บทที่ 1
บทนำ

ข้าว เป็นอาหารที่สำคัญอย่างหนึ่ง เนื่องจากประชากรมากกว่าครึ่งหนึ่งของโลกบริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก ซึ่งจะบริโภคกันมากในแถบตะวันออก ตะวันออกเฉียงใต้ และทางใต้ของทวีปเอเชีย ทำให้ภูมิภาคเหล่านี้ส่วนใหญ่เป็นแหล่งผลิตข้าวที่สำคัญ และแต่ละประเทศจะมีพันธุ์ข้าวที่เป็นของตนเองซึ่งปลูกติดต่อกันมาช้านานและมีความเหมาะสมกับสภาพพื้นที่ ทำให้แต่ละประเทศมีพันธุ์ข้าวที่แตกต่างกันไป ลักษณะของพันธุ์ข้าวที่จูงใจต่อผู้บริโภคมากคือ พันธุ์ข้าวที่มีกลิ่นหอม ซึ่งจะเป็นที่นิยมของผู้บริโภคเป็นอย่างมาก ด้วยเหตุนี้จึงมีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับองค์ประกอบของสารระเหยในข้าว รวมถึงรายงานเกี่ยวกับวิธีการศึกษาสารระเหยในเมล็ดข้าวอย่างต่อเนื่องกันมาจนถึงปัจจุบัน

1.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับข้าว [1-4]

ข้าวเป็นพืชตระกูลหญ้าชนิดหนึ่ง เรียกกันว่าธัญพืช อยู่ในตระกูล Cramineae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า Oryza sativa L. ส่วนใหญ่มีอายุเพียงปีเดียว เข้าใจว่ามีถิ่นกำเนิดในประเทศอินเดียแล้วขยายตัวออกไปทางตะวันออกจนถึงประเทศจีน และทางตะวันตกจนถึงเอเชีย อัฟริกา และยุโรปตอนใต้ ลักษณะภายนอกบางอย่างของต้นข้าวจะมีลักษณะคล้ายต้นหญ้า เช่น ใบ กาบใบ ลำต้น และราก ข้าวเป็นพืชเมืองร้อน สามารถปลูกได้ดีในแถบที่มีอากาศร้อนและฝนตกชุก

1.1.1 การจำแนกข้าวในโลก [2]

ข้าวที่ปลูกเพื่อการบริโภคเป็นอาหารในโลกนี้สามารถจำแนกได้เป็น 2 ชนิด คือ ออไรซ่า ซาไตวา (Oryza sativa) ซึ่งมีปลูกทั่วไปในทุกประเทศ และออไรซ่า แกลเบอริม่า (Oryza glaberrima) ซึ่งมีปลูกเฉพาะในอัฟริกาเท่านั้น ข้าวพวกออไรซ่า ซาไตวา ยังแยกออกได้เป็น อินดิคา (Indica) มีปลูกมากในเขตร้อน ส่วน จาปอนิคา (Japonica) มีปลูกมากในเขตหนาว และจาวานิคา (Javanica) ปลูกในประเทศอินโดนีเซียเท่านั้น ดังแสดงใน รูป 1.1 จะแสดงการจำแนกข้าวในโลกและลักษณะของข้าวแต่ละชนิด

ประเภทของข้าวในโลก

ออไรซ่า ซาไตวา

Oryza sativa

1. ปลูกกันทั่วไปทุกประเทศ
2. รวงข้าวมีระแง้แตกเป็นแขนง

ออไรซ่า แกลเบอริม่า

Oryza glaberrima

1. ปลูกเฉพาะในแอฟริกา เช่น เซเนกัลตะวันตก
2. รวงข้าวมีระแง้ที่ไม่แตกเป็นแขนง
3. ลักษณะอื่นๆ คล้ายข้าวพวก Indica

อินดิคา (Indica)

1. มีปลูกมากในเขตร้อน เช่น **ไทย** มาเลเซีย ลาว ฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย อินเดีย
2. ต้นสูง อ่อน
3. ใบกว้าง สีเขียวอ่อน
4. เมล็ดยาว แคบ ร่วงง่าย-ยาก

จาปอนิคา (Japonia)

1. มีปลูกมากในเขตหนาว เช่น เกาหลี ญี่ปุ่น จีน สหรัฐอเมริกา
2. ต้นเตี้ย แข็ง
3. ใบแคบ สีเขียวแก่
4. เมล็ดสั้นป้อม ร่วงยาก

จาวานิคา (Javanica)

1. ปลูกในประเทศอินโดนีเซีย
2. ต้นสูง แข็ง
3. ใบกว้าง แข็ง สีเขียวอ่อน
4. เมล็ดยาว กว้าง และหนา ร่วงยาก

รูป 1.1 ประเภทพันธุ์ข้าวในโลกและลักษณะของข้าวแต่ละชนิด [2]

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

1.1.2 การจำแนกข้าวในประเทศไทย[3]

ข้าวที่ปลูกเพื่อบริโภคในประเทศไทยเป็นพวกอินดิคา ซึ่งสามารถจำแนกออกเป็นชนิดต่างๆ ขึ้นอยู่กับสิ่งที่ใช้เป็นมาตรการสำหรับการแบ่งแยกข้าวนั้น เฉพาะในประเทศไทยมีการจำแนกข้าวออกเป็นหลายรูปแบบด้วยกันดังนี้

จำแนกตามคุณสมบัติทางเคมีภายในเมล็ด

1. **ข้าวเจ้า** ประกอบด้วยแป้ง ประมาณ 90 % ซึ่งแป้งนี้มีส่วนประกอบใหญ่ ๆ สองส่วนด้วยกัน คือ amylopectin ประมาณ 60–90 % และ amylose ประมาณ 10 –30 %

2. **ข้าวเหนียว** ประกอบด้วย amylopectin ประมาณ 95 % และ amylose น้อยมาก บางครั้งพบว่าไม่มีเลย

ปริมาณของ amylopectin และ amylose ที่มีในเมล็ดข้าวทำให้คุณภาพการหุงต้มของข้าวพันธุ์ต่างๆ แตกต่างกัน ข้าวที่มี amylose สูงเมื่อหุงต้มสุกแล้วจะร่วนซุยเป็นตัวกว่าข้าวที่มี amylose ต่ำ

จำแนกตามสภาพพื้นที่ปลูก

1. **ข้าวไร่** คือ ข้าวที่ปลูกได้ทั้งบนที่ราบและลาดชัน ไม่ต้องทำคันนากักเก็บน้ำเพราะไม่ชอบน้ำขัง แต่ต้องปลูกในฤดูทำนาปี เพราะข้าวไร่อาศัยน้ำฝนที่ตกตามฤดูกาล นิยมปลูกกันมากในบริเวณที่ราบสูง ตามไหล่เขาทั้งทางภาคเหนือ ใต้ ตะวันออก และตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย

2. **ข้าวนาสวนหรือนาดำ** คือ ข้าวที่ปลูกในที่ราบลุ่มทั่วๆ ไป ระดับน้ำต้องสูงไม่เกิน 1 เมตร น้ำที่หล่อเลี้ยงต้นข้าวนี้อาจจะมาจากน้ำฝน หรือจากชลประทานก็ได้ ข้าวนาสวนนิยมปลูกกันมากแทบทุกภาคของประเทศไทย

3. **ข้าวขึ้นน้ำหรือข้าวนาเมือง** คือ ข้าวที่ปลูกกันในแหล่งที่ไม่สามารถรักษาระดับน้ำได้ ข้าวนี้สามารถยืดตัวหนีน้ำได้ ส่วนมากปลูกกันแถบจังหวัดอยุธยา สุพรรณบุรี ลพบุรี พิจิตร อ่างทอง ชัยนาทและสิงห์บุรี

จำแนกตามอายุการเก็บเกี่ยว

1. **ข้าวเบา** คือ ข้าวที่มีอายุการเก็บเกี่ยวตั้งแต่ 90-100 วัน นับตั้งแต่เพาะกล้าหรือหว่านข้าวในนาจนเก็บเกี่ยว

2. **ข้าวกลาง** คือ ข้าวที่มีอายุการเก็บเกี่ยวตั้งแต่ 100-120 วัน นับตั้งแต่เพาะกล้าหรือหว่านข้าวในนาจนเก็บเกี่ยว

3. **ข้าวหนัก** คือ ข้าวที่มีอายุการเก็บ เกี่ยวตั้งแต่ 120 วันขึ้นไป นับตั้งแต่เพาะกล้าหรือหว่านข้าวในนาจนเก็บเกี่ยว

จำแนกตามลักษณะความไวต่อช่วงแสง

1. **ข้าวที่ไวต่อช่วงแสง** จะมีอายุการเก็บเกี่ยวไม่แน่นอน เพราะจะออกดอกในช่วงเดือนที่มีความยาวของกลางวันสั้นกว่ากลางคืน ในประเทศไทยช่วงดังกล่าวเริ่มเดือนตุลาคม ฉะนั้นข้าวพวกนี้จะต้องปลูกในฤดูนาปี (ฤดูฝน) เท่านั้น ถ้านำไปปลูกในฤดูแล้วก็จะมาออกดอกในเดือนตุลาคมหรือพฤศิกายนเช่นกัน

2. **ข้าวที่ไม่ไวต่อช่วงแสง** จะมีอายุการเก็บเกี่ยวที่แน่นอน จะออกดอกและเก็บเกี่ยวได้เมื่อครบอายุการเจริญเติบโตโดยที่ช่วงแสงจะไม่มีอิทธิพลในการบังคับให้ออกดอกหรือไม่ ข้าวพวกนี้จึงสามารถปลูกได้ทุกฤดูกาล

จำแนกตามฤดูปลูก

1. **ข้าวนาปีหรือข้าวนาน้ำฝน** คือ ข้าวที่ปลูกในฤดูการทำนา สำหรับในประเทศไทยเริ่มตั้งแต่เดือนพฤษภาคมถึงเดือนตุลาคม และจะเก็บเกี่ยวเสร็จสิ้นไม่เกินเดือนกุมภาพันธุ์

2. **ข้าวนาปรัง** คือ ข้าวที่ปลูกนอกฤดูการทำนาปกติ จะเริ่มตั้งแต่เดือนมกราคมในบางท้องที่และเก็บเกี่ยวอย่างช้าที่สุดไม่เกินเดือนเมษายน นิยมปลูกในท้องที่มีการชลประทานดี

เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศกสิกรรม ประชากรส่วนใหญ่มีอาชีพเป็นเกษตรกร ทำการเพาะปลูกพืชไร่หลายอย่าง เช่น ข้าว ข้าวโพด อ้อย ถั่วเหลือง ถั่วเขียว และทำการปลูกไม้ผล เช่น ทุเรียน ส้ม มะม่วง มังคุด ลางสาด นอกจากนี้ในท้องที่ต่างๆ ของภาคใต้ ยังทำการปลูกยางพาราอีกด้วย ในจำนวนพื้นที่เกษตรปลูกดังกล่าวนี้ ข้าวมีพื้นที่ปลูกมากกว่าพืชชนิดอื่นๆ คิดเป็นพื้นที่ประมาณ 11.3 % ของพื้นที่ทั่วประเทศ[4] ภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีพื้นที่ทำนามากที่สุด รองลงมาได้แก่ ภาคเหนือและภาคใต้ตามลำดับ

นอกจากประเทศไทยแล้ว ประเทศอื่นๆ ที่มีดิน ฟ้า อากาศ คล้ายๆ ประเทศไทยก็ปลูกข้าวด้วย เช่น ลาว เขมร เวียดนาม จีน มาเลเซีย ฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย พม่า บังกลาเทศ อินเดีย และ ประเทศต่างๆ ใน แอฟริกา และอเมริกาใต้ ส่วนประเทศที่มีอากาศหนาวมากในฤดูหนาว เช่น สหรัฐอเมริกา และญี่ปุ่น ก็จะปลูกข้าวเฉพาะในฤดูร้อนเท่านั้น แม้จะมีหลายประเทศในโลกที่ทำการปลูกข้าว แต่ข้าวที่ปลูกในบางประเทศอาจไม่พอต่อการบริโภค จึงจำเป็นต้องซื้อข้าวจากประเทศอื่นๆ สำหรับประเทศไทยนั้น สามารถปลูกข้าวได้ผลผลิตเพียงพอกับการบริโภคของประชาชน และยังมีข้าวอีกจำนวนมากที่เหลือจากการบริโภค โดยเหตุนี้ประเทศไทยจึงส่งข้าวไปขายต่างประเทศและทำรายได้เข้าประเทศเป็นจำนวนมาก ตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบันประเทศไทยเป็นผู้ส่งข้าวออกเป็นอันดับหนึ่งของโลก รองลงมาได้แก่ ประเทศเวียดนาม และประเทศสหรัฐอเมริกา ตามลำดับ ข้าวยังเป็นสินค้าที่ทำรายได้ให้กับประเทศไทยมากกว่าสินค้าเกษตรอื่นๆ หลายชนิด โดยในปี 2541 มีปริมาณส่งออกมากเป็นประวัติการณ์ถึง 6.37 ล้านตัน ข้าวสารคิดเป็นมูลค่า 85,015 ล้านบาท [4]

ข้าวนอกจากจะใช้บริโภคเป็นอาหารหลักประจำวันของประชาชนแล้ว ยังใช้ทำประโยชน์อื่นๆ ได้อีก เช่น ทำเป็นแป้งข้าวเหนียวและแป้งข้าวเจ้า โดยเฉพาะข้าวเหนียวใช้ทำเป็นของหวานมากกว่าข้าวเจ้า ซึ่งได้แก่ขนมชนิดต่างๆ ในโรงงานอุตสาหกรรมที่ผลิตแอลกอฮอล์ ก็ได้เอาข้าวเหนียวไปหุงแล้วผสมกับน้ำตาลและเชื้อยีสต์ เพื่อทำให้เกิดการหมัก (fermentation) เปลี่ยนแป้งเป็นแอลกอฮอล์สำหรับใช้ผลิตวิสกี้และอื่นๆ

1.2 พันธุ์ข้าวหอม [4-6]

คุณลักษณะข้าวที่เป็นที่ต้องการมากทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศ คือ ข้าวที่มีกลิ่นหอมหรือมีความหอม โดยที่ความหอมของข้าวจะเป็นลักษณะเชิงคุณภาพ ซึ่งเป็นที่นิยมของผู้บริโภคข้าวและตรงกับความต้องการของตลาด ข้าวหอมเป็นข้าวที่มีกลิ่นหอมหรือมีลักษณะที่มีกลิ่นหอมกว่าข้าวธรรมดา ซึ่งเป็นที่รู้จักกันอย่างแพร่หลายในกลุ่มผู้ปลูกข้าว พ่อค้า และผู้บริโภคมาเป็นเวลานาน มีการปลูกกระจายอยู่ทั่วไปในประเทศที่เป็นแหล่งปลูกข้าวที่สำคัญของโลก พันธุ์ข้าวหอมที่มีชื่อเสียงและได้รับความนิยมในตลาดโลก มี 2 พันธุ์ คือ **ข้าวพันธุ์บาสมาติ** (Basmati Rice) ของประเทศอินเดียและปากีสถาน ซึ่งเป็นข้าวหอมที่มีลักษณะพิเศษ คือ ข้าวที่หุงหรือนึ่งสุกนอกจากจะมีกลิ่นหอมแล้ว ยังมีการขยายตัวดี (ข้าวสุกยาวกว่าข้าวสาร 2 เท่า) ข้าวสุกร่วน นิ่ม

และมีรสชาติดี เป็นที่นิยมของประชากร ในแถบตะวันออกกลาง และ**ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105** (Jasmine Rice or Khao Dawk mali 105) ของประเทศไทย ซึ่งเป็นข้าวที่มีรสชาติดี ข้าวที่หุงหรือนึ่ง สุกนุ่ม เหนียว และมีกลิ่นหอม เป็นที่นิยมของประชากรในประเทศแถบเอเชีย ตะวันออกกลาง และสหรัฐอเมริกา นอกจากนี้ยังมีพันธุ์ข้าวหอมที่มีชื่อเสียงอื่นๆ ได้แก่ พันธุ์ มาลากิต ซุง ซอง (malagkit sungsong), พันธุ์อะซูดีนา (Azudena) และพันธุ์มิลาโกรซา (Milagrosa) ของประเทศฟิลิปปินส์ พันธุ์ซีราตัส มาลัม (Seratus malam) ของประเทศอินโดนีเซีย พันธุ์แฮริ (Hieri) ของประเทศญี่ปุ่น พันธุ์กลูลารัท (Goolarah) ของประเทศออสเตเลีย และ พันธุ์เดลลา (Della) ของประเทศสหรัฐอเมริกา

ประเทศไทยมีพันธุ์ข้าวหอมที่สำคัญมากมาย ไม่ต่ำกว่า 50 พันธุ์ เช่น พันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105, นางมล, หอมอ้ม, หอมดง, หอมแดงน้อย, หอมดอกประดู่, หอมสะดุ้ง, กข 1, กข 6 เป็นต้น แต่พันธุ์ข้าวหอมที่มีชื่อเสียงและเป็นที่นิยมมากที่สุด คือ พันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 สังเกตจากเป็นข้าวสารที่แพงที่สุด และพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ยังถูกส่งออกไปขายในต่างประเทศเป็นจำนวนมาก ในระยะ 5 ปีที่ผ่านมา (2532 - 2536) มีการส่งออกคิดเป็นร้อยละ 23 ของปริมาณการส่งออกข้าวรวมทั้งหมดของประเทศไทย ตลาดส่วนใหญ่จะเป็นกลุ่มทางเอเชียตะวันออกกลาง และประเทศสหรัฐอเมริกา โดยเฉพาะประเทศสหรัฐอเมริกามีการนำเข้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 จากประเทศไทยคิดเป็นร้อยละ 15 ของการส่งออกข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ทั้งหมด [4]

พันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 มีต้นกำเนิดอยู่ในภาคกลาง คุณสุนทร สิหะเนิน เกษตรอำเภอบางคล้า ได้เก็บรวบรวมจากอำเภอบางคล้า จังหวัดฉะเชิงเทรา เมื่อฤดูนาปี 2493-2494 ได้รวงข้าวทั้งหมด 199 รวง รวงข้าวเหล่านี้ได้ถูกส่งไปดำเนินการต่างๆ ดังนี้

พ.ศ. 2498 ได้ส่งไปคัดพันธุ์ แบบคัดพันธุ์บริสุทธิ์ที่สถานีทดลองข้าวโคกสำโรง
พ.ศ. 2500 นำเข้าแปลงเปรียบเทียบพันธุ์ที่สถานีทดลองข้าวโคกสำโรง
พ.ศ. 2502 เปรียบเทียบพันธุ์ท้องถิ่นในภาคเหนือ ภาคกลาง และ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

จนกระทั่งคัดได้สายพันธุ์ 4-2-105 ให้ชื่อว่า ขาวดอกมะลิ 105 แต่ในท้องตลาดมักเรียก ข้าวหอมมะลิ ซึ่งผ่านคณะกรรมการพิจารณาพันธุ์ให้ใช้ขยายพันธุ์ได้เมื่อ วันที่ 25

พฤษภาคม พ.ศ. 2502 พันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 มีลักษณะเด่นเป็นพิเศษ คือ เหมาะที่จะปลูกในที่นาดอนมากกว่านาลุ่ม ไม่ชอบน้ำมากเกินไป ถ้าน้ำน้อยจะให้ผลผลิตดีกว่า คุณภาพการหุงต้มดี มีกลิ่นหอม รสชาติดี และอ่อนนุ่ม คุณภาพการสีดี เมล็ดข้าวสารยาวเรียวสีขาวสวย ใส แกร่ง ทนแล้ง ทนสภาพดินเปรี้ยว และดินเค็ม แต่มีลักษณะที่ไม่ดีอยู่บ้าง คือ ต้นอ่อน ล้มง่าย น้ำหนักเมล็ดเบา ไม่ต้านทานโรคขอบใบแห้ง โรคไหม้ โรคใบสีส้ม โรคจู๋ เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพลี้ยจักจั่นสีเขียว และ หนอนกอ พันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 เหมาะที่จะปลูกในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่มีปัญหาดินเค็มและฝนทิ้งช่วง และในภาคกลาง เช่น จังหวัดปทุมธานี จังหวัดนครนายก และจังหวัดปราจีนบุรี ที่มีปัญหาดินเปรี้ยว เป็นต้น

1.3 การศึกษาสารหอมในข้าว [7-25]

สารที่ทำให้เกิดความหอมในเมล็ดข้าว เป็นสารที่อยู่ในรูปน้ำมันระเหย ตรงกับคำว่า เอสเซ็นเชี่ยนออยล์ (Essential oil) แปลว่า น้ำมันระเหยที่ให้กลิ่นหอมพิเศษ ซึ่งจะอยู่ที่เมล็ดเป็นส่วนใหญ่ ตั้งแต่เนื้อเยื่อของเมล็ดข้าวกล้อง จนเข้าไปในเมล็ดข้าวกล้อง ความหอมของข้าวนี้ไม่ได้อยู่เฉพาะที่เมล็ดข้าวอย่างเดียว ที่ต้น ใบ และดอก ก็มีความหอมเช่นกัน ในรายงานการศึกษาของคุณวรวิทย์ [7] พบว่า เมื่อเดินเข้าไปในแปลงข้าวหอมบางพันธุ์ในระยะต้นกล้า ในระยะแตกกอ ในระยะตั้งท้อง และในระยะออกดอก จะรู้สึกได้ว่ามีกลิ่นหอม

ความหอมในเมล็ดข้าวนี้ ถ้าเก็บรักษาเมล็ดข้าวไม่ดี จะทำให้ความหอมหายไปได้ เช่น อยู่ในที่ร้อนอบอ้าวหรือปล่อยกองกลางแดดหรือกองไว้กับพื้นซีเมนต์ ความร้อนและความชื้นที่มีมากเกินไปย่อมทำให้คุณภาพของเมล็ดและความหอมสูญหายไป ดังนั้น การเก็บเกี่ยวข้าวเปลือกไว้ในที่เย็นหรือไม่ร้อนจัด ไม่มีความชื้นมากเกินไปจะช่วยทำให้เก็บรักษาความหอมไว้ได้นาน การเก็บ ข้าวที่โรงสีควรเทรวมกันไว้บนพื้นกระดานที่ยกพื้นขึ้นสูงกว่าพื้นซีเมนต์ประมาณ 1 คืบ การเก็บวิธีนี้จะรักษาความหอมไว้ได้ประมาณ 6-8 เดือน ส่วนการเก็บรักษาความหอมของข้าวเปลือก ควรเก็บในกระสอบและเก็บไว้ในโรงเรือนที่โปร่ง วางกระสอบข้าวไว้บนไม้ ซึ่งการเก็บวิธีนี้จะสามารถรักษาคุณภาพของเมล็ดและความหอมไว้ได้นาน 1-2 ปี

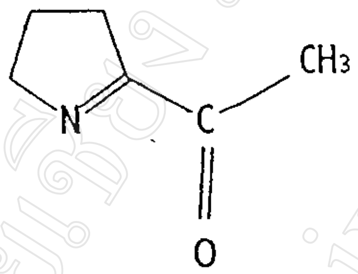
ในระยะแรกๆ ยังไม่มีเครื่องมือที่จะพิสูจน์ความหอมในเมล็ดข้าวแต่ละพันธุ์ ว่าพันธุ์ไหนหอมมาก-หอมน้อย หรือกลิ่นที่หอมประกอบด้วยอะไรบ้าง และไม่มีเครื่องมือที่แน่นอนในการตรวจวัดกลิ่น นอกจากจะใช้วิธีการดมกลิ่นโดยผู้เชี่ยวชาญและให้ระดับความหอมออกมาเป็นระดับมากหรือน้อย ขึ้นอยู่กับการวินิจฉัยของผู้เชี่ยวชาญคนนั้นๆ ทำให้นักวิทยาศาสตร์สนใจที่จะ

ศึกษาสารให้ความหอมในเมล็ดข้าวกันมากขึ้น เพื่อจะได้พัฒนาเทคนิคการสกัดและตรวจวัดปริมาณสารหอมนั้นต่อไป

ในระยะแรกๆ มีรายงานเกี่ยวกับวิธีการต่าง ๆ ที่ใช้ในการศึกษาสารหอมในเมล็ดข้าวไม่มากนัก การตรวจสอบหาองค์ประกอบสารที่ให้ความหอมในข้าวนั้น จะใช้เทคนิคการสกัดด้วยไอน้ำและสกัดสารอินทรีย์ที่ได้จากการกลั่นด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสมอีกที และใช้ปริมาณตัวอย่างข้าวค่อนข้างมาก ทำให้ประสิทธิภาพของวิธีการสกัดและวิเคราะห์ยังไม่ดีพอ ตัวอย่างเช่น Yajima และคณะ[8] ได้รายงานการศึกษาสารระเหยในข้าวพันธุ์ Koshihikari โดยนำมาสกัดด้วยไอน้ำ ใช้ภาชนะขนาดใหญ่ 50 ลิตร และใช้ตัวอย่างข้าวครั้งละ 6 กิโลกรัม ทำการทดลองซ้ำ 8 ครั้ง รวมแล้วใช้ข้าวทั้งหมด 48 กิโลกรัม จึงได้สารสกัดที่สามารถนำมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิคก๊าซโครมาโทกราฟี/ แมสสเปคโทรเมตรี และพบว่ามีสารระเหยกว่าร้อยชนิดที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัด ต่อมา Yajima และคณะ[9] ก็ทำการศึกษาสารระเหยพันธุ์ Kaorimai โดยการศึกษาเช่นเดียวกับพันธุ์ Koshihikari โดยใช้ตัวอย่างข้าว 60 กิโลกรัม พบว่าในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคก๊าซโครมาโทกราฟี/ แมสสเปคโทรเมตรี มีสารระเหยกว่าร้อยชนิดที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัดเช่นเดียวกัน และเมื่อเปรียบเทียบองค์ประกอบในสารสกัดจากข้าวพันธุ์ Kaorimai จะมีองค์ประกอบมากกว่าพันธุ์ Koshihikari แต่ในการศึกษาสารระเหยในข้าวทั้งสองพันธุ์นี้ ยังไม่มีรายงานการค้นพบสารที่เป็นตัวให้ความหอมในข้าว

จนกระทั่งปี ค.ศ. 1982 Buttery และคณะ[10] ได้รายงานการค้นพบสารให้กลิ่นหอมในเมล็ดข้าวเป็นครั้งแรก คือ 2-acetyl-1-pyrroline ซึ่งพบในข้าวหอมทั่วไป โดยประยุกต์เทคนิคในการสกัดด้วยไอน้ำ มาเป็นการใช้ชุดสกัดด้วยไอน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์แบบต่อเนื่องตามแบบของไลเคนส์และนิคเคอสัน (Liken – Nikerson simultaneous steam distillation / solvent extraction apparatus) พบว่าจะใช้ปริมาณข้าวน้อยลง คือ 500 กรัม และวิเคราะห์ด้วยเทคนิคก๊าซโครมาโทกราฟี/ แมสสเปคโทรเมตรี นอกจากนี้ Buttery และคณะ[11] ได้เสนอว่าสารที่ให้กลิ่นหอมในข้าวนั้นประกอบด้วยสารทั้งหมด 17 ชนิด คือ hexanal, heptanal, 2-pentylfuran, (E)-2-heptanal, 2-acetyl-1-pyrroline, hexanol, octanal, nonanal, benzaldehyde, (E)-2-nonenal, decanal, (E)-2-decenal, nonanol, 4-vinylphenol, (E,E)-2,4-decadienal, 2-phenylethanol, 4-vinylguainocol โดยมี 2-acetyl-1-pyrroline เป็นสารสำคัญที่มีกลิ่นหอมในข้าวมากที่สุด

สารหอม 2-acetyl-1-pyrroline จะมีโครงสร้างและลักษณะ[12] คือ เป็นสารประกอบในกลุ่ม pyrrole คือ วงแหวน 5 เหลี่ยมที่มี ไนโตรเจนเกาะอยู่ในวง และมีหมู่ acetyl เกาะอยู่กับคาร์บอนในตำแหน่งที่ 2 ของวง ดังโครงสร้างที่แสดงในรูป 1.2



รูป 1.2 สารหอม 2-acetyl-1-pyrroline[12]

นอกจากนี้ 2-acetyl-1-pyrroline มีชื่อเรียกอย่างอื่น คือ 5-acetyl-3,4-dihydro-2H-pyrrole และ 1-(3,4-dihydro-2H-pyrrol-5-yl) ethanone

CAS Number คือ 85213-22-5

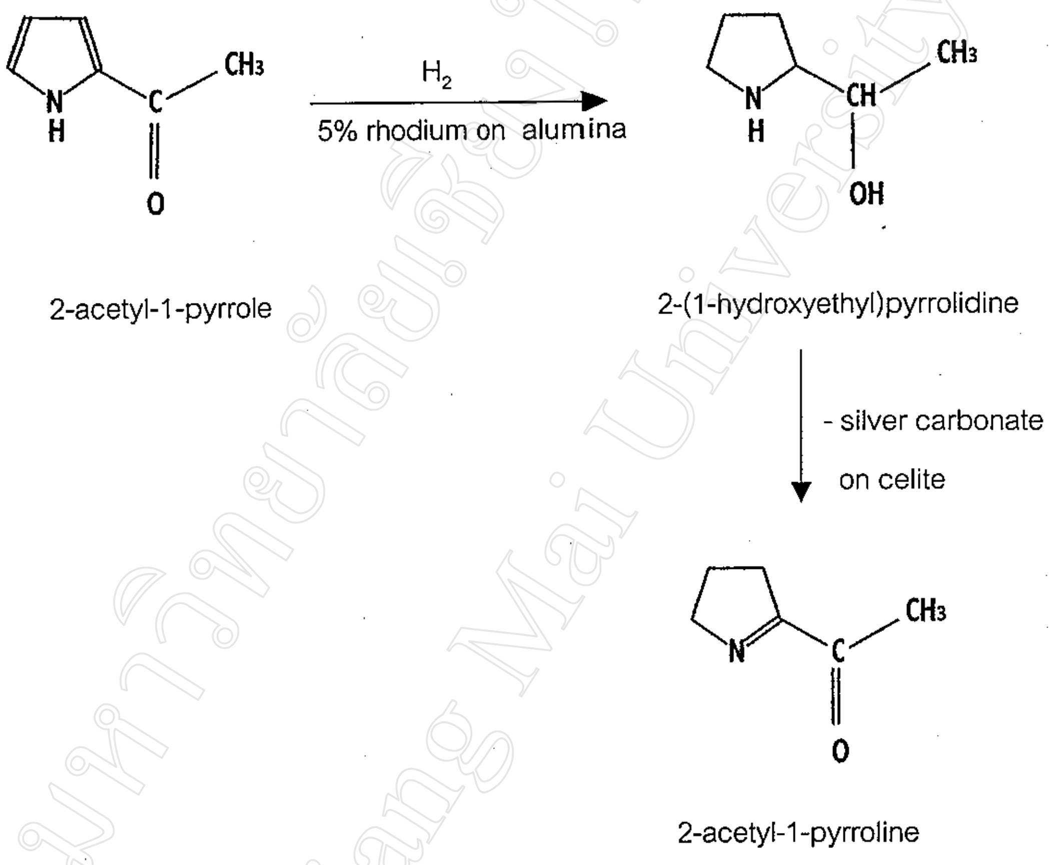
มีสูตรโมเลกุล คือ C_6H_9NO

มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 111.143

2-acetyl-1-pyrroline มีลักษณะเป็นของเหลวใสไม่มีสี และเนื่องจากเป็นสารประกอบไนโตรเจน ทำให้สารหอมนี้มีสมบัติเป็นเบสเล็กน้อย นอกจากนี้ยังเป็นสารที่ระเหยง่ายและไม่ค่อยเสถียร บางครั้งทำให้เกิดความยุ่งยากในการวิเคราะห์สารหอมนี้ในตัวอย่างข้าว

Buttery และคณะ[10] ได้ทำการสังเคราะห์สารหอม โดยทำการดัดแปลงมาจากวิธีการของ Buchi และ Wuest[13] ซึ่งทำการสังเคราะห์ 2-acetyl-1,4,5,6-tetrahydropyridine โดยนำ 2-acetylpyridine มาทำปฏิกิริยาไฮโดรจิเนชั่น มี 5% rhodium on activated alumina เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ให้ผลผลิตเป็น 2-(1-hydroxyethyl)piperidine แล้วนำผลผลิตมาทำปฏิกิริยาออกซิเดชันต่อใช้ silver carbonate on celite เป็นตัวออกซิไดซ์ ในตัวทำละลาย benzene จะให้สาร 2-acetyl-1-1,4,5,6-tetrahydropyridine เป็นผลผลิต แต่ Buttery และคณะ ใช้ 2-acetyl-1-pyrrole เป็นสารตั้งต้น ทำปฏิกิริยาไฮโดรจิเนชัน ได้ 2-(1-hydroxyethyl)pyridine เป็นผลผลิต แล้ว

นำมาทำปฏิกิริยาออกซิเดชันต่อมี silver carbonate on celite เป็นตัวออกซิไดซ์ จะได้ สารหอม 2-acetyl-1-pyrroline เป็นผลผลิต ขั้นตอนการสังเคราะห์โดยย่อจะแสดงดังรูป 1.3 และการสังเคราะห์จะแสดงรายละเอียดอีกทีในบทที่ 2 วิธีการทดลอง



รูป 1.3 แผนภาพการสังเคราะห์ 2-acetyl-1-pyrroline โดยย่อ

จะเห็นว่า วิธีการสังเคราะห์สารหอมนี้ เป็นวิธีที่ง่าย และไม่ยุ่งยาก เมื่อเทียบกับการสังเคราะห์สารหอม 2-acetyl-1-pyrroline ด้วยวิธีการอื่นๆ[14-19] ซึ่งเป็นวิธีการสังเคราะห์ที่ยุ่งยาก และมีหลายขั้นตอน ดังนั้นในการทดลองนี้ จะทำการสังเคราะห์สารหอม 2-acetyl-1-pyrroline ตามแบบของ Buttery และคณะ[10]

Buttery และคณะ[20,21] ได้รายงานการวิเคราะห์เชิงปริมาณของสารหอมในพันธุ์ข้าวหอมและพันธุ์ข้าวไม่หอม ใช้วิธีการสกัดด้วยไอน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์แบบต่อเนื่อง ใช้ตัวอย่างข้าว 200 กรัม และวิเคราะห์ด้วยเทคนิคก๊าซ-ลิควิท โครมาโทรกราฟี และมีการใช้สารมาตรฐานภายใน คือ collidine (2,4,6-trimethylpyridine) พบว่า ข้าวหอมที่ยังไม่ได้ขัดสี จะมีปริมาณ 2-acetyl-1-pyrroline อยู่ 0.1-0.2 พีพีเอ็ม และข้าวที่ขัดสีแล้ว จะมีปริมาณ 0.04-0.09 พีพีเอ็ม แต่ข้าวที่ไม่หอมจะมีปริมาณน้อยมาก คือ 0.006-0.008 พีพีเอ็ม

ผู้วิจัยในกลุ่มนี้ยังทำการทดสอบกลิ่นของสารหอมในน้ำกลั่น เทียบกับความหอมในข้าวหุงสุกพันธุ์ Malagkit sungsong พบว่า ผลการทดสอบทั้งสองกลิ่นทำให้คณะผู้วิจัยให้คำจำกัดความของกลิ่นสารหอม 2-acetyl-1-pyrroline ว่ามีกลิ่นเหมือนข้าวโพดคั่ว

และมีการรายงานการค้นพบสารหอม 2-acetyl-1-pyrroline ในใบเตยซึ่งเป็นตัวเดียวกันกับที่พบในข้าวขาวดอกมะลิ 105[22,23] พบว่า จะมีปริมาณสารหอมแตกต่างกัน โดยในใบเตยจะมีปริมาณสูงกว่าข้าวหอม 10 เท่า และมีปริมาณสูงกว่าข้าวทั่วไป 100 เท่า

และในการศึกษาสารระเหยในใบและลำต้นของข้าวสาลี ของกลุ่มผู้วิจัยนี้ ไม่พบสารหอม 2-acetyl-1-pyrroline ที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัดเลย[24]

ต่อมา ค.ศ. 1991 Tanchotikul and Hsieh[25] ได้ปรับปรุงเทคนิคการตรวจหาสารหอม 2-acetyl-1-pyrroline โดยการสกัดด้วยชุดสกัดด้วยไอน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์แบบต่อเนื่องขนาดเล็ก สามารถใช้ปริมาณตัวอย่างข้าวเพียง 1 กรัม แต่ต้องอาศัยเทคนิคการวิเคราะห์ในระดับสูง คือ เทคนิค selected ion monitoring/high-resolution gas chromatography/mass spectrometry แต่เทคนิคนี้มีความซับซ้อนและมีราคาแพง นอกจากนี้ยังต้องอาศัยบุคลากรที่มีความชำนาญเฉพาะทางสูง

ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้จะทำการสังเคราะห์สารหอม 2-acetyl-1-pyrroline ขึ้นเพื่อนำมาใช้เป็นสารมาตรฐานในการบอกชนิดและปริมาณของสารนี้ในตัวอย่างข้าว วิธีการสังเคราะห์ใช้ตามแบบของ Buttery และ คณะ[10] ซึ่งเป็นวิธีการสังเคราะห์ที่ง่ายและไม่ยุ่งยาก เริ่มโดยใช้ 2-acetyl-1-pyrrole เป็นสารตั้งต้นนำมาทำปฏิกิริยาไฮโรจิเนชันกับก๊าซไฮโดรเจน และมี 5% rhodium on alumina เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ให้ผลผลิตเป็น 2-(1-hydroxyethyl)pyrrolidine นำผลผลิตมาทำปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยมี silver carbonate on celite เป็นตัวออกซิไดซ์ ในตัวทำละลาย benzene จะได้สาร 2-acetyl-1-pyrroline เป็นผลผลิต การสังเคราะห์วิธีนี้มีข้อเสีย คือตัว

ทำละลาย benzene มีความเป็นพิษเพราะเป็นสารก่อมะเร็ง ทำให้ไม่สะดวกในการนำสารสังเคราะห์นี้ไปใช้งานและยากต่อการกำจัดเนื่องจากมีจุดเดือดสูง ในการทดลองนี้ปรับปรุงวิธีการสังเคราะห์โดยจะสกัดสารหอมที่สังเคราะห์ได้มาอยู่ในสารละลายกรด โดยอาศัยสมบัติที่สารหอมมีความเป็นเบสเล็กน้อย น่าจะละลายได้ดีในสารละลายกรด ทำให้สารละลายเป็นเบส แล้วสกัดสารหอมนี้ไปอยู่ในชั้นตัวทำละลายอินทรีย์อื่นๆ เช่น ไดคลอโรมีเทน ซึ่งมีจุดเดือดต่ำและกำจัดง่าย และคาดว่าสารสังเคราะห์ในตัวทำละลายอินทรีย์นี้จะมีเปอร์เซ็นต์ผลผลิตที่สูงขึ้น

นอกจากนี้ในการศึกษาสารที่ให้กลิ่นหอม 2-acetyl-1-pyrroline ในเมล็ดข้าวในงานวิจัยนี้ จะพัฒนาวิธีการสกัดให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น แต่มีความสะดวก และรวดเร็ว โดยสามารถใช้ปริมาณข้าวตัวอย่างน้อยลง คือวิธีการสกัดด้วยสารละลายกรด (hydrochloric acid) แทนการสกัดด้วยไอน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์แบบต่อเนื่อง ที่มีความยุ่งยากในการจัดตั้งอุปกรณ์และใช้ปริมาณข้าวมาก ซึ่งในการสกัดด้วยสารละลายกรดนี้ จะอาศัยคุณสมบัติการละลาย เนื่องจากสารหอมมีสมบัติเป็นเบสเล็กน้อย น่าจะละลายได้ดีในสารละลายกรด แล้วนำสารสกัดที่ได้ทำให้สารละลายเป็นเบสแล้วสกัดต่อด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ dichloromethane ก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคก๊าซโครมาโทกราฟี/ แมสสเปคโทรเมตรีในเชิงคุณภาพ และการวิเคราะห์เชิงปริมาณทำโดยใช้เทคนิคก๊าซโครมาโทกราฟี โดยศึกษาหาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสารหอม 2-acetyl-1-pyrroline จากเมล็ดข้าว และหาปริมาณข้าวน้อยที่สุดที่เครื่องก๊าซโครมาโทรกราฟีสามารถตรวจวัดสารหอมได้หลังจากทำการพัฒนาวิธีการและปรับสภาวะของเครื่องมือแล้ว นอกจากนี้ได้ทำการประยุกต์วิธีการดังกล่าวเพื่อหาปริมาณสารหอมในตัวอย่างข้าวพันธุ์ต่างๆ ได้แก่ พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105, พันธุ์หอมคลองหลวง, พันธุ์หอมพม่า และพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (ก.พ.ส.) ด้วยวิธี Internal stardardization ซึ่งมี 2,4,6-trimethylpyridine เป็นสารมาตรฐานภายใน การหาปริมาณสารหอม 2-acetyl-1-pyrroline ในสารสกัดจากข้าว อาศัยหลักการคำนวณจากกราฟสารละลายมาตรฐาน

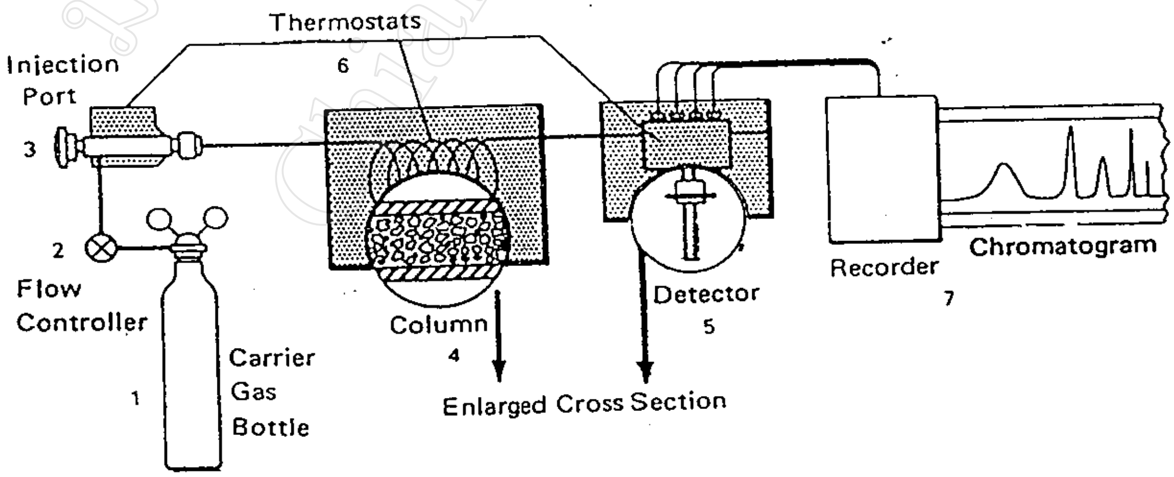
1.4 เทคนิคก๊าซโครมาโทกราฟี [26-30]

ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารหอม 2-acetyl-1-pyrroline ในตัวอย่างข้าว ส่วนใหญ่จะวิเคราะห์ด้วยเทคนิคก๊าซโครมาโทรกราฟี เนื่องจากเป็นเทคนิคในการแยกสารผสม โดยที่สารที่จะแยกจะสามารถเปลี่ยนให้อยู่ในสถานะก๊าซได้ที่อุณหภูมิหนึ่ง (ไม่เกิน 450 องศาเซลเซียส) ดังนั้น เทคนิคก๊าซโครมาโทกราฟี จึงเหมาะที่นำมาวิเคราะห์สารหอม 2-acetyl-1-pyrroline เนื่องจากสารหอมนี้จะอยู่ในสถานก๊าซได้ง่าย แต่กรณีที่สารเปลี่ยนเป็นก๊าซยาก อาจมีเทคนิคอื่นช่วยทำให้อยู่ในสถานะก๊าซได้ง่ายขึ้น เช่น อาศัยปฏิกิริยาทางเคมีในการเตรียมอนุพันธุ์ของสาร เป็นต้น เมื่อสารในสถานก๊าซผ่านไปยังคอลัมน์ที่บรรจุด้วยเฟสคงที่ (stationary phase) โดยอาศัยการพาไปของเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) สารแต่ละตัวในสารผสมจะใช้เวลาในการเคลื่อนที่ในเฟสคงที่ไม่เท่ากัน จึงทำให้สารเกิดการแยกออกจากกันได้

ก๊าซโครมาโทกราฟีจะมีเฟสเคลื่อนที่เป็นก๊าซ ส่วนเฟสคงที่นี้ ถ้าเป็นของแข็ง จะเรียกว่า gas-solid chromatography, GSC แต่ถ้าเฟสคงที่เป็นของเหลวที่ฉาบอยู่บนอนุภาคของแข็ง จะเรียกว่า gas-liquid chromatography, GLC

1.4.1 องค์ประกอบของเครื่องก๊าซโครมาโทแกรม

เครื่องก๊าซโครมาโทกราฟี จะมีองค์ประกอบดังรูป 1.4



รูป 1.4 แสดงองค์ประกอบที่สำคัญของเครื่องก๊าซโครมาโทกราฟี[28]

โดยที่ 1 คือ ถังก๊าซที่ใช้บรรจุตัวพา (carrier gas)

2 คือ ส่วนที่ใช้ควบคุมการไหลของก๊าซต่างๆ (flow controller)

3 คือ ตำแหน่งฉีดสารตัวอย่างเข้าไป (injection port)

4 คือ คอลัมน์ (column) ซึ่งเป็นส่วนสำคัญที่สุดที่ใช้สำหรับแยกสาร

5 คือ ดีเทคเตอร์ (detector) เป็นส่วนที่ใช้สำหรับตรวจวัดสารแต่ละชนิดที่ถูกแยกออกมาจากคอลัมน์

6 คือ ส่วนที่ใช้ควบคุมอุณหภูมิ (temperature controller or thermostats) ให้กับคอลัมน์ ดีเทคเตอร์ และตำแหน่งฉีดสารตัวอย่าง

7 คือ ส่วนที่ใช้ประมวลผลและข้อมูลต่างๆ

หลักการวิเคราะห์สารด้วยเครื่องก๊าซโครมาโทกราฟแบบย่อๆ คือ ถังก๊าซที่บรรจุก๊าซตัวพา จะมีส่วนที่ควบคุมการไหลของก๊าซที่ปล่อยก๊าซออกมา เมื่อฉีดสารตัวอย่างเข้าไปในตำแหน่งฉีดสารของเครื่อง สารถูกทำให้เป็นก๊าซ แล้วมีก๊าซตัวพานำไอของสารผ่านไปยังคอลัมน์ ซึ่งเป็นส่วนสำคัญที่ทำให้เกิดการแยกของสาร เมื่อสารออกจากคอลัมน์ จะเข้าสู่ดีเทคเตอร์ ที่ใช้ตรวจวัดสารแต่ละชนิดที่ถูกแยกออกจากคอลัมน์ ซึ่งจะทำให้เกิดสัญญาณขึ้น และจะถูกส่งไปยังเครื่องประมวลผลและข้อมูลต่างๆ พิจารณารายละเอียดของส่วนประกอบต่างๆ ตามลำดับดังนี้

1.4.1.1 **ก๊าซตัวพา**

ก๊าซตัวพาจะบรรจุอยู่ในถังโลหะภายใต้ความดันสูง และทำหน้าที่พาไอของสารตัวอย่างผ่านเข้าไปในคอลัมน์ ก๊าซตัวพาที่ดีควรจะมีลักษณะดังนี้

- ควรมีสมบัติเฉื่อย เพื่อป้องกันการเกิดปฏิกิริยากับสารตัวอย่าง หรือตัวทำละลายหรือเฟสคงที่
- เป็นก๊าซที่มีการแพร่น้อยและมีมวลโมเลกุลต่ำ
- สามารถจัดหาได้ง่ายและมีความบริสุทธิ์สูง
- ราคาไม่แพง
- เป็นก๊าซที่เหมาะสำหรับใช้กับดีเทคเตอร์ได้

ก๊าซตัวพาที่ออกจากท่อก๊าซควรทำให้บริสุทธิ์ขึ้น โดยให้ผ่านท่อที่บรรจุด้วย molecular sieves เพื่อช่วยขจัดไอน้ำหรือไอของน้ำมัน

1.4.1.2 ส่วนที่ใช้ควบคุมการไหลของก๊าซต่าง ๆ

การไหลของก๊าซตัวพา จะต้องมีการควบคุมอัตราการไหลหรือความดันของก๊าซให้คงที่ เนื่องจากอัตราการไหลของก๊าซตัวพาจะมีส่วนสำคัญในการวิเคราะห์

1.4.1.3 ระบบของการนำสารตัวอย่างเข้า

การฉีดสารตัวอย่างเข้าไปในเครื่องมือก๊าซโครมาโทกราฟนั้น โดยทั่วไปตำแหน่งฉีดสารตัวอย่างเข้าไปจะมีเครื่องให้ความร้อนอยู่เพื่อทำให้สารตัวอย่างกลายเป็นไอ ระบบของการนำสารตัวอย่างเข้า จะแบ่งออกเป็น 2 ชนิด ตามชนิดของคอลัมน์ที่ใช้ คือ

ก. <u>ที่ฉีดสารสำหรับแพ็คคอลัมน์</u> (packed column)

คอลัมน์นี้จะมีขนาดใหญ่ ทำให้สามารถบรรจุสารตัวอย่างได้สูง ตำแหน่งที่ฉีดสารมักจะถูกทำให้มีอุณหภูมิสูงประมาณ 200-300 องศาเซลเซียส ดังนั้นของเหลวที่ถูกฉีดจึงผ่านกระบวนการทำให้กลายเป็นไออย่างรวดเร็ว ก๊าซนำพาเคลื่อนที่เข้าสู่ตำแหน่งที่ฉีดสารและพัดพาเอาสารตัวอย่างที่กลายเป็นไอแล้วผ่านคอลัมน์ซีล (seal) ที่อยู่ระหว่างคอลัมน์กับไลเนอร์ (liner) ที่ต่ออยู่กับตำแหน่งฉีดสาร จะต้องไม่รั่วเพื่อที่สารตัวอย่างจะสามารถผ่านคอลัมน์ได้

ข. <u>ที่ฉีดสารสำหรับคาปิลลารีคอลัมน์</u> (capillary column)

เนื่องจากคอลัมน์ชนิดนี้เป็นชนิดหลอดเล็ก ทำให้มีความจุสารตัวอย่างต่ำเมื่อเทียบกับแพ็คคอลัมน์ ในทางปฏิบัติมีเทคนิคที่ใช้กับคอลัมน์ชนิดนี้ 3 แบบ

<u>การฉีดแบบสปลิต</u> (split injection)

เนื่องจากเป็นการยากที่จะฉีดสารจำนวนน้อยๆ (0.001-0.5 ไมโครลิตร) เข้าไปในคาปิลลารีคอลัมน์ จึงต้องการฉีดแบบสปลิต โดยสารที่ฉีดจะถูกเปลี่ยนให้เป็นไอ แล้วไอสารจะมีการผสมกันก่อนที่จะถึงจุดแบ่งสารตัวอย่าง โดยไอของสารตัวอย่างส่วนน้อยและมีปริมาณแน่นอนเข้าสู่คอลัมน์ แต่ส่วนมากจะถูกระบายทิ้งไป ส่วนที่เข้าคอลัมน์คำนวณได้จากอัตราการสปลิต (split ratio) ดังสมการ

$$\text{อัตราการสปลิต} = \frac{\text{ส่วนที่ระบายออกไป}}{\text{ส่วนที่เข้าสู่คอลัมน์}}$$

<u>การฉีดสารแบบสปลิตเลส</u> (spitless injection)

เป็นเทคนิคที่มีประโยชน์มากในการวิเคราะห์สารปริมาณน้อยๆ โดยที่สารตัวอย่างจะถูกทำให้เจือจางด้วยตัวทำละลาย แล้วให้สารตัวอย่างทั้งหมดเข้าสู่คอลัมน์ การใช้เทคนิคนี้ให้ความถูกต้องดี แต่ต้องใช้เวลาและมีความยุ่งยากพอสมควร

<u>การฉีดสารเข้าสู่คอลัมน์โดยตรง</u> (on-column injection)

ระบบนี้มีลักษณะคล้ายกับระบบฉีดสารแบบสปลิตเลส และใช้ในการวิเคราะห์สารปริมาณน้อยๆ สารตัวอย่างในระบบนี้จะเข้าสู่คอลัมน์โดยยังไม่เป็นไอ เทคนิคนี้เป็นวิธีที่ให้ผลถูกต้องที่สุด การฉีดสารตัวอย่างเข้าไปในคอลัมน์โดยระบบนี้ควรคำนึงสิ่งต่อไปนี้

- การฉีดสารต้องทำที่อุณหภูมิต่ำกว่าจุดเดือดของตัวทำละลายเพื่อป้องกันการกลายเป็นไอของตัวทำละลายขณะฉีดสาร
- การฉีดสารต้องทำอย่างรวดเร็ว
- ปริมาณของสารตัวอย่างที่ฉีดไม่ควรเกิน 2 ไมโครลิตร เพราะถ้าฉีดมากไปจะทำให้ได้โครมาโทแกรมที่จุดเริ่มต้นกว้าง

1.4.1.4 **คอลัมน์**

คอลัมน์เป็นส่วนสำคัญที่สุดในการใช้แยกสาร การที่สารตัวอย่างจะแยกได้ดีหรือไม่นั้น จะขึ้นอยู่กับการเลือกคอลัมน์คือเลือกเฟสคงที่และสารแข็งรองรับ (solid support) คอลัมน์จะมีปลายด้านหนึ่งต่อกับช่องฉีดสาร ส่วนอีกปลายต่อเข้ากับดีเทคเตอร์ คอลัมน์ที่ใช้กับเครื่องก๊าซโครมาโทกราฟี จะมี 2 ชนิด คือ

ก. แพ็คคอลัมน์ (packed column)

เป็นคอลัมน์ที่บรรจุด้วยเฟสคงที่ที่เป็นของเหลวเคลือบอยู่บนสารแข็งรองรับ คอลัมน์ชนิดนี้มีทั้งแบบที่ทำด้วยแก้วและโลหะ มีความยาวตั้งแต่ 2-4 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1-8 มิลลิเมตร คอลัมน์ที่เป็นเส้นตรงจะมีประสิทธิภาพสูงแต่ในทางปฏิบัติคอลัมน์จะถูกขดเป็นวงกลม

ข. คาปิลลารีคอลัมน์ (capillary column)

คอลัมน์นี้จะไม่มีสารแข็งรองรับ จะใช้ของเหลวเคลือบปิดด้านในของคอลัมน์เป็นฟิลม์บางๆ มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.25-0.6 มิลลิเมตร มีความยาว 1-30 เมตร คอลัมน์ประเภทนี้จะมีประสิทธิภาพในการแยกดีกว่าแพ็คคอลัมน์ถึง 100 เท่า และสามารถใช้กับสารตัวอย่างที่น้อยกว่า 0.01 ไมโครลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

วัสดุที่ใช้บรรจุในคอลัมน์

1. ของแข็งที่ทำหน้าที่เป็นสารรองรับ

จะทำหน้าที่ช่วยให้ของเหลวที่เป็นเฟสคงที่ยึดติดอยู่กับคอลัมน์ได้ และทำให้เฟสคงที่มีโครงสร้างทางกายภาพที่เหมาะสม สารแข็งรองรับต้องมีสมบัติ คือ

- ไม่ทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่าง
- ไม่ทำปฏิกิริยากับเฟสคงที่ที่เป็นของเหลว
- มีความแข็ง ไม่แตกง่าย ทนต่อความร้อน
- มีพื้นที่ผิวประมาณ 1-20 ตารางเมตรต่อกรัม
- มีขนาดสม่ำเสมอและเป็นแบบเดียวกัน
- มีความพรุนสม่ำเสมอ

2. เฟสคงที่

เป็นของเหลวที่มีจุดเดือดสูง ใช้ฉาบบนของแข็งรองรับ ทำหน้าที่เป็นตัวแยกสารตัวอย่าง ลักษณะของเฟสคงที่ที่ดี ต้องมีคุณสมบัติดังนี้

- เป็นตัวทำละลายที่มีคุณสมบัติที่เหมาะสม สำหรับองค์ประกอบที่ต้องการวิเคราะาะห์ เช่น มีขั้ว เหมือนกับสารตัวอย่าง
- ต้องทำให้เกิดการแบ่งส่วนที่แตกต่างกันของแต่ละองค์ประกอบ ในสารตัวอย่างระหว่างเฟสทั้งสอง
- เสถียรที่อุณหภูมิสูง
- มีความดันไอที่อุณหภูมิภายในคอลัมน์
- ไม่ทำปฏิกิริยาทางเคมีกับสารตัวอย่าง

ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณของสารหอมในการทดลองนี้จะเลือกใช้คาปิลลารีคอลัมน์ มีเฟสคงที่เป็น CP-WAX 51 เหมาะที่จะวิเคราะห์สารประกอบพวกไนโตรเจน และสารหอม 2-acetyl-1-pyrroline เป็นสารประกอบพวกไนโตรเจน ดังนั้นคอลัมน์นี้จึงเหมาะที่จะใช้วิเคราะห์สารหอม นอกจากนี้ยังใช้คาปิลลารีคอลัมน์ DB-1 ที่มีเฟสคงที่เป็นสารไม่มีขั้ว เหมาะกับการวิเคราะห์สารที่ไม่มีขั้วหรือมีขั้วอ่อนๆ ในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพของสารสกัดจะใช้ทั้งสองคอลัมน์ร่วมกัน

1.4.1.6 ดีเทคเตอร์

ดีเทคเตอร์เป็นส่วนที่ต่อกับคอลัมน์ ทำหน้าที่ตรวจวัดสารที่ออกมาจากคอลัมน์ ดีเทคเตอร์ที่นิยมกันอย่างแพร่หลาย มี 3 ชนิด คือ TCD (thermal conductivity detector), FID (flame ionization detector) และ ECD (electron capture detector) ซึ่ง TCD เป็นดีเทคเตอร์ที่เหมาะสมสำหรับสารที่ให้การนำความร้อนแตกต่างจากก๊าซตัวพา ส่วน FID เป็นดีเทคเตอร์ที่เหมาะสมสำหรับสารที่แตกตัวเป็นไอออนได้ด้วยเปลวไฟ (ไฮโดรเจน/อากาศ) และ ECD เป็นดีเทคเตอร์ที่เหมาะสมสำหรับสารประกอบที่มีเฮโลเจนอะตอมจะอาศัยความสามารถในการจับอิเล็กตรอน ในการทดลองจะใช้ดีเทคเตอร์แบบ FID เนื่องจากเหมาะสำหรับการวิเคราะห์สารอินทรีย์ โดยทั่วไป

ดีเทคเตอร์แบบ FID จะมีก๊าซไฮโดรเจนที่ถูกจุดให้ติดไฟด้วย heater ทางไฟฟ้า และอากาศที่ผ่านเข้ามาจะทำหน้าที่ช่วยการเผาไหม้ของก๊าซไฮโดรเจน และช่วยพาให้ก๊าซที่เผาไหม้แล้วออกไปกับก๊าซตัวพา เมื่อสารตัวอย่างที่ออกมาจากคอลัมน์เข้าสู่เปลวไฟ จะทำให้สารเกิดไอออไนเซชัน ได้เป็นอิเล็กตรอนและไอออนบวก อิเล็กตรอนจะวิ่งไปยัง flame jet ส่วนไอออนบวกจะวิ่งไปยังอิเล็กโทรด สัญญาณที่เกิดขึ้นจะถูกส่งไปยังอิเล็กโทรมิเตอร์และบันทึกสัญญาณด้วยเครื่องบันทึกได้เป็นโครมาโทแกรม

ข้อปฏิบัติในการใช้ดีเทคเตอร์แบบ FID นั้น ควรตั้งอุณหภูมิของดีเทคเตอร์ให้สูงกว่า 100 องศาเซลเซียล เพื่อป้องกันการกลั่นตัวของไอน้ำ โดยเฉพาะสารประกอบคลอรีนควรตั้งอุณหภูมิที่สูงเพราะผลการเผาไหม้จะทำให้เกิดการผุกร่อนได้ง่าย เป็นผลให้สภาพไวของดีเทคเตอร์เสียไป นอกจากนี้ถ้าใช้อุณหภูมิต่ำ สารบางตัวจะเกิดการเผาไหม้ไม่สมบูรณ์ ทำให้เกิดเขม่าอุดตัน flame jet ได้

1.4.2 การวิเคราะห์เชิงคุณภาพและปริมาณด้วยเทคนิคก๊าซโครมาโทกราฟี

การวิเคราะห์เชิงคุณภาพนั้น วิธีที่ง่ายที่สุดคือหาจาก เวลารีเทนชัน (retention time, T_R) เป็นเวลาที่สารแต่ละชนิดใช้ในการเดินทางผ่านคอลัมน์ หาได้จากการวัดระยะทาง ตั้งแต่เริ่มใส่สารตัวอย่างลงในคอลัมน์จนถึงส่วนยอดของพีค ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของสารแต่ละชนิด โดยจะขึ้นอยู่กับอัตราการไหลของก๊าซตัวพา อุณหภูมิของคอลัมน์ หรือชนิดของคอลัมน์ที่ใช้ ดังนั้นในการพิสูจน์ชนิดของสารในสารตัวอย่างผสม จะต้องทำการวิเคราะห์สารตัวอย่างและสารมาตรฐานในสภาวะเดียวกัน จึงจะเปรียบเทียบกันได้ ซึ่งถ้าเป็นสารตัวเดียวกัน จะต้องให้เวลารีเทนชันเหมือนกัน

ส่วนการวิเคราะห์เชิงปริมาณนั้น จะต้องทราบความสูงหรือพื้นที่ใต้พีคจากโครมาโทแกรมที่ได้ ขึ้นอยู่กับความต้องการ ความถูกต้องแม่นยำของผู้วิเคราะห์ ในการวิเคราะห์หาปริมาณนั้น จะนิยมกันอยู่ 3 วิธี คือ

ก. Normalization method

ข. External standardization method

ค. Internal standardization method

ในการทดลองนี้จะเลือกใช้วิธี Internal standardization method ซึ่งเป็นเทคนิคที่ใช้วิธีเติมสารมาตรฐานที่เป็นสารต่างชนิดกับสารตัวอย่าง ซึ่งเรียกว่า สารมาตรฐานภายใน วิธีนี้ใช้หาปริมาณของสารได้ถูกต้องที่สุด ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับการเลือกใช้สารมาตรฐานภายใน

<u>หลักการเลือกสารมาตรฐานภายใน</u>

- ต้องมีสมบัติคล้ายกับสารที่จะวิเคราะห์
- ต้องเป็นสารที่บริสุทธ์
- ต้องให้พีคที่ไม่ซ้อนทับกับพีคอื่นๆ และให้พีคที่ใกล้กับสารที่สนใจวิเคราะห์
- ต้องไม่ทำปฏิกิริยากับสารอื่นๆ ที่เป็นองค์ประกอบของสารตัวอย่างนั้น
- ควรมีความเข้มข้นใกล้เคียงกับสารที่ต้องการหาปริมาณ
- ต้องเป็น linear relations ในช่วงความเข้มข้นที่ต้องการวิเคราะห์

<u>วิธีการวิเคราะห์โดย Internal standardization method</u>

1. เตรียมสารมาตรฐานภายในที่มีปริมาณใกล้เคียงกับสารตัวอย่าง โดยผสมกับตัวทำละลายที่เหมาะสม
2. เตรียมสารมาตรฐานให้มีปริมาณสารอยู่ใกล้เคียงกับสารตัวอย่างเช่นเดียวกับข้อ 1
3. ผสมสารมาตรฐานภายในและสารมาตรฐาน โดยให้ปริมาณสารมาตรฐานภายในคงที่ และใช้ปริมาณสารมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน เมื่อฉีดส่วนผสมนี้เข้าเครื่องก๊าซโครมาโทกราฟี หาอัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐานและสารมาตรฐานภายใน แล้วนำอัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคไปพล็อตกราฟเทียบกับอัตราส่วนของสารมาตรฐานและสารมาตรฐานภายใน
4. เตรียมสารละลายผสมของสารมาตรฐานภายในและสารตัวอย่าง แล้วฉีดสารละลายผสมนี้เข้าเครื่องก๊าซโครมาโทกราฟี หาอัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐานภายในและสารตัวอย่าง แล้วนำไปเทียบกับกราฟสารละลายมาตรฐานจากข้อ 3 ก็จะสามารถหาปริมาณสารตัวอย่างได้

<u>ข้อดีของวิธีการเติมสารมาตรฐานภายใน</u>

- ผลการวิเคราะห์จะถูกต้องมาก
- ค่าที่วิเคราะห์ได้ไม่ขึ้นกับสภาพความไวของดีเทคเตอร์
- สภาพไวของดีเทคเตอร์อาจเปลี่ยนแปลงได้ขณะทำการวิเคราะห์
- ผลการวิเคราะห์ไม่ขึ้นอยู่กับขนาดของสารตัวอย่างที่ฉีด
- สารตัวอย่างทั้งหมดไม่จำเป็นต้องถูกชะออกมาหมด

<u>ข้อเสียของวิธีการเติมสารมาตรฐานภายใน</u>

- สารมาตรฐานภายในต้องผสมลงไปในสารตัวอย่าง
- สารมาตรฐานภายในค่อนข้างหายาก

1.5 เทคนิคก๊าซโครมาโทกราฟี/ แมสสเปคโทรเมตรี [28,31]

เทคนิคก๊าซโครมาโทกราฟี/แมสสเปคโทรเมตรี เป็นการเชื่อมต่อเทคนิคก๊าซโครมาโทกราฟี เข้ากับเทคนิคแมสสเปคโทรเมตรี เพื่อให้ได้เทคนิคการวิเคราะห์ที่มีประสิทธิภาพขึ้น เทคนิคก๊าซโครมาโทกราฟีจะสามารถแยกองค์ประกอบของสารผสมได้ ในขณะที่เทคนิคแมสสเปคโทรเมตรี มีจุดเด่นในด้านความเฉพาะเจาะจง ความว่องไว และความรวดเร็ว ในการให้ข้อมูลเกี่ยวกับโครงสร้างขององค์ประกอบที่แยกโดยเทคนิคก๊าซโครมาโทกราฟี ซึ่งเทคนิคก๊าซโครมาโทกราฟีจะกล่าวมาแล้วในหัวข้อ 1.4 ดังนั้น ในหัวข้อนี้จะกล่าวถึงเทคนิคแมสสเปคโทรเมตรี

1.5.1 หลักการและทฤษฎีของแมสสเปคโทรเมตรี

เมื่อทำให้โมเลกุลเกิดการสูญเสียอิเล็กตรอน โมเลกุลสารจะกลายเป็นไอออนและมีประจุบวก ซึ่งถ้าโมเลกุลที่มีประจุบวกนี้มีพลังงานสูงพอ จะเกิดการแตกตัวออกเป็นส่วนย่อยๆ ซึ่งอาจเป็นอนุภาคที่เป็นกลาง (N), อนุภาคที่เป็นแคตไอออนแรดิเคิล ($A^{+\cdot}$) หรือ แคตไอออน (A^{+}) เช่น

$$M + e^{-} \longrightarrow M^{+\cdot} + 2e^{-}$$

$$M^{+\cdot} \longrightarrow A^{+} + N$$

$$M^{+\cdot} \longrightarrow A^{+\cdot} + N$$

ในทำนองเดียวกัน ถ้าไอออนย่อย ($A^{+\cdot}$ หรือ A^{+}) มีพลังงานมากพอก็จะเกิดการแตกตัวต่อไปอีก เป็นไอออนย่อยต่อไปเรื่อยๆ จนเหลือพลังงานน้อยสุดที่ไม่สามารถแตกตัวต่อ

ไปได้อีก เมื่อพิจารณาแมสสเปคตรัม จะบ่งบอกถึงลักษณะการแตกตัวของโมเลกุลไอออน หรือรวมรูปแบบการแตกตัวของแต่ละไอออนทั้งหมดเข้าด้วยกัน จะได้รูปแบบการแตกตัวของโมเลกุลที่เป็นลักษณะเฉพาะของสารแต่ละชนิด ส่วนแมสสเปคมิเตอร์จะเป็นเครื่องมือที่ใช้แยกและวัดมวลของไอออนด้วยการใช้อัตราส่วนมวลต่อประจุ (m/z) โดยทั่วไปแล้วไอออนมักจะมีประจุ +1 (z = 1) ดังนั้น ค่า m/z จึงมีค่าเท่ากับมวลของไอออนโดยตรง

1.5.2 เครื่องแมสสเปคโทรมิเตอร์และองค์ประกอบ

จะประกอบด้วย 4 ส่วน ใหญ่ๆ คือ

1.5.2.1 ระบบใส่สารตัวอย่าง เพื่อทำให้กลายเป็นไอ (inlet systems for vaporization)

เครื่องแมสสเปคโทรมิเตอร์ โดยทั่วไปจะมีระบบใส่สารตัวอย่าง 2 ระบบ คือ ระบบการใส่สารตัวอย่างที่เป็นก๊าซ ของเหลว และของแข็ง ที่มีความเป็นไอสูงปานกลาง และระบบใส่สารตัวอย่างเข้าโดยตรงสำหรับของแข็งที่มีมวลโมเลกุลสูง ไม่ระเหย และเป็นสารประกอบที่ไม่เสถียรต่อความร้อน นอกจากนี้ยังมีวิธีการใส่สารตัวอย่างเข้าไปวิเคราะห์ คือใส่ผ่านเครื่องก๊าซโครมาโทกราฟี ซึ่งในเครื่องโครมาโทกราฟที่มีคอลัมน์เป็นชนิดแพ็คคอลัมน์ เมื่อสารผสมถูกแยกออกจากกัน แล้วจึงผ่านไปยังอุปกรณ์แยกโมเลกุลเพื่อแยกเอาก๊าซตัวนำออก โดยอาศัยการแพร่ผ่านเมมเบรน ซึ่งทำให้สารมีความเข้มข้นขึ้น หลังจากนั้น จึงให้สารตัวอย่างผ่านเข้าแหล่งผลิตไอออนต่อไป ส่วนโครมาโทกราฟีที่ใช้คอลัมน์แบบคาปิลลารี ปลายของคอลัมน์จะผ่านเข้าไปถึงแหล่งผลิตไอออนโดยตรง

1.5.2.2 แหล่งผลิตไอออน (Ionization chamber หรือ source)

แหล่งผลิตไอออนเป็นแหล่งที่ทำให้โมเลกุลของสารตัวอย่างเกิดเป็นไอออนและเกิดการแตกตัว ซึ่งถือเป็นหัวใจสำคัญของเครื่องแมสสเปคโทรมิเตอร์ วิธีการที่ทำให้สารเกิดเป็นไอออน จะมีอยู่ด้วยกันหลายวิธี ที่สำคัญ ได้แก่

ก. <u>การตกกระทบด้วยอิเล็กตรอน</u> (Electron-Impact, EI)

เป็นวิธีการที่นิยมมากที่สุด วิธีนี้จะเป็นการทำให้โมเลกุลของสารตัวอย่างเกิดเป็นไอออนบวก ด้วยการชนกันอิเล็กตรอนที่มีพลังงานสูง เช่น

$$M + e^{-} \longrightarrow M^{+\cdot} + 2e^{-}$$

เมื่อไอออนบวกมีพลังงานสูงก็จะสามารถแตกตัวเป็นไอออนย่อยได้อีก จนเหลือไอออนที่มีพลังงานน้อยสุดที่ไม่สามารถแตกตัวได้ แล้วผ่านไปยังส่วนแยกไอออนต่อไป แหล่งของการตกกระทบด้วยอิเล็กตรอน เป็นหัวใจสำคัญของเครื่องแมสสเปคโทรมิเตอร์ ซึ่งมีประสิทธิภาพ ทนทานและมีความสามารถในการทำให้เกิดไอออนบวกได้อย่างดีและสม่ำเสมอ จึงจำเป็นต้องได้รับการดูแลอย่างสม่ำเสมอ

ข. <u>การทำให้เกิดไอออนด้วยวิธีทางเคมี</u> (Chemical Ionization, CI)

จะเห็นได้ว่าการทำให้เกิดไอออนของโมเลกุล (molecular ion) ด้วยการชนกับลำอิเล็กตรอนที่มีพลังงานสูงจะทำให้ได้ไอออนที่ไม่เสถียร จึงแตกตัวต่อไปอีกทำให้ได้แมสสเปกตรัมที่ซับซ้อนยากต่อการวิเคราะห์ ดังนั้นจึงมีวิธีการที่จะทำให้เกิดไอออนที่เสถียรและรูปแบบการแตกตัวไม่ซับซ้อน วิธีหนึ่งคือการทำให้เกิดไอออนด้วยวิธีทางเคมี ทำโดยการผสมสารตัวอย่างเข้ากับก๊าซที่จะทำปฏิกิริยาด้วย แล้วผ่านเข้าไปยังห้องที่ทำให้เกิดไอออน ด้วยการให้ชนกับลำอิเล็กตรอนเช่นเดียวกัน ก๊าซที่จะนำมาทำปฏิกิริยานั้นที่นิยม คือ มีเธน ไอโซบิวเทน และแอมโมเนีย ในกรณีมีเธน เมื่อถูกชนด้วยอิเล็กตรอน มีเธนจะเกิดเป็นไอออนบวก และเกิดปฏิกิริยาที่สำคัญต่างๆ ดังนี้

$$CH_4 + e^{-} \longrightarrow CH_4^{+\cdot} + 2e^{-}$$
$$CH_4^{+\cdot} \longrightarrow CH_2^{+\cdot} + H_2$$
$$CH_4^{+\cdot} \longrightarrow CH_3^{+} + H^{\cdot}$$
$$CH_4^{+\cdot} + CH_4 \longrightarrow CH_5^{+\cdot} + CH_3$$
$$CH_3^{+\cdot} + CH_4 \longrightarrow C_2H_5^{+\cdot} + H_2$$

จากนั้นไอออน $CH_5^{+\cdot}$ และ/หรือ $C_2H_5^{+\cdot}$ จะทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของสารตัวอย่างทำให้เกิดเป็นไอออน แล้วไอออนเหล่านี้จะผ่านเข้าส่วนวิเคราะห์มวล ดังสมการ

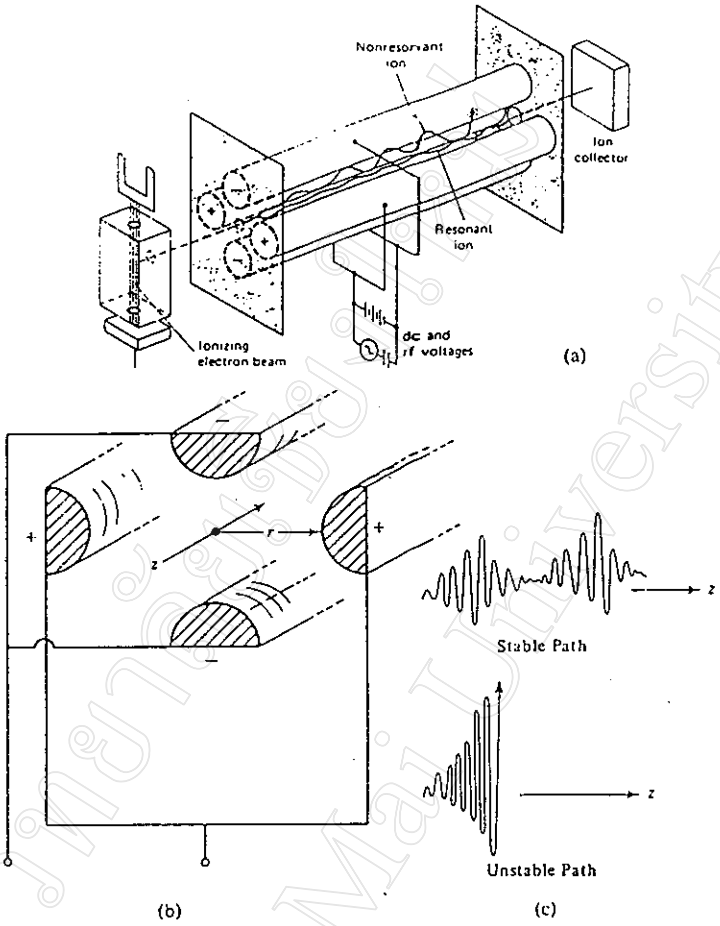
$$M + CH_5^{+\cdot} \longrightarrow MH^{+\cdot} + CH_4$$

ดังนั้น ไอออนของโมเลกุลที่เกิดด้วยวิธีการทางเคมีมักจะมีสเปคตรัมเป็น $(M + 1)^{+}$ นอกจากนี้ไอออนของ CH_5^{+} และ $C_2H_5^{+}$ จะไม่ทำปฏิกิริยากับสารประกอบอินทรีย์ในลักษณะเดียวกัน เช่น n-alkane จะมีไอออนของโมเลกุลเป็น $(M - 1)^{+}$

1.5.2.3 **การแยกไอออน** (Ion Analysis)

การแยกไอออนกระทำได้โดยอาศัยความแตกต่างของมวลต่อประจุจากการใช้สนามแม่เหล็กหรือสนามไฟฟ้า อย่างใดอย่างหนึ่งหรือทั้งสองอย่างร่วมกันก็ได้ เครื่องแยกไอออนจะมีหลายชนิด ในการที่นี้จะกล่าวถึงเครื่องแยกไอออนแบบควอดรุโพล ซึ่งสอดคล้องกับเครื่องแมสสเปคโทรมิเตอร์ที่ใช้ในการทดลองนี้

ควอดรุโพล แมสสเปคโทรมิเตอร์ (quadrupole mass spectrometer) จะใช้หลักการวิเคราะห์แมสด้วยสนามแม่เหล็ก คือ เป็น path-stability mass spectrometer (หรือ mass filter) ดังแสดงในรูปที่ 1.6 a, b และ c ลำไอออนจากแหล่งกำเนิดใส่เข้าไปตามแกน z (ดังรูป b) ซึ่งอยู่ในสนามแม่เหล็กไฟฟ้าที่ได้จัดไว้ ประกอบด้วยแท่งโลหะกลมสั้นๆ 4 แท่ง แท่งโลหะคู่ที่อยู่ตรงต่อเข้ากับขั้วบวกของ DC voltage และ RF voltage AC ส่วนอีก 2 ขั้วต่อเข้ากับขั้วลบของ DC voltage และ RF voltage AC เช่นเดียวกัน (ดังรูป a) เมื่อมีสนามแม่เหล็กไฟฟ้าเกิดขึ้นจะทำให้ไอออนเกิดการสั่นตามแนวแกน z ไอออนที่มีมวลต่อประจุอันหนึ่งจะเกิดการสั่นเป็นแบบ stable path และผ่านออกไปสู่ ion collector หรือดีเทคเตอร์ได้ ส่วนไอออนอื่นที่มีมวลต่อประจุต่างไปจะมีการสั่นแบบ unstable path ทำให้เกิดการชนกับแท่งโลหะ ประจุจะถูกทำลายไป เรียกว่า filtered out (ดังรูป a และ c) การทำ mass scanning สามารถทำได้โดยการเปลี่ยน RF และให้ศักย์คงที่หรือเปลี่ยนศักย์ให้ RF คงที่ก็ได้ เครื่องแมสสเปคโทรมิเตอร์ที่เป็นแบบ double-beam จะมีแหล่งของไอออนสองแหล่งและเครื่องตรวจหาสองเครื่องอยู่ใกล้กัน แหล่งไอออนอันหนึ่งจะทำหน้าที่ให้ตัวอย่างกลายเป็นไอออน อีกแหล่งหนึ่งจะทำหน้าที่ให้สารมาตรฐานกลายเป็นไอออน ลำไอออนทั้งสองจะถูกบังคับให้ผ่านเครื่องแยกไอออนชุดเดียวกัน ดังนั้นไอออนทั้งหมดจะได้รับอิทธิพลจากสนามแม่เหล็กและสนามไฟฟ้าเหมือนกัน แต่จะถูกตรวจหาและวัดด้วยเครื่องตรวจหาแยกกัน ซึ่งเครื่องมือชนิดนี้จะทำให้สามารถวัดมวลได้อย่างถูกต้องแม่นยำ เนื่องจากสารมาตรฐานและสารตัวอย่างถูกทำให้เป็นไอออนพร้อมกันโดยปราศจากการผสมกัน



รูป 1.6 แสดงควอดรุโพล แมสสเปคโทรมิเตอร์

1.5.2.4 **ดีเทคเตอร์** (detector)

ดีเทคเตอร์ที่ใช้ทั่วไปในเครื่องแมสสเปกโทรมิเตอร์มีหลายอย่าง แต่ที่นิยมใช้กันมากคือ อิเล็กตรอน มัลติพลายเออร์ ดีเทคเตอร์ (electron multiplier dectector) ในที่นี้จะกล่าวถึงดีเทคเตอร์ ชนิดนี้เนื่องเป็นชนิดเดียวกับดีเทคเตอร์ในเครื่องแมสสเปคโตมิเตอร์ที่ใช้การทดลอง

อิเล็กตรอนมัลติพลายเออร์ที่ใช้กันมีอยู่หลายแบบ รุ่นแรกๆ ของอิเล็กตรอนมัลติพลายเออร์ที่ใช้จะมีลักษณะคล้ายกับหลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ เมื่อไอออนออกมาจากเครื่องวิเคราะห์มวลจะชนกับแคโทด ทำให้เกิดอิเล็กตรอนขึ้นมาหลายอิเล็กตรอน แล้วถูกดึงดูดไปยังไดโนด (dynode) อิเล็กตรอนแต่ละตัวเมื่อชนไดโนดแต่ละอันจะให้อิเล็กตรอนออกมาหลายอิเล็กตรอน เป็นเช่นนี้เรื่อยไปจะทำให้ได้กระแสเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ กระแสที่ได้จะถูกวัดเก็บไว้แล้วส่งไปยังเครื่องบันทึก

1.6 วัตถุประสงค์ในการศึกษา

1. เพื่อศึกษาการสังเคราะห์, การปรับปรุงขั้นตอน และวิธีการสังเคราะห์สารหอม 2-acetyl-1-pyrroline ที่ใช้เป็นสารมาตรฐาน ให้ได้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตที่สูงขึ้น
2. เพื่อศึกษาเปรียบเทียบวิธีการสกัดสารหอม 2-acetyl-1-pyrroline ในสารสกัดจากเมล็ดข้าวระหว่างวิธีการสกัดด้วยไอน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์แบบต่อเนื่อง กับวิธีการสกัดด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก
3. เพื่อวิเคราะห์เชิงคุณภาพขององค์ประกอบในสารสกัดจากเมล็ดข้าว โดยเทคนิคก๊าซโครมาโทกราฟี/ แมสสเปคโทรเมตรี
4. เพื่อพัฒนาและปรับสภาวะของเทคนิคก๊าซโครมาโทกราฟีให้เหมาะสมกับการวิเคราะห์เชิงปริมาณของสารหอม 2-acetyl-1-pyrroline
5. เพื่อวิเคราะห์เชิงปริมาณของสารหอม 2-acetyl-1-pyrroline ในสารสกัดจากเมล็ดข้าว ด้วยเทคนิคก๊าซโครมาโทกราฟี

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University