

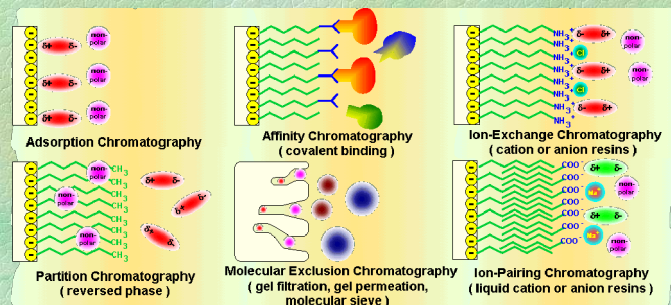
Chromatography

หลักการ

การแยกสารโดยอาศัยหลักการ
แพร่กระจายที่แตกต่างกันในเฟส
2 เฟส (เฟสเคลื่อนที่ และเฟสคงที่)

1

MAEJO

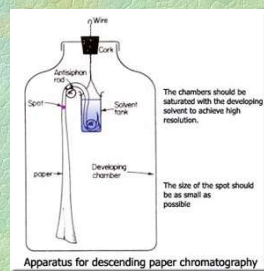
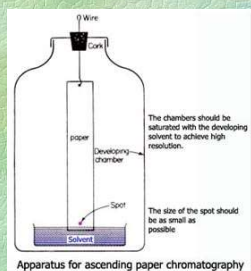


<http://kinarndf.people.cofc.edu/221LabCHEM/CHEM221L%20Gas%20Chromatography%20or%20Methyl%20Salicylate.htm>

2

MAEJO

Paper chromatography



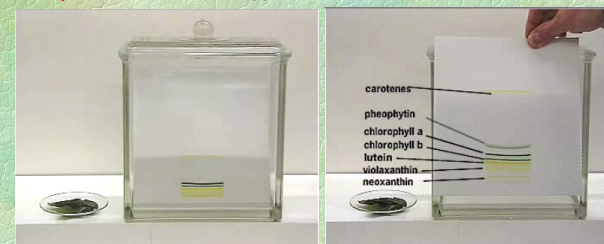
3

MAEJO

Thin layer chromatography

TLC = adsorption chromatography in which samples are separated based on the interaction between a thin layer of adsorbent and a selected solvent.

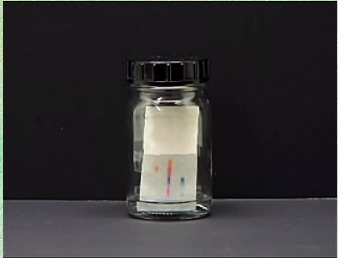
Stationary phase: A thin layer (250 μm) of an adsorbent attached on a plate
Mobile phase: Selected solvent(s).



Separation of Plant Pigments by Thin Layer Chromatography (TLC) 4

MAEJO
มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรเกษม

Separation of Food Dyes by Thin Layer Chromatography (TLC)



solvent front

$R_f = \frac{b}{a}$

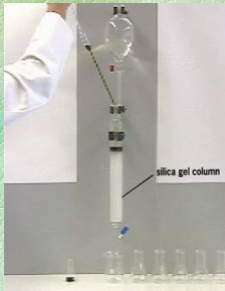
start line

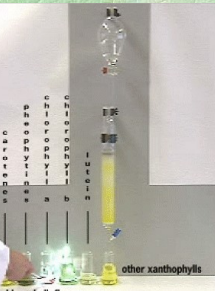
Tartrazine
Ponceau 4R
Yellow Orange S
Naphthol Red S
Fast Red E
Brilliant Black BN
Erythrosin 2nd spot
Erythrosin main spot

5

MAEJO
มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรเกษม

Separation of Plant Pigments by Column Chromatography (CC)





6

MAEJO
มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรเกษม

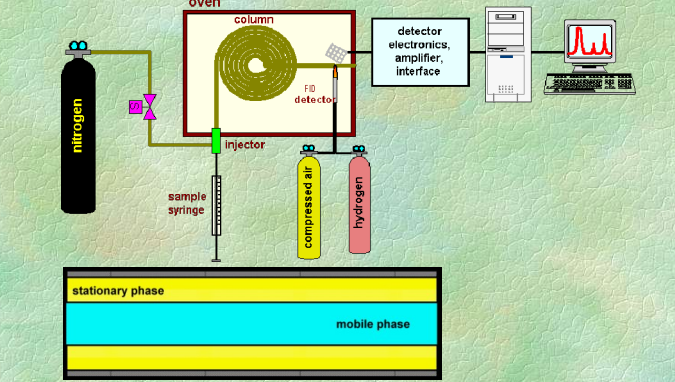
Gas Chromatography : GC

เฟสเคลื่อนที่ คือ ก๊าซ

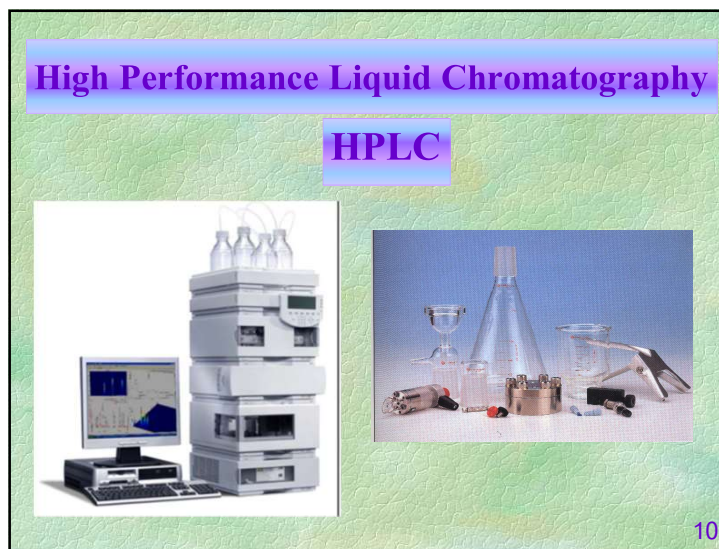
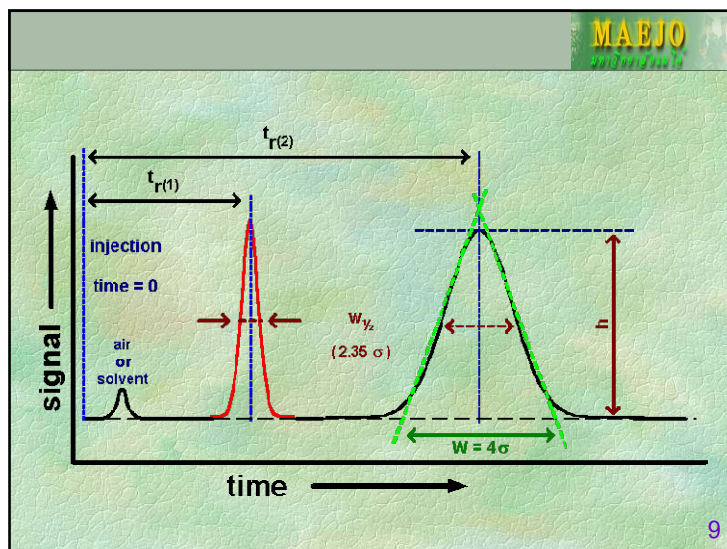
เฟสคงที่ คือ ของเหลวหรือของแข็ง

7

MAEJO
มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรเกษม



8



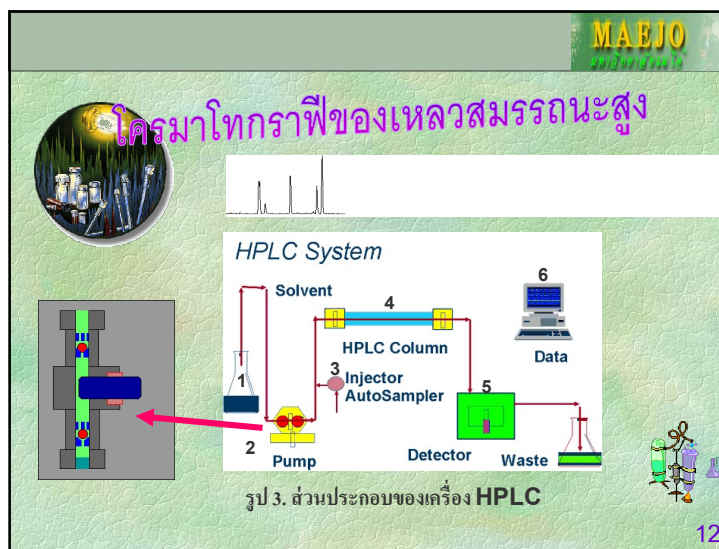
MAEJO มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทบุรี

หลักการ

เฟสเคลื่อนที่ : ของเหลว

เฟสคงที่ : ของเหลวหรือของแข็ง

11



เครื่อง HP1100



MAEJO มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรเกษม

Reverse Phase HPLC Separation

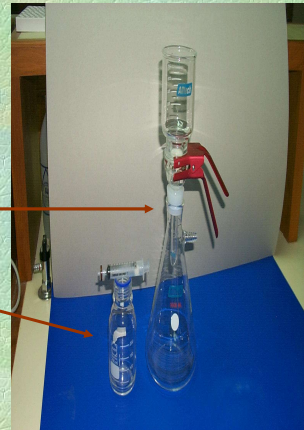
Normal Phase HPLC Separation

<http://lab-training.com/landing/free-hplc-training-programme-6/>

13

1. เฟสเคลื่อนที่

- ของเหลว
- กรองด้วยชุดกรอง
- บรรจุใส่ขวด



14

ชุดกรองสารสำหรับเครื่อง HPLC



กรองสารตัวอย่าง

15

1. ขวดใส่เฟสเคลื่อนที่

2. ขวดใส่สารตัวอย่าง



16

MAEJO
มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรเกษม

2. ปั่น

ทำหน้าที่ดูดเฟสเคลื่อนที่
ให้ไหลไปตามท่อแล้วเข้า
ตู้คอลัมน์

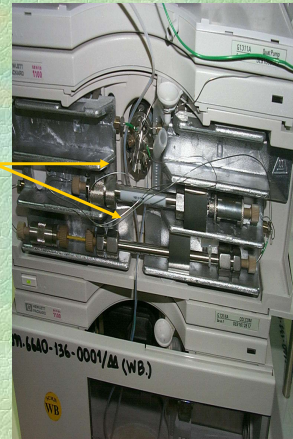


17

MAEJO
มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรเกษม

3. คอลัมน์

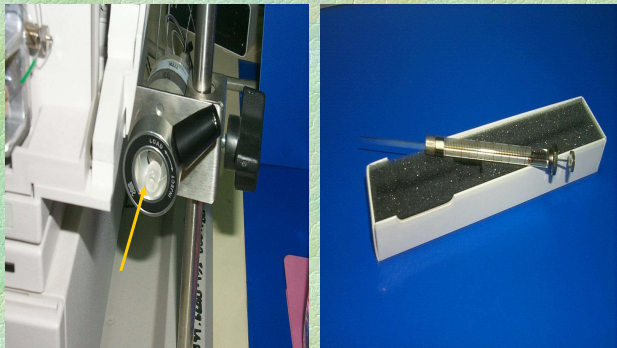
ทำหน้าที่แยกสารตาม
ความมีขั้ว



18

MAEJO
มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรเกษม

4. จุดฉีดสารและเข็มฉีดสาร



19

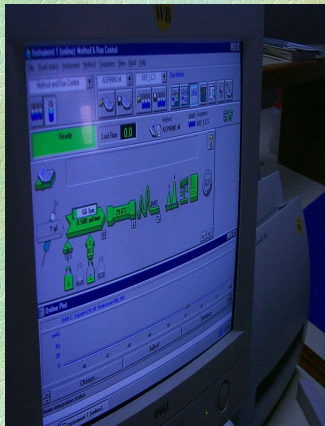
MAEJO
มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรเกษม

วิธีการดูดสารตัวอย่าง



20

MAEJO มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทบุรี



• แผนภาพแสดงการทำงานของเครื่อง HPLC

21

MAEJO มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทบุรี

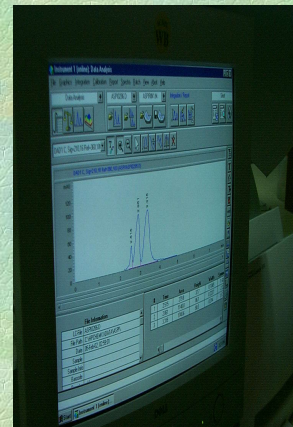
6. เครื่องตรวจวัด

แผนภาพโครมาโทแกรม

UV-VIS

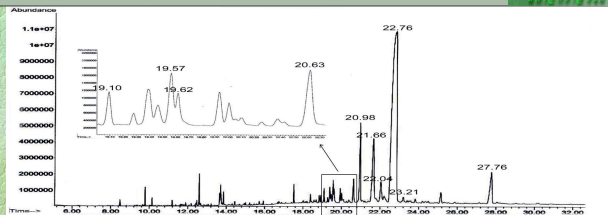
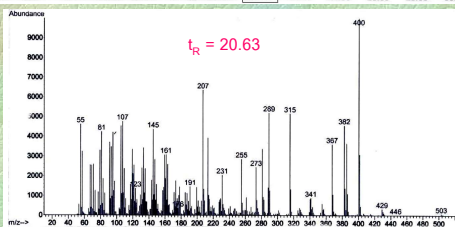
Conductivity Detector

Refractometer



22

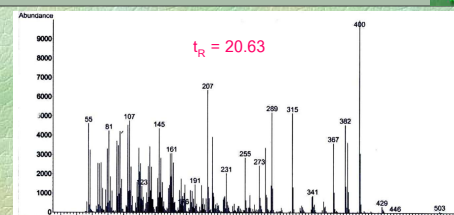
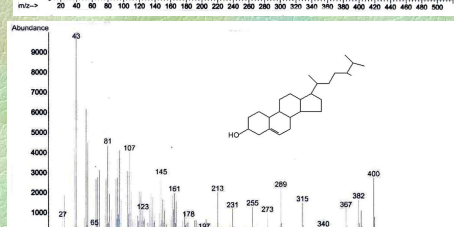
MAEJO มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทบุรี

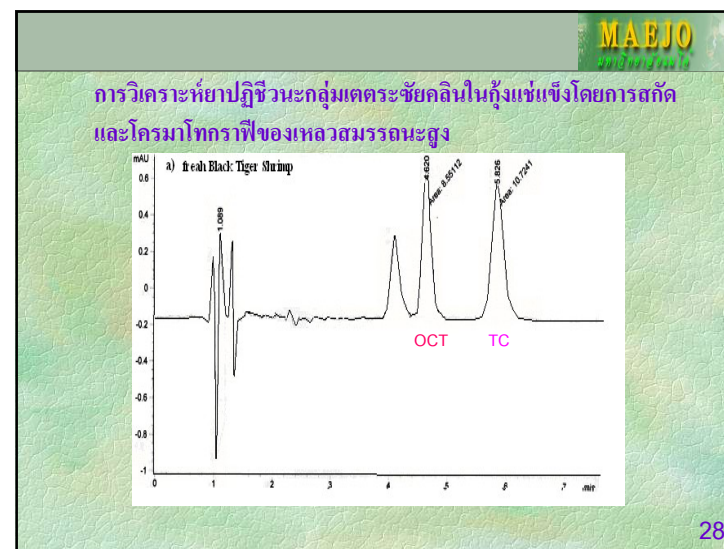
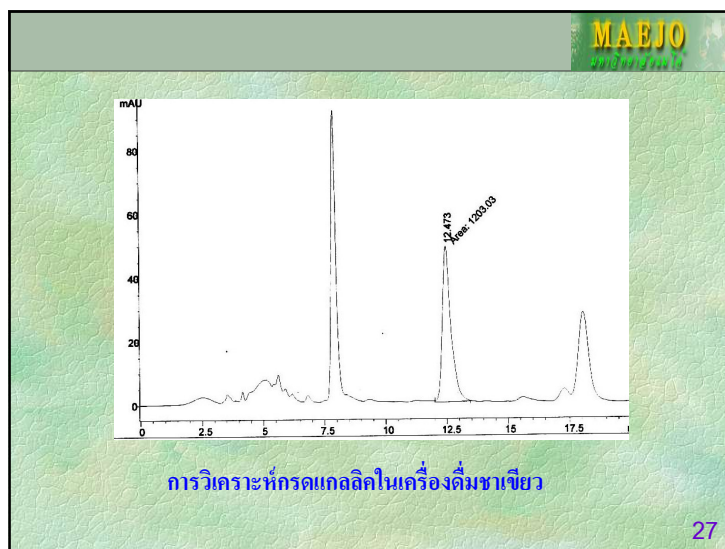
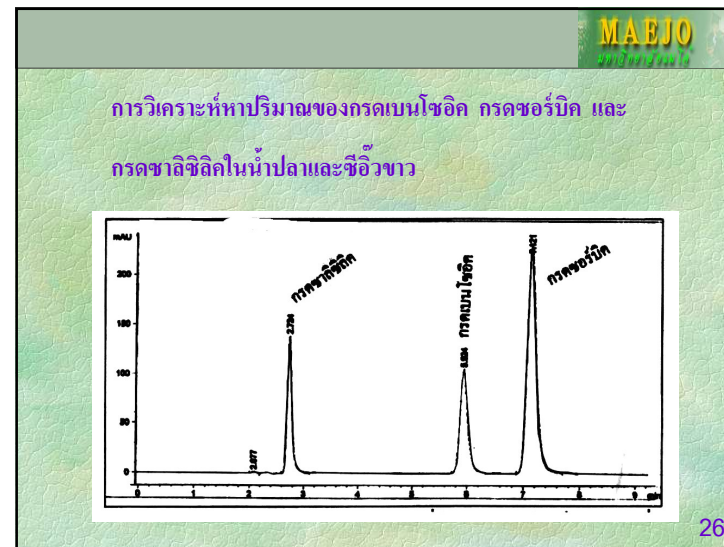
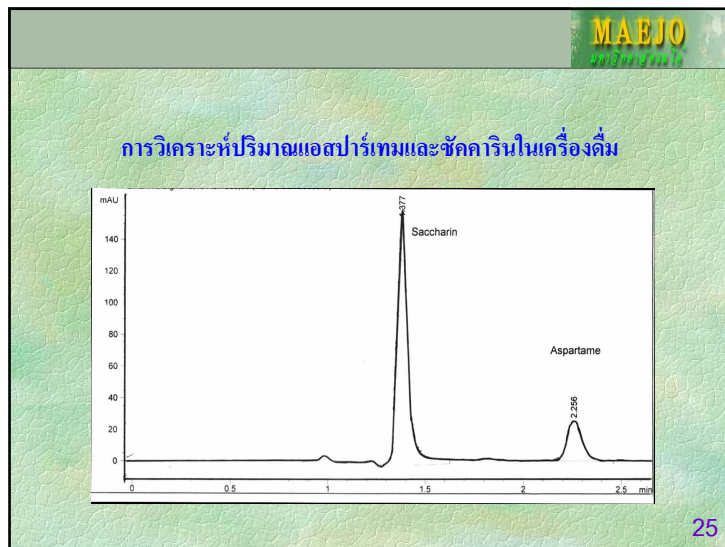
สเตรอยด์ในเนื้อไม้แห่งชาติ

23

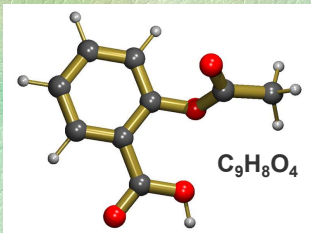
MAEJO มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทบุรี

24



**การวิเคราะห์ยาแอสไพรีนที่เสื่อมสภาพ
โดยเทคนิคโครมาโทกราฟี (HPLC)**



สูตรโครงสร้างของแอสไพรีน

$C_9H_8O_4$

Source: <http://en.wikipedia.org/wiki/Aspirin>

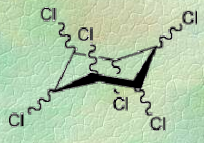
29

สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์

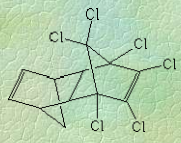
พารามิเตอร์	สภาวะที่เหมาะสม
คอลัมน์	C ₁₈ -ODS; 250 mm x 4.6 mm I.D.
เฟสเคลื่อนที่	อะซิโตไนไตรล์:น้ำ = 10:90 (v/v)
อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่	0.5 mL/min
ปริมาตรสารตัวอย่าง	20 ไมโครลิตร
ความยาวคลื่น	210 นาโนเมตร
เวลาในการวิเคราะห์	5 นาที

30

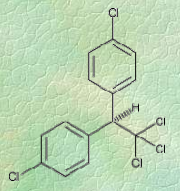
**การวิเคราะห์ยาฆ่าแมลงประเภทคลอรีเนเตดไฮโดรคาร์บอน
ในน้ำโดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี
Determination of pesticides in water
by Gas chromatography**



Lindane



Aldrin



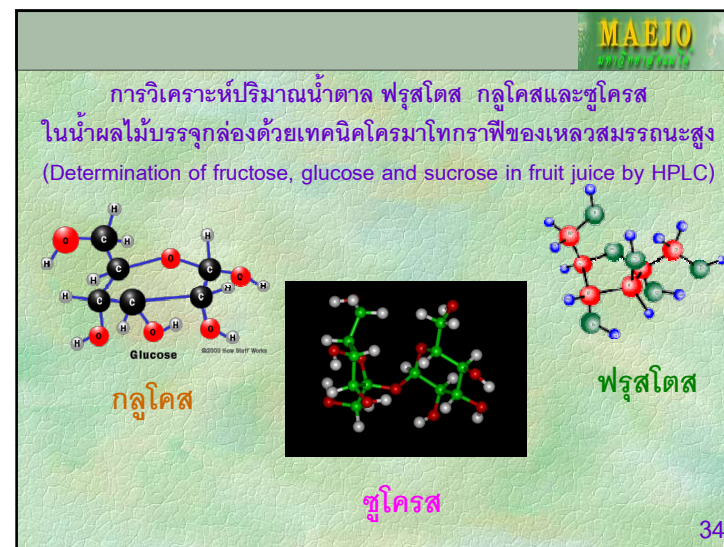
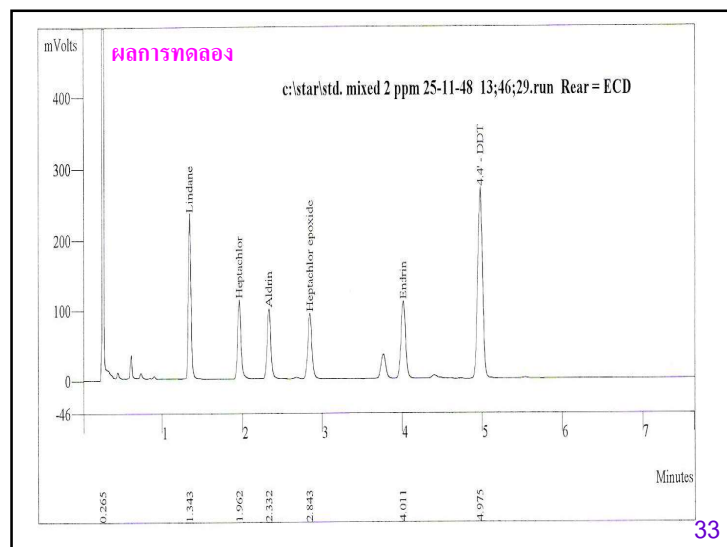
DDT

31

สภาวะที่ใช้ในการทดลอง

พารามิเตอร์	สภาวะ
1. คอลัมน์	DB-5, 20 m x 0.25 mm id., film 0.24 μm
2. อุณหภูมิจุดฉีดสาร	230 °C
3. อุณหภูมิคอลัมน์	เป็นแบบโปรแกรมอุณหภูมิ คือเริ่มที่ 165 °C มีอัตราการเพิ่ม 7°C/min จนถึง 185 °C และมีอัตราการเพิ่ม 10°C/min จนถึง 220°C และคงที่ 5 นาที
4. อุณหภูมิเครื่องตรวจวัด	300 °C
3. อัตราการไหลแก๊สตัวพา	แก๊สไนโตรเจน 2 mL/min
4. เครื่องตรวจวัด	ECD
5. ปริมาณสาร	1 ไมโครลิตร
6. เวลาในการวิเคราะห์	7 นาที

32

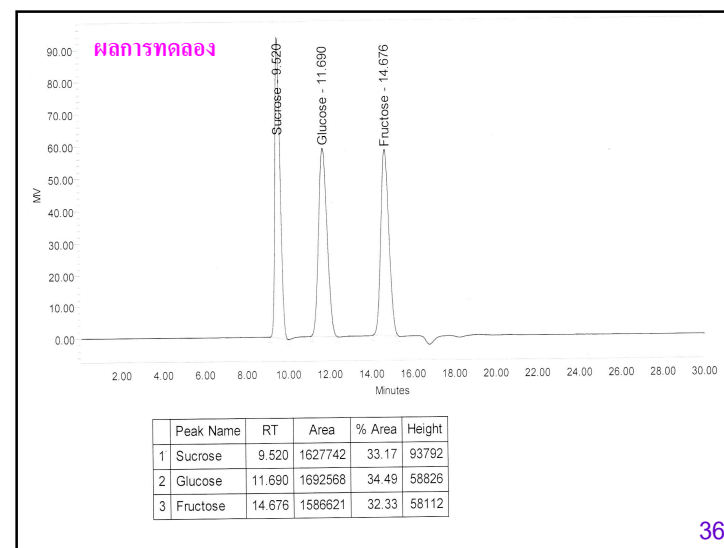


MAEJO มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรเกษม

สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์

พารามิเตอร์	สภาวะที่เหมาะสม
1. คอลัมน์	CARBOSep CHO-820 ; 90°C ขนาด 7.8 mmID x 250 mm ขนาดอนุภาค 9 ไมโครเมตร
2. ประเภทของเครื่องตรวจจับ	Reflective index ; 40°C
3. ปริมาตรของสาร	10.0 ไมโครลิตร
4. เฟสเคลื่อนที่	น้ำปราศจากไอออน
5. อัตราการไหล	1 mL/min
6. ระยะเวลาในการวิเคราะห์	30 นาที

35



MAEJO
มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรเกษม

ขั้นตอนการวิเคราะห์ด้วย HPLC

การวิเคราะห์วิตามิน เอและอี ในเมล็ดข้าวและรำข้าวด้วย เทคนิค HPLC

37

การทดลอง

ศึกษาสภาวะที่เหมาะสม

ช่วงความเป็นเส้นตรง

กราฟมาตรฐาน

การหาความเที่ยงของเครื่องมือ

การหาร้อยละการกลับคืน

การหาขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์

การวิเคราะห์ตัวอย่าง

38

