

การคำนวณหาค่าความกว้างพีคของสารในแก๊สโครมาโตกราฟี ที่สภาวะอุณหภูมิคงที่

สุภัทรา ล้อมสุจริต¹ นฤมล จิยโชค² และ คณิต กฤษณังกูร²
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี บางมด ทุ่งครุ กรุงเทพฯ 10140

รับเมื่อ 28 พฤษภาคม 2545 ตอบรับเมื่อ 16 กรกฎาคม 2546

บทคัดย่อ

บทความนี้ได้เสนอวิธีคำนวณหาค่าความกว้างพีค (peak width, w_p) ของสารได้จากความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างค่าลอการิทึมธรรมชาติของตัวประกอบความกว้างพีค ($\ln p'$) และจำนวนคาร์บอน (n) ดังสมการ $\ln p' = a' + b' n$ โดยที่ a' และ b' คือค่าจุดตัดแกน y และ ค่าความชัน ตามลำดับ จากผลการทดลองพบว่าความสัมพันธ์ดังกล่าวของสารนอร์มัลอัลเคน กรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ และ ไขมันแอลกอฮอล์ มีค่าความแปรปรวน (linear regression squared, r^2) เท่ากับ 0.9999, 0.9996 และ 0.9997 ตามลำดับ การพบความสัมพันธ์ดังกล่าวนี้สามารถนำไปใช้ทำนายหาค่าความกว้างพีคของสารในอนุกรมเดียวกันที่จำนวนคาร์บอนต่างๆ ได้ นอกจากนี้ได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่า $\ln p'$ กับค่าลอการิทึมธรรมชาติของตัวประกอบคงค้าง ($\ln k'$) ของสารนอร์มัลอัลเคนพบว่าได้ความสัมพันธ์ดังสมการ $\ln p' = \ln k' + C$ โดยมีค่า r^2 มากกว่า 0.9990

คำสำคัญ : ความกว้างพีคของสาร / ตัวประกอบความกว้างพีค / ตัวประกอบคงค้าง / แก๊สโครมาโตกราฟี

¹ นักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา สายวิชาเทคโนโลยีชีวเคมี คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี

² รองศาสตราจารย์ สายวิชาเทคโนโลยีชีวเคมี คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี

The Calculation of Peak Width in Iso-Temperature Gas Chromatography

Supathra Lomsugarit¹, Narumon Jeyashoke², and Kanit Krisnangkura²

King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangmod, Toongkru, Bangkok 10140

Received 28 May 2002 ; accepted 16 July 2003

Abstract

The relationship between natural logarithm of width factor ($\ln p'$) and carbon number (n) can be described by $\ln p' = a'' + b'' n$ where a'' and b'' are constants. The linear regression squared (r^2) for n -alkanes, fatty acid methyl esters and fatty alcohols are 0.9999, 0.9996 and 0.9997, respectively. This relationship would provide a convenient method for forecasting the gas chromatographic peak widths of organic compounds in the same homologous series with known identities at various iso-temperatures GC. In addition, the relationship between $\ln p'$ and natural logarithm of retention factor ($\ln k'$) can be described by $\ln p' = \ln k' + C$ where C is constant. The r^2 for n -alkanes is higher than 0.9990.

Keywords : Peak Width / Width Factor / Retention Factor / Gas Chromatography

¹ Graduated Student, Biochemical Technology Program, School of Bioresources and Technology.

² Associated Professor, Biochemical Technology Program, School of Bioresources and Technology.

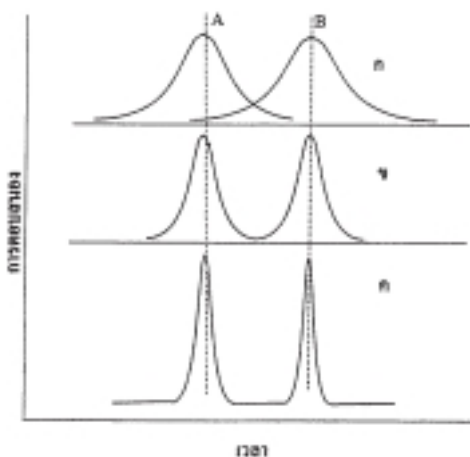
1. บทนำ

การกระจายไอโซนของสารในโครมาโตกราฟีสามารถแพร่กระจายได้อิสระทำให้พีกของสารที่ได้มีลักษณะกว้างและมีผลเสียต่อการแยกสารเป็นอย่างมาก ดังตัวอย่างในรูปที่ 1 สาร A และ B จะถูกชะออกจากคอลัมน์ในเวลาที่เหมาะสมทั้งสามสภาวะ ในรูป 1ก พิกที่ได้มีความกว้างมาก สารทั้งสองจึงแยกออกจากกันเพียงบางส่วน ในรูป 1ข พิกมีความกว้างปานกลาง สารทั้งสองจึงแยกออกจากกันพอดี ส่วนในรูป 1ค พิกที่ได้แคบมาก สาร A และ B จึงแยกออกจากกันได้ดีมาก ๆ [1] ปัจจัยสำคัญที่จะทำให้ไอโซนแผ่ขยายออกนั้น อาจแยกออกได้เป็น 3 ชนิดคือ

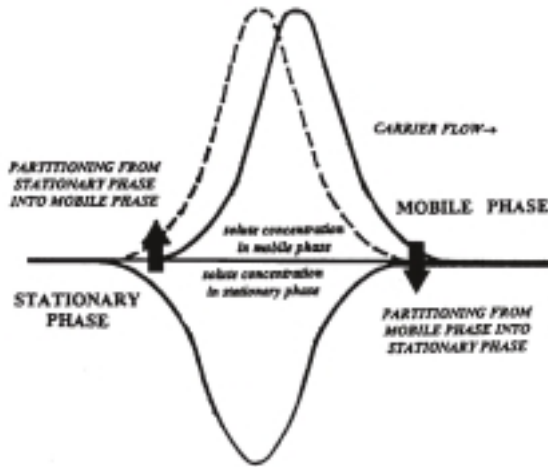
1. การแพร่กระจายแบบธรรมดา (ordinary diffusion) เกิดจากการเคลื่อนที่ของโมเลกุลในลักษณะไม่มีระเบียบ (random) เคลื่อนที่จากที่ๆ มีความเข้มข้นสูงกว่าไปยังที่ๆ มีความเข้มข้นต่ำกว่า

2. การแพร่กระจายแบบวน (eddy diffusion) เกิดจากการเคลื่อนที่ของสารไปสู่จุดหมายปลายทางที่ไม่เท่ากันในคอลัมน์ หรือบนกระดาศกรอง

3. การแพร่กระจายที่เกิดจากความไม่สมดุลเฉพาะจุด (local non-equilibrium) บางแห่งใช้การแพร่กระจายที่เกิดจากแรงต้านการถ่ายเทมวล (resistant to mass transfer) ถ้านำเอาความเข้มข้นของสาร ณ จุดต่างๆ ในโซนหนึ่งๆ มาเขียนกราฟจะได้กราฟรูประฆัง (gaussian curve) ดังรูปที่ 2 ที่จุดกึ่งกลางโซนจะมีความเข้มข้นสารสูงสุดและลดน้อยลงตามลำดับ ทั้งบริเวณด้านหน้าและด้านหลังของโซน หากพิจารณาด้านหน้าของโซนซึ่งมีความเข้มข้นน้อยกว่าตรงกลางโซน ภูมิภาคเคลื่อนที่จะพาสารที่มีความเข้มข้นสูงกว่าไปยังบริเวณที่มีความเข้มข้นต่ำกว่า สารจะถูกถ่ายเทจากภูมิภาคเคลื่อนที่เข้าสู่ภูมิภาคหนึ่งอย่างรวดเร็ว ถ้าให้ภูมิภาคเคลื่อนที่หยุดไหลชั่วขณะ การเรียงตัวของสารระหว่างภูมิภาคทั้งสองจะถึงจุดสมดุล แต่การทำโครมาโตกราฟีนั้น ภูมิภาคเคลื่อนที่จะไหลอย่างรวดเร็วตลอดเวลา ดังนั้นการเรียงตัวของสารระหว่างภูมิภาคทั้งสองยังไม่ทันถึงจุดสมดุลที่แท้จริง หากอัตราไหลของภูมิภาคเคลื่อนที่ยิ่งสูง การเรียงตัวของโมเลกุลระหว่างภูมิภาคหนึ่งและภูมิภาคเคลื่อนที่ที่จะห่างไกลจากสภาวะสมดุลมากขึ้น เมื่อพิจารณาด้านหลังของโซนพบว่า การเรียงตัวของสารระหว่างภูมิภาคทั้งสองยังไม่ทันถึงจุดสมดุลที่แท้จริงเช่นเดียวกัน



รูปที่ 1 ภาพจำลองการแยกสาร แสดงถึงความกว้างของพีกที่จะส่งผลต่อการแยกสาร



รูปที่ 2 ความเข้มข้นของสารในวัฏภาคเคลื่อนที่ในสภาวะสมดุลและสภาวะที่แท้จริง [2]

ปรากฏการณ์ความไม่สมดุลเฉพาะจุดนี้จะเกิดพร้อมๆ กับการแพร่กระจายแบบธรรมดาและแบบวน ปรากฏการณ์ทั้งสามนี้เป็นปรากฏการณ์ที่ไม่ปรารถนา ดังนั้นการทำให้โครมาโตกราฟีทั่วไปจะต้องพยายามลดการแพร่กระจายทั้งสามลงให้เหลือน้อยที่สุด

ซึ่งโดยทั่วไปค่าการแพร่กระจายของสาร สามารถวัดได้จากค่าความกว้างพีคของสาร (peak width, w_R) หรือค่าความแปรปรวนของพีครูประฆัง (peak variance, σ^2) ซึ่งค่า σ เป็นฟังก์ชันกับค่าความกว้างพีคมีค่าเท่ากับ $\frac{w_R}{4}$ โดย w_R เป็นการวัดจากการลากเส้นสัมผัสจากด้านทั้งสองของพีคไปตัดกับเส้นฐาน หรือกล่าวได้ว่าค่า w_R มีความสำคัญต่อการประเมินประสิทธิภาพของระบบ และอำนาจการแยกสารออกจากกัน ซึ่งสามารถแสดงความสัมพันธ์เชิงสมการได้ดังนี้

1) ประสิทธิภาพของระบบ

งานวิจัยที่ผ่านมานิยมใช้ค่าความสูงเทียบเท่าหนึ่งเพลททฤษฎี (height equivalent to a theoretical plate, H) [3]-[7] หรือ ค่าจำนวนเพลททฤษฎี (theoretical plate, N) เป็นตัววัดประสิทธิภาพของระบบ GC ดังสมการที่ 1 และ 2 ตามลำดับ

$$H = \frac{\sigma^2}{L} \tag{1}$$

$$H = \frac{L}{N} = \frac{L^2}{\sigma^2} \tag{2}$$

โดย L คือ ความยาวคอลัมน์ ทั้งค่า σ^2 และ L จะอยู่ในหน่วยความยาว เมื่อหารด้วยความเร็วของ วัฏภาคเคลื่อนที่จะเปลี่ยนมาอยู่ในหน่วยของเวลา (ความเร็ว = ระยะทาง / เวลา) เขียนสมการใหม่ได้ดังนี้

$$H = \frac{L \cdot w_R^2}{16t_R^2} \quad (3)$$

$$H = \frac{16t_R^2}{w_R^2} \quad (4)$$

2) อำนาจการแยกสาร (resolution, R_s) นิยามได้ตามสมการ

$$R_s = 2 \times \left(\frac{t_{R(2)} - t_{R(1)}}{w_{R(2)} + w_{R(1)}} \right) \quad (5)$$

โดย $t_{R(1)}$ คือ ค่าเวลาคงค้างไม่ปรับแก้ของสารตัวอย่างที่ 1
 $t_{R(2)}$ คือ ค่าเวลาคงค้างไม่ปรับแก้ของสารตัวอย่างที่ 2
 $w_{R(1)}$ คือ ค่าความกว้างพีคไม่ปรับแก้ของสารตัวอย่างที่ 1
 $w_{R(2)}$ คือ ค่าความกว้างพีคไม่ปรับแก้ของสารตัวอย่างที่ 2

จากความสำคัญของคุณค่า w_R จึงมีผู้สนใจทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่า w_R กับพารามิเตอร์ต่างๆ ดังเช่น Kaiser [8] ได้เสนอความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าความกว้างพีค ที่ครึ่งความสูง (width at half height, w_h) กับค่าตัวประกอบคงค้าง (retention factor, k') ดังสมการ (6) และ (7)

$$k' = \frac{t_R - t_M}{t_M} \quad (6)$$

โดย t_M คือ ค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้าง

$$w_h = e + fk' \quad (7)$$

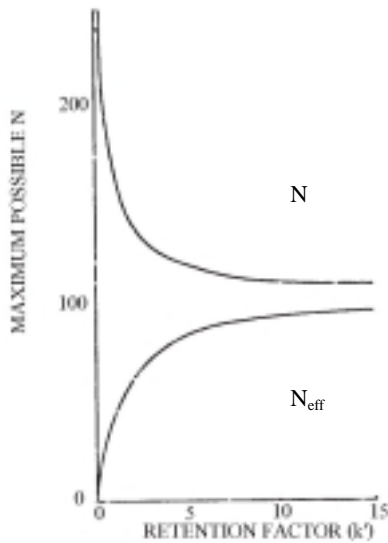
โดย e และ f คือค่าคงที่ อย่างไรก็ตาม w_h และ k' มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงเพียงบางกรณีเท่านั้น [4] ต่อมา Smuts และคณะ [5][6] ได้เสนอความสัมพันธ์ระหว่างค่า σ^2 กับค่า $(1+k')^2$ ซึ่งให้ความสัมพันธ์ที่เป็นสมการเส้นตรงมากกว่า นอกจากนี้ Fritz และ Scott [9] ได้เสนอความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างค่า σ^2 กับค่า k' $(1+k')$ และ Shen และ Lee [10] ได้เสนอความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างค่า w_R กับ t_R ของสารนอร์มัลอัลเคน ที่มีจำนวนคาร์บอนตั้งแต่ 8-16 อะตอม ซึ่งจะเห็นว่าจากงานวิจัยที่ผ่านมาเป็นการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่า w_R กับ t_R ของสารเท่านั้น ยังไม่มีงานวิจัยใดที่ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่า w_R กับจำนวนคาร์บอน (n) ของสารดังนั้น ในบทความนี้ได้เสนอความสัมพันธ์ใหม่ระหว่างค่า w_R กับ n ของสาร และเสนอความสัมพันธ์ระหว่างค่า w_R และ t_R ของสารในรูปความสัมพันธ์ระหว่างค่า $\ln p'$ (p' = width factor) กับค่า $\ln k'$ ซึ่งให้ความสัมพันธ์ที่เป็นสมการเส้นตรงมากกว่างานวิจัยที่ผ่านมา

2. ทฤษฎี

สมการ (4) แสดงค่า N (จำนวนเพลททฤษฎีไม่ปรับแก้) ซึ่งเป็นการวัดจำนวนเพลททฤษฎีของระบบ ต่อมา Purnell [11] ได้เสนอค่า N effective (N_{eff}) ดังสมการ (8)

$$N_{eff} = \frac{16(t_R - t_M)^2}{w_R^2} \tag{8}$$

เมื่อเขียนกราฟระหว่างจำนวนเพลททฤษฎี ตามสมการ (4) และสมการ (8) กับค่า k' จะได้กราฟรูปที่ 3



รูปที่ 3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าจำนวนเพลททฤษฎีกับค่า k'

นั่นคือที่ k' มีค่ามากๆ N และ N_{eff} จะมีค่าใกล้เคียงกัน ในขณะที่ k' มีค่าต่ำ ๆ N จะมีค่าสูง แต่ N_{eff} จะมีค่าต่ำ เนื่องจากต้องหักค่า t_M ออกไป ดังนั้น ในปี ค.ศ. 2001 [12] เราได้เสนอสมการ (9)

$$N' = 16 \times \frac{(t_R - t_M)}{w_R - w_M} \tag{9}$$

โดย N' = ค่าจำนวนเพลททฤษฎีปรับแก้ (adjusted plate number)

w_M = ค่าความกว้างพีคของสารไม่คงค้างหรืออากาศหรือแก๊สเนืออน (hold up width)

นำค่า $\frac{w_M}{t_M}$ คูณสมการ (9) จะได้

$$N' \times \frac{w_M^2}{t_M^2} = 16 \times \frac{(t_R - t_M)^2}{(w_R - w_M)^2} \times \frac{w_M^2}{t_M^2} \tag{10}$$

$$\text{หรือ } N' \times \frac{w_M^2}{t_M^2} = 16 \times \frac{k'}{p'} \tag{11}$$

โดย p' คือ ตัวประกอบคงค้างของความกว้างพีคของสาร (width factor) มีค่าเท่ากับ

$$\sqrt{\frac{w_R^2 - w_M^2}{w_M^2}}$$

ใส่ค่าลอการิทึมธรรมชาติ (natural logarithm) ในสมการ (11) จะได้ความสัมพันธ์ระหว่างค่า $\ln p'$ และ $\ln k'$ ดังสมการ (12)

$$\ln p' = \ln k' + \ln \left(\frac{4t_M}{N^{1/2} \cdot w_M} \right) \quad (12)$$

หรือ $\ln p' = \ln k' + \ln \gamma$

$$\text{โดย } \gamma = \frac{4t_M}{N^{1/2} \cdot w_M} \quad (13)$$

และจากความสัมพันธ์ระหว่างค่าตัวประกอบคงค้าง (k') กับ จำนวนคาร์บอน (n) และอุณหภูมิคอลัมน์ (T) เป็นไปตามสมการของ Krisnangkura และคณะ [13] ดังนี้

$$\ln k' = a + bn + \frac{c}{T} + \frac{dn}{T} \quad (14)$$

$$\text{โดย } a = \frac{\Delta S^0}{R} - \ln \beta, b = \frac{\delta S}{R}, c = -\frac{\Delta H^0}{R} \text{ และ } d = \frac{\delta H}{R}$$

R คือ ค่าคงตัวของก๊าซ (universal gas constant)

β คือ อัตราส่วนปริมาตรวัฏภาคเคลื่อนที่ต่อวัฏภาคนิ่ง

ΔH^0 คือ ค่าเอนทัลปีมาตรฐานของการละลาย (standard enthalpy)

ΔS^0 คือ ค่าเอนโทรปีมาตรฐานของการละลาย (standard entropy)

δH คือ ค่าเอนทัลปีที่เปลี่ยนไปต่อหนึ่งหน่วยเมทิลีน (enthalpy per methylene unit)

δS คือ ค่าเอนโทรปีที่เปลี่ยนไปต่อหนึ่งหน่วยเมทิลีน (entropy per methylene unit)

แทนค่า k' จากสมการ (14) ลงในสมการ (13) จะได้

$$\ln p' = A + bn + \frac{c}{T} + \frac{dn}{T} \quad (15)$$

โดย $A = a + \ln \gamma$

ที่อุณหภูมิคอลัมน์ (T) คงที่ สมการ (15) ลดรูปลงเหลือ

$$\ln p' = a'' + b''n \quad (16)$$

โดย a'' และ b'' คือ ค่าคงที่ (constant) หาได้จากการเขียนกราฟระหว่างค่า $\ln p'$ กับ n จะได้ค่าความชันเป็น b'' และจุดตัดแกน y เป็น a'' คำนวณโดยใช้ Microsoft Excel version 8.0

นั่นคือ $\ln p'$ และ n มีความสัมพันธ์เป็นเชิงเส้นตรง

3. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

3.1 สารตัวอย่าง

สารตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ กรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ (fatty acid methyl esters, FAMES) ไขมันแอลกอฮอล์ และนอร์มัลแอลเคน เป็นสารมาตรฐานจากบริษัทซิกมาเคมิกอล (เซนต์หลุยส์ สหรัฐอเมริกา) คอลัมน์ HT-5 แบบแคพิลลารี (ขนาด 25 เมตร x เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.32 มม.) บริษัท ซุเพิลโก (เพนซิลวาเนีย สหรัฐอเมริกา)

3.2 แก๊สโครมาโตกราฟี

เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟีรุ่น Shimadzu 14A มีตัวตรวจวัดแบบนำความร้อน (thermal conductivity detector, TCD) และแบบเปลวไอออไนเซชัน (flame ionization detector, FID) ต่อพ่วงกับเครื่องประมวลผล C-R4A (ทั้งหมดของบริษัทซีมดซี ประเทศญี่ปุ่น) การแยกวิเคราะห์สารทำโดยคอลัมน์แบบแคพิลลารี อัตราการไหลของแก๊สฮีเลียม (แก๊สตัวพา) 0.85-1.15 มิลลิเมตร/นาที และเติมแก๊สตัวพาผ่านเข้าเซลล์อ้างอิงและเซลล์ตัวอย่าง ในเครื่องตรวจวัดแบบ TCD ให้มีอัตราการไหล 25 มิลลิเมตร/นาที ใช้ปริมาณกระแสไฟฟ้า 100 มิลลิแอมแปร์ อุณหภูมิบริเวณเครื่องฉีดสารและเครื่องตรวจวัด 230 °ซ

4. ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

4.1 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความกว้างพีคของสาร (peak width, W_R) กับจำนวนคาร์บอน (n)

ตารางที่ 1 แสดงค่า $\ln p'$ ของสารนอร์มัลแอลเคนที่มีจำนวนคาร์บอน 8-12 อะตอม บนคอลัมน์ HT-5 ด้วยเครื่องตรวจวัดแบบ TCD ที่สภาวะอุณหภูมิคงที่ตั้งแต่ 80-100 °ซ ในการทดลองนี้วัดค่าความกว้างพีคของสารไม่คงค้าง (hold up width, w_M) จากพีคของแก๊สนีออน (w_O) ทั้งนี้เนื่องจากแก๊สนีออนให้ค่าเวลาคงค้างของสารน้อยที่สุดและนิยมใช้เป็นตัววัดค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้าง (hold up time, t_M) [14][15]

ตารางที่ 1 $\ln p'$ ของสารนอร์มัลแอลเคนบนคอลัมน์ HT-5 ที่อุณหภูมิ 80-100 °ซ ด้วยเครื่องตรวจวัดแบบ TCD

จำนวนคาร์บอน	ค่าลอการิทึมธรรมชาติของตัวประกอบความกว้างพีค ($\ln p'$)				
	80 °ซ	85 °ซ	90 °ซ	95 °ซ	100 °ซ
8	-0.886	-1.117	-1.444	-1.523	-1.598
9	-0.195	-0.463	-0.761	-0.879	-0.982
10	0.543	0.194	-0.054	-0.083	-0.451
11	1.247	0.868	0.615	0.573	0.164
12	1.961	1.534	1.240	1.243	0.731
w_O^* (วินาที)	3.400	3.450	3.529	3.573	3.552
Intercept	-6.602	-6.431	-6.825	-7.116	-6.231
slope	0.714	0.663	0.674	0.698	0.580
r^2	0.9999	0.99997	0.9997	0.9989	0.9996

* คือค่าความกว้างพีคของสารไม่คงค้างที่ได้จากค่าความกว้างพีคของแก๊สนีออน

ผลการทดลองจากตารางที่ 1 พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างค่า $\ln p'$ และ n ของสารนอร์มัลอัลเคน เป็นกราฟเส้นตรงที่ทุกจุดอนุมุมิ พิจารณาจากค่า r^2 ที่มีค่ามากกว่า 0.9989 ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่าความสัมพันธ์ระหว่างค่า $\ln p'$ และ n เป็นสมการเส้นตรงตามสมการ (16) ค่าความชันและจุดตัดแกน y ของสารแต่ละอนุกรมฟังก์ชันได้แสดงในตารางเดียวกัน

จากสมการ (16) สามารถทำนายค่า w_R ของสารที่มีจำนวนคาร์บอน (n) ต่าง ๆ ในอนุกรมฟังก์ชันเดียวกันได้ เมื่อทราบค่าคงที่ a'' และ b'' ดังนั้นความสัมพันธ์นี้หากนำไปใช้ร่วมกับสมการของ James และ Martin [16] ซึ่งสามารถทำนายค่าเวลาคงค้างของสาร (t_R) ได้ตั้งสมการ (17)

$$\ln k' = a' + b' n \quad (17)$$

ก็จะสามารถทำนายค่าอำนาจการแยก (resolution, R_S) ของสาร 2 ตัวที่อยู่ใกล้กันได้ ซึ่งทำให้ทราบว่าสารทั้งสองนั้นจะสามารถแยกออกจากกันได้จนถึงเส้นฐาน (base line) หรือไม่ ตามสภาวะที่กำหนดไว้โดยไม่ต้องเสียเวลาทำการทดลองด้วย GC

อย่างไรก็ตาม การทำนายค่า w_R ของสารจากสมการ (16) นี้ใช้ได้ก็สภาวะอนุมุมิคงที่หนึ่งๆ เท่านั้น เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอนุมุมิการทดลองก็ต้องทำการหาความสัมพันธ์ระหว่างค่า $\ln p'$ กับ n ของสารใหม่ ดังนั้นจึงมีข้อเสนอแนะว่าถ้าทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่า $\ln p'$ และอนุมุมิคอลัมน์ (T) แล้วนำไปประยุกต์ร่วมกับสมการ (16) ก็น่าจะนำมาใช้ทำนายค่า w_R ของสารที่อนุมุมิคงที่ต่างๆ ได้ และสามารถขยายงานวิจัยไปยังสภาวะโปรแกรมอนุมุมิได้อีกด้วย

ถึงแม้ว่าแก๊สเนออนจะเป็นสารที่นิยมอย่างกว้างขวางสำหรับวัดหาค่า t_M แต่ก็มีข้อด้อย คือ แก๊สเนออนไม่สามารถตรวจวัดได้ด้วยเครื่องตรวจวัดแบบ FID ซึ่งเป็นเครื่องตรวจวัดที่นิยมใช้อย่างกว้างขวาง ยิ่งกว่านั้นการวิเคราะห์ สารที่สภาวะอนุมุมิคอลัมน์สูงๆ พบว่า แก๊สเนออนไม่สามารถแยกออกจากพีคของสารตัวอย่างหรือแยกออกได้เพียงบางส่วน (co-eluted) เท่านั้น ซึ่งจะทำให้เกิดความยุ่งยากเป็นอย่างมากต่อการวัดความกว้างพีคของสาร ในกรณีของค่าเวลาคงค้างมีการศึกษาหาวิธีการคำนวณทางคณิตศาสตร์อยู่หลายวิธีเพื่อใช้สำหรับทำนายหาค่า t_M [17]-[21] จากการศึกษาของ Wainright และ Haken [18] พบว่า การทำนายค่า t_M ด้วยวิธีการทำทวนซ้ำ (iterative method) ของ Guardino และคณะ [17] สามารถคำนวณค่า t_M ได้ถูกต้องและแม่นยำ ดังนั้นในการทดลองตอนที่ 2 จะศึกษาหาวิธีการคำนวณค่า w_M โดยการดัดแปลงมาจากวิธีของ Guardino และคณะ

4.2 การคำนวณค่าความกว้างพีคของสารไม่คงค้าง (hold up width, W_M)

จากสมการ (16) นำมาประยุกต์ร่วมกับหลักการทำทวนซ้ำของ Guardino และคณะ [17] นำมาดัดแปลงสำหรับคำนวณหาค่า w_M ด้วย Microsoft Excel (Version 8) ได้ตามรูปที่ 4 และขั้นตอนต่อไปนี

ก. ใส่จำนวนคาร์บอน (n) ของสารตัวอย่างในช่อง C2 ถึง H2

ข. ใส่ค่าความกว้างพีคของสาร (w_R) ที่ได้จากโครมาโตแกรมในช่อง C5 ถึง H5

ค. สมมุติแทนค่า w_M ลงในช่อง B7 และทำการเพิ่มค่า w_M ครั้งละ 0.001วินาทีในช่อง B8 จนถึงช่องสุดท้าย

ง. คำนวณค่าความกว้างพิศของสาร (ช่อง C5 ถึง H5) ให้อยู่ในรูป $\ln \left(\sqrt{\frac{w_R^2 - w_M^2}{w_M^2}} \right)$

หรือ $\ln p'$ ดังแสดงค่าในช่อง C7 ถึง H7 โดยใช้ค่า w_M ที่ได้จากการสมมติในช่อง B7 และทำการคำนวณค่า $\ln p'$ ของสาร เช่นเดียวกันนี้แต่เปลี่ยนเฉพาะค่า w_M ในแถวที่ 8 ไปจนถึงแถวสุดท้าย

จ. พิจารณาค่าส่วนเบี่ยงเบน (r) จากความสัมพันธ์ระหว่างค่า $\ln p'$ กับ n ตามสมการ (16)

$$\ln p' = a'' + b''n \tag{16}$$

โดยแสดงค่า r ไว้ในช่อง I เพื่อใช้สำหรับเลือกค่า w_M ที่แทนในสมการแล้วให้ค่า r สูงสุด (ใกล้เคียง 1 มากที่สุด) เนื่องจากค่า r ที่คำนวณได้มีจุดศูนยพิกษหลายตำแหน่งยากต่อการพิจารณา ดังนั้นจึงพิจารณาจากค่าผลต่างของค่า r (Δr) ในคอลัมน์ J ที่ได้จากการแทนค่า w_M และ $w_{M+0.001}$ แล้วให้ค่าผลต่างต่ำที่สุด

ตารางหาขนาดความยาวค่า w_M									
	จำนวน	16	17	18	19	20	22		
	สาร								
	w_M	13.069	18.314	25.288	34.233	47.247	100.259	ค่าส่วนเบี่ยงเบน	ผลต่าง
	w_M	$\ln p'$						r	Δr
สมมติ	1.090	0.342	0.708	1.086	1.414	1.761	2.513	0.9998005816	-4.44E-10
สมมติ w_M	1.091	0.342	0.708	1.086	1.414	1.761	2.513	0.9998005821	1.95E-10
	1.092	0.342	0.708	1.085	1.414	1.760	2.513	0.9998005823	-5.20E-11
	1.093	0.341	0.708	1.085	1.413	1.760	2.512	0.9998005822	-3.05E-10
	1.094	0.341	0.708	1.085	1.413	1.760	2.512	0.9998005819	-5.55E-10
	1.095	0.341	0.708	1.085	1.413	1.760	2.512	0.9998005814	-8.05E-10
	1.096	0.341	0.708	1.085	1.413	1.760	2.512	0.9998005806	-1.06E-09
	1.097	0.341	0.707	1.085	1.413	1.760	2.512	0.9998005795	-1.31E-09
	1.098	0.340	0.707	1.085	1.413	1.760	2.512	0.9998005782	-1.56E-09
	1.099	0.340	0.707	1.084	1.413	1.760	2.512	0.9998005766	-1.81E-09
	1.100	0.340	0.707	1.084	1.413	1.759	2.512	0.9998005748	-2.06E-09
	1.101	0.340	0.707	1.084	1.412	1.759	2.511	0.9998005728	-2.31E-09

รูปที่ 4 การคำนวณค่าความกว้างพิศของสารไม่คงค่า

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบค่าความกว้างพีคของสารไม่คงค้างที่ได้จากแก๊สไนออนและการคำนวณ โดยใช้สารนอร์มัลอัลเคน บนคอลัมน์ HT-5 ด้วยเครื่องตรวจวัดแบบ TCD

อุณหภูมิคอลัมน์ (องศาเซลเซียส)	ค่าความกว้างพีคของสารไม่คงค้าง (วินาที)		
	แก๊สไนออน (w_0)	การคำนวณ (w_M)	Δw^*
80	3.442	3.452	-0.010
85	3.450	3.460	-0.010
90	3.529	3.515	0.014
95	3.573	3.572	0.001
100	3.552	3.549	0.003

* ค่าความแตกต่างระหว่างความกว้างพีคของสารไม่คงค้างที่ได้จากแก๊สไนออน(w_0)และการคำนวณ (w_M)

ผลการทดลองจากตารางที่ 2 พบว่าค่าความกว้างพีคของสารไม่คงค้างที่ได้จากแก๊สไนออน (w_0) และที่ได้จากการคำนวณ (w_M) มีค่าใกล้เคียงกันมาก โดยมีค่าความแตกต่างสูงสุดเพียง 0.014 วินาที ดังนั้นวิธีการนี้สามารถคำนวณหาค่า w_M ได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ สามารถขยายผลการทดลองโดยใช้ค่า w_M ที่ได้จากการคำนวณไปใช้ทำนายหาค่า w_R ของสาร ด้วยเครื่องตรวจวัดแบบ FID ดังผลการทดลองในตารางที่ 3 ซึ่งแสดงค่า $\ln p'$ ของสารนอร์มัลอัลเคน FAMES และไขมันแอลกอฮอล์ บนคอลัมน์ HT-5 ด้วยเครื่องตรวจวัดแบบ FID ที่สภาวะอุณหภูมิคงที่ต่างๆ โดยใช้ค่าความกว้างพีคของสารไม่คงค้างที่ได้จากการคำนวณ

ตารางที่ 3 ค่า $\ln p'$ ของสารนอร์มัลอัลเคน FAMES และไขมันแอลกอฮอล์ บนคอลัมน์ HT-5 ด้วยเครื่องตรวจวัดแบบ FID

นอร์มัลอัลเคน	170 °ซ	FAMES	200 °ซ	ไขมันแอลกอฮอล์	200 °ซ
	$\ln p'$		$\ln p'$		$\ln p'$
C16	0.196	C16	0.342	C12	-0.720
C17	0.636	C17	0.708	C14	0.020
C18	1.065	C18	1.085	C16	0.723
C19	1.534	C19	1.414	C18	1.411
C20	1.960	C20	1.760	C20	2.182
C21	2.395	C22	2.513		
C22	2.843				
w_M^* (วินาที)	6.690	w_M^* (วินาที)	8.092	w_M^* (วินาที)	3.697
Intercept	-6.863	Intercept	-5.400	Intercept	-5.033
slope	0.441	slope	0.359	slope	0.360
r^2	0.9999	r^2	0.9996	r^2	0.9997

* คือค่าความกว้างพีคของสารไม่คงค้างที่ได้จากการคำนวณ

ผลการทดลองจากตารางที่ 3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า $\ln p'$ และ n ของสารนอร์มัลอัลเคน FAMES และ ไซมันแอลกอฮอล์ ที่ใช้ค่าความกว้างพีคของสารไม่คงค่างจากการคำนวณ พบว่าให้ความสัมพันธ์สอดคล้องตามสมการ (16) โดยมีค่า r^2 ของสารทั้ง 3 หมู่ฟังก์ชัน มากกว่า 0.9996

4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า $\ln p'$ และ $\ln k'$ ของสาร

จากสมการ (13) แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างค่า $\ln p'$ และ $\ln k'$ ซึ่งเป็นอีกรูปแบบหนึ่งที่ใช้แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า w_R และ t_R ของสารได้ ดังนั้นในการทดลองตอนที่ 3 ได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่า $\ln p'$ กับ $\ln k'$ ของนอร์มัลอัลเคนที่มีจำนวนคาร์บอน 8-12 อะตอม บนคอลัมน์ HT-5 ด้วยเครื่องตรวจวัดแบบ TCD ที่สภาวะอุณหภูมิคงที่ ตั้งแต่ 80-100 °ซ ดังแสดงข้อมูลไว้ในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 สมการเชิงเส้นตรงระหว่างค่า $\ln p'$ และ $\ln k'$ ของสารนอร์มัลอัลเคน บนคอลัมน์ HT-5 ที่อุณหภูมิคอลัมน์ 80-100 °ซ ด้วยเครื่องตรวจวัด TCD

อุณหภูมิคอลัมน์ (°ซ)	สมการ (10)
80	$\ln p' = 0.953 \ln k' + 0.477 ; r^2 = 0.99996$
85	$\ln p' = 0.914 \ln k' + 0.350 ; r^2 = 0.99999$
90	$\ln p' = 0.923 \ln k' + 0.284 ; r^2 = 0.99977$
95	$\ln p' = 1.001 \ln k' + 0.413 ; r^2 = 0.99904$
100	$\ln p' = 0.852 \ln k' + 0.173 ; r^2 = 0.99957$

จากผลการทดลองพบว่าความสัมพันธ์ระหว่างค่า $\ln p'$ และ $\ln k'$ เป็นกราฟเส้นตรงที่ทุกอุณหภูมิ โดยมีค่า r^2 มากกว่า 0.99904 ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่าความสัมพันธ์ดังกล่าวเป็นสมการเส้นตรงดังสมการ (13) ซึ่งสมการนี้สามารถทำนายค่า w_R ของสารจากค่า t_R ต่างๆ ของสารในอนุกรมเดียวกันได้ เมื่อทราบค่าคงตัวของสมการ และเมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของสมการ (13) กับงานวิจัยที่ผ่านมา พบว่าสมการ (13) ให้ความสัมพันธ์ที่เป็นสมการเส้นตรงมากกว่างานวิจัยที่ผ่านมา ดังแสดงข้อมูลเปรียบเทียบในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 สมการเชิงเส้นตรงต่าง ๆ จากงานวิจัยที่ผ่านมาระหว่างค่า w_R และ t_R (ในรูปแบบต่างๆ) ของสารนอร์มัลอัลเคน บนคอลัมน์ HT-5 ที่อุณหภูมิคอลัมน์ 80-100 °ซ ด้วยเครื่องตรวจวัด TCD

อุณหภูมิคอลัมน์ (°ซ)	สมการเชิงเส้นตรงต่างๆ จากงานวิจัยที่ผ่านมา		
	$w_R = a + bk'$ [8]	$w_R = a + bt_R$ [10]	σ^2 vs $(1+k')^2$ [5]
80	$y = 4.7096x + 2.1793;$ $r^2 = 0.99870$	$y = 3.8356x - 2.5308;$ $r^2 = 0.99870$	$y = 1.1989x - 1.7674;$ $r^2 = 0.99773$
85	$y = 3.7525x + 2.5506;$ $r^2 = 0.99748$	$y = 3.0052x - 1.1991;$ $r^2 = 0.99749$	$y = 0.802x - 0.6803;$ $r^2 = 0.99773$
90	$y = 3.4119x + 2.7586;$ $r^2 = 0.99656$	$y = 2.7174x - 0.6549;$ $r^2 = 0.99655$	$y = 0.687x - 0.3371;$ $r^2 = 0.99784$
95	$y = 4.3006x + 2.6252;$ $r^2 = 0.99267$	$y = 3.4064x - 1.6725;$ $r^2 = 0.99273$	$y = 0.9917x - 0.8343;$ $r^2 = 0.99246$
100	$y = 2.5877x + 3.1017;$ $r^2 = 0.99275$	$y = 2.1253x + 0.5128;$ $r^2 = 0.99275$	$y = 0.4700x + 0.1292;$ $r^2 = 0.99681$

เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองจากตารางที่ 4 และ 5 จะเห็นว่าความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของสมการ (13) ให้ค่า r^2 มากกว่าสมการจากงานวิจัยที่ผ่านมา ที่ทุกอุณหภูมิคอลัมน์ นอกจากนี้ยังพบว่าสมการของ Kaiser [8] มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงเพียงบางกรณีเท่านั้น [4] เช่นเดียวกับผลที่ได้จากการทดลองนี้ พบว่าสมการของ Kaiser [8] และ สมการของ Shen และ Lee [10] ให้ค่า r^2 ลดลงเมื่ออุณหภูมิคอลัมน์สูงขึ้น หรือกล่าวได้ว่าเมื่อสารคงค้างอยู่ในคอลัมน์น้อยลง (t_R สั้นๆ) ความเป็นเส้นตรงของสมการจะลดลง ดังนั้นความสัมพันธ์ของทั้งสองสมการนี้จะมีปัญหาหากนำไปใช้กับ GC อย่างรวดเร็ว ซึ่งสารจะใช้เวลาคงค้างในคอลัมน์เพียงไม่กี่วินาทีเท่านั้น

5. สรุป

งานวิจัยนี้ได้พบความสัมพันธ์ใหม่ระหว่างค่า $\ln p'$ กับ n และสามารถนำไปใช้ทำนายหาค่าความกว้างพีคของสารในอนุกรมเดียวกันที่จำนวนคาร์บอนต่างๆ ได้ นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่า $\ln p'$ กับค่า $\ln k'$ ของสารได้เป็นกราฟเส้นตรง

6. กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอแสดงความขอบคุณ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (The Thailand Research Fund) ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัย

7. เอกสารอ้างอิง

1. คณิต กฤษณังกูร, 2538, *แก๊สโครมาโตกราฟี*, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, หน้า 2-11.
2. Jennings, W., Mittlefehldt, E., and Stremple, P., 1997, *Analytical Gas Chromatography*, Academic Press, California, p. 4.
3. Gaspar, G., Annino, R., Vidal-Madjar, C., and Guiochon, G., 1978, "Influence of Instrumental Contributions on the Apparent Column Efficiency in High Speed Gas Chromatography", *Analytical Chemistry*, Vol. 50, No. 11, pp. 1512-1518.
4. Guiochon, G., 1978, "On the Fallacies of the ABT Concept", *Chromatographia*, Vol. 11, pp. 249-256.
5. Smuts, T.W., Buy, T.S., de Clerk, K., and du Toit, T.G., 1979, "Gas Chromatographic Conditions for the Linearity of the Relationship between $\sigma_{T,t}$ and t_R in Open Tubes", *Journal of High Resolution Chromatography & Chromatography Communications*, Vol. 2, pp. 456-460.
6. Smuts, T.W., Buy, T.S., de Clerk, K., and du Toit, T.G., 1981, "A General Framework for the Measurement of Band Broadening Properties of GC Capillary Columns", *Journal of High Resolution Chromatography & Chromatography Communications*, Vol. 4, pp. 385-392.
7. Bemgued, A K. and Colmsjo, A., 1990, "Influence of Extra-Column Effects in Capillary Gas Chromatography", *Journal of High Resolution Chromatography & Chromatography Communications*, Vol. 13, pp. 689-693.
8. Kaiser, M. A., 1985, *In Modern Practice of Gas Chromatography*, John Wiley & Sons, New York, p.160.
9. Fritz, J.S. and Scott, D.M., 1983, "Statistical Approach to Chromatographic Theory", *Journal of Chromatography A*, Vol. 271, No. 2, pp. 193-212.
10. Shen, Y. and Lee, M.L., 1998, "General Equation for Peak Capacity in Column Chromatography", *Analytical Chemistry*, Vol. 70, No. 18, pp. 3853-3856.
11. Purnell, J.H., 1959, "Comparison of Efficiency and Separating Power of Packed and Capillary Gas Chromatographic Columns", *Nature (London)*, Vol. 184, No. 26, pp. 2009.
12. Lomsugarit, S., Jeyashoke, N., and Krisnangkura, K., 2001, "Relationship between Carbon Number and Peak Width in Gas Chromatography", *Journal of Chromatography A*, Vol. 926, No. 2, pp. 337-340.

13. Krisnangkura, K., Tancharoon, A., Konkao, C., and Jeyashoke, N., 1997, "An Alternative Method for the Calculation of Equivalent Chain Length or Carbon Number of Fatty Acid Methyl Esters in Gas Chromatography", *Journal of Chromatographic Science*, Vol. 35, No. 7, pp. 329-332.
14. Parcher, J.F. and Johnson, D.M., 1980, "Methane Retention Time versus Mathematical Dead Time", *Journal of Chromatographic Science*, Vol. 18, pp.267-272.
15. Reido, F., Fritz, D., Tarján, G., and Kováts, E., 1976, "A Tailor-Made C₈₇ Hydrocarbon as a Possible non-Polar Standard Stationary Phase for Gas Chromatography", *Journal of Chromatography A*, Vol. 126, pp. 63-83.
16. James, A.T. and Martin, A.J.P., 1952, "Gas-Liquid Partition Chromatography : The Separation and Micro-Estimation of Volatile Fatty Acids from Formic Acid to Dodecanoic Acid", *The Biochemical Journal*, Vol. 50, No. 5, pp. 679-690.
17. Guardino, X., Albaigés, J., Firpo, G., Rodriguez-Viñal, R., and Gassiot, M., 1976, "Accuracy in the Determination of the Kováts Retention Index : Mathematical Dead Time", *Journal of Chromatography A*, Vol. 118, No. 1, pp. 13-22.
18. Wainright, M.S. and Haken, J.K., 1980, "Evaluation of Procedures for the Estimation of Dead Time", *Journal of Chromatography A*, Vol. 184, No. 1, pp. 1-20.
19. Lebrón-Aguilar, R., Quintanilla-López, J.E., and García-Domínguez, J.A., 1997, "Hold-up Time in Gas Chromatography I. New Approach to its Estimation", *Journal of Chromatography A*, Vol. 760 No. 2, pp. 219-226.
20. Gonzalez, F.R., 1999, "Consistency of Gas Hold-up Determinations", *Journal of Chromatography A*, Vol. 832, No. 1-2, pp. 165-172.
21. Watanachaiyong, T., Jeyashoke, N., and Krisnangkura, K., 2000, "A Convenient Method for Routine Estimation of Dead Time in Gas Chromatography", *Journal of Chromatographic Science*, Vol. 38, No. 2, pp. 67-71.