

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

แก๊สโครมาโตกราฟีเป็นเทคนิคหนึ่งของการวิเคราะห์ด้วยวิธีโครมาโตกราฟี สามารถใช้แยกสารผสมออกจากกันได้ดี และมีความเหมาะสมในงานด้านการวิเคราะห์เชิงคุณลักษณะ (characterization) ของสารโดยสามารถทำได้หลายวิธี เช่น จากการศึกษาของ James และ Martin [1] ใช้ค่าเวลาคงค้างหรือปริมาตรคงค้าง Evans และ Smith [2] ใช้ค่ายึดเหนี่ยวสัมพัทธ์ (relative retention;  $\alpha$ ) Kovats [3] ใช้ค่าดัชนีคงค้าง (retention index;  $I$ ) และ Miwa และคณะ [4] ใช้ค่าความยาวคาร์บอนเทียบเท่า (Equivalent chain length;  $ECL$ ) วิเคราะห์เอกลักษณ์สาร ซึ่งแต่ละวิธีมีข้อจำกัดคือจะต้องวิเคราะห์ที่สถานะคงที่ นอกจากนี้แล้วสารสองตัวหรือมากกว่าอาจจะมีค่าเวลาคงค้างใกล้เคียงกัน กรณีเช่นนี้จะทำให้การวิเคราะห์เอกลักษณ์สารคลาดเคลื่อนไป

อย่างไรก็ตามปัญหาที่เกิดขึ้นในการนำเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟีไปประยุกต์ใช้ในปัจจุบันคือ เมื่อสารที่เป็นองค์ประกอบที่ต้องการแยกในตัวอย่างเดียวกันนั้น มีความคล้ายคลึงกัน จะทำให้ถูกชะออกจากคอลัมน์ในเวลา (retention time) ที่ใกล้เคียงกัน เป็นเหตุให้การอ่านผลจากโครมาโตแกรมว่าพีก (peak) ที่ปรากฏอยู่นั้นเป็นสารใดชนิดพลาดหรือคลาดเคลื่อนได้

จึงได้มีการนำแคพพิลลารีคอลัมน์สองชนิดที่มีวัฏภาคหนึ่งต่างกันมาต่อกันเพื่อใช้ในการวิเคราะห์สารอินทรีย์ผสมหลายชนิด (complex organic compounds) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการแยกสารของคอลัมน์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารผสมที่ไม่สามารถแยกออกจากกันบนคอลัมน์เดี่ยวๆ เพียงชนิดใดชนิดหนึ่ง และทำให้การวิเคราะห์เอกลักษณ์ของสารด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟีมีความสะดวกและแม่นยำมากยิ่งขึ้นเพื่อเพิ่มความมั่นใจในการพิสูจน์ว่าสารประกอบที่ได้จากการแยกด้วยแก๊สโครมาโตกราฟีนั้นเป็นสารใดโดยการวิเคราะห์สารประกอบนั้นด้วยคอลัมน์สองชนิดที่มีความมีขั้ว (polarity) แตกต่างกันมาต่อกันแบบอนุกรม

ปัญหาที่เกิดขึ้นในการนำเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟีไปประยุกต์ใช้ในปัจจุบัน คือเมื่อสารที่เป็นองค์ประกอบที่ต้องการแยกในตัวอย่างเดียวกันนั้นมีความคล้ายคลึงกัน จะทำให้ถูกชะออกจากคอลัมน์ในเวลา (retention time) ที่ใกล้เคียงกัน เป็นเหตุให้การอ่านผลจากโครมาโตแกรม (chromatogram) ว่าพีก (peak) ที่ปรากฏอยู่นั้นเป็นสารใดชนิดพลาดหรือคลาดเคลื่อนได้ การนำแคพพิลลารีคอลัมน์สองชนิดที่มีวัฏภาคหนึ่งต่างกันมาต่อกันเพื่อใช้ในการวิเคราะห์สารอินทรีย์ผสมหลายชนิด (complex organic compounds) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการแยกสารของคอลัมน์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารผสมที่ไม่สามารถแยกออกจากกันบนคอลัมน์เดี่ยวๆ เพียงชนิดใดชนิดหนึ่ง และทำให้การวิเคราะห์เอกลักษณ์ของสารด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟีมีความสะดวกและแม่นยำมากยิ่งขึ้น เพื่อเพิ่มความมั่นใจในการพิสูจน์ว่าสารประกอบที่ได้จากการแยกด้วยแก๊สโครมาโตกราฟีนั้นเป็นสารใดโดยการวิเคราะห์สารประกอบนั้นด้วยคอลัมน์สองชนิดที่มีความมีขั้ว (polarity) แตกต่างกันมาต่อกันแบบอนุกรม

โดยในปี ค.ศ. 1958 McFadden [5] เป็นคนแรกที่ทำการศึกษาเกี่ยวกับการต่อคอลัมน์โครมาโตกราฟีแบบแพ็ค (packed column) โดยทำการเปรียบเทียบระบบวัฏภาคหนึ่งด้วยกัน 3 แบบ ดังนี้ (a) ผสมวัฏภาคหนึ่ง (stationary phase) แล้วนำไปเคลือบบนวัสดุรองรับ (b) ผสมวัสดุรองรับที่มีวัฏภาคหนึ่งต่างกัน

(c) ต่อคอลัมน์ที่มีวิภูภาคหนึ่งต่างกัน ซึ่งจากผลการทดลองสรุปได้ว่า วิภูภาคหนึ่งทั้ง 3 แบบ ให้ผลการแยกสารที่เหมือนกัน ต่อมา Barnard และ Hughes [6] สรุปผลการทดลองแตกต่างจาก McFadden โดยพบว่าวิธี (b) มีประสิทธิภาพดีกว่า (c) ส่วน Primavesi [7] สรุปผลการทดลองสอดคล้องกับ McFadden แต่แตกต่างจาก Barnard และ Hughes โดยไม่พบความแตกต่างระหว่างวิธี (b) และ (c) ในปีเดียวกันนี้เอง Rohrschneider [8] ได้ทำการทดลองต่อคอลัมน์ที่มีวิภูภาคหนึ่งต่างกัน หรือวิธี (c) ตาม McFadden เพื่อใช้ทดสอบการทำนายค่าเวลาคงค้าง ซึ่งประสบความสำเร็จขั้นหนึ่งในขอบเขตที่จำกัด Maier และ Karpathy [9] ยืนยันผลการเปรียบเทียบวิภูภาคหนึ่งทั้ง 3 แบบ โดยสรุปว่า ค่าเวลาคงค้างของวิธี (c) แตกต่างจาก (a) และ (b) แต่ในขณะนั้นยังไม่สามารถทำนายค่าเวลาคงค้างในระบบ (c) ได้ ในปีเดียวกันนี้เอง Zhukhovitskii และคณะ [10] ยืนยันผลการทดสอบวิภูภาคหนึ่งทั้ง 3 แบบพบว่า ผลการทดลองสอดคล้องกับ Maier และ Karpathy [9] และ Singliar และคณะ [11] ซึ่งพบว่า ค่าเวลาคงค้างของวิธี (c) แตกต่างจากวิธีอื่นๆ และค่าเวลาคงค้างขึ้นอยู่กับทิศทางไหลของแก๊สตัวพา นอกจากนี้แล้ว ยังได้เสนอทฤษฎีเบื้องต้นว่า เวลาคงค้างสัมพันธ์กับสัดส่วนของวิภูภาคหนึ่ง แต่อย่างไรก็ตามทฤษฎีดังกล่าวก็ยังไม่สมบูรณ์

ในปี ค.ศ. 1960 Singliar และคณะ [11] พบว่าค่าเวลาคงค้างสัมพัทธ์ (relative retention times) ขึ้นอยู่กับทิศทางไหลของแก๊สตัวพา ซึ่งต่อมา Hilderbrand และ Reilley [12] ได้เสนอแนวทฤษฎีใหม่ ซึ่งมักถูกใช้เป็นพื้นฐานในการอ้างอิงในงานวิจัยอื่นๆ แต่อย่างไรก็ตาม ทฤษฎีดังกล่าวก็ยังไม่มีการพัฒนาจนกระทั่งในปี ค.ศ.1980 Buys และ Smuts [13] ได้เสนอแนวทฤษฎีที่นอกเหนือไปจาก Hilderbrand และ Reilley [12] และมีรูปแบบที่เหมาะสมขึ้น

ความสนใจในการใช้วิภูภาคหนึ่งที่ต่างกันมาต่อกันเริ่มใหม่อีกครั้ง เมื่อเล็งเห็นศักยภาพการใช้แคพิลลารีคอลัมน์มาต่อกัน โดยในปี ค.ศ.1982 Ingraham และคณะ [14] เป็นผู้ริเริ่มการต่อแคพิลลารีคอลัมน์ และมีงานวิจัยที่ศึกษาอย่างต่อเนื่อง และพบว่าไม่สามารถใช้ทฤษฎีของ Buys และ Smuts [13] ในการทำนายอัตราส่วนความยาวคอลัมน์ที่เหมาะสม ต่อมา Purnell และ Williams [15] และงานวิจัยต่อเนื่อง [16-18] ได้พัฒนาทฤษฎีจนสามารถนำไปใช้ทำนายอัตราส่วนความยาวที่เหมาะสม และความยาวคอลัมน์ที่พอเหมาะ นอกจากนั้น Purnell และ Williams [17] ยังทดสอบระบบวิภูภาคหนึ่ง โดยพบว่าวิธี (b) มีประสิทธิภาพดีกว่าวิธี (a) นอกจากนั้นยังพบว่าการต่อแคพิลลารีคอลัมน์ให้ประสิทธิภาพดีกว่าวิธี (b) Purnell และ Williams [15] ยังได้แสดงให้เห็นว่า ตัวประกอบคงค้างไม่มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงกับอัตราส่วนความยาวคอลัมน์ (length fraction;  $L1 = \frac{L1}{L1+L2}$  เมื่อ  $L1, L2$  เป็นความยาวคอลัมน์ที่ 1 และ 2 ตามลำดับ ) แสดงสัญลักษณ์ได้ดังนี้  $k \neq I_1 k_1 + I_2 k_2$  ทั้งนี้เนื่องมาจากอิทธิพลของ gas compressibility และลำดับการต่อคอลัมน์ การสลับลำดับคอลัมน์ก่อนหลังมีผลต่อค่า  $k$  ของแต่ละคอลัมน์ เนื่องจากอัตราการไหลของแก๊สในคอลัมน์ที่ใกล้ injector (inlet end) ไม่เท่ากับฝั่งที่ใกล้ detector (outlet end) และได้เสนอสมการโดยพิจารณาขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายในคอลัมน์ ( $r$ ) ใส่ไว้ในสมการ ดังนี้

$$k = \frac{t_{M1} + t_{M2}k_2}{t_{M1} + t_{M2}} = \frac{P'k_1 + k_2}{P' + 1} \quad (1.1)$$

$$P' = \frac{t_{M1}}{t_{M2}} = \left(\frac{r_1}{r_2}\right)^6 \left(\frac{p_i^3 - p^3}{p^3 - p_o^3}\right) \quad (1.2)$$

เมื่อ  $p_i$  คือ inlet pressure  
 $P'$  คือ pressure at junction  
 $p_o$  คือ outlet pressure

สร้างความสัมพันธ์  $k$  ในสมการ (1.1) ใหม่ ดังนี้

$$k = f_1 k_1 + f_2 k_2 \quad (1.3)$$

$$f_1 + f_2 = 1 \quad (1.4)$$

$$f_1 = \frac{P'}{P'+1} = \frac{t_{M1}}{t_M} \quad (1.5)$$

เมื่อ  $f_1, f_2$  เป็น weighting factors ของคอลัมน์ที่ 1 และ 2 ตามลำดับ

ในปี ค.ศ. 1985 Purnell และ Williams [16] ขยายผลการศึกษาการต่อคอลัมน์ เพื่อหาอัตราการไหลของแก๊สที่พอเหมาะ ซึ่งจะทำให้สามารถแยกสารผสมออกจากกันได้ในเวลาสั้นที่สุด โดยเลือกใช้คอลัมน์แบบแพค เนื่องจากสะดวกและประหยัดค่าใช้จ่าย สามารถปรับสัดส่วนวัสดุรองรับได้ตามที่ต้องการ และนำกลับมาใช้ใหม่ได้ ต่อมาในปี ค.ศ.1990 Jones และ Purnell [19] ทำนายค่าเวลาคงค้างบนแคพิลลารีคอลัมน์ที่ต่อกัน และศึกษาอัตราส่วนความยาวคอลัมน์ที่เหมาะสม ทำนายค่าเวลาคงค้างโดยสมการที่ (1.6)

$$k = \frac{P k_1 + k_2}{P+1} \quad (1.6)$$

$$P = \left[ \frac{L_2 R_{F2}}{L_1 R_{F1}} \right] \left[ \frac{V_{M1}}{V_{M2}} \right]^2 \left[ \frac{p_i^3 - p_o^3}{p^3 - p_o^3} \right] \quad (1.7)$$

เมื่อ  $R_{F1}, R_{F2}$  คือ Resistance to gas flow per unit length of column 1 และ 2 ตามลำดับ  
 $V_{M1}, V_{M2}$  คือ Total column free volume หรือ mobile phase volume ของคอลัมน์ที่ 1 และ 2 ตามลำดับ

$$\text{หาค่า } R_{F1}, R_{F2} \text{ จากความชันของกราฟระหว่าง } t_M \text{ และ } \left[ \frac{p_i^3 - p_o^3}{(p_i^2 - p_o^2)^2} \right] \text{ ของแต่ละคอลัมน์}$$

จากความสัมพันธ์ดังสมการที่ (1.8)

$$t_M = \frac{2LR_F}{3} \left[ \frac{(p_i^3 - p_o^3)}{(p_i^2 - p_o^2)^2} \right] \quad (1.8)$$

หาค่า  $V_{M1}, V_{M2}$  ของแต่ละคอลัมน์ โดยวิธีมีเทน เพื่อหาค่า  $t_M$  แล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณตามสมการที่ (1.9)

$$V_M = jF_c t_M \quad (1.9)$$

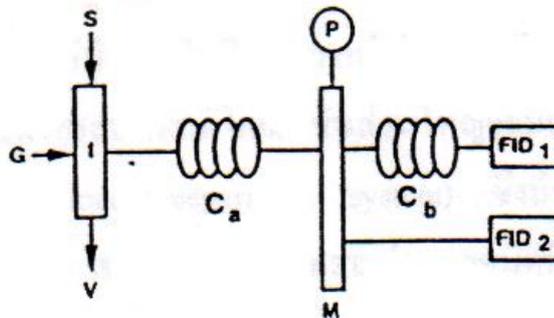
เมื่อ  $j$  คือ James-Martin compressibility factor ;  $j = \frac{3}{2} p_o \left[ \frac{p_i^2 - p_o^2}{p_i^3 - p_o^3} \right]$

$F_c$  คือ Fully corrected volumetric flow rate at the column temperature  
หาค่า  $p$  ได้จากสมการที่ (1.10)

$$p^2 = \left[ \frac{p_i^2 - l_1 \left[ p_i^2 - (V_{M2} R_{F1} / V_{M1} R_{F2}) p_o^2 \right]}{1 - l_1 \left[ 1 - (V_{M2} R_{F1} / V_{M1} R_{F2}) \right]} \right] \quad (1.10)$$

การทำนายค่า  $k$  ให้ถูกต้องขึ้นกับตัวแปร  $P$  ซึ่งหาจาก pressure ที่จุดต่างๆ Jones และ Purnell [19] แนะนำว่าการหาค่า pressure ที่จุดต่างๆ ให้ถูกต้อง โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ความดันต่ำๆ ต้องใช้ pressure regulator ที่แม่นยำมากๆ ผลการเปรียบเทียบ regulator ระหว่าง gauge pressure และ manometer พบว่า manometer มีความถูกต้องมากกว่า การทำนายค่า  $k$  โดยวิธีนี้ค่อนข้างยุ่งยากเนื่องจากต้องหาค่า pressure at junction point ซึ่งค่านี้จะแปรตามอัตราส่วนความยาวคอลัมน์ นอกจากนี้ถ้าเปลี่ยนอุณหภูมิจะต้องทำการทดลองหาค่า  $k_1$  และ  $k_2$  ใหม่ เนื่องจากค่า  $k$  แปรตามอุณหภูมิ

การหาค่า  $k$  จากสมการที่ (1.3) สามารถหาค่า  $t_{M1}$  จากการทดลองสามารถหาค่าได้โดยตรง เมื่อติดตั้งเครื่องตรวจวัดตัวที่ 2 เพิ่มขึ้นโดยต่อระหว่างคอลัมน์ที่ 1 และ 2 ดังแสดงในรูปที่ 1.1



รูปที่ 1.1 แสดงระบบแคพิลลารีสองคอลัมน์ [20]

## 1.2 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

การวิเคราะห์เอกลักษณ์สารด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟีที่สภาวะอุณหภูมิคงที่ สามารถทำได้หลายวิธี เช่นจากการศึกษาของ James และ Martin [1] ใช้ค่าเวลาคงค้างหรือปริมาตรคงค้าง Evans และ Smith [2] ใช้ค่ายึดเหนี่ยวสัมพัทธ์ (relative retention,  $\alpha$ ) Kovats [3] ใช้ค่าดัชนีคงค้าง (retention index,  $I$ ) และ Miwa และคณะ [4] ใช้ค่าความยาวคาร์บอนเทียบเท่า (Equivalent chain length; ECL) วิเคราะห์เอกลักษณ์สาร ซึ่งแต่ละวิธีมีข้อจำกัดคือจะต้องวิเคราะห์ที่สภาวะคงที่ นอกจากนี้แล้วสารสองชนิดหรือมากกว่าอาจจะมีค่าเวลาคงค้างใกล้เคียงกัน กรณีเช่นนี้จะทำให้การวิเคราะห์เอกลักษณ์สารคลาดเคลื่อนไป ด้วยเหตุนี้ Yabumoto และคณะ [21] จึงได้พัฒนาวิธีการวิเคราะห์

เอกลักษณ์สารด้วยคอลัมน์สองชนิดที่มีความเร็วต่างกัน ซึ่งจะช่วยลดความผิดพลาดลงได้ระดับหนึ่ง เนื่องจากโอกาสที่สารสองชนิดจะมีค่าเวลาคงค้างที่ใกล้เคียงกันเมื่อวิเคราะห์ด้วยทั้งสองคอลัมน์นั้นเป็นไปได้ยาก แต่ในทางปฏิบัติจริงนั้นการวิเคราะห์ด้วยคอลัมน์สองชนิดจะไม่สะดวก กล่าวคือต้องใช้เวลาในการวิเคราะห์ที่เพิ่มมากขึ้นอย่างน้อยสองเท่า รวมไปถึงการเปลี่ยนคอลัมน์สลับกันไปมาอาจทำให้เกิดข้อผิดพลาดได้ง่าย เป็นต้น และนอกจากนี้วิธีของ Yabumoto และคณะ [21] เป็นการเปรียบเทียบค่า ECL ซึ่งยังคงต้องใช้สารมาตรฐานอ้างอิงอย่างน้อย 2 ชนิดเสมอ

จากวิธีการวิเคราะห์เอกลักษณ์ที่กล่าวมานั้น ทุกวิธีจำเป็นต้องใช้สารอ้างอิงทุกครั้งในการวิเคราะห์ ต่อมา Krisnangkura และคณะ [22] ได้นำคุณสมบัติทางเทอร์โมไดนามิกส์มาใช้ในการวิเคราะห์เอกลักษณ์สารโดยแสดงเป็นสมการความสัมพันธ์ระหว่างค่าลอการิทึมธรรมชาติของตัวประกอบคงค้างกับอุณหภูมิและจำนวนคาร์บอนอะตอมของสาร ดังสมการที่ (1.11)

$$\ln k = a + bz + \frac{c}{T} + \frac{dz}{T} \quad (1.11)$$

เมื่อ a, b, c และ d คือค่าคงที่ของคอลัมน์ โดย

$$a = \frac{\Delta S_0}{R} - \ln \beta, \quad b = \frac{\delta S}{R}, \quad c = -\frac{\Delta H_0}{R}, \quad d = -\frac{\delta S}{R}$$

$$k = \text{ค่าตัวประกอบคงค้างมีค่าเท่ากับ } \left( \frac{t_R - t_M}{t_M} \right)$$

$t_M$  = ค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้าง

$t_R$  = ค่าเวลาคงค้าง (ไม่ปรับแก้) ของสารตัวอย่าง

$T$  = อุณหภูมิคอลัมน์ (เคลวิน)

$z$  = จำนวนคาร์บอนหรือค่าความยาวคาร์บอนเทียบเท่า

$\Delta H_0$  = ค่าเอนทัลปีของการละลายของสารตัวอย่างที่มีจำนวนคาร์บอนเป็นศูนย์ (หมู่ฟังก์ชัน)

$\delta H$  = ค่าเอนทัลปีของการละลายที่เปลี่ยนแปลงไปต่อหนึ่งหน่วยเมทิลีน

$\Delta S_0$  = ค่าเอนโทรปีของการละลายของสารตัวอย่างที่มีจำนวนคาร์บอนเป็นศูนย์ (หมู่ฟังก์ชัน)

$\delta S$  = ค่าเอนโทรปีของการละลายที่เปลี่ยนแปลงไปต่อหน่วยเมทิลีน

$R$  = ค่าคงที่ของแก๊ส (Universal gas constant)

$\beta$  = อัตราส่วนระหว่างปริมาตรของวัฏภาคเคลื่อนที่ต่อปริมาตรของวัฏภาคนิ่ง

มีค่าเท่ากับ  $(V_M/V_S)$

จากสมการนี้สามารถใช้วิเคราะห์เอกลักษณ์สารได้อย่างถูกต้อง โดยไม่ต้องใช้สารอ้างอิงได้นำไปใช้ในการวิเคราะห์เอกลักษณ์สารตัวอย่าง 4 หมู่ฟังก์ชัน ได้แก่ กรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ กรดไฮดรอกซีเมทิลเอสเทอร์ ไขมันแอลกอฮอล์ และสารนอร์มัล-อัลเคน ได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ สมการนี้มีความจำเพาะต่อชนิดของหมู่ฟังก์ชันของสารและชนิดของคอลัมน์ดังนั้นสมการ (1.11) น่าจะเป็นสมการกำหนดการเคลื่อนที่สารในแก๊สโครมาโตกราฟี นั่นคือ เมื่อทราบค่าคงที่ a, b, c, d และจำนวนคาร์บอนอะตอมของสารได้ชัดเจน ก็น่าจะนำไปใช้ในการทำนายค่าเวลาคงค้างของสารที่อุณหภูมิต่างๆ ได้ ในทางกลับกันหากรู้ค่าเวลาคงค้าง และอุณหภูมิของการทำโครมาโตกราฟี ก็จะสามารถหาค่าจำนวนคาร์บอน (z) ได้เช่นกัน

การนำคอลัมน์แคพิลลารีสองชนิดที่มีวัฏภาคนิ่งต่างกันต่อกันในลักษณะอนุกรมโดยคอลัมน์แรกเป็นคอลัมน์ชนิดไม่มีหัวที่มีความยาวของคอลัมน์ปกติ ต่อกับคอลัมน์ที่สองซึ่งเป็นคอลัมน์ที่มีหัวสูงและ

เป็นคอลัมน์สั้น ในระบบที่เรียกว่า comprehensive two-dimensional GC (GCxGC) [23] สามารถเพิ่มกำลังการแยกสุทธิของการแยกสารได้สูง สามารถวิเคราะห์สารในธรรมชาติที่มีองค์ประกอบซับซ้อนได้ แต่ความยุ่งยาก และสิ้นเปลืองของระบบ GCxGC นี้คือจำเป็นจะต้องดัดแปลงเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟีโดยติดตั้งอุปกรณ์พิเศษระหว่างแคพิลลารีคอลัมน์ทั้งสอง เช่นระบบ thermal modulator [24] หรือ cryogenic modulator [25, 26] อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์เอกลักษณ์สารในระบบ GCxGC ก็จำเป็นต้องใช้สารอ้างอิง หรือต้องต่อพ่วงกับ mass spectrometer โดยมี software พิเศษที่ใช้ในการอ่านและแปลผลจากโครมาโตแกรม 3 มิติ

ศิริธร ทับแสงทอง [27] ได้พิสูจน์เอกลักษณ์กรดไขมันเมทิลเอสเทอร์โดยใช้คอลัมน์สองชนิดที่มีหัวต่างกันต่อกันแบบขนาน โดยสารที่ถูกฉีดผ่านอินเจกเตอร์ (injector) จะถูกแยกเข้าคอลัมน์สองคอลัมน์ที่ต่อกันแบบขนาน และทำนายการเคลื่อนที่ของสารด้วยสมการ (1.11) ได้อย่างแม่นยำภายในเวลารวดเร็วเนื่องจากไม่ต้องฉีดสารซ้ำสองครั้ง อย่างไรก็ตามข้อด้อยของวิธีการนี้คือจำเป็นต้องใช้เครื่องตรวจวัด 2 เครื่อง

ด้วยเหตุดังกล่าวงานวิจัยนี้ จึงได้ทดลองฉีดสารกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์มาตรฐาน และสารธรรมชาติ บนคอลัมน์แคพิลลารีสองชนิดที่มีวิฎภาคหนึ่งใกล้เคียงกัน และต่อกันในลักษณะอนุกรมด้วย glass sealed column connector เพื่อต้องการทำนายค่าเวลาคงค้างของสารที่แยกได้โดยไม่ต้องใช้สารอ้างอิง และไม่ต้องดัดแปลงเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟีที่มีอยู่เดิม

### 1.3 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

เพื่อพิสูจน์เอกลักษณ์สารกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์บนคอลัมน์สองชนิดที่มีสภาพหัวใกล้เคียงกันต่อกันแบบอนุกรมโดยใช้สมการทำนายเอกลักษณ์สาร

### 1.4 ขอบเขตของงานวิจัย

- 1.4.1 ฉีดสารมาตรฐานกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ (Fatty acid methyl ester; FAME) ที่มีความยาวของสายคาร์บอน 16-22 อะตอม บนคอลัมน์ BPX-70 (70% cyanopropyl polysilphenylene-siloxane, 0.25 mm. ID. x 30 m, L. x 0.25  $\mu$ m, d<sub>f</sub>) และคอลัมน์ SP-2340 (100% poly (bis-cyanopropyl siloxane)), 0.25 mm. ID. x 23 m, L. x 0.20  $\mu$ m, d<sub>f</sub>)
- 1.4.2 หาค่าคงตัว (a, b, c และ d) ของคอลัมน์ทั้งสองชนิด ตามวิธีของ Krisnangura และคณะ [22]
- 1.4.3 ต่อคอลัมน์ BP-70 และ SP-2340 ในอัตราส่วนความยาว 50: 50 (15: 15 m) ในลักษณะอนุกรมด้วย Quick-Sealed column connector จากนั้นทำการวิเคราะห์สารมาตรฐาน FAME และสาร FAME ที่เตรียมจากน้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันรำข้าว น้ำมันเมล็ดยางพารา และน้ำมันทานตะวัน ที่ความดัน และอุณหภูมิต่างๆ
- 1.4.4 คำนวณค่า column fraction ของทั้งสองคอลัมน์จากค่าเวลาคงค้างของสารมาตรฐาน
- 1.4.5 คำนวณค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้าง (hold-up time;  $t_M$ )
- 1.4.6 ทำนายค่าเวลาคงค้าง (Retention time;  $t_R$ ) ของสารมาตรฐาน และสารธรรมชาติ แล้วเปรียบเทียบผลที่ได้

## 1.5 วิธีการดำเนินวิจัยโดยสรุป

- 1.5.1 ฉีดสารมาตรฐานกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ที่มีความยาวคาร์บอน 16-22 อะตอม ที่สภาวะอุณหภูมิคงที่บนคอลัมน์ BPX-70 และคอลัมน์ SP-2340 เก็บข้อมูลค่าเวลาคงค้างของสาร เพื่อนำมาคำนวณค่าคงตัวของคอลัมน์
- 1.5.2 ฉีดสารตัวอย่างกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ที่เตรียมได้จากน้ำมันของเมล็ดพืชต่างๆ ได้แก่ น้ำมันถั่วเหลือง เมล็ดยางพารา ทานตะวัน และน้ำมันรำข้าว ที่สภาวะเดียวกันกับข้อ 1.5.1
- 1.5.3 ต่อคอลัมน์ทั้งสองชนิดกันแบบอนุกรม
- 1.5.4 ฉีดสารในข้อ 1.5.1 และ 1.5.2 เข้าไปในคอลัมน์
- 1.5.5 คำนวณ และเปรียบเทียบค่าเวลาคงค้างของกรดไขมันแต่ละชนิดที่ได้จากการทดลองเทียบกับค่าจากการคำนวณ

## 1.6 ทฤษฎีและแนวความคิดที่นำมาใช้ในการวิจัย

### 1.6.1 แก๊สโครมาโตกราฟี (Gas chromatography, GC)

โครมาโตกราฟีได้ถูกค้นพบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1906 โดยนักวิทยาศาสตร์ชาวรัสเซีย ชื่อ Michael Tswett เทคนิคนี้ได้นำมาใช้ในการแยกและวิเคราะห์องค์ประกอบของสารผสม ต่อมาได้มีการพัฒนาเทคนิคและวิธีการของโครมาโตกราฟีเพื่อให้การวิเคราะห์ทำได้ดีขึ้นจนกระทั่งได้นำเทคนิคและวิธีการวิเคราะห์หลายชนิด ซึ่งแก๊สโครมาโตกราฟีเป็นวิธีการทางโครมาโตกราฟีวิธีหนึ่ง [28]

#### 1.6.1.1 หลักการของแก๊สโครมาโตกราฟี

แก๊สโครมาโตกราฟีเป็นเครื่องมือที่ใช้สำหรับแยกสารผสมออกจากกัน และมีการใช้กันอย่างกว้างขวางเนื่องจากมีความสามารถในการแยก และวิเคราะห์สารตัวอย่างที่มีองค์ประกอบซับซ้อนได้ และให้ผลที่เที่ยงตรงรวดเร็วกว่าลิควิดโครมาโตกราฟี (Liquid Chromatography) โดยเทคนิคนี้ใช้แยกสารที่สามารถเปลี่ยนให้เป็นไอได้ที่อุณหภูมิคอลัมน์เท่านั้นถ้าสารนั้นระเหยเป็นไอยาก การวิเคราะห์อาจใช้เทคนิคอื่นเข้ามาช่วย เช่น อาศัยปฏิกิริยาเคมีเปลี่ยนให้เป็นอนุพันธ์อื่นๆ ที่ทำให้สารระเหยเป็นไอได้ง่าย หรืออาจใช้หลักการแยกสลายด้วยความร้อน (pyrolysis) ดังนั้นวิธีการของแก๊สโครมาโตกราฟีจึงเป็นเทคนิคที่ใช้ในการแยกสารประกอบอินทรีย์เป็นส่วนใหญ่เพราะสารประกอบอินทรีย์สามารถกลายเป็นไอได้ง่าย และใช้สำหรับการวิเคราะห์สารอนินทรีย์ง่าย ๆ บางชนิด เช่น  $O_2$ ,  $CO_2$ ,  $NO$ , และ  $SO_2$  เป็นต้น สารเหล่านั้นจะผ่านเข้าไปยังคอลัมน์ที่บรรจุด้วยวัฏภาคนิ่ง (stationary phase) โดยอาศัยการพาของวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) หรือแก๊สตัวพา (carrier gas) ที่ซึ่งสารผสมเหล่านั้นเกิดการแยกขึ้น จากนั้นทำการตรวจสอบโดยอาศัยการตรวจวัดจากเครื่องตรวจวัด (detector)

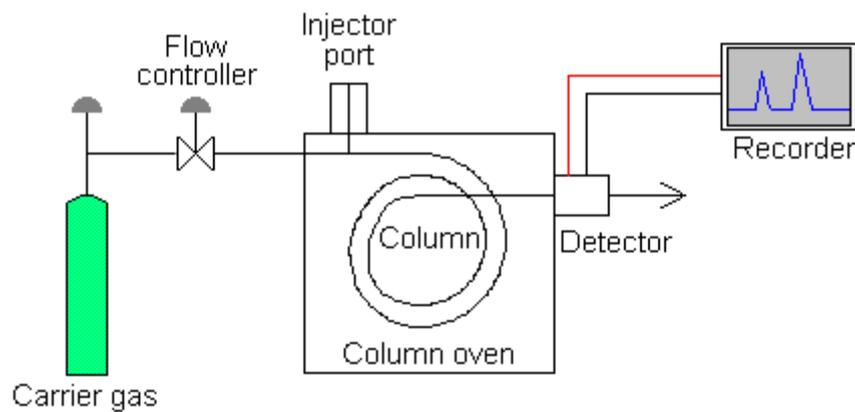
#### 1.6.1.2 แก๊สโครมาโตกราฟีมีเทคนิคในการวิเคราะห์ 2 วิธี คือ

1.6.1.2.1 โครมาโตกราฟีแบบแก๊ส-ของแข็ง (Gas-Solid Chromatography; GSC) คุณสมบัติการแยกสารขึ้นอยู่กับความสามารถในการดูดซับ (adsorptivity) เทคนิคนี้วัฏภาคนิ่งเป็นของแข็งที่สามารถดูดซับ (adsorption) สารที่เป็นแก๊สซึ่งต้องการแยกได้ และไม่มีสารอื่นใดเคลือบอยู่ วิธีนี้จะใช้แยกเฉพาะสารที่เป็นแก๊สหรือสารที่มีขนาดโมเลกุลเล็กเท่านั้น โดยคอลัมน์จะบรรจุด้วยแอคทีฟโซลิด (active solids) เช่น โมเลกุลาสีฟ (molecular sieves) หรือพอลิเมอร์ที่มีรูพรุน (porous polymer) ซิลิกาเจล (silica gel) อะลูมินา (alumina) และถ่านกัมมันต์ (activated carbon) เป็นต้น

1.6.1.2.2 โครมาโตกราฟีแบบแก๊ส-ของเหลว (Gas-Liquid Chromatography; GLC) คุณสมบัติการแยกสารมักขึ้นกับการแบ่งละลาย (partition) ระหว่างแก๊ส และของเหลวที่เคลือบวัสดุภาคนิ่ง เทคนิคนี้เมื่อสารที่เป็นแก๊สหรือไอของสารผสมเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์จะสามารถแยกออกจากกันได้ด้วยการกระจายตัวที่แตกต่างกันของสารตัวอย่างระหว่างวัสดุภาคนิ่งที่เคลือบอยู่กับวัสดุภาคนิ่งที่เป็นของเหลวเคลือบอยู่ที่ผนังด้านในของคอลัมน์ หรือของเหลว (liquid phase) เคลือบอยู่บนสารรองรับ (solid support) ซึ่งสารตัวอย่างแต่ละชนิดมีสัมพรรคภาพ (affinity) หรือมีค่าสัมประสิทธิ์การแบ่งส่วน (partition coefficient) ต่างกัน

### 1.6.1.3 องค์ประกอบของเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี

องค์ประกอบของเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟีแสดงดังรูปที่ 1.2



รูปที่ 1.2 แสดงองค์ประกอบของเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี

- (1) แก๊สที่ใช้บรรจุแก๊สตัวพา (carrier gas) เพื่อจะพาไอของสารตัวอย่างผ่านเข้าไปยังคอลัมน์ แก๊สตัวพาที่นิยมใช้กัน ได้แก่ ไนโตรเจน ฮีเลียม และอาร์กอน เป็นต้น
- (2) ส่วนที่ใช้ควบคุมการไหลของแก๊สต่าง ๆ (flow controller) ได้แก่ ไฮโดรเจน อากาศ และไนโตรเจน เป็นต้น
- (3) ส่วนที่จะฉีดสารตัวอย่างเข้าไป (injection port)
- (4) คอลัมน์ (column) เป็นส่วนที่สำคัญที่สุดใช้สำหรับแยกสารหมายถึง ท่อแก้ว หรือโลหะที่บรรจุสารบรรจุ (packing material) หรือเคลือบวัสดุภาคนิ่งเรียบร้อยแล้ว
- (5) ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (oven) ให้กับคอลัมน์
- (6) เครื่องตรวจวัด (detector) เป็นส่วนที่ใช้สำหรับตรวจวัดสารแต่ละชนิดที่ถูกแยกออกมาจากคอลัมน์
- (7) ส่วนที่ใช้ประมวลผลและข้อมูลต่างๆ ได้แก่ อินทิเกรเตอร์ (integrator) เครื่องบันทึกโครมาโตแกรม (chromatogram recorder) ดาต้าโปรเซสเซอร์ (data processor) หรือคอมพิวเตอร์ (computer)

ลักษณะการทำงานของเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี เริ่มจากการเลือกสภาวะต่างๆ ในการวิเคราะห์ และจัดสภาวะของเครื่องให้พร้อม ฉีดสารตัวอย่างเข้าที่อินเจคเตอร์ สารจะกลายเป็นไอแล้วถูกพาเข้าไป

ในคอลัมน์ด้วยแก๊สตัวพาอย่างช้าๆ สารผสมจะถูกแยกออกเป็นส่วนๆ ที่บริเวณคอลัมน์แล้วออกไปสู่เครื่องตรวจวัดเกิดสัญญาณซึ่งเครื่องบันทึกผล (recorder) จะแสดงออกมาในรูปโครมาโตแกรม หรืออาจต่อเข้ากับเครื่องพิมพ์ (printer) หรือ อินทิเกรเตอร์ ทำให้ผู้วิเคราะห์สามารถทราบองค์ประกอบของสารตัวอย่างได้

#### 1.6.1.4 การเลือกสภาวะการทำงานของเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี

1.6.1.4.1 ระบบการฉีดสารตัวอย่าง (sample injection system)

1.6.1.4.2 คอลัมน์ (column)

1.6.1.4.3 ตัวตรวจวัด (detector)

##### 1.6.1.4.1 ระบบฉีดสารตัวอย่าง

การฉีดสารตัวอย่างเข้าคอลัมน์ จะใช้สารตัวอย่างในปริมาณน้อยที่สุดที่เครื่องตรวจวัดสามารถตรวจวัดได้ และฉีดสารอย่างรวดเร็ว ถ้าสารตัวอย่างอยู่ในสถานะของเหลวจะถูกเปลี่ยนเป็นแก๊สก่อนเข้าคอลัมน์ด้วยความร้อนตรงส่วนที่ฉีดสารตัวอย่าง เทคนิคการนำสารตัวอย่างเข้าสู่คอลัมน์มีหลายวิธี ถ้าสารตัวอย่างเป็นของเหลวสามารถนำเข้าสู่คอลัมน์ได้โดยใช้เข็มฉีด (syringe) ชนิดละเอียด ตามปกติสารตัวอย่างที่ใช้ในแก๊สโครมาโตกราฟีจะเป็นของเหลวหรือของแข็งที่อุณหภูมิห้อง เมื่อฉีดสารตัวอย่างเข้าไปก่อนเข้าสู่คอลัมน์จะถูกเปลี่ยนให้เป็นไออย่างรวดเร็วบริเวณที่เรียกว่าแชมเพิลแชมเบอร์ (sample chamber) บริเวณนี้จะมีอุณหภูมิสูงกว่าจุดเดือดของสารตัวอย่าง แต่ต้องไม่สูงจนทำให้สารตัวอย่างเกิดการสลายตัวได้จากนั้นแก๊สตัวพาจะพาสารตัวอย่างเข้าสู่คอลัมน์

กรณีที่เป็นคอลัมน์แบบแคพิลลารี (capillary column) คอลัมน์ชนิดนี้จะถูกเคลือบด้วยวัฏภาคของเหลว (liquid phase) เพียงเล็กน้อย ทำให้สามารถฉีดสารตัวอย่างได้ในระดับที่ความเข้มข้นต่ำกว่าระดับ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และใช้แก๊สตัวพาในอัตรา 0.75 ถึง 2.0 มิลลิลิตรต่อนาที ซึ่งเป็นอัตราการไหลที่ช้ามากเมื่อทำการฉีดสารเข้าไปโดยตรง ด้วยเหตุนี้ทำให้มีการพัฒนาเทคนิคต่างๆ สำหรับคอลัมน์ชนิดนี้ เช่น การฉีดสารผ่านเข้าไปโดยตรง (direct) การฉีดลงบนคอลัมน์ (on-column) การฉีดลงบนคอลัมน์ขณะเย็น (cool on-column) การฉีดแบบปล่อยสารทิ้งบางส่วน (splitter) และการใช้โปรแกรมของอุณหภูมิในการทำให้สารกลายเป็นไอ

##### เทคนิคของการฉีดแบบปล่อยสารทิ้งบางส่วน (Split injection)

เนื่องจากการฉีดสารตัวอย่างที่มีจำนวนน้อยมาก (0.001-0.5 ไมโครลิตร) เข้าสู่คอลัมน์แบบแคพิลลารีนั้นทำได้ค่อนข้างยาก ดังนั้นจำเป็นต้องมีระบบการปล่อยสารบางส่วนทิ้งออกไปก่อนที่จะเข้าสู่คอลัมน์ ตัวอย่างจะถูกฉีดเข้าไป และระเหยกลายเป็นไอ ตัวอย่างที่กลายเป็นไอบางส่วนถูกปล่อยออกไปทางช่องระบาย (split vent) จำนวนตัวอย่างที่เข้าสู่คอลัมน์จะขึ้นอยู่กับค่าอัตราส่วนการปล่อยสาร (split ratio) ซึ่งมีค่าตั้งแต่ 10:1 ถึง 1000:1

$$\text{Split ratio} = \frac{\text{Split vent flow} + \text{Column flow}}{\text{Column flow}} \quad (1.12)$$

ตัวอย่างเช่น ฉีดตัวอย่าง 0.1 ไมโครลิตร และใช้อัตราส่วนการปล่อยสาร 100:1 แสดงว่าตัวอย่างที่เข้าสู่คอลัมน์ เท่ากับ 0.001 ไมโครลิตร ตัวอย่างที่เหลือถูกปล่อยออกไปสู่บรรยากาศทางช่องระบาย การฉีดตัวอย่างแบบนี้จะใช้สำหรับการวิเคราะห์สารที่มีความเข้มข้นมากโดยไม่ต้องเจือจางตัวอย่างด้วยตัวทำละลาย (solvent)

เทคนิคนี้มีข้อดี คือ - ไม่ต้องมีเข็มฉีดชนิดพิเศษ

- สามารถควบคุมปริมาตรของตัวอย่างได้จากลิ้นควบคุมการปล่อยสาร
- เมื่อใช้อัตราการไหลของแก๊สตัวพาสูงจะได้พีคที่แคบ
- เป็นเทคนิคที่ง่ายและสะดวกต่อการใช้งาน

- ข้อจำกัดของเทคนิคนี้ คือ
- สามารถนำมาใช้กับคอลัมน์ที่มีประสิทธิภาพสูงอย่างคอลัมน์รูเล็กได้
  - ไม่เหมาะกับสารที่มีจุดเดือดสูงมาก ๆ
  - วิธีในการฉีดอาจให้ผลไม่ถูกต้องได้
  - ไม่เหมาะกับการวิเคราะห์สารที่มีปริมาณต่ำมาก ๆ (trace analysis) เนื่องจากมีเพียงบางส่วนที่ผ่านเข้าไปในคอลัมน์เท่านั้น
  - ไม่เหมาะกับสารที่ไม่ทนความร้อนบางชนิด
  - อุณหภูมิของส่วนที่ฉีด (injector) ต้องสูงพอที่จะทำให้เกิดการระเหยทันที

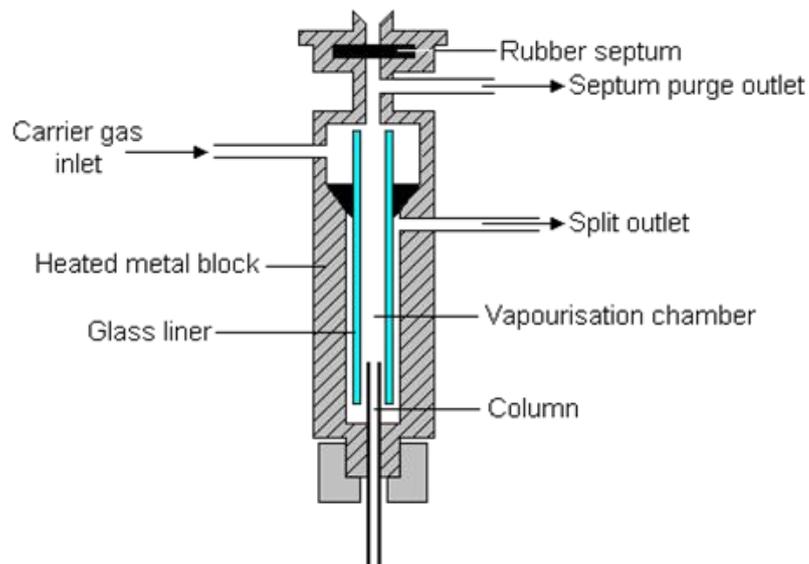
### เทคนิคของการฉีดแบบไม่ปล่อยสารทิ้ง (Splitless injection)

การฉีดตัวอย่างโดยวิธีนี้ใช้สำหรับตัวอย่างที่มีความเข้มข้นน้อยมาก (diluted sample) เหมาะสำหรับวิเคราะห์สารปริมาณน้อยๆ ความเข้มข้นของสารสำหรับการฉีดแบบนี้ ในคอลัมน์แบบแคพิลลารีมีค่าประมาณ 0.1 พีพีเอ็ม (ppm) ตัวอย่างจะถูกฉีดเข้าคอลัมน์โดยไม่มีการระบายทิ้งออกไป ลักษณะของช่องฉีดสารแบบไม่ปล่อยสารทิ้งจะเหมือนกับในตัวฉีดแบบปล่อยสารทิ้งบางส่วน (split injector) แต่สิ่งที่ต่างกันคือลิ้นควบคุมการปล่อยสาร (split valve) จะปิดเมื่อทำการฉีดสารผ่านเข้ามา ดังนั้นสารที่ฉีดผ่านเข้ามานี้จะผสมรวมกับตัวทำละลายที่กลายเป็นไอ (volatile solvent) ทำให้เกิดการเจือจางขึ้นก่อนที่จะผ่านเข้ามาในคอลัมน์หลังจากนั้นประมาณ 45-60 วินาที ลิ้นควบคุมการปล่อยสารจะเปิดเพื่อทำการไล่สารที่อาจตกค้างอยู่ในส่วนของช่องฉีดสาร ลักษณะของอินเจคเตอร์แบบปล่อยสารทิ้ง และไม่ปล่อยสารทิ้งบางส่วน แสดงดัง [รูปที่ 1.3](#)

- เทคนิคนี้มีข้อดี คือ
- ให้ความไวดีกว่าเทคนิคการฉีดแบบปล่อยสารทิ้งบางส่วน
  - สามารถใช้ช่องฉีดสารร่วมกับตัวฉีดแบบปล่อยสารทิ้งบางส่วนได้
  - สามารถทำการทดลองที่ อุณหภูมิต่ำกว่าในระบบฉีดแบบไม่ปล่อยสารทิ้งได้ในกรณีที่เป็นตัวอย่างชนิดเดียวกัน
  - ได้การแยกของสารที่ดี (high resolution)

- ข้อจำกัดของเทคนิคนี้ คือ
- ต้องเลือกตัวทำละลายและการตั้งโปรแกรมอุณหภูมิ เพื่อปรับแบน (band) ของตัวอย่างให้เหมาะสม
  - เทคนิคนี้จะให้ผลดีกับการวิเคราะห์เชิงปริมาณเท่านั้น
  - ต้องใช้โปรแกรมอุณหภูมิและใช้อุณหภูมิเริ่มต้นต่ำ (ไม่มีการให้ความร้อน) ก่อนทำให้ได้ผลค่อนข้างช้า
  - ต้องมีการปรับเปลี่ยนค่าต่าง ๆ ของเครื่องเพื่อให้ได้ผลที่ดี

### The split / splitless injector



รูปที่ 1.3 เครื่องฉีดสารแบบปล่อยสารทิ้งบางส่วน/ ไม่ปล่อยสารทิ้ง (split/ splitless injector)

#### เทคนิคของการฉีดลงบนคอลัมน์ขณะเย็น (Cool on-column)

การฉีดตัวอย่างวิธีนี้ตัวอย่างจะไม่มีภาระระเหยกลายเป็นไอ ตัวอย่างที่เข้าสู่คอลัมน์จะอยู่ในสภาพของเหลวเนื่องจากมีระบบการทำความเย็น (cooling) การฉีดสารตัวอย่างชนิดนี้เหมาะสำหรับงานวิเคราะห์ปริมาณ (quantitative) เนื่องจากมีความแม่นยำและมีความถูกต้องดีมาก ช่วยลดปัญหาการสูญเสียตัวอย่าง (mass discrimination) อันเนื่องมาจากเข็มฉีดตัวอย่าง ลดปัญหาพีคแปลกปลอม (ghost peak) ที่เกิดจากการรั่วของ septum แต่ข้อเสียของการฉีดตัวอย่างแบบนี้คือสารที่ไม่สามารถระเหยกลายเป็นไอในตัวอย่างจะจับกับคอลัมน์ และสะสมกันมากขึ้นซึ่งจะทำให้สูญเสียประสิทธิภาพของคอลัมน์ เป็นวิธีที่ให้ผลถูกต้องที่สุดการฉีดสารตัวอย่างเข้าในคอลัมน์โดยใช้เทคนิคนี้จะคำนึงถึงหลัก 3 ประการด้วยกันคือ

- การฉีดสารจะต้องกระทำที่อุณหภูมิต่ำกว่าจุดเดือดของตัวทำละลายเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการกลายเป็นไอของตัวทำละลายในขณะฉีดสาร
  - การฉีดสารจะต้องกระทำด้วยความรวดเร็ว
  - ปริมาณของสารตัวอย่างที่จะฉีดเข้าไปควรมีขนาด 2 ไมโครลิตร หรือน้อยกว่า แต่ถ้าใช้สารตัวอย่างมากกว่านี้จะทำให้ความกว้างของแถบโครมาโตแกรม (band width) ที่จุดเริ่มต้นกว้าง

ตารางที่ 1.1 แสดงลักษณะเฉพาะของระบบฉีดสารตัวอย่างแบบ split, splitless และ on-column

Split	Splitless	On-column
1. ใช้วิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (major component analysis)	1. ใช้วิเคราะห์สารปริมาณน้อยๆ (trace analysis)	1. ใช้วิเคราะห์สารปริมาณน้อยๆ (trace analysis)
2. ใช้เป็นเทคนิคการระเหยสารตัวอย่างรวดเร็ว	2. ใช้เป็นเทคนิคการระเหยสารตัวอย่างรวดเร็ว	2. ใช้เป็นเทคนิคฉีดสารแบบเย็น โดยสารที่ฉีดจะไม่เป็นไอ
3. เป็นเทคนิคฉีดสารอย่างรวดเร็ว	3. เป็นเทคนิคฉีดสารช้า ๆ	3. เป็นเทคนิคฉีดสารอย่างรวดเร็ว
4. ใช้ระบบฉีดอัตโนมัติได้	4. ใช้ระบบฉีดอัตโนมัติได้	4. ใช้ฉีดด้วยมือ (manual)
5. ใช้กับงานประจำ	5. ใช้กับวิธีการยุ่งยาก	5. ใช้กับงานประจำ
6. ใช้หาปริมาณทางอ้อม	6. ใช้หาปริมาณได้โดยตรง	6. ใช้หาปริมาณได้โดยตรง

#### 1.6.1.4.2 คอลัมน์ (Column)

คอลัมน์ที่ใช้ในแก๊สโครมาโตกราฟีมี 2 ชนิด คือ

##### คอลัมน์แบบแพค (Packed column)

เป็นคอลัมน์ชนิดแรกที่ถูกพัฒนามาใช้กับแก๊สโครมาโตกราฟี ในช่วงแรกๆ คอลัมน์ส่วนใหญ่ผลิตโดยใช้วัสดุพวก stainless steel มีลักษณะเป็นหลอดที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางภายในประมาณ 1-8 มิลลิเมตร มีความยาวตั้งแต่ 2-20 เมตร ถ้ามีความยาวมากๆ ตัวคอลัมน์จะถูกขดเป็นวงกลม (coil) เพื่อให้บรรจุลงในเตาอบ (oven) ได้ แต่เนื่องจากผนังของคอลัมน์ชนิดนี้เป็นโลหะซึ่งจะมีผลทำให้คุณสมบัติของสารตัวอย่างบางชนิด เช่น กรดไขมัน เปลี่ยนแปลงมีผลต่อความถูกต้องในการวิเคราะห์ ต่อมาจึงได้มีการพัฒนาคอลัมน์ชนิดที่ทำด้วยแก้ว เนื่องจากเฉื่อยต่อการเกิดปฏิกิริยา และแก้วที่ใช้ก็มีลักษณะใสจึงทำให้ผู้ใช้ทราบว่ามีสารบรรจุ (packing material) (สารรองรับที่มีของเหลวที่ทำหน้าที่เป็นวัฏภาคนิ่งเคลือบ) ที่บรรจุอยู่ในคอลัมน์เกิดการอัดแน่น หรือมีช่องว่างเกิดขึ้นในระหว่างใช้งานหรือมีความเสียหายของสารบรรจุสามารถสังเกตได้ง่าย ดังนั้นคอลัมน์ชนิดนี้จึงเหมาะที่จะนำกลับมาใช้ใหม่ในกรณีที่สารบรรจุเสื่อมคุณภาพแล้วโดยจะมีการเปลี่ยนสารบรรจุใหม่แทนของเก่า แต่คอลัมน์ชนิดนี้มีข้อเสียคือค่อนข้างเปราะบางดังนั้นในระหว่างการใช้งานจะต้องเพิ่มความระมัดระวัง [29] คอลัมน์ชนิดนี้สามารถใช้ในการวิเคราะห์ได้ทั้ง 2 แบบ คือ GSC และ GLC ถ้าทำการวิเคราะห์แบบ GSC จะใช้สารของแข็งที่เป็นตัวดูดซับบรรจุในคอลัมน์ ได้แก่ ซิลิกา อะลูมินา เป็นต้น ถ้าทำการวิเคราะห์แบบ GLC ต้องใช้ของแข็งที่เรียกว่าสารรองรับ (solid support) เคลือบด้วยของเหลวที่ทำหน้าที่เป็นวัฏภาคนิ่ง

ข้อดีของคอลัมน์แบบแพค คือกรรมวิธีการผลิตและการบรรจุสารบรรจุสามารถทำได้ง่าย และสามารถฉีดสารตัวอย่างครั้งละมากๆ (large sample size) แต่มีข้อจำกัดในเรื่องอำนาจของการแยกสารหรือประสิทธิภาพในการแยกสาร ซึ่งเนื่องมาจากเกิดการดูดซับของสารตัวอย่างผสมเข้าไปในสารบรรจุด้วยอัตราเร็วที่แตกต่างกัน ขึ้นกับความสามารถในการเคลือบของเหลวบนสารรองรับ (solid support) มีผลให้สารเกิดการแพร่กระจายแบบเอ็ดดี้ (Eddy diffusion) และทำให้พีคที่ได้มีลักษณะกว้าง ซึ่งจะมีผลต่อประสิทธิภาพในการแยกสาร และข้อจำกัดอีกข้อหนึ่งคือเราไม่สามารถเพิ่มความยาวของคอลัมน์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของคอลัมน์ เนื่องจากมีความดันลดเกิดขึ้น จึงได้มีการพัฒนาคอลัมน์แบบแคปิลลารี (capillary column) ขึ้นมา เพื่อลดปัญหาที่เกิดขึ้นข้างต้น เนื่องจากสารตัวอย่างสามารถที่เคลื่อนที่ผ่านเข้าไปในวัฏภาคนิ่งที่เคลือบอยู่ที่ผนังด้านในของคอลัมน์ในลักษณะเดียวกันหมด ดังนั้นพีคที่ได้จึงมีลักษณะแคบลงแม้จะใช้คอลัมน์ที่ยาว โดยความยาวของคอลัมน์มีค่าตั้งแต่ 10-100 เมตร หรือมากกว่า

## คอลัมน์แบบแคพิลลารี (Capillary column)

คอลัมน์ชนิดนี้ถูกพัฒนาไปได้ช้า เนื่องจากกรรมวิธีในการผลิตค่อนข้างยุ่งยากกว่าคอลัมน์แบบแพคจึงทำให้มีราคาแพงในระยะแรกๆ ของการพัฒนา และคอลัมน์ชนิดนี้มีขนาดเล็กมากคือมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายในประมาณ 0.1-0.5 มิลลิเมตร ทำให้คอลัมน์ค่อนข้างเปราะบาง ดังนั้นถ้าในระหว่างการใช้งานขาดความระมัดระวังอาจทำความเสียหายให้กับคอลัมน์ได้ ต่อมาได้มีการพัฒนากรรมวิธีการผลิตให้ง่ายขึ้น ราคาจึงลดลง และจากคุณสมบัติที่ดีของคอลัมน์เองจึงทำให้คอลัมน์แบบแคพิลลารีได้รับความนิยมมากขึ้น คอลัมน์ชนิดนี้ใช้ได้เฉพาะการวิเคราะห์แบบ GLC เท่านั้น

คอลัมน์แบบแคพิลลารีส่วนใหญ่ทำด้วยหลอดแก้ว สาเหตุที่ไม่ใช้โลหะเพราะโลหะสามารถเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเคมีได้หลายชนิด และเมื่อใช้ที่อุณหภูมิสูงอาจทำให้โลหะเกิดปฏิกิริยาบางอย่างในคอลัมน์ได้ ตามปกติอุณหภูมิของคอลัมน์ต้องสูงกว่าจุดเดือดของสารตัวอย่าง 10-25°C การเตรียมคอลัมน์ทำได้โดยใช้ของเหลวซึ่งทำหน้าที่เป็นวัฏภาคนิ่งใส่ในคอลัมน์แบบ แคพิลลารี ของเหลวจะเคลือบที่ผิวของคอลัมน์เป็นฟิล์มบางๆ ที่มีความหนาน้อยกว่า 1 ไมโครเมตร ความหนาของแผ่นฟิล์มของเหลวมีผลต่อการแยก แต่ก่อนที่จะมีการเคลือบวัฏภาคนิ่งผนังด้านในของคอลัมน์จะต้องมีการปรับสภาพพื้นผิว เพื่อเพิ่มความสามารถในการที่ยึดเกาะ หรือลดแรงตึงผิวให้กับของเหลวที่ใช้เป็นวัฏภาคนิ่ง คอลัมน์ชนิดนี้มีประสิทธิภาพในการแยกสูงกว่าคอลัมน์แบบแพคถึง 100 เท่า และสามารถเข้ากับขนาดของสารตัวอย่างที่น้อยกว่า 0.01 ไมโครลิตร ความจุของคอลัมน์แบบแคพิลลารีสามารถเพิ่มขึ้นได้โดยเคลือบผิวของคอลัมน์แก้วด้วยวัสดุที่มีรูพรุน เช่น แกรไฟต์ โลหะออกไซด์ และซิลิเกต ซึ่งพบว่ามีผลต่อการลดลงของความดัน (pressure drop) น้อยมาก และอัตราส่วนระหว่างปริมาตรของวัฏภาคนิ่งต่อปริมาตรของวัฏภาคเคลื่อนที่ของคอลัมน์ชนิดนี้มีค่าในช่วง 100 ถึง 30 ซึ่งอยู่ในช่วงที่มีประสิทธิภาพสูงสุด ในปัจจุบันได้มีการนำ fused silica ซึ่งประกอบด้วย amorphous silicate material ที่ปราศจากไอออนของโลหะ จึงทำให้มีความเฉื่อยสูง มาใช้เป็นวัสดุในการผลิตคอลัมน์ และพบว่าคอลัมน์ ที่ได้มีความยืดหยุ่นสูง ไม่เปราะง่ายเหมือนกับการใช้วัสดุชนิดอื่น จะมีการเคลือบภายนอกด้วยสารโพลีเมอร์เช่น polyimide หรือใช้สารพวก aluminium ในการเพิ่มความแข็งแรงให้กับคอลัมน์ สำหรับของเหลวที่นำมาใช้เป็นวัฏภาคนิ่งสำหรับ GLC ต้องมีคุณสมบัติดังนี้

- เป็นตัวทำละลายที่มีคุณสมบัติที่เหมาะสมกับสารประกอบที่ต้องการวิเคราะห์ เช่นมีโพลาริตีเหมือนกับสารตัวอย่าง

- ต้องทำให้เกิดการแบ่งส่วนที่แตกต่างกันของแต่ละองค์ประกอบในสารตัวอย่างระหว่างวัฏภาคทั้งสอง

- มีความเสถียรที่อุณหภูมิสูง
- มีความดันไอที่อุณหภูมิกายในคอลัมน์ต่ำ
- ไม่ทำปฏิกิริยาเคมีกับสารตัวอย่าง

การพิจารณาเลือกใช้คอลัมน์ต้องคำนึงถึง

- ความยาว และเส้นผ่านศูนย์กลางของคอลัมน์ เพราะการแยกสารจะเกิดได้ดีหรือไม่ขึ้นอยู่กับความยาวและเส้นผ่านศูนย์กลางของคอลัมน์
- วัฏภาคนิ่งควรเลือกที่มีโครงสร้างทางเคมีคล้ายกับสารตัวอย่าง เช่นถ้าสารตัวอย่างเป็นสารมีขั้ว (polar compound) วัฏภาคนิ่งที่ใช้ควรเป็นสารมีขั้วเช่นกัน

ดังนั้นก่อนการเลือกใช้ควรรศึกษาคูสมบัติของสารตัวอย่าง และวิภูภาคหนึ่งก่อน การแบ่งละลาย (partition) ของสารตัวอย่างในวิภูภาคหนึ่ง และวิภูภาคเคลื่อนที่ขึ้นกับอุณหภูมิเป็นอย่างมาก ดังนั้นจึงจำเป็นต้องให้คอลัมน์ได้รับความร้อนอย่างสม่ำเสมอทั่วทั้งคอลัมน์ คอลัมน์ที่ใช้จะถูบรรจุอยู่ในเตาอบซึ่งจะมีลักษณะเป็นกล่องสี่เหลี่ยม และควบคุมอุณหภูมิด้วยอิเล็กทรอนิกส์ ประกอบด้วยส่วนที่ให้กำเนิดความร้อน และมีพัดลมเป่าเพื่อให้ความร้อนกระจายตัวภายในเตาอบได้อย่างทั่วถึง ดังนั้นเพื่อให้เตาอบมีอุณหภูมิสม่ำเสมอจะต้องมีระบบการกระจายความร้อนที่ดี และภายในเตาอบจะมี temperature sensor หรือ thermostat เพื่อช่วยในการควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ เนื่องจากภายใน เตาอบเป็นระบบปิด ดังนั้นในการลดอุณหภูมิเพื่อให้ได้อุณหภูมิเริ่มต้นในการใช้สภาวะโปรแกรมอุณหภูมิค่อนข้างช้า และการควบคุมอุณหภูมิใกล้กับอุณหภูมิกายนอกคอลัมน์ทำได้ยาก เพื่อแก้ปัญหาในเรื่องนี้ได้มีการใช้ proportional cooling mechanism หรือ smart door เพื่อดูดอากาศจากภายนอกเข้าภายในเตาอบ ในบางครั้งมีการใช้แก๊สชนิดอื่นเข้าไปแทนที่ เช่นไนโตรเจนเหลว (liquid N<sub>2</sub>) และคาร์บอนไดออกไซด์เหลว (liquid CO<sub>2</sub>) มี solinoid valve ควบคุมการเข้าออกของแก๊สที่ใช้เป็นตัวกลางในการลดอุณหภูมิภายในคอลัมน์ เตาอบที่ใช้มีหลายขนาดขึ้นกับความเหมาะสมในการใช้งาน อุณหภูมิที่ใช้ต้องไม่สูงเกินไปจนทำให้ของเหลวที่เคลือบผิวของคอลัมน์กลายเป็นไอ ปกติอุณหภูมิที่ใช้จะต่ำกว่าส่วนของระบบฉีดสารตัวอย่าง (sample injection system) ประมาณ 10°C อุณหภูมิของคอลัมน์จะมีผลต่อค่าเวลาคงค้าง และการแยกอย่างมาก ที่อุณหภูมิสูงมีผลทำให้ไอของสารตัวอย่างส่วนใหญ่อยู่ในสถานะแก๊ส เพราะการเพิ่มอุณหภูมิจะทำให้การละลายของสารตัวอย่างในวิภูภาคหนึ่งลดลง จึงทำให้สารตัวอย่างถูกชะได้อย่างรวดเร็ว ถ้ามีสารผสมอยู่หลายชนิดจะทำให้สารเหล่านั้นถูกชะออกจากคอลัมน์ได้ในเวลาไล่เลี่ยกันการแยกเกิดได้ไม่ดี (poor resolution) แต่ถ้าใช้อุณหภูมิต่ำสารตัวอย่างจะใช้เวลาส่วนใหญ่อยู่ในวิภูภาคหนึ่งทำให้การชะเกิดช้าค่าเวลาคงค้างสูงแต่การแยกดีขึ้น

โดยปกติในการทดลองต่างๆไปมีวิธีการควบคุมอุณหภูมิของคอลัมน์ 2 แบบ คือลักษณะที่อุณหภูมิคงที่ (isothermal) และลักษณะที่มีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ หรือการโปรแกรมอุณหภูมิ (temperature programming) สำหรับการทำงานที่ใช้อุณหภูมิคงที่นั้นการใช้อุณหภูมิต่ำจะให้การแยกที่ดีแต่จะใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน และพบว่าการเพิ่มอุณหภูมิขึ้น 25-35°C จะช่วยลดเวลาในการวิเคราะห์ลงครึ่งหนึ่ง แต่ความสามารถในการแยกจะลดลงด้วย ส่วนการทำงานโดยการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิจะใช้ในกรณีที่แยกสารผสมที่ซับซ้อนหรือมีพีคมากกว่า 10 พีค และมีจุดเดือดต่างกันมากกว่า 100°C ระหว่างสารตัวแรกกับสารตัวสุดท้าย ส่วนใหญ่เป็นสารที่ได้จากธรรมชาติ หรือใช้ในกรณีที่ตัวอย่างมีความสกปรก และต้องการที่จะทำความสะอาดคอลัมน์โดยการใช้อุณหภูมิที่สูงขึ้นโดยทั่วไปแล้วจะใช้กับคอลัมน์แบบแคปิลลารีโดยอุณหภูมิที่ใช้จะต้องมีค่าต่ำพอที่จะแยกสารที่มีจุดเดือดต่ำ ซึ่งที่สภาวะอุณหภูมิคงที่ต่ำความดันไอของสารที่มีจุดเดือดสูงจะมีค่าต่ำมาก ดังนั้นค่าสัมประสิทธิ์การแบ่งละลาย (partition coefficient;  $K$ ) และตัวประกอบคงค้าง (retention ratio;  $k$ ) จะมีค่าสูงมาก ซึ่งทำให้สารถูกคงค้างอยู่ในคอลัมน์นาน สารตัวอย่างส่วนใหญ่จะอยู่ในวิภูภาคหนึ่งความเข้มข้นในวิภูภาคเคลื่อนที่ที่ต่ำ สารต้องใช้เวลานานกว่าจะเดินทางถึงตัวตรวจวัดมีผลให้พีคที่ได้ออกมา กว้าง และเตี้ย ความไวในการตอบสนองลดลง แต่เมื่อให้อุณหภูมิสูงขึ้นค่าความดันไอของสารมีค่าสูงขึ้น ค่า  $K$  และ  $k'$  ลดลง เนื่องจากความเข้มข้นของสารในวิภูภาคเคลื่อนที่เพิ่มขึ้น สารสามารถเดินทางไปยังตัวตรวจวัดได้เร็วขึ้น ใช้เวลาน้อยลง ความไวในการตอบสนองสูงขึ้น แต่สารที่มีจุดเดือดต่ำไม่สามารถแยกได้เนื่องจากสารใช้เวลาอยู่ในวิภูภาคหนึ่งน้อยเกินไป ดังนั้นการโปรแกรมอุณหภูมิจะต้องเริ่มต้นจากที่อุณหภูมิต่ำ สารที่มีจุดเดือดต่ำจะสามารถแยกได้สารที่มีจุดเดือดปานกลางเคลื่อนที่ด้วยความเร็วต่ำมาก และสารที่มีจุดเดือดสูงยังเป็นของเหลวอยู่ที่ต้นของคอลัมน์ เมื่ออุณหภูมิของคอลัมน์เพิ่มขึ้นสารที่มีจุดเดือดต่ำจะเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ก่อนสารตัวอื่น ๆ และยังคงแยกกัน

ได้อย่างสมบูรณ์ เมื่อถึงตัวตรวจวัดพีคที่ได้ยังมีลักษณะแคบ และสารที่มีจุดเดือดปานกลางเริ่มมีการแบ่งส่วนละลายระหว่างวัฏภาคหนึ่งกับวัฏภาคเคลื่อนที่ เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นอีกสารที่มีจุดเดือดสูงก็เริ่มมีการแบ่งส่วนละลาย การโปรแกรมอุณหภูมิมีผลทำให้ค่า  $K$  และ  $K'$  ของสารตัวอย่างลดลง เนื่องจากความเข้มข้นของสารตัวอย่างในวัฏภาคเคลื่อนที่เพิ่มมากขึ้น ทำให้เครื่องตรวจวัดได้รับสารที่มีความเข้มข้นสูง แต่ใช้เวลาสั้น ช่วยเพิ่มความไวในการตอบสนองด้วย วิธีนี้จะใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยลงและได้พีคที่คมชัดขึ้น [30] การใช้โปรแกรมของอุณหภูมินี้ต้องคำนึงถึงอุณหภูมิเริ่มต้น อุณหภูมิสุดท้าย และอัตราความเร็วในการเพิ่มอุณหภูมิ โดยอุณหภูมิเริ่มต้นจะต้องให้ต่ำพอที่จะให้สารที่มีจุดเดือดต่ำสามารถแยกจากกันได้ แต่จะต้องไม่ต่ำกว่าอุณหภูมิต่ำสุดของวัฏภาคหนึ่งที่สามารถใช้งานได้ ถ้าในสารตัวอย่างผสมมีสารที่มีจุดเดือดต่ำอยู่หลายชนิดจะต้องมีการตั้งให้อุณหภูมิเริ่มต้นคงที่ช่วงหนึ่งก่อนเพื่อให้สารสามารถแยกจากกันได้ สำหรับอุณหภูมิสุดท้ายจะต้องตั้งให้พีคของสารที่มีจุดเดือดสูงยังแหลม แต่จะต้องไม่สูงจนก่อให้เกิดความเสียหายแก่คอลัมน์ ถ้าอุณหภูมิของคอลัมน์ถึงจุดสูงสุดแล้วแต่สารตัวอย่างยังไม่ถูกชะออกมาก็ต้องตั้งให้อุณหภูมิกึ่งที่จนกระทั่งสารถูกชะออกมาหมด

สำหรับการวิเคราะห์สารผสมที่มีอยู่หลายกลุ่ม สารในกลุ่มเดียวกันมีจุดเดือดใกล้เคียงกัน และแต่ละกลุ่มมีจุดเดือดที่แตกต่างกันค่อนข้างสูง เช่นสารพวก essential oil ประกอบด้วยสารหลายกลุ่ม เช่นกลุ่มของ monoterpene hydrocarbons กลุ่มของ sesquiterpene hydrocarbons และกลุ่มของ oxygenated terpenes จะต้องทำการแยกสารโดยใช้การโปรแกรมอุณหภูมิแบบ multiramp programming เพื่อช่วยลดระยะเวลาในการวิเคราะห์ แต่สารยังสามารถแยกจากกันอย่างสมบูรณ์ วัฏภาคหนึ่งที่อยู่ภายในคอลัมน์ถูกทำลายได้เนื่องจากหลายสาเหตุ แต่ส่วนใหญ่เป็นผลเนื่องจากปฏิกิริยาเคมี วัฏภาคหนึ่งที่มีความเป็นขี้จะไวต่อแก๊สออกซิเจน และน้ำเป็นอย่างมาก ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีการดักจับสารทั้ง 2 ออกจากแก๊สตัวพา ก่อนที่แก๊สตัวพาจะเคลื่อนเข้าสู่คอลัมน์ โดยใช้ suitable molecular sieves และ oxygen scrubbers สำหรับตัวทำลายที่มีขี้เช่น คลอโรฟอร์ม แอลกอฮอล์ และคาร์บอนไดซัลไฟด์ เป็นต้น และสิ่งสกปรกที่เป็นสารที่มีขี้ชนิดอื่นๆ หรือสารประกอบที่ไม่สามารถกลายเป็นไอ ณ อุณหภูมิคอลัมน์ ที่ติดเข้าไปพร้อมกับสารตัวอย่างจะสามารถไปทำปฏิกิริยาอย่างช้าๆ หรือเกาะกับวัฏภาคหนึ่ง ซึ่งจะมีผลต่อประสิทธิภาพของคอลัมน์ และถ้ามีการใช้อุณหภูมิสูงเกินกว่าที่กำหนดสำหรับคอลัมน์แต่ละชนิดก็จะก่อให้เกิดความเสียหายต่อคอลัมน์จะต้องมีแก๊สตัวพาไหลผ่านคอลัมน์ตลอดที่มีการให้ความร้อนต่อคอลัมน์ ความเสียหายของคอลัมน์ส่วนใหญ่มักจะเกิดขึ้นตรงบริเวณปลายของคอลัมน์ด้านที่เชื่อมกับทางเข้าของสารตัวอย่างในกรณีที่เป็นคอลัมน์แบบแคพิลลารีถ้ามีความเสียหายเพียงเล็กน้อยอาจแค่สลับกับปลายด้านที่เชื่อมกับตัวตรวจวัดหรือบางครั้งอาจมีการหักส่วนที่เสียหายออกไปซึ่งจะมีผลต่อประสิทธิภาพของคอลัมน์เพียงเล็กน้อย สำหรับคอลัมน์แบบแพคอาจมีการเติมสารรองรับส่วนที่หายไปที่ด้านบนของคอลัมน์หลังจากมีการใช้งานไประยะหนึ่ง

#### 1.6.1.4.3 ตัวตรวจวัด (Detector)

เครื่องตรวจวัดแก๊สโครมาโตกราฟีเป็นอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ ที่มีความซับซ้อน และสำคัญชนิดหนึ่งที่ขาดไม่ได้ เนื่องจากปริมาณสารที่ชะออกมาจากคอลัมน์นั้นมีปริมาณน้อย การเก็บรวบรวมเพื่อนำไปวิเคราะห์ทางเคมีภายหลังจะยุ่งยาก และไม่สะดวกอย่างยิ่ง เครื่องตรวจวัดจึงเป็นส่วนที่ทำหน้าที่ตรวจสอบปริมาณสารที่ออกจากคอลัมน์ ดังนั้นเครื่องตรวจวัดที่ใช้ต้องไวต่อสารมาก และทำซ้ำ (reproducibility) ได้ดี ลักษณะการทำงานของเครื่องตรวจวัดมี แบ่งเป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ คือ

- เครื่องตรวจวัดที่ตอบสนองต่อความเข้มข้นสารพื้นที่ได้พีคที่เครื่องจดบันทึกบันทึกไว้จะเป็นอัตราส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นสารที่ไหลผ่านเครื่องตรวจวัด

- เครื่องตรวจวัดที่ตอบสนองต่ออัตราการไหลของมวลพื้นที่ได้พีคที่เครื่องจดบันทึกบันทึกไว้จะเป็นอัตราส่วนโดยตรงกับปริมาณมวลสารที่ไหลผ่านเครื่องตรวจวัด

เครื่องตรวจวัดของแก๊สโครมาโตกราฟีมีด้วยกันหลายชนิด ทั้งเครื่องตรวจวัดที่ใช้วิเคราะห์สารทั่วไป หรือเลือกวิเคราะห์สารเฉพาะกลุ่ม (selective detector) การเลือกใช้เครื่องตรวจวัดชนิดใดนั้นขึ้นกับวัตถุประสงค์ของผู้วิเคราะห์ และผู้วิเคราะห์ควรรู้ถึงคุณลักษณะเฉพาะของเครื่องตรวจวัดนั้นๆ เพื่อใช้งานได้อย่างถูกต้องแม่นยำ และให้ประสิทธิภาพดี ตัวอย่างเครื่องตรวจวัด ชนิดของการตอบสนอง (selectivity) ชนิดของแก๊สที่ใช้กับเครื่องตรวจวัดแต่ละชนิด (support gases) ความจำเพาะต่อการตอบสนอง ปริมาณต่ำสุดที่เครื่องตรวจวัดแต่ละชนิดสามารถตอบสนองได้ (detectability) และ พิสัยพลวัต (dynamic range) ของเครื่องตรวจวัดแต่ละชนิด แสดงดังตารางที่ 1.2

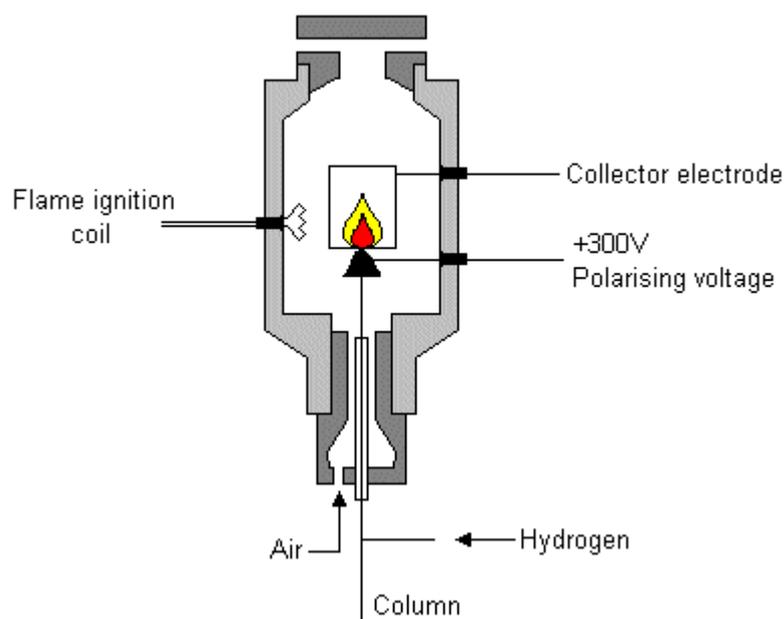
ตารางที่ 1.2 ข้อมูลของเครื่องตรวจวัดชนิดต่างๆ [31]

Detector	Type	Support gases	Selectivity	Detectability	Dynamic range
Flame ionization (FID)	Mass flow	Hydrogen and air	Most organic cpds.	100 pg	$10^7$
Thermal conductivity (TCD)	Concentration	Reference	Universal	1 ng	$10^7$
Electron capture (ECD)	Concentration	Make-up	Halides, nitrates, nitriles, peroxides, anhydrides, organometallics	50 fg	$10^5$
Flame photometric (FPD)	Mass flow	Hydrogen and air possibly oxygen	Sulphur, phosphorus, tin, boron, arsenic, germanium, selenium, chromium	100 pg	$10^3$
Photo-ionization (PID)	Concentration	Make-up	Aliphatics, aromatics, ketones, esters, aldehydes, amines, heterocyclics, organosulphurs, some organometallics	2 pg	$10^7$

เครื่องตรวจวัดแบบเฟลมไอออนไนซ์เซชัน ทำงานโดยอาศัยการเผาไหม้ของไฮโดรเจนในอากาศ เป็นเครื่องตรวจวัดที่นิยมใช้กันมากเนื่องจากมีความไวสูงและมีความเที่ยงตรง (linearity) ดีความไวของการตอบสนองของเครื่องตรวจวัดแบบนี้ค่อนข้างคงที่ไม่แปรเปลี่ยนกับอุณหภูมิ (ของคอลัมน์) ชนิดของวัสดุภาคนเคลื่อนที่ ดังนั้นเครื่องตรวจวัดแบบนี้จึงเหมาะสำหรับวิเคราะห์ปริมาณ มีช่วงการใช้งานกว้างเหมาะสำหรับสารอินทรีย์ที่ระเหยกลายเป็นไอได้เกือบทุกชนิด ยกเว้น สารประกอบที่ถูกออกซิไดซ์มาแล้ว เช่น คาร์บอนิล (carbonyl) และหมู่คาร์บอกซิล (carboxyl group) สารประกอบอินทรีย์ทุกชนิดสามารถเกิดการไอออนไนซ์ได้ในเปลวไฟจากแก๊สไฮโดรเจนทำให้เกิดกระแสของไอออนที่สามารถสะสมอยู่ระหว่างขั้วที่มีประจุตรงข้าม 2 ขั้ว ได้ตามปริมาณของไอออน โดยมีเครื่องอิเล็กทรอนิกส์ช่วยขยายให้มีปริมาณกระแสไฟฟ้าเพิ่มมากขึ้น ปริมาณหรือจำนวนอะตอมของคาร์บอนที่เกิดการไอออนไนซ์หรือถูกออกซิไดซ์

จะแปรผันโดยตรงกับปริมาณกระแสของไอออนที่เกิดขึ้นซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณของสารตัวอย่าง ตัวตรวจวัดชนิดนี้ไม่สามารถตรวจวัดสาร อนินทรีย์ได้ เช่น น้ำ อากาศ และก๊าซต่าง ๆ นอกจากนี้สามารถใช้วิเคราะห์สารประกอบที่มีความเข้มข้นน้อยๆ ได้ดี คุณสมบัติเด่นของตัวตรวจวัดชนิดนี้ คือไม่ไวกับการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลของแก๊สตัวพาเพียงเล็กน้อย อุณหภูมิคอลัมน์ ปริมาณน้ำ หรือออกซิเจนที่มีในปริมาณน้อย สามารถใช้ได้กับคอลัมน์แบบแพค และคอลัมน์แคพิลลารี ลักษณะของเครื่องตรวจวัดแบบเฟลมไอออน-เซชันแสดงดังรูปที่ 1.4

### The Flame Ionisation Detector



รูปที่ 1.4 เครื่องตรวจวัดแบบเฟลมไอออน-เซชัน

#### 1.6.2 การวิเคราะห์เอกลักษณ์สาร [32]

เนื่องจากแก๊สโครมาโตกราฟีสามารถแยกสารผสมออกจากกันได้ดีมีอำนาจในการแยกสารสูงและแยกสารได้รวดเร็ว นอกจากนี้เวลาคงค้างของสารจะมีค่าคงที่ภายใต้สภาวะการทดลองหนึ่งๆ ค่าเวลาคงค้างนี้สามารถทำทวนซ้ำได้สูง และเปรียบเสมือนค่าคงที่ทางกายภาพของสารนั้นๆ และมีคุณสมบัติอื่นๆ ที่เหมาะสม จึงมีการนำมาใช้ในงานด้านการวิเคราะห์ ซึ่งสามารถวิเคราะห์ได้ใน 2 ลักษณะ คือ การวิเคราะห์ปริมาณสารในสารผสม และการวิเคราะห์เอกลักษณ์ (characterization) ของสาร ข้อเสียของการใช้แก๊สโครมาโตกราฟีวิเคราะห์เอกลักษณ์ คือ การวิเคราะห์จะเป็นการวิเคราะห์เชิงนิเสธ (negative characterization) ซึ่งการวิเคราะห์เอกลักษณ์ของสารนี้ถ้าต้องการให้มีความถูกต้องแม่นยำยิ่งขึ้นต้องใช้เครื่องมือชนิดอื่นเข้ามาช่วย เช่น การรวบรวมสารหลังจากที่ถูกชะออกจากคอลัมน์มาทำการวิเคราะห์ทางเคมี หรืออาจเชื่อมต่อเครื่องอินฟราเรดสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Infrared Spectrophotometer) หรือแมสสเปกโตรมิเตอร์เข้ากับเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี หรือใช้ข้อมูลเกี่ยวกับสารตัวอย่างมาประกอบในการวิเคราะห์ [28]

นอกจากนี้แก๊สโครมาโตกราฟียังใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณสารในของผสม ได้อย่างแม่นยำหากผู้วิเคราะห์ได้ระมัดระวังถึงขีดจำกัด และข้อผิดพลาดต่างๆ อย่างเพียงพอ แต่การใช้แก๊สโครมาโตกราฟีวิเคราะห์ปริมาณนั้นจะมีข้อเสียคือการวิเคราะห์สารจะทำได้ทีละตัวอย่างและการวิเคราะห์สารแต่ละตัวอย่างจะต้องใช้เวลานานหลายนาที หรือเป็นชั่วโมง ดังนั้นในวันหนึ่ง ๆ จะวิเคราะห์ตัวอย่างได้ไม่มากนัก

แก๊สโครมาโตกราฟีสามารถใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์ (identification) ของสารได้หลายวิธี คือ

#### 1.6.2.1 การใช้ค่าเวลาคงค้าง (retention time)

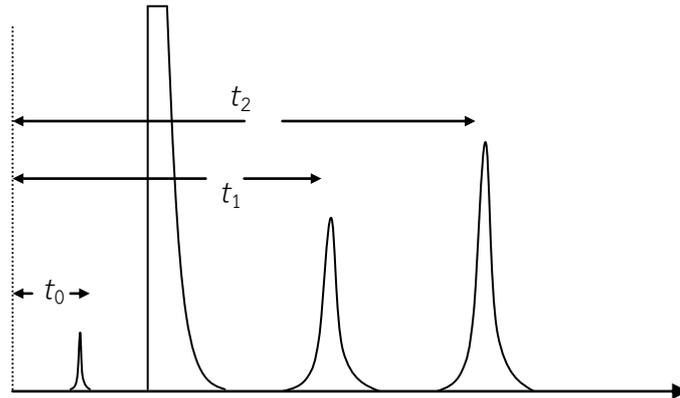
James และ Martin [1] พบว่าภายใต้สภาวะการทำโครมาโตกราฟีที่คงที่หนึ่งๆ (เช่น อุณหภูมิ อัตราการไหลของแก๊สตัวพา ความยาวคอลัมน์ และสารบรรจุในคอลัมน์ เป็นต้น) สารหนึ่งๆ จะถูกชะออกจากคอลัมน์ด้วยเวลาหรือปริมาตรคงที่ ค่าเวลาคงค้าง และปริมาตรคงค้าง (retention volume) จึงเป็นเสมือนค่าคงที่ทางกายภาพของสารนั้นๆ คล้ายกับ จุดเดือด หรือจุดหลอมเหลว เป็นต้น

การวิเคราะห์โดยวิธีนี้จะใช้วิธีการเทียบค่าเวลาคงค้างของสารตัวอย่างกับสารมาตรฐานที่ทราบสูตรโครงสร้างแน่นอนโดยทำการทดลองภายใต้สภาวะเดียวกัน ถ้าค่าเวลา คงค้างที่ได้แตกต่างกัน แสดงว่าสารตัวอย่างนี้เป็นสารคนละชนิดกับสารมาตรฐาน แต่ถ้าค่าที่ได้เท่ากัน สารตัวอย่างนั้น อาจจะเป็นสารชนิดเดียวกัน หรือต่างชนิดกันกับสารมาตรฐานก็ได้ เนื่องจากมีสารต่าง ๆ มากมายหลายชนิด ซึ่งอาจจะมีสารบางชนิดที่มีค่าเวลาคงค้างซ้ำกันได้ ดังนั้นแก๊สโครมาโตกราฟีจะเป็นการพิสูจน์เชิงหักล้างมากกว่าเป็นการพิสูจน์ที่แน่ชัดหรือยืนยัน (positive identification) ถ้าต้องการพิสูจน์ให้แน่ชัดยิ่งขึ้น จะต้องใช้เครื่องมืออื่นเข้าช่วย เช่น การใช้แมสสเปกโตรมิเตอร์ต่อพ่วงเข้ากับเครื่อง แก๊สโครมาโตกราฟี (combined GC-MS) นิยมใช้กันมากเนื่องจากสามารถแยกสารผสมและวิเคราะห์เอกลักษณ์ของสารได้ทันที การใช้เครื่องอินฟราเรดสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ต่อเข้ากับเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟีก็มีใช้บ้างแต่ยังไม่เป็นที่นิยม เนื่องจากมีปัญหาทางด้านเทคนิค และความไวของเครื่องตรวจวัด ถึงแม้ค่าเวลาคงค้างหรือปริมาตรคงค้างจะไม่ใช้ค่าคงที่ที่ใช้พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารได้แน่ชัด แต่หากรวมเข้ากับข้อมูลของสารตัวอย่าง เช่น วิธีการสกัด หรือการทำให้สารตัวอย่างบริสุทธิ์ เพื่อช่วยให้การพิสูจน์เอกลักษณ์โดยวิธีนี้มีความถูกต้องมากยิ่งขึ้น

**ค่าเวลาคงค้างอาจจะใช้ได้ 2 ลักษณะ คือ**

- ค่าที่ไม่ปรับแก้ เป็นเวลาที่นับตั้งแต่เริ่มฉีดสารเข้าไปจนถึงยอดของพีคที่สารถูกชะออกมา (รูปที่ 1.5) ค่านี้ไม่ค่อยนิยมใช้เพราะข้อมูลที่ได้ไม่สามารถใช้เปรียบเทียบกับเครื่องมือ และคอลัมน์ชนิดอื่นได้ แต่จะสะดวกและให้ค่าการทำทวนซ้ำดี ในกรณีที่ใช้เครื่องมือ และสภาวะที่ใช้เหมือนกัน

- ค่าปรับแก้เป็นเวลาที่นับจากยอดพีคของอากาศ หรือตัวทำละลายถึงยอดพีค ของสาร ดูรูปประกอบได้จากรูปที่ 1.5 ค่านี้จะหักเวลาตาย (dead time) ของเครื่องมือออกแล้ว ค่านี้จะเปลี่ยนไปตามสภาวะการทำโครมาโตกราฟี เช่น ขนาดของคอลัมน์ (เส้นผ่านศูนย์กลาง และความยาว) อัตราการไหลของแก๊สตัวพา อุณหภูมิ ชนิดของสารบรรจุ และชนิดของแก๊สตัวพา เป็นต้น



รูปที่ 1.5 แสดงการวัดหาค่าเวลาคงค้างต่างๆ ของโครมาโตแกรม

$t_M$  = เวลาคงค้างของอากาศหรือสารไม่คงค้าง

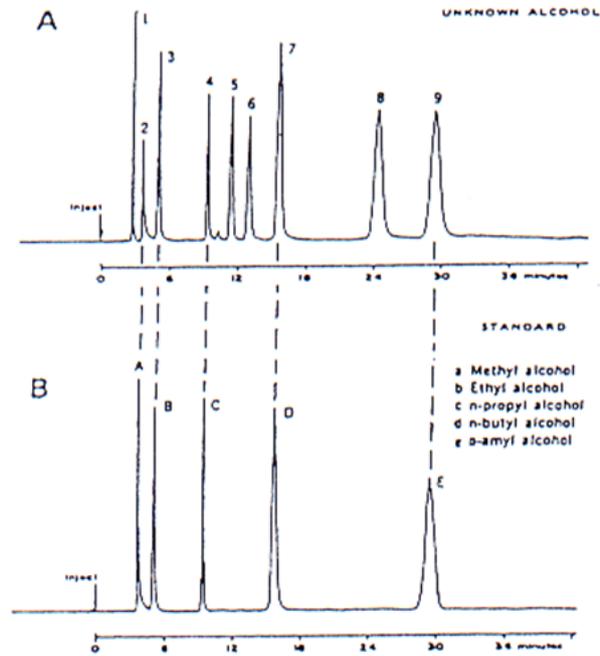
$t_1$  = เวลาคงค้าง (ไม่ปรับค่า) ของสารตัวที่ 1

$t_2$  = เวลาคงค้าง (ไม่ปรับค่า) ของสารตัวที่ 2

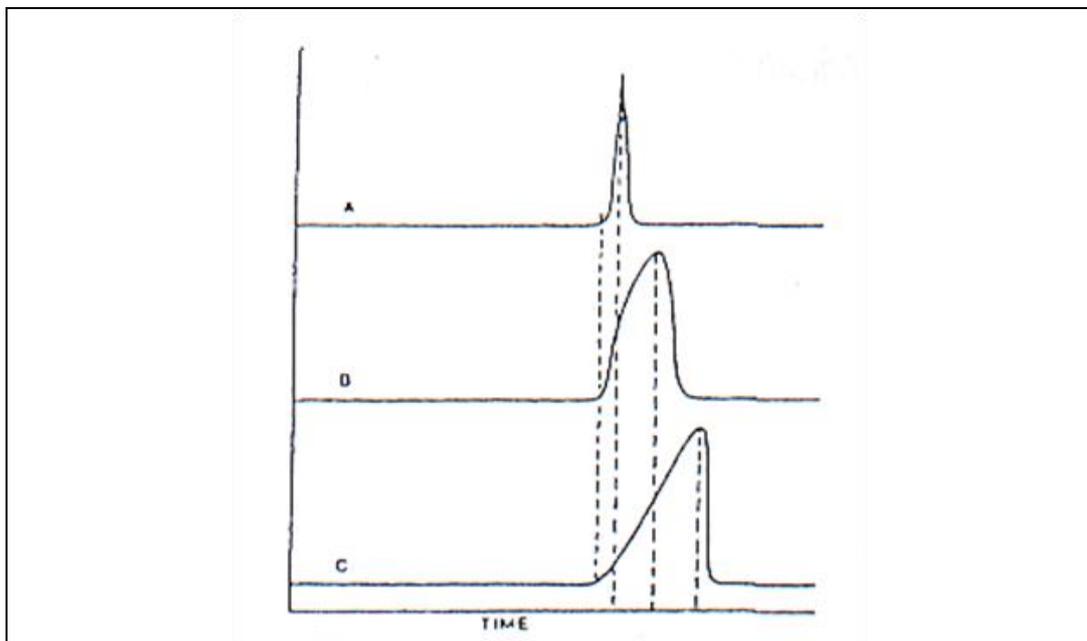
$t_1'$  = เวลาคงค้าง (ปรับค่า) ของสารตัวที่ 1 =  $t_1 - t_M$

$t_2'$  = เวลาคงค้าง (ปรับค่า) ของสารตัวที่ 2 =  $t_2 - t_M$

วิธีนี้การวิเคราะห์ชนิดของสารในของผสมตัวอย่างจะต้องทำการวิเคราะห์ทั้งตัวอย่างและสารมาตรฐานที่ใช้สถานะเช่นเดียวกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าเวลาคงค้าง หรือปริมาตรคงค้างก็สามารถบอกได้ว่าพีคนั้นๆ ควรจะเป็นพีคของสารใดดูรายละเอียดประกอบได้จากรูปที่ 1.6 ในการเปรียบเทียบโครมาโตแกรมนี้มีปัจจัยหลายอย่างที่ต้องคำนึงถึง นั่นคือ ค่าเวลาคงค้างจะขึ้นอยู่กับความสามารถของเครื่องที่ใช้ควบคุมสถานะต่างๆ ถ้าการควบคุมไม่คงที่ ผลที่ได้รับจะเปลี่ยนไปทำให้เกิดปัญหาขึ้น เช่นการควบคุมอุณหภูมิของคอลัมน์ถ้าต้องการให้ค่าเวลาคงค้างค่ามีความผิดพลาดอยู่ในช่วงร้อยละ -1 ถึง 1 อุณหภูมิของคอลัมน์จะต้องควบคุมให้ค่าแตกต่างอยู่ในช่วง  $-0.3$  ถึง  $0.3^{\circ}\text{C}$  ด้วยเป็นต้น นอกจากนี้ขนาดของสารตัวอย่างที่นำไปฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟีก็มีความสำคัญเพราะถ้าฉีดสารตัวอย่างเข้าไปในปริมาณมากๆ เรียกว่าเกิด column overloaded พีคที่ตรวจวัดได้จะเปลี่ยนไปทำให้ค่าเวลาคงค้างผิดไป ดังรูปที่ 1.7 เมื่อปรากฏการณ์นี้เกิดขึ้นควรลดขนาดของสารตัวอย่างลงให้พอเหมาะโดยทำการเจือจางสารตัวอย่าง



รูปที่ 1.6 แสดงการวิเคราะห์เพื่อตรวจพิสูจน์สารต่างๆ ในตัวอย่าง (A) เทียบกับสารมาตรฐาน (B) โดยที่สาร A, B, C, D และ E คือ methyl, ethyl, *n*-propyl, *n*-butyl และ *n*-amyl alcohol ตามลำดับ



รูปที่ 1.7 ผลกระทบจากการใช้ขนาดของสารตัวอย่างต่อค่าเวลาดังข้าง (A) เมื่อคอลัมน์ไม่ overloaded (B) เมื่อคอลัมน์มี overloaded เล็กน้อย (C) เมื่อคอลัมน์มี overloaded มาก

### 1.6.2.2 การใช้ค่าคงค้างสัมพัทธ์ (relative retention; $\alpha$ )

เป็นความสัมพันธ์ระหว่างการคงค้างของสารตัวอย่างกับสารมาตรฐาน โดยสารทั้งสองให้โครมาโตแกรมที่สภาวะการทำงานทดลองเดียวกัน เมื่อเปรียบเทียบกับค่าปริมาตรคงค้างจำเพาะแล้วพบว่า ค่าคงค้างสัมพัทธ์สามารถหาได้โดยตรงจากโครมาโตแกรม คือค่านี้สามารถหาได้จากค่าเวลาคงค้าง หรือ ปริมาตรคงค้างของสารหารด้วยค่าเวลาคงค้าง หรือปริมาตรคงค้างของสารมาตรฐานที่ผสมลงไปในตัวอย่าง

$$\alpha = \frac{t_2'}{t_1'} \quad (1.13)$$

โดยที่  $t_2'$  คือ ค่าเวลาคงค้างปรับแก้ของสารตัวอย่าง  $t_1'$  คือ ค่าเวลาคงค้างปรับแก้ของสารมาตรฐาน

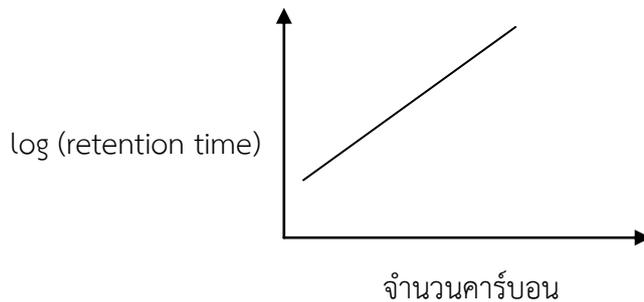
วิธีการนี้สามารถความผิดพลาดที่เกิดเนื่องจากสภาวะที่ทำการทดลองได้ เนื่องจากค่าคงค้างสัมพัทธ์ของสารตัวอย่างกับสารมาตรฐาน ซึ่งจะไม่ขึ้นกับอัตราการไหลของแก๊สตัวพา ความแตกต่างของความดัน (pressure gradient) มวลของวัฏภาคนิ่ง และอุณหภูมิของคอลัมน์แต่อย่างไรก็ตามถ้าความ เป็นขั้วของสารที่วิเคราะห์มีความแตกต่างจากวัฏภาคนิ่ง ค่ายึดเหนี่ยวสัมพัทธ์จะขึ้นกับการเคลือบวัฏภาค นิ่งบนสารรองรับ (solid support) เนื่องจากเกิดการดูดซับของสารที่ต้องการจะวิเคราะห์ หรือสาร มาตรฐานบน active site ของตัวสารรองรับ

การเลือกสารที่จะนำมาเป็นสารมาตรฐานมีความสำคัญ สารมาตรฐานจะต้องไม่ถูกปนเปื้อนด้วย สารชนิดอื่น หรือทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่าง และค่าเวลาคงค้างของสารที่จะนำมาเป็นสารมาตรฐาน จะต้องให้ค่ายึดเหนี่ยวสัมพัทธ์น้อยกว่าหรือเท่ากับ 4 ซึ่งเป็นการยากมากที่จะใช้สารมาตรฐานเพียงชนิด เดียวเพื่อให้เหมาะกับสารตัวอย่างทุกชนิด จึงทำให้มีข้อมูลของค่ายึดเหนี่ยวสัมพัทธ์เป็นจำนวนมาก ทำให้ ยากต่อการทำนายเอกลักษณ์ เพราะสารตัวอย่างจะมีความสัมพันธ์กับสารมาตรฐานที่แตกต่างกัน

ต่อมา Evans and Smith [2] ได้คำนวณค่าคงค้างสัมพัทธ์โดยใช้สารโนแนน (*n*-nonane) เป็น สารมาตรฐานเพียงชนิดเดียว แต่พบว่ามิใช่เสียคือ สารมาตรฐานนี้ไม่สามารถใช้กับสารตัวอย่างที่มีขั้วและ สารที่มีความสามารถในการกลายเป็นไอแตกต่างกับสารโนแนนมาก

### 1.6.2.3 การใช้ค่าลอการิทึมเวลาคงค้าง

การพิสูจน์เอกลักษณ์สารในอนุกรมเดียวกัน (Homologous series) สามารถกระทำได้ด้วยการ เขียนกราฟระหว่างค่า  $\log$  (เวลาคงค้าง) กับจำนวนคาร์บอนของสารอนุกรมเดียวกัน โดยขีดสารที่จะ วิเคราะห์เข้าไปยังเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ สารต่างๆจะถูกชะออกมาตามลำดับจำนวนคาร์บอน กราฟ ระหว่างค่า  $\log$  (เวลาคงค้าง) กับจำนวนคาร์บอนจะเป็นกราฟเส้นตรงดังรูปที่ 1.8 การวิเคราะห์ คุณลักษณะโดยวิธีนี้จะมีข้อดีคือใช้สารอ้างอิงเพียง 2-4 ตัวเพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน จากนั้นก็ใช้เส้นกราฟ นี้ไปวิเคราะห์เอกลักษณ์สารอื่นๆ ในอนุกรมเดียวกันได้อย่างแม่นยำ



รูปที่ 1.8 กราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างจำนวนคาร์บอนกับค่า  $\log$  (เวลาคงค้าง) ของสารในอนุกรมเดียวกัน

#### 1.6.2.4 การใช้ค่าดัชนีคงค้างโกแวทซ์ (Kovats retention index, $I$ )

ค่าดัชนีคงค้างโกแวทซ์นี้ได้นำมาใช้ช่วยในการพิสูจน์โครงสร้างโมเลกุลของสารอินทรีย์ โดยใช้สารจำพวกนอร์มัลอัลเคน (n-alkanes) เป็นสารมาตรฐาน โดยคำนวณจากสมการของ Wehrli & Kovats [33] ซึ่งเป็นสมการที่ใช้ในการคำนวณที่สภาวะอุณหภูมิคงที่ มีสูตรดังนี้ คือ

$$I = 100N + 100 \frac{\ln V_{N,x} - \ln V_{N,n}}{\ln V_{N,n+1} - \ln V_{N,n}} \quad (1.14)$$

$N$  = จำนวนคาร์บอนอะตอมของสารนอร์มัลอัลเคน

$V_{N,x}$  = ค่า net retention volume ของสาร X

$V_{N,n}$  = ค่า net retention volume สารนอร์มัลอัลเคนที่มีจำนวนคาร์บอน  $n$

$V_{N,n+1}$  = ค่า net retention volume ของสารนอร์มัลอัลเคนที่มีจำนวนคาร์บอน  $n + 1$

หรือสามารถใช้ค่าเวลาคงค้างของสารมาแทนค่า net retention volume เมื่ออัตราไหลคงที่ ดังสมการ

$$I = 100N + 100 \frac{\log(t'_R)_X - \log(t'_R)_N}{\log(t'_R)_{N+1} - \log(t'_R)_N} \quad (1.15)$$

$(t'_R)_X$  เป็นเวลาคงค้างปรับค่าของสาร x ที่จะวิเคราะห์เอกลักษณ์

$(t'_R)_N$  และ  $(t'_R)_{N+1}$  เป็นเวลาคงค้างปรับค่าของนอร์มัลพาราฟินที่มีจำนวนคาร์บอนเป็น  $N$  และ  $N+1$

$N$  เป็นจำนวนคาร์บอนของนอร์มัลพาราฟินที่ใช้อ้างอิง

ค่าดัชนีคงค้างโกแวทซ์ของนอร์มัลอัลเคนต่างๆ กำหนดให้มีค่าเป็น 100 เท่า ของจำนวนคาร์บอนอะตอมในโมเลกุลของสารนั้นสำหรับทุกอุณหภูมิและทุกๆ ภูมิภาคหนึ่ง เช่น ออกเทน (octane) มีค่าดัชนีคงค้างโกแวทซ์เท่ากับ 800 และของเดคเคน (decane) จะมีค่าเท่ากับ 1000 ค่าดัชนีคงค้างโกแวทซ์ขึ้นกับอุณหภูมิของคอลัมน์ และชนิดของภูมิภาคหนึ่ง หากการวิเคราะห์กระทำบนคอลัมน์สองชนิดที่มีโพลาริตีต่างกัน ข้อมูลเกี่ยวกับโครงสร้างของพีคที่เกิดจากสารตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์นั้นสามารถจะหาได้จากผลต่างของค่าดัชนีคงค้างโกแวทซ์ของสารบนภูมิภาคหนึ่งที่มีขั้ว และไม่มีขั้ว

$$\Delta I = I_{\text{polar}} - I_{\text{non-polar}} \quad (1.16)$$

โดย  $\Delta I$  เป็นความแตกต่างของดัชนีคงค้ำของสารบนคอลัมน์ที่มีขั้วกับคอลัมน์ที่ไม่มีขั้วแล้วเปิดตารางเทียบซึ่งเวทลีและโกเวทซ์รวบรวมค่า  $\Delta I$  ของสารประกอบอินทรีย์มากชนิดด้วยกัน หรือการเขียนกราฟระหว่างค่า  $\log$  (เวลาคงค้ำ) กับจำนวนคาร์บอนจากสองคอลัมน์ที่มีสารบรรจุที่มีความเป็นขั้วต่างกันจะให้กราฟเส้นตรงเช่นกัน ความชันของกราฟจะบ่งบอกถึงหมู่ฟังก์ชันของสารในอนุกรมนั้นๆ ทว่าวิธีนี้ไม่ค่อยเป็นที่นิยมกันมากเพราะหมู่ฟังก์ชันของสารหาโดยวิธีการทางเคมีหรือวิธีอื่นๆ จะให้ผลที่แน่ชัดกว่า

ในทางปฏิบัติดัชนีโกเวทซ์ได้จากการฉีดสารตัวอย่างพร้อมกันบนอร์มัลพาราฟิน 3 ตัว นอร์มัลพาราฟินที่เลือกควรจะถูกชะออกจากคอลัมน์ก่อนและหลังสารตัวอย่าง นำผลที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐานโดยการเขียนกราฟระหว่าง  $\log(t_R')$  ของนอร์มัลพาราฟินกับจำนวนคาร์บอน  $\times 100$  ค่าดัชนีโกเวทซ์ของสารตัวอย่างอ่านได้จากกราฟโดยตรงโดยลากเส้นระนาบจากค่า  $\log(t_R')$  ไปตัดเส้นกราฟแล้วลากตั้งลงมาตัดแกน X ดัชนีโกเวทซ์ของสารหนึ่งๆ อาจจะมีค่าแปรเปลี่ยนเล็กน้อยตามสภาวะการวิเคราะห์ แต่ค่าที่แปรเปลี่ยนนี้ยังต่ำกว่าค่าเวลาคงค้ำหรือเวลาคงค้ำปรับค่าอย่างมาก

#### 1.6.2.5 ค่าความยาวคาร์บอนเทียบเท่า (Equivalent Chain Length; ECL)

การตัดแปลงค่าดัชนีคงค้ำมาใช้วิเคราะห์เอกลักษณ์กรดไขมันเมทิลเอสเทอร์นับเป็นตัวอย่างที่ดี และใช้กันแพร่หลายในเคมีลิปิด Miwa และคณะ [4] และ Woodford และ Vangent [34] ได้เสนอการใช้กรดไขมันเมทิลเอสเทอร์เป็นสารอ้างอิงแทนนอร์มัลพาราฟินในการวิเคราะห์กรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ดัชนีคงค้ำเปลี่ยนเป็นจำนวนคาร์บอน (carbon number) หรือความยาวโซ่คาร์บอนเทียบเท่า (ECL) เนื่องจากจำนวนคาร์บอนที่วิเคราะห์ได้มักจะมีค่าจุดเทคนิคซึ่งแย้งกับความรู้สึกรู้สึกทั่วไปว่าจำนวนคาร์บอนควรเป็นจำนวนเต็ม ดังนั้นปัจจุบันจึงใช้ค่า ECL กันแพร่หลายมากกว่า การหาค่า ECL กระทำลักษณะเดียวกันกับการหาค่าดัชนีคงค้ำ เพียงแต่เปลี่ยนสารอ้างอิงเป็นกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์แทนนอร์มัลพาราฟิน การใช้กรดไขมันเมทิลเอสเทอร์เป็นสารอ้างอิงทำได้สะดวก เนื่องจากกรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอน 14, 16 และ 18 อะตอมจะพบทั่วไปในน้ำมันพืชหรือไขสัตว์ และสามารถใช้เป็นสารอ้างอิงได้ กราฟมาตรฐานสร้างโดยการเขียนกราฟระหว่าง  $\log(t_R')$  กับจำนวนคาร์บอนของกรดไขมัน และค่า ECL อ่านจากเส้นกราฟโดยตรงหรืออาจจะคำนวณตามสมการ (1.17) คือ

$$ECL = N + 2 \frac{\log(t_R')_X - \log(t_R')_Z}{\log(t_R')_{Z+2} - \log(t_R')_Z} \quad (1.17)$$

โดย  $(t_R')_X$  เป็นเวลาคงค้ำปรับค่าของสารตัวอย่าง

$(t_R')_Z$  และ  $(t_R')_{Z+2}$  เป็นเวลาคงค้ำปรับค่าของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์อ้างอิงที่มีจำนวนคาร์บอนเป็น Z และ Z+2 อะตอมตามลำดับ

ค่า ECL ของกรดไขมันอิ่มตัวโซ่ตรง (Straight chain saturated fatty acids) บนคอลัมน์ทุกชนิดมีค่าจำนวนเต็ม และเท่ากับจำนวนคาร์บอนเสมอ แต่กรดไขมันไม่อิ่มตัว (Unsaturated fatty acids), โซ่กิ่ง (Branch chain) หรือมีวงแหวนสามเหลี่ยมในโมเลกุล (Cyclopropanoid fatty acid) จะมีค่า ECL เปลี่ยนไปตามชนิดของคอลัมน์ที่ใช้วิเคราะห์และมักไม่เป็นจำนวนเต็ม เช่น กรดโอเลอิกเมทิลเอสเทอร์จะมีค่า ECL = 18.16 บนคอลัมน์คาร์โบแว็กซ์ 20M (คาร์โบแว็กซ์ 20M) และมีค่า ECL =

19.0 บนครอลัมน์ ไซลาร์ 10ซี (Silar 10C) เป็นต้น ค่า *ECL* ของกรดไขมันต่างๆ บนครอลัมน์คาร์โบแวกซ์ 20M และบนครอลัมน์ไฮลาร์ 10 ซีได้รวบรวมไว้ในตารางที่ 1.3

ตารางที่ 1.3 ค่า *ECL* ของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์บางชนิดบนบนครอลัมน์คาร์โบแวกซ์ 20M และบนครอลัมน์ไฮลาร์ 10 ซี [32]

Methyl Ester	<i>ECL</i>	
	Carbowax 20M	ไฮลาร์ 10 ซี
16:0	16.00	16.00
16:1 $\Delta$ 9	16.18	17.08
18:0	18.00	18.00
18:1 $\Delta$ 9	18.16	19.00
18:2 $\Delta$ 9,12	18.58	20.07
18:3 $\Delta$ 6,9,12	18.85	21.10
18:3 $\Delta$ 9,12,15	19.18	21.28
18:4 $\Delta$ 6,9,12,15	19.45	22.12

กรดไขมันในธรรมชาติมีความหลากหลายและซับซ้อน การวิเคราะห์เอกลักษณ์ด้วยค่า *ECL* จะช่วยลดจำนวนกรดไขมันอ้างอิงลงอย่างมาก อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์เอกลักษณ์กรดไขมันอาจจะต้องใช้คอลัมน์ที่มีสภาพขั้วแตกต่างกันออกไป ค่า *ECL* ของกรดไขมันต่างๆ ในแต่ละคอลัมน์ก็จะเปลี่ยนไปและต้องหาค่าใหม่

ในบางครั้งการทำโครมาโตกราฟีที่อุณหภูมิคงที่นั้นต้องใช้เวลาานกว่าสารตัวสุดท้ายจะถูกชะออกจากคอลัมน์ หากเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นกรดไขมันที่มีขนาดเล็กจะถูกชะออกเร็วเกินไปและแยกออกจากกันไม่ได้ การทำโครมาโตกราฟีจึงต้องทำแบบโปรแกรมอุณหภูมิ การทำโครมาโตกราฟีแบบโปรแกรมอุณหภูมินี้จะใช้การคำนวณค่า *ECL* ตามสมการ (2.9.4) ไม่ได้ Krupcik และ Bohov [35] จึงสร้างสมการเพื่อคำนวณหาค่า *ECL* ในสภาวะโปรแกรมอุณหภูมิ แต่สมการค่อนข้างซับซ้อน และยุ่งยาก ประกอบกับค่าที่คำนวณได้ยังมีความคลาดเคลื่อนจากค่าที่คำนวณได้ภายใต้สภาวะอุณหภูมิคงที่ คาดว่าการหาค่า *ECL* ที่สภาวะโปรแกรมอุณหภูมิจะต้องใช้เวลาในการพัฒนาอีกระยะหนึ่ง เพื่อให้ได้ค่าที่แม่นยำขึ้นการหาค่า *ECL* จึงจะเป็นที่ยอมรับทั่วไปสมการจึงไม่ได้นำมาใช้ไว้ ณ ที่นี้

#### 1.6.2.6 การวิเคราะห์โดยอาศัยค่าการตอบสนองสัมพัทธ์ของเครื่องตรวจวัด

วิธีการนี้เครื่องโครมาโตกราฟีจะต้องมีเครื่องตรวจวัดอย่างน้อย 2 ชนิด ซึ่งอาจจะต่อแบบอนุกรม (สารที่ชะออกจากคอลัมน์จะผ่านเข้าไปยังเครื่องตรวจวัดที่ 1 และ 2 ตามลำดับ) หรือต่อแบบขนาน (สารที่ออกจากคอลัมน์จะถูกแยกออกเป็นสองส่วนเพื่อผ่านเข้าไปยังเครื่องตรวจวัดทั้งสองชนิด) อัตราส่วนการตอบสนองของสารจากเครื่องตรวจวัดทั้งสองจะบ่งบอกคุณลักษณะของสาร และใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์ต่อไปวิธีนี้ค่อนข้างยุ่งยากอีกทั้งเมื่อเครื่องตรวจวัดใช้งานไประยะเวลาหนึ่งความไวในการตอบสนองของเครื่องตรวจวัดจะลดลง และลดลงตามสัดส่วนที่ไม่เท่ากัน ก่อให้เกิดความยุ่งยากมากขึ้น วิธีนี้จึงไม่นิยมใช้กันมากนัก

### 1.6.2.7 วิเคราะห์เอกลักษณ์โดยใช้คอลัมน์สองอันที่มีสภาพชั่วต่างกัน

วิธีการนี้ต้องใช้คอลัมน์ 2 อัน การวิเคราะห์เอกลักษณ์อาจทำได้โดยใช้ค่าดัชนีคงค้าง หรือค่า *ECL* ก็ได้ ค่าที่ได้จะนำมาเทียบค่ากับค่าอ้างอิงบนคอลัมน์นั้นๆ ซึ่งจะช่วยเพิ่มความมั่นใจ และความถูกต้องของการวิเคราะห์ได้อีกระดับหนึ่ง เช่น *ECL* ของเมทิลโอเลอเตต (methylolate) บนคอลัมน์ไซลาร์ 10ซี มีค่าเท่ากับ 19.00 กรณีเช่นนี้หากการวิเคราะห์ใช้เพียงคอลัมน์เดียวอาจจะสรุปเป็นกรดไขมัน 19:0 ได้ แต่ถ้าวิเคราะห์ด้วยคอลัมน์คาร์โบแวกซ์ 20 เอ็ม เมทิลโอเลอเตต จะออกที่ค่า *ECL* เท่ากับ 18.16 ส่วนเมทิลโนนเดแคนโอเตต (methylnonadecanoate) จะออกที่ค่า *ECL* เท่ากับ 19.00 เหมือนเดิม อย่างไรก็ตาม แม้การใช้คอลัมน์สองอันจะเพิ่มความมั่นใจ และความถูกต้องในการวิเคราะห์ที่สูงขึ้น แต่ในทางปฏิบัตินั้น ต้องเสียเวลาอย่างมาก อย่างน้อยต้องเพิ่มเวลาเป็นสองเท่า เว้นแต่จะมีการออกแบบเครื่องโครมาโตกราฟีให้สามารถแยกสารตัวอย่างออกเป็นสองส่วน เข้าสองคอลัมน์ และเครื่องตรวจวัดสองอันพร้อมๆ กัน ก็จะย่นระยะเวลาลงได้

## 1.7 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถคำนวณค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้างในแต่ละคอลัมน์ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรมก่อน จะนำไปทำนายค่าเวลาคงค้างของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ และสารธรรมชาติบนแคพิลารีคอลัมน์สองชนิดที่ต่อกันในลักษณะอนุกรมที่สภาวะอุณหภูมิคงที่โดยไม่ต้องใช้สารอ้างอิง และไม่ต้องดัดแปลง เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟีที่มีอยู่เดิม

## บทที่ 2

### วิธีการดำเนินงานวิจัย

#### 2.1 สารเคมี

##### 2.1.1 สารตัวอย่าง

ประเภทของสารตัวอย่างที่ใช้ในการทดลองมี 2 กลุ่ม ได้แก่

##### 2.1.1.1 สารมาตรฐานกลุ่มกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ ได้แก่

- เฮกซะเดคาโนอิก แอซิด เมทิล เอสเทอร์ (Hexadecanoic acid methyl ester;  $C_{17}H_{34}O_2$ )
- เฮปตะเดคาโนอิก แอซิด เมทิล เอสเทอร์ (Heptadecanoic acid methyl ester;  $C_{18}H_{36}O_2$ )
- ออกตะเดคาโนอิก แอซิด เมทิล เอสเทอร์ (Octadecanoic acid methyl ester;  $C_{19}H_{38}O_2$ )
- โนเนะเดคาโนอิก แอซิด เมทิล เอสเทอร์ (Nonadecanoic acid methyl ester;  $C_{20}H_{40}O_2$ )
- ไอโคซานอิก แอซิด เมทิล เอสเทอร์ (Eicosanoic acid methyl ester;  $C_{22}H_{42}O_2$ )

จากบริษัท Sigma-aldrich ประเทศสหรัฐอเมริกา

##### 2.1.1.2 สารตัวอย่างน้ำมันพืช

- น้ำมันถั่วเหลือง (Soy bean oil)
- น้ำมันเมล็ดยางพารา (Rubber seed oil)
- น้ำมันรำข้าว (Rice bran oli)
- น้ำมันทานตะวัน (Sun flower oil)

##### 2.1.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

- เมทานอล (Absolute Methanol;  $CH_3OH$ ) analytical grade จากบริษัท Merck ประเทศสหรัฐอเมริกา

- เฮกเซน (Hexane;  $C_6H_{14}$ ) analytical grade และ เตตระไฮโดรฟูแรน (Tetrahydrofuran;  $C_4H_8O$ ) จากบริษัท Labscan Asia จำกัด ประเทศไทย

- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium Hydroxide;  $NaOH$ ) จากบริษัท Merck ประเทศสหรัฐอเมริกา

- กรดอะซิติก (Acetic acid;  $CH_3COOH$ ) จากบริษัท Labscan Asia จำกัด ประเทศไทย

- โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium Carbonate;  $Na_2CO_3$ ) จากบริษัท Fluka จำกัด ประเทศสวิตเซอร์แลนด์

- โซเดียมซัลเฟต (Sodium sulfatе anhydrous;  $Na_2SO_4$ ) จากบริษัท Carlo Erba ประเทศอิตาลี

- น้ำกลั่น (distilled water)

- เมล็ดพืช จากบริษัท เจียไต่ จำกัด ประเทศไทย

### 2.1.3 แก๊ส

- ไนโตรเจน (N<sub>2</sub> 99.99 %)
- ไฮโดรเจน (H<sub>2</sub> 99.99%)
- ออกซิเจน (commercial grade)
- ฮีเลียม (commercial grade)

จากบริษัท Praxair (Thailand) จำกัด

## 2.2 วัสดุอุปกรณ์

### 2.2.1 เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (Gas Chromatography)

เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี Shimadzu รุ่น GC-2010 มีตัวตรวจวัดแบบ Flame Ionization จากบริษัท Shimadzu ประเทศญี่ปุ่น ข้อมูลถูกจัดเก็บและประมวลผลด้วยซอฟต์แวร์ GC solution

ในการวิเคราะห์ที่ใช้แคปิลารีคอลัมน์ (70% Cyanopropyl Polysilphenylene-siloxane) และคอลัมน์ SP-2340 (100% poly biscyanopropyl/ siloxane) ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.25 มิลลิเมตร ยาว 30 เมตร

สภาวะที่ใช้ในการทดลอง

แก๊สตัวพา (Carrier gas): แก๊สฮีเลียม

ระบบฉีดสารแบบปล่อยสารทิ้งบางส่วนในอัตราส่วน 50: 1

- อัตราการไหล
- แก๊สฮีเลียม 0.31 มิลลิลิตรต่อนาที
  - เมคอัพ (ไนโตรเจน/อากาศ) 30 มิลลิลิตรต่อนาที
  - แก๊สไนโตรเจน 40 มิลลิลิตรต่อนาที
  - อากาศ 400 มิลลิลิตรต่อนาที

อุณหภูมิที่ใช้ในการวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี

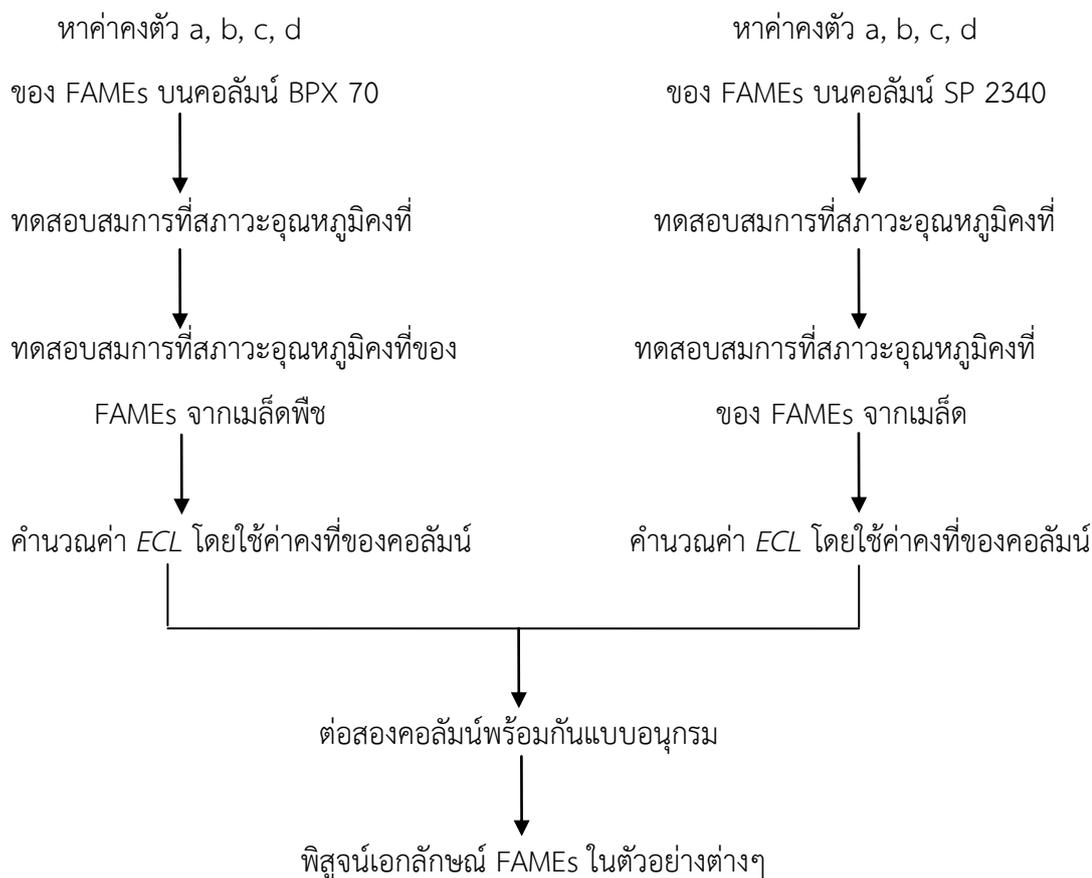
- อินเจคเตอร์ (Injector port) 250 °C
- เครื่องตรวจวัด (Detector) 230 °C
- ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (Oven) ใช้แบบอุณหภูมิคงที่ (Isothermal) ใช้อุณหภูมิตั้งแต่ 170- 200 °C

### 2.2.2 วัสดุอุปกรณ์อื่น ๆ

- เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง
- เครื่องระเหยแบบหมุน (Rotary Evaporator) model R 200 ของบริษัท Buchi ประเทศสวิสเซอร์แลนด์
- ตู้อบ model NDO-600 ND ของ Eylea ประเทศญี่ปุ่น

- สำลี (cotton wool)
- กระบอกฉีดยา (disposable syringe) ขนาด 5 มิลลิลิตร

## 2.3 วิธีการดำเนินการทดลอง



รูปที่ 2.1 แผนผังการดำเนินการทดลอง

## 2.4 การสกัดน้ำมันจากเมล็ดพืช

นำเมล็ดพืชที่ผ่านการอบแห้งแล้ว (ที่อุณหภูมิ 60 °C, ซ้ำมคืน) มาบดและแช่ในโทลูอีนในอัตราส่วน เมล็ดบด 1 กรัมต่อโทลูอีน 10 มิลลิลิตร เพื่อสกัดน้ำมันในเมล็ดออกมา ระเหยโทลูอีนออกโดยใช้เครื่องระเหยแบบหมุน (Rotary Evaporator) และโทลูอีนที่ระเหยได้สามารถนำกลับมาใช้ใหม่

### 2.3.2 การเตรียมอนุพันธ์เมทิลเอสเทอร์ของสารมาตรฐาน และตัวอย่างน้ำมันด้วยปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน (Transesterification) ด้วยวิธีไมโคร-รีแอกเตอร์ (micro-reactor)

ชั่งตัวอย่างน้ำมัน 2 มิลลิกรัม หรือปริมาณ 2 ไมโครลิตร นำมาละลายในสารละลายผสมของแอลกอฮอล์และเตตระไฮโดรฟูแรน ปริมาณ 1 มิลลิลิตร (ผสมกันในอัตราส่วนความเข้มข้นประมาณ 4 โมลาร์ของแอลกอฮอล์ต่อเตตระไฮโดรฟูแรน) นำสารละลายน้ำมันที่เตรียมได้มาผ่านกระบอกฉีดยาที่บรรจุส่วนล่างด้วยสำลี และด้านบนใส่โซเดียมไฮดรอกไซด์บดปริมาณ 0.5 กรัม เพื่อทำปฏิกิริยา จากนั้นนำสารละลายผสมของแอลกอฮอล์และเตตระไฮโดรฟูแรน ปริมาณ 1 มิลลิลิตรที่ไม่ผสมตัวอย่างน้ำมันเทผ่านกระบอกฉีดยา เพื่อล้างผลิตภัณฑ์เอสเทอร์ที่เกิดขึ้นออกมาให้หมด นำสารผสมที่ชะออกมาได้จากกระบอกฉีดยาไปทำให้เป็นกลางหรือหยุดปฏิกิริยาด้วยกรดอะซิติกปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร

ล้างสารผสมที่ได้ด้วย 4% โซเดียมคาร์บอเนต ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ทิ้งให้แยกชั้น ดูดแยกชั้นของสารละลายส่วนบน (organic phase) มาล้างด้วยน้ำกลั่นปริมาณ 3 มิลลิลิตร จำนวน 2 ครั้ง นำส่วนของ organic phase มาดูดน้ำออกโดยการเติมผงโซเดียมซัลเฟตเล็กน้อย เขย่าและทิ้งไว้สักครู่ นำส่วนของสารละลายที่ได้มาใส่ในหลอดขนาดเล็ก (Vial) และระเหยตัวทำละลายออก เติมเฮกเซน (analytical grade) แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโตกราฟี

### 2.3.3 การวิเคราะห์ผลที่ได้จากแก๊สโครมาโตกราฟี

การพิสูจน์เอกลักษณ์สาร FAMES ที่สภาวะอุณหภูมิคงที่

เมื่อฉีดสาร FAMES แล้ว เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟจะทำการแยกและวิเคราะห์องค์ประกอบของสารตัวอย่าง ซึ่งจะได้ข้อมูลค่าเวลาคงค้าง (retention time) ที่สามารถนำไปทำการวิเคราะห์หาค่าคงตัว a, b, c และ d ในขั้นต่อไป

จากสมการของ Krisnangkura และคณะ [22]

$$\text{หรือ} \quad \ln k = a + bz + \frac{c}{T} + \frac{dz}{T} \quad (2.1)$$

โดย	$k$	=	ค่าตัวประกอบคงค้างมีค่าเท่ากับ $(t_R - t_M)/t_M$
	$t_R$	=	ค่าเวลาคงค้างของสารตัวอย่าง
	$t_M$	=	ค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้าง
	$z$	=	จำนวนคาร์บอน
	$T$	=	อุณหภูมิสัมบูรณ์ (Kelvin)
	a, b, c, d	=	ค่าคงที่ของคอลัมน์ (column)

สามารถหา a, b, c, d ได้โดย

เมื่อกำหนดให้อุณหภูมิคงที่ สมการ (2.1) สามารถดัดแปลงเหลือ

$$\ln \left( \frac{t_R - t_M}{t_M} \right) = a' + b'z \quad (2.2)$$

$$\text{โดยที่} \quad a' = a + \frac{c}{T} \quad (2.3)$$

$$b' = b + \frac{d}{T} \quad (2.4)$$

เมื่อเขียนกราฟระหว่าง  $a'$  กับ  $1/T$  จะได้จุดตัดแกน y เท่ากับ a และความชันเท่ากับ c และเมื่อเขียนกราฟระหว่าง  $b'$  กับ  $1/T$  จะได้จุดตัดแกน y เท่ากับ b และความชันเท่ากับ d ซึ่งค่าคงตัวที่ได้จากความสัมพันธ์ข้างต้นนี้ก็คือค่าเดียวกันกับค่าคงตัวในสมการ (2.1)

เมื่อพิจารณาที่จำนวนคาร์บอนคงที่สมการ (3.1) สามารถลดรูปเป็น

$$\ln\left(\frac{t_R - t_M}{t_M}\right) = c' + \frac{d'}{T} \quad (2.5)$$

โดยที่  $c' = a + bz$  (2.6)

$$d' = c + dz \quad (2.7)$$

เมื่อเขียนกราฟระหว่าง  $c'$  กับ  $z$  จะได้จุดตัดแกน  $y$  เท่ากับ  $a$  และความชันเท่ากับ  $b$  และเมื่อเขียนกราฟระหว่าง  $d'$  กับ  $z$  จะได้จุดตัดแกน  $y$  เท่ากับ  $c$  และความชันเท่ากับ  $d$  ซึ่งค่าคงตัวที่ได้จากความสัมพันธ์ข้างต้นนี้ก็คือค่าเดียวกันกับค่าคงตัวในสมการ (2.1)

#### 2.3.4 ค่าเวลาคงค้างรวม ( $t_{RT}$ ) ของสารในสองคอลัมน์ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรม

ค่าเวลาคงค้างรวม ( $t_{RT}$ ) ของสารในสองคอลัมน์ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรมคำนวณได้จากผลรวมของค่าเวลาคงค้างในแต่ละคอลัมน์ ดังสมการ (2.8)

$$t_{RT} = t_{R1} + t_{R2} \quad (2.8)$$

เมื่อ  $t_{RT}$  คือค่าเวลาคงค้างรวมของสารในสองคอลัมน์ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรม

$t_{R1}$  และ  $t_{R2}$  คือค่าเวลาคงค้างรวมของสารในคอลัมน์ที่ 1 และคอลัมน์ที่ 2 ตามลำดับ

ค่าเวลาคงค้างของสารในแต่ละคอลัมน์หาได้จากสมการดังนี้

$$\ln\left(\frac{t_R - t_M}{t_M}\right) = a + bz + \frac{c}{T} + \frac{dz}{T} = S \quad (2.1)$$

หรือ  $t_R = t_M(e^S + 1)$

ดังนั้นค่าเวลาคงค้างของสารในคอลัมน์ที่ 1 สามารถหาได้จาก

$$t_{R1} = \left\{ e^{(a1+b1z1+ c1/T + (d1)(z1/T))} + 1 \right\} \left( \frac{t_M}{T} \right) \times (cf1) \quad (2.9)$$

เมื่อ  $t_{MT}$  คือค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้างรวมในสองคอลัมน์ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรม  
 $C_{f1}$  คือค่าคอลัมน์แฟรกชันในคอลัมน์ที่ 1

ดังนั้นค่าเวลาคงค้างของสารในคอลัมน์ที่ 2 สามารถหาได้จาก

$$t_{R2} = \left\{ e^{(a2+b2z2+ c2/T + (d2)(z2/T))} + 1 \right\} \left( \frac{t_M}{T} \right) \times (cf2) \quad (2.10)$$

เมื่อ  $t_{MT}$  คือค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้างรวมในสองคอลัมน์ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรม  
 $C_{f2}$  คือค่าคอลัมน์แฟรกชันในคอลัมน์ที่ 2

### 2.3.5 การหาค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้างในคอลัมน์ที่ 1 ( $t_{M1}$ ) และคอลัมน์ที่ 2 ( $t_{M2}$ )

Watanachaiyong และคณะ [36] ได้ประยุกต์ใช้สมการ (2.1) ในการหาค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้าง ( $t_M$ ) จากค่าเวลาคงค้าง ( $t_R$ ) ของสารนอร์มัลอัลเคนที่มีจำนวนคาร์บอน 5-10 อะตอม ซึ่งถูกชะออกจากคอลัมน์ที่อุณหภูมิต่างๆ กัน และพบว่าเมื่อทราบค่าคงตัวทางเทอร์โมไดนามิกส์ ( $a$ ,  $b$ ,  $c$  และ  $d$ ) ของคอลัมน์แล้วสามารถคำนวณค่า  $t_M$  โดยใช้  $t_R$  ของสารนอร์มัลอัลเคนชนิดใดก็ได้ให้ค่า  $t_M$  ถูกต้อง และใกล้เคียงกัน ดังสมการ

$$t_M = t_R \left( 1 + e^{\frac{a+bz+\frac{c}{T}+\frac{dz}{T}}{T}} \right)^{-1} \quad (2.11)$$

สมการที่ (2.11) สามารถประยุกต์ใช้ในการหาค่า  $t_M$  ได้ทั้งในแพคคอลัมน์ และแคปิลลารีคอลัมน์ ซึ่งการหาค่า  $t_M$  วิธีนี้มีประโยชน์อย่างมากในการนำสมการ (1.1) ไปประยุกต์ใช้ในการทำนายค่าเวลาคงค้างของสารในสภาวะอุณหภูมิคงที่

การหาค่าคงค้างของสารไม่คงค้าง ( $t_{MT}$ ) ทำเช่นเดียวกับวิธีของ Watanachaiyong และคณะ [36] เพียงแต่ต้องอาศัยการแก้สมการที่ซับซ้อนขึ้น เนื่องจากการวิเคราะห์สารด้วยคอลัมน์สองคอลัมน์ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรม ค่าเวลาคงค้างรวมของสารไม่คงค้างเกิดจากผลรวมของค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้างของคอลัมน์ที่ 1 และคอลัมน์ที่ 2 ดังสมการ

$$t_{M1} = (t_{MT})(C_{f1}) \quad (2.12)$$

$$t_{M2} = (t_{MT})(C_{f2}) \quad (2.13)$$

เมื่อ  $t_{MT}$  คือค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้างรวมในสองคอลัมน์ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรม  
 $t_{M1}$  และ  $t_{M2}$  คือค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้างในคอลัมน์ที่ 1 และคอลัมน์ที่ 2  
 $C_{f1}$  และ  $C_{f2}$  คือค่าคอลัมน์แฟรกชันในคอลัมน์ที่ 1 และคอลัมน์ที่ 2

## บทที่ 3

### ผลการทดลอง

#### 3.1 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ (FAMES) บนคอลัมน์ SP-2340

ในการพิสูจน์เอกลักษณ์สารโดยไม่ใช่สารอ้างอิง จำเป็นต้องหาค่าคงที่ a, b, c และ d ของคอลัมน์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ก่อน โดยใช้สภาวะอุณหภูมิคอลัมน์คงที่

##### 3.1.1 การหาค่าคงที่ a, b, c และ d ของ FAMES บนคอลัมน์ SP-2340 ที่สภาวะอุณหภูมิคงที่

จากการฉีดสารมาตรฐานกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ที่สภาวะอุณหภูมิคอลัมน์คงที่ต่างๆ บนคอลัมน์ SP-2340 ได้ค่าเวลาคงค้างไม่ปรับแก้ดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 แสดงค่าเวลาคงค้างไม่ปรับแก้ของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์บนคอลัมน์ SP-2340 อุณหภูมิ 170-200°C

จำนวนคาร์บอน	ค่าเวลาคงค้างของไม่ปรับแก้ (unadjusted retention time; $t_R$ )						
	170	175	180	185	190	195	200
	443.15	448.15	453.15	458.15	463.15	468.15	473.15
เฮกเซน	2.869	2.891	2.911	2.931	2.947	2.969	2.990
16	6.465	5.861	5.380	4.992	4.68	4.437	4.245
17	7.724	6.862	6.179	5.634	5.201	4.863	4.594
18	9.437	8.209	7.245	6.481	5.883	5.417	5.043
19	11.775	10.030	8.669	7.603	6.87	6.137	5.624
20	15.03	12.534	10.612	9.106	7.976	7.088	6.383
22	25.665	20.589	16.768	13.809	11.67	9.992	8.668

ค่าเวลาคงค้างในตารางที่ 3.1 เป็นค่าเวลาคงค้างไม่ปรับแก้ (unadjusted retention time) นำมาใช้ในการคำนวณไม่ได้ เนื่องจากเมื่อนำมาสร้างกราฟกับจำนวนคาร์บอนจะไม่ให้ความสัมพันธ์เชิงเส้น และข้อมูลที่ได้ไม่สามารถนำไปเปรียบเทียบกับเครื่องมือหรือคอลัมน์ชนิดอื่นได้ ค่าเวลาคงค้างไม่ปรับแก้เมื่อลบค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้าง (unretained compound) ออก (ในการทดลองนี้ใช้ตัวทำละลายเฮกเซน) จะได้ค่าเวลาคงค้างปรับแก้ (adjusted retention time;  $t'_R$ ) ค่าเวลาคงค้างปรับแก้จะไม่รวมค่าปริมาตรตาย (dead volume) และทำให้อยู่ในรูป retention factor คือ  $(t_R - t_M)/t_M$  เมื่อใส่ natural logarithm จะได้  $\ln(t_R - t_M)/t_M$  แล้วนำมาสร้างกราฟกับจำนวนคาร์บอน จะได้ความสัมพันธ์เชิงเส้นของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ที่อุณหภูมิต่างๆ ดังแสดงผลในตารางที่ 3.2 จากความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่า  $\ln(t_R - t_M)/t_M$  กับจำนวนคาร์บอน (z) ของสารแต่ละหมู่ฟังก์ชันที่อุณหภูมิต่างๆ บนคอลัมน์ทั้งสองชนิดได้สมการเส้นตรงคือ

$$\ln(t_R - t_M)/t_M = a' + b'z \quad (3.1)$$

ซึ่งก็คือสมการของ James และ Martin โดยค่า  $a'$  และ  $b'$  เป็นค่าจุดตัดแกน  $y$  และค่าความชันตามลำดับ ค่า  $a'$  และ  $b'$  วิเคราะห์ได้โดย Microsoft Excel Version 8.0 และรวบรวมไว้ในตารางที่ 3.2 และเมื่อนำค่า  $a'$  และ  $b'$  ไปหาความสัมพันธ์กับส่วนกลับของอุณหภูมิ  $1/T$  จะได้ความสัมพันธ์เชิงเส้น ซึ่งเขียนให้อยู่ในรูปสมการได้ดังนี้

$$a' = a + c/T \quad (3.2)$$

$$b' = b + d/T \quad (3.3)$$

จากสมการ (3.2) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า  $a'$  กับ  $1/T$  โดยค่า  $a$  และ  $c$  เป็นค่าจุดตัดแกน  $y$  และค่าความชันตามลำดับ ซึ่งค่า  $a$  และ  $c$  วิเคราะห์ได้โดย Microsoft Excel Version 8.0 และรวบรวมไว้ในตารางที่ 3.2 และจากสมการ (3.3) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า  $b'$  กับ  $1/T$  โดยค่า  $b$  และ  $d$  เป็นค่าจุดตัดแกน  $y$  และค่าความชันตามลำดับ ซึ่งค่า  $b$  และ  $d$  วิเคราะห์ได้โดย Microsoft Excel Version 8.0 และรวบรวมไว้ในตารางที่ 3.2 เมื่อแทนค่า  $a'$  และ  $b'$  จากสมการที่ (3.2) และ (3.3) กลับลงในสมการ (3.1) นั่นก็คือ

$$\ln\left(\frac{t_R - t_M}{t_M}\right) = a + bz + \frac{c}{T} + \frac{dz}{T} \quad (3.4)$$

โดยที่  $a$ ,  $b$ ,  $c$  และ  $d$  คือค่าคงที่ในสมการของ Krisnangkura และคณะ [22] นั่นเอง

หรือนำค่า  $\ln(t_R - t_M)/t_M$  มาเขียนกราฟกับส่วนกลับของอุณหภูมิ  $1/T$  ( $T$  อุณหภูมิในหน่วยองศาเคลวิน) ตามสมการของ Van't Hoff จะได้กราฟเส้นตรงจากความสัมพันธ์ระหว่างค่า  $\ln(t_R - t_M)/t_M$  กับ  $1/T$  ของสารแต่ละหมู่ฟังก์ชันที่อุณหภูมิต่างๆ บนคอลัมน์ทั้งสองชนิด ได้สมการเส้นตรงคือ

$$\ln(t_R - t_M)/t_M = c' + d'/T \quad (3.5)$$

ซึ่งเป็นความสัมพันธ์ระหว่างค่า  $\ln(t_R - t_M)/t_M$  กับ  $1/T$  กับส่วนกลับของอุณหภูมิ ( $1/T$ ) โดยค่า  $c'$  และ  $d'$  เป็นค่าจุดตัดแกน  $y$  และค่าความชันตามลำดับ ค่า  $c'$  และ  $d'$  วิเคราะห์ได้โดย Microsoft Excel Version 8.0 และรวบรวมไว้ในตารางที่ 3.2 และเมื่อนำค่า  $c'$  และ  $d'$  ไปหาความสัมพันธ์กับจำนวนคาร์บอน ( $z$ ) จะได้ความสัมพันธ์เชิงเส้น ซึ่งเขียนให้อยู่ในรูปสมการได้ดังนี้

$$c' = a + bz \quad (3.6)$$

$$d' = c + dz \quad (3.7)$$

จากสมการ (3.6) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า  $c'$  กับ  $z$  โดยค่า  $a$  และ  $b$  เป็นค่าจุดตัดแกน  $y$  และค่าความชันตามลำดับ ซึ่งค่า  $a$  และ  $b$  วิเคราะห์ได้โดย Microsoft Excel Version 8.0 และรวบรวม

ไว้ในตารางที่ 3.2 และจากสมการ (3.7) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า d' กับ z โดยค่า c และ d เป็นค่าจุดตัดแกน y และค่าความชันตามลำดับ ซึ่งค่า c และ d วิเคราะห์ได้โดย Microsoft Excel Version 8.0 และรวบรวมไว้ในตารางที่ 3.2 เมื่อแทนค่า c' และ d' จากสมการที่ (3.6) และ (3.7) กลับลงในสมการ (3.5) นั่นก็คือ

$$\ln\left(\frac{t_R - t_M}{t_M}\right) = a + bz + \frac{c}{T} + \frac{dz}{T} \quad (3.4)$$

โดยที่ a, b, c และ d คือค่าคงที่ในสมการของ Krisnangkura และคณะ [22] นั่นเอง

สมการ (3.4) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าเวลาคงค้าง จำนวนคาร์บอน และอุณหภูมิของคอลัมน์ที่ได้จากสมการเชิงเส้นระหว่างค่า a' กับ  $1/T$  และ b' กับ  $1/T$  ดูรายละเอียดได้จากสมการ (3.2) กับ (3.3) และสมการเชิงเส้นระหว่างค่า c' กับ z และ d' กับ z ดูรายละเอียดได้ในสมการ (3.6) กับ (3.7)

ตารางที่ 3.2 แสดงค่าลอการิทึมธรรมชาติของตัวประกอบคงค้าง  $\ln(t_R - t_M)/t_M$  กับจำนวนคาร์บอน และ ส่วนกลับของอุณหภูมิของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์บนคอลัมน์ SP-2340

จำนวนคาร์บอน	ค่าลอการิทึมธรรมชาติของตัวประกอบคงค้าง (natural logarithm of retention factor; $\ln(t_R - t_M)/t_M$ )								Intercept (c')	Slope (d')
	170°C	175°C	180°C	185°C	190°C	195°C	200°C			
	0.002257	0.002231	0.002207	0.002183	0.002159	0.002136	0.002113			
16	0.226	0.027	-0.165	-0.352	-0.531	-0.704	-0.868	-17.061	7658.125	
17	0.526	0.317	0.116	-0.081	-0.268	-0.450	-0.623	-17.618	8037.682	
18	0.828	0.609	0.398	0.192	-0.004	-0.193	-0.376	-18.179	8420.036	
19	1.133	0.904	0.682	0.466	0.286	0.065	-0.127	-18.662	8768.925	
20	1.444	1.205	0.973	0.745	0.534	0.327	0.126	-19.347	9210.034	
22	2.073	1.812	1.560	1.311	1.085	0.861	0.641	-20.494	9995.896	
Intercept (a')	-4.706	-4.739	-4.771	-4.793	-4.848	-4.883	-4.898	(a) -7.882	(c) 1408.57	
Slope (b')	0.308	0.297	0.287	0.277	0.270	0.261	0.251	(b) -0.572	(d) 389.64	

\* ค่า  $(1/T \times 10^{-3})$  หน่วย ( $K^{-1}$ ) a, b, c และ d เป็นค่าคงที่ในสมการ (3.4)

a', b' เป็นค่าจุดตัดแกน y, ค่าความชัน จากสมการ (3.1)

c', d' เป็นค่าจุดตัดแกน y, ค่าความชัน จากสมการ (3.5)

จากตารางที่ 3.2 เมื่อนำค่า a' และ b' ไปหาความสัมพันธ์กับ  $1/T$  ได้สมการเชิงเส้นดังนี้

$$a' = -7.882 + 1408.57/T \quad (3.2.1)$$

$$b' = -0.572 + 389.64/T \quad (3.3.1)$$

เมื่อแทนค่า  $a'$  จากสมการ (3.2.1) และ  $b'$  จากสมการ (3.3.1) กลับลงในสมการ (3.1) จะได้สมการดังนี้

$$\ln(t_R - t_M)/t_M = -7.882 - 0.572z + 1408.57/T + 389.64z/T \quad (3.4.1)$$

หรือนำค่า  $c'$  และ  $d'$  จากตารางที่ 3.2 ไปหาความสัมพันธ์กับ  $z$  ได้สมการเชิงเส้นดังนี้

$$c' = -7.882 - 0.572z \quad (3.6.1)$$

$$d' = 1408.57 + 389.64z \quad (3.7.1)$$

เมื่อแทนค่า  $c'$  จากสมการ (3.6.1) และ  $d'$  จากสมการ (3.7.1) กลับลงในสมการ (3.5) จะได้ค่าสมการเช่นเดียวกับค่าในสมการ (3.4.1) จากผลการทดลอง และคำนวณสามารถเขียนสรุปสมการวิเคราะห์เอกลักษณ์กรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ (FAMES) บนคอลัมน์ SP-2340 ได้ดังนี้

$$\ln(t_R - t_M)/t_M = -7.882 - 0.572z + 1408.57/T + 389.64z/T \quad (3.4.1)$$

จากสมการที่ (3.4.1) สามารถใช้ในการทำนายจำนวนคาร์บอนอะตอม ( $z$ ) หรือจำนวนคาร์บอนเทียบเท่า (ECL) ของสารตัวอย่างจำพวกกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ ในกรณีที่ทราบค่าเวลาคงค้างที่สภาวะอุณหภูมิคงที่ต่างๆ หรือทำนายค่าเวลาคงค้างของสารตัวอย่างที่ทราบจำนวนคาร์บอน

### 3.1.2 การทดสอบสมการวิเคราะห์เอกลักษณ์สารกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์บนคอลัมน์ SP-2340

การทดสอบสมการที่ได้เพื่อดูความแม่นยำ และถูกต้องในการนำไปใช้พิสูจน์เอกลักษณ์ของ FAMES ทำได้โดยคำนวณจำนวนคาร์บอนของสารมาตรฐาน FAMES ที่สภาวะอุณหภูมิคงที่บนคอลัมน์ SP-2340 ด้วยสมการ (3.4.1) แล้วนำค่าที่คำนวณได้ไปเปรียบเทียบกับจำนวนคาร์บอนของสารมาตรฐาน และคำนวณหาร้อยละของความผิดพลาดจากสูตร

$$\text{ค่าความแตกต่าง} = (z_y - z_x)/z_x$$

โดยที่  $z_y$  = จำนวนคาร์บอนเทียบเท่าที่ได้จากการคำนวณจากสมการ (3.4.1)

$z_x$  = จำนวนคาร์บอนของสารมาตรฐานที่ใช้ทดลอง

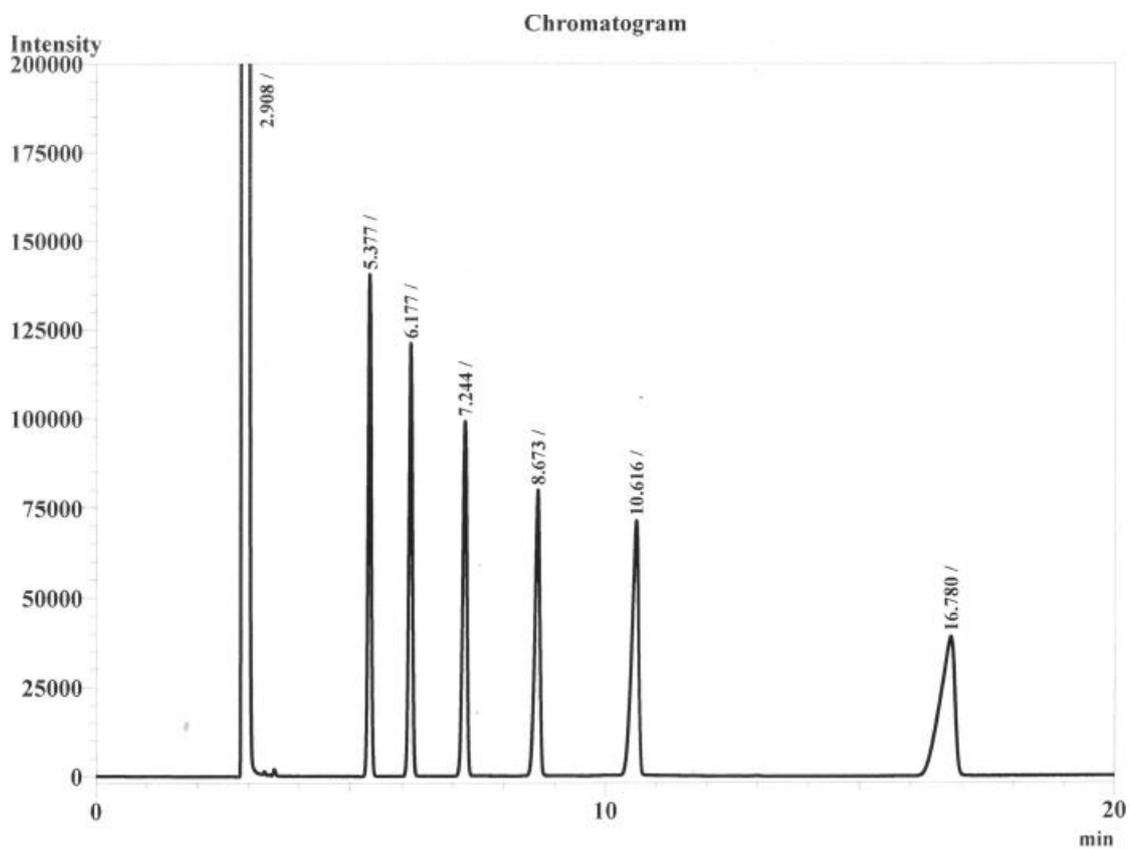
ค่าจำนวนคาร์บอนที่ได้จากการคำนวณจากสมการ (3.4.1) และค่าความแตกต่างสรุปไว้ในตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 แสดงค่าจำนวนคาร์บอนที่คำนวณได้จากสมการ (3.4.1) ของสารมาตรฐานกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์และค่าความแตกต่างบนคอลัมน์ SP-2340

จำนวนคาร์บอน	ค่าจำนวนคาร์บอนที่คำนวณได้จากสมการ (3.4.1)						
	170°C	175°C	180°C	185°C	190°C	195°C	200°C
16	16.05 (0.05)	16.03 (0.03)	16.01 (0.01)	16.00 (0.00)	16.01 (0.01)	16.02 (0.02)	16.05 (0.05)
17	17.02 (0.02)	17.00 (0.00)	16.99 (-0.01)	16.98 (-0.02)	16.98 (-0.02)	17.00 (0.00)	17.03 (0.03)
18	18.01 (0.01)	17.98 (-0.02)	17.97 (-0.03)	17.96 (-0.04)	17.97 (-0.03)	17.98 (-0.02)	18.01 (0.01)
19	19.00 (0.00)	18.98 (-0.02)	18.96 (-0.04)	18.94 (-0.06)	19.04 (0.04)	18.98 (-0.02)	19.00 (0.00)
20	20.01 (0.01)	19.99 (-0.01)	19.97 (-0.03)	19.94 (-0.06)	19.97 (-0.03)	19.98 (-0.02)	20.01 (0.01)
22	22.06 (0.06)	20.03 (0.03)	22.01 (0.01)	21.98 (-0.02)	22.01 (0.01)	22.03 (0.03)	22.06 (0.06)

\* ค่าในวงเล็บ คือ ค่าความแตกต่างของค่าจำนวนคาร์บอนที่ได้จากการคำนวณกับค่าจริง

จากตารางที่ 3.3 พบว่าค่าความแตกต่างระหว่างจำนวนคาร์บอนที่ได้จากการคำนวณจากค่าเวลาคงค้างที่อุณหภูมิต่างๆ กับจำนวนคาร์บอนที่แท้จริงของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์มาตรฐานมีค่าอยู่ในช่วง -0.06 ถึง 0.06



รูปที่ 3.1 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐานกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ที่มีจำนวนคาร์บอน 16-22 อะตอม บนคอลัมน์ SP-2340 ที่อุณหภูมิ 180°C

### 3.2 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ (FAMES) บนคอลัมน์ BPX-70

ทำการหาค่าคงที่ a, b, c และ d ของคอลัมน์ BPX-70 โดยใช้สภาวะอุณหภูมิคอลัมน์คงที่ เช่นเดียวกับคอลัมน์ SP-2340

#### 3.2.1 การหาค่าคงที่ a, b, c และ d ของ FAMES บนคอลัมน์ BPX-70 ที่สภาวะอุณหภูมิคงที่

จากการฉีดสารมาตรฐานกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ (FAMES) ที่สภาวะอุณหภูมิคอลัมน์คงที่ต่างๆ บนคอลัมน์ BPX-70 ได้ค่าเวลาคงค้างไม่ปรับแก้ดังตารางที่ 3.4

ตารางที่ 3.4 แสดงค่าเวลาคงค้างไม่ปรับแก้ของ FAMES บนคอลัมน์ BPX-70 ที่อุณหภูมิ 170-200°C

จำนวนคาร์บอน	ค่าเวลาคงค้างของไม่ปรับแก้ (unadjusted retention time; $t_R$ )						
	170°C	175°C	180°C	185°C	190°C	195°C	200°C
เฮกเซน	1.552	1.563	1.574	1.587	1.599	1.609	1.621
16	4.39	3.901	3.511	3.197	2.948	2.747	2.586
17	5.444	4.738	4.179	3.734	3.381	3.100	2.875
18	6.887	5.872	5.075	4.448	3.953	3.561	3.249
19	8.86	7.411	6.281	5.398	4.706	4.165	3.734
20	11.586	9.515	7.909	6.673	5.707	4.958	4.366
22	20.896	16.597	13.309	10.844	8.936	7.485	6.355

นำค่าเวลาคงค้างมาทำให้อยู่ในรูป retention factor คือ  $\ln(t_R - t_M)/t_M$  ใส่ natural logarithm จะได้  $\ln(t_R - t_M)/t_M$  แล้วนำมาสร้างกราฟกับจำนวนคาร์บอน จะได้ความสัมพันธ์เชิงเส้นของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ที่อุณหภูมิต่างๆ ดังแสดงผลในตารางที่ 3.4 แล้วทำการวิเคราะห์หาค่าคงที่ a, b, c และ d โดยใช้ Microsoft Excel Version 8.0 เช่นเดียวกับคอลัมน์ SP-2340 ในข้อ 3.1.1 และรวบรวมข้อมูลที่ได้ไว้ในตารางที่ 3.5

ตารางที่ 3.5 แสดงค่าลอการิทึมธรรมชาติของตัวประกอบคงค้าง  $\ln(t_R-t_M)/t_M$  กับจำนวนคาร์บอนและ ส่วนกลับของอุณหภูมิของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์บนคอลัมน์ BPX-70

จำนวน คาร์บอน	ค่าลอการิทึมธรรมชาติของตัวประกอบคงค้าง (natural logarithm of retention factor; $\ln(t_R-t_M)/t_M$ )								
	170°C	175°C	180°C	185°C	190°C	195°C	200°C	Intercept	Slope
	0.002257	0.002231	0.002207	0.002183	0.002159	0.002136	0.002113	(c')	(d')
16	0.604	0.403	0.208	0.014	-0.170	-0.346	-0.519	-17.125	7854.51
17	0.919	0.709	0.504	0.302	0.108	-0.076	-0.257	-17.658	8230.86
18	1.235	1.014	0.799	0.589	0.387	0.193	0.004	-18.196	8608.83
19	1.549	1.319	1.095	0.876	0.664	0.463	0.265	-18.733	8986.12
20	1.866	1.627	1.392	1.165	0.944	0.733	0.527	-19.288	9372.62
22	2.523	2.264	2.009	1.764	1.524	1.295	1.072	-20.390	10151.81
Intercept (a)	-4.510	-4.556	-4.593	-4.646	-4.682	-4.720	-4.755	(a) <b>-8.403</b>	(c) 1724.33
Slope (b')	0.319	0.310	0.300	0.291	0.282	0.273	0.264	(b) <b>-0.544</b>	(d) 382.67

\* ค่า  $(1/T \times 10^{-3})$  หน่วย  $(K^{-1})$  a, b, c และ d เป็นค่าคงที่ในสมการ (3.4)

a', b' เป็นค่าจุดตัดแกน y, ค่าความชัน จากสมการ (3.1)

c', d' เป็นค่าจุดตัดแกน y, ค่าความชัน จากสมการ (3.5)

จากตารางที่ 3.5 เมื่อนำค่า a' และ b' ไปหาความสัมพันธ์กับ  $1/T$  ได้สมการเชิงเส้นดังนี้

$$a' = -8.403 + 1724.33/T \quad (3.2.2)$$

$$b' = -0.544 + 382.67/T \quad (3.3.2)$$

เมื่อแทนค่า a' จากสมการ (3.2.2) และ b' จากสมการ (3.3.2) กลับลงในสมการ (3.4) จะได้สมการดังนี้

$$\ln(t_R-t_M)/t_M = -8.403 - 0.544z + 1724.33/T + 382.67z/T \quad (3.4.2)$$

หรือนำค่า c' และ d' จากตารางที่ 3.5 ไปหาความสัมพันธ์กับ z ได้สมการเชิงเส้นดังนี้

$$c' = -8.403 - 0.544z \quad (3.6.2)$$

$$d' = 1724.33 + 382.67z \quad (3.7.2)$$

เมื่อแทนค่า c' จากสมการ (3.6.2) และ d' จากสมการ (3.7.2) กลับลงในสมการ (3.5) จะได้ค่าสมการ เช่นเดียวกับค่าในสมการ (3.4.2) จากผลการทดลองและคำนวณสามารถเขียนสรุปสมการวิเคราะห์ เอกลักษณะกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ บนคอลัมน์ BPX-70 ได้ดังนี้

$$\ln(t_R-t_M)/t_M = -8.403 - 0.544z + 1724.33/T + 382.67z/T \quad (3.4.2)$$

จากสมการที่ (3.4.2) สามารถใช้ในการทำนายจำนวนคาร์บอนอะตอม ( $z$ ) หรือจำนวนคาร์บอนเทียบเท่า ( $ECL$ ) ของสารตัวอย่างจำพวกกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ ในกรณีที่ทราบค่าเวลาคงค้างที่สภาวะอุณหภูมิคงที่ต่างๆ หรือทำนายค่าเวลาคงค้างของสารตัวอย่างที่ทราบจำนวนคาร์บอน

### 3.2.2 การทดสอบสมการวิเคราะห์เอกลักษณ์สาร FAMES บนคอลัมน์ BPX-70

การทดสอบสมการที่ได้เพื่อดูความแม่นยำและถูกต้องในการนำไปใช้พิสูจน์เอกลักษณ์ของสาร FAMES ทำได้โดยคำนวณจำนวนคาร์บอนของสารมาตรฐาน FAMES ที่สภาวะอุณหภูมิคงที่บนคอลัมน์ BPX-70 ด้วยสมการ (3.4.2) แล้วนำค่าที่คำนวณได้ไปเปรียบเทียบกับจำนวนคาร์บอนของสารมาตรฐานและคำนวณหาความแตกต่างจากสูตรดังนี้

$$\text{ค่าความแตกต่าง} = (z_y - z_x)/z_x \quad (3.8)$$

โดยที่  $z_y$  = จำนวนคาร์บอนเทียบเท่าที่ได้จากการคำนวณจากสมการ (3.4.2)  
 $z_x$  = จำนวนคาร์บอนของสารมาตรฐานที่ใช้ทดลอง

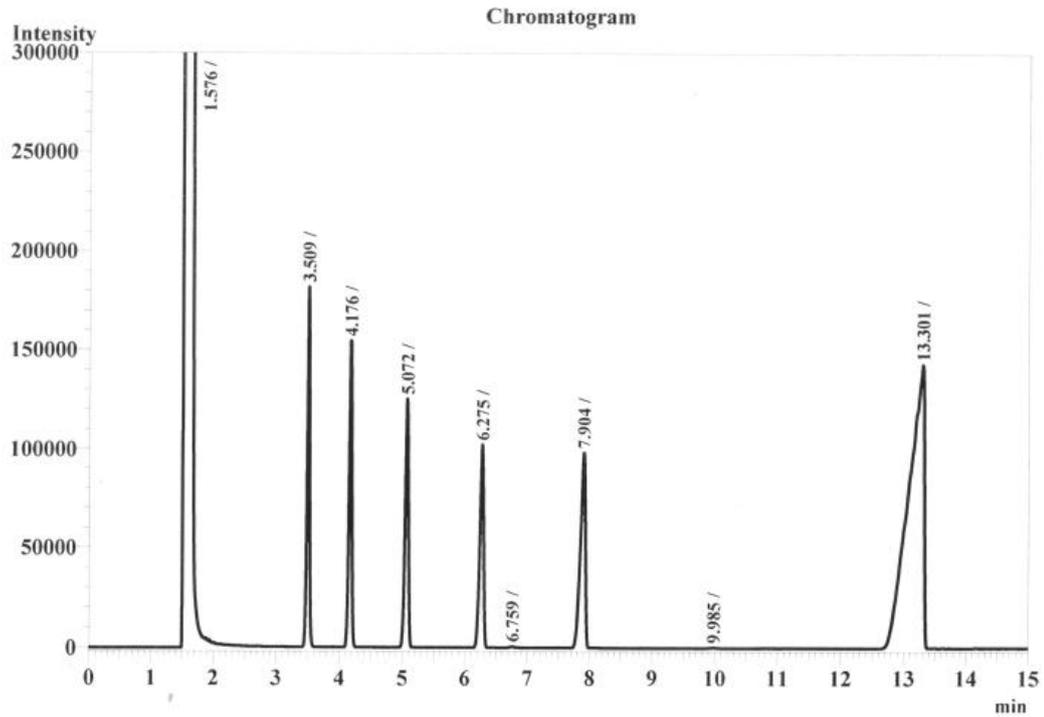
ค่าจำนวนคาร์บอนที่ได้จากการคำนวณจากสมการ (3.4.1) และค่าความแตกต่าง สรุปแสดงไว้ในตารางที่ 3.6

ตารางที่ 3.6 แสดงค่าจำนวนคาร์บอนที่คำนวณได้จากสมการ (3.4.2) ของสารมาตรฐานกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ และค่าความแตกต่างบนคอลัมน์ BPX-70

จำนวนคาร์บอน	ค่าจำนวนคาร์บอนที่คำนวณได้จากสมการ (3.4.2)						
	170°C	175°C	180°C	185°C	190°C	195°C	200°C
16	16.03 (0.03)	16.02 (0.02)	16.01 (0.01)	16.00 (0.00)	16.00 (0.00)	16.02 (0.02)	16.04 (0.04)
17	17.02 (0.02)	17.01 (0.01)	17.00 (0.00)	16.99 (-0.01)	16.99 (-0.01)	17.01 (0.01)	17.03 (0.03)
18	18.01 (0.01)	18.00 (0.00)	17.99 (-0.01)	17.98 (-0.02)	17.98 (-0.02)	18.00 (0.00)	18.02 (0.02)
19	18.99 (0.01)	18.98 (-0.02)	18.97 (-0.03)	18.96 (-0.04)	18.96 (-0.04)	18.98 (-0.02)	19.00 (0.00)
20	19.99 (-0.01)	19.98 (-0.02)	19.96 (-0.04)	19.96 (-0.04)	19.95 (-0.05)	19.97 (-0.03)	19.99 (-0.01)
22	22.04 (0.04)	20.03 (0.03)	22.02 (0.02)	22.01 (0.01)	22.01 (0.01)	22.03 (0.03)	22.03 (0.03)

\* ค่าในวงเล็บ คือ ค่าความแตกต่างของค่าจำนวนคาร์บอนที่ได้จากการคำนวณกับค่าจริง

จากตารางที่ 3.6 พบว่าค่าความแตกต่างระหว่างค่าจำนวนคาร์บอนที่ได้จากการคำนวณจากค่าเวลาคงค้างที่อุณหภูมิต่างๆ กับจำนวนคาร์บอนที่แท้จริงของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์มาตรฐานมีค่าอยู่ในช่วง -0.05 ถึง 0.04



รูปที่ 3.2 แสดงโครมาโตแกรมของสารมาตรฐานที่มีจำนวนคาร์บอน C16-22 ที่ฉีดบนคอลัมน์ BPX-70 ที่อุณหภูมิ 180°C

ค่าคงที่ทางเทอร์โมไดนามิกส์ (a, b, c และ d) ของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์บนคอลัมน์ BPX-70 และ คอลัมน์ SP-2340 สรุปไว้ดังตารางที่ 3.7

ตารางที่ 3.7 แสดงค่า a, b, c, และ d ของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์บนคอลัมน์ BPX-70 และ SP-2340

ค่าคงที่ของคอลัมน์	คอลัมน์	
	BPX-70	SP-2340
a	-8.403	-7.882
b	-0.544	-0.572
c	1724.33	1408.57
d	382.67	389.64

3.3 การวิเคราะห์กรดไขมันเมทิลเอสเทอร์บนคอลัมน์ BPX-70 และ SP-2340 ที่ต่อกันแบบอนุกรมที่อัตราส่วนความยาวร้อยละ 50:50

3.3.1 การคำนวณค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้างของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์บนคอลัมน์ BPX-70 และ SP-2340 ที่ต่อกันแบบอนุกรมที่อัตราส่วนความยาวร้อยละ 50: 50

ค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้างบนคอลัมน์ BPX 70 ( $t_{M1}$ ) และคอลัมน์ SP 2340 ( $t_{M2}$ ) ที่ต่อกันแบบอนุกรมที่อัตราส่วนความยาวคอลัมน์ร้อยละ 50: 50 สามารถหาได้โดยใช้สมการ (3.12) และสมการ (2.13) ตามลำดับ

ในการหาค่า  $t_M$  ซึ่งทำได้ง่ายโดยใช้โปรแกรม Microsoft Excel ตัวอย่างการคำนวณแสดงไว้ดังรูปที่ 3.3 โดยเซลล์ที่ E2 – H2 แสดงค่าคงที่ทั้งสี่ของคอลัมน์ที่ 1 (BPX-70) และ J2 –M2 แสดงค่าคงที่ทั้งสี่ของคอลัมน์ที่ 2 (SP-2340) เซลล์ที่ E53 และเซลล์ที่ G53 แสดงค่าคอลัมน์แฟรคชัน (column fraction) คอลัมน์ที่ 1 และคอลัมน์ที่ 2 ตามลำดับ ส่วนเซลล์ที่ I53 เป็นค่าคงค้างรวมที่ทำนายได้ซึ่งเกิดจากผลรวมของค่าเวลาคงค้างจากทั้งสองคอลัมน์ สำหรับค่า  $t_{MT}$ ,  $t_{M1}$  และ  $t_{M2}$  คำนวณได้จากสูตรที่เขียนไว้ใน Microsoft Excel Worksheet แล้ว ซึ่งค่าที่คำนวณได้ของแต่ละตัวอย่างของน้ำมันจากธรรมชาติได้แสดงไว้ในตารางที่ 3.9, 3.10, 3.11 และ 3.12 ตามลำดับพร้อมกับผลการทำนายค่าเวลาคงค้างของสารและค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้างของสารด้วย

Column	$C_f$	$t_{R1}$	$C_f$	$t_{R2}$	$t_R$
BPX-70	0.53	2.803	0.47	2.211	5.014
SP-2340	0.529	2.797	0.471	2.216	5.013
	0.528	2.792	0.472	2.220	5.012
	0.527	2.787	0.473	2.225	5.012

รูปที่ 3.3 Microsoft Excel Worksheet แสดงตัวอย่างการคำนวณค่า  $t_{M1}$ ,  $t_{M2}$  และ  $t_{R1}$ ,  $t_{R2}$  ของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ (C16) บนคอลัมน์ BPX-70 ต่ออนุกรมกับคอลัมน์ SP-2340 สัดส่วนความยาว 50: 50 ที่อุณหภูมิคอลัมน์ 200°C

### 3.3.2 การทำนายเวลาคงค้างของสารมาตรฐานกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์บนคอลัมน์ BPX-70 และ SP-2340 ที่ต่อกันแบบอนุกรมที่อัตราส่วนความยาวคอลัมน์ร้อยละ 50: 50

จากการฉีดสารมาตรฐานกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ C16-22 ที่สภาวะอุณหภูมิคงที่ โดยการฉีดแต่ละครั้งเมื่อสารผ่านอินเจคเตอร์แล้วจะผ่านเข้าสู่คอลัมน์ที่ 1 (BPX-70) ซึ่งสารจะถูกแยกขั้นต้น จากนั้นสารจะผ่านเข้าสู่คอลัมน์ที่ 2 (SP-2340) ซึ่งสารจะถูกแยกต่อ จากนั้นจะผ่านเครื่องตรวจจับ (FID) ซึ่งจะรายงานค่าเวลาคงค้างของสาร นำค่าเวลาคงค้างของสารที่ได้มาคำนวณหาค่าคงค้างของสารไม่คงค้าง  $t_{M1}$ ,  $t_{M2}$  ทำได้โดยใช้โปรแกรม Microsoft Excel ในการหาค่า  $t_{M1}$ ,  $t_{M2}$  ของสารมาตรฐาน C16-22 ซึ่งค่าที่คำนวณได้จะแสดงไว้ในตารางที่ 3.8

ตารางที่ 3.8 ค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้าง ( $t_{MT}$ ) ค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้างของแต่ละคอลัมน์ ( $t_{M1}$  และ  $t_{M2}$ ) และ ค่าเวลาคงค้างของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ที่ได้จากการทดลอง ( $t_{R(exp)}$ ) เปรียบเทียบกับค่าที่ได้จากการคำนวณ ( $t_{R(cal)}$ ) รวมทั้งค่าร้อยละของความคลาดเคลื่อน ( $\% \Delta$ ) และแสดงค่า  $t_M$  fraction ( $t_{Mf}$ ) บนคอลัมน์ BPX-70 และ SP-2340 ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรมที่อัตราส่วนร้อยละ 50: 50 วิเคราะห์ที่อุณหภูมิ 170-200°C

C	170°C			175°C			180°C			185°C			190°C			195°C			200°C		
	$t_{R(exp)}$	$t_{R(cal)}$	$\% \Delta$																		
16	8.184	8.185	-0.01	7.321	7.32	-0.01	6.635	6.636	-0.01	6.012	6.013	0.01	5.648	5.648	0.00	5.296	5.296	0.00	5.014	5.014	0.00
17	9.988	10.032	-0.44	8.785	8.747	-0.44	7.775	7.805	-0.38	6.951	6.927	-0.34	6.384	6.402	-0.28	5.895	5.908	-0.22	5.503	5.514	-0.20
18	12.443	12.563	-0.97	10.773	10.677	-0.90	9.298	9.376	-0.84	8.201	8.136	-0.80	7.35	7.396	-0.63	6.673	6.708	-0.52	6.133	6.162	-0.47
19	15.788	16.033	-1.55	13.470	13.275	-1.47	11.335	11.488	-1.35	9.867	9.738	-1.33	8.615	8.708	-1.08	7.683	7.754	-0.92	6.945	7.002	-0.82
20	20.378	20.787	-2.01	17.130	16.811	-1.90	14.071	14.326	-1.81	12.087	11.87	-1.83	10.28	10.439	-1.54	9.005	9.121	-1.29	7.994	8.091	-1.21
22	35.834	36.236	-1.12	28.839	28.515	-1.13	22.981	23.270	-1.26	18.987	18.713	-1.46	15.457	15.735	-1.80	13.082	13.249	-1.28	11.187	11.333	-1.31
$t_{MT}$	3.196			3.216			3.236			3.187			3.285			3.306			3.327		
$t_{M1}$	1.806			1.823			1.751			1.880			1.698			1.719			1.767		
$t_{M2}$	1.390			1.447			1.485			1.307			1.587			1.587			1.560		
$t_{Mf}$	0.565			0.550			0.541			0.590			0.517			0.520			0.531		

### 3.3.3 การหาค่า ECL ของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ชนิดไม่อิ่มตัว

ในการคำนวณหาองค์ประกอบของสารไม่คงค้ำจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องใช้ค่า ECL ของคอลัมน์ โดยที่คอลัมน์ต่างกันก็จะมีค่า ECL ที่ต่างกัน โดยค่า ECL ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวซึ่งจะมีค่าไม่เป็นจำนวนเต็ม เช่น ตัวอย่างจากน้ำมันถั่วเหลือง C18:1 ก็จะมีค่า ECL ที่ไม่ใช่ 18 แต่จะมีค่าไม่เป็นจำนวนเต็ม เช่น จะมีค่าเท่ากับ 18.43 บนคอลัมน์ BPX-70 และมีค่า 18.39 บนคอลัมน์ SP-2340 โดยที่คอลัมน์ต่างกันก็จะมีค่า ECL ที่ต่างกัน ดังนั้นจึงจำเป็นต้องหาค่า ECL ของแต่ละคอลัมน์เพื่อนำมาใช้ในการคำนวณต่อไป

ในการคำนวณหาค่า ECL ซึ่งทำได้โดยใช้สมการของ Krisanagkura และคณะ [22] ดังสมการ (2.1) เมื่อทราบค่าคงตัวของคอลัมน์ a, b, c และ d ทราบค่าเวลาคงค้ำของสารไม่คงค้ำ ( $t_M$ ) ทราบค่าเวลาคงค้ำของสารตัวอย่าง ( $t_R$ ) ทราบอุณหภูมิ ( $T$ ) ที่ใช้ในการทดลองก็สามารถหาค่า  $z$  หรือค่า ECL ของแต่ละชนิดบนคอลัมน์ทั้งสองได้ โดยแสดงการคำนวณไว้ในโปรแกรม Microsoft Excel ดังรูปที่ 3.4 ผลที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 3.9

temp (K)	N	tm	lnk	exp(k)	forecasted tr	Exp	%Δ (tr)	Cal lnk	Forecasted N	Δ (N)	ค่า ECL
180											
453.15	16	1.574	0.203	1.2254	3.503	3.511	-0.24	0.208	16.01	0.01	18.01
453.15	17	1.574	0.503	1.6542	4.178	4.179	-0.03	0.504	17.00	0.00	18.02
453.15	18	0.863	0.803	2.2330	2.790	4.198	-33.54	1.352	19.83	1.83	18.03
453.15	19	1.574	1.103	3.0144	6.319	6.281	0.60	1.095	18.97	-0.03	
453.15	20	1.574	1.403	4.0693	7.979	7.909	0.89	1.392	19.96	-0.04	
453.15	22	1.574	2.004	7.4155	13.246	13.309	-0.47	2.009	22.02	0.02	
175											
448.15	16	1.563	0.396	1.487	3.866	3.901	-0.37	0.403	16.02	0.02	18.01
448.15	17	1.563	0.706	2.026	4.729	4.738	-0.19	0.709	17.01	0.01	18.02

รูปที่ 3.4 Microsoft Excel Worksheet แสดงตัวอย่างการหาค่า ECL ของคอลัมน์ BPX-70 ที่ 180°C จากตัวอย่างน้ำมันถั่วเหลือง

ตารางที่ 3.9 แสดงค่า ECL ของคอลัมน์ BPX-70 และคอลัมน์ SP-2340 จากตัวอย่างน้ำมันถั่วเหลือง

ECL	170°C		175°C		180°C		185°C		190°C		195°C		200°C	
	BPX-70	SP-2340												
18:1	18.43	18.39	18.46	18.44	18.49	18.48	18.52	18.53	18.55	18.57	18.58	18.62	18.61	18.66
18:2	19.11	19.28	19.15	19.34	19.19	19.39	19.23	19.44	19.27	19.50	19.31	19.56	19.35	19.61
18:3	19.73	20.06	19.78	20.14	19.83	20.22	19.88	20.30	19.94	20.38	19.98	20.45	20.05	20.55

### 3.3.4 การทำนายเวลาดังข้างของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์จากสารธรรมชาติ

ในงานทดลองนี้ได้ทดลองฉีดกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์จากน้ำมันพืช 4 ชนิด ได้แก่ น้ำมันถั่วเหลือง (SBO) น้ำมันเมล็ดงา (RBO) น้ำมันรำข้าว (RBO) และน้ำมันเมล็ดทานตะวัน (SFO) บนคอลัมน์ BPX-70 ที่ต่อกันแบบอนุกรมกับคอลัมน์ SP-2340 ที่อัตราส่วนความยาว 50: 50 เพื่อทดสอบความถูกต้องของค่าคงที่ของคอลัมน์ และสมการการคำนวณค่าเวลาดังข้างของสารไม่คงค่าง ว่าสามารถนำมาใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารบนคอลัมน์แบบอนุกรมได้จริง ซึ่งแสดงผลการทดลองไว้ในตารางที่ 3.9, 3.10, 3.11 และ 3.12 ตามลำดับ

ตารางที่ 3.10 แสดงค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้างรวม ( $t_M$ ) และของแต่ละคอลัมน์ ( $t_{M1}$  และ  $t_{M2}$ ) และค่าเวลาคงค้างของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ของสารธรรมชาติที่ได้จากการทดลอง ( $t_{R(\text{exp})}$ ) เทียบกับค่าที่ได้จากการคำนวณ ( $t_{R(\text{cal})}$ ) รวมทั้งค่าร้อยละความคลาดเคลื่อน ( $\Delta t_{R(\%)}$ ) บนคอลัมน์ BPX-70 และ SP-2340 ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรม ที่อัตราส่วนความยาวคอลัมน์ 50: 50 วิเคราะห์ที่อุณหภูมิต่างๆ ที่ความดัน 75 kPa

สารตัวอย่างธรรมชาติจากน้ำมันถั่วเหลือง (Soy Bean Oil)

z	170°C			175°C			180°C			185°C			190°C			195°C			200°C		
	$t_{R(\text{exp})}$	$t_{R(\text{cal})}$	$\Delta t_{R(\%)}$																		
16	8.229	8.226	0.04	7.333	7.334	-0.01	6.665	6.666	-0.02	6.114	6.114	0.00	5.671	5.671	0.00	5.316	5.316	0.00	5.014	5.014	0.00
18	12.500	12.647	-1.13	10.710	10.830	-1.12	9.340	9.433	-1.00	8.249	8.326	-0.93	7.388	7.445	-0.77	6.704	6.749	-0.67	6.145	6.179	-0.55
18:1	13.920	13.977	-0.41	11.863	11.968	0.89	10.290	10.393	-1.00	9.035	9.146	-1.23	8.037	8.141	-1.29	7.243	7.344	-1.39	6.592	6.687	-1.44
18:2	16.644	16.835	-1.15	14.041	14.242	-1.43	12.034	12.224	-1.58	10.449	10.616	-1.60	9.186	9.336	-1.63	8.183	8.316	-1.63	7.359	7.477	-1.60
18:3	20.173	20.049	0.61	16.836	16.808	0.18	14.277	14.310	-0.23	12.251	12.310	-0.48	10.646	10.778	-1.24	9.378	9.430	-0.55	8.351	8.413	-0.74
$t_{Mf}$	0.590			0.603			0.565			0.562			0.557			0.560			0.585		
$t_M$	3.194			3.187			3.236			3.256			3.279			3.301			3.306		
$t_{M1}$	1.884			1.922			1.828			1.830			1.826			1.849			1.934		
$t_{M2}$	1.310			1.265			1.408			1.426			1.453			1.452			1.372		

ตารางที่ 3.11 แสดงค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้าง ( $t_M$ ) และของแต่ละคอลัมน์ ( $t_{M1}$ ) และ ( $t_{M2}$ ) และค่าเวลาคงค้างของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ของสารธรรมชาติที่ได้จากการทดลอง ( $t_{R(\text{exp})}$ ) เทียบกับค่าที่ได้จากการคำนวณ ( $t_{R(\text{cal})}$ ) รวมทั้งค่าร้อยละความคลาดเคลื่อน ( $\Delta t_{R(\%)}$ ) บนคอลัมน์ BPX-70 และ SP-2340 ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรม ที่อัตราส่วนความยาวคอลัมน์ 50: 50 วิเคราะห์ที่อุณหภูมิต่างๆ ที่ความดัน 75 kPa

สารตัวอย่างธรรมชาติจากน้ำมันยางพารา (Rubber Seed Oil)

z	170°C			175°C			180°C			185°C			190°C			195°C			200°C		
	$t_{R(\text{exp})}$	$t_{R(\text{cal})}$	$\Delta t_{R(\%)}$																		
16	8.192	8.191	0.01	7.287	7.287	0.00	6.609	6.609	0.00	6.051	6.051	0.00	5.639	5.639	0.00	5.284	5.284	0.00	4.993	4.993	0.00
18	12.431	12.565	-1.08	10.607	10.708	-0.95	9.242	9.324	-0.89	8.153	8.224	-0.87	7.326	7.382	-0.76	6.651	6.690	-0.59	6.100	6.130	-0.49
18:1	13.774	13.878	-0.76	11.691	11.817	-1.08	10.134	10.264	-1.28	8.890	9.030	-1.57	7.938	8.067	-1.63	7.160	7.276	-1.62	6.528	6.627	-1.52
18:2	16.372	16.728	-2.17	13.750	14.084	-2.43	11.786	12.084	-2.53	10.226	10.485	-2.53	9.022	9.254	-2.57	8.047	8.241	-2.41	7.256	7.413	-2.16
18:3	20.090	19.938	0.76	16.675	16.646	0.17	14.123	14.160	-0.26	12.108	12.166	-0.48	10.542	10.639	-0.92	9.287	9.352	-0.70	8.271	8.349	-0.94
$t_{Mf}$	0.556			0.529			0.518			0.553			0.511			0.514			0.513		
$t_M$	3.205			3.216			3.236			3.247			3.283			3.301			3.32		
$t_{M1}$	1.782			1.701			1.676			1.796			1.678			1.697			1.703		
$t_{M2}$	1.423			1.515			1.560			1.451			1.605			1.604			1.617		

ตารางที่ 3.12 แสดงค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้าง ( $t_M$ ) และของแต่ละคอลัมน์ ( $t_{M1}$ ) และ ( $t_{M2}$ ) และค่าเวลาคงค้างของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ของสารธรรมชาติที่ได้จากการทดลอง ( $t_{R(\text{exp})}$ ) เทียบกับค่าที่ได้จากการคำนวณ ( $t_{R(\text{cal})}$ ) รวมทั้งค่าร้อยละความคลาดเคลื่อน ( $\Delta t_{R(\%)}$ ) บนคอลัมน์ BPX-70 และ SP-2340 ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรม ที่อัตราส่วนความยาวคอลัมน์ 50: 50 วิเคราะห์ที่อุณหภูมิต่างๆ ที่ความดัน 75 kPa

สารตัวอย่างธรรมชาติจากน้ำมันรำข้าว (Rice Bran Oil)

Z	170°C			175°C			180°C			185°C			190°C			195°C			200°C		
	$t_{R(\text{exp})}$	$t_{R(\text{cal})}$	$\Delta t_{R(\%)}$																		
16	8.233	8.232	0.01	7.399	7.399	0.00	6.691	6.691	0.00	6.054	6.055	-0.02	5.687	5.687	0.00	5.323	5.323	0.00	5.029	5.029	0.00
18	12.472	12.723	-2.01	10.738	10.930	-1.79	9.335	9.487	-1.63	8.166	8.291	-1.53	7.383	7.475	-1.25	6.695	6.768	-1.09	6.146	6.198	-0.85
18:1	14.061	14.087	-0.18	12.041	12.080	-0.32	10.400	10.458	-0.56	9.037	9.121	-0.93	8.102	8.176	-0.91	7.295	7.367	-0.99	6.640	6.707	-1.01
18:2	16.616	16.931	-1.90	14.070	14.373	-2.15	12.039	12.295	-2.13	10.362	10.577	-2.07	9.181	9.374	-2.10	8.180	8.341	-1.97	7.368	7.500	-1.79
$t_{Mf}$	0.672			0.608			0.594			0.652			0.576			0.586			0.585		
$t_M$	3.139			3.212			3.231			3.177			3.279			3.294			3.316		
$t_{M1}$	2.109			1.953			1.919			2.071			1.889			1.930			1.940		
$t_{M2}$	1.030			1.259			1.312			1.106			1.390			1.364			1.376		

ตารางที่ 3.13 แสดงค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้าง ( $t_M$ ) และของแต่ละคอลัมน์ ( $t_{M1}$ ) และ ( $t_{M2}$ ) และค่าเวลาคงค้างของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ของสารธรรมชาติที่ได้จากการทดลอง ( $t_{R(\text{exp})}$ ) เทียบกับค่าที่ได้จากการคำนวณ ( $t_{R(\text{cal})}$ ) รวมทั้งค่าร้อยละความคลาดเคลื่อน ( $\Delta t_{R(\%)}$ ) บนคอลัมน์ BPX-70 และ SP-2340 ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรม ที่อัตราส่วนความยาวคอลัมน์ 50: 50 วิเคราะห์ที่อุณหภูมิต่างๆ ที่ความดัน 75 kPa

สารตัวอย่างธรรมชาติจากเมล็ดดอกทานตะวัน (Sun Flower Oil)

Z	170°C			175°C			180°C			185°C			190°C			195°C			200°C		
	$t_{R(\text{exp})}$	$t_{R(\text{cal})}$	$\Delta t_{R(\%)}$																		
16	8.204	8.204	0.00	7.345	7.344	0.01	6.658	6.658	0.00	6.107	6.107	0.00	5.66	5.660	0.00	5.307	5.307	0.00	5.028	5.028	0.00
18	12.483	12.609	-1.01	10.720	10.822	-0.95	9.335	9.417	-0.88	8.244	8.311	-0.81	7.384	7.435	-0.69	6.697	6.738	-0.61	6.158	6.190	-0.52
18:1	13.947	13.934	0.09	11.918	11.952	-0.29	10.311	10.373	-0.60	9.050	9.128	-0.86	8.049	8.130	-1.01	7.250	7.333	-1.14	6.615	6.698	-1.25
18:2	16.509	16.784	-1.67	13.968	14.233	-1.90	11.959	12.204	-2.05	10.386	10.596	-2.02	9.138	9.324	-2.04	8.141	8.303	-1.99	7.350	7.489	-1.89
$t_{Mf}$	0.584			0.569			0.556			0.553			0.551			0.501			0.565		
$t_M$	3.190			3.187			3.214			3.256			3.279			3.301			3.306		
$t_{M1}$	1.863			1.813			1.787			1.801			1.807			1.654			1.868		
$t_{M2}$	1.327			1.374			1.427			1.455			1.472			1.647			1.438		

จากตารางที่ 3.8 พบว่าค่าร้อยละความแตกต่างระหว่างค่าเวลาคงค้างรวมของสารมาตรฐานกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ที่ได้จากการคำนวณที่ทราบค่าจำนวนคาร์บอนที่อุณหภูมิต่างๆ กับเวลาคงค้างรวมที่ได้จากการทดลอง ที่อุณหภูมิ 170°C มีค่าอยู่ในช่วง -0.01 ถึง -2.01 ที่อุณหภูมิ 175°C มีค่าอยู่ในช่วง -0.01 ถึง -1.90 ที่อุณหภูมิ 180°C มีค่าอยู่ในช่วง -0.01 ถึง -1.81 ที่อุณหภูมิ 185°C มีค่าอยู่ในช่วง 0.01 ถึง -1.83 ที่อุณหภูมิ 190°C มีค่าอยู่ในช่วง 0.00 ถึง -1.80 ที่อุณหภูมิ 195°C มีค่าอยู่ในช่วง 0.00 ถึง -1.29 ที่อุณหภูมิ 200°C มีค่าอยู่ในช่วง 0.00 ถึง -1.31

จากตารางที่ 3.10 พบว่าค่าร้อยละความแตกต่างระหว่างค่าเวลาคงค้างของสารธรรมชาติกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ ที่ได้จากน้ำมันถั่วเหลือง ที่อุณหภูมิ 170-200°C อยู่ในช่วง -1.63 ถึง 0.04

จากตารางที่ 3.11 พบว่าค่าร้อยละความแตกต่างระหว่างค่าเวลาคงค้างของสารธรรมชาติกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ ที่ได้จากน้ำมันยางพารา ที่อุณหภูมิ 170-200°C อยู่ในช่วง -2.53 ถึง 0.76

จากตารางที่ 3.12 พบว่าค่าร้อยละความแตกต่างระหว่างค่าเวลาคงค้างของสารธรรมชาติกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ ที่ได้จากน้ำมันรำข้าว ที่อุณหภูมิ 170-200°C อยู่ในช่วง -2.15 ถึง 0.01

จากตารางที่ 3.13 พบว่าค่าร้อยละความแตกต่างระหว่างค่าเวลาคงค้างของสารธรรมชาติกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ ที่ได้จากน้ำมันเมล็ดดอกทานตะวัน ที่อุณหภูมิ 170-200°C อยู่ในช่วง -2.05 ถึง 0.01

## บทที่ 4

### สรุปและข้อเสนอแนะ

#### 4.1 สรุป

จากการศึกษาการขยายสมการการเคลื่อนที่ของสาร เพื่อทำนายค่าเวลาคงค้างของสารมาตรฐานกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์และสารธรรมชาติทั้ง 4 ชนิดในระบบสองคอลัมน์ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรมแสดงให้เห็นว่าสามารถนำสมการทำนายเอกลักษณ์สารซึ่งเสนอโดย Krisanagkura และคณะ มาใช้ในการคำนวณค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้าง ( $t_{M1}$  และ  $t_{M2}$ ) และสามารถนำมาทำนายค่าเวลาคงค้างของสารมาตรฐานกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ และสารธรรมชาติที่มีความซับซ้อนบนคอลัมน์ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรม ที่อัตราส่วนความยาวของคอลัมน์ BPX-70 และ คอลัมน์ SP-2340 ในอัตราส่วน 50:50 ได้อย่างแม่นยำ โดยไม่ต้องใช้สารอ้างอิง ซึ่งจะมีประโยชน์มากต่อการนำไปประยุกต์ใช้ในการคำนวณสัดส่วนคอลัมน์ที่เหมาะสมสำหรับการแยกสารผสมที่แยกออกจากกันได้ง่ายด้วยคอลัมน์เดี่ยวได้ โดยไม่ต้องดัดแปลงเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟที่มีอยู่เดิม

ในการทดลองนี้ได้ใช้คอลัมน์สองชนิดที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางภายในเท่ากัน หากต้องการทดลองเปลี่ยนเป็นคอลัมน์สองชนิดที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางภายในไม่เท่ากัน ในทางทฤษฎีน่าจะทำได้ แต่ในทางปฏิบัติอาจประสบปัญหาจากอัตราการไหลของแก๊สตัวพาที่ผ่านแต่ละคอลัมน์ ซึ่งแตกต่างกันมากขึ้น อาจทำให้มีผลต่อการแยกสารและอาจทำให้เกิดการรบกวนบริเวณรอยต่อระหว่างคอลัมน์ทั้งสองได้ ซึ่งจะส่งผลให้การทำนายค่าเวลาคงค้างของสารผิดพลาดได้ และการที่จะได้พีคที่ดีจากทั้งสองคอลัมน์นั้นทำได้ยากขึ้น

นอกจากนั้นในการทดลองนี้สิ่งสำคัญอีกอย่างหนึ่งคือค่า *ECL* ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวของแต่ละคอลัมน์นั้นควรมีความถูกต้องเนื่องจากการแยกสารธรรมชาติที่มีความซับซ้อนการหาค่า *ECL* ที่ถูกต้องจึงจำเป็นอย่างมาก เพราะถ้าค่า *ECL* ของแต่ละคอลัมน์ที่นำมาใช้ในการคำนวณไม่ถูกต้องแล้ว จะส่งผลต่อความแม่นยำในการคำนวณค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้างได้

## 4.2 เสนอแนะเกี่ยวกับการวิจัยในขั้นต่อไป

ควรจะมีการทดลองต่อคอลัมน์ที่อัตราส่วนความยาวของคอลัมน์ BPX-70 และ คอลัมน์ SP-2340 ที่อัตราส่วนอื่นๆ เพื่อทดสอบความถูกต้องของการคำนวณค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้างและความแม่นยำของสมการทำนายเอกลักษณ์สาร

## 4.3 ประโยชน์ในการประยุกต์ของผลงานวิจัยที่ได้

งานวิจัยนี้เป็นการทดสอบความถูกต้องของการประยุกต์ใช้สมการทำนายเอกลักษณ์สารซึ่งเสนอโดย Krisnangkura และคณะ ซึ่งเป็นการสร้างความมั่นใจในการนำสมการไปใช้ทำนายการเคลื่อนที่ของสารกลุ่มลิพิดทั้งที่พิสูจน์เอกลักษณ์สารได้อย่างง่าย และสารที่มีองค์ประกอบที่ซับซ้อน

## เอกสารอ้างอิง

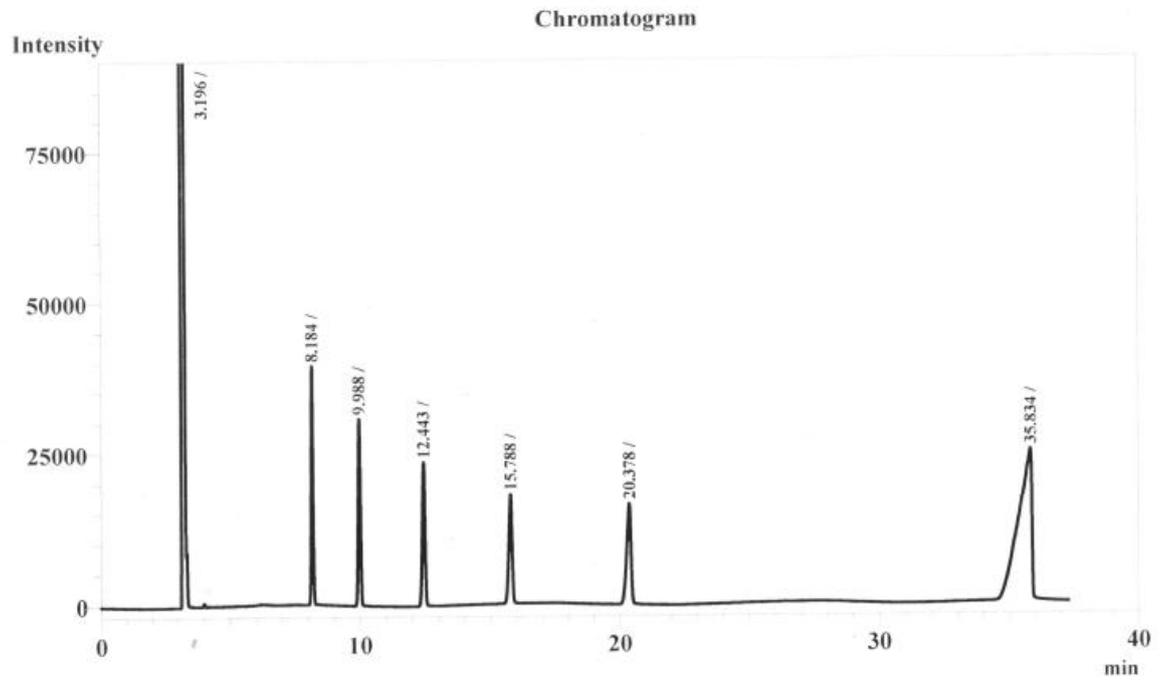
1. James AT, Martin AJP (1952) Gas-liquid partition chromatography: the separation and microestimation of volatile fatty acids from formic acid to dodecanoic acid. *Biochem J* 50: 679-690
2. Evans MB, Smith JF (1961) Gas-liquid chromatography in qualitative analysis: Part I. An interpolation method for the prediction of retention data. *J Chromatogr A* 5: 300-307
3. Kovats E (1958) Gas chromatographic characterization of organic compounds. Part 1. Retention indexes of aliphatic halides, alcohols, aldehydes and ketones. *Helv Chim Acta* 41: 1915-1932
4. Miwa TK, Micolajczak KL, Earle FR, Wolff IA (1960) Gas chromatographic characterization of fatty acids: Identification constants for mono- and dicarboxylic methyl esters. *Anal Chem* 32: 1739-1742
5. McFadden WH (1958) Use of mixed stationary liquids in gas-liquid chromatography. *Anal Chem* 30: 479-481
6. Barnard JA, Hughes HWD (1959) Analysis of light hydrocarbon gas mixtures. *Nature* 183: 250
7. Primavesi GR (1959) Analysis of Light Hydrocarbons. *Nature* 184: 2010-2011
8. Rohrschneider L (1959) Zur „Polarität“ von stationären Phasen in der Gaschromatographie. *Fresenius' J Anal Chem* 170: 256-263
9. Maier HJ, Karpathy OC (1962) Prediction of separation and specifications of chromatographic columns. *J Chromatogr A* 8: 308-318
10. Zhukhovitskii AA, Selenkia MS, Turkel'taub NM (1962) Consecutive columns in gas chromatography. *Zh Fiz Khim* 36: 993
11. Singliar M, BoBak A, Brida J, Lukacovic LZ (1960) Mixed stationary phase for gas-liquid chromatography. *Z Anal Chem* 177:
12. Hildebrand GP, Reilley CN (1964) Use of Combination Columns in Gas Liquid Chromatography. *Anal Chem* 36: 47-58
13. Buys TS, Smuts TW (1980) The effect of temperature and pressure on the retention time in series-coupled gas-chromatographic columns. *J High Res Chromatogr* 3: 461-470
14. Ingraham DF, Shoemaker CF, Jennings W (1982) Optimization of liquid phase mixtures. *J Chromatogr* 239: 39-50

15. Purnell JH, Williams PS (1984) Relative retention in serially connected binary gas chromatographic capillary column systems and the implications for window diagram optimization of such systems. *J Chromatogr A* 292: 197-206
16. Purnell JH, Williams PS (1985) Theory of the efficiency of serially connected gas chromatographic columns and the effect on optimized speed of analysis. *J Chromatogr A* 325: 1-12
17. Purnell JH, Williams PS (1985) General theory for correction for compressibility effects in binary coupled gas chromatographic columns and the procedure for window diagram optimisation of relative lengths. *J Chromatogr A* 321: 249-254
18. Purnell JH, Wattan MH (1991) Theoretical and experimental comparison of serially linked and mixed-packing gas-liquid chromatography columns. *J Chromatogr A* 555: 173-182
19. Jones JR, Purnell JH (1990) Prediction of retention times in serially linked open-tubular gas chromatographic columns and optimization of column lengths. *Anal Chem* 62: 2300-2306
20. Akard M, Sacks R (1994) Pressure-tunable selectivity for high-speed gas chromatography. *Anal Chem* 66: 3036-3041
21. Yabumoto K, Jennings WG, Yamaguchi M (1977) Gas chromatographic retentions as identification criteria. *Anal Biochem* 78: 244-251
22. Krisnangkura K, Tancharoon A, Konkao C, Jeyashoke N (1997) An alternative method for the calculation of equivalent chain length or carbon number of fatty acid methyl esters in gas chromatography. *J Chromatogr Sci* 35: 329-332
23. Ong RCY, Marriott PJ (2002) A review of basic concepts in comprehensive two-dimensional gas chromatography. *J Chromatogr Sci* 40: 276-291
24. Phillips JB, Gaines RB, Blomberg J, Wielen FWMvd, Dimandja J-M, Green V, Granger J, Patterson D, Racovalis L, Geus H-Jd, Boer Jd, Haglund P, Lipsky J, Sinha V, Edward B. Ledford J (1999) A robust thermal modulator for comprehensive two-dimensional gas chromatography. *J Chromatogr A* 22: 3-10
25. Kinghorn RM, Marriott PJ (1998) Comprehensive two-dimensional gas chromatography using a modulating cryogenic trap. *J High Resol Chromatogr* 21: 620-622
26. Marriott P, Kinghorn, R.M., Ong, R., Morrison, P., Haglund, P. and Harju, M. (2000) Comparison of thermal sweeper and cryogenic modulator technology for comprehensive gas chromatography. *J High Resol Chromatogr* 23: 253-258

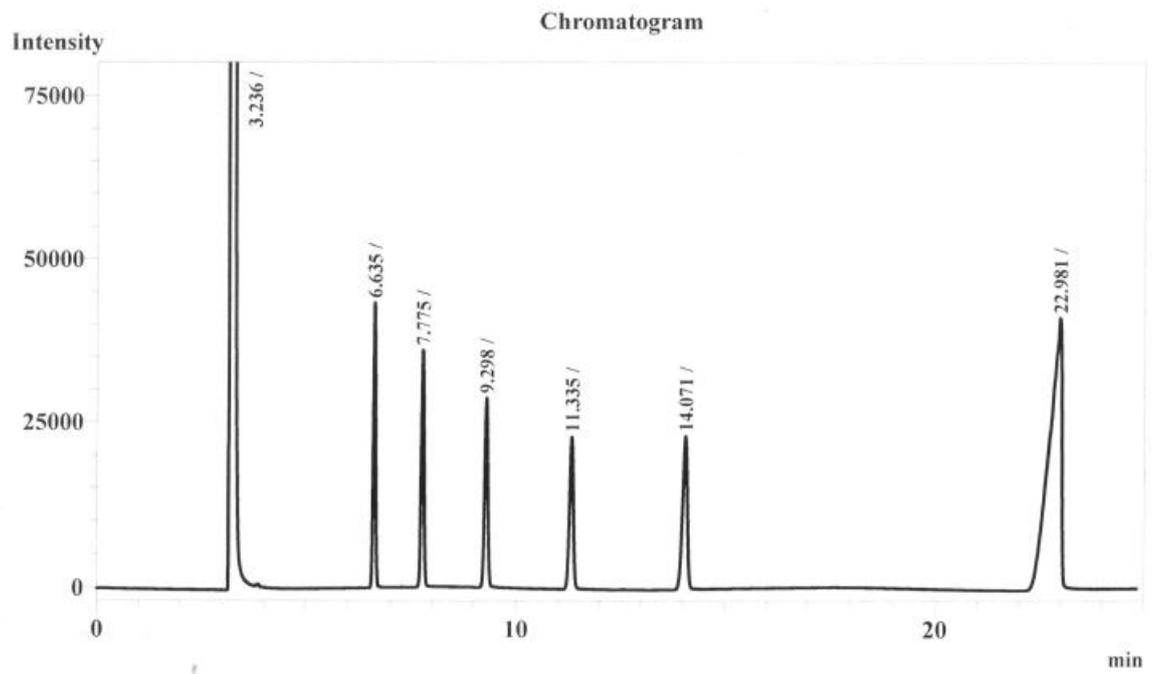
27. ศิริธร ทับแสงทอง, การพิสูจน์เอกลักษณ์กรดไขมันเมทิลเอสเทอร์โดยใช้คอลัมน์สองชนิดที่มีขั้วแตกต่างกัน, วิทยานิพนธ์ระดับบัณฑิตศึกษา คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, กรุงเทพมหานคร, 2545, 150 หน้า
28. แม้น อมรสิทธิ์, อมร เพชรสม (2534) หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ โรงพิมพ์ชวนพิมพ์, กรุงเทพฯ 886 หน้า
29. Christie WW (1993) *Advances in Lipid Methodology* Two edn. The Oily Press, Dundee
30. Jennings W, Mittlefehldt E, Stremple P (1997) *Analytical gas chromatography* 2<sup>nd</sup> Ed. edn. Academic Press, San Diego 389 Pages
31. Sheffield HU, Detector, [Online], Available: <http://www.shu.ac.uk/schools/sci/chem/tutorials/chrom/gaschr.htm> [2005, August 16]
32. คณิต กฤษณังกูร (2538) แก๊สโครมาโตกราฟี, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, กรุงเทพมหานคร
33. Wehrli A, Kovats E, S, Z (1959) Gas chromatographische charakterisierung organischer verbindungen. *Hev Chem Acta* 42: 2709 -2736
34. Woodford EP, van Gent CM (1960) Gas-liquid chromatography of fatty acid methyl esters: the "carbon-number" as a parameter for comparison of columns. *J Lipid Res* 1: 188-190
35. Krupcik J, Bohov P (1985) Used of equivalent chain lengths for the characterization of fatty acid methyl esters separated by linear temperature-programmed gas chromatography. *J Chromatogr* 346: 33-42
36. Watanachaiyong T, Jeyashoke, N. and Krisnangkura, K. (2000) A convenient method for routine estimation of dead time in gas chromatography. *J Chromatogr Sci* 38: 67-71

ภาคผนวก

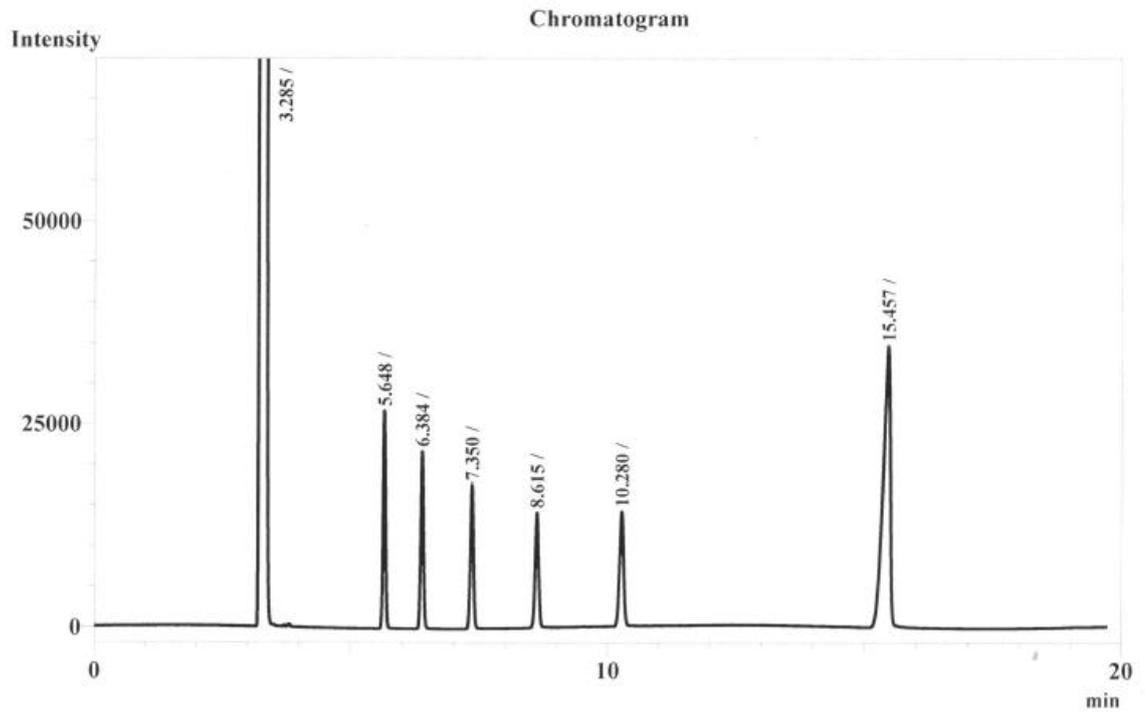
ก. โครมาโตแกรมของสารมาตรฐานกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์จำนวนคาร์บอน 16-22 บนคอลัมน์ BPX-70 และ SP-2340 ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรมที่อัตราส่วนความยาว 50: 50



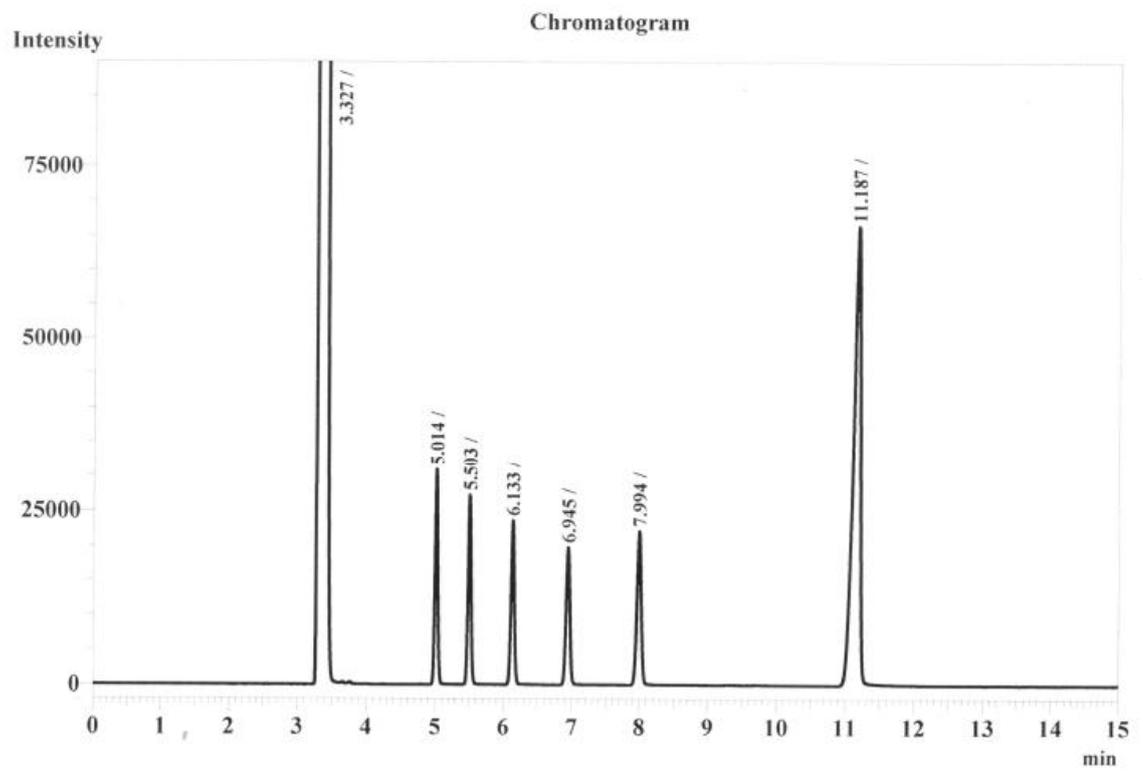
รูปที่ ก.1 ที่อุณหภูมิ 170°C



รูปที่ ก.2 ที่อุณหภูมิ 180°C

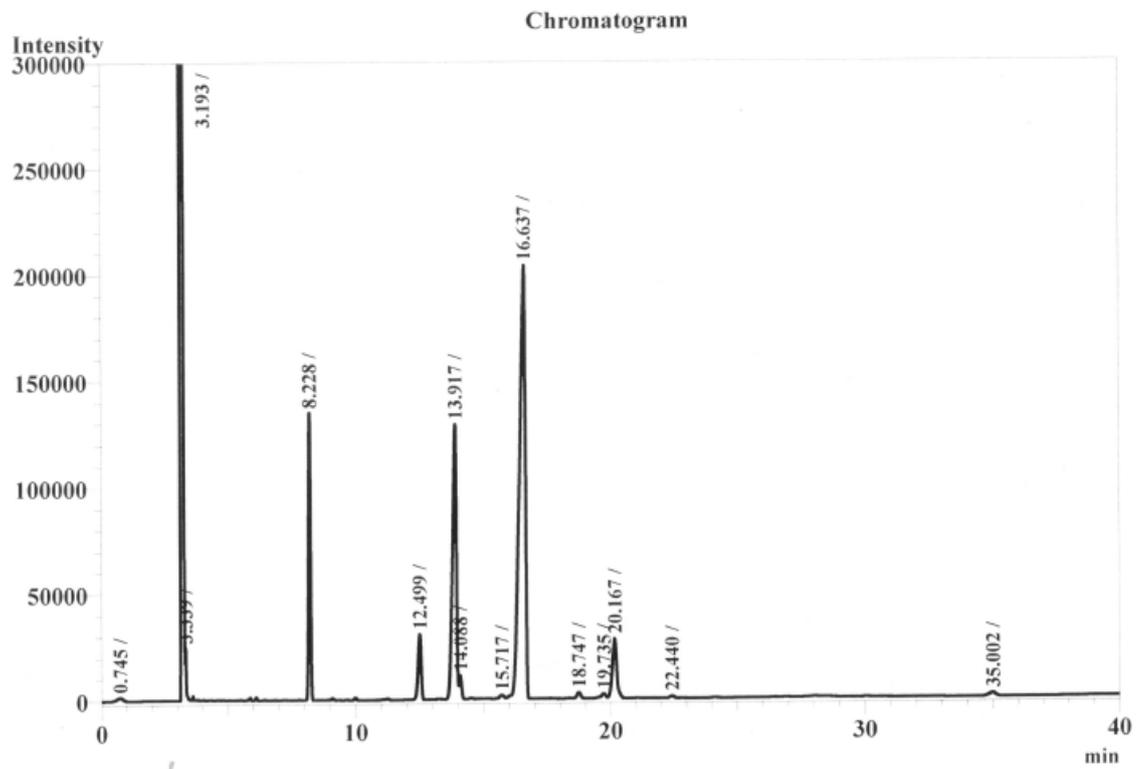


รูปที่ ก. 3 ที่อุณหภูมิ 190°C

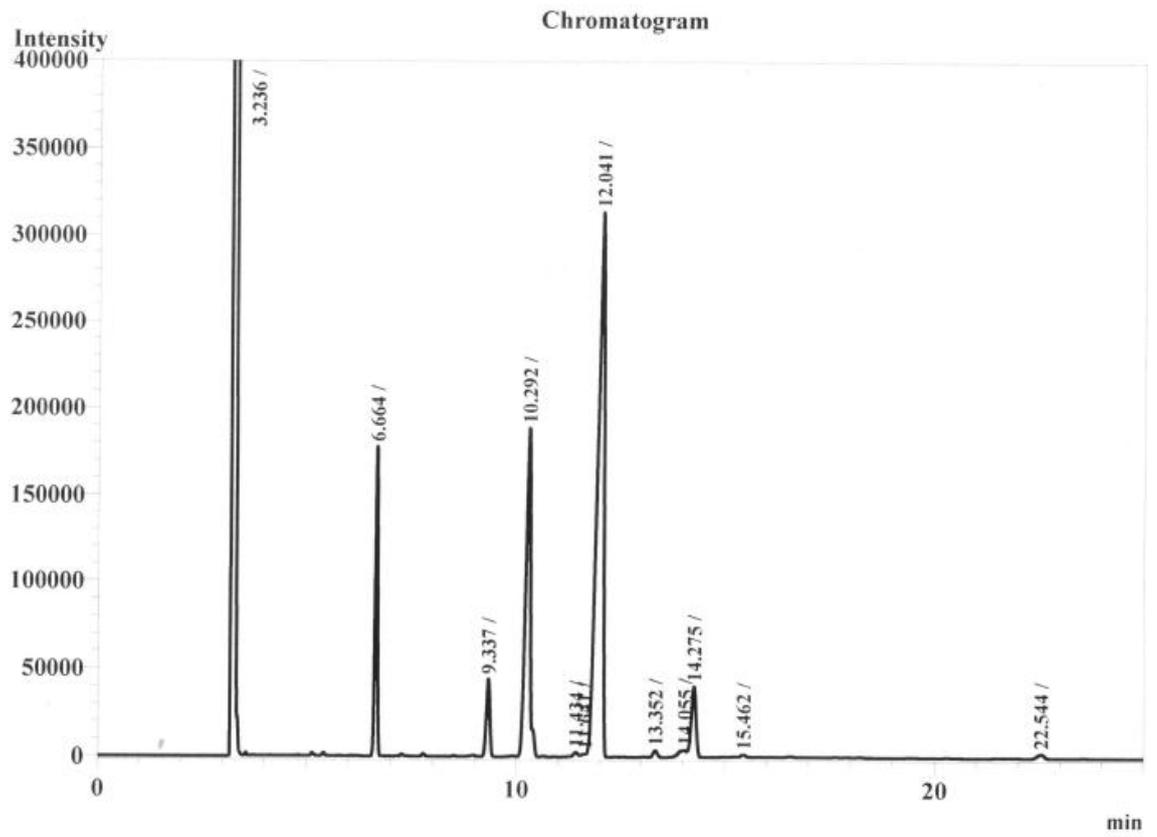


รูปที่ ก. 4 ที่อุณหภูมิ 200°C

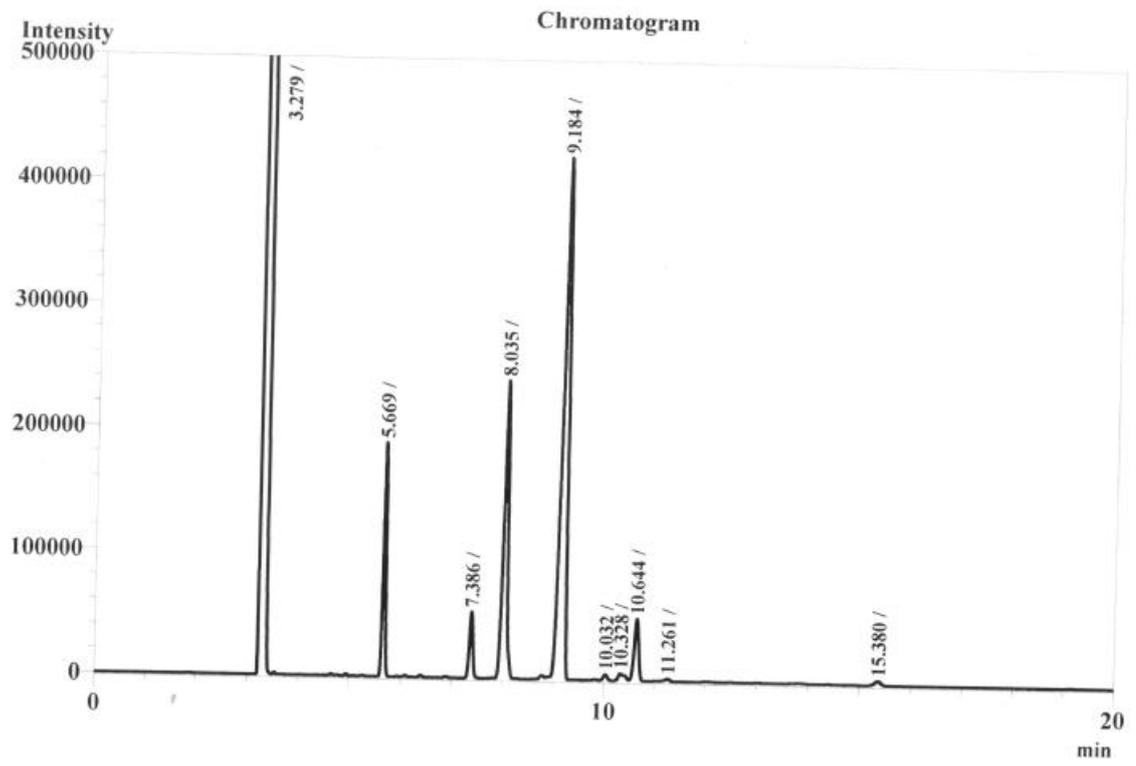
ข. โครมาโตแกรมของน้ำมันถั่วเหลืองบนคอลัมน์ BPX-70 และ SP-2340 ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรมที่ อัตราส่วนความยาว 50: 50



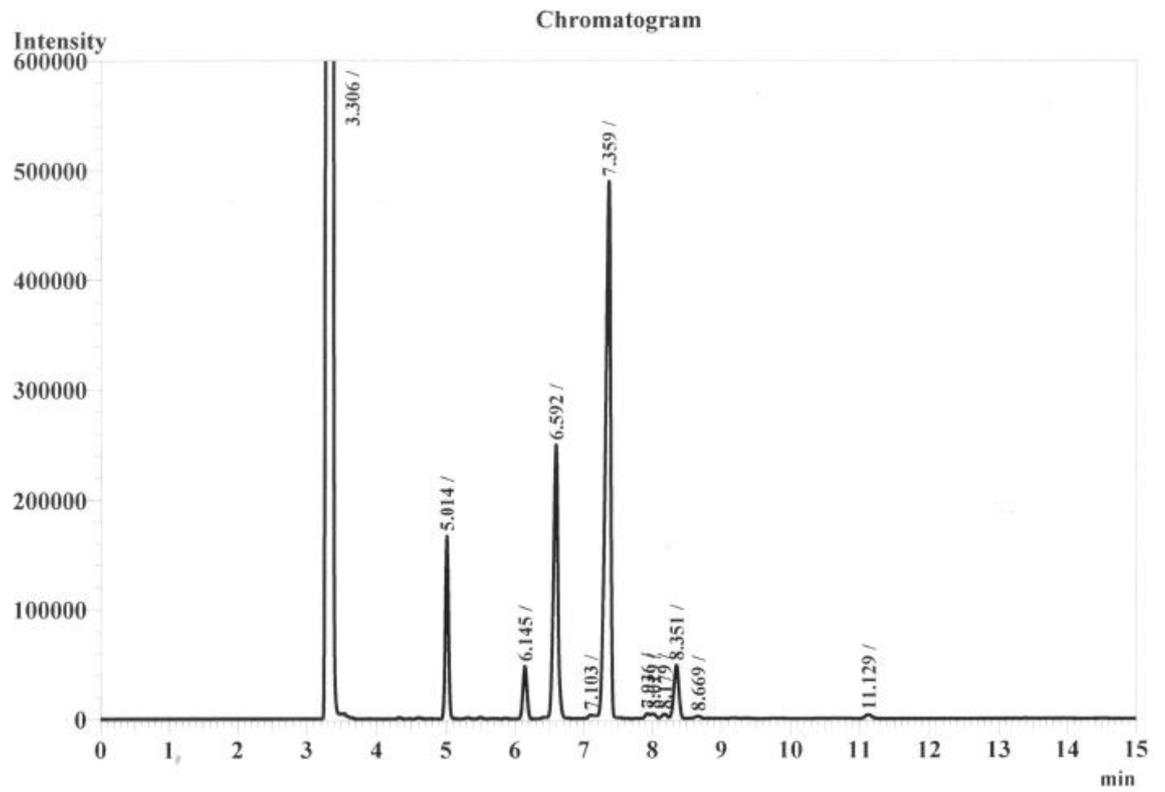
รูปที่ ข.1 ที่อุณหภูมิ 170 °C



รูปที่ ข.2 ที่อุณหภูมิ 180°C

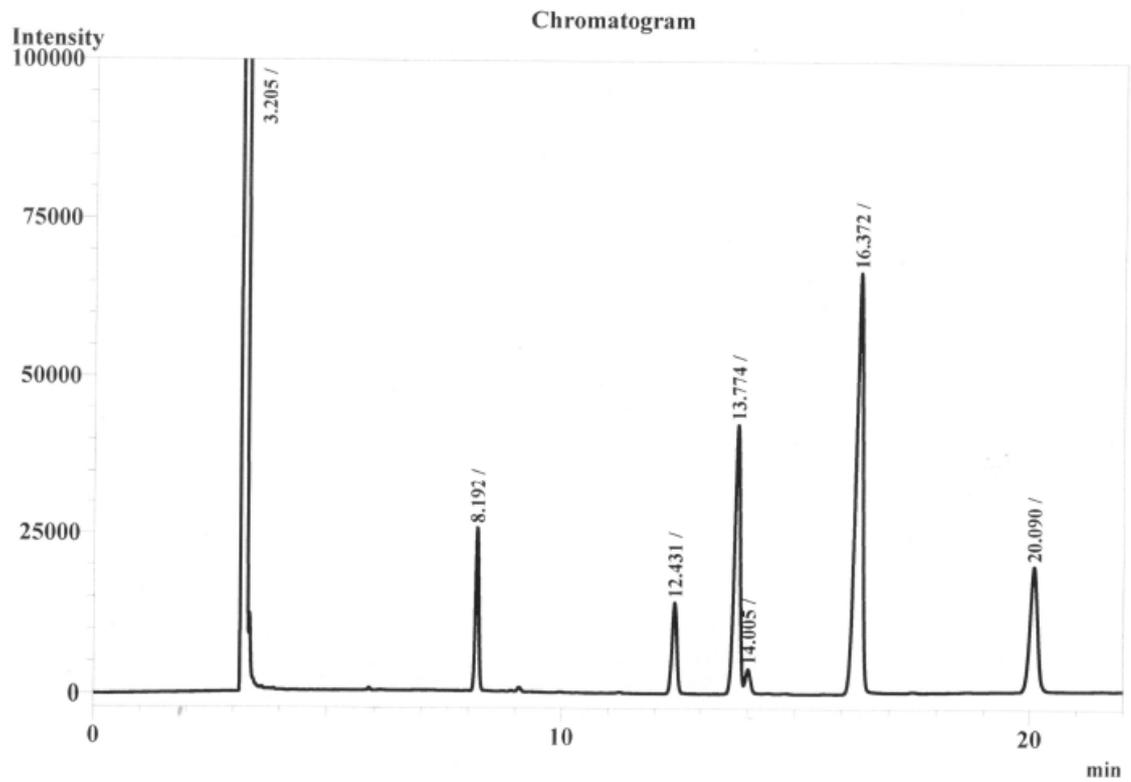


รูปที่ ข. 3 ที่อุณหภูมิ 190°C

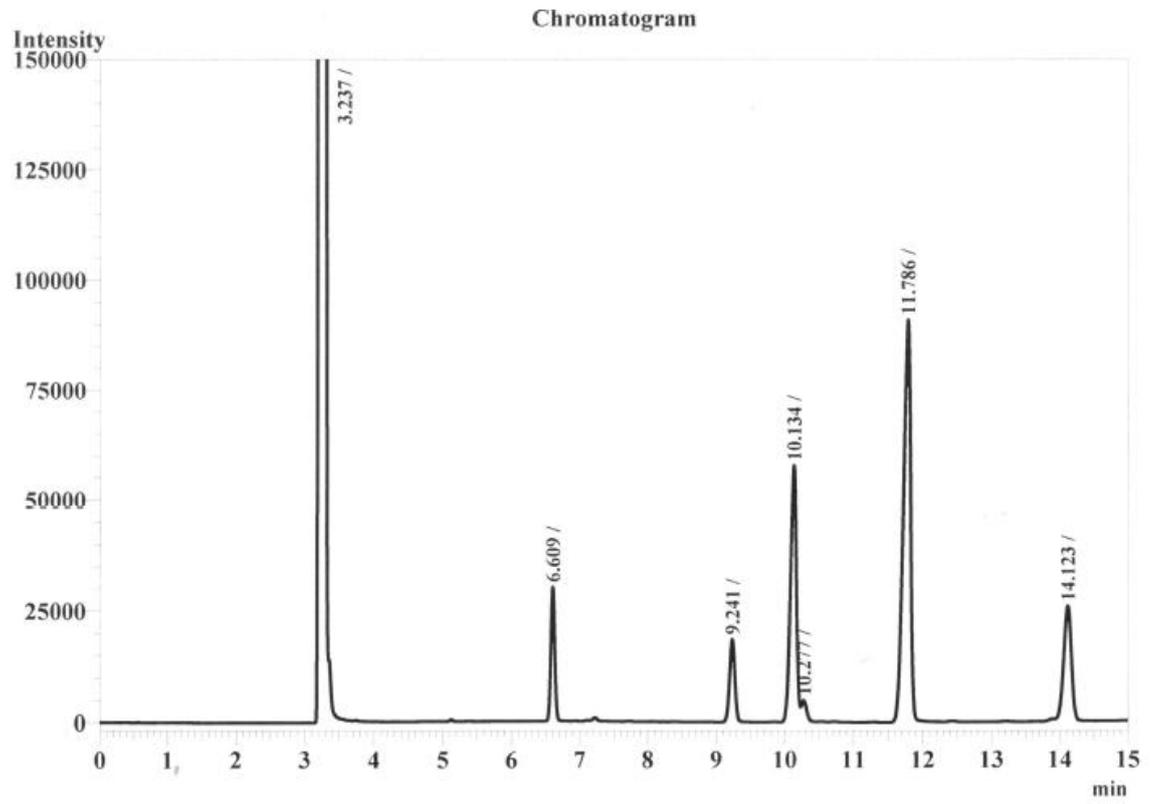


รูปที่ ข.4 ที่อุณหภูมิ 200°C

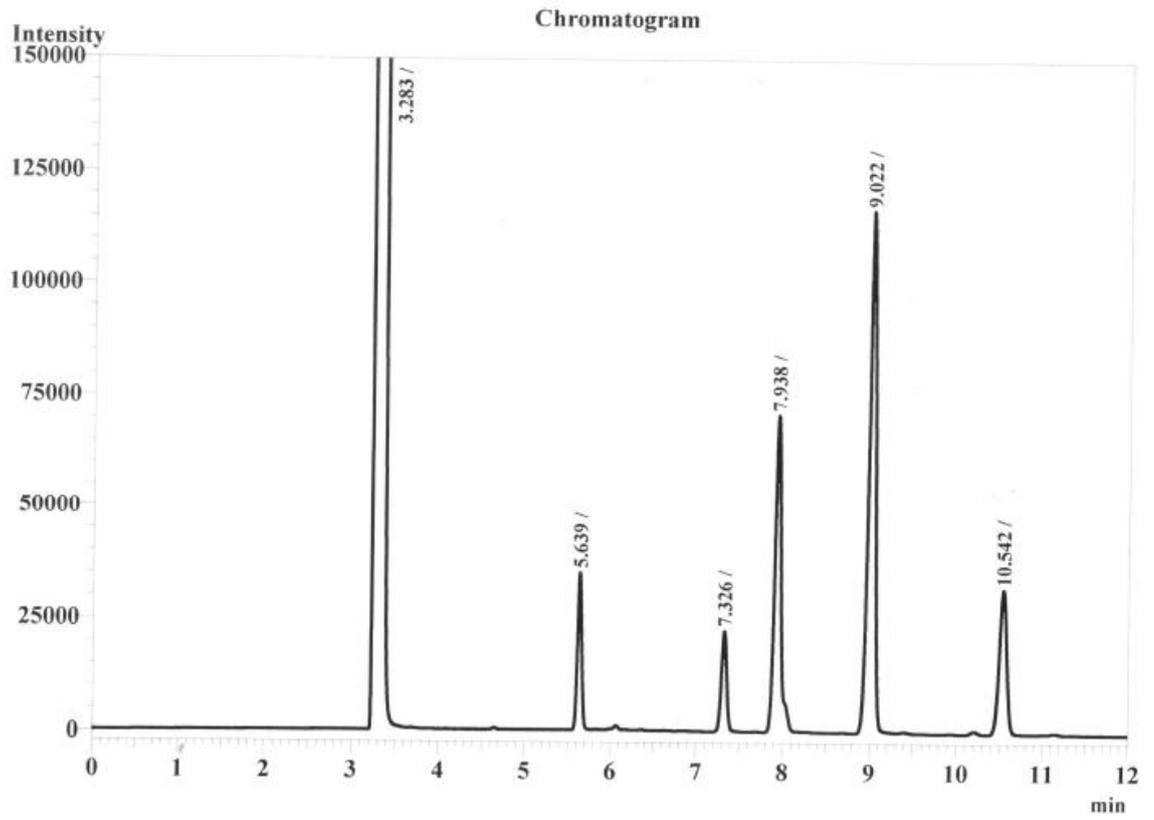
ค. โครมาโตแกรมของน้ำมันเมล็ดยางพารา บนคอลัมน์ BPX-70 และ SP-2340 ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรมที่อัตราส่วนความยาว 50: 50



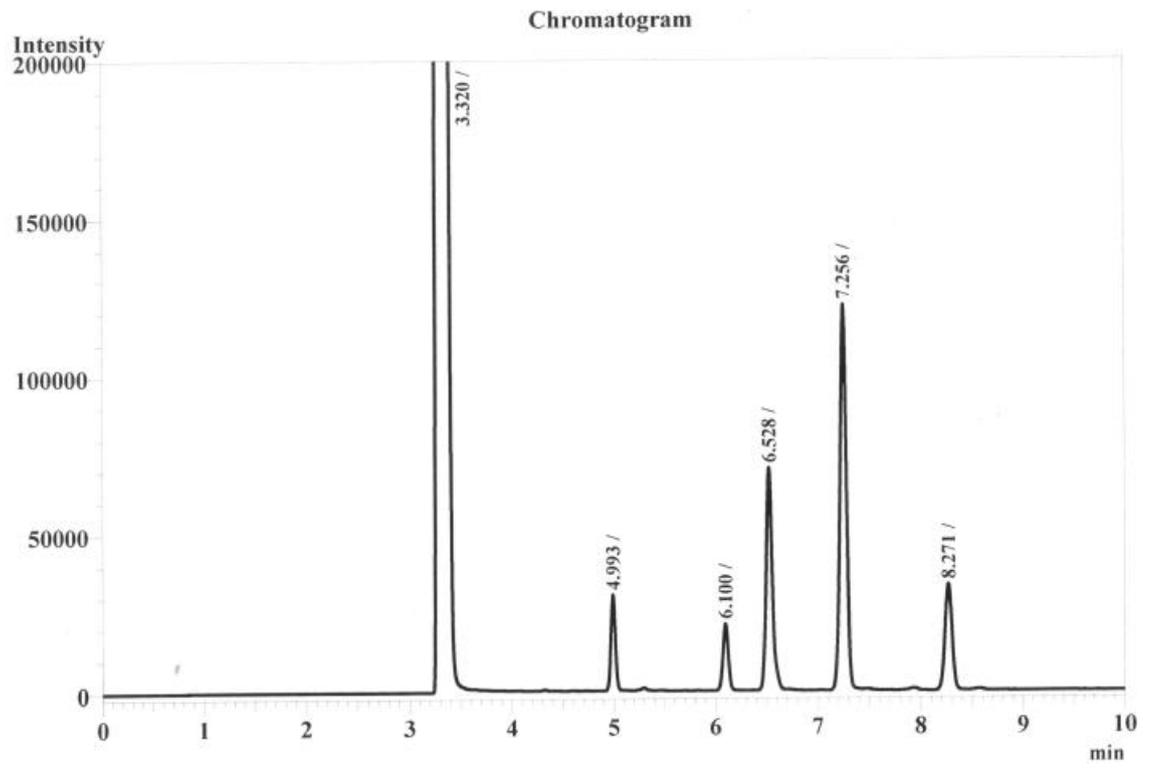
รูปที่ ค.1 ที่อุณหภูมิ 170°C



รูปที่ ค.2 ที่อุณหภูมิ 180°C

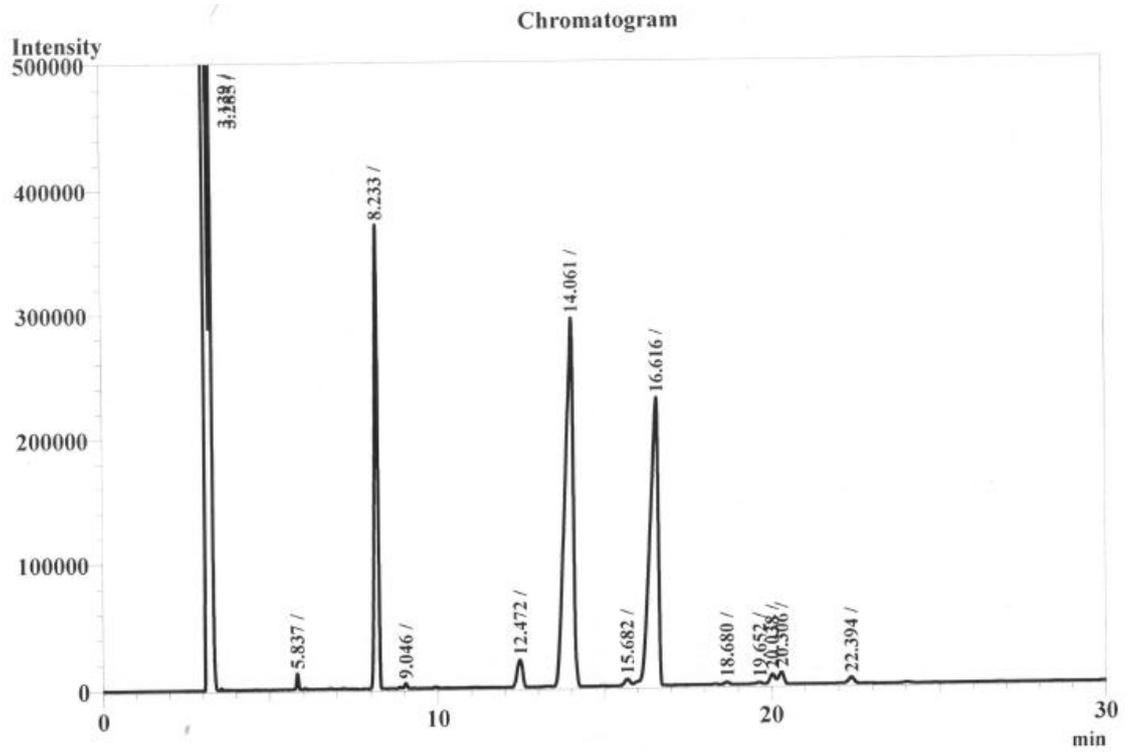


รูปที่ ค.3 ที่อุณหภูมิ 190°C

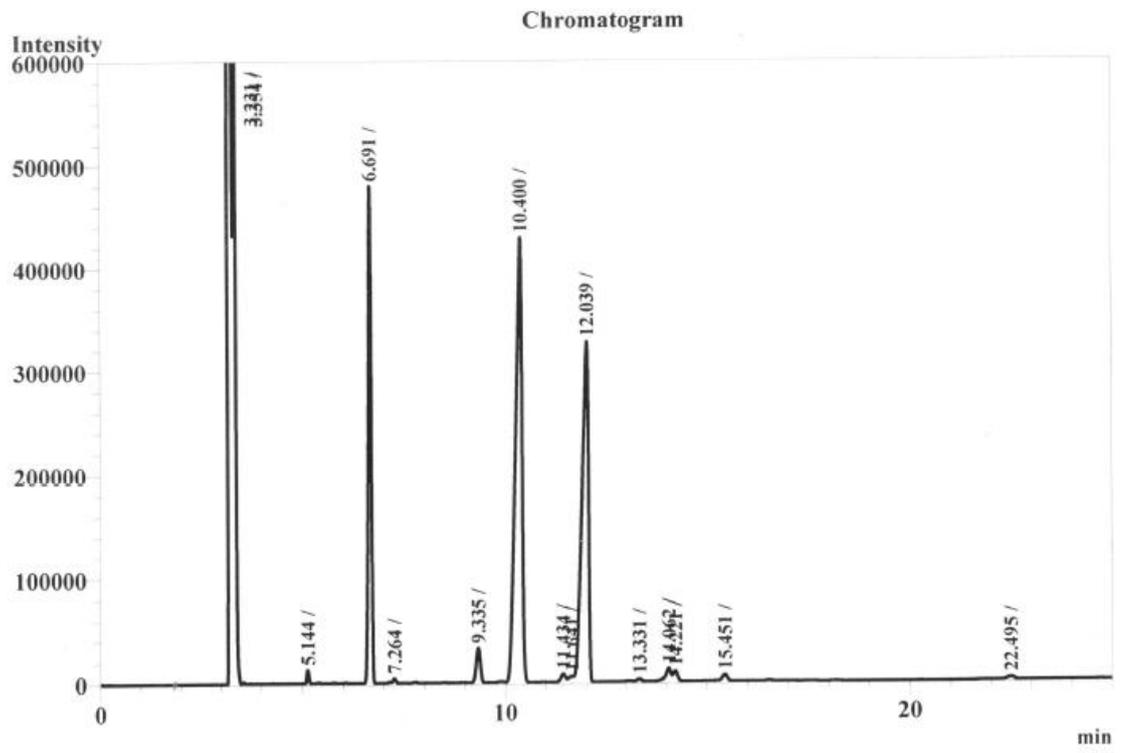


รูปที่ ค.4 ที่อุณหภูมิ 200°C

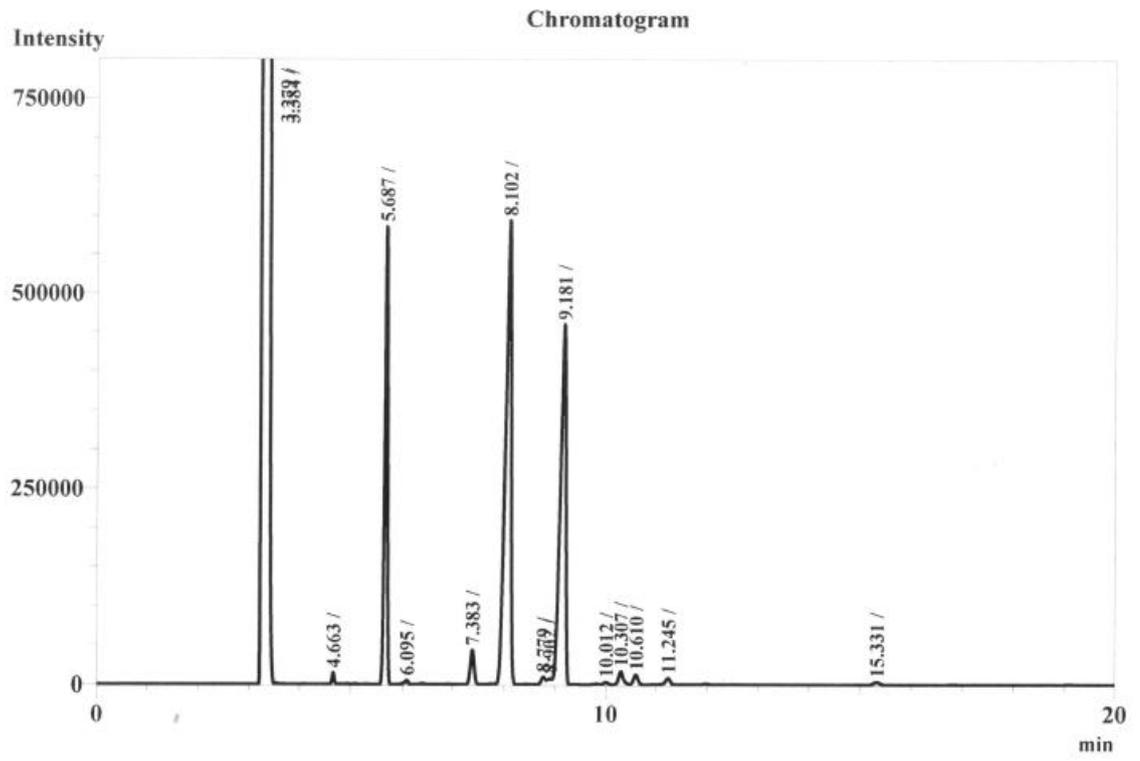
ง. โครมาโตแกรมของน้ำมันรำข้าว บนคอลัมน์ BPX-70 และ SP-2340 ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรมที่ อัตราส่วนความยาว 50: 50



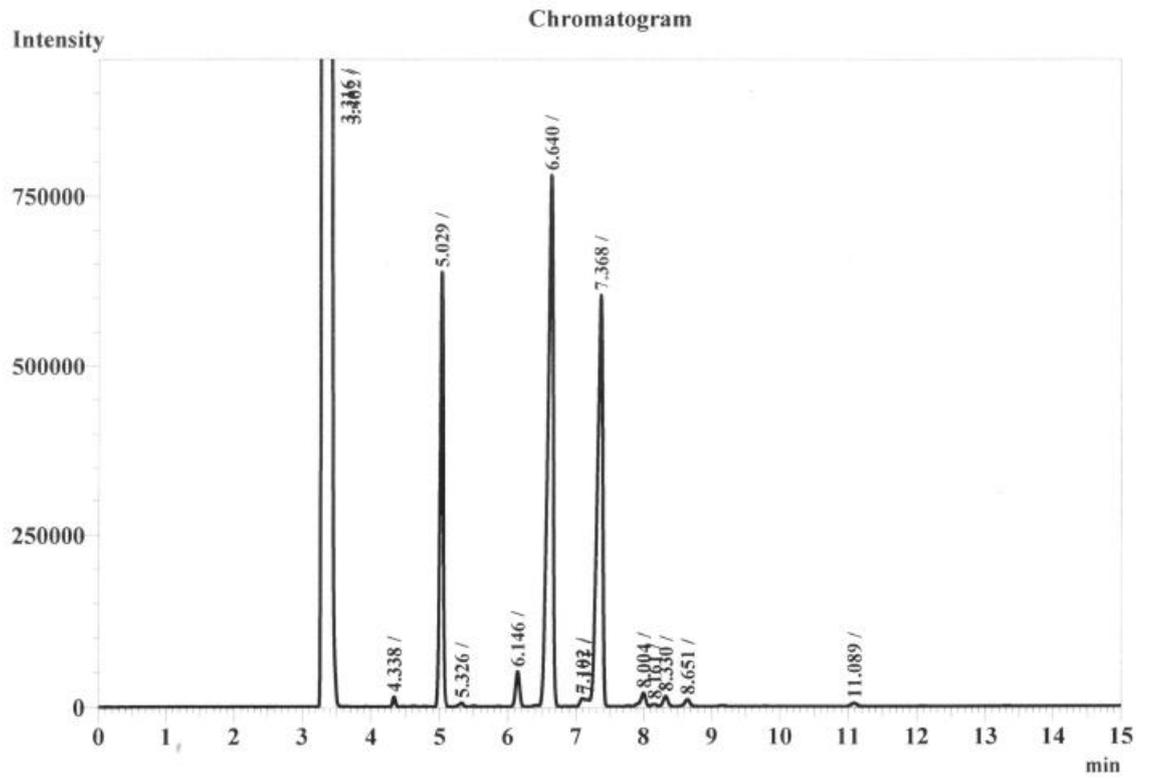
รูปที่ ง.1 ที่อุณหภูมิ 170°C



รูปที่ ๓.๒ ที่อุณหภูมิ 180°C

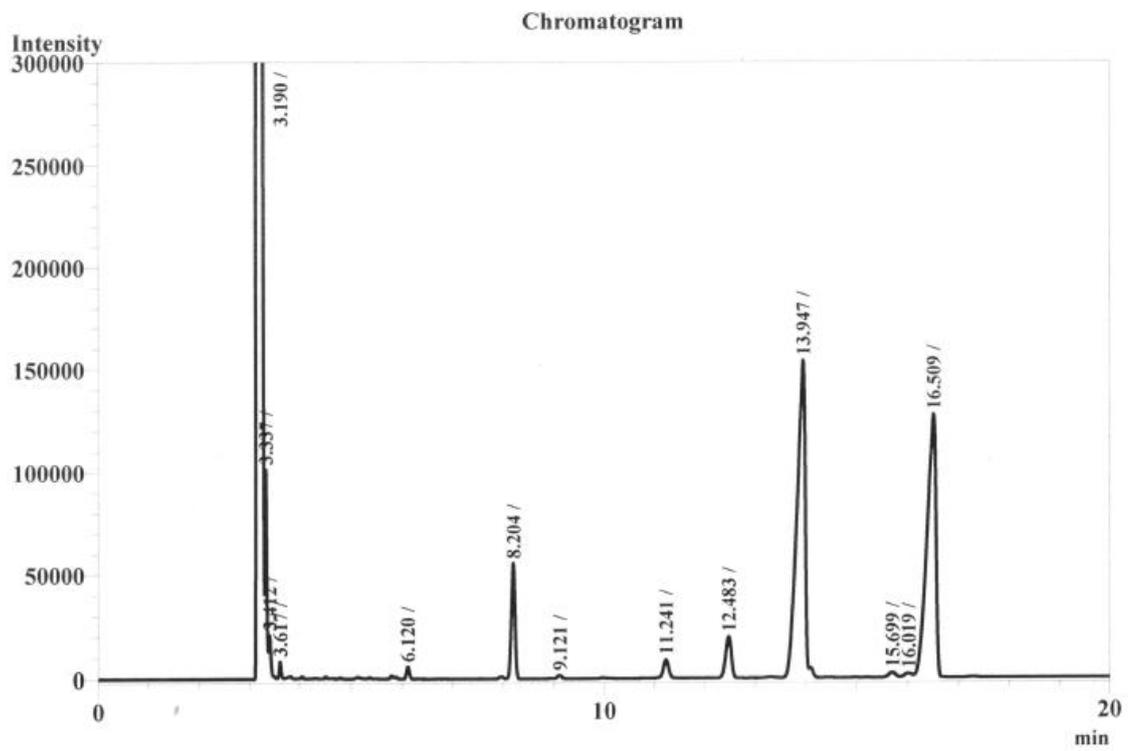


รูปที่ ง.3 ที่อุณหภูมิ 190°C

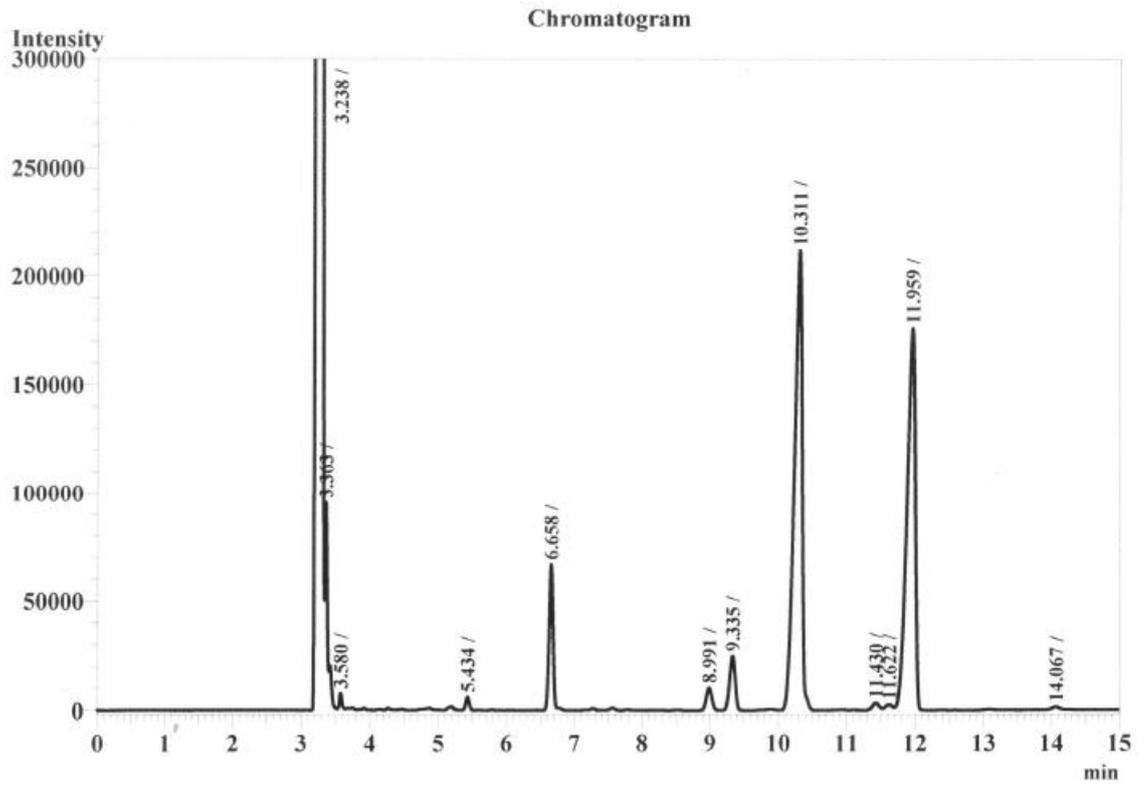


รูปที่ ง.4 ที่อุณหภูมิ 200°C

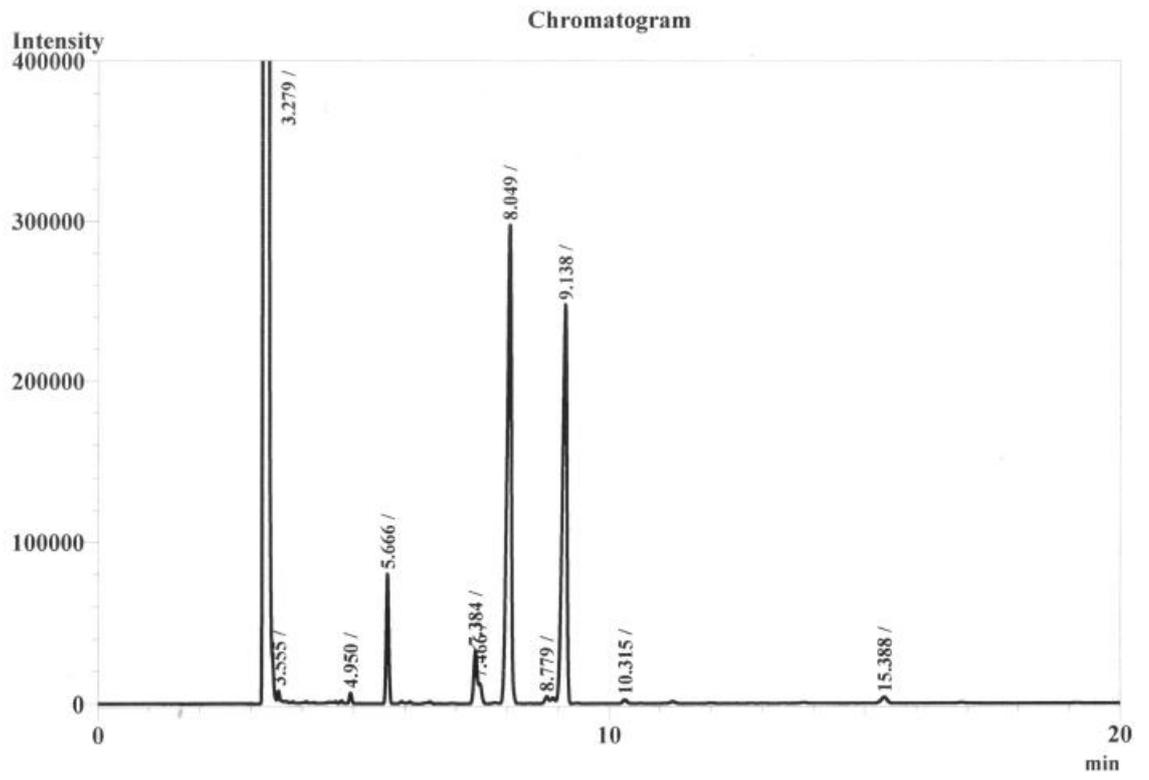
จ. โครมาโตแกรมของน้ำมันเมล็ดทานตะวันบนคอลัมน์ BPX-70 และ SP-2340 ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรมที่อัตราส่วนความยาว 50: 50



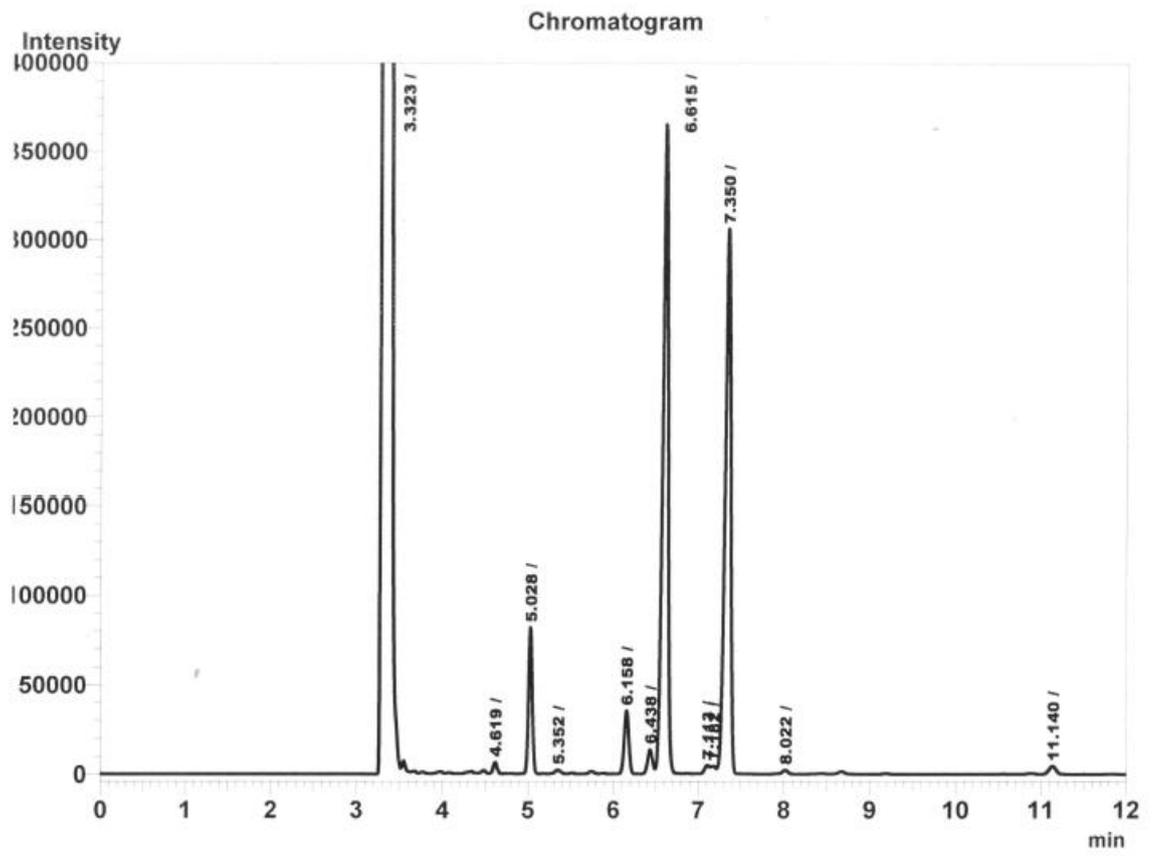
รูปที่ จ.1 ที่อุณหภูมิ 170 °C



รูปที่ จ.2 ที่อุณหภูมิ 180°C



รูปที่ จ.3 ที่อุณหภูมิ 190°C



รูปที่ จ.4 ที่อุณหภูมิ 200°C

### ผลงานจากโครงการ: ผลงานแบบรายงานด้วยปากเปล่า (Oral presentation)

สุรีดา ป็อราเฮง, วรรณกนก อายุสุข และคณิต กฤษณ์งูร, 2553, "การพิสูจน์เอกลักษณ์กรดไขมันเมทิลเอสเทอร์โดยใช้คอลัมน์สองชนิดที่ต่อกันแบบอนุกรม", การประชุมสัมมนาทางวิชาการ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก ครั้งที่ 3, 20-21 พฤษภาคม, โรงแรม พัทยาปาร์ค บีช รีสอร์ท, จ.ระยอง, หน้า 224-231