

การทำนายค่าเวลาคงค้างของสารนอร์มัลอัลเคนด้วยแก๊สโครมาโตกราฟี ที่ใช้คอลัมน์แคพิลลารีสองชนิดซึ่งต่อกันแบบอนุกรม

กิตติพงษ์ ตันพันธ์¹ กรณ์กนก อายุสุข² และ คณิต กฤษณังกูร³

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ท่าข้าม บางขุนเทียน กรุงเทพฯ 10150

รับเมื่อ 2 กุมภาพันธ์ 2548 ตอบรับเมื่อ 16 มิถุนายน 2548

บทคัดย่อ

การพิสูจน์เอกลักษณ์สารอินทรีย์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟีสามารถทำได้หลายวิธี แต่ปัญหาหลักๆ ที่พบคือการที่สารมากกว่าหนึ่งชนิดมีเวลาคงค้างใกล้เคียงกัน หรือสารตัวอย่างที่ต้องการแยกมีความซับซ้อน ทำให้การพิสูจน์เอกลักษณ์สารนั้นๆ ยุ่งยากและเกิดความผิดพลาดได้ วิธีการหนึ่งที่จะลดความผิดพลาดและเพิ่มความถูกต้องในการพิสูจน์เอกลักษณ์สาร คือ การใช้คอลัมน์สองชนิดที่มีความมีขั้วแตกต่างกัน (BP-1 และ BPX-70) ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางภายในเท่ากัน (0.25 มิลลิเมตร) ซึ่งจะช่วยให้ได้ภาวะเหมาะสมในการแยกสาร และลดข้อผิดพลาดในการวิเคราะห์เอกลักษณ์สารนอร์มัลอัลเคน (*n*-alkane) โดยนำคอลัมน์แคพิลลารีสองชนิดที่มีวัฏภาคหนึ่งต่างกันมาต่อกันในลักษณะอนุกรมด้วย glass sealed column connector โดยใช้อัตราส่วนความยาวคอลัมน์ ร้อยละ 25 ต่อ 75 และ 75 ต่อ 25

การแยกสารนอร์มัลอัลเคนที่อุณหภูมิต่างๆ และอัตราการไหลของแก๊สตัวพาต่างๆ กัน พบว่าการทำนายค่าเวลาคงค้างยังคงทำได้ถูกต้อง เวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์สั้นเท่ากับคอลัมน์เดี่ยวๆ ผลของการศึกษานี้สร้างความมั่นใจอย่างมากว่าสามารถใช้ระบบสองคอลัมน์ที่ต่อกันแบบอนุกรมในการวิเคราะห์เอกลักษณ์สารได้โดยไม่ใช้สารอ้างอิง

คำสำคัญ : นอร์มัลอัลเคน / การพิสูจน์เอกลักษณ์สาร / แก๊สโครมาโตกราฟี / ค่าเวลาคงค้าง / คอลัมน์แคพิลลารีต่อกันในลักษณะอนุกรม

¹ นักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวเคมี คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี

² อาจารย์ประจำ สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวเคมี คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี

³ รองศาสตราจารย์ สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวเคมี คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี

Prediction of Retention Times of *n*-Alkanes in Gas Chromatography using Two Serial Coupled Capillary Column

Kittipong Tunphun¹, Kornkanok Aryusuk², and Kanit Krisnangkura³

King Mongkut's University of Technology Thonburi, Thakam, Bangkhuntein, Bangkok 10150

Received 2 February 2005 ; accepted 16 June 2005

Abstract

Gas chromatographic (GC) identification of organic compounds can be performed by several techniques. However, the major problems that still encounter when there are more than one component possess the same retention times and samples identification will be complicated. These may lead to error in the identification. The use of two columns with different polarities (BP-1 and BPX-70) and same inner diameter (0.25 mm.) may optimize the sample separation and consequently help reducing error in identification to a certain extent. In this study, separation of *n*-alkanes was carried out by using two serial coupled capillary columns of different polarities and column length ratio (25 : 75 and 75 : 25), respectively.

A various temperatures and carrier gas flow rates, separation of *n*-alkanes showed that high accuracies in prediction of retention times of *n*-alkanes were found. Chromatographic analysis time is as short as using one column system. Results in this study are very encourage for analysts to use two columns system, connected serially, for gas chromatographic identification without any reference.

Keywords : *n*-Alkane / Gas Chromatography / Gas Chromatographic Identification / Retention Time / Two Serial Coupled Capillary Columns

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

² Lecturer, Biochemical Technology Program, School of Bioresources and Technology.

³ Associated Professor, Biochemical Technology Program, School of Bioresources and Technology.

1. บทนำ

เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟีจัดเป็นเครื่องมือพื้นฐานชิ้นหนึ่ง สำหรับห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ทั้งในภาคการศึกษาซึ่งมุ่งเน้นงานวิจัยและพัฒนา (research and development) และในภาคอุตสาหกรรมการผลิต เพื่อควบคุมคุณภาพของสินค้า เนื่องจากสามารถวิเคราะห์สารทั้งในเชิงปริมาณ (quantitative) และเชิงคุณลักษณะ (characterization) ได้อย่างรวดเร็วและมีความถูกต้องสูง

การวิเคราะห์เอกลักษณ์สารด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟี ที่สภาวะอุณหภูมิคงที่สามารถทำได้หลายวิธี [1-5] แต่ละวิธีมีข้อจำกัดที่คล้ายคลึงกัน คือจำเป็นต้องใช้สารอ้างอิงทุกครั้งในการวิเคราะห์ ต่อมา Krisnangkura และคณะ [6] ได้นำสมบัติทางเทอร์โมไดนามิกส์ (thermodynamic property) มาใช้ในการวิเคราะห์สาร โดยแสดงเป็นความสัมพันธ์ระหว่างค่าลอการิทึมธรรมชาติของตัวประกอบคงค้าง;

$\ln \left(\frac{t_R - t_M}{t_M} \right)$ หรือ $\ln k$ กับจำนวนคาร์บอน (n) และอุณหภูมิ (T) ดังสมการที่ (1)

$$\ln k = a + bn + \frac{c}{T} + \frac{dn}{T} \quad (1)$$

จากสมการ (1) สามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์เอกลักษณ์สารได้อย่างถูกต้องโดยไม่ต้องใช้สารอ้างอิง โดยสมการ (1) นี้มีความจำเพาะต่อชนิดของหมู่ฟังก์ชันของสารและชนิดของคอลัมน์ นั่นคือเมื่อทราบค่าคงที่ a , b , c และ d ของคอลัมน์หนึ่งๆ และจำนวนคาร์บอนอะตอมของสาร จะสามารถนำมาใช้ทำนายค่าเวลาคงค้างของสารที่อุณหภูมิต่างๆ ได้ ในทางกลับกันหากทราบค่าเวลาคงค้าง และอุณหภูมิของการทำโครมาโตกราฟี ก็สามารถหาค่าจำนวนคาร์บอนอะตอมได้เช่นกัน

อย่างไรก็ตาม ปัญหาที่เกิดขึ้นในการนำเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟีไปประยุกต์ใช้ในปัจจุบัน คือ เมื่อองค์ประกอบสาร (components) ที่ต้องการแยกในตัวอย่างนั้นมีความคล้ายคลึงกัน หรือสารตัวอย่างที่ต้องการแยกมีความซับซ้อน (complex) เช่น ตัวอย่างพวก flavor, petrochemical และ environmental samples ซึ่งไม่สามารถแยกให้บริสุทธิ์ได้ด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแบบปกติ (normal chromatography หรือ one dimension chromatography) เนื่องจากสารจะถูกชะออกจากคอลัมน์ในเวลา (retention time) ที่ใกล้เคียงกัน เป็นเหตุให้การวิเคราะห์ผลจากโครมาโตแกรมว่าเป็นสารใดนั้นผิดพลาดหรือคลาดเคลื่อนได้

ดังนั้น ระบบโครมาโตกราฟีปกติหรือระบบการแยกสารด้วยคอลัมน์เดี่ยวมีข้อจำกัด เนื่องจากกำลังการแยกสุทธิ (overall resolution power) ไม่เพียงพอ ยิ่งสารตัวอย่างมีองค์ประกอบซับซ้อนมากขึ้นก็จะยิ่งเพิ่มปัญหาที่ทับซ้อนกัน (overlapped peaks) มากขึ้น ซึ่งการแก้ไขบางครั้งอาจทำได้โดยใช้ระบบการแยกเดี่ยวที่ออกแบบพิเศษ (over designing the system) แต่ระบบดังกล่าวใช้เทคนิคที่ซับซ้อนทำให้สิ้นเปลืองค่าใช้จ่าย และใช้เวลาในการวิเคราะห์มากขึ้น

ด้วยเหตุดังกล่าว งานวิจัยนี้จึงได้พัฒนาวิธีการวิเคราะห์เอกลักษณ์สารโดยนำแคพิลลารีคอลัมน์ (capillary column) สองชนิดที่มีวัฏภาคนิ่ง (stationary phase) ต่างกันมาต่อกันในลักษณะอนุกรม โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อปรับประสิทธิภาพให้เหมาะสมต่อการแยกสารผสมที่ไม่สามารถแยกออกจากกัน หรือแยกออกจากกันได้ยากบนคอลัมน์เดี่ยวๆ เพียงชนิดใดชนิดหนึ่งในการทำโครมาโตกราฟีเพียงครั้งเดียว โดยไม่ต้องดัดแปลงเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟีที่มีอยู่เดิม ซึ่งจะเป็นการลดความผิดพลาดลงได้

2. ทฤษฎี

Krisnangkura และคณะ [6] ได้เสนอสมการซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าเวลาคงค้าง จำนวนคาร์บอนอุณหภูมิจ และสมบัติทางเทอร์โมไดนามิกส์ของสารในแก๊สโครมาโตกราฟี มาใช้ในการทำนายเอกลักษณ์สารในภาวะอุณหภูมิคงที่ดังสมการ (2)

$$\ln k = a + bn + \frac{c}{T} + \frac{dn}{T} \quad (2)$$

โดยที่ a , b , c และ d คือ ค่าคงที่ของคอลัมน์ซึ่งจำเพาะสำหรับสารตัวอย่างและวัฏภาคนิ่งหนึ่งๆ มีค่าเท่ากับ $\frac{\Delta S_0}{R} - \ln \beta$, $\frac{\delta S}{R}$, $-\frac{\Delta H_0}{R}$ และ $-\frac{\delta H}{R}$ ตามลำดับ T คือ อุณหภูมิคอลัมน์ (K), z คือจำนวนคาร์บอน k คือ ตัวประกอบคงค้าง (retention factor) มีค่าเท่ากับ $\frac{t_R - t_M}{t_M}$ เมื่อ t_R และ t_M คือเวลาคงค้างของสารตัวอย่างและสารไม่คงค้าง ตามลำดับ

$-\Delta H_0$ และ $-\delta H$ คือ ค่าเอนทัลปีของการละลายของสารสมมุติที่มีจำนวนคาร์บอนเป็น 0 และค่าเอนทัลปีที่เปลี่ยนแปลงไปต่อหนึ่งคาร์บอนอะตอม ตามลำดับ

ΔS_0 และ δS คือ ค่าเอนโทรปีของการละลายของสารสมมุติที่มีจำนวนคาร์บอนเป็น 0 และค่าเอนโทรปีที่เปลี่ยนแปลงไปต่อหนึ่งคาร์บอนอะตอม ตามลำดับ

และ β (phase ratio of column) คือ อัตราส่วนระหว่างปริมาตรของวัฏภาคเคลื่อนที่ต่อปริมาตรของวัฏภาคนิ่ง

สำหรับการทำนายค่าเวลาคงค้างของสารจากการทำโครมาโตกราฟีแบบ 2 คอลัมน์ที่ต่อกันแบบอนุกรม (two-serially connected GC) สามารถทำนายค่าเวลาคงค้างของสารได้โดยคำนวณจากผลรวมค่าเวลาคงค้างในแต่ละคอลัมน์

ค่าเวลาคงค้างแต่ละคอลัมน์หาได้จากสมการดังนี้

$$\ln \frac{t_R - t_M}{t_M} = a + bn + \frac{c}{T} + \frac{dn}{T} = Z \quad (3)$$

$$t_R = t_M(e^Z + 1) \quad (4)$$

ดังนั้นค่าเวลาคงค้างของสารจากการทำโครมาโตกราฟีแบบ 2 มิติ หาได้จาก

$$t_R = t_{R1} + t_{R2} \quad (5)$$

$$t_R = t_{M1}(e^{Z1} + 1) + t_{M2}(e^{Z2} + 1) \quad (6)$$

เมื่อ t_R คือ ค่าเวลาคงค้างของสารใน 2 คอลัมน์
 t_{R1} และ t_{R2} คือ ค่าเวลาคงค้างของสารในคอลัมน์ที่ 1 และคอลัมน์ที่ 2 ตามลำดับ
 t_{M1} และ t_{M2} คือ ค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้างในคอลัมน์ที่ 1 และคอลัมน์ที่ 2 ตามลำดับ

สำหรับคอลัมน์แก๊สโครมาโตกราฟีนั้นแก๊สจะไหลในที่แคบๆ ระหว่างอนุภาคของวัฏภาคหนึ่ง เนื่องจากแก๊สมีความหนืดที่แน่นอน และเกิดเกรเดียนของความดัน (pressure gradient) ตลอดความยาวคอลัมน์จึงทำให้เกิดแรงต้านการไหล จึงส่งผลให้ค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้าง (t_M) ไม่ขึ้นกับความยาว (L) คอลัมน์ แต่จะขึ้นกับความดันที่จุดใดๆ (จุด x) โดยสามารถหาได้ดังนี้ [7]

เมื่อกำหนดให้ dP/dx = เกรเดียนของความดัน
 u = ความเร็วเชิงเส้น
 η = ความหนืดของแก๊ส
 K_p = การเลือกผ่านคอลัมน์

ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ได้ดังสมการ

$$\frac{dP}{dx} = -\frac{\eta}{K_p} u \quad (7)$$

การใช้ค่า volume flow rate จะสะดวกกว่าการใช้ค่า linear flow rate โดยแสดงได้ดังนี้

$$\frac{dP}{dx} = -\frac{\eta}{K_p \cdot a} V \quad \text{เมื่อ } V = au \quad (8)$$

จากสมการค่า V จะขึ้นกับค่าของ x และเมื่อขยายกฎของบอยด์ (Boyle's law) ซึ่งแทน $V(x)$ ด้วย $P(x)$

เนื่องจาก $P_0 V_0 = PV$ (9)

โดยค่า P_0 และ V_0 คือค่าความดัน และ volume flow rate ตรงส่วนทางออก (outlet)

แทนค่า V ในสมการ (8) ด้วยสมการที่ (9)

$$\frac{dP}{dx} = -\left(\frac{\eta P_0 V_0}{K_p \cdot a}\right) \frac{1}{P} \quad (10)$$

สมการนี้สามารถแก้ได้ง่ายขึ้น เนื่องจากความหนืดของแก๊สไม่ขึ้นกับความดัน ดังนั้นค่าในวงเล็บจึงเป็นค่าคงที่ ซึ่งกำหนดให้เป็น $-K'$ ดังนั้น

$$x = \frac{P^2}{2K'} + K'' \quad (11)$$

เมื่อ K'' คือค่าคงที่ และเมื่อ P_i คือ inlet pressure, P_o คือ outlet pressure จะได้ $P = P_i$ เมื่อ $x = 0$ และ $P = P_o$ เมื่อ $x = L$ เมื่อแทนค่านี้ในสมการ (11) จะได้

$$K' = \frac{P_o^2 - P_i^2}{2L}, \quad K'' = \frac{P_i^2}{2K'} \quad (12)$$

เมื่อนำค่า K' และ K'' จากสมการ (12) แทนกลับไปในสมการ (11) จะได้สมการสำหรับหาความดันที่จุดใดๆ ภายในคอลัมน์ ดังนี้

$$\frac{x}{L} = \frac{P^2 - P_i^2}{P_o^2 - P_i^2} \quad (13)$$

3. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินการทดลอง

3.1 สารเคมี

สารมาตรฐาน n -alkanes ($C_{17} - C_{22}$) จากบริษัทซิกมาเคมิกอล (เซนทูลย์ สหรัฐอเมริกา)
เฮกเซน (hexane; C_6H_{14}) analytical grade จากบริษัท Carlo Erba, ประเทศอิตาลี

3.2 วัสดุอุปกรณ์

1.) เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี รุ่น 14 A มีตัวตรวจวัดแบบเปลวไอออไนเซชัน (Flame ionization detector; FID) ต่อพ่วงกับเครื่องประมวลผล และเครื่องบันทึกผลของ Shimadzu รุ่น C-R4A Chromatopac จากบริษัท Shimadzu, Co., Ltd., ประเทศญี่ปุ่น

2.) คอลัมน์ที่ใช้ในการทดลอง

คอลัมน์ BP-1 (100% Dimethyl polysiloxane) และคอลัมน์ BPX-70 (70% Cyanopropyl polysilphenylene siloxane) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.25 มิลลิเมตร ความหนาฟิล์ม 0.25 ไมโครเมตร ยาว 30 เมตร, ทั้งสองคอลัมน์จากบริษัท SGE Pty. Ltd. ประเทศออสเตรเลีย และ Quick-Sealed column connector จากบริษัท Supelco ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.) Syringe 5 ไมโครลิตร จากบริษัท SGE Pty. Ltd. ประเทศออสเตรเลีย

3.3 วิธีดำเนินการทดลอง

1.) ฉีดสารมาตรฐาน *n*-alkanes ความยาวของสายคาร์บอนอยู่ในช่วง 17 – 22 อะตอมเพื่อหาค่าคงตัว a, b, c และ d ของสมการที่ (1) บนคอลัมน์ BP-1 พร้อมทั้งทำนายจำนวนคาร์บอนของสารมาตรฐาน *n*-alkanes ที่อุณหภูมิต่างๆ เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของค่าคงตัวทั้งสี่ (a, b, c และ d) ว่ามีความถูกต้องมากน้อยเพียงใด

2.) หาค่าคงตัว a, b, c และ d เช่นเดียวกับข้อ 1.) แต่เปลี่ยนใช้คอลัมน์ BPX-70 พร้อมทั้งทำนายจำนวนคาร์บอนของสารมาตรฐาน *n*-alkanes ที่อุณหภูมิต่างๆ

3.) ต่อกอลัมน์ (BP-1 และ BPX-70) โดยตัดคอลัมน์ BP-1 และ BPX-70 ในอัตราส่วนความยาว 25:75 (7.5 และ 22.5 เมตร) แล้วนำคอลัมน์แต่ละชนิดมาต่อกันในลักษณะอนุกรมโดยใช้ Quick-Sealed column connector จากนั้นทำการวิเคราะห์สารมาตรฐาน *n*-alkanes และทดสอบค่าเวลาคงค้างจากการคำนวณตามสมการเทียบกับการทดลองว่ามีความถูกต้องมากน้อยเพียงใด

4.) ทำการวิเคราะห์สารมาตรฐาน *n*-alkanes ตามข้อ 3.) แต่เปลี่ยนอัตราส่วนความยาวคอลัมน์ชนิด BP-1 และ BPX-70 เป็น 75:25 และทดสอบความถูกต้องของค่าเวลาคงค้างจากการคำนวณตามสมการเทียบกับการทดลอง

3.4 การคำนวณค่าคงตัว (a, b, c และ d) ของคอลัมน์

ค่าคงตัวทั้งสี่ (a, b, c และ d) หาตามวิธีของ Krisnangkura และคณะ (6) ที่อุณหภูมิคงที่ สมการ (1) จะลดรูปลงเหลือ

$$\ln k = a' + b'n \quad (14)$$

โดย

$$a' = a + \frac{c}{T} \quad (15)$$

$$b' = b + \frac{d}{T} \quad (16)$$

โดยค่า a' และ b' หาได้จากการเขียนกราฟระหว่างค่า $\ln k'$ กับ n จะได้ค่าความชันเป็น b' และจุดตัดแกน y เป็น a' ซึ่งคำนวณได้โดย Microsoft Excel Version 8.0 จากนั้นนำค่า a' และ b' ไปหาความสัมพันธ์กับส่วนกลับของอุณหภูมิ จะได้ค่าคงตัว a, b, c และ d ซึ่งคำนวณได้โดย Microsoft Excel Version 8.0 เช่นเดียวกัน แทนค่าคงตัวทั้งสองในสมการ (14)

ในทำนองเดียวกัน หากการทดลองศึกษาที่จำนวนคาร์บอนอะตอมคงที่ สมการ (1) จะลดรูปลงเหลือ

$$\ln k = a'' + \frac{b''}{T} \quad (17)$$

$$\text{โดย} \quad a'' = a + bn \quad (18)$$

$$\text{และ} \quad b'' = c + dn \quad (19)$$

a'' และ b'' หาได้จากการเขียนกราฟระหว่างค่า $\ln k'$ กับ $1/T$ จะได้ค่าความชันเป็น b'' และจุดตัดแกน y เป็น a'' ซึ่งคำนวณได้โดย Microsoft Excel Version 8.0 จากนั้นนำค่า a'' และ b'' ไปหาความสัมพันธ์กับจำนวนคาร์บอนได้ค่าคงตัว a, b, c และ d ซึ่งคำนวณได้โดย Microsoft Excel Version 8.0 เช่นเดียวกัน แทนค่าคงตัวทั้งสองในสมการ (17) ค่าคงตัวทั้งสองที่ได้ทั้งสองวิธีเป็นค่าเดียวกัน

4. ผลการทดลองและวิจัย

4.1 การทำนายเวลาคงค้างสาร *n*-alkanes บนคอลัมน์ BP-1

ในการทำนายเวลาคงค้างสารจำเป็นต้องหาค่าคงที่ a, b, c และ d ของคอลัมน์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ก่อน โดยใช้ภาวะอุณหภูมิคงที่

4.1.1 การหาค่าคงที่ a, b, c และ d ของสาร *n*-alkanes บนคอลัมน์ BP-1 ที่ภาวะอุณหภูมิคงที่

จากการฉีดสารมาตรฐาน *n*-alkanes ที่ภาวะอุณหภูมิคงที่ต่างๆ บนคอลัมน์ BP-1 ได้ค่าเวลาคงค้างไม่ปรับแก้ และเมื่อลบด้วยค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้าง (unretained compound) จะได้ค่าเวลาคงค้างปรับแก้ (adjusted retention time) และทำให้อยู่ในรูปของ retention factor คือ $\left(\frac{t_R - t_M}{t_M}\right)$ เมื่อใส่ natural logarithm จะได้ $\ln\left(\frac{t_R - t_M}{t_M}\right)$ แล้วนำมาสร้างกราฟกับจำนวนคาร์บอนจะได้ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของสาร *n*-alkanes ที่อุณหภูมิต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ค่าลอการิทึมธรรมชาติของตัวประกอบคงค้าง $\ln((t_R - t_M)/t_M)$ กับจำนวนคาร์บอน และส่วนกลับของอุณหภูมิของสาร *n*-alkanes บนคอลัมน์ BP-1

Carbon number	190°ซ	195°ซ	200°ซ	205°ซ	210°ซ	intercept (c')	slope (d')	R ²
17	0.944	0.778	0.617	0.454	0.298	-14.663	7228.58	1.0000
18	1.318	1.143	0.973	0.801	0.635	-15.189	7645.77	1.0000
19	1.693	1.509	1.329	1.147	0.973	-15.704	8057.75	1.0000
20	2.068	1.875	1.686	1.494	1.31	-16.25	8484.58	1.0000
21	2.444	2.241	2.042	1.842	1.649	-16.77	8899.63	1.0000
22	2.817	2.605	2.398	2.187	1.985	-17.29	9313.48	0.9999
intercept (a')	-5.427	-5.437	-5.439	-5.44	-5.44	-5.712 (a)	130.15 (c)	0.9999
slope (b')	0.375	0.366	0.356	0.347	0.338	-0.526 (b)	417.51 (d)	0.9998

จากผลการทดลองและคำนวณสามารถเขียนสรุปสมการทำนายเวลาคงค้างสาร *n*-alkanes บนคอลัมน์ BP-1 ได้ดังนี้

$$\ln \left(\frac{t_R - t_M}{t_M} \right) = -5.712 - 0.526n + \frac{130.15}{T} + \frac{417.51n}{T} \quad (20)$$

จากสมการที่ (20) สามารถใช้ในการทำนายจำนวนคาร์บอนอะตอมของสารตัวอย่างจำพวก *n*-alkanes ในกรณีที่ทราบค่าเวลาคงค้างที่ภาวะอุณหภูมิคงที่ต่างๆ หรือทำนายค่าเวลาคงค้างของสารตัวอย่างที่ทราบจำนวนคาร์บอนได้

4.1.2 การทดสอบสมการวิเคราะห์เอกลักษณ์สาร *n*-alkanes ด้วยวิธีทางคณิตศาสตร์

คำนวณจำนวนคาร์บอนของสาร *n*-alkanes ที่ภาวะอุณหภูมิคงที่บนคอลัมน์ BP-1 ด้วยสมการ (20) แล้วนำค่าที่คำนวณได้ไปเปรียบเทียบกับจำนวนคาร์บอนของสารมาตรฐาน และคำนวณหาร้อยละของความผิดพลาด และได้สรุปไว้ในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ค่าจำนวนคาร์บอนที่คำนวณได้จากสมการ (20) ของสาร *n*-alkanes และค่าร้อยละของความผิดพลาดบนคอลัมน์ BP-1

ค่าจำนวนคาร์บอน ของสารมาตรฐาน	ค่าจำนวนคาร์บอนที่คำนวณได้จากสมการ (20)				
	190°ซ	195°ซ	200°ซ	205°ซ	210°ซ
17	17.00	17.00	17.01	17.00	17.00
	(0.00)	(0.00)	(0.06)	(0.00)	(0.00)
18	18.00	18.00	18.01	18.00	18.00
	(0.00)	(0.00)	(0.06)	(0.00)	(0.00)
19	19.00	19.00	19.01	19.00	19.00
	(0.00)	(0.00)	(0.05)	(0.00)	(0.00)
20	20.00	20.00	20.01	20.00	20.00
	(0.00)	(0.00)	(0.05)	(0.00)	(0.00)
21	21.00	21.00	21.01	21.00	21.00
	(0.00)	(0.00)	(0.05)	(0.00)	(0.00)
22	21.99	22.00	22.01	22.00	22.00
	(-0.04)	(0.00)	(0.04)	(0.00)	(0.00)

* ค่าในวงเล็บ คือ ค่าร้อยละความผิดพลาดของค่าจำนวนคาร์บอนที่ได้จากการคำนวณ

จากตารางที่ 2 พบว่าค่าร้อยละความผิดพลาดระหว่างจำนวนคาร์บอนที่ได้จากการคำนวณที่ทราบค่าเวลาคงค้างที่อุณหภูมิต่างๆ กับจำนวนคาร์บอนของสารมาตรฐานมีค่าอยู่ในช่วง -0.04 ถึง 0.06

4.2 การทำนายเวลาคงค้างสาร *n*-alkanes บนคอลัมน์ BPX-70

ในการทำนายเวลาคงค้างสารจำเป็นต้องหาค่าคงที่ *a*, *b*, *c* และ *d* ของคอลัมน์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ก่อน โดยใช้ภาวะอุณหภูมิคงที่

4.2.1 การหาค่าคงที่ *a*, *b*, *c* และ *d* ของสาร *n*-alkanes บนคอลัมน์ BPX-70 ที่ภาวะอุณหภูมิคงที่

จากการนิยามมาตรฐาน *n*-alkanes ที่ภาวะอุณหภูมิคงที่ต่างๆ บนคอลัมน์ BPX-70 ได้ค่าเวลาคงค้างไม่ปรับแก้ และเมื่อลบค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้าง จะได้ค่าเวลาคงค้างปรับแก้ และทำให้อยู่ในรูปของ retention factor คือ $\left(\frac{t_R - t_M}{t_M}\right)$ เมื่อใส่ natural logarithm จะได้ $\ln\left(\frac{t_R - t_M}{t_M}\right)$ แล้วนำมาสร้างกราฟกับจำนวนคาร์บอนจะได้ความสัมพันธ์เชิงเส้นของสาร *n*-alkanes ที่อุณหภูมิต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ค่าลอการิทึมธรรมชาติของตัวประกอบคงค้าง $\ln((t_R - t_M)/t_M)$ กับจำนวนคาร์บอน และส่วนกลับของอุณหภูมิของสาร *n*-alkanes บนคอลัมน์ BPX-70

Carbon number	150°ซ	155°ซ	160°ซ	165°ซ	170°ซ	intercept (c')	slope (d')	R ²
17	-1.049	-1.236	-1.412	-1.581	-1.753	-16.594	6576.67	0.9999
18	-0.672	-0.870	-1.057	-1.236	-1.420	-17.188	6987.78	0.9999
19	-0.296	-0.505	-0.703	-0.894	-1.088	-17.793	7403.22	0.9999
20	0.081	-0.139	-0.349	-0.550	-0.756	-18.388	7814.33	0.9999
21	0.460	0.228	0.007	-0.204	-0.422	-19.001	8234.23	0.9999
22	0.835	0.593	0.360	0.139	-0.090	-19.583	8639.29	0.9999
intercept (a')	-7.456	-7.456	-7.440	-7.429	-7.409	-6.401 (a)	-449.02 (c)	0.9610
slope (b')	0.377	0.366	0.355	0.344	0.333	-0.600 (b)	413.24 (d)	0.9999

จากผลการทดลองและคำนวณสามารถเขียนสรุปสมการทำนายเวลาคงค้างสาร *n*-alkanes บนคอลัมน์ BPX-70 ได้ดังนี้

$$\ln\left(\frac{t_R - t_M}{t_M}\right) = -6.401 - 0.600n - \frac{449.02}{T} + \frac{413.24n}{T} \quad (21)$$

จากสมการที่ (21) สามารถใช้ในการทำนายจำนวนคาร์บอนอะตอมของสารตัวอย่างจำพวก *n*-alkanes ในกรณีที่ทราบค่าเวลาคงค้างที่ภาวะอุณหภูมิคงที่ต่างๆ หรือทำนายค่าเวลาคงค้างของสารตัวอย่างที่ทราบจำนวนคาร์บอน

4.2.2 การทดสอบสมการวิเคราะห์เอกลักษณ์สาร *n*-alkanes ด้วยวิธีทางคณิตศาสตร์

คำนวณจำนวนคาร์บอนของสารมาตรฐาน *n*-alkanes ที่ภาวะอุณหภูมิคงที่บนคอลัมน์ BPX-70 ด้วยสมการ (21) แล้วนำค่าที่คำนวณได้ไปเปรียบเทียบกับจำนวนคาร์บอนของสารมาตรฐาน และคำนวณหาร้อยละของความผิดพลาด และได้สรุปแสดงไว้ในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ค่าจำนวนคาร์บอนที่คำนวณได้จากสมการ (21) ของสาร *n*-alkanes และค่าร้อยละของความผิดพลาดบนคอลัมน์ BPX-70

ค่าจำนวนคาร์บอน ของสารมาตรฐาน	ค่าจำนวนคาร์บอนที่คำนวณได้จากสมการ (21)				
	190°ซ	195°ซ	200°ซ	205°ซ	210°ซ
17	17.01	16.99	16.99	17.01	17.00
	(0.06)	(-0.06)	(-0.06)	(0.06)	(0.00)
18	18.01	17.99	18.00	18.01	18.00
	(0.06)	(-0.06)	(0.00)	(0.06)	(0.00)
19	19.00	18.99	18.99	19.01	19.00
	(0.00)	(-0.05)	(-0.05)	(0.05)	(0.00)
20	20.00	19.99	19.99	20.01	19.99
	(0.00)	(-0.05)	(-0.05)	(0.05)	(-0.05)
21	21.01	21.00	21.00	21.01	21.00
	(0.05)	(0.00)	(0.00)	(0.05)	(0.00)
22	22.00	21.99	21.99	22.01	21.99
	(0.00)	(-0.04)	(-0.04)	(0.04)	(-0.04)

* ค่าในวงเล็บ คือ ค่าร้อยละความผิดพลาดของค่าจำนวนคาร์บอนที่ได้จากการคำนวณ

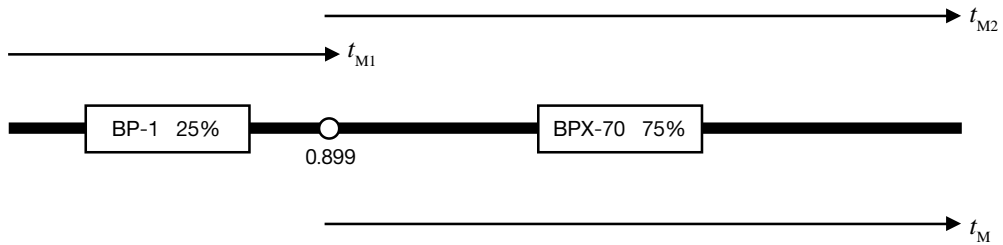
จากตารางที่ 4 พบว่าค่าร้อยละความผิดพลาดระหว่างจำนวนคาร์บอนที่ได้จากการคำนวณที่ทราบค่าเวลาคงค้างที่อุณหภูมิต่างๆ กับจำนวนคาร์บอนของสารมาตรฐานมีค่าอยู่ในช่วง -0.06 ถึง 0.06

4.3 การทำนายเวลาคงค้างสาร *n*-alkanes บนคอลัมน์ BP-1 และ BPX-70 ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรม ที่อัตราส่วนความยาวคอลัมน์ร้อยละ 25 ต่อ 75

การเกิด pressure gradient ตลอดความยาวคอลัมน์นั้นทำให้เกิดแรงต้านการไหล ส่งผลให้ค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้าง (t_M) ไม่ขึ้นกับความยาวคอลัมน์ แต่จะขึ้นกับความดันที่จุดใดๆ ในคอลัมน์ ซึ่งสามารถหาได้จากสมการของ James และ Martin [8] ดังสมการ (13) และเมื่อแทนค่าความดันเริ่มต้น (P_i) และความดันส่วนท้าย (P_o) จะได้ความดันที่จุดใดๆ ในคอลัมน์ สำหรับที่อัตราส่วนความยาวคอลัมน์ร้อยละ 25 ต่อ 75 อัตราการไหล 1 กก./ชม.² จะได้

$$\frac{7.5}{30} = \frac{P^2 - 1.9678^2}{1^2 - 1.9678^2}$$

ดังนั้น $P = 1.7691$ บรรยากาศ
 $P/P_i = 0.899$ (pressure fraction)



ดังนั้น $t_{M1} = 0.101 \times t_M$
 $t_{M2} = 0.899 \times t_M$

ค่า pressure fraction ขึ้นกับความดันเริ่มต้น (P_i) แต่ไม่ขึ้นกับอุณหภูมิ ดังนั้นเมื่อเปลี่ยนความดันเริ่มต้น ค่า pressure fraction ก็จะเปลี่ยนไปดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ค่า pressure fraction ที่ความดันเริ่มต้น (P_i) ต่างๆ
 อัตราส่วนความยาวคอลัมน์ร้อยละ 25 ต่อ 75

ความดันเริ่มต้น (P_i) (กก./ซม. ²)	pressure fraction (P/P_i)
1.00	0.899
1.25	0.893
1.50	0.889
1.75	0.886
2.00	0.885

จากการฉีดสารตัวอย่าง *n*-alkanes ที่ภาวะอุณหภูมิคงที่โดยในการฉีดแต่ละครั้งนั้นเมื่อสารผ่านอินเจคเตอร์แล้วจะผ่านเข้าสู่คอลัมน์ที่หนึ่ง (BP-1) ซึ่งสารจะเกิดการแยกชั้นต้น จากนั้นสารจะผ่านเข้าสู่คอลัมน์ที่สอง (BPX-70) ซึ่งสารจะเกิดการแยกต่อ จากนั้นจึงอ่านผลที่ได้ด้วยตัวตรวจวัด (Flame Ionization Detector) นำค่าเวลาคงค้างที่ได้ไปทำการทำนายเวลาคงค้างสารโดยเทียบกับค่าเวลาคงค้างที่ทำนายจากสมการที่ (6) คำนวณหาร้อยละของความผิดพลาด และได้สรุปแสดงไว้ในตารางที่ 6 เมื่อ t_{R1} และ t_{R2} ได้จากสมการ (20) และ (21) ตามลำดับ

ตารางที่ 6 ค่าเวลาคงตัวของสาร *n*-alkanes ที่ได้จากการทดลองเทียบกับค่าเวลาคงค่างที่คำนวณได้จากสมการ (6) และค่าร้อยละของความผิดพลาดบนคอลัมน์ BP-1 และ BPX-70 ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรม ที่อัตราส่วนความยาวคอลัมน์ร้อยละ 25 ต่อ 75

อัตราการไหล ที่ความดัน 1.00 กก./ซม.²

n	160 °ซ			165 °ซ			170 °ซ			175 °ซ			180 °ซ		
	<i>t</i> _{R(EXP)}	<i>t</i> _{R(PRE)}	%Δ	<i>t</i> _{R(EXP)}	<i>t</i> _{R(PRE)}	%Δ	<i>t</i> _{R(EXP)}	<i>t</i> _{R(PRE)}	%Δ	<i>t</i> _{R(EXP)}	<i>t</i> _{R(PRE)}	%Δ	<i>t</i> _{R(EXP)}	<i>t</i> _{R(PRE)}	%Δ
17	8.706	8.744	-0.43	7.970	8.007	-0.46	7.415	7.462	-0.64	6.956	6.995	-0.55	6.597	6.626	-0.44
18	11.051	11.071	-0.18	9.850	9.878	-0.29	8.936	8.950	-0.54	8.193	8.233	-0.49	7.612	7.639	-0.36
19	14.652	14.634	0.12	12.704	12.712	-0.06	11.221	11.264	-0.38	10.033	10.068	-0.34	9.103	9.125	-0.24
20	20.135	20.093	0.21	16.989	17.004	-0.09	14.617	14.68	-0.43	12.744	12.788	-0.34	11.271	11.305	-0.30
21	28.554	28.463	0.32	23.511	23.513	-0.01	19.726	19.803	-0.39	16.774	16.825	-0.30	14.456	14.506	-0.35
22	41.355	41.310	0.11	33.298	33.392	-0.28	27.316	27.496	-0.66	22.684	22.822	-0.61	19.092	19.213	-0.63

อัตราการไหล ที่ความดัน 1.25 กก./ซม.²

n	160 °ซ			165 °ซ			170 °ซ			175 °ซ			180 °ซ		
	<i>t</i> _{R(EXP)}	<i>t</i> _{R(PRE)}	%Δ	<i>t</i> _{R(EXP)}	<i>t</i> _{R(PRE)}	%Δ	<i>t</i> _{R(EXP)}	<i>t</i> _{R(PRE)}	%Δ	<i>t</i> _{R(EXP)}	<i>t</i> _{R(PRE)}	%Δ	<i>t</i> _{R(EXP)}	<i>t</i> _{R(PRE)}	%Δ
17	6.905	6.961	-0.81	6.309	6.366	-0.90	5.855	5.895	-0.69	5.485	5.515	-0.54	5.180	5.204	-0.47
18	8.784	8.844	-0.68	7.819	7.880	-0.78	7.076	7.121	-0.63	6.478	6.511	-0.51	5.992	6.018	-0.43
19	11.676	11.728	-0.45	10.115	10.173	-0.58	8.912	8.957	-0.50	7.957	7.987	-0.38	7.187	7.210	-0.32
20	16.062	16.149	-0.54	13.565	13.65	-0.62	11.638	11.709	-0.61	10.125	10.178	-0.52	8.921	8.961	-0.45
21	22.825	22.931	-0.46	18.816	18.924	-0.57	15.744	15.840	-0.61	13.358	13.430	-0.54	11.486	11.533	-0.41
22	33.075	33.345	-0.82	26.72	26.933	-0.80	21.845	22.045	-0.91	18.112	18.263	-0.83	15.214	15.316	-0.67

*t*_{R(EXP)} = ค่าเวลาคงค่างของสารจากการทดลอง

*t*_{R(PRE)} = ค่าเวลาคงค่างของสารจากการทำนาย

$$\% \Delta = \text{ค่าร้อยละความผิดพลาด} = \left(\frac{t_{R(PRE)} - t_{R(EXP)}}{t_{R(EXP)}} \right) \times 100$$

อัตราการใช้ไถล ที่ความดัน 1.50 กก./ซม.²

n	160 °ซ			165 °ซ			170 °ซ			175 °ซ			180 °ซ		
	$f_{R(EXP)}$	$f_{R(PRE)}$	% Δ	$f_{R(EXP)}$	$f_{R(PRE)}$	% Δ	$f_{R(EXP)}$	$f_{R(PRE)}$	% Δ	$f_{R(EXP)}$	$f_{R(PRE)}$	% Δ	$f_{R(EXP)}$	$f_{R(PRE)}$	% Δ
17	5.736	5.767	-0.54	5.283	5.315	-0.61	4.905	4.929	-0.49	4.612	4.623	-0.24	4.368	4.370	-0.05
18	7.297	7.324	-0.38	6.550	6.578	-0.43	5.934	5.953	-0.32	5.452	5.459	-0.12	5.058	5.054	0.09
19	9.695	9.706	-0.11	8.474	8.488	-0.16	7.477	7.485	-0.11	6.701	6.695	0.09	6.071	6.055	0.27
20	13.343	13.350	-0.05	11.373	11.378	-0.05	9.775	9.779	-0.04	8.538	8.527	0.13	7.547	7.522	0.33
21	18.959	18.932	0.14	15.771	15.757	0.09	13.233	13.216	0.13	11.270	11.242	0.25	9.717	9.676	0.42
22	27.485	27.490	-0.02	22.372	22.392	-0.10	18.379	18.370	0.05	15.285	15.272	0.08	12.872	12.838	0.26

อัตราการใช้ไถล ที่ความดัน 1.75 กก./ซม.²

n	160 °ซ			165 °ซ			170 °ซ			175 °ซ			180 °ซ		
	$f_{R(EXP)}$	$f_{R(PRE)}$	% Δ	$f_{R(EXP)}$	$f_{R(PRE)}$	% Δ	$f_{R(EXP)}$	$f_{R(PRE)}$	% Δ	$f_{R(EXP)}$	$f_{R(PRE)}$	% Δ	$f_{R(EXP)}$	$f_{R(PRE)}$	% Δ
17	5.113	5.143	-0.59	4.634	4.654	-0.44	4.292	4.316	-0.56	4.018	4.054	-0.90	3.808	3.837	-0.77
18	6.523	6.548	-0.38	5.758	5.774	-0.28	5.202	5.225	-0.43	4.756	4.797	-0.86	4.414	4.446	-0.74
19	8.693	8.696	-0.03	7.471	7.467	0.05	6.574	6.584	-0.15	5.851	5.897	-0.78	5.304	5.339	-0.66
20	11.980	11.984	-0.04	10.033	10.031	0.02	8.607	8.620	-0.15	7.467	7.527	-0.80	6.603	6.647	-0.67
21	17.066	17.023	0.25	13.695	13.915	0.36	11.690	11.672	-0.15	9.864	9.944	-0.81	8.511	8.568	-0.67
22	24.786	24.749	0.15	19.860	19.806	0.27	16.259	16.250	0.06	13.391	13.531	-1.05	11.286	11.390	-0.92

อัตราการใช้ไถล ที่ความดัน 2.00 กก./ซม.²

n	160 °ซ			165 °ซ			170 °ซ			175 °ซ			180 °ซ		
	$f_{R(EXP)}$	$f_{R(PRE)}$	% Δ	$f_{R(EXP)}$	$f_{R(PRE)}$	% Δ	$f_{R(EXP)}$	$f_{R(PRE)}$	% Δ	$f_{R(EXP)}$	$f_{R(PRE)}$	% Δ	$f_{R(EXP)}$	$f_{R(PRE)}$	% Δ
17	4.444	4.481	-0.84	4.066	4.098	-0.78	3.761	3.786	-0.67	3.528	3.548	-0.56	3.378	3.392	-0.41
18	5.678	5.710	-0.56	5.056	5.087	-0.61	4.562	4.587	-0.57	4.182	4.201	-0.45	3.921	3.933	-0.30
19	7.572	7.588	-0.22	6.561	6.584	-0.35	5.768	5.785	-0.29	5.154	5.168	-0.26	4.715	4.725	-0.22
20	10.448	10.465	-0.16	8.823	8.850	-0.31	7.561	7.579	-0.24	6.580	6.600	-0.31	5.873	5.888	-0.25
21	14.875	14.873	0.02	12.268	12.284	-0.13	10.258	10.268	-0.10	8.712	8.726	-0.16	7.574	7.594	-0.27
22	21.606	21.632	-0.12	17.441	17.493	-0.30	14.260	14.303	-0.30	11.839	11.880	-0.35	10.052	10.101	-0.49

จากตารางที่ 6 พบค่าร้อยละความผิดพลาดระหว่างค่าเวลาคงค้างที่ได้จากการคำนวณที่ทราบค่าจำนวนคาร์บอนที่อุณหภูมิต่างๆ กับค่าเวลาคงค้างจากการทดลอง ที่อัตราการไหล 1.00 กก./ชม.² มีค่าอยู่ในช่วง -0.66 ถึง 0.32 ที่อัตราการไหล 1.25 กก./ชม.² มีค่าอยู่ในช่วง -0.91 ถึง -0.32 ที่อัตราการไหล 1.50 กก./ชม.² มีค่าอยู่ในช่วง -0.61 ถึง 0.42 ที่อัตราการไหล 1.75 กก./ชม.² มีค่าอยู่ในช่วง -1.05 ถึง 0.36 และที่อัตราการไหล 2.00 กก./ชม.² มีค่าอยู่ในช่วง -0.84 ถึง 0.02

4.4 การทำนายเวลาคงค้างสาร *n*-alkanes บนคอลัมน์ BP-1 และ BPX-70 ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรมที่อัตราส่วนความยาวคอลัมน์ร้อยละ 75 : 25

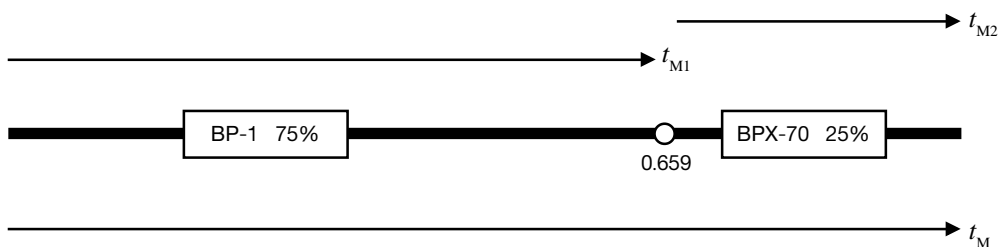
เมื่อแทนค่าความดันเริ่มต้น (P_i) และความดันส่วนท้าย (P_o) จะได้ความดันที่จุดใดๆ ในคอลัมน์สำหรับที่อัตราส่วนความยาวคอลัมน์ร้อยละ 25 ต่อ 75 อัตราการไหล 1 กก./ชม.² จะได้

$$\frac{22.5}{30} = \frac{P^2 - 1.9678^2}{1^2 - 1.9678^2}$$

ดังนั้น

$$P = 1.7691 \quad \text{บรรยากาศ}$$

$$P/P_i = 0.899 \quad (\text{pressure fraction})$$



ดังนั้น

$$t_{M1} = 0.659 \times t_M$$

$$t_{M2} = 0.341 \times t_M$$

ค่า pressure fraction ขึ้นกับความดันเริ่มต้น (P_i) แต่ไม่ขึ้นกับอุณหภูมิ ดังนั้นเมื่อเปลี่ยนความดันเริ่มต้น ค่า pressure fraction ก็จะเปลี่ยนไปดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ค่า pressure fraction ที่ความดันเริ่มต้น (P_i) ต่างๆ
ที่อัตราส่วนความยาวคอลัมน์ร้อยละ 75 ต่อ 25

ความดันเริ่มต้น (P_i) (กก./ซม. ²)	pressure fraction (P/P_i)
1.00	0.659
1.25	0.635
1.50	0.612
1.75	0.594
2.00	0.577

จากการฉีดสารตัวอย่าง *n*-alkanes ที่ภาวะอุณหภูมิคงที่โดยนำค่าเวลาคงค้างที่ได้ไปทำนายเวลาคงค้างสาร โดยเทียบกับค่าเวลาคงค้างที่ทำนายจากสมการที่ (6) และคำนวณหาร้อยละของความผิดพลาด และได้สรุปแสดงไว้ในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ค่าเวลาคงตัวของสาร *n*-alkanes ที่ได้จากการทดลองเทียบกับค่าเวลาคงค้างที่คำนวณได้จากสมการ (6) และค่าร้อยละของความผิดพลาดบนคอลัมน์ BP-1 และ BPX-70 ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรม ที่อัตราส่วนความยาวคอลัมน์ร้อยละ 75 ต่อ 25 อัตราการไหล ที่ความดัน 1.00 กก./ซม.²

n	160 °ซ			165 °ซ			170 °ซ			175 °ซ			180 °ซ		
	<i>t</i> _{R(EXP)}	<i>t</i> _{R(PRE)}	%Δ	<i>t</i> _{R(EXP)}	<i>t</i> _{R(PRE)}	%Δ	<i>t</i> _{R(EXP)}	<i>t</i> _{R(PRE)}	%Δ	<i>t</i> _{R(EXP)}	<i>t</i> _{R(PRE)}	%Δ	<i>t</i> _{R(EXP)}	<i>t</i> _{R(PRE)}	%Δ
17	11.698	11.922	-1.92	10.107	10.305	-1.96	8.732	8.946	-2.45	7.605	7.789	-2.42	6.780	6.934	-2.26
18	17.193	17.381	-1.09	14.538	14.726	-1.29	12.301	12.525	-1.82	10.487	10.682	-1.86	9.151	9.311	-1.75
19	25.755	25.931	-0.30	21.365	21.495	-0.61	17.732	17.946	-0.21	14.834	15.017	-1.23	12.688	12.839	-1.19
20	39.044	38.912	0.34	31.846	31.857	-0.04	25.976	26.158	-0.7	21.345	21.514	-0.79	17.942	18.071	-0.72
21	59.547	59.163	0.65	47.828	47.725	0.22	38.410	38.596	-0.49	31.111	31.254	-0.46	25.707	25.834	-0.50
22	91.406	90.515	0.97	72.337	72.022	0.44	57.276	57.439	-0.29	45.787	45.854	-0.15	37.233	37.353	-0.32

อัตราการไหล ที่ความดัน 1.25 กก./ซม.²

n	160 °ซ			165 °ซ			170 °ซ			175 °ซ			180 °ซ		
	<i>t</i> _{R(EXP)}	<i>t</i> _{R(PRE)}	%Δ	<i>t</i> _{R(EXP)}	<i>t</i> _{R(PRE)}	%Δ	<i>t</i> _{R(EXP)}	<i>t</i> _{R(PRE)}	%Δ	<i>t</i> _{R(EXP)}	<i>t</i> _{R(PRE)}	%Δ	<i>t</i> _{R(EXP)}	<i>t</i> _{R(PRE)}	%Δ
17	9.364	9.453	-0.95	8.021	8.120	-1.23	6.950	7.037	-1.25	6.085	6.159	-1.21	5.336	5.408	-1.35
18	13.755	13.810	-0.40	11.544	11.625	-0.70	9.797	9.870	-0.75	8.400	8.460	-0.71	7.209	7.274	-0.90
19	20.614	20.568	0.23	16.983	17.003	-0.12	14.132	14.170	-0.27	11.881	11.915	-0.28	10.001	10.046	-0.45
20	31.238	31.051	0.60	25.326	25.254	0.28	20.713	20.969	0.08	17.099	17.104	-0.03	14.142	14.168	-0.18
21	47.645	47.315	0.69	38.063	37.915	0.39	30.642	30.602	0.13	24.878	24.898	-0.08	20.268	20.293	-0.13
22	73.141	72.550	0.81	57.593	57.342	0.44	45.709	45.638	0.15	36.569	36.604	-0.10	29.378	29.400	-0.08

*t*_{R(EXP)} = ค่าเวลาคงค้างของสารจากการทดลอง

*t*_{R(PRE)} = ค่าเวลาคงค้างของสารจากการทำนาย

$$\% \Delta = \text{ค่าร้อยละความผิดพลาด} = \left(\frac{t_{R(PRE)} - t_{R(EXP)}}{t_{R(EXP)}} \right) \times 100$$

อัตราการใช้เพลิง ที่ความดัน 1.50 กก./ซม.²

n	160 °ซ			165 °ซ			170 °ซ			175 °ซ			180 °ซ		
	f _{R(EXP)}	f _{R(PRE)}	%Δ	f _{R(EXP)}	f _{R(PRE)}	%Δ	f _{R(EXP)}	f _{R(PRE)}	%Δ	f _{R(EXP)}	f _{R(PRE)}	%Δ	f _{R(EXP)}	f _{R(PRE)}	%Δ
17	7.747	7.791	-0.57	6.652	6.694	-0.64	5.782	5.809	-0.46	5.053	5.082	-0.58	4.450	4.488	-0.86
18	11.396	11.405	-0.08	9.581	9.603	-0.23	8.160	8.162	-0.02	6.979	6.993	-0.20	6.013	6.045	-0.54
19	17.081	17.023	0.34	14.104	14.075	0.21	11.781	11.741	0.34	9.877	9.867	0.10	8.352	8.364	-0.15
20	25.912	25.757	0.60	21.028	30.950	0.37	17.273	17.183	0.52	14.230	14.193	0.26	11.826	11.818	0.07
21	39.545	39.336	0.53	31.604	31.521	0.26	25.567	25.461	0.41	20.719	20.703	0.08	16.950	16.962	-0.07
22	60.672	60.450	0.37	47.880	47.776	0.22	38.150	38.053	0.25	30.462	30.501	-0.13	24.579	24.623	-0.18

อัตราการใช้เพลิง ที่ความดัน 1.75 กก./ซม.²

n	160 °ซ			165 °ซ			170 °ซ			175 °ซ			180 °ซ		
	f _{R(EXP)}	f _{R(PRE)}	%Δ	f _{R(EXP)}	f _{R(PRE)}	%Δ	f _{R(EXP)}	f _{R(PRE)}	%Δ	f _{R(EXP)}	f _{R(PRE)}	%Δ	f _{R(EXP)}	f _{R(PRE)}	%Δ
17	6.727	6.744	-0.25	5.768	5.763	0.09	4.999	4.997	0.04	4.361	4.385	-0.55	3.852	3.845	0.18
18	9.894	9.896	-0.02	8.320	8.287	0.40	7.057	7.038	0.27	6.029	6.046	-0.29	5.215	5.190	0.48
19	14.842	14.807	0.24	12.260	12.174	0.70	10.197	10.147	0.49	8.552	8.551	0.01	7.247	7.197	0.69
20	22.523	22.458	0.29	18.292	18.164	0.70	14.950	14.886	0.43	12.338	12.328	0.08	10.270	10.191	0.77
21	34.372	34.380	-0.02	27.525	27.394	0.48	22.150	22.109	0.19	17.999	18.027	-0.14	14.741	14.660	0.55
22	52.795	52.957	-0.31	41.689	41.671	0.17	33.090	33.118	-0.08	26.496	26.613	-0.44	21.400	21.329	0.33

อัตราการใช้เพลิง ที่ความดัน 2.00 กก./ซม.²

n	160 °ซ			165 °ซ			170 °ซ			175 °ซ			180 °ซ		
	f _{R(EXP)}	f _{R(PRE)}	%Δ	f _{R(EXP)}	f _{R(PRE)}	%Δ	f _{R(EXP)}	f _{R(PRE)}	%Δ	f _{R(EXP)}	f _{R(PRE)}	%Δ	f _{R(EXP)}	f _{R(PRE)}	%Δ
17	5.851	5.901	-0.86	5.005	5.028	-0.47	4.310	4.324	-0.33	3.771	3.785	-0.37	3.325	3.316	0.26
18	8.618	8.681	-0.74	7.219	7.248	-0.40	6.091	6.104	-0.22	5.216	5.231	-0.29	4.504	4.486	0.40
19	12.939	13.022	-0.64	10.645	10.675	-0.28	8.808	8.823	-0.17	7.398	7.416	-0.24	6.267	6.234	0.52
20	19.650	19.799	-0.76	15.893	15.966	-0.46	12.933	12.974	-0.31	10.663	10.716	-0.50	8.891	8.849	0.48
21	29.984	30.382	-1.33	23.911	24.136	-0.94	19.157	19.314	-0.82	15.553	15.103	-0.97	12.765	12.758	0.06
22	46.051	46.910	-1.87	36.199	36.752	-1.53	28.617	28.998	-1.33	22.905	23.240	-1.46	18.532	18.603	-0.38

จากตารางที่ 8 พบว่าค่าร้อยละความผิดพลาดระหว่างค่าเวลาคงค้างที่ได้จากการคำนวณที่ทราบค่าจำนวนคาร์บอนที่อุณหภูมิต่างๆ กับค่าเวลาคงค้างจากการทดลอง ที่อัตราการไหล 1.00 กก./ชม.² มีค่าอยู่ในช่วง -2.45 ถึง 0.97 ที่อัตราการไหล 1.25 กก./ชม.² มีค่าอยู่ในช่วง -1.35 ถึง 0.81 ที่อัตราการไหล 1.50 กก./ชม.² มีค่าอยู่ในช่วง -0.86 ถึง 0.60 ที่อัตราการไหล 1.75 กก./ชม.² มีค่าอยู่ในช่วง -0.55 ถึง 0.77 และที่อัตราการไหล 2.00 กก./ชม.² มีค่าอยู่ในช่วง -1.53 ถึง 0.52

5. สรุปผลการทดลองและวิจารณ์

จากผลการทดลองทำนายเวลาคงค้างสารมาตรฐานนอร์มัลอัลเคน บนคอลัมน์ BP-1 พบว่าค่าร้อยละความผิดพลาดระหว่างจำนวนคาร์บอน ที่ได้จากการคำนวณที่ทราบค่าเวลาคงค้างที่อุณหภูมิต่างๆ กับจำนวนคาร์บอนของสารมาตรฐานมีค่าอยู่ในช่วง -0.04 ถึง 0.06 และผลการทดลองทำนายเวลาคงค้างสารมาตรฐานนอร์มัลอัลเคนบนคอลัมน์ BPX-70 พบว่าค่าร้อยละความผิดพลาดระหว่างจำนวนคาร์บอนที่ได้จากการคำนวณที่ทราบค่าเวลาคงค้างที่อุณหภูมิต่างๆ กับจำนวนคาร์บอนของสารมาตรฐานมีค่าอยู่ในช่วง -0.06 ถึง 0.06

แสดงให้เห็นว่าสมการ (1) ซึ่งเป็นสมการทำนายเวลาคงค้างสารนั้นสามารถใช้ทำนายเวลาคงค้างสารได้อย่างถูกต้อง และเมื่อนำสมการดังกล่าวมาใช้ในการทำนายค่าเวลาคงค้างของสารอินทรีย์โดยนำคอลัมน์ที่มีภูมิกษัตริย์ต่างกัน (การทดลองนี้ใช้คอลัมน์สองชนิด คือ BP-1 ซึ่งเป็นคอลัมน์ชนิดไม่มีขั้ว และ BPX-70 ซึ่งเป็นคอลัมน์ชนิดมีขั้วสูง) มาต่อกันในลักษณะอนุกรมด้วย glass sealed column connector โดยมีอัตราส่วนความยาวคอลัมน์ร้อยละ 25 ต่อ 75 และที่อัตราส่วนร้อยละ 75 ต่อ 25 โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อขยายขอบข่ายการใช้สมการ (1) โดยการทำนายค่าเวลาคงค้างบนคอลัมน์ทั้งสองสามารถทำได้จาก ผลรวมของค่าเวลาคงค้างในแต่ละคอลัมน์ ซึ่งสามารถขยายสมการ (1) ได้เป็นสมการ (6) ซึ่งนำไปใช้ในการทำนายเวลาคงค้างของสารอินทรีย์สำหรับสองคอลัมน์ที่ต่อกันแบบอนุกรมได้

ซึ่งการทำนายเวลาคงค้างสารนั้นสามารถใช้ทำนายได้อย่างถูกต้องแม่นยำ โดยไม่ใช้สารอ้างอิง และเหมาะสำหรับใช้ในการการพิสูจน์เอกลักษณ์สารเพื่อประยุกต์ใช้ในการคำนวณสัดส่วนคอลัมน์สำหรับแยกสารผสมที่แยกออกจากกันยากด้วยคอลัมน์เดี่ยวๆ โดยไม่ต้องดัดแปลงเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟที่มีอยู่เดิม ซึ่งจะเป็นการย่นเวลาและลดความผิดพลาดในการพิสูจน์เอกลักษณ์สารลงได้

อย่างไรก็ตามในงานวิจัยนี้เป็นเพียงการยืนยันขั้นต้นซึ่งจำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงสัดส่วนของคอลัมน์ที่ใช้รวมทั้งการวิเคราะห์ตัวอย่างในธรรมชาติที่มีองค์ประกอบซับซ้อนมากยิ่งขึ้น

ในการทดลองใช้คอลัมน์สองชนิดที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางภายในเท่ากัน หากต้องการทดลองเปลี่ยนเป็นคอลัมน์สองชนิดที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางภายในแตกต่างกันนั้น ในทางทฤษฎีน่าจะทำได้ แต่ในทางปฏิบัติอาจประสบปัญหาจากอัตราการไหลของแก๊สตัวพาที่ผ่านแต่ละคอลัมน์จะแตกต่างกันมากขึ้นและอาจมีผลต่อการแยกสาร และยังอาจทำให้เกิดการรั่วตรงบริเวณรอยต่อระหว่างสองคอลัมน์ได้ และอาจทำให้การทำนายเวลาคงค้างสารผิดพลาดได้ เมื่ออัตราการไหลของแก๊สตัวพาที่ผ่านแต่ละคอลัมน์แตกต่างกันมากขึ้น ทำให้การปรับความดันของแก๊สตัวพาเพื่อให้ได้การแยกของพีคที่ดีทั้งสองคอลัมน์ทำได้ยาก

นอกจากนั้นสมการ (6) ซึ่งใช้ในการทำนายค่าเวลาคงค้างของสารบนคอลัมน์ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรมนี้ขึ้นกับอัตราการไหล (flow rate) ดังนั้นการปรับอัตราการไหลจากเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟีโดยตรงซึ่งค่อนข้างหยาบ (coarse adjustment) นั้นควรใช้ความระมัดระวัง รวมทั้งอุณหภูมิที่ตั้งจากเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟีและอุณหภูมิที่แท้จริงควรมีความถูกต้องสูง

6. เอกสารอ้างอิง

1. Kovats, E., 1958, "Gas Chromatographic Characterization of Organic Compounds. Part 1. Retention Index of Aliphatic Halides, Alcohols, Aldehydes and Ketones," *Helvetica Chimica Acta*, Vol. 41, pp. 1915-1932.
2. Ackman, R. G., 1972, "A Polar Retention Index System for Gas-Liquid Chromatography," *Journal of Chromatographic Science*, Vol. 10, pp. 535-536.
3. Smith, J. F., 1960, "Relative G. L. C. Retention Data Using a Single Standard," *Chemical Industrial* (London), Vol. 32, pp. 1024-1025.
4. Miwa, T. K., Micolajczak, K. L., Earle, F. R., and Wolff. L. A., 1960, "Gas Chromatographic Characterization of Fatty Acids Identification Constants for Mono- and Dicarboxylic Methyl Ester," *Analytical Chemistry*, Vol. 32, pp. 1739-1742.
5. Wodford, F. P. and Van Gent, C. M., 1960, "Gas-Liquid Chromatography of Fatty Acid Methyl Esters: the Carbon-Number as a Parameter for Comparison of Columns," *Journal of Lipid Research*, Vol. 1, pp. 188-190.
6. 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, pp. 329-332.
7. Littlewood, A. B., 1970, *Gas Chromatography, Principles, Techniques and Applications*, 2nd Edition, Academic Press, New York, pp. 24-26.
8. James, A. T. and Martin, A. J. P., 1952, "Gas-liquid Partition Chromatography: The Separation and Microestimation of Volatile Fatty Acids from Formic Acid to Dodecanoic Acid." *Biochemical Journal*, Vol. 50, pp. 679-690.