

บทที่ 11

การวิเคราะห์อาหารโดยใช้แก๊สโครมาโทกราฟี

(Techniques of Food Analysis by Gas Chromatography)

ทฤษฎี

Gas chromatography (GC) เป็นเทคนิคที่ใช้สำหรับแยกสารผสมที่สามารถระเหยเป็นกลายเป็นไอ (volatile organic compounds) ได้ที่อุณหภูมิห้องหรือไม่เกิน 450° ซ อาศัยหลักของความชอบที่แตกต่างกันขององค์ประกอบในตัวอย่างที่มีต่อวัฏภาค 2 วัฏภาค คือ วัฏภาคอยู่กับที่ (Stationary phase) และ วัฏภาคเคลื่อนที่ (Mobile phase) ถ้าสารใดเป็นแก๊สได้ยาก ก็อาจใช้เทคนิคอื่นช่วย เช่น อาศัยปฏิกิริยาเคมีเปลี่ยนเป็นอนุพันธ์อื่น ๆ ที่สามารถเปลี่ยนเป็นแก๊สได้หรืออาจใช้หลักการแยกสลายด้วยความร้อน (pyrolysis) เมื่อสารที่เป็นของแข็งนั้นถูกความร้อนจะถูกเปลี่ยนให้เป็นไอหรือแก๊สที่อุณหภูมิสูงถึง 600 องศาเซลเซียสแล้วผ่านไอนั้นไปยังตัวแยกที่อยู่กับที่ซึ่งเรียกว่า stationary phase ถ้า stationary phase เป็นของแข็ง เรียก Gas solid chromatography ถ้า stationary phase เป็นของเหลวเรียกว่า Gas liquid chromatography ซึ่ง Martin และ Synges 1941 เป็นผู้นำมาใช้ต่อมาในปี 1952 ได้พิมพ์เอกสารเกี่ยวกับการใช้ Gas chromatography ในปี 1956 ได้มีการคิดค้นเครื่องมือขึ้นมาเป็นครั้งแรกและมีการพัฒนาให้มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้นจนทุกวันนี้ เทคนิคการวิเคราะห์นี้แบ่งได้ 2 ชนิดคือ

	Mobile P	Stationary P
1. Gas Solid Chromatography	Gas	Solid
2. Gas Liquid Chromatography	Gas	Liquid

ส่วนประกอบที่สำคัญของเครื่อง GC คือ column ซึ่งมี stationary phase บรรจุอยู่และ detector อีกทั้งส่วนประกอบต่างๆ เพื่อให้การวิเคราะห์มีประสิทธิภาพสูงสุด คือ Carrier gas, Injection port , Solid support, Stationary phase เป็นต้น

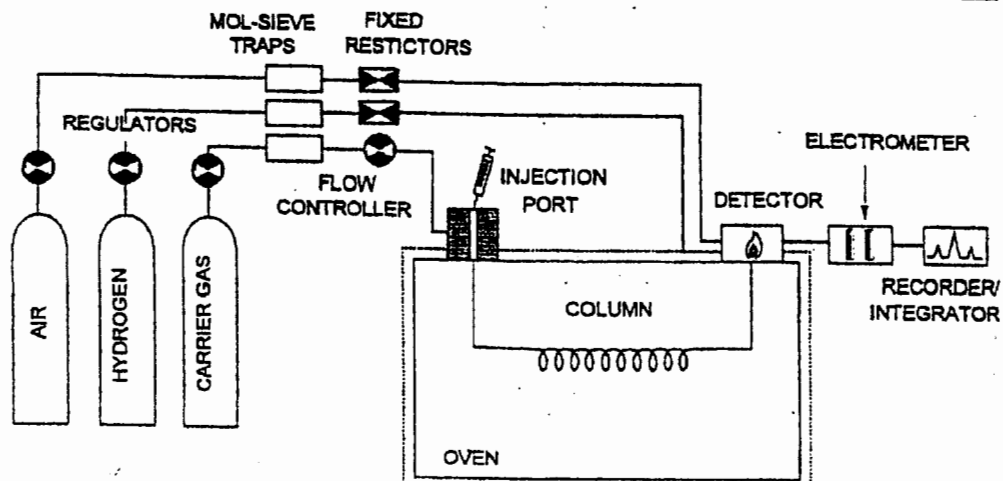
1. **Gases** ทั่วๆไปที่ใช้เป็น mobile phase คือ Helium, nitrogen และ Argon จะใช้ชนิดไหนขึ้นกับการวิเคราะห์สารตัวอย่าง และการควบคุมของ detector ซึ่ง gases แบ่งได้ 2 ชนิดคือ

1.1 **Carrier gas** ใช้พาสารที่ต้องการวิเคราะห์ผ่านไปตาทคอลัมน์ ไปตามกระบวนการทำงานของเครื่อง GC ซึ่ง Carrier gas จะพาสารที่ถูกทำให้เป็นไอเข้าสู่ column, carrier gas จะต้องมีการควบคุม flow rate ให้คงที่เสมอที่นิยมใช้คือ Nitrogen, Helium, Hydrogen

คุณสมบัติของ carrier gas คือ

1. มีความบริสุทธิ์สูง โดยมากต้องใช้ชนิด Ultra pure เพื่อความคงทนของเครื่องมือ
2. เหมาะสมกับ detector แต่ละชนิด
3. ต้องไม่ทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่าง
4. มีน้ำหนักโมเลกุลสูงหรือการกระจายตัวต่ำ (gaseous diffusion)

Typical Gas Chromatograph



ภาพที่ 11.1 แสดงส่วนประกอบต่างๆ ของเครื่อง Gas chromatography

1.2 **Detector Gas** เป็น gas ที่ใช้ support detector

2. Oven คือ ส่วนที่ใช้สำหรับบรรจุคอลัมน์ (Column) และเป็นส่วนที่ควบคุมอุณหภูมิของคอลัมน์ ให้เปลี่ยนไปตามความเหมาะสมกับสารที่ต้องการวิเคราะห์ซึ่งการควบคุมอุณหภูมิของ Oven นั้นมี 2 แบบ คือ

2.1) Isocratic Temperature

2.2) Gradient Temperature ข้อดีของการทำ Gradient temperature คือสามารถใช้กับสารตัวอย่างที่มีจุดเดือดกว้าง (Wide boiling range) และยังช่วยลดเวลาในการวิเคราะห์

3. Column ซึ่งเป็นส่วนที่สำคัญที่สุดที่ใช้ในการแยกสารมักทำด้วยทองแดง สเตนเลส อลูมิเนียม นิกเกิล หรือแก้ว เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1/8 และ 1/4 นิ้ว ความยาว 3-10 ฟุต Column ที่ทำด้วยแก้วดีที่สุด แต่ก็แตกหักง่ายไม่สะดวกในการติดตั้ง ส่วน column ที่เป็นพลาสติกไม่เป็นที่แพร่หลาย column มีปลายข้างหนึ่งติดกับ Injection port และปลายอีกข้างติดกับ detector ขณะวิเคราะห์สารต้องให้ความร้อนแก่ column เพื่อให้สารเป็นไอตลอดเวลา ซึ่ง column จะอยู่ในตู้ความร้อน (oven) แต่หลังจากวิเคราะห์เสร็จต้องรอให้ column เย็นตัวลงจนกว่าจะวิเคราะห์สารใหม่ column ที่นิยมใช้คือ

3.1 Packed column แบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ absorption และ partition column, absorption column จะบรรจุด้วย absorptive particles เช่น alumina, silica gel ส่วน partition column เป็น column ที่บรรจุด้วย inert solid particles และ coat ด้วย liquid phase

3.2 Capillary column เป็น column ขนาดเล็กซึ่งมีเส้นผ่าศูนย์กลาง ระหว่าง 0.005-0.02 นิ้ว และมีความยาว 100-500 ฟุต ทำด้วย ทองแดง สเตนเลส แก้ว หรือไนลอน เนื่องจาก column มีขนาดเล็กมากจึงมีประสิทธิภาพสูงเพราะสามารถลดแรงเสียดทานได้มาก การพัฒนาประสิทธิภาพของ column

- ◆ ใช้ column ขนาดเล็ก
- ◆ ใช้ column ที่ฉาบด้วย stationary phase ที่มีโมเลกุลเล็กและเป็นฟิล์มบางๆ
- ◆ ใช้ column ที่ค่อนข้างยาว
- ◆ ใช้การควบคุมอุณหภูมิโดยปรับเปลี่ยนอุณหภูมิตามความเหมาะสม

4. Injection port คือ ส่วนที่สารตัวอย่างจะถูกฉีดเข้าสู่เครื่องและระเหยเป็นไอก่อนที่จะเข้าสู่ Column อุณหภูมิที่เหมาะสมของ injector ควรเป็นอุณหภูมิที่สูงพอที่จะทำให้สารตัวอย่างสามารถระเหยได้แต่ 'ต้องไม่ทำให้สารสลายตัว ตัวอย่างของ injector ได้แก่ Split, Splitless,

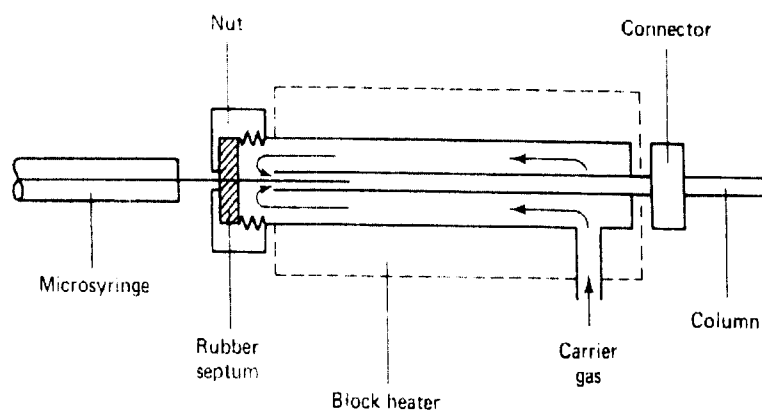
On column โดยผ่านแผ่นยางกันรั่ว (septum) ช่องว่างระหว่าง septum และ column (Dead volume) ต้องมีน้อยมากโดยปกติต้องทำให้ร้อนเพื่อสารละลายที่ผ่านเข้าไปกลายเป็นไอ ควรมีความร้อนสูงกว่าอุณหภูมิของ column ประมาณ 10°C

5. Solid supports หน้าที่ของ solid support คือส่วนเนื้อของ liquid phase ใน column ซึ่ง solid support ที่ใช้ในการวิเคราะห์ในเครื่อง GC มีหลายชนิดคือ

5.1 Chromosorb P ทำจาก Diatomaceous earth สีชมพู มีพื้นที่ผิว $4-6 \text{ m}^2/\text{g}$ ซึ่งเป็นชนิดที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในขณะนี้ แต่มีความเหนียวน้อยที่สุด

5.2 Chromosorb W ทำจาก Diatomaceous earth สีขาว มีพื้นที่ผิว $1-3.5 \text{ m}^2/\text{g}$

5.3 Chromosorb G จะมีประสิทธิภาพสูงเนื่องจากการรวมกันของ Chromosorb P และ diatomite สีขาว มีพื้นที่ผิวน้อยกว่า 2 ชนิดข้างต้น คงทนต่อการแตกสลายของ column มีน้ำหนักมากกว่า Chromosorb W ประมาณ 2.4 เท่า



ภาพที่ 11.2 ส่วนประกอบต่างๆของ Injection port

6. Temperature Controller เป็นส่วนควบคุมอุณหภูมิให้กับ detector และ injector

อุณหภูมิของ column มีส่วนมากต่อการแยกสารตัวอย่างถ้าอุณหภูมิสูงขึ้นสารจะเคลื่อนที่เร็วขึ้น อุณหภูมิที่ใช้จะเป็นจุดเดือดโดยเฉลี่ยของสาร และต้องไม่ให้อุณหภูมิของ column สูงกว่าอุณหภูมิสูงสุดของ liquid phase ซึ่งทำให้ column เสื่อม

7. **Detector** เป็นส่วนที่ใช้ตรวจวัดสารแต่ละชนิดที่จะถูกแยกจาก column มีหลายชนิดคือ

- Flame Ionization Detector (FID)
- Thermal Conductivity Detector (TCD)
- Electron Capture Detector (ECD)
- Nitrogen Phosphorus Detector (NPD)
- Flame Photometric Detector (FPD)
- Photo ionization Detector (PID)

Detector ควรจะมีลักษณะดังนี้

1. High sensitivity คือต้องมี response ดี คือสามารถตรวจหาปริมาณสารน้อย ๆ ได้
2. Selectivity คือ response เฉพาะสารใดสารหนึ่ง
3. ควรใช้ได้ในช่วงความเข้มข้นของสารตัวอย่างในช่วงกว้าง
4. มี reproducibility ดี
5. วัดสารประกอบได้ทุกชนิด
6. ไม่ไวกับการเปลี่ยนความดันของก๊าซและอุณหภูมิ

ไม่มี detector ชนิดใดมีคุณสมบัติครบทุกข้อ แต่ที่ใกล้เคียงและนิยมใช้กันมากที่สุด 2 ชนิดคือ

Flame Ionization Detector (FID) และ Thermal Conductivity Detector (TCD)

7.1 **Flame Ionization Detector (FID)** ส่วนประกอบสำคัญคือ Flame และ Electrode 2 อัน จะมีค่าความต่างศักย์จำนวนหนึ่ง electrode ที่สำคัญคือ collector ซึ่ง Flame เกิดจากการติดไฟของ hydrogen และ Oxygen หรืออากาศ เมื่อ gas จาก column ไหลผ่าน Flame จะ ionize เกิด charged particles และ electrons ซึ่งจะวิ่งเข้าสู่ collector electrode เกิดเป็นกระแสไฟฟ้า ขยายเป็นสัญญาณไปที่เครื่องบันทึกเป็น chromatogram และค่าความเข้มข้นของสารตัวอย่าง

7.2 **Thermal Conductivity Detector (TCD)** บทบาทที่สำคัญของ TCD คือการเสียความร้อนให้กับ gas ที่พาสารตัวอย่างเข้ามาถึง detector ซึ่ง detector ก็จะปรับกระแสไฟฟ้าให้ขดลวดมีความร้อนเท่าเดิม การเปลี่ยนแปลงของกระแสไฟฟ้าจะเป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของสารตัวอย่าง และสัญญาณจะส่งเข้าไปในเครื่องบันทึกเป็น chromatogram และปริมาณ peak area ทำให้ทราบความเข้มข้นของสารตัวอย่างหลังจากคำนวณแล้ว

ตารางที่ 11.1 แสดง detector ชนิดต่างๆและสารที่วิเคราะห์

Detector	Support gases	Selectivity	Detectability
Flame ionization (FID)	Hydrogen and air	Most organic cpds.	100 pg
Thermal conductivity (TCD)	Reference	Universal	1 ng
Electron capture (ECD)	Make-up	Halides, nitrates, peroxides, anhydrides, organometallics	50 fg
Nitrogen -phosphorus	Hydrogen-air	Nitrogen, phosphorus	10 pg
Flame photometric (FPD)	Hydrogen and air	Sulphur, tin	100 pg
Photo-ionization (PID)	Make-up	Aliphatics, aromatics, ketones, esters	2 pg

ที่มา : www.shu.ac.uk

ข้อมูลสำคัญที่สามารถจะนำไปใช้เพื่อการหาปริมาณสารมี 3 ประการคือ

1. ลักษณะของ chromatogram ที่ได้สามารถใช้ประกอบการวิเคราะห์ทั้งเชิงปริมาณและคุณภาพ
2. เวลาที่สารแต่ละชนิดใช้ผ่าน column จากจุดเริ่มต้นถึงจุดสูงสุดของ chromatogram ซึ่งเรียก retention time (t_r) สามารถนำไปใช้ในการทำคุณภาพวิเคราะห์ได้
3. ขนาดของ chromatogram ซึ่งอาจเป็นพื้นที่หรือความสูงสามารถนำไปคำนวณความเข้มข้นของสารตัวอย่าง

การหาปริมาณความเข้มข้นของสารประกอบจากผลิตภัณฑ์อาหารโดย GC

การวิเคราะห์ความเข้มข้นของสารขึ้นกับเหตุผลหลายประการ

- ◆ การสกัดตัวอย่างออกจากสารประกอบอาหาร เช่นการสกัดกลีโคไซด์ไพโรออกจากเครื่องดื่ม การสกัดยาฆ่าแมลงออกจากน้ำเสีย เป็นต้น ซึ่งต้องหาวิธีการสกัดที่เหมาะสมจนได้สารบริสุทธิ์จึงสามารถนำมาฉีดในเครื่อง Gas chromatography ได้
- ◆ เทคนิคการฉีดสารตัวอย่างต้องแม่นยำ
- ◆ ปริมาณความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารตัวอย่างที่ฉีดเข้าเครื่อง GC
- ◆ ความคงที่ในการทำงานของเครื่อง GC เช่นถ้าอุณหภูมิของ oven ไม่คงที่ ความดัน

หรือ carrier gas ไม่สม่ำเสมอก็ใช้ไม่ได้

- ◆ อัตราการไหลของ carrier gas ต้องคงที่เสมอ
- ◆ การทำงานและความไวในการตรวจสอบปริมาณสารของ detector ผลที่ได้ต้องมี ความสัมพันธ์แบบเส้นตรงกับปริมาณของสาร
- ◆ Resolution of peaks ถ้า peaks ที่ได้ซ้อนกันก็จะหาค่าพื้นที่ใต้ peaks ไม่ถูกต้อง
- ◆ การเลือกสารตัวอย่างที่เหมาะสมกับ column ที่ใช้วิเคราะห์ ซึ่งถ้าไม่เหมาะสม สารอาจ ถูกดูดกลืนหรือสลายตัวใน column
- ◆ การวัดความสูงหรือพื้นที่ของ peak ถ้า peaks ที่ได้ไม่สมดุลงจะทำให้การคำนวณ พื้นที่ peak คลาดเคลื่อน ต้องเปลี่ยนใช้วิธีอื่น
- ◆ สภาพไวของเครื่องบันทึก (sensitivity) ต้องคงที่ และไม่มีสัญญาณรบกวน
- ◆ chromatogram ที่ได้ต้องแยกกันชัดเจนไม่ซ้อนกัน

วิธีการคำนวณความเข้มข้นของสารตัวอย่างมี 5 วิธี คือ

1. การหาค่าจาก peak area โดยวัดความสูงและความกว้างของ peak บน chromatogram

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

2. Area Normalization Method

- a. Internal normalization การคำนวณ% ของสารแต่ละชนิดในสารผสม ซึ่งวิธีนี้จะรู้ค่าเฉพาะปริมาณที่อยู่ในสารผสม และ detector จะต้องมีความไวในการตรวจวิเคราะห์สารได้สม่ำเสมอตลอดการทดลอง

$$\text{b. \% Peak area X} = \frac{\text{Area of peak X} \times 100}{\text{Total area}}$$

ตัวอย่าง 11.1 เมื่อฉีดสารผสมของเครื่องตีชนิดหนึ่งเข้าไปในเครื่อง GC ได้ Chromatogram มา 5 peaks และวัด peak area ได้ดังนี้

1. Methanol,	peak area	= 6.0 cm ²
2. Ethanol,	peak area	= 7.0 cm ²
3. Isopropanol,	peak area	= 10.0 cm ²
4. Hexanol ,	peak area	= 12.0 cm ²
5. Pentanol,	peak area	= 15.0 cm ²
	Total peak area	= 50.0 cm²

$$\% \text{ Methanol} = \frac{6.0}{50.0} \times 100 = 12.0 \%$$

$$\% \text{ Ethanol} = \frac{7.0}{50.0} \times 100 = 14.0 \%$$

$$\% \text{ Isopropanol} = \frac{10.0}{50.0} \times 100 = 20.0 \%$$

$$\% \text{ Heaxol} = \frac{12.0}{50.0} \times 100 = 24.0 \%$$

$$\% \text{ Pentanol} = \frac{15.0}{50.0} \times 100 = 30.0\%$$

Correction factors การวิเคราะห์ปริมาณสารด้วย peak area ยังไม่ถูกต้อง เพราะความไวในการวัดปริมาณสารของ detector ต่อสารแต่ละชนิดอาจไม่เท่ากัน เมื่อต้องการทราบค่าที่ถูกต้อง ก็สามารถหาค่า correction factor ของสารมาตรฐานและสารตัวอย่างในปริมาณที่ฉีดเข้าไปเท่ากัน แล้วนำไปคำนวณกับ peak area

ตัวอย่าง 11.2 ในการวิเคราะห์สารประกอบ 5 ชนิด ได้ค่า peak area และ correction factor ดังนี้

สารประกอบ	peak area	correction factor	A.F.
Methanol	6.0 cm ²	0.55	3.30
Ethanol	7.0 cm ²	0.65	4.55
Isopropanol	10.0 cm ²	0.78	7.80
Hexanol	12.0 cm ²	0.85	10.20

Pentanol 15.0 cm² 0.96 14.40

พื้นที่ทั้งหมดที่แก้ไขแล้ว = 3.30+4.55+7.80+10.20+14.40 = 40.25

$$\% \text{ Ethanol} = \frac{3.30}{40.25} \times 100 = 8.19$$

$$\% \text{ Methanol} = \frac{4.55}{40.25} \times 100 = 11.30$$

$$\% \text{ Isopropanol} = \frac{7.80}{40.25} \times 100 = 19.39$$

$$\% \text{ Hexanol} = \frac{10.20}{40.25} \times 100 = 25.34$$

$$\% \text{ Pentanol} = \frac{14.40}{40.25} \times 100 = 35.78$$

รวม 100.00 %

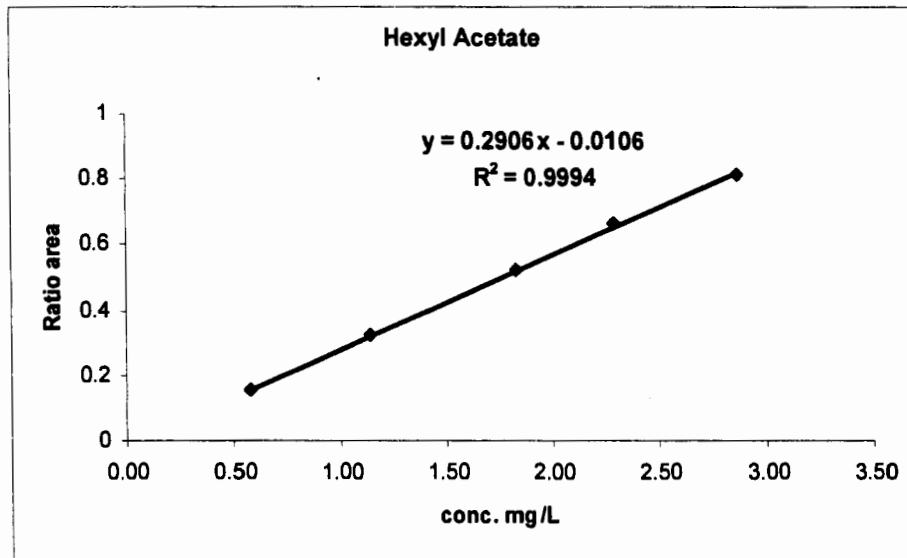
ข้อระวังในการใช้วิธีนี้คือ การใช้ปริมาณสารต้องอยู่ในช่วงที่ detector ให้ sensitivity ที่ linear

3. Calibration curve

โดยเตรียมสารมาตรฐานบริสุทธิ์ในปริมาณต่างๆที่แน่นอน แล้วนำมาฉีดเข้าเครื่อง GC จะได้ peak area ต่างๆ นำมาเขียนกราฟและหาสมการเส้นตรง พร้อม ค่า least square (R²) สำหรับสารตัวอย่างก็นำค่า peak area ไปคำนวณจากสมการเส้นตรงที่ได้

ตัวอย่าง 11.3 เช่น การเตรียม standard curve ของ Hexyl acetate ในความเข้มข้นต่างๆ คือ 0.573, 1.146, 1.834, 2.292, 2.2865 mg/L และได้สมการเส้นตรงเป็น
 $y = 0.2906X - 0.0106$ $R^2 = 0.9994$

Hexyl acetate compound	
Concentration (mg/L)	Area ratio
0.573	0.154
1.146	0.321
1.834	0.523
2.292	0.666
2.865	0.814



Standard curve of Hexyl acetate

เมื่อต้องการวิเคราะห์ความเข้มข้นของ Hexyl acetate จากสารตัวอย่างก็สามารถคำนวณจากสมการเส้นตรงที่วิเคราะห์จาก standard Hexyl acetate วิธีนี้เป็นวิธีที่นิยมใช้กันมากที่สุดเนื่องจากมีความแม่นยำสูง

4. Internal Standardization Method

วิธีนี้เป็นวิธีที่นิยมใช้อีกวิธีหนึ่งของนักวิเคราะห์คือเลือก Internal standard ที่เหมาะสมผสมกับสารมาตรฐาน หรือ สารตัวอย่างตามสัดส่วนที่เท่ากัน แล้วฉีดเข้าเครื่อง GC Peak area ของสารแต่ละชนิดนำไปเขียน standard curve

หลักการเลือกสารที่เป็น Internal standard

1. ควรมีสูตรโครงสร้างคล้ายกับสารตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์
2. peak ที่ได้ต้องอยู่ใกล้กับ peak ของสารที่ต้องการวิเคราะห์
3. ไม่ทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่าง
4. ต้องให้ peak ที่แยกกับสารมาตรฐานและสารตัวอย่าง
5. peak ที่ได้ควรอยู่ใกล้กับสารตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์
6. สารนั้นจะต้องถูกชะออกจากคอลัมน์ทั้งหมด

การใช้ Internal standard

1. สามารถใช้ internal standard มากกว่า 1 ชนิด
2. ปริมาณที่ฉีดทั้งกรณีของสารมาตรฐานและของสารตัวอย่างไม่จำเป็นต้องทราบแน่นอน
3. เติมน internal standard ที่ทราบปริมาณแน่นอนหรือเท่ากันทั้งในสารมาตรฐานและตัวอย่างไม่จำเป็นต้องทราบแน่นอน
4. Chromatogram ของสารมาตรฐานและสารตัวอย่างต้องแยกกันชัดเจน

การประยุกต์ใช้งานวิธี Internal Standard

1. เมื่อต้องการทราบปริมาณหรือความเข้มข้นที่แท้จริง
2. เมื่อไม่สามารถแยกและตรวจวัดองค์ประกอบทั้งหมดในตัวอย่าง
3. ในกรณีที่ประสิทธิภาพการสกัดไม่คงที่

วิธีเตรียม

1. เตรียมสารมาตรฐานให้มีปริมาณใกล้เคียงกับสารตัวอย่าง
2. เตรียม Internal standardให้มีปริมาณใกล้เคียงกับสารตัวอย่าง
3. นำสารมาตรฐานในข้อ 1 ผสมกับสารตัวอย่างในปริมาตรเท่าๆกัน แล้วนำไปฉีดเข้าเครื่อง GC ประมาณ 1 μ L
4. นำ Internal standard ในข้อ 2 ผสมกับสารตัวอย่างในปริมาตรเท่าๆกัน แล้วนำไปฉีดเข้าเครื่อง GC ประมาณ 1 μ L

ตัวอย่าง 11.4 ในการวิเคราะห์หา hexanol ในสารตัวอย่างสมมุติไม่เกิน 15% Internal Standard จะใช้ Pentanol

Standard ใช้ hexanol (pure)

Solvent ใช้ Dichloromethane (pure)

การเตรียมและการวิเคราะห์สารประกอบต่าง ๆ

1. เตรียม Internal standard (Pentanol 5%) 10 ml ใน Dichloromethane
2. เตรียม Standard hexanol 5% ใน Dichloromethane

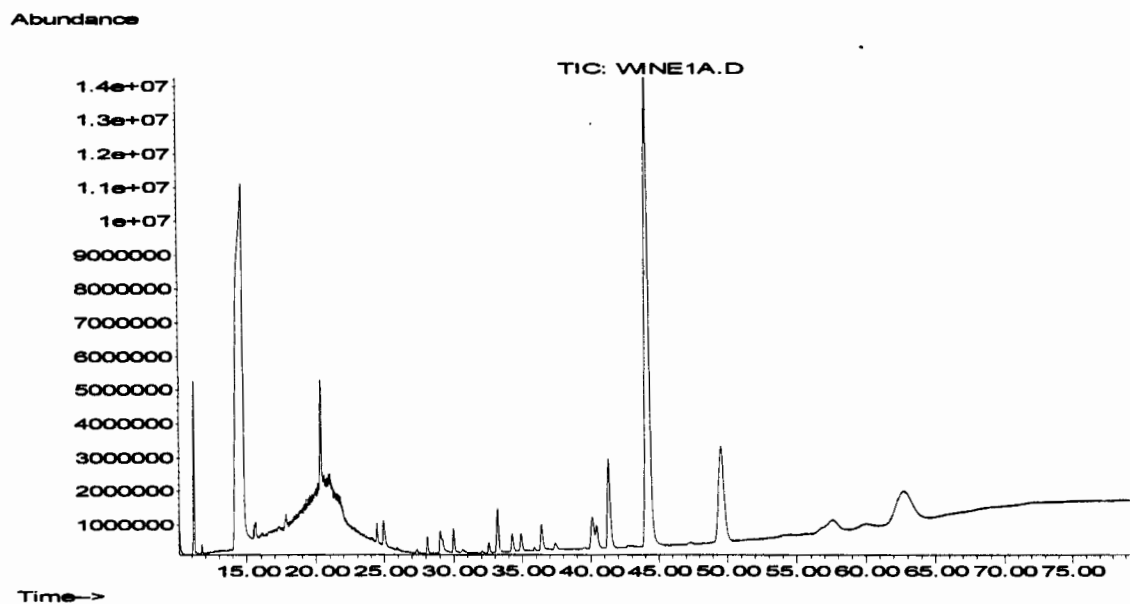
3. นำ Internal standard 50 μL (I_1) ผสมกับ Standard (S_c) 50 μL ผสมกันอย่าง
สม่ำเสมอแล้วฉีดเข้า GC 1 μL วัด peak area จาก chromatogram

4. นำสารตัวอย่าง (S_s) 50 μL ผสมกับ Internal standard (I_2) 50 μL ผสมกัน
อย่างสม่ำเสมอแล้วฉีดเข้า GC 1 μL วัด peak area จาก chromatogram

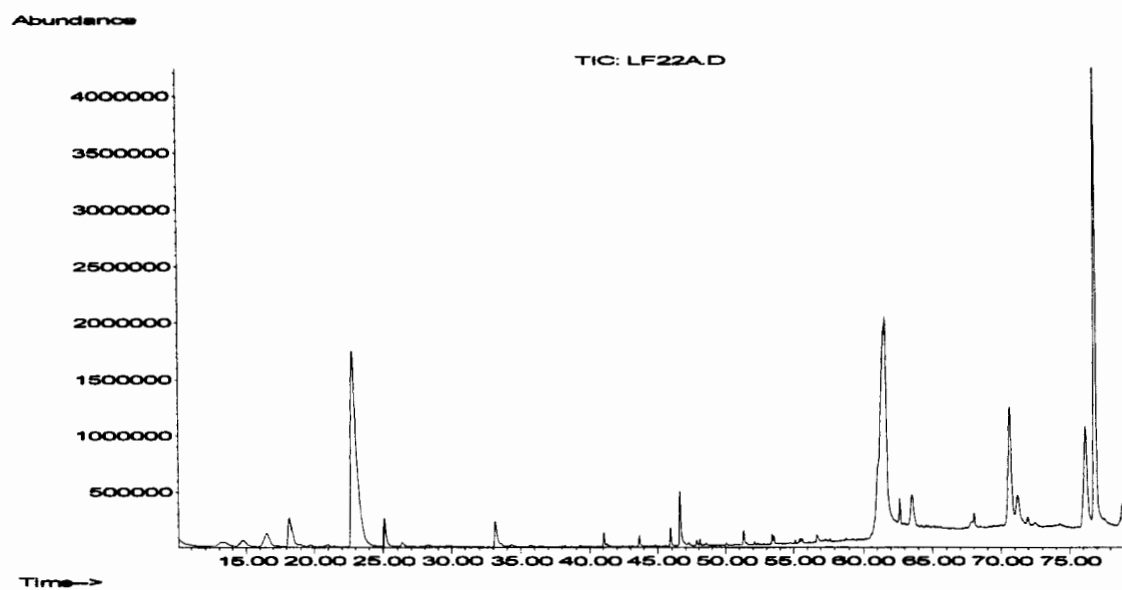
คำนวณความเข้มข้นของสารตัวอย่างจากสูตร

$$\frac{(I_1)}{(S_c)} = \frac{(I_2)}{S_s}$$

ตัวอย่าง Chromatogram ที่วิเคราะห์จากเครื่อง Gas Chromatography



ภาพที่ 11.3 Capillary GLC analysis of Lychee Wine Volatile Compounds.



ภาพที่ 11.4 Capillary GLC analysis of Lychee Fruit Volatile Compounds

Condition: Detecto : FID

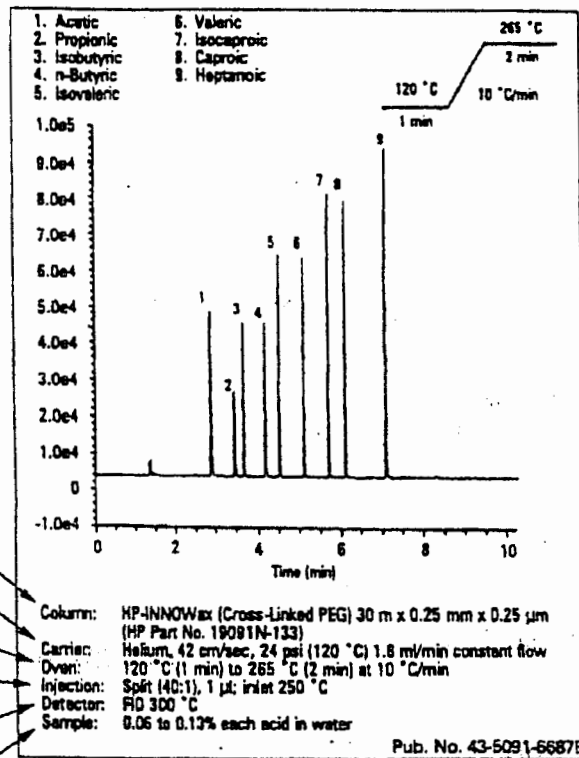
Column: capillary column (CP wax)

Dimension: 50m x 0.25mm x 0.20 μ m

Temperature: 220 $^{\circ}$ C

Mode : split

FREE ORGANIC ACIDS IN WATER



Type of Column

Carrier Conditions

Oven Conditions

Injection Parameters

Detector Parameters

Sample Information

ภาพที่ 11.5 Chromatogram of Free Organic Acids in Water

5. External standardization method

5.1 เทคนิคนี้ต้องเตรียมสารมาตรฐานและสารตัวอย่าง ให้มีความเข้มข้นใกล้เคียงกัน และใช้สภาวะเดียวกัน แต่ฉีดคนละครั้ง

5.2 ต้องทราบปริมาณและปริมาตรของตัวอย่าง และสารมาตรฐานที่ฉีดเข้าเครื่อง GC

5.3 ปริมาตรการฉีดสารละลายตัวอย่างต้องเท่ากับสารมาตรฐาน

5.4 สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างสัญญาณกับปริมาณของสารมาตรฐานซึ่งกราฟควรเป็นเส้นตรง

5.5 กราฟมาตรฐานควรเป็นเส้นตรงและผ่านจุดเริ่มต้นของกราฟการเลือกใช้ external standard เนื่องจากผู้วิเคราะห์ไม่ต้องการผสมสารมาตรฐานร่วมกับสารตัวอย่าง

สิ่งที่ต้องระวังในการวิเคราะห์วิธีนี้คือ

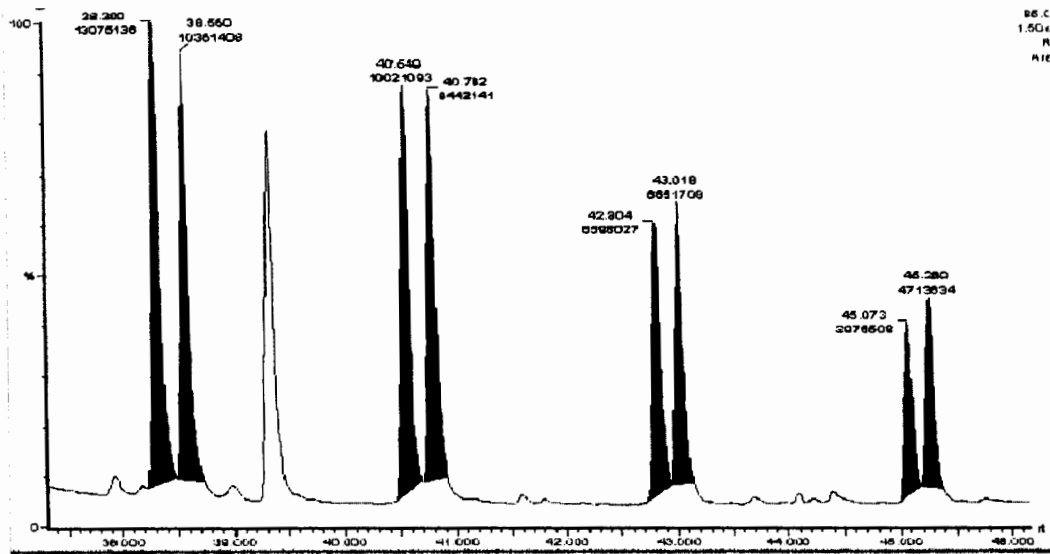
1. ปริมาณสารที่จะวิเคราะห์ต้องอยู่ในช่วง calibration curve
2. สารมาตรฐานและสารตัวอย่างที่ใช้ต้องปริมาณแน่นอน
3. สารที่จะวิเคราะห์ต้องอยู่ในช่วงของ calibration curve

ข้อดีของ external standardization method

1. ผลที่ได้จากการวิเคราะห์อาจเป็นค่าปริมาณสัมพัทธ์ (relative) หรือเป็นค่าสัมบูรณ์ (absolute) ได้
2. ค่าสภาพไวของดีเทคเตอร์ (detector sensitivity) อาจจะเปลี่ยนแปลงได้ในระหว่างทำการวิเคราะห์
3. สารตัวอย่างทั้งหมดไม่จำเป็นต้องถูกชะออกมาหมด หรือตรวจวัดทั้งหมด
4. ผลการวิเคราะห์ไม่ขึ้นอยู่กับ peak area ของ peak อื่นๆ
5. ไม่ต้องเติม internal standard

ข้อเสียเปรียบของวิธี External standard

1. ความเข้มข้นของสารมาตรฐานจะต้องครอบคลุมความเข้มข้นที่คาดว่าจะพบในสารตัวอย่าง
2. ความแม่นยำไม่ค่อยดีโดยเฉพาะกรณีฉีดแบบ manual เนื่องจากปริมาตรที่ฉีดน้อยมาก
3. ต้องสร้างกราฟมาตรฐานใหม่ทุกครั้งที่ปรับสภาวะของเครื่องใหม่
4. สภาวะของเครื่อง GC สำหรับการฉีดสารมาตรฐานและสารตัวอย่างต้องเหมือนกัน



ภาพที่ 11.6 การเปรียบเทียบโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานและสารตัวอย่าง

การเปรียบเทียบการใช้ Gas chromatography

ข้อดี

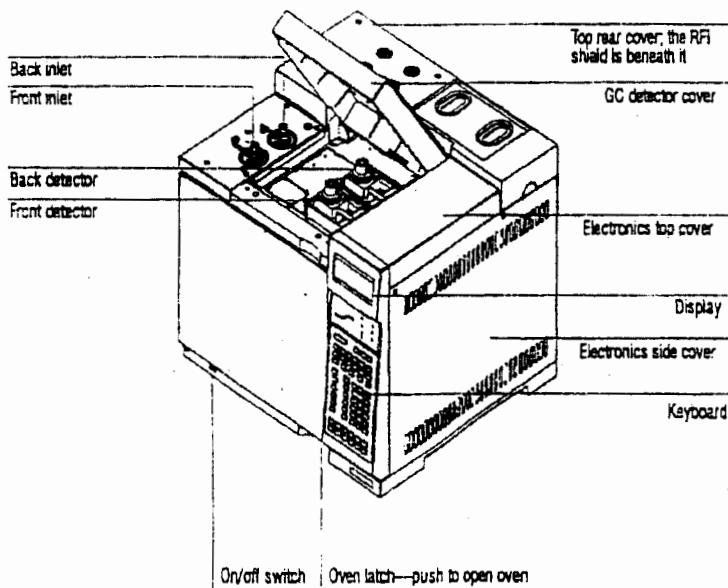
1. มีประสิทธิภาพสูง และนำมาประยุกต์ใช้งานได้กว้าง
2. รวดเร็ว
3. ใช้ปริมาณตัวอย่างน้อยไม่ทำลายตัวอย่าง
4. การวิเคราะห์ง่าย

ข้อจำกัด

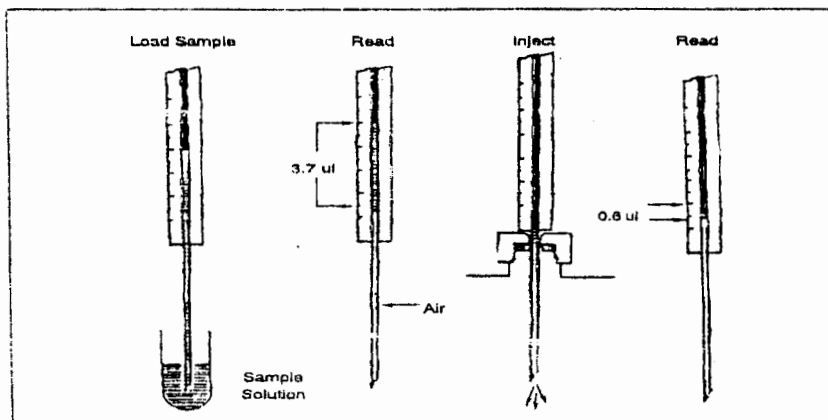
1. ตัวอย่างต้องกลายเป็นไอได้ง่าย
2. ไม่เหมาะกับตัวอย่างที่ไม่เสถียรทางความร้อน
3. อาจต้องทดลองหลายครั้ง
4. การเตรียมตัวอย่างต้องใช้เวลา

งานที่สามารถใช้วิเคราะห์ด้วย Gas chromatography

1. การวิเคราะห์กลิ่นและรสชาติของอาหาร เช่นวิเคราะห์กลิ่นต่างๆในเครื่องดื่ม
2. การวิเคราะห์สารประกอบไนโตรเจนในอาหารต่างๆ เช่น Amines, Nitrosamine
3. การวิเคราะห์สารประกอบออกซิเจนในตัวอย่างอาหาร
4. การวิเคราะห์การปนเปื้อนของยาฆ่าแมลง เช่น การปนเปื้อนในผลไม้
5. การวิเคราะห์สารปนเปื้อนในน้ำ
6. การวิเคราะห์ความเข้มข้นของสารสมุนไพร

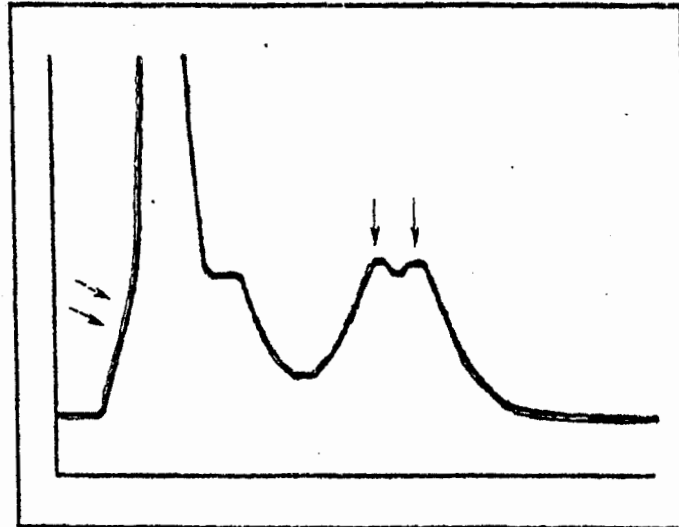


ภาพที่ 11.7 แสดงส่วนประกอบต่างๆ ของเครื่อง Gas chromatography
ที่มา : เอกสารประกอบการสอนการใช้เครื่อง GC บริษัท Perkim Elmer จำกัด

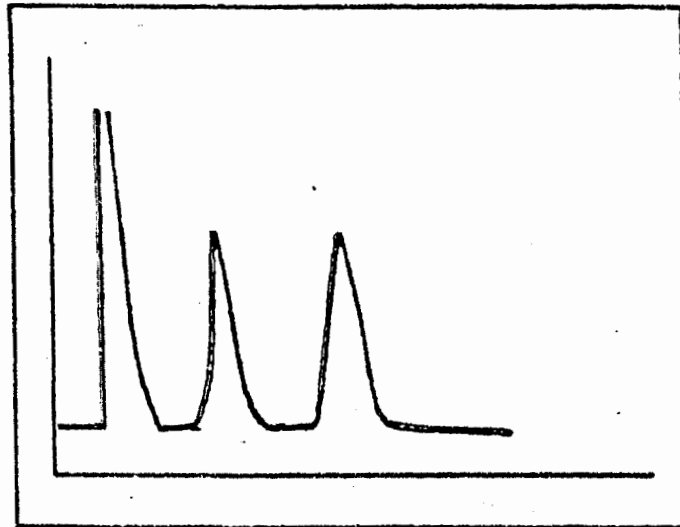


ภาพที่ 11.8 แสดงการใช้ syringe
ที่มา : เอกสารประกอบการสอนการใช้เครื่อง GC บริษัท Perkim Elmer จำกัด

Slow Injection - Blurred Peaks



Brisk Injection - Sharp Peaks



ภาพที่ 11.9 แสดงลักษณะผลของ chromatogram