

การทำนายค่าเวลาคงค้างของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์และสารนอร์มัลอัลเคน ด้วยแก๊สโครมาโตกราฟีที่สภาวะอุณหภูมิคงที่ ที่ใช้คอลัมน์แคพิลลารีสองชนิดซึ่งต่อกันในลักษณะอนุกรม

กรรณา เกษร์สุวรรณ¹ กรณ์กนก อายุสุข² และ คณิต กฤษณ์งูร³
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ท่าข้าม บางขุนเทียน กรุงเทพฯ 10150

รับเมื่อ 28 สิงหาคม 2550 ตอรับเมื่อ 30 สิงหาคม 2550

บทคัดย่อ

สมการ (1) ซึ่งเสนอโดย Krisnangkura และคณะ (J. Chromatogr. Sci. 1997, 35, 329-332) สามารถใช้ในการคำนวณค่าเวลาคงค้างของสารในอนุกรมฟังก์ชันเดียวกันได้ดีและถูกต้อง การศึกษานี้ได้ขยายสมการ (1) ในการคำนวณค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้างของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ และสารนอร์มัลอัลเคนจากคอลัมน์สองอันที่ต่อแบบอนุกรม เมื่อนำมาใช้ทำนายค่าเวลาคงค้างของสารทั้งสองจะให้ค่าที่ใกล้เคียงกับค่าที่ได้จากการทดลอง ผลการศึกษาพบว่าค่าร้อยละของความคลาดเคลื่อนสูงสุดของค่าเวลาคงค้างของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์เท่ากับ 1.11 ที่อุณหภูมิ 225 °ซ อัตราการไหลของแก๊สตัวพาที่ความดัน 200 กิโลพาสคาล และ 1.22 ที่อุณหภูมิ 190 °ซ อัตราการไหลของแก๊สตัวพาที่ความดัน 200 กิโลพาสคาล สำหรับสารนอร์มัลอัลเคน ผลของการศึกษานี้สร้างความมั่นใจอย่างมากว่าสามารถใช้ระบบสองคอลัมน์ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรมในการวิเคราะห์เอกลักษณ์สารได้โดยไม่ต้องดัดแปลงเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟีที่มีอยู่เดิม

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

คำสำคัญ : เวลาคงค้างของสาร / เวลาคงค้างของสารไม่คงค้าง / กรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ / นอร์มัลอัลเคน / แก๊สโครมาโตกราฟี / การพิสูจน์เอกลักษณ์สาร / คอลัมน์แคพิลลารีต่อกันในลักษณะอนุกรม

¹ นักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา สายวิชาเทคโนโลยีชีวเคมี คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี

² อาจารย์ประจำ สายวิชาเทคโนโลยีชีวเคมี คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี

³ รองศาสตราจารย์ สายวิชาเทคโนโลยีชีวเคมี คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี

Prediction of Gas Chromatographic Retention Times of Fatty Acid Methyl Esters and *n*-Alkanes in Two Serially Connected Capillary Columns

Karuna Katsuwon¹ Kornkanok Aryusuk² and Kanit Krisnangkura³

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

Received 28 March 2007 ; accepted 30 August 2007

Abstract

Equation (1) proposed by Krisnangkura *et al.* (J. Chromatogr. Sci. 1997, 35, 329-332) has been used successfully to predict gas chromatographic retention time of any solutes in a homologous series. It is extended, in this study, to estimate the mathematical hold up times of a two serially connected column. The estimated hold up times are then used to predict the retention times of fatty acid methyl esters and *n*-alkanes at various iso-temperatures and carrier gas flow rates. The calculated retention times ($t_{R(\text{cal})}$) are in good agreement with those of the experimental $t_{R(\text{exp})}$ values. The greatest differences of t_R for the fatty acid methyl ester are 1.11% (at 225°C, 200kPa) and 1.22% (190°C, 200kPa) for the *n*-alkane. This study confirms the using of serially coupled capillary columns can be used without internal standards and any other gas chromatographic modification.

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

Keywords : Retention time / Hold up time / Fatty acid methyl ester / *n*-Alkanes / Gas chromatography / Gas Chromatographic Identification / Two serially 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

แก๊สโครมาโตกราฟีเป็นเทคนิคหนึ่งของการแยกสารผสมออกจากกัน และวิเคราะห์สารได้ทั้งในเชิงคุณภาพ (qualitative) และเชิงปริมาณ (quantitative) การวิเคราะห์คุณลักษณะ (characterization) ของสารสามารถทำได้หลายวิธี แต่วิธีที่ได้รับความนิยมมากที่สุดสำหรับวิเคราะห์เอกลักษณ์สารอินทรีย์ทั่วไปคือการใช้ค่าดัชนีคงค้าง (Retention Index, I) ซึ่งเสนอโดยโกแวกซ์ในปี 1958 [1] และการใช้ค่าความยาวคาร์บอนเทียบเท่า (Equivalent Chain Length, ECL) สำหรับกรดไขมัน เมทิลเอสเทอร์ [2, 3] ซึ่งข้อจำกัดของทั้งสองวิธีคือจำเป็นต้องใช้สารอ้างอิงอย่างน้อย 2 ชนิดทุกครั้งร่วมกับการฉีดสารตัวอย่าง

ปี ค. ศ. 1997 Krisnangkura และคณะ [4] ได้เสนอสมการซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างสมบัติทางเทอร์โมไดนามิกส์ของสารในแก๊สโครมาโตกราฟี กับค่าลอการิทึมธรรมชาติของตัวประกอบคงค้าง ($\ln k$) กับจำนวนคาร์บอน (n) และอุณหภูมิ (T) ดังสมการ (1)

$$\ln k = \ln \left(\frac{t_R - t_M}{t_M} \right) = a + bn + \frac{c}{T} + \frac{dn}{T} \quad (1)$$

สมการ (1) สามารถนำมาใช้ทำนายเอกลักษณ์สารหมู่ฟังก์ชันต่างๆ ในสภาวะอุณหภูมิคงที่ได้อย่างถูกต้องแม่นยำโดยไม่ต้องใช้สารอ้างอิง โดยสมการนี้มีความจำเพาะต่อชนิดของหมู่ฟังก์ชันของสารและชนิดของวัฏภาคนี้ นั่นคือเมื่อทราบค่าคงตัว a , b , c และ d ของคอลัมน์หนึ่งๆ และจำนวนคาร์บอนอะตอมของสาร จะสามารถนำมาใช้ทำนายค่าเวลาคงค้างของสารที่อุณหภูมิต่างๆ ได้ ในทางกลับกันหากทราบค่าเวลาคงค้าง และอุณหภูมิของการทำโครมาโตกราฟี ก็สามารถหาค่าจำนวนคาร์บอนอะตอมได้เช่นกัน

อย่างไรก็ตามปัญหาที่เกิดขึ้นในการนำเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟีไปประยุกต์ใช้คือเมื่อองค์ประกอบของสารตัวอย่างที่ต้องการแยกมีความคล้ายคลึงกัน หรือสารตัวอย่างมีความซับซ้อน และไม่สามารถแยกให้บริสุทธิ์ได้ด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแบบปกติ (normal chromatography or one dimension chromatography) เนื่องจากสารถูกชะออกจากคอลัมน์ในเวลา (retention time) ที่

ใกล้เคียงกัน หรือซ้อนทับกัน เป็นเหตุให้การวิเคราะห์ผลจากโครมาโตแกรมว่าเป็นสารใดนั้นผิดพลาดหรือคลาดเคลื่อนได้ ดังนั้นระบบโครมาโตกราฟีแบบปกติหรือระบบการแยกสารด้วยคอลัมน์เดี่ยวจึงมีข้อจำกัด เนื่องจากกำลังการแยกสุทธิ (overall resolution power) ไม่เพียงพอ ยิ่งสารตัวอย่างที่มีองค์ประกอบซับซ้อนมาก ก็ยิ่งเพิ่มปัญหาของพีคที่ทับซ้อนกันมากยิ่งขึ้น

การนำคอลัมน์แคพิลลารีสองชนิดที่มีวัฏภาคนี้ต่างกันต่อกันในลักษณะอนุกรมโดยคอลัมน์แรกเป็นคอลัมน์ชนิดไม่มีขั้วที่มีความยาวของคอลัมน์ปกติต่อกับคอลัมน์ที่สองซึ่งเป็นคอลัมน์ที่มีขั้วสูงและเป็นคอลัมน์สั้น ในระบบที่เรียกว่า comprehensive two-dimensional GC (GCxGC) [5] สามารถเพิ่มกำลังการแยกสุทธิของการแยกสารได้สูง สามารถวิเคราะห์สารในธรรมชาติที่มีองค์ประกอบซับซ้อนได้แต่ความยุ่งยากและสิ้นเปลืองของระบบ GCxGC นี้คือจำเป็นจะต้องดัดแปลงเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟีโดยติดตั้งอุปกรณ์พิเศษระหว่างแคพิลลารีคอลัมน์ทั้งสอง เช่นระบบ thermal modulator [6] หรือ cryogenic modulator [7, 8] อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์เอกลักษณ์สารในระบบ GCxGC ก็จำเป็นต้องใช้สารอ้างอิง หรือต้องต่อพ่วงกับ mass spectrometer โดยมี software พิเศษที่ใช้ในการอ่านและแปลผลจากโครมาโตแกรม 3 มิติ

มีงานวิจัยอีกหลายฉบับ [9-11] ได้ใช้คอลัมน์แคพิลลารีสองชนิดที่มีวัฏภาคนี้ต่างกัน ต่อกันในลักษณะอนุกรมซึ่งเรียกว่า serially coupled columns หรือระบบ serially coupled GC เพื่อการวิเคราะห์สารที่มีองค์ประกอบซับซ้อนหรือสารที่มีอยู่ในธรรมชาติ โดยมีอุปกรณ์อย่างง่ายเช่น butt-connector, flexible fused-silica capillary tubing, zero-volume connector หรือ pressfit connector ต่อเชื่อมระหว่างแคพิลลารีคอลัมน์ทั้งสอง ซึ่งระบบ serially coupled GC นี้ยังจำเป็นต้องใช้สารอ้างอิงและต้องต่อพ่วงกับ mass spectrometer

ด้วยเหตุดังกล่าว งานวิจัยนี้จึงได้ทดลองฉีดสารกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์และสารนอร์มัลอัลเคน บนคอลัมน์แคพิลลารีสองชนิดที่มีวัฏภาคนี้ต่างกันและต่อกันในลักษณะอนุกรมด้วย glass sealed column connector เพื่อต้องการทำนายค่าเวลาคงค้างของสารที่แยกได้โดยไม่

ต้องใช้สารอ้างอิง และไม่ต้องตัดแปลงเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟีที่มีอยู่เดิม

อย่างไรก็ตามการทำนายการเคลื่อนที่ของสารในคอลัมน์ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรมโดยสมการที่ (1) นี้จำเป็นต้องทราบค่าที่แม่นยำของเวลาคงค้างของสารไม่คงค้าง (t_M) ของทั้งสองคอลัมน์ก่อน ซึ่งวิธีการหาค่า t_M โดยวิธีการคำนวณทั่วไปที่นิยมใช้กัน เช่นวิธีของ Guardino และคณะ [12] ไม่สามารถนำมาคำนวณค่า t_M ของแต่ละคอลัมน์ได้ ดังนั้นในที่นี้จึงจะนำเสนอวิธีการคำนวณค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้างของคอลัมน์สองคอลัมน์ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรมก่อนจะนำไปทำนายค่าเวลาคงค้างของสารตัวอย่าง

2. ทฤษฎี

2.1 การหาค่าเวลาคงค้าง (retention time; t_R) ของสาร

Krisnangkura และคณะ [4] ได้โยงความสัมพันธ์ระหว่างค่าเวลาคงค้าง (t_R) จำนวนคาร์บอนอะตอมของสาร (n) อุณหภูมิ (T) และคุณสมบัติทางเทอร์โมไดนามิกส์ของสารในแก๊สโครมาโตกราฟี ดังสมการ (1) มาใช้ทำนายเอกลักษณ์สารหมู่ฟังก์ชันต่างๆ ของคอลัมน์เดียว ในสภาวะอุณหภูมิคงที่ ได้อย่างถูกต้องแม่นยำโดยไม่ต้องใช้สารอ้างอิง

ค่าเวลาคงค้างรวม (t_{RT}) ของสารในสองคอลัมน์ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรมคำนวณได้จากผลรวมของค่าเวลาคงค้างในแต่ละคอลัมน์ [13-15] ดังสมการ (2)

$$t_{RT} = t_{R1} + t_{R2} \quad (2)$$

เมื่อ t_{RT} คือค่าเวลาคงค้างรวมของสารในสองคอลัมน์ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรม

t_{R1} และ t_{R2} คือค่าเวลาคงค้างของสารในคอลัมน์ที่ 1 และคอลัมน์ที่ 2 ตามลำดับ

ค่าเวลาคงค้างของสารในแต่ละคอลัมน์หาได้จากสมการดังนี้

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

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

ดังนั้นค่าเวลาคงค้างรวมของสารในคอลัมน์สองคอลัมน์สามารถหาได้จาก

$$t_{RT} = t_{M1}(e^{Z1} + 1) + t_{M2}(e^{Z2} + 1) \quad (5)$$

เมื่อ t_{M1} และ t_{M2} คือค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้างในคอลัมน์ที่ 1 และคอลัมน์ที่ 2 ตามลำดับ

2.2 การหาค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้างในคอลัมน์ที่ 1 (t_{M1}) และคอลัมน์ที่ 2 (t_{M2})

Watanachaiyong และคณะ [16] ได้ประยุกต์ใช้สมการที่ (1) ในการหาค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้าง (t_M) จากค่าเวลาคงค้าง (t_R) ของสารนอร์มัลอัลเคนที่มีจำนวนคาร์บอน 5-10 อะตอม ซึ่งถูกชะออกจากคอลัมน์ที่อุณหภูมิต่างๆ กัน และพบว่าเมื่อทราบค่าคงที่ a, b, c และ d ของคอลัมน์แล้วสามารถจะคำนวณค่า t_M โดยใช้ค่า t_R ของสารนอร์มัลอัลเคนชนิดใดก็ได้ให้ค่า t_M ถูกต้องและใกล้เคียงกัน ดังสมการที่ (6)

$$t_M = t_R \left(1 + e^{a+bn+\frac{c}{T}+\frac{dn}{T}} \right)^{-1} \quad (6)$$

สมการ (6) สามารถประยุกต์ใช้ในการหาค่า t_M ได้ทั้งในแพคคอลัมน์และแคปิลลารีคอลัมน์ ซึ่งวิธีการหาค่า t_M วิธีนี้มีประโยชน์อย่างมากในการนำสมการ (1) ไปประยุกต์ใช้ในการทำนายค่าเวลาคงค้างของสารในสภาวะโปรแกรมอุณหภูมิ

การหาค่าเวลาคงค้างรวมของสารไม่คงค้าง (t_{MT}) ทำเช่นเดียวกับวิธีของ Watanachaiyong และคณะ [16] เพียงแต่ต้องอาศัยการแก้สมการที่ซับซ้อนขึ้น เนื่องจากการวิเคราะห์สารด้วยคอลัมน์สองคอลัมน์ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรม ค่าเวลาคงค้างรวมของสารไม่คงค้างเกิดจากผลรวมของค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้างของคอลัมน์ที่ 1 และคอลัมน์ที่ 2 ดังสมการ (7)

$$t_{MT} = t_{M1} + t_{M2} \quad (7)$$

ดังนั้น

$$t_{M1} = t_{MT} - t_{M2}$$

จากสมการ (5) จัดรูปสมการใหม่ได้ดังสมการ (8)

$$t_{MT} = \frac{t_{RT} + [(e^{z1} + 1) - (e^{z2} + 1)] t_{M2}}{(e^{z1} + 1)} \quad (8)$$

เมื่อ t_{MT} คือค่าเวลาคงค้างรวมของสารไม่คงค้างในสองคอลัมน์ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรม

$$t_{MT(1)} = \frac{t_{RT(1)} + [(e^{a_1+b_1n(1)+c_1/T+d_1n(1)/T+1}) - (e^{a_2+b_2n(1)+c_2/T+d_2n(1)/T+1})] t_{M2}}{(e^{a_1+b_1n(1)+c_1/T+d_1n(1)/T+1})} \quad (8.1)$$

$$t_{MT(2)} = \frac{t_{RT(2)} + [(e^{a_1+b_1n(2)+c_1/T+d_1n(2)/T+1}) - (e^{a_2+b_2n(2)+c_2/T+d_2n(2)/T+1})] t_{M2}}{(e^{a_1+b_1n(2)+c_1/T+d_1n(2)/T+1})} \quad (8.2)$$

เมื่อ a_1, b_1, c_1 และ d_1 และ a_2, b_2, c_2 และ d_2 คือค่าคงที่ของคอลัมน์ที่ 1 และคอลัมน์ที่ 2 ตามลำดับ

$t_{RT(1)}$ และ $t_{RT(2)}$ คือค่าเวลาคงค้างของสารที่ใช้อ้างอิงตัวที่ 1 และตัวที่ 2 ตามลำดับ

$n_{(1)}$ และ $n_{(2)}$ คือจำนวนคาร์บอนอะตอมของสารที่ใช้อ้างอิงตัวที่ 1 และตัวที่ 2 ตามลำดับ

เมื่อแก้สมการ (8.1) และ (8.2) จะได้ค่า t_{M2} จากนั้นแทนค่า t_{M2} กลับลงในสมการ (8.1) หรือ (8.2) เพื่อและหาค่า t_{MT} จากนั้นแทนค่า t_{MT} และ t_{M2} ลงในสมการ (7) เพื่อหาค่า t_{M1}

3. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินการทดลอง

3.1 สารเคมี

สารมาตรฐานกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ (C_{16} - C_{22}) และสารมาตรฐานนอร์มัลอัลเคน (C_{17} - C_{22}) จากบริษัท Sigma Chemical (เซนต์หลุยส์ ประเทศสหรัฐอเมริกา)

t_{M1} และ t_{M2} คือค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้างในคอลัมน์ที่ 1 และ คอลัมน์ที่ 2 ตามลำดับ

t_{RT} คือค่าเวลาคงค้างรวมของสารในสองคอลัมน์ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรม

จากนั้นสามารถหาค่า t_{M2} ได้โดยการแทนค่า t_R จำนวนคาร์บอนอะตอม (n) ของสารชนิดที่ 1 และชนิดที่ 2 ที่เลือกใช้เป็นสารอ้างอิง (เช่นใช้ค่า t_R ของ C_{16} และ C_{17} สำหรับกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ และ t_R ของ C_{17} และ C_{18} สำหรับสารนอร์มัลอัลเคน) และค่าคงที่ a, b, c และ d ของคอลัมน์ ดังตัวอย่างสมการ (8.1) และสมการ (8.2) ตามลำดับ

เฮกเซน (hexane; C_6H_{14}) pesticide grade จากบริษัท Lab-Scan Analytical Sciences (ประเทศไอร์แลนด์)

3.2 วัสดุอุปกรณ์

1.) เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ รุ่น 17A จากบริษัท Shimadzu Co., Ltd., (ประเทศญี่ปุ่น) มีตัวตรวจวัดแบบเฟลมไอออนไนเซชัน (Flame Ionization Detector; FID) ต่อพ่วงกับเครื่องประมวลผล CBM 102

2.) คอลัมน์ที่ใช้ในการทดลอง

คอลัมน์ BP-1 (100% Dimethyl Polysiloxane) และ BPX-70 (70% Cyanopropyl Polysilphenylene Siloxane) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.25 มม. ความหนาของฟิล์มบาง 0.25 ไมโครเมตร ยาว 18 ม. ทั้งสองคอลัมน์จากบริษัท SGE Pty. Ltd. (ประเทศออสเตรเลีย) และ Quick-sealed column connector จากบริษัท Supelco (ประเทศสหรัฐอเมริกา)

3.) เข็มฉีดยา (syringe) 5 ไมโครลิตร จากบริษัท SGE Pty. Ltd. (ประเทศออสเตรเลีย)

3.3 วิธีดำเนินการทดลอง

1.) ฉีดสารมาตรฐานกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ ที่มีความยาวของสายคาร์บอนอยู่ในช่วง 16-22 อะตอม และฉีดสารมาตรฐานนอร์มัลอัลเคน ที่มีความยาวของสายคาร์บอนอยู่ในช่วง 17-22 อะตอม บนคอลัมน์ BP-1 ที่อุณหภูมิคงที่ค่าต่างๆ เพื่อหาค่าคงตัวทางเทอร์โมไดนามิกส์ (a, b, c และ d) ของสมการ (1) ตรวจสอบความถูกต้องของค่าคงตัวที่ได้โดยการทำนายค่าเวลาคงค้างของสารโดยใช้สมการ (1)

2.) หาค่าคงตัวทางเทอร์โมไดนามิกส์ (a, b, c และ d) เช่นเดียวกับข้อ 1) แต่เปลี่ยนใช้คอลัมน์ BPX-70 พร้อมทั้งทำนายจำนวนคาร์บอนของสารมาตรฐานกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ และสารมาตรฐานนอร์มัลอัลเคนที่

อุณหภูมิต่างๆ

3.) ต่อคอลัมน์ BP-1 และ BPX-70 ในอัตราส่วนความยาว 50: 50 (18 และ 18 เมตร) ในลักษณะอนุกรมด้วย Quick-Sealed column connector จากนั้นทำการวิเคราะห์สารมาตรฐานกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ และสารมาตรฐานนอร์มัลอัลเคน ที่อุณหภูมิคงที่และความดัน (inlet pressure) ค่าต่างๆ และทดสอบค่าเวลาคงค้างที่ได้จากทดลองเทียบกับค่าเวลาคงค้างจากการคำนวณตามสมการ (5)

3.4 การคำนวณค่าคงตัว a, b, c และ d ของคอลัมน์

ค่าคงตัวทั้งสี่ (a, b, c และ d) หาตามวิธีของ Krisnangkura และคณะ [4] โดยเมื่อพิจารณาที่จำนวนคาร์บอน (n) คงที่ สมการ (1) จะลดรูปลงเป็นไปตามสมการ (9) ซึ่งได้เป็นสมการของ van't Hoff นั่นเอง

$$\ln k = a' + \frac{b'}{T} \quad (9)$$

โดยที่ a' คือจุดตัดแกน y

$$a' = a + bn = \frac{\Delta S}{R} - \ln \beta + \frac{n\delta S}{R}$$

b' คือความชันของกราฟ

$$b' = c + dn = \frac{\Delta H_0}{R} - \frac{n\delta H}{R}$$

เมื่อพิจารณาที่อุณหภูมิ (T) คงที่ สมการที่ (1) จะลดรูปลงเป็นไปตามสมการที่ (10) ซึ่งเป็นไปตามสมการของ

Martin [17] ที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\log k$ กับจำนวนคาร์บอนของสารในอนุกรมเดียวกันซึ่งมีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง

$$\ln k = a'' + b''n \quad (10)$$

โดยที่ a'' คือจุดตัดแกน y

$$a'' = a + \frac{c}{T} = \frac{\Delta S_0}{R} - \ln \beta - \frac{\Delta H_0}{RT}$$

b'' คือความชันของกราฟ

$$b'' = b + \frac{d}{T} = \frac{\delta S}{R} - \frac{\delta H}{RT}$$

a'' และ b'' หาได้จากการเขียนกราฟระหว่างค่า $\ln k$ กับ $1/T$ จะได้ค่าความชันเป็น b'' และจุดตัดแกน y เป็น a'' ซึ่งคำนวณได้โดย Microsoft Excel Version 8.0 จากนั้น

นำค่า a'' และ b'' ไปหาความสัมพันธ์กับจำนวนคาร์บอน จะได้ค่าคงตัว a, b, c และ d ซึ่งคำนวณได้โดย Microsoft Excel Version 8.0 เช่นเดียวกัน แทนค่าคงตัวทั้งสองใน

สมการ (5) ค่าคงตัวทั้งสองที่ได้ทั้งสองวิธี (สมการ (9) และ สมการ (10)) เป็นค่าเดียวกัน

4. ผลการทดลองและวิจัย

4.1 การหาค่าคงตัว a, b, c และ d ของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ และ นอร์มัลอัลเคน บนคอลัมน์ BP-1 และ BPX-70 ที่สถานะอุณหภูมิคงที่

ค่าคงตัว a, b, c และ d ของคอลัมน์หาตามวิธีของ Krisnangkura และคณะ [4] โดยการฉีดสารมาตรฐานกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ และนอร์มัลอัลเคนที่ภาวะอุณหภูมิคงที่ต่างๆ บนคอลัมน์ BP-1 และ BPX-70 ได้ค่าเวลาคงค้างไม่ปรับแก้ และเมื่อลบด้วยค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้าง (unretained compound) จะได้ค่า

เวลาคงค้างปรับแก้ (adjusted retention time) และทำให้

อยู่ในรูปของ retention factor คือ $\left(\frac{t_R - t_M}{t_M}\right)$ เมื่อใส่ natural logarithm จะได้ $\ln\left(\frac{t_R - t_M}{t_M}\right)$ แล้วนำมาสร้าง

กราฟกับจำนวนคาร์บอน ซึ่งจะได้ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง

ตารางที่ 1 แสดงค่า $\ln\left(\frac{t_R - t_M}{t_M}\right)$ จำนวนคาร์บอน

และอุณหภูมิที่ใช้ทดลองพร้อมค่าคงตัวของคอลัมน์ของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ ที่แยกบนคอลัมน์ BP-1

ตารางที่ 1 ค่าลอการิทึมธรรมชาติของตัวประกอบคงค้าง $\ln\left(\frac{t_R - t_M}{t_M}\right)$ กับจำนวนคาร์บอนและส่วน

กลับของอุณหภูมิของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ บนคอลัมน์ BP-1

n	$\ln\left(\frac{t_R - t_M}{t_M}\right)$						intercept (a')	slope (b')
	190°C	195°C	200°C	205°C	210°C	215°C		
16	1.838	1.622	1.411	1.210	1.022	0.836	-17.733	9061.223
17	2.203	1.976	1.757	1.547	1.351	1.156	-18.231	9460.449
18	2.569	2.334	2.106	1.887	1.682	1.478	-18.733	9862.818
19	2.936	2.691	2.454	2.225	2.013	1.801	-19.211	10253.906
20	3.303	3.049	2.802	2.564	2.344	2.124	-19.726	10662.358
22	4.033	3.760	3.496	3.241	3.003	2.765	-20.710	11456.416
Intercept (a')	-4.019	-4.084	-4.151	-4.211	-4.263	-4.313	-9.795 (a)	2672.91 (c)
Slope (b')	0.366	0.357	0.348	0.339	0.330	0.322	-0.496 (b)	399.28 (d)

$$\text{หมายเหตุ } a = \frac{\Delta S_0}{R} - \ln\beta, b = \frac{\delta S}{R}, c = -\frac{\Delta H_0}{R}, \text{ และ } d = -\frac{\delta H}{R} \quad ([4])$$

จากผลการทดลองและคำนวณ สามารถเขียนสรุปสมการวิเคราะห์เอกลักษณ์ของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์บนคอลัมน์ BP-1 ได้ดังนี้

$$\ln \left(\frac{t_R - t_M}{t_M} \right) = -9.795 - 0.496n + \frac{2672.91}{T} + \frac{399.28n}{T} \quad (11)$$

สำหรับการหาค่าคงตัว a, b, c และ d ของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์บนคอลัมน์ BPX-70 ค่าคงตัว a, b, c และ d ของสารนอร์มัลอัลเคนบนคอลัมน์ BP-1 และบนคอลัมน์

BPX-70 ทำได้ในลักษณะเดียวกันกับการหาค่าคงตัว a, b, c และ d ของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ บนคอลัมน์ BP-1 ที่ได้อธิบายข้างต้น ได้ผลการศึกษาสรุปได้ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ค่าคงตัว a, b, c และ d ของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์และนอร์มัลอัลเคน บนคอลัมน์ BP-1 และ BPX-70

Parameter	เมทิลเอสเทอร์		นอร์มัลอัลเคน	
	BP-1	BPX-70	BP-1	BPX-70
a	-9.795	-11.767	-9.635	-8.44
b	-0.496	-0.554	-0.488	-0.641
c	2672.9	3163.39	1944.23	393.34
d	399.28	382.42	397.71	428.44

จากการแทนค่าคงตัวของสารทั้งสองชนิดในตารางที่ 2 ลงไปในสมการ (1) และทดสอบความถูกต้องของสมการพบว่าสามารถใช้ในการทำนายค่าเวลาคงค้าง และจำนวนคาร์บอนอะตอมของสารตัวอย่างกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์และนอร์มัลอัลเคนได้อย่างแม่นยำในทั้งสองคอลัมน์

4.2 การทำนายค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้างในคอลัมน์ BP-1 (t_{M1}) และคอลัมน์ BPX-70 (t_{M2}) ที่ต่อกันแบบอนุกรม ที่อัตราส่วนความยาวคอลัมน์ร้อยละ 50:50

ค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้างบนคอลัมน์ BP-1 (t_{M1}) และคอลัมน์ BPX-70 (t_{M2}) ที่ต่อกันแบบอนุกรม ที่อัตราส่วนความยาวคอลัมน์ร้อยละ 50:50 สามารถหาได้โดยใช้สมการ (7) และสมการ (8) ตามลำดับ โดยใช้ค่า t_R ของ C_{16} และ C_{17} สำหรับกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ และ

t_R ของ C_{17} และ C_{18} สำหรับสารนอร์มัลอัลเคนที่ฉีดที่สถานะเดียวกับสารตัวอย่างเป็นสารอ้างอิงในการหาค่า t_M ซึ่งทำได้ง่ายโดยใช้โปรแกรม Microsoft Excel Version 8 ตัวอย่างการคำนวณแสดงไว้ดังรูปที่ 1 โดยเซลล์ที่ B2-E2 และ G2-J2 แสดงค่าคงตัวทั้งสิ้นของคอลัมน์ที่ 1 (BP-1) และคอลัมน์ที่ 2 (BPX-70) ตามลำดับ เซลล์ D5-D10 และ H5-H10 แสดงค่าเวลาคงค้างที่ได้จากการทำนายของคอลัมน์ที่ 1 และคอลัมน์ที่ 2 ตามลำดับ ส่วน เซลล์ I5-I10 เป็นค่าเวลาคงค้างรวมที่ทำนายได้ซึ่งเกิดจากผลรวมของค่าเวลาคงค้างจากทั้งสองคอลัมน์ สำหรับค่า t_{M2} , t_M และ t_{M1} คำนวณได้จากสูตรที่เขียนไว้ใน Microsoft Excel Worksheet แล้ว ซึ่งค่าที่คำนวณได้ของแต่ละสถานะการทดลองได้แสดงไว้ในตารางที่ 3 และตารางที่ 4 พร้อมกับผลการทำนายค่าเวลาคงค้างของสาร

	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P
1	a_1	b_1	c_1	d_1		a_2	b_2	c_2	d_2						
2	-9.635	-0.488	1944.23	397.71		-8.439	-0.641	393.34	428.44						
3	BP1		$T =$	473.15		BPX-70		t_{RT}							
4	$t_{M1} =$	0.651	$t_{MT} =$	3.071		$t_{M2} =$	2.420	$t_{R(cal)}$	$t_{R(exp)}$	$\% \Delta$	Z1	$\frac{Z1}{e} + 1$	Z2	$\frac{Z2}{e} + 1$	
5	17		1.691				2.527	4.219	4.218	-0.01	0.468	2.596	-3.111	1.045	
6	18	$t_{M1} = t_{MT} - t_{M2}$	2.131				2.560	4.691	4.69	-0.01	0.820	3.271	-2.847	1.058	
7	19		2.756				2.603	5.358	5.366	0.14	1.173	4.231	-2.582	1.076	
8	20		3.645				2.658	6.303	6.327	0.37	1.525	5.596	-2.318	1.099	
9	21		4.911				2.730	7.641	7.685	0.57	1.878	7.539	-2.053	1.128	
10	22		6.712				2.824	9.536	9.59	0.56	2.230	10.304	-1.789	1.167	
11			t_{R1}				t_{R2}								
13	$\left[\frac{(e^{z1} + 1) - (e^{z2} + 1)}{(e^{z1} + 1)} \right]_{(1)} - \left[\frac{(e^{z1} + 1) - (e^{z2} + 1)}{(e^{z1} + 1)} \right]_{(2)}$								-0.191	$\left(\frac{t_{R2}}{e^{z1} + 1} \right) - \left(\frac{t_{R1}}{e^{z1} + 1} \right)$					
14									-0.079	2.420	$t_{M2} = I13/I14$				

รูปที่ 1 Microsoft Excel Worksheet แสดงตัวอย่างการคำนวณค่า t_{M1} และ t_{M2} และ t_{MT} บนคอลัมน์ BP-1 และ BPX-70 ของสารนอร์มัลอัลเคน ที่ 200 °C อัตราการไหลที่ความดัน 150 kPa

4.3 การทำนายเวลาคงค้างของกรดไขมัน เมทิลเอสเทอร์และสารนอร์มัลอัลเคน บนคอลัมน์ BP-1 และ BPX-70 ที่ต่อกัน แบบอนุกรม ที่อัตราส่วนความยาวคอลัมน์ ร้อยละ 50 ต่อ 50

จากการฉีดสารมาตรฐานกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ และสารนอร์มัลอัลเคน ที่สภาวะอุณหภูมิคงที่ โดยการฉีดแต่ละครั้งเมื่อสารผ่านอินเจคเตอร์แล้วจะผ่านเข้าสู่คอลัมน์ที่

1 (BP-1) ซึ่งสารจะถูกแยกชั้นต้น จากนั้นสารจะผ่านเข้าสู่คอลัมน์ที่ 2 (BPX-70) ซึ่งสารจะถูกแยกต่อ จากนั้นจึงอ่านผลที่ได้ด้วยตัวตรวจจับ (FID) นำค่าเวลาคงค้างที่ได้จากการทดลองไปเปรียบเทียบกับค่าเวลาคงค้างจากการทำนายด้วยสมการ (5) และคำนวณหาร้อยละของความคลาดเคลื่อนซึ่งสรุปไว้ในตารางที่ 3 และตารางที่ 4 ตามลำดับ

ตารางที่ 3 แสดงค่าเวลาคงตัวของสารไม่คงตัว (t_{M1}) และของแต่ละคอลัมน์ (t_{M1} และ t_{M2}) และค่าเวลาคงตัวของกริดโซมันเมทิลเอสเทอร์ที่ได้จากการทดลอง ($t_{R(expt)}$) เทียบกับค่าที่ได้จากคำนวณ ($t_{R(cal)}$) รวมทั้งค่าร้อยละความคลาดเคลื่อน (% Δ) บนคอลัมน์ BP-1 และ BPX-70 ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรม ที่อัตราส่วนความยาวคอลัมน์ 50:50 วิเคราะห์ที่ความดันต่างๆ กันอัตราการไหลที่ความดัน 100 kPa

อัตราการไหลที่ความดัน 100 kPa

n	210 °ซ			215 °ซ			220 °ซ			225 °ซ			230 °ซ		
	$t_{R(expt)}$	$t_{R(cal)}$	% Δ	$t_{R(expt)}$	$t_{R(cal)}$	% Δ	$t_{R(expt)}$	$t_{R(cal)}$	% Δ	$t_{R(expt)}$	$t_{R(cal)}$	% Δ	$t_{R(expt)}$	$t_{R(cal)}$	% Δ
18	14.163	14.153	0.07	13.213	13.213	0.00	12.240	12.238	0.02	11.579	11.580	-0.01	11.119	11.117	0.02
19	16.746	16.734	0.07	15.305	15.312	-0.04	13.944	13.952	-0.06	13.020	13.025	-0.04	12.315	12.320	-0.04
20	20.263	20.250	0.06	18.129	18.148	-0.10	16.229	16.252	-0.14	14.947	14.951	-0.03	13.899	13.912	-0.09
22	31.408	31.599	-0.61	27.111	27.180	-0.25	23.338	23.497	-0.68	20.854	20.955	-0.49	18.688	18.819	-0.07
	$t_M = 6.836$			$t_M = 7.072$			$t_M = 7.078$			$t_M = 7.119$			$t_M = 7.290$		
	$t_{M1} = 0.931$ $t_{M2} = 5.905$			$t_{M1} = 0.965$ $t_{M2} = 6.107$			$t_{M1} = 1.014$ $t_{M2} = 6.065$			$t_{M1} = 1.101$ $t_{M2} = 6.018$			$t_{M1} = 1.162$ $t_{M2} = 6.128$		

อัตราการไหลที่ความดัน 125 kPa

n	210 °ซ			215 °ซ			220 °ซ			225 °ซ			230 °ซ		
	$t_{R(expt)}$	$t_{R(cal)}$	% Δ	$t_{R(expt)}$	$t_{R(cal)}$	% Δ	$t_{R(expt)}$	$t_{R(cal)}$	% Δ	$t_{R(expt)}$	$t_{R(cal)}$	% Δ	$t_{R(expt)}$	$t_{R(cal)}$	% Δ
18	9.712	9.698	0.14	8.861	8.853	0.09	8.178	8.173	0.06	7.684	7.682	0.02	7.297	7.294	0.05
19	11.647	11.638	0.08	10.443	10.430	0.13	9.457	9.449	0.08	8.734	8.740	-0.04	8.178	8.179	-0.01
20	14.328	14.292	0.25	12.601	12.570	0.25	11.218	11.167	0.45	10.146	10.155	-0.09	9.379	9.355	0.26
22	22.840	22.910	-0.30	19.342	19.436	-0.49	16.729	16.612	0.70	14.491	14.587	0.66	13.057	12.997	0.46
	$t_M = 4.307$			$t_M = 4.342$			$t_M = 4.409$			$t_M = 4.470$			$t_M = 4.529$		
	$t_{M1} = 0.743$ $t_{M2} = 3.563$			$t_{M1} = 0.775$ $t_{M2} = 3.567$			$t_{M1} = 0.798$ $t_{M2} = 3.611$			$t_{M1} = 0.843$ $t_{M2} = 3.627$			$t_{M1} = 0.896$ $t_{M2} = 3.632$		

อัตราการไหลที่ความดัน 150 kPa

n	210 °ซ			215 °ซ			220 °ซ			225 °ซ			230 °ซ		
	$t_{R(exp)}$	$t_{R(call)}$	% Δ	$t_{R(exp)}$	$t_{R(call)}$	% Δ	$t_{R(exp)}$	$t_{R(call)}$	% Δ	$t_{R(exp)}$	$t_{R(call)}$	% Δ	$t_{R(exp)}$	$t_{R(call)}$	% Δ
18	7.294	7.288	0.08	6.693	6.682	0.16	6.178	6.180	-0.03	5.807	5.800	0.13	5.476	5.474	0.03
19	8.801	8.792	0.10	7.945	7.927	0.22	7.208	7.209	-0.02	6.665	6.653	0.18	6.185	6.187	-0.03
20	10.861	10.583	0.07	9.653	9.621	0.33	8.636	8.599	0.43	7.818	7.797	0.27	7.133	7.135	-0.03
22	17.489	17.560	-0.40	15.069	15.068	0.01	13.125	13.017	0.83	11.442	11.389	0.47	10.025	10.080	-0.55
	$t_M = 3.133$			$t_M = 3.148$			$t_M = 3.175$			$t_M = 3.235$			$t_M = 3.271$		
	$t_{M1} = 0.587$ $t_{M2} = 2.546$			$t_{M1} = 0.627$ $t_{M2} = 2.522$			$t_{M1} = 0.663$ $t_{M2} = 2.512$			$t_{M1} = 0.699$ $t_{M2} = 2.537$			$t_{M1} = 0.740$ $t_{M2} = 2.531$		

อัตราการไหลที่ความดัน 175 kPa

n	210 °ซ			215 °ซ			220 °ซ			225 °ซ			230 °ซ		
	$t_{R(exp)}$	$t_{R(call)}$	% Δ	$t_{R(exp)}$	$t_{R(call)}$	% Δ	$t_{R(exp)}$	$t_{R(call)}$	% Δ	$t_{R(exp)}$	$t_{R(call)}$	% Δ	$t_{R(exp)}$	$t_{R(call)}$	% Δ
18	5.971	5.964	0.13	5.414	5.395	0.36	5.019	5.014	0.10	4.685	4.678	0.16	4.367	4.361	0.14
19	7.265	7.257	0.11	6.451	6.435	0.25	5.885	5.877	0.14	5.416	5.401	0.28	4.964	4.951	0.25
20	9.050	9.033	0.19	7.906	7.851	0.70	7.048	7.042	0.08	6.414	6.371	0.66	5.758	5.738	0.35
22	14.767	14.827	-0.41	12.499	12.413	-0.68	10.726	10.753	-0.25	9.444	9.426	0.19	8.184	8.184	0.00
	$t_M = 2.426$			$t_M = 2.462$			$t_M = 2.510$			$t_M = 2.521$			$t_M = 2.546$		
	$t_{M1} = 0.519$ $t_{M2} = 1.907$			$t_{M1} = 0.532$ $t_{M2} = 1.930$			$t_{M1} = 0.563$ $t_{M2} = 1.947$			$t_{M1} = 0.603$ $t_{M2} = 1.917$			$t_{M1} = 0.621$ $t_{M2} = 1.924$		

อัตราการใช้ที่ความดัน 200 kPa

n	210 °ซ			215 °ซ			220 °ซ			225 °ซ			230 °ซ		
	$t_{R(\text{exp})}$	$t_{R(\text{cal})}$	% Δ	$t_{R(\text{exp})}$	$t_{R(\text{cal})}$	% Δ	$t_{R(\text{exp})}$	$t_{R(\text{cal})}$	% Δ	$t_{R(\text{exp})}$	$t_{R(\text{cal})}$	% Δ	$t_{R(\text{exp})}$	$t_{R(\text{cal})}$	% Δ
18	4.982	4.978	0.07	4.518	4.516	0.04	4.228	4.227	0.02	3.897	3.895	0.04	3.620	3.619	0.03
19	6.079	6.076	0.04	5.411	5.409	0.05	4.990	4.995	-0.09	4.525	4.516	0.21	4.135	4.133	0.05
20	7.590	7.585	0.07	6.641	6.624	0.25	6.031	6.033	-0.03	5.401	5.349	0.97	4.849	4.818	0.63
22	12.440	12.511	-0.57	10.582	10.516	0.34	9.278	9.346	-0.73	8.063	7.974	1.11	6.937	6.954	0.27
	$t_M = 1.985$			$t_M = 2.011$			$t_M = 2.019$			$t_M = 2.053$			$t_M = 2.049$		
	$t_{M1} = 0.444$ $t_{M2} = 1.514$			$t_{M1} = 0.461$ $t_{M2} = 1.550$			$t_{M1} = 0.512$ $t_{M2} = 1.507$			$t_{M1} = 0.523$ $t_{M2} = 1.531$			$t_{M1} = 0.549$ $t_{M2} = 1.500$		

 $t_{R(\text{exp})}$ = ค่าเวลาตั้งข้างของสารที่ได้จากการทดลอง $t_{R(\text{cal})}$ = ค่าเวลาตั้งข้างของสารที่ได้จากการคำนวณด้วยสมการ (5)% Δ = ค่าร้อยละความคลาดเคลื่อน: $[t_{R(\text{cal})} - t_{R(\text{exp})}] / t_{R(\text{exp})} \times 100$ ค่า t_M , t_{M1} และ t_{M2} ได้จากการคำนวณด้วยสมการ (7) และสมการ (8)

ตารางที่ 4 แสดงค่าเวลาคงตัวของสารไม่คงตัว (t_{M1} และ t_{M2}) และค่าเวลาคงตัวของนอร์มัลลัลเคนที่ได้จากการทดลอง ($t_{R(expt)}$) เทียบกับค่าที่ได้จากคำนวณ ($t_{R(cal)}$) รวมทั้งค่าร้อยละความคลาดเคลื่อน (% Δ) บนคอลัมน์ BP-1 และ BPX-70 ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรม ที่อัตราส่วนความยาวคอลัมน์ 50:50 วิเคราะห์ที่ความดันต่างๆ กัน

อัตราการไหลที่ความดัน 100 kPa

n	180 °ซ			185 °ซ			190 °ซ			195 °ซ			200 °ซ		
	$t_{R(expt)}$	$t_{R(cal)}$	% Δ	$t_{R(expt)}$	$t_{R(cal)}$	% Δ	$t_{R(expt)}$	$t_{R(cal)}$	% Δ	$t_{R(expt)}$	$t_{R(cal)}$	% Δ	$t_{R(expt)}$	$t_{R(cal)}$	% Δ
19	13.685	13.675	0.07	12.429	12.429	0.00	11.705	11.708	0.02	10.817	10.817	0.00	10.378	10.379	-0.01
20	17.098	17.041	0.34	15.137	15.144	-0.05	13.910	13.918	-0.06	12.602	12.602	0.00	11.852	11.860	-0.06
21	22.052	21.969	0.38	19.043	19.083	-0.21	17.086	17.095	-0.05	15.143	15.144	0.00	13.925	13.950	-0.18
22	29.273	29.192	0.28	24.667	24.803	-0.55	21.652	21.665	-0.06	18.773	18.767	0.03	16.839	16.904	-0.38
	$t_M = 6.376$			$t_M = 6.62$			$t_M = 6.611$			$t_M = 6.578$			$t_M = 6.753$		
	$t_{M1} = 0.812$			$t_{M1} = 0.852$			$t_{M1} = 0.895$			$t_{M1} = 0.930$			$t_{M1} = 0.987$		
	$t_{M2} = 5.564$			$t_{M2} = 5.510$			$t_{M2} = 5.717$			$t_{M2} = 5.648$			$t_{M2} = 5.766$		

อัตราการไหลที่ความดัน 125 kPa

n	180 °ซ			185 °ซ			190 °ซ			195 °ซ			200 °ซ		
	$t_{R(expt)}$	$t_{R(cal)}$	% Δ	$t_{R(expt)}$	$t_{R(cal)}$	% Δ	$t_{R(expt)}$	$t_{R(cal)}$	% Δ	$t_{R(expt)}$	$t_{R(cal)}$	% Δ	$t_{R(expt)}$	$t_{R(cal)}$	% Δ
19	9.644	9.642	0.02	8.827	8.828	-0.01	8.130	8.128	0.02	7.473	7.473	0.00	7.086	7.082	0.06
20	12.238	12.233	0.04	10.983	10.982	0.01	9.874	9.872	0.02	8.878	8.876	0.03	8.270	8.261	0.11
21	16.024	16.035	-0.07	14.116	14.113	0.02	12.382	12.383	-0.01	10.873	10.878	-0.05	9.950	9.929	0.21
22	21.592	21.614	-0.10	18.690	18.667	0.12	15.986	16.001	-0.09	13.705	13.737	-0.23	12.330	12.290	0.32
	$t_M = 4.059$			$t_M = 4.050$			$t_M = 4.141$			$t_M = 4.165$			$t_M = 4.219$		
	$t_{M1} = 0.639$			$t_{M1} = 0.693$			$t_{M1} = 0.724$			$t_{M1} = 0.748$			$t_{M1} = 0.806$		
	$t_{M2} = 3.420$			$t_{M2} = 3.357$			$t_{M2} = 3.417$			$t_{M2} = 3.417$			$t_{M2} = 3.413$		

อัตราการไหลที่ความดัน 150 kPa

n	180 °ซ			185 °ซ			190 °ซ			195 °ซ			200 °ซ		
	$t_{R(exp)}$	$t_{R(cal)}$	% Δ	$t_{R(exp)}$	$t_{R(cal)}$	% Δ	$t_{R(exp)}$	$t_{R(cal)}$	% Δ	$t_{R(exp)}$	$t_{R(cal)}$	% Δ	$t_{R(exp)}$	$t_{R(cal)}$	% Δ
19	7.496	7.495	0.01	6.878	6.878	0.00	6.251	6.250	0.02	5.747	5.743	0.07	5.366	5.358	0.14
20	9.623	9.620	0.03	8.660	8.658	0.02	7.691	7.690	0.02	6.897	6.892	0.08	6.327	6.303	0.37
21	12.743	12.740	0.02	11.260	11.240	0.11	9.758	9.766	-0.08	8.535	8.535	0.03	7.685	7.641	0.57
22	17.321	17.324	-0.02	15.067	15.017	0.33	12.747	12.760	-0.10	10.866	10.877	-0.10	9.590	9.536	0.56
	$t_M = 2.933$			$t_M = 2.944$			$t_M = 2.969$			$t_M = 3.044$			$t_M = 3.071$		
	$t_{M1} = 0.531$ $t_{M2} = 2.402$			$t_{M1} = 0.579$ $t_{M2} = 2.365$			$t_{M1} = 0.605$ $t_{M2} = 2.364$			$t_{M1} = 0.619$ $t_{M2} = 2.425$			$t_{M1} = 0.651$ $t_{M2} = 2.420$		

อัตราการไหลที่ความดัน 175 kPa

n	180 °ซ			185 °ซ			190 °ซ			195 °ซ			200 °ซ		
	$t_{R(exp)}$	$t_{R(cal)}$	% Δ	$t_{R(exp)}$	$t_{R(cal)}$	% Δ	$t_{R(exp)}$	$t_{R(cal)}$	% Δ	$t_{R(exp)}$	$t_{R(cal)}$	% Δ	$t_{R(exp)}$	$t_{R(cal)}$	% Δ
19	6.170	6.174	-0.06	5.667	5.667	0.00	5.129	5.127	0.04	4.676	4.672	0.08	4.395	4.391	0.09
20	7.956	7.987	-0.06	7.198	7.197	0.01	6.369	6.366	0.05	5.669	5.664	0.10	5.225	5.211	0.28
21	10.648	10.650	-0.02	9.430	9.425	0.05	8.157	8.152	0.06	7.093	7.081	0.17	6.404	6.372	0.50
22	14.554	14.565	-0.08	12.674	12.670	0.03	10.758	10.730	0.26	9.124	9.107	0.19	8.074	8.017	0.70
	$t_M = 2.291$			$t_M = 2.293$			$t_M = 2.314$			$t_M = 2.350$			$t_M = 2.412$		
	$t_{M1} = 0.456$ $t_{M2} = 1.834$			$t_{M1} = 0.502$ $t_{M2} = 1.791$			$t_{M1} = 0.524$ $t_{M2} = 1.789$			$t_{M1} = 0.539$ $t_{M2} = 1.811$			$t_{M1} = 0.569$ $t_{M2} = 1.843$		

อัตราการใช้เพลิงที่ความดัน 200 kPa

n	180 °ซ			185 °ซ			190 °ซ			195 °ซ			200 °ซ		
	$t_{R(exp)}$	$t_{R(call)}$	% Δ	$t_{R(exp)}$	$t_{R(call)}$	% Δ	$t_{R(exp)}$	$t_{R(call)}$	% Δ	$t_{R(exp)}$	$t_{R(call)}$	% Δ	$t_{R(exp)}$	$t_{R(call)}$	% Δ
19	5.348	5.348	0.00	4.757	4.757	0.00	4.358	4.354	0.09	3.944	3.943	0.03	3.671	3.672	-0.02
20	7.004	6.996	0.11	6.055	6.059	-0.07	5.455	5.438	0.32	4.839	4.809	0.63	4.401	4.394	0.15
21	9.431	9.422	0.09	7.946	7.956	-0.12	7.048	7.001	0.66	6.096	6.049	0.81	5.437	5.418	0.35
22	13.009	12.991	0.14	10.692	10.718	-0.25	9.372	9.258	1.22	7.861	7.817	0.56	6.892	6.870	0.33
	$t_M = 0.419$	$t_M = 1.824$		$t_{M1} = 0.428$	$t_M = 1.888$		$t_{M1} = 0.461$	$t_M = 1.897$		$t_{M1} = 0.473$	$t_M = 1.918$		$t_{M1} = 0.505$	$t_M = 1.932$	
		$t_{M2} = 1.405$		$t_{M2} = 1.460$			$t_{M2} = 1.436$			$t_{M2} = 1.446$					

$t_{R(exp)}$ = ค่าเวลาตั้งถังของสารที่ได้จากการทดลอง

$t_{R(call)}$ = ค่าเวลาตั้งถังของสารที่ได้จากการคำนวณด้วยสมการ (5)

% Δ = ค่าร้อยละความคลาดเคลื่อน: $[(t_{R(call)} - t_{R(exp)}) / t_{R(exp)}] \times 100$

ค่า t_M , t_{M1} และ t_{M2} ได้จากการคำนวณด้วยสมการ (7) และสมการ (8)

จากตารางที่ 3 พบว่าค่าร้อยละของความคลาดเคลื่อนระหว่างค่าเวลาคงค้างของสารมาตรฐานกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ที่ได้จากการคำนวณที่ทราบค่าจำนวนคาร์บอนที่อุณหภูมิต่างๆ กับค่าเวลาคงค้างที่ได้จากการทดลอง ที่ความดัน 100 kPa มีค่าอยู่ในช่วง -0.70 ถึง 0.07 ที่ความดัน 125 kPa มีค่าอยู่ในช่วง -0.66 ถึง 0.70 ที่ความดัน 150 kPa มีค่าอยู่ในช่วง -0.55 ถึง 0.83 ที่ความดัน 175 kPa มีค่าอยู่ในช่วง -0.41 ถึง 0.68 และที่ความดัน 200 kPa มีค่าอยู่ในช่วง -0.73 ถึง 1.11

จากตารางที่ 4 พบว่าค่าร้อยละของความคลาดเคลื่อนระหว่างค่าเวลาคงค้างของสารมาตรฐาน นอร์มัลอัลเคนที่ได้จากการคำนวณที่ทราบค่าจำนวนคาร์บอนที่อุณหภูมิต่างๆ กับค่าเวลาคงค้างที่ได้จากการทดลอง ที่ความดัน 100 kPa มีค่าอยู่ในช่วง -0.55 ถึง 0.38 ที่ความดัน 125 kPa มีค่าอยู่ในช่วง -0.23 ถึง 0.32 ที่ความดัน 150 kPa มีค่าอยู่ในช่วง -0.10 ถึง 0.59 ที่ความดัน 175 kPa มีค่าอยู่ในช่วง -0.08 ถึง 0.70 และที่ความดัน 200 kPa มีค่าอยู่ในช่วง -0.25 ถึง 1.22

5. สรุปผลการทดลองและวิจารณ์

จากตารางที่ 3 พบว่าค่าร้อยละของความคลาดเคลื่อนของค่าเวลาคงค้างสูงที่สุดในกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์เท่ากับร้อยละ 1.11 ที่อุณหภูมิ 225 °ซ และความดัน 200 kPa

จากตารางที่ 4 พบว่าค่าร้อยละของความคลาดเคลื่อนของค่าเวลาคงค้างสูงที่สุดในสารนอร์มัลอัลเคนเท่ากับ ร้อยละ 1.22 ที่อุณหภูมิ 190 °ซ ความดัน 200 kPa

ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าสามารถนำสมการ (1) มาประยุกต์ใช้ในการคำนวณค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้าง (t_M) และทำนายค่าเวลาคงค้างของสารตัวอย่างที่วิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรมที่ความยาว 50:50 ได้อย่างแม่นยำโดยไม่ใช้สารอ้างอิง ซึ่งจะมีประโยชน์มากต่อการนำไปประยุกต์ใช้ในการคำนวณสัดส่วนคอลัมน์ที่เหมาะสม สำหรับการแยกสารผสมที่แยกออกจากกันยากด้วยคอลัมน์เดี่ยวๆ โดยไม่ต้องดัดแปลงเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟที่มีอยู่เดิม

อย่างไรก็ตาม ในงานวิจัยนี้เป็นเพียงการยืนยันขั้นต้นซึ่งจำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงสัดส่วนของคอลัมน์ที่ใช้

และการวิเคราะห์สารในสภาวะโปรแกรมอุณหภูมิซึ่งเป็นสภาวะที่นิยมใช้ในการทำโครมาโตกราฟี โดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับการวิเคราะห์สารตัวอย่างในธรรมชาติที่มีองค์ประกอบซับซ้อนมากยิ่งขึ้น นอกจากนี้ข้อจำกัดของการประยุกต์ใช้สมการ (1) คือการใช้ค่า t_M ที่ถูกต้อง เพราะหากค่า t_M ไม่มีความแม่นยำพอจะทำให้การทำนายการเคลื่อนที่ของสารผิดพลาดไปอย่างมาก

ในการทดลองนี้ได้ใช้คอลัมน์สองชนิดที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางภายในเท่ากัน หากต้องการทดลองเปลี่ยนเป็นคอลัมน์สองชนิดที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางภายในแตกต่างกันในทางทฤษฎีน่าจะทำได้ แต่ในทางปฏิบัติอาจประสบปัญหาจากอัตราการไหลของแก๊สตัวพาที่ผ่านแต่ละคอลัมน์จะแตกต่างกันมากขึ้น อาจทำให้มีผลต่อการแยกสารและยังอาจทำให้เกิดการรบกวนบริเวณรอยต่อระหว่างคอลัมน์ทั้งสองได้ ซึ่งจะส่งผลให้การทำนายค่าเวลาคงค้างของสารผิดพลาดได้ และเมื่ออัตราการไหลของแก๊สตัวพาที่ผ่านแต่ละคอลัมน์แตกต่างกันมากขึ้น ทำให้การปรับความดันของแก๊สตัวพาเพื่อให้ได้การแยกของพีคที่ดีจากทั้งสองคอลัมน์ทำได้ยาก

นอกจากนั้นสมการ (5) ซึ่งใช้ในการทำนายค่าเวลาคงค้างของสารบนคอลัมน์ที่ต่อกันในลักษณะอนุกรมนี้ขึ้นกับความดัน หรืออัตราการไหล (flow rate) ของแก๊สตัวพา รวมทั้งอุณหภูมิที่ตั้งจากเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟและอุณหภูมิที่แท้จริงควรมีความถูกต้องสูง

7. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากโครงการปริญญาเอกกาญจนาภิเษก (คป.ก.) สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

6. เอกสารอ้างอิง

1. Kovats, E., 1958, "Gas Chromatographic Characterization of Organic Compounds. Part 1. Retention Indexes of Aliphatic Halides, Alcohols, Aldehydes and Ketones," *Helvetica Chimica Acta*, Vol. 41, pp. 1915-1932.
2. Miwa, T. K., Micolajczak, K. L., Earle, F. R. and Wolff, I. A., 1960, "Gas Chromatographic

Characterization of Fatty Acids: Identification Constants for Mono- and Dicarboxylic Methyl Esters," *Analytical Chemistry*, Vol. 32, pp. 1739-1742.

3. Woodford, E. 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 Lipid Research*, Vol. 1, pp. 188-190.

4. 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.

5. Ong, R. C. Y. and Marriott, P. J., 2002, "A Review of Basic Concepts in Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography," *Journal of Chromatographic Science*, Vol. 40, pp. 276-291.

6. Phillips, J. B., Gaines, R. B., Blomberg, J., Wielen, F. W. M. v. d., Dimandja, J.-M., Green, V., Granger, J., Patterson, D., Racovalis, L., Geus, H.-J. d., Boer, J. d., Haglund, P., Lipsky, J., Sinha, V. and Edward B. Ledford, J., 1999, "A Robust Thermal Modulator for Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography," *Journal of High Resolution Chromatography*, Vol. 22, pp. 3-10.

7. Kinghorn, R. M. and Marriott, P. J., 1998, "Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography Using a Modulating Cryogenic Trap," *Journal of High Resolution Chromatography*, Vol. 21, pp. 620-622.

8. Marriott, P., Kinghorn, R.M., Ong, R., Morrison, P., Haglund, P. and Harju, M., 2000, "Comparison of Thermal Sweeper and Cryogenic Modulator Technology for Comprehensive Gas Chromatography," *Journal of High Resolution Chromatography*, Vol. 23, pp. 253-258.

9. Cartoni, G. P., Goretti, G., Monticelli, B. and

Russo, M. V., 1986, "Evaluation of Capillary Gas Chromatographic Columns in Series Analytical Application to Lemon Oil," *Journal of Chromatography A*, Vol. 370, pp. 93-101.

10. Castello, G., Timossi¹, A. and Gerbino¹, T. C., 1990, "Analysis of Haloalkanes on Wide-Bore Capillary Columns of Different Polarity Connected in Series," *Journal of Chromatography A*, Vol. 522, pp. 329-343.

11. Chanegriha, N. and Baaliouamer, A., 1993, "Evaluation of Series-Coupled Gas Chromatographic Capillaries of Different Polarities Application to the Resolution of Problem Pairs of Constituents in Algerian Cypress Essential Oil," *Journal of Chromatography*, Vol. 633, pp. 163-168.

12. Guardino, X. J., Albaiges, J., Firpo, G., Rodriguez-Vinals, R. and Gassiot, M., 1976, "Accuracy in the Determination of the Kovats Retention Index Mathematical Dead Time," *Journal of Chromatography*, Vol. 118, pp. 13-22.

13. Purnell, J. H. and Williams, P. S., 1984, "Relative Retention in Serially Connected Binary Gas Chromatographic Capillary Column Systems and the Implications for Window Diagram Optimization of Such Systems," *Journal of Chromatography A*, Vol. 292, pp. 197-206.

14. Purnell, J. H., Rodriguez, M. and Williams, P. S., 1986, "Experimental Verification of the Theory of Serially Coupled Gas Chromatographic Columns," *Journal of Chromatography A*, Vol. 358, pp. 39-51.

15. Jones, J. R. and Purnell, J. H., 1990, "Prediction of Retention Times in Serially Linked Open-Tubular Gas Chromatographic Columns and Optimization of Column Lengths," *Analytical Chemistry*, Vol. 62, pp. 2300-2306.

16. 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, pp. 67-71.

17. Martin, A. J. P., 1950, "Some Theoretical Aspects of Partition Chromatography," *Biochemical Society symposium (partition chromatography)*, Vol. 3, pp. 4-20.