

บทที่ 8 แก๊สโครมาโทกราฟี

หลักการ GC และทฤษฎีการแยก

แก๊สโครมาโทกราฟี (GC) เป็นเครื่องมือที่ใช้สำหรับวิเคราะห์กลุ่มของสารประกอบอินทรีย์ที่ระเหยง่าย และกลุ่มสารประกอบอินทรีย์ที่กึ่งระเหย โดยอาศัยหลักการแยกระหว่างเฟส 2 เฟส ประกอบด้วย เฟสอยู่กับที่ และเฟสเคลื่อนที่ สำหรับเฟสอยู่กับที่ของเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี คือ สารที่เคลือบผิวหรือบรรจุอยู่ในคอลัมน์ และเฟสเคลื่อนที่ คือ แก๊สตัวพา นิยมใช้เป็นแก๊สฮีเลียม เมื่อสารผสมถูกฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี ณ บริเวณหัวฉีด ซึ่งเป็นบริเวณที่ให้ความร้อนมีอุณหภูมิสูงพอที่จะทำให้สารผสมเปลี่ยนสถานะจากของเหลวเป็นแก๊ส และส่วนแก๊สของสารผสมจะเคลื่อนที่เข้าสู่คอลัมน์ โดยอาศัยแก๊สตัวพา และมีการให้ความร้อนของคอลัมน์ด้วยตู้ควบคุมอุณหภูมิ ทำให้เกิดกระบวนการแยกขึ้น จากนั้นสารผสมที่ถูกแยกภายในคอลัมน์จะเคลื่อนที่เข้าสู่ตัวตรวจวัด และผลที่ได้จะแสดงในรูปแบบของโครมาโทแกรม

ส่วนประกอบของเครื่อง GC

หลักการและส่วนประกอบที่สำคัญ ของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

1. **Carrier gases** หรือแก๊สพา มีหน้าที่นำแก๊สตัวอย่างจาก จุดฉีด (injection port) ผ่านเข้าสู่คอลัมน์และไปยัง detector แก๊สที่ใช้ร่วมกับเครื่อง GC เป็นแก๊สเฉื่อยที่ไม่ทำ ปฏิกิริยากับโมเลกุลของ สารตัวอย่าง เช่น แก๊สฮีเลียม ไฮโดรเจน หรือไนโตรเจน

2. **Injector port** เป็นส่วนที่ใช้ในการฉีดสารตัวอย่างเข้า คอลัมน์โดยทั่วไปส่วนที่ฉีดสารตัวอย่างเข้าไป (inlet) มักจะมีตัวให้ความร้อน (heater) ติดตั้งอยู่ด้วย เพื่อทำให้สารตัวอย่างกลายเป็นไอ การเลือกใช้งานว่าจะใช้ inlet แบบใดนั้นขึ้นขึ้นอยู่กับสารตัวอย่าง หากสารตัวอย่างเป็นแก๊สมักจะฉีดตัวอย่างเข้าไปด้วย gas sampling valve หากสารตัวอย่างเป็นของเหลวโดยมากจะใช้ micro syringe ดูดสารตัวอย่างขึ้นมาตามปริมาตรที่ต้องการแล้วฉีดผ่าน silicone septum ที่ injection port ไปยังปลายของคอลัมน์

3. **Column** เป็นส่วนที่ใช้แยกสารตัวอย่าง คอลัมน์ที่ใช้กัน ทั่วไปใน GC นั้นมีอยู่ 2 ประเภท คือ packed column และ capillary column การเลือกใช้คอลัมน์แต่ละชนิดขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของสารผสมไม่สามารถระบุได้อย่างชัดเจน แต่สามารถพิจารณาเลือก จาก catalog ที่บริษัทผู้ผลิตคอลัมน์ออกมาจำหน่าย และค้นคว้า จากงานวิจัย ในวารสารด้านโครมาโทกราฟี

4. **Detector** หรือส่วนตรวจวัด เป็นอุปกรณ์ที่ใช้สำหรับ ตรวจวัดสารเชิงเดี่ยวที่ถูกแยกออกมาจากคอลัมน์ แล้วส่งสัญญาณ ไฟฟ้าไปยังระบบประมวลผลสามารถจำแนกประเภทของส่วนตรวจ เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas Chromatography, GC) แก๊สโครมาโทกราฟีเป็นเทคนิคที่ใช้สำหรับแยกตัวอย่างที่เป็นสารผสมที่ระเหยได้โดยเปลี่ยนสารผสมให้เป็นไอที่อุณหภูมิหนึ่ง ไอที่เกิดขึ้นจะถูกนำเข้าสู่คอลัมน์โดยอาศัยการพาไปของเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) หรือ carrier gas ตาม flow rate ที่ต้องการ ภายในคอลัมน์บรรจุด้วยสารที่ทำหน้าที่ในการแยก เรียกว่าเฟสคงที่ (stationary phase) สารผสมจะถูกแยกออกเป็นส่วนๆที่คอลัมน์นี้ ด้วยความแตกต่างของสมบัติทางเคมีโครงสร้าง น้ำหนักโมเลกุล จุดเดือดสารที่แยกได้ผ่านออกไปสู่ส่วนตรวจวัด (detector) ทำให้เกิดสัญญาณไฟฟ้าส่งไปยังระบบประมวลผล(Data system) ซึ่งสามารถคำนวณและรายงานผลออกมาเป็นโครมาโทแกรม ให้ทราบถึงองค์ ประกอบหรือเทียบปริมาณของสารตัวอย่างได้กล่าวคือสามารถวิเคราะห์ได้ทั้งเชิงปริมาณและคุณภาพ เครื่อง GC ตรวจวัดสารได้เป็นหลายประเภทตามคุณสมบัติการตรวจวัด โดยรูปแบบตรวจ วัดที่ใช้กันอย่างกว้างขวาง ได้แก่

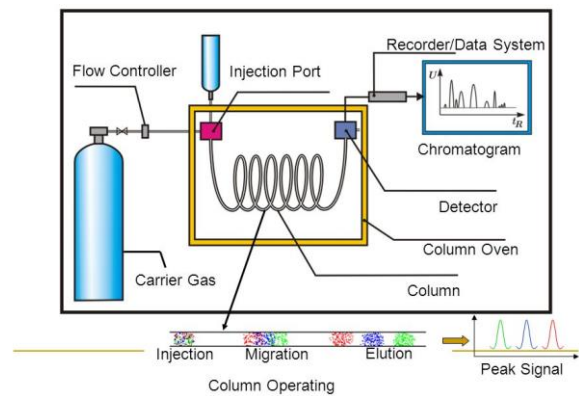
4.1 **Flame Photometric Detector (FID)** ใช้ใน การตรวจหาสารประกอบอินทรีย์ (สารประกอบที่มี C-C, C-H bonds)

4.2 Electron Capture Detector (ECD) เป็นอุปกรณ์ ตรวจวัดที่ดีในการตรวจหาสารประกอบที่มี แอลโลเจนอะตอมเป็นองค์ประกอบ เช่น ยาฆ่าแมลง และยาปราบวัชพืช เป็นต้น

5. Data system หรือระบบประมวลผล เป็นส่วนที่ประมวลผลและข้อมูลต่างๆ ด้วยระบบคอมพิวเตอร์ซึ่งจะ คำนวณและรายงานผลเป็น **เวลาการน่วง (Retention time)** คือเวลาที่สารแต่ละชนิดใช้ผ่านคอลัมน์จากจุดเริ่มต้นถึง จุดสูงสุดของของพีคที่ได้จากโครมาโทแกรม Retention time สามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพเพื่อระบุว่าเป็นสารชนิดใดเมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน นอกจากนี้ลักษณะและขนาดของพีคที่ได้จากโครมาโทแกรมใช้เป็นข้อมูลสำหรับ การวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณได้



How the GC Operating?

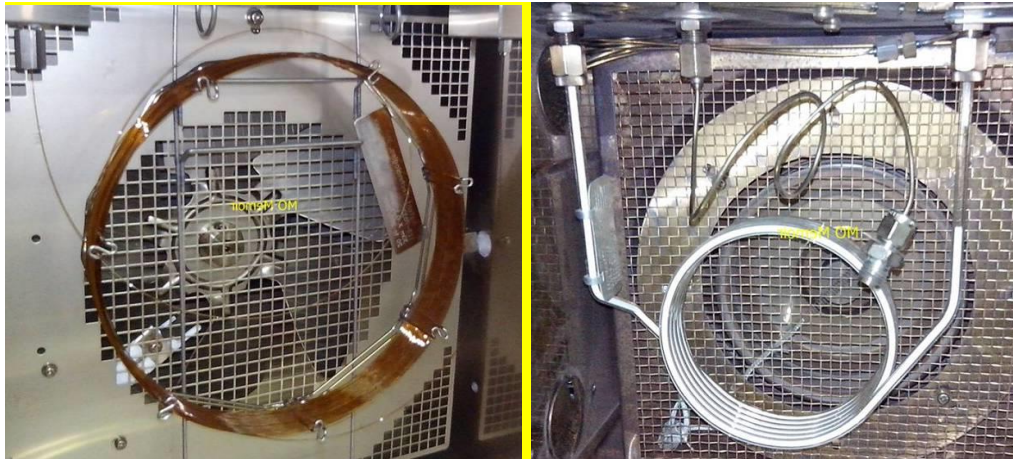


เครื่อง GC สามารถประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์สารตัวอย่างชนิดต่างๆ ได้มากมาย เช่น

1. วิเคราะห์แก๊ส เช่น แก๊สธรรมชาติ สารเจือปนในแก๊สต่างๆ (impurity gases)
2. วิเคราะห์สารประกอบต่างๆ ได้แก่ พวงสารประกอบ ไนโตรเจน สารประกอบของซิลเฟอร์ และ สารประกอบไฮโดรคาร์บอน เป็นต้น
3. วิเคราะห์ยาฆ่าแมลง ยาปราบศัตรูพืช เช่น organophosphate compounds และ organocholine compounds เป็นต้น
4. วิเคราะห์อากาศและสิ่งแวดล้อม เช่น CO, NO₂, SO₂ เป็นต้น
5. วิเคราะห์สารมลพิษในน้ำ เช่น วิเคราะห์กลุ่มของสารประกอบ อินทรีย์ที่ระเหยได้ง่าย (Volatile organic Compounds, VOCs)
6. วิเคราะห์มลพิษทางดิน เช่น Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)

ชนิดของคอลัมน์ในระบบ GC

คอลัมน์เป็นชิ้นส่วนสำคัญในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี ในคอลัมน์จะบรรจุสารที่เป็นตัวดูดซับที่ ทำหน้าที่แยกสาร สารดูดซับนี้อาจจะอยู่ในรูปผงของแข็งบรรจุอยู่ในคอลัมน์ที่เราเรียกว่า **packed column** หรือเป็น ชั้นฟิล์มเคลือบอยู่บนผิวด้านในของคอลัมน์ในคอลัมน์ที่เรียกว่า **capillary column** การแยกสารจะทำได้หรือไม่ได้นั้น ขึ้นอยู่กับชนิดของสารดูดซับที่บรรจุอยู่ในคอลัมน์เป็นสำคัญ



Capillary column

Packed column

เทคนิคการเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ด้วย GC Sample preparation for GC Analyses

Most samples are not ready to introduce directly into the column of gas chromatography (GC) instrument. So, the sample preparation is the most important step prior to GC determination of an analyte. There might be several processes within sample preparation which depend on the complexity of the sample; the analyte concentration level in the sample and its level need to be analyzed by the GC instrument. On the other hand, sample preparation is often a severe process that accounts for the complexity of the analyte analysis. Instance for organics and volatile organics, the sample preparation procedures can be mentioned such as extraction, cleanup, derivatization, transfer to vapor phase, and concentration.

Sample preparation step can affect some other quantitative statistical parameters such as

1. limit of detection (LOD),
2. limit of quantitation (LOQ),
3. limit of linearity (LOL),
4. linear dynamic range (LDR).

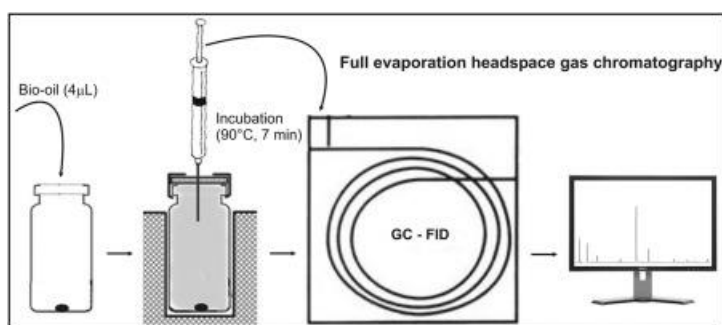
Limit of detection (LOD) is defined as the lowest concentration or weight of analyte which can be determined at a specific confidence level. The lowest concentration level at which a measurement is quantitatively meaningful is called limit of quantitation (LOQ).

Sample Extraction Techniques

The earliest sample preparation method is extraction, in which the analyte of interest is separated from a sample matrix with an optimum yield and selectivity. Two major kinds of extraction include solid-phase extraction (SPE) and liquid-liquid extraction (LLE). In SPE, the analyte can be separated from a solid sample, and in LLE, it is extracted from sample solutions.

1. *Solid-Phase* Extraction (SPE)
2. *Solid-phase* Microextraction (SPME)
3. Molecularly imprinted polymer (MIP) adsorbent in SPE and SPME

4. Stir bar sorptive extraction (SBSE)
5. Soxhlet extraction (SE)
6. Ultrasonic extraction (UE)
7. Supercritical fluid extraction (SFE)
8. Accelerated solvent extraction (ASE)
9. Microwave-assisted extraction (MAE)
10. Headspace extraction (HE)
 - 10.1 Interfacing purge and trap



11. Membrane extraction (ME)

Concentration Techniques for Reducing the Solvent Volume

Once the analytes are diluted in the presence of a large volume of solvents during the extraction processes, they should be concentrated to analyze by instrumental methods as GC. If the amount of solvent to be removed is not very high and the analyte is nonvolatile, the solvent can be vaporized by a gentle stream of nitrogen gas flowing either across the surface or through the solution. But when a large volume of solvent should be removed, a rotary vacuum evaporator is used. In this case, the solution is placed in a round-bottomed flask which put in a heated water bath. A water-cooled condenser is attached at the top of flask to condense the evaporated solvent, and it distills into a separate container. Then, the flask is rotated continually to expose maximum liquid surface to evaporation. It should be noted that evaporation should stop before the solution reaches dryness.

For achieving smaller volume, e.g., less than 1 ml, a Kuderna-Danish concentrator is used. In this case, the solution is slowly heated in a warm water bath until the necessary volume is obtained. Also, an air-cooled condenser provides the solvent reflux. This final process of reducing solvent volume before being analysed by GC.

สรุป

GC เป็นเครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์กลุ่มสารอินทรีย์ที่ระเหยง่าย และกลุ่มสารอินทรีย์ที่กึ่งระเหย โดยอาศัยหลักการแยกระหว่างเฟส 2 เฟส ประกอบด้วย เฟสอยู่กับที่ และเฟสเคลื่อนที่ สามารถประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์สารตัวอย่างชนิดต่างๆ เช่น วิเคราะห์แก๊ส วิเคราะห์ยาฆ่าแมลง วิเคราะห์อากาศ วิเคราะห์น้ำ วิเคราะห์มลพิษทางดิน