



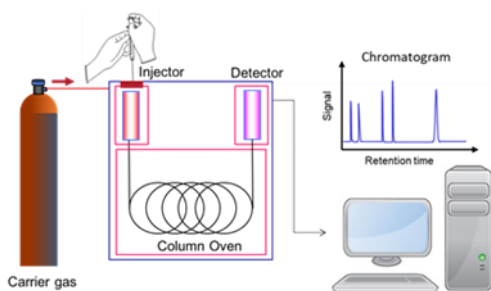
เทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟี (Gas Chromatography, GC)

สำหรับงานวิเคราะห์หาปริมาณแอลกอฮอล์ในเลือด

ผู้จัดทำ : วรณิกา พานนท์

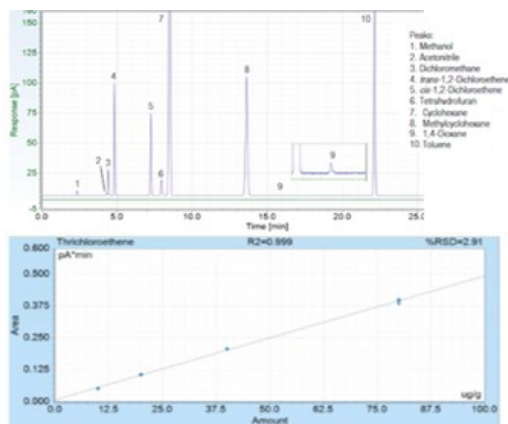
บทนำ

เทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟี (GC) เป็นเทคนิคที่ใช้ในการแยกสารผสมออกจากกันในฐานะแก๊ส โดยอาศัยคุณสมบัติในการละลายและความสามารถในการดูดซับที่แตกต่างกันของสารแต่ละชนิด



รูปที่ 1 ส่วนประกอบและการทำงานของเครื่อง GC

เมื่อนำสารผสมเข้าสู่ (Injector) สารผสมจะเกิดการระเหยและถูกพาเข้าสู่คอลัมน์ด้วย Carrier Gas ซึ่งภายในคอลัมน์ สารแต่ละชนิดจะถูกแยกออกจากกันโดยอาศัยคุณสมบัติในการละลายและความสามารถในการดูดซับในเฟสทั้งสองชนิด หลังจากนั้นสารที่ออกจากคอลัมน์จะถูกตรวจวัดด้วยตัวตรวจวัดที่เหมาะสมเพื่อรายงานผลออกมาในรูปแบบโครมาโตแกรม



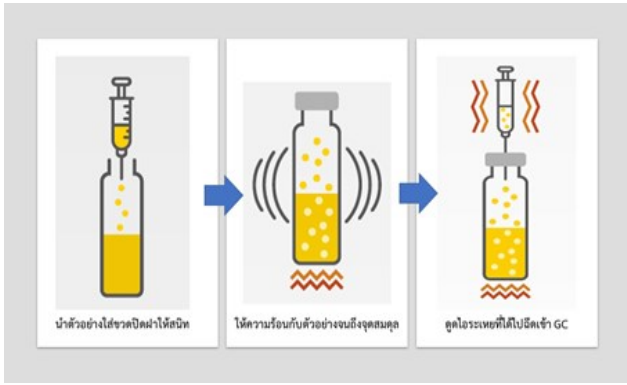
รูปที่ 2 การวิเคราะห์ผลเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณด้วย GC ผลจากการวิเคราะห์ด้วย GC

การวิเคราะห์เชิงคุณภาพ (Qualitative) โดยใช้เวลาที่สารถูกชะออกจากคอลัมน์สู่ตัวตรวจวัด (Retention Time, RT) เทียบกับเวลาของสารมาตรฐานเพื่อระบุชนิดของสาร

การวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Quantitative) โดยขนาดสัญญาณ (พื้นที่ใต้พีคหรือความสูงของพีค) ของสารมาตรฐานที่มีความเข้มข้นต่างๆ มาสร้างความสัมพันธ์เชิงเส้นเพื่อหาความเข้มข้นของสารในตัวอย่าง

ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ในเลือด

การวิเคราะห์ปริมาณของแอลกอฮอล์ในเลือดเป็นหนึ่งในการทดสอบที่พบบ่อยในกระบวนการทางนิติวิทยาศาสตร์ เพื่อวัดระดับความมึนเมาและเพื่อวัดประสิทธิภาพที่ลดลงของการขับขี่ โดยปรกติในหลายประเทศห้ามบุคคลที่มีปริมาณแอลกอฮอล์ในเลือดสูงเกินกว่ากฎหมายกำหนดขับขี่ยานยนต์ ในประเทศไทย ตามกฎกระทรวงฉบับที่ 21 (พ.ศ. 2560) ระดับความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ในเลือดที่ถือว่าผิดกฎหมายกรณีตรวจวัดจากเลือดเกิน 50 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ วิธีการตรวจหาปริมาณแอลกอฮอล์ในเลือดที่ได้รับการยอมรับว่าเป็นวิธีการตรวจยืนยันที่น่าเชื่อถือ จะใช้เทคนิค Gas Chromatography (GC) ร่วมกับ Headspace และใช้ตัวตรวจวัดชนิด Flame ionization (FID)



รูปที่ 3 แสดงขั้นตอนการสกัดตัวอย่างด้วยเทคนิคเฮดสเปซ

การสกัดตัวอย่างด้วยเทคนิคเฮดสเปซ (Headspace)

เป็นเทคนิคการเตรียมตัวอย่าง ที่นิยมใช้สำหรับของแข็งหรือของเหลวที่สามารถระเหยได้ โดยขั้นตอนการทำงานเริ่มจากนำสารตัวอย่างใส่ในขวดที่ปิดสนิท แล้วให้ความร้อนกับตัวอย่างเพื่อให้สารที่ต้องการวิเคราะห์ ระเหยกลายเป็นไอแยกออกจากตัวอย่าง จากนั้นนำไอรระเหยของสารเข้าเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟเพื่อแยกสารผสมสมนั้นออกจากกัน

ข้อดีของเทคนิคเฮดสเปซ (Headspace)

เทคนิคนี้เป็นเทคนิคการสกัดสารตัวอย่างโดยไม่ใช้ตัวทำละลาย มีความจำเพาะต่อสารที่ระเหยได้ ทำให้ลดเวลาในการวิเคราะห์ ลดการสัมผัสกับสารตัวอย่าง และลดสารละลายของเสียอีกด้วย

ขั้นตอนการเก็บตัวอย่าง

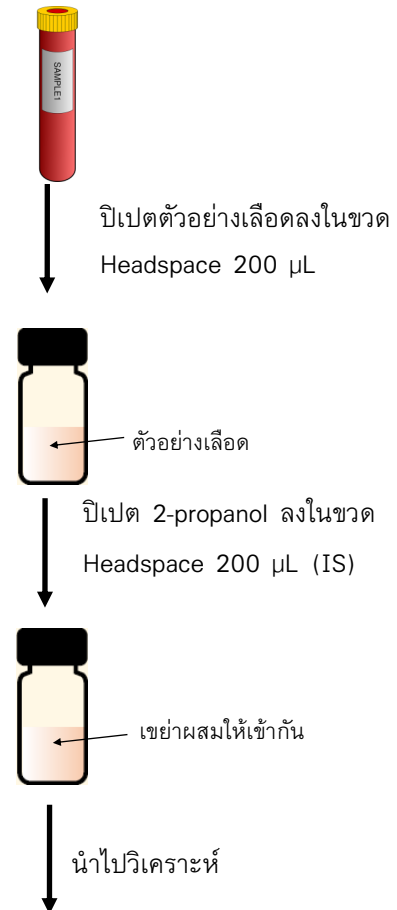
- 1) เก็บตัวอย่างเลือดภายใน 2 ชั่วโมงหลังตีมีแอลกอฮอล์
- 2) ทำความสะอาดบริเวณผิวหนังที่จะเจาะเลือดด้วย Providine หรือ Betadine (ห้ามใช้เอทานอลและไอโซโพรพานอล)
- 3) เก็บเลือดปริมาณ 2 มิลลิลิตร ใส่ในหลอด Sodium Fluoride ซึ่งป้องกันการกระบวนกรเปลี่ยนแปลงแอลกอฮอล์เป็นน้ำตาล ปิดจุกให้แน่น และผสมให้เข้ากัน โดยการพลิกคว่ำหลอด กลับไป-มา 8-10 ครั้ง และนำส่งห้องปฏิบัติการทันที(สามารถเก็บได้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แต่ไม่ควรเกิน 2 ชม.)

การเตรียมสารมาตรฐาน

การเตรียมสารมาตรฐานเอทานอลในการทำการวิเคราะห์ปริมาณ สามารถทำได้ง่ายๆ โดยการเตรียมความเข้มข้นในรูปแบบของมิลลิกรัมต่อเดซิลิตร หรือเรียกกันว่ามิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์

	STD 1	STD 2	STD 3	STD 4	STD 5	STD 6
	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)
Ethanol	10	25	50	150	300	400

ตารางแสดงความเข้มข้นของเอทานอลที่ใช้เป็นสารมาตรฐาน
การเตรียมตัวอย่าง

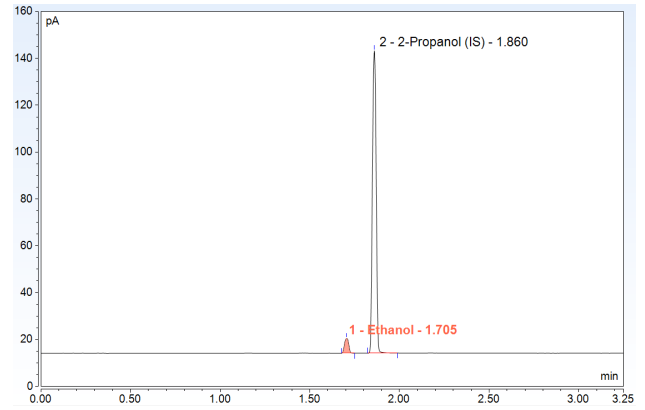


รูปที่ 4 วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-FID Headspace

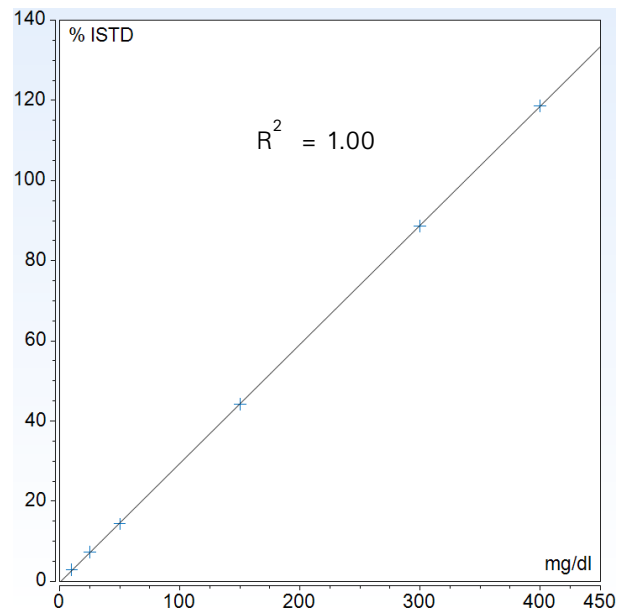
เครื่องมือและวิธีการวิเคราะห์

Trace 1300 Gas Chromatograph	
Temperature	200(°C)
Injection Mode	Split
Split Flow	200
Purge Flow	5 mL/min
Carrier Gas, Mode	He,constant flow, 3(mL/min)
Column	TG-624 30 m × 0.32 mm i.d. × 1.8 µm
Oven Temperature	50°C(0.5 min) 40°C/min,120(1 min)
Headspace	
Incubation temperature	80°C
Incubation time	10 min
Syringe Temperature	80°C
Injection volume	250µL
FID	
Temperature	230(°C)
Air Flow	350(mL/min)
H ₂ Flow	35(mL/min)
N ₂ Flow	40(mL/min)
Acquisition Rate	25(Hz)

รูปที่ 5 และรูปที่ 6 แสดงผลการวิเคราะห์เอทานอล และ 2-โพรพานอล (IS) เพื่อนำไปสร้างเส้นกราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลในตัวอย่าง จากผลการวิเคราะห์ซ้ำห้าครั้ง ค่าที่อ่านได้แสดงให้เห็นถึงความแม่นยำและความถูกต้องผ่านการประมวลผลของโปรแกรม Chromeleon®



รูปที่ 5 โครมาโตแกรมของเอทานอลและ2-โพรพานอล (IS)



รูปที่ 6 เส้นกราฟมาตรฐานของเอทานอล

Injection Name	Retention Time min Ethanol	Amount mg/dl Ethanol	Relative Area % Ethanol	Area pA*min Ethanol	Height pA Ethanol
Sample_Repeat01	1.750	19.2637	5.18	0.1715	6.30
Sample_Repeat02	1.707	19.5547	5.26	0.1791	6.58
Sample_Repeat03	1.707	19.3576	5.20	0.1775	6.56
Sample_Repeat04	1.708	19.5269	5.25	0.1749	6.45
Sample_Repeat05	1.708	19.7800	5.32	0.1787	6.57
Maximum	1.708	19.7800	5.32	0.1791	6.58
Average	1.707	19.4966	5.24	0.1763	6.49
Minimum	1.705	19.2637	5.18	0.1715	6.30
standard deviation	0.001	0.1989	0.05	0.0031	0.12
Relative standard deviation (%RSD)	0.08%	1.02%	1.01%	1.79%	1.80%

รูปที่ 7 ผลการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลในตัวอย่าง

เครื่องมือที่เกี่ยวข้อง



เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟพร้อมเครื่องฉีดสารตัวอย่างของเหลวอัตโนมัติรุ่น **Trace 1300 Series** ออกแบบมาเพื่อรองรับการทำงานที่ง่ายและสะดวกรวดเร็ว การดูแลรักษาส่วนฉีดสารหรือตัวตรวจวัดที่สามารถทำได้ง่ายโดยผู้ใช้งาน ตู้อบบรรจุ คอลัมน์ที่ออกแบบมาให้การลดระดับความร้อนได้รวดเร็ว และตัวเครื่องมีขนาดเล็ก ประหยัดพื้นที่ เครื่องฉีดตัวอย่างของเหลวอัตโนมัติรองรับการวางขวดตัวอย่างได้ สูงสุด 155 ขวด

เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟพร้อมเครื่องฉีดสารตัวอย่างอัตโนมัติ ชนิดเฮดสเปซ(Headspace)รุ่น **TriPlus 500** ที่ออกแบบมาให้เครื่องสามารถ วิเคราะห์ซ้ำได้อย่างมีประสิทธิภาพ ด้วยเทคโนโลยีการควบคุมระบบความดัน อัตโนมัติ และระบบวาล์วปิดเปิดที่ช่วยลดการปนเปื้อนที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการ วิเคราะห์ได้ อีกทั้งยังมีระบบทำความสะอาดระหว่างทำการวิเคราะห์ช่วยลดปัญหา Carryover ทำให้ผู้ใช้งานมั่นใจในการวิเคราะห์ ไม่ว่าจะตัวอย่างจำนวนมากหรือน้อยแค่ไหนเครื่องก็สามารถรองรับการทำงานได้อย่างดีเยี่ยม



เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ-แมสสเปคโตรมิเตอร์พร้อมเครื่องฉีดสาร ตัวอย่างอัตโนมัติชนิดเฮดสเปซ ช่วยตอบโจทย์งานวิเคราะห์วิจัยทั้งทางด้าน งานควบคุมคุณภาพหรืองานพัฒนาผลิตภัณฑ์ เครื่องแมสสเปคโตรมิเตอร์ รุ่น **ISQ 7000** เป็นเครื่องแมสสเปคโตรมิเตอร์ที่มีส่วนแยกมวล เป็นแบบ Single Quadrupole พร้อมระบบ Pre-filter แบบ S-Shape ช่วยลดตัว รบกวนในการวิเคราะห์ และ Dual filament ช่วยให้สะดวกในการทำงาน โดยผลการวิเคราะห์ สามารถทำได้ทั้งการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิง ปริมาณ

ติดตามแอปพลิเคชันอื่น ๆ ได้ที่ <https://www.scispec.co.th>



บริษัท ชายน์ สเปค จำกัด
10 กาญจนภิเษก ซอย 0010 แยกสอง
เขตบางแค กทม. 10160
โทร 02-454-8533



/scispec



@scispec

ThermoFisher
SCIENTIFIC