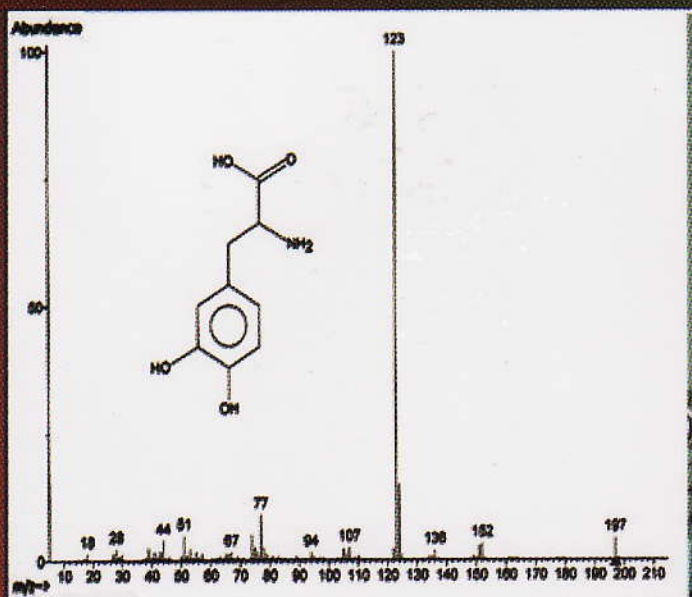
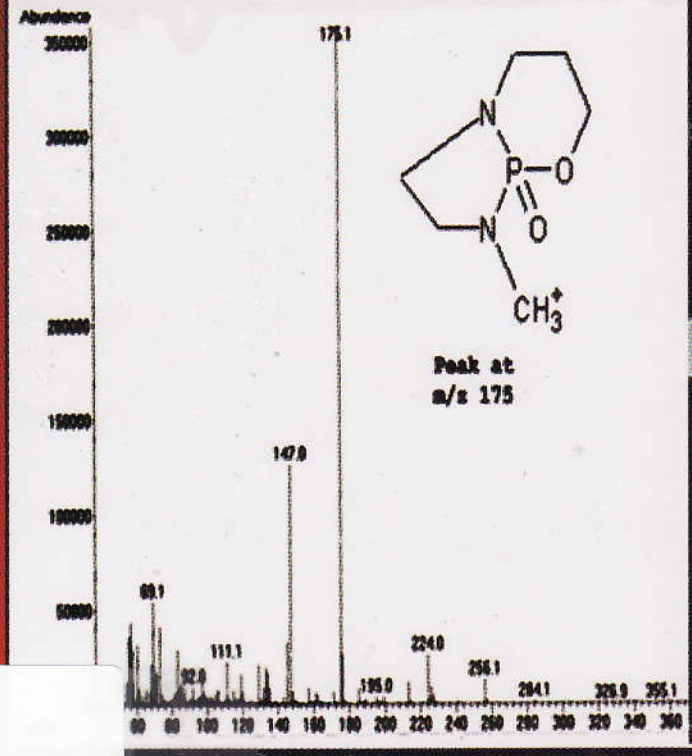
GC-MS
หลักการทั่วไปและการประยุกต์ใช้





31.7
T35จ
559

วีรวรรณ เล็กสกุลไชย

สำนักหอสมุดกลาง
มหาวิทยาลัยสยาม
SIAM UNIVERSITY
CENTRAL LIBRARY

GC-MS

หลักการทั่วไปและการประยุกต์ใช้

วีรวรรณ เล็กสกุลไชย

เลขทะเบียน M 0149308
วันลงทะเบียน 7 มิ.ย. 2559
เลขเรียกหนังสือ 661.7
ว785ค
2559

วีรวรรณ เล็กสกุลไชย

GC-MS หลักการทั่วไปและการประยุกต์ใช้

1. เครื่องมือวิทยาศาสตร์. I. ชื่อเรื่อง

681.7

ISBN 978-616-413-239-9

หนังสือเล่มนี้สงวนสิทธิ์ตาม พ.ร.บ. ลิขสิทธิ์

ห้ามพิมพ์ซ้ำหรือลอกเลียนแบบส่วนใดส่วนหนึ่งของหนังสือเล่มนี้ไม่ว่ารูปแบบใด นอกจากจะได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจากผู้เขียนเท่านั้น

พิมพ์ครั้งที่ 1 พ.ศ. 2559

จำนวน 500 เล่ม

จำหน่ายที่ ศูนย์หนังสือจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ถนนพญาไท เขตปทุมวัน กรุงเทพ ฯ 10330

ราคาเล่มละ 140.-บาท

พิมพ์ที่ โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย [5907-047] กรุงเทพ ฯ

โทร. 0-2218-3548-50 โทรสาร 0-2218-3551 www.cuprint.chula.ac.th

คำนำ

เครื่อง GC-MS หรือ gas chromatography-mass spectrometry เป็นเครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่มีการใช้งานมานาน ในประเทศไทย มีการใช้เครื่อง GC-MS ในงานบริการทางการแพทย์และวิทยาศาสตร์การแพทย์สาขาต่างๆ งานอุตสาหกรรม และงานวิจัย เครื่อง GC-MS ดูเหมือนจะเป็นเครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่มีความสลับซับซ้อน ยากต่อการใช้งาน ทำให้มีผู้ที่สามารถใช้เครื่อง GC-MS ได้จำนวนน้อย และมีผู้ที่สามารถพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์สารด้วยเครื่อง GC-MS ได้จำนวนจำกัด ทั้งนี้เพราะ การขาดความรู้และความเข้าใจในหลักการทั่วไปและหลักการทำงานของเครื่อง ทำให้ไม่มั่นใจที่จะใช้งานเครื่อง และไม่สามารถประยุกต์ใช้งานเครื่อง GC-MS ให้เกิดประโยชน์ตามต้องการได้ หนังสือ "GC-MS หลักการทั่วไปและการประยุกต์ใช้" ได้นำความรู้และข้อมูลของเครื่อง GC-MS มาอธิบายด้วยภาษาและรูปประกอบที่ง่ายต่อการเข้าใจ ตั้งแต่จุดเริ่มต้นของเครื่อง การนำเครื่องไปใช้งาน การพัฒนาเครื่อง GC-MS จากอดีตถึงปัจจุบัน และการประยุกต์ใช้งานเครื่อง GC-MS โดยเนื้อหาในเล่มมาจากความรู้ที่ผู้เขียนได้ศึกษาเล่าเรียนและค้นคว้าเพิ่มเติม ความเข้าใจและประสบการณ์การทำงานวิจัยกับเครื่อง GC-MS มาระยะเวลาหนึ่งของผู้เขียน โดยมีข้อมูลจาก references เป็นส่วนเสริมและยืนยันความถูกต้อง ยกเว้นรูปที่มีแหล่งอ้างอิงกำกับ รูปในเล่มเป็นรูปวาดของผู้เขียนจากการทำความเข้าใจในเนื้อหา และจากผลงานวิจัยของผู้เขียนที่ไม่เคยตีพิมพ์ที่ใดมาก่อน หวังว่าหนังสือเล่มนี้จะทำให้ผู้อ่านได้ความรู้และมีความเข้าใจในหลักการทั่วไปและหลักการทำงานของเครื่อง GC-MS มีความมั่นใจและความสามารถในการทำงานหรือการประยุกต์ใช้เครื่อง GC-MS ให้เกิดประโยชน์ในงานตามต้องการได้มากขึ้น

วีรวรรณ เล็กสกุลไชย

สารบัญ

หน้า

คำนำ

สารบัญ

บทที่ 1 ที่มาและพัฒนาการของ GC-MS 1

บทที่ 2 การแยกสารด้วย GC 6

บทที่ 3 ส่วนประกอบของเครื่อง GC 12

บทที่ 4 ตัวแปรการทำงานของเครื่อง GC 20

บทที่ 5 ผลการตรวจวิเคราะห์จากการแยกสารด้วย GC 29

บทที่ 6 หลักการทำงานของ mass spectrometer 37

บทที่ 7 การทำงานของ ionization source 41

บทที่ 8 การทำงานของ mass analyzer 50

บทที่ 9 การทำงานของ electron multiplier & mass detector 61

บทที่ 10 คุณลักษณะเฉพาะของ GC และ MS 65

บทที่ 11 การตรวจวิเคราะห์ isomer ด้วย GC-MS 75

บทที่ 12 การตรวจวิเคราะห์ stereoisomer ด้วย GC-MS 79

บทที่ 13 การจัดเรียงตัวใหม่ของโมเลกุล cyclophosphamide ใน GC-MS 88

บทที่ 14 การตรวจวิเคราะห์สารชีวโมเลกุลด้วย GC-MS 94

ดัชนีคำ 104

ประวัติผู้เขียน 109

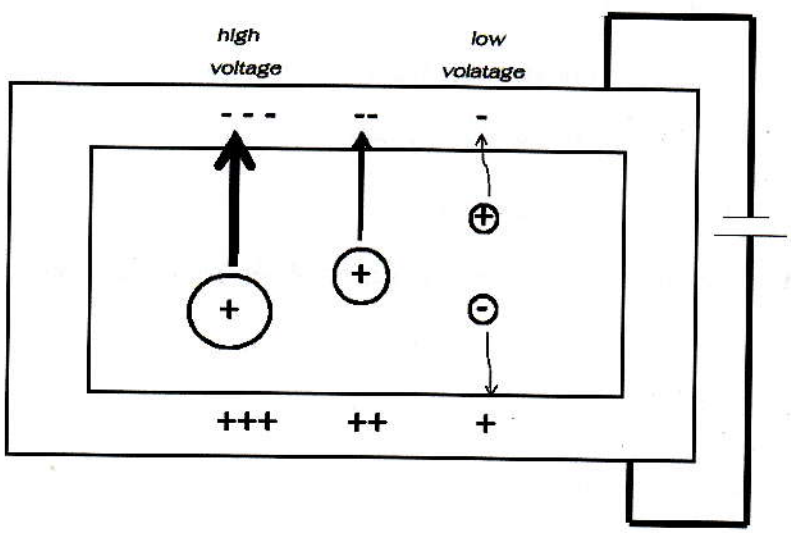
บทที่ 1 ที่มาและพัฒนาการของ GC-MS

Gas chromatography – mass spectrometry (GC-MS) เป็นการทำงานร่วมกันของเครื่องแยกชนิดสารคือ gas chromatography (GC) กับเครื่องวิเคราะห์สารระดับโมเลกุลคือ mass spectrometer (MS) เครื่อง GC ทำหน้าที่แยกสาร ไม่สามารถตรวจวิเคราะห์สารได้ จำเป็นต้องผ่านสารที่แยกได้แต่ละชนิดเข้าเครื่องตรวจวิเคราะห์สาร (detector) เพื่อทำการตรวจวิเคราะห์ปริมาณหรือชนิดของสาร GC ถูกพัฒนาและใช้ร่วมกับเครื่องตรวจวิเคราะห์สารชนิดต่างๆเช่น flame ionization detector (FID), nitrogen-phosphorus detector (NPD), electron capture detector (ECD) เป็นต้น [1]

เครื่อง MS เป็นเครื่องตรวจวิเคราะห์สารที่พัฒนาขึ้นหลังเครื่องตรวจวิเคราะห์สารชนิดอื่นที่ใช้กับเครื่อง GC เครื่อง GC-MS เริ่มมีการนำไปใช้ครั้งแรกในอุตสาหกรรมปิโตรเลียม (petroleum) หรือการกลั่นน้ำมันดิบ (crude oil) ในช่วงกลาง ค.ศ. 1940s ใช้ระบุชนิดและปริมาณของสารประกอบไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbon compound) ที่ได้จากการกลั่นน้ำมันดิบที่อุณหภูมิต่างๆ โดยพบว่า mass spectrum ที่ได้จากเครื่อง MS มีความสัมพันธ์กับสูตรโครงสร้างโมเลกุลของสาร สามารถใช้ระบุโครงสร้างโมเลกุลของสาร (molecular structure elucidation) ได้ จากนั้นก็มีการนำเครื่อง GC-MS ไปใช้ในการศึกษาและตรวจวิเคราะห์สารที่มีโครงสร้างโมเลกุลซับซ้อน (complex molecular structure) เช่น กรดอะมิโน (amino acid) กรดไขมัน (fatty acid) ในทางเคมีอินทรีย์ (organic chemistry) ตั้งแต่ช่วง ค.ศ. 1950s [2-6] ในทางการแพทย์และวิทยาศาสตร์การแพทย์ GC-MS ถูกนำมาใช้ครั้งแรกในการตรวจวินิจฉัยภาวะ inborn error of metabolism ต่อมาก็ประยุกต์ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณยารักษาโรค (therapeutic monitoring) ฮอร์โมน สารเสพติด และสารพิษ [7-11]

เครื่อง MS ถูกพัฒนาจากความรู้ทางฟิสิกส์ หลังการค้นพบมวลของอิเล็กตรอน (electron, e^-) และโปรตอน (proton, H^+) ที่นำไปสู่ค่า m/z (mass to charge ratio) และการค้นพบการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนและโปรตอนในสนามไฟฟ้า (electrical field) ภายในหลอดแก้วใสสุญญากาศ การเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนและโปรตอนก่อให้เกิดลำแสง (light ray) ซึ่งนำไปสู่การผลิตหลอดไฟฟ้า การศึกษาทิศทางการเคลื่อนที่พบว่า อิเล็กตรอนซึ่งมีประจุลบจะเคลื่อนที่เข้าหาขั้วไฟฟ้าที่เป็นขั้วบวก (anode) และถูกผลักออกห่างจากขั้วไฟฟ้าที่เป็นขั้วลบ (cathode) ส่วนโปรตอนที่มีประจุบวกจะวิ่งเข้าหา

ขั้วไฟฟ้าขั้วลบ และถูกผลักให้ออกห่างโดยขั้วไฟฟ้าขั้วบวก คล้ายการดึงดูดกันของขั้วแม่เหล็กที่ต่างกัน ขั้วเหนือกับขั้วใต้ และการผลักกันของขั้วแม่เหล็กที่เหมือนกัน การศึกษายังพบว่า การเปลี่ยนทิศของศักย์ไฟฟ้า (electric potential) หรือการสลับขั้วไฟฟ้าของสนามไฟฟ้า จะก่อให้เกิดการเบี่ยงเบน (deflection) ของลำแสงหรือทิศทางการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนและโปรตอน จึงมีการประยุกต์ใช้บนพื้นฐานว่า โมเลกุลสารที่มีประจุบวกหรือประจุลบจะเคลื่อนที่ในสนามไฟฟ้าภายในภาวะสุญญากาศคล้ายโปรตอนและอิเล็กตรอน ซึ่งพบว่า แรงดึงดูดและแรงผลักของขั้วไฟฟ้าที่กระทำต่อโมเลกุลสารที่มีประจุจะขึ้นกับค่าแรงดันไฟฟ้าหรือค่าความต่างศักย์ไฟฟ้า ค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าน้อยจะมีแรงดึงดูดหรือแรงผลักน้อย สามารถออกแรงดึงดูดหรือผลักได้เฉพาะโมเลกุลสารมีประจุที่มีมวลโมเลกุล (molecular mass, m) น้อย หากต้องการจะเคลื่อนสารที่มีมวลโมเลกุลมาก ต้องเพิ่มค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าในสนามไฟฟ้านั้น [12] ดังรูปที่ 1-1



รูปที่ 1-1 โมเลกุลสารมีประจุเคลื่อนที่ในสนามไฟฟ้าตามมวลโมเลกุลและความต่างศักย์ไฟฟ้า

เครื่อง MS ในระยะแรกต้องทำการประมวลผลการตรวจวิเคราะห์และทำรายงานด้วยมือ (manual) ซึ่งมีความลำบากยุ่งยาก แต่ยังคงได้รับความสนใจนำไปใช้ประโยชน์และมีการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง เพราะนอกจากจะสามารถให้ผลการตรวจวิเคราะห์เชิงปริมาณ (quantitative) เช่นเดียวกับเครื่องตรวจวิเคราะห์สารชนิดอื่นที่ใช้ร่วมกับ GC แล้ว เครื่อง MS ยังสามารถใช้ระบุมวลโมเลกุล (molecular weight) และสูตรโครงสร้าง (molecular structure) หรือชนิดของสาร ซึ่งเป็นผลการตรวจวิเคราะห์เชิงคุณภาพ (qualitative) ด้วย การพัฒนาและใช้งานเครื่อง GC-MS เป็นไปอย่างรวดเร็วตั้งแต่ปี ค.ศ.

1964 เมื่อมีการพัฒนาโปรแกรมคอมพิวเตอร์ (computer) สำหรับการเก็บข้อมูล บันทึกและประมวลผลการตรวจวิเคราะห์ [13] ทำให้การตรวจวิเคราะห์ทั้งเชิงคุณภาพและปริมาณง่ายขึ้นและมีประสิทธิภาพมากขึ้น และพัฒนาต่อไป โดยนำโปรแกรมคอมพิวเตอร์ไปใช้ในการสั่งงานและควบคุมการทำงานของเครื่องด้วย การใช้งาน GC-MS จึงสะดวก ง่าย และรวดเร็วขึ้น และมีการนำ GC-MS ไปใช้ในงานด้านต่างๆเพิ่มขึ้นเช่น การตรวจวิเคราะห์สารปนเปื้อนในอาหาร การตรวจวิเคราะห์สารที่ผลิตได้ในงานอุตสาหกรรม การตรวจวิเคราะห์สารมลพิษในสิ่งแวดล้อม การตรวจวิเคราะห์ในการผลิตยารักษาโรค เป็นต้น [2, 3, 7, 8, 11, 13-17]

การตรวจวิเคราะห์สารด้วยเครื่อง GC-MS ได้รับการยอมรับว่า เป็นหลักการตรวจวิเคราะห์มาตรฐานระดับยอดเยี่ยม (gold standard method) ถูกระบุว่าให้ผลการตรวจวิเคราะห์ที่เป็นสากล (universal) หรือเป็นที่สิ้นสุดอย่างไร้ข้อโต้แย้ง เนื่องจากในทางกฎหมาย ผลการตรวจวิเคราะห์สารด้วย GC-MS ถูกกำหนดให้เป็นพยานหลักฐานที่ยอมรับได้อย่างไร้ข้อโต้แย้ง แต่สิ่งที่ควรระบุร่วมด้วยเสมอคือ ต้องเป็นการตรวจวิเคราะห์สารจากห้องปฏิบัติการที่ผ่านการตรวจสอบอย่างเข้มข้น (intensive inspection) และผ่านการประเมินคุณภาพมาตรฐานการตรวจวิเคราะห์สารจากองค์กรมาตรฐานระดับสากล [10, 11, 16, 18]

เครื่อง GC-MS ที่มีการใช้มาถึงปัจจุบัน เกือบทั้งหมดสามารถตรวจวิเคราะห์สารที่มีมวลโมเลกุลภายในขีดจำกัดของเครื่อง MS โดยทั่วไปจะต้องมีค่ามวลโมเลกุลไม่เกิน 600 Dalton (Da) และต้องเป็นสารที่ทนความร้อนได้ระดับหนึ่ง ที่อุณหภูมิประมาณ 200-400°C โดยไม่เสียสภาพหรือถูกทำลาย และต้องสามารถระเหยเป็นไอได้ในช่วงอุณหภูมินี้ เพื่อให้สารในสภาพเป็นไอระเหยหรือแก๊สถูกนำพาออกจากเครื่อง GC ได้ ต่อมามีความต้องการผลการตรวจวิเคราะห์ที่ถูกต้องและแม่นยำมากขึ้น สามารถตรวจวิเคราะห์มวลโมเลกุลของสารได้ละเอียดยิ่งขึ้น เพื่อรองรับการตรวจวิเคราะห์สารในระดับไอโซโทป (isotope) จึงมีการพัฒนาจนได้เครื่อง MS ความละเอียดสูง (high resolution MS, HRMS) มีการพัฒนาเครื่อง GC-MS เพื่อให้สามารถแยกสารให้ชัดเจนยิ่งขึ้น ได้เครื่อง 2 dimension GC-MS หรือ GC-GC-MS มีความต้องการเครื่อง MS ที่สามารถตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารด้วยความไวสูง ได้เครื่อง tandem MS หรือ GC-MS-MS เครื่อง MS รุ่นใหม่ถูกพัฒนาให้สามารถทำงานร่วมกับเครื่องมือชนิดอื่นนอกเหนือจาก GC เช่น HPLC-MS หรือ LC-MS และมีการพัฒนาเครื่อง MS ให้สามารถตรวจ