

การทดลองที่ 8

โครมาโทกราฟีหลักการดูดซับ

อ.ชัยวัฒน์ วามวรรรัตน์

วัตถุประสงค์ เพื่อให้มีความเข้าใจหลักการของโครมาโทกราฟีหลักการดูดซับตลอดจนปัจจัยต่าง ๆ ที่มีอิทธิพลต่อการแยกสารโดยอาศัยหลักการนี้

โครมาโทกราฟีหลักการดูดซับ (adsorption chromatography) มีประโยชน์มากสำหรับการแยกสารประเภทไม่มีขั้ว โดยมีส่วนสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการแยกสารอยู่ 3 ส่วนคือ ตัวดูดซับ (adsorbent) ตัวทำละลาย และสารตัวอย่างที่ต้องการแยก

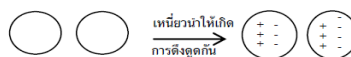
การแยกสารอาศัยหลักการแทนที่ของสารที่จุดดูดซับซึ่งอยู่บนผิวตัวดูดซับ โดยตัวทำละลายที่เป็นตัวชะหรือสารตัวอย่างที่ต้องการแยก สารแต่ละชนิดมีสัมพรรคภาพ (affinity) ต่อตัวดูดซับที่แตกต่างกัน จึงแยกออกจากกันได้ สารที่ถูกดูดซับด้วยแรงยึดเหนี่ยวต่ำกว่าหรือมีสัมพรรคภาพต่ำกว่าจะเคลื่อนที่ไปได้เร็วกว่าสารที่มีแรงยึดเหนี่ยวหรือมีสัมพรรคภาพกับตัวดูดซับสูงกว่า หากในระบบมีสารปนเปื้อนซึ่งมีสัมพรรคภาพต่อตัวดูดซับได้เช่นเดียวกัน จะมีผลต่อการแยกและค่า R_f ของสารที่ต้องการแยกด้วย เพราะสารปนเปื้อนสามารถแทนที่สารต่าง ๆ บนจุดดูดซับได้ดีเช่นเดียวกัน นอกจากนี้ตัวดูดซับยังมีแรงยึดเหนี่ยวต่อน้ำสูงมาก จนตัวทำละลายและสารชนิดอื่น ๆ ไม่สามารถเข้าแทนที่ที่จุดดูดซับ ดังนั้นการแยกสารให้ได้ประสิทธิภาพที่ดีและให้ผลคงที่ ต้องควบคุมความชื้นให้คงที่และปราศจากสารปนเปื้อน

ตัวดูดซับ เป็นสารที่มีความสามารถในการดูดซับสารไว้ที่พื้นผิวด้วยแรงชนิดต่าง ๆ เช่น แรงแวนเดอร์วาลส์* พันธะไฮโดรเจน ตัวดูดซับที่ดีต้องมีสมบัติไม่ถูกละลายโดยตัวทำละลาย ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการแยกหรือตัวชะ และไม่ทำให้สารที่ต้องการแยกเกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมี ตัวอย่างชนิดตัวดูดซับแสดงในตารางที่ 1 การเลือกตัวดูดซับให้เหมาะสมกับการแยกสารต้องพิจารณาปัจจัยในเรื่องของขนาดเม็ดตัวดูดซับ กัมมันตภาพ (activity) ของตัวดูดซับ และสภาพมีขั้วของสารที่ต้องการแยก

เนื่องจากการดูดซับเกิดขึ้นที่บนผิว ดังนั้นจึงเป็นความจำเป็นที่ตัวดูดซับต้องมีขนาดเล็ก เพื่อให้มีพื้นที่มากที่สุด ขนาดของเม็ดแสดงค่าเป็นขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางในหน่วยเป็นมิลลิเมตรหรือเป็น mesh ควรเลือกตัวดูดซับที่มีความละเอียดพอควร เพราะทำให้เกิดสมดุลระหว่างตัวดูดซับกับตัวชะได้ดี ส่งผลให้แยกสารได้ชัดเจน ขนาดเม็ดยังมีผลต่ออัตราไหลและความสม่ำเสมอในคอลัมน์ ขนาดเม็ดที่ละเอียดจนเป็นผง จะทำให้ตัวชะไหลช้า แต่ถ้าขนาดเม็ดหยาบจนเกินไป จะทำให้การบรรจุในคอลัมน์ไม่สม่ำเสมอและ

* แรงแวนเดอร์วาลส์เกิดขึ้นจากการเกิดขั้วคู่ (dipole) ขั้วขณะหนึ่งของโมเลกุลหนึ่ง ซึ่งมีผลเหนี่ยวนำให้อีกโมเลกุลหนึ่งที่อยู่ใกล้เคียงเกิด

ขั้วคู่ด้วย เป็นผลทำให้ทั้งสองโมเลกุลสามารถดึงดูดซึ่งกันและกันด้วยแรงไฟฟ้าสถิตย์



ตารางที่ 1 ตัวดูดซับที่ใช้โครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์

ทิศทางการลดลงของกัมมันตภาพ	อะลูมินา (alumina)	} ตัวดูดซับอย่างแรง
	ถ่าน (charcoal)	
	ซิลิกาเจล (silica gel)	
	แมกนีเซีย (magnesia)	} ตัวดูดซับปานกลาง
	แมกนีเซียมคาร์บอเนต (magnesium carbonate)	
	แคลเซียมฟอสเฟต (calcium phosphate)	
	แคลเซียมคาร์บอเนต (calcium carbonate)	
	อินูลิน (inulin)	} ตัวดูดซับอย่างอ่อน
	แป้ง (starch)	
	ซูโครส (sucrose)	
เซลลูโลส (cellulose)		

ที่มา : Fifield และ Kealy (1995)


ทำให้เกิดการแพร่ของสารขึ้น ลักษณะผิวก็มีผลต่อการดูดซับ โดยผิวเรียบจะดูดซับได้รวดเร็วกว่าผิวขรุขระ แต่ผิวขรุขระดูดซับสารได้ในปริมาณที่มากกว่า

ตัวดูดซับแต่ละชนิดมีความสามารถในการดูดซับหรือกัมมันตภาพ (activity) แตกต่างกันไป แบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่ม ดังในตารางที่ 1 การเลือกใช้ตัวดูดซับชนิดใดต้องพิจารณาควบคู่ไปกับสารที่ต้องการแยกด้วย เมื่อสารที่ต้องการแยกมีสภาพมีขั้วอ่อนๆ ควรใช้ตัวดูดซับที่มีกัมมันตภาพสูง มิฉะนั้นจะถูกชะออกอย่างรวดเร็วจนอาจไม่เกิดการแยก หากสารที่ต้องการแยกมีสภาพมีขั้วสูง ตัวดูดซับที่ใช้ก็ควรมีกัมมันตภาพต่ำ กัมมันตภาพของตัวดูดซับยังขึ้นกับปริมาณความชื้นด้วย ซึ่งจะลดลงเพราะน้ำไปปิดกั้นจุดดูดซับที่อยู่บนผิว ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับที่นิยมใช้กันมาก และสามารถเตรียมให้มีช่วงของกัมมันตภาพที่กว้างกว่าอะลูมินาและยังมีผลเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีได้น้อยกว่าอะลูมินา การปรับกัมมันตภาพของตัวดูดซับสามารถทำได้โดยการเติมน้ำที่มีการควบคุมปริมาณไว้ในปริมาณหนึ่งๆ

ตัวชะ การเลือกตัวชะต้องคำนึงถึงสภาพมีขั้ว (polarity) เป็นสำคัญ โดยต้องพิจารณาให้สัมพันธ์กับสารที่ต้องการแยกและชนิดตัวดูดซับ โดยทั่วไปเมื่อใช้ตัวดูดซับที่มีกัมมันตภาพสูง มักใช้ตัวชะที่มีความสามารถในการชะ (eluting power) สูง และใช้ตัวชะที่มีความสามารถในการชะต่ำกับตัวดูดซับที่มีกัมมันตภาพต่ำ ในบางกรณี เช่น สารตัวอย่างถูกดูดซับไว้ได้ดีมาก หรือถูกดูดซับไว้ได้ยาก อาจต้องเลือกทั้งตัวดูดซับและตัวชะโดยไม่เป็นไปตามหลักการที่กล่าวข้างต้น

ความสามารถในการชะขึ้นกับสภาพมีขั้วของตัวชะ โดยทั่วไปตัวชะที่ใช้มักใช้ตัวทำละลายมาผสมกัน 2-3 ชนิด ซึ่งให้ผลดีกว่าการใช้ตัวทำละลายชนิดเดียว การผสมกันของตัวทำละลายในอัตราส่วนต่างๆ สร้างสภาพมีขั้วให้แก่ตัวชะแตกต่างกันออกไป สภาพมีขั้วของตัวทำละลายจำแนกได้หลายวิธี ตารางที่ 2 แสดงตัวอย่างของตัวทำละลายที่ลำดับสภาพมีขั้วตามวิธีจำแนกเป็น eluotropic series ซึ่งลำดับตัวทำละลายตามความสามารถในการชะตัวถูกละลายออกจากวัฏภาคคงที่มีขั้ว เช่น อะลูมินา เป็นต้น

ตารางที่ 2 ตัวอย่างของตัวทำละลายใน eluotropic series

นอร์มอลเฮกเซน (n-hexane)		ต่ำ
ไซโคลเฮกเซน (cyclohexane)		
คาร์บอนเตตระคลอไรด์ (carbon tetrachloride)		
โทลูอีน (toluene)		
เบนซีน (benzene)		
เมทิลีนคลอไรด์ (methylene chloride)		
นอร์มอลโพรพานอล (n-propanol)		
เอทิลแอซีเตต (ethyl acetate)		
ไอโซโพรพานอล (iso-propanol)		
คลอโรฟอร์ม (chloroform)		
อะซีโตน (acetone)		
เอทานอล (ethanol)		
อะซีโตนไนไตร (acetonitrile)		
เมทานอล (methanol)		
น้ำ (water)		สูง

ที่มา : Tabor (1996)

ตัวทำละลายที่ใช้นำมาเตรียมเป็นตัวชะ ต้องไม่มีสารปนเปื้อนปนอยู่ เช่น น้ำหรือกรด แอลกอฮอล์ ที่ปนในคลอโรฟอร์ม มิฉะนั้นจะส่งผลถึงการแยกออกมาไม่ดี ตัวทำละลายและตัวดูดซับบางชนิดไม่สามารถเข้าด้วยกันได้ ต้องหลีกเลี่ยงการใช้ ตัวอย่างเช่น อะซีโตนเกิดพอลิเมอร์ได้เมื่อใช้ร่วมกับอลูมินาที่เป็นด่าง (basic alumina)

**** การทดลองในวันนี้เครื่องมือและเครื่องแก้วที่ใช้ต้องแห้งสนิท ****

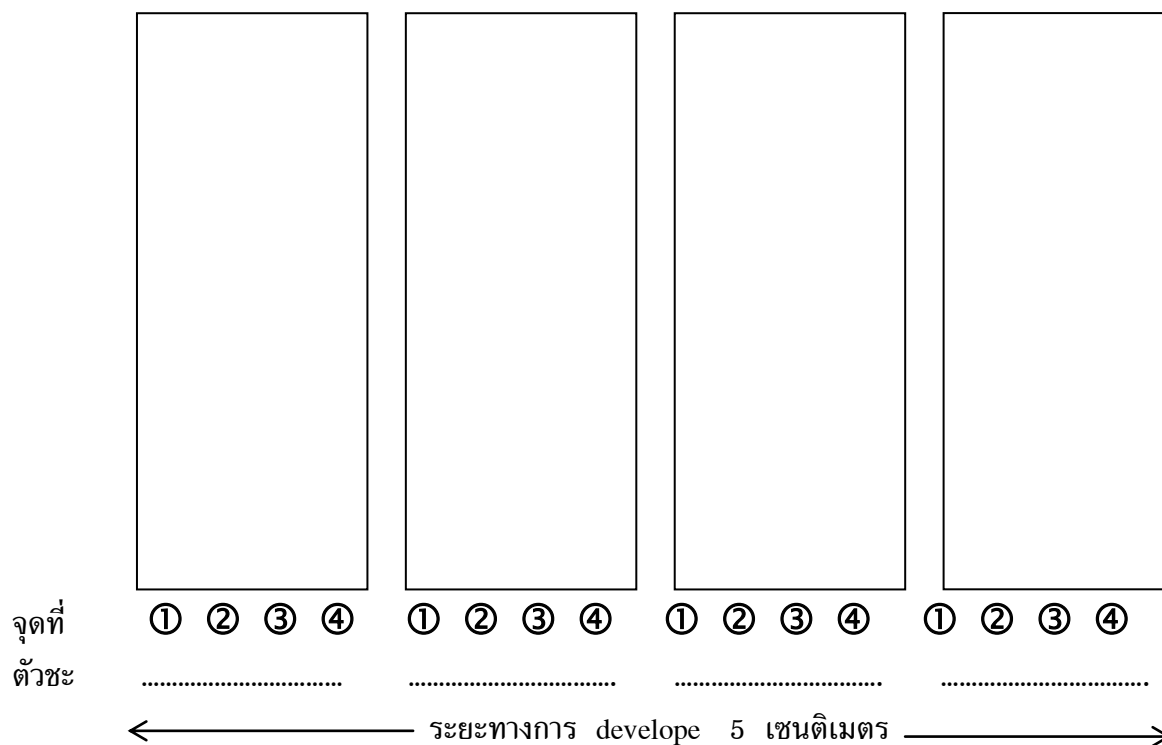
การทดลองที่ 8.1 การแยกสารละลายผสมของสีอินทรีย์เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบโดยใช้โครมาโทกราฟีแบบแผ่นเคลือบ

- สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้
1. แผ่นเคลือบที่เตรียมโดยการเคลือบซิลิกาเจลลงบนผิวของกระดาษกรอง
 2. ปีโตรเลียมอีเธอร์
 3. เบนซีน
 4. เมทานอล
 5. อะซีโตน
 6. สารละลายผสมของสีอินทรีย์
 7. ขวดแก้วปากกว้างมีฝาปิด

วิธีทดลอง

1. อาจารย์จะกำหนดให้แต่ละกลุ่มเตรียมตัวชะชุดใดชุดหนึ่งใน 4 ชุด โดยผสมตัวทำละลายในอัตราส่วนที่กำหนดให้ ตัวชะใน 4 ชุด มีดังนี้
 ปิโตรเลียมอีเธอร์ : เบนซีน 1 : 4 โดยปริมาตร
 เบนซีน
 เบนซีน : เมทานอล 20 : 1 โดยปริมาตร
 เบนซีน : อะซีโตน 4 : 1 โดยปริมาตร
2. เติมตัวชะลงในขวดแก้วแล้วปิดฝาเพื่อให้บรรยากาศภายในอึดตัวด้วยตัวชะ
3. จุดหยดสารไวท์ที่แนว 1 เซนติเมตร จากปลายปากหนึ่งของแผ่นเคลือบไว้ 4 จุด โดยที่ 3 จุดแรกเป็นสารละลายสีอินทรีย์บริสุทธิ์ จุดละ 1 สี จุดสุดท้ายเป็นสารละลายผสมของสีอินทรีย์ พยายามจุดให้มีขนาดเล็กที่สุด
4. วัดจากแนวที่จุดสารขึ้นไป 5 เซนติเมตร ชีดทำเป็นร่องไว้ด้วยดินสอไว้เป็นแนวตัวทำละลาย แล้วนำแผ่นเคลือบใส่ลงในขวดแก้วที่มีตัวชะอยู่ก้นขวด ปิดฝาให้แน่นสนิท
5. เมื่อตัวชะไปถึงแนวตัวทำละลาย ให้เปิดฝานำแผ่นเคลือบออกมาวางฝั่งให้ตัวทำละลายระเหยออกไป
6. หาค่า R_f ของสีต่างๆ
7. เปรียบเทียบผลการแยกกับกลุ่มอื่นๆ ที่ใช้ตัวชะต่างกัน
8. วิเคราะห์ผลการทดลองในด้านความสามารถในการชะของตัวชะ

ผลการทดลองที่ 8.1



ตารางบันทึกผลการทดลองที่ 8.1

ชนิดของตัวชะ	ลำดับของสีและค่า R_f ที่ชะออกมาจากจุดต่างๆ ที่แนวเริ่มต้น (ตามลำดับ)							
	จุดที่ 1		จุดที่ 2		จุดที่ 3		จุดที่ 4	
	สี	ค่า R_f	สี	ค่า R_f	สี	ค่า R_f	สี	ค่า R_f
ปิโตรเลียมอีเธอร์ : เบนซิน 1 : 4 โดย ปริมาตร								
เบนซิน								
เบนซิน : เมทานอล 20 : 1 โดย ปริมาตร								
เบนซิน : อะซีโตน 4 : 1 โดยปริมาตร								

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลองที่ 8.1

คำถาม

1. จงลำดับสภาพมีชีวะของตัวชะต่อไปนี้จากน้อยไปหามาก

- ก. เบนซีน : เมทานอล 95 : 5 ข. เบนซีน : อะซีโตน 9 : 1
ค. คลอโรฟอร์ม : อะซีโตน 85 : 15 ง. เบนซีน : เอธิลเอซีเตต 3 : 7

2. หากต้องการเพิ่มประสิทธิภาพการแยกสาร จะต้องแก้ไขปรับปรุงในเรื่องใดบ้าง