

การแยกอีแนนทิโอเมอร์ของแลคโตนด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี

Enantiomeric separation of lactones by gas chromatography



โดย

นางสาวทิตา ตั้งฤทัยวานิชย์

นางสาวรมิตา วะสินโน

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร


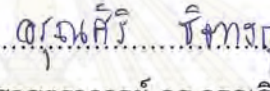
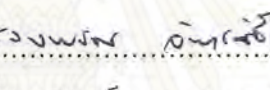
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

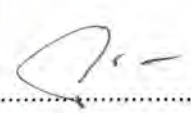
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2557

เรื่อง การแยกอิแนนท์ไอเมอร์ของแลคโตนด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี  
โดย นางสาวศิตา ตั้งฤทัยวานิชย์ และ นางสาวรมิดา วะสินโน  
ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา  
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ .....  ..... ประธานกรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุซาดา จุณวัฒน์กุล)  
.....  ..... อาจารย์ที่ปรึกษา  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรุณศิริ ชิตางกูร)  
.....  ..... กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร.นวลพรรณ จันทศิริ)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

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

หัวหน้าภาควิชาเคมี

วัน ..22.. เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2558

คุณภาพของการเขียนรายงานเล่มนี้อยู่ในระดับ  ดีมาก  ดี  พอใช้





## กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรุณศิริ ชิตางกูร อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ ที่กรุณาให้คำแนะนำและสนับสนุนเป็นอย่างดีตลอดเวลาที่ทำการวิจัย รวมทั้งให้ความช่วยเหลือในการเขียนรายงานฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุชาติ จุฑาพัฒน์กุล และ รองศาสตราจารย์ ดร.นवलพรรณ จันทร์ศิริ ที่ให้เกียรติเป็นกรรมการสอบและตรวจสอบรายงาน

ผู้วิจัยขอขอบคุณพี่สายทิพย์ เจริญชัยวรกิจ และพี่มรกต จงจิตรวัฒนา ที่กรุณาให้คำแนะนำและความช่วยเหลือต่างๆ ในการทำวิจัยในครั้งนี้

ผู้วิจัยขอขอบคุณโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ ฝ่ายวิชาการ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประจำปีการศึกษา 2557 สำหรับทุนสนับสนุนงานวิจัย และขอขอบคุณภาควิชาเคมี ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และเครื่องมือในการทำโครงการวิจัยนี้



ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ค
Abstract	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญรูปประกอบ	ช
สารบัญตารางประกอบ	ซ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ทฤษฎี	3
2.1 แก๊สโครมาโทกราฟี (gas chromatography, GC)	3
2.2 ไซโคลเดกซ์ทรีน (cyclodextrin, CD)	4
2.3 แลคโตน (lactone)	5
2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	6
บทที่ 3 การทดลอง	10
3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์	10
3.2 แก๊สและสารเคมี	10
3.3 การเตรียมสาร	11
3.4 คอลัมน์	11
3.5 การปรับสภาวะคอลัมน์	11
3.6 การทดสอบประสิทธิภาพคอลัมน์	12
3.7 การแยกอีแนนทิโอเมอร์	12
บทที่ 4 ผลการทดลอง	13
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	27
เอกสารอ้างอิง	29
ภาคผนวก	31
ประวัติผู้วิจัย	34

## สารบัญรูปประกอบ

รูปที่	หน้า
2.1 โครงสร้างของ $\beta$ -CD ซึ่งประกอบด้วยกลูโคส 7 หน่วย และรูปร่างที่คล้ายถ้วย [8]	5
2.2 โครงสร้างของแลคโตนขนาดต่างๆ	5
2.3 โครงสร้างอนุพันธ์ $\beta$ -CD ชนิด (a) MeAc; (b) diAc; และ (c) diMe	9
4.1 กราฟ $\ln \alpha$ กับ $1/T$ ของแลคโตน A-M วิเคราะห์ด้วยคอลลิมน์ (a) MeAc; (b) diAc และ (c) diMe	14
4.2 ความชันของกราฟ $\ln \alpha$ กับ $1/T$ ของแลคโตน A-M วิเคราะห์ด้วยคอลลิมน์ MeAc; diAc และ diMe ตามลำดับ	15
4.3 โครมาโทแกรมแสดงการแยก A และ B ด้วยคอลลิมน์ MeAc ที่ 170 และ 160 °C	16
4.4 โครมาโทแกรมแสดงการแยก A และ B ด้วยคอลลิมน์ diAc ที่ 170 และ 160 °C	16
4.5 โครมาโทแกรมแสดงการแยก A และ B ด้วยคอลลิมน์ diMe ที่ 100 และ 90 °C	17
4.6 โครมาโทแกรมแสดงการแยก B และ D ด้วยคอลลิมน์ MeAc ที่ 170 และ 160 °C	18
4.7 โครมาโทแกรมแสดงการแยก B และ D ด้วยคอลลิมน์ diAc ที่ 150 และ 140 °C	18
4.8 โครมาโทแกรมแสดงการแยก B และ D ด้วยคอลลิมน์ diMe ที่ 130 และ 120 °C	19
4.9 โครมาโทแกรมแสดงการแยก B และ L ด้วยคอลลิมน์ MeAc ที่ 170 และ 160 °C	20
4.10 โครมาโทแกรมแสดงการแยก B และ L ด้วยคอลลิมน์ diAc ที่ 140 และ 130 °C	20
4.11 โครมาโทแกรมแสดงการแยก B และ L ด้วยคอลลิมน์ diMe ที่ 110 และ 100 °C	21
4.12 โครมาโทแกรมแสดงการแยก J ด้วยคอลลิมน์ (a) MeAc; (b) diAc และ (c) diMe	22
4.13 โครมาโทแกรมแสดงการแยก H และ I ด้วยคอลลิมน์ (a) MeAc; (b) diAc และ (c) diMe	23
4.14 กราฟ $R_s$ กับ $k'_2$ ของแลคโตน A-M วิเคราะห์ด้วยคอลลิมน์ (a) MeAc; (b) diAc และ (c) diMe	24
4.15 ค่า $k'_2$ ของแลคโตน A-M ที่ให้ $R_s = 2$ เมื่อวิเคราะห์ด้วยคอลลิมน์ MeAc; diAc และ diMe (ค่า $k'_2$ ได้จากการคำนวณดังแสดงในตาราง A3)	25
4.16 โครมาโทแกรมแสดงการแยก L ด้วยคอลลิมน์ (a) MeAc; (b) diAc และ (c) diMe	26

## สารบัญตารางประกอบ

ตารางที่		หน้า
A1	สมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการแยก ( $\alpha$ ) กับอุณหภูมิ (T) ของแลคโตน วิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ MeAc, diAc และ diMe	31
A2	สมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $R_s$ กับ $k'_2$ ของแลคโตน วิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ MeAc, diAc และ diMe	32
A3	ค่า retention factor ของอิแนนทิโอเมอร์ลำดับที่สองของแลคโตน ( $k'_2$ ) เมื่อแยกสมบูรณ์ด้วยค่า $R_s = 2$ วิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ MeAc, diAc และ diMe (คำนวณค่า $k'_2$ จากสมการดังตาราง A2*)	33

ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## บทที่ 1

### บทนำ

อีแนนทีโอเมอร์เป็นสเตอริโอไอโซเมอร์ประเภทหนึ่ง ที่ใช้เรียกโมเลกุลที่มีองค์ประกอบอะตอมเหมือนกัน แต่มีการเรียงตัวในสามมิติแตกต่างกัน ทำให้เกิดโครงสร้างที่เป็นภาพกระจกเงาซึ่งกันและกัน และไม่สามารถซ้อนทับกันสนิท คู่อีแนนทีโอเมอร์มีสมบัติทางกายภาพ เช่น จุดหลอมเหลว จุดเดือด ความถ่วงจำเพาะ และค่าการละลาย เหมือนกัน ยกเว้นสมบัติในการหมุนระนาบของแสงโพลาไรส์ ซึ่งมีทิศทางตรงกันข้าม โดยใช้สัญลักษณ์ (*R*) และ (*S*) แสดงการจัดเรียงตัวของหมู่อะตอมจากมากไปหาน้อยรอบตำแหน่งไครัล มีทิศทางเคมีนาฟิกาและทวนเคมีนาฟิกา ตามลำดับ [1] นอกจากนี้อีแนนทีโอเมอร์แต่ละตัวอาจแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพที่แตกต่างกันได้ เช่น thalidomide ซึ่งใช้เป็นยานอนหลับ และบรรเทาอาการแพ้ท้องในหญิงตั้งครรภ์ ยาที่วางจำหน่ายอยู่ในรูปราชีมีกประกอบ ด้วย (*R*)-thalidomide ที่มีฤทธิ์ในการรักษา และ (*S*)-thalidomide ที่เป็นพิษ [1] อีแนนทีโอเมอร์ของยาบางประเภทอาจออกฤทธิ์แตกต่างกัน เช่น (*S*)-penicillamine ใช้เป็นยารักษาข้ออักเสบ (antiarthritic drug) แต่ (*R*)-penicillamine เป็นสารก่อกลายพันธุ์ ในขณะที่ (*S,S*)-ethambutol เป็นยาต้านวัณโรค แต่ (*R,R*)-ethambutol ทำให้ตาบอด ดังนั้นการใช้อีแนนทีโอเมอร์เดี่ยวจึงมีประโยชน์กว่าการใช้ยาในรูปของผสมราชีมีก ทั้งเพิ่มฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ลดการเกิดความยุ่งยากทางเภสัชจลนศาสตร์ และลดการเกิดปัญหาทางด้านปฏิกริยาระหว่างยา เป็นต้น [2]

จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าแลคโตนบางชนิดมีสมบัติไครัล โดยคู่อีแนนทีโอเมอร์ของแลคโตนที่ต่างกันจะให้กลิ่นหรือรสชาติที่ต่างกัน เช่น การศึกษาอีแนนทีโอเมอร์ของแกมมาแลคโตนพบว่า (*R*)- $\gamma$ -valerolactone ให้กลิ่นหวาน ส่วน (*S*)- $\gamma$ -valerolactone แทบไม่มีกลิ่น อีกตัวอย่างหนึ่งได้แก่ (*R*)- $\gamma$ -heptalactone ให้กลิ่น sweet, spicy, herbaceous hay note คล้ายคูมาริน ส่วน (*S*)- $\gamma$ -heptalactone ให้กลิ่น fatty, coconut note, with fruity-sweet aspects และกลิ่นจางกว่า เป็นต้น [3] ด้วยสมบัติเหล่านี้ จึงสามารถใช้แลคโตนในการเป็นสารปรุงแต่งเพื่อให้กลิ่นและรสชาติอาหารหรือผลิตภัณฑ์ในทางอุตสาหกรรมได้ ดังนั้นการแยกอีแนนทีโอเมอร์ให้อยู่ในรูปอีแนนทีโอเมอร์เดี่ยวจึงมีประโยชน์อย่างยิ่ง

แก๊สโครมาโทกราฟี (gas chromatography, GC) เป็นเทคนิคที่ใช้ในการแยกองค์ประกอบของสารที่ระเหยได้ (volatile compounds) และเสถียรต่อความร้อน โดยอาศัยความสามารถในการกระจายตัวที่แตกต่างกัน ระหว่างเฟสคงที่และเฟสเคลื่อนที่ที่อยู่ในสถานะแก๊ส [4] โดย GC เป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพสูง ใช้เวลาวิเคราะห์รวดเร็ว และใช้สารปริมาณน้อย ที่ผ่านมามีการใช้ไซโคลเดกซ์ทริน (cyclodextrin, CD) และอนุพันธ์เป็นเฟสคงที่สำหรับ

การแยกอิแนนทิโอเมอร์ด้วยเทคนิค GC อย่างแพร่หลาย และมีการศึกษาสมบัติของอนุพันธ์ไซโคลเดกซ์ทริน โดยการเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2, 3 และ 6 ของหน่วยกลูโคสของวงไซโคลเดกซ์ทริน เพื่อให้ได้อนุพันธ์ชนิดใหม่ที่มีสมบัติในการแยกอิแนนทิโอเมอร์แตกต่างกัน [5]

สำหรับแลคโตนเป็นสารที่ระเหยได้ง่าย ในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้เทคนิค GC วิเคราะห์อิแนนทิโอเมอร์ของแลคโตน จากการศึกษางานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า มีการใช้เทคนิค GC โดยใช้อนุพันธ์ไซโคลเดกซ์ทรินชนิดต่างๆ เป็นเฟสคงที่ในการแยกและวิเคราะห์คู่อิแนนทิโอเมอร์ของสารในกลุ่มแกมมาแลคโตนอย่างกว้างขวาง

จากการศึกษาค้นคว้าพบว่าอนุพันธ์  $\beta$ -CD สามารถแยกอิแนนทิโอเมอร์ของแกมมาแลคโตนได้ดีและมีการใช้กันอย่างแพร่หลาย ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะศึกษาสมบัติการแยกคู่อิแนนทิโอเมอร์ของแกมมาแลคโตนโดยใช้อนุพันธ์  $\beta$ -CD ชนิดใหม่ ที่มีหมู่แทนที่ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 และ 3 ของหน่วยกลูโคสของวงไซโคลเดกซ์ทรินแตกต่างกัน (คือ methyl และ acetyl) และยังมีผู้ศึกษามากนัก คือ 2-O-methyl-3-O-acetyl-6-O-*tert*-butyldimethylsilyl- $\beta$ -CD (หรือ MeAc) [5] โดยเปรียบเทียบสมบัติการแยกคู่อิแนนทิโอเมอร์กับอนุพันธ์  $\beta$ -CD ที่มีหมู่แทนที่ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 และ 3 ของหน่วยกลูโคสเหมือนกัน คือ 2-3-di-O-acetyl-6-O-*tert*-butyldimethylsilyl- $\beta$ -CD (หรือ diAc) และ 2-3-di-O-methyl-6-O-*tert*-butyldimethylsilyl- $\beta$ -CD (หรือ diMe) ซึ่งเป็นที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย

#### วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. ศึกษาผลของอุณหภูมิและโครงสร้างของแลคโตนที่มีต่อการแยกอิแนนทิโอเมอร์ด้วย GC ที่ใช้ 2-O-methyl-3-O-acetyl-6-O-*tert*-butyldimethylsilyl- $\beta$ -CD เป็นเฟสคงที่
2. เปรียบเทียบผลของหมู่แทนที่ตำแหน่งที่ 2 และ 3 ของอนุพันธ์  $\beta$ -CD ที่มีต่อการแยกอิแนนทิโอเมอร์ของแลคโตน

## บทที่ 2

### ทฤษฎี

#### 2.1 แก๊สโครมาโทกราฟี (gas chromatography, GC) [6]

แก๊สโครมาโทกราฟี (GC) เป็นเทคนิคการแยกและวิเคราะห์สารผสม โดยสารผสมเหล่านี้จะต้องสามารถระเหยกลายเป็นไอได้ ณ อุณหภูมิของคอลัมน์ที่ทำกรวิเคราะห์ จากนั้นไอของสารจะถูกเฟสเคลื่อนที่ (หรือแก๊สพา) พาผ่านเข้าไปยังคอลัมน์ที่บรรจุด้วยเฟสคงที่ หากองค์ประกอบในสารผสมมีความสามารถในการกระจายตัวในเฟสคงที่ที่แตกต่างกัน สารผสมจึงจะแยกออกจากกันได้ จากนั้นสารจะเข้าสู่กระบวนการตรวจวัดและแปรสัญญาณออกมาในรูปแบบโครมาโทแกรม

เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี มีส่วนประกอบ ดังนี้

##### 1. แก๊สพา (carrier gas)

แก๊สพาที่นิยมใช้กันทั่วไป ได้แก่ ไนโตรเจน ฮีเลียม และไฮโดรเจน ซึ่งมีสมบัติเป็นแก๊สเฉื่อยที่ไม่ทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่างหรือตัวทำละลายหรือเฟสคงที่ มีการแพร่ช้า และมวลโมเลกุลต่ำ สามารถจัดหาได้ง่าย มีความบริสุทธิ์สูง ซึ่งแก๊สพาทำหน้าที่พาสารตัวอย่างที่อยู่ในรูปไอหรือแก๊สแล้วเข้าสู่คอลัมน์และส่งไปยังเครื่องตรวจวัด โดยแก๊สพานี้จะต้องมีการควบคุมอัตราการไหลให้คงที่เสมอเพราะมีความสำคัญต่อการวิเคราะห์ทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ

##### 2. ระบบฉีดสารตัวอย่าง (sample injection system)

สารตัวอย่างจะถูกฉีดเข้าไปในส่วน injection port ด้วย syringe โดยจะมีส่วนให้ความร้อน (heater) ทำหน้าที่เปลี่ยนให้สารตัวอย่างกลายเป็นไอก่อนที่จะเข้าสู่คอลัมน์ ระบบฉีดสารที่นิยมใช้ คือ split injection โดยสารตัวอย่างส่วนน้อยจะเข้าสู่คอลัมน์ แต่ส่วนใหญ่อะจะถูกระบายทิ้งออกไป

##### 3. คอลัมน์ (column)

คอลัมน์เป็นหัวใจของการแยกสารด้วยเทคนิค GC เนื่องจากเมื่อไอของสารผสมที่อยู่ในสารตัวอย่างผ่านคอลัมน์ เฟสคงที่ที่เคลือบอยู่ภายในคอลัมน์จะทำหน้าที่เป็นตัวแยกแก๊สหรือไอผสมเหล่านี้ออกจากกันเป็นส่วนๆ ดังนั้นความสามารถในการแยกสารผสม จึงขึ้นอยู่กับชนิดของเฟสคงที่ที่บรรจุอยู่ในคอลัมน์

ในงานวิจัยนี้ใช้คอลัมน์ประเภทแคปิลลารี (capillary column) โดยมีลักษณะเป็นหลอดกลวงขนาดเล็ก ทำจาก fused silica อีกทั้งคอลัมน์ชนิดนี้มีความยาวมาก จึงทำให้มีประสิทธิภาพสูง

อุณหภูมิของคอลัมน์ก็มีส่วนสำคัญต่อการแยกสารตัวอย่าง โดยเมื่อเพิ่มอุณหภูมิจะทำให้องค์ประกอบของสารใช้เวลาในคอลัมน์น้อยลง สามารถวิเคราะห์ได้เร็วขึ้น แต่อาจส่งผลให้การแยกลดลงได้ โดยทั่วไปแล้วการลดอุณหภูมิจะช่วยให้คุณภาพการแยก (resolution,  $R_s$ ) ขององค์ประกอบต่างๆ ดีขึ้น ดังนั้น จึงควรเลือกใช้อุณหภูมิของคอลัมน์ให้เหมาะสม

#### 4. เครื่องตรวจจับ (detector)

ทำหน้าที่บ่งบอกว่ามีสารต้องการวิเคราะห์หรือมีสารอื่นที่แตกต่างไปจากแก๊สพาออกมา คอลัมน์หรือไม่ และยังสามารถวัดได้ว่ามีสารออกมาในปริมาณเท่าใดอีกด้วย ดังนั้นเครื่องตรวจจับควรมีลักษณะเฉพาะ สามารถให้สัญญาณกับสารต่างๆ ได้ มีเสถียรภาพ ความเที่ยงที่ดี มีการตอบสนองที่ในช่วงความเข้มข้นของสารที่กว้างพอ เครื่องตรวจจับมีหลากหลายชนิด ในงานวิจัยนี้เลือกใช้เครื่องตรวจจับชนิด flame ionization detector (FID)

FID เป็นเครื่องตรวจจับที่ไวต่อสารอินทรีย์ แก๊สพาและสารตัวอย่างต่างๆ ที่ออกมาจากคอลัมน์ จะเข้าสู่เปลวไฟ FID ทำให้สารเหล่านั้นเกิด ionization ได้ ไอออนบวกและอิเล็กตรอน ไอออนบวกจะเคลื่อนที่ไปยังอิเล็กโทรด ส่วนอิเล็กตรอนจะเคลื่อนที่ไปยัง flame jet สัญญาณที่เกิดขึ้นจะถูกส่งไปยังอิเล็กทรอนิกส์ และเข้าสู่ส่วนแปรสัญญาณต่อไป

#### 5. ส่วนแปรสัญญาณ

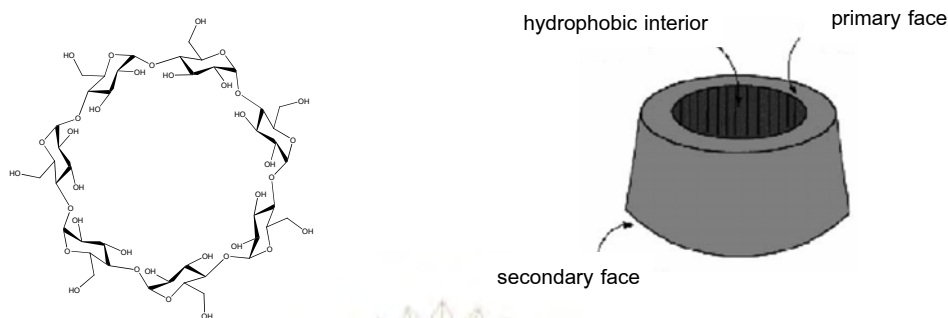
สัญญาณจะถูกบันทึกด้วยเครื่องบันทึก (computer) ที่ต่อเข้ากับเครื่อง GC และแปรผลออกมาในรูปแบบโครมาโทแกรม

ปัจจัยที่มีผลต่อการแยกด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี ได้แก่ ชนิดของเฟสคงที่ ความยาวคอลัมน์ เส้นผ่านศูนย์กลางของคอลัมน์ ความหนาฟิล์มของเฟสคงที่ อุณหภูมิของคอลัมน์ เป็นต้น โดยปัจจัยที่มีผลมากที่สุด ได้แก่ อุณหภูมิของคอลัมน์และชนิดของเฟสคงที่

## 2.2 ไซโคลเดกซ์ทริน (cyclodextrin, CD) [7]

ไซโคลเดกซ์ทรินจัดเป็นโอลิโกแซ็กคาไรด์ชนิดหนึ่ง นำมาใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น ยา อาหาร และเครื่องสำอาง เป็นต้น โดย CD เป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นได้ในธรรมชาติ เกิดขึ้นจากการย่อยสลายของแป้งด้วยแบคทีเรีย CD ประกอบด้วยกลูโคสหลายหน่วยเชื่อมต่อกันเป็นวง โดยกลูโคสมีโครงสร้างแบบ chair ทำให้วงมีรูปร่างกรวย คล้ายถ้วย มีโพรงตรงกลาง ดังแสดงในรูปที่ 2.1 CD ที่พบโดยทั่วไปจะมีจำนวนกลูโคส 6, 7 และ 8 หน่วย นิยมเรียกว่า  $\alpha$ -,  $\beta$ - และ  $\gamma$ -CD ตามลำดับ



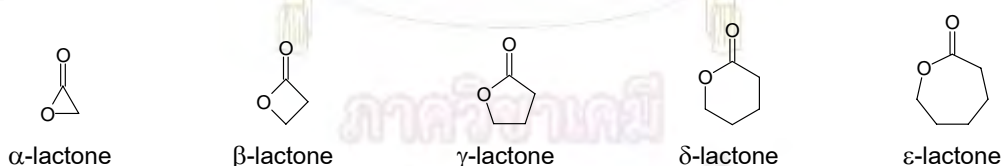


รูปที่ 2.1 โครงสร้างของ  $\beta$ -CD ซึ่งประกอบด้วยกลูโคส 7 หน่วย และรูปร่างที่คล้ายถ้วย [8]

อนุพันธ์ CD นิยมนำมาใช้เป็นเฟสคงที่ในเทคนิค GC เพื่อใช้แยกสารจำพวกอิแนนทิโอเมอร์เพราะ CD มีสมบัติเป็น chiral และด้วยรูปร่างที่คล้ายถ้วย มีโพรงตรงกลาง จึงสามารถเกิด inclusion complex กับสารต่างๆ ได้มากมาย นอกจากนี้ ยังสามารถเปลี่ยนหมู่ไฮดรอกซิลบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 2, 3 และ 6 ของหน่วยกลูโคสไปเป็นหมู่ฟังก์ชันอื่นๆ เพื่อให้มีสมบัติในการแยกที่แตกต่างไปจากเดิม โดยอนุพันธ์ CD แต่ละชนิดที่มีขนาด ชนิดของหมู่แทนที่ ตำแหน่ง และจำนวนของหมู่แทนที่ต่างกัน จะมีสมบัติในการแยกสารแตกต่างกัน

### 2.3 แลคโตน (lactone) [3]

แลคโตนจัดเป็นเอสเทอร์ของ hydroxycarboxylic acid ที่อยู่ในรูวง นิยมเรียกชื่อสามัญตามจำนวนคาร์บอนที่เป็นส่วนประกอบของวง เช่น  $\alpha$ -lactone (2 คาร์บอน),  $\beta$ -lactone (3 คาร์บอน),  $\gamma$ -lactone (4 คาร์บอน),  $\delta$ -lactone (5 คาร์บอน),  $\epsilon$ -lactone (6 คาร์บอน) เป็นต้น (ดังรูปที่ 2.2)



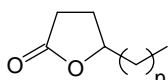
รูปที่ 2.2 โครงสร้างของแลคโตนขนาดต่างๆ

โดยทั่วไปนิยมศึกษา  $\gamma$ -lactones หรือ  $\delta$ -lactones เนื่องจากเป็นสารให้กลิ่นและรสที่พบได้ในอาหารหรือผลไม้ตามธรรมชาติ นอกจากนี้ยังพบว่าคูอิแนนทิโอเมอร์ของแลคโตนอาจให้กลิ่นหรือรสที่ต่างกัน เช่น (*R*)- $\gamma$ -valerolactone ให้กลิ่นหวาน ส่วน (*S*)- $\gamma$ -valerolactone แทบไม่มีกลิ่น หรือ (*R*)- $\gamma$ -heptalactone ให้กลิ่น sweet, spicy, herbaceous hay note คล้ายคูมาริน (coumarin) ส่วน (*S*)- $\gamma$ -heptalactone ให้กลิ่น fatty, coconut note, with fruity-sweet aspects และกลิ่นจางกว่า ในส่วนของรสชาติพบว่า การทดสอบของอิแนนทิโอเมอร์ที่ความเข้มข้นต่างกัน อาจให้รสชาติที่ต่างกันด้วย เช่น (*R*)- $\gamma$ -valerolactone ที่ความเข้มข้น 10 ppm



ให้รสชาติหวานและคาราเมล (sweet, caramel) แต่ที่ความเข้มข้น 20 ppm ให้รสชาติหวานและเผ็ด (sweet, spicy) นอกจากนี้ยังพบว่าความยาวของสายคาร์บอนของ  $\gamma$ -lactones มีผลต่อความเข้มข้นของกลิ่น โดยที่  $\gamma$ -lactones สายยาว ( $C_8$ ,  $C_9$ ,  $C_{12}$   $\gamma$ -lactones) จะให้กลิ่นที่ความเข้มข้นต่ำๆ ได้ดีกว่า  $\gamma$ -lactones สายสั้น ( $C_5$   $\gamma$ -lactone)

งานวิจัยนี้จึงเน้นไปที่การวิเคราะห์  $\gamma$ -lactones ที่มีความยาวของสายคาร์บอนแตกต่างกัน ซึ่งอาจเรียกชื่อได้แตกต่างกัน ดังนี้



n	name
0	$\gamma$ -pentalactone; $\gamma$ -valerolactone
1	$\gamma$ -hexalactone; $\gamma$ -caprolactone
2	$\gamma$ -heptalactone; 4-heptanolide; $\gamma$ -propyl- $\gamma$ -butyrolactone
3	$\gamma$ -octalactone
4	$\gamma$ -nonalactone; 4-nonanolide
5	$\gamma$ -decalactone; $\gamma$ -decanolactone; 4-decanolide

## 2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากผลงานวิจัยที่ผ่านมา มีการศึกษาการแยกอิแนนทิโอเมอร์ของแลคโตนหลากหลายชนิดด้วยเฟสคงที่ชนิดไครัลที่เป็นอนุพันธ์ CD ชนิดต่างๆ ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี ดังนี้

ปี 1991 Bicchi และคณะ [9] รายงานการสังเคราะห์อนุพันธ์ 2,6-dimethyl-3-trifluoroacetyl- $\gamma$ -cyclodextrin (2,6-DM-3-TFA- $\gamma$ -CD) และนำไปผสมกับพอลิเมอร์ OV-1701 เพื่อใช้เป็นเฟสคงที่ของเทคนิค GC ในการแยกอิแนนทิโอเมอร์ของ  $C_5$  ถึง  $C_{12}$   $\gamma$ -lactones และ  $C_7$  ถึง  $C_{12}$   $\delta$ -lactones ด้วยโปรแกรมอุณหภูมิจาก 100-200 °C ด้วยอัตรา 2 °C/min ในกลุ่มของ  $\gamma$ -lactones พบว่าสามารถแยก  $C_6$  ถึง  $C_{12}$   $\gamma$ -lactones ได้ดี ที่น่าสนใจคือลำดับการแยกหรือ enantiomer elution order (EEO) ของอิแนนทิโอเมอร์แตกต่างกัน โดย  $C_6$  และ  $C_7$   $\gamma$ -lactones ให้ EEO เป็น (S) ก่อน (R) ส่วน  $C_8$  ถึง  $C_{12}$   $\gamma$ -lactones ให้ EEO เป็น (R) ก่อน (S) สำหรับกลุ่มของ  $\delta$ -lactones พบว่า สามารถแยก  $C_9$  ถึง  $C_{12}$   $\delta$ -lactones ได้ โดยให้ EEO เป็น (S) ก่อน (R) โดยพบว่าอิแนนทิโอเมอร์ที่แยกไม่ได้หรือแยกได้ไม่ดี เป็นสารที่มี side chain สั้นในแต่ละกลุ่ม ได้แก่  $\gamma$ - $C_5$  lactone,  $\delta$ - $C_7$  lactone และ  $\delta$ - $C_8$  lactone ซึ่งอาจส่งผลต่อความสามารถในการเกิดแรงกระทำกับ CD

ปี 1992 Dietrich และคณะ [10] รายงานการสังเคราะห์อนุพันธ์ heptakis(2,3-di-O-acetyl-6-O-tert-butyl dimethylsilyl)- $\beta$ -cyclodextrin และนำไปผสมกับพอลิเมอร์ OV-1701 เพื่อใช้เป็นเฟสคงที่ของเทคนิค GC ในการแยกอิแนนทิโอเมอร์ของสารให้รส (flavor compounds) หลากหลายชนิด รวมถึงแลคโตนที่ประกอบด้วย  $C_6$  ถึง  $C_{12}$   $\gamma$ -lactones และ  $C_6$  ถึง  $C_{14}$   $\delta$ -lactones สำหรับสารกลุ่ม  $\gamma$ -lactones พบว่าใช้โปรแกรมอุณหภูมิจาก 100-190 °C ด้วยอัตรา

1.1 °C/min สามารถแยก C<sub>6</sub> ถึง C<sub>12</sub>  $\gamma$ -lactones ทุกตัวได้สมบูรณ์ดี โดยมีลำดับการแยกเป็น (R) ก่อน (S) สำหรับสารกลุ่ม  $\delta$ -lactones พบว่าใช้โปรแกรมอุณหภูมิจาก 100-205 °C สามารถแยก C<sub>8</sub> ถึง C<sub>14</sub>  $\delta$ -lactones ทุกตัวได้สมบูรณ์ดี ในขณะที่แยก  $\delta$ -heptalactone ได้เพียงเล็กน้อย โดยทุกตัวมีลำดับการแยกเป็น (S) ก่อน (R) (ซึ่งแตกต่างจากสารกลุ่ม  $\gamma$ -lactones) ส่วน  $\delta$ -hexalactone พบว่าแยกได้สมบูรณ์ดี แต่มีลำดับการแยกเป็น (R) ก่อน (S) อีกทั้งสารนี้ยังออกมาหลัง  $\delta$ -octalactone อีกด้วย

ปี 1996 Bicchi และคณะ [11] รายงานการสังเคราะห์อนุพันธ์ CD ที่มีชนิดของหมู่แทนที่ที่ตำแหน่ง C2 และ C3 แตกต่างกันได้แก่ 2,3-di-O-methyl-6-O-*tert*-butyldimethylsilyl- $\beta$ - และ  $\gamma$ -cyclodextrins (METBS- $\beta$ - และ METBS- $\gamma$ -CDs); 2,3-di-O-ethyl-6-O-*tert*-butyldimethylsilyl- $\beta$ - และ  $\gamma$ -cyclodextrins (ETTBS- $\beta$ - และ ETTBS- $\gamma$ -CDs) และ 2,3-di-O-pentyl-6-O-*tert*-butyldimethylsilyl- $\beta$ - และ  $\gamma$ -cyclodextrins (PETBS- $\beta$ - และ PETBS- $\gamma$ -CDs) และนำไปผสมกับพอลิเมอร์ เพื่อใช้เป็นเฟสคงที่ของเทคนิค GC ในการแยกอิแนนทิโอเมอร์ของสารหลากหลายประเภท เช่น lactones, esters, alcohols และ ethers รวม 35 ชนิด โดยใช้อุณหภูมิคงที่ พบว่าอนุพันธ์ชนิด PETBS- $\beta$ - และ PETBS- $\gamma$ -CDs ให้คอลัมน์ที่มีประสิทธิภาพสูง แต่แยกอิแนนทิโอเมอร์ไม่ได้หรือแยกได้ไม่ดี เมื่อเปรียบเทียบผลของขนาดวง CD ในการแยกอิแนนทิโอเมอร์ของสาร C<sub>5</sub> ถึง C<sub>9</sub>  $\gamma$ -lactones และ C<sub>6</sub> ถึง C<sub>10</sub>  $\delta$ -lactones พบว่าวงขนาดเล็กของอนุพันธ์ METBS- $\beta$ - และ ETTBS- $\beta$ -CDs แยกแลคโตนดังกล่าวได้ดีกว่าอนุพันธ์ METBS- $\gamma$ - และ ETTBS- $\gamma$ -CDs แต่เมื่อเปรียบเทียบผลของชนิดหมู่แทนที่ พบว่าอนุพันธ์ที่มีหมู่ ethyl ของทั้ง ETTBS- $\beta$ - และ ETTBS- $\gamma$ -CDs แยกแลคโตนได้ดีกว่าอนุพันธ์ที่มีหมู่ methyl โดยทั้ง 4 คอลัมน์นี้ อนุพันธ์ชนิด ETTBS- $\beta$ -CD ให้ค่าการแยกที่ดีที่สุด

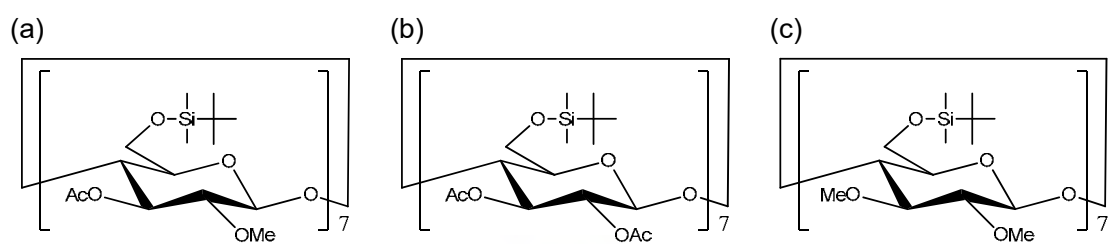
ปี 1998 Miranda และคณะ [12] รายงานการสังเคราะห์อนุพันธ์ 2,3-di-O-pentyl-6-O-*tert*-butyldimethylsilyl- $\beta$ -cyclodextrin เพื่อใช้เป็นเฟสคงที่ของเทคนิค GC ทั้งแบบโดยตรง (คอลัมน์ A) และแบบผสมพอลิเมอร์ SE-54 ในอัตราส่วน 1:1 (คอลัมน์ B) ในการแยกอิแนนทิโอเมอร์ของสารชนิดต่างๆ เช่น amino acids, alcohols, lactones, esters, terpenoids และ haloalkanes รวม 33 ชนิด พบว่าคอลัมน์ B มีช่วงอุณหภูมิใช้งานที่กว้างกว่า และอายุการใช้งานที่นานกว่าคอลัมน์ A แต่คอลัมน์ A ให้ค่าการแยกที่ค่อนข้างดีกว่า เนื่องจากไม่ถูกเจือจางในพอลิเมอร์ สำหรับสารกลุ่มแลคโตน พบว่าทั้งสองคอลัมน์แสดงสมบัติในการแยก  $\gamma$ -lactones คล้ายคลึงกัน คือ แยก  $\gamma$ -decalactone และ  $\gamma$ -dodecalactone ได้ แต่ไม่สามารถแยก  $\gamma$ -hexalactone ได้เหมือนกัน

ปี 2003 Ramos และคณะ [13] สังเคราะห์อนุพันธ์ 2-alkyl-2-acetyl- $\gamma$ -butyrolactones และศึกษาการแยกอิแนนทิโอเมอร์ด้วย GC โดยใช้อนุพันธ์ 2,3-di-O-methyl-6-O-*tert*-butyldimethylsilyl- $\beta$ -cyclodextrin (DIMET- $\beta$ -CD) ผสมในพอลิเมอร์ที่มีขั้วต่างกัน 2 ชนิด คือ OV1701-OH (คอลัมน์ A) และ SE-54 (คอลัมน์ B) เป็นเฟสคงที่ พบว่าคอลัมน์ B ซึ่งใช้

อนุพันธ์ CD ผสมในพอลิเมอร์ที่มีขั้วน้อย ให้ค่าการแยกที่ดีกว่าและใช้เวลาน้อยกว่าคอลัมน์ A (ขั้วมากกว่า) นอกจากนี้พบว่า หมู่แอลคิลที่มีพันธะคู่ (allyl) หรือพันธะสาม (propagyl) ให้ค่าการแยกที่ดีกว่าหมู่ propyl หรือ H

ปี 2005 Takahisa และ Engel [14] รายงานการสังเคราะห์อนุพันธ์ 2,3-di-O-methoxymethyl-6-O-*tert*-butyldimethylsilyl- $\gamma$ -cyclodextrin (2,6-MOM-3-TBDMS- $\gamma$ -CD) และนำไปผสมกับพอลิเมอร์ OV-1701 เพื่อใช้เป็นเฟสคงที่ของเทคนิค GC ในการแยกอิแนนทิโอเมอร์ของสารหลากหลายประเภททั้งแอลิแฟติกและแอโรแมติก ได้แก่ alcohols, aldehydes, ketones, acids, esters, lactones, acetals, hydrocarbons และ sulfur containing compounds รวม 125 ชนิด โดยใช้อุณหภูมิคงที่ พบว่าอนุพันธ์ใหม่นี้สามารถแยกสารที่นำมาทดสอบได้ทุกชนิด รวมถึง C<sub>6</sub> ถึง C<sub>12</sub>  $\gamma$ -lactones; C<sub>7</sub> ถึง C<sub>12</sub>  $\delta$ -lactones และ  $\epsilon$ -decalactone นอกจากนี้ ในปีเดียวกัน Takahisa และ Engel [15] ได้รายงานการสังเคราะห์อนุพันธ์ 2,3-di-O-methoxymethyl-6-O-*tert*-butyldimethylsilyl- $\beta$ -cyclodextrin (2,6-MOM-3-TBDMS- $\beta$ -CD) เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการแยกอิแนนทิโอเมอร์กับอนุพันธ์ 2,6-MOM-3-TBDMS- $\gamma$ -CD พบว่าอนุพันธ์ 2,6-MOM-3-TBDMS- $\gamma$ -CD ยังคงแยกอิแนนทิโอเมอร์ได้หลากหลายชนิด และให้ค่าการแยกที่ดีกว่า มีสารในกลุ่ม 2-alkyl esters เพียงบางชนิดเท่านั้น เช่น 2-pentyl acetate และ 2-heptyl acetate ที่แยกด้วย 2,6-MOM-3-TBDMS- $\beta$ -CD ได้ดีกว่า สำหรับสารในกลุ่มแลคโตน พบว่า 2,6-MOM-3-TBDMS- $\beta$ -CD สามารถแยก C<sub>5</sub> ถึง C<sub>12</sub>  $\gamma$ -lactones และ  $\epsilon$ -decalactone ได้ แต่สำหรับกลุ่ม  $\delta$ -lactones พบว่าสามารถแยก  $\delta$ -heptalactone ได้เพียงตัวเดียวเท่านั้น

จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าอนุพันธ์  $\beta$ -CD สามารถแยกอิแนนทิโอเมอร์ของแกมมาแลคโตนได้ดีและมีการใช้กันอย่างแพร่หลายกว่าอนุพันธ์  $\alpha$ - หรือ  $\gamma$ -CD ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาสมบัติการแยกคู่อิแนนทิโอเมอร์ของแกมมาแลคโตนด้วย GC โดยใช้อนุพันธ์  $\beta$ -CD ชนิดใหม่ที่มีหมู่แทนที่ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 และ 3 ของหน่วยกลูโคสของวงไซโคลเดกซ์ทรินแตกต่างกัน (คือ methyl และ acetyl) และยังไม่มีการศึกษามากนัก คือ 2-O-methyl-3-O-acetyl-6-O-*tert*-butyldimethylsilyl- $\beta$ -CD (MeAc) [5] โดยเปรียบเทียบสมบัติการแยกคู่อิแนนทิโอเมอร์กับอนุพันธ์  $\beta$ -CD ที่มีหมู่แทนที่ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 และ 3 ของหน่วยกลูโคสเหมือนกัน คือ 2-3-di-O-acetyl-6-O-*tert*-butyldimethylsilyl- $\beta$ -CD (diAc) และ 2-3-di-O-methyl-6-O-*tert*-butyldimethylsilyl- $\beta$ -CD (diMe) (โครงสร้างดังรูปที่ 2.3) ซึ่งเป็นที่นิยมใช้แยกอิแนนทิโอเมอร์กันอย่างแพร่หลาย นอกจากนี้จะศึกษาผลของอุณหภูมิและโครงสร้างของแลคโตนที่มีต่อการแยกอิแนนทิโอเมอร์ด้วย



รูปที่ 2.3 โครงสร้างอนุพันธ์  $\beta$ -CD ชนิด (a) MeAc; (b) diAc; และ (c) diMe



ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย




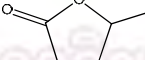


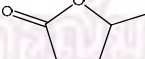


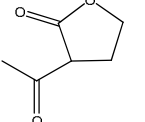
## บทที่ 3 การทดลอง

### 3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

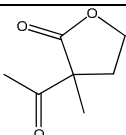
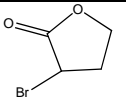
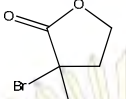
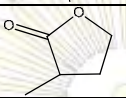
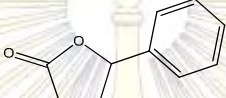
- เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ รุ่น Agilent 6890 Series พร้อม split injector และ flame ionization detector (FID)
- เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง Mettler-Toledo รุ่น AB204-S
- GC syringe ขนาด 10 ไมโครลิตร
- ขวดบรรจุสารขนาดเล็ก (vial) 2 ไมโครลิตร
- หลอดหยด

### 3.2 แก๊สและสารเคมี

- hydrogen gas, nitrogen gas, zero grade air จากบริษัท ไทยอินดัสเตรียลแก๊ส จำกัด
- ตัวทำละลายอินทรีย์ จาก J.T. Baker (U.S.A.) ได้แก่ dichloromethane (A.C.S. grade) และ pentane (ultra resi-analyzed grade)
- pentadecane (C<sub>15</sub>) และ hexadecane (C<sub>16</sub>) จาก J.T. Baker (U.S.A.)
- ราซีมิกแลคโตน จากบริษัทผู้ผลิตสารเคมีทั่วไป (Aldrich, Fluka, Merck, J.T. Baker) จำนวน 13 ชนิด ได้แก่

สาร #	ชื่อ	โครงสร้าง	CAS	purity
A	$\beta$ -butyrolactone		[3068-88-0]	$\geq 98\%$
B	$\gamma$ -valerolactone		[108-29-2]	$\geq 99\%$
C	$\gamma$ -caprolactone		[695-076-7]	$\geq 97\%$
D	4-heptanolide		[105-21-5]	$\geq 98\%$
E	$\gamma$ -octanoic lactone		[104-50-7]	97%
F	$\gamma$ -nonanolactone		[57084-16-9]	$\geq 97\%$
G	$\gamma$ -decanolactone		[706-14-9]	98%
H	$\alpha$ -acetylbutyrolactone		[517-23-7]	$\geq 99\%$



สาร #	ชื่อ	โครงสร้าง	CAS	purity
I	$\alpha$ -acetyl- $\alpha$ -methyl- $\gamma$ -butyrolactone		[1123-19-9]	$\geq 95\%$
J	$\alpha$ -bromo- $\gamma$ -butyrolactone		[5061-21-2]	$\geq 97\%$
K	$\alpha$ -bromo- $\alpha$ -methyl- $\gamma$ -butyrolactone		[33693-67-3]	$\geq 96\%$
L	$\alpha$ -methyl- $\gamma$ -butyrolactone		[1679-47-6]	$\geq 97\%$
M	$\gamma$ -phenyl- $\gamma$ -butyrolactone		[1008-76-0]	$\geq 99\%$

### 3.3 การเตรียมสาร

- สารมาตรฐาน *n*-alkane: เจือจางใน pentane ให้มีความเข้มข้นประมาณ 5-10 mg/mL
- สารมาตรฐานราซีมิกแลคโตน: เตรียมสารมาตรฐานราซีมิกแลคโตน 13 ชนิด โดยละลายสารแต่ละชนิดใน dichloromethane ให้มีความเข้มข้นประมาณ 5 mg/mL

### 3.4 คอลัมน์

แคปิลารีคอลัมน์ที่ใช้ในการทดลองนี้ (มีอยู่แล้วในห้องปฏิบัติการ) มีความยาวประมาณ 15-16 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.25 มิลลิเมตร และความหนาของฟิล์มเฟสคงที่ 0.25 ไมโครเมตร เคลือบด้วยเฟสคงที่แตกต่างกัน 3 ชนิด ได้แก่

- คอลัมน์ MeAc: ความยาว 15.6 เมตร มี 31.8% (2-*O*-methyl-3-*O*-acetyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- $\beta$ -CD) ผสมใน OV-1701 เป็นเฟสคงที่
- คอลัมน์ diAc: ความยาว 15.7 เมตร มี 33.5% (2,3-di-*O*-acetyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- $\beta$ -CD) ผสมใน OV-1701 เป็นเฟสคงที่
- คอลัมน์ diMe: ความยาว 15.1 เมตร มี 30.0% (2,3-di-*O*-methyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- $\beta$ -CD ผสมใน OV-1701 เป็นเฟสคงที่

### 3.5 การปรับสภาวะคอลัมน์

ปรับสภาวะคอลัมน์ก่อนการใช้งาน โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิคงที่ 220 °C จนกระทั่ง baseline คงที่

### 3.6 การทดสอบประสิทธิภาพคอลัมน์

ทดสอบโดยฉีดสารละลาย *n*-alkanes ( $C_{15}$  และ  $C_{16}$ ) ใน pentane ที่อุณหภูมิ 140 °C คำนวณประสิทธิภาพของคอลัมน์ ( $N$ , plates/m) ตามสมการที่ (1) พบว่าแคปิลารีคอลัมน์ทั้ง 3 คอลัมน์ มีค่าประสิทธิภาพอยู่ในช่วง 3,300-4,400 plates/m ซึ่งเป็นค่าที่ยอมรับได้

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

### 3.7 การแยกอิแนนทิโอเมอร์

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
make up gas:	30 mL/min (nitrogen)
hydrogen:	30 mL/min
air:	300 mL/min

การแยกคู่อิแนนทิโอเมอร์ของราซีมิกแลคโตน

- ฉีดสารมาตรฐานราซีมิกแลคโตน แต่ละชนิด ประมาณ 0.2-0.4  $\mu\text{L}$  ที่อุณหภูมิคงที่ ต่างกันทุก 10 °C ในช่วง 50-220 °C ทำซ้ำอย่างน้อย 2 ครั้ง โดยให้มีค่า  $t_R$  ต่างกันไม่เกิน 0.003 นาที จากนั้นบันทึกเวลา (retention time,  $t_R$ ) และความกว้างของพีค (peak width,  $w_h$ )
- คำนวณค่า capacity factor ( $k'$ ) ของแต่ละพีค จากสมการที่ (2)
- คำนวณค่า selectivity ( $\alpha$ ) และ resolution ( $R_s$ ) ของการแยกจากสมการที่ (3) และ (4) ตามลำดับ

$$k' = \left( \frac{t_R - t_M}{t_M} \right) \quad \text{สมการที่ (2)}$$

$$\alpha = \frac{k'_2}{k'_1} = \left( \frac{t_{R,2} - t_M}{t_{R,1} - t_M} \right) \quad \text{สมการที่ (3)}$$

$$R_s = 1.177 \times \left( \frac{t_{R,2} - t_{R,1}}{w_{h,2} + w_{h,1}} \right) \quad \text{สมการที่ (4)}$$

## บทที่ 4

### ผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ศึกษาผลของอุณหภูมิคอลัมน์ที่มีต่อการแยกคู่อิแนนท์ไอเมอร์ของแกมมาแลคโตนที่มีหมู่แทนที่บนโครงสร้างหลักที่แตกต่างกัน รวม 13 ชนิด ด้วยเทคนิค GC โดยใช้อนุพันธ์  $\beta$ -CD ชนิดใหม่ คือ 2-O-methyl-3-O-acetyl-6-O-tert-butyl dimethylsilyl- $\beta$ -CD (MeAc) เป็นเฟสคงที่ รวมถึงเปรียบเทียบผลการแยกที่ได้จากอนุพันธ์ MeAc กับอนุพันธ์ diAc และ diMe ที่มีความมีขั้วแตกต่างกัน เพื่อศึกษาผลของหมู่แทนที่บนวง  $\beta$ -CD ที่มีต่อการแยกคู่อิแนนท์ไอเมอร์ด้วย

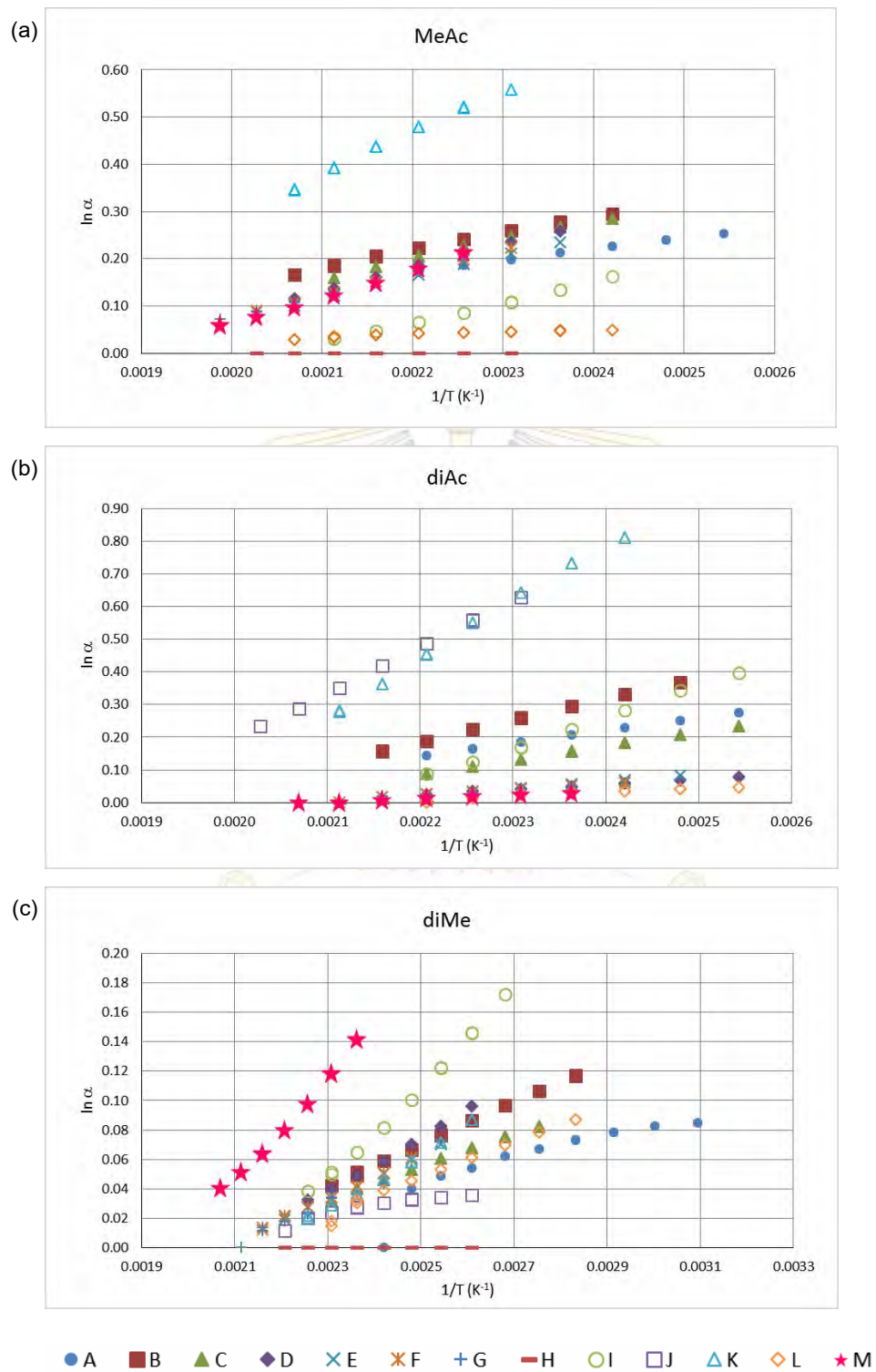
อุณหภูมิคอลัมน์ถือเป็นปัจจัยสำคัญที่ปรับเปลี่ยนได้ง่าย และส่งผลอย่างมากต่อค่าการแยก โดยทั่วไป หากลดอุณหภูมิคอลัมน์ ค่าการแยกระหว่างคู่อิแนนท์ไอเมอร์จะดีขึ้น โดยอุณหภูมิของคอลัมน์ (T) มีความสัมพันธ์กับค่าการแยกคู่อิแนนท์ไอเมอร์ของแลคโตน ( $\alpha$ ) ดังสมการที่ (5) และ (6) [16]

$$-\Delta\Delta G = RT \cdot \ln \alpha \quad \text{สมการที่ (5)}$$

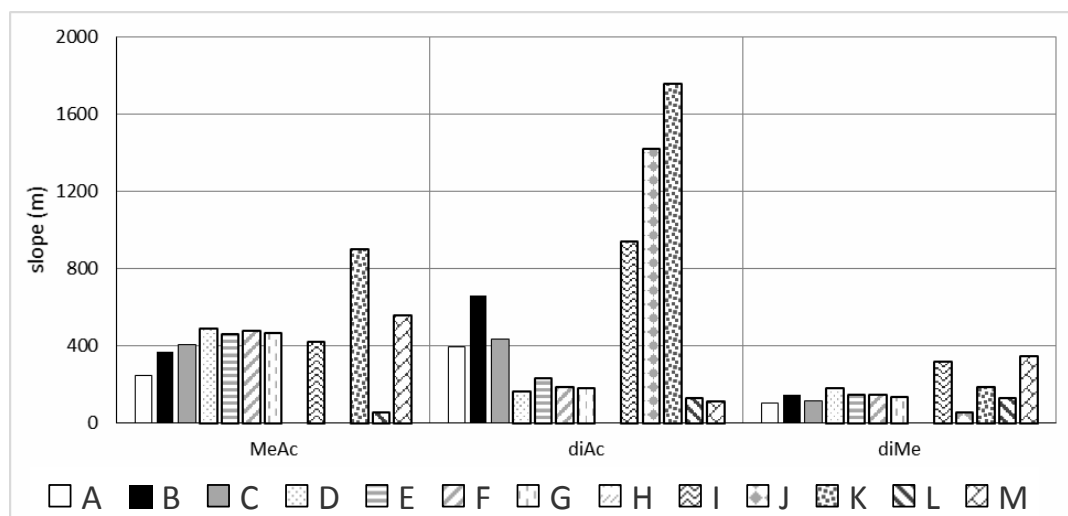
$$\ln \alpha = \frac{-\Delta\Delta H}{RT} + \frac{\Delta\Delta S}{R} \quad \text{สมการที่ (6)}$$

โดยที่  $\Delta\Delta G$  = ผลต่างของค่า Gibbs free energy ( $\Delta G$ ) ระหว่างคู่อิแนนท์ไอเมอร์  
 $\Delta\Delta H$  = ผลต่างของค่าเอนทัลปี ( $\Delta H$ ) ระหว่างคู่อิแนนท์ไอเมอร์  
 $\Delta\Delta S$  = ผลต่างของค่าเอนโทรปี ( $\Delta S$ ) ระหว่างคู่อิแนนท์ไอเมอร์  
R = universal gas constant (1.987 cal/mol·K)  
T = อุณหภูมิสัมบูรณ์ (Kelvin)

เมื่อพิจารณากราฟความสัมพันธ์ระหว่าง  $\ln \alpha$  กับ  $1/T$  ของแลคโตน A-M วิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ MeAc (รูปที่ 4.1 a) พบว่าสาร H ไม่สามารถแยกได้ด้วยคอลัมน์นี้ แม้จะลดอุณหภูมิลงจนค่า  $k' > 25$  แล้วก็ตาม ส่วนสาร J ให้สัญญาณที่แปลก ไม่เหมือนพีคปกติ จึงไม่ได้วิเคราะห์ต่อด้วยคอลัมน์นี้ ในขณะที่แยกสารอื่นได้สมบูรณ์ทุกตัว จากกราฟจะเห็นว่าที่อุณหภูมิเดียวกัน สารแต่ละตัวมีค่า  $\alpha$  ต่างกัน อีกทั้งอุณหภูมิมิมีผลต่อการปรับปรุงค่า  $\alpha$  ของสารแต่ละตัวแตกต่างกัน สังเกตได้จากความชันของกราฟ  $\ln \alpha$  กับ  $1/T$  ซึ่งเปลี่ยนไปตามโครงสร้าง ชนิด และตำแหน่งของหมู่แทนที่ของแลคโตน ซึ่งกราฟที่มีค่า  $\alpha$  สูงหรือมีความชันมากกว่า แสดงถึงการแยกที่ดีกว่าและโอกาสที่จะปรับปรุงการแยกได้ดีกว่า (รูปที่ 4.2) โดยจะแยกอภิปรายตามโครงสร้างสาร ดังนี้



รูปที่ 4.1 กราฟ  $\ln \alpha$  กับ  $1/T$  ของแลคโตน A-M วิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ (a) MeAc; (b) diAc และ (c) diMe



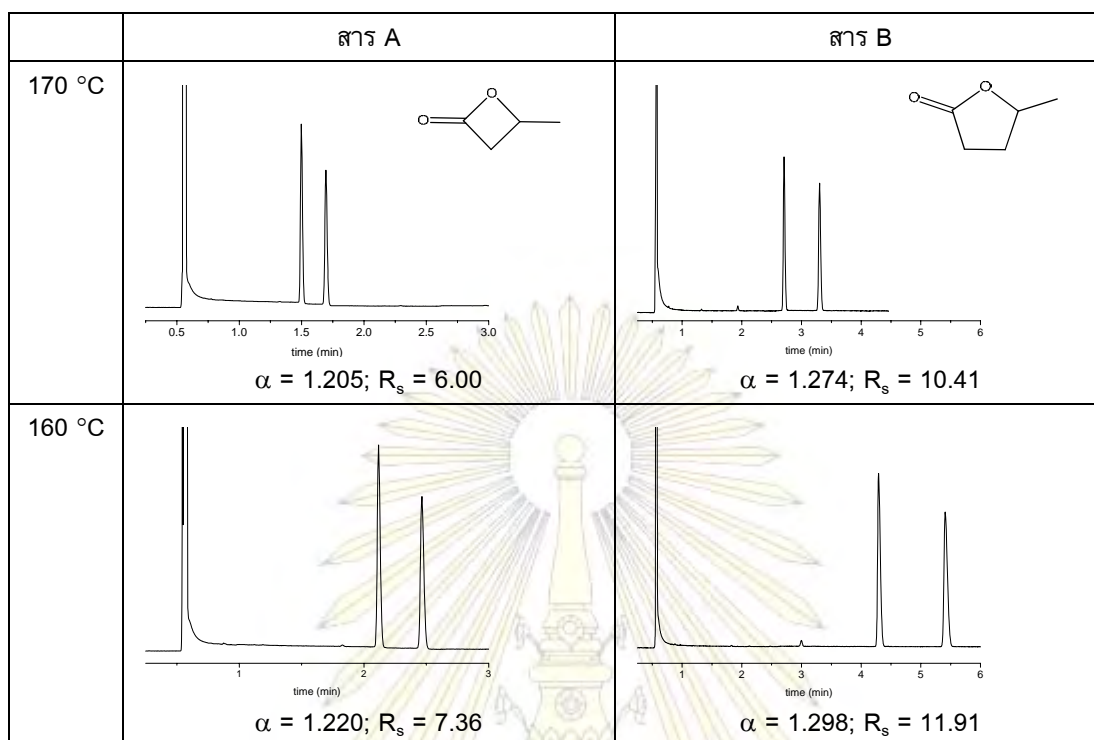
รูปที่ 4.2 ความชันของกราฟ  $\ln \alpha$  กับ  $1/T$  ของแลคโตน A-M วิเคราะห์ด้วยคอลลิมน์ MeAc; diAc และ diMe ตามลำดับ

### ขนาดวงแลคโตน

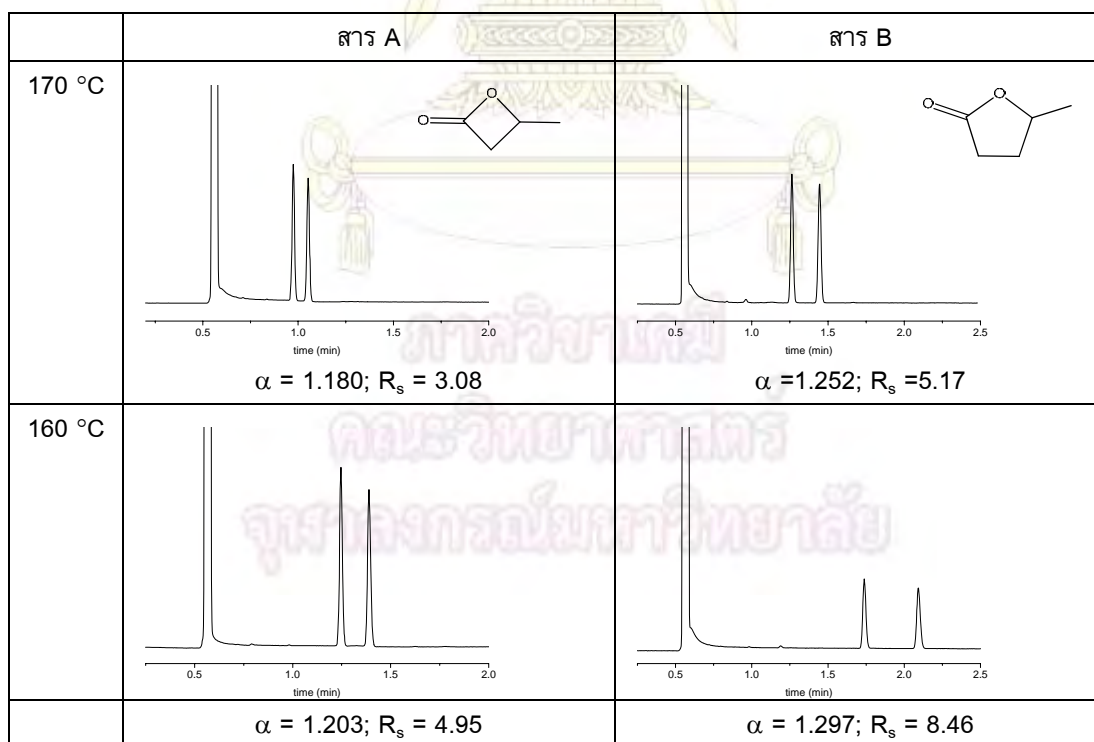
เมื่อพิจารณาผลอุณหภูมิต่อการแยกคู่อิแนนท์ไอเมอร์ของแลคโตนที่มีขนาดวงแตกต่างกัน (สาร A และ B) ในคอลลิมน์ MeAc (รูปที่ 4.1-4.2) พบว่าสาร B ให้ค่าการแยกที่มากกว่าสาร A ที่อุณหภูมิเดียวกัน อีกทั้งอุณหภูมิจะส่งผลต่อค่าการแยกของสาร B มากกว่าสาร A (ความชันของ B > A) ดังนั้น เมื่อลดอุณหภูมิจะปรับปรุงการแยกของสาร B ได้มากกว่าสาร A โครมาโทแกรมเปรียบเทียบการแยก A และ B ด้วยคอลลิมน์ MeAc แสดงดังรูปที่ 4.3 สำหรับคอลลิมน์ diAc และ diMe ก็ให้ผลในทำนองเดียวกัน โดยสาร B มีค่าการแยกและความชันของกราฟ  $\ln \alpha$  กับ  $1/T$  ที่ดีกว่าสาร A แสดงถึงความเหมาะสมของโครงสร้างของขนาดวง  $\gamma$ -lactone ในการแยกด้วยอนุพันธ์  $\beta$ -CD ทั้ง 3 ชนิด

เมื่อพิจารณาผลของชนิดหมู่แทนที่บนวง CD พบว่าหมู่เอซิติลส่งผลต่อการแยกคู่อิแนนท์ไอเมอร์ของแลคโตนมากกว่าหมู่เมทิล ดังจะเห็นว่าค่าความชันของกราฟ  $\ln \alpha$  กับ  $1/T$  ในคอลลิมน์ diAc > MeAc > diMe (รูปที่ 4.2) ทั้งนี้จะเป็นผลจากแรงกระทำระหว่างหมู่เอซิติล (ของ diAc) ที่มีขั้วมากกว่าหมู่เมทิล (ของ diMe) กับหมู่เอสเทอร์ของแลคโตน การแยกสาร A และ B ด้วยคอลลิมน์ diAc และ diMe แสดงดังรูปที่ 4.4-4.5 จะเห็นว่าเมื่อลดอุณหภูมิ ค่าการแยกของสาร B จะเพิ่มขึ้นมากกว่าในคอลลิมน์ diAc > MeAc > diMe ตามลำดับ

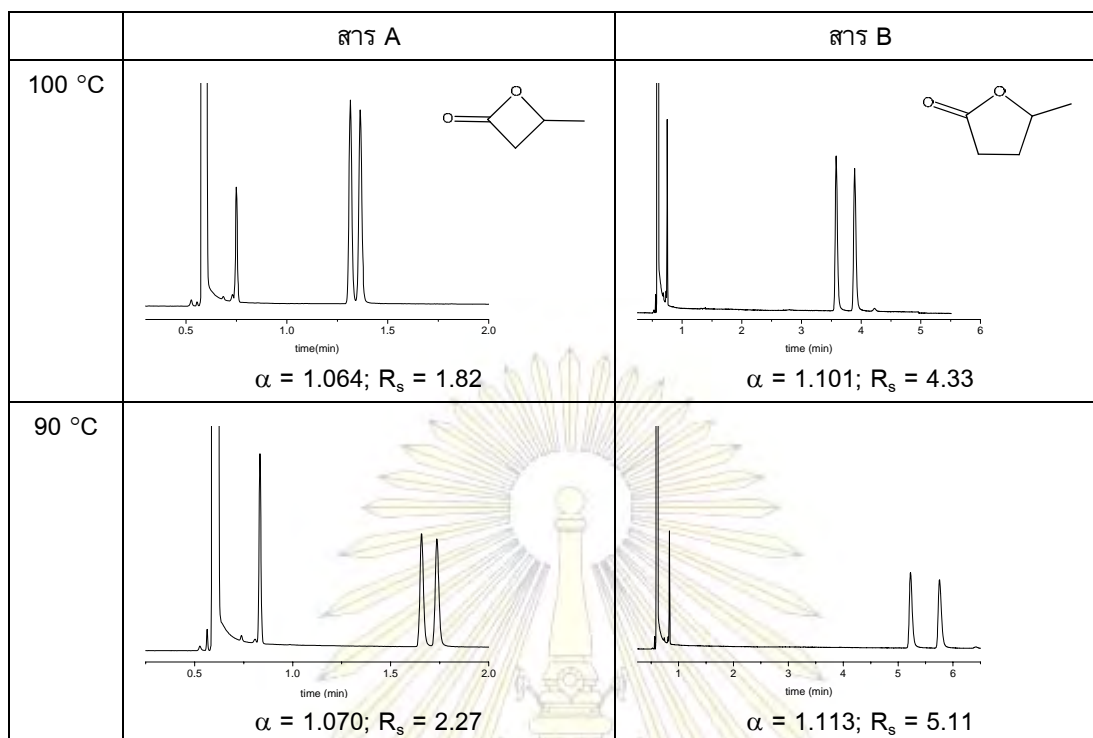




รูปที่ 4.3 โครมาโทแกรมแสดงการแยก A และ B ด้วยคอลัมน์ MeAc ที่ 170 และ 160 °C



รูปที่ 4.4 โครมาโทแกรมแสดงการแยก A และ B ด้วยคอลัมน์ diAc ที่ 170 และ 160 °C

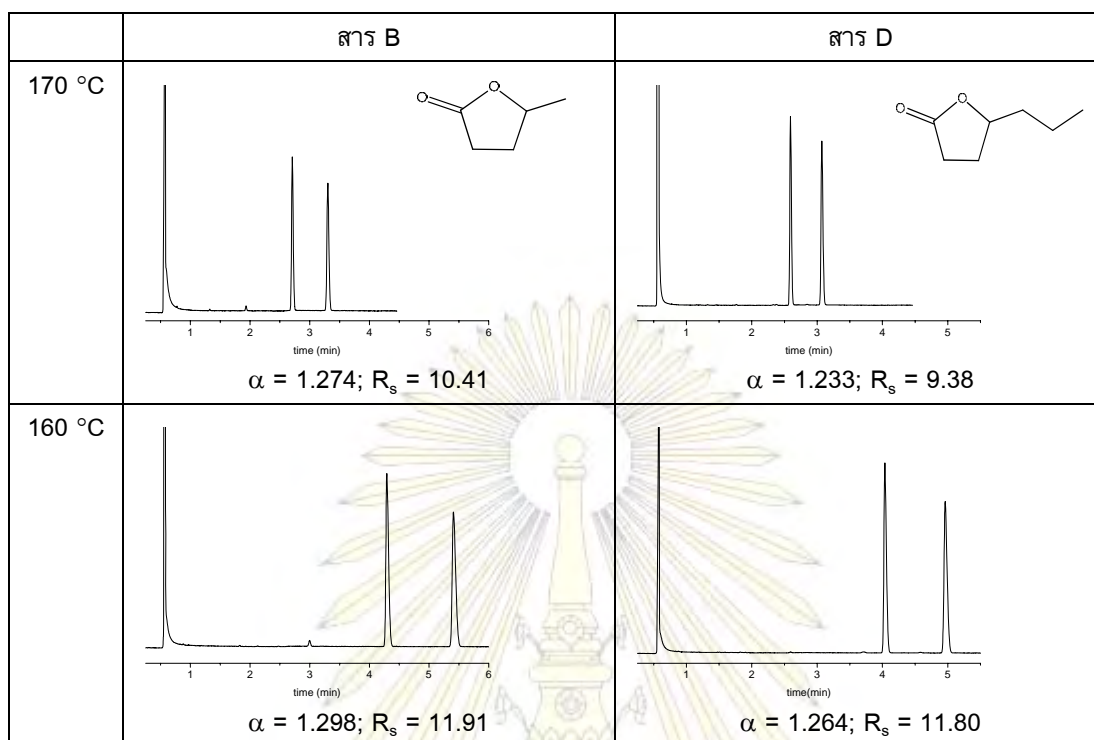


รูปที่ 4.5 โครมาโทแกรมแสดงการแยก A และ B ด้วยคอลัมน์ diMe ที่ 100 และ 90 °C

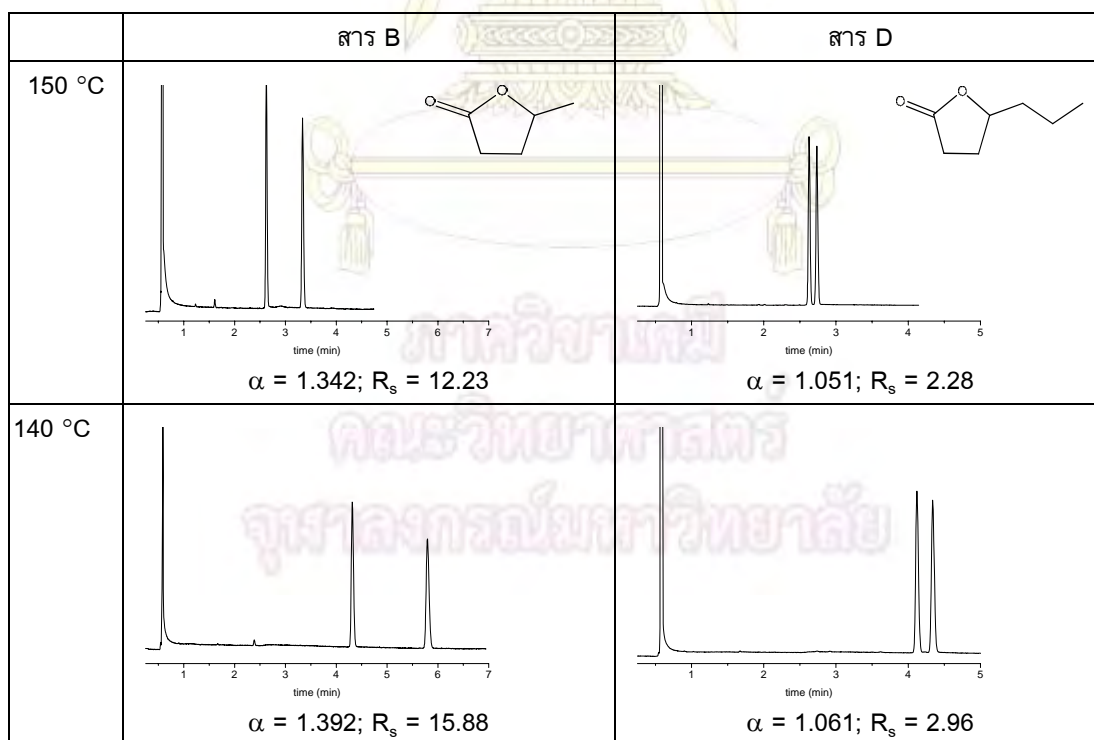
#### ความยาวของสายแอลคิล

เมื่อพิจารณาผลของอุณหภูมิที่มีต่อการแยกคู่อิแนนท์ไอเมอร์ของ  $\gamma$ -lactone ที่มีความยาวสายแอลคิลแตกต่างกัน (สาร B-G) ในคอลัมน์ MeAc พบว่าที่อุณหภูมิเดียวกัน ค่าการแยกจะค่อยๆ ลดลงเมื่อความยาวของสายแอลคิลมากขึ้น ( $B > C > D > E > F > G$  ตามลำดับ) ส่วนความชันของกราฟ  $\ln \alpha$  กับ  $1/T$  แสดงแนวโน้มที่แตกต่างไปเล็กน้อย โดยความชันจะมากขึ้นเมื่อความยาวของสายแอลคิลเพิ่มขึ้น จากเมทิล (B)  $\rightarrow$  เอทิล (C)  $\rightarrow$  โพรพิล (D) แต่ความชันจะค่อนข้างใกล้เคียงกันเมื่อสายแอลคิลยาวขึ้น (โพรพิล  $\rightarrow$  เฮกซิล) โดยอุณหภูมิจะส่งผลต่อการแยกสาร D มากที่สุด (ค่าความชันมากที่สุด) ดังรูปที่ 4.2

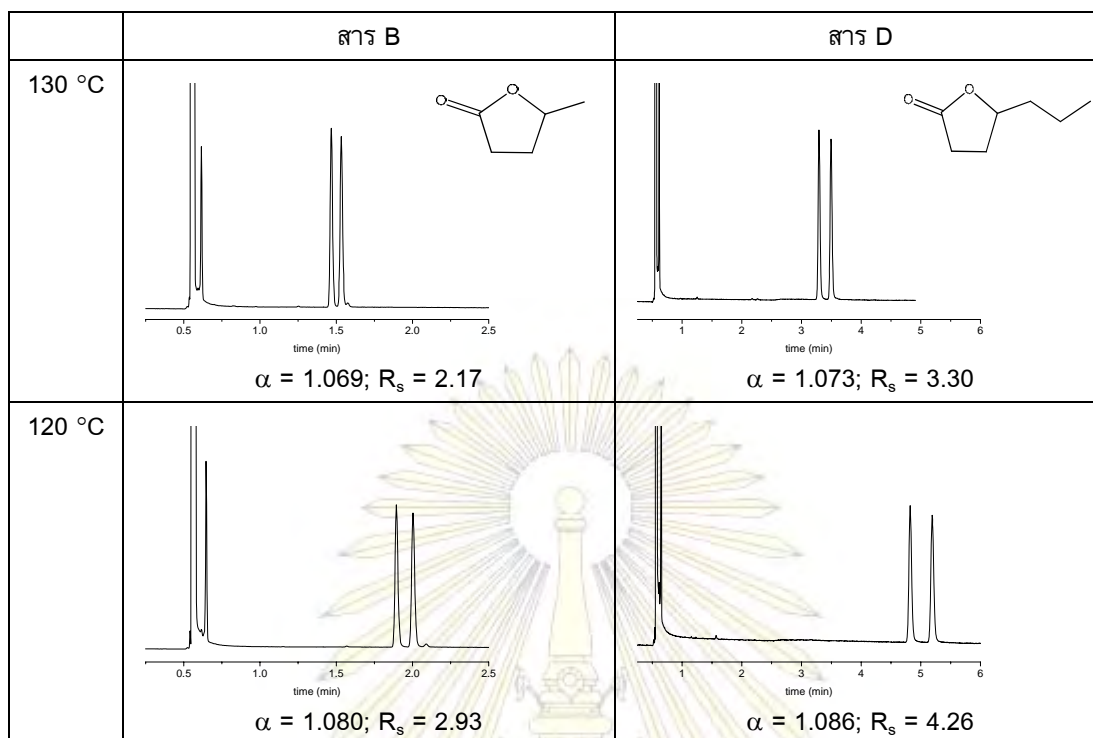
เมื่อวิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ diAc พบว่าที่อุณหภูมิเดียวกัน ค่าการแยกจะค่อยๆ ลดลงเมื่อความยาวของสายแอลคิลเพิ่มขึ้นจากเมทิล (B)  $\rightarrow$  เอทิล (C) และลดลงอย่างมากเมื่อสายยาวขึ้น (โพรพิล  $\rightarrow$  เฮกซิล) ส่วนความชันของกราฟ  $\ln \alpha$  กับ  $1/T$  แสดงแนวโน้มเช่นเดียวกัน โดยหมู่เมทิลจะให้ค่าความชันมากที่สุด แสดงว่าหมู่แอลคิลที่ยาวขึ้นไม่ช่วยส่งเสริมการแยกของคู่อิแนนท์ไอเมอร์ และเมื่อวิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ diMe พบว่าที่อุณหภูมิเดียวกัน ค่าการแยกจะมีค่าเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วงแคบๆ เมื่อความยาวของสายแอลคิลเปลี่ยนไป ส่วนความชันของกราฟ  $\ln \alpha$  กับ  $1/T$  มีค่าใกล้เคียงกัน และมีค่าน้อยที่สุดใน 3 คอลัมน์ การแยกสาร B และ D ที่มีความยาวสายแอลคิลต่างกัน ด้วยอนุพันธ์  $\beta$ -CD ทั้ง 3 ชนิด แสดงดังรูปที่ 4.6-4.8



รูปที่ 4.6 โครมาโทแกรมแสดงการแยก B และ D ด้วยคอลัมน์ MeAc ที่ 170 และ 160 °C



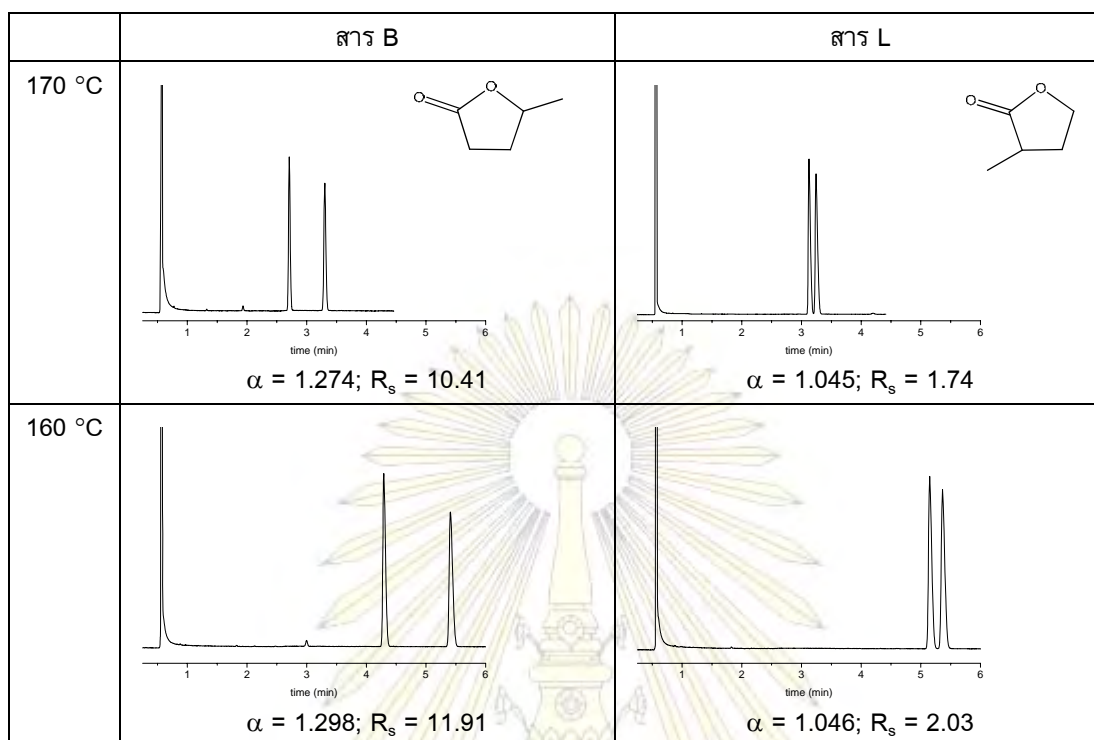
รูปที่ 4.7 โครมาโทแกรมแสดงการแยก B และ D ด้วยคอลัมน์ diAc ที่ 150 และ 140 °C



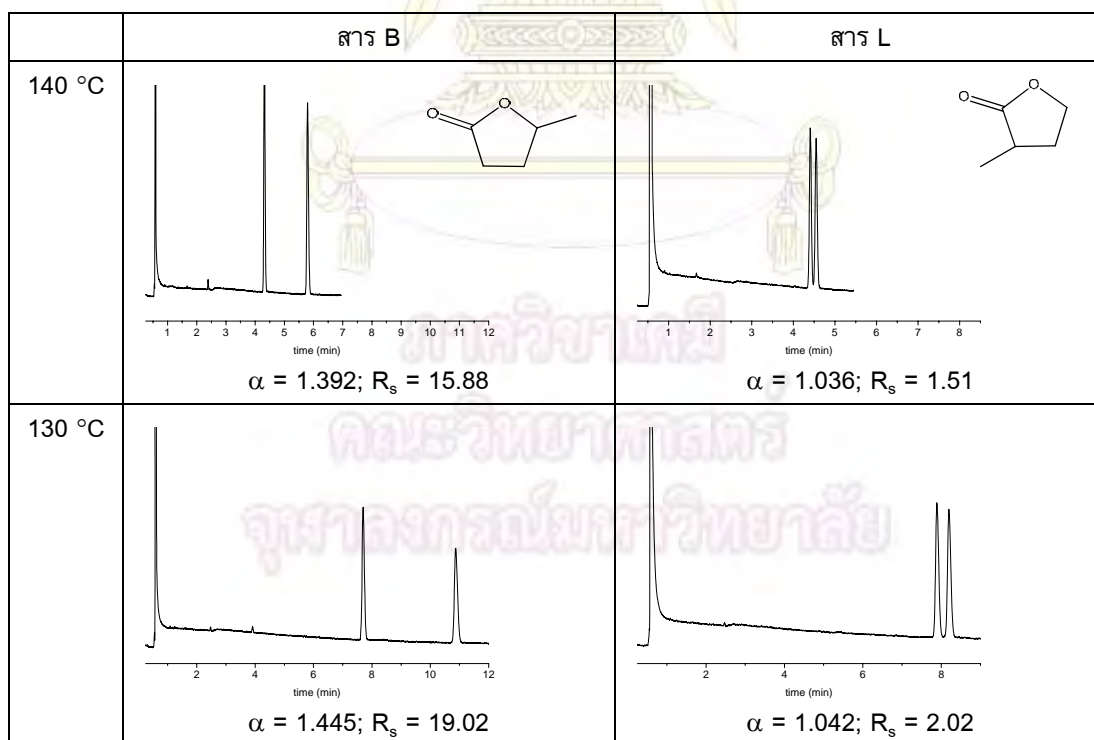
รูปที่ 4.8 โครมาโทแกรมแสดงการแยก B และ D ด้วยคอลัมน์ diMe ที่ 130 และ 120 °C

#### ตำแหน่งและชนิดของหมู่แทนที่

เมื่อพิจารณาการแยกคู่อิแนนท์โอเมอร์ของ B และ L ในคอลัมน์ MeAc พบว่าตำแหน่งของหมู่เมทิลที่แตกต่างกัน ส่งผลให้การแยกแตกต่างกันอย่างมาก ที่อุณหภูมิเดียวกัน B มีค่าการแยกสูงกว่า L และอุณหภูมิยังมีผลต่อการแยกสาร B มากกว่า L การลดอุณหภูมิการวิเคราะห์เพียงเล็กน้อยส่งผลให้ค่าการแยกของสาร B เพิ่มขึ้นมาก ในขณะที่ค่าการแยกของสาร L ดีขึ้นเพียงเล็กน้อย ดังรูปที่ 4.9 สำหรับคอลัมน์ diAc พบว่าให้ผลที่สอดคล้องกันกับคอลัมน์ MeAc (รูปที่ 4.10) ส่วนคอลัมน์ diMe พบว่าอุณหภูมิยังมีผลต่อการแยกสาร B และ L ค่อนข้างน้อยและใกล้เคียงกัน แต่ที่อุณหภูมิเดียวกัน พบว่า B มีค่าการแยกสูงกว่า L เล็กน้อย (รูปที่ 4.11)

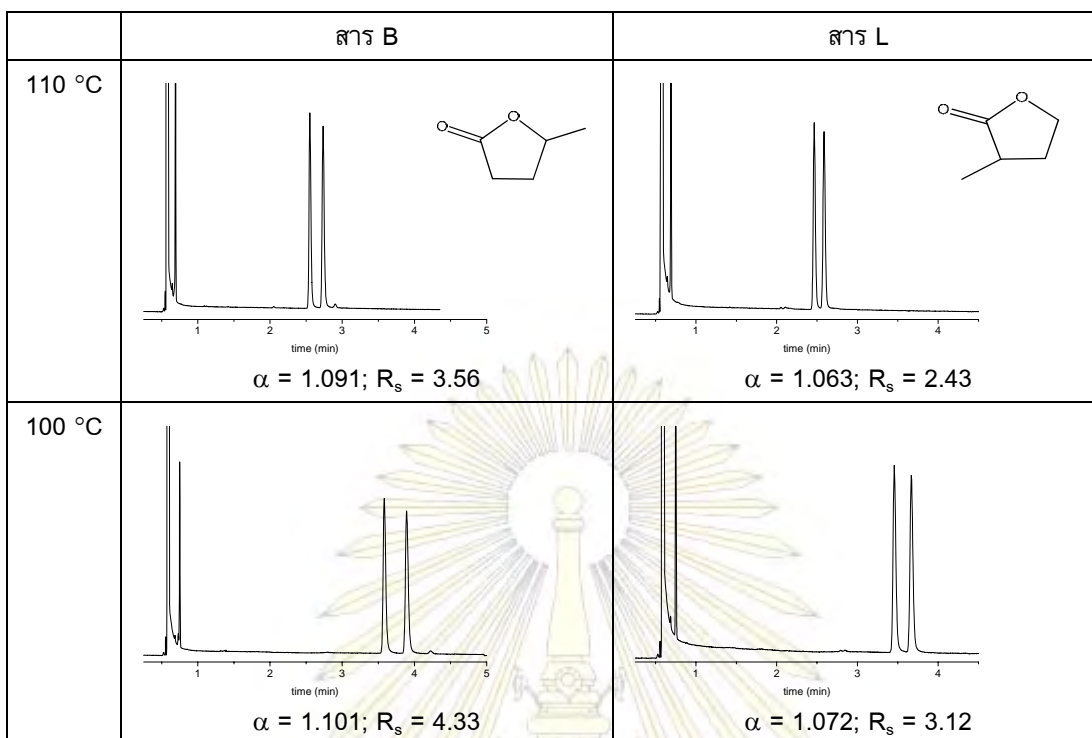


รูปที่ 4.9 โครมาโทแกรมแสดงการแยก B และ L ด้วยคอลัมน์ MeAc ที่ 170 และ 160 °C



รูปที่ 4.10 โครมาโทแกรมแสดงการแยก B และ L ด้วยคอลัมน์ diAc ที่ 140 และ 130 °C



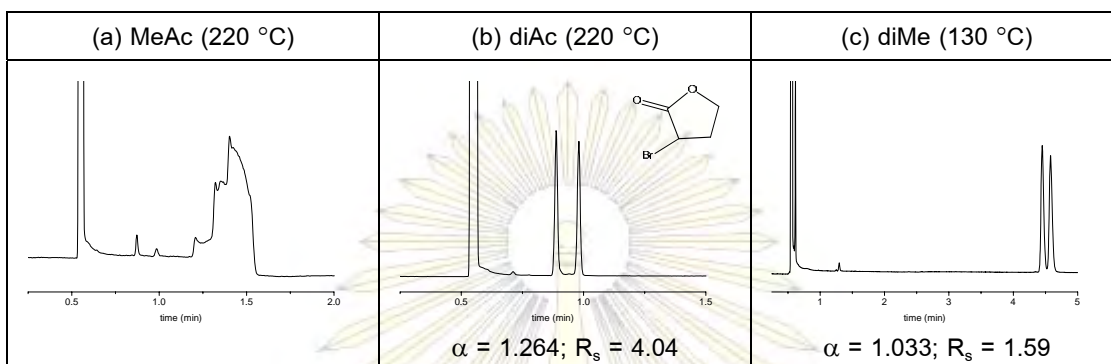


รูปที่ 4.11 โครมาโทแกรมแสดงการแยก B และ L ด้วยคอลัมน์ diMe ที่ 110 และ 100 °C

เมื่อพิจารณาการแยกคู่อิแนนท์ไอเมอร์ของ G และ M ในคอลัมน์ MeAc ซึ่งสารทั้งสองมีจำนวนคาร์บอนเท่ากันแต่มีหมู่แทนที่ชนิดแอลคิลสายตรง (G) และฟีนิล (M) พบว่าที่อุณหภูมิเดียวกัน G และ M มีค่าการแยกใกล้เคียงกัน แต่อุณหภูมิมีผลต่อการแยกสาร M มากกว่า G เล็กน้อย สำหรับคอลัมน์ diAc พบว่าให้ผลที่ตรงกันข้าม ทั้งสาร G และ M มีค่าการแยกที่ต่ำและอุณหภูมิมิมีผลต่อการแยกค่อนข้างน้อย เห็นได้จากความชันกราฟที่ต่ำมากเมื่อเทียบกับสารชนิดอื่น (รูปที่ 4.2) ส่วนคอลัมน์ diMe พบว่าให้ผลที่คล้ายกับคอลัมน์ MeAc โดยที่อุณหภูมิมิมีผลต่อการแยกสาร M มากกว่า G รวมถึงแลคโตนอื่นๆ ทุกชนิดที่ทดสอบด้วยคอลัมน์ diMe นี้ ทั้งนี้อาจเป็นผลจากขนาดที่เหมาะสมของหมู่ฟีนิลในการเกิดแรงกระทำที่เหมาะสมกับโพรงของอนุพันธ์ diMe และส่งผลให้เกิดการแยกที่ดี

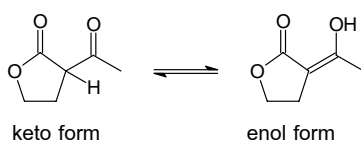
เมื่อพิจารณาการแยกคู่อิแนนท์ไอเมอร์ของแลคโตนที่มีหมู่แทนที่ต่างชนิดกัน คือแอสีทิล (H), โบโรโม (J) และเมทิล (L) พบว่าชนิดของหมู่แทนที่มีผลต่อการแยกอย่างมาก อีกทั้งแต่ละคอลัมน์ก็ให้ผลที่แตกต่างกันอย่างมากด้วย โดยที่สาร H เป็นสารชนิดเดียวจาก 13 ชนิดที่ไม่สามารถแยกได้ด้วยคอลัมน์ทั้งสามชนิด และสอดคล้องกับรายงานของ Ramos และคณะ [13] ที่ไม่สามารถแยกคู่อิแนนท์ไอเมอร์ของสาร H ด้วยอนุพันธ์ diMe ที่ผสมใน OV-1701 ได้เช่นกัน แต่สังเกตเห็นพีคที่กว้างและการแยกเพียงเล็กน้อยแต่ไม่สมบูรณ์ เมื่อวิเคราะห์สาร H ด้วยอนุพันธ์ diMe ที่ผสมใน SE-54 ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่ไม่มีขั้ว ส่วนสาร J สามารถแยกได้ดี

ด้วยคอลัมน์ diMe และแยกได้ดีมากด้วยคอลัมน์ diAc แต่กลับให้สัญญาณที่แปลกทุกครั้งเมื่อวิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ MeAc ซึ่งผู้วิจัยยังไม่ทราบสาเหตุ (รูปที่ 4.12) ส่วนสาร L สามารถแยกได้ด้วยคอลัมน์ทั้งสามชนิด แต่พบว่าอุณหภูมิไม่ค่อยมีผลต่อการแยกสารนี้ แม้ว่าจะลดอุณหภูมิลงมา แต่ค่าการแยกเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย (ความชันของกราฟ  $\ln \alpha$  กับ  $1/T$  ค่อนข้างต่ำ)

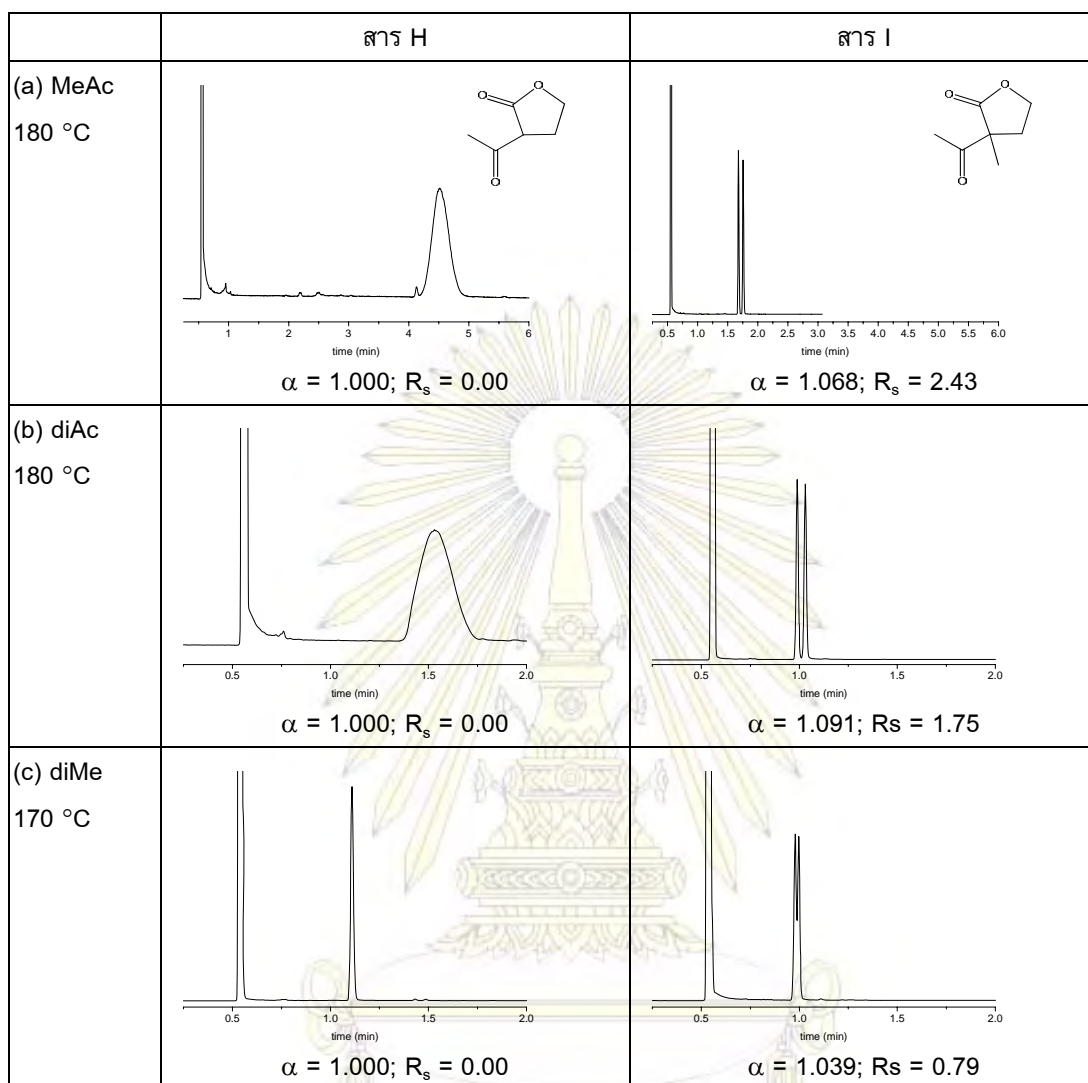


รูปที่ 4.12 โครมาโทแกรมแสดงการแยก J ด้วยคอลัมน์ (a) MeAc; (b) diAc และ (c) diMe

แต่เมื่อวิเคราะห์แลคโตนที่มีหมู่แทนที่ 2 หมู่ที่ตำแหน่งไครัล (สาร I และ K) พบว่ามีค่าการแยกที่ดีกว่าและมีความชันของกราฟ  $\ln \alpha$  กับ  $1/T$  ที่สูงกว่าเมื่อเทียบกับแลคโตนที่มีหมู่แทนที่ 1 หมู่ที่ตำแหน่งไครัล เหมือนกันในทุกคอลัมน์ เช่น สาร I แยกดีกว่า H (รูปที่ 4.13) และ สาร K แยกดีกว่า J หรือ L แสดงถึงความเกะกะที่ตำแหน่งไครัลจะช่วยส่งเสริมให้การแยกดีขึ้น และเป็นที่น่าสังเกตว่าสาร H ให้พีคที่มีลักษณะกว้างมากในคอลัมน์ MeAc และ diAc แต่ให้พีคที่มีลักษณะแคบเป็นปกติในคอลัมน์ diMe ทั้งนี้ผู้วิจัยสันนิษฐานว่าน่าจะเป็นผลจากความมีขั้วของหมู่เอซิติลของอนุพันธ์ MeAc และ diAc ที่ใช้เป็นเฟสคงที่ ทำให้เกิดแรงกระทำที่แข็งแกร่งกับสาร H และส่งผลให้พีคกว้าง ในขณะที่สาร I มีความเกะกะของหมู่เมทิลที่เพิ่มขึ้นมา จึงไม่สามารถเกิดแรงกระทำกับเฟสคงที่ได้แข็งแกร่งนัก จึงใช้เวลาในคอลัมน์ MeAc และ diAc น้อยกว่าสาร H ที่อุณหภูมิเดียวกัน รวมทั้งให้พีคที่มีลักษณะแคบเป็นปกติในทั้งสองคอลัมน์ นอกจากนี้สาร H ยังอาจเกิด keto-enol tautomerization [13] ซึ่งสารจะอยู่ในสมดุลระหว่าง 2 รูป ดังสมการที่ (7) โดยรูป enol น่าจะเกิดแรงกระทำที่แข็งแกร่งกับหมู่เอซิติลของอนุพันธ์ MeAc และ diAc ได้ดีกว่าหมู่เมทิลของอนุพันธ์ diMe เช่นกัน และส่งผลให้พีคกว้าง ในขณะที่สาร I ไม่มี  $\alpha$ -hydrogen ที่ตำแหน่งไครัลของโมเลกุล จึงไม่สามารถเกิดรูป enol ได้



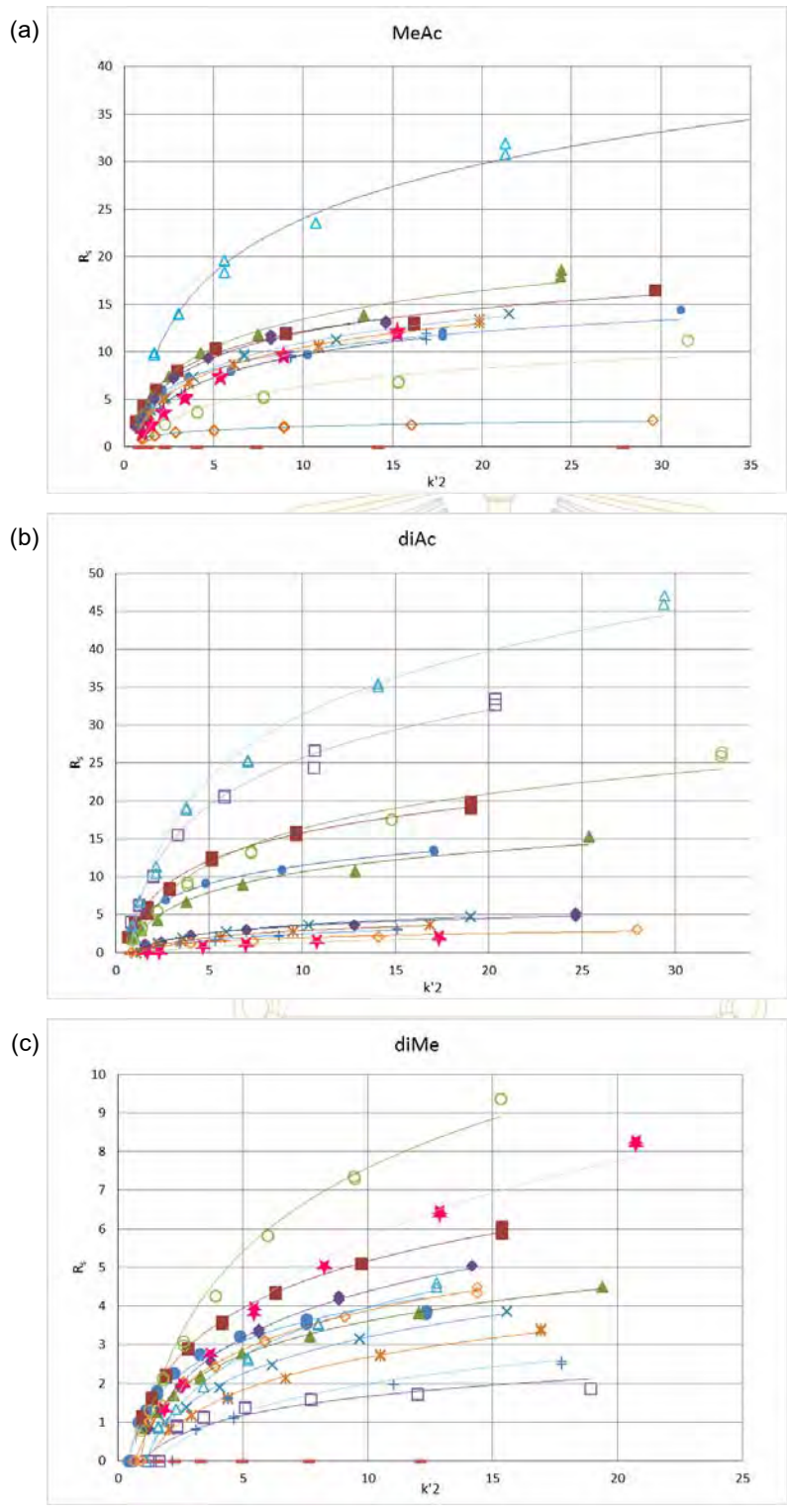
สมการที่ (7)



รูปที่ 4.13 โครมาโทแกรมแสดงการแยก H และ I ด้วยคอลัมน์ (a) MeAc; (b) diAc และ (c) diMe

ในการปรับลดอุณหภูมิคอลัมน์เพื่อปรับปรุงการแยกระหว่างคู่อิแนนท์โอเมอร์ ไม่เพียงจะส่งผลให้ค่าการแยกระหว่างคู่อิแนนท์โอเมอร์ ( $\alpha$ ) ดีขึ้นแล้ว แต่ยังส่งผลให้เวลาการวิเคราะห์ ( $k'$ ) เพิ่มขึ้นด้วย ดังนั้นในการหาภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ จึงควรเป็นภาวะที่ทำให้การแยกที่สมบูรณ์ภายในเวลาที่น้อยที่สุด โดยอาศัยความสัมพันธ์ระหว่างค่า  $R_s$  ซึ่งแสดงถึงความสมบูรณ์ของการแยก และค่า  $k'_2$  ซึ่งแสดงถึงเวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ ดังสมการที่ (8)

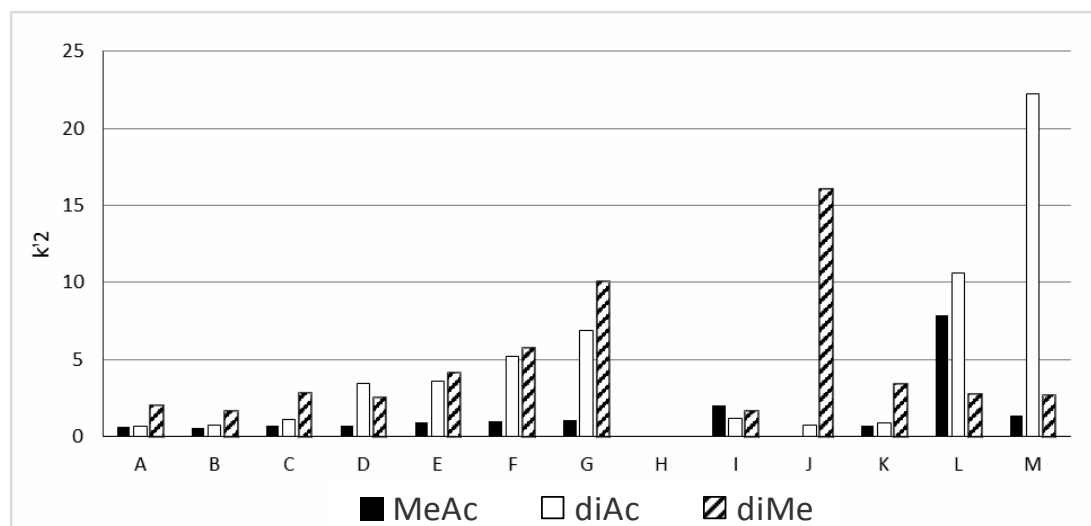
$$R_s = \frac{\sqrt{N}}{4} \times \left( \frac{k'}{k'+1} \right) \times \left( \frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \quad \text{สมการที่ (8)}$$



● A ■ B ▲ C ◆ D × E ✕ F + G - H ○ I □ J △ K ◇ L ★ M

รูปที่ 4.14 กราฟ  $R_s$  กับ  $k'_2$  ของแลคโตน A-M วิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ (a) MeAc; (b) diAc และ (c) diMe

จากข้อมูลดังรูปที่ 4.14 นำมาใช้หาค่า  $k'_2$  ของสารแต่ละชนิดที่ให้คู่อิเอนท์ไอเมอร์แยกจากกันได้อย่างสมบูรณ์ ด้วยค่า  $R_s = 2$  จะได้ดังรูปที่ 4.15



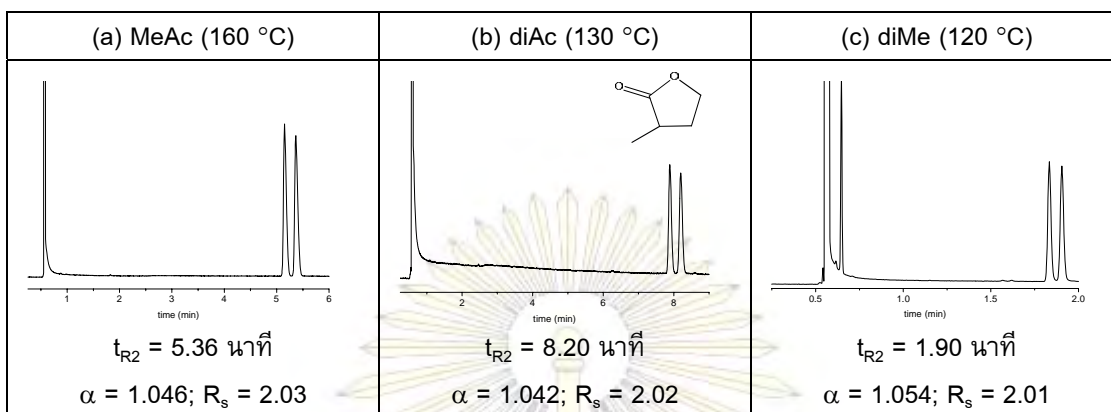
รูปที่ 4.15 ค่า  $k'_2$  ของแลคโตน A-M ที่ให้  $R_s = 2$  เมื่อวิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ MeAc; diAc และ diMe (ค่า  $k'_2$  ได้จากการคำนวณดังแสดงในตาราง A3)

จากผลของอุณหภูมิที่มีต่อค่าการแยกดังแสดงในรูปที่ 4.2 จะเห็นว่าอุณหภูมิมิมีผลต่อการแยกแลคโตนด้วยคอลัมน์ diMe น้อยกว่าการแยกด้วยคอลัมน์ MeAc และ diAc ซึ่งน่าจะเป็นผลมาจากความมีขั้วของอนุพันธ์  $\beta$ -CD ที่แตกต่างกัน สำหรับคอลัมน์ diAc จะเห็นว่าอุณหภูมิมิมีผลอย่างมากต่อการแยกแลคโตนที่มีหมู่แทนที่ขนาดเล็กหรือมีความเกะกะสูง เช่น A, B, I, J และ K ในขณะที่คอลัมน์ MeAc มีความเป็นขั้วปานกลาง จะเห็นว่าอุณหภูมิมิมีผลต่อการแยกแลคโตนน้อยกว่าในคอลัมน์ diAc แต่มีผลกับสารหลากหลายชนิด

แต่เมื่อพิจารณาภาพรวมของการแยก (รูปที่ 4.15) กลับพบว่าคอลัมน์ MeAc แยกคู่อิเอนท์ไอเมอร์ส่วนใหญ่ออกจากกันได้อย่างสมบูรณ์ ภายในเวลาที่น้อยที่สุด ตามด้วยคอลัมน์ diAc และ diMe ทั้งนี้ น่าจะเป็นผลจากการที่ MeAc มีหมู่เมทิลร่วมกับแอสีทิลในวง CD ซึ่งสารสามารถเกิดแรงกระทำกับหมู่แอสีทิลของ CD ได้ดีและแยกได้ดี แต่แรงกระทำไม่แข็งแรงมากเท่ากับ diAc นอกจากนี้ จะเห็นว่าค่า  $k'_2$  ของแลคโตนทุกตัวที่แยกได้สมบูรณ์ด้วยคอลัมน์ MeAc มีค่าน้อยและใกล้เคียงกันมาก ( $k'_2 \leq 2$ ) อีกทั้งไม่ขึ้นกับชนิดหรือตำแหน่งของหมู่แทนที่ยกเว้นสาร L เพียงตัวเดียวที่ใช้เวลานานที่สุดในคอลัมน์นี้ สำหรับคอลัมน์ diAc จะเห็นว่าค่า  $k'_2$  ของแลคโตนทุกตัวที่แยกได้สมบูรณ์ มีค่าเพิ่มขึ้นตามความยาวของสายแอลคิลหรือมีหมู่ฟีนิลเป็นหมู่แทนที่ โดยสาร M ใช้เวลานานที่สุดในคอลัมน์นี้ สำหรับคอลัมน์ diMe จะเห็นว่าค่า  $k'_2$  ของแลคโตนทุกตัวที่แยกได้สมบูรณ์ ให้แนวโน้มคล้ายคลึงกับคอลัมน์ diAc สำหรับสาร A-G แต่มีแนวโน้มตรงข้ามกับคอลัมน์ diAc สำหรับสาร J-M และมีเพียงสาร L ตัวเดียว



เท่านั้นที่คอลัมน์ diMe สามารถแยกได้สมบูรณ์โดยใช้เวลาน้อยกว่าคอลัมน์ diAc และ diMe ดังรูปที่ 4.16



รูปที่ 4.16 โครมาโทแกรมแสดงการแยก L ด้วยคอลัมน์ (a) MeAc; (b) diAc และ (c) diMe

ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ศึกษาการแยกคู่อิแนนท์ไอโमेอร์ของแลคโตนที่มีโครงสร้างที่แตกต่างกัน 13 ชนิด ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี โดยใช้เฟสคงที่ชนิดโครัลที่เป็นอนุพันธ์ของไซโคลเดกซ์ทรินชนิดใหม่ คือ heptakis(2-O-methyl-3-O-acetyl-6-O-*tert*-butyldimethylsilyl)- $\beta$ -CD (หรือ MeAc) โดยศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีต่อการแยกคู่อิแนนท์ไอโमेอร์ และเปรียบเทียบผลกับคอลัมน์ที่มีเฟสคงที่ชนิดโครัลที่มีขั้วมากกว่าคือ heptakis(2,3-di-O-acetyl-6-O-*tert*-butyldimethylsilyl)- $\beta$ -CD (หรือ diAc) และที่มีขั้วน้อยกว่าคือ heptakis(2,3-di-O-methyl-6-O-*tert*-butyldimethylsilyl)- $\beta$ -CD (หรือ diMe) เพื่อศึกษาผลของชนิดหมู่แทนที่บนวง  $\beta$ -CD และความมีขั้วของเฟสคงที่ที่มีต่อการแยก

เมื่อทำการแยกคู่อิแนนท์ไอโमेอร์ของแลคโตนทั้ง 13 ชนิด ด้วยคอลัมน์ MeAc ที่อุณหภูมิคงที่ที่ค่าต่างๆ กัน พบว่าสามารถแยกแลคโตนได้ 11 ชนิด โดยไม่สามารถแยกสาร H และ J ได้ โดยพบว่าอุณหภูมิมิมีผลต่อการแยกสาร K มากที่สุด และสาร L น้อยที่สุด ซึ่ง K เป็นแกมมาแลคโตนที่มีหมู่แทนที่ 2 หมู่ที่ตำแหน่งโครัลชนิดโบรโมและเมทิล ในขณะที่ L เป็นแกมมาแลคโตนที่มีหมู่แทนที่ชนิดเมทิลที่ตำแหน่งโครัล แสดงให้เห็นถึงผลของชนิดและจำนวนของหมู่แทนที่ในโครงสร้างของแลคโตนที่มีต่อการแยกคู่อิแนนท์ไอโमेอร์ เมื่อเปรียบเทียบผลของขนาดวงแลคโตน พบว่าอุณหภูมิมิมีผลต่อการแยกแกมมาแลคโตนมากกว่าปีตาแลคโตน ในขณะที่อุณหภูมิมิมีผลต่อการแยกสารที่มีความยาวของสายแอลคิลขนาดต่างๆ ไม่แตกต่างกันมากนัก

เมื่อเปรียบเทียบผลของชนิดหมู่แทนที่บนวง  $\beta$ -CD และความมีขั้วของเฟสคงที่ที่มีต่อการแยกพบว่าคอลัมน์ diAc และ diMe สามารถแยกอิแนนท์ไอโमेอร์ได้ 12 ชนิด โดยโครงสร้างของแลคโตนมีผลต่อการแยกอิแนนท์ไอโमेอร์ด้วยคอลัมน์ชนิดมีขั้วคือ diAc ค่อนข้างมาก โดยอุณหภูมิมิมีผลต่อการแยกอิแนนท์ไอโमेอร์ของแลคโตนที่มีหมู่แทนที่ขนาดเล็กหรือมีความกะกะสูง แต่หากมีหมู่แทนที่ขนาดใหญ่ (ฟีนิล) หรือแอลคิลสายยาวจะมีผลน้อยลง ในขณะที่อุณหภูมิมิมีผลต่อการแยกอิแนนท์ไอโमेอร์ด้วยคอลัมน์ชนิด diMe น้อยที่สุด โดยที่อุณหภูมิมิมีผลต่อการแยกสารที่มีโครงสร้างต่างกันไม่แตกต่างกันมากนัก ทั้งนี้ น่าจะสัมพันธ์กับความมีขั้วของอนุพันธ์ CD เรียงลำดับจาก diAc > MeAc > diMe ตามลำดับ

อย่างไรก็ตาม คอลัมน์ MeAc น่าจะเป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจในการวิเคราะห์อิแนนท์ไอโमेอร์ นอกเหนือจากคอลัมน์ diAc และ diMe ซึ่งเป็นที่นิยมใช้อย่างแพร่หลาย เนื่องจากคอลัมน์ MeAc มีขั้วปานกลางและมีทั้งหมู่แทนที่ต่างชนิดที่สามารถเกิดแรงกระทำกับสารที่

วิเคราะห์ได้แตกต่างกัน นอกจากนี้ยังมีแรงกระทำกับสารที่มีขั้วไม่แข็งแรงมากเท่ากับคอลัมน์ diAc จึงสามารถให้ค่าการแยกที่ดีและใช้เวลาในการแยกรวดเร็วกว่าคอลัมน์ diAc หรือ diMe

จากงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นถึงแนวโน้มเบื้องต้นของโครงสร้างแลคโตนที่มีต่อการแยกคู่อิแนนท์ไอเมอร์ จึงควรเพิ่มจำนวนแลคโตนที่นำมาทดสอบทั้งในด้านของขนาดวงแลคโตน ชนิด ตำแหน่งและจำนวนของหมู่แทนที่บนวงแลคโตน เพื่อให้ได้แนวโน้มข้อมูลที่แม่นยำมากขึ้น และอาจนำไปวิเคราะห์สารกลุ่มอื่นๆ ในทำนองเดียวกัน เพื่อเป็นประโยชน์ในการวิเคราะห์อิแนนท์ไอเมอร์ที่มีโครงสร้างแตกต่างกันต่อไป



ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## เอกสารอ้างอิง














- [1] รุ่งนภา ศรีชนะ. 2013. การควบคุมและเฝ้าระวังการใช้ยาไครัล.(ออนไลน์). แหล่งที่มา : [drug.pharmacy.psu.ac.th/article/file/52\\_chiral-1.doc](http://drug.pharmacy.psu.ac.th/article/file/52_chiral-1.doc). (สืบค้นเมื่อ 22 สิงหาคม 2557).
- [2] ชีรศักดิ์ โรจนราชา. 2013. อิแนนทิโอเมอร์ (Enantiomer) : บทบาทต่อฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของยา (ออนไลน์). แหล่งที่มา : <http://oldweb.pharm.su.ac.th/thai/CE/datafiles/1-000-SPU-000-0503-01.pdf>. (สืบค้นเมื่อ 22 สิงหาคม 2557).
- [3] Mosandl, A.; Günther, C., Stereoisomeric flavor compounds. 20. Structure and properties of  $\gamma$ -lactone enantiomers. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. **1989**, 37, 413-418.
- [4] e-book, “การวิเคราะห์องค์ประกอบของสารให้กลิ่นรส (Flavor Analysis)”, มหาวิทยาลัยรามคำแหง (ออนไลน์). แหล่งที่มา : [http://e-book.ram.edu/e-book/f/FY463\(50\)/FY463-3.pdf](http://e-book.ram.edu/e-book/f/FY463(50)/FY463-3.pdf). (สืบค้นเมื่อ 28 พฤศจิกายน 2557).
- [5] กันต์กนิษฐ ตูลขำ และ พิชักษณ์ เลิศไกร. สมบัติของอนุพันธ์บีตาไซโคลเดกซ์ทรินเพื่อเป็นเฟสคงที่ของแก๊สโครมาโทกราฟี [โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต]. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย: 2556.
- [6] แม้น อมรสิทธิ์ และ อมร เพชรสม. Principles and techniques of instrumental analysis. ชวนพิมพ์, 2539, 811-876.
- [7] M. Chaplin. 2011. Water Structure and Science (Cyclodextrins). (ออนไลน์). แหล่งที่มา : <http://www.lsbu.ac.uk/water/cyclodextrin.html>. (สืบค้นเมื่อ 12 ธันวาคม 2557).
- [8] Del Valle, E.M.M., Cyclodextrins and their uses: a review. *Process Biochemistry*. **2004**, 39, 1033-1046.
- [9] Bicchi, C.; Artuffo, G.; D'Amato, A.; Pellegrino, G.; Galli, A.; Galli, M., GC separation of the enantiomers of  $\gamma$ - and  $\delta$ -lactones on a mixture of 2,6-dimethyl-3-trifluoroacetyl- $\gamma$ -cyclodextrin and OV-1701. *Journal of High Resolution Chromatography*. **1991**, 14, 701-704.

- [10] Dietrich, A.; Maas, B.; Karl, V.; Kreis, P.; Lehmann, D.; Weber, B.; Mosandl, A., Stereoisomeric flavor compounds part. LV: Stereodifferentiation of some chiral volatiles on heptakis(2,3-di-O-acetyl-6-O-tert-butyldimethylsilyl)- $\beta$ -cyclodextrin. *Journal of High Resolution Chromatography*. **1992**, *15*, 176-179.
- [11] Bicchi, C.; D'Amato, A.; Manzin, V.; Galli, A.; Galli, M., Cyclodextrin derivatives in the gas chromatographic separation of racemic mixtures of volatile compounds X. 2,3-Di-O-ethyl-6-O-tert-butyldimethylsilyl- $\beta$ - and - $\gamma$ -cyclodextrins. *Journal of Chromatography A*. **1996**, *742*, 161-173.
- [12] Miranda, E.; Sánchez, F.; Sanz, J.; Jiménez, M. I.; Martínez-Castro, I., 2,3-Di-O-pentyl-6-O-tert-butyldimethylsilyl- $\beta$ -cyclodextrin as a chiral stationary phase in capillary gas chromatography. *Journal of High Resolution Chromatography*. **1998**, *21*, 225-233.
- [13] da Conceição K.V. Ramos, M.; Teixeira, L. H. P.; de Aquino Neto, F. R.; Barreiro, E. J.; Rodrigues, C. R.; Fraga, C. A. M., Chiral separation of  $\gamma$ -butyrolactone derivatives by gas chromatography on 2,3-di-O-methyl-6-O-tert-butyldimethylsilyl- $\beta$ -cyclodextrin. *Journal of Chromatography A*. **2003**, *985*, 321-331.
- [14] Takahisa, E.; Engel, K.-H., 2,3-Di-O-methoxymethyl-6-O-tert-butyldimethylsilyl- $\gamma$ -cyclodextrin: A new class of cyclodextrin derivatives for gas chromatographic separation of enantiomers. *Journal of Chromatography A*. **2005**, *1063*, 181-192.
- [15] Takahisa, E.; Engel, K.-H., 2,3-Di-O-methoxymethyl-6-O-tert-butyldimethylsilyl- $\beta$ -cyclodextrin, a useful stationary phase for gas chromatographic separation of enantiomers. *Journal of Chromatography A*. **2005**, *1076*, 148-154.
- [16] Schurig, V. Separation of enantiomers by gas chromatography. *Journal of Chromatography A*. **2001**, *906*, 275-299.
















## ภาคผนวก

ตาราง A1 สมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการแยก ( $\alpha$ ) กับอุณหภูมิ (T) ของแลคโตนวิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ MeAc, diAc และ diMe

สาร#	โครงสร้าง	ความสัมพันธ์ $\ln \alpha = m(1/T) + C$		
		MeAc	diAc	diMe
A		$y = 245.23x - 0.3681$	$y = 394.23x - 0.7257$	$y = 100.57x - 0.2157$
B		$y = 370.32x - 0.5961$	$y = 658.14x - 1.2625$	$y = 143.69x - 0.2891$
C		$y = 407.09x - 0.6956$	$y = 434.89x - 0.8713$	$y = 112.24x - 0.2256$
D		$y = 490.65x - 0.8988$	$y = 160.44x - 0.3295$	$y = 182.77x - 0.3823$
E		$y = 458.2x - 0.8463$	$y = 234.03x - 0.4971$	$y = 146.89x - 0.3045$
F		$y = 478.8x - 0.8822$	$y = 186.05x - 0.3881$	$y = 145.11x - 0.3002$
G		$y = 466.52x - 0.8562$	$y = 180.6x - 0.3751$	$y = 135.52x - 0.2824$
H		NS	NS	NS
I		$y = 420.88x - 0.861$	$y = 941.71x - 1.9977$	$y = 317.6x - 0.6835$
J		NS	$y = 1420.4x - 2.6489$	$y = 55.539x - 0.1063$
K		$y = 902.21x - 1.5156$	$y = 1758.7x - 3.4293$	$y = 185.25x - 0.3995$
L		$y = 55.201x - 0.0817$	$y = 126.86x - 0.2728$	$y = 127.11x - 0.2712$
M		$y = 577.13x - 1.0933$	$y = 111.15x - 0.232$	$y = 346.46x - 0.6812$














NS = no enantiomeric separation

ตาราง A2 สมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง  $R_s$  กับ  $k'_2$  ของแลคโตน วิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ MeAc, diAc และ diMe

สาร#	โครงสร้าง	ความสัมพันธ์ $R_s = m \ln(k'_2) + c$		
		MeAc	diAc	diMe
A		$y = 2.8825 \ln(x) + 3.4907$	$y = 3.4827 \ln(x) + 3.4609$	$y = 1.2359 \ln(x) + 1.1109$
B		$y = 3.501 \ln(x) + 4.0935$	$y = 5.2899 \ln(x) + 3.5744$	$y = 1.7553 \ln(x) + 1.1219$
C		$y = 4.3208 \ln(x) + 3.4845$	$y = 3.9112 \ln(x) + 1.6124$	$y = 1.265 \ln(x) + 0.6973$
D		$y = 3.8315 \ln(x) + 3.211$	$y = 1.4285 \ln(x) + 0.2334$	$y = 1.7263 \ln(x) + 0.4072$
E		$y = 3.7459 \ln(x) + 2.3024$	$y = 1.5991 \ln(x) - 0.039$	$y = 1.3679 \ln(x) + 0.0487$
F		$y = 3.6137 \ln(x) + 2.1465$	$y = 1.3146 \ln(x) - 0.1582$	$y = 1.2235 \ln(x) - 0.1399$
G		$y = 3.4395 \ln(x) + 1.7376$	$y = 1.1967 \ln(x) - 0.3111$	$y = 1.0706 \ln(x) - 0.4755$
H		NS	NS	NS
I		$y = 2.7109 \ln(x) + 0.1297$	$y = 6.6605 \ln(x) + 0.9678$	$y = 3.1182 \ln(x) + 0.3966$
J		NS	$y = 9.1106 \ln(x) + 4.671$	$y = 0.7156 \ln(x) + 0.0146$
K		$y = 8.2963 \ln(x) + 4.8976$	$y = 12.147 \ln(x) + 3.3515$	$y = 1.8104 \ln(x) - 0.2008$
L		$y = 0.5338 \ln(x) + 0.8994$	$y = 0.7981 \ln(x) + 0.1136$	$y = 1.4605 \ln(x) + 0.5208$
M		$y = 4.0882 \ln(x) + 0.6485$	$y = 0.8264 \ln(x) - 0.5626$	$y = 2.8481 \ln(x) - 0.7812$

NS = no enantiomeric separation

ตาราง A3 ค่า retention factor ของอีแนนทิโอเมอร์ลำดับที่สองของแลคโตน ( $k'_2$ ) เมื่อแยก สมบูรณ์ด้วยค่า  $R_s = 2$  วิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ MeAc, diAc และ diMe (คำนวณค่า  $k'_2$  จากสมการดังตาราง A2\*)

สาร#	โครงสร้าง	$k'_2$ ที่ $R_s = 2$		
		MeAc	diAc	diMe
A		0.60	0.66	2.05
B		0.55	0.74	1.65
C		0.71	1.10	2.80
D		0.73	3.44	2.52
E		0.92	3.58	4.16
F		0.96	5.16	5.75
G		1.08	6.90	10.10
H		NS	NS	NS
I		1.99	1.17	1.67
J		NS	0.75	16.03
K		0.71	0.90	3.37
L		7.86	10.63	2.75
M		1.39	22.22	2.66

NS = no enantiomeric separation

\* เนื่องจากทำการทดลองที่อุณหภูมิคงที่ จึงไม่สามารถเลือกอุณหภูมิของการทดลองล่วงหน้า เพื่อให้สารทุกตัวมีการแยกที่ค่า  $R_s$  เท่ากันได้ ค่า  $k'_2$  ที่รายงานในตาราง A3 จึงเป็นค่าที่คำนวณจากสมการดังตาราง A2 ซึ่งสารบางตัวอาจให้ค่า  $k'_2$  ที่ต่างไปจากค่าที่แท้จริงได้

## ประวัติผู้วิจัย

นางสาวชิตา ตั้งฤทัยวานิชย์ เกิดเมื่อวันที่ 29 พฤศจิกายน พ.ศ. 2535 ที่จังหวัดนครปฐม สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลาย สายสามัญ แผนการเรียนวิทยาศาสตร์-คณิตศาสตร์ ที่โรงเรียนสาธิตแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ศูนย์วิจัยและพัฒนาการศึกษา จังหวัดนครปฐม เมื่อปีการศึกษา 2554 จากนั้นได้เข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาตรี หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีเดียวกัน ที่อยู่ที่สามารถติดต่อกันได้หลังจบการศึกษาปริญญาตรี คือ 9 หมู่ 7 ต.สระสีมุ่ม อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

นางสาวรมิดา วัสนิโน เกิดเมื่อวันที่ 20 มกราคม พ.ศ. 2536 ที่จังหวัดจันทบุรี สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลาย สายสามัญ แผนการเรียนวิทยาศาสตร์-คณิตศาสตร์ ที่โรงเรียนศรียานุสรณ์ จังหวัดจันทบุรี เมื่อปีการศึกษา 2554 จากนั้นได้เข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาตรี หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีเดียวกัน ที่อยู่ที่สามารถติดต่อกันได้หลังจบการศึกษาปริญญาตรี คือ 9 หมู่ 6 ต.คลองนารายณ์ อ.เมืองจันทบุรี จ.จันทบุรี 22000

ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย