



คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร

เทคโนโลยีสุขภาพ เครื่องสำอางและการชะลอวัย

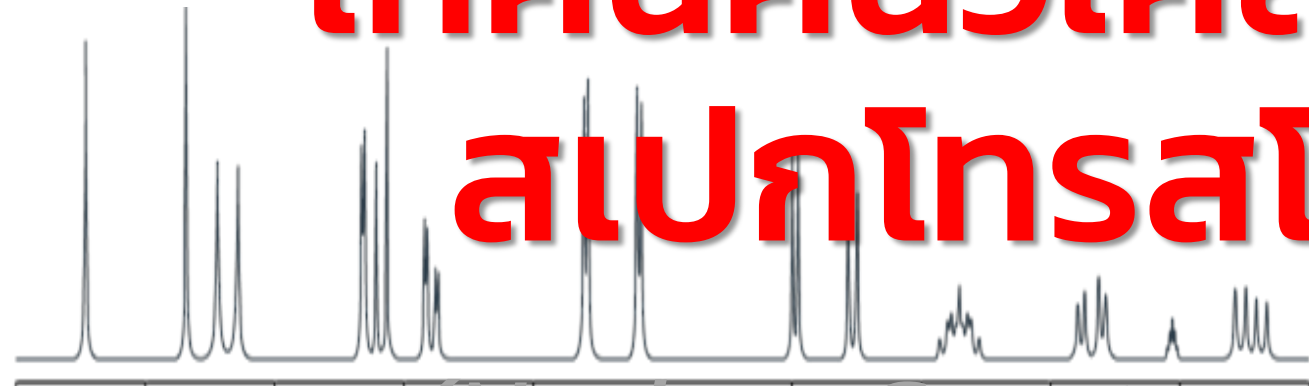
HEALTH, COSMETIC & ANTI-AGING TECHNOLOGY



ผศ.ดร.วรวิทย์ จันทรสุวรรณ
Asst.Prof. Woravith Chansuvarn,
Ph.D.

หน่วย 6 เทคนิคทางเอกซเรย์และนิวเคลียร์
บทเรียน 6.2

เทคนิคนิวเคลียร์ สเปกโทรสโกปี



(Nuclear Spectroscopy)



woravith



woravith



woravith.c@rmutp.ac.th



<http://sci.rmutp.ac.th/woravith>

#แผนการเรียนรู้และการประเมินผลการเรียนรู้

6.2

เพื่อให้
เข้าใจ
เทคนิค
นิวเคลียร์

อธิบายนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์
สเปกโทรสโกปี



บอกส่วนประกอบเครื่อง NMR

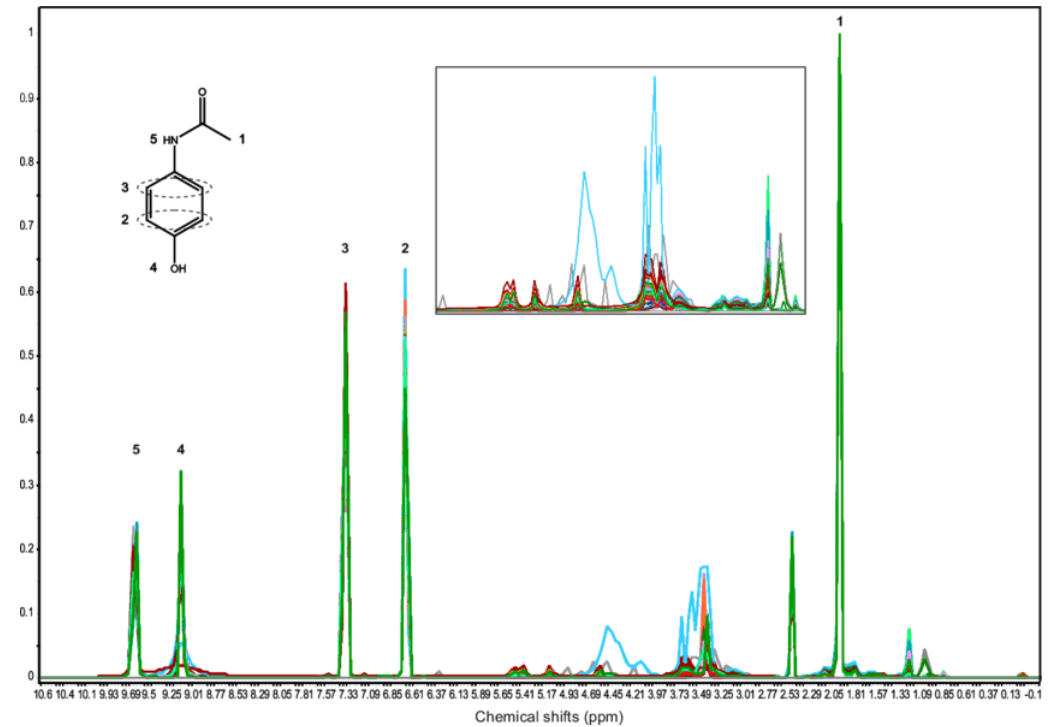
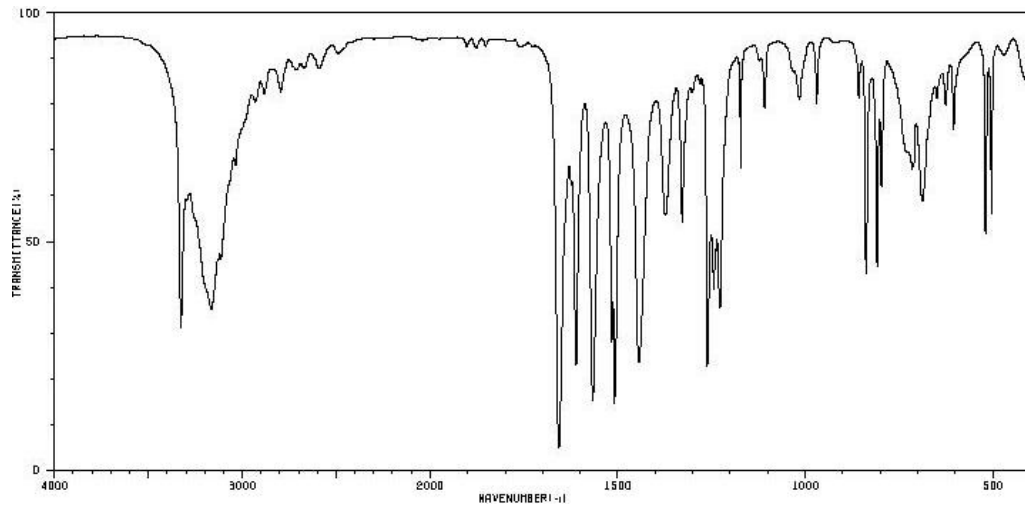
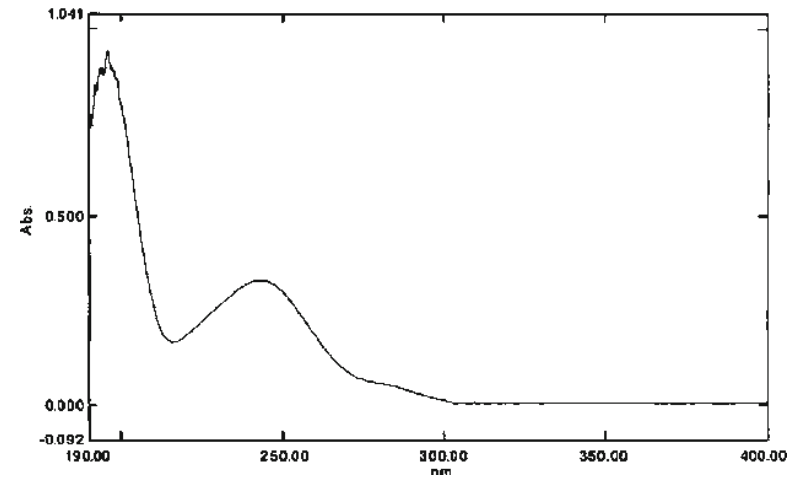
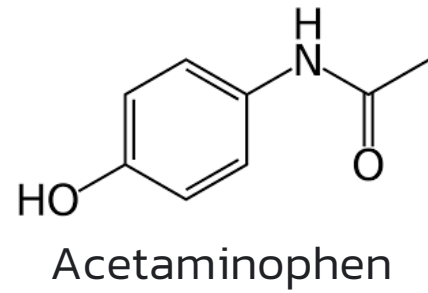


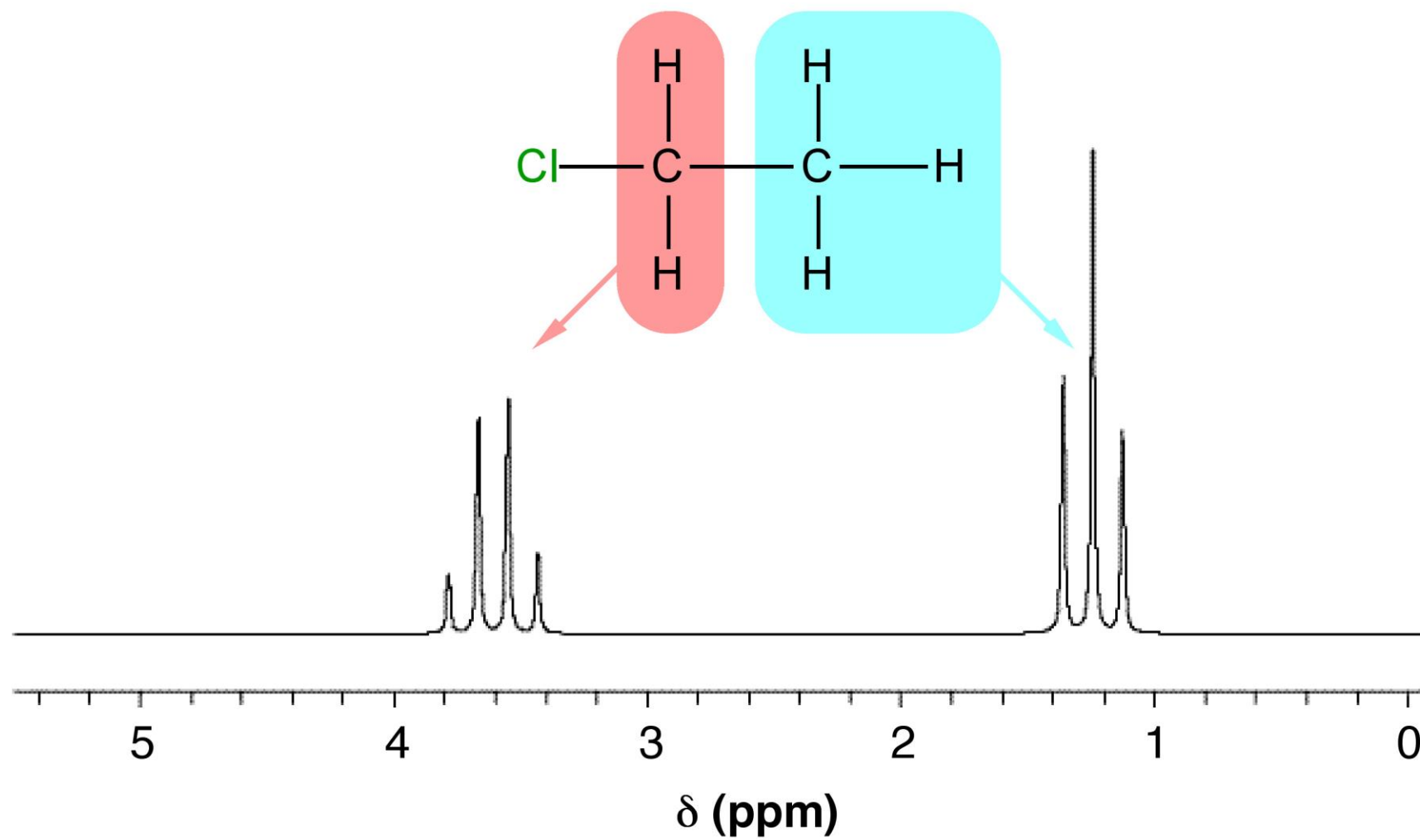
อธิบายสเปกตรัม NMR



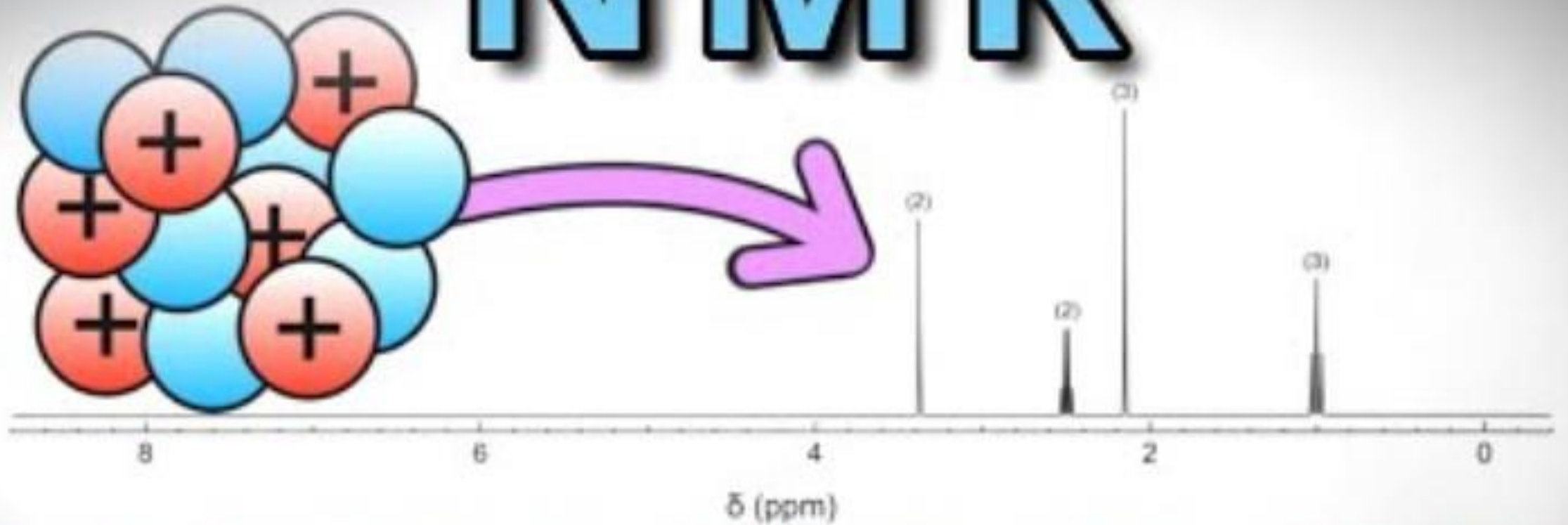
ปฏิบัติการทดสอบเชิงคุณภาพด้วย NMR







NMR



WHAT YOU NEED TO KNOW

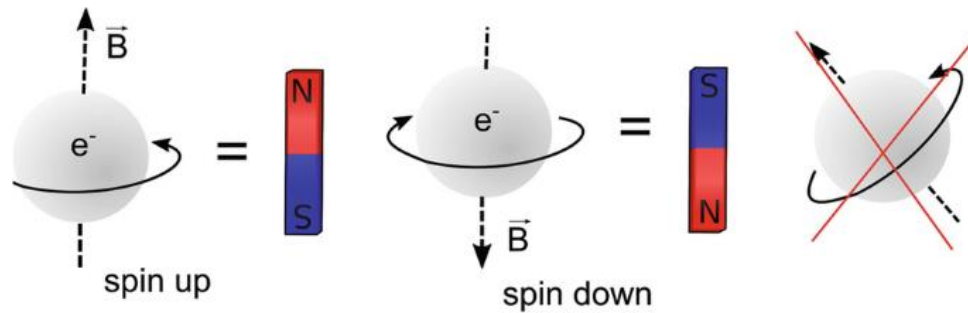
นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ สเปกโทรสโกปี

- NMR : เทคนิควิเคราะห์ที่อาศัยสมบัติแม่เหล็กของนิวคลีไอ (nuclei) ในโมเลกุล ซึ่งจะให้ข้อมูลเกี่ยวกับจำนวนและชนิดของอะตอมในโมเลกุล
- เกิดเฉพาะอะตอมที่มีเลขควอนตัมสปิน (spin quantum) ที่มีค่าไม่เท่ากับศูนย์
- นิวเคลียสของอะตอมที่มีจำนวนของนิวตรอนรวมกับโปรตอนเป็นเลขคี่ ได้แก่ ^1H ^{13}C ^{17}O ^{19}F ^{31}P และ ^{37}Cl หรือ นิวเคลียสมีจำนวนนิวตรอนและโปรตอนเป็นเลขคี่ทั้งคู่ ได้แก่ ^2H
- อะตอมดูดกลืนรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าคลื่นวิทยุช่วงความถี่ 3 Hz ถึง 300 GHz ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสปินภายในนิวเคลียส

Quantum Mechanical Description of NMR

- Principal quantum number (n)
- Angular momentum quantum number (l)
- Magnetic quantum number (m_l)
- Spin quantum number (m_s)

Tell something about where the electron is relative to the nucleus and something about the electron's energy.



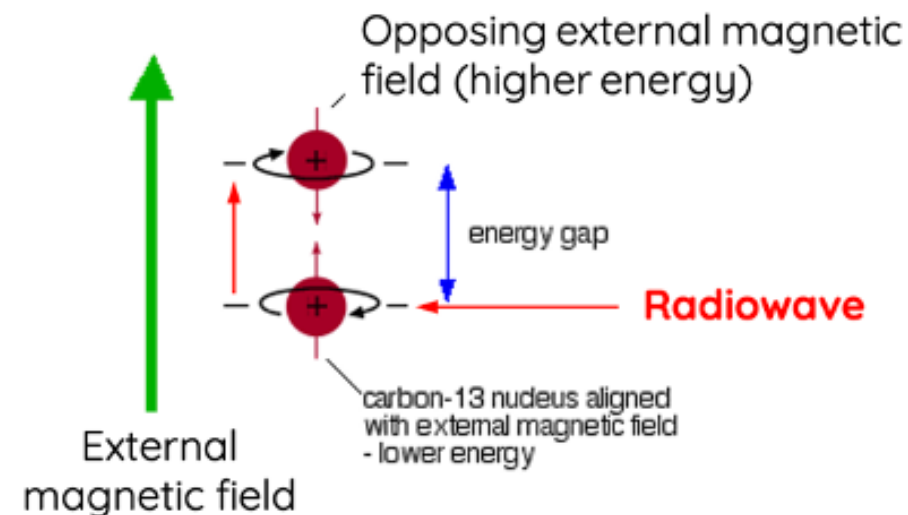
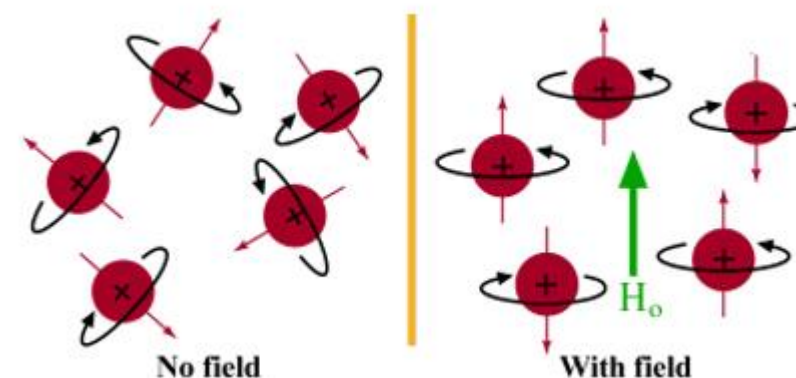
- Tells something about the ability of an electron to interact with an applied magnetic field
- An electron has possible spins of $+1/2$ (spin up, $\uparrow$) or $-1/2$ (spin down, $\downarrow$)

Nuclear spin

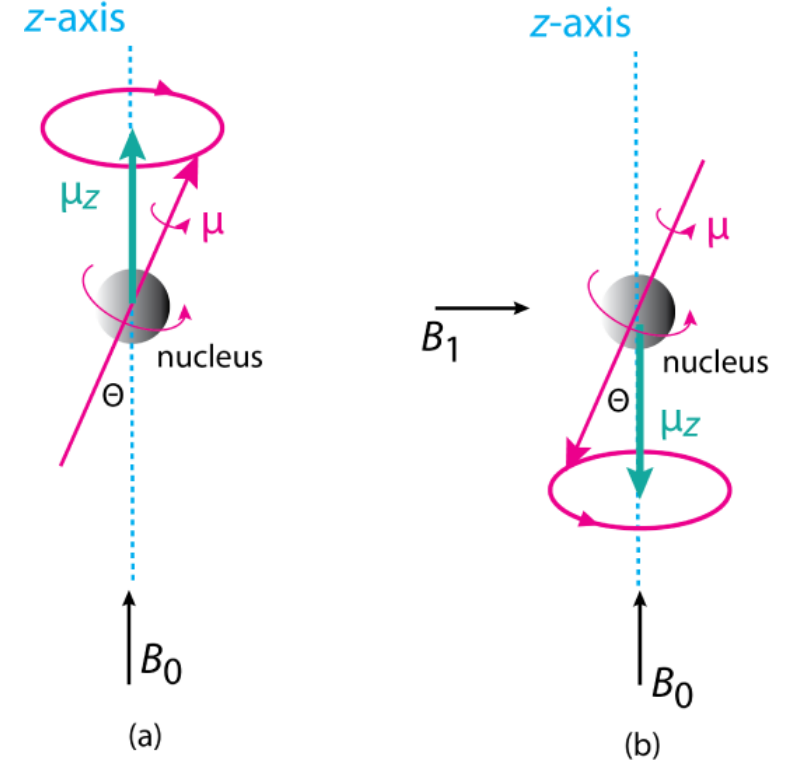
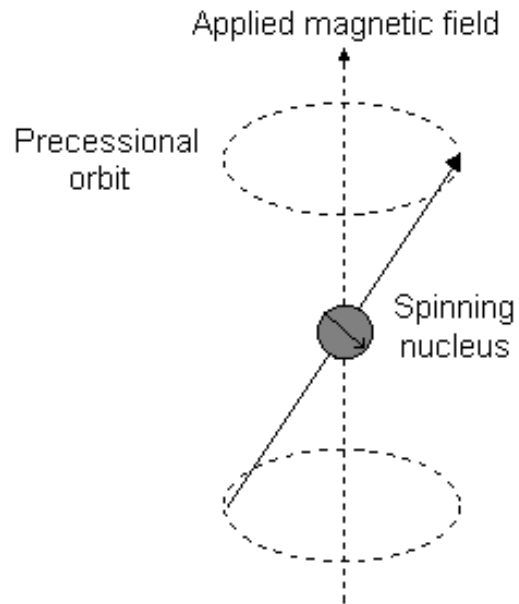
- Nuclei with an even atomic mass or atomic number (^{12}C , ^{16}O) > *No nuclear spin*
- Nuclei with an odd atomic mass or atomic number (^1H , ^2H , ^{13}C , ^{14}N , ^{17}O)
 - In the *absence* of a magnetic field, nuclei's spins are orientated randomly.
 - In the *presence* of a magnetic field, nuclear spins become parallel to the direction of the field.

Nuclei whose spin are in the same direction as the magnetic field occupy a *lower* energy state.

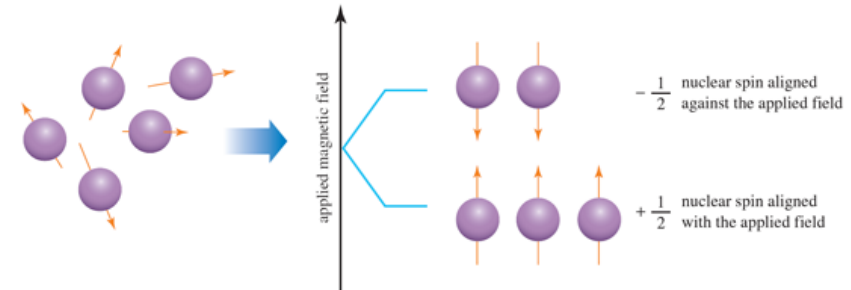
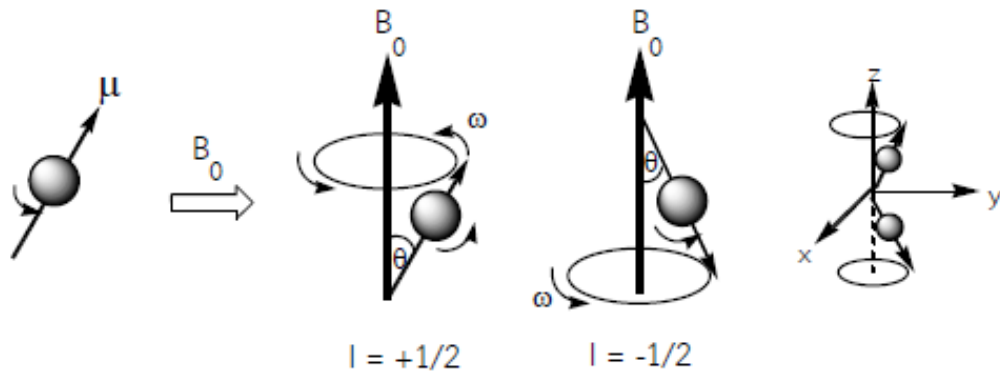
There are many more nuclei in the *lower* energy state than the *higher* energy state (opposite to the field's direction)



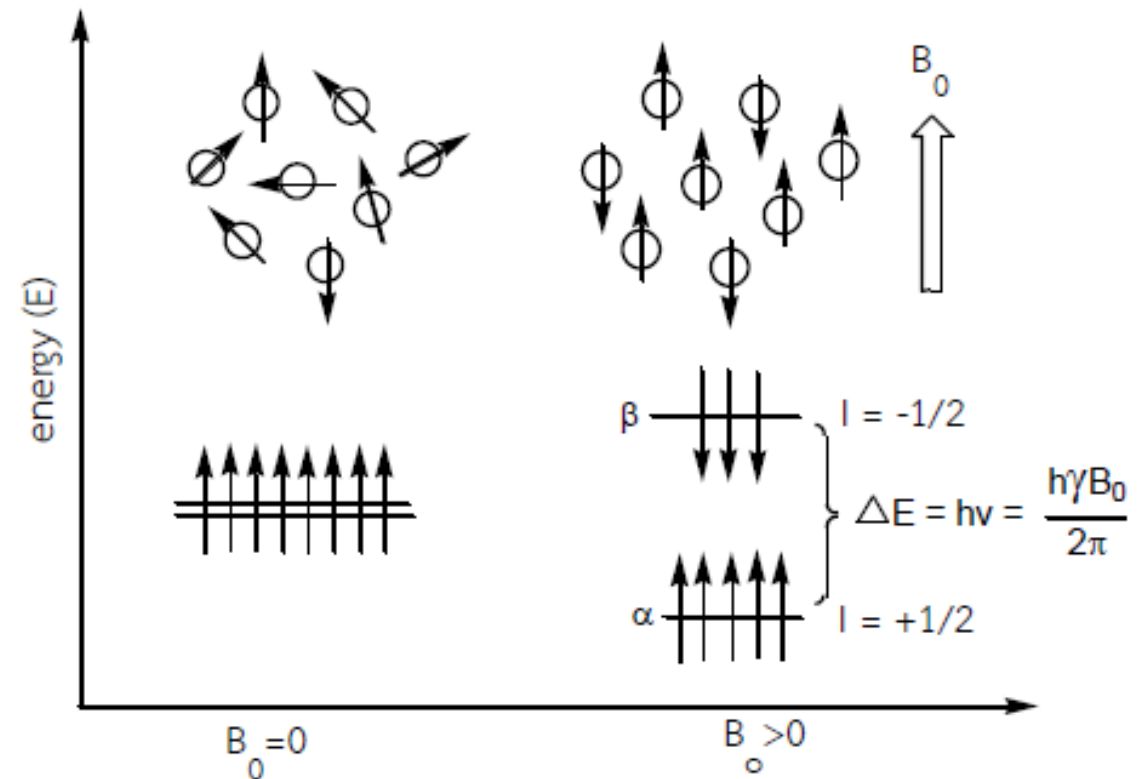
- เฉพาะอนุภาคที่มีประจุของอะตอม คือ อิเล็กตรอน (-) และโปรตอน (+) สามารถเกิดการหมุนควง (precession) รอบแกนนิวเคลียส
- ส่งผลให้นิวเคลียสมีสมบัติคล้ายแท่งแม่เหล็กและเกิดโมเมนต์แม่เหล็ก (magnetic moment, μ)



เมื่อโปรตอนที่หมุนควงรอบแกนนิวเคลียสและมีสมบัติคล้ายแท่งแม่เหล็กอยู่ในสนามแม่เหล็กภายนอก (B_0) จะส่งผลให้โปรตอนเกิดการหมุนควงแบบลาร์มอร์ (Larmor precession) รอบแกน z ลักษณะเหมือนลูกข่างมีทิศทางขนานกับ B_0 (สภาวะสปิน $+1/2$) และทิศทางตรงข้ามกับ B_0 (สภาวะ สปิน $-1/2$)

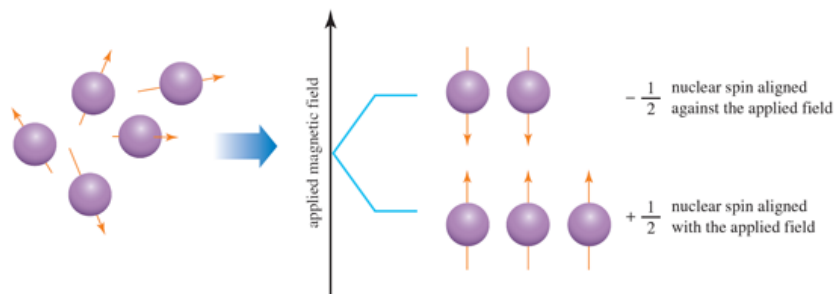


- ความถี่เชิงมุม (angular frequency, ω) แปรผันตรงกับ B_0
- โปรตอนที่มีหลายนิวเคลียสจัดวางตัวไม่เป็นระเบียบ จัดวางตัวเป็นระเบียบขึ้น
- โปรตอนแต่ละตัวจะมีความเร็วเชิงมุมและความถี่ลาร์มอร์เฉพาะ
- ระดับพลังงานแยกเป็นสภาวะสปิน $+1/2$ (สถานะแอลฟา) ซึ่งอยู่ต่ำกว่าระดับพลังงานสภาวะสปิน $-1/2$ (สถานะบีตา)
- สถานะแอลฟาจะมีจำนวนโปรตอนมากกว่าสถานะบีตาอยู่เล็กน้อย



- สถานะแอลฟาจะมีจำนวนโปรตอนมากกว่าสถานะบีตาอยู่เล็กน้อย
- จำนวนโปรตอนส่วนเกินนี้ เรียกว่า ส่วนเกินโบลต์ซแมนน์ (Boltzmann excess)
- โปรตอนส่วนเกินนี้จะแปรผันตรงกับความเข้มสนามแม่เหล็กภายนอกและความถี่คลื่นวิทยุ (ν)

Magnetic intensity (Tesla)	Radio frequency (MHz)	Excess nuclei
1.41	60	9
2.35	100	16
4.70	200	32
7.05	300	48
14.09	600	96



Boltzmann distribution equation

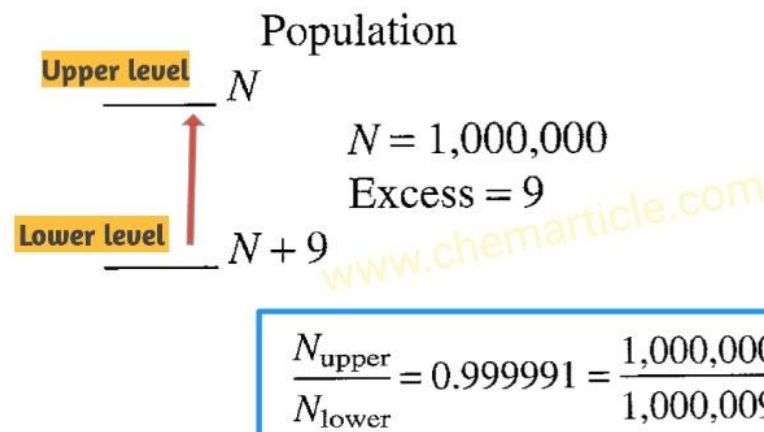
$$\frac{N_{\text{upper}}}{N_{\text{lower}}} = e^{-\Delta E/kT} = e^{-h\nu/kT}$$

$$h = 6.624 \times 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{sec}$$

$$k = 1.380 \times 10^{-23} \text{ J/K} \cdot \text{molecule}$$

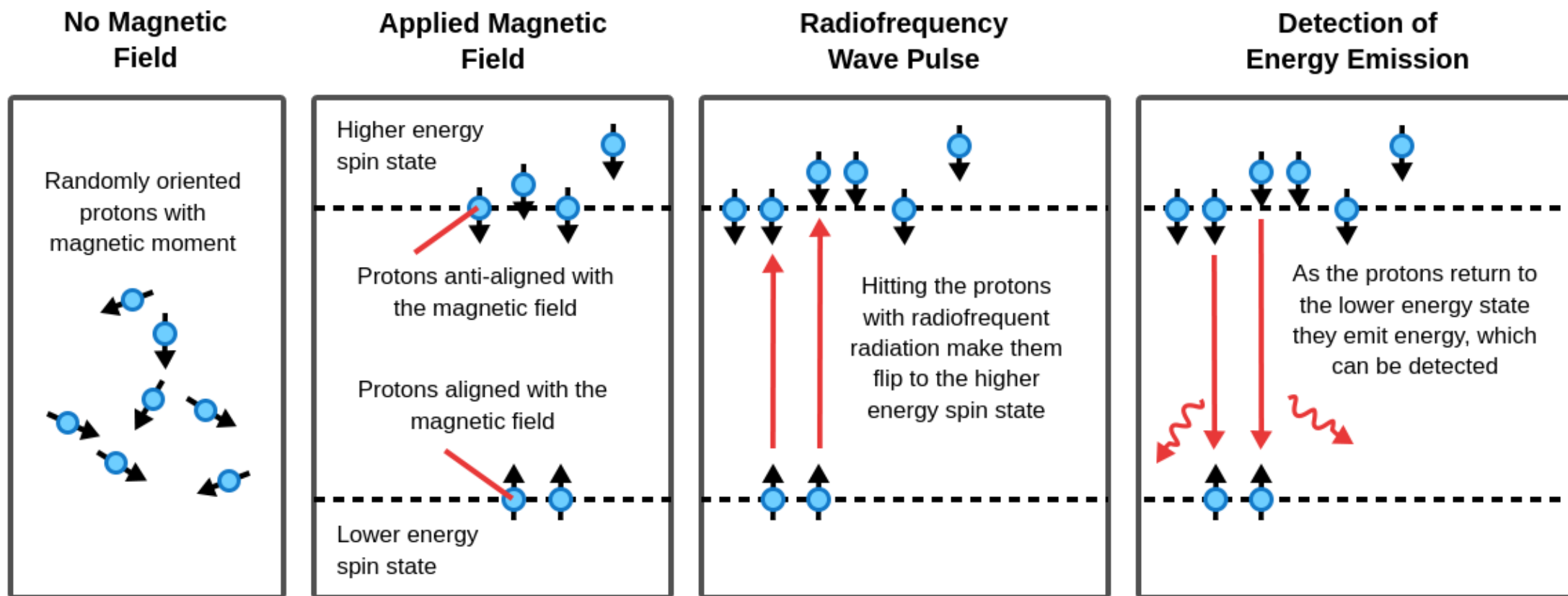
T = absolute temperature (K)

Where $\Delta E = h\nu$



หลักการเรโซแนนซ์

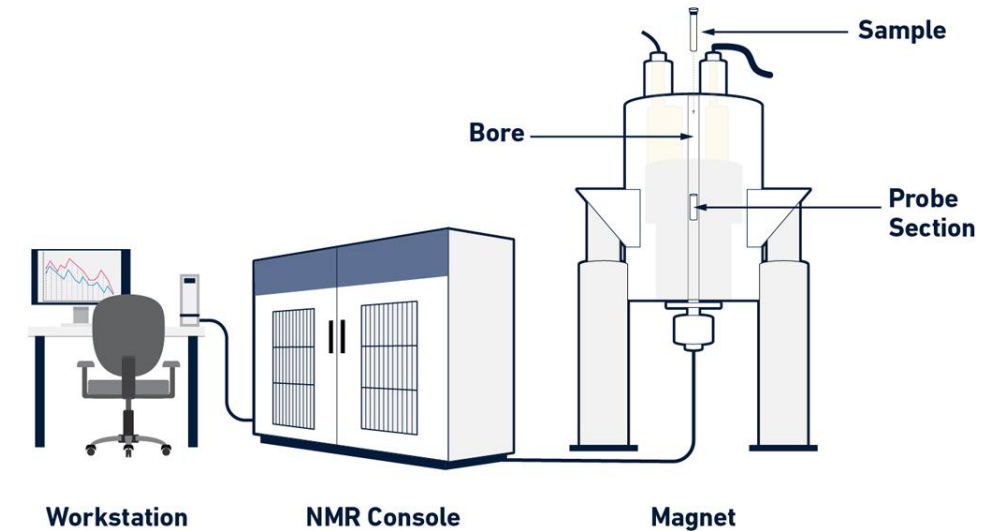
- เรโซแนนซ์เกิดได้โดยให้ความถี่คลื่นวิทยุ (ν) ตรงกับความถี่เชิงมุม (ω) เช่น โปรตอนที่อยู่ในความเข้มสนามแม่เหล็กภายนอก (B_0) เท่ากับ 1.41 เทสลา จะเกิดการหมุนควงรอบแกน z ด้วยความถี่เชิงมุม เท่ากับ 60 MHz ต้องให้ความถี่คลื่นวิทยุ เท่ากับ 60 MHz ด้วยเช่นกัน
- โปรตอนส่วนเกินที่สถานะแอลฟา (สภาวะสปิน $+1/2$) ที่วางตัวในทิศตามสนามแม่เหล็กซึ่งมีระดับพลังงานต่ำได้รับพลังงานในช่วงความถี่คลื่นวิทยุที่เหมาะสม โปรตอนจะดูดกลืนพลังงานแล้วเปลี่ยนไปวางตัวในทิศต้านสนามแม่เหล็กซึ่งมีระดับพลังงานสูงในสถานะบีตา (เปลี่ยนสภาวะสปินเป็น $-1/2$) เรียกปรากฏการณ์ว่า **เรโซแนนซ์**
- เรโซแนนซ์จะเกิดอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งจำนวนนิวเคลียสโปรตอนที่สถานะทั้งสองเท่ากัน เรียกว่า **การอิ่มตัว (saturation)** ซึ่งจะไม่ปรากฏสัญญาณ
- แล้วโปรตอนสภาวะสปิน $-1/2$ (สถานะบีตา) จะกลับลงสู่สถานะแอลฟาพร้อมทั้งเปลี่ยนสภาวะสปินเป็น $+1/2$ และคายพลังงานออกมาเท่ากับพลังงานที่ดูดกลืนเข้าไป เรียกการกลับสู่สถานะเดิมนี้ว่า **การผ่อนคลาย (relaxation)**

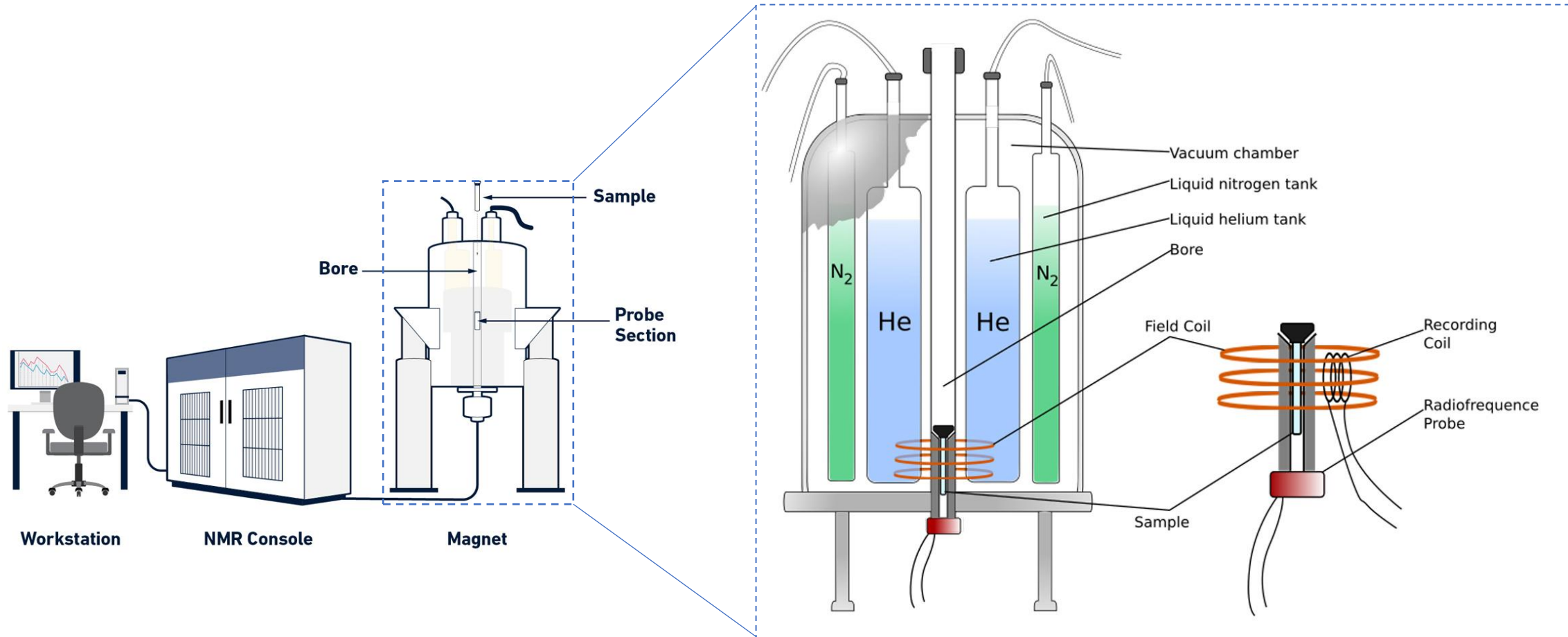


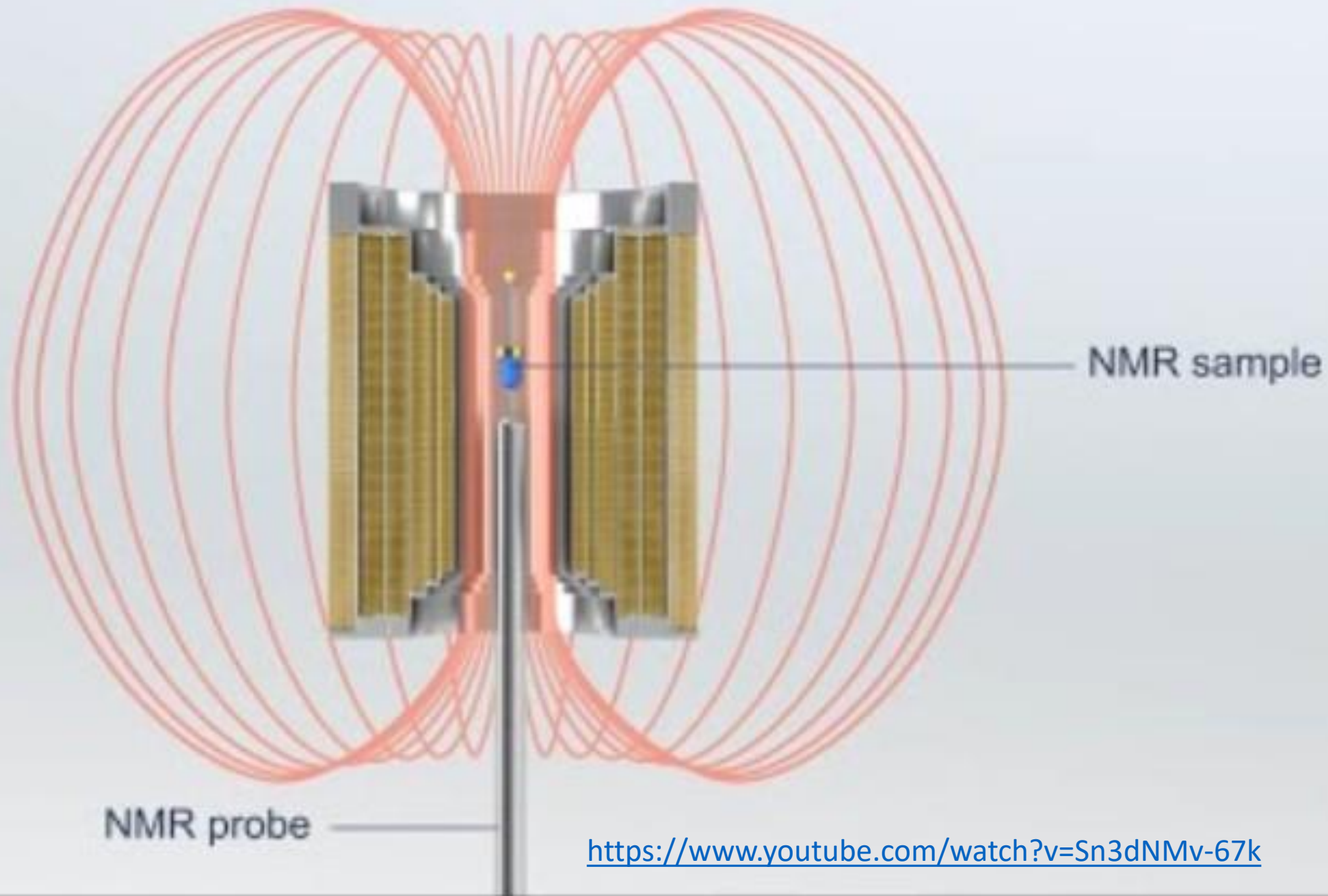
<https://theory.labster.com/nmrspectroscopy/>

ส่วนประกอบเครื่อง NMR

- 1) ระบบควบคุมการประมวลผลข้อมูล ทำหน้าที่สั่งงานเครื่อง NMR ประมวลผล
- 2) ส่วนควบคุมปฏิบัติการ (Spectrometer console) ทำหน้าที่ในการส่งสัญญาณไปกระตุ้นสารตัวอย่างภายใน magnet และตรวจจับสัญญาณที่สารตัวอย่างปล่อยออกมา
- 3) แม่เหล็กกำลังสูง (Magnet) ทำหน้าที่ในการสร้างสถานะที่เหมาะสมในการทดลอง โดยให้สนามแม่เหล็กความเข้มสูงที่คงที่ โดยความเข้มของสนามแม่เหล็กจะสัมพันธ์กับความถี่ของคลื่นวิทยุที่ผ่านเข้าไปยังเครื่อง (จึงนิยมระบุสมรรถนะของเครื่อง NMR ในรูปแบบของความถี่ เช่น 60 MHz, 100 MHz, 300 MHz และ 400 MHz เป็นต้น)
- 4) หัวตรวจหรือโพรบ (NMR Probe) ติดตั้งอยู่ด้านในระหว่างแม่เหล็กทั้ง 2 (magnet gap) และมีหน้าที่คอยช่วยพยุงหรือรักษาระดับของสารตัวอย่าง







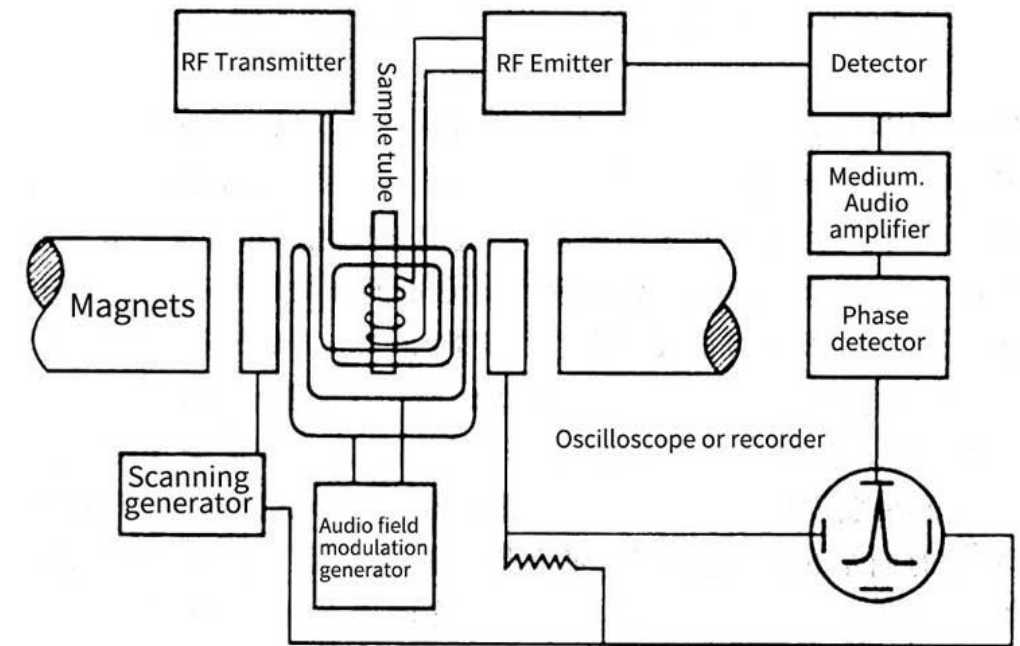
<https://www.youtube.com/watch?v=Sn3dNMv-67k>

เครื่อง NMR สามารถแบ่งตามความถี่ เช่น 60, 100, 300 หรือ 600 MHz เป็นต้น โดยความถี่มากขึ้นจะเพิ่มประสิทธิภาพการแยกและความเข้มสัญญาณ

- เครื่อง NMR จำแนกออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่
 - 1) เครื่อง NMR แบบคลื่นต่อเนื่อง (continuous-wave NMR spectrometer, CW-NMR)
 - 2) เครื่อง NMR แบบฟูริเยร์ทรานส์ฟอร์ม (Fourier transform NMR spectrometer, FT-NMR)
- การเกิดเรโซแนนซ์ของโปรตอนจะขึ้นอยู่กับความเข้มสนามแม่เหล็กภายนอก (B_0) และความถี่คลื่นวิทยุ (ν)
- การพัฒนาเครื่อง NMR จึงสามารถทำได้ 2 แบบ ได้แก่
 - 1) คงที่ B_0 และเปลี่ยน ν
 - 2) คงที่ ν และเปลี่ยน B_0 (จะพัฒนาเครื่องมือได้ง่ายกว่า)

Continuous-wave NMR spectrometer (CW-NMR)

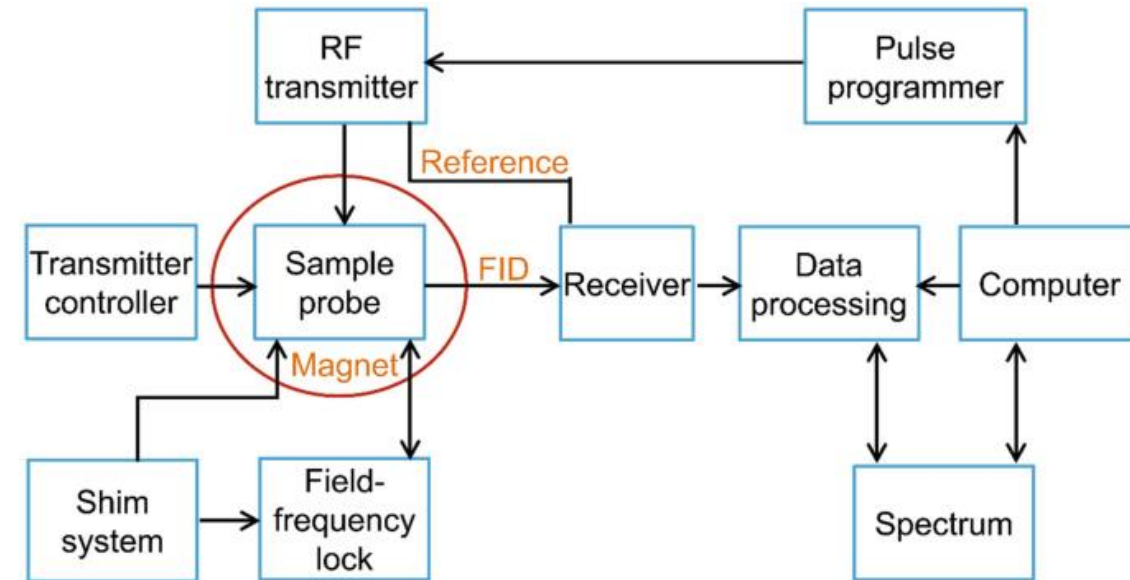
- หลักการทำงานคือ คงที่ ν และเปลี่ยน B_0
- เครื่องกำเนิดสัญญาณจะค่อย ๆ เพิ่มความเข้มสนามแม่เหล็ก (B_0) เช่น
 - ความเข้มสนามแม่เหล็กประมาณ 14,100 เกาส์ สำหรับเครื่อง NMR ความถี่ 60 MHz
 - ความเข้มสนามแม่เหล็กประมาณ 23,500 เกาส์ สำหรับเครื่อง NMR ความถี่ 100 MHz เป็นต้น
- ขณะที่ B_0 เพิ่มขึ้นนั้น ความถี่เชิงมุมของโปรตอนจะเพิ่มขึ้นจนกระทั่งเท่ากับความถี่คลื่นวิทยุ เช่น 60 หรือ 100 MHz เป็นต้น



Basic structure of CW-NMR

Fourier transform NMR spectrometer (FT-NMR)

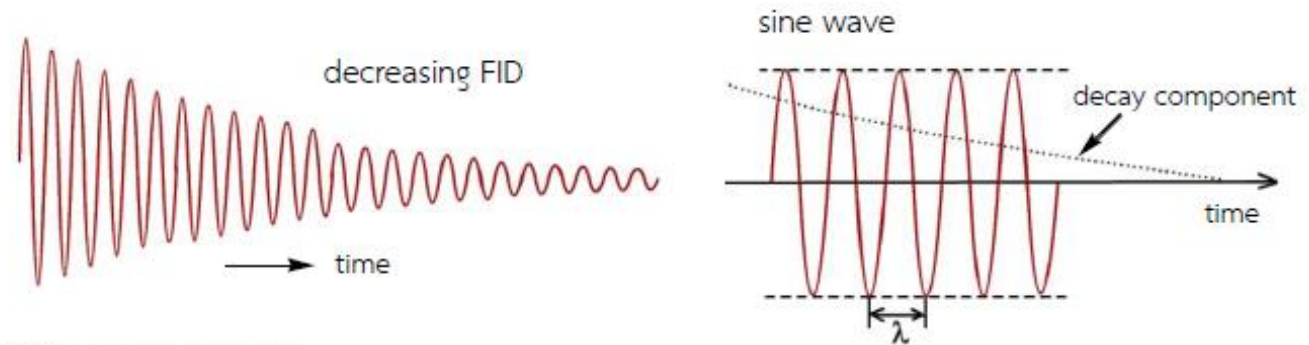
- การวัดสัญญาณของเครื่อง FT-NMR จะใช้เทคนิคที่เรียกว่า Pulsed NMR (เครื่องกำเนิดความถี่คลื่นวิทยุจะเปิด-ปิดในช่วงระยะเวลาสั้นประมาณ 10^{-5} วินาที)
- เครื่อง NMR จะส่งสัญญาณคลื่นวิทยุทุกความถี่ในช่วงที่สนใจเข้าไปยังตัวอย่างที่วิเคราะห์
- ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนสปินของนิวเคลียสทั้งหมดทันที เรียกว่า สถานะถูกกระตุ้น (excited state) จากนั้นนิวเคลียสจะกลับสู่สถานะพื้น (ground state) โดยการคายพลังงานออกมาในรูปของคลื่นวิทยุในรูปของคลื่นที่ซ้อนกัน ที่เรียกว่า สัญญาณ FID (free induction decay)



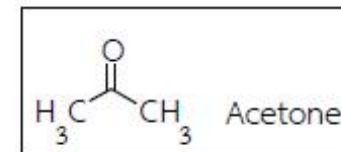
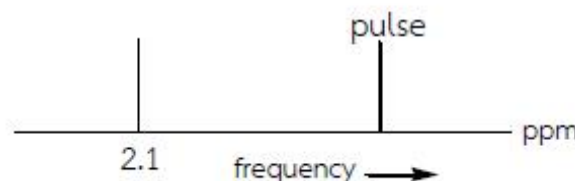
Fourier transform NMR spectrometer (FT-NMR)

- เมื่อโปรตอนสถานะบีตา กลับลงมาสู่สถานะพื้นจะคายพลังงานออกมาไม่เท่ากัน เรียกว่า **การสลายแบบเหนี่ยวนำอิสระ (free-induction decay, FID)** เมื่อเวลาผ่านไปแต่ละนิวเคลียสโปรตอนจะมีความเข้ม FID ลดลง จนกระทั่งเป็นศูนย์เมื่อกลับสู่สถานะแอลฟา
- สัญญาณ FID ถูกแยกออกเป็นความถี่ต่าง ๆ ที่มีความแรงของสัญญาณแตกต่างกันได้ โดยกระบวนการทางคณิตศาสตร์ เรียกว่า ฟูเรียร์ทรานสฟอร์ม (Fourier transform) จากโดเมนเวลา (time domain) ให้เป็นโดเมนความถี่ (frequency domain)

1) Time domain



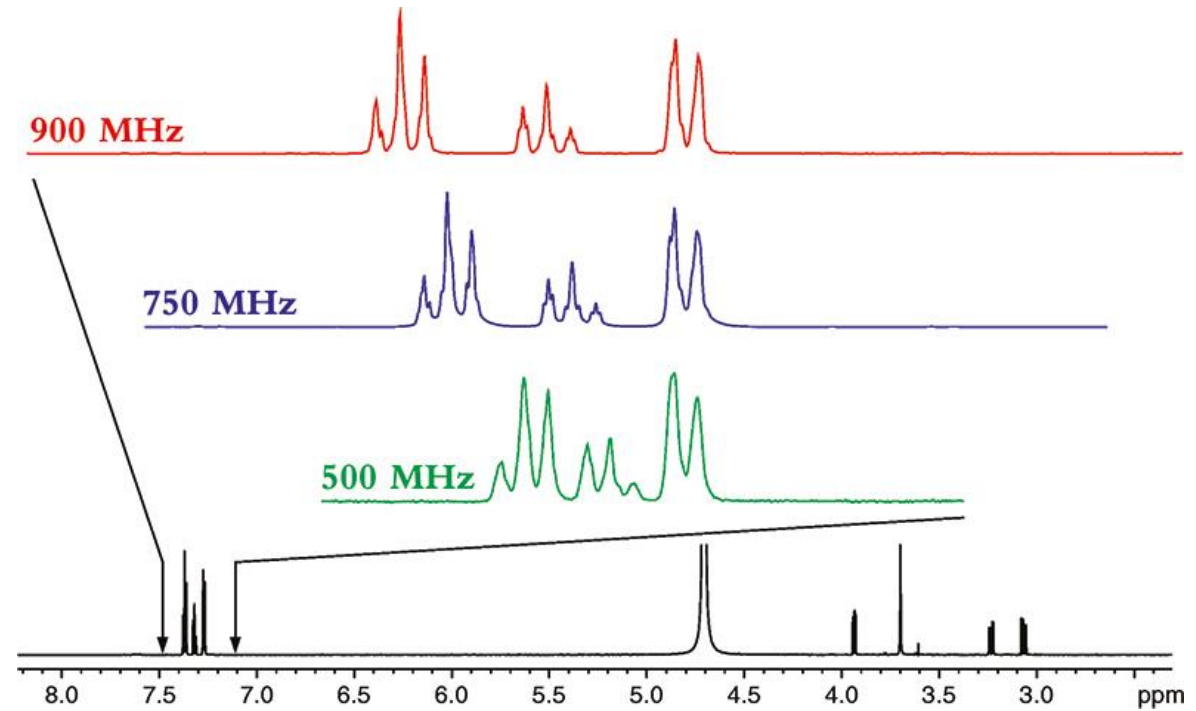
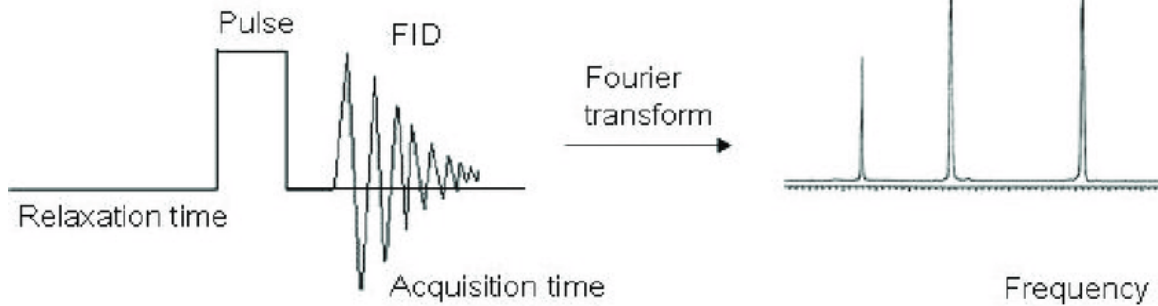
2) Frequency domain



สเปกตรัม NMR

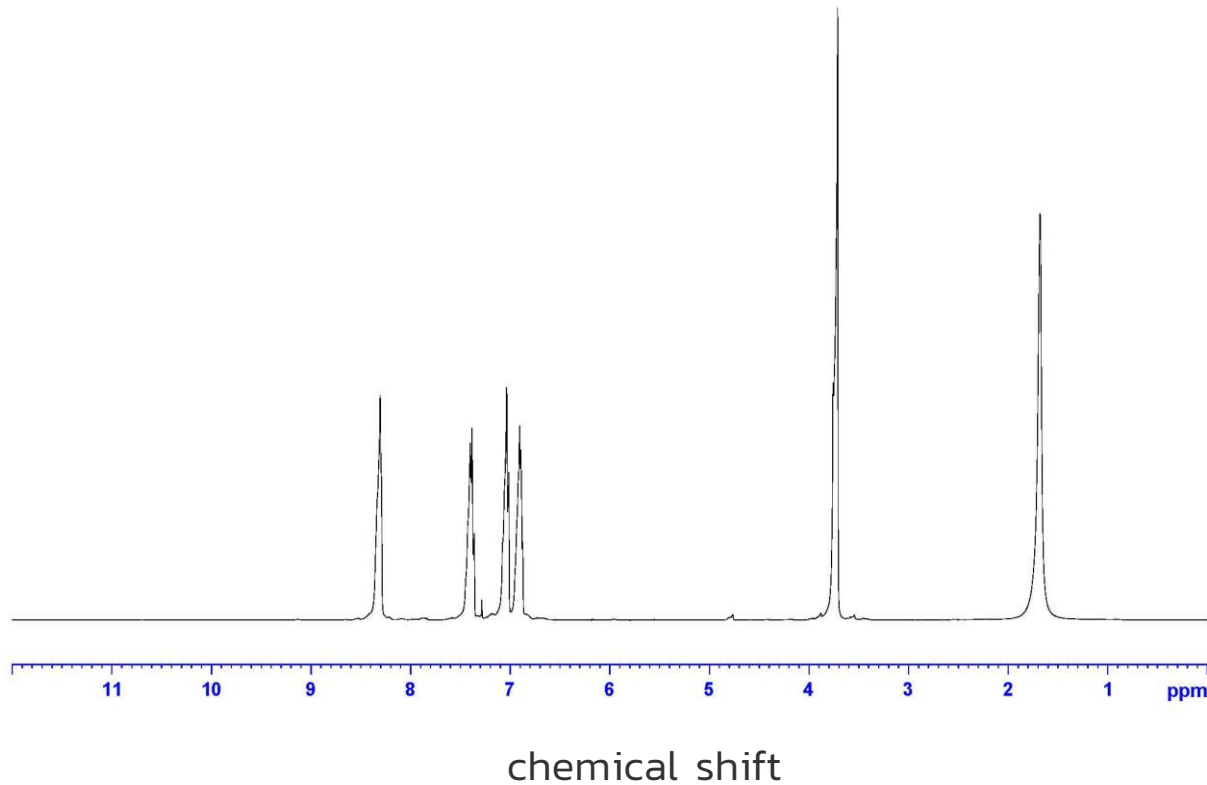
(time domain)

(frequency domain)



H-NMR spectrum

สเปกตรัม H-NMR ซึ่งมีลักษณะเป็นพีค โดยมีแกนนอน (x-axis) เป็นค่า chemical shift

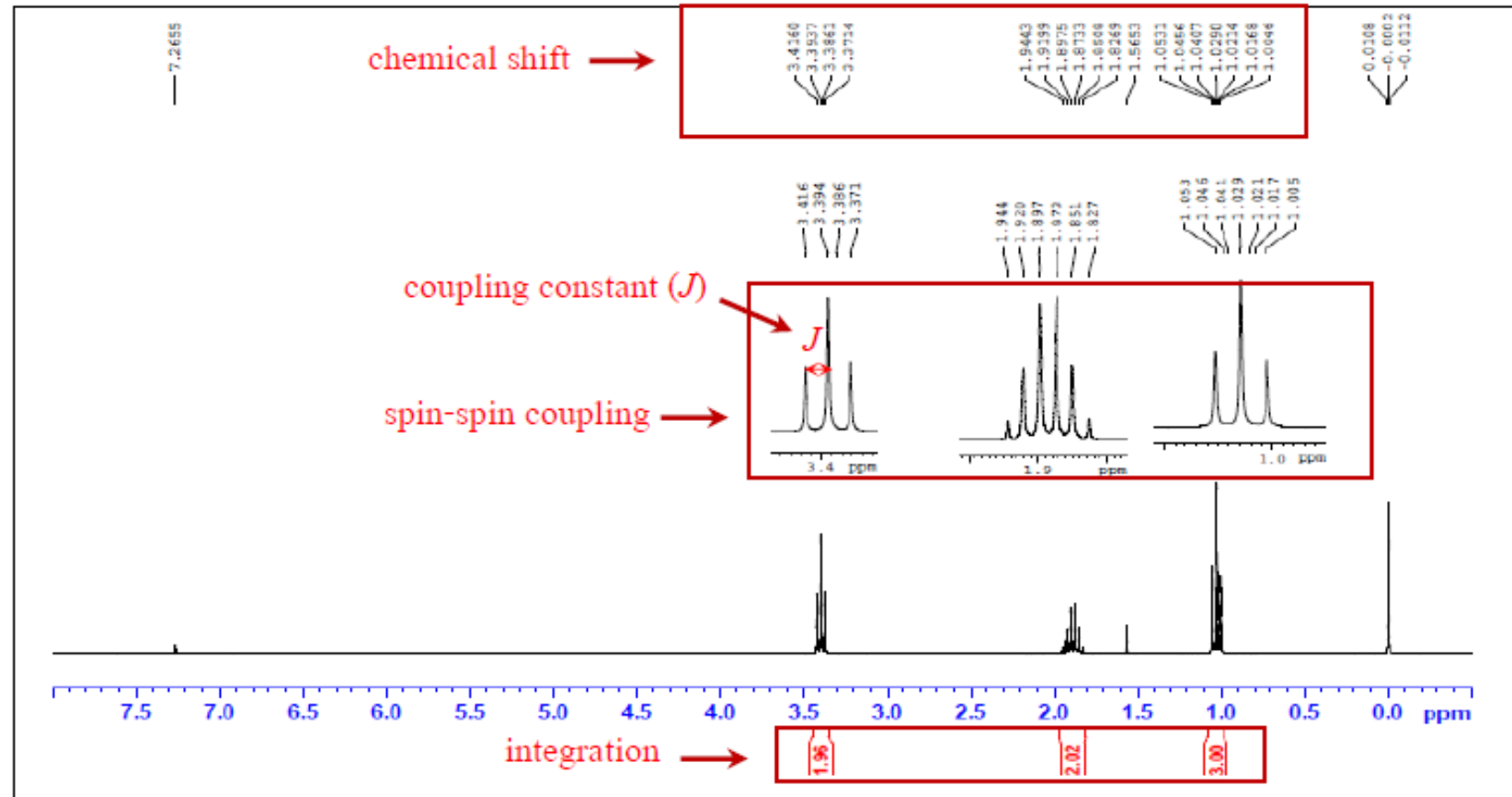


การดูดกลืนพลังงานจากสนามแม่เหล็กของนิวเคลียสของธาตุแต่ละชนิดจะมีความแตกต่างกัน หรือแม้กระทั่งนิวเคลียสของธาตุชนิดเดียวกันที่อยู่ในสภาวะแวดล้อมที่แตกต่างกันก็จะให้สัญญาณการดูดกลืนพลังงานที่แตกต่างกันด้วย

<https://www.acdlabs.com/blog/the-basics-of-interpreting-a-proton-nmr-spectrum/>

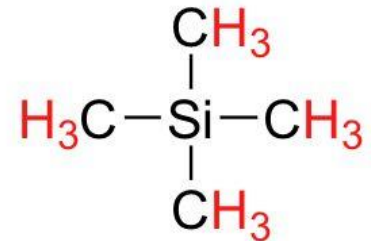
ข้อมูลที่ใช้ในการแปลผลสเปกตรัม NMR ประกอบไปด้วย

- ค่า chemical shift ใช้ในการบอกตำแหน่งของสัญญาณ
- integration บอกถึงพื้นที่ใต้สัญญาณ
- spin-spin coupling อธิบายถึงรูปแบบของสัญญาณที่แตกต่างกัน
- coupling constant (J) บอกถึงระยะห่างระหว่างสัญญาณ



Chemical shift (δ)

- โปรตอนมีสภาพแวดล้อมทางเคมีที่แตกต่างกันจะทำให้มีความหนาแน่นของอิเล็กตรอนต่างกัน ส่งผลให้โปรตอนเหล่านั้นเกิดเรโซแนนซ์ที่ความเข้มสนามแม่เหล็กต่างกัน
- ตำแหน่งที่เกิดเรโซแนนซ์นิยมรายงานเป็นค่า chemical shift (δ) โดยวัดความถี่ของสัญญาณเรโซแนนซ์ที่เกิดขึ้นเปรียบเทียบกับสารอ้างอิง tetramethylsilane (TMS) ในหน่วย Hz (โปรตอนทั้ง 12 ตัวของ TMS มีสภาพแวดล้อมทางเคมีที่เหมือนกันจึงให้สัญญาณที่ตำแหน่งเดียวกับที่ 0 Hz)
- ค่า chemical shift (δ) ไม่ขึ้นกับความถี่ของเครื่อง NMR



tetramethylsilane (TMS)

$$\delta = \frac{\text{(shift in Hz from TMS)}}{\text{(spectrometer frequency in MHz)}}$$

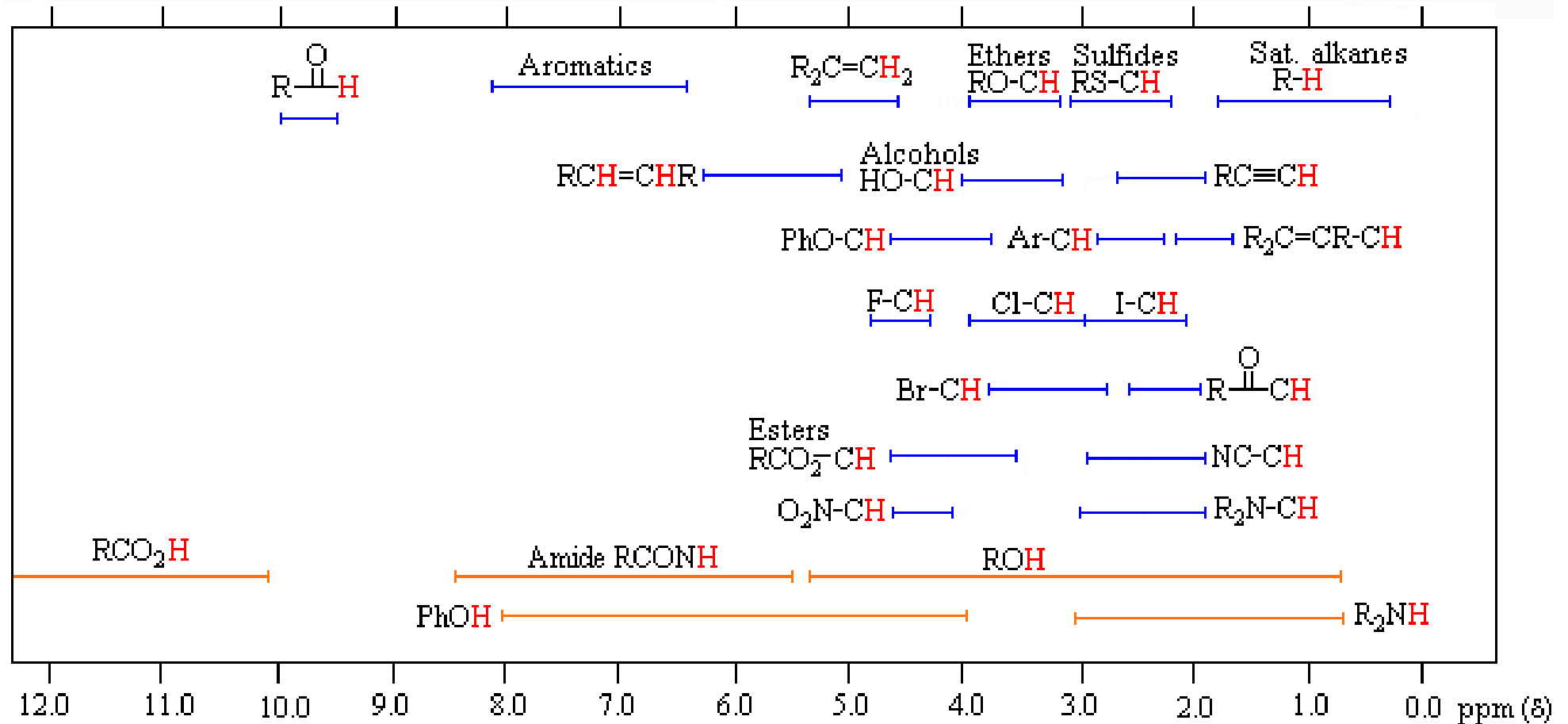
➔

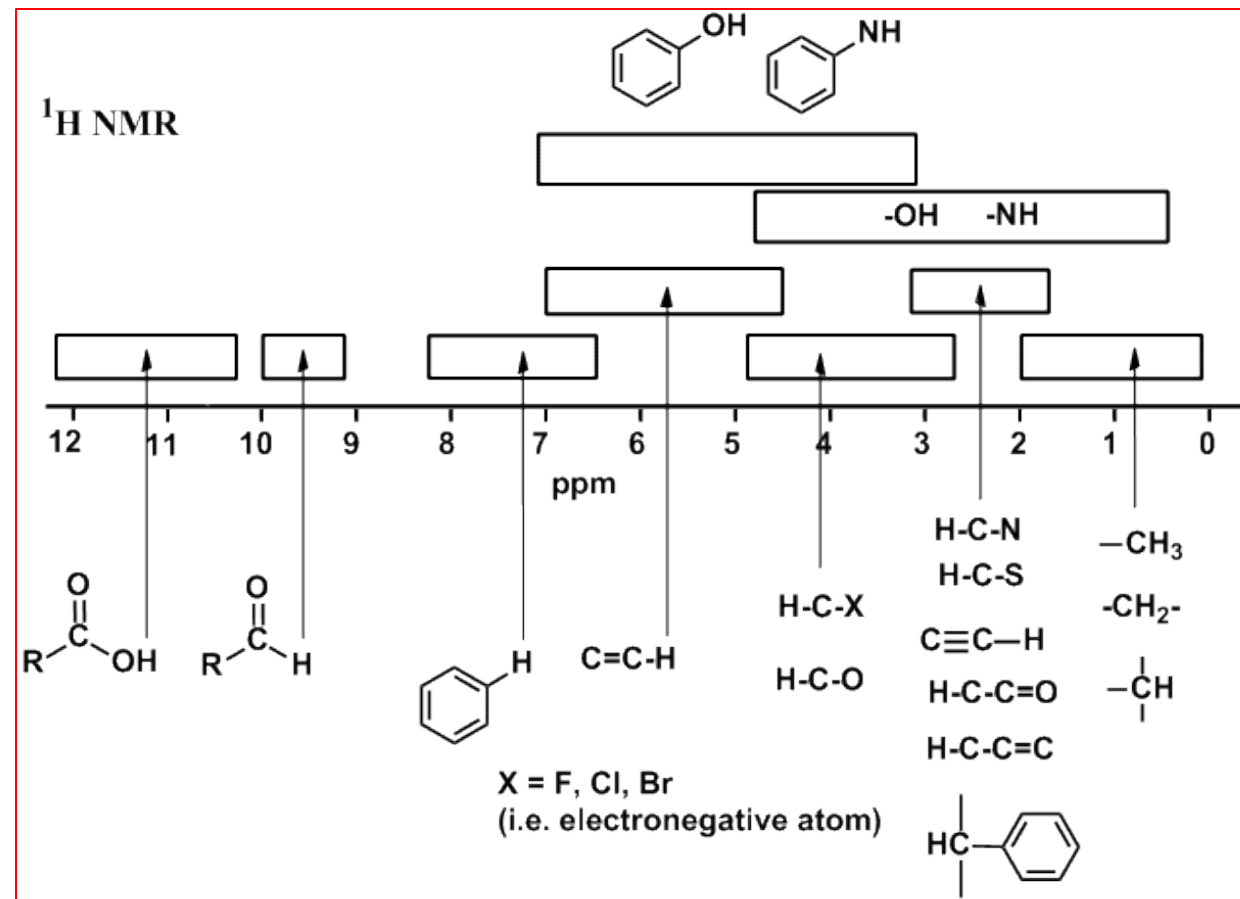
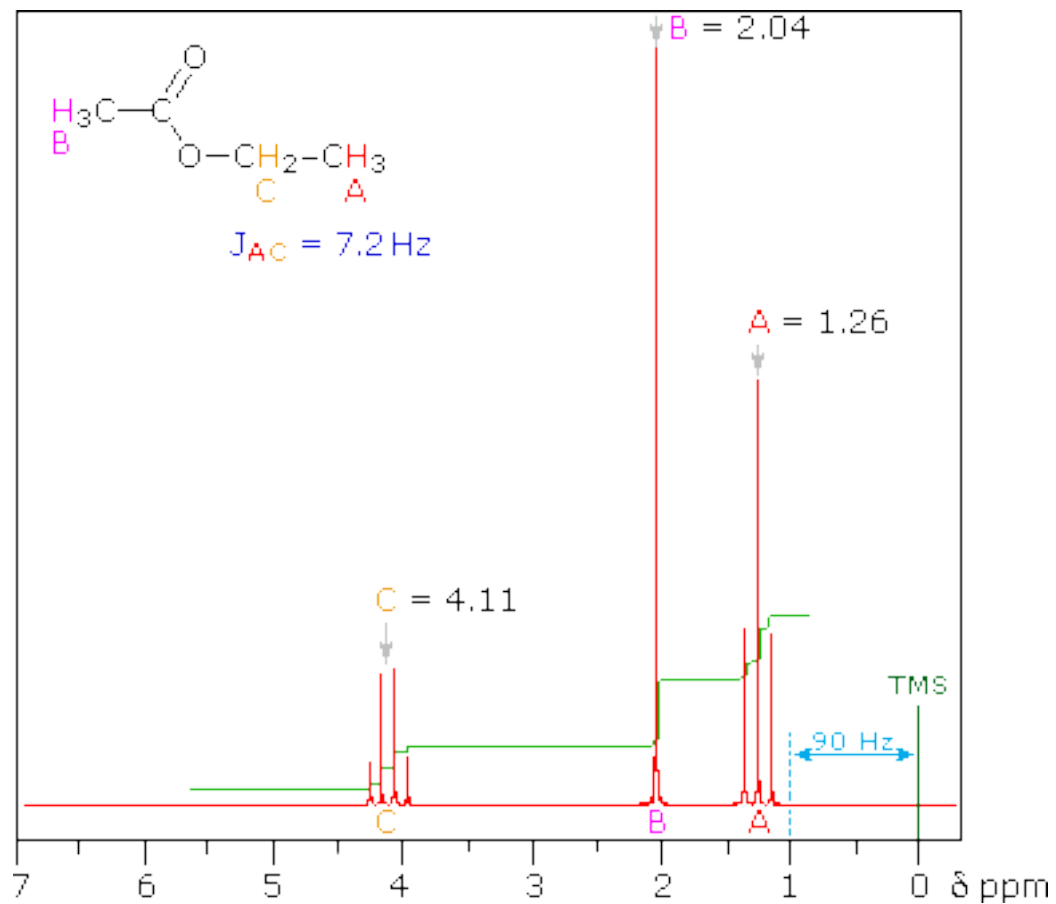
$$\delta = \frac{2181 \text{ Hz} \times 10^6}{300 \times 10^6 \text{ Hz}} = 7.27$$

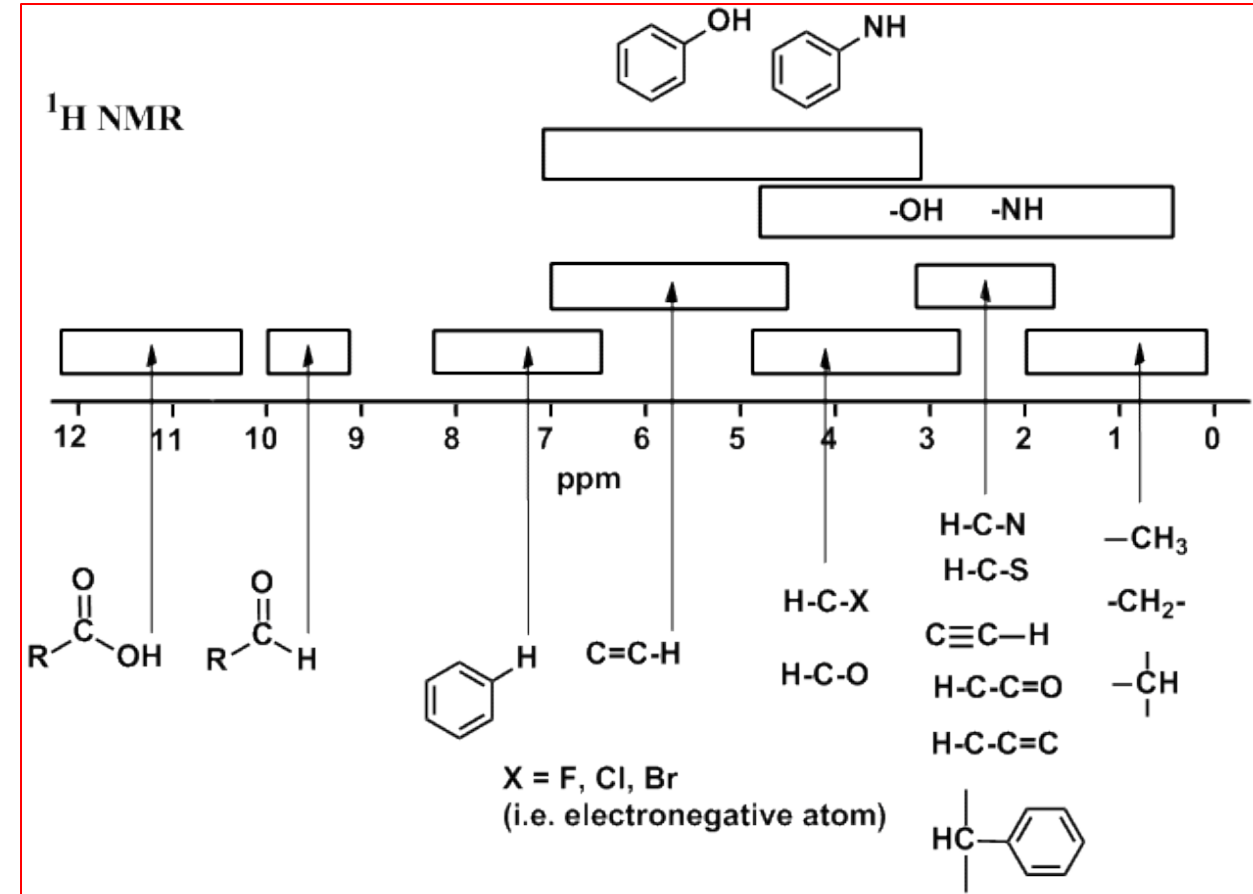
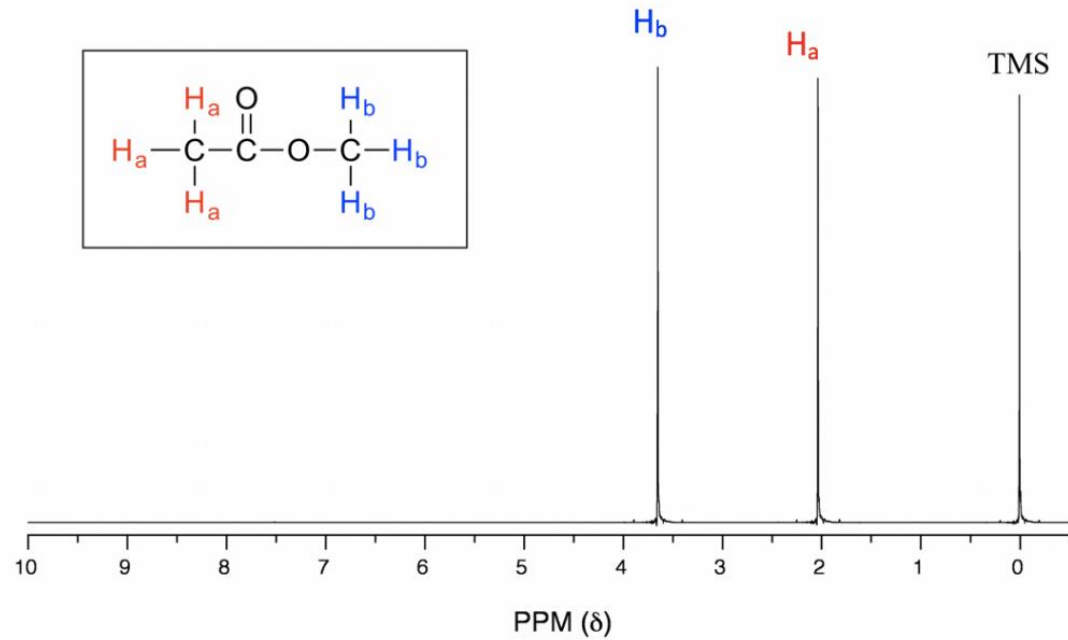
$$\delta = \frac{436 \text{ Hz} \times 10^6}{60 \times 10^6 \text{ Hz}} = 7.27$$

Chemical shift

ค่า chemical shift โดยประมาณของโปรตอนในโมเลกุลประเภทต่าง ๆ

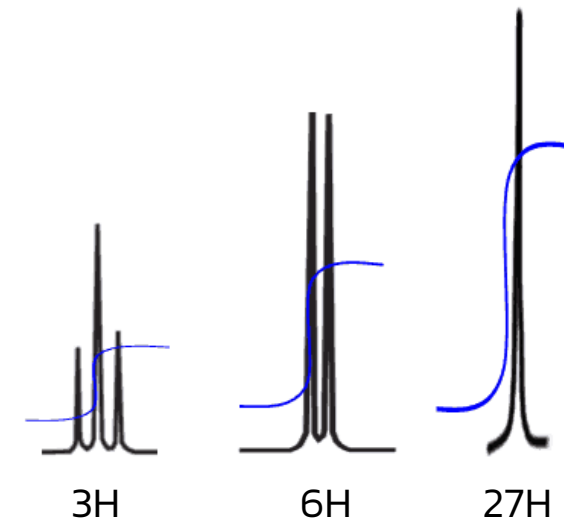
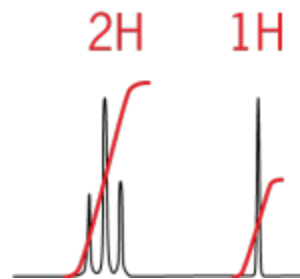
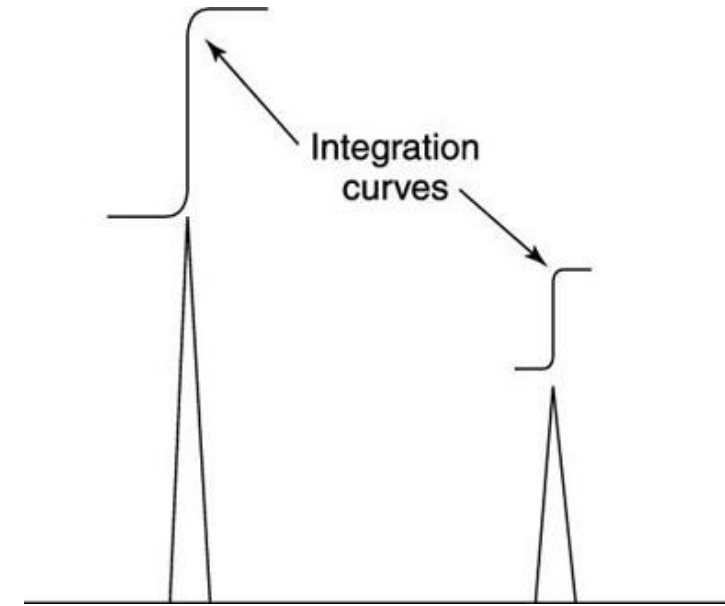




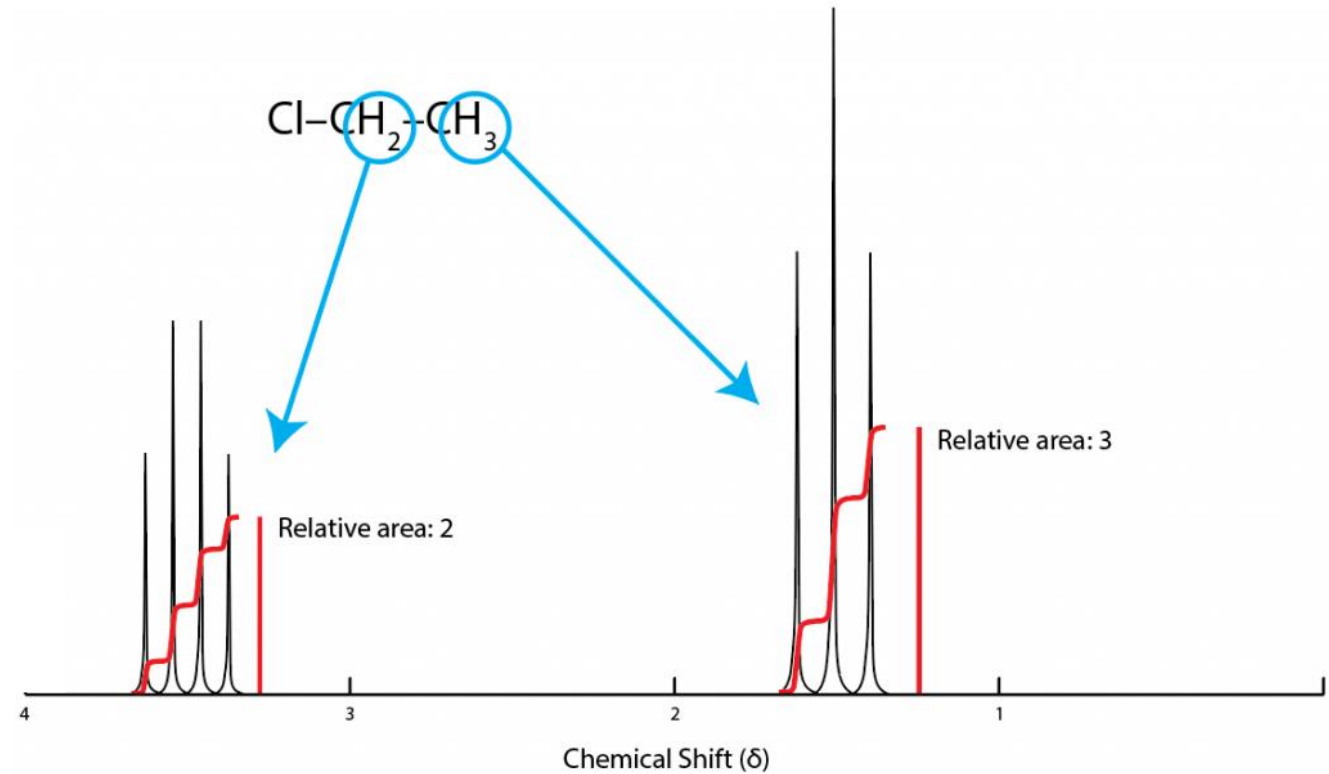
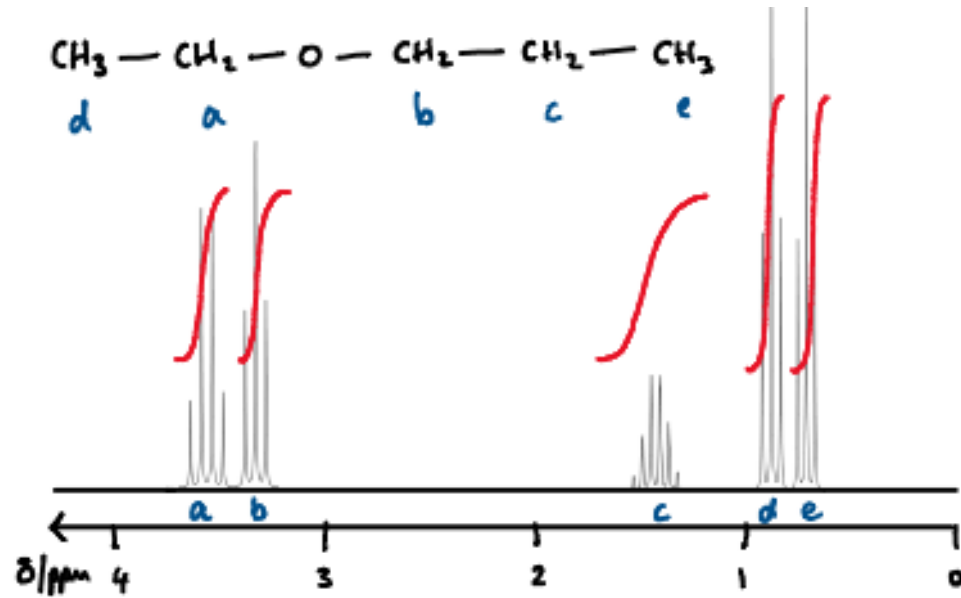


Integration

- พื้นที่ใต้พีคของสัญญาณ NMR จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับจำนวนโปรตอนที่ทำให้สัญญาณนั้น
- สัญญาณ NMR เกิดขึ้นจากการที่โปรตอนดูดกลืนพลังงานเพื่อเปลี่ยนทิศทางการวางตัวในสนามแม่เหล็ก หากมีโปรตอนที่เปลี่ยนทิศทางการวางตัวในสนามแม่เหล็กมากขึ้นเพียงใดก็จะใช้พลังงานมากเท่านั้น ทำให้สัญญาณที่เกิดขึ้นมีความเข้มเปลี่ยนแปลงตามไปด้วย



Integration



<https://chemistrytalk.org/nmr-spectroscopy/>

Spin-spin coupling (J)

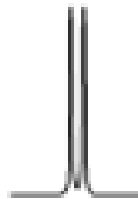
- การเกิดเรโซแนนซ์ของโปรตอนนอกจากจะได้รับอิทธิพลจากอิเล็กตรอนรอบ ๆ นิวเคลียสแล้วยังได้รับอิทธิพลจากนิวเคลียสที่อยู่ข้างเคียงอีกด้วย
 - สนามแม่เหล็กจากสปินของนิวเคลียสที่อยู่ข้างเคียงจะเกิดการ coupling กับสปินของนิวเคลียสที่กำลังทำการศึกษา ทำให้สัญญาณที่เกิดขึ้นเกิดการแยกออก (split) เป็นหลายเส้นโดยมีรูปแบบที่แตกต่างกันทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมทางเคมีของโปรตอนที่น่าสนใจศึกษาและจำนวนโปรตอนที่เกิดการ coupling กัน เรียกว่า multiplicity
 - นิวเคลียสที่เกิดการ coupling กันมักจะอยู่ห่างกันไม่เกิน 3 พันระ จำนวนพีคที่เกิดจากการ coupling สามารถคาดคะเนได้จากกฎ **$2nI+1$**
เมื่อ n คือ จำนวนโปรตอนข้างเคียง
 I คือ spin quantum number
- **ในกรณีของโปรตอนมีค่า I เท่ากับ $1/2$ สามารถคาดคะเน multiplicity โดยใช้กฎ **$n+1$****

Multiplicity

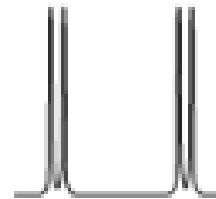
- If there are no neighboring hydrogen atoms, the resonance will be a single peak (*singlet, s*).
- If there is one neighboring hydrogen atom, the resonance is split into two peaks of equal size (*doublet, d*)
- Two neighboring hydrogen atoms will split the resonance into three peaks with the ratio 1:2:1 (*triplet, t*)
- The splitting for a hydrogen atom with two non-equivalent neighboring hydrogen atoms will be two doublets of equal size (*double doublet, dd*)



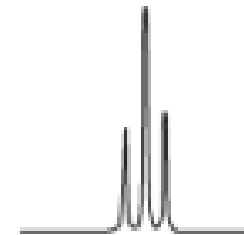
Singlet (s)



Doublet (d)

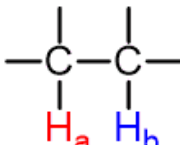
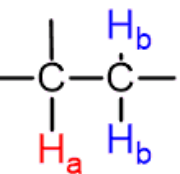
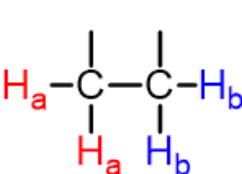
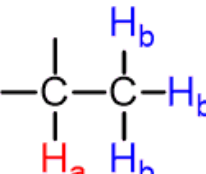


Double Doublet (dd)

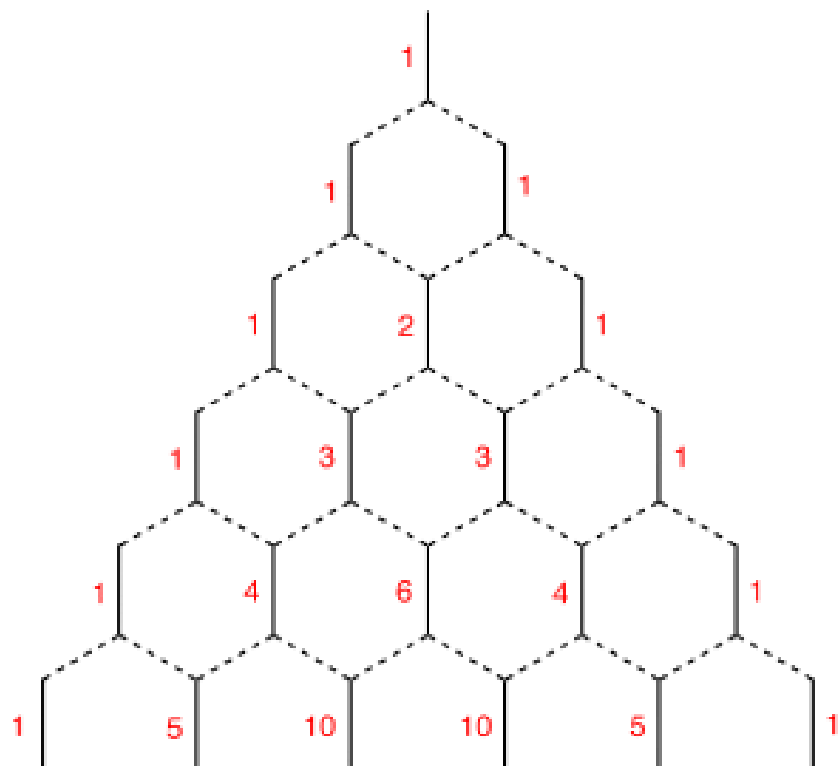


Triplet (t)

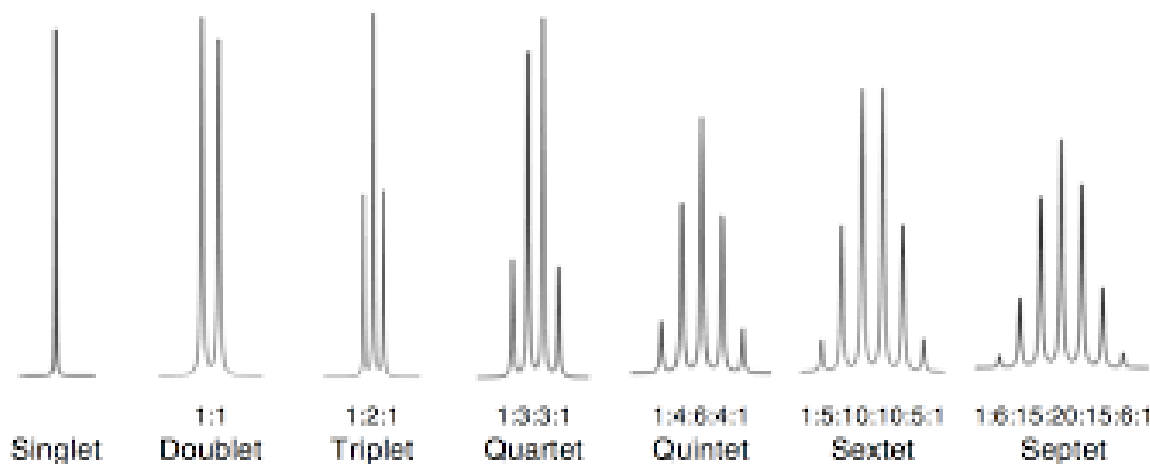
Splitting patterns of H-NMR with the signal into the n+1 rule

<u>Multiplicity</u>	<u>N + 1</u>	H _a	Signal	H _b	<u>N + 1</u>	<u>Multiplicity</u>
Doublet	1+1 = 2				1+1 = 2	Doublet
Triplet	2+1 = 3				1+1 = 2	Doublet
Triplet	2+1 = 3				2+1 = 3	Triplet
Quartet	3+1 = 4				1+1 = 2	Doublet

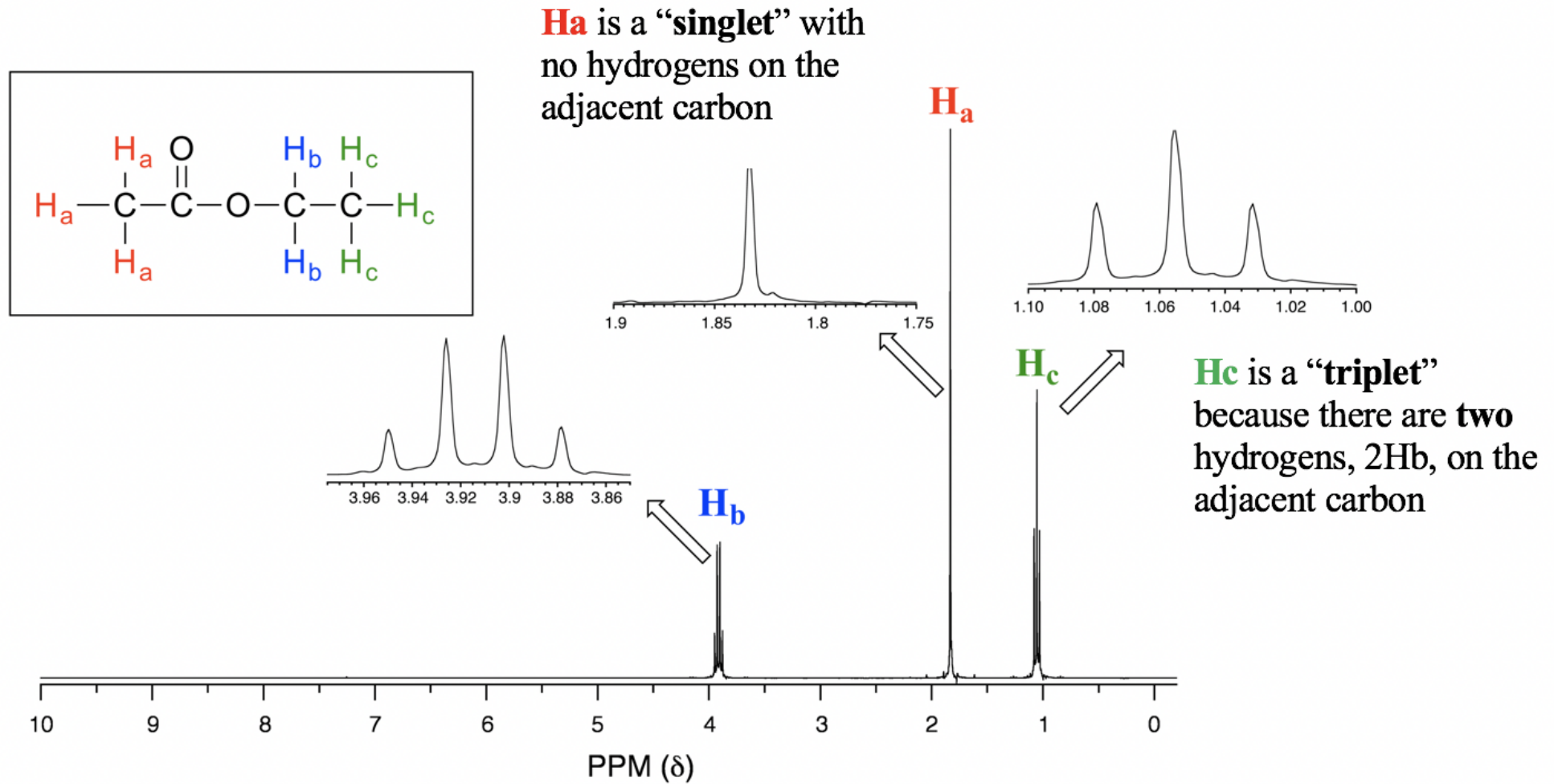
Pascal's triangle



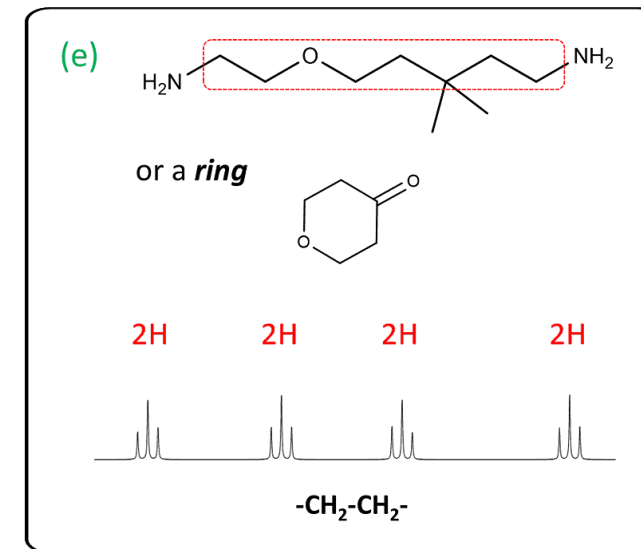
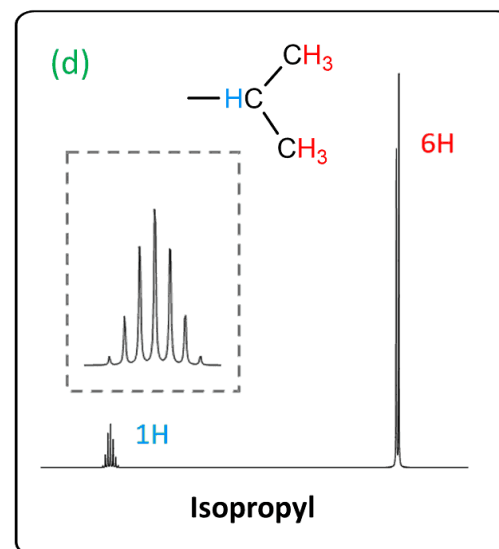
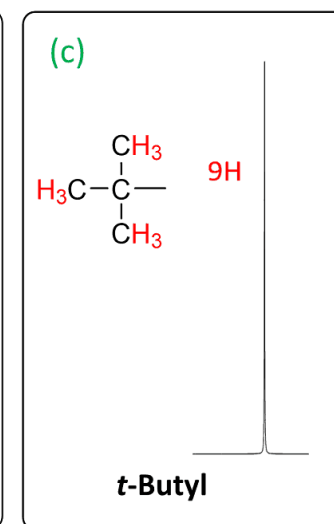
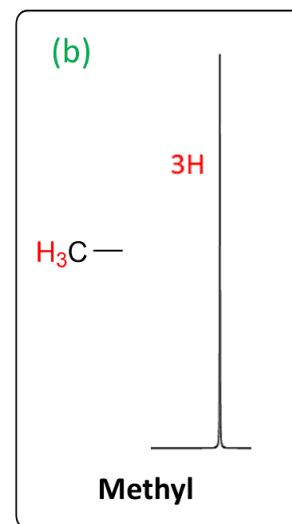
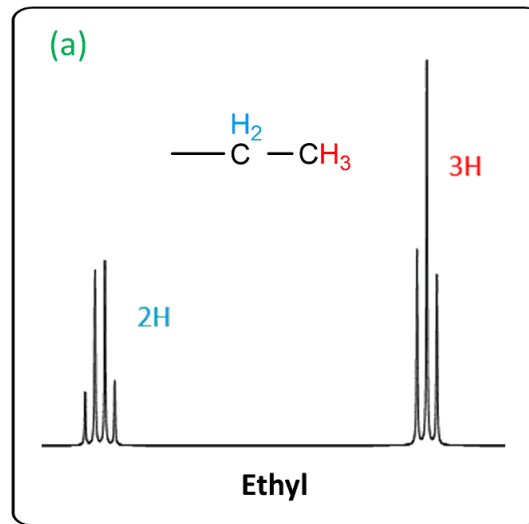
No. of equivalent H atoms causing splitting	Multiplicity (splitting patterns)	Relative peak intensity
1	Singlet	1
2	Doublet	1 : 1
3	Triplet	1 : 2 : 1
4	Quartet	1 : 3 : 3 : 1
5	Quintet	1 : 4 : 6 : 4 : 1
6	Sextet	1 : 5 : 10 : 5 : 1
7	septet	1 : 6 : 15 : 20 : 15 : 6 : 1



Splitting patterns

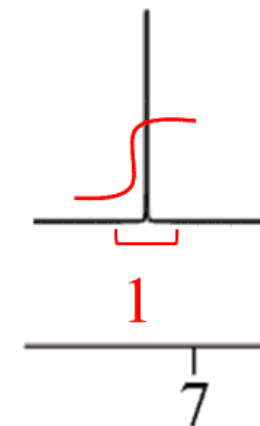
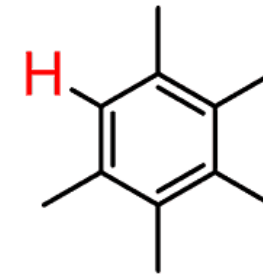
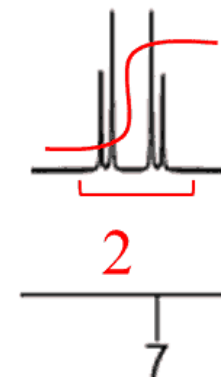
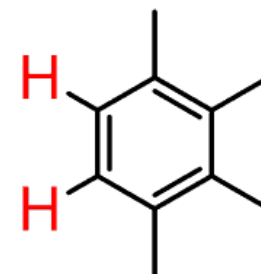
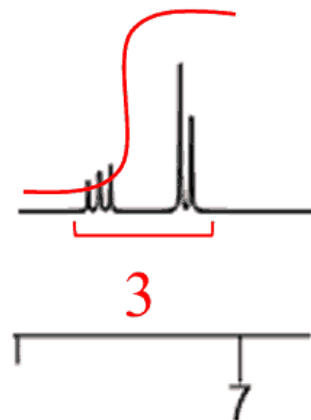
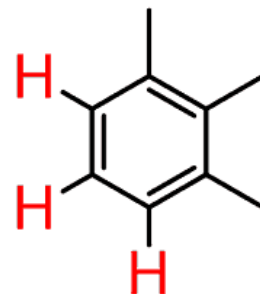
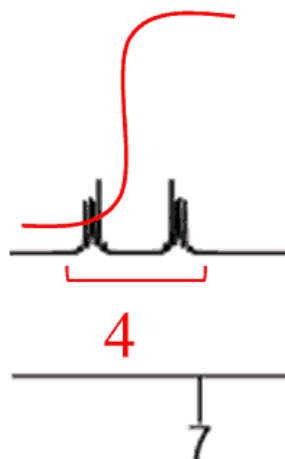
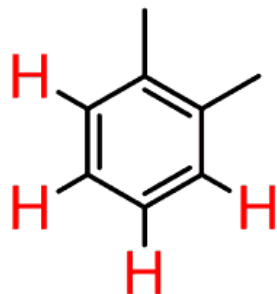
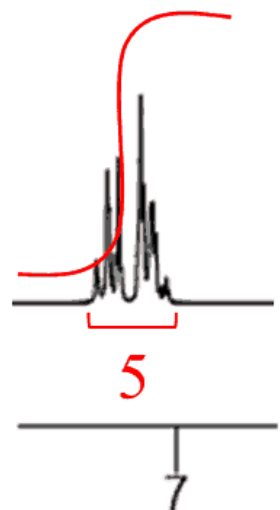
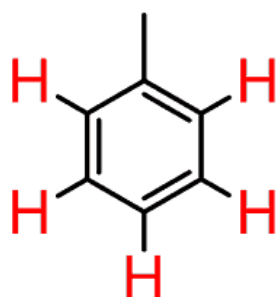


Splitting patterns : Aliphatic



<https://www.chemistrysteps.com/nmr-spectroscopy-carbon-dept-ir-practice-problems/>

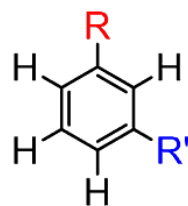
Splitting patterns : Aromatic



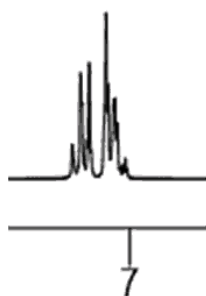
<https://www.chemistrysteps.com/nmr-spectroscopy-carbon-dept-ir-practice-problems/>

Splitting patterns : Aromatic

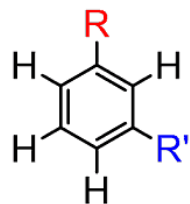
All the protons are non-equivalent and give different signals



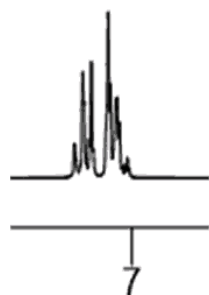
1, 2



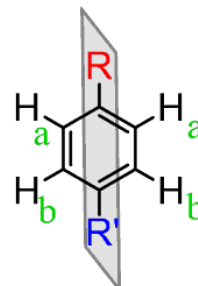
Multiplet



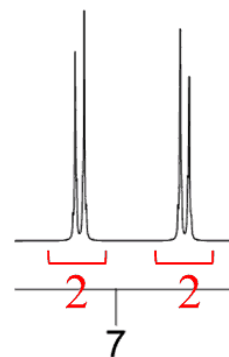
1, 3



Protons (a) and (b) are equivalent and each give one signal - doublet



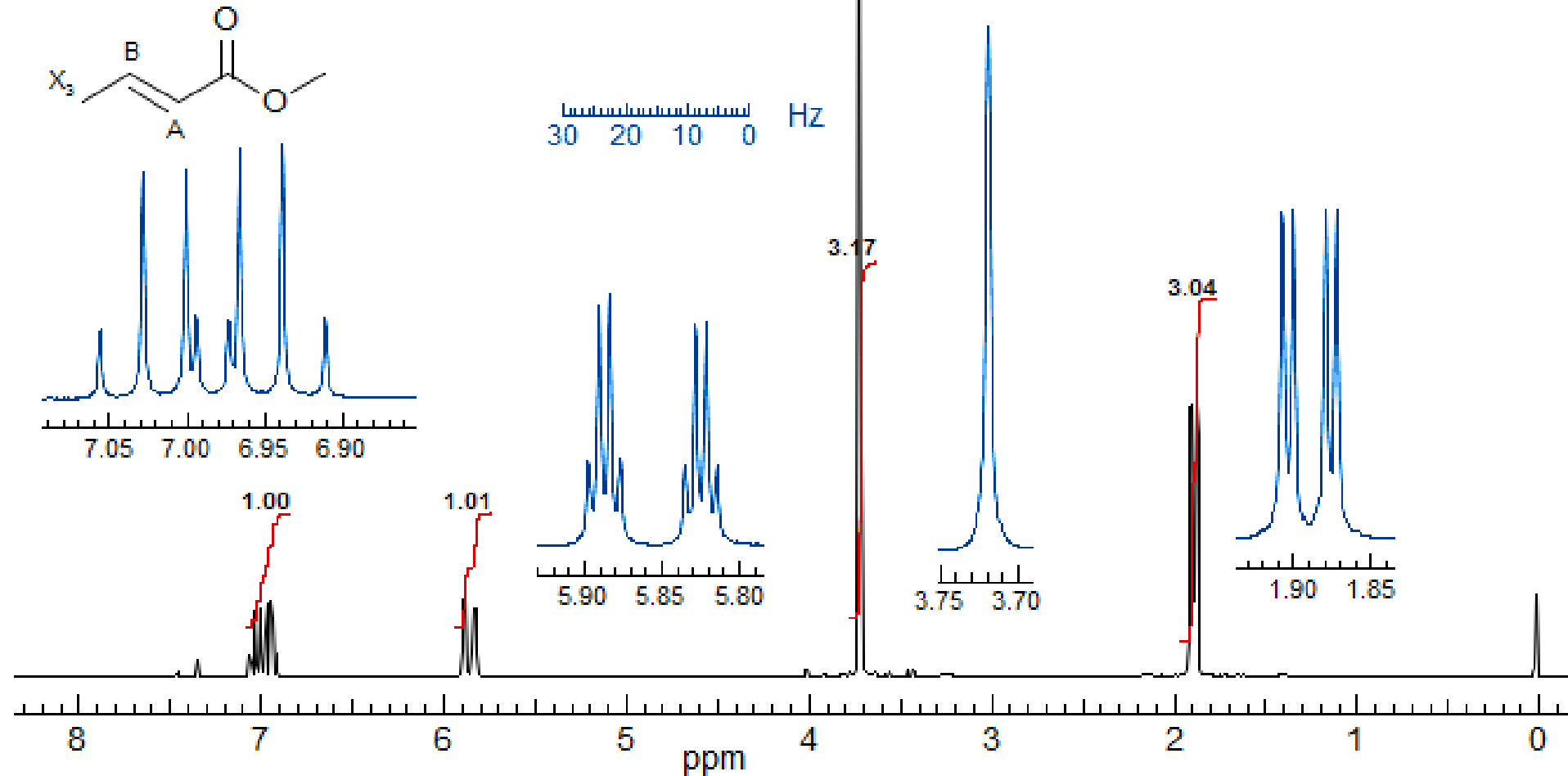
1, 4



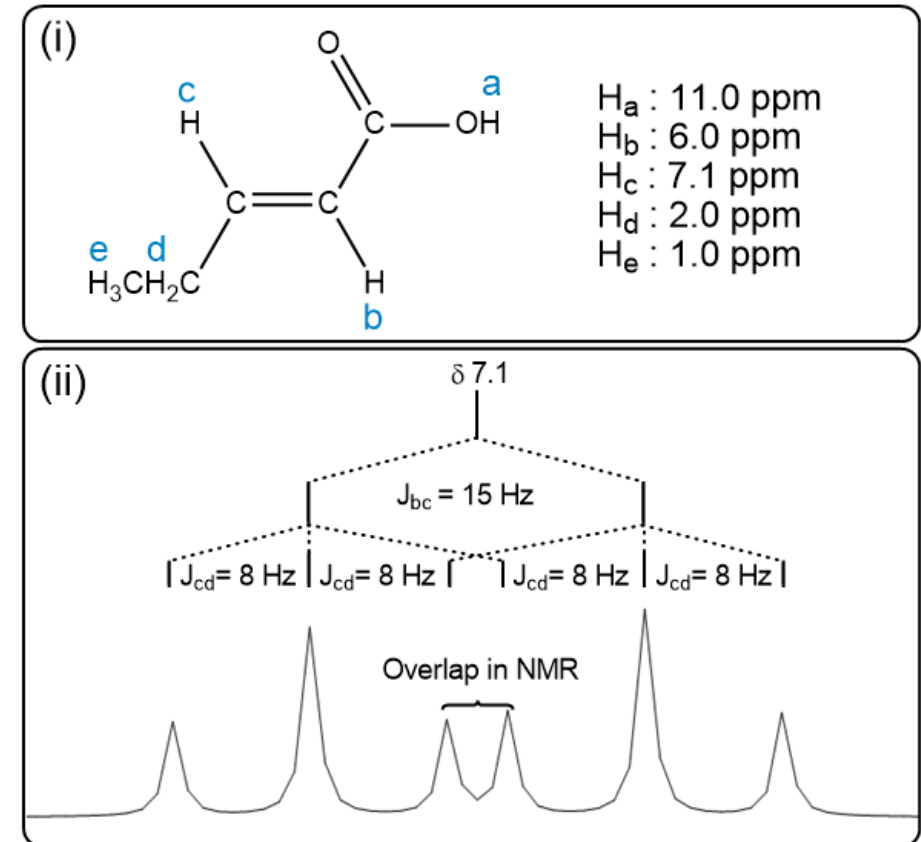
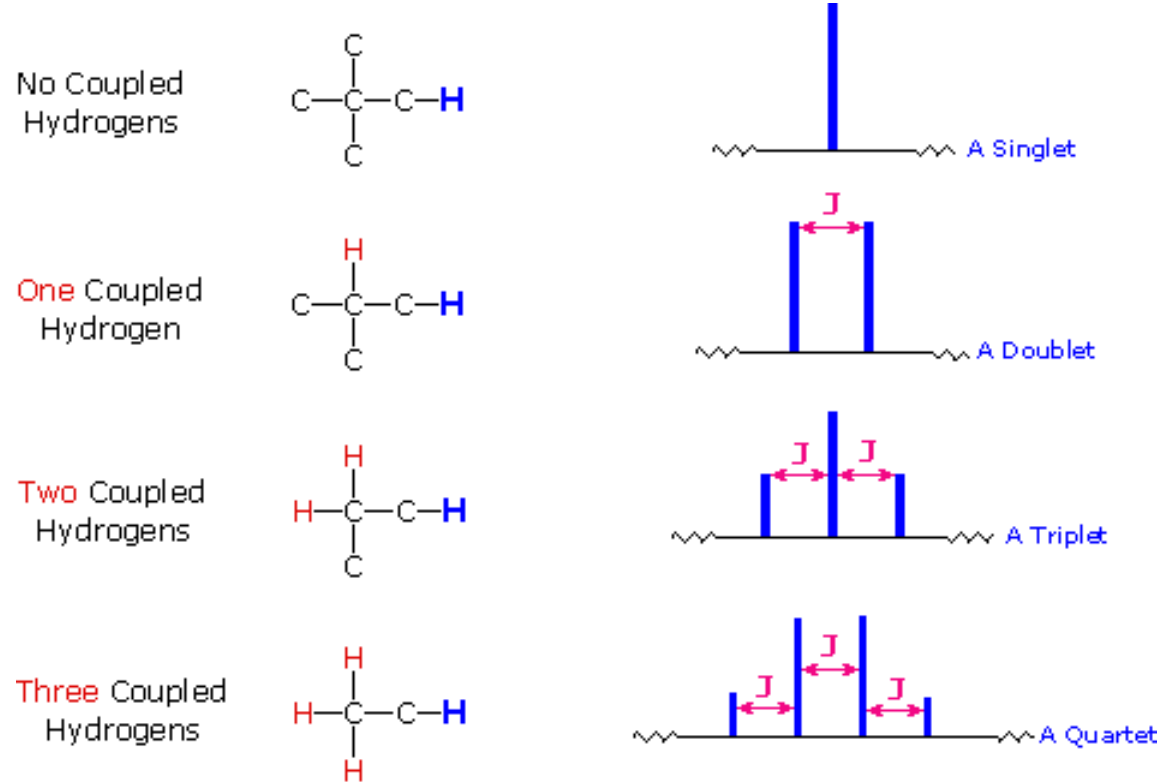
Two Doublets

<https://www.chemistrysteps.com/nmr-spectroscopy-carbon-dept-ir-practice-problems/>

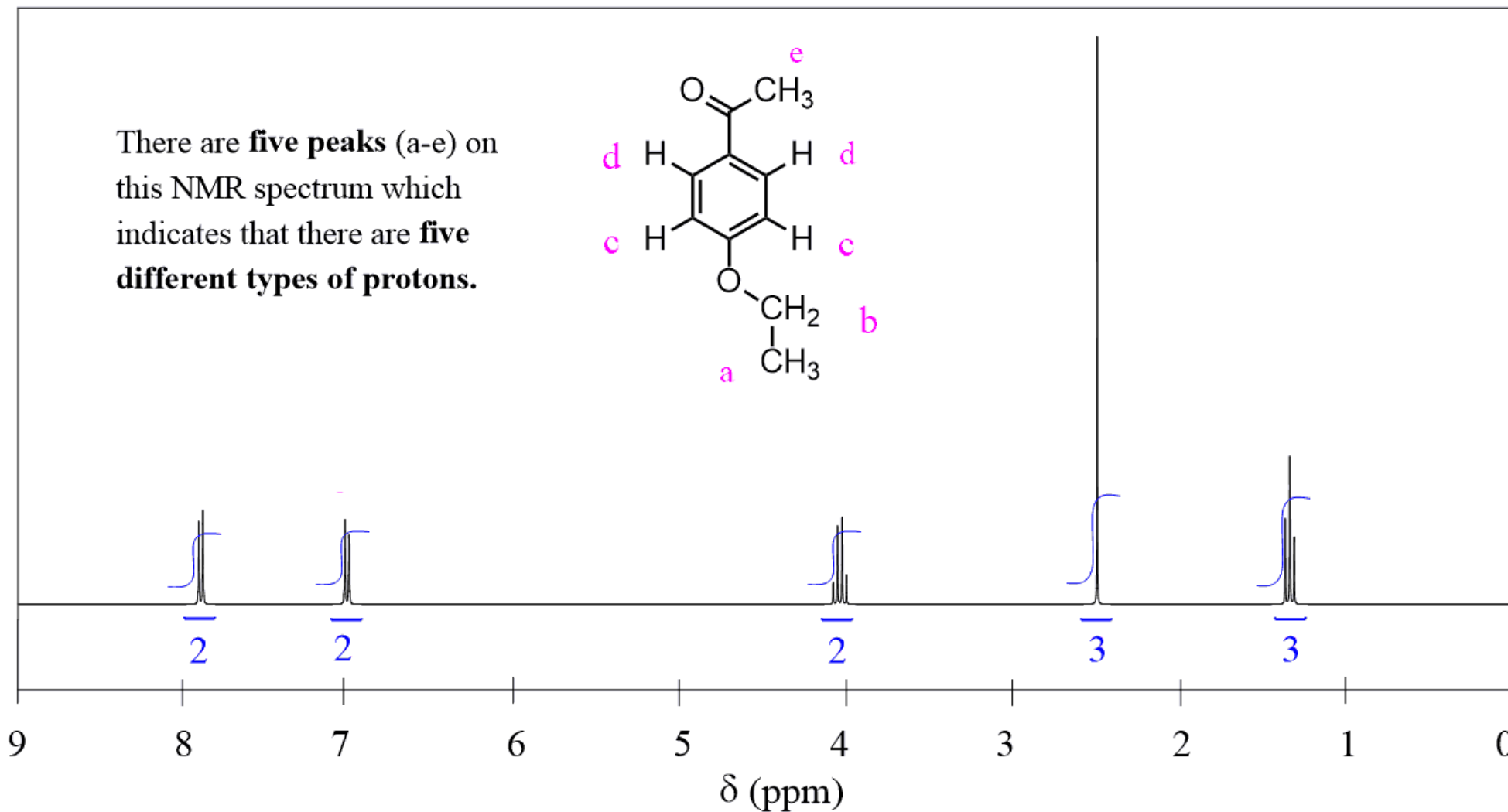
Problem R-27L $C_5H_8O_2$
 250 MHz 1H NMR spectrum in $CDCl_3$
 Source: Adam Fiedler/Reich



Coupling constant or Spin-spin coupling (J)

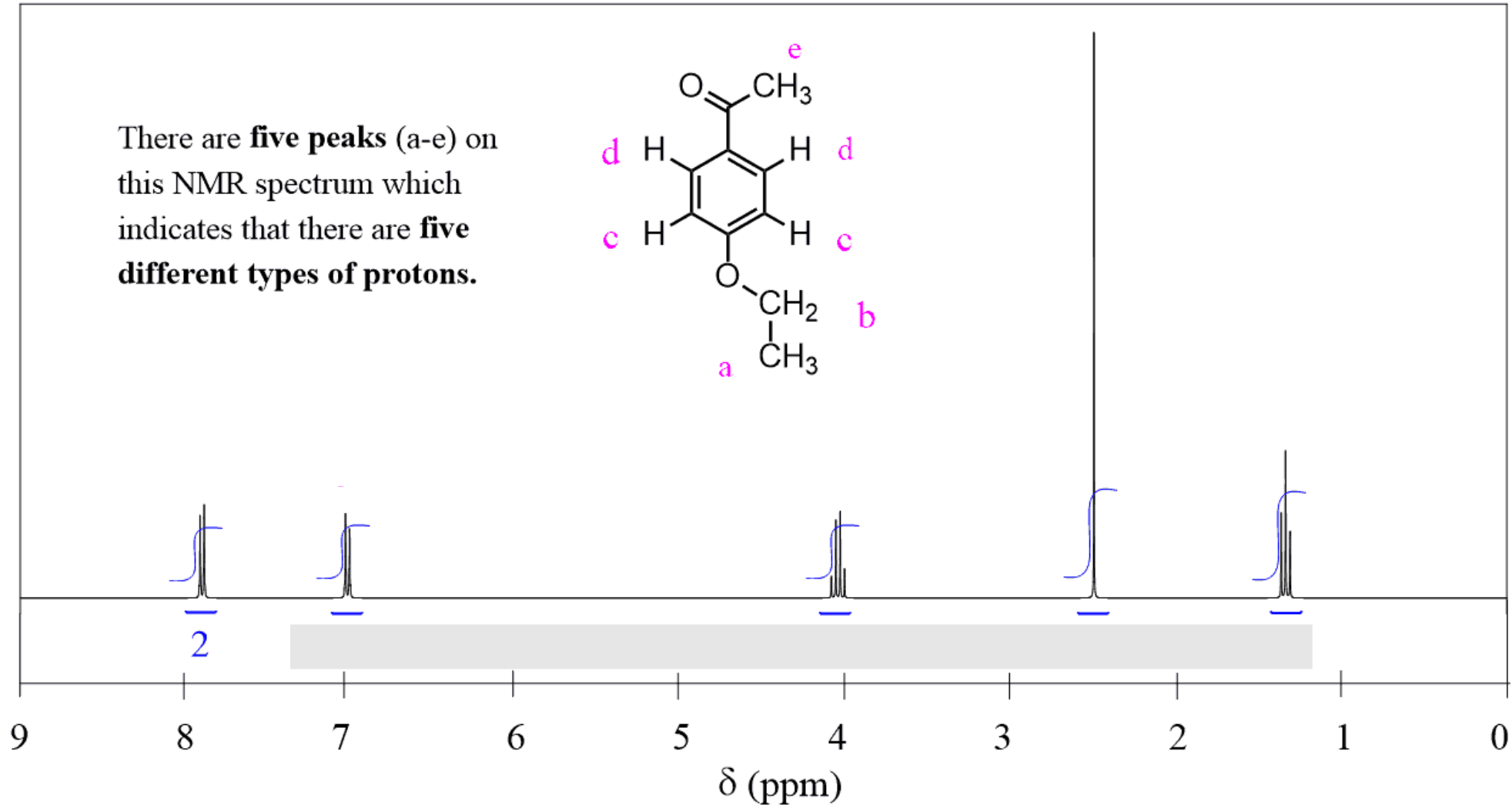


Exercise – 01



Exercise - 02

NMR Spectra



NMR : Applications

การทดสอบด้วย NMR จะให้ข้อมูลที่สำคัญเกี่ยวกับโครงสร้างของสารได้ ดังนี้

- การระบุตำแหน่งของอะตอมในโมเลกุล (allocating particular atoms in a molecule)
- การระบุโครงสร้างของสาร (structural identification)
- การวัดอัตราส่วนของสารในสารผสม (measuring ratio of components in a mixture)
- การบอกโครงแบบสัมพัทธ์ (defining relative configuration)

แบ่งกลุ่มทำกิจกรรม 6.2

มอบหมายโจทย์ให้แต่ละกลุ่ม
ระดมสมองแก้ไขโดยวิธีการ
ร่วมแสดงความคิดเห็น

ให้แต่ละกลุ่มนำเสนอ วิธีการแก้ไขโจทย์ปัญหา

- 1) หลักการสำคัญหรือหลักพื้นฐานที่ถูกต้อง
 - 2) วิธีการคำนวณค่าที่ถูกต้อง
 - 3) วิธีอธิบายเชิงพฤติกรรม (วิธีปฏิบัติ) ที่ถูกต้อง
- โดยให้กลุ่มอื่น ๆ รับฟัง และซักถามในข้อที่สงสัย