

## ภาคผนวก

### 1. ตัวอย่างการคำนวณ % เลซิธินที่สกัดได้ต่อปริมาณเลซิธินทั้งหมด

การเตรียมสารละลายเลซิธินมาตรฐาน ทำได้โดยชั่ง L-Lecithin 45% มา 0.0597 g ละลายใน  $\text{CHCl}_3$  5 ml

$$\begin{aligned}\dots \text{ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน} &= \frac{0.0597 * 0.45}{5} \\ &= 5.373 * 10^{-3} \text{ g/ml} \\ &= 5.373 \text{ mg/ml} \\ &= 5.373 \text{ } \mu\text{g}/\mu\text{l}\end{aligned}$$

จากรูปที่ 3 ลิควิดโครมาโตแกรมของสารละลายเลซิธินมาตรฐาน มีพื้นที่ใต้พีคเท่ากับ 14344409  $\mu\text{v}/5 \mu\text{l}$  (ฉีดสารละลายเลซิธินมาตรฐาน 5  $\mu\text{l}$ )

$$\begin{aligned}\dots \text{ คิดเป็นปริมาณเลซิธิน} &= 5.373 * 5 \text{ (}\mu\text{g}/\mu\text{l) } \mu\text{l} \\ &= 26.865 \mu\text{g}\end{aligned}$$

ในตัวอย่างการคำนวณนี้เป็นการคำนวณ % เลซิธินที่สกัดได้ต่อปริมาณเลซิธินทั้งหมดซึ่งใช้ 100% เมทานอลในการสกัด ในอัตราส่วนระหว่างเมทานอลต่อน้ำหนักกัมที่ใช้ ที่ 30 โดยการเปรียบเทียบกับสารละลายเลซิธินมาตรฐาน (รูปที่ 3) ซึ่งมีพื้นที่ใต้พีค 14344409  $\mu\text{v}$  คิดเป็นเลซิธิน 26.865  $\mu\text{g}$

จากรูปที่ 8 โครมาโตแกรมของเลซิธินที่ได้จากการใช้ 100% เมทานอลในการสกัด ในอัตราส่วนระหว่างเมทานอลต่อน้ำหนักรวมที่ 30 มีพื้นที่ใต้พีคเท่ากับ 7490898  $\mu\text{v}/5 \mu\text{l}$

$$\begin{aligned}\dots \text{ ในสารละลาย } 5 \mu\text{l} \text{ ปริมาณเลซิธิน} &= \frac{26.865 * 7490898 \mu\text{g} \cdot \mu\text{v}}{14344409 * 5 \mu\text{v} \cdot \mu\text{l}} \\ &= 2.8059 \mu\text{g}/\mu\text{l} \\ &= 2.8059 \text{ mg/ml}\end{aligned}$$

ซึ่งในการสกัดครั้งนี้ใช้กัม 0.1080 g และ 100% เมทานอล 3 ml

$$\begin{aligned}\dots \text{ ปริมาณเลซิธินต่อปริมาตรทั้งหมด} &= \frac{2.8059 * 3 \text{ mg} \cdot \text{ml} \cdot \text{g}}{1000 \text{ ml} \cdot \text{mg}} \\ &= 8.4176 * 10^{-3} \text{ g}\end{aligned}$$

$$\dots \text{ \% เลขชี้คนที่สกัดได้จากน้ำหนักที่ใช้ในการสกัด} = \frac{8.4176 * 10^{-3} * 100}{0.1080}$$

$$= 7.79 \%$$

เนื่องจากก็มีเลขชี้ทั้งหมดคิดเป็น 8.09% (ดูรายละเอียดในหัวข้อที่ 4.2)

$$\dots \text{ เลขชี้คนที่สกัดได้ต่อปริมาณเลขชี้ทั้งหมดคาน้ำหนัก} = \frac{7.79 * 100}{8.09}$$

$$= 96.29 \%$$

ส่วนการคำนวณหา % เลขชี้คนที่สกัดได้ต่อปริมาณเลขชี้ทั้งหมดคาน้ำหนักของตัว  
 หารละลายอินทรีย์อื่นที่เหลือ ก็คำนวณในทำนองเดียวกัน

## 2. High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

High Performance Liquid Chromatography มีชื่อเรียกต่าง ๆ กัน เช่น High Speed (HSLC), High Efficiency (HELIC) และ High Pressure หรือ High Performance (HPLC) โดยทั่วไปแล้วนิยมใช้คำว่า High Performance Liquid Chromatography (HPLC) HPLC เป็นเครื่องมือที่ใช้แยกวิเคราะห์สารผสมทั้งที่มีสีและไม่มีสีออกจากกัน โดยใช้ของไหลที่เคลื่อนที่ผ่านของเหลวเป็น mobile phase ส่วน Stationary phase อาจเป็นของแข็งหรือของเหลวที่เคลือบบนวัสดุที่เป็นของแข็ง

### 2.1 หลักการทั่วไปทางโครมาโตกราฟี

โครมาโตกราฟีเป็นวิธีการแยกสารผสมออกเป็นองค์ประกอบย่อย เราสามารถใช้วิธีการทางโครมาโตกราฟี ในการวิเคราะห์คุณภาพและปริมาณ (qualitative and quantitative analysis) ขององค์ประกอบที่มีอยู่ในสารผสมได้

องค์ประกอบของระบบการแยกสารโดยวิธีโครมาโตกราฟี (Chromatographic system) ประกอบด้วย 3 ส่วนคือ

ก. Stationary phase : เป็นของแข็งหรือของเหลว โดยจับอยู่บนของแข็ง

ข. Mobile phase : เป็นของเหลวหรือก๊าซ

ค. Sample : เป็นของเหลวหรือก๊าซ

สารแต่ละชนิดซึ่งเป็นองค์ประกอบของสารผสมแยกออกจากกันได้ เนื่องจากเกิด interaction กับ stationary phase และ mobile phase ได้ต่างกัน สารใดที่มี equilibrium distribution ใน mobile phase ได้มาก จะเคลื่อนที่ได้เร็วกว่าและถูกแยกออกมาก่อน

Interaction mechanism ที่เกิดขึ้นในระบบ ซึ่งในที่นี้หมายถึง interaction ระหว่าง sample กับ stationary phase sample กับ mobile phase และ sample กับสารที่ทาหน้าที่เป็นตัวพุง (supporting material)

โดยทั่วไปโครมาโตกราฟที่สามารถแบ่งได้ดังนี้

1. Partition
2. Adsorption
3. Ion -Exchange
4. Size Exclusion or Gel permeation

## 2.2 การเรียกชื่อโครมาโตกราฟ

การเรียกชื่อโครมาโตกราฟนี้อาจเรียกโดย

1. เรียกตาม interaction mechanism ที่เกิดขึ้นเช่น Adsorption Chromatography , Partition Chromatography และ Ion - Exchange Chromatography

2. เรียกชื่อตามชนิดของ stationary phase และ mobile phase ตัวอย่างเช่น

Liquid - Liquid Chromatography (LLC) เป็นโครมาโตกราฟที่ซึ่งไอซ์ของเหลวเป็นทั้ง stationary phase และ mobile phase

Liquid - Solid Chromatography (LSC) เป็นโครมาโตกราฟที่ซึ่งของแข็งเป็น stationary phase และไอซ์ของเหลวเป็น mobile phase

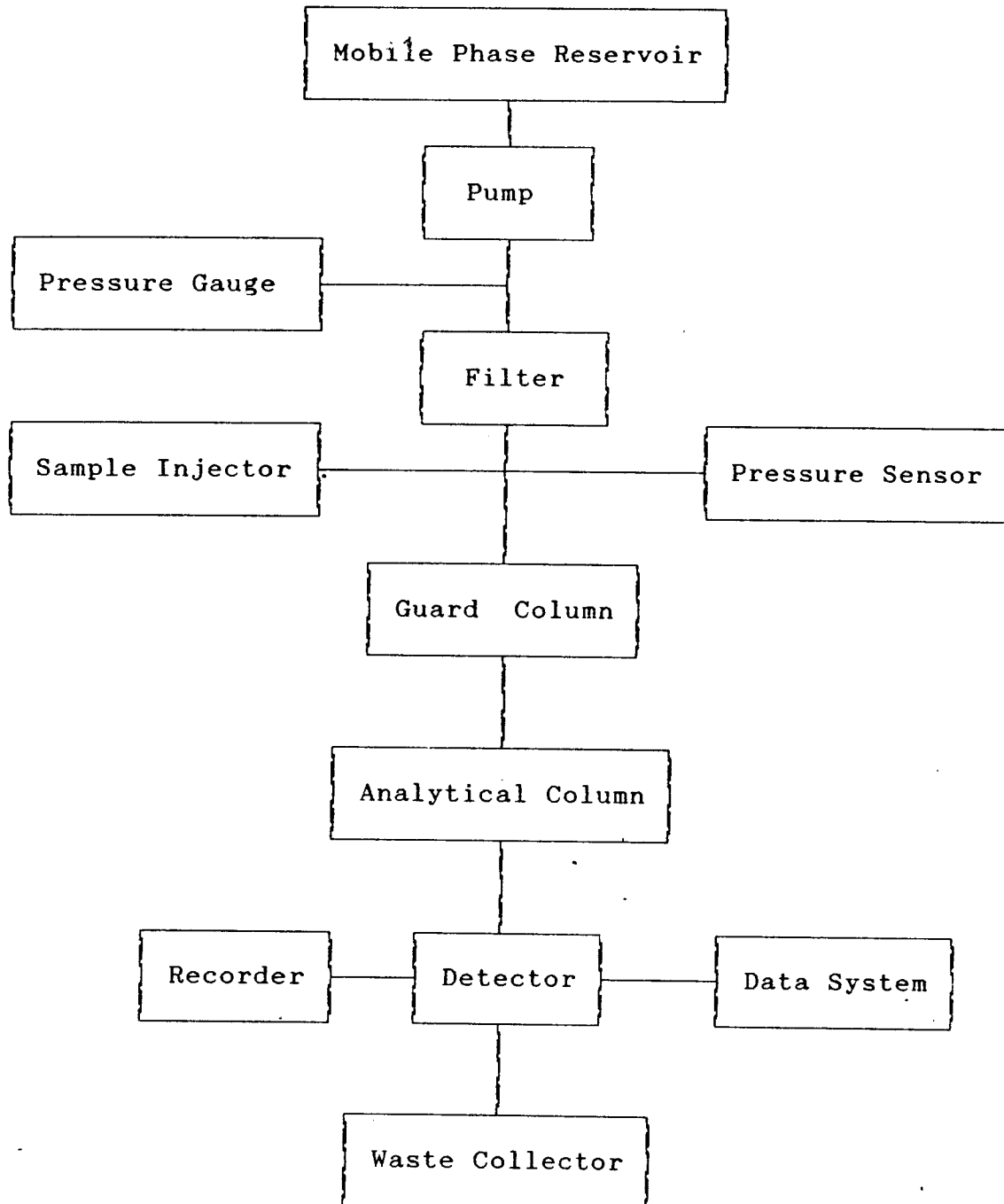
3. เรียกชื่อตามลักษณะอื่นๆ เช่น เรียกตามลักษณะทางกายภาพของ stationary phase ตัวอย่างเช่น Thin Layer Chromatography (TLC), High Performance Liquid Chromatography และ Gas Chromatography (GC) เป็นต้น

## ข้อดีของ HPLC (Advantages of HPLC)

1. Resolution สูง
2. ใช้เวลาในการวิเคราะห์สั้นกว่าโครมาโตกราฟีชนิดอื่น
3. สามารถใช้งานในการวิเคราะห์สารหลายชนิด ที่ไม่อาจวิเคราะห์ได้โดย Gas Chromatography (GC) เช่น วิเคราะห์สารที่มีความสามารถในการระเหย (volatile) ต่ำได้โดยไม่ต้องเตรียมอนุพันธ์ ซึ่งโดยปกติการใช้ GC ในการแยกและวิเคราะห์สารมีข้อจำกัดคือ สารนั้นต้องระเหยได้ในช่วงอุณหภูมิไม่เกิน 250-300 °c และ thermally stable คือไม่สลายตัวเมื่อได้รับความร้อน ข้อจำกัดเหล่านี้ไม่จำเป็นเมื่อใช้ Liquid Chromatography (LC)
4. สามารถใช้ในการวิเคราะห์สารอีนอนิก และสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลตั้งแต่ 50-2 ล้านหน่วย ซึ่งนับว่าเป็นช่วงกว้างมาก สำหรับ GC ไม่สามารถใช้กับสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่า 500 หน่วย

### 2.3 องค์ประกอบของเครื่อง HPLC (HPLC-System)

องค์ประกอบต่างๆของเครื่อง HPLC นั้น ประกอบด้วยส่วนต่างๆที่สำคัญ ดังแสดงในรูปที่ 23



รูปที่ 23 แสดงแผนภาพส่วนประกอบต่างๆของเครื่อง HPLC

### 2.3.1 เฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase)

องค์ประกอบของเฟสเคลื่อนที่เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่สำคัญมาก ในการแยกตัวอย่างออกเป็นองค์ประกอบย่อย ประเภทของสารละลายที่จะใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่อาจเป็นสารละลายอินทรีย์ หรือ aqueous solution ของเกลืออื่นๆ ทั้งนี้ขึ้นกับความเหมาะสมในการแยกสารตัวอย่าง

#### ข้อควรคำนึงเกี่ยวกับเฟสเคลื่อนที่ ที่ใช้กับเครื่อง HPLC

1. ต้องไม่ทำปฏิกิริยากับคอลัมน์หรือสารที่บรรจุอยู่ในคอลัมน์ (packing material)
2. ปราศจากตะกอนหรือฝุ่นผง ซึ่งจะเป็นสาเหตุทำให้เกิดการอุดตันในคอลัมน์ และเมื่อคอลัมน์เกิดอุดตันจะเป็นการเพิ่มความดันให้แก่ระบบ ดังนั้นจึงควรมีการกรองเฟสเคลื่อนที่ด้วยกระดาษกรองที่มีขนาดรูพรุน 0.45 ไมครอน
3. จะต้องทำการกำจัดฟองอากาศในเฟสเคลื่อนที่ก่อนนำใช้ ด้วยเครื่อง ultrasonic bath หรือ vacuum pump
4. เฟสเคลื่อนที่ที่ต้องบริสุทธิ์ปราศจากสิ่งเจือปน ซึ่งรวมถึงพวก preservative และ stabilizer ต่างๆ สำหรับน้ำกลั่นจะต้องปราศจากสารอินทรีย์และเชื้อจุลทรีย์ต่างๆ
5. ต้องเหมาะสมกับชนิดของเครื่องตรวจวัดที่ใช้
6. ปัจจัยอื่นๆ เช่น ราคา ความเป็นพิษ ความหนืด

### 2.3.2 ระบบของปั๊ม (Pump system)

ใน HPLC มีความต้านทานการไหลของเฟสเคลื่อนที่ที่ไหลผ่านคอลัมน์ ซึ่งมีอนุภาคขนาดเล็กบรรจุอยู่ ความต้านทานการไหลที่ว่าจะมากเมื่อใช้อนุภาคเล็กๆ และคอลัมน์มีขนาดเล็กอีกด้วย จึงจำเป็นต้องใช้ความดันที่สูงดันเฟสเคลื่อนที่ให้ไหลไป ปั๊มในระบบ HPLC นี้แบ่งออกได้เป็น 2 ชนิดคือ

ก. mechanical pump เป็นปั๊มที่ควบคุมให้อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่มีคงที่

ข. pneumatic pump เป็นปั๊มที่ควบคุมให้ความดันของการไหลของเฟสเคลื่อนที่มีค่าคงที่

### 2.3.2.1 หลักการเลือก pumping system เพื่อใช้กับเครื่อง HPLC นั้นควรพิจารณาจากสมบัติต่อไปนี้

- บั๊มและส่วนประกอบต่างๆ ควรจะต้องทำด้วยวัสดุที่ทนต่อการสึกกร่อนด้วยตัวทาละลายต่างๆที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ ทั้งนี้รวมทั้ง fitting และ flow cells ด้วย เป็นต้น เช่น ทำด้วยเหล็กไร้สนิมคุณภาพสูง inert polymers เช่น polytetrafluorethylene (PTFE), ruby และ sapphire
- ควรจะต้องสามารถบั๊มเฟสเคลื่อนที่ที่มีปริมาณมากๆได้อย่างต่อเนื่อง โดยไม่มีการขัดข้อง
- สามารถให้ความดันได้ถึง 4000 - 6000 psi เพื่อบั๊มให้เฟสเคลื่อนที่ไหลผ่านคอลัมน์ขนาดเล็ก ยาวขนาด 30 ซม. ซึ่งบรรจุอนุภาคขนาดเล็กได้และอย่างน้อยต้องให้ความดันได้ถึงขนาด 500 psi
- สามารถให้อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ได้สูงถึง 3 มล./นาที เป็นอย่างน้อยและคงที่
- ความคลาดเคลื่อนของการควบคุมการไหลของเฟสเคลื่อนที่ที่ต้องไม่เกิน 1 - 2 %
- ควรจะมีปริมาณภายในต่ำเพื่อความสะอาดและรวดเร็วในการเปลี่ยนเฟสเคลื่อนที่
- ต้องไม่มีพัลส์ (pulse) หรือมีตัวที่ใช้ลดพัลส์ (pulse damper) หรือไม่ทำให้เกิด detector noise

### 2.3.2.2 อุปกรณ์ที่ใช้ตรวจวัดความดัน (Pressure Monitoring Device)

อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับตรวจวัดความดัน ซึ่งอยู่ระหว่างทางเข้าของคอลัมน์กับบั๊ม อุปกรณ์ตรวจวัดนี้จะบอกความดันของเฟสเคลื่อนที่ก่อนเข้าสู่คอลัมน์ ความดันนี้จะเป็นสิ่งที่บอกว่าการอุดตันหรือไม่ หรือการทำงานของปั๊มล้มเหลวหรือไม่ นอกจากนั้นการทราบความดันของเครื่องจะช่วยให้การปรับพารามิเตอร์ต่างๆเป็นไปอย่างเหมาะสมที่สุด

อุปกรณ์ที่ใช้ตรวจวัดความดัน มีอยู่ 2 ชนิดคือ

ก. Pressure transducer หรือ strain guage อุปกรณ์ชนิดนี้ราคาค่อนข้างแพง แต่ให้ความถูกต้องดีและสามารถติดตั้งร่วมกับอุปกรณ์ที่ใช้เตือนเมื่อความต่ำหรือสูงเกินไป หรือติดตั้งร่วมกับเครื่องตัดการทำงานของปั๊ม

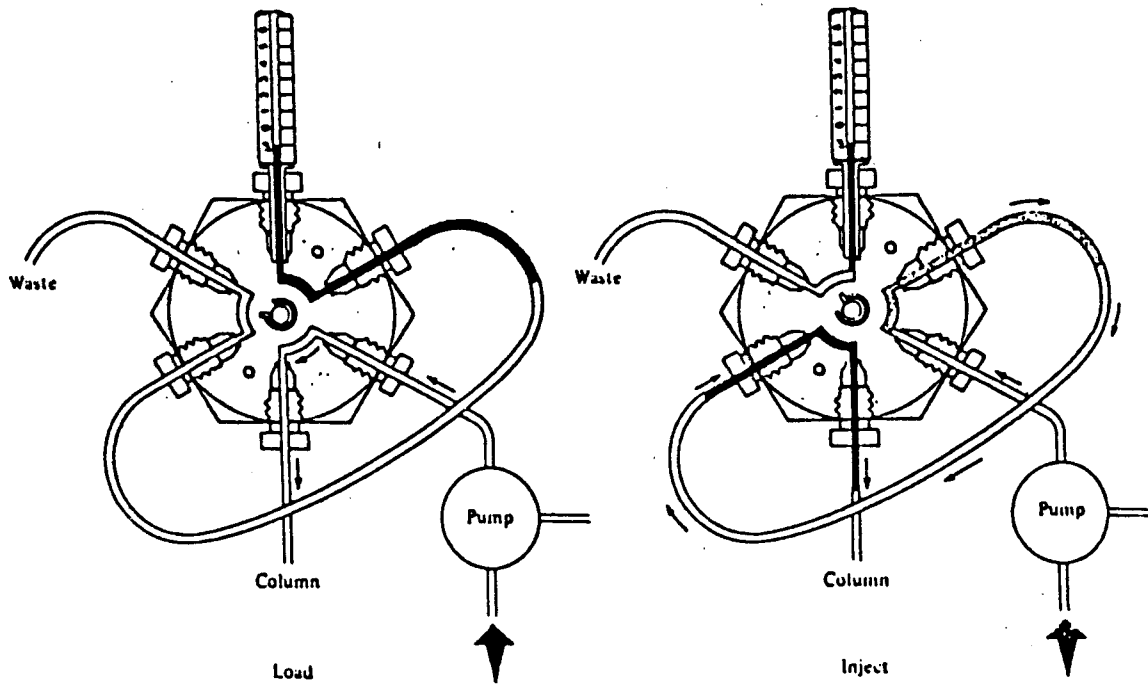
ข. Bourdon tube หรือ diaphragm gauge อุปกรณ์นี้ราคาค่อนข้าง  
ถูก การทำงานก็ให้ความถูกต้องต่ำ และไม่สามารถติดตั้งร่วมกับอุปกรณ์ที่เข้าป้องกัน  
การทำงานผิดพลาดของปั๊มได้

### 2.3.3 Sample Introduction Devices

การผ่านสารตัวอย่างเข้าไปยังคอลัมน์นั้น มีความสำคัญค่อนข้างมากต่อการ  
แยกสาร ทั้งนี้เนื่องจากสารตัวอย่างที่ผ่านเข้าไปในคอลัมน์ ควรจะอยู่ในลักษณะที่  
เป็นแถบที่แคบมากที่สุดเท่าที่จะทำได้ ดังนั้นวิธีการต่างๆที่เข้าใช้จะมีมากมายหลายวิธี  
แต่ที่นิยมมาใช้คือ ใช้ microsampling valve ส่วนวิธีการที่ง่ายที่สุดคือ ใช้วิธีฉีด  
สารตัวอย่างผ่าน septum ด้วย microsyringe และควรต้องระมัดระวังเนื่อง  
จากความดันภายในสูง

#### Microsampling Valve

การผ่านสารตัวอย่างเข้าไปในคอลัมน์ โดยเข้าใช้ microsampling valve  
ดังแสดงในรูปที่ 30 สารตัวอย่างที่ผ่านเข้าไปจะอยู่ในท่อซึ่งอยู่ภายนอกที่ต่อเข้ากับ  
valve นี้ microsampling valve ที่ใช้ยู่ในปัจจุบันสามารถนำมาใช้ได้กับสาร  
ตัวอย่างที่มีขนาดตั้งแต่ 0.5  $\mu$ l จนกระทั่งถึงหลายมิลลิเมตร valve ซึ่งมีท่ออยู่  
ภายนอกยอมให้ฉีดสารตัวอย่างเข้าไปได้ในปริมาณมาก นอกจากนั้น valve  
ประเภทนี้ยังสามารถใช้งานได้ที่ความดันสูงถึง 5000 - 6000 psi โดยไม่เกิด  
รอยรั่ว



รูปที่ 24 แสดง Six-port rotary sample injection valve สำหรับ HPLC ลูกศรแสดงการไหลของตัวทำละลาย

#### 2.3.4 คอลัมน์ (Column)

ตัวคอลัมน์จะทำด้วยแก้ว, โลหะ หรือท่อพลาสติก ในการทำให้อนุภาคอยู่ในคอลัมน์ จะใช้ใยแก้วหรือแผ่นโลหะที่มีรูพรุนปิดทางด้านหนึ่งของคอลัมน์ไว้ จากนั้นเทอนุภาคที่เป็นของแข็งลงไปบนคอลัมน์จนเต็ม ข้อสำคัญจะต้องบรรจุอนุภาคเหล่านั้นให้แน่นและปราศจากช่องว่าง แต่ถ้าอนุภาคที่บรรจุอยู่มีขนาดเล็กกว่า  $100 \mu\text{m}$  จำเป็นต้องใช้บีบช่วยทำให้ตัวทำละลายไหลผ่านคอลัมน์ คอลัมน์ที่ทำด้วยแก้วจะเหมาะกับงานที่ใช้ความดันต่ำๆ หรือพวกคอลัมน์เปิด ส่วนคอลัมน์ที่ทำด้วยโลหะ เช่น เหล็กไร้สนิมจะเหมาะกับงานที่ต้องใช้ความดันสูงๆ เช่น สูงกว่า 70 บรรยากาศ และพวกคอลัมน์เล็กๆที่ทำด้วย fused silica ซึ่งเหมาะสำหรับงานบางประเภทที่ต้องการพื้นผิวเฉื่อย (inert) มากๆ อุณหภูมิของคอลัมน์สามารถควบคุมได้โดยการติดตั้งคอลัมน์ไว้ในส่วนที่เป็นตู้อบ หรือ thermal contact block หรือใช้ water jacket

ในปัจจุบันคอลัมน์ที่จะใช้กับเครื่อง HPLC มีแนวโน้มที่จะเล็กลง ผลของการใช้คอลัมน์ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางภายในเล็กลง ข้อดีของการใช้คอลัมน์ที่มีขนาดเล็กซึ่งเรียกว่า Microbore Column มีดังต่อไปนี้

1. ลักษณะของพีคที่ได้ในโครมาโตแกรมจะมีฐานพีคแคบ (narrow peak width) และเป็นการเพิ่มความสูงของพีค ทั้งนี้คอลัมน์จะต้องไม่ overloaded ซึ่งเท่ากับเป็นการเพิ่มความไวในการตรวจหา แม้สารจะมีน้อยก็สามารถทำการวิเคราะห์ได้

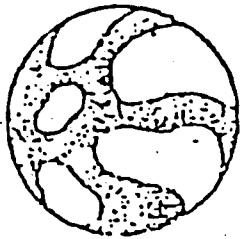
2. ประหยัดตัวทำละลายที่ใช้ ทั้งนี้เพราะการปรับอัตราเร็วของเฟสเคลื่อนที่จะต้องสอดคล้องกับพื้นที่หน้าตัดของคอลัมน์ที่ใช้

3. เครื่องตรวจหา (detector) บางชนิดมีความสามารถเพิ่มขึ้น เพราะการใช้อัตราเร็วของเฟสเคลื่อนที่ต่ำ และปริมาณของสารตัวอย่างที่ใช้น้อย เช่น electrochemical detector เป็นต้น

### 2.3.5 สารที่บรรจุอยู่ในคอลัมน์ (Packing material)

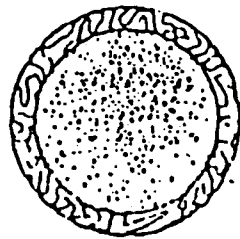
ชนิดของ packing material ที่ใช้งานวิเคราะห์มี 2 ชนิดคือ Pellicular type และ Microparticulate ดังแสดงในรูปที่ 24

## PACKING STRUCTURES



PREPARATIVE  
SEPARATIONS

FULLY POROUS  
HIGH CAPACITY



ANALYTICAL  
SEPARATIONS

PELLICULAR  
HIGH EFFICIENCY



ANALYTICAL &  
PREPARATIVE  
SEPARATIONS

FULLY POROUS  
HIGH SPEED  
HIGH EFFICIENCY

รูปที่ 24 แสดงชนิดของ Packing material ชนิดต่างๆ  
และลักษณะการใช้งาน

- Pellicular type เป็นชนิดที่สามารถควบคุม surface porosity โดยทั่วไปประกอบด้วยของแข็งที่ไม่มีรูพรุนเป็นแกน ซึ่งมักจะใช้ glass bead ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางโดยประมาณ 40  $\mu\text{m}$  และเคลือบด้วยแผ่นฟิล์มบางๆ ชั้นนอก และมีลักษณะเป็นรูพรุน ความหนาชั้นนอกเท่ากับ 1-3  $\mu\text{m}$  ซึ่งอาจเป็นพวก silica gel resin หรือ polyamide ก็ได้

- Microparticulate ส่วนมากมีลักษณะเป็นรูพรุน โดยทั่วไปใช้กับงานวิเคราะห์ และ Semipreparative separation เป็นชนิดที่มีขนาดเล็กประมาณ 5-10  $\mu\text{m}$  การที่มีรูพรุนและพื้นที่ผิวมาก ทำให้มี loading capacity สูงกว่า pellicular type ถึง 10 เท่า แต่มีข้อเสียอื่นๆ เช่น ราคาแพง และการบรรจุอนุภาคชนิดนี้เข้าคอลัมน์ ต้องใช้วิธีพิเศษ นอกจากนี้ยังนำมาใช้เป็นวัสดุที่บรรจุใน guard column เพื่อทำหน้าที่กรองสิ่งเจือปนออกจากสารละลายตัวอย่าง และเพสเคลื่อนที่ที่จะผ่านเข้าไปยังคอลัมน์ ทำให้อายุการใช้งานของคอลัมน์ยาวขึ้น

### 2.3.6 เครื่องตรวจวัด (Detector)

สิ่งที่ต้องการสำหรับเครื่องตรวจวัดคือ ความไวของเครื่องตรวจวัด ซึ่งสามารถทำการตรวจวัดสิ่งๆ ที่ออกมาจากคอลัมน์ได้อย่างต่อเนื่อง ดังนั้นลักษณะที่ต้องการของเครื่องตรวจวัดคือ

- ก. มีความไวสูง และให้สัญญาณตอบรับ (response) ที่คาดคะเนได้
- ข. ให้สัญญาณตอบรับ (response) ได้กับสารทุกชนิด
- ค. ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิและอัตราเร็วของการไหลของเพสเคลื่อนที่
- ง. เชื่อมถือได้และง่ายต่อการใช้งาน
- จ. ความสัมพันธ์ของความเข้มข้น และสัญญาณตอบรับของเครื่องตรวจวัดควรมีสภาพเชิงเส้น (linearity) ในช่วงกว้าง
- ฉ. ไม่ทำลายสารตัวอย่าง
- ช. ให้ข้อมูลเกี่ยวกับคุณภาพวิเคราะห์สำหรับ peak ที่ต้องการตรวจสอบ

## เครื่องตรวจวัดที่นิยมมาใช้แบ่งออกได้เป็น 3 ชนิด

1. UV detector หลักการทำงานของเครื่องตรวจวัดชนิดนี้ อาศัยการดูดกลืนแสงยูวีของสารตัวอย่าง เครื่องชนิดนี้เป็นที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางใน HPLC เพราะเครื่องตรวจวัดนี้มีลักษณะที่พิเศษ คือไม่ไวต่อการเปลี่ยนแปลงของการไหลและอุณหภูมิ แต่ค่อนข้างจะมีความไวสูงกับสารประกอบอินทรีย์เป็นส่วนใหญ่

2. Differential Refractometers เป็นเครื่องที่ได้รับความนิยมมากใน HPLC รองลงมาจากเครื่องยูวี ดีเทคเตอร์ ซึ่งใช้หลักการตรวจสอบความแตกต่างของดรรชนีหักเห (refractive index, RI) อย่างต่อเนื่องระหว่างเฟสเคลื่อนที่กับเฟสเคลื่อนที่ที่มีสารประกอบของตัวถูกละลายอยู่ ขณะผ่านคอลัมน์ เครื่องตรวจวัดชนิดนี้จะมี sensitivity ต่ำที่สุด

3. Fluorescent detector ดีเทคเตอร์ชนิดนี้จะมีสภาพไวสูงและเฉพาะ (selective) เนื่องจากมันมีความสามารถในการวัดฟลูออเรสเซนซ์ที่ได้มาจากตัวถูกละลายบางชนิด เมื่อถูกกระตุ้น (excited) ด้วยแสงยูวี หลักการทำงานของเครื่องคือ แสงยูวีจากแหล่งกำเนิดผ่านเข้าเครื่องแสงหรือโมโนโครมิเตอร์ เพื่อให้ได้แสงที่มีความยาวคลื่นตามต้องการ ผ่านเข้าไปยัง flowcell ที่ใส่สารตัวอย่างที่ออกมาจากคอลัมน์ สารตัวอย่างจะให้ฟลูออเรสเซนซ์ออกมา ซึ่งมีความยาวคลื่นเฉพาะจะผ่านไปยังฟิลเตอร์หรือโมโนโครมิเตอร์ เพื่อตัดแสงที่ไม่ต้องการออก จากนั้นจึงให้แสงผ่านไปยังดีเทคเตอร์ซึ่งเป็นโฟโตเซลล์

ดีเทคเตอร์ชนิดนี้มีประโยชน์มาก เมื่อนำมาใช้ตรวจวัดสารในสารตัวอย่างทางชีวภาพ (biological sample) ต่างๆที่มีปริมาณน้อยๆ เป็นต้น



หอสมุดกลาง มหาวิทยาลัยขอนแก่น