

| | | |
|----------------------------|---|----------|
| Thesis Title | Optimization of Gas Chromatography and High Performance Liquid Chromatography for the Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Environmental Samples | |
| Author | Miss Nattawan Kuppithayanant | |
| Ph.D. | Chemistry | |
| Examining Committee | Asst. Prof. Dr. Mongkon Rayanakorn | Chairman |
| | Asst. Prof. Dr. Sugunya Wongpornchai | Member |
| | Dr. Tippawan Prapamontol | Member |
| | Dr. Sunanta Wangkarn | Member |
| | Asst. Prof. Dr. Supalax Srijaranai | Member |

ABSTRACT

Optimization of gas chromatography with flame ionization detection (GC-FID) for determination of 16 priority polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) was investigated. The column temperature programming mode was designed for separating PAHs on two different columns, namely HP-1 and Rtx-5MS under the sequential simplex optimization by simultaneous variation of seven parameters. Chromatographic response function (CRF) used for indicating the separation quality was calculated from Berridge and Dose equations. The chosen conditions on two columns derived from Dose equation were more suitable than those from Berridge equation. Complete separation of 16 PAHs was achieved within 29 min for HP-1 column and 32 min for Rtx-5MS column. The detection limits obtained from the separation on Rtx-5MS column were better than those from using the HP-1 column whereas the linearity and precision were of the reverse order.

A method of enhancing sensitivity and selectivity for the trace level determination of 16 PAHs using high performance liquid chromatography (HPLC) with uv detection was performed with the combination of various optimization methods. Using the simplex method of binary mobile phase optimization was found to give satisfactory separation of the PAHs investigated. The separation was achieved on a C₁₈ Pinnacle PAH column (250x4.6 mm), set at 37 °C. A mixture of acetonitrile and water with the linear gradient from 46 to 96 % of acetonitrile for 31 min and then with 96% acetonitrile for 12 min was used as mobile phase with a flow rate set to 1.3 ml min⁻¹ and the separation of 16 PAHs was complete within 34 min. Adding isopropanol to mobile phase sped up the analysis time to within 30 minutes. The wavelengths selected for programming to enhance the sensitivity and selectivity of detection were 224, 235, 254, 270 and 296 nm. The detection limits obtained from detecting with variable wavelength absorption were better than those from using fixed wavelength detection at 254 nm whereas the mean relative deviation (n=7) values favoured the latter.

Ultrasonication and supercritical fluid extraction (SFE) were investigated for the extraction of 16 PAHs from soil. The ultrasonic condition was obtained with three extraction cycles with a total volume of 10 ml acetone and it also required C₁₈ solid phase extraction (SPE) for the clean up of the extract prior to chromatographic analysis. The SFE condition was obtained at pressure 6000 psi, temperature 130°C, static and dynamic extraction time of 10 and 30 min, flow rate 1.3-1.5 ml min⁻¹ and with 1.5 ml of methanol as modifier. The ultrasonic extraction provided good extraction recoveries of PAHs with high molecular mass and also yielded good precision of almost all PAHs when compared to SFE. However, both ultrasonic and SFE methods were found to be effective for isolating PAHs in soil sample. Method validation was carried out with the standard reference material SRM 1944. The developed methods including ultrasonication, SPE as the clean up step and optimized chromatographic measurement (HPLC and GC-FID), were applied to the determination of PAHs in eight soil samples, using GC-MS for identification. The contents of individual PAH in all soil samples were found to be lower than 1 µg g⁻¹.

| | | |
|--------------------------|---|---------------|
| ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ | การปรับสภาวะของเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี และ ลิควิดโครมาโทกราฟี สมรรถนะสูงให้เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์สารพอลิไซคลิกอโรมาติก ไฮโดรคาร์บอนในตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อม | |
| ชื่อผู้เขียน | นางสาวณัฐวรรณ คุปพิทยานันท์ | |
| วิทยาศาสตร์ดุษฎีบัณฑิต | สาขาวิชาเคมี | |
| คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ | ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. มงคล ราชะนาคร | ประธานกรรมการ |
| | ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุกัญญา วงศ์พรชัย | กรรมการ |
| | ดร. ทิพวรรณ ประภามณฑล | กรรมการ |
| | อาจารย์ ดร. สุนันทา ว่างานต์ | กรรมการ |
| | ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุกฤษณ์ ศรีจรรย์ | กรรมการ |

บทคัดย่อ

ได้ศึกษาการปรับสภาวะของเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีที่ใช้เฟลมไอออไนเซชันในการตรวจหาปริมาณสารพอลิไซคลิกอโรมาติกไฮโดรคาร์บอนจำนวน 16 ชนิด (16 พาทช์) โดยใช้การโปรแกรมอุณหภูมิของคอลัมน์ ในการแยกสารด้วยคอลัมน์สองชนิดที่แตกต่างกัน ได้แก่ เอชพี-1 และ อาร์ทีเอ็กซ์-5เอ็มเอส และได้ใช้วิธีซิมเพิล็กซ์ในการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมจากการแปรเปลี่ยนตัวแปร 7 ชนิดพร้อมกัน ค่าตอบสนองทางโครมาโทกราฟี (ซีอาร์เอฟ) ซึ่งใช้ในการบ่งชี้คุณภาพของสภาวะที่ใช้แยกสาร คำนวณมาจากสมการที่เสนอโดยเบอร์ริคค์ และโคสพบว่า สภาวะที่เลือกใช้ของทั้งสองคอลัมน์ได้จากการคำนวณด้วยสมการของโคสมีความเหมาะสมกว่า

สภาวะที่ได้จากการใช้สมการของเบอร์ริค คอลัมน์เอชพี-1 สามารถแยกสารพาททั้ง 16 ชนิดได้ภายในเวลา 29 นาที ส่วนคอลัมน์ อาร์ทีเอ็กซ์- 5เอ็มเอส ใช้เวลา 32 นาที และให้ค่าต่ำสุดของการตรวจวัดที่ดีกว่าคอลัมน์เอชพี-1 ขณะที่ค่าความเป็นเส้นตรง และ ค่าของความเที่ยงให้ผลตรงข้าม

ได้ศึกษาการเพิ่มสภาพไวและความจำเพาะของเทคนิคลิควิด โครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง(เอชพีแอลซี)ที่ใช้ยูวีในการตรวจหาสารพาททั้ง 16 ชนิด ที่มีปริมาณน้อย โดยใช้การปรับสภาวะรวมกันหลายวิธี พบว่าผลการศึกษาเป็นที่น่าพอใจเมื่อใช้วิธีจิมเพล็กซ์ในการปรับสัดส่วนของเฟสเคลื่อนที่แบบ 2 องค์ประกอบ สามารถแยกสารได้โดยใช้คอลัมน์ ซี18 ฟินนาเกลพาท (ขนาด 250 x 4.6 มิลลิเมตร) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส การเปลี่ยนแปลงสัดส่วนของอะซีโทไนโตรลในสารผสม อะซีโทไนโตรล และน้ำ เป็นแบบเส้นตรงจาก 46-96% อะซีโทไนโตรลใช้เวลา 31 นาที และคงไว้ที่ 96% อะซีโทไนโตรล นาน 12 นาที ด้วยอัตราเร็วของเฟสเคลื่อนที่ 1.3 มิลลิเมตรต่อนาที การแยกเกิดอย่างสมบูรณ์ภายใน 34 นาที การเติมไอโซโพรพานอลในเฟสเคลื่อนที่เพิ่มความเร็วในการวิเคราะห์ ได้เวลาวิเคราะห์ลดลงเป็น 30 นาที การเพิ่มสภาพไวและความจำเพาะของการตรวจวัดได้กระทำโดยใช้การโปรแกรมความยาวคลื่นต่างๆ ได้แก่ ความยาวคลื่นที่ 224, 235, 254, 270 และ 296 นาโนเมตร พบว่าค่าต่ำสุดของการตรวจวัดที่ได้จากการใช้ความยาวคลื่นต่างๆ ให้ผลที่ดีกว่าการตรวจวัดที่ใช้ความยาวคลื่นคงที่ ที่ 254 นาโนเมตร ขณะที่ค่าการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เฉลี่ย (ทำการทดลองซ้ำ 7 ครั้ง) ของการตรวจวัดวิธีหลังให้ผลที่น่าพอใจ

ได้ศึกษาการสกัดสารพาท 16 ชนิดจากตัวอย่างดินด้วยวิธีอัลตราโซนิเคชัน และการสกัดด้วยของไหลวิกฤตยวดยิ่ง(เอสเอฟอี) สภาวะที่ใช้ในการสกัดแบบอัลตราโซนิเคชันต้องทำการสกัด 3 ครั้งด้วยอะซีโทน 10 มิลลิลิตร สารจากการสกัดได้ผ่านการทำให้สะอาดด้วยวิธีสกัดแบบวัฏภาคของแข็ง ซี 18 ก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟี ส่วนสภาวะที่ใช้ในการสกัดแบบเอสเอฟอี ที่ความดัน 6000 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ด้วยอุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส ใช้เวลาในการสกัดแบบสแตติกนาน 10 นาที และ แบบไดนามิกนาน 30 นาที ด้วยอัตราการไหลในช่วง 1.3- 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที และใช้เมทานอลเป็น โมดิไฟเออร์ พบว่าการสกัดสารพาทที่มีมวลโมเลกุลขนาดใหญ่โดยวิธีอัลตราโซนิเคชันให้ผลการสกัดกลับคืนและมีค่าความเที่ยงที่ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดโดยวิธีของไหลวิกฤตยวดยิ่ง การสกัดทั้งสองวิธีมีประสิทธิภาพต่อการแยกพาทจากตัวอย่างดิน สำหรับการตรวจสอบวิธีวิเคราะห์ได้กระทำโดยใช้วัสดุอ้างอิงเอสอาร์เอ็ม1944 ได้ประยุกต์วิธีที่พัฒนาซึ่งประกอบด้วยการสกัดแบบอัลตราโซนิเคชัน การทำให้สะอาดด้วยการสกัดแบบวัฏภาคของแข็ง ซี 18 และการตรวจวัดด้วยโครมาโทกราฟี (เอชพีแอลซี และ จีซี-เอฟไอดี) เพื่อหาปริมาณของพาทในดินตัวอย่างทั้ง 8 ชนิดและใช้ จีซี-เอ็มเอส ในการพิสูจน์เอกลักษณ์ พบพาทแต่ละชนิดในดินตัวอย่างทั้งหมดมีปริมาณน้อยกว่า 1 ไมโครกรัมต่อกรัม