บทที่ 6
ก๊าซโครมาโตกราฟี
(Gas Chromatography)

ก๊าซโครมาโตกราฟี (GC) เป็นเทคนิคหนึ่งของการวิเคราะห์ ด้วยวิธี โครมาโตกราฟี ซึ่งนิยมใช้กันอย่างกว้างขวาง เพราะมีความสามารถแยกและวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีองค์ประกอบซับซ้อนได้ และยังให้ผลเที่ยงตรง รวดเร็วกว่าลิควิดโครมาโตกราฟี ก๊าซโครมาโตกราฟี มีเทคนิคในการวิเคราะห์ 2 วิธี คือ การใช้เฟสอยู่กับที่เป็นของแข็ง เรียกว่า “gas-solid chromatography” (GSC) และการใช้เฟสอยู่กับที่เป็นของเหลว เรียกว่า “gas-liquid chromatography” (GLC) ซึ่งทั้งสองวิธีนี้มีเฟสเคลื่อนที่ได้เป็นก๊าซ เทคนิคทั้งสองได้ถูกนำมาใช้ในการวิเคราะห์ โดยที่เทคนิคของ GLC เป็นที่นิยมกันมากกว่า ก๊าซโครมาโตกราฟีใช้ได้กับสารที่สามารถระเหยกลายเป็นไอได้ ณ อุณหภูมิของคอลัมน์เท่านั้น ดังนั้นวิธีการของก๊าซโครมาโตกราฟีจึงเป็นเทคนิคที่ใช้ในการแยกสารประกอบอินทรีย์เท่านั้น เพราะสารประกอบอินทรีย์สามารถกลายเป็นไอได้ง่าย จะไม่ใช้วิธีก๊าซโครมาโตกราฟีสำหรับการวิเคราะห์สารประกอบอนินทรีย์ เพราะสารประกอบอนินทรีย์ไม่สามารถกลายเป็นไอได้ในอุณหภูมิปกติ (ที่ทำการทดลอง) ของคอลัมน์ วิธีก๊าซโครมาโตกราฟีสามารถใช้ในการวิเคราะห์ได้ทั้งทางคุณภาพและทางปริมาณ

หลักการของก๊าซโครมาโตกราฟี (PRINCIPLES OF GAS CHROMATOGRAPHY)

หลักการของก๊าซโครมาโตกราฟีคือ เฟสเคลื่อนที่ต้องเป็นก๊าซ และสารตัวอย่างที่ใส่ลงในคอลัมน์ต้องมีสภาพเป็นไอตั้งแต่บริเวณส่วนบนสุดของคอลัมน์ การอีลูทสารตัวอย่างออกจากคอลัมน์เกิดจากแรงพาของเฟสเคลื่อนที่ ซึ่งเรียกว่า ตัวพา (carrier) สำหรับตัวพาที่ใช้ต้องเป็นก๊าซเฉื่อย เช่น ไนโตรเจน หรือฮีเลียม อัตราเร็วของการเคลื่อนที่ของสารตัวอย่างแต่ละชนิดในคอลัมน์ขึ้นอยู่กับการละลายของสารตัวอย่างนั้นๆ ในเฟสอยู่กับที่หรือขึ้นอยู่กับสัมประสิทธิ์ของการกระจาย ซึ่งทฤษฎีของการกระจาย การอีลูท การเกิดแบนด์หรือพีก และทฤษฎีเพลตของก๊าซโครมาโตกราฟีนั้นเหมือนกับทฤษฎีทั่วๆ ไปของโครมาโตกราฟีที่กล่าวมาแล้วในบทที่ 3

เนื่องจากก๊าซมีคุณสมบัติที่เกิดการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลและปริมาตรได้ง่าย ถ้ามีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิและความดันของคอลัมน์ ซึ่งมีผลโดยตรงต่อรีเทนชันไทม์ของสารตัวอย่าง เพราะรีเทนชันไทม์แปรผันตรงข้ามกับอัตราการไหลของตัวพา ถ้าอัตราการไหลเพิ่มขึ้นรีเทนชันไทม์จะลดลง ดังนั้นในเรื่องของก๊าซโครมาโตกราฟีจึงใช้รีเทนชันโวลูม (V_R) แสดงการเปรียบเทียบหรือพิสูจน์สารมากกว่ารีเทนชันไทม์ เพราะรีเทนชันโวลูมไม่ขึ้นอยู่กับอัตราการไหลของตัวพา และตัวแปรของคอลัมน์อีกหลายตัว แต่ขึ้นอยู่กับธรรมชาติของสารตัวอย่างและเฟสอยู่กับที่ ถ้ารีเทนชันโวลูมถูกวัดจากคอลัมน์ต่างชนิดกัน คือมีปริมาณของเฟสอยู่กับที่ต่างกัน ค่ารีเทนชันโวลูมที่ได้จะต่างกัน ในกรณีนี้ไม่สามารถนำค่ารีเทนชันโวลูมมาเปรียบเทียบกันได้ ถ้าต้องการเปรียบเทียบค่ารีเทนชันโวลูมที่ได้จากการทดลองที่ใช้คอลัมน์ต่างกัน ต้องเปลี่ยนค่ารีเทนชันโวลูมที่วัดได้ให้เป็นค่ารีเทนชันโวลูมจำเพาะ (Specific retention volume), V_g โดยสามารถพิสูจน์สูตรสำหรับหาค่า V_g ให้อยู่ในเทอมของข้อมูลที่ได้จากการทดลองได้

รีเทนชันโวลูมจำเพาะของสารตัวอย่างแต่ละชนิดสามารถหาค่าได้ได้โดยมีหลักการดังนี้ ในการทำก๊าซโครมาโตกราฟีจำเป็นต้องทราบค่าเฉลี่ยของอัตราการไหลของตัวพาในคอลัมน์ (F) ที่มีอุณหภูมิของคอลัมน์เท่ากับ T_C แต่โดยปกติค่าอัตราการไหลสามารถวัดได้เมื่อตัวพาออกจากคอลัมน์ (F_m) ซึ่งเป็นอัตราการไหล ณ อุณหภูมิห้อง (T_R) เราสามารถแก้ไขอัตราการไหลของตัวพาที่วัดได้ ณ อุณหภูมิห้องให้เป็นค่าเฉลี่ยของอัตราการไหลของตัวพาในคอลัมน์ได้จากสมการ

$$F = F_m \frac{T_C}{T_R} \qquad \text{.....(6.1)}$$

T_C และ T_R มีหน่วยเป็นอุณหภูมิสัมบูรณ์

สมการที่ 6.1 ได้มาจากคำนิยามของอัตราการไหลคือ ปริมาตรหารด้วยเวลา

$$F = \frac{V}{t}$$

$$V = Ft \qquad (t = \text{เวลาของการไหล})$$

และจากกฎของชาร์ลส์ (Charles' Law)

$$V \propto T$$

$$V = kT$$

$$\therefore \quad Ft = kT$$

ค่าเฉลี่ยอัตราการไหลของตัวพาในคอลัมน์ที่มีอุณหภูมิ T_C คือ

$$F = \frac{k}{t} T_C$$

อัตราการไหลของตัวพาที่อุณหภูมิห้อง คือ

$$F_m = \frac{k}{t} T_R$$

นำสองสมการหารกัน จะได้สมการที่ (6.1)

เนื่องจากอัตราการไหลของตัวพาที่ออกจากคอลัมน์ (F_m) สามารถวัดด้วยมิเตอร์วัดฟองสบู่ (soap-bubble flowmeter) ซึ่งก๊าซตัวพาต้องผ่านลงในน้ำสบู่ก่อน ดังนั้น ต้องมีการแก้ไขค่าอัตราการไหลของตัวพาให้ถูกต้อง เทอมที่จะแก้ไขค่าอัตราการไหลให้ถูกต้อง คือ $\frac{P_O - P_W}{P_O}$ เมื่อ P_O หมายถึงความดันของก๊าซตัวพาที่ออกมาจากคอลัมน์ P_W คือความดันไอของน้ำ $P_O - P_W$ คือความดันของก๊าซตัวพาที่ทำให้ฟองสบู่ลอยขึ้น แล้วอ่านค่าอัตราการไหลได้จากมิเตอร์ นั่นคือสมการที่ 6.1 ที่แก้ไขความดันให้ถูกต้อง คือ

$$F = F_m \frac{T_C}{T_R} \times \left(\frac{P_O - P_W}{P_O} \right) \quad \text{.....(6.2)}$$

ค่าความดันไอของน้ำเป็นค่าที่ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ ดังแสดงในตารางที่ 6.1

ตารางที่ 6.1 ความดันไอน้ำของน้ำ (P_W) ที่อุณหภูมิต่างๆ

อุณหภูมิ °C	P_W t_{orr}
15	12.8
16	13.6
17	14.5
18	15.5
19	16.5
20	17.5
21	18.7

ตารางที่ 6.1 (ต่อ)

อุณหภูมิ °C	P_W t_{orr}
22	19.8
23	21.1
24	22.4
25	23.8
26	25.2
27	26.7
28	28.4
29	30.0
30	31.8
35	42.2

ค่าเฉลี่ยของอัตราการไหลของตัวพาในคอลัมน์ (F) บางทีเรียกว่า Adjusted flow rate สามารถใช้คำนวณหาค่ารีเทนชันโวลูม ตามสมการที่ 3.11 คือ

$$V_R = t_R F$$

สำหรับองค์ประกอบที่ไม่เหลืออยู่ในคอลัมน์ หรือถูกพาออกจากคอลัมน์ พร้อมกับการเคลื่อนที่ของตัวพาคืออากาศ ซึ่งเวลาที่ใช้ในการเดินทางออกจากคอลัมน์คือ t_m ตามสมการที่ (3.13) สามารถหาค่ารีเทนชันโวลูมของตัวพาได้ คือ

$$V_m = t_m F$$

ทั้งค่า V_R และ V_m ขึ้นอยู่กับค่าเฉลี่ยของความดันตลอดคอลัมน์ เมื่อความดันก่อนเข้าคอลัมน์ มีค่าเป็น P_i และความดันเมื่อออกจากคอลัมน์คือ P_o ดังนั้นต้องมีการแก้ไขค่า V_R และ V_m ให้เป็นปริมาตรที่สอดคล้องกับค่าเฉลี่ยของความดันตลอดคอลัมน์ ซึ่งเทอมที่ใช้ในการแก้ไขคือค่า j ถ้าให้ V_R^o และ V_m^o คือ ปริมาตรที่แก้ไข นั่นคือ

$$V_R^o = jt_R F \qquad \text{.....(6.3)}$$

$$V_m^o = jt_m F \qquad \text{.....(6.4)}$$

ในเมื่อ $j = \frac{P_o}{\bar{P}}$

$\bar{P}$ คือ ค่าเฉลี่ยของความดันตลอดคอลัมน์ ค่าเฉลี่ยความดันตลอดคอลัมน์ ไม่ได้หาได้ง่ายๆ จากการเฉลี่ยของความดันก่อนเข้าคอลัมน์กับที่ออกจากคอลัมน์ ($\frac{P_i + P_o}{2}$) แต่ค่าเฉลี่ยความดันตลอดคอลัมน์สามารถหาได้จากสมการ

$$\bar{P} = \frac{2}{3}\left(\frac{P_i^3 - P_o^3}{P_i^2 - P_o^2}\right)^{*(1)}$$

$$\therefore j = \frac{P_o}{\bar{P}} = \frac{3}{2}\left[\frac{(P_i/P_o)^2 - 1}{(P_i/P_o)^3 - 1}\right] \quad \text{.....(6.5)}$$

ในกรณีที่ความดันเข้าเท่ากับความดันออกแฟคเตอร์ j จะมีค่า = 1 ซึ่งไม่เป็นไปตามสมการที่ (6.5) ในกรณีนี้ไม่จำเป็นต้องแก้ไขค่า V_R และ V_m สามารถใช้ค่า V_R แทน V_R^o และ V_m แทน V_m^o ได้ จะเห็นได้ว่า j คือ ค่าสำหรับแก้ไขเมื่อเกิดการลดความดันซึ่งขึ้นอยู่กับ P_i/P_o ตามปกติ P_o ต้องน้อยกว่า P_i ตามตารางที่ 6.2 แสดงค่า j เมื่อมีอัตราส่วนของ P_i/P_o ต่างๆ กัน

ตารางที่ 6.2 ค่าสำหรับแก้ไขเมื่อเกิดการลดความดัน (Values of the pressure drop correction factor), j

P_i/P_o	j	P_i/P_o	j
1.00	1.00	1.80	0.695
1.10	0.952	1.90	0.668
1.20	0.907	2.00	0.643
1.30	0.865	2.10	0.619
1.40	0.826	2.20	0.597
1.50	0.790	2.30	0.576
1.60	0.756	2.40	0.557
1.70	0.725	2.50	0.539

---

*(1) การพิสูจน์ที่มาของสมการนี้ สามารถดูได้ในหนังสือเฉพาะเรื่องของก๊าซโครมาโตกราฟี เช่น H. Purnell; Gas Chromatography, John Wiley and Sons: New York, 1962, p. 67.

ความแตกต่างระหว่างรีเทนชันโวลูมของสารตัวอย่าง กับรีเทนชันโวลูมของตัวพาหรือเฟสเคลื่อนที่ เรียกว่า Adjusted retention volume (V_R')

$$V_R' = V_R - V_m$$

$$= Ft_R - Ft_m$$

$$= F(t_R - t_m) \qquad \text{.....(6.6)}$$

รีเทนชันไทม์ของตัวพา (t_m) ในก๊าซโครมาโตกราฟี ตามปกติวัดจากรีเทนชันไทม์ของพีกอากาศที่ปนมากับสารตัวอย่าง เมื่ออากาศไม่เป็นตัวหน่วงในคอลัมน์ ถ้าให้เนทรีเทนชันโวลูม (net retention volume), V_n คือ adjusted retention voulume ที่มีการแก้ไขความดันเป็นความดันเฉลี่ยตลอดคอลัมน์แล้ว นั่นคือ

$$V_n = V_R'j = F(t_R - t_m)j \qquad \text{.....(6.7)}$$

หรือ

$$= V_R^o - V_m^o \qquad \text{.....(6.8)}$$

เพื่อทำให้โวลูมของสารตัวอย่างชนิดเดียวกัน ที่ทำในห้องปฏิบัติการคนละที่ คือมีขนาดและความยาวคอลัมน์ต่างกัน สามารถเปรียบเทียบกันได้ ค่ารีเทนชันโวลูมต้องมีการแก้ไขปริมาณของเฟสอยู่กับที่ซึ่งบรรจุในคอลัมน์และอุณหภูมิ ซึ่งค่าที่แก้ไขแล้วนี้เรียกว่ารีเทนชันโวลูมจำเพาะ (V_g) ซึ่งมีความสัมพันธ์กับค่าเนทรีเทนชันโวลูมตามสมการที่ (6.9) คือ

$$V_g = V_n \times \frac{1}{M} \times \frac{273}{T_c} \qquad \text{.....(6.9)}$$

M คือ น้ำหนักของเฟสอยู่กับที่ การนำค่า V_n คูณกับค่า $\frac{1}{M}$ นั้น เป็นการแก้ค่าเนทรีเทนชันโวลูมให้เป็นค่าเนทรีเทนชันโวลูมเมื่อมีเฟสอยู่กับที่ 1 กรัม ส่วนอัตราส่วน $\frac{273}{T_c}$ นำมาคูณกับ V_n เพื่อปรับสภาพค่าเนทรีเทนชันโวลูม ให้เป็นค่าที่อุณหภูมิ $0^\circ C$ หรือ $273^\circ K$

แทนค่าสมการที่ 6.7 และ 6.8 ลงในสมการที่ 6.9 จะได้

$$V_g = \frac{F(t_R - t_m)j}{M} \times \frac{273}{T_c} \qquad \text{.....(6.10)}$$

หรือ $$V_g = \frac{V_R^o - V_m^o}{M} \times \frac{273}{T_c} \qquad \text{.....(6.11)}$$

สมการที่ 6.10 เป็นสมการสำหรับคำนวณหาค่า V_g จากข้อมูลต่างๆ ที่ได้จากการทดลองโดยใช้วิธีก๊าซโครมาโตกราฟี ซึ่งมีประโยชน์มากในการวิเคราะห์ทางคุณภาพ เพราะสามารถใช้เป็นค่าที่เปรียบเทียบกันได้ แม้ว่าจะทำการทดลองต่างสถานที่กัน สารชนิดเดียวกันย่อมมีค่า V_g เท่ากัน ดังนั้น ด้วยวิธีการหาค่า V_g จากการทำก๊าซโครมาโตกราฟีจะทำให้สามารถพิสูจน์ได้ว่าสารตัวอย่างนั้นคืออะไรได้

ตัวอย่างที่ 6.1 สารตัวอย่างมีค่ารีเทนชันไทม์ในการทำก๊าซโครมาโตกราฟีเท่ากับ 5.34 นาที รีเทนชันไทม์ของอากาศที่ปนอยู่กับสารตัวอย่างมีค่าเท่ากับ 0.12 นาที อัตราการไหลของตัวพาที่ออกจากคอลัมน์ซึ่งอ่านได้จาก bubble flow meter มีค่าเท่ากับ 29.5 cm3/min อุณหภูมิของ flow meter เท่ากับ 27 $^\circ$C ความดันไอของน้ำที่ 27 $^\circ$C มีค่าเท่ากับ 26.7 ทอร์ร (ตามตารางที่ 6.1) เฟสอยู่กับที่ซึ่งเป็นของเหลวมีน้ำหนัก 0.957 กรัม ความดันก่อนเข้าคอลัมน์มีค่ามากกว่าความดันหลังจากออกจากคอลัมน์เท่ากับ 30.0 psi (pound per square inch) ความดันหลังออกจากคอลัมน์มีค่าเท่ากับ 755 ทอร์ร (atmospheric pressure) อุณหภูมิของคอลัมน์มีค่าเท่ากับ 125 $^\circ$C จงคำนวณหาค่าเฉลี่ยอัตราการไหลของก๊าซตัวพาในคอลัมน์ หรือ adjusted flow rate (F) แฟคเตอร์ในการแก้ไขค่าความดัน (j) ความดันเฉลี่ยในคอลัมน์ ($\bar{P}$) adjust retention volume (V_R') เนทรีเทนชันโวลูม (V_n) และรีเทนชันโวลูมจำเพาะ (V_g)

วิธีทำ 1. ค่าหา adjusted flow rate (F)

จากสมการที่ 6.2

$$F = F_m \frac{T_c}{T_R}\left(\frac{P_o - P_w}{P_o}\right)$$

F_m = 29.5 cm3/min

T_c = 273 + 125 = 398 $^\circ$K

T_R = 273 + 27 = 300 $^\circ$K

P_o = 755

P_w = 26.7 $\simeq$ 27

$$\therefore \quad F = \frac{29.5(398)(755-27)}{(300)(755)}$$

อัตราการไหลของตัวพาในคอลัมน์ = 37.7 cm3/min

2. หาค่าแฟคเตอร์ในการแก้ไขค่าความดัน (j)

จากสมการที่ 6.5

$$j = \frac{3}{2}\left[\frac{(P_i/P_o)^2-1}{(P_i/P_o)^3-1}\right]$$

หน่วยของ P_i และ P_o ต้องเป็นหน่วยเดียวกัน แต่ตามโจทย์บอกว่า P_i > P_o 30.0 psi ส่วน P_o = 755 torr ดังนั้น ต้องเปลี่ยนหน่วยของ P_i ให้เป็นหน่วยของ P_o หรือหน่วยของ P_o ให้เป็นหน่วยของ P_i

ความดัน 30 lb/in2 มีค่า

$$= 30\ \text{lb/in}^2 \times \frac{1\ \text{atm}}{14.696\ \text{lb/in}^2} \times \frac{760\ \text{torr}}{1\ \text{atm}}$$

$$= 1.55\times10^3 \quad \text{torr}$$

ตามโจทย์ ให้ความดันก่อนเข้าคอลัมน์มีค่ามากกว่าความดันที่ออกจากคอลัมน์ 30.0 psi (คือเท่ากับ 1.55×10^3 torr)

$$\therefore \quad P_i = 1.55\times10^3 + 755$$

$$= 2.31\times10^3 \ \text{torr}$$

แทนค่า P_i = 2.31×10^3 torr และ P_o = 755 torr ลงในสมการที่ 6.5

$$j = \frac{3}{2}\left[\frac{(2.31\times10^3/755)^2-1}{(2.31\times10^3/755)^3-1}\right]$$

$$= 0.454$$

3. หาค่า adjusted retention volume (V_R')

จากสมการที่ 6.6

$$V_R' = F(t_R - t_m)$$

$$= 37.7(5.34 - 0.12)$$

$$= 197 \ cm^3$$

4. หาค่าเนทรีเทนชันโวลูม (V_n)

จากสมการที่ 6.7

$$V_n = V_R' j$$

$$= 197 \times 0.454$$

$$= 89.4 \ cm^3$$

5. หาค่ารีเทนชันโวลูมจำเพาะ (V_g)

จากสมการที่ 6.9

$$V_g = V_n \times \frac{1}{M} \times \frac{273}{T_c}$$

$$= \frac{(89.4)(273)}{(0.957)(398)}$$

$$= 64.1 \ cm^3 / gm$$

สิ่งที่น่าสนใจอีกอย่างหนึ่ง คือ ความสัมพันธ์กันระหว่างค่ารีเทนชันโวลูมจำเพาะกับค่าสัมประสิทธิ์ของการกระจายหรือสัมประสิทธิ์ของการแบ่งส่วน (K_d) เพื่อหาความสัมพันธ์นี้ให้นำค่า t_m / t_m คูณสมการที่ 6.10

$$V_g = \frac{F(t_R - t_m)j}{M} \times \frac{273}{T_c} \times \frac{t_m}{t_m}$$

จากสมการที่ 3.8 ได้

$$k' = \frac{t_R - t_m}{t_m}$$

$$\therefore \quad V_g = \frac{F_j k' t_m}{M} \times \frac{273}{T_c} \qquad \text{.....(6.12)}$$

จากสมการ (6.4) jt_mF มีค่าเท่ากับ V_m^o

นั่นคือ $$V_g = \frac{V_m^o k'}{M} \times \frac{273}{T_c} \qquad \text{.....(6.13)}$$

เพราะว่า $$k' = K_d \frac{V_s}{V_m}$$

เมื่อให้ $V_m^o \cong V_m$ จะได้

$$V_g = \frac{K_d V_s}{M} \times \frac{273}{T_c} \qquad \text{.....(6.14)}$$

ความหนาแน่นของเฟสอยู่กับที่ซึ่งเป็นของเหลว (ρ_s) มีค่าเท่ากับ $\frac{M}{V_s}$

$$\therefore \quad V_g = \frac{K_d}{\rho_s} \times \frac{273}{T_c} \qquad \text{.....(6.15)}$$

เมื่ออุณหภูมิของคอลัมน์มีค่าเท่ากับ $273^\circ K$ จะได้ค่า V_g ขึ้นอยู่กับสัมประสิทธิ์ของการแบ่งส่วน (K_d) และความหนาแน่นของเฟสอยู่กับที่

ตัวอย่างที่ 6.2 ข้อมูลของรีเทนชันของเพนเทน (pentane) ในการทำก๊าซโครมาโตกราฟีโดยใช้เฟสอยู่กับที่เป็นของเหลวมีดังนี้

รีเทนชันไทม์ (t_R)	4.50 นาที
เวลาของพีกอากาศ (t_m)	30 วินาที
อัตราการไหลของก๊าซตัวพา (F)	75 ลบ.ซม./นาที
อุณหภูมิของคอลัมน์ (T_c)	$100^\circ C$
น้ำหนักของเฟสอยู่กับที่ซึ่งเป็นของเหลว (M)	4.2 กรัม
ความหนาแน่นของเฟสอยู่กับที่ (ρ_s)	0.95 gm/cm^3

ความดันเข้า (P_i) 1185 ทอร์ร

ความดันออก (P_o) 740 ทอร์ร

จงคำนวณหาค่ารีเทนชันโวลูมจำเพาะ (V_g) และค่าสัมประสิทธิ์ของการกระจาย (K_d)

วิธีทำ จากสมการที่ 6.10

$$V_g = \frac{F(t_R - t_m)j}{M} \times \frac{273}{T_c}$$

เมื่อ

$$j = \frac{3}{2}\left[\frac{(P_i/P_o)^2 - 1}{(P_i/P_o)^3 - 1}\right]$$

$$= \frac{3}{2}\left[\frac{(1185/740)^2 - 1}{(1185/740)^3 - 1}\right]$$

$$= 0.756$$

(หรือจากตารางที่ 6.2 เมื่อ $P_i/P_o = 1.60$)

$$\therefore \quad V_g = 75\left(4.50 - \frac{30}{60}\right) \times \frac{0.756}{4.2} \times \frac{273}{373}$$

$$= 39.5 \ \ cm^3/gm$$

จากสมการที่ 6.15

$$V_g = \frac{K_d}{\rho_s} \times \frac{273}{T_c}$$

$$39.5 = \frac{K_d}{0.95} \times \frac{273}{373}$$

$$\therefore \quad K_d = 51.3$$

ประสิทธิภาพของก๊าซโครมาโตกราฟี (Efficiency of Gas Chromatography)

ประสิทธิภาพของก๊าซโครมาโตกราฟีอยู่ที่คอลัมน์ ซึ่งขึ้นอยู่กับจำนวนเพลตตามทฤษฎี หรือ Height equivalent of theoretical plate (H) เช่นเดียวกับโครมาโตกราฟี

ตามทฤษฎีของการอีลูทที่ได้กล่าวมาแล้วในตอนต้นว่า การอีลูทสารตัวอย่าง จะทำให้เกิดการกระจายของสารตัวอย่างเมื่อออกจากคอลัมน์ โดยมีลักษณะเป็นแบนด์หรือเป็นพีก ทั้งนี้เพราะโมเลกุลของสารตัวอย่างที่อยู่ในคอลัมน์มีความประพฤติไม่เหมือนกัน มีสิ่งสำคัญอยู่ 3 สิ่งที่เป็นสาเหตุให้โมเลกุลมีความประพฤติไม่เหมือนกัน หรือไม่เป็นไปตามอุดมคติ คือ การแพร่กระจายของสารตัวอย่างจากความเข้มข้นสูงไปต่ำ (longitudinal diffusion) การไหลเข้าและออกของสารตัวอย่างในคอลัมน์เป็นไปอย่างสุ่มๆ (random) ทำให้ได้ระยะทางไม่เท่ากับ (Eddy diffusion) และโมเลกุลของสารตัวอย่างไม่สามารถเกิดสมดุลระหว่างเฟสขึ้นได้ (non equilibrium mass transfer) ซึ่งสาเหตุทั้งสามนี้ทำให้ค่า HETP มีค่ามากกว่าที่ควรจะเป็นตามอุดมคติ เพราะต้องมีค่าเท่ากับ HETP ที่เกิดจากทั้งสามเหตุรวมกัน

H = HETP ที่เกิดจากผลของ Eddy diffusion + HETP ที่เกิดจากผลของ longitudinal diffusion + HETP ที่เกิดจากผลของ non equilibrium mass transfer

กลุ่มของนักเคมีชาวดัทช์ได้พิสูจน์สมการข้างบนนี้ให้อยู่ในรูปสมการคณิตศาสตร์ ซึ่งมีชื่อเรียกว่า Van Deemter equation

$$H = A + \frac{B}{u} + Cu \qquad \text{.....(6.16)}$$

u คือ ค่าอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เป็นความเร็วเชิงเส้นตรง (linear velocity)

ค่า A , B และ C เป็นค่าคงที่ของคอลัมน์แต่ละอัน ซึ่งยังขึ้นอยู่กับองค์ประกอบอีกหลายชนิดของคอลัมน์ องค์ประกอบที่มีค่าต่อค่า A , B และ C มีดังนี้

1. เทอม A ขึ้นอยู่กับขนาดของเฟสอยู่กับที่ที่บรรจุในคอลัมน์ และแต่ละหน่วยต้องมีขนาดเท่ากันหรือเหมือนกันหมด ถ้ามีขนาดเล็กค่า A จะน้อย ในกรณีที่บรรจุในคอลัมน์ได้ดีค่าของ A จะมีค่าน้อยมาก เข้าใกล้ศูนย์ สามารถตัดทิ้งได้

$$A = 2\lambda d_p \qquad \text{.....(6.17)}$$

เมื่อ λ คือ ความเหมือนกันของขนาดของเฟสอยู่กับที่ที่บรรจุในคอลัมน์และความเป็นระเบียบในการบรรจุ (uniform of the column packing)

d_p คือ ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่าศูนย์กลางของขนาดของเฟสอยู่กับที่

2. เทอม B สัมพันธ์กับการกระจายของสารตัวอย่าง ตามความยาวของคอลัมน์ เนื่องจากว่าการกระจายของสารตัวอย่าง ในเฟสของเหลวมีค่าน้อยกว่าการกระจายในเฟสของก๊าซประมาณ 10^5 เท่า ดังนั้น เทอม B ไม่มีความสำคัญถ้าเฟสเคลื่อนที่เป็นของเหลว แต่ถ้าเฟสเคลื่อนที่คือก๊าซเทอม B จะมีความสำคัญและมีค่าความสัมพันธ์กับอัตราการไหลของก๊าซด้วย ถ้าก๊าซมีอัตราความเร็วของการไหลต่ำ เวลาที่ใช้ในการอีลูทจะนาน ทำให้มีเวลาที่จะเกิดการกระจายของแบนด์ได้กว้างขึ้น

$$B = 2\gamma D_m \qquad \text{.....(6.18)}$$

เมื่อ γ คือ ฟังก์ชั่นของการบรรจุเฟสอยู่กับที่ในคอลัมน์

D_m คือ สัมประสิทธิ์ของการกระจายของโมเลกุลของสารตัวอย่าง ในเฟสเคลื่อนที่

3. เทอม C ซับซ้อนกว่าเทอม A และ B สามารถแบ่งได้เป็น 2 ส่วน คือ C_ℓ และ C_g C_ℓ คือ ส่วนที่เกี่ยวข้องกับเฟสของเหลวหรือเฟสอยู่กับที่ ซึ่งสัมพันธ์กับความหนาของฟิล์มของเหลว (liquid film) คือ d_f^2 และการกระจายของสารตัวอย่างในเฟสอยู่กับที่หรือเฟสของเหลว C_g คือ ส่วนที่เกี่ยวข้องกับเฟสเคลื่อนที่ซึ่งเป็นก๊าซ ซึ่งขึ้นอยู่กับ d_p และ D_m

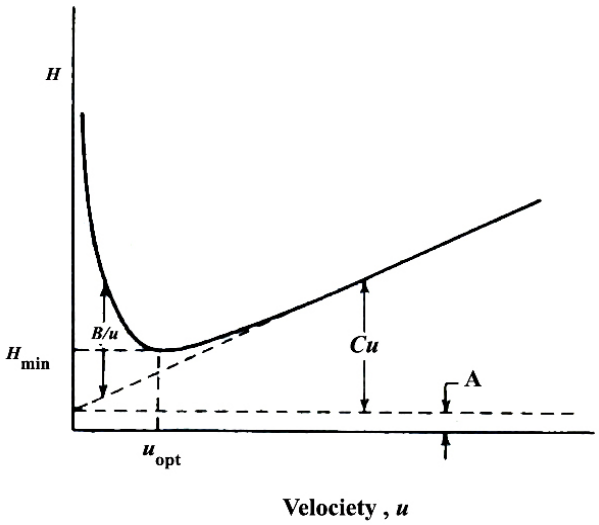
$$C_\ell = \frac{8k' d_f^2}{\pi^2 (1+k') D_s} \qquad \text{.....(6.19)}$$

$$C_g \; C_\ell = \frac{\omega d_p^2}{D_m} \qquad \text{.....(6.20)}$$

เมื่อ ω คือ ฟังก์ชันอีกอันหนึ่งของการบรรจุเฟสอยู่กับที่ในคอลัมน์ แทนค่าสมการ (6.17) ถึง (6.20) ลงในสมการที่ (6.16) จะได้

$$H = 2\lambda d_p + \frac{2\gamma D_m}{u} + \frac{8k' d_f^2 u}{\pi^2 (1+k')^2 D_s} + \frac{\omega d_p^2 u}{D_m} \qquad \text{.....(6.21)}$$

การควบคุมประสิทธิภาพของคอลัมน์ทำได้โดยการควบคุม H การแยกของคอลัมน์จะเกิดได้ดี เมื่อ H มีค่าน้อยๆ ซึ่งจะทำให้มีค่า N มากๆ และให้พีกที่แคบ การควบคุมค่า H ทำได้โดยควบคุมความเร็วของการไหลของก๊าซตัวพา เมื่อก๊าซตัวพามีอัตราการไหลน้อย เทอม B จะมีความสำคัญ คือเมื่อ B มีค่ามากจะทำให้ได้ค่า H มาก ดังนั้น จึงควรใช้อัตรา



รูปที่ 6.1 กราฟของการพลอตระหว่างค่า H และ u ตามสมการของ Van Deemter

การคำนวณตามสมการ 6.16 เพื่อหาค่า H ที่อัตราการไหลของก๊าซตัวพามีค่าต่างๆ ในก๊าซโครมาโตกราฟี เป็นการศึกษาเกี่ยวกับประสิทธิภาพของคอลัมน์ ประสิทธิภาพของคอลัมน์จะดีที่สุดเมื่อค่า H มีค่าน้อยที่สุด (H_{min}) เราสามารถคำนวณหาค่า H_{min} ได้จากสมการที่ 6.22 คือ

$$H_{min} = A + 2\sqrt{BC} \qquad \text{.....(6.22)}$$

สามารถพิจารณาได้ว่า อัตราการไหลที่เหมาะสม (u_{opt}) จะมีค่าดังนี้

$$u_{opt} = \sqrt{B/C} \qquad \text{.....(6.23)}$$

ตัวอย่างที่ 6.3 ในการทำก๊าซโครมาโตกราฟี โดยใช้ฮีเลียมเป็นก๊าซตัวพา ค่าต่างๆ ในสมการ Van Deemter มีดังนี้

A = 0.10 cm

B = 0.35 cm^2/sec

C = 0.06 sec

จงพลอตกราฟระหว่างค่า HETP เทียบกับค่า u เมื่อใช้อัตราการไหล u = 1 cm/sec ตลอดคอลัมน์ที่ยาว 10 cm เป็นความเร็วเริ่มต้น แล้วเพิ่มอัตราเร็วครั้งละ 1 cm/sec จากกราฟให้หาค่า H_{min} และแสดงให้เห็นว่าค่านั้นเป็นความจริงหรือไม่ที่ $u_{opt} = \sqrt{B/C}$

วิธีทำ

$$H = A + \frac{B}{u} + Cu$$

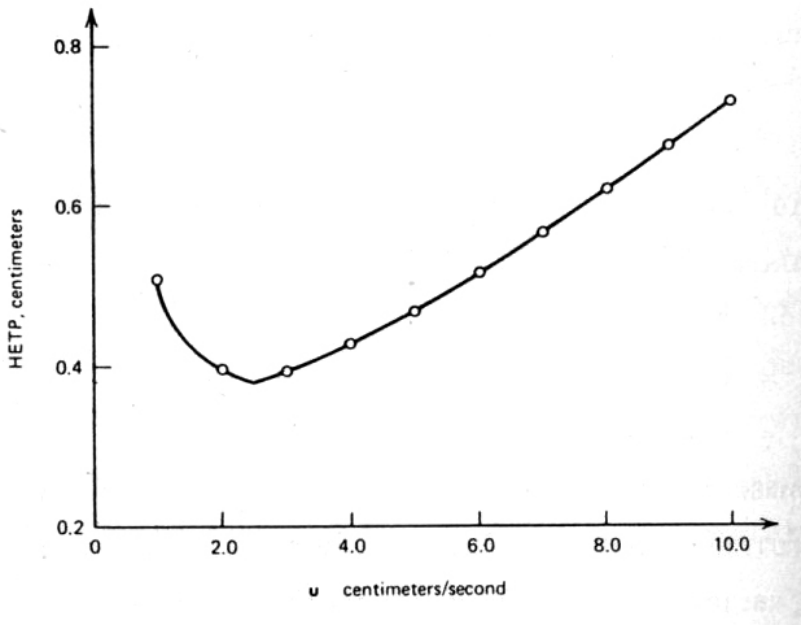
$$= 0.10\,\text{cm} + \frac{0.35\,\text{cm}^2/\text{sec}}{1.0\,\text{cm/sec}} + (0.06\,\text{sec})(1.0\,\text{cm/sec})$$

$$= 0.51 \text{ cm}$$

ด้วยวิธีการคำนวณแบบเดียวกันนี้ ให้หาค่า H เมื่ออัตราเร็วเพิ่มขึ้น ครั้งละ 1 cm/sec จะได้ข้อมูลดังแสดงในตารางต่อไปนี้

u(cm/sec)	H(cm)	u(cm/sec)	H(cm)
1.0	0.51	6.0	0.52
2.0	0.40	7.0	0.57
3.0	0.40	8.0	0.62
4.0	0.43	9.0	0.68
5.0	0.47	10.0	0.74

จากข้อมูลที่ได้นำมาพลอตกราฟได้กราฟมีลักษณะดังนี้



จากกราฟ อ่านค่า H_{min} ได้ประมาณ 0.38 cm และอัตราเร็วที่เหมาะ (u_{opt}) ประมาณ 2.5 cm/sec โดยวิธีการคำนวณหาได้ดังนี้

$$u_{opt} = \sqrt{B/C}$$

$$= \sqrt{\frac{0.35\,cm^2/sec}{0.06\,sec}}$$

$$= 2.4 \text{ cm/sec}$$

แสดงว่าสมการของการคำนวณนี้เป็นจริง

ตัวอย่างที่ 6.4 ก๊าซไนโตรเจนถูกใช้เป็นก๊าซตัวพา ข้อมูลของ HETP เมื่อใช้อัตราการไหลของตัวพาขนาดต่างๆ มีค่าดังแสดงในตารางข้างล่างนี้

u cm/sec	HETP (cm)
4.0	0.159
6.0	0.172
8.0	0.189

a. จงหาค่า A , B และ C ในสมการ Van Deemter

b. จงสร้างกราฟโดยการพลอตระหว่างค่า HETP กับค่า u โดยใช้ค่า u = 1.0 cm/sec จนถึง 10.0 cm/sec โดยให้เว้นช่องครั้งละ 1 cm/sec และหาค่า u ที่เหมาะสมซึ่งทำให้ค่า HETP มีค่าต่ำสุด

วิธีทำ a) จากสมการของ Van Deemter

$$H = A + \frac{B}{u} + Cu$$

จากข้อมูลที่ได้สามารถสร้างสมการได้ 3 สมการ คือ

$$A + \frac{1}{4.0}B + 4.0C = 0.159$$

$$A + \frac{1}{6.0}B + 6.0C = 0.172$$

$$A + \frac{1}{8.0}B + 8.0C = 0.189$$

เมื่อมีสมการอยู่ 3 สมการ จะสามารถหาค่าที่ไม่ทราบ (unknown) ได้ 3 ตัว ตามหลักพีชคณิต แต่การหาคำตอบของ A , B และ C ที่ง่ายคือการใช้วิธีของ Matrix ขั้นแรกให้ตั้งสัมประสิทธิ์ของ Matrix ดังนี้

$$\begin{vmatrix} 1 & \frac{1}{4} & 4.0 & 0.159 \\ 1 & \frac{1}{6} & 6.0 & 0.172 \\ 1 & \frac{1}{8} & 8.0 & 0.189 \end{vmatrix}$$

กลวิธีในการทำคือ ต้องพยายามบวก ลบ คูณ หรือหารเลขใน matrix ให้อยู่ในรูป

1	0	0	(ตัวเลขซึ่งเป็นค่าของ A)
0	1	0	(ตัวเลขซึ่งเป็นค่าของ B)
0	0	1	(ตัวเลขซึ่งเป็นค่าของ C)

วิธีทำ สามารถทำเป็นขั้นตอนได้ดังนี้

ขั้นที่ 1 คูณแถวที่ 2 และ 3 ด้วย −1

1	$\frac{1}{4}$	4.0	0.159
−1	$-\frac{1}{6}$	−6.0	−0.172
−1	$-\frac{1}{8}$	−8.0	−0.189

ขั้นที่ 2 นำแถวที่ 2 บวกกับแถวที่ 1 จะได้แถวที่ 2 อันใหม่

นำแถวที่ 3 บวกกับแถวที่ 1 จะได้แถวที่ 3 อันใหม่

1	$\frac{1}{4}$	4.0	0.159
0	$\frac{2}{24}$	−2.0	−0.013
0	$\frac{1}{8}$	−4.0	−0.030

ขั้นที่ 3 คูณแถวที่ 2 ด้วย −2

1	$\frac{1}{4}$	4.0	0.159
0	$-\frac{4}{24}$	4.0	0.026
0	$\frac{1}{8}$	−4.0	−0.030

ขั้นที่ 4 นำแถวที่ 2 บวกกับแถวที่ 3 จะได้แถวที่ 2 อันใหม่

$$\begin{vmatrix} 1 & \frac{1}{4} & 4.0 & 0.159 \\ 0 & -\frac{1}{24} & 0 & -0.004 \\ 0 & \frac{1}{8} & -4.0 & -0.030 \end{vmatrix}$$

ขั้นที่ 5 คูณแถวที่ 2 ด้วย -24

$$\begin{vmatrix} 1 & \frac{1}{4} & 4.0 & 0.159 \\ 0 & 1 & 0 & 0.096 \\ 0 & \frac{1}{8} & -4.0 & -0.030 \end{vmatrix}$$

ขั้นที่ 6 คูณแถวที่ 3 ด้วย -8

$$\begin{vmatrix} 1 & \frac{1}{4} & 4.0 & 0.159 \\ 0 & 1 & 0 & 0.096 \\ 0 & -1 & 32.0 & 0.240 \end{vmatrix}$$

ขั้นที่ 7 นำแถวที่ 2 บวกกับแถวที่ 3 จะได้เป็นแถวที่ 3 อันใหม่

$$\begin{vmatrix} 1 & \frac{1}{4} & 4.0 & 0.159 \\ 0 & 1 & 0 & 0.096 \\ 0 & 0 & 32.0 & 0.336 \end{vmatrix}$$

ขั้นที่ 8 คูณแถวที่ 3 ด้วย $\frac{1}{32}$

$$\begin{vmatrix} 1 & \frac{1}{4} & 4.0 & 0.159 \\ 0 & 1 & 0 & 0.096 \\ 0 & 0 & 1.0 & 0.010 \end{vmatrix}$$

ขั้นที่ 9 คูณแถวที่ 2 ด้วย $-\frac{1}{4}$ แล้วนำไปบวกกับแถวที่ 1 จะได้แถวที่ 1 อันใหม่

$$\begin{vmatrix} 1 & 0 & 4.0 & 0.135 \\ 0 & 1 & 0 & 0.096 \\ 0 & 0 & 1 & 0.010 \end{vmatrix}$$

ขั้นที่ 10 คูณแถวที่ 3 ด้วย -4 แล้วนำไปบวกกับแถวที่ 1 จะได้แถวที่ 1 อันใหม่

$$\begin{vmatrix} 1 & 0 & 0 & 0.095 \\ 0 & 1 & 0 & 0.096 \\ 0 & 0 & 1 & 0.010 \end{vmatrix}$$

คำตอบคือ A = 0.095 cm

B = 0.096 cm^2/sec

C = 0.010 sec

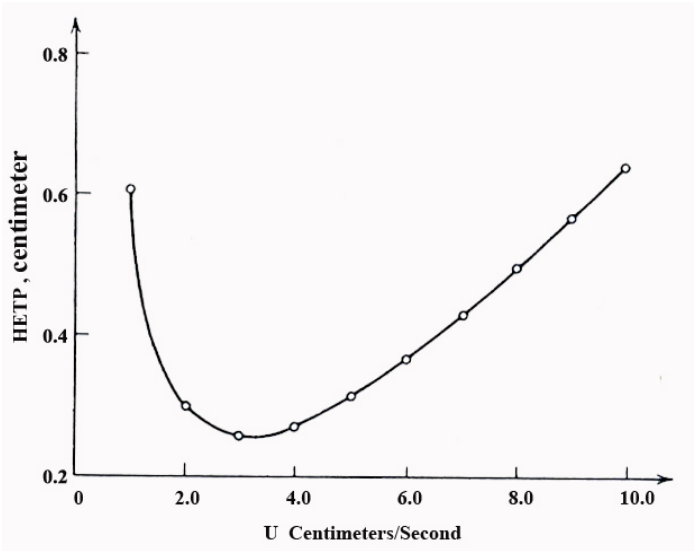
นั่นคือ สมการ Van Deemter คือ

$$H = 0.095+(0.096/u)+0.010u$$

b) คำนวณหาค่า H เมื่อมีค่า u ต่างๆ กัน ตั้งแต่ 1.0 ถึง 10.0 cm/sec โดยให้ช่วงเท่ากับ 1.0 cm/sec แล้วนำมาสร้างกราฟจะได้กราฟดังแสดงในรูปข้างล่างนี้

กรณีที่ u = 1.0 cm/sec

$$H = 0.095+(0.096/1.0)+(0.010)(1.0) = 0.201$$



คำนวณหาค่า u ที่เหมาะสมจากสมการ

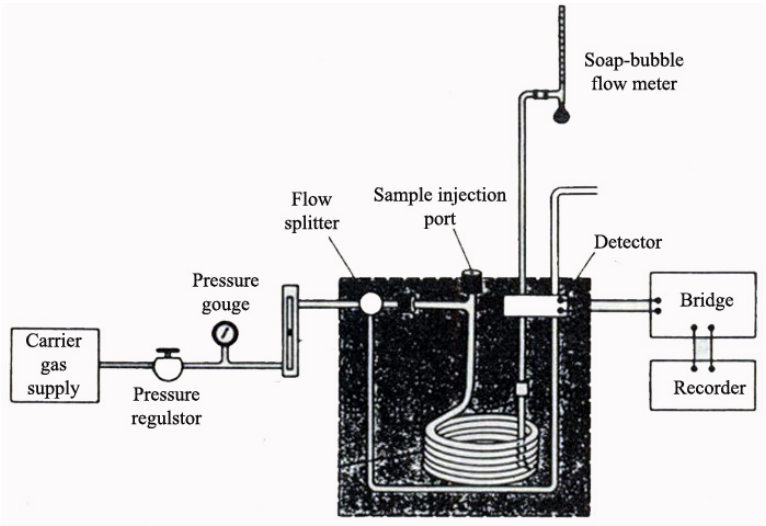
$$u_{opt} = \sqrt{\frac{B}{C}}$$

$$= \sqrt{\frac{0.096}{0.01}}$$

$$= 3.1 \text{ cm/sec}$$

เครื่องมือก๊าซโครมาโตกราฟี

เครื่องมือที่ใช้ในก๊าซโครมาโตกราฟีมีส่วนประกอบหลายส่วน ดังแสดงในรูปที่ 6.2 ทั้งแบบ GSC และ GLC จะมีส่วนประกอบต่างๆ เหมือนกัน แตกต่างกันเฉพาะชนิดของสารที่บรรจุในคอลัมน์ ดังนั้นเทคนิคและวิธีการวิเคราะห์ต่างๆ จึงเหมือนกัน



รูปที่ 6.2 แผนผังแสดงส่วนประกอบของเครื่องมือก๊าซโครมาโตกราฟี

ก๊าซตัวพาจะบรรจุไว้ในถังที่สามารถควบคุมความดันของก๊าซที่ปล่อยออกมาได้ สารตัวอย่างที่ถูกฉีดเข้าไปในเครื่องก่อนเข้าสู่คอลัมน์ ต้องถูกความร้อนทำให้กลายเป็นไอก่อน หลังจากนั้นจึงผ่านไปในคอลัมน์โดยมีก๊าซเป็นตัวพา หลังจากสารตัวอย่างถูกอีลูทออกจากคอลัมน์ด้วยก๊าซตัวพาจะเข้าสู่เครื่องตรวจดีเทคเตอร์ (Detector) ตัวดีเทคเตอร์ จะเป็นตัวแปลงขนาดของสารตัวอย่างให้เป็นสัญญาณทางไฟฟ้า ถ้าสารตัวอย่างมีปริมาณมาก สัญญาณทางไฟฟ้าที่เกิดขึ้นก็มีมาก สัญญาณทางไฟฟ้าที่เกิดขึ้นที่ดีเทคเตอร์จะส่งไปยังเครื่องบันทึก เครื่องบันทึกจะบันทึกเป็นกราฟ แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลากับขนาดของสัญญาณที่ได้รับจากเครื่องดีเทคเตอร์ (Detector Response) ถ้าเปรียบเทียบการทำงานของเครื่องก๊าซ-โครมาโตกราฟีกับการทำงานของร่างกายมนุษย์ จะได้ว่า ตัวดีเทคเตอร์เปรียบเสมือนสมอง และคอลัมน์เปรียบเสมือนหัวใจ

พิจารณาส่วนประกอบต่างๆ ของเครื่องมือก๊าซโครมาโตกราฟีตามลำดับดังนี้

ก๊าซตัวพา (CARRIER GAS)

ก๊าซที่เป็นก๊าซตัวพาต้องเป็นก๊าซเฉื่อยที่ไม่สามารถทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่างได้ ก๊าซที่ใช้ทั่วไปคือ ฮีเลียม ไนโตรเจน และอาร์กอน ก๊าซเหล่านี้ไม่เป็นพิษต่อผู้ทดลอง ในบางกรณีไฮโดรเจนหรือก๊าซอื่นบางตัวก็สามารถใช้เป็นก๊าซตัวพาได้ ตามความเป็นจริงแล้วก๊าซไฮโดรเจนใช้ได้ผลดีที่สุดแต่ไม่ค่อยนิยมใช้ เพราะเกิดอันตรายได้ง่าย เนื่องจากเป็นก๊าซที่

$\frac{1}{2}$

สรุปได้ว่าอัตราการไหลของก๊าซตัวพามีความสำคัญอยู่ 2 ประการ คือ

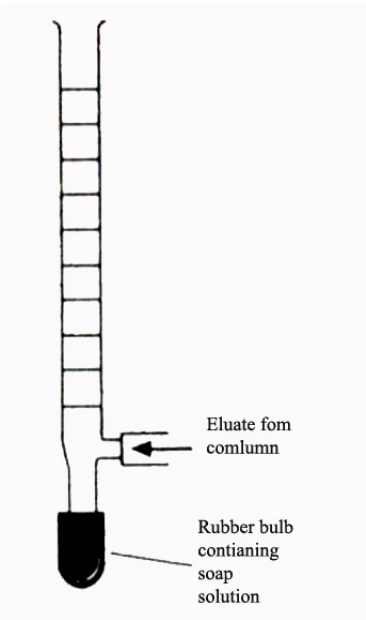
1. มีผลต่อค่ารีเทนชันไทม์ขององค์ประกอบของสารตัวอย่างที่ผ่านในคอลัมน์ ถ้าอัตราการไหลเร็วจะทำให้องค์ประกอบของสารออกจากคอลัมน์ได้เร็ว และลักษณะพีกจะกว้าง

2. มีผลต่อขนาดของสัญญาณของเครื่องดีเทคเตอร์ คือถ้าไหลช้าจะทำให้ความสูงของพีกเพิ่มขึ้น ดังนั้นการควบคุมการไหลของก๊าซตัวพา จึงเป็นสิ่งสำคัญมากในการทำก๊าซโครมาโตกราฟี การควบคุมการไหลของก๊าซทำได้โดยการควบคุมความดัน นอกจากจะมีเครื่องควบคุมความดันของก๊าซแล้วต้องมีเส้นลวดที่มีรูเล็กๆ เป็นคาปิลลารีเข้าช่วยด้วย ซึ่งจะทำให้ตั้งระยะการไหลของก๊าวได้กว้างขึ้นจาก 0-200 ลบ.ซม. ต่อนาที หรือมีความดันเป็น 0-60 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

วิธีวัดการไหลของก๊าซ

ก๊าซที่ผ่านลงในคอลัมน์หรือออกจากคอลัมน์สามารถควบคุมการไหลได้ และจากความสำคัญของการไหลของก๊าซตัวพาดังที่กล่าวมา ตลอดจนค่าอัตราการไหลของก๊าซตัวพา

- วิธีสังเกตการเคลื่อนที่ของฟองสบู่ (soap bubble) วิธีนี้ใช้น้ำสบู่ใส่ลงในบิวเรตให้อยู่ที่ก้นของบิวเรต แล้วปล่อยก๊าซตัวพาออกจากเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟีให้เข้าไปในบิวเรตทางข้างล่าง จะทำให้เกิดฟองสบู่ สังเกตการเคลื่อนที่ของฟองสบู่ และจับตาดูในระยะ 1 นาที ปริมาตรของฟองสบู่ที่กระจายขึ้นไปในบิวเรต คือปริมาตรของก๊าซเป็นลูกบาศก์เซนติเมตรใน 1 นาที เครื่องวัดอัตราการไหลของก๊าซ (Flow meter) แบบนี้มีลักษณะดังแสดงในรูปที่ 6.3



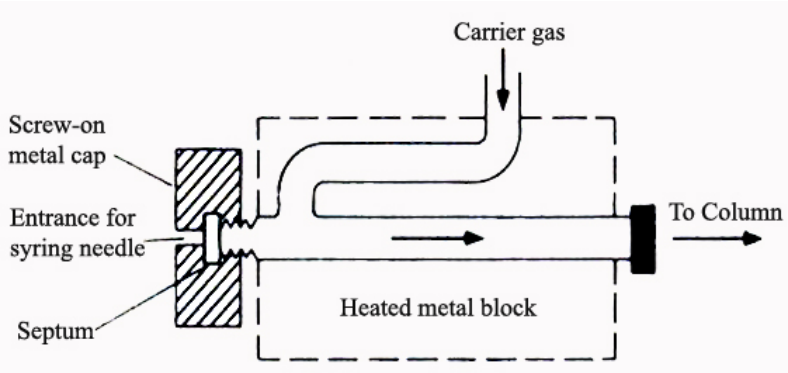
รูปที่ 6.3 เครื่องวัดอัตราการไหลของก๊าซ (Flow meter) โดยวิธีสังเกตการณ์เคลื่อนที่ของฟองสบู่

ก๊าซและสารตัวอย่างที่ไหลออกจากคอลัมน์จะไหลเข้าเครื่องวัดทางด้านข้างที่อยู่ตอนล่างของกั้นบิวเรต ที่ตอนล่างของบิวเรตจะถูกปิดด้วยลูกยางและบรรจุน้ำสบู่ไว้เหนือหลอดด้านข้างที่ก๊าซไหลเข้ามา ก๊าซที่ไหลมาจากคอลัมน์จะทำให้น้ำสบู่เป็นฟอง แล้วเคลื่อนที่ขึ้นไปตามบิวเรต ปริมาตรที่ฟองสบู่ใช้เคลื่อนที่ไปในบิวเรตต่อนาที คืออัตราเร็วของก๊าซนั่นเอง เราสามารถแคลิเบรทสเกลที่บิวเรต (Calibrate) ให้สามารถอ่านเป็นอัตราการไหลของก๊าซในหน่วย ลบ.ซม./นาที ได้

นอกจากนี้ลักษณะของเครื่องวัดอาจทำเป็นหลอดแก้วที่มีลูกบอลเบาๆ บรรจุอยู่ เมื่อผ่านก๊าซทางด้านล่างของหลอดแก้ว ความดันของก๊าซจะดันให้ลูกบอลลอยสูงขึ้น ความสูงของลูกบอลจะสัมพันธ์กับอัตราการไหลของก๊าซ สามารถแคลิเบรทสเกลให้อ่านค่าเป็นอัตราการไหลได้เช่นกัน เครื่องวัดอัตราการไหลของก๊าซในเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟี สามารถไว้ได้ 2 ตำแหน่ง คือไว้ในตำแหน่งที่ก๊าซตัวพาออกจากคอลัมน์ และไว้ในตำแหน่งก่อนที่ก๊าซตัวพาจะเข้าคอลัมน์ ซึ่งอยู่ระหว่างถังก๊าซกับส่วนที่ฉีดสารตัวอย่าง เพื่อควบคุมอัตราการไหลของก๊าซตัวพา

ระบบฉีดสารตัวอย่าง (SAMPLE INJECTION SYSTEM)

การฉีดสารตัวอย่างลงสู่คอลัมน์ในการทำก๊าซโครมาโตกราฟีต้องใส่ให้มีปริมาณน้อยที่สุดและรวดเร็วที่สุด สารตัวอย่างจะมีคุณลักษณะเป็นก๊าซหรือของเหลวก็ได้ ถ้าเป็นของเหลวจะต้องถูกเปลี่ยนเป็นก๊าซก่อนที่จะเข้าคอลัมน์ด้วยความร้อนตรงส่วนที่ฉีดสารตัวอย่าง ปริมาณของสารตัวอย่างที่ใช้ ถ้าเป็นของเหลวประมาณ 0.005 ถึง 0.05 ลบ.ซม. ถ้าเป็นก๊าซประมาณ 1 ถึง 10 ลบ.ซม. เทคนิคในการนำสารตัวอย่างเข้าไปในคอลัมน์ขึ้นอยู่กับคุณลักษณะของสารตัวอยาง ถ้าสารตัวอย่างเป็นก๊าซสามารถนำใส่เข้าในคอลัมน์ได้หลายวิธี สำหรับงานที่เป็นกิจวัตรควรใช้ระบบที่มีวาล์วปิดเปิดมากกว่า (gas sampling valve) ซึ่งทำให้ก๊าซผ่านเข้าเครื่องโดยตั้งปริมาตรได้อย่างอัตโนมัติ สำหรับวิธีการใช้สารตัวอย่างบรรจุในเข็มฉีดยา แล้วฉีดเข้าไปในคอลัมน์ก็สามารถทำได้แต่ได้ผลไม่ดีเท่ากับการใช้ระบบที่มีวาล์ว ถ้าสารตัวอย่างเป็นของเหลวสามารถนำเข้าสู่คอลัมน์ได้โดยใช้เข็มฉีดยา (Syringe) เข็มฉีดยาที่ใช้ต้องเป็นชนิดไมโครที่สามารถวัดขนาดได้ละเอียดถึง 0.005 ลบ.ซม. ตามปกติสารตัวอย่างที่ใช้ก๊าซโครมาโตกราฟีจะเป็นของเหลวที่อุณหภูมิห้อง เมื่อฉีดสารตัวอย่างก่อนเข้าสู่คอลัมน์จะถูกเปลี่ยนให้เป็นไออย่างรวดเร็ว ณ บริเวณที่เรียกว่า Sample chamber ซึ่ง ณ บริเวณนี้ต้องมีอุณหภูมิสูงกว่าจุดเดือดของสารตัวอย่าง แต่ต้องไม่สูงจนทำให้สารตัวอย่างเกิดการสลายตัวได้ หลังจากนั้นก๊าซตัวพาจะพาสารตัวอย่างเข้าสู่คอลัมน์ ส่วนของ sample chamber จะมีรูปร่างได้หลายแบบแล้วแต่บริษัทผู้ผลิตออกแบบ แต่ไม่ว่าจะมีรูปร่างอย่างไรหน้าที่การทำงานจะเหมือนกัน ถ้าวาดภาพของส่วนประกอบของ Sample Chamber จะมีลักษณะดังแสดงในรูปที่ 6.4



รูปที่ 6.4 ภาพแสดงส่วนประกอบของส่วนที่ฉีดสารตัวอย่าง (Sample Chamber)

ถ้าสารตัวอย่างเป็นของแข็งจะทำการวิเคราะห์โดยวิธีก๊าซโครมาโตกราฟีโดยตรงไม่ได้ ต้องใช้เทคนิคการนำสารตัวอย่างมาทำปฏิกิริยาทางเคมีให้ได้สารประกอบที่กลายเป็นไอได้ จากนั้นจึงนำไปฉีดเข้าคอลัมน์ เช่น กรดไขมันสามารถเปลี่ยนเป็นเมทิลเอสเทอร์ (Methyl esters) ที่กลายเป็นไอได้โดยทำปฏิกิริยากับโบรอนไตรคลอไรด์ หรือโบรอนโตรฟลูออไรด์ในสารละลายเมทานอล ในบางกรณีใช้วิธีการเติมส่วนของเครื่องมือไพโรไลซีส (Pyrolysis equipment) เข้ากับเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟี สารตัวอย่างที่เป็นของแข็งจะถูกใส่ในเครื่องไพโรไลซีส เมื่อให้ความร้อนสูงพอจะสามารถกลายเป็นไอได้ ไอของสารตัวอย่างจะถูกพาเข้าไปในเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟีด้วยก๊าซตัวพา เครื่องไพโรไลซีสก๊าซโครมาโตกราฟีใช้สำหรับการวิเคราะห์สารจำพวกโพลิเมอร์ และสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงๆ การใช้วิธีการนี้ต้องระมัดระวังวิธีการทดลองอย่างดี ต้องมีการตรวจสอบสารมาตรฐานเพื่อให้แน่ใจว่าเครื่องมี Reproducibility ที่ดี

คอลัมน์ (COLUMN)

คอลัมน์ที่ใช้ในก๊าซโครมาโตกราฟีมี 2 ชนิด

1. Packed column คอลัมน์ชนิดนี้มีทั้งแบบที่ทำด้วยแก้วและทำด้วยโลหะ มีลักษณะเป็นหลอดที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางภายในประมาณ 1 ถึง 8 มิลลิเมตร มีความยาวได้ตั้งแต่ 2 ถึง 20 เมตร ถ้ามีความยาวมากๆ หลอดคอลัมน์จะถูกขดเป็นวงกลม (coil) เพื่อให้บรรจุลงในเตา (oven) ได้ คอลัมน์ชนิดนี้สามารถใช้ในการวิเคราะห์ได้ทั้ง 2 แบบ คือ

2. Capillary column คอลัมน์ชนิดนี้ใช้ได้เฉพาะการวิเคราะห์แบบ GLC เท่านั้น ความยาวของคอลัมน์มีค่ามากตั้งแต่ 10 ถึง 100 เมตร หรือมากกว่า ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายในประมาณ 0.2 ถึง 0.5 มิลลิเมตร คอลัมน์คาปิลลารีส่วนใหญ่หรือเกือบทั้งหมดทำด้วยหลอดแก้ว เหตุผลที่ไม่ใช้โลหะเพราะโลหะสามารถเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเคมีได้หลายชนิด และเมื่อภายในคอลัมน์ต้องใช้อุณหภูมิสูงอาจทำให้โลหะเกิดปฏิกิริยาบางอย่างในคอลัมน์ได้ ตามปกติอุณหภูมิของคอลัมน์ต้องสูงกว่าจุดเดือดของสารตัวอย่าง 10 ถึง 25 $^{\circ}$C การใช้คาปิลลาริคอลัมน์ในการทำ GLC ไม่ต้องใช้ของแข็งซับพอท (Solid Support) วิธีเตรียมคอลัมน์ทำได้โดยใช้ของเหลวซึ่งเป็นเฟสอยู่กับที่ใส่ในคาปิลลารีคอลัมน์ของเหลวนั้นจะฉาบที่ผิวของคอลัมน์เป็นฟิล์มบางๆ ที่มีความหนาน้อยกว่า 1 μm ความหนาของแผ่นฟิล์มของเหลวนั้นจะมีผลต่อการแยกด้วย คอลัมน์ชนิดนี้มีประสิทธิภาพในการแยกสูงกว่า packed column ถึง 100 เท่า และสามารถใช้กับขนาดของสารตัวอย่างที่น้อยกว่า 0.01 $\mu\ell$ ความจุของคอลัมน์คาปิลลารีสามารถเพิ่มขึ้นได้โดยฉาบผิวของคอลัมน์แก้วด้วยวัสดุที่มีรูพรุน เช่น แกรไฟต์, โลหะออกไซด์ และซิลิเกต เสียก่อนให้มีลักษณะเป็น thin layer ซึ่งจะทำให้พื้นที่ผิวที่จะให้ของเหลวมาฉาบอยู่มีมากขึ้น เป็นการเพิ่มความจุของคอลัมน์การใช้คอลัมน์คาปิลลารีพบว่าผลของการลดลงของความดัน (pressure drop) เกิดขึ้นน้อยมากจนตัดทิ้งได้ คือ สามารถคิดค่า j = 1 ค่าอัตราส่วน V_S / V_m ของคอลัมน์ชนิดนี้มีค่าในช่วง 100 ถึง 300 ซึ่งอยู่ในช่วงที่มีประสิทธิภาพสูงสุด เพราะมีเพลตตามทฤษฎีมากมายหลายพันเพลต

จากการพิจารณาชนิดของคอลัมน์ที่ใช้ในการทดลอง และวัสดุที่บรรจุภายในคอลัมน์ สรุปได้ว่าวัสดุที่บรรจุอยู่ในคอลัมน์มี 3 ชนิด คือ ของแข็งที่ทำหน้าที่เป็นเฟสอยู่กับที่ ของแข็งซัพพอท และของเหลวที่ทำหน้าที่เป็นเฟสอยู่กับที่ โดยมีรายละเอียดดังนี้

– ***ของแข็งที่ทำหน้าที่เป็นเฟสอยู่กับที่*** (Stationary solid phase)

ของแข็งชนิดนี้ใช้เฉพาะ packed column เท่านั้น ซึ่งนำไปใช้กับการวิเคราะห์ที่เรียกว่า GSC ค่าสัมประสิทธิ์ของการกระจายของก๊าซสารตัวอย่างระหว่าเฟสของก๊าซที่เคลื่อนที่กับเฟสของแข็งที่อยู่กับที่มีค่าสูงมาก เมื่อเทียบกับการใช้เฟสอยู่กับที่เป็นของเหลว

C_4H_{10}

C_2H_2 C_2H_4

– ***ของแข็งซัพพอท*** (Solid Supports)

วัสดุชนิดนี้ใช้กับการวิเคราะห์แบบ GLC เท่านั้น มีหน้าที่ช่วยทำให้ของเหลวซึ่งเป็นเฟสอยู่กับที่ถูกยึดอยู่ในคอลัมน์ได้ และทำให้เฟสอยู่กับที่หรือของเหลวนั้นมีโครงสร้างทางกายภาพที่เหมาะสม ของแข็งซัพพอทต้องเป็นสารที่เสถียร ณ อุณหภูมิของคอลัมน์ที่ใช้ในการทดลอง จะต้องมีขนาดที่เหมาะสมและสม่ำเสมอ ของแข็งซัพพอทที่ใช้ส่วนใหญ่ได้มาจาก diatomaceous earths (SiO_2) ซึ่งประกอบด้วยกรุ๊ฟของ hydrated silica มีวิธีการอยู่หลายวิธีที่จะทำให้ diatomaceous earths กลายเป็นของแข็งซัพพอทที่ดี ถ้านำ diatomaceous earth มาเผาที่อุณหภูมิประมาณ 900 $^{\circ}$C จะได้สารของแข็งสีชมพู ซึ่งมีชื่อเรียกกันว่า โครโมซอบ พี (Chromosorb P) โครโมซอบ พี สามารถมีกลุ่มฟังก์ชันนอลเป็นโพลาร์ได้ ทำให้สามารถใช้เป็นของแข็งดูดซับใน GSC ได้ด้วย ถ้าไม่นำมาฉาบด้วยของเหลว แต่เนื่องจากหลังจากที่โครโมซอบดูดซับสารตัวอย่างแล้ว ความสามารถในการอีลูทไม่ดีพอ จึงต้องใช้ของเหลวฉาบบนโครโมซอบอีกทีหนึ่ง จึงจะทำให้การอีลูทเกิดได้ดี ทำให้โครโมซอบมีหน้าที่เพียงเป็นของแข็งซัพพอท ความสามารถในการดูดซับจึงขึ้นอยู่กับของเหลวที่มาฉาบ สำหรับชื่อโครโมซอบชนิดต่างๆ นั้นเป็นชื่อทางการค้า (trade name) ของบริษัทผู้ผลิต

ถ้า diatomaceous earth ถูกนำมาเผาโดยมีโซเดียมคาร์บอเนตผสมอยู่ จะได้ของแข็งสีขาวที่เรียกว่า โครโมซอบดับบลิว (Chromosorb W) ถ้านำ diatomaceous earth มาทำด้วยวิธีการอื่นๆ จะได้ของแข็งซัพพอทชนิดอื่นๆ อีกเช่น โครโมซอบ เอ (Chromosorb A) และโครโมซอบ จี (Chromosorb G) โครโมซอบชนิดต่างๆ ที่นำมาใช้ยังมีอีกหลายเกรดขึ้นอยู่กับขนาดเมชของมัน ปกติมีค่าอยู่ในช่วง 30/50 ถึง 80/100 เมช ขนาดที่นิยมใช้กันมากที่สุดคือ 30/60 และ 60/80 เมช

ของแข็งซัพพอทที่ดีสำหรับการวิเคราะห์ GLC ต้องมีคุณสมบัติดังนี้คือ

1. มีความพรุนสม่ำเสมอ ขนาดของรูพรุนไม่เกิน 10 ไมครอน
2. มีพื้นที่ผิวมากประมาณ 1-20 ตารางเมตร ต่อกรัม
3. มีความแข็งไม่แตกง่าย
4. ไม่ทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่าง
5. มีขนาดและรูปร่างเป็นแบบเดียวกันตลอด

– ***ของเหลวที่ทำหน้าที่เป็นเฟสอยู่กับที่*** (Stationary liquid phase)

ของเหลวนี้มีชื่อเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า ซับสเตรต (Substrate) เป็นของเหลวที่มีจุดเดือดสูง ใช้ฉาบบนของแข็งซัพพอท ซึ่งใช้บรรจุใน packed column หรือฉาบที่ผิวของคอลัมน์คาปิลลารีในการทำ GLC ของเหลวที่สามารถใช้เป็นซับเตรตได้มีหลายร้อยชนิด สำหรับตัวที่นิยมใช้และใช้กันมากได้แสดงไว้ในตารางที่ 6.3 ของเหลวที่สามารถนำมาใช้เป็นเฟสอยู่กับที่ได้ในการทำ GLC ต้องมีคุณสมบัติดังต่อไปนี้คือ

1. เป็นตัวทำละลายที่มีคุณสมบัติที่เหมาะสมสำหรับองค์ประกอบที่ต้องการวิเคราะห์ เช่น มีโพลารีตีเหมือนกับสารตัวอย่าง
2. ต้องทำให้เกิดการแบ่งส่วนที่แตกต่างกันของแต่ละองค์ประกอบในสารตัวอย่างระหว่างเฟสทั้งสอง
3. เสถียรที่อุณหภูมิสูงๆ
4. มีความดันไอที่อุณหภูมิภายในคอลัมน์ต่ำ
5. ไม่ทำปฏิกิริยาทางเคมีกับสารตัวอย่าง

ตารางที่ 6.3 เฟสของเหลวหรือซับสเตรตที่นิยมใช้บางตัว

Liquid Phase	Typical Samples	Polarity*	Max. Temp., °C
Squalane	Hydrocarbons	N	125
Apiezon L	High boiling hydrocarbons, esters, ethers	N	300
Methyl silicone	Steroids, pesticides, alkaloids, esters	N	300
Dinonyl phthalate	All types	I	175
Silicone oil	All types	I	275
Diethyleneglycol succinate	Esters	P	200
Carbowax 20M	Alcohols, aromatics amines, ketones	P	250
Polyamid Resin	Amino compounds	P	300
β, β-Oxydipropionitrile	Olefins, alcohols, aldehydes	P	100
$AgNO_3$ in propylene glycol	Olefins, cyclic hydrocarbons	P	50
Inorganic eutectics	Volatile inorganics	P	

* N, nonpolar; I, intermediate polarity; P , polar.

การเตรียมคอลัมน์ (Column preparation)

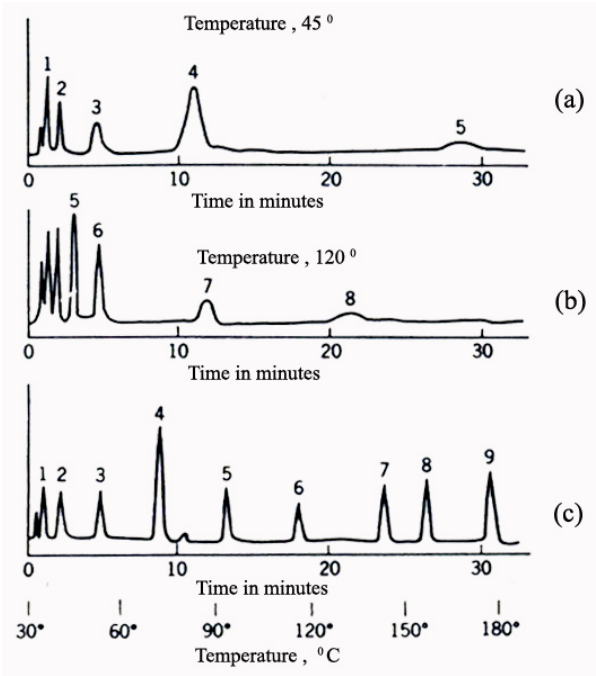
การเตรียมคอลัมน์สำหรับ GSC ให้ใช้ของแข็งซึ่งเป็นตัวดูดซับบรรจุในคอลัมน์ได้เลย แต่ถ้าเป็นการเตรียมคอลัมน์สำหรับ GLC ต้องนำของแข็งซัพพอทมาฉาบด้วยเฟสของเหลวก่อน โดยมีวิธีการทำดังนี้ คือ ขั้นแรกให้เลือกขนาดของของแข็งให้มีขนาดเหมาะสมและเท่ากับหมด จากนั้นนำของเหลวละลายในตัวทำละลายที่ระเหยง่าย แล้วจึงนำของแข็ง

เมื่อเตรียมของแข็งพร้อมที่บรรจุลงในคอลัมน์ได้แล้ว (ตัวดูดซับหรือของแข็งซัพพอทที่มีของเหลวอยู่) ให้บรรจุของแข็งนั้นลงในคอลัมน์ที่มีลักษณะเป็นเส้นตรงซึ่งทำด้วยแก้วหรือเหล็กสเตนเลส หรือทองแดง หรืออะลูมิเนียม วิธีการบรรจุให้ค่อยๆ ใส่ของแข็งอย่างช้าๆ ลงในคอลัมน์ ต้องใช้เครื่องเขย่าเบาๆ ช่วยเพื่อให้ของแข็งถูกบรรจุได้แน่นและเป็นระเบียบปราศจากฟองอากาศ เมื่อบรรจุเสร็จเรียบร้อยแล้วจึงค่อยขดหลอดคอลัมน์ให้เป็นรูปวงกลมหรือรูปตัว U ตามความเหมาะสม เพื่อให้สามารถใส่ลงในเตาได้ คอลัมน์ที่ได้รับการเตรียมอย่างดีสามารถใช้ในการวิเคราะห์ได้หลายร้อยครั้ง ในทางการค้ามีคอลัมน์ที่บรรจุสำเร็จแล้วไว้ขายหลายชนิด สามารถหาซื้อมาใช้ให้ตรงกับงานได้ ไม่ว่าจะเป็นการเตรียมคอลัมน์ขึ้นใช้เองหรือซื้อมาใช้ การพิจารณาเลือกใช้คอลัมน์ต้องคำนึงถึงสิ่งต่อไปนี้ คือ

1. ความยาวและเส้นผ่าศูนย์กลางของคอลัมน์ เพราะการแยกสารจะเกิดได้ดีหรือไม่ขึ้นอยู่กับความยาวและเส้นผ่าศูนย์กลางของคอลัมน์

2. เฟสอยู่กับที่ที่เป็นของแข็งหรือของเหลว หลักการของการเลือกใช้ควรให้สารเคมีที่เลือกมีโครงสร้างทางเคมีคล้ายกับสารตัวอย่าง เช่น ถ้าสารตัวอย่างเป็นโพลาร์ (polar) ก็ควรเลือกใช้เฟสอยู่กับที่ของแข็งหรือของเหลวที่เป็นโพลาร์เหมือนกัน ดังนั้นในการเลือกใช้ต้องมีการศึกษาถึงคุณสมบัติของสารตัวอย่างและเฟสอยู่กับที่ให้ดีก่อนด้วย

3. อุณหภูมิที่ใช้สำหรับคอลัมน์ คอลัมน์ที่ใช้จะถูกบรรจุอยู่ในเตา (oven) ที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้ เพื่อทำให้คอลัมน์มีความร้อนสูงพอที่จะทำให้สารตัวอย่างกลายเป็นไออยู่ตลอดเวลา อุณหภูมิที่ใช้ต้องไม่สูงเกินไปจนทำให้เฟสของเหลวกลายเป็นไอ ปกติอุณหภูมิที่ใช้จะต่ำกว่าส่วนของระบบฉีดสารตัวอย่าง (Sample injection system) ประมาณ $10^{\circ}C$ อุณหภูมิของคอลัมน์จะมีผลต่อค่ารีเทนชันและการแยกอย่างมาก ที่อุณหภูมิสูงจะมีผลทำให้ไอของสารตัวอย่างส่วนใหญ่อยู่ในเฟสของก๊าซ เพราะการเพิ่มอุณหภูมิจะทำให้การละลายของสารตัวอย่างในเฟสอยู่กับที่ลดลง จึงทำให้สารตัวอย่างถูกอีลูทได้อย่างรวดเร็ว ถ้ามีสารผสมอยู่หลายตัวก็จะทำให้สารเหล่านั้นถูกอีลูทออกจากคอลัมน์ได้ในเวลาไล่เลี่ยกัน การแยกจะเกิดขึ้นไม่ดี (poor resolution) แต่ถ้าใช้อุณหภูมิต่ำสารตัวอย่างจะใช้เวลาส่วนใหญ่อยู่ในเฟสอยู่กับที่



รูปที่ 6.5 a และ b คือโครมาโตแกรมที่เกิดจากการควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ตลอดการทดลอง c คือโครมาโตแกรมที่เกิดจากการโปรแกรมอุณหภูมิด้วยอัตรา 5 °C ต่อ 1 นาที โครมาโตแกรมที่แสดงในรูป คือ โครมาโตแกรมของสารผสมต่อไปนี้

เลขที่พีก	สารประกอบ	จุดเดือด °C
1	n-propane	–42
2	n-butane	–0.5
3	n-pentane	36
4	n-hexane	69
5	n-heptane	98
5	n-octane	126
7	bromoform	150
8	m-Chlorotoluene	162
9	n-bromotoluene	184

วิธีการควบคุมอุณหภูมิของคอลัมน์ที่ใช้ได้ผลดีอีกแบบหนึ่ง คือ ใช้วิธีการควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ช่วงหนึ่งสลับกับการโปรแกรมเพิ่มอุณหภูมิ ซึ่งมีวิธีการทำดังนี้คือ เมื่อเริ่มต้นฉีดสารตัวอย่างเข้าไปในคอลัมน์จะควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ในช่วงระยะเวลาหนึ่งตามความเหมาะสม ต่อจากนั้นให้โปรแกรมอุณหภูมิให้เพิ่มขึ้น 5 °C ทุกๆ 1 นาที (อาจใช้ 4 °C ทุกๆ 1 นาที หรืออื่นๆ ก็ได้แล้วแต่ความเหมาะสม) จนอุณหภูมิถึงค่าตามต้องการ จากนั้นทำให้อุณหภูมิคงที่อีกช่วงระยะเวลาหนึ่งแล้วโปรแกรมอุณหภูมิให้เพิ่มขึ้นอีก ทำแบบนี้สลับกันไปเรื่อยๆ จนสามารถอีลูทสารได้หมดตามต้องการ วิธีการนี้เหมาะสำหรับใช้แยกสารผสมหลายๆ แบบ ทั้งที่มีรีเทนชันไทม์ใกล้ๆ กัน และที่ห่างๆ กันผสมกัน เพราะถ้าใช้วิธีการควบคุมอุณหภูมิให้คงที่เพียงอย่างเดียวจะใช้เวลานาน และพีกของสารตัวสุดท้ายที่ได้จะกว้าง หรือถ้าใช้วิธีโปรแกรมอุณหภูมิเพียงอย่างเดียวอาจทำให้สารที่มีรีเทนชันไทม์ใกล้กันมากๆ ออกมาเป็นพีกเดียวกันได้

ดีเทคเตอร์ (DETECTOR)

ดีเทคเตอร์เปรียบเสมือนสมองของเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟี ทำหน้าที่ตรวจสอบสารที่ออกจากคอลัมน์ว่ามีปริมาณมากน้อยเท่าไร ดังนั้น ดีเทคเตอร์ที่ใช้ต้องไวต่อสารมาก และมี reproducibility ด้วย ถ้าพิจารณาการทำงานของเครื่องดีเทคเตอร์สามารถแบ่งได้เป็น 2 แบบ คือ

1. เมื่อสารตัวอย่างออกจากคอลัมน์แล้วเข้าเครื่องดีเทคเตอร์ที่สามารถวัดปริมาณได้โดยตรง

2. เมื่อสารตัวอย่างออกจากคอลัมน์เข้าเครื่องดีเทคเตอร์ ดีเทคเตอร์จะทำหน้าที่ตรวจวัดขนาดแล้วเปลี่ยนไปเป็นสัญญาณไฟฟ้าส่งไปยังเครื่องบันทึก

ชนิดของดีเทคเตอร์แบบที่ 1 ได้แก่

ก. Automatic Recording Buret เครื่องดีเทคเตอร์นี้คิดโดย James และ Martin (ค.ศ. 1952) ใช้เฉพาะไอสารที่เป็นกรดหรือเบส ไอของสารที่ระเหยออกมาจะดูดซึมเข้าไปในติเตรชันเซลล์และถูกติเตรตโดยอัตโนมัติ

ข. ไนโตรมิเตอร์ (Nitrometer) นำมาใช้โดย Janak (ค.ศ. 1953) เครื่องนี้ใช้ได้เฉพาะการใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวพาเท่านั้น เมื่อก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์พาสาร

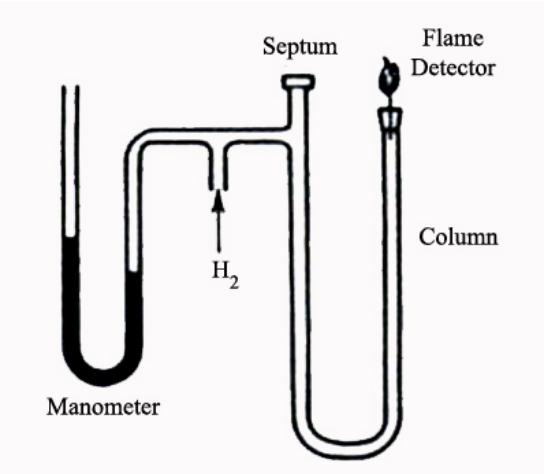
ค. Infrared Analyzer วิธีนี้แนะนำโดย Martin และ Smart (ค.ศ. 1955) ไอของสารตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์สามารถดูดกลืนแสงอินฟราเรดได้แตกต่างกันตามปริมาณและชนิดของสาร ดังนั้นไอของสารที่ออกจากคอลัมน์จึงสามารถนำไปวิเคราะห์ต่อโดยวิธี Infrared spectophotometry

ง. Mass spectrometer องค์ประกอบที่ออกจากคอลัมน์ในการทำก๊าซโครมาโตกราฟีสามารถนำไปวิเคราะห์ต่อโดยใช้เครื่องมือ mass spectrometer ซึ่งทำให้สามารถพิสูจน์หรือทำนายชนิดขององค์ประกอบต่างๆ ได้ดี เป็นเทคนิคที่นิยมใช้กันมาก เพราะได้ผลดี

นอกจากนี้อาจใช้เครื่องมือของทางสเปคโตรสโคปิกชนิดอื่นๆ เป็นดีเทคเตอร์ได้ โดยนำเครื่องมือนั้นมาต่อเข้ากับคอลัมน์ของก๊าซโครมาโตกราฟี เช่น atomic absorption, emission in an inductively coupled plasma (ICP), neuclear magnetic resonance (NMR) และ x-ray absorption หรืออาจใช้เครื่องดีเทคเตอร์ที่วัดคุณสมบัติทางไฟฟ้าของสารที่ออกมาจากคอลัมน์ เช่น Conductometric detector, Coulometric detector หรือใช้เครื่องดีเทคเตอร์ที่วัดกัมมันตภาพรังสีที่เรียกว่า Radiochemical detector ก็ได้

ชนิดของเครื่องดีเทคเตอร์แบบที่ 2 ได้แก่

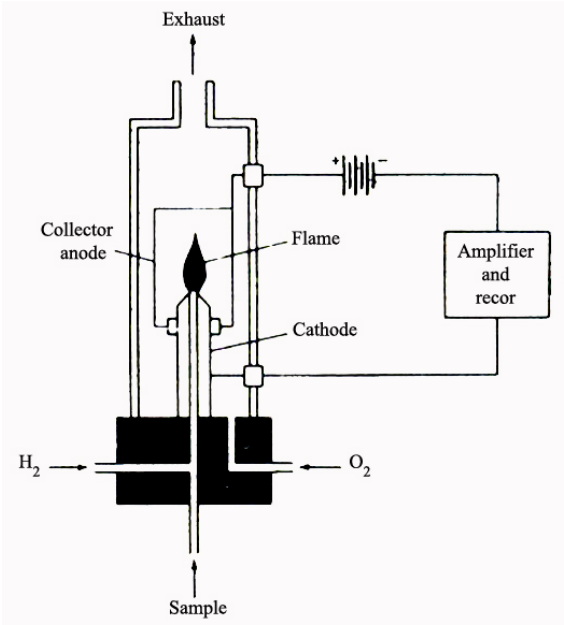
ก. Hydrogen Flame Detector (HFD) ค้นพบโดย Scott (ค.ศ. 1955) ต้องใช้ก๊าซไฮโดรเจนหรือส่วนผสมของก๊าซไฮโดรเจนกับก๊าซอื่นเป็นตัวพา ดีเทคเตอร์ชนิดนี้เป็นชนิดที่ง่ายและธรรมดาที่สุด มีรูปร่างดังแสดงในรูปที่ 6.6



รูปที่ 6.6 Hydrogen Flame Detector (HFD)

ก๊าซไฮโดรเจนที่เป็นตัวพาเมื่อผ่านออกจากคอลัมน์จะเป็นตัวที่ทำให้เกิดเปลวไฟขึ้น โดยที่ไฮโดรเจนจะถูกเผาผลาญแล้วให้เปลวไฟที่ไม่มีสี เมื่อใส่สารตัวอย่างซึ่งเป็นสารอินทรีย์เข้าไปในคอลัมน์จะถูกก๊าซไฮโดรเจนซึ่งใช้เป็นตัวพาเข้าไปยังเปลวไฟ จะมีผลทำให้เปลวไฟเกิดสีเหลือง เนื่องจากเกิดการเผาผลาญสารอินทรีย์ เมื่อเกิดเปลวไฟสีเหลืองขึ้นเราก็ทราบได้ทันทีว่าสารอินทรีย์ถูกอีลูทออกจากคอลัมน์แล้ว อาจใช้นาฬิกาจับเวลาเมื่อเกิดเปลวไฟสีเหลืองขึ้น จะทำให้ทราบว่าค่ารีเทนชันไทม์ได้ สำหรับปริมาณของสารอินทรีย์ที่ถูกอีลูทออกมาจะมีผลทำให้เปลวไฟสีเหลืองที่เกิดขึ้นมีขนาดสูงหรือต่ำ ถ้าปริมาณสารมีมากเปลวไฟที่ได้จะสูง และถ้าปริมาณสารมีน้อยเปลวไฟจะต่ำ หรือให้แสงที่โชติช่วงต่างกัน ดังนั้น ถ้าสามารถวัดความร้อนแรงของเปลวที่เกิดขึ้นหรือวัดความเข้มของแสงที่เกิดขึ้นได้ ก็สามารถหาปริมาณของสารตัวอย่างอินทรีย์ได้ เพราะปริมาณของสารจะสัมพันธ์โดยตรงกับความร้อนแรงของเปลวไฟหรือความเข้มของเปลวไฟ ดังนั้นเราสามารถใช้ thermocouple วัดความร้อนแรงของเปลวไฟหรือใช้ photo cell วัดความเข้มของเปลวไฟ

ข. Flame ionization detector (FID) เนื่องจากสารประกอบอินทรีย์ทุกตัวสามารถเกิดการไอออไนซ์ (ionization) ได้ในเปลวไฟ ทำให้เกิดกระแสของไอออนที่สามารถสะสมอยู่ระหว่างขั้วที่มีประจุตรงข้าม 2 ขั้วได้ตามปริมาณของไอออน กระแสที่เกิดขึ้นนี้ยังมีปริมาณน้อยต้องใช้เครื่องอิเล็กทรอนิกส์ที่ซับซ้อนขึ้นเพื่อขยายให้มีปริมาณกระแสไฟฟ้ามากขึ้น ดังนั้นดีเทคเตอร์ชนิดนี้จึงมีราคาแพงพอสมควร ลักษณะของดีเทคเตอร์ชนิดนี้มีรูปร่างดังแสดงในรูป



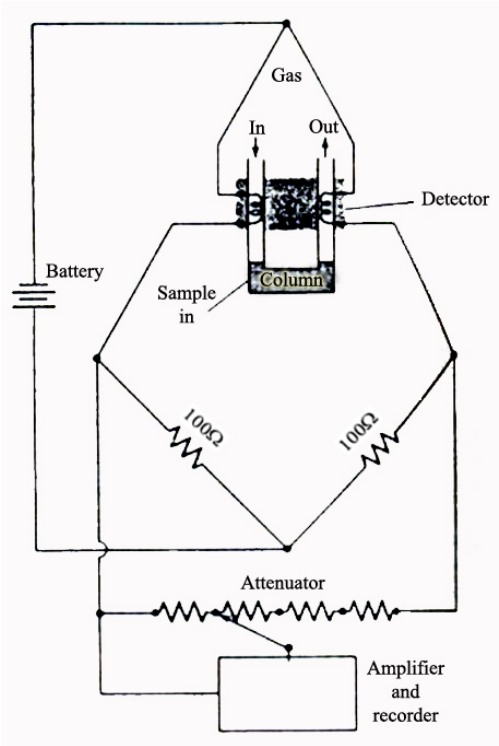
รูปที่ 6.7 Flame ionization detector (FID)

เครื่องดีเทคเตอร์ชนิด FID สามารถตรวจวัดสารตัวอย่างอินทรีย์ที่ระเหยกลายเป็นไอได้เกือบทุกชนิด ยกเว้นสารประกอบที่ถูกออกซิไดซ์มาแล้ว เช่น Carbonyl และ Carboxyl group สารประกอบอนินทรีย์ไม่สามารถตรวจสอบด้วยดีเทคเตอร์ชนิดนี้ได้ ตารางที่ 6.4 แสดงสารบางชนิดที่ไม่สามารถใช้เครื่องตรวจวัด FID

ตารางที่ 6.4 สารประกอบที่ไม่ไวต่อดีเทคเตอร์ชนิด FID

He	CS_2	NH_3
Ar	COS	CO
Kr	H_2S	CO_2
Ne	SO_2	H_2O
Xe	NO	$SiCl_4$
O_2	H_2O	$SiHCl_3$
N_2	HO_2	SiF_4

ค. Thermal conductivity detector (TCD) เทอร์มัลคอนดักติวิตีดีเทคเตอร์ประกอบด้วยใยเส้นลวด (filament) ที่ทนความร้อนอยู่ตรงกลางหลอดเล็กๆ หรือแท่งโลหะที่ก๊าซต้องผ่านเข้าไป ใยเส้นลวดจะถูกทำให้ร้อนด้วยกระแสไฟฟ้า เมื่อผ่านสารที่ถูกแยกพร้อมก๊าซตัวพาไปยังเส้นลวด มันจะเป็นตัวนำความร้อนออกจากใยเส้นลวด ทำให้ความร้อนของใยเส้นลวดเปลี่ยนแปลง เมื่อปรับความร้อนของใยเส้นลวดให้เท่าเดิม โดยปรับความต้านทานของวงจรไฟฟ้า จะทำให้เกิดสัญญาณส่งเข้าเครื่องบันทึกผล (Recorder) ซึ่งขนาดของสัญญาณจะสัมพันธ์กับปริมาณของสารตัวอย่างนั่นเอง ลักษณะของเทอร์มัลคอนดักติวิตีดีเทคเตอร์แสดงไว้ในรูปที่ 6.8



รูปที่ 6.8 ทอร์มัลคอนดักติวิตีดีเทคเตอร์

เนื่องจากดีเทคเตอร์ชนิดนี้ เป็นชนิดหนึ่งที่วัดค่าการนำความร้อนของก๊าซ ดังนั้นจึงเป็นสิ่งจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องรักษาให้ผนังของเครื่องดีเทคเตอร์มีอุณหภูมิคงที่เสมอ ซึ่งทำให้การวิเคราะห์ทางปริมาณได้ผลถูกต้อง ตารางที่ 6.5 เป็นตารางแสดงค่าการนำความร้อน (Thermal conductivity) ของไอของสารชนิดต่างๆ จากตารางจะเห็นว่าก๊าซไฮโดรเจน และฮีเลียมมีค่าการนำความร้อนสูงกว่าสารประกอบอินทรีย์ต่างๆ มาก ดังนั้นควรใช้ก๊าซไฮโดรเจนหรือฮีเลียม เป็นก๊าซตัวพาผ่านไปในเครื่องก่อน จนกระทั่งอุณหภูมิของดีเทคเตอร์คงที่ หลังจากอีลูทสารตัวอย่างต่างๆ ที่เป็นสารอินทรีย์ออกจากคอลัมน์เข้าดีเทคเตอร์จะปรากฏว่าการนำความร้อนของก๊าซออกจากใยเส้นลวดจะลดลง ทำให้ใยเส้นลวดมีอุณหภูมิสูงขึ้น วงจรไฟฟ้าจะไม่สมดุลเกิดการปรับใหม่เพื่อทำให้ความร้อนของใยเส้นลวดเท่าเดิม จึงทำให้เกิดเป็นสัญญาณไปยังเครื่องบันทึก แต่ถ้าใช้ไนโตรเจนเป็นก๊าซตัวพาจะทำให้ความไวลดลง เพราะว่าค่าการนำความร้อนของไนโตรเจนใกล้เคียงกับสารตัวอย่างมาก

ตารางที่ 6.5 ค่าการนำความร้อนของไอของสารบางตัวที่อุณหภูมิ 100 °C

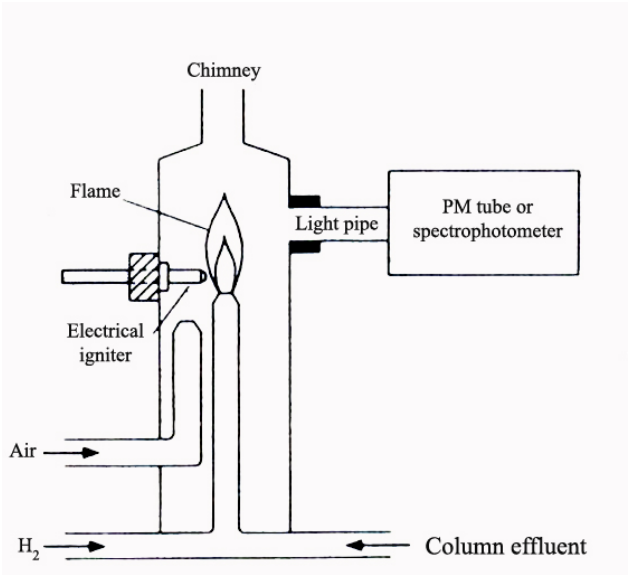
Substance	$k \times 10^5$ cal/°C/mole	RMR [a]
Hydrogen, H_2 (Mol. Wt. = 2)	53.4	—
Helium, He (At. Wt. = 4)	41.6	—
Methane, CH_4 (Mol. Wt. = 16)	10.9	36
Nitrogen, N_2 (Mol. Wt. = 28)	7.5	42
Ethane, C_2H_6 (Mol. Wt. = 30)	7.3	51
Propane, C_3H_8 (Mol. Wt. = 44)	6.3	65
Ethyl propyl ether, $C_2H_5OC_3H_7$ (Mol. Wt. = 88)	5.4	121
Carbon dioxide, CO_2 (Mol. Wt. = 44)	5.3	48
Ethanol, C_2H_5OH (Mol. Wt. = 46)	5.3	72
Argon, Ar (At. Wt. = 40)	5.2	42
n-Hexane, C_6H_{14} (Mol. Wt. = 86)	5.0	123
Benzene, C_6H_6 (Mol. Wt. = 78)	4.4	100
Ethyl acetate, $CH_3COOC_2H_5$ (Mol. Wt. = 88)	4.1	111
Carbon tetrachloride, CCl_4 (Mol. Wt. = 154)	2.2	108

[a]RMR – Relative molar response with helium as carrier gas, Benzene = 100.

[b]RWR – Relative weight response = RMR/Mol. Wt.

[From W.A. Dietz, J. Gas Chromatog., 5, 68 (1967).]

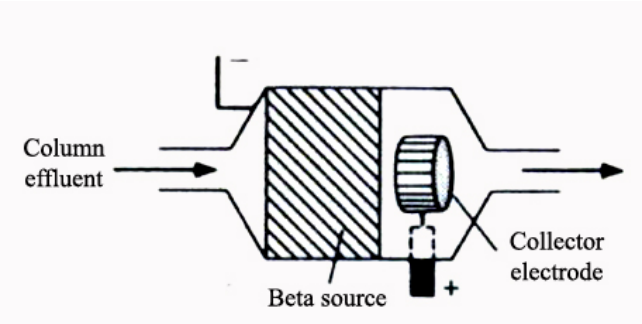
ง. Flame photometric detector (FPD) ดีเทคเตอร์ชนิดนี้ให้ก๊าซไฮโดรเจนทำให้เกิดเปลวไฟเช่นเดียวกับ FID แทนที่จะวัดปริมาณไอออนของสารตัวอย่างที่เกิดไอออไนซ์ FPD จะใช้หลอด photomultiplier วัดปริมาณแสงที่ถูกปล่อยออกมาในเปลวไฟเมื่อไอออนของสารตัวอย่างเข้าไปในเปลวไฟ ตามปกติ FPD จะใช้ในการวิเคราะห์สารประกอบที่มีซัลเฟอร์หรือฟอสฟอรัส หรือสารประกอบจำพวก organometallic ที่มีอะตอมของโลหะที่สามารถถูก excited ในเปลวไฟของไฮโดรเจนได้ หรือสารประกอบที่มีอะตอมของฮาโลเจน FPD มีข้อดีคือสามารถเลือกวัดแสงที่ปล่อยออกมาได้อย่างเฉพาะเจาะจงสำหรับ



รูปที่ 6.9 Flame photometric detector

จ. Electron Capture Detector (ECD) หลักการของดีเทคเตอร์ชนิดนี้ คือ ก๊าซตัวพาที่ออกจากคอลัมน์เข้าดีเทคเตอร์จะถูกทำให้เกิดการไอออไนซ์ด้วยรังสีเบต้า (β) ที่เกิดจากสารกัมมันตภาพรังสี เช่น ^{3}H หรือ ^{63}Ni หรือ ^{55}Fe จากการไอออไนซ์จะทำให้เกิดอิเล็กตรอนและอิเล็กตรอนที่เกิดขึ้นนี้จะวิ่งไปที่ขั้วสะสม (collector electrode) ทำให้เกิดความต่างศักย์ระหว่างขั้วทั้งสอง และยังมีอิเล็กตรอนเหลืออยู่อีกจำนวนหนึ่งเป็น electron cloud ทำให้เกิดกระแสไฟฟ้าขึ้น เมื่อมีสารตัวอย่างออกจากคอลัมน์เข้าไปในดีเทคเตอร์โมเลกุลของสารตัวอย่างจะดูดกลืนอิเล็กตรอนไว้ได้จำนวนหนึ่งตามปริมาณของสารตัวอย่าง ทำให้กระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นจากอิเล็กตรอนลดลง ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้จะทำให้เกิดเป็นสัญญาณส่งไปยังเครื่องบันทึก

ก๊าซตัวพาที่เหมาะสมสำหรับ ECD คือไนโตรเจน หรืออาร์กอน +10% มีเทน ความไวของเครื่องขึ้นอยู่กับอัตราการไหลของก๊าซตัวพาซึ่งทำให้เกิด electron cloud และอุณหภูมิของดีเทคเตอร์เนื่องจากก๊าซออกซิเจนและน้ำเป็นสารที่ดูดกลืนอิเล็กตรอนได้ ดังนั้น ถ้าก๊าซตัวพามีน้ำหรือออกซิเจนปนอยู่จะทำให้ความไวของเครื่องดีเทคเตอร์ลดลง ลักษณะของดีเทคเตอร์ ECD แสดงไว้ในรูปที่ 6.10



รูปที่ 6.10 Electron Capture Detector (ECD)

ECD เป็นดีเทคเตอร์ที่ไวต่อสารประกอบอินทรีย์ที่มีอะตอมของธาตุที่มี electronegativity สูง เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส ออกซิเจน และฮาโลเจน ECD เป็นดีเทคเตอร์ที่ใช้ได้ดีสำหรับงานวิเคราะห์สารจำพวกยาฆ่าแมลง สารประกอบอินทรีย์ที่มีตะกั่วและพวก polychlorinatedbiphenyl (PCB_S) ECD ไม่สามารถใช้วิเคราะห์สารไฮโดรคาร์บอนที่อิ่มตัวได้ สารประกอบที่ไม่สามารถใช้กับดีเทคเตอร์ FID และ TCD สามารถนำมาใช้กับ ECD ได้ผล

ฉ. ดีเทคเตอร์ชนิดอื่นๆ ยังมีดีเทคเตอร์ชนิดอื่นๆ อีกนอกเหนือจากที่กล่าวมา ซึ่งได้ผลิตขึ้นมาสำหรับใช้กับงานเฉพาะอย่างหรือเป็นดีเทคเตอร์ที่ดัดแปลงแก้ไขมาจากดีเทคเตอร์ที่กล่าวมาแล้วเพื่อให้มีความไวสูงขึ้นสำหรับงานเฉพาะอย่างที่ต้องการ เช่น ไนโตรเจนฟอสฟอรัส ดีเทคเตอร์ (Nitrogen-phosphorus detector, NPD) ดีเทคเตอร์ชนิดนี้ได้ดัดแปลงมาจากดีเทคเตอร์ชนิด FID เพื่อให้มีความไวต่อสารประกอบที่มีไนโตรเจนและฟอสฟอรัสเท่านั้น ดีเทคเตอร์ NPD มีเกลืออัลคาไลเฮไลด์ (alkali-halide salt) วางอยู่เหนือเปลวไฟ เกลืออัลคาไลด์จะมีผลทำให้ความไวของดีเทคเตอร์ที่มีต่อสารประกอบของไนโตรเจน

การพิจารณาว่าควรเลือกใช้ดีเทคเตอร์ชนิดใดนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของสารและความไวของดีเทคเตอร์ ดีเทคเตอร์แต่ละชนิดเหมาะสำหรับวิเคราะห์สารแต่ละชนิดไม่เหมือนกัน ต้องเลือกใช้ให้ตรงตามความสามารถของมัน อย่างไรก็ตามเราสามารถสรุปได้ว่า ดีเทคเตอร์ที่ดีต้องมีคุณสมบัติดังต่อไปนี้ คือ

1. เสียงรบกวนที่เกิดขึ้นควรน้อยมาก (Low noise level)

2. มีความไวสูง (High sensitivity) และควรไวต่อไอของสารทุกชนิด

3. มีความรู้สึกต่อสารอย่างรวดเร็ว แม้นว่ามีปริมาณน้อย (Rapid response) ในการอีลูทสารออกจากคอลัมน์ สารที่ออกจากคอลัมน์จะค่อยๆ ออกมาทีละน้อยจนถึงมาก แล้วลดน้อยลงอีกทำให้เกิดเป็นพีก ดังนั้นดีเทคเตอร์ต้องรู้สึกหรือติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณของสารได้ดี จึงจะทำให้เกิดพีกและการแยกขึ้นได้

4. ผลที่ได้จากเครื่องดีเทคเตอร์จะต้องเหมือนกันทุกครั้งเมื่อใช้สารตัวอย่างชนิดเดียวกัน (high reproducibility)

5. ไม่ไวต่อการเปลี่ยนแปลงความดันของก๊าซตัวพา หรืออุณหภูมิ และไม่เกิดปฏิกิริยาต่อก๊าซตัวพา

6. ไม่ทำลายหรือเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของสารที่ต้องการวิเคราะห์ ซึ่งมีความสำคัญมาก ถ้าต้องการเก็บสารที่แยกได้นี้ไปทำการวิเคราะห์ต่อไป

7. ราคาถูก

ยังไม่มีดีเทคเตอร์ชนิดใดที่มีคุณสมบัติครบถ้วนทุกข้อความที่กล่าวมาข้างต้น ดังนั้นการเลือกใช้ควรพิจารณาดีเทคเตอร์ที่มีคุณสมบัติที่ดีมากที่สุด ซึ่งนิยมใช้กัน 2 ชนิด คือ TCD และ FID

เปรียบเทียบ GSC กับ GLC (Comparision of GSC and GLC)

ถึงแม้ว่าทั้งสองเทคนิคจะมีวิธีการที่คล้ายคลึงกันเกือบทั้งหมด แตกต่างกันเฉพาะวัสดุที่ใช้บรรจุในคอลัมน์เท่านั้น ยังพบว่าเทคนิคทั้งสองให้ผลดีและมีประโยชน์แตกต่างกัน ซึ่งเปรียบเทียบกันได้ดังต่อไปนี้

1. ใน GSC ค่าสัมประสิทธิ์ของการกระจาย (K_d) จะสัมพันธ์กับจำนวนของสารตัวอย่างที่ถูกดูดซับต่อหนึ่งหน่วยของพื้นที่ผิวทั้งหมดหรือต่อหนึ่งกรัมของของแข็งที่เป็นตัวดูดซับ หารด้วยความเข้มข้นของสารตัวอย่างหรือความดันของสารตัวอย่างในเฟสของก๊าซที่เคลื่อนที่ ซึ่งพบว่ามีค่ามากกว่าค่าสัมประสิทธิ์ของการกระจายใน GLC ทำให้ค่ารีเทนชันไทม์ในการทำ GSC มีค่ามากกว่าการทำ GLC ดังนั้น GSC จึงมีประโยชน์สำหรับการแยกที่ถูกดูดซับไว้ในเฟสของเหลวได้น้อย เช่น อากาศ ไฮโดรเจนซัลไฟด์ คาร์บอนไดซัลไฟด์ ไนโตรเจนออกไซด์ คาร์บอนมอนนอกไซด์ และคาร์บอนไดออกไซด์ เป็นต้น

2. ในคอลัมน์ GSC สามารถใช้อุณหภูมิได้สูงกว่า GLC เพราะมีเฟสอยู่กับที่เป็นของแข็ง โอกาสที่จะระเหยกลายเป็นไอเกิดยากมาก เมื่อ GSC สามารถใช้อุณหภูมิสูงได้จึงมีผลทำให้รีเทนชันไทม์ที่ได้เร็วขึ้น แต่อย่างไรก็ตามอุณหภูมิที่ใช้ต้องไม่สูงจนเกินไป เพราะอาจทำให้สารตัวอย่างสลายตัวหรือส่วนประกอบอื่นๆ ของเครื่องมือเสียหายได้

3. การดูดซับสารตัวอย่างที่เฟสของแข็งมีลักษณะเป็นเคอร์ฟที่เรียกว่า adsorption isotherm คือการดูดซับจะขึ้นอยู่กับปริมาณความเข้มข้นของสารตัวอย่างแบบเส้นตรงที่ความเข้มข้นต่ำๆ ถ้าสารตัวอย่างมีความเข้มข้นน้อยจะถูกดูดซับได้น้อย ถ้ามีความเข้มข้นมากจะถูกดูดซับได้มาก แต่ถ้าความเข้มข้นของสารตัวอย่างเพิ่มขึ้นสูงถึงค่าหนึ่งการดูดซับจะไม่ขึ้นอยู่กับความเข้มข้น การดูดซับจะคงที่ ทำให้ค่า K_d ไม่แปรผันตามอัตราส่วนของความเข้มข้นของสารตัวอย่างระหว่างเฟสทั้งสอง ดังนั้นการทำ GSC สามารถใช้สารตัวอย่างปริมาณน้อยๆ ได้ดีกว่า

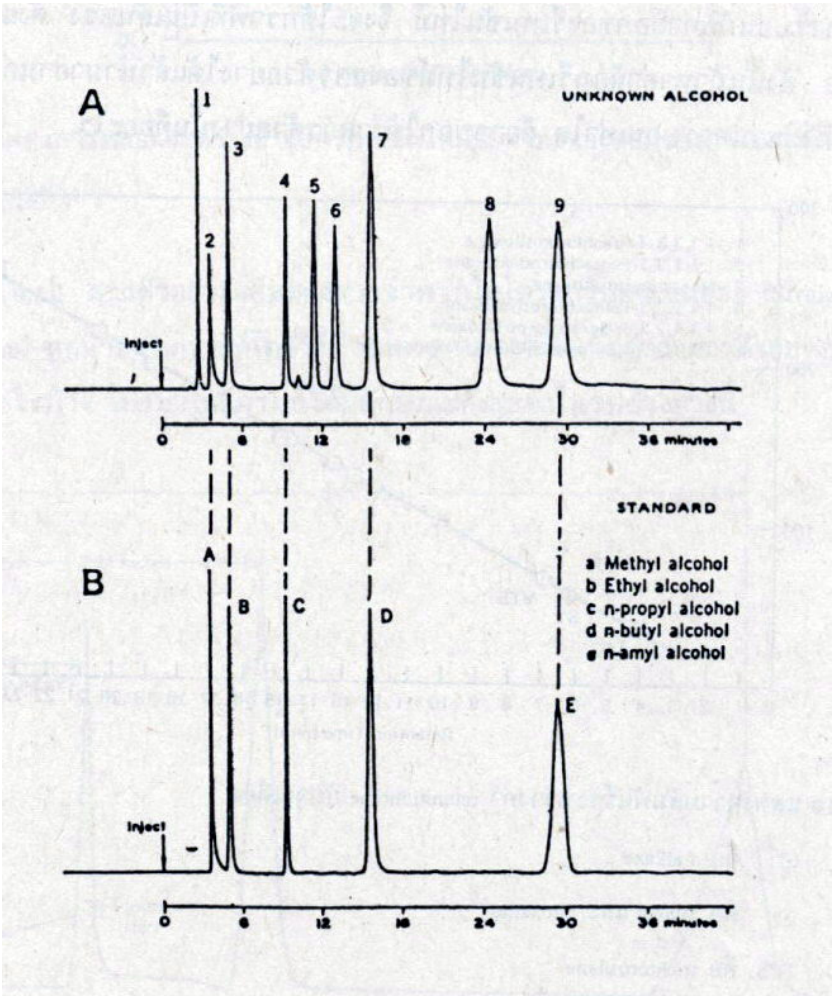
4. ของแข็งที่ใช้เป็นตัวดูดซับใน GSC มักมีพื้นที่ผิวประมาณ $100\,m^2/g$ ซึ่งประมาณได้เป็น 100 เท่าของของแข็งซับพอทที่ใช้ใน GLC ของแข็งที่มีพื้นที่ผิวมากตามปกติจะมีผลต่อตัวเร่ง ซึ่งอาจทำให้สารตัวอย่างเกิดปฏิกิริยาเคมีบางอย่างในคอลัมน์ และอาจทำให้การดูดซับที่เฟสของแข็งนั้นผันกลับไม่ได้ ผลที่ได้จึงอาจผิดพลาดขึ้นได้

5. เป็นการยากที่จะทำให้พื้นที่ผิวของของแข็งมีสภาพเหมือนกันหมดทุกส่วนได้ เพราะขนาดและรูปร่างของของแข็งแต่ละส่วนแตกต่างกัน ซึ่งเป็นเหตุให้ค่ารีเทนชันของสาร

การประยุกต์ใช้ในทางการวิเคราะห์

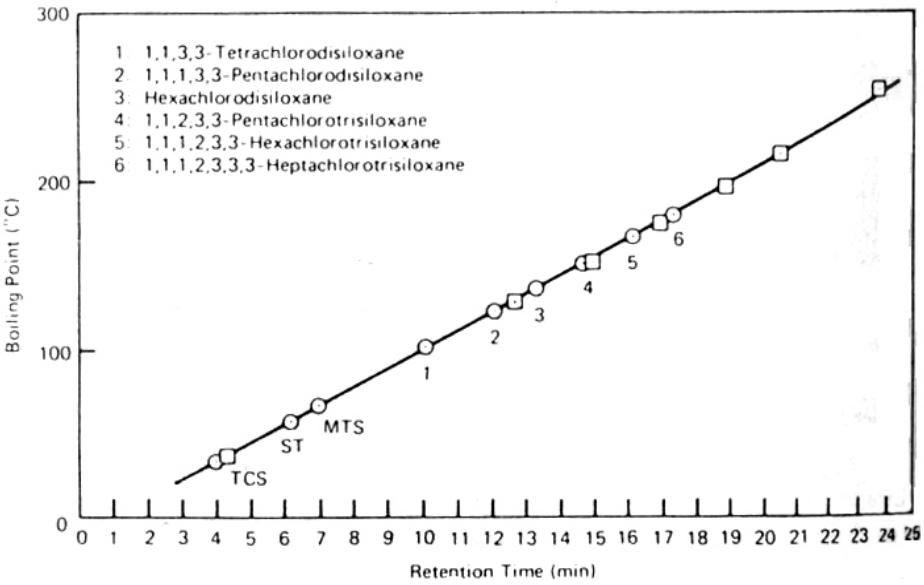
วิธีก๊าซโครมาโตกราฟีสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในทางการวิเคราะห์ได้ทั้งสองแบบ คือ การวิเคราะห์ทางคุณภาพ (Qualitative analysis) และการวิเคราะห์ทางปริมาณ (Quantitative analysis) ซึ่งทั้งสองวิธีมีหลักการดังต่อไปนี้

การวิเคราะห์ทางคุณภาพ (Qualitative analysis) การวิเคราะห์สามารถทำได้โดยเปรียบเทียบค่ารีเทนชันไทม์หรือรีเทนชันโวลูมของสารตัวอย่างกับสารมาตรฐานที่ทราบค่ารีเทนชันแล้ว การเปรียบเทียบสามารถทำได้เมื่อสภาวะการทดลองเหมือนกันทุกประการ ในทางปฏิบัติสามารถทำได้โดยทำโครมาโตแกรมของสารตัวอย่างก่อน จากนั้นนำสารตัวอย่างใส่ผสมกับสารที่ทราบว่าคืออะไร แล้วทำโครมาโตแกรม ถ้าโครมาโตแกรมที่ได้มีพีกเดียวซ้อนกันและมีขนาดใหญ่ขึ้น แสดงว่าสารตัวอย่างและสารมาตรฐานคือตัวเดียวกัน แต่เนื่องจากมีสารหลายชนิดที่มีค่ารีเทนชันไทม์ใกล้ๆ กัน ดังนั้นเพื่อยืนยันการวิเคราะห์ว่าถูกต้องควรทำการทดลองโดยเปลี่ยนชนิดของคอลัมน์ 2 ชนิด หรือมากกว่า ถ้าเป็นสารชนิดเดียวกันไม่ว่าจะเปลี่ยนคอลัมน์เป็นชนิดใดก็ตามโครมาโตแกรมที่ได้จะมีอยู่พีกเดียวเท่านั้น โอกาสที่สาร 2 ชนิดที่ต่างกันเมื่อนำมาทำโครมาโตแกรมด้วยคอลัมน์มากกว่า 1 ชนิด จะให้พีกที่ซ้อนกันและเหมือนกันทุกครั้งนั้นเป็นไปได้ยากมาก การวิเคราะห์คุณภาพด้วยวิธีนี้เราต้องมีข้อคิดอยู่แล้วว่าสารที่มีอยู่นั้นควรเป็นอะไรจึงจะทำให้เลือกใช้สารมาตรฐานได้ถูกต้อง การวิเคราะห์จึงเป็นเพียงการยืนยันว่าสารตัวอย่างที่มีอยู่ใช่สารตัวอย่างที่เราสงสัยหรือไม่ ถ้าเราไม่มีข้อมูลหรือเดาไม่ได้เลยว่าสารตัวอย่างควรเป็นอะไร การวิเคราะห์แบบนี้ก็เป็นไปไม่ได้ เพราะไม่ทราบว่าจะเลือกสารอะไรเป็นสารมาตรฐาน การวิเคราะห์โดยเปรียบเทียบค่ารีเทนชันไทม์หรือรีเทนชันโวลูมสามารถทำได้อีกแบบหนึ่งผ่านสารมาตรฐานผสมหลายๆ ชนิดลงไปในเครื่องก๊าซโครมา-โตกราฟี แล้วบันทึกโครมาโตแกรม จากนั้นทำโครมาโตแกรมของสารตัวอย่างซึ่งอาจเป็นสารผสมของสารหลายๆ ตัวก็ได้ โดยทำการทดลองที่สภาวะเดียวกันทุกประการ จากโครมาโตแกรมของสารมาตรฐานกับสารตัวอย่างสามารถเทียบกันได้ว่าสารตัวอย่างคืออะไร ในการเลือกใช้กลุ่มของสารมาตรฐาน ต้องทราบมาก่อนว่าสารตัวอย่างเป็นสารอะไร เช่น สารตัวอย่างเป็นพวกแอลกอฮอล์ แต่ไม่ทราบว่าเป็นชนิดไหน การทดลองจึงทำได้โดยใช้สารมาตรฐานที่เป็น



รูปที่ 6.11 การเปรียบเทียบโครมาโตแกรมของสารตัวอย่างกับสารมาตรฐาน

จากการควบคุมให้มีสภาวะต่างๆ ในการทดลองคงที่ตามที่กล่าวมา จะได้รีเทนชันไทม์ของสารแต่ละตัวคงที่ ซึ่งรีเทนชันไทม์ของสารแต่ละตัวจะมีค่าอย่างไรนั้นขึ้นอยู่กับจุดเดือดของสาร สารที่มีจุดเดือดต่ำจะมีรีเทนชันไทม์น้อยกว่าสารที่มีจุดเดือดสูง แสดงว่าค่ารีเทนชันไทม์จะมีความสัมพันธ์แบบเป็นเส้นตรงกับจุดเดือดของสาร ดังแสดงในรูป 6.12 จุดเดือดของสารแต่ละชนิดจะมีค่าอย่างไรนั้นขึ้นอยู่กับจำนวนคาร์บอน หรือหมู่ $-CH_2$ ในสารประกอบนั้น



รูปที่ 6.12 แสดงค่าสัมพันธ์ระหว่างค่า retention time กับจุดเดือด

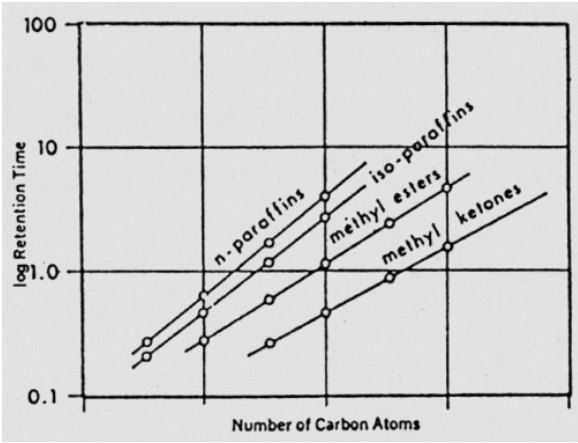
⊡ คือ n-alkane

⊙ คือ Silanes และ Siloxanes

TCS คือ trichlorosilane

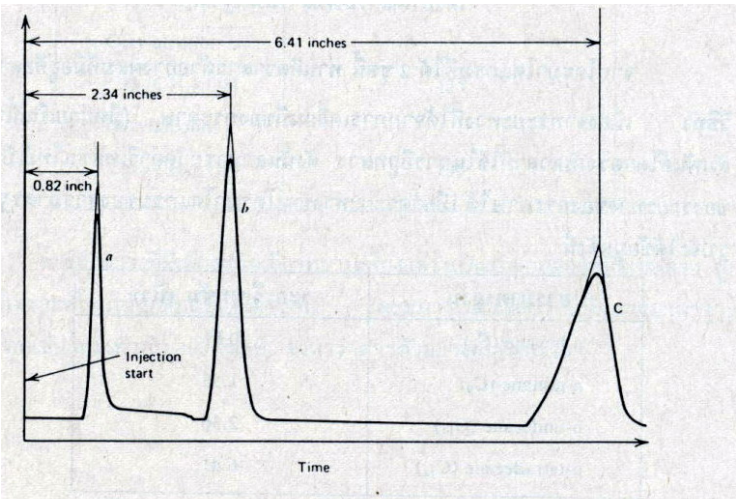
ST คือ Silicon tetrachloride

MTS คือ methyl trichlorosilane



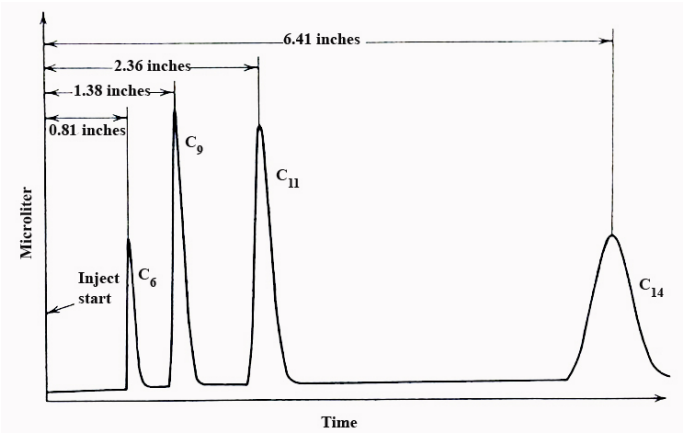
รูปที่ 6.13 แสดงการพลอตระหว่างค่าล็อกรีเทนชันไทม์กับจำนวนอะตอมของคาร์บอน สำหรับสารกลุ่มต่างๆ

ตัวอย่างที่ 6.5 สารตัวอย่างผสมของสารจำพวกไฮโดรคาร์บอนเชนตรง (Straight-chain hydrocarbon) ถูกนำมาวิเคราะห์โดยวิธีก๊าซโครมาโตกราฟี เพื่อหาว่าสารตัวอย่างประกอบด้วยสารอะไรบ้าง โครมาโตแกรมที่ได้มีลักษณะดังแสดงในรูปข้างล่างนี้



โครมาโตแกรมของสารตัวอย่าง

จากนั้นนักวิเคราะห์ได้เตรียมสารมาตรฐานซึ่งเป็นสารผสมของ n-hexane, n-nonane, n-undecane และ n-tetradecane ขึ้นแล้วนำมาทำโครมาโตแกรม ภายใต้สภาวะเดียวกับสารตัวอย่าง คือใช้คอลัมน์ชนิดนอนโพลาร์ อัตราการไหลของก๊าซฮีเลียมเท่ากับ 22 ลบ.ซม./นาที โครมาโตแกรมที่ได้มีลักษณะดังแสดงในรูปข้างล่าง



โครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน

จากโครมาโตแกรมที่ได้ 2 ชุดนี้ ท่านคิดว่าสารตัวอย่างผสมที่มีอยู่คือสารอะไร

วิธีทำ เนื่องจากระยะทางที่ได้จากการเคลื่อนที่ของกระดาษ (มีหน่วยเป็นนิ้ว) จะสัมพันธ์โดยตรงกับเวลาที่ใช้ในการอีลูทสาร ดังนั้นสามารถวัดค่ารีเทนชันไทม์เป็นหน่วยของระยะทางของกระดาษได้ เมื่อวัดระยะทางของโครมาโตแกรมของสารมาตรฐานจากรูปได้ข้อมูลดังนี้

สารมาตรฐาน	ระยะรีเทนชัน (นิ้ว)
n-hexane (C_6)	0.81
n-nonane (C_9)	1.58
n-undecane (C_{11})	2.36
n-tetradecane (C_{14})	6.41

จากนั้นวัดโครมาโตแกรมของสารตัวอย่างจากรูปเช่นกันจะได้ข้อมูลดังนี้

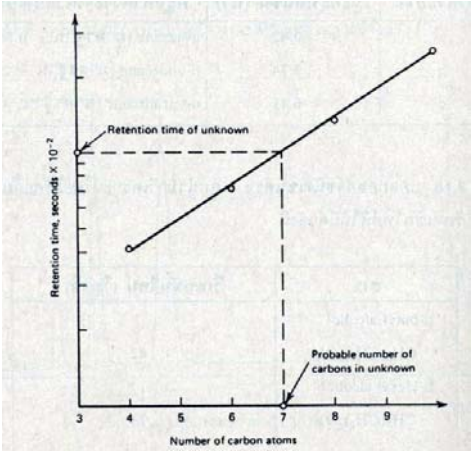
สารตัวอย่าง	ระยะรีเทนชัน (นิ้ว)	พิสูจน์ได้ว่าสารตัวอย่างอาจเป็น
a	0.82	n-hexane (มาตรฐาน = 0.81)
b	2.34	n-undecane (มาตรฐาน = 2.36)
c	6.41	n-tetradecane (มาตรฐาน = 6.41)

ตัวอย่างที่ 6.6 แอลกอฮอล์ชนิดเชนตรง ถูกนำมาวิเคราะห์โดยใช้คอลัมน์คาร์โบแวก (carbowax) รีเทนชันไทม์ที่ได้มีค่าดังนี้

สาร	รีเทนชันไทม์ (วินาที)
n-butyl alcohol $CH_3(CH_2)_3OH$	42
n-Hexyl alcohol $CH_3(CH_2)_5OH$	73
n-Octylalcohol $CH_3(CH_2)_7OH$	135
n-Decylalcohol $CH_3(CH_2)_9OH$	250

สารตัวอย่างที่มีเพียงชนิดเดียวทราบเพียงแต่ว่าเป็นแอลกอฮอล์ชนิดเชนตรง ถูกนำมาวิเคราะห์โดยใช้คอลัมน์ชนิดเดียวกัน และสภาวะแบบเดียวกันกับมาตรฐาน ได้ค่ารีเทนชันไทม์เท่ากับ 100 วินาที จงหาว่าสารตัวอย่างนั้นคืออะไร

วิธีทำ พลอตกราฟระหว่างค่าล็อกรีเทนชันไทม์กับจำนวนอะตอมของคาร์บอนจะได้กราฟดังแสดงในรูปข้างล่างนี้



จากกราฟอ่านได้ว่า สารตัวอย่างมีจำนวนอะตอมของคาร์บอนเท่ากับ 7 นั่นคือ สารตัวอย่าง คือ n-heptyl alcohol.

การวิเคราะห์คุณภาพโดยวิธีก๊าซโครมาโตกราฟีสามารถทำได้อีกแบบหนึ่ง คือ ต่อเครื่องมือก๊าซโครมาโตกราฟีเข้ากับเครื่องมือชนิดอื่นที่สามารถใช้ในการวิเคราะห์ทางคุณภาพได้ดี เช่น ต่อเข้ากับเครื่อง mass spectrophotometer Infrared spectrophotometer และ nuclear magnetic resonance spectrophotometer เมื่อสารตัวอย่างถูกแยกด้วยเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟีแล้วเข้ามายังเครื่องวิเคราะห์คุณภาพแบบต่างๆ ที่กล่าวมาแล้วนี้จะทำให้สามารถวิเคราะห์ได้ว่าสารตัวอย่างนั้นๆ คืออะไรได้โดยไม่ต้องหาสารมาตรฐานมาเปรียบเทียบ ก๊าซโครมาโตกราฟีจะทำหน้าที่เป็นเพียงตัวแยกสารเท่านั้น เครื่องมือที่มีส่วนประกอบของก๊าซโครมาโตกราฟีรวมกับเครื่องมือ เช่น mass spectrophotometer จะมีราคาแพงกว่าเครื่องมือก๊าซโครมาโตกราฟีเพียงอย่างเดียวมาก

ในกรณีที่สารมาตรฐานและสารตัวอย่างถูกนำมาวิเคราะห์ในสภาวะการทดลองที่แตกต่างกัน เช่น ทำคนละวัน ใช้อัตราการไหลของก๊าซตัวพาต่างกัน ขนาดของคอลัมน์ต่างกัน ใช้เครื่องมือคนละชุด หรืออื่นๆ พบว่าวิธีวิเคราะห์โดยการเปรียบเทียบ ค่ารีเทนชันไทม์ หรือรีเทนชันโวลูมใช้ไม่ได้ การเปรียบเทียบกันต้องใช้ค่ารีเทนชันจำเพาะ (V_g) ซึ่งคำนวนได้จากสมการที่ 6.10 และ 6.11 หรือค่ารีเลทีฟรีเทนชัน (α) ซึ่งคำนวนได้จากสมการที่ 3.15 นอกจากนี้ยังสามารถใช้ค่ารีเทนชันอินเด็กซ์ (retention index, I) ได้ด้วย

ค่ารีเทนชันอินเด็กซ์ พิสูจน์ได้โดยนักวิทยาศาสตร์ชื่อ Kovats ซึ่งใช้เป็นค่าสำหรับการวิเคราะห์ทางคุณภาพได้ รีเทนชันอินเด็กซ์คือค่าที่ขึ้นอยู่กับการเปรียบเทียบระหว่างตำแหน่ง

ค่ารีเทนชันอินเด็กซ์ของสารใดๆ (x) มีค่าตามสมการที่ 6.24 ดังนี้คือ

$$I_x = 100\left[\frac{\log(t'_R)_x - \log(t'_R)_n}{\log(t'_R)_{n+1} - \log(t'_R)_n}\right] + 100\,n \quad \text{.....(6.24)}$$

t'_R คือ รีเทนชันไทม์ของสารที่แก้ไขแล้ว โดยหักค่ารีเทนชันไทม์ของตัวพา (t_m) ออกจากค่ารีเทนชันไทม์ของสารที่วัดได้

$$t'_R = t_R - t_m$$

$(t'_R)_x$ คือ รีเทนชันไทม์ที่แก้ไขแล้วของสารที่สนใจ (x)

$(t'_R)_n$ คือ รีเทนชันไทม์ที่แก้ไขแล้วของสารพาราฟินที่มีจำนวนคาร์บอนเท่ากับ n ตัว

$(t'_R)_{n+1}$ คือ รีเทนชันไทม์ที่แก้ไขแล้วของสารพาราฟินที่มีจำนวนคาร์บอนเท่ากับ n+1 ตัว

สามารถใช้ค่ารีเทนชันโวลูมหรือรีเลทีฟรีเทนชันแทนในสมการที่ 6.24 ได้ นั่นคือ

$$I_x = 100\left[\frac{\log(V'_R)_x - \log(V'_R)_n}{\log(V'_R)_{n+1} - \log(V'_R)_n}\right] + 100\,n \quad \text{.....(6.25)}$$

หรือ

$$I_x = 100\left[\frac{\log\alpha_{x,\,n}}{\log\alpha_{n+1,\,n}}\right] + 100\,n \quad \text{.....(6.26)}$$

เมื่อ V'_R คือ adjusted retention volume ซึ่งมีค่าเท่ากับ $V_R - V_m$

$\alpha_{x,\,n}$ คือ รีเลทีฟรีเทนชันของสาร x เมื่อเปรียบเทียบกับสารพาราฟินที่มีคาร์บอน n ตัว

$$\alpha_{x,n} = \frac{(t'_R)_x}{(t'_R)_n}$$

$\alpha_{n+1,\ n}$ คือ รีเลทีฟรีเทนชันของสารพาราฟินที่มีคาร์บอน n+1 ตัว

เมื่อเปรียบเทียบกับสารพาราฟินที่มีคาร์บอน n ตัว

$$\alpha_{n+1,\ n} = \frac{(t'_R)_{n+1}}{(t'_R)_n}$$

ค่ารีเทนชันอินเด็กซ์ที่หาได้จากสมการที่ 6.24 หรือ 6.25 หรือ 6.26 จะเป็นตัวชี้บอกได้ว่าสารตัวอย่างนั้นคืออะไร

ตัวอย่างที่ 6.7 ข้อมูลในการทำ GLC ที่อุณหภูมิคงที่ แสดงไว้ในตารางข้างล่างนี้ จงคำนวณหารีเทนชันอินเด็กซ์จากสมการของ Kovats สำหรับสารตัวอย่าง (sample)

สารประกอบ	รีเทนชันไทม์ (นาที)
air	0.22
n-Hexane (C_6H_{14})	4.13
Sample	5.20
n-Heptane	6.35

วิธีทำ

$t_m = t_{air} = 0.22$ นาที

$n = 6$ (ของ n-hexane)

$\therefore\ (t'_R)_x = 5.20 - 0.22 = 4.98$

$(t'_R)_n = 4.13 - 0.22 = 3.91$

$(t'_R)_{n+1} = 6.35 - 0.22 = 6.13$

จากสมการที่ 6.24 จะได้

$$I_x = 100\left[\frac{\log 4.98 - \log 3.91}{\log 6.13 - \log 3.91}\right] + 100 \times 6$$

$$= \quad 100\left[\log\frac{4.98}{3.91} / \log\frac{6.13}{3.91}\right] + 600$$

$$= \quad 653.8$$

นั่นคือ สารตัวอย่างมีค่ารีเทนชันอินเด็กซ์เท่ากับ 653.8 เราอาจบอกได้เพียงคร่าวๆ ว่า สารตัวอย่างมีจำนวนคาร์บอนอยู่ระหว่าง 6 กับ 7 แต่บอกเฉพาะเจาะจงไม่ได้ว่าเป็นสารอะไร ต้องหาสารที่มีจำนวนคาร์บอนระหว่าง 6 กับ 7 ที่เราสงสัยว่าน่าจะเป็นสารตัวอย่างนำมาทำโครมาโตแกรมพร้อมสารตัวอย่าง ถ้าได้พีกซ้อนกันทุกครั้งไม่ว่าจะเปลี่ยนเป็นคอลัมน์แบบใดก็ตาม จะสรุปได้ว่าสารตัวอย่างนั้นคืออะไร

ตัวอย่างที่ 6.8 จากข้อมูลต่อไปนี้ จงคำนวณหารีเทนชันอินเด็กซ์ของเบนซินสำหรับคอลัมน์ Squalene ซึ่งใช้อุณหภูมิ 100° C

สารประกอบ	$t_R - t_m$ (นาที)	I
n-hexane	3.43	600
Benzene	4.72	?
n-heptane	6.96	700

วิธีทำ

$$I_{benzene} = 100\left[\frac{\log 4.72 - \log 3.43}{\log 6.96 - \log 3.43}\right] + 100 \times 6$$

$$= \quad 4.51 + 600 \quad = \quad 645$$

การวิเคราะห์ทางปริมาณ (Quantitative Analysis)

ปริมาณของสารตัวอย่างที่ฉีดเข้าไปในเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟีจะสัมพันธ์โดยตรงกับขนาดของพีก ซึ่งสามารถวัดได้ 2 แบบคือ วัดค่าความสูงของพีก หรือวัดพื้นที่ทั้งหมดของพีก จะใช้วิธีวัดความสูงของพีกเมื่อพีกมีลักษณะแคบมาก ซึ่งไม่สามารถหาความกว้างของฐานพีกได้

1. สัญญาณที่ออกจากเครื่องดีเทคเตอร์ ต้องมีความสัมพันธ์แบบเส้นตรงกับปริมาณของสาร

2. อัตราการไหลของก๊าซตัวพาต้องคงที่

นอกจากสาเหตุใหญ่ๆ สองประการที่กล่าวมา ซึ่งทำให้การหาปริมาณผิดพลาด ยังมี สาเหตุอื่นๆ อีกที่เราต้องระมัดระวังและควบคุมให้ดี คือ

1. สภาพของเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟี ต้องควบคุมให้มีอุณหภูมิของ oven คงที่ ต้องไม่มีรอยรั่วที่ทำให้ก๊าซรั่วออกไปได้

2. สารตัวอย่างต้องไม่เกิดการสลายตัวในคอลัมน์

3. การฉีดสารตัวอย่างเข้าไปในคอลัมน์ต้องมีการฝึกฝนเทคนิคให้เกิดความชำนาญในการฉีดสารตัวอย่างให้เข้าไปในคอลัมน์ให้หมดและไม่รั่วไหล

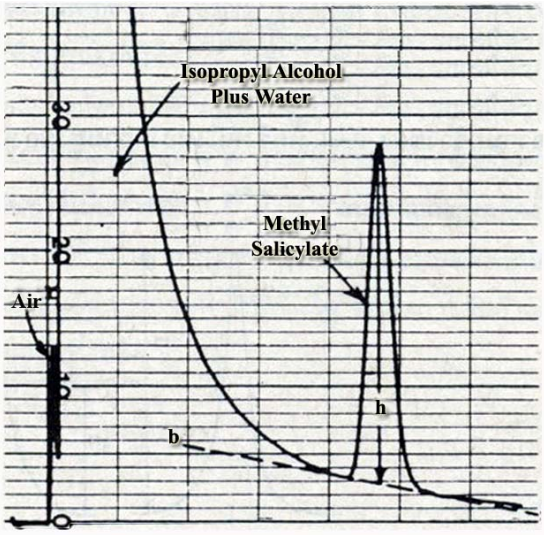
4. สภาพความไวของเครื่องบันทึก ความเร็วของ Chart ต้องคงที่สม่ำเสมอ และไม่มีสัญญาณรบกวน (noise)

5. การแยกของพีก ถ้าพีกที่ได้มีการแยกดีผลที่ได้จากการคำนวณจะถูกต้องกว่า

6. การวัดความสูงของพีกและพื้นที่พีกจะกระทำได้ผลถูกต้องหรือไม่ขึ้นอยู่กับความสามารถและเทคนิคของแต่ละบุคคล

ภายใต้การควบคุมสภาวะการทดลองต่างๆ อย่างดี พบว่าสามารถมีข้อผิดพลาดได้ไม่เกิน 1 ถึง 3%

การวัดความสูงของพีก ความสูงของพีกโครมาโตแกรมสามารถวัดได้โดยหาเส้นฐาน (base line) ของพีก แล้วลากเส้นตรงจากส่วนยอดของพีกตามแนวดิ่งจนถึงเส้นฐานระยะทางของเส้นตรงจากฐานถึงส่วนยอดของพีก คือความสูงของพีกดังแสดงในรูปที่ 6.14 ความถูกต้องของปริมาณที่ได้ขึ้นอยู่กับความถูกต้องของการวัดความสูงของพีกนั่นเอง



รูปที่ 6.14 แสดงวิธีวัดความสูงของพีก

การหาพื้นที่พีก การหาพื้นที่พีกสามารถทำได้หลายวิธี คือ

1. ตัดพีกที่ได้ออกมาชั่งน้ำหนัก จะได้พื้นที่พีกในหน่วยของน้ำหนักที่ชั่งได้ วิธีนี้ทำได้เมื่อกระดาษที่ใช้ทำโครมาโตแกรมเป็นเนื้อเดียวกันตลอด คือมีน้ำหนักต่อหน่วยพื้นที่คงที่ วิธีนี้ไม่สามารถใช้ได้กับพีกที่ซ้อนกัน ถึงแม้ว่าจะซ้อนกันเพียงเล็กน้อยก็ตาม

2. วิธีการคำนวณพื้นที่สามเหลี่ยม เนื่องจากพีกที่ได้จากการทดลองสามารถเกิดได้หลายลักษณะ ดังนั้นจึงมีวิธีการคำนวณพื้นที่ของพีกสามเหลี่ยมอยู่หลายวิธี คือ

ก. ถ้าพีกที่ได้จากการทดลองมีลักษณะที่สมมาตร ดังแสดงในรูปที่ 6.15 (a) วิธีการคำนวณสามารถทำได้ 2 แบบ คือ

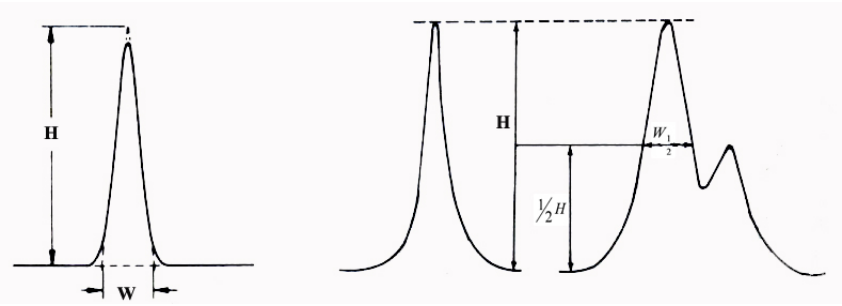
แบบที่ 1 หาความกว้างของฐานพีก และความสูงของพีก จากนั้นหาพื้นที่ของพีกจากสูตร

$$\text{Peak area} = \frac{1}{2}WH$$

แบบที่ 2 บางครั้งความกว้างของพีกหาได้ยาก เนื่องจากพีกที่ได้มีลักษณะซ้อนกัน ให้ใช้วิธีหาความกว้างของพีกที่ครึ่งหนึ่งของความสูงแล้วคำนวณพื้นที่พีกจากสูตร

$$\text{Peak area} = W_{\frac{1}{2}} H$$

$W_{\frac{1}{2}}$ คือความกว้างของ Peak ที่ครึ่งหนึ่งของความสูงของพีก (H)

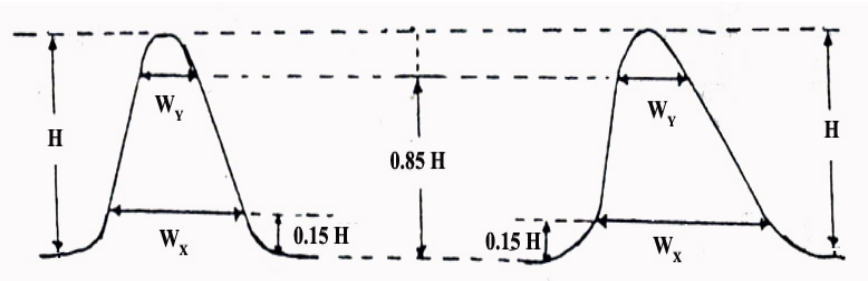


รูปที่ 6.15 a) แสดงวิธีการวัดความกว้างของพีก (Bandwidth) สำหรับพีกที่สมมาตร

b) แสดงวิธีการวัดความกว้างของพีกที่ครึ่งหนึ่งของความสูง

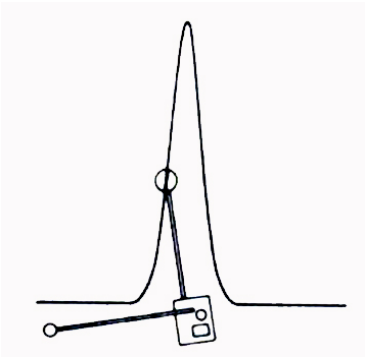
ข. ถ้าพีกที่ได้มีลักษณะกว้างมาก (broad) และมีหาง (tailing) ดังแสดงในรูปที่ 6.16 พื้นที่พีกสามารถคำนวณได้โดยการใช้ความกว้างของพีกที่ความสูงเท่ากับ 0.15 H และ 0.85 H ซึ่งให้ค่าเป็น W_x และ W_y ตามลำดับ ความกว้างของพีกทั้งสองจุดนี้บวกกันจะมีค่าเท่ากับความกว้างของฐานพีก นั่นคือ สามารถคำนวณหาพื้นที่พีกได้จากสูตร

$$\text{Peak area} = \left[\frac{W_x + W_y}{2}\right] H$$



รูปที่ 6.16 แสดงวิธีการหาความกว้างของพีกสำหรับพีกที่กว้างมากและมีหาง

3. ใช้วิธีแพลนิมิเตอร์ (Planimeter method) แพลนิมิเตอร์เป็นเครื่องมือสำหรับหาพื้นที่ของรูปต่างๆ ที่อยู่บนแผ่นเรียบหรือแผ่นกระดาษเท่านั้น โดยใช้เครื่องมือนี้ลากไปตามเส้นของรูปที่ต้องการวัดขนาดดังแสดงในรูปที่ 6.17 ขณะที่ทำการลากจะมีตัวเลขปรากฏขึ้นที่เครื่องมือ โดยหมุนไปเรื่อยๆ ตามระยะทางที่ลาก ซึ่งเป็นค่าที่สัมพันธ์โดยตรงกับพื้นที่สามารถแคลิเบทให้เป็นค่าของพื้นที่ได้ ความแน่นอนและถูกต้องในการวัดพื้นที่วิธีนี้ขึ้นอยู่กับเครื่องมือและความชำนาญของผู้วัด ความแน่นอนของเทคนิคนี้มีน้อยกว่าวิธีวัดพื้นที่สามเหลี่ยม ความแน่นอนสามารถทำให้ดีขึ้นได้โดยทำการวัดด้วยเครื่องแพลนิมิเตอร์หลายๆ ครั้ง แล้วใช้ค่าเฉลี่ยที่วัดได้

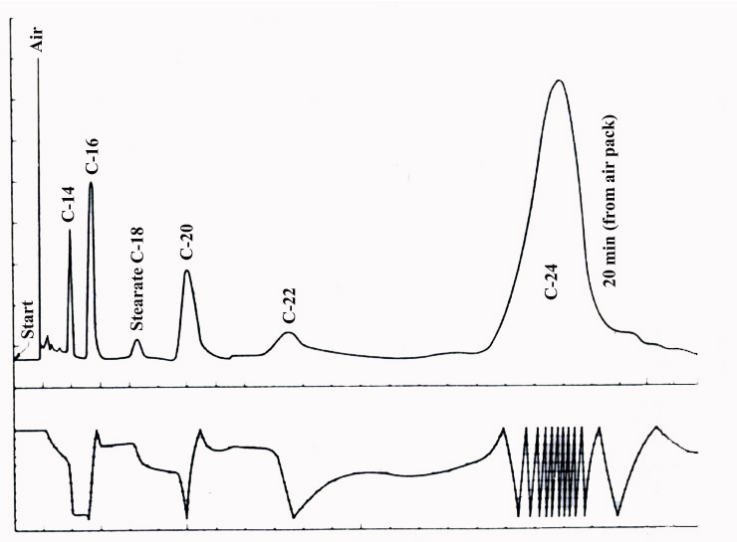


รูปที่ 6.17 การวัดพื้นที่พีกด้วยเครื่องแพลนิมิเตอร์

4. วิธีการใช้อินทิเกรเตอร์ (Integrator method) อินทิเกรเตอร์เป็นส่วนหนึ่งของเครื่องมือที่ใช้ต่อเข้ากับเครื่องบันทึกสำหรับหาพื้นที่พีก โดยวิธีการนับเลข แบ่งเป็น 2 ชนิด คือ

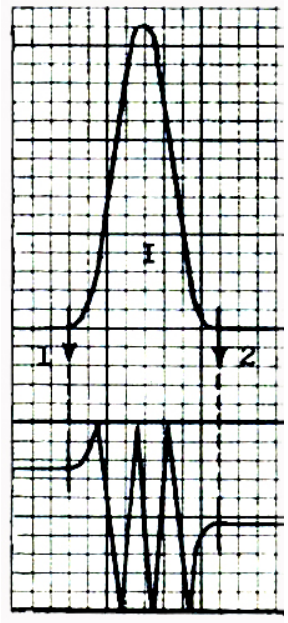
ก. อินทิเกรเตอร์ที่ทำด้วยระบบอิเล็กทรอนิกส์ เรียกว่า digital integrator อินทิเกรเตอร์แบบนี้สามารถบอกขนาดของพื้นที่เป็นตัวเลขที่นับได้ ตัวเลขที่นับได้ไม่ใช่พื้นที่ของพีกแต่จะสัมพันธ์โดยตรงกับพื้นที่พีก เครื่องก๊าซโครมาโตกราฟีที่มีส่วนของอินทิเกรเตอร์แบบนี้ต่อกับเครื่องบันทึก จะทำให้สามารถวิเคราะห์หาปริมาณของสารได้สะดวกและรวดเร็วขึ้นไม่ต้องเสียเวลาหาพื้นที่พีก

ข. อินทิเกรเตอร์ที่ทำด้วยระบบเมคานิกส์ ซึ่งมีชื่อเรียกว่า disc integrator อินทิเกรเตอร์แบบนี้จะบันทึกการนับออกมาเป็นเส้นกราฟแบบฟันเลื่อยควบคู่ไปกับการบันทึกพีก



รูปที่ 6.18 โครมาโตแกรมและเส้นกราฟที่ได้จาก disc integrator

การอ่านกราฟที่ได้จากอินทิเกรเตอร์ออกมาเป็นตัวเลขที่นับได้สามารถทำได้โดยมีหลักการดังนี้คือ ในส่วนของกราฟอินทิเกรเตอร์ แผ่นกระดาษจะแบ่งช่องไว้ทั้งหมด 10 ช่อง ตามรูปที่ 6.18 ให้ 1 ช่องมีค่าเท่ากับการนับเลขได้เท่ากับ 10 แสดงว่าถ้าปากกาของอินทิเกรเตอร์สามารถลากเส้นได้ 10 ช่อง เท่ากับ 100 ดังนั้นวิธีการนับออกมาเป็นตัวเลขก็คือ นับให้ได้ว่าอินทิเกรเตอร์ลากเส้นทั้งหมดกี่ช่องในช่วงเวลาของ 1 พีก ตัวเลขที่นับได้ทั้งหมดจะสัมพันธ์กับพื้นที่ของพีกนั่นเอง วิธีการนับตัวเลขจากอินทิเกรเตอร์สามารถทำได้ 2 วิธี คือ



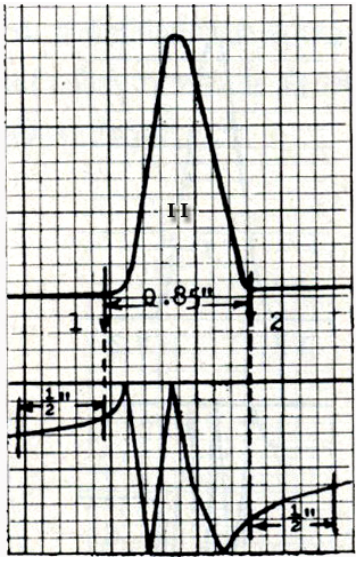
รูปที่ 6.19 แสดงวิธีการนับตัวเลขสำหรับพีกที่มีเส้นฐานขนานกับเส้นแบ่งช่องของกระดาษ

1. ถ้าพีกที่ได้มีเส้นฐาน (base line) ขนานกับเส้นแบ่งช่องของกระดาษ ดังแสดงในรูปที่ 6.19 จะมีวิธีการนับตัวเลขดังนี้คือ

ให้ลากเส้นตรงตามแนวดิ่ง 2 เส้น โดยให้พีกอยู่ระหว่างเส้นตรงทั้งสอง ตามรูปที่ 6.19 คือเส้นตรง 1 และ 2 การนับของอินทิเกรเตอร์ที่อยู่ระหว่างเส้นตรง 1 และ 2 จะได้ตัวเลขที่สัมพันธ์กับพื้นที่พีก ตัวอย่างวิธีการนับตามรูปที่ 6.19 คือจากจุดที่เส้นตรงเส้นที่ 1 ตัดกราฟของอินทิเกรเตอร์ ลากไปจนถึงจุดยอดของกราฟอินทิเกรเตอร์ อ่านค่าการนับได้เท่ากับ 24 ครั้ง จากนั้นนับเส้นกราฟฟันเลื่อยที่กลับไปกลับมาจะมีทั้งหมด 5 เส้น แสดงว่านับได้อีก 500 ครั้ง และจากส่วนต่ำสุดของกราฟฟันเลื่อยอันสุดท้ายลากไปถึงจุดที่เส้นตรงเส้นที่ 2 ตัดกราฟ จะอ่านค่าการนับได้เท่ากับ 46 ครั้ง

นั่นคือ ตัวเลขที่ได้จากการนับทั้งหมดของพีก I คือ 24 + 500 + 46 = 570 ครั้ง

2. ถ้าเส้นฐานของพีกไม่ขนานกับเส้นแบ่งช่องของกระดาษดังแสดงในรูปที่ 6.20 ต้องมีการแก้ไขค่าที่ได้จากการนับด้วย ดังนั้น วิธีการนับพีกชนิดนี้ต้องทำสองขั้นตอนคือ ทำการนับแบบเดียวกับข้อ 1. และทำการแก้ไขตามรูปที่ 6.20 สามารถทำการนับได้ดังนี้ คือ



รูปที่ 6.20 แสดงวิธีการนับตัวเลขสำหรับพืกที่มีเส้นฐานไม่ขนานกับเส้นแบ่งช่องกระดาษ

ขั้นที่ 1 ทำการนับแบบเดียวกับข้อ 1. (ให้ดูรูปที่ 6.20 ประกอบด้วย)

- จากจุดตัดของเส้นที่ –1 กับกราฟ ถึงส่วนยอดของอินทิเกรเตอร์นับได้เท่ากับ 20 ครั้ง (ได้ระยะ 2 ช่องพอดี)

- เส้นกราฟฟันเลื่อยมี 3 เส้น แสดงว่านับได้เท่ากับ 300 ครั้ง

- จากจุดต่ำสุดของฟันเลื่อยอันสุดท้ายถึงจุดตัดของเส้นตรงที่ 2 นับได้ 20 ครั้ง

นั่นคือ พื้นที่พืกที่ยังไม่แก้ไข นับได้เท่ากับ 20 + 300 + 20 = 340 ครั้ง

ขั้นที่ 2 ทำการแก้ไขเส้นฐาน

พิจารณาทางด้านซ้ายมือของพืก จากจุดตัดของเส้นตรงที่ 1 วัดระยะทางออกไปครึ่งนิ้ว (เรียกว่า left slant) พบว่าความลาดชันของเส้นกราฟอ่านได้ 10 ครั้ง คือ เท่ากับ 1 ช่องพอดี

$\therefore$ ความลาดทางซ้าย = 10 ครั้ง/ครึ่งนิ้ว

= 10 x 2 = 20 ครั้ง/นิ้ว

พิจารณาทางด้านขวามือของพีก จากจุดตัดของเส้นตรงที่ 2 วัดระยะทางออกไปครึ่งนิ้ว (เรียกว่า right slant) พบว่าความลาดของเส้นกราฟอ่านได้ 19 ครั้ง

$\therefore$ ความลาดทางขวา = 19 ครั้ง/ครึ่งนิ้ว

= 19 x 2 = 38 ครั้ง/นิ้ว

ค่าเฉลี่ยของความลาด = $\frac{20 + 38}{2}$

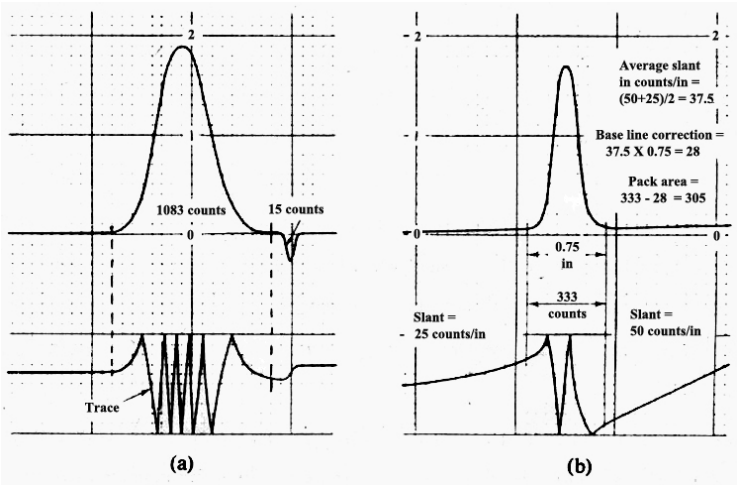
= 29 ครั้ง/นิ้ว

เพราะว่าความกว้างของพีก (จากเส้นตรงที่ 1 ถึงเส้นตรงที่ 2) มีค่าเท่ากับ 0.85 นิ้ว

$\therefore$ ค่าสำหรับแก้ไข = 29 x 0.85 = 25

$\therefore$ พื้นที่พีกที่แก้ไขแล้วนับได้ = 340 – 25 = 315 ครั้ง

ตัวอย่างที่ 6.9 จากรูป a และ b ข้างล่างนี้ จงหาจำนวนครั้งที่นับได้ของอินทิเกรเตอร์



วิธีทำ a) - ส่วนตัดของเส้นตรงที่ 1 กับกราฟนับได้ = 38

- เส้นกราฟฟันเลื่อยนับได้ 10 เส้น แสดงว่านับได้ = 1000
- ส่วนตัดของเส้นตรงที่ 2 กับกราฟนับได้ = 45

$\therefore$ พื้นที่พีกที่นับได้ = 33 + 1000 + 45 = 1083 ครั้ง

b) ได้แสดงวิธีการไว้ในรูปแล้ว

จะเห็นได้ว่าวิธีการหาขนาดของพีกแบบต่างๆ ที่กล่าวมาจะทำให้ได้ค่าที่มีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณของสารในหน่วยต่างๆ เช่น หน่วยความสูงเป็นเซนติเมตร หน่วยของพื้นที่เป็นตารางเซนติเมตร หน่วนน้ำหนักเป็นมิลลิกรัม และหน่วยการนับเลขเป็นจำนวนครั้ง เป็นต้น หลังจากที่ได้ขนาดของพีกซึ่งจะอยู่ในหน่วยใดก็ตาม สามารถนำมาคำนวณหาเป็นปริมาณของสารแต่ละชนิดในสารตัวอย่างได้ โดยมีวิธีการดังนี้ คือ

1. **วิธีเทียบกับสารมาตรฐาน** โดยใช้สารมาตรฐานเพียงชุดเดียวทำโครมาโตแกรมแล้ววัดขนาดของพื้นที่ จากนั้นนำสารตัวอย่างมาทำโครมาโตแกรมแล้ววัดขนาดของพื้นที่พีก โดยวิธีการคำนวณแบบเทียบบัญญัติไตรยางค์จะสามารถคำนวณหาความเข้มข้นของสารตัวอย่างได้ วิธีการนี้ต้องแน่ใจว่าได้ทำโครมาโตแกรมในสภาวะการทดลองเดียวกันทุกประการ และต้องไม่มีสิ่งรบกวนขนาดของพีกในสารตัวอย่าง

2. **วิธีสร้างกราฟมาตรฐาน** (Calibration curve) โดยการนำสารมาตรฐานที่ทราบปริมาณแน่นอน หลายๆ ขนาดความเข้มข้นมาทำโครมาโตแกรม จากนั้นวัดขนาดของพีกแต่ละอัน แล้วนำมาสร้างกราฟมาตรฐานโดยการพลอตระหว่างขนาดของพีกเทียบกับปริมาณความเข้มข้น เมื่อทำโครมาโตแกรมของสารตัวอย่างและวัดขนาดของพีกได้แล้ว จะสามารถนำมาอ่านค่าความเข้มข้นของสารตัวอย่างจากกราฟมาตรฐานได้

3. **วิธีเติมสารมาตรฐาน** (Standard addition method) โดยใช้สารมาตรฐานที่มีความเข้มข้นต่างกันหลายๆ ขนาดเติมลงในสารตัวอย่างที่มีความเข้มข้นคงที่ นำมาทำโครมาโตแกรมแล้ววัดขนาดของพีกต่างๆ ที่เกิดขึ้น จากนั้นพลอตกราฟระหว่างขนาดของพีกกับความเข้มข้นของสารมาตรฐาน จากกราฟสามารถหาความเข้มข้นของสารตัวอย่างได้

วิธีทำกราฟมาตรฐานและวิธีเติมสารมาตรฐานของการวิเคราะห์หาปริมาณด้วยวิธีก๊าซโครมาโตกราฟี จะเหมือนกับวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณของเทคนิคการวิเคราะห์วิธีอื่นๆ นั่นเอง ดังนั้นจึงไม่ขอกล่าวรายละเอียดซ้ำอีกในที่นี้

4. **Internal normalization** ทำได้โดยรวมพื้นที่พีกหรือขนาดของพีกทั้งหมดทุกพีกที่ปรากฏในโครมาโตแกรมเข้าด้วยกัน แล้วกำหนดให้เป็น 100% เมื่อต้องการหาเปอร์เซ็นต์ของพีกของสารที่สนใจสามารถคำนวณได้จาก

$$\% \text{ Peak A} = \frac{\text{Area of Peak A}}{\text{Total area}} \times 100$$

ตัวอย่างที่ 6.10 สารตัวอย่างผสม 4 ชนิด เมื่อฉีดเข้าเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟี แล้วทำโครมาโตแกรมได้พีก 4 พีก จากการคำนวณหาพื้นที่ของแต่ละพีกปรากฏว่าได้ผลดังนี้

พีกของสาร A = 10.0 ตารางเซนติเมตร

พีกของสาร B = 18.0 ตารางเซนติเมตร

พีกของสาร C = 8.0 ตารางเซนติเมตร

พีกของสาร D = 14.0 ตารางเซนติเมตร

รวมพื้นที่พีกทั้งหมด = 50 ตารางเซนติเมตร

$$\therefore \quad \%A = \frac{10.0}{50.0} \times 100 = 20.0\%$$

$$\%B = \frac{18.0}{50.0} \times 100 = 36.0\%$$

$$\%C = \frac{8.0}{50.0} \times 100 = 16.0\%$$

$$\%D = \frac{14.0}{50.0} \times 100 = 28.0\%$$

รวม = 100%

วิธีการคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของสารแบบนี้จัดว่าง่าย สะดวกและรวดเร็ว แต่มีข้อแม้อยู่ว่าสารที่ผ่านเข้าไปในคอลัมน์ต้องออกจากคอลัมน์ทั้งหมด และสารแต่ละชนิดต้องมีความไวต่อดีเทคเตอร์เหมือนกัน

5. **Compensated normalization** ตามความเป็นจริงแล้วดีเทคเตอร์ไม่สามารถมีความไวต่อสารทุกตัวได้เหมือนกัน หรือบางทีสารที่วิเคราะห์ออกจากคอลัมน์ได้ไม่หมด การคำนวณแบบวิธีที่ 4 จึงไม่ได้ผลที่ถูกต้อง วิธีการที่จะทำให้ถูกต้องสามารถทำได้โดยปรับค่าพื้นที่พีกหรือค่าที่นับได้เสียใหม่ด้วย การหา Response factor ของสารนั้นๆ ค่า Response factor สามารถหาได้จากการฉีดสารมาตรฐานที่ทราบปริมาณแน่นอนและเท่ากันของสารที่ต้องการหาปริมาณทุกตัวในสารผสมแล้วนำมาหาอัตราส่วนของค่าที่นับได้ เทียบกับสารตัวใดตัวหนึ่งในสารมาตรฐานผสมนั้น ซึ่งเรียกว่าค่า response factor เช่น มีสารผสมของ ethanol benzene hexane และ methylbenzene ต้องการนำมาหาเปอร์เซ็นต์ของสารแต่ละตัวโดยใช้คอลัมน์ squalane ดีเทคเตอร์ TCD ทำที่อุณหภูมิ 60°C การทดลองทำได้โดยนำ

พีก	สาร	t_R (นาที)	Integrator counts สารมาตรฐานผสม	Integrator counts สารตัวอย่างผสม
1	Ethanol	0.8	15600	24470
2	Benzene	3.3	12674	11171
3	Hexane	4.1	14230	4160
4	Methylbenzene	6.0	12410	10816

จากนั้นให้หา Response factor จากสารมาตรฐาน โดยใช้เบนซีนเป็นตัวเทียบ (หรือสารตัวใดตัวหนึ่งใน 4 ตัวนี้)

พีก	Integrator counts สารมาตรฐานผสม	Response factor
1	15600	15600/12674 = 1.23
2	12674	12674/12674 = 1.00
3	14230	14230/12674 = 1.12
4	12410	12410/12674 = 0.98

ขั้นต่อมาให้นำค่า Response factor นี้หาค่า compensated counts ของสารตัวอย่างผสม เมื่อได้ค่าที่นับได้ที่แก้ไขแล้วจะสามารถคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของสารแต่ละตัวในสารผสมได้อย่างถูกต้อง

พีก	Integrator counts สารตัวอย่างผสม	Compensated count	% ที่ถูกต้อง
1	24470	24470/1.23 = 19894	$\frac{19894}{45816} \times 100 = 43.4\%$
2	11171	11171/1.00 = 11171	$\frac{11171}{45816} \times 100 = 24.4\%$
3	4160	4160/1.12 = 3714	$\frac{3714}{45816} \times 100 = 8.1\%$
4	10816	10816/0.98 = 11037	$\frac{11037}{45816} \times 100 = 24.1\%$
		รวม = 45816	= 100%

6. **Internal standard** วิธีการนี้ได้ผลน่าพอใจมากกว่าวิธี normalization วิธี normalization นั้นสารตัวอย่างต้องมีส่วนประกอบต่างๆ ที่ทราบว่าคืออะไรทั้งหมด และส่วนประกอบต่างๆ ต้องไม่สูญเสียไปขณะกำลังอยู่ในการทำ จึงพบว่าวิธีการทำ Internal standard จะให้ผลทางการวิเคราะห์หาปริมาณสารตัวที่สนใจได้ดีกว่า เพราะเป็นการหาเฉพาะตัวที่สนใจ ส่วนตัวประกอบอื่นๆ ไม่ต้องมาเกี่ยวข้อง ซึ่งทำได้โดยเตรียมสารมาตรฐานของสารตัวที่สนใจให้มีปริมาณต่างๆ กัน แล้วเติมสารมาตรฐานอีกชนิดหนึ่ง (ซึ่งเรียกว่า internal standard) ที่มีปริมาณคงที่ลงในสารมาตรฐานตัวที่สนใจที่มีปริมาณต่างๆ กันนั้น แล้วนำมาทำโครมาโตแกรม หาอัตราส่วนระหว่างพื้นที่พีกหรือค่าที่นับได้ของสารมาตรฐานทั้งสอง จากนั้นนำค่าอัตราส่วนพื้นที่พีกของสารมาตรฐานทั้งสองมาพลอตกราฟเทียบกับความเข้มข้นของสารมาตรฐานตัวที่สนใจ เมื่อนำอัตราส่วนพื้นที่พีกของสารตัวอย่างกับสารมาตรฐาน (internal standard) มาเทียบกับกราฟมาตรฐานจะสามารถทราบปริมาณสารตัวอย่างได้

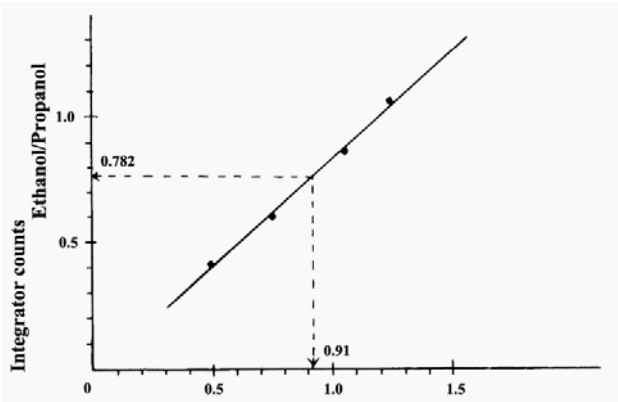
ตัวอย่างที่ 6.11 ในการวิเคราะห์หาปริมาณเอธานอลในเลือด โดยวิธี internal standard ทำโดยเตรียมสารละลายมาตรฐานเอธานอลให้มีความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ 0.5, 0.75, 1.0, 1.25 และ 1.5 mg/cm^3 นำสารละลายมาตรฐานเหล่านี้ และตัวอย่างเลือดมา 1 cm^3 เจือจางด้วย 0.1 mg/cm^3 ของ propan-2-ol เป็น 10 cm^3 จากนั้นทำโครมาโตแกรมโดยฉีดสารละลายมาตรฐานและสารตัวอย่างครั้งละ 1 μl ลงในเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟีที่ใช้คอลัมน์ PEG-400 อุณหภูมิ 80 $^{\circ}C$ ดีเทคเตอร์ FID ข้อมูลที่ได้มีดังนี้

	Integrator counts	
	Ethanol peak	Propanol peak
Ethanol standards :		
0.5 mg/cm^3	5518	12754
0.75 mg/cm^3	7563	11893
1.0 mg/cm^3	10350	12084
1.25 mg/cm^3	13935	12870
1.5 mg/cm^3	15628	12314
Blood sample	9862	12604

วิธีทำ

จากข้อมูลที่ได้ให้หาอัตราส่วนของค่าที่นับได้ระหว่าง Ethanol peak/propanol peak แล้วนำไปพลอตกราฟเทียบกับความเข้มข้นของเอธานอล

	Integrator counts		
	Ethanol peak	Propanol peak	Ethanol/Propanol
Ethanol standards :			
0.5 mg/cm^3	5518	12754	5518/12754 = 0.433
0.75 mg/cm^3	7563	11893	7563/11893 = 0.634
1.0 mg/cm^3	10350	12084	10350/12084 = 0.857
1.25 mg/cm^3	13935	12870	13935/12870 = 1.05
1.5 mg/cm^3	15628	12314	15628/12314 = 1.27
Blood sample	9862	12604	9862/12604 = 0.782



จากกราฟอ่านความเข้มข้นของเอธานอลในสารตัวอย่างเลือดได้ = 0.91 mg/cm^3

เครื่องมือก๊าซโครมาโตกราฟีได้ถูกพัฒนา และปรับปรุงอยู่ตลอดเวลาเพื่อให้ได้เครื่องมือที่มีประสิทธิภาพสูงขึ้น การแยกดีขึ้น ใช้ได้กับขนาดของสารตัวอย่างที่น้อยลง และมีขนาดไม่ใหญ่จนเกินไป ซึ่งเป็นการแข่งขันกันทางการค้าของบริษัทผู้ผลิต บางบริษัทใช้เครื่องคอมพิวเตอร์ควบคุมการทำงานของเครื่องด้วย ซึ่งทำให้ประสิทธิภาพของเครื่องสูงขึ้น แต่ในขณะเดียวกันราคาก็สูงขึ้นด้วย ปัจจุบันเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟีได้ถูกพัฒนามาจนทำให้ลักษณะของโครมาโตแกรมที่ได้ใกล้เคียงกับโครมาโตแกรมในอุดมคติมาก ดังนั้นวิธีการวิเคราะห์โดยวัดพื้นที่ของพีกตามแบบต่างๆ ที่กล่าวมาจึงเป็นวิธีที่ล้าสมัยไม่สามารถนำมาใช้ได้กับโครมาโตแกรมที่ได้นี้ ส่วนใหญ่แล้วเครื่องมือจะมีส่วนของอิเล็กทรอนิกส์อินทิเกรเตอร์แบบนับตัวเลข (digital) ต่อเข้าไปด้วย ซึ่งตัวเลขที่นับได้จะสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณของสาร ทำให้การวิเคราะห์สะดวกและรวดเร็วมาก ก๊าซโครมาโตกราฟีสามารถประยุกต์ใช้กับงานวิเคราะห์สารประเภทต่างๆ ได้มากมาย ตัวอย่างของงานที่ประยุกต์ใช้สำหรับการวิเคราะห์สารจำพวกยาปราบศัตรูพืชชนิด organochloro pesticide ซึ่งมีสภาวะของการทดลองดังนี้ (Experimental condition)

เครื่องมือ	Packard 433 series Gas chromatography
ดีเทคเตอร์	Packard Model 902 Electron Capture Detector
ก๊าซตัวพา	Nitrogen P = 100 kPa
อัตราการไหล	bypass (N_2) 40 cm^3/min

air-cooling (OCI) 500 cm^3 / min

คอลัมน์ Fused silica

Length 25 m.

i.d. 0.23 mm.

Stationary phase CP.-sil 5 CB

Film thickness 0.14 μm

อุณหภูมิ Detector 300° C

Oven 90° C (1.5 min) $\xrightarrow{30^\circ C/min}$ 180° C

$\downarrow$ 3.5° C / min

225° C (1 min)

เข็มฉีดสารตัวอย่าง SGE 5 μl 5A-SOC-100

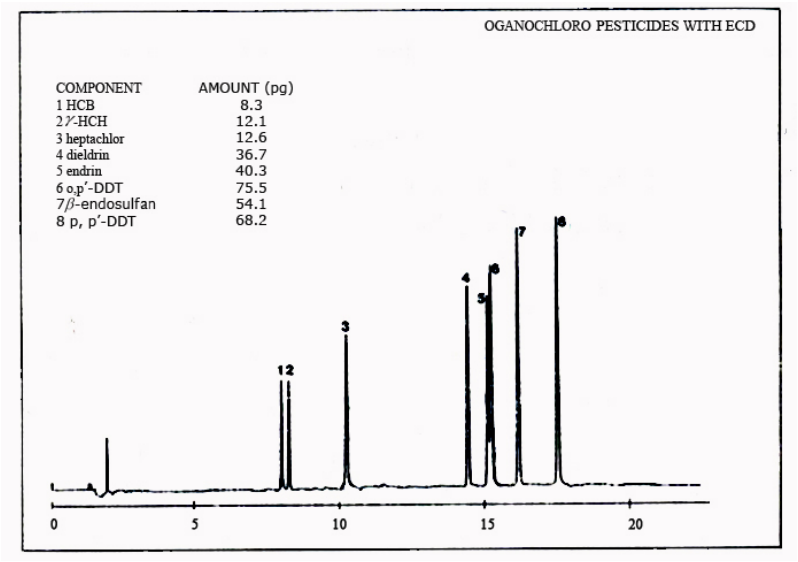
fused silica needle ; effective length 100 mm.

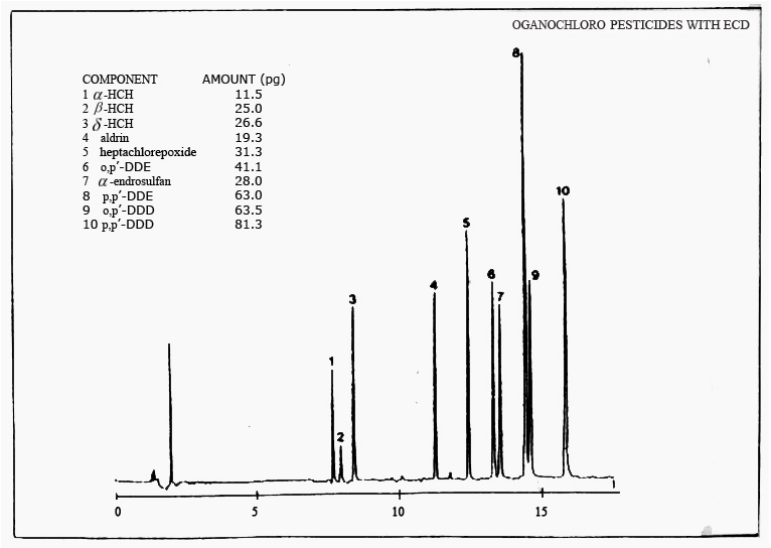
o.d. 0.17 mm.

ปริมาตรของสารตัวอย่างที่ฉีดเข้าไป 0.5 μl และ 0.45 μl

อัตราเร็วของกระดาษบันทึก (Chart speed) 1 cm/min

ผลที่ได้จากการทดลองแสดงไว้ในรูปที่ 6.21





รูปที่ 6.21 ผลที่ได้จากการทดลองยาปราบศัตรูพืช

แบบฝึกหัดบทที่ 6

1. สารผสมของ 1, 1, 1-trichloroethane และ Carbontetrachloride ถูกจำแนกออกจากกันโดยวิธีก๊าซโครมาโตกราฟี ใช้คอลัมน์ยาว 10 ฟุต ได้ข้อมูลดังนี้

   t_{air} = 10 วินาที

   t_{R_1} (1, 1, 1-trichloroethane) = 250 วินาที

   t_{R_2} (Carbontetrachloride) = 300 วินาที

   ความกว้างของพีกที่ 1 (W_1) = 8 วินาที

   ถ้าต้องการให้การแยก (resolution) มีค่าเท่ากับ 1.5 ต้องใช้จำนวนเพลตตามทฤษฎีอย่างน้อยเท่าไร และคอลัมน์ควรยาวอย่างน้อยเท่าไร

2. ในการทดลองก๊าซโครมาโตกราฟี ความดันของก๊าซก่อนเข้าคอลัมน์มีค่าเท่ากับ 5 atm และหลังจากออกคอลัมน์ เท่ากับ 1 atm จงหาความดันเฉลี่ยในคอลัมน์

3. ค่าคงที่ในสมการ Vam Deemter ของคอลัมน์ 2 ชนิด มีค่าดังนี้

	A (cm)	B (cm^2 sec)	C (sec.)
Column 1	0.18	0.40	1.24
Column 2	0.05	0.50	0.10

   a) จงหาว่าคอลัมน์ชนิดใด มีค่าเพลตตามทฤษฎีมากกว่า ถ้าใช้ก๊าซตัวพาที่มีความเร็ว 0.50 cm./sec.

   b) อัตราการไหลของก๊าซตัวพาที่เหมาะสมที่สุด ($U_{opt.}$) ควรมีค่าเท่าไร

4. โดยการใช้ N_2 เป็นก๊าซตัวพา พบว่า ค่าคงที่ในสมการของ Van Deemter มีค่าดังนี้

   A = 0.10 cm

   B = 0.080 cm^2 sec

   C = 0.01 sec

จงสร้างกราฟที่พลอตระหว่างค่า HETP กับค่า U จากค่า U = 1.0 cm/sec. จนถึง 10 cm/sec. โดยมีช่วงเท่ากับ 1.0 cm/sec. และหาค่า $U_{opt.}$ จากกราฟเทียบกับค่า U ที่ได้จากสมการ

$$U = \sqrt{B/C}$$

5. คอลัมน์ที่ใช้ในการแยกไฮโดรคาร์บอนโดยใช้ก๊าซไฮโดรเจนเป็นตัวพา มีความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการไหลของก๊าซตัวพากับค่า HETP ดังนี้

U cm/sec.	HETP (cm)
1.0	0.625
5.0	0.525
8.0	0.7125

จงคำนวณหาค่า A, B, C ของคอลัมน์นี้ และสร้างกราฟที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า HETP กับค่า u

ตอบ A = 0.05 cm.

B = 0.500 cm^2 sec

C = 0.075 sec.

6. จงคำนวณหาการแยกของพีก 2 พีก ซึ่งค่ารีเทนชันไทม์เท่ากับ 18.5 และ 20.9 นาที ความกว้างของพีกเท่ากับ 130 และ 182 วินาที

7. จากข้อมูลของก๊าซโครมาโตกราฟีข้างล่างนี้ จงคำนวณหาค่ารีเลทีฟรีเทนชันของสาร B เทียบกับสาร A

สาร	รีเทนชันไทม์
Air	24 วินาที
A	5.63 นาที
B	7.53 นาที

8. รีเทนชันไทม์ที่แก้ไขโดยหักเวลาของพีกอากาศออกแล้ว มีหน่วยเป็นนาทีของสารประกอบไฮโดรคาร์บอนชนิดเชนตรง โดยใช้อัตราการไหลของก๊าซอัตรา 85 cm^3/min อุณหภูมิของคอลัมน์ 90°C ชนิดของคอลัมน์คือ silicone oil column มีค่าดังนี้

C_1	C_2	C_3	C_4	C_5	C_6	C_7	C_8
0.00	0.12	0.60	1.44	2.80	5.90	11.6	22.8

a) จงคำนวณหาค่ารีเทนชันโวลูมของสารแต่ละชนิด

b) คำนวณรีเลทีฟรีเทนชันของสารแต่ละชนิด

c) พลอตกราฟระหว่าง ค่า log retention time เทียบกับ จำนวนคาร์บอน

9. สารอินทรีย์อัลเคนชนิดเชนตรงถูกนำมาทำก๊าซโครมาโตกราฟี โดยใช้ Squalene เป็นเฟสของเหลวในคอลัมน์ ปรากฏว่าได้ข้อมูลของรีเทนชันไทม์ ดังนี้

สารประกอบ	t_R (sec)
n-Hexane (C_6)	50
n-Octane (C_8)	62
n-Decane (C_{10})	118
n-Dodecane (C_{12})	241

เมื่อนำสารตัวอย่างที่ทราบว่าเป็นอัลเคนชนิดเชนตรงเช่นกันมาทำก๊าซโครมาโตกราฟีแบบเดียวกัน ปรากฏว่าได้รีเทนชันไทม์เท่ากับ 85 วินาที จงหาว่าสารตัวอย่างควรเป็นสารอะไร

ตอบ n-nonane.

10. ค่ารีเทนชันไทม์ที่แก้ไขโดยหักเวลาของพีกอากาศแล้วมีค่าต่อไปนี้ จงหาค่ารีเทนชันอินเด็กซ์ของสารแต่ละชนิด

Ethane	0.25 min	2-Methyl butane	1.2 min
Propane	0.45	Butene-1	0.80
n-Butane	0.95	Hexane-1	2.95
n-Pentane	1.80	Ethylene	0.15
n-Hexane	3.50	Benzene	3.75
n-Heptane	6.95	n-Butanol	8.40
n-Octane	13.7	Water	3.50

11. ข้อมูลต่อไปนี้ได้จากการทำก๊าซโครมาโตกราฟีที่อุณหภูมิคงที่ จงคำนวณหาค่ารีเทนชันอินเด็กซ์จากสมการของ Kavats สำหรับสารประกอบ A , B และ C

สารประกอบ	รีเทนชันไทม์ (นาที)
Air	0.32
n-pentane (C_5H_{12})	0.49
A	6.23
n-Hexane (C_6H_{14})	7.08
B	7.78
n-Heptane (C_7H_{16})	11.52
C	16.24
n-Octane (C_8H_{18})	18.11

โดยการพลอตกราฟระหว่าง ค่า I กับ $\log(t_R - t_m)$ ของข้อมูลข้างบนนี้ จงหาค่ารีเทนชันไทม์ของ n-butane

12. เบนซินที่บริสุทธิ์ 2 μg ถูกนำมาฉีดลงในเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟี ให้พีกที่มีพื้นที่ 25 ตารางเซนติเมตร เมื่อนำสารตัวอย่างผสม 1 μg ฉีดลงในเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟีในสภาวะเดิม ได้พื้นที่พีกของเบนซินมีค่าเท่ากับ 5 ตารางเซนติเมตร จงคำนวณหาว่ามีเบนซินอยู่กี่ไมโครกรัมในสารตัวอย่าง และคิดเป็นกี่เปอร์เซ็นต์

ตอบ 0.4 μg , 40%

13. สารมาตรฐานถูกเตรียมขึ้นโดยใช้สารต่อไปนี้ มีน้ำหนักเท่าๆ กัน คือ n-hexane, n-heptane, n-undecane และ n-tetradecane สารมาตรฐานหนักที่มีน้ำหนักของสารอย่างละ 0.20 μg ถูกฉีดลงในคอลัมน์ได้พื้นที่พีกดังแสดงในตารางข้างล่าง

ปริมาณ μg	สารประกอบ	พื้นที่พีก
0.20	n-hexane	106.9
0.20	n-heptane	102.6
0.20	n-Undecane	80.0
0.20	n-Tetradecane	50.0

เมื่อนำสารตัวอย่างที่ประกอบด้วยสารเหล่านี้เช่นกันมาทำโครมาโตแกรม ปรากฏว่าได้พื้นที่พีก ดังนี้

ปริมาณ μg	สารประกอบ	พื้นที่พีก
?	n-hexane	32.6
?	n-heptane	46.8
?	n-Undecane	73.8
?	n-Tetradecane	84.9

จงคำนวณหาเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของสารต่างๆ นี้

14. ข้อมูลในการทำก๊าซโครมาโตกราฟีของสารตัวอย่าง และสารมาตรฐานที่มีความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้

ความเข้มข้น	พื้นที่ของพีก
0.200	1.43
0.400	2.86
0.600	4.29
0.800	5.73
1.000	7.16
Sample	4.10

จงคำนวณหาความเข้มข้นของสารตัวอย่าง

15. โดยการใช้เทคนิคของวิธีการเติมสารมาตรฐานในการวิเคราะห์หาปริมาณของสาร โดยวิธีก๊าซโครมาโตกราฟี จากข้อมูลข้างล่างนี้ จงหาความเข้มข้นของสารตัวอย่าง

ความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติม mg/cm^3	พื้นที่พีก
0 (pure sample)	3.72
1.23	7.00
3.47	12.70

ความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติม mg/cm^3	พื้นที่พีก
4.89	16.30
6.24	20.01
7.15	22.75

16. สารตัวอย่างผสมของ Chlorinated hydrocarbon ถูกนำมาทำก๊าซโครมาโตกราฟี โดยใช้ดีเทคเตอร์ชนิด TCD สารมาตรฐานที่ทราบส่วนประกอบถูกนำมาทำการทดลองได้ข้อมูลทั้งหมดดังนี้

สารมาตรฐาน	wt (μg)	พื้นที่พีกสารมาตรฐาน	พีกสารตัวอย่าง
Chloroethane	0.40	111.0	82.3
1-Chloropropane	0.40	112.3	ไม่มีพีก
1-Chloropentane	0.40	87.3	125.2
1-Chloroheptane	0.40	78.4	180.0

จงคำนวณหาเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของสารตัวอย่างโดยวิธีเทียบกับสารมาตรฐานและโดยวิธี Internal normalization

ตอบ วิธีเทียบกับสารมาตรฐาน 17, 32, 51 วิธี Internal normalization 21, 32, 47