม่พบ	ไม่พบ
31	δ -guaijene	0.24	0.00	0.00	ไม่พบ	ไม่พบ
32	γ -cadinene	1.09	1.29	0.11	17.6	-89.9
33	τ -cadinol	0.53	1.87	0.50	254	-6.03

ตารางที่ 3-2 ค) สารระเหยง่ายและค่า % change ของตัวอย่างใบแมงลักจากการผ่านกระบวนการทำอาหาร

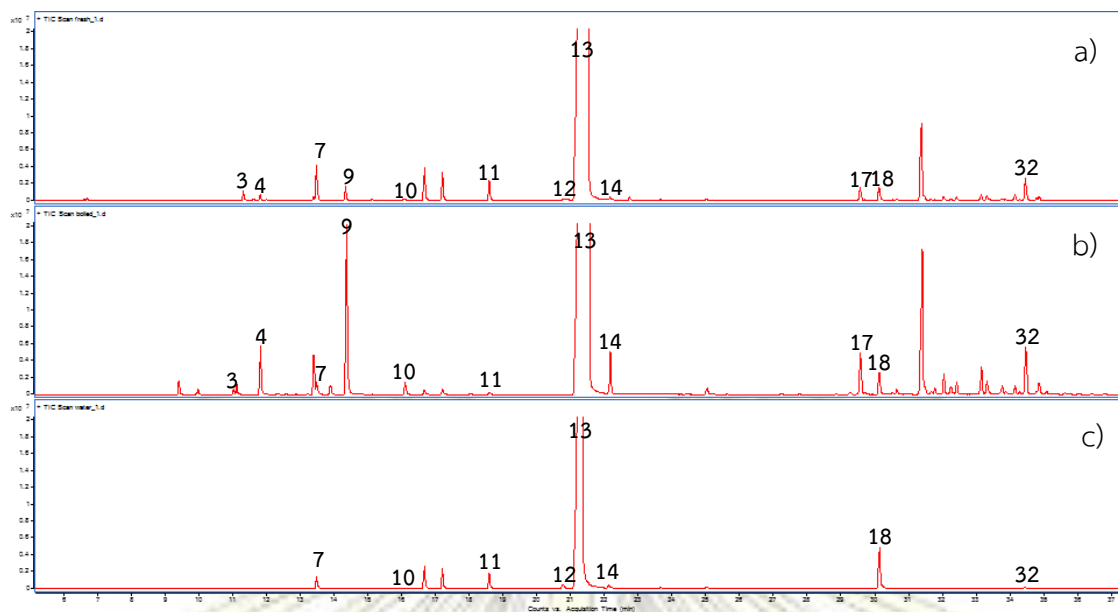
No.	Compound	ใบแมงลัก			%change	
		สด	ลวก	น้ำลวก	ลวก	น้ำลวก
1	trans-3-hexenol	0.12	0.00	0.00	ไม่พบ	ไม่พบ
2	benzaldehyde	0.35	0.00	0.00	ไม่พบ	ไม่พบ
3	1-octen-3-ol	1.60	0.00	0.00	ไม่พบ	ไม่พบ
4	3-octanone	0.16	0.62	0.41	297	160
5	β -myrcene	0.08	1.09	0.00	1184	ไม่พบ
6	cis-3-hexenyl acetate	1.32	0.00	0.00	ไม่พบ	ไม่พบ

No.	Compound	ใบแมงลัก			%change	
		สด	ลวก	น้ำลวก	ลวก	น้ำลวก
7	D-sylvestrene	0.22	1.81	0.00	717	ไม่พบ
8	eucalyptol	0.09	0.00	0.26	ไม่พบ	196
9	α -ocimene	1.75	9.28	0.15	429	-91
10	fenchone	0.99	0.58	3.94	-41.6	300
11	linalool	5.28	3.91	41.28	-26.1	681
12	β -pinene hydroxide	0.05	0.00	0.27	ไม่พบ	471
13	myroxide	0.13	0.00	0.00	ไม่พบ	ไม่พบ
14	trans-chrysanthemal	1.20	1.53	7.47	27.0	521
15	trans-chrysanthenol	0.07	0.00	0.00	ไม่พบ	ไม่พบ
16	cis-chrysanthenol	0.41	0.94	4.66	127	1026
17	(Z)-cinerone	0.07	0.52	0.00	624	ไม่พบ
18	(Z)-3,7-dimethyl-3,6-octadienal	0.59	1.48	8.41	149	1315
19	α -terpineol	0.30	0.56	9.23	90.4	3028
20	estragole	0.79	2.07	4.19	162	433
21	β -cyclocitral	0.07	0.00	0.00	ไม่พบ	ไม่พบ
22	cis-geraniol	5.02	0.00	16.37	ไม่พบ	226
23	β -citral	27.08	0.00	0.00	ไม่พบ	ไม่พบ
24	trans-geraniol	3.96	0.00	0.00	ไม่พบ	ไม่พบ
25	α -citral	33.37	0.00	0.00	ไม่พบ	ไม่พบ
26	4,7,7-trimethylbicyclo[4.1.0]hept-3-en-2-one	0.07	0.00	0.00	ไม่พบ	ไม่พบ
27	cis-geranyl acetate	0.21	0.00	0.00	ไม่พบ	ไม่พบ
28	α -copaene	0.21	0.97	0.00	362	ไม่พบ
29	lavandulyl propionate	0.62	2.07	0.39	234	-37.6
30	β -cubebene	0.07	0.00	1.47	ไม่พบ	1888
31	β -elemene	0.07	0.00	0.00	ไม่พบ	ไม่พบ
32	caryophyllene	3.82	20.10	0.00	425	ไม่พบ

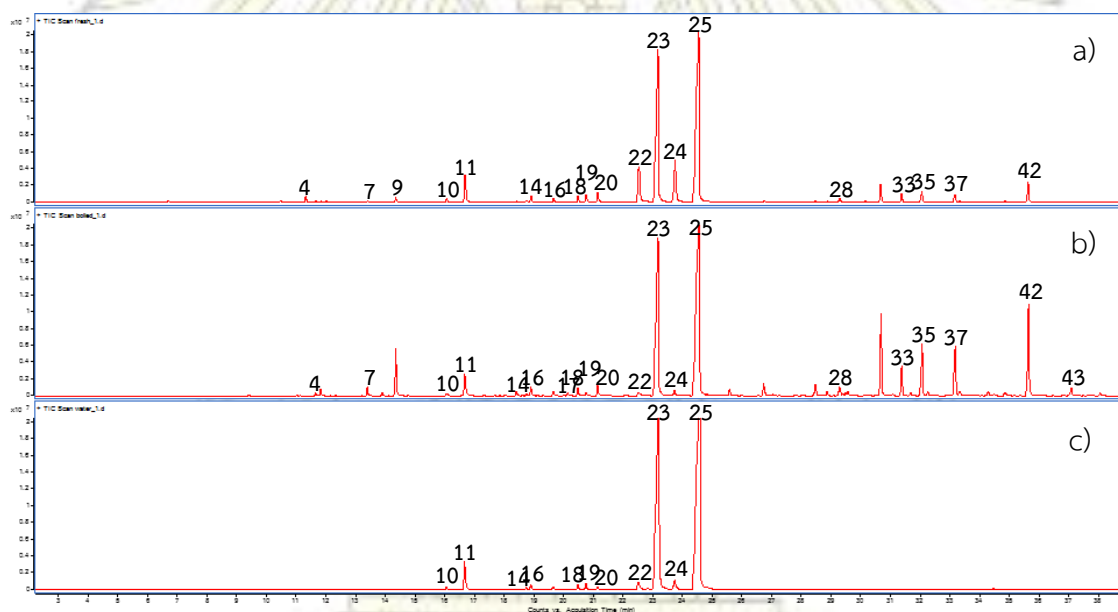
No.	Compound	ใบแมงลัก			%change	
		สด	ลวก	น้ำลวก	ลวก	น้ำลวก
33	trans- α -bergamotene	1.79	6.55	0.00	265	ไม่พบ
34	D-isogermacrene	0.08	0.00	0.00	ไม่พบ	ไม่พบ
35	humulene	2.09	12.44	0.00	494	ไม่พบ
36	cis-muurola-4(15),5-diene	0.03	0.00	0.00	ไม่พบ	ไม่พบ
37	D-germacrene	1.35	10.97	0.00	712	ไม่พบ
38	(Z)- β -caryophyllene	0.21	0.00	0.00	ไม่พบ	ไม่พบ
39	β -bisabolene	0.08	0.00	0.00	ไม่พบ	ไม่พบ
40	epicubebol	0.05	0.00	0.00	ไม่พบ	ไม่พบ
41	δ -cadinene	0.23	0.00	0.00	ไม่พบ	ไม่พบ
42	(E)- α -bisabolene	3.89	20.54	0.58	427	-85.1
43	caryophyllene oxide	0.06	1.98	0.92	3195	1435



รูปที่ 3-5 ก) โครมาโทแกรมของสารระเหยง่ายในตัวอย่าง a) ใบกะเพราสดเปรียบเทียบกับ b) ใบกะเพราที่ผ่านกระบวนการทำอาหารโดยการคั่ว



รูปที่ 3-5 ข) โครมาโทแกรมของสารระเหยง่ายของตัวอย่างตัวอย่าง a) ใบโหระพาสดเปรียบเทียบกับ b) ใบโหระพาที่ผ่านกระบวนการทำอาหารโดยการลวกและ c) น้ำลวก



รูปที่ 3-5 ค) โครมาโทแกรมของสารระเหยง่ายของตัวอย่างตัวอย่าง a) ใบแมงลักสดเปรียบเทียบกับ b) ใบแมงลักที่ผ่านกระบวนการทำอาหารโดยการลวกและ c) น้ำลวก

3.6 การประมวลผลโดยวิธีเคโมเมทริกซ์

จากการวิเคราะห์ตัวอย่างใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลักสด โดยทำการทดลองซ้ำ 9 ครั้ง รวมทั้ง ใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลักที่ผ่านกระบวนการทำอาหาร ซึ่งประกอบไปด้วย ใบกะเพราคั่ว ใบโหระพาและใบแมงลักลวก และน้ำที่ผ่านการลวก โดยทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง รวมทั้งหมด 42 ตัวอย่าง ซึ่งมีการใช้สัญลักษณ์แทนตัวอย่างทั้ง 42 ตัวอย่างดังตารางที่ 3.6 ก) - ข)

ตารางที่ 3.6 ก) สัญลักษณ์ที่ใช้ในการประมวลผลโดยวิธีเคโมเมทริกซ์ของใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลักสด

Brand	Part_times	Brand	Part_times	Brand	Part_times
A1	holy_1	B1	thai_1	C1	hoary_1
A2	holy_2	B2	thai_2	C2	hoary_2
A3	holy_3	B3	thai_3	C3	hoary_3
A4	holy_4	B4	thai_4	C4	hoary_4
A5	holy_5	B5	thai_5	C5	hoary_5
A6	holy_6	B6	thai_6	C6	hoary_6
A7	holy_7	B7	thai_7	C7	hoary_7
A8	holy_8	B8	thai_8	C8	hoary_8
A9	holy_9	B9	thai_9	C9	hoary_9

ตารางที่ 3.6 ข) สัญลักษณ์ที่ใช้ในการประมวลผลโดยวิธีเคโมเมทริกซ์ของใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลักจากการผ่านกระบวนการทำอาหาร

Brand	Part_times	Brand	Part_times	Brand	Part_times
AR1	holy_roasted_1	BB1	thai_scalded_1	CB1	hoary_scalded_1
AR2	holy_roasted_2	BB2	thai_scalded_2	CB2	hoary_scalded_2
AR3	holy_roasted_3	BB3	thai_scalded_3	CB3	hoary_scalded_3
		BW4	thai_water_4	CW4	hoary_water_4
		BW5	thai_water_5	CW5	hoary_water_5
		BW6	thai_water_6	CW6	hoary_water_6

แล้วนำไปประมวลผลด้วยวิธีเคโมเมทริกซ์ชนิด PCA ด้วยโปรแกรม XLSTAT 2018 พบว่า จากรูปที่ 3.6 ก) สามารถแบ่งกลุ่มตัวอย่างออกเป็น 5 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย B1 B2 B3 B4 B5 B6 B7 B8 B9

กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย BB1 BB2 BB3 BW1 BW2 BW3

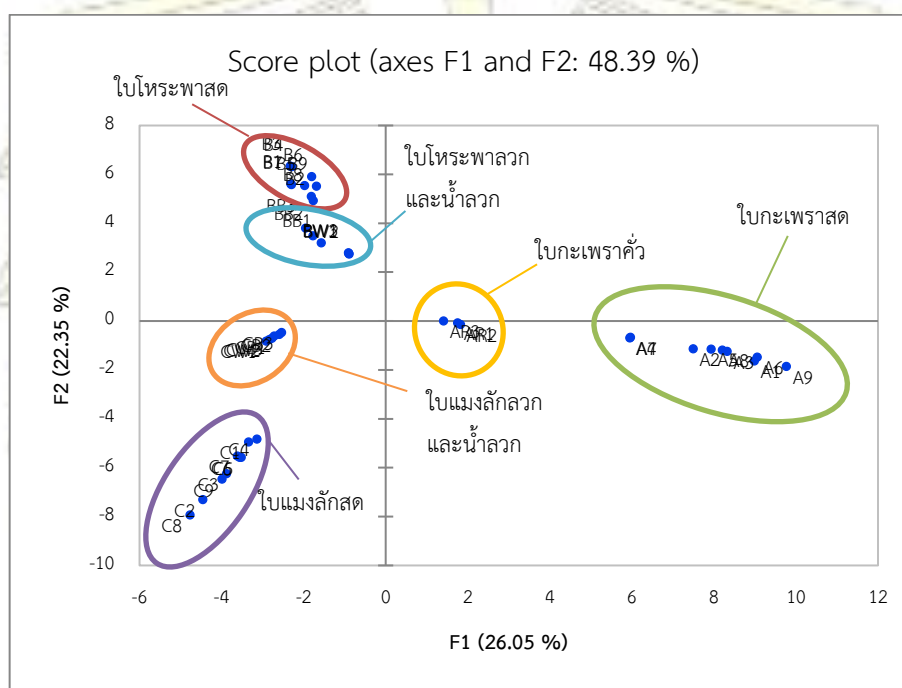
กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วย CB1 CB2 CB3 CW1 CW2 CW3

กลุ่มที่ 4 ประกอบด้วย AR1 AR2 AR3

กลุ่มที่ 5 ประกอบด้วย A1 A2 A3 A4 A5 A6 A7 A8 A9

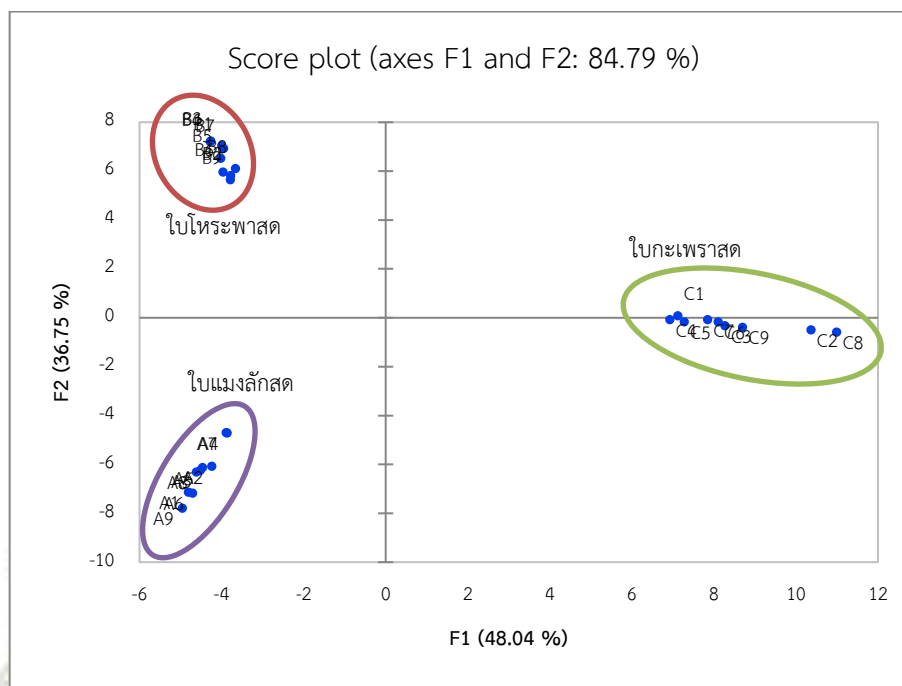
กลุ่มที่ 6 ประกอบด้วย C1 C2 C3 C4 C5 C6 C7 C8 C9

เมื่อพิจารณาจากรูปที่ 3.6 ก) พบว่ากลุ่มที่ 1 5 และ 6 แยกออกจากกันชัดเจน แสดงว่าตัวอย่างใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลักสด จากการทำการทดลองซ้ำ 9 ครั้ง มีจำนวนและองค์ประกอบของสารระเหยง่ายที่แตกต่างกัน และกลุ่มที่ 2 3 และ 4 แยกออกจากกันชัดเจนกับกลุ่มที่ 1 5 และ 6 แสดงว่ากระบวนการทำอาหารมีผลกับสารระเหยง่ายที่มีอยู่ในใบสด นอกจากนี้ยังพบว่ากลุ่มที่ 2 ใบลวกและน้ำลวกของโหระพา และกลุ่มที่ 3 ใบลวกและน้ำลวกของใบแมงลักต่างอยู่ในกลุ่มเดียวกัน แสดงว่าใบลวกและน้ำลวกที่ผ่านกระบวนการทำอาหารโดยการลวกมีองค์ประกอบของสารระเหยง่ายเหมือนกัน

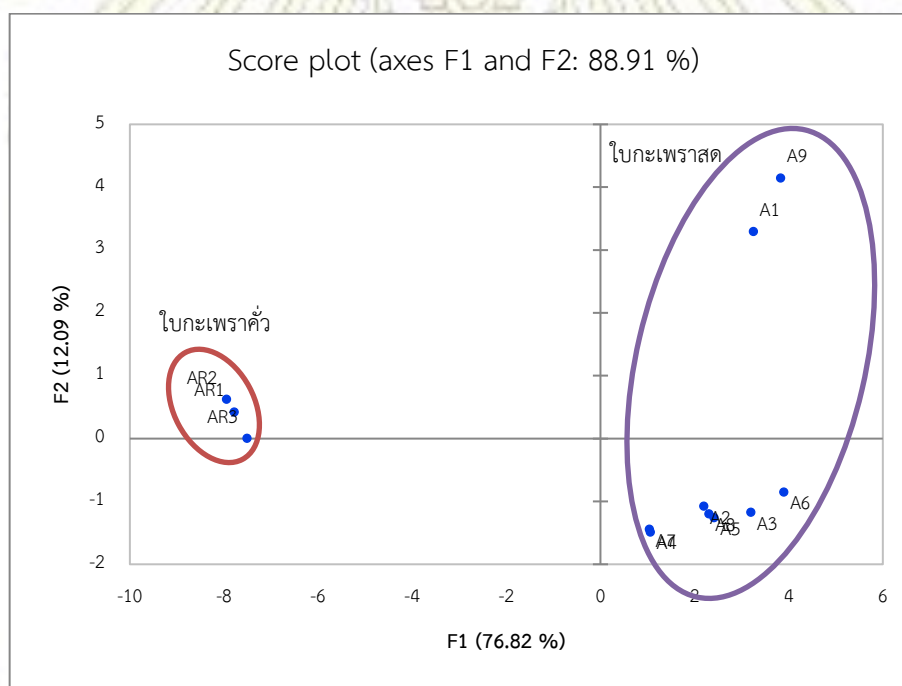


รูปที่ 3.6 ก) กราฟแสดงผล PCA ในการจัดกลุ่มตัวอย่างใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก และจากการผ่านกระบวนการทำอาหาร

จากนั้นนำข้อมูลที่ได้จากการทดลองนำมาประมวลผลด้วยวิธีเคโมเมตริกซ์ชนิด PCA โดยเปรียบเทียบใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลักสด ดังรูปที่ 3.6 ข) และเปรียบเทียบใบสดทั้ง 3 ชนิด กับใบที่ผ่านกระบวนการทำอาหาร โดยเปรียบเทียบใบกะเพราสดกับใบกะเพราคั่ว ดังรูปที่ 3.6 ค) เปรียบเทียบใบโหระพาสดกับใบโหระพาลวกและน้ำลวก ดังรูปที่ 3.6 ง) และเปรียบเทียบใบแมงลักสดกับใบแมงลักลวกและน้ำลวก ดังรูปที่ 3.6 จ)



รูปที่ 3.6 ข) กราฟแสดงผล PCA ในการจัดกลุ่มตัวอย่างใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลักสด



รูปที่ 3.6 ค) กราฟแสดงผล PCA ในการจัดกลุ่มตัวอย่างใบกะเพราสด ใบกะเพราที่ผ่านกระบวนการทำอาหาร โดยการคั่ว

บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

จากการวิเคราะห์หาสารระเหยง่ายในตัวอย่างใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี โดยการหาอัตราการเพิ่มอุณหภูมิของเครื่อง GC-MS โดยจากผลการทดลองพบว่าอัตราการเพิ่มอุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 3 องศาเซลเซียสต่อนาที และเลือกอัตราส่วนของสารที่เข้าคอลัมน์พบว่าอัตราส่วนที่ทำให้สารแยกออกจากกันได้ดีที่สุด คือ อัตราส่วน 10:1 จากนั้นหาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิคเฮดสเปซ โดยการวิเคราะห์ทีละตัวแปร (single factor optimization) พบว่าอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสารระเหยง่ายในตัวอย่างใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก คือ อุณหภูมิในการสกัด 60 องศาเซลเซียส และเวลาในการสกัด 45 นาที

เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมจึงทำการวิเคราะห์หาสารระเหยง่ายในตัวอย่างใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก โดยพิสูจน์ทราบเอกลักษณ์ของสารระเหยง่ายจากการเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล NIST14 โดยสามารถพิสูจน์ทราบเอกลักษณ์ของสารระเหยง่ายได้ทั้งหมด 74 สาร แล้วนำพื้นที่ใต้พีกของสารระเหยง่ายที่ได้จากโครมาโทแกรมของแต่ละตัวอย่างคำนวณหาค่า Normalized area เพื่อใช้ในประมวลผลโดยวิธีเคโมเมตริกซ์ชนิด PCA ด้วยโปรแกรม XLSTAT 2018 พบว่า สามารถแบ่งกลุ่มตัวอย่างออกเป็น 6 กลุ่ม คือ ตัวอย่างใบกะเพราสด ใบโหระพาสด ใบแมงลักสด ใบกะเพราคั่ว ใบโหระพาลวกและน้ำที่ผ่านการลวก ใบแมงลักลวกและน้ำที่ผ่านการลวก ดังรูปที่ 3.6 ก) จากนั้นทำการประมวลผลข้อมูลที่ได้จากตัวอย่างตัวอย่างใบกะเพราสด ใบโหระพาสด ใบแมงลักสดที่ผ่านกระบวนการทำอาหาร ทั้งใบกะเพราคั่ว ใบโหระพาและใบแมงลักลวก และน้ำที่ผ่านการลวก พบว่าทั้ง 4 กลุ่มตัวอย่างมีลักษณะที่แตกต่างกัน เนื่องจากรูปที่ 3.6 ข) – ง) มีการแยกกลุ่มจากกันชัดเจน

เอกสารอ้างอิง

1. Dzoyem, J.P.; McGaw, L.J.; Kuete, V.; Bakowsky, U. Anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of African medicinal spices and vegetables. *Medicinal Spices and Vegetables from Africa*. **2017**, 239–270
2. Olga, M.; Spiridon, K. Ocimum sp. (Basil): Botany, cultivation, Pharmaceutical properties, and Biotechnology. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*. **2008**, *13*, 123-150.
3. Raseetha Vani, S.; Cheng, S.F.; Chuah, C.H. Comparative study of volatile compounds from Genus Ocimum. *American Journal of Applied Sciences* *6*. **2009**, *3*, 523-528
4. Mónica, P.M.; Patricia, S.; Paz, M.; Concepción, C. Application of multivariate analysis to the effects of additives on chemical and sensory quality of stored coffee brew. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **2008**, *56*, 11845-11853.
5. Arthur, C.L. and Pawliszyn, J. Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Analytical Chemistry*. **1990**, *62*, 2145-2148.
6. Mark, O. Analysis of laminated documents using solid-phase microextraction. *Journal of the American Institute for Conservation*. **2005**, *44*, 13-26.
7. Vichi, S.; Isabel A.C.; a Pizzale L.; Conte, L.S.; Buxaderasb S.; Lo´pez-Tamamesb E. Analysis of virgin olive oil volatile compounds by headspace solid-phase microextraction coupled to gas chromatography with mass spectrometric and flame ionization detection. *Journal of Chromatography A*, **2003**, *983*, 19-33.
8. Ibanez, E.; Sebastian S.L.; Ramos E.; Tabera J.; Reglero G. Analysis of volatile fruit components by headspace solid-phase microextraction. *Food Chemistry*, **1998**, *63*, 281-286.
9. Klíma´nkova´, E.; Holadova´, K.; Hajsˇlova´, J.; Cˇ ajka, T.; Poustka J.; Koudela M. Aroma profiles of five basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars grown under conventional and organic conditions. *Journal of Food Chemistry*. **2008**, *107*, 464–472.
10. Olsson J.; Bo´rjesson T.; Lundstedt T.; Schnu¨rer J. Detection and quantification of ochratoxin A and deoxynivalenol in barley grains by GC-MS and electronic nose. *International Journal of Food Microbiology*. **2002**, *72*, 203-214.
11. Huang, C.; Jianle, C.; Xin, L.; Junxian, P.; Sophia, J.X.; Donghong, L.; Xingqian, Y. Differentiation of the volatile profiles of chinese bayberry cultivars during storage

- by HS-SPME–GC/MS combined with principal component analysis. *Postharvest Biology and Technology*. **2015**, *100*, 59-72.
12. Freitas, A.M.C. and Moscab, A.I. Coffee geographic origin - an aid to coffee differentiation. *Food Research International*. **1999**, *32*, 565-573.
 13. Venskutonis, R.; Poll, L.; Larsen, M. Effect of irradiation and storage on the composition of volatile compounds in Basil (*Ocimum basilicum* L.). *Flavour and Fragrance Journal*. **1996**, *11*, 117-121.
 14. Chang, X.; Alderson, P.G.; Hollowood, T.A.; Hewson, L.; Wright, C.J. Temperature affects flavour intensity and quality of aroma in fresh basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. **2006**, *86*, 1-6.
 15. Zhouyao, Z.; Janusz, P. Headspace solid-phase microextraction. *Analytical Chemistry*. **1993**, *65*, 1843-1852.
 16. Zhouyao, Z.; Janusz, P. Solid-phase microextraction. *Analytical Chemistry*. **1994**, *66*, 844-853.
 17. Vas, G.; Vekey, K. (2004) *Solid-phase microextraction: a powerful sample preparation tool prior to mass spectrometric analysis*.
 18. Mark, O. (2005) *Analysis of laminated documents using solid-phase microextraction*.
 19. แม้น อมรสิทธิ์ และ อมร เพชรสม. Principles and techniques of instrumental analysis. ชวนพิมพ์, 2539, 921-928.
 20. Brereton, R.G. (2003). *Chemometrics data analysis for the laboratory and chemical Plant*.
 21. Trygg, J. and Wold, S. (2002). *Homepage of chemometrics*.
 22. Santos, H. T. L. D.; Oliveira, A. M. D.; Melo, P. G. D.; Freitas, W.; and Freitas, A. P. R. D. (2012). *Multivariate analysis in Management, Engineering and the Sciences*.



ตารางที่ A-4 แสดง %Normalization ของสารระเหยง่ายลำดับที่ 46-60 ในตัวอย่างใบกะเพราสด และใบกะเพราคั่ว

experiments	%Normalization														
	Cpd 46	Cpd 47	Cpd 48	Cpd 49	Cpd 50	Cpd 51	Cpd 52	Cpd 53	Cpd 54	Cpd 55	Cpd 56	Cpd 57	Cpd 58	Cpd 59	Cpd 60
fresh_holy_rep1	0.00	0.00	1.94	52.17	27.20	0.00	0.00	0.00	0.00	1.58	0.00	0.04	0.00	0.05	1.39
fresh_holy_rep2	0.00	0.00	1.01	57.89	28.61	0.00	0.00	0.00	0.00	1.65	0.00	0.04	0.00	0.05	1.42
fresh_holy_rep3	0.00	0.00	0.58	62.61	23.55	0.00	0.00	0.00	0.00	1.34	0.00	0.03	0.00	0.04	0.99
fresh_holy_rep4	0.00	0.00	1.20	67.99	21.67	0.00	0.00	0.00	0.00	1.30	0.00	0.04	0.00	0.04	1.17
fresh_holy_rep5	0.00	0.00	1.01	61.25	26.07	0.00	0.00	0.00	0.00	1.47	0.00	0.03	0.00	0.04	1.23
fresh_holy_rep6	0.00	0.00	0.93	56.94	28.52	0.00	0.00	0.00	0.00	1.56	0.00	0.03	0.00	0.05	1.41
fresh_holy_rep7	0.00	0.00	1.18	68.03	21.60	0.00	0.00	0.00	0.00	1.29	0.00	0.04	0.00	0.04	1.17
fresh_holy_rep8	0.00	0.00	1.05	62.52	24.82	0.00	0.00	0.00	0.00	1.41	0.00	0.03	0.00	0.04	1.15
fresh_holy_rep9	0.00	0.00	2.17	55.52	21.89	0.00	0.00	0.00	0.00	2.17	0.00	0.04	0.00	0.06	1.51
roasted_holy_rep_1	0.00	0.00	17.16	0.00	69.89	0.00	0.00	0.00	0.00	5.90	0.00	0.00	0.00	0.00	4.58
roasted_holy_rep_2	0.00	0.00	21.26	0.00	65.03	0.00	0.00	0.00	0.00	6.91	0.00	0.00	0.00	0.00	4.64
roasted_holy_rep_3	0.00	0.00	18.19	0.00	69.13	0.00	0.00	0.00	0.00	7.38	0.00	0.00	0.00	0.00	3.58

ตารางที่ A-6 แสดง %Normalization ของสารระเหยง่ายลำดับที่ 1-15 ในตัวอย่างใบโหระพาสด ใบโหระพาลวก และน้ำลวก

experiments	%Normalization														
	Cpd 1	Cpd 2	Cpd 3	Cpd 4	Cpd 5	Cpd 6	Cpd 7	Cpd 8	Cpd 9	Cpd 10	Cpd 11	Cpd 12	Cpd 13	Cpd 14	Cpd 15
fresh_thai_rep1	0.00	0.00	0.00	0.33	0.00	0.09	0.00	0.20	0.02	0.00	0.27	0.07	0.45	0.04	0.00
fresh_thai_rep2	0.00	0.00	0.00	0.10	0.00	0.13	0.00	0.14	0.01	0.00	0.11	0.08	0.41	0.02	0.00
fresh_thai_rep3	0.00	0.00	0.00	0.12	0.00	0.07	0.00	0.21	0.02	0.00	0.16	0.08	0.49	0.05	0.00
fresh_thai_rep4	0.00	0.00	0.00	0.07	0.00	0.07	0.00	0.23	0.01	0.00	0.17	0.08	0.51	0.06	0.00
fresh_thai_rep5	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.04	0.00	0.17	0.00	0.00	0.02	0.10	0.50	0.03	0.00
fresh_thai_rep6	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.05	0.00	0.19	0.00	0.00	0.02	0.11	0.48	0.03	0.00
fresh_thai_rep7	0.00	0.00	0.00	0.34	0.00	0.08	0.00	0.20	0.01	0.00	0.25	0.06	0.42	0.04	0.00
fresh_thai_rep8	0.00	0.00	0.00	0.10	0.00	0.17	0.00	0.15	0.13	0.00	0.13	0.09	0.43	0.02	0.00
fresh_thai_rep9	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.06	0.00	0.20	0.01	0.00	0.03	0.11	0.51	0.04	0.00
boiled_thai_rep1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.21	0.97	0.00	0.01	0.77	0.40	0.00	0.00
boiled_thai_rep2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.26	1.19	0.00	0.01	0.90	0.37	0.00	0.00
boiled_thai_rep3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.29	1.32	0.00	0.02	1.05	0.36	0.00	0.00
water_thai_rep1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.80	0.00	0.00
water_thai_rep2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.84	0.00	0.00
water_thai_rep3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.86	0.00	0.00

ตารางที่ A-10 แสดง %Normalization ของสารระเหยง่ายลำดับที่ 61-74 ในตัวอย่างใบโหระพาสด ใบโหระพาลวก และน้ำลวก

experiments	%Normalization													
	Cpd 61	Cpd 62	Cpd 63	Cpd 64	Cpd 65	Cpd 66	Cpd 67	Cpd 68	Cpd 69	Cpd 70	Cpd 71	Cpd 72	Cpd 73	Cpd 74
fresh_thai_rep1	0.00	0.30	0.00	0.05	0.06	0.00	0.28	0.00	0.00	1.29	0.00	0.00	0.00	0.41
fresh_thai_rep2	0.00	0.25	0.00	0.04	0.04	0.00	0.25	0.00	0.00	1.04	0.00	0.00	0.00	1.05
fresh_thai_rep3	0.00	0.33	0.00	0.05	0.06	0.00	0.32	0.00	0.00	1.42	0.00	0.00	0.00	0.55
fresh_thai_rep4	0.00	0.36	0.00	0.05	0.07	0.00	0.36	0.00	0.00	1.68	0.00	0.00	0.00	0.42
fresh_thai_rep5	0.00	0.27	0.00	0.04	0.05	0.00	0.33	0.00	0.00	1.42	0.00	0.00	0.00	0.61
fresh_thai_rep6	0.00	0.04	0.00	0.05	0.32	0.00	0.03	0.00	0.00	0.36	0.00	0.00	0.00	0.00
fresh_thai_rep7	0.00	0.29	0.00	0.05	0.05	0.00	0.27	0.00	0.00	1.21	0.00	0.00	0.00	0.51
fresh_thai_rep8	0.00	0.21	0.00	0.04	0.05	0.00	0.30	0.00	0.00	1.08	0.00	0.00	0.00	1.17
fresh_thai_rep9	0.00	0.03	0.00	0.05	0.29	0.00	0.02	0.00	0.00	0.34	0.00	0.00	0.00	0.03
boiled_thai_rep1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.02	0.00	0.00	0.00	1.49
boiled_thai_rep2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.24	0.00	0.00	0.00	1.92
boiled_thai_rep3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.60	0.00	0.00	0.00	2.20
water_thai_rep1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.17	0.00	0.00	0.00	0.64
water_thai_rep2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.09	0.00	0.00	0.00	0.44
water_thai_rep3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.07	0.00	0.00	0.00	0.41

ตารางที่ A-11 แสดง %Normalization ของสารระเหยง่ายลำดับที่ 1-15 ในตัวอย่างใบแมงลักสด ใบแมงลักลวก และน้ำลวก

experiments	%Normalization														
	Cpd 1	Cpd 2	Cpd 3	Cpd 4	Cpd 5	Cpd 6	Cpd 7	Cpd 8	Cpd 9	Cpd 10	Cpd 11	Cpd 12	Cpd 13	Cpd 14	Cpd 15
fresh_hoary_rep1	0.00	0.00	0.00	0.15	0.00	0.27	0.00	1.47	0.15	0.07	0.71	0.18	0.10	0.00	1.58
fresh_hoary_rep2	0.00	0.00	0.00	0.21	0.00	0.21	0.00	2.14	0.20	0.14	3.05	0.36	0.11	0.00	2.74
fresh_hoary_rep3	0.00	0.00	0.00	0.08	0.00	0.31	0.00	1.39	0.13	0.07	1.54	0.19	0.08	0.00	1.51
fresh_hoary_rep4	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.48	0.00	1.35	0.13	0.06	0.56	0.17	0.06	0.00	1.43
fresh_hoary_rep5	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.44	0.00	1.39	0.14	0.06	0.37	0.17	0.06	0.00	1.27
fresh_hoary_rep6	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	0.58	0.00	1.53	0.15	0.06	0.72	0.18	0.07	0.00	1.39
fresh_hoary_rep7	0.00	0.00	0.00	0.16	0.00	0.31	0.00	1.64	0.17	0.08	0.73	0.18	0.10	0.00	1.77
fresh_hoary_rep8	0.00	0.00	0.00	0.22	0.00	0.21	0.00	2.12	0.19	0.15	2.82	0.37	0.11	0.00	2.60
fresh_hoary_rep9	0.00	0.00	0.00	0.10	0.00	0.33	0.00	1.38	0.15	0.08	1.40	0.20	0.08	0.00	1.47
boiled_hoary_rep1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.66	1.23	0.00	1.88	0.00	0.00	9.20
boiled_hoary_rep2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.62	0.84	0.00	1.69	0.00	0.00	10.09
boiled_hoary_rep3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.59	1.20	0.00	1.85	0.00	0.00	8.54
water_hoary_rep1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.49	0.00	0.00	0.00	0.26	0.00	0.19
water_hoary_rep2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.39	0.00	0.00	0.00	0.27	0.00	0.14
water_hoary_rep3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.34	0.00	0.00	0.00	0.24	0.00	0.12

ตารางที่ A-12 แสดง %Normalization ของสารระเหยง่ายลำดับที่ 16-30 ในตัวอย่างใบแมงลักสด ใบแมงลักตาก และน้ำลวก

experiments	%Normalization														
	Cpd 16	Cpd 17	Cpd 18	Cpd 19	Cpd 20	Cpd 21	Cpd 22	Cpd 23	Cpd 24	Cpd 25	Cpd 26	Cpd 27	Cpd 28	Cpd 29	Cpd 30
fresh_hoary_rep1	0.00	0.00	0.93	0.00	5.44	0.06	0.00	0.00	0.13	1.16	0.05	0.00	0.44	0.07	0.61
fresh_hoary_rep2	0.00	0.00	1.33	0.00	6.89	0.04	0.00	0.00	0.15	1.56	0.09	0.00	0.30	0.05	0.46
fresh_hoary_rep3	0.00	0.00	0.86	0.00	4.83	0.03	0.00	0.00	0.13	1.26	0.07	0.00	0.40	0.06	0.59
fresh_hoary_rep4	0.00	0.00	0.83	0.00	4.26	0.03	0.00	0.00	0.09	1.02	0.06	0.00	0.46	0.11	0.71
fresh_hoary_rep5	0.00	0.00	0.70	0.00	4.31	0.03	0.00	0.00	0.12	0.94	0.06	0.00	0.40	0.07	0.62
fresh_hoary_rep6	0.00	0.00	0.80	0.00	4.38	0.04	0.00	0.00	0.10	0.99	0.09	0.00	0.53	0.11	0.80
fresh_hoary_rep7	0.00	0.00	1.02	0.00	4.93	0.07	0.00	0.00	0.15	1.10	0.06	0.00	0.47	0.07	0.57
fresh_hoary_rep8	0.00	0.00	1.47	0.00	7.56	0.07	0.00	0.00	0.15	1.50	0.11	0.00	0.30	0.05	0.48
fresh_hoary_rep9	0.00	0.00	0.92	0.00	4.96	0.05	0.00	0.00	0.12	1.28	0.06	0.00	0.42	0.06	0.51
boiled_hoary_rep1	0.00	0.00	0.67	0.00	4.52	0.00	0.00	0.00	0.00	1.80	0.00	0.00	1.09	0.56	1.72
boiled_hoary_rep2	0.00	0.00	0.53	0.00	3.78	0.00	0.00	0.00	0.00	1.58	0.00	0.00	0.95	0.54	1.48
boiled_hoary_rep3	0.00	0.00	0.53	0.00	3.42	0.00	0.00	0.00	0.00	1.20	0.00	0.00	0.78	0.46	1.24
water_hoary_rep1	0.00	0.00	3.73	0.00	40.63	0.32	0.00	0.00	0.00	7.20	0.00	0.00	4.71	0.00	8.53
water_hoary_rep2	0.00	0.00	4.20	0.00	41.57	0.23	0.00	0.00	0.00	8.35	0.00	0.00	4.69	0.00	8.57
water_hoary_rep3	0.00	0.00	3.89	0.00	41.63	0.27	0.00	0.00	0.00	6.85	0.00	0.00	4.59	0.00	8.13

ตารางที่ A-13 แสดง %Normalization ของสารระเหยง่ายลำดับที่ 31-45 ในตัวอย่างใบแมงลักสด ใบแมงลักตาก และน้ำลวก

experiments	%Normalization														
	Cpd 31	Cpd 32	Cpd 33	Cpd 34	Cpd 35	Cpd 36	Cpd 37	Cpd 38	Cpd 39	Cpd 40	Cpd 41	Cpd 42	Cpd 43	Cpd 44	Cpd 45
fresh_hoary_rep1	0.00	0.00	0.00	0.15	0.00	0.27	0.00	1.47	0.15	0.07	0.71	0.18	0.10	0.00	1.58
fresh_hoary_rep2	0.00	0.00	0.00	0.21	0.00	0.21	0.00	2.14	0.20	0.14	3.05	0.36	0.11	0.00	2.74
fresh_hoary_rep3	0.00	0.00	0.00	0.08	0.00	0.31	0.00	1.39	0.13	0.07	1.54	0.19	0.08	0.00	1.51
fresh_hoary_rep4	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.48	0.00	1.35	0.13	0.06	0.56	0.17	0.06	0.00	1.43
fresh_hoary_rep5	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.44	0.00	1.39	0.14	0.06	0.37	0.17	0.06	0.00	1.27
fresh_hoary_rep6	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	0.58	0.00	1.53	0.15	0.06	0.72	0.18	0.07	0.00	1.39
fresh_hoary_rep7	0.00	0.00	0.00	0.16	0.00	0.31	0.00	1.64	0.17	0.08	0.73	0.18	0.10	0.00	1.77
fresh_hoary_rep8	0.00	0.00	0.00	0.22	0.00	0.21	0.00	2.12	0.19	0.15	2.82	0.37	0.11	0.00	2.60
fresh_hoary_rep9	0.00	0.00	0.00	0.10	0.00	0.33	0.00	1.38	0.15	0.08	1.40	0.20	0.08	0.00	1.47
boiled_hoary_rep1	0.00	0.00	0.67	0.00	4.52	0.00	0.00	0.00	0.00	1.80	0.00	0.00	1.09	0.56	1.72
boiled_hoary_rep2	0.00	0.00	0.53	0.00	3.78	0.00	0.00	0.00	0.00	1.58	0.00	0.00	0.95	0.54	1.48
boiled_hoary_rep3	0.00	0.00	0.53	0.00	3.42	0.00	0.00	0.00	0.00	1.20	0.00	0.00	0.78	0.46	1.24
water_hoary_rep1	0.00	0.00	3.73	0.00	40.63	0.32	0.00	0.00	0.00	7.20	0.00	0.00	4.71	0.00	8.53
water_hoary_rep2	0.00	0.00	4.20	0.00	41.57	0.23	0.00	0.00	0.00	8.35	0.00	0.00	4.69	0.00	8.57
water_hoary_rep3	0.00	0.00	3.89	0.00	41.63	0.27	0.00	0.00	0.00	6.85	0.00	0.00	4.59	0.00	8.13

ตารางที่ A-15 แสดง %Normalization ของสารระเหยง่ายลำดับที่ 61-74 ในตัวอย่างใบแมงลักสด ใบแมงลักตาก และน้ำลวก

experiments	%Normalization													
	Cpd 61	Cpd 62	Cpd 63	Cpd 64	Cpd 65	Cpd 66	Cpd 67	Cpd 68	Cpd 69	Cpd 70	Cpd 71	Cpd 72	Cpd 73	Cpd 74
fresh_hoary_rep1	0.12	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.05	0.00	0.20	2.81	0.05	0.00
fresh_hoary_rep2	0.26	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.12	0.06	0.00	0.30	4.40	0.04	0.00
fresh_hoary_rep3	0.23	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.13	0.05	0.00	0.24	4.35	0.07	0.00
fresh_hoary_rep4	0.19	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.18	3.40	0.08	0.00
fresh_hoary_rep5	0.21	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.09	0.04	0.00	0.20	3.46	0.08	0.00
fresh_hoary_rep6	0.20	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.09	0.04	0.00	0.19	3.16	0.06	0.00
fresh_hoary_rep7	0.14	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.06	0.00	0.23	3.30	0.07	0.00
fresh_hoary_rep8	0.30	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.15	0.08	0.00	0.30	5.60	0.03	0.00
fresh_hoary_rep9	0.24	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.14	0.06	0.00	0.25	4.55	0.07	0.00
boiled_hoary_rep1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	21.05	2.19	0.00	0.00
boiled_hoary_rep2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	19.47	2.08	0.00	0.00
boiled_hoary_rep3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	21.11	1.67	0.00	0.00
water_hoary_rep1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.18	0.96	0.00	0.00
water_hoary_rep2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.37	0.94	0.00	0.00
water_hoary_rep3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.19	0.86	0.00	0.00

ประวัติผู้วิจัย

นาย รัชกฤษ บุญรัตน์สมัย เกิดเมื่อวันที่ 27 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2539 ที่จังหวัด กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนสุรศักดิ์มนตรี จังหวัดกรุงเทพมหานคร เมื่อปีการศึกษา 2556 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2557 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ บ้านเลขที่ 68/67 ตำบล/แขวง ลาดพร้าว อำเภอ/เขต ลาดพร้าว จังหวัด กรุงเทพฯ รหัสไปรษณีย์ 10230 อีเมล manop-gao@hotmail.com

