

บทที่ 3

การเปรียบเทียบค่าจำเพาะการแยกสารของอะทาลิโคลัมน์ประเภทมอนอลิตที่ปรับปรุงพื้นผิวด้วยพอลิออกตะเดคซิลเมทอะคริเลตและหมู่พอลิออกตะเดคซิลสำหรับการแยกสารประกอบกลุ่มแอลกอฮอล์ในลิกนินโครมาโทกราฟีแบบรีเวิร์สเฟส¹

3.1 คำนำ

จากรายงานที่ผ่านมา พื้นผิวของอะทาลิโคลัมน์ประเภทซิลิกามอนอลิตได้มีการปรับปรุงพื้นผิวให้ได้เฟสคงที่หลากหลาย ซึ่งมีกลไกการแยกสารแตกต่างกัน เช่น reversed-phase [Miyamoto *et al.*:2008, Motokawa *et al.*:2002, Hara *et al.*: 2006, Cabrera: 2004, Eeltink *et al.*: 2004], ion-exchange [Chambers *et al.*:2007] หรือ hydrophilic interaction [Ikegami *et al.*:2008] เป็นต้น เฟสคงที่ของคอลัมน์ที่แตกต่างกัน ส่งผลให้มีคุณสมบัติของเฟสคงที่ (column characteristic) และค่าจำเพาะการแยก (selectivity, α ซึ่งในที่นี้หมายถึงอัตราส่วนของรีเทนชันแฟกเตอร์ของสาร เช่น k_2/k_1 , $\alpha \geq 1$) ต่างกันไป จึงควรมีการศึกษาสมบัติดังกล่าวเพื่อให้เข้าใจอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างสารกับเฟสคงที่ จนทำให้นักวิเคราะห์สามารถเลือกใช้เฟสคงที่ที่เหมาะสมกับการวิเคราะห์สารชนิดต่างๆ และข้อมูลเหล่านี้ยังเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการพัฒนาวิธีวิเคราะห์สารประเภทใหม่ [Stella *et al.*:2001a, Stella *et al.*:2001b, Neue *et al.*: 2006, Wilson *et al.*: 2002, Turowski *et al.*: 2001]

จากงานวิจัยที่ผ่านมา [Núñez *et al.*: 2007b] ได้ศึกษาคุณสมบัติของอะทาลิโคลัมน์ประเภทมอนอลิตที่ปรับปรุงพื้นผิวเป็น reversed-phase ได้แก่ คอลัมน์ ODM [Núñez *et al.*: 2007a] และ ODS [Tanaka *et al.*: 1985] สำหรับการแยกสารที่มีขั้วและไม่มีขั้วบางประเภท เช่น benzenes และ naphthalene derivatives, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), steroids and alkylphthalates และ tocopherol homologues พบว่าทั้งสองคอลัมน์นี้แสดงคุณสมบัติในการแยกสารเหล่านี้แตกต่างกัน โดยคอลัมน์ ODM เกิดอันตรกิริยากับสารประเภทที่มีวงแอะโรแมติก รูปร่างแบนราบและความแข็งแรงของโครงสร้างโมเลกุลได้ดี อีกทั้งสังเกตได้ว่าคอลัมน์ประเภท ODM มีค่าจำเพาะการแยกสารที่ทำการศึกษได้ดีกว่าคอลัมน์ ODS โดยคอลัมน์ ODM แยกสารได้ดีกว่าเมื่อใช้ภาวะการแยกที่เหมือนกันกับคอลัมน์ ODS นอกจากนี้ยังมีรายงานการเปรียบเทียบการแยกสารของคอลัมน์ที่ใช้เฟสคงที่เป็น poly(octadecyl acrylate) (ODA) ที่เคลือบบนเม็ดยซิลิกา กับเฟสคงที่เป็น ODS ที่เคลือบบนเม็ดยซิลิกา [Chowdhury *et al.*: 2000, Fukumoto *et al.*:1994, Malik *et al.*:2008] ซึ่ง

¹ งานวิจัยนี้ได้นำเสนอผลงานแบบโปสเตอร์ในที่ประชุมวิชาการระดับนานาชาติที่ HPLC2008Kyoto และตีพิมพ์ใน Journal of Chromatography A 1216 (2009) 5868-5874 ดังภาคผนวก 1

คอลัมน์ ODA มีโครงสร้างของสายโซ่ C18 เหมือนกับคอลัมน์ ODM จากการศึกษาพบว่า คอลัมน์ ODA ให้ค่าจำเพาะการแยกสารประเภท PAHs ได้ดีกว่า เนื่องจากเฟสคงที่ ODA มีสายโซ่ C18 ที่จัดเรียงตัวกันเป็นระเบียบทำให้เกิดอันตรกิริยาได้ดี และยังเกิดอันตรกิริยาระหว่างหมู่คาร์บอนิลบนเฟสคงที่ ODA กับสารประเภทแอโรแมติกอีกด้วย เมื่อเปรียบเทียบกับที่เกิดอันตรกิริยาของสารกับเฟสคงที่ ODS

สำหรับสารประกอบที่มีหมู่ไฮโดรเจนเป็นสารที่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม เช่น chlorophenols, polychlorinated biphenyls และ halogenated dibenzo-p-dioxins โดยแต่ละกลุ่มประกอบด้วย homologue และ isomer มากมาย ดังนั้นจึงต้องการวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงสำหรับการวิเคราะห์สารเหล่านี้ จากงานวิจัยที่ผ่านมา [Hosoya *et al.*:1993] ได้มีเปรียบเทียบค่าจำเพาะการแยกสารสำหรับวิเคราะห์ตัวทำละลายที่มีองค์ประกอบของหมู่ไฮโดรเจน บนเฟสคงที่เป็น ODS ที่เคลือบบนเม็ดซิลิกา กับเฟสคงที่จำพวกเมทิลเมทาคริเลต ได้แก่ poly(methyl methacrylate-ethylene dimethacrylate) และ poly(styrene-divinylbenzene) โดยพบว่า เฟสคงที่จำพวกพอลิเมอร์สามารถเกิดอันตรกิริยากับสารประกอบกลุ่มไฮโดรเจนได้ดีกว่า แต่อย่างไรก็ตามเฟสคงที่ที่เป็นเมทิลเมทาคริเลตให้ประสิทธิภาพการแยกที่ไม่ดีนัก ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะต่อขยายงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่ทำการศึกษาคูสมบัติของคอลัมน์ ODS และ ODM [Núñez *et al.*: 2007, Hosoya *et al.*:1993] โดยจะทำการศึกษาและเปรียบเทียบการรีเทนและค่าจำเพาะการแยกสารบนคอลัมน์ ODM และ ODS สำหรับการแยกสารที่มีหมู่ไฮโดรเจนเป็นองค์ประกอบ โดยเลือกใช้สารทดสอบเป็น halogenated benzenes และนำไปเปรียบเทียบกับ alkylbenzenes นอกจากนี้ได้ประยุกต์ใช้คอลัมน์ ODM และ ODS สำหรับแยกสารกลุ่ม chlorophenols 17 ชนิด

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 เครื่องมือ

- ระบบที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์ด้วย μ HPLC เพื่อใช้ศึกษาและเปรียบเทียบค่าจำเพาะการแยกของคอลัมน์เป็นระบบของ HPLC แบบ split-flow/injection (ดังรูปที่ 2.4 ในบทที่ 2) ประกอบด้วยปั๊ม (บริษัท Jasco รุ่น X-LC 3185PU), 7725 injector (บริษัท Rheodyne) ที่มี splitting T-joint, UV detector (บริษัท GL Sciences รุ่น MU701) และ capillary flow cell (GL Sciences, cell volume 6 nL) ในการทดลองได้ใช้คอลัมน์ ODM และ ODS เส้นผ่านศูนย์กลาง 200 μ m ความยาว 28 cm โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 30 $^{\circ}$ C ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 214 nm และให้เฟสเคลื่อนที่เคลื่อนที่ด้วยความเร็วเชิงเส้น 1.0 mm/s

3.2.2 สารเคมี

- สารทดสอบที่ใช้ในการศึกษาค่าจำเพาะการแยกของคอลัมน์แบบ reversed-phase ได้แก่

1) *monoalkylbenzenes*: benzene (-H), toluene (-CH₃), ethylbenzene (-C₂H₅) and propylbenzene (-C₃H₇)

2) *monohalogenated benzenes*: fluorobenzene (-F), chlorobenzene (-Cl), bromobenzene (-Br) and iodobenzene (-I)

3) *dialkylbenzenes*: *o*-xylene (*o*-di-CH₃), *m*-xylene (*m*-di-CH₃), *p*-xylene (*p*-di-CH₃), *o*-diethylbenzene (*o*-di-C₂H₅), *m*-diethylbenzene (*m*-di-C₂H₅) และ *p*-diethylbenzene (*p*-di-C₂H₅)

4) *dihalogenated benzenes*: *o*-difluorobenzene (*o*-di-F), *m*-difluorobenzene (*m*-di-F), *p*-difluorobenzene (*p*-di-F), *o*-dichlorobenzene (*o*-di-Cl), *m*-dichlorobenzene (*m*-di-Cl), *p*-dichlorobenzene (*p*-di-Cl), *o*-dibromobenzene (*o*-di-Br), *m*-dibromobenzene (*m*-di-Br) และ *p*-dibromobenzene (*p*-di-Br)

5) *chlorophenols*: (1) 2-chlorophenol, (2) 4-chlorophenol, (3) 3-chlorophenol, (4) 2,6-dichlorophenol, (5) 2,3-dichlorophenol, (6) 2,5-dichlorophenol, (7) 2,4-dichlorophenol, (8) 3,4-dichlorophenol, (9) 3,5-dichlorophenol, (10) 2,3,6-trichlorophenol, (11) 2,3,4-trichlorophenol, (12) 2,4,5-trichlorophenol, (13) 3,4,5-trichlorophenol, (14) 2,3,4,6-tetrachlorophenol, (15) 2,3,5,6-tetrachlorophenol, (16) 2,3,4,5-tetrachlorophenol และ (17) pentachlorophenol

3.3 ผลการทดลองและวิจารณ์

งานวิจัยนี้ได้ศึกษารีเทนชันและเปรียบเทียบค่าจำเพาะการแยกของสารบนคอลัมน์ ODM และ ODS โดยใช้สารทดสอบเป็นสารกลุ่ม halogenated benzenes และ alkyl benzenes และใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นเมทานอล (MeOH) และ อะซิโตไนไทรล์ (ACN) ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในการเปรียบเทียบค่าจำเพาะการแยกบนคอลัมน์ทั้งสองชนิดนั้นพบว่าใกล้เคียงกัน ดังนั้นการรีเทนและค่าจำเพาะการแยกสารที่แตกต่างกันเป็นผลมาจากความแตกต่างของคุณสมบัติของเฟสคงที่ทั้งสอง

3.3.1 Monosubstituted benzenes

ได้ศึกษา selectivity ของ monohalogenated benzenes และ monoalkylbenzenes บนคอลัมน์ ODM และ ODS ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 200 μ m ยาว 28 cm โดยใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นน้ำ: ACN หรือ น้ำ: MeOH (A:B) ในช่วง 50-80 %B โครมาโทแกรมที่ได้ในเฟสเคลื่อนที่เป็น 70% ACN และ 70% MeOH แสดงดังรูปที่ 3.1 ทั้ง monohalogenated benzenes และ monoalkylbenzenes รีเทนบนคอลัมน์ ODM ได้นานกว่าทั้งใน MeOH และ ACN จากรูปที่ 3.1a เมื่อใช้เฟสเคลื่อนที่เป็น MeOH ในภาวะต่างๆ ที่เหมือนกัน คู่ -Cl กับ -CH₃ และ -I กับ -C₂H₅

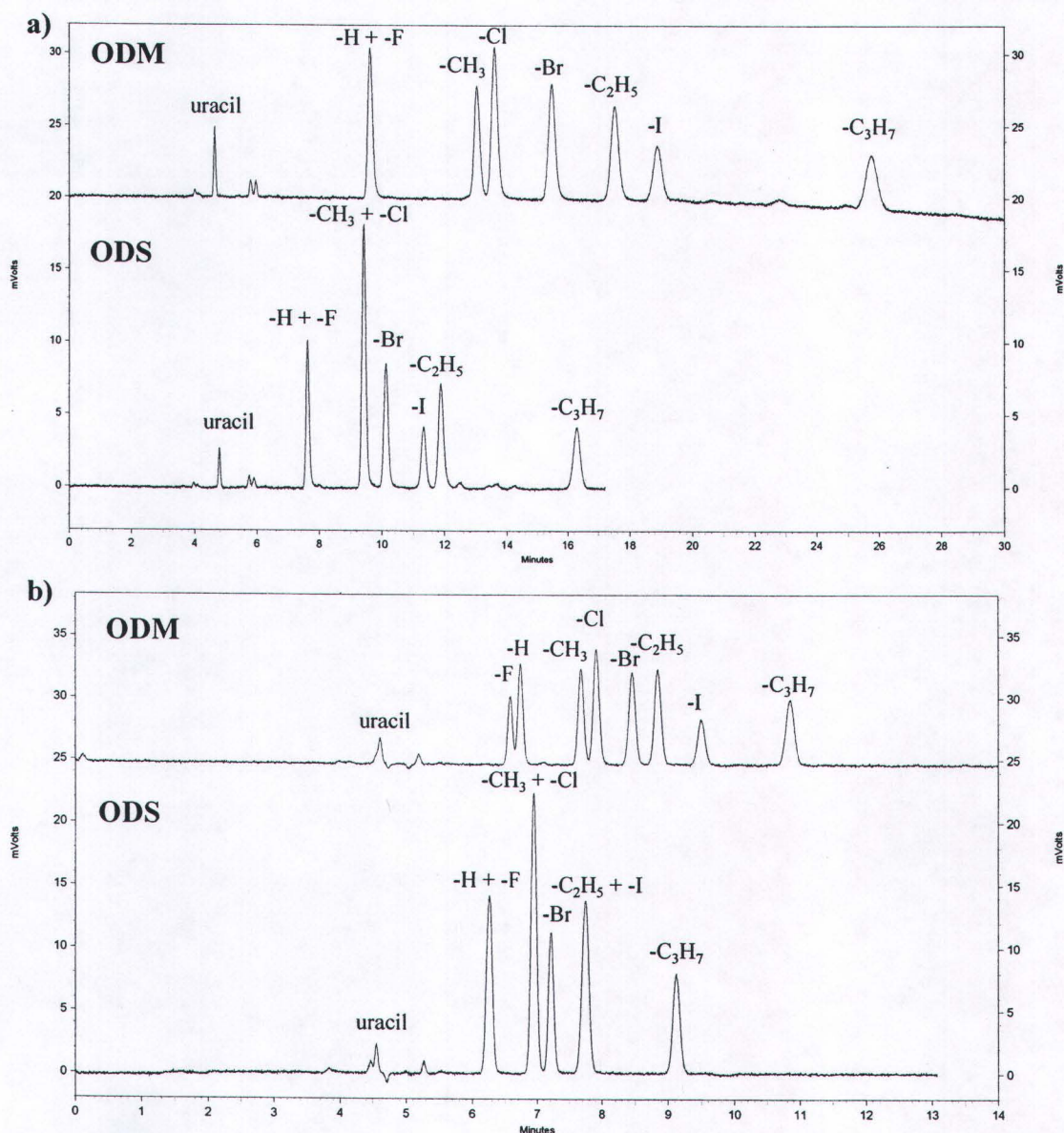
แยกออกจากกันได้บนคอลัมน์ ODM ในขณะที่ไม่เกิดการแยกของคู่ $-Cl$ กับ $-CH_3$ และเกิดการสลับลำดับการออกของ $-I$ กับ $-C_2H_5$ บนคอลัมน์ ODS และเมื่อใช้เฟสเคลื่อนที่เป็น ACN (รูปที่ 3.1b) ให้ผลในการทำงานเดียวกัน โดยที่สารคู่ $-F$ กับ $-H$, $-Cl$ กับ $-CH_3$ และ $-I$ กับ $-C_2H_5$ เกิดการแยกได้บนคอลัมน์ ODM แต่ไม่เกิดการแยกบนคอลัมน์ ODS นอกจากนี้สังเกตได้ว่าการรีเทนของสารกลุ่ม halogenated benzenes บนคอลัมน์ ODM และ ODS มีความแตกต่างกันมากกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับสารกลุ่ม alkylbenzenes ทั้งในเฟสเคลื่อนที่ที่เป็น MeOH และ ACN

กระบวนการรีเทนของสารใน reversed-phase HPLC ขึ้นกับ 2 ปัจจัย ได้แก่ ผลของเฟสเคลื่อนที่ และผลของเฟสคงที่ โดยอันตรกิริยาที่เกี่ยวข้องระหว่างสารกับเฟสเคลื่อนที่ที่เป็น hydrophobic interaction ในขณะที่อันตรกิริยาระหว่างสารกับเฟสคงที่มี dispersion interaction เป็นอันตรกิริยาหลัก แต่อาจมี dipolar interaction อื่นๆ ร่วมด้วย ขึ้นอยู่กับโครงสร้างของเฟสคงที่ และตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ซึ่งสามารถดูดซับบนผิวของเฟสคงที่ได้บางส่วน ดังนั้นการที่สารมีพฤติกรรมเคลื่อนที่และการแยกแตกต่างกันทั้งที่ใช้ภาวะอื่นๆ เหมือนกัน เพียงแต่ใช้เฟสคงที่ที่แตกต่างกัน จึงเป็นผลจากความแตกต่างของเฟสคงที่นั่นเอง

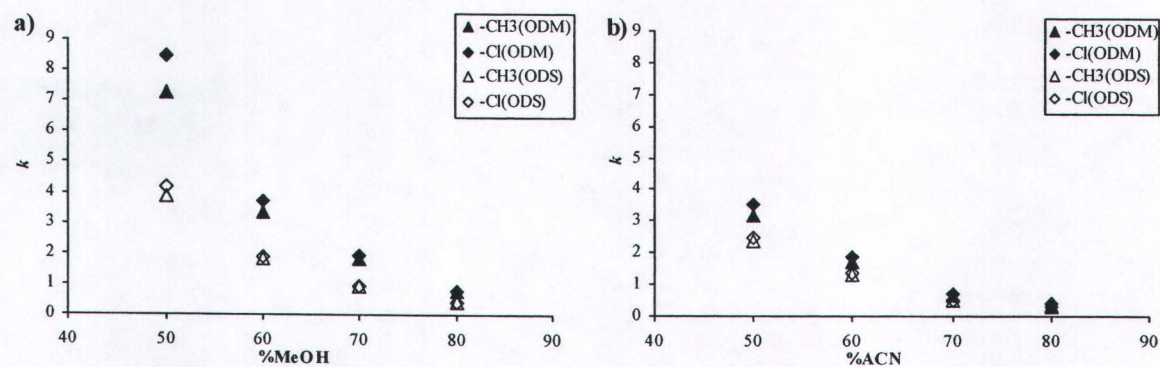
เมื่อเปรียบเทียบการรีเทนของสารในเฟสเคลื่อนที่ที่เป็น ACN:น้ำ และ MeOH:น้ำ ดังรูปที่ 3.2 ซึ่งเป็นกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างรีเทนชันแฟกเตอร์ (k) (คำนวณค่า k ได้โดยใช้สมการที่ 2.1 ในบทที่ 2) ที่ปริมาณตัวทำละลายอินทรีย์ต่างๆ ที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ ในที่นี้ยกตัวอย่างผลของ chlorobenzene และ toluene นำมาวิจารณ์ผล พบว่าทั้ง $-Cl$ กับ $-CH_3$ รีเทนบนคอลัมน์ ODM ได้ดีกว่า และที่ปริมาณของเมทานอลต่ำๆ $-Cl$ รีเทนทั้งบนคอลัมน์ ODM และ ODS ได้ดีกว่า $-CH_3$ เมื่อเปลี่ยนตัวทำละลายอินทรีย์เป็น ACN ก็ให้แนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน ซึ่งจากกราฟเห็นได้ว่าตัวทำละลายอินทรีย์ส่งผลต่อการรีเทนของสารบนคอลัมน์ ODM ได้มากกว่า โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับสารกลุ่ม halogenated compounds นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบการแยกในเฟสเคลื่อนที่ที่เป็น ACN และ MeOH บนคอลัมน์เดียวกัน เมื่อเทียบกับ MeOH พบว่า ACN ทำให้สารรีเทนบนคอลัมน์ได้น้อยลง เนื่องจากสารเกิด dispersion interaction กับเฟสคงที่ได้ลดลงในเฟสเคลื่อนที่ที่เป็น ACN

เมื่อพิจารณารูปภาพความสัมพันธ์ระหว่างค่า $\log k$ ของสารบนคอลัมน์ ODM เทียบกับ $\log k$ ของสารบนคอลัมน์ ODS ดังรูปที่ 3.3 สารกลุ่ม monosubstituted benzenes ให้ค่า $\log k$ บนคอลัมน์ ODM มากกว่า แสดงว่ารีเทนบนคอลัมน์ ODM ได้ดีกว่า ทั้งในระบบเฟสเคลื่อนที่ ACN และ MeOH จากกราฟพบว่าเมื่อจำนวนคาร์บอนในสายโซ่ตรงของ alkylbenzenes เพิ่มขึ้น ก็ให้การรีเทนเพิ่มขึ้นในลักษณะความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรง ซึ่งพฤติกรรมลักษณะนี้เป็นพฤติกรรมปกติสำหรับในระบบที่เป็น reversed-phase ส่วนสารกลุ่ม halogenated benzenes ก็ให้ความสัมพันธ์ในลักษณะที่เพิ่มขึ้นเป็นเส้นตรงเช่นเดียวกันเมื่อเพิ่มขนาดและ polarizability ของเฮโลเจนอะตอม และเมื่อเปรียบเทียบความชันของกราฟระหว่างสารกลุ่ม monohalogenated benzenes กับ

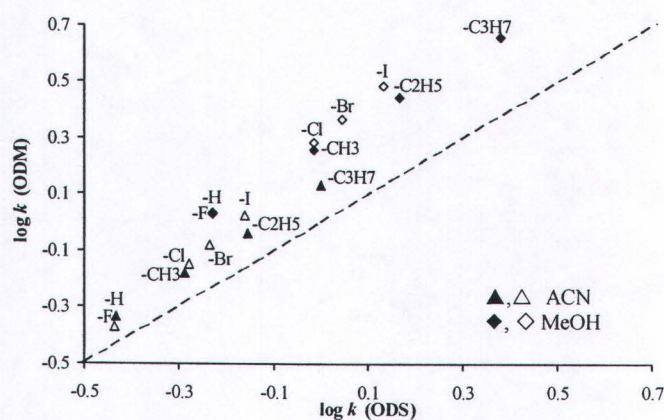
monoalkylbenzenes พบว่า ความชันของ halogenated benzenes มีค่ามากกว่าทั้งในเฟสเคลื่อนที่ที่เป็น ACN และ MeOH ซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากมีอันตรกิริยาเพิ่มเติมที่มีผลต่อการรีเทนของ halogenated benzenes บน ODM คอลัมน์ เมื่อเทียบกับอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นกับ alkylbenzenes [Turowski *et al.*: 2001]



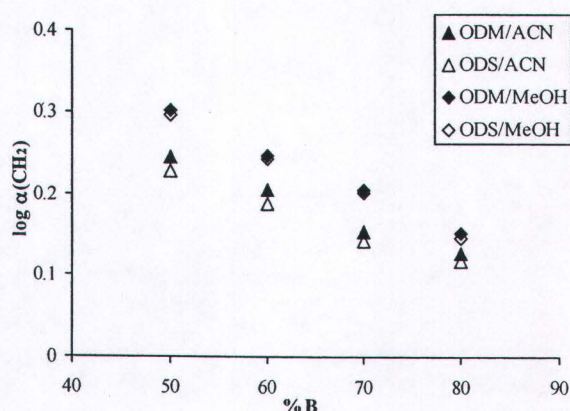
รูปที่ 3.1 โครมาโทแกรมของ monohalogenated benzenes และ monoalkylbenzenes โดยใช้คอลัมน์ ODM และ ODS ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 200 μm ยาว 28 cm และใช้เฟสเคลื่อนที่ที่เป็น (a) 70% MeOH และ (b) 70% ACN และภาวะอื่นๆ ได้แก่ $u = 1.0 \text{ mm/s}$ ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 214 nm และควบคุมอุณหภูมิที่ 30 $^{\circ}\text{C}$



รูปที่ 3.2 ค่ารีเทนชันแฟกเตอร์ของ chlorobenzene และ toluene ในเฟสเคลื่อนที่ที่มีอัตราส่วนตัวทำละลายอินทรีย์ต่างๆ ในช่วง 50-80% โดย a) MeOH และ b) ACN บนคอลัมน์ ODM และ ODS และภาวะอื่นๆ ดังรูปที่ 3.1



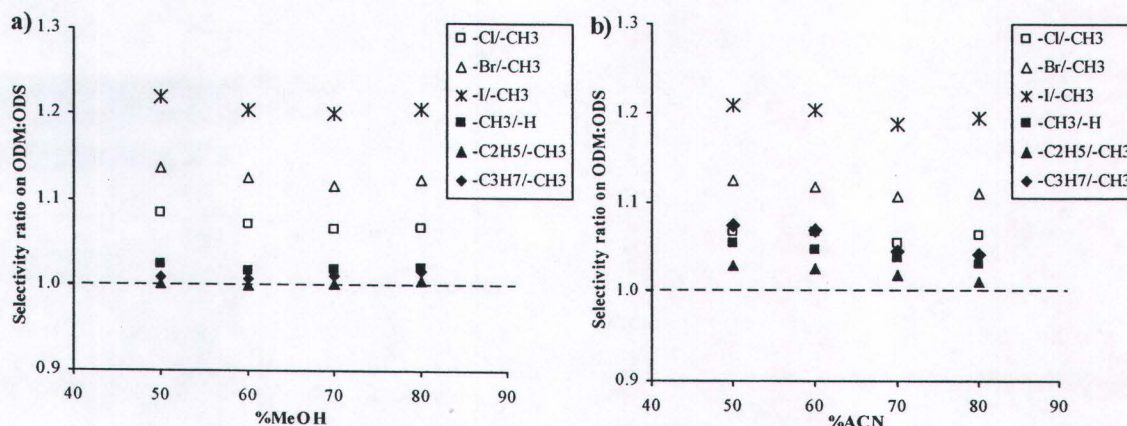
รูปที่ 3.3 ค่า $\log k$ ของ monosubstituted benzenes บนคอลัมน์ ODM เทียบกับค่า $\log k$ ของสารบนคอลัมน์ ODS และใช้เฟสเคลื่อนที่ที่เป็น (a) 70% MeOH และ (b) 70% ACN และภาวะอื่นๆ ดังรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.4 ความสัมพันธ์ระหว่าง $\log \alpha(\text{CH}_2)$ กับ % organic solvent ในเฟสเคลื่อนที่ในช่วง 50-80% และภาวะอื่นๆ ดังรูปที่ 3.1

กราฟความสัมพันธ์ระหว่าง $\log$ ของ methylene group selectivity ($\log \alpha(\text{CH}_2)$) เทียบกับ ปริมาณของปริมาณของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนในช่วง 50-80% แสดงดังรูปที่ 3.4 โดย $\log \alpha(\text{CH}_2)$ คำนวณได้จากความชันของกราฟเส้นตรงที่พล็อตระหว่าง $\log k$ ของ alkylbenzenes กับจำนวนคาร์บอนในโซ่ตรง ถ้าหากค่า $\log \alpha(\text{CH}_2)$ มาก แสดงถึงว่าเฟสคงที่นั้นมี ความ hydrophobic ที่มาก ซึ่งจากรูปที่ 3.4 คอลัมน์ ODM ให้ค่า $\log \alpha(\text{CH}_2)$ ที่มากกว่าคอลัมน์ ODS ทั้งในเฟสเคลื่อนที่เป็น ACN และ MeOH ทั้งนี้เนื่องจากคอลัมน์ ODM มีจำนวนสายโซ่ C18 ที่เกิดพันธะกับ silica support มากกว่า [Núñez *et al.*: 2007a] อีกทั้งระยะห่างระหว่างสายโซ่ C18 ในคอลัมน์ ODS กว้างกว่า ทำให้มีปริมาณตัวทำละลายอินทรีย์ที่มาดูดซับบนเฟสคงที่ได้ดีกว่า คอลัมน์ ODM เมื่อพิจารณาค่า $\log \alpha(\text{CH}_2)$ บนคอลัมน์ ODM กับ ODS ในเฟสเคลื่อนที่เป็น ACN เห็นได้ว่า ค่า $\log \alpha(\text{CH}_2)$ ของคอลัมน์ทั้งสองมีความแตกต่างกันชัดเจนกว่าในกรณีที่ใช้เฟส เคลื่อนที่เป็น MeOH อาจเป็นผลมาจากการที่ ACN สามารถดูดซับลงบนพื้นผิวของเฟสคงที่ได้ ดีกว่า MeOH [Kazakevich *et al.*:2001]

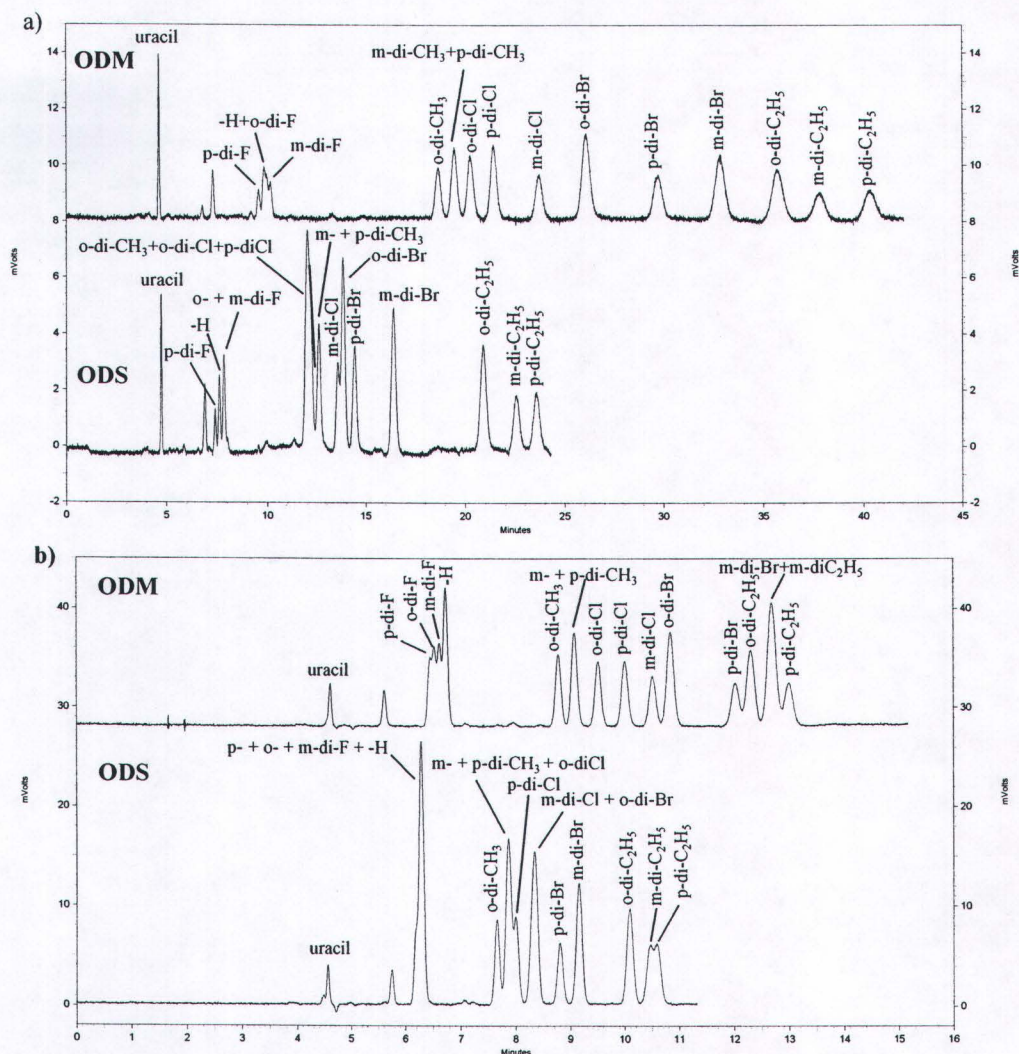
รูปที่ 3.5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนของค่าจำเพาะการแยกบนคอลัมน์ ODM เทียบกับ ODS กับปริมาณของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ โดยค่าจำเพาะการแยก คำนวณได้จากอัตราส่วนของรีเทนชันแฟกเตอร์ของสาร สำหรับสารในกลุ่ม alkylbenzenes ให้ค่า ค่าจำเพาะการแยกของ homologous series บนคอลัมน์ ODM และ ODS พอๆ กัน โดย α หมายถึง อัตราส่วนของรีเทนชันแฟกเตอร์ของสาร เช่น k_2/k_1 , $k_2 \geq k_1 \geq 1$ และ $\alpha \geq 1$ (อัตราส่วนของค่า จำเพาะการแยกใกล้ 1) ในขณะที่สารกลุ่ม halogenated benzenes ให้ค่าจำเพาะการแยกของสาร เทียบกับโทลูอินบนคอลัมน์ ODM มากกว่า ทั้งในเฟสเคลื่อนที่เป็น ACN และ MeOH โดยเมื่อ ขนาดอะตอมของเฮโลเจนเพิ่มขึ้น ค่าจำเพาะการแยกของเฮโลเจนที่เทียบกับโทลูอินบนคอลัมน์ ODM ยิ่งเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับคอลัมน์ ODS ค่าจำเพาะการแยกของ halogenated compounds บน คอลัมน์ทั้งสองนี้แตกต่างกัน เนื่องจากผลของ dispersion interaction บนคอลัมน์ ODM ที่มากกว่า เมื่อเทียบกับอันตรกิริยาที่เกิดกับ alkylbenzenes โดยมีเกิดอันตรกิริยาได้มากขึ้นเมื่อขนาดอะตอม ของเฮโลเจนใหญ่ขึ้น นอกจากนี้ยังเป็นผลจากหมู่คาร์บอนิลที่อยู่บนสายโซ่ของ octadecyl methacrylate บนเฟสคงที่ ODM ทำให้เกิด carbonyl- π interaction ระหว่างสารกับเฟสคงที่เพิ่มเติม ด้วย [Chowdhury *et al.*: 2000, Fukumoto *et al.*:1994, Malik *et al.*:2008]



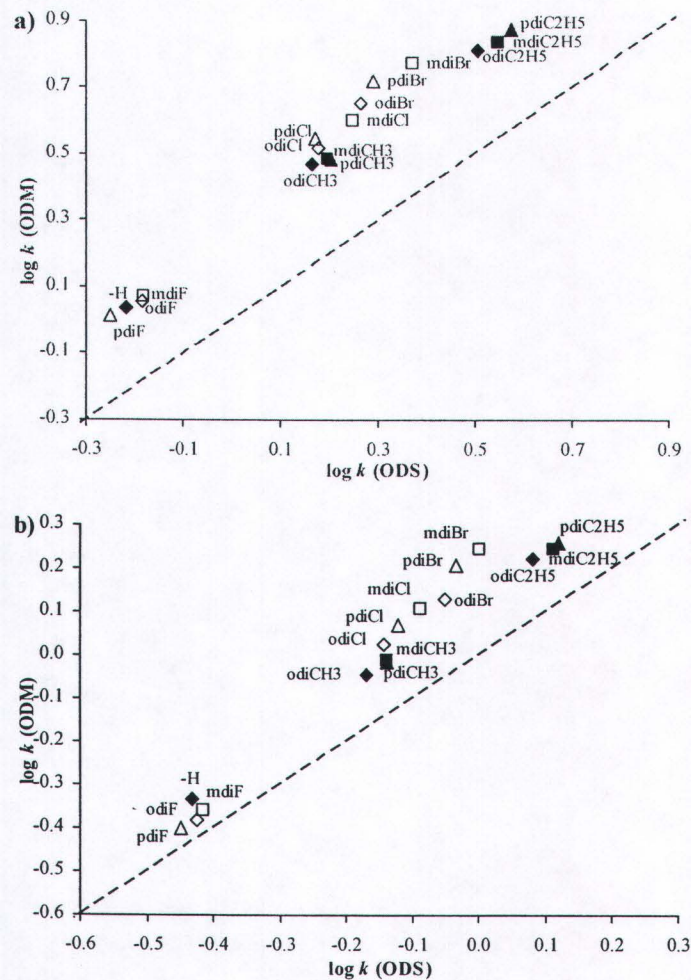
รูปที่ 3.5 อัตราส่วน selectivity ของสารบน ODM เทียบกับ ODS โดยใช้เฟสเคลื่อนที่ที่มีอัตราส่วนของ organic solvent ในช่วง 50-80% โดย a) MeOH และ b) ACN ซึ่งจุดทึบเป็นการเปรียบเทียบระหว่างสารทดสอบที่เป็นอัลคิลเบนซีนที่มีหมู่ CH_2 ต่างกัน 1 หน่วย และ จุดโปร่งเป็นการเปรียบเทียบระหว่างสารทดสอบที่เป็นเฮโลเจนเบนซีนเทียบกับโทลูอิน และภาวะอื่นๆ ดังรูปที่ 3.1

3.3.2 Disubstituted benzenes

ได้ศึกษาและเปรียบเทียบค่าจำเพาะการแยกของสารกลุ่ม disubstituted benzenes บนคอลัมน์ ODM และ ODS ในเฟสเคลื่อนที่ทั้งที่เป็น ACN และ MeOH โครมาโทแกรมที่ได้แสดงดังรูปที่ 3.6 สารเกิดการรีเทนได้ดีกว่าบนคอลัมน์ ODM และสังเกตได้ว่าการแยกของสารที่เป็น positional isomer บนคอลัมน์ ODM เกิดได้ดีกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับคอลัมน์ ODS และเมื่อพิจารณากราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า $\log k$ ของสารกลุ่ม disubstituted benzenes บนคอลัมน์ ODM เทียบกับบนคอลัมน์ ODS (รูปที่ 3.7) พบว่ามีแนวโน้มที่คล้ายคลึงกับผลของ monosubstituted benzenes กล่าวคือ สารเกิดการรีเทนได้ดีบนคอลัมน์ ODM และสำหรับสารกลุ่ม alkylbenzenes มีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นเป็นเส้นตรงตามความยาวสายโซ่คาร์บอน ส่วนสารกลุ่ม halogenated benzenes มีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นเป็นเส้นตรงเช่นกันตามขนาดและ polarizability ที่เพิ่มขึ้น



รูปที่ 3.6 โครมาโทแกรมของ dihalogenated benzenes และ dialkylbenzenes โดยใช้คอลัมน์ ODM และ ODS ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 200 μm ยาว 28 cm และใช้เฟสเคลื่อนที่เป็น (a) 70% MeOH และ (b) 70% ACN และภาวะอื่นๆ ดังรูปที่ 3.1

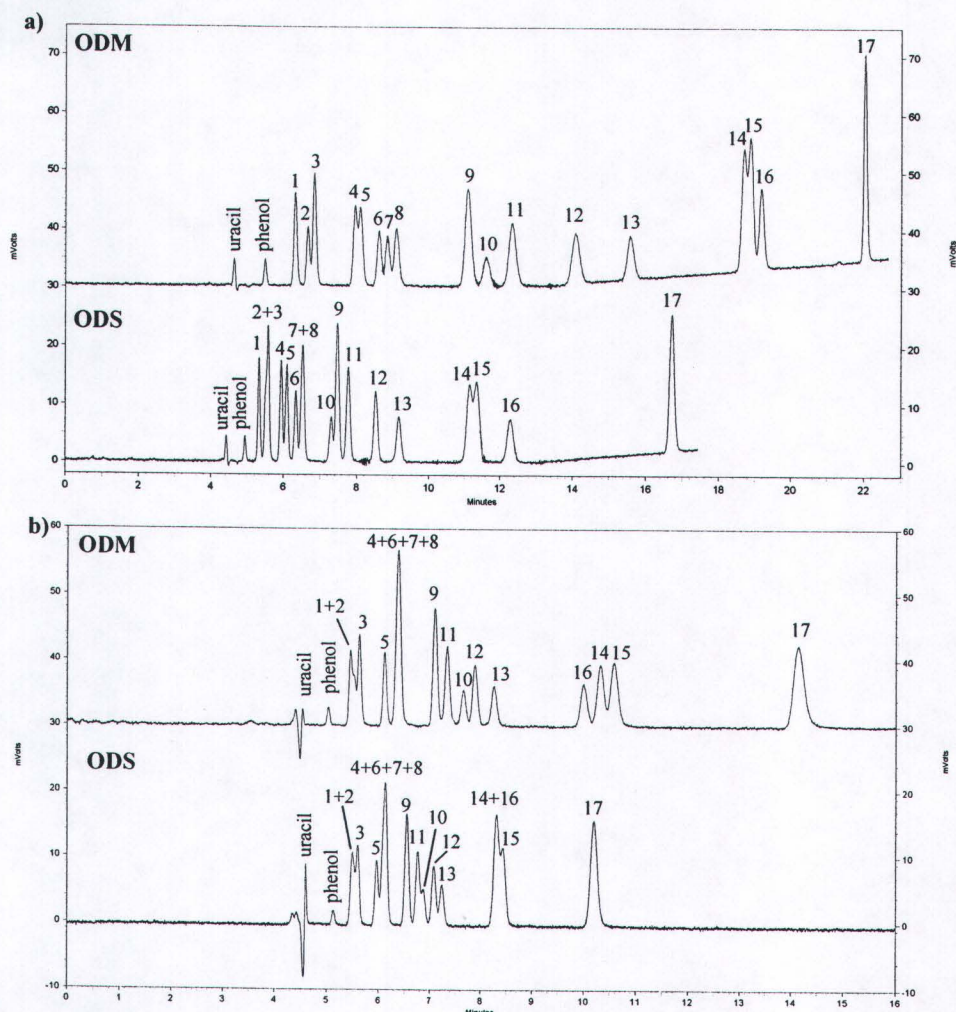


รูปที่ 3.7 ค่า $\log k$ ของ disubstituted benzenes บนคอลัมน์ ODM เทียบกับค่า $\log k$ ของสารบนคอลัมน์ ODS และใช้เฟสเคลื่อนที่เป็น (a) 70% MeOH และ (b) 70% ACN และภาวะอื่นๆ ดังรูปที่ 3.1

3.3.3 Chlorophenols

ได้ศึกษาและเปรียบเทียบการแยกและค่าจำเพาะการแยกของสารโดยใช้สารทดสอบเป็นกลุ่ม chlorophenols ทั้งหมด 17 ชนิด สารประกอบกลุ่มนี้ประกอบด้วยสารที่มีจำนวนหมู่คลอรีนอะตอมแทนที่บนฟีนอลได้หลากหลาย และมีหลายไอโซเมอร์ รูปที่ 3.8 แสดงโครมาโทแกรมการแยกสารกลุ่ม chlorophenols บนคอลัมน์ ODM และ ODS ในเฟสเคลื่อนที่ทั้งที่เป็น MeOH และ ACN พบว่าการรีเทนของสารมากขึ้นเมื่อจำนวนหมู่คลอรีนที่แทนที่บนวงเบนซีนเพิ่มขึ้น เนื่องจาก hydrophobicity ของสารเพิ่มมากขึ้น แล้วยังสารที่มีคลอรีนแทนที่ในตำแหน่งกระจายๆ กันบนวงเบนซีน ยังมีการรีเทนมากกว่าสารที่มีการแทนที่ติดๆ กัน เนื่องจากสารที่มีคลอรีนแทนที่ในตำแหน่งกระจายกันอยู่ มี hydrophobic area ที่มากกว่า [Tanaka *et al.*:1993] จากรูปที่ 3.8 เมื่อเปรียบเทียบการแยกสารบนคอลัมน์ ODM และ ODS สารกลุ่ม chlorophenols รีเทน

และแยกบนคอลัมน์ ODM ได้ดีกว่า ซึ่งสามารถอธิบายได้โดยสารเกิด dispersion interaction ได้มากกว่าบนคอลัมน์ ODM และเกิดอันตรกิริยากับหมู่คาร์บอนิลบนสายโซ่ C18 ของเฟสคงที่ ODM อีกด้วย [Chowdhury *et al.*: 2000, Fukumoto *et al.*:1994, Malik *et al.*:2008]



รูปที่ 3.8 โครมาโทแกรมของ chlorophenols ทั้งหมด 17 ชนิด โดยใช้คอลัมน์ ODM และ ODS ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 200 μm ยาว 28 cm และใช้เฟสเคลื่อนที่ที่เป็น (a) 70% MeOH และ (b) 70% ACN และภาวะอื่นๆ ดังรูปที่ 3.1

3.4 สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองที่ได้จากการแยกสารกลุ่ม mono- และ di-substituted benzenes รวมทั้งสารกลุ่ม chlorophenols ทั้ง 17 ชนิดบนคอลัมน์ ODM เปรียบเทียบกับคอลัมน์ ODS พบว่าคอลัมน์ ODM ให้การแยกสารประกอบกลุ่มเฮโลเจนได้ดีกว่า ดังนั้นคอลัมน์ ODM จึงน่าจะใช้เป็นอีกคอลัมน์หนึ่งที่เหมาะสมสำหรับการแยกสารประกอบกลุ่มเฮโลเจนชนิดต่างๆ

เอกสารอ้างอิง

- Cabrera K., "Applications of Silica-Based Monolithic HPLC Columns" *Journal of Separation Science* **27** (2004) 843-852.
- Chambers S.D., Glenn K.M., and Lucy C.A. "Developments in Ion Chromatography Using Monolithic Columns" *Journal of Separation Science* **30** (2007) 1628-1645.
- Chowdhury M.A.J., Ihara H., Sagawa T., and Hirayama C., "Retention Versatility of Silica-Supported Comb-Shaped Crystalline and Non-Crystalline Phases in High-Performance Liquid Chromatography" *Journal of Chromatography A* **877** (2000) 71-85.
- Eeltink S., Decrop W.M.C., Rozing G.P., Schoenmakers P.J., and Kok W. Th., "Comparison of the Efficiency of Microparticulate and Monolithic Capillary Columns" *Journal of Separation Science* **29** (2004) 1431-1440.
- Fukumoto T., Ihara H., Sakaki S., Shosenji H., and Hirayama C., "Chromatographic Separation of Geometrical Isomers Using Highly Oriented Polymer-Immobilized Silica Gels" *Journal of Chromatography A* **672** (1994) 237-241.
- Hara T., Kobayashi H., Ikegami T., Nakanishi K., and Tanaka N., "Performance of Monolithic Silica Capillary Columns with Increased Phase Ratios and Small-Sized Domains" *Analytical Chemistry* **78** (2006) 7632-7642.
- Hosoya K., Frechet J.M.J., "Reversed-Phase Chromatographic Properties of Monodispersed Macroporous Particles of Poly(Styrene-Divinylbenzene) Prepared by a Multi-Step Swelling and Polymerization Method" *Journal of Liquid Chromatography* **16** (1993) 353-365.
- Ikegami T., Tomomatsu K., Takubo H., Horie K., and Tanaka N., "Separation Efficiencies in Hydrophilic Interaction Chromatography" *Journal of Chromatography A* **1184** (2008) 474-503.
- Kazakevich Y.V., LoBrutto R., Chan F., and Patel T., "Interpretation of the Excess Adsorption Isotherms of Organic Eluent Components on the Surface of Reversed-Phase Adsorbents: Effect on the Analyte Retention" *Journal of Chromatography A* **913** (2001) 75-87.
- Malik A.K., Rahman M.M., Czaun M., Takafuji M., and Ihara H., "Facile Synthesis of High-Density Poly(Octadecyl Acrylate)-Grafted Silica for Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography by Surface-Initiated Atom Transfer Radical Polymerization" *Journal of Chromatography A* **1187** (2008) 119-127.
- Miyamoto K., Hara T., Kobayashi H., Morisaka H., Tokuda D., Horie K., Koduki K., Makino S., Núñez O., Yang C., Kawabe T., Ikegami T., Takubo H., Ishihama Y., and Tanaka N., "High-Efficiency Liquid Chromatographic Separation Utilizing Long Monolithic Silica Capillary Columns" *Analytical Chemistry* **80** (2008) 8741-8750.
- Motokawa M., Kobayashi H., Ishizuka N., Minakuchi H., Nakanishi K., Jinnai H., Hosoya K., Ikegami T., and Tanaka N., "Monolithic Silica Columns with Various Skeleton Sized and Through-Pore Sizes for Capillary Liquid Chromatography" *Journal of Chromatography A* **961** (2002) 53-63.
- Neue U.D., O'Gara J.E., and Méndez A., "Selectivity in Reversed-Phase Separations: Influence of the Stationary Phase" *Journal of Chromatography A* **1127** (2006) 161-174.

- Núñez O., Ikegami T., Kajiware W., Miyamoto K., Horie K., and Tanaka N., "Preparation of High Efficiency and Highly Retentive Monolithic Silica Capillary Columns for Reversed-Phase Chromatography by Chemical Modification by Polymerization of Octadecyl Methacrylate" *Journal of Chromatography A* **1156** (2007a) 35-44.
- Núñez O., Ikegami T., Miyamoto K., and Tanaka N., "Study of a Monolithic Silica Capillary Column Coated with Poly(Octadecyl Methacrylate) for the Reversed-Phase Liquid Chromatographic Separation of Some Polar and Non-Polar Compounds" *Journal of Chromatography A* **1175** (2007b) 7-15.
- Stella C., Rudaz S., Veuthey J.L., and Tchaplá A., "Silica and Other Materials as Supports in Liquid Chromatography. Chromatographic Tests and Their Importance for Evaluating These Supports. Part I" *Chromatographia* **53** (2001a) S113-S131.
- Stella C., Rudaz S., Veuthey J.L., and Tchaplá A., "Silica and Other Materials as Supports in Liquid Chromatography. Chromatographic Tests and Their Importance for Evaluating These Supports. Part II" *Chromatographia* **53** (2001b) S132-S140.
- Tanaka N., Kinoshita H., Araki M., and Tsuda T., "On-Column Preparation of Chemically Bonded Stationary Phase with Maximum Surface Coverage and High Reproducibility, and Its Application to Packed Microcapillary Columns" *Journal of Chromatography* **332** (1985) 57.
- Tanaka N., Kimata K., Hosoya K., Miyanishi H., and Araki T., "Stationary Phase Effects in Reversed-Phase Liquid Chromatography" *Journal of Chromatography A* **656** (1993) 265-287.
- Turowski M., Morimoto T., Kimata K., Monde H., Ikegami T., Hosoya K., and Tanaka N., "Selectivity of Stationary Phases in Reversed-Phase Liquid Chromatography based on the Dispersion Interactions" *Journal of Chromatography A* **911** (2001) 177-190.
- Turowski M., Yamakawa N., Meller J., Kimata K., Ikegami T., Hosoya K., Tanaka N., and Throntan E.R., "Deuterium Isotope Effects on Hydrophobic Interactions: the Importance of Dispersion Interactions in the Hydrophobic Phase" *Journal of American Chemical Society* **125** (2003) 13836-13849.
- Wilson N.S., Nelson M.D., Dolan J.W., Snyder L.R., Wolcott R.G., and Carr P.W., "Column Selectivity in Reversed-Phase Liquid Chromatography I. A General Quantitative Relationship" *Journal of Chromatography A* **961** (2002) 171-193.