การทดลองใช้สารในธรรมชาติสำหรับ Chromatographic Techniques เพื่อการสอนวิชาเคมี

ปริญญานิพนธ์

ของ

สุทธิ ภมรสมิต

THE LIBRARY
COLLEGE OF EDUCATION
BANGKOK, THAILAND

เสนอต่อวิทยาลัยวิชาการศึกษา
เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต

4 ธันวาคม 2513

บทคัดย่อ

ความมุ่งหมายในการค้นคว้า

1. เพื่อหาประสิทธิภาพของสารในธรรมชาติ ได้แก่ ดินขาว (kaolin) หินฉ่อน หรือก้าไซต์ แร่ยิบซัม แอสเบสตอส ผงชอล์กเขียนกระดานดำ แป้งมันสำปะหลัง และกระดาษซับหมึกสีขาว เมื่อใช้เป็น Adsorbent ในการแยกสารเภสัช พวกอินทรีย์เภสัช และอนินทรีย์เภสัช โดยวิธี Chromatographic techniques

2. เพื่อเปรียบเทียบผลการใช้สารในธรรมชาติ และสาร commercial Grade ใน Chromatographic techniques

3. เพื่อหาและเปรียบเทียบ Rf values ของสารเภสัชชนิดต่าง ๆ

4. เพื่อศึกษาดูว่า การปรับปรุง และ activate สารในธรรมชาติ จะช่วยให้มีประสิทธิภาพดีขึ้นในการแยกด้วยวิธี Chromatography หรือไม่

วิธีการค้นคว้า

1. ทำความสะอาดสารในธรรมชาติที่ได้มาจากแหล่งต่าง ๆ

2. ทำการทดลองใช้สารในธรรมชาติแต่ละอย่างตามวิธีการ หรือเทคนิคที่เหมาะสม (Column Thin-layer หรือ Paper Chromatography) เพื่อทำการแยกสารเภสัชบริสุทธิ์บางกลุ่มที่นำมาผสมกัน และทำการหาค่า Rf values

3. ทำการ activate สารในธรรมชาติที่สะอาด โดยอบที่อุณหภูมิต่ำที่แล้วทำการทดลองตามข้อ ๑ และ ๒

4. ทำการทดลองซ้ำเช่นเดียวกับข้อ ๒ แต่ครั้งนี้ใช้ Commercial grade adsorbents

สรุปผลการค้นคว้า

1. ประสิทธิภาพในการใช้สารในธรรมชาติเป็น Adsorbent มีดังนี้

คณะกรรมการที่ปรึกษาประจำตัวนิสิตได้พิจารณาปริญญานิพนธ์ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต ของวิทยาลัยวิชาการศึกษาได้

ประธาน

กรรมการ

กรรมการ

4 ธันวาคม 2513

22 ก.ย. 2514

ประกาศคุณูปการ

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้สำเร็จได้ด้วยดี เนื่องจากผู้เขียนได้รับคำแนะนำและความช่วยเหลือจากอาจารย์ผู้ทรงคุณวุฒิหลายท่าน คือ อาจารย์ ดร.นิดา สะเพียรชัย ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุนทรีย์ พิริยกิจ และอาจารย์เกษร พะลัง ผู้เขียนกราบขอบพระคุณอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้ด้วย

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้ สำเร็จเป็นรูปเล่มขึ้นได้ เพราะได้รับความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจาก พันเอกสัญชัย นาะมะรัตน ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณไว้ ณ ที่นี้ด้วย

สุทธิ ภมรสมิต

สารบัญ

บทที่		หน้า
1.	บทนำ	1
	คำนำ	1
	ความมุ่งหมายในการค้นคว้า	4
	ขอบเขตของการค้นคว้า	5
	คำนิยามศัพท์เฉพาะ	6
	ความสำคัญของการค้นคว้า	7
	ประโยชน์จากการค้นคว้า	8
2.	เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาค้นคว้า	9
3.	การดำเนินการทดลอง	22
	การทดลองใช้ดินขาวเป็น Adsorbent	22
	การใช้ผงชอล์คเชียนกระดานดำ และแร่ยิบซัม	30
	การใช้หินออนหรือแร่คัลไซต์เป็น Adsorbent	34
	การใช้แอสเบสตอสเป็น Adsorbent	40
	การใช้แป้งมันสำปะหลังเป็น Adsorbent	41
	การใช้กระดาษซับหมึกสีขาวตราม้าน้ำเป็น Inert supporter	43

บทที่		หน้า
4.	อภิปรายผลการทดลอง	54
	การใช้ดินขาวเป็น Adsorbent	54
	การใช้ผงซอล์คเขียนกระดานดำและแร่ยิบซัมเป็น Adsorbent	69
	การใช้หินฝุ่นและแร่คัลไซต์เป็น Adsorbent	78
	การใช้แป้งมันสำปะหลังเป็น Adsorbent	83
	การใช้กระดาษซับหมึกสีขาวสำหรับ Paper Chromatography	84
5.	บทย่อ สรุปผล และข้อเสนอแนะ	101
	การทดลองครั้งนี้มีจุดมุ่งไปในทางค้นคว้า	101
	สรุปผลที่ได้จากการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้	102
	ข้อเสนอแนะเพื่อการศึกษาค้นคว้าเพิ่มเติม	
	บรรณานุกรม	106
	ภาคผนวก	111
	ภาคผนวก ก. การหาสารในธรรมชาติ และการทำความสะอาดสารธรรมชาติ	112
	ภาคผนวก ข. ข้อมูลจากการทดลอง	116

บัญชีตาราง

ตาราง		หน้า
1	การผสม Inorganic cations และการใช้ตัวทำละลาย เพื่อทดลองแยกในการใช้ผงซอลก์เป็น Adsorbent	33
2	การผสม Inorganic cations และการใช้ตัวทำละลาย เพื่อทดลองแยกในการใช้แร่ยิบซัมเป็น Adsorbent	35
3	การผสม Inorganic cations และการใช้ตัวทำละลาย เพื่อทดลองแยกในการใช้ Calcium sulphate ชนิด Commercial grade เป็น Adsorbent	36
4	ค่า Rf x 100 ที่ได้จากการทดลองแยก Indicators โดยใช้ ตัวอย่างในสภาวะต่าง ๆ และตัวอย่างชนิด Commercial grade	62
5	ค่า Rf x 100 ที่ได้จากการแยก Amino acids โดยใช้ กิมขาวจังหวัดระนองในสภาวะต่าง ๆ และตัวอย่างชนิด Commercial grade เป็น Adsorbent	64
6	การผสม Inorganic cations เป็น Systems ต่าง ๆ และการใช้ตัวทำละลาย	66
7	ค่า Rf x 100 เฉลี่ยจากการทดลอง 10 ครั้ง ของ Inorganic cations แยกโดย Thin-layerplate ที่ไม่ activate	67
8	ค่า Rf x 100 เฉลี่ยจากการทดลอง 10 ครั้ง ของ Inorganic Cations แยกโดย Thin-layer plate ที่ Activate	68

ตาราง		หน้า
9	ค่า Rf x 100 ของ Indicators ตามชนิดของ Adsorbent และสภาวะของ Thin-layer plate	71
10	ค่า Rf x 100 ตามชนิดของ Adsorbent และสภาวะของ Thin-layer plate	73
11	ค่า Rf x 100 ของสารเกิดพวก Inorganic Cations จากการใช้ผงซอลก์เขียนกระดานดำเป็น Adsorbent	75
12	ค่า Rf x 100 ของสารเกิดพวก Inorganic Cations จากการใช้ Calcium Sulphate ชนิด commercial grade	76
13	ค่า Rf x 100 ของสารเกิดพวก Inorganic Cations จากการใช้ยิปซัม วังหมักอุตตรดิตถ์เป็น Adsorbent	77
14	ค่า Rf x 100 ของ Indicators ที่ได้จากการแยกแต่ละ Mixture	87
15	ค่า Rf x 100 ของ Amino acids และผลการตรวจด้วย ninhydrin 0.2 % ใน Acetone	89
16	ค่า Rf x 100 ของน้ำตาลชนิดต่าง ๆ และผลการตรวจหาด้วย Locating reagent	91
17	Rf x 100 ของพวก Phenolic compounds ที่ได้จากการแยกแต่ละ mixture และผลการตรวจด้วย Locating reagent	92
18	ค่า Rf x 100 ของสารเกิดพวก Glycerides	94

ตาราง		หน้า
19	ค่า Rf x 100 ของ Arsenic Subgroup และผลการตรวจหา Spot ด้วย Hydrogen sulphide gas	96
20	ค่า Rf x 100 ของ Copper Subgroup และผลการตรวจหาด้วย Hydrogen sulphide gas	97
21	ค่า Rf x 100 ของ Inorganic Cations เมื่อใช้ Solvent 10 % Hychochloric acid 6 M. ใน Acetone	98
22	ค่า Rf x 100 ของ Inorganic Anions และผลการตรวจหา Spot	100
23	ผลการวัด Percent Transmittance จากการแปรผัน Wavelength ของ Cobalt fraction จากการแปรผัน	117
24	ผลการวัด Percent Transmittance Wavelength ของ Pure Cobalt nitrate 0.005 M.	118
25	ผลการวัด Percent Percent Transmittance จากการแปรผัน Wavelength ของ Effluent ที่รองรับหลังจาก Cobalt zone Elute หมดแล้ว	120
26	การวัด Percent Transmittance จากการแปรผัน Wavelength ของ Copper fraction	122

ตาราง		หน้า
27	ผลการวัด Percent Transmitance จากการแปรผัน Wavelength ของ ของผสม Pure Copper sulphate 1 M. 1 ml กับ Amonium Carbanate 0.005 M. 10 ml และ Amonium nitrate 0.M 10 ml	123
28	ผลการวัด Percent Transmittance จากการแปรผัน Wavelength ของ Fraction ที่ ๑ จากการใช้หินอ่อน แยก System Osazone ของ Galactose Glucose, Xylose และ Sorbose	125
29	ผลการวัด Percent Transmittance จากการแปรผัน Wavelength ของ Osazone ของ Galactose บริสุทธิ์	126
30	ผลการวัด Percent Transmittance จากการแปรผัน Wavelength ของ Fraction ที่ ๖ จากการใช้หินอ่อน แยก System osazone ของ Galactose Glucose Xylose และ Sorbose	127
31	แสดงผลการวัด Percent Transmittance จากการแปรผัน Wavelength ของ Osagane Mixture ของ D-Xylose D-Sorbose และ D-Glucose ที่บริสุทธิ์	129
32	ผลการวัด Percent Transmittance จากการแปรผัน Wavelength ของ Fraction ที่ ๑ จากการใช้หินอ่อนแยก System - Osazoneves Xylose กับ Galactose	131

ตาราง		หน้า
33	ผลการวัด Percent Transmittance จากการแปรผัน Wavelength ของ Fraction ที่ ๖ จากการใช้ดินฉาบ แยก System - Osazone ของ Xylose กับ Galactose	133
34	ผลการวัด Percent Transmittance จากการแปรผัน Wavelength ของ Osazone ของ D-Xylose บริสุทธิ์	134
35	Rf x 1000 จากการใช้ดินขาวที่ไม่ Activate แยก Indicators	136
36	Rf x 1000 จากการใช้ดินขาวจังหวัดระยอง Activate ที่ 300°c เป็นเวลา 60 นาที แยก Indicators	137
37	Rf x 1000 จากการใช้ดินขาวผสม Gypsum (9:1 W/W) ที่ไม่ Activate แยก Indicators	138
38	Rf x 1000 จากการใช้ดินขาวผสม Gypsum (9:1 W/W) Activate ที่ 300°c เป็นเวลา 60 นาที แยก	139
39	Rf x 1000 จากการใช้ดินขาว Commercial grade แยก Indicators	140
40	Rf x 1000 จากการใช้ดินขาวผสม Gypsum ที่ไม่ Activate แยก Amino acids	141
41	Rf x 1000 จากการใช้ดินขาวผสม Gypsum (9:1 W/W) ที่ Activate แยก Amino acids	142

ตารางที่ หน้า

42 Rf x 1000 จากการใช้ดีเกรดทางชนิด Commercial grade เทียบกับ Amino acids 143

43 Rf x 1000 จากการใช้ดีเกรดทางผสมแร่ยิบซัม (9:1 W/W) ไม่ได้ Activate 144

44 Rf x 1000 จากการใช้ดีเกรดทางผสมยิบซัม (9:1 W/W) ที่ Activate ใช้ Solvent เข้มข้น 50 ml ผสมกรดก่อนใช้ 90 หยด (0.3 ml) 145

45 Rf x 1000 จากการใช้ดีเกรดทางผสมยิบซัม (9:1 W/W) ที่ไม่ได้ Activate 146

46 Rf x 1000 จากการใช้ดีเกรดทางผสมแร่ยิบซัม (9:1 W/W) ที่ไม่ได้ Activate 147

47 Rf x 1000 ได้จากการใช้ผงซิลิกาเจลที่ไม่ได้ Activate ใน Thin-layer Chromatography 148

48 Rf x 1000 ได้จากการใช้ผงซิลิกาเจลที่ Activate ใน Thin-layer Chromatography 1

49 Rf x 1000 จากการใช้ผงซิลิกาเจลกระดาษกรองที่ไม่ Activate ใน Thin-layer Chromatography 150

50 Rf x 1000 จากการใช้ผงซิลิกาเจลกระดาษกรองที่ Activate ใน Thin-layer Chromatography 152

ตาราง หน้า

51 Rf x 1000 จากการใช้ Calcium sulphate ชนิด Commercial grade ใน Thin-layer Chromatography 154

52 Rf x 1000 จากการใช้แร่ยิปซัมบดละเอียด แยก Indicators ใน Thin layer Chromatography ที่ไม่ Activate 156

53 Rf x 1000 จากการใช้แร่ยิปซัมบดละเอียด แยก Indicators ใน Thin-layer Chromatography ที่ Activate 157

54 Rf x 1000 จากการใช้แร่ยิปซัมที่ไม่ Activate ใน Thin-layer Chromatography 158

55 Rf x 1000 จากการใช้แร่ยิปซัม Activate ที่ 100° C ใน Thin-layer Chromatography 159

56 Rf x 1000 จากการใช้แป้งมันสำปะหลังล้างสะอาดแยก Amino acids ใน Thin-layer Chromatography 160

57 Rf x 1000 จากการใช้กระดาษซับหมึกสีขาวตราม้าน้ำ แยก Indicators 161

58 Rf x 1000 จากการใช้กระดาษซับหมึกสีขาว ตราม้าน้ำ แยก แยก Amino acids 162

59 Rf x 1000 จากการใช้กระดาษซับหมึกสีขาวตราม้าน้ำ แยกน้ำตาล 163

60 Rf x 1000 จากการใช้กระดาษซับหมึกสีขาวตราม้าน้ำ แยก Phenolic Compounds 164

ตาราง		หน้า
61	Rf x 1000 จากการใช้กระดาษซับหมึกสีขาว ตรามือน้ำ แยก Glycerides	k65
62	Rf x 1000 จากการใช้กระดาษซับหมึกสีขาว ตรามือน้ำ แยก Group As, Sb, Sn	166
63	Rf x 1000 จากการใช้กระดาษซับหมึกสีขาว ตรามือน้ำ แยกพวก Pb^{2+} Bi^{3+} Cd^{2+} Hg^{2+}	167
64	Rf x 1000 จากการใช้กระดาษซับหมึกสีขาว ตรามือน้ำ แยก Cations	168
65	Rf x 1000 จากการใช้กระดาษซับหมึกสีขาว ตรามือน้ำ แยก Anions	169

บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ		หน้า
1	Maximum absorption spectrum ของ Pure cobalt (II) ion กับ Cobalt (II) ion fraction	119
2	Maximum absorption spectrum ของ Effluent ที่อยู่ระหว่าง Cobalt (II) ion fraction กับ Copper (II) ion fraction	120
3	Maximum absorption spectrum ของ Copper fraction กับ Pure copper	124
4	Masimum absorption spectrum ของ fraction ที่ ๑ จากการแยก Osazone mixture ของน้ำตาล D-galactore D-glucose D-sorbose และ D-xyloso เปรียบเทียบกับ Pure osazane ของ D-galactore	127
5	Maximum absorption spectrum ของ fraction ที่ ๒ จากการแยก Osazone mixture ของ D-galactore, D-glucose, D-sorboso และ D-Xyloso เปรียบเทียบกับ Pure osazone ของ D-glucose D-sorbose และ D-Xylose	130
	Maximum absorption spectrum ของ fraction ที่ ๑ จากการแยก Osazone mixture ของน้ำตาล D-galactore และ D-xylose เปรียบเทียบกับ Pure osazone ของ D-galactore	132

ภาพประกอบ หน้า

7 Maximum absorption spectrum ของ fraction ที่ 2 จากการแยก osazone mixture ของ D-galactose กับ D-Xylose เปรียบเทียบกับ Pure osazone ของ D-Xylose 135

บทที่ 1

บทนำ

คำนำ

สรรพสิ่งทั้งหลายในโลกย่อมมีการเปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลา และสิ่งที่เห็นได้ชัดการเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็ว ก็คือ ความเจริญงอกงามของวิชาการ ความรู้ ตลอดจนวิธีการ (Method) ต่าง ๆ ทางวิทยาศาสตร์ ตามคำกล่าวของ ศาสตราจารย์ Bayliss[1] แห่งมหาวิทยาลัยออสเตรเลียตะวันตก (University of Western Australia) กล่าวว่า ความรู้และวิธีการทางวิทยาศาสตร์จะเพิ่มเป็นสองเท่าทุกช่วงระยะเวลาแปดปี การคาดคะเนนี้จะถูกต้องหรือไม่ก็ตาม ย่อมเป็นข้อคิดที่ดีสำหรับผู้มีหน้าที่รับผิดชอบงานการศึกษาฝ่ายวิทยาศาสตร์ (Science Education) ในการนำเอาหลักการกฎเกณฑ์ และวิธีการใหม่ ๆ อันเกิดจากผลการค้นคว้าทางวิทยาศาสตร์มาถ่ายทอดให้แก่ผู้เรียนเพื่อให้บรรลุถึงเป้าหมายที่ตั้งไว้ อาทิเช่น ความมุ่งหมายของการเรียนการสอนวิชาวิทยาศาสตร์ ประโยคมัธยมศึกษาตอนต้น[2] มีบางข้อกล่าวว่า ให้เข้าใจระเบียบวิธีวิทยาศาสตร์ (Scientific Method) ให้มีทักษะในการแสวงหาความรู้ และรู้จักนำไปใช้แก้ปัญหาต่าง ๆ ได้

พิทักษ์ รักษาเดช[3] ได้รวบรวมประเภทของความมุ่งหมายของการเรียน

---

[1] Poon, Ruby, and Graddon, D.P., Editors , Approach to Chemistry 1969, p.x.

[2] ศึกษาธิการ กระทรวง หลักสูตรมัธยมศึกษาตอนต้น พุทธศักราช 2503 หน้า 20.

[3] พิทักษ์ รักษาเดช วิทยานิพนธ์เรื่อง จุดหมายการศึกษาฝ่ายวิทยาศาสตร์ หน้า 25.

การสอนวิชาวิทยาศาสตร์ เพื่อส่งเสริมให้ผู้สอนได้ระหนักถึงการศึกษาแผนใหม่ที่นักเรียนควรจะเรียนด้วยการกระทำของตนเอง อันหมายถึง ความมุ่งหมายที่จะให้นักเรียนมีทักษะในการปฏิบัติการทดลองโดยใช้เทคนิคที่อำนวยประโยชน์ อันประกอบด้วยเครื่องมือเครื่องใช้ที่หาง่าย ราคาถูก และใช้ได้สะดวก เพื่อให้นักเรียนของเห็นโครงร่างของหลักเกณฑ์ทางวิทยาศาสตร์ได้แจ่มชัดยิ่งขึ้น

นิดา สะเพียรชัย[4] ให้ทัศนะเกี่ยวกับความมุ่งหมายการเรียนการสอนวิชาวิทยาศาสตร์ โดยสรุปว่า มีความมุ่งหมายที่จะเน้น การทดลอง เป็นสำคัญ เพื่อให้นักเรียนเข้าใจและรายชื่งถึงวิธีการที่นักวิทยาศาสตร์ เสาะแสวงหาความรู้ หลักการ ทฤษฎี หรือความคิดใหม่ ๆ ยิ่งไปกว่านั้น บรรดาประเทศที่กำลังพัฒนา และองค์การการศึกษาวิทยาศาสตร์และวัฒนธรรมแห่งสหประชาชาติ (UNESCO) ได้มีความเห็นพ้องต้องกันว่าควรจะพยายามจัดวิชาการด้านเทคนิคทางวิทยาศาสตร์ (Scientific Technology) เพื่อให้ผู้เรียนได้ใช้เทคนิคใหม่ ๆ ปฏิบัติการทดลองค้นหาความจริงประกอบการเรียนรู้ในเนื้อหาวิชาวิทยาศาสตร์ ด้วยเหตุที่หลักสูตรวิชาวิทยาศาสตร์ระดับต่าง ๆ ที่มีอยู่ในประเทศไทย มักประกอบด้วย หลัก กฎเกณฑ์ และความจริงต่าง ๆ ทางวิทยาศาสตร์เป็นส่วนใหญ่ ประการหนึ่ง และแม้ว่าครูผู้สอนวิชาวิทยาศาสตร์ชอบที่จะปฏิบัติตามความมุ่งหมายดังกล่าว ก็มักประสบปัญหาการขาดแคลนการนำทางตลอดจนอุปกรณ์การทดลอง อีกประการหนึ่ง สิ่งเหล่านี้ไม่กระตุ้นใจให้ผู้เรียนสนใจที่จะค้นคว้าเรื่องที่เกี่ยวกับ Chromatographic-Techniques คำว่า Chromatography นี้ Michale Tswett[5] เป็นผู้ตั้งขึ้นในปี ค.ศ. 1906 ซึ่งหมายถึงเทคนิคในการแยกสารเคมีที่มีสีหลายชนิดอยู่ในรูปของของผสม

---

[4] นิดา สะเพียรชัย วิสามัญศึกษา 3: 58 - 62 กรกฎาคม 2509

[5] Foon, Ruby, and Craddon, D.P., Editors, op. cit., p. 128.

จากจากกันให้เป็นสารเคมีที่บริสุทธิ์ได้ เช่น Chromatographic Techniques ได้รับการปรับปรุงและค้นคว้าจากนักวิทยาศาสตร์รุ่นต่อมาอีกหลายท่าน ทำให้เกิดมีการเปลี่ยนแปลงอย่างใหญ่หลวง กล่าวคือ ทำให้เทคนิคชนิดนี้ใช้ได้กว้างขวางในวิชาเคมีในการแยกและทำสารเคมีทั้งที่มีสีและไม่มีสีให้บริสุทธิ์ รวมทั้งการวิเคราะห์ชนิดของสารเคมีด้วย คุณประโยชน์ที่สำคัญยิ่งของเทคนิคชนิดนี้ได้แก่ ความสามารถในการแยกสารเคมีที่มีปริมาณน้อยมาก ไปจนถึงการแยกสารเคมีปริมาณมาก ๆ ในอุตสาหกรรม การแยกสารประกอบของธาตุที่หายาก หากอาศัยเทคนิคชนิดอื่นจะไม่ได้ผลดีเท่าที่ควร แต่ Chromatography สามารถแก้ปัญหานี้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

Gidding[6] ได้กล่าวว่า Chromatography เป็นคำที่สำคัญยิ่งในศตวรรษนี้ที่จะจัดปัญหาในการแยกสารประกอบต่างชนิดกันหลาย ๆ สารที่ปนกันให้เป็นสารชนิดเดียวที่บริสุทธิ์ ในการปฏิบัติการทดลองเพียงครั้งเดียว นอกจากนี้ Chromatography ยังสามารถเปลี่ยน concept เกี่ยวกับ purity ได้ ดังเช่นคำกล่าวของ Conyal[7] เกี่ยวกับการศึกษาชนิดของสารเคมีพวก cyclitols (poly hydroxy-cyclohexanes) เขากล่าวว่าหากใช้วิธีการทำให้บริสุทธิ์โดยที่ถือว่าเป็นวิธีที่ดีที่สุดในโลก เช่นทำให้สารดังกล่าวตกผลึกและมีจุดหลอมเหลว (melting point) คงที่ ซึ่งถือเป็นสารที่บริสุทธิ์แล้ว แต่เมื่อนำสารที่ถือว่าบริสุทธิ์ดังกล่าวไปทำการแยกโดยวิธี Paper Chromatographic Technique ปรากฏผลออกมาว่ากรึ่งหนึ่งของสารนี้ไม่บริสุทธิ์ และเมื่อเอาสารดังกล่าวซึ่งถือว่าได้ทำให้บริสุทธิ์แล้วจากวิธี Paper Chromatography ไปแยกต่อไปโดยวิธี Gas Chromatographic Technique

---

[6] Gidding, Calvin, J., J. Chem. Educ., 44, 704, (1968).

[7] Foon, Ruby, and Gradden, D.P., Editors, op. cit., pp. 4-5.

พบว่ายังมี impurities เจือปนอยู่บ้าง นี่ก็แสดงว่าความรู้ของ Chromatography มิได้อยู่นิ่ง มีการพัฒนาอยู่เสมอ จนเป็นเทคนิคที่มีคุณประโยชน์อย่างมหาศาลเกี่ยวกับการทำสารให้บริสุทธิ์

ที่กล่าวมาแล้วจึงเป็นจุดเริ่มต้นของปัญหาที่ผู้เขียนสนใจใคร่จะศึกษาค้นคว้า เพื่อให้ได้ความรู้บางส่วนของแขนงวิชาเคมีว่าด้วย Chromatography โดยที่มีผู้ศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับคุณสมบัติบางประการของ adsorbent ที่ใช้เป็นตัวกลางรองรับใน Chromatographic Techniques มักมุ่งศึกษาเฉพาะสารเคมีบริสุทธิ์ และสารเคมี commercial grade เป็นส่วนมาก ผู้เขียนจึงได้ตั้งสมมุติฐานว่า สารชนิดต่าง ๆ ในธรรมชาติ และสารราคาถูกบางอย่างที่มีอยู่ในประเทศไทย คงจะสามารถใช้เป็น adsorbent ในเทคนิคดังกล่าวได้ ถ้าสมมุติฐานนี้เป็นไปตามความคาดหมายของผู้เขียน ผลของการศึกษาค้นคว้าเรื่องนี้ ก็จะสามารถใช้เป็นแนวทางให้ครูผู้สอนวิชาวิทยาศาสตร์ได้ทราบวิธีใช้และวิธีทดลองเกี่ยวกับ Chromatographic Techniques เพื่อนำไปสอนตลอดจนฝึกทักษะในการทดลองให้แก่นักเรียน อันจะทำให้การเรียนการสอนวิชาวิทยาศาสตร์มีประสิทธิภาพตรงตามความมุ่งหมายของการเรียนการสอนวิชาวิทยาศาสตร์ดังกล่าว

<u>ความมุ่งหมายในการค้นคว้า</u>

1. เพื่อศึกษาดูว่าการใช้สารต่อไปนี้ แร่ดินขาว (kaolin) หินอ่อนหรือแร่คัลไซต์ (marble or calcite) แร่ยิปซัม(gypsum) แร่แอสเบสตอส (asbestos) ผงชอล์ก (chalk) แป้งมันสำปะหลัง และกระดาษซับหมึกสีขาว ที่มีอยู่ในประเทศไทย โดยวิธีการของ Chromatography จะสามารถแยกสารอินทรีย์เคมี (organic substances) อนินทรีย์เคมี (inorganic substances) ออกจากของผสม (mixture) อย่างมีประสิทธิภาพได้มากน้อยเพียงใด

2. เพื่อศึกษาดูว่าในการเปรียบเทียบการใช้สารในข้อ 1 จะแตกต่างกับสาร commercial grade อย่างไรบ้าง

3. เพื่อศึกษาค่า R_f Value ของสารเคมีต่าง ๆ ที่นำมาแยกออกจากของผสม โดยใช้สารในข้อ 1 เป็น adsorbents จะแตกต่างกับค่า R_f Value ที่ได้จากการใช้สาร commercial grade มากน้อยเพียงใด

4. เพื่อศึกษาการปรับปรุงสารในข้อ 1 ให้มีประสิทธิภาพดีกว่าสารที่ได้จากธรรมชาติโดยตรง ว่าจะให้ผลแตกต่างหรือเหมือนกันอย่างไรบ้าง

5. เพื่อเป็นแนวทางในการส่งเสริมให้ครูผู้สอนวิชาเคมี และวิชาวิทยาศาสตร์ได้รู้จักใช้วิธีการทางวิทยาศาสตร์ (Scientific Method) ในการเรียนการสอน อันจะทำให้เกิดทักษะในการค้นคว้าหาความจริงทางวิทยาศาสตร์

6. เพื่อช่วยเหลือในด้านงบประมาณทางวิทยาศาสตร์ของสถาบันต่าง ๆ

ขอบเขตของการศึกษาค้นคว้า

1. ทำการค้นคว้าทดลองวิธีการ Chromatographic Technique ในการแยกสารเคมีที่มีสีหรือสารเคมีที่ไม่มีสีตรวจพบด้วย locating reagents

2. เครื่องมือที่ใช้ในการค้นคว้าแบ่งออกเป็น 3 ประเภท คือ

(1) Column Chromatography

(2) Thin-layer Chromatography

(3) Paper Chromatography

3. เทคนิคที่ใช้ในการศึกษาค้นคว้า แบ่งออกเป็นสองประเภท คือ

(1) Adsorption Chromatographic Technique

(2) Partition Chromatographic Technique

4. มุ่งเอาผลการศึกษาค้นคว้าไปใช้เฉพาะในด้านการวิเคราะห์ โดยวิธีแยกสารเคมีจากของผสมในการเรียนการสอนวิชาเคมี

คำนิยามศัพท์เฉพาะ

1. Chromatography หมายถึง ขบวนการแยกสารเคมีที่ละลายได้ใน ตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ เมื่อสารเคมีนั้น ๆ มีมากกว่าสองชนิดขึ้นไป และกำลังผสมกันอยู่ ทั้งในอัตราส่วนที่แน่นอนและไม่แน่นอน โดยอาศัยหลักการเคลื่อนที่ของสารเคมีชนิดต่าง ๆ ในสภาวะการณ์ที่กำหนดให้ซึ่งมีอัตราเร็วในการเคลื่อนที่ต่างกันตามชนิดของสารเคมีนั้น ๆ อันเป็นผลมาจากตัวกลางซึ่งหมายถึงสารที่กำหนดเป็นสภาวะการณ์มีพลังยึดดูดสารเคมีแต่ละชนิดไม่เท่ากัน และอาศัยหลักความสามารถในการละลายของตัวทำละลายสองชนิดที่ไม่เท่ากัน

2. Adsorbent หมายถึง สารเคมีชนิดต่าง ๆ ที่ใช้ในขบวนการของ Chromatographic Technique ซึ่งทำหน้าที่เป็นสารเคลือบการดูดเกาะของสารเคมีชนิดอื่น ๆ ที่จะนำมาแยกออกจากของผสม และทำให้บริสุทธิ์

3. Adsorption หมายถึง คุณลักษณะทางกายภาพอันเกิดจากสารเคมีตั้งแต่สองชนิดขึ้นไป มีการดูดเกาะซึ่งกันและกัน อันมีผลของการดูดเกาะของสารเคมีแต่ละชนิดย่อมมีความแตกต่างกัน ซึ่งขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของโมเลกุล และละดอมของสารเคมีนั้น ๆ อันจะก่อให้เกิดพลังยึดเหนี่ยวชนิดต่าง ๆ เช่น Hydrogen-bonding, Electrostatic force และ Van de Waal's force

4. Column Chromatography หมายถึง ขบวนการแยกสารประกอบที่มีอยู่ในของผสม โดยใช้เครื่องมือเป็นหลอดแก้ว ซึ่งบรรจุด้วย adsorbent ชนิดที่เหมาะสมกับการแยกสารเคมีแต่ละชนิด

5. Thin-layer Chromatography หมายถึง ขบวนการแยกสารประกอบที่อยู่ในของผสม โดยใช้เครื่องมือที่เป็นแผ่นแก้วบาง ๆ ซึ่งฉาบด้วย adsorbent ชนิดที่เหมาะสมกับการแยกสารเคมีแต่ละชนิด ในบางกรณีอาจใช้แท่งแก้วเคลือบด้วย adsorbent โดยวิธีจุ่มแท่งแก้วลงในหลอดทดลองที่บรรจุ slurry ของ adsorbent

6. Paper Chromatography หมายถึง ขบวนการแยกสารประกอบออกจากของผสม โดยใช้กระดาษกรองเป็นทั้ง adsorbent และเป็นตัวกลางรองรับสารเคมีในขบวนการแยกนั้น ๆ

7. Adsorption Chromatography หมายถึง ขบวนการแยกสารประกอบออกจากของผสมทั้งปวง โดยอาศัยหลักการที่สารเคมีต่างชนิดกันมีความสามารถในการดูดเกาะและมีพลังยึดต่อตัวกลาง คือ adsorbent ไม่เท่ากัน นอกจากนี้ยังต้องอาศัยเทคนิคในการเลือกตัวทำละลายเพื่อช่วยในการดูดเกาะ (adsorp) หรือคลายออกโดยอาศัยวิธีระบาย (develop) เพื่อให้สารเคมีทั้งหลายที่นำมาแยกเคลื่อนตัวผ่านตัวกลางด้วยอัตราเร็วต่างกัน จนในที่สุดสารเคมีเหล่านี้จะเคลื่อนตัวไปบนตัวกลางในตำแหน่งที่ตัวมันเองอยู่อย่างบริสุทธิ์ และหลุดออกจากตัวกลางไปเป็นสารบริสุทธิ์

8. Partition Chromatography หมายถึง ขบวนการแยกสารประกอบที่มีอยู่ในของผสม โดยอาศัยหลักการแพร่ขึ้นผ่านของตัวทำละลาย (solvent) สองชนิดที่ไม่เท่ากัน อันเนื่องจากคุณสมบัติเกี่ยวกับความสามารถของการทำละลาย โดยที่ตัวทำละลายทั้งสองนั้นไม่ละลายเป็นเนื้อเดียวกันและกัน

9. Slurry หมายถึง คุณลักษณะของ adsorbent ที่ผสมกับของเหลวชนิดใดชนิดหนึ่ง จนมีลักษณะข้นเหนียวและหนืด คล้ายกับโคลนหรือเจล

10. R_f Value หมายถึง ค่าคงที่ทางฟิสิกส์ (physical constant) ซึ่งแสดงคุณลักษณะเฉพาะตัวของสารเคมีแต่ละชนิดใน Chromatographic Techniques ได้จากอัตราส่วนของ ระยะทางที่สารเคมีเคลื่อนที่ได้ โดยวัดจากจุดเริ่มต้น กับระยะทางจากจุดเริ่มต้นถึง solvent front (แนวของตัวทำละลาย)

<u>ความสำคัญของการค้นคว้า</u>

1. ผลการศึกษาในเรื่องนี้ จะทำให้ครูผู้สอนวิชาเคมีในสถานศึกษาทุกระดับได้ทราบว่าจะสามารถใช้สารในธรรมชาติบางอย่างที่มีอยู่ในประเทศไทย สำหรับ Chromatographic Technique เพื่อแยกสารเคมีจากของผสมได้มากน้อยเพียงใด

2. เทคนิค วิธีการทดลอง ที่ได้จากการศึกษาค้นคว้าในเรื่องนี้ สามารถนำไปใช้ในการเรียนการสอนวิชาปฏิบัติการเคมีในระดับอุดมศึกษาได้

3. ผลการศึกษาค้นคว้าจะเป็นแนวทางให้แก่ผู้สนใจวิชาวิทยาศาสตร์ ได้รู้จักใช้วิธีการทางวิทยาศาสตร์ ค้นหาความจริงประกอบการสอนได้

4. ผลการศึกษาค้นคว้าในเรื่องนี้ จะสามารถช่วยเหลือสถาบันศึกษาต่าง ๆ ที่ขาดแคลนประสบการณ์ และอุปกรณ์วิทยาศาสตร์

ประโยชน์จากการค้นคว้า

1. ทำให้ทราบว่า สารในธรรมชาติ และสารสกัดจากพืชสามารถในการแยกสารเคมีจากของผสมได้มากน้อยเพียงใด ซึ่งจะเป็นแนวทางให้นำไปใช้ประโยชน์เพื่อ Chromatographic Technique ต่อไป

2. ปัญหาต่าง ๆ และความรู้ที่เกิดจากผลการทดลองค้นคว้า จะสามารถทำให้ผู้สนใจนำวิธีการ Chromatography ไปสอนในระดับมัธยมศึกษาและอุดมศึกษา ได้ตรงถึงความเหมาะสมกับสภาวะการณ์

3. ผลการทดลองที่ได้ประดิษฐ์ขึ้นบางอย่าง สามารถนำไปใช้แทนวิธีการทดลองที่สิ้นเปลืองเวลาและค่าใช้จ่ายได้

บทที่ 2

เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาค้นคว้า

ดังได้กล่าวไว้ในจุดมุ่งหมายในการค้นคว้าเรื่องนี้ โดยมุ่งที่จะใช้สารในธรรมชาติและสารราคาถูกบางอย่างที่หาได้ง่ายในประเทศไทย เป็น adsorbents และตัวกลางของรองรับใน Chromatographic Techniques ในการแยกสารเคมีทั้งหลายเหล่านี้จากของผสมให้ได้มากชนิดที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้ ต่อไปนี้เป็นเอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาค้นคว้า และเป็นแนวทางให้ใช้ศึกษาเปรียบเทียบ

<u>การใช้ดินขาว หรือ แร่ดินขาว (Kaolin or Kaolinite) เป็น Adsorbent</u>

Rohland[8] ได้ศึกษาเกี่ยวกับ adsorptive activity ของแร่ดินขาว (Kaolinite) และแร่ talc ต่อสารเคมีที่มีสีบางกลุ่มของ adsorptive activity ดังนี้

1. Methylene Blue
2. Methyl Violet
3. Malachite green
4. Brilliant green
5. Bordeaux red
6. Eosin
7. Aniline Yellow

จากวิธีการใช้แร่ดินขาว adsorp สารเคมีที่มีสี แล้วละลายด้วยตัวทำละลาย (solvent) ต่อไปจึงนำเอาสารละลายนี้ไปวิเคราะห์ด้วยวิธี Spectrophotometry เขาสรุปว่าวิธีรวดเร็วและวันกับของการ adsorp เป็นไปในลักษณะที่สารเคมีที่มีสีน้ำเงินและสีม่วง adsorp ได้ดี โดยแร่ดินขาว แอกนั้นรองลงมา

---

[8] Rohland, R., Kolloid. Ztg. 31, 40-2 (1916).

Syromov , Tkachenko และ Sushin[9] ได้ทำการศึกษาโดยวิธี Electron microscope, X-ray และ Spectrometry เพื่อหาขนาดรูพรุน (pore) ในโมเลกุลของแร่ดินขาว (kaolinite) พบว่า แร่ดินขาวที่มีขนาดเป็นรูพรุน (porosity) น้อยมาก จึงสรุปว่าเป็น adsorbent ที่มีประสิทธิภาพต่ำ

Hoskins[10] ได้ทำการทดลองหา Cation exchange capacity ของแร่ดินขาว โดยการแปรผันกรดด่างเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออนจาก pH 5 - 10 พบว่า คุณลักษณะเกี่ยวกับ cation exchange capacity มากกว่า organic soil maximum cation exchange capacity ของแร่ดินขาวเท่ากับ 4.8 milli-equivalent ต่อ 100 กรัม

Gapon และ Chernikova[11] ได้ทำการทดลองโดยใช้ column ที่ทำด้วยหลอดแก้วบรรจุแร่ดินขาว ทำการแยก cobalt nitrate กับ copper sulphate ระดาง (develop) column ด้วยน้ำกลั่น ส่วนบนของ column ที่บรรจุด้วยแร่ดินขาวจะปรากฏเป็นสีน้ำเงินปนเขียวจาง ๆ ซึ่งเป็นของ copper zone ที่ส่วนล่าง column จะปรากฏเป็นสีชมพูอ่อนของ cobalt zone เมื่อผ่าน column ด้วย

---

[9] Syromov, V.T., Tkachenko, L.A., And Sushin, V.N., Tr. Dal' nevost. Filiala. Akad. Nauk. S.S.S.R. Si Birsk otd. Ser. Khim. No. 7, 31-34 (1965).

[10] Hoskins, J.S., J. Counc. Science. Ind. Res., 21, 21-37 (1948).

[11] Gapon, E.N., and Chernikova, T.V., Doklady Vsesoyuz Akad. Sel' sko-khoz Naukim V.I. Lenina. S.S.S.R., No.7, 26-8 (1943).

ammonium carbonate 0.1 Normal จะปรากฏแถบวงแหวนสีน้ำเงินของ copper-carbonate โดยวิธีชะล้างต่อเนื่องกับ ammonium carbonate copper zone ทั้งหมดจะถูก elute ออกมาในรูปของ carbonate

Teaque, Gey และ Van Dolah[12] ทำการศึกษาเกี่ยวกับ relative adsorption affinities ของพวก polynitrostilbenes ชุดหนึ่ง (one-series) ต่อแร่ดินขาวและ silicic acid พบว่า silicic acid มี adsorbability แปรผันไปตามความหมาย คือ adsorbability เพิ่มขึ้นเมื่อสารมี nitro group มากขึ้น แต่ adsorbability ของแร่ดินขาวไม่เป็นตรงข้ามกัน

การใช้แคลเซียมซัลเฟตเขียนกระดาษเคลือบ (Calcium sulphate pencil) และแร่ยิปซัม (Hydrated Calcium sulphate) เป็น Adsorbent

Sen[13] ทดลองใช้แท่งซัลเฟต (calcium sulphate) สำหรับเขียนกระดาษเคลือบ แทน column ที่บรรจุด้วย calcium sulphate โดยนำแท่งซัลเฟตมาขัดถูลงโดยมิได้ปรับปรุงลบแต่ประการใด เขาเรียกเทคนิคนี้ว่า Pencil Chromatography โดยมิได้ใช้เครื่องมือแต่ประการใด เขาหยดสารละลายแยก test solution 2 - 3 หยด หยดลงบนแท่งซัลเฟต และจุ่มแท่งซัลเฟตลงในน้ำที่ทำให้เป็นกรดเล็กน้อยเป็นเวลา 10 - 15 นาที จนกระทั่งน้ำขึ้นสูงประมาณครึ่งหนึ่ง จึงเอาแท่งซัลเฟตขึ้นมาแล้วนำไปอังที่ hydrogen - sulphide จะปรากฏเป็นแถบ (band) ของโลหะ sulphide ซึ่งเขาได้ทำการแยก system ต่อไปนี้ copper - cadmium, arsenic - antimony-tin,

---

[12] Teaque, A.F., Gey, W.A., and Van Dolah, C.W., Anal. Chem., 27, 785 (1955).

[13] Sen, B.N., Z. norm. U. allgem. Chem., 273, 183-5 (1953)

mercury-copper และ copper-iron สำหรับการแยกสอง system สุดท้ายเขา develop ด้วย potassium ferricyanide แถบสี (band) ของโลหะที่จับด้วย hydrogen sulphide gas มีสีดังนี้ copper- สีดำ cadmium -สีเหลือง arsenic-tin -สีเหลือง, antimony -สีเหลืองส้ม ส่วนแถบของโลหะที่ develop ด้วย potasium ferricyanide นั้น copper -สีน้ำตาล เหล็ก - สีน้ำเงิน (prussian blue) ส่วน mercury ไม่เกิดสี ถ้าลงนำไปอังที่ hydrogen sulphide gas จึงจะเกิดสีดำ

Brockmann[14] ได้ศึกษาการดูดเกาะ (adsorp) ของพวก azo-dye และ dye-stuff บน column ที่บรรจุด้วย calcium sulphate เขาพบว่าการดูดเกาะขึ้นอยู่กับด่างหรือกรดละลายที่ใช้ นอกจากนี้เขาพบว่าความเป็นกรดหรือด่างของ adsorbent ทำให้ dye เกิดการเปลี่ยน form จาก basic form ไปเป็น acidic form หรือ acidic form ไปเป็น basic form

การใช้หินอ่อน หรือ แรกัลไซท์ (Marble or Calcite) เป็น Adsorbent

เนื่องจากหินอ่อน หรือ แรกัลไซท์เป็นสารประกอบพวก calcium carbonate ที่มีราชนิดอื่นปนบ้างเล็กน้อย ยังไม่มีเอกสารฉบับใดกล่าวว่าใช้หินอ่อนเป็น adsorbent โดยตรง เอกสารต่อไปที่จะกล่าวถึงเกี่ยวข้องกับการใช้ calcium carbonate ชนิด commercial grade เท่านั้น

Zechmeister และ Cholnoky[15] ได้เสนอถึงวิธีแยก xanthophyll

---

[14] Brockmann, H., Disc. Faraday. Soc. 7,78-80 (1949).

[15] Zechmeister, L., and Cholnoky, L., Principle and Practice of Chromatography., p.p. 146-147.

(lutein) จากอุจจาระม้า โดยใช้ column ที่บรรจุด้วย calcium carbonate อย่างใดอย่างดี เมื่อละลาย mixture ของ natural products ใน methyl alcohol กับ carbon disulphide แล้วเวลาเราละลายไปในส่วนใน calcium carbonate column จะได้ zone สีเหลืองส้ม

Lederer[16] ใช้ column ที่บรรจุด้วย calcium carbonate เอา bonelliae ที่ purify แล้ว และสกัดด้วย ether นำเอา ether extract ใส่ลงใน column จะปรากฏสีเขียวของ bonelline เป็นแถบชัดเจนแล้ว elute ด้วย hydrochloric acid ที่เจือจาง

LeRosen[17] ได้ศึกษาการวิเคราะห์ในการ identify adsorbent ว่าดีเลวอย่างไร โดยใช้ column ที่บรรจุด้วย calcium carbonate ทดลองแยกสารประกอบทางวิทยาศาสตร์เกี่ยวกับ natural pigments เช่น calcium carbonate ดูดเกาะ (adsorb) kryptoxanthin และ lycopene ใน column โดยที่ kryptoxanthin อยู่เหนือ lycopene

Nicholas[18] ได้ศึกษา chromatographic behavior ของพวก porphyrin esters (ซึ่งเป็น mixture ของ proto-porphyrin, meso-porphyrin, copro-porphyrin และ uro-porphyrin) ภายใต้ standard condition บน column ของ magnesium oxide, magnesium carbonate และ calcium carbonate โดยใช้ตัวทำละลาย benzene, chloroform, light petroleum และ methanol ตะล่าง (washing) ใส่สารละลาย

---

[16] Lederer, Edgar, Compt. rend., 209,528-30 (1939).

[17] LeRosen, A.L., J. Am. Chem. Soc., 64, 1905 (1942).

[18] Nicholas, R.E.H., Biochem. J. 48,309 (1951).

เข้มข้นของ porphiria esters ใน benzene ลงใน column ของ adsorbents ดังกล่าว ปรากฏว่า uro-porphiria elute ออกมาก่อน เขา สรุปว่า porphirin พวกที่มี dicarboxylic group ใน ธรรมชาติ แยกได้ดีใน column ของ calcium carbonate

Fischer[19] ทำการ identify phenylosazones โดย chromatography ทำการแยก phenylosazones ของพวก hexoses, pentoses และ methyl-pentose โดยใช้ calcium carbonate เป็น adsorbent solvent ที่ใช้ ชะล้าง (develop) คือ 3% ethanol (95%) ใน chloroform, 5 % ethanol ใน acetone และผสม 1 ส่วน ของ acetone กับ 1 ส่วน ของ caloroform ละลาย phenylosazones ใน chloroform แล้วใส่ลงใน column และ elute ด้วยตัวทำละลายดังกล่าวสามารถแยก sorbose, glucose, galactose, altrose และ xylose ออกจากกันได้

<u>การใช้แร่แอสเบสตอส (Asbestos) เป็น adsorbent</u>

Holzapfel และ Engel[20] ได้ทำการทดลองโดยเอาแอสเบสตอส ผสมกับเลือดแล้วสะกัดโดยใช้ methanol ปรากฏว่าได้ yeild เป็น galactose แสดงว่าแอสเบสตอสดูดเกาะ (adsorp)galactose ได้ดี

Holzapfel, Engel และ Rudzinski[21] ได้ทำการทดลองโดยใช้ แอสเบสตอส 2 กรัม เขย่ากับน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร และน้ำตาล 1 กรัม

---

[19] Fisher, Jorgensen, Dansk.Tids.Farm. 24, 1 (1951) C.A.44,2393^{c} (1950).

[20] Holzapfel,L., and Engel, W., Naturwis., 36,375 (1949).

[21] Holzapfel, L., Engel, W., And Rudzinski,R., Gumm.U. Asbest. 4, 200-2 (1951)

เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ล้างแอสเบสทอสด้วยน้ำกลั่น แล้วเอาทั้งสารละลาย และแอสเบสทอส ไปทดลองหาปริมาณน้ำตาลพบว่า serpentile asbestos adsorp galactose และ lactose ได้ดีกว่า glucose 10 เท่า สำหรับ hornblende asbestos adsorp galactose และ lactose ได้ดีกว่า glucose 5 เท่า

Sen[22] ได้ทำการทดลองแยก copper-cadmium และ arsenic-antimony-tin จากการผสมเป็น mixture โดยใช้ asbestos-millboard ใช้เทคนิคการชะล้าง (develop) ที่เรียกว่า Flood Technique โดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายได้สำเร็จ

การใช้แป้งมันสำปะหลังเป็น Adsorbent

Moore และ Stein[23] ได้ปรับปรุงการแยก amino acids จากวิธีของ Synge[24] โดยใช้ column ที่บรรจุด้วยแป้งมันฝรั่ง (potato starch) ทำการแยก amino acids พวก phenylalanine, leucine และ isoleucine โดยใช้ตัวทำละลาย 1-butanol-benzyl alcohol ในอัตราส่วน 1.1 แล้ว saturated ด้วยน้ำกลั่น สามารถแยกได้สำเร็จ

Funks และ Reppoport[25] ทดลองใช้แป้งมันฝรั่งเช่นกัน 1-butanol ที่ทำให้ saturate (อิ่มตัว) ด้วยน้ำกลั่น (1:5) ทำการแยก ammonia และ amine โดยใช้ column บรรจุแป้งมันฝรั่งดังกล่าว effluent ที่ได้ออกมา

---

[22] Sen, B.N., Sus J.of Science. 15,133 (1952-53).

[23] Moore, S., And Stein, W.H., Ann. N.Y. Acad. Science., 49,265 (1948).

[24] Synge, R.L.M., Biochem. J. 38,285 (1944).

[25] Fuks, M.A., And Reppoport, M.A., Doklady.Akad.Nauk S.S.S.R. 60,1219-21 (1948).

ทำการ titrate โดยเปรียบ effluent กับน้ำกลั่นเสียก่อน เขาสรุปว่า trimethylamine และ dimethylamine elute ออกมาก่อน ความสูงของ column เพิ่มขึ้นการแยกจะได้ดีกว่าเดิม

การใช้กระดาษซับสีขาวตราม้าน้ำ (Seahorse Blotting Paper) เป็นตัวกลางรองรับ (Inert support) ใน Paper-Chromatography

Lederer[26] ได้ทดลองหาค่า R_f ของพวก indicators โดยใช้กระดาษ Whatman No.2 และแสดงตารางของค่า R_f ที่ได้จากการทดลองใช้ตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ไว้

Roland[27] ทำการวิเคราะห์ amino acids ที่เป็น component ของ B-lactoglobulin และ bovine serum albumin โดย Paper Chromatography (Whatman No.3) ใช้ solvent 72% phenol ใน 2-butanol-3% ammonium hydroxide (3:1) ทำให้สามารถทราบได้ว่ามี amino acids ชนิดต่าง ๆ ใน proteins ดังกล่าว

Kariyone[28] ใช้วิธีเตรียม xanthates ของ alcohols อย่างง่าย แล้วทำการแยก mixture ของ alcohols บางอย่างด้วย Paper Chromatography solvent ที่ใช้คือ 1-butanol ทำให้อิ่มตัว (saturated) ด้วย 2 % potassium hydroxide การตรวจหาตำแหน่งของสาร (detect) ใช้วิธีสังเกตสีในแสง Ultra-Violet.

---

[26] Lederer, M., Science, 112, 504 (1950).

[27] Roland, Jr., J.F., and Gross, M., Anal. Chem. 26, 502 (1954).

[28] Kariyone, et.al., Nature, 168, 511 (1951).

Borecky and Gasparic[29] ได้แสดงค่า R_f ของพวก polyvalent alcohols ที่ทดลองแยกด้วยกระดาษ Whatman No.3 ตัวทำละลาย (solvents) ที่ใช้ ได้แก่ ethyl acetate ซึ่งทำให้อิ่มตัว (saturated) ด้วยน้ำ และ ethyl-acetate-ethanol-water (12:2:1) เขาตรวจหาตำแหน่งของสาร (spot) โดยการ oxidise ด้วย potassium iodate

Nakabayashi และ Nishida[30] ได้ทำการแยกและหาค่า R_f ของพวก phenols และ naphthols บางชนิดโดยใช้ 1-butanol-benzene-acetic acid-water (2.10:2:1) ได้ผลดี

Prochazka[31] ได้ทดลองแยก mixture ของ phenols จำนวนหนึ่ง โดยใช้ isopropyl ether ทำให้อิ่มตัว (saturated)ด้วยน้ำ เขาตรวจหาตำแหน่งของสาร (spot) ด้วย neutral silver nitrate-solution ใน acetone เป็นผลสำเร็จ

Paper Chromatographic Technique

Consden, Gordon และ Latin[32] ได้ทำการศึกษาและทดลองหาข้อมูลเกี่ยวกับ mechanism ของกระดาษกรอง พบว่า กระดาษกรองทำหน้าที่เป็น inert-support ของ aqueous stationary phase สารเคมีสามารถแยกจากกัน โดยอาศัยหลัก continuous partition ของตัวทำละลายสองชนิดที่ไม่ละลายหรือแยกชั้นกัน

---

[29] Borecky, J., and Gasparic, J. Collect. Czech. Chem. Com., 25, 1287-92.

[30] Nakabayashi,T., and Nishida,S.,J.Agr.Chem. Soc.Japan.,: 26, 333 (1950).

[31] Heis,I.F., and Lecex,K., Paper Chromatography, p 248.

[32] Consden, R., Gordon, A.H., and Matin, A.T.P., Biochem. J. 60, 1219-22.

Grune[33] ได้ศึกษาและค้นพบว่า chromatographic paper ที่เป็น commercial grade fibres ของกระดาษเป็นเส้นใยสั้นกว่ากระดาษทั่ว ๆ ไป ทำให้เหมาะในการยึด aqueous stationary phase ซึ่งจะทำให้เกิด partition อย่างสมบูรณ์ และมี adsorptive activity

Gordon และ Eastoe[34] ได้ทำการทดลองใช้กระดาษสำหรับ chromatography ชนิดหนา ๆ พบว่าอัตราการเคลื่อนที่ของ mobile phase เร็วมากเป็นเหตุให้ spot เกิดการแพร่กระจาย (spread) เป็นหางยาว เขาแก้วิธีแก้โดยใช้กระดาษ Whatman No.1 ตัดที่ปลายกระดาษชนิดหนา เพื่อเป็นสะพานให้ตัวทำละลายไหลเข้าสู่เส้นใย cellulose ของกระดาษชนิดหนา ยังผลให้อัตราการไหลช้าลง และ spot ไม่แพร่กระจาย

Rockland และ Dunn[35] ได้รายงานผลการทดลองที่เรียกว่า capillary-ascent test tube method โดยตัดกระดาษ Whatman No.1 เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด 13.5x1.8x1.0 ซ.ม. ใช้หลอดทดลองที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.00 ซ.ม. ยาว 6 นิ้ว เป็น tank ทำการแยกและหาค่า R_f ของ amino acid 17 ชนิด แล้วเปรียบเทียบกับเอกสารอ้างอิง ปรากฏผลเช่นเดียวกับเอกสารดังกล่าว

William และ Kirby[36] ได้ดัดแปลงวิธี Descending Techniques

---

[33] Grune, A., Schweiz Apotheker-Ztg, 93,567 (1955)

[34] Gordon, A.H., and Eastoe, J.E., Practical Chromatographic Techniques., pp. 101 - 103.

[35] Rockland, L.B., and Dunn, I.S., Science, 109,384 (1949).

[36] Williams, R.T., and Kirby, J.E., Nature, 172,727 (1953).

โดยการ develop ให้ตัวทำละลายไหลขึ้นข้างบน (ตรงข้ามกับทิศทางของแรงดึงดูดของโลก) ซึ่งอาศัย capillary action เขาทดลองโดยม้วนกระดาษเป็นรูปทรงกระบอก ผนึกให้ทรงกระบอกอยู่ตัวด้วย clip วิธีนี้สามารถใช้แยก samples ได้ถึง 10 ชนิด ในกระดาษแผ่นเดียวกัน เขาสรุปว่า โดยส่วนมากแล้วมักจะได้ค่า R_f เหมือนกับการทดลองวิธีอื่นที่ปรากฏในเอกสารอ้างอิง

Column Chromatographic Technique

Reichstein และ Shoppee[37] ได้ทดลองใช้ column ขนาดและชนิดต่าง ๆ กัน alumina ในการแยกสาร organic ที่มีสี เขาสรุปว่า สัดส่วน ความยาวของ column กับ ความกว้าง หรือ เส้นผ่าศูนย์กลางของ column ขึ้นอยู่กับคุณลักษณะของ zone ที่ต้องการแยก โดยทั่ว ๆ ไปนิยมใช้อัตราส่วนความยาวและเส้นผ่าศูนย์กลางของ column เป็น 4:1 หรือ 5:1 นอกจากนี้เขายังได้แสดงตารางเกี่ยวกับขนาดของ column

Tswett[38] ได้บรรยายการแยกสารโดยการกรองผ่าน column ที่บรรจุด้วย adsorbent ที่เหมาะสมในขณะที่ล้างและชะล้าง (washing) ถ้าทำละลายชนิดใดชนิดหนึ่งที่บริสุทธิ์ การแยกสารของ Tswett มุ่งแยกพวก pigments เป็นส่วนใหญ่ โดยใช้วิธีวัดเกต band ของสีที่ปรากฏบน column แต่ละ band หมายถึงสารที่บริสุทธิ์ชนิดหนึ่ง เขาสรุปว่าเป็นการแยกสารออกเป็น fraction ที่ใช้ประโยชน์ได้ดีกว่าวิธีอื่น

---

[37] Reichstein, T., and Shoppee, C.W., Disc. Faraday. Soc., 7,305 (1949).

[38] Tswett, ., Biochem. J., 5,6 (1970).

Steiger และ Reichstein[39] ได้ปรับปรุงเทคนิคของ Tswett โดยใช้วิธีที่เรียกว่า "Liquid หรือ Flowing Chromatogram" อาศัยวิธีการชะล้าง column ด้วยชุดของตัวทำละลายที่เรียงลำดับอำนาจการ elute จากน้อยไปหามาก เช่น light petroleum, benzene, ether, alcohol หรือส่วนผสมที่เหมาะสมของตัวทำละลายเหล่านี้ เขาได้ทำการแยกสารพวก steroid ออกเป็นส่วนๆ (fraction) โดยใช้ชุดของตัวทำละลายดังนี้ pentane, benzene-pentane (1:4), benzene-pentane (1:1), benzene, ether และ acetone เป็นผลสำเร็จ

William[40] ได้ทดลองใช้เครื่องมือเพื่อกดดันให้ตัวทำละลายเคลื่อนที่ลง column เร็วขึ้น และป้องกันตัวทำละลายใน column ระเหยโดยใช้สูบจักรยานสูบอากาศผ่าน column ที่มีตัวทำละลายบรรจุอยู่

Booth[41] ทดลองใช้เครื่อง suction อย่างง่าย โดยให้กาซที่มีความกดดันผ่านไปที่ส่วนบน column ซึ่งเป็นการป้องกันการระเหยของตัวทำละลายที่ระเหยง่าย

Thin-Layer Chromatographic Technique

Mottier และ Potterat[42] ได้ทำการทดลองเกี่ยวกับวิธีการ Ascending Chromotography โดยใช้แผ่นแก้วเป็นวัสดุรองรับ layer เกลี่ย slurry ด้วยแท่งแก้ว และควบคุมความหนาของ layer โดยวิธีใช้แผ่นยางทาบตาม

---

[39] Steiger, M., and Reichstein, T., Helv.Chem.Acta., 21, 246 (1954).

[40] William, T.I., An Introduction to Chromatography, pp. 34-35.

[41] Booth, V.H., Analyst, 75, 109 (1950).

[42] Mottier, M., and Potterat, M., Anal. Chim. Acta., 13,46 (1955).

THE LIBRARY
COLLEGE OF EDUCATION
BANGKOK, THAILAND

ขอบของแผ่นแก้วทั้งสองข้าง ส่วน chamber ใช้ tank แก้ว ปิดฝาปิดหาดด้วยแผ่นแก้ว เช่นกัน เขาสรุปว่าได้ผลดีกว่าเทคนิคการใช้วิธีควบคุมความหนาของ layer ด้วยเครื่องมือชนิดอื่น ๆ

Ikan และ Rapaport[43] ทำการทดลองเกี่ยวกับ Thin-layer Chromatography โดยใช้แผ่นแก้วฉาบด้วย adsorbent ด้วยวิธีจุ่มแผ่นแก้วลงในหลอดทดลองที่บรรจุ slurry ของ adsorbent แล้วถอย ๆ ดึงแผ่นแก้วขึ้น การ spot ใช้ capillary tube แทน micropipette เขาสรุปและเสนอแนะว่า วิธีการเช่นนี้ใช้ตรวจสอบ identify สารเคมีในทาง qualitative Analysis ได้สะดวกกว่าวิธีอื่น ๆ ยกเว้นเฉพาะในการศึกษาวิจัยการวิเคราะห์

Streator[44] ได้ใช้ standard ground glass equipment หรือ ground glass joint ของเครื่องแก้วที่มีจำหน่ายทั่วไป นำมาต่อกันเข้ากับขวดทดลองหรือ erlenmeyer flask โดยใช้กาว epoxy เป็นตัวทำให้เป็น chamber สำหรับ thin-layer chromatography ที่ใช้แผ่นแก้วเป็น supporter เขาทดลองแยกไอออก inorganic ions โดย develop chromatogram สูงเพียง 7 - 10 cm. ปรากฏว่าได้ผลเช่นเดียวกับวิธี microscope thin-layer[45] และ circular thin-layer methods.[46]

---

[43] Ikan,R.,and Rapaport, E., J.Chem. Educ., 44, 297 (1967)

[44] Streator, James T., J. Chem. Educ., 45, 671 (1968).

[45] Goller, T.J.,J. J.Chem. Educ.,. 42, 443 (1965).

[46] Hasmi, et. al., Anal. Chem.,. 38, 1554 (1966).

32017

บทที่ 3

การดำเนินการทดลอง

การทดลองใช้ดินขาวเป็น adsorbent.

การใช้ดินขาวเป็น adsorbent ได้แบ่งการทดลองตามชนิดเทคนิคการทดลอง ดังต่อไปนี้

1. การทดลองโดยใช้ Column Chromatographic Technique.
2. การทดลองโดยใช้ Thin-layer Chromatographic Technique.

1. การทดลองโดยใช้ Column Chromatographic Technique.

ได้แบ่งการทดลองเป็น 3 ชนิด ดังนี้

1.1 การทดลองแยกสาร Organic จำพวก Indicators

นำดินขาว (kaolin) ที่ล้างสะอาด (ดูภาคผนวก ก หน้า 114) มาบรรจุ column (ซึ่งใส่ glass wool plug หรือ cotton plug ไว้แล้ว) ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12 mm. (ทำจากหลอดแก้ว ดึงปลายข้างหนึ่งเป็นกรวยแหลม) และ 7 mm. (burette ขนาด 25 ml.) ในลักษณะ wet packing ด้วย ethanol (95 %) เมื่อ adsorbent (ดินขาว) แน่นตัว(settle) ดีแล้ว ต้องให้ความสูงของ adsorbent เท่ากับ 7 cm. (column ชนิดที่ 1) และ 10 cm. (column ชนิดที่ 2) ก่อนจน ethanol (95 %) ที่อยู่ส่วนบน column ซึมลงใน adsorbent จนเกือบถึงผิว จึงใส่ indicators mixture ชนิดที่ 1 (ได้จากการนำสารละลาย indicator 5 % ใน ethanol (95 %) แต่ละชนิดอย่างละ 0.5 ml. ดังต่อไปนี้ phenolphthalein, bromophenol blue,

phenol red และ indigo carmine มาผสมกัน) 2 หยด* (0.06 ml.) ลงใน column ชนิดที่ 1 และ 4 หยด (0.12 ml.) ลงใน column ชนิดที่ 2 ปล่อยให้ของเหลวใน indicators mixture ค่อย ๆ ซึมจนเกือบถึงผิว adsorbent จึง develop Chromatogram ด้วย ethanol 95% - ammonia เข้มข้น 33 % (9 : 1 โดยปริมาตร) ปริมาตร 15 ml. ใช้เวลา 20-22 ชั่วโมง จนแถบสี (band) แยกกันอย่างสมบูรณ์

ทำการแยกครั้งที่ 2 โดยใช้ mixture ชนิดที่ 2 (ได้จากการนำสารละลาย indicator 5 % ใน ethanol (95 %) แต่ละชนิด อย่างละ 5 ml. ดังต่อไปนี้ phenolphthalein, bromophenol blue, phenol red, และ congo red มาผสมกัน) 2 หยด (0.06 ml.) ลงใน column ชนิดที่ 1 และ 4 หยด (0.12 ml) ลงใน column ชนิดที่ 2 ที่เตรียมไว้เรียบร้อยแล้ว เมื่อของเหลวใน indicators mixture ซึมจนเกือบถึงผิว adsorbent จึง develop ด้วย ethanol (95%)-ammonia เข้มข้น 33 % (9.1 %v*) ในปริมาตร 15 ml. เช่นเดียวกับการแยก Mixture ชนิดแรก

เมื่อแถบสีแยกอย่างสมบูรณ์ ปรากฏเป็นแถบสีที่อยู่ส่วนบนสุดของ column มีสีน้ำเงิน (indigo carmine ใน Mixture ชนิดที่ 1) หรือ สีแดง (Congo red ใน Mixture ชนิดที่ 2) ห่างจากแถบสีแรกลงมา 1.00 cm. เป็นแถบสีม่วงแดง (phenol red) แถบสีที่สามอยู่ห่างจากแถบสีที่สอง (สีม่วงแดง)

---

* ตวงด้วย eye-dropper จากการวัดด้วย graduated cylinder ขนาด 10 ml. 10 ครั้ง หาปริมาตรเฉลี่ยซึ่งได้หยด 1 หยด เท่ากับ 0.03 ml.

** ปริมาตรต่อปริมาตร

1.50 c.c. บีสีน้ำเงิน (bromophenol blue) แถบสีที่ยู่ล่างสุดของcolumn ที่สีแดงจาง ๆ (phenolpthalein) ต่อจากนั้น develop ต่อเนื่องด้วย solvent ดังกล่าวอีก 10 ml. จนแถบสีแต่ละแถบสี elute ออกจาก column สำหรับแถบสีที่ elute ออกมาคันดับแรก รองรับ effluent ด้วยหลอดทดลองที่มีสารละลาย sodium hydroxide 1 M. 1 หยด (0.03 ml.) ส่วนแถบสีอื่น ๆ รองรับด้วยหลอดทดลองที่สะอาด

ทำการทดลองซ้ำโดยใช้ดินขาว commercial grade ด้วยวิธีการเช่นเดียวกับดินขาว (kaolin)จังหวัดระแหง ให้ผลในลักษณะเดียวกัน

1.2 <u>การทดลองแยก Cobalt (II)ion จาก Copper (II)ion.</u>

เตรียม column ที่มีสารจุดินขาว (kaolin) เหมือนกับการทดลองข้อ 1.1 ต่างกันเล็กน้อยที่การทดลองครั้งนี้ ใช้น้ำผสมกับดินขาว เพื่อ pack column ในแบบ wet packing เมื่อ adsorbent (ดินขาว) แน่นตัว (settle) ดีแล้ว ต้องให้ความสูงของ adsorbent เท่ากับ 5 cm. (column-ชนิดที่ 1) และ 7 cm. (column ชนิดที่ 2) คอยจนน้ำกลั่นที่อยู่ส่วนบน column ซึมลงใน adsorbent จนเกือบถึงผิว จึงใส่ cation mixture (ได้จากการผสม cobalt nitrate (B.P.) 0.5 M. 2 ml. กับ copper sulphate 0.5 M. 2 ml.) 0.5 ml.ลงใน column ชนิดที่ 2 หลังจากของเหลวใน cation-mixture ซึมลงใน adsorbent จนเกือบถึงผิว จึง develop ด้วยน้ำกลั่น 10 ml. จนปรากฏสีชมพูของ cobalt zone บน gloss wool plug (ใช้เวลา 16-18 ชั่วโมง) developต่อไป (น้ำกลั่น 5 ml.) จนสีชมพูของ cobalt zone ถูก elute จาก column ลงสู่หลอดทดลองที่รองรับหมด (8 ml.) จากนั้นรองรับ effluent ที่เป็นน้ำกลั่นบริสุทธิ์ 5 ml. ต่อจากนั้น develop ด้วย ammoniam carbonate (B.P.) 0.1 M. 15 ml. ในตอนแรกจะปรากฏตะกอนวงแหวน สีน้ำเงินของ copper zone ที่ส่วนบน column

กลายจน copper (II)ion ถอกจาก column ในรูปตะกอน copper carbonate จนหมด (ใช้เวลา 14-16 ชั่วโมง) นำ effluent ส่วนต่าง ๆ ที่รองรับได้ ซึ่งได้แก่ cobalt fraction 8 ml., pure water fraction 5 ml., และ copper fraction 12 ml. มาวัด maximum. Absorption ด้วยเครื่อง Spectronic 20* ดังนี้ Fraction 1 λ max = 510 millimicrons. (Cobalt (II)ion) Fraction 2 λ max = none (Pure water) และ Fraction 3 λ max 325 (Copper (II)ion)

1.3 การทดลองแยก Cobalt (II)ion จาก Ferric (III)ion

เตรียม column ที่บรรจุ ดินขาว (kaolin) เหมือนกับการทดลองข้อ 1.2 ทำการแยกโดยใส่ cations mixture ได้จากการผสม cobalt nitrate 0.5 M. 2 ml. กับ ferric nitrate 0.1 M. 2 ml.) 0.5 ml. ใน column ชนิดที่ 1 และใส่ cations mixture 1 ml. ลงใน column ชนิดที่ 2 หลังจาก mixture ซึมลงลงใน adsorbent จนเกือบถึงผิว จึง develop ด้วยน้ำกลั่น 15 ml. จนปรากฏสีชมพูของ cobalt zone บน glass wool plug (ใช้เวลา 16-18 ชั่วโมง) เก็บจากนั้น cobalt zone จะไหลลงสู่ beaker ขนาด 50 ml. หมด 12 ml. develop ต่อไปด้วย potassium ferricyanide 0.1 M. จะปรากฏสีน้ำเงินที่ส่วนบน column และตะกอนของ ferric ferrocyanide ไม่สามารถ elute จาก column ต่อไปอีกได้

---

* ของบริษัท Bausch and Lomb, RoChester, New York Wavelength Accuracy 2.5 millimicrons. Photometric Accuracy ± 2.5 % of fullscale Photometric Reproducibility ± 1 % of full scale.

ทำการทดลองเช่นเดียวกับการทดลอง ข้อ 1.2 และ 1.3 แต่การทดลองครั้งนี้ ใช้ดินขาว (kaolin) ชนิด commercial grade (British drugnouse company)

2. <u>การทดลองโดยวิธี Thin-layer Chromatographic technique.</u>

ได้ทำการทดลอง 3 การทดลองดังนี้

2.1 <u>การทดลองแยกสาร Organic จำพวก Indicators.</u>

ใช้ดินขาว (kaolin) ที่ล้างสะอาด ทำ slurry ด้วยน้ำกลั่น เกลี่ยเป็น thin-layer บนแผ่นกระจกขนาด 10 x 20 cm. ควบคุมความหนาของ thin-layer ด้วยเทปพันสายไฟฟ้าของ Yazaki ซึ่งมีความหนา 0.18 mm.* สองชั้น ทำให้ thin-layer มีความหนาเท่ากับ 0.36 mm. จัดการเกลี่ย slurry ด้วยแท่งแก้วกลมแทนการใช้ applicator วาง thin-layer plate ในแนวราบจน thin-layer แห้ง ในกรณีที่หนา ๆ จึงนำไปอบในเตาอบที่อุณหภูมิ 80° C ให้แห้งสนิท แบ่ง thin-layer plate ที่เตรียมไว้แล้วเป็นสองส่วน ส่วนหนึ่งให้เป็น Unactivated thin-layer plate คือ ส่วนนำมาอบในเตาอบที่อุณหภูมิ 200° C เป็นเวลา 20 นาที เตรียม thin-layer plate ในลักษณะดังกล่าว แต่ใช้ดินขาว (kaolin) ผสมแร่ซิลิกาเจล อัตราส่วน 9 : 1 โดยน้ำหนัก (แร่ซิลิกาเจลในดินขาว 11 %) และดินขาว ชนิด commercial grade (British drugnouse Company) เมื่อเตรียม thin-layer plate เรียบร้อยแล้ว ทำ spot (ทำจุด) โดยใช้ mixture ของ indicators ที่จะนำมาแยก ซึ่งได้จากการผสมสารละลาย indicator ใน ethanol (95%) ชนิดต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

1. phenolphthalein 0.5 %, bromophenol blue 0.5 % phenol red 0.5 % และ indigo carmine 0.2 % อย่างละ 5 หยด (0.15 ml.)

---

* วัดด้วย Micrometer ของบริษัท Mitutoyo ประเทศญี่ปุ่น 10 ครั้ง แล้วเฉลี่ย

2. bromothymol blue 0.5 %, methyl orange 0.5 %, methyl red 0.2 % และ congo red 0.2 % อย่างละ 5 หยด (0.15 ml.)

3. thymol blue 0.5 % และ crystal violet 0.2 % อย่างละ 5 หยด (0.15 ml.)

4. bromocresol green 0.5 %, malachite green 0.2 % และ methylene blue 0.2 % อย่างละ 5 หยด (0.15 ml.)

5. cresol red 0.5 % และ congo red 0.2 % อย่างละ 5 หยด (0.15 ml.)

ใช้ capillary tube ที่ดึงปลายข้างหนึ่งแหลมเล็ก (แทน micropipette) ทำจุด (Spot) indicators mixture ที่ต้องการแยกลงบน thin-layer plate 1 กรั้ง และ spot จุดห่าง ๆ กัน indicator บริสุทธิ์ แต่ละอย่าง ขนาดกับจุดของ indicators mixture ให้จุดมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 cm. โดยทำจุด 1 กรั้ง เช่นเดียวกัน วางไว้หรือใช้ hair-drier เป่าให้ spot แห้ง แล้วนำ chromatogram ไป develop ใน Tank* ที่มี solvent 1-butanol-glacial acetic acid - น้ำกลั่น (60:15:25 โดยปริมาตร) จนกระทั่ง solvent front ขึ้นถึง 12.00-13.00 cm. (ใช้เวลา develop

---

* Tank ทำด้วยโหล ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 14 cm. สูง 24 cm. มีฝาปิดทำด้วยแผ่นแก้ว หุ้มปากโหลด้านนอกที่เวลมต่อกับฝาด้วยกิ๊บน้ำมัน เพื่อกันตัวทำละลายระเหยผ่านช่องว่างระหว่างฝากับปากโหล

14 ชั่วโมง สำหรับ Chromatogram ที่ใช้ดินขาวจังหวัดระนองเป็นadsorbent และใช้เวลา 22 ชั่วโมง สำหรับ Chromatogram ที่ใช้ดินขาวชนิดcommer-cial grade) เอาออกจาก Tank ทำเครื่องหมาย solvent front นำมารมที่ปากขวดสารละลาย ammonia เข้มข้น 27 % หรือ spray ด้วย sodium hydroxide 1 N. เพื่อตรวจหา spot ของ phenolphthalein วัดระยะ solvent front และระยะ migrate ของ indicators แต่ละตัวที่นำมาแยกจาก mixture ผลการแยกพร้อมทั้งค่า R_f โดยเฉลี่ย แสดงไว้ในตาราง 4 (หน้า 62)

2.2 การทดลองแยกสาร Organic จำพวก Amino acids.

เตรียม Thin-layer plate โดยใช้ดินขาว (kaolin) ในอัตราส่วนดินขาว 9 ส่วน ต่อแร่ยิปซัม 1ส่วน โดยน้ำหนัก และใช้ ดินขาว commercial grade กวนกุบความหนาของ layer ด้วยเทปพันสายไฟฟ้าตรา Yazaki ที่ญี่ปุ่น (หนา 0.18 mm.) การเกลี่ย slurry ทำเช่นเดียวกับการทดลองข้อ 2.1 และสภาวะของ plate แบ่งออกเป็น Unactivated thin-layer plate และ activated thin-layer plate (อบที่200°C เป็นเวลา 20 นาที) ใช้ capillary tube หยด mixture ของamino acids ชนิดต่าง ๆ ที่ต้องการแยก ให้ spot มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 cm. เมื่อ spot แห้งดี หยด (ทำจุด) ซ้ำ ๆ เมื่อ spot แห้งอีก 2 ครั้ง (อย่าให้ spot มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเกิน 0.5 cm.) และหยดสารละลาย amino acids แต่ละชนิด (individual amino acids) mixture ที่นำมาแยกได้จากการผสมสารละลาย amino acids ดังนี้

1. L(-) leucine 0.5 %, L-methionine 0.5 %, L-threonine 0.5 %, L (+) aspartic acid, และ L(+) lysinumonohydrochloride อย่างละ 0.5 ml.

(2) L(+) isoleucine 0.5 % , L-tryptophan 0.5 %, และ glycine 0.5 %, อย่างละ 0.5 ml.

(3) L(-) phenylalanine 0.5 %, L-methionine 0.5 %, L-threonine 0.5 %, glycine 0.5 %, และ L(+) lysinmonohydrochloride 0.5 % อย่างละ 0.5 ml.

แล้วนำ amino acids mixture แต่ละชนิด ปริมาณเท่ากันมาผสม แล้วลดปริมาตร mixture ลง $\frac{1}{3}$ ของปริมาตรเดิมโดยอบที่อุณหภูมิ 80° C เพื่อทำ spot แล้ววางไว้ให้ spot แห้งสนิท จึงนำมา develop ใน tank ซึ่งบรรจุตัวทำละลาย 1-Butanol- glacial acetic acid - น้ำกลั่น (60:15:25 โดยปริมาตร) ไว้แล้ว เป็นเวลา 2ชั่วโมง (tank saturation) ใช้เวลา develop 14ชั่วโมง สำหรับกันขาวผสมแรยิมซัม (binder) และใช้เวลา develop 22 ชั่วโมง เมื่อใช้ดินขาวพิเศษ commercial grade จนกระทั่ง solvent front ขึ้นสูงประมาณ 12.00 - 13.00 cm. นำ Chromatogram ออกจาก Tank ทำเครื่องหมาย solvent front วาง Chromatogram ไว้จน solvent ที่เกาะอยู่ระเหยไปหมด จึงพ่น (spray) ด้วย ninhydrin (commercial grade) 0.2 % ใน acetone นำไปอบที่อุณหภูมิ 105° C เป็นเวลา 5 นาที จะปรากฏเป็นจุดสีม่วง ในตำแหน่งต่าง ๆ บน plate วัดระยะ solvent front และระยะการ migrate ของ amino acids ที่แยกจาก mixture เปรียบเทียบกับ individual amino acid โดยยึดตำแหน่งกึ่งกลางของ spot เป็นหลัก ผลการแยกพร้อมทั้งค่า R_f แสดง แสดงไว้ในตาราง 5 (หน้า 64)

2.3 การแยก Inorganic Cations.

เตรียม Thin-layer plate โดยใช้ดินขาว (kaolin) ผสมกับแร่ยิปซัมในอัตราส่วน 9:1 โดยน้ำหนัก และดินขาวชนิด commercial grade เช่นเดียวกับการทดลอง ข้อ 2.2 ในการแยก mixture ของพวก inorganic cations แต่ละ mixture ใช้ solvent ไม่เหมือนกัน ดังแสดงในตาราง 6 (หน้า 66)

การแยกทุกครั้งใส่ตัวทำละลายไว้ใน tank ก่อนจะ develop เป็นเวลา 30 นาที การดูดกรดเกลือเข้มข้นใช้ eye-dropper ซึ่งมีปริมาตร 1 หยด เท่ากับ 0.03 mm. การทดลองนี้ develop Chromatogram ให้ solvent front ขึ้นสูงสุด 6 cm. (วัดจากจุดเริ่มต้น) การตรวจหา (detect) spot ใช้วิธีรม Chromatogram ที่กำลังเปียกชื้น (ทันทีที่เอาออกจาก tank) ด้วย hydrogen sulphide gas ที่เตรียมไว้แล้ว วัดระยะ solvent front และระยะ migrate ของ inorganic cations ผลการแยก และค่า R_f โดยเฉลี่ย แสดงในตาราง 7 - 8 (หน้า 67-68)

การใช้ผงซอลกเขียนกระดานดำและแร่ยิปซัม (Thin-layer Chromatography)

1. การทดลองแยกสาร Organic จำพวก Indicators

เตรียม thin-layer plate 3 ชนิด ซึ่งได้แก่ ชนิดที่ 1 ใช้ผงซอลกเขียนกระดานดำแต่ละเอียด และล้างสะอาด เป็น adsorbent ชนิดที่ 2 ใช้แร่ยิปซัมบดละเอียด (แต่งด้วยเครื่องแต่ง US. Standard 100 mesh) เป็น adsorbent และชนิดที่ 3 ใช้ calcium sulphate ชนิด commercial grade (Omega Chemical, New York) เป็น adsorbent ผสมกับน้ำทำเป็น slurry เกลี่ยบนแผ่นกระจกขนาด 10x20 cm. ด้วยแท่งแก้วกลมซึ่งควบคุมความหนาด้วยเทปพันสายไฟ ตรา Yazaki ที่มีความหนา 0.18 mm. หนึ่งชั้น เมื่อผึ่ง thin-layer plate ในอากาศจนแห้งในเครื่องระเหยแห้ง ๆ นำไปอบที่ 100° C เพื่อทำให้แห้ง

แล้วแยกจำนวน thin-layer plate แต่ละชนิดออกเป็นส่วน ๆ ส่วนหนึ่งนำไป activate โดยอบที่ 200° C เป็นเวลา 20 นาที นำ thin-layer plate ในลักษณะต่าง ๆ กันดังกล่าวมา ทำจุดดังนี้ ทำจุด (spot) บน thin-layer plate ชนิดที่ 1 ทั้งสองสภาวะโดยใช้ capillary tube กับสารละลายผสม ที่ได้จากการผสมสารละลาย indicators ใน ethanol (95 %) ดังต่อไปนี้

(1) bromothymol blue 0.5 % , methyl orange 0.5 %, crystal violet 0.2 % และ indigo carmine 0.2 %, อย่างละ 10 หยด (0.30 ml)

(2) bromophenol blue 0.5 %, malachite green 0.5 %, และ congo red 0.2 % อย่างละ 10 หยด (0.30 ml.)

(3) thymol blue 0.5 %, methyl orange 0.5 %, crystal violet 0.2 % และ methylene blue 0.2 % อย่างละ 10 หยด (0.30 ml.)

ทำจุด (spot) บน thin-layer plate ชนิดที่ 2 ทั้งสองสภาวะโดยใช้ capillary tube กับสารละลายผสมที่ได้จากการผสมสารละลาย indicators ใน ethanol (95 %) ดังต่อไปนี้

(1) bromophenol blue 0.5 %, crystal violet 0.2 % และ methylene blue 0.2 % อย่างละ 10 หยด (0.30 ml.)

(2) phenolphthalein 0.5 %, malachite green 0.2 % และ congo red 0.2 % อย่างละ 10 หยด (0.30 ml.)

(3) phenol red 0.5 %, crystal violet 0.2 % และ indigo carmine 0.2 % อย่างละ 10 หยด (0.30 ml.)

(4) bromothymol blue 0.5 %, crystal violet 0.2 % และ methylene blue 0.2 % อย่างละ 10 หยด (0.30 ml.)

ทำจุด (spot) บน thin-layer plate ชนิดที่ 3 โดยใช้ capillary tube กับสารละลายผสมชุดเดียวกับที่ใช้ทำจุดบน thin-layer plate ชนิดที่ 1

ในการทำจุดบน plate แต่ละชนิดดังกล่าว ควบคุมให้ spot ของ mixture ชนิดต่าง ๆ กับ individual indicator อยู่ห่างจึงกันและกัน และอยู่ห่างจากขอบ thin-layer plate 1.50 cm. วาง Thin-layer plate ไว้จน spot แห้งดีแล้วจึงนำไป develop ใน tank ซึ่งบรรจุ eluent ประกอบด้วย 1-butanol-glacial acetic acid-น้ำกลั่น 60:15:25 โดยปริมาตร อยู่แล้วเป็นเวลา 2ชั่วโมง develop จน solvent front ขึ้นสูงจากจุดเริ่มต้น 12.00 - 13.00 cm.(ใช้เวลา 5-6 ชั่วโมง) จึงนำ chromatogram ออกจาก tank ทำเครื่องหมาย solvent front วางไว้ให้ eluent ที่ติดอยู่บน chromatogram แห้งสนิท จึงนำไปรมที่ปากขวด ammonia เข้มข้น27 % หรือ spray ด้วย sodium hydroxide 1.0 M. เพื่อตรวจหา (Detect) phenolphthalein และดูการเปลี่ยนสีของ indicator ชนิดอื่น ๆ วัดระยะ migrate ของ indicators ที่แยกตัวจากกัน และวัดระยะ solvent front ผลการแยกและค่า R_f โดยเฉลี่ยแสดงในตาราง 9 - 10 (หน้า 71 และ 73)

2. <u>การทดลองแยก Inorganic Cations</u>

การเตรียม thin-layer plate กระทำเช่นเดียวกับการทดลองข้อ 1 ทุกประการ ในการทดลองแยก inorganic cations ครั้งนี้ การผสม inorganic cations และการใช้ตัวทำละลาย แตกต่างกันไปตาม system ของการแยก ดังแสดงในตาราง 1 (หน้า 33) ในการแยกทุกครั้ง ใส่ eluent ไว้ใน tank ก่อนจะ develop เป็นเวลา 30 นาที การผสมกรดเกลือเข้มข้นใช้ eye-dropper ซึ่งมีปริมาตร 1 หยด เท่ากับ 0.03 ml.

ตาราง 1 แสดงการผสม Inorganic Cations และการใช้ตัวทำละลายเพื่อทดลองแยกในการใช้ซิลิกาเจล Adsorbent.

System	สารละลายที่นำมาผสม	ปริมาณผสมหยด (Drops)	ตัวทำละลายที่ใช้ Develop
1	cadmium nitrate 0.25 M. copper nitrate 0.01 M.	10 10	น้ำกลั่น 50 ml. ผสมกับกรดเกลือเข้มข้น (density 1.16) 3 หยด (0.09 ml.)
2	bismuth subnitrate 0.01 M. sodium arsenite 0.02 M.	10 10	น้ำกลั่น 50 ml. ผสมกับกรดเกลือเข้มข้น (density 1.16) 1 หยด (0.03 ml.)
3	cadmium nitrate 0.25 M. antimony trichloride 0.05 M.	10 10	น้ำกลั่น 50 ml. ผสมกับกรดเกลือเข้มข้น (density 1.16) 15 หยด (0.45 ml.)
4	sodium arsenite 0.02 M. antimony trichloride 0.05 M.	10 20	น้ำกลั่น 50 ml. ผสมกับกรดเกลือเข้มข้น (density 1.16) 20 หยด (0.60 ml.)
5	mercuric nitrate 0.05 M. antimony trichloride 0.05 M.	10 10	น้ำกลั่น 50 ml. ผสมกับกรดเกลือเข้มข้น (density 1.16) 10 หยด (0.30 ml.)
6	mercuric chloride 0.05 M. copper nitrate 0.01 M.	10 10	Potassium ferricyanide 0.1 M.
7	ferric nitrate 0.05 M. copper nitrate 0.05 M.	10 10	Potassium ferricyanide 0.1 M.

develop chromatogram ให้ solvent front ขึ้นไปสูงสุด 6 cm. (ใช้เวลา 20 - 25 นาที) การตรวจหา spot ใช้วิธีรม chromatogram ที่กำลังเปียกชื้นด้วย hydrogen sulphide gas แล้ววัดระยะ solvent front และระยะ migrate ของ inorganic cations ผลการทดลอง และ ค่า R_f โดยเฉลี่ย แสดงในตาราง 11 - 13 (หน้า 76 - 77)

ในการใช้แร่ยิบซัมเป็น adsorbent ใช้ตัวทำละลายแตกต่างไปจากการใช้ผงซอล์คเขียนกระดานดำเป็น adsorbent ดังแสดงในตาราง 2 (หน้า 35) สำหรับ condition คงบกุนเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 คือ activated plate กับ unactivated plate ในการใช้ calcium sulphate ชนิด commercial grade เป็น adsorbent ใช้ eluent แตกต่างตาม system ที่แยก ดังแสดงในตาราง 3 (หน้า 36)

<u>การใช้หินอ่อนหรือแร่คัลไซต์ (Marble or Calcite) เป็น adsorbent</u>

การใช้หินอ่อนบดละเอียด (ดูภาคผนวก ก หน้า 115) เป็น adsorbent ใน Column Chromatographic Technique.

1. <u>การทดลองแยก Leaf Pigments จากใบตอง</u>

ผสมดินขาว (kaolin) 6.0 กรัม หินอ่อนบดละเอียด 5.5 กรัม และ sucrose (น้ำตาลทรายขาวบดละเอียด) 7.0 กรัม เป็น slurry ด้วย light petroleum (commercial grade, b.p. 60 - 80° c) 15,30 และ 20 ml. ตามลำดับ บรรจุ slurry ดินขาว ลงใน column ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12 mm. ทำจากหลอดแก้วยาวเหลือตัด เสมอปลาย ๆ ข้างหนึ่งหุ้มด้วยผ้าขาวบางที่สะอาดชั้นรอยต่อด้วยกระดาษกรองตัดเป็นรูปกลมแล้วเท slurry หินอ่อนเป็น adsorbent อันดับสองชั้นรอยต่อด้วยกระดาษกรองตัดเป็นรูปกลม เทับ sucrose slurry เป็น adsorbent อันดับที่สาม ตามด้วยกระดาษกรองแผ่นกลม ๆ ปิดผิวบนของ sucrose

ตาราง 2 แสดงการผสม Inorganic Cations และการใช้ตัวทำละลายเพื่อทดลองแยกในการใช้แร่ยิบซัมเป็น Adsorbent

System	สารละลายที่นำมาผสม	ปริมาณผสมหยด (Drops)	ตัวทำละลายที่ใช้ Develop
1	bismuth subnitrate 0.05 M.	10	น้ำกลั่น 50 ml. ผสมกับกรดเกลือเข้มข้น (Density 1.16) 1 หยด (0.03 ml.)
	sodium arsenite 0.02 M.	10	
2	sodium arsenite 0.02 M.	10	น้ำกลั่น 50 ml. ผสมกับกรดเกลือเข้มข้น (Density 1.16) 3 หยด (0.09 ml.)
	antimony trichloride 0.05 M.	10	
3	mercuric nitrate 0.05 M.	10	Potassium ferricyanide 0.1 M.
	copper nitrate 0.005 M.	3	

ตาราง 3 แสดงการผสม Inorganic Cations และการใช้ตัวทำละลายเพื่อทดลองแยกในการใช้ Calcium Sulphate ชนิด Commercial Grade.

System	สารละลายที่นำมาผสม	ปริมาณผสมหยด (Drops)	ตัวทำละลายที่ใช้ Develop
1	bismuth subnitrate 0.05 M.	10	น้ำกลั่น 50 ml. ผสมกับกรดเกลือเข้มข้น (Density 1.16) 2 หยด (0.06 ml.)
	sodium arsenite 0.02 M.	10	
2	copper nitrate 0.02 M.	10	น้ำกลั่น 50 ml. ผสมกับกรดเกลือเข้มข้น (Density 1.16) 3 หยด (0.09 ml.)
	cadmium nitrate 0.1 M.	10	
3	cadmium nitrate 0.02 M.	10	น้ำกลั่น 50 ml. ผสมกับกรดเกลือเข้มข้น (Density 1.16) 15 หยด (0.45 ml.)
	antimony trichloride 0.05 M.	10	
4	sodium arsenite 0.02 M.	20	น้ำกลั่น 50 ml. ผสมกับกรดเกลือเข้มข้น (Density 1.16) 20 หยด (0.60 ml.)
	antimony trichloride 0.05 M.	10	
5	mercuric chloride 0.05 M.	10	น้ำกลั่น 50 ml. ผสมกับกรดเกลือเข้มข้น (Density 1.16) 10 หยด (0.30 ml.)
	antimony trichloride 0.05 M.	10	

เมื่อ solvent ซึมลงถึงผิว เติม extract of pigments* ของใบตอง ที่เป็นสารละลายเข้มข้น 5 ml. จนกระทั่ง extract ซึมเข้าไปใน adsorbent (Sucrose) หมด develop ด้วย light petroleum (b.p. 60 - 80°C) -benzene (b.p.) 4:1 โดยปริมาตร โดยไปปลดที่สายยาง column แห่ง เนื่องจากการทดลองนี้ได้ปรับปรุงวิธีการของ Zechmeister[47] ซึ่งเขาทดลองแยก leaf pigments เช่นเดียวกัน และปรากฏแถบสีบน column (mixed - asorbent) ดังนี้ สายบนสุดมีสีเขียวปนเหลือง (olive green บน sucrose) ซึ่งเขารายงานว่าเป็น chlorophyll b- fraction แถบสี (band) ที่สอง ห่างจากแถบสีแรก 1.50 cm. มีสีเขียวแก่ (blue green) บางส่วนอยู่บน sucrose (แถบสีกว้าง 2.00 cm.) และบางส่วนอยู่บนหินออน ซึ่งได้แก่ chlorophyll a- fraction แถบสีที่สามมีสีเหลืองอยู่บนหินออน ห่างจากแถบสี ที่สอง 1.00 cm. อนุมานจาก Literature ดังกล่าวว่าเป็น xanthophylls แถบสีสุดท้ายไม่ปรากฏจากการแยก leaf pigments ของใบตอง แต่ได้ทำการ ทดลองซ้ำอีกสองครั้งด้วยวิธีการเดียวกันนี้ แต่คราวนี้ใช้ใบหญ้าแทรก ปรากฏมีแถบสีจาง ๆ ปนสีที่เจือจางมาก ซึ่งเมื่อเทียบเคียงผลการทดลองของ Zechmeister อนุมานได้ว่า เป็น carotenes.

เมื่อทำการ develop จนแถบสีต่าง ๆ แยกตัวอย่างสมบูรณ์ ต่อ column เข้ากับ vacuum pump ระเหยของเหลวใน column จนเกือบแห้ง เอาผ้า ขาวบางที่นุ่มปิดปลายออก ค่อย ๆ ดันให้ adsorbent เคลื่อนออกจาก column ออกเป็นส่วน ๆ (ดินขาว, หินออน และ sucrose ใช้ spatula ค่อย ๆ เขี่ย

---

*ใช้ใบตองห่อละเอียดหนึ่งกำมือ ผึ่งในอากาศให้แห้ง นำมาสะกัดด้วย Light Petroleum (b.p.60-80°C) 90 ml, benzene 10 ml.และ methanol 30 ml. สกัด methanol ออกจาก extract ด้วยน้ำ แยกน้ำทิ้ง ทำ extract ให้แห้งดูด้วย anh. sodium sulphate ทำให้ solution ให้ เข้มข้นโดยการใช้ vacuum pump .

[47] Zechmeister, L., and Cholnoky, L., op.cit.,pp. 84-85.

แถบสีบน adsorbent ออก แล้วเอาส่วนของ adsorbent ที่มี pigment แต่ละชนิดเกาะมาสะกัดด้วย light petroleum(b.p. 60-80°C) เป็นสารละลายบริสุทธิ์ เนื่องจากการทดลองมุ่งทาง qualitative จึงมิได้หาความเข้มข้นของสารละลายดังกล่าว

ทำการทดลองซ้ำอีกสองครั้ง โดยครั้งแรกทดลองใช้หินออนบดละเอียดที่แล่งด้วยเครื่องแล่ง U.S. Standard 100 mesh และครั้งที่สองใช้ calcium carbonate ชนิด commercial grade (May and Baker Company) - แลการทดลองแสดงไว้ในหน้า 78 - 79

2. <u>การทดลองแยก Phenylosazones</u>

2.1 เตรียม phenylosazone ของน้ำตาลชนิดต่าง ๆ คือ D-xylose, D-sorbose, D-galactose และ D-glucose(reagent grade)ชั่ง 0.2000 กรัม ใส่หลอดทดลองสี่หลอดตามลำดับ แต่ละหลอดทดลองดังกล่าวเติม phenyl hydrazinehydrochloride (reagent grade) หลอดละ 0.4000 กรัม sodium acetate ใส่หลอดละ 0.6000 กรัม และเติมน้ำกลั่นหลอดละ 4 ml. เขย่าหลอดทดลอง และทำให้ร้อนด้วย water bath จนมีตะกอนสีเหลือง จึงนำมาตั้งให้เย็น กรองตะกอน phenylosazone ของน้ำตาลแต่ละชนิดดังกล่าว ผึ่งให้แห้งในอากาศ ซึ่ง phenylosazone ของน้ำตาลแต่ละชนิดมี yeild ประมาณ 65 - 70 %

2.2 เตรียม column บรรจุ หินออนบดละเอียด (ดูภาคผนวก ก. หน้า 115) โดยผสมหินออนกับ chloroform (Carlo Erba, laboratory grade) 1 กรัม ต่อ 1.5 ml. ทำเป็น slurry บรรจุใน column ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12 mm. หรือ 7 mm. เมื่อ adsorbent แน่นตัว (settle) ดีแล้ว ควบคุมให้ adsorbent ใน column สูง 10 cm.

2.3 ละลาย phenylosazone ชนิดต่าง ๆ ใน chloroform จนได้สารละลายอิ่มตัว ของน้ำตาลแต่ละชนิด นำสารละลายที่อิ่มตัว phenylosazone ของน้ำตาล xylose, sorbose, galactose และ glucose ในปริมาณเท่า ๆ กันมาผสมกันเป็น Mixture ชนิดที่ 1 และนำสารละลายอิ่มตัว phenylosazone ของ xylose และ galactose ในปริมาณเท่า ๆ กัน ผสมกันเป็น mixture ชนิดที่ 2 เมื่อ chloroform ใน column ที่เตรียมไว้แล้วไหลลงใน adsorbent จนเกือบถึงผิว เติม mixture ชนิดใดชนิดหนึ่งลงใน column ดังกล่าว 1.00 ml. เมื่อทำการแยกเมื่อของเหลวใน mixture นั้นลงใน adsorbent จนเกือบถึงผิว develop ด้วยตัวทำละลาย 3 % ethanol (95%) ใน chloroform (laboratory grade) และ 5 % ethanol (94 %) ใน acetone (laboratory grade) แล้วผสม chloroform และ acetone ดังกล่าวในอัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร ใช้ solvent ดังกล่าว 15 ml. develop ต่อเนื่องจนแยกสี (band) แยกเป็นสองแถบสี หรือ สอง fraction. (ทั้งสอง mixture) ต่อจากนั้นแยกสีจะค่อยเคลื่อนออกจาก column เป็น effluent ในภาชนะที่รองรับ (หลอดทดลองขนาด 10 ml.) fraction ละ 6 ml. (โดยประมาณ) จากการวัด maximum adsorption ปรากฏจากการแยก mixture ชนิดที่ 1 ได้ fraction ที่ 1 λ max = 325 mu (Osazone ของ Galactose) fraction ที่ 2 λ max = 390 mu (สารละลาย osazone ผสมของ sorbose, glucose และ xylose) และจากการแยก mixture ชนิดที่ 2 ได้ fraction ที่ 1 λ max = 325 mu (osazone ของ galactose) fraction ที่ 2 λ max = 390 mu (osazone ของ xylose)

2.4 ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.2 - 2.3 แต่ครั้งนี้ใช้ หินฟอสเฟตละเอียด ผ่านตะแกรง U.S. standard 100 mesh และใช้

calcium carbonate ชนิด commercial grade ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกันที่กล่าวในข้อ 2.

การทดลองใช้แกสเบสตอสเป็น Adsorbent แยก Cations.

นำแอสเบสตอส มาผสมกับแป้งเปียก (แป้งมันสับปะหลัง 10 กรัม ละลายในน้ำร้อน 200 ml. ที่ 80° C) ในอัตราส่วน 1:1 โดยน้ำหนัก แล้วนำออกจากภาชนะมาปั้นเป็นแผ่นบาง ๆ มีขนาด 10x2x0.5 cm. พยายามให้ความหนาสม่ำเสมอแล้วนำไปตากแดดจนแห้ง เพื่อให้มีลักษณะเป็น asbestos mill board วิธีแยก cations ในสารละลาย ก็โดยการจุ่มแผ่น asbestos ดังกล่าวลงใน mixture ทิ้งไว้ประมาณ 20นาที นำแผ่น asbestos ออกจากภาชนะไปอังที่ hydrogen sulphide gas จะปรากฏแถบสีน้ำตาลดำ จึงทดลองแยก mixture ดังต่อไปนี้

(1) calcium (II) ion 0.05 M. 10 ml. ผสมกับ copper (II)ion 0.05 M. 10 ml.

(2) arsenate ion 0.01 M. 10 ml. ผสมกับ antimony (III)ion 0.01 M. 10 ml.

(3) mercury (I)ion 0.05 M. 5 ml. ผสมกับ lead (II)ion 0.5 M. 5 ml. และ potassium iodide 1 M. 10 ml.

(4) mercury (II)ion 0.02 M. 5 ml. ผสมกับ lead (II)ion 0.02 M. 5 ml. และ potassium iodide 0.2 M. 10 ml.

(5) mercury (II)ion 0.05 M. 5 ml. ผสมกับ copper (II)ion 0.05 M. 5 ml. และ potassium iodide 0.5 M. 10 ml.

(6) lead (II)ion 0.05 M. 5 ml. ผสมกับ copper (II)ion 0.05 M. 5 ml. และ potassium iodide 0.5 M. 10 ml.

(7) copper (II)ion 0.05 M. 5 ml. ผสมกับ iron(III)ion 0.05 M. 5 ml. และ 20 % 1-propanol ในน้ำ 20 ml.

(8) iron (III)ion 0.05 M. 5 ml. ผสมกับ zinc (II)ion 0.05 M. 5 ml. และ ammonium hydroxide 0.1 M. 10 ml.

(9) cobalt (II)ion 0.05 M. 5 ml. ผสมกับ nickel (II)ion 0.05 M. 5 ml. และ 30 % 1-propanol ในน้ำ 30 ml.

(10) manganese (II)ion 0.05 M. 10 ml. ผสมกับ zinc (II)ion 0.05 M. 10 ml.

ปรากฏแถบสีห่างกัน 1.00 cm. ผลการทดลองดูที่บทที่ 4 หน้า 83 - 84

<u>การใช้แป้งมันสำปะหลังเป็น Adsorbent แยก Amino acids</u>

นำแป้งมันสำปะหลังมาล้างด้วย ethanol (95 %) ในอัตราส่วน มันสำปะหลัง 1 กรัม ต่อ ethanol 5 ml. กรองเอาแป้งมันสำปะหลังมาผึ่งอากาศจนแห้งสนิท แล้วจากนั้นนำมาทำเป็น slurry โดยผสมแป้งมันสำปะหลัง กับ 1-butanol ในอัตราส่วน 1 1.50 $^{w}/_{v}$ เกลี่ย slurry บนแผ่นกระจกขนาด 10 x 20 cm. ด้วยแท่งแก้วกลม กวนกุมความหนาของ layer ด้วยเทป (หนา 0.18 mm.) หนึ่งทบ วาง thin-layer plate ไว้ในอากาศจนแห้งจึงนำมา spot (ทำจุด) โดยใช้ capillary tube จุ่มลงใน mixture ชนิดต่าง ๆ ซึ่งได้จากการผสมสารละลาย amino acids ดังนี้

(1) glycine 0.5 % และ L(-) phenylalanine 0.5 % ผสมกันอย่างละ 1 ml. แล้วทำให้ระเหยที่อุณหภูมิ 120° c เพื่อให้ปริมาตรลดลง $\frac{1}{2}$ ของปริมาตรเดิม (เพื่อจากมีแต่สารละลาย 5 % ของ amino acids ไม่มี solid crystal)

(2) L(+) lysiniummonohydrochloride 0.5% L-tryptophan 0.5 % และ L(+) isoleucine 0.5 % ผสมอย่างละ 1 ml. แล้วลดปริมาตรลง $\frac{1}{3}$ ของปริมาตรเดิมเช่นเดียวกับชนิดที่ 1

(3) L(+)aspartic acid 0.5 % และ L(-)-leucine 0.5 % ผสมอย่างละ 1 ml. แล้วลดปริมาตรลง $\frac{1}{2}$ ของปริมาตรเดิมเช่นเดียวกับชนิดที่ 1

ให้แต่ละ spot อยู่ห่างจากขอบของ thin-layer plate 1.50 cm. และอยู่ห่างจาก amino acids ที่บริสุทธิ์ 1.50 cm. เช่นเดียวกัน เมื่อ spot ของ mixture และของ amino acids ที่บริสุทธิ์แห้งดีแล้ว นำไป develop ใน tank ซึ่งบรรจุ eluent ประกอบด้วย 1-butanol-glacial acetic acid-น้ำกลั่น (60.15.25 v/v) ไว้แล้วเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ใช้เวลา develop 4 ชั่วโมง จึงนำ chromatogram ออกจาก tank ทำเครื่องหมาย solvent front แล้วปล่อยให้ chromatogram แห้งในอากาศ จากนั้นspray ด้วย ninhydrin 0.2 %ใน acetone และอบที่ 80°c เป็นเวลา 5 นาที จะปรากฏ spot สีม่วงของ amino acids ที่แยกตัวออกจาก mixture วิเคราะห์ชนิดของ amino acids โดยเทียบกับ individual amino acid วัดระยะ solvent front และระยะ migrate จากจุดเริ่มต้นของ amino acids ผลการทดลอง และค่า R_f โดยเฉลี่ย แสดงไว้ในหน้า 160

การใช้กระดาษซับหนึกสีขาวราบน้ำ (Seahorse blotting paper) เป็น Inert supporter.

การทดลองใช้กระดาษซับหนึกสีขาว เป็น Paper Chromatogram. ได้แบ่งการทดลองตามชนิดสารเคมีที่จำแนกดังนี้

1. การทดลองแยกสาร organic
2. การทดลองแยกสาร inorganic

1. การทดลองแยกสาร Organic

1.1 การแยกสารเคมีพวก indicators

ตัดกระดาษซับหนึกสีขาวเป็นรูปสี่เหลี่ยมกางหมู ขนาด 22x12x7 cm. ต่อปลายด้านกูขนานยาว 7 cm. ด้วยกระดาษโรเนียว (ชนิด 80 ปอนด์ อย่างดี) ขนาด 7 x 5 cm. โดยวิธีเย็บให้กระดาษทั้งสองชนิดนี้เกยกัน 0.5 cm. ด้วยด้ายสีขาว และยาขนาดให้รูเข็มห่างกัน 3 mm. ขีดเส้นดินสอห่างจากปลายกระดาษโรเนียวด้านที่เกยกับกระดาษซับหนึก 0.5 cm. เพื่อเป็นแนวสำหรับทำจุด (spot) สารเคมีที่จะนำมาแยก ในการแยก indicators ได้ผสมสารละลาย indicators ใน alcohol เป็น mixture ดังนี้

(1) นำสารละลาย phenolphthalein 0.5 % bromophenol blue 0.5 %, phenol red 0.5 % และ methylene blue 0.2 % อย่างละ 0.5 ml. มาผสมกัน

(2) นำสารละลาย bromothymol blue 0.5 %, methyl orange 0.5 %, indigo carmine 0.2 % อย่างละ 0.5 ml. มาผสมกัน

(3) นำสารละลาย cresol red 0.5 %, methylene blue 0.5 % อย่างละ 0.5 ml. มาผสมกัน

(4) นำสารละลาย bromocresol green 0.5 %, malachite green 0.2 % และ congo red.

ใช้ capillary tube จุ่มลงใน mixture แต่ละชนิด ทำไปทำจุด (spot) ที่แนวเริ่มต้น ทำจุด individual indicator ลงบน chromatogram เดียวกัน เว้นระยะเปรียบเทียบให้แต่ละ spot อยู่ห่างกัน 2.00 cm. และให้ spot มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางไม่เกิน 0.5 cm. วาง chromatogram ไว้ในอากาศที่มีอุณหภูมิ โดยเฉลี่ยตลอดทั้งวัน 30.0° C และ มีความชื้นสัมพัทธ์ 79.50* จน spot แห้งดีจึงนำไป develop ใน tank** ซึ่งบรรจุ eluent ประกอบด้วย 1-butanol-ethanol (95 %)-ammonia solution 2 N. (60: 20:20 v/v 100ml.(ใน petridish ซึ่งวางไว้ที่ส่วนกลางของ tank 2ใบ เพื่อให้ทุกส่วนอิ่มตัว ก่อน ค่อย chromatogram) ไว้นานเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (solvent saturation) เมื่อแนวของตัวทำละลาย (solvent front) ขึ้นสูงประมาณ 22-24 cm. (ประมาณ 14 - 16 ชั่วโมง) จึงเอา chromatogram ออกจาก tank เพื่อทำเครื่องหมาย solvent front ทำ chromatogram ไปอังที่ปากขวด ammonia เข้มข้น 27 % หรือ spray ด้วย sodium hydroxide 1.0 N. จนเกิดการเปลี่ยนสีของแต่ละจุดกึ่งกลาง spot วัดระยะการเคลื่อนที่ของ indicator แต่ละชนิด และวัดระยะ solvent front คำนวณหาค่า R_f แสดงในตาราง 14 (หน้า 87)

---

* เอกสารกรมอุตุนิยมวิทยา ประจำเดือน เมษายน และฤดูกาล กรมอุตุนิยมวิทยา, สำนักนายกรัฐมนตรี, พ.ศ. 2513

** Tank ทำด้วยโหลแก้วทรงกลมเส้นผ่าศูนย์กลาง 21 cm. สูง 33 cm. มีฝาปิด ทำจากแผ่นกระจกขนาด 25x25 cm. ผู้ใช้ปากโหลด้วยดินน้ำมัน (ป้องกันการระเหย) แขวน chromatogram ด้วยเส้นด้ายสีขาวที่ถ่วงปากโหล ที่ฝาโหลมี petridish ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 cm. วางคู่ 2ใบ เพื่อใส่ eluent.

1.2 การแยกสารเคมีจาก Amino acids.

เตรียม Chromatogram โดยใช้กระดาษวัตแมนสีขาว ตัดขนาดด้วยกระดาษโรเนียว 80 ปอนด์อย่างดี เช่นเดียวกับข้อ 1.1 ผสม amino acids ชนิดต่าง ๆ ที่ละลายในน้ำกลั่นเป็น mixture ดังนี้

(1) L(+)-lysinumonohydrochloride 0.5 %, glycine 0.5 % , L-tryptophan 0.5 % , L-methionine 0.5%, และ L(-)-leucine 0.5 % อย่างละ 1 ml.

(2) L(+)-aspartic acid 0.5 % , L(-)-threonine 0.5 % , L-methionine 0.5 % และ L(+)-isoleucine 0.5 % อย่างละ 1 ml.

(3) glycine 0.5 % , L-methionine 0.5 % และ L(-)-phenylalanine 0.5 % อย่างละ 1 ml.

เมื่อผสมเรียบร้อยแล้ว ดูปริมาตรของ mixture แต่ละชนิดลง 1/2 ของปริมาตรเดิมโดยอบที่อุณหภูมิ 120° C เพื่อให้ mixture เข้มข้น (เว้นจากขณะทำการทดลองไม่มี amino acids ที่อยู่ในรูป solid crystal ที่จะนำมาเตรียมให้มีความเข้มข้นมากกว่า 0.5 % มีแต่สารละลาย 0.5 % ดังกล่าว)

นำ mixture แต่ละชนิดไปทำจุด (spot) individual amino acid เพื่อเปรียบเทียบ และวิเคราะห์ตำแหน่งของ amino acid ที่แยกจาก mixture การทดลองครั้งนี้ นำที่อุณหภูมิเฉลี่ยตลอดวัน 31.10° C ความชื้นสัมพัทธ์ 83.10 develop ใน tank ซึ่งบรรจุ eluent ประกอบด้วย 1-butanol-glacial acetic acid - น้ำกลั่น (4:1.5 $^{v}/_{v}$)* ไว้นาน 5 ชั่วโมง หลังจาก

---

* ตัวทำละลายชนิด two phase system ปรากฏแยกเป็นสองชั้น

solvent front ขึ้นสูงประมาณ 22 c.. (ประมาณ 14 - 16ชั่วโมง) เอา chromatogram ออกจาก tank ทำเครื่องหมายตำแหน่งของ solvent front เมื่อปล่อยให้ตัวทำละลายแห้ง chromatogram แห้งดีแล้ว spray ด้วย ninhydrin 0.2 % ใน acetone จุ่มหัว อบที่อุณหภูมิ 105° C เป็นเวลา 5 นาที หาตำแหน่งของ amino acid ที่แยกจาก mixture โดยเปรียบเทียบกับ individual amino acid วัดระยะการเคลื่อนที่ของ amino acid และระยะ solvent front เช่นเดียวกับข้อ 1.1 ผลการแยกและค่า R_f แสดงในตาราง 15 (หน้า 89)

1.3 การแยกสารเคมีพวกน้ำตาล

เตรียม chromatogram โดยใช้กระดาษวัตแมนเบอร์ 1 ตัดปลายด้วยกระดาษโรเนียวขนาด 80ปอนด์อย่างดี เช่นเดียวกับข้อ 1.1 ผสมน้ำตาลชนิดต่าง ๆ ที่บริสุทธิ์ ซึ่งละลายในน้ำดังนี้

(1) D-xylose 10 % , D-galactose 10 % และ lactose 10 % อย่างละ 1 ml.

(2) D-sorbose 10 % และ maltose 10 % อย่างละ 1 ml.

(3) fructose 10 % และ sucrose 10 % อย่างละ 1 ml.

(4) D-glucose 10 % และ maltose 10 % อย่างละ 1 ml.

ทำจุด (spot) ของ mixture ชนิดต่าง ๆ เช่นเดียวกับการทดลอง ข้อ 1.1 แต่การทดลองครั้งนี้ทำจุดครั้งแรก แล้วปล่อยให้แห้งในอากาศ แล้วทำจุดซ้ำที่เดิม ทำเช่นนี้รวม 5 ครั้ง เพื่อให้ spot มีปริมาณน้ำตาลเข้มข้นมากขึ้น การทดลองครั้งนี้ทำที่อุณหภูมิเฉลี่ย ตลอดวัน 29.10° C ความชื้นสัมพัทธ์ 89.10 develop ใน tank ซึ่งบรรจุ eluent ประกอบด้วย 1-propanol-ethyl acetate

- น้ำกลั่น(6:1:3 v/v) ไว้แช่เป็นเวลา 3 ชั่วโมง หลังจาก solvent front ขึ้นสูงประมาณ 21 cm. (ประมาณ 14 ชั่วโมง) จึงเอา chromatogram ออกจาก tank ทำเครื่องหมายแนวตั้งทำระยะ เพื่อประโยชน์ใน eluent บน chromatogram ระเหยจนแห้งดีแล้ว จึง spray ด้วย mixture ของ aniline 4 % ใน ethanol (95 %), diphenylamine 4 % ใน ethanol (95 %) และ phosphoric acid เข้มข้น ในอัตราส่วน 5:5:1 โดยปริมาตร จบ chromatogram ที่อุณหภูมิ 80° C เป็นเวลา 5 นาที หาจุดกึ่งกลาง spot วัดระยะที่น้ำตาลเคลื่อนที่ และ solvent front เช่นเดียวกับข้อ 1.1 ผลการแยก และค่า R_f แสดงในตาราง 16 (หน้า 91)

1.4 <u>การแยกสารเคมีพวก Phenolic Compounds</u>

เตรียม chromatogram โดยใช้กระดาษวัตแมนเบอร์ 1 ตอนปลาย ด้วยกระดาษโรเนียวชนิด 80ปอนด์อย่างดี เช่นเดียวกับ ข้อ 1.1 ผสม phenolic compounds ที่มีคุณสมบัติชนิดต่าง ๆ ดังละลายใน ether ดังนี้

(1) gallic acid 1 % , pyrogallol 1 % , catechol 1 % , และ α-napthol 1 % อย่างละ 1 ml.

(2) gallic acid 1 % , hydroquinone 1 % , catechol 1 % และ α-napthol 1 % อย่างละ 1 ml.

(3) resorcinol 1 % , catechol 1 % และ α-napthol 1 % อย่างละ 1 ml.

ทำจุด (spot) mixture ชนิดต่าง ๆ เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1 แต่การทดลองครั้งนี้ เมื่อทำจุดครั้งแรกแล้ว วาง chromatogram ไว้ในลากาทจน spot แห้ง แล้วทำจุดซ้ำที่เดิม รวม 5 ครั้ง ทุกครั้งต้องให้ spot มีขนาดเสียกาน

จึงทำจุด การทดลองครั้งนี้ ทำที่อุณหภูมิเฉลี่ยตลอดวัน 30.30° c ความชื้นสัมพัทธ์ 86.90 develop ใน tank ซึ่งบรรจุ eluent ประกอบด้วย carbontetrachloride-glacial acetic acid (16:4 v/v)100ml. ใน petridish 2 ใบ ซึ่งบรรจุใน tank ใบละ 50 ml. (run 2 chromatograms เรียบกัน) หลังจาก solvent front ขึ้นสูง ประมาณ 25 cm. (ประมาณ 14 ชั่วโมง) นำ chromatogram ออกจาก tank ทำเครื่องหมายตำแหน่ง solvent front แล้ววางไว้ในตู้ดูดควันจน eluent บน chromatogram ระเหยหมด จึง spray ด้วย ferric chloride 1 % ละลายใน hydrochloric acid 0.1 n. ใน ethanol (95 %) จนปรากฏสีของ spot ชนิดต่าง ๆ ทำจุดกึ่งกลางของ spot วัดระยะ solvent front และวัดระยะการเคลื่อนที่ของ phenolic compound แต่ละชนิด ผลการแยก และค่า R_f แสดงในตาราง 17 (หน้า 92)

1.5 <u>การแยกสารเคมีพวก Glyceride</u>

เตรียม chromatogram โดยใช้กระดาษกรองสีขาว ตัดปลายด้วยกระดาษโรเนียว 80 ปลอด์ ลักษณะเช่นเดียวกับการทดลอง ข้อ 1.1 ผสม organic acids ที่บริสุทธิ์ แต่ละชนิดซึ่งละลายใน ethanol (95 %) ดังต่อไปนี้ oxalic acid 2 %, tartaric acid 2 %, citric acid 2 %, maleic acid 2 %, lactic acid 2 % และ fumaric acid 2%อย่างละ 1 ml. นำ mixture ชนิดนี้ ไปทำจุดแทน chromatogram และทำจุดของ individual organic acid เช่นเดียวกับการทดลองข้อ 1.1 แต่ในการทำจุด mixture เมื่อ spot แห้ง ทำจุดซ้ำที่เดิมรวม 3 ครั้ง ทุกครั้งต้องให้ spot แห้งเสียก่อน จึงทำจุดที่เดิม การทดลองครั้งนี้ ทำที่อุณหภูมิเฉลี่ยตลอดวัน 31.60°c ความชื้นสัมพัทธ์ 83.10 developใน tank ที่บรรจุ eluent ประกอบด้วย 1-butanol-formic acid เข้มข้น - น้ำกลั่น (10:2:5 v/v) 100 ml.(ใน

petridish 2 ใบ ซึ่งบรรจุใน tank ใบละ 50 ml.) ไว้แล้ว เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังจาก solvent front มาถึง chromatogram ไว้ในอากาศ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จน eluent และ formic acid ระเหยหมด แบ่ง chromatogram เป็น 2 ส่วน (ส่วนละ 5 chromatograms) เพื่อเปรียบเทียบการใช้ detecting reagent สองชนิด ดังนี้ พวกที่ 1 spray ด้วย 0.04 % bromocresol green ใน ethanol (60 %) ทำให้ pH เป็น 7 ด้วย sodium hydroxide 10 % (หยดทีละหยด) ปรากฏเป็น spot สีเหลืองบนพื้นสีน้ำเงิน อีกพวกหนึ่ง spray ด้วย aniline 5 กรัม ผสมกับ D-xylose 5 กรัมใน ethanol (95 %) 100 ml. แล้วนำไปอบที่ 105° C เป็นเวลา 5 นาที จะปรากฏเป็น spot สีน้ำตาลแกมแดงเข้มสีน้ำตาลอ่อน บางจุดกึ่งกลางของ spot วัดระยะ solvent front และระยะการเคลื่อนที่ของ organic acids ผลการแยก และค่า R_f แสดงในตารางที่ 13 (หน้า 94)

2. <u>การทดลองแยกสาร Inorganic</u>

2.1 <u>การแยก Cations ใน Copper subgroup</u>

เตรียม chromatogram โดยใช้กระดาษ ขับเบ็กสีขาว ตัดปลายด้านกระดาษโรเทียว 80 ปอนด์ ขนาดเดียวกับการทดลองในข้อ 1.1 ทุกประการ ผสม cations ชนิดต่าง ๆ เป็น mixture ดังนี้ lead nitrate 0.01 M. , copper nitrate 0.05 M., bismuth subnitrate 0.05 M., cadmium nitrate 0.25 M. และ mercuric nitrate 0.05 M. อย่างละ 1 ml. ทำจุด (spot) mixture ให้ห่างจาก individual cation 2.00 cm. การทดลองนี้ ทดลองที่อุณหภูมิเฉลี่ยตลอดวัน 27.50° C ความชื้นสัมพัทธ์ 95.40 develop ใน tank ซึ่งบรรจุ eluent ประกอบด้วย

1-butanol-isopropanol-hydrochloric acid 3 N. (45:45:10 %v) 100 ml. ใน petridish 2 ใบ ซึ่งบรรจุใน tank ใบละ 50 ml. สำหรับ 2 chromatogram) หลังจาก solvent front ขึ้นสูง 22 cm. นำ chromatogram ออกจาก tank ทำเครื่องหมาย solvent front แขวน chromatogram ไว้ในตู้กาลจน eluent บน chromatogram แห้งสนิท จึง spray ด้วยน้ำกลั่นเล็กน้อย แล้วอัง chromatogram ด้วย hydrogen sulphide gas จน spot เกิดสีชัดเจน หาจุดกึ่งกลางของ spot วัดระยะ solvent และวัดระยะการเคลื่อนที่ของ cations ผลการแยกและค่า R_f แสดงในตาราง 20; (หน้า 97)

2.2 <u>การแยก cations ใน Arsenic subgroup</u>

เตรียม chromatogram โดยใช้กระดาษซับหมึกสีขาว ต่อปลายด้วยกระดาษโรเบียว 80 ปอนด์ อย่างดี เช่นเดียวกับการทดลองใน 1.1 ทุกประการ ผสม cations ชนิดต่าง ๆ ดังนี้ stannic chloride 0.05 N., antimony trichloride 0.05 M. และ sodium arsenite 0.02 N. อย่างละ 1 ml. ทำจุด mixture ชนิดนี้ และ individual cation เช่นเดียวกับการทดลองข้อ 1.1 การทดลองครั้งนี้ทำที่อุณหภูมิเฉลี่ยตลอดคืน 28.60°C ความชื้นสัมพัทธ์ 87.00 develop ใน tank ซึ่งบรรจุ eluent ประกอบด้วย 1-butanol 50 ml. ผสมน้ำกลั่น 50 ml. และ tartaric acid 6 กรัม เขย่าด้วย separatory funnel เป็นเวลา 15 นาที (ใน Petridish 2 ใบ ซึ่งบรรจุใน tank ใบละ 50 ml.) หลังจาก solvent front ขึ้นสูงประมาณ 22 - 23 cm. (ประมาณ 14 ชั่วโมง) นำ Chromatogram ออกจาก tank ทำเครื่องหมายตำแหน่ง solvent front อัง chromatogram ด้วย hydrogen sulphide gas จนสีของ spot ปรากฏชัดเจน หาจุดกึ่งกลาง

spot วัดระยะ solvent front และวัดระยะการเคลื่อนที่ของ cations ผล การแยก และค่า R_f แสดงในตาราง 19 (หน้า 96)

2.3 <u>การแยก cations ใน Nickel Subgoup และ cations ตัวอื่น ๆ</u>

เตรียม chromatogram โดยใช้กระดาษบิบหมึกสีขาวตอปลายด้วย กระดาษโรเทียว 80 ปอนด์อย่างดี เช่นเดียวกับการทดลอง ข้อ 1.1 ผสม cations ชนิดต่าง ๆ เป็น mixture ดังนี้

(1) ผสมสารละลายต่อไปนี้ nickel sulphate 0.05 M., cobalt nitrate 0.05 M., manganese nitrate 0.05 M., zinc sulphate 0.05 M. อย่างละ 1 ml.

(2) ผสมสารละลาย chromium sulphate 0.05 M. และ cadmium nitrate 0.05 M. อย่างละ 1 ml.

แล้วนำ mixture ชนิดต่าง ๆ ดังกล่าวนี้ และ individual cation ไปจุด บน chromatogram เช่นเดียวกับการทดลองข้อ 1.1 การทดลองนี้ ทำที่อุณหภูมิ เฉลี่ยตลอดวัน 29.70° C ความชื้นสัมพัทธ์ 82.30 develop ใน tank ซึ่ง บรรจุ eluent ประกอบด้วย 10 % hydrochloric acid 6 l. ใน acetone 100 ml. (ใน petridish 2 ใบ ซึ่งบรรจุใน tank ใบละ 50 ml.) ไว้แล้วเป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังจาก solvent front ขึ้นสูง 21 - 22 cm. นำ chromatogram ออกจาก tank แขวนไว้ในอากาศจนแห้งดี จึง spray ด้วย 8-hydroxyquinolin 0.5 % ใน ethanol (60 %) จนปรากฏสีเขียว ปนเหลืองของ spot วัดระยะ solvent front และระยะการเคลื่อนที่ของ cations ชนิดต่าง ๆ ผลการแยกและค่า R_f แสดงในตาราง 21 (หน้า 98)

2.4 การแยก Anions

เตรียม chromatogram โดยใช้กระดาษซับหนึกสีขาว ตอปลาย ด้วยกระดาษโรเนียวชนิด 80 ปอนด์ เช่นเดียกับการทดลอง ข้อ 1.1 ผสม anions ชนิดต่าง ๆ ดังนี้

(1) ผสมสารละลาย potassium fluoride 3 % potassium bromide 1 %, potassium chloride 1 % และ potassium iodide 1% อย่างละ 1 ml.

(2) ผสมสารละลาย potassium fluoride 3 %, potassium bromide 1 %, potassium chloride 1 %, potassium thiocyanate 1 % อย่างละ 1 ml.

นำ mixture ชนิดต่าง ๆ และ individual anion ไปจุดบน chromatogram เช่นเดียวกับการทดลอง ข้อ 1.1 แต่ครั้งนี้ เมื่อ spot แห้ง ทำจุดของ mixture ซ้ำที่เดิม รวม 5 ครั้ง ทุกครั้งต้องรอให้ spot แห้งเสียก่อนจึงจุดซ้ำ การทดลองนี้ทำที่อุณหภูมิเฉลี่ยตลอดวัน 30.10 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 81.60 develop ใน tank ที่บรรจุ eluent ประกอบด้วย 1-butanol-pyridine-ammonia 1.5 N. (2.1:2 v/v) 100 ml. ใน petridish 2 ใบ วางบรรจุอยู่ใน tank ใบละ 50 ml. (สำหรับ 2 chromatogram) ไว้แล้วเป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังจาก แนวตัวทำละลายขึ้นสูง 23 - 25 cm. (14 - 16 ชั่วโมง) นำ chromatogram ออกจาก tank ทำเครื่องหมายตำแหน่ง solvent front แล้วแขวนไว้ในตู้ดูดควันให้ eluent บน chromatogram ระเหยจนแห้ง จึง spray ด้วย ferric nitrate 0.03 M.-hydrogen peroxide 3 % (1:1 v/v) จะปรากฏสีแดงของ spot thiocyanate และสีน้ำเงินของ iodide ion ทำเครื่องหมาย แสดงตำแหน่งของ spot ดังกล่าว จากนั้นปล่อยให้ chromatogram

แห้งสนิทจึง spray ด้วย silver nitrate 0.1 M. ทำให้สีของ spot thiocyanate หายไป เกิดปฏิกริยาเป็นตะกอนของ anions ทั้ง 5 ซึ่งเป็นเกลือเงินที่ไม่ละลายน้ำ นำ chromatogram ไปแช่ใน nitric acid 0.5 M. เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อขจัด silver (I) ion ที่ปรากฏบน chromatogram มากเกินพออกไป แล้วนำ chromatogram ไปอังที่ hydrogen sulphide gas จะเห็น spot ของเกลือ silver halide ดังนี้ iodide spot มีสีเหลือง, bromide spot มีสีขาว, chloride spot มีสีขาว, และ fluoride spot มีสีเหลือง บนพื้นสีน้ำตาลปนดำ หาจุดกึ่งกลาง spot วัดระยะการเคลื่อนที่ของ anion และ วัดระยะ solvent front ผลการแยกและค่า R_f แสดง ในตาราง 22 (หน้า 100)

บทที่ 4

อภิปรายผลการทดลอง

การศึกษาค้นคว้าเรื่องนี้ ได้แบ่งตามชนิดของสารธรรมชาติ และสารราคาถูก ดังต่อไปนี้

1 การใช้ดินขาว (Kaolin) เป็น Adsorbent.

ดินขาว (kaolin) ที่ใช้เป็น adsorbent เพื่อการแยกสารเคมี สำหรับ Chromatography มีแหล่งกำเนิดที่จังหวัดระยอง จากการศึกษาค้นคว้าของ เรืองศักดิ์ วัชรางค์[48] โดยการนำดินขาวจากแหล่งต่าง ๆ ในประเทศไทย มาวิเคราะห์ สารประกอบ เช่น ดินขาว (kaolin) ที่เหมาะสมในที่ต่าง ๆ ส่วนใหญ่เป็นแร่ที่ไม่ค่อยสะอาด กล่าวคือ มีจำพวก silicondioxide สูง และ aluminium oxide ต่ำ โดยยกตัวอย่างการวิเคราะห์แร่ดินขาวจากแหล่งจังหวัดเชียงราย ดังนี้

Silicondioxide	68.00 %
Aluminium oxide	25.00 %
Iron oxide (Fe_2O_3)	1.00 %
Calcium oxide	0.20 %
Manganese oxide	0.01 %
Magnesium oxide	none

นอกจากนี้ บางแหล่งยังมีแร่เซรามิกปริมาณสูงปนอยู่ คุณลักษณะอันนี้จึงทำให้ ดินขาว (kaolin) จากแหล่งต่าง ๆ ในประเทศไทย ไม่เหมาะในการนำไปใช้ใน

---

[48] เรืองศักดิ์ วัชรางค์ ข่าวสารการงานรัฐ 9 (7) 58 - 65 กรกฎาคม 2507.

อุตสาหกรรมทำ alumina เมื่อเปรียบเทียบกับดินขาว (kaolin) ของต่างประเทศ เช่นดินขาวที่ได้จากแหล่งแร่ South Carolina ประเทศสหรัฐอเมริกา มี aluminium oxide เป็นส่วนประกอบ 37.94 %[49] สำหรับชนิดอ่อน และ 39.25 % สำหรับชนิดแข็ง

เมื่อพิจารณาถึงการใช้ดินขาว (kaolin) เป็น adsorbents ใน Chromatography พบว่ามีผู้ทดลองใช้ในรายงานต่างๆ แต่ความคิดเห็นว่าใช้ไม่ได้ผลดีเท่าที่ควรนำมาใช้ในวงแคบ ตัวอย่างเช่นการศึกษาของ Spronov[50] โดยอาศัยกรรมวิธีสมัยใหม่ เช่น X-ray, Spectroscopy และ Electron-microscope ผลการศึกษาโดยสรุป ปรากฏว่าดินขาว เป็น adsorbent ที่มีประสิทธิภาพต่ำ แต่เนื่องจากผู้เขียนบางท่านศึกษาการใช้ดินขาว เป็น adsorbent ใน Chromatography เพื่อใช้ในการเรียนการสอนวิชาเคมี และผู้เขียนได้ตั้งสมมุติฐานว่า การที่ดินขาวในประเทศไทยมี silicon dioxide ปริมาณมากกว่าดินขาวในต่างประเทศ ดังนั้น silicon dioxide iron oxide, calcium oxide และ manganese oxide ซึ่งเป็นส่วนประกอบของดินขาวในประเทศไทย ก็อาจจะมีบทบาทเป็น adsorbent ได้ จึงได้ดำเนินการทดลองค้นคว้าหาประสิทธิภาพ ตามความมุ่งหมายดังกล่าว

จากการศึกษาด้วยวิธี Column Chromatographic Technique และ Thin-layer Chromatographic Technique โดยใช้ดินขาว (kaolin)

---

[49] Huber , J.N., Kaolin Clays and their Industrial Uses., pp. 20 - 21

[50] Spronov , V.I., Tkachenko , E.A., and Suchin , V.N., op.cit. pp. 33 - 34

จากแหล่งแร่จังหวัดระนองเป็น adsorbent ปรากฏผลดังต่อไปนี้

1.1 Column Chromatography

ดินขาวที่ล้างด้วยน้ำกลั่นยางสะอาด (ดูจากผนวก ก หน้า114) เมื่อใช้เป็น adsorbent ใน Column Chromatography สามารถแยกสาร organic จำพวก indicators ซึ่งได้แก่ phenolphthanlein, bromophenol blue, bromothymol blue, cresol red, phenol red, indigo carmine, congo red และ methylene blue จากการผสม indicatorบริสุทธิ์ แต่ละชนิดโดยใช้อัตราส่วนเท่ากันเป็น mixture ปรากฏว่าดินขาวจากจังหวัดระนอง สามารถแยก indicators ที่ผสมกันสี่ชนิด (component สูงสุด) ให้เป็น indicator ที่บริสุทธิ์แต่ละแถบสี (band) หรือ fraction ได้ มีลักษณะแถบสีสวยงามไม่กังกรือมีดเบี้ยว แต่ละแถบสีอยู่ในตำแหน่งที่ห่างกันอย่างน้อยที่สุด 1.00 ซ.ม. แม้ว่าจะใช้ column ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางต่างกัน (เส้นผ่าศูนย์กลาง 7 ม.ม. และ 12 ม.ม.) เมื่อเปรียบเทียบผลการแยก ผลที่ได้ไม่แตกต่างกันแต่อย่างใด indicators ที่นำมาแยกเมื่ออยู่ใน column จะมีสภาวะเป็น basic form อันเนื่องจากการใช้ eluent, ethanol (95%)-ammonia เข้มข้น (33%) ในอัตราส่วน 9:1 โดยปริมาตร จากการศึกษาเปรียบเทียบการใช้ดินขาว (kaolin) จากจังหวัดระนอง และดินขาวชนิด commercial grade (British drugHouse company) แยก indicators ผสมในการ pack column ดินขาวจากจังหวัดระนอง pack ได้ง่าย และเสียเวลาการ pack น้อยกว่าดินขาวชนิด commercial grade คุณลักษณะของแถบสี (band) ของ indicator และตำแหน่งที่แยกตัวบริสุทธิ์ ของแถบสี (band) ใน column ที่ใช้ดินขาวจากจังหวัดระนองเป็น adsorbent สวยงามชัดเจนกว่าใน column ที่ใช้ดินขาวชนิด commercial grade ทั้งนี้แถบสีไม่มีลักษณะแผ่กระจาย แต่ละแถบสีอยู่ห่างกัน 1.00 ซ.ม. เป็นอย่างน้อยที่สุด สามแถบสีที่ปรากฏใน column

ของดินขาว commercial grade มีลักษณะตรงกันข้ามและแถบสีอยู่ห่างจากกัน อย่างมากที่สุดประมาณ 0.9 - 1.00 เซ็นติเมตร ผลการทดลองแยก indicators ซึ่งเป็นสารมีสีตามผลการทดลองของ Rohland[51] ที่พบว่าดินขาวมี adsorptive activity ต่อสาร organic ที่มีสีแตกต่างกัน ในการทดลองใช้ดินขาว (Kaolin) จังหวัดระยอง แยกสาร inorganic ซึ่งได้แก่ cobalt, copper, iron, cadmium, lead และ manganese ใน column ปรากฏผล คือ ในการแยก cobalt (cobalt nitrate) กับ copper (copper sulphate) เข้มข้น 0.5 M. โดยผสมปริมาณเท่ากันนั้น cobalt ถูก elute ออกมาปรากฏเป็นสีชมพูบน glass wool หรือ ส่วนที่ส่วนล่าง column ก่อนเมื่อใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย และเมื่อ effluent (สิ่งที่รองรับได้จาก column) ของ cobalt fraction elute ออกมาหมดแล้ว ไม่ปรากฏว่ามี copper หรือ cobalt ที่อยู่ใน effluent ซึ่งอยู่ระหว่าง cobalt fraction กับ copper fraction ทั้งนี้เนื่องจากการวิเคราะห์ด้วยวิธี spectrophotometry* (spectronic 20) พบว่า effluent ส่วนนี้ไม่มี Maximum adsorption spectrum แสดงว่าใด copper fraction สามารถ elute จาก column ได้ก่อนการ develop ตกเที่ยงโดยใช้ ammonium carbonate 0.1 molar เป็นตัวทำละลาย ผลการทดลองนี้ตรงตาม

---

[51] Rohland , P., op. cit., pp. 40 - 42.

* ใช้เครื่อง Spectronic 20 ของบริษัท Bausch and Lomb, Rochester New York, Wavelength accuracy 2.5 millimicrons
Photometric accuracy (Linearity) ± 2.5 %
Photometric Reproducibility ± 1 %

ผลการทดลองของ Gapon[52] ทุกประการ ยกเว้นการรายงานการสังเกตสีที่เขา กล่าวว่า เมื่อ develop ด้วยน้ำกลั่นไปชั่วระยะเวลาหนึ่ง cobalt zone จะปรากฏเป็นสีชมพูที่ส่วนล่างของ column ส่วน copper zone จะปรากฏเป็นสีเขียวปนน้ำเงินจาง ๆ ที่ส่วนบน column จากการทดลองด้วยดินขาวจังหวัดระนอง และชนิด commercial grade ปรากฏว่าบดงไม่เห็นสีใด ๆ เลย เมื่อสารทั้งสองอยู่บน adsorbent และ elute ด้วยน้ำกลั่น จะสามารถมองเห็นสีได้ก็ต่อเมื่อ cobalt zone ปรากฏบน glass wool ส่วน copper zone เมื่อถูก elute ด้วย ammonium carbonate 0.1 N. จึงจะเห็นตะกอนางแหวนสีน้ำเงิน เมื่อ develop ต่อไป copper zone elute ออกมาในรูปตะกอน Carbonate การทดลองส่วนนี้จึงเป็น precipitation chromatography ได้ทำการทดลองขยายขอบเขตการทดลองของ Gapon ออกไป โดยการวิเคราะห์ cobalt fraction และ copper fraction ด้วยวิธี Spectrophotometry (ดูข้อมูลและภาพในภาคผนวก ข หน้า 117-124) พบว่า maximum absorption ของ cobalt fraction จาก column ดินขาวจังหวัดระนองอยู่ที่ Wavelength 510 millimicrons และ Maximum absorption ของ cobalt บริสุทธิ์อยู่ที่ wavelength 510 millimicrons ส่วน copper fraction ที่ elute จาก column ดินขาวที่ maximum absorption อยู่ที่ wavelength 325 millimicrons และ copper ที่เตรียมบริสุทธิ์ มี maximum absorption อยู่ที่ wavelength 325 millimicrons จากสรุปได้ว่าดินขาวจังหวัดระนอง สามารถแยก

---

[52] Gapon , E.N., and Chernikova , T.N., op. cit., pp. 26 - 28.

cobalt จาก copper ได้บริสุทธิ์ ได้ผลดีกว่าแยก system อื่น ๆ ดังนี้ ferric ion - cobalt (II)ion, ferric ion- manganese (II)ion - lead (II)ion, และ lead (II)ion - cobalt (II)ion ปรากฏว่า system ferric ion - cobalt(II)ion นั้นแยกได้เช่นเดียวกับ system cobalt(II)ion-copper(II)ion แต่ไม่สามารถ elute ferric ion ออกมาได้ แม้จะใช้ potassium ferricyanide-0.1 M. เป็น eluent ก็ตาม สำหรับ system ferric ion- manganese(II)ion-lead(II)ion นั้นเมื่อ develop ด้วยสารละลายอิ่มตัวของ hydrogen sulphide gas ปรากฏว่าบางส่วนแยกจากกันแต่บางส่วนยังติดกัน ซึ่งไม่เหมาะที่จะใช้ในการเรียนการสอนเวิชาเคมี ส่วน system lead(II)ion-cobalt(II)ion ผลการแยกเหมือนกับ ferric ion-cobalt(II)ion ซึ่ง elute ด้วยน้ำกลั่นตามด้วยสารละลายอิ่มตัวของ hydrogen sulphide gas หรือ ammonium sulphide 0.01M. ในการทดลองที่กล่าวมาแล้วทั้งหมด วิธีตรวจหา (detect) แถบสี (band) บน column ใช้วิธีสังเกตุสีถือเป็นคุณลักษณะของโลหะพวก transition -element อาทิเช่น cobalt มีสีชมพู ferric ion มีสีเหลือง ส่วนสารที่ไม่มีสีบน column เช่น ในกรณีของ copper(II)ion, lead(II)ion และ manganese(II)ion นั้นเมื่อการเกิดสีเมื่อสารเหล่านี้ ทำปฏิกริยากับตัวทำละลาย ดังนี้ copper ทำปฏิกริยากับ ammonium carbonate 0.1 M. ให้ตะกอนสีน้ำเงินแก่ lead(II)ion และ manganese ทำปฏิกริยากับ ammonium sulphide 0.01 M. หรือ สารละลายอิ่มตัวของ hydrogen sulphide gas ให้สีดำ และสีเนื้อ ตามลำดับ ส่วน ferric ion ทำปฏิกริยากับ potassium ferricyanide 0.1 M. ให้สีน้ำเงิน (prussian blue) ปรากฏบน column อย่างชัดเจน

1.2 Thin - layer Chromatography

ดินขาวจากจังหวัดระนอง เมื่อนำมาทำเป็น slurry จะแตกต่างจากดินขาวการค้า commercial grade ตรงที่ดินขาวจากจังหวัดระนอง ถ้าแช่ทิ้งไว้ในตัวทำละลาย (ethanol(95%) หรือน้ำ) จะไม่ปรากฏเป็นเม็ดดินขาวเล็ก ๆ เหลืออยู่ แต่จะมีฟองอากาศเกิดขึ้นมากบริเวณที่ขอบภาชนะ ส่วนดินขาวการค้า commercial grade มีฟองอากาศเกิดขึ้นน้อยกว่าแต่ไม่สามารถจะขจัดเม็ดดินขาวเล็ก ๆ โดยการกวน หรือบดให้แตกจากกันได้ง่าย เพราะหลังจากแตกจากกันแล้ว ก็จะเข้ารวมตัวเป็นเม็ดเล็ก ๆ อีก เมื่อนำ adsorbent ในลักษณะ slurry มาฉาบ plate ให้เป็น layer (ดูการทดลอง) ปรากฏว่าดินขาวการค้า commercial grade เกาะ plate ได้ดีกว่าการค้าที่ได้จากจังหวัดระนอง ดังนั้น การทดลองนี้จึงปรับปรุงการใช้ดินขาวจังหวัดระนองโดยการผสมยิปซัมในอัตราส่วน 9 1 โดยน้ำหนัก เมื่อให้ยิปซัม (gypsum) ทำหน้าที่ binding[53] (รายเกาะ) ดินขาวจังหวัดระนอง เมื่อใช้เป็น adsorbent ใน Thin - layer Chromatography สามารถแยกสาร organic จำพวก indicators ซึ่งได้แก่ phenolphthalein, bromophenol blue, phenol red, indigo carmine, congo red, methylene blue, bromothymol blue, methyl orange, methyl red, thymol blue, alizalin yellow, crystal viloet, malachite green และ cresol red

---

[53] Truter, Vernon, E., Thin-Film Chromatography., pp. 17 - 18.

*ยิปซัม (Gypsum) จากจังหวัดอุตรดิตถ์ บดละเอียด แล้วร่อนด้วยเครื่องแลง U.S. Standard 70 mesh.

เมื่อใช้ตัวทำละลาย 1-butanol-glacial acetic acid – น้ำกลั่น (60.15:25 v/v *) สามารถแยก indicators ออกจากกัน เมื่อนำ indicators ดังกล่าวมาผสมกัน ทั้งแต่สองชนิดถึงสี่ชนิด (ดูบทที่ 3 การทดลอง หน้า 26-27) การทดลองได้กำหนดสภาวะ (condition) สองประการ คือplate ธรรมดา และ plate ที่ activate ** นอกจากนี้ยังแบ่งออกเป็น plate ที่ใช้ดินขาวจังหวัดระนองล้วน, ดินขาวผสมแร่ยิบซัม (9:1 โดยน้ำหนัก) และดินขาว commercial grade จากการหาค่า R_f ค่าเฉลี่ยจากการทดลองสิบครั้ง (ดูภาคผนวก ช หน้า 136) แสดงในตาราง 4 ซึ่งจะเห็นได้ว่า การใช้ดินขาวจังหวัดระนองล้วนเป็น adsorbent ใน Thin-layer plate จะได้ค่า R_f ต่างจากการใช้ดินขาวจังหวัดผสมแร่ยิบซัม (9:1 w/w) เล็กน้อย R_f ที่ได้จากการใช้ดินขาว commercial grade และดินขาวจังหวัดระนองล้วน แตกต่างกันบ้างมาก ใน indicatorsบางชนิด Thin-layer plate ที่ใช้ดินขาวล้วน และดินขาวผสมแร่ยิบซัมได้ค่า R_f เกือบจะไม่ต่างไปจาก Thin - layer plate ที่ activate ถึง 200° C เป็นเวลา 20 นาที แต่รูปราง spot ลักษณะการแยกตัวของแต่ละ indicator จาก Thin - layer plate ที่ใช้ดินขาวจังหวัดระนองผสมแร่ยิบซัม และ thin - layer plate ที่ activate จะดีกว่า thin - layer plate ชนิดอื่น ๆ สิ่งที่สำคัญที่สุดก็คือ ค่า R_f ที่ได้จากดินขาวชนิด commercial grade เป็นค่าไม่สูงแน่นอน ทั้งนี้เพราะการบดหรือสังเกต solvent front ทำได้ยากกว่า thin - layer plateที่วาดด้วยดินขาวจังหวัดระนอง methyl orange, crystal violet และmalachite green ปรากฏบน chromatogram มีทางยาว 3.00 - 4.00 ซ.ม. โดย

---

* โดยปริมาตร

** นำ Thin-layer plate ไปอบที่ 200องศาเซนติเกรด เป็นเวลา 20 นาที

ตาราง . 4 แสดงค่า Rf x 100 ที่ได้จากการทดลองแยก Indicators โดยใช้ดินขาวในสภาวะต่าง ๆ และดินขาว Commercial grade

Sys--tem	Indicators	Rfx100 จากการใช้ดินขาวล้วน	Rfx100 จากการใช้ดินขาวผสม Gypsum (9.1 โดยน้ำหนัก)	Rfx100 จากการใช้ดินขาวล้วน Activate 200°	Rfx100 จากการใช้ดินขาวผสม Gypsum activate 200°	Rfx100 จากการใช้ดินขาว Commer--cial--grade
1	phenolph--thalein	89	91	87	91	85
	bromophenol blue	81	86	81	84	81
	phenol red	73	80	73	77	76
	indigc--carmine	0	0	0	0	0
2	bromothymol--blue	85	88	85	88	84
	methyl--orange	26*(tai--ling)	34(tai--ling)	20(tai--ling)	28(tai--ling)	40(tai--ling)
	methyl red	03	06	02	06	05
	congo red	0	0	0	0	0
3	thymol blue	84	88	84	87	81
	crystal-	06(tai--ling)	06(tai--ling)	05 (tai--ling)	05 (tai--ling)	07(tai--ling)
4	bromocresol green	82	87	83	86	83
	malachite green	09(tai--ling)	09 (tai--ling)	08(tai--ling)	08(tai--ling)	13 (tai--ling)
	methylene blue	0	0	0	0	0
5	cresol red	78	84	80	83	80
	congo red	0	0	0	0	0

*Spot ของ Methyl Orange มีหางยาว 4.00 ซม.

Crystal violet และ Malachite green มีหางยาว 1.00-1.50 ซม.

เฉพาะอย่างยิ่ง crystal violet ซึ่งมีรายงานจากจุฬา Origin.

การแยก amino acids ด้วยดินขาวจังหวัดระนองนั้นว่าได้ผลดีจากการทดลองแยก mixture ที่ประกอบ amino acids ที่บริสุทธิ์ ซึ่งได้แก่ L(-)-leucine, L(+)-lysinemonohydrochloride, glycine, L-tryptophan และ L-methionine เป็น mixture ที่ 1 L(+)-aspartic acid, L-threonine, L-methionine, และ L(+)-isoleucine เป็น mixture ที่ 2 glycine, L-methionine และ L(-)phenylalanine เป็น mixture ที่ 3 เนื่องจากไม่มี amino acids ที่บริสุทธิ์ในรูป solid crystal มีแต่สารละลายของ amino acids 0.5 % ซึ่งมีความเข้มข้นต่ำ เมื่อนำมาผสมกันจึงใช้วิธีระเหยแห้ง mixture แล้วละลายปริมาตรโดยการอุ่นที่ 120°C ดังแสดงในการทดลองหน้า 29 mixture ดังกล่าวสามารถนำมาแยกเป็น amino acid ที่บริสุทธิ์ได้ เมื่อใช้ solvent 1-butanol-glacial acetic acid - น้ำกลั่น (60:15:25 v/v) เมื่อเทียบจากดินขาวจังหวัดระนองมีสีเหลืองเจือปนเล็กน้อย และดินขาวล้วนเกาะ plate ไม่ดี การทดลองนี้จึงใช้เฉพาะดินขาวจังหวัดระนองผสมแร่ยิปซัม (9:1 โดยน้ำหนัก) เพราะทำให้ adsorbent มีสีขาวยิ่งขึ้น ได้ค่า R_f โดยเฉลี่ยจากการทดลองสี่ครั้ง ดังแสดงในตาราง 5 จากการทดลองแยก amino acids ด้วยดินขาวจังหวัดระนองผสมแร่ยิปซัม (gypsum) (9:1 %w) ได้ผลดีกว่าดินขาว commercial grade ในด้านรูปร่าง spot กล่าวคือ เข้าตรวจหา (detect) ด้วย ninhydrin reagent spot มีสีเข้มและเห็นได้ชัดเจนกว่า ค่า R_f ของ amino acids ที่ได้จากการทดลอง activate ที่ 200°C วางจาก thin-layer plate ที่ไม่ activate เพียงเล็กน้อย

ในการทดลองแยก inorganic cations จำเป็นต้องผสมแร่ยิปซัมลงในดินขาวจังหวัดระนอง ทั้งนี้เพราะต้องใช้น้ำเป็น solvent ซึ่งทำให้ดินขาวล้วนที่เป็น layer ตามขอบ plate ร่วงลงไปจากแผ่นกระจก ดินขาวที่

ตาราง 5 แสดงค่า Rf x 100 ที่ได้จากการแยก Amino acids โดยใช้ดินขาวจังหวัดระนองในสภาวะต่าง ๆ และดินขาวชนิด Commercial grade เป็น Adsorbent

System	Amino acids in mixture	Rfx100 จากการใช้ดินขาวผสมแร gypsum (9:1 w/w)	Rfx100 จากการใช้ดินขาวผสมแร Gypsum (9:1 w/w) activate 200°c	Rfx100 จากการใช้ดินขาว Commercial-grade
1	L(-)-leucine	67	70	72
	L-tryptophan	64	68	-
	L-methionine	47	50	21
	L(+)aspartic acid	08	08	08
	L(+)-lysiniummono-hydrochloride	01	02	04
2	L(+)-aspartic acid	08	08	08
	L-threonine	22	25	36
	L-methione	47	50	21
	L(+)-isoleucine	68	71	70
3	glycine	01	01	01
	L-methionine	47	50	21
	L(-)phenylalanine	65	69	70

* ไม่แยกจาก Methionine.

ผสมสาร binder (เรียบร้อย) สามารถแยกสารบวก inorganic cations ได้หลาย systems การแยกแต่ละ system ที่มีประสิทธิภาพขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของกรดในตัวทำละลาย ดังแสดงในตาราง 6 ปรากฏผลการทดลองแยกในลักษณะที่ cations แยกตัวออกจากกันอย่างสมบูรณ์ เมื่อตรวจหา spot (detect) ด้วย hydrogen sulphide gas ใน **thin** - layer plate ทั้งสองสภาวะ คือ activate และไม่ activate copper(II)ion เมื่อผสมกับ cations อื่น ๆ ใน mixture จะมีค่า R_f แตกต่างจากค่า R_f ของ individual copper(II)ion อย่างเห็นได้ชัด ดังแสดงค่าเฉลี่ยในตาราง 7 และ 8 นอกจากนี้ copper(II)ion และ cadmium(II)ion เมื่ออยู่ใน mixture ของ cations ที่ต่างชนิดกันจะทำให้ค่า R_f ต่างกัน แม้ว่าจะใช้ตัวทำละลายชนิดเดียวกันก็ตาม (ดูค่า R_f โดยเฉลี่ยในตาราง 7 และ 8) ข้อที่น่าสังเกตุก็คือขนาดของ spot เริ่มแรกและระยะเวลาที่ต้องทำละลาย (solvent) อยู่ใน tank มีผลต่อการแปรผันของค่า R_f โดยเฉลี่ยจากการทดลอง 10 ครั้ง ของการใช้ **thin** - layer plate ที่ activate และไม่ activate เปรียบเทียบค่า R_f ในตาราง 7 และ 8 พบว่าค่า R_f ที่ได้จากดินขาวจังหวัดระยองผสม gypsum (9:1 $^{w}/_{w}$) activate ที่ 200°C แตกต่างจาก R_f ที่ได้จากดินขาวดังกล่าวที่ไม่ได้ activate อย่างสูงสุด 0.08 ซึ่งได้แก่ cadmium(II)ion ใน mixture ของ cadmium(II)ion, silver(I)ion และ nickel(II)ion นอกนั้นแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย นอกจากนี้ยังได้ทดลองแยก iron(II)ion จาก cobalt(II)ion จากการทดลองพบว่าจะแยกได้แต่เหล็กจากดินขาวไม่ขึ้นกับการ detect หา spot ของ iron(III)ion จึงทำให้ค่า R_f ใน system นี้ ในกรณีที่ทดลองใช้ดินขาวชนิด **commercial grade** ทดลองแยก inorganic cations ตามชนิดของ system ดังกล่าว

ตาราง 6 แสดงการผสม Inorganic cations เป็น System ต่าง ๆ และการใช้ตัวทำละลาย

System	สารละลาย Inorganic cations ในmixture	ปริมาณ ผสม หยด (drops)	ตัวทำละลายที่ใช้ทดลองแยก
1	mercury(II)ion 0.05 M.	10	น้ำกลั่น 50 ml. ผสมกรดเกลือ
	copper(II)ion 0.05 M.	10	เข้มข้น (Density 1.16)
	mercury(I)ion 0.05 M.	10	10 หยด* (0.3ml.)
2	mercury(II)ion 0.05 M.	10	น้ำกลั่น 50 ml. ผสมกรดเกลือ
	arsenic(III)ion 0.02 M.	10	เข้มข้น (Density 2.26)
	copper(II)ion 0.05 M.	10	8 หยด (0.24 ml.)
	bismuth(III)ion 0.05 M.	10	
3	cadmium(II)ion 0.25 M.	5	น้ำกลั่น 50 ml. ผสมกรดเกลือ
	arsenic(III)ion 0.02 M.	10	เข้มข้น (Density 1.16)
	copper(II)ion 0.05 M.	10	10 หยด (0.3 ml.)
	lead(II)ion 0.05 M.	10	
4	cadmium(II)ion 0.05 M.	10	น้ำกลั่น 50 ml. ผสมกรดเกลือ
	silver(I)ion 0.05 M.	10	เข้มข้น (Density 1.16)
	nickel(II)ion 0.05 M.	10	10 หยด (0.3 ml.)
5	antimony(III)ion 0.05 M.	10	น้ำกลั่น 50 ml. ผสมกรดเกลือ
	stannic(IV)ion 0.05M.	10	เข้มข้น (Density 1.16)
			15 หยด (0.45 ml.)

* จากการตวงด้วย Graduated Cylinder ขนาด 10 ml. ±0.02 ml. 10 กรั้งแล้วเฉลี่ย ปรากฏว่า 1 หยดจาก Eye-droper เท่ากับ 0.03 ml.

ตาราง 7 แสดงค่า Rf x 100 เฉลี่ยจากการทดลอง 10 ครั้ง ของ Inorganic cations แยกโดย Thin-layer plate ที่ไม่ Activate

Sys--tem	Inorganic cations ใน mixture	Rf x 100	ตัวทำละลายที่ใช้ทดลองแยก
1	mercury(II)ion	86	น้ำกลั่น 50 ml. ผสมกรดเกลือ
	copper(II)ion	66	เข้มข้น (Density 1.16)
	mercury(I)ion	00	10 หยด (0.3 ml.)
2	mercury(II)ion	91	น้ำกลั่น 50 ml. ผสมกรดเกลือ
	arsenic(III)ion	75	เข้มข้น (Density 1.16)
	copper(II)ion	58 Indivi--dual,28	8 หยด (0.24ml.)
	bismuth(III)ion	17	
3	cadmium(II)ion	89	น้ำกลั่น 50 ml. ผสมกรดเกลือ
	arsenic(III)ion	68	เข้มข้น (Density 1.16)
	copper(II)ion	45(indivi--dual,43)	10 หยด (0.3 ml.)
	lead(II)ion	00	
4	cadmium(II)ion	65	น้ำกลั่น 50 ml. ผสมกรดเกลือ
	nickel(II)ion	49	เข้มข้น (Density 1.16)
	silver(I)ion	00	10 หยด (0.3 ml.)
5	tin(IV)ion	73	น้ำกลั่น 50 ml. ผสมกรดเกลือ
	antimony(III)ion	00	เข้มข้น (Density 1.16)
			15 หยด (0.45 ml.)

ตาราง 8 แสดงค่า Rf x 100 เฉลี่ยจากการทดลอง 10 ครั้ง ของ Inorganic Cations แยกโดย Thin-layer plate ที่ Activate.

System	Inorganic Cations ใน mixture	Rf x 100	ตัวทำละลายที่ใช้ทดลองแยก
1	mercury(II)ion	80	น้ำกลั่น 50 ml. ผสมกรดเกลือ
	copper(II)ion	68	เข้มข้น (Density 1.16)
	mercury(I)ion	00	10 หยด (0.3 ml.)
2	mercury(II)ion	94	น้ำกลั่น 50 ml. ผสมกรดเกลือ
	arsenic(III)ion	81	เข้มข้น(Density 1.16)
	copper(II)ion	71(Individual,46)	หยด (0.24 ml.)
	bismuth(III)ion	13	
3	cadmium(II)ion	90	น้ำกลั่น 50 ml. ผสมกรดเกลือ
	arsenic(III)ion	65	เข้มข้น(Density 1.16)
	copper(II)ion	42	10 หยด (0.3 ml.)
	lead(II)ion	00	
4	cadmium(II)ion	73	น้ำกลั่น 50 ml. ผสมกรดเกลือ
	nickel(II)ion	58	เข้มข้น(Density 1.16)
	silver(I)ion	00	10 หยด (0.3 ml.)
5	tin(IV)ion	81	น้ำกลั่น 50 ml. ผสมกรดเกลือ
	antimony(III)ion	00	เข้มข้น(Density 1.16)
			15 หยด (0.45 ml.)

พบว่าไม่สามารถแยกจากกันได้สมบูรณ์ เพราะ cation บางชนิดจะอยู่ที่จุดเริ่มต้น (origin) และที่เหลือจะขึ้นไปทับกันบน solvent front จึงมิได้นำค่าจากการทดลองแยกวิธีนี้มาเปรียบเทียบ

กล่าวโดยสรุปจะเห็นว่าดินขาวจากจังหวัดระนอง เมื่อนำมาใช้เป็น adsorbent ใน Thin-layer Chromatography ได้ผลดี และใช้ได้กว้างกว่าดินขาวชนิด commercial grade เหมาะที่จะเอาไปทดลองเพื่อฝึกหรือสาธิตในการเรียนการสอนวิชาเคมี

2. <u>การใช้ผงชอล์คสำหรับเขียนกระดานดำ (Calcium sulphate pencil) และแร่ยิบซัม (Hydrated calcium sulphate เป็น Adsorbent</u>

ชอล์คสำหรับเขียนกระดานดำและแร่ยิบซัม (gypsum) เป็นสารประกอบทางเคมีที่มีชื่อว่า calcium sulphate ทั้งสองชนิดผิดกันเล็กน้อยตรงที่ชอล์คเป็น calcium sulphate ที่ขาดน้ำเรียกว่า annydride ส่วนแร่ยิบซัมเป็น hydrated calcium sulphate มีน้ำอยู่ในผลึกสองโมเลกุลมีชื่อเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า "เกลือจืด"[54] เนื่องจากสารทั้งสองชนิดนี้มีสีขาว และสามารถบดเป็นผงได้จึงนำมาใช้เป็น adsorbent ทั้งชอล์คและแร่ยิบซัม (gypsum) ที่ใช้ในการทดลองนี้มีแหล่งกำเนิดที่อำเภอน้ำปาก จังหวัดอุตรดิตถ์ เกี่ยวกับ Column Chromatography เมื่อใช้ adsorbent ทั้งสองนี้แยกพวก indicators และพวก inorganic cations ไม่ได้ผลดีแต่ประการใด เพราะโดยปกติ calcium sulphate เป็น adsorbent ที่มี adsorptive capacity ต่ำประการหนึ่ง อีกประการหนึ่งการแยกนั้นขึ้นอยู่กับคุณลักษณะของตัวทำละลาย ในการศึกษาครั้งนี้จึงมุ่งเฉพาะ Thin-layer Chromatography แต่อย่างเดียว

---

[54] อำนาจ มีกุล ข่าวสารโลหกิจ 5(5):1 (พิเศษ) พุทธศักราช 250?

Thin - layer Chromatography

เมื่อนำซอลด์ที่ล้างสะอาด (ดูจากหมวด ก หน้า 114) มาทำ thin - layer plate ปรากฏว่า ซอลด์เกาะแผ่นแก้วได้ดีเหมือนกับ calcium sulphate ชนิด commercial grade จากการทดลองแยก indicators โดยการใช้ซอลด์เป็น adsorbent ปรากฏผลดีกว่าสามารถแยก indicators ออกจาก mixture ได้ 4 ชนิด ซึ่งได้แก่ congo red (มีค่า R_f เท่ากับ methylene blue และ indigo carmine) malachite green (มีค่า R_f เท่ากับ crystal violet), methyl orange, bromophenol blue (มีค่า R_f เท่ากับ bromothymol blue, thymol blue และ phenol red) indicators บางชนิดซึ่งได้แก่ methyl orange และ crystal violet มีหางยาวจากจุด origin ไปหาตัว indicator บางตัวเช่น congo red ซึ่งมีค่า R_f เท่ากับ 0 เมื่อการแยกด้วย adsorbent ชนิดนี้ไม่ได้ผลดีเท่าดินขาว แต่ก็ใช้สาธิตการทดลองได้ เพราะเสียเวลาการ develop น้อยกว่าดินขาวจึงหวังระบาย ได้แสดงการหาค่า R_f เฉลี่ยไว้ใน ตาราง 9 เมื่อเปรียบเทียบการแยก indicators ของผงซอลด์กับ calcium sulphate ชนิด commercial grade ซึ่งเป็นผลจากการใช้สภาวะการทดลอง (condition) และตัวทำละลายซึ่งได้แก่ 1-butanol-glacial acetic acid-น้ำกลั่น (60:15:25 $^{v}/_{v}$) เหมือนกัน พบว่าผงซอลด์เขียนกระดาษตำราสามารถแยก mixture ที่มี indicators สี่ชนิดผสมกันให้อยู่ในตำแหน่งบริสุทธิ์ ได้สี่ตำแหน่ง (spot) ส่วน calcium sulphate ชนิด commercial grade แยกได้เพียงสองตำแหน่งเท่านั้น (ดูค่า R_f ใน ตาราง. 9) การทดลองใช้ thin-layer plate activate ที่ 200° C และที่ไม่ activate ได้ผลต่างกันเพียงเล็กน้อย จนเกือบจะไม่แตกต่างกัน

ตาราง 9 แสดงค่า Rf x 100 (เฉลี่ยจากการทดลอง 10 ครั้ง) ของ Indicators ตามชนิดของ Adsorbent และสภาวะของ Thin-layer plate (Solvent, n-Butanol-Glacial Acetic acid-water 60:15:25 $^{v}/_{v}$)

System	Indicators	Rf x 100 จากการใช้ผงซอลค เขียนกระดานดำ โดยไม่ Activate	Rf x 100 จากการใช้ผงซอลค เขียนกระดานดำ Activate ที่ 200° C	Rf x 100 จากการใช้ Calcium-sulphate ชนิด Commercial grade
1	bromothymol blue	93	94	99
	methyl orange	89	88	99
	crystal violet	18(tailing)	19(tailing)	99
	indigo carmine	00	00	00
2	bromophenol blue	93	94	99
	malachite green	18(tailing)*	19(tailing)	99
	congo red	00	00	00
3	thymol blue	93	94	99
	methyl orange	89	88	99
	crystal violet	18(tailing)	19(tailing)	99
	methylene blue	00	00	00

*มีหางยาวแต่ยาวไม่ถึง 1.00 ซม.

ในกรณีที่ใช้ยิบซัม เป็น adsorbent โดยการบดด้วย Motar โดยไม่แล่งพบว่าไม่ได้ผลดี จำเป็นต้องนำมาแล่งด้วยเครื่องแล่ง U.S.Standard 100 mesh (ดูภาคผนวก ค หน้า115) จึงจะนำมาใช้เป็น adsorbent ใน Thin-layer Chromatography ได้ adsorbent ชนิดนี้ แยกสารเคมีพวก indicators ได้เช่นเดียวกับผงชอล์คเขียนกระดานดำ แต่อย่างไรก็ดี แร่ยิบซัมมีความสามารถในการแยก indicators แตกต่างจากการแยก โดยผงชอล์คเขียนกระดานดำ ตรงที่แร่ยิบซัมสามารถแยก mixture ที่มี indicators ผสมกันเพียงสามชนิด ให้อยู่ในตำแหน่งที่บริสุทธิ์สามตำแหน่ง (spots) ในขณะที่ผงชอล์คเขียนกระดานดำแยกได้สี่ตำแหน่ง (spots) การทดลองแยก indicators ด้วยแร่ยิบซัมใช้ตัวทำละลาย 1- butanol -glacial acetic acid -water (60:15:25 $\%_v$) เช่นเดียวกับการแยกด้วยผงชอล์คเขียนกระดานดำ ค่า R_f โดยเฉลี่ยจากการทดลอง 10 chromatograms แสดงในตาราง 10 พบว่าเมื่อทดลองแยกด้วย thin-layer plate โดย activate ที่ 200 องศาเซ็นติเกรด กับ thin-layer plate ที่ไม่ activate ค่า R_f ต่างกันเพียงเล็กน้อย สิ่งที่น่าสังเกตุได้แก่ ความผิดพลาดในการวัดด้วยไม้บรรทัดชนิดทั่วไปที่มีมาตราส่วน 1/10 เซ็นติเมตร จะส่งผลให้ค่า R_f ในแต่ละ chromatogram แตกต่างจากค่า R_f โดยเฉลี่ย $\pm$ 0.03 ทุกการทดลองด้วย Thin-layer Chromatography

การแยกสารเคมีพวก inorganic cations ด้วยการใช้ผงชอล์ค (calcium sulphate pencil) ที่นำมาบดและล้างสะอาด (ดูภาคผนวก ก หน้า 114) แล้วใช้เป็น adsorbent ใน Thin-layer Chromatography ได้ผลตรงกับการทดลองของ Sen[55] แม้ว่าเขาจะมิได้ปรับปรุงแท่งชอล์คเขียนกระดานดำที่ทดลองแต่ประการใด ผงชอล์คเขียนกระดานดำตราช้างดังกล่าวสามารถแยก inorganic cations ที่นำมาผสมกันสองชนิดใน System ต่อไปนี้

---

[55] Sen, B.N., op. cit., pp. 183 - 185.

ตาราง 10 แสดงค่า Rfx100 (เฉลี่ยจากการทดลอง 10 Chroma-togram) ตามชนิดของ Adsorbent และสภาวะของ Thin - layer plate (solvent,-1-Butanol-Glacial acetic acid-water 60:15.25 $^{v}_{v}$)

System	Indicators	Rfx100 จากการใช้ยิบซัมโดยไม่ Activate	Rfx100 จากการใช้ยิบซัมโดย Activate ที่ 200 c	Rfx 100 จากการใช้ Calcium-sulphate ชนิด commer-cial grade.
1	bromophenol blue	97	94	99
	crystal violet	89	91	99
	methylene blue	00	00	00
2	phenolphthalein	97	97	99
	malachite green	90	92	99
	congo red	00	00	00
3	phenol red	96	85	99
	crystal violet	89	91	99
	indig- carmine	00	00	00
4	bromothymol blue	97	94	99
	crystal violet	89	91	99
	methylene blue	00	00	00

copper(II)ion-cadmium(II)ion, bismuth(III)ion-arsenic(III)ion, mercury(II)ion-antimony(III)ion, cadmium(II)ion-antimony(III) ion,arsenite ion-antimony(III)ion mercury(II)ion-copper(II)ion และ iron(III)ion-copper(II)ion ผลการแยก inorganic cationsแต่ละsystem ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของกรด ในน้ำกลั่น 50 ml. ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้ แต่ละ system จึงใช้ปริมาณกรดเกลือเข้มข้น (จำนวนหยด) แตกต่างตามชนิดของ mixture และทำให้ค่า R_f โดยเฉลี่ย แตกต่างกัน (ดูตาราง 11 - 13)ค่า R_f โดยเฉลี่ยที่ได้จาก system bismuth(III)ion-arsenite ion, cadmium(II) ion-copper(II)ion, cadmium(II)ion-antimony(III)ion, antimony(III)ion-arsenite ion ใน thin-layer ที่ activate เมื่อเปรียบเทียบกับค่า R_f โดยเฉลี่ยใน thin-layer plate ที่ไม่activate พบว่าแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด โดยเฉพาะอย่างยิ่ง system mercury(II)ion--antimony(III)ion ไม่สามารถแยกจากกันได้ใน thin-layer plate ที่ activate ที่ 200°C เมื่อเปรียบเทียบการแยก inorganic cations โดยใช้ผงซอล์คเป็น adsorbent กับการใช้ calcium sulphate ชนิด commercial grade ปรากฏผลของค่า R_f ที่ได้แตกต่างกัน และเมื่อใช้ calcium sulphate ชนิด commercial gradeไม่สามารถแยก system iron(III)ion-copper(II)ion ได้

ในการใช้แร่ยิบซัมจากแหล่งแร่จังหวัดอุตรดิตถ์ทดลองแยกสารเคมีพวก inorganic cations พบว่าสามารถแยกได้ในวงแคบกว่าผงซอล์ค และ calcium sulphate ชนิด commercial grade กล่าวคือสามารถแยกได้เพียง 3 System ดังนี้ bismuth(III)ion-arsenite ion, arsenite ion--antimony(III)ion และ mercury(II)ion-copper(II)ion เท่านั้น เมื่อทำการ activate แร่ยิบซัมที่ 200°C ผลการแยกซึ่งหมายถึง

ตาราง 11 แสดงค่า Rf x 100 (ค่าเฉลี่ยจาก 10 Chromatograms) ของสารเคมีพวก Inorganic Cations จากการใช้ซวัลคเซียนกระดานดำเป็น Adsorbent

ลำดับที่	Inorganic Cations	Rfx100 HCl^* เข้มข้น 1 หยด	Rfx100 HCl^* เข้มข้น 3 หยด	Rfx100 HCl^* เข้มข้น 10 หยด	Rfx100 HCl^* เข้มข้น 15 หยด	Rfx100 HCl^* เข้มข้น 20 หยด	Rfx100 ใช้ตัวทำละลาย Potassium ferri-cyanide 0.1 M.
	Unactivated Thin-layer plate						
1	cadmium(II)ion	-	91		93	-	-
2	copper(II)ion	-	19		-	-	00
3	mercury(II)ion	-	-	96	-	-	94
4	bismuth(II)ion	10	-	-	-	-	-
5	arsenate ion	87	-	-	-	95	-
6	iron(III)ion		-	-	-	-	94
7	antimony(III)ion		-	19	25	15	-
	Activated Thin-layer plate						
1	cadmium(II)ion	-	89	-	91	-	
2	copper(II)ion	-	34	-	-	-	17
3	mercury(II)ion	-	-	-	-	-	97
4	bismuth(II)ion	22	-	-	-	-	-
5	arsenate ion	93	-	-	-	80	-
6	iron(III)ion	-	-	-	-	-	95
7	antimony(III)ion	-	-		12	13	-

*ใช้ตัวทำละลาย น้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ผสมกรดเกลือเข้มข้น (density 1.16) เพื่อใช้ในการ Develop (1 หยด= 0.03 มิลลิลิตร)

ตาราง 12 แสดงค่า Rf x 100 (ค่าเฉลี่ยจาก 10 Chromatograms) ของสารเคมีพวก Inorganic Cations จากการใช้ Calcium Sulphate ชนิด Commercial Grade

ลำดับที่	Inorganic Cation	Rfx100 HCl* เข้มข้น 2 หยด	Rfx100 HCl* เข้มข้น 3 หยด	Rfx100 HCl* เข้มข้น 10 หยด	Rfx100 HCl* เข้มข้น 15 หยด	Rfx100 HCl* เข้มข้น 20 หยด	Rfx100 ใช้ตัวทำละลาย Potassium Ferricyanide 0.1 M.
1	Cadmium(II)ion	-	94	-	87	-	
2	copper(II)ion	-	00	-	-	-	00 (tailing)**
3	arsenate ion	88	-	-	-	80	
4	bismuth(III)ion	00	-	-	-	-	
5	antimony(III)ion	-	-	00	00	00	
6	mercury(II)ion	-	-	83	-	-	94
7	iron(III)ion***	-	-	-	-	-	-

* จากการใช้น้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ผสมกรดเกลือเข้มข้น (density 1.16) เป็นตัวทำละลาย

** เกิดหางยาวปลายแหลมโดยสารส่วนใหญ่อยู่ที่จุด origin

***Iron(III)ions ไม่แยกจาก Copper(II)ions เมื่อใช้ Potassium Ferricyanide เป็น ตัวทำละลาย

ตาราง 13 แสดงค่า Rf x 100(ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 10 Chromotograms) ของสารเคมีพวก Inorganic-Cations จากการใช้ยิบซัม จังหวัดอุดรดิตถ์เป็น Absorbent.

ลำดับที่	Inorganic Cations	Rfx100 จากการใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่น50 ml. +HCl เข้มข้น 1 หยด (0.03 ml.)	Rf จากการใช้ตัวทำละลาย น้ำกลั่น 50 ml. + HCl เข้มข้น3 หยด (0.03 ml.)	Rfx100 จากการใช้ตัวทำละลาย .Potassium-Ferricya--nide 0.1 Molar
	Unactivated Thin - layer plate			
1	bismuth(III)ion	24	-	-
2	arsenite ion	97	94	-
3	antimony(III)ion	-	00	-
4	mercury(II)ion	-	-	96
5	copper(II)ion	-	-	08
	Activated Thin - layer plate			
1	bismuth(III)ion	00	-	-
2	arsenite ion	92	84	-
3	antimony(III)ion	-	00	-
4	mercury(II)ion	-	-	94
5	copper(II)ion	-	-	00

รูปร่างของ spot และค่า R_f จะมีความแตกต่างกันในกรณีของ bismuth(III)ion กับ arsenite ion (ดูตาราง 13)อย่างเห็นได้ชัด

3. <u>การใช้หินอ่อนหรือแร่คัลไซท์ (Marble or Calcite) เป็น Adsorbent</u>

หินอ่อน หรือแร่คัลไซท์ ที่นำมาใช้เป็น adsorbent ในการศึกษาครั้งนี้ มีแหล่งกำเนิดที่จังหวัดสระบุรี มีชื่อทางเคมีว่า calcium carbonate[56] และมีชื่อทางวิชาแร่ว่า crystalline limestone มีสารอื่นเจือปนปริมาณน้อยมาก เนื่องจากหินอ่อนเมื่อบดเป็นผงไม่สามารถนำมาใช้กับ Thin-layer Chromatographic Technique ได้ เพราะไม่จับแผ่นแก้ว จึงนำมาใช้เป็น adsorbent สำหรับ Column Chromatography แต่เพียงอย่างเดียว โดยทดลองแยกสารเคมีสองชนิด ดังต่อไปนี้

o 3.1 ใช้เป็น adsorbent สำหรับ Column Chromatography แยกสารเคมีวัตถุ leaf pigment ซึ่งได้แก่ chlorophyll-a, chlorophyll-b และ xanthophylls โดยการใช้ column ที่บรรจุ adsorbent 3 ชนิด ซึ่งได้แก่ sucrose อยู่บนสุด ถัดลงมาเป็นหินอ่อน (ดูภาคผนวก ก หน้า 115) อยู่ลำดับที่สองตอนกลาง column และลำดับสุดท้ายด้านล่างของ column บรรจุ ดินขาว (kaolin) จังหวัดระนอง (ดูหน้า 3) การใช้หินอ่อนเป็น adsorbent เพื่อนำเอาสิ่งที่สกัดได้จากใบตอง โดยใช้ light petroleum (boiling point 60-80°C)-benzene extract ที่ทำให้เข้มข้นใส่ลงใน column ซึ่งกลางแล้ว develop ด้วย light petroleum-benzene (4.1 $\frac{v}{v}$) จะปรากฏแถบสี (bands) บน column ดังนี้ ส่วนบนสุดของ column ปรากฏแถบสีเขียวอ่อน (สีเขียวปนเหลือง) ของ chlorophyll-b บน sucrose แถบสีเขียวแก่

---

[56] เคมีสารโคเคมิจสำหรับประชาชน ฉบับที่ 2 ตุลาคม 2500 กรมโคเคมิจ กระทรวงอุตสาหกรรม

ปรากฏเป็นแถบสีเขียวบนสิ่งไม่แก่ chlorophyll-a แถบสีเหลืองบนหินว่างส่วนล่าง ได้แก่ xanthophylls และแถบสีส้มปนชมพูบนหินขาว จึงนำวัตถุดิบ เช่น extract จากใบหม่อนแห้ง ถ้าบดหินอ่อนที่บดละเอียดไปแล้วด้วยเครื่องบด U.S. Standard 100 mesh ทำให้การแยกสมบูรณ์ดีกว่าหินอ่อนที่ไม่ได้บด แต่เสียเวลา develop มากกว่าประมาณ 2 ชั่วโมง (หินอ่อนที่ไม่ได้บด ใช้เวลา develop 6 ชั่วโมง) เมื่อทดลองแยกสารเคมีพวก leaf pigments โดยใช้ calcium carbonate commercial grade เป็น adsorbent ได้ผลเช่นเดียวกับการใช้หินอ่อนทุกประการ

3.2 ใช้เป็น adsorbent สำหรับ Column Chromatography แยกสารเคมีพวก osazone ของน้ำตาล glucose, galactose, xylose และ sorbose โดยการละลาย osazone (ดูรายละเอียดใน บทที่ 3) ของน้ำตาลชนิดต่าง ๆ ด้วย chloroform แล้วนำสารละลาย osazone เข้มข้นใส่ใน column ที่บรรจุหินอ่อน develop ด้วย 3% ethanol (95%) ใน chloroform และ 5% ethanol ใน acetone ผสม chloroform และ acetone ตั้งกราฟแท่งเทา ๆ กัน ปรากฏผลดังนี้ใน mixture ที่มี osazone ของ galactose, xylose, glucose และ sorbose สามารถ elute ด้วยตัวทำละลาย ดังกราฟได้สูง fraction จากการวัดหา maximum adsorption ด้วยวิธี Spectrophotometry พบว่า fraction ที่ 1 ซึ่ง elute ออกมากกว่า maximum absorption spectrum ที่ wavelength 325 millimicrons (ภาพ 4 ภาคผนวกหน้า 127) fraction ที่ 2 มี maximum absorption spectrum ที่ wavelength 390 millimicrons เมื่อวัดหา maximum absorption spectrum จากการเอา osazone ของ galactose ที่บริสุทธิ์ซึ่งยังไม่ได้ผ่าน column หินอ่อน ปรากฏผล คือ maximum absorption spectrum อยู่ที่

wavelength 325 millimicrons (ดูภาพในภาคผนวก ข หน้า 125-135) และ osazone ของ mixture ที่ได้จากการเอาสารละลาย osazone ของ glucose, xylose และ sorbose บริสุทธิ์ผสมในปริมาณเท่า ๆ กัน ปรากฏจากการวัดหา maximum absorption spectrum อยู่ที่ wavelength 390 millimicrons จากผลอันนี้พอจะอนุมานได้ว่า fraction ที่ 1 ที่แยกได้คือ osazone ของ galactose และ fraction ที่ 2 คือ mixture ของ osazone ของ glucose, xylose และ sorbose จึงทดลองแยกอีก system ก็อแยก mixture ที่มี osazone ของ galactose และ xylose ผสมกันเพียงสอง component โดยใช้ตัวทำละลายเช่นเดียวกับ system แรก ผลคือแยกได้สอง fraction เช่นเดียวกับการแยกครั้งแรก จากการวัดหา maximum absorption spectrum พบว่า fraction ที่ 1 อยู่ที่ wavelength 325 millimicrons และ fraction ที่ 2 มี maximum adsorption spectrum ที่ wavelength 390 millimicrons ในการวัดหา maximum absorption spectrum จากสารละลาย osazone ของน้ำตาลแต่ละชนิดที่บริสุทธิ์ดังกล่าว ปรากฏผลคือ osazone ของ galactose บริสุทธิ์ maximum absorption spectrum ที่ wavelength 325 millimicrons และ osazone ของ xylose บริสุทธิ์มี maximum absorption spectrum ที่ wavelength 390 millimicrons ผลการทดลองครั้งหลังนี้ พอจะอนุมานได้ว่า fraction ที่ 1 คือ osazone ของ galactose และ fraction ที่สอง คือ osazone ของ xylose จากผลการทดลองทั้งหมดดังกล่าวมาแล้วจะสรุปได้ว่าถ่านอ่อน หรือเรกัลไซต์เมื่อใช้เป็น adsorbent สามารถแยก osazone ของน้ำตาล galactose จากน้ำตาล glucose xylose และ sorbose ได้ โดยที่น้ำตาลทั้งสามชนิดหลังไม่สามารถแยกจากกัน แม้ว่าได้ทำการทดลองเพิ่มเติม โดยการเปลี่ยนใช้ตัวทำละลายเป็นชุดตามลำดับดังนี้

pure acetone, pure chloroform และ 3% ethanol (95%) ใน chloroform ผสมกับ 5% ethanol (95%) ใน acetone (1.1 $^{v}/_{v}$) ก็ตาม เมื่อทดลอง ซ้ำอีกโดยใช้ถ้าทำละลายเป็นชุดดังกล่าว ปรากฏว่าแยกได้แถบสีสมบูรณ์ และแถบสีอยู่ห่างกันมากกว่าที่ทดลองแยกครั้งแรก โดยเฉพาะอย่างยิ่งใน system osazone ของ galactose กับ xylose ปรากฏเป็นแถบสีเหลืองแก่ของ fraction ที่ 1 และเป็นแถบสีเหลืองกลมใน fraction ที่สองอย่างชัดเจนกว่าที่เคยแยกแล้ว เนื่องจาก fraction ที่ 1 elute ออกมาเป็น effluent ก่อน ดังนั้น osazone ของ galactose จึงสามารถแยกตัวจาก osazone ของxylose เนื่องจากชนิดแรกมี adsorptive activity ต่ำกว่าชนิดหลัง เมื่อทดลองใช้ calcium carbonate ชนิด commercial grade (Ley and Baker, England) ปรากฏผลเช่นเดียวกับการใช้หินฉ่วนเป็น adsorbent ทุกประการ เมื่อนำหินฉ่วนที่บดละเอียดไปแลงด้วยเครื่องแลง U.S. Standard 100 mesh ปรากฏผลการแยกได้แถบสี (bands) ที่สวยงามกว่าเมื่อใช้เป็น adsorbent ใน Column Chromatography และเสียเวลา develop น้อยกว่าหินฉ่วนที่ไม่ได้แลง 1 ชั่วโมง การแยกเมื่อใช้หินฉ่วนที่ไม่ได้แลงใน chromatogram เสียเวลาเพียง 1 $\frac{1}{2}$ ชั่วโมง การทดลองครั้งนี้ได้ผลคล้ายกับการทดลองของ Fisher[57] ในบางสาน ทั้งนี้เพราะไม่มีน้ำตาลชนิดต่าง ๆ เป็นจำนวนมากดังเช่นการทดลองของ Fisher

4. การใช้แอสเบสตอสแยกสารเคมีพวก Inorganic Cations.

แกสเบสตาสที่นำมาทดลองใช้กับ Chromatography เป็นแอสเบสตอสที่มีขายทั่วไป เมื่อการอุตสาหกรรมทำวัสดุก่อสร้าง จึงไม่มีรายงานถึงส่วนประกอบ

---

[57] Fisher , Jørgensen , Dansk. Tids. Farm., 24,1 (1951) C.A. 44, 284^{e}, (1950).

ของสารชนิดนี้ มีลักษณะเป็นแผ่นใยกลมนุ่ม เหนียว สะดวกไม่มีฝุ่นหรือเจือปน ซึ่งผิดกับแอสเบสตอสที่มีในธรรมชาติของประเทศไทย ที่มีฝุ่นหรือปนอยู่มาก นอกจากนี้ยังมีเหล็ก เป็นส่วนผสมมากมาย นิธิพัทน์ ชาลีจันทร์[58] รายงานการวิเคราะห์แร่แอสเบสตอสจากธรรมชาติในประเทศไทย มีส่วนประกอบทางเคมี ดังนี้

Silicon dioxide	57.40 %
Iron oxide และ Aluminium Oxide	8.50 %
Magnesium oxide	20.10 %

มีลักษณะเปราะทำเป็นผงได้ แต่ในการทดลองครั้งนี้ ไม่ได้ใช้แอสเบสตอสที่มีในประเทศ เพราะยังไม่มีใครขุดขึ้นมาใช้ มีสารตัวอย่างเพียงเล็กน้อย ไม่พอกับการนำมาทดลอง จึงได้ทดลองใช้แอสเบสตอสที่มีขายในตลาดเพื่อการทำวัสดุก่อสร้าง

เนื่องจากแอสเบสตอสที่นำมาทดลองแยกสารเคมีนี้มีคุณสมบัติเหนียวมาก จึงไม่สามารถบดเป็นผงเพื่อทำเป็น asorbent ได้ จึงได้ปั้นแป้นแผ่นโดยใช้เยื่อมาก้อยแป้งเปียกเรียกว่า asbestos mill board แล้วนำแผ่นแอสเบสตอสนี้มาใช้แยกสารเคมีพวก inorganic cations ที่ผสมเป็น mixture โดยการจุ่มแผ่นหรือแทงแอสเบสตอสลงใน mixture เป็นเวลา 30 นาที สามารถแยก cadmium(II)ion จาก copper (II)ion, แยก arsenic(III)ion จาก antimony(III)ion, แยก mercury(I)ion จาก lead(II)ion ที่ละลายใน potassium iodide 1 M. , แยก mercury(II)ion จาก lead(II)ion ที่ละลายใน potassium iodide 0.2 M., แยก mercury(II)ion จาก copper(II)ion ที่ละลายใน potassium -iodide 0.5 M, แยก lead(II)ion จาก copper(II)ion

---

[58] นิธิพัทน์ ชาลีจันทร์ หนังสือพิมพ์เกษตรศาสตร์ 2(3).33 - 39 กรกฎาคม 2491

ที่ละลายใน potassium iodide 0.5 M, แยก copper(II)ion จาก iron(III)ion ที่ละลายในน้ำผสมกับ 1-Propanol 20 %, แยก iron(III)ion จาก zinc(II)ion ที่ละลายใน ammonium hydroxide 0.1 M, แยก cobalt(II)ion จาก nickel(II)ion ที่ละลายในน้ำผสม 1-Propanol 30 % และแยก manganese(II)ion จาก zinc(II)ion การตรวจหาแถบสีใช้วิธีอังแผ่นแอสเบสตอสกับ hydrogen sulphide gas ซึ่งทำให้แถบสีของ arsenic มีสีเหลือง manganese มีสีเขียว นอกนั้นมีสีดำ เมื่อทดลองแยกด้วยแอสเบสตอสชนิด commercial grade (Powhatan Mining Company, U.S.A.) สามารถแยกได้ในลักษณะเดียวกัน การแยกด้วย asbestos-mill-board นี้เป็นการแยก cations จากสารละลายโดยการกรองตัวทำละลายผ่านชั้น cations ขึ้นสู่แผ่นแอสเบสตอสในอัตราเร็วต่างกัน หรือมิฉะนั้น cations บางชนิดไม่สามารถเคลื่อนขึ้นไปได้ เทคนิคชนิดนี้มีชื่อว่า Flood Technique เสนอโดย Sen[59] การทดลองครั้งนี้ได้ผลเช่นเดียวกับการทดลองของ Sen ขอบเขตจำกัดของการทดลองแยกนี้ก็คือใช้แยก cations ออกจากกันในทางคุณภาพวิเคราะห์เท่านั้น ทั้งนี้เพราะการทำแผ่นแอสเบสตอสนั้นยังไม่มีทางจะทำให้มีความหนา สม่ำเสมอเท่ากันทุกครั้งได้

5. การใช้แป้งมันสำปะหลังเป็น Adsorbent.

ได้นำแป้งมันสำปะหลังที่มีขายในท้องตลาดทั่วไป มาทดลองใช้เป็น adsorbent แป้งชนิดนี้สาร organic อื่น ๆ เช่นไขมัน และน้ำตาล จึงทำการล้างด้วย ethanol(95 %) ในอัตราส่วน 1 กรัม ต่อ ethanol 5 มิลลิลิตร ผึ่งให้แห้ง

---

[59] Sen, B.N., op. cit., p.33.

ในกากาดแล้วนำมาใช้เป็น adsorbent ใน Column Chromatography ตามวิธีของ Synge[60] และ Moore[61] พบว่า แป้งชนิดนี้ ไม่สามารถแยก amino acids โดยวิธี Column Chromatographic Technique ได้ จึงทำการทดลองใช้เป็น adsorbent ใน Thin-layer Chromatography สามารถแยก amino acids ออกจาก mixture ต่าง ๆ ดังนี้ mixture ที่ 1 ผสม glycine กับ phenylalanine, mixture ที่ 2 ผสม lysiniummonohydrochloride, tryptophan และ isolcucine, mixture ที่ 3 ผสม aspartic acid กับ leucine สามารถแยกได้เป็น spot ที่สมบูรณ์ การทดลองครั้งนี้ไม่สามารถทดลองโดยการ activate plate ได้ เพราะถ้าอบ plate สูงกว่า 80องศาเซ็นติเกรด แป้งมันสำปะหลังจะเปื่อยทันที นอกจากนี้ ยังแป้งมันปรั่งที่เป็นชนิด commercial grade ที่จะนำมาทำการศึกษาการแยกเปรียบเทียบกับแป้งมันสำปะหลังจึงได้เฉพาะการหาค่า R_f เฉลี่ยจากการทดลอง 10 Chromatograms ดังนี้ glycine 0.10, L(+)-lysinium-monohydrochloride 0.06, L(+)-aspartic acid 0.13, L-tryptophan 0.18, phenylalanine 0.33, L(-)-leucine 0.43, และ L(+)-isoleucine 0.44 จาก thin-layer plate ที่ทำได้ activate.

6. <u>การใช้กระดาษซับหมึกสีขาวตราม้าน้ำ (Seahorse Blotting Paper) สำหรับ Paper Chromatography</u>

กระดาษซับหมึกสีขาวตราม้าน้ำมีความหนา 0.425 มิลลิเมตร* กระดาษ

---

[60] Synge , R.L.M., op. cit., p. 38.

[61] Moore , S.,and Stein , W.H., op. cit., 49.

*วัดด้วย Micrometer ของบริษัท Mitutoyo ประเทศญี่ปุ่น 10 ครั้ง เอาเฉลี่ย

ชนิดนี้มีน้ำอยู่ในเส้นใย cellulose ประมาณ 11 %* นำมาใช้เป็น inert support สำหรับ Paper Chromatogram โดยมิได้ปรับปรุง ไม่สามารถแยกสารเคมีชนิดใด ๆ ได้ ต่อมาได้ปรับปรุง โดยการตกปลายกระดาษด้วยการเย็บกระดาษโรเนียวชนิด 80 ปลายด้านหนึ่งติดกับปลายกระดาษซับหมึกสีขาวเพื่อทำเป็นสะพานให้ตัวทำละลายไหลเข้าสู่กระดาษซับ และเพิ่มอัตราการไหลของตัวทำละลายเข้าสู่กระดาษด้วยการเกลี่ยที่ข้างตัวทำละลายเข้าสู่กระดาษด้วยการเกลื่อนที่แบบ capillary action เพราะถ้าไม่ต่อปลายกระดาษโรเนียว อัตราการเคลื่อนที่ของตัวทำละลายในเส้นใย cellulose ของกระดาษซับเร็วมาก เป็นเหตุให้ spot ของสารเคมีแพร่กระจายออกอย่างรวดเร็วจึงปรากฏมีหางยาว วิธีการตกปลายกระดาษซับนี้ ได้ปรับปรุงจากการทดลองของ Gordon และ Eastoe[62] ซึ่งเขาใช้ whatman No 1 paper ตกเข้ากับกระดาษกรองชนิดหนา ๆ และเมื่อลงจากห้องตกปลายด้วยกระดาษโรเนียวชนิด 80 ปลายด้านหนึ่งจึงเป็นเหตุให้ต้องตัดกระดาษเป็นรูปสี่เหลี่ยมคางหมู เพื่อสะดวกในการต่อและการ develop ใน tank ที่ทำด้วยโหลแก้ว กระดาษซับหมึกสีขาวดังกล่าว สามารถแยกสารเคมีดังต่อไปนี้

6.1 การใช้กระดาษซับหมึกสีขาวแยกสาร Organic

สามารถแยกสารชนิดนี้ได้หลายชนิด เช่น indicators, amino acids, น้ำตาล phenolic Compounds และยาก Glycerides ได้ดีเยี่ยม สรุปว่า การใช้กระดาษซับหมึกแยกสารเคมีพวก Indicators ใช้ตัวทำละลาย

---

[62] Gordon , A.H., and Eastoe , J.E., op. cit., pp. 101-103.

*ใช้วิธีหา % โดยการชั่งกระดาษก่อน และหลังการอบที่อุณหภูมิ 100° c 10 ครั้ง แล้วเฉลี่ย แล้วคิดเปอร์เซ็น

1-butanol-ethanol (95 %)-ammonia solution 2 M. (60:20:20 $^{v}/_{v}$) สามารถแยก indicators ออกจาก mixture หนึ่งต่าง ดังนี้ Mixture ที่ 1 จากการผสม phenolphthalein, bromophenol blue, phenol red และ methylene blue หรือ congo red (สองชนิดหลังมี R_f เท่ากัน mixture ที่ 2 จากการผสม bromothymol blue, methyl orange หรือ methyl red และ indigo carmine mixture ที่ 3 จากการผสม cresol red และ methylene blue mixture ที่ 4 จากการผสม bromocresol green, malachite green และ congo red พบว่ากระดาษซับน้ำมีกสีขาวสามารถแยก indicators ที่นำมาผสมด้วยอย่างสูงสุดสี่ชนิด เมื่อเปรียบเทียบการทดลองแยก indicators โดยการใช้กระดาษ whatman No 2 ของ Lederer[63] จะเห็นได้ว่ากระดาษซับน้ำมีกสีขาวแยก indicators ได้จำนวน component น้อยกว่า เพราะกระดาษกรอง whatman No 2 สามารถแยก indicators จากการผสมกัน 6 - 8 ชนิดได้ cresol red เมื่อปรากฏบน Chromatogram พบว่ามีลักษณะ multispot[64] คือ เป็นสอง spot คือแยกจาก indicator ชนิดนี้ปรากฏเป็นสองรูปบน chromatogram สิ่งได้แก่ basic form สีม่วงแดง และ neutral from สีเหลือง จากการทดลอง ได้ค่า R_f โดยเฉลี่ยจากการทดลอง 10 chromatograms ได้ผลดังแสดงในตาราง 14 การตรวจหา (detect) spot ใช้วิธีพ่น chromatogram ที่ผ่านไปอังที่ปากขวด ammonia เข้มข้น หรือ spray ด้วย sodium hydroxide 1 M.

---

[63] Lederer, M., Science, 112, 504 (1950).

[64] Keller, R. ., And Giddings, J.C., J.Chromatog, 3,205 (1960).

ตาราง 14 แสดงค่า Rf x 100 ของ Indicators ที่ได้จากการแยกแต่ละ Mixture และผลการตรวจหา (Detect) ด้วย Sodium hydroxide 1 Molar.

System	Indicator ใน Mixture	Rf x 100	สีเมื่อพ่นด้วย Sodium hydroxide 1 M.
1	phenolphthalein	94	สีแดงบานเย็น
	bromophenol blue	80	สีน้ำเงินปนม่วง
	phenol red	52	สีม่วง
	methylene blue	00	สีน้ำเงิน
2	bromothymol blue	91	สีน้ำเงิน
	methyl orange *	79	สีเหลือง
	methyl red *		สีเหลือง
	indigo carmine	00	สีน้ำเงิน
3	cresol red (Form ที่ 1)	91	สีม่วงแดง
	cresol red (Form ที่ 2)	77	สีม่วงแดง
	methylene blue	00	สีน้ำเงิน
4	bromocresol green	83	สีน้ำเงิน
	malachite green	94	สีเขียว
	congo red	00	สีแดง

*. ได้ค่า Rf เท่ากัน

การแยก amino acids ด้วยกระดาษซับหมึกสีขาว ใช้ตัวทำลาย 1-butanol-glacial acetic acid น้ำกลั่น (4.1:5 v/v)* สามารถแยก amino acids จากการผสมเป็น mixture ต่าง ๆ ดังนี้ mixture ที่ 1 จากการผสม L(+)-lysiniummonohydrochloride, glycine, L-tryptophan, L-methionine และ L(-)-leucine mixture ที่ 2 จากการผสม L(+)aspartic acid, L-threonine, L-methionine และ L(+)-isoleucine mixture ที่ 3 glycine, L-methionine และ L(-)-phenylalanine (ความเข้มข้นแสดงในบทที่ 3 หน้า 45) จากการผสมดังกล่าวเมื่อนามาทดลองแยกด้วยกระดาษซับหมึกสีขาว สามารถแยกได้อย่างสมบูรณ์ จากการตรวจหา (detect) ด้วย ninhydrin 0.2 % ใน acetone และจากการหาค่า R_f โดยเฉลี่ยจาก 10 Chromatogram ปรากฏผลดังแสดงในตาราง 15

ในกรณีการทดลองแยกน้ำตาลพวก monosaccharides และ disaccharides กระดาษซับหมึกสามารถแยกได้ผลดีคล้ายคลึงกับการแยกด้วยกระดาษกรอง Whatman No 1 ของ Gardner [65] จากการทดลองแยกน้ำตาลที่นามาผสมกันสี่ชนิด คือชนิดที่ 1 ผสม xylose, galactose และ lactose, ชนิดที่ 2 ผสม sorbose กับ maltose, (ความเข้มข้นแสดงในบทที่ 3 หน้า 46) ชนิดที่ 3 ผสม fructose กับ sucrose และชนิดที่ 4 ผสม glucose กับ maltose โดยใช้ตัวทำลาย 1-propanol-ethyl.acetate-น้ำกลั่น (6:1.3 v/v) ปรากฏผลการแยกได้สมบูรณ์ จากการ

---

[65] Gardner, K.J., Nature, 176, 929 (1955).

* เป็นตัวทำลายที่มีลักษณะ two phase system มีการแยกชั้น

ตาราง 15 แสดงค่า Rf x 100 ของ Amino acids และผลการตรวจหา (Detect) ด้วย Ninhydrin 0.2 % ใน Acetone.

Sys-tem	Amino acid	Rf x 100	สีเมื่อพ่นด้วย Ninhydrin 0.2 % ใน Acetone.
1	L(+)-lysiniummonohydro-chloride	11	สีม่วงอ่อน
	glycine	18	สีม่วงปนน้ำเงิน
	L-methionine	47	สีม่วงอ่อน
	L-tryptophan	58	สีชมพู
	L(-)-leucine	66	สีม่วงอ่อน
2	L(+)-aspartic acid	16	สีม่วงอ่อน
	L(-)-threonine	24	สีม่วงอ่อน
	L-methionine	47	สีม่วงอ่อน
	L(+)-isoleucine	62	สีม่วงอ่อน
3	glycine	18	สีม่วงปนน้ำเงิน
	L-methionine	47	สีม่วงอ่อน
	L(-)-phenylalanine	61	สีม่วงอ่อน

ตรวจหา (detect) spot (จุดของสารบน chromatogram) ด้วย aniline 4 % ใน ethanol (95 %) ผสมกับ diphenylamine 4 % ใน ethanol (95 %) และ phosphoric acid เข้มข้นในอัตราส่วน 5:5 1 v/v แบ่งน้ำตาลแต่ละชนิดเกิดสีที่เป็นคุณลักษณะเฉพาะ และได้ค่า Rf ของน้ำตาล (ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 10 Chromatogram) ดังแสดงในตาราง 16 สิ่งที่น่าสังเกตก็คือ ค่า R_f ของน้ำตาลมีค่าคำเฉลี่ยเกี่ยวกับการแยกด้วยกระดาษชนิดอื่น ๆ [66]

ในการใช้กระดาษสีขาวเป็น Paper Chromatogram สามารถแยกสารเคมีพวก phenolic compounds จากการผสมเป็น mixture ได้ 3 ชนิด และได้ค่า R_f โดยเฉลี่ยจากการทดลอง 10 Chromatogram ดังแสดงในตาราง 14 การตรวจหา (detect) spot ใช้วิธี spray ด้วย ferric chloride solution 1.0 % ใน etnanol (95 %) เกิดเป็นสีต่าง ๆ ตามชนิดของพวก phenolic compounds ดังแสดงในตาราง 17 ข้อที่น่าสังเกต ก็คือ การเกิดสีของ hydroquinone และ resorcinol มีสีแตกต่างไปจากการทดลองซึ่งใช้ whatman No 1 กล่าวคือ เมื่อตรวจหา spot ด้วยสารละลาย ferric cnloride hydroquinone และ resorcinol ต่างก็มีสีเทา [67]

การแยกสาร organic พวก glycerides โดยใช้กระดาษสีขาวสามารถแยก mixture ของ oxalic acid, tartaric acid, citric acid, maleic acid, lactic acid และ fumaric acid ได้เป็น acid แต่ละชนิดที่บริสุทธิ์ เมื่อใช้ตัวทำละลาย 1-butanol-formic acid

---

[66] Jeanes, A., et.al., Anal. Chem., 23, 415 (1951).

[67] Hais, I.M., And Macex , K., Paper Chromatography , p. 246.

ตาราง 16 แสดงค่า Rf x 100 ของน้ำตาลชนิดต่าง ๆ และผลการตรวจหา (Detect) ด้วย Aniline 4 % ใน Ethanol (95 %) ผสมกับ Diphenylamine 4 % ใน ethanol (95 %) และ phosphoric acid เข้มข้นในอัตราส่วน 5 5:1 $^{v}/_{v}$

System	น้ำตาล	Rf x 100	สีที่เกิดจากการ Detect.
1	D-xylose	54	สีน้ำตาลไหม้
	D-galactose	44	สีน้ำตาล
	lactose	30	สีเขียวคล้ำ
2	D-sorbose	49	สีเขียว
	maltose	34	สีฟ้า
3	fructose	51	สีเหลือง
	sucrose	40	สีเหลืองกล้ำ
4	D-glucose	46	สีน้ำตาล
	maltose	34	สีฟ้า

ตาราง 17 แสดงค่า Rf x 100 ของพวก Phenolic Compounds ที่ได้จากการแยกแต่ละ Mixture และผลการตรวจหา (Detect) ด้วย Ferric chloride Solution 1 % ใน Ethanol (95 %)

System	Phenolic compounds ใน Mixture	Rf x 100	สีเมื่อพ่นด้วย Ferric chloride Solution 1 % ใน Ethanol (95 %)
1	gallic acids	00	สีดำ
	pyrogallol	05	สีน้ำตาล
	catechol	30	สีดำ
	α-napthol	86	สีเทา
2	gallic acid	00	สีดำ
	hydroquinone	08	สีขาว
	catechol	30	สีดำ
	α-napthol	86	สีเทา
3	resorcinol	09	สีน้ำตาล
	cathechol	30	สีดำ
	α-napthol	86	สีเทา

เข้มข้น – น้ำกลั่น (10.2.15 v/v) ในการตรวจหา (detect) spot ใช้ reagent สองชนิดคือ 0.04 % bromocresol green ใน ethanol (66 %) ปรับเป็น pH 7 ด้วย sodium hydroxide และ aniline 5 กรัม-xylose 5 กรัม ละลายใน ethanol 50 % ปริมาณ 100 มิลลิลิตร ปรากฏว่าชนิดแรกทำให้ spot มีสีเหลืองบนพื้นสีเขียว และใช้ไม่สะดวก เพราะ formic acid จากตัวทำละลายที่อยู่บน chromatogram มารบกวนการปรากฏสีของ spot เมื่อเปรียบเทียบกับชนิดหลัง ซึ่งทำให้ spot มีสีน้ำตาลแก่บนพื้นสีน้ำตาลอ่อน ทำให้มองเห็น spot ได้ชัดกว่าชนิดแรก จากการหาค่า R_f โดยเฉลี่ยจากการทดลอง 10 Chromatogram ดังแสดงในตาราง 18

สิ่งที่น่าสังเกตในการหาค่า R_f ของสาร organic ชนิดต่าง ๆ ดังกล่าว พบว่าค่า R_f นิดจากค่าที่ได้จากการทดลองบางค่าถึง 0.06 – 0.09 ทั้งนี้อาจเนื่องจากการวัดด้วยไม้บรรทัดชนิดธรรมดา ที่มีมาตราส่วน 1/10 เซนติเมตร ซึ่งการวัดแต่ละครั้งจะมีความผิดพลาดเท่ากับ $\pm$0.02 เซ็นติเมตร และอาจเนื่องจากความหนาแน่นของเส้นใย cellulose ของกระดาษซับแต่ละแผ่นต่างกัน

6.2 <u>การใช้กระดาษซับหมึกแยกสาร เคมี</u> <u>I</u>norganics

Paper Chromatography ซึ่งใช้กระดาษซับหมึกเป็น inert support สามารถแยกสาร inorganic ได้สองพวก คือ พวก cations และ anions ในการแยกพวก cations นั้น กระดาษซับหมึกซึ่งต่อปลายด้วยกระดาษโรเนียวชนิด 80 ปอนด์ สามารถแยก cations จาก mixture ของพวก arsenic subgroup และ copper subgroup การแยก mixture ของ tin(IV)ion, arsenite ion และ antimony(III)ion ใช้ตัวทำละลาย 1-butanol 50 มิลลิเมตร ผสมน้ำกลั่น 50 มิลลิเมตร และ tartaric acid 6 กรัม สามารถแยก cations จากกันได้ดีพอสมควร ตรวจหา spot ด้วย hydrogen sulphide gas

ตาราง 18 แสดงค่า Rf x 100 ของสารเกี่ยวกับ Glycerides.

ลำดับที่	Glyceride	Rf x 100
1	fumaric acid	92
2	lactic acid	78
3	maleic acid	60
4	citric acid	47
5	tartaric acid	34
6	oxalic acid	12

และได้ค่า R_f โดยเฉลี่ยจากการทดลอง 10 Chromatogram ดังแสดงในตาราง 19

การแยก copper subgroup โดยการผสม mixture ของ lead(II)ion, copper(II)ion, bismuth(II)ion, cadmium(II)ion และ mercury(II)ion เมื่อใช้ตัวทำละลาย 1-butanol-isopropanol-hydrochloric acid 3 Molar (45·45:10 %v) ซึ่งปรับปรุงมาจากตัวทำละลายของ Walker และ Lederer [68] สามารถแยกได้สมบูรณ์เมื่อตรวจหา (detect) ด้วย Hydrogen sulphide gas ทุก spot มีรูปร่างชวยงาม ยกเว้น bismuth spot เป็นสีน้ำตาลมีลักษณะยาวรี (elongated spot) ผลการทดลองครั้งนี้คล้ายกับผลการแยกของ Walker และ Lederer ได้ค่า R_f โดยเฉลี่ยจากการทดลอง 10 Chromatogram ดังแสดงในตาราง 20

เมื่อใช้ตัวทำละลาย 10 % hydrochloric acid 6 M. ใน acetone ของ Shibata [69] แยก cations จาก mixture ของ nickel(II)ion, cobalt(II)ion, manganese(II)ion zinc(II)ion ซึ่งเป็น cations ใน nickel subgroup สามารถแยกได้ดีเมื่อใช้กระดาษซับหมึกสีขาวเป็น inert support นอกจากนี้ยังสามารถแยก aluminium(II)ion จาก copper(II)ion และ chromium(III)ion จาก cadmium ได้ค่า R_f โดยเฉลี่ยจากการทดลอง 10 Chromatogram ดังแสดงในตาราง 21 การตรวจหา spot ใช้วิธี spray

---

[68] Walker, W.R., and Lederer, M., Anal Chim Acta., 5, 191 (1951).

[69] Shibata , M., Bull. Tokyo. Inst. Technol. Ser.B. 1953, 73.

ตาราง 19 แสดงค่า Rf x 100 ของ Arsenic Subgroup และผลการตรวจหา (Detect) Spot ด้วย Hydrogen sulphide gas.

ลำดับที่	Cation	Rf x 100	สีเมื่อทดลองด้วย Hydrogen sulphide-gas
1	tin(IV)ion	58	สีเหลือง
2	arsenite ion	49	สีเหลือง
3	antimony(III)ion	35	สีเหลืองปนส้ม

ตาราง 20 แสดงค่า Rf x 100 ของ Copper Subgroup และผลการตรวจหา (Detect) ด้วย Hydrogen-sulphide gas.

ลำดับที่	Cation	Rf x 100	สีเมื่อผนด้วย Hydrogen sulphide gas.
1	mercury(II)ion	71	สีดำ
2	cadmium(II)ion	60	สีเหลือง
3	bismuth(III)ion*	44	สีน้ำตาล
4	copper(II)ion	09	สีดำ
5	lead(II)ion	00	สีดำ

* elongated spot. (spot มีรูปยาวรี)

ตาราง 21 แสดงค่า Rf x 100 ของ Inorganic Cations เมื่อใช้ Solvent 10 % Hydrochloric acid 6 I. ใน Acetone และการตรวจหา (Detect) Spot ด้วย 8-Hydroxyquinoline 0.5 % ใน Ethanol (60 %)

System	Inorganic Cations	Rf x 100	สีเมื่อพ่นด้วย 8-Hydroxyquinoline 0.5 % ใน Ethanol (60 %)
1	zinc(II)ion	86	สีเขียวปนเหลือง
	cobalt(II)ion	43	สีเขียวปนเหลือง
	manganese ion	21	สีเขียวปนเหลือง
	nickel(II)ion	06	สีเขียวปนเหลือง
2	cadmium(II)ion	63	สีเขียวปนเหลือง
	chromium(III)ion	09	สีเขียวปนเหลือง

ด้วย 8-hydroxyquinoline 0.5 % ใน 60 % ethanol ถ้าไม่เกิดสีก็นำ chromatogram ไปอังที่ปากขวด ammonia เข้มข้น 27 % ในการวิเคราะห์ชนิดของ cation ต้องนำ individual cation มา run ใน chromatogram เพื่อเปรียบเทียบ

การแยก anions โดยใช้กระดาษจับหมึกสีขาวเป็น inert support สามารถทำการแยกได้ดี เมื่อผสม anions เป็น 2 mixture คือ

1. จากการผสม iodide ion, chloride ion, bromide ion และ fluoride ion
2. จากการผสม fluoride ion, bromide ion, chloride ion และ thiocyanate ion

โดยการใช้ตัวทำละลาย 1-butanol-pyridine-ammonia solution 1.5 N. (2:1:2 v/v) ซึ่ง Pollard[70] ใช้ develop ในการแยก anions โดยใช้กระดาษ Whatman No 1 ปรากฏผลการแยกไม่ดีพอใช้ ถ้านำเอา iodide ion กับ thiocyanate ion มาผสมกัน สามารถแยกจากกันได้เมื่อใช้ความเข้มข้นต่ำ แต่ลำบากในการตรวจหา spot ถ้าความเข้มข้นมาก spot ทั้งสองจุดจะอันกันทำให้บางส่วนบริสุทธิ์ (ใน Chromatogram) และบางส่วนไม่บริสุทธิ์ การตรวจหา spot ในการทดลองครั้งนี้ใช้ reagent 2 ชนิด ชนิดแรกตรวจหา thiocyanate ion (ดูรายละเอียดในบทที่ 3 การทดลอง) อีกชนิดหา cation ตัวอื่น จากการทดลองได้ค่า R_f โดยเฉลี่ยจาก 10 chromatograms ดังแสดงในตาราง 22

---

[70] Pollard , F.H., McOmie, J.F.W., And Elbeih, I.I.M., J. Chem. Soc., 1951, pp. 466 - 470.

ตาราง 22 แสดงค่า Rf x 100 ของ Inorganic Anions และผลการตรวจหา (Detect) Spot ด้วย Ferric nitrate 0.03 M. ผสมกับ Hydrogen peroxide 3 % กับ Silver nitrate 0.1 M.

System	Anions	Rf x 100	สีเมื่อพ่นด้วย Ferric nitrate 0.03 M. ผสมกับ Hydrogen-Peroxide 3 %	สีเมื่อพ่นด้วย Silver nitrate 0.1 M. (บนพื้นสีน้ำตาลปนดำ)
1	iodide ion	67	สีน้ำเงิน	สีเหลือง
	bromide ion	46	ไม่เกิดสี	สีขาว
	chloride ion	33	ไม่เกิดสี	สีขาว
	fluoride ion	08	ไม่เกิดสี	สีเหลือง
2	thiocyanate ion	72	สีแดง	ไม่เกิดสี
	bromide ion	46	ไม่เกิดสี	สีขาว
	chloride ion	33	ไม่เกิดสี	สีขาว
	fluoride ion	08	ไม่เกิดสี	สีเหลือง

บทที่ 5

บทย่อ สรุปผล และข้อเสนอแนะ

การทดลองครั้งนี้มีจุดมุ่งหมายในการค้นคว้าดังนี้

1. เพื่อศึกษาดูว่าสารต่อไปนี้ แร่ดินขาว (kaolin) ผงชอล์คเขียนกระดานดำ แร่ยิบซัม(gypsum)หินฝุ่นหรือแร่คัลไซต์, แอสเบสตอส, แป้งมันสำปะหลัง และกระดาษซับหมึกสีขาวตราม้าน้ำ จะสามารถแยกสารอินทรีย์เคมี (organic substances) อนินทรีย์เคมี (inorganic substances) ออกจากของผสม (mixture) อย่างมีประสิทธิภาพได้มากน้อยเพียงใด
2. เพื่อศึกษาดูว่า ในการเปรียบเทียบการใช้สารในข้อ 1 จะแตกต่างกับสาร commercial grade อย่างไรบ้าง
3. เพื่อศึกษาดูว่า Rf Value ของสารเคมีชนิดต่าง ๆ ที่นำมาแยกจากของผสมโดยใช้สารในข้อ 1 เป็น adsorbents จะแตกต่างกับค่า Rf value ที่ได้จากการใช้สาร commercial grade มากน้อยเพียงใด
4. เพื่อศึกษาการปรับปรุงสารในข้อ 1 ให้มีประสิทธิภาพดีกว่าที่ได้จากธรรมชาติ โดยตรงว่าจะมีผลแตกต่าง หรือเหมือนกันอย่างไรบ้าง

ขอบเขตของการศึกษาค้นคว้า

1. ทำการค้นคว้าทดลองวิธีการของ Chromatographic Technique ในการแยกสารเคมีที่มีสี หรือสารเคมีที่สามารถตรวจพบด้วย Locating reagent.

2. เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษาค้นคว้าแบ่งเป็น 3 ประเภท คือ

2.1 Column Chromatography

2.2 Thin-layer Chromatography

2.3 Paper Chromatography

3. เทคนิคที่ใช้ในการศึกษาค้นคว้าแบ่งเป็น 2 ประเภท คือ

3.1 Adsorption Chromatographic Technique

3.2 Partition Chromatographic Technique

<u>สรุปผลที่ได้จากศึกษาค้นคว้าครั้งนี้</u>

1. ผลที่ได้จากการทดลองแยกสารเคมี เมื่อเปรียบเทียบสารในธรรมชาติและสารราคาถูก กับสาร commercial grade มีดังต่อไปนี้

1.1 ดินขาว (kaolin) จากจังหวัดระนอง สามารถแยกสารเคมี พวก indicators, amino acids และ inorganic cations ได้ดีกว่าดินขาวชนิด commercial grade.

1.2 ผงซอล์คเขียนกระดานดำ (calcium sulphate pencil) สามารถแยก indicators และ inorganic cations ได้ผลคล้ายกับการแยกของ calcium sulphate ชนิด commercial grade

1.3 แร่ยิบซัมที่บดละเอียด แล้วด้วยเครื่องแล่ง U.S. Standard-100 mesh สามารถแยก indicators และ inorganic cations ได้แคบกว่า calcium sulphate ชนิด commercial grade

1.4 หินอ่อนหรือแร่คัลไซต์ สามารถแยกสารเคมีพวก natural pigments และ osazone ได้ผลเช่นเดียวกับ calcium carbonate ชนิด commercial grade.

1.5 แอสเบสตอสที่ใช้ในอุตสาหกรรมกระเบื้องกระดาษ สามารถแยก inorganic cations ได้ผลเช่นเดียวกับชนิด laboratory grade แต่จำกัดเฉพาะทาง Qualitative

1.6 แป้งมันสำปะหลัง แยก amino acids ได้บางชนิด และไม่มีสาร commercial grade เปรียบเทียบ

1.7 กระดาษซับหมึกสีขาว สามารถแยกสาร เคมีพวก indicators, amino acids, น้ำตาล phenolic compound, glycerides, inorganic cations และ inorganic anions

2. ผลการหาค่า R_f ของสารในธรรมชาติเปรียบเทียบกับสาร Commercial grade มีดังนี้

2.1 เมื่อใช้ดินขาว (kaolin) จากจังหวัดระนองแยก indicators และ amino acids ปรากฏได้ค่า R_f จาก Thin-layer Chromatographic technique แตกต่างจากเมื่อใช้ดินขาวชนิด commercial grade เพียงเล็กน้อย ส่วนการแยก inorganic cations ค่า R_f ที่ได้แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด เพราะดินขาวชนิด commercial grade แยก inorgenic cations mixture บาง system ไม่ได้

2.2 ผงซอล์คเขียนกระดานดำ และแร่ยิบซัม เมื่อใช้เป็น adsorbent แยก indicators ใน Thin-layer Chromatography ให้ค่า R_f ต่างจาก calcium sulphate ชนิด commercial grade เห็นได้ชัดเนื่องจากสาร commercial grade สามารถให้ค่า R_f เพียงค่าสูงสุด (.99) และต่ำสุด (00) เท่านั้น ในการแยก inorganic cations ทั้งผงซอล์คเขียน

กระดานดำ และแร่ยิบซัม เมื่อใช้เป็น adsorbents ใน Thin-layer Chromatography ให้ค่า R_f ต่างจากการใช้ calcium -sulphate ชนิด commercial grade เพียงเล็กน้อย

2.3 การใช้แป้งมันสำปะหลังเป็น adsorbent ใน Thin-layer chromatography ค่า R_f ที่ได้มิได้เปรียบเทียบกับชนิด commercial grade เนื่องจากไม่มีสารชนิดหลังนี้

2.4 หินออนหรือแร่คัลไซต์ และกระดาษซับหมึกสีขาว ไม่มีการเปรียบเทียบค่า R_f

3. ผลการหาค่า R_f ของสารในธรรมชาติที่ไม่ได้ปรับปรุง หรือ activate เปรียบเทียบกับสารในธรรมชาติที่ปรับปรุง หรือ activate มีดังนี้

3.1 ดินขาว (kaolin) จังหวัดระนอง เมื่อนำมา activate (อบที่ 200° c เป็นเวลา 20 นาที) จะให้ค่า R_f ในการแยก indicators ไม่แตกต่างกับดินขาวที่ไม่ activate แต่ผลการ activate ทำให้รูปร่าง spot สวยงามและเห็นได้ชัดเจนกว่า

ในการแยก inorganic cations ทั้งดินขาวที่ activate และไม่ activate ให้ค่า R_f ต่างกันในบาง systems เท่านั้น

3.2 การใช้ผงซอล์คเขียนกระดานดำ แยก indicators ผลการ activate thin-layer plate จะทำให้ค่า R_f แตกต่างจาก plate ที่ไม่ activate เพียงเล็กน้อยในบาง system.

ในกรณีการแยก inorganic cations จากการใช้ผงซอล์คเขียนกระดานดำที่ activate ได้ค่า R_f แตกต่างจากที่ไม่ activate เพียงเล็กน้อย

3.3 การใช้แร่ยิบซัม แยก indicators การ activate เป็นผลให้ค่า R_f แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด ในกรณีแร่ยิบซัมถ้าบดโดยไม่แลงด้วยเครื่องแลง U.S. Standard 100 mesh จะไม่สามารถแยกสารเคมีใด ๆ ได้

ในการแยก inorganic cations การ activate แร่ยิบซัมเป็นผลให้ค่า R_f แตกต่างจากที่ไม่ activate เพียงเล็กน้อย

ข้อเสนอแนะเพื่อการศึกษาค้นคว้าเพิ่มเติม

1. การทดลองทุกการทดลองในการศึกษาครั้งนี้ สามารถขยายขอบเขตการศึกษา และการใช้สารเคมีที่จะนำมาแยก

2. เทคนิคการทดลอง เช่นในกรณี Paper Chromatography ในการแยก amino acids ในการศึกษาครั้งนี้ศึกษาเพียง One-dimension paper Chromatographic technique อาจขยายการศึกษาเป็น Two-dimension paper Chromatographic technique ได้

3. สารในธรรมชาติที่นำมาใช้เป็น adsorbent อาจปรับปรุงให้ดีกว่าที่เป็นอยู่ และศึกษาประสิทธิภาพในการแยกสารเคมี เพื่อเปรียบเทียบกับชนิดที่ยังมิได้ปรับปรุง.

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

นิดา สะเพียรชัย ดร. "การสอนวิชาวิทยาศาสตร์" สามัญศึกษา 3 : 58-62 กรกฎาคม, 2509.

นิธิพัฒน์ ชาจีจันทร์ "รายงานการวิเคราะห์แร่แอสเบสตอส" หนังสือพิมพ์อุตสาหกร 2(3) : 33-39 กรกฎาคม, 2491.

พิทักษ์ รักษพลเดชดร. นโยบายการศึกษาฝ่ายวิทยาศาสตร์ วิทยาลัยวิชาการศึกษาประสานมิตร 2507, 71 หน้า.

เรืองศักดิ์ วัชรพงศ์ "การแต่งแร่ดินขาว" ข่าวสารการธรณี 9(7) · 58-65 กรกฎาคม, 2507.

"เรื่องหินและแร่" เอกสารโลหกิจ สำหรับประชาชน ฉบับที่ 2 ตุลาคม 2500, 30 หน้า.

ศึกษาธิการ, กระทรวง หลักสูตรมัธยมศึกษาตอนต้น พุทธศักราช 2503 โรงพิมพ์บรรหาร 2503, 33 หน้า.

อำนาจ มีกุล "แร่และหินในประเทศไทย" ข่าวสารการโลหกิจ 5(5) : 1 พิเศษ พุทธศักราช 2503.

Booth, V.H., Analyst, 75, 109 (1950).

Borecky, J., and Gasparic, J., Collect. Czech. Chem. Com., 25, 1287-92.

Brockmann, H., Disc. Faraday. Soc., 7, 78-80 (1949).

Consden, R., Gordon, A.H., and Matin, A.T.P., Biochem. J., 60, 1219-22.

Fisher, Jørgensen, Dansk. Tids. Farm., 24, 1 (1951).

Foon, Ruby, and Graddon, D.P., editors., Approach to Chemistry 1969., The University of New South Wales, Sydney, Australia, 150 pages.

Fuks, N.A., and Rappoport, N.A., Doklady. Akad. Nauk. S.S.S.R., 60, 1219-21 (1948).

Gardner, K.I., Nature, 176, 929 (1955).

Gapon, E.N., and Chernikova, T.N., Doklady. Vsesoynz Akad. Sel' sko-khoz naukim. V.I. Lemina. S.S.S.R. No 7, 26-28 (1948).

Gidding, Calvin, J., J. Chem. Educ., 44, 704, (1968).

Goller, E.J., J. Chem. Educ., 42, 443 (1965).

Gordon, A.H., and Eastoe, J.E., Practical Chromatographic Techniques., George Newnes Limited, London, 1964 325 pages.

Grune, A., Schweiz. Apoth-Ztg., 93, 567 (1955).

Hais, I.M., and Macese, K., Paper Chromatography, Academic press, New York and London, 1962, 645 pages.

Hasmi, et. al., Anal. Chem., 38, 1554 (1966).

Holzapfel, L., and Engle, W., Naturwis, 36, 375 (1949).

Holzapfel, L., Engle, W., and Rudzinski, R., Gumm:. U. Asbest., 4, 200-2 (1951).

Hosking, J.S., J. counc. Science Ind. Res., 21 21-37 (1948).

Huber, J.M., Kaolin Clays and Their Industrial Uses, New York, (1955) 165 pages.

Ikan, R., and Rapaport, E., J. Chem. Educ., 44 297 (1967).

Jeanes, A., et.al., Anal. Chem., 23, 415 (1951).

Kariyone, et.al., Nature, 168, 511 (1951).

Keller, R.A., and Gidding, J.C., J. Chromatog., 3 205 (1960).

Lederer, Edgar, Compt. rend., 209, 528-30 (1939).

Ledered, M., Science, 112, 504 (1950).

LeRosen, A.L., J. Am. Chem. Soc., 64, 1905 (1942).

Moore, S., and Stein, W.H., Ann. N.Y. Acad. Science., 49, 265 (1948).

Mottier, M., and Potterat, M., Anal. Chim. Acta., 13, 46, (1955).

Nakabayashi, T., and Nishida, S., J. Agr. Chem. Soc. Japan., 26, 333 (1950).

Nicholas, R.E.H., Biochem. J., 48, 309 (1951).

Pollard, F.H., McOmie, J.F.W., and Elbeih, I.I.M., J. Chem. Soc., 1951, 466-476.

Reichstein, T., and Shoppee, C.W., Disc. Faraday. Soc., 7, 305 (1949).

Rockland, L.B., and Dunn, M.S., Science, 109,384 (1949).

Rohland, P., Apoth. Ztg., 31, 40-2 (1916).

Roland, Jr., J.F., and Gross, A.M., Anal. Chem., 26, 502 (1954).

Sen, B.N., Aust. J. of Science, 15, 133 (1952-53).

Sen, B.N., Z. Anorg. U. Allgeur. Clum., 273, 183-185(1953).

Shibata, M., Bull. Tokyo. Inst. Technol. Ser. B. 1953, 73,.

Spronov, V.I., Tkachenko, E.A., and Sushin, V.N., Tr. Dal' nevost, Filiala. Akad. Nauk. S.S.S.R. Si Birsk. otd. Ser Chim. No 7, 31-34 (1965).

Steiger, M., and Reichstein, T., Hel. Chem. Acta., 21, 246 (1954).

Streator, James T., J. Chem. Educ., 45,671 (1968).

Synge, R.L.M., Biochem. J., 38, 285 (1944).

Teaque, A.F., Gey, W.A., and Van Dolah, C.W., Anal. Chem., 27,785 (1955).

Truter, Vernon, E., Thin-Film Chromatography, Interscience Publishers, New York, 225 pages.

Tswett, M., Biochem. J., 5, 6 (1907).

Walker, W.R., and Lederer, M., Anal. Chem. Acta., 5, 91(1951).

Williams, R.T., and Kirby, J.E., Nature, 172,727(1953).

William, T.I., An Introduction to Chromatography, Backie and Son, London, 1946, 146 pages.

Zechmeister, L., and Cholnoky, L., Principle and Practice of Chromatography, Chapman and Hall Company, 2nd Ed., 1943, 327 pages.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก.

การหาสารในธรรมชาติ

และ

การทำความสะอาดสารธรรมชาติ

แหล่งสารธรรมชาติและสารราคาถูกซึ่งนำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้

ดินขาว (kaolin)

ขอมาจากบริษัทเหล็กสยาม ตำบลท่าหลวง อำเภอท่าเรือ จังหวัดอยุธยา ซึ่งได้มาจากแหล่งเดิมคือ จังหวัดระนอง

ผงชอล์คเขียนกระดานดำ (calcium sulphate pencil)

การศึกษาครั้งนี้ใช้ชอล์คเขียนกระดานดำตราช้างมีขายทั่วไปในประเทศไทย

แร่ยิบซัม (gysum)

ขอมาจากบริษัทปูนซิเมนต์ไทย ตำบลท่าหลวง อำเภอท่าเรือ จังหวัดอยุธยา ซึ่งได้มาจากแหล่งเดิม คือ จังหวัดพิจิตร

หินอ่อน หรือแร่คัลไซต์ (marble or calcite)

ขอมาจากบริษัทหินออน จังหวัดสระบุรี

แป้งมันสำปะหลัง (native starch)

ซื้อได้จากท้องตลาดทั่วไป

แอสเบสตอส (asbestos)

ขอมาจากบริษัทกระเบื้องกระดาษไทย จำกัด ตำบลบางซื่อ จังหวัดพระนคร

กระดาษซับหมึกสีขาวตราม้าน้ำ (seahorse blotting paper)

หาซื้อได้จากร้านก้าเครื่องเขียน ถนนเยาวราช อำเภอสัมพันธวงก์ จังหวัดพระนคร ในราคาแผ่นละ 1 บาท 50 สตางค์ (ขนาด 17 x 22 นิ้ว)

การทำความสะอาดสารในธรรมชาติสำหรับการศึกษาครั้งนี้

1. ดินขาว (Kaolin)

ล้างดินขาว 1 กิโลกรัม ด้วยน้ำกลั่น หรือน้ำฝนที่สะอาด 30 ลิตร แบ่งล้าง 3 ครั้ง ครั้งละ 10 ลิตร ในโหลแก้วขนาดใหญ่ ในการล้างครั้งที่ 1 และ 2 รินน้ำที่สกปรกออก ครั้งที่ 3 ใส่น้ำแช่ไว้ 10 ลิตร กวนด้วยแท่งแก้วกลมเป็นเวลา 3 นาที ปล่อยให้ตกตะกอน 2 นาที จากนั้นรีบช้อนตะกอนที่แขวนลอยกับน้ำออกมาให้ตกตะกอนเป็นดินขาวที่สะอาด รินน้ำออก หรือใช้วิธีกรองด้วย วิธีลดความดันก็ได้ จนได้ดินขาว นำไปตากแดด หรืออบที่ 80° จนดินขาวแห้ง ทำเช่นนี้หลายครั้งจนได้ดินขาวสะอาดประมาณ 3/4 กิโลกรัม

2. ยิปซอล์คเขียนกระดานดำ (Calcium sulphate pencil)

บดแท่งชอล์คตราช้างให้ละเอียด แล้วนำไปล้างน้ำกลั่น ในอัตราส่วน 1 กิโลกรัม ต่อน้ำ 15 ลิตร แบ่งล้าง 3 ครั้ง 2 ครั้งแรกรินน้ำสกปรกทิ้ง ครั้งที่ 3 ไม่ต้องรินน้ำทิ้ง กรองด้วยผ้ากรองที่สะอาดสี่ทบ กวนด้วยแท่งแก้วกลมประมาณ 3 นาที ปล่อยให้ตกตะกอน 2 นาที จึงช้อนตะกอนที่แขวนลอยเอามารินน้ำบางส่วนออกอบที่อุณหภูมิ 100°C (เพื่อฆ่าเชื้อรา) นำออกมาใช้ในลักษณะ Slurry (เทียบเท่ากับการผสมยิปซอล์ค 1 ส่วน กับน้ำ 2 ส่วน)

3. แร่ยิบซัม (gypsum) ทำความสะอาดโดยการล้างก้อนยิบซัมให้สะอาด นำไปตากแดดให้แห้ง แล้วจึงบดจนละเอียด จากนั้นนำไปแล่งด้วยเครื่องแล่ง U.S. Standard 100 mesh.

4. หินอ่อน หรือแร่คัลไซต์ (marble or calcite) ใช้วิธีทำความสะอาดเช่นเดียวกับแร่ยิบซัม

5. แป้งมันสำปะหลัง

ล้างด้วย **ethanol** (95 %) ในอัตราส่วน 1:5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) เอา **ethanol** ออกผึ่งให้แห้งในอากาศ

6. แร่แอสเบสตอส (asbestos)

ล้างน้ำในอัตราส่วน 1:3 (น้ำหนักต่อปริมาตร) แล้วตากแดดจนแห้ง

7. กระดาษซับหมึกสีขาว (seahorse blotting paper)

ไม่ต้องทำความสะอาด.

ภาคผนวก ข.

ข้อมูลจากการทดลอง

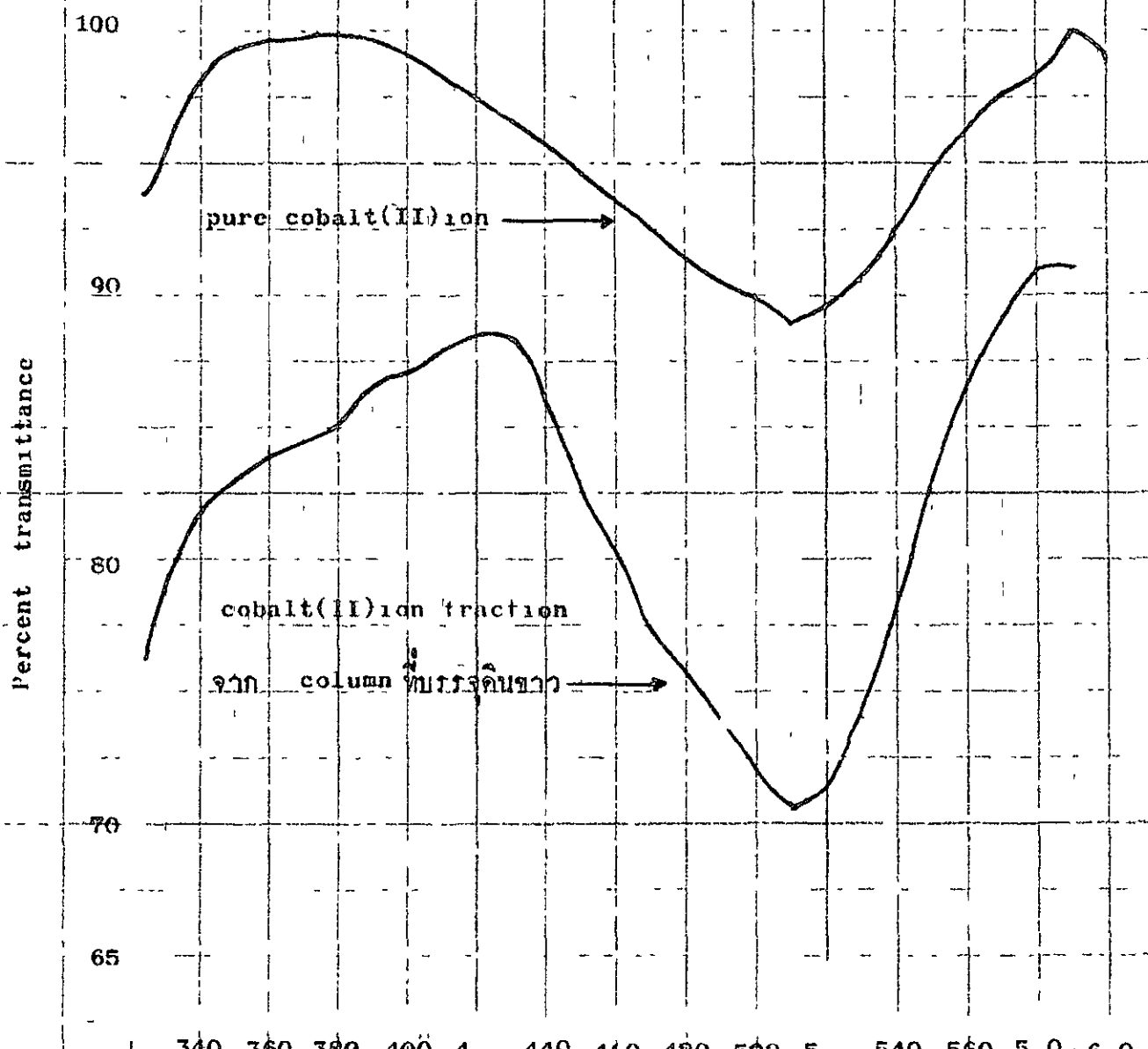
ตาราง 23 แสดงผลการวัด Percent Transrittance จากการแปรผัน Wavelength ของ Cobalt fraction จากการใช้ดินขาวเป็น Adsorbent ใน Column Chromatography.

การวัดครั้งที่	Wavelength (millimi--crons)	Percent Transmit--tance	การวัดครั้งที่	Wavelength (millimi--crons)	Percent Transmit--tance.
1	325	76.00	15	460	80.50
2	330	79.00	16	470	77.00
3	340	82.00	17	480	76.00
4	350	83.00	18	490	74.00
5	360	84.00	19	500	72.00
6	370	84.50	20	510	70.50
7	380	85.00	21	520	71.00
8	390	87.00	22	530	74.00
9	400	87.00	23	540	78.00
10	410	88.00	24	550	83.00
11	420	88.50	25	560	86.50
12	430	89.00	26	570	89.00
13	440	86.00	27	580	91.00
14	450	82.50	28	590	91.00

ตาราง 24 แสดงผลการวัด Percent Transmittance จากการแปรผัน Wavelength ของ Pure Cobalt nitrate 0.005 M.

การวัดครั้งที่	Wavelength (millimicron)	Percent Transmittance.	การวัดครั้งที่	Wavelength (millimicron.	Percent Transmittance
1	325	94.00	15	460	93.50
2	330	95.30	16	470	92.50
3	340	99.00	17	480	91.00
4	350	99.50	18	490	90.50
5	360	99.00	19	500	90.00
6	370	100.00	20	510	89.00
7	380	100.00	21	520	89.50
8	390	100.00	22	530	90.50
9	400	98.50	23	540	92.00
10	410	98.50	24	550	95.00
11	420	97.50	25	560	96.00
12	430	96.50	26	570	97.50
13	440	96.00	27	580	98.00
14	450	94.50	28	590	100.00
			29	600	99.00

ภาพ 1. Maximum absorption spectrum ของ pure cobalt(II)ion 0.005 M. กับ cobalt(II)ion fraction ที่เป็น effluent จาก column ที่บรรจุดินขาวเป็น adsorbent



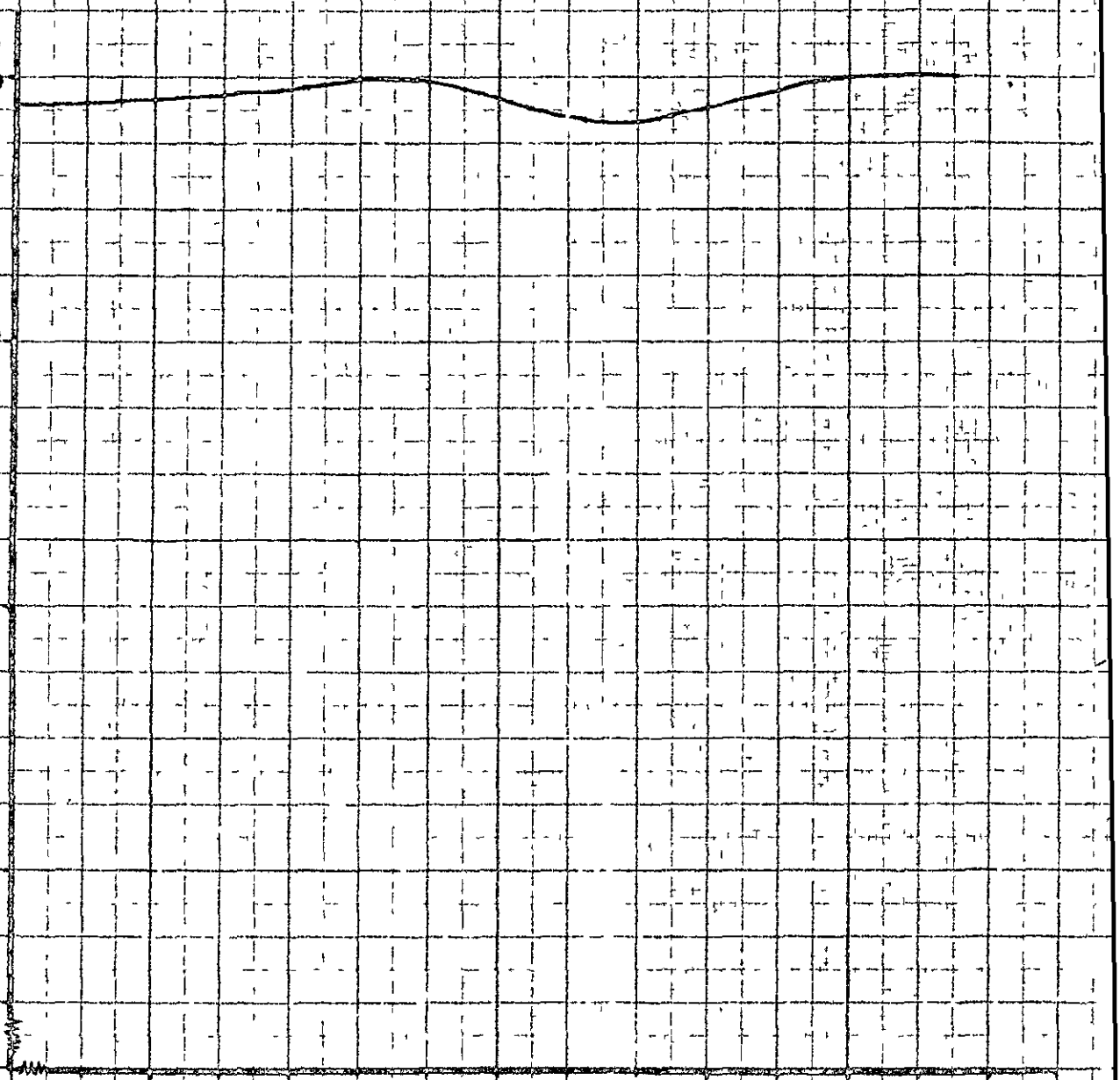
แทน x = 4 : 1
y = 1 : 2

ตาราง25 แสดงผลการวัด Percent Transmittance จากการแปรผัน Wavelength ของ Effluent ที่รองรับหลังจาก Cobaltzone elute ออกหมดแล้ว

การวัดครั้งที่	Wavelength (millimi-crons)	Percent Transmit-tance.	การวัดครั้งที่	Wavelength (millimi-crons)	Percent Transmit-tance.
1	325	99.00	15	460	99.50
2	330	99.00	16	470	98.00
3	340	99.00	17	480	98.50
4	350	99.00	18	490	98.50
5	360	99.00	19	500	99.00
6	370	99.00	20	510	98.00
7	380	99.00	21	520	99.00
8	390	99.00	22	530	100.00
9	400	99.00	23	540	99.00
10	410	100.00	24	550	100.00
11	420	100.00	25	560	100.00
12	430	100.00	26	570	100.00
13	440	100.00	27	580	100.00
14	450	99.50	28	590	100.00

รูปที่ 2 Maximum absorption spectrum ของ effluent ด้วยพอยระหว่าง

cobalt(II)ion fraction copper(II)ion fraction



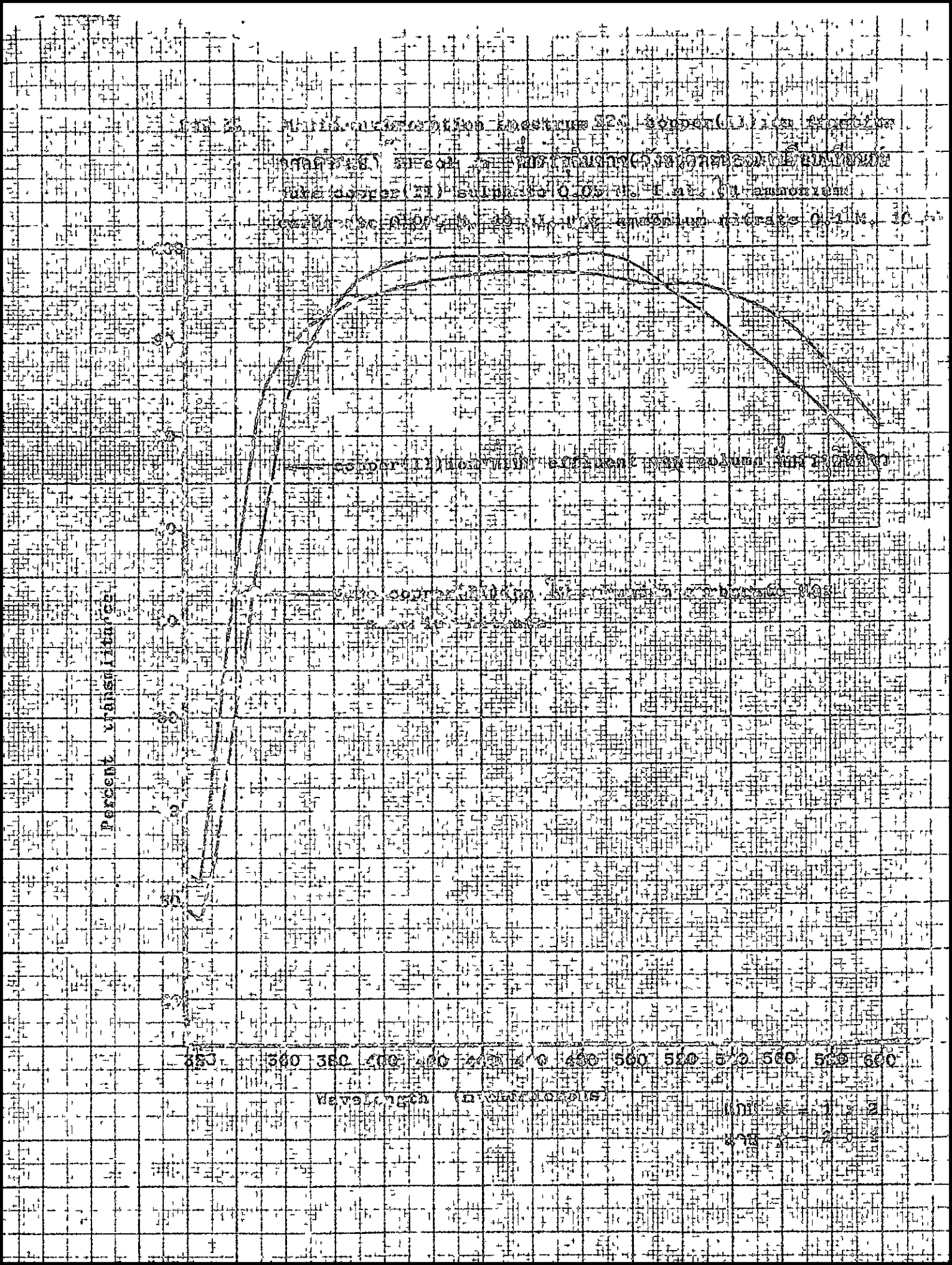
แกน x = 4 : 1
แกน y = 1 : 2

ตาราง 26 แสดงผลการวัด Percent Transmittance จากการแปรผัน Wavelength ของ Copper fraction จากการใช้ดินขาวเป็น Adsorbent.

การวัดครั้งที่	Wavelenth (millimi--crons)	Percent Transmit--tance.	การวัดครั้งที่	Wavelength (millimi--crons)	Percent Transmit--tance
1	325	28.50	15	460	98.50
2	330	33.00	16	470	98.50
3	340	50.00	17	480	100.00
4	350	68.00	18	490	100.00
5	360	83.50	19	500	97.50
6	370	90.00	20	510	96.00
7	380	94.00	21	520	95.00
8	390	96.50	22	530	93.00
9	400	98.00	23	540	90.00
10	410	99.00	24	550	89.00
11	420	99.00	25	560	86.50
12	430	98.50	26	570	85.00
13	440	98.50	27	580	81.50
14	450	98.50	28	590	79.50
			29	600	76.00

ตาราง 27 แสดงผลการวัด Percent Transmittance จากการแปรผัน Wavelength ของ ของผสม Pure Copper sulphate 0.05 Mol. 1 ml กับ Ammonium Carbonate 0.005 Mol. 10 ml และ Ammonium Nitrate 0.1 Mol. 10 ml.

การวัดครั้งที่	Wavelength (millimi-crons)	Percent Transmit-tance.	การวัดครั้งที่	Wavelength (millimi-crons)	Percent Transmit-tance
1	325	32.50	15	460	97.00
2	330	42.00	16	470	97.00
3	340	67.00	17	480	97.00
4	350	86.50	18	490	98.00
5	360	88.50	19	500	96.00
6	370	91.50	20	510	95.50
7	380	93.00	21	520	96.50
8	390	95.00	22	530	96.50
9	400	95.00	23	540	95.00
10	410	95.50	24	550	94.00
11	420	96.00	25	560	93.00
12	430	96.50	26	570	90.00
13	440	96.50	27	580	87.00
14	450	96.50	28	590	84.00
			29	600	81.00

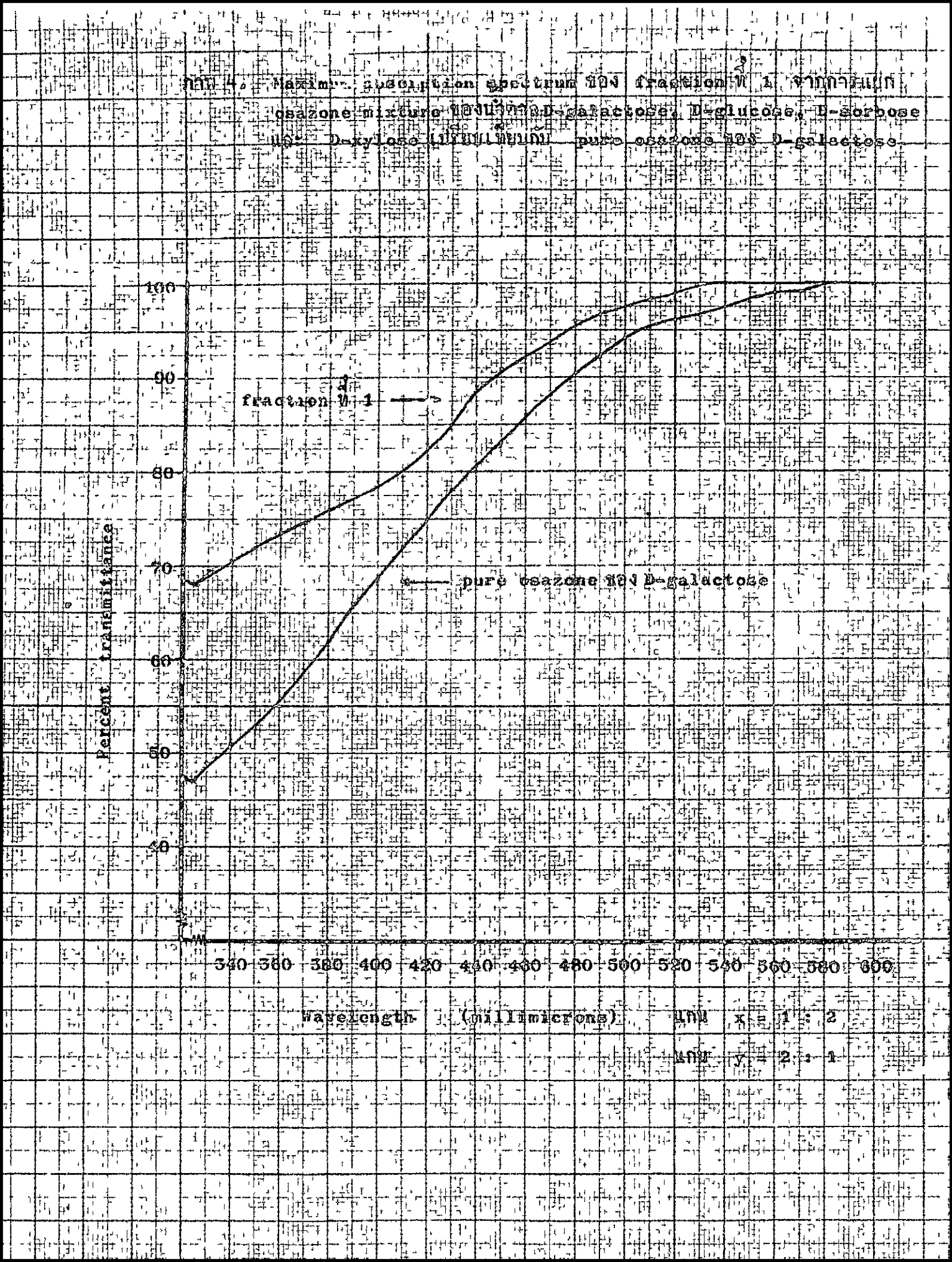

Percent transmittance
Wavelength (millimicrons)

ตาราง 28 แสดงผลการวัด Percent Transmittance จากการแปรผัน Wavelength ของ Fraction ที่ 1 จากการใช้หินออนแยก System-Osazone ของ Galactose, Glucose, Xylose และ Sorbose.

การวัดครั้งที่	Wavelength (millimi-crons)	Percent Transmit-tance.	การวัดครั้งที่	Wavelength (millimi-crons)	Percent Transmit-tance
1	325	68.00	15	460	92.50
2	330	69.50	16	470	93.50
3	340	70.50	17	480	96.00
4	350	72.00	18	490	96.50
5	360	73.50	19	500	97.50
6	370	74.50	20	510	98.00
7	380	76.00	21	520	98.00
8	390	76.50	22	530	100
9	400	79.00	23	540	100
10	410	79.50	24	550	100
11	420	83.00	25	560	100
12	430	85.00	26	570	100
13	440	89.00	27	580	100
14	450	91.00	28	590	100
			29	600	100

ตาราง 29 แสดงผลการวัด Percent Transmittance จากการแปรผัน Wavelength ของ Osazone ของ Galactose บริสุทธิ์

การวัดครั้งที่	Wavelength (millimi-crons)	Percent Transmit-tance.	การวัดครั้งที่	Wavelength (millimi-crons)	Percent Transmit-tance.
1	325	47.00	15	460	86.00
2	330	49.00	16	470	88.20
3	340	51.00	17	480	90.50
4	350	52.80	18	490	92.20
5	360	55.10	19	500	94.00
6	370	59.00	20	510	95.00
7	380	62.00	21	520	96.00
8	390	66.20	22	530	96.80
9	400	68.50	23	540	97.50
10	410	72.20	24	550	98.00
11	420	75.20	25	560	99.00
12	430	78.00	26	570	99.00
13	440	80.20	27	580	99.00
14	450	82.80	28	590	100.00
			29	600	100.00



ภาพที่ 4. Maximum absorption spectrum ของ fraction V 1 จากการแยก osazone mixture ของน้ำตาล D-galactose, D-glucose, D-sorbose และ D-xylose (ภาพนี้ไม่ได้แสดง pure osazone ของ D-galactose)

หน่วย x = 1 : 2

หน่วย y = 2 : 1

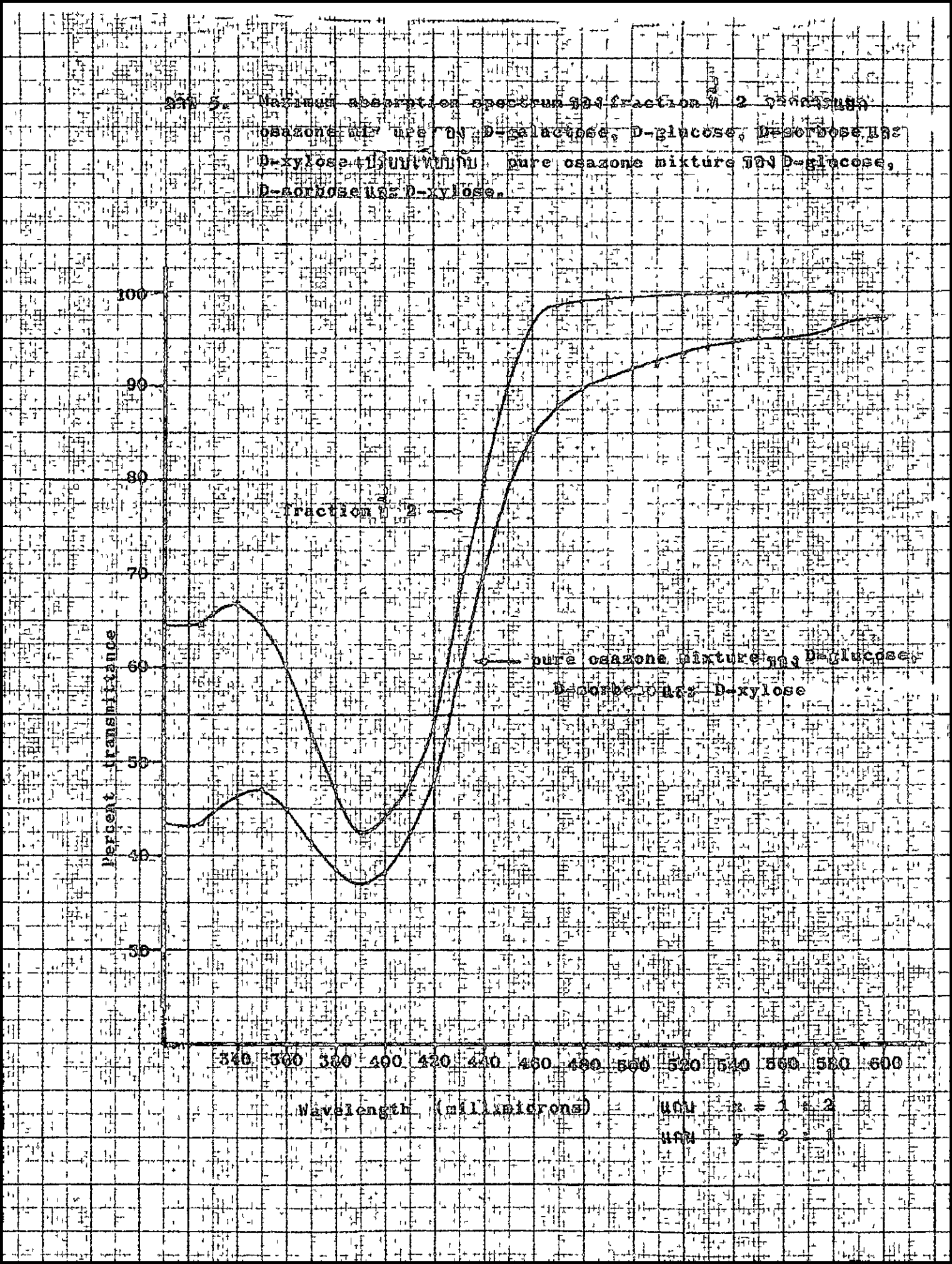
ตาราง 30 แสดงผลการวัด Percent Transmittance จากการแปรผัน Wavelength ของ Fraction ที่ 2 จากการใช้หินวุ้นแยก System-Osazone ของ Galactose, Glucose, Xylose และ Sorbose.

การวัดครั้งที่	Wavelength (millimi-crons)	Percent Transmit-tance.	การวัดครั้งที่	Wavelength (millimi-crons)	Percent Transmit-tance.
1	325	64.50	15	460	98.50
2	330	66.00	16	470	98.50
3	340	67.00	17	480	99.00
4	350	65.00	18	490	99.50
5	360	60.50	19	500	99.00
6	370	53.00	20	510	99.50
7	380	47.50	21	520	99.50
8	390	42.80	22	530	100
9	400	45.50	23	540	100
10	410	46.50	24	550	100
11	420	54.00	25	560	100
12	430	68.00	26	570	100
13	440	79.50	27	580	100
14	450	91.50	28	590	100
			29	600	100

ตาราง 31 แสดงผลการวัด Percent Transmittance จากการแปรผัน avelength ของ Osazone Mixture ของ D-Xylose, D-Sorbose และ D-Glucose ที่บริสุทธิ์

การวัดครั้งที่	'avelength (millimi--crons)	Percent Transmit--tance.	การวัดครั้งที่	Wavelength (millimi--crons)	Percent Transmit--tance
1	325	43.80	15	460	85.00
2	330	44.50	16	470	88.00
3	340	46.50	17	480	90.00
4	350	47.00	18	490	91.00
5	360	45.00	19	500	92.00
6	370	41.50	20	510	92.80
7	380	38.50	21	520	93.20
8	390	37.60	22	530	94.00
9	400	38.20	23	540	95.00
10	410	42.50	24	550	95.40
11	420	48.50	25	560	95.00
12	430	59.20	26	570	94.50
13	440	71.00	27	580	97.00
14	450	79.20	28	590	97.00
			29	600	97.00

รูปที่ 5. Maximum absorption spectrum ของ fraction ที่ 2 ของ osazone ผสม ระหว่าง D-galactose, D-glucose, D-sorbose และ D-xylose เปรียบเทียบกับ pure osazone mixture ของ D-glucose, D-sorbose และ D-xylose.



ตาราง 32 แสดงผลการวัด Percent Transmittance จากการแปรผัน Wavelength ของ Fraction ที่ 1 จากการใช้หินกรองแยก System-Osazone ของ Xylose กับ Galactose.

การวัดครั้งที่	Wavelength (millimi-crons)	Percent Transmit-tance.	การวัดครั้งที่	Wavelength (millimi-crons)	Percent Transmit-tance.
1	325	57.00	15	460	86.00
2	330	57.50	16	470	87.50
3	340	58.50	17	480	89.50
4	350	60.00	18	490	91.50
5	360	62.00	19	500	91.50
6	370	63.50	20	510	92.00
7	380	65.50	21	520	93.50
8	390	69.00	22	530	93.50
9	400	71.00	23	540	95.00
10	410	74.50	24	550	95.50
11	420	77.50	25	560	95.50
12	430	80.00	26	570	96.00
13	440	82.50	27	580	96.50
14	450	84.00	28	590	97.00
			29	600	97.00

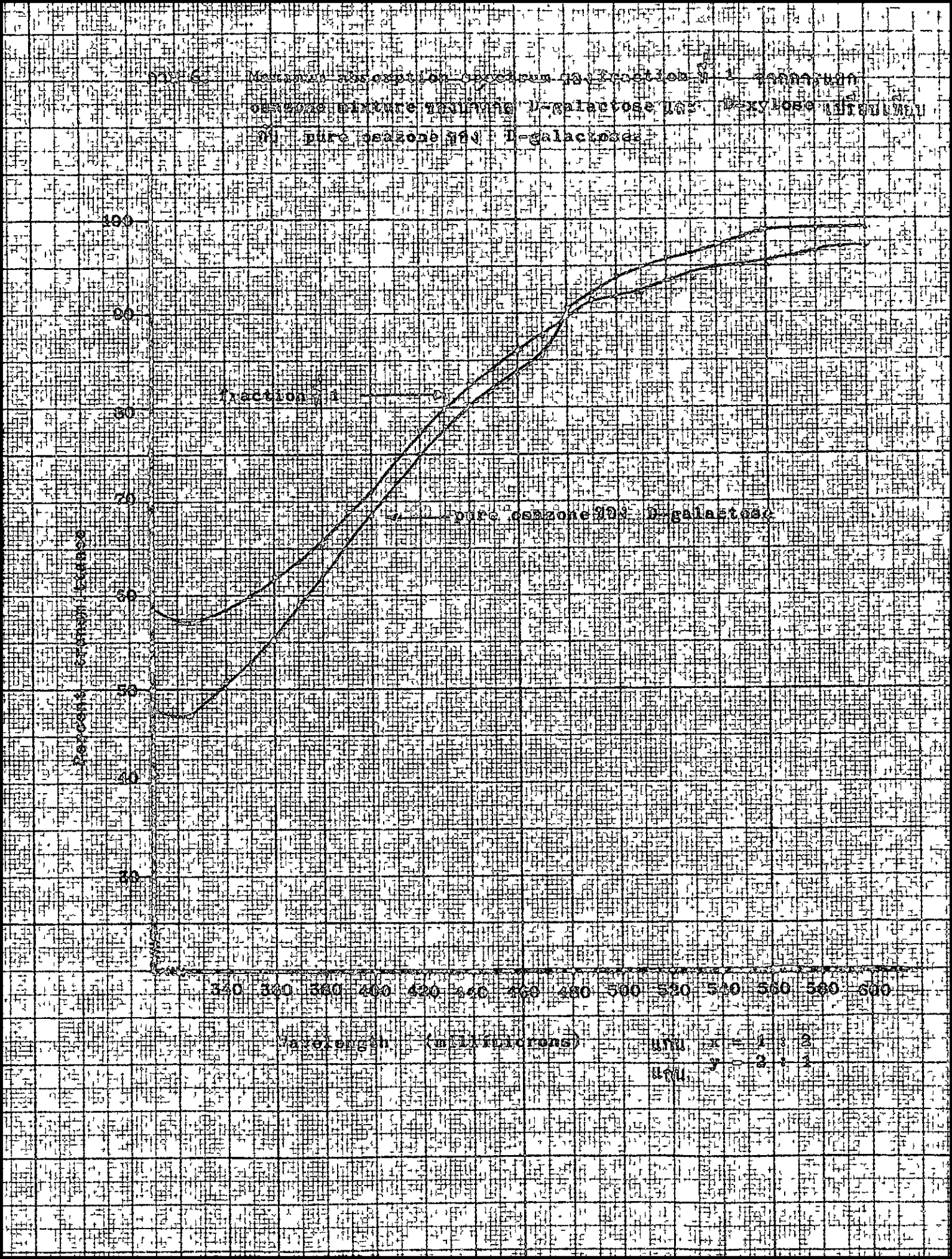


Fig. 6. Measured absorption spectrum of fraction No. 1 containing osazone mixture resulting D-galactose and D-xylose and of pure osazone of D-galactose.
100
90
80
70
60
50
40
30
Percentage transmission
fraction No. 1
pure osazone of D-galactose
340 360 380 400 420 440 460 480 500 520 540 560 580 600
Wavelength (millimicrons)
mμ x = 1 : 2
mμ y = 2 : 1

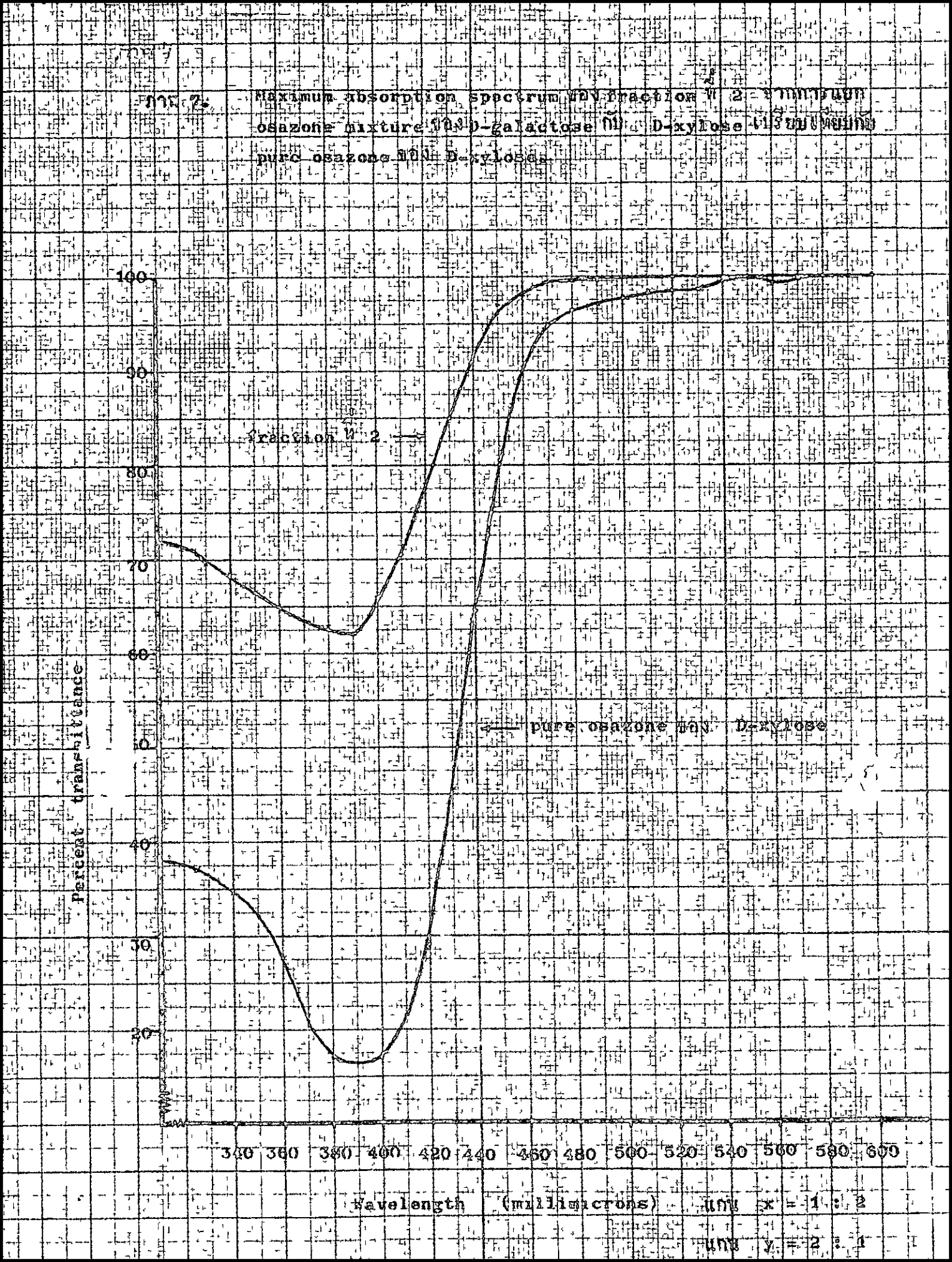
ตาราง 33 แสดงการวัด Percent Transmittance จากการแปรผัน Wavelength ของ Fraction ที่ 2 จากการใช้หินอ่อนแยก System-Osazone ของ Xylose กับ Galactose.

การวัดครั้งที่	Wavelength (millimi-crons)	Percent Transmit-tance.	การวัดครั้งที่	Wavelength (millimi-crons)	Percent Transmit-tance.
1	325	71.00	15	460	98.00
2	330	69.50	16	470	99.50
3	340	68.50	17	480	99.50
4	350	66.50	18	490	99.50
5	360	65.00	19	500	100
6	370	63.50	20	510	100
7	380	63.00	21	520	100
8	390	62.00	22	530	100
9	400	66.00	23	540	100
10	410	70.50	24	550	100
11	420	78.00	25	560	100
12	430	85.00	26	570	100
13	440	92	27	580	100
14	450	97.00	28	590	100
			29	600	100

ตาราง 34 แสดงผลการวัด Percent Transmittance จากการแปรผัน Wavelength ของ Osazone ของ D-Xylose บริสุทธิ์

การวัดครั้งที่	Wavelength (millimicrons)	Percent-Transmittance.	การวัดครั้งที่	Wavelength (millimicrons)	Percent-Transmittance.
1	325	37.00	15	460	90.50
2	330	36.50	16	470	95.00
3	340	34.80	17	480	96.50
4	350	32.20	18	490	97.00
5	360	27.80	19	500	97.80
6	370	21.50	20	510	98.50
7	380	17.00	21	520	98.50
8	390	16.50	22	530	98.50
9	400	17.00	23	540	100.00
10	410	21.50	24	550	100.00
11	420	29.20	25	560	99.00
12	430	45.50	26	570	99.50
13	440	64.50	27	580	100.00
14	450	80.50	28	590	100.00
			29	600	100.00

Fig. 2. Maximum absorption spectrum of fraction # 2 - D-galactose osazone mixture and pure osazone of D-xylose.



ตาราง. 35 Rf × 1000 จากการใช้ดินขาวที่ไม่ Activate แยก Indicators

Indicators	Rf × 1000										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	เฉลี่ย
1. phenolphthalein	907	908	878	850	870	910	913	858	898	892	888
2. bromophenol Blue	837	843	789	769	793	835	836	778	805	836	812
3. phenol red	757	756	696	683	711	760	754	699	712	752	728
4. bromothymol Blue	881	878	831	814	836	877	868	818	858	862	852
5. thymol Blue	862	869	822	796	810	854	863	809	831	849	852
6. methyl red	035	034	028	022	034	032	036	035	035	035	033
7. methyl orange	300	313	242	226	217	291	277	238	238	258	260
8. arizalin yellow	814	813	771	737	750	793	800	738	769	780	809
9. bromocresol green	828	800	798	796	810	849	845	805	827	836	819
10. cresol red	819	822	751	751	775	802	800	761	778	780	783
11. crystal violet	061	060	061	058	051	065	072	057	061	062	061
12. malachite green	097	095	074	067	068	084	090	075	061	060	077

ตาราง 36 Rf X 1000 จากการใช้ดินขาวจังหวัดระนอง Activate ที่ 200°C เป็นเวลา ๒๐ นาที แยก Indicators

Indicators	Rf X 1000										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	เฉลี่ย
1. phenolphthalein	899	868	879	840	866	884	889	894	876	861	875
2. bromophenol blue	843	796	814	784	791	817	826	825	816	805	811
3. phenol red	771	716	741	720	704	734	745	731	736	722	732
4. bromothymol blue	879	838	853	824	834	857	855	869	854	848	851
5. thymol blue	667	822	844	808	826	849	847	853	841	818	837
6. methyl red	028	021	025	020	019	023	025	024	031	025	020
7. methyl orange	240	169	228	232	196	206	228	203	216	225	204
8. arzarin yellow	803	762	784	756	763	789	788	784	785	758	777
9. bromocresol green	856	813	823	800	818	841	830	833	825	818	825
10. cresol red	828	775	805	772	783	801	805	792	801	788	795
11. crystal violet	048	042	051	056	055	047	050	056	063	051	052
12. malachite green	080	067	086	088	066	067	084	073	079	806	069

ตาราง 37 Rf X1000 จากการใช้ดินขาวผสม Gypsum (9:1 $^{w}/_{w}$) ที่ไม่ Activate แยก Indicators

Indicators	Rf X1000										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	เฉลี่ย
1. phenolphthalein	924	935	911	921	916	899	878	890	924	898	909
2. bromophenol blue	889	879	860	866	863	843	826	824	869	842	856
3. phenol red	822	822	806	811	803	753	752	747	882	752	795
4. bromothymol blue	904	894	885	898	886	873	856	867	909	874	884
5. thymol blue	888	894	881	888	886	873	848	852	890	874	877
6. methyl red	063	056	055	062	075	059	059	052	070	056	060
7. methyl orange	333	325	393	376	363	350	273	256	382	349	340
8. alizarin yellow	825	891	835	835	833	820	797	801	835	816	871
9. bromocresol green	880	891	877	890	878	860	833	852	898	857	871
10. cresol red	857	842	850	849	848	843	815	811	847	842	840
11. crystal violet	079	065	063	066	068	067	051	052	070	063	064
12. malachite green	111	096	102	105	102	101	088	083	109	101	089

ตาราง 38 Rf X 1000 จากการใช้ดินขาวผสม Gypsum (9:1 $^{w}/_{w}$)
Activate. ที่ 200°C เป็นเวลา ๒๐ นาที แยก Indicators

Indicators	Rf X 1000										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	เฉลี่ย
1. phenolphthalein	927	898	916	918	914	896	905	899	907	905	908
2. bromophenol blue	855	828	853	844	850	834	807	832	842	879	842
3. phenol red	789	762	783	768	782	766	735	767	768	791	771
4. bromothymol blue	895	865	889	888	880	866	854	879	876	890	878
5. thymol blue	878	860	878	869	880	856	841	872	869	884	868
6. methyl red	066	060	076	066	057	053	064	065	057	050	061
7. methyl orange	304	296	346	311	300	294	306	291	297	240	280
8. arizarin yellow	835	818	817	819	825	812	797	828	827	847	820
9. bromocresol green	873	850	874	867	875	856	839	866	863	884	860
10. cresol red	843	814	839	833	839	820	804	840	833	848	830
11. crystal violet	048	050	045	048	057	050	046	050	050	044	049
12. malachite green	089	071	076	077	071	079	078	087	079	079	079

ตาราง 39 Rf X 1000 จากการใช้ดินขาว Commercial grade แยก Indicators

Indicators	Rf X 1000										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	เฉลี่ย
1. phenolphthalein	847	846	861	860	855	870	838	860	773	868	849
2. bromophenol blue	780	784	821	827	822	830	850	830	722	831	809
3. phenol red	714	715	792	784	783	770	813	779	724	771	763
4. bromothymol blue	814	824	853	843	848	862	859	849	815	864	843
5. thymol blue	792	814	832	810	819	790	834	809	816	792	810
6. methyl red	047	064	048	050	050	056	049	048	064	060	053
7. methyl orange	363	371	390	400	436	435	396	406	368	436	400
8. alizarin yellow	792	807	832	810	819	790	834	808	816	791	809
9. bromocresol green	793	811	848	843	830	830	855	848	811	831	830
10. cresol red	764	773	828	818	809	806	838	822	764	808	803
11. crystal violet	070	078	083	059	088	092	074	063	063	096	076
12. malachite green	108	110	130	147	122	125	152	152	117	152	131

ตาราง 40 Rf x 1000 จากการใช้ดินขาวผสม Gypsum ที่ไม่ Activate แยก Amino acids

Amino acids	Rf X1000										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	เฉลี่ย
1. L(+)-lisiniummono-nydrochloride	011	010	013	010	010	013	013	011	007	013	011
2. L(+)-aspartic acid	075	078	076	071	071	076	076	075	076	078	075
3. L-threonine	230	221	201	219	201	226	222	219	226	223	218
4. L-methionine	487	457	451	474	453	477	475	483	484	479	472
5. L(-)-leucine	665	690	652	676	683	662	666	666	679	660	669
6. L(+)-isoleucine	676	661	673	690	659	680	687	674	695	678	677
7. L-tryptophan	647	633	628	640	612	645	652	633	648	645	638
8. L-phenylalanine	661	657	637	654	645	659	649	653	664	659	653
9. glycine	106	107	090	100	100	107	111	097	117	107	010

ตาราง 41 Rf × 1000 จากการใช้ดินขาวผสม Gypsum (9:1 $^{w}/_{w}$) ที่ Activate แยก Amino acids

Amino acid	Rf × 1000										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	เฉลี่ย
1. L(+)-lysiniummono-hydrochloride	012	016	016	012	015	012	012	016	016	012	013
2. L(+)-aspartic acid	079	088	074	077	085	081	076	082	082	075	080
3. L-threonine	251	252	239	241	255	252	247	245	244	247	250
4. L-methionine	500	494	487	500	507	504	504	500	502	508	500
5. L(-)-leucine	693	701	694	706	704	705	702	716	697	714	700
6. L(+)-isoleucine	708	707	721	726	707	712	715	700	717	719	713
7. L-cryptophan	678	669	673	683	669	678	677	683	676	679	680
8. L-phenylalanine	692	679	690	697	693	696	705	697	698	702	690
9. glycine	120	121	123	117	127	120	117	119	122	125	120

ตาราง 42 Rf × 1000 จากการใช้ดินขาวชนิด Commercial grade แยก Amino acids

Amino acids	Rf × 1000										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	เฉลี่ย
1. L(+) lysiniummono-hydrochloride	040	033	034	033	035	033	043	031	035	033	350
2. L(+) aspartic acid	097	082	084	058	095	058	078	073	073	083	780
3. L-threonine	382	346	351	364	373	347	356	367	352	350	360
4. L-methionine	223	183	217	200	219	204	192	204	217	216	210
5. L(-) leucine	682	688	707	741	738	715	692	695	771	747	720
6. L(+) isoleucine	666	672	702	725	726	710	661	680	754	725	700
7. L-tryptophane											
8. L-phenylalanine	682	676	695	729	745	714	662	692	723	725	700
9. glycine	154	142	172	166	177	183	188	166	175	174	170

ตาราง 43 Rf × 1000 จากการใช้ดินขาวผสมแร่ยิบซัม (9:1 $^{w}/_{w}$) ไม่ Activate
ใช้ Solvent น้ำกลั่น 50 ml ผสมกรดเกลือเข้มข้น 10 หยด (0.30 ml)

Cations	Rf × 1000										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	เฉลี่ย
System 1											
1. mercury (I) ion	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000
2. copper (II) ion	607	714	676	647	632	595	687	702	705	629	660
3. copper (II) ion (ind.)	411	469	378	307	405	500	593	483	444	367	435
4. mercury (II) ion	813	918	833	843	801	914	916	882	843	862	860
System 2											
1. cadmium (II) ion	895	885	881	930	932	929	897	941	901	900	890
2. arsenate ion	673	662	613	696	695	732	644	728	666	650	680
3. copper (II) ion	469	461	455	470	446	467	417	495	420	415	450
4. lead (II) ion	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000
System 3											
1. cadmium (II) ion	666	629	587	636	739	644	660	653	648	683	650
2. nickel (II) ion	500	500	400	472	541	479	500	508	481	500	490
3. silver (I) ion	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000

ตาราง 44 Rf × 1000 จากการใช้ดินเขาวผสมยิบซัม (9:1 $^{w}/_{w}$) ที่ Activate ใช้ Solvent น้ำกลั่น 50 ml ผสมกรดเกลือเข้มข้น 10 หยด (0.3 ml)

Cations	Rf × 1000										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	เฉลี่ย
System 1											
1. mercury (II) ion	822	848	773	812	738	811	782	780	817	779	800
2. copper (II) ion	777	732	660	641	669	666	684	659	658	647	680
3. copper (II) ion (ind.)	408	491	479	417	403	340	478	429	414	385	420
4. mercury (I) ion	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000
System 2											
1. cadmium (II) ion	857	920	936	924	877	820	909	901	901	939	900
2. arsenate ion	622	681	680	634	591	550	704	652	679	666	650
3. copper (II) ion	408	477	361	408	377	350	465	448	456	439	420
4. lead (II) ion	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000
System 3											
1. cadmium (II) ion	690	727	721	766	754	794	731	705	680	735	730
2. nickel (II) ion	545	591	598	598	600	588	536	564	585	603	580
3. silver (I) ion	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000

ตาราง 45 Rf X1000 จากการใช้ดินขาวผสมยิบซัม (9:1 $^{w}/_{w}$)
ที่ไม่ Activate

Cations	Rf x 1000										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	เฉลี่ย
System ที่ 1 ใช้ solvent นำกลับ 50 ml ผสมกรดเกลือเข้มข้น 8 หยด (0.24 ml)											
1. mercury (II) ion	918	918	918	913	923	905	909	914	909	904	910
2. arsenate ion	734	714	785	741	784	745	716	808	690	786	750
3. copper (II) ion	608	581	612	586	627	584	481	617	490	634	580
4. copper (II) ion (ind.)	260	275	263	293	285	264	287	280	296	307	280
5. bismuth (III) ion	167	163	173	172	180	169	146	191	163	176	170
System ที่ 2 ใช้ solvent นำกลับ 50 ml ผสมกรดเกลือเข้มข้น 15 หยด (0.45 ml)											
1. tin (IV) ion	728	754	683	732	766	775	725	713	666	769	730
2. antimony (II) ion	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000

หมายเหตุ ind. = individual

ตาราง 46 Rf × 1000 จากการใช้ดินขาวผสมแร่ยิบซัม (9:1 $^{w}/_{w}$)
ที่ Activate

Cations	Rf × 1000										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	เฉลี่ย
System ที่ 1 ใช้ solvent น้ำกลั่น 50 ml ผสมกรดเกลือเข้มข้น 8 หยด (0.24 ml)											
1. mercury(II)ion	934	952	955	951	938	926	941	943	950	931	940
2. arsenate ion	782	782	841	872	792	800	837	781	837	787	810
3. copper (II) ion	630	652	771	781	708	715	762	666	700	675	710
4. copper (II) ion (ind.)	488	500	500	500	409	431	454	441	418	431	460
5. bismuth(III) ion	108	155	155	121	166	168	151	149	125	121	130
System ที่ 2 ใช้ solvent น้ำกลั่น 50 ml ผสมกรดเกลือเข้มข้น 15 หยด (0.45 ml)											
1. tin (IV) ion	787	800	835	823	834	819	854	829	780	776	810
2. antimony (III) ion	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000

หมายเหตุ ind. = individual

ตาราง 47 Rf X 1000 ได้จากการใช้ผงซอลิคที่ไม่ได้ activate ใน Thin - layer Chromatography

Indicators	Rf X 1000										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	เฉลี่ย
1. bromothymol blue	942	936	926	925	930	933	932	932	930	931	930
2. methyl orange	911	912	885	888	893	893	888	890	883	886	890
3. bromophenol blue	942	936	926	925	930	933	932	932	930	931	930
4. thymol blue	942	936	926	925	930	933	932	932	930	931	930
5. phenol red	942	936	926	925	930	933	932	932	930	931	930
6. malachite green	188	188	185	176	166	166	182	180	209	209	180
7. crystal violet	188	188	185	176	166	166	182	180	209	209	180
8. indico carmine	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000
9. congo red	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000

ตาราง 48 Rf × 1000 ได้จากการใช้ซิงกซอลิคที่ Activate ใน Thin - layer Chromatography

Indicators	Rf × 1000										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	เฉลี่ย
1. bromothymol blue	937	937	952	944	951	951	936	936	946	946	940
2. methyl orange	884	881	904	896	902	902	852	849	881	877	880
3. bromophenol blue	931	933	940	944	948	948	920	920	939	939	940
4. thymol blue	937	937	952	944	951	951	936	936	946	946	940
5. phenol red	937	937	952	944	951	951	936	936	946	946	940
6. malachite green	187	185	173	181	163	163	194	199	228	227	19
7. crystal violet	187	185	173	181	163	163	194	199	228	228	19
8. indico carmine	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000
9. congo red	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000

ตาราง 49 Rf × 1000 จากการใช้ผงซอล์กเขียนกระดานดำที่ไม่ Activate ใน Thin - layer Chromatography

Cations	Rf × 1000										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	เฉลี่ย
System ที่ 1 ใช้ solvent น้ำกลั่น 50 ml ผสมกรดเกลือเข้มข้น 1 หยด (0.03 ml)											
1. bismuth(III)ion	108	125	109	090	100	103	087	127	091	094	100
2. arsenite ion	859	875	894	864	872	862	859	845	847	886	870
System ที่ 2 ใช้ solvent น้ำกลั่น 50 ml ผสมกรดเกลือเข้มข้น 3 หยด (0.09 ml)											
1. cadmium(II)ion	880	895	925	909	925	924	904	938	924	893	910
2. copper (II) ion	193	197	179	168	158	158	226	231	237	201	194
System ที่ 3 ใช้ solvent น้ำกลั่น 50 ml ผสมกรดเกลือเข้มข้น 10 หยด (0.30 ml)											
1. mercury(II)ion	961	971	957	956	966	965	964	964	964	964	960
2. antimony(III)ion	181	182	191	195	203	189	187	187	178	175	190
System ที่ 4 ใช้ solvent น้ำกลั่น 50 ml ผสมกรดเกลือเข้มข้น 15 หยด											
1. cadmium(II)ion	938	950	951	935	912	923	912	933	912	927	930
2. antimony(III)ion	226	258	260	256	250	241	247	241	241	239	250

ตาราง 49 (ต่อ) Rf × 1000 จากการใช้ผงซอล์คเซียนกระดานดำที่ไม่ Activate ใน Thin - layer Chromatography

Cations	Rf × 1000										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	เฉลี่ย
System ที่ 5 ใช้ solvent น้ำกลั่น 50 ml ผสมกรดเกลือเข้มข้น 20 หยด											
1, arsenite ion	945	961	944	961	945	946	935	951	952	925	950
2, antimony(III)ion	154	163	166	163	163	169	111	114	161	111	150
System ที่ 6 ใช้ solvent สารละลาย potassium ferricyanide 0.1 M.											
1. mercury(II)ion	924	926	931	943	932	943	956	960	932	928	940
2. copper(II)ion	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000
System ที่ 7 ใช้ solvent สารละลาย potassium ferricyanide											
1. Iron(III)ion	937	946	942	938	933	945	937	942	937	937	940
2, copper(II) ion	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000

ตาราง 50 Rf × 1000 จากการใช้ผงซอลคเขียนกระดานดำที่ Activate ใน Thin - layer Chromatography

Cations	Rf × 1000										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	เฉลี่ย
System ที่ 1 ใช้ solvent น้ำกลั่น 50 ml ผสมกรดเกลือเข้มข้น 1 หยด (0.03 ml)											
1. bismuth(III)ion	192	175	203	214	226	322	265	218	186	206	220
2. arsenite ion	903	921	948	944	943	916	918	937	949	931	930
System ที่ 2 ใช้ solvent น้ำกลั่น 50 ml ผสมกรดเกลือเข้มข้น 3 หยด (0.09 ml)											
1. copper (II)ion	372	380	396	378	344	361	348	325	224	244	340
2. cadmium(II)ion	941	914	905	884	861	872	883	895	897	897	890
System ที่ 3 ใช้ solvent น้ำกลั่น 50 ml ผสมกรดเกลือเข้มข้น 15 หยด (0.45 ml)											
1. cadmium(II)ion	932	932	931	915	916	905	903	895	905	911	910
2. antimony(III)ion	152	152	145	132	100	085	115	095	114	126	120
System ที่ 4 ใช้ solvent น้ำกลั่น 50 ml ผสมกรดเกลือเข้มข้น 20 หยด (0.60 ml)											
1. arsenite ion	787	863	863	794	822	777	781	826	738	775	800
2. antimony(III)ion	136	136	136	128	139	129	109	115	130	137	130

ตาราง 50 (ต่อ) Rf × 1000 จากการใช้ผงซอลิคเขียนกระดานดำที่ Activate ใน Thin - layer Chromatography

Cations	Rf × 1000										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	เฉลี่ย
System ที่ 5 ใช้ solvent สารละลาย potassium ferricyanide 0.1 M.											
1. mercury (II) ion	966	972	956	957	968	966	967	958	989	956	970
2. copper (II) ion	134	139	141	130	136	202	208	208	191	173	170
System ที่ 6 ใช้ solvent สารละลาย potassium ferricyanide 0.1 M.											
1. Iron (III) ion	952	939	930	987	954	956	956	937	937	938	950
2. copper (II) ion	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000

ตาราง 51 Rf × 1000 จากการใช้ **Calcium sulphate** ชนิด **Commercial** grade ใน **Thin - layer Chromatography**

Cations	Rf × 1000										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	เฉลี่ย
System ที่ 1 ใช้ solvent น้ำกลั่น 50 ml ผสมกรดเกลือเข้มข้น 2 หยด (0.06 ml)											
1. arsenite ion	908	921	897	852	873	873	879	890	823	845	880
2. bismuth(III)ion	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000
System ที่ 2 ใช้ solvent น้ำกลั่น 50 ml ผสมกรดเกลือเข้มข้น 3 หยด (0.09 ml)											
1. cadmium(II)ion	937	951	937	945	944	934	942	931	955	935	940
2. copper (II)ion	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000
System ที่ 3 ใช้ solvent น้ำกลั่น 50 ml ผสมกรดเกลือเข้มข้น 10 หยด (0.3 ml)											
1. mercury(II)ion	825	848	858	856	863	842	801	848	788	790	830
2. antimony(III)ion	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000

ตาราง 51 ค่า Rf × 1000 จากการใช้ Calcium sulphate ชนิด Commercial grade ใน Thin-layer Chromatography

Cations	Rf × 1000										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	เฉลี่ย
System ที่ 4 ใช้ solvent น้ำกลั่น 50 ml ผสมกรดเกลือเข้มข้น 15 หยด (0.45 ml)											
1. cadmium(II)ion	927	919	918	915	853	837	825	846	842	833	870
2. antimony (III)ion	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000
System ที่ 5 ใช้ solvent น้ำกลั่น 50 ml ผสมกรดเกลือเข้มข้น 20 หยด (0.60 ml)											
1. arsenite ion	817	823	805	828	769	771	775	784	814	828	800
2. antimony(III)ion	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000
System ที่ 6 ใช้ solvent สารละลาย potassium ferricyanide 0.1 M.											
1. mercury (II) ion	942	930	953	937	916	949	927	946	949	941	940
2. copper (II) ion	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000

ตาราง 52 Rf × 1000 จากการใช้เรียบซัมบกละเอียดแยก Indicators ใน Thin-layer Chromatography ที่ไม่ Activate

Indicators	Rf × 1000										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	เฉลี่ย
1. bromophenol blue	963	960	958	966	953	969	952	967	942	956	970
2. crystal violet	912	899	895	911	892	875	880	900	840	866	890
3. phenolphthalein	978	968	965	974	969	963	964	967	955	981	970
4. malachite green	930	966	899	911	902	882	893	896	897	884	900
5. phenol red	959	958	961	955	953	959	964	957	957	942	960
6. bromothymol blue	971	972	975	977	969	977	978	971	948	978	970
7. congo red	105	084	091	117	107	080	088	103	129	187	110
8. indico carmine	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000
9. methylene blue	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000

ตาราง 53 Rf × 1000 จากการใช้เปรียบเทียบสัมบัติละเอียดแยก Indicators ใน Thin-layer Chromatography ที่ Activate

Indicators	Rf × 1000										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	เฉลี่ย
1. bromophenol blue	927	904	937	898	898	907	898	896	924	904	910
2. crystal violet	927	904	937	898	898	907	898	896	924	904	910
3. phenolphthalein	958	935	980	972	984	977	976	973	976	976	970
4. malachite green	954	905	933	891	945	904	906	911	944	912	920
5. phenol red	839	841	878	830	836	847	861	832	858	836	850
6. bromothynol blue	942	929	953	929	930	947	938	940	933	936	940
7. congo red	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000
8. indico carmine	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000
9. methylene blue	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000

ตาราง 54 Rf × 1000 จากการใช้แร่ยิบซัมที่ไม่ Activate ใน Thin-layer Chromatography

Cations	Rf × 1000										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	เฉลี่ย
System ที่ 1 ใช้ solvent น้ำกลั่น 50 ml ผสมกรดเกลือเข้มข้น 1 หยด (0.03 ml)											
1. arsenite ion	962	971	965	966	975	975	962	970	981	963	970
2. bismuth(III)ion	273	288	209	200	216	231	215	170	186	163	240
System ที่ 2 ใช้ solvent น้ำกลั่น 50 ml ผสมกรดเกลือเข้มข้น 3 หยด (0.09 ml)											
1. arsenite ion	955	957	953	947	928	920	896	948	948	948	940
2. antimony(III) ion	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000
System ที่ 3 สารละลาย potassium ferricyanide 0.1 M.											
1. mercury(II)ion	974	973	921	955	951	949	970	974	963	944	960
2. copper (II) ion	102	056	077	089	076	056	083	086	083	059	080

ตาราง 55 Rf × 1000 จากการใช้แร่ยิบซัม Activate ที่ 200°C

ใน Thin-layer Chromatography

Cations	Rf × 1000										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	เฉลี่ย
System ที่ 1 ใช้ solvent น้ำกลั่น 50 ml ผสมกรดเกลือเข้มข้น 1 หยด (0.03 ml.)											
1. arsenite ion	955	947	939	946	943	876	913	926	943	845	920
2. bismuth ion	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000
System ที่ 2 ใช้ solvent น้ำกลั่น 50 ml ผสมกรดเกลือเข้มข้น 3 หยด (0.09 ml.)											
1. arsenite ion	875	877	706	728	882	900	869	877	857	868	840
2. antimony (III) ion	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000
System ที่ 3 ใช้ solvent สารละลาย potassium ferricyanide 0.1 M.											
1. mercury(II) ion	938	937	952	950	953	946	946	946	946	954	950
2. copper (II) ion	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000

ตาราง 55 Rf × 1000 จากการใช้แร่ยิบซัม Activate ที่ 200°C ใน Thin-layer Chromatography

Cations	Rf × 1000										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	เฉลี่ย
System ที่ 1 ใช้ solvent น้ำกลั่น 50 ml ผสมกรดเกลือเข้มข้น 1 หยด (0.03 ml.)											
1. arsenite ion	955	947	939	946	943	876	913	926	943	845	920
2. bismuth ion	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000
System ที่ 2 ใช้ solvent น้ำกลั่น 50 ml ผสมกรดเกลือเข้มข้น 3 หยด (0.09 ml.)											
1. arsenite ion	875	877	706	728	882	900	869	877	857	868	840
2. antimony (III) ion	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000
System ที่ 3 ใช้ solvent สารละลาย potassium ferricyanide 0.1 M.											
1. mercury(II) ion	938	937	952	950	953	946	946	946	946	954	950
2. copper (II) ion	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000	000

ตาราง 56 Rf × 1000 จากการใช้แป้งบัฟเฟอร์ละหลังล้างสะอาด
แยก Amino acids ใน Thin-layer Chromatography

Amino acids	Rf × 1000										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	เฉลี่ย
1. L(-) - leucine	415	446	437	452	437	424	437	440	453	406	430
2. L(+) isoleucine	424	474	374	482	493	388	378	420	444	492	440
3. phenylalanine	320	330	323	360	357	325	294	349	326	341	330
4. L-tryptophan	140	222	160	204	215	158	164	176	180	192	180
5. L(+) aspartic acid	120	154	135	145	149	126	101	112	123	132	130
6. glycine	088	122	123	121	129	084	095	103	100	093	100
7. L(+) - lysiniummono-chloride	040	065	053	065	062	055	054	058	059	069	060

ตาราง 57 Rf x 1000 จากการใช้กระดาษกรองเมื่อแยก Indicators

Indicators	Rf x 1000										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	เฉลี่ย
1. cresol red (แดง)	926	884	940	931	900	911	916	926	894	910	910
2. cresol red (เหลือง)	797	732	817	800	756	754	777	797	725	754	770
3. Malachite green	954	921	949	956	938	943	952	950	930	940	940
4. bromocresol green	851	807	859	867	806	818	842	848	806	816	830
5. phenolphthalein	952	922	943	940	947	934	943	935	930	938	940
6. bromophenol blue	811	772	819	808	770	817	802	818	782	777	800
7. phenol red	547	488	542	555	579	492	519	554	502	479	520
8. bromothymol blue	925	903	927	905	928	911	912	921	909	896	910
9. methyl orange	819	784	818	796	798	792	796	805	782	772	796
10. methyl red	819	784	818	796	798	792	796	805	782	772	796
11. thymol blue	941	907	920	923	928	927	919	906	913	915	920
12. methanil yellow	839	736	816	815	804	811	805	785	799	797	800

ตาราง 58 Rf x1000 จากการใช้กระดาษซับหมึกสีขาว ตราม้าน้ำ แยก Amino acids

Amino acids	Rf x 1000										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	เฉลี่ย
1. L(-)-leucine	668	657	689	667	657	656	653	641	648	624	658
2. L-tryptophan	566	537	591	559	549	564	544	538	550	518	581
3. L-methionine	500	454	505	501	471	472	452	443	453	437	468
4. Glycine	229	165	216	200	193	182	148	163	162	167	182
5. L(+)-lysinium monohydrochloride	141	098	134	124	121	107	079	096	096	095	109
6. L(+)-isoleucine	636	613	654	632	623	645	618	614	619	590	624
7. L-threonine	298	214	282	254	248	237	207	215	218	211	238
8. L(+)-aspartic acid	220	147	195	185	170	157	131	138	159	143	164
9. L(-)Phenylalanine	618	615	641	613	613	633	600	593	610	600	613

ตาราง 5[illegible] Rf x 1000 จากการใช้กระดาษวัตแมนสีขาว ตามาน้ำ
แยกน้ำตาล

Sugars	Rf x 1000										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	เฉลี่ย
1. xylose	524	518	528	573	516	561	550	575	534	561	540
2. galactose	416	414	428	465	408	451	448	447	426	456	440
3. lactose	288	277	299	323	280	320	306	316	287	314	300
4. sorbose	463	468	460	519	467	533	498	509	483	499	490
5. maltose	310	322	329	365	312	365	343	347	321	343	340
6. fructose	473	487	502	532	490	536	521	509	496	510	510
7. sucrose	375	388	389	429	388	431	419	414	390	413	400
8. glucose	450	444	499	463	447	490	436	472	462	486	460

ตาราง 60 Rf x 1000 จากการใช้กระดาษสีเป็นกลีบสีขาว ตรวจน้ำยา
แยก Phenolic compounds

Phenolic compounds	Rf x 1000										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	เฉลี่ย
1. gallic acid	007	009	008	012	012	009	006	008	007	007	008
2. pyrogallol	055	054	049	057	059	059	044	048	049	054	050
3. hydroquinone	098	084	080	082	082	080	067	069	083	086	080
4. resorcinol	099	162	099	104	100	098	109	084	092	096	098
5. catechol	301	321	310	321	317	322	267	264	289	291	300
6. α - naphthol	880	887	858	869	873	877	839	834	850	862	860

ตาราง 61 Rf x1000 จากการใช้กระดาษ บ๊วบกสีขาว ตราม้าน้ำ แยก Glycerides

Glycerides	Rf × 1000										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	เฉลี่ย
1. oxalic acid	116	112	115	116	126	122	117	117	138	119	120
2. tartaric acid	350	307	323	362	333	336	350	368	305	343	340
3. citric acid	484	442	460	488	472	464	490	500	446	495	470
4. oleic acid	599	601	587	615	579	609	619	602	606	586	600
5. lactic acid	773	764	753	820	743	774	831	779	753	801	780
6. fumaric acid	922	910	903	958	908	909		903	932	926	920

ตาราง 62 Rf x 1000 จากการใช้กระดาษชับ เบอร์สีขาว วารย้าน้ำ

แยก Group As, Sb, Sn

Cations	Rf x 1000										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	เฉลี่ย
1. tin (III) ion	551	563	599	578	574	584	572	569	578	608	580
2. arsenite ion	492	484	501	490	491	500	480	484	470	503	490
3. antimony(III)ion	290	312	368	360	351	365	349	340	358	382	350

ตาราง 63 Rf x 1000 จากการใช้กระดาษซับชนิดสีขาว ตรวจน้ำแยกหมู่ (group) Pb^{2+} Cu^{2+} Bi^{3+} Cd^{2+} Hg^{2+}

Cations	Rf x 1000										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	เฉลี่ย
1. lead (II) ion	005	005	004	004	004	004	004	004	006	004	004
2. copper (II) ion	092	091	097	093	104	103	078	087	086	087	090
3. bismuth (III) ion	441	448	436	444	464	453	419	416	431	429	440
4. cadmium(II) ion	618	613	600	595	632	607	598	576	608	581	600
5. mercury(II) ion	737	703	726	703	722	719	705	676	757	699	710

ตาราง 64 Rf x 1000 จากการใช้กระดาษซับหมึกสีขาว กรามน้ำ

แยก Cations

Cations	Rf x 1000										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	เฉลี่ย
1. nickel(II) ion	060	059	070	044	047	060	062	063	057	073	060
2. manganese(II) ion	210	203	215	226	219	187	226	223	205	217	210
3. cobalt(II) ion	432	321	452	431	417	411	462	422	442	439	430
4. zinc(II) ion	795	763	811	820	799	750	795	753	790	795	860
5. aluminium(II)ion	060	059	070	047	056	060	075	067	064	093	070
6. copper(II) ion	632	613	643	601	599	595	644	642	618	639	620
7. chromium(II) ion	089	085	107	085	095	073	100	096	098	097	090
8. cadmium(II) ion	619	609	636	610	612	601	653	650	626	634	630

ตาราง 65 Rfx1000 จากการใช้กระดาษโครมาโทกราฟีกระดาษวาตมันเบอร์ 1 แยก Anions

Anions	Rf x 1000										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	เฉลี่ย
1. iodide ion	665	704	718	678	679	724	643	686	676	658	660
2. bromide ion	444	465	519	440	457	504	451	438	445	439	460
3. chloride ion	311	352	415	314	314	324	330	316	323	315	331
4. fluoride ion	103	075	090	074	094	088	092	095	069	069	075
5. thiocyanate ion	705	715	762	708	736	747	693	712	722	723	722