บทที่ ๖

แก๊สโครมาโทกราฟี

Gas Chromatography

(GC)

บทที่ 6

แก๊สโครมาโทกราฟี

(Gas Chromatography , GC)

แก๊สโครมาโทกราฟี เป็นเทคนิคหนึ่งของการแยกทางโครมาโทกราฟี ที่ใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นแก๊ส นิยมใช้กันอย่างกว้างขวาง ทั้งในวงการอุตสาหกรรม การศึกษา และการวิจัย เพราะมีความสามารถในการแยกและวิเคราะห์องค์ประกอบที่ซับซ้อนได้ มีความเฉพาะเจาะจงและความไวสูง ให้ผลเที่ยงตรงและรวดเร็ว มีเทคนิคในการวิเคราะห์ 2 วิธี คือ

การใช้เฟสอยู่กับที่เป็นของแข็ง เรียกว่า " gas-solid chromatography " (GSC)

การใช้เฟสที่อยู่กับที่เป็นของเหลว เรียกว่า " gas-liquid chromatography " (GLC)

เทคนิคของ GLC เป็นที่นิยมมากกว่า GSC

แก๊สโครมาโทกราฟีใช้ได้กับสารประกอบอินทรีย์ที่สามารถระเหยกลายเป็นไอได้ง่าย โดยทั่วไปไม่ใช้วิธีแก๊สโครมาโทกราฟีสำหรับการวิเคราะห์สารประกอบอนินทรีย์ นอกจากการวิเคราะห์พิเศษสำหรับ inorganic gas เพราะสารประกอบอนินทรีย์ไม่สามารถกลายเป็นไอได้ในอุณหภูมิที่ทำการทดลอง

เมื่อสารตัวอย่างถูกทำให้เป็นไอที่ inlet จะถูกพาเข้าไปในคอลัมน์ด้วยแก๊สตัวพา ซึ่งเป็นแก๊สเฉื่อยไม่ทำปฏิกิริยากับตัวอย่าง สารตัวอย่างผสมจะแยกออกจากกันได้โดยอาศัยหลักการ " likes dissolve likes " ของตัวอย่างกับเฟสอยู่กับที่ ดังนั้นการแยกจะเกิดขึ้นดีหรือไม่ขึ้นอยู่กับชนิดของคอลัมน์และสารตัวอย่าง

การพัฒนาการวิเคราะห์โดยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟีได้เกิดขึ้นตั้งแต่ปี ค.ศ.1952 โดย Martin และ James ตั้งแต่นั้นมาการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ของ GC ก็มีขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะในระหว่างปี ค.ศ. 1960 ได้เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างมากใน GC คือเปลี่ยนจากการใช้ packed column มาเป็นใช้ capillary column หรือ open tubular column ทำให้ส่วนประกอบของเครื่องมือ GC ในปัจจุบันมีการออกแบบให้สามารถใช้งานได้กับคอลัมน์ทั้งสองชนิด สำหรับการใช้ open tubular column หรือ capillary column จะเป็นที่ต้องการมากกว่าเพราะให้ผลการวิเคราะห์

ที่ดีกว่าคือ ประสิทธิภาพของการแยกดี ใช้ได้กับปริมาณตัวอย่างขนาดน้อยลง อัตราการไหลของตัวพาน้อยลง detector ตรวจวัดได้ไวขึ้น ปัจจุบันพัฒนาการและความก้าวหน้าของเครื่องมือสำหรับการใช้ capillary column มีขึ้นอย่างมากและรวดเร็ว เครื่องมือควบคุมการทำงานด้วย microelectronics ทุกส่วนตั้งแต่การฉีดสารตัวอย่าง อัตราการไหลของแก๊ส อุณหภูมิของคอลัมน์ อุณหภูมิของตัวตรวจวัด และทั้งหมดนี้สามารถสั่งงานได้ด้วยเครื่องคอมพิวเตอร์

วิธีแก๊สโครมาโทกราฟีสามารถใช้ในการวิเคราะห์ทั้งทางคุณภาพและปริมาณ โดยหลักการของการวิเคราะห์ทางคุณภาพในโครมาโทกราฟีทั่วๆ ไป สามารถพิสูจน์เอกลักษณ์ของตัวอย่างได้โดยการเทียบค่ารีเทนชันไทม์ แต่ใน GC พบว่า อุณหภูมิและ Flow rate มีผลอย่างมากต่อการเปลี่ยนแปลงค่า t_R ดังนั้นถ้าเครื่องมือ GC ไม่สามารถควบคุมอุณหภูมิและ flow rate ให้มีความเที่ยงสูงได้ ควรใช้ term specific retention volume (V_g) ปัจจุบันมีความก้าวหน้าของวิทยาการการผลิตเครื่องมือ GC อย่างมาก ทำให้มีความเที่ยงของระบบสูง ดังนั้นจึงสามารถใช้การเปรียบเทียบค่า t_R ในการวิเคราะห์ได้

$$V_g = \frac{V^O_R - V^O_m}{W} \times \frac{273}{T_C} \qquad \text{———— (6.1)}$$

$$= \frac{j\,F\,(t_R - t_m)}{W} \times \frac{273}{T_C} \qquad \text{———— (6.2)}$$

W คือน้ำหนักของเฟสอยู่กับที่

เมื่อ $V_R = t_R F$ ———— (6.3)

$V_m = t_m F$ ———— (6.4)

F = average flow rate ที่ผ่านเข้าไปในคอลัมน์

V^O_k คือ corrected retention volumes

$V^O_R = j\,t_R F$ ———— (6.5)

$V^O_m = j\,t_m F$ ———— (6.6)

เมื่อ F หาได้จาก

$$F = F_m \times \frac{T_c}{T} \times \left(\frac{P - P_{H_2O}}{P} \right) \qquad \text{———— (6.7)}$$

P = gas pressure at the end of column (ความดันขาออก)

P_{H_2O} = vapour pressure ~ 27 torr

F_m = measurement flow rate (วัดขาออกจากคอลัมน์)

T_C = column temperature

T = temperature at the meter (room temperature)

เทอม J หาได้จาก

$$J = \frac{3}{2} \left[\frac{(P_i / P)^2 - 1}{(P_i / P)^3 - 1} \right] \qquad \text{———— (6.8)}$$

P_i = ความดันขาเข้า

P = ความดันขาออก

สามารถหาความสัมพันธ์ระหว่างค่า V_g กับค่า K (distribution coefficient) ได้ดังนี้ จากสมการที่ 6.2

$$V_g = \frac{j F t_m k'}{W} \times \frac{273}{T_C} \qquad \text{———— (6.9)}$$

เพราะว่า $k' = \frac{t_R - t_m}{t_m}$

$$= \frac{V^o_m k'}{W} \times \frac{273}{T_C} \qquad \text{———— (6.10)}$$

ให้ $V^o_m \cong V_m$

$$= \frac{K V_s}{W} \times \frac{273}{T_C} \qquad \text{———— (6.11)}$$

เมื่อ $k' = \frac{K V_s}{V_m}$

ความหนาแน่นของเฟสที่อยู่กับที่คือ $\rho_s = \frac{W}{V_s}$

$$\therefore \quad V_g = \frac{K}{\rho_s} \times \frac{273}{T_C} \qquad \text{---------- (6.12)}$$

<u>ตัวอย่าง</u> เงื่อนไขในการ run chromatogram ของตัวอย่างมีดังนี้

Column	:	1.25 m x 2.0 mm บรรจุด้วย chromosorb P ; น้ำหนัก เฟส อยู่ กับที่ paraffin 2.43 g ; ความหนาแน่น 0.796 g/ml
Pressure	:	inlet 18.3 psi เหนือแรงดันขาออก 768 torr
Outlet flow rate	:	31.3 ml/min
Temperature	:	room 19.6 °C , column 90.3 °C
Retention time	:	air 0.395 min
Retention time and peak widths	:	i-propylamine 4.59 and 0.365 min ; n-propylamine 4.91 and 0.382 min

จงคำนวณหา

a). ค่าเฉลี่ยของอัตราการไหล (F)

b). The corrected retention volume ของอากาศและอามีน 2 ชนิด

c). The specific retention volumes ของอามีน 2 ชนิด

d). Partition coefficients ของอามีน 2 ชนิด

<u>วิธีทำ</u>

a). จากสูตร

$$F = F_m \times \frac{T_c}{T} \times \left(\frac{P - P_{H_2O}}{P} \right)$$

T_C = 273 + 90.3 = 363.3

T = (หมายถึง room temperature) 273 + 19.6 °C = 292.6 °K

P = 768

P_{H2O} = 27 torr

$$\therefore \quad F = 31.3 \times \frac{363.3}{292.6} \times \left(\frac{768 - 27}{768} \right)$$

$$= 32.44 \text{ ml/min}$$

b). $V^O_R = j\, t_R\, F$ ——— (1) } Corrected retention

$V^O_m = j\, t_m\, F$ ——— (2) } Volumn

เมื่อ

$$J = \frac{3}{2}\left[\frac{(Pi \;/\; P)^2 - 1}{(Pi \;/\; P)^3 - 1} \right] \qquad \text{——— (3)}$$

โจทย์ $P_i > P$ = 18.3 psi

ความดัน 18.3 psi = $18.3 \times \frac{760}{14.7}$ = 946.12 torr

$\therefore \quad P_i = 946.12 + 768 = 1714.12$ torr

P = 768

แทนค่า P_i และ P ลงใน (3)

$$J = \frac{3}{2}\left[\frac{(1714.12 \;/\; 768)^2 - 1}{(1714.12 \;/\; 768)^3 - 1} \right]$$

$$J = \frac{3}{2}\left[\frac{(2.23)^2 - 1}{(2.23)^3 - 1} \right]$$

$$J = \frac{3}{2}\left(\frac{4.97}{11.09} \right) = 0.224$$

แทนค่า J และ F ลงใน (1) และ (2)

$\therefore$ V^{O}_{m} (air) = 0.224 x 0.395 x 32.44 = 2.87

V^{O}_{R} (i-propylamine) = 0.224 x 4.59 x 32.44 = 33.35

V^{O}_{R} (n-propylamine) = 0.224 x 4.91 x 32.44 = 35.68

c). จากสูตร

$$V_g = \frac{V^{O}_{R} - V^{O}_{m}}{W} \times \frac{273}{T_C}$$

$$V_g \text{ (i-propylamine)} = \frac{33.35 - 2.87}{2.43} \times \frac{273}{363.3} = 9.43$$

$$V_g \text{ (n-propylamine)} = \frac{35.68 - 2.87}{2.43} \times \frac{273}{363.3} = 10.15$$

d). จากสูตร

$$V_g = \frac{K}{\rho_S} \times \frac{273}{T_C}$$

$$\therefore \quad K = V_g \times \rho_S \times \frac{T_C}{273}$$

$$K \text{ (i-propylamine)} = \frac{9.43 \times 0.796 \times 363.3}{273} = 9.98$$

$$K \text{ (n-propylamine)} = \frac{10.15 \times 0.796 \times 363.3}{273} = 10.75$$

หรือคิดจาก

$$k' = \frac{K V_S}{V_m} \qquad \therefore \quad K = k' \frac{V_m}{V_S}$$

$$\rho_S = \frac{W}{V_S} \qquad \therefore \quad V_S = \frac{W}{\rho_S}$$

นั่นคือ $K = \frac{k' \rho_S V_m}{W}$

เมื่อ $V_m \cong V^0_m$ และ $k' = \frac{t_R - t_m}{t_m}$

จะได้ $K = \left(\frac{t_R - t_m}{t_m} \right) \times \frac{\rho_S \times V^0_m}{W}$

นั่นคือ

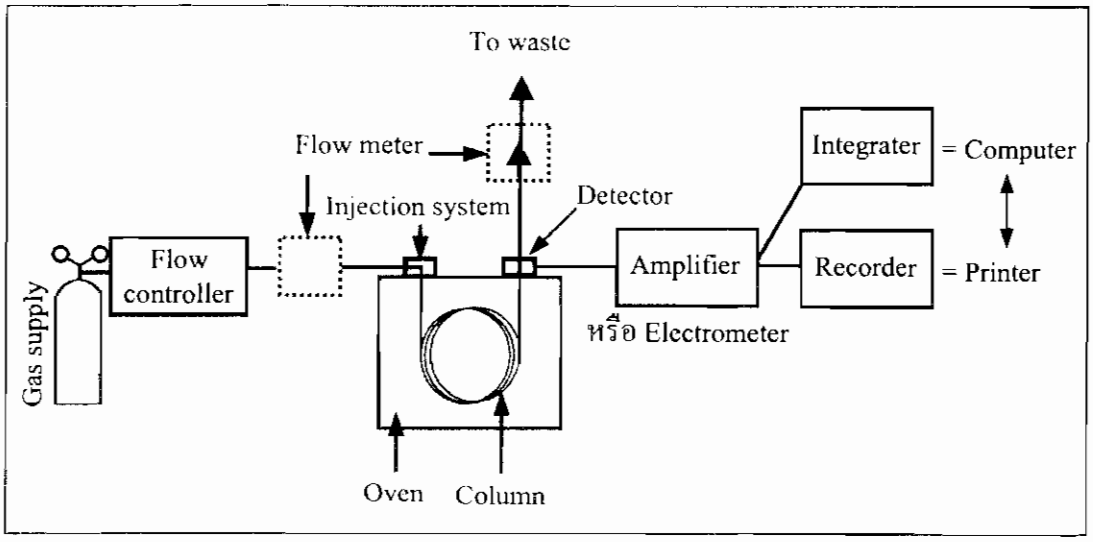
$$K_{(\text{i-propylamin e})} = \left(\frac{4.59 - 0.395}{0.395} \right) \times \frac{0.796 \times 2.87}{2.43} = 9.98$$

$$K_{(\text{n-propylamin e})} = \left(\frac{4.91 - 0.395}{0.395} \right) \times \frac{0.796 \times 2.87}{2.43} = 10.75$$

Gas Chromatography Instrumentation

เครื่องมือ GC ประกอบด้วย

- แก๊สตัวพา (Carrier gas)
- ส่วนฉีดสารตัวอย่าง (sample introduction / injection system)
- คอลัมน์และเตาให้ความร้อน (column and oven)
- ตัวตรวจวัด (detector)
- ตัวขยายสัญญาณ (amplifier and signal processing)
- ส่วนประมวลผลและบันทึกข้อมูล (integrator and recorder)



รูปที่ 6.1 แสดงส่วนประกอบของเครื่องมือ GC

แต่ละส่วนประกอบของเครื่องต้องมีคุณลักษณะและรายละเอียดดังนี้

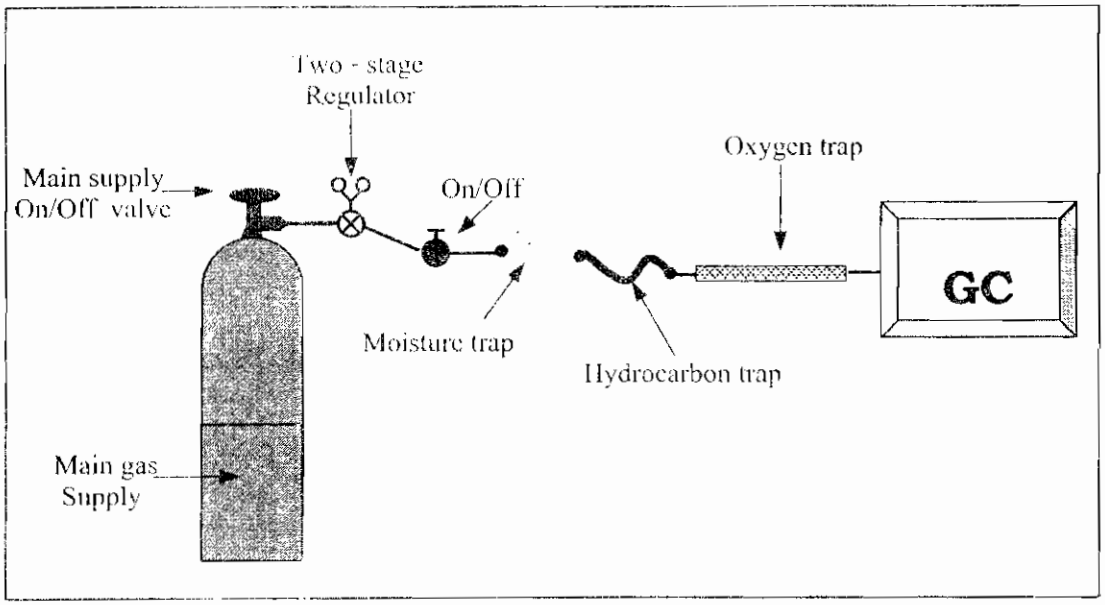
1. <u>แก๊สตัวพา</u> (Carrier gas)

แก๊สตัวพาต้องเฉื่อยต่อสารตัวอย่าง อนุภาคของตัวพาจะทำหน้าที่พาโมเลกุลของสารตัวอย่างออกจากคอลัมน์ สู่ตัวตรวจวัด การหน่วงเหนี่ยวเกิดขึ้นเนื่องจากเกิดอันตรกิริยา (interaction) ระหว่างตัวอย่างกับเฟสที่อยู่กับที่ การเลือกตัวพาเป็นสิ่งที่สำคัญมาก เพราะจะมีผลต่อกระบวนการแยกและสมรรถนะของตัวตรวจวัด แก๊สที่มีค่าสัมประสิทธิ์ของการแพร่กระจายต่ำ (distribution coefficient) เช่น H_2 และ He จะให้ผลของการแยกดีกว่าแก๊สที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง เช่น N_2 , CO_2 และ Ar อัตราส่วนของความหนืดและสัมประสิทธิ์การแพร่กระจาย (ขึ้นอยู่กับขนาดโมเลกุล น้ำหนักโมเลกุลน้อยจะมีค่าสัมประสิทธิ์ของการแพร่กระจายมาก) ที่มีค่าน้อยจะให้ผลการวิเคราะห์ได้เร็ว ดังนั้น H_2 และ He จึงเหมาะที่จะเป็นแก๊สตัวพา ดังแสดงในตารางที่ 6.1 สำหรับ He จะเป็นที่นิยมใช้มากกว่า

ตารางที่ 6.1 ความหนืด (Viscosity) และค่าการนำความร้อน (thermal conductivities) ของ GC gases ที่อุณหภูมิ 100 °C

Gas	Molecular weight	Viscosity , η x 10^{-4}(μp)	Thermal conductivity (cal $s^{-1}cm^{-2}$ °Ccm^{-1}) x 10^{-4}
CO_2	44	189	42
Ar	40	269	44
O_2	32	256	66
N_2	28	219	64
He	4	228	369
H	2	108	459
Methane	16	-	86
Ethanol	46	-	35

มลทิน ความชื้น ออกซิเจน และ hydrocarbon gases ที่มีปะปนมาปริมาณน้อยๆ ในแก๊สตัวพาอาจทำปฏิกิริยากับตัวอย่างหรือทำให้คอลัมน์เกิด deterioration และมีผลต่อสมรรถนะของตัวตรวจวัด ดังนั้นแก๊สที่นำมาใช้ต้องบริสุทธิ์ถึง 99.9995 % ซึ่งทำได้โดยให้แก๊สตัวพาผ่านชุดอนุกรมของการดักจับ moisture , oxygen และ hydrocarbon ก่อนผ่านเข้าเครื่อง GC ดังแสดงในรูปที่ 6.2



รูปที่ 6.2 แสดงส่วนประกอบที่ใช้ในการควบคุมแก๊สตัวพาก่อนเข้าเครื่อง GC

การไหลของแก๊สตัวพาออกจากถังบรรจุจะถูกควบคุมและวัดอัตราการไหลได้ด้วย

(1) Needle valve or flow controller

(2) Mobile ball flow meter

(3) Soap bubble flow meter

2. Sample introduction

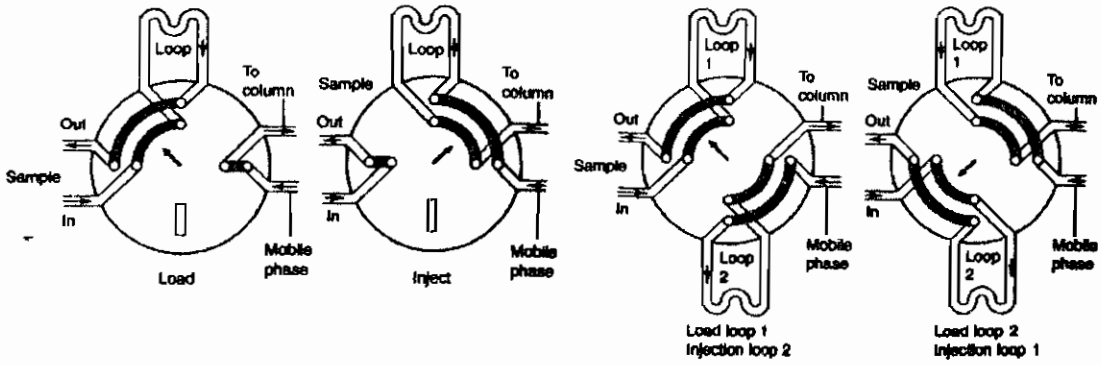
สารตัวอย่างที่จะถูกนำเข้าไปในเครื่องมือแก๊สโครมาโทกราฟีมีได้ 2 สถานะ คือ

- สถานะภาพที่เป็นไอหรือแก๊ส (Gaseous samples)
- สถานะภาพที่เป็นของเหลว (Liquid sample)

2.1 Gaseous samples

การนำตัวอย่างที่เป็นไอฉีดเข้าเครื่อง GC สามารถทำได้ดังนี้

2.1.1 ถ้าสารตัวอย่างเป็นแก๊สที่อัดแน่นในถังบรรจุ (pressurised containers) สามารถปล่อยเข้าไปใน sample valve ดังแสดงในรูปที่ 6.3



(a) **(b)**

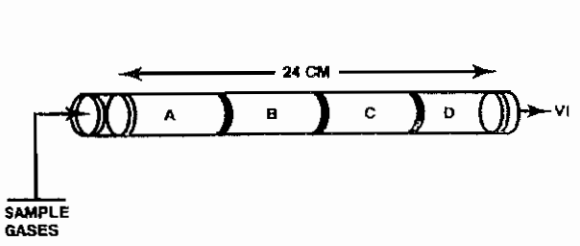
รูปที่ 6.3 การฉีดสารตัวอย่างที่เป็นแก๊สโดยใช้ multiport switching valve 2 ชนิด คือ

a. การทำงานของ switching valve แบบ loop เดียว

b. การทำงานของ switching valve แบบ 2 loop

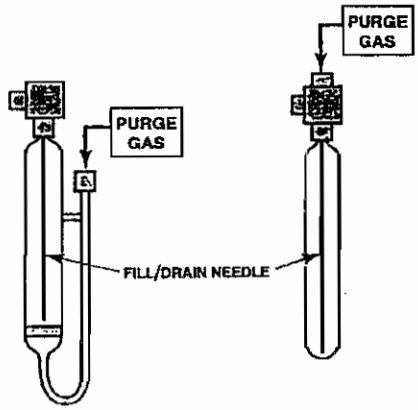
2.1.2 ถ้ามีขั้นตอนของการเตรียมตัวอย่างให้เป็นแก๊ส การฉีดสารตัวอย่างจะสัมพันธ์กับเทคนิคที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่างด้วย ซึ่งมีอยู่ 2 วิธี คือ purge and trap และ headspaee โดยเครื่อง GC ต้องมี volatiles interface ในระบบ inlet

(1) Purge and Trap (P&T) เหมาะสำหรับการวิเคราะห์สารที่มีจุดเดือดต่ำหรือกลุ่มสารอินทรีย์ที่เป็นไอได้ง่าย (volatile organic compounds , VOCs) ที่ละลายอยู่ในตัวทำละลายน้ำ หลักการคือผ่าน purge gas เข้าไปใน purge tube ดังรูปที่ 6.5 ไอของตัวอย่างจะถูกไล่ออกจากตัวทำละลายและถูก trap ด้วยตัวดูดซับที่เหมาะสม ดังรูปที่ 6.6 เมื่อผ่านแก๊สตัวพาเข้าไปยังตัว trap โดยการหมุนวาล์วแก๊สตัวอย่างจะเกิดการ desorption ออกมาแล้วถูกพาเข้าเครื่อง GC ดังแสดงขั้นตอนในรูปที่ 6.7 โดยระบบทั้งหมดสามารถทำได้อัตโนมัติ (automatic) และเป็นระบบปิดที่ไม่เกิดการสูญเสียสารตัวอย่าง



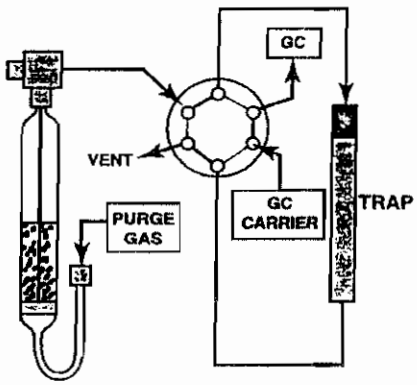
Trap

รูปที่ 6.4



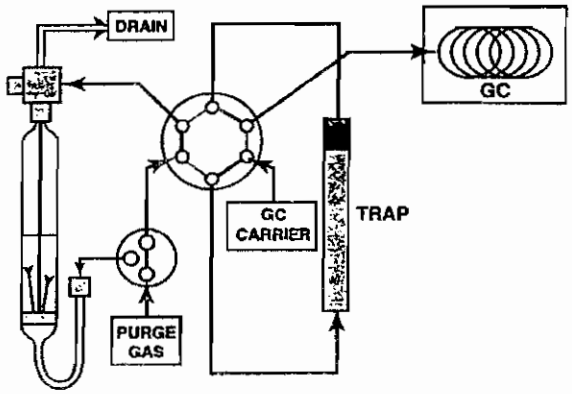
Purge tube

รูปที่ 6.5



ขั้นตอนการ trap

รูปที่ 6.6



ขั้นตอนการ desorp

รูปที่ 6.7

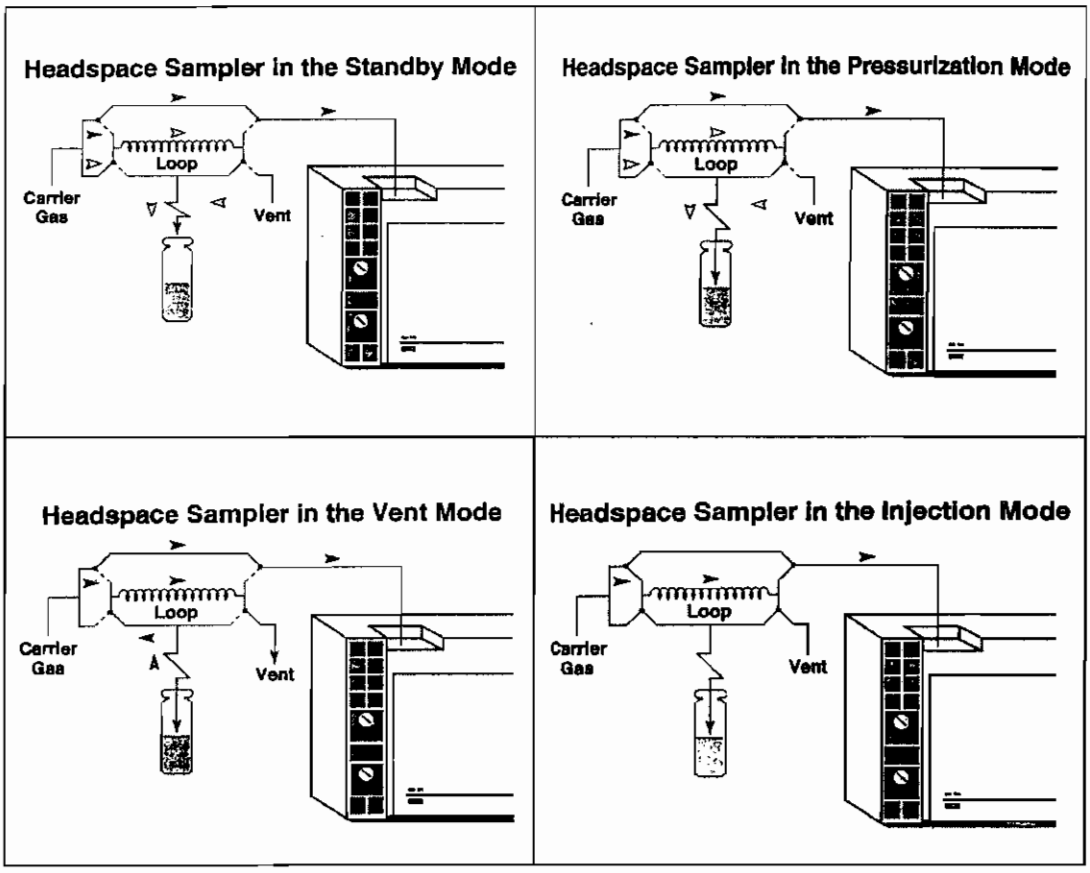
รูปที่ 6.4 – 6.7 การวิเคราะห์ด้วยวิธี purge and trap ต้องควบคุม

- flow rate ของ purge gas
- purge time
- sample volume
- desorption temperature

(2) Head space technique ใช้ได้กับตัวอย่างที่มีสถานะเป็นทั้งของเหลวและของแข็ง ที่มีสารที่ต้องการวิเคราะห์เป็นสารอินทรีย์ที่ระเหยง่าย (VOCs) ตัวอย่างจะถูกบรรจุในขวดที่มีฝาปิดสนิท (head space vial) เมื่อให้ความร้อน ตัวอย่างจะถูกทำให้กลายเป็นไอลอยอยู่ในที่ว่างของ vial จากนั้นนำตัวอย่างฉีดเข้าเครื่องได้ 2 วิธี ดังแสดงในรูปที่ 6.8

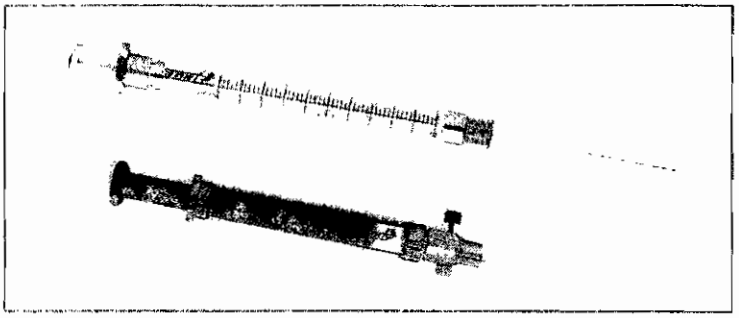
1. ใช้ชุดของเครื่องมือที่เรียกว่า head space auto sampler ที่ทำงานได้อย่างอัตโนมัติ ควบคุมการทำงานได้อย่างแม่นยำ มีขั้นตอนในการทำงาน 4 ขั้นตอนคือ

- Head space sampler in the standby mode
- Head spacc sampler in the pressurisation mode
- Head spacc sampler in the vent mode
- Head space sampler in the injection mode



รูปที่ 6.8 แสดงขั้นตอนในการฉีดสารตัวอย่างโดยใช้เทคนิคของ head space

2. ใช้ gastight syringe เมื่อต้องการฉีดไอของตัวอย่างบน head space ด้วยมือเราเอง ผ่าน silicone rubber septum ซึ่งเรียกว่าฉีดแบบ manual สามารถทำได้โดยใช้ gastight syringe ซึ่งมีหลายขนาด ดูดไอของสารตัวอย่างออกจาก head space vial แล้วฉีดเข้าเครื่องโดยผ่าน septum วิธีการนี้ผู้ทดลองต้องเป็นผู้ที่มีความชำนาญ และการฉีดทุกครั้งต้องทำได้เหมือนๆ กันคือต้องมีความเที่ยงตรงในการฉีดสูง ถ้าผู้ทดลองขาดความชำนาญจะไม่สามารถทำการวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้ได้ ทุกขั้นตอนต้องทำด้วยความสม่ำเสมอ ในกรณีที่ไม่ได้ลงทุนซื้อเครื่อง head space auto sampler วิธีการนี้ก็สามารถใช้งานได้ถูกต้องและเที่ยงตรงพอยอมรับได้



รูปที่ 6.9 gas-tigth syringe

การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค head space ต้องควบคุมพารามิเตอร์ต่างๆ ที่เกี่ยวข้องในการทำให้สารตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์กลายเป็นไอ ดังนี้คือ

1 ปริมาณของตัวอย่างที่บรรจุใน vial

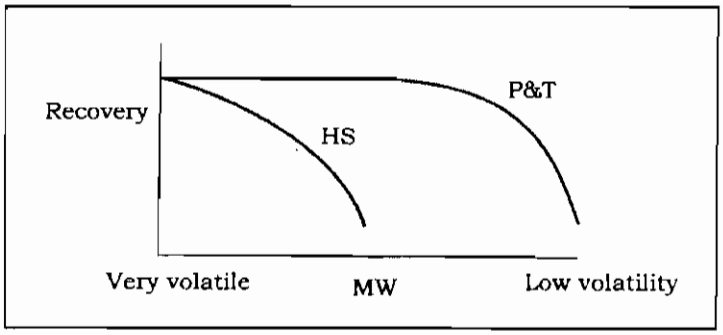
2 pH ของสารละลายตัวอย่าง

3. อุณหภูมิต้องสูงพอที่จะทำให้ตัวอย่างกลายเป็นไอได้

4. เวลาที่ใช้ต้องให้ไอของสารตัวอย่างฟุ้งกระจายจนถึงสมดุล (static head space)

5. ปริมาณเกลือที่เติม (salting out)

ถ้าเปรียบเทียบผลของการกลับคืน (recovcries) ของวิธีการนำตัวอย่างที่เป็นแก๊สเข้าเครื่อง GC โดยวิธี purge and trap (P&T) กับวิธี head space (HS) เมื่อตัวอย่างเป็นสารอินทรีย์ที่ระเหยง่ายมาก (very volatile) พบว่าผลของการกลับคืนทั้งสองวิธีจะดีพอๆ กัน แต่ถ้าการระเหยมีค่าลดลงพบว่าวิธีของ P&T จะให้ผลดีกว่า ดังแสดงในรูปที่ 6.10



รูปที่ 6.10 เปรียบเทียบผลการกลับคืนของการวิเคราะห์โดยวิธี purge and trap กับวิธี head space

เมื่อเปรียบเทียบผลในการวิเคราะห์ VOCs ในสิ่งแวดล้อม จะให้ผลดังแสดงในตารางที่ 6.2

ตารางที่ 6.2 ผลการวิเคราะห์ VOCs ในสิ่งแวดล้อมโดยวิธี GC

	Purge & Trap	**Headspace**
Very volatile compounds	Yes	Yes
Low volatility compounds	Yes	No
Method MDL	~1 ppb	10 – 100 ppb
Replicate samples	No	Yes
Method LDR (0.1-10 ppm)	Wide	Limited
Number of target compounds	≤ 84	~40 – 50
Price (US)	$ 10 – 12 K	$ 20 K

2.2 Liquid sample

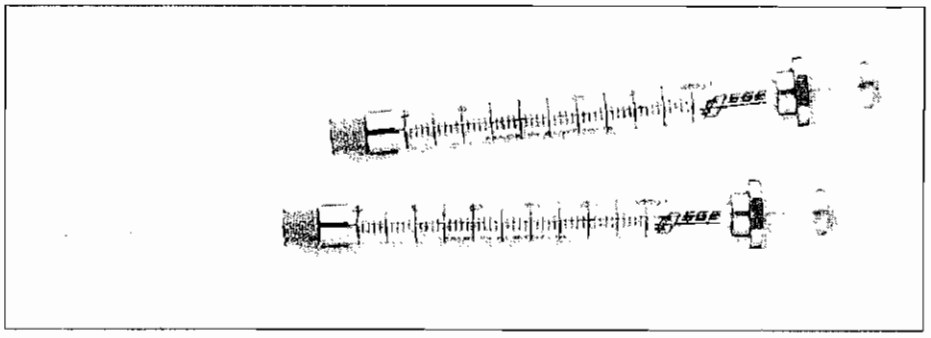
ตัวอย่างของเหลว เตรียมได้จากการละลายสารที่ต้องการวิเคราะห์ (analyte) ในตัวทำละลายที่เหมาะสม ตัวทำละลายที่นำมาใช้ต้องเลือกอย่างระมัดระวังโดยต้องคำนึงถึงสิ่งต่อไปนี้ คือ

- ต้องไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการวิเคราะห์และเฟสอยู่กับที่

- ต้องละลายสารที่ต้องการวิเคราะห์ได้สมบูรณ์และเป็นเนื้อเดียวกัน
- ต้องไม่เกิดการ co-elute กับสารที่ต้องการวิเคราะห์ คือพีกที่ได้ต้องแยกออกจากพีกของสารที่ต้องการวิเคราะห์ได้อย่างสมบูรณ์
- ต้องไม่ติดค้างอยู่ในคอลัมน์
- ปริมาณตัวทำละลายที่ใช้ต้องไม่ overload คอลัมน์

ตัวอย่างที่เป็นของเหลวสามารถนำเข้าเครื่อง GC ได้โดยใช้ micro syringe ดูดสารตัวอย่างของเหลวให้ได้ปริมาตรตามที่ต้องการแล้วฉีดผ่าน silicone rubber septum ซึ่งสามารถทำได้ 2 วิธี คือ

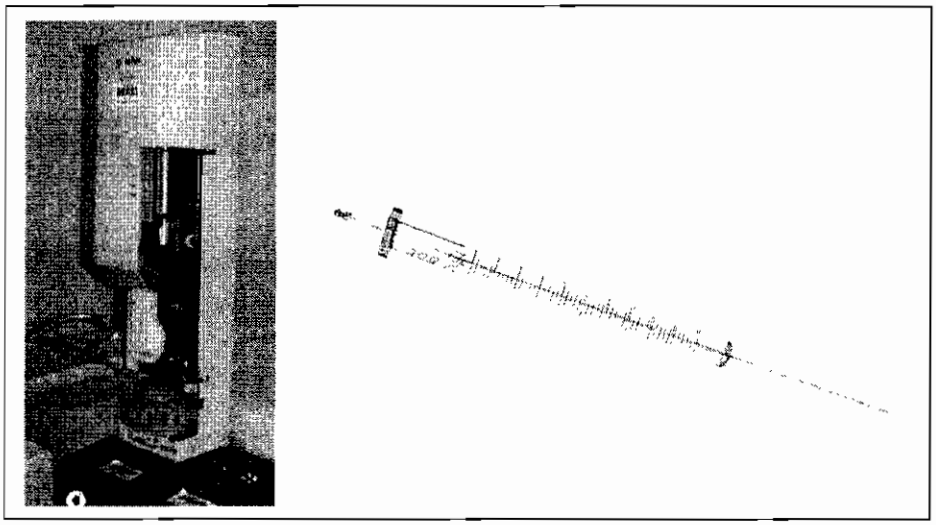
2.2.1 การฉีดด้วยมือ (Manual) ลักษณะของเข็มฉีดแสดงดังรูปที่ 6.11



รูปที่ 6.11 micro syringe for manual injection

การฉีดแบบนี้ผู้ทดลองต้องมีความชำนาญ จึงจะทำให้การวิเคราะห์มีความเที่ยงตรงสูง ข้อเสียของวิธีนี้คือสิ้นเปลือง septum เพราะการฉีดแต่ละครั้งผู้ทดลองไม่สามารถฉีดเข้าที่จุดเดิมได้ ทำให้ septum เกิดการฉีกขาด และแก๊สรั่วได้ง่าย ต้องมีการเปลี่ยน septum บ่อยๆ

2.2.2 การฉีดด้วย auto injector ลักษณะของเข็มและเครื่อง auto injector แสดงในรูปที่ 6.12 การฉีดด้วยเครื่อง auto injector จะให้ผลที่เที่ยงตรงและแม่นยำและสามารถใช้ได้กับปริมาตรของตัวอย่างที่มีจำนวนน้อยกว่า 1 μl ได้ด้วย



รูปที่ 6.12 Auto injector ของเครื่อง GC และ Syringe

เมื่อตัวอย่างของเหลวเข้าเครื่อง GC ลงสู่บริเวณ injection port ที่มีความร้อนสูงพอที่จะทำให้ตัวอย่างกลายเป็นไอ แล้วถูกพาเข้าสู่คอลัมน์ด้วยแก๊สตัวพา ซึ่งเรียกระบบของการพาว่า sample inlet system หรือ injection mode ระบบของการพาตัวอย่างเข้าคอลัมน์มี 5 แบบ คือ

Inlet type	**Gas control**
Split / Splitless	EPC and non EPC
Purged packed	EPC and non EPC
Cool on - column	EPC only
Programmed temperature vaporisation	EPC only

การเลือกระบบของการพา ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ปริมาณสารตัวอย่างที่ต้องการฉีด ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง matrix ในตัวอย่าง ขนาดและชนิดของคอลัมน์

ในระบบการพาตัวอย่างเข้าสู่คอลัมน์โดยแก๊สตัวพาถูกควบคุมด้วย Electronic Pneumatic Control (EPC) ทำให้อัตราการไหลของแก๊สตัวพาคงที่และสม่ำเสมอ

Split / Splitless inlet

Split injection mode

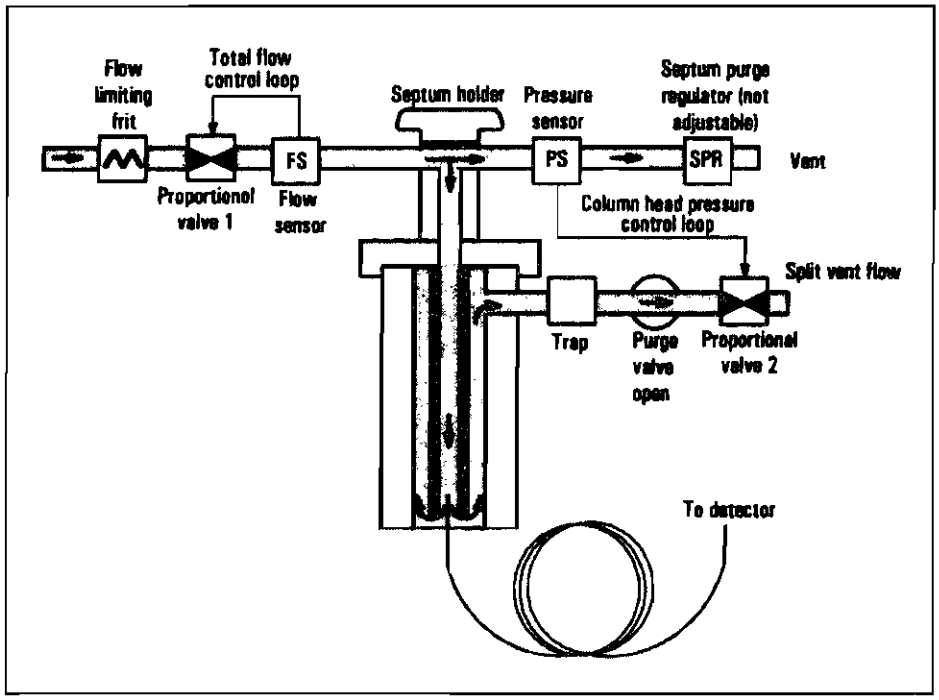
เมื่อสารตัวอย่างที่ฉีดเข้าคอลัมน์มีปริมาณมาก หรือความเข้มข้นสูง อาจทำให้คอลัมน์ overload การแยกไม่ดี พีกซ้อนทับกันและรูปร่างของพีกไม่สมมาตร สามารถปรับปรุงการวิเคราะห์ได้โดยการเลือก split injection mode

คุณลักษณะที่สำคัญของการฉีดแบบ split mode คือ

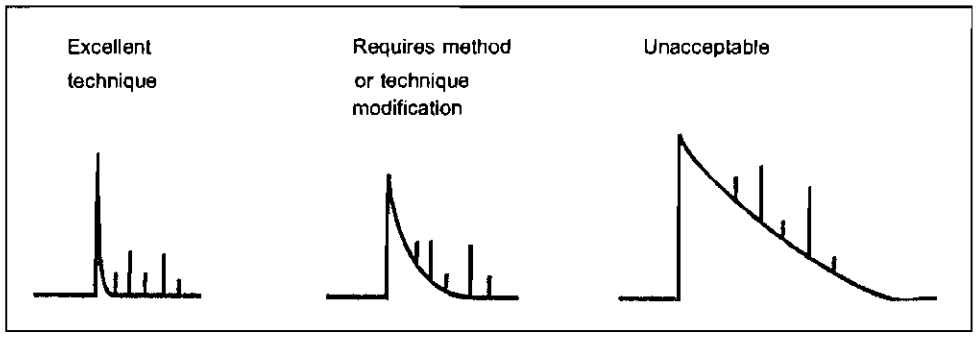
(Characteristics of the split mode of injection)

- ต้องการสารมาตรฐานมาสอบเทียบ (Calibration)
- ให้การแยกดีและรูปร่างพีกที่ได้สมมาตร
- การส่งผ่านไอของตัวอย่างในการฉีดเป็นไปอย่างรวดเร็ว
- ตัวถูกละลายหรือสารที่ต้องการวิเคราะห์มีขนาดเพียง 1-50 ng เท่านั้นที่ผ่านเข้าไปในคอลัมน์
- ต้องฉีดสารตัวอย่างอย่างรวดเร็ว
- ช่วงการ split ที่เหมาะสมคือ 20 – 600 : 1
- ใช้ปริมาตรในการฉีดแต่ละครั้งเพียงเล็กน้อย
- ไม่ต้องมี septum purge หรือมีเพียงเล็กน้อย
- อุณหภูมิที่ injection port สูงกว่าคอลัมน์เพียง 20 °C

$$T_{inj} = (T_{col})_{max} + 20\,^{\circ}C$$



รูปที่ 6.13 แผนผังการทำงานของ split injection mode



รูปที่ 6.14 ลักษณะพีกของตัวทำละลายที่เกิดขึ้นในการฉีดแบบ split mode

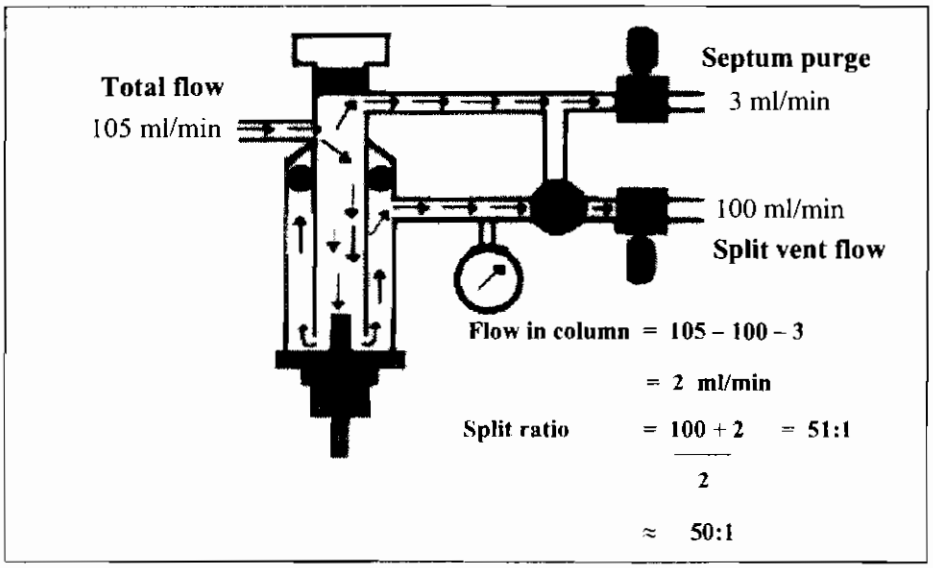
การคำนวณ split ratio ในการฉีดสารตัวอย่าง

$$\text{split ratio} = \frac{\text{split vent flow} + \text{column flow}}{\text{column flow}} \qquad \text{——— (6.13)}$$

การคำนวณ split ratio ในการฉีดสารตัวอย่าง

$$\text{split ratio} = \frac{\text{split vent flow} + \text{column flow}}{\text{column flow}} \quad \text{———— (6.13)}$$

ตัวอย่าง



Splitless injection mode

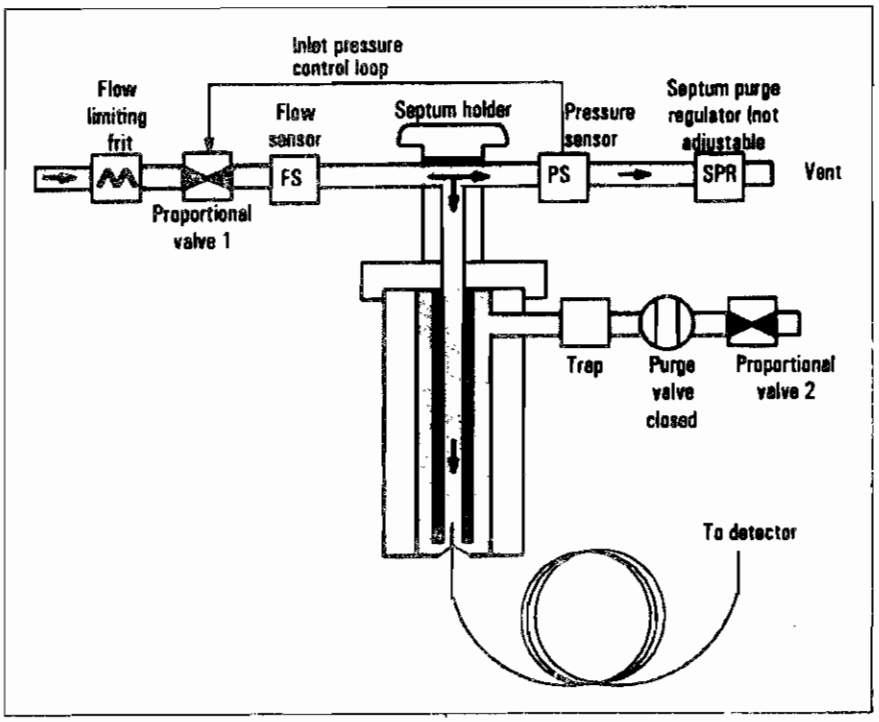
เมื่อสารที่ต้องการวิเคราะห์มีปริมาณน้อยๆ (tracc analysis) การวิเคราะห์จะให้ผลได้ดีเมื่อใช้ splitless mode

คุณลักษณะที่สำคัญของการฉีดแบบ splitless mode คือ

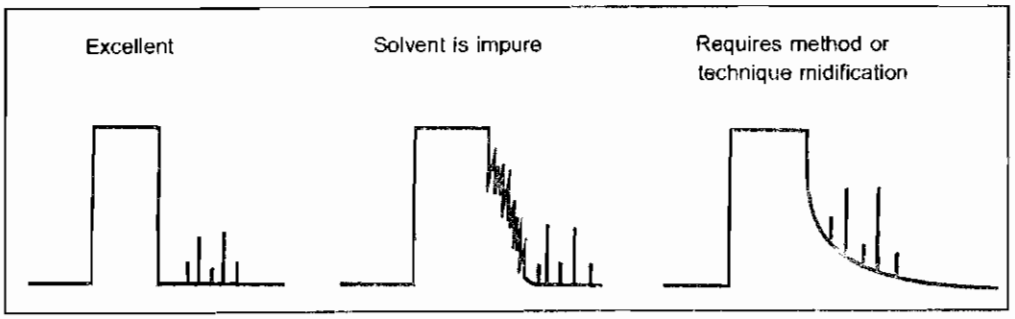
(Characteristics of the splitless mode of injection)

- สามารถประยุกต์ใช้ได้ดีกับ
  - Trace analysis
  - Thermally labile compounds
  - Analysis of peaks eluting near the solvent
- ต้องใช้ temperature programming ในการ run chromatogram
- ต้องเป็นสารละลายเจือจาง

- ไอของตัวอย่างต้องไม่ผสมกับแก๊สตัวพา
- ต้องใช้ septum purge
- นิยมใช้ bonded phase column มากกว่า
- การกลายเป็นไอของสารตัวอย่างกับการส่งผ่านไอไปยังคอลัมน์ไม่จำเป็นต้องรวดเร็ว และไม่จำเป็นต้องมีอุณหภูมิสูงมากที่ injection port อัตราเร็วในการฉีด ≤ 1 µl / sec



รูปที่ 6.15 แผนผังการทำงานของ splitless injection mode



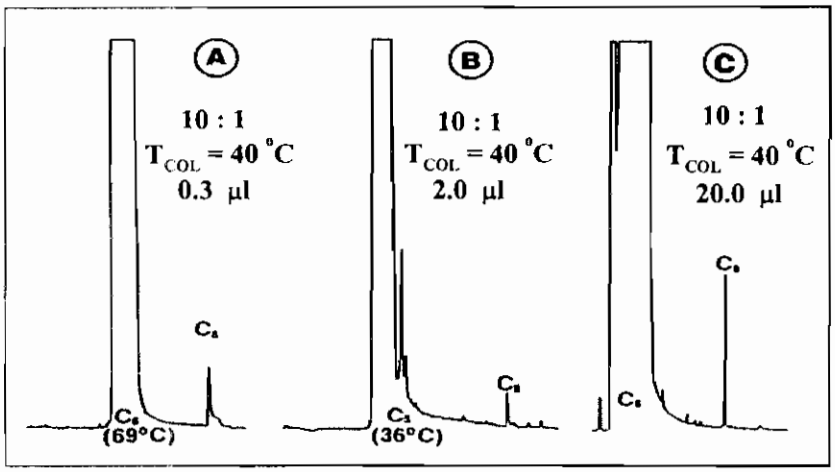
รูปที่ 6.16 ลักษณะพีกของตัวทำละลายที่เกิดขึ้นในการฉีดแบบ splitless mode

กฎของการฉีดตัวอย่างแบบ splitless คือ

- Solvent : Sample $\geq 10^4 : 1$
- Sample volume ≥ 2 µl
- $T_{col} = (B.P.T)_{sol} - 40\ ^{\circ}C$
- $T_{inj} \leq 220\ ^{\circ}C$

ผลของตัวทำละลาย (Solvent effect)

เมื่อใช้สัดส่วนของ solvent : sample แตกต่างกัน และปริมาตรการฉีดแตกต่างกัน จะมีผลทำให้ได้ลักษณะโครมาโทแกรมแตกต่างกัน ดังแสดงในรูปที่ 6.17



รูปที่ 6.17 ผลของ injection volume และสัดส่วนของ solvent : sample

Purge time	Recovery	Chromatogram
T_0 + 30 sec	≈ 50 %	
T_0 + 60 sec	≈ 70 %	

นอกจากการใช้ split mode หรือ splitless mode แล้ว ในการควบคุมการฉีดยังสามารถทำให้เกิดระบบของ pulsed split และ pulsed splitless ได้ด้วย ซึ่งสามารถสรุปการเลือกใช้ mode ต่างๆ ในการฉีดสารตัวอย่างได้ดังนี้

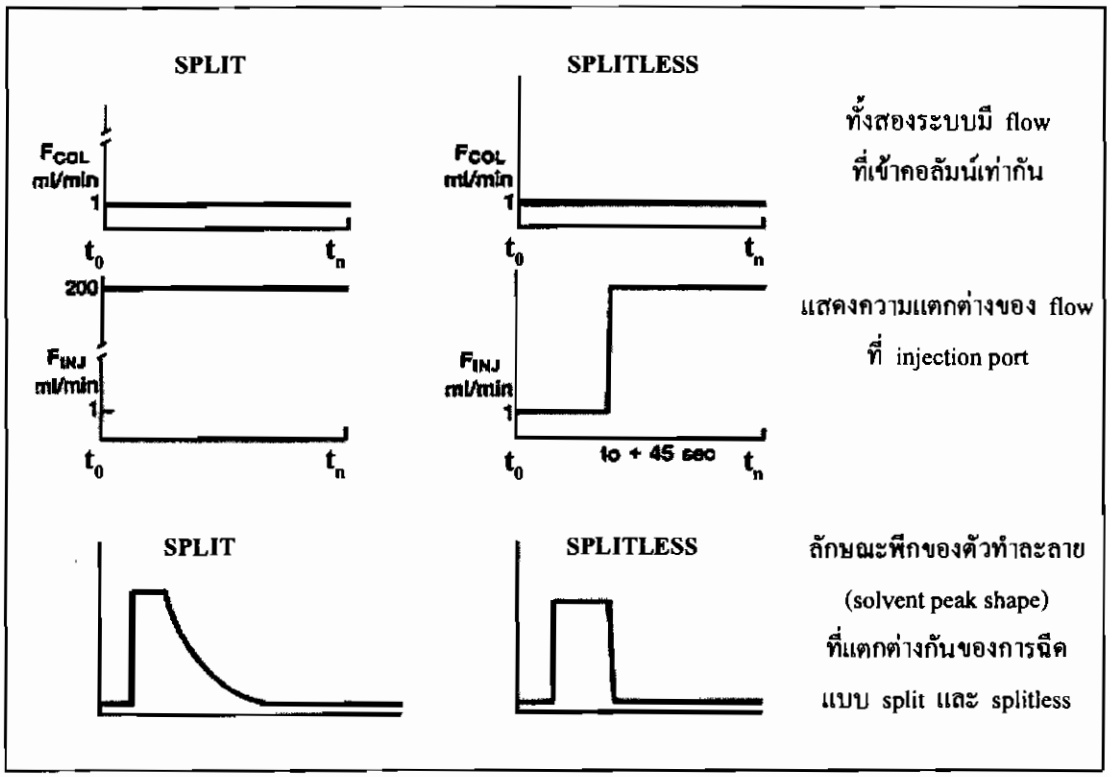
Split mode for ⟶ Major component Analysis

Pulsed split ⟶ Allows for larger injection volume

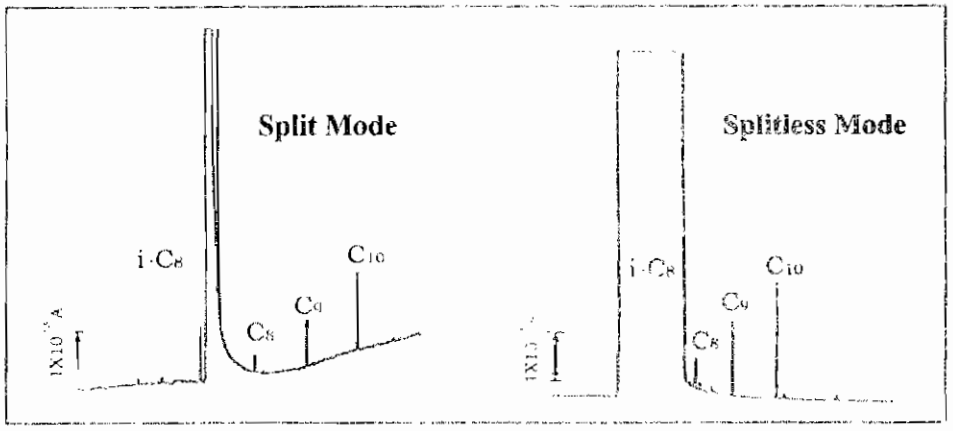
Splitless mode for ⟶ Trace component Analysis

Pulsed splitless ⟶ Allows for larger injection volume

รูปที่ 6.18 และ 6.19 แสดงการเปรียบเทียบการทำงานและผลที่ได้จากการใช้วิธีฉีดแบบ split และ splitless



รูปที่ 6.18 เปรียบเทียบผลการทำงานของระบบการฉีดตัวอย่างแบบ split กับ splitless



รูปที่ **6.19** เปรียบเทียบโครมาโทแกรมของการฉีดตัวอย่างแบบ split mode กับ splitless mode

Purged packed inlet

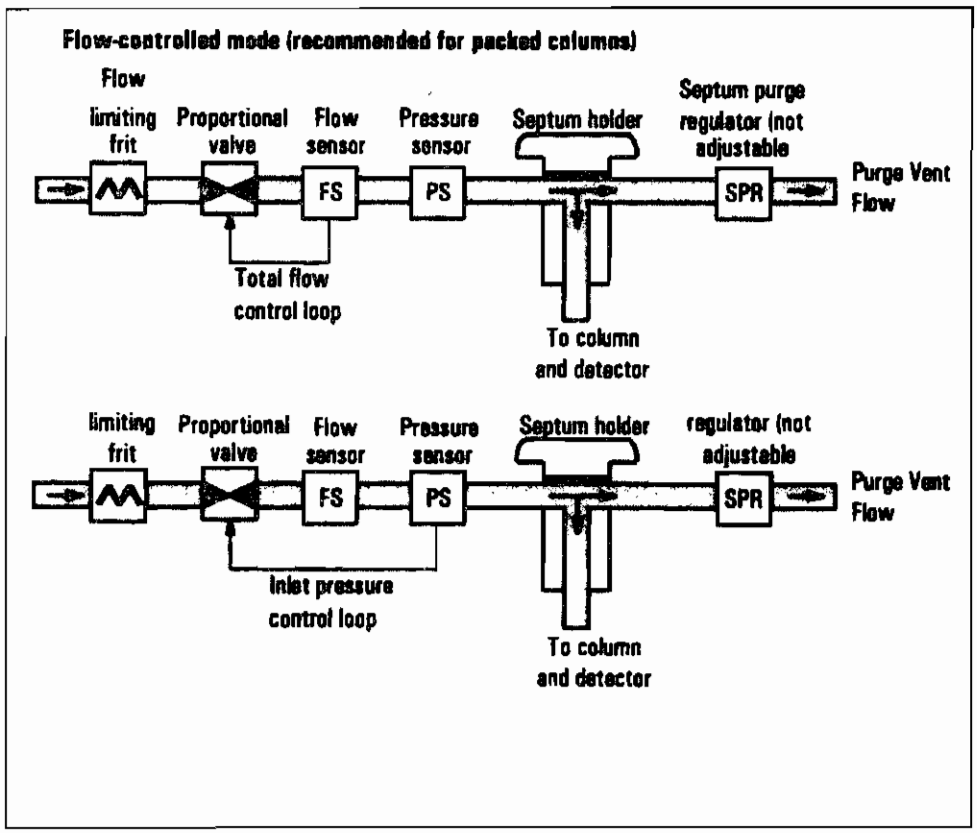
การฉีดสารตัวอย่างด้วยระบบ purged packed inlet ใช้กับ packed column เมื่อไม่ต้องการประสิทธิภาพการแยกที่สูงมาก สามารถใช้กับ wide-bore capillary column ได้เมื่ออัตราการไหลของแก๊สตัวพามากกว่า 10 ml/min

ถ้าจะนำวิธีการฉีดตัวอย่างแบบนี้มาใช้กับ capillary column ต้องมีการควบคุมความดันของ inlet ดังแสดงในรูปที่ 6.20

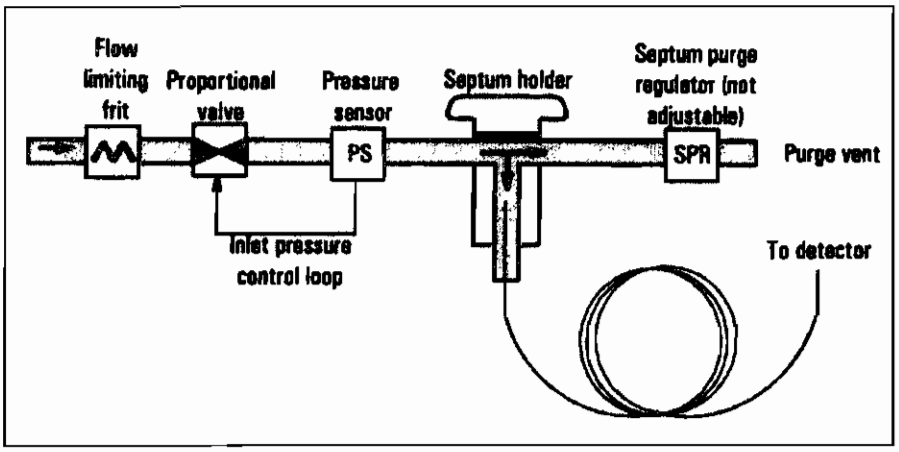
Cool on – column inlet (OCI)

Cool on – column เป็นวิธีการฉีดตัวอย่างที่เป็นของเหลวตรงเข้าสู่ capillary column ซึ่งวิธีการนี้ส่วนของ inlet และ oven ต้องมีอุณหภูมิต่ำกว่าจุดเดือดของตัวทำละลายเมื่อทำการฉีดสารตัวอย่าง เพื่อไม่ต้องการให้ตัวอย่างเกิดการเปลี่ยนแปลงหรือถูกแบ่งแยกก่อนเข้าสู่คอลัมน์

ด้วยเงื่อนไขและวิธีการที่เหมาะสมพบว่าการฉีดแบบ cool on – column inlet เป็นวิธีหนึ่งที่ให้ความถูกต้องและเที่ยงตรงสูง ดังแสดงในรูปที่ 6.21



รูปที่ 6.20 แผนผังการทำงานของ purged packed inlet ที่ควบคุมการทำงานด้วย EPC



รูปที่ 6.21 แผนผังแสดงการทำงานของ cool on – column inlet ที่ควบคุมการทำงานด้วย EPC

คุณลักษณะที่สำคัญในการฉีดแบบ on – column mode คือ

(Characteristics of the on – column mode of injection)

- สามารถประยุกต์ใช้ได้กับตัวอย่างทุกประเภท ทุกความเข้มข้นและทุกปริมาตรที่ฉีด
- ปกติจะใช้กับคอลัมน์ที่มีขนาด $\geq$ 0.20 mm
- ลดการเกิด thermal degradation หรือ reaction ของตัวอย่างที่ injector
- ไม่เกิด septum bleed
- ทำการวิเคราะห์ทางปริมาณได้ดีที่สุด ให้ผลที่มีความถูกต้อง (accuracy) และความเที่ยงตรง (precision)
- คอลัมน์อาจเกิดการเสียหายได้เนื่องจาก non - volatile sample
- ตัวอย่างถูกฉีดเข้าไปในคอลัมน์โดยตรง
- ใช้กับวิธีการวิเคราะห์แบบ Trace analysis
- ลดการเกิด peak distortion ได้โดยใช้ complex samples

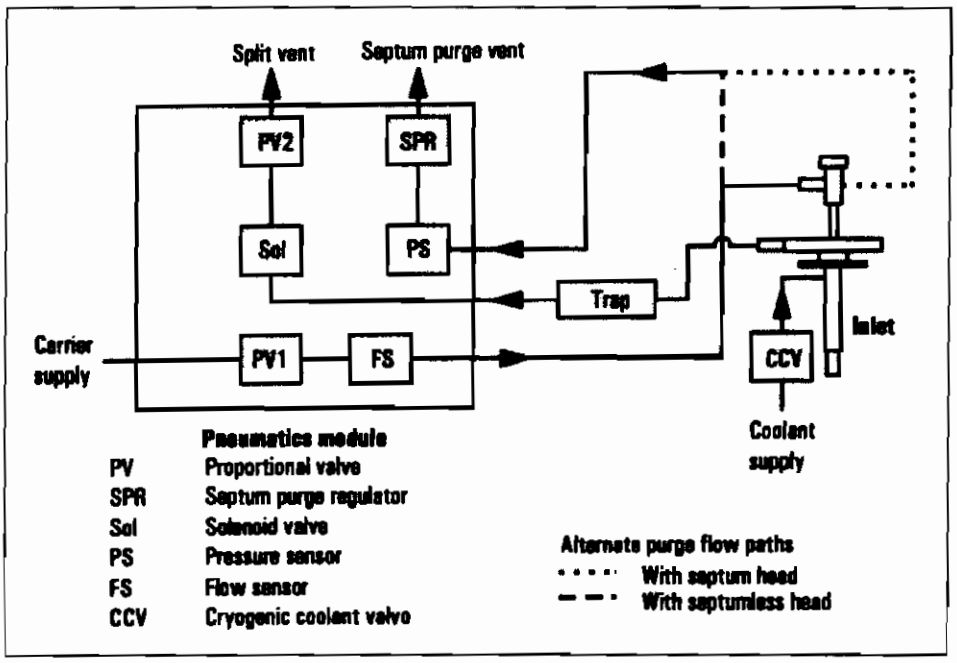
ข้อจำกัดของการฉีดสารตัวอย่างแบบ capillary on – column injector

- ไม่เหมาะกับตัวอย่างที่สกปรก
- เป็นวิธีที่เปราะบาง (fragile)
- เข็มที่ฉีดเข้าไปใน capillary column ถูกยึดติดได้ง่าย ต้องมีการตรวจสอบขนาดของเข็มกับขนาดคอลัมน์ว่าสามารถสอดเข้าไปได้

The Programmable Temperature Vaporisation Inlet (PTV)

ด้วยวิธีการฉีดตัวอย่างที่เป็นของเหลวเข้าคอลัมน์โดยตรงพบว่า สารที่ non–volatile ที่ดิดมากับตัวอย่างสามารถเข้าไปดิดแน่นในคอลัมน์ วิธีการของ PTV จึงได้พัฒนาขึ้นมาเพื่อให้สามารถทำงานได้หลายๆ mode เมื่อใช้อุณหภูมิคงที่สามารถเลือกระบบเป็นแบบ split / splitless ถ้าใช้การทำโปรแกรมอุณหภูมิให้มีอุณหภูมิเริ่มต้นต่ำและใช้กับ wide – bore column จะสามารถเลือกใช้ on – column injection ได้ และนอกจากนี้ยังสามารถใช้กับการฉีดสารตัวอย่างที่มีตัวทำละลายมากๆ ซึ่งเรียกว่า solvent vent mode โดยใช้การฉีด large volume injection

ในระบบการฉีดแบบ PTV inlet สามารถทำได้ทั้ง manual และ automatic injection



รูปที่ 6.22 แสดงส่วนประกอบของระบบ PTV

สรุปชนิดของ Inlet ที่ใช้ในการนำตัวอย่างเข้าคอลัมน์

Inlet	Column	Mode	Sample Concen -tration	Comments	Sample to column
Split/Splitless	Capillary	Split	High		Very little
		Pulsed split	High	May be useful with large injections	Very little
		Splitless	Low		All
		Pulsed splitless	Low	Useful with large injections	All
Cool on column	Capillary	n/a	Low or labile	Minimal descrimination and decomposition	All
Purged Packed	Packed	n/a	Any		All
	Large capillary	n/a	Any	OK if resolution not critical	All
Programmed temperature vaporization	Capillary	Split	High		Very little
		Pulsed split	High		Very little
		Splitless	Low		All
		Pulsed splitless	Low		All
		Solvent vent	Low	Multiple injections concentrate analytes and vent solvent	most
Volatiles interface	Capillary	Direct	Low	Lowest dead volume	All
		Split	High	Max flow = 100 mL/min	Very little
		Splitless	Low		All

n/a not available

Liner

ในระบบของการฉีดสารแบบต่างๆ ใน GC เมื่อสารตัวอย่างกลายเป็นไอจะเคลื่อนที่เข้าสู่คอลัมน์ ด้วยการบังคับทิศทางการไหลของ liner ลักษณะของ liner เป็นหลอดแก้วกลวง มีหลายรูปทรง แต่ละรูปทรงจะเหมาะกับการฉีดแต่ละแบบ ดังแสดงในรูปที่ 6.23

					INJECTION MODE			
					FAST INJECTION	SLOW MANUAL INJECTION		
LINER	ID VOLUME	GLASS TYPE	GLASS WOOL PACKING**	TYPICAL APPLICATION	SPLIT	SPLIT-LESS	SPLIT	SPLIT-LESS
Single-Taper Liner	4 mm (0.8 mm end) 900 µl	Borosilicate, Deactivated	YES**	Sensitive Compounds		YES		
Single-Taper Liner	4 mm (0.8 mm end) 900 µl	Borosilicate Deactivated	NO	Reactive Compounds in trace amounts				YES
Double-Taper Liner	4 mm (0.8 mm end) 800 µl	Borosilicate Deactivated	NO	Sensitive Compounds				YES
Split/Splitless Liner	4 mm 990 µl	Borosilicate	YES**	Labile sample Wide boiling ranges mixtures	YES		YES	
Split Liner	4 mm with cup 800 µl	Borosilicate	YES Column packing	Samples with particles Retains non-volatile contaminents			YES	
Split Liner	4 mm with cup 800 µl	Borosilicate	NO	Wide range of molecular analytes			YES	
Splitless Liner	2 mm 250 µl	Quartz (Purity 8)	NO	Small (>0.5µl) volumes, depending on solvent & conditions				YES
Splitless Liner	2 mm 250 µl	Quartz (Purity 8) Deactivated	NO	Small (>0.5µl) volumes, depending on solvent & conditions				YES
Direct Liner	1.5 mm 140 µl	Borosilicate	NO	Small (>0.5µl) volumes, depending on solvent & conditions				YES
Programmable Temperature Vaporizing Inlet								
PTV Liner Single Baffle	2 mm 180 µl	Borosilicate Deactivated	YES	Large volume injections, not for extremely active compounds	YES	YES	YES	YES
PTV Liner Single Baffle	2 mm 200 µl	Borosilicate Deactivated	NO	General Purpose	YES	YES	YES	YES
PTV Liner Multi Baffle	1.5 mm 150 µl	Borosilicate Deactivated	NO	Active compounds, drugs, pesticides	YES	YES	YES	YES
PTV Liner Fritted Glass	1.5 mm 150 µl	Borosilicate Deactivated	NO	Large volume injection, all but the most active compounds	YES	YES	YES	YES

**Silanized glass wool, 10 gm, (pesticide grade) HP Part No. 5181-3317.

รูปที่ 6.23 Liner ชนิดต่างๆ และการใช้งานในระบบฉีดสารตัวอย่าง

การเลือกเทคนิคในการฉีดสารตัวอย่าง (Choice of Injection Technique)

Technique	Dilute solution	High Concentration	Dirty Samples	Vapor Phase	Solids
Split		1	1	1	
Splitless	2			4	
Direct	3	3	4	3	
OCI on column	1	2			
LVI long volume	1				
TD thermal desorption			3		1
HS Dynamic Static	4	4	2	2	
Pyrolysis					2
Solvent Conc.	5				

3. <u>คอลัมน์ (Column)</u>

คอลัมน์คือหัวใจของการทำงานด้วยระบบโครมาโทกราฟี ทั้งนี้เพราะการแยกองค์ประกอบในตัวอย่างจะมีความจำเพาะเจาะจงสูงและมีประสิทธิภาพดีได้นั้น ขึ้นอยู่กับคอลัมน์ คอลัมน์ที่ใช้ใน GC สามารถนำกลับมาใช้งานได้อีกเช่นเดียวกับคอลัมน์ใน HPLC ถ้ามีการบำรุงรักษาดีและระมัดระวังในการใช้งานอย่างถูกต้อง ถึงแม้ว่าจะมีราคาแพง แต่เมื่อเทียบกับการใช้งานแบบเก่า (classical column chromatography) และการทำ TLC ซึ่งใช้แล้วนำกลับมาใช้งานอีกไม่ได้ รวมทั้งประสิทธิภาพที่เหนือกว่า จึงพบว่าการวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือ GC หรือ HPLC ให้ผลที่คุ้มค่ากว่า

คอลัมน์ที่ใช้ใน GC แบ่งเป็น 2 ชนิดคือ

3.1 Packed column

ทำด้วยแก้วหรือโลหะ ปกติมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1/8 นิ้ว หรือ 2-6 มม. ความยาว 1-3 เมตร บรรจุด้วยเฟสอยู่กับที่ (packing material) ที่มี 2 ลักษณะคือ

- เป็นผง (powder)
- เป็นเม็ดเล็กๆ (granular)

เฟสอยู่กับที่ต้องมีลักษณะสม่ำเสมอ (uniform) มีหลายขนาด เช่น 100 – 200 mesh หรือ 60 – 80 mesh โลหะที่นิยมใช้ทำหลอดคอลัมน์ คือ สเตนเลสสตีล (stainless-steel) เพราะการใช้อะลูมิเนียมหรือทองแดงอาจมี active oxide เกิดขึ้นที่ผิวของหลอดโลหะ ซึ่งอาจทำให้เกิดปฏิกิริยากับสารประกอบที่ต้องการวิเคราะห์ได้ หลอดแก้วและหลอดสเตนเลสสตีลจึงนิยมนำมาใช้ทำคอลัมน์ใน GC โดยหลอดคอลัมน์ต้องถูกขดเป็นรูปทรงที่สามารถบรรจุในเตาอบ (oven) ของเครื่อง GC และต่อเข้ากับส่วนฉีดตัวอย่างได้อย่างสนิท (fitting) ไม่เกิดการรั่ว

3.2 Open tubular columns หรือ Capillary column

คอลัมน์ชนิดนี้มีลักษณะเป็นหลอดคาปิลารีที่ทำด้วย fused silica ที่มีความยาว 10-100 เมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.2-0.7 มม. ขดเป็นวงกลมซ้อนๆ กันให้มีขนาดพอดีที่บรรจุในเตาของเครื่อง GC และ fit กับส่วนที่ฉีดตัวอย่างและดีเทคเตอร์ แบ่งเป็น 3 ชนิดคือ

3.2.1 Wall coated open tubular (WCOT)

ภายในหลอดคาปิลารีจะถูกฉาบด้วยเฟสอยู่กับที่ที่เป็นของเหลว มีความหนา 0.2-5.0 μm ของเหลวที่นำมาฉาบที่ผิวของหลอดคาปิลารีมีหลายชนิดเหมือนกับที่ใช้ฉาบบนของแข็งซัพพอตที่ใช้ใน packed column ของ GLC นั่นเอง ดังแสดงในตารางที่ 6.3

ตารางที่ 6.3 เฟสอยู่กับที่สำหรับ WCOT

Stationary phase	Packed column equivalent	Structure R-groups	Polarity	Applications
X-1	OV101, SE30	100% methyl	Non-polar	Solvents, petroleum products, VOCs, environmental samples drugs, amines
X-5	SE54	5% phenyl 95% methyl	Non-polar	Aromatics, PAHs, perfumes, flavours, environmental samples, drugs
X-1701 X-10	OV1701	14% cyanopropyl 86% methyl	Medium polar	Pesticides, alcohols, phenols, esters, ketones
X-17 X-50	OV17	50% phenyl 50% methyl	Medium polar	Drugs, esters, ketones, plasticisers, organochlorine samples
X-200 X-210	OV210	50% trifluoropropyl 50% methyl	Polar	Selective for loan pair electrons, steroids, esters, ketones, drugs, alcohols, Freons
X-WAX	Carbowax 20M	polyethylene glycol	Highly polar	Alcohols, methyl esters of fatty acids, solvents, fatty acids, amines
Prefix X	Supplier	Silicone structure		Notes:
BP®	SGE			VOCs = volatile organic compounds
Rtx®	Restek	R		
SPB®	Supelco	Wall–Si–O–		PAHs = poly-aromatic hydrocarbons
DB®	J & W	R		
HP®	Hewlett Pac kard			
CP-SIL®	Chrompak			

การเปรียบเทียบ WCOT กับ packed column

1. แก๊สตัวพาสามารถเคลื่อนที่ในคอลัมน์ WCOT ได้สะดวกกว่าใน packed column เพราะไม่มีเฟสอยู่กับที่กีดขวาง ทำให้ใช้คอลัมน์ได้ยาวกว่า ประสิทธิภาพของคอลัมน์ดีขึ้น มีความสามารถในการแยกดีกว่า packed column

2. WCOT มีจำนวนเพลตตามทฤษฎี (N) ได้สูงถึง 500,000 ในขณะที่ packed column มีได้สูงสุดเพียง 100,000

3. ขนาดตัวอย่างที่ฉีดสำหรับคาปิลลารีคอลัมน์ใช้ได้ในช่วง nanogram (10^{-9}g) ในขณะที่ packed column ใช้ได้ในช่วง microgram (10^{-6} g)

4. อุณหภูมิของคาปิลลารีคอลัมน์ สามารถใช้ได้ต่ำกว่า packed column 20 - 50 °C

5. อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ในคอลัมน์คาปิลลารียืดหยุ่นได้มากกว่าใน packed column

6. คอลัมน์คาปิลลารีให้รีเทนชันไทม์น้อยกว่า packed column

7. คอลัมน์คาปิลลารีให้พีกที่คมชัดและแคบกว่า packed column

8. ในการใช้คอลัมน์คาปิลลารีมีเฟสที่อยู่กับที่ที่เป็นของเหลวเพียง 4 - 5 ชนิดเท่านั้นก็เพียงพอ สำหรับการเลือกใช้แยกตัวอย่างผสม โดยเฉพาะเมื่อใช้ควบคู่กับการโปรแกรมอุณหภูมิ ตัวอย่างเช่น

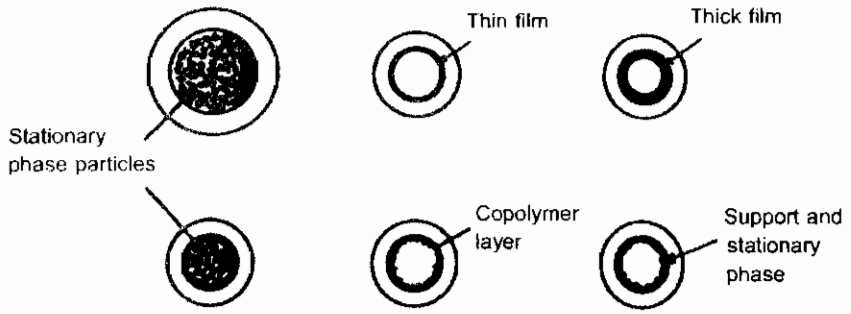
เมื่อต้องการวิเคราะห์ non-polar compound ให้ใช้ OV 101 , Apiezon

เมื่อต้องการวิเคราะห์ medium-polar compound ให้ใช้ OV 17 , OV 1701

เมื่อต้องการวิเคราะห์ polar compound ให้ใช้ Carbowax 20 M

3.2.2 Porous layer open tubular (PLOT) หรือ Support coated open tubular (SCOT)

คอลัมน์ชนิดนี้ได้ถูกพัฒนาขึ้นมาเพื่อการวิเคราะห์สารประกอบที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำๆ แก๊สในบรรยากาศ และไฮโดรคาร์บอน (C_1- C_6) ซึ่งสารประกอบเหล่านี้จะมี retention ratio ต่ำ อยู่ระหว่าง 0.01-1.0 การแยกถูกทำให้ดีขึ้นได้โดยการเพิ่ม distribution coefficient (K) ซึ่งทำได้โดยการเพิ่มพื้นที่ของเฟสอยู่กับที่ที่ผิวภายในของคาปิลารีคอลัมน์ โดยการฉาบด้วยวัสดุที่มีรูพรุน เช่น อะลูมินา แกรไฟต์ โลหะออกไซด์และซิลิเกต เป็นต้น ซึ่งมีคุณสมบัติเป็น GSC มีผลทำให้เฟสอยู่กับที่มีพื้นที่ผิวมากขึ้น ปัจจุบันได้มีการพัฒนาวิทยาการทางการฉาบ (coated) เฟสอยู่กับที่ที่ผนังภายในของคาปิลลารีจนสามารถฉาบ cross-linked styrene devinylbenzene porous copolymer และตัวซัพพอตที่มีเฟสอยู่กับที่ชนิดต่างๆ ได้ ทำให้คอลัมน์ของ PLOT มีคุณสมบัติของการหน่วงเหนี่ยวเหมือนกับ packed column แต่ประสิทธิภาพในการแยกสูงกว่า มีให้เลือกใช้หลายชนิด แต่ละชนิดมีความจำเพาะเจาะจงในการวิเคราะห์มากขึ้น รูปที่ 6.24 แสดงภาพตัดขวางของคอลัมน์ชนิดต่างๆ ตารางที่ 6.4 แสดงคุณสมบัติและคุณลักษณะของคอลัมน์ใน GC



รูปที่ 6.24 ลักษณะการฉาบเฟสอยู่กับที่ที่เป็น porous layer ที่ผิวของคาปิลลารีคอลัมน์

3.2.3 Fused silica open tubular (FSOT)

เป็นคอลัมน์คาปิลลารีที่ทำจาก fused silica โดยที่ผนังภายในของคอลัมน์ไม่ได้ฉาบด้วยเฟสอยู่กับที่ ตัวอย่างจะไม่ถูกหน่วงด้วยคอลัมน์ การเคลื่อนที่ของตัวอย่างขึ้นอยู่กับขนาดน้ำหนักโมเลกุลหรืออัตราเร็วในการฟุ้งกระจายของตัวอย่าง

ตารางที่ 6.4 แสดงคุณสมบัติและคุณลักษณะของ GC คอลัมน์ชนิดต่างๆ

	Type Column			
	FSOT	**WCOT**	**PLOT**	**Packed**
Length	10-100 m	10-100 m	10-100 m	1-10 m
Inside diameter	0.1-0.3 mm	0.25-0.75 mm	0.5 mm	2-4 mm
Efficiency	2000-4000 plate / m	1000-4000 plate / m	600-1200 plate / m	500-1000 plate / m
Sample size	10-75 ng	10-1000 ng	10-1000 ng	10-10^6 ng
Relative pressure	Low	Low	Low	High
Relative speed	Fast	Fast	Fast	Slow
Chemical inertness	Best	→	→	Poorest
Flexible	Yes	No	No	No

มีหลายบริษัทผลิตคอลัมน์สำหรับ GC ขึ้นมาจำหน่ายโดยใช้ชื่อทางการค้าต่างๆ กันแต่มีคุณสมบัติที่เทียบเคียงกันได้ ดังแสดงในตารางที่ 6.5 ชื่อทางการค้าและอักษรย่อที่ใช้สำหรับแต่ละบริษัทมีดังนี้

ชื่อทางการค้า	บริษัท
BP	Scientific Glass Engineering (SEG)
DB	J&W
OV	Ohio Valley
CP	Chrompack
SE	General Elective
DC	Dow Corning
SP	Supelco
SPB	RSL Belgium / Altech
Superox	RSL Belgium / Altech
HP	Hewlett Packard (Agilent)

ตารางที่ 6.5 การเปรียบเทียบคอลัมน์ที่เหมือนกันของแต่ละบริษัท

Composition	Supplier								
	Restek	J&W	SGE	Supelco	HP	Ohio Valley	Alltech	Chrompack	Quadrex
100% Dimethylpolysiloxane	RT_x-1	DB-1	BP-1	SP-2100,SPB-1	HP-1,Ultra-1	OV-1	RSL-150,160	CP SIL 5B	007-1
95% Dimethyl:5%-diphenylpolysiloxane	RT_x-5	DB-5	BP-5	SPB-5,PTE-5	HP-5,Ultra-2	OV-5	RSL-200	CP SIL 8CB	007-2
80% Dimethyl:20%-diphenylpolysiloxane	RT_x-20	–	–	SPB-20	–	OV-7	–	–	007-7
65% Dimethyl:35%-diphenylpolysiloxane	RT_x-35	–	–	–	–	OV-11	–	–	007-11
14% Cyanopropylphenyl: 86%-dimethylpolysiloxane	RT_x-1701	DB-1701	BP-10	–	–	OV-1701	OV-1701	CP SIL 19CB	007-1701
50% Methyl:50%-phenylpolysiloxane	RT_x-50	DB-17	–	SP-2250	HP-17	OV-17	RSL-300	–	007–17
Trifluoropropyl-methylpolysiloxane	RT_x-200	DB-210	–	–	–	–	–	–	–
50% Cyanopropylphenyl:50% dimethylpolysiloxane	RT_x-225	DB-225	BP-225	SP-2300	HP-225	OV-225	RSL-500	CP SIL 43CB	007–225
Carbowax PEG	Stabilwax	DB-Wax	BP-20	Supelcowax-10	HP-20M	Carbowax 20M	Superox-II	CP WAX 52CB	007–CW
Carbowax PEG for amines	Stabilwax-DB	CAM	–	–	–	–	–	–	–
Carbowax PEG for acids	Stabilwax-DA	DB-FFAP	BP-21	SP-1000	HP-FFAP	OV-351	Superox-FA	CP WAX 58CB	FFAP
90% *bis*Cyanopropyl:10% phenylcyanopropylpoly-siloxane	RT_x-2330	DB-23	BPX-70	SP-2330	–	–	–	CP SIL 84	CPS-1
100% *bis*Cyanopropylpoly-siloxane	RT_x-2340	–	–	2P-2340	–	OV-275	–	CP SIL 88	CPS-2
EPA volatile organic methods	RT_x-Volatiles	DB-624	BP-624	VOCOL	–	OV-624	AT-624	CP SIL 13CB	007–624
EPA Volatiles in Methods 502.2, 524.2	RT_x-502.2	DB-624	–	VOCOL	–	–	–	–	–
EPA Pesticides Method 608	RT_x-35	DB-608	–	SPB-608	–	–	–	–	007–608

3.3 Column packing materials

วัสดุที่บรรจุในคอลัมน์จะเป็นสิ่งที่กำหนดรูปแบบของการทำแก๊สโครมาโทกราฟี ถ้าวัสดุที่ใช้เป็นของแข็งที่ทำหน้าที่เป็นเฟสอยู่กับที่จะเกิดรูปแบบของ gas – solid chromatography (GSC) ถ้าวัสดุที่ใช้เป็นของเหลวหรือของเหลวที่ฉาบอยู่บนของแข็งซัพพอต (solid support) จะเกิดรูปแบบของ gas – liquid chromatography (GLC) วัสดุที่บรรจุในคอลัมน์จึงแบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ

Solid stationary phase (GSC)

ค่าสัมประสิทธิ์ของการกระจายของแก๊สตัวอย่างระหว่างเฟสอยู่กับที่กับเฟสเคลื่อนที่มีค่าสูงมาก เมื่อเทียบกับการใช้เฟสอยู่กับที่ที่เป็นของเหลว สำหรับการใช้สารตัวอย่างชนิดเดียวกัน ทำให้ค่ารีเทนชันไทม์ในการทำ GSC มีค่ามากกว่า GLC พีกที่ได้มีหาง (tail) และมีความเที่ยงต่ำ (poor reproducibility) ด้วยเหตุผลนี้ GLC จึงเป็นที่นิยมใช้มากกว่า ตามปกติ GSC มักนิยมใช้ในการแยกสารประกอบที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำๆ เช่น ไอโซเมอร์ของบิวเทน (C_4H_{10}) และอะเซทาลีน (C_2H_2) จากเอทาลีน (C_2H_4) เพราะ GSC จะมี selectivity ต่อสารประกอบที่เป็นแก๊สดีกว่า GLC

Solid stationary phase สามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มคือ

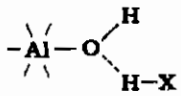
1. กลุ่มของการใช้หลักการดูดซับ (Opcrate by adsorption principle)
2. กลุ่มของการใช้หลักการร่อนขนาด (Operate by molecular sieving principle) โมเลกุลใหญ่ถูกดูดซับภายนอก โมเลกุลเล็กจะรอดผ่านเข้าไปถูกดูดซับภายใน solid stationary phase

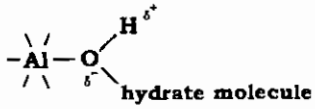
Solid stationary phase ที่ใช้โดยทั่วๆ ไปได้แก่

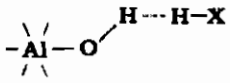
Aluminar (Al_2O_3)

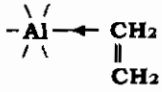
เป็นตัวดูดซับที่มีลักษณะเป็นผง เกิดพันธะไฮโดรเจน (Hydrogen bond) ได้โดยเกิด –OH group ที่ surface จากการ hydration

ลักษณะการเกิด adsorption









Carbon Black

เนื่องจากไม่มี polar group ที่ผิวของ carbon black การเกิด adsorption จึงเกิดเนื่องจาก dispersion forces ซึ่งควบคุมด้วยขนาด (size) รูปร่าง (shape) และ polarisability ของโมเลกุล

ในทางปฏิบัติ การใช้ carbon black จะได้พีกที่มีรูปร่างไม่ดี แต่มีข้อดีคือทนความร้อนได้สูงถึง 3000 °C ทำให้สามารถไล่มลทินออกไม่ให้ค้างอยู่ในคอลัมน์ได้ดี

Zeolites

Zeolite คือ สารประกอบของ Sodium , Potassium หรือ Calcium Alumino – Silicate มีลักษณะเป็น Molecular sieves ปกติจะใช้ขนาดที่มี pore diameter 0.5 และ 1.0 nm มีความสามารถในการดูดซับสูง จะดูดน้ำ , CO_2 ได้ดี โดยที่ไม่ผันกลับ (irreversible) Zeolites จึงไม่ใช้ในการวิเคราะห์พวก H_2O , CO_2 ในบรรยากาศโดยวิธี GC แต่จะใช้วิเคราะห์พวก Inorganic gas ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำๆ เช่น O_2 , N_2 , CO และพวก hydrocarbon ได้ดี แก๊สตัวพาและสารตัวอย่างที่มีน้ำ จะทำให้ molecular sieves ค่อย ๆ เกิด deteriorate ทำให้ประสิทธิภาพในการแยกค่อยๆ ลดลง

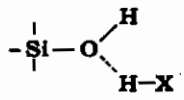
Silica gel

-OH group ที่ผิวของซิลิกาจะเป็นตัวสำคัญที่ทำให้เกิดการดูดซับโดยเกิด

dispersion forces

dipole and induced dipole interactions

hydrogen bonding ซึ่งทำหน้าที่เป็น proton acceptor



ใช้ในการแยก CO_2 และแก๊สอื่นๆ ได้ดี

ตารางที่ 6.7 ตัวดูดซับที่ใช้ใน gas – solid chromatography

Chemical type	**Commercial name**	**Specific area** ($m^2 g^{-1}$)	**Pore diameter** (nm)
Silica	Porasil B	185	15
	Porasil C	100	30
Alumina	Various	-	-
Graphitized carbon black	Carbopack C	12	-
	Carbopack B	100	-
	Carbosieve	1000	1.3
	Spherocarb	1200	1.5
Carbon molecular sieve	Carbosphere	1000	1.3
Sodium aluminium silicate	Molecular sieve 13X	700 – 800	1.0
Calcium aluminium silicate	Molecular sieve 5A	700 – 800	0.5

Porous Polymer

คือพวกพอลีสไดลีนพอลิเมอร์ pore size จะเป็นตัวทำให้เกิดการแยก การดูดซับจะเกิดขึ้นที่ผิวในรู (pore) ถ้ามีรูมากก็มีพื้นที่ผิวในการดูดซับได้มาก ใช้สำหรับการวิเคราะห์พวก H_2O , NH_3 , amines และ alcohols ที่มี C น้อย ๆ ตัวอย่างชื่อในการค้า เช่น Porapax , Tenax – GC

ตารางที่ 6.8 คุณสมบัติของ Porous polymer ที่ใช้ใน gas – solid chromatography

Porous polymer	Type*	Surface area † ($m^2 g^{-1}$)	Pore diameter (nm)	Temperature limit (°C)
Porapak N	VP	250-350	-	200
P‡	PS-DVB	100-200	-	250
Q‡	EVB-DVB	500-600	7.5	250
R	VP	450-600	7.6	250
S	VP	300-450	7.6	250
T	EGDMA	225-350	9	200
Chromosorb 101	PS-DVB	50	300-400	275
102	PS-DVB	300-500	8.5	250
103	PS	15-25	300-400	275
104	CAN-DVB	100-200	60-80	250
105	Acrylic ester	600-700	40-60	250
106	PS	700-800	500	250
107	Acrylic ester	400-500	800	250
108	Acrylic ester	100-200	250	250

*VP, vinylpyrollidone ; polystryrene ; DVB , divinylbenzene ; EVB , ethylvinylbenzene ; EGDMA , ethylene glycol dimethacrylate ; CAN , acrylontrile.

† Surface areas quoted in the literature vary widely.

‡ Also available in a silanized version , PS or QS

Liquid stationary phase (GLC)

ของเหลวที่ทำหน้าที่เป็นเฟสอยู่กับที่ใน GC มีหลายร้อยชนิดแบ่งตามคุณสมบัติของขั้ว (polarity) สำหรับตัวที่นิยมใช้แสดงไว้ในตารางที่ 6.11 ของเหลวนี้มีชื่อเรียกอีกชนิดหนึ่งว่า ซับสเตรต (substrate) ใช้ฉาบบนของแข็งซัพพอตแล้วบรรจุใน packed column หรือฉาบที่ผิวของคาปิลลารีคอลัมน์ ของเหลวที่ใช้ในการนำมาทำ GLC ต้องมีคุณสมบัติดังต่อไปนี้

1. เป็นตัวทำละลายที่มีคุณสมบัติที่เหมาะสมสำหรับองค์ประกอบที่ต้องการวิเคราะห์ เช่น มีโพลาริตีเหมือนกับสารตัวอย่าง
2. ต้องทำให้เกิดการแบ่งส่วนที่แตกต่างกันขององค์ประกอบในสารตัวอย่างระหว่างเฟสทั้งสอง เพื่อทำให้เกิดการแยก
3. เสถียรที่อุณหภูมิสูงๆ ต้องสูงกว่าอุณหภูมิของ oven
4. มีความดันไอที่อุณหภูมิภายในคอลัมน์ต่ำ
5. ไม่ทำปฏิกิริยาทางเคมีกับสารตัวอย่าง และ เฟสเคลื่อนที่

ของแข็งซัพพอตที่ใช้ทำหน้าที่ช่วยให้ของเหลวซึ่งเป็นเฟสอยู่กับที่ยึดติดแล้วสามารถบรรจุในคอลัมน์ได้ต้องเป็นสารที่เสถียร ณ อุณหภูมิของคอลัมน์ที่ใช้ในการทดลอง จะต้องมีขนาดเหมาะสมและสม่ำเสมอ ของแข็งซัพพอตที่ใช้ส่วนใหญ่ได้มาจาก diatomaceous earths (SiO_2) ซึ่งประกอบด้วยหมู่ของ hydrated silica มีวิธีการอยู่หลายวิธีที่จะทำให้ diatomaceous earths กลายเป็นของแข็งซัพพอตที่ดี เช่น นำ diatomaceous earths มาเผาที่อุณหภูมิประมาณ 900 °C จะได้สารของแข็งสีชมพู ซึ่งมีชื่อเรียกว่า โครโมซอบพี (Chromosorb P) โครโมซอบพี สามารถมีกลุ่มฟังก์ชันนอลเป็นโพลาร์ ทำให้สามารถใช้เป็นของแข็งดูดซับใน GSC ได้ด้วย ถ้าไม่นำมาฉาบด้วยของเหลว แต่เนื่องจากหลังจากที่โครโมซอบดูดซับสารตัวอย่างแล้ว ความสามารถในการชะไม่ดีพอ จึงนิยมใช้ของเหลวฉาบบนโครโมซอบอีกทีหนึ่ง เพื่อทำให้การชะเกิดได้ดี ทำให้โครโมซอบมีหน้าที่เพียงเป็นของแข็งซัพพอต ความสามารถในการดูดซับจึงขึ้นอยู่กับของเหลวที่มาฉาบ สำหรับชื่อโครโมซอบชนิดต่างๆ นั้นเป็นชื่อทางการค้า (trade name) ของบริษัทผู้ผลิต ดังแสดงในตารางที่ 6.9

ถ้า diatomaceous earth ถูกนำมาเผาโดยมีโซเดียมคาร์บอเนตผสมอยู่ จะได้ของแข็งสีขาวที่เรียกว่า โครโมซอบดับบลิว (Chromasorb W) ถ้านำ diatomaceous earth มาทำด้วยวิธีการอื่นๆ จะได้ของแข็งซัพพอตชนิดอื่น ๆ อีกเช่น โครโมซอบ เอ (Chromasorb A) และ โครโมซอบ จี (Chromasorb G) โครโมซอบชนิดต่างๆ ที่นำมาใช้ยังมีอีกหลายเกรดขึ้นอยู่กับขนาดเมชของมัน ปกติมีค่าอยู่ในช่วง 30/50 ถึง 80/100 mesh ขนาดที่นิยมใช้กันมากที่สุดคือ 30/60 และ 60/80 mesh และในแต่ละชนิดของของแข็งซัพพอต ยังมีองค์ประกอบของสารต่างๆ กัน ดังตัวอย่างในตารางที่ 6.10

ของแข็งซัพพอตที่ดีสำหรับการวิเคราะห์ GLC ต้องมีคุณสมบัติดังนี้คือ

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

ตารางที่ 6.9 คุณสมบัติทางกายภาพของของแข็งซัพพอต (solid support) ชนิดต่างๆ

Trade name	**Spicific surface ($m^2 g^{-1}$)**	**Pore diameter (μm)**	**Packed density ($g\ ml^{-1}$)**	**Maximum loading (%w/w)**
Chromosorb W	1.0	0.9	0.24	15
Chromosorb P	4.0		0.47	30
Chromosorb 750	0.5-1.0		0.36	7
Anakrom	1.0-1.4	1.0		
Gas Chrom Q		Data unavailable		
Supelcoport		Data unavailable		
Glass beads	0.04-0.36			0.5
Chromosorb T	7-8		0.49	20

ตารางที่ 6.10 ตัวอย่างของของแข็งซัพพอต (Solid support) ที่ใช้ใน GLC มีองค์ประกอบของสารต่างๆ ดังนี้

องค์ประกอบ	Fire brick C-22	Celite 545	Chromosorb P	Chromosorb W
SiO_2	89.7	89.9	89.2	91.2
Al_2O_3	5.1	3.6	5.1	4.1
Fe_2O_3	1.55	1.65	1.50	1.15
TiO_2	0.3	0.3	0.3	0.25
CaO	1.3	1.75	0.90	0.40
MgO	0.90	0.70	1.00	0.65

Liquid phase ที่นำมาฉาบบนของแข็งซัพพอต จะเป็นตัวทำให้เกิดการแยกของสารตัวอย่าง ไม่มีกฎเกณฑ์ที่แน่นอนสำหรับเลือก liquid phase เพื่อให้เกิดการแยกที่ดีที่สุด โดยมากขึ้นอยู่กับความชำนาญ หรือได้จากการลองใช้ดู หรือได้จากข้อมูลของผู้ที่เคยใช้มาก่อน

Liquid Phase ที่ใช้ควรมีคุณสมบัติดังนี้

1. ควรเป็นตัวทำละลายสารตัวอย่างที่ดี จะทำให้การชะสารตัวอย่างออกจากคอลัมน์ได้ช้า ทำให้เกิดการแยกที่ดี
2. ควรละลายสารตัวอย่างต่างๆ ได้แตกต่างกัน จะทำให้การแยกสารได้ดี
3. เป็นสารที่ไม่ระเหยในช่วงอุณหภูมิที่ใช้งาน
4. ไม่ทำปฏิกิริยากับเฟสเคลื่อนที่
5. liquid phase ที่เลือกใช้ควรมีสภาพขั้วใกล้เคียงกับสารตัวอย่าง

ตารางที่ 6.11 Basic Liquid Stationary Phase

Stationary phase	Polarity	°C upper limit	Solvent	Typical Sample
Squalane (2,6,10,15,19,23-hexamethyltetracosane)	NP	150	Hexane	hydrocarbon
Apiezon	NP	250-300	dichloromethane	ester,ethers,acid
Silicone oil and gums eq.polymethyl siloxanes				
OV 1	IP	350	trichloromethane	All types
DC 200	IP	200	methylbenzene	All types
SE 30	IP	300-350	methylbenzene	All types
OV 17 (polymethylphenylsiloxanes)	IP	350	Propanone	Drug,steroids, pesticide,glycols
QF 1	SP	240	methylbenzene	Alcohol, halogen compound
OV 105	P	250	Propanone	
Dinonyl phthalate (DNP)	SP	150	Propanone	Ester,sulpher compound
PEG 400	P	100	methanol	
Carbowax 20 M	P	200	methanol	Alcohol, Aromatic amine, ketones,free acid
PEG – S	VP	180	trichloromethane	phenol
PDEG - S	VP	190	trichloromethane	Ester

NP = Nonpolar IP = Intermediate polarity SP = Slightly polar

VP = Very polar P = Polar

การเลือกชนิดของคอลัมน์สำหรับการวิเคราะห์ควรใช้หลักการต่อไปนี้

(1) Stationary phase ต้องมีจุดเดือด (b.p.) สูงกว่าสารตัวอย่าง สารประกอบที่มีจุดเดือดต่ำจะถูกชะออกมาก่อน จุดเดือดของสารจะขึ้นอยู่กับความดันด้วย ซึ่งต้องคำนึงถึงในการเลือกคอลัมน์ เช่น

Ethyl 3 – oxobutane มีจุดเดือดที่ 92 °C / 40 mm Hg ที่ 760 mmHg จะมี b.p = 185 °C เป็นต้น

(2) พิจารณาการละลายของตัวถูกละลายใน liquid phase ให้ใช้กฎ "likes dissove likes" ถ้าตัวถูกละลายเป็น non-polar ควรใช้ เฟสอยู่กับที่เป็น non-polar ถ้าตัวถูกละลายเป็น polar ควรใช้เฟสอยู่กับที่เป็น polar (ตัวอย่าง polarity ของ liquid phase แสดงในตารางที่ 6.11)

ตัวอย่างเช่น

ถ้าต้องการแยก	alcohol	ควรใช้	polyglycol	เป็น liquid phase
ถ้าต้องการแยก	hydrocarbon	ควรใช้	hydrocarbon apiezon	เป็น liquid phase
ถ้าต้องการแยก	amine	ควรใช้	amine	เป็น liquid phase

<u>กิจกรรม</u>

จงพิจารณาการละลายของสารต่อไปนี้

a). Naphthalene กับ 1-Naphthol ตัวไหนละลายใน benzene

b). Benzophenone กับ diphenylmethane ตัวไหนละลายใน propanol

c). Methanol กับ buta–1–ol ตัวไหนละลายใน water

ถ้ามีสารหลายๆ ตัวผสมกันโดยที่สารนั้นมี b.p. เท่ากัน สามารถพิจารณาได้ว่าสารตัวใดจะถูกชะออกมาก่อน เมื่อทราบวิธีการพิจารณาการละลาย ตัวอย่างเช่น (* .....คือสารที่ถูกชะออกมาก่อน)

a). Methylbenzene (b.p.110 °C) + *ethyl-2-methylpropanate (b.p.110 °C) เมื่อใช้คอลัมน์ Squalene

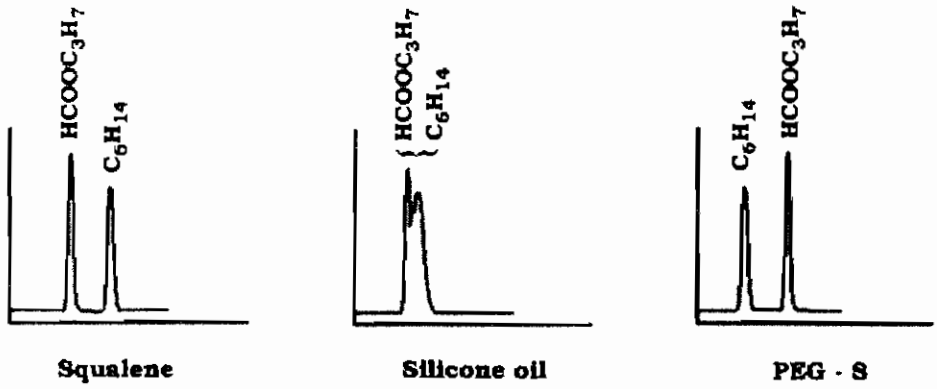
b). Butan-1-ol (b.p.116 °C) + *4 methylpentanc-2-one (b.p.117 °C) เมื่อใช้คอลัมน์ glycol

c). *Hexane (b.p.68 °C) + 1 methylmethanoate (b.p.68 °C) เมื่อใช้คอลัมน์ PEG-S (polyethylcne glycol succinate)

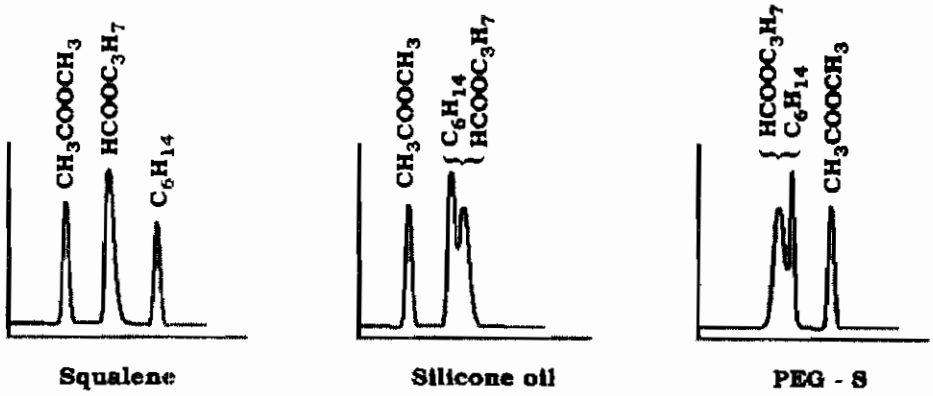
จะเห็นได้ว่า polarity ของ stationary phase จะมีผลต่อการแยกอย่างมาก

ตัวอย่าง เปรียบเทียบการแยกเมื่อใช้คอลัมน์ต่างชนิดกัน

a. แยก 1-methylethylmethanoate กับ hexane



b. แยก 1-methylethylmethanoate กับ hexane กับ methylethanoate

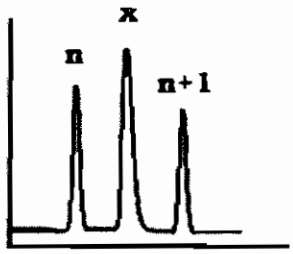


Polarity parameters in Gas Chromatography

นักเคมีได้พยายามที่จะ define polarity ของ liquid phase โดยดูจาก t_R แต่เนื่องจากคอลัมน์มีมากชนิดและการทดลองก็ทำคนละสภาวะ t_R จึงมีโอกาสซ้ำกันได้ง่าย เทอมใหม่ที่จะมาอธิบายได้ดี และยังสามารถแสดงเอกลักษณ์ของตัวถูกละลายได้ด้วยคือ Kovats indicies หรือ Retention index (I_X)

$$I_X = \frac{(\log t'_{R_{(x)}} - \log t'_{R_{(n)}})}{(\log t'_{R_{(n+1)}} - \log t'_{R_{(n)}})} \times 100 + 100n \quad \text{——— (6.14)}$$

n คือจำนวน C ใน paraffin หรือ straight chain hydrocarbon วิธีการหาค่า I_X ทำได้โดยเลือก paraffin ที่มี C ต่างกัน 1 ตัวที่สามารถให้โครมาโทแกรมก่อนและหลังสารตัวอย่าง x ดังรูป จากนั้นให้คำนวณหาค่า I_X จากสูตรในสมการที่ 6.14



ตัวถูกละลาย n-paraffin มีค่า t_R ไม่ขึ้นอยู่กับชนิดของคอลัมน์ แต่จะขึ้นอยู่กับจำนวน C

$$\therefore \quad I_X \text{ ของ } n-\text{paraffin} = 100n$$

การเปรียบเทียบ polarity ของ liquid phase ในคอลัมน์ที่มีต่อสารตัวอย่างต้องพิจารณาที่ความแตกต่างของ I_X (Retention index difference) โดยต้องใช้ I_X บนคอลัมน์แต่ละชนิดลบด้วย I_X บนคอลัมน์ squalane (ใช้คอลัมน์ squalane เป็นตัวเปรียบเทียบเสมอ)

$$\Delta I = I_{X_{(c)}} - I_{X_{(\text{Squalane})}}$$

ตัวอย่าง เมื่อ run dioxane บนคอลัมน์ต่างๆ (Dioxane = test substance)

Liquid phase (Stationary phase)	I_x	ΔI
(1) Squalane	661	661-661 = 0
(2) Diisodecylphthalate	779	779-661 = 118
(3) Diethyleneglycol succinate	1363	1363-661 = 702

สรุปได้ว่าสำหรับตัวอย่าง Dioxane ความมีขั้วของ liquid phase เรียงตามลำดับได้ดังนี้ Column (3) > (2) > (1)

แสดงว่าคอลัมน์จะมีขั้วมากน้อยอย่างไรขึ้นอยู่กับตัวถูกละลาย หรือ test substance ที่ใช้ด้วย ดังนั้นค่า ΔI สามารถแสดงได้หลายค่า ขึ้นอยู่กับว่าตัวถูกละลายที่นำมาใช้เป็น test substance คือสารอะไร ดังตัวอย่าง

ตัวอย่าง Retention Index Difference (I_x) สำหรับตัวถูกละลาย 2 ชนิดบนคอลัมน์ 5 ชนิด

Stationary phase	Benzene , ΔI	I Butanol , ΔI
Squalane	0	0
Di(2-ethylhexyl)sebacate	75	168
Ucon oil LB-550-x	116	271
OV-17 (phenylmethyl silicone oil)	132	158
DEGS (diethyleneglycol succinate)	495	705

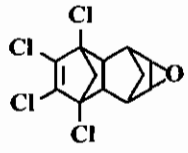
การเลือกใช้คอลัมน์สำหรับสารตัวอย่างควรเลือกคอลัมน์ที่มีขั้วต่อสารตัวอย่างได้สูงกว่า (คือ ΔI มากกว่า)

Rohrschneider และ McReynolds ได้ใช้สารหลายชนิดเป็นสารทดสอบ (test substance) เพื่อหา ΔI บนคอลัมน์ที่มี liquid phase ต่างๆ กัน ซึ่งจะได้ค่า ΔI เป็นค่าคงที่สำหรับสารนั้นๆ บนคอลัมน์นั้นๆ ทำให้ทราบ polarity ของคอลัมน์ที่มีต่อกลุ่มของสาร โดยที่ ΔI ของ test substance ต่างชนิดกัน ก็จะมีชื่อเรียกต่างกัน ดังตารางที่ 6.12

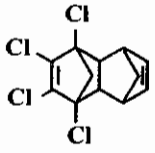
ตารางที่ 6.12 สัญลักษณ์ ΔI ของ Rohrschneider และ McReynolds สำหรับสารทดสอบชนิดต่างๆ

Rohrschneider test substance	**constant ΔI symbol**	**McReynolds test substance**	**constant ΔI symbol**	**Group Represented test substance**
Benzene	X_p	Benzene	X'	Aromatic,Olefin
Ethanol	Y_p	1 - butanol	Y'	Alcohol,Phenols,Acids
Methyl ethyl ketone	Z_p	Methyl - n - propyl ketone	Z'	Ketones,ethers,Aldehyde, Ester,Epoxide, dimethylamino derivatives
Nitromethane	U_p	Nitropropane	U'	Nitro - and nitrile derivatives
Pyridine	S_p	Pyridine	S'	Base,Aromatic, N - heteroeyclics dioxane

<u>ตัวอย่าง</u> การใช้ McReynolds constant ในการเลือกใช้คอลัมน์สำหรับการวิเคราะห์ เช่น มี column อยู่ 2 ชนิดคือ SE-30 กับ OV210 ต้องการเลือกสำหรับการแยกยาฆ่าแมลง 2 ชนิด คือ dieldrin กับ aldrin



dieldrin



aldrin

ยาฆ่าแมลง 2 ชนิดนี้ควรใช้ ΔI symbol เป็น Z' ดูตารางที่ 6.12

พิจารณาตารางที่ 6.13 OV210 จะมี ΔI > SE-30

358 44

∴ ควรใช้ OV210 ในการแยกยาฆ่าแมลง dieldrin และ aldrin เพราะมีขั้วต่อสารตัวอย่างมากกว่า

ตารางที่ 6.13 Some common stationary phase

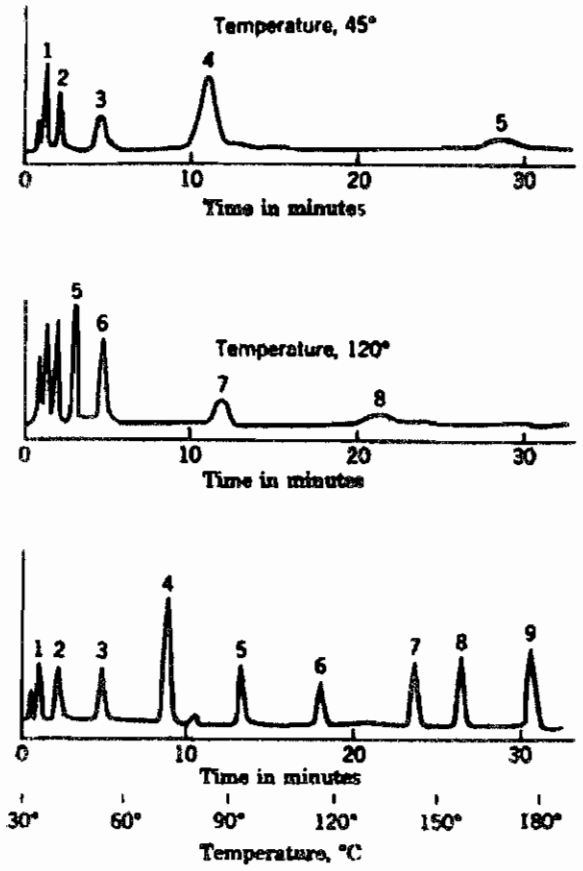
Stationary phase	Minimum/ maximum temperature (°C)	X'	Y'	Z'	U'	S'	P_{SUM}	PI (P/5)
Squalane hexamethyltetracosane	20/120	0	0	0	0	0	0	0
Apiezon L alkane grease, mp 43°C	50/280	32	22	15	32	42	135	27
OV101, SE30 100% methyl silicone	50/300	15	53	44	64	41	215	43
SE54 1% vinyl 5% phenyl methyl silicone	50/300	33	72	66	99	67	335	67
OV3 10% phenyl methyl silicone	0/350	44	86	81	124	88	425	85
Dexsil 300 carborane methyl silicone	50/550	47	80	103	148	96	475	95
Dexsil 400 carborane phenyl methyl silicone	40/400	72	108	118	166	123	590	118
OV7 20% phenyl methyl silicone	0/350	69	113	111	171	128	590	118
OV1701 14% cyanopropyl methyl silicone	0/250	67	170	153	228	171	795	159
Dinonylphthalate, DNP	0/150	83	183	147	231	159	805	161
OV17 50% phenyl methyl silicone	0/380	119	158	162	243	202	885	177
Dexsil 410 carborane cyanoethyl methyl silicone	50/400	72	286	174	249	171	950	190
OS124 polyphenylether	0/210	176	227	224	306	283	1215	243
Tricresyl phosphate	20/130	176	321	250	374	299	1420	284
OV210 50% trifluoropropyl methyl silicone	0/280	146	238	358	468	310	1520	304
OV225 cyanopropylmethyl phenylmethyl silicone	0/280	228	369	338	492	386	1815	363
Carbowax 20M polyethylene glycol	40/220	322	536	368	572	510	2310	462
FFAP (free fatty acid phase) terephthalic acid modified Carbowax	50/250	340	580	397	602	627	2545	509
Carbowax 1000 polyethylene glycol	30/150	347	607	418	626	589	2585	517
Diethylene glycol succinate, DEGS	0/200	496	746	590	837	835	3505	701

[a] PI = polarity index, calculated from $(X'+Y'+Z'+U'+S')/5$, $P_{SUM} = (X'+Y'+Z'+U'+S')$, X' = retention index for benzene, Y' = butanol, Z' = pentanone, U' = nitropropane, S' = pyridine. Values measured at 120°C and a 20% (w/w) loading.

4. <u>Oven</u>

อุณหภูมิของคอลัมน์เป็นสิ่งที่สำคัญที่สุดในการทำ GC ดังนั้นคอลัมน์ต้องบรรจุอยู่ในเตา (oven) ที่ควบคุมอุณหภูมิได้อย่างถูกต้องและแม่นยำด้วยตัวควบคุมอุณหภูมิ (Thermostat) ปัจจุบันเครื่อง GC มีความสามารถควบคุมให้อุณหภูมิคงที่และมีความถูกต้องสูง มีการเบี่ยงเบนของอุณหภูมิเพียง ± 0.1 °C ปกติอุณหภูมิของเตาที่ใช้จะต่ำกว่าส่วนฉีดสารตัวอย่างประมาณ 10 °C อุณหภูมิของคอลัมน์จะมีผลต่อค่ารีเทนชันและการแยกอย่างมาก อุณหภูมิคงที่จะให้รีเทนชันไทม์คงที่ ที่อุณหภูมิสูงจะมีผลทำให้ไอของสารตัวอย่างส่วนใหญ่อยู่ในเฟสของแก๊ส เพราะการเพิ่มอุณหภูมิจะทำให้การละลายของสารตัวอย่างในเฟสอยู่กับที่ลดลง จึงทำให้สารตัวอย่างถูกชะได้อย่างรวดเร็ว ถ้ามีสารผสมอยู่หลายตัวจะทำให้สารเหล่านั้นถูกชะออกจากคอลัมน์ได้ในเวลาไล่เลี่ยกัน การแยกจะเกิดขึ้นไม่ดี (poor resolution) แต่ถ้าใช้อุณหภูมิต่ำ สารตัวอย่างก็จะใช้เวลาส่วนใหญ่อยู่ในเฟสอยู่กับที่ ทำให้การชะเกิดขึ้นช้า รีเทนชันไทม์มีค่ามากแต่การแยกดีขึ้น โดยปกติในการทดลองทั่วๆ ไปจะใช้วิธีควบคุมอุณหภูมิของคอลัมน์ให้คงที่ ณ จุดใดจุดหนึ่ง สำหรับสารผสมที่มีรีเทนชันไทม์ต่างกันไม่มากนัก เพราะถ้าต่างกันมากจะใช้เวลานาน แต่ถ้าใกล้กันมากเกินไปจะแยกไม่ได้ อุณหภูมิจะมีผลต่อรีเทนชันไทม์ และการแยกอย่างเห็นได้ชัดดังแสดงในรูปที่ 6.25 (a , b) รูป 6.25 (a) ใช้อุณหภูมิของคอลัมน์คงที่ที่ 45 °C ซึ่งเรียกว่า isothermal ปรากฏว่าการแยกพีกที่ 1 , 2 , 3 และ 4 เกิดขึ้นได้ดีแต่ใช้เวลานาน และเมื่อเวลาผ่านไปถึง 30 นาที จึงได้พีกที่ 5 ออกมาเท่านั้น แต่ถ้าเปลี่ยนไปใช้อุณหภูมิของคอลัมน์คงที่ที่ 120 °C ตามรูป 6.25 (b) ปรากฏว่าเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นการแยกพีกที่ 1 , 2 , 3 และ 4 ออกจากกันเกิดขึ้นไม่ดี แต่สามารถชะพีกที่ 5 , 6 , 7 และ 8 ออกจากคอลัมน์ได้ภายในเวลาไม่ถึง 30 นาที จึงมีวิธีการที่ดีสำหรับทำให้สารแต่ละตัวแยกออกจากกันได้ดี และใช้เวลาไม่มากนัก คือใช้เทคนิคของการเพิ่มหรือลดอุณหภูมิระหว่างการทดลองอย่างเป็นระบบและต่อเนื่อง ซึ่งเรียกว่า การโปรแกรมอุณหภูมิ (temperature programming) การโปรแกรมอุณหภูมิมีประโยชน์มากในการแยกสารผสมที่ซับซ้อน ที่มีค่ารีเทนชันไทม์ทั้งสูงและต่ำปนกัน สารประกอบที่มีรีเทนชันไทม์ต่ำ จะออกจากคอลัมน์ก่อนเมื่อใช้อุณหภูมิต่ำ ต่อจากนั้นถ้าต้องการให้สารประกอบที่มีรีเทนชันไทม์สูงออกจากคอลัมน์สามารถทำได้โดยเพิ่มอุณหภูมิของคอลัมน์อย่างเป็นระบบ ดังแสดงในรูปที่ 6.25 (c) อุณหภูมิของคอลัมน์จะถูกโปรแกรมให้เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ โดยเพิ่มด้วยอัตรา 5 °C ต่อ 1 นาที เมื่ออุณหภูมิเริ่มต้น 30 °C ที่อุณหภูมิต่ำๆ พีกที่ 1 ถึง 4 จะแยกออกจากกันได้ดี เมื่อเพิ่มอุณหภูมิสูงขึ้นพีกต่อๆ ไปก็สามารถ

แยกออกมาได้ดีขึ้น ลักษณะของพีกแต่ละพีกจะสวยงามและคมชัดกว่าพีกในรูป a และ b และสามารถชะสารได้ถึงพีกที่ 9 ภายในเวลาเพียง 30 นาทีเท่านั้น แสดงว่าการใช้วิธีโปรแกรมอุณหภูมิจะทำให้ใช้เวลาในการทำการวิเคราะห์น้อยลงและได้พีกหรือโครมาโทแกรมที่คมชัดขึ้น เหมาะสำหรับการวิเคราะห์ใน GC เป็นอย่างยิ่ง ในการทดลองสามารถจัดทำโปรแกรมอุณหภูมิได้หลายแบบ เพื่อความเหมาะสมกับตัวอย่างแต่ละชนิด



รูปที่ 6.25 a และ b คือโครมาโทแกรมที่เกิดจากการควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ตลอดการทดลอง
c คือโครมาโทแกรมที่เกิดจากการโปรแกรมอุณหภูมิด้วยอัตรา 5 °C ต่อ 1 นาที

โครมาโทแกรมที่แสดงในรูป คือโครมาโทแกรมของสารผสมต่อไปนี้

เลขที่พีก	สารประกอบ	จุดเดือด	เลขที่พีก	สารประกอบ	จุดเดือด
1	n-propane	-42	6	n-octane	126
2	n-butane	-0.5	7	bromoform	150
3	n-pentane	36	8	m-Chlorotoluene	162
4	n-hexane	69	9	m-bromotoluene	184
5	n-heptane	98			

ไม่มีวิธีการคำนวณหาโปรแกรมอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการแยกตัวอย่างแต่ละชนิด โปรแกรมอุณหภูมิที่เหมาะสมจะหาได้จากการทดลอง โดยการฉีดสารตัวอย่าง 2–3 ครั้ง ที่อุณหภูมิต่างๆ แล้วศึกษาหาผลของอุณหภูมิ เพื่อจัดทำโปรแกรมอุณหภูมิ

5. Detectors

เมื่อสารประกอบในตัวอย่างถูกทำให้แยกออกจากกันภายในคอลัมน์แล้วถูกพาออกมายังดีเทคเตอร์ ดีเทคเตอร์จะทำหน้าที่วัดขนาดสารตัวอย่างว่ามีปริมาณมากน้อยเท่าไร ดังนั้นดีเทคเตอร์ที่เลือกใช้ ต้องสามารถวัดขนาดตัวอย่างนั้นๆ ได้ มีความไวต่อตัวอย่าง และมี reproducibility สูง การเลือกใช้ดีเทคเตอร์ต้องคำนึงถึงคุณสมบัติของดีเทคเตอร์ เช่นเดียวกับดีเทคเตอร์ของ HPLC ในสิ่งต่อไปนี้ คือ

- Sensitivity
- Stability
- Linearity
- Universality
- Selectivity
- Ease of use
- Cost

เมื่อพิจารณาการทำงานของดีเทคเตอร์สามารถแบ่งได้เป็น 2 แบบคือ

1. เมื่อสารตัวอย่างออกจากคอลัมน์แล้วเข้าเครื่องดีเทคเตอร์วัดขนาดได้โดยตรง ได้แก่ Nitrometer , IR และ MS เป็นต้น
2. เมื่อสารตัวอย่างออกจากคอลัมน์เข้าเครื่องดีเทคเตอร์ ดีเทคเตอร์จะทำหน้าที่วัดขนาดแล้วเปลี่ยนเป็นสัญญาณไฟฟ้าส่งไปยังเครื่องบันทึก ได้แก่ TCD , FID และ ECD เป็นต้น

5.1 Make – up gas

ปกติดีเทคเตอร์มาตรฐานทั่วๆ ไปทางการค้า จำเป็นต้องใช้อัตราการไหลของแก๊สตัวพาอยู่ในช่วง 30-40 ml/min จึงจะได้ความไวสูงสุดและรูปร่างพีกที่ดีที่สุด แต่อัตราการไหลของแก๊สตัวพาที่ใช้สำหรับ open tubular columns หรือ capillary column จะอยู่ในช่วงที่ต่ำกว่านี้ ดังนั้นเพื่อให้ดีเทคเตอร์มีสมรรถนะสูงสุดจึงต้องเพิ่มแก๊สให้ดีเทคเตอร์อีกจำนวนหนึ่งเรียกว่า make-up gas โดย make–up gas อาจเป็นแก๊สชนิดเดียวกับแก๊สตัวพาหรือเป็นแก๊สชนิดอื่นที่สามารถใช้กับดีเทคเตอร์ได้ ขึ้นอยู่กับบริษัทผู้ผลิตระบุมาว่าต้องใช้ชนิดใด และมี flow rate เท่าไร สำหรับดีเทคเตอร์ชนิดนั้นๆ

5.2 ชนิดของดีเทคเตอร์ที่ใช้โดยทั่วไปในแก๊สโครมาโทกราฟี

(Common detector used in gas chromatography)

ดีเทคเตอร์ของ GC ที่ใช้กันในปัจจุบัน ได้แก่

1. Thermal Conductivity Detector (TCD)
2. Flame Ionization Detector (FID)
3. Alkali flame Ionization Detector (AFID)
4. Electron Capture Detector (ECD)
5. Nitrogen Phosphorous Detector (NPD)
6. Flame Photometric Detector (FPD)
7. Photoionization Detector (PID)

8. Mass Selective Detector (MSD)
9. Electrolytic Conductivity Detector (ELCD)
10. Infrared Detector (IRD)
11. Atomic Emission Detector (AED)
12. Helium Ionization Detector (HID)
13. Redox Chemiluminescence Detector (RCD)
14. Thermionic Detector (TD)

ดีเทคเตอร์ที่นิยมใช้กันมากที่สุดคือ

ชนิดดีเทคเตอร์	Minimum detection level (MDL) g/ml
TCD	10^{-9}
NPD	10^{-14}
FID	10^{-12}
FPD	10^{-11}
ECD	10^{-14}
MSD	$<10^{-12}$

แก๊สตัวพาที่ใช้สำหรับดีเทคเตอร์แต่ละชนิด

Gas Recommendations for Packed Columns

Detector	Carrier gas	Comments
TCD	Helium	General use
	Hydrogen	Maximum sensitivity
	Nitrogen	Hydrogen detection
	Argon	Maximum hydrogen sensitivity
FID	Nitrogen	Maximum sensitivity
	Helium	
Nitrogen / Phosphorous (NPD)	Helium	Optimum performance
	Nitrogen	
ECD	Nitrogen	Maximum sensitivity
	Argon / methane	Maximum dynamic range

Gas Recommendations for capillary columns

Detector	Carrier gas	Prefered Make up gas	Second choice
FID	Hydrogen	Nitrogen	Helium
	Helium	Nitrogen	Helium
	Nitrogen	Nitrogen	Helium
NPD	Hydrogen	Helium	-
	Helium	Helium	-
	Nitrogen	Helium	-
ECD	Hydrogen	Argon / methane	Nitrogen
	Helium	Argon / methane	Nitrogen
	Nitrogen	Nitrogen	Argon / methane
	Argon / methane	Argon / methane	Nitrogen
TCD	Hydrogen		
	Helium	← Same as carrier gas →	
	Nitrogen		
	Argon		

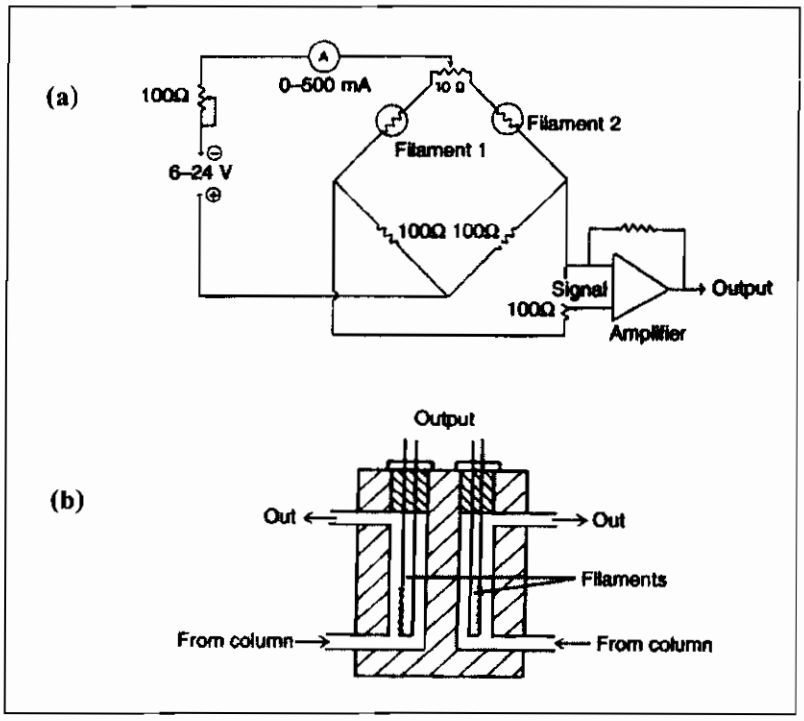
ในที่นี้จะขอกล่าวถึงรายละเอียดของดีเทคเตอร์ไว้ 4 ชนิดคือ TCD , FID , ECD และ MSD

Thermal conductivity detector (TCD)

ดีเทคเตอร์ชนิดนี้จัดเป็น universal detector เป็นดีเทคเตอร์ชนิดแรกที่นำมาใช้ใน GC สามารถตรวจหาสารได้ทุกชนิดที่ให้การนำความร้อนแตกต่างจากแก๊สตัวพา มีราคาถูกและใช้กันอย่างกว้างขวาง หลักการของเทอร์มัลคอนดักติวิตีดีเทคเตอร์คือการวัดการลดขนาดความร้อนจากการสูญเสียความร้อนของใยเส้นลวดในดีเทคเตอร์เนื่องจากมีโมเลกุลของตัวอย่างเข้ามาสัมผัส

TCD ประกอบด้วยใยเส้นลวด (filament) ที่ทนความร้อนสอดไว้อยู่กลางหลอดของแท่งโลหะ ดังแสดงในรูปที่ 6.26 a. ใยเส้นลวดทำจาก platinum หรือ tungsten หรือ tungsten

rhenium มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.02 mm ถูกให้ความร้อนโดยผ่านกระแสไฟฟ้าเข้าไป อุณหภูมิที่ต่างกันของเส้นลวดกับหลอดของแท่งโลหะ (cell) จะมีผลต่อสภาพไวของดีเทคเตอร์ เมื่อแก๊สตัวพาผ่านเข้าไปในหลอดของแท่งโลหะสม่ำเสมอและคงที่มีผลทำให้ใยเส้นลวดร้อนด้วยอุณหภูมิคงที่ เมื่อแก๊สตัวพาพาสารที่ต้องการวิเคราะห์ออกจากคอลัมน์เข้าสู่ดีเทคเตอร์ จะทำให้มีการเปลี่ยนแปลงค่าการนำความร้อน (thermal conductivity) ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้อุณหภูมิของใยเส้นลวดเปลี่ยนแปลง ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความต้านทานของเส้นลวดที่ต่อเป็นวงจรไฟฟ้า Wheatstone bridge เมื่อทำการปรับความต้านทานเข้าสู่สมดุล กระแสที่เปลี่ยนไปจากการเปลี่ยนแปลงความต้านทานใน Wheatstone bridge จะถูกส่งไปยังส่วนขยาย (amplifier) และต่อไปยังส่วนบันทึกผลในที่สุด ดังแสดงในรูปที่ 6.26 b. ซึ่งขนาดของสัญญาณจะสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณของสารตัวอย่างนั่นเอง



รูปที่ 6.26 Thermal conductivity detector

a) ใยเส้นลวด (filament) ในช่องว่างของหลอดโลหะ

b) วงจรไฟฟ้า Wheatstone bridge ของ TCD

เนื่องจากเส้นลวดจะถูกเผาที่อุณหภูมิสูงตลอดเวลา อาจทำให้เส้นลวดเกิดการขาดได้ง่าย ซึ่งต้องระวังในการใช้ โดยก่อนเปิดสวิทซ์ให้ความร้อนแก่ดีเทคเตอร์ต้องผ่านแก๊สตัวพาไปก่อนสักครู่หนึ่ง เพื่อป้องกันไม่ให้เส้นลวดไหม้ เนื่องจากมีอากาศอยู่ ถ้าใยลวดสกปรกสามารถถอดมาล้างได้โดยล้างและแช่ในตัวทำละลาย เช่น น้ำ เมทานอล และอะซิโตน เมื่อสะอาดแล้วให้นำมาทำให้แห้ง แล้วจึงต่อกลับเข้าไปใน TCD ใหม่ ให้ผ่านแก๊สตัวพาและให้ความร้อนเป็นเวลา 24 ชม. ก่อนใช้งานตามปกติ

การนำความร้อน (thermal conductivity) คือการไหลผ่านความร้อนจากวัสดุที่มีความร้อนสูงไปสู่วัสดุตัวรับความร้อนที่มีความร้อนต่ำกว่า การไหลของความร้อนขึ้นอยู่กับ cross-section area , temperature , temperature coefficient และ geometry ของใยเส้นลวด นอกจากนี้สัญญาณของ TCD ยังขึ้นอยู่กับการออกแบบของ cell โดยสัญญาณที่ได้จะแปรผันกับความเข้มข้น (C) ความเร็วของการเคลื่อนที่ของโมเลกุลตัวอย่าง (V_{mol}) ความแตกต่างของอุณหภูมิระหว่างใยเส้นลวดกับหลอดแท่งโลหะ (cell) และแปรผกผันกับความร้อนจำเพาะของสารตัวอย่าง (C_v)

$$S_{TCD} \propto \frac{CV_{mol}\Delta T}{C_v} \qquad \text{———— (6.15)}$$

ค่าความแตกต่างของการนำความร้อนระหว่างไอของแก๊สตัวพากับไอของสารตัวอย่างควรมีความแตกต่างกันมากจึงจะทำให้การตรวจวัดมีความไวสูง ดังนั้นแก๊สตัวพาที่ใช้ควรเป็น แก๊สฮีเลียม หรือ ไฮโดรเจน เพราะมีค่าการนำความร้อนสูง มีความแตกต่างกับไอของสารตัวอย่างได้มากกว่าการใช้ไนโตรเจน ซึ่งมีค่าการนำความร้อนใกล้เคียงกับสารตัวอย่าง ดังแสดงในตารางที่ 6.14

ตารางที่ 6.14 ค่าการนำความร้อนของไอของสารบางชนิดที่อุณหภูมิ 100 °C

Substance	k x 10^5 cal/°C/mol	RMR[a]	RWR[b]
Hydrogen , H_2 (Mol.Wt. = 2)	53.4	-	-
Helium , He (At.Wt. = 4)	41.6	-	-
Methane , CH_4 (Mol.Wt. = 16)	10.9	36	2.2
Nitrogen , N_2 (Mol.Wt. = 28)	7.5	42	1.5
Ethane , C_2H_6 (Mol.Wt. = 30)	7.3	51	1.7
Propane , C_3H_8 (Mol.Wt. = 44)	6.3	65	1.5
Ethyl propyl ether , $C_2H_5OC_3H_7$ (Mol.Wt. = 88)	5.4	121	1.4
Carbon dioxide , CO_2 (Mol.Wt. = 44)	5.3	48	1.1
Ethanol , C_2H_5OH (Mol.Wt. = 46)	5.3	72	1.6
Argon , Ar (At.Wt. = 40)	5.2	42	1.0
n-Hexane , C_6H_{14} (Mol.Wt. = 86)	5.0	123	1.4
Benzene , C_6H_6 (Mol.Wt. = 78)	4.4	100	1.3
Ethyl acetate , $CH_3COOC_2H_5$ (Mol.Wt. = 88)	4.1	111	1.3
Carbon tetrachloride , CCl_4 (Mol.Wt. = 154)	2.2	108	0.7

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

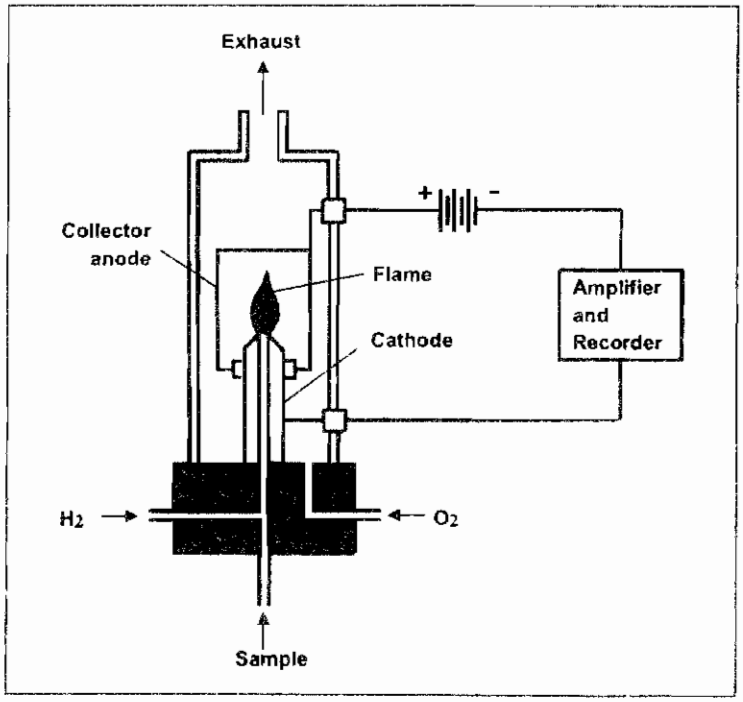
[b]RWR – Relative weight response = RMR/Mol. Wt.

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

Flame ionization detector (FID)

FID เป็นดีเทคเตอร์มาตรฐานที่ถูกใช้งานอย่างกว้างขวางในแก๊สโครมาโทกราฟี เนื่องจากสารประกอบอินทรีย์ทุกๆ ชนิดสามารถเกิดไอออไนซ์ (ionization) ได้ในเปลวไฟ ทำให้เกิดกระแสของไอออนที่สามารถสะสมอยู่ระหว่างขั้วที่มีประจุตรงข้าม 2 ขั้วได้ตามปริมาณของไอออน กระแสที่เกิดขึ้นยังมีปริมาณน้อยต้องใช้วงจรอิเล็กทรอนิกส์เพื่อขยายให้มีปริมาณกระแส

ไฟฟ้ามากขึ้น ลักษณะของดีเทคเตอร์ชนิดนี้ มีรูปร่างดังแสดงในรูปที่ 6.27 เปลวไฟที่ใช้ในการทำให้สารอินทรีย์เกิดการไอออไนซ์ คือเปลวไฟจากแก๊สไฮโดรเจน ดังนั้นการเรียกชื่อดีเทคเตอร์ชนิดนี้บางที่เรียกว่า Hydrogen flame ionization detector ปริมาณหรือจำนวนอะตอมของคาร์บอนที่เกิดการไอออไนซ์หรือถูกออกซิไดซ์จะแปรผันโดยตรงกับปริมาณกระแสของไอออนที่เกิดขึ้น ซึ่งสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณของสารตัวอย่างด้วยนั่นเอง ดีเทคเตอร์ FID สามารถวิเคราะห์สารประกอบที่มีความเข้มข้นน้อยๆ ได้ดีกว่าเทอร์มัลคอนดักติวิตีดีเทคเตอร์ถึง 1,000 เท่า



รูปที่ 6.27 Flame ionization detector (FID)

เหตุผลของการนิยมใช้ FID ในการวิเคราะห์ทั่ว ๆ ไป คือ

1. ให้ความไวสูงกับสารประกอบอินทรีย์ทุกชนิด
2. ไม่ตอบสนองต่อน้ำ คาร์บอนไดออกไซด์ และมลทินในแก๊สตัวพา
3. ให้เส้นฐาน (base line) ที่นิ่ง และไม่แกว่งเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ความดัน และอัตราการไหลของแก๊สตัวพา
4. มีความสัมพันธ์เชิงเส้นที่ดี (good linearity) และมี linearity range (LDR) ในช่วงของความเข้มข้นที่กว้าง

ในการใช้ FID ระบบประกอบด้วยแก๊ส 3 ชนิดคือ แก๊สตัวพารวมกับไฮโดรเจนและอากาศ แก๊สไฮโดรเจนจะทำหน้าที่เป็นเชื้อเพลิงในการจุดเปลวไฟด้วย heater อากาศเป็นตัวช่วยทำให้เกิดการสันดาป (combustion) อัตราการไหลของแก๊สไฮโดรเจนและอากาศต้องปรับให้ถูกต้องและเป็นสัดส่วนที่เหมาะสมกับแก๊สตัวพา ถ้าสัดส่วนไม่เหมาะสมการจุดเปลวไฟที่ดีเทคเตอร์จะจุดยาก อัตราส่วนที่เหมาะสมของแก๊สตัวพา : ไฮโดรเจน ประมาณ 1.2 : 1 และอัตราการไหลของอากาศคือ 300-600 ml/min เปลวไฟของไฮโดรเจน-อากาศจะถูกจุดที่หัว jet โดยมีตำแหน่งของขั้ว (electrode) วางอยู่เหนือเปลวไฟเพื่อเป็นที่สะสมของไอออนตัวอย่าง (analyte ion) ดังรูปที่ 6.27 แก๊สตัวพาและไอของตัวอย่างจะเข้าสู่เปลวไฟแล้วทำให้สารตัวอย่างซึ่งเป็นสารประกอบอินทรีย์เกิดการไอออไนซ์ได้อิเล็กตรอนและไอออนบวกดังนี้คือ เปลวไฟของแก๊สไฮโดรเจน-อากาศที่บริสุทธิ์ ประกอบด้วย $H^{\bullet}$, $O^{\bullet}$ และ $OH^{\bullet}$ (ซึ่งเรียกว่า radical) อยู่ในสภาวะเร้า (excited species) และเมื่อมีโมเลกุลของสารประกอบอินทรีย์ เข้ามาในเปลวไฟ เปลวไฟก็จะทำให้โมเลกุลของตัวอย่างเกิด thermal fragmentation ได้เป็น $CH^{\bullet}$ ซึ่งจะเข้าทำปฏิกริยากับ oxygen radicals ที่มีอยู่ในเปลวไฟทันที

$$-CH^{\bullet} + O^{\bullet} \longrightarrow -CHO^{+} + e^{-}$$

ปริมาณของไอออนไนซ์โมเลกุลจะขึ้นอยู่กับจำนวนคาร์บอนในโมเลกุลของสารตัวอย่างอินทรีย์และปริมาณของสาร (คือขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของสารตัวอย่างนั่นเอง) $-CHO^{+}$ ของตัวอย่างจะวิ่งเข้าไปสะสมที่ขั้วซึ่งให้ศักย์ไฟฟ้าที่เป็นลบเมื่อเทียบกับ flame jet ไว้ประมาณ –150 V ส่วนอิเล็กตรอนจะวิ่งไปยัง flame jet สัญญาณที่เกิดขึ้นจะถูกส่งไปยังอิเล็กโทรมิเตอร์ และต่อไปยังเครื่องบันทึก

เนื่องจากการสันดาปของแก๊สไฮโดรเจนที่ดีเทคเตอร์จะมีไอน้ำเกิดขึ้น เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการกลั่นตัวของไอน้ำ ควรตั้งอุณหภูมิของดีเทคเตอร์ไว้สูงกว่า 100 °C สำหรับสารประกอบที่มีโมเลกุลใหญ่ ๆ มักเกิดการเผาไหม้ที่ไม่สมบูรณ์ทำให้มีเขม่าอุดตันที่หัว jet จึงต้องใช้อุณหภูมิให้สูงและต้องมีการถอดหัว jet มาล้างให้สะอาด เมื่อโครมาโทแกรมมีสัญญาณรบกวนมาก หรือสภาพไวของดีเทคเตอร์ลดลง ถ้าตัวอย่างเป็นสารประกอบที่มีคลอรีน ผลของการเผาไหม้จะทำให้เกิด HCl ที่ก่อให้เกิดการผุกร่อนของ jet ได้ง่ายจึงควรระวัง

Electron capture detector (ECD)

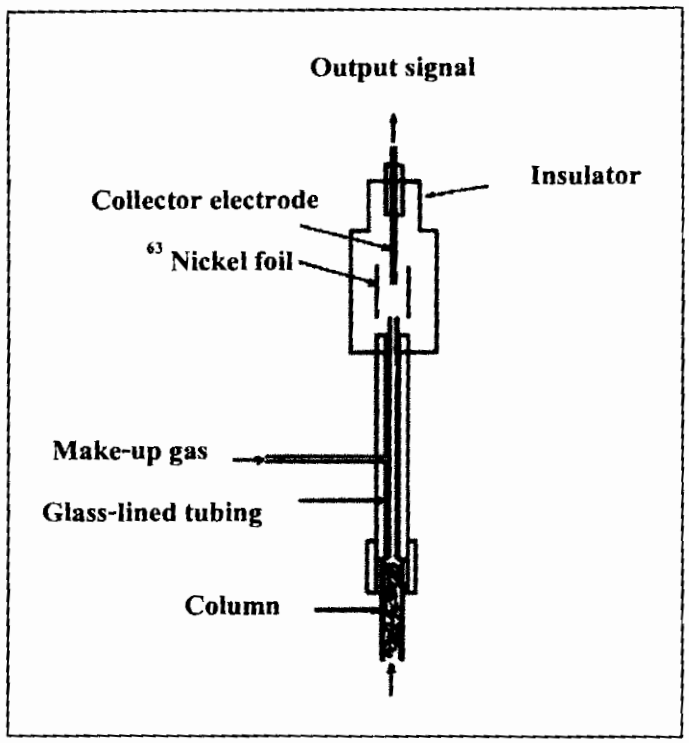
ECD จัดเป็นดีเทคเตอร์ที่มีความเฉพาะเจาะจงชนิดหนึ่งที่ใช้กันอย่างกว้างขวาง ใช้มากที่สุดในงานวิเคราะห์ทาง Trace environmental pollutants เช่นการวิเคราะห์สารจำพวกยาฆ่าแมลง ยาปราบวัชพืช เป็นต้น เพราะสารประกอบเหล่านี้มีธาตุที่มี electronegativity สูง เป็นองค์ประกอบซึ่งไวต่อดีเทคเตอร์ ECD จะตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงการนำไฟฟ้าของแก๊สใน ionization chamber ที่มี radioactive source ^{63}Ni ซึ่งสามารถให้รังสีเบต้า (β^-) ที่ทำให้แก๊สตัวพาเกิดไอออไนซ์ให้อิเล็กตรอน และอิเล็กตรอนที่เกิดขึ้นจะวิ่งไปสะสมที่ขั้ว (collector electrode) ทำให้เกิดความต่างศักย์ระหว่างขั้วทั้งสอง และยังมีอิเล็กตรอนเหลืออยู่อีกจำนวนหนึ่งเป็น electron cloud ทำให้เกิดกระแสไฟฟ้าขึ้น เมื่อมีสารตัวอย่างออกจากคอลัมน์เข้าไปในดีเทคเตอร์โมเลกุลของสารตัวอย่างจะดูดกลืนอิเล็กตรอนไว้ได้จำนวนหนึ่งตามปริมาณของสารตัวอย่างทำให้กระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นจากอิเล็กตรอนลดลง ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้จะทำให้เกิดเป็นสัญญาณส่งไปยังเครื่องบันทึก

$$N_2 + \beta^- \rightleftharpoons N_2 + e^-$$

$$Ar + \beta^- \rightleftharpoons Ar^* + Ar^+ + e^-$$

$$AB + e^- \rightleftharpoons AB^- \text{ and } A^\bullet + B^-$$

แก๊สตัวพาที่เหมาะสมสำหรับ ECD คือ ฮีเลียม ไนโตรเจน หรือ อาร์กอน + 10% มีเทน ความไวของเครื่องขึ้นอยู่กับอัตราการไหลของแก๊สตัวพาซึ่งจะทำให้เกิด electron cloud และอุณหภูมิของดีเทคเตอร์ เนื่องจากแก๊สออกซิเจนและน้ำเป็นสารที่ดูดกลืนอิเล็กตรอนได้ ดังนั้น ถ้าแก๊สตัวพามีน้ำหรือออกซิเจนปนอยู่จะทำให้ความไวของดีเทคเตอร์ลดลง ลักษณะของดีเทคเตอร์ ECD แสดงไว้ในรูปที่ 6.28



รูปที่ 6.28 Electron Capture detector

ECD สามารถตอบสนองต่อสารประกอบอินทรีย์ได้ไวแตกต่างกัน เช่น (เทียบเป็นสัดส่วนกัน)

สารประกอบไฮโดรคาร์บอน	1
สารประกอบอีเทอร์และเอสเทอร์	10
สารประกอบอะลิฟาติกแอลกอฮอล์ คีโดน อะมีน โมโนคลอไรด์และฟลูออไรด์	100
สารประกอบจำพวกโมโนโบรไมด์ ไดคลอไรด์ และไดฟลูออไรด์	1,000
สารประกอบจำพวกแอนไฮไดรด์และไตรคลอไรด์	10,000
สารประกอบจำพวกโมโนไอโอไดด์ ไดโบรไมด์ พอลีคลอไรด์ และ พอลีฟลูออไรด์	100,000
สารประกอบจำพวกไดไอโอไดด์ ไตรโบรไมด์	1,000,000

ปัจจุบันมีความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีของการผลิต ECD ทำให้เซลล์ของดีเทคเตอร์ขนาดเล็กลงอีก 10 เท่า ทำให้แบ่งชนิดของดีเทคเตอร์ ECD เป็น 2 ชนิดคือ

- Regular ECD มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายในของ active part 1.2 ซม. และสูง 1 ซม.
- μECD มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายในของ active part 6 mm และสูง 4.2 mm ทำให้สามารถวิเคราะห์สารตัวอย่างที่มีปริมาณน้อยกว่า regular ECD

เนื่องจาก ECD จำเป็นต้องมีแหล่งกำเนิดรังสีเบต้า (β^-) คือ ^{63}Ni หรือ ^{3}H หรือ ^{55}Fe (ส่วนใหญ่นิยม ^{63}Ni) ซึ่งเป็นสารกัมมันตรังสี ต้องมีการควบคุมการใช้และรายงานการตรวจสอบการรั่วไหลของรังสีทุก 6 เดือนด้วย คุณสมบัติของไอโซโทป ^{63}Ni แสดงในตารางที่ 6.15

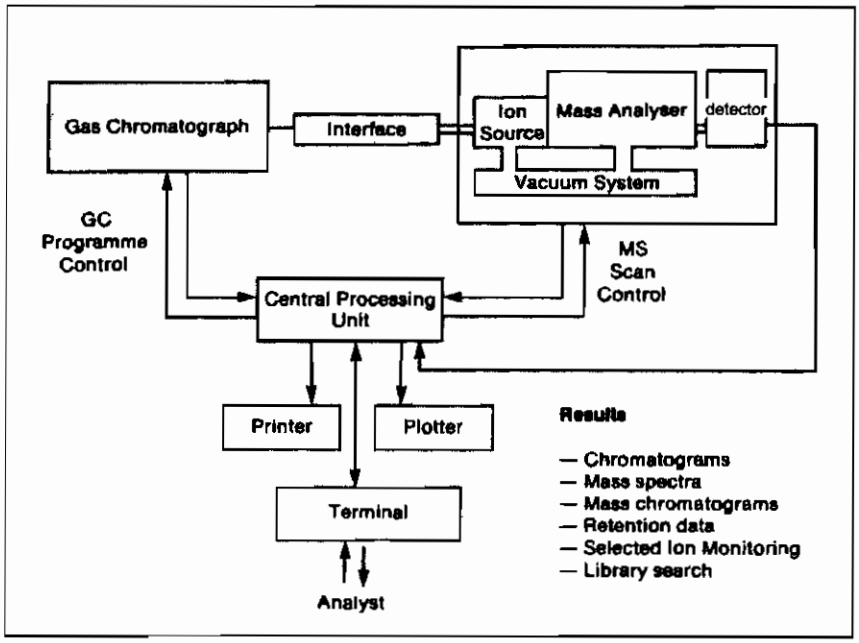
ตารางที่ 6.15 คุณสมบัติของ ^{63}Ni

Half life	I01.1 years
Emission	65.67 keVmax ; beta radiation
Melting point	1453 ^{o}C
Total activity	555 MBq (15 millicuries) maximum

Mass selective detector (MSD)

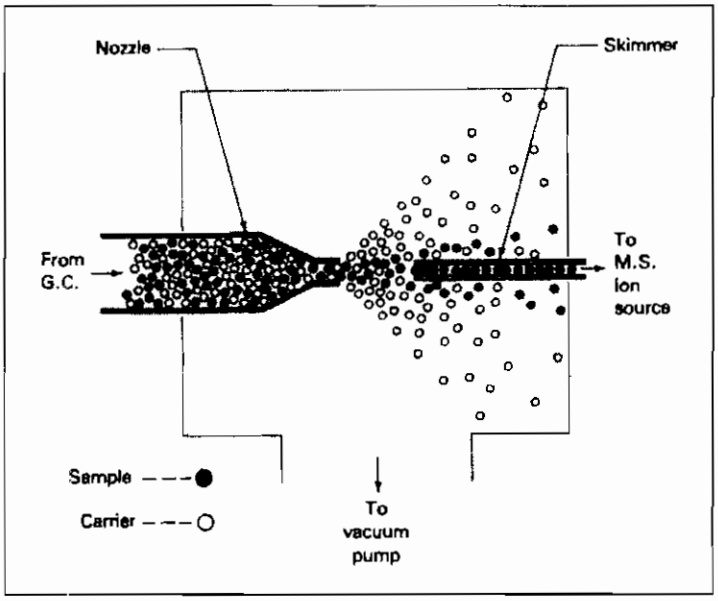
Mass spectrometer สามารถนำมาใช้เชื่อมต่อกับการแยกโดยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟีเพื่อการตรวจสอบชนิดของสารประกอบได้อย่างเฉพาะเจาะจง (selective) จึงมีชื่อเรียกเป็น Mass selective detector (MSD) ทำให้ได้ชุดของเครื่องมือที่เรียกว่า GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometry) ที่มีความสามารถสูงในการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารประกอบต่างๆ และสารผสมที่ซับซ้อน เหตุที่ต้องมีการพัฒนาสร้างเครื่องมือ GC-MS เพราะเมื่อทำการแยกสารตัวอย่างด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟีแล้ว ถ้าต้องการเก็บส่วนที่แยกไปวิเคราะห์ต่อด้วยวิธี IR , NMR และ MS นั้นต้องมีการเก็บ fraction ส่วนที่แยกได้ด้วย cold trap แต่เนื่องจากปริมาณสารที่แยกได้มีน้อยมาก การเก็บส่วนที่แยกได้ไปวิเคราะห์ต่อจะยากมาก จึงได้มีการพัฒนาการต่อเชื่อม

ดีเทคเตอร์ MS(interface) เข้ากับระบบของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี และควบคุมการทำงานด้วยคอมพิวเตอร์ เพื่อความแม่นยำ และเก็บข้อมูลที่ตรวจวัดได้หลายๆ รูปแบบ แล้วนำกลับมา reconstruct ใหม่ได้ จึงได้ชุดเครื่องมือ GC-MS ที่มีแผนภาพดังแสดงในรูปที่ 6.29 เนื่องจากเครื่องมือมีความซับซ้อนและยุ่งยากในการใช้งาน ดังนั้นผู้ที่จะทำงานกับเครื่อง GC-MS ต้องผ่านการฝึกอบรมและมีความรู้เป็นอย่างดี ทั้งด้านการใช้งาน บำรุงรักษา และวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้ในรูปของ chromatogram, mass spectra และ mass chromatogram



รูปที่ 6.26 แผนภาพของเครื่อง GC-MS และ computer system

การเชื่อมต่อ (interface) GC เข้ากับเครื่อง MS สามารถทำได้โดยตรง เพราะอัตราการไหลของแก๊สตัวพาจากคาปิลลารีคอลัมน์มีค่าต่ำเพียงพอที่จะป้อนเข้าไปใน ionization chamber ของ mass spectrometer แต่ถ้าเป็น packed column ต้องมีการแยกแก๊สตัวพาออกจากคอลัมน์ก่อน (jet separator) เพื่อให้ตัวอย่างเข้าไปใน ion source ได้มากที่สุด ดังแสดงในรูปที่ 6.27



รูปที่ 6.27 แสดงการแยกแก๊สตัวพาออกจากตัวอย่าง (jet separator)

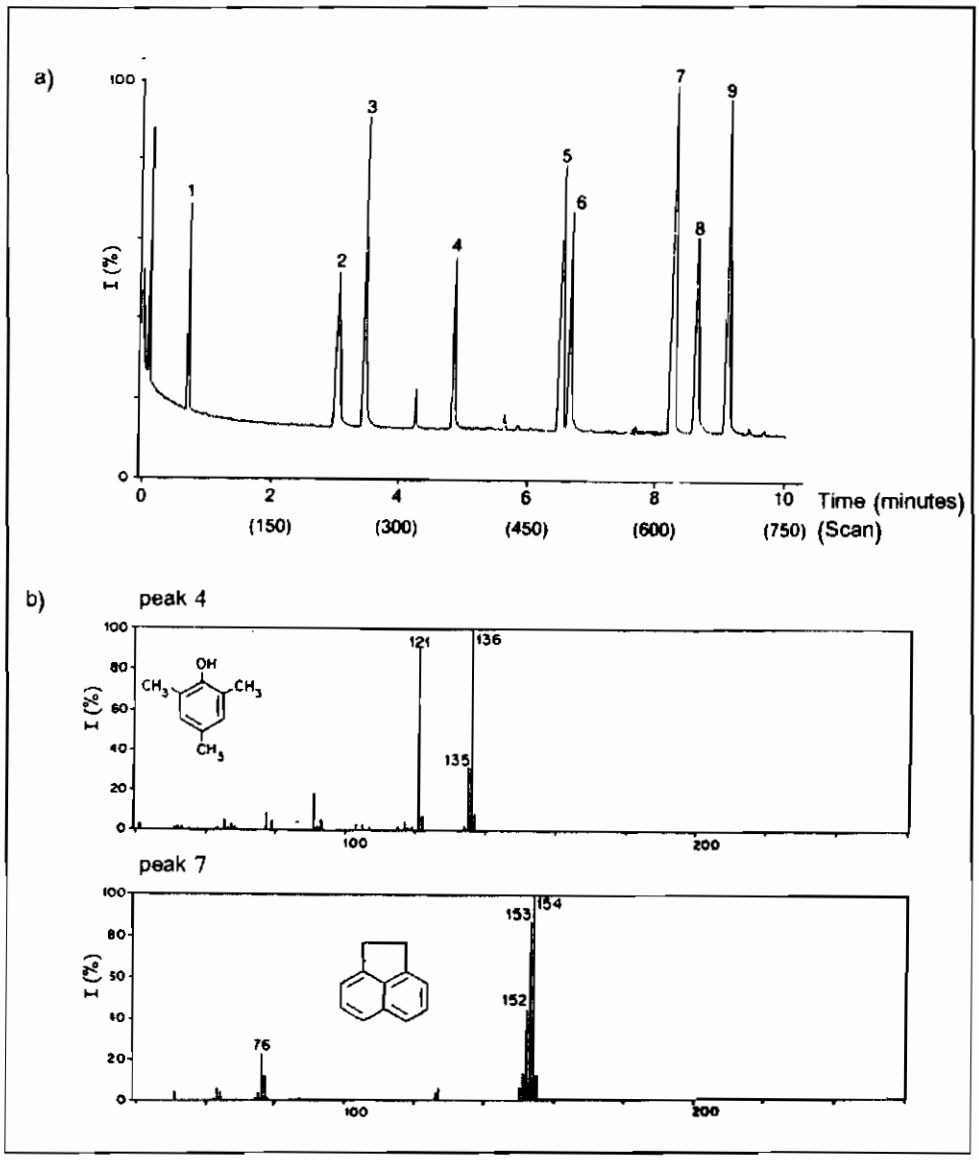
Mass analyzer ที่ใช้ใน GC-MS ได้แก่

- Quadrapole
- Ion trap

ชนิดที่ง่ายสำหรับการใช้ใน GC คือ ion trap เมื่อตัวอย่างถูกชะออกมาจะเข้าสู่ ion source และถูกทำให้เป็นไอออนได้โดย electron impact หรือ chemical ionization แล้วเข้าสู่ mass analyzer จะถูกสะสมในสนามของ radio-frequency ไอออนที่ถูก trap ไว้จะถูกปล่อยออกสู่ electron multiplier deteetor โดยถูกควบคุมขนาด mass to charge ratio เมื่อวัดความเข้มของ mass เทียบกับเวลาจะได้ mass chromatogram และถ้าวัดความเข้มของ mass แต่ละ mass เทียบกับ mass ratio (m/z) จะได้ mass spectrum รูปที่ 6.28 คือ ตัวอย่างของการประยุกต์ใช้ GC-MS ในการวิเคราะห์ตัวอย่างผสม 9 ชนิด คือ

1. 1,2 dimethylbenzenc
2. isooctane
3. 2,6 dimethylphenol
4. 2,4,6 trimethylphenol
5. 2,6 dimethylundecane
6. nicotine
7. 1,2 dihydroacenaphthylene
8. dodecan-1-ol
9. 2-methyltetradecane

ลำดับเลขที่คือลำดับของการชะออกจากคอลัมน์



รูปที่ 6.28 a) คือ Reconstruct chromatogram โดยคอมพิวเตอร์ของสารผสม 9 ชนิด
b) คือ mass spectrum ของพีกที่ 4 และ 7