



## บทที่ 2

### ทฤษฎี

#### 2.1) สารประกอบเชิงซ้อน และ กรด-เบส ตามนิยามของลิวอิส

ปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน สามารถอธิบายได้ในรูปของปฏิกิริยา กรด-เบส [45] ตามนิยามของลิวอิส โดย กรดลิวอิส หรือ acceptors คือ สารประกอบที่ทำหน้าที่รับคู่อิเล็กตรอน และเบสลิวอิสคือ สารประกอบที่ทำหน้าที่ให้คู่อิเล็กตรอนแก่สารประกอบอื่นๆ ปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนจะเกิดระหว่าง กรดลิวอิส (โลหะไอออน) และเบสลิวอิส (ลิแกนด์) โดยมีทั้งการให้และรับคู่อิเล็กตรอน เพื่อมาสร้างให้เกิดพันธะโคออร์ดิเนตโคเวเลนต์

จากการศึกษาถึงปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน พบว่าความสามารถในการเกิดปฏิกิริยา และความเสถียรของสารประกอบเชิงซ้อนที่ได้ขึ้นอยู่กับสถานะต่างดังต่อไปนี้ [45]

##### 2.1.1) ความสามารถในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะ (Complexing ability of metal )

สามารถแบ่งโลหะออกได้เป็น 2 กลุ่มตามการแบ่งของ Schwarzenbach คือ โลหะที่เป็น กรดลิวอิส class A และ class B กำหนดว่าโลหะ class A คือ โลหะที่จับได้ดี กับฮาโลเจนไอออนตามลำดับดังนี้  $F^- >> Cl^- > Br^- > I^-$  และได้สารประกอบเชิงซ้อนที่เสถียรตามลำดับเช่นกัน โลหะ class B คือ โลหะที่ทำปฏิกิริยากับลิแกนด์ที่เป็นฮาโลเจนไอออน  $I^-$  ได้ดีกว่า  $F^-$  เกิดสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะ class B กับ  $I^-$  ได้เสถียรกว่าเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับ  $F^-$  Schwarzenbach ได้แบ่งโลหะชนิดต่างๆ ไว้ใน class A และ class B ดังต่อไปนี้

2.1.1.1) แคทไอออนที่มีการจัดอิเล็กตรอนแบบก๊าซเฉื่อย คือ อลูมิเนียม, อลูมิเนียมไฮดรอกไซด์ และ โลหะใน Aluminium group จะแสดงสมบัติเป็นโลหะ class A ซึ่งรวมธาตุในกลุ่มแลนทาไนด์ และ แอกทิไนด์ ด้วย

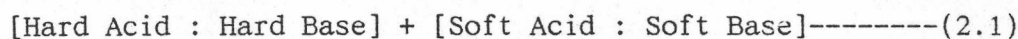
2.1.1.2) แคทไอออนที่มี d-subshell เต็มคือ โลหะในกลุ่ม Copper(I), Silver(I) และ Gold(I) แสดงสมบัติเป็นโลหะ class B และ เป็นไอออนที่ละลายได้ง่าย

พันธะที่เกิดกับลิแกนด์จะเป็นพันธะที่มีลักษณะโควาเลนต์สูง

2.1.1.3) โลหะแทรนซิชันที่มี d-subshell ที่ไม่สมบูรณ์ จะประกอบด้วยโลหะทั้ง class A และ class B

สามารถกำหนดสมบัติของโลหะ class A และ class B ได้ในรูป Hard Acid และ Soft Acid ได้ โดยกำหนดว่า Soft Acid จะเท่ากับ โลหะ class B และ Hard Acid จะเท่ากับโลหะ class A และ กำหนดนิยามของ Hard-Soft Base ดังนี้ Soft Base เป็นไอออนที่มีรัศมีไอออนที่ให้อิเล็กตรอน โดยรัศมีไอออนมีขนาดใหญ่มากกว่า 170 pm โพลาริซัไดดี และมีค่าอิเล็กโตรเนกาติวิตีต่ำ (2.1-2.9) และ Hard Base ว่าเป็นไอออนที่มีรัศมีไอออนต่ำกว่า 120 pm โพลาริซัไดยาก และมีค่าอิเล็กโตรเนกาติวิตีสูง (3.44-3.98) รูปที่ 2.1 แสดงการแบ่งธาตุในตารางธาตุตาม Hard Soft Acid Base (HSAB)

โดยทั่วไปสามารถกล่าวได้ว่า Hard Base ทำปฏิกิริยาได้ดีกับ Hard Acid และสอดคล้องกันคือ Soft Base ทำปฏิกิริยาได้ดีกับ Soft Acid ซึ่งสามารถแสดงได้ดังในปฏิกิริยา 2.1



ในบางกรณี Hard Acid อาจจับได้ดีกับ Soft Base และ Hard base จับได้ดีกับ Soft Acid ซึ่งทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสถานะอื่นๆ ด้วย

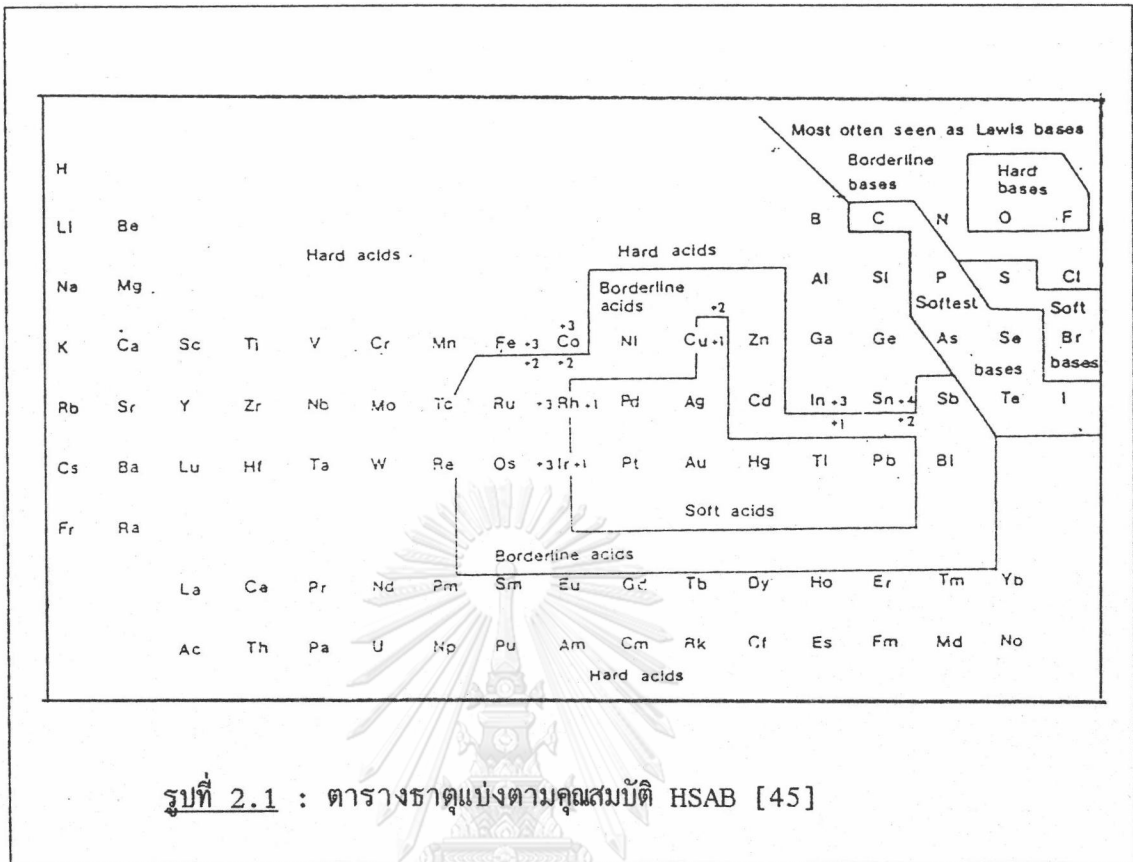
### 2.1.2) คุณสมบัติของลิแกนด์ (Characteristics of ligand)

การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนยังขึ้นอยู่กับสมบัติของลิแกนด์ด้วย ซึ่งแบ่งได้ดังนี้

2.1.2.1) ความเป็นเบสของลิแกนด์

2.1.2.2) คุณสมบัติ chelate ของลิแกนด์

2.1.2.3) ผลของ steric ของลิแกนด์



2.2) ทฤษฎี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) [46-47]

HPLC เป็นเทคนิคการวิเคราะห์และแยกสารประกอบ โดยอาศัยวิธีการทาง liquid chromatography โดยอาศัยคุณสมบัติการกระจายตัวของสารตัวอย่างในเฟส (phase) 2 เฟส ได้ไม่เท่ากัน เมื่อผ่านเฟสเคลื่อนที่ลงในคอลัมน์ ทำให้การเคลื่อนที่ของสารตัวอย่างบนเฟสอยู่กับที่เกิดได้ไม่เท่ากัน จึงทำให้เกิดแยกกันได้ขึ้น

ทฤษฎีทั่วไปของโครมาโทกราฟีอาศัยความแตกต่างระหว่างค่า  $k_D$  (ค่าสัมประสิทธิ์การกระจาย) ของสารตัวอย่างเป็นตัวบ่งถึงประสิทธิภาพการแยก โดย  $k_D$  มีสมการดังต่อไปนี้

$$k_D = \frac{C_s}{C_m} \text{-----(2.2)}$$

$C_s$  = ความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่อยู่ในเฟสที่อยู่กับที่

$C_m$  = ความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่อยู่ในเฟสเคลื่อนที่

สามารถคำนวณเวลาที่สารตัวอย่างอยู่ในเฟสเคลื่อนที่ได้จากสมการ 2.3

$$\begin{aligned} \text{เศษส่วนของเวลาที่ตัวถูกละลายอยู่ในเฟสเคลื่อนที่} &= \frac{\text{จำนวนโมเลกุลในเฟสเคลื่อนที่}}{\text{จำนวนโมเลกุลทั้งหมด}} \quad \text{---(2.3)} \\ &= \frac{C_m V_m}{C_m V_m + C_s V_s} \end{aligned}$$

เมื่อนำ  $C_m V_m$  หารทั้งเศษและส่วนจะได้

$$\text{เศษส่วนของเวลาที่ตัวถูกละลายอยู่ในเฟสเคลื่อนที่} = \frac{1}{1 + \frac{C_s V_s}{C_m V_m}} \quad \text{---(2.4)}$$

$$= \frac{1}{1 + K_d \frac{V_s}{V_m}} \quad \text{---(2.5)}$$

$$= \frac{1}{1 + k'} \quad \text{---(2.6)}$$

โดย  $k' = k_d \frac{V_s}{V_m}$

เมื่อคูณสมการ 2.6 ด้วย linear velocity (u) จะได้ค่าอัตราเร็วในการเคลื่อนที่ดังสมการ

$$\text{อัตราเร็วในการเคลื่อนที่} = \frac{u}{1 + k'} \quad \text{---(2.7)}$$

ในทฤษฎีโครมาโทกราฟี พารามิเตอร์ที่แสดงสมบัติของสารที่ผ่านโครมาโทกราฟีคอลัมน์ มีดังต่อไปนี้

**รีเทนชันไทม์ (Retention time,  $t_R$ )** คือเวลาที่ใช้ในการนำให้ตัวถูกละลายเคลื่อนที่ได้เท่ากับ 1 คอลัมน์ มีค่าดังสมการ 2.8

$$t_R = \frac{\text{length of column}(l)}{\text{rate of travel}} \quad \text{-----}(2.8)$$

$$t_R = \frac{l}{u} (1+k') \quad \text{-----}(2.9)$$

ถ้าให้  $t_m$  คือเวลาที่โมเลกุลตัวพาเดินทางได้ 1 คอลัมน์ คือ  $t_m = \frac{l}{u}$

$$t_R = t_m (1+k') \quad \text{-----}(2.10)$$

$$k' = \frac{t_R - t_m}{t_m} \quad \text{-----}(2.11)$$

รีเทนชันแวลูม (Retention volume,  $V_R$ ) คือ ปริมาตรของเฟสเคลื่อนที่ หรือ ตัวพาที่ต้องการใช้สารตัวอย่างออกจากคอลัมน์ โดย

$$V_R = t_R F \quad \text{-----}(2.12)$$

F = flow rate

$$V_R = t_m (1+k') F \quad \text{-----}(2.13)$$

กำหนด  $V_m$  = ปริมาตรของตัวพาที่เดินทางได้ 1 คอลัมน์ (dead volume)

$$V_m = t_m F \quad \text{-----}(2.14)$$

$$V_R = \frac{V_m}{F} (1+k') F \quad \text{-----}(2.15)$$

$$= V_m (1+k') \quad \text{-----}(2.16)$$

$$V_r = V_m(1 + K_d \frac{V_s}{V_m}) \text{-----}(2.17)$$

$$= V_m + K_d V_s \text{-----}(2.18)$$

รีเลทีฟรีเทนชัน (Relative retention, ) คือค่าที่แสดงถึงประสิทธิภาพการแยก

ของสารตัวอย่าง 2 ชนิด แสดงดังสมการ 2.19

$$= \frac{t_r - t_m}{t_{r^*} - t_m} \text{-----}(2.19)$$

$$= \frac{V_r - V_m}{V_{r^*} - V_m} \text{-----}(2.20)$$

$$= \frac{(V_m - K_d V_s) - V_m}{(V_m - K_d V_s) - V_m} \text{-----}(2.21)$$

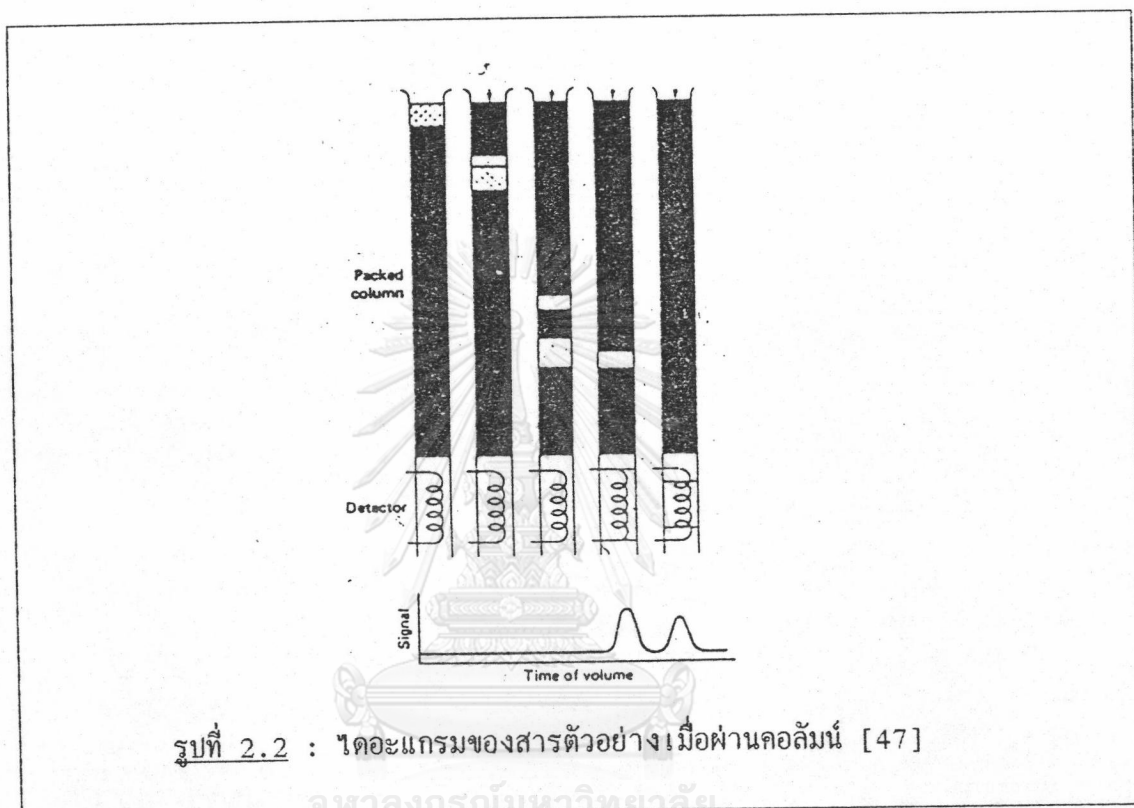
$$= \frac{K_d}{K_d^*} \text{-----}(2.22)$$

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

2.2.1) ทฤษฎีการชะในโครมาโทกราฟี (Theory of Elution Chromatography)

เมื่อนำสารตัวอย่างที่ละลายในเฟสเคลื่อนที่ไหลลงในส่วนบนของคอลัมน์ จะเกิดการแบ่งส่วนระหว่างเฟสที่อยู่กับที่ กับ เฟสเคลื่อนที่ เมื่อเติมเฟสเคลื่อนที่เข้าไปอีกในคอลัมน์ คือ เติมตัวชะ (Eluent) จะเกิดการผลักดันด้วยแรงขับ (driving force) ให้เฟสเคลื่อนที่ที่มีสารตัวอย่างอยู่เคลื่อนที่ลงคอลัมน์ สารตัวอย่างที่ถูกนำลงมาจะมาพบกับเฟสที่อยู่กับที่บริเวณใหม่ก็จะเกิดการแบ่งส่วนระหว่างเฟสทั้งสองอีก เมื่อเติมตัวชะต่อไปอีกเรื่อยๆ ก็จะทำให้สารตัวอย่างถูกพาลงมาส่วนล่างของคอลัมน์ โดยเกิดการแบ่งส่วนตลอดคอลัมน์ จนในที่สุดออกจากคอลัมน์ การเคลื่อนที่ของสารตัวอย่างเกิดขึ้นได้เนื่องจากการพาของเฟสเคลื่อนที่ หรือ ตัวชะเท่านั้น

ในกรณีที่มีสารตัวอย่างมากกว่า 1 ชนิด พบว่าถ้าสารตัวอย่างมีค่าสัมประสิทธิ์ของการกระจาย หรือ สัมประสิทธิ์ของการแบ่งส่วนต่างกัน ความสามารถในการเคลื่อนที่ของตัวถูกละลายนั้นจะต่างกัน จึงสามารถแยกออกจากกันได้โดยการผ่านคอลัมน์ การเคลื่อนที่ของสารตัวอย่างผ่านคอลัมน์แสดงในรูปที่ 2.2



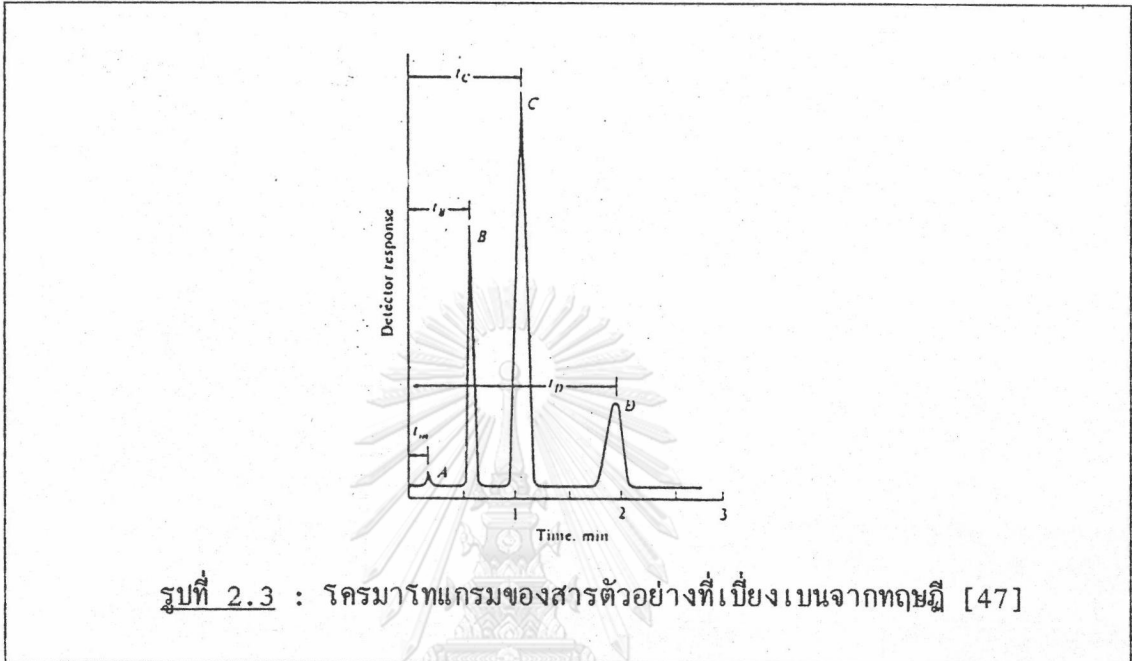
ในการแยกที่สมบูรณ์และมีลักษณะอุดมคติ จะได้พีคเป็นเส้นแต่แนวทางปฏิบัติ เนื่องจากโมเลกุลแต่ละตัวเคลื่อนที่ไปบนคอลัมน์ได้ไม่เท่ากัน ทำให้พีคที่ปรากฏมีลักษณะกว้างขึ้นดังแสดงในรูปที่ 2.3

ลักษณะของแบนด์หรือพีคที่ได้จะกว้าง หรือ แคบมากน้อยแค่ไหน ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบหลายอย่าง เช่น

- 1) การใส่สารตัวอย่างลงในคอลัมน์
- 2) การแพร่กระจายของสารตัวอย่างในคอลัมน์จากบริเวณที่มีความเข้มข้นสูงสู่บริเวณความเข้มข้นต่ำ (longitudinal diffusion)
- 3) การไหลของโมเลกุลของสารตัวอย่างในคอลัมน์มีทิศทางที่ต่างกัน และ ใต้ระยะ

ทางที่ต่างกันเพราะขนาด และรูปร่างของเฟสที่อยู่กับที่ในคอลัมน์ต่างกัน (Eddy diffusion)

4) โหมดของสารตัวอย่างไม่สามารถเกิดสมดุลขึ้นระหว่างเฟสเคลื่อนที่ และเฟสที่อยู่กับที่ได้ (non equilibrium mass transfer)



2.2.2) ทฤษฎีเพลตโครมาโทกราฟี (Plate Theory of Chromatography)

การอธิบายการกระจายตัวของสารตัวอย่างในเฟสที่อยู่กับที่ และ เฟสเคลื่อนที่ อาจสามารถอธิบายได้ในลักษณะเดียวกับ การสกัดแบบเคาน์เตอร์เคอร์เรนท์ (counter-current) ซึ่งการกระจายตัวในแต่ละครั้งจะไม่สมบูรณ์ หรือ ถึงสมดุล แต่จะเกิดต่อเนื่องกันไปเรื่อยๆ และเมื่อสร้างความสัมพันธ์กัน พบว่าประสิทธิภาพของการแยก หรือ ความกว้างของพีคขึ้นอยู่กับจำนวนเพลตที่บรรจุอยู่ในคอลัมน์ ซึ่งเปรียบเทียบกับจำนวนครั้งของการกระจายตัวของสารตัวอย่างระหว่างเฟสที่อยู่กับที่ และเฟสที่เคลื่อนที่นั่นเอง โดยจำนวนเพลตตามทฤษฎีหาได้จาก

$$N(\text{จำนวนเพลตตามทฤษฎี}) = \frac{5.54(t_R)^2}{W_{1/2}} \quad \text{-----}(2.23)$$

$W_{1/2}$  = ความกว้างของพีคที่ตำแหน่งความสูงครึ่งพีค



และ ประสิทธิภาพของคอลัมน์คือ  $H = \frac{L}{N}$  ----- (2.24)

$L$  = ความยาวคอลัมน์

เมื่อ  $H$  มีค่าน้อยกล่าวได้ว่าคอลัมน์มีประสิทธิภาพในการทำงานดี จากทฤษฎีเพลต และทฤษฎีการกระจายตัว พบว่าสามารถจะสรุปความสัมพันธ์ระหว่างประสิทธิภาพของคอลัมน์ กับ ตัวแปรต่างๆ ของการกระจายตัวของสารระหว่างเฟสเคลื่อนที่ และเฟสที่อยู่กับที่ ได้ตั้งสมการ Van Deemter ดังสมการ 2.25

$$H = \frac{A+B+C_u}{u} \text{ ----- (2.25)}$$

$A$  = ความเป็นระเบียบในการบรรจุเฟสที่อยู่กับที่

โดย  $A = 2d_p$

$d_p$  = ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางของขนาดของอนุภาคของเฟสที่อยู่กับที่

$B$  = พลังก่ชั้นของการบรรจุเฟสที่อยู่กับที่ในคอลัมน์

โดย  $B = 2D_m$

$D_m$  = สัมประสิทธิ์การกระจายตัวของโมเลกุลสารตัวอย่างในเฟสเคลื่อนที่

$C_u$  = อัตราการกระจายมวล (mass transfer) ของสารตัวอย่างระหว่าง 2 เฟส โดยแบ่งเป็น 2 ส่วน คือ  $C_g$  และ  $C_l$

$C_g$  = อัตราการกระจายมวลในส่วนของเฟสที่เป็นก๊าซ

$C_l$  = อัตราการกระจายมวลในส่วนของเฟสที่เป็นของเหลว

โดย

$$C_l = \frac{8k'(d_f)^2}{2(1+k')^2D}$$



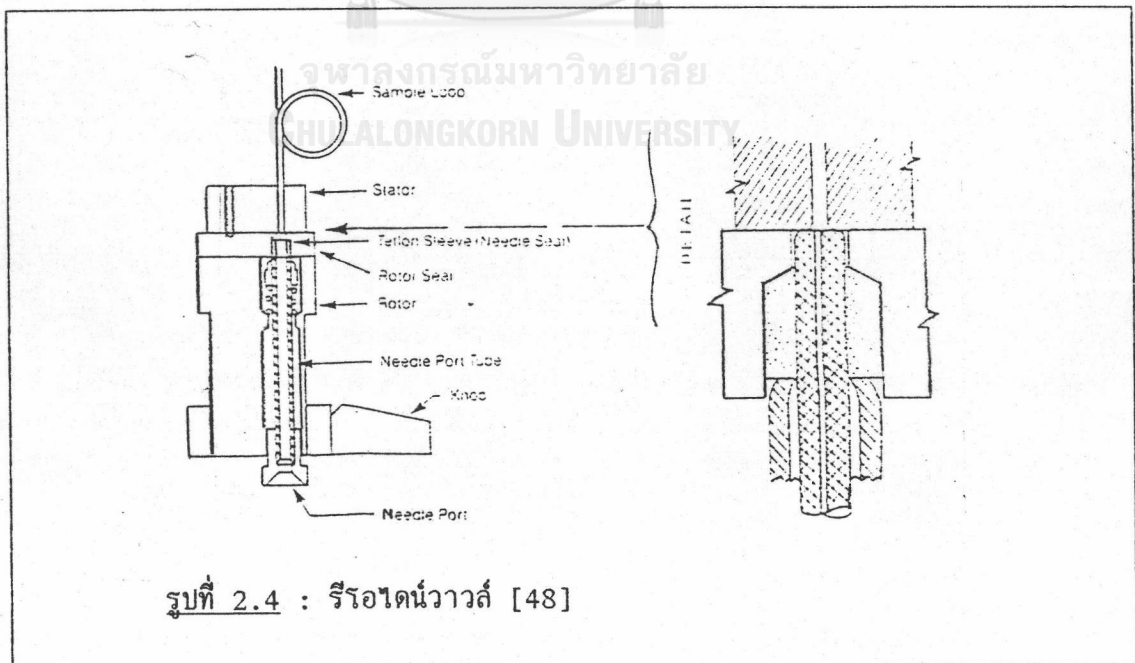
และ

$$C_g C_l = \frac{w(d_p)^2}{D_m}$$

### 2.2.3) ส่วนประกอบของ High Performance Liquid Chromatography

ส่วนประกอบเครื่องมือในระบบ HPLC มีดังนี้

- 1) ถังใส่ตัวทำละลายที่เคลื่อนที่ (Solvent reservoir) ทำจากแก้ว หรือ เหล็ก ไร้สนิมขนาดบรรจุ 1-2 ลิตร
- 2) เครื่องปั๊ม (pump) ทำหน้าที่ปั๊มตัวทำละลายที่เคลื่อนที่จากถังเก็บสู่คอลัมน์ โดยปกตินิยมมาใช้เป็นแบบกำหนดปริมาตรคงที่ต่อเวลาในการดูดตัวทำละลาย
- 3) Guard column ใช้แยกสารที่อาจจะปนเปื้อนคอลัมน์ออก โดยจะบรรจุอนุภาคของเฟสที่อยู่กับที่เหมือนคอลัมน์สำหรับงานแยก แต่ขนาดใหญ่กว่า และบรรจุหนาแน่นน้อยกว่า
- 4) ส่วนฉีดสารตัวอย่าง (Sample injection system) เป็นระบบที่ใช้ฉีดสารตัวอย่างจากหลอดฉีดสู่คอลัมน์ โดยทั่วไปจะใช้ลักษณะเป็น loop ที่มีปริมาตรแน่นอน เมื่อน้ำฉีดสารเข้าไปแล้วจึงปรับให้ฉีดเข้าสู่คอลัมน์ภายหลัง ตัวอย่างระบบฉีด เช่น รีโอดีน วาวล์ (Reodyne valve) ดังแสดงในรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 : รีโอดีนวาวล์ [48]

5) คอลัมน์ (column) ทำด้วยแก้วอย่างหนา หรือ เหล็กไร้สนิมมีขนาดยาว 15 ถึง 150 ซม. เส้นผ่าศูนย์กลาง 2-4 มิลลิเมตร สำหรับคอลัมน์การวิเคราะห์ อาจมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางใหญ่ ขึ้นอยู่กับลักษณะงานที่ใช้ เช่น ขนาด 7.6 มิลลิเมตร เป็น semi preparative column ส่วนเพสที่อยู่กับที่ภายในคอลัมน์ก็มีหลายชนิด ส่วนใหญ่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 5-10  $\mu$ m เพสอยู่กับที่อาจแบ่งออกได้เป็น 2 แบบ คือ normal phase กับ reverse phase ในกรณี normal phase สารที่บรรจุเป็นพวกที่มีขั้วสูง จึงจับได้ดีกับพวกที่มีขั้วสูง เช่น ซิลิกา หรือ อลูมินา ส่วน reverse phase สารที่บรรจุเป็นพวกที่มีขั้วต่ำทำให้จับได้ดี กับพวกที่มีขั้วต่ำ เพสอยู่กับที่ชนิดนี้เช่น  $C_{18}$ ,  $C_8$  เป็นต้น

6) ส่วนควบคุมอุณหภูมิ (Temperature control) ใช้ควบคุมอุณหภูมิของคอลัมน์ซึ่งอาจมีหรือไม่มีก็ได้

7) Detector ใช้ในการตรวจสอบสารที่ออกจากคอลัมน์ ที่นิยมใช้เป็น UV-visible Spectrometer หรือ Refractive index detection เป็นต้น detector UV-visible Spectrometer แสดงในรูปที่ 2.5

