

## บทคัดย่อ

การพิสูจน์เอกลักษณ์สารด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟีสามารถทำได้หลายวิธี แต่ปัญหาที่พบคือการที่สารมากกว่าหนึ่งชนิดมีค่าเวลาเวลาคงค้างใกล้เคียงกัน หรือสารตัวอย่างมีความซับซ้อนทำให้การพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารเกิดความคลาดเคลื่อนหรือผิดพลาดได้ วิธีหนึ่งที่จะลดความผิดพลาดในการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารคือการใช้คอลัมน์สองชนิดที่มีขั้วต่างกันต่อกันแบบอนุกรม ในการศึกษานี้ได้นำเสนอโดย Krisnangkura และคณะ (J. Chromatogr. Sci., 1997, 35: 329-332) มาใช้ในการคำนวณหาค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้าง ( $t_{M1}$  และ  $t_{M2}$ ) ของคอลัมน์สองชนิดที่ต่อแบบอนุกรม (สัดส่วนความยาว 50: 50) เมื่อนำค่า  $t_{M1}$  และ  $t_{M2}$  ไปใช้ในการทำนายค่าเวลาคงค้าง ( $t_R$ ) ของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์มาตรฐาน และจากน้ำมันธรรมชาติ พบว่าค่าที่ทำนายได้ ( $t_{R(cal)}$ ) ใกล้เคียงกับค่าจากการทดลอง ( $t_{R(expl)}$ ) ค่าร้อยละความคลาดเคลื่อนสูงสุดของค่าเวลาคงค้างของสารมาตรฐาน (C16 – C22) เท่ากับ -0.97 ขณะที่ร้อยละความคลาดเคลื่อนสูงสุดของสารธรรมชาติ เท่ากับ 1.63, -2.53, -2.15 และ -2.05 สำหรับ น้ำมันถั่วเหลือง เมล็ดยางพารา รำข้าว และทานตะวัน ตามลำดับ จากผลการทดลองนี้สร้างความมั่นใจว่าสามารถนำสมการทำนายเอกลักษณ์สารซึ่งเสนอโดย Krisnangkura และคณะ มาใช้ในการวิเคราะห์เอกลักษณ์สารในระบบสองคอลัมน์ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรมได้โดยไม่ต้องใช้อ่างอิง และไม่ต้องดัดแปลงเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟีที่มีอยู่เดิม

**คำสำคัญ:** กรดไขมันเมทิลเอสเทอร์/ แก๊สโครมาโตกราฟี/ คอลัมน์แคพิลารีต่อกันในลักษณะอนุกรม/ ค่าเวลาคงค้าง/ ค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้าง

## Abstract

There are several techniques for gas chromatographic identification of organic compounds. However, one of the major problems that still encounter is there are more than one components posing the same retention time or complicated of sample. This may lead to error in the identification. Using two columns of different polarities may reduce error in identification to a certain extent. In this study, equation proposed by Krisnangkura *et al.* (J. Chromatogr. Sci., 1997, 35: 329-332) has been used to predict gas hold-up times ( $t_{M1}$  and  $t_{M2}$ ) of two serially connected (dimension length, 50: 50). The estimated  $t_{M1}$  and  $t_{M2}$  were then used to predict the retention times ( $t_R$ ) of standard and natural derived fatty acid methyl esters (FAMES). There were found that the calculated  $t_R$  ( $t_{R(cal)}$ ) were in good agreement with those of the experimental values ( $t_{R(exp)}$ ). The greatest difference of  $t_R$  for the standard FAMES (C16–C22) was -0.97%. Whilst, the greatest percentage differences of naturally derived FAMES were -1.63, -2.53, -2.15 and -2.05 for soybean, rubber seed, rice bran and sunflower oil, respectively. This study confirms the usefulness of Krisnangkura equation in identification of organic compound separated on two serially coupled capillary columns without using any reference and modification of gas chromatography is not necessary.

**Keywords:** Fatty acid methyl ester/ Gas chromatography/ Two serially coupled capillary columns/ Retention time/ Hold-up time

## สารบัญเรื่อง

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
สารบัญเรื่อง	ค
รายการตาราง	จ
รายการรูปประกอบ	ช
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	ฉ
บทที่	
<b>1. บทนำ</b>	<b>1</b>
1.1 ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	1
1.2 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย	4
1.3 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	6
1.4 ขอบเขตของงานวิจัย	6
1.5 วิธีการดำเนินการวิจัยโดยสรุป	7
1.6 ทฤษฎีและแนวความคิดที่นำมาใช้ในการวิจัย	7
1.6.1 แก๊สโครมาโตกราฟี	7
1.6.2 การวิเคราะห์เอกลักษณ์สาร	17
1.7 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	25
<b>2. วิธีการดำเนินงานวิจัย</b>	<b>26</b>
2.1 สารเคมี	26
2.1.1 สารมาตรฐาน	26
2.1.2 น้ำมันที่ใช้ในการศึกษา	26
2.1.3 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	26
2.1.4 แก๊ส	27
2.2 วัสดุอุปกรณ์	27
2.2.1 แก๊สโครมาโตกราฟี	27
2.2.2 อุปกรณ์อื่นๆ	27
2.3 วิธีการดำเนินการทดลอง	28
2.3.1 การสกัดน้ำมันจากเมล็ดพืช	28
2.3.2 การเตรียมอนุพันธ์เมทิลเอสเทอร์	28
2.3.3 การวิเคราะห์ผลที่ได้จากโครมาโตกราฟี	28
2.3.4 ค่าเวลาคงค้างรวมของสารในสองคอลัมน์ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรม	30
2.3.5 การหาค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้างในคอลัมน์ที่ 1 และคอลัมน์ที่ 2	31

	หน้า
<b>3 ผลการวิจัย</b>	<b>32</b>
3.1 การพิสูจน์เอกลักษณ์กรดไขมันเมทิลเอสเทอร์บนคอลัมน์ SP-2340	32
3.1.1 การหาค่าคงที่ a, b, c และ d ของ FAMES ที่อุณหภูมิคงที่	32
3.1.2 การทดสอบสมการวิเคราะห์เอกลักษณ์สาร	35
3.2 การพิสูจน์เอกลักษณ์กรดไขมันเมทิลเอสเทอร์บนคอลัมน์ BPX-70	38
3.2.1 การหาค่าคงที่ a, b, c และ d ของ FAMES ที่อุณหภูมิคงที่	38
3.2.2 การทดสอบสมการวิเคราะห์เอกลักษณ์สาร	40
3.3 การวิเคราะห์กรดไขมันเมทิลเอสเทอร์บนคอลัมน์ BPX-70 และ SP-2340 ที่ต่อกันแบบ อนุกรมที่อัตราส่วนความยาวร้อยละ 50: 50	42
3.3.1 การคำนวณค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้าง	42
3.3.2 การทำนายเวลาคงค้างของสารมาตรฐาน	43
3.3.3 การหาค่า ECL ของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ชนิดไม่อิ่มตัว	45
3.3.4 การทำนายค่าเวลาคงค้างของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์จากธรรมชาติ	47
<b>4 สรุปและข้อเสนอแนะ</b>	<b>53</b>
4.1 สรุป	53
4.2 ข้อเสนอแนะเกี่ยวกับการวิจัยในขั้นต่อไป	54
4.3 ประโยชน์ในการประยุกต์ของผลงานวิจัยที่ได้	54
<b>เอกสารอ้างอิง</b>	<b>55</b>
ภาคผนวก	55
ผลงานจากโครงการ	79

## สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
1.1 แสดงลักษณะเฉพาะของระบบฉีดสารตัวอย่าง	12
1.2 ข้อมูลของเครื่องตรวจวัดชนิดต่างๆ	16
1.3 ค่า <i>ECL</i> ของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์บางชนิดบนคอลัมน์คาร์โบแวกซ์ 20M และคอลัมน์ไซลาร์ 10 ซี	24
3.1 แสดงค่าเวลาคงค้างไม่ปรับแก้ของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์บนคอลัมน์ SP-2340 อุณหภูมิ 170-200°C	32
3.2 แสดงค่าลอการิทึมธรรมชาติของตัวประกอบคงค้าง $\ln(t_R - t_M)/t_M$ กับจำนวนคาร์บอนและส่วนกลับของอุณหภูมิของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์บนคอลัมน์ SP-2340	34
3.3 แสดงค่าจำนวนคาร์บอนที่คำนวณได้จากสมการ (3.4.1) ของสารมาตรฐานกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์และค่าความแตกต่างบนคอลัมน์ SP-2340	36
3.4 แสดงค่าเวลาคงค้างไม่ปรับแก้ของ FAMEs บนคอลัมน์ BPX-70 ที่อุณหภูมิ 170-200°C	38
3.5 แสดงค่าลอการิทึมธรรมชาติของตัวประกอบคงค้าง $\ln(t_R - t_M)/t_M$ กับจำนวนคาร์บอนและส่วนกลับของอุณหภูมิของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์บนคอลัมน์ BPX-70	39
3.6 แสดงค่าจำนวนคาร์บอนที่คำนวณได้จากสมการ (3.4.2) ของสารมาตรฐานกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ และค่าความแตกต่างบนคอลัมน์ BPX-70	40
3.7 แสดงค่า a, b, c, และ d ของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์บนคอลัมน์ BPX-70 และ SP-2340	41
3.8 ค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้าง ( $t_{MT}$ ) ค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้างของแต่ละคอลัมน์ ( $t_{M1}$ และ $t_{M2}$ ) และ ค่าเวลาคงค้างของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์	44
3.9 แสดงค่า <i>ECL</i> ของคอลัมน์ BPX-70 และคอลัมน์ SP-2340 จากตัวอย่างน้ำมันถั่วเหลือง	46
3.10 แสดงค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้างรวม ( $t_M$ ) และของแต่ละคอลัมน์ ( $t_{M1}$ และ $t_{M2}$ ) และค่าเวลาคงค้างของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ของน้ำมันถั่วเหลือง	48
3.11 แสดงค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้าง ( $t_M$ ) และของแต่ละคอลัมน์ ( $t_{M1}$ และ $t_{M2}$ ) และค่าเวลาคงค้างของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ของน้ำมันเมล็ดงา	49
3.12 แสดงค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้าง ( $t_M$ ) และของแต่ละคอลัมน์ ( $t_{M1}$ และ $t_{M2}$ ) และค่าเวลาคงค้างของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ของน้ำมันรำข้าว	50
3.13 แสดงค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้าง ( $t_M$ ) และของแต่ละคอลัมน์ ( $t_{M1}$ และ $t_{M2}$ ) และค่าเวลาคงค้างของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ของน้ำมันเมล็ดดอกทานตะวัน	51
ผ. ก โครมาโตแกรมของสารมาตรฐานกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์จำนวนคาร์บอน 16-22 บนคอลัมน์ BPX-70 และ SP-2340 ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรมที่อัตราส่วนความยาว 50: 50	59

ตาราง	หน้า
ผ.ค โครมาโตแกรมของน้ำมันเมล็ดยางพาราบนคอลัมน์ BPX-70 และ SP-2340 ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรมที่อัตราส่วนความยาว 50: 50	67
ผ.ง โครมาโตแกรมของน้ำมันรำข้าวบนคอลัมน์ BPX-70 และ SP-2340 ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรมที่อัตราส่วนความยาว 50: 50	71
ผ.จ โครมาโตแกรมของน้ำมันเมล็ดดอกทานตะวันบนคอลัมน์ BPX-70 และ SP-2340 ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรมที่อัตราส่วนความยาว 50: 50	75

## สารบัญภาพ

รูป	หน้า
1.1 แสดงระบบแคพิลลารีสองคอลัมน์	4
1.2 แสดงองค์ประกอบของเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ	8
1.3 เครื่องฉีดสารแบบปล่อยสารทิ้งบางส่วน/ ไม่ปล่อยสารทิ้ง (split/ spitless injector)	11
1.4 เครื่องตรวจวัดแบบเฟลมไอออนไนซ์เซชัน	17
1.5 แสดงการวัดหาค่าเวลาคงค้างต่างๆ ของโครมาโตแกรม	19
1.6 แสดงการวิเคราะห์เพื่อตรวจพิสูจน์สารต่างๆ ในตัวอย่าง	20
1.7 ผลกระทบจากการใช้ขนาดของสารตัวอย่างต่อค่าเวลาคงค้าง	20
1.8 กราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างจำนวนคาร์บอนกับค่า log (เวลาคงค้าง) ของสาร ในอนุกรมเดียวกัน	22
2.1 แผนผังการดำเนินการทดลอง	28
3.1 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐานกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ที่ฉีดบนคอลัมน์ SP-2340	37
3.2 แสดงโครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน ที่ฉีดบนคอลัมน์ BPX-70	41
3.3 Microsoft Excel Worksheet แสดงตัวอย่างการคำนวณค่า $t_{M1}$ , $t_{M2}$ และ $t_{R1}$ , $t_{R2}$ ของกรด ไขมันเมทิลเอสเทอร์ (C16) บนคอลัมน์ BPX-70 ต่ออนุกรมกับคอลัมน์ SP-2340 สัดส่วนความยาว 50: 50 ที่อุณหภูมิคอลัมน์ 200°C	43
3.4 Microsoft Excel Worksheet แสดงตัวอย่างการหาค่า $ECL$ ของคอลัมน์ BPX-70 ที่ 180°C จากตัวอย่างน้ำมันถั่วเหลือง	45
ก.1 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐานกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์บนคอลัมน์ BPX-70 และ SP- 2340 ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรมที่อัตราส่วนความยาว 50: 50 ที่อุณหภูมิ 170°C	59
ก.2 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐานกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์บนคอลัมน์ BPX-70 และ SP- 2340 ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรมที่อัตราส่วนความยาว 50: 50 ที่อุณหภูมิ 180°C	60
ก.3 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐานกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์บนคอลัมน์ BPX-70 และ SP- 2340 ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรมที่อัตราส่วนความยาว 50: 50 ที่อุณหภูมิ 190°C	61
ก.4 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐานกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์บนคอลัมน์ BPX-70 และ SP- 2340 ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรมที่อัตราส่วนความยาว 50: 50 ที่อุณหภูมิ 200°C	62
ข.1 โครมาโตแกรมของน้ำมันถั่วเหลืองบนคอลัมน์ BPX-70 และ SP-2340 ที่ต่อกันในลักษณะ อนุกรมที่อัตราส่วนความยาว 50: 50 ที่อุณหภูมิ 170°C	63
ข.2 โครมาโตแกรมของน้ำมันถั่วเหลืองบนคอลัมน์ BPX-70 และ SP-2340 ที่ต่อกันในลักษณะ อนุกรมที่อัตราส่วนความยาว 50: 50 ที่อุณหภูมิ 180°C	64



## คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

$ECL$	=	ความยาวคาร์บอนเทียบเท่า
$I$	=	Kovat's index
$K$	=	สัมประสิทธิ์การแบ่งละลาย (Partition Coefficient)
$k$	=	ตัวประกอบคงค้าง (Retention Factor)
$P_i$	=	inlet pressure
$P'$	=	pressure at junction
$P_o$	=	out pressure
$z$	=	จำนวนคาร์บอน
$R$	=	ค่าคงตัวของแก๊ส (Universal gas constant)
$T$	=	อุณหภูมิสัมบูรณ์ (เคลวิน)
$t_M$	=	เวลาคงค้างของสารไม่คงค้าง (Hold up time)(นาที)
$t_R$	=	เวลาคงค้างไม่ปรับแก้ของสารตัวอย่าง (Unadjusted retention time) (นาที)
$\beta$	=	ค่าอัตราส่วนระหว่างปริมาตรของวัฏภาคเคลื่อนที่ต่อปริมาตรของวัฏภาคนิ่ง (Phase ratio)
$\delta H$	=	ค่าเอนทัลปีของการละลายที่เปลี่ยนแปลงไปต่อหนึ่งหน่วยเมทิลิน
$\delta S$	=	ค่าเอนโทรปีของการละลายที่เปลี่ยนแปลงไปต่อหนึ่งหน่วยเมทิลิน
$\Delta G^0$	=	พลังงานอิสระมาตรฐานของการละลาย
$\Delta H^0$	=	ค่าเอนทัลปีมาตรฐานของการละลาย
$\Delta S^0$	=	ค่าเอนโทรปีมาตรฐานของการละลาย