

**Thesis Title** A Study on Constituents of Essential Oils from Thai Vetiver Root

**Author** Miss Patcharee Pripdeevech

**Degree** Doctor of Philosophy (Chemistry)

**Thesis Advisory Committee** Assoc. Prof. Dr. Sugunya Wongpornchai Chairperson

Assoc. Prof. Dr. Duang Buddhasukh Member

Dr. Pakawan Puangsombat Member

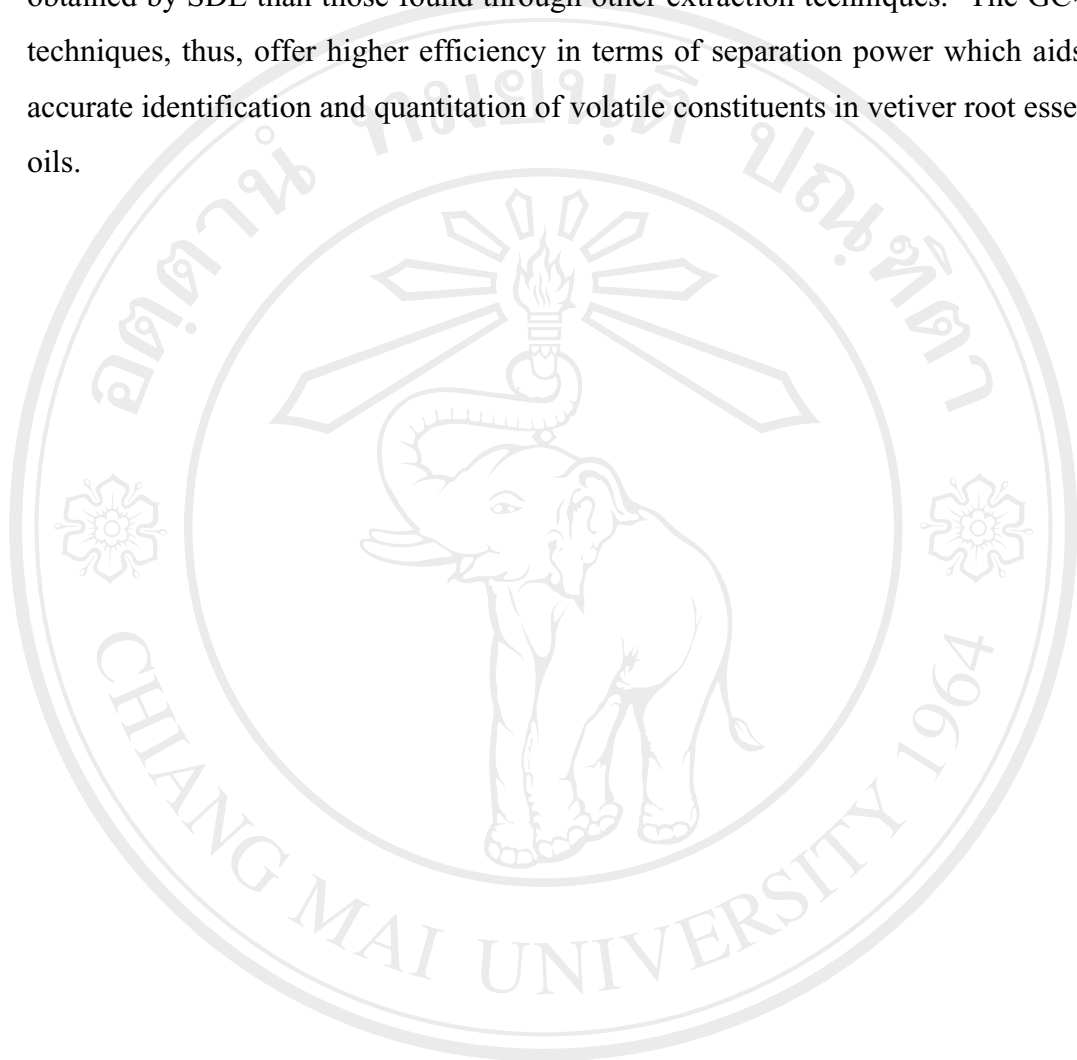
### ABSTRACT

A study on volatile constituents of the vetiver (*Vetiveria zizanioides* Nash) root essential oils was performed and divided into 2 parts. In the first part, highly volatile constituents of the essential oil from the root of vetiver planted in three different cultivation systems, viz. normal soil, normal soil with added microbes and semihydroponically, were investigated and compared. The vetiver root oils were obtained by extraction using a simultaneous steam distillation and solvent extraction (SDE) apparatus. Yields of the essential oils obtained from normal soil, normal soil with added microbes and semihydroponic cultivation system were 0.18, 0.27 and 0.06%, respectively. Separation of the essential oil components was firstly performed by comprehensive two-dimensional gas chromatography (GC×GC) and solid phase microextraction (SPME)-GC×GC. The results obtained by these two techniques revealed a total of 156 components, while 48 of which were well-resolved. Volatile component profiles of the oils obtained by normal soil and semi-hydroponic

cultivation were similar, whereas a quantitative difference was noted in some major volatiles when the cultivation system containing microbes was utilized. For component identification, three essential oil samples were subjected to analysis by SPME-GC-MS technique which gave the identification of only 42 volatile compounds. Sesquiceneole and delta-cadinene were detected only in the oil derived from cultivation in normal soil with added microbes, which probably resulted from an unidentified biotic factor. It is remarkable that three volatile components, (+)(6S,10R)-6,10-dimethylbicyclo[4.4.0]dec-1-en-3-one, cadina-1(10),6,8-triene, and 9,10-dehydro-isolongifolene were identified in essential oil of vetiver root for the first time by this study.

In the second part, the volatile constituents of vetiver root oils obtained from different extraction methods were comparatively studied. Simultaneous distillation and extraction (SDE), supercritical fluid extraction (SFE), microwave-assisted extraction (MAE), and soxhlet extraction (SE) were employed to extract the essential oil from the vetiver roots. SFE using dichloromethane or toluene as a modifier was found to be the most appropriate method for obtaining a vetiver root essential oil of high percentage yield and good quality, viz. strong scent, high viscosity, and light brown color. The volatile components of the vetiver oils obtained from all extraction methods were separated and identified by using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and comprehensive two-dimensional gas chromatography-mass spectrometry (GC×GC-MS). In order to confirm the structural identification, Van den Dool indices were also calculated. Sixty four volatile constituents were tentatively identified by GC-MS. These were confirmed by the use of GC×GC-MS, which provided the addition of 43 components. The relative contents of volatile constituents in each vetiver oil derived from various extraction conditions were exhibited using the peak volume normalization method performed on GC×GC-flame ionization detection (FID) plots. This hyphenated technique achieved the separation of at least 245 well-resolved individual components. However, the summation of the percentage peak areas of the identified components in each vetiver oil sample was calculated to be in the range of 56.4 - 61.4%. Khusenic acid, khusimol, khusimone, and nootkatone were found to be the major components of vetiver oils obtained by all

extraction techniques, whereas some components, such as 9,10-dehydro-2-norzizaene,  $\alpha$ -copaene, and *trans*-calamenene, were found in much higher contents in the oil obtained by SDE than those found through other extraction techniques. The GC $\times$ GC techniques, thus, offer higher efficiency in terms of separation power which aids the accurate identification and quantitation of volatile constituents in vetiver root essential oils.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

การศึกษาส่วนประกอบของน้ำมันหอมระเหยจากรากหญ้า  
แฝกไทย

ชื่อผู้เขียน

นางสาวพัชรีย์ พริบดีเวช

ปริญญา

วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (เคมี)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รองศาสตราจารย์ ดร.สุกัญญา วงศ์พรชัย ประธานกรรมการ

รองศาสตราจารย์ ดร. ดั่ง พุทธศุภร์

กรรมการ

ดร. ภควรรณ พวงสมบัติ

กรรมการ

บทคัดย่อ

การศึกษาองค์ประกอบสารระเหยในน้ำมันหอมระเหยจากรากหญ้าแฝกหอมทำโดยแบ่งการศึกษาเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกเป็นการศึกษาเปรียบเทียบสารระเหยง่ายในน้ำมันหอมระเหยจากรากหญ้าแฝกหอมที่ได้จากวิธีปลูกที่แตกต่างกันคือ ปลูกในดินธรรมดา ปลูกในดินที่เติมเชื้อจุลินทรีย์ และปลูกโดยไม่ใช้ดิน โดยน้ำมันหอมระเหยจากรากหญ้าแฝกหอมของแต่ละตัวอย่างได้มาจากการสกัดด้วยไอน้ำแบบต่อเนื่อง เปรอร์เซนต์โดยน้ำหนักของน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากรากหญ้าแฝกที่ปลูกในดินธรรมดา ปลูกในดินที่เติมเชื้อจุลินทรีย์ และปลูกโดยไม่ใช้ดินคือ 0.18, 0.27 และ 0.06% ตามลำดับ การแยกองค์ประกอบใน น้ำมันหอมระเหยจากราก หญ้าแฝกหอมทำโดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี 2 มิติ และเทคนิคการสกัดด้วยเฟสของแข็งในระดับจุลภาคต่อด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี 2 มิติ ผลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคทั้งสองแสดงให้เห็นองค์ประกอบทั้งหมดจำนวน 156 องค์ประกอบ และมีเพียง 48 องค์ประกอบที่สามารถแยกออกจากกันได้อย่างชัดเจน พบว่ารูปแบบขององค์ประกอบสารระเหยในน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากวิธีการปลูกในดินธรรมดาและปลูกโดยไม่ใช้ดินมีความคล้ายคลึงกัน ในขณะที่รูปแบบขององค์ประกอบ

สารระเหยในน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากวิธีปลูกในดินที่เติมเชื้อจุลินทรีย์มีความแตกต่างในเชิงปริมาณขององค์ประกอบหลักบางตัว การพิสูจน์เอกลักษณ์องค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยจากรากหญ้าแฝกหอมทั้ง 3 ตัวอย่างทำโดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยเฟสของแข็งในระดับจุลภาคต่อเข้ากับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี -แมสสเปกโตรเมตรี พบองค์ประกอบที่พิสูจน์โครงสร้างได้ 42 องค์ประกอบ โดยสาร sesquicicene และ delta-cadinene ตรวจพบเฉพาะในน้ำมันหอมระเหยจากรากหญ้าแฝกหอมที่ได้จากวิธีปลูกในดินที่เติมเชื้อจุลินทรีย์เท่านั้น ซึ่งอาจเป็นผลมาจากปัจจัยทางชีวภาพที่ยังไม่สามารถพิสูจน์ได้ นอกจากนี้พบ 3 องค์ประกอบได้แก่ (+)(6S,10R)-6,10-dimethylbicyclo[4.4.0]dec-1-en-3-one, cadina-1(10),6,8-triene และ 9,10-dehydro-isolongifolene ในน้ำมันหอมระเหยจากรากหญ้าแฝกหอมเป็นครั้งแรกโดยการศึกษา

ส่วนที่สองเป็นการศึกษาเปรียบเทียบองค์ประกอบสารระเหยในน้ำมันหอมระเหยจากรากหญ้าแฝกหอมที่ได้จากวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน ได้แก่ วิธีการสกัดด้วยไอน้ำแบบต่อเนื่อง วิธีการสกัดด้วยของไหลยิ่งยวด วิธีการสกัดด้วยไมโครเวฟ และวิธีการสกัดด้วยซอกเลท พบว่าวิธีการสกัดด้วยของไหลยิ่งยวดที่ใช้ไดคลอโรมีเทนหรือโทลูอีนเป็นตัวทำละลายให้น้ำมันหอมระเหยที่มีร้อยละผลได้โดยน้ำหนักสูงและคุณภาพดีคือ กลิ่นหอมมาก มีความหนืด และมีสีน้ำตาลอ่อน องค์ประกอบสารระเหยในน้ำมันหอมระเหยรากหญ้าแฝกหอมถูกแยกและพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรีและเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี 2 มิติ-แมสสเปกโตรเมตรี ค่าครรชนีแวนเดินดูล์ได้คำนวณเพื่อใช้ยืนยันความแม่นยำในการพิสูจน์เอกลักษณ์องค์ประกอบ ผลจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี -แมสสเปกโตรเมตรีพบองค์ประกอบที่พิสูจน์โครงสร้างได้ 64 องค์ประกอบ การยืนยันความถูกต้องของการพิสูจน์เอกลักษณ์องค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยจากรากหญ้าแฝกหอมทำโดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี 2 มิติ-แมสสเปกโตรเมตรีซึ่งให้จำนวนองค์ประกอบที่พิสูจน์โครงสร้างได้เพิ่มอีก 43 องค์ประกอบ การหาปริมาณสัมพัทธ์ของแต่ละองค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยจากรากหญ้าแฝกหอมทำโดยใช้เทคนิคพีควอลูเมนอร์มอลไลเซชันด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี 2 มิติที่ต่อเข้ากับเครื่องตรวจวัดแบบฟลัมไอออนเซชัน พบว่าสามารถแยกองค์ประกอบได้อย่างน้อย 245 องค์ประกอบ อย่างไรก็ตามเมื่อรวมร้อยละของพื้นที่ใต้พีคของทุกองค์ประกอบที่ทราบโครงสร้างแล้วในแต่ละตัวอย่างพบว่าจะอยู่ในช่วง 56.4-61.4% และยังพบว่า khusenic acid, khusimol, khusimone, และ nootkatone เป็นองค์ประกอบหลักในน้ำมันหอมระเหยจากรากหญ้าแฝกหอมที่ได้จากวิธีการสกัดที่แตกต่างกันทุกตัวอย่าง ในขณะที่บางองค์ประกอบ เช่น 9,10-dehydro-2-norzizaene,  $\alpha$ -copaene, และ *trans*-calamenene พบในปริมาณสูงในน้ำมันหอมระเหยรากหญ้าแฝกหอมที่ได้จากวิธีการสกัดด้วยไอน้ำแบบต่อเนื่องเมื่อเทียบกับน้ำมันหอมระเหยรากหญ้าแฝกหอมที่ได้จากวิธีการสกัดอื่นๆ เทคนิคแก๊สโคร

มาโทกราฟี 2 มิติ จึงเป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพสูงในการแยกองค์ประกอบสารระเหยในน้ำมันหอมระเหยจากรากหญ้าแฝกหอมซึ่งช่วยให้การพิสูจน์เอกลักษณ์และการหาปริมาณขององค์ประกอบเหล่านั้นมีความถูกต้องยิ่งขึ้น



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved