

หน่วยที่ 3

วิธีสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนและเปล่งออก

บทเรียน 3.1 สเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนระดับอะตอม

จุดประสงค์การสอน

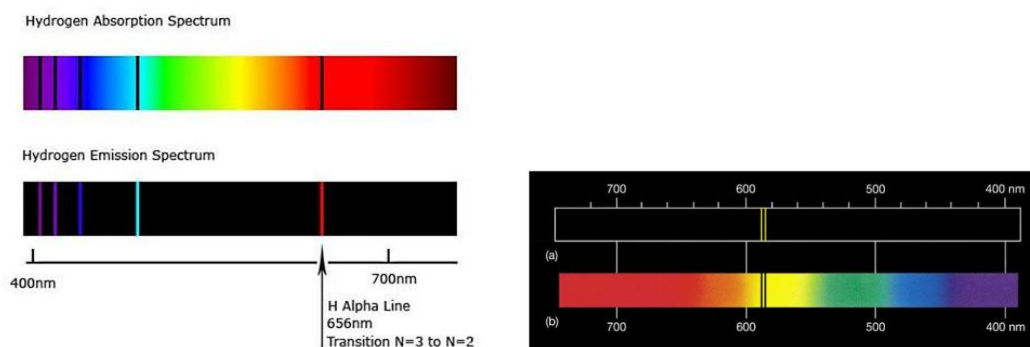
1. อธิบายการดูดกลืนระดับอะตอม
2. บอกหลักการและส่วนประกอบของเครื่อง AAS
3. อธิบายการทำปริมาณวิเคราะห์และการตรวจความใช้ได้
4. ปฏิบัติการวัดปริมาณโลหะตกค้างในตัวอย่างอาหารหรือเครื่องสำอาง

3.1.1 การดูดกลืนระดับอะตอม

สเปกตรัมอะตอม (atomic spectra) คือรูปแบบเฉพาะของการแผ่หรือดูดกลืนแสงที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานของอิเล็กตรอนภายในอะตอม เมื่ออะตอมได้รับพลังงาน อิเล็กตรอนจะถูกกระตุ้นไปยังระดับพลังงานที่สูงขึ้น และเมื่ออิเล็กตรอนกลับสู่ระดับพลังงานเดิม จะปล่อยพลังงานออกมาในรูปของแสงที่มีความยาวคลื่นเฉพาะ สเปกตรัมอะตอมแบ่งออกเป็นสองประเภทหลัก ได้แก่

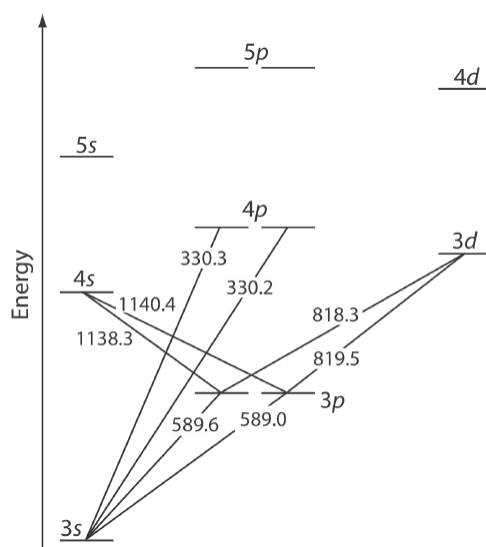
1) สเปกตรัมดูดกลืน (absorption spectrum) เกิดขึ้นเมื่ออะตอมในสถานะพื้นดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่นเฉพาะ ทำให้เกิดเส้นดูดกลืนในสเปกตรัมต่อเนื่อง (continuous spectrum)

2) สเปกตรัมเปล่งออก (emission spectrum) เกิดขึ้นเมื่ออะตอมที่ถูกกระตุ้นเปล่งแสง (พลังงาน) ออกมา ความยาวคลื่นของแสงที่ปล่อยออกมาเป็นลักษณะเฉพาะของแต่ละธาตุ เรียกว่า สเปกตรัมเส้น (line spectrum)



ภาพที่ 3.1 ลักษณะสเปกตรัมดูดกลืนและเปล่งออก (ก) H_2 และ (ข) Na

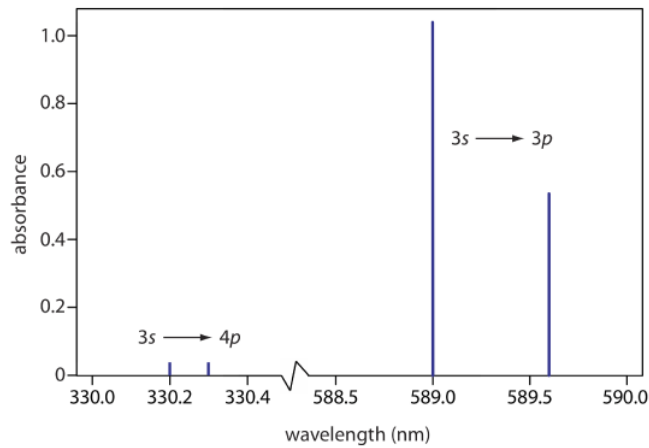
ตัวอย่างอะตอมโซเดียม (Na) มีเวเลนซ์อิเล็กตรอนในออร์บิทัล-3s 1 อิเล็กตรอน แผนภาพระดับพลังงานแสดงดังภาพที่ 3.2 การดูดกลืนโฟตอนเกิดขึ้นจากการกระตุ้นของอิเล็กตรอนจากวงโคจรของอะตอมที่มีพลังงานต่ำกว่าไปยังวงโคจรที่มีพลังงานสูงกว่า โดย Na มีการเปลี่ยนระดับพลังงานที่อนุญาตให้เปลี่ยนจากออร์บิทัล-3s ไป 3p ได้ แต่ห้ามเปลี่ยนจากออร์บิทัล-3s ไป 4s และจากออร์บิทัล-3s ไป 3d



ภาพที่ 3.2 แผนภาพระดับพลังงานของ Na

สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของโซเดียม (Na) ที่แสดงในภาพที่ 3.2 เป็นตัวอย่างทั่วไปของสเปกตรัมที่พบในอะตอมส่วนใหญ่ ลักษณะที่โดดเด่นของสเปกตรัมนี้คือ ประกอบด้วยเส้นดูดกลืนแสงเพียงไม่กี่เส้น ซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนระดับพลังงานของอิเล็กตรอน (electronic transition) จากสถานะพื้น (ออร์บิทัล-3s) ไปยังออร์บิทัลที่มีพลังงานสูงขึ้นคือ ออร์บิทัล-3p และ 4p

อย่างไรก็ตาม การดูดกลืนแสงของอะตอมในสถานะกระตุ้น เช่น การแทรนซิชันจากออร์บิทัล-3p ไป ออร์บิทัล-4s และออร์บิทัล-3p ไปออร์บิทัล-3d (ภาพที่ 3.3) นั้น จะมีความเข้มต่ำมากจนไม่สามารถตรวจพบได้ เนื่องจากอะตอมในสถานะกระตุ้นมีช่วงอายุสั้นมาก โดยมักจะกลับสู่สถานะพลังงานต่ำภายในเวลาเพียง 10^{-7} ถึง 10^{-8} วินาที ทำให้อะตอมมีโอกาสกลับสู่สถานะพื้นก่อนที่จะสามารถดูดกลืนโฟตอน



ภาพที่ 3.3 แสดงระดับของพลังงานการดูดกลืนแสงของอะตอมซีเดียม

3.1.2 หลักการและส่วนประกอบของเครื่อง AAS

1) หลักการของเทคนิค AAS

เทคนิคอะตอมิกแอบซอร์บชันสเปกโทรสโกปี (atomic absorption spectroscopy, AAS) เป็นเทคนิคทางสเปกโทรสโกปีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนัก (heavy metals) โดยอาศัยหลักการดูดกลืนแสงของอะตอมอิสระ (free atom) ของธาตุ ซึ่งธาตุแต่ละชนิดสามารถดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่นจำเพาะได้ เมื่อแสงจากแหล่งกำเนิดผ่านอะตอมอิสระของธาตุที่สนใจในสถานะแก๊สหรือไอ จะเกิดการดูดกลืนพลังงานแสงทำให้อิเล็กตรอนที่อยู่วงนอกสุด (valence electron) ของธาตุเปลี่ยนสถานะจากสถานะพื้น (ground state) ไปสู่สถานะกระตุ้น (excited state) การดูดกลืนดังกล่าวจะทำให้ความเข้มของแสงที่ตรวจวัดได้ลดลง และปริมาณแสงที่ถูกดูดกลืนนี้สามารถใช้คำนวณหาความเข้มข้นของธาตุที่สนใจในตัวอย่างได้

หลักการดูดกลืนแสงของอะตอมอิสระ สรุปได้ดังนี้

- อะตอมอิสระของแต่ละธาตุมีระดับพลังงานเฉพาะตัว ทำให้สามารถดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่นจำเพาะได้
- อะตอมของธาตุต่างชนิดกันจะมีความยาวคลื่นที่ใช้ในการดูดกลืนแตกต่างกัน
- สเปกตรัมที่เกิดขึ้นจะเป็นเส้นเฉพาะ (atomic absorption spectrum) ต่างจากสเปกตรัมของโมเลกุลที่เป็นแถบกว้าง (molecular absorption spectrum) เนื่องจากในอะตอมมีเพียงการเปลี่ยนระดับพลังงานของอิเล็กตรอนเท่านั้น ขณะที่ในโมเลกุลอาจมีการเปลี่ยนแปลงทั้งระดับพลังงานอิเล็กตรอนและพลังงานการสั่นสะเทือน

การทำให้อะตอมของธาตุในสารประกอบเกิดเป็นอะตอมเสรีได้นั้น ต้องมีการรับพลังงานจากภายนอกเข้าไป เช่น ความร้อนจากเปลวไฟ ความร้อนจากไฟฟ้า ซึ่งทำให้ธาตุเกิดการแตกตัว (dissociation) หรือเปลี่ยนให้เป็นไอ (vaporization) หรือแตกตัวเป็นอะตอม หรือทำให้อะตอมอยู่ในสถานะกระตุ้น หรือกลายเป็นไอออน

จากกระบวนการที่สารประกอบแตกตัวเป็นอะตอมแล้วกลายเป็นไอ หรือเกิดการกระตุ้น หรือแม้แต่เกิดแตกตัวเป็นไอออนด้วยพลังงานความร้อน เมื่ออยู่ภายใต้สภาวะของสมดุลความร้อน (thermal equilibrium) จำนวนอะตอมที่อยู่ในสถานะกระตุ้น (N_1) ที่เกิดขึ้นจะเป็นปฏิกิริยากับจำนวน

อะตอมที่อยู่สถานะพื้นต่อหน่วยปริมาตร (N_0) ดังนั้น N_0 ก็เป็นปริมาณโดยตรงกับความเข้มข้นของสารละลาย โบลทซ์มันน์ (Ludwig Eduard Boltzmann) ได้แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ของ N_j กับ N_0 ดังแสดงในสมการ

$$\frac{N_j}{N_0} = \frac{g_j}{g_0} \exp\left(\frac{-\Delta E}{kT}\right)$$

เมื่อ N_j และ N_0 = จำนวนอะตอมธาตุที่อยู่ในสถานะกระตุ้นและสถานะพื้น ตามลำดับ
 g_j และ g_0 = ตัวแปรสถิติ (statistical factor) ของสถานะกระตุ้นและสถานะพื้น ซึ่งบอกถึงจำนวนสถานะอิเล็กทรอนิกส์ที่มีพลังงานเท่ากันของแต่ละระดับควอนตัม ตามลำดับ

$\Delta E = h\nu = E_j - E_0$ = ระดับพลังงานที่ต่างกันระหว่างสถานะกระตุ้นกับสถานะพื้น

K = ค่าคงที่โบลทซ์มันน์ (Boltzmann constant) 1.38×10^{-16} erg/deg หรือ 1.38×10^{-23} J/K

T = อุณหภูมิในหน่วยขององศาสัมบูรณ์ (K)

ดังนั้น จะเห็นว่า N_j/N_0 จะมีค่ามากเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น และ ΔE น้อยด้วย และ N_j/N_0 จะมีค่าน้อยเมื่ออุณหภูมิต่ำ และ ΔE มาก ความสัมพันธ์ N_j/N_0 ที่อุณหภูมิต่าง ๆ กัน ดังแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 ความสัมพันธ์ของ N_j/N_0 ที่อุณหภูมิ 2000 K และ 3000 K

ธาตุ	Resonance line (nm)	g_j/g_0	ΔE (eV)	N_j/N_0	
				2000 K	3000 K
Na	589.0	2	2.10	9.86×10^{-6}	5.88×10^{-4}
Ca	422.7	3	2.93	1.21×10^{-7}	3.69×10^{-5}
Cu	324.8	2	3.82	4.82×10^{-10}	6.65×10^{-7}
Mg	285.2	3	4.35	3.35×10^{-11}	1.50×10^{-7}
Zn	213.9	3	5.80	7.45×10^{-15}	5.50×10^{-10}

ความสัมพันธ์ของแอ็บซอร์บแนนซ์กับความเข้มข้นของสารตัวอย่าง สรุปได้ว่า Total absorption ขึ้นอยู่กับจำนวนอะตอมที่สถานะพื้น โดยไม่ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและพลังงาน ΔE แต่จะเห็นได้ว่าจำนวนอะตอมทั้งหมดเท่ากับ $N_0 + N_j$ แต่ N_j มีค่าน้อยมากเมื่อเทียบกับ N_0 ดังนั้น

N_0 แปรผันตรงจำนวนอะตอมทั้งหมด

N_0 แปรผันตรงปริมาณของธาตุที่ต้องการหาในสารละลาย

N_0 แปรผันตรงความเข้มของสารละลาย

ดังนั้น $\log P_0/P_j \propto N_0$ หรือ absorbance $\propto$ ความเข้มข้นของสารละลาย

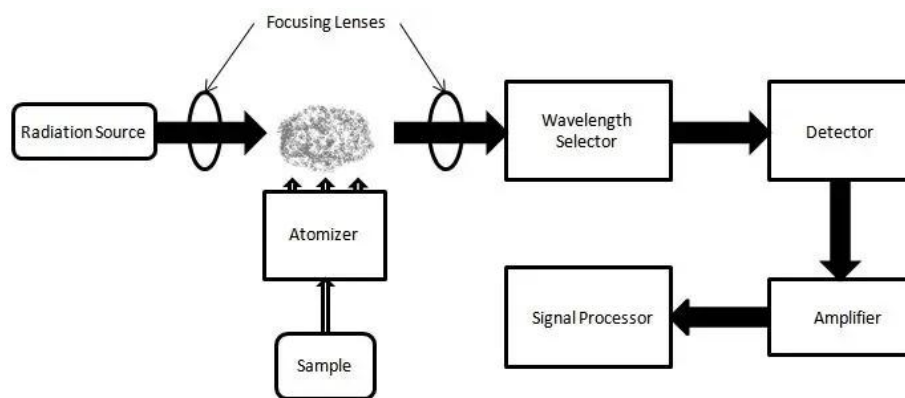
เมื่อเขียนกราฟระหว่าง $\log P_0/P_j$ หรือแอ็บซอร์บแนนซ์ กับ N_0 หรือความเข้มข้นของสารละลาย จะได้เส้นตรง แต่ในหลาย ๆ กรณีจะได้กราฟเป็นเส้นโค้ง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก stray light, line broadening (Doppler broadening เกี่ยวกับการเคลื่อนที่ของอะตอมในเปลวไฟ และ

Lorentz broadening เกี่ยวกับการชนกันระหว่างโมเลกุลหรืออะตอม) ความไม่สม่ำเสมอหรือคงที่ของอุณหภูมิและโครงสร้างของเปลวไฟ เป็นต้น

2) ส่วนประกอบหลักของเทคนิค AAS

ส่วนประกอบหลักของเทคนิค AAS แสดงดังภาพที่ 3.4

- (1) แหล่งกำเนิดแสง (light source)
- (2) ส่วนที่ทำให้ธาตุกลายเป็นอะตอมอิสระ (atomizer)
- (3) โมโนโครมาเตอร์ (monochromator)
- (4) ตัวตรวจวัด (detector)
- (5) เครื่องประมวลผลและอ่านผล (data system and read-out units)

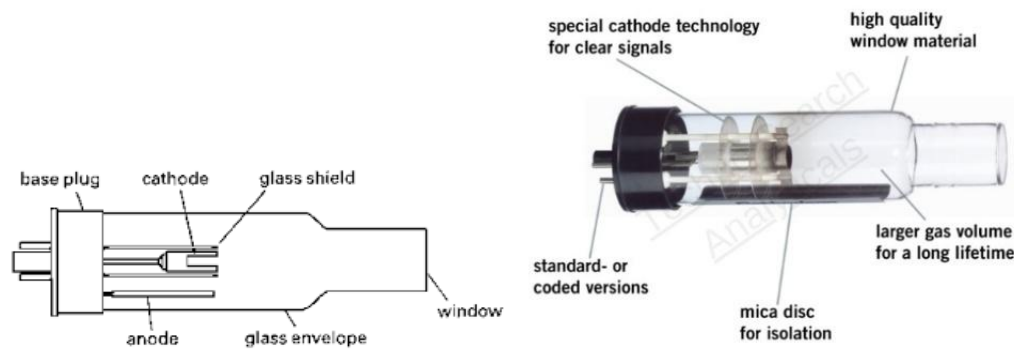


ภาพที่ 3.4 องค์ประกอบที่สำคัญของเครื่อง AAS

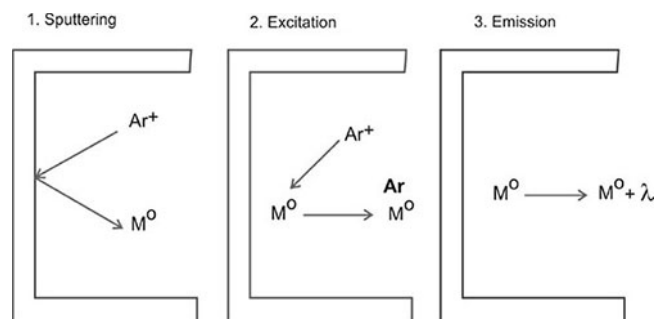
2.1) แหล่งกำเนิดแสง

แหล่งกำเนิดแสงเป็นองค์ประกอบสำคัญของเครื่อง AAS เนื่องจากต้องให้แสงที่มีความยาวคลื่นจำเพาะของธาตุที่ต้องการวิเคราะห์ โดยทั่วไปมี 2 ประเภทหลัก ได้แก่ หลอดฮอลโลว์แคโทด และหลอดปล่อยประจุแบบไม่มีขั้ว

1. หลอดฮอลโลว์แคโทด (hollow cathode lamp, HCL) มีโครงสร้างเป็นหลอดแก้วทรงกระบอกปิดสนิท ดังภาพที่ 3.5 ภายในบรรจุแก๊สเฉื่อย เช่น อาร์กอน (Ar) หรือนีออน (Ne) ที่ความดันต่ำ (1-5 Torr) และประกอบด้วยขั้วไฟฟ้า 2 ขั้ว ได้แก่ ขั้วแคโทด (cathode) ทำจากโลหะของธาตุที่ต้องการวิเคราะห์ และขั้วแอโนด (anode) ทำหน้าที่ส่งผ่านกระแสไฟฟ้าและเป็นขั้วตรงข้ามของแคโทด เมื่อให้แรงดันไฟฟ้ากับขั้วไฟฟ้าทั้งสอง อิเล็กตรอนจะถูกปล่อยออกมาและชนกับอะตอมของแก๊สเฉื่อย ทำให้แก๊สเฉื่อยแตกตัวเป็นไอออน (ionization) ไอออนของแก๊สเฉื่อยจะถูกเร่งให้พุ่งชนพื้นผิวของแคโทด ทำให้เกิดกระบวนการ sputtering ซึ่งจะดึงอะตอมของโลหะที่เคลือบแคโทดออกมาในสถานะแก๊ส อะตอมโลหะที่ถูกปล่อยออกมาจะถูกกระตุ้นให้เปลี่ยนจาก สถานะพื้น (ground state) ไปเป็นสถานะกระตุ้น (excited state) เมื่ออะตอมกลับคืนสู่สถานะพื้น จะปล่อยพลังงานในรูปของแสงที่มีความยาวคลื่นจำเพาะของธาตุนั้น ๆ ดังภาพที่ 3.6



ภาพที่ 3.5 หลอดฮอลโลว์แคโทด



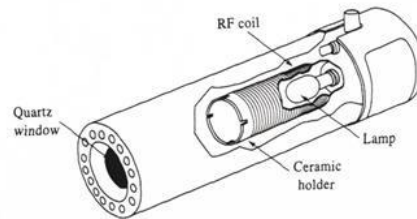
ภาพที่ 3.6 ขั้นตอนการปล่อยรังสีของหลอดฮอลโลว์แคโทด

ประเภทของหลอด HCL แบ่งออกเป็น หลอด HCL ธาตุเดียว (single-element HCL) คือมีแคโทดเคลือบธาตุเพียงชนิดเดียว เหมาะสำหรับการวิเคราะห์ธาตุเฉพาะ และหลอด HCL หลายธาตุ (multi-element HCL) คือมีแคโทดเคลือบโลหะหลายชนิดในหลอดเดียวกัน ใช้วิเคราะห์ธาตุหลายชนิดได้ แต่ความเข้มของแสงอาจลดลง และมีอายุการใช้งานสั้นกว่าหลอดชนิดเดียว

ข้อดีของหลอด HCL คือให้แสงที่มีความยาวคลื่นจำเพาะของธาตุ ทำให้สามารถตรวจวิเคราะห์ได้อย่างแม่นยำ มีสัญญาณรบกวนต่ำ ทำให้สามารถวัดปริมาณธาตุที่มีความเข้มข้นต่ำได้ มีความเสถียรในการใช้งาน แต่ข้อจำกัดหลอดแบบ multi-element HCL อาจมีการปล่อยแสงที่มีความเข้มต่ำกว่าหลอดแบบ single-element มีการเสื่อมสภาพของแคโทดเมื่อใช้งานเป็นเวลานาน ใช้เวลาพอสมควรในการเปลี่ยนและปรับตั้งค่าหลอดให้เหมาะสมกับธาตุที่ต้องการวิเคราะห์

2. หลอดปล่อยประจุแบบไม่มีขั้ว (electrodeless discharge lamp, EDL) เป็นแหล่งกำเนิดรังสีแบบเส้นและให้ความเข้มแสงสูงมาก (สูงกว่าหลอด HCL 1-2 เท่า) ประกอบด้วยหลอดที่มีหน้าต่างทำด้วยควอตซ์ ภายในบรรจุไอโลหะหรือเกลือไฮไลด์ของโลหะที่ต้องการ และบรรจุแก๊สเฉื่อยความดัน 2-3 atm หลอด EDL ใช้พลังงานจากคลื่นไมโครเวฟหรือวิทยุความถี่สูงกระตุ้นให้เกิดการแตกตัวของแก๊สเฉื่อย Ar เป็น Ar^+ และอิเล็กตรอน ไอออนอาร์กอนถูกเร่งและชนกับไอโลหะ ทำให้เกิดอะตอมโลหะในสถานะแก๊สและอยู่ในสถานะกระตุ้น โดยอะตอมโลหะในสถานะกระตุ้น นั้นไม่เสถียร จึงปล่อยรังสีแบบเส้นของอะตอมโลหะออกมา

ข้อดีให้สัญญาณแสงที่เข้มกว่าหลอด HCL มีอายุการใช้งานยาวนานกว่าหลอด HCL สัญญาณแรงและให้ความไวสูงกว่าหลอด HCL เหมาะสำหรับธาตุที่ให้สัญญาณต่ำเมื่อใช้หลอด HCL เช่น สารหนู (As) ซีลีเนียม (Se) และแคดเมียม (Cd)



ภาพที่ 3.7 หลอดปล่อยประจุแบบไม่มีขั้ว

ตารางที่ 3.2 เปรียบเทียบสมบัติหลอด HCL และ EDL

สมบัติ	หลอดฮอลโลว์แคโทด (HCL)	หลอดปล่อยประจุแบบไม่มีขั้ว (EDL)
หลักการทำงาน	ใช้การกระตุ้นด้วยแรงดันไฟฟ้าให้โลหะปล่อยแสง	ใช้คลื่นไมโครเวฟ/วิทยุกระตุ้นให้เกิดการปล่อยแสง
ความเข้มแสง	ปานกลาง	สูงกว่า HCL
ความจำเพาะ	สูง	สูง
การใช้งาน	ใช้กับธาตุทั่วไป	ใช้กับธาตุที่ให้สัญญาณต่ำใน HCL
ข้อดี	ราคาถูกกว่า ใช้งานง่าย	สัญญาณแรง ความไวสูงกว่า
ข้อเสีย	ต้องเปลี่ยนหลอดตามธาตุ	แพงกว่า ต้องใช้แหล่งพลังงานอื่นกระตุ้น

2.2) ส่วนที่ทำให้ธาตุกลายเป็นอะตอมอิสระ

ในการวิเคราะห์ด้วย AAS อะตอมของธาตุในตัวอย่างต้องอยู่ในรูปของอะตอมอิสระ (free atoms) ซึ่งสามารถดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่นจำเพาะได้ กระบวนการเปลี่ยนธาตุจากสารประกอบไปเป็นอะตอมอิสระเรียกว่า อะตอไมเซชัน (atomization)

อะตอไมเซอร์ (atomizer) เป็นอุปกรณ์สำคัญในเทคนิค AAS ทำหน้าที่แปลงสารละลายตัวอย่างให้เป็นอะตอมอิสระเพื่อให้สามารถดูดกลืนแสงได้อย่างมีประสิทธิภาพ อะตอไมเซอร์สามารถแบ่งเป็นประเภทหลัก 2 ประเภท ได้แก่ อะตอไมเซอร์แบบเปลวไฟ (flame atomizer) และอะตอไมเซอร์แบบไร้เปลวไฟ (non-flame atomizer) หรืออิเล็กโตรเทอร์มอล (electrothermal atomizer)

1) อะตอไมเซอร์แบบเปลวไฟ (flame) เรียกเทคนิค FAAS

2) อะตอไมเซอร์แบบไร้เปลวไฟ แบ่งออกดังนี้

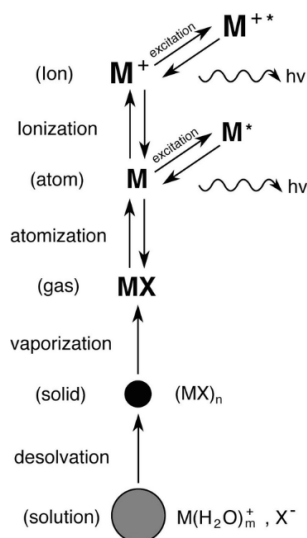
- พลังงานความร้อนจากกระแสไฟฟ้า (electrothermal/graphite furnace) เรียกเทคนิค GF-AAS

- ปฏิกิริยาเคมี เช่น การทำให้อยู่ในรูปสารประกอบไฮไดรด์ (hydride generation) เรียกเทคนิค HG-AAS
- การระเหยเป็นไอ (cold vapor) สำหรับธาตุปรอท (Hg) เรียกเทคนิค CV-AAS

2.2.1) อะตอมิเซอร์แบบเปลวไฟ

วิธีนี้ใช้เปลวไฟ เช่น อะเซทิลีน-อากาศ หรือ อะเซทิลีน-ไนโตรสออกไซด์ เป็นเชื้อเพลิงทำให้เกิด atomization โดยตัวอย่างถูกพ่นเป็นละอองฝอย (aerosol) แล้วเผาให้เป็นอะตอมอิสระ วิธีนี้จะประกอบด้วยอุปกรณ์ที่สำคัญคือเนบิวไลเซอร์ (nebulizer) และตะเกียง (burner) เมื่อผ่านของเหลวเข้าไปในเนบิวไลเซอร์จะทำหน้าที่เปลี่ยนสารละลายให้เป็นละอองฝอยภายในห้องสเปรย์ (spray chamber) แล้วจึงผ่านเข้าสู่เปลวไฟ กระบวนการอะตอมิเซอร์แบบเปลวไฟ แบ่งเป็นขั้นตอนดังนี้

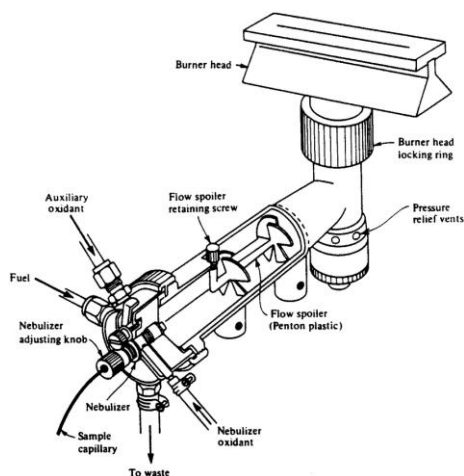
- 1) การกำจัดตัวทำละลาย (de-solvation) เป็นกระบวนการที่ตัวทำละลายที่อยู่ใน mist หรือ aerosol ถูกกำจัดออกไปทำให้เป็นอนุภาคเล็ก ๆ ของสารประกอบ (solid particles)
- 2) การกลายเป็นไอ (vaporization) อนุภาคของแข็งเปลี่ยนสถานะเป็นไอ
- 3) การแตกตัวเป็นอะตอมอิสระ (atomization) เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นในเปลวไฟ โดยพลังงานความร้อนจากเปลวไฟทำให้สารประกอบเกิดการแตกตัวเป็นออกไซด์ โมเลกุล และอะตอมอิสระ



ภาพที่ 3.8 ขั้นตอนอะตอมิเซชันด้วยความร้อนจากเปลวไฟ

ส่วนประกอบสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการเผาไหม้คือ ตะเกียงชนิดลามินาร์ (laminar flow burner) ซึ่งเป็นหัวใจหลักของกระบวนการ atomization ใน AAS ตะเกียงชนิดลามินาร์นี้ออกแบบมาเพื่อให้การไหลของแก๊สและตัวอย่างเป็นไปอย่างสม่ำเสมอ โดยไม่มีการผสมกันอย่างรุนแรงระหว่างออกซิเจนและเชื้อเพลิง ดังภาพที่ 3.9 สารละลาย (ของเหลว) จะถูกฉีดเข้า nebulizer ซึ่งทำหน้าที่แปลงตัวอย่างเหลวให้เป็นละอองฝอยและจะไหลผ่าน glass bead เพื่อเพิ่มการกระจายตัว ก่อนที่จะ

เข้าสู่ช่องแคบ (slot) ที่ออกแบบมาเพื่อควบคุมการเผาไหม้และการกระจายตัวของแก๊ส โดยขนาดของช่องแคบ (slot) มีขนาดความยาว 5 และ 10 cm



ภาพที่ 3.9 องค์ประกอบของตะเกียงแบบลามินาร์

อุณหภูมิการเผาไหม้มีผลโดยตรงต่อประสิทธิภาพของกระบวนการ atomization และการวิเคราะห์ใน AAS ดังนั้น การเลือกชนิดของเชื้อเพลิงและออกซิแดนซ์จึงเป็นสิ่งสำคัญ โดยอุณหภูมิการเผาไหม้ที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ธาตุต่าง ๆ ดังตารางที่ 3.3

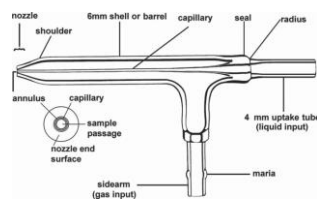
ตารางที่ 3.3 ชนิดของเชื้อเพลิงและออกซิแดนซ์

เชื้อเพลิง-ออกซิแดนซ์	อุณหภูมิการเผาไหม้ (°C)	รายละเอียด
Hydrogen-air	2,000–2,050	ไม่นิยมใช้
Acetylene-air	2,125–2,400	เป็นเชื้อเพลิงที่นิยมใช้ใน AAS เนื่องจากมีอุณหภูมิการเผาไหม้สูง เหมาะสำหรับการวิเคราะห์ธาตุที่ต้องการพลังงานสูง เช่น Al, Mg และ Ca และเหมาะสำหรับการวิเคราะห์ธาตุที่ต้องการอุณหภูมิปานกลาง เช่น Na, K และ Fe
Acetylene-N ₂ O	2,600–2,800	ใช้สำหรับการวิเคราะห์ธาตุที่ต้องการอุณหภูมิสูงมาก เช่น Ti, Cr, W, V, Mo และ Ta เนื่องจากอุณหภูมิการเผาไหม้สูงถึง 2,600–2,800°C

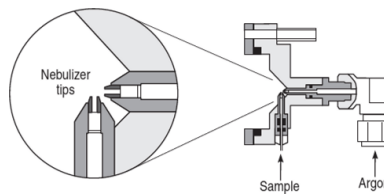
อุปกรณ์เนบิวไลเซอร์ (nebulizer) มีบทบาทสำคัญในการเปลี่ยนสารละลายตัวอย่างให้เป็นละออง ก่อนส่งเข้าสู่เปลวไฟเพื่อทำให้เกิดอะตอมอิสระ กระบวนการพ่นละอองที่มีประสิทธิภาพช่วยเพิ่มความแม่นยำและความไวของการวิเคราะห์ ประเภทของเนบิวไลเซอร์ที่ใช้ใน FAAS ดังตารางที่ 3.4

ตารางที่ 3.4 ประเภทของเนบิวไลเซอร์ที่ใช้ใน FAAS

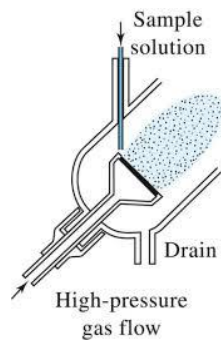
ประเภท	หลักการทำงาน	ข้อดี	ข้อเสีย
concentric nebulizer	ตัวอย่างถูกดูดขึ้นมาตามท่อ แล้วแตกเป็นละออง	ให้ละอองละเอียด ความไวสูง	อุดตันง่าย ไม่เหมาะกับสารที่มีของแข็งละลายทั้งหมดสูง
cross-flow nebulizer	ตัวอย่างและแก๊สพ่นเข้าหากันในแนวตั้งฉาก	ทนทานต่อสารละลายที่มีความหนืด	- ขนาดละอองใหญ่กว่าประเภท concentric - มีโอกาสอุดตัน
fritted disk nebulizer	ใช้กับสารละลายที่มีของแข็งละลายสูง	- ขนาดละอองมีความสม่ำเสมอ (~1 μm) - ให้ละอองที่ละเอียดมาก	อุดตันง่ายเมื่อใช้ไปนาน ๆ
Babington nebulizer	ใช้กับสารละลายที่มีของแข็งละลายสูงหรือสารแขวนลอย	- ทนทานต่อสารละลายที่มีของแข็งละลายสูง - ลดการอุดตันของท่อ	- เกิดผลกระทบจากความจำ (memory effect) สูง - ประสิทธิภาพการสร้างละอองต่ำกว่าประเภทอื่น



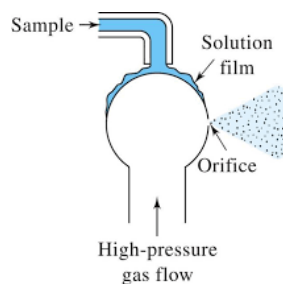
Concentric nebulizer



Cross-flow nebulizer



Fritted disk nebulizer



Babington nebulizer

ภาพที่ 3.10 ประเภทของเนบิวไลเซอร์

2.2.2) อะตอไมเซอร์แบบไร้เปลวไฟ

วิธีอะตอไมเซอร์แบบไร้เปลวไฟ (non-flame atomizer) หรืออิเล็กทรอนิกส์เทอร์มอล (electrothermal atomizer) ใช้พลังงานไฟฟ้าในการให้ความร้อนแทนเปลวไฟ มีการควบคุมอุณหภูมิอย่างแม่นยำ ทำให้สามารถตรวจวัดปริมาณธาตุที่มีความเข้มข้นต่ำได้ดีกว่าแบบเปลวไฟ

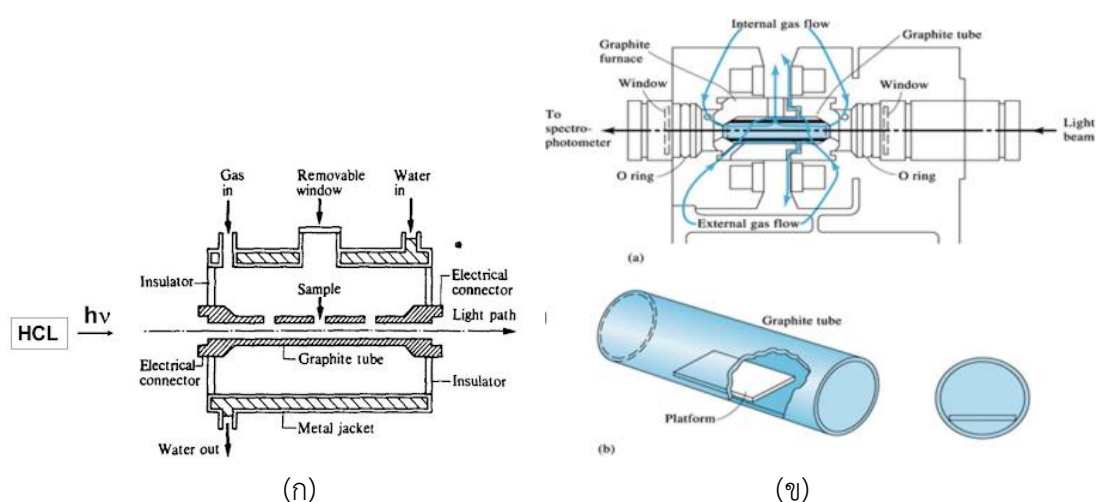
1. แกรไฟต์เฟอร์เนตอะตอมไมเซอร์ (graphite furnace atomizer) ซึ่งใช้หลอดแกรไฟต์ในการทำให้เกิดอะตอมอิสระ จึงเรียกเทคนิค แกรไฟต์เฟอร์เนตอะตอมไมเซอร์แบบสเปกโทรสโกปี (GF-AAS) ขั้นตอนทำให้เกิด atomization แบ่งเป็น 3 ขั้นตอน ได้แก่

1) drying stage เป็นการค่อย ๆ ให้ความร้อนแก่สารตัวอย่าง เพื่อระเหยตัวทำละลายออกไป โดยปกติใช้อุณหภูมิต่ำ (ต่ำกว่า 100°C)

2) ashing stage เป็นขั้นตอนที่ให้ความร้อนสูงขึ้น (อาจถึง 1,500°C) เพื่อกำจัดสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ โดยโมเลกุลของสารเหล่านั้นจะแตกตัวออกไปเหลือแต่สารอนินทรีย์ที่เสถียรเท่านั้น โดยทั่วไปอยู่ในรูปของโลหะออกไซด์

3) atomization stage เป็นขั้นตอนที่สารที่เหลืออยู่ถูกเผาที่อุณหภูมิสูง (อาจถึง 3,000°C) เพื่อให้สลายเกิดเป็นอะตอมอิสระ

4) cleaning stage เป็นขั้นตอนการทำความสะอาด



ภาพที่ 3.11 วิธีอะตอมไมเซอร์ graphite furnace atomization

ตารางที่ 3.5 ขั้นตอน graphite furnace atomizer

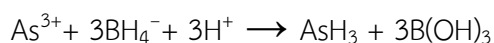
Stage	Temp (°C) copper/zinc	Time(s) copper/zinc	Ramp ^b /Step ^c copper/zinc	Gas(l/min) copper/zinc
Drying	150/150	30/30	Ramp	1.5
Ashing	500/300	20/20	Step	1.5
Atomizing	2300/1300	4/3	Step	0
Cleaning	2700/2700	3/3	Step	1.5
Cooling	0/0	40/40	Step	1.5

^a Atomic Absorption Spectrophotometry.

^b Increasing temperature in step mode.

^c Increasing temperature in ramp mode.

2. ไฮไดรด์เจเนอเรชัน (hydride generation) เป็นวิธีเฉพาะที่ใช้สำหรับธาตุบางชนิดซึ่งไม่สามารถเปลี่ยนเป็นอะตอมอิสระได้โดยตรงผ่าน flame atomization หรือ electrothermal atomization เนื่องจากธาตุเหล่านี้มีแนวโน้มที่จะเกิดออกไซด์ที่มีความเสถียรสูง จึงจำเป็นต้องใช้วิธีที่ช่วยลดโลหะให้อยู่ในรูปของสารประกอบไฮไดรด์ (hydride) ซึ่งสามารถระเหยได้ง่ายที่อุณหภูมิห้อง หลักการทำงานของเทคนิค hydride generation คือการเกิดปฏิกิริยาระหว่างโลหะที่สามารถเกิดเป็นไฮไดรด์ ได้แก่ As, Bi, Se, Pb, Sb, Sn และ Te กับตัวรีดิวซ์ เช่น โซเดียมโบโรไฮไดรด์ (NaBH_4) ในสารละลายกรด (เช่น HCl) เพื่อเปลี่ยนโลหะที่ต้องการวิเคราะห์ให้อยู่ในรูปของไฮไดรด์ ตัวอย่างของปฏิกิริยาของสารหนู (As) ดังสมการ

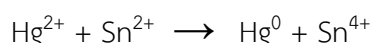


สารประกอบไฮไดรด์ที่เกิดขึ้นถูกพาเข้าสู่เซลล์บรรจุตัวอย่างโดยแก๊สเฉื่อย เช่น ไนโตรเจน (N_2) หรืออาร์กอน (Ar) จะนำพาไฮไดรด์เข้าสู่ท่อควอตซ์ (quartz cell) ที่ทำหน้าที่เป็นเซลล์บรรจุตัวอย่างที่ให้ความร้อนสูง ($\sim 900^\circ\text{C}$) สารประกอบไฮไดรด์จะแตกตัวและปล่อยอะตอมอิสระออกมาพร้อมสำหรับการวิเคราะห์ด้วย AAS เรียกเทคนิคดังกล่าวนี้ว่า HG-AAS

ข้อดี คือมีความไวสูง สามารถวิเคราะห์ธาตุปริมาณน้อย (ระดับ ppb หรือต่ำกว่า) ลดสัญญาณรบกวน ลดปัญหาการเกิดออกไซด์หรือคาร์ไบด์ของโลหะที่อาจรบกวนการตรวจวัด ใช้อุณหภูมิต่ำ ไม่ต้องใช้เปลวไฟ หรือเตาเผาที่อุณหภูมิสูงมาก

ส่วนข้อจำกัด คือ ใช้ได้เฉพาะกับโลหะที่สามารถเกิดเป็นไฮไดรด์ได้เท่านั้น และต้องใช้สารรีดิวซ์และสารละลายกรด ซึ่งอาจมีข้อจำกัดด้านความปลอดภัย

3. โคลด์เวเพอร์ (cold vapor generation, CVG) เป็นเทคนิคในกลุ่มอะตอมไมเซอร์แบบไร้เปลวไฟที่ใช้การทำให้เกิดเป็นไอ (vapor generation) เพื่อเปลี่ยนตัวอย่างให้เป็นไอ สำหรับการวิเคราะห์ปรอท (Hg) โดยเฉพาะ เนื่องจากปรอทมีสมบัติในการระเหยเป็นไอได้ง่ายที่อุณหภูมิห้อง และสามารถอยู่ในรูปของอะตอมเดี่ยวโดยไม่ต้องใช้ความร้อนจากเปลวไฟหรือเตาไฟฟ้า หลักการทำงานของ cold vapor generation คือการรีดิวซ์ปรอทด้วยสารรีดิวซ์ เช่น ดีบุกคลอไรด์ (SnCl_2) ในสารละลายกรด (เช่น HCl) เพื่อรีดิวซ์ Hg^{2+} ให้กลายเป็นปรอทโลหะ (Hg^0) ตามสมการ



ไอปรอท (Hg^0) ถูกพาเข้าสู่เซลล์บรรจุตัวอย่างทำด้วยควอตซ์ (quartz cell) ด้วยแก๊สเฉื่อย เช่น ไนโตรเจน (N_2) หรืออาร์กอน (Ar) ไม่จำเป็นต้องให้ความร้อนเพิ่มเติม เพราะปรอทสามารถระเหยและอยู่ในสถานะอะตอมอิสระได้เอง การตรวจวัดสัญญาณของอะตอมปรอทดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 253.7 nm และค่าการดูดกลืนแสงจะถูกนำไปใช้คำนวณหาความเข้มข้นของปรอท เรียกเทคนิคนี้ว่า CV-AAS

ข้อดีมีความไวสูง สามารถตรวจวัดปรอทในปริมาณน้อยมาก (ระดับ ppt หรือ ppb) ได้ ไม่มีปัญหาการเกิดออกไซด์หรือไอออนที่รบกวน ปรอทอยู่ในรูปของอะตอมเดี่ยวที่อุณหภูมิห้อง ไม่ต้องใช้เปลวไฟหรือไฟฟ้า ลดความซับซ้อนของระบบ

ส่วนข้อจำกัดคือใช้ได้เฉพาะกับปรอท (Hg) เท่านั้น ไม่สามารถใช้กับธาตุอื่นได้ ต้องใช้สารรีดิวซ์ที่เหมาะสม อาจก่อให้เกิดสัญญาณรบกวนจากสิ่งเจือปน มีความเสี่ยงจากการปนเปื้อน ปรอทเป็นสารพิษ ต้องมีมาตรการความปลอดภัยในการใช้งาน

2.3) โมโนโครมาเตอร์

โมโนโครมาเตอร์ (monochromator) หรือตัวแยกแสง (wavelength selector) ทำหน้าที่แยกแสงให้ได้ความยาวคลื่นของแสงที่ต้องการ โมโนโครมาเตอร์เป็นส่วนสำคัญของ AAS ซึ่งจะเลือกความยาวคลื่นของแสงที่เหมาะสมเพื่อแยกสัญญาณของธาตุที่สนใจออกจากสัญญาณรบกวน โดยทั่วไป โมโนโครมาเตอร์ในเครื่อง AAS แบ่งออกเป็น 2 ประเภทหลัก ได้แก่

1) โมโนโครมาเตอร์แบบปริซึม (prism monochromator) ใช้หลักการหักเหของแสงเมื่อผ่านปริซึม ทำให้แสงสีขาวแยกออกเป็นสเปกตรัมของแสงที่มีความยาวคลื่นต่างกัน สามารถหมุนปริซึมเพื่อเลือกความยาวคลื่นที่ต้องการได้

2) โมโนโครมาเตอร์แบบเกรตติง (diffraction grating monochromator) ใช้หลักการเลี้ยวเบนของแสงที่ตกกระทบกับเกรตติง (optical grating) ซึ่งเป็นแผ่นที่มีร่องเล็ก ๆ จำนวนมาก ร่องเหล่านี้ทำให้แสงเกิดการเลี้ยวเบนและแยกออกเป็นสเปกตรัมของแสงที่มีความยาวคลื่นต่างกัน ความยาวคลื่นที่ต้องการจะถูกเลือกโดยปรับมุมของเกรตติง

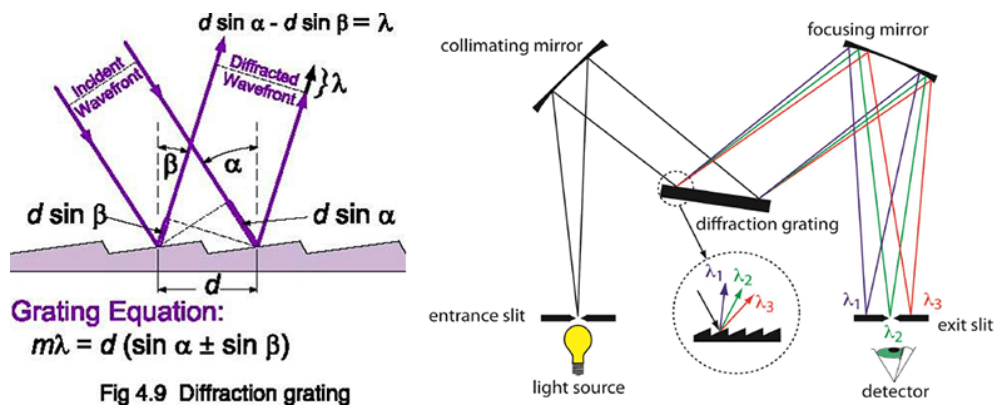
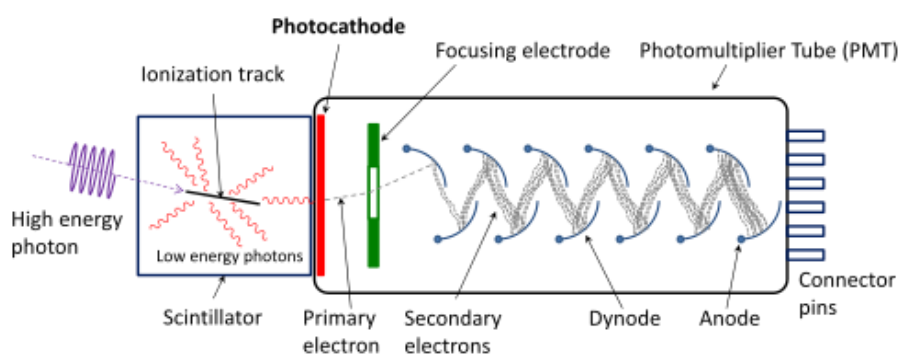


Fig 4.9 Diffraction grating

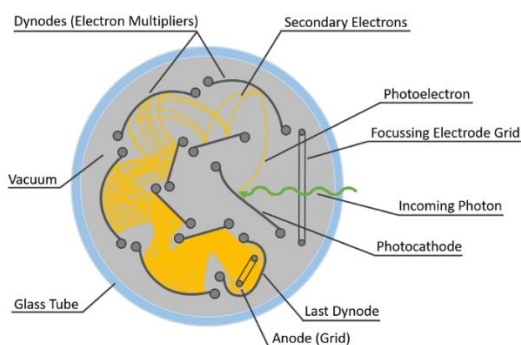
ภาพที่ 3.12 โมโนโครมาเตอร์แบบเกรตติง (echelle grating)

2.4) ตัวตรวจวัด

ตัวตรวจวัด (detector) ทำหน้าที่วัดความเข้มแสงที่ผ่านออกมาจากตัวแยกแสง ปัจจุบันนิยมใช้หลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ (photomultiplier tubes, PMT) ซึ่งเป็นหลอดสุญญากาศ ภายในบรรจุด้วยไอออนและแอโนด หลอดโฟโตมัลติพลายเออร์จะเปลี่ยนแสงให้กลายเป็นสัญญาณทางไฟฟ้า ซึ่งเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มแสงที่ตกกระทบแคโทดในหลอด โฟโตมัลติพลายเออร์



(ก)



(ข)

ภาพที่ 3.13 หลอดโฟโตมัลติพลายเออร์

2.5) เครื่องประมวลผลและอ่านผล

เครื่องประมวลผลและอ่านผล (data system and read-out unit) ทำหน้าที่รับสัญญาณจากตัวตรวจวัด แล้วนำไปเข้ากระบวนการทางอิเล็กทรอนิกส์ ทำการแปลความหมายประมวลผลและแสดงผลออกมาผ่านเครื่องคอมพิวเตอร์

3.1.3 การทำปริมาณวิเคราะห์และการตรวจสอบความใช้ได้

1) การเตรียมตัวอย่าง

เทคนิคการเตรียมสารละลาย (ดูหน่วยที่ 2)

2) การทำปริมาณวิเคราะห์

โดยทั่วไปแล้วเทคนิค AAS นั้นไม่เหมาะสมที่จะใช้สำหรับทำคุณภาพวิเคราะห์ เพราะเสียเวลาไม่สะดวก เนื่องจากต้องเปลี่ยนหลอด HCL และต้องสแกนความยาวคลื่น ประกอบกับค่าใช้จ่ายสูงจึงไม่นิยมใช้สำหรับตรวจหา อย่างไรก็ตามเทคนิคนี้ก็สามารถใช้ได้ เช่น ต้องการตรวจสอบว่าสารละลายตัวอย่างมี Ni เป็นองค์ประกอบหรือไม่ เราก็ใช้หลอด HCL เป็น Ni และใช้ flame (air/C₂H₂) เป็น atomizer ใช้ความยาวคลื่นของธาตุ Ni คือ 232 nm สำหรับตรวจวัด หลังจากนำสารละลายตัวอย่างพ่นเข้าไปในเปลวไฟแล้วดูว่าที่ความยาวคลื่น 232 nm มีการดูดกลืน

แสงหรือไม่ ถ้ามีแสดงว่าสารตัวอย่างมีธาตุ Ni แต่ถ้าไม่มีการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นนี้แสดงว่าสารตัวอย่างไม่มี Ni เป็นต้น

การทำปริมาณวิเคราะห์ด้วยเทคนิค AAS สามารถทำได้หลายวิธี ดังนี้

1. วิธีกราฟมาตรฐาน (calibration method) ใช้ในกรณีที่สารตัวอย่างไม่ค่อยมีสิ่งรบกวนและสารตัวอย่างเจือจาง ทำการวิเคราะห์ได้โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นแน่นอนแล้ว เป็นวิธีที่นิยมใช้กันทั่ว ๆ ไปโดยปรับสัญญาณที่ได้จาก blank ให้เป็นศูนย์ แล้วจึงวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน (4-5 ความเข้มข้น) เมื่อใช้ flameless atomization technique อาจใช้วัดพื้นที่ใต้พีก (peak area) หรือความสูงของพีก (peak height) แล้วนำผลมาเขียนกราฟเพื่อหาความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารละลาย จะได้ calibration curve ซึ่งอาจเป็นเส้นตรงหรือเส้นโค้งก็ได้ วิธีกราฟมาตรฐานใช้ได้เฉพาะการวิเคราะห์แต่ละครั้งเท่านั้น เพราะพารามิเตอร์ต่าง ๆ ที่ใช้อาจเปลี่ยนแปลงได้ (วิธีกราฟมาตรฐานดูจากบทเรียนที่ 1.3)

2. ใช้ standard addition method เป็นวิธีที่ใช้ในการแก้ปัญหาเกี่ยวกับ matrix effects และ interferences เพราะว่า calibration curve ในการวิเคราะห์สารนั้น สัญญาณที่วัดได้ไม่ใช่เป็นแต่เพียงสารที่ทำกรวิเคราะห์เท่านั้น แต่มันรวมถึงสัญญาณต่าง ๆ จากสารอื่นที่มีอยู่ในตัวอย่างด้วย ทำได้โดยแบ่งสารละลายตัวอย่างออกเป็น 4-5 ส่วน นำแต่ละส่วนมาเติมสารมาตรฐานที่ปริมาตรต่างกัน แต่มีความเข้มข้นเท่ากัน แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง แล้วนำมาเขียนกราฟกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติมลงไป ด้วย least-square fit ความเข้มข้นของสารตัวอย่างหาได้จากการ extrapolating ไปตัดแกนความเข้มข้น (วิธี standard addition ดูจากบทเรียนที่ 1.3)

3. ใช้วิธีทำให้เจือจาง dilution method วิธีนี้ใช้กับสารตัวอย่างที่มี interferences โดยเฉพาะกรณีที่เกิด enhancement คือค่าแอมพลิจูดแบนซ์จะวัดได้มากกว่าปกติ เนื่องจากเกิดไอออไนเซชัน ทำได้โดยการเติมสารละลายที่ประกอบด้วยธาตุที่ไอออไนซ์ง่าย ๆ ลงไปในสารละลายตัวอย่างและสารละลายมาตรฐาน

4. ใช้วิธี internal standard method วิธีนี้อาศัยหลักการเติมสารมาตรฐาน (reference element) ซึ่งเป็นคนละธาตุกับสารที่จะวิเคราะห์ลงไปในตัวอย่างและ blank หลังจากวัดค่าแอมพลิจูดแบนซ์แล้วหาอัตราส่วนของแอมพลิจูดแบนซ์ระหว่างสารตัวอย่างและสารมาตรฐาน ($A_{\text{analyte}}/A_{\text{standard}}$) จากนั้นเขียนกราฟกับความเข้มข้นของธาตุที่จะทำการวิเคราะห์จะได้ calibration curve เพื่อหาความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง สำหรับวิธีนี้จะใช้ได้ก็ต่อเมื่อสารตัวอย่างต้องไม่มีธาตุที่ใช้เป็นมาตรฐาน (reference element) และทั้งสารตัวอย่างและสารมาตรฐานจะต้องมีลักษณะและสมบัติทางเคมีเหมือนกัน

3) การตรวจสอบความใช้ได้

การควบคุมคุณภาพ (quality control, QC) ในห้องปฏิบัติการเป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญอย่างยิ่ง เนื่องจากช่วยให้ผลการวิเคราะห์มีความถูกต้อง (accuracy) ความแม่นยำ (precision) และมีความน่าเชื่อถือ (reliability) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในงานวิเคราะห์เชิงปริมาณ การดำเนินการควบคุมคุณภาพที่เหมาะสมช่วยลดข้อผิดพลาดทั้งแบบสุ่ม (random error) และแบบ

ระบบ (systematic error) เพื่อให้มั่นใจว่าข้อมูลที่ได้รับมีคุณภาพสูงและสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างถูกต้อง

การควบคุมคุณภาพในห้องปฏิบัติการมีหลายวิธี ซึ่งรวมถึงการใช้รีเอเจนต์แบลнк (reagent blank), การวิเคราะห์แบลнкของวิธีทดสอบ (method blank) และการวิเคราะห์ตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐาน (spiked sample analysis) หรือการคำนวณร้อยละการกลับคืน (%recovery)

1) การวิเคราะห์รีเอเจนต์แบลнк หรือแบลнкของวิธีทดสอบ (reagent blank or method blank analysis) เป็นกระบวนการที่ใช้ตรวจสอบว่าสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง เครื่องแก้ว หรือเครื่องมือวิเคราะห์ ไม่ก่อให้เกิดสัญญาณรบกวนในการวิเคราะห์ โดยการเตรียมตัวอย่างที่ไม่มีสารที่สนใจ (analyte) และทำการวิเคราะห์ตามขั้นตอนเดียวกับตัวอย่างจริง วัตถุประสงค์ของการวิเคราะห์แบลнкเพื่อตรวจสอบว่าสัญญาณที่ตรวจพบมาจากสารที่สนใจจริง ๆ และไม่ใช่จากการปนเปื้อนของรีเอเจนต์ เครื่องแก้ว หรือเครื่องมือ ควบคุมและแก้ไขความคลาดเคลื่อนเชิงระบบ (systematic error) ที่เกิดจากความไม่บริสุทธิ์ของสารเคมี (reagent impurity) การปนเปื้อนจากเครื่องแก้วและอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ และสิ่งรบกวนจากเครื่องมือวิเคราะห์ โดยทั่วไปในการวิเคราะห์แบลнк ควรทำการวิเคราะห์แบลнкทุก ๆ 10–20% ของจำนวนตัวอย่าง ในชุดตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์ หากทำการวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีความเข้มข้นสูง อาจต้องทำการวิเคราะห์แบลнкทันทีหลังจากตัวอย่างดังกล่าวเพื่อป้องกันการปนเปื้อนข้ามตัวอย่าง

2) การวิเคราะห์ตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐาน (spiked sample analysis) หรือการคำนวณร้อยละการกลับคืน (%recovery) วิธีนี้ดำเนินการโดยการเติมสารมาตรฐานที่มีความเข้มข้นทราบแน่ชัดลงไปในตัวอย่งจริงในปริมาณเล็กน้อย (โดยทั่วไปไม่ควรเกิน 2% ของปริมาตรตัวอย่าง) จากนั้นจึงนำตัวอย่างดังกล่าวไปผ่านกระบวนการเตรียมและวิเคราะห์เช่นเดียวกับตัวอย่างปกติ เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์และคำนวณร้อยละการกลับคืน (%recovery) ของสารที่ต้องการวิเคราะห์ การทำ spiked sample analysis เพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพของกระบวนการเตรียมตัวอย่างและขั้นตอนการวิเคราะห์ ประเมินความแม่นยำและความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ ตรวจสอบผลกระทบจากเมทริกซ์ของตัวอย่าง (matrix interference) และประกันคุณภาพของกระบวนการวิเคราะห์ในเชิงวิเคราะห์ (analytical QA)

ขั้นตอนการวิเคราะห์ โดยแบ่งสารละลายตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ออกเป็น 2 ส่วน เท่า ๆ กัน คือ ตัวอย่างต้นฉบับ (original sample) ไม่เติมสารมาตรฐาน และตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐาน (spiked sample) เติมสารมาตรฐานในปริมาณที่แน่นอนลงไป ดำเนินการวิเคราะห์ตัวอย่างทั้งสองภายใต้เงื่อนไขเดียวกัน แล้วคำนวณค่า %recovery โดยใช้สมการ

$$\%recovery = \left(\frac{C_{spiked} - C_{original}}{C_{added}} \right) \times 100$$

เมื่อ C_{spiked} = ความเข้มข้นของสารในตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐาน
 $C_{original}$ = ความเข้มข้นของสารในตัวอย่างต้นฉบับ
 C_{added} = ปริมาณของสารมาตรฐานที่เติมลงไป

เกณฑ์การยอมรับของค่าร้อยละการกลับคืนที่ยอมรับได้สำหรับการวิเคราะห์ทั่วไปอยู่ในช่วง 90–110% โดยค่า %recovery ที่อยู่นอกช่วงดังกล่าวอาจบ่งชี้ถึงปัญหาทางเทคนิค เช่น การสูญเสียตัวอย่างหรือผลกระทบจากเมทริกซ์

3) การวิเคราะห์ซ้ำในตัวอย่างเดียวกัน (duplicate analysis pair) หมายถึงการวิเคราะห์ตัวอย่างเดียวกันจำนวน 2 ครั้ง เพื่อทดสอบความแม่นยำของผู้ที่ทำการทดสอบ หลังจากนั้นนำผลการทดสอบมาคำนวณหา % ความแตกต่างสัมพัทธ์ (%relative percent difference, RPD) โดยเกณฑ์การยอมรับต้องไม่เกิน 10%

$$\%RPD = \left(\frac{X_{i(\text{Max})} - X_{i(\text{Min})}}{\bar{X}} \right) \times 100$$

4) การตรวจสอบสมรรถนะของเครื่องมือ โดยพิจารณาจากช่วงความเป็นเส้นตรง หรือใช้วิธีอื่นที่เหมาะสม ผู้ทดสอบจะใช้สารมาตรฐาน 3-5 ความเข้มข้น แล้วพิจารณาช่วงความเป็นเส้นตรง โดยดูจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) หรือค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (coefficient of determination, R²) โดยเกณฑ์การยอมรับ ค่า r ต้องไม่น้อยกว่า 0.995 และ R² ไม่น้อยกว่า 0.990

5) การวิเคราะห์ certified reference materials (CRM) เป็นวัสดุหรือสารอ้างอิงมาตรฐานที่ได้รับการรับรอง โดยการดำเนินการที่ถูกต้องทางวิชาการ และสามารถสอบกลับ (traceable) ไปยังมาตรฐานระหว่างประเทศ (international standard; SI unit) ได้ การวิเคราะห์ CRM เป็นการทวนสอบให้แน่ใจว่าค่าที่ได้จากการทดสอบสารมาตรฐานที่เตรียมขึ้นเองมีความถูกต้อง โดยเกณฑ์การยอมรับอยู่ระหว่าง 90–110 %

4) การเลือกใช้เทคนิคที่เหมาะสมในการวิเคราะห์

การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค AAS นั้นอาจทำได้หลายวิธี แต่ละเทคนิคมีข้อดีข้อเสียและการใช้งานแตกต่างกัน และอาจกล่าวได้ว่ากระบวนการทำให้สารเกิด atomization ไม่มีวิธีไหนเลยที่จัดว่าดีที่สุด ดังนั้นห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ต้องเลือกให้เหมาะสมกับความต้องการ โดยคำนึงถึงองค์ประกอบหลาย ๆ อย่าง เช่น ความรวดเร็วของการวิเคราะห์ ความยากง่าย ความเข้มข้น สมบัติทางเคมีและทางกายภาพของสารที่จะวิเคราะห์ ตลอดจนเครื่องมือและอุปกรณ์ต่าง ๆ ที่สามารถอำนวยความสะดวกให้แต่ละเทคนิคมีหลักการทั่วไป ดังนี้

4.1) Flame AAS เป็นเทคนิคที่ใช้เปลวไฟในการทำให้สารอยู่ในรูปอะตอม (atomization) ซึ่งได้รับความนิยมอย่างแพร่หลาย ตัวอย่างที่เหมาะสมควรอยู่ในรูปของสารละลายหรือของเหลว โดยไม่ควรมีความเข้มข้นเกิน 5% และสามารถสลายตัวได้ดีด้วยความร้อน ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้ควรมีน้อยกว่า 1 mL และควรมีความเข้มข้นอยู่ในช่วงที่เหมาะสม เทคนิคนี้ไม่ต้องการผู้วิเคราะห์ที่มีความเชี่ยวชาญสูงมาก และค่าใช้จ่ายหลักจะอยู่ที่การเตรียมตัวอย่าง เทคนิคนี้ให้ความแม่นยำในการวิเคราะห์ในระดับสูง

4.2) Graphite Furnace AAS (GF-AAS) เทคนิคนี้สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้ทั้งในรูปของของเหลวหรือของแข็งที่ละลายในของเหลว โดยควรมีลักษณะเนื้อเดียว สารตัวอย่างต้อง

สามารถสลายด้วยความร้อนเพื่อแยกสารรบกวนออกจากธาตุที่สนใจ ควรมีช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสม และสามารถเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานได้ ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้เพียง 0.5 μL เทคนิคนี้ให้ทั้งความแม่นยำและความไว (sensitivity) สูง แต่ต้องอาศัยประสบการณ์และความชำนาญของผู้วิเคราะห์ ค่าใช้จ่ายขึ้นกับสารเคมีที่ใช้ หลอดแกรไฟต์ และระยะเวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์

4.3) Vapor Generation Techniques เทคนิคนี้จำเป็นต้องเตรียมตัวอย่างให้อยู่ในสภาพกรดและมี oxidation state ที่เหมาะสม ใช้สำหรับวิเคราะห์เฉพาะธาตุบางชนิด เช่น As, Hg, Se โดยต้องปราศจากสิ่งรบกวนทางเคมีและความเข้มข้นที่เหมาะสม จุดเด่นของเทคนิคนี้คือมีความไวสูงสำหรับธาตุที่สามารถวิเคราะห์ได้ แม้ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างจะต้องใช้ความชำนาญ แต่กระบวนการวิเคราะห์สามารถดำเนินการได้ค่อนข้างง่าย ค่าใช้จ่ายขึ้นอยู่กับชนิดของสารเคมีและระยะเวลาในการวิเคราะห์

3.1.4 ปฏิบัติการปริมาณโลหะตกค้างในตัวอย่างอาหารหรือเครื่องสำอาง

- 1) ส่วนประกอบเครื่อง AAS
 - 2) การเตรียมกราฟมาตรฐานความเข้มข้น
 - 3) การวิเคราะห์โลหะตกค้าง
 - 4) การตรวจสอบความใช้ได้
- (คู่มือปฏิบัติการ)

สรุปท้ายบทเรียน

การดูดกลืนแสงของอะตอม อาศัยหลักการอิเล็กตรอนที่อยู่ภายในอะตอม เมื่อได้รับพลังงานจะดูดกลืนพลังงาน และเปลี่ยนวงโคจร ไปอยู่ในวงโคจรใหม่ที่ระดับพลังงานสูงขึ้นกว่าเดิมเพียงระยะเวลาสั้น ๆ เท่านั้น ซึ่งพลังงานที่ให้กับอะตอมจะใช้พลังงานแสงที่มีความจำเพาะกับธาตุแต่ละชนิด โดยค่าการดูดกลืนแสงมีความสัมพันธ์โดยตรงกับความเข้มข้นของโลหะ เมื่อโลหะมีความเข้มข้นมากจะดูดกลืนพลังงานแสงได้มาก ในทางตรงข้ามหากโลหะมีปริมาณน้อยก็จะดูดกลืนพลังงานแสงได้น้อยตามกฎของเบียร์

เทคนิคการวิเคราะห์ด้วย AAS จะต้องเปลี่ยนรูปของโลหะที่ปนอยู่ในสารละลายตัวอย่างให้กลายเป็นอะตอมโดยใช้พลังงานจากเปลวไฟด้วยส่วนสร้างอะตอม อะตอมที่เกิดขึ้นจะดูดกลืนพลังงานแสงที่ได้จากแหล่งกำเนิดแสง หลังจากนั้นแสงที่ผ่านการดูดกลืนแล้วจะถูกเลือกเฉพาะความยาวคลื่นที่จำเพาะกับธาตุแต่ละชนิดและถูกตรวจวัด เพื่อเปลี่ยนจากสัญญาณแสงเป็นสัญญาณทางไฟฟ้า จากนั้นเข้าไปที่หน่วยขยายสัญญาณ สิ้นสุดกระบวนการด้วย การประมวลผลด้วยคอมพิวเตอร์

วิธีการสอนและกิจกรรม

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ใบกิจกรรม

สื่อการสอนและอุปกรณ์การสอน

1. หนังสือ/ตำรา
2. เอกสารประกอบการสอน
3. <https://agora.cs.wcu.edu/~huffman/lectures/atomic.html>

งานที่มอบหมาย

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ใบกิจกรรม

การวัดผล

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ใบกิจกรรม

แบบฝึกหัด

1. ทำกิจกรรม
2. ใบกิจกรรม

บรรณานุกรม

1. แม้น อมรสิทธิ์, และอมร เพชรสม. (2550). *หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ*. สำนักพิมพ์ชวนชม.
2. *Atomic Spectroscopy Lectures*. (n.d.).
<https://agora.cs.wcu.edu/~huffman/lectures/atomic.html>
3. Averill, B. A. (2012). *Principles of General Chemistry*.
<https://2012books.lardbucket.org/books/principles-of-general-chemistry-v1.0m/index.html>
4. Christian, G. D., Dasgupta, P. K., & Schug, K. A. (2014). *Analytical Chemistry* (7th ed.). John Wiley & Sons.
5. Harris, D. C. (2010). *Quantitative Chemical Analysis* (8th ed.). W. H. Freeman and Company.
6. Harvey, D. (2019). *Analytical Chemistry 2.1*. <https://chem.libretexts.org/>
7. Robinson, J. W., Frame, E. M. S., & Frame G. M. (2021). *Instrumental Analytical Chemistry*. CRC Press
8. Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2022). *Fundamentals of Analytical Chemistry* (10th ed.). Brooks/Cole Publishing

9. Skoog, D. A., Holler, F.J., & Crouch, S. R. (2018). *Principles of Instrumental Analysis* (7th ed.). David Harris.

หน่วยที่ 3

วิธีสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนและเปล่งออก

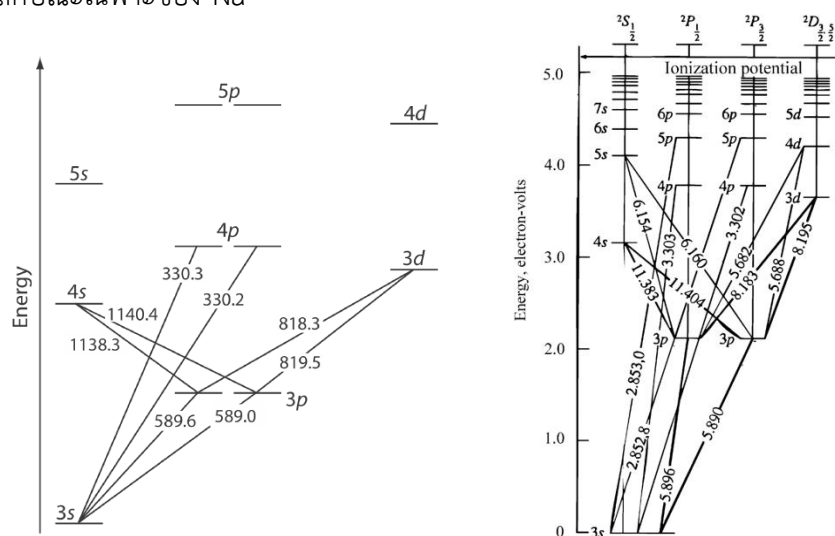
บทเรียน 3.2 สเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออกระดับอะตอม

จุดประสงค์การสอน

1. อธิบายการเปล่งออกระดับอะตอม
2. บอกส่วนประกอบของเครื่อง ICP-OES
3. คำนวณการทำปริมาณวิเคราะห์
4. ปฏิบัติการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP-OES

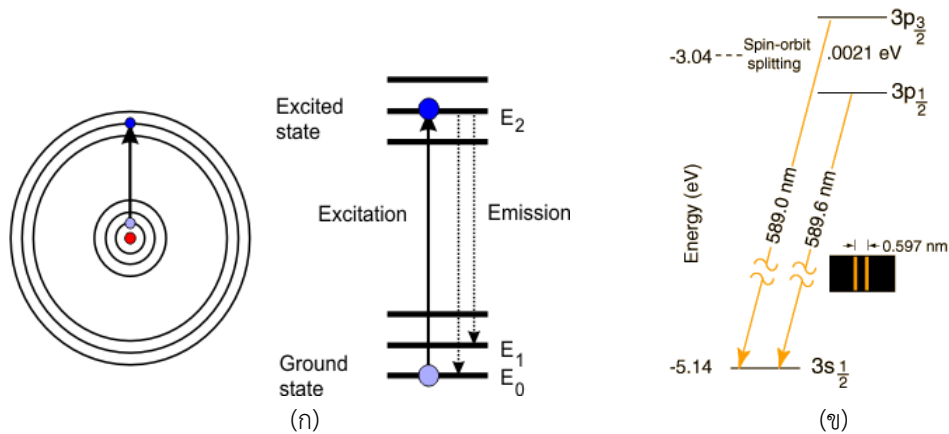
3.2.1 การเปล่งออกระดับอะตอม

การเปล่งออกระดับของอะตอม (atomic emission) เกิดขึ้นเมื่ออิเล็กตรอนในออร์บิทัลที่มีพลังงานสูงกว่ากลับสู่สถานะพลังงานที่ต่ำลง โดยจะมีการปลดปล่อยพลังงานส่วนเกินออกมาในรูปของโฟตอน สำหรับโซเดียม (Na) การจัดเรียงอิเล็กตรอนในสถานะพื้น คือ $1s^2 2s^2 2p^6 3s^1$ ซึ่งเวเลนซ์อิเล็กตรอน 1 ตัวอยู่ในออร์บิทัล-3s เมื่อมีพลังงานที่เพียงพอในการกระตุ้นให้อิเล็กตรอนในออร์บิทัล-3s เคลื่อนที่ไปยังสถานะพลังงานที่สูงขึ้น (สถานะกระตุ้น) เช่น ออร์บิทัล-3p ซึ่งสามารถเห็นได้จากแผนภาพระดับพลังงานของ Na (ภาพที่ 3.14) เมื่ออิเล็กตรอนที่ถูกกระตุ้นกลับสู่สถานะพื้น พลังงานที่มากเกินไปจะถูกปล่อยออกมาในรูปของโฟตอน ซึ่งทำให้เกิดสเปกตรัมการเปล่งแสงของ Na ตามที่แสดงในภาพที่ 3.15 สเปกตรัมนี้มีจุดเด่นที่เส้นสเปกตรัมสองเส้นที่มีความยาวคลื่น 589.0 และ 589.6 nm ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของ Na



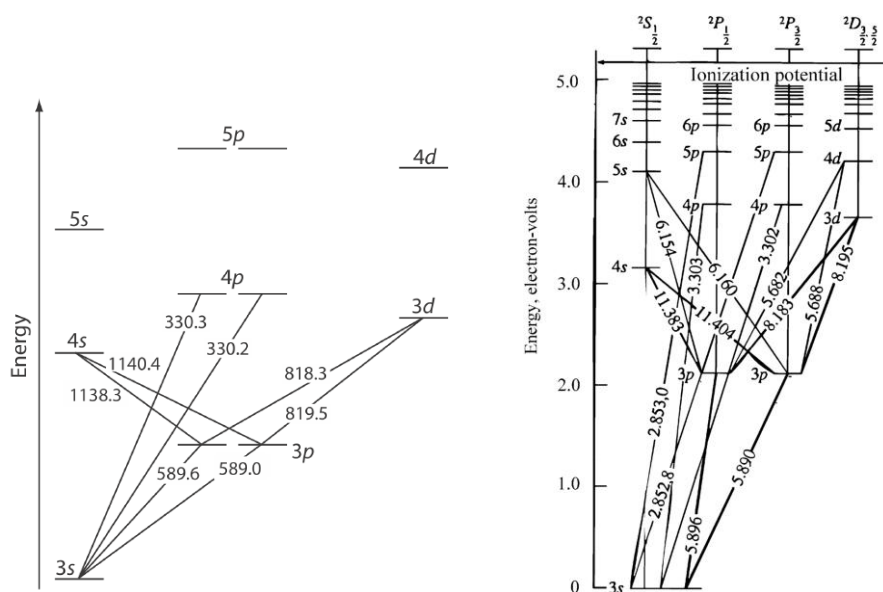
ภาพที่ 3.14 แผนภาพพลังงานของอะตอม Na

เมื่ออะตอมที่อยู่ในสถานะกระตุ้น (excited state) ปล่อยโฟตอนออกมาเพื่อลดระดับพลังงานกลับไปสู่สถานะพลังงานที่ต่ำกว่า กระบวนการนี้ขึ้นอยู่กับแหล่งพลังงานที่ทำให้อะตอมเข้าสู่สถานะกระตุ้น หากการกระตุ้นเกิดจากพลังงานความร้อน เช่น ในกรณีของสเปกตรัมที่แสดงในภาพที่ 3.16 เราเรียกกระบวนการนี้ว่า การเปล่งออกของอะตอม (atomic emission)

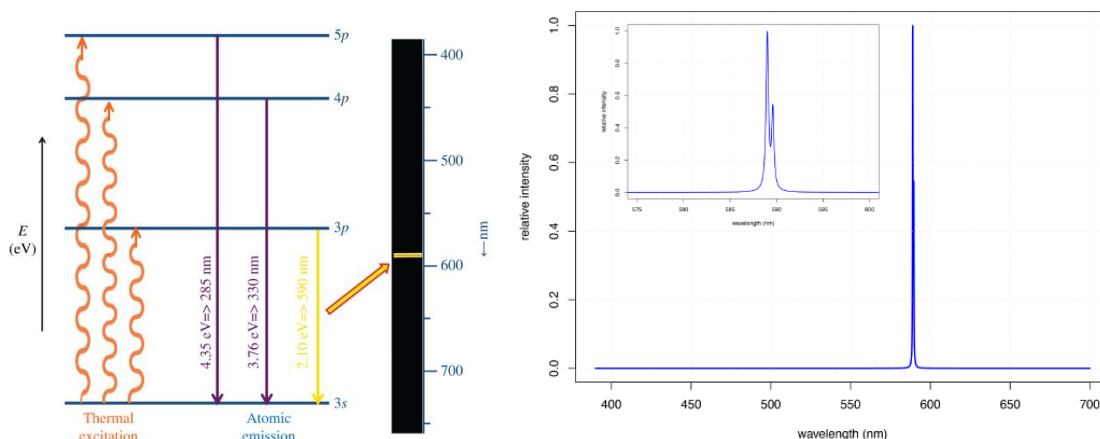


ภาพที่ 3.15 แผนภาพการเปล่งออกของอะตอม Na

หากการกระตุ้นเกิดจากการดูดกลืนโฟตอน เรียกกระบวนการนี้ว่า การเปล่งแสงของอะตอม (atomic luminescence) ซึ่งเป็นเทคนิคที่วิเคราะห์การวาวแสงและการเรืองแสงของอะตอม จากสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของโซเดียมและสเปกตรัมการเปล่งออก พบว่าโซเดียมมีทั้งเส้นการดูดกลืนและการเปล่งออกที่ความยาวคลื่น 589.0 และ 589.6 nm กล่าวคือ หากใช้แหล่งกำเนิดแสงที่มีความยาวคลื่น 589.6 nm กระตุ้นอิเล็กตรอนในออร์บิทัล-3s ให้ไปยังสถานะกระตุ้น (3p) เราสามารถวัดการเปล่งออกที่ความยาวคลื่นเดียวกันได้



ภาพที่ 3.16 แผนภาพพลังงานของอะตอม Na

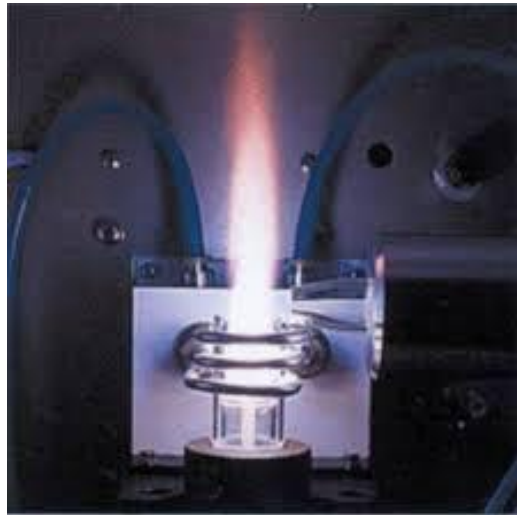
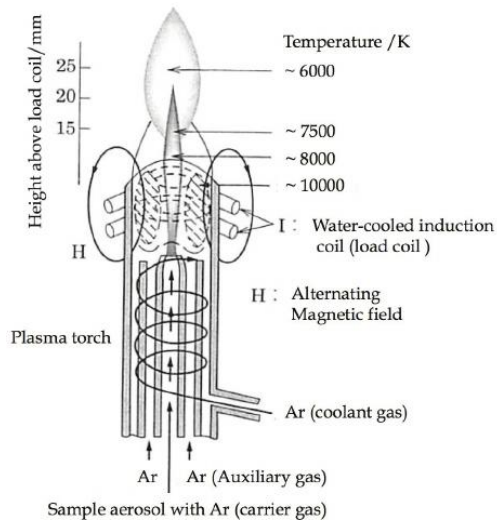


ภาพที่ 3.17 สเปกตรัมเปล่งออกของอะตอม Na (ที่อุณหภูมิ 3000 K)

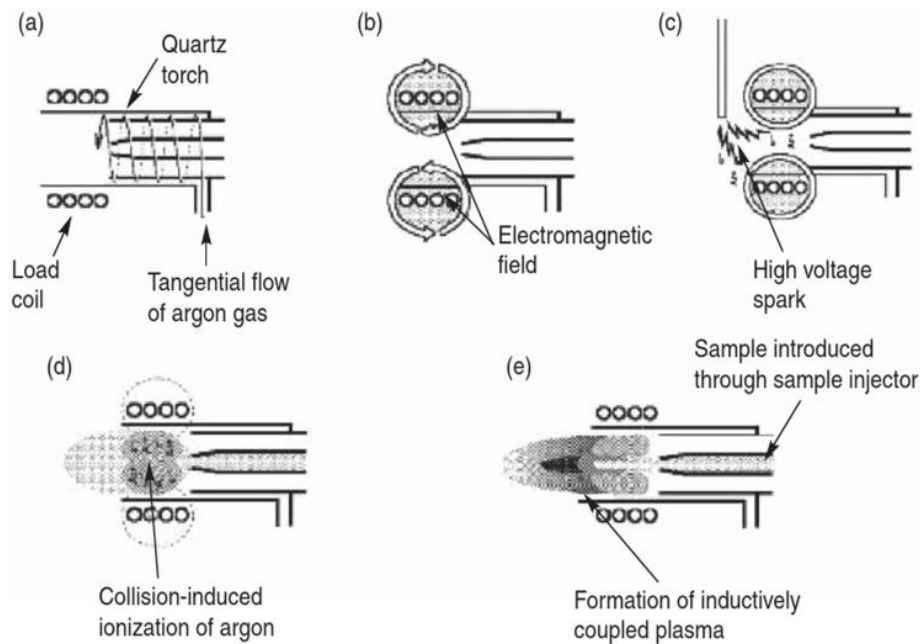
3.2.2 ส่วนประกอบของเครื่อง ICP-OES

1) การผลิตพลาสมา (plasma discharge)

เครื่องอินดักทีฟคัปเปิลพลาสมาออปติคอลลีมิตชันสเปกโตรมิเตอร์ (inductively coupled plasma-optical emission spectrometer, ICP-OES) เป็นเทคนิคที่ใช้พลาสมาที่ผลิตโดยไม่ต้องมีขั้วไฟฟ้า เครื่อง ICP spectrometer มีการผลิตขึ้นมาใช้เมื่อปี ค.ศ. 1975 โดยมีหลักการคือการปล่อยแก๊สอาร์กอนผ่านเข้าไปในคอบ (torch) ซึ่งประกอบด้วยหลอดทรงกระบอกที่ทำด้วยแก้วควอตซ์ (quartz tube) ซ้อนกัน 3 ชั้น ปลายคอบด้านบนมีท่อกลวงทำด้วยขดลวดเหนี่ยวนำ (induction coil) ทำด้วยทองแดงล้อมรอบ เรียกว่า load coil ซึ่งต่อเข้ากับเครื่องกำเนิดความถี่วงคลื่นวิทยุ (RF generator) เพื่อให้ RF-power (โดยทั่วไปจะเป็น 700-1,500 วัตต์) เมื่อผ่านกระแสไฟฟ้าความถี่สูง (high frequency current) ไปที่ขดลวดเหนี่ยวนำ ซึ่งมีน้ำไหลผ่านเพื่อระบายความร้อน จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสนามแม่เหล็กไฟฟ้าไหลวน (Eddy current) ขึ้น อิเล็กตรอนอิสระ (free electrons) ภายในคอบจะถูกเหนี่ยวนำโดยสนามแม่เหล็กไฟฟ้าและถูกเร่งทำให้เกิดการชนกันกับอะตอม หรือโมเลกุลของแก๊ส มีผลทำให้แก๊สเกิดการแตกตัวเป็นไอออน เกิดความร้อนขึ้นจำนวนมากที่เรียกว่า พลาสมา (plasma) ในสภาพปกติ แก๊สอาร์กอนจะเป็นแก๊สเฉื่อย ไม่นำไฟฟ้า ดังนั้นการทำให้เกิดพลาสมาต้องให้อิเล็กตรอนอิสระเกิดขึ้นบางส่วนก่อน จึงจำเป็นต้องทำให้เป็นตัวนำไฟฟ้าด้วยการทำให้สปาร์ค (spark) โดยปล่อยประจุจากเทสลา (tesla discharge) หรือ igniter เพื่อให้เกิดประกายไฟบริเวณคอบที่ล้อมรอบด้วยขดลวดเหนี่ยวนำ และมีแก๊สอาร์กอนไหลผ่านพร้อม ๆ กันกับการให้พลังงานจากเครื่องกำเนิดคลื่นความถี่วิทยุทำให้อิเล็กตรอนอิสระมีพลังงานสูงขึ้นและจะเคลื่อนที่ด้วยความเร็วไปชนกับอะตอมของแก๊สอาร์กอน ทำให้แก๊สอาร์กอนเกิดการแตกตัว (ionization) เกิดเป็นไอออนบวกของแก๊สอาร์กอนและอิเล็กตรอน การชนจะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องในลักษณะปฏิกิริยาลูกโซ่ ลักษณะเช่นนี้ทำให้พลาสมาคงสภาพอยู่ได้ การเกิดพลาสมานี้เรียกว่า inductively couple plasma discharge (ICP discharge)

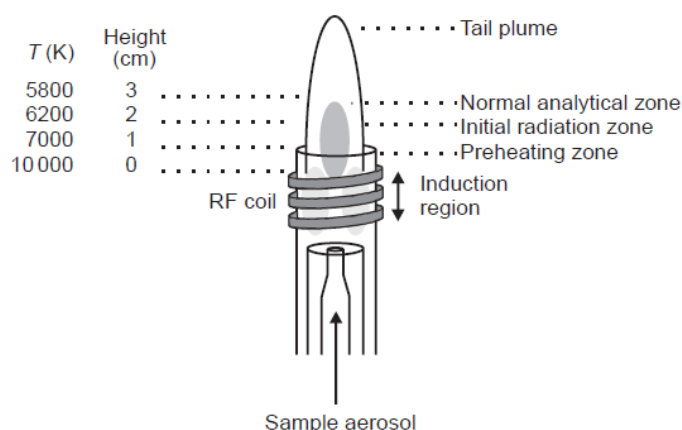


ภาพที่ 3.18 แผนภาพคบ (torch)



ภาพที่ 3.19 ขั้นตอนการเกิดพลาสมา (plasma discharge)

บริเวณของพลาสมาในแต่ละโซนจะมีชื่อเรียกที่ต่างกัน บริเวณฐานของ discharge มีลักษณะเป็น toroidal หรือรูปโดนัท (doughnut-shape) จากแก๊สอาร์กอนที่ไหลผ่าน nebulizer และพาล่องตัวอย่างเข้าสู่พลาสมานั้น จะเจาะผ่านบริเวณกึ่งกลางของพลาสมาเรียกบริเวณนี้ว่า induction region (IR) เนื่องจากบริเวณนี้จะเกิดการถ่ายเทพลังงานจากกระแสไฟฟ้าความถี่สูง (high frequency current) ไปสู่พลาสมาโดยผ่านทางขดลวดเหนี่ยวนำ ส่วนบริเวณนี้เรียกว่า normal analytical zone (NAZ) เป็นบริเวณที่ถูกเลือกใช้ในการวัด emission lines ของธาตุที่ต้องการวิเคราะห์ ทำให้ ICP สามารถวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของธาตุต่าง ๆ ได้

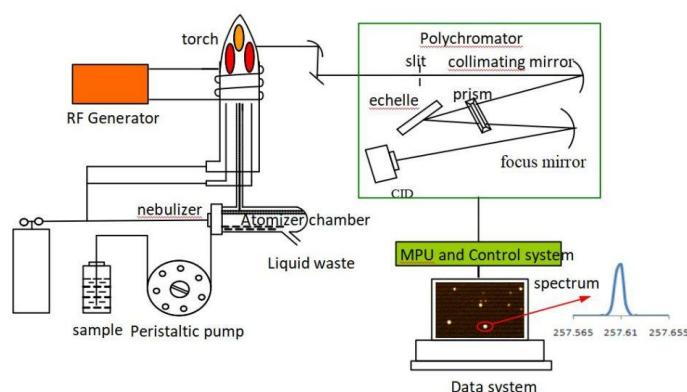


ภาพที่ 3.20 อุณหภูมิของพลาสมาแต่ละโซน

พลาสมาทำหน้าที่แยกตัวทำลายออกจากละอองตัวอย่าง (desolvation) เมื่อผ่านการแยกตัวจะเกิดการสลายตัวเป็นอิสระในรูปแก๊สด้วยกระบวนการ vaporization โมเลกุลจะเกิดการแตกตัวเป็นอะตอมด้วยกระบวนการ atomization จะเกิดขึ้นบริเวณ preheating zone (PHZ) เมื่ออะตอมถูกกระทำให้อยู่ในสถานะกระตุ้น อะตอมเหล่านั้นจะปล่อยพลังงานแสงที่มีความเข้มเฉพาะตัวออกมา ส่วนใหญ่จะเกิดบริเวณ initial radiation zone (IRZ) ซึ่งมีอุณหภูมิประมาณ 8,000 K และบริเวณที่เรียกว่า normal analytical zone (NAR) ซึ่งมีอุณหภูมิประมาณ 6,800 K จะเลือกใช้ในการวัด emission line ของธาตุที่ต้องการวิเคราะห์

2) ส่วนประกอบหลักของเครื่อง ICP-OES

ส่วนประกอบหลักของเครื่อง ICP-OES คือ inductively coupled plasma (ICP) ใช้ผลิตพลาสมาที่ให้อุณหภูมิสูงถึง 1,000-10,000 เคลวิน ดังกล่าวข้างต้น และ optical emission spectrometer (OES) เป็นวิธีการวิเคราะห์โดยอาศัยหลักการทำให้สารเปลี่ยนสถานะจากสถานะพื้นไปยังสถานะกระตุ้นเพื่อให้สารที่สนใจคายแสง (เปล่งออก) ซึ่งจะอยู่ในย่านของยูวี-วิสิเบิล และมีลักษณะเฉพาะตัว และวัดความเข้มของแสงนั้น ภาพที่ 3.21 แสดงแผนภาพของส่วนประกอบของเครื่อง ICP-OES



ภาพที่ 3.21 ส่วนประกอบหลักของเครื่อง ICP-OES

1) ระบบนำส่งตัวอย่าง (sample introduction system)

ตัวอย่างส่วนใหญ่จะถูกเตรียมในรูปสารละลาย วิธีพื้นฐานที่ใช้ทั่วไปในการนำส่งตัวอย่างที่เตรียมในรูปสารละลาย คือ การนำส่งสารละลายตัวอย่างเข้าสู่ระบบด้วยกระบวนการดูดพ่นให้เป็นละอองลอย (solution nebulization) ส่วนประกอบหลักของระบบนำส่งตัวอย่างแบบนี้ คือ เครื่องพ่นละออง (nebulizer) ปั๊มสุบจ่ายของเหลวแบบรีดท่อ (peristaltic pump) และ spray chamber สารละลายตัวอย่างจะถูกส่งเข้าเครื่องแล้วเปลี่ยนเป็นละอองลอยผ่านกระบวนการดูดพ่นให้เป็นละอองด้วยเครื่องพ่นละอองผ่านปั๊มสุบจ่ายของเหลวแบบรีดท่อ ละอองที่เกิดจากกระบวนการดูดพ่นให้เป็นละอองลอยอาจมีหลายขนาด โดยละอองขนาดใหญ่จะตกค้างอยู่ใน spray chamber ส่วนละอองลอยขนาดเล็กจะผ่าน spray chamber เข้าสู่คัปพลาสมาเพื่อเข้าสู่กระบวนการกำจัดตัวทำละลายออกจากละอองตัวอย่างต่อไป

กระบวนการดูดพ่นให้เป็นละอองลอยอาจไม่เหมาะสำหรับการนำส่งตัวอย่างบางชนิด ตัวอย่างบางรูปแบบอาจมีการนำส่งเข้าระบบด้วยวิธีอื่น ๆ เช่น การยิงด้วยเลเซอร์ (laser ablation) การทำให้เป็นไอด้วยไฟฟ้า (electrothermal vaporization) การยิงด้วยเลเซอร์ใช้สำหรับการทำตัวอย่างในรูปของแข็งให้เป็นไอของอนุภาคเพื่อนำส่งตัวอย่าง การทำให้เป็นไอด้วยไฟฟ้าสามารถใช้ได้กับตัวอย่างในรูปของเหลวหรือของเหลวข้น (slurry) ซึ่งเป็นของผสมระหว่างของแข็งที่ไม่ละลายกับของเหลว

2) ระบบควบคุมแก๊ส (gas control system)

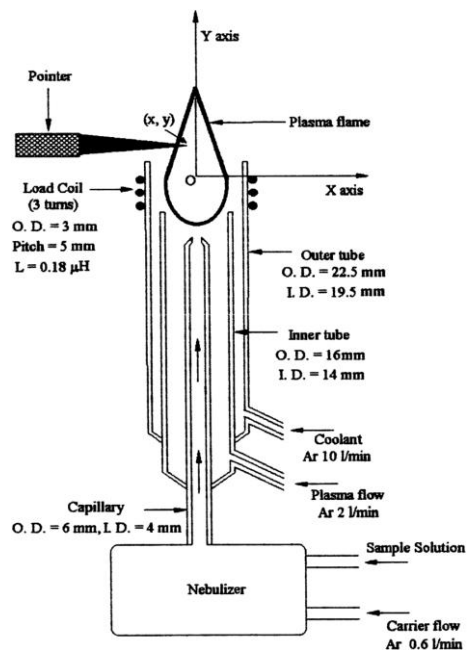
ส่วนควบคุมแก๊สให้กับระบบ ICP ที่ส่วนของการผลิตพลาสมา แก๊สที่ใช้เป็นพลาสมาส่วนมากจะใช้แก๊สอาร์กอน

3) ระบบกำเนิดพลาสมา (plasma generation system)

คัปพลาสมาโดยทั่วไปทำจากควอตซ์ (quartz) คัปพลาสมา มีลักษณะเป็นหลอด 3 ชั้น คือ ชั้นใน (inner) ชั้นกลาง (intermediate) และชั้นนอก (outer) ดังแสดงในภาพที่ 3.22 ขณะที่เครื่องทำงานจะมีแก๊สอาร์กอนผ่านคัปพลาสมาทั้ง 3 ชั้น แต่แก๊สอาร์กอนที่ผ่านในแต่ละชั้นจะมีอัตราการไหลและหน้าที่หลักแตกต่างกัน ชั้นในของคัปจะมีแก๊สอาร์กอนไหลผ่านด้วยอัตราเร็วประมาณ 1 ลิตรต่อนาที แก๊สอาร์กอนบริเวณชั้นในเรียกว่า inner gas หรือ carrier gas ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวพาละอองลอยของตัวอย่างผ่านหลอดชั้นในไปสู่พลาสมา ชั้นถัดมาจะเป็นชั้นกลาง แก๊สอาร์กอนไหลผ่านชั้นกลางด้วยอัตราเร็วประมาณ 1 ลิตรต่อนาที แก๊สอาร์กอนบริเวณชั้นนี้เรียกว่า intermediate gas หรือ auxiliary gas ซึ่งช่วยให้ละอองลอยของตัวอย่างที่ออกมาจากชั้นในเข้าไปในพลาสมาได้ง่ายขึ้น auxiliary gas ยังช่วยให้เกิดที่ว่างระหว่างบริเวณฐานพลาสมากับปลายหลอดชั้นในเพื่อป้องกันการหลอมเหลวของปลายหลอดรวมทั้งป้องกันการสลายตัวตกค้างของคาร์บอนและเกลือในหลอดชั้นใน ชั้นนอกของคัปพลาสมา มีลักษณะแคบเพื่อให้แก๊สอาร์กอนไหลผ่านด้วยความเร็วสูงประมาณ 7 ถึง 15 ลิตรต่อนาที แก๊สอาร์กอนบริเวณชั้นนอกของคัปเรียกว่า outer gas หรือ plasma gas หรือ coolant gas แก๊สอาร์กอนที่ผ่านในชั้นนอกมีหน้าที่หลักในการก่พลาสมาและทำให้บริเวณฐานพลาสมามีลักษณะเป็น toroidal หรือ doughnut shape นอกจากนี้แก๊สอาร์กอนที่ไหลในหลอดชั้นนอกจะไหล

หมุนจากทางเข้าไปยังพลาสมา การไหลหมุนดังกล่าวป้องกันพลาสมาขยายตัวเข้ามาในหลอดชั้นนอก ทำให้ผนังคบเย็น และป้องกันการหลอมเหลวของคบ

load coil หรือ induction coil เป็นขดลวดทองแดงวางตัวล้อมรอบส่วนปลายของคบ load coil เชื่อมต่อกับเครื่องส่งความถี่วิทยุ เมื่อส่งความถี่วิทยุเข้าสู่ขดลวด load coil จะเหนี่ยวนำให้เกิดสนามแม่เหล็กบริเวณส่วนปลายของคบ วงจรของเครื่องส่งความถี่วิทยุที่ใช้ทั่วไปมี 2 ความถี่ คือ 27 และ 40 MHz

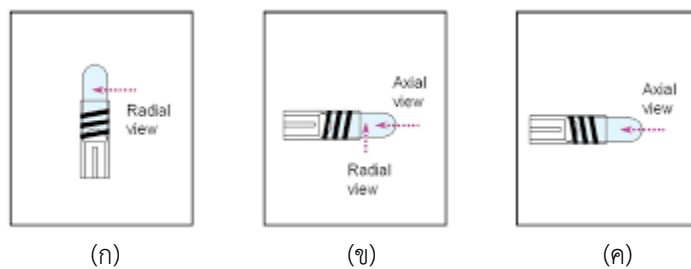


ภาพที่ 3.22 คบพลาสมา

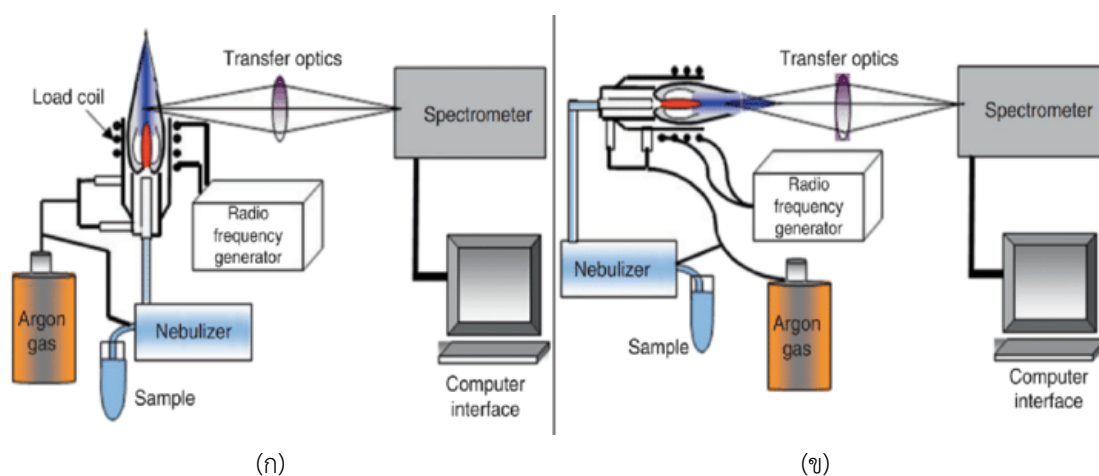
4) ระบบตรวจวัด (detection system)

ระบบตรวจวัดเป็นระบบแยกและลำเลียงแสงที่เปล่งออกมาเข้าสู่ตัวตรวจวัด โดยมี ส่วนประกอบหลักคือ grating, photomultiplier tube และ array detector รูปแบบการการวัด การเปล่งออก (คายแสง) มี 3 รูปแบบ คือ radial view, axial view และ dual view

การวัดแบบ radial view เป็นการวัดแสงที่เปล่งออกมาบริเวณด้านข้างของพลาสมาดัง แสดงในภาพที่ 3.23 ส่วนการวัดแบบ axial view เป็นการวัดแสงที่เปล่งออกมาบริเวณปลายพลาสมา ส่วน dual view เป็นการวัดที่มีการเก็บข้อมูลทั้งแบบ radial view และ axial view การวัดแบบ radial view จะมี sensitivity น้อยกว่าการวัดแบบ axial view เพราะ path length สั้นกว่า แต่การ วัดแบบ radial view มีข้อดี คือ มีค่า linearity ที่ดี และมี noise ต่ำกว่าการวัดแบบ axial view ค่า ช่วง detection limit ของ radial view จะอยู่ในช่วง 0.1 ถึง 100 ppb ค่าช่วง detection limit ของ axial view จะอยู่ในช่วง 0.01 ถึง 10 ppb ดังนั้น การวัดแบบ radial view จะสามารถวัด ตัวอย่างที่มีธาตุเจือปนในความเข้มข้นสูงโดยใช้การเจือจางสำหรับเตรียมตัวอย่างน้อยกว่าการวัดแบบ axial view แต่การวัดแบบ axial view ก็จะครอบคลุมการวัดความเข้มข้นของธาตุเจือปนในตัวอย่าง ที่ความเข้มข้นต่ำกว่าการวัดแบบ radial view



ภาพที่ 3.23 รูปแบบการวัดการเปล่งออก (ก) แบบ radial view (ข) แบบ dual view และ (ค) แบบ axial view



ภาพที่ 3.24 รูปแบบระบบตรวจวัดของแผนภาพส่วนประกอบเครื่อง ICP-OES (ก) แบบ radial view และ (ข) แบบ axial view

5) ระบบควบคุมและประมวลผล (data acquisition and communication)

เป็นส่วนของอิเล็กทรอนิกส์ที่เปลี่ยนค่ากระแสที่ได้จากตัวตรวจวัดเข้าระบบควบคุมและประมวลผลข้อมูล ปัจจุบันนิยมใช้คอมพิวเตอร์ในการทำหน้าที่วิเคราะห์สัญญาณ ควบคุมและประมวลผล

3.2.3 การทำปริมาณวิเคราะห์

การทำปริมาณวิเคราะห์และการตรวจสอบความใช้ได้ เช่นเดียวกับเทคนิค AAS

ลักษณะเฉพาะของเทคนิค ICP-OES

ขีดจำกัดในการวิเคราะห์ธาตุต่าง ๆ โดยทั่วไปอยู่ในช่วงของไมโครกรัมต่อลิตร หรือ ส่วนในพันล้านส่วน (part per billion, ppb) ขีดจำกัดในการตรวจวัด (detection limit) พิจารณาจากความเข้มข้นต่ำสุด ผู้วิเคราะห์สามารถใช้เป็นเกณฑ์เปรียบเทียบ ที่จะเชื่อว่ามีธาตุนั้น ๆ อยู่ในตัวอย่าง

ธาตุส่วนมากจากธาตุทั้งหมดในตารางธาตุจะมีขีดจำกัดในการตรวจวัด โดยใช้เทคนิค ICP-OES ซึ่งมีค่าอยู่ในระดับต่ำ ดังนี้

- ระดับความเข้มข้น 0.1 ppb เช่น Cd, Fe, Mn, Be, Mg, Ca, Sr, Ba และ Sc
- ระดับความเข้มข้น 0.1 – 1 ppb เช่น Al, B, Li, Na, K, Ti, V, Cr, Co, Ni, Cu และ Zn เป็นต้น
- ระดับความเข้มข้น 1 –10 ppb เช่น Si, P, S, Se, Sn, และ Sb เป็นต้น

[illegible]

ภาพที่ 3.25 ขีดจำกัดในการตรวจวัดธาตุต่าง ๆ ด้วยเทคนิค ICP-OES

F-AA

F-AE

GF-AA

ICP-OES

Li

Be

0.3

1

0.001

100

0.01

0.003

0.02

0.003

F-AA

F-AE

GF-AA

ICP-OES

Na

Mg

0.2

0.1

0.01

1

0.004

0.0002

0.1

0.003

F-AA

F-AE

GF-AA

ICP-OES

K

Ca

Sc

Ti

V

Cr

Mn

Fe

Co

Ni

Cu

Zn

Ga

Ge

As

Se

Br

1

0.5

20

10

20

2

0.8

3

2

2

1

0.8

50

50

0.02

0.02

0.01

0.1

10

30

7

1

1

10

5

10

3

1000

5

400

2000

0.004

0.01

6

0.3

0.1

0.004

0.0005

0.01

0.008

0.05

0.005

0.0006

0.01

0.1

0.08

0.06

30

0.0001

4

0.03

0.06

0.08

0.01

0.09

0.1

0.2

0.04

0.1

0.6

0.5

2

1

F-AA

F-AE

GF-AA

ICP-OES

Rb

Sr

Y

Zr

Nb

Mo

Mn

Ru

Rh

Pd

Ag

Cd

In

Sn

Sb

Te

I

0.3

2

50

350

1000

10

70

2

10

0.9

0.5

20

10

0.1

0.002

0.02

0.1

40

1000

60

10

300

10

40

2

300

1

100

200

600

0.01

10

0.02

0.1

0.05

0.001

0.0002

0.02

0.03

0.08

0.03

3

0.002

0.04

0.06

0.2

0.2

30

30

2

0.2

0.07

0.4

3

10

15

10

F-AA

F-AE

GF-AA

ICP-OES

Cs

Ba

Hf

Ta

W

Re

Os

Ir

Pt

Au

Hg

Tl

Pb

Bi

8

8

2000

800

500

200

80

500

40

6

0.001

9

10

0.02

0.02

1

200

200

2000

400

2000

500

150

2

0.2

1000

0.04

0.04

10

2

0.5

0.2

0.01

0.2

0.01

0.007

0.1

0.01

10

5

0.8

6

0.4

30

0.9

0.9

1

40

1

10

F-AA

F-AE

GF-AA

ICP-OES

La

Ce

Pr

Nd

Sm

Eu

Gd

Tb

Dy

Ho

Er

Tm

Yb

Lu

2000

2000

600

500

20

1000

600

50

40

40

10

5

700

5

150

500

200

50

0.2

120

200

20

10

20

4

0.2

200

0.5

0.5

8

0.7

0.3

0.1

0.1

0.4

10

0.3

1

0.06

0.4

0.1

4

3

1

0.2

0.02

0.1

F-AA

F-AE

GF-AA

ICP-OES

Th

U

100

30

1.5

B

C

N

O

F

700

50

15

0.1

44

Al

Si

P

S

Cl

20

20

3

0.01

0.005

0.3

10

0.2

2

15

30

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

ICP-OES

GF-AA

IC

ภาพที่ 3.26 ขีดจำกัดในการตรวจวัดธาตุด้วยเทคนิคต่าง ๆ

ตารางที่ 3.6 เส้นเปล่งออก (emission line) ของธาตุต่าง ๆ

Element	λ/nm	Atom/Ion	Element	λ/nm	Atom/Ion	Element	λ/nm	Atom/Ion	Element	λ/nm	Atom/Ion
Al(1)	167.078	II	Cu(2)	219.958	I	Mg(2)	279.079	II	Sb(2)	206.833	I
Al(2)	176.641	I	Cu(3)	324.754	I	Mg(3)	279.553	II	Sb(3)	252.852	I
Al(3)	309.271	I	Dy ^d (1)	340.780	II	Mg(4)	285.213	I	Sb(4)	217.581	I
Al(4)	396.152	I	Dy ^d (2)	353.170	II	Mn(1)	257.610	II	Sc ^d (1)	298.895	I
B(1)	182.641	I	Dy ^d (3)	353.602	II	Mn(2)	259.373	II	Sc ^d (2)	335.373	I
B(2)	208.959	I	Dy ^d (4)	364.540	II	Mn(3)	403.076	I	Sc ^d (3)	356.770	II
B(3)	249.773	I	Dy ^d (5)	394.468	II	Na(1)	330.298	I	Sc ^d (4)	361.384	II
Ba(1)	233.527	II	Fe(1)	239.562	II	Na(2)	588.995	I	Si(1)	152.672	II
Ba(2)	455.404	II	Fe(2)	241.331	II	Na(3)	589.592	I	Si(2)	212.412	I
Be ^d (1)	234.861	I	Fe(3)	259.941	II	Ni(1)	174.828	II	Si(3)	288.158	I
Be ^d (2)	313.042	II	Fe(4)	261.187	II	Ni(2)	221.648	II	Sr(1)	407.771	II
Ca(1)	183.801	I	Fe(5)	373.486	I	Ni(3)	341.476	I	Sr(2)	460.733	I
Ca(2)	315.887	II	Gd ^d (1)	335.047	II	P(1)	138.147	I	Ti(1)	323.452	II
Ca(3)	396.847	II	Gd ^d (2)	335.862	II	P(2)	169.403	I	Ti(2)	334.941	II
Ca(4)	422.673	II	Gd ^d (3)	336.223	II	P(3)	177.495	I	V(1)	292.402	II
Cl(1)	134.724	I	Gd ^d (4)	342.247	II	P(4)	213.618	I	V(2)	292.464	II
Cl(2)	136.345	I	In ^d (1)	230.606	II	P(5)	213.618	I	V(3)	309.311	II
Cl(3)	139.653	I	In ^d (2)	303.936	I	Pb(1)	168.215	II	Y ^d (1)	224.306	II
Co(1)	228.616	II	In ^d (3)	451.131	I	Pb(2)	261.418	I	Y ^d (2)	371.030	II
Co(2)	230.786	II	K(1)	404.721	I	Pb(3)	283.305	I	Y ^d (3)	377.433	II
Co(3)	238.892	II	K(2)	766.491	I	Pb(4)	405.778	I	Y ^d (4)	442.259	II
Cr(1)	205.552	II	La ^d (1)	333.749	II	S(1)	142.503	I	Zn(1)	202.548	II
Cr(2)	267.716	II	La ^d (2)	379.478	II	S(2)	147.399	I	Zn(2)	206.191	II
Cr(3)	284.984	II	La ^d (3)	408.672	II	S(3)	180.731	I	Zn(3)	334.502	I
Cu(1)	219.226	II	Mg(1)	202.582	I	Sb(1)	187.115	I			

^a Internal standard; I Atom emission line; II Ion emission line.

3.2.4 ปฏิบัติการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP-OES

- 1) ปฏิบัติการส่วนประกอบเครื่อง ICP-OES
- 2) ปฏิบัติการวิเคราะห์ธาตุด้วยเทคนิค ICP-OES (ดัดมือปฏิบัติการ)

สรุปท้ายบทเรียน

การวิเคราะห์ธาตุด้วย ICP-OES อาศัยหลักการเปล่งออก (คายแสง) ออกมาจากอะตอมธาตุหรือไอออนที่ถูกกระตุ้นด้วยพลาสมา พลาสมาจากอาร์กอนมีพลังงานประมาณ 15.8 eV เมื่ออะตอมอิสระเข้าสู่พลาสมา พลังงานจากพลาสมากระตุ้นเวเลนซ์อิเล็กตรอนให้อยู่ในสถานะกระตุ้นหรือหลุดออกจากอะตอม อิเล็กตรอนที่ถูกกระตุ้นจะคายพลังงานออกมาในรูปโฟตอนที่มีความยาวคลื่นจำเพาะ อิเล็กตรอนที่อยู่ในภาวะกระตุ้นแผ่พลังงานออกมาและลงมาสู่ชั้นพลังงานที่ต่ำกว่า ถ้าการเปลี่ยนแปลงระดับชั้นพลังงานมีย่านพลังงานที่กว้าง พลังงานที่แผ่ออกมาก็จะสูงและความยาวคลื่นแสงที่เปล่งออกมาจะมีความยาวคลื่นสั้น ความยาวคลื่นแสงที่เปล่งออกมาจะอยู่ในย่าน UV-vis ความยาวของคลื่นแสงที่เปล่งออกมาสัมพันธ์กับระดับชั้นพลังงานและการจัดตัวของอิเล็กตรอนในอะตอมของธาตุซึ่งเป็นลักษณะจำเพาะของอะตอมธาตุแต่ละชนิด นอกจากนี้ความเข้มของแสงที่เปล่งออกมา ยังสัมพันธ์กับปริมาณของอะตอมของธาตุในสารตัวอย่าง เทคนิค ICP-OES จึงมีประโยชน์ในการวิเคราะห์ธาตุทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ

วิธีการสอนและกิจกรรม

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ใบกิจกรรม

สื่อการสอนและอุปกรณ์การสอน

1. หนังสือ/ตำรา
2. เอกสารประกอบการสอน
3. <https://www.drawellanalytical.com/what-are-plasma-source-technologies-in-icp-aes/>

งานที่มอบหมาย

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ใบกิจกรรม

การวัดผล

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ใบกิจกรรม

แบบฝึกหัด

1. ทำกิจกรรม
2. ใบกิจกรรม

บรรณานุกรม

1. แม้น อมรสิทธิ์, และอมร เพชรสม. (2550). *หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ*. สำนักพิมพ์ชวนชม.
2. Averill, B. A. (2012). *Principles of General Chemistry*.
<https://2012books.lardbucket.org/books/principles-of-general-chemistry-v1.0m/index.html>
3. Christian, G. D., Dasgupta, P. K., & Schug, K. A. (2014). *Analytical Chemistry* (7th ed.). John Wiley & Sons.
4. Harris, D. C. (2010). *Quantitative Chemical Analysis* (8th ed.). W.H. Freeman and Company.
5. Harvey, D. (2019). *Analytical Chemistry 2.1*. <https://chem.libretexts.org/>
6. Robinson, J. W., Frame, E. M. S., & Frame G. M. (2021). *Instrumental Analytical Chemistry*. CRC Press
7. Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2022). *Fundamentals of Analytical Chemistry* (10th ed.). Brooks/Cole Publishing
8. Skoog, D. A., Holler, F.J., & Crouch, S. R. (2018). *Principles of Instrumental Analysis* (7th ed.). David Harris.

หน่วยที่ 3

วิธีสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนและเปล่งออก

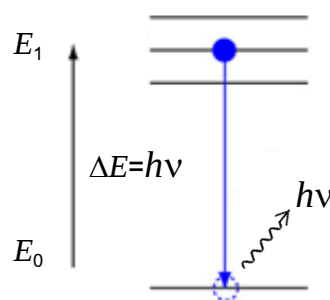
บทเรียน 3.3 สเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออกระดับโมเลกุล

จุดประสงค์การสอน

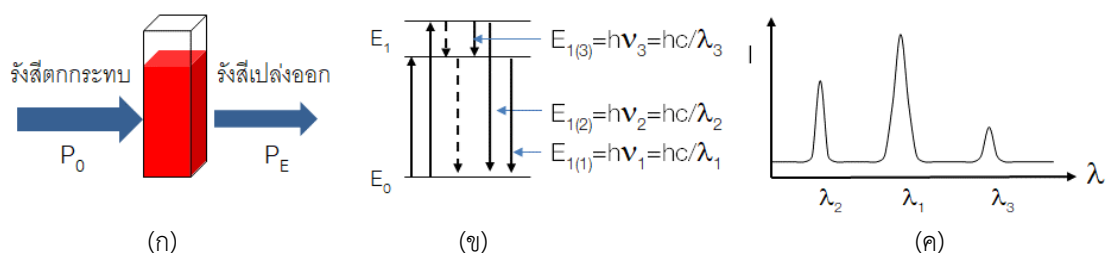
1. อธิบายการเปล่งออกระดับโมเลกุล
2. อธิบายสเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออก
3. บอกส่วนประกอบของเครื่องฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรโฟโตมิเตอร์
4. ปฏิบัติการวัดการวาวแสงด้วยเครื่องฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรโฟโตมิเตอร์

3.3.1 การเปล่งออกระดับโมเลกุล

เทคนิคสเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออก (emission spectroscopy) เป็นการวัดพลังงานที่คายออกมา เมื่ออะตอมหรือโมเลกุลเกิดการทรานซิชันจากสถานะกระตุ้นไปสู่สถานะพื้น ดังภาพที่ 3.27 กระบวนการที่เกิดขึ้นในเทคนิคสเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออก เมื่ออะตอมหรือโมเลกุลของสารที่สนใจจะถูกกระตุ้นด้วยความร้อนหรือพลังงานไฟฟ้าหรือปฏิกิริยาเคมี การเปล่งออกจะเกิดขึ้นได้เมื่อพลังงานโฟตอน ($h\nu$) เท่ากับความแตกต่างของพลังงานระหว่างสถานะพื้นกับสถานะกระตุ้น



ภาพที่ 3.27 แผนภาพพลังงานของการเปล่งโฟตอนของอะตอมหรือโมเลกุล



ภาพที่ 3.28 สเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออก. ดัดแปลงจาก *Principles of Instrumental Analysis* (p.133) by D.A. Skoog, F.J. Holler, & S.R. Crouch, 2016, Brooks/Cole Publishing.

ตารางที่ 3.7 เทคนิคการวิเคราะห์ของสเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออก

พลังงานกระตุ้น	ชื่อเรียก	เทคนิควิเคราะห์	หมายเหตุ
แสง (โฟตอน)	การเปล่งแสงด้วยแสง (photoluminescence)	การวาวแสง (fluorescence)	การวาวแสงและการ เรืองแสงแตกต่างกัน
		การเรืองแสง (phosphorescence)	ที่กระบวนการกลับมา สู่สถานะพื้นใหม่
ปฏิกิริยาเคมี	การเปล่งแสงทางเคมี (chemiluminescence)	การเปล่งแสงทางเคมี (chemiluminescence)	
ความร้อนหรือไฟฟ้า	การเปล่งออก (emission)	อินดักทีฟคัพเพิลพลาสมา ออปติคอลลิมิชั่น (ICP-OES)	

การเปล่งแสง (luminescence) หมายถึง การที่วัตถุหรือสิ่งมีชีวิตใด ๆ สามารถปลดปล่อยโฟตอน (แสง) ออกมา อันเนื่องมาจากการได้รับการกระตุ้นด้วยปัจจัยกระตุ้นแบบต่าง ๆ ซึ่งในธรรมชาติไม่เฉพาะแร่ธาตุหรือวัตถุต่าง ๆ เท่านั้นที่สามารถแสดงพฤติกรรมของการเปล่งแสงได้ สิ่งมีชีวิตหลายชนิดก็สามารถเปล่งแสงได้เช่นกัน เช่น หิ่งห้อย ปลาบางชนิด และพืช เป็นต้น การเปล่งแสงเกิดเมื่อวัตถุได้รับพลังงานอย่างอื่นที่ไม่ใช่พลังงานความร้อนเข้ามา แล้วเกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงภายในวัตถุกลายเป็นพลังงานแสงสว่างที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

โดยกระบวนการเกิดการเปล่งแสงเกิดหลังจากที่วัตถุได้รับการกระตุ้นจากแหล่งพลังงานที่เหมาะสม เช่น แสงอัลตราไวโอเลต รังสีเอกซ์ ลำอิเล็กตรอน ปฏิกิริยาเคมี เป็นต้น ทำให้อิเล็กตรอนที่อยู่ภายในออร์บิทัลของอะตอมภายในวัตถุเกิดการเคลื่อนที่จากสถานะพื้น (ground state) ไปสู่สถานะกระตุ้น (excited state) ซึ่งอิเล็กตรอนจะอยู่สถานะที่ไม่มีเสถียร ดังนั้นอิเล็กตรอน จะทำการลดพลังงานกระตุ้นเพื่อกลับเข้าสู่สถานะพื้น โดยปลดปล่อยพลังงานออกมาในรูปของแสงหรือความร้อน หรือทั้งสองอย่างร่วมกัน หรือที่เรียกว่าโฟโตลูมิเนสเซนซ์ (photoluminescence) การกระตุ้นที่เกิดขึ้นจะเกี่ยวข้องโดยตรงกับกับอิเล็กตรอนนอกสุดที่อยู่ในออร์บิทัลรอบนิวเคลียสของอะตอม ดังนั้น ประสิทธิภาพการเปล่งแสงจะขึ้นอยู่กับระดับการเปลี่ยนแปลงของพลังงานของอิเล็กตรอนในสถานะกระตุ้นเพื่อกลับเข้าสู่สถานะพื้นของแต่ละธาตุ

การเปล่งแสงจำแนกได้หลายชนิด ขึ้นอยู่กับแหล่งพลังงานที่ทำให้โมเลกุลเกิดการเคลื่อนที่ไปอยู่ที่สถานะกระตุ้น ถ้าโมเลกุลของสารนั้นเกิดการเปล่งแสงออกมาโดยอาศัยพลังงานจากปฏิกิริยาเคมี จะเรียกว่าการเปล่งแสงทางเคมี (chemiluminescence) ถ้าโมเลกุลอาศัยพลังงานจากกระบวนการทางชีววิทยาจะเรียกว่า การเปล่งแสงทางชีววิทยา (bioluminescence) เมื่อโมเลกุลอาศัยพลังงานจากอนุภาคที่มีพลังงานสูงไปเป็นโมเลกุลที่สถานะกระตุ้นจะถูกเรียกว่า การเปล่งแสงด้วยรังสี (radioluminescence) และถ้าโมเลกุลอาศัยพลังงานความร้อนจะเรียกว่า การเปล่งแสงด้วยความร้อน (thermoluminescence) นอกจากนี้โฟโตลูมิเนสเซนซ์ ยังสามารถที่จะจำแนกปรากฏการณ์การวาวแสง (fluorescence) และการเรืองแสง (phosphorescence) ปรากฏการณ์ทั้งสองนี้มีข้อแตกต่างกันที่กระบวนการกลับเข้าสู่สถานะพื้นใหม่ (deexcitation state) โดยมีผลของโฟตอนเข้าไปเกี่ยวข้อง

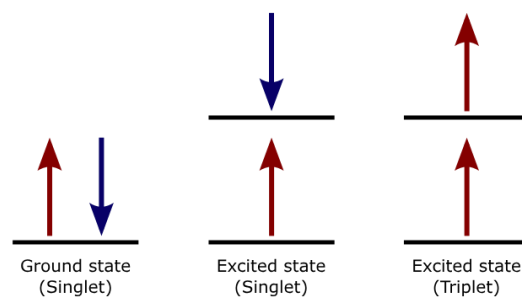
กระบวนการกระตุ้น (excitation) เมื่อโมเลกุลที่ได้รับรังสีดูดกลืนจากการแผ่รังสีแม่เหล็กไฟฟ้า โมเลกุลนั้นจะถูกกระตุ้นและเกิดการสั่นภายในโมเลกุลจากระดับชั้นพลังงานสถานะพื้น (ground state) ไปสู่ระดับชั้นพลังงานที่สูงขึ้น (excited state) เมื่อโมเลกุลเคลื่อนที่ไปอยู่ในระดับชั้นพลังงานนี้ จะเกิดการดูดกลืนพลังงานขึ้น ทำให้เกิดความไม่เสถียร จากนั้นพลังงานก็จะถูกปลดปล่อยออกมาและตกลงมาในระดับชั้นที่มีระดับพลังงานต่ำกว่า พลังงานที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากระดับชั้นพลังงานกระตุ้นชั้นที่หนึ่งเข้าสู่ระดับพลังงานสถานะพื้น ณ บริเวณนี้ จะเกิดการคายโฟตอน ส่งผลให้เกิดสเปกตรัมในรูปแบบฟลูออเรสเซนซ์

ถ้ากำหนดให้ค่ามัลติพลิตี (multiplicity) ของโมเลกุลเป็น M ซึ่งแสดงถึงค่าโมเมนตัมออร์บิทัลเชิงมุม (orbital angular momentum) ของแต่ละสถานะและมีความเกี่ยวข้องกับค่าสปิน (spin) ดังสมการ

$$M = 2S + 1$$

โดยที่ s = เลขควอนตัมสปิน (spin quantum number) ของโมเลกุล จะมีจำนวนอิเล็กตรอนเป็นเลขคู่ ดังนั้นระดับชั้นพลังงานต่ำสุด (หรือเรียกว่าสถานะพื้น) อิเล็กตรอนแต่ละตัวจะมีการหมุนรอบตัวเองมี 2 ค่า คือ $S = (+1/2 -1/2) = 0$

เมื่อแทน $S=0$ ลงในสมการ จะได้ $M = 2(0)+1 = 1$ เรียกว่า สถานะซิงเกิลต (singlet state) และให้สถานะพื้นซิงเกิลต (ground singlet state) เป็น S_0 ถ้าเป็น S_1 และ S_2 จะหมายถึง ซิงเกิลตกระตุ้นที่หนึ่ง (first excited singlet state) และซิงเกิลตกระตุ้นที่สอง (second excited singlet state) ตามลำดับ

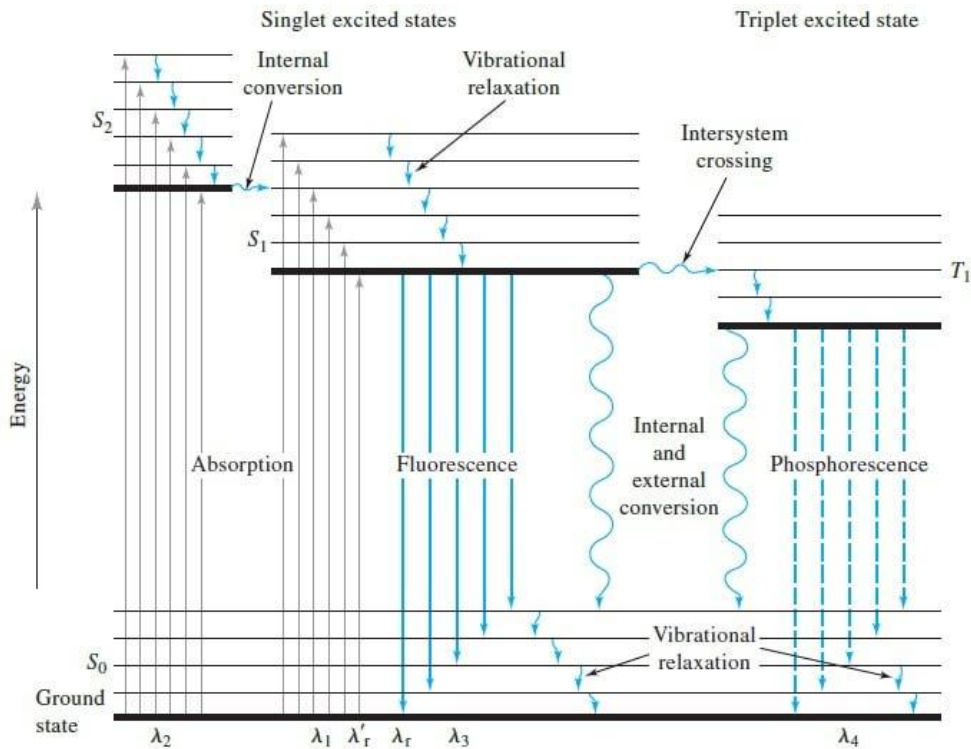


ภาพที่ 3.29 การเปลี่ยนระดับพลังงานของอิเล็กตรอนที่สถานะพื้นซิงเกิลต สถานะกระตุ้นซิงเกิลต และสถานะกระตุ้นทริปเปต

จากภาพที่ 3.29 สปินของอิเล็กตรอนทั้งสองจะตรงข้ามกันตามหลักกีดกันของเพาลี (Pauli exclusion principle) หรือ สปินคู่ (spin pairing) ถูกเรียกว่า อิเล็กตรอนอยู่ในสถานะพื้นซิงเกิลต เมื่ออิเล็กตรอนถูกกระตุ้นเข้าสู่ระดับพลังงานที่สูงขึ้น สปินของอิเล็กตรอนที่อยู่ในสถานะกระตุ้นตรงกันข้ามกับอิเล็กตรอนที่อยู่ในสถานะพื้นซิงเกิลต จะถูกเรียกว่า สถานะกระตุ้นซิงเกิลต (excited singlet state) แต่ถ้าสปินของอิเล็กตรอนที่อยู่ในสถานะกระตุ้นเหมือนกับอิเล็กตรอนที่อยู่ในสถานะพื้นจะเรียกว่า อิเล็กตรอนอยู่ในสถานะกระตุ้นทริปเปต (excited triplet state) พิจารณาได้จากโมเลกุลอยู่ในสถานะกระตุ้น อิเล็กตรอนตัวหนึ่งมีโอกาสที่เปลี่ยนสปินกลับทิศทาง ดังนั้น $S = +1/2 + 1/2 = 1$ เมื่อแทนค่า $S = 1$ ลงในสมการ จะได้ $M = 2(1)+1=3$ เรียกว่า สถานะทริปเปต (triplet state) ดังภาพที่ 3.29

สถานะทริปเปตที่มีพลังงานต่ำที่สุดให้เป็น T_1 ดังนั้น โมเลกุลใดที่มีจำนวนอิเล็กตรอนเป็นเลขคู่ จึงไม่สามารถมีสถานะพื้นทริปเปต (ground triplet state) เพราะอิเล็กตรอนมีพลังงานต่ำที่สุดมีสปินคู่ ดังนั้นโมเลกุลที่มีจำนวนอิเล็กตรอนเป็นเลขคี่ จึงมีสถานะเป็น doublet state เช่น พวก free radicals เป็นต้น

สถานะกระตุ้นทริปเปตจะมีพลังงานน้อยกว่าสถานะกระตุ้นซิงเกเลต กระบวนการเกิดสถานะกระตุ้นเนื่องมาจากผลของการดูดกลืนพลังงานและกระบวนการแผ่รังสีสามารถแสดงได้ง่าย ๆ โดยใช้แผนภาพแสดงระดับพลังงาน Jablonski ดังภาพที่ 3.30



ภาพที่ 3.30 ระดับพลังงาน Jablonski เกี่ยวกับการดูดกลืนและการแผ่รังสี

ภาพที่ 3.30 แสดงระดับพลังงานให้เห็นเฉพาะระดับพลังงานของอิเล็กตรอน และระดับพลังงานของการสั่นเท่านั้น แต่ระดับพลังงานในการหมุนจะไม่มี เพราะไม่สามารถที่จะวัดหรือแยกออกได้ด้วยเครื่องสเปกโตรมิเตอร์ธรรมดา กระบวนการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ภายในโมเลกุล เมื่อโมเลกุลของอิเล็กตรอนถูกกระตุ้นไปสู่สถานะกระตุ้น S_2 ณ บริเวณนี้อิเล็กตรอนจะคายพลังงาน และกลับลงสู่สถานะพื้น แต่การที่โมเลกุลจะกลับลงมาสู่สถานะพื้นจะมีกระบวนการหลายขั้นตอน กระบวนการเกิดฟลูออเรสเซนซ์จะใช้เวลานานกว่าการคายพลังงานของอิเล็กตรอน ซึ่งกระบวนการคายพลังงานจะเกิดขึ้นเร็วมากประมาณ 10^{-14} - 10^{-15} วินาที เมื่อผ่านขั้นตอนการคายพลังงานอิเล็กตรอนจะเข้าไปอยู่ที่ระดับพลังงานการสั่น (vibrational level) เนื่องจากในสารละลายจะมีการชนกันระหว่างโมเลกุลของสารกับตัวทำละลายตลอดเวลา ทำให้เกิดการถ่ายเทพลังงานบางส่วนเข้าไปในตัวทำละลาย ดังนั้น อิเล็กตรอนที่อยู่ระดับพลังงาน S_2 จะลดระดับพลังงานการสั่นที่ต่ำที่สุด เราเรียกกระบวนการนี้ว่า vibrational relaxation ใช้เวลาการเกิดน้อยกว่า 10^{-12} วินาที ในช่วงของการเกิดการสั่นจะมีอีกกระบวนการหนึ่งที่เกิดขึ้นพร้อมกัน คือ internal conversion เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นระหว่างโมเลกุล เกิดจากการที่อิเล็กตรอนพยายามที่จะลดระดับพลังงานให้ลงมาอยู่ในระดับพลังงานที่มีการสั่นต่ำที่สุด เกิดขึ้นเมื่อสถานะกระตุ้น 2 สถานะ มีระดับใกล้เคียงกันจนทำให้ระดับพลังงานการสั่นของทั้งสองเกิดการเหลื่อมล้ำกัน มีการเปลี่ยนสถานะของอิเล็กตรอนจากสถานะกระตุ้นหนึ่งไปยังอีกสถานะกระตุ้นหนึ่งจนกระทั่งระดับพลังงานการกระตุ้นก็จะลดลงไปสู่ S_0 โดยมีการคายโฟตอน เรียกว่า การร้าวแสง (fluorescence) ซึ่งจะเกิดขึ้นได้รวดเร็วมากประมาณ 10^{-9} - 10^{-7} วินาที หลังจากมีการสูญเสียพลังงานบางส่วน

อิเล็กตรอนจะกลับสู่สถานะพื้นพร้อมกับเปล่งแสงที่มีความยาว คลื่นยาวกว่าออกมา แต่จากการเปลี่ยนสถานะทริปเปตมาถึงสถานะพื้นใช้เวลานานมากกว่า 10^{-9} วินาที จะเรียกกระบวนการนี้ว่า การเรืองแสง (phosphorescence)

กระบวนการลดระดับพลังงานของโมเลกุล (deexcitation process) เมื่อโมเลกุลถูกกระตุ้นให้อยู่ในสถานะกระตุ้น เช่น S_2 การกลับคืนสู่สถานะพื้น (S_0) สามารถเกิดขึ้นผ่านหลายกระบวนการที่แตกต่างกัน ดังนี้

1. การลดพลังงานผ่าน Vibrational Relaxation (VR) และ Internal Conversion (IC)

- ในสารละลาย โมเลกุลสามารถลดพลังงานของการสั่น (Vibrational Energy) ได้โดยการชนกับโมเลกุลของตัวทำละลาย ทำให้พลังงานส่วนเกินถูกปล่อยออกมาในรูปของความร้อน กระบวนการนี้เรียกว่า vibrational relaxation (VR)

- โมเลกุลที่อยู่ในสถานะ S_2 อาจลดระดับพลังงานของการสั่น (vibrational energy) ลงมาสู่สถานะ S_1 โดยไม่มีการปล่อยรังสีออกมา ซึ่งเรียกว่า internal conversion (IC)

- กระบวนการ VR และ IC เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วมาก (ประมาณ 10^{-12} วินาที)

2. การเกิดฟลูออเรสเซนซ์

- เมื่อโมเลกุลลดพลังงานจาก S_1 สู่ S_0 โดยการปล่อยโฟตอนออกมา เราเรียกกระบวนการนี้ว่า ฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence) หรือการวาวแสง

- การเปล่งแสงฟลูออเรสเซนซ์เกิดขึ้นรวดเร็วมาก (ประมาณ 10^{-9} – 10^{-7} วินาที)

- พลังงานที่โมเลกุลดูดกลืนและปล่อยออกมาอาจแตกต่างกันเล็กน้อยเนื่องจากอิทธิพลของตัวทำละลาย (solvent effect)

3. การเปลี่ยนแปลงไปสู่สถานะ triplet state (intersystem crossing, ISC)

- ในขณะที่โมเลกุลอยู่ในสถานะ S_1 อาจเกิดการเปลี่ยนแปลงของอิเล็กตรอนที่ทำให้ Spin กลับทิศทาง ส่งผลให้โมเลกุลเปลี่ยนจาก singlet state ไปเป็น triplet state (T_1)

- กระบวนการนี้เรียกว่า Intersystem Crossing (ISC) และเป็นกระบวนการที่ไม่ปล่อยรังสีออกมา (Non-Radiative Transfer)

- เนื่องจาก T_1 มีพลังงานต่ำกว่า S_1 โมเลกุลจะเกิดการผ่อนคลายพลังงานผ่าน VR เพื่อลดพลังงานให้อยู่ที่ระดับ T_1

4. การเกิดฟอสฟอเรสเซนซ์ (phosphorescence)

- การลดพลังงานจาก T_1 ไปยัง S_0 โดยการปล่อยโฟตอนออกมา เรียกว่า ฟอสฟอเรสเซนซ์ (phosphorescence) หรือการเรืองแสง

- กระบวนการนี้ใช้เวลานานกว่าฟลูออเรสเซนซ์มาก (ประมาณ 10^{-3} ถึง 10 วินาที)

- การเรืองแสงของฟอสฟอเรสเซนซ์สามารถสังเกตเห็นได้แม้หลังจากที่หยุดให้พลังงานกระตุ้น

3.3.2 สเปกโทรสโกปีเปล่งออก

เมื่ออะตอมหรือโมเลกุลอยู่ในสถานะกระตุ้น (excited state) และกลับคืนสู่สถานะพลังงานต่ำกว่า พลังงานส่วนเกินจะถูกปล่อยออกมาในรูปแบบของโฟตอน (photon) หรือแสง ซึ่งกระบวนการนี้เรียกว่า การเปล่งออก (emission) และเป็นพื้นฐานของเทคนิคสเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออก (emission spectroscopy) ซึ่งแบ่งประเภทการเปล่งออก ดังนี้

1. โฟโตลูมิเนสเซนซ์ (photoluminescence) เกิดจากการที่โมเลกุลดูดกลืนรังสีแล้วเปล่งแสงออกมา ดังนี้
 - การวาวแสง หรือ ฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence)
 - การเรืองแสง หรือ ฟอสฟอเรสเซนซ์ (phosphorescence)
2. เคมีลูมิเนสเซนซ์ (chemiluminescence) เกิดจากปฏิกิริยาเคมีที่ปล่อยพลังงานออกมาในรูปของแสง

ตารางที่ 3.8 ประเภทเทคนิคสเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออก

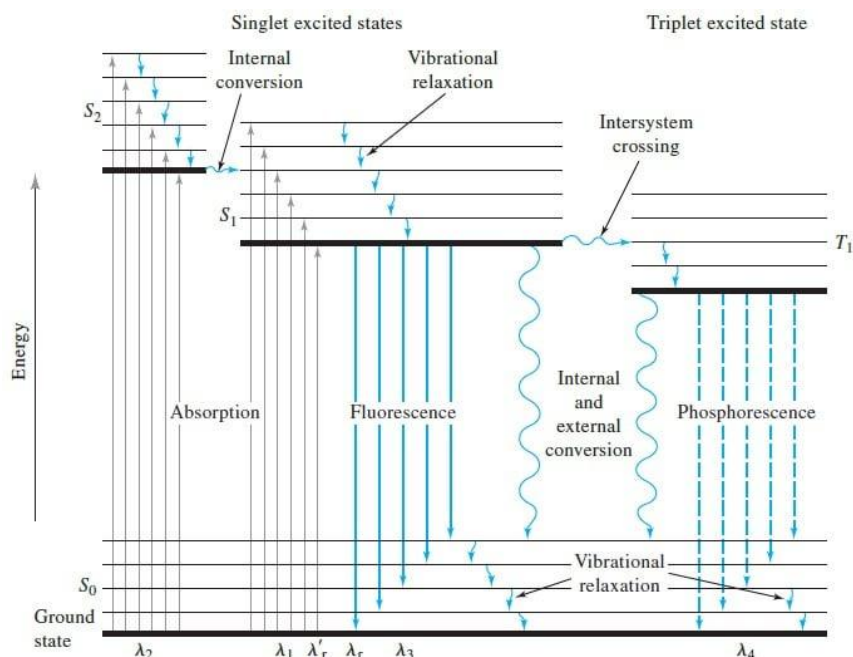
ประเภทการเปล่งออก	ย่านรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า	เทคนิคการวิเคราะห์	การประยุกต์
การเปล่งออกระดับอะตอม การเปล่งออกโดยการกระตุ้นด้วยความร้อนหรือไฟฟ้า (thermal and electrical excitation Emission)	UV/Vis	• Atomic Emission Spectroscopy • Inductively Coupled Plasma (ICP) • Arc-Spark Emission Spectrometry	วิเคราะห์เชิงปริมาณของโลหะในตัวอย่าง
	X-ray	X-ray Fluorescence	วิเคราะห์เชิงปริมาณและเชิงคุณภาพของธาตุที่หนักกว่าธาตุไนโตรเจน
	X-ray	Atomic Fluorescence Spectroscopy	วิเคราะห์เชิงปริมาณของโลหะหนัก
การเปล่งออกระดับโมเลกุล โฟโตลูมิเนสเซนซ์ (Photoluminescence)	UV/Vis	Fluorescence Spectroscopy, Phosphorescence Spectroscopy	วิเคราะห์เชิงปริมาณและเชิงคุณภาพของสารประกอบ
	UV/Vis	Chemiluminescence Spectroscopy	วิเคราะห์เชิงปริมาณและเชิงคุณภาพของธาตุและสารประกอบ

1) การวาวแสง

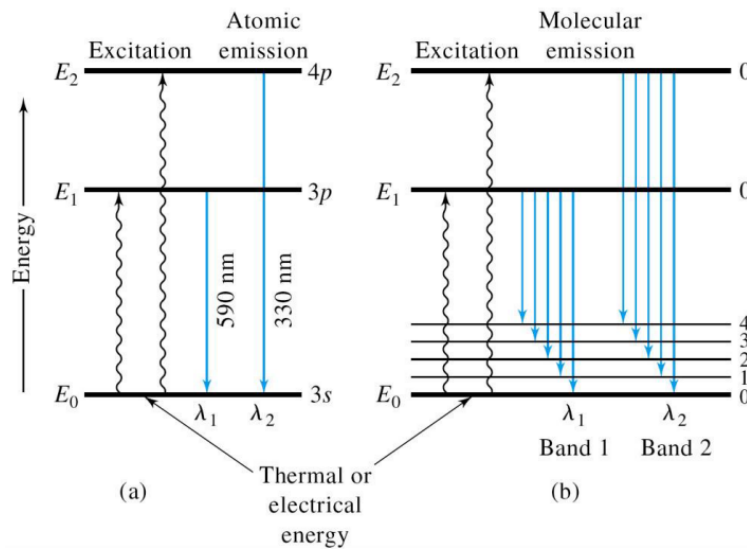
การวาวแสง หรือฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence) เป็นกระบวนการที่อะตอมหรือโมเลกุลดูดกลืนพลังงานจากโฟตอนแล้วเปล่งแสงออกมาเมื่อกลับสู่ระดับพลังงานที่ต่ำกว่า กล่าวคือเมื่อวัตถุได้รับพลังงานกระตุ้นที่ไม่ใช่พลังงานความร้อน เช่น แสง UV โมเลกุลของวัตถุดูดกลืนโฟตอนที่มีพลังงานสูง แล้วเกิดการกระตุ้นให้อิเล็กตรอนเคลื่อนไปยังระดับพลังงานที่สูงขึ้น จากนั้นอิเล็กตรอนจะกลับสู่สถานะพื้น (ground state) พร้อมปลดปล่อยโฟตอนพลังงานต่ำกว่าที่เราสามารถเห็นได้ เช่น แสงสีเขียวหรือเหลือง กระบวนการนี้เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วภายในช่วงเวลาประมาณ 10^{-9} ถึง 10^{-6} วินาที และจะหยุดลงทันทีเมื่อยุติการให้พลังงานจากแหล่งกำเนิด

กระบวนการวาวแสงระดับโมเลกุล (molecular fluorescence) เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงสถานะของอิเล็กตรอนภายในโมเลกุล โดยสามารถอธิบายได้ผ่าน ไดอะแกรม Jablonski ซึ่งแสดงการเปลี่ยนแปลงระหว่างสถานะพลังงานต่าง ๆ ดังนี้

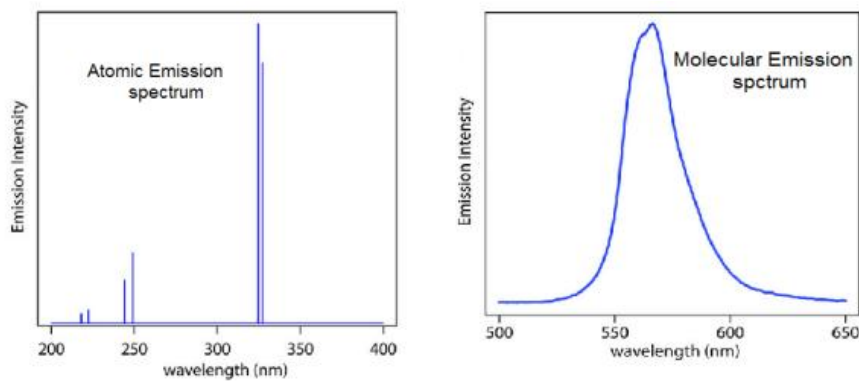
1. Excitation (การกระตุ้น) โมเลกุลอยู่ในสถานะพื้น (S_0) ดูดกลืนโฟตอนจากแสงที่มีพลังงานสูง (เช่น UV) ทำให้อิเล็กตรอนกระโดดขึ้นไปยังสถานะกระตุ้น (S_1 หรือ S_2)
2. Internal Conversion (การเปลี่ยนสถานะภายใน) โมเลกุลในสถานะกระตุ้นระดับสูง (เช่น S_2) จะปล่อยพลังงานบางส่วนในรูปของความร้อน และลดลงมาอยู่ที่สถานะกระตุ้นระดับล่าง (เช่น S_1) โดยไม่เปล่งแสง
3. Fluorescence (การวาวแสง) เมื่ออิเล็กตรอนในสถานะ S_1 กลับมาสู่สถานะพื้น S_0 จะมีการปล่อยพลังงานออกมาในรูปของแสงที่มีความยาวคลื่นยาวขึ้น (พลังงานต่ำกว่า)
4. Stokes Shift ความต่างระหว่างความยาวคลื่นของแสงที่ดูดกลืน (excitation) และแสงที่ปล่อยออกมา (emission) เรียกว่า Stokes shift ซึ่งเกิดจากการสูญเสียพลังงานระหว่างการเปลี่ยนผ่านของสถานะ



ภาพที่ 3.31 แผนภาพแสดงระดับพลังงาน Jablonski เกี่ยวกับการวาวแสงและการเรืองแสง



ภาพที่ 3.32 แผนภาพพลังงานระหว่างการเปล่งออก (ก) ระดับอะตอม และ (ข) ระดับโมเลกุล



ภาพที่ 3.33 สเปกตรัม (ก) การเปล่งออกระดับอะตอม และ (ข) การเปล่งออกระดับโมเลกุล

2) การเรืองแสง

การเรืองแสง หรือฟอสฟอเรสเซนซ์ (phosphorescence) คือปรากฏการณ์ที่วัตถุเปล่งแสงออกมาหลังจากที่ได้รับพลังงานกระตุ้นในช่วงเวลาหนึ่ง โดยการเปล่งแสงนี้สามารถดำรงอยู่ต่อไปได้แม้แหล่งกำเนิดพลังงานจะหยุดลงแล้ว ต่างจากการวาวแสง (fluorescence) ซึ่งการเปล่งแสงจะหยุดลงทันทีเมื่อสิ้นสุดการกระตุ้น

กระบวนการแสดงได้จากภาพที่ 3.32 โมเลกุลของวัตถุจะดูดกลืนพลังงานจากแสงที่มีพลังงานสูง (เช่น แสง UV) แล้วเกิดการกระตุ้นให้อิเล็กตรอนเคลื่อนที่จากสถานะพื้น (S_0) ไปยังสถานะกระตุ้นที่สูงขึ้น (S_1 หรือ S_2) ซึ่งคล้ายคลึงกับฟลูออเรสเซนซ์ แต่หลังจากนั้นจะมีการเปลี่ยนสถานะระหว่างสปิน (intersystem crossing) ไปยังสถานะกระตุ้นแบบทริปเลต (triplet excited state, T_1) ซึ่งเป็นสถานะที่มีพลังงานต่ำกว่า และมีช่วงชีวิตยาวกว่า

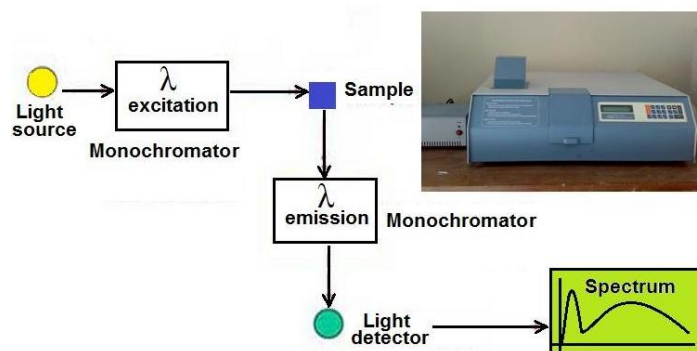
เนื่องจากการเปลี่ยนผ่านจากสถานะทริปเลตกลับสู่สถานะพื้นเป็นการเปลี่ยนแปลงสปิน (spin-forbidden transition) ทำให้เกิดได้ยากและใช้เวลานาน อิเล็กตรอนจึงค่อย ๆ กลับสู่สถานะพื้นพร้อมการปล่อยพลังงานในรูปของแสงออกมาช้า ๆ หรือเรื่อย ๆ เป็นเวลานานตั้งแต่วินาที จนถึงนาที่ หรือหลายชั่วโมง

สรุปกลไกระดับโมเลกุลของการเรืองแสง ดังนี้

1. Excitation โมเลกุลดูดกลืนโฟตอนจากแสงพลังงานสูง ทำให้อิเล็กตรอนเคลื่อนจากสถานะพื้น S_0 ไปยังสถานะกระตุ้น S_1 หรือ S_2
2. Intersystem Crossing (ISC) อิเล็กตรอนเปลี่ยนสปินจากสถานะ singlet (S_1) ไปยังสถานะ triplet (T_1) ซึ่งใช้เวลานานกว่า
3. Phosphorescence Emission อิเล็กตรอนในสถานะ T_1 ค่อย ๆ กลับสู่สถานะพื้น S_0 พร้อมเปล่งแสงที่มีความยาวคลื่นยาวกว่าออกมา (พลังงานต่ำกว่า)

3.3.3 ส่วนประกอบของเครื่องฟลูออเรสเซนซ์ สเปกโทรโฟโตมิเตอร์

เครื่องฟลูออเรสเซนซ์ สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (fluorescence spectrophotometer) เป็นเครื่องมือสำคัญในงานวิเคราะห์ทางเคมีและชีววิทยา โดยใช้หลักการของการเปล่งแสงฟลูออเรสเซนซ์จากสารตัวอย่างเมื่อได้รับการกระตุ้นด้วยแสงที่เหมาะสม เครื่องนี้ประกอบด้วยองค์ประกอบหลักหลายส่วน ดังภาพที่ 3.34



ภาพที่ 3.34 แผนภาพส่วนประกอบของเครื่องฟลูออเรสเซนซ์ สเปกโทรโฟโตมิเตอร์

1. แหล่งกำเนิดแสง (light source)

เครื่องมือจะใช้หลอดกำเนิดแสงที่สามารถปล่อยรังสีในย่าน UV แสงที่ตามองเห็น (visible) และบางครั้งรวมถึงย่านใกล้อินฟราเรด (near-IR) โดยแสงนี้จะทำหน้าที่เป็นแสงกระตุ้น (excitation beam) แหล่งกำเนิดแสงที่นิยม เช่น หลอดซีนอน (xenon lamp) หรือหลอดดีวเทอเรียม (deuterium lamp) สำหรับย่าน UV

2. โมโนโครโมมิเตอร์สำหรับเลือกความยาวคลื่นกระตุ้น (excitation monochromator)

แสงจากแหล่งกำเนิดจะผ่านโมโนโครโมมิเตอร์ตัวแรกซึ่งทำหน้าที่เลือกความยาวคลื่นเฉพาะที่ต้องการใช้ในการกระตุ้นตัวอย่าง เพื่อเพิ่มความจำเพาะเจาะจงในการวัด

3. ห้องใส่ตัวอย่าง (sample compartment)

ตัวอย่างจะถูกใส่ในคิวเวตต์ (cuvette) ซึ่งมักทำจากควอตซ์ (quartz) เนื่องจากสามารถส่งผ่านรังสี UV ได้ดี เมื่อแสงกระตุ้นตกกระทบบกับตัวอย่างในคิวเวตต์ โมเลกุลจะดูดกลืนพลังงานและเข้าสู่สถานะกระตุ้น

4. โมโนโครโมมิเตอร์สำหรับแสงที่ปล่อยออกมา (emission monochromator)

เมื่อโมเลกุลในตัวอย่างอยู่ในสถานะกระตุ้น อิเล็กตรอนจะค่อย ๆ คืบกลับสู่สถานะพื้นพร้อมปลดปล่อยพลังงานในรูปของแสงเรืองที่มีความยาวคลื่นยาวกว่าความยาวคลื่นที่ใช้กระตุ้น ความแตกต่างของความยาวคลื่นระหว่างแสงกระตุ้นและแสงเรืองเรียกว่า Stokes Shift ซึ่งคือการเรืองแสงของตัวอย่าง (fluorescence emission) แสงเรืองฟลูออเรสเซนซ์ที่ปล่อยออกมาจะถูกส่งเข้าสู่โมโนโครมิเตอร์ตัวที่สองซึ่งอยู่ในแนวฉาก (90°) กับลำแสงกระตุ้น เพื่อหลีกเลี่ยงสัญญาณรบกวนจากแสงกระตุ้น และเพื่อเลือกความยาวคลื่นเฉพาะที่ต้องการวัด

5. ตัวตรวจวัด (detector)

แสงที่ถูกเลือกแล้วจะส่งเข้าสู่ตัวตรวจวัด ซึ่งมักเป็นหลอดโฟโตมัลติไพลเออร์ (photomultiplier tube, PMT) ตัวตรวจวัดนี้สามารถวัดแสงที่มีความเข้มต่ำมากได้อย่างแม่นยำ โดยจะเปลี่ยนพลังงานแสงให้เป็นสัญญาณทางไฟฟ้า

6. ระบบแสดงผลและประมวลผล (data display and processing)

สัญญาณไฟฟ้าที่ได้จากตัวตรวจวัดจะถูกส่งเข้าสู่ระบบประมวลผล เพื่อแสดงผลในรูปของกราฟความเข้มฟลูออเรสเซนซ์กับความยาวคลื่น หรือค่าความเข้มแสงเชิงปริมาณ ซึ่งสามารถใช้ในการวิเคราะห์สมบัติของสาร การตรวจหาสารในปริมาณต่ำ หรือการศึกษาสมบัติเชิงโครงสร้างของโมเลกุล

3.3.4 ปฏิบัติการวัดการวาวแสงด้วยเครื่องฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรโฟโตมิเตอร์

- 1) ปฏิบัติการส่วนประกอบเครื่องฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรโฟโตมิเตอร์
- 2) ปฏิบัติการวัดการวาวแสง
- 3) ชมวิดีโอ
(ดูคู่มือปฏิบัติการ)

สรุปท้ายบทเรียน

เทคนิคสเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออกเป็นการวัดพลังงานที่คายออกมา เมื่ออะตอมหรือโมเลกุลเกิดการแทนที่ขึ้นจากสถานะกระตุ้นไปสู่สถานะพื้น อิเล็กตรอนที่อยู่ภายในออร์บิทัลของอะตอมภายในวัตถุเกิดการเคลื่อนที่จากสถานะพื้น (ground state) ไปสู่สถานะกระตุ้น (excited state) ซึ่งอิเล็กตรอนจะอยู่สถานะที่ไม่มีความเสถียร ดังนั้นอิเล็กตรอนจะทำการลดพลังงานกระตุ้นเพื่อกลับเข้าสู่สถานะพื้น โดยปลดปล่อยพลังงานออกมาในรูปของแสงหรือความร้อน หรือทั้งสองอย่างร่วมกัน เรียกว่า โฟโตลูมิเนสเซนซ์ การกระตุ้นที่เกิดขึ้นจะเกี่ยวข้องกับกับอิเล็กตรอนนอกสุดที่อยู่ในออร์บิทัลรอบนิวเคลียสของอะตอม ดังนั้นประสิทธิภาพการเปล่งแสงจะขึ้นอยู่กับระดับการเปลี่ยนแปลงของพลังงานของอิเล็กตรอนในสถานะกระตุ้นเพื่อกลับเข้าสู่สถานะพื้นของแต่ละธาตุ

เครื่องมือวัดฟลูออเรสเซนซ์ถูกออกแบบมาเพื่อวิเคราะห์สารที่มีสมบัติในการวาวแสงโดยอาศัยหลักการที่ว่า เมื่อโมเลกุลในสารดูดกลืนพลังงานจากแหล่งกำเนิดแสงที่เหมาะสม (เช่น แสงอัลตราไวโอเลตหรือแสงที่มีพลังงานสูง) อิเล็กตรอนในโมเลกุลจะถูกกระตุ้นให้อยู่ในสถานะพลังงานสูง และเมื่ออิเล็กตรอนกลับสู่สถานะพื้น จะปลดปล่อยพลังงานในรูปของแสงที่มีพลังงานต่ำกว่า หรือแสงที่มองเห็นได้

วิธีการสอนและกิจกรรม

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ใบกิจกรรม

สื่อการสอนและอุปกรณ์การสอน

1. หนังสือ/ตำรา
2. เอกสารประกอบการสอน
3. <https://scienceinfo.com/fluorescence-spectrophotometer-principle/>

งานที่มอบหมาย

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ใบกิจกรรม

การวัดผล

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ใบกิจกรรม

แบบฝึกหัด

1. ทำกิจกรรม
2. ใบกิจกรรม

บรรณานุกรม

1. แม้น อมรสิทธิ์, และอมร เพชรสม. (2550). *หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ*. สำนักพิมพ์ชวนชม.
2. Averill, B.A. (2012). *Principles of General Chemistry*.
<https://2012books.lardbucket.org/books/principles-of-general-chemistry-v1.0m/index.html>
3. Christian, G.D., Dasgupta, P.K., & Schug, K.A. (2014). *Analytical Chemistry* (7th ed.). John Wiley & Sons.
4. Harris, D.C. (2010). *Quantitative Chemical Analysis* (8th ed.). W.H. Freeman and Company.
5. Harvey, D. (2019). *Analytical Chemistry 2.1*. <https://chem.libretexts.org/>
6. Robinson, J. W., Frame, E. M. S, & Frame G. M. (2021). *Instrumental Analytical Chemistry*. CRC Press
7. Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2022). *Fundamentals of Analytical Chemistry* (10th ed.). Brooks/Cole Publishing

8. Skoog, D. A., Holler, F.J., & Crouch, S. R. (2018). *Principles of Instrumental Analysis* (7th ed.). David Harris.