

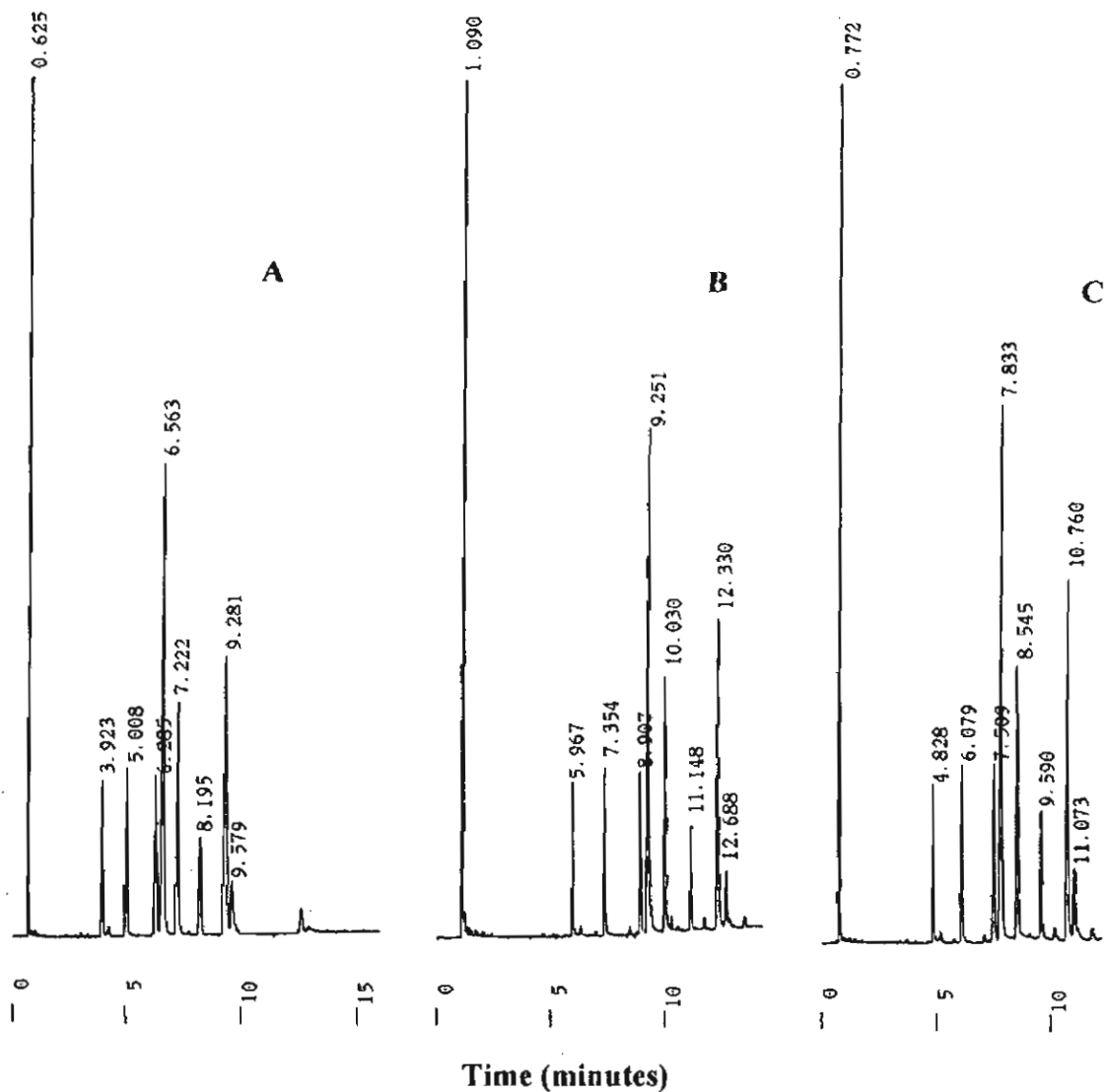
ตารางที่ 3:3 เวลาคงค้างของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์จากเมล็ดงาและเมล็ดขางพาราที่ชะออกจากคอลัมน์ Omegawax 250 ขาว 21 เมตร ที่อุณหภูมิ 170 - 200 °C และความยาวคาร์บอนเทียบเท่าที่ได้จากการคำนวณด้วยสมการ (75)

FAMES	ECL	170 °C ($i_M=0.753$)		180 °C ($i_M=0.815$)		190 °C ($i_M=0.820$)		200 °C ($i_M=0.830$)	
		i_R	ECL	i_R	ECL	i_R	ECL	i_R	ECL
16:0	16.00	5.587	15.99	4.252	15.98	3.245	15.95	2.567	15.95
17:0	17.00	7.815	16.99	5.751	17.00	4.24	16.97	3.243	16.98
18:0	18.00	11.045	17.99	7.894	18.00	5.636	17.98	4.178	18.00
18:1	18.18	11.786	18.17	8.424	18.19	5.998	18.19	4.446	18.24
18:2	18.59	13.809	18.62	9.757	18.64	6.887	18.66	5.010	18.69
18:3	19.21	17.302	19.25	12.044	19.27	8.359	19.30	6.010	19.36
20:0	20.00	22.537	19.98	15.287	20.00	10.311	19.98	7.237	20.02
20:1	20.18	23.810	20.13	16.172	20.15	10.937	20.17	7.660	20.22

ความคลาดเคลื่อนสูงสุดของ กรดไขมันอิ่มตัวอยู่ที่ 0.06 หน่วยคาร์บอน และกรดไขมันไม่อิ่มตัวเท่ากับ 0.17, 0.13 และ 0.14 หน่วยคาร์บอนสำหรับคอลัมน์ยาว 27, 24 และ 21 เมตร ตามลำดับ นั่นคือ ขนาดความยาวคอลัมน์ที่ลดลงถึงร้อยละ 30 จะยังไม่ส่งผลต่อค่าคงตัวคอลัมน์

3.2 สภาวะโปรแกรมอุณหภูมิ (TPGC)

การศึกษายังได้ทดสอบกับกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์จากเมล็ดงาและเมล็ดขางพารา ในสภาวะโปรแกรมอุณหภูมิ 170 – 220 °C อัตราเพิ่มอุณหภูมิ 2 °C ดังรูปที่ 3.1 เนื่องจากยังไม่สามารถพัฒนาโปรแกรมคอมพิวเตอร์ในการคำนวณค่า ECL ในสภาวะโปรแกรมอุณหภูมิ การศึกษาจึงใช้การคำนวณเวลาคงค้างจากค่า ECL โดยใช้สมการ (73) และคำนวณโดยใช้ Microsoft Excel version 8 ดังแสดง รายละเอียดในภาคผนวก ผลที่คำนวณสรุปได้ คือ ความแตกต่างสูงสุดของคอลัมน์ยาว 27, 24 และ 21 เมตรประมาณร้อยละ 1.16, 1.51 และ 1.18 ตามลำดับ



รูปที่ 3.1 แก๊สโครมาโตแกรมกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์เมสคิงและเมสคิงพาราจากคอลัมน์ Omegawax 250 (0.25 mm I.D.) ในสภาวะ TPGC ตั้งแต่ 170 °C - 220 °C อัตราเพิ่ม 4 °C/นาที หยุดที่อุณหภูมิสุดท้าย 60 นาที ตัวเลขบนยอดพีค คือ เวลาคงค้างเป็นนาที

A; คอลัมน์ยาว 27 เมตร, หยุดที่อุณหภูมิเริ่มต้น 1 นาที.

B; คอลัมน์ยาว 24 เมตร, หยุดที่อุณหภูมิเริ่มต้น 1 นาที.

C; คอลัมน์ยาว 21 เมตร, หยุดที่อุณหภูมิเริ่มต้น 1.5 นาที

3.3 สรุปและเสนอแนะ

การศึกษาในบทนี้ อาจกล่าวโดยสรุปได้ว่าความยาวคอลัมน์ไม่มีผลต่อค่าคงตัวคอลัมน์ทั้ง 4 ซึ่งเป็นไปตามทฤษฎี กล่าวคือ หากพิจารณาสมการ (32)

$$\ln k = a + bn + \frac{c}{T} + \frac{dn}{T} \quad \text{Eq. 32}$$

เทอมทางซ้ายมือ ซึ่งค่า

$$\ln k = \ln K - \ln \beta \quad \text{Eq. 76}$$

ค่า K (ค่าคงที่สมดุลภาพ) ไม่ควรเปลี่ยนแปลง เนื่องจากวัฏภาคนิ่งนั้นและแก๊สตัวพายังคงเดิม และการตัดคอลัมน์ก็ไม่มีผลต่อค่า β (อัตราส่วนวัฏภาค) ดังนั้น ผลการทดลองนี้ เป็นการยืนยันหลักการทางทฤษฎี และผู้วิเคราะห์จะเกิดความสบายใจได้ว่า หากคอลัมน์เกิดการแตก หรือหักสั้นลง ผู้ใช้ยังคงสามารถใช้ค่าคงตัวคอลัมน์เดิมได้ต่อไป จนกว่าโครงสร้างทางเคมีของวัฏภาคนิ่งเปลี่ยนแปลงไป เช่น ถูกออกซิไดซ์ หรือสลายด้วยน้ำ เมื่อถึงจุดดังกล่าว คาดว่าอำนาจการแยกสารจะเปลี่ยนแปลงไปถึงจุดที่จะต้องเปลี่ยนคอลัมน์ตัวใหม่แล้ว

4. การทำนายค่าเวลาศูนย์ในแก๊สโครมาโตกราฟี

การวิเคราะห์สารอินทรีย์ทั่วไปและกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ นิยมวิเคราะห์สารโดยใช้ค่า I และค่า ความยาวคาร์บอนเทียบเท่ากันมากดังที่ได้กล่าวมาในบทนำ การวัดค่า I ของสารแต่ละตัว จะต้องใช้ค่าเวลาคงค้างปรับแก้ (adjusted retention time: t_R') ซึ่งได้จากค่าเวลาคงค้างไม่ปรับแก้ (unadjusted retention time: t_R) หักด้วยเวลาคงค้างของสารไม่คงค้าง t_M (hold - up time) หรือเวลาศูนย์ ดังนั้น ค่าเวลาศูนย์จึงมีความสำคัญมากและช่วยให้การคำนวณมีความถูกต้องยิ่งขึ้น การวัดค่าเวลาศูนย์สามารถทำได้โดยตรงจากค่าเวลาคงค้างของสาร ไม่คงค้าง (unretained compound) ที่นำมาทดสอบพร้อมกับสารตัวอย่าง การทดสอบการคงค้างของแก๊สต่างๆ บนคอลัมน์หลายชนิดเช่น อากาศ และ มีเทน^(1, 31) ออกซิเจน ไนโตรเจน และแก๊สเฉื่อย (นีออน อาร์กอน คริปตอน)^(32, 33) พบว่านีออนถูกชะออกจากคอลัมน์เร็วที่สุด หรืออาจกล่าวว่าเป็นสารที่คงค้างน้อยที่สุดหรือไม่คงค้าง แต่เครื่องตรวจวัดแบบ FID ได้รับความนิยมมากและใช้กันแพร่หลายกว่านั้นไม่ตอบสนองต่อแก๊สนีออน จึงทำให้มีการใช้แก๊สมีเทนแทน ซึ่งพบว่าแก๊สมีเทนนี้มีการคงค้างได้ทุกอุณหภูมิ โดยเฉพาะที่อุณหภูมิต่ำ การใช้แก๊สมีเทนจึงต้องใช้อย่างระมัดระวัง Peterson and Hirsch⁽³⁴⁾ เริ่มต้นประมาณค่าเวลาศูนย์ด้วย สมการของ James and Martin (สมการ 77) โดยใช้ค่าเวลาคงค้าง ($t_{R,z}$, $t_{R,z+1}$, $t_{R,z+2}$) ของสารนอร์มัลอัลเคน 3 ตัวที่มีจำนวนคาร์บอนเป็น (z , $z+1$, $z+2$) ซึ่งเมื่อแก้สมการ (77) จะได้สมการ (78) ที่ใช้ คำนวณค่า t_M Gold⁽³⁵⁾ พบว่าหากวัดค่าเวลาคงค้าง ($t_{R,z+1}$) ของสาร $z+1$ ผิดพลาดเพียงเล็กน้อย ค่าเวลา ศูนย์ที่ได้จะแปรปรวนสูงเกินกว่าจะยอมรับได้

$$\ln \left(\frac{t_R - t_M}{t_M} \right) = A + Bz \quad \text{Eq. 77}$$

$$t_M = \left(\frac{t_{R,z} \cdot t_{R,z+2} - t_{R,z+1}^2}{t_{R,z} + t_{R,z+2} - 2t_{R,z+1}} \right) \quad \text{Eq. 78}$$

ต่อมา Grobler & Balizs⁽³⁶⁾ ได้ใช้วิธีทางสถิติเข้าช่วยคำนวณ โดย ด้วยการรีเกรสชัน 2 ครั้งหา ค่าความชันและจุดตัดกราฟเส้นตรง ระหว่างค่าเวลาคงค้างปรับแก้ของสารนอร์มัลอัลเคนที่อยู่ ถัดกัน 4-5 ตัว พบว่าค่าเวลาศูนย์ที่คำนวณได้มีความถูกต้องสูงขึ้น Guardino et al⁽³⁷⁾ ใช้วิธีการเดียวกัน แต่คำนวณ ด้วยการคำนวณซ้ำ โดยก่อนๆ แปรค่า t_M จนกระทั่งได้ค่า t_M ที่ให้สมการ Eq. 80 เป็นเส้นตรงมากที่สุด นอก เหนือจากวิธีการคำนวณดังที่กล่าวมาแล้ว ยังมีวิธีการคำนวณลักษณะอื่นๆ อีกหลายวิธี⁰ ที่ใช้สมการ (77) เป็นพื้นฐานการคำนวณ ส่วนวิธีการของ Quintanilla et al⁽³⁸⁾ นั้น ใช้สมการ non-linear ซึ่งมีความ ซับซ้อนมาก อย่างไรก็ตาม วิธีการทั้งหมดที่กล่าวมานั้น ล้วนเป็นการวิเคราะห์สารที่สถานะอุณหภูมิคงที่ และการวิเคราะห์จะต้องใช้สารอ้างอิงไม่ต่ำกว่า 3 ตัวและยังต้องสมมุติให้สถานะการทดลองค่า t_M นั้นคงที่ คือมีสถานะเหมือนกับการวิเคราะห์รวมสารตัวอย่างด้วย แต่ในทางปฏิบัติการควบคุมสถานะ ทดลอง (Chromatographic condition) ให้คงที่ตลอดเวลานั้นทำได้ค่อนข้างยาก โดย

เฉพาะการควบคุมอัตรา การไหลของแก๊สตัวพา (หรือความดัน) ซึ่งมีผลต่อค่า t_M การศึกษาในหัวข้อนี้เป็นการนำสมการ (32) สามารถจัดเรียงรูปใหม่เป็นสมการ (80) และนำมาใช้ในการคำนวณค่า t_M

$$t_M = \frac{t_R}{1 + e^{(a+bz+\frac{c}{T}+\frac{dz}{T})}} \quad \text{Eq. 79}$$

4.1 ที่สถานะอุณหภูมิคงที่

เพื่อไม่ให้เกิดความสับสน ระหว่างเทอม “ t_M ” ซึ่งเป็นค่าเวลาคงค้างปฐมภูมิของสารไม่คงค้าง ส่วนค่าเวลาศูนย์ที่คำนวณได้จากสมการ (79) นั้น ถือเป็นค่าเวลาศูนย์ทุติยภูมิ (secondary hold-up time) จึงใช้ t_{MS} ค่าคงที่ a, b, c และ d ของคอลัมน์แคพิลลารีชนิดไม่มีหัว HT-5 และ โอมEGA แวกซ์ หาดตาม วิธีการในบทการทดลอง และแทนค่าในสมการ (79) จะได้สมการ (80) และสมการ (81) ตามลำดับ

$$t_{MS} = t_R \cdot \left[1 + \exp \left(-7.626 - 0.685z + \frac{506.33z}{T} - \frac{28.266}{T} \right) \right]^{-1} \quad \text{Eq. 80}$$

$$t_{MS} = t_R \cdot \left[1 + \exp \left(-6.958 - 0.687z + \frac{487.44z}{T} - \frac{604.06}{T} \right) \right]^{-1} \quad \text{Eq. 81}$$

ในการทำนายค่าเวลาศูนย์ตามสมการ (80) และสมการ (81) นั้น จะแทนค่าอุณหภูมิ (T) ของสถานะการทดลองที่อุณหภูมิคงที่ของแต่ละคอลัมน์ จำนวนคาร์บอน (z) และค่าเวลาคงค้าง (t_R) ของสารนอร์มัลอัลเคนทีละค่า คำนวณด้วยโปรแกรมไมโครซอฟท์เอ็กเซล ผลการทำนายค่า t_{MS} ของแต่ละคอลัมน์ ได้รวบรวมไว้ในตารางที่ 4:1 และ 4:2

จากค่าทำนาย t_{MS} ที่อุณหภูมิคงที่ ในตารางที่ 4:1 ของคอลัมน์แคพิลลารีชนิด HT-5 เมื่อใช้เครื่องตรวจวัด TCD พบว่า ค่าทำนายมีความถูกต้องสูง และแตกต่างจากค่าอ้างอิงแก๊สนีออนมากที่สุดเพียง -0.29% (หรือ -0.24 วินาที) ขณะที่ค่าทำนายจากเครื่องตรวจวัด FID ในตารางที่ 4:2 นั้น ในการเปรียบเทียบความถูกต้อง จะใช้ $t_{M-\text{Guardino}}$ ที่ได้จากการคำนวณด้วยวิธี Guardino⁽⁵⁾ เป็นค่าอ้างอิง ค่าที่ทำนายได้จะแตกต่างจากค่าอ้างอิงค่อนข้างสูง คือ -2.15% (หรือ -1.86 วินาที) ทั้งนี้ อาจจะเป็นผลของการใช้ค่าอ้างอิงที่ต่างกัน และค่า $t_{M-\text{Guardino}}$ นั้น มักจะต่ำกว่าค่าเวลาคงค้างของแก๊สนีออนเล็กน้อย นอกจากนี้แล้ว ค่าคงที่ทั้ง 4 ของสมการ (81) นั้นสร้างขึ้นโดยใช้ค่า t_M จากนีออน การคำนวณกลับจะให้ค่า t_{MS} ใกล้เคียงกับนีออนมากกว่า $t_{M-\text{Guardino}}$ ผลต่างจึงสูงขึ้น

สำหรับค่า t_{MS} ของคอลัมน์แคพิลลารีมีหัว (โอมEGA แวกซ์) ตาม สมการ (81) ในตารางที่ 4:3 นั้น พบว่าค่าทำนายจะมีแม่นยำต่ำกว่า คอลัมน์ HT-5 เล็กน้อย สาเหตุอาจจะเนื่องมาจากผลของการวิเคราะห์ สารตัวอย่างที่ไม่มีหัวบนคอลัมน์ที่มีหัว สารตัวอย่างจะถูกชะออกจากคอลัมน์ได้รวดเร็ว

ความแม่นยำใน การวัดค่าจะลดลง ค่าทำนายที่แตกต่างจากค่าอ้างอิงสูงสุด คือค่าทำนายที่ได้จาก เครื่องตรวจวัด TCD มีค่าเป็น -1.23 % (-1.80 วินาที) ส่วนค่าทำนายของเครื่องตรวจวัด FID ในตารางที่ 4:4 มีค่าสูงสุดเป็น 1.14 % (1.68 วินาที)

ตารางที่ 4:1 ค่าทำนายเวลาสุญย์ (นาที) ของคอลัมน์แคปิลลารีชนิดไม่มีหัว HT-5 ที่สภาวะอุณหภูมิคงที่ (สมการ 80) เมื่อใช้เครื่องตรวจวัด TCD
 ตัวเลขในวงเล็บเป็นผลต่างระหว่างค่าที่คำนวณได้กับค่าที่ได้จากการทดลอง (เปลี่ยนหน่วยเป็นวินาที)

z	70 °C		75 °C		80 °C		85 °C		90 °C		95 °C	
	t _{MS}	% Δ	t _{MS}	% Δ	t _{MS}	% Δ	t _{MS}	% Δ	t _{MS}	% Δ	t _{MS}	% Δ
8	1.393	0.00(0.00)	1.407	-0.07(-0.06)	1.419	0.00(0.00)	1.432	0.00(0.00)	1.444	0.00(0.00)	1.460	0.00(0.00)
9	1.393	0.00(0.00)	1.408	0.00(0.00)	1.420	0.07(0.06)	1.432	0.00(0.00)	1.445	0.07(0.06)	1.460	0.00(0.00)
10	1.394	0.07(0.06)	1.409	0.07(0.06)	1.420	0.07(0.06)	1.433	0.07(0.06)	1.445	0.07(0.06)	1.461	0.07(0.06)
11	1.397	0.29(0.24)	1.408	0.00(0.00)	1.419	0.00(0.00)	1.432	0.00(0.00)	1.443	-0.07(-0.07)	1.461	0.07(0.06)
12	1.391	-0.14(-0.12)	1.405	-0.21(-0.18)	1.417	-0.14(-0.12)	1.431	-0.07(-0.06)	1.441	-0.21(-0.18)	1.459	-0.07(-0.06)
t _{M (recon)} (นาที)	1.393		1.408		1.419		1.432		1.444		1.460	
t _{MS-average} ^b (นาที)	1.393		1.407		1.419		1.432		1.444		1.460	

$$t_{MS-average}^a = \sum_{i=8}^{12} t_{MS}/n ; \quad \% \Delta = 100 \times (t_{MS} - t_{M-recon}) / t_{M-recon}$$

ตารางที่ 4:2 ค่าทำนายเวลาสุญญากาศของคอลัมน์แคปิลารีชนิดไม่มีหัว HT-5 ที่สภาวะอุณหภูมิคงที่ (สมการ 80) เมื่อใช้เครื่องตรวจวัด FID ตัวเลขในวงเล็บเป็นผลต่างระหว่าง ค่าที่คำนวณได้กับค่าที่ได้จากการทดลอง (เปลี่ยนหน่วยเป็นวินาที)

z	70 °C		75 °C		80 °C		85 °C		90 °C		95 °C	
	t _{MS}	% Δ	t _{MS}	% Δ ^c	t _{MS}	% Δ	t _{MS}	% Δ	t _{MS}	% Δ	t _{MS}	% Δ
8	1.418	0.07(0.06)	1.442	0.00(0.00)	1.447	0.28(0.24)	1.462	-0.07(-0.06)	1.482	0.27(0.24)	1.494	0.27(0.24)
9	1.415	-0.14(-0.12)	1.438	-0.28(-0.24)	1.446	0.21(0.18)	1.458	-0.34(-0.30)	1.481	0.20(0.18)	1.494	0.27(0.24)
10	1.410	-0.49(-0.42)	1.432	-0.69(-0.60)	1.439	-0.28(-0.24)	1.457	-0.41(-0.36)	1.477	-0.07(-0.06)	1.490	0.0(0.00)
11	1.402	-1.06(-0.90)	1.423	-1.32(-1.14)	1.429	-0.97(-0.84)	1.449	-0.96(-0.84)	1.467	-0.74(-0.66)	1.482	-0.54(-0.48)
12	1.391	-1.83(-1.56)	1.411	-2.15(-1.86)	1.416	-1.87(-1.62)	1.436	-1.84(-1.62)	1.455	-1.56(-1.38)	1.469	-1.41(-1.26)
t _{MS-average} ^a (นาที)	1.407		1.429		1.435		1.452		1.472		1.490	
t _{M-Guardino} ^b (นาที)	1.417		1.442		1.443		1.463		1.478		1.490	

$$^a t_{MS-average} = \sum_{i=8}^{12} t_{MS}/n : t_{M-Guardino} \text{ ตามวิธี Guardino et al }^{(37)} ; \text{ } ^c \% \Delta = (t_{MS} - t_{M-Guardino}) / t_{M-Guardino}$$

ตารางที่ 4:3 ค่าทำนายเวลาศูนย์กลางของคอลัมน์แคปิลลารีมีหัวชนิดโอมEGAหกซ์ ที่สภาวะอุณหภูมิคงที่ (สมการ 80) เมื่อใช้เครื่องตรวจวัด TCD ตัวเลขในวงเล็บเป็นผลต่างระหว่าง ค่าที่คำนวณได้กับค่าที่ได้จากการทดลอง (เปลี่ยนหน่วยเป็นวินาที)

z	75 °C		80 °C		85 °C		90 °C		95 °C		100 °C	
	t _{MS}	% Δ	t _{MS}	% Δ ^b	t _{MS}	% Δ	t _{MS}	% Δ	t _{MS}	% Δ	t _{MS}	% Δ
9	2.410	-0.17(-0.24)	2.427	-0.21(-0.30)	2.449	-0.08(-0.12)	2.469	-0.08(-0.12)	2.487	-0.29(-0.30)	2.502	-0.08(-0.12)
10	2.425	0.46(0.66)	2.433	-0.04(-0.06)	2.455	0.16(0.24)	2.474	0.12(0.18)	2.497	0.20(0.70)	2.508	0.16(0.24)
11	2.431	0.70(1.02)	2.439	0.29(0.42)	2.457	0.24(0.36)	2.477	0.24(0.36)	2.503	0.44(0.66)	2.511	0.28(0.42)
12	2.428	0.58(0.84)	2.429	-0.12(-0.18)	2.450	-0.04(-0.06)	2.471	0.00(0.00)	2.502	0.40(0.60)	2.504	0.00(0.00)
13	2.406	-0.33(-0.48)	2.402	-1.23(-1.80)	2.423	-1.14(-1.68)	2.450	-0.85(-1.26)	2.490	-0.08(-0.12)	2.484	-0.79(-1.20)
t _{M-theor} (นาที)		2.414	2.432		2.451		2.471		2.492		2.504	
t _{MS-average} (นาที)		2.420	2.426		2.447		2.468		2.496		2.502	

$$t_{MS-average}^a = \sum_{i=9}^{13} t_{MS}/n; \quad \% \Delta^b = 100 \times (t_{MS} - t_{M-theor}) / t_{M-theor}$$

ตารางที่ 4:4 ทำความเสถียรของคอลัมน์แคปิลารี่ชนิดมีหัวโคมแกว่ง ที่สภาวะอุณหภูมิคงที่ (สมการ 80) เมื่อใช้เครื่องตรวจวัด FID ตัวเลขในวงเล็บเป็นผลต่างระหว่าง ค่าที่คำนวณได้กับค่าที่ได้จากการทดลอง (เปลี่ยนหน่วยเป็นวินาที)

Z	75 °C		80 °C		85 °C		90 °C		95 °C		100 °C	
	t _{MS}	%Δ	t _{MS}	%Δ ^c	t _{MS}	%Δ	t _{MS}	%Δ	t _{MS}	%Δ	t _{MS}	%Δ
9	2.557	0.67(1.02)	2.549	0.55(0.84)	2.547	0.71(1.08)	2.538	0.28(0.42)	2.509	0.28(0.42)	2.479	0.61(0.90)
10	2.568	1.10(1.68)	2.556	0.83(1.26)	2.553	0.95(1.44)	2.539	0.32(0.48)	2.518	0.64(0.96)	2.482	0.73(1.08)
11	2.563	0.91(1.38)	2.553	0.71(1.08)	2.554	0.78(1.50)	2.542	0.44(0.66)	2.506	0.16(0.24)	2.491	1.09(1.62)
12	2.556	0.63(0.96)	2.559	0.75(1.44)	2.545	0.63(0.96)	2.540	0.36(0.54)	2.506	0.16(0.24)	2.492	1.14(1.68)
13	2.532	-0.32(-0.48)	2.526	-0.36(-0.54)	2.517	-0.47(-0.72)	2.526	-0.19(-0.30)	2.500	-0.08(-0.12)	2.478	0.57(0.84)
^a t _{MS-average} (นาที)	2.555		2.549		2.543		2.537		2.508		2.474	
^b t _{M-Guardino} (นาที)	2.540		2.535		2.529		2.531		2.502		2.464	

$$^a t_{MS-average} = \sum_{i=9}^{13} t_{MS}/n : t_{M-Guardino} \text{ ตามวิธี Guardino et al}^{(37)} \quad \% \Delta = (t_{MS} - t_{M-Guardino}) / t_{M-Guardino}$$

4.2 ที่สภาวะโปรแกรมอุณหภูมิ

เท่าที่รู้มานั้น ยังไม่เคยมีการรายงานวิธีการคำนวณหาค่าเวลาศูนย์ของแก๊สโครมาโตกราฟีที่สภาวะโปรแกรมอุณหภูมิเลย นอกจากนี้แล้ว การใช้เวลาคงค้างของแก๊สนีออนเป็นเวลาศูนย์สภาวะโปรแกรมอุณหภูมินั้น ไม่น่าจะถูกต้องทีเดียว เนื่องจาก เมื่ออุณหภูมิของคอลัมน์เปลี่ยนไป อัตราการไหลของแก๊สตัวพาจะเปลี่ยนไปด้วย กล่าวคือ เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ความหนืดของแก๊สจะเพิ่มสูงขึ้น (ตรงข้ามกับของเหลว) ดังนั้นอัตราไหลของแก๊สตัวพาจะต่ำลง เวลาคงค้างของแก๊สนีออนที่ถูกชะออกจากคอลัมน์จึงน่าจะเป็นผลรวมของอุณหภูมิ และเป็นตัววัดอัตราไหลเฉลี่ยของแก๊สตัวพา ไม่ใช่เป็นค่าวัดอัตราไหลของแก๊สตัวพา ณ อุณหภูมิเริ่มต้น การศึกษานี้จึงเป็นความพยายามที่จะคำนวณหาอัตราไหลของแก๊สตัวพา หรือ ค่า $t_{m,0}$ ณ อุณหภูมิเริ่มต้น การทำนายค่า $t_{m,0}$ ของแก๊สโครมาโตกราฟีที่สภาวะโปรแกรมอุณหภูมิทำได้ใช้สมการ (48) เมื่อแทนค่าคงตัวคอลัมน์ทั้งสี่ลงในสมการ (48) จะได้สมการทำนายของคอลัมน์แคปิลารี่ชนิดไม่มีหัว HT-5

$$t_R = \sum_{i=1}^m \left(\frac{t_{MS}}{m} \right) \cdot \left[1 + \exp \left(\frac{506.33z + 28.266}{T_i} - (7.626 + 0.685z) \right) \right] \quad \text{Eq. 82}$$

และสมการทำนายของคอลัมน์แคปิลารี่ชนิดมีหัว โอเมกาเวกซ์

$$t_R = \sum_{i=1}^m \left(\frac{t_{MS}}{m} \right) \cdot \left[1 + \exp \left(\frac{487.44z - 604.487}{T} - (6.958 + 0.687z) \right) \right] \quad \text{Eq. 83}$$

การทำนายตาม Eq. 82 และ 83 นั้น ความสัมพันธ์ของค่าเวลาศูนย์ในเทอม $t_{MS} = t_{m,i} [1 + g(\theta_i - T_i)]$ จะได้ค่าทำนาย 2 ค่า คือ ค่า t_{MS} ที่มีการปรับแก้อัตราการไหลของแก๊สตัวพา (g) ที่ลดลงเนื่องจากความหนืดของแก๊สตัวพาที่เพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิเดอบ (T_i) และ ค่า $t_{m,i}$ ที่เป็นค่าเวลาศูนย์ ณ จุดเริ่มต้น ก่อนที่อุณหภูมิจะเพิ่มตามโปรแกรมอุณหภูมิที่ตั้งไว้ของแต่ละสภาวะการทดลอง

วิธีทำนายค่าเวลาศูนย์ที่สภาวะโปรแกรมอุณหภูมิ ด้วยโปรแกรมไมโครซอฟท์เอ็กเซลตามสมการ (82) และ (83) นั้น ดูตัวอย่างการคำนวณในภาคผนวก ค สำหรับผลการทำนายที่ สภาวะโปรแกรมอุณหภูมิ ของคอลัมน์แคปิลารี่ชนิดโอเมกาเวกซ์ เมื่อใช้เครื่องตรวจวัด TCD ในตารางที่ 4:5 พบว่า ทุกอัตราการเพิ่ม อุณหภูมิค่าทำนายเวลาศูนย์จะแตกต่างจากค่าอ้างอิงแก๊สนีออนในทิศทางที่มากกว่าเหมือนกันและมีผลต่าง สูงสุด คือ 1.27 % (1.80 วินาที) ส่วนผลการทำนายที่ได้จากเครื่องตรวจวัด FID ในตารางที่ 4:4 นั้น พบว่า ทุกสภาวะการทดลองมีผลต่างจากค่าอ้างอิง $t_{m-\text{hexane}}$ ที่ค่อนข้างสูงโดย

มีค่าสูงสุดเป็น 1.32 % (1.80 วินาที) ผลการศึกษาสภาวะโปรแกรมอุณหภูมิโดยไม่ใช้สารอ้างอิง โดยใช้ค่าเวลาคงค้างของเฮกเซน ซึ่งเป็นพิกแรกของโครมาโตแกรมเป็นค่าเวลาศูนย์คอลลัมน์ พบว่า ค่าทำนายแตกต่างจากค่าที่ได้จากการทดลองมีความถูกต้องในระดับหนึ่ง แต่ค่าทำนายมีความถูกต้องลดลงเมื่ออัตราการเพิ่มอุณหภูมิสูงขึ้น ดังนั้น หากสมการนี้สามารถทำนายค่าเวลาศูนย์ของสภาวะโปรแกรมอุณหภูมิได้ ก็จะเป็นการลดความผิด พลาดการแปรผลค่าเวลาคงค้างของสารที่มีค่าเวลาคงค้างใกล้เคียงกันให้ลดลง และทำให้ผลการทำนาย ของการวิเคราะห์เอกลักษณ์สาร โดยไม่ใช้สารอ้างอิง มีความถูกต้องแม่นยำสูงขึ้น

ตารางที่ 4.5 ค่าพารามิเตอร์ของคอลัมน์แคปิลลารีชนิดไม่แข็ง HT-5 ที่สภาวะโปรแกรมอุณหภูมิเพื่อให้เครื่องตรวจวัด TCD ตัวเลขในวงเล็บ

เป็นผลต่างระหว่าง ค่าที่คำนวณได้กับค่าที่ได้จากการทดลอง (เปรียบเทียบเป็นปกติ)

Z	อัตราเพิ่มอุณหภูมิ 4°C/นาที $t_{M-recon}=1.364$ นาที			อัตราเพิ่มอุณหภูมิ 8°C/นาที $t_{M-recon}=1.372$ นาที			อัตราเพิ่มอุณหภูมิ 15°C/นาที $t_{M-recon}=1.394$ นาที			อัตราเพิ่มอุณหภูมิ 20°C/นาที $t_{M-recon}=1.406$ นาที		
	t_R	t_{MS}	% Δ ¹	t_R	t_{MS}	% Δ	t_R	t_{MS}	% Δ	t_R	t_{MS}	% Δ
8	1.781	1.358	-0.44(-0.36)	1.747	1.367	-0.36(-0.30)	1.705	1.383	-0.80(-0.66)	1.685	1.395	-0.78(-0.66)
9	2.255	1.355	-0.66(-0.54)	2.138	1.360	-0.87(-0.72)	2.003	1.374	-1.43(-1.20)	1.938	1.385	-1.49(-1.26)
10	3.177	1.351	-0.95(-0.78)	2.842	1.355	-1.24(-1.02)	2.498	1.3665	-1.94(-1.62)	2.347	1.379	-1.92(-1.62)
11	4.759	1.348	-1.17(-0.96)	3.927	1.354	-1.31(-1.08)	3.200	1.368	-1.86(-1.56)	2.902	1.377	-1.99(-1.68)
12	7.062	1.353	-0.81(-0.66)	5.340	1.364	-0.58(-0.48)	4.047	1.382	-0.86(-0.72)	3.559	1.390	-1.14(-0.96)

$$^1 \% \Delta = 100 \times (t_{MS} - t_{M-recon}) / t_{M-recon}$$

ตารางที่ 4:6 ค่ากำหนดเวลาของคอลัมน์แคปิลารีชนิดไม่มีหัว HT-5 ที่สภาวะโปรแกรมอุณหภูมิเมื่อใช้เครื่องตรวจวัด FID ตัวเลขในวงเล็บ เป็นผลต่างระหว่างค่าที่คำนวณได้กับค่าที่ได้จากการทดลอง (เปลี่ยนหน่วยเป็นนาที)

Z	อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 6°C/นาที $t_{M-hexane}^a = 1.368$ นาที			อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 10°C/นาที $t_{M-hexane} = 1.356$ นาที			อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 15°C/นาที $t_{M-hexane} = 1.385$ นาที			อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 20°C/นาที $t_{M-hexane} = 1.388$ นาที		
	t_R	t_{MS}	% Δ^b	t_R	t_{MS}	% Δ	t_R	t_{MS}	% Δ	t_R	t_{MS}	% Δ
8	1.769	1.367	-0.07(-0.06)	1.737	1.374	-0.12(-0.10)	1.707	1.383	-0.07(-0.06)	1.673	1.383	-0.32(-0.27)-
9	2.206	1.365	-0.22(-0.18)	2.106	1.372	-0.27(-0.22)	2.017	1.383	-0.07(-0.06)	1.937	1.383	0.35(-0.29)
10	3.015	1.363	-0.36(-0.30)	2.746	1.371	-0.34(-0.28)	2.527	1.385	0.04(0.03)	2.355	1.383	-0.35(-0.29)
11	4.316	1.369	0.07(0.06)	3.694	1.374	-0.15(-0.13)	3.239	1.391	0.47(0.39)	2.926	1.393	0.33(0.28)
12	6.076	1.374	0.45(0.36)	4.875	1.381	0.38(0.32)	4.078	1.398	0.97(0.81)	3.576	1.399	0.83(0.69)

^a $t_{M-hexane}$ คำนวณตามสมการ (80); ^b % $\Delta = 100 \times (t_{MS} - t_{M-hexane}) / t_{M-hexane}$

ตารางที่ 4:7 ค่าทำนายเวลาช้อนของคอลัมน์แคปิลลารีชนิดมีหัวโอเมกาแวกซ์ ที่สภาวะโปรแกรมอุณหภูมิ เมื่อใช้เครื่องตรวจวัด TCD ตัวเลขในวงเล็บเป็น

ผลต่างระหว่าง ค่าที่คำนวณได้กับค่าที่ได้จากการทดลอง (เปลี่ยนหน่วยเป็นวินาที)

Z	อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 4 °C/นาที $t_{M-theor} = 2.345$ นาที			อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 8 °C/นาที $t_{M-theor} = 2.365$ นาที			อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 15 °C/นาที $t_{M-theor} = 2.406$ นาที			อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 20 °C/นาที $t_{M-theor} = 2.440$ นาที		
	t_R	t_{MS}	% Δ^a	t_R	t_{MS}	% Δ	t_R	t_{MS}	% Δ	t_R	t_{MS}	% Δ
9	2.609	2.364	0.81(1.14)	2.601	2.387	0.93(1.32)	2.594	2.421	0.62(0.90)	2.601	2.449	0.37(0.54)
10	2.860	2.370	1.07(1.50)	2.810	2.394	1.23(1.74)	2.753	2.428	0.91(1.32)	2.737	2.458	0.74(1.08)
11	3.328	2.369	1.02(1.43)	3.180	2.395	1.27(1.80)	3.021	2.433	1.12(1.62)	2.958	2.463	0.94(1.38)
12	4.157	2.357	0.51(0.72)	3.789	2.389	1.02(1.44)	3.431	2.431	1.04(1.50)	3.283	2.457	0.697(1.02)
13	5.508	2.346	0.04(0.06)	4.689	2.380	0.63(0.90)	4.002	2.432	1.08(1.56)	3.742	2.469	1.189(1.74)

$$^a \% \Delta = 100 \times (t_{MS} - t_{M-theor}) / t_{M-theor}$$

ตารางที่ 4:8 ค่าทำนายเวลาสุญญากาศของคอลัมน์แคปิลลารีชนิดมีหัวโอมEGAแวร์ซ์ ที่สภาวะโปรแกรมอุณหภูมิ เมื่อใช้เครื่องตรวจวัด FID ตัวเลขในวงเล็บเป็นผลต่างระหว่าง ค่าที่คำนวณได้กับค่าที่ได้จากการทดลอง (เปลี่ยนหน่วยเป็นวินาที)

Z	อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 6°C/นาที $t_{M-hexane}^a = 2.191$ นาที			อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 10°C/นาที $t_{M-hexane} = 2.216$ นาที			อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 15°C/นาที $t_{M-hexane} = 1.369$ นาที			อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 20°C/นาที $t_{M-hexane} = 1.372$ นาที		
	t_R	t_{MS}	% Δ^b	t_R	t_{MS}	% Δ	t_R	t_{MS}	% Δ	t_R	t_{MS}	% Δ
9	2.431	2.215	0.96(1.26)	2.425	2.234	0.81(1.08)	2.431	2.264	0.76(1.02)	2.433	2.286	0.66(0.90)
10	2.650	2.222	1.27(1.68)	2.609	2.240	1.08(1.44)	2.584	2.270	1.02(1.38)	2.564	2.293	0.97(1.32)
11	3.044	2.221	1.23(1.62)	2.929	2.240	1.08(1.44)	2.844	2.274	1.18(1.59)	2.781	2.298	1.19(1.62)
12	3.712	2.207	0.58(0.76)	3.452	2.237	0.95(1.26)	3.247	2.272	1.11(1.50)	3.111	2.301	1.32(1.80)
13	4.730	2.177	-0.75(-0.98)	4.194	2.220	0.18(0.24)	3.804	2.267	0.89(1.20)	3.555	2.298	1.19(1.62)

^a $t_{M-hexane}$ คำนวณตามสมการ (80); ^b % $\Delta = 100 \times (t_{MS} - t_{M-hexane}) / t_{M-hexane}$

4.3 สรุปและข้อเสนอแนะ

สมการ (32) เมื่อนำมาจัดรูปใหม่สามารถที่จะนำมาประยุกต์ใช้หาค่าเวลาศูนย์ (t_m) ได้แม่นยำ และถือเป็นวิวัฒนาการอีกขั้นหนึ่งในการหาค่า t_m ที่สะดวกรวดเร็ว และสามารถคำนวณได้จากพีชของเฮกเซนที่ใช้เป็นตัวทำละลายสารตัวอย่าง แต่หากสารตัวอย่างไม่ละลายหรือละลายได้ไม่ดี ตัวทำละลายอื่น น่าจะยังใช้หาค่า t_m หากรู้ค่า I ของมัน นอกจากนี้แล้ว สมการ (32) นี้ยังสามารถนำมาประยุกต์หาค่า t_m ใน TPGC ได้อย่างแม่นยำ และยังไม่เคยมีรายงานการหาค่า t_m ในสถานะโปรแกรมอุณหภูมิ ทว่า วิธีการคำนวณอาจจะ มีความยุ่งยากสำหรับผู้ที่ไม่คุ้นเคยกับวิธีการคำนวณ อย่างไรก็ตาม ค่า t_m ดังที่ทราบกันทั่วไปว่ามีความสำคัญใน การคำนวณเวลาคงค้างสาร เพราะค่านี้เกี่ยวข้องกับอัตราไหลของแก๊สตัวพา หากมีวิธีการที่ง่าย ก็จะเป็นที่นิยมใช้กัน แพร่หลายมากขึ้น

5 การวิเคราะห์เอกลักษณ์สาร FAMES จากเมสสเปกตรัมที่สภาวะโปรแกรมอุณหภูมิ

หัวข้อนี้เป็นการนำสมการวิเคราะห์เอกลักษณ์สาร (สมการ 32) มาใช้ในวิเคราะห์เอกลักษณ์กรดไขมันเมทิลเอสเทอร์จากธรรมชาติในสภาวะโปรแกรมอุณหภูมิต่างๆ โดยใช้น้ำมันจากเมสสเปกตรัมที่สภาวะอุณหภูมิซึ่งมีกรดไขมัน หลากหลายเป็นตัวแทน โดยคำนวณความยาวคาร์บอนเทียบเท่า (ECL) สามารถคำนวณได้จากสมการ (32) และวิธี การของ Cavalli และ Guinchard⁽¹⁸⁾ มาประยุกต์ร่วมกัน ได้ดังสมการ (84)

$$t_R = \sum_{i=1}^m \frac{t_{M_i}}{m} \left[1 + e^{\left(\frac{c+dz}{\theta(t_{i-1})} + (a+bz) \right)} \right] \quad \text{Eq. 84}$$

โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ภาษาเบสิกมาช่วยในการคำนวณ และใช้ค่าคงที่ a, b, c และ d ของ FAMES ที่สภาวะอุณหภูมิคงที่ จากการทดลองพบว่า a, b, c และ d ของคอลัมน์ Rix-2330 (80% cyanopropyl polysilaxane) มีค่าเท่ากับ -9.31, -0.54, 1448.10 และ 401.81 ตามลำดับ แทนค่าลงในสมการ (84) ได้ดังสมการ (85)

$$t_R = \sum_{i=1}^m \frac{t_{M_i}}{m} \left[1 + e^{\left(\frac{1448.10+401.81z}{\theta(t_{i-1})} + (-9.31-0.54z) \right)} \right] \quad \text{Eq. 85}$$

การวิเคราะห์เอกลักษณ์สามารถทำได้โดยสมมติแทนค่า z ลงในสมการ (85) จนกระทั่งทำให้ค่า t_R ที่คำนวณได้มีความแตกต่างจากค่า t_R ของสารที่อ่านได้จากโครมาโตแกรมน้อยกว่า 0.001 ด้วยโปรแกรม คอมพิวเตอร์ภาษาเบสิกในการทดลองนี้ได้ทำการศึกษาที่สภาวะโปรแกรมอุณหภูมิแบบต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 5:1

ตารางที่ 5:1 แสดงสถานะ โปรแกรมอุณหภูมิต่าง ๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์เอกลักษณ์สาร FAMES

สัญลักษณ์	ลำดับ ขั้นที่	อุณหภูมิ เริ่มต้น (°C)	อุณหภูมิ สุดท้าย (°C)	อัตราการเพิ่ม อุณหภูมิ (°C/min)	Hold time เริ่มต้น (min)
แบบขั้นเดียว (single step)					
A1	1	160	220	2	2
A2	1	160	220	4	2
A3	1	160	220	6	2
A4	1	160	220	8	2
A5	1	160	220	10	2
แบบสองขั้น (two step)					
B1	1	160	190	3	2
	2	190	220	6	0
B2	1	160	190	4	2
	2	190	220	8	0
B3	1	150	190	8	2
	2	190	220	4	0
สัญลักษณ์	ลำดับ ขั้นที่	อุณหภูมิ เริ่มต้น (°C)	อุณหภูมิ สุดท้าย (°C)	อัตราการเพิ่ม อุณหภูมิ (°C/min)	Hold time เริ่มต้น (min)
แบบสามขั้น (three step)					
C1	1	160	180	3	2
	2	180	200	5	0
	3	200	220	6	0
C2	1	160	180	4	2
	2	180	200	5	0
	3	200	220	6	0
C3	1	150	180	6	2
	2	180	200	5	0
	3	200	220	4	0

ตารางที่ 5:1 (ต่อ)

แบบสี่ขั้น (four step)					
D1	1	160	170	2	2
	2	170	180	4	0
	3	180	190	5	0
	4	190	220	6	0
D2	1	150	170	6	2
	2	170	180	4	0
	3	180	190	3	0
	4	190	220	5	0
D3	1	140	170	8	2
	2	170	180	4	0
	3	180	190	3	0
	4	190	220	5	0

5.1 การวิเคราะห์เอกลักษณ์สาร FAMES จากเมสสเปกโตรเมทรีแก๊สโครมาโทกราฟีแบบขั้นเดียว

อุณหภูมิคอลัมน์เริ่มตั้งแต่ 160-220 °C โดยใช้อัตราการเพิ่มที่สถานะของอุณหภูมิต่างๆ คือ 2, 4, 6, 8 และ 10 °C/min ดังแสดงในตารางที่ 5:2-5:6

ตารางที่ 5:2 แสดงค่าร้อยละความผิดพลาดของจำนวนคาร์บอนที่ได้จากสมการ (85) ที่สถานะโปรแกรมอุณหภูมิแบบ AI

	t_R (min)	T_R (°C)	ECL ^a	ECL ^b	%Δ ^c
เฮกเซน FAMES	1.842	160	-	-	-
16:0	4.232	164.46	16.04	16.00	0.25
17:0	5.238	166.47	17.04	17.00	0.24
18:0	6.567	169.12	18.03	18.00	0.17
18:1	6.804	169.60	18.19	18.18	0.06
18:2	7.525	171.40	18.62	18.59	0.16
18:3	8.665	173.32	19.25	19.21	0.21
20:0	10.294	176.57	20.03	20.00	0.15
20:1	10.570	177.13	20.15	20.18	-0.15
20:2	11.568	179.12	20.59	20.59	0.00
22:0	15.262	186.51	22.04	22.00	0.18
22:1	15.578	187.14	22.15	22.18	-0.14
24:1	21.259	198.50	24.17	24.18	-0.04

^aECL เป็นจำนวนคาร์บอนเทียบเท่าที่คำนวณได้จากสมการ (85)

^bECL เป็นจำนวนคาร์บอนเทียบเท่าที่ได้จากรายงานของ Krisnangkura⁽¹⁶⁾ และ Christic⁽²²⁾

^c%Δ มีค่าเท่ากับ $100 \times (ECL^a - ECL^b) / ECL^b$

ตารางที่ 5:3 แสดงค่าร้อยละความผิดพลาดของจำนวนคาร์บอนที่ได้จากสมการ (85) ที่สภาวะ
โปรแกรมอุณหภูมิแบบ A2

FAMEs	t_R (min)	T_R (°C)	ECL ^a	ECL ^b	%Δ ^c
เฮกเซน FAMEs	1.849	160	-	-	-
16:0	4.127	168.49	16.01	16.00	0.06
17:0	4.992	171.95	17.00	17.00	0.00
18:0	6.059	176.22	17.99	18.00	-0.06
18:1	6.249	176.98	18.15	18.18	-0.17
18:2	6.799	179.18	18.60	18.59	0.05
18:3	7.633	182.51	19.23	19.21	0.10
20:0	8.717	186.85	19.98	20.00	-0.10
20:1	8.915	187.64	20.13	20.18	-0.25
20:2	9.560	190.22	20.56	20.59	-0.15
22:0	11.792	199.15	22.01	22.00	0.05
22:1	12.002	199.99	22.14	22.18	-0.18
24:1	15.188	212.73	24.19	24.18	0.04

^aECL เป็นจำนวนคาร์บอนเทียบเท่าที่คำนวณได้จากสมการ (85)

^bECL เป็นจำนวนคาร์บอนเทียบเท่าที่ได้จากรายงานของ Krisnangkura⁽¹⁶⁾ และ Christie⁽²²⁾

^c%Δ มีค่าเท่ากับ $100 \times (ECL^a - ECL^b) / ECL^b$

ตารางที่ 5:4 แสดงค่าร้อยละความผิดพลาดของจำนวนคาร์บอนที่ได้จากสมการ (85) ที่สภาวะ
โปรแกรมอุณหภูมิแบบ A3

FAMEs	t_R (min)	T_R (°C)	ECL ^a	ECL ^b	%Δ ^c
เฮกเซน FAMEs	1.845	160	-	-	-
16:0	4.016	172.08	15.97	16.00	-0.19
17:0	4.779	176.65	16.97	17.00	-0.18
18:0	5.674	182.02	17.95	18.00	-0.28
18:1	5.839	183.01	18.12	18.18	-0.33
18:2	6.288	185.70	18.57	18.59	-0.11
18:3	6.953	189.69	19.20	19.21	-0.05
20:0	7.767	194.58	19.95	20.00	-0.25
20:1	7.928	195.54	20.10	20.18	-0.40
20:2	8.428	198.54	20.55	20.59	-0.19
22:0	10.031	208.16	21.99	22.00	-0.05
22:1	10.202	209.19	22.15	22.18	-0.14
24:1	12.453	220	24.23	24.18	0.21

^aECL เป็นจำนวนคาร์บอนเทียบเท่าที่คำนวณได้จากสมการ (85)

^bECL เป็นจำนวนคาร์บอนเทียบเท่าที่ได้จากรายงานของ Krisnangkura⁽¹⁶⁾ และ Christie⁽²²⁾

^c%Δ มีค่าเท่ากับ $100 \times (ECL^a - ECL^b) / ECL^b$

ตารางที่ 5:5 แสดงค่าร้อยละความผิดพลาดของจำนวนคาร์บอนที่ได้จากสมการ (85) ที่สภาวะ
โปรแกรมอุณหภูมิแบบ A4

	t_R (min)	T_R (°C)	ECL ^a	ECL ^b	%Δ ^c
เฮกเซน FAMEs	1.841	160	-	-	-
16:0	3.933	175.44	15.96	16.00	-0.25
17:0	4.619	180.93	16.95	17.00	-0.29
18:0	5.402	187.19	17.93	18.00	-0.39
18:1	5.542	188.31	18.10	18.18	-0.44
18:2	5.923	191.36	18.55	18.59	-0.22
18:3	6.482	195.83	19.19	19.21	-0.10
20:0	7.144	201.12	19.94	20.00	-0.30
20:1	7.279	202.20	20.09	20.18	-0.45
20:2	7.682	205.43	20.54	20.59	-0.24
22:0	8.945	215.53	21.99	22.00	-0.05
22:1	9.080	216.61	22.15	22.18	-0.14
24:1	10.900	220	24.16	24.18	-0.08

^aECL เป็นจำนวนคาร์บอนเทียบเท่าที่คำนวณได้จากสมการ (85)

^bECL เป็นจำนวนคาร์บอนเทียบเท่าที่ได้จากรายงานของ Krisnangkura⁽¹⁶⁾ และ Christie⁽²²⁾

^c%Δ มีค่าเท่ากับ $100 \times (ECL^a - ECL^b) / ECL^b$

ตารางที่ 5:6 แสดงค่าร้อยละความผิดพลาดของจำนวนคาร์บอนที่ได้จากสมการ (85) ที่สภาวะโปรแกรมอุณหภูมิแบบ A5

	t_R (min)	T_R (°C)	ECL ^a	ECL ^b	%Δ ^c
เฮกเซน FAMEs	1.833	160	-	-	-
16:0	3.862	178.59	15.96	16.00	-0.25
17:0	4.491	184.88	16.94	17.00	-0.35
18:0	5.187	191.84	17.93	18.00	-0.39
18:1	5.316	193.13	18.10	18.18	-0.44
18:2	5.651	196.48	18.55	18.59	-0.22
18:3	6.133	201.30	19.19	19.21	-0.10
20:0	6.691	206.88	19.94	20.00	-0.30
20:1	6.808	208.05	20.09	20.18	-0.45
20:2	7.150	211.47	20.55	20.59	-0.19
22:0	8.203	220	22.00	22.00	0.00
22:1	8.341	220	22.19	22.18	0.05
24:1	10.053	220	24.22	24.18	0.17

^aECL เป็นจำนวนคาร์บอนเทียบเท่าที่คำนวณได้จากสมการ (85)

^bECL เป็นจำนวนคาร์บอนเทียบเท่าที่ได้จากรายงานของ Krisnangkura⁽¹⁶⁾ และ Christie⁽²²⁾

^c%Δ มีค่าเท่ากับ $100 \times (ECL^a - ECL^b) / ECL^b$

5.2 การวิเคราะห์เอกลักษณ์สาร FAMES จากเมสสเปกตรัมแก๊สโครมาโทกราฟีที่สภาวะโปรแกรมอุณหภูมิ แบบสองขั้น

โดยมีผลการทดลองทั้งหมด 3 การทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 5:7- 5:9

ตารางที่ 5:7 แสดงค่าร้อยละความผิดพลาดของจำนวนคาร์บอนที่ได้จากสมการ (85) ที่สภาวะโปรแกรมอุณหภูมิ แบบ B1

	t_R (min)	T_R (°C)	ECL ^a	ECL ^b	%Δ ^c
เฮกเซน FAMES	1.848	160	-	-	-
16:0	4.184	166.54	16.03	16.00	0.19
17:0	5.115	169.33	17.02	17.00	0.12
18:0	6.297	172.88	18.01	18.00	0.06
18:1	6.508	173.51	18.17	18.18	-0.06
18:2	7.13	175.37	18.61	18.59	0.11
18:3	8.094	178.27	19.24	19.21	0.16
20:0	9.396	182.17	20.01	20.00	0.05
20:1	9.625	182.86	20.14	20.18	-0.20
20:2	10.413	185.22	20.58	20.59	-0.05
22:0	13.103	196.58	22.01	22.00	0.05
22:1	13.321	197.89	22.14	22.18	-0.18
24:1	16.461	216.74	24.17	24.18	-0.04

^aECL เป็นจำนวนคาร์บอนเทียบเท่าที่คำนวณได้จากสมการ (85)

^bECL เป็นจำนวนคาร์บอนเทียบเท่าที่ได้จากรายงานของ Krisnangkura⁽¹⁶⁾ และ Christie⁽²²⁾

^c%Δ มีค่าเท่ากับ $100 \times (ECL^a - ECL^b) / ECL^b$

ตารางที่ 5:8 แสดงค่าร้อยละความผิดพลาดของจำนวนคาร์บอนที่ได้จากสมการ (85) ที่สภาวะ
โปรแกรมอุณหภูมิแบบ B2

	t_R (min)	T_R (°C)	ECL ^a	ECL ^b	%Δ ^c
เลขเขน FAMEs	1.834	160	-	-	-
16:0	4.113	168.44	16.03	16.00	0.19
17:0	4.98	171.90	17.02	17.00	0.12
18:0	6.047	176.17	18.01	18.00	0.06
18:1	6.238	176.93	18.17	18.18	-0.06
18:2	6.784	179.12	18.61	18.59	0.11
18:3	7.618	182.45	19.24	19.21	0.16
20:0	8.708	186.81	20.01	20.00	0.05
20:1	8.905	187.60	20.15	20.18	-0.15
20:2	9.554	190.39	20.58	20.59	-0.05
22:0	11.499	205.96	22.00	22.00	0.00
22:1	11.673	207.35	22.14	22.18	-0.18
24:1	14.042	220	24.25	24.18	0.29

^aECL เป็นจำนวนคาร์บอนเทียบเท่าที่คำนวณได้จากสมการ (85)

^bECL เป็นจำนวนคาร์บอนเทียบเท่าที่ได้จากรายงานของ Krisnangkura⁽¹⁶⁾ และ Christie⁽²²⁾

^c%Δ มีค่าเท่ากับ $100 \times (ECL^a - ECL^b) / ECL^b$

ตารางที่ 5:9 แสดงค่าร้อยละความผิดพลาดของจำนวนคาร์บอนที่ได้จากสมการ (85) ที่สถานะ
โปรแกรมอุณหภูมิแบบ B3

	t_R (min)	T_R (°C)	ECL ^a	ECL ^b	%Δ ^c
เลขฐาน FAMEs	1.800	150	-	-	-
16:0	4.661	171.26	16.00	16.00	0.00
17:0	5.502	177.99	16.98	17.00	-0.12
18:0	6.408	185.24	17.97	18.00	-0.17
18:1	6.554	186.40	18.13	18.18	-0.28
18:2	6.974	189.76	18.57	18.59	-0.11
18:3	7.607	192.41	19.23	19.21	0.10
20:0	8.419	195.66	20.02	20.00	0.10
20:1	8.573	196.28	20.17	20.18	-0.05
20:2	9.068	198.25	20.62	20.59	0.15
22:0	10.741	204.95	22.08	22.00	0.36
22:1	10.918	205.65	22.22	22.18	0.18
24:1	13.507	216.01	24.29	24.18	0.45

^aECL เป็นจำนวนคาร์บอนเทียบเท่าที่คำนวณได้จากสมการ (85)

^bECL เป็นจำนวนคาร์บอนเทียบเท่าที่ได้จากรายงานของ Krisnangkura⁽¹⁶⁾ และ Christie⁽²²⁾

^c%Δ มีค่าเท่ากับ $100 \times (ECL^a - ECL^b) / ECL^b$

โดยมีผลการทดลองทั้งหมด 3 การทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 5:10 – 5:12

	t_R (min)	T_R ($^{\circ}\text{C}$)	ECL ^a	ECL ^b	% Δ ^c
ไฮดรอกซี FAMES	1.83	160	-	-	-
16:0	4.129	166.38	16.00	16.00	0.00
17:0	5.051	169.14	17.00	17.00	0.00
18:0	6.221	172.65	17.99	18.00	-0.06
18:1	6.433	173.28	18.15	18.18	-0.17
18:2	7.051	175.14	18.59	18.59	0.00
18:3	8.012	178.02	19.22	19.21	0.05
20:0	9.281	183.04	19.99	20.00	-0.05
20:1	9.498	184.13	20.11	20.18	-0.35
20:2	10.218	187.73	20.54	20.5	-0.24
22:0	12.56	199.44	21.99	22.00	-0.05
22:1	12.772	200.60	22.12	22.18	-0.27
24:1	15.649	217.87	24.17	24.18	-0.04

^c %Δ มีค่าเท่ากับ $100 \times (ECL^a - ECL^b) / ECL^b$

ตารางที่ 5:11 แสดงค่าร้อยละความผิดพลาดของจำนวนคาร์บอนที่ได้จากสมการ (85) ที่สภาวะ
โปรแกรมอุณหภูมิแบบ C2

	t_R (min)	T_R (°C)	ECL ^a	ECL ^b	%Δ ^c
เฮกเซน FAMES	1.841	160	-	-	-
16:0	4.117	168.45	16.02	16.00	0.12
17:0	4.981	171.91	17.01	17.00	0.06
18:0	6.048	176.17	18.00	18.00	0.00
18:1	6.240	176.94	18.16	18.18	-0.11
18:2	6.789	179.14	18.60	18.59	0.05
18:3	7.615	183.05	19.23	19.21	0.10
20:0	8.661	188.28	19.99	20.00	-0.05
20:1	8.851	189.23	20.13	20.18	-0.25
20:2	9.470	192.33	20.57	20.59	-0.10
22:0	11.497	202.95	22.02	22.00	0.09
22:1	11.678	204.04	22.15	22.18	-0.14
24:1	14.306	219.81	24.22	24.18	0.17

^aECL เป็นจำนวนคาร์บอนเทียบเท่าที่คำนวณได้จากสมการ (85)

^bECL เป็นจำนวนคาร์บอนเทียบเท่าที่ได้จากรายงานของ Krisnangkura⁽¹⁶⁾ และ Christie⁽²²⁾

^c%Δ มีค่าเท่ากับ $100 \times (ECL^a - ECL^b) / ECL^b$

ตารางที่ 5:12 แสดงค่าร้อยละความผิดพลาดของจำนวนคาร์บอนที่ได้จากสมการ (85) ที่สภาวะโปรแกรมอุณหภูมิแบบ C3

	t_R (min)	T_R (°C)	ECL ^a	ECL ^b	%Δ ^c
เฮกเซน FAMEs	1.819	150	-	-	-
16:0	4.856	167.11	16.01	16.00	0.06
17:0	5.827	172.94	17.00	17.00	0.00
18:0	6.911	179.94	17.99	18.00	-0.06
18:1	7.083	180.39	18.15	18.18	-0.17
18:2	7.599	182.97	18.59	18.59	0.00
18:3	8.365	186.80	19.23	19.21	0.10
20:0	9.339	191.67	20.01	20.00	0.05
20:1	9.510	192.53	20.15	20.18	-0.15
20:2	10.072	195.34	20.59	20.5	0.00
22:0	11.953	203.79	22.06	22.00	0.27
22:1	12.143	204.55	22.21	22.18	0.14
24:1	14.895	215.56	24.27	24.18	0.37

^aECL เป็นจำนวนคาร์บอนเทียบเท่าที่คำนวณได้จากสมการ (85)

^bECL เป็นจำนวนคาร์บอนเทียบเท่าที่ได้จากรายงานของ Krisnangkura⁽¹⁶⁾ และ Christie⁽²²⁾

^c%Δ มีค่าเท่ากับ $100 \times (ECL^a - ECL^b) / ECL^b$

อุณหภูมิต่ำ

โดยมีผลการทดลองทั้งหมด 3 การทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 5:13 – 5:15

ตารางที่ 5:13 แสดงค่าร้อยละความผิดพลาดของจำนวนคาร์บอนที่ได้จากสมการ (85) ที่สภาวะ

	t _R (min)	T _R (°C)	ECL ^a	ECL ^b	%Δ ^c
เฮกเซน FAMEs	1.838	160	-	-	-
16:0	4.224	164.44	16.04	16.00	0.25
17:0	5.229	166.45	17.04	17.00	0.24
18:0	6.557	169.10	18.03	18.00	0.17
18:1	6.795	169.58	18.19	18.18	0.06
18:2	7.502	171.99	18.62	18.59	0.16
18:3	8.552	176.18	19.23	19.21	0.10
20:0	9.930	182.12	20.01	20.00	0.05
20:1	10.153	183.24	20.13	20.18	-0.25
20:2	10.904	186.99	20.55	20.59	-0.19
22:0	13.299	200.76	22.00	22.00	0.00
22:1	13.484	201.87	22.12	22.18	-0.27
24:1	16.323	218.91	24.19	24.18	0.04

"ECL เป็นจำนวนคาร์บอนเทียบเท่าที่คำนวณได้จากสมการ (85)

^bECL เป็นจำนวนคาร์บอนเทียบเท่าที่ได้จากรายงานของ Krisnangkura⁽¹⁶⁾ และ Christie⁽²²⁾

^c %Δ มีค่าเท่ากับ $100 \times (ECL^a - ECL^b) / ECL^b$

ตารางที่ 5:14 แสดงค่าร้อยละความผิดพลาดของจำนวนคาร์บอนที่ได้จากสมการ (85) ที่สภาวะ
โปรแกรมอุณหภูมิแบบ D2

	t_R (min)	T_R ($^{\circ}\text{C}$)	ECL ^a	ECL ^b	% Δ ^c
ไฮกเซน FAMES	1.79	160	-	-	-
16:0	4.788	166.71	16.00	16.00	0.00
17:0	5.761	171.69	16.99	17.00	-0.06
18:0	6.905	176.27	18.00	18.00	0.00
18:1	7.093	177.02	18.15	18.18	-0.17
18:2	7.654	179.26	18.59	18.59	0.00
18:3	8.510	182.02	19.23	19.21	0.10
20:0	9.672	185.50	20.02	20.00	0.10
20:1	9.873	186.10	20.15	20.18	-0.15
20:2	10.57	188.19	20.59	20.59	0.00
22:0	12.921	198.74	22.04	22.00	0.18
22:1	13.132	199.80	22.18	22.18	0.00
24:1	16.177	215.03	24.23	24.18	0.21

^aECL เป็นจำนวนคาร์บอนเทียบเท่าที่คำนวณได้จากสมการ (85)

^bECL เป็นจำนวนคาร์บอนเทียบเท่าที่ได้จากรายงานของ Krisnangkura⁽¹⁶⁾ และ Christie⁽²²⁾

^c %Δ มีค่าเท่ากับ $100 \times (ECL^a - ECL^b) / ECL^b$

ตารางที่ 5:15 แสดงค่าร้อยละความผิดพลาดของจำนวนคาร์บอนที่ได้จากสมการ (85) ที่สภาวะโปรแกรมอุณหภูมิแบบ D3

	t_R (min)	T_R ($^{\circ}\text{C}$)	ECL ^a	ECL ^b	% Δ ^c
ไฮกเซน FAMES	1.774	140	-	-	-
16:0	5.592	168.71	16.04	16.00	0.25
17:0	6.612	173.43	17.05	17.00	0.29
18:0	7.759	178.02	18.06	18.00	0.33
18:1	7.931	178.71	18.20	18.18	0.11
18:2	8.478	180.67	18.64	18.59	0.27
18:3	9.323	183.20	19.29	19.21	0.42
20:0	10.465	186.63	20.09	20.00	0.45
20:1	10.658	187.21	20.22	20.18	0.20
20:2	11.332	189.23	20.66	20.59	0.34
22:0	13.570	199.91	22.09	22.00	0.41
22:1	13.767	200.89	22.22	22.18	0.18
24:1	16.727	215.69	24.27	24.18	0.37

²ECL เป็นจำนวนคาร์บอนเทียบเท่าที่คำนวณได้จากสมการ (85)

^bECL เป็นจำนวนคาร์บอนเทียบเท่าที่ได้จากรายงานของ Krisnangkura⁽¹⁶⁾ และ Christie⁽²²⁾

^c %Δ มีค่าเท่ากับ $100 \times (ECL^a - ECL^b) / ECL^b$

5.5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ

จากข้อมูลในตารางที่ 5:2 – 5:15 พบว่าค่าร้อยละของความผิดพลาดระหว่างจำนวนคาร์บอน ที่คำนวณจากสมการ (85) ที่สภาวะโปรแกรมอุณหภูมิแบบต่าง ๆ เปรียบเทียบกับจำนวนคาร์บอนที่ได้จากรายงานของ Krisnangkura et al.^[16] และ Christie^[22] มีค่าความผิดพลาดอยู่ในช่วงร้อยละ -0.45 ถึง 0.45 ซึ่งเป็นค่าที่ให้ความแม่นยำสูงเพียงพอสำหรับการวิเคราะห์เอกลักษณ์สารผสมที่มีความซับซ้อนไม่มากนัก อย่างไรก็ตาม ค่าความผิดพลาดจะสูงขึ้นตามอัตราการเพิ่มของอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น (programming rate) ดังนั้น การแก้ไขหรือปรับปรุงสมการให้มีความแม่นยำในการทำนาย

สูงยิ่งขึ้นจำเป็นจะต้องรู้ถึงสาเหตุที่ก่อให้เกิด ความคลาดเคลื่อนนี้ ซึ่งอาจจะเนื่องมาจากสาเหตุต่างๆ ดังนี้

1. อัตราการไหลของแก๊สตัวพา โดยปกติอัตราการไหลของแก๊สตัวพาจะลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากแก๊สจะมีความหนืดสูงขึ้น จึงทำให้ค่าเวลาคงค้างของสารที่ได้จากการทดลองมากขึ้น และจากการศึกษาของ Cavalli และ Guinchard พบว่าอัตราการไหลของแก๊สตัวพามีผลต่อการคำนวณค่าเวลาคงค้างของสารเล็กน้อย สำหรับในการทดลองได้มีการปรับแก้อัตราการไหลของแก๊สตัวพาจากค่าเวลาคงค้างของเฮกเซน (t_0) แล้ว ดังนั้นค่าความผิดพลาดที่เกิดขึ้นน่าจะมาจากสาเหตุอื่น

2. อัตราส่วนระหว่างวฏภาคหนึ่งต่อวฏภาคเคลื่อนที่ โดยทั่วไปค่านี้จะเปลี่ยนแปลงตามอุณหภูมิของคอลัมน์ ที่อุณหภูมิสูงวฏภาคหนึ่งจะเกิดการขยายตัวทำให้ ปริมาตรวฏภาคเคลื่อนที่ลดลง ซึ่งจะมีผลทำให้ปริมาตรสารในวฏภาคเคลื่อนที่ลดลงจึงทำให้ค่าเวลา คงค้างที่ได้จากการทดลองมากขึ้น

3. อุณหภูมิคอลัมน์ สำหรับปัญหานี้เกิดจากอัตราเร็วของการถ่ายเทความร้อนระหว่าง oven และผนังคอลัมน์ ถ้าอัตราเร็วของการถ่ายเทความร้อนช้าจะทำให้อุณหภูมิคอลัมน์ต่ำกว่า อุณหภูมิของเตาอบเล็กน้อย ซึ่งมีผลทำให้ค่าเวลาคงค้าง ที่ได้จากการทดลองมากกว่าการคำนวณ

4. ความถูกต้องในการหาค่าคงตัวทางเทอร์โมไดนามิกส์ทั้ง 4 คือ a, b, c และ d ของสมการ (4.4.1) ที่สภาวะอุณหภูมิกงที่ ซึ่งจะมีผลต่อความผิดพลาดในการวิเคราะห์เอกลักษณ์สาร ด้วย โดยถ้าพิจารณาจากสมการ วิเคราะห์เอกลักษณ์สารจะพบว่า ค่าเวลาคงค้างของสารไม่คงค้าง (t_0) เป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อความถูกต้องของ สมการ ดังนั้นถ้าใช้ค่า t_m ที่มีความถูกต้อง ก็จะทำให้สมการ วิเคราะห์เอกลักษณ์สารมีความถูกต้องแม่นยำมากขึ้น

6. ผลของขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางคอลัมน์ต่อค่าคงตัวของสมการ (32)

ดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น สมการ (32) สามารถใช้วิเคราะห์เอกลักษณ์สารได้ดีทั้งในสภาวะอุณหภูมิคงที่ หรือปรับเปลี่ยนมาอยู่ในรูปสมการ (52) ก็สามารถใช้ คำนวณเวลาคงค้างสารใน TPGC ได้อย่างแม่นยำ อย่างไรก็ตาม ความถูกต้องและแม่นยำในการคำนวณค่าต่างๆ ขึ้นกับค่าคงตัวคอลัมน์อย่างมาก การศึกษาในหัวข้อนี้จึงมุ่งศึกษาถึงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางคอลัมน์ที่จะส่งผลกระทบต่อค่าคงตัวทั้ง 4 ของสมการ (32)

เนื่องจากสมการ (32) นั้นเป็นสมการเชิงระนาบและค่าคงตัวทั้ง 4 มีความสัมพันธ์อย่างไม่อิสระต่อกัน ปัจจัยใดๆ ที่ส่งกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงค่าใดค่าหนึ่งจะส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงรวมทั้ง 4 ค่า ดังนั้น การหาค่าคงตัวทั้ง 4 ในสภาวะแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย จะส่งผลให้ค่าคงตัวทั้ง 4 นี้เปลี่ยนแปลงทั้งหมด และในทางปฏิบัติ การควบคุมสภาวะการทดลองทุกอย่างให้คงที่นั้นทำได้ยาก การศึกษานี้จึงเริ่มโดยพิจารณาเชิงทฤษฎีของค่าคงตัวทั้ง 4 ของตัวสมการว่า เมื่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเปลี่ยนแปลงไปจะส่งผลกระทบต่อค่าคงตัวในส่วน of ค่า β เท่านั้น ส่วนค่า K ไม่น่าจะเปลี่ยนแปลง ดังนั้น การศึกษานี้จึงตั้งอยู่บนสมมติฐานว่า ค่า a ของสมการ (32) เท่านั้นที่เปลี่ยน เมื่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเปลี่ยน ส่วนค่า b , c และ d นั้นคงที่ อย่างไรก็ตาม ค่า a , b , c และ d เริ่มต้นนั้นหาโดยใช้คอลัมน์ บีพี 1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.32 มิลลิเมตรความยาว 25 เมตร ในสภาวะอุณหภูมิคงที่ที่ 210–240 °C โดยใช้ FAMES เป็นสารทดสอบ ข้อมูลที่ได้สรุปไว้ในตารางที่ 6:1

ตารางที่ 6:1 เวลาคงค้างของสาร FAMES บนคอลัมน์ บีพี 1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.32 มม ยาว 25 เมตร ความหนาของฟิล์มภายใน 0.25 μm ในช่วงอุณหภูมิ 210-240 องศาเซลเซียส

FAMES	ค่าเวลาคงค้างไม่ปรับแก้ (นาทีก)						
	210 °C	215 °C	220 °C	225 °C	230 °C	235 °C	240 °C
T_M (นาทีก)	1.109	1.117	1.125	1.133	1.140	1.148	1.159
16:0	3.365	3.045	2.778	2.554	2.371	2.217	2.091
17:0	4.291	3.811	3.415	3.086	2.818	2.594	2.410
18:0	5.583	4.874	4.293	3.812	3.425	3.101	2.836
19:0	7.397	6.347	5.498	4.805	4.246	3.783	3.405
20:0	9.921	8.395	7.158	6.155	5.352	4.697	4.162

เปลี่ยนค่าเวลาคงค้างของสารให้อยู่ในรูป $\ln k$ และคำนวณหาค่าคงตัว a , b , c และ d โดยใช้ Microsoft Excel 8.0 ดังแสดงในตารางที่ 6:2

ตารางที่ 6:2 ตัวประกอบคงค้างในรูป $\ln k$ กับจำนวนคาร์บอนอะตอม และส่วนกลับของอุณหภูมิ ของ FAMEs บนคอลัมน์ บีพี 1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.32 มม. ยาว 25 เมตร ความหนาของฟิล์มภายใน 0.25 μm

FAMES	ln k							Intercept	slope	R ²
	1/T X 10 ³									
	2.070	2.049	2.028	2.007	1.987	1.968	1.949			
16:0	0.710	0.546	0.385	0.226	0.077	-0.072	-0.218	-15.158	7665.693	1.0000
17:0	1.054	0.880	0.711	0.544	0.386	0.231	0.076	-15.657	8072.546	1.0000
18:0	1.395	1.213	1.036	0.861	0.695	0.531	0.369	-16.133	8467.286	1.0000
19:0	1.735	1.544	1.358	1.176	1.002	0.831	0.661	-16.609	8861.520	1.0000
20:0	2.072	1.874	1.680	1.489	1.307	1.128	0.952	-17.091	9257.411	1.0000
intercept	-4.738	-4.765	-4.791	-4.822	-4.844	-4.871	-4.898	-7.458 (a)	1314.56 (c)	0.9996
slope	0.341	0.332	0.324	0.316	0.308	0.300	0.293	-0.482 (b)	397.24 (d)	1.0000

จากการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย Microsoft Excel ได้ค่าคงตัว a, b, c และ d ของสาร FAMEs เท่ากับ -7.458, -0.482, 1314.56 และ 397.24 ตามลำดับ ซึ่งสามารถสรุปเป็นสมการสำหรับทำนายเอกลักษณ์สารได้ดังนี้คือ

$$\ln k = -7.458 - 0.482z + \frac{1314.56}{T} + \frac{397.24z}{T} \quad \text{Eq. 86}$$

สมการ (86) นำไปใช้ในการคำนวณจำนวนคาร์บอนอะตอม หรือค่าเวลาคงค้างของสาร FAMEs บนคอลัมน์ BP-1 ขนาด 0.32 มิลลิเมตร ได้อย่างแม่นยำ (ข้อมูลไม่ได้นำเสนอ เนื่องจากจะเกิดความซ้ำซ้อนกับผลในข้อ 2 และ 3) อย่างไรก็ตาม ดังที่ได้กล่าวมาข้างต้นว่า เมื่อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางคอลัมน์เปลี่ยนไป ค่า b, c และ d เท่านั้นที่เปลี่ยน ดังนั้น ข้อมูลที่ศึกษาต่อไปนี้จะ เป็นข้อมูลของคอลัมน์ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง ขนาดอื่นๆ โดยมีค่า b (-0.482), c (1314.56) และ d (397.24) ของคอลัมน์ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.32 มิลลิเมตร เป็นค่าคงที่ของทุกคอลัมน์

6.1 คอลัมน์บีพี 1 ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางต่างๆ

ข้อมูลในตารางที่ 6:3 – 6:6 เป็นเวลาคงค้างไม่ปรับแก้ของ FAMEs บนคอลัมน์ต่างๆ เมื่อคำนวณหาค่าคงตัว a ของสาร FAMEs บนคอลัมน์ขนาดต่างๆ ได้ ดังสรุปไว้ในตารางที่ 6:7

ตารางที่ 6:3 เวลาคงค้างไม่ปรับแก้ของ FAMEs บนคอลัมน์บีที 1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง
0.10 มม ยาว 12 ม. ความหนาของฟิล์มเคลือบภายใน 0.10 ไมโครเมตร

FAMEs	ค่าคงค้างไม่ปรับแก้ (นาที)						
	210 °C	215 °C	220 °C	225 °C	230 °C	235 °C	240 °C
t_m	1.004	1.012	1.019	1.025	1.036	1.043	1.053
16:0	3.337	3.003	2.730	2.498	2.317	2.155	2.027
17:0	4.287	3.788	3.385	3.048	2.78	2.544	2.358
18:0	5.618	4.878	4.289	3.798	3.406	3.069	2.799
19:0	7.475	6.386	5.532	4.821	4.256	3.773	3.388
20:0	10.067	8.475	7.237	6.214	5.402	4.717	4.170

ตารางที่ 6:4 เวลาคงค้างของสาร FAMEs บนคอลัมน์บีที 1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง
0.15 มม. ยาว 25 ม. ความหนาของฟิล์มเคลือบภายใน 0.25 ไมโครเมตร

FAMEs	ค่าคงค้างไม่ปรับแก้ (นาที)						
	210 °C	215 °C	220 °C	225 °C	230 °C	235 °C	240 °C
t_m	1.371	1.383	1.396	1.409	1.417	1.430	1.442
16:0	6.61	5.851	5.241	4.723	4.288	3.924	3.615
17:0	8.749	7.624	6.717	5.96	5.327	4.801	4.356
18:0	11.743	10.084	8.754	7.649	6.734	5.978	5.344
19:0	15.934	13.492	11.557	9.950	8.636	7.560	6.663
20:0	21.779	18.211	15.393	13.093	11.209	9.684	8.415

ตารางที่ 6:5 เวลาคงค้างของสาร FAMES บนคอลัมน์บีที 1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง
0.22 มม. ยาว 25 ม. ความหนาของฟิล์มเคลือบภายใน 0.25 ไมโครเมตร

FAMES	ค่าคงค้างไม่ปรับแก้ (unadjusted retention time)						
	210 °C	215 °C	220 °C	225 °C	230 °C	235 °C	240 °C
t_m	0.935	0.939	0.948	0.950	0.954	0.962	0.967
16:0	3.755	3.353	3.013	2.723	2.484	2.298	2.118
17:0	4.910	4.309	3.808	3.386	3.038	2.769	2.512
18:0	6.531	5.643	4.903	4.292	3.792	3.402	3.037
19:0	8.785	7.484	6.406	5.528	4.809	4.255	3.737
20:0	11.941	10.043	8.473	7.202	6.184	5.397	4.668

ตารางที่ 6:6 เวลาคงค้างของ FAMES บนคอลัมน์บีที 1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง
0.53 มม. ยาว 25 ม. ความหนาของฟิล์มเคลือบภายใน 1.0 ไมโครเมตร

FAMES	ค่าคงค้างไม่ปรับแก้ (นาที)						
	210 °C	215 °C	220 °C	225 °C	230 °C	235 °C	240 °C
t_m	0.869	0.868	0.871	0.879	0.884	0.886	0.887
16:0	4.768	4.184	3.710	3.307	2.982	2.713	2.471
17:0	6.352	5.500	4.802	4.213	3.738	3.356	3.012
18:0	8.580	7.338	6.304	5.449	4.76	4.217	3.733
19:0	11.726	9.874	8.377	7.128	6.149	5.373	4.69
20:0	16.092	13.384	11.217	9.417	8.026	6.917	5.965

6.2 การคำนวณค่าคงที่ α

ค่าคงที่ α ของสมการ (32) โดยกำหนดให้ค่าคงที่ b , c และ d ที่หาได้จากคอลัมน์ ขนาด 0.32 มิลลิเมตร เป็นค่าคงที่โดยอาศัยโปรแกรมการคำนวณใน Microsoft Excel 8.0 ดังแสดง ตัวอย่างในรูปที่ 6.1 ได้ค่า α ของคอลัมน์ขนาดต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 6:7

Microsoft Excel - Calculation for constant a.xls

File Edit View Insert Format Tools Data Window Help

	A	B	C	D	E	F	G	H
1	b	c	d					
2	-0.512	226.98	410.30	$\frac{(\ln(H\$5-1m)/1m)-\$A6-c/(273.15+T))}{(b+d*\$A6/(273.15+T))}$				
3	T = 190		1m = 0.933					
4		C16	C17	C18	C19	C20	C21	C22
5	a IR	2.398	3.059	4.022	5.423	7.463	10.419	14.684
6	-6.169	16.396	17.392	18.391	19.391	20.393	21.392	22.385
7	-6.069	16.128	17.124	18.123	19.124	20.125	21.124	22.117
8	-6.059	16.101	17.097	18.097	19.097	20.099	21.097	22.090
9	-6.049	16.075	17.071	18.070	19.070	20.072	21.071	22.064
10	-6.039	16.048	17.044	18.043	19.043	20.045	21.044	22.037
11	-6.029	16.021	17.017	18.016	19.017	20.018	21.017	22.010
40	-6.022	16.002	16.998	17.998	18.998	20.000	20.998	21.991
41	-6.023	16.005	17.001	18.000	19.001	20.002	21.001	21.994
42	-6.024	16.008	17.004	18.003	19.003	20.005	21.004	21.997
43	-6.025	16.010	17.006	18.006	19.006	20.008	21.006	21.999

Sheet1 Sheet2 Sheet3

รูปที่ 6.1 ตัวอย่างการคำนวณหาค่าคงตัว a ของคอลัมน์ขนาด 0.22 มิลลิเมตร เมื่อกำหนดให้ค่าคงตัว b, c และ d ที่ได้จากคอลัมน์ขนาด 0.32 มิลลิเมตร เป็นค่าคงที่

ตารางที่ 6:7 ค่าคงตัว a ของ FAMEs ที่คำนวณได้จากคอลัมน์ บีพี 1 ขนาดต่างๆ

ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (มิลลิเมตร)	ความหนาของฟิล์ม (ไมโครเมตร)	a
0.53	1.00	-6.667
0.32	0.25	-7.461
0.22	0.25	-7.065
0.15	0.25	-6.831
0.10	0.10	-7.325

ดังนั้น สมการการทำนายการเคลื่อนที่สารของ FAMEs บนคอลัมน์บีพี 1 ขนาดต่างๆ สามารถสรุปได้ดังนี้ คือ

คอลัมน์ขนาด 0.10 มิลลิเมตร

$$\ln k' = -7.325 - 0.482z + \frac{1314.56}{T} + \frac{397.24z}{T} \quad \text{Eq. 87}$$

คอถัมน้ขนาด 0.15 มิลลิเมตร

$$\ln k' = -6.831 - 0.482z + \frac{1314.56}{T} + \frac{397.24z}{T} \quad \text{Eq. 88}$$

คอถัมน้ขนาด 0.22 มิลลิเมตร

$$\ln k' = -7.065 - 0.482z + \frac{1314.56}{T} + \frac{397.24z}{T} \quad \text{Eq. 89}$$

คอถัมน้ขนาด 0.53 มิลลิเมตร

$$\ln k' = -6.667 - 0.482z + \frac{1314.56}{T} + \frac{397.24z}{T} \quad \text{Eq. 90}$$

6.3 การทดสอบความถูกต้องของสมการการทำนายเอกลักษณ์สารในสภาวะอุณหภูมิคงที่

จากการกำหนดให้ค่าคงตัว b, c และ d คงที่ และคำนวณหาค่าคงตัว a ของสาร

FAMEs บนคอถัมน้ขนาดต่างๆ สามารถนำสมการต่างๆ ที่ได้มาใช้ในการคำนวณค่าเวลาคงค้างของสารได้ ดังแสดงในตารางที่ 6:8 - 6:12

ตารางที่ 6:8 เปรียบเทียบค่าเวลาคงค้างที่ได้จากการคำนวณ กับค่าเวลาคงค้างจากการทดลองของ

FAMEs บนคอถัมน้ บีพี 1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.10 มม. ยาว 12 เมตร (a = -7.325)

t_M	Temperature											
	210 °C			220 °C			230 °C			240 °C		
	1.004			1.017			1.036			1.057		
	Exp	Calc	%Δ	Exp	Calc	%Δ	Exp	Calc	%Δ	Exp	Calc	%Δ
16:0	3.337	3.337	0.00	2.730	2.730	0.00	2.317	2.317	0.00	2.027	2.027	0.00
17:0	4.287	4.283	-0.09	3.385	3.385	0.00	2.78	2.778	-0.06	2.358	2.357	-0.06
18:0	5.618	5.613	-0.09	4.289	4.290	0.03	3.406	3.406	0.01	2.799	2.798	-0.03
19:0	7.475	7.482	0.10	5.532	5.542	0.17	4.256	4.260	0.10	3.388	3.389	0.04
20:0	10.067	10.110	0.42	7.237	7.271	0.47	5.402	5.422	0.38	4.170	4.182	0.28

ตารางที่ 6:9 เปรียบเทียบค่าเวลาคงค้างที่ได้จากการคำนวณ กับค่าเวลาคงค้างจากการทดลองของ
FAMEs บนคอลัมน์ บีที 1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.15 มม. ยาว 25 เมตร ($a = -6.831$)

t_M	Temperature											
	210 °C			220 °C			230 °C			240 °C		
	1.380 (นาที)			1.398 (นาที)			1.421 (นาที)			1.447 (นาที)		
	Exp	Calc	%Δ	Exp	Calc	%Δ	Exp	Calc	%Δ	Exp	Calc	%Δ
16:0	6.610	6.611	0.02	5.241	5.241	0.00	4.288	4.288	0.00	3.615	3.615	0.00
17:0	8.749	8.731	-0.21	6.717	6.709	-0.12	5.327	5.320	-0.13	4.356	4.351	-0.12
18:0	11.743	11.710	-0.28	8.754	8.737	-0.19	6.734	6.724	-0.15	5.344	5.336	-0.15
19:0	15.934	15.896	-0.24	11.557	11.540	-0.14	8.636	8.633	-0.04	6.663	6.655	-0.11
20	21.779	21.778	-0.01	15.393	15.414	0.14	11.209	11.229	0.18	8.415	8.422	0.09

ตารางที่ 6:10 เปรียบเทียบค่าเวลาคงค้างที่ได้จากการคำนวณ กับค่าเวลาคงค้างจากการทดลองของ
FAMEs บนคอลัมน์ บีที 1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.22 มม. ยาว 25 เมตร ($a = -7.065$)

t_M	Temperature											
	210 °C			220 °C			230 °C			240 °C		
	0.939 (นาที)			0.949 (นาที)			0.957 (นาที)			0.969 (นาที)		
	Exp	Calc	%Δ	Exp	Calc	%Δ	Exp	Calc	%Δ	Exp	Calc	%Δ
16:0	3.755	3.757	0.04	3.013	3.013	-0.01	2.484	2.485	0.03	2.118	2.118	0.02
17:0	4.910	4.898	-0.24	3.801	3.801	-0.18	3.038	3.035	-0.11	2.512	2.508	-0.15
18:0	6.531	6.503	-0.43	4.891	4.891	-0.25	3.792	3.783	-0.24	3.037	3.030	-0.21
19:0	8.785	8.757	-0.32	6.396	6.396	-0.15	4.809	4.800	-0.18	3.737	3.730	-0.19
20:0	11.941	11.925	-0.13	8.477	8.477	0.04	6.184	6.184	0.00	4.668	4.667	-0.03

ตารางที่ 6:11 เปรียบเทียบค่าเวลาคงค้างที่ได้จากการคำนวณ กับค่าเวลาคงค้างจากการทดลองของ FAMEs บนคอลัมน์ บีพี 1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.32 มม. ยาว 25 เมตร ($a = -7.461$)

t_M	Temperature											
	210 °C			220 °C			230 °C			240 °C		
	1.114 (นาทีก)			1.128 (นาทีก)			1.143 (นาทีก)			1.163 (นาทีก)		
	Exp	Calc	%Δ	Exp	Calc	%Δ	Exp	Calc	%Δ	Exp	Calc	%Δ
16:0	3.365	3.364	-0.04	2.778	2.779	0.03	2.371	2.371	0.00	2.091	2.091	0.02
17:0	4.291	4.275	-0.37	3.415	3.410	-0.16	2.818	2.813	-0.17	2.410	2.406	-0.15
18:0	5.583	5.556	-0.48	4.293	4.281	-0.28	3.425	3.414	-0.31	2.836	2.828	-0.28
19:0	7.397	7.356	-0.55	5.498	5.485	-0.23	4.246	4.232	-0.32	3.405	3.393	-0.35
20:0	9.921	9.886	-0.36	7.158	7.150	-0.11	5.352	5.344	-0.14	4.162	4.150	-0.30

ตารางที่ 6:12 เปรียบเทียบค่าเวลาคงค้างที่ได้จากการคำนวณ กับค่าเวลาคงค้างจากการทดลองของ FAMEs บนคอลัมน์ บีพี 1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.53 มม. ยาว 25 เมตร ($a = -6.667$)

t_M	Temperature											
	210 °C			220 °C			230 °C			240 °C		
	0.872 (นาทีก)			0.875 (นาทีก)			0.883 (นาทีก)			0.893 (นาทีก)		
	Exp	Calc	%Δ	Exp	Calc	%Δ	Exp	Calc	%Δ	Exp	Calc	%Δ
16:0	4.768	4.768	-0.01	3.710	3.708	-0.05	2.982	2.982	-0.01	Exp	2.470	-0.04
17:0	6.352	6.346	-0.09	4.802	4.790	-0.25	3.738	3.737	-0.02	3.012	3.005	-0.23
18:0	8.580	8.564	-0.18	6.304	6.286	-0.29	4.76	4.765	0.10	3.733	3.722	-0.31
19:0	11.726	11.681	-0.38	8.377	8.353	-0.29	6.149	6.163	0.22	4.69	4.681	-0.19
20:0	16.092	16.061	-0.19	11.217	11.209	-0.07	8.026	8.063	0.47	5.965	5.966	0.02

ผลการทดลองที่ได้พบว่าความแตกต่างระหว่างค่าเวลาคงค้างที่ได้จากการทดลองและจากการคำนวณของ FAMEs ไม่เกินร้อยละ 0.7 นอกจากนี้หากทราบค่าเวลาคงค้างของสารสามารถใช้สมการ พิสูจน์เอกลักษณ์ทำนายจำนวนคาร์บอนอะตอมของสารได้เช่นเดียวกัน

6.4 การคำนวณค่าความหนาของฟิล์ม

$$\text{จากความสัมพันธ์} \quad a = \frac{\Delta S^0}{R} - \ln \beta$$

$$\text{เมื่อ} \quad \beta = \frac{V_m}{V_s} = \frac{d_c}{4d_r}$$

เมื่อทราบค่า a ของคอลัมน์ขนาดต่างๆ สามารถคำนวณหาความหนาของฟิล์ม (d_r) ของคอลัมน์แต่ละขนาดได้ ซึ่งผลการคำนวณ และความคลาดเคลื่อนของค่า phase ratio (β) และความหนาของฟิล์มจากการคำนวณ และความหนาของฟิล์มที่ผู้ผลิตกำหนดมาแสดงไว้ในตารางที่ 6:13

ตารางที่ 6:13 แสดงค่า β และความหนาของฟิล์ม (d_r) ของคอลัมน์ BP1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางต่างๆ เมื่อ FAMES ทดสอบ

ID (mm.)	d_r (μm)	β	$\ln \beta$	a	$a.32-a$	$\ln \beta +$ ($a.32-a$)	β (calc)	d_r (μm)	% d_r	% $\Delta \beta$
0.53	1.00	132.5	4.887	-6.667	-0.794	4.974	144.7	0.9160	-8.40	9.17
0.32	0.25	320	5.768	-7.461	0.000	5.768	320.0	0.2500	0.00	0.00
0.22	0.25	220	5.394	-7.065	-0.396	5.372	215.4	0.2554	2.15	-2.11
0.15	0.25	150	5.011	-6.831	-0.630	5.138	170.4	0.2200	-11.99	13.62
0.10	0.10	250	5.521	-7.325	-0.136	5.632	279.3	0.0895	-10.49	11.72

จากผลการทดลองที่ได้พบว่าคอลัมน์ขนาดเล็ก คือขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.10 และ 0.15 มิลลิเมตร ให้ค่าความคลาดเคลื่อนของฟิล์มสูง โดยทั่วไปแล้วกำหนดให้ความผิดพลาดของความหนา ฟิล์มอยู่ในช่วง $\pm 5\%$ และรัศมีของคอลัมน์ให้ความผิดพลาดในช่วง $\pm 0.5 \mu\text{m}$ แต่จากการทดลอง พบว่าความผิดพลาดของการเคลือบเท่ากับ -10.49 และ -11.99 เมื่อคำนวณโดยใช้สาร FAMES เป็นสาร ทดสอบบนคอลัมน์ขนาด 0.10 และ 0.15 มิลลิเมตร ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม เนื่องจากคอลัมน์มีขนาดเล็กมากการเคลือบจึงน่าจะทำได้ยากกว่าคอลัมน์ที่มีขนาดใหญ่ โดยเทคนิคการเคลือบอาศัยการคำนวณน้ำหนักของฟิล์มเคลือบที่ต้องใช้เทียบกับปริมาตรที่ต้องการ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสารทดสอบ 2 หมู่ฟังก์ชัน คือ สารนอร์มัลอัลเคน และ FAMES พบว่าสารนอร์มัลอัลเคนให้ค่าความคลาดเคลื่อนต่ำกว่า ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องจากวิฤภาคหนึ่งของคอลัมน์ BP1 คือ โพลีซิลอกเซน (polysiloxane) 100 % ซึ่งเป็นวิฤภาคหนึ่งชนิดไม่มีขั้ว ดังนั้น ปฏิสัมพันธ์ (interaction) ระหว่างสารนอร์มัลอัลเคน ซึ่งเป็นสารไม่มีขั้วกับวิฤภาคนี้ จึงสูงกว่า FAMES ทำให้การคำนวณค่าความหนาของฟิล์มที่ได้ใกล้เคียงกับความเป็นจริงมากกว่า FAMES โดยเฉพาะในคอลัมน์ ขนาด 0.53 มิลลิเมตร ซึ่งเคลือบด้วยฟิล์มที่หนากว่าคอลัมน์

อื่นๆ (1.0 ไมโครเมตร) การคำนวณ ความหนาโดยใช้ FAMES เป็นสารทดสอบมีความผิดพลาดสูง ทั้งนี้เนื่องจากโมเลกุลของ FAMES มีขนาดใหญ่ทำให้แทรกตัวเข้าไปในวัฏภาคหนึ่งที่ไม่มีขั้วไม่หมด มีผลให้ความหนาของฟิล์มที่คำนวณได้ต่ำกว่าความเป็นจริงมาก ในขณะที่การคำนวณโดยใช้สาร นอร์มัลอัลเคนให้ค่าความผิดพลาดต่ำ

6.5 การทดสอบความถูกต้องของค่าคงตัว a , b , c และ d ในสถานะโปรแกรมอุณหภูมิ

ทดลองฉีดสาร FAMES ในสถานะโปรแกรมอุณหภูมิ ที่ 190-270 องศาเซลเซียส โดยใช้ สถานะดังนี้คือ อุณหภูมิเริ่มต้น 190 องศาเซลเซียส hold time 2 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิขึ้นด้วยอัตรา ต่างๆ คือ 2, 4, 6, 8, 10, 15 และ 20 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึงอุณหภูมิสุดท้ายที่ 270 องศาเซลเซียส hold time 20 นาที อุณหภูมิของส่วนฉีดสาร (injector) และตัวตรวจวัด (detector) เท่ากับ 270 องศาเซลเซียส

นำผลการทดลองที่ได้คำนวณค่าจำนวนคาร์บอนอะตอมของสารโดยอาศัยสมการการทำนายเอกลักษณ์สารในสถานะโปรแกรมอุณหภูมิของ Kittiratanapiboon *et al.*⁽³⁹⁾ ของคอลัมน์ขนาดต่างๆ โดยใช้ โปรแกรม QuickBasic ได้ผลดังตารางที่ 6:14 – 6:18

ตารางที่ 6:14 ความแตกต่างระหว่าง จำนวนคาร์บอน (Δ CN) ที่อัตราการเพิ่มอุณหภูมิต่างๆ ของ FAMES (C16-20) บนคอลัมน์ BP1 ขนาด 0.10 มม.

อุณหภูมิ 190-270 °C hold time 2 นาที injector & detector temp. 270 °C (g=0.0014)

2°C/min		4°C/min		5°C/min		6°C/min		8°C/min		10°C/min		15°C/min		20°C/min	
FAMES	CN Δ CN	CN Δ CN	CN Δ CN	CN Δ CN	CN Δ CN	CN Δ CN	CN Δ CN	CN Δ CN	CN Δ CN	CN Δ CN	CN Δ CN	CN Δ CN	CN Δ CN	CN Δ CN	CN Δ CN
16:0	16.00	0.00	16.00	0.00	16.00	0.00	16.00	0.00	16.00	0.00	16.00	0.00	16.00	0.00	0.00
17:0	17.00	0.00	16.98	-0.02	16.98	-0.02	16.98	-0.02	16.97	-0.03	16.97	-0.03	16.95	-0.05	-0.05
18:0	17.99	-0.01	17.97	-0.03	17.96	-0.04	17.95	-0.05	17.95	-0.05	17.94	-0.06	17.92	-0.08	-0.04
19:0	18.97	-0.03	18.94	-0.06	18.93	-0.07	18.92	-0.08	18.91	-0.09	18.91	-0.09	18.89	-0.11	-0.13
20:0	19.95	-0.05	19.91	-0.09	19.90	-0.10	19.89	-0.11	19.89	-0.11	19.88	-0.12	19.86	-0.14	-0.16

ตารางที่ 6:15 ความแตกต่างระหว่าง จำนวนคาร์บอน (Δ CN) ที่อัตราการเพิ่มอุณหภูมิต่างๆ ของ FAMES (C16-20) บนคอลัมน์ BP1 ขนาด 0.15 มม.

อุณหภูมิ 190-270 °C hold time 2 นาที injector & detector temp. 270 °C (g=0.0023)

2°C/min		4°C/min		5°C/min		6°C/min		8°C/min		10°C/min		15°C/min		20°C/min	
FAMES	CN Δ CN	CN Δ CN	CN Δ CN	CN Δ CN	CN Δ CN	CN Δ CN	CN Δ CN	CN Δ CN	CN Δ CN	CN Δ CN	CN Δ CN	CN Δ CN	CN Δ CN	CN Δ CN	CN Δ CN
16:0	16.00	0.00	16.00	0.00	16.00	0.00	16.00	0.00	16.00	0.00	16.00	0.00	16.00	0.00	0.00
17:0	17.00	0.00	17.00	0.00	17.00	0.00	17.00	0.00	16.99	-0.01	17.00	0.00	17.00	0.00	0.01
18:0	18.00	0.00	17.99	-0.01	17.99	-0.01	18.00	0.00	17.99	-0.01	18.01	0.01	18.02	0.02	0.06
19:0	18.99	-0.01	18.98	-0.02	18.99	-0.01	19.00	0.00	19.00	0.00	19.02	0.02	19.06	0.06	0.11
20:0	19.98	-0.02	19.98	-0.02	20.00	0.00	20.00	0.00	20.02	0.02	20.05	0.05	20.11	0.11	0.16

ตารางที่ 6:16 ความแตกต่างระหว่าง จำนวนคาร์บอน (Δ CN) ที่อัตราการเพิ่มอุณหภูมิต่างๆ ของ FAMES (C16-20) บนคอลัมน์ BP1 ขนาด 0.22 มม.

อุณหภูมิ 190-270 °C hold time 2 นาที injector & detector temp. 270 °C ($\mu=0.0011$)

	2°C/min	4°C/min	5°C/min	6°C/min	8°C/min	10°C/min	15°C/min	20°C/min
FAMES	CN	ΔCN	CN	ΔCN	CN	ΔCN	CN	ΔCN
16:0	16.00	0.00	16.00	0.00	16.00	0.00	16.00	0.00
17:0	17.01	0.01	17.00	0.00	16.99	-0.01	16.99	-0.01
18:0	18.00	0.00	17.99	-0.01	18.00	0.00	17.98	-0.02
19:0	19.00	0.00	18.97	-0.03	18.99	-0.01	18.97	-0.03
20:0	19.98	-0.02	19.96	-0.04	19.99	-0.01	19.97	-0.03

ตารางที่ 6:17 ความแตกต่างระหว่าง จำนวนคาร์บอน (Δ CN) ที่อัตราการเพิ่มอุณหภูมิต่างๆ ของ FAMES (C16-20) บนคอลัมน์ BP1 ขนาด 0.32 มม.

อุณหภูมิ 190-270 °C hold time 2 นาที injector & detector temp. 270 °C ($\mu=0.0016$)

	2°C/min	4°C/min	5°C/min	6°C/min	8°C/min	10°C/min	15°C/min	20°C/min
FAMES	CN	ΔCN	CN	ΔCN	CN	ΔCN	CN	ΔCN
16:0	16.00	0.00	16.00	0.00	16.00	0.00	16.00	0.00
17:0	17.00	0.00	17.00	0.00	16.99	-0.01	16.99	-0.01
18:0	18.00	0.00	17.99	-0.01	17.99	-0.01	17.98	-0.02
19:0	18.99	-0.01	18.98	-0.02	18.98	-0.02	18.99	-0.01
20:0	19.98	-0.02	19.97	-0.03	19.97	-0.03	19.98	-0.02

ตารางที่ 6:18 ความแตกต่างระหว่างจำนวนคาร์บอน (Δ CN) ที่อัตราการเพิ่มอุณหภูมิต่างๆ ของ FAMES (C16-20) บนคอลัมน์ BPI ขนาด 0.53 มม. อุณหภูมิ 190-270 °C hold time 2 นาที injector & detector temp. 270 °C ($g=0.0007$)

2°C/min		4°C/min		5°C/min		6°C/min		8°C/min		10°C/min		15°C/min		20°C/min	
FAMES	CN	Δ CN	CN	Δ CN	CN	Δ CN	CN	Δ CN	CN	Δ CN	CN	Δ CN	CN	Δ CN	CN
16:0	16.00	0.00	16.00	0.00	16.00	0.00	16.00	0.00	16.00	0.00	16.00	0.00	16.00	0.00	16.00
17:0	17.00	0.00	17.00	0.00	17.00	0.00	16.99	-0.01	16.99	-0.01	17.00	0.00	17.00	0.00	17.01
18:0	17.99	-0.01	17.99	-0.01	17.99	-0.01	17.98	-0.02	17.99	-0.01	17.99	-0.01	18.01	0.01	18.03
19:0	18.98	-0.02	18.98	-0.02	18.98	-0.02	18.98	-0.02	18.98	-0.02	18.99	-0.01	19.03	0.03	19.08
20:0	19.96	-0.04	19.97	-0.03	19.97	-0.03	19.98	-0.02	19.99	-0.01	20.00	0.00	20.07	0.07	20.14

ตารางที่ 6:19 แสดงให้เห็นถึงร้อยละของความแตกต่างสูงสุดระหว่างเวลาคงค้างที่ได้จากการ คำนวณ และค่าที่ได้จากการทดลองและค่าความแตกต่างการรับอนุมัติของคอแลมน์แต่ละ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง ซึ่งพบว่าผลต่างมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อโปรแกรมการเพิ่มอุณหภูมิสูงขึ้น

ตารางที่ 6:19 ร้อยละของความแตกต่างสูงสุดระหว่างเวลาคงค้างที่ได้จากการ คำนวณ และค่าที่ได้จากการทดลอง ความแตกต่างสูงสุดระหว่าง ค่าที่ได้จากการ คำนวณ และค่าจากการทดลองของค่าเวลาคงค้าง ซึ่งสรุปมาจากตารางที่ 6:14 – 6:18

ขนาดคอแลมน์	% Δt_k สูงสุด	ผลต่าง ECL (unit)
0.53	-1.25	0.14
0.32	-0.53	0.06
0.22	-0.58	0.07
0.15	-1.81	0.16
0.10	-1.37	0.16

6.6 การทดสอบค่าคงตัว a , b , c และ d กับน้ำมันรำข้าวในสภาวะอุณหภูมิคงที่ และสภาวะ โปรแกรมอุณหภูมิ

จากการใช้สารมาตรฐาน FAMES ในการทดสอบค่าคงตัวของคอแลมน์ขนาดต่างๆ พบว่า การทำนายเวลาคงค้างสารทำได้แม่นยำทั้งในสภาวะอุณหภูมิคงที่ และโปรแกรมอุณหภูมิ การทดลอง ในขั้นตอนนี้เป็นการนำค่าคงตัวของสมการมาทดสอบกับสารที่ได้จากธรรมชาติว่าจะยังคงความถูกต้องหรือไม่ FAMES จากธรรมชาตินั้นจะมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวปะปนอยู่ในปริมาณสูง ทว่าการทดสอบ เลื่อนน้ำมันรำข้าว โดยเปลี่ยนให้อยู่ในรูปเมทิลเอสเทอร์ตามวิธีในบท วิธีดำเนินการวิจัย การทดสอบ ในสภาวะอุณหภูมิคงที่ ศึกษาที่ 200 องศาเซลเซียส และสภาวะโปรแกรมอุณหภูมิที่ศึกษาที่อุณหภูมิ 180-260 องศาเซลเซียส ซึ่งผลการคำนวณค่า ECL ได้สรุปในตารางที่ 6:20 และ ตารางที่ 6:21 ตามลำดับ

ตารางที่ 6:20 แสดงความแตกต่างของค่า ECL ที่ได้จากการคำนวณกับข้อมูลที่ได้จากเอกสาร อ้างอิง
ในสภาวะอุณหภูมิคงที่ ที่ 200 องศาเซลเซียสของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ของน้ำมัน
รำข้าว บนคอลัมน์ BP1 ที่ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางต่างๆ

		ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของคอลัมน์							
		0.10 mm.		0.15 mm.		0.22 mm.		0.32 mm.	
FAMEs	ECL*	ECL _{fore}	Δ ECL	ECL _{fore}	Δ ECL	ECL _{fore}	Δ ECL	ECL _{fore}	Δ ECL
14:0	14.00	13.91	-0.09	13.96	-0.04	13.99	-0.01	13.95	-0.05
16:0	16.00	16.00	0.00	16.00	0.00	16.00	0.00	16.00	0.00
18:2	17.65	17.69	0.04	17.64	-0.01	17.64	-0.01	17.65	0.00
18:1	17.73	17.80	0.07	17.75	0.02	17.74	0.01	17.75	0.02
18:0	18.00	17.97	-0.03	17.98	-0.02	17.99	-0.01	18.01	0.01
20:1	19.67	19.61	-0.06	19.65	-0.02	19.66	-0.01	19.68	0.01
20:0	20.00	19.92	-0.08	19.96	-0.04	19.96	-0.04	19.99	-0.01

ตารางที่ 6:21 แสดงความแตกต่างของค่า ECL ที่ได้จากการทำนายโดยใช้สมการ กับข้อมูลที่ได้จาก
เอกสารอ้างอิง ในสภาวะ โปรแกรมอุณหภูมิ ที่ 180-260 องศาเซลเซียส โปรแกรม
อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสต่อนาที ของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ของน้ำมันรำข้าว
บนคอลัมน์ BP1 ที่ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางต่างๆ

		ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของคอลัมน์							
		0.10 mm.		0.15 mm.		0.22 mm.		0.32 mm.	
FAMEs	ECL*	ECL _{fore}	Δ ECL	ECL _{fore}	Δ ECL	ECL _{fore}	Δ ECL	ECL _{fore}	Δ ECL
14:0	14.00	13.97	-0.03	13.99	-0.01	14.00	0.00	13.98	-0.02
16:0	16.00	16.00	0.00	16.00	0.00	16.00	0.00	16.00	0.00
18:2	17.65	17.61	-0.04	17.63	-0.02	17.61	-0.04	17.61	-0.04
18:1	17.73	17.73	0.00	17.73	0.00	17.71	-0.02	17.70	-0.03
18:0	18.00	19.96	1.96	17.96	-0.04	17.97	-0.03	17.98	-0.02
20:1	19.67	19.62	-0.05	19.64	-0.03	19.64	-0.03	19.64	-0.03
20:0	20.00	19.91	-0.09	19.92	-0.08	19.94	-0.06	19.94	-0.06
C _{24:0}	24.00	23.85	-0.15	23.94	-0.06	23.92	-0.08	23.89	-0.11

6.7 สรุปผลการทดลองและเสนอแนะ

ผลการทดลองที่ได้ในการศึกษานี้ยืนยันความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln k = \ln K - \ln \beta$

เมื่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางคอลัมน์เปลี่ยนแปลง ส่วนที่จะเปลี่ยนแปลงคือ β แต่ค่า $\ln K$ นั้นไม่เปลี่ยนแปลง นอกจากนี้ ผลการทดลองยังชี้ให้เห็นว่า หากรู้ค่า β ที่ถูกต้อง การหา a ของสมการ (32) นั้นทำได้โดยการคำนวณเท่านั้นโดยไม่ต้องทำการทดลอง ทว่า ปัจจุบันยังไม่มีวิธีการทางภาคปฏิบัติใดๆ ที่ใช้หาค่า β ได้ ดังนั้น วิธีการของการศึกษานี้ จะเป็นแนวทางหนึ่งในการหาค่า β ได้แต่ทั้งนี้จะต้องอาศัยค่า a จากคอลัมน์อื่นที่ทราบค่า β แล้วเท่านั้น

อย่างไรก็ตาม ค่า β นี้จะเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยเมื่ออุณหภูมิ oven เปลี่ยนแปลงไป ทั้งนี้เนื่องจากอัตราสัมประสิทธิ์การขยายตัวของคอลัมน์แก้ว และภาชนะที่บรรจุไม่เท่ากัน ภาชนะหนึ่งจะมีสัมประสิทธิ์การขยายตัวที่สูงกว่า ดังนั้น ค่า β จะลดลงเมื่ออุณหภูมิ oven สูงขึ้น แม้การเปลี่ยนแปลงนี้ไม่มากนัก แต่มีผลต่อความแม่นยำในการทำนายมาก ด้วยเหตุนี้ สมการการทำนายการเคลื่อนที่สารใน GC น่าจะต้องคำนึงถึงการเปลี่ยนแปลงของ a โดยเฉพาะใน TPGC

7. การแยก R/S กรดไขมันแอลฟาไฮดรอกซี (R/S- α -Hydroxy Fatty Acid Esters)

กรดไขมันแอลฟาไฮดรอกซี (AHFAs) ส่วนประกอบย่อยในธรรมชาติ AHFAs ที่มีจำนวนคาร์บอนยาวๆ มักเกาะติดอยู่กับสารจำพวก cerebrosides และ gangliosides ในระบบประสาทของสัตว์ แต่ AHFAs ที่มีจำนวนคาร์บอนสั้นๆ นั้นจะพบในรูปเอสเทอร์ในพืชทั่วไป และในจุลินทรีย์ รวมทั้งไขจากขนแกะ AHFAs ที่พบในธรรมชาติส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของ R-isomer การวิเคราะห์ configuration ของ AHFAs ส่วนมาจะใช้วิธีการเปรียบเทียบกับ AHFA มาตรฐานที่รู้ configuration แน่นนอน หรืออาจจะใช้วัดค่า optical rotation วิธีการหลังนี้จะต้องใช้สารบริสุทธิ์ในปริมาณสูง ดังนั้นมักไม่นิยมมากนัก การแยกอีแนนซีโอเมอร์ของ AHFAs ด้วยโครมาโตกราฟีนั้นสามารถทำได้หลายวิธี เช่น แยกโดยตรงบน column ที่เคลือบด้วยวัสดุชนิดที่เป็น chiral หรืออาจจะแยกในรูปของ diastereomers บนคอลัมน์ธรรมดาที่ไม่เป็น chiral วิธีการทางโครมาโตกราฟีนั้นให้ข้อดี คือ ใช้สารตัวอย่างน้อย แต่ก็ยังคงต้องใช้สารอ้างอิงที่รู้ configuration แน่นนอนในการเปรียบเทียบ

เนื่องจากการศึกษาวิจัยของเรามุ่งเน้นในการใช้ประโยชน์จากสมการ (32) และอนุพันธ์ของสมการ (32) นี้ในการทำนายการเคลื่อนที่สารใน GC ทั้งสถานะอุณหภูมิคงที่และ TPGC รวมทั้งการใช้สมการข้างต้นนี้ในการวิเคราะห์เอกลักษณ์สารโดยไม่ใช้สารอ้างอิง และน่าจะนำมาใช้ในการวิเคราะห์ configuration ของ AHFAs โดยไม่ใช้สารอ้างอิงได้

สมการ (32) เป็นสมการทั่วไปที่ใช้ทำนายการเคลื่อนที่สารในสถานะอุณหภูมิคงที่

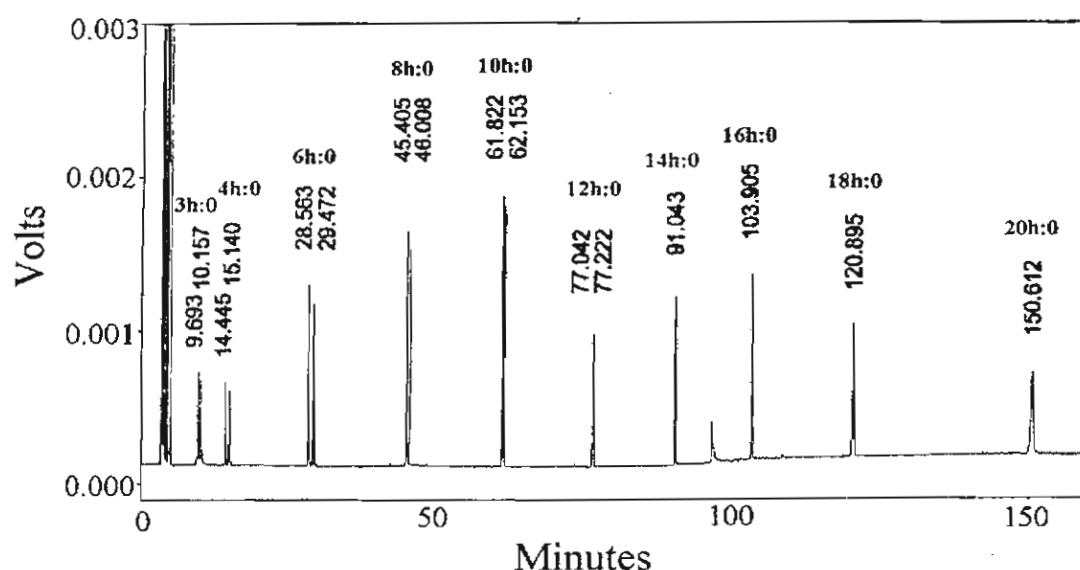
$$\ln k = a + bz + \frac{c}{T} + \frac{dz}{T} \quad \text{Eq.32}$$

ส่วนสมการ (91) เป็นสมการดัดแปลงจากสมการ (73) ใช้ในการทำนายการเคลื่อนที่สารใน TPGC

$$t_R = \sum_{i=1}^m \frac{t_M [1 + g(\theta_i - T_i)]}{m} \left(1 + e^{\left(a + bz + \frac{c}{\theta_i} + \frac{dz}{\theta_i} \right)} \right) \quad \text{Eq. 91}$$

7.1 การแยกอีแนนซีโอเมอร์ AHFA เมทิลเอสเทอร์ ด้วยคอลัมน์ CYDEX-B

R/S-AHFA เมทิลเอสเทอร์ ที่มีจำนวนคาร์บอนสั้นสามารถแยกกันด้วยดีบนคอลัมน์ CYDEX-B แต่อำนาจการแยกจะลดลงเมื่อความยาวคาร์บอนเพิ่มสูงขึ้นและ AHFAs ที่มีความยาวคาร์บอนตั้งแต่ 14 อะตอมขึ้นไป R- และ S-isomers จะไม่สามารถแยกออกจากกันได้เลย ดังแสดงในรูปที่ 7.1 ผลการศึกษาที่น่าจะบ่งบอกว่า การแยกระหว่าง R- and S-AHFA เมทิลเอสเทอร์ บนคอลัมน์ CYDEX-B นั้น น่าจะเกิดจากสมดุลภาพของอิทธิฤทธิ์ของแรง hydrophobic และ hydrophilic ระหว่าง AHFAs กับวัฏภาคหนึ่ง แม้ว่า อนุพันธ์ cyclodextrin นั้นจะมีความเป็นขั้วสูง แต่ อนุพันธ์ cyclodextrin ที่ใช้นั้นมีเพียงร้อยละ 20 เท่านั้นที่ผสมอยู่กับโครง polysiloxane ซึ่งมีความเป็นขั้วต่ำ ดังนั้น ผลรวมของความไม่เป็นขั้วของวัฏภาคนี้นั้นสูงกว่าหมู่อะตอมที่เป็นขั้ว นั่นคือ อิทธิฤทธิ์ของ



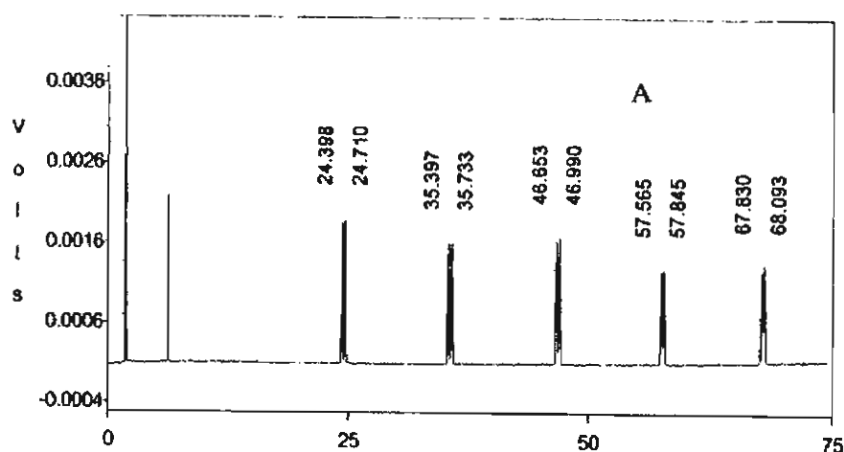
รูปที่ 7.1 TPGC chromatogram ของ AHFA เมทิลเอสเทอร์ บน CYDEX-B คอลัมน์แบบแคปิลลารี (25 ม X 0.22 มม เส้นผ่าศูนย์กลางภายใน). อุณหภูมิ Oven 80 – 220 °C อัตราเพิ่มอุณหภูมิ 1.5 °C/นาที ยอดพีคคือเวลาคงค้างเป็นนาที และชื่อของ AHFAs.

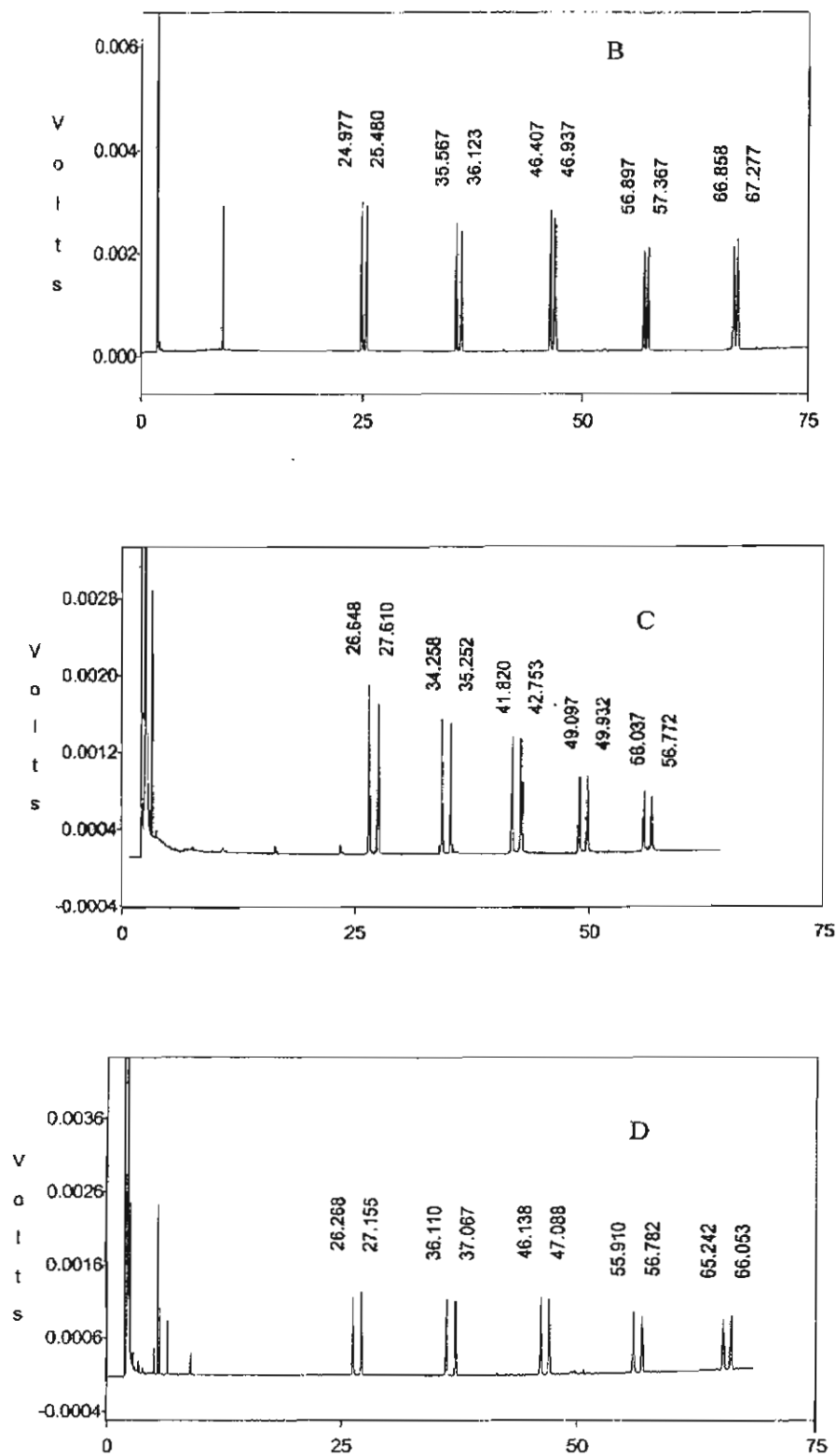
hydrophobic ระหว่างไฮคาร์บอนของ AHFAs กับส่วนของ non-polar ของวัฏภาคนี้น่าจะสูง ทำให้อำนาจการแยกระหว่าง R- และ S-AHFAs เมื่อความยาวคาร์บอนเพิ่มสูงขึ้น หรือขนาดโมเลกุล

ของ AHFAs นั้นมีขนาดใหญ่กว่าช่องว่างของอนุพันธ์ cyclodextrin ทำให้ไม่เกิด การแยกระหว่าง R- และ S-isomers

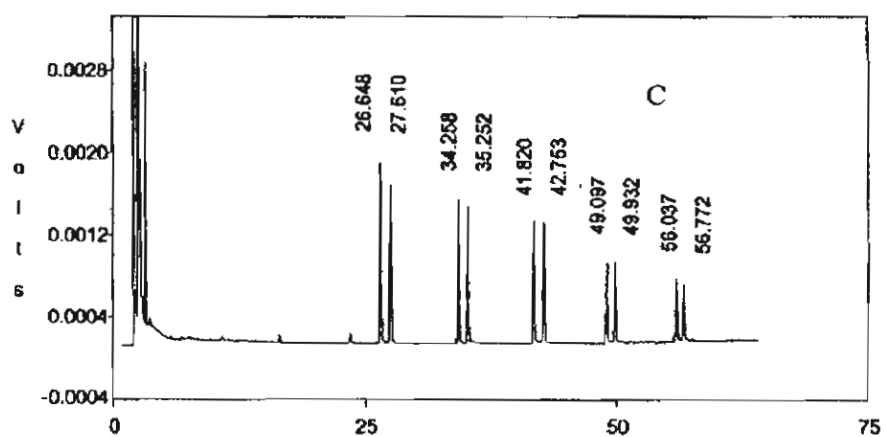
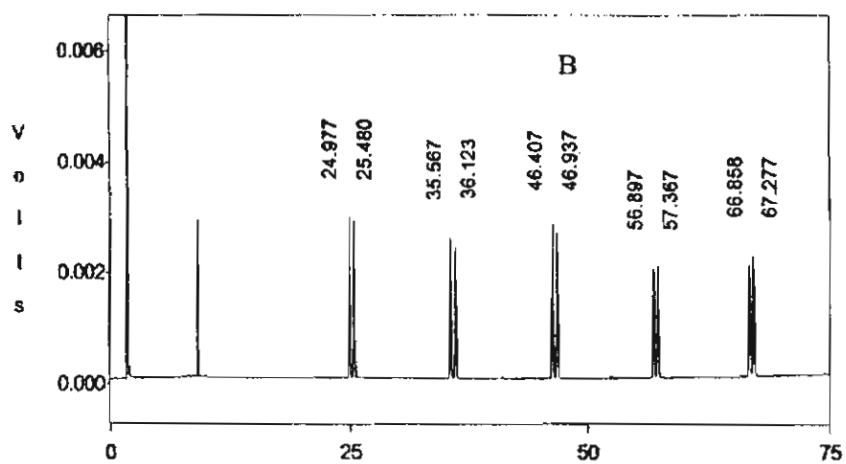
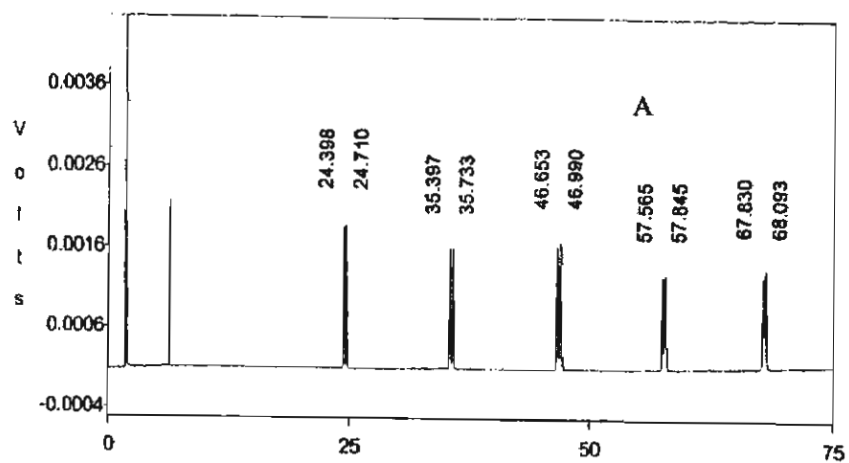
7.2 การแยกโคแอสเทอริโอเมอร์ AHFA เอสเทอร์ ด้วยคอลัมน์ *achiral*

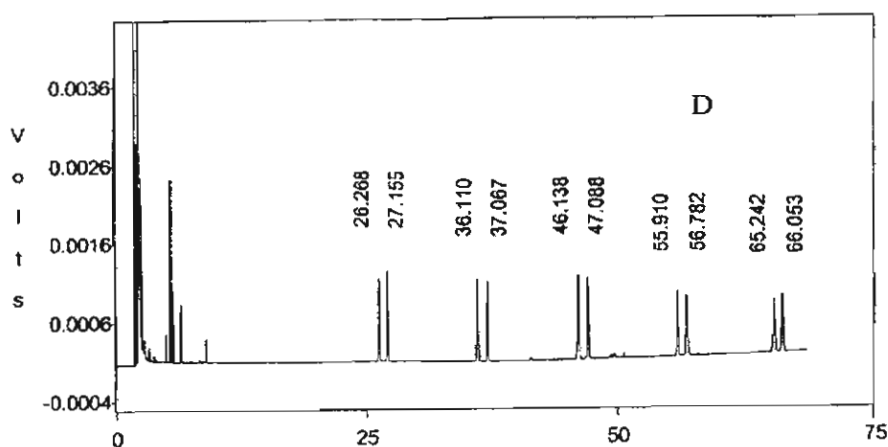
โคแอสเทอริโอเมอร์ของ AHFA 2-บิวทิลเอสเทอร์ที่มีคาร์บอนอะตอมสูงๆ นั้นแยกได้ไม่ดีบนคอลัมน์ BP-1 (non-polar) หรือคอลัมน์ Rtx-2330 (very polar) แต่หากเพิ่มความยาวของแอลกอฮอล์ให้ยาวขึ้นเป็น 2-เพนทานอล (2-pentanol) 2-เฮกซานอล (2-hexanol) 2-เฮปทานอล (2-heptanol) หรือ 2-ออกทานอล (2-octanol) อำนาจการแยกสารจะเพิ่มสูงขึ้น ตามลำดับความยาวคาร์บอน (รูปที่ 7.2 และ 7.3) ในทางกลับกัน หากจำนวนคาร์บอนของกรดเพิ่ม สูงขึ้น อำนาจการแยกโคแอสเทอริโอเมอร์จะลดต่ำลง และเมื่อเปรียบเทียบการแยกโคแอสเทอริโอเมอร์ คู่เดียวกันระหว่างคอลัมน์ BP-1 กับ Rtx-2330 พบว่า Rtx-2330 จะแยกได้ดีกว่าเล็กน้อย ดังตารางที่ 7:1 ทั้งนี้อาจจะเนื่องจากเหตุผลที่กล่าวมาข้างต้นคือ อัตราการกระจายระหว่าง AHFAs กับวัฏภาคหนึ่ง ในขณะที่เพิ่มความยาวให้กับแอลกอฮอล์ ความสามารถของโมเลกุลโคแอสเทอริโอเมอร์เปลี่ยนไป โดยส่วนหัวที่แสดงความเป็นขั้วเพิ่มมากขึ้น อัตราการกระจายของ hydrophobic จะลดลง และไปเพิ่มอัตราการกระจายของ hydrophilic มากขึ้น อำนาจการแยกสารจึงเพิ่มขึ้น ในทางกลับกัน เมื่อเพิ่มความยาวให้แก่กรดนั้นจะเพิ่มความไม่มีขั้วให้แก่โมเลกุล นั่นคือ อัตราการกระจายของ hydrophobic จะเพิ่มขึ้นในกรณีที่เพิ่มจำนวนคาร์บอนให้แก่กรด อำนาจการแยกสารจึงลดลง ในทำนองเดียวกัน เมื่อเปรียบเทียบการแยกโคแอสเทอริโอเมอร์ระหว่างคอลัมน์ BP-1 กับ Rtx-2330 ซึ่งความเป็นขั้วนั้นแตกต่างกันมาก Rtx-2330 มีความเป็นขั้วสูง อัตราการกระจายของ hydrophilic น่าจะสูงกว่า BP-1 อำนาจการแยกโคแอสเทอริโอเมอร์จึงน่าจะสูงกว่า





รูปที่ 7.2 TPGC โครมาโตแกรมของ AHFA เอสเทอร์บนคอลัมน์ BP-1 (25 m X 0.22 mm i.d.).
อุณหภูมิ Oven: 145 –300 °C อัตราเพิ่ม 1.5 °C/นาที เหนือฟิคเป็นค่า t_R (นาที)
A: 2-pentyl esters, B: 2-hexyl esters, C: 2-heptyl esters, D: R-2-octyl esters.





รูปที่ 7.3 TPGC โครมาโตแกรมของ AHFA เอสเทอร์บนคอลัมน์ Rtx-2330 (30 ม X 0.25 มม i.d.). อุณหภูมิ Oven: 110 – 220 °C อัตราเพิ่ม 1.5 °C/นาที เหนือพีคเป็นค่า t_R (นาที)
A: 2-pentyl esters, B: 2-hexyl esters, C: 2-heptyl esters, D: R-2-octyl esters.

หากสังเกตการแยกสารในรูปที่ 7.2 และ 7.3 จะเห็นว่า อำนาจการแยกสารจะลดลงอย่างรวดเร็วในกรณีที่ ไดเอสเตอร์ไอเมอร์เป็น อะลิฟาติกแอลกอฮอล์ (aliphatic alcohol) แต่หาก ไดเอสเตอร์ไอเมอร์นี้เป็นอะลิไซคลิกแอลกอฮอล์ (alicyclic alcohol) เช่น เมนทอล อำนาจการแยกสารจะลดลงไม่มากเท่ากับอะลิฟาติกแอลกอฮอล์ (ดูค่า R_s ในตารางที่ 7.1) จากการเปรียบเทียบอำนาจการแยกสารของไดเอสเตอร์ไอเมอร์ที่มีหมู่แอลกอฮอล์ต่างๆ กัน พบว่า อีอกทิลเอสเทอร์แยกออกจากกันได้ดีที่สุด ส่วนเมนทิลเอสเทอร์ก็แยกได้ดีเช่นกัน โดยเฉพาะ AHFAs ที่มีจำนวนคาร์บอนมากๆ จะแยกออกจากกันได้ดีกว่า อีอกทิลแอลกอฮอล์ ทว่า เมนทอลที่นำมาศึกษานั้นเป็น commercial grade ความบริสุทธิ์ค่อนข้างต่ำ มีพีคถูกชะออกจากคอลัมน์ในระยะต้นๆ มากมาย ซึ่งอาจเกิดการทับซ้อนกับ AHFAs เอสเทอร์ที่มีโมเลกุลขนาดเล็กได้ ดังนั้น อีอกทิลเอสเทอร์น่าจะเหมาะสมมากที่สุดสำหรับการศึกษาการแยกและการวิเคราะห์นี้ เมื่อศึกษาลำดับการชะของ R- กับ S-isomers เมื่อเปรียบเทียบกับ R-2-hydroxy octyl palmitate พบว่า R-AHFA ถูกชะออกจากคอลัมน์ช้ากว่า S-AHFA เล็กน้อย

ตารางที่ 7.1 จำนวนการแยกโคแอตเทรย์โอเมอร์ของ AHFA อีทกทีลอสเทรย์บนคอลัมน์ BP-1

AHFA	2-Pentyl esters			2-Hexyl esters			2-Heptyl esters			2-Octyl esters		
	t _{R1}	t _{R2}	R _S	t _{R1}	t _{R2}	R _S	t _{R1}	t _{R2}	R _S	t _{R1}	t _{R2}	R _S
12h:0	24.398	24.710	1.22	24.977	25.480	1.93	25.393	26.117	2.66	26.268	27.155	3.23
14h:0	35.397	35.733	1.15	35.567	36.123	1.82	35.563	36.350	2.74	36.110	37.067	3.26
16h:0	46.653	46.990	1.07	46.407	46.937	1.72	45.987	46.740	2.30	46.138	47.088	2.99
18h:0	57.565	57.845	0.85	56.897	57.367	1.41	56.093	56.775	2.11	55.910	56.782	2.62
20h:0	67.830	68.093	0.78	66.858	67.277	1.27	65.703	66.338	1.80	65.242	66.053	2.32

ตารางที่ 7.2 จำนวนการแยกโคแอตเทรย์โอเมอร์ของ AHFA อีทกทีลอสเทรย์บนคอลัมน์ Rix-2330

AHFA	2-Pentyl esters			2-Hexyl esters			2-Heptyl esters			2-Octyl esters			Menthyl		
	t _{R1}	t _{R2}	R _S	t _{R1}	t _{R2}	R _S	t _{R1}	t _{R2}	R _S	t _{R1}	t _{R2}	R _S	t _{R1}	t _{R2}	R _S
12h:0	25.822	26.235	1.50	26.253	26.998	2.49	26.648	27.610	3.32	27.377	28.550	4.43	34.473	35.000	1.47
14h:0	33.953	34.377	1.41	34.133	34.898	2.39	34.258	35.252	3.23	34.762	35.953	3.96	41.760	42.382	1.68
16h:0	41.993	42.397	1.28	41.937	42.653	2.05	41.820	42.753	2.75	42.085	43.235	3.67	48.83	49.497	1.73
18h:0	49.688	50.037	1.08	49.400	50.038	1.81	49.097	49.932	2.40	49.158	50.192	3.17	55.528	56.207	1.78
20h:0	56.978	57.290	0.96	56.523	57.095	1.53	56.037	56.772	1.96	55.922	56.845	2.57	62.255	63.070	1.67

7.3 การวิเคราะห์ configuration ของ AHFA

สมการ (32) และสมการ (91) เป็นสมการที่ใช้คำนวณหาค่า t_r ของสารอินทรีย์ต่างๆ ไปในสภาวะอุณหภูมิคงที่ และ TPGC ได้แม่นยำ น่าจะนำมาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์เอกลักษณ์สารได้ดี และน่าจะนำมาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ configuration ของอินแนซิโอเมอร์ได้ด้วย ในหัวข้อ 7.2 นั้นได้ทดสอบการแยกสารไคแอสเทอริโอเมอร์ ซึ่งพบว่า อ็อกทิลเอสเทอร์นั้นแยกได้ดีมากด้วยคอลัมน์ Rtx-2330 ดังนั้น สมการการวิเคราะห์ configuration ของ AHFAs ต่างๆ จึงสร้างขึ้นจากข้อมูลนี้ ค่าคงตัว a, b, c และ d ของ R- และ S-AHFAs นั้นหาตามวิธีของ Krisnangkura *et al*⁽¹⁶⁾ และได้ให้รายละเอียดไว้ในวิธีดำเนินการวิจัย เมื่อแทนค่าคงตัวทั้ง 4 นี้ลงในสมการ (32) และสมการ (91) จะได้

$$\ln k_s = -11.490 - 0.545z + \frac{4246.065}{T} + \frac{347.33z}{T} \quad \text{Eq. 92}$$

$$\ln k_R = -11.311 - 0.536z + \frac{4138.43}{T} + \frac{369.43z}{T} \quad \text{Eq. 93}$$

สำหรับการทำนายการเคลื่อนที่สารในสภาวะอุณหภูมิคงที่ของ AHFA อ็อกทิลเอสเทอร์ โดย k_s และ k_R เป็นตัวประกอบคงตัวของ S- และ R-AHFAs ตามลำดับ

$$\text{และ } t_{R(S)} = \sum_{i=1}^m \frac{t_M [1 + g(\theta_i - T_i)]}{m} \left(1 + e^{\left(\frac{-11.490 - 0.545z + \frac{4246.065}{\theta_i} + \frac{3479.33z}{\theta_i}}{\theta_i} \right)} \right) \quad \text{Eq. 94}$$

$$t_{R(R)} = \sum_{i=1}^m \frac{t_M [1 + g(\theta_i - T_i)]}{m} \left(1 + e^{\left(\frac{-11.311 - 0.536z + \frac{4138.43}{\theta_i} + \frac{369.43z}{\theta_i}}{\theta_i} \right)} \right) \quad \text{Eq. 95}$$

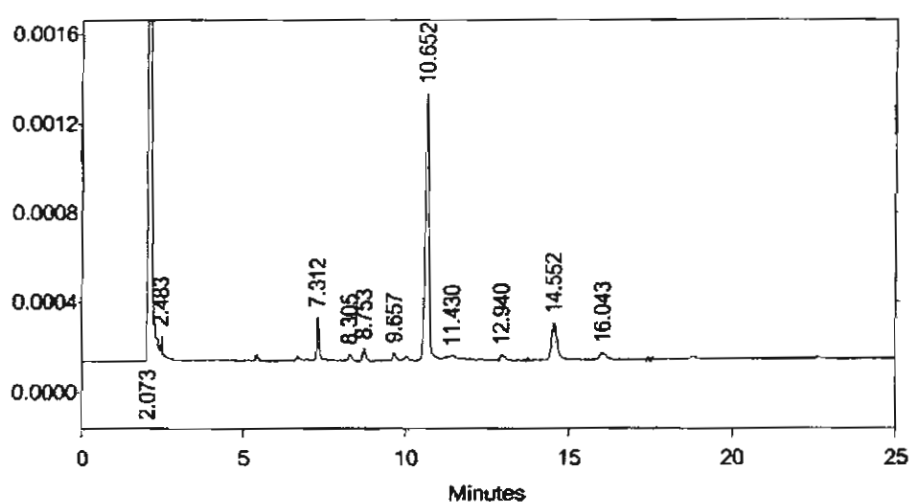
สำหรับการทำนายสารใน TPGC โดย $t_{R(S)}$ และ $t_{R(R)}$ เป็นเวลาคงค้างของ S- และ R-AHFA อ็อกทิลเอสเทอร์ตามลำดับ เมื่อแทนค่า t_r และ t_M ที่ได้จากโครมาโตแกรมลงในสมการ (92 และ 93) หรือสมการ (94 และ 95) ตามสภาวะการทดลอง เราสามารถที่จะรู้ค่าจำนวนคาร์บอน (z) ได้ถูกต้อง เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับค่าจำนวนคาร์บอนเทียบเท่า (equivalent chain length) ในฐานข้อมูล เราสามารถจะวิเคราะห์ได้ทันทีว่าพิกนั้นเป็นของสารตัวใดรวมทั้ง configuration ของสารนั้นด้วย ทว่าจุดอ่อนของระบบนี้คือฐานข้อมูลของ AHFA ในขณะนี้นั้นยังไม่มี ดังนั้น การวิเคราะห์ configuration ของ AHFAs ที่จะทำให้ได้ คือ AHFAs อิมิด์เท่านั้น ส่วน AHFAs ไม่อิมิด์ และที่เป็นโซ่กิ่งคงต้องรู้ฐานข้อมูลที่สมบูรณ์

ตารางที่ 7.3 ค่า χ_c (การทดลอง) ของ AHFA R-2-octyl esters ที่อุณหภูมิต่างๆ (ตัวเลขในวงเล็บเป็นค่าความแตกต่างร้อยละระหว่างผลการทดลองกับการคำนวณ)

AHA	190 °C		200 °C		205 °C		210 °C	
	Isomer-1	Isomer-2	Isomer-1	Isomer-2	Isomer-1	Isomer-2	Isomer-1	Isomer-2
12h:0	6.518 (-0.66)	6.835 (-0.55)	5.135 (-0.32)	5.993 (-0.29)	4.645 (-0.60)	5.327 (-0.23)	4.243 (-0.25)	4.795 (-0.50)
14h:0	9.488 (0.26)	10.062 (0.18)	7.005 (0.40)	8.538 (0.32)	6.145 (-0.04)	7.345 (0.30)	5.443 (0.28)	6.405 (-0.10)
16h:0	14.548 (0.63)	15.563 (0.47)	10.083 (0.74)	12.79 (0.66)	8.567 (0.28)	10.658 (0.61)	7.352 (0.59)	9.008 (0.11)
18h:0	23.197 (0.41)	24.963 (0.31)	15.192 (0.42)	19.955 (0.44)	12.513 (0.07)	16.142 (0.44)	10.415 (0.38)	13.23 (0.01)
20h:0	38.263 (-0.96)	41.23 (-0.67)	23.71 (-0.57)	32.177 (-0.66)	19.003 (-0.90)	25.298 (-0.42)	15.363 (-0.48)	20.15 (-0.70)

ข้อมูลในตารางที่ 7.3 เป็นค่า t_R ของ AHFA ($C_{12} - C_{20}$) octyl esters ที่อุณหภูมิตั้งแต่ 190 – 210 °C ส่วนค่าที่คำนวณได้จากสมการ (92) และสมการ (93) นั้นไม่ได้นำมาใส่ไว้ในตาราง แต่จะนำผลต่างร้อยละระหว่างค่า t_R จากการทดลองกับค่าที่คำนวณได้มาใส่ไว้ในวงเล็บ จะเห็นว่าผลต่างโดยรวมนั้นไม่สูงมากนัก และผลต่างๆ ร้อยละสูงสุดคือ 0.96 % และเป็น AJFA 20 คาร์บอนอะตอม ดังนั้นน่าจะสรุปได้ว่าสมการ (92) และสมการ (93) มีแนวโน้มที่จะนำมาใช้วิเคราะห์ configuration ของ AHFAs ได้โดยไม่จำเป็นต้องพึ่ง AHFAs เป็นสารอ้างอิง

เพื่อให้ผลสรุปชัดเจนยิ่งขึ้น จึงทำการทดลองใช้สมการทั้งสองนี้มาวิเคราะห์ configuration ของ AHFAs ในไขแกะ (wool wax) โดยทำการ saponified wool wax และเปลี่ยนเป็นอีอกทิลเอสเทอร์ แล้วนำมาวิเคราะห์ด้วย GC ได้โครมาโตแกรมดังรูปที่ 7.4



รูปที่ 7.4 แก๊สโครมาโตแกรมของไขแกะ R-octyl esters บนคอลัมน์ Rtx-2330 (30 m X 0.25 mm i.d.). อุณหภูมิ Oven 200 °C. ยอดที่คคือค่า t_R (โปรดดูตารางที่ 7.4 สำหรับการวิเคราะห์เอกลักษณ์).

นำค่า t_R และ t_M มาแทนลงในสมการ (92) และสมการ (93) ค่า ECL ที่คำนวณได้สรุปอยู่ในตารางที่ 7.4 พร้อมทั้งแนวโน้มในการวิเคราะห์เอกลักษณ์ของ AHFAs

7.4 Tentative identification of AHFA in wood wax

t_R (min)	lnk	Peak (92)	Peak (93)	Tentative identification
2.073 (t_M)				
6.708	0.80464	13.490814	13.763277	R-14h:0-iso
7.312	0.927	13.99	14.26	R-14h:0
8.305	1.101	14.69	14.97	S-15h:0
8.753	1.170	14.98	15.26	R-15h:0
9.657	1.297	15.49	15.77	R-16h:0-iso
10.03	1.34506	15.69	15.97	S-16h:0
10.652	1.420	15.99	16.28	R-16h:0
12.940	1.657	16.95	17.24	R-17h:0
14.552	1.795	17.51	17.81	R-18h:0-iso
16.043	1.908	17.97	18.27	R-18h:0

ผลใน ตารางที่ 7.4 นั้นชี้ให้เห็นว่า AHFAs ในไขแก่นไม้เป็น R-isomers ตามที่ Horn et al ได้รายงานไว้ อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษานี้ยังพบว่าในไขแก่นไม้จะมี AHFAs ที่มีจำนวนคาร์บอนเป็น เลขคี่ มี 14-methyl pentadecanoate และมี S- α -hydroxy pentadecanoate เกือบอยู่ (30.2 % enantiomeric excess in R)

7.4 สรุปและข้อเสนอแนะ

การศึกษานี้ได้พัฒนาวิธีการแยกสารผสมราซิมิก (racemic mixtures) ของ AHFA ในรูป ไดเอสเทอร์ไอเมอร์ของแอลกอฮอล์ต่างๆ คือ 2-เพนทานอล 2-เฮกซานอล 2-เฮพทานอล 2-อ็อกทานอล และเมนทอลบนคอลัมน์ BP-1 หรือคอลัมน์ Rtx-2330 คอลัมน์ Rtx-2330 มีประสิทธิภาพสูงกว่า BP-1 ในการแยกไดเอสเทอร์ไอเมอร์ของ 2-อ็อกทานอล R- and S-configuration ของ AHFA นั้นสามารถกำหนดได้คร่าวๆ ด้วยสมการ (92) และสมการ (93) อย่างไรก็ตาม การศึกษานี้เป็นจุดเริ่มต้น หรือรายงานชิ้นแรกที่พยายามวิเคราะห์ configuration โดยไม่อาศัยสารอ้างอิง ทว่า การวิเคราะห์ ยังคงต้องการการพัฒนาอีกมาก โดยเฉพาะฐานข้อมูลที่จะนำมาอ้างอิง

8. การทำนายความกว้างพีค

ในปี ค.ศ. 1941 Martin และ Syngel⁽¹⁾ ได้เสนอทฤษฎีที่เรียกว่า Plate theory ซึ่งสามารถใช้อธิบายการเคลื่อนที่ด้วยอัตราเร็วที่ต่างกันของตัวถูกละลายได้ใกล้เคียง แต่ยังไม่สามารถอธิบายความสัมพันธ์ระหว่างการแพร่กระจายของโซน (zone broadening) กับตัวแปรในการทดลอง (experimental parameter) ซึ่งต่อมามีผู้เสนอทฤษฎีที่สามารถ อธิบายความสัมพันธ์นี้ได้โดยอาศัยหลักของจลศาสตร์ ซึ่งเรียกว่า Rate theory โดยทฤษฎีนี้สามารถอธิบายพฤติกรรมของการเคลื่อนที่ของสารในโครมาโตกราฟีได้ดี และเกี่ยวข้องกับตัวแปรต่าง ๆ เช่น อัตราการถ่ายเทมวลระหว่างวัฏภาคหนึ่งกับวัฏภาคเคลื่อนที่ อัตราการแพร่กระจายของตัวถูกละลายในคอลัมน์ อัตราการไหลของแก๊สตัวพาและ ไฮโดรไดนามิก (hydrodynamics) ของวัฏภาคเคลื่อนที่ Van Deemter ในปีค.ศ.1956⁽⁴⁾ เสนอว่าการแพร่กระจายของโซนขึ้นอยู่กับตัวแปร 3 อย่างคือ การแพร่กระจายแบบธรรมดา (ordinary diffusion) การแพร่กระจายแบบวน (eddy diffusion) การแพร่กระจายแบบที่เกิดจากความไม่สมดุลเฉพาะจุด (local non-equilibrium) หรืออุปสรรคต่อการถ่ายเทมวล (mass transfer) ระหว่างวัฏภาคทั้งสองอันเนื่องมาจากการแพร่กระจาย ต่อมา Golay ในปีค.ศ.1958 [5] ได้ดัดแปลงสมการของ Van Deemter เพื่อใช้กับคอลัมน์แบบแคปิลลารี โดยเพิ่มการแพร่กระจายแบบวนหายไป

ในปี ค.ศ. 1960 Desty [10] ได้ริเริ่มวิธีการวิเคราะห์และการแยกสารด้วย GC อย่างรวดเร็ว โดยการใช้คอลัมน์ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเล็ก ๆ (ประมาณ 65 μm) และความยาวของคอลัมน์สั้น ๆ (ประมาณ 2 m) ซึ่งการวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้ พบว่า การแพร่กระจายโซนของสารที่เกิดจากเครื่องมือ (Instrumental Contributions to band broadening) มีความสำคัญเป็นอย่างมากต่อการแยกสารจากความสำคัญนี้จึงเป็นจุดเริ่มต้นสำหรับการศึกษาเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการแพร่กระจายโซนที่เกิดจากเครื่องมือ วิธีการคำนวณหาค่าความกว้างของโซนของสารและความกว้างของโซนที่เกิดจากเครื่องมือ รวมทั้งการคำนวณหาประสิทธิภาพของ คอลัมน์ที่แท้จริงด้วย โดยมีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องดังต่อไปนี้

ในปี ค.ศ. 1977 Kaiser and Rieder⁽⁴⁰⁾ เสนอวิธีการหาค่าความกว้างของพีคจากภายนอกคอลัมน์หรือจากเครื่องมือ (extra-column peak broadening) จากค่าจุดตัดแกนตั้งของกราฟเส้นตรงระหว่างค่าความกว้างของพีคที่ครึ่งความสูง (Peak width at half height, $w_{1/2}$) กับค่า k ซึ่งต่อมาในปี ค.ศ. 1978 Guiochon⁽⁴¹⁾ พบว่าความสัมพันธ์ดังกล่าวของ Kaiser ไม่เป็นเชิงเส้นสำหรับทุกการ ทดลอง และในปี ค.ศ. 1979 Smuts et al⁽⁴²⁾ แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าความแปรปรวน ของพีค (peak variance, σ^2) กับค่า $(1+k)^2$ ซึ่งต่อมาในปี ค.ศ. 1981 Smuts et al⁽⁴³⁾ ก็พบว่าความสัมพันธ์ดังกล่าวไม่เป็นเส้นตรงสำหรับทุกกรณี นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยของ Fritz and Scott⁽⁴⁴⁾ ในปี ค.ศ. 1983 ก็พบว่าความสัมพันธ์ดังกล่าวของ Smuts et al ไม่เป็นสมการเส้นตรงเช่นเดียวกัน และได้เสนอสมการสำหรับใช้หาค่าความแปรปรวนของพีคจากภายนอกคอลัมน์หรือจากเครื่องมือ (σ_{ec}^2) และค่าเพลททฤษฎี (N) ดังสมการ (96)

$$\sigma^2 = \frac{(t_M)^2}{N} [k(1+k)] + \sigma_{cc}^2 \quad \text{Eq. 96}$$

โดย N คือเพลททฤษฎี และ σ , t_M และ σ_{cc} มีหน่วยเป็นนาทีหรือวินาที

จากสมการ (96) สร้างกราฟเส้นตรงระหว่างค่า σ^2 กับ $k(1+k)$ จะได้ความชันของกราฟมีค่าเท่ากับ $\frac{(t_M)^2}{N}$ และจุดตัดแกนตั้ง มีค่าเท่ากับ σ_{cc}^2 จากผลการทดลอง พบว่า ความสัมพันธ์ดังกล่าวให้กราฟ เส้นตรงเป็นอย่างดี โดยมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานอยู่ในช่วง 0.9979 - 0.9999

ในปี ค.ศ. 1978 Gaspar et al⁽⁴⁵⁾ ได้ดัดแปลงสมการของ Golay เพื่อใช้กับแคลิลาเรคโกลัมน์ที่วิเคราะห์ด้วย GC แบบรวดเร็ว โดยเพิ่มเทอมการแพร่กระจายไซนจากภายนอกคอลัมน์ (extra-column contribution, σ_{cc}^2) ซึ่งเทอมนี้จะแปรผันตามกับอัตราเร็วของตัวถูกละลายกำลังสอง และแปรผกผันกับความยาวของคอลัมน์ ดังสมการ (97) (ซึ่งบางครั้งเรียกสมการของ Golay-Guiochon)

$$H = \frac{B}{u} + Cu + Du^2 \quad \text{Eq. 97}$$

โดย $B = 2D_g$

$$C = \frac{1+6k+11k^2}{24(1+k)^2 D_g} r_c^2 + \frac{2kd_f^2}{3(1+k)^2 D_i} \quad \text{Eq. 98}$$

$$D = \frac{t_{oc}^2}{(1+k)^2 L} \quad \text{Eq. 99}$$

ซึ่งในการทดลองใช้ก๊าซมีเทนเป็นตัวแทนของสาร ไม่คงค้างเพื่อใช้คำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์ D จากผลการทดลองพบว่า เมื่อเพิ่มเทอมการแพร่กระจายไซนจากภายนอก คอลัมน์ ทำให้สามารถคำนวณค่า H ได้ถูกต้องมากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับสารที่ชะออกจากคอลัมน์ อย่างรวดเร็ว เช่น ก๊าซมีเทน Bartu⁽⁴⁶⁾ ในปี ค.ศ. 1983 ได้เสนอสมการคำนวณค่า t_R และความกว้างของพีค (w_R) ที่สภาวะอุณหภูมิคงที่และที่สภาวะโปรแกรมอุณหภูมิ ดัง สมการ(100) และสมการ (101) ตามลำดับ

$$t_{R,n}(T) = A_{in} e^{B_{in}/T} + C_{in} \quad \text{Eq. 100}$$

$$w_{R,n}(T) = A_{wn} e^{B_{wn}/T} + C_{wn} \quad \text{Eq. 101}$$

โดย A_{in} , B_{in} , A_{wn} และ B_{wn} คือค่าคงที่

ผลการคำนวณค่า t_R และ w_R ของสารจากสมการทั้งสองที่สภาวะอุณหภูมิคงที่และโปรแกรม อุณหภูมิให้ค่าที่มีความถูกต้องและแม่นยำ เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าที่ได้จากการ ทดลอง กับค่าที่ได้จากการคำนวณ ซึ่งมีค่าสูงสุด 10% ซึ่งเป็นผลต่างของ w_R ทั้งนี้เนื่องจากการประมวลผลโดยทำการอินทิเกรตหาพื้นที่ใต้พีคเพื่อใช้คำนวณหาค่า w_R มีความคลาดเคลื่อนอยู่หลายเปอร์เซ็นต์ Berezkin⁽⁴⁷⁾ ในปี ค.ศ. 2000 ทำการเปรียบเทียบสมการต่างๆ ที่ใช้คำนวณหาค่า HETP 3 สมการดังนี้

$$\text{สมการ van Deenter} \quad : H = A_1 + B_1/u + C_1u \quad \text{Eq. 102}$$

$$\text{สมการ Golay} : H = B_2/u + C_2u \quad \text{Eq. 103}$$

$$\text{สมการ Golay-Guiochon} : H = B_3/u + C_3u + D_{ex}u^2 \quad \text{Eq. 104}$$

ซึ่งสมการนี้รวมเทอมการแพร่กระจายจากภายนอกคอลัมน์ด้วย จากการทดลองทั้งหมด 67 การทดลอง พบว่าความถูกต้องของสมการที่ใช้คำนวณค่า HETP จากสมการของ Golay, van Deemter และ Golay-Guiochon มีค่าเท่ากับ 7%, 19% และ 71% ตามลำดับ อีก 3% ที่เหลือสามารถใช้ได้ทั้งสมการของ van Deemter และ Golay ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสมการของ Golay-Guiochon ให้ความถูกต้องสำหรับคำนวณค่า HETP มากที่สุด และแสดงให้เห็นว่าการแพร่กระจายจากภายนอกคอลัมน์ มีความสำคัญอย่างมาก

จากเอกสารที่สืบค้นมาได้จะเห็นว่ายังไม่มีผู้ใดโยงสัมพันธ์ระหว่าง w_R หรือ σ กับ จำนวนคาร์บอนโดยตรง ที่ใกล้เคียงมากก็เป็นความสัมพันธ์ระหว่าง σ กับ k ของ Kaiser และ Smutt *et al* (สมการ 96) การศึกษาได้โยงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่าง w_R กับ z

8.1 ความสัมพันธ์ระหว่างความกว้างพีคและ จำนวนคาร์บอน

ตารางที่ 8.1 แสดงค่าพื้นที่ (Area) และ ความสูง (height) ของพีคของแก๊สไนออนและ นอร์มัลแอลเคน ที่ได้จากการวิเคราะห์บนคอลัมน์ HT-5 ด้วยเครื่องตรวจวัดแบบนำความร้อน (thermal conductivity detector, TCD) ค่า w คำนวณตามสมการ (105)

$$w_R = (2 \times \text{Area}) / \text{Height} \quad \text{Eq.105}$$

และค่า w_R ที่คำนวณได้ ได้รวบรวมไว้ในตารางที่ 8.2

ตารางที่ 8.1 แสดงค่าพื้นที่ และความสูงของพีคของแก๊สไนออนและสารนอร์มัลแอลเคน บนคอลัมน์ HT-5 ที่อุณหภูมิ 80-100 °C ด้วยเครื่องตรวจวัดแบบ TCD

Z	80 °C		85 °C		90 °C		95 °C		100 °C	
	Area	Height	Area	Height	Area	Height	Area	Height	Area	Height
Neon	284	165	276	160	277	157	268	150	254	143
8	1236	664	835	460	805	444	1119	612	578	319
9	945	424	646	317	596	306	859	444	421	222
10	959	280	635	234	581	239	867	357	400	190
11	947	152	624	140	564	152	851	234	376	137
12	914	74	581	71	527	83	844	131	344	84

ตารางที่ 8.2 แสดงค่าความกว้างพีคของแก๊สไนออนและสารนอร์มัลแอลเคน บนคอลัมน์ HT-5 ที่อุณหภูมิ 80-100 °C ด้วยเครื่องตรวจวัดแบบ TCD

z	w_R (วินาที)				
	80 °C	85 °C	90 °C	95 °C	100 °C
Neon	3.442	3.450	3.529	3.573	3.552
8	3.723	3.630	3.626	3.657	3.624
9	4.458	4.076	3.895	3.869	3.793
10	6.850	5.427	4.862	4.857	4.211
11	12.461	8.914	7.421	7.274	5.489
12	24.703	16.366	12.699	12.885	8.190

ในการศึกษานี้ได้แบ่งความกว้างพีคออกในลักษณะล้อยเรียบแบบเวลาคงค้าง คือ แบ่งเป็น ความกว้างพีคไม่ปรับแก้ (unadjusted width, w_R) ความกว้างพีคปรับแก้ (adjusted width, w_R') กับความกว้างพีค ของสารไม่คงค้าง (hold-up width or width of non-retained solute) ซึ่งค่าความกว้างพีคปรับแก้จะลบค่า ความกว้างพีคที่เกิดจากการแพร่กระจายโซนในปริมาตรตาย (dead volume) ของเครื่องมือออกแล้ว โดยความสัมพันธ์ของค่าเหล่านี้ และความสัมพันธ์ของค่าต่างๆ เหล่านี้แสดงในสมการ (106) และสมการ (107)

$$w_R'^2 = w_R^2 - w_M^2 \quad \text{Eq. 106}$$

และ
$$p' = \sqrt{w_R'/w_M} \quad \text{Eq. 107}$$

โดย w_M คือ ความกว้างพีคของสารไม่คงค้างหรืออากาศ (hold up width)

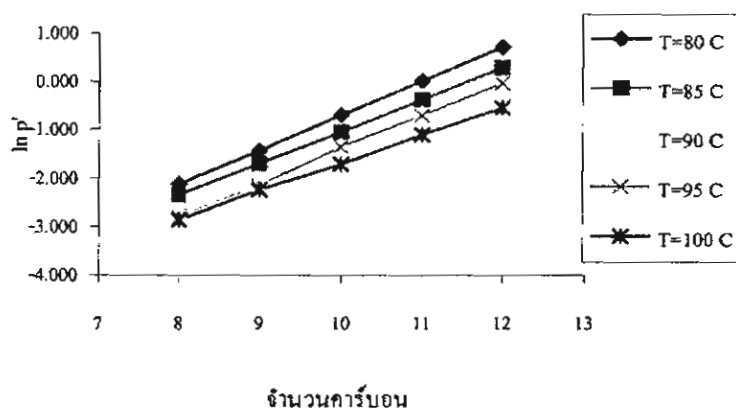
p' คือ ตัวประกอบคงค้างของความกว้างพีคของสาร (width factor)

(หมายเหตุ p' , และ w_R' เป็นศัพท์ที่บัญญัติขึ้นในการศึกษานี้ ส่วน w_M นี้ Smut et al⁽⁴⁴⁾ ได้บัญญัติไว้แล้ว แต่ไม่มีการแสดงวิธีการคำนวณค่า)

เนื่องจากแก๊สไนออนเป็นแก๊สที่ขอมรับกันทั่วไปว่ามีค่าคงค้างต่ำสุดในบรรดาแก๊สต่างๆ ที่ได้ศึกษากัน และเป็นแก๊สที่ใช้หาค่า hold up time (ดูในผลการทดลองหัวข้อที่ 5) ^(32,33) การศึกษานี้จึงเลือกใช้แก๊สไนออนเป็นตัววัดความกว้างพีคของสารไม่คงค้าง ตารางที่ 8.2 แสดงค่าความกว้างพีคของ สารนอร์มัลแอลเคนและแก๊สไนออนที่อุณหภูมิตั้งแต่ 80-100 °C เมื่อนำค่า w_R ของสารนอร์มัลแอลเคน ที่มีจำนวนคาร์บอน 8-12 อะตอมและค่า w_M มาคำนวณตาม สมการ (103) และสมการ (107) จะได้ค่า width factor (p') และเปลี่ยนให้อยู่ในรูป ของค่าลอการิทึมธรรมชาติของ width factor ($\ln p'$) ดัง แสดงในตารางที่ 8.3 นำค่า $\ln p'$ และ z มาสร้างกราฟเชิงเส้นดังรูปที่ 8.1

ตารางที่ 8.3 แสดงค่า $\ln p'$ ของสารนอร์มัลแอลเคนบนคอลัมน์ HT-5 ที่อุณหภูมิ 80-100 °C ด้วยเครื่องตรวจวัดแบบ TCD

z	$\ln p'$				
	80 °C	85 °C	90 °C	95 °C	100 °C
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



รูปที่ 8.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า $\ln p'$ และ n ของสารนอร์มัลแอลเคนบนคอลัมน์ HT-5 ที่อุณหภูมิ 80-100 °C ด้วยเครื่องตรวจวัดแบบ TCD

จากกราฟรูปที่ 8.1 พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างค่า $\ln p'$ และ z เป็นกราฟเส้นตรง สามารถคำนวณหาค่าความชัน ค่าจุดตัดแกน y และค่าความน่าเชื่อถือ (coefficient of variance, R^2) ของกราฟได้สรุปไว้ในตารางที่ 8.4

ตารางที่ 8.4 แสดงค่าความชัน จุดตัดแกน และค่าความน่าเชื่อถือของกราฟเส้นตรงระหว่างค่า $\ln p'$ และ z ของสารนอร์มัลแอลเคนบนคอลัมน์ HT-5 ที่อุณหภูมิ 80-100 °C ด้วยเครื่องตรวจวัดแบบ TCD

ค่าคงที่	$\ln p'$				
	80 °C	85 °C	90 °C	95 °C	100 °C
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

ผลการทดลองจากตารางที่ 8.4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า $\ln p'$ และ z เป็นกราฟเส้นตรงที่ทุกอุณหภูมิ โดยมีค่า R^2 มากกว่า 0.9989 ดังนั้น น่าจะสรุปได้ว่าความสัมพันธ์ดังกล่าว เป็นสมการเส้นตรง ดังสมการ (108)

$$\ln p' = a + bz \quad \text{Eq. 108}$$

โดย a และ b คือ ค่าจุดตัดแกน y และค่าความชัน ตามลำดับ

จากสมการ (105) สามารถทำนายค่า w_R ของสารที่มีจำนวนคาร์บอน (z) ต่าง ๆ ในอนุกรมฟังก์ชันเดียวกันได้ เมื่อทราบค่าคงที่ a และ b ความสัมพันธ์นี้หากนำไปใช้ร่วมกับสมการ ของ James and Martin (สมการ 109) ⁽³⁾ ซึ่งสามารถทำนายค่าเวลาคงค้างของสาร (t_R) จะสามารถ ทำนายอำนาจการแยก (resolution, R_S) (สมการ 1110) ของสาร 2 ตัวได้ โดยไม่ต้องทำการทดลอง

$$\ln t'_R = a' + b'z \quad \text{Eq. 109}$$

$$R_S = \frac{2(t_{R(2)} - t_{R(1)})}{w_{R(2)} + w_{R(1)}} \quad \text{Eq. 110}$$

อย่างไรก็ตาม การทำนายค่าต่าง ๆ เหล่านี้ใช้ได้ก็เฉพาะอุณหภูมิคงที่หนึ่ง ๆ เท่านั้น ดังนั้น เพื่อให้สมการทำนายได้กว้างขึ้น จึงได้ทำการศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างค่า $\ln p'$ และอุณหภูมิในการทดลองต่อไป ซึ่งอาจจะสามารถนำไปใช้ได้ทั้งสภาวะโปรแกรมอุณหภูมิด้วยและในการทดลองนี้ใช้ค่าความกว้างพีค ของสารไม่คงค้างจากแก๊สไนออน โดยนำค่าพื้นที่และความสูงของพีคที่ได้จากโครมาโตแกรม มาคำนวณความกว้างพีคตามสมการ (105) ถึงแม้ว่าแก๊สไนออนจะเป็นสารที่นิยมอย่างกว้างขวาง สำหรับวัดค่าเวลาของสารไม่คงค้าง (t_m) แต่วิธีนี้ก็ยังมีข้อด้อย คือแก๊สไนออนไม่สามารถตรวจวัด ได้ด้วยเครื่องตรวจวัดแบบ FID ซึ่งเป็นเครื่องตรวจวัดที่นิยมใช้อย่างกว้างขวาง ยิ่งกว่านั้นการ วิเคราะห์สารที่สภาวะอุณหภูมิคอลัมน์สูง ๆ พบว่าแก๊สไนออนไม่สามารถแยกออกจากพีคของสารตัวอย่างหรือแยกออกได้เพียงบางส่วนเท่านั้น ซึ่งจะทำให้เกิดความยุ่งยากเป็นอย่างมากต่อการวัดความกว้างพีคของสารในกรณีของค่าเวลาคงค้างมีการศึกษาหาวิธีการคำนวณทางคณิตศาสตร์ อยู่หลาย

วิธีเพื่อใช้ สำหรับทำนายค่า $t_M^{(5,34-37)}$ จากการศึกษาของ Wainright and Haben⁽⁴⁷⁾ พบว่า การทำนายค่า t_M ด้วยวิธีการทำทวนซ้ำ (iterative method) ของ Guardino et al⁽³⁷⁾ ให้ความแม่นยำสูง

8.2 วิธีคำนวณค่าความกว้างพีคของสารไม่คงค้ำ โดยใช้เครื่องตรวจวัด TCD

จากสมการ (105) นำมาประยุกต์ร่วมกับหลักการการทำทวนซ้ำของ Guardino et al⁽³⁷⁾ มาดัดแปลงสำหรับคำนวณค่า w_M ได้โดยสร้างกราฟเส้นตรงจากสารมาตรฐานนอร์มัลแอลเคน ที่มีจำนวนคาร์บอนตั้งแต่ 8-12 อะตอม ที่สภาวะอุณหภูมิคงที่ตั้งแต่ 80-100°C บนคอลัมน์ HT-5 ด้วยเครื่องตรวจ วัดแบบ TCD โดยแทนค่า z และ w_R ลงในสมการ (108) จากนั้นสมมุติแทนค่า w_M จนได้ค่าความน่าเชื่อถือ (linear regression squared value, R^2) มีค่าใกล้เคียง 1 มากที่สุด โดยทำการคำนวณด้วยคอมพิวเตอร์ Microsoft Excel version 8.0 และแสดงค่า w_M ที่คำนวณได้และทำการเปรียบเทียบกับค่า w_M (neon) (ข้อมูลใน ตารางที่ 8.2) ที่วัดได้จากความกว้างพีคของแก๊สนีออน ดังแสดงใน ตารางที่ 8.5

ตารางที่ 8.5 เปรียบเทียบค่าความกว้างของพีคของแก๊สนีออนที่ได้จากการทดลองและ ค่า w_M จากการคำนวณ

อุณหภูมิ (°C)	ความกว้างพีค (วินาที)		
	การทดลอง ($w_{R(neon)}$)	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

จากตารางที่ 8.5 พบว่าค่าความกว้างพีคของแก๊สนีออนที่ได้จากการทดลองและค่าความกว้างพีคของแก๊สนีออนที่ได้จากการคำนวณด้วยสมการ (105) มีค่าใกล้เคียงกันมาก โดยมีค่าความแตกต่างสูงสุดเพียง 0.014 วินาที ดังนั้นวิธีการคำนวณค่า w_M โดยวิธีการทำทวนซ้ำ (iterative method) ที่ดัดแปลง มาจากวิธีของ Guardino สามารถคำนวณค่า w_M ได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ

8.3 วิธีคำนวณค่าความกว้างพีคของสารไม่คงค้ำ โดยใช้เครื่องตรวจวัด FID

ขยายผลการคำนวณค่า w_M ไปยังเครื่องตรวจวัดแบบ FID โดยใช้สารตัวอย่างนอร์มัลแอลเคน (C_{16} - C_{22}) กรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ (C_{16} - C_{22}) และไขมันแอลกอฮอล์ (C_{12} - C_{20}) บนคอลัมน์ HT-5 ที่อุณหภูมิ คอลัมน์คงที่ต่าง ๆ

ในขั้นตอนแรกนำค่าพื้นที่และความสูงของพีคของสารที่ได้จากโครมาโตแกรมดังแสดงใน ตารางที่ 8:6 – 8:8 มาคำนวณค่าความกว้างพีคของสาร (w_k) ทั้ง 3 หมู่ฟังก์ชัน ด้วยสมการ (102)

ตารางที่ 8.6 แสดงค่าพื้นที่ และความสูงของพีคของสารนอร์มัลแอลเคนบนคอลัมน์ HT-5 ที่อุณหภูมิ คอลัมน์ 170-190°C ด้วยเครื่องตรวจวัด FID

นอร์มัลแอลเคน (z)	170 °C		180 °C		190 °C	
	Area	Height	Area	Height	Area	Height
16	32383	6148	32636	9106	26386	6756
17	30386	4249	30504	6663	24329	5333
18	29118	2836	29175	4646	22939	4116
19	28848	1818	28514	3255	22095	2926
20	28909	1206	27923	2214	21537	2080
21	29103	790	27931	1421	21468	1447
22	29097	506	27925	947	21664	1017

ตารางที่ 8.7 แสดงค่าพื้นที่ และความสูงของพีคของสารกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์บนคอลัมน์ HT-5 ที่อุณหภูมิคอลัมน์ 200-220°C ด้วยเครื่องตรวจวัด FID

FAMES	200 °C		205 °C		210 °C		215 °C		220 °C	
	Area	Height	Area	Height	Area	Height	Area	Height	Area	Height
16:0	10386	1487	15330	2965	12523	2595	4894	1080	5618	1347
17:0	10100	1103	15177	2243	12119	2011	4533	834	5461	1089
18:0	11620	919	17316	1917	13222	1670	5218	740	6238	986
19:0	9705	567	14820	1189	11126	1053	4308	475	5225	675
20:0	11507	482	17266	989	13649	931	5035	411	6325	629
22:0	10066	201	14904	421	12516	434	4223	186	5934	313

ตารางที่ 8.8 แสดงค่าพื้นที่ และความสูงของพีคของไขมันแอลกอฮอล์บนคอลัมน์ HT-5 ที่อุณหภูมิ
คอลัมน์ 180-200 °C ด้วยเครื่องตรวจวัด FID

Fatty alcohols	180 °C		185 °C		190 °C		195 °C		200 °C	
(z)	Area	Height	Area	Height	Area	Height	Area	Height	Area	Height
12	7340	2580	10602	4003	8556	3742	13018	5885	6359	3093
14	6981	1563	9765	2508	7732	2356	11622	3948	6207	2351
16	7176	819	9662	1287	7394	1302	11110	2245	6294	1487
18	7338	383	9469	613	6937	587	10637	1058	6060	777
20	7547	168	10777	302	7647	302	11599	577	6416	389

จากนั้นนำค่า w_R ที่คำนวณได้เหล่านี้ มาใช้ทำนายค่า w_M ตามวิธีที่ได้กล่าวมาแล้วในผลการทดลองตอนที่ 8.1 สรุปผลการคำนวณของค่า w_R และ w_M ไว้ในตารางที่ 8.9 – 8.11

ตารางที่ 8.9 แสดงค่าความกว้างของพีคของสารนอร์มัลแอลเคน บนคอลัมน์ HT-5 ที่อุณหภูมิ
170-190 °C ด้วยเครื่องตรวจวัดแบบ FID

z	w_R (วินาที)		
	170 °C	180 °C	190 °C
16	10.534	7.168	7.811
17	14.303	9.156	9.124
18	20.535	12.559	11.146
19	31.736	17.520	15.103
20	47.942	25.224	20.709
21	73.678	39.312	29.672
22	115.008	58.976	42.604
w_M	6.690	5.248	6.525

ตารางที่ 8.10 แสดงค่าความกว้างของพีคของสารกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ บนคอลัมน์ HT-5 ที่อุณหภูมิคอลัมน์ 200-220 °C ด้วยเครื่องตรวจวัด FID

FAMES	w_R (วินาที)				
	200 °C	205 °C	210 °C	215 °C	220 °C
16:0	13.969	10.341	9.652	9.063	8.341
17:0	18.314	13.533	12.053	10.871	10.029
18:0	25.288	18.066	15.835	14.103	12.653
19:0	34.233	24.929	21.132	18.139	15.481
20:0	47.747	34.916	29.321	24.501	20.111
22:0	100.159	70.803	57.677	45.409	37.917
w_M	8.092	6.098	6.441	6.246	6.062

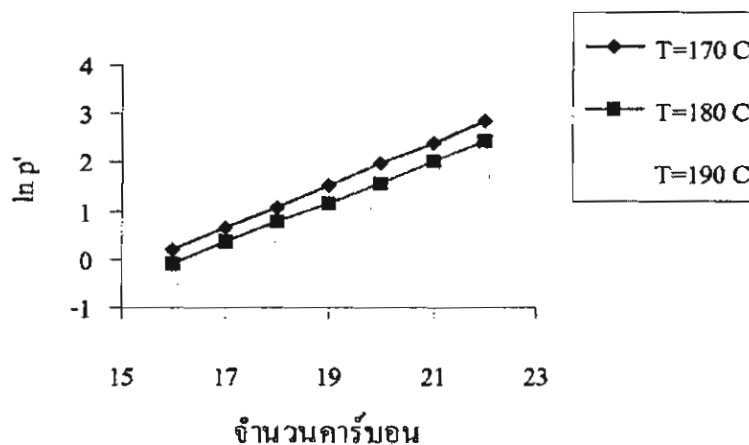
ตารางที่ 8.11 แสดงค่าความกว้างของพีคของสารกรดไขมันแอลกอฮอล์ บนคอลัมน์ HT-5 ที่อุณหภูมิคอลัมน์ 180-200 °C ด้วยเครื่องตรวจวัด FID

Fatty alcohols (z)	w_R (วินาที)				
	180 °C	185 °C	190 °C	195 °C	200 °C
12	5.701	5.297	4.573	4.424	4.112
14	9.089	7.787	6.564	5.888	5.280
16	17.952	15.015	11.358	9.898	8.465
18	39.381	30.894	23.635	20.108	15.598
20	91.518	71.371	50.642	40.205	32.987
w_M	4.577	4.463	3.891	3.891	3.697

นำค่า w_R และ w_M ของสารทั้ง 3 หมู่ฟังก์ชันที่อุณหภูมิคอลัมน์ต่าง ๆ มาคำนวณตาม สมการ (103) และสมการ (104) จะได้ค่า width factor (p') ดังแสดงไว้ในตารางที่ 8.12 – 8.14 และเมื่อเขียนกราฟระหว่าง $\ln p'$ และ z จะได้กราฟดังรูปที่ 8.2 – 8.4

ตารางที่ 8.12 แสดงค่าลอการิทึมธรรมชาติของ width factor ของสารนอร์มัลแอลเคน บนคอลัมน์ HT 5 ที่อุณหภูมิคอลัมน์ 170-190 °C ด้วยเครื่องตรวจวัด FID

นอร์มัลแอลเคน (z)	ln p'		
	170 °C	180 °C	190 °C
16	0.196	-0.072	-0.418
17	0.636	0.357	-0.023
18	1.065	0.777	0.326
19	1.534	1.158	0.736
20	1.960	1.548	1.103
21	2.395	2.005	1.490
22	2.843	2.415	1.864
Intercept	-6.863	-6.653	-6.502
Slope	0.441	0.412	0.380
R ²	0.9999	0.9996	0.9998



รูปที่ 8.2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ln p' ของสารนอร์มัลแอลเคนบนคอลัมน์ HT-5 ที่อุณหภูมิคอลัมน์ 170-190 °C ด้วยเครื่องตรวจวัด FID

จากกราฟที่ได้สามารถเขียนในรูปสมการเชิงเส้นได้ดังนี้

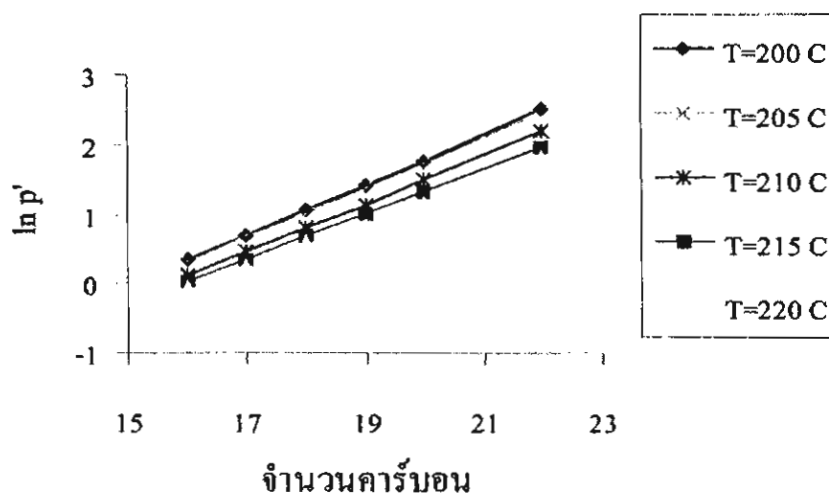
ที่อุณหภูมิ 170 °C : $\ln p' = -6.863 + 0.441n$; $R^2 = 0.9999$ Eq. 111

ที่อุณหภูมิ 180 °C : $\ln p' = -6.653 + 0.412n$; $R^2 = 0.9996$ Eq. 112

ที่อุณหภูมิ 190 °C : $\ln p' = -6.502 + 0.380n$; $R^2 = 0.9998$ Eq. 113

ตารางที่ 8.13 แสดงค่าลอการิทึมธรรมชาติของ width factor ของสารกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์
บนคอลัมน์ HT-5 ที่อุณหภูมิคอลัมน์ 200-220 °C ด้วยเครื่องตรวจวัด FID

FAMES	ln p'				
	200 °C	205 °C	210 °C	215 °C	220 °C
16:0	0.342	0.314	0.110	0.050	-0.056
17:0	0.708	0.684	0.458	0.354	0.276
18:0	1.085	1.026	0.809	0.705	0.605
19:0	1.414	1.377	1.139	1.003	0.854
20:0	1.760	1.729	1.491	1.333	1.152
22:0	2.513	2.448	2.186	1.974	1.820
Intercept	-5.400	-5.348	-5.414	-5.096	-4.964
Slope	0.359	0.354	0.345	0.321	0.307
R ²	0.9996	0.9999	0.99995	0.9998	0.9984



รูปที่ 8.3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ln p' ของสารกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์บนคอลัมน์
HT-5 ที่อุณหภูมิคอลัมน์ 200-220 °C ด้วยเครื่องตรวจวัด FID

จากกราฟที่ได้สามารถเขียนในรูปสมการเชิงเส้นได้ดังนี้

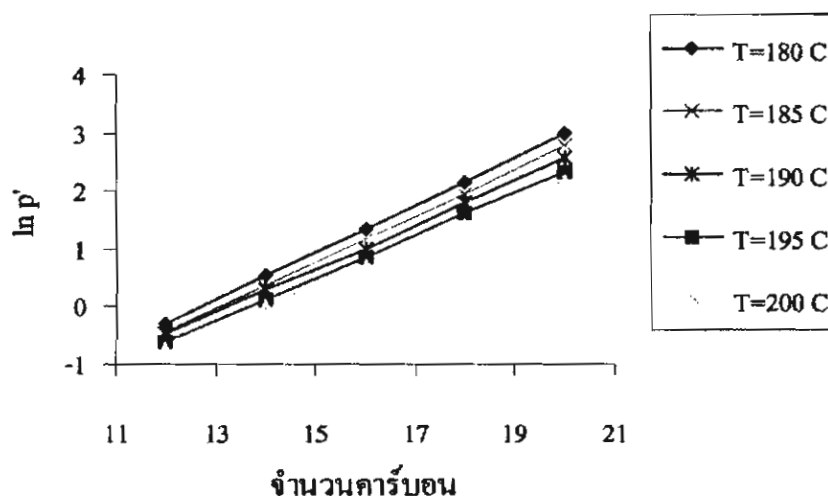
ที่อุณหภูมิ 200 °C : $\ln p' = -5.400 + 0.359n$; $R^2 = 0.9996$ Eq. 114

ที่อุณหภูมิ 210 °C : $\ln p' = -5.414 + 0.345n$; $R^2 = 0.99995$ Eq. 115

ที่อุณหภูมิ 220 °C : $\ln p' = -4.964 + 0.307n$; $R^2 = 0.9984$ Eq. 116

ตารางที่ 8.14 แสดงค่าลอการิทึมธรรมชาติของ width factor ของสารกรดไขมันแอลกอฮอล์
บนคอลัมน์ HT-5 ที่อุณหภูมิคอลัมน์ 180-200 °C ด้วยเครื่องตรวจวัด FID

Fatty alcohols	ln p'				
(z)	180 °C	185 °C	190 °C	195 °C	200 °C
12	-0.297	-0.447	-0.482	-0.614	-0.720
14	0.540	0.358	0.306	0.127	0.020
16	1.333	1.167	1.009	0.850	0.723
18	2.145	1.924	1.790	1.623	1.411
20	2.994	2.770	2.563	2.331	2.182
Intercept	-5.208	-5.247	-5.022	-5.045	-5.033
Slope	0.409	0.400	0.379	0.369	0.360
R ²	0.9999	0.9998	0.9997	0.9999	0.9997



รูปที่ 8.4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าลอการิทึมธรรมชาติของ Width factor ของไขมัน
แอลกอฮอล์บนคอลัมน์ HT-5 ที่อุณหภูมิคอลัมน์ 180-200 °C ด้วยเครื่องตรวจวัด FID

จากกราฟที่ได้สามารถเขียนในรูปสมการเชิงเส้นได้ดังนี้

$$\text{ที่อุณหภูมิ } 180^{\circ}\text{C} : \ln p' = -5.208 + 0.409n ; R^2 = 0.9999 \quad \text{Eq. 117}$$

$$\text{ที่อุณหภูมิ } 190^{\circ}\text{C} : \ln p' = -5.022 + 0.379n ; R^2 = 0.9997 \quad \text{Eq. 118}$$

$$\text{ที่อุณหภูมิ } 200^{\circ}\text{C} : \ln p' = -5.033 + 0.360n ; R^2 = 0.9997 \quad \text{Eq. 119}$$

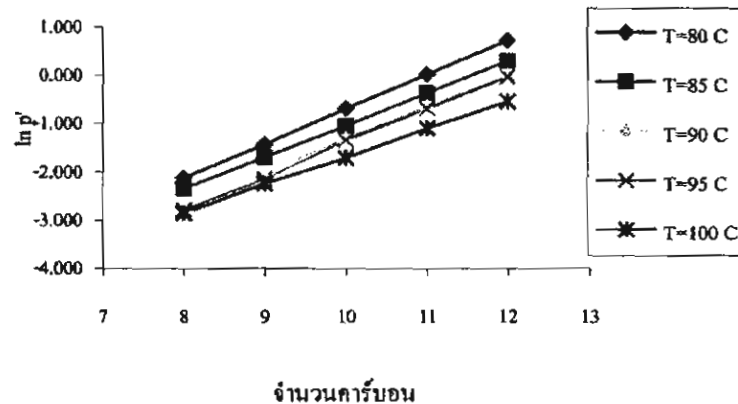
จากกราฟรูปที่ 8.2 – 8.4 พบว่า ความสัมพันธ์ระหว่างค่า $\ln p'$ และ z เป็นกราฟเส้นตรง มีค่าความน่าเชื่อถือ (coefficients of variance, R^2) มากกว่า 0.9984 ดังนั้น สามารถสรุปได้ว่า สามารถคำนวณค่า w_M ตามสมการ (108) ด้วยวิธีทำทวนซ้ำได้ทั้งเครื่องตรวจวัดแบบ TCD และ FID ผลการศึกษากับสารตัวอย่าง 3 หมู่ฟังก์ชัน ที่สถานะอุณหภูมิคอลัมน์คงที่ พบว่าค่า $\ln p'$ จะแปรผันเป็นเชิงเส้นกับจำนวนคาร์บอน และสมการ (108) นี้ สามารถนำมาคำนวณหาค่า w_M ได้ทั้งแบบ TCD และผลการทดลองที่ได้ พบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิของคอลัมน์สูงขึ้นความชันลดลง นั่นคือ ความกว้างของพีคของสารตัวอย่างน้อยลง ทั้งนี้เนื่องจากการใช้อุณหภูมิคอลัมน์สูงจะมีผลทำให้การกระจายของพีคที่เกิดจากความไม่สมดุลเฉพาะจุดหรือความต้านทานต่อการถ่ายเทมวลมีค่าลดลง สารตัวอย่างส่วนใหญ่อยู่ในวัฏภาคเคลื่อนที่ จึงทำให้การละลายของสารตัวอย่างในวัฏภาคนิ่งลดลงและผลของการกระจายของพีคแบบธรรมชาติอาจลดลงบ้างเล็กน้อย ถ้าพิจารณาอัตราเร็วของแก๊สตัวพาคงที่ เมื่อสถานะอุณหภูมิคอลัมน์สูงขึ้นจะเพิ่มความหนืดของแก๊สและความดันของระบบ อีกทั้งวัฏภาคนิ่งในคอลัมน์มีการขยาย ตัวสูงกว่าคอลัมน์ซึ่งเป็นซิลิกาทำให้ปริมาตร วัฏภาคเคลื่อนที่ลดลง

8.4 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างค่า $\ln p'$ และ z จากข้อมูลของ Smuts และคณะ⁽⁴³⁾

จากงานวิจัยของ Smuts et al.⁽⁴³⁾ ที่ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่าความแปรปรวน (σ^2) กับค่า $(1+k)^2$ ของสารนอร์มัลแอลเคนที่มีจำนวนคาร์บอนตั้งแต่ 6-17 อะตอม ในการทดลองนี้ได้นำข้อมูลจากการทดลองของ Smuts และคณะ มาคำนวณหาค่าต่างๆ ดังนี้ คือ t_M , w_M , k , w_R' และ p' ดังแสดงในตารางที่ 8.15 และสร้างความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่า $\ln p'$ และ z ดังรูปที่ 8.5

ตารางที่ 8.15 แสดงพารามิเตอร์ต่าง ๆ ที่คำนวณได้จากผลการทดลองของ Smuts และคณะ⁽⁴³⁾

Compound	k	w_R'	$w_R'^2$	p'	$\ln(p')$
Nonane	0.544	1.568	2.458	0.667	-0.405
Decane	0.840	2.636	6.950	1.121	0.114
Undecane	1.309	3.527	12.439	1.500	0.406
Dodecane	2.054	5.397	29.130	2.296	0.831
Tridecane	3.233	7.159	51.256	3.045	1.114
Tetradecane	5.076	10.815	116.966	4.600	1.526
Pentadecane	7.981	16.553	274.005	7.040	1.952
Hexadecane	12.538	25.323	641.262	10.771	2.377
Heptadecane	18.816	38.783	1504.148	16.496	2.803
t_M	208.65 s				
w_M	2.351 s				



รูปที่ 8.5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln p'$ กับจำนวนคาร์บอนของสารนอร์มัลแอลเคนจากข้อมูลของ Smuts และคณะ⁽⁴³⁾

จากกราฟรูปที่ 8.5 พบว่า ความสัมพันธ์ระหว่างค่า $\ln p'$ และ z เป็นกราฟเส้นตรง และมีค่า R^2 เท่ากับ 0.9975 จากผลการทดลองนี้เพิ่มความมั่นใจได้ว่าสมการ (108) สามารถนำมาใช้ทำนายค่า w_R ของสารในอนุกรมเดียวกันได้ เมื่อทราบค่าความชันและจุดตัดแกน y ของกราฟ

8.5 ความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln p'$ และ $\ln k$

จากผลการทดลองที่ 8.1 พบว่า ความสัมพันธ์ระหว่างค่า $\ln p'$ และ z เป็นกราฟเส้นตรง ดังสมการ (108) ซึ่งเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบกับค่าเวลาดังข้างของสารแล้ว พบว่าค่า $\ln p'$ มีความสัมพันธ์อย่างเป็นเส้นตรงกับจำนวนคาร์บอน เช่นเดียวกับค่าตัวประกอบคงค้าง (retention factor, k) ดัง สมการ (120)

$$\ln k = A + Bn \quad \text{Eq. 120}$$

โดยที่ A และ B คือ ค่าคงที่

เมื่อรวมสมการ (108) และ สมการ (120) จะได้

$$\ln p' = a + b(\ln k - A)/B \quad \text{Eq. 121}$$

$$\text{หรือ} \quad \ln p' = A' + B' \ln k \quad \text{Eq. 122}$$

นั่นคือ $\ln p'$ มีความสัมพันธ์เป็นเชิงเส้นกับ $\ln k$

8.6 สรุปและข้อเสนอแนะ

การศึกษานี้ได้บัญญัติศัพท์ขึ้นใหม่คือ width factor (p') และได้โยงสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง $\ln p'$ กับ จำนวนคาร์บอนอะตอมของสารในอนุกรมฟังก์ชันเดียวกัน และความสัมพันธ์นี้น่าจะขยายออกไปใช้กับ I ได้ เนื่องจาก $\ln k$ นั้นสัมพันธ์เชิงเส้นกับจำนวนคาร์บอน และค่า I

นอกจากนี้ยังได้แสดงวิธีการคำนวณค่า w_M โดยเปรียบเทียบค่าที่คำนวณได้กับความกว้างพิคของ แก๊สเนออน และให้ความแม่นยำสูง

สมการ (122) แม้เป็นความสัมพันธ์แบบง่าย ๆ และชี้ให้เห็นว่าความกว้างของพิคที่เกิดจากปัจจัยภายในคอลัมน์นั้นสัมพันธ์เส้นกับค่า k ในลักษณะ log-log และมีค่าความชันเท่ากับ 1 ความสัมพันธ์นี้น่าจะขยายผล หรือนำไปใช้ประโยชน์ได้มาก เช่น มีความเป็นไปได้ไหมว่า slope ของ $\ln p'$ กับ $\ln k$ มีค่ามากกว่า 1 ซึ่งชี้บอกถึงความเบี่ยงเบนไปจากทฤษฎี โดยมีอัตราการกระจายตัวของพิคสูงกว่าอัตราการเคลื่อนที่ กรณีอย่างนี้น่าจะเกิดขึ้นได้หากการเคลื่อนคอลัมน์ไม่สมบูรณ์ หรือหากเป็นคอลัมน์แบบแพค การบรรจุคอลัมน์ไม่แน่นและเกิดช่องว่างขึ้นมาก ดังนั้น สมการ (122) น่าจะชี้บอกถึงความสมบูรณ์ในการเคลือบหรือการบรรจุคอลัมน์ได้ นอกจากนี้ สมการ (122) ยังเป็นตัวเชื่อมระหว่างความกว้างพิคกับเวลาคงค้างหรือนำสมการเวลาคงค้างเข้ามาแทนที่ ก็จะทำให้การหาค่าความกว้างของพิคในลักษณะต่างๆ ได้ ดังเช่นในการศึกษาบทต่อไป เป็นการนำค่า $\ln k$ ในสมการ (32) เข้ามาแทนที่ในสมการ (122)

9. ผลของอุณหภูมิคอลัมน์ต่อความกว้างของพีค

ในหัวข้อที่ 8 ได้แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง $\ln k$ กับ z และ $\ln k$ กับ $\ln p'$ ในหัวข้อนี้เป็นการขยายผลการศึกษาไปถึงอิทธิพลของอุณหภูมิต่อความกว้างของพีคในส่วนของการทฤษฎีนั้นได้ derive ให้เห็นถึงความสัมพันธ์ของ $\ln p'$ กับอุณหภูมิและจำนวนคาร์บอนไว้แล้วในสมการ (60) ดังนั้น ในส่วนนี้จึงเป็นการแสดงผลการทดลองเพื่อยืนยันความถูกต้องของสมการ (60)

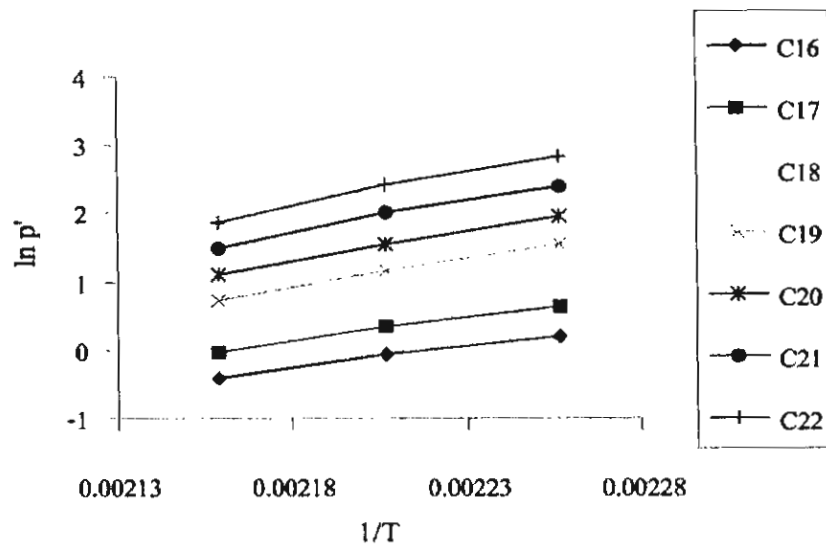
9.1 ความสัมพันธ์ระหว่างความกว้างพีคและอุณหภูมิคอลัมน์

ตารางที่ 9:1 – 9:3 เป็นข้อมูลความกว้างพีคของนอร์มัลแอลเคน กรดไขมันเมทิล เอสเทอร์และไขมันแอลกอฮอล์ บนคอลัมน์ HT-5 โดยใช้เครื่องตรวจวัดแบบ FID เมื่อนำข้อมูลนี้มาเขียนกราฟระหว่าง $\ln p'$ กับ $1/T$ จะได้กราฟเส้นตรงดังรูปที่ 9.1 – 9.3 ตามลำดับ

ตารางที่ 9:1 แสดงค่า ค่า $\ln p'$ และ ส่วนกลับของอุณหภูมิ ของนอร์มัลแอลเคนที่จำนวนคาร์บอน 16-22 อะตอม บนคอลัมน์ HT-5 ด้วยเครื่องตรวจวัด FID

นอร์มัลแอลเคน (z)	$\ln p'$			Intercept	Slope	correlation
	170 °C	180 °C	190 °C			
16	2.257*	2.207*	2.159*	-14.00	6297	0.9963
17	0.196	-0.072	-0.418	-14.59	6757	0.9949
18	0.636	0.357	-0.023	-16.01	7578	0.9904
19	1.065	0.777	0.326	-16.93	8186	0.9989
20	1.534	1.158	0.736	-17.87	8790	0.9994
21	1.960	1.548	1.103	-18.52	9278	0.9958
22	2.395	2.005	1.490	-19.76	10028	0.9963

*ค่า $(1/T \times 10^3)$ หน่วย (K^{-1})

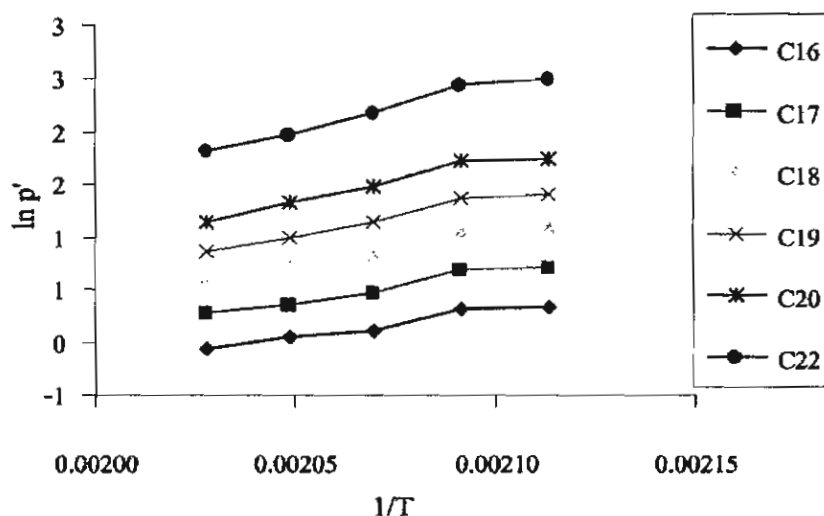


รูปที่ 9.1 แสดงค่า ค่า $\ln p'$ และ ส่วนกลับของอุณหภูมิ ของนอร์มัลแอลเคนที่จำนวนคาร์บอน 16-22 อะตอม บนคอลัมน์ HT-5 ด้วยเครื่องตรวจวัด FID

ตารางที่ 9:2 แสดงค่า ค่า $\ln p'$ และ ส่วนกลับของอุณหภูมิ ของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ที่จำนวน คาร์บอน 16-22 อะตอม บนคอลัมน์ HT-5 ด้วยเครื่องตรวจวัด FID

FAMES	$\ln p'$					intercept	slope	correlation
	200 °C	205 °C	210 °C	215 °C	220 °C			
	2.113*	2.091*	2.070*	2.049*	2.028*			
16:0	0.342	0.314	0.110	0.050	-0.056	-10.09	4946	0.9761
17:0	0.708	0.684	0.458	0.354	0.276	-11.04	5572	0.9963
18:0	1.085	1.026	0.809	0.705	0.605	-11.52	5976	0.9978
19:0	1.414	1.377	1.139	1.003	0.854	-13.25	6959	0.9959
20:0	1.760	1.729	1.491	1.333	1.152	-14.08	7521	0.9988
22:0	2.513	2.448	2.186	1.974	1.820	-15.75	8665	0.9973

*ค่า $(1/T \times 10^3)$ หน่วย (K^{-1})

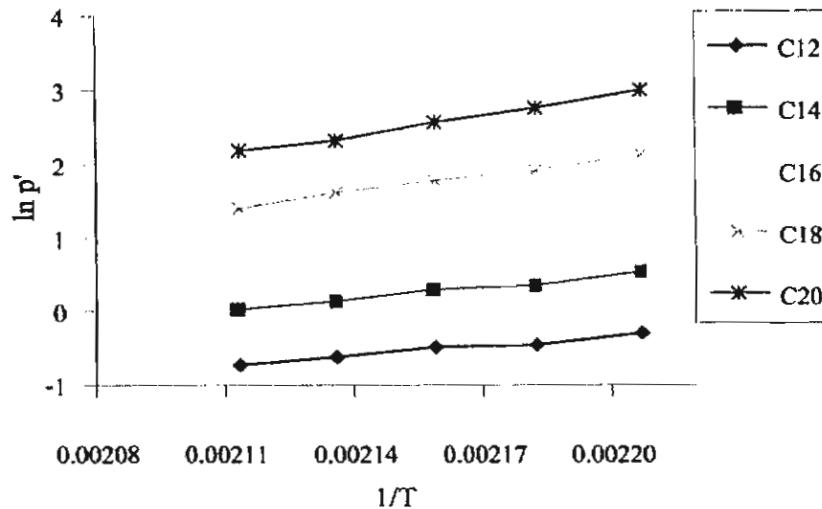


รูปที่ 9.2 แสดงค่า ค่า $\ln p'$ และ ส่วนกลับของอุณหภูมิ ของกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ ที่จำนวนคาร์บอน 16-22 อะตอม บนคอลัมน์ HT-5 ด้วยเครื่องตรวจวัด FID

ตารางที่ 9:3 แสดงค่า ค่า $\ln p'$ และ ส่วนกลับของอุณหภูมิ ของไขมันแอลกอฮอล์ที่จำนวน คาร์บอน 12-20 อะตอม บนคอลัมน์ HT-5 ด้วยเครื่องตรวจวัด FID

Fatty alcohols (z)	$\ln p'$					Intercept	slope	correlation
	180 °C	185 °C	190 °C	195 °C	200 °C			
	2.207*	2.183*	2.159*	2.136*	2.113*			
12	-0.297	-0.447	-0.482	-0.614	-0.720	-9.88	4336	0.9883
14	0.540	0.358	0.306	0.127	0.020	-11.50	5450	0.9898
16	1.333	1.167	1.009	0.850	0.723	-13.23	6598	0.9994
18	2.145	1.924	1.790	1.623	1.411	-14.61	7590	0.9967
20	2.994	2.770	2.563	2.331	2.182	-16.55	8853	0.9983

*ค่า $(1/T \times 10^3)$ หน่วย (K^{-1})



รูปที่ 9.3 แสดงค่า $\ln p'$ และ ส่วนกลับของอุณหภูมิของไขมันแอลกอฮอล์
ที่จำนวนคาร์บอน 12-20 อะตอม บนคอลัมน์ HT-5 ด้วยเครื่องตรวจวัด FID

ผลการทดลองจากตารางที่ 9:1 – 9:3 พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างค่า $\ln p'$ กับ $1/T$ ของสาร
นอร์มัลแอลเคน FAMEs และไขมันแอลกอฮอล์ มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง โดยพิจารณาได้จากค่า
ความน่าเชื่อถือ (correlation, r) มีค่ามากกว่า 0.9904, 0.9761 และ 0.9883 ตามลำดับ และความสัมพันธ์
นี้สามารถแสดงเป็นสมการ (123) ผลการทดลองจะสอดคล้องกับรายงานของ Bartu⁽⁴⁶⁾ ที่เสนอวิธีการ
คำนวณค่า w_R ตามสมการ (124)

$$\ln p' = e + \frac{f}{T} \quad \text{Eq. 123}$$

$$\ln(w_R - c') = a' + \frac{b'}{T} \quad \text{Eq. 124}$$

โดย e , f , c' , a' , b' และ เป็นค่าคงตัว ทว่าค่าคงตัวของสมการ (124) นั้นไม่ทราบความหมายที่ชัดเจน
ส่วนค่าคงตัวของสมการ (123) นั้นได้มีการ derive ไว้ในบททฤษฎีแล้ว

ผลการศึกษาี้ ยังชี้ให้เห็นว่าเมื่อจำนวนคาร์บอนอะตอมเพิ่มขึ้น ความชันของกราฟเพิ่มสูงขึ้น
หรือความกว้างพีคของสารตัวอย่างจะเพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้ เนื่องจากสารตัวอย่างที่มีจำนวนคาร์บอน
อะตอมสูงกว่าจะมีการถ่ายเทมวลระหว่างวัฏภาคเคลื่อนที่กับวัฏภาคนิ่งจะใช้เวลาถึงจุดสมดุลช้ากว่า
สารที่มีจำนวนคาร์บอนอะตอมต่ำกว่า เมื่ออัตราการไหลของแก๊สตัวพาอยู่ที่ สารที่มีจำนวนคาร์บอนสูง
อาจจะห่างไกลจากจุดสมดุลมากกว่า จึงมีผลทำให้พีคกว้างมากกว่าหรืออาจเพราะสารที่มีจำนวน
คาร์บอนอะตอมสูงต้องใช้เวลาอยู่ในคอลัมน์นานกว่าสารที่มีจำนวนคาร์บอนต่ำกว่าจึงทำให้เกิดการ
แพร่กระจาย เพิ่มขึ้นมีผลให้พีคที่ได้กว้าง

9.2 ความสัมพันธ์ระหว่างความกว้างพีค อุณหภูมิและจำนวนคาร์บอน

เนื่องจากสมการ (60) นั้นมีความคล้ายคลึงกับสมการ (32) อย่างมาก ส่วนที่ต่างกันคือค่าคงที่ a กับ A เท่านั้น ส่วนค่าคงตัว b, c และ d นั้นมีค่าเท่ากัน ดังนั้น การหาค่าคงตัวทั้ง 4 ของสมการ (60) จึงได้นำวิธีการ ของสมการ (32) มาใช้ ส่วนค่า w_M นั้นใช้วิธีการ iterative method คล้ายกับวิธีการหาค่า ϵ_M ของ Guardino *et al.*⁽³⁷⁾ ตารางที่ 9:4 -9:6 เป็นข้อมูลที่ $\ln p'$ อุณหภูมิและจำนวนคาร์บอนของสาร นอร์มัลแอลเคน FAMEs และไขมันแอลกอฮอล์

ตารางที่ 9:4 แสดงค่า $\ln p'$ กับจำนวนคาร์บอนและส่วนกลับของอุณหภูมิของนอร์มัลแอลเคนบนคอลัมน์ HT5 ด้วยเครื่องตรวจวัดแบบ FID

นอร์มัลแอลเคน (z)	$\ln p'$			Intercept	Slope
	170°C	180°C	190°C		
	2.257*	2.207*	2.159*		
16	0.196	-0.072	-0.418	-14.00	6297
17	0.636	0.357	-0.023	-14.59	6757
18	1.065	0.777	0.326	-16.01	7578
19	1.534	1.158	0.736	-16.93	8186
20	1.960	1.548	1.103	-17.87	8790
21	2.395	2.005	1.490	-18.52	9278
22	2.843	2.415	1.864	-19.76	10028
Intercept	-6.86	-6.65	-6.50	1.514 (A)	-3708.54 (c)
Slope	0.44	0.41	0.38	-0.964 (b)	623.11 (d)

* ค่า $(1/T \times 10^3)$ หน่วย (K⁻¹)

ตารางที่ 9:5 แสดงค่า $\ln p'$ กับจำนวนคาร์บอน และส่วนกลับของอุณหภูมิของ FAMEs บนคอลัมน์ HT-5 ด้วยเครื่องตรวจวัดแบบ FID

FAMEs	$\ln p'$					Intercept	Slope
	200 °C	205 °C	210 °C	215 °C	220 °C		
16:0	0.342	0.314	0.110	0.050	-0.056	-10.09	4946
17:0	0.708	0.684	0.458	0.354	0.276	-11.04	5572
18:0	1.085	1.026	0.809	0.705	0.605	-11.52	5976
19:0	1.414	1.377	1.139	1.003	0.854	-13.25	6959
20:0	1.760	1.729	1.491	1.333	1.152	-14.08	7521
22:0	2.513	2.448	2.186	1.974	1.820	-15.75	8665
Intercept	-5.400	-5.348	-5.414	-5.096	-4.964	5.545(A)	-5211.73(b)
Slope	0.359	0.354	0.345	0.321	0.307	-0.973(c)	633.11(d)

* ค่า $(1/T \times 10^{-3})$ หน่วย (K^{-1})

ตารางที่ 9:6 แสดงค่า $\ln p'$ กับจำนวนคาร์บอน และส่วนกลับของอุณหภูมิของไขมัน แอลกอฮอล์ บนคอลัมน์ HT-5 ด้วยเครื่องตรวจวัดแบบ FID

ไขมันแอลกอฮอล์ (z)	$\ln p'$					Intercept	Slope
	180 °C	185 °C	190 °C	195 °C	200 °C		
12	-0.297	-0.447	-0.482	-0.614	-0.720	-9.88	4336
14	0.540	0.358	0.306	0.127	0.020	-11.50	5450
16	1.333	1.167	1.009	0.850	0.723	-13.23	6598
18	2.145	1.924	1.790	1.623	1.411	-14.61	7590
20	2.994	2.770	2.563	2.331	2.182	-16.55	8853
Intercept	-5.208	-5.247	-5.022	-5.045	-5.033	0.016(A)	-2374.24(c)
Slope	0.409	0.400	0.379	0.369	0.360	-0.823(b)	558.73(d)

* ค่า $(1/T \times 10^{-3})$ หน่วย (K^{-1})

จากข้อมูลในตารางที่ 9:4 – 9:6 เมื่อนำค่าคงตัวทั้ง 4 มาแทนค่าลงในสมการ (60) จะได้สมการ (125 -127) ซึ่งใช้หาความกว้างพีคของสารนอร์มัลแอลเคน FAMEs และไขมันแอลกอฮอล์ บนคอลัมน์ HT-5 ตามลำดับ

$$\ln p' = 1.514 - 0.964z - \frac{3708.54}{T} + \frac{623.11z}{T} \quad \text{Eq. 125}$$

$$\ln p' = 0.016 - 0.823z - \frac{2374.24}{T} + \frac{558.73z}{T} \quad \text{Eq. 126}$$

$$\ln p' = -8.620 - 0.539z + \frac{1818.20}{T} + \frac{369.69z}{T} \quad \text{Eq. 127}$$

เมื่อนำสมการที่ได้มาทำการทดสอบเพื่อดูความแม่นยำในการทำนาย โดยเปรียบเทียบกับความกว้างพีคของสารที่ได้จากการทดลองจริงบนคอลัมน์ HT-5 ที่อุณหภูมิต่างๆ ความกว้างพีคของสารที่คำนวณจากสมการ (122 - 124) ความกว้างพีคของสารที่ได้จากโครมาโตแกรม และค่าร้อยละความคลาดเคลื่อนได้สรุปไว้ในตารางที่ 9:7 - 9:9

ตารางที่ 9:7 เปรียบเทียบความกว้างพีค (วินาที) ของสารนอร์มัลแอลเคนที่คำนวณตามสมการ (125) และค่าที่ได้จากการทดลองบนคอลัมน์ HT-5 ที่อุณหภูมิต่างๆ ค่าร้อยละของความผิดพลาดได้ใส่ไว้ในวงเล็บ

นอร์มัลแอลเคน	170 °C		180 °C		190 °C	
(z)	$W_{R(exp)}$	$W_{R(cal)}$	$W_{R(exp)}$	$W_{R(cal)}$	$W_{R(exp)}$	$W_{R(cal)}$
16	10.53	10.64 (0.97)	7.17	7.08 (-1.26)	7.81	7.86 (0.62)
17	14.30	14.50 (1.35)	9.16	8.88 (-3.04)	9.12	9.15 (0.27)
18	20.54	21.09 (2.71)	12.56	12.00 (-4.42)	11.15	11.43 (2.56)
19	31.74	31.82 (0.26)	17.52	17.10 (-2.38)	15.10	15.21 (0.71)
20	47.94	48.84 (1.88)	25.22	25.10 (-0.50)	20.71	21.14 (2.09)
21	73.68	75.55 (2.54)	39.31	37.38 (-4.92)	29.67	30.15 (1.60)
22	115.01	117.23 (1.93)	58.98	56.05 (-4.97)	42.60	43.57 (2.27)

จากตารางที่ 9:7 พบว่าค่าร้อยละความผิดพลาดระหว่างค่าความกว้างพีคของสารที่คำนวณได้กับค่าความกว้างพีคจากโครมาโตแกรมที่อุณหภูมิต่างๆ มีค่าสูงสุดร้อยละ -4.97 (2.93 วินาที)

ตารางที่ 9:8 เปรียบเทียบความกว้างพีค (วินาที) ของ FAMES ที่คำนวณตามสมการ (126) และค่าที่ได้จากการทดลองบนคอลัมน์ HT-5 ที่อุณหภูมิต่างๆ ค่าร้อยละของความผิดพลาดได้ใส่ไว้ในวงเล็บ

Z	200 °C		205 °C		210 °C		215 °C		220 °C	
	$W_{R(exp)}$	$W_{R(cal)}$	W_R	$W_{R(cal)}$	W_R	$W_{R(cal)}$	W_R	$W_{R(cal)}$	W_R	$W_{R(cal)}$
16	13.97	14.22 (1.82)	10.34	9.99 (-3.44)	9.65	9.89 (2.50)	9.06	9.06 (0.00)	8.34	8.35 (-0.07)
17	18.31	18.69 (2.06)	13.53	12.78 (-5.57)	12.05	12.33 (2.34)	10.87	11.01 (1.30)	10.03	9.91 (0.35)
18	25.29	25.58 (1.16)	18.07	17.08 (-5.47)	15.83	16.08 (1.58)	14.10	14.01 (-0.69)	12.65	12.30 (0.67)
19	34.23	35.88 (4.81)	24.93	23.46 (-5.88)	21.13	21.63 (2.36)	18.14	18.42 (1.55)	15.48	15.81 (-0.41)
20	47.75	51.00 (6.80)	34.92	32.75 (-6.19)	29.32	29.64 (1.08)	24.50	24.76 (1.04)	20.11	20.82 (-0.61)
22	100.1	104.8 (4.61)	70.80	65.21 (-7.90)	57.68	57.15 (-0.91)	45.41	46.20 (1.75)	37.92	37.56 (0.14)

จากตารางที่ 9:8 พบว่าค่าร้อยละความผิดพลาดระหว่างค่าความกว้างพีคของสารที่คำนวณได้กับค่าความกว้างพีคจากโครมาโตแกรมที่อุณหภูมิต่างๆ มีค่าสูงสุดร้อยละ -7.90 (5.59 วินาที)

ตารางที่ 9:9 เปรียบเทียบความกว้างพีค (วินาที) ของสารไขมันแอลกอฮอล์ที่คำนวณตามสมการ (127) และค่าที่ได้จากการทดลองบนคอลัมน์ HT-5 ที่อุณหภูมิต่างๆ ค่าร้อยละของความผิดพลาดได้ใส่ไว้ในวงเล็บ

Z	180 °C		185 °C		190 °C		195 °C		200 °C	
	$W_{R(exp)}$	$W_{R(cal)}$	W_R	$W_{R(cal)}$	W_R	$W_{R(cal)}$	W_R	$W_{R(cal)}$	W_R	$W_{R(cal)}$
12	5.70	5.69(-0.28)	5.30	5.36(1.13)	4.57	4.54(-0.80)	4.42	4.43(0.06)	4.11	4.12(0.02)
14	9.09	8.92(-1.86)	7.79	7.92(1.73)	6.56	6.35(-3.25)	5.89	5.89(0.10)	5.28	5.24(-0.69)
16	17.95	17.96(0.06)	15.01	15.13(0.79)	11.36	11.48(1.07)	9.90	10.07(1.69)	8.47	8.46(-0.11)
18	39.38	39.69(0.78)	30.89	32.26(4.42)	23.64	23.56(-0.30)	20.11	19.85(-1.27)	15.60	15.99(2.48)
20	91.52	89.59(-2.10)	71.37	70.73(0.90)	50.64	50.16(0.94)	40.20	41.01(2.01)	32.99	32.02(-2.94)

จากตารางที่ 9:9 พบว่าค่าร้อยละความผิดพลาดระหว่างค่าความกว้างพีคของสารที่ได้จากการคำนวณที่ทราบจำนวนคาร์บอนที่อุณหภูมิต่างๆ กับค่าความกว้างพีคของสารที่ได้จากโครมาโตแกรม มีค่าสูงสุดร้อยละ 4.42 (1.36 วินาที)

ผลการทดสอบความถูกต้องของสมการ (122 - 124) พบว่าสามารถนำมาใช้ทำนายค่าความกว้างของพีคของสารทั้ง 3 หมู่ฟังก์ชันได้ค่อนข้างถูกต้อง และค่าความคลาดเคลื่อนจากการคำนวณความกว้างพีคของสารสูงสุดคือ สาร FAMES ที่มีจำนวนคาร์บอน 22 อะตอม ซึ่งมีค่าความผิดพลาดเท่ากับ -5.59 วินาที หรือคิดเป็นร้อยละความผิดพลาด เท่ากับ -7.90 ซึ่งอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารมีขนาดโมเลกุลใหญ่และอุณหภูมิคอลัมน์ที่ใช้ในช่วงต่ำ ซึ่งทำให้สารคงค้างในคอลัมน์นานและอาจทำให้พีคของสารไม่สมมาตรจึงทำให้ค่าความกว้างของพีคที่คำนวณได้เกิดความคลาดเคลื่อนได้ นอกจากนี้อาจเนื่องมาจากการปรับอัตราเร็วของแก๊สตัวพาไม่เหมาะสม อีกทั้งยังขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพของเครื่องประมวลผลในการเก็บข้อมูลของค่าความสูงของพีคและพื้นที่ใต้พีคซึ่งพบว่ามีค่าความคลาดเคลื่อนอยู่หลายเปอร์เซ็นต์ความเที่ยงตรงของข้อมูลขึ้นอยู่กับความถี่ของการแปลงสัญญาณหรือเวลาที่อินทิเกรเตอร์จะสะสมสัญญาณไว้และแปลงเป็นตัวเลข หากอินทิเกรเตอร์ใช้เวลานานเช่น 1 วินาทีจึงจะแปลงเป็นตัวเลขครั้งหนึ่งอินทิเกรเตอร์อาจพลาดสัญญาณจากพีคแคบๆ ทำให้โครงรูปของพีค เปลี่ยนไป แต่ถ้าอินทิเกรเตอร์แปลงสัญญาณเป็นตัวเลขทุก ๆ 0.1 วินาทีหรือดีกว่า การเก็บรายละเอียดของสัญญาณจากเครื่องตรวจวัดจะดีขึ้นและมีความถูกต้อง ทั้งนี้จะต้องเป็นสัญญาณจากเครื่องตรวจวัดอย่างเดียวกัน^[32] ดังนั้นค่าความกว้างพีคของสาร (w_R) ที่คำนวณได้จากโครมาโตแกรมจึงอาจมีความคลาดเคลื่อนได้ เนื่องจากประสิทธิภาพของเครื่องมือ อย่างไรก็ตามความแตกต่างของค่าที่ได้จากการคำนวณนี้เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานของ Smutt *et al*⁽⁴³⁾ ซึ่งให้ความแตกต่างถึงร้อยละ 23

9.3 ทดสอบการทำนาย w_R FAMES บนคอลัมน์ที่มีความเป็นขั้วสูง

การศึกษานี้เลือกใช้ FAMES จากน้ำมันรำข้าวเป็นสารตัวอย่างและเลือกคอลัมน์ SP-2340 (100% cyanopropyl polysiloxan) ค่าคงตัวทั้ง 4 ของคอลัมน์หาตามวิธีของ Krisnangkura *et al*⁽¹⁶⁾ ที่ได้กล่าวมาแล้วในข้างต้น โดยใช้ FAMES (16:0 - 22:0) เป็นสารมาตรฐาน ตารางที่ 9:10 เป็นค่าเวลาคงค้างที่อุณหภูมิต่างๆ ส่วนค่า w_{mn} นั้นใช้วิธี iterative method ที่ได้กล่าวไว้แล้วในหัวข้อที่ 8 และรายงาน ไว้ในบรรทัดสุดท้ายของตาราง ส่วนตารางที่ 9:11 เป็นการเปลี่ยนข้อมูลให้เป็น $\ln p'$ และการหาค่าคงตัว ความกว้างทั้ง 4 ของคอลัมน์ เมื่อนำค่าคงตัวทั้ง 4 แทนลงในสมการ (60) จะได้สมการ (128) เพื่อใช้ ทำนายความกว้างพีคของ FAMES ที่อุณหภูมิต่างๆ

$$\ln p' = 6.193 - 0.870z - \frac{4794}{T} + \frac{519.99z}{T} \quad \text{Eq. 128}$$

ตารางที่ 9:10 แสดงค่า w_R (วินาที) ของ FAMES ที่อุณหภูมิ 170 – 200 °C บนคอลัมน์ SP-2340

FAMES	t_R (นาที)						
	170 °C	175 °C	180 °C	185 °C	190 °C	195 °C	200 °C
16:0	4.366	3.835	3.340	2.946	2.665	2.501	2.378
17:0	5.302	4.578	3.943	3.511	3.060	2.812	2.610
18:0	6.679	5.737	4.888	4.139	3.626	3.189	2.958
19:0	8.932	7.436	5.953	5.076	4.320	3.773	3.395
20:0	11.758	9.454	7.766	6.428	5.304	4.517	4.044
22:0	20.674	16.533	13.202	10.956	8.601	6.844	5.930
w_M	2.722	2.477	2.312	2.137	1.967	1.927	1.903

ตารางที่ 9:11 แสดงค่า $\ln p'$ จำนวนคาร์บอน และส่วนกลับของอุณหภูมิของ FAMES บนคอลัมน์ SP-2340

FAMES	$\ln p'$							Intercept	Slope
	170 °C	175 °C	180 °C	185 °C	190 °C	195 °C	200 °C		
16:0	0.226	0.167	0.042	-0.052	-0.090	-0.190	-0.289	-7.843	3580
17:0	0.514	0.441	0.323	0.265	0.175	0.061	-0.063	-8.375	3947
18:0	0.807	0.737	0.622	0.506	0.437	0.277	0.174	-9.303	4493
19:0	1.140	1.040	0.864	0.768	0.671	0.521	0.390	-10.611	5212
20:0	1.436	1.304	1.165	1.043	0.918	0.751	0.629	-11.300	5648
22:0	2.019	1.887	1.727	1.615	1.449	1.226	1.082	-12.830	6595
Intercept	-4.597	-4.433	-4.436	-4.422	-4.152	-3.945	-3.947	6.193 (A)	-4794 (c)
Slope	0.301	0.287	0.280	0.274	0.254	0.235	0.229	-0.870 (b)	519.99(d)

* ค่า $(1/T \times 10^3)$ หน่วย (K^{-1})

ผลการทำนายค่า w_R ของ FAMES จากราคาที่อุณหภูมิต่างๆ ได้สรุปไว้ในตารางที่ 9:12

ตารางที่ 9:12 เปรียบเทียบค่าความกว้างพีคของสาร FAMES จากน้ำมันรำข้าวที่คำนวณได้จากสมการ (128) ($w_{R(cal)}$) กับค่าที่ได้จากการทดลอง $w_{R(exp)}$

FAMES	170 °C				180 °C			
	ECL ^a	$w_{R(exp)}$ (s)	$w_{R(cal)}$ (s)	% Δ^b	ECL ^a	$w_{R(exp)}$ (s)	$w_{R(cal)}$ (s)	% Δ^b
Methyl palmitate	16.00	4.619	4.620	0.02	16.00	3.640	3.640	0.02
Methyl stearate	18.00	6.897	7.238	4.94	18.00	5.278	5.245	-0.62
Methyl oleate	18.60	7.969	8.474	6.34	18.66	6.327	6.077	-3.95
Methyl linoleate	19.48	10.818	10.803	-0.14	19.56	7.384	7.538	2.09
w_M		1.948				1.970		

^a คือจำนวนคาร์บอนเทียบเท่าที่ได้จากรายงานของ Scholfield⁽⁴⁸⁾

^b คือค่าร้อยละความแตกต่างระหว่างค่า w_R ที่ได้จากการทดลองและการคำนวณด้วยสมการ (128)

ตารางที่ 9:12 แสดงผลการเปรียบเทียบความถูกต้องของสมการ (128) กับผลการทดลอง พบว่าความผิดพลาดจากการคำนวณที่อุณหภูมิต่างๆ มีค่าสูงสุดเท่ากับ 0.50 วินาที หรือคิดเป็นร้อยละได้เท่ากับ 6.34 ซึ่งเป็น C18:1 (n-9) ที่อุณหภูมิคอลัมน์ 170 °C ซึ่งค่าความผิดพลาดนี้ยังถือว่าต่ำในรายงานของ Smutt et al.⁽⁴³⁾ จึงน่าจะอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ ดังนั้น การทำนายค่า w_R ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวจากค่า ECL น่าจะให้ความเชื่อถือได้

9.4 ทำนายอำนาจการแยกของสาร

อำนาจการแยกของสารสามารถคำนวณได้ตามสมการ (129)

$$R_S = 2 \times \frac{t_{R(2)} - t_{R(1)}}{w_{R(2)} + w_{R(1)}} \quad \text{Eq. 129}$$

โดย $t_{R(1)}$ และ $t_{R(2)}$ คือ ค่าเวลาคงค้างไม่ปรับแก้ของสารตัวที่ 1 และ 2 ตามลำดับ

$w_{R(1)}$ และ $w_{R(2)}$ คือ ค่าความกว้างพีคของสารไม่ปรับแก้ตัวที่ 1 และ 2 ตามลำดับ

การศึกษานี้เป็นการนำสมการที่ใช้ในการทำนายการเคลื่อนที่ของสาร และความกว้างพีคมาทำนายอำนาจการแยกสาร หากทำนายได้ถูกต้องจะช่วยให้นักวิจัย/นักวิเคราะห์สารด้วยแก๊สโครมาโตกราฟีสามารถทำนายการแยกสารชนิดต่างๆ ได้ก่อนการลงมือทดลองจริง ซึ่งจะช่วยประหยัดเวลาในการลองผิดลองถูกลงอย่างมาก สมการ (32) สามารถทำนายค่า t_R ได้แม่นยำและสมการ (60) นั้นสามารถ ทำนายค่า w_R เมื่อแทนค่าที่ทำนายได้ลงในสมการ (126) จะช่วยให้ทำนายค่า R_S ที่คำนวณโดยใช้ค่า t_R และ w_R ที่ได้มาจากการทดลอง (ข้อมูลจากโครมาโตแกรม) และค่า R_S ตารางที่ 9:13 ได้สรุปผลการ ทำนายค่า R_S โดยเปรียบเทียบกับ R_S ที่ได้จากค่า t_R และ w_R จากการทดลอง

ตารางที่ 9:13 เปรียบเทียบค่า R_s ของ FAMES จากน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการทำนายกับการทดลอง

FAMES	170 °C			180 °C		
	R_s		% Δ^*	R_s		% Δ^*
	ทดลอง	ทำนาย		ทดลอง	ทำนาย	
Methyl palmitate	-	-	-	-	-	-
Methyl stearate	19.65	19.56	0.46	15.87	16.50	-3.97
Methyl oleate	6.63	6.53	1.51	5.80	5.64	2.76
Methyl linoleate	9.42	9.78	-3.82	8.25	8.59	-4.12

* คือค่าร้อยละความแตกต่างระหว่างค่า R_s จากการคำนวณกับ R_s ที่ได้จากการทดลอง

ผลการคำนวณที่สรุปไว้ในตารางที่ 9:13 แสดงว่าจากองค์ความรู้ที่มีอยู่สามารถนำมาใช้ในการทำนาย t_R , w_R และ R_s ได้อย่างถูกต้อง โดยมีค่าความคลาดเคลื่อนสูงสุดของ R_s เท่ากับ -4.12 % ซึ่งยังอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ สำหรับความคลาดเคลื่อนนี้เนื่องมาจากทั้งค่า t_R และ w_R ที่ได้มาจากการทดลอง โดยเฉพาะค่า w_R นั้นมีการแกว่งค่อนข้างสูง

9.5 สรุปและข้อเสนอแนะ

การศึกษาในบทนี้ได้ยืนยันความสัมพันธ์ระหว่างความกว้างของพีคกับเวลาคงค้างสาร ณ อุณหภูมิต่างๆ กัน และสามารถนำมาประยุกต์ในการทำนายอำนาจการแยกสาร (resolution) ได้ นั่นคือความรู้และความเข้าใจกลไกการเคลื่อนที่สารในคอลัมน์ รวมทั้งการกระจายตัวของพีคที่มีอยู่ขณะนี้ น่าจะสามารถที่ย่นเวลาในการเลือกสภาวะการทดลองอย่าง มีกฎเกณฑ์ ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น นอกจากนี้ความรู้นี้น่าจะนำมาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ ปริมาณสารที่แยกกันออกไม่สมบูรณ์ การทำนายความกว้างพีคใสภาวะโปรแกรมอุณหภูมิซึ่งขณะนี้ยังติดปัญหาการหาค่า hold-up width อย่างไรก็ตาม เพื่อให้การประยุกต์ใช้สมการ (60) ได้อย่างถูกต้อง จำเป็นที่จะต้องศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อค่า $\ln \gamma$ ปัจจัยเหล่านี้รวมถึงขนาด เส้นผ่าศูนย์กลางคอลัมน์ และความหนาของฟิล์มวัสดุภาคนิ่ง

References

1. Martin A.J.P. and Synge, R.L.M., *Biochem. J.*, **35**: 1358 (1941).
2. Twisset, M., *Ber Deut. Bot., Ges XXIV*, 316 (1906).
3. James, A.T. and Martin, A.J.P., *Biochem. J.*, **50**:679 (1952).
4. Garcia Dominguez, J.A., Garcia Munoz, J., Fernandez Sanchez, E. and Molera, M.J., *J. Chromatogr. Sci.*, **15**:520 (1977).
5. Wainright, M.S., Haken, J.K. and Srisukh, D., *J. Chromatogr.*, **179**:160 (1979).
6. Smith, R.J., Haken J.K. and Wainright, M.S., *J. Chromatogr.*, **147**:65 (1978).
7. Wehrli, A. and Kovats, E.S.Z., *Helv. Chem. Acta*, **42**:2709 (1959).
8. Miwa, T.K., Micolajczak, K.L., Earle F.R. and Wolff, I.A., *Anal. Chem.* **32**: 1739 (1960).
9. Woodford, F.P. and van Gent, C.M., *J. Lipid Res.*, **1**: 188 (1960).
10. Jamieson, G.R. and Reid, E.H., *J. Chromatogr.*, **42**:304 (1969).
11. Krupcik, J. and Bohov, P., *J. Chromatogr.*, **346**:34 (1985).
12. Ackman, R.G., *J. Chromatogr. Sci.*, **10**: 535 (1972).
13. Novak, J. and Ruzickova, J., *J Chromatogr.*, **91**:79 (1974).
14. Yabumoto, K., Jennings, W.G. and Yamaguchi, M., *Anal Biochem.*, **78**:244 (1977).
15. Mc Nair, H.M. and E.J. Bonelli., in "Basic Gas Chromatography" Varian Aerograph (5th Edition), 1969.
16. Krisnangkura, K., Tancharoon, A., Konkao, C. and Jeyashoke, N., *J. Chromatogr. Sci.*, **35**:329 (1997).
17. Guillaume, Y. and Guinchard, C., *Chromatographia*, **39**: 438 (1994).
18. Calvalli, E.J. and Guinchard, C., *J. Chromatogr. Sci.*, **33**:371 (1995).
19. Kalayasiri, P., Jeyashoke, N. and Krisnangkura, K., *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **73**: 471 (1996).
20. Krop, H.B., Velzen, M.J.M.v., Parsons, J.R. and Govers, H.A.J. J., *Am. Oil Chem. Soc.*, **74**:309 (1997).
21. Ettre, L.S. *Anal. Chem.*, **36**:31A (1964).
22. Christie, W.W. *Gas Chromatography and Lipids: A Practical Guide*. Oily Press, Ayr, Scotland, 1992, p. 93.
23. Pacakova, V. and Felzl, L. (translated by K. Stulik, M. Masson ed.). *Chromatographic Retention Indices: An Aid to Identification of Organic Compounds*. Ellis Horwood, Ltd., London, 1992.