



เอกสารประกอบการสอน
รหัสวิชา ST2092312 รายวิชา การวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือ

จัดทำโดย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรวิทย์ จันทร์สุวรรณ

สาขาวิชาเทคโนโลยีสุขภาพ เครื่องสำอางและการชะลอวัย
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร

2569

คำนำ

เอกสารประกอบการสอน รหัสวิชา ST2092312 รายวิชา การวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือ (Instrumental Analysis) นี้ได้แบ่งเนื้อหาการเรียนการสอนเป็น 6 หน่วยเรียน แบ่งเป็น 15 บทเรียน ตลอดหลักสูตรใช้เวลาสอนรวม 15 สัปดาห์ รายวิชานี้มุ่งเน้นให้ผู้เรียนมีความรู้ความสามารถเข้าใจในหลักการพื้นฐานเครื่องวิเคราะห์ทางเคมี ประกอบด้วย วิธียูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี วิธียอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี วิธียสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนและเปล่งออก วิธียโครมาโทกราฟี วิธียวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้า วิธียวิเคราะห์ด้วยเทคนิคทางเอกซเรย์และนิวเคลียร์ ตลอดจนวิธีการคำนวณและประยุกต์ความรู้ ความเข้าใจเพื่อใช้ในการค้นคว้า แสวงหาวิธีการแก้ไขปัญหาจากแหล่งข้อมูลที่ต้องตามหลักวิชาการ และการประยุกต์ใช้เครื่องมือวิเคราะห์ทางวิทยาศาสตร์ได้อย่างถูกต้องและปลอดภัย มีจรรยาบรรณและความรับผิดชอบ มีความละเอียดรอบคอบ และสามารถทำงานร่วมกับผู้อื่นได้อย่างมีประสิทธิภาพ

เอกสารประกอบการสอนนี้ ได้เรียบเรียงขึ้นจากประสบการณ์ในการจัดการเรียนการสอนในระดับปริญญาตรีที่เกี่ยวข้องกับความรู้ทางเคมีพื้นฐานหรือเคมีขั้นสูง โดยเรียบเรียงเนื้อหาที่สามารถทำความเข้าใจได้ง่ายไปยังเนื้อหาที่มีความซับซ้อนขึ้นตามลำดับ และได้อ้างอิงจากแหล่งข้อมูลที่หลากหลาย เช่น หนังสือวารสารวิจัย บทความ และเว็บไซต์ที่ถูกต้อง เอกสารประกอบการสอนนี้จะเป็นประโยชน์ต่อการจัดการเรียนรู้ระหว่างผู้สอนและผู้เรียนในระดับปริญญาตรี และจะเป็นส่วนหนึ่งสำหรับผู้เรียนและผู้สนใจในการศึกษาเพิ่มเติมและเรียนรู้ด้วยตนเอง เพื่อเป็นประโยชน์สำหรับการศึกษาต่อในระดับสูงขึ้น หรือการทำโครงการวิจัย เป็นต้น

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรวิทย์ จันทร์สุวรรณ

มิถุนายน 2569

สารบัญ

หน้า

คำนำ.....	ก
สารบัญ.....	ข
บัญชีภาพ	จ
บัญชีตาราง.....	ฎ
ลักษณะรายวิชา.....	ฐ
การแบ่งหน่วย/บทเรียน/หัวข้อ.....	๗
จุดประสงค์การสอน.....	ด
การประเมินรายวิชา	ท
ตารางกำหนดน้ำหนักคะแนน	ธ
กำหนดการสอน.....	น
หน่วยที่ 1 วิธียิวี-วิธีเบล สเปกโทรสโกปี	
บทเรียน 1.1 การดูดกลืนระดับโมเลกุล	1
1.1.1 อันตรกิริยาระหว่างโฟตอนกับสสาร.....	1
1.1.2 การดูดกลืนรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า.....	5
1.1.3 กฎการดูดกลืนและการเบี่ยงเบน.....	15
1.1.4 ปฏิบัติการกราดสเปกตรัมการดูดกลืนแสงและกฎของเบียร์	22
บทเรียน 1.2 ส่วนประกอบของเครื่องมือและเทคนิคการวัด	25
1.2.1 ประเภทของสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนและเปล่งออก	25
1.2.2 ส่วนประกอบของเครื่อง UV-Vis	27
1.2.3 การเตรียมตัวอย่างและการเจือจาง	36
1.2.4 ปฏิบัติการส่วนประกอบของเครื่อง UV-Vis และเทคนิคการเตรียมตัวอย่าง	42
บทเรียน 1.3 การวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วยเทคนิค UV-Vis.....	45
1.3.1 การวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ	45
1.3.2 วิธีการทำปริมาณวิเคราะห์.....	46
1.3.3 วิธีเติมสารมาตรฐาน	51
1.3.4 ปฏิบัติการสร้างกราฟมาตรฐานความเข้มข้นและการวิเคราะห์ปริมาณ	53
หน่วยที่ 2 วิธีอินฟราเรด สเปกโทรสโกปี	55
บทเรียน 2.1 หลักการพื้นฐานวิธีอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี	55
2.1.1 การสั่นของพันธะโมเลกุล.....	55
2.1.2 อินฟราเรดสเปกตรัม.....	62
2.1.3 องค์ประกอบของเครื่อง FT-IR.....	66
2.1.4 ปฏิบัติการวิเคราะห์อินฟราเรดสเปกตรัมของสารอินทรีย์.....	72
บทเรียน 2.2 การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง FT-IR	75
2.2.1 การแปลผลอินฟราเรดสเปกตรัม.....	75

	หน้า
2.2.2 วิธีการเตรียมตัวอย่าง.....	84
2.2.3 การประยุกต์ใช้เทคนิค FT-IR ในด้านอาหารและเครื่องสำอาง	87
2.2.4 ปฏิบัติการวัดสารตัวอย่างด้วยเทคนิค FT-IR	89
หน่วยที่ 3 วิเคราะห์สเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนและเปล่งออก.....	91
บทเรียน 3.1 สเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนระดับอะตอม	91
3.1.1 การดูดกลืนระดับอะตอม.....	91
3.1.2 หลักการและส่วนประกอบของเครื่อง AAS	93
3.1.3 การทำปริมาณวิเคราะห์และการตรวจสอบความใช้ได้.....	104
3.1.4 ปฏิบัติการปริมาณโลหะตกค้างในตัวอย่างอาหารหรือเครื่องสำอาง.....	108
บทเรียน 3.2 สเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออกระดับอะตอม	111
3.2.1 การเปล่งออกระดับอะตอม	111
3.2.2 ส่วนประกอบของเครื่อง ICP-OES	113
3.2.3 การทำปริมาณวิเคราะห์.....	119
3.2.4 ปฏิบัติการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP-OES	120
บทเรียน 3.3 สเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออกระดับโมเลกุล	123
3.3.1 การเปล่งออกระดับโมเลกุล.....	123
3.3.2 สเปกโทรสโกปีเปล่งออก.....	128
3.3.3 ส่วนประกอบของเครื่องฟลูออเรสเซนซ์ สเปกโทรโฟโตมิเตอร์	131
3.3.4 ปฏิบัติการวัดการวาวแสงด้วยเครื่องฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรโฟโตมิเตอร์.....	132
หน่วยที่ 4 วิธีโครมาโทกราฟี.....	135
บทเรียน 4.1 โครมาโทกราฟีแบบแก๊ส	135
4.1.1 ส่วนประกอบของเครื่อง GC.....	135
4.1.2 ประสิทธิภาพของคอลัมน์และตัวตรวจวัด	146
4.1.3 การทำปริมาณวิเคราะห์และการแปลผล	156
4.1.4 ปฏิบัติการโครมาโทกราฟีแบบแก๊ส	164
บทเรียน 4.2 โครมาโทกราฟีแบบของเหลวแรงดันสูง	167
4.2.1 หลักการและส่วนประกอบของเครื่อง HPLC.....	167
4.2.2 ประสิทธิภาพการแยก.....	177
4.2.3 การทำปริมาณวิเคราะห์และการประยุกต์	183
4.2.4 ปฏิบัติการโครมาโทกราฟีแบบของเหลวแรงดันสูง	185
บทเรียน 4.3 การวิจัยและการประยุกต์เทคนิคโครมาโทกราฟี.....	187
4.3.1 การประยุกต์เทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแก๊ส	187
4.3.2 การประยุกต์เทคนิคโครมาโทกราฟีแบบของเหลวแรงดันสูง.....	189
4.3.3 ปฏิบัติการประยุกต์ใช้โครมาโทกราฟีกับอาหารหรือเครื่องสำอาง.....	192

	หน้า
หน่วยที่ 5 วิธีวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้า	195
บทเรียน 5.1 หลักการวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้า.....	195
5.1.1 ศักย์ไฟฟ้าของเซลล์ไฟฟ้าเคมี.....	195
5.1.2 ขั้วไฟฟ้า.....	206
5.1.3 ปฏิบัติการเซลล์ไฟฟ้าเคมี	210
บทเรียน 5.2 เทคนิคการวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้า.....	213
5.2.1 วิธีโพเทนชิโอเมตริก.....	213
5.2.2 วิธีการนำไฟฟ้า	216
5.2.3 วิธีคูลอม	218
5.2.4 ปฏิบัติการวัดศักย์ไฟฟ้าด้วยวิธีโพเทนชิโอเมตริกไทเทรชัน	219
หน่วยที่ 6 วิธีวิเคราะห์ด้วยเทคนิคทางเอกซเรย์และนิวเคลียร์	221
บทเรียน 6.1 เทคนิครังสีเอกซ์	221
6.1.1 สมบัติรังสีเอกซ์.....	221
6.1.2 เทคนิค X-ray Diffraction	234
6.1.3 เทคนิค X-ray Fluorescence (XRF).....	235
6.1.4 ปฏิบัติการทดสอบวัสดุและวัตถุดิบ	241
บทเรียน 6.2 นิวเคลียร์สเปกโทรสโกปี.....	243
6.2.1 นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ สเปกโทรสโกปี	243
6.2.2 ส่วนประกอบเครื่อง NMR.....	248
6.2.3 ปฏิบัติการทดสอบเชิงคุณภาพด้วย NMR.....	251
บรรณานุกรม.....	253
ประวัติผู้เขียน.....	255

บัญชีภาพ

หน้า

ภาพที่ 1.1	รูปแบบการแทรกนชิชั้นของอนุภาค	1
ภาพที่ 1.2	ย่านของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าและชนิดการเปลี่ยนแปลงที่เกิดจากอันตรกิริยาของโฟตอน กับสารที่สนใจ.....	3
ภาพที่ 1.3	ออร์บิทัลเชิงโมเลกุล.....	6
ภาพที่ 1.4	แผนภาพการแทรกนชิชั้นของซิกมาอิเล็กทรอนิกส์ พายอิเล็กทรอนิกส์ และอิเล็กทรอนิกส์ที่ไม่ได้สร้างพันธะ ...	7
ภาพที่ 1.5	การแทรกนชิชั้นของอิเล็กทรอนิกส์จาก HOMO ไปยัง LUMO	7
ภาพที่ 1.6	แผนภาพการแทรกนชิชั้นของ (ก) แก๊สไฮโดรเจน (H_2) และ (ข) เอทิลีน	8
ภาพที่ 1.7	สเปกตรัมการดูดกลืนของสารประกอบคาร์บอนิล	10
ภาพที่ 1.8	ย่านความยาวคลื่นของการดูดกลืนเนื่องจากการแทรกนชิชั้นของอิเล็กทรอนิกส์.....	10
ภาพที่ 1.9	ผลของสเปกตรัมที่เกิดบาโทโครมิก ฮิโปโครมิก ไฮเปอร์โครมิก และไฮโปโครมิก	11
ภาพที่ 1.10	ผลของออกโซโครมบนเบนซีน.....	12
ภาพที่ 1.11	แผนภาพการถ่ายโอนอิเล็กทรอนิกส์	13
ภาพที่ 1.12	แผนภาพการถ่ายโอนประจุอิเล็กทรอนิกส์ (ก) LMCT และ (ข) MLCT	14
ภาพที่ 1.13	สเปกตรัมดูดกลืนแสงของไอออนเชิงซ้อนของเหล็ก-พีแนนโทโรลีน	14
ภาพที่ 1.14	สเปกตรัมการดูดกลืนของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองคำ.....	15
ภาพที่ 1.15	ตัวอย่างสเปกตรัมการดูดกลืน	16
ภาพที่ 1.16	สเปกตรัมดูดกลืน (ภาพซ้าย) และโครงสร้าง.....	16
ภาพที่ 1.17	แสงที่อาจเกิดขึ้นเมื่อแสงตกกระทบสารตัวอย่าง	17
ภาพที่ 1.18	ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนกับร้อยละความส่องผ่าน (%T)	18
ภาพที่ 1.19	ความสัมพันธ์ระหว่างการดูดกลืนแสงกับระยะทางตามกฎของเบียร์	19
ภาพที่ 1.20	การเบี่ยงเบนจากกฎของเบียร์.....	21
ภาพที่ 1.21	แผนภาพพลังงานของการดูดกลืนโฟตอน.....	25
ภาพที่ 1.22	สเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืน	26
ภาพที่ 1.23	แผนภาพพลังงานของการเปล่งโฟตอนของอะตอมหรือโมเลกุล.....	26
ภาพที่ 1.24	สเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออก	26
ภาพที่ 1.25	แผนภาพส่วนประกอบหลักของเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์	27
ภาพที่ 1.26	ส่วนประกอบหลักของเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์.....	27
ภาพที่ 1.27	แหล่งกำเนิดแสง	29
ภาพที่ 1.28	ชนิดตัวแยกแสงเดี่ยว	29
ภาพที่ 1.29	ประเภทตัวแยกแสงเดี่ยวแบบเกรตติง.....	30
ภาพที่ 1.30	ความกว้างของแถบแสงใช้งาน	30
ภาพที่ 1.31	ลักษณะคิวเวตต์.....	31
ภาพที่ 1.32	สเปกตรัมการดูดกลืนของวัสดุที่ทำคิวเวตต์	32
ภาพที่ 1.33	ตัววัดแสงชนิดโฟโตทิวบ์	33
ภาพที่ 1.34	ตัววัดแสงชนิดโฟโตมัลติพลายเออร์ทิวบ์	33
ภาพที่ 1.35	แผนภาพองค์ประกอบของเครื่องวัดการดูดกลืนชนิดลำแสงเดี่ยว	34

ภาพที่ 1.36	สเปกโทรสโกปีชนิดลำแสงเดี่ยว diode array spectrophotometer	35
ภาพที่ 1.37	องค์ประกอบของเครื่องวัดการดูดกลืนชนิดลำแสงคู่ (ตัววัดแสงหนึ่งตัว)	36
ภาพที่ 1.38	องค์ประกอบของเครื่องวัดการดูดกลืนชนิดลำแสงคู่ (ตัววัดแสงสองตัว)	36
ภาพที่ 1.39	แนวคิดการเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์	37
ภาพที่ 1.40	การเผาตัวอย่างในเตาเผา.....	39
ภาพที่ 1.41	เครื่องย่อยด้วยคลื่นไมโครเวฟ.....	41
ภาพที่ 1.42	สเปกตรัมดูดกลืนแสงของสารละลาย $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$	46
ภาพที่ 1.43	ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงกับสเปกตรัมดูดกลืนแสงของสารละลาย $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$	46
ภาพที่ 1.44	กราฟมาตรฐานความเข้มข้น	47
ภาพที่ 1.45	ไอออนเชิงซ้อนระหว่างเหล็ก(II) กับฟิแนนโทรลีน.....	48
ภาพที่ 1.46	สารละลายไอออนเชิงซ้อนเหล็ก(II)-ฟิแนนโทรลีน	49
ภาพที่ 1.47	กราฟมาตรฐานความเข้มข้นของไอออนเชิงซ้อนเหล็ก-ฟิแนนโทรลีน.....	49
ภาพที่ 1.48	ผลการทำกราฟมาตรฐานเมทริกซ์แมทซ์มีความชันเท่ากัน	51
ภาพที่ 1.49	ผลการทำกราฟมาตรฐานเมทริกซ์แมทซ์ความชันไม่เท่ากัน.....	51
ภาพที่ 1.50	กราฟมาตรฐานของวิธีการเติมสารมาตรฐาน.....	52
ภาพที่ 2.1	ลักษณะการสั่นแบบยืด	55
ภาพที่ 2.2	ลักษณะการสั่นแบบแบงอ	56
ภาพที่ 2.3	จำนวนการสั่นแบบพื้นฐานของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์	56
ภาพที่ 2.4	จำนวนการสั่นแบบพื้นฐานของน้ำ.....	57
ภาพที่ 2.5	แบบจำลองตัวแกว่งกวัดฮาร์มอนิกอย่างง่าย.....	58
ภาพที่ 2.6	อินฟราเรดสเปกตรัม 2-hexanone	62
ภาพที่ 2.7	อินฟราเรดสเปกตรัม 1-butanol.....	64
ภาพที่ 2.8	การสั่นบริเวณ fingerprint region	64
ภาพที่ 2.9	แหล่งกำเนิดแสง Nernst glower.....	66
ภาพที่ 2.10	รูปแบบอินฟราเรดสเปกตรัม.....	68
ภาพที่ 2.11	ส่วนประกอบของเครื่องอินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์แบบกระจายแสง	69
ภาพที่ 2.12	ส่วนประกอบของเครื่อง FT-IR ใช้ Michelson interferometer	69
ภาพที่ 2.13	แผนภาพการทำงานของ FT-IR (ก) การแทรกสอด และ (ข) ลักษณะ interferogram.....	70
ภาพที่ 2.14	ฟูรีเยร์แปลง interferogram	71
ภาพที่ 2.15	เทคนิคการวิเคราะห์ด้วย FT-IR แบบ transmittance และ reflectance	72
ภาพที่ 2.16	เทคนิคการวิเคราะห์ด้วย ATR-FT-IR	72
ภาพที่ 2.17	ลักษณะทั่วไปของอินฟราเรดสเปกตรัม.....	75
ภาพที่ 2.18	ลักษณะพีกของพันธะ C-H (แบบงอ) ของหมู่ไอโซโพรพิลและหมู่เทอเทียรีบิวทิล	80
ภาพที่ 2.19	อินฟราเรดสเปกตรัมของเฮกเซน (n-hexane).....	80
ภาพที่ 2.20	อินฟราเรดสเปกตรัมของไซโคลเฮกเซน	80
ภาพที่ 2.21	ลักษณะบ่งชี้ของการสั่นของพันธะ =C-H (แบบงอ).....	82
ภาพที่ 2.22	อินฟราเรดสเปกตรัม cis-2-pentene และ trans-2-pentene.....	82
ภาพที่ 2.23	อินฟราเรดสเปกตรัมของ 1-hexyne	83

	หน้า
ภาพที่ 2.24 อินฟราเรดสเปกตรัมของ 2-hexyne	83
ภาพที่ 2.25 เซลล์บรรจุตัวอย่างสถานะแก๊ส	84
ภาพที่ 2.26 เซลล์บรรจุตัวอย่างสถานะของเหลว.....	84
ภาพที่ 2.27 แผนภูมิของตัวทำละลายที่ใช้ในเทคนิค IR.....	85
ภาพที่ 2.28 ชุดอุปกรณ์เตรียมจานโพแทสเซียมโบรไมด์	86
ภาพที่ 2.29 อินฟราเรดสเปกตรัมของนุจอล	87
ภาพที่ 3.1 ลักษณะสเปกตรัมดูดกลืนและเปล่งออก.....	91
ภาพที่ 3.2 แผนภาพระดับพลังงานของ Na	92
ภาพที่ 3.3 แสดงระดับของพลังงานการดูดกลืนแสงของอะตอมโซเดียม	93
ภาพที่ 3.4 องค์ประกอบที่สำคัญของเครื่อง AAS	95
ภาพที่ 3.5 หลอดฮอลโลว์แคโทด.....	96
ภาพที่ 3.6 ขั้นตอนการปล่อยรังสีของหลอดฮอลโลว์แคโทด	96
ภาพที่ 3.7 หลอดปล่อยประจุแบบไม่มีขั้ว	97
ภาพที่ 3.8 ขั้นตอนอะตอมไอเซชันด้วยความร้อนจากเปลวไฟ.....	98
ภาพที่ 3.9 องค์ประกอบของตะเกียงแบบลามินาร์.....	99
ภาพที่ 3.10 ประเภทของเนบิวไลเซอร์	100
ภาพที่ 3.11 วิธีอะตอมไมเซอร์ graphite furnace atomization	101
ภาพที่ 3.12 โมนโครมาเตอร์แบบเกรตติง (echelle grating)	103
ภาพที่ 3.13 หลอดไฟโคมัลติฟลายเออร์	104
ภาพที่ 3.14 แผนภาพพลังงานของอะตอม Na	111
ภาพที่ 3.15 แผนภาพการเปล่งออกของอะตอม Na	112
ภาพที่ 3.16 แผนภาพพลังงานของอะตอม Na	112
ภาพที่ 3.17 สเปกตรัมเปล่งออกของอะตอม Na (ที่อุณหภูมิ 3000 K).....	113
ภาพที่ 3.18 แผนภาพคบ (torch).....	114
ภาพที่ 3.19 ขั้นตอนการเกิดพลาสมา (plasma discharge).....	114
ภาพที่ 3.20 อุณหภูมิของพลาสมาแต่ละโซน	115
ภาพที่ 3.21 ส่วนประกอบหลักของเครื่อง ICP-OES	115
ภาพที่ 3.22 คบพลาสมา	117
ภาพที่ 3.23 รูปแบบการวัดการเปล่งออก	118
ภาพที่ 3.24 รูปแบบระบบตรวจวัดของแผนภาพส่วนประกอบเครื่อง ICP-OES.....	118
ภาพที่ 3.25 ขีดจำกัดในการตรวจวัดธาตุต่าง ๆ ด้วยเทคนิค ICP-OES.....	119
ภาพที่ 3.26 ขีดจำกัดในการตรวจวัดธาตุด้วยเทคนิคต่าง ๆ	120
ภาพที่ 3.27 แผนภาพพลังงานของการเปล่งไฟตอนของอะตอมหรือโมเลกุล.....	123
ภาพที่ 3.28 สเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออก	123
ภาพที่ 3.29 การเปลี่ยนระดับพลังงานของอิเล็กตรอนที่สถานะพื้นซิงเกิลต สถานะกระตุ้นซิงเกิลต และสถานะกระตุ้นทริปเปต.....	125
ภาพที่ 3.30 ระดับพลังงาน Jablonski เกี่ยวกับการดูดกลืนและการแผ่รังสี	126
ภาพที่ 3.31 แผนภาพแสดงระดับพลังงาน Jablonski เกี่ยวกับการวาวแสงและการเรืองแสง.....	129

ภาพที่ 3.32	แผนภาพพลังงานระหว่างการเปล่งออก (ก) ระดับอะตอม และ (ข) ระดับโมเลกุล.....	130
ภาพที่ 3.33	สเปกตรัม (ก) การเปล่งออกระดับอะตอม และ (ข) การเปล่งออกระดับโมเลกุล	130
ภาพที่ 3.34	แผนภาพส่วนประกอบของเครื่องฟลูออเรสเซนซ์ สเปกโทรโฟโตมิเตอร์	131
ภาพที่ 4.1	หลักการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี.....	135
ภาพที่ 4.2	ส่วนประกอบของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี	136
ภาพที่ 4.3	ผลของแก๊สตัวพาที่มีต่อประสิทธิภาพการแยกและเวลาการวิเคราะห์.....	138
ภาพที่ 4.4	ส่วนฉีดสารตัวอย่าง (injector port).....	139
ภาพที่ 4.5	วาล์วควบคุมการฉีด (gas sampling valve)	139
ภาพที่ 4.6	เข็มฉีด (gas syringe).....	140
ภาพที่ 4.7	คอลัมน์แบบแพ็ค	142
ภาพที่ 4.8	คอลัมน์แบบแคปิลารี	142
ภาพที่ 4.9	ประเภทคอลัมน์แคปิลารี.....	143
ภาพที่ 4.10	แผนผังแสดงการชะสารผสมของตัวถูกละลาย 2 ชนิดในเทคนิคโครมาโทกราฟี	146
ภาพที่ 4.11	โครมาโทแกรมของเฮปเทน (Heptane) ที่ได้จากคอลัมน์ที่มีความยาว 50 cm.....	148
ภาพที่ 4.12	อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ส่งผลโดยตรงต่อ HETP	150
ภาพที่ 4.13	ตัวตรวจวัด FID.....	151
ภาพที่ 4.14	ตัวตรวจวัด TCD.....	152
ภาพที่ 4.15	ตัวตรวจวัด FPD	153
ภาพที่ 4.16	ตัวตรวจวัด FTD	154
ภาพที่ 4.17	ตัวตรวจวัด ECD.....	155
ภาพที่ 4.18	ลักษณะสำคัญของโครมาโทแกรม.....	156
ภาพที่ 4.19	ตัวแปรการหน่วง.....	157
ภาพที่ 4.20	รูปทรงของพีค.....	158
ภาพที่ 4.21	ประสิทธิภาพการแยก	159
ภาพที่ 4.22	แสดงการหาค่า w_{1R} และ w_{2L} จากโครมาโทแกรมของพีคที่ไม่สมมาตร	159
ภาพที่ 4.23	โครมาโทแกรมแสดงการวัดค่าความกว้างของพีคด้านซ้ายและขวาที่มีความสูง 0.15h	160
ภาพที่ 4.24	องค์ประกอบของโครมาโทแกรมของ GC	160
ภาพที่ 4.25	โครมาโทแกรมเปรียบเทียบระหว่างสารมาตรฐานกับสารตัวอย่าง	162
ภาพที่ 4.26	การวัดค่าความสูงของพีคและวัดพื้นที่ใต้พีค.....	162
ภาพที่ 4.27	แผนภาพองค์ประกอบของเทคนิค HPLC.....	168
ภาพที่ 4.28	รูปแบบการชะโดยใช้ตัวทำละลาย	169
ภาพที่ 4.29	วาล์วเป็นระบบ six-port	172
ภาพที่ 4.30	ลักษณะคอลัมน์ในระบบ HPLC	173
ภาพที่ 4.31	วัสดุบรรจุในคอลัมน์ (packing material).....	173
ภาพที่ 4.32	โครงสร้างทางเคมีของคอลัมน์ระบบ Normal Phase.....	174
ภาพที่ 4.33	โครงสร้างทางเคมีของคอลัมน์ระบบ Reverse Phase.....	175
ภาพที่ 4.34	การทำจำนวนเพลตของคอลัมน์	179
ภาพที่ 4.35	แผนภาพโครมาโทแกรมแสดงตัวแปรของประสิทธิภาพการแยก	180

ภาพที่ 4.36 ผลของการปรับความแรงตัวทำละลาย (ก) ความสัมพันธ์ระหว่าง R กับ k' และ (ข) ผลของการลดความแรงของตัวทำละลาย B (a) 80%, (b) 70%, (c) 60%.....	181
ภาพที่ 4.37 การปรับความเข้มข้นของตัวทำละลาย B อย่างละเอียด (a) 48%, (b) 47% และ (c) 46%...	181
ภาพที่ 4.38 อิทธิพลของความเป็นกรด-เบสของเฟสเคลื่อนที่ (pH).....	182
ภาพที่ 4.39 ผลการเปลี่ยนชนิดของคอลัมน์.....	183
ภาพที่ 4.40 โครมาโทแกรมอนุพันธ์ฟอร์มาลดีไฮด์ โดยใช้เครื่อง GC-FID	189
ภาพที่ 4.41 โครมาโทแกรม (ก) คาเฟอีนมาตรฐาน 60 $\mu\text{g/mL}$ และ (ข) สารตัวอย่าง.....	190
ภาพที่ 4.42 ขั้นตอนการวิเคราะห์และโครมาโทแกรมของอนุพันธ์ฟอร์มาลดีไฮด์ด้วย 2,4-DNPH.....	191
ภาพที่ 5.1 ความต่างศักย์ไฟฟ้าในเซลล์กัลวานิกของ Zn/Cu.....	195
ภาพที่ 5.2 เซลล์กัลวานิก.....	196
ภาพที่ 5.3 ส่วนประกอบขั้วไฟฟ้า	207
ภาพที่ 5.4 ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์	208
ภาพที่ 5.5 ขั้วไฟฟ้าไฮโดรเจนมาตรฐาน	209
ภาพที่ 5.6 เปรียบเทียบค่าศักย์ไฟฟ้าของขั้ว SHE, Ag/AgCl และ SCE.....	209
ภาพที่ 5.7 แผนภาพเซลล์ไฟฟ้าเคมีของวิธีโพเทนชิอเมทรี.....	213
ภาพที่ 5.8 ขั้วไฟฟ้าพีเอช (pH electrode).....	214
ภาพที่ 5.9 ขั้วไฟฟ้าตรวจวัดเอนไซม์ยูรีเอส (urease electrode)	215
ภาพที่ 5.10 แผนภาพการวัดศักย์ด้วยวิธีไทเทรต	216
ภาพที่ 5.11 การนำไฟฟ้าของสารละลาย.....	217
ภาพที่ 5.12 ส่วนประกอบเครื่องวัดการนำไฟฟ้า.....	217
ภาพที่ 5.13 เซลล์วัดการนำไฟฟ้า.....	218
ภาพที่ 6.1 ส่วนประกอบหลอดรังสีเอกซ์.....	222
ภาพที่ 6.2 สเปกตรัมรังสีเอกซ์ที่ใช้เป้าโลหะ Mo	224
ภาพที่ 6.3 สเปกตรัมรังสีเอกซ์ที่ใช้เป้าโลหะ Cu และแผนภาพระดับพลังงาน.....	224
ภาพที่ 6.4 แสดงการเกิดรังสีเอกซ์แบบต่อเนื่อง	225
ภาพที่ 6.5 สเปกตรัมรังสีเอกซ์แบบต่อเนื่องเมื่อความต่างศักย์แตกต่างกัน	225
ภาพที่ 6.6 แสดงการเกิดรังสีเอกซ์ลักษณะเฉพาะตัว.....	226
ภาพที่ 6.7 การเกิด Auger electron	226
ภาพที่ 6.8 รังสีเอกซ์กลุ่มชุดชั้น K, L, และ M.....	227
ภาพที่ 6.9 สเปกตรัมหลอดรังสีเอกซ์ที่มีทองแดงเป็นเป้า.....	227
ภาพที่ 6.10 รังสีเอกซ์เฉพาะตัวของกลุ่มชั้น K และกลุ่มชั้น L.....	228
ภาพที่ 6.11 อันตรกิริยาของรังสีเอกซ์กับสสาร	229
ภาพที่ 6.12 อันตรกิริยาของรังสีเอกซ์กับวัตถุ.....	229
ภาพที่ 6.13 สเปกตรัมดูดกลืนของตะกั่วและซิลเวอร์.....	230
ภาพที่ 6.14 แผนภาพการแทรกนชิชั้นใน X-ray absorption spectroscopy (XAS)	231
ภาพที่ 6.15 การเกิดรังสีเอกซ์เรือง	232
ภาพที่ 6.16 รังสีเอกซ์ตามวงโคจร (shell).....	232

ภาพที่ 6.17	รังสีเอกซ์ตามวงโคจรย่อย (subshell)	233
ภาพที่ 6.18	แผนภาพเครื่องวิเคราะห์การเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์	235
ภาพที่ 6.19	สัญลักษณ์ของรังสีเอกซ์เฉพาะตัวจากการเปลี่ยนชั้นของอิเล็กตรอน	236
ภาพที่ 6.20	รังสีเอกซ์	237
ภาพที่ 6.21	รังสีเอกซ์เฉพาะตัวจากอิเล็กตรอนในชั้นย่อย	237
ภาพที่ 6.22	แอมพลิจูดของอิเล็กตรอนในชั้น K, L, M และแอมพลิจูดของคาร์บอน ไนโตรเจนและออกซิเจน	238
ภาพที่ 6.23	ระบบวิเคราะห์แบบ WDX	240
ภาพที่ 6.24	ระบบวิเคราะห์แบบกระจายพลังงาน	241
ภาพที่ 6.25	แสดงการจัดเรียงตัวของสปินของโปรตอนเมื่ออยู่ในสนามแม่เหล็กภายนอก	244
ภาพที่ 6.26	แสดงการเคลื่อนที่ของโปรตอนในสนามแม่เหล็ก	244
ภาพที่ 6.27	แสดงผลต่างของระดับพลังงานของ ^1H และ ^{13}C	245
ภาพที่ 6.28	การเปลี่ยนสัญญาณ Free Induction Decay (FID) เป็นสเปกตรัม NMR	246
ภาพที่ 6.29	แสดงองค์ประกอบของข้อมูลที่ใช้ในการแปลผลสเปกตรัม NMR	246
ภาพที่ 6.30	การดูคลื่นพลังงานย่านความถี่คลื่นวิทยุของโปรตอนและการเกิดเรโซแนนซ์	247
ภาพที่ 6.31	การผ่อนคลาย (ก) แบบสปินกับแลตทิซ และ (ข) แบบสปินกับสปิน	248
ภาพที่ 6.32	องค์ประกอบหลักของเครื่อง NMR	248
ภาพที่ 6.33	แผนภาพส่วนประกอบของเครื่อง CW-NMR	249
ภาพที่ 6.34	ส่วนประกอบของเครื่อง FT-NMR	250
ภาพที่ 6.35	แผนภาพส่วนประกอบของเครื่อง FT-NMR	250
ภาพที่ 6.36	การแปลงฟูเรียร์ของแอสิตอน (1) โดเมนเวลา และ (2) โดเมนความถี่	251

บัญชีตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1.1 เทคนิคทางสเปกโทรสโกปี.....	2
ตารางที่ 1.2 เทคนิคสเปกโทรสโกปีที่เกี่ยวข้องกับการถ่ายเทพลังงานระหว่างโฟตอนกับสสาร	3
ตารางที่ 1.3 ความยาวคลื่นและประเภทการแทรกซื่นของวิธีเชิงสเปกโทรสโกปี.....	4
ตารางที่ 1.4 เทคนิคสเปกโทรสโกปีที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงสมบัติของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า.....	4
ตารางที่ 1.5 รูปแบบและเทคนิคการวิเคราะห์	5
ตารางที่ 1.6 การแทรกซื่นของอิเล็กตรอน	8
ตารางที่ 1.7 สารที่มีการดูดกลืนเนื่องจากการแทรกซื่น $n \rightarrow \sigma^*$	9
ตารางที่ 1.8 โครโมฟอร์สารอินทรีย์บางชนิด	11
ตารางที่ 1.9 ผลของหมู่ออกซิโครม	12
ตารางที่ 1.10 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการทะลุผ่านกับค่าการดูดกลืน	18
ตารางที่ 1.11 แหล่งกำเนิดแสงแบบต่อเนื่องที่นิยมใช้ในเทคนิคยูวี-วิสิเบิล	28
ตารางที่ 1.12 วัสดุและสมบัติของควเวตต์.....	31
ตารางที่ 1.13 ชนิดตัววัดโฟตอนสำหรับเทคนิคสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืน.....	32
ตารางที่ 1.14 แนวทางการพิจารณาการละลายของสารอินทรีย์ในน้ำ	38
ตารางที่ 1.15 ชนิดของกรดที่นิยมใช้ในการย่อยสลายแบบเปียก	39
ตารางที่ 1.16 การย่อยเครื่องสำอางด้วยกรดผสมร่วมด้วยเทคนิคไมโครเวฟ.....	42
ตารางที่ 1.17 ความเข้มข้นของเหล็ก(II) สำหรับทำกราฟมาตรฐาน	48
ตารางที่ 1.18 ค่าการดูดกลืนแสงของไอออนเชิงซ้อนเหล็ก(II)-พีแนนโทรลีน	49
ตารางที่ 2.1 หมู่ฟังก์ชันสารอินทรีย์และประเภทการสัน.....	65
ตารางที่ 2.2 ช่วงเลขคลื่น (wavenumber, cm^{-1}) ที่ใช้บ่งชี้หมู่ฟังก์ชันสำคัญของสารอินทรีย์	65
ตารางที่ 2.3 แหล่งกำเนิดแสง.....	67
ตารางที่ 2.4 ความยาวคลื่นของแถบ IR ของหมู่ฟังก์ชันต่าง ๆ.....	78
ตารางที่ 2.5 ความถี่ของการสั่นของพันธะในโมเลกุลแอลคีน	81
ตารางที่ 2.6 สมบัติของจานหรือหน้าต่างสำหรับวิเคราะห์ตัวอย่างที่เป็นสารอินทรีย์	85
ตารางที่ 3.1 ความสัมพันธ์ของ N_i/N_0 ที่อุณหภูมิ 2000 K และ 3000 K	94
ตารางที่ 3.2 เปรียบเทียบคุณสมบัติหลอด HCL และ EDL	97
ตารางที่ 3.3 ชนิดของเชื้อเพลิงและออกซิแดนซ์	99
ตารางที่ 3.4 ประเภทของเนบิวไลเซอร์ที่ใช้ใน FAAS	100
ตารางที่ 3.5 ขั้นตอน graphite furnace atomizer	101
ตารางที่ 3.6 เส้นเปล่งออก (emission line) ของธาตุต่าง ๆ	120
ตารางที่ 3.7 เทคนิคการวิเคราะห์ของสเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออก	124
ตารางที่ 3.8 ประเภทเทคนิคสเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออก.....	128
ตารางที่ 4.1 สมบัติและคุณลักษณะของแก๊สตัวพา	137
ตารางที่ 4.2 เทคนิคการฉีดสารในเทคนิคการวิเคราะห์ด้วย GC.....	141
ตารางที่ 4.3 สมบัติของเฟสอยู่กับที่ใน GLC	144
ตารางที่ 4.4 ตัวตรวจวัด	145

	หน้า
ตารางที่ 4.5 ค่าการนำความร้อนของไอของสารชนิดต่าง ๆ.....	152
ตารางที่ 4.6 เปรียบเทียบระหว่าง Normal Phase HPLC กับ Reverse Phase HPLC	168
ตารางที่ 4.7 เฟสอยู่กับที่และเฟสเคลื่อนที่ในระบบ Normal และ Reverse Phase HPLC	175
ตารางที่ 4.8 ตัวตรวจวัดในเทคนิค HPLC.....	176
ตารางที่ 4.9 เกณฑ์การยอมรับค่าจากการตรวจสอบความเหมาะสมของพารามิเตอร์	178
ตารางที่ 4.10 ขั้นตอนและเงื่อนไขการแยกด้วย reverse-phase HPLC	178
ตารางที่ 5.1 ค่าศักย์ไฟฟ้าครึ่งเซลล์มาตรฐานที่ 25°C ที่ความดัน 1 atm.....	200
ตารางที่ 6.1 ขอบการดูดกลืนและพลังงานของรังสีเอกซ์เฉพาะตัว (keV) ของธาตุ.....	238
ตารางที่ 6.2 จำนวนนิวเคลียสส่วนเกินที่ความเข้มข้นแม่เหล็กภายนอกและความถี่คลื่นวิทยุ	247

ลักษณะรายวิชา

1. รหัสและชื่อวิชา	ST2092312 การวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือ (Instrumental Analysis)
2. สภาพรายวิชา	หมวดวิชาเฉพาะ กลุ่มวิชาชีพบังคับ หลักสูตรปริญญาตรี
3. ระดับรายวิชา	ภาคการศึกษาที่ 1 ชั้นปีที่ 3
4. พื้นฐาน	-
5. เวลาศึกษา	75 ชั่วโมง ตลอด 15 สัปดาห์ เป็นทฤษฎี 2 ชั่วโมงต่อสัปดาห์ ปฏิบัติ 3 ชั่วโมงต่อสัปดาห์ และศึกษาค้นคว้านอกเวลา 4 ชั่วโมงต่อสัปดาห์
6. จำนวนหน่วยกิต	3 หน่วยกิต
7. จุดมุ่งหมายรายวิชา	<ol style="list-style-type: none"> 1. มีความรู้เกี่ยวกับทฤษฎีพื้นฐานที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือ 2. มีความเข้าใจเกี่ยวกับหลักการการวิเคราะห์สารตัวอย่างด้วยเครื่องมือ 3. ใช้เครื่องมือวิเคราะห์ทางวิทยาศาสตร์ได้อย่างถูกต้องและปลอดภัย 4. ปฏิบัติงานวิเคราะห์อย่างมีจรรยาบรรณและความรับผิดชอบ 5. มีความละเอียดรอบคอบและสามารถทำงานร่วมกับผู้อื่นได้อย่างมีประสิทธิภาพ
8. คำอธิบายรายวิชา	<p>ยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรสโกปี วิดีอินฟราเรด สเปกโทรสโกปี วิดีสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนและเปล่งออก วิดีโครมาโทกราฟี วิดีวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้า วิดีวิเคราะห์ด้วยเทคนิคทางเอกซ์เรย์และนิวเคลียร์</p> <p>UV-visible spectroscopy; infrared spectroscopy; absorption and emission spectroscopy; chromatography method; electrochemical method; X-ray and nuclear method</p>

การแบ่งหน่วย/บทเรียน/หัวข้อ

หน่วยที่	รายการ	ชั่วโมง
1	หน่วยที่ 1 วิธียูวี-วิสิเบิล สเปกโทรสโกปี	15 ชั่วโมง
	1.1 การดูดกลืนระดับโมเลกุล	300 นาที
	1.1.1 อันตรกิริยาระหว่างโฟตอนกับสสาร	
	1.1.2 การดูดกลืนรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า	
	1.1.3 กฎการดูดกลืนและการเบี่ยงเบน	
	1.1.4 ปฏิบัติการส่วนประกอบของเครื่อง UV-Vis	
	1.2 ส่วนประกอบของเครื่องมือและเทคนิคการวัด	300 นาที
	1.2.1 ประเภทของสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนและเปล่งออก	
	1.2.2 ส่วนประกอบของเครื่อง UV-Vis	
	1.2.3 การเตรียมตัวอย่างและการเจือจาง	
	1.2.4 ปฏิบัติการเตรียมตัวอย่างและการหาความยาวคลื่นสูงสุด	
	1.3 การวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วยเทคนิค UV-Vis	300 นาที
	1.3.1 การวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ	
	1.3.2 วิธีการหาปริมาณวิเคราะห์	
	1.3.3 วิธีเติมสารมาตรฐาน	
	1.3.4 ปฏิบัติการเตรียมกราฟมาตรฐานความเข้มข้นและการวิเคราะห์ปริมาณ	
2	หน่วยที่ 2 วิธีอินฟราเรด สเปกโทรสโกปี	10 ชั่วโมง
	2.1 หลักการพื้นฐานวิธีอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี	300 นาที
	2.1.1 การสั่นของพันธะโมเลกุล	
	2.1.2 อินฟราเรดสเปกตรัม	
	2.1.3 ส่วนประกอบของเครื่อง FT-IR	
	2.1.4 ปฏิบัติการวิเคราะห์อินฟราเรดสเปกตรัมของสารอินทรีย์	
	2.2 การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง FT-IR	300 นาที
	2.2.1 การแปลผลอินฟราเรดสเปกตรัม	
	2.2.2 วิธีการเตรียมตัวอย่าง	
2.2.3 การประยุกต์ใช้เทคนิค FT-IR ในด้านอาหารและเครื่องสำอาง		
2.2.4 ปฏิบัติการวัดสารตัวอย่างด้วยเทคนิค FT-IR		
3	หน่วยที่ 3 วิธีสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนและเปล่งออก	15 ชั่วโมง
	3.1 สเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนระดับอะตอม	300 นาที
	3.1.1 การดูดกลืนระดับอะตอม	
	3.1.2 หลักการและส่วนประกอบของเครื่อง AAS	
	3.1.3 การหาปริมาณวิเคราะห์และการตรวจความใช้ได้	
	3.1.4 ปฏิบัติการวัดปริมาณโลหะตกค้างในตัวอย่างอาหารหรือเครื่องสำอาง	
	3.2 สเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออกระดับอะตอม	300 นาที
3.2.1 การเปล่งออกระดับอะตอม		

หน่วยที่	รายการ	ชั่วโมง
	3.2.2 ส่วนประกอบของเครื่อง ICP-OES	
	3.2.3 การทำปริมาณวิเคราะห์	
	3.2.4 ปฏิบัติการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP-OES	
	3.3 สเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออกระดับโมเลกุล	300 นาที
	3.3.1 การเปล่งออกระดับโมเลกุล	
	3.3.2 สเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออก	
	3.3.3 ส่วนประกอบของเครื่องฟลูออเรสเซนซ์ สเปกโทรโฟโตมิเตอร์	
	3.3.4 ปฏิบัติการวัดการวาวแสงด้วยเครื่องฟลูออเรสเซนซ์ สเปกโทรโฟโตมิเตอร์	
4	หน่วยที่ 4 วิธีโครมาโทกราฟี	15 ชั่วโมง
	4.1 โครมาโทกราฟีแบบแก๊ส	300 นาที
	4.1.1 หลักการและส่วนประกอบของเครื่อง GC	
	4.1.2 ประสิทธิภาพของคอลัมน์และตัวตรวจวัด	
	4.1.3 การทำปริมาณวิเคราะห์และการแปลผล	
	4.1.4 ปฏิบัติการโครมาโทกราฟีแบบแก๊ส	
	4.2 โครมาโทกราฟีแบบของเหลวแรงดันสูง	300 นาที
	4.2.1 หลักการและส่วนประกอบของเทคนิค HPLC	
	4.2.2 ประสิทธิภาพการแยก	
	4.2.3 การทำปริมาณวิเคราะห์และการประยุกต์	
	4.2.4 ปฏิบัติการโครมาโทกราฟีแบบของเหลวแรงดันสูง	
	4.3 การวิจัยและการประยุกต์เทคนิคโครมาโทกราฟี	300 นาที
	4.3.1 การประยุกต์เทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแก๊ส	
	4.3.2 การประยุกต์เทคนิคโครมาโทกราฟีแบบของเหลวแรงดันสูง	
	4.3.3 ปฏิบัติการประยุกต์ใช้โครมาโทกราฟีกับอาหารหรือเครื่องสำอาง	
5	หน่วยที่ 5 วิธีวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้า	10 ชั่วโมง
	5.1 หลักการวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้า	300 นาที
	5.1.1 ศักย์ไฟฟ้าของเซลล์ไฟฟ้าเคมี	
	5.1.2 ขั้วไฟฟ้า	
	5.1.3 ปฏิบัติการเซลล์ไฟฟ้าเคมี	
	5.2 เทคนิคการวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้า	300 นาที
	5.2.1 วิธีโพเทนชิโอเมตริก	
	5.2.2 วิธีการนำไฟฟ้า	
	5.2.3 วิธีคูลอมบ์	
	5.2.4 ปฏิบัติการวัดศักย์ไฟฟ้าด้วยวิธีโพเทนชิโอเมตริกไทเทรชัน	
6	หน่วยที่ 6 วิธีวิเคราะห์ด้วยเทคนิคทางเอ็กซ์เรย์และนิวเคลียร์	10 ชั่วโมง
	6.1 เทคนิครังสีเอกซ์	300 นาที
	6.1.1 สมบัติรังสีเอกซ์	
	6.1.2 เทคนิค X-ray Diffraction (XRD)	
	6.1.3 เทคนิค X-ray Fluorescence (XRF)	

หน่วยที่	รายการ	ชั่วโมง
	6.1.4 ปฏิบัติการทดสอบวัสดุและวัสดุดิบ	
	6.2 นิวเคลียร์สเปกโทรสโกปี	300 นาที
	6.2.1 นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ สเปกโทรสโกปี	
	6.2.2 ส่วนประกอบเครื่อง NMR	
	6.2.3 ปฏิบัติการทดสอบเชิงคุณภาพด้วย NMR	

หมายเหตุ

สัปดาห์เรียน 15 สัปดาห์
สอบปลายภาค 1 สัปดาห์

จุดประสงค์การสอน

หน่วยที่	รายการ	ชั่วโมง
1	หน่วยที่ 1 วิธียูวี-วิสิเบิล สเปกโทรสโกปี	15 ชั่วโมง
	1.1 เพื่อให้เข้าใจการดูดกลืนระดับโมเลกุล	300 นาที
	1.1.1 บอกอันตรกิริยาระหว่างโฟตอนกับสสาร	
	1.1.2 อธิบายการดูดกลืนรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า	
	1.1.3 อธิบายกฎการดูดกลืนและการเบี่ยงเบน	
	1.1.4 ปฏิบัติการส่วนประกอบของเครื่อง UV-Vis	
	1.2 เพื่อให้เข้าใจส่วนประกอบของเครื่องมือและเทคนิคการวัด	300 นาที
	1.2.1 บอกประเภทของสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนและเปล่งออก	
	1.2.2 บอกส่วนประกอบของเครื่อง UV-Vis	
	1.2.3 อธิบายการเตรียมตัวอย่างและการเจือจาง	
	1.2.4 ปฏิบัติการเตรียมตัวอย่างและการหาความยาวคลื่นสูงสุด	
	1.3 เพื่อคำนวณการวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วยเทคนิค UV-Vis	300 นาที
	1.3.1 บอกการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ	
	1.3.2 คำนวณวิธีการทำปริมาณวิเคราะห์	
	1.3.3 อธิบายวิธีเติมสารมาตรฐาน	
	1.3.4 ปฏิบัติการเตรียมกราฟมาตรฐานความเข้มข้นและการวิเคราะห์ปริมาณ	
2	หน่วยที่ 2 วิธีอินฟราเรด สเปกโทรสโกปี	10 ชั่วโมง
	2.1 เพื่อให้เข้าใจหลักการพื้นฐานวิธีอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี	
	2.1.1 บอกการสั่นของพันธะโมเลกุล	
	2.1.2 อธิบายอินฟราเรดสเปกตรัม	
	2.1.3 บอกส่วนประกอบของเครื่อง FT-IR	
	2.1.4 ปฏิบัติการวิเคราะห์อินฟราเรดสเปกตรัมของสารอินทรีย์	
	2.2 เพื่อให้เข้าใจการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง FT-IR	
	2.2.1 บอกการแปลผลอินฟราเรดสเปกตรัม	
	2.2.2 บอกวิธีการเตรียมตัวอย่าง	
	2.2.3 อธิบายการประยุกต์ใช้เทคนิค FT-IR ในด้านอาหารและเครื่องสำอาง	
	2.2.4 ปฏิบัติการวัดสารตัวอย่างด้วยเทคนิค FT-IR	
3	หน่วยที่ 3 วิธีสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนและเปล่งออก	15 ชั่วโมง
	3.1 เพื่อให้เข้าใจสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนระดับอะตอม	
	3.1.1 อธิบายการดูดกลืนระดับอะตอม	
	3.1.2 บอกหลักการและส่วนประกอบของเครื่อง AAS	
	3.1.3 อธิบายการทำปริมาณวิเคราะห์และการตรวจสอบความใช้ได้	
	3.1.4 ปฏิบัติการวัดปริมาณโลหะตกค้างในตัวอย่างอาหารหรือเครื่องสำอาง	
	3.2 เพื่อคำนวณสเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออกระดับอะตอม	
	3.2.1 อธิบายการเปล่งออกระดับอะตอม	

หน่วยที่	รายการ	ชั่วโมง
	3.2.2 บอกรายละเอียดของเครื่อง ICP-OES	
	3.2.3 คำแนะนำการทำปริมาณวิเคราะห์	
	3.2.4 ปฏิบัติการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP-OES	
	3.3 เพื่อให้เข้าใจสเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออกระดับโมเลกุล	
	3.3.1 อธิบายการเปล่งออกระดับโมเลกุล	
	3.3.2 อธิบายสเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออก	
	3.3.3 บอกรายละเอียดของเครื่องฟลูออเรสเซนซ์ สเปกโทรโฟโตมิเตอร์	
	3.3.4 ปฏิบัติการวัดการรบกวนด้วยเครื่องฟลูออเรสเซนซ์ สเปกโทรโฟโตมิเตอร์	
4	หน่วยที่ 4 วิธีโครมาโทกราฟี	15 ชั่วโมง
	4.1 เพื่อคำนวณโครมาโทกราฟีแบบแก๊ส	
	4.1.1 บอกรายละเอียดและส่วนประกอบของเครื่อง GC	
	4.1.2 อธิบายประสิทธิภาพของคอลัมน์และตัวตรวจวัด	
	4.1.3 คำแนะนำการทำปริมาณวิเคราะห์และการแปลผล	
	4.1.4 ปฏิบัติการโครมาโทกราฟีแบบแก๊ส	
	4.2 เพื่อคำนวณโครมาโทกราฟีแบบของเหลวแรงดันสูง	
	4.2.1 อธิบายหลักการและส่วนประกอบของเทคนิค HPLC	
	4.2.2 อธิบายประสิทธิภาพการแยก	
	4.2.3 คำแนะนำการทำปริมาณวิเคราะห์และการประยุกต์	
	4.2.4 ปฏิบัติการโครมาโทกราฟีแบบของเหลวแรงดันสูง	
	4.3 เพื่อให้เข้าใจการวิจัยและการประยุกต์เทคนิคโครมาโทกราฟี	
	4.3.1 อธิบายการประยุกต์เทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแก๊ส	
	4.3.2 อธิบายการประยุกต์เทคนิคโครมาโทกราฟีแบบของเหลวแรงดันสูง	
	4.3.3 ปฏิบัติการประยุกต์ใช้โครมาโทกราฟีกับอาหารหรือเครื่องสำอาง	
5	หน่วยที่ 5 วิธีวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้า	10 ชั่วโมง
	5.1 เพื่อให้เข้าใจหลักการวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้า	
	5.1.1 คำนวณศักย์ไฟฟ้าของเซลล์ไฟฟ้าเคมี	
	5.1.2 บอกรายละเอียด	
	5.1.3 ปฏิบัติการเซลล์ไฟฟ้าเคมี	
	5.2 เพื่อให้เข้าใจเทคนิคการวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้า	
	5.2.1 อธิบายวิธีโพเทนชิโอเมตริก	
	5.2.2 อธิบายวิธีการนำไฟฟ้า	
	5.2.3 อธิบายวิธีคูลอมบ์	
	5.2.4 ปฏิบัติการวัดศักย์ไฟฟ้าด้วยวิธีโพเทนชิโอเมตริกไทเทรชัน	
6	หน่วยที่ 6 วิธีวิเคราะห์ด้วยเทคนิคทางเอ็กซ์เรย์และนิวเคลียร์	10 ชั่วโมง
	6.1 เพื่อให้เข้าใจเทคนิครังสีเอกซ์	
	6.1.1 บอกรายละเอียดรังสีเอกซ์	
	6.1.2 อธิบายเทคนิค X-ray Diffraction (XRD)	
	6.1.3 อธิบายเทคนิค X-ray Fluorescence (XRF)	

หน่วยที่	รายการ	ชั่วโมง
	6.1.4 ปฏิบัติการทดสอบวัสดุและวัตถุดิบ	
	6.2 เพื่อให้เข้าใจนิวเคลียร์สเปกโทรสโกปี	
	6.2.1 อธิบายนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ สเปกโทรสโกปี	
	6.2.2 บอกส่วนประกอบเครื่อง NMR	
	6.2.3 ปฏิบัติการทดสอบเชิงคุณภาพด้วย NMR	

การประเมินรายวิชา

รายวิชานี้แบ่งเป็น 6 หน่วยเรียน แยกได้ 15 บทเรียน การวัดและประเมินผลรายวิชา ดำเนินการดังนี้

1. วิธีการ ดำเนินการรวบรวมข้อมูลเพื่อการประเมินผล แยกเป็น 3 ส่วน โดยกำหนดคะแนนเต็มของวิชาไว้ 100 คะแนน

1.1 การทดสอบ (สอบย่อยและสอบปลายภาค) 50 คะแนน หรือร้อยละ 50

1.2 ผลงานที่มอบหมาย 20 คะแนน หรือร้อยละ 20

1.3 พิจารณาจิตพิสัย (กิจนิสัย ความตั้งใจและการร่วมกิจกรรม) 30 คะแนน หรือร้อยละ 30

โดยจัดแบ่งน้ำหนักคะแนนในแต่ละหน่วยเรียนตามตารางน้ำหนักคะแนนหน้าถัดไป

2. เกณฑ์ผ่านรายวิชา ผู้ที่จะผ่านรายวิชานี้จะต้อง

2.1 มีเวลาเข้าชั้นเรียนไม่ต่ำกว่าร้อยละ 80 ของเวลาเรียน

2.2 ได้คะแนนรวมทั้งรายวิชาไม่ต่ำกว่าร้อยละ 50 ของคะแนนรวม

3. เกณฑ์ค่าระดับคะแนน กำหนดค่าระดับคะแนนร้อยละตามเกณฑ์ ดังนี้

3.1 พิจารณาตามเกณฑ์ผ่านข้อ 2 ผู้ที่ไม่ผ่านเกณฑ์ข้อ 2 จะได้รับคะแนน F

3.2 ผู้ที่สอบผ่านเกณฑ์ข้อ 2 จะได้รับค่าระดับคะแนน ตามเกณฑ์ดังนี้

คะแนนร้อยละ	80	ขึ้นไป	ได้	A
คะแนนร้อยละ	75-79		ได้	B ⁺
คะแนนร้อยละ	70-74		ได้	B
คะแนนร้อยละ	65-69		ได้	C ⁺
คะแนนร้อยละ	60-64		ได้	C
คะแนนร้อยละ	55-59		ได้	D ⁺
คะแนนร้อยละ	50-54		ได้	D

ตารางกำหนดน้ำหนักคะแนน

เลขที่หน่วย	คะแนนรายหน่วยและน้ำหนักคะแนน ชื่อหน่วยเรียน	คะแนนรายหน่วย	น้ำหนักคะแนน				
			พุทธิพิสัย				ทักษะพิสัย
			ความรู้ ความจำ	ความเข้าใจ	การนำไปใช้	สูงกว่า	
1	วิธียูวี-วิลีเบล สเปกโทรสโกปี	14	4	4	2	-	4
2	วิธีอินฟราเรด สเปกโทรสโกปี	10	4	3	-	-	3
3	วิธีสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนและเปล่งออก	14	3	5	2	-	4
4	วิธีโครมาโทกราฟี	14	3	5	2	-	4
5	วิธีวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้า	9	2	3	1	-	3
6	วิธีวิเคราะห์ด้วยเทคนิคทางเอ็กซ์เรย์และนิวเคลียร์	9	3	3	-	-	3
ก	คะแนนภาควิชาการ	70	19	23	7	-	21
ข	คะแนนภาคผลงาน	20					
ค	คะแนนภาคจิตพิสัย	10					
	รวมทั้งสิ้น	100					

กำหนดการสอน

รายวิชา การวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือ

(ST2092312)

อาจารย์ผู้สอน ผศ.ดร.วรวิทย์ จันทน์สุวรรณ

สัปดาห์ที่	ชั่วโมงที่	รายการ	ชั่วโมง
1	1-5	1.1 การดูดกลืนระดับโมเลกุล	120 นาที
		1.1.1 อันตรกิริยาระหว่างโฟตอนกับสสาร	
		1.1.2 การดูดกลืนรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า	
		1.1.3 กฎการดูดกลืนและการเบี่ยงเบน	
		1.1.4 ปฏิบัติการส่วนประกอบของเครื่อง UV-Vis	180 นาที
2	6-10	1.2 ส่วนประกอบของเครื่องมือและเทคนิคการวัด	120 นาที
		1.2.1 ประเภทของสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนและเปล่งออก	
		1.2.2 ส่วนประกอบของเครื่อง UV-Vis	
		1.2.3 การเตรียมตัวอย่างและการเจือจาง	
		1.2.4 ปฏิบัติการเตรียมตัวอย่างและการหาความยาวคลื่นสูงสุด	180 นาที
3	11-15	1.3 การวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วยเทคนิค UV-Vis	120 นาที
		1.3.1 การวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ	
		1.3.2 วิธีการทำปริมาณวิเคราะห์	
		1.3.3 วิธีเติมสารมาตรฐาน	
		1.3.4 ปฏิบัติการเตรียมกราฟมาตรฐานความเข้มข้นและการวิเคราะห์ปริมาณ	180 นาที
4	16-20	2.1 หลักการพื้นฐานวิธีอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี	120 นาที
		2.1.1 การสั่นของพันธะโมเลกุล	
		2.1.2 อินฟราเรดสเปกตรัม	
		2.1.3 ส่วนประกอบของเครื่อง FT-IR	
		2.1.4 ปฏิบัติการวิเคราะห์อินฟราเรดสเปกตรัมของสารอินทรีย์	180 นาที
5	21-25	2.2 การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง FT-IR	120 นาที
		2.2.1 การแปลผลอินฟราเรดสเปกตรัม	
		2.2.2 วิธีการเตรียมตัวอย่าง	
		2.2.3 การประยุกต์ใช้เทคนิค FT-IR ในด้านอาหารและเครื่องสำอาง	
		2.2.4 ปฏิบัติการวัดสารตัวอย่างด้วยเทคนิค FT-IR	180 นาที
6	26-30	3.1 สเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนระดับอะตอม	120 นาที
		3.1.1 การดูดกลืนระดับอะตอม	
		3.1.2 หลักการและส่วนประกอบของเครื่อง AAS	
		3.1.3 การทำปริมาณวิเคราะห์และการตรวจความใช้ได้	
		3.1.4 ปฏิบัติการวัดปริมาณโลหะตกค้างในตัวอย่างอาหารหรือเครื่องสำอาง	180 นาที

สัปดาห์ที่	ชั่วโมงที่	รายการ	ชั่วโมง
7	31-35	3.2 สเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออกระดับอะตอม	120 นาที
		3.2.1 การเปล่งออกระดับอะตอม	
		3.2.2 ส่วนประกอบของเครื่อง ICP-OES	
		3.2.3 การทำปริมาณวิเคราะห์	
		3.2.4 ปฏิบัติการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP-OES	180 นาที
8	36-40	3.3 สเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออกระดับโมเลกุล	120 นาที
		3.3.1 การเปล่งออกระดับโมเลกุล	
		3.3.2 สเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออก	
		3.3.3 ส่วนประกอบของเครื่องฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรโฟโตมิเตอร์	
		3.3.4 ปฏิบัติการวัดการวางแสงด้วยเครื่องฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรโฟโตมิเตอร์	180 นาที
9	41-45	4.1 โครมาโทกราฟีแบบแก๊ส	120 นาที
		4.1.1 หลักการและส่วนประกอบของเครื่อง GC	
		4.1.2 ประสิทธิภาพของคอลัมน์และตัวตรวจวัด	
		4.1.3 การทำปริมาณวิเคราะห์และการแปลผล	
		4.1.4 ปฏิบัติการโครมาโทกราฟีแบบแก๊ส	180 นาที
10	46-50	4.2 โครมาโทกราฟีแบบของเหลวแรงดันสูง	120 นาที
		4.2.1 หลักการและส่วนประกอบของเทคนิค HPLC	
		4.2.2 ประสิทธิภาพการแยก	
		4.2.3 การทำปริมาณวิเคราะห์และการประยุกต์	
		4.2.4 ปฏิบัติการโครมาโทกราฟีแบบของเหลวแรงดันสูง	180 นาที
11	51-55	4.3 การวิจัยและการประยุกต์เทคนิคโครมาโทกราฟี	120 นาที
		4.3.1 การประยุกต์เทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแก๊ส	
		4.3.2 การประยุกต์เทคนิคโครมาโทกราฟีแบบของเหลวแรงดันสูง	
		4.3.3 ปฏิบัติการประยุกต์ใช้โครมาโทกราฟีกับเครื่องสำอาง	180 นาที
12	56-60	5.1 หลักการวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้า	120 นาที
		5.1.1 ศักย์ไฟฟ้าของเซลล์ไฟฟ้าเคมี	
		5.1.2 ขั้วไฟฟ้า	
		5.1.3 ปฏิบัติการเซลล์ไฟฟ้าเคมี	180 นาที
13	61-65	5.2 เทคนิคการวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้า	120 นาที
		5.2.1 วิธีโพเทนชิโอเมตริก	
		5.2.2 วิธีการนำไฟฟ้า	
		5.2.3 วิธีคูลอมป์	
		5.2.4 ปฏิบัติการวัดศักย์ไฟฟ้าด้วยวิธีโพเทนชิโอเมตริกไทเทรชัน	180 นาที
14	66-70	6.1 เทคนิครังสีเอ็กซ์	120 นาที
		6.1.1 สมบัติรังสีเอ็กซ์	
		6.1.2 เทคนิค X-ray Diffraction (XRD)	
		6.1.3 เทคนิค X-ray Fluorescence (XRF)	
		6.1.4 ปฏิบัติการทดสอบวัสดุและวัตถุดิบ	180 นาที

สัปดาห์ที่	ชั่วโมงที่	รายการ	ชั่วโมง
15	71-75	6.2 นิวเคลียร์สเปกโทรสโกปี	120 นาที
		6.2.1 นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ สเปกโทรสโกปี	
		6.2.2 ส่วนประกอบเครื่อง NMR	
		6.2.3 ปฏิบัติการทดสอบเชิงคุณภาพด้วย NMR	180 นาที

หมายเหตุ

สัปดาห์เรียน 15 สัปดาห์

สอบปลายภาค 1 สัปดาห์

หน่วยที่ 1

วิธียูวี-วิสิเบิล สเปกโทรสโกปี

หน่วยที่ 1 วิธียูวี-วิสิเบิล สเปกโทรสโกปี

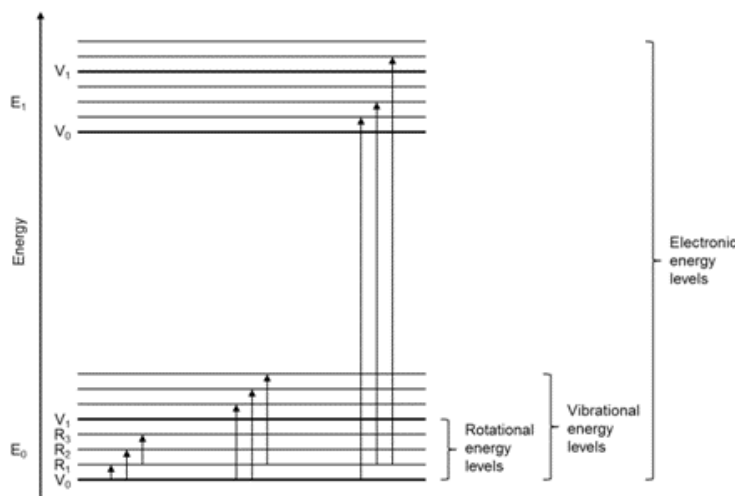
บทเรียน 1.1 การดูดกลืนระดับโมเลกุล

จุดประสงค์การสอน

1. บอกอันตรกิริยาระหว่างโฟตอนกับสสาร
2. อธิบายการดูดกลืนรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า
3. อธิบายกลไกการดูดกลืนและการเป็ยงเบน
4. ปฏิบัติการส่วนประกอบของเครื่อง UV-Vis

1.1.1 อันตรกิริยาระหว่างโฟตอนกับสสาร

หลักการพื้นฐานของสเปกโทรสโกปีอาศัยการเกิดอันตรกิริยาระหว่างโฟตอนกับสสารส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนระดับพลังงานของอนุภาค หรือที่เรียกว่า แทรนซิชัน (transition) โดยจะเป็นการเปลี่ยนระดับพลังงานจากสถานะพื้น (ground state, E_0) ที่มีพลังงานต่ำ ไปยังสถานะที่มีระดับพลังงานสูงกว่า ที่เรียกว่า สถานะกระตุ้น (excited state, E_1) ซึ่งการแทรนซิชันจะสัมพันธ์กับพลังงานโฟตอนของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าโดยตรง การแทรนซิชันอาจเป็นการเลื่อนไปยังระดับพลังงานอีกระดับหนึ่ง (E_0 ไปยัง E_1) หรือเป็นการเลื่อนไปยังระดับพลังงานที่สูงขึ้นที่อยู่ในชั้นพลังงานเดียวกัน (ระดับ E_0 มีหลายชั้นพลังงานย่อย) เช่น ระดับพลังงานการสั่น (vibrational level) และระดับพลังงานการหมุน (rotational level) และอื่น ๆ ดังภาพที่ 1.1



ภาพที่ 1.1 รูปแบบการแทรนซิชันของอนุภาค

การแทรกซึมของสสารเป็นผลอันเนื่องมาจากอันตรกิริยาระหว่างโฟตอนกับสสารไม่ว่าจะเป็นระดับอะตอม โมเลกุล หรือไอออน กล่าวคือ โฟตอนของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีพลังงานแตกต่างกันทำให้เกิดอันตรกิริยากับสสารได้แตกต่างกัน เทคนิคทางสเปกโทรสโกปีอาจแบ่งอย่างกว้างเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ

- 1) เทคนิคที่มีการถ่ายเทพลังงานระหว่างโฟตอนของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้ากับสสาร เช่น การดูดกลืน และการเปล่งออก
- 2) เทคนิคที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงสมบัติของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า

ตารางที่ 1.1 เทคนิคทางสเปกโทรสโกปี

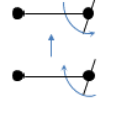

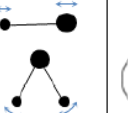


เทคนิคที่มีการถ่ายเทพลังงานระหว่างโฟตอนของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้ากับสสาร	เทคนิคที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงสมบัติของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า
<ul style="list-style-type: none">▪ การดูดกลืน (absorption)▪ การเปล่งออก (emission)	<ul style="list-style-type: none">▪ ความกว้าง (amplitude)▪ มุม (angle)▪ โพลาริเซชัน (polarization) หรือทิศทาง (direction of propagation) ซึ่งมีผลให้เกิดปรากฏการณ์เมื่อตกกระทบกับตัวอย่าง เช่น การหักเห (refraction) การสะท้อน (reflection) การกระเจิง (scattering) และการกระจาย (diffraction)

เทคนิคสเปกโทรสโกปีที่มีการถ่ายเทพลังงานระหว่างโฟตอนของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าอาศัยการแทรกซึมระดับอะตอม (atomic transition) หรือระดับโมเลกุล (molecular transition) แสดงตารางที่ 1.2 โดยพลังงานโฟตอนจะมีผลต่อการแทรกซึมของสสาร ระดับพลังงานโฟตอนที่ต่ำจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างอ่อน ๆ โดยเป็นเพียงการเปลี่ยนการหมุนของอิเล็กตรอน (spin of electron) ซึ่งจะใช้กับเทคนิค NMR และ ESR ส่วนโฟตอนที่มีพลังงานสูงจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างรุนแรงถึงระดับนิวเคลียสของสสาร

เทคนิคการวิเคราะห์ที่มีระดับพลังงานในย่านวิสิเบิลและอินฟราเรด อาจเรียกรวมว่า เทคนิคเกี่ยวกับการมองเห็น (optical method) แม้ว่าสายตาเราไม่สามารถสัมผัสรังสีย่านยูวีและอินฟราเรดได้ก็ตาม การเกิดอันตรกิริยาระหว่างโฟตอนกับสสารทำให้ทราบข้อมูลเกี่ยวกับสารที่สนใจในรูปแบบต่าง ๆ ตามการเปลี่ยนแปลงอันเนื่องมาจากการแทรกซึมของอนุภาค ซึ่งการเกิดอันตรกิริยาระหว่างโฟตอนกับสสารทำให้เกิดวิธีการวิเคราะห์ทางสเปกโทรสโกปีอีกหลายเทคนิค ดังภาพที่ 1.2

ตารางที่ 1.2 เทคนิคสเปกโทรสโกปีที่เกี่ยวข้องกับการถ่ายเทพลังงานระหว่างโฟตอนกับสสาร

รูปแบบการถ่ายโอนพลังงาน	ย่านคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า	เทคนิคการวิเคราะห์ทางสเปกโทรสโกปี
การดูดกลืน (absorption)	รังสีแกมมา	มอสเบาเออร์ (mossbauer spectroscopy)
	รังสีเอกซ์	เอกซเรย์แอบซอร์บชัน (X-ray absorption)
	ยูวี-วิลีเบิล	ยูวี-วิลีเบิล (UV-vis) อะตอมมิกแอบซอร์บชัน
	อินฟราเรด	อินฟราเรด (infrared) รามาน (Raman)
	คลื่นไมโครเวฟ	ไมโครเวฟ (microwave)
การเปล่งออก (emission)	คลื่นวิทยุ	อิเล็กตรอนสปินเรโซแนนซ์ (electron spin resonance; ESR) นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ (nuclear magnetic resonance; NMR)
	ยูวี-วิลีเบิล	อะตอมมิกอิมิสชันสเปกโทรสโกปี (atomic emission)
	การเปล่งแสงด้วยแสง (photoluminescence)	เอกซเรย์ฟลูออเรสเซนซ์ (X-ray fluorescence) ฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence) ฟอสฟอเรสเซนซ์ (phosphorescence) อะตอมมิกฟลูออเรสเซนซ์ (atomic fluorescence; AFS)
การเปล่งแสงทางเคมี (chemiluminescence)	ยูวี-วิลีเบิล	เคมีลูมิเนสเซนซ์ (chemiluminescence)

ประเภทอันตรกิริยา	การสปินของอิเล็กตรอน	การหมุน	การสั่น	การเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานของอิเล็กตรอน	นิวเคลียร์		
							
เลขคลื่น (cm ⁻¹)	10 ⁻²	1	100	10 ⁴	10 ⁸		
ความยาวคลื่น	10 m	100 cm	1 cm	100 μm	1000 nm	10 nm	10 pm
ความถี่ (Hz)	3x10 ⁶	3x10 ⁸	3x10 ¹⁰	3x10 ¹²	3x10 ¹⁴	3x10 ¹⁶	3x10 ¹⁸
พลังงาน (J/mol)	10 ⁻³	10 ⁻¹	10	10 ³	10 ⁵	10 ⁷	10 ⁹
เทคนิคสเปกโทรสโกปี	NMR	ESR	microwave	IR	UV-vis	X-ray	γ-ray

ภาพที่ 1.2 ย่านของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าและชนิดการเปลี่ยนแปลงที่เกิดจากอันตรกิริยาของโฟตอนกับสสารที่สนใจ. ที่มาจาก เคมีวิเคราะห์: หลักการและเทคนิคการคำนวณเชิงปริมาณ (หน้า 345) โดย วรวิทย์ จันทร์สุวรรณ, 2563, สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ตารางที่ 1.3 ความยาวคลื่นและประเภทการแทรกซ้นของวิธีเชิงสเปกโทรสโกปี

ประเภทสเปกโทรสโกปี	ย่านความยาวคลื่น	เลขคลื่น (cm^{-1})	ประเภทการแทรกซ้น
การเปล่งออกรังสีแกมมา	0.005-1.4 A	-	นิวเคลียร์
การดูดกลืนรังสีเอกซ์ การเปล่งออกรังสีเอกซ์ การวาวแสงรังสีเอกซ์ การเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์	0.1-100 A	-	อิเล็กทรอนิกส์วงใน
การดูดกลืนยูวี-วิสิเบิล	10-180 nm	1×10^6 - 5×10^4	อิเล็กทรอนิกส์สร้างพันธะ
การดูดกลืนยูวี-วิสิเบิล การเปล่งออกรังสียูวี-วิสิเบิล การวาวแสงยูวี-วิสิเบิล	180-780 nm	5×10^4 - 1.3×10^4	อิเล็กทรอนิกส์สร้างพันธะ
การดูดกลืนอินฟราเรด การกระเจิงรามาน	0.78-300 μm	1.3×10^4 - 1.3×10^1	การหมุน/การสั่น
การดูดกลืนไมโครเวฟ	0.75-3.75 mm	13-27	การหมุน
อิเล็กทรอนิกส์ป็น เรโซแนนซ์	3 cm	0.33	การสปีนของอิเล็กทรอนิกส์ในสนามแม่เหล็ก
นิวเคลียร์แมกเนติก เรโซแนนซ์	0.6-10 m	1.7×10^{-2} - 1×10^3	การสปีนของนิวเคลียสไฮโดรเจนในสนามแม่เหล็ก

ส่วนเทคนิคที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงสมบัติของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า โดยไม่เกี่ยวข้องกับการแลกเปลี่ยนพลังงานระหว่างโฟตอนกับสสาร แสดงดังตารางที่ 1.4

ตารางที่ 1.4 เทคนิคสเปกโทรสโกปีที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงสมบัติของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า

ย่านของสเปกตรัม รังสีแม่เหล็กไฟฟ้า	ประเภท	เทคนิคสเปกโทรสโกปี
รังสีเอกซ์	การเลี้ยวเบน	เอกซเรย์ดิฟแฟรกชัน (X-ray diffraction)
ยูวี-วิสิเบิล	การหักเห	รีแฟรกโตเมตรี (refractometry)
	การกระเจิง	เนฟิโลเมตรี (nephelometry) เทอบิดิเมตรี (turbidimetry)
	การกระจาย	ออปติคอลโรตารีดิสเพชัน (optical rotary dispersion)

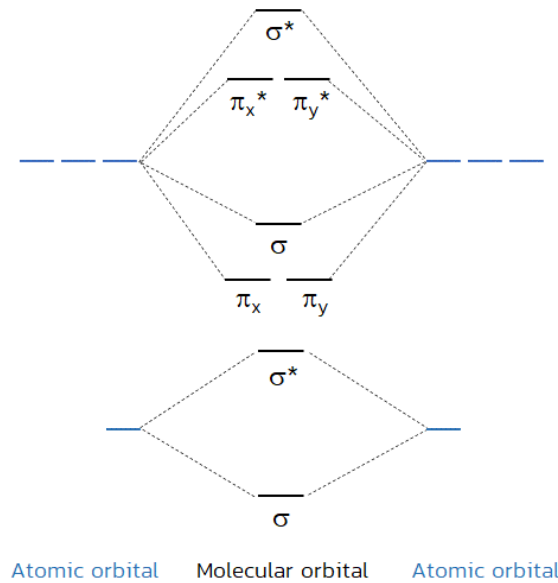
ตารางที่ 1.5 รูปแบบและเทคนิคการวิเคราะห์

อันตรกิริยา	ช่วงความถี่ (Hz)	รูปแบบและเทคนิคการวิเคราะห์
ย่านคลื่นวิทยุ	$3 \times 10^6 - 3 \times 10^{10}$	การเปลี่ยนแปลงของพลังงานในช่วง 10^{-3} ถึง 10 J/mol เกิดจากการเปลี่ยนแปลงสปิน (spin) ของนิวเคลียสหรืออิเล็กตรอน แล้วเกิดอันตรกิริยากับสนามแม่เหล็กของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่ความถี่ที่เหมาะสม เทคนิค เช่น นิวเคลียร์แมกเนติก เรโซแนนซ์ (NMR) และอิเล็กตรอนสปิน เรโซแนนซ์ (ESR)
ย่านไมโครเวฟ	$3 \times 10^{10} - 3 \times 10^{12}$	การเปลี่ยนแปลงของพลังงานเกิดจากการหมุน (rotation) ของโมเลกุล ความแตกต่างของระดับพลังงานของการหมุนอยู่ในช่วง 10^2 J/mol การหมุนของโมเลกุลจะเกิดสนามไฟฟ้าและให้สเปกตรัมไมโครเวฟออกมา เทคนิค เช่น ไมโครเวฟ
ย่านอินฟราเรด	$3 \times 10^{12} - 3 \times 10^{14}$	พลังงานควอนตัมของโฟตอนจากย่านรังสีอินฟราเรดอยู่ระหว่าง 0.001 ถึง 1.7 eV ซึ่งเป็นช่วงพลังงานที่ทำให้โมเลกุลเกิดการสั่น ความแตกต่างของระดับพลังงานของการสั่นอยู่ในช่วง 10^4 J/mol เทคนิค เช่น อินฟราเรด (IR) และ รามาน (Raman)
ย่านยูวี-วิสิเบิล	$3 \times 10^{14} - 3 \times 10^{16}$	การเปลี่ยนแปลงของพลังงานที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนระดับพลังงานของอิเล็กตรอน ความแตกต่างของระดับพลังงานของอิเล็กตรอนวงนอกสุดประมาณ 100 kJ/mol เทคนิค เช่น ยูวี-วิสิเบิล (UV-Vis)
รังสีเอกซ์	$3 \times 10^{16} - 3 \times 10^{18}$	พลังงานควอนตัมของโฟตอนของรังสีเอกซ์มีค่าสูง จึงเกิดปฏิกิริยาโดยการชนอิเล็กตรอนจนหลุดออกจากอะตอม รังสีเอกซ์ทั้งหมดจึงเป็นรังสีที่ทำให้เกิดการแตกตัวเป็นไอออน เทคนิค เช่น เอกซเรย์ (X-ray)

1.1.2 การดูดกลืนรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า

1) การแทรกซึมของซิกมาอิเล็กตรอน ไพอิเล็กตรอน และอิเล็กตรอนที่ไม่ได้สร้างพันธะ

ทฤษฎีออร์บิทัลเชิงโมเลกุล (molecular orbital theory) อธิบายถึงการซ้อนเหลื่อมของออร์บิทัลเชิงอะตอม (atomic orbital; AO) เกิดเป็นออร์บิทัลเชิงโมเลกุลแบบสร้างพันธะ (bonding molecular orbital; BMO) คือ ออร์บิทัลซิกมา (σ -orbital) และออร์บิทัลไพ (π -orbital) และเกิดเป็นออร์บิทัลเชิงโมเลกุลแบบต้านพันธะ (anti-bonding molecular orbital; AMO) คือ ออร์บิทัลแบบต้านพันธะซิกมา (σ^* -orbital) และออร์บิทัลแบบต้านพันธะไพ (π^* -orbital) ดังภาพที่ 1.3 ส่วนกรณีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวจะบรรจุในออร์บิทัลเชิงโมเลกุลแบบไม่สร้างพันธะ (non-bonding molecular orbital; n)



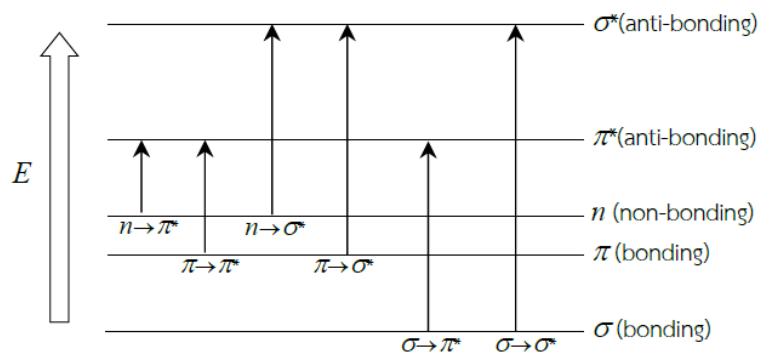
ภาพที่ 1.3 ออร์บิทัลเชิงโมเลกุล

การแทรกซึมของอิเล็กตรอนจะเกิดขึ้นเมื่อมีการดูดกลืนรังสีที่มีระดับพลังงานแน่นอน อิเล็กตรอนที่เกิดแทรกซึมเป็นอิเล็กตรอนวงนอกสุดที่สามารถหลุดจากวงโคจรได้ง่าย การแทรกซึมของอิเล็กตรอนที่อาจเกิดขึ้นได้ในโมเลกุลสารอินทรีย์ แบ่งออกได้ 3 ประเภทดังนี้

- 1) อิเล็กตรอนที่ทำให้เกิดพันธะซิกมา (σ -bond) หรือเรียกว่า ซิกมาอิเล็กตรอน (σ -electron)
- 2) อิเล็กตรอนที่ทำให้เกิดพันธะไพ (π -bond) หรือเรียกว่า ไพอิเล็กตรอน (π -electron)
- 3) อิเล็กตรอนที่ไม่ได้สร้างพันธะ (non-bonding electron; n -electron)

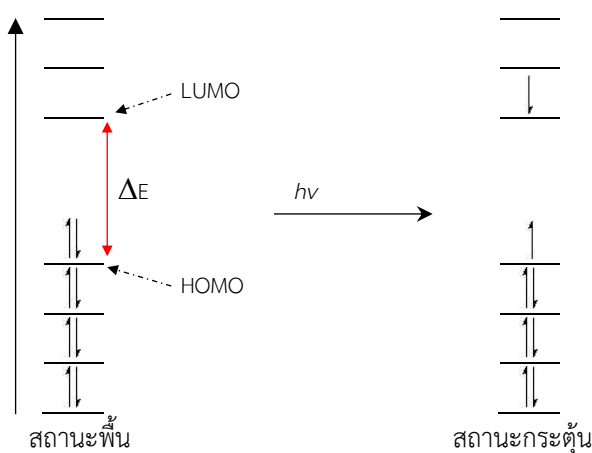
กรณีโมเลกุลสารอินทรีย์มีเฉพาะพันธะเดี่ยว อิเล็กตรอนจะบรรจุในออร์บิทัลซิกมาจึงเรียกเป็น ซิกมาอิเล็กตรอน ส่วนสารอินทรีย์ที่มีพันธะคู่และพันธะสาม อิเล็กตรอนจะบรรจุที่ออร์บิทัลไพจึงเรียกเป็นไพอิเล็กตรอน ส่วนออร์บิทัลที่ไม่ได้มีส่วนเกี่ยวข้องในการสร้างพันธะ (n -orbital) อิเล็กตรอนที่บรรจุในออร์บิทัลดังกล่าว เรียกว่า อิเล็กตรอนที่ไม่ได้สร้างพันธะ

สำหรับโมเลกุลสารอินทรีย์ที่มีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวที่ไม่ได้เกิดพันธะ เมื่อโมเลกุลดูดกลืนพลังงานย่านยูวี-วิสิเบิล อิเล็กตรอนจะเกิดแทรกซึมจากสถานะพื้น (σ , π และ n) ไปยังสถานะกระตุ้น (σ^* และ π^*) การแทรกซึมอาจเกิดได้ทั้งหมด 6 แบบ ได้แก่ $\sigma \rightarrow \sigma^*$, $\sigma \rightarrow \pi^*$, $\pi \rightarrow \sigma^*$, $\pi \rightarrow \pi^*$, $n \rightarrow \sigma^*$ และ $n \rightarrow \pi^*$ ดังภาพที่ 1.4



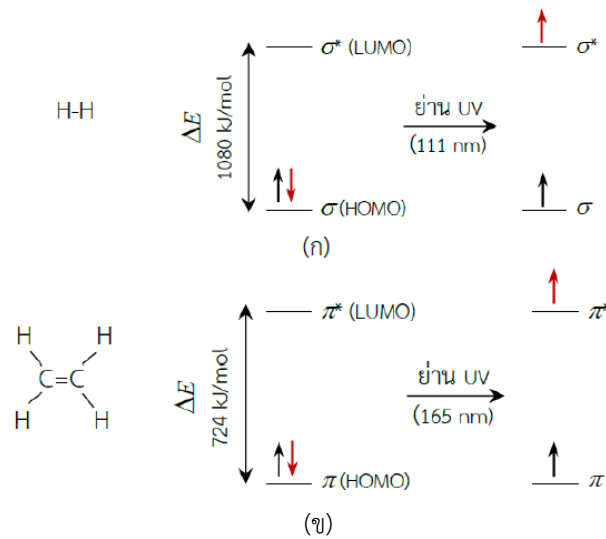
ภาพที่ 1.4 แผนภาพการแทนที่ของออร์บิทัลของอิเล็กตรอน โฟอิเล็กตรอน และอิเล็กตรอนที่ไม่ได้สร้างพันธะ

การแทนที่ของอิเล็กตรอนเป็นการกระตุ้นอิเล็กตรอนจากสถานะพื้นไปยังสถานะกระตุ้น ซึ่งในสถานะพื้น ระดับพลังงานของออร์บิทัลเชิงโมเลกุลที่สร้างพันธะ (bonding molecular orbital) จะเป็นระดับที่สูงที่สุดที่อิเล็กตรอนสามารถครอบครองอยู่ได้ (highest occupied molecular orbital; HOMO) ส่วนในสถานะกระตุ้น ระดับพลังงานของออร์บิทัลเชิงโมเลกุลที่ต้านการสร้างพันธะ (antibonding molecular orbital) จะเป็นระดับที่ต่ำที่สุดที่ไม่มีอิเล็กตรอนครอบครองอยู่ได้ (lowest unoccupied molecular orbital; LUMO) ดังนั้นการแทนที่ของอิเล็กตรอนจึงเป็นการกระตุ้นอิเล็กตรอนจาก HOMO ไปยัง LUMO ดังภาพที่ 1.5



ภาพที่ 1.5 การแทนที่ของอิเล็กตรอนจาก HOMO ไปยัง LUMO

จากแผนภาพการแทนที่ (ภาพที่ 1.5) จะเห็นว่าผลต่างของระดับพลังงาน (ΔE) ของการแทนที่ จะแตกต่างกันตามประเภทของการแทนที่ของอิเล็กตรอน เช่น $n \rightarrow \pi^*$ และ $\pi \rightarrow \pi^*$ จะมีค่าต่ำสุดเมื่อเทียบกับการแทนที่ของอิเล็กตรอนแบบอื่น ๆ ซึ่งผลต่างของระดับพลังงานเกี่ยวข้องกับพลังงานของโฟตอนที่ถูกดูดกลืนโดยสาร ภาพที่ 1.6 สารที่เกิดการแทนที่ของอิเล็กตรอนแบบ $\sigma \rightarrow \sigma^*$ จะมีผลต่างพลังงานจากการแทนที่มากกว่า $\pi \rightarrow \pi^*$ ซึ่งจะเห็นว่าย่านความยาวคลื่นที่ถูกดูดกลืนของ H_2 (111 nm) จะน้อยกว่า C_2H_4 (165 nm)



ภาพที่ 1.6 แผนภาพการแทนขีชั้นของ (ก) แก๊สไฮโดรเจน (H₂) และ (ข) เอทิลีน

การแทนขีชั้นในสารอินทรีย์เรียงเป็นไปได้ 4 แบบ และตามลำดับพลังงานจากมากไปน้อยคือ $\sigma \rightarrow \sigma^*$, $n \rightarrow \sigma^*$, $\pi \rightarrow \pi^*$ และ $n \rightarrow \pi^*$ โดย ความยาวคลื่นที่พอเหมาะสำหรับการแทนขีชั้นเกี่ยวข้องกับ ชนิดพันธะหรือหมู่ฟังก์ชัน (functional group) แสดงดังตารางที่ 1.6 ซึ่งส่วนใหญ่การแทนขีชั้นของ อิเล็กตรอนในสารอินทรีย์ (ยกเว้น แอลเคน) จะเปลี่ยนระดับพลังงานได้มากกว่าหนึ่งแบบ การแทนขีชั้นที่สำคัญที่สุดคือ $n \rightarrow \pi^*$ และ $\pi \rightarrow \pi^*$ เนื่องจากการแทนขีชั้นแบบนี้เกี่ยวข้องกับหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญซึ่งจะแสดง ลักษณะเฉพาะของสารอินทรีย์ โดยชนิดพันธะหรือหมู่ฟังก์ชันที่ส่งผลให้มีการดูดกลืนรังสีย่าน ยูวี-วิสิเบิลมากขึ้น เรียกว่า โครโมฟอร์ (chromophore)

ตารางที่ 1.6 การแทนขีชั้นของอิเล็กตรอน

ประเภทแทนขีชั้น	ย่านความยาวคลื่น (nm)	ตัวอย่างหมู่ฟังก์ชัน
$\sigma \rightarrow \sigma^*$	<200	C-C, C-H
$n \rightarrow \sigma^*$	160 - 260	H ₂ O, CH ₃ OH, CH ₃ Cl
$\pi \rightarrow \pi^*$	200 - 500	C=C, C=O, C=N, C \equiv C
$n \rightarrow \pi^*$	250 - 600	C=O, C=N, N=N, N=O

การแทนขีชั้น $\sigma \rightarrow \sigma^*$

การแทนขีชั้นของอิเล็กตรอนในออร์บิทัลเชิงโมเลกุลที่สร้างพันธะซิกมา (σ -bonding molecular orbital) ถูกกระตุ้นไปสู่ออร์บิทัลแบบต้านทานการสร้างพันธะ (σ^* -antibonding molecular orbital) โดยการดูดกลืนโฟตอนที่ทำให้เกิดการแทนขีชั้นของอิเล็กตรอนจาก $\sigma \rightarrow \sigma^*$ มีค่ามาก เช่น CH₄ เมื่อเกิดการแทนขีชั้นจาก $\sigma \rightarrow \sigma^*$ จะดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 125 nm หรือ CH₃CH₃ เมื่อเกิดการแทนขีชั้นจาก $\sigma \rightarrow \sigma^*$ จะดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 135 nm ซึ่ง CH₃CH₃ ใช้พลังงานในการดูดกลืนรังสีน้อยกว่า CH₄ เพราะความแรงของพันธะ C-C น้อยกว่าพันธะ C-H การดูดกลืนเนื่องจากการแทนขีชั้น $\sigma \rightarrow \sigma^*$ พบใน

ย่านยูวี การเกิดแทรนซิชันแบบ $\sigma \rightarrow \sigma^*$ จะต้องทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือในสภาวะสุญญากาศ ซึ่งมีความยุ่งยากมาก จึงไม่นิยมใช้เทคนิคนี้ในการวิเคราะห์

การแทรนซิชัน $n \rightarrow \sigma^*$

สารอินทรีย์ที่อะตอมมีอิเล็กตรอนแบบไม่สร้างพันธะ (non-bonding electron) สารประกอบที่ภายในโครงสร้างประกอบด้วยอะตอมออกซิเจน (O) ไนโตรเจน (N) ซัลเฟอร์ (S) และแฮโลเจน (F, Cl, Br) เป็นต้น ซึ่งอะตอมเหล่านี้จะมีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยว จะเกิดการแทรนซิชันแบบ $n \rightarrow \sigma^*$ การแทรนซิชันแบบนี้ใช้พลังงานน้อยกว่า $\sigma \rightarrow \sigma^*$ ย่านความยาวคลื่นที่เกิดการแทรนซิชันแบบ $n \rightarrow \sigma^*$ จะมีค่า 150-250 nm การดูดกลืนรังสีเนื่องจากการแทรนซิชันแบบ $n \rightarrow \sigma^*$ พลังงานที่ใช้ในการแทรนซิชันขึ้นกับชนิดของพันธะของอะตอมเป็นส่วนใหญ่ ไม่ขึ้นกับโครงสร้างของโมเลกุล สภาพดูดกลืนแสงต่อโมล (ϵ) มีค่าระหว่าง 100 ถึง 3000 dm^3/cm ความยาวคลื่นที่ใช้ในการดูดกลืนแบบ $n \rightarrow \sigma^*$ จะมีค่าลดลงเมื่ออยู่ในตัวทำละลายมีขั้ว เช่น น้ำหรือเอทานอล

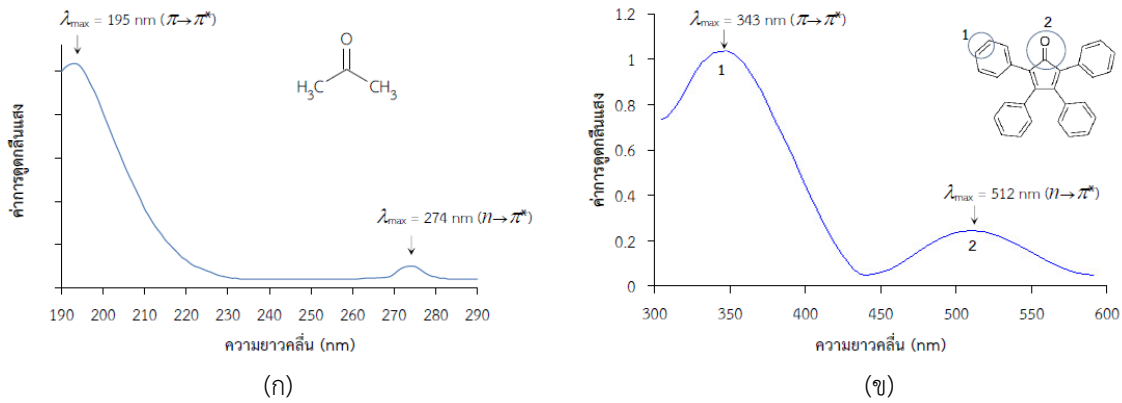
ตารางที่ 1.7 สารที่มีการดูดกลืนเนื่องจากการแทรนซิชัน $n \rightarrow \sigma^*$

สารประกอบ	ความยาวคลื่น (nm)	ϵ (dm^3/cm)
H ₂ O	167	1480
CH ₃ OH	184	150
CH ₃ Cl	173	200
CH ₃ I	258	365
(CH ₃) ₂ S	229	140
(CH ₃) ₂ O	184	2,520
CH ₃ NH ₂	215	600
(CH ₃) ₃ N	227	900

การแทรนซิชันแบบ $n \rightarrow \pi^*$ และ $\pi \rightarrow \pi^*$

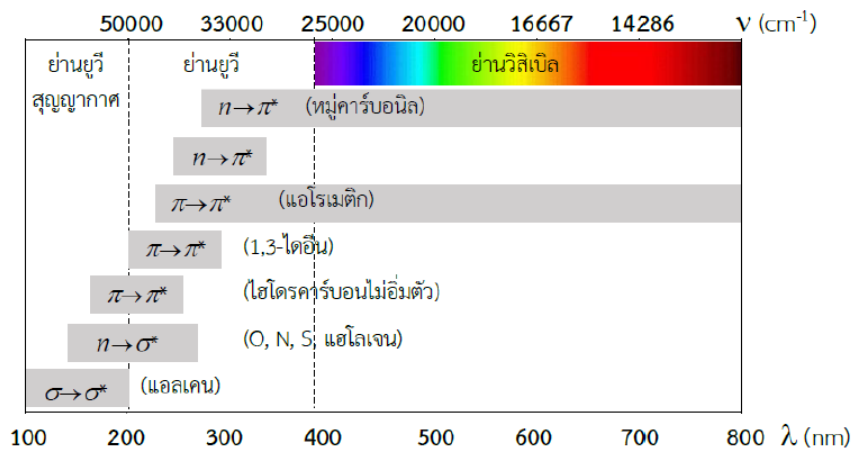
การดูดกลืนเนื่องจากการแทรนซิชันแบบ $n \rightarrow \pi^*$ และ $\pi \rightarrow \pi^*$ จะมีพลังงานโฟตอนอยู่ในย่านความยาวคลื่น 200 ถึง 800 nm ซึ่งการแทรนซิชันแบบ $n \rightarrow \pi^*$ และ $\pi \rightarrow \pi^*$ เกี่ยวข้องกับหมู่ โครโมฟอร์

โมเลกุลสารอินทรีย์ไม่อิ่มตัว เช่น แอลคีน แอลไคน์ และแอโรแมติก จะเกิดแทรนซิชันแบบ $\pi \rightarrow \pi^*$ ส่วนสารประกอบคาร์บอนิล เช่น กรดคาร์บอกซิลิก คีโตน แอลดีไฮด์ เอสเทอร์ และเอไมด์ ในโครงสร้างมีหมู่คาร์บอนิล (C=O) ซึ่งระหว่างอะตอมคาร์บอนและออกซิเจนมีพันธะคู่ และอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวจำนวนสี่ตัวบนอะตอมออกซิเจน ทำให้เกิดแทรนซิชันได้ 2 แบบ คือ $\pi \rightarrow \pi^*$ และ $n \rightarrow \sigma^*$ ส่วนการแทรนซิชันแบบ $n \rightarrow \pi^*$ จะเห็นในสเปกตรัมได้แต่มีความเข้มต่ำมาก ๆ ดังภาพที่ 1.7



ภาพที่ 1.7 สเปกตรัมการดูดกลืนของสารประกอบคาร์บอนิล (ก) แอซีโตน และ (ข) เทตระฟีนิลไซโคลเพนเตไดโอน

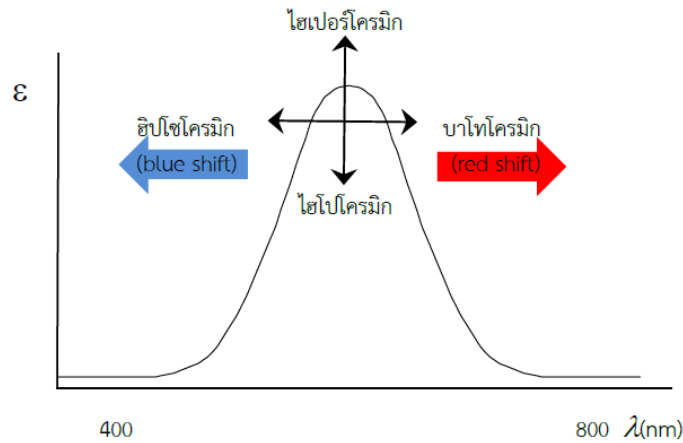
ย่านความยาวคลื่นของการดูดกลืนแสงเนื่องจากการทรานซิชันของอิเล็กตรอนในแต่ละแบบขึ้นกับหมู่ฟังก์ชัน รูปร่างโมเลกุล และพันธะระหว่างโมเลกุลแต่ละชนิด แสดงดังภาพที่ 1.8



ภาพที่ 1.8 ย่านความยาวคลื่นของการดูดกลืนเนื่องจากการทรานซิชันของอิเล็กตรอน. ที่มาจาก เคมีวิเคราะห์: หลักการและเทคนิคการคำนวณเชิงปริมาณ (หน้า 374) โดย วรวิทย์ จันท์สุวรรณ, 2563, สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

หมู่โครโมฟอร์ ของสารอินทรีย์บางชนิด มีค่าสภาพดูดกลืนแสงต่อโมลของสเปกตรัมที่เกิดจากการทรานซิชันแบบ $n \rightarrow \pi^*$ มีค่าน้อย อยู่ในช่วง $10\text{-}100 \text{ dm}^3/\text{cm}$ และการทรานซิชันแบบ $\pi \rightarrow \pi^*$ อยู่ในช่วง $100\text{-}10,000 \text{ dm}^3/\text{cm}$ ดังตารางที่ 1.8

ออกโซโครม (auxochrome) คือ หมู่แทนที่มาเกาะที่โครโมฟอร์ ของโมเลกุลสารอินทรีย์ เช่น อะมิโน ($-\text{NH}_2$), ไฮดรอกซิล ($-\text{OH}$), ไนโตร ($-\text{NO}_2$), คาร์บอนิล ($-\text{C}=\text{O}$), แฮไลด์ ($-\text{Cl}$, $-\text{Br}$) เป็นต้น โดยที่หมู่ออกโซโครมไม่ดูดกลืนแสง แต่จะมีผลส่งเสริมให้โมเลกุลที่มีหมู่ออกโซโครมมาเกาะนั้นดูดกลืนรังสีที่มีความยาวคลื่นมากขึ้นหรือความเข้มของรังสีมากขึ้น จำแนกเป็น คีบาโทโครมิก (bathochromic หรือ red-shift) ฮิปโซโครมิก (hypsochromic หรือ blue shift) ไฮเปอร์โครมิก (hyperchromic) และไฮโปโครมิก (hypochromic) ดังภาพที่ 1.9 และตัวอย่างผลของออกโซโครมสรุปได้ดังตารางที่ 1.9



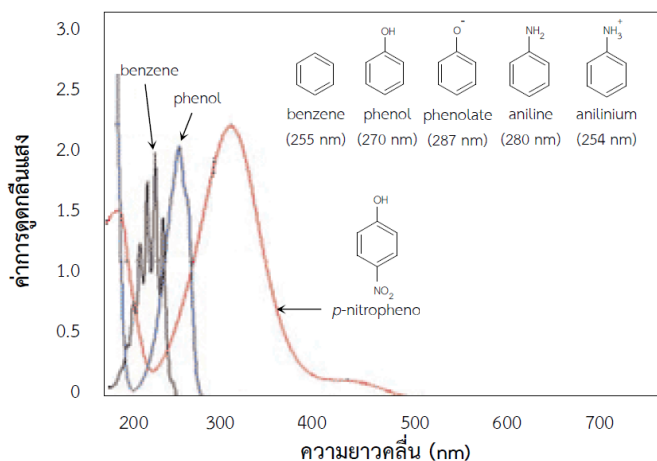
ภาพที่ 1.9 ผลของสเปกตรัมที่เกิดบาโทโครมิก ชิปไซโครมิก ไฮเปอร์โครมิก และไฮโปโครมิก

ตารางที่ 1.8 โครโมฟอร์สารอินทรีย์บางชนิด

ชนิด	ตัวอย่างโมเลกุล	การแทนขีซัน	λ_{\max} (nm)	ϵ	ตัวทำละลาย
แอลคีน	$\text{CH}_2=\text{CH}_2$	$\pi \rightarrow \pi^*$	175	10,000	
	$\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}_2$	$\pi \rightarrow \pi^*$	217	20,900	<i>n</i> -hexane
	$\text{CH}_3-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_3$	$\pi \rightarrow \pi^*$	227	22,500	<i>n</i> -hexane
แอลไคน์	$\text{CH}_3-\text{C}\equiv\text{CH}$	$\pi \rightarrow \pi^*$	186.5	450	cyclohexane
	$\text{C}_5\text{H}_{11}\text{C}\equiv\text{C}-\text{CH}_3$	$\pi \rightarrow \pi^*$	178	10,000	<i>n</i> -heptane
คาร์บอนิล	$(\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{O}$	$n \rightarrow \pi^*$	196	2,000	
		$\pi \rightarrow \pi^*$	280	15	<i>n</i> -hexane
	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{CH}_2=\text{CH}-\text{C}-\text{CH}_3 \end{array}$	$\pi \rightarrow \pi^*$	190	1,100	cyclohexane
		$n \rightarrow \sigma^*$	186	strong	<i>n</i> -hexane
		$n \rightarrow \pi^*$	324	24	alcohol
คาร์บอกซิลิก	CH_3COOH	$n \rightarrow \pi^*$	219	3,600	
เอไมด์	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{CH}_3-\text{C}-\text{NH}_2 \end{array}$	$n \rightarrow \pi^*$	204	41	ethanol
		$n \rightarrow \pi^*$	214	60	water
เอโซ	$\text{CH}_3\text{N}=\text{NCH}_3$	$n \rightarrow \pi^*$	339	5	ethanol
ไนโตร	CH_3NO_2	$n \rightarrow \pi^*$	280	22	<i>iso</i> -octane
แอลเคน	CH_4	$\sigma \rightarrow \sigma^*$	121.9	strong	vapor
	CH_3-CH_3	$\sigma \rightarrow \sigma^*$	135	strong	vapor
แอลคิล	CH_3-Cl	$\sigma \rightarrow \sigma^*$	172.5	weak	vapor
แฮไลด์	CH_3-Br	$\sigma \rightarrow \sigma^*$	204	200	vapor
		$\sigma \rightarrow \sigma^*$	257.5	365	<i>n</i> -pentane
แอลกอฮอล์	$\text{CH}_3-\text{O}-\text{H}$	$n \rightarrow \sigma^*$	183.5	150	vapor
อีเทอร์	$\text{CH}_3-\text{O}-\text{CH}_3$	$n \rightarrow \sigma^*$	183.8	2,520	vapor

ตารางที่ 1.9 ผลของหมู่ออกซิโครม

ชื่อ	ผล	ตัวอย่าง
บาโทโครมิก	หมู่ออกซิโครมที่เกาะบนโครโมฟอร์ ทำให้การดูดกลืนแสงมีแนวโน้มไปทางความยาวคลื่นที่มากขึ้น	เบนซีน (C_6H_6) ดูดกลืนรังสียูวี จะเกิดการแทนที่ชั้นของอิเล็กตรอนแบบ $\pi \rightarrow \pi^*$ สเปกตรัมมี λ_{max} สองตำแหน่ง คือ 203.5 nm ($\epsilon \sim 7,400$) และ 255 nm ($\epsilon \sim 204$) (ดังภาพที่ 1.10) เมื่อมีหมู่แทนที่มาเกาะ <ul style="list-style-type: none"> ▪ แอนิลีน (aniline) ซึ่งมีหมู่อะมิโน ($-NH_2$) ส่งผลให้สเปกตรัมมี λ_{max} มากขึ้นเป็น 280 nm ($\epsilon \sim 8,600$) ▪ พาราไนโตรฟีนอล (<i>p</i>-nitrophenol) ซึ่งมีหมู่ไนโตร ($-NO_2$) มี λ_{max} มากขึ้นเป็น 320 nm
อิปีโครมิก	หมู่ออกซิโครมที่เกาะบนโครโมฟอร์ ทำให้ดูดกลืนรังสีที่ความยาวคลื่นสั้นลง	แอนิลีนในสภาพที่เป็นกรดมี $\lambda_{max} = 280$ nm เมื่อเกิดเป็นไอออนแอนิลีนเนียม (anilinium ion) ซึ่งบนอะตอมไนโตรเจนจะไม่มีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวที่จับคู่ (conjugate) กับพันธะไพของแอมโรแมติก ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานของอิเล็กตรอนแบบ $\pi \rightarrow \pi^*$ มีความยาวคลื่นสั้นลงเป็น 254 nm เมื่อเทียบกับแอนิลีน ดังภาพที่ 1.10
ไฮเปอร์โครมิก	การเลื่อนสเปกตรัมที่ทำให้ความเข้มของแสงที่ถูกดูดกลืนหรือมีค่าสภาพดูดกลืนแสงต่อโมลมากขึ้น เมื่อมีหมู่แทนที่เกาะบนโครโมฟอร์	ไพริดีน (pyridine) มี λ_{max} ที่ 257 nm ($\epsilon \sim 2,750$) เมื่อมีหมู่แทนที่เป็น 2-เมทิลไพริดีน (2-methyl pyridine) มี λ_{max} มากขึ้นเล็กน้อย 260 nm แต่มี ϵ สูงขึ้นเกือบสองเท่า
ไฮโปโครมิก	การเลื่อนสเปกตรัมที่ทำให้ความเข้มของแสงที่ถูกดูดกลืนหรือสภาพดูดกลืนแสงต่อโมลน้อยลง เมื่อมีหมู่แทนที่เกาะบนโครโมฟอร์	แนฟทาลีน (naphthalene) มี λ_{max} ที่ 235 nm และมีสภาพดูดกลืนแสงต่อโมล $\sim 19,000$ เมื่อมีหมู่แทนที่เป็น 2-เมทิลแนฟทาลีน (2-methyl naphthalene) มี λ_{max} มากขึ้นเล็กน้อย 260 nm แต่มี ϵ ลดลงเป็น $\sim 10,250$



ภาพที่ 1.10 ผลของออกซิโครมบนเบนซีน

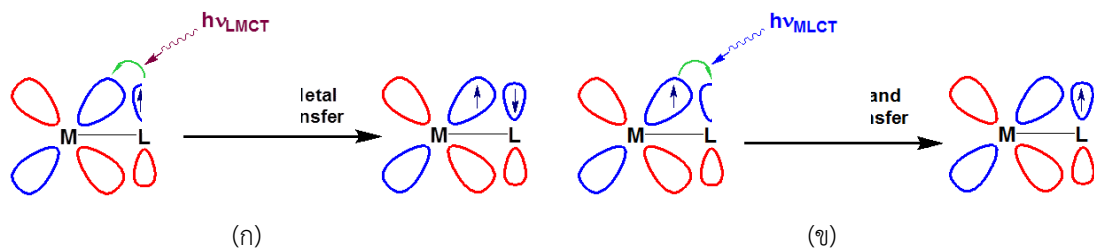
2) การถ่ายโอนประจุอิเล็กตรอน

การถ่ายโอนประจุอิเล็กตรอน (electron charge transfer) คือการถ่ายโอนประจุอิเล็กตรอนระหว่างโลหะอะตอมกลางซึ่งเป็นตัวให้อิเล็กตรอน (electron donor) กับลิแกนด์ซึ่งเป็นตัวรับอิเล็กตรอน (electron acceptor) ทำให้เกิดสเปกตรัมถ่ายโอนประจุ (charge transfer band) ขึ้น ซึ่งจะพบเห็นได้จากการเกิดสีของไอออนเชิงซ้อนของโลหะแทรนซิชัน เนื่องจากอิเล็กตรอนที่อยู่ในออร์บิทัลดี (d -orbital) ที่ระดับพลังงานต่ำกว่าถูกกระตุ้นไปยังออร์บิทัลที่มีพลังงานสูงกว่า โดยย่านที่ดูดกลืนจะเป็นย่านวิลีเบิล และสีของไอออนเชิงซ้อนจะเป็นสีที่มองเห็น

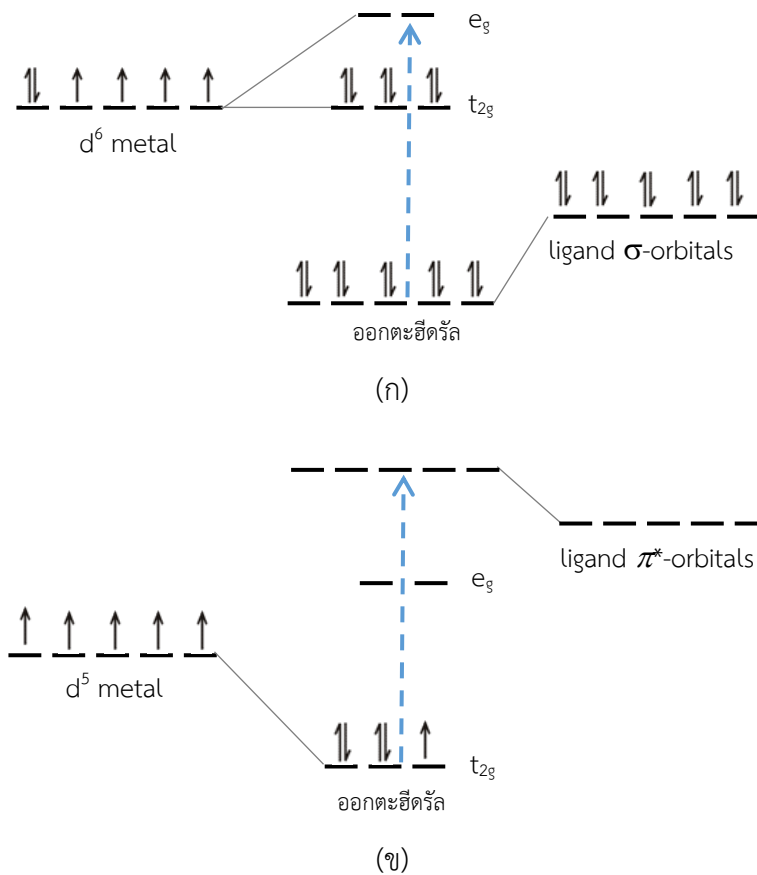
สเปกตรัมการถ่ายโอนประจุอิเล็กตรอนเป็นการถ่ายโอนอิเล็กตรอนภายในโมเลกุลระหว่างโลหะกับลิแกนด์ ทำให้มีพลังงานสูงขึ้นและจะมีค่าสภาพดูดกลืนแสงต่อโมลสูง ($>50,000$) (Mohapatra & Parida, 2017, Bonardi, 2018) ซึ่งเกิดขึ้นได้สองแบบคือ

1) การถ่ายโอนอิเล็กตรอนจากลิแกนด์ไปยังโลหะ (ligand to metal charge transfer; LMCT) ดังภาพที่ 1.11 (ก) โดยสเปกตรัมถ่ายโอนประจุเกี่ยวข้องกับการถ่ายโอนอิเล็กตรอนจากออร์บิทัล π^* ของลิแกนด์ (ที่ครอบครองในออร์บิทัลแบบเต็มหรือบางส่วน) ไปยังออร์บิทัลดีของโลหะ จากแผนภาพ LMCT ภาพที่ 1.12 (ก) เมื่อออร์บิทัลของลิแกนด์มีอิเล็กตรอนครอบครองเต็มในซิกมาออร์บิทัล สเปกตรัมการถ่ายโอนประจุอิเล็กตรอนเกิดขึ้นได้เนื่องจากอิเล็กตรอนของลิแกนด์ถ่ายโอนไปยังออร์บิทัลดีที่ว่างหรือที่ยังไม่เต็มของอะตอมโลหะ

2) การถ่ายโอนอิเล็กตรอนจากโลหะไปยังลิแกนด์ (metal to ligand charge transfer; MLCT) ดังภาพที่ 1.11 (ข) โดยสเปกตรัมถ่ายโอนประจุเกี่ยวข้องกับการถ่ายโอนอิเล็กตรอนจากออร์บิทัลดี (ที่ครอบครองในออร์บิทัลแบบเต็มหรือบางส่วน) ของโลหะไปยังออร์บิทัลดี- π^* ที่ว่างหรือยังไม่เต็มของลิแกนด์ ดังภาพที่ 1.12 (ข) ซึ่งไอออนของโลหะสามารถดูดกลืนแสงย่านวิลีเบิล เนื่องจากการแทรนซิชันของเวเลนซ์อิเล็กตรอนของไอออนโลหะในออร์บิทัลดีในไอออนโลหะอิสระ (free metal ion) ออร์บิทัลดีทั้งหมด 5 ออร์บิทัลจะมีพลังงานเท่ากัน (degenerated d -orbitals) แต่เมื่อเกิดเป็นไอออนเชิงซ้อนระหว่างไอออนโลหะกับลิแกนด์ ออร์บิทัลดีจะแยกระดับพลังงานเป็นสองกลุ่มคือ กลุ่มที่มีระดับพลังงานสูงกว่ามี 2 ออร์บิทัล เรียกว่า อีจี (e_g) และกลุ่มที่มีระดับพลังงานต่ำกว่า มี 3 ออร์บิทัล เรียกว่า ทีทูจี (t_{2g}) สเปกตรัมดูดกลืนแสงจะสัมพันธ์กับพลังงานที่ใช้ในการกระตุ้นอิเล็กตรอนจากระดับ t_{2g} ไปยัง e_g โดยผลต่างของระดับพลังงาน (ΔE) จะมากหรือน้อยขึ้นกับธรรมชาติของโลหะแทรนซิชัน เลขออกซิเดชันของโลหะ และธรรมชาติของลิแกนด์

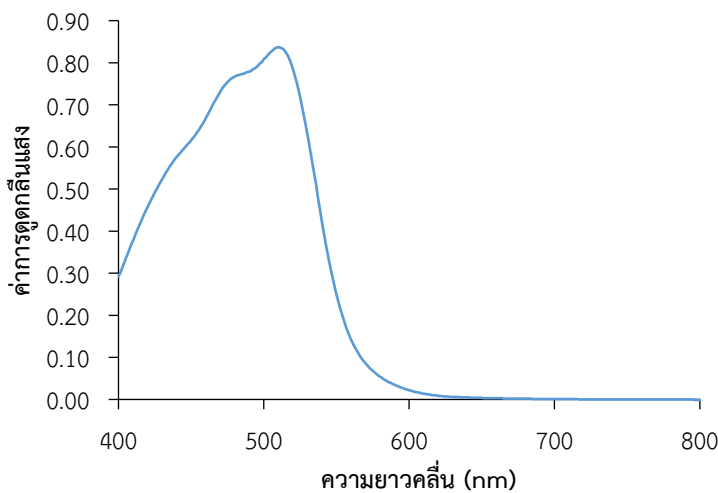


ภาพที่ 1.11 แผนภาพการถ่ายโอนอิเล็กตรอน (ก) จากลิแกนด์ไปยังโลหะ และ (ข) จากโลหะไปยังลิแกนด์. ที่มาจาก *Inorganic Chemistry* by G. L. Miessler, P. J. Fischer, & D. A. Tarr, 2010, Prentice-Hall/Pearson.



ภาพที่ 1.12 แผนภาพการถ่ายโอนประจุอิเล็กตรอน (ก) LMCT และ (ข) MLCT

ตัวอย่างไอออนเชิงซ้อนที่ถ่ายโอนประจุอิเล็กตรอน เช่น ไอออนเชิงซ้อนระหว่างเหล็ก(II) กับ 1,10-ฟีแนนโทรลีน ซึ่งมีสเปกตรัมดูดกลืนแสง แสดงดังภาพที่ 1.13 โดยที่เกิดการถ่ายโอนประจุอิเล็กตรอนจากลิแกนด์ไปยังโลหะ



ภาพที่ 1.13 สเปกตรัมดูดกลืนแสงของไอออนเชิงซ้อนของเหล็ก-ฟีแนนโทรลีน

3) การแทนชี่ยนในออร์บิทัลดี และออร์บิทัลเอฟ

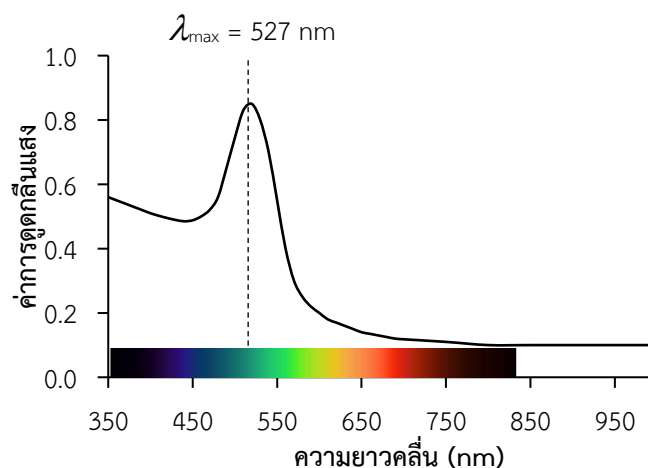
ไอออนเชิงซ้อนของโลหะแทนชี่ยนจะสามารถเกิดการแทนชี่ยนในออร์บิทัลดี ($d-d$ transition) เมื่อมีการกระตุ้นอิเล็กตรอนที่อยู่ในออร์บิทัลดีด้วยโฟตอน ให้ไปอยู่ในออร์บิทัลดีที่มีระดับพลังงานสูงกว่า แต่การเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานแบบ $d-d$ มีโอกาสเกิดขึ้นได้น้อยมาก จึงมีแถบการดูดกลืนแสงต่ำและความเข้มสีของสารละลายค่อนข้างต่ำ ยกเว้น ไอออนเชิงซ้อนของโลหะที่เป็น d^0 และ d^{10} อย่างไรก็ตาม การแทนชี่ยนของอิเล็กตรอนแบบออร์บิทัล $d-d$ สามารถเกิดขึ้นได้ทั้งย่านยูวีและวิสิเบิล แต่เนื่องจากเป็นการเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานต้องห้ามจึงทำให้มีความเข้มต่ำ โดยสีของสารละลายไอออนเชิงซ้อนของโลหะแทนชี่ยนจะขึ้นกับชนิดโลหะ สถานะออกซิเดชันของโลหะ และจำนวนอิเล็กตรอนในออร์บิทัลดีของโลหะ เช่น ไอออนเชิงซ้อนของ Fe^{2+} มีสีเขียว แต่ Fe^{3+} มีสีส้มหรือสีน้ำตาล

1.1.3 กฎการดูดกลืนและการเบี่ยงเบน

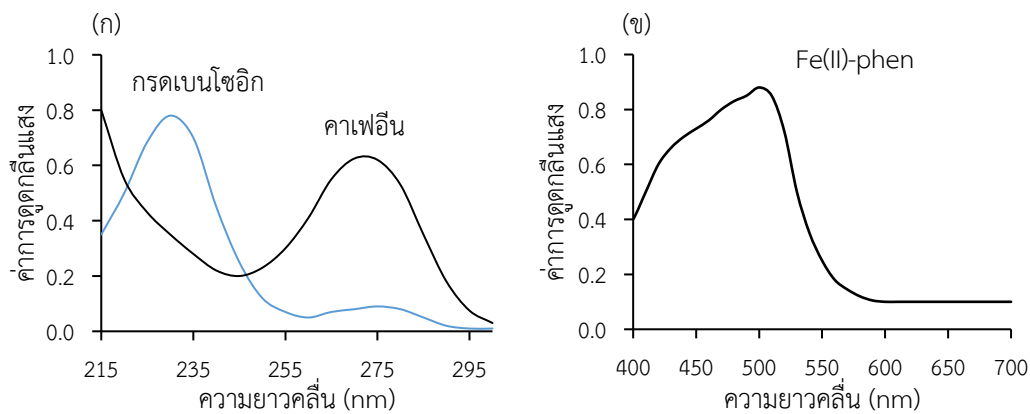
เมื่อรังสีย่านยูวี-วิสิเบิลผ่านไปยังสารที่มีอนุภาคที่สามารถดูดกลืนแสงได้ (absorbing species) จำนวนโฟตอนของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่ส่งผ่าน (transmittance) ออกมาจะลดลง เนื่องจากสารนั้นสามารถดูดกลืนโฟตอนบางส่วนไว้ได้ อันเนื่องมาจากเกิดการแทนชี่ยนที่ทำให้ดูดกลืนแสงได้ ซึ่งในการวัดจำนวนโฟตอนที่ลดลงเปรียบเทียบกับโฟตอนเริ่มต้น เรียกว่า ค่าการดูดกลืน (แอบซอร์บแนนซ์, absorbance; A)

แต่เนื่องจากสารไม่สามารถดูดกลืนคลื่นแสงได้ทุกย่านความยาวคลื่นของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า ดังนั้นความสามารถในการดูดกลืนแสงในแต่ละความยาวคลื่นจึงวัดออกมาได้แตกต่างกัน เมื่อเขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนเป็นแกน x กับความยาวคลื่นเป็นแกน y เราจะได้กราฟที่เรียกว่า สเปกตรัมการดูดกลืน แสดงดังภาพที่ 1.14 ซึ่งเป็นสเปกตรัมการดูดกลืนของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองคำ (gold nanoparticle) ที่แสดงความสามารถในการดูดกลืนรังสีย่านยูวี-วิสิเบิลแต่ละย่านความยาวคลื่นได้ไม่เท่ากัน

สเปกตรัมการดูดกลืนจะปรากฏที่ความยาวคลื่นของรังสีความยาวคลื่นหนึ่งที่สูงสุด เรียกว่า ความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดกลืนสูงสุด (maximum absorptivity wavelength, λ_{max}) ตัวอย่างอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองคำปรากฏ λ_{max} ที่ความยาวคลื่น 527 nm หรือตัวอย่างในภาพที่ 1.15

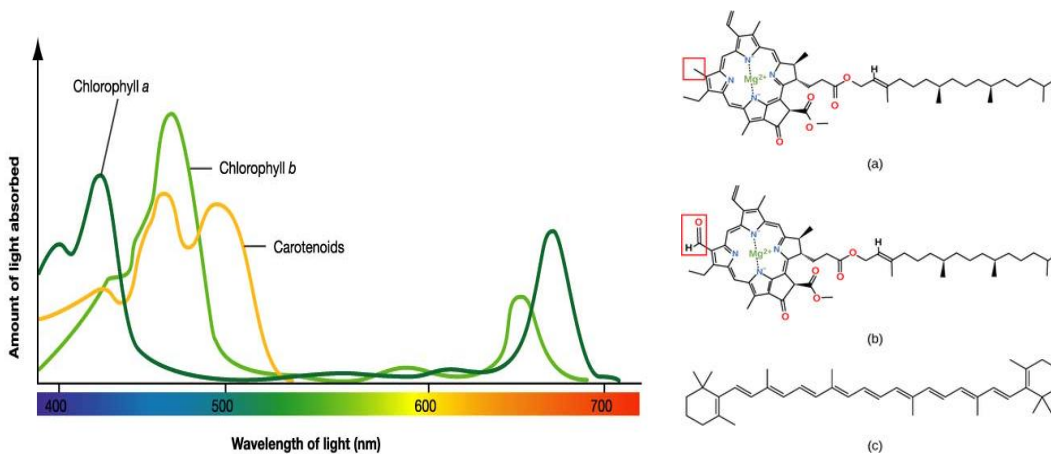


ภาพที่ 1.14 สเปกตรัมการดูดกลืนของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองคำ



ภาพที่ 1.15 ตัวอย่างสเปกตรัมการดูดกลืน. ที่มาจาก เคมีวิเคราะห์: หลักการและเทคนิคการคำนวณเชิงปริมาณ (หน้า 351) โดย วรวิทย์ จันทรสวรรณ, 2563, สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

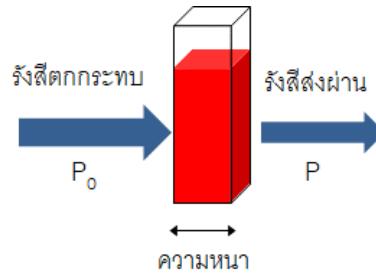
สารบางชนิดอาจปรากฏ λ_{max} เพียงค่าเดียว แต่สารบางชนิดอาจปรากฏ λ_{max} ได้สองหรือมากกว่า ขึ้นอยู่กับโครงสร้างและหมู่ฟังก์ชัน



ภาพที่ 1.16 สเปกตรัมดูดกลืน (ภาพซ้าย) และโครงสร้าง (ภาพขวา) ของ (ก) คลอโรฟิลล์เอ (ข) คลอโรฟิลล์บี และ (ค) แคโรทีนอยด์

1) กฎของการดูดกลืนแสง

เมื่อรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าตกกระทบวัตถุที่สามารถดูดกลืนโฟตอนได้ การวัดการดูดกลืนแสงจะพิจารณาเฉพาะแสงที่ตกกระทบ (incident light) แสงที่ถูกดูดกลืน (absorbed light) และแสงที่ส่งผ่าน (transmitted light) เรียกว่า ความส่งผ่าน (transmittance) โดยไม่ได้คำนึงผลของแสงรบกวน (stray light)



ภาพที่ 1.17 แสงที่อาจเกิดขึ้นเมื่อแสงตกกระทบสารตัวอย่าง

ความส่งผ่าน (transmittance, T) เป็นสัดส่วนปริมาณแสงที่ผ่านออกมา (P) ต่อปริมาณแสงที่ผ่านเข้าไปในตัวอย่าง (P_0) เขียนสมการได้ดังนี้

$$T = \frac{P}{P_0} \quad \text{.....(1.1)}$$

ความส่งผ่านนิยมรายงานเป็นร้อยละความส่งผ่าน (transmittance percentage, %T) ซึ่งหลักการเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์จะรายงานค่านี้เป็นร้อยละของการส่งผ่าน มีหน่วยเป็น %

$$\%T = \frac{P}{P_0} \times 100 \quad \text{.....(1.2)}$$

นอกจากนี้ เรายังนิยมใช้ส่วนกลับของอัตราส่วนข้างต้นในการรายงานค่าการดูดกลืนแสงอีกด้วย อัตราส่วนนี้ได้จากการนำปริมาณแสง (P_0) ไปหารด้วยปริมาณแสงที่ผ่านไปถึงรับสัญญาณ (P) ในทางปฏิบัติเราไม่นิยมแสดงปริมาณการดูดกลืนแสงด้วยอัตราส่วนนี้โดยตรง แต่จะใช้ค่าลอการิทึมฐานสิบของอัตราส่วนนี้แทน ค่าลอการิทึมที่ได้เรียกว่า ค่าการดูดกลืนแสง หรือ แอบซอร์บแนนซ์ (absorbance, A) ของสารละลายสัมพันธ์กับค่าความส่งผ่าน ดังนี้

$$A = -\log T = -\log \frac{P}{P_0} = \log \frac{P_0}{P} \quad \text{.....(1.3)}$$

ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายเพิ่มขึ้นค่าความส่งผ่านลดลง ค่าการดูดกลืนแสงสามารถคำนวณจาก %T ดังสมการ

$$\%T = 100 \left(\frac{P}{P_0} \right) \quad \text{.....(1.4)}$$

$$A = -\log T \quad \text{.....(1.5)}$$

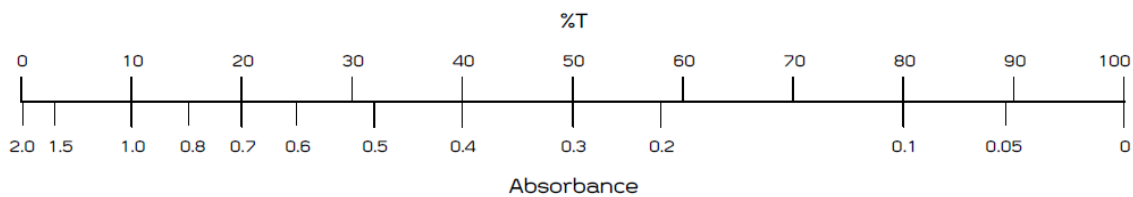
$$= -\log \%T + \log 100 \quad \text{.....(1.6)}$$

$$= 2 - \log \%T \quad \text{.....(1.7)}$$

ดังนั้น ค่า T มีค่าอยู่ในช่วง 0-1 และ %T มีค่าตั้งแต่ 0-100 ส่วน A มีค่าเท่ากับ 0 เมื่อแสงที่ผ่านเข้าไปในตัวกลางไม่ถูกดูดกลืนไว้เลย หรืออาจได้ว่าแสงส่งผ่านออกมา 100% แต่ถ้า A มีค่าเท่ากับ 1 เมื่อแสงส่งผ่านออกมาเพียง 10% และ A เท่ากับ 2 ถ้าแสงส่งผ่านออกมาน้อยมากเพียง 1% สรุปได้ดังตารางที่ 1.10

ตารางที่ 1.10 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการทะลุผ่านกับค่าการดูดกลืน

ความส่องผ่าน (P/P ₀)	%T (log P/P ₀)	log %T	การดูดกลืนแสง (-log T)
1	100	2	0
0.1	10	1	1
0.01	1	0	2
0.001	0.1	-1	3



ภาพที่ 1.18 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนกับร้อยละความส่องผ่าน (%T)

2) กฎของแลมเบิร์ต (Lambert's law)

แลมเบิร์ต (Johann Heinrich Lambert, ค.ศ.1760) นักคณิตศาสตร์ชาวฝรั่งเศส อธิบายแนวโน้มการลดลงของความส่องผ่านแบบเลขชี้กำลัง (exponential) ของแสง เมื่อลำแสงนั้นผ่านตัวกลางที่ดูดกลืนแสงได้ ซึ่งเป็นกฎที่เรียกว่า กฎการดูดกลืนของแลมเบิร์ต (Lambert's law of absorption) ซึ่งแสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่ถูกดูดกลืนกับความหนาของตัวกลางที่แสงผ่าน (b) ดังนั้น เมื่อพิจารณาจากสมการ (1.3) โดยความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนกับความหนาของตัวกลางที่แสงผ่าน ดังนี้

$$\log \frac{P_0}{P} = \frac{k'b}{2.303} \quad \text{.....(1.8)}$$

เมื่อ k' = ค่าคงที่สัดส่วนคงที่ (proportional constant)

b = ความหนาของตัวกลางที่แสงผ่าน (path length)

ดังนั้น $A = k'b$ (1.9)

สมการ (1.9) เรียกว่า “กฎแลมเบิร์ต” สรุปได้ดังนี้ “เมื่อรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความยาวคลื่นเดียวผ่านตัวกลางเนื้อเดียว ความส่องผ่านจะลดลงแบบเลขชี้กำลังตามความหนาของตัวกลางที่แสงผ่าน” หรืออาจกล่าวอย่างง่ายได้ว่า “ค่าการดูดกลืนแสงเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความหนาของตัวกลางที่แสงผ่าน”

3) กฎของเบียร์ (Beer's law)

เบียร์ (August Beer, ค.ศ.1852) นักเคมีชาวเยอรมัน แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้ากับความเข้มข้นของสารที่ดูดกลืนแสง สมการการคำนวณแสดงเช่นเดียวกับกฎของแลมเบิร์ต จะได้ดังนี้

$$\log \frac{P_0}{P} = \frac{k''c}{2.303} \quad \text{.....(1.10)}$$

$$\text{ดังนั้น} \quad A = k''c \quad \text{.....(1.11)}$$

เมื่อ $k'' =$ ค่าคงที่

$c =$ ความเข้มข้นของสารที่ดูดกลืนแสง

สมการ (1.11) เรียกว่า “กฎของเบียร์” สรุปได้ดังนี้ “เมื่อรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความยาวคลื่นเดียว ผ่านตัวกลางเนื้อเดียว ความส่องผ่านจะลดลงแบบเลขชี้กำลังตามจำนวนของสารที่ดูดกลืนแสง” หรืออาจกล่าวอย่างง่ายได้ว่า “ค่าการดูดกลืนแสงเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสารที่ดูดกลืนแสง”

เมื่อพิจารณากฎของเบียร์และแลมเบิร์ตรวมกัน จะเห็นได้ว่าเมื่อผ่านแสงที่มีความยาวคลื่นเดียวเข้าไปในสารที่มีอนุภาคที่สามารถดูดกลืนแสง พลังงานแสงที่ถูกดูดกลืนจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นหรือปริมาณของสารที่สามารถดูดกลืนแสงนั้น ๆ ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ดังนี้

$$A = \epsilon bc \quad \text{.....(1.12)}$$

เมื่อ $A =$ แอ็บซอร์เบแนนซ์ หรือ ค่าการดูดกลืนแสง

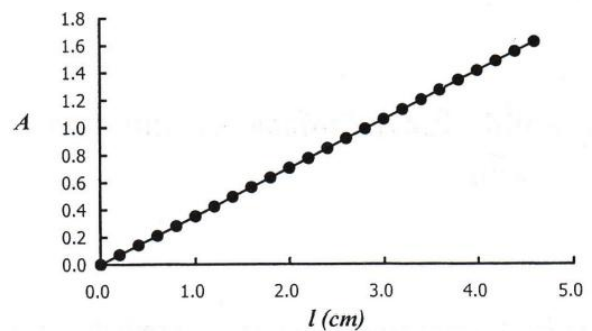
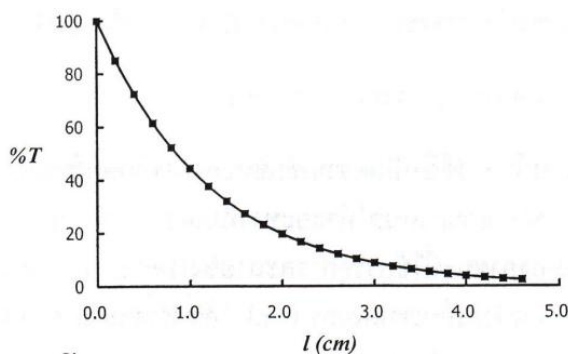
$\epsilon =$ สภาพดูดกลืนแสงต่อโมล ($\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) เรียกว่า *เอปซิลลอน*

$b =$ ความหนาของตัวกลางที่แสงผ่าน (cm)

$c =$ ความเข้มข้นของสารที่สามารถดูดกลืนแสง (mol/L)

สมการ 1.12 เรียกสั้น ๆ ว่า “กฎของเบียร์” (Beer’s law) สามารถใช้คำนวณค่าสภาพดูดกลืนแสงต่อโมล (molar absorptivity, ϵ) ของอนุภาคที่สามารถดูดกลืนแสงได้ ในกรณีที่ทราบความเข้มข้นของสารที่สามารถดูดกลืนแสงนั้น ๆ หรือในทำนองกลับกันกฎของเบียร์ สามารถใช้หาความเข้มข้นของสารที่สามารถดูดกลืนแสง เมื่อทราบสภาพดูดกลืนแสงต่อโมล (ϵ) และความหนาของตัวกลาง (b)

จากสมการของเบียร์ จะแสดงความสัมพันธ์ระหว่างการดูดกลืนแสงกับตัวแปรสำคัญ คือ ความเข้มข้น (c) และระยะทางที่แสงผ่าน (b) แต่ในทางปฏิบัติเรามักกำหนดให้ตัวแปรตัวใดตัวหนึ่งมีค่าคงที่ แล้วจึงวัดแอ็บซอร์เบแนนซ์หรือร้อยละความส่องผ่าน ซึ่งเปลี่ยนแปลงไปตามค่าของตัวแปรที่เหลือ ดังภาพที่ 1.19 แสดงการดูดกลืนแสงที่วัดได้ซึ่งผันแปรไปตามระยะทางที่แสงเดินทางผ่านโดยความเข้มข้นคงที่ จะเห็นได้ว่ากราฟของร้อยละความส่องผ่านเป็นเส้นโค้งแบบเลขชี้กำลัง (exponential) ในขณะที่กราฟของแอ็บซอร์เบแนนซ์เป็นเส้นตรง ซึ่งนำไปใช้ประโยชน์สะดวกกว่าแบบเส้นโค้ง



ภาพที่ 1.19 ความสัมพันธ์ระหว่างการดูดกลืนแสงกับระยะทางตามกฎของเบียร์ (ก) ระหว่างร้อยละความส่องผ่าน (%T) กับระยะทาง (b) และ (ข) ระหว่างแอ็บซอร์เบแนนซ์ (A) กับระยะทาง

โดยค่า ϵ เป็นค่าคงที่สำหรับความสัมพันธ์แบบแปรผันโดยตรง (proportionality constant) ซึ่งใช้เป็นสัญลักษณ์ที่ใช้แทนค่าสภาพดูดกลืนแสงต่อโมล (molar absorptivity) หรือที่เรียกว่า molar extinction coefficient มีหน่วยเป็น $M^{-1}cm^{-1}$ เนื่องจากแอบซอร์บแบนซ์ซึ่งเป็นค่าลอการิทึมไม่มีหน่วย หน่วยของสภาพดูดกลืนแสงต่อโมลจึงเป็นส่วนกลับของความเข้มข้น (c ซึ่งมีหน่วยเป็น M) และระยะทาง (b ซึ่งมีหน่วยเป็น cm)

ค่า ϵ บอกถึงความสามารถในการดูดกลืนแสง ซึ่งเป็นสมบัติเฉพาะของสารชนิดหนึ่ง ๆ ณ ความยาวคลื่นค่าหนึ่ง และจะไม่เปลี่ยนแปลงตรงเท่าที่เราควคุมสภาวะแวดล้อม เช่น pH ของสารละลาย ชนิดของตัวทำละลาย และอุณหภูมิให้คงที่ ค่า ϵ ช่วยให้เราหาความเข้มข้นของสารจากแอบซอร์บแบนซ์ได้อย่างง่ายดายโดยหลักการแล้ว หากเราทราบค่า ϵ ของสารชนิดหนึ่งที่มีความยาวคลื่นหนึ่ง เราก็สามารถหาความเข้มข้นของสารนั้น โดยวัดค่าแอบซอร์บแบนซ์ของสารนั้นที่มีความยาวคลื่นนั้น แล้วหาความเข้มข้นจากสมการของเบียร์ ในทางปฏิบัติเรามักจะเริ่มต้นด้วยการสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างแอบซอร์บแบนซ์ที่วัดได้กับความเข้มข้นของสารที่ทราบค่าแน่นอน ลักษณะกราฟเหมือนกราฟในภาพที่ 1.19 (ข) เรียกว่ากราฟมาตรฐาน (standard curve หรือ calibration curve) จากนั้นจึงหาค่า ϵ จากความชันของกราฟ ซึ่งมีค่าเท่ากับผลคูณของค่า ϵ ระยะทาง แต่เนื่องจากเส้นผ่านศูนย์กลาง (หรือความกว้าง) ของคิวเวตต์มาตรฐานมีค่า 1 cm ค่า ϵ มีค่าตัวเลขเท่ากับความชัน (slope) ของกราฟมาตรฐาน

4) การเบี่ยงเบนจากกฎของเบียร์

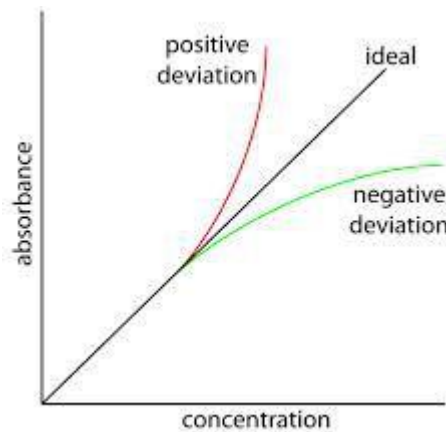
การเบี่ยงเบนจากกฎของเบียร์ (deviation from Beer's law) หมายถึงปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นเมื่อค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ไม่สัมพันธ์กับความเข้มข้นหรือระยะทางที่แสงเดินทางผ่านในลักษณะที่ควรจะเป็น กล่าวคือ ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นนั้นไม่เป็นเส้นตรง หรือไม่ก็เป็นเส้นโค้งแบบเลขชี้กำลัง (exponential) ในกรณีที่เกิดการดูดกลืนแสงด้วยคาร์บอนิลความส่องผ่าน (%T) การเบี่ยงเบนอาจเกิดขึ้นทั้งในทางลบหรือทางบวก สาเหตุหลักของการเบี่ยงเบนจากกฎของเบียร์ ดังนี้

4.1) การเบี่ยงเบนจากเครื่องมือ (instrumental deviation) โดยเป็นการเบี่ยงเบนที่เกี่ยวข้องขีดจำกัดของเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ มักมีสาเหตุมาจากสองกรณี ดังนี้

- แสงที่ให้สารดูดกลืนนั้นประกอบด้วยความยาวคลื่นมากกว่าหนึ่งค่า (polychromaticity) ในกรณีนี้เป็นเรื่องปกติของเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ทั่วไป คือการขาดความสามารถในการจำแนกแสงจากแหล่งกำเนิดได้ละเอียดจนมีค่าความยาวคลื่นเพียงค่าเดียวได้ แสงที่เดินทางผ่านไปถึงสารละลายจึงไม่ใช่แสงเอกรงค์ (monochromatic light) ซึ่งมีความยาวคลื่นเพียงค่าเดียวตามทฤษฎี แต่เป็นแสงตลอดย่านความยาวคลื่นช่วงหนึ่ง (โดยทั่วไปเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ราคาถูกมีปัญหาการจำแนกความยาวคลื่นมากกว่าเครื่องราคาแพง) ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มีค่าสูงหรือต่ำไปจากค่าที่ควรเป็นและเกิดการเบี่ยงเบนขึ้นในทางบวกหรือทางลบ

- มีแสงรบกวน (stray lights) กล่าวคือ มีส่วนเกินสะท้อนหรือรั่วผ่านไปถึงตัวรับสัญญาณ ทำให้เกิดการเบี่ยงเบนจากกฎของเบียร์ โดยทำให้อ่านค่าการดูดกลืนแสงได้น้อยกว่าที่ควรเป็นเนื่องจากแสงส่วนนี้ไม่ได้เกิดจากการดูดกลืนแสง แต่ผ่านไปถึงตัวรับสัญญาณซึ่งจะอ่านค่ารวมไปกับแสงส่วนที่เหลือจากการดูดกลืนแสง จึงเป็นเหตุให้เกิดการเบี่ยงเบนในทางลบได้ ปัญหาแสงส่วนเกินจะพบมากเวลาใช้แสงที่มีความยาวคลื่นใกล้กับขีดจำกัดที่เครื่องนั้นจะสามารถให้กำเนิดได้ หรือไม่เกิดจากแสงภายนอกที่รั่วเข้าไปถึงตัวรับสัญญาณ เช่น ในขณะที่วัดการดูดกลืนแสงโดยลิมปิดฝาปิดตัวเครื่องที่ครอบ หลอดคิวเวตต์ไว้ให้สนิท

การเบี่ยงเบนที่เกิดจากขีดจำกัดของเครื่องมือทั้งสองกรณีข้างต้นนี้เป็นปัจจัยภายนอก ไม่ขึ้นกับสารที่วัด เรามีวิธีตรวจสอบว่าเกิดการเบี่ยงเบนในลักษณะดังกล่าวหรือไม่ โดยดูจากกราฟที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนกับระยะทาง โดยให้ความเข้มข้นคงที่ (ภาพที่ 1.19(ข)) ถ้ากราฟที่ได้เป็นเส้นตรง ก็สามารถสรุปได้ว่าเครื่องมือที่เราใช้วัดนั้นทำงานได้ตามปกติ และการวัดของเราอยู่ภายในขอบเขตที่เครื่องมือวัดทำงานได้



ภาพที่ 1.20 การเบี่ยงเบนจากกฎของเบียร์

4.2) การเปลี่ยนแปลงสมดุลเคมี สารที่ต้องการวัดมีการเปลี่ยนแปลงทางเคมีเกิดขึ้นซึ่งนำไปสู่การเบี่ยงเบนจากกฎของเบียร์ได้ เช่น การแตกตัว (dissociation) การรวมตัว (association) การเกิดสารประกอบเชิงซ้อน (complex formation) หรือการเกิดพอลิเมอร์ (polymerization) โดยปฏิกิริยาเหล่านี้ล้วนเกี่ยวข้องกับสถานะของสารมากกว่าหนึ่งสถานะ และสารในแต่ละสถานะก็อาจมีความสามารถในการดูดกลืนแสงได้ไม่เท่ากัน ปริมาณสารในแต่ละสถานะนั้นจะมากหรือน้อยเพียงใดไม่ขึ้นกับค่าคงที่สมดุล (equilibrium constant) ของปฏิกิริยา แต่เมื่อความเข้มข้นของสารเปลี่ยนแปลงไปหรือเมื่อเงื่อนไขที่มีอิทธิพลต่อสมดุลเคมี เช่น ค่า pH เปลี่ยนแปลงไป สัดส่วนของสารในสถานะต่าง ๆ เหล่านี้จะเปลี่ยนแปลงตามไปด้วย ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ไม่สอดคล้องกับค่าที่ควรจะเป็น

4.3) ความเข้มข้นสูง เมื่อเราอธิบายความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ที่วัดได้กับปริมาณของสาร เรามักใช้กฎของเบียร์ (Beer's Law) ซึ่งอธิบายว่าค่าการดูดกลืนแสงขึ้นอยู่กับ 3 ปัจจัยหลัก ได้แก่ ความเข้มข้นของสาร ความยาวของเส้นทางที่แสงเดินทางผ่าน (path length) และค่าคงที่โมลาร์แอบซอร์ปทีวิตี (\mathcal{E}) โดยสมมติว่าปัจจัยอื่น ๆ เช่น อุณหภูมิ ตัวทำละลาย หรือดัชนีหักเหของแสง จะไม่มีผลต่อการดูดกลืน เพราะมักถือว่าคงที่ตลอดช่วงการวัด

อย่างไรก็ตาม เมื่อความเข้มข้นของสารในสารละลายสูงมาก ดัชนีหักเหของแสงจะเริ่มเปลี่ยนแปลงและไม่คงที่ ส่งผลให้ค่าการดูดกลืนที่วัดได้ต่ำกว่าค่าจริง ซึ่งเป็นการเบี่ยงเบนจากกฎของเบียร์ในทางลบ การเบี่ยงเบนนี้อาจทำให้การวัดคลาดเคลื่อนได้ เพื่อหลีกเลี่ยงปัญหานี้ แนะนำให้ใช้สารละลายที่มีความเข้มข้นต่ำกว่า 0.01 โมลต่อลิตร หรือเลือกช่วงความเข้มข้นที่ให้ความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าการดูดกลืนกับความเข้มข้น โดยดูจากกราฟมาตรฐาน (calibration curve) ซึ่งช่วงที่เหมาะสม คือช่วงที่กราฟยังคงเป็นเส้นตรง

นอกจากนี้ ยังมีปัจจัยอื่นที่ส่งผลกระทบต่อค่าการดูดกลืน เช่น สารเจือปน หรือองค์ประกอบอื่นในสารละลาย เพื่อควบคุมปัจจัยเหล่านี้ให้น้อยที่สุด นิยมใช้สารละลายเปรียบเทียบกับที่เรียกว่า "แบลนก์" (blank)

ซึ่งเป็นสารละลายที่มีองค์ประกอบทุกอย่างเหมือนกับสารตัวอย่าง ยกเว้นสารที่ต้องการวัด เมื่อนำค่าการดูดกลืนของสารตัวอย่างมาหักลบกับค่าการดูดกลืนของแบล็ก จะได้ค่าการดูดกลืนที่แท้จริงของสารที่ต้องการศึกษา เช่น ในการวัดค่าการดูดกลืนของสารละลายต่างทับทิมในน้ำกลั่น เราจะใช้น้ำกลั่นเป็นแบล็ก เมื่อนำค่าการดูดกลืนของต่างทับทิมมาลบด้วยค่าของน้ำกลั่น ก็จะได้ค่าที่แสดงเฉพาะการดูดกลืนของต่างทับทิมเพียงอย่างเดียว ซึ่งช่วยลดความคลาดเคลื่อนจากองค์ประกอบอื่นในระบบ.

ตัวอย่าง 1.1 สารละลาย KMnO_4 เข้มข้น $7.25 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ มีค่า %T เท่ากับ 44.1% เมื่อทำการวัดการดูดกลืนที่ความยาวคลื่น 525 nm และใช้เซลล์หนา 2.10 cm จงคำนวณ (1) ค่าการดูดกลืนแสง และ (2) สภาพดูดกลืนแสงต่อโมล (ϵ)

วิธีคิด (1) ค่าการดูดกลืนแสง

$$\begin{aligned} A &= -\log T = -\log 0.441 \\ &= -(-0.356) \\ &= 0.356 \end{aligned}$$

(2) สภาพดูดกลืนแสงต่อโมล

$$\begin{aligned} \epsilon &= \frac{A}{bc} = \frac{0.356}{(2.10 \text{ cm})(7.25 \times 10^{-5} \text{ mol/L})} \\ &= 2.34 \times 10^3 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1} \end{aligned}$$

ตัวอย่าง 1.2 สารละลาย $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ มีค่า ϵ เท่ากับ $5.11 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ บรรจุในเซลล์หนา 1 cm ที่ความยาวคลื่น 510 nm จงคำนวณ %T ของ $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.05 และ 0.10 mol/L

วิธีคิด จาก $A = \epsilon bc$

$$\begin{aligned} &= (5.11 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \text{ cm}^{-1})(1 \text{ cm})(0.05 \text{ mol/L}) \\ &= 0.255 \end{aligned}$$

จาก $A = 2 - \log(\%T)$

$$\log(\%T) = 1.745$$

$$\%T = 55.6$$

ดังนั้นในกรณี 0.10 mol/L คำนวณเช่นเดียวกัน จะได้ %T = 31.0

1.1.4 ปฏิบัติการกรดสเปกตรัมการดูดกลืนแสงและกฎของเบียร์

- 1) ปฏิบัติการกรดสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายต่างทับทิม
- 2) ปฏิบัติการพิสูจน์กฎของเบียร์
- 3) การหาความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ของความเข้มข้น
(ดูคู่มือปฏิบัติการ)

สรุปท้ายบทเรียน

สเปกโทรสโกปีเป็นเทคนิคการวิเคราะห์โดยอาศัยหลักการเกิดอันตรกิริยาระหว่างรังสีแม่เหล็กไฟฟ้ากับสสาร รูปแบบอันตรกิริยาขึ้นกับพลังงานโฟตอนของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าในแต่ละย่านซึ่งจะทำให้เกิดการทรานซิชันของอนุภาคจากสถานะพื้นเป็นสถานะกระตุ้น เทคนิคสเปกโทรสโกปีแบ่งได้สองกลุ่มใหญ่ ๆ คือ เทคนิคที่มีการเปลี่ยนแปลงของสารเนื่องจากการถ่ายเทพลังงานจากรังสีแม่เหล็กไฟฟ้ากับสสาร และเทคนิคที่เป็นการเปลี่ยนแปลงสมบัติของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า การถ่ายเทพลังงานโฟตอนที่ระดับพลังงานเฉพาะหนึ่ง ๆ กับสสารนั้นทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติได้หลายรูปแบบ เช่น การดูดกลืน การเปล่งออก การเปล่งแสงด้วยแสง และการเปล่งแสงทางเคมี เป็นต้น การวัดความสามารถในการดูดกลืนแสงของสารเป็นการวัดการดูดกลืนพลังงานโฟตอนของสารอันเนื่องจากการอันตรกิริยาอย่างใดอย่างหนึ่งระหว่างโฟตอนกับสสาร สเปกตรัมดูดกลืนเป็นความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนกับความยาวคลื่น

วิธียูวี-วิสิเบิล สเปกโทรสโกปี เป็นเทคนิคการดูดกลืนแสงของสารหรืออนุภาคของสารที่ดูดกลืนแสง อันเนื่องมาจากการทรานซิชันของอิเล็กตรอนจากสถานะพื้นไปยังสถานะกระตุ้น (HOMO ไปยัง LUMO) หรือการถ่ายโอนประจุอิเล็กตรอน หรือการทรานซิชันของอิเล็กตรอนในออร์บิทัล-ดี และออร์บิทัล-เอฟ สารอินทรีย์สามารถดูดกลืนแสงได้ในย่านยูวี แต่ถ้าโครงสร้างมีส่วนที่ทำให้มองเห็นเป็นสีได้ เราเรียกว่า โครโมฟอร์ ส่วนมากเป็นส่วนของพันธะที่ไม่อิ่มตัว การทรานซิชันที่สำคัญของสารอินทรีย์ คือ $n \rightarrow \pi^*$ และ $\pi \rightarrow \pi^*$ ซึ่งจะสามารถดูดกลืนแสงได้ทั้งในย่านยูวีและวิสิเบิล นอกจากปัจจัยของโครโมฟอร์แล้ว การทรานซิชันยังเกี่ยวข้องกับชนิดตัวทำละลาย และหมู่แทนที่ในโครงสร้างโมเลกุลที่เรียกว่า ออกโซโครม ซึ่งปัจจัยดังกล่าวนี้อาจส่งผลให้การดูดกลืนแสงสูงสุดเลื่อนไปทางความยาวคลื่นมากขึ้น หรือความยาวคลื่นสั้นเพิ่มขึ้น และอาจส่งผลให้สภาพดูดกลืนแสงต่อโมลเพิ่มขึ้นหรือลงก็ได้ ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงอาศัยกฎของเบียร์

วิธีการสอนและกิจกรรม

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ไปกิจกรรม

สื่อการสอนและอุปกรณ์การสอน

1. หนังสือ เคมีวิเคราะห์: หลักการและเทคนิคการคำนวณเชิงปริมาณ
2. เอกสารประกอบการสอน
3. เอกสาร power point

งานที่มอบหมาย

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ไปกิจกรรม

การวัดผล

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ไปกิจกรรม

แบบฝึกหัด

1. ทำกิจกรรม
2. ใบกิจกรรม

บรรณานุกรม

1. ชูติมา ศรีวิบูลย์. (2556). *เคมีวิเคราะห์ 1*. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยรามคำแหง
2. แม้น อมรสิทธิ์, และอมร เพชรสม. (2550). *หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ*. สำนักพิมพ์ชวนชม
3. นิพนธ์ ตั้งคณานุรักษ์ และคณิตา ตั้งคณานุรักษ์. (2547). *สเปกโทรสโกปีด้านการวิเคราะห์*. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
4. เย็นหทัย แน่นหนา. (2549). *สเปกโทรสโกปีสำหรับเคมีอินทรีย์*. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
5. วรวิทย์ จันทรสุวรรณ. (2565). *เคมีวิเคราะห์: หลักการและเทคนิคการคำนวณเชิงปริมาณ* (พิมพ์ครั้งที่ 2). สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
6. Averill, B. A. (2012). *Principles of General Chemistry*.
<https://2012books.lardbucket.org/books/principles-of-general-chemistry-v1.0m/index.html>
7. Christian, G. D., Dasgupta, P. K., & Schug, K. A. (2014). *Analytical Chemistry* (7th ed.). John Wiley & Sons
8. Harris, D. C. (2010). *Quantitative Chemical Analysis* (8th ed.). W. H. Freeman and Company
9. Harvey, D. (2019). *Analytical Chemistry 2.1*. <https://chem.libretexts.org/>
10. Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S., & Vyvyan, J. R. (2009). *Introduction to Spectroscopy* (4th ed.). Brooks/Cole Publishing
11. Robinson, J. W., Frame, E. M. S, & Frame G. M. (2021). *Instrumental Analytical Chemistry*. CRC Press
12. Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2022). *Fundamentals of Analytical Chemistry* (10th ed.). Brooks/Cole Publishing
13. Skoog, D. A., Holler, F.J., & Crouch, S. R. (2018). *Principles of Instrumental Analysis* (7th ed.). David Harris.

หน่วยที่ 1

วิธียูวี-วิสิเบิล สเปกโทรสโกปี

บทเรียน 1.2 ส่วนประกอบของเครื่องมือและเทคนิคการวัด

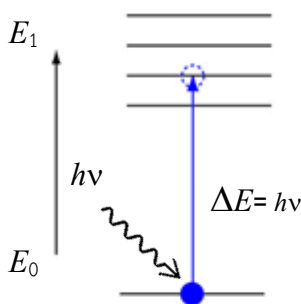
จุดประสงค์การสอน

1. บอกประเภทของสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนและเปล่งออก
2. บอกส่วนประกอบของเครื่อง UV-Vis
3. อธิบายการเตรียมตัวอย่างและการเจือจาง
4. ปฏิบัติการส่วนประกอบของเครื่อง UV-Vis

1.2.1 ประเภทของสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนและเปล่งออก

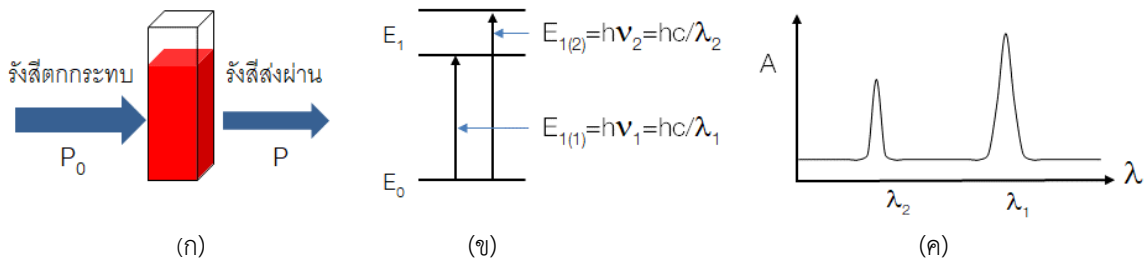
1) สเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืน

เทคนิคสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืน (absorption spectroscopy) เป็นเทคนิคการวัดพลังงานของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า เมื่อสารที่สามารถดูดกลืนแสงได้ (absorbing species) ดูดกลืนโฟตอนแล้วเกิดการแทนที่ขึ้นจากสถานะพื้นไปสู่สถานะกระตุ้น ดังภาพที่ 1.21 โดยชนิดการแทนที่ขึ้นขึ้นอยู่กับพลังงานของโฟตอน เมื่ออิเล็กตรอนดูดกลืนพลังงานโฟตอนย่านยูวี-วิสิเบิล การแทนที่ขึ้นจะเป็นการเลื่อนอิเล็กตรอนวงนอกสุดของอะตอมจากสถานะพื้นไปยังสถานะกระตุ้น แต่ถ้ากรณีสารนั้นดูดกลืนรังสีย่านอินฟราเรด พันธะใดพันธะหนึ่งของโมเลกุลจะเกิดการแทนที่ขึ้นโดยการสั่น (vibration) การดูดกลืนจะเกิดขึ้นได้ก็ต่อเมื่อความแตกต่างของระดับพลังงาน (ΔE) ระหว่างสถานะพื้นกับสถานะกระตุ้นมีค่าเท่ากับพลังงานโฟตอน



ภาพที่ 1.21 แผนภาพพลังงานของการดูดกลืนโฟตอน

แผนภาพแสดงหลักการเทคนิคสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืน แสดงดังภาพที่ 1.22 เมื่อมีพลังงานโฟตอนจากภายนอกกระทำกับสาร รังสีตกกระทบ (P_0) จะถูกดูดกลืนเมื่อมีการเลื่อนจากสถานะพื้นสู่สถานะกระตุ้น ในเทคนิคสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนจะวัดปริมาณของแสงที่ถูกดูดกลืน เป็นฟังก์ชันกับความยาวคลื่น หรือที่เรียกว่า สเปกตรัมการดูดกลืน (absorption spectrum) ดังภาพที่ 1.22 (ค)

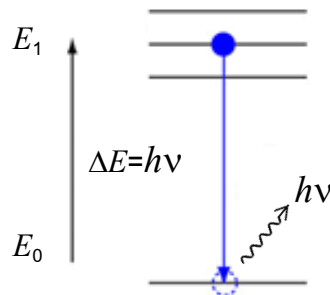


ภาพที่ 1.22 สเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืน (ก) กำลังรังสีตกกระทบ (P_0) ถูกดูดกลืนด้วยสารสนใจ (ข) แผนภาพพลังงานของการดูดกลืนโฟตอน และ (ค) ลักษณะสเปกตรัมดูดกลืน

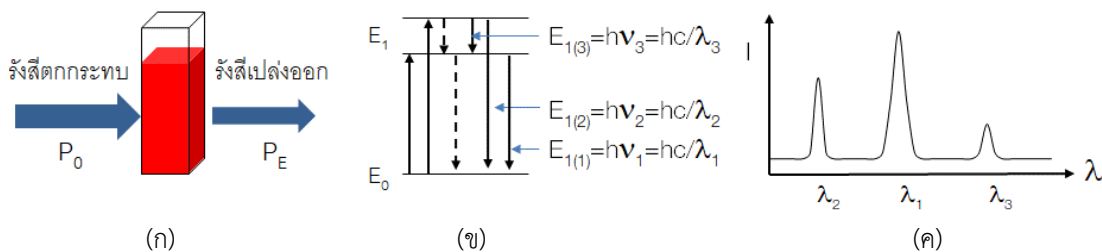
หลักการเทคนิคสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนยังรวมถึงการแทนซีชันที่เกิดขึ้นในระดับพลังงานเดียวกันที่มีระดับพลังงานย่อย เช่น การแทนซีชันโดยการสั่น และการแทนซีชันโดยการหมุน เป็นต้น

2) สเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออก

เทคนิคสเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออก (emission spectroscopy) เป็นการวัดพลังงานที่คายออกมาเมื่ออะตอมหรือโมเลกุลเกิดการแทนซีชันจากสถานะกระตุ้นไปสู่สถานะพื้น ดังภาพที่ 1.23 กระบวนการที่เกิดขึ้นในเทคนิคสเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออก เมื่ออะตอมหรือโมเลกุลของสารที่สนใจจะถูกกระตุ้นด้วยความร้อนหรือพลังงานไฟฟ้าหรือปฏิกิริยาเคมี การเปล่งออกจะเกิดขึ้นได้เมื่อพลังงานโฟตอน ($h\nu$) เท่ากับความแตกต่างของพลังงานระหว่างสถานะพื้นกับสถานะกระตุ้น



ภาพที่ 1.23 แผนภาพพลังงานของการเปล่งโฟตอนของอะตอมหรือโมเลกุล

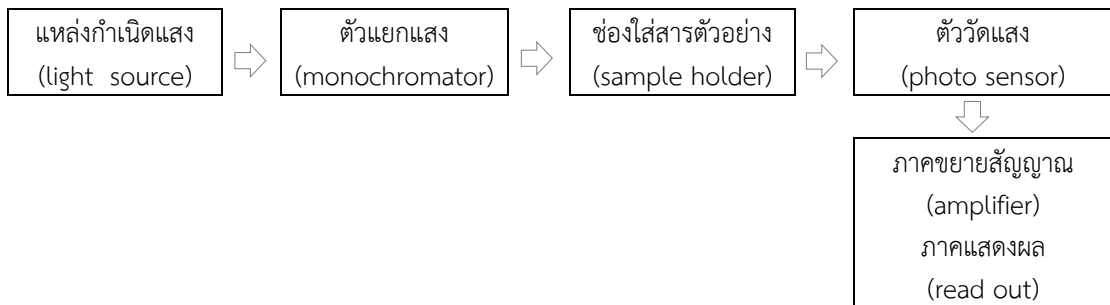


ภาพที่ 1.24 สเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออก

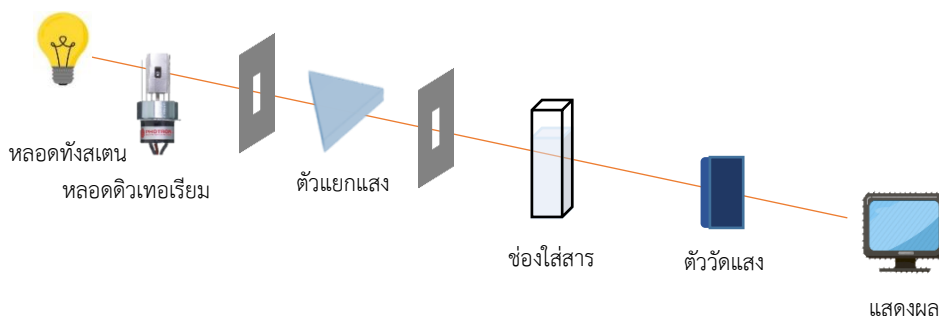
สรุปได้ว่าสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนและแบบเปล่งออก โดยทั้งสองเทคนิคมีหลักการและการนำไปใช้งานที่แตกต่างกันในสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืน ตัวอย่างจะดูดกลืนพลังงานของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความยาวคลื่นเฉพาะ ส่งผลให้อิเล็กตรอนในอะตอมหรือโมเลกุลเปลี่ยนระดับพลังงานจากสถานะพื้น (ground state) ไปสู่สถานะกระตุ้น (excited state) การวิเคราะห์จะพิจารณาการลดลงของความเข้มของแสงที่ส่งผ่านตัวอย่าง เพื่อหาความเข้มข้นของสารหรือระบุชนิดของสารนั้น เทคนิคนี้ใช้ในเครื่องมือ เช่น UV-Vis, IR และ AAS ในทางตรงกันข้ามสเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออก ตรวจวัดพลังงานแสงที่อะตอมหรือโมเลกุลเปล่งออกมาเมื่ออิเล็กตรอนกลับจากสถานะกระตุ้นสู่สถานะพื้น พลังงานที่ปลดปล่อยออกมาในรูปของโฟตอนจะมีความยาวคลื่นเฉพาะซึ่งสามารถใช้ระบุชนิดของธาตุหรือโมเลกุลได้ เช่น เทคนิค AES (atomic emission spectroscopy) และ AFS fluorescence spectroscopy

1.2.2 ส่วนประกอบของเครื่อง UV-Vis

เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer) เรียกว่า เครื่องยูวี-วิสิเบิล (UV-vis) ซึ่งเป็นเครื่องมือสำหรับวัดการดูดกลืนแสงของสารที่สามารถดูดกลืนแสงได้ในย่านความยาวคลื่นตั้งแต่ 200 ถึง 800 nm โดยทั่วไปมีองค์ประกอบพื้นฐานที่เหมือนกันคือ แหล่งกำเนิดแสง (light source) แสงส่องเข้า (entrance slit) ช่องแสงออก (exit slit) ตัวแยกแสง (monochromator) ช่องใส่สารตัวอย่าง (sample holder) ตัวตรวจวัด (detector) หรือตัววัดแสง (photo sensor) ภาคขยายสัญญาณ (amplifier) และภาคแสดงผล (read out) ภาพที่ 1.25 และ 1.26





ภาพที่ 1.25 แผนภาพส่วนประกอบหลักของเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์

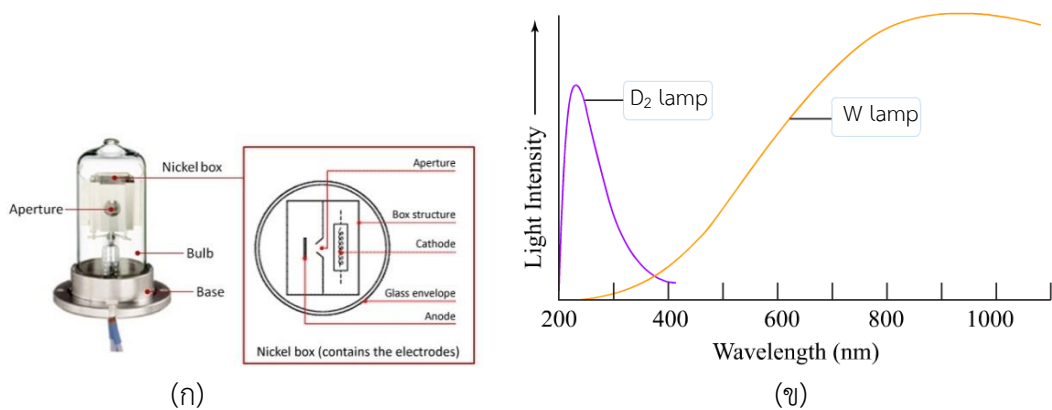


ภาพที่ 1.26 ส่วนประกอบหลักของเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์

1) แหล่งกำเนิดแสง (light source) เป็นส่วนกำเนิดแสงที่ต้องมีความเข้มแสงคงที่และแบบต่อเนื่อง (continuous source) จะเปล่งแสงที่มีการเปลี่ยนแปลงความเข้มของแสงอย่างช้า ๆ ตามฟังก์ชันของความยาวคลื่น แสงที่เปล่งออกมาจะมีช่วงกว้างของความยาวคลื่น แหล่งกำเนิดแสงแบบต่อเนื่องที่นิยมใช้ในเทคนิคยูวี-วิสิเบิลมีหลายชนิดตามความยาวของคลื่นแสงที่เปล่งออกมา ดังตารางที่ 1.11

ตารางที่ 1.11 แหล่งกำเนิดแสงแบบต่อเนื่องที่นิยมใช้ในเทคนิคยูวี-วิสิเบิล

แหล่งกำเนิดแสง	ย่านความยาวคลื่น	คำอธิบาย
หลอดทังสแตน (tungsten) 	320-2,200 nm	แหล่งกำเนิดแสงที่นิยมใช้มากในย่านคลื่นแสงวิสิเบิล เนื่องจากมีราคาถูก ให้แสงที่มีความเข้มคงที่ ใสหลอดทังสแตนเมื่อถูกทำให้ร้อนประมาณ 2,870 K จะเกิดการเปลี่ยนแปลงสถานะของอิเล็กตรอน ทำให้เกิดการปล่อยแสงช่วง 200 ถึง 20,000 nm แต่เนื่องจากเป็นแก๊วธรรมดา แสงที่สูงกว่า 2,500 nm และที่ต่ำกว่า 300 nm จึงถูกดูดกลืนไว้ ลักษณะสเปกตรัมของหลอดทังสแตนแสดงดังภาพที่ 1.27(ข)
หลอดไฮโดรเจน (H ₂) หรือ หลอดดิวทีเรียม (D ₂) 	160-380 nm	เป็นหลอดที่ประกอบด้วยขั้วแอโนด (บวก) ขั้วแคโทด (ลบ) และแผ่นความร้อนบรรจุอยู่ในกระเปาะควอตซ์ที่บรรจุไว้ด้วยแก๊ส H ₂ หรือ D ₂ ที่ความดันต่ำ เมื่อปล่อยกระแสไฟฟ้าให้แผ่นความร้อนรอบ ๆ ขั้วแคโทดจนอุณหภูมิสูงประมาณ 3000°C ขั้วแคโทดจะเริ่มปล่อยอิเล็กตรอนออกมา ดังภาพที่ 1.27(ก)หลังจากนั้น กระแสไฟฟ้าจะถูกตัดออกจากแผ่นความร้อนแต่จะจ่ายกระแสไฟฟ้าให้ขั้วลบแทน โวลต์ที่สูงนี้จะทำให้เกิดการกระโดด (arc) ของอิเล็กตรอนระหว่างขั้วบวกและขั้วลบ เป็นผลให้อิเล็กตรอนของแก๊สอยู่ในสถานะกระตุ้น เมื่อพลังงานของอิเล็กตรอนลดลง อิเล็กตรอนจะกลับสู่สถานะพื้น พร้อม ๆ กับปล่อยแสงในย่านความยาวคลื่นช่วง 180 ถึง 350 nm ออกมา ลักษณะสเปกตรัมของหลอดดิวทีเรียมแสดงดังภาพที่ 1.27(ข)
หลอดทังสแตน แฮโลเจน (W halogen) 	240-2,500 nm	เป็นแหล่งกำเนิดแสงที่พัฒนามาจากหลอดทังสแตน โดยการเติมธาตุกลุ่มแฮโลเจน (ไอโอดีน) ในกระเปาะหลอดไฟ และใช้ควอตซ์ทำกระเปาะหลอดไฟแทนแก้ว โดยที่ควอตซ์มีความบริสุทธิ์สูงจึงดูดกลืนแสงในช่วง 300-400 nm ได้น้อย ประกอบกับสามารถทนความร้อนได้มากกว่าแก้วมาก จึงสามารถเพิ่มความเข้มของแสงได้



ภาพที่ 1.27 แหล่งกำเนิดแสง (ก) แผนภาพวงจรหลอดดิวทีเรียม และ (ข) สเปกตรัมของหลอดดิวทีเรียมและทังสเตน

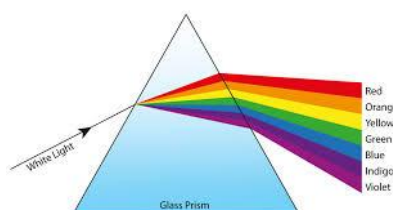
2) ตัวแยกแสง (wavelength selector) เป็นอุปกรณ์ทำหน้าที่แยกแสงหลายสีหรือหลายความยาวคลื่น (polychromatic radiation) ให้เป็นแสงสีเดียว (monochromatic radiation) ซึ่งต้องการให้ผลลัพธ์จากตัวแยกแสงทำให้แสงแยกออกมาเป็นเพียงความยาวคลื่นเดียว แต่ในทางปฏิบัติไม่มีตัวแยกแสงใดที่ทำให้ได้รังสีเดียวเพียงความยาวคลื่นเดียวเท่านั้น แต่จะทำให้ได้ย่านความยาวคลื่นที่ต่อเนื่องกันอย่างแคบ ๆ ที่เรียกว่า แถบ (band)

เครื่องยูวี-วิสิเบิลจึงใช้ตัวแยกแสงเดียว (monochromator) เพื่อทำการแยกแสงจากแหล่งกำเนิดแสงแบบต่อเนื่องให้เป็นย่านความยาวคลื่นแคบ ๆ ที่ต้องการ ตัวแยกแสงเดียวที่นิยมใช้ในเครื่องยูวี-วิสิเบิลมีอยู่ 3 ชนิดคือ

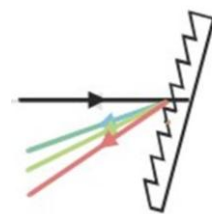
- ตัวกรองแสง (filter) เป็นกระจกสีที่สามารถคัดเลือกย่านความยาวคลื่น ดังภาพที่ 1.28(ก) แต่ไม่นิยมใช้ในเครื่องยูวี-วิสิเบิล เนื่องจากค่อนข้างยุ่งยากในการใช้งานและการแยกแสงได้ช่วงกว้าง
- ปริซึม (prism) อาศัยหลักการแยกตามความแตกต่างของดัชนีหักเห (refractive index) ของแต่ละความยาวคลื่น ดังภาพที่ 1.28(ข)
- เกรตติง (grating) เป็นแผ่นโลหะที่มีร่องขนาดเล็กมาก ๆ หนาแน่นกันจำนวน 600-2,000 ร่องต่อมิลลิเมตร ดังภาพที่ 1.28(ค)



(ก)



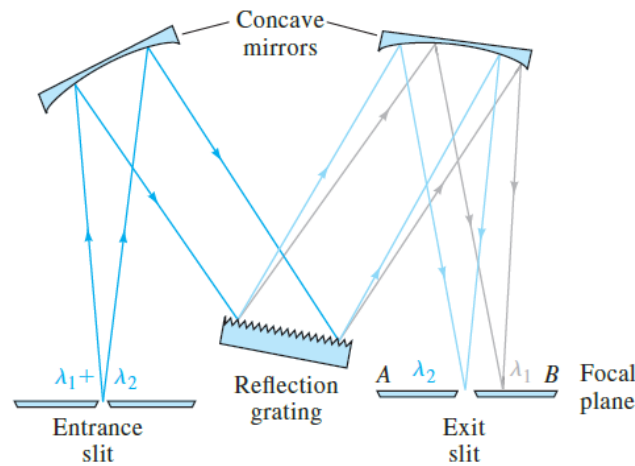
(ข)



(ค)

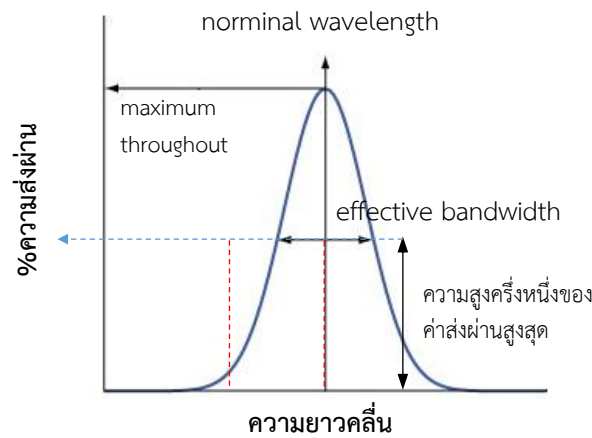
ภาพที่ 1.28 ชนิดตัวแยกแสงเดี่ยว (ก) ตัวกรองแสง (ข) ปริซึม และ (ค) เกรตติง

เครื่องยูวี-วิสิเบิลในรุ่นเก่าจะใช้ตัวกรองแสง หรือปริซึมเป็นตัวแยกแสงเดี่ยว แต่ในเครื่องยูวี-วิสิเบิลรุ่นใหม่จะนิยมใช้เกรตติงแบบสะท้อนแสง (reflection grating) โดยเกรตติงชนิดอีเชล (echelle grating) นิยมใช้มากในปัจจุบัน (ภาพที่ 1.29) เนื่องจากมีราคาถูก การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิมีผลกระทบต่อหน้ากระจกเกิดแสงสีเดียวไม่ขึ้นอยู่กัสมบัติของสารที่ใช้ทำเกรตติง ระยะห่างระหว่างลำแสงเดี่ยวที่เกิดขึ้นเท่ากันทำให้สะดวกต่อการออกแบบสร้างเครื่องมือ และความกว้างของลำแสงไม่เปลี่ยนแปลงตามความยาวคลื่นที่ใช้งาน



ภาพที่ 1.29 ประเภทตัวแยกแสงเดี่ยวแบบเกรตติง. ดัดแปลงจาก *Principles of Instrumental Analysis* (p.165) by D.A. Skoog, F.J. Holler, & S.R. Crouch, 2016. Brooks/Cole Publishing.

ความยาวคลื่นของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่ต่างกันจะถูกแยกโดยการหมุนเกรตติงผ่านช่องแคบทางออก (exit slit) ความยาวคลื่นที่ผ่านตัวแยกแสงเดี่ยว เรียกว่า แถบแสงผ่าน (spectral band pass) หรือความกว้างของแถบแสงใช้งาน (effective bandwidth) โดยความกว้างของแถบแสงใช้งานเป็นสมบัติหนึ่งของความส่องผ่าน เกรตติงที่มีคุณภาพสูงมาก จะสามารถแยกแสงเดี่ยวได้ถึงระดับน้อยกว่า 1 nm

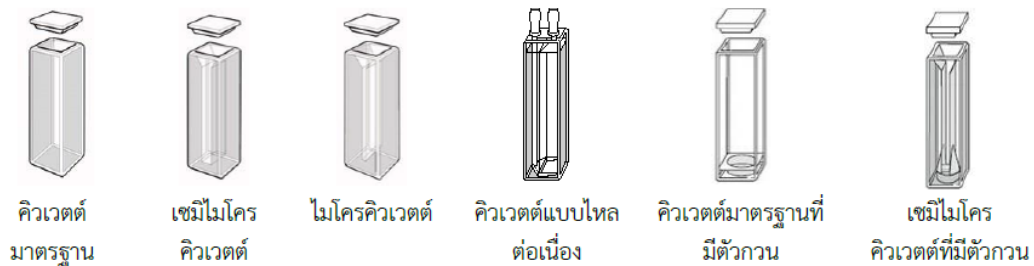


ภาพที่ 1.30 ความกว้างของแถบแสงใช้งาน

3) ช่องแสงผ่าน (slit) เป็นอุปกรณ์ที่ใช้ควบคุมปริมาณแสงที่เข้าสู่ตัวแยกแสงหรือแสงที่ออกจากตัวแยกแสง ช่องแสงผ่านประกอบด้วยโลหะขอบบาง 2 แผ่น วางขนานกันในระนาบเดียวกันระยะห่างระหว่างช่องแสงอาจคงที่หรือปรับเปลี่ยนได้ด้วยกลไก

- ช่องแสงเข้า (entrance slit) เป็นช่องที่รับแสงจากแหล่งกำเนิดแสงส่องผ่านเลนส์ทำแสงขนาน (collimating lens) เพื่อให้ลำแสงเป็นลำแสงขนานก่อนตกกระทบบตัวแยกแสง
- ช่องแสงออก (exit slit) เป็นทางผ่านของแสงรังสีเดี่ยวไปสู่สารตัวอย่าง ความกว้างช่องแสงออก (slit width) ถ้ายังมีค่าน้อยยิ่งเพิ่มกำลังแยกความยาวคลื่นแสงที่ต้องการออกจากความยาวคลื่นแสงอื่นได้

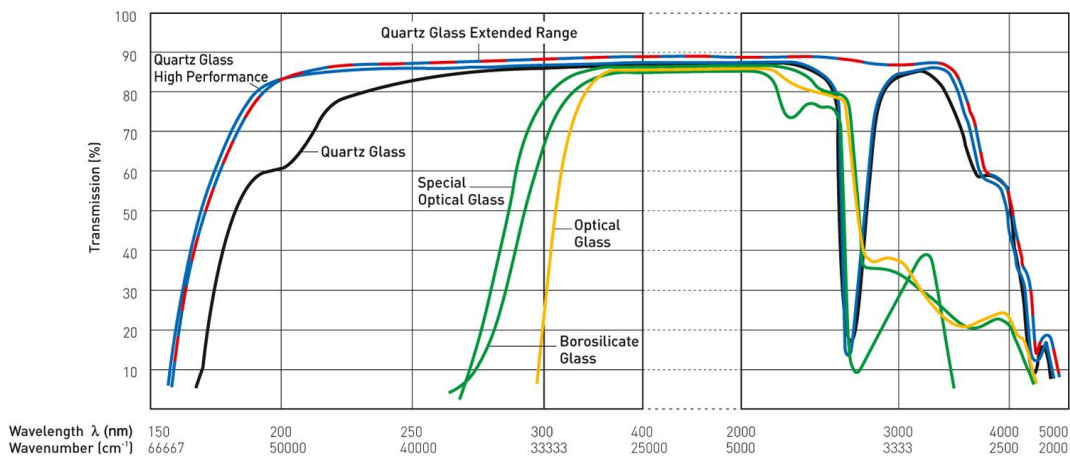
4) ช่องใส่ตัวอย่าง (sample holder) เป็นหน้าต่างบรรจุสารละลายตัวอย่างที่ให้แสงความยาวคลื่นเดี่ยวที่ผ่านจากตัวแยกแสงผ่านไปสัมผัสกับสารตัวอย่าง นิยมเรียกอุปกรณ์ที่ใส่ในช่องตัวอย่างว่า เซลล์ (cell) หรือคิวเวตต์ (cuvette) ลักษณะทั่วไปของคิวเวตต์มีหลายขนาดและปริมาตรบรรจุ ดังภาพที่ 1.31 วัสดุที่ใช้ทำคิวเวตต์มีหลายชนิด เช่น แก้ว ควอตซ์ และพลาสติก สมบัติทั่วไปของวัสดุที่ใช้ทำคิวเวตต์ ดังตารางที่ 1.12 การเลือกใช้คิวเวตต์ต้องพิจารณาปัจจัยของธรรมชาติของวัสดุที่จะมีผลต่อการดูดกลืนแสงด้วยดังสเปกตรัมการดูดกลืน แสดงดังภาพที่ 1.32



ภาพที่ 1.31 ลักษณะคิวเวตต์

ตารางที่ 1.12 วัสดุและสมบัติของคิวเวตต์

วัสดุ	สมบัติ
แก้ว (glass)	เป็นแก้วชนิดโบโรซิลิเกต เนื่องจากมีความแข็ง ทนต่อการขีดข่วนได้ดีและทนความร้อนได้สูง ข้อเสียคือดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 270 nm ได้เกือบ 100% และดูดกลืนแสงประมาณครึ่งหนึ่ง (50%T) ที่ความยาวคลื่น 310 nm และดูดกลืนแสงไม่เกิน 20%T ที่ความยาวคลื่น 340 nm ช่วงใช้งานของคิวเวตต์ชนิดแก้วจึงควรเริ่มตั้งแต่ 360-2,000 nm
ควอตซ์ (quartz หรือ fused silica)	การดูดกลืนแสงของควอตซ์ขึ้นอยู่กับความบริสุทธิ์ของซิลิกา <ul style="list-style-type: none"> ▪ เกรดอัลตราไวโอเล็ต (ultraviolet grade) เหมาะสำหรับการใช้งานช่วง 185-220 nm (คิวเวตต์เปล่าให้แสงส่งผ่านประมาณ 80%T) ▪ เกรดมาตรฐาน (standard grade) เหมาะสำหรับการใช้งานช่วง 220-340 nm (คิวเวตต์เปล่าให้แสงส่งผ่านมากกว่า 80%T) ▪ เกรดอินฟราเรด (infrared grade) เหมาะสำหรับการวัดในย่านความยาวคลื่นมากกว่า 2,700 nm (คิวเวตต์เปล่าให้แสงส่งผ่านมากกว่า 85%T)
พลาสติก	ทำจากพลาสติกพอลิสไตรีน โปรงใส ยอมให้แสงส่องผ่านได้มาก สามารถใช้งานได้ในช่วง 340-750 nm มีราคาถูก ทำให้สามารถใช้แล้วทิ้งโดยไม่ต้องล้างเพื่อนำมาใช้ใหม่ซึ่งเสี่ยงต่อการติดเชื้อโรคหรือได้รับอันตรายจากสารเคมี นอกจากนี้คิวเวตต์พลาสติกยังเหมาะสมกับงานที่ต้องใช้คิวเวตต์ในปริมาณมากหรืองานที่คิวเวตต์เสี่ยงต่อการแตกได้ง่าย



ภาพที่ 1.32 สเปกตรัมการดูดกลืนของวัสดุที่ทำคิวเวตต์

ที่มาภาพ: <https://www.hellma.com/en/laboratory-supplies/cuvettes/material-and-technical-information/>

5) ตัววัดแสง

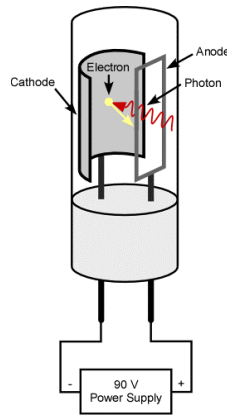
ตัววัดแสง (photo detector) เป็นอุปกรณ์ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนความเข้มของแสงให้เป็นสัญญาณไฟฟ้าแล้วส่งต่อไปยังภาคขยายสัญญาณและวงจรรีเลย์ทรอนิกส์เพื่อให้สามารถแสดงค่าออกมาในรูปการดูดกลืนแสงหรือความส่องผ่าน ตัววัดแสงแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันในด้านย่านความยาวคลื่นที่ตอบสนอง อัตราในการตอบสนอง (speed of response) ความเป็นเส้นตรงของการตอบสนอง (linearity of response) และความไว (sensitivity) ตัววัดแสงมีอยู่หลายชนิด ในอุปกรณ์สมัยใหม่ตัวแปลงสัญญาณ (transducer) ทำหน้าที่แปลงสัญญาณที่ไม่ใช่สัญญาณไฟฟ้า (ความเข้มแสง, pH, อุณหภูมิ) ให้เป็นสัญญาณไฟฟ้า ซึ่งสามารถขยายสัญญาณและสุดท้ายจะเปลี่ยนเป็นตัวเลขที่เป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณการวัดเริ่มต้นได้ ชนิดของตัวแปลงสัญญาณรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าเกี่ยวข้องกับโฟตอน เรียกว่า ตัวแปลงสัญญาณ หรือตัววัดโฟตอน (photon detector) ซึ่งครอบคลุมย่านความยาวคลื่นเฉพาะ ดังแสดงในตารางที่ 1.13

ตารางที่ 1.13 ชนิดตัววัดโฟตอนสำหรับเทคนิคสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืน

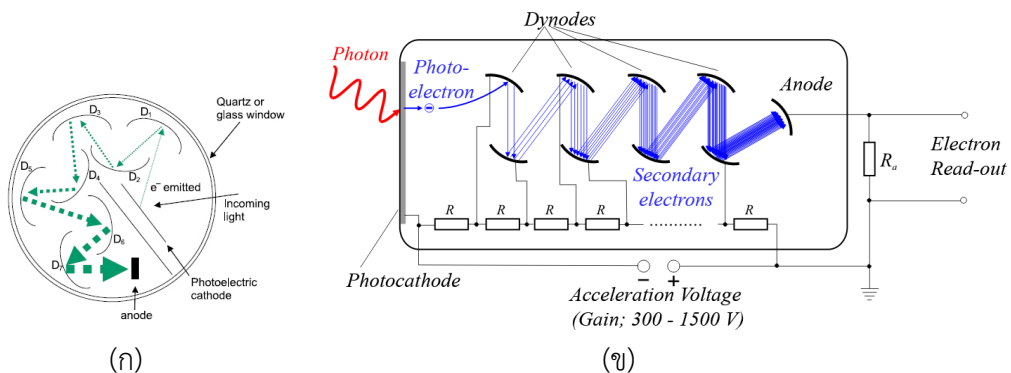
ประเภทตัววัดแสง	ย่านความยาวคลื่น (nm)
โฟโตทิวบ์ (phototube)	150-1000
โฟโตมัลติพลายเออร์ทิวบ์ (photomultiplier tube; PMT)	150-1000
ซิลิคอนโฟโตไดโอด (silicon photodiode)	350-1100
โฟโตไดโอดอาร์เรย์ (photodiode array)	

การตอบสนองสัญญาณของตัววัดแสงชนิดโฟโตทิวบ์และโฟโตมัลติพลายเออร์ทิวบ์เกิดจากปรากฏการณ์โฟโตอิเล็กทริก (photoelectric effect) โฟตอนของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าชนกับขั้วแคโทด (photocathode) ที่ผิวเคลือบด้วยชั้นสารที่เปล่งแสงได้ เช่น โลหะแอลคาไล หรือโลหะออกไซด์ ซึ่งจะปล่อยอิเล็กตรอนที่เรียกว่า โฟโตอิเล็กตรอน (photoelectron) ออกมาเมื่อมีการให้ศักย์ไฟฟ้าที่เพียงพอระหว่างขั้ว

ทั้งสอง (90 V หรือมากกว่า) โฟโตอิเล็กตรอนจะเคลื่อนที่เข้าหาขั้วบวก (anode) อิเล็กตรอนเหล่านี้จะถูกเปลี่ยนเป็นสัญญาณไฟฟ้าในวงจรขยายสัญญาณ โดยจำนวนของโฟโตอิเล็กตรอนที่หลุดออกจากขั้วแคโทดต่อหน่วยเวลาจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับพลังงานรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่พุ่งชนขั้วแคโทด



ภาพที่ 1.33 ตัววัดแสงชนิดโฟโตทิวบ์



ภาพที่ 1.34 ตัววัดแสงชนิดโฟโตมัลติพลายเออร์ทิวบ์ (ก) มองด้านบน และ (ข) มองด้านข้าง

6) ภาคขยายสัญญาณและภาคแสดงผล

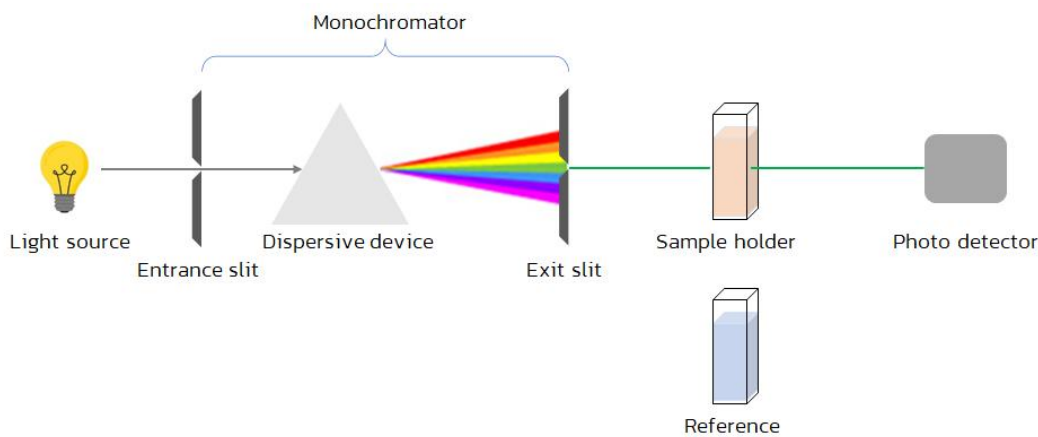
ภาคขยายสัญญาณ (amplifier) มีหน้าที่หลักในการขยายสัญญาณไฟฟ้าจากตัววัดแสงให้มีปริมาณมากพอที่จะอ่านค่าออกมาได้โดยการรบกวนจากสัญญาณอื่น ๆ ให้น้อยที่สุด

ภาคแสดงผล (read out device) มีหน้าที่เปลี่ยนสัญญาณไฟฟ้าให้มาเป็นหน่วยวัดที่ต้องการ เช่น ค่าการดูดกลืนแสง (A) ค่าเปอร์เซ็นต์แสงส่องผ่าน (%T) และค่าความเข้มข้น (concentration) เป็นต้น สัญญาณไฟฟ้าที่สามารถเปรียบเทียบกับหน่วยวัดที่ต้องการได้โดยตรงเรียกว่า สัญญาณอะนาล็อก (analog signal) และถ้าสัญญาณนี้ต้องเปลี่ยนเป็นสัญญาณเชิงตัวเลข (analog to digital convertor) และในทางกลับกันสามารถแปลงสัญญาณเชิงตัวเลขให้เป็นสัญญาณอะนาล็อกได้ด้วยวงจรแปลงสัญญาณเชิงตัวเลขเป็นสัญญาณอะนาล็อก (digital to analog convertor)

การจำแนกประเภทเครื่องสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนตามชนิดลำแสง จำแนกได้เป็น ชนิดลำแสงเดี่ยว และลำแสงคู่

1) เครื่องสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนชนิดลำแสงเดี่ยว

เครื่องสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนชนิดลำแสงเดี่ยว (single beam) ใช้ลำแสงอันเดียวกันสำหรับ วัดสารอ้างอิง (reference หรือ blank) และวัดสารตัวอย่าง (sample) องค์ประกอบหลักของเครื่องวัดการดูดกลืนแสงชนิดลำแสงเดี่ยวแสดงดังภาพที่ 1.35 ข้อดีคือมีองค์ประกอบน้อย และมีความเข้มแสงส่องผ่านไป ยังสารตัวอย่างมาก เครื่องวัดการดูดกลืนชนิดลำแสงเดี่ยวเหมาะสำหรับการวัดค่าการดูดกลืนที่ความยาวคลื่น หนึ่ง ๆ แต่มีข้อเสียตรงที่มีเสถียรภาพในการอ่านค่าต่ำและค่าเปลี่ยนแปลงได้ง่าย และไม่สามารถติดตามการดูดกลืนแสงแบบกราด (scan) ที่ความยาวคลื่นต่าง ๆ กันอย่างต่อเนื่องได้ ซึ่งต้องทำการปรับส่วนแยกแสงทุกครั้งเมื่อเปลี่ยนแปลงความยาวคลื่น



ภาพที่ 1.35 แผนภาพองค์ประกอบของเครื่องวัดการดูดกลืนชนิดลำแสงเดี่ยว

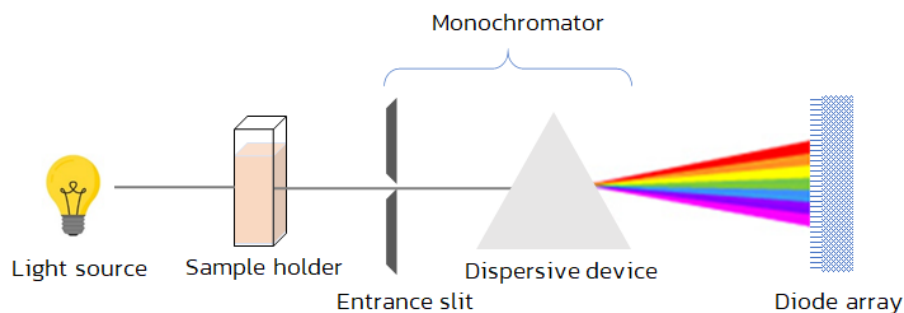
ขั้นตอนการวัดความเข้มแสงของเครื่องชนิดลำแสงเดี่ยว ทำได้ดังนี้

- 1) ทำได้โดยปรับศูนย์ (zero) 0%T โดยปิดชัตเตอร์ (shutter) เพื่อไม่ให้รังสีจากแหล่งกำเนิดแสงตกกระทบบตัววัดแสง (detector) แล้วปรับมิเตอร์จนอ่านได้ 0%T
- 2) ปรับ 0A หรือ 100%T ด้วยใช้สารอ้างอิง (reference) หรือสารละลายแบบลงก์ (blank) วางที่ช่องใส่สารตัวอย่างแล้วเปิดชัตเตอร์และปรับความเข้มของแสงหรือกำลังขยายของสัญญาณ จนกระทั่งมิเตอร์อ่านได้ 100%T
- 3) ทำการวัดค่า %T ของสารตัวอย่าง โดยเซลล์สารตัวอย่างที่ช่องใส่สารตัวอย่างแล้วอ่านค่า A หรือ %T

จากภาพที่ 1.35 แสดงให้เห็นถึงรังสีจากตัวแยกแสงผ่านสารอ้างอิง (reference cell) หรือสารตัวอย่างแล้วตกกระทบบตัววัดแสง และอ่านค่า A และ %T นอกจากนี้การวัดค่า A หรือ %T จะมีสภาพทำซ้ำได้ (reproducibility) สูง ถ้าพลังงานของรังสีของแหล่งกำเนิดแสงมีค่าคงที่ในขณะที่ปรับ 100%T และอ่านค่า %T ของสารตัวอย่าง โดยทั่วไปจึงควบคุมค่าแรงดันไฟฟ้าของ แหล่งกำเนิดพลังงานให้คงที่

ภาพที่ 1.36 แสดงองค์ประกอบเครื่องสเปกโทรสโกปีแบบดุกกลืนชนิดลำแสงเดี่ยวที่มีตัววัดแสงเป็นไดโอดอาร์เรย์ (diode array) หรือเรียกว่า เครื่องวัดแบบหลายช่อง (multichannel) แสงจากแหล่งกำเนิดแสงที่มีหลายความยาวคลื่น (polychromatic) ส่งผ่านไปยังสารตัวอย่าง ผ่านช่องแสงเข้า (entrance slit) แล้วผ่านออกไปยังชุดอุปกรณ์ตัวแยกแสง (polychromator) ในส่วนนี้จะแตกต่างจากเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์แบบพื้นฐาน (conventional spectrophotometer) ตัวแยกแสงจะกระจายแสงที่ผ่านจากช่องแสงเข้าไปยังตัววัดแสงไดโอดอาร์เรย์

เครื่องวัดแบบหลายช่องมักเป็นชนิดลำแสงเดี่ยว โดยมีตัวกระจายแสง (dispersion device) เช่น เกรตติงอยู่ต่อจากช่องสารตัวอย่าง และมีตัววัดแสงเป็นไดโอดอาร์เรย์ หรือ CCD โดยเครื่องวัดแบบหลายช่องจะสามารถวัดสเปกตรัมได้อย่างรวดเร็ว โดยใช้เวลาน้อยกว่า 1 วินาที และตัววัดแสงไดโอดอาร์เรย์ หรือ CCD สามารถวัดรังสีในย่านความยาวคลื่นหนึ่งได้พร้อม ๆ กัน แต่ข้อด้อยคือจะมีความละเอียด (resolution) ต่ำกว่าเครื่องมือพื้นฐาน

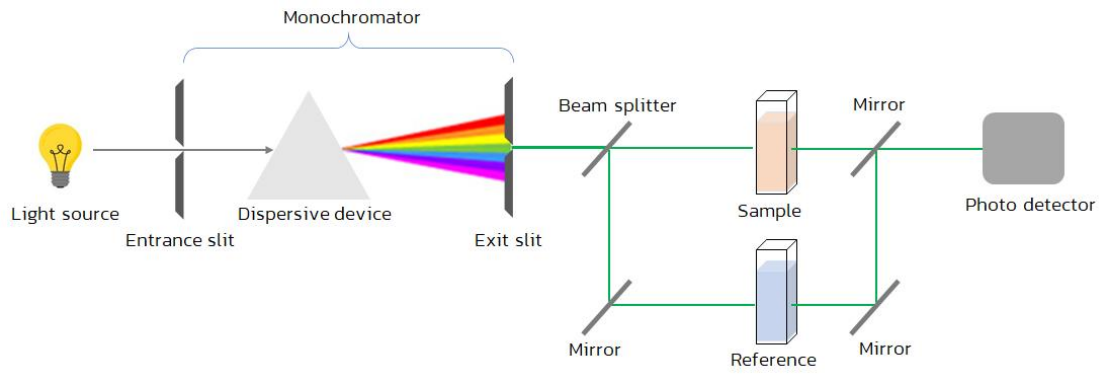


ภาพที่ 1.36 สเปกโทรสโกปีชนิดลำแสงเดี่ยว diode array spectrophotometer

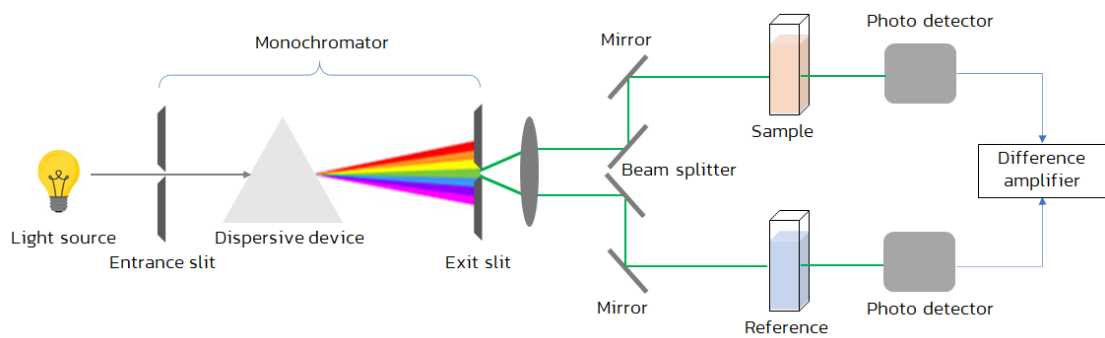
2) เครื่องสเปกโทรสโกปีแบบดุกกลืนชนิดลำแสงคู่

เครื่องสเปกโทรสโกปีแบบดุกกลืนชนิดลำแสงคู่ (double beam) เมื่อลำแสงจากแหล่งกำเนิดแสงออกจากช่องแสงออก (exit slit) แล้ว ลำแสงจะไปสู่อุปกรณ์ตัดลำแสง (beam splitter) หรือกระจก (mirror) ซึ่งจะทำหน้าที่สะท้อนลำแสงไปผ่านสารตัวอย่าง (sample) ในขณะที่อีกส่วนจะสะท้อนลำแสงไปผ่านสารอ้างอิง (reference) โดยที่ลำแสงทั้งสองจะมีความเข้มแสงเท่ากันก่อนที่จะผ่านสารตัวอย่างหรือสารอ้างอิง เมื่อลำแสงทั้งสองนี้ไปตกกระทบตัววัดแสง ความแตกต่างของความเข้มแสงหลังจากผ่านสารตัวอย่างหรือสารอ้างอิงจะเป็นค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

จากภาพที่ 1.37 ความเข้มของแสงโดยการสะท้อนแสงที่ผ่านออกมาจากตัวแยกแสงให้ผ่านสารอ้างอิงและสารตัวอย่างสลับกัน ทำให้ความเข้มของแสงที่ผ่านสารตัวอย่างลดลงครึ่งหนึ่ง วงจรขยายจะขยายสัญญาณที่ได้จากการเปรียบเทียบสัญญาณที่ได้รับจากสารตัวอย่างกับสารอ้างอิงอยู่ตลอดเวลาในขณะที่วัดความเข้มของแสง ดังนั้นจึงมีเสถียรภาพในการวัดความเข้มของแสงดีมาก แต่เครื่องวัดความเข้มของแสงชนิดนี้มีองค์ประกอบซับซ้อนเนื่องจากใช้ตัววัดแสงอันเดียวจึงต้องมีวงจรเลือก (switching) วัดสัญญาณและหลอดไฟฟ้ากำเนิดแสงมีกำลังส่องสว่างสูงจึงทำให้ราคาสูงกว่าเครื่องมือชนิดลำแสงเดี่ยว



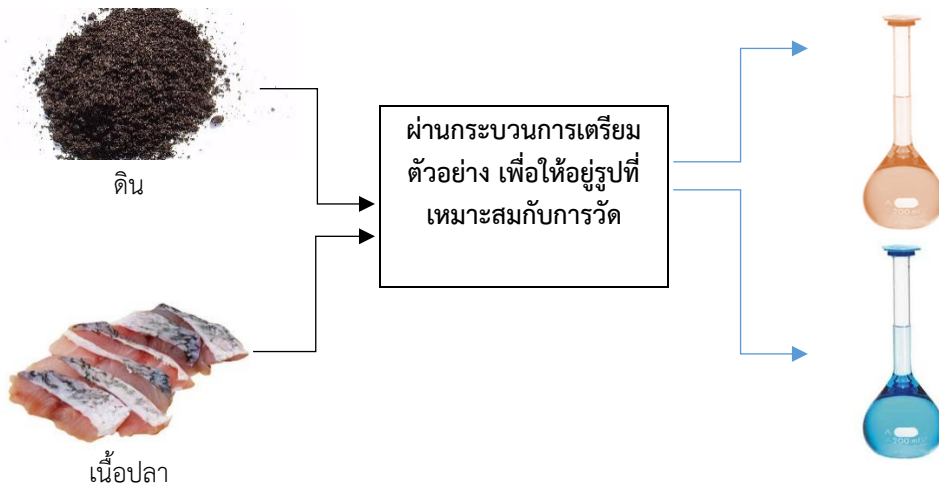
ภาพที่ 1.37 องค์ประกอบของเครื่องวัดการดูดกลืนชนิดลำแสงคู่ (ตัววัดแสงหนึ่งตัว)



ภาพที่ 1.38 องค์ประกอบของเครื่องวัดการดูดกลืนชนิดลำแสงคู่ (ตัววัดแสงสองตัว)

1.2.3 การเตรียมตัวอย่างและการเจือจาง

การเตรียมตัวอย่าง เป็นขั้นตอนการเปลี่ยนรูปหรือสถานะของตัวอย่างให้อยู่ในรูปทางเคมี และ/หรือสถานะที่เหมาะสมกับเครื่องมือวัด การเตรียมตัวอย่างแต่ละวิธีขึ้นอยู่กับสมบัติของตัวอย่าง ชนิดสารที่สนใจ ตัวรบกวน ระดับความเข้มข้น เป็นต้น โดยส่วนใหญ่แล้วตัวอย่างจะอยู่ในสถานะที่ไม่เหมาะสมสำหรับการนำไปวิเคราะห์กับเครื่องมือได้โดยตรง เช่น การหาปริมาณโลหะตะกั่วในดินหรืออาหาร เราไม่สามารถนำดินหรืออาหารนั้นไปใส่ในเครื่องมือวิเคราะห์ได้โดยตรง ตัวอย่างดินหรืออาหารจะต้องผ่านการเตรียมด้วยวิธีที่เหมาะสมเสียก่อนเพื่อให้ตะกั่วละลายออกมาอยู่ในรูปของไอออนในสารละลาย แล้วจึงจะสามารถนำไปเข้าเครื่องมือวิเคราะห์ ดังภาพที่ 1.39



ภาพที่ 1.39 แนวคิดการเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์

ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง จึงเป็นขั้นตอนหนึ่งที่สำคัญและเป็นสาเหตุของความคลาดเคลื่อนในการดำเนินการวิเคราะห์มากที่สุด โดยทั่วไปแล้ว วิธีการเตรียมตัวอย่างจะสอดคล้องตามวิธีวิเคราะห์ ทั้งนี้ วิธีการเตรียมตัวอย่างอาจแบ่งตามคุณลักษณะ เช่น การละลาย (dissolution) การทำให้สลายตัว (decomposition) การแยก (separation) การสกัด (extraction) เป็นต้น โดยทั่วไปตัวอย่างที่เป็นของแข็งมักนิยมใช้วิธีการทำให้สลายตัว ดังนี้

1) การทำให้สลายด้วยความร้อน (thermal decomposition) เป็นการใช้ความร้อนอุณหภูมิสูงเพื่อทำให้สารอินทรีย์สลายตัว เช่น การวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักในอาหาร สามารถทำได้โดยนำอาหารที่บดละเอียดเผาที่อุณหภูมิสูงจนกลายเป็นเถ้า แล้วจึงละลายเถ้าด้วยกรดเจือจาง อย่างไรก็ตามในการเผาด้วยอุณหภูมิสูงจะต้องพิจารณาถึงการสลายตัวของสารที่สนใจด้วย เพราะสารสนที่เจือบางชนิดอาจสลายตัวได้ บางกรณีต้องเติมสารเคมีเพื่อป้องกันการสลายตัว

2) การย่อยสลายแบบเปียก (wet decomposition หรือ acid wet digestion) นิยมใช้สารละลายกรดเป็นสารเคมี ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์เพื่อสำหรับการวิเคราะห์สารอนินทรีย์ โดยกรดที่มีความแรงในการออกซิไดส์สูง หรือในกรณีใช้เบสจะเรียกการย่อยแบบฟลักซ์ (flux digestion) โดยเฉพาะสารอนินทรีย์ที่สลายตัวยาก อาจจำเป็นต้องใช้เกลือของโลหะแอลคาไลในการทำการฟลักซ์

1) การละลาย

การละลายเกี่ยวข้องกับแรงยึดระหว่างอนุภาค (ไอออน และ/หรือ โมเลกุล) ของตัวละลาย และแรงยึดของตัวทำละลาย รวมถึงแรงระหว่างตัวทำละลายและตัวละลาย การเลือกตัวทำละลายจึงจำเป็นต้องพิจารณาถึงองค์ประกอบและโครงสร้างของสารที่ต้องการละลาย ควรเลือกตัวทำละลายให้เหมาะกับชนิดของตัวอย่างโดยต้องสามารถละลายสารที่สนใจได้อย่างสมบูรณ์ เนื่องจากตัวทำละลายมีหลายชนิดและแต่ละชนิดมีสมบัติที่แตกต่างกัน การละลายจึงอาศัยหลักของสภาพขั้วที่เรียกว่า like-dissolve-like เช่น สารอินทรีย์ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ สารอนินทรีย์สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีขั้ว เช่น น้ำ เกลือ หรือกรด เป็นต้น การละลายของสารอนินทรีย์ในน้ำมีแนวทางดังนี้

ตารางที่ 1.14 แนวทางการพิจารณาการละลายของสารอนินทรีย์ในน้ำ

การละลายของเกลือ	ข้อยกเว้น
เกลือของ Na^+ , K^+ และ NH_4^+ ละลายในน้ำได้	ยกเว้น Na_2S , K_2PtCl_4 , $\text{K}_2\text{NaCo}(\text{NO}_2)_6$, $(\text{NH}_4)_2\text{NaCo}(\text{NO}_2)_6$ และ $(\text{NH}_4)_2\text{PtCl}_4$
เกลือไนเตรต เกลือไนไตรต์ เกลือคลอเรต และเกลือแอสเตตละลายได้ในน้ำ	ยกเว้น $\text{Ag}_2\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2$ ละลายน้ำได้ปานกลาง
ออกไซด์ และไฮดรอกไซด์ของโลหะ (metallic oxides) ไม่ละลายน้ำ	ยกเว้น ออกไซด์ และไฮดรอกไซด์ของโลหะแอลคาไล (หมู่ 1A) NH_4^+ และ Ba^{2+} ส่วนออกไซด์ และไฮดรอกไซด์ของ Sr^{2+} และ Ca^{2+} ละลายน้ำได้น้อย
เกลือซัลไฟด์ของโลหะ (metallic sulfides) ไม่ละลายน้ำ	ยกเว้น เกลือของโลหะแอลคาไล และแอลคาไลน์เอิร์ท (Ca, Sr, Ba และ Mg) ส่วนเกลือซัลไฟด์ของ Al^{3+} กับ Cr^{3+} สามารถเกิดปฏิกิริยาการแยกสลายด้วยน้ำกลายเป็นตะกอนในรูปของไฮดรอกไซด์
เกลือคลอไรด์ เกลือโบรไมด์ และเกลือไอโอไดด์ของโลหะละลายน้ำได้	ยกเว้น เกลือของ Ag^+ , Hg_2^{2+} และ Pb^{2+} (แต่ PbCl_2 ละลายได้ปานกลางในน้ำร้อน)
เกลือฟลูออไรด์ไม่ละลายน้ำ	ยกเว้น เกลือฟลูออไรด์ของโลหะแอลคาไล และเกลือฟลูออไรด์ของ Ag^+ , Bi^{3+} , Fe^{3+} และ Sn^{4+}
เกลือซัลเฟตละลายน้ำได้	ยกเว้น PbSO_4 , BaSO_4 และ SrSO_4 ที่ไม่ละลาย ส่วนเกลือซัลเฟตของ Ca^{2+} , Hg^{2+} และ Ag^+ ละลายน้ำได้น้อยมาก
เกลือโครเมตไม่ละลายน้ำ	ยกเว้น เกลือโครเมตของโลหะแอลคาไล และเกลือโครเมตของ Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+}
เกลือคาร์บอเนต เกลือซัลไฟต์ เกลือฟอสเฟต เกลือบอเรต เกลืออาร์เซเนต เกลืออาร์เซไนต์ และเกลือออกซาเลต ไม่ละลายน้ำ	ยกเว้น เกลือของโลหะแอลคาไล
เกลือของ Ag^+ ไม่ละลายน้ำ	ยกเว้น AgNO_3 และ AgClO_4 ส่วน $\text{Ag}_2\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2$ และ Ag_2SO_4 ละลายน้ำได้ปานกลาง

2) การเผาให้เป็นเถ้า

การเผาให้เป็นเถ้า (dry ashing) เป็นวิธีการย่อยที่เหมาะสมสำหรับกำจัดสารอินทรีย์ เนื่องจากสารประกอบอินทรีย์จะถูกออกซิไดซ์ด้วยแก๊สออกซิเจนและแปรสภาพเป็นออกไซด์ของธาตุต่าง ๆ เมื่อทำการเผาสารอินทรีย์ด้วยความร้อนที่สูงมาก ๆ เช่น คาร์บอน (C) จะเปลี่ยนเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) และไฮโดรเจนจะเปลี่ยนเป็นไอน้ำ โดยทั่วไปการเผาให้เป็นเถ้านิยมทำในเตาเผา (furnace) ที่อุณหภูมิ 450-800°C ที่ความดันบรรยากาศ ดังภาพที่ 1.40 และเถ้าจะถูกละลายด้วยตัวทำละลายที่เป็นกรดที่เหมาะสมเพื่อให้เป็นสารละลายสำหรับการวิเคราะห์ขั้นต่อไป



ภาพที่ 1.40 การเผาตัวอย่างในเตาเผา (ก) ตัวอย่างทำการระเหยตัวทำลาย (ข) เผาด้วยเตาเผา และ (ค) ส่วนที่เหลือจากการเผา

3) การย่อยสลายโดยใช้กรด

การละลายตัวอย่างด้วยกรดเป็นการใช้กรดที่สามารถทำลายพันธะระหว่างสารที่สนใจกับองค์ประกอบอื่น ๆ ในสารตัวอย่าง การเลือกใช้กรดจะต้องพิจารณาถึงผลที่จะเกิดขึ้นได้ทั้งระหว่างการย่อย และ/หรือ ภายหลังการย่อย ดังตารางที่ 1.15 การเลือกใช้กรดจะเกิดปฏิกิริยาข้างเคียง เช่น

- ถ้าตัวอย่างมีแบเรียมหรือเกลือของแบเรียมเป็นองค์ประกอบ จะไม่ใช้กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) เนื่องจากจะทำให้เกิดตะกอน $BaSO_4$ ซึ่งเป็นเกลือที่ละลายน้ำได้น้อยมาก
- ตัวอย่างมีซิลเวอร์เป็นองค์ประกอบ จะไม่ใช้กรดกรดไฮโดรคลอริก (HCl) เนื่องจากเกิดตะกอน $AgCl$ ซึ่งเป็นเกลือที่ละลายน้ำได้น้อยมาก
- การหาปริมาณคาร์บอน หรือซัลเฟอร์ในตัวอย่างที่มีเกลือคาร์บอนเนตหรือเกลือซัลไฟด์ ถ้าละลายตัวอย่างด้วยกรดจึงเกิดแก๊ส CO_2 และ H_2S ขึ้น จะทำให้คาร์บอนและซัลเฟอร์สลายตัว

ตารางที่ 1.15 ชนิดของกรดที่นิยมใช้ในการย่อยสลายแบบเปียก

ชนิดกรด	สมบัติ
กรดไนตริก (HNO_3)	<p>กรดไนตริกสามารถละลายพวกโลหะได้เกือบทุกชนิด ยกเว้น Al, Cr, Sn, W และ Sb ทั้งนี้เพราะ Al และ Cr จะเกิดการรวมตัวเป็นแผ่นออกไซด์ ส่วน Sn, W และ Sb จะเกิดเป็นสารประกอบละลายยาก</p> <ul style="list-style-type: none"> • กรดไนตริกเข้มข้น (69% w/w) สามารถละลายโลหะได้หลายชนิด เช่น Mn, Fe, Co, Ag, Pd, Se, As, Bi เป็นต้น • กรดไนตริกเจือจาง (10-15% v/v) สามารถละลายสารประกอบออกไซด์ของโลหะแอลคาไลน์เอิร์ท และออกไซด์ของโลหะแทรนซิชัน เช่น La_2O_3, At_2O_3, Sc_2O_3, Y_2O_3 • กรดไนตริกเจือจาง (50% v/v) สามารถละลายออกไซด์ของโลหะ เช่น V_2O_5, Mn_2O_3, CuO, CdO, HgO, TlO, PbO, Bi_2O_3 และสามารถละลายโลหะ Cu, Zn, Cd, Hg, Pb ได้

ชนิดกรด	สมบัติ
	<ul style="list-style-type: none"> • กรดผสมระหว่างกรดไนตริกเข้มข้นและกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (อัตราส่วน 1:3 v/v) สามารถละลายโลหะพวกแพลทินัม (Pt) ทองคำ (Au) เหล็กกล้าไม่เป็นสนิม โลหะผสม Fe/Ni โลหะผสมทองแดง (Cu alloy) เหล็กกล้าผสม Cr/Ni • กรดผสมของกรดไนตริก กรดไฮโดรฟลูออริก (HF) และน้ำในอัตราส่วน 1:1:1 v/v สามารถละลายโลหะและออกไซด์ของธาตุหลายชนิด เช่น Ti, Zr, Hf, Nb, W, Sn, Al, Si, Ge, Sb, Te, As, Se, Mo
กรดไฮโดรคลอริก หรือกรดเกลือ	กรดไฮโดรคลอริก นิยมใช้ละลายตัวอย่างของแข็งพวกโลหะที่ถูกออกซิไดส์ได้ง่ายของแข็งที่เป็นสารที่เกิดในธรรมชาติ เช่น เกลือคาร์บอเนตของโลหะ Mg, Ca, Fe, Mn และออกไซด์ของ Fe และ Mn จะละลายได้ดี แต่ออกไซด์ของ Al, Si, Sn, Ti จะไม่ละลาย กรดไฮโดรคลอริกผสมกับกรดบอริก (H_3BO_3) ใช้ละลายเกลือฟลูออไรด์บางชนิดได้ เช่น CaF_2 กรดไฮโดรคลอริกผสมกับตัวออกซิไดส์บางชนิด (เช่น HNO_3 , H_2O_2 , $KClO_3$, Br_2) จะใช้ละลายตัวอย่างแร่ซิลิเฟต
กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4)	กรดซัลฟิวริกเข้มข้นมีจุดเดือดประมาณ $340^\circ C$ จึงนิยมใช้กรดเข้มข้นที่ร้อนละลายตัวอย่างที่เป็นโลหะและโลหะผสม โดยจะทำให้เกิดการสลายตัว
กรดเปอร์คลอริก ($HClO_4$)	กรดเปอร์คลอริกเข้มข้นที่ร้อนเป็นตัวออกซิไดส์ที่แรง จึงใช้ละลายเหล็กกล้าไม่เป็นสนิมและโลหะผสมที่มีเหล็กเป็นองค์ประกอบได้ดี การใช้กรดนี้ต้องระมัดระวังเนื่องจากกรดนี้ทำปฏิกิริยารุนแรงกับสารอินทรีย์ อาจทำให้เกิดระเบิดได้ ดังนั้น ควรใช้สารละลายกรดเจือจาง หรือใช้กรดเข้มข้นที่เย็นใส่ลงในตัวอย่าง แล้วจึงนำไปต้มโดยค่อย ๆ เพิ่มความร้อนในตู้ควันทันที่สะอาดปราศจากฝุ่นละอองและสารอินทรีย์ ทั้งนี้ต้องระวังไม่ให้สารละลายแห้งและเมื่อสารละลายเหลือน้อยต้องระมัดระวังเนื่องจากจะมีความเข้มข้นของกรดสูงมาก
กรดฟอสฟอริก (H_3PO_4)	กรดฟอสฟอริกสามารถละลายสารประกอบออกไซด์ที่เกิดในธรรมชาติที่ย่อยสลายได้ยาก เช่น ไตรยูเรเนียมออกไซด์ (U_3O_8) และโครไมต์ ($FeCr_2O_4$) กรดฟอสฟอริกผสมกับกรด H_2SO_4 และ $HClO_4$ จะละลายออกไซด์ของเหล็กและของอะลูมิเนียมได้ การละลายแร่โดยใช้กรดชนิดนี้หรือกรดผสมของ H_2SO_4 , $HClO_4$, H_3PO_4 , H_3BO_3 จะเกี่ยวข้องกับกระบวนการเติมโปรตอน (protonation) และการเกิดไอออนเชิงซ้อน
กรดไฮโดรฟลูออริก	กรดไฮโดรฟลูออริกเป็นกรดพิเศษเมื่อเปรียบเทียบกับกรดชนิดอื่น ๆ ที่ใช้สำหรับการละลายตัวอย่างของแข็ง การละลายเกี่ยวข้องกับการเกิดไอออนเชิงซ้อนเนื่องจากไอออนฟลูออไรด์มีประสิทธิภาพมากกว่าแฮไลด์ของกรดอื่น ๆ ไอออนฟลูออไรด์ทำปฏิกิริยาเกิดเป็นไอออนเชิงซ้อนที่เสถียร โดยเฉพาะพวกแคตไอออนที่มีความหนาแน่นประจุสูง (Zr^{4+} , Ti^{4+} , Al^{3+} , Fe^{3+}) เนื่องจากฟลูออไรด์มีขนาดอะตอมเล็ก จึงสามารถไปล้อมรอบไอออนโลหะตรงกลางได้มาก ซึ่งจำนวนที่ล้อมรอบอาจถึงจำนวนโคออร์ดิเนชันสูงสุดที่เป็นไปได้สำหรับไอออนเชิงซ้อนนั้น ๆ กรดไฮโดรฟลูออริกทำปฏิกิริยากับซิลิโคนได้ จึงเป็นประโยชน์มากในการละลายซิลิเกต และกำจัดซิลิโคนออกจากสารละลายนี้ได้โดยใช้สมบัติการระเหยง่ายของ H_2SiF_6 ที่เกิดขึ้น ภาชนะที่ใช้ต้องเป็นแพลทินัม หรือพลาสติก

ชนิดกรด	สมบัติ
กรดกัดทอง (aqua regia)	กรดกัดทองเป็นกรดผสมระหว่างกรดไนตริกเข้มข้นกับกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นในอัตราส่วน 1 ต่อ 3 โดยปริมาตร ($\text{HNO}_3\text{:HCl}$, 1:3 v/v) กรดกัดทองใช้ละลายโลหะได้เกือบทุกชนิดและใช้ละลายสารประกอบไอออนที่ละลายได้น้อยมากในกรดชนิดอื่น ๆ และยังสามารถละลายสารอินทรีย์ที่เป็นองค์ประกอบของตัวอย่างได้ดีอีกด้วย นอกจากนี้อาจเพิ่มประสิทธิภาพของกรดกัดทองโดยเติม Br_2 หรือ H_2O_2

4) การย่อยด้วยคลื่นไมโครเวฟ

การย่อยด้วยคลื่นไมโครเวฟ (microwave digestion) เป็นวิธีการย่อยตัวอย่างโดยอาศัยคลื่นไมโครเวฟเป็นแหล่งพลังงานกระตุ้นให้โมเลกุลเกิดการหมุนและเสียดสีหรือชนกระทบกันอย่างไม่เป็นระเบียบทำให้เกิดความร้อนขึ้น การให้ความร้อนโดยใช้คลื่นไมโครเวฟสามารถควบคุมความร้อนให้มีระดับพลังงานคงที่อย่างต่อเนื่องและหยุดทำงานได้ทันที พลังงานของคลื่นไมโครเวฟจะถูกดูดกลืนโดยวัตถุที่บรรจุอยู่ในภาชนะ (สารเคมีหรือส่วนผสมของสารตัวอย่าง) แล้วเปลี่ยนเป็นความร้อนทำให้สารที่บรรจุในหลอด (vessel) มีอุณหภูมิเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ความร้อนจะถูกถ่ายโอนจากตัวอย่างไปยังภาชนะบรรจุทำให้อุณหภูมิของภาชนะสูงขึ้นและกระจายตัวสู่สิ่งแวดล้อม โดยทั่วไปกระบวนการย่อยสลายจะอาศัยกรดอนินทรีย์ เช่น H_2SO_4 , HCl , HNO_3 และ HF เป็นตัวออกซิไดส์ช่วยย่อยสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ในสารตัวอย่าง



ภาพที่ 1.41 เครื่องย่อยด้วยคลื่นไมโครเวฟ

โดยทั่วไปปริมาณตัวอย่างที่เหมาะสมต่อการย่อยจะค่อนข้างน้อย เช่น ตัวอย่างที่เป็นสารอินทรีย์ประมาณ 0.1-1.0 กรัม สารอนินทรีย์ประมาณ 0.5-5 กรัม และใช้ปริมาตรของกรดหรือสารเคมีน้อย ประมาณ 2-10 mL ใช้เวลาในการย่อยประมาณ 5 ถึง 10 นาที การย่อยในภาชนะแบบปิดใช้ระยะเวลาไม่นาน ให้อุณหภูมิและความดันของปฏิกิริยาที่สูง ทำให้สามารถย่อยตัวอย่างได้อย่างสมบูรณ์

ตารางที่ 1.16 การย่อยเครื่องสำอางด้วยกรดผสมร่วมกับเทคนิคไมโครเวฟ

	HNO ₃ (mL)	HCl (mL)	HF (mL)	H ₃ BO ₃ (g)	H ₂ O (mL)
Lip Gloss Standard (PT-CS-20)	3.5	0.5	2	1	10
Powdered Cosmetics Standard (PT-CS-21)	3.5	0.5	2	1	10
Lip Gloss	3.5	0.5	2	1	10
Lipstick (HF)	3.5	0.5	2	1	10
Lipstick (No HF)	3.5	0.5	0	0	0
Powder Foundation	3.5	0.5	2	1	10
Eyeshadow	3.5	0.5	2	1	10
Mascara	3.5	0.5	1	0.5	10
Plant-Based Mascara	3.5	0.5	1	0.5	10
Liquid Foundation	3.5	0.5	1	0.5	10

1.2.4 ปฏิบัติการส่วนประกอบของเครื่อง UV-Vis และเทคนิคการเตรียมตัวอย่าง

- 1) ปฏิบัติการส่วนประกอบเครื่อง UV-Vis
- 2) ปฏิบัติการการเตรียมตัวอย่าง
(คู่มือปฏิบัติการ)

สรุปท้ายบทเรียน

เครื่องยูวี-วิสิเบิลประกอบด้วยส่วนหลัก คือ แหล่งกำเนิดแสง ตัวแยกแสง ช่องใส่สารตัวอย่าง ตัววัดแสง ภาคขยายสัญญาณ และภาคแสดงผล โดยแบ่งประเภทของเครื่องยูวี-วิสิเบิลตามลำแสงเป็นสองประเภทคือ ชนิดลำแสงเดี่ยว และชนิดลำแสงคู่ ส่วนประกอบหลักที่สำคัญของเครื่อง UV-Vis ได้แก่ แหล่งกำเนิดแสงเป็นส่วนกำเนิดแสงที่ต้องมีความเข้มแสงคงที่และแบบต่อเนื่อง ที่นิยมใช้ เช่น หลอดทังสเตน หลอดไฮโดรเจน (H₂) หรือ หลอดควิที่เรียม และหลอดทังสเตนแฮโลเจน ตัวแยกแสงเป็นอุปกรณ์ทำหน้าที่แยกแสงหลายสีหรือหลายความยาวคลื่นให้เป็นแสงสีเดี่ยว เครื่องมือสมัยใหม่จะนิยมใช้เกรตติงแบบสะท้อนแสงชนิดอีเชล (echelle grating) เนื่องจากมีราคาถูก การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิมีผลกระทบต่อหน้าตาของตัวตัวอย่างเรียกว่า เซลล์หรือควิเวตต์ ซึ่งลักษณะทั่วไปของควิเวตต์มีหลายขนาดและปริมาตรบรรจุ วัสดุที่ใช้ทำควิเวตต์มีหลายชนิด เช่น แก้ว ควอตซ์ และพลาสติก ตัววัดแสงเป็นอุปกรณ์ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนความเข้มของแสงให้เป็นสัญญาณไฟฟ้าแล้วส่งต่อไปยังภาคขยายสัญญาณและวงจรรีเลย์เพื่อให้อ่านค่าออกมาในรูปการดูดกลืนแสงหรือความส่องผ่าน ตัววัดแสงมีอยู่หลายชนิด เช่น โฟโตทิวบ์ โฟโตมัลติพลายเออร์ ทิวบ์ ซีลิกอนโฟโตไดโอด และโฟโตไดโอดอาร์เรย์ นอกจากนี้ตัวแปลงสัญญาณรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าเกี่ยวข้องโพตอน เรียกว่า ตัววัดโพตอน การเตรียมตัวอย่างเป็นขั้นตอนหนึ่งที่สำคัญสำหรับการวิเคราะห์ เนื่องจากตัวอย่างจะทำการวิเคราะห์จะต้องเป็นตัวแทนของตัวอย่างได้ การเตรียมตัวอย่างเป็นขั้นตอนการเปลี่ยนรูป

หรือสถานะของตัวอย่างให้อยู่ในรูปทางเคมี และ/หรือ สถานะที่เหมาะสมกับเครื่องมือวัด การเตรียมตัวอย่างแต่ละวิธีขึ้นอยู่กับสมบัติของตัวอย่าง ชนิดสารที่สนใจ ตัวรบกวน ระดับความเข้มข้น เป็นต้น โดยส่วนใหญ่แล้วสถานะของตัวอย่างจะอยู่ในรูปที่ไม่เหมาะสมสำหรับการนำไปวิเคราะห์กับเครื่องมือได้โดยตรง

วิธีการสอนและกิจกรรม

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ไปกิจกรรม

สื่อการสอนและอุปกรณ์การสอน

1. หนังสือ เคมีวิเคราะห์: หลักการและเทคนิคการคำนวณเชิงปริมาณ
2. เอกสารประกอบการสอน
3. เอกสาร power point
4. <https://www.agilent.com/cs/library/primers/public/primer-uv-vis-basics-5980-1397en-agilent.pdf>

งานที่มอบหมาย

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ไปกิจกรรม

การวัดผล

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ไปกิจกรรม

แบบฝึกหัด

1. ทำกิจกรรม
2. ไปกิจกรรม

บรรณานุกรม

1. ชูติมา ศรีวิบูลย์. (2556). *เคมีวิเคราะห์ 1*. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยรามคำแหง
2. แม้น อมรสิทธิ์, และอมร เพชรสม. (2550). *หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ*. สำนักพิมพ์ชวนชม
3. นิพนธ์ ตังคณานุรักษ์ และคณิตา ตังคณานุรักษ์. (2547). *สเปกโทรสโกปีด้านการวิเคราะห์*. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
4. เย็นหทัย แนนหนา. (2549). *สเปกโทรสโกปีสำหรับเคมีอินทรีย์*. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5. วรวิทย์ จันทร์สุวรรณ. (2565). *เคมีวิเคราะห์: หลักการและเทคนิคการคำนวณเชิงปริมาณ* (พิมพ์ครั้งที่ 2). สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
6. Averill, B. A. (2012). *Principles of General Chemistry*.
<https://2012books.lardbucket.org/books/principles-of-general-chemistry-v1.0m/index.html>
7. Christian, G. D., Dasgupta, P. K., & Schug, K. A. (2014). *Analytical Chemistry* (7th ed.). John Wiley & Sons
8. Harris, D. C. (2010). *Quantitative Chemical Analysis* (8th ed.). W.H. Freeman and Company
9. Harvey, D. (2019). *Analytical Chemistry 2.1*. <https://chem.libretexts.org/>
10. Robinson, J. W., Frame, E. M. S, & Frame G. M. (2021). *Instrumental Analytical Chemistry*. CRC Press
11. Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2022). *Fundamentals of Analytical Chemistry* (10th ed.). Brooks/Cole Publishing
12. Skoog, D. A., Holler, F.J., & Crouch, S. R. (2018). *Principles of Instrumental Analysis* (7th ed.). David Harris.

หน่วยที่ 1

วิธียูวี-วิสิเบิล สเปกโทรสโกปี

บทเรียน 1.3 การวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วยเทคนิค UV-Vis

จุดประสงค์การสอน

1. บอกการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ
2. คำนวณวิธีการหาปริมาณวิเคราะห์
3. อธิบายวิธีเติมสารมาตรฐาน
4. ปฏิบัติการสร้างกราฟมาตรฐานความเข้มข้น และการวิเคราะห์ปริมาณ

1.3.1 การวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ

1) การวิเคราะห์เชิงคุณภาพ

การวิเคราะห์เชิงคุณภาพด้วยเทคนิค UV-Vis คือการใช้การดูดกลืนแสงในย่าน UV-Vis เพื่อระบุชนิดของสารหรือกลุ่มฟังก์ชันทางเคมีในสารตัวอย่าง เทคนิคนี้อาศัยหลักการที่ว่าสารต่างชนิดกันจะดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่นเฉพาะเจาะจงแตกต่างกัน ทำให้สามารถใช้เป็นข้อมูลบ่งชี้ชนิดของสารได้ โดยอาศัยการวัดตำแหน่งของค่าการดูดกลืนสูงสุด (λ_{max}) และลักษณะของสเปกตรัมการดูดกลืนแสงเป็นข้อมูลที่ใช้ในการระบุสารหรือเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน เช่น

- การตรวจสอบสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจากพืช ซึ่งสารฟีนอลิก เช่น ฟลาโวนอยด์ หรือกรดฟีนอลิก มีโครงสร้างแอมโรเมติกคอนจูเกต ซึ่งดูดกลืนแสงในช่วง 250–400 nm สามารถใช้เปรียบเทียบ λ_{max} กับข้อมูลอ้างอิง เพื่อยืนยันชนิดของฟีนอลในสารสกัด
- การตรวจสอบไนเตรต (NO_3^-) และไนไตรต์ (NO_2^-) โดยไนเตรตมีการดูดกลืนที่ ~ 210 nm ขณะที่ไนไตรต์ดูดกลืนที่ ~ 354 nm สามารถระบุชนิดของไอออนในน้ำหรืออาหารได้ด้วยการวัดสเปกตรัม UV
- การยืนยันการเกิดปฏิกิริยาสำหรับสารเชิงซ้อนโลหะ (metal complexes) โลหะทรานซิชันจะเกิดการดูดกลืนแสงเฉพาะเมื่อสร้างเชิงซ้อนกับลิแกนด์ ใช้ดูการเปลี่ยนแปลง λ_{max} หรือการเปลี่ยนสีเพื่อระบุว่าการเกิดเชิงซ้อน

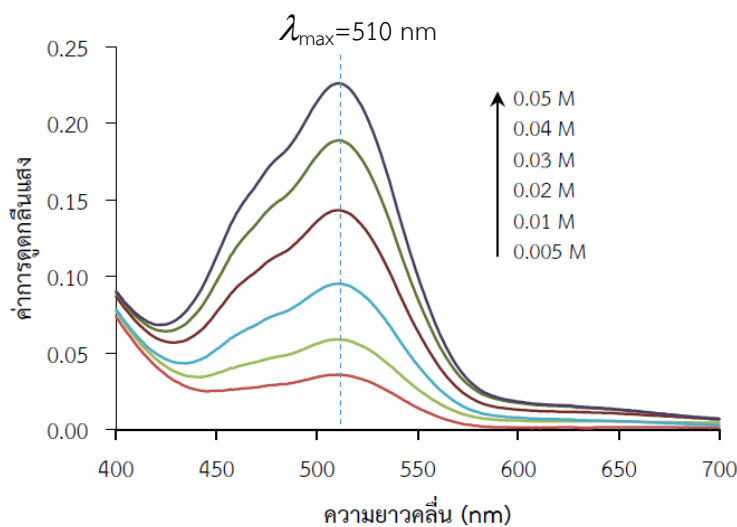
2) การวิเคราะห์เชิงปริมาณ

การวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วย UV-Vis เป็นเทคนิคที่ใช้วัด ปริมาณของสาร (concentration) โดยอาศัยหลักการที่ว่าสารสามารถดูดกลืนแสงย่าน UV-Vis ได้ตามกฎของเบียร์ ซึ่งระบุว่าค่าการดูดกลืนแสง (A) มีความสัมพันธ์โดยตรงกับความเข้มข้นของสาร (C) ซึ่งกล่าวมาแล้วในบทเรียนที่ผ่านมา

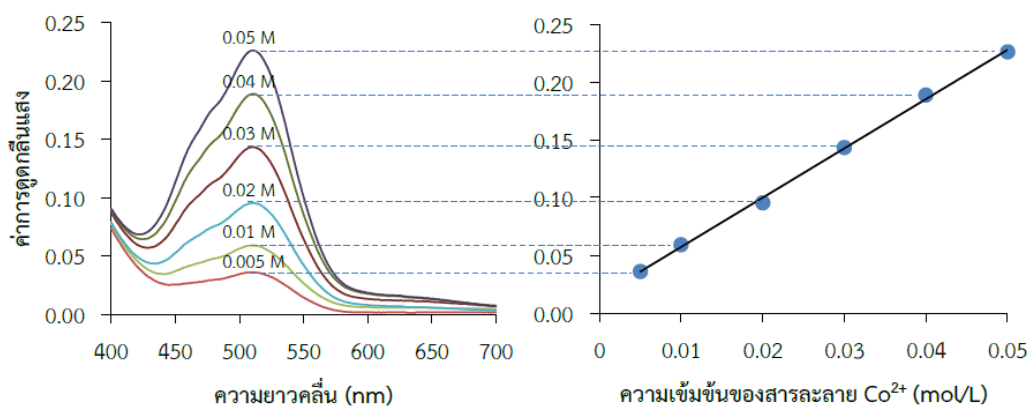
1.3.2 วิธีการทำปริมาณวิเคราะห์

1) วิธีการมาตรฐานความเข้มข้น

กราฟมาตรฐานความเข้มข้น (calibration curve) คือ กราฟเส้นตรงที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน (ที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน) ในที่นี้ขอยกตัวอย่าง สารละลาย $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ ที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 0.0050 ถึง 0.050 mol/L เมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงในย่านวิสิเบิล (400-800 nm) จะได้ลักษณะสเปกตรัมดูดกลืนแสงแต่ละความเข้มข้น ดังภาพที่ 1.42 และจะพบว่าที่ความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) อยู่ที่ 510 nm และค่าการดูดกลืนแสงจะเพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสารที่ดูดกลืนแสง ดังภาพที่ 1.43



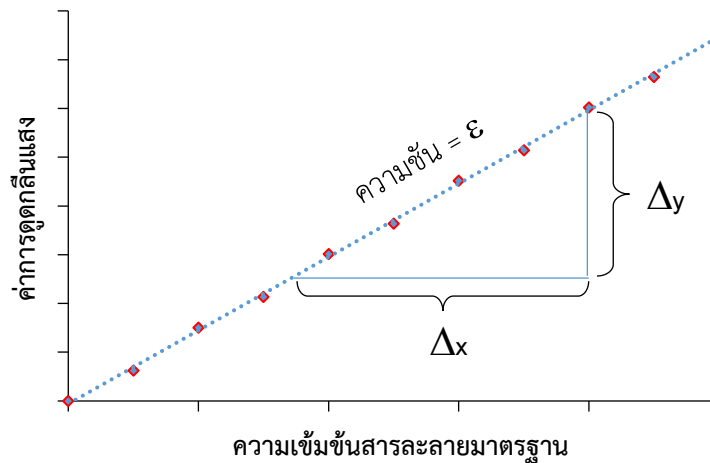
ภาพที่ 1.42 สเปกตรัมดูดกลืนแสงของสารละลาย $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$



ภาพที่ 1.43 ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงกับสเปกตรัมดูดกลืนแสงของสารละลาย $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$

กราฟมาตรฐานความเข้มข้น คือกราฟเส้นตรงที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน (ที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน) เมื่อเขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (แกน x) กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน (แกน y) ดังภาพที่ 1.44

จากสมการกฎของเบียร์ $A = \epsilon bc$ เมื่อเขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลาย $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ เมื่อความหนาของตัวกลางที่แสงผ่านคงที่ ($b=1 \text{ cm}$) จะได้กราฟเส้นตรงที่มีจุดตัดแกนค่าหนึ่ง และมีความชันเป็น ϵ ดังภาพที่ 1.44 เรียกกราฟนี้ว่า กราฟมาตรฐานความเข้มข้น (concentration calibration curve) หรือวิธีกราฟมาตรฐาน (standard calibration method)



ภาพที่ 1.44 กราฟมาตรฐานความเข้มข้น

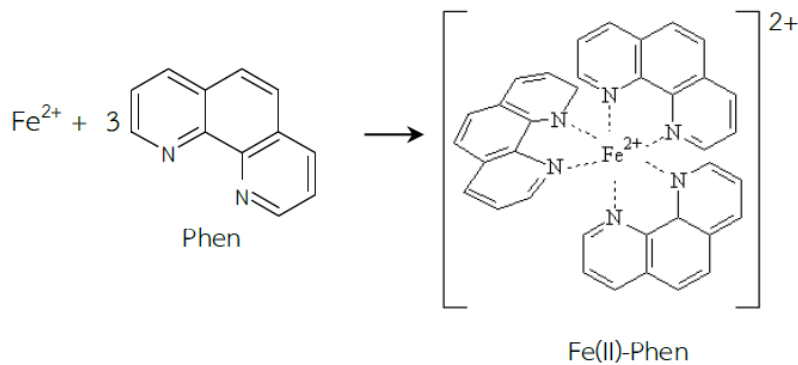
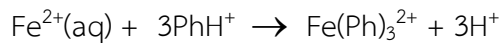
จุดประสงค์ที่สำคัญของการทำกราฟมาตรฐานเพื่อให้ได้สัญญาณการดูดกลืนแสงจากเครื่องมือวัดในขณะนั้น เมื่อใช้ความเข้มข้นของสารมาตรฐานภายนอก (external standard) ที่ความเข้มข้นต่างกันตามลำดับ สัญญาณการดูดกลืนแสงที่ได้จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นตามกฎของเบียร์ และที่สำคัญกราฟมาตรฐานจะเป็นเครื่องมือในการหาความเข้มข้นของสารที่สนใจในสารตัวอย่าง โดยอาศัยสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานความเข้มข้น

2) วิธีสร้างกราฟมาตรฐานความเข้มข้น

การสร้างกราฟมาตรฐานความเข้มข้น ทำได้โดยนำสารละลายมาตรฐานที่ทราบค่าความเข้มข้นที่แน่นอนอย่างน้อย 5-6 ความเข้มข้น วัดค่าการดูดกลืนแสง จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ของแต่ละความเข้มข้นได้เขียนกราฟระหว่างความเข้มข้นกับค่าการดูดกลืนแสง และเมื่อนำตัวอย่างไปวัดค่าการดูดกลืนแสง เครื่องมือจะรายงานค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างไปหาความเข้มข้นของสารตัวอย่างโดยอาศัยสมการเส้นตรง จะทราบค่าความเข้มข้นของสารที่สนใจในสารตัวอย่างได้

ตัวอย่างการวิเคราะห์ปริมาณเหล็กด้วยวิธีวัดค่าการดูดกลืนแสง ทำได้โดยให้เกิดไอออนเชิงซ้อนที่มีสี (สีแดงถึงส้ม) ระหว่าง Fe^{2+} กับ 1,10-ฟีแนนโทรีน เรียกว่าไอออนเชิงซ้อนเหล็ก-ฟีแนนโทรีน ($\text{Fe}(\text{II})\text{-Phen}$) ดังภาพที่ 1.45 ซึ่งไอออนเชิงซ้อนดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 nm โดยควบคุม pH ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ประมาณ pH 3.5 เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดตะกอนเป็น $\text{Fe}(\text{OH})_2$ และจะต้องเติมตัวรีดิวซ์เพื่อทำการรีดิวซ์เหล็กทั้งหมดในสารละลายให้เป็น Fe^{2+} เสียก่อนโดยใช้

สารละลายไฮดรอกซีลามีนไฮโดรคลอไรด์ (hydroxylamine hydrochloride) สีของไอออนเชิงซ้อนระหว่างเหล็ก(II) กับฟีแนนโทรลีนจะเสถียรได้นาน



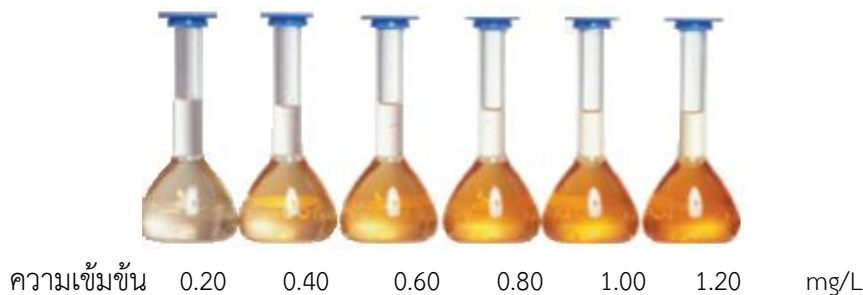
ภาพที่ 1.45 ไอออนเชิงซ้อนระหว่างเหล็ก(II) กับฟีแนนโทรลีน.

การเตรียมกราฟมาตรฐานทำได้โดย เตรียมสารละลายเหล็กมาตรฐานให้มีความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นลำดับจำนวน 6 ความเข้มข้นในขวดวัดปริมาตร (ในการเตรียมชุดสารละลายมาตรฐาน จะต้องไม่มีความคลาดเคลื่อนเกี่ยวกับการเตรียม เช่น ปริมาตรที่ปิเปตและการปรับปริมาตรสุดท้าย) ความเข้มข้นของเหล็กที่เตรียมดังตารางที่ 1.17

ตารางที่ 1.17 ความเข้มข้นของเหล็ก(II) สำหรับทำกราฟมาตรฐาน

ขวดที่	ความเข้มข้น (mg/L)
1	0.20
2	0.40
3	0.60
4	0.80
5	1.00
6	1.20

จากนั้นเติมสารละลาย $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ และแอสซีเตตบัฟเฟอร์อย่างละ 1 mL ลงไป แล้วเติม 1,10-ฟีแนนโทรลีน ปริมาตร 2 mL แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปจนครบขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ประมาณ 10 นาที จะได้สารละลายสีส้มแดงของไอออนเชิงซ้อนเหล็ก(II) กับฟีแนนโทรลีน ดังภาพที่ 1.46 จากนั้นนำสารละลายแต่ละขวดวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ค่าการดูดกลืนแสงของไอออนเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นแต่ละความเข้มข้นของสารละลายเหล็กได้ผลดังตารางที่ 1.18

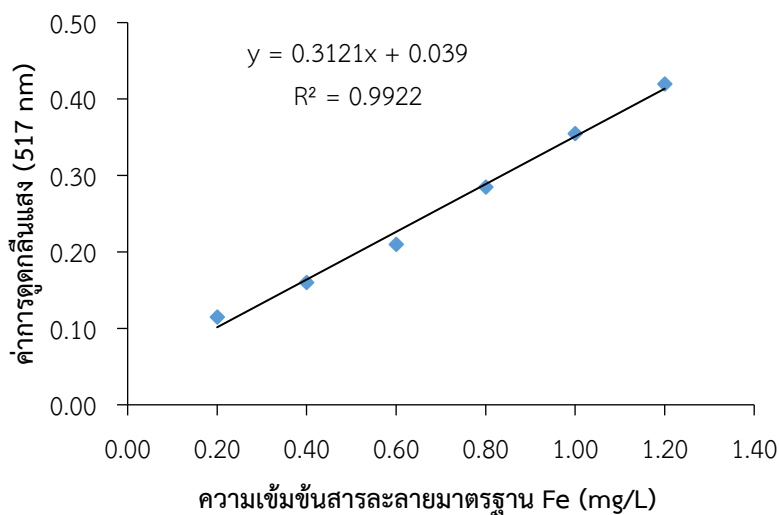


ภาพที่ 1.46 สารละลายไอออนเชิงซ้อนเหล็ก(II)-ฟีแนโนโทรลีน

ตารางที่ 1.18 ค่าการดูดกลืนแสงของไอออนเชิงซ้อนเหล็ก(II)-ฟีแนโนโทรลีน

ขวดที่	ความเข้มข้น (mg/L)	ค่าการดูดกลืนแสง (517 nm)
1	0.20	0.115
2	0.40	0.160
3	0.60	0.210
4	0.80	0.285
5	1.00	0.355
6	1.20	0.420

จากตารางที่ 1.18 เมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงของแต่ละความเข้มข้นมาเขียนกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเหล็กกับค่าการดูดกลืนแสง จะได้กราฟเส้นตรง ดังภาพที่ 1.47



ภาพที่ 1.47 กราฟมาตรฐานความเข้มข้นของไอออนเชิงซ้อนเหล็ก-ฟีแนโนโทรลีน

กราฟมาตรฐานที่สร้างโดยใช้โปรแกรมเอกเซลล์จะได้ข้อมูลเกี่ยวกับสมการเส้นตรงที่บอกค่าความชันและจุดตัดแกน y และยังสามารถบอกความเป็นเส้นตรงว่ากราฟนั้นมีความเป็นเส้นตรงมากน้อยเพียงใด ถ้าค่า R^2 ใกล้ 1 แสดงว่ากราฟนั้นมีความเป็นเส้นตรงสูง โดยทั่วไปในการวิเคราะห์เชิง

ปริมาณค่า R^2 ต้องมากกว่า 0.99 ซึ่งจากกราฟเส้นตรงของไอออนเชิงซ้อนเหล็ก(II)-พีแนโนโทรลีน พบว่า ค่าความชันเท่ากับ 0.3121 จุดตัดแกน y เท่ากับ 0.039 และ R^2 เท่ากับ 0.9925

3) การคำนวณปริมาณจากกราฟมาตรฐาน

กราฟมาตรฐานความเข้มข้นของไอออนเชิงซ้อนเหล็ก(II)-พีแนโนโทรลีน (ภาพที่ 1.47) เป็นความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน ที่ได้สัญญาณตอบสนองจากเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ซึ่งสัญญาณที่ได้นั้นมาจากสารมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้น ดังนั้นเมื่อเรานำสารตัวอย่างมาทำการทดลองเช่นเดียวกับสารมาตรฐาน โดยทำการทดลองในสภาวะเดียวกัน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นเดียวกัน เราจะได้สัญญาณตอบสนองเป็นค่าการดูดกลืนแสงค่าหนึ่ง ซึ่งเป็นค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างนั้น แต่เราไม่สามารถทราบความเข้มข้นของสารตัวอย่างได้โดยตรงจากเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ เราต้องนำค่าการดูดกลืนแสงมาเทียบกับกราฟมาตรฐานความเข้มข้น

ถ้าสมมตินำสารตัวอย่างน้ำบาดาล ปริมาตร 50.00 mL เติมสารละลายเช่นเดียวกับการเตรียมกราฟมาตรฐาน และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm ได้เท่ากับ 0.380 เราสามารถคำนวณปริมาณเหล็กในสารตัวอย่างเทียบกับเตรียมกราฟมาตรฐาน โดยอาศัยสมการเส้นตรง (ภาพที่ 1.47)

$$y = 0.3121x + 0.039 \quad \text{.....(1.13)}$$

$$x = \frac{y - 0.039}{0.3121} \quad \text{.....(1.14)}$$

เมื่อ y คือค่าการดูดกลืนแสงของสารที่สนใจในตัวอย่าง เท่ากับ 0.380 ดังนั้น

$$x = \frac{0.380 - 0.039}{0.3121} = 1.09 \text{ mgFe/L} \quad \text{.....(1.15)}$$

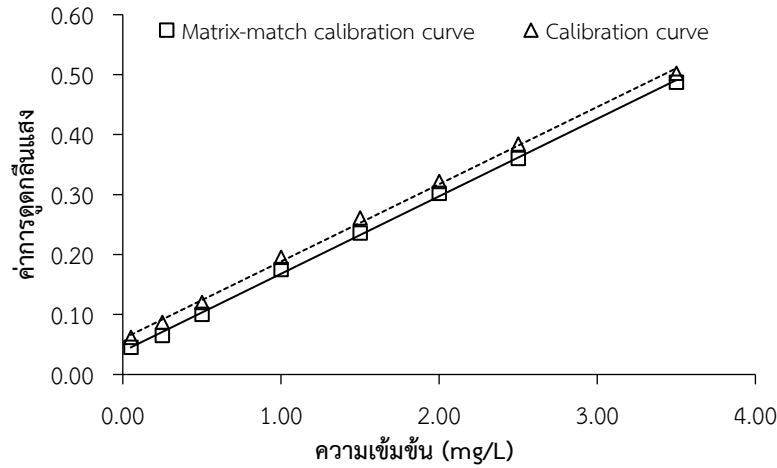
ดังนั้น สรุปได้ว่าในสารตัวอย่างมีปริมาณเหล็กเท่ากับ 1.09 mg/L (ppm)

การวิเคราะห์เชิงปริมาณนอกจะดำเนินการทดลองเพื่อวิเคราะห์สารที่สนใจแล้ว ยังจำเป็นต้องศึกษาผลการรบกวนของตัวกลาง (matrix) ที่เป็นองค์ประกอบในสารที่สนใจ และสารเคมีในการทดลอง โดยตัวกลางอาจส่งกระทบในการวิเคราะห์ได้ทั้งทางบวกหรือทางลบ ซึ่งจะส่งผลวิเคราะห์ห่างไกลจากค่าแท้จริง หรือกล่าวได้ว่า ผลการวิเคราะห์มีความแม่นยำต่ำ

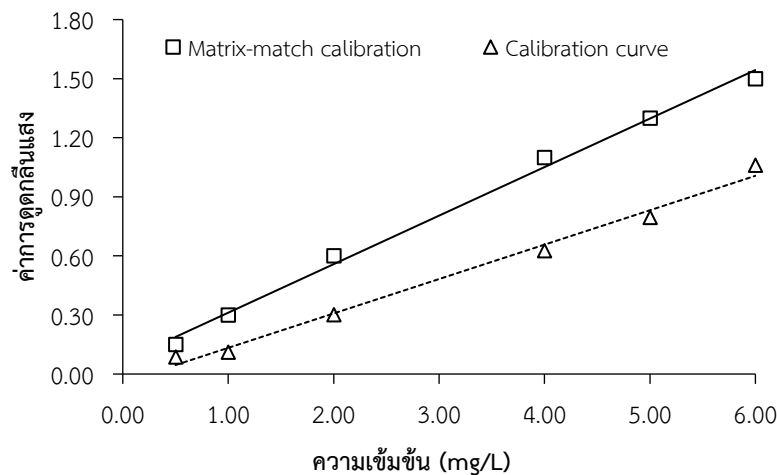
จากการทำกราฟมาตรฐานความเข้มข้น สารเคมีและตัวทำละลายจะเป็นสารที่บริสุทธิ์หรือมีการเจือปนค่อนข้างน้อย แต่ในสารตัวอย่างจะมีตัวกลางที่ทำให้องค์ประกอบส่วนใหญ่แตกต่างจากสารละลายมาตรฐาน และอาจมีผลต่อการดูดกลืนแสงได้

วิธีตรวจสอบผลของตัวกลางทำได้โดยเติมสารละลายมาตรฐานลงในสารละลายตัวอย่าง แล้ววัดค่าการดูดกลืน เรียกว่าวิธีนี้ว่า กราฟมาตรฐานเมทริกซ์แมทซ์ (matrix-matched calibration) โดยวิธีการเตรียมกราฟมาตรฐานความเข้มข้นที่มีสารตัวอย่างเป็นองค์ประกอบที่คงที่ (ปริมาณเท่ากันในทุกขวดกำหนดปริมาตร) โดยวิธีนี้สามารถบ่งชี้ถึงผลของสิ่งรบกวนจากตัวกลางในสารตัวอย่างโดยดูจากกราฟเส้นตรง ถ้ากราฟมาตรฐานความเข้มข้นกับกราฟมาตรฐานเมทริกซ์แมทซ์มีความชันเท่ากันหรือใกล้เคียงกัน เส้นกราฟจะขนานกัน ดังภาพที่ 1.48 อธิบายได้ว่าผลของตัวกลางในสารตัวอย่างไม่มีผลต่อการวิเคราะห์ แต่ถ้าความชันไม่เท่ากันหรือไม่ใกล้เคียงกัน เส้นกราฟจะไม่ขนานกัน (ภาพที่

1.49) อธิบายได้ว่าตัวกลางหรือสารเจือปนในสารตัวอย่างมีผลโดยตรงต่อการวิเคราะห์ ดังนั้นในการทดลองจำเป็นต้องกำจัดสิ่งรบกวนออกเสียก่อน



ภาพที่ 1.48 ผลการทำกราฟมาตรฐานเมทริกซ์แมทซ์มีความชันเท่ากัน



ภาพที่ 1.49 ผลการทำกราฟมาตรฐานเมทริกซ์แมทซ์ความชันไม่เท่ากัน

1.3.3 วิธีเติมสารมาตรฐาน

วิธีการเติมสารมาตรฐาน (standard addition หรือ spiked method) เป็นอีกวิธีที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณของสารที่สนใจที่มีสารเจือปนมาก (matrix effect) ซึ่งอาจจะมีผลต่อการวิเคราะห์ได้ โดยหลักการของวิธีนี้คือการเติมสารละลายมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนลงในสารตัวอย่างจะทำการวิเคราะห์สารที่สนใจ โดยขั้นตอนวิธีเติมสารละลาย ทำได้ดังนี้

1) เตรียมสารตัวอย่างที่ไม่ทราบความเข้มข้น (C_x) ปริมาตรแน่นอน (V_x) ในขวดวัดปริมาตร 4-5 ขวด (ปริมาตรรวม V_t)

2) เติมสารละลายมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้น (C_s) และปริมาตรที่แตกต่างกันเป็นลำดับ (V_s)

3) เติมสารอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องในปฏิกิริยาให้เท่ากันทุก ๆ ชนิด และปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลาย (ปริมาตรรวม V_t)

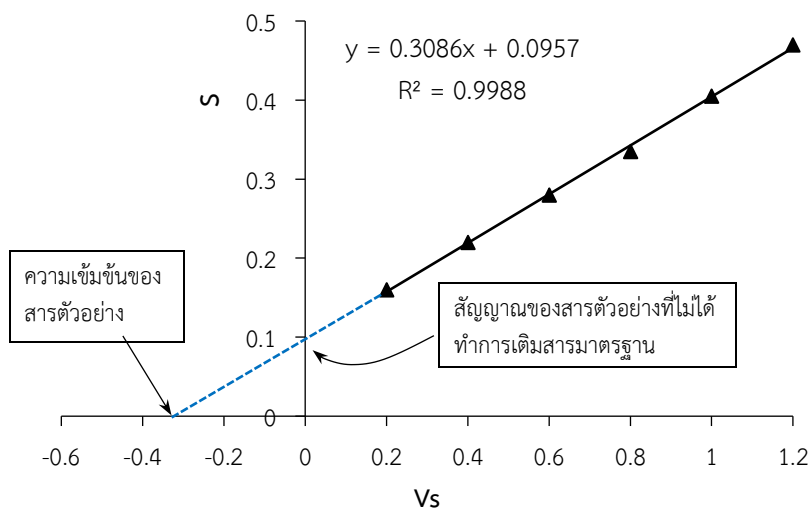
4) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่กำหนด ได้สัญญาณเป็น S สัญญาณ (S) ที่ได้จะเป็นผลรวมของสัญญาณจากสารตัวอย่างกับสารมาตรฐานที่เติมลงไป ดังนี้

$$S = \frac{V_s C_s}{V_t} + \frac{V_x C_x}{V_t} \quad \text{.....(1.16)}$$

จากสมการ (1.16) ถ้าเขียนกราฟระหว่าง S กับ V_s จะได้กราฟเส้นตรง ดังภาพที่ 1.50 โดยมี

ความชัน คือ $m = \frac{C_s}{V_t} \quad \text{.....(1.17)}$

จุดตัดแกน y คือ $b = \frac{V_x C_x}{V_t} \quad \text{.....(1.18)}$



ภาพที่ 1.50 กราฟมาตรฐานของวิธีการเติมสารมาตรฐาน

สารตัวอย่างที่ไม่ทราบความเข้มข้น (C_x) สามารถหาความเข้มข้น ได้ดังนี้

$$\frac{b}{m} = \left(\frac{V_x C_x}{V_t} \right) \left(\frac{V_t}{C_s} \right) \quad \text{.....(1.19)}$$

$$C_x = \frac{b C_s}{m V_x} \quad \text{.....(1.20)}$$

จากกราฟภาพที่ 1.50 เมื่อลากเส้นต่อจากเส้นตรงไปตัดแกน y ที่จุดตัดแกน y จะเป็นสัญญาณของสารตัวอย่างที่ไม่ได้ทำการเติมสารมาตรฐาน (S_x) และที่จุดตัดแกน x จะเป็นความเข้มข้นของสารที่สนใจในสารตัวอย่าง (C_x)

$$S = \frac{V_s C_s}{V_t} + \frac{V_x C_x}{V_t} = 0 \quad \text{.....(1.21)}$$

$$C_x = \frac{(V_s)_0 C_s}{V_x} \quad \text{.....(1.22)}$$

1.3.4 ปฏิบัติการสร้างกราฟมาตรฐานความเข้มข้นและการวิเคราะห์ปริมาณ

- 1) ปฏิบัติการสร้างกราฟมาตรฐานความเข้มข้น
- 2) ปฏิบัติการวิเคราะห์ปริมาณ
(ดูคู่มือปฏิบัติการ)

สรุปท้ายบทเรียน

การวิเคราะห์เชิงปริมาณของสารที่สนใจโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงในเทคนิคยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตเมทรีอาศัยกฎของเบียร์ โดยการทำการกราฟมาตรฐานความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน (สารที่สนใจ) ที่ทราบความเข้มข้นที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันตามลำดับ ค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากเครื่องยูวี-วิสิเบิลจะสัมพันธ์เป็นเส้นตรงกับความเข้มข้นตามกฎของเบียร์ ความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างที่มีค่าการดูดกลืนค่าหนึ่ง สามารถคำนวณได้จากสมการเส้นตรง วิธีการเติมสารมาตรฐาน เป็นอีกวิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณของสารที่สนใจที่มีสารเจือปนอาจจะมีผลต่อการวิเคราะห์ได้ โดยหลักการของวิธีนี้คือการเติมสารละลายมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนลงในสารตัวอย่างจะทำการวิเคราะห์สารที่สนใจ

วิธีการสอนและกิจกรรม

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ใบกิจกรรม

สื่อการสอนและอุปกรณ์การสอน

1. หนังสือ เคมีวิเคราะห์: หลักการและเทคนิคการคำนวณเชิงปริมาณ
2. เอกสารประกอบการสอน
3. เอกสาร power point
4. <https://www.agilent.com/cs/library/primers/public/primer-uv-vis-basics-5980-1397en-agilent.pdf>

งานที่มอบหมาย

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ใบกิจกรรม

การวัดผล

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ใบกิจกรรม

แบบฝึกหัด

1. ทำกิจกรรม
2. ใบกิจกรรม

บรรณานุกรม

1. ชูติมา ศรีวิบูลย์. (2556). *เคมีวิเคราะห์ 1*. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยรามคำแหง
2. แม้น อมรสิทธิ์, และอมร เพชรสม. (2550). *หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ*. สำนักพิมพ์ชวนชม
3. นิพนธ์ ตั้งคณานุรักษ์ และคณิตา ตั้งคณานุรักษ์. (2547). *สเปกโทรสโกปีด้านการวิเคราะห์*. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
4. เย็นหทัย แน่นหนา. (2549). *สเปกโทรสโกปีสำหรับเคมีอินทรีย์*. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
5. วรวิทย์ จันทร์สุวรรณ. (2565). *เคมีวิเคราะห์: หลักการและเทคนิคการคำนวณเชิงปริมาณ (พิมพ์ครั้งที่ 2)*. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
6. Averill, B. A. (2012). *Principles of General Chemistry*.
<https://2012books.lardbucket.org/books/principles-of-general-chemistry-v1.0m/index.html>
7. Christian, G. D., Dasgupta, P. K., & Schug, K. A. (2014). *Analytical Chemistry* (7th ed.). John Wiley & Sons
8. Harris, D. C. (2010). *Quantitative Chemical Analysis* (8th ed.). W.H. Freeman and Company
9. Harvey, D. (2019). *Analytical Chemistry 2.1*. <https://chem.libretexts.org/>
10. Robinson, J. W., Frame, E. M. S., & Frame G. M. (2021). *Instrumental Analytical Chemistry*. CRC Press
11. Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2022). *Fundamentals of Analytical Chemistry* (10th ed.). Brooks/Cole Publishing
12. Skoog, D. A., Holler, F.J., & Crouch, S. R. (2018). *Principles of Instrumental Analysis* (7th ed.). David Harris.

หน่วยที่ 2 วิธีอินฟราเรด สเปกโทรสโกปี

บทเรียน 2.1 หลักการพื้นฐานวิธีอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

จุดประสงค์การสอน

1. บอกการสั่นของพันธะโมเลกุล
2. อธิบายอินฟราเรดสเปกตรัม
3. บอกองค์ประกอบของเครื่อง FT-IR
4. ปฏิบัติการวิเคราะห์อินฟราเรดสเปกตรัมของสารอินทรีย์

2.1.1 การสั่นของพันธะโมเลกุล

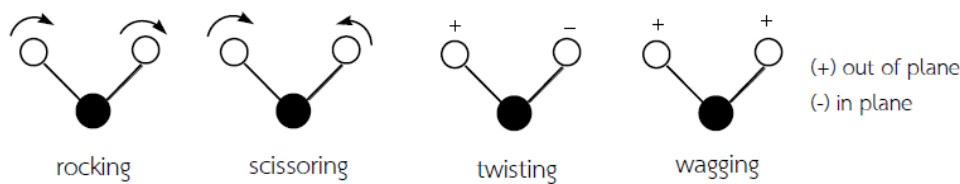
พันธะภายในโมเลกุลของสารอินทรีย์เป็นพันธะโคเวเลนต์ เกิดจากแต่ละอะตอมใช้อิเล็กตรอนร่วมกัน โดยปกติพันธะจะเกิดการสั่นอยู่ตลอดเวลา เรียกว่า การสั่นแบบพื้นฐาน (fundamental vibration) จำแนกออกเป็น 2 แบบ (ภาพที่ 2.1) ดังนี้

1. การสั่นแบบยืด (stretching) คือ พันธะระหว่างอะตอมยืดออกหรือหดตามแกน เกิดได้ทั้งแบบยืด สมมาตร (symmetrical stretching) และแบบยืดไม่สมมาตร (asymmetrical stretching) ดังภาพที่ 2.1

2. การสั่นแบบงอ (bending) คือ พันธะระหว่างอะตอมเปลี่ยนตำแหน่งไปจากแกนพันธะเดิม ส่งผลให้มุมพันธะเปลี่ยนแปลง ลักษณะการสั่นแบบงอจำแนกออกเป็น 4 แบบ ได้แก่ การโยก (rocking) กรรไกร (scissoring) การบิด (twisting) และการกระดิก (wagging) ดังภาพที่ 2.2



ภาพที่ 2.1 ลักษณะการสั่นแบบยืด

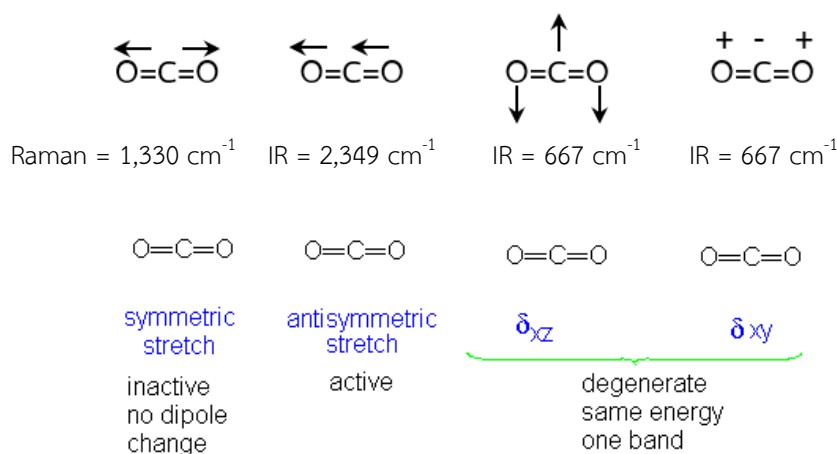


ภาพที่ 2.2 ลักษณะการสั่นแบบแบงอ

การสั่นแบบการโยกและการบิดเป็นแบบไม่สมมาตร ส่วนแบบกรรไกรและการกระดิกเป็นแบบสมมาตร โดยที่ทั้งการสั่นแบบยึดและแบงอจะสามารถดูดกลืนรังสีอินฟราเรดได้ เรียกว่า ความว่องไวต่อรังสีอินฟราเรด (IR active) จะเกิดเฉพาะพันธะหรือโมเลกุลที่มีการเปลี่ยนแปลงไดโพลโมเมนต์ (dipole moment) หรือมีสภาพขั้วไฟฟ้าลบเท่านั้น เช่น พันธะคู่ (C=C) ในเอทิลีน ($\text{H}_2\text{C}=\text{CH}_2$) ซึ่งโมเลกุลสมมาตรนั้น การสั่นของพันธะ C=C จะไม่มีความว่องไวต่อรังสีอินฟราเรด (IR inactive) แต่ถ้าเป็นโมเลกุล 2-methyl- 2-butene ($\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{CH}(\text{CH}_3)$) ซึ่งเป็นโมเลกุลไม่สมมาตร การสั่นของ C=C จะมีความว่องไวต่อรังสีอินฟราเรด

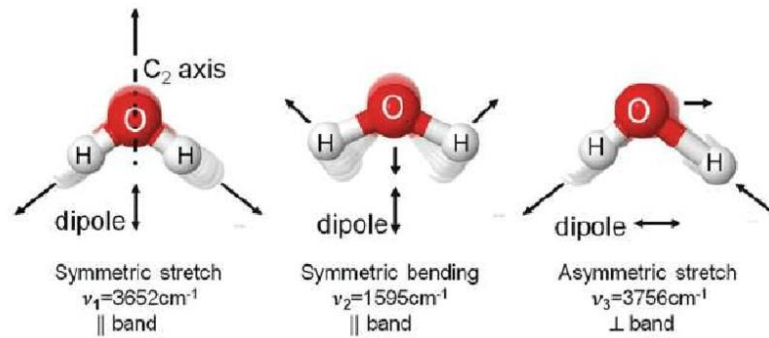
โครงสร้างสารอินทรีย์เป็น 3 มิติ กำหนดให้แต่ละอะตอมอยู่บนแกน x, y และ z เมื่ออะตอมหมุนรอบแกนทำให้มีระดับขั้นความเสรี (degree of freedom) เท่ากับ 3 ถ้าโมเลกุลมี n อะตอม ระดับขั้นความเสรี เท่ากับ 3n เมื่อพิจารณากระดับขั้นความเสรีสามารถคำนวณจำนวนการสั่นแบบพื้นฐานของโมเลกุลเส้นตรง เท่ากับ $3n-5$ ส่วนกรณีโมเลกุลไม่เป็นเส้นตรง เท่ากับ $3n-6$ โดยที่ n คือจำนวนอะตอมภายในโมเลกุล

ตัวอย่าง แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) โครงสร้างแบบเส้นตรง จำนวนการสั่นแบบพื้นฐาน $3n-5$ โดยที่จำนวนอะตอมภายในโมเลกุล เท่ากับ 3 ดังนั้น จำนวนการสั่นแบบพื้นฐานเท่ากับ 4 (ภาพที่ 2.3) ได้แก่ ยึดสมมาตร ($1,330 \text{ cm}^{-1}$) และยึดไม่สมมาตร ($2,349 \text{ cm}^{-1}$) งอแบบกรรไกร ลักษณะอยู่ในระนาบและตั้งฉากกับระนาบ โดยการงอทั้งสองลักษณะมีความถี่เท่ากัน (667 cm^{-1}) เฉพาะการสั่นแบบยึดไม่สมมาตรเท่านั้นที่ว่องไวต่อรังสีอินฟราเรด



ภาพที่ 2.3 จำนวนการสั่นแบบพื้นฐานของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์

สำหรับตัวอย่างโมเลกุลไม่เป็นเส้นตรง เช่น น้ำ (H_2O) รูปร่างเป็นมุมอ จำนวนการสั่นแบบพื้นฐานเท่ากับ $3n-6$ โดยที่จำนวนอะตอมภายในโมเลกุล เท่ากับ 3 ดังนั้น จำนวนการสั่นแบบพื้นฐานเท่ากับ 3 (ภาพที่ 2.4) ได้แก่ ยืดสมมาตร ($3,652\text{ cm}^{-1}$) และยืดไม่สมมาตร ($3,756\text{ cm}^{-1}$) และงอแบบกรรไกร ($1,595\text{ cm}^{-1}$) ซึ่งการสั่นทั้งหมดก่อให้เกิดอริงอินฟราเรดเนื่องจากโมเลกุลมีการเปลี่ยนแปลงไดโพลโมเมนต์



ภาพที่ 2.4 จำนวนการสั่นแบบพื้นฐานของน้ำ

โดยทั่วไปแถบที่เกิดในอินฟราเรดสเปกตรัมเกิดจากการสั่นแบบพื้นฐาน (การยืดและการงอ) ยังมีแถบที่มีความเข้มต่ำกว่าความถี่แบบพื้นฐาน เรียกว่า แถบความถี่เกิน (overtone) ซึ่งเกิดเมื่อความถี่พื้นฐานมีความเข้มสูง อาจมีแถบเกิดที่ความถี่ที่เป็นผลบวกหรือผลต่างของความถี่แบบพื้นฐาน แถบเหล่านี้เรียกว่า แถบผลบวก (combination bands) ถ้าแถบความถี่เกินหรือแถบผลบวกเกิดใกล้กับแถบพื้นฐาน ผลก็คือ ทำให้ความเข้มของแถบพื้นฐานลดลง แต่ไปเพิ่มความเข้มของแถบความถี่เกินและแถบผลบวก ปรากฏการณ์นี้คือเกิด แถบเฟอร์มิเรโซแนนซ์ (fermi resonance) และพีกทั้งคู่บางครั้งเรียกว่า fermi doublet

ส่วนใหญ่พีกในอินฟราเรดสเปกตรัมที่เกิดขึ้นจะไม่เท่ากับจำนวนการสั่นแบบพื้นฐานที่คำนวณได้ ซึ่งอาจพบได้ทั้งจำนวนพีกน้อยกว่าหรือมากกว่าตามทฤษฎี ดังนี้

1) กรณีพีกมีจำนวนน้อยกว่าทฤษฎี สาเหตุเนื่องจาก

1. ความเข้ม คือ พีกที่มีความเข้มต่ำมาก ๆ จึงไม่สามารถมองเห็นได้
2. ความถี่ คือ พีกของการสั่นแบบพื้นฐานไม่ได้อยู่ในช่วง $667-4,000\text{ cm}^{-1}$ หรือการสั่นที่มีความถี่เท่ากัน ทำให้พีกรวมกัน เรียกว่า แถบเดียวกัน (degenerate band) ส่วนใหญ่พบในโมเลกุลสมมาตร เช่น งอแบบกรรไกรของแก๊ส CO_2 ที่ความถี่ 667 cm^{-1} (ภาพที่ 2.3) เป็นต้น หรือความถี่ใกล้เคียงกัน พีกจึงเกิดการซ้อนเหลื่อมกันมองเห็นเป็นพีกเดียวกัน

3. ไดโพลโมเมนต์ คือ การสั่นของพันธะไม่มีการเปลี่ยนแปลงไดโพลโมเมนต์หรือที่มีความไม่ว่องไวต่อรังสีอินฟราเรด จึงไม่สามารถดูดกลืนรังสีอินฟราเรดได้

2) กรณีพีกมีจำนวนมากกว่าทฤษฎี เนื่องจากเกิด

1. แถบความถี่เกิน (overtone band) คือ พีกที่ความถี่เป็น $2\bar{\nu}$, $3\bar{\nu}$, $4\bar{\nu}$,... ของการสั่นแบบพื้นฐาน แต่จะมีความเข้มต่ำ เช่น ความถี่ของหมู่คาร์บอนิล $\bar{\nu}$ $1,700\text{ cm}^{-1}$ อาจเกิด overtone band ที่ $2\bar{\nu}$ เท่ากับ $3,400\text{ cm}^{-1}$ เป็นต้น

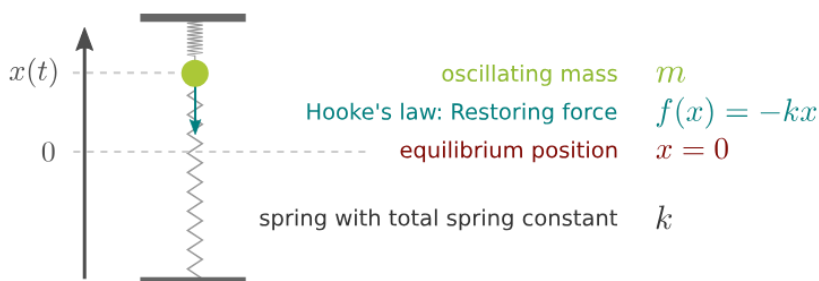
2. แถบผลรวม (combination band) คือ พีกเกิดจากผลบวกของความถี่ตั้งแต่ 2 พีกขึ้นไป ($\bar{\nu}_{\text{com}} = \bar{\nu}_1 + \bar{\nu}_2$)

3. แถบผลต่าง (difference band) คือ พีกเกิดจากผลต่างของความถี่ตั้งแต่ 2 พีกขึ้นไป ($\bar{\nu}_{\text{diff}} = \bar{\nu}_1 - \bar{\nu}_2$)

4. แถบเฟอร์มิเรโซแนนซ์ (Fermi resonance band) คือ พีกเกิดจากการคู่ควบ (coupling) ของความถี่ระหว่างการสั่นแบบพื้นฐานและแถบความถี่เกินหรือแถบผลรวม

พันธะในสารอินทรีย์มีทั้งพันธะเดี่ยว พันธะคู่ และพันธะสาม ซึ่งขนาดอะตอมและชนิดพันธะจะมีผลต่อความถี่ของการสั่นแบบยืดและงอ สามารถอธิบายลักษณะการสั่นจากแบบจำลองตัวแกว่งกวัดฮาร์มอนิกอย่างง่าย (simple harmonic oscillator) ดังภาพที่ 2.5 พิจารณาความถี่ของการสั่นแบบยืดจากอนุพันธ์กฎของฮุก (Hooke's law) ดังสมการ (2.1)

จากพื้นฐานกฎของฮุก กล่าวว่า “เมื่อออกแรงภายนอกยืดหรือกดสปริงไปจากจุดสมดุลภายใต้ ขอบเขตของการยืดหยุ่น สปริงจะมีแรงดึงกลับ (restoring Force) เพื่อดึงสปริงเข้าสู่จุดสมดุลเหมือนเดิมซึ่งแรงนี้จะแปรผันเป็นปฏิภาคตรงกับการกระจัดของสปริงจากตำแหน่งสมดุลนั้น”



ภาพที่ 2.5 แบบจำลองตัวแกว่งกวัดฮาร์มอนิกอย่างง่าย

$$\bar{\nu} = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad \dots(2.1)$$

เมื่อ $\bar{\nu}$ คือ ความถี่ของการสั่น (cm^{-1})

c คือ ความเร็วแสง เท่ากับ $3 \times 10^{10}\text{ cm/s}$

k คือ ค่าคงที่ของพันธะเดี่ยว พันธะคู่ และพันธะสาม เท่ากับ 5×10^5 , 10×10^5 และ 15×10^5 ไดน์ต่อเซนติเมตร (dyne/cm) ตามลำดับ

μ คือ มวลลดทอน (reduced mass) ของอะตอม (กรัม) เท่ากับ $m_1 m_2 / (m_1 + m_2)$ โดยที่ m_1 และ m_2 คือ มวลอะตอมระหว่างพันธะ

ตัวอย่าง 2.1 คำนวณความถี่ของการสั่นแบบยืดของพันธะ C-H
วิธีคิด จากสมการ

$$\bar{\nu} = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{\frac{k}{\mu}}$$

คำนวณ μ จาก

$$m_C = \text{มวลอะตอมของคาร์บอน/เลขอาโวกาโดร} = 12/(6.02 \times 10^{23}) = 1.99 \times 10^{-23} \text{ g}$$

$$m_H = \text{มวลอะตอมของไฮโดรเจน/เลขอาโวกาโดร} = 1/(6.02 \times 10^{23}) = 1.66 \times 10^{-24} \text{ g}$$

$$\mu = \frac{m_C m_H}{m_C + m_H} = \frac{(1.99 \times 10^{-23})(1.66 \times 10^{-24})}{(1.99 \times 10^{-23}) + (1.66 \times 10^{-24})} = 1.53 \times 10^{-24}$$

แทนค่าลงสมการ

$$\begin{aligned} \bar{\nu} &= \frac{1}{(2)(3.14)(3.0 \times 10^{10})} \sqrt{\frac{5.0 \times 10^5}{1.53 \times 10^{-24}}} \\ &= 5.31 \times 10^{-12} \sqrt{3.26 \times 10^{29}} \\ &= 3,029 \text{ cm}^{-1} \end{aligned}$$

ดังนั้น $\bar{\nu}$ (คำนวณ) = 3,029 cm^{-1} ส่วน $\bar{\nu}$ (วัดได้จริง) = 3,000 cm^{-1}

ปัจจัยต่อความถี่ของการสั่นของพันธะ

เฉพาะพันธะภายในโมเลกุลที่มีการเปลี่ยนแปลงไดโพลโมเมนต์ (dipole moment) เท่านั้นที่
ว่องไวต่อรังสีอินฟราเรด โดยแต่ละพันธะจะมีความถี่ของการสั่นไม่เท่ากัน ผลต่อความถี่ในการดูดกลืน
รังสีอินฟราเรดจะพิจารณา ตามสมการของอนุพันธ์กฎของฮุก ดังสมการ (2.1) มีปัจจัยดังนี้

1. ความแข็งแรงของพันธะ ความถี่ของการสั่นของพันธะจะแปรผันตรงกับค่าคงที่ (k) หรือ
ความแข็งแรงของพันธะ เรียงลำดับจากน้อยไปมาก ดังนี้ พันธะเดี่ยว พันธะคู่และพันธะสาม มีค่าคงที่
ของพันธะเดี่ยว พันธะคู่ และพันธะสาม เท่ากับ 5×10^5 , 10^6 และ 15×10^5 dyne/cm ตามลำดับ
ดังนั้นความถี่ของการสั่นแบบยืดของพันธะระหว่างอะตอมคาร์บอน ดังนี้

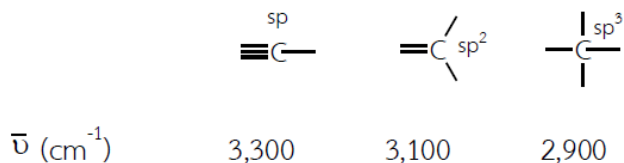
	$\text{C}-\text{C}$	$\text{C}=\text{C}$	$\text{C}\equiv\text{C}$
$\bar{\nu}$ (cm^{-1})	1,200	1,650	2,150

2. อะตอมระหว่างพันธะ ถ้ามวลอะตอมระหว่างพันธะมาก ทำให้มวลลดทอน (μ) มาก ด้วย
เช่นกัน ดังนั้นความถี่ของการสั่นของพันธะจะแปรผกผันกับมวลลดทอน ดังนี้

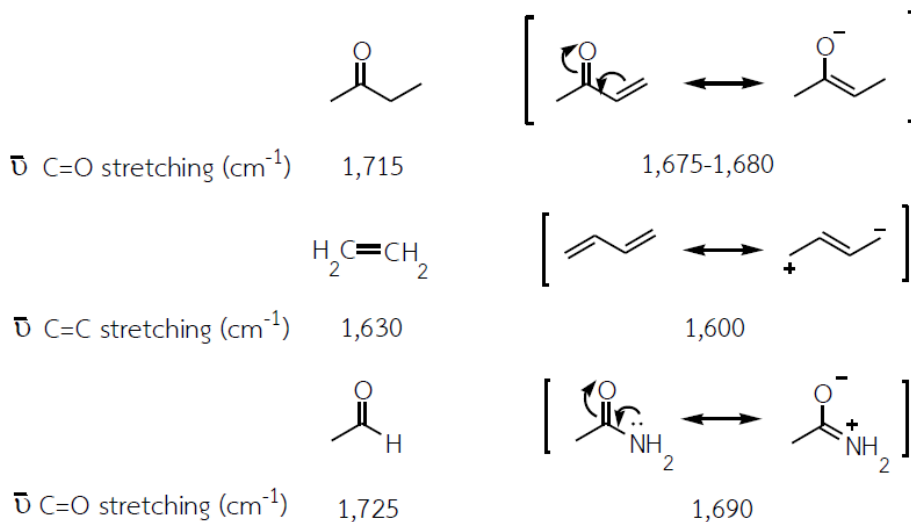
	$\text{C}-\text{H}$	$\text{C}-\text{C}$	$\text{C}-\text{O}$	$\text{C}-\text{Cl}$
$\bar{\nu}$ (cm^{-1})	~3,000	1,200	1,100	800
	$\text{C}\equiv\text{C}$	$\text{C}\equiv\text{N}$	$\text{C}=\text{O}$	
$\bar{\nu}$ (cm^{-1})	2,150	2,250	1,640-1,870	

3. ชนิดของการสั่น การทำให้พันธะยืดมากขึ้นต้องดูดกลืนพลังงานย่านอินฟราเรดมากกว่า การให้พันธะงอ ความถี่ของการสั่นแบบยืดจึงมากกว่าแบบงอ เช่น พันธะ C-H มีความถี่แบบยืดเท่ากับ $\sim 3,000 \text{ cm}^{-1}$ ส่วนความถี่แบบงอ เท่ากับ $1,340 \text{ cm}^{-1}$ เป็นต้น

4. ไฮบริไดเซชัน (hybridization) ชนิดไฮบริไดเซชันของอะตอมคาร์บอน ได้แก่ sp , sp^2 และ sp^3 มีผลต่อความแข็งแรงของพันธะหรือค่าคงที่ (k) ดังนี้



5. เรโซแนนซ์หรือระบบ conjugate โครงสร้างไดอินและสารประกอบแอลฟา หรือ บีตา-คาร์บอนิลไม่อิ่มตัว (α , β -unsaturated carbonyl compound) สามารถเกิดเรโซแนนซ์ได้ ทำให้พันธะมีสมบัติของพันธะเดี่ยว ความแข็งแรงของพันธะหรือค่า k จึงน้อยลง ทำให้ความถี่ของการสั่นของพันธะน้อยลงด้วย เช่น ความถี่ของพันธะ C=O (แบบยืด) ของคีโตน เท่ากับ $1,715 \text{ cm}^{-1}$ และมีระบบ conjugate จะอยู่ในช่วง $1,665\text{-}1,685 \text{ cm}^{-1}$ หรือความถี่ของพันธะ C=C (แบบยืด) ของเอทิลีน เท่ากับ $1,630 \text{ cm}^{-1}$ และ 1,3-บิวทะไดอิน เท่ากับ $1,600 \text{ cm}^{-1}$ เป็นต้น เช่นเดียวกับพันธะ C=O (แบบยืด) ของแอมด์ ($\bar{\nu}$ $1,690 \text{ cm}^{-1}$) ซึ่งน้อยกว่าความถี่ของพันธะ C=O (แบบยืด) ของแอลดีไฮด์ ($\bar{\nu}$ $1,725 \text{ cm}^{-1}$) เนื่องจากผลเรโซแนนซ์ของอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวบนอะตอมไนโตรเจน



6. ผลเหนี่ยวนำ ความถี่ของพันธะ C=O (แบบยืด) ของสารประกอบคาร์บอนิลจะมากขึ้นเมื่ออะตอมที่มีค่าสภาพไฟฟ้าลบลสูง (electronegativity) เกาะกับหมู่คาร์บอนิล เช่น คลอรีนและออกซิเจน เป็นต้น ทำให้ พันธะ C=O สั่นลงหรือค่าคงที่ (k) เพิ่มขึ้น เนื่องจากผลเหนี่ยวนำ ความถี่ของการสั่นจึงมากขึ้นด้วย

$\bar{\nu}$ C=O stretching (cm^{-1})	1,725	1,735	1,800	1,769 และ 1,810

กรณีอะตอมแฮโลเจนแทนที่ในสารประกอบคาร์บอนิลที่ตำแหน่งแอลฟา ส่งผลให้ความยาวพันธะ C=O สั้นลงหรือค่าคงที่ (k) มากขึ้น ความถี่ของพันธะ C=O (แบบยืด) จึงมากกว่าเดิม

7. ความเครียดของวง การเปลี่ยนแปลงขนาดวงหรือมุมภายในของสารประกอบไซคลิก (cyclic compound) จะมีผลต่อการดูดกลืนของรังสีอินฟราเรด เรียกว่า ผลความเครียดของวง (ring strain effect) กล่าวคือ กรณีไซโคลแอลคีน (cycloalkene) มีพันธะคู่แบบเอ็นโดไซคลิก เมื่อขนาดวงลดลง ความถี่ของการสั่นของพันธะ C=C จะลดลง ยกเว้นไซโคลโพรเพน (cyclopropene) ในทางตรงข้าม ถ้าพันธะคู่แบบเอ็กโซไซคลิก ความถี่ของการสั่นของพันธะ C=C จะเพิ่มขึ้น ดังนี้

ไซโคลแอลคีนมีพันธะคู่แบบเอ็นโดไซคลิก

$\bar{\nu}$ C=C stretching (cm^{-1})	1,646	1,611	1,566	1,641

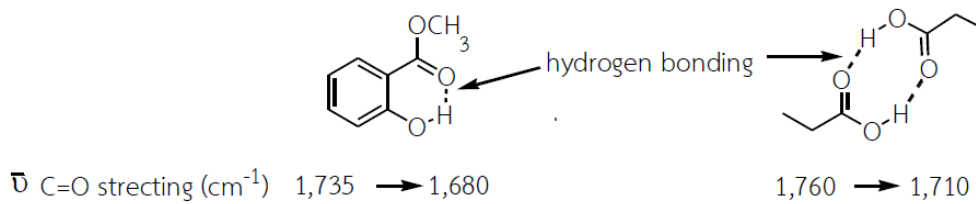
ไซโคลแอลคีนมีพันธะคู่แบบเอ็กโซไซคลิก

$\bar{\nu}$ C=C stretching (cm^{-1})	1,651	1,657	1,678	1,780

กรณีคีโตนที่มีขนาดวงลดลง จะมีผลต่อความถี่ของการสั่นของพันธะ C=O (แบบยืด) เพิ่มขึ้น ดังนี้

$\bar{\nu}$ C=O stretching (cm^{-1})	1,715	1,745	1,780

8. พันธะไฮโดรเจน โครงสร้างที่หมู่คาร์บอนิลเกิดพันธะไฮโดรเจนได้ จะทำให้พันธะ C=O มีสมบัติพันธะเดี่ยว นั่นคือ ความแข็งแรงของพันธะน้อยลง ค่าคงที่ (k) ลดลง จึงมีผลต่อความถี่ของการสั่นของพันธะ C=O (แบบยืด) เช่น เมทิลซาลิไซเลต (methyl salicylate) เกิดพันธะไฮโดรเจนภายในโมเลกุล (intramolecular hydrogen bonding) ความถี่ของการสั่นของพันธะ C=O (แบบยืด) เท่ากับ $1,680 \text{ cm}^{-1}$ ซึ่งน้อยกว่าหมู่คาร์บอนิลของเอสเทอร์ ($\bar{\nu}$ $1,735 \text{ cm}^{-1}$) สำหรับพันธะ C=O ของกรดคาร์บอกซิลิกในรูปสารละลายจะดูดกลืนรังสีที่มีความถี่ $1,760 \text{ cm}^{-1}$ แต่ถ้าอยู่ในรูปของแข็งหรือของเหลวบริสุทธิ์จะดูดกลืนรังสีที่มีความถี่ $1,710 \text{ cm}^{-1}$ เนื่องจากเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุล (intermolecular hydrogen bonding)



2.1.2 อินฟราเรดสเปกตรัม

อินฟราเรดสเปกตรัม (infrared spectrum) เป็นการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความถี่ (เลขคลื่น, cm^{-1}) หรือความยาวคลื่น และความส่องผ่าน (transmittance, T) ดังภาพที่ 2.6 ค่าความส่องผ่านเป็นอัตราส่วนระหว่างความเข้มของรังสีที่ผ่านสารตัวอย่าง (transmitted radiation, I) และความเข้มของรังสีที่ตกกระทบสารตัวอย่าง

สมการที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มของรังสีที่ผ่านสารตัวอย่างและความเข้มของรังสีที่ตกกระทบสารตัวอย่าง คือ

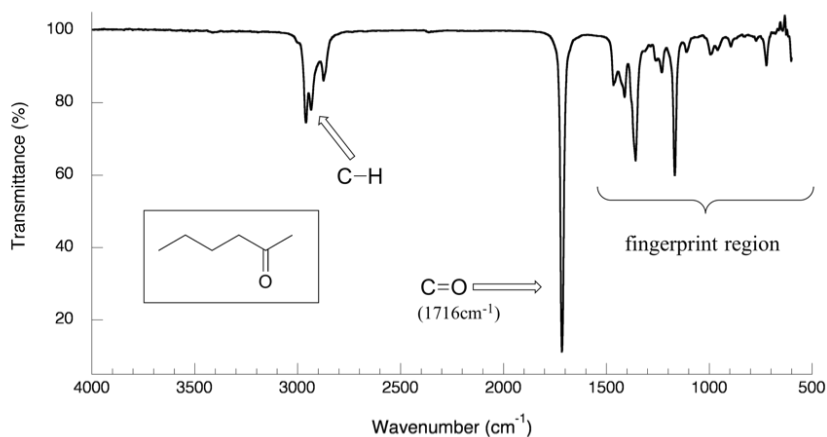
$$T = I/I_0 \quad \text{.....(2.1)}$$

เมื่อ I = ความเข้มของรังสีที่ผ่านตัวกลาง

I_0 = ความเข้มของรังสีที่ตกกระทบตัวกลาง

ดังนั้น

$$\% \text{ Transmittance} = 100 T \quad \text{.....(2.2)}$$



ภาพที่ 2.6 อินฟราเรดสเปกตรัม 2-hexanone

จากภาพที่ 2.6 แสดงตัวอย่างอินฟราเรดสเปกตรัม แกนแนวตั้งของสเปกตรัมอินฟราเรด (IR) แสดงค่าร้อยละความส่องผ่าน (%T) ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ว่าปริมาณแสงที่สามารถผ่านตัวอย่างได้มากน้อยเพียงใดในแต่ละช่วงความถี่ของรังสีอินฟราเรด โดยเส้นกราฟแสดงค่าความส่องผ่านตลอดทุกความยาวคลื่นที่วัดได้ หากค่า %T อยู่ที่ 100% หมายความว่าไม่มีการดูดกลืนแสงเกิดขึ้นที่ความถี่นั้น ในทางกลับกัน หากค่า %T ต่ำกว่า 100% แสดงว่าพลังงานบางส่วนถูกดูดกลืนโดยสารตัวอย่าง ทำให้เกิด

แถบการดูดกลืน (absorption bands) ซึ่งแสดงเป็นจุดพุ่งลงในกราฟ แถบการดูดกลืนในอินฟราเรดสเปกตรัมเกิดจากการสั่นของพันธะโคเวเลนต์ภายในโมเลกุล โดยพันธะต่าง ๆ มีโหมดการสั่นสะเทือนเฉพาะตัว เช่น การยืดตัว (stretching) และการงอ (bending) ซึ่งสอดคล้องกับพลังงานของรังสีอินฟราเรดในช่วงที่เหมาะสม ดังนั้น สเปกตรัมของสารแต่ละชนิดจะแสดงแถบการดูดกลืนที่จำเพาะเจาะจง ซึ่งสามารถใช้ในการวิเคราะห์โครงสร้างและองค์ประกอบทางเคมีของสารได้

แกนนอนของอินฟราเรดสเปกตรัมแสดงตำแหน่งของแถบการดูดกลืน โดยใช้สัญลักษณ์ $\bar{\nu}$ แทนเลขคลื่น (wavenumber, cm^{-1}) แสดงความถี่หรือความยาวคลื่น เลขคลื่นคำนวณจากส่วนกลับของความยาวคลื่นและมีหน่วยเป็น cm^{-1} ซึ่งเป็นหน่วยมาตรฐานในการแสดงตำแหน่งของการดูดกลืนในอินฟราเรดสเปกตรัม ช่วงเลขคลื่นของรังสีอินฟราเรดที่ใช้ในการวิเคราะห์ทางเคมีโดยทั่วไปอยู่ในช่วง $4,000 \text{ cm}^{-1}$ ถึง 600 cm^{-1} ซึ่งสอดคล้องกับย่านความยาวคลื่น ประมาณ $2.5 - 17 \mu\text{m}$

เนื่องจากพันธะโคเวเลนต์ของหมู่ฟังก์ชันต่าง ๆ มีความสามารถในการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดในช่วงความถี่จำเพาะแตกต่างกัน ซึ่งค่าความถี่ดังกล่าวแสดงเป็นเลขคลื่น การดูดกลืนนี้เกิดขึ้นเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของไดโพลโมเมนต์ (dipole moment) ของพันธะในระหว่างการสั่นสะเทือน (vibrational transition) เช่น ในสเปกตรัมของ 2-เฮกซานอน (2-hexanone) ดังภาพที่ 2.6 พบว่าแถบการดูดกลืนที่มีความเข้มสูงที่สุดเกิดจากการสั่นสะเทือนแบบยืด (stretching vibration) ของพันธะคาร์บอนิล ($\text{C}=\text{O}$) ซึ่งปรากฏที่เลขคลื่น $1,716 \text{ cm}^{-1}$ (สอดคล้องกับความยาวคลื่น 5.86 mm , ความถี่ $5.15 \times 10^{13} \text{ Hz}$ และค่า ΔE 4.91 กิโลแคลอรี/โมล) โดยที่การดูดกลืนในช่วงความถี่ $1,650-1,750 \text{ cm}^{-1}$ ถือเป็นลักษณะเฉพาะของหมู่คาร์บอนิล ($\text{C}=\text{O}$) โดยที่ตำแหน่งของแถบดูดกลืนจะแปรผันตามชนิดของหมู่ฟังก์ชันที่เกี่ยวข้อง เช่น หมู่ฟังก์ชันที่มีการดูดกลืนในช่วงเลขคลื่นสูง ($1,700-1,750 \text{ cm}^{-1}$) ได้แก่ กรดคาร์บอกซิลิก (carboxylic acids) เอสเทอร์ (esters) คีโตน (ketones) และแอลดีไฮด์ (aldehydes) หมู่ฟังก์ชันที่มีการดูดกลืนในช่วงเลขคลื่นต่ำกว่า ($1,650-1,700 \text{ cm}^{-1}$) ได้แก่ คีโตนไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่เชื่อมโยงกับระบบคอนจูเกต และเอไมด์ (amides) บริเวณยอดหยักที่ประมาณ $2,900-3,000 \text{ cm}^{-1}$ เป็นลักษณะของพันธะ $\text{C}-\text{H}$ ซึ่งจุดสูงสุดนี้ไม่ค่อยมีประโยชน์มากนัก เนื่องจากโมเลกุลอินทรีย์ทุกชนิดมีพันธะ $\text{C}-\text{H}$ นี้ อย่างไรก็ตาม สามารถใช้เป็นจุดอ้างอิงของสเปกตรัมได้

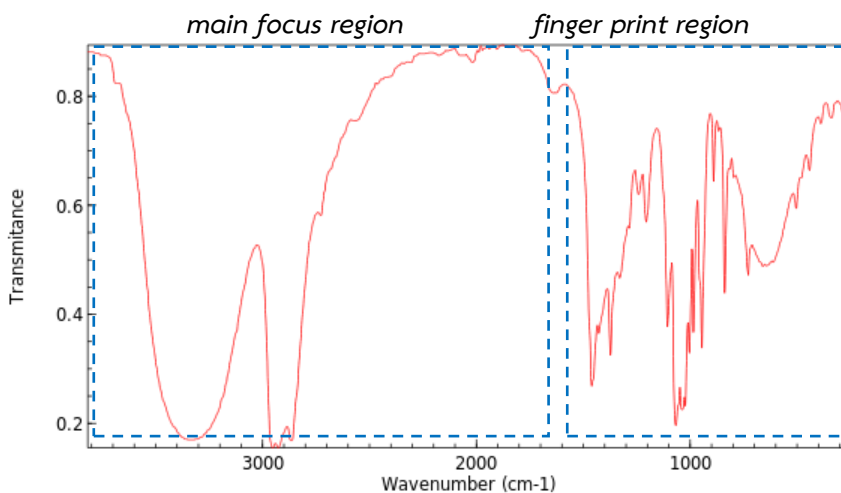
บริเวณช่วงเลขคลื่น $500-1,500 \text{ cm}^{-1}$ ของสเปกตรัมนี้พบว่ามีพีกเพิ่มเติมจำนวนมาก ซึ่งส่วนนี้ของสเปกตรัมเรียกว่า บริเวณลายนิ้วมือ (fingerprint region) แม้ว่าการระบุหมู่ฟังก์ชันเฉพาะจากบริเวณนี้จะเป็นไปได้ยาก แต่ก็ยังคงเป็นข้อมูลที่มีความสำคัญอย่างยิ่ง ทั้งนี้ เนื่องจากลักษณะของ fingerprint มีความเฉพาะตัวคล้ายกับลายนิ้วมือของมนุษย์ รูปแบบของพีกการดูดกลืนในบริเวณนี้จึงมีเอกลักษณ์เฉพาะสำหรับแต่ละโมเลกุล

นอกจากนี้ ปัจจัยที่อาจส่งผลต่อค่าการดูดกลืนของพันธะคาร์บอนิล ได้แก่ สภาพแวดล้อมทางเคมีของพันธะ เช่น อิทธิพลของแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุล (intermolecular forces) อิทธิพลจากหมู่เหนียวน้ำหรือหมู่ด่างที่ติดอยู่รอบ ๆ ตำแหน่งคาร์บอนิล และการเกิดพันธะไฮโดรเจน ซึ่งปัจจัยเหล่านี้อาจทำให้ตำแหน่งของแถบดูดกลืนมีการเลื่อนไปทางเลขคลื่นที่สูงหรือต่ำกว่าเล็กน้อยจากค่าปกติ ดังนั้น การแปลผลสเปกตรัมอินฟราเรดจึงต้องอาศัยความเข้าใจในปัจจัยทางโครงสร้างของสาร และการอ้างอิงข้อมูลจากตารางค่ามาตรฐานร่วมด้วย เพื่อให้สามารถสรุปผลได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ

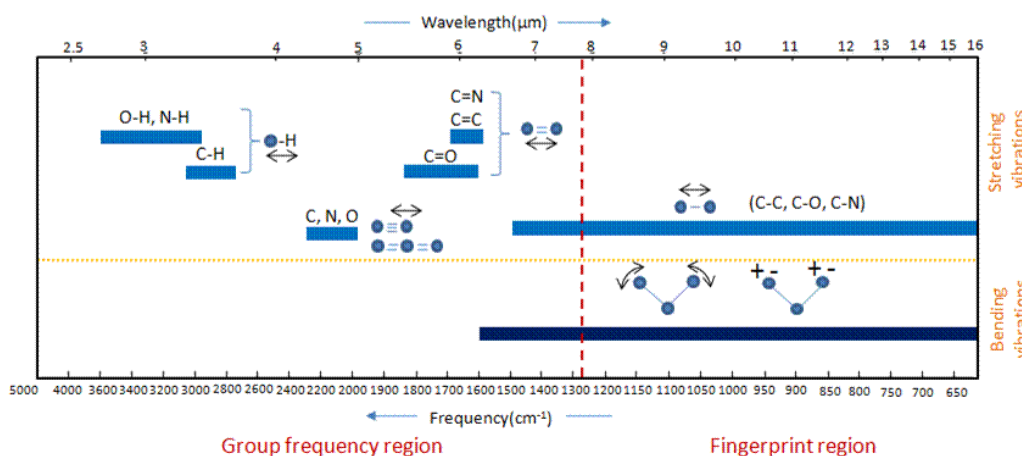
บริเวณลายนิ้วมือในอินฟราเรดสเปกตรัม

บริเวณด้านขวาของสเปกตรัมอินฟราเรด ซึ่งอยู่ในช่วงเลขคลื่นประมาณ $1,500-500\text{ cm}^{-1}$ มักแสดงการดูดกลืนที่มีความซับซ้อนสูง เนื่องจากเกิดจากการสั่นแบบงอ (bending vibrations) ของพันธะในโมเลกุล ซึ่งมีความหลากหลายและเกิดขึ้นพร้อมกัน ส่งผลให้สัญญาณการดูดกลืนในช่วงนี้มีลักษณะเฉพาะตัวของแต่ละสาร บริเวณนี้เรียกว่า fingerprint region เนื่องจากรูปแบบของพีคหรือร่องการดูดกลืนในบริเวณนี้มีความจำเพาะต่อแต่ละสารประกอบ เช่นเดียวกับลายนิ้วมือของมนุษย์ที่มีเอกลักษณ์เฉพาะตัว ทำให้สามารถใช้เปรียบเทียบระหว่างสเปกตรัมของสารตัวอย่างที่ไม่ทราบองค์ประกอบกับฐานข้อมูลของสารมาตรฐานที่รู้จัก เพื่อช่วยระบุตัวตนของสารได้อย่างแม่นยำ

แม้ว่าบริเวณนี้จะมีความซับซ้อนและยากต่อการระบุพันธะของหมู่ฟังก์ชันเดี่ยว ๆ เมื่อเปรียบเทียบกับบริเวณที่มีเลขคลื่นสูงกว่า (ซึ่งมักให้สัญญาณที่ชัดเจนของการสั่นแบบยืด-หดหรือ stretching vibrations ของพันธะเดี่ยว เช่น O-H, N-H, และ C=O) แต่ความสำคัญของบริเวณลายนิ้วมืออยู่ที่ ความจำเพาะของรูปแบบการดูดกลืนของแต่ละสารประกอบ ซึ่งสามารถใช้เป็นหลักฐานสำคัญในการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสาร โดยเฉพาะอย่างยิ่งในงานด้านการวิเคราะห์ทางเคมี



ภาพที่ 2.7 อินฟราเรดสเปกตรัม 1-butanol



ภาพที่ 2.8 การสั่นบริเวณ fingerprint region

พันธะเคมีในโมเลกุลจะดูดกลืนพลังงานอินฟราเรดที่ความถี่จำเพาะ ซึ่งสอดคล้องกับโหมดการสั่นของพันธะนั้น ๆ การสั่นสามารถจำแนกได้เป็น การสั่นแบบยืด-หด และการสั่นแบบงอ ตารางแสดงช่วงเลขคลื่น (wavenumber, cm^{-1}) ที่ใช้บ่งชี้หมู่ฟังก์ชันสำคัญของสารอินทรีย์ ดังตารางที่ 2.1 และ 2.2

ตารางที่ 2.1 หมู่ฟังก์ชันสารอินทรีย์และประเภทการสั่น

หมู่ฟังก์ชัน	พันธะ	คุณลักษณะ IR Frequency (cm^{-1})
alcohol	O-H stretching	3,200-3,600 (broad)
carbonyl	C=O stretching	1,650-1,750 (strong)
aldehyde	C-H stretching	~2,800 and ~ 2,700 (medium)
carboxylic acid	C=O stretching	1,700-1,725 (strong)
	O-H stretching	2,500-3,300 (broad)
alkene	C=C stretching	1,620-1,680 (weak)
	vinyl =C-H stretching	3,020-3,080
benzene	C=C stretching	~1,600 and 1,500-1,430 (strong to weak)
alkyne	C≡C stretching	2,100-2,250 (weak)
	terminal ≡C-H stretching	3,250-3,350
alkane	C-H stretching	2,850-2,950
amine	N-H stretching	3,300-3,500 (medium)

ตารางที่ 2.2 ช่วงเลขคลื่น (wavenumber, cm^{-1}) ที่ใช้บ่งชี้หมู่ฟังก์ชันสำคัญของสารอินทรีย์

Region (cm^{-1})	Group	Possible Compounds Present (or Absent)
3700-3100	-OH -NH ≡C-H	Alcohol, aldehyde, carboxylic acids Amides, amines Alkynes
3100-3000	=C-H	Aromatic compounds
3000-2800	-CH ₂ or -CH=CH-	Alkenes or unsaturated rings
2800-2600	-CH, -CH ₂ -, -CH ₃	Aliphatic groups
2800-2600	-CHO	Aldehydes (Fermi doublet)
2700-2400	-POH -SH -PH	Phosphorus compounds Mercaptans and thiols Phosphine
2400-2000	-C≡N -N=N ⁺ =N ⁻ -C≡C-	Nitriles Azides Alkynes
1870-1650	C=O	Acid halides, aldehydes, amides, amino acids, anhydrides, carboxylic acids, esters, ketones, lactams, lactones, quinines
1650-1550	C=C, C=N, NH	Unsaturated aliphatics, aromatics, unsaturated heterocycles, amides, amines, amino acids
1550-1300	NO ₂ CH ₃ and CH ₂	Nitro compound Alkanes, alkenes, etc
1300-1000	C-O-C and C-OH S=O, P=O, C-F	Ethers, alcohols, sugars Sulphur, phosphorus, and fluorine compounds
1100-800	Si-O and P-O	Organosilicon and phosphorus compounds
1000-650	=C-H -NH	Alkenes and aromatic compounds Aliphatic amines
800-400	C-halogen Aromatic rings	Halogen compounds Aromatic compounds

2.1.3 องค์ประกอบของเครื่อง FT-IR

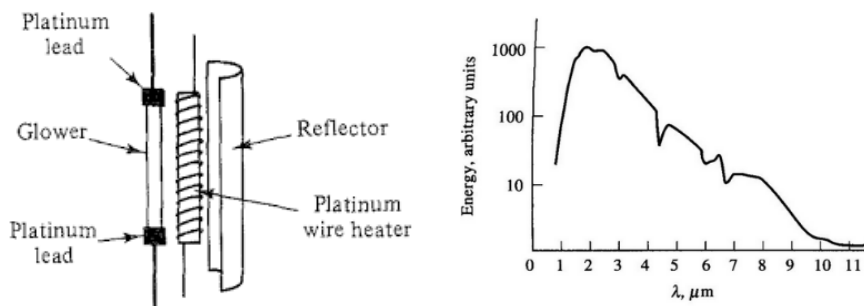
เครื่องอินฟราเรดสเปกโทรมิเตอร์สามารถแบ่งเป็น 2 แบบ ได้แก่ แบบกระจาย (dispersive) และแบบฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์ม (Fourier transform) โดยทั้งสองประเภทมีส่วนประกอบหลัก ดังนี้

1. แหล่งกำเนิดแสง (light sources) ส่วนใหญ่อาศัยการให้ความร้อนแก่ของแข็งจนปล่อยรังสีอินฟราเรดออกมา ซึ่งอยู่ในย่านความยาวคลื่น $2.5\text{--}25\ \mu\text{m}$ ($4,000\text{--}400\ \text{cm}^{-1}$) ได้แก่

- Nernst glower ทำจากออกไซด์ของโลหะ เช่น ZrO_2 , Y_2O_3 และ Er_2O_3 ให้อินฟราเรดกว้าง ($2\text{--}25\ \mu\text{m}$ หรือ $5,000\text{--}400\ \text{cm}^{-1}$) ใช้เวลาทำความร้อนก่อนเริ่มปล่อยรังสีอินฟราเรด โดยใช้กระแสไฟฟ้าเพื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิประมาณ $1,200\text{--}2,000^\circ\text{C}$

- Globar (silicon carbide rod) ทำจากซิลิคอนคาร์ไบด์ (SiC) ให้อินฟราเรดที่แรงและเสถียรกว่า Nernst glower ให้พลังงานสูงสุด $7,100\ \text{cm}^{-1}$ นิยมใช้เป็นแหล่งกำเนิดแสงหลักใน FT-IR spectrometer

- Incandescent wire (nichrome or Kanthal filament) ทำจากโลหะผสม นิกเกิล-โครเมียม (nichrome) หรือ แคนธาล (Kanthal, Fe-Cr-Al) ทำงานที่อุณหภูมิ $1,100^\circ\text{C}$ ให้อินฟราเรดที่ค่อนข้างกว้าง แต่พลังงานต่ำกว่า Globar และ Nernst glower นิยมใช้ในเครื่องมือที่มีขนาดเล็กหรือเครื่องมือพกพา



ภาพที่ 2.9 แหล่งกำเนิดแสง Nernst glower

นอกจากยังมีแหล่งกำเนิดแสงประเภทอื่น เช่น แบบควอนตัม (quantum light sources) ใช้โฟตอนพลังงานสูง เช่น เลเซอร์ หรือไดโอดเปล่งแสง (LEDs) ซึ่งสามารถให้อินฟราเรดที่มีความเข้มสูงและความยาวคลื่นจำเพาะ เช่น infrared laser sources ใช้ใน tunable diode laser spectroscopy (TDLS) และ quantum cascade laser (QCL) ซึ่งให้แสงอินฟราเรดที่มีความเข้มสูงและความจำเพาะสูง เหมาะสำหรับงานวิเคราะห์ปริมาณน้อย (trace analysis) และการตรวจจับแก๊ส และประเภท light emitting diodes (LEDs) ใช้ในเซ็นเซอร์อินฟราเรดแบบพกพา ให้อินฟราเรดที่มีย่านความยาวคลื่นแคบ ใช้พลังงานต่ำและมีอายุการใช้งานยาวนาน

ตารางที่ 2.3 แหล่งกำเนิดแสง

แหล่งกำเนิดแสง	ช่วงเลขคลื่น (cm ⁻¹)	สมบัติเด่น	การใช้งานหลัก
Nernst glower	5,000–400	ให้รังสีอินฟราเรดกว้าง แต่ต้องอุ่นก่อน	ใช้ในเครื่อง Dispersive IR รุ่นเก่า
Globar (SiC Rod)	5,000–400	เสถียรและให้พลังงานสูงกว่า Nernst	ใช้ใน FT-IR Spectrometer
Nichrome/Kanthal filament	5,000–400	ราคาถูก ใช้พลังงานต่ำ	ใช้ในเครื่องมือขนาดเล็ก
Infrared Laser (QCL, TDLS)	5,000–1,000	ความเข้มสูง ความจำเพาะสูง	ใช้ในการตรวจจับแก๊ส และงานวิเคราะห์ที่แม่นยำ
Infrared LEDs	4,000–1,000	ความเข้มแคบ ใช้พลังงานต่ำ	ใช้ในเซ็นเซอร์ IR และเครื่องมือพกพา
Synchrotron Radiation	10,000–50	ให้ความเข้มสูงมาก ติดตั้งในสถานีวิจัย	ใช้ในงานวิจัยโครงสร้างโมเลกุลขั้นสูง

2. เซลล์ตัวอย่าง สำหรับตัวอย่างบางชนิดต้องบรรจุในเซลล์ตัวอย่างก่อนวิเคราะห์ โดยส่วนใหญ่เซลล์ตัวอย่างทำมาจากเกลือของแฮไลด์ เช่น โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) โพแทสเซียมโบรไมด์ (KBr) ลิเทียม-ฟลูออไรด์ (LiF) และซิลเวอร์คลอไรด์ (AgCl) เป็นต้น มีลักษณะโปร่งใสและไม่ดูดกลืนรังสีอินฟราเรดย่านเดียวกับตัวอย่าง

3. ตัวทำแสงเอกรงค์ (monochromator) เป็นส่วนประกอบเฉพาะเครื่องอินฟราเรดสเปกโทรมิเตอร์แบบกระจาย (dispersive infrared spectrometer) เท่านั้น ทำหน้าที่เลือกความยาวคลื่นนิยมใช้เกรตติงมากกว่าปริซึม เนื่องจากประสิทธิภาพการแยก (resolution) สูงกว่า

สำหรับเครื่องฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรมิเตอร์ (Fourier transform infrared, FT-IR) จะใช้อุปกรณ์ที่เรียกว่าอินเตอร์เฟอโรมิเตอร์ (interferometers) หรือ Michelson interferometer ทำหน้าที่ปรับลำแสง

4. ตัวตรวจวัด (detector) มีหน้าที่ตรวจจับและแปลงสัญญาณรังสีอินฟราเรดที่ถูกดูดกลืนหรือส่งผ่านโดยตัวอย่างให้อยู่ในรูปของสัญญาณไฟฟ้า จากนั้นนำไปวิเคราะห์เพื่อสร้างสเปกตรัมอินฟราเรด โดยตัวตรวจวัดสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภทหลัก ได้แก่ ตัวตรวจวัดความร้อน (thermal detectors) และ ตัวตรวจวัดโฟตอน (photon detectors)

1) ตัวตรวจวัดความร้อน ตัวตรวจวัดประเภทนี้ทำงานโดยตรวจจับการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิเมื่อพลังงานอินฟราเรดตกกระทบ เช่น

- เทอร์โมคัพเพิล (thermocouple) ใช้หลักของ Seebeck Effect วัดความต่างศักย์ไฟฟ้าที่เกิดจากอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลง มีการตอบสนองสัญญาณช้าจึงเหมาะสำหรับเครื่องอินฟราเรดสเปกโทรมิเตอร์แบบกระจาย

- โบโลมิเตอร์ (Bolometer) ตรวจจับการเปลี่ยนแปลงความต้านทานไฟฟ้าของวัสดุเมื่อได้รับพลังงานอินฟราเรด

- ตัวตรวจวัดไพโรอิเล็กทริก (pyroelectric) ใช้วัสดุไพโรอิเล็กทริก (เช่น LiTaO_3) ที่สร้างสัญญาณไฟฟ้าเมื่ออุณหภูมิเปลี่ยนแปลง

โดยข้อดีตัวตรวจวัดความร้อนคือ ราคาถูก ไม่ต้องใช้อุณหภูมิต่ำมาก แต่ข้อเสียคือ ความไวต่ำกว่าประเภทตัวตรวจวัดโฟตอนและตอบสนองช้า

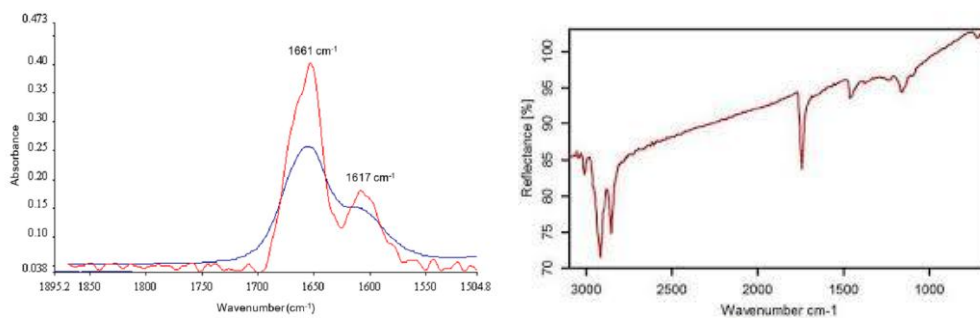
2) ตัวตรวจวัดโฟตอน ตัวตรวจวัดประเภทนี้ทำงานโดยตรวจจับพลังงานของโฟตอนอินฟราเรดที่กระทบและทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสมบัติไฟฟ้าในวัสดุ

- Photoconductive detector (เช่น HgCdTe -MCT detector) ตรวจจับการเปลี่ยนแปลงของความต้านทานไฟฟ้าเมื่อโฟตอนอินฟราเรดกระทบ

- Photovoltaic detector (เช่น PbS , PbSe) ใช้หลักของโฟโตอิเล็กทริกแปลงพลังงานแสงเป็นกระแสไฟฟ้าโดยตรง

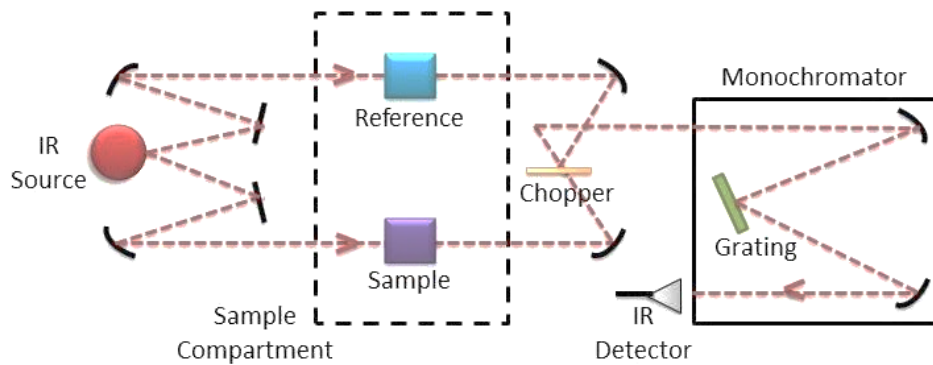
ข้อดีของตัวตรวจวัดโฟตอนคือ ความไวสูงมาก ตอบสนองเร็ว แต่ข้อเสียคือ ต้องทำงานที่อุณหภูมิต่ำ (เช่น ใช้ไนโตรเจนเหลวในการระบายความร้อน)

5. เครื่องบันทึก ทำหน้าที่บันทึกสัญญาณที่ออกมาจากตัวตรวจวัด ส่วนใหญ่การวิเคราะห์หุ้มฟังก์ชันของสารอินทรีย์ด้วยเครื่องอินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์จะเป็นแบบการดูดกลืน (absorbance) มากกว่าการสะท้อน (reflectance) ลักษณะสเปกตรัมดังภาพที่ 2.10 ปัจจุบันสเปกตรัมแบบดูดกลืนนิยมพลอต (plot) ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการส่งผ่าน (%T) และเลขคลื่น (wave number, cm^{-1}) ตามกฎของเบียร์-แลมเบิร์ต



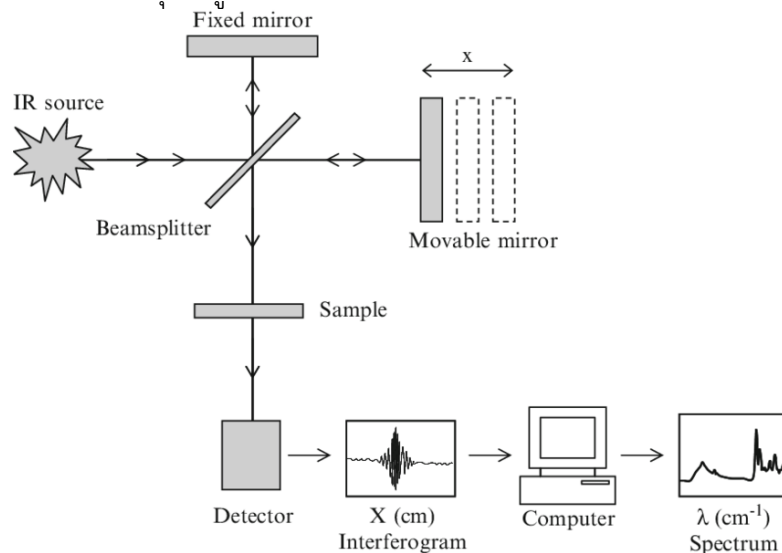
ภาพที่ 2.10 รูปแบบอินฟราเรดสเปกตรัม (ก) การดูดกลืน และ (ข) การสะท้อน

เครื่องอินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์แบบกระจายแสงใช้ Nernst glower เป็นแหล่งกำเนิดรังสี เมื่อถูกเผาด้วยไฟฟ้าแรงสูง จะปล่อยรังสีอินฟราเรด (IR) ออกมา รังสี IR ถูกแบ่งออกเป็นสองลำแสง โดยกระจกสะท้อน ลำแสงแรกผ่านเซลล์ที่บรรจุตัวอย่าง ลำแสงที่สอง เรียกว่า ลำแสงอ้างอิง ผ่านเซลล์ที่มีสารอ้างอิง จากนั้นทั้งสองลำแสงจะเข้าสู่ beam chopper ซึ่งเป็นกระจกหมุนที่ใช้ในการปรับสัญญาณก่อนส่งไปยังตัวตรวจวัด ดังภาพที่ 2.11 กระบวนการนี้ช่วยให้สามารถเปรียบเทียบการดูดกลืนรังสีของตัวอย่างกับสารอ้างอิงได้อย่างแม่นยำ



ภาพที่ 2.11 ส่วนประกอบของเครื่องอินฟราเรดสเปกโทรมิเตอร์แบบกระจายแสง

ปัจจุบันเครื่องอินฟราเรดสเปกโทรมิเตอร์จะเป็นแบบฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์ม (FT-IR) สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้ทั้งของแข็ง ของเหลวและแก๊ส มีความเร็วและความไวสูงกว่า ระบบของเครื่อง FT-IR ประกอบด้วย 3 ส่วนหลัก ได้แก่ แหล่งกำเนิดรังสี อินเทอร์เฟอโรมิเตอร์ (interferometer) และตัวตรวจวัด โดยแหล่งกำเนิดรังสียังคงใช้แบบเดียวกับเครื่องเดิม แต่มีระบบระบายความร้อน ส่วนอินเทอร์เฟอโรมิเตอร์ทำหน้าที่แทนโมโนโครเมเตอร์ในเครื่องแบบกระจาย (dispersive) โดยแยกลำแสงและสร้างความแตกต่างของระยะทาง (path difference) ก่อนรวมสัญญาณการแทรกสอดเพื่อวิเคราะห์ข้อมูล และตัวตรวจวัดที่ใช้ใน FT-IR มีสองประเภทหลัก ได้แก่ deuterated triglycine sulfate (DTGS) และ mercury cadmium telluride (MCT) โดย DTGS เป็นตัวตรวจวัดแบบไพโรอิเล็กทริกที่ตอบสนองรวดเร็วโดยตรวจจับการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ และสามารถทำงานได้ที่อุณหภูมิห้อง ส่วน MCT เป็นตัวตรวจวัดโฟตอนที่ขึ้นกับคอนตันัมของรังสี มีความไวและความเร็วสูงกว่า DTGS แต่ต้องทำงานที่อุณหภูมิไนโตรเจนเหลว



ภาพที่ 2.12 ส่วนประกอบของเครื่อง FT-IR ใช้ Michelson interferometer

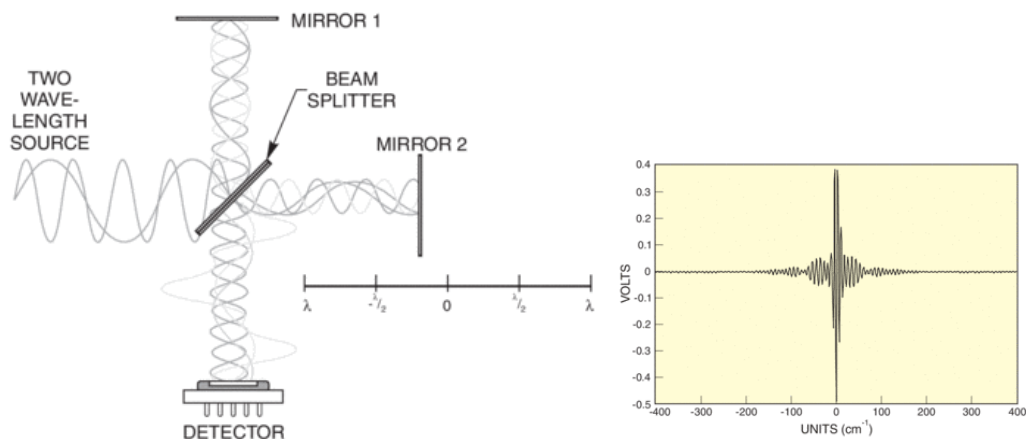
หลักการการทำงานของเครื่อง FT-IR สรุปได้คือ เมื่อให้ความร้อนช่วงอุณหภูมิ 1,000-8,000°C กับแหล่งกำเนิดรังสี รังสีอินฟราเรดที่ถูกปล่อยออกมาจะผ่านไปยังเซลล์ตัวอย่าง ทำให้ดูดกลืนรังสี

ตรงกับความถี่การสั่นแบบพื้นฐานของพันธะ ซึ่งความเข้มของสัญญาณจะวิเคราะห์ได้ด้วยตัวตรวจหาได้ ลักษณะเป็นคลื่น หลังจากประมวลผลโดยการแปลงฟูเรียร์ (Fourier transformation) จะเปลี่ยนเป็นเส้นสเปกตรัมความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มและความถี่

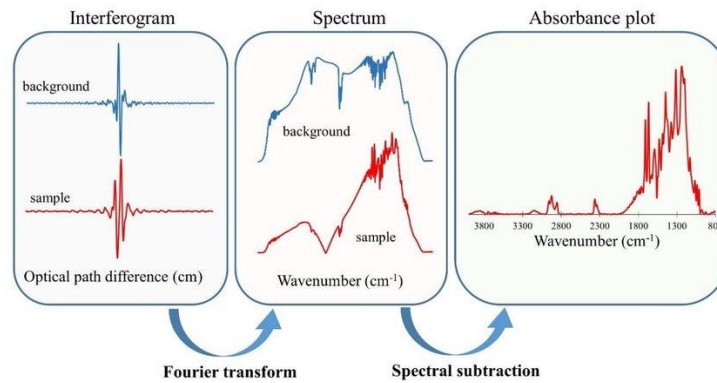
เครื่อง FT-IR ใช้ไมเคิลสันอินเทอร์เฟอโรมิเตอร์ (Michelson interferometer) เป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งประกอบด้วยกระจกเคลื่อนที่ กระจกตรึงอยู่กับที่ และตัวแยกแสง (beam splitter) ดังภาพที่ 2.12 โดยตัวแยกแสงมักทำจากฟิล์มบางของเจอร์เมเนียมบนโพแทสเซียมโบรไมด์ (KBr) เมื่อรังสีอินฟราเรดจากแหล่งกำเนิดเข้าสู่อินเทอร์เฟอโรมิเตอร์ ลำแสงจะถูกแบ่งเป็นสองส่วน ส่วนหนึ่งทะลุผ่านไปยังกระจกตรึงอยู่กับที่ และอีกส่วนหนึ่งสะท้อนไปยังกระจกเคลื่อนที่ หลังจากสะท้อนกลับมาที่ตัวแยกแสง ทั้งสองลำแสงจะรวมกัน ทำให้เกิดการแทรกสอด (interference) ก่อนส่งผ่านไปยังตัวตรวจวัด โดยหลักการของการแทรกสอด คือ

- ถ้าระยะทางที่ลำแสงทั้งสองเดินทางเท่ากัน (path difference = 0) เฟสของคลื่นจะตรงกัน ทำให้สัญญาณมีค่าสูงสุด
- เมื่อกระจกเคลื่อนที่ไป $\lambda/4$ ระยะทางเดินแสงเปลี่ยนเป็น $\lambda/2$ ทำให้เฟสของคลื่นต่างกัน 180° และเกิดการหักล้าง
- หากเคลื่อนที่อีก $\lambda/4$ เฟสของคลื่นกลับมาตรงกันอีกครั้ง

เมื่อกระจกเคลื่อนที่ด้วยความเร็วคงที่ สัญญาณที่ตัวตรวจวัดได้รับจะอยู่ในรูปของอินเทอร์เฟอโรแกรม (interferogram) ซึ่งเป็นฟังก์ชันของเวลาที่สัมพันธ์กับการเคลื่อนที่ของกระจก หากตัวอย่างดูดกลืนรังสีที่ความถี่ใด ความเข้มของสัญญาณในช่วงนั้นจะลดลงตามปริมาณของสารนั้น สุดท้าย Fourier transform (FT) จะถูกนำมาใช้แปลง interferogram จากโดเมนเวลาไปเป็นสเปกตรัมความถี่ ดังภาพที่ 2.13 และ 2.14



ภาพที่ 2.13 แผนภาพการทำงานของ FT-IR (ก) การแทรกสอด และ (ข) ลักษณะ interferogram



ภาพที่ 2.14 ฟูเรียร์แปลง interferogram

การวิเคราะห์สารด้วยเทคนิค FT-IR spectroscopy มีวิธีดังนี้

1. เทคนิคการส่องผ่าน (transmission) เป็นเทคนิคที่นิยมกันแพร่หลาย โดยการให้แสงผ่านสารตัวอย่างโดยตรง ให้ signal to noise ratio ที่ดี เหมาะกับตัวอย่างที่เป็นของแข็ง ของเหลว และแก๊ส แต่มีข้อจำกัดที่สารตัวอย่างต้องให้แสงผ่านได้ และความหนาของสารตัวอย่างมีผลต่อค่าการดูดกลืน หรือการส่องผ่าน (ภาพที่ 2.15)

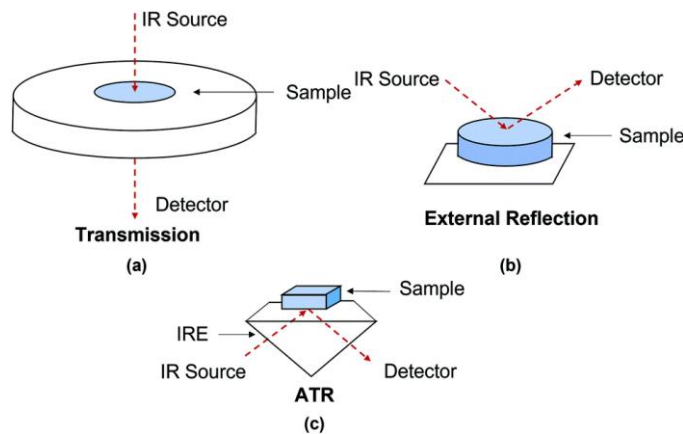
2. เทคนิคการสะท้อน (refraction) เทคนิคนี้จะใช้กับสารตัวอย่างที่ไม่สามารถวัดโดยวิธีการส่องผ่านได้ หรือสารตัวอย่างที่มีการสะท้อนที่ผิวที่ดี เช่น พลาสติก สีทาไม้ ยาง กระจก เทคนิคการสะท้อน แบ่งออกเป็น 3 วิธี ได้แก่

2.1 specular reflectance อาศัยหลักการสะท้อนของแสง คือ วัดการสะท้อนที่เกิดขึ้นเมื่อมุมของแสงตกกระทบมีค่าเท่าแสงสะท้อนให้กับตัวอย่างที่มีผิวหน้าเรียบ (smooth surface) การวัดจะมีสองแบบคือ วัดสะท้อนคลื่นอินฟราเรดที่ผิวหน้าของสารตัวอย่าง และอีกวิธีให้กับการวัดฟิล์มบางที่เคลือบสารผิวหน้าเรียบไว้ โดยวัดการสะท้อนของฟิล์มที่เคลือบไว้บนสารตัวอย่าง เมื่อผ่านแสงอินฟราเรดให้ผ่านสารเคลือบ แสงตกไปผิวหน้าเรียบของสารตัวอย่างและเกิดการสะท้อนกลับไปยังสารเคลือบอีกครั้ง เรียกเทคนิคนี้ว่า reflection-absorption หรือ double transmission

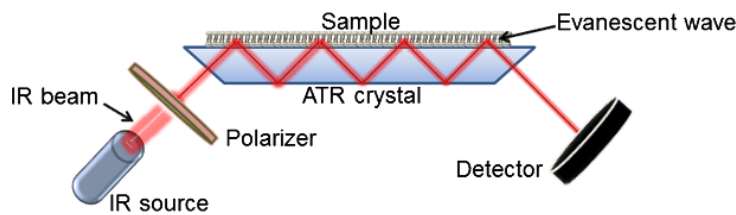
2.2 diffuse reflectance infrared Fourier transform spectroscopy (DRIFTS) เป็นเทคนิคสำหรับวิเคราะห์การสะท้อนแบบ diffuse reflectance เหมาะสำหรับตัวอย่างที่เป็นของแข็งผิวหน้าไม่เรียบ หยาบหรือเป็นผง แต่ในการวิเคราะห์จริงนั้น เมื่อผ่านคลื่นอินฟราเรดไปยังสารตัวอย่างจะทำให้เกิดปรากฏการณ์การสะท้อน 2 แบบ คือแบบ specular reflection และ diffuse reflectance (แสงอินฟราเรดจะผ่านเข้าไปในสารตัวอย่างก่อนที่จะชนอนุภาคต่าง ๆ แล้วสะท้อนกลับออกมา)

2.3 attenuated total reflectance (ATR) เป็นเทคนิคสำหรับวิเคราะห์ของแข็งของเหลว ฟิล์มบางหรือวัสดุทึบแสง โดยอาศัยหลักการสะท้อนกลับหมดของแสงอินฟราเรด (total internal reflection) แสงอินฟราเรดจะถูกส่งผ่านตัวกลางที่เป็นแท่งผลึก (ATR crystal) ที่มีค่าดัชนีหักเหสูง (ความหนาแน่นสูง) เช่น คริสตัลชนิดเพชร (diamond) หรือเจอร์เมเนียม จากนั้นจะตกกระทบบริเวณรอยต่อระหว่างคริสตัลกับตัวอย่างที่มีค่าดัชนีหักเหต่ำกว่า ด้วยมุมที่มากกว่ามุมวิกฤต (critical angle) ทำให้เกิดการสะท้อนกลับหมดที่ตรงผิวยูนิค (interface) ระหว่างตัวกลางทั้งสอง

นั้น ในขณะเดียวกัน จะเกิดคลื่นแสงอินฟราเรดขนาดเล็กเรียกว่า evanescent wave ทะลุผ่านเข้าไปในตัวอย่างในระยะประมาณ 0.1–5 ไมครอน ขึ้นอยู่กับความยาวคลื่น มุมตกกระทบ และค่าดัชนีหักเหของทั้งสองวัสดุ สารตัวอย่างจะดูดกลืนบางส่วนของคลื่นนี้ ทำให้ความเข้มแสงลดลงจากเดิม เมื่อเทียบกับ background spectrum ที่ไม่มีสารตัวอย่าง แสงที่เหลือจะเกิดการสะท้อนกลับหมดออกมาและถูกวัดไว้ แสดงผลออกมาเป็น ATR สเปกตรัม



ภาพที่ 2.15 เทคนิคการวิเคราะห์ด้วย FT-IR แบบ transmittance และ reflectance



ภาพที่ 2.16 เทคนิคการวิเคราะห์ด้วย ATR-FT-IR

2.1.4 ปฏิบัติการวิเคราะห์อินฟราเรดสเปกตรัมของสารอินทรีย์

- 1) ปฏิบัติการส่วนประกอบของเครื่อง IR
- 2) ปฏิบัติการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันสารอินทรีย์
- 3) ปฏิบัติการวิเคราะห์สารตัวอย่างด้วยเครื่อง FT-IR
(ดูคู่มือปฏิบัติการ)

สรุปท้ายบทเรียน

เทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโกปีเป็นเทคนิคที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์ตรวจสอบเกี่ยวกับโมเลกุลของสาร โดยอาศัยหลักการเกี่ยวกับการสั่นของโมเลกุลแสงอินฟราเรดย่านกลาง (2.5-25 μm) มีความถี่ตรงกับความถี่การสั่นของพันธะโคเวเลนต์ในโมเลกุลของสาร เมื่อตัวอย่างได้รับพลังงานจากคลื่นรังสีอินฟราเรดที่เหมาะสม จะเกิดการสั่นของโมเลกุลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงไดโพลโมเมนต์

ของโมเลกุล ทำให้โมเลกุลเกิดการดูดกลืนแสงแล้ววัดแสงที่ส่งผ่านออกมาแสดงผลเป็นความสัมพันธ์ของความถี่ หรือเลขคลื่น (wave number) กับค่าความถี่ของแสง เรียกว่า อินฟราเรดสเปกตรัม ซึ่งลักษณะการดูดกลืนแสงของสารแต่ละชนิดจะมีสมบัติเฉพาะโมเลกุลของสาร จึงสามารถดูดกลืนแสงอินฟราเรดได้ที่ความถี่ที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับความแข็งแรงของพันธะและน้ำหนักอะตอมของหมู่ฟังก์ชันในโมเลกุลนั้น ๆ

วิธีการสอนและกิจกรรม

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ใบกิจกรรม

สื่อการสอนและอุปกรณ์การสอน

1. หนังสือ/ตำรา
2. เอกสารประกอบการสอน
3. เอกสาร power point
4. <https://kpu.pressbooks.pub/organicchemistry/chapter/6-2-infrared-ir-spectroscopy/>
5. <https://agora.cs.wcu.edu/~huffman/lectures/FT-IR.html>
6. https://youtu.be/WkaAvJ-OPDA?si=oOWuoUv53EW0_J3S
7. <https://www2.chemistry.msu.edu/faculty/reusch/virttxtjml/spectrpy/infrared/infrared.htm>

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. เย็นหทัย แน่นหนา. (2549). *สเปกโทรสโกปีสำหรับเคมีอินทรีย์*. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

3. นิพนธ์ ตั้งคณานุรักษ์ และคณิตา ตั้งคณานุรักษ์. (2547). *สเปกโทรสโกปีด้านการวิเคราะห์*. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
4. Averill, B. A. (2012). *Principles of General Chemistry*.
<https://2012books.lardbucket.org/books/principles-of-general-chemistry-v1.0m/index.html>
5. Christian, G. D., Dasgupta, P. K., & Schug, K. A. (2014). *Analytical Chemistry* (7th ed.). John Wiley & Sons.
6. Harris, D. C. (2010). *Quantitative Chemical Analysis* (8th ed.). W.H. Freeman and Company.
7. *Infrared Spectroscopy*. (2020).
<https://agora.cs.wcu.edu/~huffman/lectures/FT-IR.html>
8. *Introduction to FT-IR Spectroscopy*. (n.d.).
<https://www.newport.com/n/introduction-to-FT-IR-spectroscopy>
9. Harvey, D. (2019). *Analytical Chemistry 2.1*. <https://chem.libretexts.org/>
10. Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S., & Vyvyan, J. R. (2009). *Introduction to Spectroscopy* (4th ed.). Brooks/Cole Publishing
11. Robinson, J. W., Frame, E. M. S., & Frame G. M. (2021). *Instrumental Analytical Chemistry*. CRC Press

หน่วยที่ 2 วิธีอินฟราเรด สเปกโทรสโกปี

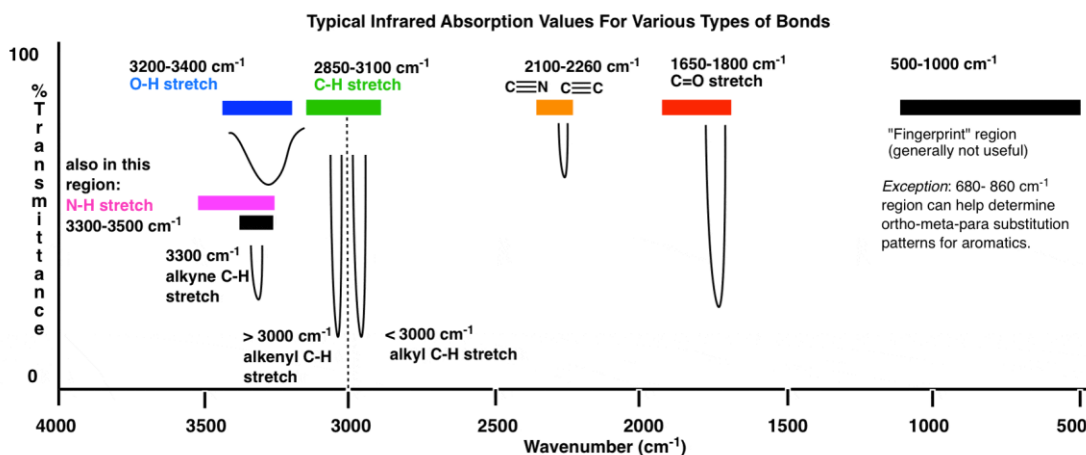
บทเรียน 2.2 การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง FT-IR

จุดประสงค์การสอน

1. บอกการแปลผลอินฟราเรดสเปกตรัม
2. บอกวิธีการเตรียมตัวอย่าง
3. อธิบายการประยุกต์ใช้เทคนิค FT-IR ในด้านอาหารและเครื่องสำอาง
4. ปฏิบัติการวัดสารตัวอย่างด้วยเทคนิค FT-IR

2.2.1 การแปลผลอินฟราเรดสเปกตรัม

ลักษณะทั่วไปของอินฟราเรดสเปกตรัม แสดงดังภาพที่ 2.17 ซึ่งได้กล่าวมาข้างต้นแล้ว ประกอบด้วยย่านหมู่ฟังก์ชัน และย่านลายนิ้วมือ (finger print region)



ภาพที่ 2.17 ลักษณะทั่วไปของอินฟราเรดสเปกตรัม

เนื่องจากมีฟังก์ชันจำนวนมากปรากฏในอินฟราเรดสเปกตรัม เราคงไม่สามารถคาดหวังว่าจะรู้ทุกฟังก์ชันในอินฟราเรดสเปกตรัม ขั้นตอนต่อไปนี้อาจเป็นแนวทางเริ่มต้นในการแปรข้อมูลจากอินฟราเรดสเปกตรัมได้

1. ตรวจสอบว่ามีหมู่คาร์บอนิล (-C=O) หรือไม่ เนื่องจากหมู่คาร์บอนิลให้แถบที่มีความเข้มสูงในย่าน 1,680-1,820 cm⁻¹

2. ถ้ามีหมู่คาร์บอนิล ให้วิเคราะห์ต่อไปว่า เป็นสารประกอบคาร์บอนิลประเภทใดโดยตรวจสอบว่าสารประกอบคาร์บอนิลนั้นยังมีหมู่ฟังก์ชันอื่นที่พบใน IR สเปกตรัม หรือไม่

- กรดคาร์บอกซิลิก (-COOH): การยืด O-H ให้แถบกว้างและความเข้มสูงมาก ในย่าน $2,400-3,400\text{ cm}^{-1}$ และมักเกี่ยวกับแถบการยืด C-H
- แอลดีไฮด์ (-CHO): การยืด C-H ให้แถบที่มีความเข้มปานกลางถึงอ่อนที่ $2,750\text{ cm}^{-1}$ และ $2,850\text{ cm}^{-1}$ แถบ $2,850\text{ cm}^{-1}$ อาจถูกบดบังจากแถบการยืด C-H ของหมู่ CH_3 , CH_2
- เอมีน : การยืด N-H ให้แถบที่มีความเข้มปานกลางใกล้ $3,500\text{ cm}^{-1}$ อาจมีหนึ่งหรือสองแถบ
- แอนไฮไดรต์ : แถบการยืด C=O มี 2 แถบใกล้ $1,760-1,810\text{ cm}^{-1}$
- เอสเทอร์ : การยืด C-O ให้แถบที่มีความเข้มปานกลางถึงเข้มในย่าน $1,000-1,300\text{ cm}^{-1}$ อาจมี มากกว่าหนึ่งแถบ

• คีโตน : ถ้าไม่มีแถบสำคัญอื่น ๆ ที่กล่าวมาข้างต้น สารประกอบน่าเป็นคีโตน

3. ถ้าไม่ใช่สารประกอบคาร์บอนิล

- แอลกอฮอล์และฟีนอล : การยืด O-H ให้แถบที่มีความเข้มสูงและกว้างในย่าน $3,200-3,600\text{ cm}^{-1}$ และแถบการยืด C-O ในย่าน $1,000-1,300\text{ cm}^{-1}$
- เอมีน : การยืด N-H ให้หนึ่งหรือสองแถบที่มีความเข้มปานกลางใกล้ $3,500\text{ cm}^{-1}$
- อีเทอร์ : การยืด C-O ให้แถบที่มีความเข้มปานกลางถึงเข้มในย่าน $1,000-1,300\text{ cm}^{-1}$ อาจมีมากกว่าหนึ่งแถบ
- แอลคิลอีเทอร์ ให้แถบเดียวในย่าน $1,085-1,150\text{ cm}^{-1}$
- แอริลแอลคิลอีเทอร์ ให้ 2 แถบ แถบหนึ่งในย่าน $1,200-1,275\text{ cm}^{-1}$ และอีกหนึ่งในย่าน $1,020-1,075\text{ cm}^{-1}$
- สารประกอบไนโตร : การยืด N=O ให้แถบที่มีความเข้มสูง 2 แถบในย่าน $1,500-1,600\text{ cm}^{-1}$ และย่าน $1,300-1,390\text{ cm}^{-1}$
- ไนทริล : การยืด $\text{C}\equiv\text{N}$ ให้แถบที่มีความเข้มค่อนข้างอ่อนในย่าน $2,150-2,260\text{ cm}^{-1}$
- แฮโลเจน
 - ฟลูออรีน : การยืด C-F ให้แถบที่มีความเข้มสูงในย่าน $1,000-1,400\text{ cm}^{-1}$
 - คลอรีน : การยืด C-Cl ให้แถบที่มีความเข้มสูงในย่าน $600-800\text{ cm}^{-1}$
 - โบรมีน : การยืด C-Br ให้แถบในย่าน $400-600\text{ cm}^{-1}$ ซึ่งมักไม่เห็นใน IR สเปกตรัม
 - ไอโอดีน : การยืด C-I ให้แถบในย่าน $400-600\text{ cm}^{-1}$ ซึ่งมักไม่เห็นใน IR สเปกตรัม

4. ไฮโดรคาร์บอน

- แอโรเมติก :

การยืด =C-H ที่ $3,000-3,100\text{ cm}^{-1}$ ซึ่งเป็นพีคเล็กและแหลมคม อาจมีหลายพีค

การยืด C=C เกิดในช่วง $1,450-1,600\text{ cm}^{-1}$ อาจมีถึง 4 แถบคือที่ $1,450, 1,500, 1,580$ และ $1,600\text{ cm}^{-1}$

การงอของ C-H (ออกนอกระนาบ) เป็นแถบที่มีความเข้มสูงเกิดในย่าน $675-900\text{ cm}^{-1}$ ใช้บอกรูปแบบการแทนที่บนวงเบนซีนได้

- วงเบนซีนที่มีหมู่แทนที่ 1 หมู่ เกิดที่ 690 และ 750 cm^{-1}
- วงเบนซีนที่มีหมู่แทนที่ 2 หมู่แบบอโท เกิดที่ 750 cm^{-1}
- วงเบนซีนที่มีหมู่แทนที่ 2 หมู่แบบเมตา เกิดที่ $690, 780\text{ cm}^{-1}$ และอาจมีอีก 1 แถบที่มีความเข้มปานกลางใกล้ 880 cm^{-1}
- วงเบนซีนที่มีหมู่แทนที่ 2 หมู่แบบพารา เกิดที่ $800-850\text{ cm}^{-1}$ แถบคอมปีเนชันและโอเวอร์โทน (overtone) เกิดในย่าน $1,667-2,000\text{ cm}^{-1}$

- แอลเคน

การยืดของ C-H (C-H stretching) ให้แถบที่มีความเข้มสูงที่ $2,850-2,960\text{ cm}^{-1}$

การงอของ C-H (C-H bending) ให้แถบที่มีความเข้มปานกลางใกล้ $1,375\text{ cm}^{-1}$ และ $1,450\text{ cm}^{-1}$

- แอลคีน

การยืด C=C (C=C stretching) ให้แถบที่มีความเข้มต่ำใกล้ $1,650\text{ cm}^{-1}$ (ถ้าเป็นแอลคีนที่มีความสมมาตร แถบนี้จะไม่ปรากฏใน IR สเปกตรัม)

การยืด =C-H ของไวนิลที่ $3,000-3,100\text{ cm}^{-1}$ ซึ่งเป็นพีคเล็กและแหลมคม

- แอลไคน์

การยืด $\text{C}\equiv\text{C}$ ให้แถบที่มีความเข้มต่ำใกล้ $2,150\text{ cm}^{-1}$ (ถ้าเป็นแอลไคน์ที่มีความสมมาตร แถบนี้จะไม่ปรากฏใน IR สเปกตรัม)

การยืด $\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$ ที่มีความเข้มสูงใกล้ $3,300\text{ cm}^{-1}$

ตารางสหสัมพันธ์ (ตารางที่ 2.4) เป็นตารางที่รวบรวมความยาวคลื่นของแถบ IR ของหมู่ฟังก์ชันต่าง ๆ ในย่าน $4,000-600\text{ cm}^{-1}$

ตารางที่ 2.4 ความยาวคลื่นของแถบ IR ของหมู่ฟังก์ชันต่าง ๆ

Wave number (cm ⁻¹)	หมู่ฟังก์ชัน	รายละเอียด (ตัวอย่าง)
3,600-3,400	O-H stretching	3,650-3,590 (sh, w) แอลกอฮอล์อิสระ 3,400-3,200 (b) แอลกอฮอล์เกิด H-bond 3,400-2,400 (vs, vb) กรดคาร์บอกซิลิก
3,500-3,200	N-H stretching	3,200-3,400 (m) 1°เอมีนและเอไมด์ มี 2 แถบ 3,200-3,400 (w) 2°เอมีนและเอไมด์ มี 1 แถบ
3,300 (vs)	=C-H stretching	3,300 แอลไคน์ =C-H ที่ปลายโซ่
3,100-3,000 (w, sh)	=C-H stretching	แอลคีนและเบนซีน (อาจมีหลายพีค)
3,000-2,800	C-H stretching	หมู่ CH ₃ , CH ₂ และ CH ของแอลเคน
2,850-2,780	C-H stretching	แอลดีไฮด์
2,250-2,225	C-H stretching	ไนทริล (m)
2,260-2,100	C=C stretching	แอลไคน์ (w) โมเลกุลที่สมมาตรจะไม่มีแถบนี้ปรากฏ
1,820-1,760 (s)	C=O stretching	แอนไฮไดรด์ (s) มี 2 แถบ
1,800 (s)	C=O stretching	กรดคลอไรด์
1,770 (s)	C=O stretching	แกมมา-แลกโตน
1,735 (s)	C=O stretching	เอสเทอร์
1,725 (s)	C=O stretching	แอลดีไฮด์
1,715 (s)	C=O stretching	คีโตน
1,710 (s)	C=O stretching	กรดคาร์บอกซิลิก
1,690-1,650 (s)	C=O stretching	เอไมด์
1,650-1,600 (w)	C=C stretching	แอลคีน
1,650-1,690 (s-m)	N-H bending	1°เอมีน
1,650-1,550 (w)	N-H bending	2°เอมีน
1,620-1,590 (s)	N-H bending	1°เอไมด์
1,550-1,510 (s)	N-H bending	2°เอไมด์
1,600, 1,580, 1,500 และ 1,450	C=C stretching	เบนซีนและเบนซีนที่มีหมู่แทนที่ อาจมี 2, 3 แถบ หรือ ทั้ง 4 แถบ
1,520 (s), 1,350 (s)	NO ₂ bending	สารประกอบไนโตร
1,450-1,450	C-H bending	หมู่ CH ₂
1,450-1,375	C-H bending	หมู่ CH ₂
1,400-1,000	C-F stretching	สารประกอบฟลูออไรด์
1,300-1,150	CH ₂ -X	สารประกอบแฮโลเจน
1,300-1,000	C-O stretching	อีเทอร์และเอสเทอร์
1,220	C-O stretching	ฟีนอล
1,150	C-O stretching	3°แอลกอฮอล์
1,100	C-O stretching	2°แอลกอฮอล์
1,050	C-O stretching	1°แอลกอฮอล์
990 และ 910	C-H (OOP bending)	แอลคีน (หมู่แทนที่ 1 หมู่) RCH=CH ₂
970	C-H (OOP bending)	แอลคีน (หมู่แทนที่ 2 หมู่) RCH=CHR (trans)
890	C-H (OOP bending)	แอลคีน (หมู่แทนที่ 2 หมู่) R ₂ C=CH ₂
815	C-H (OOP bending)	แอลคีน (หมู่แทนที่ 3 หมู่) R ₂ C=CHR

Wave number (cm ⁻¹)	หมู่ฟังก์ชัน	รายละเอียด (ตัวอย่าง)
700-690	C-H (OOP bending)	แอลคีน (หมู่แทนที่ 2 หมู่) RCH=CHR (cis)
750 และ 690	C-H (OOP bending)	เบนซีน (หมู่แทนที่ 1 หมู่)
750	C-H (OOP bending)	เบนซีน (หมู่แทนที่ 2 หมู่ แบบ ortho-)
780 และ 700	C-H (OOP bending)	เบนซีน (หมู่แทนที่ 2 หมู่ แบบ meta-)
825-800	C-H (OOP bending)	เบนซีน (หมู่แทนที่ 2 หมู่ แบบ para-)
800-600	C-Cl	สารประกอบคลอไรด์
600-500	C-Br	สารประกอบโบรมൈด์
~500	C-I	สารประกอบไอโอดีน

หมายเหตุ.

s = ความเข้มสูง, vs = ความเข้มสูงมาก, m = ความเข้มปานกลาง, w = ความเข้มต่ำ, vw = ความเข้มต่ำมาก
sh = แหลมคม, b = กว้าง, vb = กว้างมาก, OOP = การสั่นนอกระนาบ

1) แอลเคน

แอลเคนเป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอน ภายในโครงสร้างประกอบด้วยพันธะ C-C และพันธะ C-H เท่านั้น การสั่นแบบพื้นฐานมี 4 แบบ คือ การสั่นแบบยืดและแบบงอของพันธะ C-C และพันธะ C-H แต่เนื่องจากการสั่นของพันธะ C-C พิกจะปรากฏที่ความถี่ <math>< 1,200 \text{ cm}^{-1}</math> และมีความเข้มต่ำ ดังนั้นในการศึกษาทางเคมีจึงสนใจความถี่ของการสั่นของพันธะ C-H ดังนี้

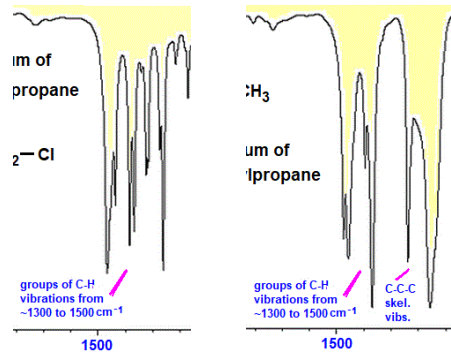
- พันธะ C-H (แบบยืด) ของหมู่เมทิล (methyl, $-\text{CH}_3$) แบบสมมาตรที่ความถี่ $2,872 \text{ cm}^{-1}$ และแบบไม่สมมาตรที่ความถี่ $2,962 \text{ cm}^{-1}$ และความเข้มของแต่ละพิกจะขึ้นอยู่กับจำนวนหมู่เมทิล

- พันธะ C-H (แบบยืด) ของหมู่เมทิลีน (methylene group, $-\text{CH}_2-$) แบบสมมาตรที่ความถี่ $2,853 \text{ cm}^{-1}$ และแบบไม่สมมาตรที่ความถี่ $2,926 \text{ cm}^{-1}$ ทั้งนี้ถ้าหมู่เมทิลีนในโครงสร้างเป็นวง ความถี่จะขึ้นอยู่กับผลความเครียดของวง

	ขนาดวง	3 เหลี่ยม	4 เหลี่ยม	5 เหลี่ยม	6 เหลี่ยม
$\bar{\nu}$ (cm ⁻¹) แบบสมมาตร		3,020	2,900	3,870	2,850
$\bar{\nu}$ (cm ⁻¹) แบบไม่สมมาตร		3,100	2,990	2,950	2,930

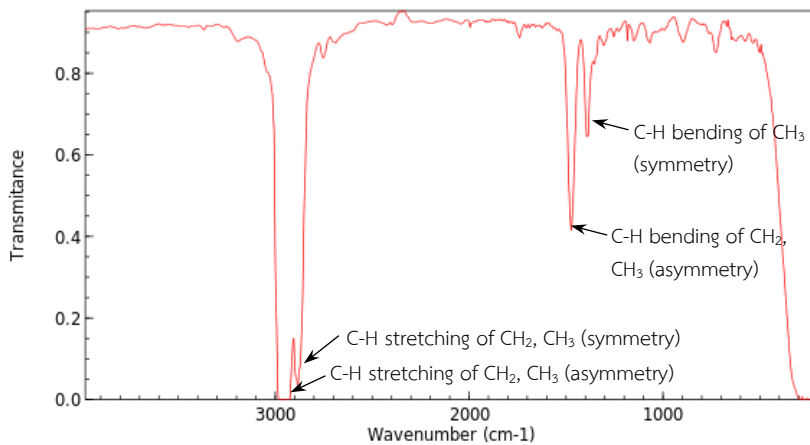
- พันธะ C-H (แบบงอ) ของหมู่เมทิลแบบสมมาตรที่ความถี่ $1,375 \text{ cm}^{-1}$ ความเข้มต่ำและแบบไม่สมมาตรที่ความถี่ $1,450 \text{ cm}^{-1}$ ความเข้มปานกลาง แต่ถ้าโครงสร้างมีหมู่ไอโซโพรพิล (iso-propyl group, $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) พิกของพันธะ C-H (แบบงอ) ของหมู่เมทิลแบบสมมาตรจะแยกเป็นสองแถบที่ย่านความถี่ $1,365-1,370$ และ $1,380-1,385 \text{ cm}^{-1}$ ซึ่งแถบทั้งสองมีความเข้มเท่ากัน กรณีพันธะ C-H (แบบงอ) ของหมู่เมทิลของหมู่เทอเทียรีบิวทิล (t-butyl group, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$) จะเกิดที่ความถี่ $1,370$ และ $1,390 \text{ cm}^{-1}$ ลักษณะลายบ่งชี้ในสเปกตรัมดังภาพที่ 2.18

- พันธะ C-H (แบบงอ) ของหมู่เมทิลีนเกิดการสั่นได้ทั้งแบบกรรไกร การโยก การบิด และการกระดิก แต่เฉพาะการสั่นแบบกรรไกรเท่านั้น ($\sim 1,465 \text{ cm}^{-1}$) ที่มีความเข้มไม่ต่ำมากและปรากฏในสเปกตรัมได้ ซึ่งจะมีความถี่น้อยลงถ้าเมื่ออยู่ในโครงสร้างแอลเคนไซคลิก

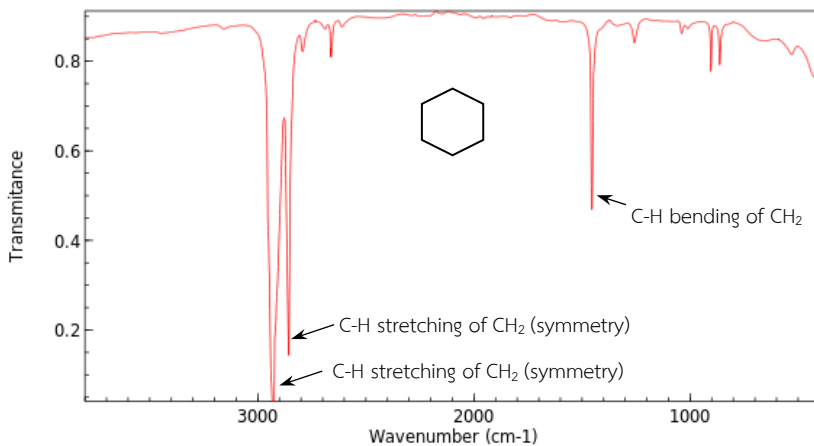


ภาพที่ 2.18 ลักษณะพีกของพันธะ C-H (แบบงอ) ของหมู่ไอโซโพรพิลและหมู่เทอเทอริบิวทิล

ตัวอย่างอินฟราเรดสเปกตรัมของแอลเคน เช่น เฮกเซน ดังภาพที่ 2.19 มีความถี่ของการสั่นของพันธะ C-H (แบบยืด) ของหมู่เมทิลและหมู่เมทิลลีน เท่ากับ $2,900\text{ cm}^{-1}$ ส่วนพันธะ C-C (แบบยืด) ที่ย่านความถี่ $800\text{-}1,300\text{ cm}^{-1}$ และความเข้มสัญญาณต่ำ นอกจากนี้ การสั่นของพันธะ C-H ของ หมู่เมทิลและหมู่เมทิลลีนจะอยู่ที่ย่านความถี่ $1,300\text{-}1,500\text{ cm}^{-1}$ ซึ่งพีกของความถี่ของการสั่นแบบงอของ -CH_3 นี้ จะไม่ปรากฏในสเปกตรัมของไซโคลเฮกเซน ดังภาพที่ 2.20



ภาพที่ 2.19 อินฟราเรดสเปกตรัมของเฮกเซน (n-hexane)



ภาพที่ 2.20 อินฟราเรดสเปกตรัมของไซโคลเฮกเซน

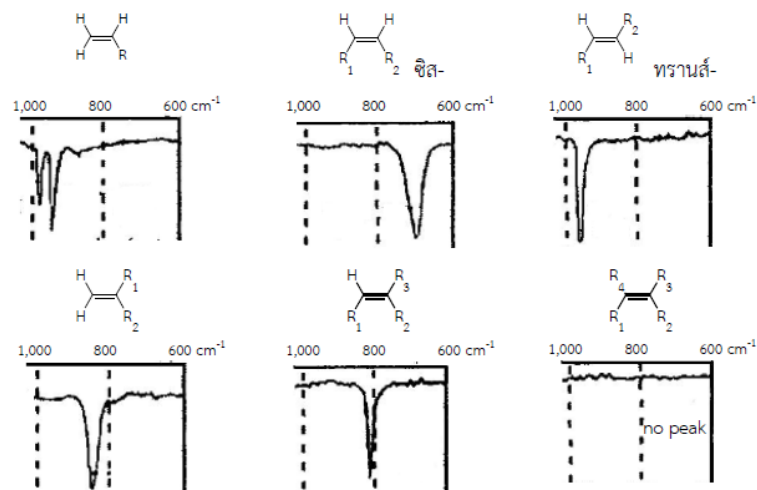
2) แอลคีน

หมู่แอลคีนเป็นไฮโดรคาร์บอนที่มีพันธะคู่ (C=C) จะมีไวนิลโปรตอน (vinyl proton, =C-H) คือ อะตอมไฮโดรเจนบนอะตอมคาร์บอนชนิดไฮบริดไคเซน sp^2 ซึ่งการสั่นทั้งพันธะ C=C และ =C-H ของแอลคีน ดังนี้

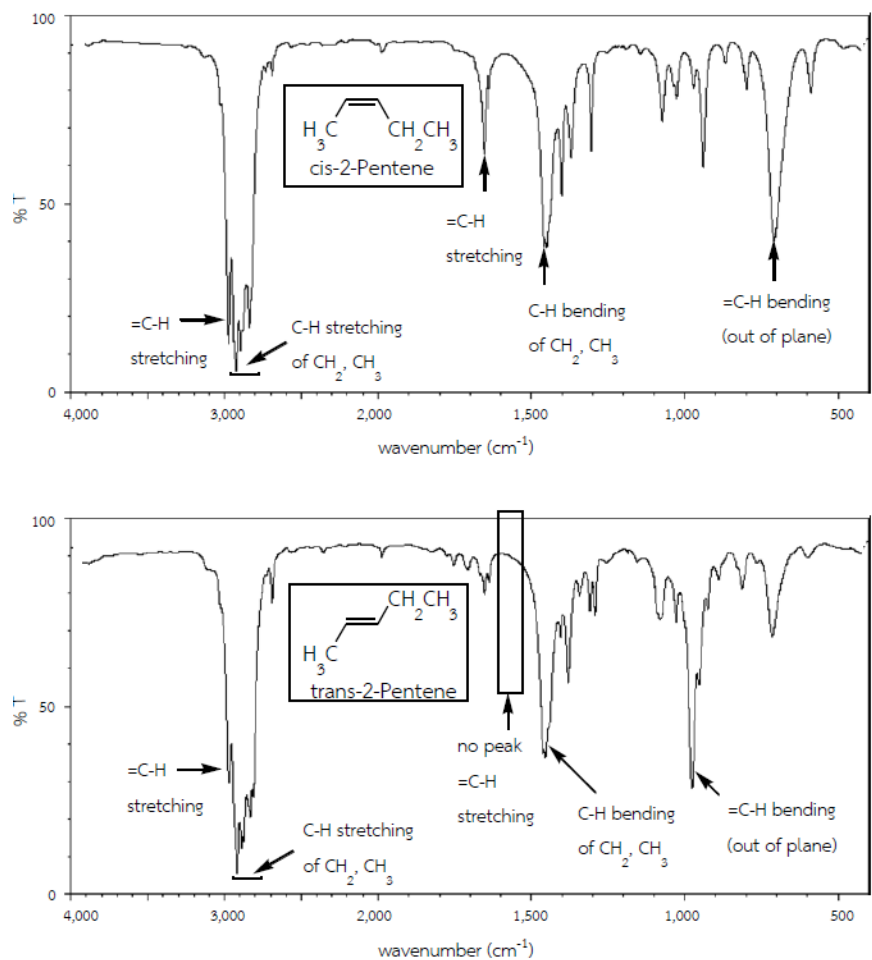
- พันธะ =C-H (แบบยึด) ของไวนิลโปรตอนที่ย่านความถี่ $3,000-3,100\text{ cm}^{-1}$ ความเข้มปานกลาง ซึ่งความถี่และความเข้มจะขึ้นอยู่กับจำนวนหมู่แทนที่บนพันธะคู่ ดังตารางที่ 2.5
- พันธะ =C-H (แบบงอ) ของไวนิลโปรตอน พบการสั่นในระนาบที่ความถี่ $1,415\text{ cm}^{-1}$ ความเข้มปานกลางถึงต่ำ และการสั่นตั้งฉากกับระนาบที่ความถี่ $650-1,000\text{ cm}^{-1}$ ความเข้มสูง ซึ่งลักษณะบ่งชี้ของย่านความถี่ของการสั่นตั้งฉากกับระนาบนี้จะใช้บอกจำนวนหมู่แทนที่บนพันธะคู่ได้ ดังตารางที่ 2.5 และภาพที่ 2.21
- พันธะ C=C (แบบยึด) ที่ย่านความถี่ $1,620-1,680\text{ cm}^{-1}$ ความเข้มปานกลางและต่ำมาก สำหรับแอลคีนแบบทรานส์-สมมาตร และแอลคีนมีหมู่แทนที่ 4 หมู่ จะไม่ปรากฏในสเปกตรัม เช่น อินฟราเรดสเปกตรัมของโมเลกุล *cis*-2-pentene และ *trans*-2-pentene จะสังเกตว่าไม่ปรากฏ ความถี่ของพันธะ C=C (แบบยึด) ในสเปกตรัมของ *trans*-2-pentene ดังภาพที่ 2.21 ปัจจัยต่อความถี่ของพันธะ C=C (แบบยึด) ขึ้นอยู่กับระบบคอนจูเกต (conjugate) และขนาดวง

ตารางที่ 2.5 ความถี่ของการสั่นของพันธะในโมเลกุลแอลคีน

โครงสร้างแอลคีน	ความถี่ (cm^{-1})		
	พันธะ =C-H (แบบยึด)	พันธะ =C-H (แบบงอ) การสั่นตั้งฉากกับระนาบ	พันธะ C=C (แบบยึด)
	3,010-3,040 (ปานกลาง) และ 3,075-3,095 (ปานกลาง)	985-995 (สูง) และ 905-915 (สูง)	~1,645 (ปานกลาง)
	3,010-3,040 (ปานกลาง)	~690 (สูง)	~1,658 (ปานกลาง)
	3,010-3,040 (ปานกลาง)	960-970 (สูง)	~1,675 (ปานกลาง)
	3,075-3,095 (ปานกลาง)	885-895 (สูง)	~1,653 (ปานกลาง)
	3,010-3,040 (ปานกลาง)	790-840 (สูง)	~1,669 (ปานกลาง)
	ไม่ปรากฏ	ไม่ปรากฏ	~1,669 (ต่ำ)



ภาพที่ 2.21 ลักษณะบ่งชี้ของการสั่นของพันธะ =C-H (แบบงอ) ที่ย่านความถี่ 650-1,000 cm^{-1}



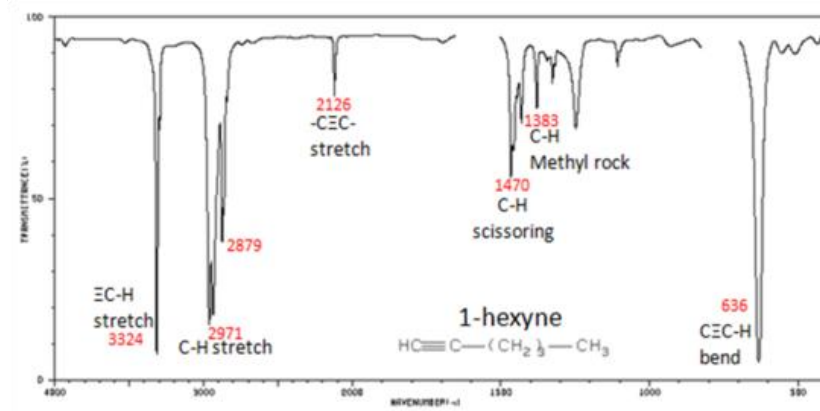
ภาพที่ 2.22 อินฟราเรดสเปกตรัม *cis*-2-pentene และ *trans*-2-pentene

3) แอลไคน์

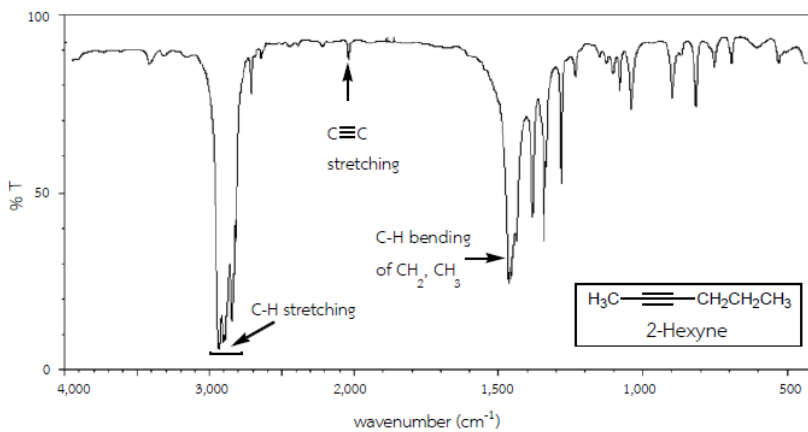
แอลไคน์เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่มีหมู่ฟังก์ชันพันธะสาม (C≡C) แอลไคน์โซ่เปิดสามารถจำแนกออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ พันธะสามตรงปลายโซ่ (terminal alkyne, ≡C-H) และพันธะสามภายในโซ่ (internal alkyne, C≡C) จึงมีการสั่นของพันธะที่สำคัญ ดังนี้

- พันธะ ≡C-H (แบบยืด) ที่ย่านความถี่ 3,333-3,627 cm^{-1} มีความเข้มสูง จะพบเฉพาะแอลไคน์ที่มีพันธะสามตรงปลายโซ่เท่านั้น เช่น 1-hexyne ดังภาพที่ 2.23 แต่ความถี่ของการสั่น ≡C-H (แบบยืด) ในย่านนี้จะใกล้เคียงกับการสั่นแบบยืดของพันธะ O-H และพันธะ N-H การพิสูจน์โครงสร้างของแอลไคน์จึงจำเป็นต้องใช้ข้อมูลอื่นประกอบด้วย

- พันธะ C≡C (แบบยืด) สามารถใช้แยกประเภทแอลไคน์ได้ กรณีโครงสร้างมีพันธะสามตรงปลายโซ่ที่ย่านความถี่ 2,100-2,150 cm^{-1} ความเข้มต่ำ (ดังภาพที่ 2.23) ส่วนกรณีโครงสร้างมีพันธะสามภายในโซ่ที่ย่านความถี่ 2,190-2,260 cm^{-1} ความเข้มต่ำ (ดังภาพที่ 2.24) แต่ถ้าพันธะสามมีระบบคอนจูเกตกับหมู่คาร์บอนิล จะทำให้ความถี่ของพันธะ C≡C (แบบยืด) เข้มมากขึ้น ข้อสังเกตคือ ความถี่ของพันธะ C≡C (แบบยืด) อาจไม่ปรากฏในแอลไคน์บางชนิดและใกล้เคียงกับย่านความถี่ของพันธะ C≡N ของสารประกอบไนไตรล์ (nitrile compound)



ภาพที่ 2.23 อินฟราเรดสเปกตรัมของ 1-hexyne



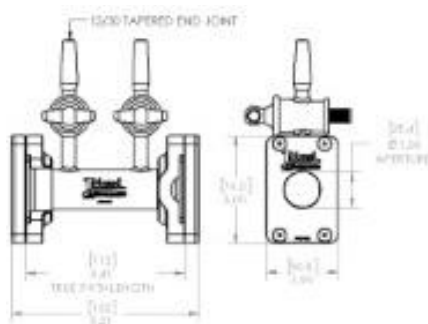
ภาพที่ 2.24 อินฟราเรดสเปกตรัมของ 2-hexyne

2.2.2 วิธีการเตรียมตัวอย่าง

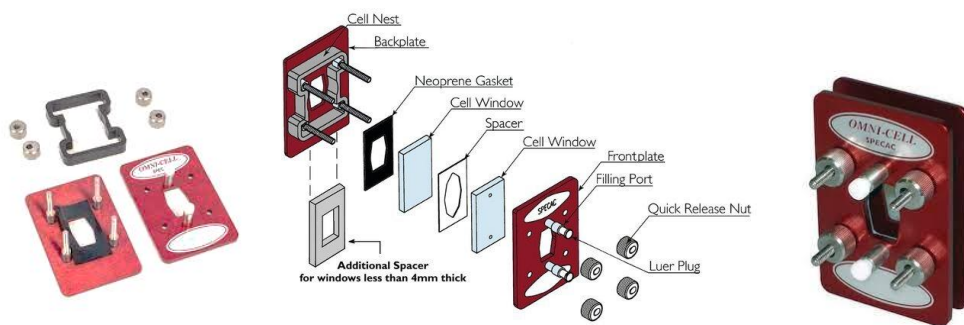
ตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันด้วยเครื่องอินฟราเรดสเปกโทรมิเตอร์นั้น สถานะอาจมีได้ทั้งแก๊ส ของเหลวและของแข็ง โดยตัวอย่างแต่ละชนิดมีวิธีการเตรียมตัวอย่างแตกต่างกัน ดังนี้

1. ตัวอย่างสถานะแก๊ส จะบรรจุตัวอย่างตรงปลายก๊อกปิดเปิด (stopcock) ของเซลล์ตัวอย่างที่มีระบบสุญญากาศ ดังภาพที่ 2.25 ตัวอย่างจะดูดกลืนรังสีอินฟราเรดผ่านหน้าต่างโซเดียมคลอไรด์ (NaCl window)

2. ตัวอย่างสถานะของเหลว ลักษณะเซลล์ตัวอย่างดังภาพที่ 2.26 กรณีตัวอย่างเป็นของเหลวนี้นัดเตรียมโดยทำเป็นฟิล์มบาง ๆ บนจาน (disc) แล้วประกบด้วยจานอีกแผ่นหนึ่ง กรณีตัวอย่างเป็นสารละลายเตรียมโดยฉีดตัวอย่างตรงช่องฉีดของเซลล์ตัวอย่าง



ภาพที่ 2.25 เซลล์บรรจุตัวอย่างสถานะแก๊ส



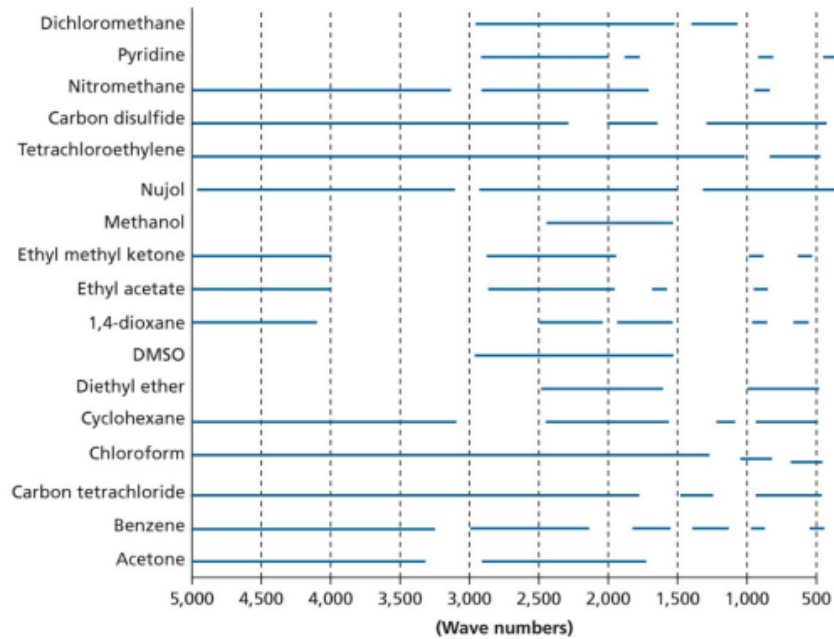
ภาพที่ 2.26 เซลล์บรรจุตัวอย่างสถานะของเหลว

จานหรือหน้าต่างสำหรับวิเคราะห์ตัวอย่างที่เป็นสารอินทรีย์ นิยมทำจากโซเดียมคลอไรด์ แต่ถ้าตัวอย่างกำจัดน้ำออกไม่หมด จะทำให้จานโซเดียมคลอไรด์ละลายได้ นอกจากนี้ ยังมีจานชนิดอื่นดังตารางที่ 2.6 การเลือกใช้ขึ้นอยู่กับช่วงสเปกตรัมการดูดกลืนของตัวอย่าง รวมทั้งสมบัติทางเคมีและการละลายของวัสดุที่ใช้ผลิตจาน กรณีต้องละลายตัวอย่างก่อนวิเคราะห์ ควรพิจารณาการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดของตัวทำละลายไม่ให้อยู่ในช่วงเดียวกับตัวอย่าง บางครั้งอาจหลีกเลี่ยงปัญหาดังกล่าวได้โดยใช้ตัวทำละลายดิวเทอเรท (deuterated solvent) ซึ่งความถี่ของการสั่นของพันธะ C-D จะน้อยกว่าความถี่ของการสั่นของพันธะ C-H

น้ำเป็นตัวทำละลายสามารถดูดซับรังสีอินฟราเรดที่ดีมาก ดังนั้นจึงไม่ค่อยใช้ในเทคนิคอินฟราเรด ภาพที่ 2.27 แผนภูมิของตัวทำละลายที่ใช้ในเทคนิค IR

ตารางที่ 2.6 สมบัติของจานหรือหน้าต่างสำหรับวิเคราะห์ตัวอย่างที่เป็นสารอินทรีย์

วัสดุ	ย่านความถี่ที่ใช้วิเคราะห์ (cm ⁻¹)	การละลาย	หมายเหตุ
โซเดียมคลอไรด์	625-40,000	ละลายในน้ำ	เช็ดออกง่าย ดูดความชื้นและเปราะแตกง่าย
แซปไฟร์ (sapphire)	1,780-20,000	-	-
ผลึกเพชร (diamond crystal)	200-1,800 และ 2,500-40,000	-	ราคาแพง มีความแข็งแรง ใช้งานไม่ต้องเตรียมเป็นแผ่น
แคลเซียมฟลูออไรด์ (CaF ₂)	1,110-70,000	ละลายในกรด	ควรหลีกเลี่ยงเกลือแอมโมเนียม
ซิลเวอร์คลอไรด์	400-25,000	-	มีความนิ่ม และไวต่อแสง
โพแทสเซียมโบรไมด์	400-40,000	ละลายในน้ำและเอทานอล	เช็ดออกง่าย ดูดความชื้นและเปราะแตกง่าย



ภาพที่ 2.27 แผนภูมิของตัวทำละลายที่ใช้ในเทคนิค IR

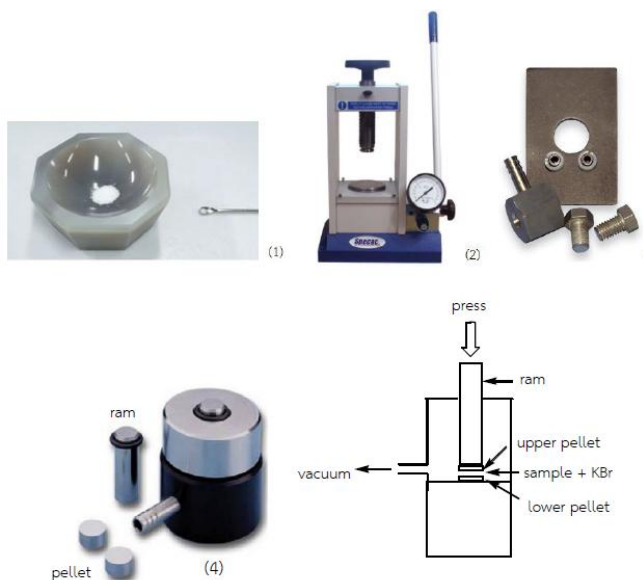
การใช้เซลล์ตัวอย่างที่มีลักษณะเป็นแผ่น ได้แก่ โซเดียมคลอไรด์และโพแทสเซียมโบรไมด์ มีข้อควรระวัง ดังนี้

1. หลีกเลี่ยงการสัมผัสกับตัวทำละลายที่สามารถละลายเซลล์ตัวอย่างได้
2. ควรเก็บไว้ใน desiccator ที่มีซิลิกาเจลดูดความชื้น

3. ควรใช้ถุงมือขณะจับเซลล์ตัวอย่าง
4. ควรใช้ผ้าเช็ดทำความสะอาดเฉพาะ เพื่อป้องกันรอยขีดข่วน
5. ต้องกำจัดน้ำในตัวอย่างออกให้หมด เพราะเซลล์ตัวอย่างจะละลายได้

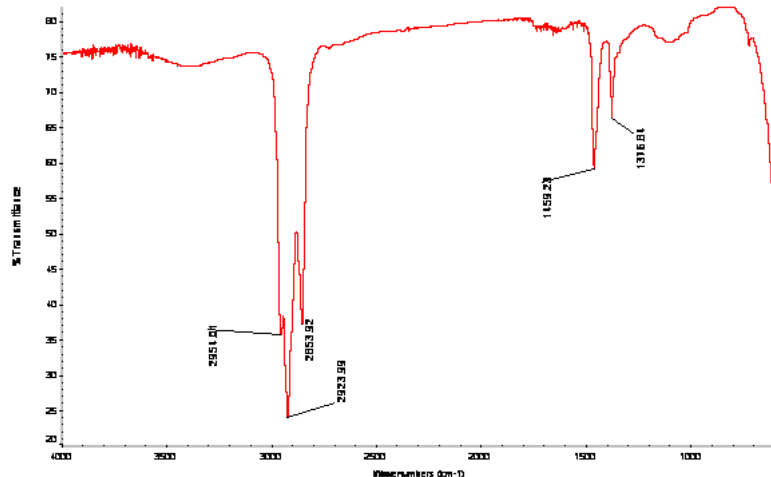
ตัวอย่างสถานะของแข็ง ของแข็งที่เตรียมเป็นสารละลายได้ จะวิเคราะห์โดยฉีดเข้าช่องของเซลล์ตัวอย่าง แต่ถ้าของแข็งไม่สามารถละลายตัวทำละลายได้ มีวิธีการเตรียมดังนี้

1. วิธีจานโพแทสเซียมโบรไมด์ (KBr disc) โดยบดตัวอย่างกับโพแทสเซียมโบรไมด์ (KBr) ที่อบไล่ความชื้นแล้ว บดผสมให้เข้ากันในโถรงที่มีพื้นผิวมันเพื่อป้องกันไม่ให้ตัวอย่างติด จากนั้นใส่ของผสมในชุดเตรียมจานโพแทสเซียมโบรไมด์ ดังภาพที่ 2.28 โดยเกลี่ยของผสมให้สม่ำเสมอ แล้วนำไปวางบนแท่นเครื่องอัดไฮดรอลิก (hydraulic press) จะได้จานโพแทสเซียมโบรไมด์มีลักษณะเป็นทรงกลมและโปร่งใส โดยเฉพาะบริเวณตรงกลางซึ่งรังสีอินฟราเรดจะส่องผ่าน เมื่อต้องการวิเคราะห์จะยึดจานโพแทสเซียมโบรไมด์ด้วยเซลล์เฉพาะดังภาพที่ 2.28



ภาพที่ 2.28 ชุดอุปกรณ์เตรียมจานโพแทสเซียมโบรไมด์

2. วิธีนุจอลมูลล์ (Nujol mull) นุจอลหรือน้ำมันพาราฟิน (paraffin oil) มีสูตรทั่วไป คือ $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$ โดยที่ $n=18-20$ วิธีนี้เตรียมโดยบดตัวอย่างในโถรงจนกระทั่งของผสมมีลักษณะเหนียวข้นรวมเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นทำเป็นฟิล์มบาง ๆ ลงบนจานสำหรับวิเคราะห์ตัวอย่าง โดยนุจอลจะดูดกลืนรังสีเฉพาะความถี่ของการสั่นของพันธะ C-H เท่านั้น ลักษณะสเปกตรัมดังภาพที่ 2.29 เนื่องจากสารอินทรีย์จะประกอบด้วยพันธะ C-H พิกการดูดกลืนของนุจอลจึงไม่มีผลต่อการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของตัวอย่าง



ภาพที่ 2.29 อินฟราเรดสเปกตรัมของนุจอล

สำหรับเครื่อง FT-IR รุ่นใหม่ถูกพัฒนาให้สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้โดยตรง ผ่านอุปกรณ์ได้แก่ ผลึกเพชร ซึ่งเหมาะกับของแข็งทั่วไปและของแข็งที่มีผิวไม่เรียบ และต้องทนต่อแรงกดได้ และผลึกเจอร์มาเนียม (germanium crystal) เหมาะกับตัวอย่างที่ค่อนข้างนิ่ม เช่น ฟิล์มและยาง เป็นต้น ข้อดีของการวิเคราะห์ตัวอย่างโดยตรง คือ เช็ดทำความสะอาดง่ายด้วยแอลกอฮอล์และกระดาษชำระ

2.2.3 การประยุกต์ใช้เทคนิค FT-IR ในด้านอาหารและเครื่องสำอาง

เทคนิค Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) เป็นเทคนิควิเคราะห์ที่ใช้ตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของตัวอย่างโดยการวัดการดูดกลืนรังสีอินฟราเรด เทคนิคนี้มีข้อดีหลายประการ เช่น ไม่ต้องเตรียมตัวอย่างซับซ้อน รวดเร็ว และสามารถใช้ได้ทั้งในของแข็ง ของเหลว และแก๊ส ในปัจจุบัน FT-IR ถูกนำมาใช้ในการตรวจสอบคุณภาพและความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องสำอางอย่างแพร่หลาย

1) การประยุกต์ใช้ FT-IR ในอุตสาหกรรมอาหาร ตัวอย่างงานวิจัย

1.1) การตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของอาหาร FT-IR สามารถใช้วิเคราะห์ปริมาณไขมัน โปรตีน และคาร์โบไฮเดรตในอาหาร เช่น การตรวจสอบองค์ประกอบของนมและผลิตภัณฑ์นม (Baldassarre et al., 2016)

1.2) การตรวจจับการปนเปื้อนและของปลอมในอาหาร เทคนิคนี้สามารถใช้ตรวจจับการปนเปื้อนของสารต้องห้าม เช่น เมลามีนในนม (Zhang et al., 2018) และการปลอมปนของน้ำมันพืช (Guillén & Cabo, 2002)

1.3) การตรวจสอบความสดและอายุการเก็บรักษา FT-IR ถูกใช้ในการตรวจสอบการเสื่อมสภาพของไขมันและน้ำมันในผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น น้ำมันมะกอกและน้ำมันปลา (Reid et al., 2006)

2) การประยุกต์ใช้ FT-IR ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง ตัวอย่างงานวิจัย

2.1) การตรวจสอบส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง สามารถใช้ FT-IR ในการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารออกฤทธิ์ เช่น กรดไฮยาลูโรนิกในผลิตภัณฑ์บำรุงผิว (Silva et al., 2019)

2.2) การตรวจสอบความเข้ากันได้ของสารผสม เทคนิคนี้สามารถใช้ในการศึกษาการเข้ากันได้ของสารออกฤทธิ์และสารช่วยในสูตรเครื่องสำอาง เช่น การศึกษาความเข้ากันได้ของสารลดแรงตึงผิว (อิมัลซิไฟเออร์) ในครีม (Schneider et al., 2017)

2.3) การตรวจสอบความเสถียรของผลิตภัณฑ์ FT-IR สามารถช่วยตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงทางเคมีที่อาจเกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางระหว่างการเก็บรักษา เช่น การเกิดออกซิเดชันของน้ำมันหอมระเหย (Noureddini et al., 2018)

ยกตัวอย่างงานวิจัย Silva et al. (2019) เรื่อง characterization of cosmetic formulations using FT-IR งานวิจัยดังกล่าวมุ่งเน้นไปที่การใช้เทคนิค FT-IR spectroscopy เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบและสมบัติของสูตรเครื่องสำอาง โดยมีสาระสำคัญดังนี้

1. FT-IR ช่วยตรวจสอบส่วนประกอบของเครื่องสำอาง
 - นักวิจัยใช้ FT-IR เพื่อระบุชนิดของสารออกฤทธิ์และสารเติมแต่งที่อยู่ในสูตรเครื่องสำอาง เช่น ครีม โลชั่น และเซรัม
 - ตัวอย่างที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ กรดไฮยาลูโรนิก (hyaluronic acid) และ สารให้ความชุ่มชื้น ที่นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์บำรุงผิว
2. FT-IR ตรวจสอบความเข้ากันได้ของสารในสูตร
 - เทคนิคนี้สามารถตรวจจับการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของสารต่าง ๆ ที่ถูกผสมกันในเครื่องสำอาง
 - ถ้าสารบางตัวไม่เข้ากัน จะเกิดการเปลี่ยนแปลงของสเปกตรัม ซึ่งช่วยให้สามารถปรับปรุงสูตรให้เสถียรขึ้น
3. FT-IR ใช้วิเคราะห์ความเสถียรของผลิตภัณฑ์
 - งานวิจัยใช้ FT-IR เพื่อติดตามว่าสูตรเครื่องสำอางมีการเปลี่ยนแปลงเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลานานหรือไม่
 - ตัวอย่างเช่น ถ้ามีการเสื่อมสภาพของน้ำมันหรือสารออกฤทธิ์ จะเห็นการเปลี่ยนแปลงของค่าพีคในสเปกตรัมอินฟราเรด

สรุปได้ว่า FT-IR เป็นเครื่องมือที่มีประโยชน์มากในการตรวจสอบสูตรเครื่องสำอาง สามารถใช้ระบุสารออกฤทธิ์ ตรวจสอบว่าสารแต่ละตัวเข้ากันได้หรือไม่ และช่วยวิเคราะห์ว่าเครื่องสำอางมีความเสถียรหรือไม่เมื่อเก็บไว้เป็นระยะเวลาานาน งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่า FT-IR เป็นเครื่องมือสำคัญที่ช่วยให้การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางมีคุณภาพและมีประสิทธิภาพมากขึ้น

2.2.4 ปฏิบัติการวัดสารตัวอย่างด้วยเทคนิค FT-IR

- 1) ปฏิบัติการเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FT-IR
- 2) ปฏิบัติการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันสารอินทรีย์จากอินฟราเรดสเปกตรัม
- 3) ปฏิบัติการวิเคราะห์สารตัวอย่างด้วยเครื่อง FT-IR (คู่มือปฏิบัติการ)

สรุปท้ายบทเรียน

การแปลผลอินฟราเรดสเปกตรัม (FT-IR) เป็นกระบวนการวิเคราะห์การดูดกลืนรังสีอินฟราเรดของโมเลกุล โดยสเปกตรัมที่ได้จะแสดง พีกการดูดกลืน (absorption peaks) ซึ่งเกิดจากการสั่นของพันธะเคมีในย่านความยาวคลื่น $4,000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$ หมู่ฟังก์ชัน (functional group region, $4,000\text{--}1,500\text{ cm}^{-1}$) ใช้ระบุหมู่ฟังก์ชันของสาร เช่น หมู่ไฮดรอกซิล (O-H) $\sim 3,400\text{ cm}^{-1}$ หมู่คาร์บอนิล (C=O) $\sim 1,700\text{ cm}^{-1}$ หมู่เอมีน (N-H) $\sim 3,200\text{--}3,400\text{ cm}^{-1}$ และ fingerprint region ($1,500\text{--}400\text{ cm}^{-1}$) เป็นบริเวณที่ให้ลักษณะเฉพาะของโมเลกุล ซึ่งสามารถใช้เปรียบเทียบกับฐานข้อมูลเพื่อระบุสาร การแปลผลสามารถทำได้โดยการเปรียบเทียบตำแหน่งและความเข้มของพีกกับฐานข้อมูลมาตรฐานหรือการใช้ซอฟต์แวร์วิเคราะห์ ทำให้ FT-IR เป็นเทคนิคสำคัญในการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีและคุณภาพของสารอย่างรวดเร็วและแม่นยำ

การเตรียมตัวอย่างสำหรับ FT-IR ขึ้นอยู่กับสถานะของตัวอย่าง ตัวอย่างของแข็ง มีวิธีการเตรียมที่นิยม เช่น KBr pellet method คือผสมตัวอย่างกับ KBr บดให้ละเอียด แล้วอัดเป็นแผ่นบางก่อนนำไปวิเคราะห์ หรือ mull method เป็นการผสมตัวอย่างกับน้ำมันแร่ เช่น nujol แล้วหยดบนแผ่นเกลือ NaCl หรือ KBr ตัวอย่างของเหลวทำได้โดยหยดตัวอย่างลงบนแผ่นเกลือ NaCl หรือ KBr แล้วนำไปวิเคราะห์ และตัวอย่างที่เป็นแก๊ส จะบรรจุตัวอย่างแก๊สลงในเซลล์แก๊สที่มีหน้าต่างโปร่งแสงต่ออินฟราเรด เช่น KBr หรือ CaF_2

วิธีการสอนและกิจกรรม

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ใบกิจกรรม

สื่อการสอนและอุปกรณ์การสอน

1. หนังสือ/ตำรา
2. เอกสารประกอบการสอน
3. เอกสาร power point
4. <https://kpu.pressbooks.pub/organicchemistry/chapter/6-2-infrared-ir-spectroscopy>
5. <https://agora.cs.wcu.edu/~huffman/lectures/FT-IR.html>
6. https://youtu.be/WkaAvJ-OPDA?si=oQWuoUv53EW0_J3S

7. <https://www.chem.ucalgary.ca/courses/350/Carey5th/Ch13/ch13-ir-4-fg.html>
8. <https://www2.chemistry.msu.edu/faculty/reusch/virttxtjml/spectrpy/infrared/infrared.htm>

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. เย็นหทัย แน่นหนา. (2549). *สเปกโทรสโกปีสำหรับเคมีอินทรีย์*. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
3. นิพนธ์ ตังคณานุรักษ์ และคณิตา ตังคณานุรักษ์. (2547). *สเปกโทรสโกปีด้านการวิเคราะห์*. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
4. Averill, B. A. (2012). *Principles of General Chemistry*.
<https://2012books.lardbucket.org/books/principles-of-general-chemistry-v1.0m/index.html>
5. Christian, G. D., Dasgupta, P.K., & Schug, K.A. (2014). *Analytical Chemistry* (7th ed.). John Wiley & Sons.
6. Hant, I. (n.d.). *Chapter 13: Spectroscopy*.
<https://www.chem.ucalgary.ca/courses/350/Carey5th/Ch13/ch13-ir-4-fg.html>
7. Harris, D. C. (2010). *Quantitative Chemical Analysis* (8th ed.). W. H. Freeman and Company.
8. Harvey, D. (2019). *Analytical Chemistry 2.1*. <https://chem.libretexts.org/>

9. Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S., & Vyvyan, J. R. (2009). *Introduction to Spectroscopy* (4th ed.). Brooks/Cole Publishing
10. Robinson, J. W., Frame, E. M. S, & Frame G. M. (2021). *Instrumental Analytical Chemistry*. CRC Press

หน่วยที่ 3 วิธีสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนและเปล่งออก

บทเรียน 3.1 สเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนระดับอะตอม

จุดประสงค์การสอน

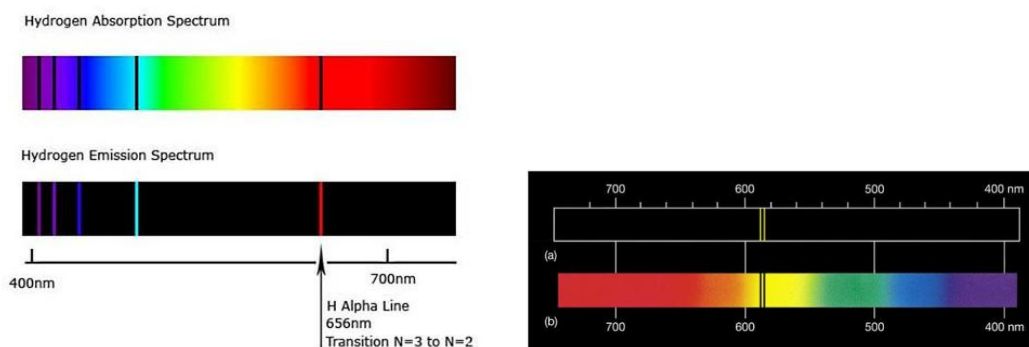
1. อธิบายการดูดกลืนระดับอะตอม
2. บอกหลักการและส่วนประกอบของเครื่อง AAS
3. อธิบายการทำปริมาณวิเคราะห์และการตรวจความใช้ได้
4. ปฏิบัติการวัดปริมาณโลหะตกค้างในตัวอย่างอาหารหรือเครื่องสำอาง

3.1.1 การดูดกลืนระดับอะตอม

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

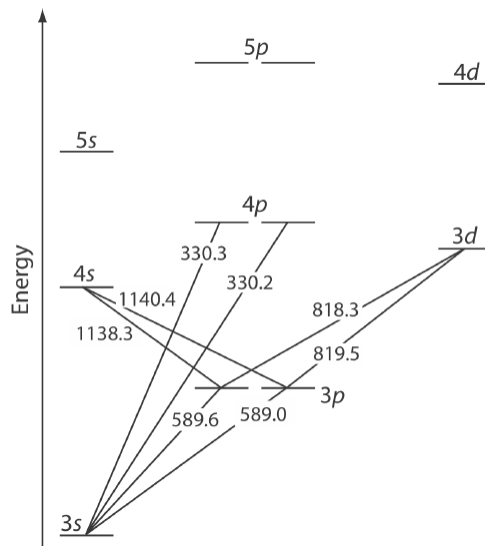
1) สเปกตรัมดูดกลืน (absorption spectrum) เกิดขึ้นเมื่ออะตอมในสถานะพื้นดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่นเฉพาะ ทำให้เกิดเส้นดูดกลืนในสเปกตรัมต่อเนื่อง (continuous spectrum)

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



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

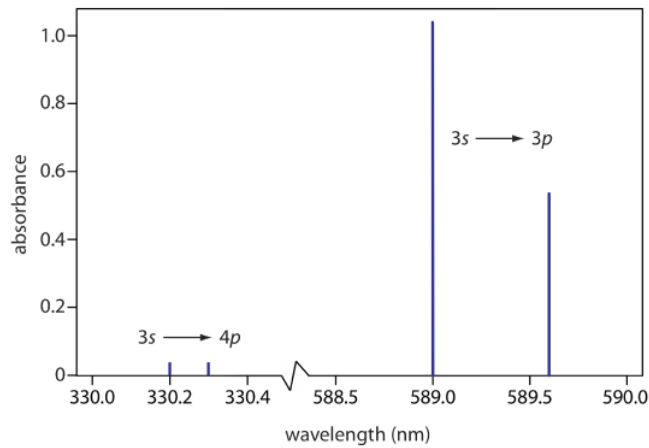
ตัวอย่างอะตอมโซเดียม (Na) มีเวเลนซ์อิเล็กตรอนในออร์บิทัล-3s 1 อิเล็กตรอน แผนภาพระดับพลังงานแสดงดังภาพที่ 3.2 การดูดกลืนโฟตอนเกิดขึ้นจากการกระตุ้นของอิเล็กตรอนจากวงโคจรของอะตอมที่มีพลังงานต่ำกว่าไปยังวงโคจรที่มีพลังงานสูงกว่า โดย Na มีการเปลี่ยนระดับพลังงานที่อนุญาตให้เปลี่ยนจากออร์บิทัล-3s ไป 3p ได้ 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 และปริมาณแสงที่ถูกดูดกลืนนี้สามารถใช้คำนวณหาความเข้มข้นของธาตุที่สนใจในตัวอย่งได้

หลักการดูดกลืนแสงของอะตอมอิสระ สรุปได้ดังนี้

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

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

จากกระบวนการที่สารประกอบแตกตัวเป็นอะตอมแล้วกลายเป็นไอ หรือเกิดการกระตุ้นหรือแม้แต่เกิดแตกตัวเป็นไอออนด้วยพลังงานความร้อน เมื่ออยู่ภายใต้สภาวะของ สมดุลความร้อน (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}

ความสัมพันธ์ของแอมพลิจูดแบบกับความเข้มข้นของสารตัวอย่าง สรุปได้ว่า Total absorption ขึ้นอยู่กับจำนวนอะตอมที่สถานะพื้น โดยไม่ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและพลังงาน ΔE แต่จะเห็นว่าจำนวนอะตอมทั้งหมดเท่ากับ $N_0 + N_j$ แต่ N_j มีค่าน้อยมากเมื่อเทียบกับ N_0 ดังนั้น

N_0 แปรผันตรงจำนวนอะตอมทั้งหมด

N_0 แปรผันตรงปริมาณของธาตุที่ต้องการหาในสารละลาย

N_0 แปรผันตรงความเข้มข้นของสารละลาย

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

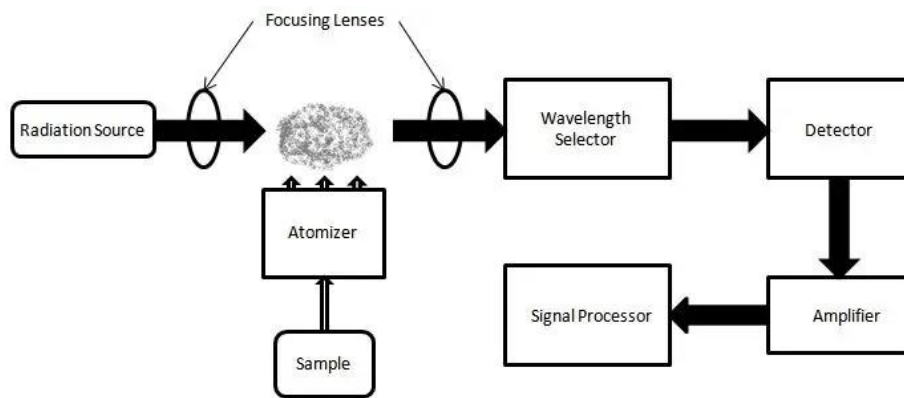
เมื่อเขียนกราฟระหว่าง $\log P_0/P_j$ หรือแอมพลิจูดแบบ กับ N_0 หรือความเข้มข้นของสารละลาย จะได้เส้นตรง แต่ในหลาย ๆ กรณีจะได้กราฟเป็นเส้นโค้ง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก stay light, line broadening (Doppler broadening เกี่ยวกับการเคลื่อนที่ของอะตอมในเปลวไฟ และ

Lorentz broadening เกี่ยวกับการชนกันระหว่างโมเลกุลหรืออะตอม) ความไม่สม่ำเสมอหรือคองที่ของอุณหภูมิและโครงสร้างของเปลวไฟ 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)

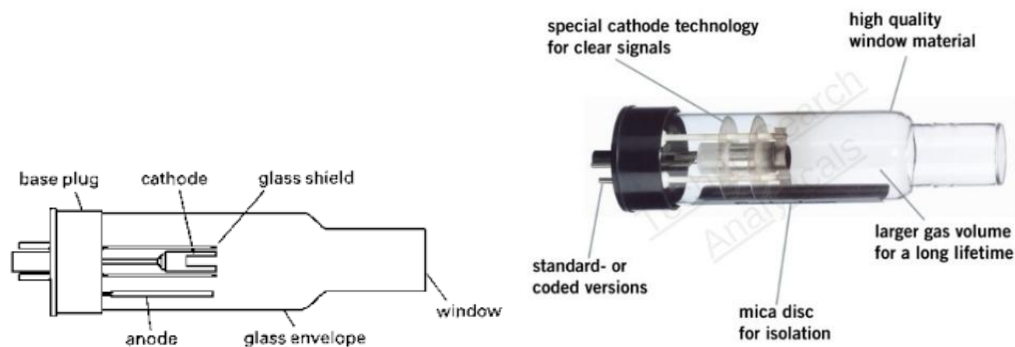


ภาพที่ 3.4 องค์ประกอบที่สำคัญของเครื่อง AAS

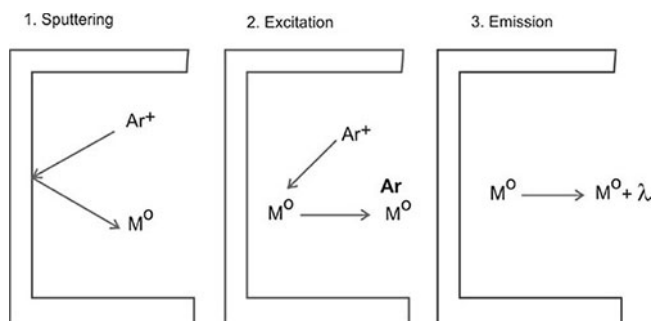
2.1) แหล่งกำเนิดแสง

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



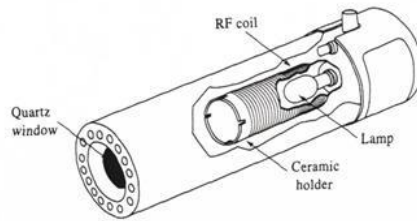
ภาพที่ 3.6 ขั้นตอนการปล่อยรังสีของหลอดฮอลโลว์แคโทด

ประเภทของหลอด HCL แบ่งออกเป็น หลอด HCL ธาตุเดี่ยว (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	ราคาถูกลงกว่า ใช้งานง่าย	สัญญาณแรง ความไวสูงกว่า
ข้อเสีย	ต้องเปลี่ยนหลอดตามธาตุ	แพงกว่า ต้องใช้แหล่งพลังงานอื่นกระตุ้น

2.2) ส่วนที่ทำให้ธาตุกลายเป็นอะตอมอิสระ

ในการวิเคราะห์ด้วย AAS อะตอมของธาตุในตัวอย่างไม่ได้อยู่ในรูปของอะตอมอิสระ (free atoms) ซึ่งสามารถดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่นจำเพาะได้ กระบวนการเปลี่ยนธาตุจากสารประกอบไปเป็นอะตอมอิสระเรียกว่า อะตอมไมเซชัน (atomization)

อะตอมไมเซอร์ (atomizer) เป็นอุปกรณ์สำคัญในเทคนิค AAS ทำหน้าที่แปลงสารละลายตัวอย่างให้เป็นอะตอมอิสระเพื่อให้สามารถดูดกลืนแสงได้อย่างมีประสิทธิภาพ อะตอมไมเซอร์สามารถแบ่งเป็นประเภทหลัก 2 ประเภท ได้แก่ อะตอมไมเซอร์แบบเปลวไฟ (flame atomizer) และอะตอมไมเซอร์แบบไร้เปลวไฟ (non-flame atomizer) หรืออเล็กโตรเทอร์มอล (electrothermal atomizer)

1) อะตอมไมเซอร์แบบเปลวไฟ (flame) เรียกเทคนิค FAAS

2) อะตอมไมเซอร์แบบไร้เปลวไฟ แบ่งออกดังนี้

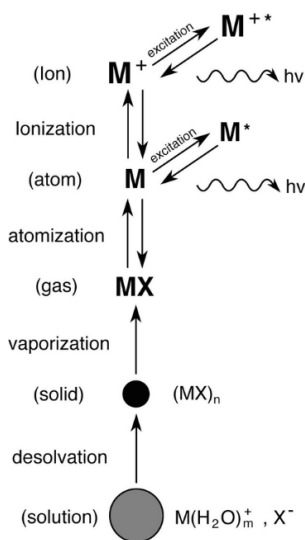
- พลังงานความร้อนจากกระแสไฟฟ้า (electrothermal/graphite furnace) เรียกเทคนิค GF-AAS

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

2.2.1) อะตอมมิเซอร์แบบเปลวไฟ

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

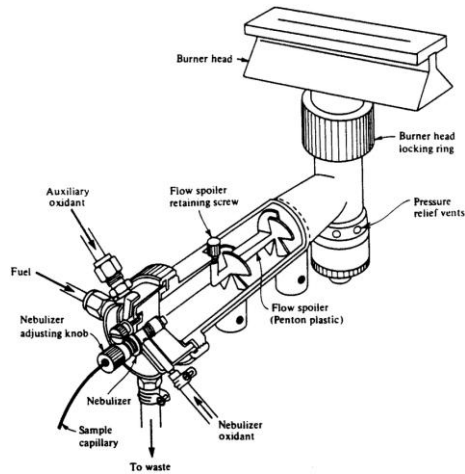
- 1) การกำจัดตัวทำละลาย (de-solvation) เป็นกระบวนการที่ตัวทำละลายที่อยู่ใน mist หรือ aerosol ถูกกำจัดออกไปทำให้เป็นอนุภาคเล็ก ๆ ของสารประกอบ (solid particles)
- 2) การกลายเป็นไอ (vaporization) อนุภาคของแข็งเปลี่ยนสถานะเป็นไอ
- 3) การแตกตัวเป็นอะตอมอิสระ (atomization) เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นในเปลวไฟ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



ภาพที่ 3.8 ขั้นตอนอะตอมมิเซชันด้วยความร้อนจากเปลวไฟ

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

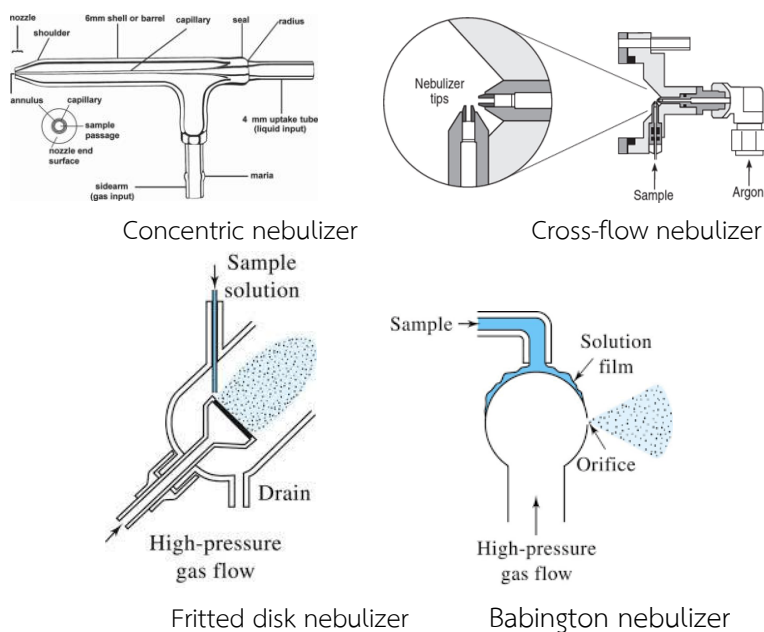
ตารางที่ 3.3 ชนิดของเชื้อเพลิงและออกซิแดนซ์

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



ภาพที่ 3.10 ประเภทของเนบิวไลเซอร์

2.2.2) อะตอมิเซอร์แบบไร้เปลวไฟ

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

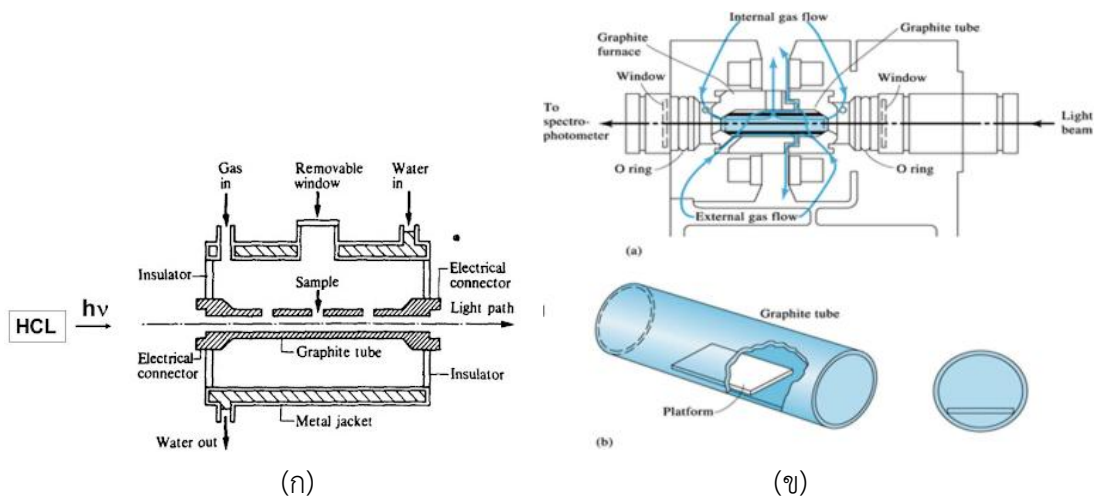
1. แกรไฟต์เฟอร์เนตอะตอมไมเซอร์ (graphite furnace atomizer) ซึ่งใช้หลอดแกรไฟต์ในการทำให้เกิดอะตอมอิสระ จึงเรียกเทคนิค แกรไฟต์เฟอร์เนตอะตอมไมเซอร์บนสเปกโทรสโกปี (GF-AAS) ขั้นตอนทำให้เกิด atomization แบ่งเป็น 3 ขั้นตอน ได้แก่

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

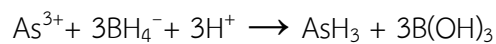
Stage	Temp (°C) copper/zinc	Time(s) copper/zinc	Ramp ^b /Step ^c copper/zinc	Gas(l/min) copper/zinc
Drying	150/150	30/30	Ramp	1.5
Ashing	500/300	20/20	Step	1.5
Atomizing	2300/1300	4/3	Step	0
Cleaning	2700/2700	3/3	Step	1.5
Cooling	0/0	40/40	Step	1.5

^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 (NaBH₄) ในสารละลายกรด (เช่น HCl) เพื่อเปลี่ยนโลหะที่ต้องการวิเคราะห์ให้อยู่ในรูปของไฮไดรด์ ตัวอย่างของปฏิกิริยาของสารหนู (As) ดังสมการ

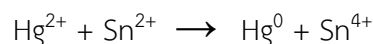


สารประกอบไฮไดรด์ที่เกิดขึ้นถูกพาเข้าสู่เซลล์บรรจุตัวอย่างโดยแก๊สเฉื่อย เช่น ไนโตรเจน (N₂) หรืออาร์กอน (Ar) จะนำพาไฮไดรด์เข้าสู่ท่อควอตซ์ (quartz cell) ที่ทำหน้าที่เป็นเซลล์บรรจุตัวอย่างที่ให้ความร้อนสูง (~900°C) สารประกอบไฮไดรด์จะแตกตัวและปล่อยอะตอมอิสระออกมาพร้อมสำหรับการวิเคราะห์ด้วย AAS เรียกเทคนิคดังกล่าวนี้ว่า HG-AAS

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

ส่วนข้อจำกัด คือ ใช้ได้เฉพาะกับโลหะที่สามารถเกิดเป็นไฮไดรด์ได้เท่านั้น และต้องใช้สารรีดิวซ์และสารละลายกรด ซึ่งอาจมีข้อจำกัดด้านความปลอดภัย

3. โคลด์เวเปอร์ (cold vapor generation, CVG) เป็นเทคนิคในกลุ่มอะตอมไม่เซอร์แบบไร้เปลวไฟที่ใช้การทำให้เกิดเป็นไอ (vapor generation) เพื่อเปลี่ยนตัวอย่างให้เป็นไอ สำหรับการวิเคราะห์ปรอท (Hg) โดยเฉพาะ เนื่องจากปรอทมีสมบัติในการระเหยเป็นไอได้ง่ายที่อุณหภูมิห้อง และสามารถอยู่ในรูปของอะตอมเดี่ยวโดยไม่ต้องใช้ความร้อนจากเปลวไฟหรือเตาไฟฟ้า หลักการทำงานของ cold vapor generation คือการรีดิวซ์ปรอทด้วยสารรีดิวซ์ เช่น ดีบุกคลอไรด์ (SnCl₂) ในสารละลายกรด (เช่น HCl) เพื่อรีดิวซ์ Hg²⁺ ให้กลายเป็นปรอทโลหะ (Hg⁰) ตามสมการ



ไอปรอท (Hg⁰) ถูกพาเข้าสู่เซลล์บรรจุตัวอย่างทำด้วยควอตซ์ (quartz cell) ด้วยแก๊สเฉื่อย เช่น ไนโตรเจน (N₂) หรืออาร์กอน (Ar) ไม่จำเป็นต้องให้ความร้อนเพิ่มเติม เพราะปรอทสามารถระเหยและอยู่ในสถานะอะตอมอิสระได้เอง การตรวจวัดสัญญาณของอะตอมปรอทดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 253.7 nm และค่าการดูดกลืนแสงจะถูกนำไปใช้คำนวณหาความเข้มข้นของปรอท เรียกเทคนิคนี้ว่า CV-AAS

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

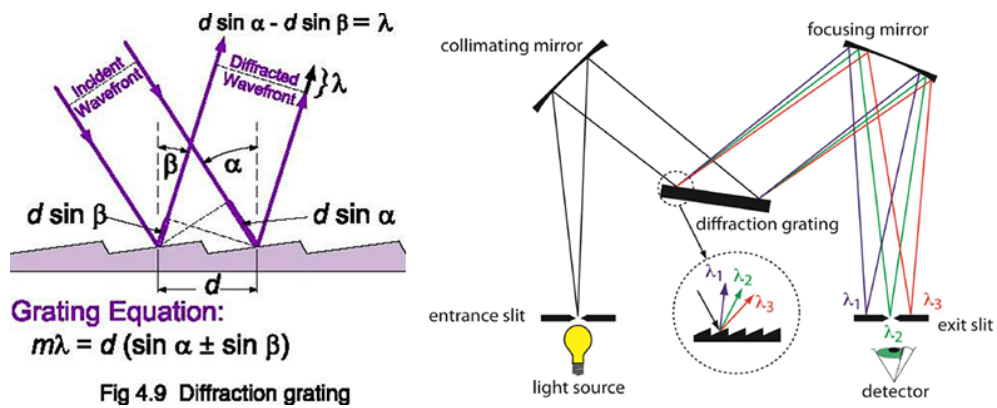
ส่วนข้อจำกัดคือใช้ได้เฉพาะกับปรอท (Hg) เท่านั้น ไม่สามารถใช้กับธาตุอื่นได้ ต้องใช้สารรีดิวซ์ที่เหมาะสม อาจก่อให้เกิดสัญญาณรบกวนจากสิ่งเจือปน มีความเสี่ยงจากการปนเปื้อน ปรอทเป็นสารพิษ ต้องมีมาตรการความปลอดภัยในการใช้งาน

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

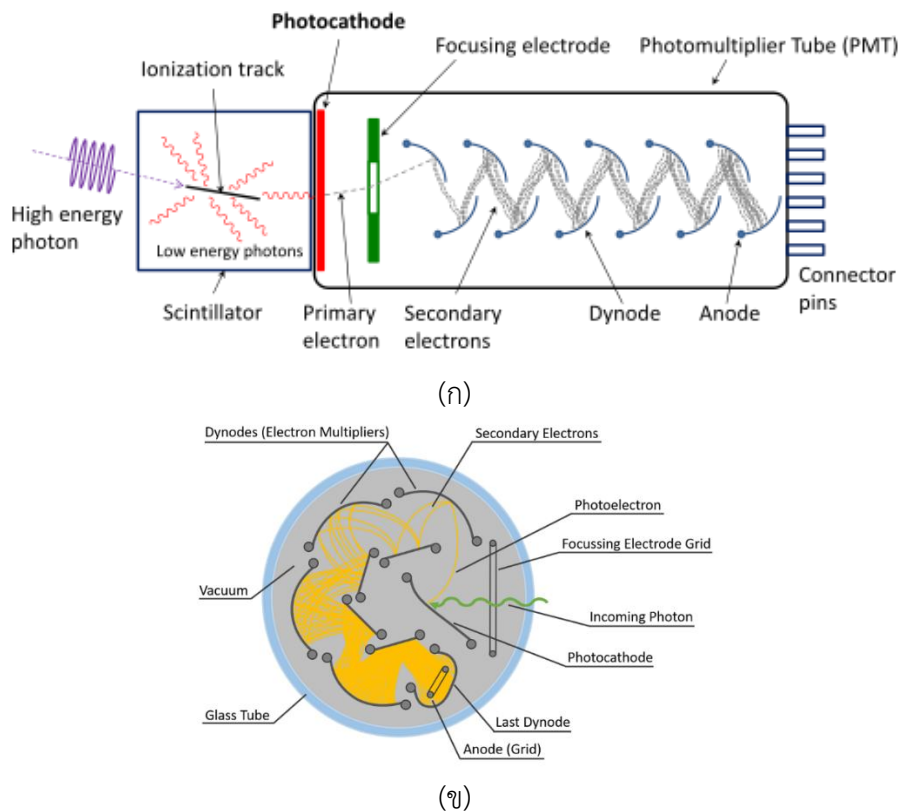
2) โมโนโครมาเตอร์แบบเกรตติง (diffraction grating monochromator) ใช้หลักการเลี้ยวเบนของแสงที่ตกกระทบกับเกรตติง (optical grating) ซึ่งเป็นแผ่นที่มีร่องเล็ก ๆ จำนวนมาก ร่องเหล่านี้ทำให้แสงเกิดการเลี้ยวเบนและแยกออกเป็นสเปกตรัมของแสงที่มีความยาวคลื่นต่างกัน ความยาวคลื่นที่ต้องการจะถูกเลือกโดยปรับมุมของเกรตติง



ภาพที่ 3.12 โมโนโครมาเตอร์แบบเกรตติง (echelle grating)

2.4) ตัวตรวจวัด

ตัวตรวจวัด (detector) ทำหน้าที่วัดความเข้มแสงที่ผ่านออกมาจากตัวแยกแสง ปัจจุบันนิยมใช้หลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ (photomultiplier tubes, PMT) ซึ่งเป็นหลอดสุญญากาศ ภายในบรรจุด้วยไอออนและแอนโนด หลอดโฟโตมัลติพลายเออร์จะเปลี่ยนแสงให้กลายเป็นสัญญาณทางไฟฟ้า ซึ่งเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มแสงที่ตกกระทบแคโทดในหลอดโฟโตมัลติพลายเออร์



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 แต่มักรวมถึงสัญญาณต่าง 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 เนื่องจากเกิดไอออนเซชัน ทำได้โดยการเติมสารละลายที่ประกอบด้วยธาตุที่ไอออนง่าย 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) วิธีนี้ดำเนินการโดยการเติมสารมาตรฐานที่มีความเข้มข้นทราบแน่ชัดลงไปในตัวอย่างเป็นปริมาณเล็กน้อย (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 ไม่มีวิธีไหนเลยที่จัดว่าดีที่สุดดังนั้นห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ต้องเลือกให้เหมาะสมกับความต้องการ โดยคำนึงถึงองค์ประกอบหลาย ๆ อย่าง เช่น ความรวดเร็วของการวิเคราะห์ ความยากง่าย ความเข้มข้น สมบัติทางเคมีและทางกายภาพของสารที่จะวิเคราะห์ ตลอดจนทั้งเครื่องมือและอุปกรณ์ต่าง ๆ ที่สามารถอำนวยความสะดวกให้แก่เทคนิคมีหลักการทั่วไป ดังนี้

4.1) Flame AAS เป็นเทคนิคที่ใช้เปลวไฟในการทำให้สารอยู่ในรูปอะตอม (atomization) ซึ่งได้รับความนิยมอย่างแพร่หลาย ตัวอย่างที่เหมาะสมควรอยู่ในรูปของสารละลายหรือของเหลว โดยไม่ควรมีของแข็งละลายเกิน 5% และสามารถสลายตัวได้ดีด้วยความร้อน ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้ควรมีน้อย 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 โดยต้องปราศจากสิ่งรบกวนทางเคมีและมีความเข้มข้นที่เหมาะสม จุดเด่นของเทคนิคนี้คือมีความไวสูงสำหรับธาตุที่สามารถวิเคราะห์ได้ แม้ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างจะต้องใช้ความชำนาญ แต่กระบวนการวิเคราะห์สามารถดำเนินการได้ค่อนข้างง่าย ค่าใช้จ่ายขึ้นอยู่กับชนิดของสารเคมีและระยะเวลาในการวิเคราะห์

3.1.4 ปฏิบัติการปริมาณโลหะตกค้างในตัวอย่างอาหารหรือเครื่องสำอาง

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

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. เอกสาร power point
4. <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. แม่น 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

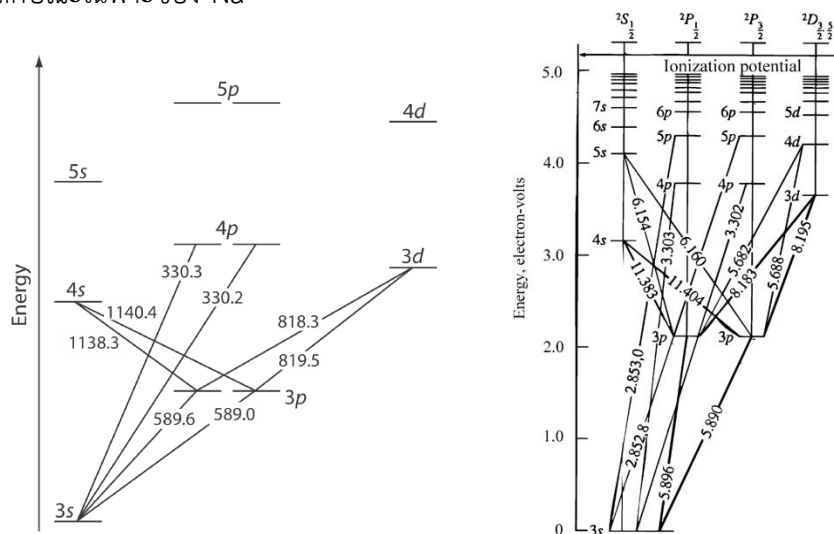
บทเรียน 3.2 สเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออกระดับอะตอม

จุดประสงค์การสอน

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

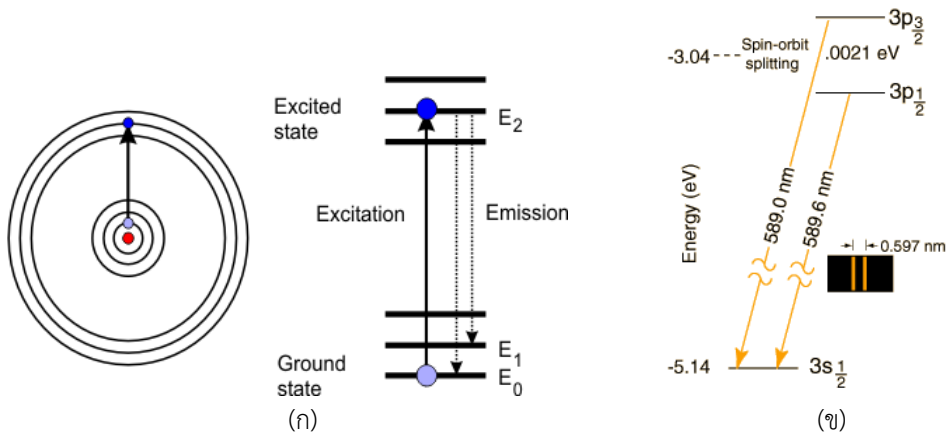
3.2.1 การเปล่งออกระดับอะตอม

การเปล่งออกระดับของอะตอม (atomic emission) เกิดขึ้นเมื่ออิเล็กตรอนในออร์บิทัลที่มีพลังงานสูงกว่ากลับสู่สถานะพลังงานที่ต่ำกว่า 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



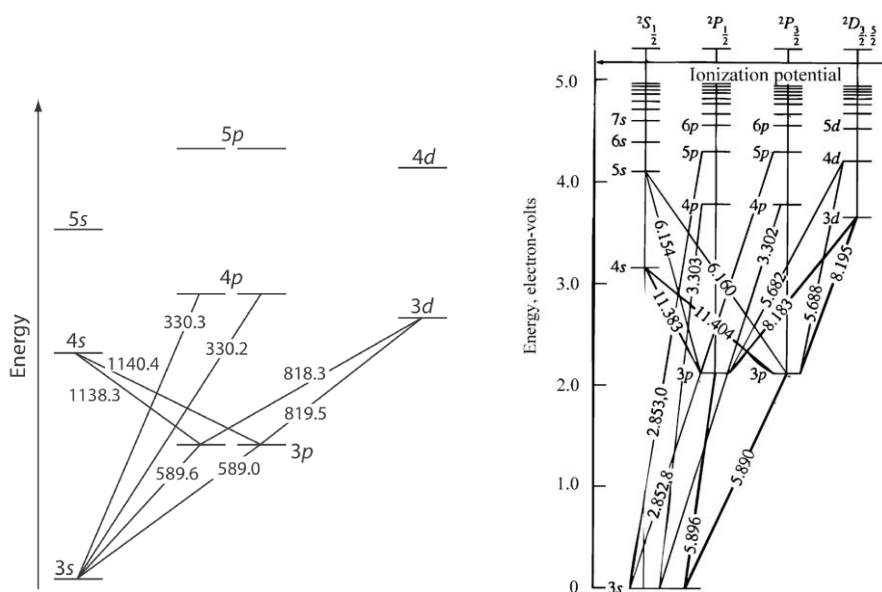
ภาพที่ 3.14 แผนภาพพลังงานของอะตอม Na

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

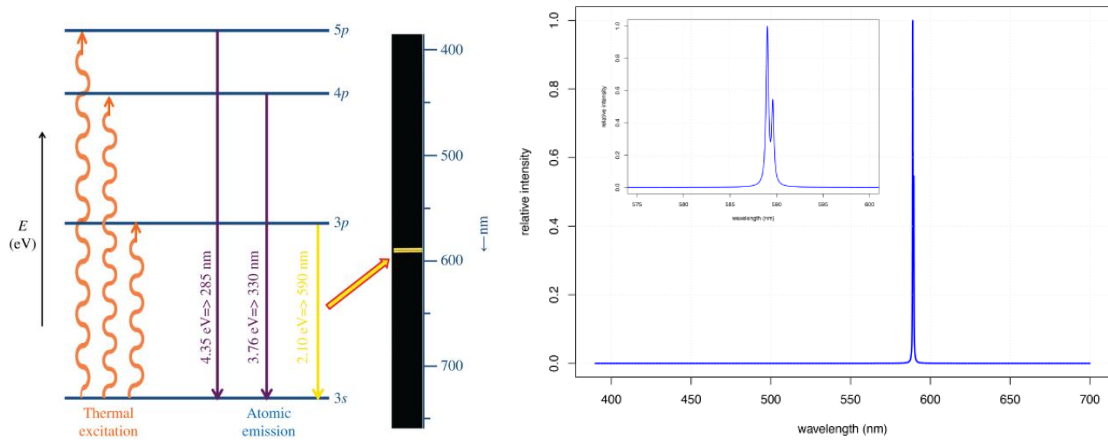


ภาพที่ 3.15 แผนภาพการเปล่งออกของอะตอม Na

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

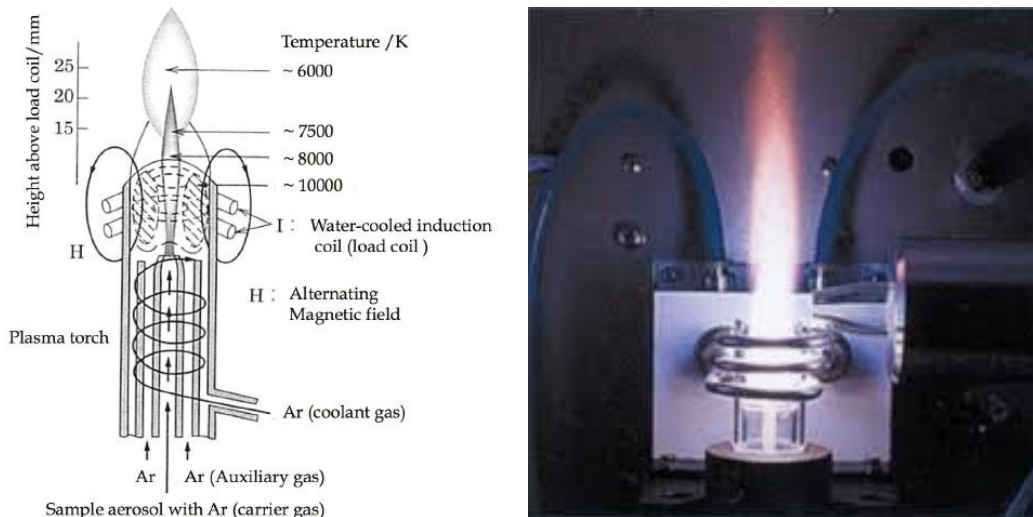


ภาพที่ 3.17 สเปกตรัมเปล่งออกของอะตอม Na (ที่อุณหภูมิ 3000 K)

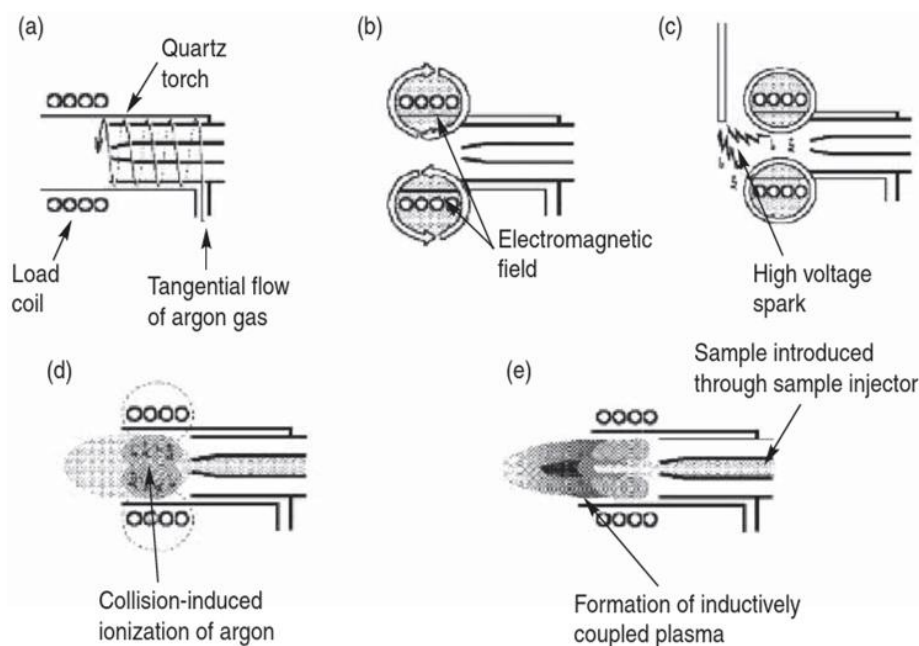
3.2.2 ส่วนประกอบของเครื่อง ICP-OES

1) การผลิตพลาสมา (plasma discharge)

เครื่องอินดักทีฟคัปเปิลพลาสมาออปติคอลลีมิสชันสเปกโทรมิเตอร์ (inductively coupled plasma-optical emission spectrometer, ICP-OES) เป็นเทคนิคที่ใช้พลาสมาที่ผลิตโดยไม่ต้องมีขั้วไฟฟ้า เครื่อง ICP spectrometer มีการผลิตขึ้นมาใช้เมื่อปี ค.ศ. 1975 โดยมีหลักการคือ การปล่อยแก๊สอาร์กอนผ่านเข้าไปในคอบ (torch) ซึ่งประกอบด้วยหลอดทรงกระบอกที่ทำด้วยแก้วควอตซ์ (quartz tube) ซ้อนกัน 3 ชั้น ปลายคอบด้านบนมีท่อกลวงทำด้วยขดลวดเหนี่ยวนำ (induction coil) ทำด้วยทองแดงล้อมรอบ เรียกว่า load coil ซึ่งต่อเข้ากับเครื่องกำเนิดความถี่ช่วงคลื่นวิทยุ (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 การเกิดพลาสมาี้เรียกว่า inductively couple plasma discharge (ICP discharge)

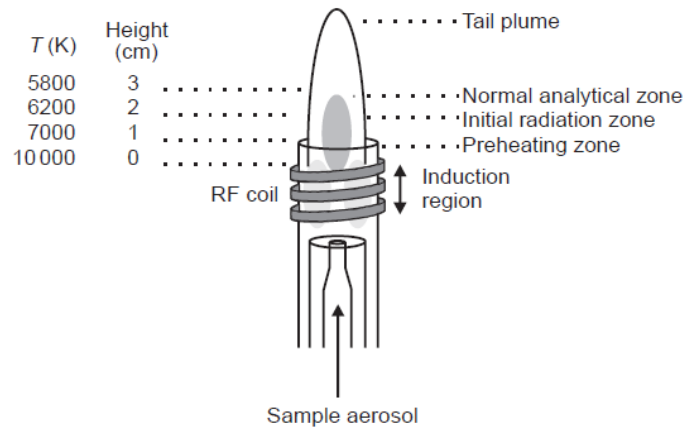


ภาพที่ 3.18 แผนภาพคบ (torch)



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

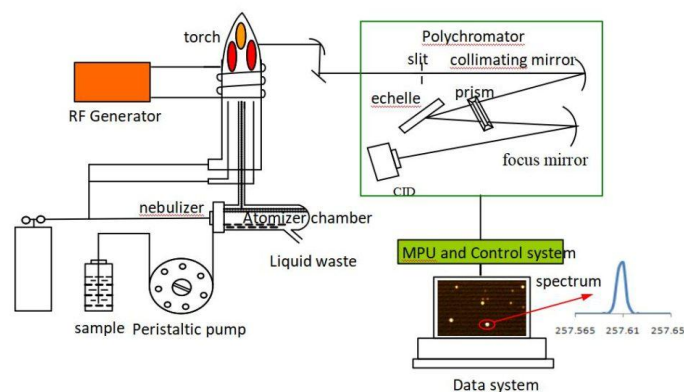


ภาพที่ 3.20 อุณหภูมิของพลาสมาแต่ละโซน

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 การนำส่งสารละลายตัวอย่างเข้าสู่ระบบด้วยกระบวนการดูดฟั่นให้เป็นละอองลอย (solution nebulization) ส่วนประกอบหลักของระบบนำส่งตัวอย่างแบบนี้ คือ เครื่องพ่นละออง (nebulizer) ป้อนสุบจ่ายของเหลวแบบปริดท่อ (peristaltic pump) และ spray chamber สารละลายตัวอย่างจะถูกส่งเข้าเครื่องแล้วเปลี่ยนเป็นละอองลอยผ่านกระบวนการดูดฟั่นให้เป็นละอองด้วยเครื่องพ่นละอองผ่านป้อนสุบจ่ายของเหลวแบบปริดท่อ ละอองที่เกิดจากกระบวนการดูดฟั่นให้เป็นละอองลอยอาจมีหลายขนาด โดยละอองขนาดใหญ่จะตกค้างอยู่ใน spray chamber ส่วนละอองลอยขนาดเล็กจะผ่าน spray chamber เข้าสู่คพพลาสมาเพื่อเข้าสู่กระบวนการกำจัดตัวทำละลายออกจากละอองตัวอย่างต่อไป

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

2) ระบบควบคุมแก๊ส (gas control system)

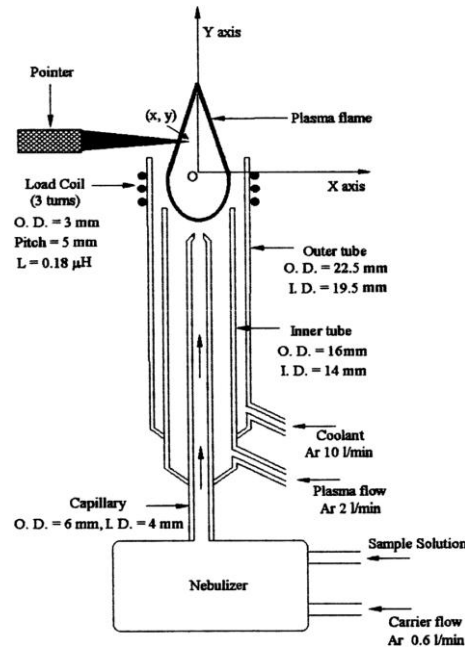
ส่วนควบคุมแก๊สให้กับระบบ ICP ที่ส่วนของการผลิตพลาสมา แก๊สที่ใช้เป็นพลาสมาส่วนมากจะใช้แก๊สอาร์กอน

3) ระบบกำเนิดพลาสมา (plasma generation system)

คพพลาสมาโดยทั่วไปทำจากควอตซ์ (quartz) คพพลาสมามีลักษณะเป็นหลอด 3 ชั้น คือ ชั้นใน (inner) ชั้นกลาง (intermediate) และชั้นนอก (outer) ดังแสดงในภาพที่ 3.22 ขณะที่เครื่องทำงานจะมีแก๊สอาร์กอนผ่านคพพลาสมาทั้ง 3 ชั้น แต่แก๊สอาร์กอนที่ผ่านในแต่ละชั้นจะมีอัตราการไหลและหน้าที่หลักแตกต่างกัน ชั้นในของคพจะมีแก๊สอาร์กอนไหลผ่านด้วยอัตราเร็วประมาณ 1 ลิตรต่อนาที แก๊สอาร์กอนบริเวณชั้นในเรียกว่า inner gas หรือ carrier gas ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวพาละอองลอยของตัวอย่างผ่านหลอดชั้นในไปสู่พลาสมา ชั้นถัดมาจะเป็นชั้นกลาง แก๊สอาร์กอนไหลผ่านชั้นกลางด้วยอัตราเร็วประมาณ 1 ลิตรต่อนาที แก๊สอาร์กอนบริเวณชั้นนี้เรียกว่า intermediate gas หรือ auxiliary gas ซึ่งช่วยให้ละอองลอยของตัวอย่างที่ออกมาจากชั้นในเข้าไปในพลาสมาได้ง่ายขึ้น auxiliary gas ยังช่วยให้เกิดที่ว่างระหว่างบริเวณฐานพลาสมา กับปลายหลอดชั้นในเพื่อป้องกันการหลอมเหลวของปลายหลอดรวมทั้งป้องกันการสลายตัวตกค้างของคาร์บอนและเกลือในหลอดชั้นใน ชั้นนอกของคพพลาสมามีลักษณะแคบเพื่อให้แก๊สอาร์กอนไหลผ่านด้วยความเร็วสูงประมาณ 7 ถึง 15 ลิตรต่อนาที แก๊สอาร์กอนบริเวณชั้นนอกของคพเรียกว่า 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

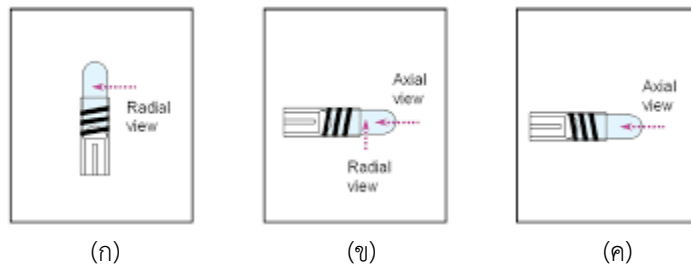


ภาพที่ 3.22 คบพลาสมา

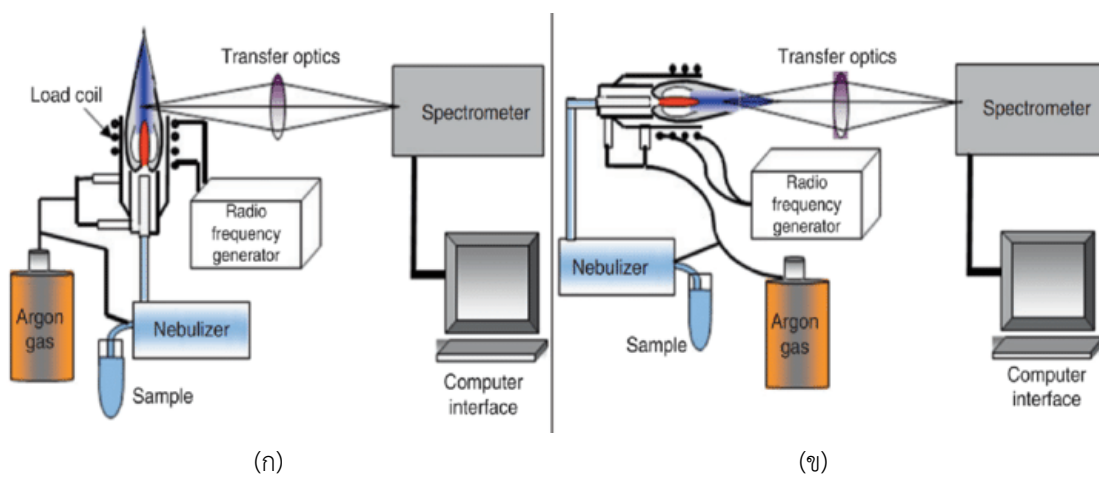
4) ระบบตรวจวัด (detection system)

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

การวัดแบบ radial view เป็นการวัดแสงที่เปล่งออกมาบริเวณด้านข้างของพลาสมา ดัง 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 ก็จะสามารถวัดความเข้มข้นของธาตุเจือปนในตัวอย่าง 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

Atomic spectroscopy limits of detection
All concentration values are given in ng/mL = ppb
From Parsons, M. L. et. al App. Spectrosc. 1983, 37, 411–418.

F-AA = Flame Atomic Absorption
F-AE = Flame Atomic Emission
GF-AA = Graphite Furnace (electrothermal) Atomic Absorption
ICP-OES = Inductively Coupled Plasma, Optical Emission

	Li	Be		B	C	N	O	F									
F-AA	0.3	1		700													
F-AE	0.001	100		50													
GF-AA	0.01	0.003		15													
ICP-OES	0.02	0.003		0.1	44												
	Na	Mg		Al	Si	P	S	Cl									
F-AA	0.2	0.1		20	20												
F-AE	0.01	1		3		100	1600										
GF-AA	0.004	0.0002		0.01	0.005	0.3	10										
ICP-OES	0.1	0.003		0.2	2	15	30										
	K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br
F-AA	1	0.5	20	10	20	2	0.8	3	2	2	1	0.8	50	50	0.02	0.02	
F-AE	0.01	0.1	10	30	7	1	1	10	5	10	3	1000	5	400	2000		
GF-AA	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	
ICP-OES	30	0.0001	0.4	0.03	0.06	0.08	0.01	0.09	0.1	0.2	0.04	0.1	0.6	0.5	2	1	
	Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Mn	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I
F-AA	0.3	2	50	350	1000	10		70	2	10	0.9	0.5	20	10	0.1	0.002	
F-AE	0.02	0.1	40	1000	60	10		300	10	40	2	300	1	100	200	600	
GF-AA		0.01	10			0.02			0.1	0.05	0.001	0.0002	0.02	0.03	0.08	0.03	3
ICP-OES		0.002	0.04	0.06	0.2	0.2		30	30	2	0.2	0.07	0.4	3	10	15	10
	Cs	Ba		Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi		
F-AA	8	8		2000	800	500	200	80	500	40	6	0.001	9	10	0.02		
F-AE	0.02	1				200	200	2000	400	2000	500	150	2	0.2	1000		
GF-AA	0.04	0.04					10	2	0.5	0.2	0.01	0.2	0.01	0.007	0.1		
ICP-OES		0.01		10	5	0.8	6	0.4	30	0.9	0.9	1	40	1	10		
	La	Ce	Pr	Nd	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu			
F-AA	2000		2000	600	500	20	1000	600	50	40	40	10	5	700			
F-AE	5	150	500	200	50	0.2	120	200	20	10	20	4	0.2	200			
GF-AA	0.5					0.5	8			0.7	0.3		0.1				
ICP-OES	0.1	0.4	10	0.3		1	0.06	0.4	0.1	4	3	1	0.2	0.02	0.1		
	Th	U															
F-AA																	
F-AE																	
GF-AA																	
ICP-OES	3					100	30	1.5									

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 ^a (1)	340.780	II	Mg(4)	285.213	I	Sb(4)	217.581	I
Al(4)	396.152	I	Dy ^a (2)	353.170	II	Mn(1)	257.610	II	Sc ^a (1)	298.895	I
B(1)	182.641	I	Dy ^a (3)	353.602	II	Mn(2)	259.373	II	Sc ^a (2)	335.373	I
B(2)	208.959	I	Dy ^a (4)	364.540	II	Mn(3)	403.076	I	Sc ^a (3)	356.770	II
B(3)	249.773	I	Dy ^a (5)	394.468	II	Na(1)	330.298	I	Sc ^a (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 ^a (1)	234.861	I	Fe(3)	259.941	II	Ni(1)	174.828	II	Si(3)	288.158	I
Be ^a (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 ^a (1)	335.047	II	P(1)	138.147	I	Ti(1)	323.452	II
Ca(3)	396.847	II	Gd ^a (2)	335.862	II	P(2)	169.403	I	Ti(2)	334.941	II
Ca(4)	422.673	II	Gd ^a (3)	336.223	II	P(3)	177.495	I	V(1)	292.402	II
Cl(1)	134.724	I	Gd ^a (4)	342.247	II	P(4)	213.618	I	V(2)	292.464	II
Cl(2)	136.345	I	In ^a (1)	230.606	II	P(5)	213.618	I	V(3)	309.311	II
Cl(3)	139.653	I	In ^a (2)	303.936	I	Pb(1)	168.215	II	Y ^a (1)	224.306	II
Co(1)	228.616	II	In ^a (3)	451.131	I	Pb(2)	261.418	I	Y ^a (2)	371.030	II
Co(2)	230.786	II	K(1)	404.721	I	Pb(3)	283.305	I	Y ^a (3)	377.433	II
Co(3)	238.892	II	K(2)	766.491	I	Pb(4)	405.778	I	Y ^a (4)	442.259	II
Cr(1)	205.552	II	La ^a (1)	333.749	II	S(1)	142.503	I	Zn(1)	202.548	II
Cr(2)	267.716	II	La ^a (2)	379.478	II	S(2)	147.399	I	Zn(2)	206.191	II
Cr(3)	284.984	II	La ^a (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 (ดูคู่มือปฏิบัติการ)

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. เอกสาร power point
4. <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. Kakkar, R. (2015). *Atomic and Molecular Spectroscopy: Basic Concepts and Applications*. Cambridge University Press
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

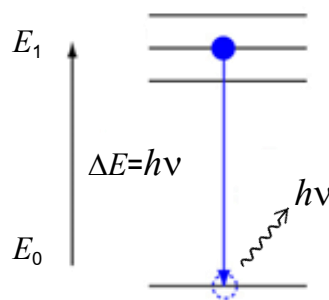
บทเรียน 3.3 สเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออกระดับโมเลกุล

จุดประสงค์การสอน

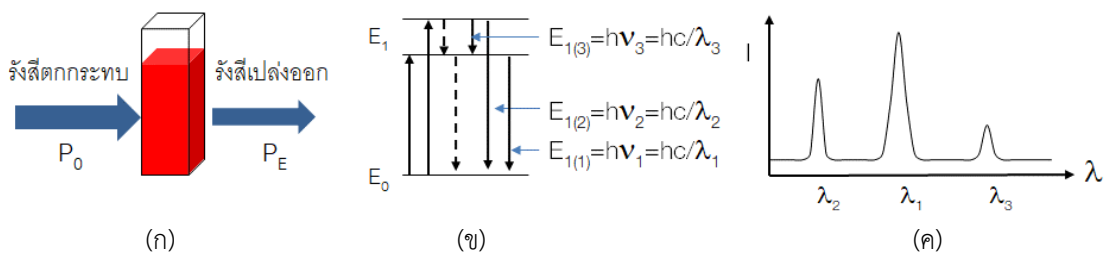
1. อธิบายการเปล่งออกระดับโมเลกุล
2. อธิบายสเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออก
3. บอกส่วนประกอบของเครื่องฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรโฟโตมิเตอร์
4. ปฏิบัติการวัดการวาวแสงด้วยเครื่องฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรโฟโตมิเตอร์

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) การเรืองแสง (phosphorescence)	การวาวแสงและการเรืองแสงแตกต่างกันที่กระบวนการกลับมาสู่สถานะพื้นใหม่
ปฏิกิริยาเคมี	การเปล่งแสงทางเคมี (chemiluminescence)	การเปล่งแสงทางเคมี (chemiluminescence)	
ความร้อนหรือไฟฟ้า	การเปล่งออก (emission)	อินดักทีฟพลาสมา ออปติคอลลิมิเนสเซนซ์ (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 แสงอัลตราไวโอเล็ต รังสีเอกซ์ ลำอิเล็กตรอน ปฏิกิริยาเคมี เป็นต้น ทำให้อิเล็กตรอนที่อยู่ภายในออร์บิทัลของอะตอมภายในวัตถุเกิดการเคลื่อนที่จากสถานะพื้น (ground state) ไปสู่สถานะกระตุ้น (excited state) ซึ่งอิเล็กตรอนจะอยู่สถานะที่ไม่มีมีความเสถียร 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

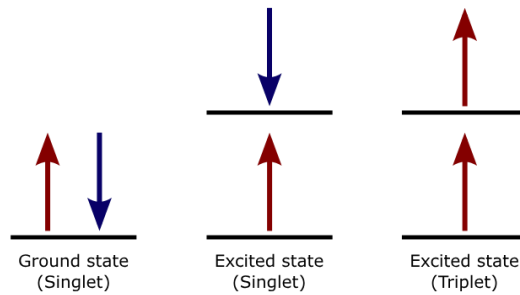
กระบวนการกระตุ้น (excitation) เมื่อโมเลกุลที่ได้รับรังสีดูดกลืนจากการแผ่รังสีแม่เหล็กไฟฟ้า โมเลกุลนั้นจะถูกกระตุ้นและเกิดการสั่นภายในโมเลกุลจากระดับชั้นพลังงานสถานะพื้น (ground state) ไปสู่ระดับชั้นพลังงานที่สูงขึ้น (excited state) เมื่อโมเลกุลเคลื่อนที่ไปอยู่ในระดับชั้นพลังงานนี้ จะเกิดการดูดกลืนพลังงานขึ้น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

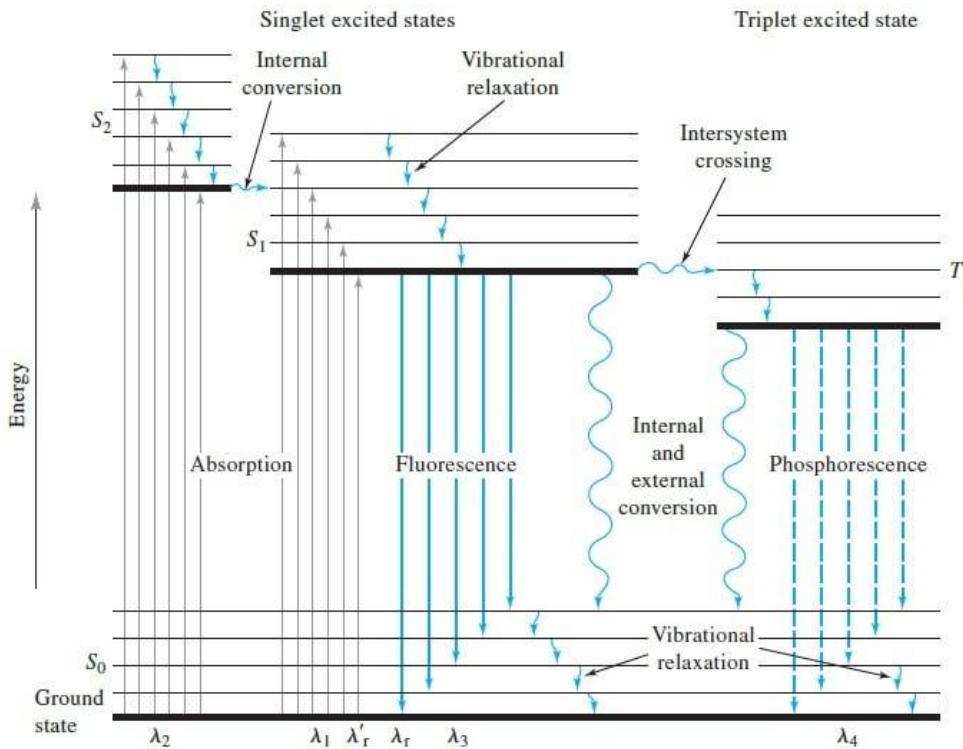


ภาพที่ 3.29 การเปลี่ยนระดับพลังงานของอิเล็กตรอนที่สถานะพื้นซิงเกิลต สถานะกระตุ้นซิงเกิลต และสถานะกระตุ้นทริปเปต

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

สถานะกระตุ้นทรูปเปตจะมีพลังงานน้อยกว่าสถานะกระตุ้นซิงเกิลต กระบวนการเกิดสถานะกระตุ้น
เนื่องมาจากผลของการดูดกลืนพลังงานและกระบวนการแผ่รังสีสามารถแสดงได้ง่าย ๆ โดยใช้แผนภาพแสดง
ระดับพลังงาน Jablonski ดังภาพที่ 3.30



ภาพที่ 3.30 ระดับพลังงาน Jablonski เกี่ยวกับการดูดกลืนและการแผ่รังสี

ภาพที่ 3.30 แสดงระดับพลังงานให้เห็นเฉพาะระดับพลังงานของอิเล็กตรอน และระดับพลังงานของการสั่นเท่านั้น แต่ระดับพลังงานในการหมุนจะไม่มี เพราะไม่สามารถที่จะวัดหรือแยกออกได้ด้วยเครื่องสเปกโทรมิเตอร์ธรรมดา กระบวนการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ภายในโมเลกุล เมื่อโมเลกุลของอิเล็กตรอนถูกกระตุ้นไปสู่สถานะกระตุ้น S_2 ณ บริเวณนี้อิเล็กตรอนจะคายพลังงาน และกลับลงมาสู่สถานะพื้น 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 เป็นกระบวนการที่เกิดระหว่างโมเลกุล เกิดจากการที่อิเล็กตรอนพยายามที่จะลดระดับพลังงานให้ลงมาอยู่ในระดับพลังงานที่มีการสั่นต่ำที่สุด เกิดขึ้นเมื่อสถานะกระตุ้น 2 สถานะ มีระดับใกล้เคียงกันจนทำให้ระดับพลังงานการสั่นของทั้งสองเกิดการเหลื่อมล้ำกัน มีการเปลี่ยนสถานะของอิเล็กตรอนจากสถานะกระตุ้นหนึ่งไปยังอีกสถานะกระตุ้นหนึ่งจนกระทั่งระดับพลังงานการกระตุ้นก็จะลดลงไปสู่ S_0 โดยมีการคายโฟตอน เรียกว่า การวาวแสง (fluorescence) ซึ่งจะเกิดขึ้นได้รวดเร็วมากประมาณ 10^{-9} - 10^{-7} วินาที หลังจากมีการสูญเสียพลังงานบางส่วน

อิเล็กตรอนจะกลับสู่สถานะพื้นพร้อมกับเปล่งแสงที่มีความยาว คลื่นยาวกว่าออกมา แต่จากการเปลี่ยนสถานะ ทริปเปตมาถึงสถานะพื้นใช้เวลานานมากกว่า 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

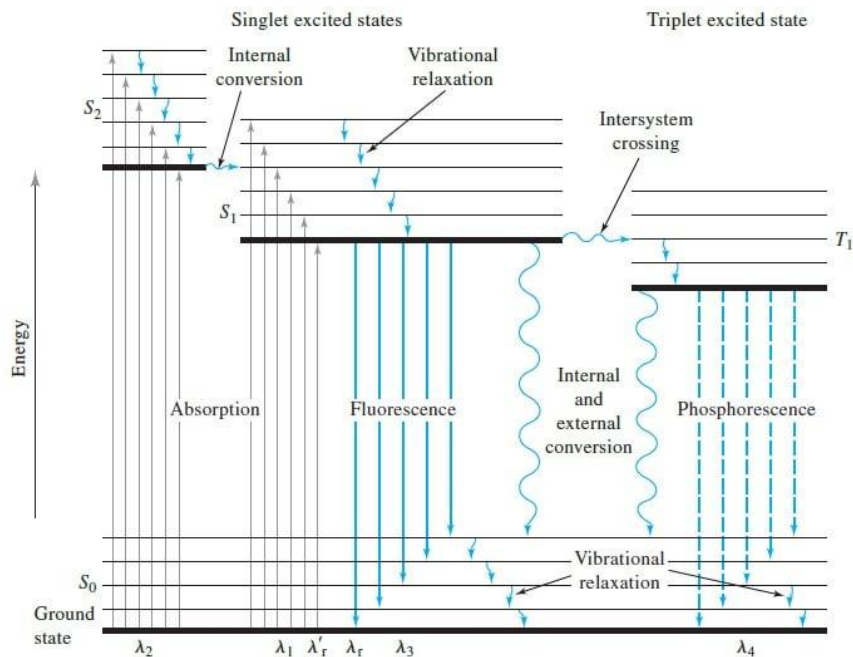
ประเภทการเปล่งออก	ย่านรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า	เทคนิคการวิเคราะห์	การประยุกต์
การเปล่งออกระดับอะตอม การเปล่งออกโดยการกระตุ้นด้วยความร้อนหรือไฟฟ้า (thermal and electrical excitation Emission)	UV/Vis	<ul style="list-style-type: none">• Atomic Emission Spectroscopy• Inductively Coupled Plasma (ICP)• Arc-Spark Emission Spectrometry	วิเคราะห์เชิงปริมาณของโลหะในตัวอย่าง
	X-ray	X-ray Fluorescence	วิเคราะห์เชิงปริมาณและเชิงคุณภาพของธาตุที่หนักกว่าธาตุไนโตรเจน
	X-ray	Atomic Fluorescence Spectroscopy	วิเคราะห์เชิงปริมาณของโลหะหนัก
การเปล่งออกระดับโมเลกุล	โฟโตลูมิเนสเซนซ์ (Photoluminescence)	Fluorescence Spectroscopy, Phosphorescence Spectroscopy	วิเคราะห์เชิงปริมาณและเชิงคุณภาพของสารประกอบ
	เคมีลูมิเนสเซนซ์ (Chemiluminescence)	Chemiluminescence Spectroscopy	วิเคราะห์เชิงปริมาณและเชิงคุณภาพของธาตุและสารประกอบ

1) การวาวแสง

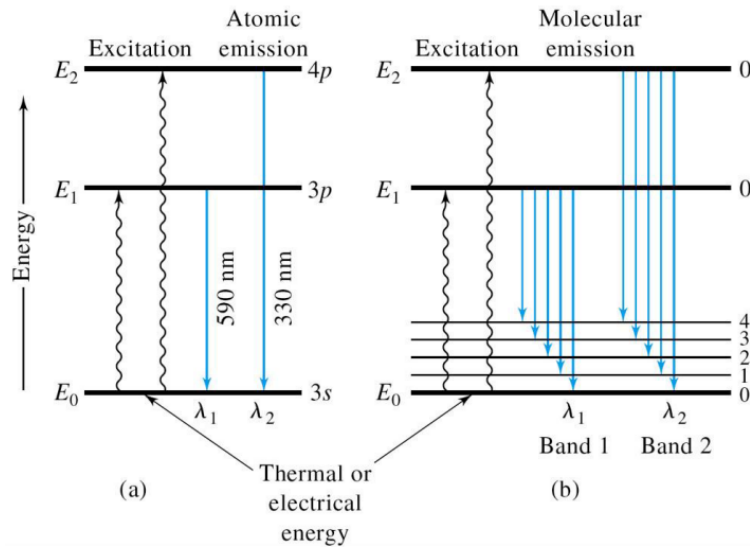
การวาวแสง หรือฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence) เป็นกระบวนการที่อะตอมหรือโมเลกุลดูดกลืนพลังงานจากโฟตอนแล้วเปล่งแสงออกมาเมื่อกลับสู่ระดับพลังงานที่ต่ำกว่า กล่าวคือเมื่อวัตถุได้รับพลังงานกระตุ้นที่ไม่ใช่พลังงานความร้อน เช่น แสง UV โมเลกุลของวัตถุดูดกลืนโฟตอนที่มีพลังงานสูง แล้วเกิดการกระตุ้นให้อิเล็กตรอนเคลื่อนไปยังระดับพลังงานที่สูงขึ้น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

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

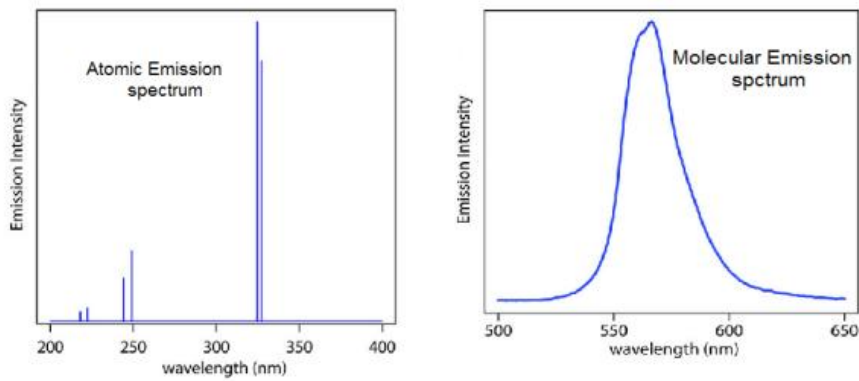
1. Excitation (การกระตุ้น) โมเลกุลอยู่ในสถานะพื้น (S_0) ดูดกลืนโฟตอนจากแสงที่มีพลังงานสูง (เช่น UV) ทำให้อิเล็กตรอนกระโดดขึ้นไปยังสถานะกระตุ้น (S_1 หรือ S_2)
2. Internal Conversion (การเปลี่ยนสถานะภายใน) โมเลกุลในสถานะกระตุ้นระดับสูง (เช่น S_2) จะปล่อยพลังงานบางส่วนในรูปของความร้อน และลดลงมาอยู่ที่สถานะกระตุ้นระดับล่าง (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

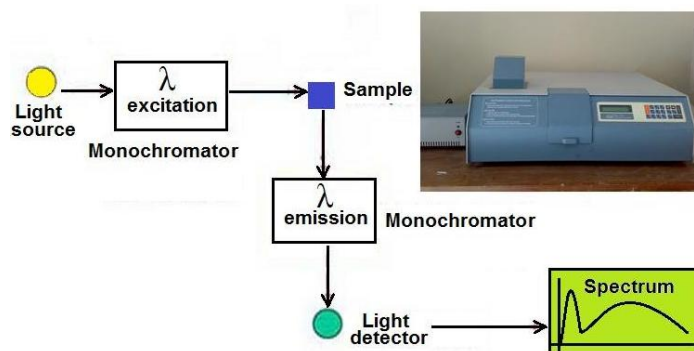
เนื่องจากการเปลี่ยนผ่านจากสถานะทริปเลตกลับสู่สถานะพื้นเป็นการเปลี่ยนแปลงสปิน (spin-forbidden transition) ทำให้เกิดได้ยากและใช้เวลานาน อิเล็กตรอนจึงค่อย ๆ กลับสู่สถานะพื้นพร้อมการปล่อยพลังงานในรูปของแสงออกมาช้า ๆ หรือเรื่อย ๆ เป็นเวลานานตั้งแต่วินาที จนถึงนาที หรือหลายชั่วโมง

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 เมื่อแสงกระตุ้นตกกระทบกับตัวอย่างในคิวเวตต์ โมเลกุลจะดูดกลืนพลังงานและเข้าสู่สถานะกระตุ้น

4. โมโนโครโมมิเตอร์สำหรับแสงที่ปล่อยออกมา (emission monochromator)

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

5. ตัวตรวจวัด (detector)

แสงที่ถูกเลือกแล้วจะส่งเข้าสู่ตัวตรวจวัด ซึ่งมักเป็นหลอดโฟโตมัลติติพลีเออร์ (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 เมื่ออะตอมหรือโมเลกุลเกิดการทรานซิชันจากสถานะกระตุ้นไปสู่สถานะพื้น 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. ไปกิจกรรม

สื่อการสอนและอุปกรณ์การสอน

1. หนังสือ/ตำรา
2. เอกสารประกอบการสอน
3. เอกสาร power point
4. <https://scienceinfo.com/fluorescence-spectrophotometer-principle/>
5. <https://micro.magnet.fsu.edu/primer/techniques/fluorescence/fluorescenceintro.html/>
6. <https://www.horiba.com/int/scientific/technologies/fluorescence-spectroscopy/principles-and-theory-of-fluorescence-spectroscopy/>

งานที่มอบหมาย

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ไปกิจกรรม

การวัดผล

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ไปกิจกรรม

แบบฝึกหัด

1. ทำกิจกรรม
2. ไปกิจกรรม

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. Kakkar, R. (2015). *Atomic and Molecular Spectroscopy: Basic Concepts and Applications*. Cambridge University Press
7. Lakowicz, J. R. (2006). *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, 3rd ed. Springer
8. Robinson, J. W., Frame, E. M. S, & Frame G. M. (2021). *Instrumental Analytical Chemistry*. CRC Press
9. Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2022). *Fundamentals of Analytical Chemistry* (10th ed.). Brooks/Cole Publishing
10. Skoog, D. A., Holler, F.J., & Crouch, S. R. (2018). *Principles of Instrumental Analysis* (7th ed.). David Harris.

หน่วยที่ 4 วิธีโครมาโทกราฟี

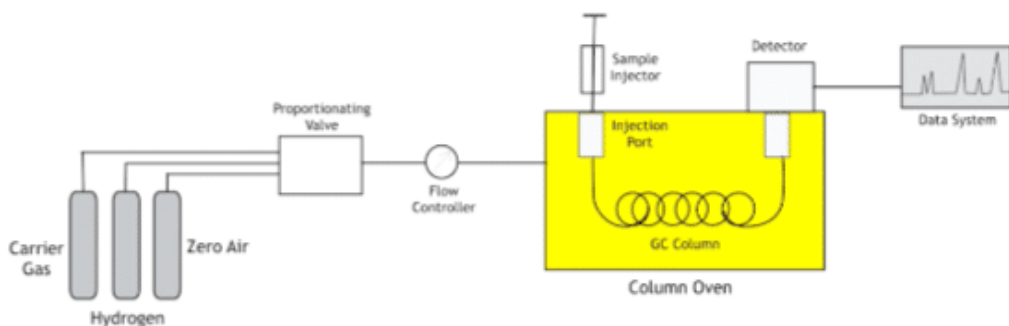
บทเรียน 4.1 โครมาโทกราฟีแบบแก๊ส

จุดประสงค์การสอน

1. บอกหลักการและส่วนประกอบของเครื่อง GC
2. อธิบายประสิทธิภาพของคอลัมน์และตัวตรวจวัด
3. คำนวณการทำปริมาณวิเคราะห์และการแปลผล
4. ปฏิบัติการโครมาโทกราฟีแบบแก๊ส

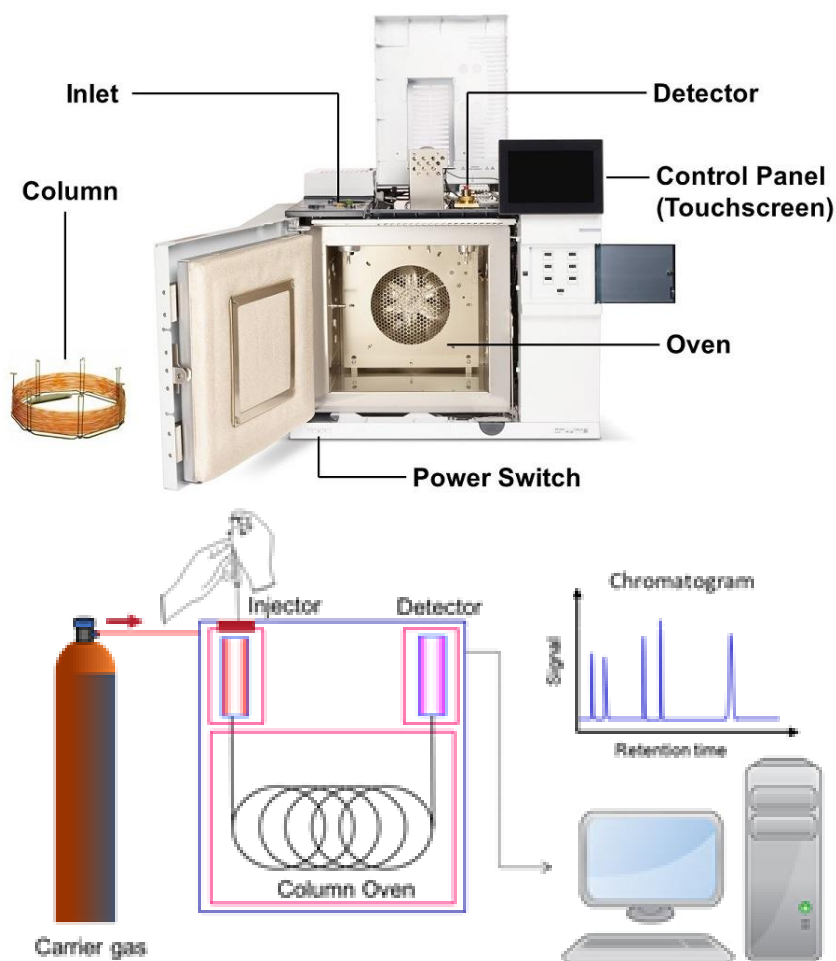
4.1.1 ส่วนประกอบของเครื่อง GC

แก๊สโครมาโทกราฟี (gas chromatography, GC) เป็นเทคนิคที่ใช้สำหรับแยกตัวอย่างที่เป็นสารผสมที่ระเหยได้โดยเปลี่ยนสารผสมให้เป็นไอที่อุณหภูมิหนึ่ง ไอที่เกิดขึ้นจะถูกนำเข้าสู่คอลัมน์โดยอาศัยการพาไปของเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) หรือแก๊สตัวพา (carrier gas) ตามอัตราการไหลที่ต้องการ ภายในคอลัมน์บรรจุด้วยสารที่ทำหน้าที่ในการแยก เรียกว่า เฟสอยู่กับที่ (stationary phase) สารผสมจะถูกแยกออกเป็น ส่วน ๆ ที่คอลัมน์นี้ด้วยความแตกต่างของสมบัติทางเคมี โครงสร้าง น้ำหนักโมเลกุล หรือจุดเดือด สารที่แยกได้ผ่านออกไปสู่ตัวตรวจวัด (detector) ทำให้เกิดสัญญาณไฟฟ้าส่งไปยังระบบประมวลผล (data system) ซึ่งสามารถคำนวณและรายงานผลออกมาเป็นโครมาโทแกรม (chromatogram) หรืออาจเรียกสั้น ๆ ว่า พีค (peak) ทำให้ทราบถึงองค์ประกอบในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ หรือเทียบปริมาณของสารตัวอย่างได้ในเชิงปริมาณ



ภาพที่ 4.1 หลักการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี

เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (เรียวย่อว่า GC) เป็นเครื่องมือที่ใช้สำหรับวิเคราะห์กลุ่มของสารประกอบอินทรีย์ที่ระเหยง่ายและกลุ่มสารประกอบอินทรีย์ที่กึ่งระเหย โดยอาศัยหลักการแยกระหว่างเฟสอยู่กับที่และเฟสเคลื่อนที่ สำหรับเฟสอยู่กับที่ของเทคนิค GC คือ สารที่เคลือบผิวหรือบรรจุอยู่ในคอลัมน์ และเฟสเคลื่อนที่ คือ แก๊สตัวพา นิยมใช้เป็นแก๊สฮีเลียม เมื่อสารผสมถูกฉีด ณ บริเวณหัวฉีด (injector) ซึ่งเป็นบริเวณที่ให้ความร้อนมีอุณหภูมิสูงพอที่จะทำให้สารผสมเปลี่ยนสถานะจากของเหลวเป็นไอ (แก๊ส) และส่วนแก๊สของสารผสมจะเคลื่อนที่เข้าสู่คอลัมน์ โดยอาศัยแก๊สตัวพา และมีการให้ความร้อนของคอลัมน์ด้วยตัวควบคุมอุณหภูมิ ทำให้เกิดกระบวนการแยกชั้น จากนั้นสารผสมที่ถูกแยกภายในคอลัมน์จะเคลื่อนที่เข้าสู่ตัวตรวจวัด และผลที่ได้จะแสดงในรูปแบบของโครมาโทแกรม ส่วนประกอบที่สำคัญของเครื่อง GC ดังต่อไปนี้



ภาพที่ 4.2 ส่วนประกอบของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

1. แก๊สตัวพา

แก๊สตัวพา (carrier gases) มีหน้าที่นำแก๊สตัวอย่างจากจุดฉีด (injection port) ผ่านเข้าสู่คอลัมน์และไปยังตัวตรวจวัด แก๊สที่ใช้ร่วมกับเครื่อง GC ต้องเป็นแก๊สเฉื่อยที่ไม่ทำปฏิกิริยา (inert) กับโมเลกุลของสารตัวอย่าง เช่น แก๊สฮีเลียม (He) อาร์กอน (Ar) หรือไนโตรเจน (N₂) ซึ่งแก๊สเหล่านี้

ไม่เป็นพิษต่อผู้ทดลอง ในบางกรณีอาจใช้แก๊สไฮโดรเจน (H_2) หรือแก๊สอื่นบางตัวก็สามารถใช้เป็นแก๊สตัวพาได้ ตามความเป็นจริงแล้ว แก๊ส H_2 ใช้ได้ผลดีที่สุด แต่ไม่ค่อยนิยมใช้ เพราะเกิดอันตรายได้ง่าย เนื่องจากเป็นแก๊สที่ไวไฟ และระเบิดได้

ตารางที่ 4.1 สมบัติและคุณลักษณะของแก๊สตัวพา

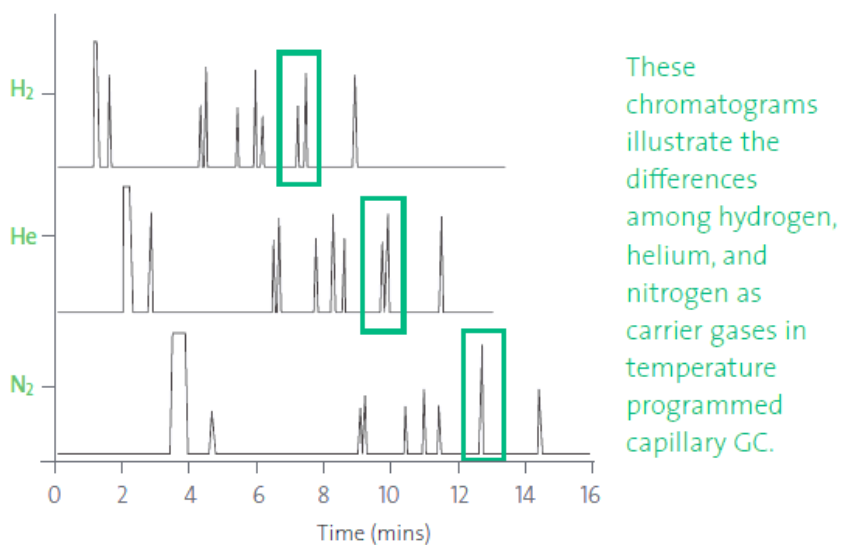
แก๊สตัวพา	สมบัติและคุณลักษณะ	ข้อดี	ข้อเสีย
He	<ul style="list-style-type: none"> เป็นแก๊สที่ไม่ทำปฏิกิริยากับตัวอย่างหรือของเหลวในคอลัมน์ มีความนำความร้อน (thermal conductivity) สูง ซึ่งช่วยในการตรวจจับโดย TCD มีความหนาแน่นต่ำ ทำให้มีการไหลที่สม่ำเสมอ 	<ul style="list-style-type: none"> ความเสถียรเหมาะสำหรับการวิเคราะห์ที่ต้องการความแม่นยำสูง ให้สัญญาณที่ชัดเจนและคมในกรณีใช้กับ TCD 	<ul style="list-style-type: none"> ราคาแพง ต้องมีการจัดเก็บและจัดการที่เหมาะสมเพื่อรักษาความบริสุทธิ์
H_2	<ul style="list-style-type: none"> มีการแพร่กระจายที่รวดเร็ว (high diffusivity) ส่งผลให้สามารถลดระยะเวลาการวิเคราะห์ได้ ให้การแยกตัวอย่างที่ดี เนื่องจากความต้านทานภายในคอลัมน์ที่ต่ำ 	<ul style="list-style-type: none"> ช่วยให้การวิเคราะห์มีความรวดเร็วและประสิทธิภาพสูง สามารถเพิ่มความละเอียดในการแยกตัวอย่างได้เมื่อเทียบกับแก๊สบางชนิด 	<ul style="list-style-type: none"> มีความเสี่ยงในด้านความปลอดภัยสูง เพราะเป็นแก๊สที่ไวต่อการระเบิด อาจมีการทำปฏิกิริยากับตัวอย่างบางชนิดในกรณีที่ไม่ต้องการให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมี
N_2	<ul style="list-style-type: none"> เป็นแก๊สที่ไม่ทำปฏิกิริยาและมีความเสถียรสูง มีความหนาแน่นสูงกว่าแก๊สตัวพาชนิดอื่น ส่งผลให้มีการไหลที่ช้าและความดันภายในคอลัมน์ที่ต่ำออกไป 	<ul style="list-style-type: none"> มีราคาถูกและหาได้ง่ายเหมาะสำหรับการวิเคราะห์ที่ไม่ต้องการความไวสูงมาก ให้ความเสถียรในกรณีที่ไม่ต้องการเกิดปฏิกิริยาเคมีกับตัวอย่าง 	<ul style="list-style-type: none"> ประสิทธิภาพการแยก (R) ตัวอย่างต่ำกว่าเมื่อเทียบกับฮีเลียมหรือไฮโดรเจน เนื่องจากความต้านทานภายในคอลัมน์ที่สูงกว่า การวิเคราะห์อาจใช้เวลานานกว่า เนื่องจากความช้าในการไหลของแก๊ส

นอกจากชนิดของแก๊สตัวพาแล้ว อัตราการไหลของแก๊สตัวพาก็มีความสำคัญต่อการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC ดังนี้

1. มีผลต่อค่ารีเทนชันไทม์ (retention time, t_R) ขององค์ประกอบของสารตัวอย่างที่ผ่านในคอลัมน์ ถ้าอัตราการไหลเร็วจะทำให้องค์ประกอบของสารออกจากคอลัมน์ได้เร็ว และลักษณะพีคจะกว้าง

2. มีผลต่อขนาดของสัญญาณของตัวตรวจวัด คือถ้าไหลช้าจะทำให้ความสูงของพีคเพิ่มขึ้น ดังนั้นการควบคุมการไหลของแก๊สตัวพาจึงเป็นสิ่งสำคัญมากในการทำเทคนิค GC การควบคุมการไหลของแก๊สทำได้โดยการควบคุมความดัน นอกจากนี้จะมีเครื่องควบคุมความดันของแก๊สแล้วต้องมีเส้นลวดที่มีรูเล็ก ๆ เป็นแคปิลารีเข้าช่วยด้วย ซึ่งจะทำให้ตั้งระยะการไหลของแก๊สได้กว้างขึ้นจาก 0-200 cm^3/min หรือมีความดันเป็น 0-60 psi

การพิจารณาเลือกใช้แก๊สตัวพาในเทคนิค GC อาจประกอบด้วยหลายปัจจัย ทั้งนี้แก๊ส He ยังคงเป็นตัวเลือกที่ดีที่สุดสำหรับแก๊สตัวพาในเทคนิค GC อย่างไรก็ตาม แก๊ส H_2 กำลังได้รับความนิยมเพิ่มขึ้น เนื่องจากผู้ผลิตเครื่อง GC กำลังพัฒนาเครื่องมือใหม่ที่ปรับแต่งให้เหมาะกับแก๊ส H_2 มากยิ่งขึ้น ซึ่งแม้ว่า H_2 จะมีความไวไฟ แต่สมบัติการแพร่กระจายที่สูงช่วยให้สามารถใช้ความเร็วในแนวเส้นตรงที่สูงขึ้นและทำให้การวิเคราะห์ที่ใช้เวลาน้อยลง ในขณะที่ยังคงประสิทธิภาพการแยก (resolution) ใกล้เคียงกับ He (ดังภาพที่ 4.3) แสดงผลการทดลองใช้สารผสมไม่มีขั้วทดสอบในสถานะอุณหภูมิคงที่ โดยใช้แก๊ส He, H_2 และ N_2 พบว่าแก๊ส H_2 มี t_R และ R_S ดีกว่าซึ่งช่วยให้สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้มากขึ้นและลดค่าใช้จ่ายต่อการวิเคราะห์แต่ละตัวอย่าง



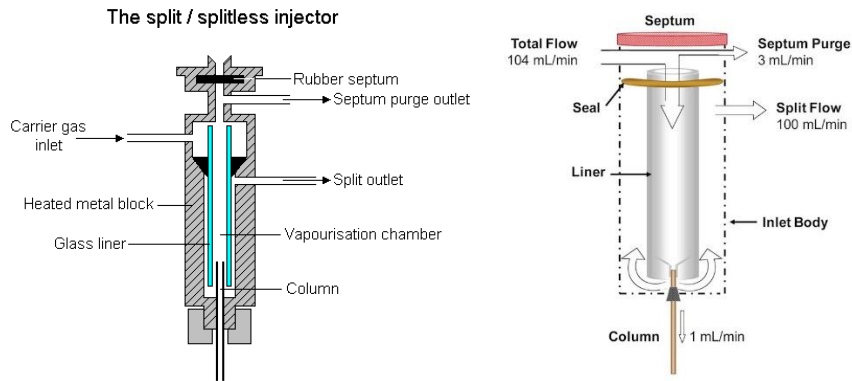
ภาพที่ 4.3 ผลของแก๊สตัวพาที่มีต่อประสิทธิภาพการแยกและเวลาการวิเคราะห์

(ที่มาภาพ : <https://www.azom.com/article.aspx?ArticleID=17974>)

2. ระบบฉีดสารตัวอย่าง

ระบบฉีดสารตัวอย่าง (sample injection system) หรือส่วนฉีดสารตัวอย่าง (injector port) เป็นบริเวณที่ใช้ในการฉีดสารตัวอย่างเข้าคอลัมน์โดยทั่วไปส่วนที่ฉีดสารตัวอย่างเข้าไป (inlet) มักจะมีตัวให้ความร้อน (heater) ติดตั้งอยู่ด้วย เพื่อให้สารตัวอย่างกลายเป็นไอ แสดงดังภาพที่ 4.4

โดยระบบฉีดสารตัวอย่างเป็นขั้นตอนสำคัญในเทคนิค GC โดยมีหน้าที่นำสารตัวอย่างเข้าสู่คอลัมน์แยก โดยต้องควบคุมทั้งปริมาณ และความเร็วในการฉีดให้เหมาะสม เพื่อให้เกิดการแยกสารอย่างมีประสิทธิภาพ และลดความคลาดเคลื่อนของผลการวิเคราะห์ให้น้อยที่สุด



ภาพที่ 4.4 ส่วนฉีดสารตัวอย่าง (injector port)

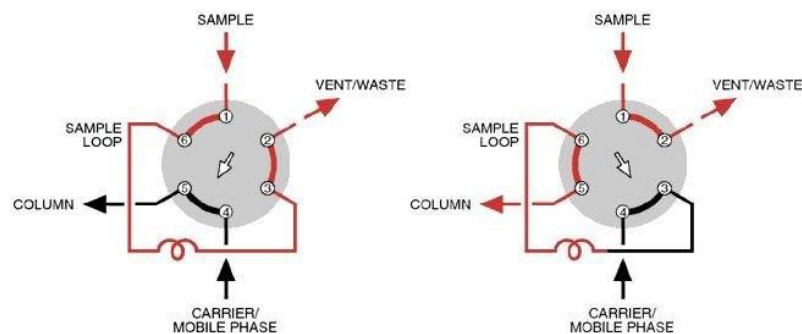
สารตัวอย่างอาจเป็นของเหลวหรือแก๊สก็ได้ ซึ่งหากสารตัวอย่างเป็นของเหลวจะต้องถูกทำให้ระเหยกลายเป็นไอก่อนเข้าสู่คอลัมน์ โดยผ่านกระบวนการให้ความร้อนที่บริเวณห้องฉีดสารตัวอย่าง (sample chamber) โดยปริมาณสารตัวอย่างที่ใช้ขึ้นกับสถานะของสารผสมตัวอย่าง ถ้าตัวอย่างเป็นของเหลว ประมาณ 5-50 ไมโครลิตร แต่ถ้าตัวอย่างเป็นแก๊ส ประมาณ 1 ถึง 10 มิลลิลิตร

การฉีดสารตัวอย่างในปริมาณที่เหมาะสมเป็นสิ่งสำคัญ หากมากเกินไปอาจทำให้เกิดการกระจุกตัวของสาร ส่งผลให้การแยกไม่สมบูรณ์ และหากน้อยเกินไปอาจให้สัญญาณที่ต่ำเกินไปสำหรับการตรวจวัด ซึ่งเทคนิคในการฉีดสารตัวอย่าง อาจจำแนกตามสถานะของสารผสม ดังนี้

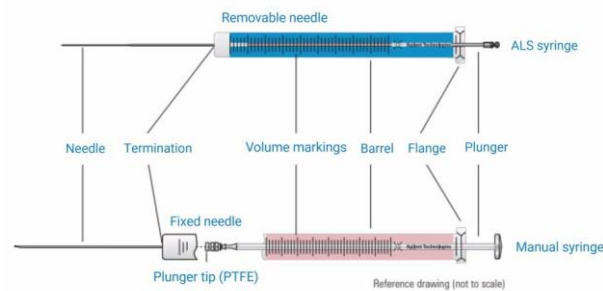
1) สำหรับสารตัวอย่างในสถานะแก๊ส

- ระบบวาล์วควบคุมการฉีด (gas sampling valve) เป็นระบบที่ให้ความแม่นยำและความสม่ำเสมอสูง เหมาะสำหรับงานวิเคราะห์ที่ทำซ้ำบ่อย (routine analysis) โดยสามารถกำหนดปริมาตรของสารที่จะเข้าสู่คอลัมน์ได้อย่างอัตโนมัติ (ภาพที่ 4.5)

- การฉีดด้วยเข็ม (gas syringe) เป็นวิธีง่ายและใช้ได้ในกรณีที่ไม่ต้องการความแม่นยำสูงมาก แต่มักไม่แม่นยำเท่ากับระบบวาล์ว (ภาพที่ 4.6)



ภาพที่ 4.5 วาล์วควบคุมการฉีด (gas sampling valve)



ภาพที่ 4.6 เข็มฉีดยา (gas syringe)

2) สำหรับสารตัวอย่างในรูปของเหลว

- ใช้เข็มฉีดยาแบบไมโครลิตร (micro syringe) โดยสามารถวัดปริมาตรได้อย่างแม่นยำถึง 0.005 mL (5 ไมโครลิตร)
- เมื่อฉีดเข้าสู่ห้องฉีด (sample chamber) สารจะถูกทำให้ระเหยทันทีด้วยอุณหภูมิที่ควบคุมให้สูงกว่าจุดเดือดของสารแต่ไม่สูงจนทำให้สารสลายตัว จากนั้นจะถูกพาเข้าสู่คอลัมน์ด้วยแก๊สตัวพา

3) สำหรับสารตัวอย่างเป็นของแข็ง จะทำการวิเคราะห์โดย GC โดยตรงไม่ได้ ต้องใช้เทคนิคการนำสารตัวอย่างมาทำปฏิกิริยาทางเคมีให้ได้สารประกอบที่กลายเป็นไอได้ จากนั้นจึงนำไปฉีดเข้าคอลัมน์ เช่น กรดไขมันสามารถเปลี่ยนเป็นเมทิลเอสเทอร์ (methyl esters) ที่กลายเป็นไอได้โดยทำปฏิกิริยากับโบรอนไตรคลอไรด์ (BCl_3) หรือโบรอนไตรฟลูออไรด์ (BF_3) ในเมทานอล ในบางกรณีใช้วิธีการเติมส่วนของเครื่องมือไพโรไลซิส (pyrolysis equipment) เข้ากับเครื่อง GC สารตัวอย่างที่เป็นของแข็งจะถูกใส่ในเครื่องไพโรไลซิส เมื่อให้ความร้อนสูงพอจะสามารถกลายเป็นไอได้ ไอของสารตัวอย่างจะถูกพาเข้าไปในเครื่อง GC ด้วยแก๊สตัวพา

ห้องฉีดสารตัวอย่าง (sample chamber) เป็นบริเวณที่เกิดการระเหยของสารตัวอย่างก่อนเข้าสู่คอลัมน์ ต้องควบคุมอุณหภูมิให้สูงพอสำหรับการระเหยแต่ไม่สูงจนทำให้สารสลาย มักมีการออกแบบที่แตกต่างกันไปตามผู้ผลิต แต่มีหลักการทำงานเดียวกัน ภายในมักมีซับใน (liner) เพื่อรองรับการฉีดสาร และช่วยให้การระเหยเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ ตัวห้องฉีดจะถูกปิดด้วย septum ซึ่งเป็นวัสดุอย่างซิลิโคนที่สามารถทนความร้อน และป้องกันการรั่วของแก๊สได้เมื่อแทงเข็มผ่านเข้าไป

เทคนิคการฉีดสารในเทคนิคการวิเคราะห์ด้วย GC นั้นอาจแตกต่างกันขึ้นกับชนิด ปริมาณ ความเข้มข้นของสารผสม ผู้ใช้จึงจำเป็นต้องพิจารณาเพื่อให้มีประสิทธิภาพการแยกที่ดีที่สุด สรุปได้ดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 เทคนิคการฉีดสารในเทคนิคการวิเคราะห์ด้วย GC

เทคนิคการฉีด	ลักษณะ	ข้อดี	ข้อจำกัด
split injection	แบ่งสารบางส่วนทิ้ง ไม่เข้าคอลัมน์ ทั้งหมด	ลด overload ในคอลัมน์ เหมาะสำหรับสารที่มีความ เข้มข้นสูง	ไม่เหมาะกับสารที่มี ปริมาณน้อย
splitless injection	ฉีดสารทั้งหมดเข้าสู่ คอลัมน์	เหมาะสำหรับสารที่มีความ เข้มข้นต่ำ ต้องการความไว สูง	ใช้เวลาฉีดนานกว่า และ ต้องควบคุมอุณหภูมิ อย่างแม่นยำ
on-column injection	ฉีดสารโดยตรงเข้าไป ในคอลัมน์	ลดการสูญเสียสาร ไม่ เกิดปฏิกิริยาในช่องฉีด	ไม่เหมาะกับตัวอย่างที่มี องค์ประกอบไม่เสถียร
headspace injection	ใช้เฉพาะไอของสาร ในภาชนะปิด	ลดการรบกวนจากของแข็ง/ ของเหลว เหมาะกับสาร ระเหย	ต้องใช้เครื่องมือเพิ่มเติม

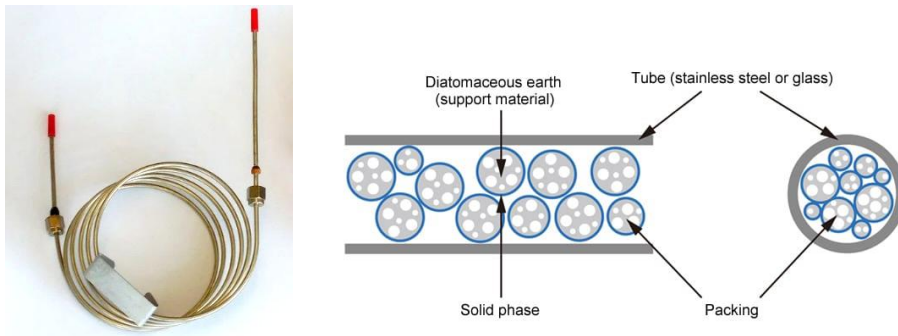
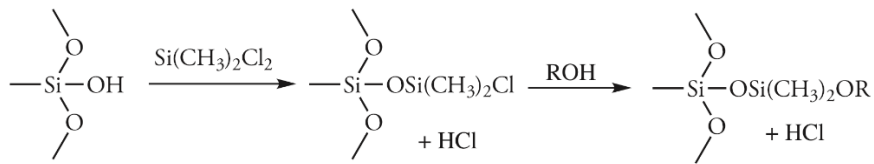
3. คอลัมน์

คอลัมน์ (column) เป็นส่วนที่ใช้แยกสารตัวอย่าง คอลัมน์ที่ใช้กันทั่วไปใน GC นั้นมีอยู่ 2 ประเภท คือ คอลัมน์แบบแพ็ค (packed column) และคอลัมน์แบบแคปิลารี (capillary column) การเลือกใช้คอลัมน์แต่ละชนิดขึ้นอยู่กับสมบัติของสารผสม

1) คอลัมน์แบบแพ็ค (packed column) คอลัมน์ชนิดนี้มีทั้งแบบที่ทำด้วยแก้ว เหล็กกล้าไม่เป็นสนิม ทองแดง หรืออะลูมิเนียม โดยทั่วไปมีความยาวประมาณ 2–6 m และมีเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 2–4 mm ภายในคอลัมน์บรรจุด้วยวัสดุรองรับที่เป็นของแข็ง (solid support) ที่มีขนาดอนุภาคตั้งแต่ 37–44 μm ถึง 250–354 μm ถ้ามีความยาวมาก คอลัมน์จะถูกขดเป็นวงกลม (coil) เพื่อให้บรรจุลงในเตา (oven) ได้ คอลัมน์แบบแพ็คสามารถใช้ได้กับการวิเคราะห์ทั้ง GSC และ GLC โดยถ้าเป็น GSC จะใช้สารของแข็งที่เป็นตัวดูดซับบรรจุในคอลัมน์ เช่น ซิลิกา อะลูมินา เป็นต้น แต่ถ้าเป็นการวิเคราะห์แบบ GLC ต้องใช้ของแข็งเป็นวัสดุรองรับฉาบด้วยของเหลวที่ทำหน้าที่เป็นเฟสอยู่กับที่ เรียกของเหลวนี้ว่า ซับสเตรต (substrate)

วัสดุรองรับที่นิยมใช้มากที่สุดคือ ไดอะตอมไมท์ หรือดินเบา (diatomaceous earth) ซึ่งประกอบด้วยโครงสร้างซิลิกา อนุภาคเหล่านี้มีความพรุนสูง โดยมีพื้นที่ผิวระหว่าง 0.5–7.5 m^2/g ทำให้เกิดการสัมผัสที่เพียงพอระหว่างเฟสเคลื่อนที่และเฟสอยู่กับที่ เมื่อผ่านกระบวนการไฮโดรไลซิส พื้นผิวของไดอะตอมไมท์จะมีหมู่ซิลานอล ($-\text{SiOH}$) ซึ่งทำหน้าที่เป็นตำแหน่งที่ใช้งานสำหรับการดูดซับโมเลกุลของสารละลายในเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแก๊ส-ของแข็ง (gas-solid chromatography, GSC)

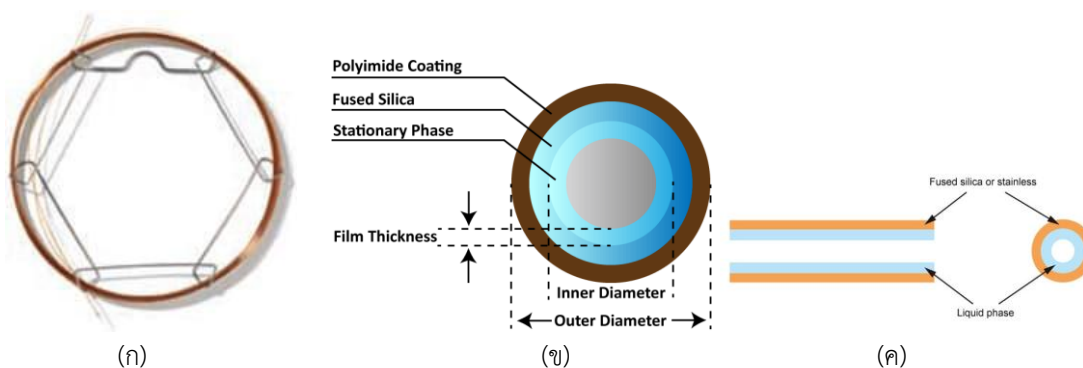
ส่วนเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแก๊ส-ของเหลว (gas-liquid chromatography, GLC) วัสดุบรรจุจะถูกเคลือบด้วยเฟสอยู่กับที่ที่เป็นของเหลว เพื่อป้องกันไม่ให้วัสดุบรรจุที่ไม่ได้เคลือบดูดซับสารละลาย ซึ่งจะทำให้คุณภาพของการแยกสารลดลง พื้นผิวที่มีหมู่ซิลานอลจะถูกทำให้ไม่ทำปฏิกิริยา โดยการทำปฏิกิริยากับไดเมทิลไดคลอโรไซเลน (dimethyldichlorosilane) และล้างด้วยแอลกอฮอล์ เช่น เมทานอล ก่อนที่จะเคลือบอนุภาคด้วยเฟสอยู่กับที่



ภาพที่ 4.7 คอลัมน์แบบแพ็ค

(ที่มาภาพ : <https://www.shimadzu.com/an/service-support/technical-support/analysis-basics/fundamentals/columns.html>)

2) คอลัมน์แบบแคปิลารี (capillary column) คอลัมน์ชนิดนี้ใช้ได้เฉพาะการวิเคราะห์แบบเฟสอยู่กับที่เป็นของเหลว (GLC) เท่านั้น ความยาวของคอลัมน์มีตั้งแต่ 10 ถึง 100 m หรือมากกว่า ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง ภายในประมาณ 0.2 ถึง 0.5 mm คอลัมน์แคปิลารีส่วนใหญ่หรือเกือบทั้งหมดทำด้วยซิลิกาหลอม (fused silica) เนื่องจากมีความบริสุทธิ์สูงและมีจุดที่เกิดปฏิกิริยาต่ำ (มีปริมาณโลหะ ≤ 1 ppm และกลุ่ม OH < 120 ppm) เหตุผลที่ไม่ใช้โลหะเพราะโลหะสามารถเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเคมีได้หลายชนิด และเมื่อภายในคอลัมน์ต้องใช้อุณหภูมิสูงอาจทำให้โลหะเกิดปฏิกิริยาบางอย่างในคอลัมน์ได้ ตามปกติอุณหภูมิของคอลัมน์ต้องสูงกว่าจุดเดือดของสารตัวอย่าง 10 ถึง 25°C พื้นผิวของท่อมักเคลือบด้วยเรซินโพลีอิมิด (polyimide) ทำให้มีความแข็งแรงและง่ายต่อการใช้งาน ดังภาพที่ 4.8 (ข)

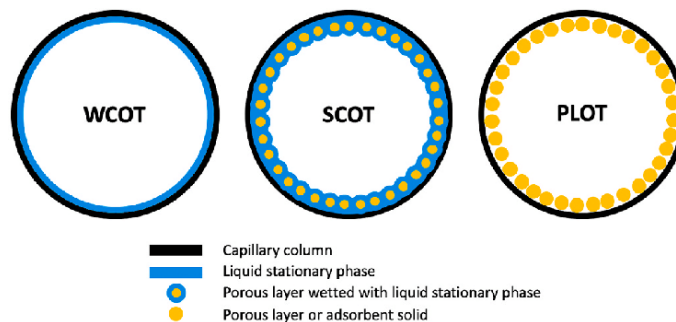


ภาพที่ 4.8 คอลัมน์แบบแคปิลารี (ก) รูปแบบคอลัมน์ (ข) มองด้านหน้า และ (ค) มองด้านข้าง

วิธีการเตรียมคอลัมน์แคปิลารีโดยใช้ของเหลวซึ่งเป็นเฟสอยู่กับที่ (liquid stationary phase) ใส่ในท่อแคปิลารี โดยของเหลวนั้นจะฉาบที่ผิวของคอลัมน์เป็นฟิล์มบาง ๆ ที่มีความหนาน้อยกว่า $1\ \mu\text{m}$ ดังภาพที่ 4.8 (ค) ความหนาของแผ่นฟิล์มของเหลวนั้นจะมีผลต่อการแยกด้วย ซึ่งคอลัมน์แคปิลารีมีประสิทธิภาพการแยกสูงกว่าคอลัมน์แพ็คเกจถึง 10 เท่า และสามารถเข้ากับขนาดของสารตัวอย่างที่น้อยกว่า $0.01\ \mu\text{L}$ ความจุของคอลัมน์แคปิลารีทำให้เพิ่มขึ้นได้โดยฉาบผิวของคอลัมน์แก้วด้วยวัสดุที่มีรูพรุน เช่น แกรไฟต์ โลหะออกไซด์ และซิลิเกต ให้มีลักษณะเป็นชั้นผิวบางก่อน ซึ่งจะทำให้พื้นที่ผิวที่จะให้ของเหลวมาฉาบบนผิวมีมากขึ้น

คอลัมน์แคปิลารีสามารถแบ่งออกเป็นสามประเภทหลัก ดังนี้

1. wall-coated open tubular (WCOT) เป็นคอลัมน์ที่มีการเคลือบฟิล์มบางของเฟสอยู่กับที่บนผนังภายในของท่อแคปิลารี
2. support-coated open tubular (SCOT) เป็นคอลัมน์ที่มีการเคลือบชั้นบางของวัสดุรองรับที่มีเฟสอยู่กับที่บนผนังภายในของท่อแคปิลารี
3. porous-layer open tubular (PLOT) เป็นคอลัมน์ที่มีการเคลือบชั้นบางของวัสดุที่มีรูพรุนบนผนังภายในของท่อแคปิลารี



ภาพที่ 4.9 ประเภทคอลัมน์แคปิลารี

คอลัมน์แคปิลารีมีประสิทธิภาพการแยกดีกว่าอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากมีจำนวนเพลตทางทฤษฎีมากกว่า และมีความยาวกว่าคอลัมน์แบบแพ็คเกจหลายเท่า เช่น คอลัมน์แคปิลารีในภาพที่ 4.8 (ก) มีจำนวนเพลตทางทฤษฎีประมาณ 4,300 เพลตต่อเมตร รวมเป็นจำนวนเพลตทางทฤษฎี 129,000 เพลตทั้งหมด ในขณะที่คอลัมน์แบบแพ็คเกจสามารถรองรับปริมาณตัวอย่างที่มากกว่าได้ อย่างไรก็ตาม ด้วยเส้นผ่านศูนย์กลางที่เล็ก คอลัมน์แคปิลารีจึงต้องใช้ตัวอย่างในปริมาณที่น้อยมาก โดยทั่วไปจะน้อยกว่า $10^{-2}\ \mu\text{L}$

ลำดับการชะ (elution order) ในเทคนิคแก๊ส-ของเหลวโครมาโทกราฟี (GLC) ขึ้นอยู่กับสองปัจจัยหลัก ได้แก่ จุดเดือดของสารละลาย และปฏิกิริยาระหว่างสารละลายกับเฟสอยู่กับที่ หากส่วนประกอบของสารผสมมีจุดเดือดที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ การเลือกใช้เฟสอยู่กับที่ที่ไม่มีผลต่อการแยกสารมากนัก แต่หากสารละลายสองชนิดมีจุดเดือดใกล้เคียงกัน การแยกสารจะสามารถเกิดขึ้นได้ก็ต่อเมื่อเฟสอยู่กับที่มีปฏิกิริยาเฉพาะกับสารละลายชนิดใดชนิดหนึ่ง

โดยหลักทั่วไป สารละลายที่ไม่มีขั้ว (nonpolar) จะแยกได้ง่ายขึ้นเมื่อใช้เฟสอยู่กับที่ที่ไม่มีขั้ว ในขณะที่สารละลายที่มีขั้ว (polar) จะแยกได้ง่ายกว่าเมื่อใช้เฟสอยู่กับที่ที่มีความเป็นขั้ว สำหรับการเลือกเฟสอยู่กับที่ มีเกณฑ์สำคัญหลายประการ ได้แก่

- เฟสอยู่กับที่จะต้องไม่ทำปฏิกิริยากับสารละลาย
- ต้องมีความเสถียรทางความร้อน
- ต้องมีความระเหยต่ำ
- ต้องมีความเป็นขั้วในระดับที่เหมาะสมกับส่วนประกอบของตัวอย่าง

ตารางที่ 4.3 สมบัติของเฟสอยู่กับที่ใน GLC

เฟสอยู่กับที่	สภาพขั้ว	ชื่อทางการค้า	ขีดจำกัดอุณหภูมิ (°C)	การประยุกต์ใช้
squalane	nonpolar	Squalane	150	low-boiling aliphatics hydrocarbons
Apiezon L	nonpolar	Apiezon L	300	amides, fatty acid methyl esters, terpenoids
polydimethyl siloxane	slightly polar	SE-30	300–350	alkaloids, amino acid derivatives, drugs, pesticides, phenols, steroids
phenylmethyl polysiloxane (50% phenyl, 50% methyl)	moderately polar	OV-17	375	alkaloids, drugs, pesticides, polyaromatic hydrocarbons, polychlorinated biphenyls
trifluoropropylmethyl polysiloxane (50% trifluoropropyl, 50% methyl)	moderately polar	OV-210	275	alkaloids, amino acid derivatives, drugs, halogenated compounds, ketones
cyanopropylphenylmethyl polysiloxane (50% cyanopropyl, 50% phenylmethyl)	polar	OV-225	275	nitriles, pesticides, steroids
polyethylene glycol	polar	Carbowax 20M	225	aldehydes, esters, ethers, phenols

ที่มา: https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Instrumental_Analysis

คอลัมน์จะถูกบรรจุอยู่ในเตาที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้เพื่อที่จะทำให้คอลัมน์มีอุณหภูมิสูงพอที่จะทำให้สารตัวอย่างกลายเป็นไออยู่ตลอดเวลา อุณหภูมิที่ใช้ต้องไม่สูงเกินไปจนทำให้ของเหลวที่เป็นเฟสอยู่กับที่กลายเป็นไอ ปกติอุณหภูมิที่ใช้จะต่ำกว่าระบบฉีดสารตัวอย่างประมาณ 10°C

อุณหภูมิของคอลัมน์จะมีผลต่อค่าเวลาการหน่วง (retention time, t_R) และประสิทธิภาพการแยกอย่างมาก ที่อุณหภูมิสูงจะทำให้ไอของสารตัวอย่างส่วนใหญ่อยู่ในเฟสเคลื่อนที่ เพราะการเพิ่มอุณหภูมิจะทำให้การละลายของสารตัวอย่างในเฟสอยู่กับที่ลดลงจึงทำให้สารตัวอย่างออกมาได้อย่างรวดเร็ว ถ้ามีสารผสมอยู่หลายตัวก็จะทำให้สารเหล่านั้นถูกแยกออกจากคอลัมน์ได้ในเวลาใกล้เคียงกัน

4. ตัวตรวจวัด

ตัวตรวจวัด (detector) เป็นอุปกรณ์ที่ใช้สำหรับตรวจวัดสารเชิงเดี่ยวที่ถูกแยกออกมาจากคอลัมน์ แล้วส่งสัญญาณไฟฟ้าไปยังระบบประมวลผล สามารถจำแนกประเภทของตัวตรวจวัดได้เป็นหลายประเภทตามสมบัติการตรวจวัด โดยรูปแบบตรวจวัดที่ใช้กันอย่างกว้างขวาง ได้แก่ flame photometric detector (FID) ใช้ในการตรวจหาสารประกอบอินทรีย์ (สารประกอบที่มี C-C, C-H bonds) และ electron capture detector (ECD) เป็นอุปกรณ์ตรวจวัดที่ดีในการตรวจหาสารประกอบที่มีอะตอมแฮโลเจนเป็นองค์ประกอบ เช่น ยาฆ่าแมลง และยากำจัดวัชพืช เป็นต้น

ตารางที่ 4.4 ตัวตรวจวัด

Detector	Selectivity	Detectability	Linearity
Flame ionization detector (FID)	No	2 pg C/s	10^7
Thermal conductivity detector (TCD)	No	≈ 300 pg/mL	10^{4-6}
Electron capture detector (ECD)	Halogens	fg/s	10^4
Nitrogen-phosphorus detector (NPD)	N, P	fg-pg N, P/s	10^{4-7}
Halogen-specific detector (XSD)	Halogens	pg Cl/s	10^4
Thermionic ionization detector (TID)	N, P	≈ 100 fg N/s, ≈ 100 fg P/s	N: 10^5 , P: 10^4
Photoionization detector (PID)	Aromatics	pg	10^6
Flame photometric detector (FPD)	S, P	pg ^a	S: 10^3 , P: 10^5
Pulsed flame photometric detector (PFPD)	Tuneable for 28 elements	pg S/s, 100 pg P/s ^a	S, P: 10^3
Atomic-emission detector (AED)	Tuneable for any element	pg/s ^a	10^{3-4}
Electrolytic conductivity detector (ELCD) or Hall electrolytic conductivity detector	S, N, halogens	pg	10^6
Mass spectrometric detector (MSD)	Yes	fg-pg	10^{4-7}
Fourier transform infrared (FTIR)	Yes	pg	10^2

^a The detectability considerably varies among particular elements.

pg, picogram; fg, femtogram.

5. ระบบประมวลผล

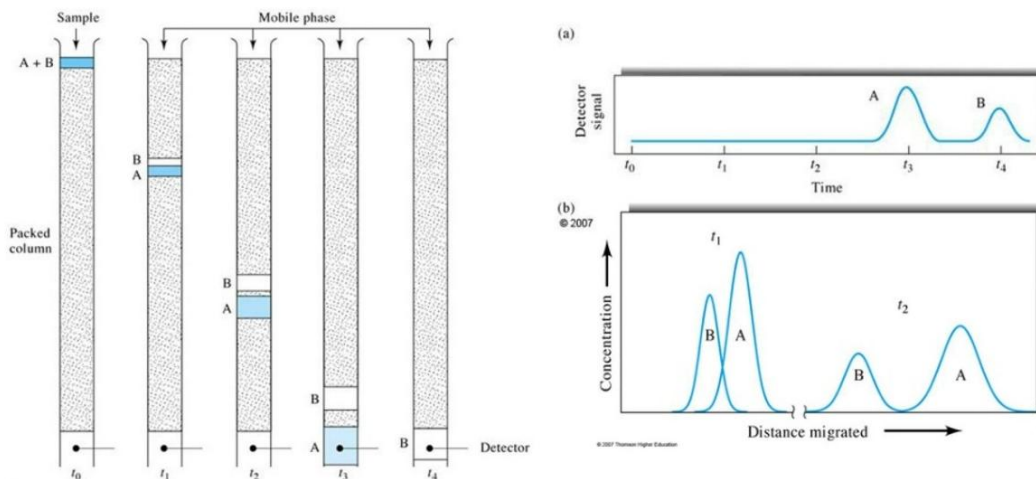
ระบบประมวลผล (data system) เป็นส่วนที่ประมวลผลและข้อมูลต่าง ๆ ด้วยระบบคอมพิวเตอร์ซึ่งจะคำนวณและรายงานผลเป็นเวลาการหน่วง (retention time, t_R) คือเวลาที่สารแต่ละชนิดใช้ผ่านคอลัมน์จากจุดเริ่มต้นถึงจุดสูงสุดของของพีกที่ได้จากโครมาโทแกรม เวลาการหน่วงสามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพเพื่อระบุว่าเป็นสารชนิดใดเมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน นอกจากนี้ลักษณะและขนาดของพีกที่ได้จากโครมาโทแกรมใช้เป็นข้อมูลสำหรับการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณได้

4.1.2 ประสิทธิภาพของคอลัมน์และตัวตรวจวัด

1. ทฤษฎีการชะ

เมื่อนำสารตัวอย่างที่ละลายในเฟสเคลื่อนที่ที่ใส่ลงในส่วนบนของคอลัมน์ จะเกิดการแบ่งส่วนระหว่างเฟสอยู่กับที่กับเฟสเคลื่อนที่ เมื่อเราเติมเฟสเคลื่อนที่เข้าไปในคอลัมน์อีก คือ เติมตัวชะ (eluent) มันจะผลักดันด้วยแรงขับ (driving force) ให้เฟสเคลื่อนที่ที่มีสารตัวอย่างละลายอยู่เคลื่อนที่ลงในคอลัมน์ สารตัวอย่างที่ถูกพาลงมาจะพบกับเฟสอยู่กับที่ส่วนใหม่ จะเกิดการแบ่งส่วนระหว่างเฟสทั้งสองอีก เมื่อเติมตัวชะต่อไปอีกเรื่อย ๆ จะทำให้สารตัวอย่างถูกพาลงมาส่วนล่างของคอลัมน์เป็นขั้นนี้เรื่อย ๆ จนในที่สุดออกจากคอลัมน์ เพราะว่าการเคลื่อนที่ของสารตัวอย่างสามารถเกิดขึ้นได้เนื่องจากการพาของเฟสเคลื่อนที่หรือตัวชะเท่านั้น ดังนั้น อัตราเร็วเฉลี่ยของการเคลื่อนที่ของสารตัวอย่างในคอลัมน์จึงขึ้นอยู่กับเศษส่วนของเวลาที่สารตัวอย่างอยู่ในเฟสเคลื่อนที่ ถ้าสารตัวอย่างที่นำมาใส่ในคอลัมน์มีตัวถูกละลายมากกว่าหนึ่งชนิด และตัวถูกละลายมีค่าสัมประสิทธิ์ของการกระจายหรือสัมประสิทธิ์ของการแบ่งส่วนต่างกัน พบว่าความสามารถในการเคลื่อนที่ของตัวถูกละลายนั้นต่างกัน ทำให้สามารถแยกตัวถูกละลายทั้งสองชนิดออกจากกันได้ ดังแสดงในภาพที่ 4.10 (ก) ถ้าโมเลกุลของตัวถูกละลายทุกตัวมีความประพฤติเหมือนกัน และการเคลื่อนที่ของโมเลกุลของตัวถูกละลายสามารถเคลื่อนที่ได้เท่ากันหมด ซึ่งโครมาโทแกรมที่เป็นอุดมคติจะเป็นโซนแบบแถบ (band) หรือพีก ที่ไม่มีลักษณะการกระจาย

แต่เนื่องจากโมเลกุลของตัวถูกละลายทุกตัวมีความประพฤติไม่เหมือนกัน บางโมเลกุลเคลื่อนที่เร็ว บางโมเลกุลเคลื่อนที่ช้า ทำให้โครมาโทแกรมที่ได้เป็นพีกที่มีความกว้าง (band broadening) ดังแสดงภาพที่ 4.10 (ข) ระยะเวลาที่ใช้ในการชะสารแต่ละชนิดออกมาเรียกว่า เวลาการหน่วง หรือ รีเทนชันไทม์ (retention time, t_R)



ภาพที่ 4.10 แผนผังแสดงการชะสารผสมของตัวถูกละลาย 2 ชนิดในเทคนิคโครมาโทกราฟี

- ลักษณะของพีคที่ได้จะกว้างหรือแคบมากน้อยเพียงใด ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง คือ
1. การใส่สารตัวอย่างลงในคอลัมน์
 2. การแพร่กระจายของสารตัวอย่างในคอลัมน์ จากบริเวณที่มีความเข้มข้นสูงสู่บริเวณที่มีความเข้มข้นต่ำ (longitudinal diffusion)
 3. การไหลของโมเลกุลของสารตัวอย่างในคอลัมน์มีทิศทางที่แตกต่างกัน และได้ระยะทางที่ต่างกัน เพราะขนาดและรูปร่างของเฟสอยู่กับที่ในคอลัมน์แตกต่างกัน (Eddy diffusion)
 4. โมเลกุลของสารตัวอย่างไม่สามารถเกิดสมดุลขึ้นระหว่างเฟสเคลื่อนที่และเฟสอยู่กับที่ (non equilibrium mass transfer)

จากปัจจัยแรก ซึ่งเป็นไปไม่ได้ที่จะใส่สารตัวอย่างลงในคอลัมน์พร้อมกันหมดทุกโมเลกุล การใส่สารตัวอย่างที่กระจายเป็นวงกว้างจะมีผลให้ได้พีคที่กว้าง เมื่อพีคของสารตัวอย่างที่ใส่ลงไปมีความกว้างมาก จะมีผลทำให้การแยกสารออกจากกันได้ไม่ดีเท่าที่ควร ด้วยเหตุผลนี้เวลาใส่สารตัวอย่างลงในคอลัมน์ หรือหยดสารตัวอย่างลงบนกระดาษ หรือเพลตในการทำโครมาโทกราฟีแบบกระดาษ (paper chromatography) หรือโครมาโทกราฟีแบบกระดาษแบบชั้นผิวบาง (thin layer chromatography) ต้องพยายามทำให้เป็นวงที่เล็กที่สุดเท่าที่จะทำได้

สำหรับการควบคุมขนาดของปัจจัยข้ออื่นนั้น สามารถทำได้โดยควบคุมอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ ขนาดของสารที่บรรจุในคอลัมน์หรือเฟสอยู่กับที่ และขนาดของคอลัมน์ พีคจะมีความกว้างมากขึ้น ถ้ามีการกระจายเพิ่มขึ้น ซึ่งเกิดจากสารตัวอย่างอยู่ในคอลัมน์เป็นเวลานานเกินไป การที่จะทำให้สารตัวอย่างไม่อยู่ในคอลัมน์นานเกินไป สามารถทำได้โดยเพิ่มอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ แต่ถ้าเพิ่มอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ จะมีผลให้การแยกสารตัวอย่างผสมเกิดขึ้นไม่ดี พีคไม่สามารถแยกออกจากกันได้ ดังนั้น จึงเป็นความจำเป็นที่ต้องควบคุมอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสมที่จะให้การแยกของสารตัวอย่างผสมเกิดขึ้นได้

ถ้าโมเลกุลของสารตัวอย่างไม่สามารถเกิดสมดุลขึ้นระหว่างเฟสเคลื่อนที่และเฟสอยู่กับที่ได้ พบว่าตัวอย่างจะใช้เวลาอยู่กับเฟสหนึ่งมากกว่าอีกเฟสหนึ่งได้มากกว่าที่ควรจะเป็น ซึ่งมีผลทำให้พีคที่ได้กว้าง เมื่อเพิ่มอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ จะมีผลทำให้มีเวลาน้อยที่จะทำให้สารตัวอย่างเกิดสมดุลระหว่างเฟสทั้งสอง เมื่อขาดการเกิดสมดุลขึ้น จะมีผลทำให้พีคที่ได้กว้าง

สรุปได้ว่าในกรณีที่เกิดการแพร่กระจายของสารตัวอย่างขึ้นจะทำให้พีคที่ได้กว้าง การทำให้การแพร่กระจายลดลงสามารถทำได้ โดยเพิ่มอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ แต่ถ้าเพิ่มอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ให้เร็วขึ้น จะมีผลทำให้สารตัวอย่างไม่สามารถเกิดสมดุลระหว่างเฟสเคลื่อนที่และเฟสอยู่กับที่ได้ เพราะมีเวลาน้อย จะเป็นสาเหตุทำให้พีคกว้างขึ้น แสดงว่าการเพิ่มอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ สามารถทำให้แบนด์กว้างหรือแคบก็ได้ ขึ้นอยู่กับว่าองค์ประกอบใดมีผลมากกว่ากัน ถ้าสมดุลระหว่างเฟสทั้ง 2 เกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็ว การเพิ่มอัตราการไหลก็จะทำให้พีคที่ได้แคบ เพราะสามารถขัดผลของการเกิดการแพร่กระจาย ถ้าสมดุลเกิดขึ้นช้า การเพิ่มอัตราการไหลเพื่อขัดผลของการแพร่กระจาย ไม่สามารถทำให้พีคแคบลงได้ ดังนั้น การควบคุมอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่จึงเป็นสิ่งสำคัญมากในการทำโครมาโทกราฟี

2. ทฤษฎีเพลตของโครมาโทกราฟี

ทฤษฎีเพลต (plate theory) เป็นแนวคิดที่ใช้ในการอธิบายประสิทธิภาพของคอลัมน์ในเทคนิคโครมาโทกราฟี โดยเปรียบเทียบคอลัมน์เป็นเสมือนการแยกตัวอย่างออกเป็นชั้น ๆ หรือเรียกว่า เพลตทางทฤษฎี (theoretical plates, N) ซึ่งในแต่ละเพลตทางทฤษฎีจะเกิดสมดุลระหว่างเฟสอยู่กับที่และเฟสเคลื่อนที่

แนวคิดนี้ถูกพัฒนามาจากทฤษฎีของการกลั่นแบบแบ่งส่วน (fractional distillation) ซึ่งใช้โมเดลของเพลตเพื่ออธิบายการแยกองค์ประกอบของสารผสมในคอลัมน์ โดยจำนวนเพลตทางทฤษฎีของคอลัมน์มีผลต่อประสิทธิภาพการแยกสาร หากคอลัมน์มีจำนวนเพลตทางทฤษฎีสูง จะมีประสิทธิภาพสูงขึ้นในการแยกสาร จำนวนเพลตของคอลัมน์สามารถคำนวณได้จากสมการ (4.1)

$$N = \left(\frac{t_R}{w} \right)^2 \quad \text{.....(4.1)}$$

หรือในรูปแบบที่ใช้ค่าครึ่งหนึ่งของความสูงที่สุดของพีค

$$N = 16 \left(\frac{t_R}{w_b} \right)^2 \quad \text{.....(4.2)}$$

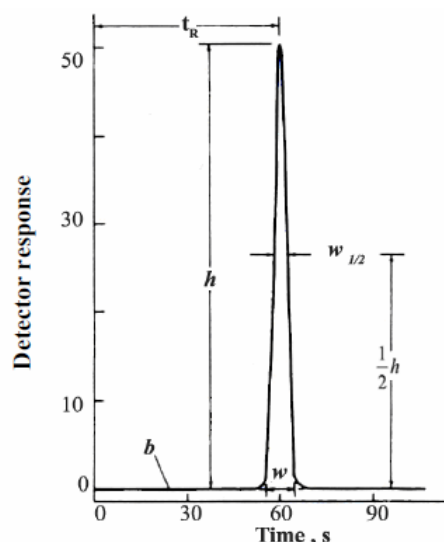
หรือ

$$N = 5.54 \left(\frac{t_R}{w_{1/2}} \right)^2 \quad \text{.....(4.3)}$$

เมื่อ t_R = เวลาการหน่วง (retention time) หรือเวลาที่สารใช้ในการออกจากคอลัมน์

w_b = ความกว้างของพีคที่ฐาน (peak width)

$w_{1/2}$ = ความกว้างของพีคที่ความสูงครึ่งหนึ่ง (peak width at half height)



ภาพที่ 4.11 โครมาโทแกรมของเฮปเทน (Heptane) ที่ได้จากคอลัมน์ที่มีความยาว 50 cm

จำนวนเพลต N จะมีผลต่อลักษณะของพีค ถ้า N มีจำนวนมาก ๆ จะได้พีคที่มีลักษณะแคบและคมชัด การเพิ่ม N ให้มากขึ้นมิได้หมายความว่าต้องเพิ่มความยาวของคอลัมน์ เพราะถ้าความยาวของคอลัมน์เพิ่มขึ้นจะทำให้ t_R เพิ่มขึ้น ซึ่งมีผลทำให้พีคกว้างเหมือนเดิม การเพิ่ม N ให้มากขึ้นหมายความว่าต้องเพิ่มให้มากขึ้นใน 1 หน่วยของความยาวคอลัมน์ที่ยาวเท่าเดิม แสดงว่าประสิทธิภาพของคอลัมน์ (efficiency) ขึ้นอยู่กับจำนวนเพลต ถ้าค่า N เพิ่มขึ้นประสิทธิภาพของคอลัมน์จะเพิ่มขึ้น แต่เนื่องจากการเปรียบเทียบค่า N ที่เพิ่มขึ้นต้องเปรียบเทียบกับคอลัมน์ที่มีความยาวเท่ากันด้วย ดังนั้นการพิจารณาประสิทธิภาพของคอลัมน์จากจำนวนเพลต N จึงไม่สะดวก เราใช้ค่าความสูงของเพลตทางทฤษฎี (height equivalent to a theoretical plate, HETP) บ่งชี้ถึงประสิทธิภาพของคอลัมน์สะดวกกว่า โดย HETP (ใช้สัญลักษณ์ย่อ H) ซึ่งหมายถึงความยาวของคอลัมน์ต่อจำนวนเพลต N เรียกสั้น ๆ ว่า plate height คำนวณได้จากสมการ

$$\text{HETP} = L/N \quad \text{.....(4.4)}$$

เมื่อ L = ความยาวของคอลัมน์ (cm)
 N = จำนวนเพลตทางทฤษฎีในคอลัมน์

คอลัมน์ที่ดีนั้นต้องมีค่า HETP น้อย นั่นคือ N ควรมีค่ามากที่สุดและคอลัมน์ควรสั้นที่สุดเพื่อให้ H มีค่าน้อย เนื่องจาก N จะมีค่าได้มาก เมื่อความกว้างของพีคมีค่าน้อย ดังนั้นสรุปได้ว่าประสิทธิภาพของคอลัมน์จะดีเมื่อพีคที่ได้มีความกว้างน้อยหรือแคบ ประสิทธิภาพของคอลัมน์จะลดลงเมื่อความกว้างของพีคมากขึ้น ซึ่งจะมีผลถึงการแยกสารผสมด้วย ถ้าประสิทธิภาพของคอลัมน์ดีก็ทำให้การแยกสามารถเกิดขึ้นได้ดี เมื่อแทนค่าสมการ (4.1) ลงในสมการ (4.4)

$$H = L \left(\frac{w}{4t_R} \right)^2 \quad \text{.....(4.5)}$$

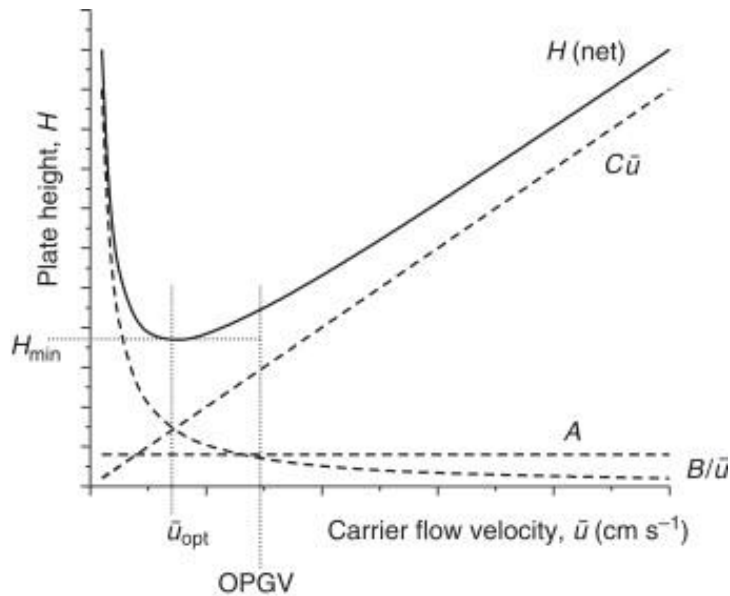
ค่าของ HETP ยิ่งต่ำ หมายความว่าคอลัมน์มีประสิทธิภาพการแยกสารสูงขึ้น ซึ่งก็คือจำนวนเพลตทางทฤษฎีที่มากขึ้นหมายถึงคอลัมน์มีประสิทธิภาพสูงขึ้นในการแยกสาร

สมการ Van Deemter เป็นสมการที่อธิบายความสัมพันธ์ระหว่างประสิทธิภาพการแยกสารในคอลัมน์โครมาโทกราฟี (H) กับอัตราการไหลเชิงเส้น u ของเฟสเคลื่อนที่ ดังสมการ

$$H = A + B/u + Cu \quad \text{.....(4.6)}$$

เมื่อ A = ความไม่เป็นระเบียบของช่องทางการไหลของโมเลกุลในคอลัมน์ (Eddy diffusion)
 B = การแพร่กระจายของโมเลกุลตามแนวยาวของคอลัมน์ (longitudinal diffusion)
 C = การต้านทานต่อการถ่ายโอนมวลของสาร (mass transfer resistance)
 u = อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ (linear velocity)

จากสมการ Van Deemter จะเห็นได้ว่าอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ส่งผลโดยตรงต่อ HETP และต้องมีค่าที่เหมาะสมเพื่อให้คอลัมน์ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด



ภาพที่ 4.12 อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ส่งผลโดยตรงต่อ HETP

ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของคอลัมน์

- ความยาวของคอลัมน์ (column length, L) คอลัมน์ที่ยาวขึ้นมักมีจำนวนเพลตทางทฤษฎีมากขึ้น ทำให้ประสิทธิภาพสูงขึ้น
- เส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาคตัวพา (particle size of stationary phase, d_p) อนุภาคที่มีขนาดเล็กช่วยเพิ่มจำนวนเพลตทางทฤษฎี แต่ทำให้เกิดความต้านทานต่อการไหลเพิ่มขึ้น
- อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ (flow rate of mobile phase, F) อัตราการไหลที่เหมาะสมทำให้เกิดการแพร่กระจายของสารในคอลัมน์ลดลง
- ชนิดของเฟสอยู่กับที่ เฟสอยู่กับที่ที่เหมาะสมจะช่วยให้การแยกมีประสิทธิภาพมากขึ้น

3. ตัวตรวจวัด

ตัวตรวจวัดเป็นส่วนสำคัญเปรียบเสมือนสมองของเครื่อง GC เพื่อบ่งบอกว่ามีสารที่ต้องการวิเคราะห์ หรือมีสารอื่นที่แตกต่างไปจากแก๊สตัวพาออกจากคอลัมน์หรือไม่ ถ้ามีจะสามารถวัดได้ว่ามีปริมาณมากน้อยเพียงใด ตัวตรวจวัดจึงต้องเป็นเครื่องที่มีลักษณะเฉพาะสามารถให้สัญญาณกับสารต่าง ๆ ได้ ให้สภาพไวที่สูงพอ มีการตอบสนองที่ดีในช่วงความเข้มข้นของสารที่กว้างพอและอาจจะมีหลากหลายชนิดตามความเหมาะสมของงาน ลักษณะเฉพาะที่ต้องการของตัวตรวจวัด เมื่อพิจารณาการทำงานของตัวตรวจวัด สามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภทอย่างกว้าง ๆ คือ ตัวตรวจวัดที่วัดปริมาณสารได้โดยตรงเมื่อเมื่อสารตัวอย่างออกจากคอลัมน์ และตัวตรวจวัดที่วัดขนาดแล้วเปลี่ยนเป็นสัญญาณไฟฟ้าเมื่อสารตัวอย่างออกจากคอลัมน์

1) ตัวตรวจวัดที่วัดปริมาณสารได้โดยตรงเมื่อเมื่อสารตัวอย่างออกจากคอลัมน์ เช่น

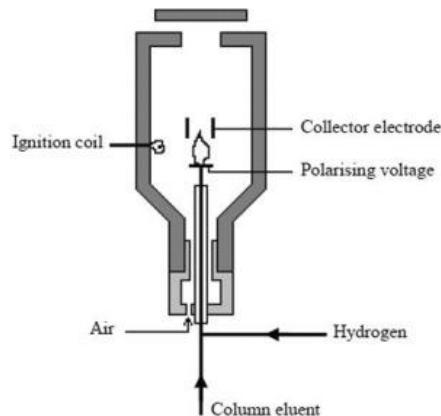
- automatic recording buret ตัวตรวจวัดนี้ใช้เฉพาะไอสารที่เป็นกรดหรือเบส

ไอของสารที่ระเหยออกมาจะดูดซึมเข้าไปในไทเทรชันเซลล์และถูกไทเทรตโดยอัตโนมัติ

- ไนโตรมิเตอร์ (Nitrometer) นำมาใช้ปี ค.ศ. 1953 เฉพาะการใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวพาเท่านั้น เมื่อแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์พาสารตัวอย่างเข้าไปในไนโตรมิเตอร์ ซึ่งบรรจุโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ไว้เต็ม แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์จะถูกดูดซับไปหมด เหลือแต่แก๊สตัวอย่างที่อยู่บนสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งวัดเก็บได้ด้วยบิวเรตขนาดต่าง ๆ
- อินฟราเรด สเปกโตรมิเตอร์ (infrared spectrometer) ไอของสารตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์สามารถดูดกลืนแสงอินฟราเรดได้แตกต่างกันตามปริมาณและชนิดของสาร ดังนั้นไอของสารที่ออกจากคอลัมน์จึงสามารถนำไปวิเคราะห์ต่อโดยวิธี Infrared spectrophotometry
- แมสสเปกโตรมิเตอร์ (mass spectrometer, MS) องค์ประกอบที่ออกจากคอลัมน์ในเทคนิค GC สามารถนำไปวิเคราะห์ต่อโดยใช้เครื่อง MS ซึ่งทำให้สามารถพิสูจน์หรือทำนายชนิดขององค์ประกอบต่าง ๆ ได้ดี เป็นเทคนิคที่นิยมใช้กันมาก เพราะได้ผลดี แต่ราคาสูง

2) ตัวตรวจวัดที่วัดขนาดแล้วเปลี่ยนเป็นสัญญาณไฟฟ้าเมื่อสารตัวอย่างออกจากคอลัมน์ โดยตัวตรวจวัดที่นิยมใช้ในเทคนิค GC เช่น

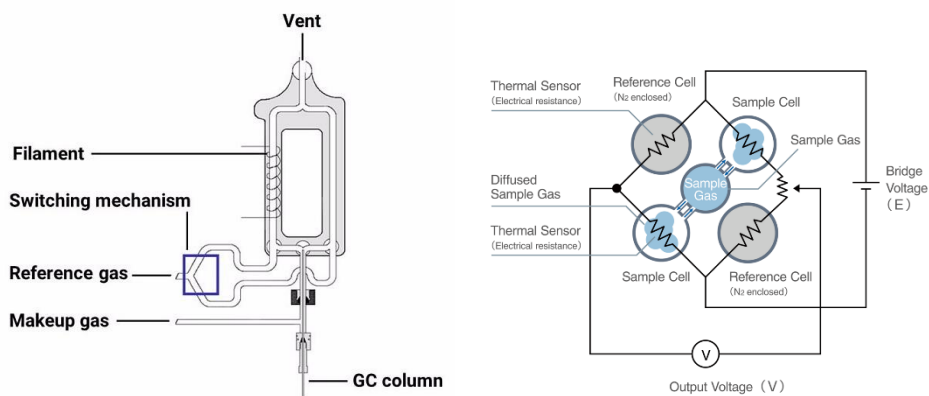
- **Flame ionization detector (FID)** เนื่องจากสารประกอบอินทรีย์ทุกตัวสามารถเกิดการไอออไนซ์ (ionization) ได้ในเปลวไฟ ทำให้เกิดกระแสของไอออนที่สามารถสะสมอยู่ระหว่างขั้วที่มีประจุตรงข้าม 2 ขั้วได้ตามปริมาณของไอออน กระแสที่เกิดขึ้นนี้ยังมีปริมาณน้อยต้องใช้อุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ขยายให้มีปริมาณกระแสไฟฟ้ามากขึ้น ดังนั้น ตัวตรวจวัดชนิดนี้จึงมีราคาแพงพอสมควร ลักษณะของตัวตรวจวัด แสดงดังภาพที่ 4.13 ตัวตรวจวัด FID เป็นที่นิยมใช้กันมากที่สุดเนื่องจากมีความไวสูง มีช่วงการใช้งานกว้าง เปลวไฟที่ใช้ในการทำให้อินทรีย์เกิดการไอออไนซ์ คือเปลวไฟจากแก๊สไฮโดรเจน ดังนั้น ตัวตรวจวัดนี้อาจเรียกว่า hydrogen flame ionization



ภาพที่ 4.13 ตัวตรวจวัด FID

ตัวตรวจวัด FID สามารถตรวจวัดสารตัวอย่างอินทรีย์ที่ระเหยกลายเป็นไอได้เกือบทุกชนิด ยกเว้นสารประกอบที่ถูกออกซิไดซ์มาแล้ว เช่น carbonyl และ carboxyl group โดยปริมาณหรือจำนวนอะตอมของคาร์บอนที่เกิดการไอออไนซ์หรือถูกออกซิไดซ์จะแปรผันโดยตรงกับปริมาณกระแสของไอออนที่เกิดขึ้น ซึ่งสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณสารตัวอย่าง ตัวตรวจวัดชนิดนี้สามารถวิเคราะห์สารประกอบที่มีความเข้มข้นน้อย ๆ ได้ดีกว่าตัวตรวจวัด TCD ถึง 1000 เท่า

- **Thermal conductivity detector (TCD)** ตัวตรวจวัดประกอบด้วยใยเส้นลวด (filament) ที่ทนความร้อนอยู่ตรงกลางหลอดเล็ก ๆ หรือแท่งโลหะที่แก๊สต้องผ่านเข้าไปใยเส้นลวดจะถูกทำให้ร้อนด้วยกระแสไฟฟ้า เมื่อผ่านสารที่ถูกแยกพร้อม แก๊สตัวพาไปยังเส้นลวด มันจะเป็นตัวนำความร้อนออกจากใยเส้นลวด ทำให้ความร้อนของใยเส้นลวดเปลี่ยนแปลง เมื่อปรับความร้อนของใยเส้นลวดให้เท่าเดิม โดยปรับความต้านทานของวงจรไฟฟ้า จะทำให้เกิดสัญญาณส่งเข้าเครื่องบันทึกผล ซึ่งขนาดของสัญญาณจะสัมพันธ์กับปริมาณของสารตัวอย่าง ลักษณะของเทอร์มิสเตอร์ชนิดนี้วิธีตัวตรวจวัดแสดงในภาพที่ 4.14



ภาพที่ 4.14 ตัวตรวจวัด TCD

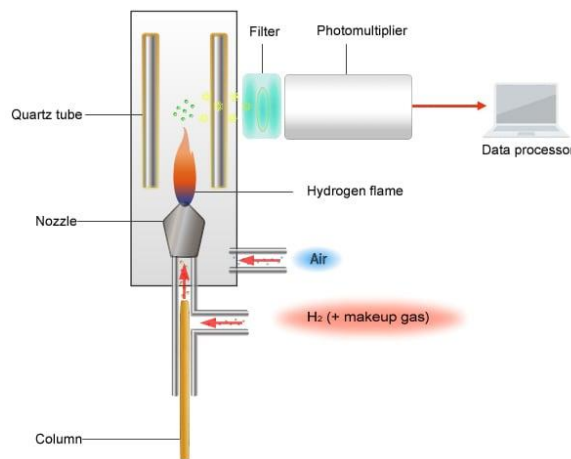
เนื่องจากตัวตรวจวัดชนิดนี้เป็นชนิดหนึ่งที่วัดค่าการนำความร้อนของแก๊ส ดังนั้นจึงเป็นสิ่งจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องรักษาให้ผนังของตัวตรวจวัดมีอุณหภูมิคงที่เสมอ ซึ่งทำให้การวิเคราะห์ทางปริมาณได้ผลถูกต้อง ตารางที่ 4.5 เป็นตารางแสดงค่าการนำความร้อน (thermal conductivity) ของไอของสารชนิดต่าง ๆ จากตารางจะเห็นว่าแก๊ส H₂ และ He มีค่าการนำความร้อนสูงกว่าสารประกอบอินทรีย์อื่น ๆ เป็นอย่างมาก ดังนั้นควรใช้แก๊ส H₂ หรือ He เป็นแก๊สตัวพาผ่านไปในเครื่องก่อน จนกระทั่งอุณหภูมิของตัวตรวจวัดคงที่ หลังจากการชะ (elute) สารตัวอย่างที่เป็นสารอินทรีย์ออกจากคอลัมน์เข้าตัวตรวจวัด จะปรากฏว่าการนำความร้อนของแก๊สออกจากใยเส้นลวดจะลดลง ทำให้ใยเส้นลวดมีอุณหภูมิสูงขึ้น วงจรไฟฟ้าจะไม่สมดุลเกิดการปรับใหม่เพื่อทำให้ความร้อนของใยเส้นลวดเท่าเดิม จึงทำให้เกิดเป็นสัญญาณไปยังเครื่องบันทึก แต่ถ้าใช้ N₂ เป็นแก๊สตัวพาจะทำให้ความไวลดลง เพราะค่าการนำความร้อนของแก๊ส N₂ ใกล้เคียงกับสารตัวอย่างมาก

ตารางที่ 4.5 ค่าการนำความร้อนของไอของสารชนิดต่าง ๆ

Gas	Thermal Conductivity (mW/m·K)
N ₂	26.0
Ar	17.9
H ₂	186.9
He	156.7
C ₂ H ₄	20.5
CH ₄	34.1
C ₂ H ₆	21.3

- **Flame photometric detector (FPD)** ตัวตรวจวัดชนิดนี้ให้แก๊สไฮโดรเจนทำให้เกิดเปลวไฟเช่นเดียวกับ FID แทนที่จะวัดปริมาณไอออนของสารตัวอย่างที่เกิดไอออน FPD จะใช้หลอดหลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ (photomultiplier, PMT) วัดปริมาณแสงที่ถูกปล่อยออกมาในเปลวไฟ เมื่อไอออนของสารตัวอย่างเข้าไปในเปลวไฟ ตามปกติ FPD เป็นอุปกรณ์ที่ใช้ในเทคนิค GC เพื่อการตรวจวัดสารประกอบที่มีธาตุกำมะถัน (S) ฟอสฟอรัส (P) และสารประกอบอินทรีย์ของดีบุก (Sn) หรือสารประกอบจำพวกออร์แกโนเมทัลลิก (organometallic) ที่มีอะตอมของโลหะที่สามารถถูก excited ในเปลวไฟของไฮโดรเจนได้ หรือสารประกอบที่มีอะตอมของแฮโลเจน หลักการทำงานของ FPD อาศัยการที่สารประกอบเหล่านี้ปล่อยโฟตอนที่ความยาวคลื่นเฉพาะเมื่อถูกเผาไหม้ในเปลวไฟไฮโดรเจน-อากาศ แสงที่ปล่อยออกมาจะถูกกรองผ่านฟิลเตอร์เพื่อเลือกความยาวคลื่นที่ต้องการ ก่อนเข้าสู่หลอด PMT ซึ่งจะแปลงความเข้มของแสงเป็นสัญญาณไฟฟ้า

FPD มีความไวสูงต่อสารประกอบของกำมะถันและฟอสฟอรัส ทำให้เหมาะสำหรับการวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและการตรวจหาสารประกอบกำมะถันในปิโตรเลียม อย่างไรก็ตาม FPD มีข้อจำกัดในเรื่องของความเสถียรและความไวต่อสภาวะแวดล้อม เช่น อัตราการไหลของแก๊สและความสะอาดของระบบ ซึ่งต้องการการควบคุมอย่างเคร่งครัดเพื่อให้ได้ผลการวิเคราะห์ที่แม่นยำ

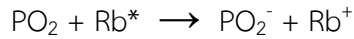
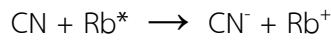


ภาพที่ 4.15 ตัวตรวจวัด FPD

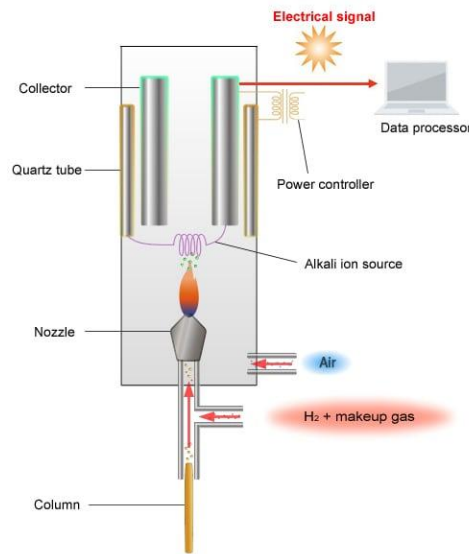
- **Nitrogen phosphorus detector (NPD)** หรือตัวตรวจวัดเทอร์มิโอนิก (thermionic detector, FTD) เป็นตัวตรวจวัดที่มีความไวสูงและเลือกจำเพาะสำหรับสารประกอบอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนและสารประกอบฟอสฟอรัสทั้งอินทรีย์และอนินทรีย์ อย่างไรก็ตาม ความจำเพาะของ FTD ต่อสารประกอบฟอสฟอรัสนั้นน้อยกว่าตัวตรวจวัดแบบ FPD นอกจากนี้ FTD ไม่ตอบสนองต่อสารประกอบไนโตรเจนอนินทรีย์ (inorganic nitrogen)

FTD ทำงานโดยใช้เปลวไฟไฮโดรเจน-อากาศเพื่อเผาไหม้สารที่ออกมาจากคอลัมน์ ในกระบวนการนี้ จะมีการใช้ platinum coil ที่เคลือบด้วยสารแอลคาไล เช่น รูบิเดียม (Rb) ซึ่งถูกให้ความร้อนด้วยไฟฟ้าจนเป็นพลาสมา เมื่อสารประกอบที่มีไนโตรเจนหรือฟอสฟอรัสสัมผัสกับ

platinum coil ที่ร้อน จะเกิดการแตกตัวเป็นไอออน Rb radical (Rb*) ที่เกิดขึ้นจากความร้อน พลาสมาจะจับกับ CN หรือ สารประกอบอินทรีย์ที่มีฟอสฟอรัส ดังสมการ



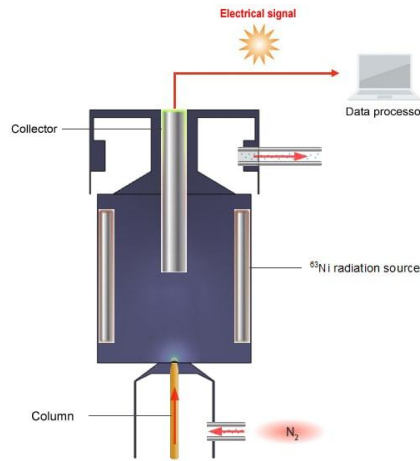
ไอออนเหล่านี้จะถูกดึงดูดไปยังอิเล็กโทรดรวบรวม (collector electrode) ทำให้เกิดกระแสไฟฟ้าที่สามารถวัดได้ สัญญาณไฟฟ้านี้จะถูกขยายและส่งไปยังระบบประมวลผลข้อมูล



ภาพที่ 4.16 ตัวตรวจจับ FTD

- **Electron Capture Detector (ECD)** หลักการของตัวตรวจจับชนิดนี้ คือ แก๊สตัวพาที่ออกจากคอลัมน์เข้าตัวตรวจจับจะถูกทำให้เกิดการไอออไนซ์ด้วยรังสีเบตา (β) ที่เกิดจากสารกัมมันตภาพรังสี เช่น ^3H หรือ ^{63}Ni หรือ ^{55}Fe จากการไอออไนซ์จะทำให้เกิดอิเล็กตรอนและอิเล็กตรอนที่เกิดขึ้นนี้จะวิ่งไปที่ขั้วสะสม (collector electrode) ทำให้เกิดความต่างศักย์ระหว่างขั้วทั้งสองและยังมีอิเล็กตรอนเหลืออยู่อีกจำนวนหนึ่งเป็น electron cloud ทำให้เกิดกระแสไฟฟ้าขึ้น เมื่อมีสารตัวอย่างออกจากคอลัมน์เข้าไปในตัวตรวจจับโมเลกุลของสารตัวอย่างจะดูดกลืนอิเล็กตรอนไว้ได้จำนวนหนึ่งตามปริมาณของสารตัวอย่าง ทำให้กระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นจากอิเล็กตรอนลดลง ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้จะทำให้เกิดเป็นสัญญาณ ส่งไปยังเครื่องบันทึก

แก๊สตัวพาที่เหมาะสมสำหรับ ECD คือไนโตรเจน หรืออาร์กอน +10% มีเทน ความไวของเครื่องขึ้นอยู่กับอัตราการไหลของแก๊สตัวพาซึ่งทำให้เกิด electron cloud และอุณหภูมิของตัวตรวจจับ เนื่องจากแก๊สออกซิเจนและน้ำเป็นสารที่ดูดกลืนอิเล็กตรอนได้ ดังนั้น ถ้าแก๊สตัวพามีน้ำหรือออกซิเจนปนอยู่จะทำให้ความไวของตัวตรวจจับลดลง ลักษณะของตัวตรวจจับ ECD แสดงดังภาพที่ 4.16



ภาพที่ 4.17 ตัวตรวจวัด ECD

ECD เป็นตัวตรวจวัดที่ไวต่อสารประกอบอินทรีย์ที่มีอะตอมของธาตุที่มี electronegativity สูง เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส ออกซิเจน และฮาโลเจน ECD เป็นตัวตรวจวัดที่ใช้ได้ดีสำหรับงานวิเคราะห์สารจำพวกยาฆ่าแมลง สารประกอบอินทรีย์ที่มีตะกั่ว และพวก polychlorinatedbiphenyl (PCB) ตัวตรวจวัด ECD ไม่สามารถใช้วิเคราะห์สารไฮโดรคาร์บอนที่อิ่มตัวได้ สารประกอบที่ไม่สามารถใช้กับตัวตรวจวัด FID และ TCD สามารถนำมาใช้กับ ECD ได้ผล

ตัวตรวจวัดชนิดอื่น ๆ อีกนอกเหนือจากที่กล่าวมา ซึ่งได้ผลิตขึ้นมาสำหรับใช้กับงานเฉพาะอย่างหรือเป็นตัวตรวจวัดที่ดัดแปลงแก้ไขมาจากตัวตรวจวัดที่กล่าวมาแล้วเพื่อให้มีความไวสูงขึ้นสำหรับงานเฉพาะอย่างที่ต้องการ เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส ตัวตรวจวัด (nitrogen-phosphorus detector, NPD) ตัวตรวจวัดชนิดนี้ได้ดัดแปลงมาจากตัวตรวจวัดชนิด FID เพื่อให้มีความไวต่อสารประกอบที่มีไนโตรเจนและฟอสฟอรัสเท่านั้น ตัวตรวจวัด NPD มีเกลือแอลคาไลเฮไลต์ (alkali-halide salt) วางอยู่เหนือเปลวไฟ เกลือแอลคาไลจะมีผลทำให้ความไวของตัวตรวจวัดที่มีต่อสารประกอบของไนโตรเจน

การพิจารณาว่าควรเลือกใช้ตัวตรวจวัดชนิดใดนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของสารและความไวของตัวตรวจวัด ตัวตรวจวัดแต่ละชนิดเหมาะสำหรับวิเคราะห์สารแต่ละชนิดไม่เหมือนกัน ต้องเลือกใช้ให้ตรงตามความสามารถของมัน อย่างไรก็ตามเราสามารถสรุปได้ว่า ตัวตรวจวัดที่ดีต้องมีสมบัติดังต่อไปนี้คือ

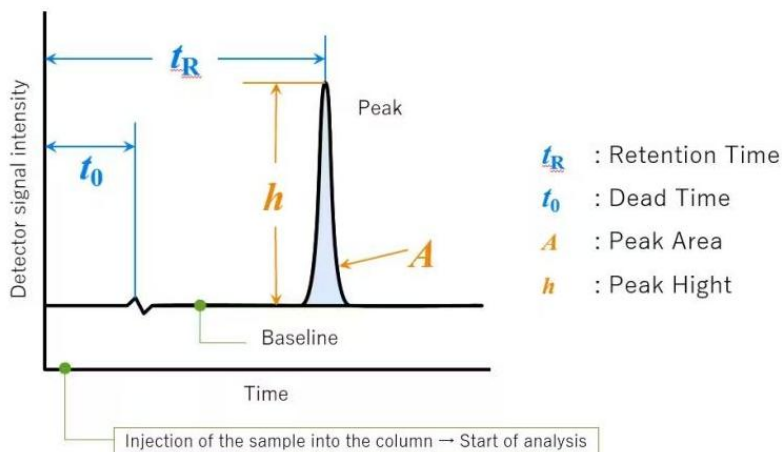
1. สัญญาณรบกวนที่เกิดขึ้นควรน้อยมาก (low noise)
2. มีความไวสูง (high sensitivity) และควรไวต่อไอของสารทุกชนิด
3. มีความรู้สึกต่อสารอย่างรวดเร็ว แม้ว่ามีปริมาณน้อย (rapid response) ในการชะ (elute) สารออกจากคอลัมน์ สารที่ออกจากคอลัมน์จะค่อย ๆ ออกมาทีละน้อยจนถึงมาก แล้วลดน้อยลงอีกทำให้เกิดเป็นพีก ดังนั้นตัวตรวจวัดต้องรู้สึกหรือติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณของสารได้ดี จึงจะทำให้เกิดพีกและการแยกขึ้นได้

4. ผลที่ได้จากตัวตรวจวัดจะต้องเหมือนกันทุกครั้งเมื่อใช้สารตัวอย่างชนิดเดียวกัน (high reproducibility)
5. ไม่ไวต่อการเปลี่ยนแปลงความดันของแก๊สตัวพาหรืออุณหภูมิ และไม่เกิดปฏิกิริยาต่อแก๊สตัวพา
6. ไม่ทำลายหรือเปลี่ยนแปลงสมบัติของสารที่ต้องการวิเคราะห์ ซึ่งมีความสำคัญมาก ถ้าต้องการเก็บสารที่แยกได้นี้ไปทำการวิเคราะห์ต่อไป
7. ราคาถูก

4.1.3 การทำปริมาณวิเคราะห์และการแปลผล

1. โครมาโทแกรม

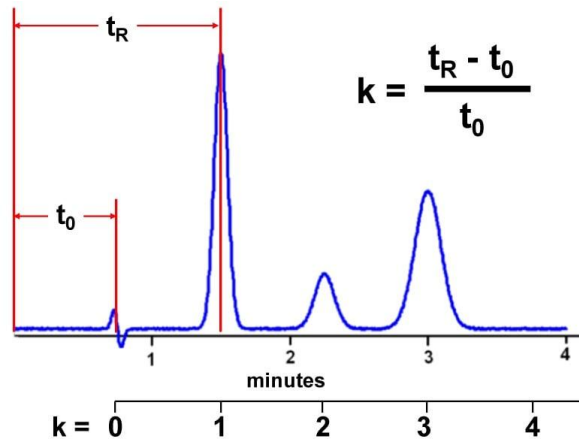
โครมาโทแกรมของ GC เป็นผลลัพธ์ที่ได้จากการแยกสารตัวอย่างในคอลัมน์ โดยแสดงผลในรูปแบบกราฟที่มีแกนนอนเป็นเวลา เรียกว่า เวลาการหน่วง (retention time, t_R) และแกนตั้งแสดง ความเข้มข้นหรือสัญญาณของสารที่ตรวจวัดได้ ลักษณะสำคัญของโครมาโทแกรม ดังภาพที่ 4.18



ภาพที่ 4.18 ลักษณะสำคัญของโครมาโทแกรม

คำศัพท์ของโครมาโทแกรม

- พีก (peaks) พีกแทนสารแต่ละชนิดที่ถูกแยกออกจากกัน พีกที่ชัดเจนและแยกจากกันอย่างสมบูรณ์บ่งบอกถึงการแยกสารที่ดี โดยความสูงและพื้นที่ใต้พีกสัมพันธ์กับปริมาณสารในตัวอย่าง
- เวลาการหน่วง (retention time, t_R) คือเวลาที่ใช้ตั้งแต่การฉีดสารตัวอย่างจนกระทั่งสารแต่ละตัวถูกตรวจวัดที่ตัวตรวจวัด ซึ่ง t_R เป็นตัวบ่งชี้ที่สำคัญในการระบุสาร เทียบกับเวลาที่ใช้สำหรับองค์ประกอบที่ไม่ถูกหน่วงเหนี่ยวในคอลัมน์ (t_0) หรือ ระยะเวลาที่เฟสเคลื่อนที่ถูกตรวจวัดโดยสารที่มีลักษณะเคมีคล้ายกันมักจะมี t_R ที่ใกล้เคียงกัน
- ตัวแปรการหน่วง (retention factor, k) เป็นค่าที่ใช้ในการอธิบายพฤติกรรมของสารตัวอย่างที่เราสนใจว่าจะใช้เวลาอยู่ในเฟสอยู่กับที่นานเท่าใด (t_R) เมื่อเทียบกับสารที่ถือว่าไม่ถูกหน่วงในเฟสอยู่กับที่เลย (t_0) ดังภาพที่ 4.18



ภาพที่ 4.19 ตัวแปรการหน่วง

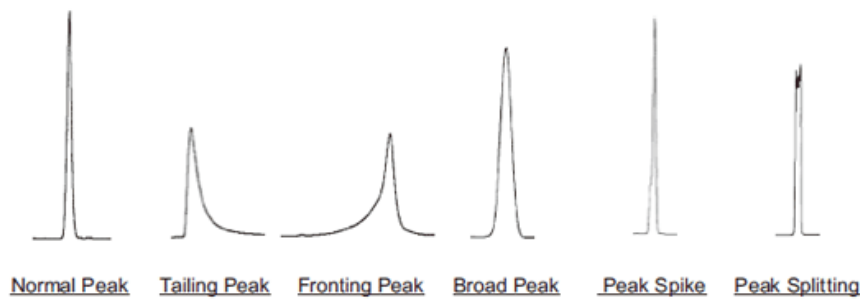
ค่า retention factor ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ชนิดของเฟสอยู่กับที่ องค์ประกอบและสัดส่วนของเฟสเคลื่อนที่ ค่า pH และอุณหภูมิ เป็นต้น ค่า retention factor (k) ที่ดีควรจะมีค่าอยู่ระหว่าง 2-10 เพราะหากค่า k มากย่อมส่งผลต่อเวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ที่มากเกินไป และอาจส่งผลต่อรูปร่างของพีคในด้านความกว้างและความสูง โดยจะมีผลต่อค่าประสิทธิภาพของคอลัมน์หรือสมรรถนะของวิธีการที่แสดงให้เห็นในจำนวนเพลตทางทฤษฎี (theoretical plates, N)

ถ้า $k = 0$ หมายถึง สารตัวอย่างใช้เวลาอยู่ในเฟสอยู่กับที่เป็นศูนย์เท่าของเวลาที่อยู่ใน เฟสเคลื่อนที่ ซึ่งก็คือไม่ถูกหน่วงในคอลัมน์เลย

ถ้า $k = 1$ หมายถึง สารตัวอย่างใช้เวลาอยู่ในเฟสอยู่กับที่มากกว่าในเฟสเคลื่อนที่เป็น 2 เท่าของเวลาที่อยู่ในคอลัมน์ นั่นคือ t_R ของพีคที่ออกมาจะใช้เวลาเป็นสองเท่าหรือมากกว่าเช่นกัน

- dead time หรือ hold-up time (t_0) คือ ระยะเวลาที่แก๊สตัวพาใช้ในการเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์โดยไม่มีการกักเก็บสารใด ๆ ในคอลัมน์ สามารถหาค่านี้ได้โดยการฉีดสารที่ไม่ถูกหน่วงหรือกักเก็บไว้ เช่น มีเทน หรืออากาศเข้าไปในระบบ และวัดเวลาในการออกมาของสารนั้น ค่า t_0 นี้เป็นค่าพื้นฐานที่สำคัญในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC เนื่องจากช่วยในการคำนวณและปรับปรุงการแยกสารในตัวอย่าง

- รูปร่างของพีค (peak shape) พีคที่มีรูปร่างสมมาตรและแคบบ่งบอกถึงการแยกที่มีประสิทธิภาพและระบบที่ทำงานได้ดี พีคที่มีหาง (tailing) หรือแบน (fronting) อาจบ่งชี้ปัญหาหลักในการแยกระหว่างสารตัวอย่างกับเฟสอยู่กับที่ หรือความผิดปกติของคอลัมน์ เป็นต้น



ภาพที่ 4.20 รูปทรงของพีค

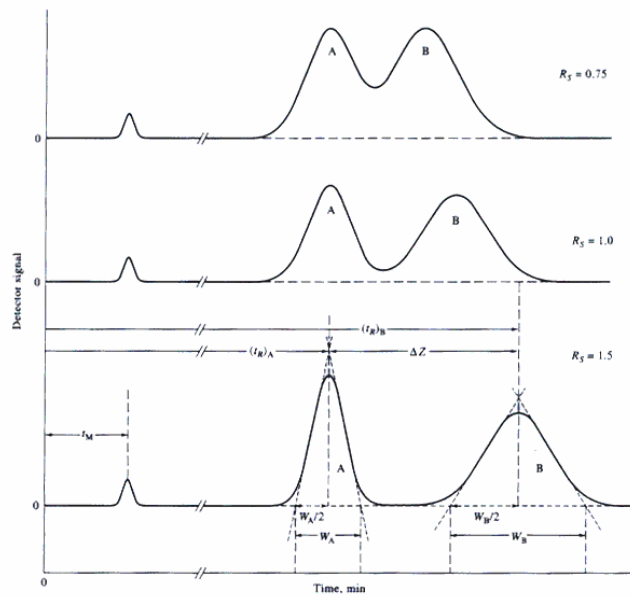
- ฐานของพีค (peak baseline) คือ เส้นฐานที่คงที่และราบเรียบเป็นสิ่งสำคัญในการวัดพื้นที่ใต้พีคและการคำนวณปริมาณสาร การสั่นหรือความไม่เสถียรของฐานพีคอาจเกิดจากสัญญาณรบกวนของตัวตรวจวัด หรือปัญหาในระบบแก๊สตัวพา

- ประสิทธิภาพการแยก (resolution, R or R_s) คือการวัดความสามารถในการแยกพีคที่อยู่ใกล้เคียงกัน ปริมาณการแยกระหว่างพีค 2 พีค คือความแตกต่างระหว่าง t_R ระหว่างพีคทั้งสอง กับผลรวมของครึ่งหนึ่งของความกว้างของพีคทั้งสอง พบว่าถ้า t_R ของพีคทั้งสองแตกต่างกันมาก การแยกจะเกิดได้ดี แต่ถ้าความกว้างของพีคมีค่ามาก การแยกเกิดขึ้นได้ไม่ดี สำหรับพีคที่สมมาตรคือมีรูปร่างเป็น normal gaussian โดยการแยกที่ดีจะมีระยะห่างระหว่างพีคที่ชัดเจน โดยไม่เกิดการทับซ้อนกันของสัญญาณ

$$R = \frac{t_{R_2} - t_{R_1}}{\left(\frac{w_1}{2} + \frac{w_2}{2}\right)} = \frac{2(t_{R_2} - t_{R_1})}{w_1 + w_2} \quad \dots(4.7)$$

เมื่อ t_{R_1} และ t_{R_2} = retention time ของพีคที่ 1 และ 2 ตามลำดับ
 w_1 และ w_2 = ความกว้างของฐานพีคที่ 1 และ 2 ตามลำดับ

สำหรับพีคที่สมมาตรและมีค่า $R = 1$ จะมีพื้นที่พีคที่ซ้อนกันเพียง 2% ซึ่งเพียงพอสำหรับงานวิเคราะห์เชิงปริมาณ ถ้าการแยกมีค่าเท่ากับ 1.5 พีคสามารถแยกออกจากกันได้สมบูรณ์ ลักษณะของการแยกดังแสดงในภาพที่ 4.21

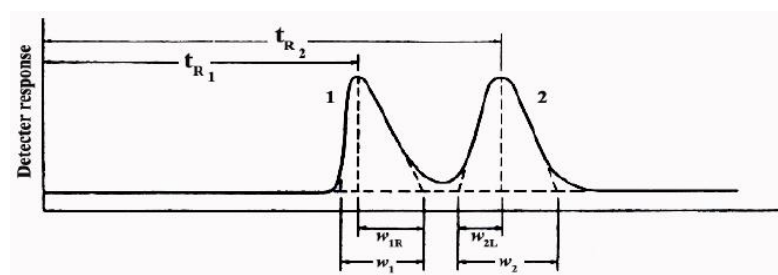


ภาพที่ 4.21 ประสิทธิภาพการแยก

แต่ในกรณีที่พีคไม่สมมาตร ควรใช้สมการ

$$R = \frac{t_{R2} - t_{R1}}{w_{1R} + w_{2L}} \quad \dots(4.8)$$

สมการ 4.7 และ 4.8 สามารถใช้ค่า retention volume (V_R) แทนค่า t_R ได้ ค่า w_{1R} และ w_{2L} สามารถวัดได้จากพีคของโครมาโทแกรม ดังแสดงในภาพที่ 4.22 สำหรับหน่วยของ w_{1R} และ w_{2L} ต้องใช้ให้สอดคล้องตามค่า t_R หรือ V_R

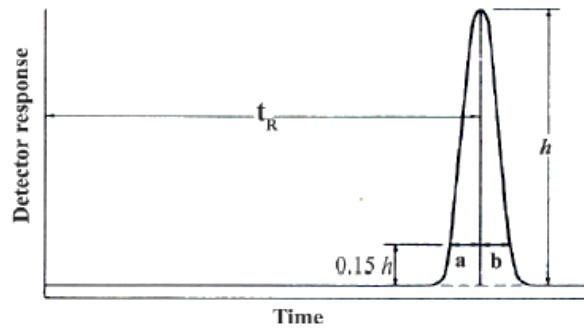


ภาพที่ 4.22 แสดงการหาค่า w_{1R} และ w_{2L} จากโครมาโทแกรมของพีคที่ไม่สมมาตร

ตามปกติพีคที่ได้จะไม่สมมาตรมีหาง (peak tailing) ดังแสดงในภาพที่ 4.22 พีคที่ 1 มีหางซึ่งจะมีผลทำให้การแยกไม่ดี การพิจารณาว่าพีคสมมาตรหรือไม่ พิจารณาได้จาก asymmetry factor (a_f)

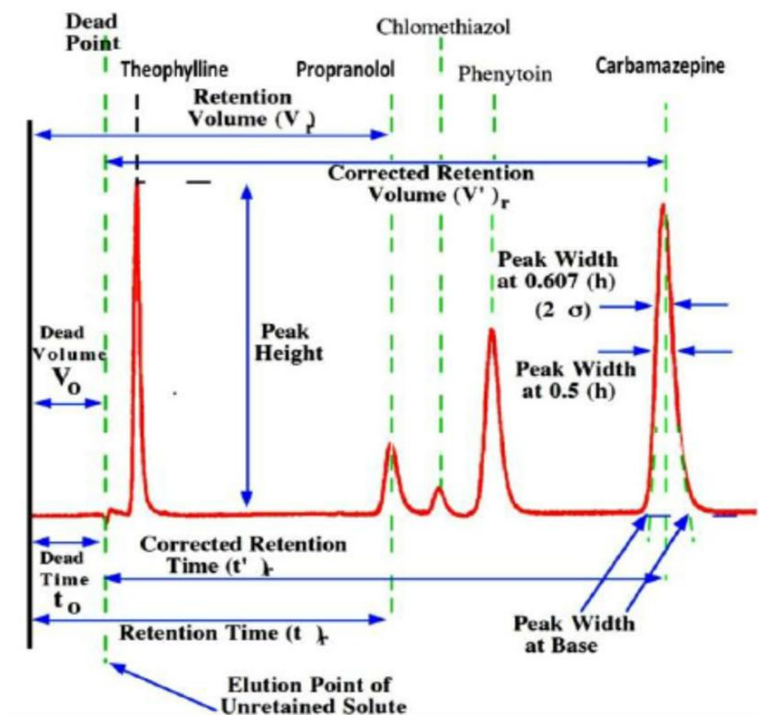
$$a_f = \frac{W_{0.15R}}{W_{0.15L}} \quad \dots\dots(4.9)$$

โดยใช้ความกว้างของพีกที่มีความสูงเท่ากับ 0.15 เท่าของความสูง (0.15h) ด้านขวาหารด้วย ด้านซ้าย ดังแสดงในภาพที่ 4.23



ภาพที่ 4.23 โครมาโทแกรมแสดงการวัดค่าความกว้างของพีกด้านซ้ายและขวาที่มีความสูง 0.15h

- ความสามารถในการทำซ้ำ (reproducibility) โครมาโทแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์ซ้ำในสภาวะเดียวกันควรแสดงความสอดคล้องในค่า t_R และความสูงของพีก ซึ่งเป็นการยืนยันความเสถียรของระบบ GC



ภาพที่ 4.24 องค์ประกอบของโครมาโทแกรมของ GC

2. เทคนิคการเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ด้วย GC

ตัวอย่างส่วนใหญ่ไม่สามารถฉีดเข้าไปในคอลัมน์ของเครื่อง GC ได้โดยตรง ดังนั้น การเตรียมตัวอย่างจึงเป็นขั้นตอนสำคัญที่สุดก่อนการวิเคราะห์สารด้วย GC ความซับซ้อนของขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น ลักษณะความซับซ้อนของตัวอย่าง ความเข้มข้นของสารวิเคราะห์ในตัวอย่าง และขีดจำกัดของระดับที่ต้องการตรวจวัดโดยเครื่อง GC

การเตรียมตัวอย่างอาจเป็นกระบวนการที่ซับซ้อนและมีผลต่อความแม่นยำของการวิเคราะห์สาร โดยเฉพาะสำหรับสารอินทรีย์และสารอินทรีย์ระเหยง่าย (volatile organic compounds, VOCs) วิธีการเตรียมตัวอย่างที่สำคัญ ได้แก่ การสกัด (extraction) การทำความสะอาดตัวอย่าง (cleanup) การทำอนุพันธ์ (derivatization) การเปลี่ยนรูปเป็นเฟสไอระเหย (transfer to vapor phase) และการเพิ่มความเข้มข้นของสาร (pre-concentration) เป็นต้น โดยขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างยังส่งผลต่อพารามิเตอร์ทางสถิติที่สำคัญของการวิเคราะห์ ได้แก่

1. ขีดจำกัดของการตรวจวัด (limit of detection, LOD) ความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่สามารถตรวจพบได้ที่ระดับความเชื่อมั่นที่กำหนด
2. ขีดจำกัดของการหาปริมาณ (limit of quantitation, LOQ) ความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่สามารถวัดค่าได้อย่างมีความหมายทางปริมาณ
3. ขีดจำกัดของความเป็นเส้นตรง (limit of linearity, LOL) ขอบเขตสูงสุดของความเข้มข้นของสัญญาณตอบสนองจากเครื่องมือ
4. ช่วงไดนามิกเชิงเส้น (linear dynamic range, LDR) ช่วงของความเข้มข้นที่เครื่องมือสามารถให้การตอบสนองที่เป็นเส้นตรง

การสกัดเป็นเทคนิคการเตรียมตัวอย่างที่ใช้มาแต่เดิม โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อแยกสารวิเคราะห์ออกจากเมทริกซ์ของตัวอย่างให้ได้ผลดีที่สุดทั้งในด้านประสิทธิภาพและความจำเพาะเจาะจง เทคนิคการสกัดที่สำคัญ ได้แก่

1. การสกัดด้วยเฟสของแข็ง (solid-phase extraction, SPE) ใช้ในการแยกสารวิเคราะห์ออกจากตัวอย่างที่เป็นของแข็ง
2. การสกัดด้วยของเหลว-ของเหลว (liquid-liquid extraction, LLE) ใช้ในการสกัดสารจากตัวอย่างที่เป็นสารละลาย

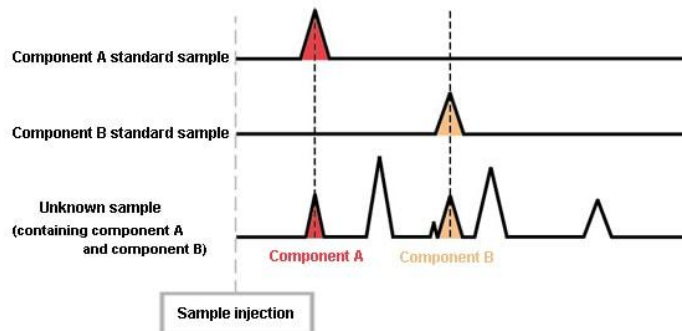
3. การประยุกต์ใช้เทคนิค GC

เทคนิค GC สามารถประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์สารตัวอย่างทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณได้

1) การวิเคราะห์ทางคุณภาพ

การวิเคราะห์ทางคุณภาพ (qualitative analysis) ในเทคนิคโครมาโทกราฟีสามารถทำได้โดยการเปรียบเทียบค่า t_R ของสารตัวอย่างกับสารมาตรฐานที่ทราบค่า t_R แล้ว โดยที่เงื่อนไขการทดลองต้องเหมือนกันหมด เพื่อให้การเปรียบเทียบมีความแม่นยำและเชื่อถือได้ ซึ่งหลักการนี้ใช้เพื่อยืนยันตัวตนของสารในตัวอย่างโดยอาศัยการจับคู่ค่าเวลาการเก็บรักษากับสารมาตรฐาน แต่วิธีการวิเคราะห์นี้มีข้อจำกัดที่สำคัญ หากไม่มีสารมาตรฐานที่เหมาะสมหรือทราบล่วงหน้าว่าควรใช้

สารมาตรฐานชนิดใดในการเปรียบเทียบ เราจะไม่สามารถเดาหรือระบุได้ว่าสารตัวอย่างนั้นควรเป็นอะไร วิธีนี้จึงไม่สามารถดำเนินการได้ในกรณีที่ข้อมูลสารมาตรฐานไม่ครบถ้วนหรือไม่พร้อมใช้งาน นอกจากนี้ การรักษาสภาวะการทดลองให้คงที่ เช่น อุณหภูมิ อัตราการไหลของแก๊ส และการตั้งค่าของเครื่อง GC มีความสำคัญอย่างยิ่ง เนื่องจากปัจจัยเหล่านี้ส่งผลต่อค่า t_R การเลือกสารมาตรฐานที่เหมาะสมและการควบคุมเงื่อนไขการทดลองอย่างเข้มงวดจะช่วยให้การวิเคราะห์ทางคุณภาพสามารถยืนยันตัวตนของสารในตัวอย่างได้อย่างถูกต้องและมีความแม่นยำมากขึ้น



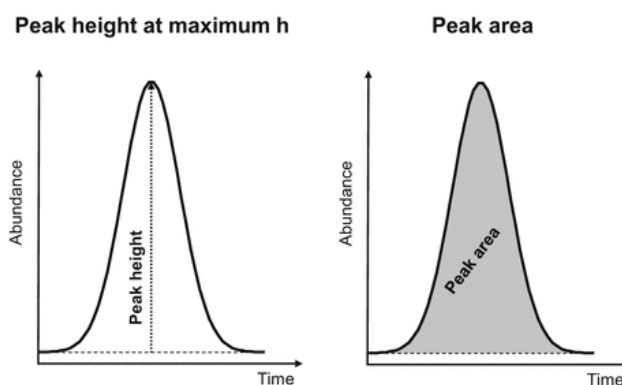
ภาพที่ 4.25 โครมาโทแกรมเปรียบเทียบระหว่างสารมาตรฐานกับสารตัวอย่าง

(ที่มาภาพ: <https://www.shimadzu.com/an/service-support/technical-support/analysis-basics/fundamentals/results.html>)

2) การวิเคราะห์ทางปริมาณ

การวิเคราะห์ทางปริมาณ (quantitative analysis) เพื่อคำนวณหาปริมาณของสารตัวอย่างที่ฉีดเข้าไปมีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงกับขนาดพีค ซึ่งสามารถวัดได้ 2 แบบ คือวัดค่าความสูงของพีคและวัดพื้นที่ใต้พีค

1. วัดค่าความสูงของพีค วัดได้จากการลากเส้นฐาน (base line) ของพีค แล้วลากเส้นตรงจากส่วนยอดตามแนวตั้งจนถึงเส้นฐาน ระยะทางของเส้นตรงจากฐานถึงส่วนยอดของพีค คือความสูงของพีค ความถูกต้องของปริมาณที่ได้ขึ้นอยู่กับความถูกต้องของการวัดความสูงของพีค ดังภาพที่ 4.26 (ก)



ภาพที่ 4.26 การวัดค่าความสูงของพีคและวัดพื้นที่ใต้พีค

2. วัดพื้นที่ใต้พีค ในเทคนิค GC การวัดพื้นที่ใต้พีคเป็นขั้นตอนสำคัญที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารตัวอย่าง โดยพื้นที่ใต้พีคนั้นมีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณสารที่ปรากฏในตัวอย่าง สามารถวัดและคำนวณได้หลายวิธี ดังนี้

- วิธีอินทิเกรต (integrator method) ตัวตรวจวัดจะประมวลผลสัญญาณและคำนวณหาพื้นที่ใต้พีคออกมาโดยอัตโนมัติ พื้นที่ใต้พีคที่ได้จะเป็นตัวบ่งชี้ปริมาณสารในตัวอย่างเมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน

- วิธีเทียบกับสารมาตรฐาน โดยใช้สารมาตรฐานที่มีความเข้มข้นที่ทราบแน่นอนจะถูกฉีดเข้าไปเครื่อง GC พร้อมกับสารตัวอย่าง จากโครมาโทแกรมที่ได้จะเปรียบเทียบค่า t_R และขนาดของพื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐานกับสารตัวอย่าง

- วิธีคำนวณโดยใช้บัญญัติไตรยางศ์ ในการทดลองที่ดำเนินการภายใต้สภาวะเดียวกัน เช่น ค่าการไหลของแก๊สและอุณหภูมิที่คงที่ สามารถนำค่าพื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐานมาสร้างสมการไตรยางศ์เพื่อคำนวณหาความเข้มข้นของสารในตัวอย่างได้

- วิธีสร้างกราฟมาตรฐาน (calibration curve) ทำการฉีดสารมาตรฐานที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ทราบปริมาณแน่นอนเข้าสู่เครื่อง GC บันทึกค่า t_R และขนาดของพื้นที่ใต้พีคในแต่ละระดับความเข้มข้น พล็อตกราฟโดยใช้แกนตั้งเป็นค่าพื้นที่ใต้พีคและแกนนอนเป็นความเข้มข้นของสารมาตรฐาน เมื่อได้กราฟมาตรฐานแล้ว สามารถใช้ค่าพื้นที่ใต้พีคของสารตัวอย่างที่ได้จากการวิเคราะห์มาอ้างอิงและอ่านค่าความเข้มข้นจากกราฟนี้

- วิธีเติมสารมาตรฐาน (standard addition method) โดยใช้สารมาตรฐานที่มีความเข้มข้นต่างกันหลาย ๆ ขนาดเติมลงในสารตัวอย่างที่มีความเข้มข้นคงที่ ทำการวิเคราะห์ในสภาวะเดียวกัน นำโครมาโทแกรมมาวัดขนาดของพีคต่าง ๆ ที่เกิดขึ้น จากนั้นเขียนกราฟระหว่างขนาดของพีคกับความเข้มข้นของสารมาตรฐาน จากกราฟสามารถหาความเข้มข้นของสารตัวอย่างได้ วิธีทำกราฟมาตรฐานและวิธีเติมสารมาตรฐานของการวิเคราะห์หาปริมาณด้วยเทคนิค GC จะเหมือนกับวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณของเทคนิคการวิเคราะห์วิธีอื่น ๆ

- วิธี internal standard คือการเติมสารมาตรฐานอีกชนิดหนึ่ง (ซึ่งเรียกว่า internal standard) ที่มีปริมาณคงที่ลงในสารมาตรฐานตัวที่สนใจที่มีปริมาณต่าง ๆ กัน แล้วนำมาทำโครมาโทแกรมหาอัตราส่วนระหว่างพื้นที่พีคหรือค่าที่นับได้ของสารมาตรฐานทั้งสอง จากนั้นนำค่าอัตราส่วนพื้นที่พีคของสารมาตรฐานทั้งสองมาเขียนกราฟเทียบกับความเข้มข้นของสารมาตรฐานตัวที่สนใจ เมื่อนำอัตราส่วนพื้นที่พีคของสารตัวอย่างกับสารมาตรฐาน (internal standard) มาเทียบกับกราฟมาตรฐานจะสามารถทราบปริมาณสารตัวอย่างได้

4.1.4 ปฏิบัติการโครมาโทกราฟีแบบแก๊ส

1. ปฏิบัติการส่วนประกอบของเครื่อง GC
2. การวิเคราะห์เชิงปริมาณ
(ดูคู่มือปฏิบัติการ)

สรุปท้ายบทเรียน

แก๊สโครมาโทกราฟี (GC) เป็นเทคนิคที่ใช้ในการแยกและวิเคราะห์สารผสมที่สามารถระเหยได้ โดยอาศัยหลักการที่สารแต่ละชนิดมีปฏิสัมพันธ์กับเฟสอยู่กับที่ในคอลัมน์แตกต่างกัน ทำให้เวลาที่สารออกจากคอลัมน์ หรือเวลาการหน่วงมีความแตกต่างกัน ซึ่งสามารถใช้ในการระบุและหาปริมาณของสารในตัวอย่าง ส่วนประกอบหลักของเครื่อง GC ประกอบด้วย ระบบฉีดสารตัวอย่าง คอลัมน์ เตาอบ ตัวตรวจวัด ระบบประมวลผล การหาปริมาณสารในตัวอย่างด้วย GC มักใช้การวัดพื้นที่ใต้พีค หรือความสูงของพีคจากโครมาโทแกรม ซึ่งจะเทียบกับสารมาตรฐานที่มีความเข้มข้นทราบแน่นอน วิธีการที่นิยมใช้ ได้แก่ การใช้สารมาตรฐานภายในและการสร้างกราฟมาตรฐาน เครื่อง GC สามารถใช้ประโยชน์ในการวิเคราะห์สารตัวอย่างชนิดต่าง ๆ เช่น วิเคราะห์แก๊สธรรมชาติ สารเจือปนในแก๊สต่าง ๆ สารประกอบไนโตรเจน สารประกอบของซัลเฟอร์และสารประกอบไฮโดรคาร์บอน ยาฆ่าแมลง ยาปราบศัตรูพืช เช่น organophosphate และ organochlorine เป็นต้น วิเคราะห์อากาศและสิ่งแวดล้อม เช่น CO, NO₂, SO₂ เป็นต้น วิเคราะห์มลพิษในน้ำและดินเช่น กลุ่มของสารประกอบอินทรีย์ที่ระเหยได้ง่าย (VOCs) หรือ polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)

วิธีการสอนและกิจกรรม

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ใบกิจกรรม

สื่อการสอนและอุปกรณ์การสอน

1. หนังสือ/ตำรา
2. เอกสารประกอบการสอน
3. เอกสาร power point
4. <https://microbenotes.com/gas-chromatography>
5. https://www.glsiences.com/technique/technique_data/gc/basics_of_gc/p_1_4.html
6. <https://www.shimadzu.com/an/service-support/technical-support/analysis-basics/fundamentals/results.html>
7. Explain Construction and Working of Gas Chromatography.
<https://www.youtube.com/watch?v=N98gkUwzMvl>

งานที่มอบหมาย

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ใบกิจกรรม

การวัดผล

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ใบกิจกรรม

แบบฝึกหัด

1. ทำกิจกรรม
2. ใบกิจกรรม

บรรณานุกรม

1. Averill, B. A. (2012). *Principles of General Chemistry*.
<https://2012books.lardbucket.org/books/principles-of-general-chemistry-v1.0m/index.html>
2. Aryal, S. (May 6, 2024). *Gas Chromatography: Principle, Parts, Steps, Procedure, Uses*. Microbe Notes. <https://microbenotes.com/gas-chromatography>
3. *Basics of Gas Chromatography*. (n.d.).
https://www.glsciences.com/technique/technique_data/gc/basics_of_gc/p2_2.html
4. Christian, G. D., Dasgupta, P. K., & Schug, K. A. (2014). *Analytical Chemistry* (7th ed.). John Wiley & Sons.
5. *Fundamentals of Gas Chromatography*. (n.d.).
<https://www.emerson.com/documents/automation/application-note-fundamentals-of-gas-chromatography-rosemount-en-105270.pdf>
6. *Gas Chromatography*. (n.d.).
[https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Supplemental_Modules_\(Analytical_Chemistry\)/Instrumentation_and_Analysis/Chromatography/Gas_Chromatography](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Supplemental_Modules_(Analytical_Chemistry)/Instrumentation_and_Analysis/Chromatography/Gas_Chromatography)
7. Grob, R. L., & Barry, E. F. (2004). *Modern Practice of Gas Chromatography*. 4th ed. Wiley-Interscience
8. *Gas Chromatography Hydrogen Carrier Gas*. (n.d.).
<https://www.elementlabsolutions.com/ie/chromatography-blog/post/gas-chromatography-hydrogen-carrier-gas>
9. Harvey, D. (2019). *Analytical Chemistry 2.1*. <https://chem.libretexts.org/>

10. Harris, D. C. (2020). *Quantitative chemical analysis* (10th ed.). W. H. Freeman and Company.
11. McNair, H. M., & Miller, J. M. (2009). *Basic Gas Chromatography* (2nd ed.). John Wiley & Sons.
12. Poole, C. F. (2012). *Gas chromatography* (2nd ed.). Elsevier.
13. Robinson, J. W., Frame, E. M. S, & Frame G. M. (2021). *Instrumental Analytical Chemistry*. CRC Press

หน่วยที่ 4

วิธีโครมาโทกราฟี

บทเรียน 4.2 โครมาโทกราฟีแบบของเหลวแรงดันสูง

จุดประสงค์การสอน

1. อธิบายหลักการและส่วนประกอบของเทคนิค HPLC
2. อธิบายประสิทธิภาพการแยก
3. คำนวณการทำปริมาณวิเคราะห์และการประยุกต์
4. ปฏิบัติการโครมาโทกราฟีแบบของเหลวแรงดันสูง

4.2.1 หลักการและส่วนประกอบของเครื่อง HPLC

1. หลักการของเทคนิค HPLC

เทคนิค high-performance liquid chromatography (HPLC) เป็นเทคนิคที่ใช้ในการแยก ตรวจสอบ และวิเคราะห์องค์ประกอบของสารผสมภายใต้สภาวะที่มีแรงดันสูง ระบบ HPLC อาศัยการไหลของเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ผ่านคอลัมน์ที่บรรจุเฟสอยู่กับที่ (stationary phase) ซึ่งทำให้เกิดการแยกสารแต่ละชนิดภายในตัวอย่างที่ถูกฉีดเข้าไป เนื่องจากสารแต่ละชนิดมีอัตราการละลายและปฏิสัมพันธ์กับเฟสทั้งสองที่แตกต่างกัน สารที่มีความเข้ากันได้ดีกับเฟสเคลื่อนที่ มักจะถูกชะล้างออกจากคอลัมน์ได้เร็วกว่า ในขณะที่สารที่มีปฏิสัมพันธ์สูงกับเฟสอยู่กับที่ มักจะใช้เวลานานกว่าในการแยกออก เมื่อสารแต่ละชนิดออกจากคอลัมน์ จะถูกตรวจจับโดยตัวตรวจจับและส่งสัญญาณในรูปของสัญญาณไฟฟ้าตามเวลาและปริมาณของสารที่วัดได้ จากนั้นสัญญาณจะถูกแปลงเป็นกราฟที่เรียกว่า โครมาโทแกรม (chromatogram) ซึ่งใช้ในการระบุและวิเคราะห์ปริมาณ

HPLC มีข้อได้เปรียบเหนือเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบดั้งเดิม เนื่องจากมีความเร็วและประสิทธิภาพในการแยกสูงกว่า สามารถใช้กับสารที่ไม่ระเหยง่าย และให้ผลลัพธ์ที่มีความถูกต้องและแม่นยำสูง HPLC มีหลายประเภทขึ้นอยู่กับกลไกการแยกสาร ได้แก่

- reverse phase HPLC (RP-HPLC) ใช้เฟสอยู่กับที่ที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) และเฟสเคลื่อนที่มีขั้ว (polar mobile phase)
- normal phase HPLC (NP-HPLC) ใช้เฟสอยู่กับที่ที่ชอบน้ำ (hydrophilic stationary phase) หรือมีขั้ว (polar stationary phase) และเฟสเคลื่อนที่ที่ไม่มีขั้ว (non-polar mobile phase)
- ion exchange chromatography (IEC) ใช้สำหรับแยกสารที่มีประจุ เช่น กรดอะมิโน และไอออนของโลหะ

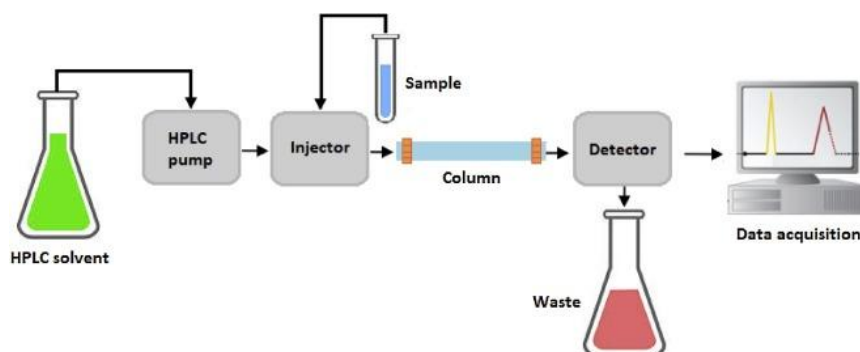
- size exclusion chromatography (SEC) แยกสารตามขนาดโมเลกุล นิยมใช้ในการวิเคราะห์โพรตีนและพอลิเมอร์
- chiral chromatography ใช้แยกสารที่มีสมบัติเชิงแสง (chiral compounds)

ตารางที่ 4.6 เปรียบเทียบระหว่าง normal phase HPLC กับ reverse phase HPLC

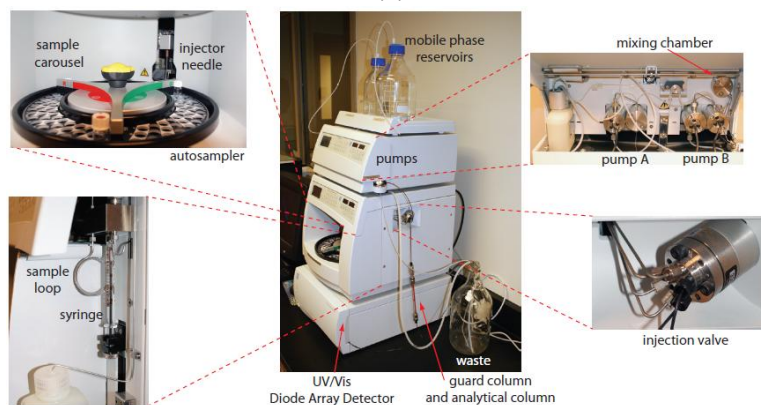
	normal phase HPLC (NP)	reverse phase HPLC (RP)
นิยาม	เฟสอยู่กับที่ที่ชอบน้ำ	เฟสอยู่กับที่ที่ไม่ชอบน้ำ
หลักการแยก	สภาพความมีขั้ว	จำนวนไฮโดรคาร์บอน
เฟสอยู่กับที่	มีขั้ว (ซิลิกา เจล)	ไม่มีขั้ว (C18, C12, C8)
เฟสเคลื่อนที่	ไม่มีขั้ว (ตัวทำละลายอินทรีย์)	มีขั้ว (น้ำ/สารอินทรีย์)
องค์ประกอบเฟสเคลื่อนที่	เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน ไอโซโพรพาน	น้ำ เมทานอล แอซีโตไนไตรล์
การเคลื่อนที่สารตัวอย่าง	สารไม่มีขั้วเคลื่อนที่ออกมาก่อน	สารมีขั้วเคลื่อนที่ออกมาก่อน

2. ส่วนประกอบหลักของเครื่อง HPLC

ส่วนประกอบหลักเครื่อง HPLC ดังภาพที่ 4.27



(ก)



(ข)

ภาพที่ 4.27 แผนภาพองค์ประกอบของเทคนิค HPLC

1) ตัวเก็บตัวทำละลาย

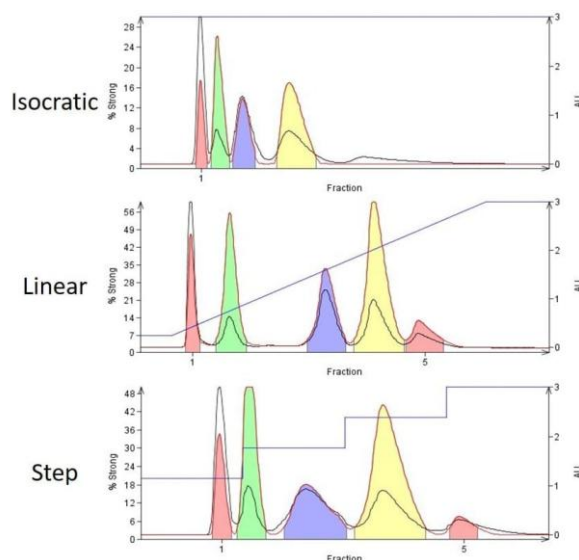
ตัวเก็บตัวทำละลาย (solvent reservoirs) เป็นภาชนะสำหรับเก็บสารละลายที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ในระบบ HPLC โดยภาชนะบรรจุสารละลายควรเป็นแก้วที่จะสามารถในการรักษาความบริสุทธิ์ของสารละลายตัวชะ ซึ่งประกอบด้วยสารเคมี น้ำ และตัวทำละลายอินทรีย์ ตามปกติควรต่อกับตัวกำจัดแก๊ส (degassing system) เพื่อดูดออกซิเจนหรือไนโตรเจนที่ละลายอยู่ในตัวทำละลายออก ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดฟองแก๊สในคอลัมน์หรืออาจรบกวนตัวตรวจวัด เมื่อเตรียมสารละลายเสร็จแล้ว จำเป็นต้องกรองสารละลายผ่านเยื่อเลือกผ่าน (เมมเบรน) ที่มีรูพรุนขนาด $0.45 \mu\text{m}$ เพื่อกำจัดอนุภาคที่อาจเป็นสิ่งปนเปื้อนและส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพของการแยกสาร

การชะ (elution) ในเทคนิค HPLC เป็นกระบวนการที่ใช้เฟสเคลื่อนที่นำพาสารตัวอย่างผ่านคอลัมน์ที่มีเฟสอยู่กับที่ ซึ่งเป็นส่วนสำคัญในการแยกสารผสมออกจากกัน การเลือกใช้รูปแบบการชะขึ้นอยู่กับสมบัติของสารที่ต้องการแยกและประสิทธิภาพของการวิเคราะห์ โดยรูปแบบหลัก ๆ ได้แก่ isocratic elution, linear gradient elution และ stepwise gradient elution

- ระบบ isocratic elution องค์ประกอบของเฟสเคลื่อนที่คงที่ตลอดระยะเวลาของการวิเคราะห์ กล่าวคือ ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของตัวทำละลายในเฟสเคลื่อนที่ การชะระบบ isocratic condition จะทำให้เวลาในการแยกนาน และสารตัวอย่างที่ถูกชะออกมาทีหลังมักจะมีหาง (tailing)

- ระบบ linear gradient elution องค์ประกอบของเฟสเคลื่อนที่เปลี่ยนแปลงอย่างต่อเนื่อง โดยมีการเพิ่มหรือลดความเข้มข้นของตัวทำละลายที่ใช้ในการชะในอัตราส่วนที่เป็นเส้นตรง (linear)

- ระบบ stepwise gradient elution องค์ประกอบของเฟสเคลื่อนที่เปลี่ยนแปลงเป็นขั้นบันได (stepwise) โดยมีการเพิ่มหรือลดความเข้มข้นของตัวทำละลายในช่วงเวลาที่กำหนดในช่วงเวลาหนึ่ง ต่อจากนั้นก็ควบคุมให้คงที่ในช่วงเวลาหนึ่ง แล้วก็เพิ่มขึ้นอีก แล้วควบคุมให้คงที่อีกเป็นเช่นนี้ตลอดการทดลอง



ภาพที่ 4.28 รูปแบบการชะโดยใช้ตัวทำละลาย

เฟสเคลื่อนที่เป็นองค์ประกอบสำคัญในเทคนิค HPLC ทำหน้าที่ลำเลียงตัวอย่างจากตัวฉีด ตัวอย่างไปยังตัวตรวจวัดและมีอิทธิพลต่อการแยกสารอย่างมาก โดยสมบัติของเฟสเคลื่อนที่ เช่น องค์ประกอบสารตัวชะ (elution) ความเป็นกรด-ด่าง (pH) และแรงไอออนิก มีผลต่อการแยกสารที่ต้องการวิเคราะห์ การเลือกใช้เฟสเคลื่อนที่ในเทคนิค HPLC อาจพิจารณาจากสมบัติดังต่อไปนี้

- มีต้นทุนที่เหมาะสม เพื่อให้สามารถใช้งานได้อย่างคุ้มค่า
- ไม่เป็นอันตราย ต่อผู้ปฏิบัติงานและอุปกรณ์
- ไม่มีปฏิกิริยากับสารตัวอย่างและเฟสอยู่กับที่ เพื่อไม่ให้เกิดการรบกวนผลการวิเคราะห์
- สารตัวอย่างต้องสามารถละลายได้ดีในเฟสเคลื่อนที่ เพื่อให้การแยกมีประสิทธิภาพสูงสุด
- ตัวตรวจวัดไม่ควรตอบสนองต่อเฟสเคลื่อนที่ หรือการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบเฟสเคลื่อนที่ โดยเฉพาะในระบบ gradient elution

เฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ใน HPLC สามารถแบ่งตามวิธีการแยกได้ดังนี้

1. เฟสเคลื่อนที่ใน reverse phase ในระบบ reverse phase chromatography (RPC) ซึ่งเหมาะกับการแยกสารตัวอย่างที่มีสภาพขั้วต่ำหรือไม่มีขั้ว จะต้องใช้เฟสอยู่กับที่ที่มีขั้วต่ำ (non-polar) ดังนั้น เฟสเคลื่อนที่มักประกอบด้วยน้ำ (water) เป็นตัวทำละลายหลัก และอาจมีตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้ว เช่น เมทานอล แอซีโตน ไทโรล หรือเตตระไฮโดรฟูแรน (tetrahydrofuran, THF) ผสมในสัดส่วนที่เหมาะสม การปรับค่า pH และการใช้สารเพิ่มประสิทธิภาพการแยก เช่น การใช้บัฟเฟอร์ควบคุมค่า pH เพื่อช่วยปรับปรุงการแยกของสารที่แตกตัวเป็นไอออน หรือการใช้สารจับคู่ไอออน (ion-pairing Reagents) เพิ่มความสามารถในการแยกสารที่มีประจุโดยเพิ่มการยึดเหนี่ยวกับเฟสอยู่กับที่

2. เฟสเคลื่อนที่ใน normal phase ในระบบ normal phase chromatography (NPC) ซึ่งเหมาะกับการแยกสารตัวอย่างที่มีสภาพขั้วสูง จะต้องใช้เฟสอยู่กับที่ที่ถูกเคลือบด้วยสารที่มีขั้วสูง (polar coating) ดังนั้น เฟสเคลื่อนที่จะเป็นตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว เช่น เฮกเซน (hexane) เฮปเทน (heptane) ไอโซออกเทน (iso-octane) ร่วมกับตัวทำละลายที่มีขั้วเล็กน้อย เช่น ไอโซโพรพานอล (isopropanol) เอทิลแอซีเตต (ethyl acetate) หรือคลอโรฟอร์ม (chloroform) ทั้งนี้เมื่อเพิ่มปริมาณตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วในเฟสเคลื่อนที่ สารตัวอย่างที่มีขั้วจะถูกหน่วงไว้ในคอลัมน์นานขึ้น

3. เฟสเคลื่อนที่ใน ion exchange ในระบบ ion exchange chromatography (IEC) เฟสเคลื่อนที่มักเป็นสารละลายเกลือในน้ำ (aqueous salt solutions) โดยอาจเติมตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้ว เช่น เมทานอล ในปริมาณที่พอเหมาะเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการแยก สามารถปรับแรงของตัวทำละลายได้โดยการควบคุม ค่า pH ความเข้มข้นของบัฟเฟอร์ และความเข้มข้นของเกลือ

4. เฟสเคลื่อนที่ใน size exclusion chromatography (SEC) ในระบบ SEC องค์ประกอบของเฟสเคลื่อนที่มักไม่เปลี่ยนแปลงระหว่างการวิเคราะห์ เนื่องจากตัวตรวจวัดมีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบของเฟสเคลื่อนที่ ควรพิจารณาในการเลือกเฟสเคลื่อนที่สำหรับ SEC เช่น ควรเลือกตัวทำละลายที่สามารถละลายสารตัวอย่างได้ดี ต้องรักษาความหนืด (viscosity) ของเฟสเคลื่อนที่ให้คงที่ ไม่ควรใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วสูง เช่น แอซีโตน (acetone) แอลกอฮอล์ DMSO

และน้ำ หากใช้วัสดุบรรจุคอลัมน์ที่ทำจากพอลิสไตรีน และควรควบคุมแรงไอออนิกโดยเติมเกลือในปริมาณที่เหมาะสม

แนวทางปฏิบัติที่ช่วยลดปัญหาที่อาจเกิดขึ้นของการเลือกใช้เฟสเคลื่อนที่ และเพิ่มประสิทธิภาพการแยกโดยเทคนิค HPLCของห้องปฏิบัติการ

- ควรใช้ตัวทำละลายและน้ำที่มีคุณภาพสูง เช่น น้ำ milli-Q grade และตัวทำละลายเกรด HPLC grade เพื่อหลีกเลี่ยงการปนเปื้อน
- กำจัดฟองอากาศออกจากตัวทำละลาย (degassing) ป้องกันการเกิดฟองในระบบ ซึ่งอาจรบกวนการไหลของเฟสเคลื่อนที่
- วิธีการผสมตัวทำละลายต้องเหมือนกันทุกครั้ง
- การเปลี่ยนแปลงเฟสเคลื่อนที่ต้องเป็นไปอย่างค่อยเป็นค่อยไป ควรล้างระบบด้วยตัวทำละลายที่มีความเป็นขั้วใกล้เคียงกันก่อนเปลี่ยนไปใช้เฟสเคลื่อนที่ใหม่
- ทำความสะอาดระบบหลังใช้บัฟเฟอร์ ล้างระบบด้วยน้ำทันทีหลังจากใช้บัฟเฟอร์ เพื่อป้องกันการตกผลึกในปั๊มและท่อส่งตัวทำละลาย
- เลือกภาชนะเก็บตัวทำละลายให้เหมาะสม เช่นไม่ควรเก็บตัวทำละลายในภาชนะพลาสติก เนื่องจากอาจเกิดการชะล้าง (leaching) ของพลาสติกไซเซอร์ ห้ามใช้ขวดแก้วกับสารละลายที่มีค่า pH > 8.0 เนื่องจากไอออนโลหะอาจละลายออกมาได้ หรือควรใช้ภาชนะเหล็กกล้าไม่เป็นสนิม (stainless steel) สำหรับสารละลายที่มี pH สูง
- ป้องกันการเกิดออกซิเดชันของตัวทำละลายบางชนิด ตัวทำละลายที่ไวต่อออกซิเดชัน เช่น THF และคลอโรฟอร์ม ควรเก็บในภาชนะที่มีการครอบด้วยไนโตรเจน (nitrogen cover)
- การบำรุงรักษาระบบส่งตัวทำละลาย ใช้ตัวกรองตัวทำละลาย (solvent inlet filter) ในภาชนะบรรจุเฟสเคลื่อนที่ และควรทำความสะอาดท่อส่งตัวทำละลายเป็นระยะ โดยการใช้การไหลย้อนกลับ (back flushing) หรือการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง (sonication)

2) ปั๊มแรงดันสูง

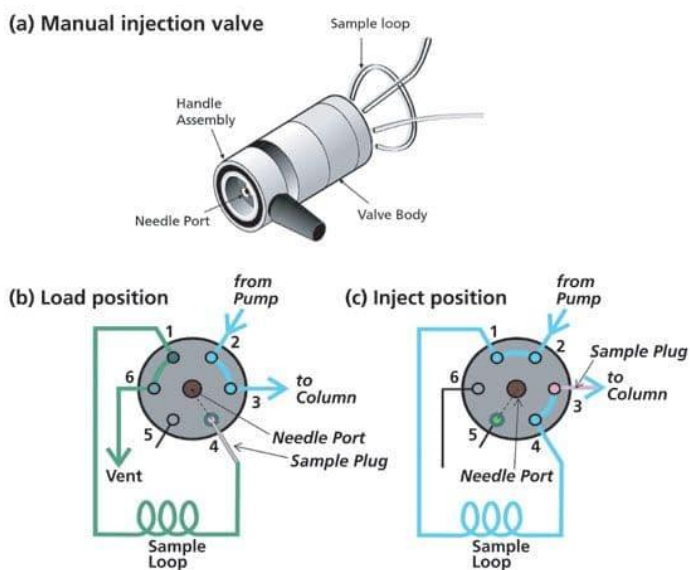
ปั๊มแรงดันสูง (high pressure pump) ทำหน้าที่ดันตัวทำละลายตัวชะจากภาชนะบรรจุเข้าสู่ระบบของเครื่องมือ เช่น ส่วนฉีดสารคอลัมน์ ตัวตรวจวัด และผ่านท่อที่ฝังสารลงในขวดที่ฝังสาร ปั๊มแรงดันสูงที่นิยมใช้คือ แบบควบคุมอัตราการไหลให้คงที่ (current flow) โดยก่อนเปิดใช้เครื่องมือจะต้องตรวจสอบและกำจัดฟองอากาศออกจากระบบให้หมดก่อน ซึ่งจะต้องทำก่อนต่อคอลัมน์เข้าในระบบ ในการแยกสารสามารถดำเนินการโดยใช้สารละลายตัวชะที่มีองค์ประกอบและความเข้มข้นตลอดการทดลอง เรียกว่า ระบบ isocratic หรือมีการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบหรือความเข้มข้นของสารละลายตัวชะในระหว่างการทดลอง เรียกว่า ระบบ gradient โดยการปรับเปลี่ยนอัตราส่วนของสารละลายตัวชะขณะทำการทดลอง 1 ตัวอย่าง จะต้องใช้สารละลายตัวชะอย่างน้อย 2 ชนิด โดยสารละลายตัวชะที่ผสมกันจะต้องเข้ากันได้ทุกสัดส่วนที่อุณหภูมิ 25°C หากอัตราส่วนของสารละลายตัวชะในสถานะเริ่มต้นของการวิเคราะห์แตกต่างจากอัตราส่วนในสถานะสุดท้ายมาก เมื่อจบการทดลองครั้งหนึ่งแล้วต้องการเริ่มต้น วิเคราะห์รอบใหม่ควรปรับอัตราส่วนของสารละลายตัวชะเป็นค่ากลางก่อนเข้าสู่สถานะเริ่มต้น

3) 프리คอลัมน์ (precolumn)

เครื่องมือ HPLC บางเครื่องต้องมีคอลัมน์เพิ่มขึ้นอีก 1 อัน เรียกว่า precolumn มีสารบรรจุอยู่เหมือนกับคอลัมน์ที่ใช้งาน แต่ขนาดของสารที่บรรจุอยู่ใหญ่กว่า เพื่อไม่ให้ความดันของตัวทำละลายที่ไหลผ่านคอลัมน์นี้ลดลง คอลัมน์นี้มีหน้าที่แยกเอามลทินที่ติดอยู่ในตัวทำละลายออกไป หรือทำให้ตัวทำละลายที่ใช้เป็นตัวชะบริสุทธิ์ขึ้น

4) ตัวฉีดตัวอย่าง

ตัวฉีดตัวอย่าง (injector) ใช้ฉีดสารตัวอย่างเข้าสู่กระแสของเฟสเคลื่อนที่ ระบบฉีดสารเป็นส่วนหนึ่งของเครื่องมือที่ทำหน้าที่นำสารละลายตัวอย่างเข้าสู่คอลัมน์ ซึ่งปัจจุบันนิยมใช้เครื่องฉีดสารอัตโนมัติโดยควบคุมด้วยคอมพิวเตอร์ ระบบฉีดสารตัวอย่างได้ถูกพัฒนาขึ้นอีกเป็นแบบ sampling valve ที่ทนต่อแรงดันสูงของเฟสเคลื่อนที่ วาล์วนี้เป็นระบบหกช่อง (six-port valve) โดยตำแหน่งที่ 1 และ 4 จะต่อกับ loop ที่ใช้บรรจุสารตัวอย่าง ตำแหน่งที่ 2 และ 3 จะต่อกับปั๊มและคอลัมน์ ตำแหน่งที่ 5 และ 6 เป็นตำแหน่งที่ไหลออกของตัวอย่างและเฟสเคลื่อนที่ การทำงานมี 2 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนแรกเป็นขั้นตอนที่ เรียกว่า load ตัวอย่างจะถูกฉีดเข้าไปใน loop จนเต็ม ส่วนเกินจะไหลออกที่ตำแหน่งที่ 6 ขั้นตอนที่ 2 เป็นการฉีดมีการปรับทิศทางการไหลของเฟสเคลื่อนที่ที่เฟสเคลื่อนที่จะพาตัวอย่างเข้าสู่คอลัมน์



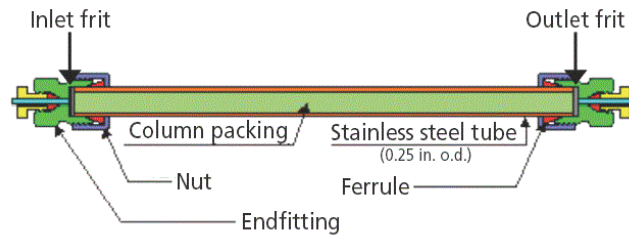
ภาพที่ 4.29 วาล์วเป็นระบบ six-port

5) คอลัมน์

คอลัมน์ในระบบ HPLC ถือเป็นส่วนสำคัญที่ทำหน้าที่แยกสารในตัวอย่าง โดยภายในคอลัมน์จะบรรจุวัสดุที่ทำหน้าที่เป็นเฟสอยู่กับที่ ซึ่งเป็นหัวใจหลักในการแยกสารผสมออกจากกัน วัสดุโครงสร้างของคอลัมน์ส่วนใหญ่ผลิตจากเหล็กกล้าไม่เป็นสนิม เนื่องจากต้องการความทนทานต่อแรงดันสูง โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางภายในอยู่ระหว่าง 2.1 - 4.6 mm และมีความยาวตั้งแต่ 30 - 300

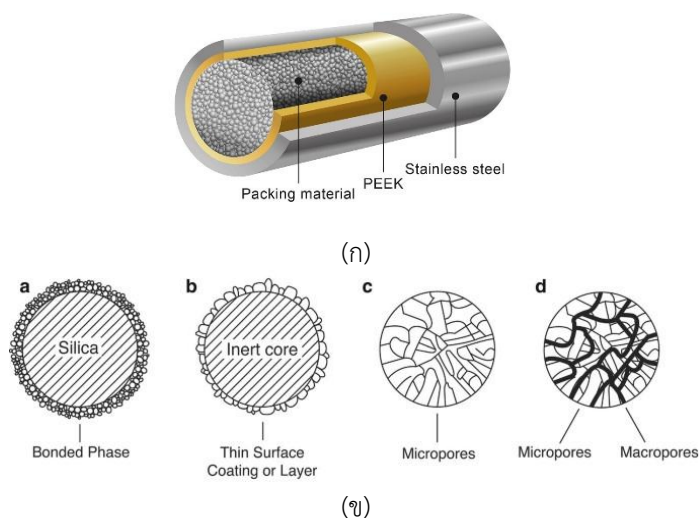
mm ภายในคอลัมน์บรรจุด้วยอนุภาคซิลิกาที่มีรูพรุน ซึ่งมีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 3-10 ไมครอน อนุภาคเหล่านี้อาจมีรูปร่างไม่สม่ำเสมอหรือทรงกลม

ประสิทธิภาพของคอลัมน์ HPLC โดยทั่วไปวัดด้วยจำนวนเพลตทางทฤษฎี (theoretical plates) อยู่ที่ประมาณ 40,000–60,000 เพลตต่อเมตร โดยสมมติว่าอัตราส่วน V_{max}/V_{min} อยู่ที่ประมาณ 50 คอลัมน์ที่มีความยาว 25 cm และประสิทธิภาพ 50,000 plates/m จะมีจำนวน theoretical plates ทั้งสิ้นประมาณ 12,500 และมี peak capacity อยู่ที่ประมาณ 110



ภาพที่ 4.30 ลักษณะคอลัมน์ในระบบ HPLC

วัสดุบรรจุในคอลัมน์ (packing material) หรือของแข็งตัวดูดซับ (solid support) ต้องมีความแข็งแรงและทนต่อความดันสูงได้ เนื่องจากในกระบวนการแยกสารจะมีการไหลของเฟสเคลื่อนที่ด้วยแรงดันสูง รูปร่างของอนุภาคที่ใช้ในคอลัมน์สามารถเป็นทรงกลม (spherical) หรือมีรูปร่างที่ไม่แน่นอน (amorphous) ก็ได้ โดยอนุภาคเหล่านี้มีขนาดอนุภาค รูพรุนและพื้นที่ผิวที่แตกต่างกันเพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารกับเฟสอยู่กับที่ นอกจากนี้ ยังมีการใช้อนุภาคไมโครพอลิเมอร์ (porous polymer microparticles) โดยเฉพาะในระบบ reverse phase ซึ่งอนุภาคพอลิเมอร์มีความสามารถในการรองรับช่วงค่าความเป็นกรด-ด่างของเฟสเคลื่อนที่ได้กว้าง (pH 1 ถึง 13) ในขณะที่อนุภาคซิลิกามีช่วงค่าที่จำกัดอยู่ที่ประมาณ pH 2.5 ถึง 7



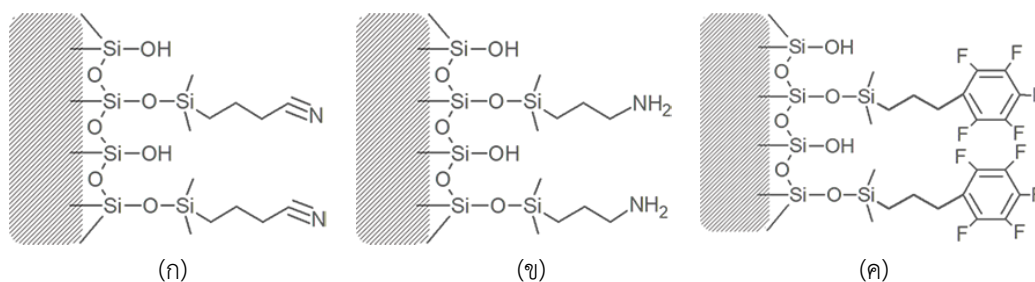
ภาพที่ 4.31 วัสดุบรรจุในคอลัมน์ (packing material)

ของแข็งตัวดูดซับที่นิยมใช้ใน HPLC คือ ซิลิกาและอะลูมินา การเลือกใช้สามารถจัดแบ่งตามประเภทของสารที่นำมาวิเคราะห์ ดังนี้

- ถ้าเป็นสารประเภทกรด (acidic compound) ควรใช้อะลูมินาเป็นตัวดูดซับ
- ถ้าเป็นสารที่เป็นเบสเล็กน้อย pK_b น้อยกว่า 5 ควรใช้ซิลิกาเป็นตัวดูดซับ
- โมเลกุลที่ไม่อิ่มตัว เช่น Olefinic และ aromatic ควรใช้อะลูมินาเป็นตัวดูดซับ
- สารที่มีกลุ่มแฮโลเจน ควรใช้อะลูมินาเป็นตัวดูดซับ
- สารที่ไวต่อกรด ควรใช้อะลูมินาเป็นตัวดูดซับ
- สารที่ไวต่อเบส ควรใช้ซิลิกาเป็นตัวดูดซับ

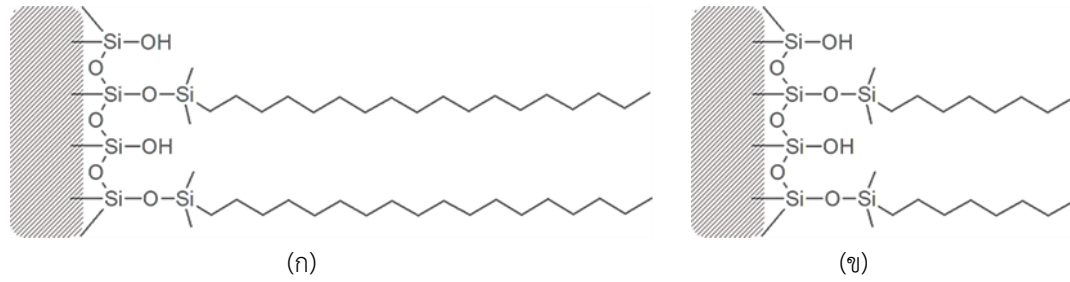
เฟสอยู่กับที่ (stationary phase) ของคอลัมน์ที่มีบทบาทสำคัญในการแยกสาร โดยทั่วไปแบ่งออกเป็น 2 แบบหลัก คือ

- Normal phase คือ เฟสอยู่กับที่ในระบบ normal phase มีสภาพความเป็นขั้วสูง ซึ่งเตรียมโดยใช้ซิลิกาเจลเป็นของแข็งตัวดูดซับ การเตรียมเฟสอยู่กับที่ทำได้โดยอาศัยการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีระหว่างหมู่ฟังก์ชันของสารอินทรีย์ (ทั้งที่มีขั้วและไม่ขั้ว) กับหมู่ไฮดรอกซิล (Si-OH) บนพื้นผิวของซิลิกาเจล สารอินทรีย์ที่นิยมใช้ในกระบวนการนี้จะเป็นสารที่มีหมู่ฟังก์ชันขั้ว เช่น cyano-propyl, amino-propyl และ pentafluorophenyl propyl ซึ่งช่วยให้เฟสอยู่กับที่มีความขั้วสูงกว่าตัวทำละลาย (เฟสเคลื่อนที่) ที่มักจะเป็นตัวทำละลายที่มีความขั้วต่ำ เช่น เฮกเซนหรือคลอโรฟอร์ม



ภาพที่ 4.32 โครงสร้างทางเคมีของคอลัมน์ระบบ Normal Phase (ก) cyano-propyl (ข) amino-propyl และ (ค) pentafluorophenyl propyl

- Reverse phase คือ ระบบ reverse phase เฟสอยู่กับที่จะมีสภาพขั้วต่ำ โดยกระบวนการเตรียมจะใช้สารเคมีอินทรีย์ที่มีสมบัติไฮโดรโฟบิกสูง เช่น octadecyl (C18), octyl (C8) หรือ aromatic phenyl เมื่อเฟสอยู่กับที่มีความเป็นไฮโดรโฟบิกสูง (ไม่ชอบน้ำ) เฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ในระบบนี้จะเป็นสารละลายที่มีความขั้วสูงกว่า เช่น น้ำหรือสารละลายผสมน้ำกับสารละลายอินทรีย์ เพื่อให้เกิดการแยกสารตามความแตกต่างในความชอบของสารต่อขั้วของเฟสทั้งสอง



ภาพที่ 4.33 โครงสร้างทางเคมีของคอลัมน์ระบบ Reverse Phase (ก) octadecyl (C18) และ (ข) octyl (C8)

ตารางที่ 4.7 เฟสอยู่กับที่และเฟสเคลื่อนที่ในระบบ NP และ RP

Mode	Stationary phases	Mobile phases
Normal phase	<ol style="list-style-type: none"> 1. Cyano propyl bonded with siloxane 2. Amino bonded with siloxane 3. Silica gel with siloxane 4. Diol bonded with siloxane 5. Di methyl amino bonded with siloxane 	<ol style="list-style-type: none"> 1. n-Hexane 2. n-Heptane 3. Iso-octane 4. Methylene chloride 5. Ethyl acetate 6. Propylamine 7. Dichloromethane 8. Diethyl ether
Reverse phase	<ol style="list-style-type: none"> 1. Octadecyl (C18) 2. Octyl (C8) 3. Butyl (C4) 4. C3 5. Phenyl 	Mixture of water (buffer) and <ol style="list-style-type: none"> 1. Acetonitrile 2. Methanol 3. Acetone 4. Tetrahydrofuran 5. 2-propanol.

6) ส่วนควบคุมอุณหภูมิ

ส่วนควบคุมอุณหภูมิ (temperature control) การทำ HPLC ปกติทั่วไปนิยมทำที่อุณหภูมิห้อง ดังนั้น ส่วนควบคุมอุณหภูมิอาจใช้เป็นถังน้ำหุ้มคอลัมน์ไว้ (water jacketed) เพื่อให้อุณหภูมิคงที่ แต่ถ้าต้องการให้เวลาการหมุนวน (t_R) ของสารตัวอย่างให้สั้นลง อาจเพิ่มอุณหภูมิให้แก่คอลัมน์ ลักษณะเช่นเดียวกับแก๊สโครมาโทกราฟี โดยใช้เตาที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้

7) ตัวตรวจวัด

ตัวตรวจวัด (detector) ตรวจจับและแปลงสัญญาณของสารที่แยกออกมาเป็นสัญญาณไฟฟ้า เป็นส่วนที่ทำหน้าที่ตรวจวัดสัญญาณจากการวัดตัวอย่าง เปรียบเทียบกับสัญญาณจากการวัดสารละลายตัวชะ ชนิดของตัวตรวจวัดที่ใช้ขึ้นอยู่กับลักษณะของสารที่วิเคราะห์ เช่น UV-Vis วัดการดูดกลืนแสงในย่านอัลตราไวโอเลตและแสงที่ตามองเห็น ตัวตรวจวัดการเรืองแสง (fluorescence) ตรวจจับสารที่มีการเรืองแสง ตัวตรวจวัด refractive index ใช้กับสารที่ไม่มีการดูดกลืนแสงในย่าน UV-Vis และ mass spectrometry (MS) ใช้ร่วมกับ HPLC เพื่อระบุโครงสร้างของสารที่ตรวจวัด

7.1) ตัวตรวจวัดชนิดอัลตราไวโอเลตวิสิเบิล (ยูวี) เป็นตัวตรวจวัดที่นิยมใช้มากที่สุด โดยจะวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารในย่านยูวีและวิสิเบิล (ย่านความยาวคลื่น 190-600 nm) สามารถวิเคราะห์ได้ทั้งสารอินทรีย์และอนินทรีย์ที่สามารถดูดกลืนแสงในย่านดังกล่าวข้างต้นได้ สารละลายตัวชะที่ใช้จะต้องไม่ดูดกลืนแสงในย่านความยาวคลื่นที่วิเคราะห์หลักการทำงานใช้กฎของเบียร์และแลมเบิร์ต ตัวตรวจวัดชนิดอัลตราไวโอเลตวิสิเบิล สามารถแบ่งออกเป็น 3 ชนิด ดังนี้

1) Fixed-wavelength detectors เป็นตัวตรวจวัดที่สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ในบางย่าน

2) Variable-wavelength detectors เป็นตัวตรวจวัดที่สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ต้องการ

3) Diode array detectors เป็นตัวตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงของสาร โดยสามารถวัดได้ทีละหลายความยาวคลื่นในเวลาเดียวกัน วัดได้ตั้งแต่ 190-850 nm ระบบการเดินทางของแสงจะเป็นแบบย้อนแสง (reverse optics) คือ แสงจากแหล่งกำเนิดแสงจะผ่านไปยัง flow cell แล้วผ่านไปยัง monochromator คือ slit และ grating เมื่อแสงตกกระทบบน rating แสงจะกระจายออกเป็นความยาวคลื่นต่าง ๆ แล้วไปตกกระทบบนแผงของ diode array ตรวจวัด สัญญาณออกมาเป็นโครมาโทแกรม สารตัวอย่างที่เหมาะสมกับตัวตรวจวัดต้องเป็นตัวอย่างที่สามารถดูดกลืนแสงได้

7.2) ตัวตรวจวัดชนิดฟลูออเรสเซนซ์ เป็นตัวตรวจวัดที่วัดความวาวแสงของสารเมื่อถูกกระตุ้นด้วยรังสี UV มีความไวในการตรวจวัดสูงกว่าตัววัดแสง UV ประมาณ 1,000 เท่า แหล่งกำเนิดแสงสำหรับลำแสงกระตุ้นเป็นไอปรอทและหลอดซีนอนความดันสูง

7.3) ตัวตรวจวัดชนิดอิเล็กโทรเคมีคัล เป็นตัวตรวจวัดที่อาศัยค่าทางเคมีไฟฟ้าของสารที่ถูกแยกออกจากคอลัมน์ ได้แก่ แอมเพอโรเมตรี คูลอมเมตรี โวลแทมเมตรี และการนำไฟฟ้า ใช้ในการวิเคราะห์สารประกอบอินทรีย์ปริมาณน้อยในน้ำและของเหลว

ตารางที่ 4.8 ตัวตรวจวัดในเทคนิค HPLC

Detector Basis	Type ^b	Maximum Sensitivity ^c	Flow Rate Sensitive	Temperature Sensitivity	Useful with Gradient ?	Available Commercially ?
UV absorption	S	5×10^{-10}	No	Low	Yes	Yes
IR absorption	S	10^{-6}	No	Low	Yes	Yes
Fluorometry	S	10^{-10}	No	Low	Yes	Yes
Refractive index	G	5×10^{-7}	No	$\pm 10^{-4}^{\circ}\text{C}$	No	Yes
Conductometric	S	10^{-8}	Yes	$\pm 1^{\circ}\text{C}$	No	Yes
Moving wire	G	10^{-8}	Yes	None	Yes	Yes
Mass spectrometry	S	10^{-10}	No	None	—	Yes
Polarography	S	10^{-10}	Yes	$\pm 1^{\circ}\text{C}$	—	No
Radioactivity	S	—	No	None	Yes	No

^aMost of these data were taken from: L., R. Snyder and J.J. Kirkland, *Introduction to Modern Liquid Chromatography*. New York: Wiley-Interscience, 1964, p. 162.

^bG = general; S = selective

^cSensitivity for a favorable sample in grams per milliliter.

8) ระบบประมวลผลและบันทึกผล

ระบบประมวลผลและบันทึกผล ทำหน้าที่ควบคุมการทำงานของอุปกรณ์ภายในเครื่องทั้งหมด รวมถึงการจัดการข้อมูลจากตัวตรวจวัด หลังจากที่ตัวตรวจวัดได้รวบรวมสัญญาณจากสารในตัวอย่าง ระบบนี้จะแปลงสัญญาณดังกล่าวให้อยู่ในรูปแบบของโครมาโทแกรม ซึ่งเป็นกราฟที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณและเวลา โครมาโทแกรมประกอบด้วยสองส่วนหลัก คือ

- เส้นฐาน (baseline) เป็นเส้นที่แสดงระดับสัญญาณพื้นฐานของเฟสเคลื่อนที่ ซึ่งแสดงถึงความคงที่และความบริสุทธิ์ของตัวทำละลาย หากเส้นฐานมีความผันผวนหรือไม่สม่ำเสมออาจบ่งบอกถึงปัญหาของระบบ เช่น การปนเปื้อนหรือการมีฟองอากาศในตัวทำละลาย
- พีค (peak) เป็นส่วนที่แสดงถึงการตรวจจับสารที่มีอยู่ในตัวอย่าง เมื่อสารที่แยกออกจากคอลัมน์เข้าสู่ตัวตรวจวัด สัญญาณจะเกิดขึ้นในรูปของพีกยอดแหลม ซึ่งความสูงและรูปร่างของพีคจะสัมพันธ์กับปริมาณและลักษณะของสารที่ตรวจวัด

นอกจากนี้ การกำหนดรีเทนชันไทม์ (t_R) เป็นหนึ่งในสมบัติที่สำคัญของโครมาโทแกรม โดย t_R หมายถึง เวลาที่ผ่านไปตั้งแต่เริ่มฉีดตัวอย่างจนกระทั่งสารถึงจุดสูงสุดของพีค ค่านี้มีความสำคัญในงานวิเคราะห์เชิงคุณภาพ เพราะใช้ในการระบุสารที่ถูกแยกออกจากกันในตัวอย่าง แต่ละสารจะมี t_R เฉพาะตัวภายใต้เงื่อนไขการวิเคราะห์ที่กำหนด

ความสูงของพีคยังเป็นตัวบ่งบอกถึงปริมาณของสารที่มีอยู่ในตัวอย่าง ทำให้สามารถนำไปวิเคราะห์เชิงปริมาณได้ โดยการเทียบกับสารมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน ระบบประมวลผลและบันทึกผลจึงไม่เพียงแต่แสดงผลในรูปแบบโครมาโทแกรมเท่านั้น แต่ยังสามารถในการคำนวณพื้นที่ใต้พีค (peak area) ซึ่งเป็นตัวชี้วัดที่สำคัญในการประเมินปริมาณของสารในตัวอย่าง

9) ขวดทิ้งสาร

ขวดทิ้งสาร (waste bottle) ใช้รองรับของเสียที่ออกมาจากส่วนของตัวตรวจวัดแล้ว ต้องคอยระวังอย่าให้ของเสียล้นขวดทิ้งสาร เพราะอาจทำให้มีสัญญาณรบกวน (noise) ที่สูงได้

4.2.2 ประสิทธิภาพการแยก

ประสิทธิภาพการแยกของพีคในเทคนิคโครมาโทกราฟี คือ ตัวชี้วัดการกระจายตัวของแถบสารที่สนใจ ขณะที่เคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์จนถึงระบบตรวจวัดในเครื่อง HPLC ซึ่งในอุดมคติแล้วนั้น พีคโครมาโทกราฟีควรมีลักษณะเป็นเส้นบางคมคล้ายเส้นดินสอ ในความเป็นจริง ผลจากกระบวนการกระจายตัว (dispersion effects) ทำให้พีคมีรูปร่างโค้งมนและแผ่กว้างออกกลายเป็นรูปร่างแบบ Gaussian

1. พารามิเตอร์บ่งชี้ประสิทธิภาพของเทคนิค HPLC

1) theoretical plate (N) เป็นค่าที่บ่งชี้ประสิทธิภาพของคอลัมน์ ค่า N มากแสดงถึงประสิทธิภาพในการแยกดี

2) capacity factor (k') เป็นค่าที่แสดงว่าสารถูกหน่วงเหนี่ยวอยู่ในคอลัมน์ได้ดีเพียงใด

3) tailing factor (T) เป็นค่าที่บอกถึงลักษณะพีคของสารว่ามีความสมมาตรมากน้อยเพียงใด

4) resolution (R_s) เป็นค่าที่แสดงว่าพีคของสารสองพีคที่อยู่ติดกัน แยกออกจากกันมากน้อยเพียงใด

เกณฑ์การยอมรับค่าพารามิเตอร์พื้นฐานเพื่อแสดงประสิทธิภาพการแยกของระบบตามมาตรฐาน USFDA guideline ดังแสดงในตาราง 4.9

ตารางที่ 4.9 เกณฑ์การยอมรับค่าจากการตรวจสอบความเหมาะสมของพารามิเตอร์

Parameter	US FDA guideline
N	>2000
k'	>2
T	≤2
R_s	>2

2. ขั้นตอนการแยกสารด้วย reverse phase HPLC

ลำดับการแยกสารด้วย reverse phase HPLC สรุปเป็นขั้นตอน ดังนี้

1) เลือกเฟสอยู่กับที่และเฟสเคลื่อนที่ สำหรับการแยกให้เหมาะสม ซึ่งโดยทั่วไป คอลัมน์ที่เป็น C18 (reverse phase) ชนิด silica end-caped (type B) ควรเลือกใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นน้ำกับแอสิตไนไตรล์ เนื่องจากแอสิตไนไตรล์มีค่าการดูดกลืนแสงยูวีและมีความหนืดต่ำทำให้ สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่ำถึง 220 nm ได้ หรือเฟสเคลื่อนที่เป็นน้ำกับบัฟเฟอร์ที่ pH ค่อนข้างเป็นกรด เพื่อลดการแตกตัวของหมู่ซิลานอล (silanol group) ของเฟสอยู่กับที่

ตารางที่ 4.10 ขั้นตอนและเงื่อนไขการแยกด้วย reverse-phase HPLC

Separation variable	Preferred Initial Choice
Column	
dimensions	150 mm x 4.6 mm
particle size	5 μ m
stationary phase	C8 or C18
Mobile phase	
solvents A-B	water-acetonitrile (for neutral samples)
%B solvent	variable
buffer	25 mM phosphate buffer pH 2.5 or 0.1% trifluoroacetic acid or formic acid
flow rate	1-2 mL/min
temperature	35°C

2) ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพการแยก การที่บอกถึงประสิทธิภาพการแยก (resolution) พิจารณาได้จากสมการ

$$R_s = 0.25\sqrt{N}(\alpha-1)\left(\frac{k}{k+1}\right) \quad \dots(4.10)$$

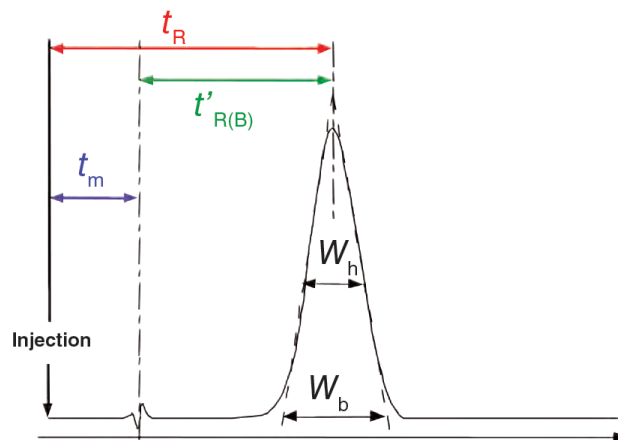
i ii iii

จากสมการ 4.10 จะพบว่าปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพการแยก จะแบ่งเป็น 3 พารามิเตอร์ คือ

ส่วน i คือ จำนวนเพลตของคอลัมน์ (plate number, N) เป็นพารามิเตอร์ที่ใช้บ่งชี้ประสิทธิภาพของคอลัมน์ โดยสะท้อนถึงคุณภาพของการบรรจุสารในคอลัมน์และความสามารถในการแยกสารอย่างมีประสิทธิภาพของคอลัมน์ (efficiency)

ค่า N นี้คำนวณได้จากโครมาโทแกรม โดยพิจารณาจากความกว้างของพีก (peak width) เปรียบเทียบกับเวลา t_R ของสารตัวอย่างที่เคลื่อนผ่านคอลัมน์ กล่าวคือ พีกที่แคบและชัดเจนจะบ่งบอกว่าคอลัมน์มีจำนวนเพลตสูงและมีการแยกที่ดี ในทางตรงกันข้าม หากพีกกว้างแสดงว่าการแยกไม่ดีและจำนวนเพลตต่ำ

$$N = 16\left(\frac{t_R}{W_b}\right)^2 = 5.54\left(\frac{t_R}{W_h}\right)^2$$



ภาพที่ 4.34 การหาจำนวนเพลตของคอลัมน์

ค่า N ที่มากแสดงถึงการกระจายตัวของสารน้อย และเป็นตัวบ่งชี้ว่าเฟสอยู่กับที่ในคอลัมน์มี ประสิทธิภาพในการทำงานสูง

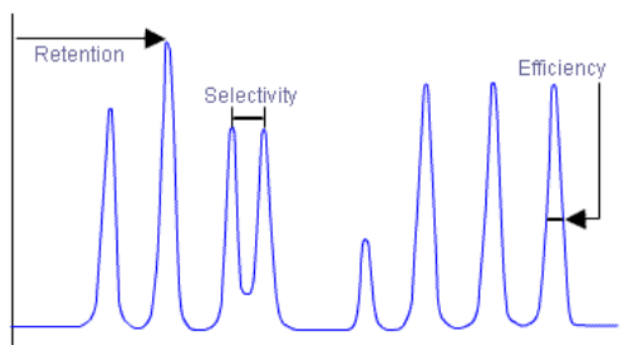
ส่วน ii คือ สมรรถนะการเลือก (selectivity factor, α) เป็นพารามิเตอร์ที่ใช้บ่ง บอกรประสิทธิภาพของการแยกสารสองชนิดที่มีพีกอยู่ใกล้กัน โดยคำนวณจากอัตราส่วนของค่า retention factor (k) ของสารที่มีเวลาการหน่วงมากกว่ากับสารที่มีค่าน้อยกว่า ($\alpha = k_2/k_1$ เมื่อ $k_2 > k_1$) โดยไม่พิจารณาความกว้างของพีก ค่านี้สะท้อนถึงความแตกต่างในการจับของสารกับเฟสอยู่กับที่

หรือ relative partition coefficient ซึ่งแสดงถึงความสามารถในการแยกสารที่มีสมบัติใกล้เคียงกันได้ดี โดยทั่วไป ค่า α ที่มากกว่า 1 เป็นเงื่อนไขพื้นฐานของการแยกที่เกิดขึ้นจริง และค่าที่เหมาะสมสำหรับการแยกที่มีประสิทธิภาพควรอยู่ระหว่าง 1.5–4.0 ทั้งนี้ ค่าดังกล่าวขึ้นกับปัจจัยต่าง ๆ เช่น องค์ประกอบของเฟสเคลื่อนที่ ลักษณะและพื้นที่ผิวของเฟสอยู่กับที่ รวมถึงอุณหภูมิที่ใช้ในการแยก

ส่วน iii คือ แฟกเตอร์ความจุ (capacity factor, k') หรือ พารามิเตอร์ตัวแปรการหน่วง (retention factor) ซึ่งจะเป็นค่าที่บอกให้ทราบว่าสารตัวอย่างหน่วงอยู่ในคอลัมน์ได้ดีเพียงใด ขณะทำการแยกโดยใช้การชะแบบไอโซเครติก ค่า k' นี้หาได้จาก corrected retention time ของสารที่วิเคราะห์ (t_R') หารด้วยเวลาของสารที่ไม่ถูกหน่วงเหนี่ยวหรือเวลาที่เฟสเคลื่อนที่เคลื่อนผ่านคอลัมน์ (t_0) ดังสมการ

$$k = \left(\frac{t_R - t_0}{t_0} \right)$$

ค่า k เป็นตัวบ่งชี้ระยะเวลาที่สารถูกหน่วงอยู่ในคอลัมน์ก่อนจะถูกชะออกมา และมีความสัมพันธ์กับลักษณะของพีค เช่น ความกว้าง ความสูง และความง่ายในการตรวจวัด โดยปกติค่า k ที่เหมาะสมควรอยู่ในช่วง 2–5 เพื่อให้การแยกสารมีประสิทธิภาพและใช้เวลาไม่มาก สำหรับสารที่มีความซับซ้อนสามารถยอมรับค่า k ในช่วง 1–16 ได้ โดยควรตรวจสอบอย่างน้อยหนึ่งพีค เช่น พีคแรก เพื่อให้มั่นใจว่าสารที่ต้องการถูกแยกออกจากตัวทำละลายหรือสิ่งเจือปนที่มักจะถูกชะออกในเวลาใกล้ t_0 ซึ่งเป็นเวลาที่ตัวทำละลายออกจากคอลัมน์ การมีค่า k สูงเกิน 10–15 ไม่เป็นที่แนะนำ เพราะจะทำให้พีคกว้างขึ้น ใช้เวลานาน และลดความสามารถในการแยกสาร อีกทั้งปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อค่า k ได้แก่ องค์ประกอบของเฟสเคลื่อนที่ ชนิดของเฟสอยู่กับที่ และอุณหภูมิของระบบ ดังนั้น การควบคุมค่า k ให้เหมาะสมจึงมีความสำคัญที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการแยกสารใน HPLC ทั้งในด้านความแม่นยำ ความรวดเร็ว และประสิทธิภาพการแยกของผลการวิเคราะห์

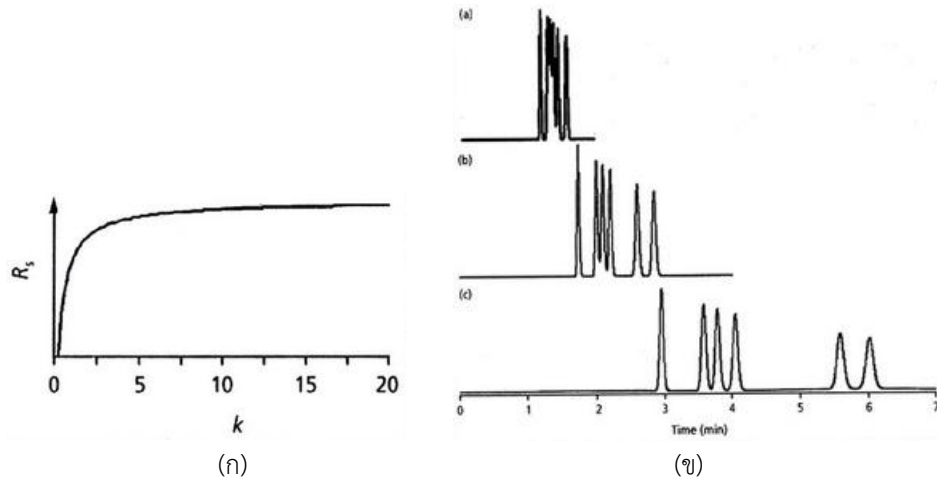


ภาพที่ 4.35 แผนภาพโครมาโทแกรมแสดงตัวแปรของประสิทธิภาพการแยก

3) การปรับความแรงของเฟสเคลื่อนที่

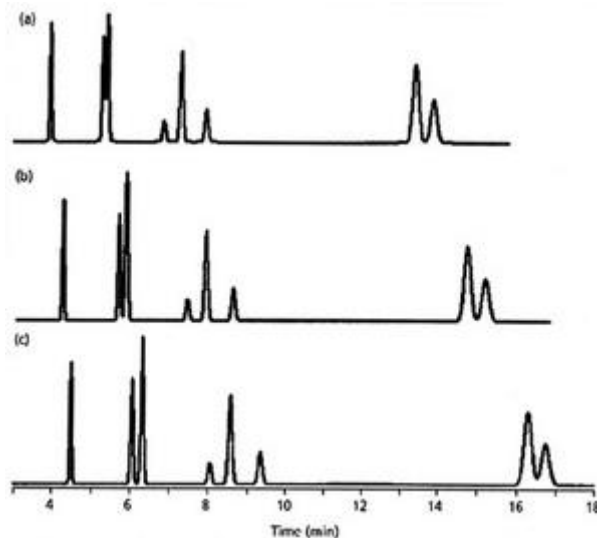
3.1) การปรับความแรงตัวทำละลาย (solvent strength) เริ่มต้นการแยกสารด้วยสิ่งที่ทำได้ง่ายที่สุดก่อน นั่นคือ การปรับความแรงของเฟสเคลื่อนที่ ตามส่วน iii ของสมการที่ 4.10 ถ้าสร้างกราฟระหว่าง k กับ R_S จะได้กราฟตามภาพที่ 4.35(ก) นั่นคือ R_S จะดีเมื่อ retention หรือ capacity

factor อยู่ในช่วง $2 < k < 20$ ซึ่งในทางปฏิบัติจะค่อย ๆ ลดความแรงของตัวทำละลาย B (organic solvent) ลงทีละ 10% จาก 90% เป็น 80% และ 70% ตามลำดับ จน t_R ของทุกพีคอยู่ในช่วง $2 < k < 20$ ตามภาพที่ 4.35(ข)



ภาพที่ 4.36 ผลของการปรับความแรงตัวทำละลาย (ก) ความสัมพันธ์ระหว่าง R_s กับ k' และ (ข) ผลของการลดความแรงของตัวทำละลาย B (a) 80%, (b) 70%, (c) 60%

3.2) การปรับความเข้มข้นของตัวทำละลาย B อย่างละเอียด (fine tuning) อีกครั้ง เพื่อให้ได้ $R_s > 1.5$ ดังภาพที่ 4.36



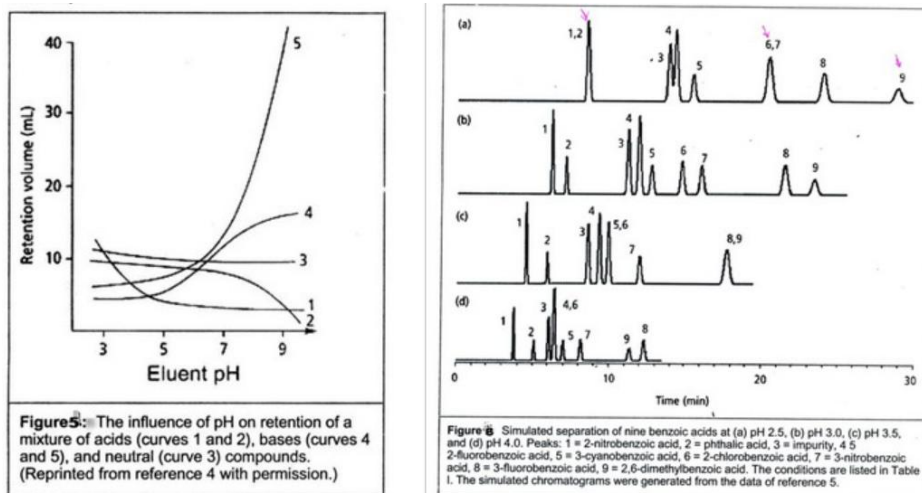
ภาพที่ 4.37 การปรับความเข้มข้นของตัวทำละลาย B อย่างละเอียด (a) 48%, (b) 47% และ (c) 46%

3.3) การเปลี่ยนชนิดเฟสเคลื่อนที่ การปรับ solvent strength เพียงอย่างเดียว อาจจะแยกสารได้มาก แต่สารบางชนิดแม้จะลองปรับความเข้มข้นของ acetonitrile (ACN) ทุกความ

เข้มข้นแล้ว การแยกชดก็ยังไม่ดี จะต้องเปลี่ยนชนิดของเฟสเคลื่อนที่ ตามส่วน ii ของสมการที่ (4.10) จาก acetonitrile เป็น methanol (MeOH) แล้วทำ fine tuning อีกครั้ง แต่ถ้าการแยกชดยังไม่น่าพอใจอีก ก็ต้องเปลี่ยนชนิดของเฟสเคลื่อนที่อีกครั้งเป็น tetrahydrofuran (THF)

3.4) การใช้สารอินทรีย์เป็นเฟสเคลื่อนที่ (organic mobile phase) สองชนิดผสมกัน ถ้าใช้ทั้ง acetonitrile, MeOH และ THF แล้วแต่การแยกชดก็ยังไม่ดี ให้ใช้ solvent ผสม

4) ความเป็นกรด-เบสของเฟสเคลื่อนที่ (pH) สำหรับตัวอย่างที่สามารถแตกตัวได้แนะนำให้ใช้ 0.025 M phosphate buffer pH 2.5 ซึ่งจะช่วยลดการแตกตัวของสารที่เป็นกรดและหมู่ซัลฟาโนลของเฟสอยู่กับที่ทำให้การเกิดปฏิกิริยาระหว่างเฟสอยู่กับที่กับสารที่เป็นกรดหรือเบสน้อยลง การเกิด peak tailing ก็น้อยลงด้วย



ภาพที่ 4.38 อิทธิพลของความเป็นกรด-เบสของเฟสเคลื่อนที่ (pH)

จะเห็นว่า เมื่อ pH ของเฟสเคลื่อนที่เปลี่ยน เวลาการหน่วงของสารที่เป็นกรด (เส้น 1, 2) และสารที่เป็นเบส (เส้น 3, 4) จะเปลี่ยนอย่างมาก ดังนั้น การปรับ selectivity ของสารประเภทที่แตกตัวได้ โดยการปรับ pH จะมีผลอย่างมาก ซึ่งการปรับ pH ของเฟสเคลื่อนที่ จะต้องให้ความเข้มข้นของเฟสเคลื่อนที่ (%B) คงที่ และโดยการค่อย ๆ ปรับ pH เพิ่มทีละ 0.5-1 เพราะการเปลี่ยน pH เพียงเล็กน้อย จะทำให้ทั้ง retention และลำดับของ peak เปลี่ยนไปมาก ดังภาพที่ 4.37 (ข)

5) อุณหภูมิของคอลัมน์ (column temperature) โดยทั่วไปการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของคอลัมน์จะทำให้ t_R เปลี่ยนแปลงไปด้วย ซึ่งจะมีผลต่อสารตัวอย่างที่มีความแรงทางประจุ (ionic strength) มากกว่าสารตัวอย่างที่เป็นกลาง โดยการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ 1°C จะทำให้ t_R เปลี่ยนไป 1-3% ดังนั้น การปรับอุณหภูมิจะมีผลต่อ selectivity เพียงเล็กน้อยเท่านั้น

6) การคัดเลือกคอลัมน์ (column selection) การปรับ selectivity โดยการเปลี่ยนชนิดของคอลัมน์เป็นวิธีที่ไม่สะดวกนัก และมีราคาแพงกว่าการเปลี่ยนชนิดของเฟสเคลื่อนที่ ดังนั้นจะใช้วิธีนี้เมื่อการปรับด้วยปัจจัยต่าง ๆ ที่กล่าวมาแล้วก็ยังไม่ทำให้การแยกดีขึ้น ซึ่งการเปลี่ยนชนิดของคอลัมน์ คือ การเปลี่ยนชนิดของเฟสอยู่กับที่จาก C8 หรือ C18 เป็น cyano column และ phenyl column

ซึ่งจะมีผลต่อ selectivity และลำดับการถูกชะออกจากคอลัมน์ (peak spacing) ทำให้ไม่สามารถทำนายการเปลี่ยน selectivity จากคอลัมน์หนึ่งไปอีกคอลัมน์หนึ่งได้

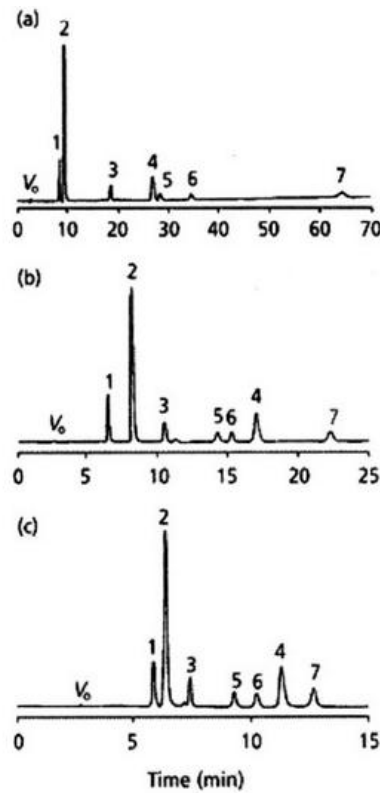


Figure 7: Separation of a substituted benzoic acid sample using 250 mm X 4.6 mm (a) C8, (b) phenyl, and (c) cyano columns. Mobile phase: (a) 25% methanol-buffer, (b) 35% methanol-buffer, (c) 35% methanol-buffer. Peaks: 1 = phthalic acid, 2 = 2-nitrobenzoic acid, 3 = 2-fluorobenzoic acid, 4 = 3-nitrobenzoic acid, 5 = 2-chlorobenzoic acid, 6 = 3-fluorobenzoic acid, 7 = *m*-toluic acid. (Reprinted from reference 6 with permission.)

ภาพที่ 4.39 ผลการเปลี่ยนชนิดของคอลัมน์

7. การเปลี่ยนสมบัติทางกายภาพของคอลัมน์ การปรับ selectivity โดยการปรับองค์ประกอบของเฟสเคลื่อนที่ pH อุณหภูมิ และชนิดของคอลัมน์แล้ว ทำให้การแยกโดยรวมและ peak spacing เป็นที่น่าพอใจ แต่ยังมีพีกบางคู่ที่ยังแยกได้ไม่สมบูรณ์ ($R_s < 1.5$) การปรับพารามิเตอร์ต่าง ๆ ของตัวคอลัมน์ ตามส่วน i ของสมการ (4.10) จะช่วยให้การแยกดีขึ้น โดยเริ่มปรับอัตราเร็วของเฟสเคลื่อนที่ก่อน จากนั้นจึงปรับขนาดของคอลัมน์ โดยการเพิ่มความยาวคอลัมน์ และสุดท้ายจึงลดขนาดของวัสดุรองรับจาก 5 mm เป็น 3 mm แต่การเพิ่มความยาวและลดขนาดของวัสดุรองรับลงจะมีผลต่อความดันและระยะเวลาในการแยก

8) การเปลี่ยนระบบเฟสเคลื่อนที่แบบ isocratic มาใช้แบบ gradient

4.2.3 การทำปริมาณวิเคราะห์และการประยุกต์

1) การวิเคราะห์เชิงคุณภาพ

เทคนิค HPLC เป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพสูงในการแยกสารในตัวอย่าง โดยทั่วไปแล้ว HPLC ไม่ได้ถูกนำมาใช้เป็นวิธีหลักในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ แต่จะใช้เพื่อยืนยันชนิดของสารที่อาศัยการเปรียบเทียบกับลักษณะของพีกที่ได้จากโครมาโทแกรม สามารถทำได้ 2 วิธี ดังนี้

1. การเปรียบเทียบค่า t_R กับสารมาตรฐาน เป็นวิธีที่ง่ายและมีความแม่นยำในการยืนยันตัวตนของสาร โดยสารตัวอย่างและสารมาตรฐานจะถูกวิเคราะห์ภายใต้สภาวะการทดสอบที่เหมือนกัน หากค่า t_R ที่วัดได้ตรงกันในทั้งสองกรณี ก็แสดงให้เห็นว่าสารตัวอย่างนั้นมีความเป็นไปได้สูงที่จะเป็นสารชนิดเดียวกับสารมาตรฐาน นอกจากนี้ การยืนยันยังสามารถทำได้โดยการเปลี่ยนแปลงสภาวะการวิเคราะห์ เช่น การเลือกใช้คอลัมน์หรือเฟสเคลื่อนที่ที่แตกต่างกัน หาก t_R ยังคงเหมือนเดิม จะยิ่งช่วยเสริมความน่าเชื่อถือของการระบุชนิดสาร

2. การเติมสารมาตรฐาน (spiking method) วิธีการเติมสารมาตรฐานเข้มข้นปริมาณเล็กน้อยลงในสารละลายตัวอย่าง (spike) เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ใช้ยืนยันความถูกต้องของการระบุสาร ในกรณีที่สารตัวอย่างและสารมาตรฐานเป็นชนิดเดียวกัน การเติมสารมาตรฐานจะทำให้พื้นที่พีคหรือความสูงของพีคในโครมาโทแกรมเพิ่มขึ้นโดยที่ค่า t_R ยังคงเดิม การเพิ่มขึ้นของสัญญาณนี้สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ได้ว่าการระบุสารนั้นถูกต้อง

2) การวิเคราะห์เชิงปริมาณ

การวิเคราะห์หาปริมาณสารในตัวอย่างด้วยเทคนิค HPLC มักดำเนินการโดยการเทียบกับกราฟมาตรฐาน ซึ่งเป็นวิธีที่สามารถให้ความแม่นยำและความเที่ยงตรงสูง ในการเตรียมกราฟมาตรฐานมีวิธีหลัก 2 รูปแบบ ได้แก่

1. วิธี external standard

วิธีนี้ได้รับความนิยมเนื่องจากมีความสะดวก รวดเร็ว และให้ผลที่ถูกต้อง โดยในขั้นตอนการเตรียมกราฟมาตรฐานจะใช้งานสารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันประมาณ 3 – 5 ค่า ทำการวิเคราะห์แต่ละค่า แล้วจึงสร้างกราฟโดยวางความเข้มข้นของสาร (แกนนอน) เทียบกับพื้นที่พีคหรือความสูงของพีค (แกนตั้ง) ที่ได้จากการวิเคราะห์ โดยผลลัพธ์ที่ได้จะเป็นกราฟเส้นตรงซึ่งสามารถนำไปใช้ในการคำนวณปริมาณสารในตัวอย่างโดยการเปรียบเทียบค่า t_R และพื้นที่พีคที่ได้จากตัวอย่างกับกราฟมาตรฐานที่เตรียมไว้

2. วิธี internal standard

ในวิธีนี้จะมีการเติมสารมาตรฐานภายใน (internal standard) ลงในสารละลายตัวอย่างและสารละลายมาตรฐานในปริมาณเท่ากัน โดยสารมาตรฐานภายในจะต้องเป็นสารที่ไม่มีในตัวอย่างและมีสมบัติใกล้เคียงกับสารที่ต้องการวิเคราะห์ ทั้งนี้เพื่อให้เกิดการตอบสนองของตัวตรวจวัดในลักษณะที่คล้ายคลึงกับสารตัวอย่าง เมื่อวิเคราะห์ด้วย HPLC จะสร้างกราฟมาตรฐานโดยเขียนกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน (แกนนอน) กับอัตราส่วนของพื้นที่พีคของสารตัวอย่างต่อพื้นที่พีคของสารมาตรฐานภายใน (แกนตั้ง) จากนั้นปริมาณสารในตัวอย่างจะถูกคำนวณโดยการเทียบอัตราส่วนที่ได้กับกราฟมาตรฐาน

การใช้วิธี internal standard นั้นให้ความแม่นยำและเที่ยงตรงสูง เนื่องจากการใช้สารมาตรฐานภายในช่วยชดเชยความแปรปรวนระหว่างการฉีดตัวอย่างและการตอบสนองของตัวตรวจวัดได้อย่างดี สารมาตรฐานภายในที่เหมาะสมควรมีสมบัติดังต่อไปนี้

- ไม่มีอยู่ในตัวอย่าง เพื่อป้องกันการรบกวนของสัญญาณ

- มีสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ที่ใกล้เคียงกับสารตัวอย่าง เพื่อให้การแยกและการตอบสนองของตัวตรวจวัดเป็นไปในทิศทางเดียวกัน
- ไม่ทำปฏิกิริยาเคมีกับสารในคอลัมน์หรือสารละลายตัวชะ เพื่อคงความเสถียรของการวิเคราะห์
- มีค่า t_R ที่ใกล้เคียงกับสารตัวอย่าง แต่แยกออกมาได้อย่างชัดเจน เพื่อให้สามารถแยกแยะพีกของสารมาตรฐานภายในและสารตัวอย่างได้อย่างถูกต้อง

4.2.4 ปฏิบัติการโครมาโทกราฟีแบบของเหลวแรงดันสูง

1. ปฏิบัติการส่วนประกอบของเครื่อง HPLC
2. การวิเคราะห์เชิงปริมาณสารด้วย reverse phase HPLC (ดูคู่มือปฏิบัติการ)

สรุปท้ายบทเรียน

เทคนิค HPLC เป็นเทคนิคที่ใช้ในการแยก ตรวจสอบ และวิเคราะห์องค์ประกอบของสารผสมภายใต้สภาวะที่มีแรงดันสูง ระบบ HPLC อาศัยการไหลของเฟสเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ที่บรรจุเฟสอยู่กับที่ ส่วนประกอบหลักของเครื่อง HPLC ประกอบด้วย แหล่งเก็บตัวทำละลาย บีมส่งตัวทำละลาย ตัวฉีดตัวอย่าง คอลัมน์แยกสาร ตัวตรวจวัดสัญญาณ ระบบประมวลผลข้อมูล และอุปกรณ์กำกับอุณหภูมิของคอลัมน์ เป็นต้น ตัวแปรที่มีผลต่อประสิทธิภาพการแยกของเทคนิค HPLC ได้แก่ ค่าแฟกเตอร์ความจุ (k) ซึ่งบ่งบอกถึงระยะเวลาที่สารถูกหน่วงอยู่ในคอลัมน์, ค่า selectivity (α) ที่แสดงระดับการแยกของสารสองชนิดที่อยู่ใกล้กัน จำนวนเพลทของคอลัมน์ (N) ที่สะท้อนประสิทธิภาพในการบรรจุคอลัมน์และความคมของพีก รวมถึงปัจจัยอื่น ๆ เช่น ขนาดอนุภาคของวัสดุบรรจุคอลัมน์ องค์ประกอบของเฟสเคลื่อนที่ อุณหภูมิการทำงาน และอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ เป็นต้น

วิธีการสอนและกิจกรรม

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ใบกิจกรรม

สื่อการสอนและอุปกรณ์การสอน

1. หนังสือ/ตำรา
2. เอกสารประกอบการสอน
3. เอกสาร power point
4. <https://www.ssi.shimadzu.com/service-support/faq/liquid-chromatography/knowledge-base/hplc-basics/index.html>

งานที่มอบหมาย

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ใบกิจกรรม

การวัดผล

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ใบกิจกรรม

แบบฝึกหัด

1. ทำกิจกรรม
2. ใบกิจกรรม

บรรณานุกรม

1. Harris, D. C. (2010). *Quantitative Chemical Analysis* (8th ed.). W.H. Freeman and Company.
2. Harvey, D. (2019). *Analytical Chemistry 2.1*. <https://chem.libretexts.org/>
3. Wu, P. W., Chang, C. C., & Chou, S. S. (2003). Determination of formaldehyde in cosmetics by HPLC method and acetylacetone method. *Journal of Food and Drug Analysis*. 11(1) 8-15. <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2728>
4. Nicoletti, I., Corradini, C., Cogliandro, E., & Cavazza, A. (1999). Determination of alpha-hydroxy acids in cosmetic products by high-performance liquid chromatography with a narrow-bore column. *International Journal of Cosmetic Science*, 21(4) 265–274. <https://doi.org/10.1046/j.1467-2494.1999.196577.x>
5. Huang, W. S., Lin, C. C., Huang, M. C., & Wen, K.-C. (2002). Determination of α -hydroxyacids in cosmetics. *Journal of Food and Drug Analysis*. 10(2) x-xx. <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2761>
6. Robinson, J. W., Frame, E. M. S., & Frame G. M. (2021). *Instrumental Analytical Chemistry*. CRC Press

หน่วยที่ 4

วิเคราะห์โครมาโทกราฟี

บทเรียน 4.3 การวิจัยและการประยุกต์เทคนิคโครมาโทกราฟี

จุดประสงค์การสอน

1. อธิบายการประยุกต์เทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแก๊ส
2. อธิบายการประยุกต์เทคนิคโครมาโทกราฟีแบบของเหลวแรงดันสูง
3. ปฏิบัติการประยุกต์ใช้โครมาโทกราฟีกับอาหารหรือเครื่องสำอาง

4.3.1 การประยุกต์เทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแก๊ส

1) การประยุกต์ใช้ GC ในงานวิจัยด้านเภสัชกรรมและสมุนไพร

ในงานวิจัยด้านสมุนไพร เทคนิค GC มีบทบาทสำคัญในการวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในพืชสมุนไพร การวิเคราะห์ด้วย GC ช่วยให้สามารถระบุชนิดและปริมาณของสารสำคัญในสมุนไพร ซึ่งมีประโยชน์ในการประเมินคุณภาพและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสมุนไพร นอกจากนี้ ข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ยังสามารถนำไปใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรที่มีคุณภาพและมาตรฐาน รวมถึงการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของสมุนไพร

เทคนิค GC เป็นเครื่องมือหลักในการวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพร น้ำมันหอมระเหยประกอบด้วยสารประกอบอินทรีย์หลายชนิด เช่น เทอร์พีน แอลกอฮอล์ แอลดีไฮด์ และเอสเทอร์ ซึ่งมีสมบัติระเหยง่ายและสามารถวิเคราะห์ได้ดีด้วยเทคนิค GC การวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยมีความสำคัญในการประเมินคุณภาพของวัตถุดิบสมุนไพรและผลิตภัณฑ์จากสมุนไพร รวมถึงการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำมันหอมระเหย เช่น ฤทธิ์ต้านจุลชีพ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านการอักเสบ

ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและเวชสำอางจากสมุนไพร การวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยด้วยเทคนิค GC มีความสำคัญในการควบคุมคุณภาพของวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์ สารประกอบในน้ำมันหอมระเหยบางชนิดอาจก่อให้เกิดการแพ้หรือระคายเคืองต่อผิวหนัง การวิเคราะห์ด้วย GC ช่วยให้สามารถตรวจสอบและควบคุมปริมาณของสารเหล่านี้ในผลิตภัณฑ์ได้

ตัวอย่างรายงานวิจัย

1. Kenneth และคณะ (2023) รายงานวิจัยเรื่อง GC-FID guided identification and quantification of detectable phytochemicals in selected commercial chamomile

herbal tea มีวัตถุประสงค์ ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและปริมาณสารออกฤทธิ์ในชาคาโมไมล์ สมุนไพรเชิงพาณิชย์ เพื่อประเมินคุณภาพและความถูกต้องของผลิตภัณฑ์

วิธีการเตรียมตัวอย่าง โดยสกัดสารจากชาคาโมไมล์ด้วยตัวทำละลายเอทานอลและน้ำ สภาวะการวิเคราะห์ด้วยตัวตรวจวัด GC-FID ประกอบด้วย

- คอลัมน์ HP-5MS (30 m×250 μm ×0.25 μm)
- แก๊สพา ฮีเลียม (อัตราการไหล 1 mL/min)
- อุณหภูมิ เริ่มต้นที่ 50°C เพิ่มขึ้นที่ละ 3°C/min จนถึง 150°C แล้วเพิ่มเป็น 300°C ที่ 10°C/min
- ตรวจวัดด้วย flame ionization detector (FID)

ผลการวิจัยตรวจพบสารไฟโตเคมีคอลหลัก 3 กลุ่ม คือ ฟลาโวนอยด์ ประกอบด้วย rutin (10.47%), kaempferol (8.44%), naringenin (4.1%) ไกลโคไซด์ ประกอบด้วย cardiac glycoside (4.37%), cyanogenic glycoside (14.33%) และสารต้านโภชนาการ ประกอบด้วย oxalate (16.77%), phytate (4.63%)

2) การประยุกต์ใช้ GC ในงานวิจัยอาหารและยา

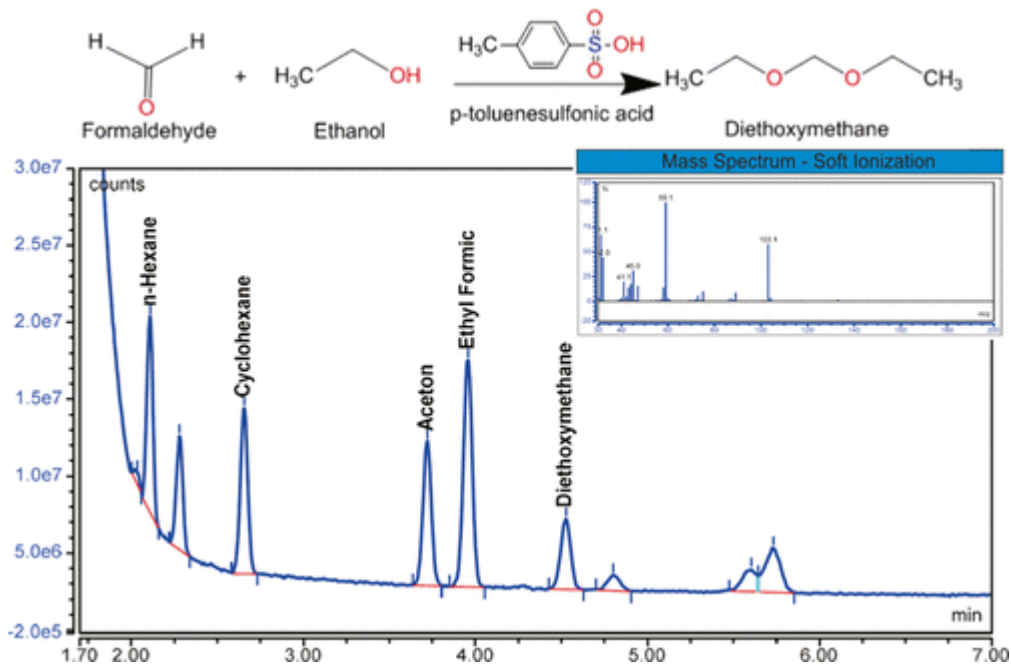
ในอุตสาหกรรมอาหารและยา เทคนิค GC มีบทบาทสำคัญในการวิเคราะห์ความบริสุทธิ์ของสารออกฤทธิ์ทางยา และการตรวจสอบสารปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ยา การวิเคราะห์ด้วย GC สามารถใช้ในการตรวจหาตัวทำละลายตกค้าง (residual solvents) ในผลิตภัณฑ์ยา ซึ่งเป็นข้อกำหนดสำคัญในการควบคุมคุณภาพตามมาตรฐานเภสัชตำรับ นอกจากนี้ GC ยังสามารถใช้ในการวิเคราะห์เมแทบอลิต์ของยาในตัวอย่างชีวภาพ เช่น เลือดและปัสสาวะ ซึ่งมีประโยชน์ในการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์และกระบวนการเมแทบอลิซึมของยา

ตัวอย่างรายงานวิจัย

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณอะคริลาไมด์โดยวิธี GC ที่มีการตรวจวัด FID อะคริลาไมด์จัดเป็นสารก่อมะเร็งที่เกิดขึ้นที่อุณหภูมิสูงในกระบวนการปรุงอาหาร อะคริลาไมด์เป็นผลผลิตพลอยได้จากปฏิกิริยาเมลลาร์ดระหว่างหมู่เอมีโนของแอสพาราจिनกับหมู่คาร์บอนิลของน้ำตาลรีดิวซ์ การเตรียมตัวอย่างโดยสกัดอะคริลาไมด์จากตัวอย่างด้วยน้ำปราศจากไอออน จากนั้นนำไปกำจัดไขมัน น้ำมัน คาร์โบไฮเดรต และโปรตีนก่อนการเตรียมอนุพันธ์ด้วยแซนไธนโตรอล การเตรียมตัวอย่างให้สะอาดขึ้น ความเข้มข้นของแซนไธนโตรอลและกรดไฮโดรคลอริก (HCl) เวลาและอุณหภูมิในการเตรียมอนุพันธ์ และชนิดของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้สกัดภายใต้สภาวะที่เหมาะสม พบว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นมีช่วงความเป็นเส้นตรงตั้งแต่ความเข้มข้น 70-140,000 นาโนกรัมต่อกิโลกรัม ($r^2 = 0.9994$) ขีดจำกัดการตรวจวัดและขีดจำกัดการหาปริมาณได้เท่ากับ 14 และ 70 นาโนกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ เมื่อนำวิธีที่พัฒนาขึ้นไปประยุกต์ใช้หาปริมาณอะคริลาไมด์ในมันฝรั่งทอด 6 ตัวอย่าง พบว่ามีอะคริลาไมด์ในช่วงความเข้มข้น 1.52-13.09 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม โดยมีค่าร้อยละการกลับคืนในช่วง 78.10-111.87 (อนุวัฒน์ และวารวูธ, 2562)

3) การประยุกต์ใช้ GC ในงานวิจัยเครื่องสำอาง

การพัฒนาเทคนิควิเคราะห์สำหรับการตรวจหาฟอร์มัลดีไฮด์ในเครื่องสำอางประเภทครีม โดยใช้เครื่อง GC-FID และ GC-MS โดยใช้ *p*-toluenesulfonic (PTS) acid ในเอทานอลเป็นสารช่วยสร้างอนุพันธ์ (derivatizing agent) ดังสมการ นอกจากนี้ยังเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ฟอร์มัลดีไฮด์กับวิธีมาตรฐานเดิมโดยใช้ DNPH ด้วย HPLC-DAD



ภาพที่ 4.40 โครมาโทแกรมอนุพันธ์ฟอร์มัลดีไฮด์ โดยใช้เครื่อง GC-FID

4.3.2 การประยุกต์เทคนิคโครมาโทกราฟีแบบของเหลวแรงดันสูง

1) การประยุกต์ใช้ HPLC ในงานวิจัยด้านเภสัชกรรมและสมุนไพร

HPLC เป็นเครื่องมือหลักในการตรวจสอบความบริสุทธิ์ของยาที่ผลิตขึ้นใหม่ โดยสามารถหาสารตกค้างหรือสารที่ไม่ต้องการในกระบวนการสังเคราะห์ยาได้ ตัวอย่างเช่น การวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ในยาแก้ปวดหรือยาด้านจุลชีพ เพื่อยืนยันความถูกต้องและความมีประสิทธิภาพในการผลิต การศึกษาการปล่อยยา (drug release) และการแพร่กระจายของยาในร่างกาย สามารถใช้วัดระดับการปล่อยของสารออกฤทธิ์ในตัวอย่างชีวภาพ เช่น เลือดหรือปัสสาวะ นอกจากนี้ยังติดตามการเปลี่ยนแปลงของยาในร่างกายเกิดการสลายตัวและเปลี่ยนเป็นเมตาบอไลต์ HPLC จึงถูกนำมาใช้ในการศึกษาการเผาผลาญและความปลอดภัยของยา

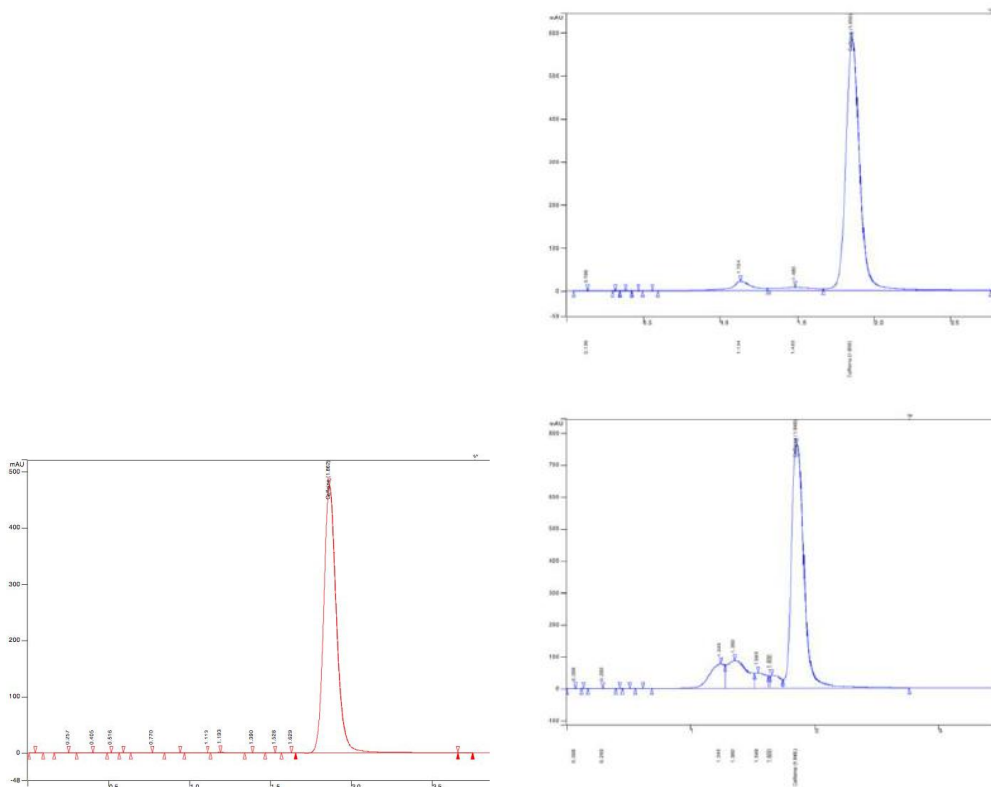
สมุนไพรที่มีสารออกฤทธิ์หลายชนิดที่อาจมีประสิทธิภาพทางยา HPLC ช่วยให้สามารถแยกและวิเคราะห์สารเหล่านี้ได้อย่างละเอียด เช่น การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ สารต้านอนุมูลอิสระ หรือสารประกอบอื่น ๆ ที่มีบทบาทในระบบชีวภาพ ตัวอย่างเช่น การวิเคราะห์สารประกอบในใบชา รากโสม หรือสมุนไพรไทยที่มีการใช้ในผลิตภัณฑ์เสริมความงามและอาหารเสริม การประเมินคุณภาพและความสม่ำเสมอของผลิตภัณฑ์สมุนไพร

ตัวอย่างรายงานวิจัย

การวิเคราะห์ปริมาณเคอร์คูมินอยต์ในวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากพืชสกุลเคอร์คูมาด้วยเทคนิค RP-HPLC ได้รับการพัฒนาขึ้น โดยใช้คอลัมน์ RP-C18 และเฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วย แอซีโตไนโตรสและกรดแอสติก 2% ด้วยระบบ gradient elution ที่อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อ นาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 425 nm วิธีนี้มีความไว ความเฉพาะเจาะจง และความแม่นยำสูง ค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (LOD) ของเคอร์คูมิน (curcumin) ดีเมทอกซีเคอร์คูมิน (demethoxycurcumin) และบิสดีเมทอกซีเคอร์คูมิน (bisdemethoxycurcumin) เท่ากับ 0.09, 0.14 และ 0.15 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ช่วงของความเป็นเส้นตรงอยู่ที่ความเข้มข้น 5-200 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าเฉลี่ยร้อยละของการกลับคืนของเคอร์คูมิน ดีเมทอกซีเคอร์คูมิน และบิสดีเมทอกซีเคอร์คูมิน มีค่าระหว่าง 95.06 ถึง 102.19% วิธีนี้สามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณเคอร์คูมินอยต์จากเหง้าขมิ้นและเครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของขมิ้นได้

2) การประยุกต์ใช้ HPLC ในงานวิจัยด้านอาหารและยา

การพัฒนาและตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ปริมาณคาเฟอีนในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารกลุ่มลดน้ำหนัก โดยใช้เทคนิค HPLC ร่วมกับตัวตรวจจับรังสียูวี (UV detection) และประเมินปริมาณคาเฟอีนที่ผู้บริโภคได้รับในแต่ละวันจากผลิตภัณฑ์เหล่านี้ มีการสุ่มเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่มีส่วนประกอบของคาเฟอีนจำนวน 20 ชนิด การทดลองใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นน้ำกลั่น 65%/แอซีโตไนโตรส 35% ความเร็วการไหล 1 mL/นาที ชนิดคอลัมน์ C18 การตรวจวัดด้วย UV ที่ความยาวคลื่น 274 nm

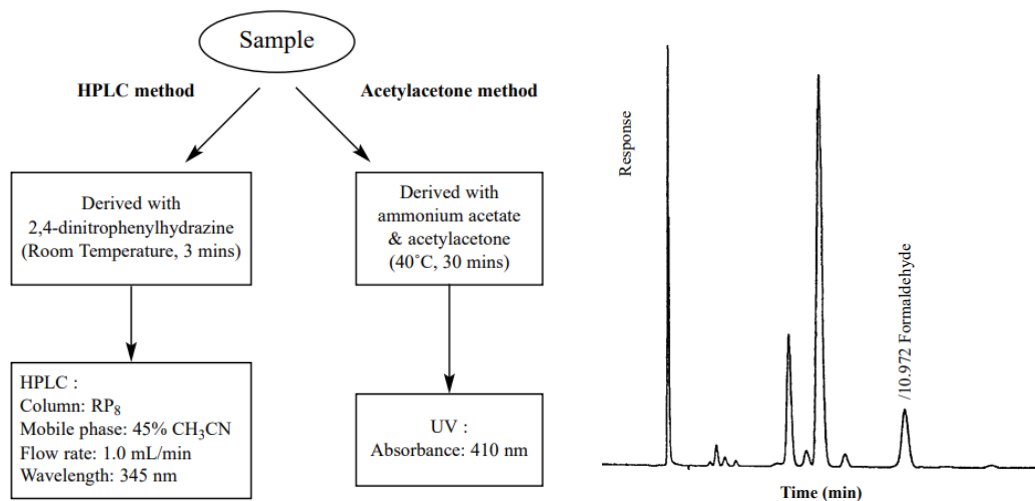


ภาพที่ 4.41 โครมาโทแกรม (ก) คาเฟอีนมาตรฐาน 60 µg/mL และ (ข) สารตัวอย่าง

3) การประยุกต์ใช้ HPLC ในงานวิจัยด้านเครื่องสำอาง

Gao และคณะ (2011) พัฒนาและปรับปรุงวิธีการวิเคราะห์ที่รวดเร็วและไวต่อการตรวจจับโดยใช้ HPLC สำหรับการตรวจหา hydroquinone, phenol และสารกันเสียอีก 6 ชนิด (methyl paraben, ethyl paraben, propyl paraben, butyl paraben, sorbic acid และ salicylic acid) ในผลิตภัณฑ์ครีมเครื่องสำอาง โดยใช้ Reverse-phase HPLC โดยมีคอลัมน์ชนิด C18 ใช้ระบบ gradient elution ด้วยตัวทำละลายที่เป็นกรดอ่อนผสมกับเมทานอล ตรวจวัดด้วย UV detection ที่ 210 nm ทำการสกัดตัวอย่างจากครีมโดยการใช้ methanol extraction ตามด้วยการกรอง วิธีที่พัฒนาขึ้นสามารถแยกสารทั้ง 8 ชนิดได้ภายใน 20 นาที มี limit of detection (LOD) และ limit of quantitation (LOQ) ต่ำมาก แสดงถึงความไวสูง ความเที่ยงตรง (precision) และความถูกต้อง (accuracy) อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

Wu และคณะ (2003) พัฒนาและปรับปรุงวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณฟอร์มัลดีไฮด์ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ใช้เทคนิค HPLC โดยทำอนุพันธ์ฟอร์มัลดีไฮด์กับ 2,4-dinitrophenylhydrazine (2,4-DNPH) เพื่อเพิ่มความจำเพาะในการตรวจวัด เนื่องจากฟอร์มัลดีไฮด์ไม่สามารถวิเคราะห์ได้โดยตรงด้วย HPLC ได้ดี จึงต้องทำให้เกิดอนุพันธ์ที่สามารถตรวจจับได้ง่ายขึ้น และตรวจวัดด้วย UV ที่ 345 nm ตัวอย่างเครื่องสำอางถูกเตรียมโดยการละลายในน้ำ ชนิดคอลัมน์เป็น Licrosorb RP8 เฟสเคลื่อนที่เป็น acetonitrile 45%, อัตราการไหล 1.0 mL/min โดยสรุปผลมีช่วงความถูกต้อง (linearity) ระหว่าง 0.1–5.0 µg/mL ค่า recovery อยู่ในช่วง 95-105% ค่า LOD = 0.02 µg/mL และ LOQ = 0.07 µg/mL



ภาพที่ 4.42 ขั้นตอนการวิเคราะห์และโครมาโทแกรมของอนุพันธ์ฟอร์มัลดีไฮด์ด้วย 2,4-DNPH

4.3.3 ปฏิบัติการประยุกต์ใช้โครมาโทกราฟีกับอาหารหรือเครื่องสำอาง

- 1) ปฏิบัติการประยุกต์ใช้โครมาโทกราฟีกับอาหาร
- 2) ปฏิบัติการประยุกต์ใช้โครมาโทกราฟีเครื่องสำอาง
- 3) รายงานวิจัย
(คู่มือปฏิบัติการ)

สรุปท้ายบทเรียน

การประยุกต์ใช้ GC ในงานวิจัยในด้านต่าง ๆ การวิเคราะห์สารตกค้างในอาหาร เช่น ตรวจสอบสารกำจัดศัตรูพืชตกค้างในผักและผลไม้ วิเคราะห์สารปนเปื้อนอาหารทอด ตรวจสอบองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพร ด้านเครื่องสำอาง เช่น วิเคราะห์ปริมาณสารระเหยในน้ำหอม และผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ตรวจสอบสารปนเปื้อนที่อาจเป็นอันตราย เช่น พาราเบน และฟีนอกซีเอทานอล ด้านผลิตภัณฑ์ธรรมชาติและสมุนไพร เช่น วิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยในพืชสมุนไพรและพืชยา ตรวจสอบปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในสารสกัดจากพืช เช่น ฟลาโวนอยด์ เทอร์พีนอยด์ และอัลคาลอยด์ ใช้ในการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์สมุนไพรเพื่อให้มั่นใจว่ามีปริมาณสารสำคัญที่เหมาะสม

การวิเคราะห์โดยใช้เทคนิค HPLC ถือเป็นหนึ่งในเครื่องมือสำคัญในงานวิจัยทั้งด้านเภสัชกรรมและสมุนไพร เนื่องจากสามารถแยกและวิเคราะห์สารประกอบที่มีความซับซ้อนได้อย่างละเอียดและแม่นยำ ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการศึกษาสมบัติทางเคมีของสารสกัดจากพืชสมุนไพรและการประเมินประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ทางเภสัชกรรม

วิธีการสอนและกิจกรรม

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ใบกิจกรรม

สื่อการสอนและอุปกรณ์การสอน

1. หนังสือ/ตำรา
2. เอกสารประกอบการสอน
3. เอกสาร power point
4. บทความวิจัย

งานที่มอบหมาย

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ใบกิจกรรม

การวัดผล

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ใบกิจกรรม

แบบฝึกหัด

1. ทำกิจกรรม
2. ใบกิจกรรม

บรรณานุกรม

1. อนุวัฒน์ รัศมีสมศรี และวราวุธ ดิยพงศ์พัฒนา. (2562). แก๊สโครมาโทกราฟีที่มีการตรวจวัดแบบเฟลมไอออนเซชัน สำหรับการหาปริมาณอะครีลาไมด์ในมันฝรั่งทอด. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*. 27(3) 389-406.
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. Gao, W., & Legido-Quigley, C. (2011). Fast and sensitive high performance liquid chromatography analysis of cosmetic creams for hydroquinone, phenol and six preservatives. *Journal of chromatography. A*, 1218(28), 4307–4311. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.04.064>
5. Harvey, D. (2019). *Analytical Chemistry 2.1*. <https://chem.libretexts.org/>
6. Kenneth C. Ugoeze, Nora Amadi, Ngozi A. Okoronkwo, Sunday O. Abali, Kennedy E. Oluigbo, Bruno C. Chinko. (2023). GC-FID guided identification and quantification of detectable phytochemicals in selected commercial chamomile herbal tea. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*. 14, 1-11
7. Yuniati, W., Amelia, T., Ibrahim, S., & Damayanti, S. (2021). Analytical method development for determining formaldehyde in cream cosmetics using hyphenated gas chromatography. *ACS Omega*, 6, 42, 28403–28409. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsomega.1c04792>
8. Lehotay, S. J., & Hajšlová, J. (2002). Application of gas chromatography in food analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 21(9–10) 686-697. [https://doi.org/10.1016/S0165-9936\(02\)00805-1](https://doi.org/10.1016/S0165-9936(02)00805-1).
9. Analysis of Preservatives in Cosmetics by HPLC. (March 25, 2021). PerkinElmer, Inc.

10. Chanthathamrongsiri, N., Anannaweenusorn, P., Chuenta, W., Saraarporn, S., & Plianwong, S. (2023). Analytical method development and validation for simultaneous determination of triamcinolone acetate, betamethasone valerate and clobetasol propionate in cream formulation by RP-HPLC. *Science, Engineering and Health Studies*, 17, 23050024. <https://doi.org/10.69598/sehs.17.23050024>
11. Robinson, J. W., Frame, E. M. S., & Frame G. M. (2021). *Instrumental Analytical Chemistry*. CRC Press
12. Huang, X., Liu, L., Xu, Q., & Rohrer, J. (n.d.). *Determination of Coumarins in Cosmetics*. <https://assets.fishersci.com/TFS-Assets/CMD/Application-Notes/AN-1128-LC-Coumarins-Cosmetics-AN71662-EN.pdf>

หน่วยที่ 5 วิธีวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้า

บทเรียน 5.1 หลักการวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้า

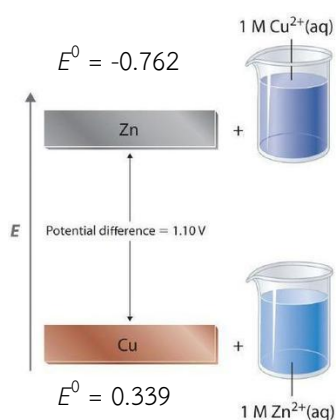
จุดประสงค์การสอน

1. คำนวณศักย์ไฟฟ้าของเซลล์ไฟฟ้าเคมี
2. บอกขั้วไฟฟ้า
3. ปฏิบัติการเซลล์ไฟฟ้าเคมี

5.1.1 ศักย์ไฟฟ้าของเซลล์ไฟฟ้าเคมี

1) ศักย์ไฟฟ้าของเซลล์

ศักย์ไฟฟ้าของเซลล์ คือ แรงเคลื่อนไฟฟ้าที่เกิดขึ้นในเซลล์กัลวานิกอันเนื่องมาจากการถ่ายโอนอิเล็กตรอนระหว่างครึ่งเซลล์ที่เกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ การวัดศักย์ไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้า ค่าที่วัดได้จะเป็นค่าความต่างศักย์ของขั้วไฟฟ้าทั้งสองเซลล์ เปรียบเทียบอย่างง่ายการถ่ายโอนอิเล็กตรอนเปรียบเสมือนการไหลของน้ำจากน้ำตัก น้ำจะไหลได้ก็เนื่องจากมีความแตกต่างระหว่างระดับที่มีพลังงานศักย์สูงและที่พลังงานศักย์ต่ำกว่า ในทำนองเดียวกันการไหลของอิเล็กตรอนในเซลล์กัลวานิกจะไหลจากขั้วแอโนดไปยังขั้วแคโทด เนื่องจากพลังงานศักย์ของขั้วแอโนดมีค่าสูงกว่าขั้วแคโทด จึงทำให้เกิดแรงเคลื่อนไฟฟ้า (electromotive force; emf) ไปยังวงจรภายนอก โดยค่าแรงเคลื่อนไฟฟ้าของเซลล์เขียนแทนด้วย E^0_{cell} ซึ่งอาจเรียกว่า ศักย์ไฟฟ้าของเซลล์ (cell potential)



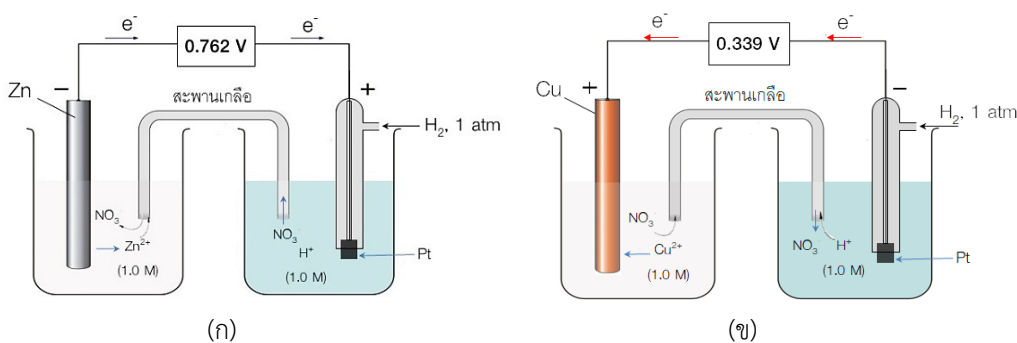
ภาพที่ 5.1 ความต่างศักย์ไฟฟ้าในเซลล์กัลวานิกของ Zn/Cu. ที่มาจาก *Chemistry: The Central Science*. by T.E., Brown, et al., 2015. Pearson.

จากภาพที่ 5.1 จากค่า E^0 โลหะ Cu เป็นตัวออกซิไดส์ที่ดีกว่าโลหะ Zn จะเกิดปฏิกิริยารีดักชัน ส่วนโลหะ Zn จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ดังนั้น ศักย์ไฟฟ้าของโลหะ Zn ในสารละลาย Cu^{2+} มีค่ามากกว่าของโลหะ Cu ในสารละลาย Zn^{2+} โดยความต่างศักย์จะเท่ากับ 1.10 V แต่ถ้าเปลี่ยนโลหะ Cu เป็นโลหะ Co ($E^0 = -0.282 \text{ V}$) และสารละลายในปฏิกิริยารีดักชันเป็น Co^{2+} จะพบว่าความต่างศักย์จะเท่ากับ 0.51 V ดังนั้น ความต่างศักย์ไฟฟ้าระหว่างขั้ว Co และ Zn เท่ากับ 0.59 V

ค่าแรงเคลื่อนไฟฟ้าที่เป็นบวก (>0) เป็นค่าที่บ่งบอกถึงขั้วไฟฟ้านั้น สามารถเกิดปฏิกิริยาเคมีแล้วอิเล็กตรอนเคลื่อนที่ไปยังวงจรรภายนอก ปฏิกิริยาเคมีภายในเซลล์เกิดขึ้นได้เอง โดยอิเล็กตรอนเคลื่อนที่จากแอโนดไปยังแคโทด แต่ถ้าตรงกันข้าม ค่าแรงเคลื่อนไฟฟ้าที่เป็นลบ ปฏิกิริยาเคมีภายในเซลล์เกิดขึ้นได้เองไม่ได้

โดยปกติไม่สามารถวัดความสามารถของขั้วไฟฟ้าในครึ่งเซลล์ในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือรีดักชันได้โดยตรง จะต้องใช้ขั้วไฟฟ้าไฮโดรเจนมาตรฐาน (SHE) มาใช้เปรียบเทียบ ดังนั้น เมื่อต้องการหาค่าศักย์ไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้าใด ๆ จะทำได้โดยนำขั้วไฟฟ้านั้นต่อกับขั้วไฟฟ้าไฮโดรเจนมาตรฐาน ค่าศักย์ไฟฟ้าที่วัดได้จะเป็นศักย์ไฟฟ้าของเซลล์นั้น ๆ ซึ่งเรียกว่า ศักย์ไฟฟ้ามาตรฐานของครึ่งเซลล์ กำหนดเป็นที่ยอมรับระดับสากลให้ใช้สัญลักษณ์ E^0_{cell} ซึ่งเป็นค่าศักย์ไฟฟ้าของครึ่งเซลล์ที่อยู่ในภาวะมาตรฐาน คือขั้วไฟฟ้าจุ่มอยู่ในสารละลายที่มีความเข้มข้นของไอออนเท่ากับ 1.0 mol/L ที่อุณหภูมิ 25°C ถ้าสารมีสถานะเป็นแก๊สกำหนดให้ความดันเท่ากับ 1 atm

พิจารณาเซลล์กัลวานิกภาพที่ 5.2 แสดงเซลล์กัลวานิกของขั้วไฟฟ้า Zn และ Cu



ภาพที่ 5.2 เซลล์กัลวานิก (ก) ขั้วไฟฟ้า SHE ต่อกับขั้ว Zn/Zn^{2+} และ (ข) ขั้วไฟฟ้า SHE ต่อกับขั้ว Cu/Cu^{2+}

เซลล์กัลวานิกตามภาพที่ 5.2 เมื่อต่อขั้วไฟฟ้าของครึ่งเซลล์ที่ต้องการหาค่าศักย์ไฟฟ้ามาตรฐานกับขั้วขั้วไฟฟ้า SHE คำนวณหาศักย์ไฟฟ้ามาตรฐานของครึ่งเซลล์ ได้ดังนี้

$$E^0_{\text{cell}} = E^0_{\text{cathode}} - E^0_{\text{anode}} \quad \dots(5.1)$$

พิจารณาภาพที่ 5.2(ก) เมื่อต่อครึ่งเซลล์ Zn/Zn^{2+} กับขั้วไฟฟ้า SHE พบว่าความต่างศักย์ไฟฟ้าของเซลล์เท่ากับ 0.762 V แสดงว่าขั้ว Zn/Zn^{2+} เป็นขั้วแอโนด (เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน) และขั้วไฟฟ้า SHE เป็นขั้วแคโทด (เกิดปฏิกิริยารีดักชัน) คำนวณ E^0_{cell} จากสมการ (5.1)

$$0.762 = 0.00 - E^0_{\text{Zn}/\text{Zn}^{2+}}$$

$$E^0_{\text{Zn}/\text{Zn}^{2+}} = -0.762 \text{ V}$$

ดังนั้น ครึ่งปฏิกิริยารีดักชันของ $Zn|Zn^{2+}$ มีค่าศักย์ไฟฟ้าเท่ากับ -0.762 V แต่โดยทั่วไป การเขียนปฏิกิริยาจะเขียนในรูปรีดักชัน ถึงแม้ว่าปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจริงจะเกิดตรงกันข้ามก็ตาม เนื่องจากการระบุศักย์ไฟฟ้าของครึ่งเซลล์ใด ๆ จะเป็นปฏิกิริยารีดักชันเสมอ



จากค่า E^0 แสดงว่า Zn^{2+} เป็นตัวออกซิไดส์ที่อ่อนกว่า H^+ (เนื่องจากมีค่า E^0 น้อยกว่า 0) แต่ถ้าเปลี่ยนขั้วไฟฟ้าเป็นขั้ว $Cu|Cu^{2+}$ ดังภาพที่ 5.2(ข) พบว่าวัดศักย์ไฟฟ้าของเซลล์ได้เท่ากับ 0.339 V แต่ทิศทางการไหลของอิเล็กตรอนจะตรงกันข้ามกับขั้ว $Zn|Zn^{2+}$ โดยที่ขั้ว $Cu|Cu^{2+}$ ทำหน้าที่เป็นขั้วแคโทด การคำนวณศักย์ไฟฟ้าของเซลล์ จากสมการ (5.1)

$$E^0_{\text{cell}} = E^0_{\text{Cu/Cu}^{2+}} - E_{\text{SHE}}$$

$$0.339\text{ V} = E^0_{\text{Cu/Cu}^{2+}} - 0$$

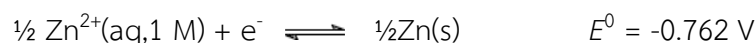
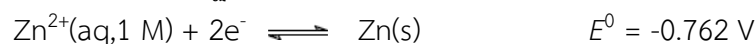
$$E^0_{\text{Cu/Cu}^{2+}} = 0.339\text{ V}$$

ดังนั้น สมการแสดงค่าศักย์ไฟฟ้ามาตรฐานของครึ่งเซลล์ $Cu|Cu^{2+}$ เขียนได้ดังนี้



ในกรณีภาพที่ 5.2(ก) ถ้ากลับขั้วโดยให้ $Zn|Zn^{2+}$ เป็นขั้วแคโทด และขั้วไฟฟ้าไฮโดรเจนมาตรฐานเป็นขั้วแอโนด ศักย์ไฟฟ้าของครึ่งเซลล์ที่วัดได้จะเป็น 0.762 V ซึ่งคือ ศักย์ไฟฟ้าของขั้ว $Zn|Zn^{2+}$ นั่นเอง แต่เป็นการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยปกติจะพยายามต่อเซลล์ไฟฟ้าให้วัดค่าศักย์ไฟฟ้าของเซลล์ไฟฟ้าได้เป็นบวก

เนื่องจากศักย์ไฟฟ้าเป็นการวัดพลังงานศักย์ต่อประจุไฟฟ้า ศักย์ไฟฟารีดักชันมาตรฐานจึงเป็นสมบัติที่ไม่ขึ้นกับปริมาณ (intensive property) ดังนั้น การเปลี่ยนสัมประสิทธิ์ปริมาณสัมพันธ์จึงไม่มีผลต่อค่าศักย์ไฟฟารีดักชันมาตรฐาน เช่น



ตัวอย่าง 5.1 จงหา E^0 ของครึ่งเซลล์ $Cu(s)|Cu^{2+}(\text{aq}, 1\text{ M})$ เทียบกับ SHE เมื่อต่อขั้ว Cu เป็นขั้วแคโทด กับ SHE เป็นขั้วแอโนด และอ่านค่าศักย์ไฟฟ้าของเซลล์มาตรฐานได้เท่ากับ 0.339 V

วิธีคิด เขียนแผนภาพเซลล์ $Pt(s) | H_2(g, 1\text{ atm}) | H^+(\text{aq}, 1\text{ M}) || Cu^{2+}(\text{aq}, 1.0\text{ M}) | Cu(s)$

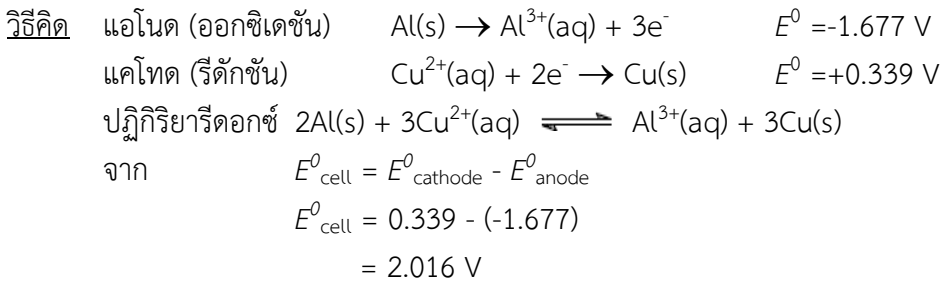
จาก $E^0_{\text{cell}} = E^0_{\text{cathode}} - E^0_{\text{anode}}$

$$E^0_{\text{cell}} = E^0_{\text{Cu/Cu}^{2+}} - E^0_{\text{H}^+/\text{H}_2}$$

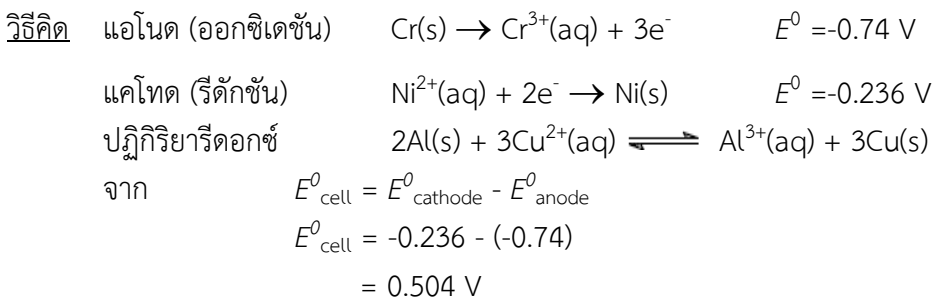
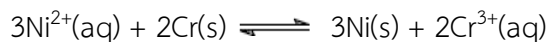
$$0.339 = E^0_{\text{Cu/Cu}^{2+}} - 0$$

$$E^0_{\text{Cu/Cu}^{2+}} = 0.339\text{ V}$$

ตัวอย่าง 5.1 จงคำนวณค่า E^0_{cell} จากแผนภาพของเซลล์ $\text{Al(s)} | \text{Al}^{3+}(\text{aq}) || \text{Cu}^{2+}(\text{aq}) | \text{Cu(s)}$

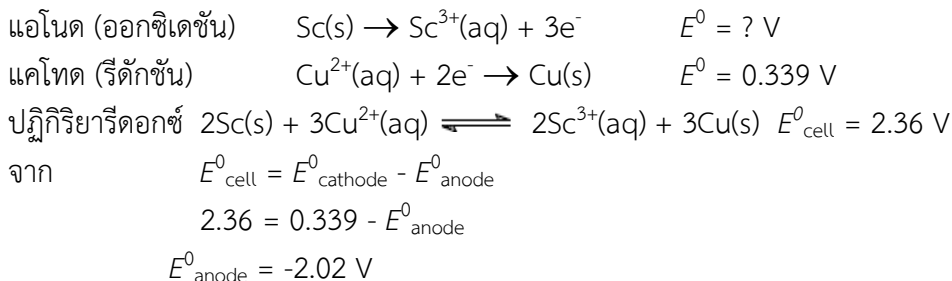


ตัวอย่าง 5.3 จงคำนวณค่า E^0_{cell} จากปฏิกิริยารีดอกซ์

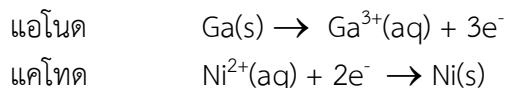


ตัวอย่าง 5.4 เมื่อต่อครึ่งเซลล์ $\text{Sc(s)}|\text{Sc}^{3+}(\text{aq}, 1 \text{ M})$ กับครึ่งเซลล์ $\text{Cu(s)}|\text{Cu}^{2+}(\text{aq}, 1 \text{ M})$ ซึ่งและอ่านค่าศักย์ไฟฟ้าของเซลล์จากโวลต์มิเตอร์ได้เท่ากับ 2.36 V จงคำนวณศักย์ไฟฟ้าของครึ่งเซลล์ $\text{Sc(s)}|\text{Sc}^{3+}$

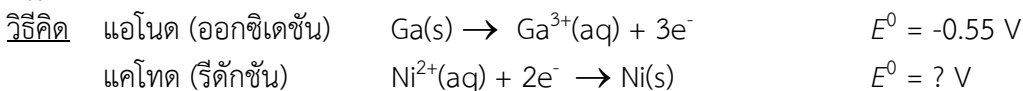
วิธีคิด



ตัวอย่าง 5.5 เซลล์กัลวานิกประกอบด้วยสองปีกเกอร์เชื่อมด้วยสะพานเกลือ โดยปีกเกอร์หนึ่งมีขั้ว Ga จุ่มในสารละลาย GaCl_3 1.00 mol/L และอีกปีกเกอร์หนึ่งมีขั้ว Ni จุ่มในสารละลาย NiCl_2 1.00 mol/L เมื่อวัดศักย์ไฟฟ้าได้เท่ากับ 0.27 V ภายใต้สภาวะมาตรฐาน เมื่อจัดขั้วไฟฟ้าดังนี้



ถ้าศักย์ไฟฟ้าของปฏิกิริยาออกซิเดชัน Ga เป็น Ga^{3+} เท่ากับ 0.55 V จงคำนวณศักย์ไฟฟ้าของปฏิกิริยาออกซิเดชัน Ni





จาก $E^0_{\text{cell}} = E^0_{\text{cathode}} - E^0_{\text{anode}}$

$$0.27 = E^0_{\text{cathode}} - (-0.55)$$

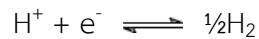
$$E^0_{\text{cathode}} = 0.27 - 0.55 = -0.28 \text{ V}$$

ศักย์ไฟฟ้าที่คำนวณได้เป็นศักย์ไฟฟ้ารีดักชัน แต่โจทย์ถามศักย์ไฟฟ้าของปฏิกิริยาออกซิเดชัน Ni เป็น Ni^{2+} ดังนั้นเครื่องหมายจึงเป็นตรงกันข้ามได้เท่ากับ 0.28 V

2) ศักย์ไฟฟ้ารีดักชันมาตรฐาน

ค่าศักย์ไฟฟ้ารีดักชันมาตรฐาน (standard reduction potential) เขียนแทนด้วย E^0_{red} หรือ E^0 เป็นค่าที่แสดงความสามารถในการรับอิเล็กตรอนของครึ่งเซลล์ โดยเทียบกับขั้วไฟฟ้า SHE การเขียนทิศทางของปฏิกิริยาครึ่งไฟฟ้าและเครื่องหมายของศักย์ไฟฟ้าอาศัยหลักตามข้อเสนอแนะโดยสหพันธ์เคมีบริสุทธิ์และเคมีประยุกต์นานาชาติ (IUPAC) ดังนี้

1) เขียนครึ่งปฏิกิริยาให้อยู่ในรูปของรีดักชัน เช่น



2) เขียนเครื่องหมายของศักย์ไฟฟ้าเป็นบวก (+) เมื่อสารเป็นตัวออกซิไดส์ที่ต่ำกว่า H^+ แต่ถ้า H^+ เป็นตัวออกซิไดส์ที่ต่ำกว่าต้องเขียนเครื่องหมายของศักย์ไฟฟ้าเป็นลบ (-)

3) ศักย์ไฟฟ้ามาตรฐาน (E^0) เป็นศักย์ไฟฟ้าที่วัดได้เมื่อสารแต่ละชนิดที่เกี่ยวข้องในปฏิกิริยามีค่าความว่องไวเป็น 1 ถ้าสารที่เข้าทำปฏิกิริยาละลายอยู่ในตัวทำละลายถือว่าความว่องไวของแต่ละไอออนมีค่าเท่ากับความเข้มข้นของสารนั้นเป็น mol/L ถ้าสารตั้งต้นอยู่ในรูปของของแข็ง หรือของเหลวบริสุทธิ์ ถือได้ว่าค่าความว่องไวของแต่ละไอออนเป็น 1 เพราะความเข้มข้นของสารบริสุทธิ์นั้นคงที่และไม่ขึ้นกับปริมาณ

ค่า E^0 ในตารางที่ 5.1 เป็นค่าที่ได้จากปฏิกิริยาครึ่งเซลล์ ดังนั้น จึงอาจเรียกว่าศักย์ไฟฟ้าครึ่งเซลล์มาตรฐาน (standard half cell potential) ใช้สัญลักษณ์ E^0 เช่นเดียวกัน ค่า E^0

จากตารางที่ 5.1 ยิ่ง E^0 มีค่าสูงขึ้น ความสามารถในการออกซิไดส์ (หมายถึงครึ่งปฏิกิริยารีดักชัน) มีมากขึ้น ดังนั้น ตัวออกซิไดส์ที่แรงที่สุดคือ สารในรูปออกซิไดส์ (oxidizing form) ที่อยู่ส่วนบนสุดของตาราง (มีค่า E^0 สูงสุด) ในขณะที่ตัวรีดิวซ์ที่แรงที่สุด คือ สารในรูปของตัวรีดิวซ์ (reducing form) ที่อยู่ส่วนล่างสุดของตาราง (มีค่า E^0 ต่ำสุด)

- ถ้ากลับสมการ ค่า E^0 จะเท่าเดิม แต่เครื่องหมายตรงกันข้าม
- ถ้าคูณสมการด้วยตัวเลขใด ๆ ค่า E^0 จะเท่าเดิม ไม่เปลี่ยนแปลง
- ค่า E^0 ยิ่งมาก แสดงว่าสารนั้นยังรับอิเล็กตรอนได้ดีกว่า H^+ หรือความสามารถในการเป็นตัวออกซิไดส์ (แนวโน้มความเป็นตัวออกซิไดส์มากขึ้น) ยิ่งดีขึ้น
- ค่า E^0 ยิ่งต่ำ แสดงว่าสารนั้นยังให้อิเล็กตรอนได้ดี หรือความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์ (แนวโน้มความเป็นตัวรีดิวซ์มากขึ้น)
- โดยทั่วไปเมื่อกล่าวถึง E^0 หากไม่ได้ระบุว่าเป็น E^0_{red} หรือ E^0_{ox} ให้ถือว่าเป็น E^0_{red}

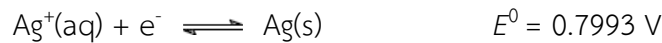
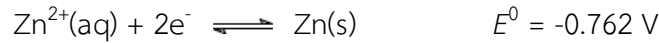
ตารางที่ 5.1 ค่าศักย์ไฟฟ้าครึ่งเซลล์มาตรฐานที่ 25°C ที่ความดัน 1 atm

	ปฏิกิริยาครึ่งเซลล์รีดักชัน	E^0 (V)	
ตัวออกซิไดส์ที่ แรง	$F_2(g) + 2e^- \rightleftharpoons 2F^-$	+2.890	ตัวรีดิวซ์ ที่อ่อน
	$Ag^+ + e^- \rightleftharpoons Ag(s)$	+1.989	
	$Co^{3+} + e^- \rightleftharpoons Co^{2+}$	+1.92	
	$H_2O_2(aq) + 2H^+ + 2e^- \rightleftharpoons 2H_2O$	+1.77	
	$Ce^{4+} + e^- \rightleftharpoons Ce^{3+}$	+1.72	
	$Au^+ + e^- \rightleftharpoons Au(s)$	+1.69	
	$MnO_4^- + 8H^+ + 5e^- \rightleftharpoons Mn^{2+} + 4H_2O$	+1.507	
	$Au^{3+} + 3e^- \rightleftharpoons Au(s)$	+1.50	
	$Cl_2(g) + 2e^- \rightleftharpoons 2Cl^-$	+1.360	
	$Cr_2O_7^{2-} + 14H^+ + 6e^- \rightleftharpoons 2Cr^{3+} + 7H_2O$	+1.36	
	$O_2(g) + 4H^+ + 4e^- \rightleftharpoons 2H_2O$	+1.229	
	$Pt^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons Pt(s)$	+1.18	
	$Br_2(l) + 2e^- \rightleftharpoons 2Br^-$	+1.078	
	$2Hg^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons Hg_2^{2+}$	+0.908	
	$Hg_2^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons Hg(l)$	+0.852	
	$Ag^+ + e^- \rightleftharpoons Ag(s)$	+0.7993	
	$Fe^{3+} + e^- \rightleftharpoons Fe^{2+}$	+0.771	
	$O_2(g) + 2H^+ + 2e^- \rightleftharpoons H_2O_2$	+0.695	
	$I_2(s) + 2e^- \rightleftharpoons 2I^-$	+0.535	
	$Cu^+ + e^- \rightleftharpoons Cu(s)$	+0.518	
	$Cu^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons Cu(s)$	+0.339	
	$HgCl_2(s) + 2e^- \rightleftharpoons 2Hg(l) + 2Cl^-$	+0.268	
	$AgCl(s) + e^- \rightleftharpoons Ag(s) + Cl^-$	+0.222	
	$Cu^{2+} + e^- \rightleftharpoons Cu^+$	+0.153	
	$Sn^{4+} + 2e^- \rightleftharpoons Sn^{2+}$	+0.15	
	$2H^+ + 2e^- \rightleftharpoons H_2(g)$	0.000	
	$Pb^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons Pb(s)$	-0.126	
	$Sn^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons Sn(s)$	-0.141	
	$Ni^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons Ni(s)$	-0.236	
	$Co^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons Co(s)$	-0.282	
	$Cd^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons Cd(s)$	-0.402	
	$Fe^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons Fe(s)$	-0.44	
	$Cr^{3+} + 3e^- \rightleftharpoons Cr(s)$	-0.74	
	$Zn^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons Zn(s)$	-0.762	
	$Mn^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons Mn(s)$	-1.182	
	$Al^{3+} + 3e^- \rightleftharpoons Al(s)$	-1.677	
	$Mg^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons Mg(s)$	-2.360	
	$Na^+(aq) + e^- \rightleftharpoons Na(s)$	-2.714	
ตัวออกซิไดส์ที่ อ่อน	$Ca^{2+} + 2e^- \rightleftharpoons Ca(s)$	-2.868	ตัวรีดิวซ์ ที่แรง
	$K^+ + e^- \rightleftharpoons K(s)$	-2.936	
	$Li^+ + e^- \rightleftharpoons Li(s)$	-3.040	

หมายเหตุ. ค่าศักย์ไฟฟ้าครึ่งเซลล์มาตรฐานของสารชนิดเดียวในสารละลายกรดต่างชนิดกัน จะแตกต่างกัน (ดูในภาคผนวก)

ประโยชน์ของค่า E^0

1) ใช้เปรียบเทียบความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์ (ทำหน้าที่ให้อิเล็กตรอน) และตัวออกซิไดส์ (ทำหน้าที่รับอิเล็กตรอน) กล่าวคือ สารที่มี E^0 ต่ำกว่า ทำหน้าที่ให้อิเล็กตรอน (เป็นตัวรีดิวซ์) ได้ดีกว่าสารที่มี E^0 สูงกว่า หรือ สารที่มี E^0 สูงกว่า ทำหน้าที่รับอิเล็กตรอน (เป็นตัวออกซิไดส์) ได้ดีกว่าสารที่มี E^0 ต่ำกว่า เช่น



พิจารณา $E^0 \text{Zn}^{2+} < E^0 \text{Ag}^+$

ดังนั้น Zn เป็นตัวรีดิวซ์ที่ดีกว่า Ag

Ag เป็นตัวออกซิไดส์ที่ดีกว่า Zn

2) ใช้คำนวณค่าศักย์ไฟฟ้าของเซลล์และครึ่งเซลล์

$$E^0_{\text{cell}} = E^0_{\text{cathode}} - E^0_{\text{anode}}$$

$$= E^0_{\text{ขั้วบวก}} - E^0_{\text{ขั้วลบ}}$$

$$= E^0_{\text{สูง}} - E^0_{\text{ต่ำ}}$$

3) ค่า E^0_{cell} ใช้ทำนายการเกิดได้เองของปฏิกิริยา ดังนี้

$$E^0_{\text{cell}} > 0 \text{ ปฏิกิริยาเกิดได้เอง}$$

$$E^0_{\text{cell}} < 0 \text{ ปฏิกิริยาเกิดเองไม่ได้ (เกิดได้เองในทิศทางตรงข้าม)}$$

$$E^0_{\text{cell}} = 0 \text{ ไม่เกิดปฏิกิริยาสุทธิ ระบบอยู่ในสภาวะสมดุล}$$

ตัวอย่าง 5.6 เมื่อนำครึ่งเซลล์ $\text{Ag}|\text{Ag}^+$ ต่อกับครึ่งเซลล์ของ $\text{Pt}|\text{H}_2|\text{H}^+$ พบว่าเข็มโวลต์มิเตอร์เบนเข้าหาขั้ว Ag และวัดค่าศักย์ไฟฟ้าเท่ากับ 0.7993 V จงคำนวณค่าศักย์ไฟฟ้ามาตรฐานของครึ่งเซลล์ Ag

วิธีคิด เมื่อเข็มโวลต์มิเตอร์เบนเข้าหาขั้ว Ag แสดงว่าครึ่งเซลล์ของ $\text{Ag}|\text{Ag}^+$ ทำหน้าที่รับอิเล็กตรอน (เกิดรีดักชัน) จึงเป็น E^0_{cathode} ส่วนครึ่งเซลล์ของ $\text{Pt}|\text{H}_2|\text{H}^+$ ทำหน้าที่ให้อิเล็กตรอน (เกิดออกซิเดชัน) จึงเป็น E^0_{anode}

$$E^0_{\text{cell}} = E^0_{\text{cathode}} - E^0_{\text{anode}}$$

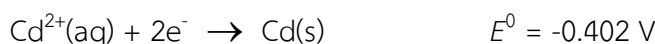
$$0.7993 = E^0_{\text{cathode}} - 0$$

$$\text{ดังนั้น } E^0_{\text{cathode}} = E^0_{\text{Ag}} = 0.7993$$

$$\text{ศักย์ไฟฟ้ามาตรฐานของปฏิกิริยารีดักชัน } \text{Ag}^+ + \text{e}^- \rightarrow \text{Ag} \quad E^0 = 0.7993 \text{ V}$$

ตัวอย่าง 5.7 เซลล์เคมีไฟฟ้าที่ประกอบด้วยขั้ว Cd ในสารละลาย $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ 1.0 mol/L และขั้ว Cr ในสารละลาย $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3$ 1.0 mol/L จงคำนวณค่าศักย์ไฟฟ้ามาตรฐานของเซลล์

วิธีคิด พิจารณา E^0 จากตาราง



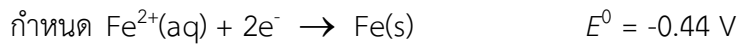
$$\text{จากสมการ } E^0_{\text{cell}} = E^0_{\text{cathode}} - E^0_{\text{anode}}$$

$$E^0_{\text{cell}} = -0.402 - (-0.74)$$

ดังนั้น $E^0_{\text{cell}} = -0.402 + 0.74$

$$= 0.34 \text{ V}$$

ตัวอย่าง 5.8 เมื่อนำครึ่งเซลล์ของ Fe | Fe²⁺ ต่อเข้ากับ Ni | Ni²⁺ ให้หาค่า E⁰_{cell}



วิธีคิด ครึ่งเซลล์ของ Fe | Fe²⁺ มี E⁰ ต่ำกว่า ทำหน้าที่ให้อิเล็กตรอน (ตัวรีดิวซ์) ได้ดีกว่า แสดงว่าเกิดออกซิเดชัน จึงเป็นขั้วแอโนด ส่วนครึ่งเซลล์ของ Ni | Ni²⁺ เกิดรีดักชัน จึงเป็นขั้วแคโทด

$$E^0_{\text{cell}} = E^0_{\text{cathode}} - E^0_{\text{anode}}$$

$$E^0_{\text{cell}} = -0.236 - (-0.44)$$

$$E^0_{\text{cell}} = -0.236 + 0.44$$

$$= 0.20 \text{ V}$$

ดังนั้นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นได้เอง คือ Fe(s) + Ni²⁺(aq) ⇌ Fe²⁺(aq) + Ni(s)

3) สมการเนินสต์

ศักย์ไฟฟ้ามาตรฐานของขั้วไฟฟ้าใด ๆ เป็นความต่างศักย์ระหว่างขั้วไฟฟ้านั้น ๆ กับขั้วไฟฟ้า SHE ที่เป็นขั้วอ้างอิง เมื่อทั้งตัวออกซิไดส์และตัวรีดิวซ์มีความว่องไว (activity) เท่ากับ 1 ภายใต้สภาวะมาตรฐาน (standard condition) แต่เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารตั้งต้น อุณหภูมิ หรือความดันในปฏิกิริยา สภาวะดังกล่าวนี้ไม่เป็นสภาวะมาตรฐาน (nonstandard condition) ศักย์ไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้าใด ๆ สามารถหาได้โดยการทดลองโดยการวัดค่าความต่างศักย์ระหว่างขั้วไฟฟ้านั้นกับขั้วไฟฟ้ามาตรฐานที่ทราบศักย์ไฟฟ้าที่แน่นอน

ในปี ค.ศ.1889 เนินสต์ (Walther Hermann Nernst, ค.ศ. 1864-1941) นักฟิสิกส์และเคมีชาวเยอรมันศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างศักย์ไฟฟ้ากับความว่องไวของแต่ละไอออนในภาวะสมดุลกับขั้วไฟฟ้า



$$E = E^0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[A_{\text{ox}}]^a}{[A_{\text{red}}]^b} \quad \dots(5.3)$$

เมื่อ E = ศักย์ขั้วไฟฟ้า (V)

E⁰ = ศักย์ไฟฟ้ารีดักมาตรฐาน (V)

R = ค่าคงที่ของแก๊ส (8.314 J·K⁻¹·mol⁻¹)

T = อุณหภูมิสัมบูรณ์ (K)

n = จำนวนอิเล็กตรอนที่เกี่ยวข้องในปฏิกิริยา

F = ค่าคงที่ของฟาราเดย์ (96,485 คูลอมบ์ต่อโมลของอิเล็กตรอน)

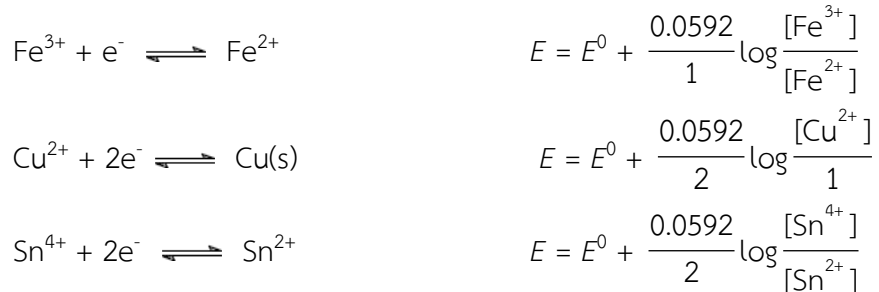
[A_{ox}]^a = ความเข้มข้นสารที่อยู่ในรูปออกซิไดส์ที่ยกกำลังด้วยตัวเลขสัมประสิทธิ์

[A_{red}]^b = ความเข้มข้นสารที่อยู่ในรูปรีดิวซ์ที่ยกกำลังด้วยตัวเลขสัมประสิทธิ์

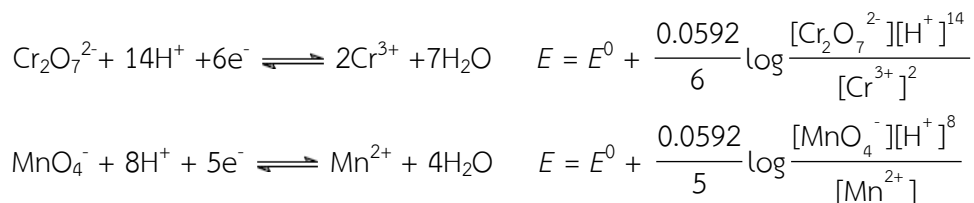
ที่อุณหภูมิ 25°C (298 K) สมการ (5.3) เขียนได้ดังนี้

$$E = E^0 + \frac{0.0592}{n} \log \frac{[A_{ox}]^a}{[A_{red}]^b} \quad \dots(5.4)$$

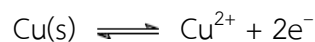
จากสมการ (5.4) เราสามารถคำนวณหาค่าศักย์ไฟฟ้าในสารละลายที่มีความเข้มข้นต่างกันได้ เช่น



จากตัวอย่างปฏิกิริยาข้างต้น จะเห็นว่าศักย์ไฟฟ้าจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารละลายในปฏิกิริยา นอกจากนี้ในสภาพสารละลายที่เป็นกรดหรือเบส ศักย์ไฟฟ้าจะไม่ได้ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของตัวออกซิไดส์ ตัวรีดิวซ์และผลิตภัณฑ์เท่านั้น แต่ยังขึ้นกับค่า pH ของสารละลายด้วย เช่น ปฏิกิริยา



เมื่อพิจารณาจากสมการของเนินสต์ (สมการ 5.4) สามารถบอกได้ว่าศักย์ไฟฟ้าครึ่งเซลล์จะเปลี่ยนไป 59.2 mV เมื่อความเข้มข้นของสารที่เกี่ยวข้องในการเกิดออกซิเดชันหรือรีดักชันที่มีการเปลี่ยนแปลงอิเล็กตรอน 1 ตัว เปลี่ยนแปลงความเข้มข้นไป 10 เท่า แต่ถ้าสารนั้นมีการเปลี่ยนแปลงอิเล็กตรอน 2 ตัว ค่าศักย์ไฟฟ้าจะเปลี่ยนไป 29.6 mV ตัวอย่างการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของขั้วไฟฟ้า Cu ดังสมการ



ค่าศักย์ไฟฟ้า คำนวณได้ดังนี้

$$E = -0.339 + \frac{0.0592}{2} \log \frac{[\text{Cu}^{2+}]}{[\text{Cu}(s)]}$$

$$E = -0.339 + 0.0296 \log[\text{Cu}^{2+}]$$

3.1) การคำนวณศักย์ขั้วไฟฟ้า

การคำนวณหาค่าศักย์ไฟฟ้าที่จุ่มในสารละลายที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันทำได้ โดยอาศัยสมการเนินสต์ ดังตัวอย่างต่อไปนี้

ตัวอย่าง 5.9 จงคำนวณหาศักย์ไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้า Pt ซึ่งจุ่มอยู่ในสารละลายของ Fe^{3+} และ Fe^{2+} ที่มีความเข้มข้น 0.0100 และ 0.100 mol/L ตามลำดับ (ใน 1.0 mol/L H_2SO_4)

วิธีคิด ครึ่งปฏิกิริยาคือ $\text{Fe}^{3+} + e^- \rightleftharpoons \text{Fe}^{2+} \quad E^0 = 0.68 \text{ V (1.0 M H}_2\text{SO}_4)$

จากสมการเนินสต์

$$E = E^0 + \frac{0.0592}{1} \log \frac{[\text{Fe}^{3+}]}{[\text{Fe}^{2+}]}$$

$$E = 0.68 + \frac{0.0592}{1} \log \frac{(1.00 \times 10^{-2})}{(1.00 \times 10^{-1})}$$

$$E = 0.62 \text{ V}$$

ตัวอย่าง 5.10 จงคำนวณหาศักย์ไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้า Pt ซึ่งจุ่มอยู่ในสารละลาย Sn^{4+} 0.100 mol/L และ Sn^{2+} 0.0100 mol/L

วิธีคิด ครึ่งปฏิกิริยาคือ $\text{Sn}^{4+} + 2e^- \rightleftharpoons \text{Sn}^{2+} \quad E^0 = 0.141 \text{ V}$

จากสมการเนินสต์

$$E = E^0_{\text{cell}} + \frac{0.0592}{2} \log \frac{[\text{Sn}^{4+}]}{[\text{Sn}^{2+}]}$$

$$E = 0.141 + \frac{0.0592}{2} \log \frac{(1.00 \times 10^{-1})}{(1.00 \times 10^{-2})}$$

$$E = 0.171 \text{ V}$$

ตัวอย่าง 5.11 จงคำนวณหาศักย์ไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้า Pt ซึ่งจุ่มอยู่ในสารละลายที่มี $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ 0.100 mol/L Cr^{3+} 0.100 mol/L และ H^+ เท่ากับ (ก) 1.00 mol/L และ (ข) 0.00100 mol/L

วิธีคิด ครึ่งปฏิกิริยาคือ $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-} + 14\text{H}^+(\text{aq}) + 6e^- \rightleftharpoons 2\text{Cr}^{3+}(\text{aq}) + 7\text{H}_2\text{O} \quad E^0 = 1.36 \text{ V}$

(ก)

$$E = E^0 + \frac{0.0592}{6} \log \frac{[\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}][\text{H}^+]^{14}}{[\text{Cr}^{3+}]^2}$$

$$= 1.36 + \frac{0.0592}{6} \log \frac{(0.100)(1.00)^{14}}{(0.100)^2} = 1.51 \text{ V}$$

(ข)

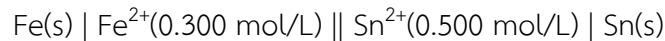
$$E = E^0 + \frac{0.0592}{6} \log \frac{[\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}][\text{H}^+]^{14}}{[\text{Cr}^{3+}]^2}$$

$$= 1.36 + \frac{0.0592}{6} \log \frac{(0.100)(1.00 \times 10^{-3})^{14}}{(0.100)^2} = 0.95 \text{ V}$$

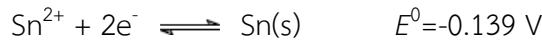
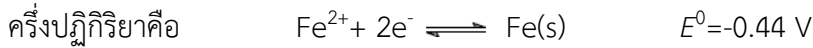
3.2) จำนวนศักย์ไฟฟ้าของเซลล์เคมีไฟฟ้า

การคำนวณหาศักย์ไฟฟ้าของเซลล์ไฟฟ้าที่มีสารละลายความเข้มข้นแตกต่างกันทำได้โดยอาศัยสมการเนินสต์ ดังตัวอย่างต่อไปนี้

ตัวอย่าง 5.12 จงคำนวณหาศักย์ไฟฟ้าของเซลล์ ที่ 25°C



วิธีคิด จากแผนภาพเซลล์ไฟฟ้า เขียนปฏิกิริยารีดอกซ์ได้ดังนี้



เนื่องจากความเข้มข้นของสารละลายไม่เป็น 1.0 mol/L

วิธีที่ 1 หาศักย์ไฟฟ้าแยกแต่ละครึ่งปฏิกิริยา ได้ดังนี้

ศักย์ไฟฟ้าที่ขั้วแอโนด

$$E_{\text{Fe}} = E^0 + \frac{0.0592}{2} \log \frac{[\text{Fe}^{2+}]}{[\text{Fe(s)}]} \rightarrow 1$$

$$= -0.44 + \frac{0.0592}{2} \log 0.300$$

$$= -0.46 \text{ V}$$

ศักย์ไฟฟ้าที่ขั้วแคโทด

$$E_{\text{Sn}} = E^0 + \frac{0.0592}{2} \log \frac{[\text{Sn}^{2+}]}{[\text{Sn(s)}]} \rightarrow 1$$

$$= -0.139 + \frac{0.0592}{2} \log 0.500$$

$$= -0.148 \text{ V}$$

ความต่างศักย์ไฟฟ้าของเซลล์ไฟฟ้านี้

$$E_{\text{cell}} = E^0_{\text{cathode}} - E^0_{\text{anode}}$$

$$= -0.148 - (-0.46)$$

$$= 0.31 \text{ V}$$

วิธีที่ 2 หาค่าศักย์ไฟฟ้าจากสมการรวม ได้ดังนี้



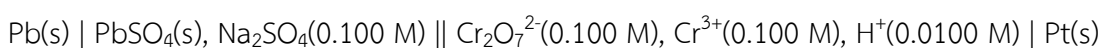
$$E_{\text{cell}} = E^0_{\text{cell}} + \frac{0.0592}{2} \log \frac{[\text{Sn}^{2+}]}{[\text{Fe}^{2+}]}$$

$$= (E^0_{\text{cathode}} - E^0_{\text{anode}}) + \frac{0.0592}{2} \log \frac{[\text{Sn}^{2+}]}{[\text{Fe}^{2+}]}$$

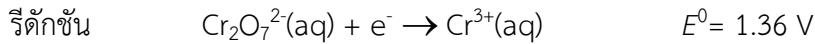
$$= (-0.139 - (-0.44)) + \frac{0.0592}{2} \log \frac{(0.500)}{(0.300)}$$

$$= 0.31 \text{ V}$$

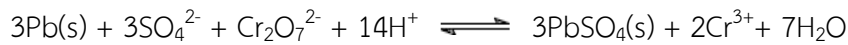
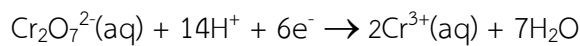
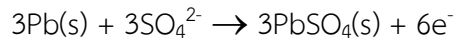
ตัวอย่าง 5.13 จงคำนวณหาศักย์ไฟฟ้าของเซลล์ ที่ 25°C



วิธีคิด จากแผนภาพเซลล์ไฟฟ้า เขียนครึ่งปฏิกิริยาได้ดังนี้



ดุลสมการรีด็อกซ์



คำนวณศักย์ไฟฟ้าจากสมการรวมโดยใช้สมการเนินสต์

$$\begin{aligned} E_{\text{cell}} &= E^0_{\text{cell}} + \frac{0.0592}{6} \log \frac{[\text{SO}_4^{2-}]^3 [\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}] [\text{H}^+]^{14}}{[\text{Cr}^{3+}]^2} \\ &= (E^0_{\text{cathode}} - E^0_{\text{anode}}) + \frac{0.0592}{6} \log \frac{[\text{SO}_4^{2-}]^3 [\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}] [\text{H}^+]^{14}}{[\text{Cr}^{3+}]^2} \\ &= (1.36 - (-0.355)) + \frac{0.0592}{6} \log \frac{(0.100)^3 (0.100) (0.0100)^{14}}{(0.100)^2} \\ &= 1.44 \text{ V} \end{aligned}$$

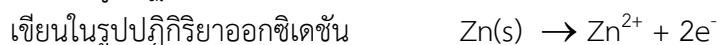
5.1.2 ขั้วไฟฟ้า

1) ขั้วไฟฟ้า

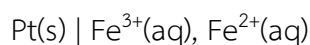
ขั้วไฟฟ้า หรืออิเล็กโทรด (electrodes) เป็นขั้วไฟฟ้าที่จุ่มในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ซึ่งจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือรีดักชันในเซลล์เคมีไฟฟ้า ขั้วไฟฟ้าที่ใช้ในเซลล์กัลวานิกแบ่งออกเป็น 2 ประเภทตามความว่องไวต่อปฏิกิริยา ดังนี้

1.1) ขั้วที่ว่องไวต่อปฏิกิริยา (active electrode) คือ ขั้วไฟฟ้ามีส่วนในการเกิดปฏิกิริยาซึ่งอาจเป็นปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือรีดักชัน เช่น ครึ่งเซลล์ $\text{Zn}|\text{Zn}^{2+}$ ถ้าโลหะ Zn เป็นฝ่ายที่ให้อิเล็กตรอน (เกิดออกซิเดชัน) โลหะ Zn จะค่อย ๆ กร่อน แต่ถ้า Zn^{2+} เป็นฝ่ายรับอิเล็กตรอน (เกิดรีดักชัน) โลหะ Zn จะเกาะที่ขั้ว โดยขั้วไฟฟ้าประเภทนี้เป็นขั้วโลหะทั่ว ๆ ไป

เช่น ขั้วโลหะ Zn จุ่มในสารละลายที่ประกอบด้วยเกลือของสังกะสีที่ละลายได้ $\text{Zn(s)}|\text{Zn}^{2+}$ ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นที่ขั้ว



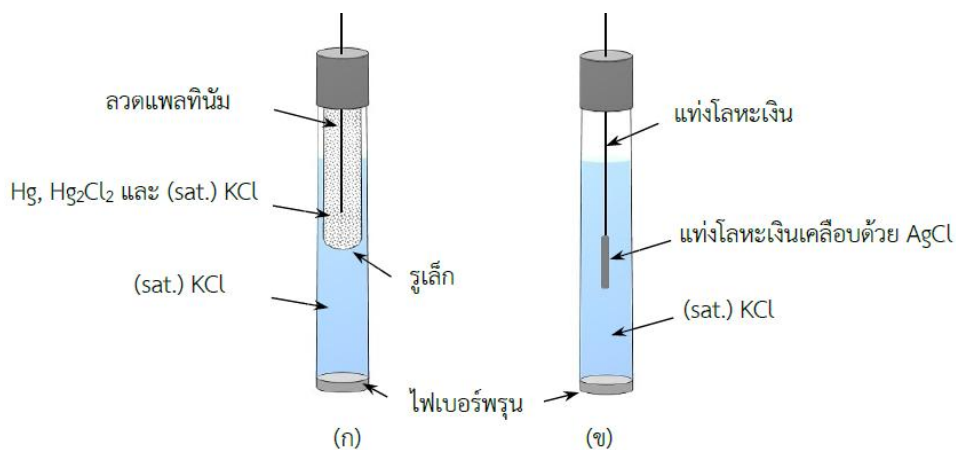
1.2) ขั้วที่ไม่ว่องไวต่อปฏิกิริยา (inert electrode) คือ ขั้วไฟฟ้าที่ทำหน้าที่เพียงให้อิเล็กตรอนไหลผ่านเท่านั้น โดยไม่มีส่วนร่วมใด ๆ ในการเกิดปฏิกิริยาเคมีกับไอออนในสารละลาย เช่น ขั้วแพลทินัม (Pt) หรือขั้วแกรไฟต์ (C) ตัวอย่างเช่น ขั้ว Pt จุ่มในสารละลายที่ประกอบด้วย Fe^{3+} และ Fe^{2+}



นอกจากจะแบ่งขั้วไฟฟ้าตั้งข้างต้นแล้ว เราอาจแบ่งประเภทขั้วไฟฟ้าตามหน้าที่การใช้งานในเซลล์เคมีไฟฟ้าได้เป็น 3 ชนิด ดังนี้

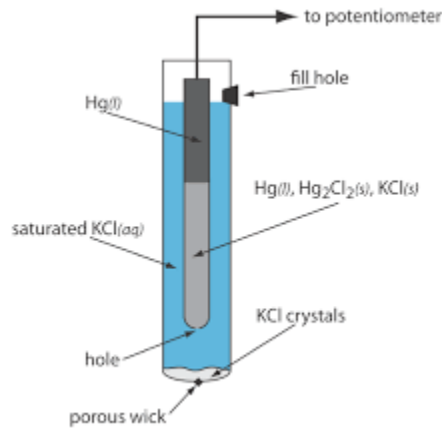
1) **ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง (reference electrode, RE)** เป็นขั้วไฟฟ้าที่ใช้เทียบศักย์ไฟฟ้าที่ต้องให้กับขั้วไฟฟ้าทำงาน ซึ่งขั้วไฟฟ้าอ้างอิงนี้จะต้องมีค่าศักย์ไฟฟ้าคงที่ ไม่แปรผันกับการเปลี่ยนแปลงของกระแสไฟฟ้าในวงจรและต้องไม่เกิดปฏิกิริยาตอบสนองกับสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่ใช้ โดยปกติค่าศักย์ไฟฟ้าของวงจรที่อ่านได้จากอุปกรณ์ตรวจวัดสัญญาณไฟฟ้านั้นเป็นค่าที่เกิดจากผลต่างของศักย์ไฟฟ้าจากขั้วไฟฟ้าทั้งสองวงจร ซึ่งค่าศักย์ไฟฟ้าของวงจรที่วัดได้นี้ เรียกว่า ศักย์ไฟฟ้าสัมพัทธ์ (relative potentials) ดังนั้นหากขั้วไฟฟ้าหนึ่งของวงจรเป็นขั้วไฟฟ้าอ้างอิงที่มีค่าศักย์ไฟฟ้าคงที่จะทำให้สามารถหาค่าศักย์ไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้าอีกขั้วหนึ่ง (ขั้วไฟฟ้าทำงาน) ที่ต่อในวงจรได้ ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงที่นิยมใช้ ได้แก่ ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์ (Ag/AgCl electrode) และขั้วไฟฟ้าอ้างอิงคาโลเมลล์อิมิตัว (SCE) เป็นต้น

1.1) ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงคาโลเมลล์อิมิตัว ประกอบด้วยหลอดแก้วสองชั้น ดังภาพที่ 5.3 (ก) หลอดแก้วด้านในบรรจุสารผสมของโลหะปรอทกับเกลือปรอทคลอไรด์ (Hg_2Cl_2) ที่กั้นหลอดแก้วมีรูเล็ก ๆ ในหลอดแก้วชั้นนอกบรรจุสารละลายอิมิตัวของ KCl ที่กั้นหลอดแก้วมีรูอุดด้วยไฟเบอร์พูน (porous fiber) ซึ่งทำหน้าที่เป็นสะพานเกลือ ส่วนขั้วไฟฟ้าซิลเวอร์-ซิลเวอร์คลอไรด์ เป็นขั้วไฟฟ้าที่มีแท่งโลหะเงินจุ่มในสารละลาย KCl ที่มี AgCl ละลายอยู่จนอิมิตัว



ภาพที่ 5.3 ส่วนประกอบขั้วไฟฟ้า (ก) ขั้วไฟฟ้าคาโลเมลล์อิมิตัว และ (ข) ขั้วไฟฟ้าซิลเวอร์-ซิลเวอร์คลอไรด์. ที่มาจาก เคมีวิเคราะห์: หลักการและเทคนิคการคำนวณเชิงปริมาณ (หน้า 220) โดย วรวิทย์ จันทร์สุวรรณ, 2563, สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

1.2) ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์ (Ag/AgCl electrode) ประกอบด้วยหลอดแก้วที่มีลวดโลหะเงิน เคลือบด้วยซิลเวอร์คลอไรด์จุ่มอยู่ในสารละลายอิมิตัวของโพแทสเซียมคลอไรด์และซิลเวอร์คลอไรด์ ส่วนปลายของหลอดแก้วเป็นแผ่นพูนกั้นส่วนของโพแทสเซียมคลอไรด์กับสารละลายตัวอย่างดังภาพที่ 5.4



ภาพที่ 5.4 ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์

1.3) ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงซิลเวอร์ไอออนแบบไม่ใช้น้ำ (non-aqueous Ag/Ag⁺ reference electrode) เป็นขั้วไฟฟ้าสำเร็จรูปชนิดหนึ่ง ซึ่งตัวของขั้วไฟฟ้าทำมาจากแก้ว ในขั้วไฟฟ้าแก้วจะมี porous vycor tip (ปลายของรูพรุนไวคอร์) ติดอยู่กับ heat shrink tubing (ท่อที่หดม้วนตัวเนื่องจากความร้อน) ในส่วนปลายเป็น Teflon ที่ปรับได้ซึ่งประกอบด้วยลวดเงินและแผ่นทองแดงขนาด 0 – 0.06 นิ้ว ซึ่งติดอยู่กับเข็มหมุดของหัวตะกั่ว นอกจากนี้ขั้วสำเร็จรูปอาจประกอบด้วย solid silver nitrate, heat shrink tubing ชนิดพิเศษ และ porous vycor tips ชนิดพิเศษ

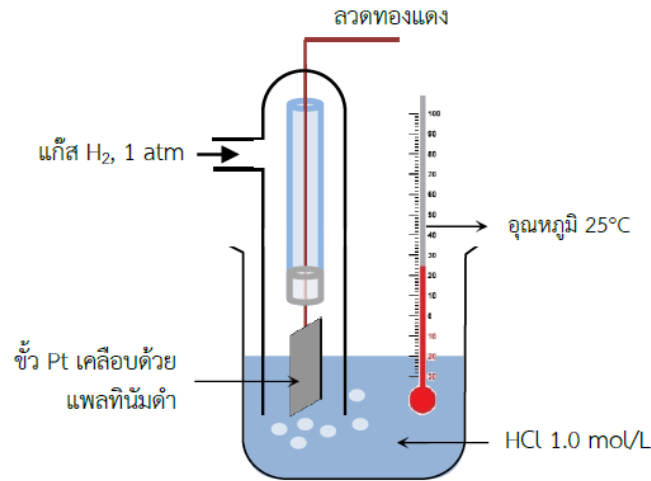
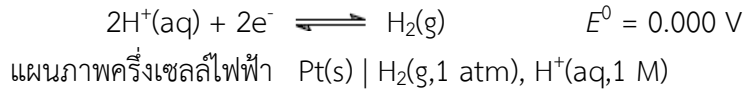
2) ขั้วไฟฟ้าช่วย (auxiliary electrode) เป็นขั้วไฟฟ้าที่มีคุณลักษณะเฉพาะ คือ ต้องเป็นตัวนำไฟฟ้าที่ดีและเป็นขั้วที่รับพลังงานไฟฟ้าจากขั้วไฟฟ้าอ้างอิงส่งต่อผ่านสารละลายไปยังขั้วไฟฟ้าทำงาน เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาเคมีกับสารตัวอย่าง โดยขั้วไฟฟ้าช่วยนี้ไม่มีส่วนเกี่ยวข้องหรือทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงใด ๆ เกิดขึ้น กล่าวคือไม่ส่งผลกระทบต่อค่าศักย์ไฟฟ้าที่วัดได้โดยทั่วไปวัสดุที่นิยมใช้เป็นขั้วไฟฟ้าช่วยได้แก่ ลวดแพลทินัมหรือแผ่นแพลทินัม กลาสซีคาร์บอน และแกรไฟต์ เป็นต้น

3) ขั้วไฟฟ้าใช้งาน (working electrode) ขั้วไฟฟ้าใช้งานเป็นขั้วไฟฟ้าที่สำคัญต่อการวิเคราะห์เพราะเป็นขั้วไฟฟ้าที่เกิดการถ่ายเทอิเล็กตรอนบนพื้นผิวหน้าของขั้วไฟฟ้าชนิดนี้ กล่าวคือมีการให้หรือรับอิเล็กตรอนบริเวณผิวหน้าของขั้วไฟฟ้าทำงานทำให้เกิดการไหลผ่านของกระแสไฟฟ้า ขั้วไฟฟ้าทำงานประกอบไปด้วยส่วนที่นำไฟฟ้าและส่วนที่เป็นฉนวน ส่วนใหญ่แล้วขั้วไฟฟ้าทำงานนิยมใช้เป็นโลหะเฉื่อย เช่น แพลทินัม แกรไฟต์ หรือผงคาร์บอน เป็นต้น

2) ขั้วไฟฟ้ามาตรฐาน

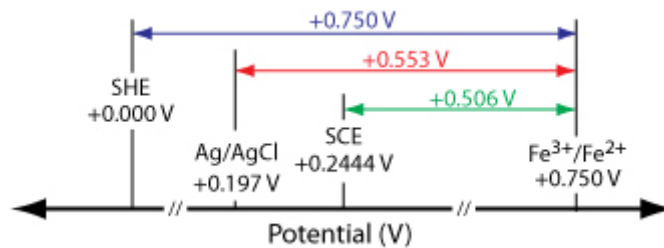
ขั้วไฟฟ้าไฮโดรเจนมาตรฐาน (standard hydrogen electrode; SHE) หรือขั้วไฟฟ้าไฮโดรเจนปกติ (normal hydrogen electrode; NHE) จัดเป็นขั้วไฟฟ้าแก๊ส โดยปฏิกิริยาของขั้วไฟฟ้าเกี่ยวข้องกับอนุโมลของแก๊ส H₂ ปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นที่ผิวของโลหะแพลทินัม (Pt) ซึ่งทำหน้าที่ให้อิเล็กตรอนไหลผ่านขั้วไฟฟ้าไฮโดรเจนมาตรฐานประกอบด้วยแผ่นโลหะแพลทินัมซึ่งอาจมีผงโลหะแพลทินัมดำ (platinum black) ที่ละเอียดมากเคลือบอยู่เป็นชั้นบาง ๆ โดยแพลทินัมดำทำหน้าที่เป็น

ตัวเร่งปฏิกิริยา ดังภาพที่ 5.5 โดยปฏิกิริยาของครึ่งเซลล์ไฮโดรเจนมาตรฐานที่ความดัน 1 atm ในขณะที่ขั้วไฟฟ้าจุ่มในสารละลาย H^+ ที่มีความว่องไว (activity) เท่ากับ 1 (เทียบได้เท่ากับความเข้มข้นประมาณ 1 mol/L) ศักย์ไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้าไฮโดรเจนมาตรฐานมีค่าเท่ากับ 0.000 V ปฏิกิริยาของครึ่งเซลล์ไฮโดรเจนมาตรฐานเป็นดังนี้



ภาพที่ 5.5 ขั้วไฟฟ้าไฮโดรเจนมาตรฐาน. ที่มาจาก เคมีวิเคราะห์: หลักการและเทคนิคการคำนวณเชิงปริมาณ (หน้า 219) โดย วรวิทย์ จันทรสุวรรณ, 2565, สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

การเตรียมขั้วไฟฟ้าไฮโดรเจนมาตรฐานในทางปฏิบัติมีความยุ่งยากมาก จึงไม่ค่อยมีการใช้ขั้วไฟฟ้าไฮโดรเจนมาตรฐานวัดศักย์ไฟฟ้าโดยตรง แต่นิยมใช้ขั้วไฟฟ้าคาลอเมล (calomel electrode) หรือขั้วไฟฟ้าคาลอเมลอิ่มตัว (saturated calomel electrode; SCE) ซึ่งเมื่อวัดเทียบกับขั้วไฟฟ้าไฮโดรเจนมาตรฐานที่ 25°C ขั้วไฟฟ้าคาลอเมลอิ่มตัวมีค่าศักย์ไฟฟ้าเท่ากับ 0.2444 V และ ขั้วไฟฟ้าซิลเวอร์-ซิลเวอร์คลอไรด์ (Ag/AgCl) ซึ่งมีค่าศักย์ไฟฟ้าเท่ากับ 0.197 V



ภาพที่ 5.6 เปรียบเทียบค่าศักย์ไฟฟ้าของขั้ว SHE, Ag/AgCl และ SCE

5.1.3 ปฏิบัติการเซลล์ไฟฟ้าเคมี

- 1) ปฏิบัติการเตรียมเซลล์ไฟฟ้าเคมี
- 2) ปฏิบัติการ
(คู่มือปฏิบัติการ)

สรุปท้ายบทเรียน

เครื่องศักย์ไฟฟ้าของเซลล์เป็นแรงเคลื่อนไฟฟ้าที่เกิดขึ้นในเซลล์กัลวานิกอันเนื่องมาจากการถ่ายโอนอิเล็กตรอนระหว่างครึ่งเซลล์ที่เกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ ศักย์ไฟฟ้าของเซลล์ที่วัดได้จะเป็นค่าความต่างศักย์ของขั้วไฟฟ้าทั้งสองเซลล์ โดยถ้าค่าแรงเคลื่อนไฟฟ้าที่เป็นบวกเป็นค่าที่บ่งบอกถึงขั้วไฟฟ้านั้นสามารถเกิดปฏิกิริยาเคมีแล้วอิเล็กตรอนเคลื่อนที่ไปยังวงจรภายนอก ปฏิกิริยาเคมีภายในเซลล์เกิดขึ้นได้เอง โดยอิเล็กตรอนเคลื่อนที่จากแอโนดไปยังแคโทด แต่ถ้าตรงกันข้าม ค่าแรงเคลื่อนไฟฟ้าที่เป็นลบ ปฏิกิริยาเคมีภายในเซลล์เกิดขึ้นได้เองไม่ได้ การวัดศักย์ไฟฟ้าของเซลล์ทำได้โดยเทียบศักย์ไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้ากับขั้วไฟฟ้าไฮโดรเจนมาตรฐาน เรียกว่า ศักย์ไฟฟ้ามาตรฐานของครึ่งเซลล์ โดยกำหนดเป็นค่าที่แสดงความสามารถในการรับอิเล็กตรอนของครึ่งเซลล์ จึงเรียกว่า ค่าศักย์ไฟฟ้าวัดกันมาตรฐาน เป็นค่าที่แสดงความสามารถในการรับอิเล็กตรอนของครึ่งเซลล์ โดยเทียบกับขั้วไฟฟ้าไฮโดรเจนมาตรฐาน โดยค่าศักย์ไฟฟ้าวัดกันมาตรฐานสารใด ๆ ที่มีค่าศักย์ไฟฟ้ามาตรฐานของครึ่งเซลล์มาก แสดงว่าสารนั้นสามารถรับอิเล็กตรอนได้ดีกว่า H^+ หรือความสามารถในการเป็นตัวออกซิไดส์ยิ่งดีขึ้น ส่วนสารใด ๆ ที่มีค่าศักย์ไฟฟ้ามาตรฐานของครึ่งเซลล์ต่ำ แสดงว่าสารนั้นยิ่งให้อิเล็กตรอนได้ดี หรือความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์ที่ดีกว่า H^+ ในการคำนวณหาศักย์ขั้วไฟฟ้าที่จุ่มในสารละลายที่ไม่เป็นสภาวะมาตรฐานทำได้โดยอาศัยสมการเนินสต์

วิธีการสอนและกิจกรรม

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ใบกิจกรรม

สื่อการสอนและอุปกรณ์การสอน

1. หนังสือ เคมีวิเคราะห์ หลักการและเทคนิคการคำนวณเชิงปริมาณ
2. เอกสารประกอบการสอน
3. สื่อการสอน power point

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 5 วิธีวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้า

บทเรียน 5.2 เทคนิคการวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้า

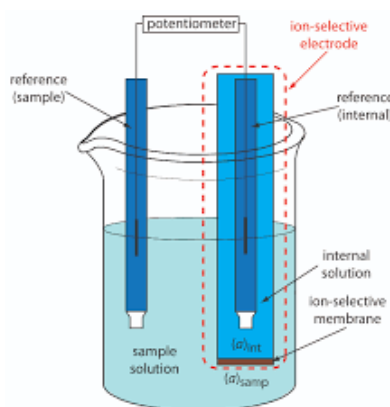
จุดประสงค์การสอน

1. อธิบายวิธีโพเทนชิโอเมตริก
2. อธิบายวิธีการนำไฟฟ้า
3. อธิบายวิธีคูลอมบ์
4. ปฏิบัติการวัดศักย์ไฟฟ้าด้วยวิธีโพเทนชิโอเมตริกไทเทรชัน

5.2.1 วิธีโพเทนชิโอเมตริก

1) หลักการโพเทนชิโอเมตริก

โพเทนชิโอเมทรี (potentiometry) เป็นเทคนิคการวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้าอาศัยการวัดค่าศักย์ไฟฟ้าของสารละลายในเซลล์เคมีไฟฟ้า โดยไม่ให้เกิดกระแสไฟฟ้าไหลผ่าน เซลล์เคมีไฟฟ้าของเทคนิคโพเทนชิโอเมทรีจัดเป็นเซลล์กัลวานิกซึ่งปฏิกิริยาทางเคมีสามารถเกิดขึ้นได้เองที่ผิวหน้าของขั้วไฟฟ้า เซลล์เคมีไฟฟ้าประกอบด้วย ขั้วไฟฟ้าแอโนดซึ่งต่ออยู่กับขั้วลบ และแคโทดซึ่งเป็นขั้วบวก ค่าความต่างศักย์เกิดขึ้นระหว่างขั้วแอโนดและแคโทดเรียกว่า ศักย์ไฟฟ้าของเซลล์ (E_{cell}) โดยทั่วไปวิธีโพเทนชิโอเมทรี ขั้วแคโทดที่ใช้ส่วนใหญ่จะเป็นขั้วไฟฟ้าแบบเลือกไอออน (ion-selective electrodes) ซึ่งจะยอมให้เฉพาะไอออนที่สนใจที่ผ่านเยื่อเลือกผ่าน หรือเมมเบรน (membrane) เข้าไปได้ทำให้เกิดศักย์ไฟฟ้าของเซลล์ไฟฟ้าเคมีได้



ภาพที่ 5.7 แผนภาพเซลล์ไฟฟ้าเคมีของวิธีโพเทนชิโอเมทรี

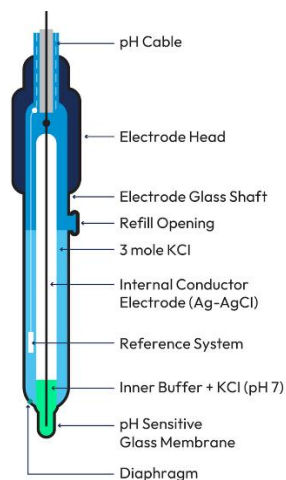
2) ขั้วไฟฟ้าที่ใช้ในการทำโพเทนชิอเมทรี

องค์ประกอบของระบบโพเทนชิอเมตริก ระบบการวัดประกอบด้วยอิเล็กโทรด 2 ชนิด

- ขั้วไฟฟ้าชี้วัด (indicator electrode) หรือขั้วไฟฟ้าใช้งาน (working electrode) มีศักย์ไฟฟ้าที่เปลี่ยนแปลงตามความเข้มข้นของไอออนที่ต้องการวัด เช่น pH electrode, ion-selective electrode (ISE)
- ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง (reference electrode) มีศักย์ไฟฟ้าคงที่ตลอดการวัด เช่น ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงคาโลเมลอิ่มตัว (saturated calomel electrode; SCE) หรือขั้วไฟฟ้าอ้างอิงซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์ (Ag/AgCl electrode)

ขั้วไฟฟ้าใช้งาน (WE) ที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์สำหรับเทคนิคโพเทนชิอเมทรี คือ ขั้วไฟฟ้าแบบเจาะจงไอออน

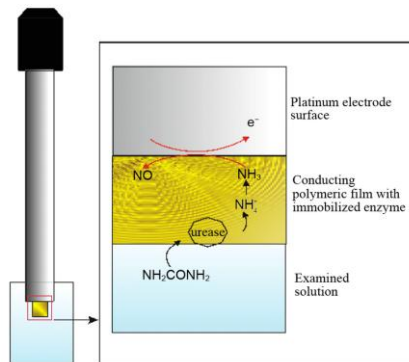
1) ขั้วไฟฟ้าแบบเจาะจงไอออน (ion-selective electrode, ISE) เป็นขั้วไฟฟ้าแบบเยื่อเลือกผ่าน (membrane) ซึ่งมีความสามารถในการตอบสนองต่อไอออนที่สนใจ ซึ่งประกอบด้วยเครื่องมือวัด (probe) ซึ่งมีความสามารถในการวัดไอออนที่จำเพาะและแก๊สที่อยู่ในรูปสารละลาย ขั้วไฟฟ้าแบบเจาะจงไอออนสามารถให้ศักย์ซึ่งเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่สนใจ ขั้วไฟฟ้าแบบเจาะจงไอออนที่นิยมใช้มากที่สุด คือ ขั้วไฟฟ้าพีเอช (pH electrode) ซึ่งประกอบด้วยเยื่อแก้วขนาดบางที่ตอบสนองต่อความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออนในสารละลาย



ภาพที่ 5.8 ขั้วไฟฟ้าพีเอช (pH electrode)

นอกจากนี้ไอออนอื่น ๆ เช่น ฟลูออไรด์ (F) โบรมไนด์ (Br) แคดเมียม (Cd) และสารประกอบทองแดง (Cu) และสารละลายของแก๊ส เช่น แอมโมเนีย คาร์บอนไดออกไซด์ ไนโตรเจนออกไซด์และออกซิเจน เป็นต้น สามารถตรวจวัดได้โดยการเลือกขั้วไฟฟ้าที่เหมาะสม ขั้วไฟฟ้าแบบเจาะจงไอออน การที่ขั้วไฟฟ้าแบบเลือกไอออน สามารถเจาะจงกับไอออนชนิดใดนั้น ขึ้นอยู่กับชนิดของเยื่อเลือกผ่าน (membrane) ว่าประกอบด้วยอะไรบ้าง เช่น

- ขั้วไฟฟ้าเยื่อแก้ว (glass membrane electrode) จะตอบสนองต่อไอออนของไฮโดรเจนและจัดเป็นขั้วไฟฟ้าแบบเจาะจงไอออนชนิดแรก ซึ่งมีประโยชน์มากสำหรับการวัดค่า pH และไอออนของโลหะแอลคาไลบางตัว
- ขั้วไฟฟ้าเยื่อสถานะของแข็ง (solid state membrane electrode) เยื่อของขั้วไฟฟ้าชนิดนี้ประกอบด้วยเกลือที่มีค่าการละลายต่ำ แต่สามารถนำไฟฟ้าได้ ขั้วไฟฟ้าชนิดนี้ใช้สำหรับวัดไอออนต่าง ๆ เช่น ฟลูออไรด์ โบรไมด์ แคลเดียม คลอไรด์และไอโอดีน เป็นต้น ข้อดีของขั้วไฟฟ้าเยื่อสถานะของแข็งคือใช้ง่าย และจำเพาะเจาะจงต่อไอออนที่สนใจจะวิเคราะห์
- ขั้วไฟฟ้าเยื่อแลกเปลี่ยนแก๊ส (gas sensing electrode) ขั้วไฟฟ้าชนิดนี้ถูกใช้สำหรับวิเคราะห์แก๊สที่อยู่ในรูปสารละลาย เช่น แอมโมเนีย คาร์บอนไดออกไซด์ ไนโตรเจนออกไซด์และสารละลายของออกซิเจน ซึ่งโมเลกุลของแก๊สจะแพร่ผ่านเยื่อและเข้าทำปฏิกิริยากับบัฟเฟอร์ทำให้ค่า pH ของบัฟเฟอร์เปลี่ยนไป ค่า pH ที่เปลี่ยนไปนี้สามารถวัดได้โดยใช้ขั้วไฟฟ้าแก้วภายใน ขั้วไฟฟ้าชนิดนี้เป็นที่นิยมมากรองจากขั้วไฟฟ้าตรวจวัดชนิดเยื่อแก้ว
- ขั้วไฟฟ้าตรวจวัดเอนไซม์ (enzyme electrode) ตัวอย่างเช่น ขั้วไฟฟ้าตรวจวัดเอนไซม์ยูรีเอส (urease electrode) ขั้วไฟฟ้าตรวจวัดเอนไซม์โดยทั่วไป ขั้วไฟฟ้าชนิดนี้ใช้สำหรับตรวจวัดค่า pH ซึ่งขั้วไฟฟ้าถูกเคลือบด้วยเจลที่อิมมัลชันของเอนไซม์ยูรีเอส ในกรณีนี้ยูเรีย (urea) จะสามารถซึมผ่านเจลและเกิดเป็นแอมโมเนียม (ammonium, NH_4^+) อันเป็นผลเนื่องมาจากเอนไซม์ในเจลทำให้ ค่า pH เปลี่ยนไปซึ่งสามารถตรวจวัดได้



ภาพที่ 5.9 ขั้วไฟฟ้าตรวจวัดเอนไซม์ยูรีเอส (urease electrode)

- ขั้วไฟฟ้าเยื่อแลกเปลี่ยนไอออนของเหลว (liquid state membrane electrode) มีลักษณะคล้ายขั้วไฟฟ้า pH ยกเว้นเยื่อที่ใช้ ถ้าเป็นขั้วไฟฟ้าพีเอชจะใช้เยื่อแก้ว แต่เยื่อแลกเปลี่ยนไอออนของเหลวจะเป็นสารพอลิเมอร์อินทรีย์ที่ทำให้อิมมัลชันด้วยตัวแลกเปลี่ยนไอออนของเหลว ปฏิกิริยาระหว่างตัวแลกเปลี่ยนไอออนกับไอออนของสารตัวอย่างทำให้เกิดศักย์ไฟฟ้าเกิดขึ้น ตัววัดชนิดนี้ใช้สำหรับวิเคราะห์ไอออนต่าง ๆ เช่น NH_4^+ , Ca^{2+} , Cl^- และไอออนในน้ำกระด้าง เป็นต้น

3) เทคนิควิเคราะห์โพเทนชิอเมตริก

การวิเคราะห์ด้วยวิธีโพเทนชิอเมตริก ทำได้โดยการวัดศักย์ไฟฟ้าโดยตรง การวัดศักย์ไฟฟ้าโดยการเติมสารมาตรฐานในสารละลายตัวอย่าง และการวัดศักย์ไฟฟ้าด้วยวิธีไทเทรต

3.1) การวัดศักย์ไฟฟ้าโดยตรง (direct potentiometric measurements) เป็นวิธีที่คุ้นเคยและใช้กันมากที่สุด หลักการของวิธีนี้คือเปรียบเทียบศักย์ที่เกิดขึ้นในเซลล์ของขั้วไฟฟ้าใช้งานที่จุ่มอยู่ในสาร

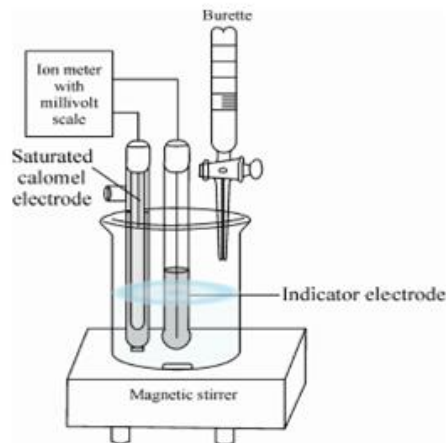
ละลายตัวอย่างกับค่าศักย์ที่ได้เมื่อจุ่มขั้วไฟฟ้าลงในสารละลายมาตรฐาน ที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน สมการที่เกี่ยวข้องกับการวัดศักย์โดยตรง

$$E_{\text{cell}} = E_{\text{ind}} - E_{\text{ref}} + E_j$$

เมื่อ E_{cell} = ศักย์ไฟฟ้าของเซลล์
 E_{ind} = ศักย์ไฟฟ้าที่วัดได้จากขั้วแคโทด
 E_{ref} = ศักย์ที่ไฟฟ้าวัดได้จากขั้วแอโนด
 E_j = ศักย์ไฟฟ่ารอยต่อ

3.2) การวัดศักย์ไฟฟ้าโดยการเติมสารมาตรฐานในสารละลายตัวอย่าง (standard addition method) เป็นการศึกษาค่าศักย์ที่เกิดขึ้นกับขั้วไฟฟ้า ทั้งก่อนและหลังที่เติมสารมาตรฐานที่ทราบปริมาตรลงในสารละลายตัวอย่างที่ทราบปริมาตรแน่นอนเช่นกัน โดยสารละลายตัวอย่างต้องเติมสารอิเล็กโทรไลต์ที่เฉื่อยมากพอ เพื่อควบคุมความแรงของไอออนของสารละลายทั้งก่อนและหลังเติมสารมาตรฐานไม่ให้ต่างกัน และทั้งนี้ค่าศักย์ไฟฟ่ารอยต่อสารละลาย (E_j) เมื่อเติมสารละลายมาตรฐาน และเมื่อยังไม่เติมมีค่าไม่เปลี่ยนแปลง

3.3) การวัดศักย์ไฟฟ้าด้วยวิธีไทเทรต (potentiometric titration) เป็นการใช้ขั้วไฟฟ้าแบบเจาะจงไอออนเป็นการวัดการดำเนินไปของปฏิกิริยาที่เกิดจากการไทเทรต โดยทั่วไปแล้ว ตัวไทเทรต (titrant) ที่ใช้สามารถเกิดเป็นสารเชิงซ้อนหรือทำปฏิกิริยากับไอออนของสารตัวอย่างจากปริมาตรของ ตัวไทเทรตที่ใช้สามารถคำนวณกลับแล้วระบุเป็นค่าความเข้มข้นของไอออนได้ การจัดอุปกรณ์สำหรับวิธีการวิเคราะห์โดยการวัดศักย์ไทเทรตแสดงได้ดังภาพ 5.10



ภาพที่ 5.10 แผนภาพการวัดศักย์ด้วยวิธีไทเทรต

5.2.2 วิธีการนำไฟฟ้า

1) หลักการวัดการนำไฟฟ้า

การนำไฟฟ้า (conductivity) เป็นสมบัติทางกายภาพที่บ่งชี้ความสามารถของสารในการนำกระแสไฟฟ้า การนำไฟฟ้าเกิดจากการเคลื่อนที่ของไอออนบวกและไอออนลบภายใต้สนามไฟฟ้าของสารละลาย ซึ่งจึงหมายถึงความสามารถของสารละลายในการนำกระแสไฟฟ้า เมื่อละลายเกลือ กรด หรือเบสในน้ำจะเกิดการแตกตัวให้ไอออน ซึ่งสามารถเคลื่อนที่และนำพาประจุไฟฟ้าได้

ความนำไฟฟ้า (Conductance, G) คือ ความสามารถในการนำกระแสไฟฟ้าของตัวนำ มีค่าเท่ากับค่าส่วนกลับของความต้านทานไฟฟ้าของตัวนำ (R) ความนำไฟฟ้า มีหน่วยเป็น (โอห์ม)⁻¹ หรือ ซีเมนส์ (S)

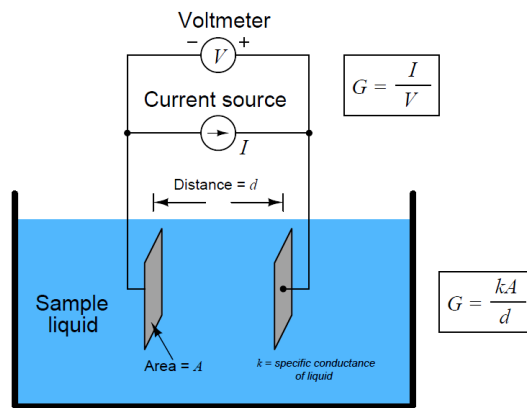
$$G = 1/R = 1/V$$

สภาพนำไฟฟ้า (conductivity, σ) คือ ความสามารถในการนำไฟฟ้าสภาพนำไฟฟ้า คือ ส่วนกลับของสภาพต้านทาน (ρ) ของสารนั้น สภาพนำไฟฟ้า มีหน่วยเป็น (โอห์ม·เมตร)⁻¹ หรือ ซีเมนส์ต่อเมตร (S/m)

$$\sigma = 1/\rho$$

สภาพต้านทาน (resistivity, ρ) ของสารละลาย เป็นส่วนกลับกันของสภาพนำไฟฟ้า

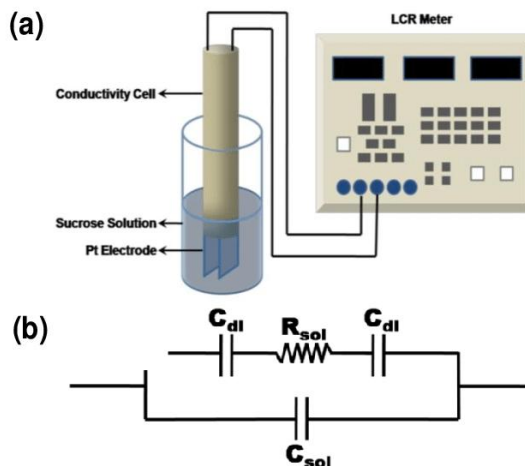
$$\rho = 1/\sigma$$



ภาพที่ 5.11 การนำไฟฟ้าของสารละลาย

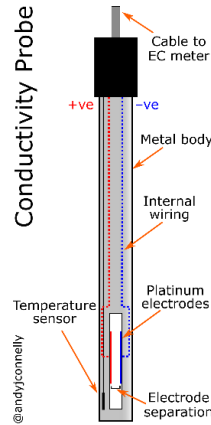
2) องค์ประกอบของเครื่องมือวัดการนำไฟฟ้า

เครื่องมือวัดการนำไฟฟ้า (conductivity meter) จะใช้แรงดันไฟฟ้าส่งผ่านระหว่างขั้วไฟฟ้าภายในโพรบ (probe) โดยใช้ความต้านทานไฟฟ้าจากของเหลวหรือสารละลายก็จะทำให้แรงดันตก เครื่องมือวัดการนำไฟฟ้า ดังภาพที่ 5.12 ประกอบด้วยส่วนหลักดังนี้



ภาพที่ 5.12 ส่วนประกอบเครื่องมือวัดการนำไฟฟ้า

1. เซลล์วัดการนำไฟฟ้า (conductivity cell) ประกอบด้วยอิเล็กโทรด 2 ขั้ว มักทำจากแพลตตินัมหุ้มด้วยแพลตตินัมดำ (black Pt)



ภาพที่ 5.13 เซลล์วัดการนำไฟฟ้า

2. เครื่องกำเนิดสัญญาณไฟฟ้า (signal generator) บ่อนแรงดันไฟฟ้าแบบสลับ (AC) ให้กับอิเล็กโทรด

3. เครื่องตรวจจับและวัดกระแส (detector) ตรวจจับค่ากระแสไฟฟ้าที่ไหลผ่านสารละลาย แปลงสัญญาณเป็นค่าการนำไฟฟ้า

4. temperature compensation unit อุณหภูมิมีผลต่อ conductivity โดยทั่วไปค่า conductivity เพิ่มขึ้น $\sim 2\%$ ต่อ 1°C

5. หน้าจอแสดงผล (display/Output Unit) แสดงค่าการนำไฟฟ้าได้หลายแบบ เช่น มิลลิโอห์ม ($\text{m}\Omega$) หรือ ไมโครโอห์ม ($\mu\Omega$) หรือ ไมโครซีเมนต์ต่อเซนติเมตร ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) หรือ มิลลิซีเมนต์ต่อเซนติเมตร ($\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$) อาจมีหน่วยแสดงค่า TDS (total dissolved solids) หรือความเค็ม (salinity) เพิ่มเติม

5.2.3 วิธีคูลอม

คูลอมเมตรี (coulometry) เป็นเทคนิคการวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้าที่อาศัยการวัดปริมาณประจุไฟฟ้า (Q) ที่ถูกใช้ในการเกิดปฏิกิริยาเคมีออกซิเดชันหรือรีดักชันของสารที่สนใจวิเคราะห์ โดยอาศัยกฎของฟาราเดย์ (Faraday's law) คำนวณความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของประจุไฟฟ้าที่ใช้กับจำนวนกรัมสมมูลของสารตัวอย่าง กฎการแยกสารด้วยไฟฟ้าของฟาราเดย์ กล่าวไว้ว่า "ปริมาณไฟฟ้าที่ผ่านเข้าไปในเซลล์ เป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณการเปลี่ยนแปลงสมมูลของสารที่เกิดขึ้นที่ขั้วไฟฟ้าของเซลล์นั้น" ซึ่งสามารถเขียนอยู่ในรูปสมการได้ดังนี้

$$Q = nFN$$

เมื่อ Q = ปริมาณประจุไฟฟ้าทั้งหมด (coulombs) ที่ถูกพาเข้าสู่เซลล์ มีหน่วยเป็น C

n = จำนวนอิเล็กตรอนที่ใช้ต่อโมเลกุลของสารวิเคราะห์

F = ค่าคงที่ของฟาราเดย์ ($96,485 \text{ C}\cdot\text{mol}^{-1}$)

N = จำนวนโมลของสารที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยา

การวิเคราะห์เชิงไฟฟ้าด้วยเทคนิคคูลอมเมตรีสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 วิธี ดังนี้

1) คูลอมเมตรีแบบควบคุมกระแสคงที่

การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคคูลอมเมตรีแบบควบคุมกระแสคงที่ อุปกรณ์ที่ทำหน้าที่เป็นแหล่งควบคุมให้กระแสคงที่คือ แอมเพอโรสแตต (amperostat) วิธีที่สามารถทำได้โดยการไทเทรต จึงเรียกว่า คูลอมเมตริกไทเทรชัน (coulometric titration) โดยสารตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์จะถูกไทเทรตด้วยตัวไทเทรต (อิเล็กตรอน) ในการวิเคราะห์จะมีการให้กระแสคงที่ที่กัวงจรตลอดเวลา จนกว่าจะถึงจุดยุติของการไทเทรต วิธีนี้สามารถสามารถวิเคราะห์สารตัวอย่างได้ถึงระดับไมโครกรัม (10^{-6}) ทำให้มีความถูกต้องและความแม่นยำสูง

2) คูลอมเมตรีแบบควบคุมศักย์ไฟฟ้า

เทคนิคการวิเคราะห์คูลอมเมตรีแบบควบคุมศักย์ไฟฟ้านี้ จะมีหลักการของการหาปริมาณสารตัวอย่างเช่นเดียวกับเทคนิคอิเล็กโทรแกรมเมตรีแบบควบคุมศักย์ไฟฟ้า กล่าวคือ จะต้องมียุทธศาสตร์สำคัญคือ โปเทนชิออสเตต (potentiostat) ที่ทำหน้าที่ในการควบคุมศักย์ไฟฟ้าของขั้วใช้งาน (working electrode) เพื่อให้ค่าศักย์ไฟฟ้ามีค่าคงที่ตลอดการวิเคราะห์ แต่ในเทคนิคคูลอมเมตรีจะมีการบันทึกกระแสที่ใช้ ณ เวลาต่าง ๆ ของการวิเคราะห์ จนกระทั่งปฏิกิริยาการแยกสารตัวอย่างให้ผลเสร็จสมบูรณ์ และการคำนวณหาปริมาณสารตัวอย่างที่เกิดขึ้นในการวิเคราะห์ สามารถทำได้โดยการอินทิเกรตข้อมูลจากกราฟของกระแสกับเวลา ซึ่งก็คือปริมาณประจุไฟฟ้าที่ใช้ทั้งหมด

5.2.4 ปฏิบัติการวัดศักย์ไฟฟ้าด้วยวิธีโพเทนชิโอเมตริกไทเทรชัน

- 1) ส่วนประกอบเครื่องโพเทนชิโอมิเตอร์
- 2) การทดลองวิธีโพเทนชิโอเมตริกไทเทรชัน
(คู่มือปฏิบัติการ)

สรุปท้ายบทเรียน

เทคนิคเคมีไฟฟ้าเป็นกลุ่มวิธีวิเคราะห์ที่อาศัยการเปลี่ยนแปลงทางไฟฟ้าเพื่อตรวจวัดสารในตัวอย่าง โดยมีความแม่นยำและความไวสูง เหมาะสำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่างในรูปสารละลาย โดยเฉพาะในงานวิเคราะห์ทางสิ่งแวดล้อม อาหาร และเครื่องสำอาง วิธีโพเทนชิโอเมตริกใช้วัดความต่างศักย์ระหว่างอิเล็กโทรด โดยไม่ให้กระแสไหล ใช้ในการวิเคราะห์สารละลาย เช่น การวัดค่า pH หรือการตรวจไอออนเฉพาะด้วยอิเล็กโทรดเลือกจำเพาะ (ISE) เป็นวิธีที่ไม่ทำลายตัวอย่าง ให้ผลรวดเร็วและแม่นยำ วิธีวัดการนำไฟฟ้าเป็นการตรวจวัดความสามารถในการนำไฟฟ้าของสารละลาย ซึ่งขึ้นอยู่กับปริมาณและชนิดของไอออนที่มีอยู่ในระบบ นิยมใช้ในการวิเคราะห์ไทเทรตโดยไม่ต้องใช้อินดิเคเตอร์ เช่น การไทเทรตกรด-เบสหรือเกลือที่ละลายได้ในน้ำ ส่วนวิธีคูลอมเมตรีเป็นวิธีวัดปริมาณสารโดยตรงจากปริมาณประจุไฟฟ้าที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาเคมีไฟฟ้า เหมาะสำหรับการวิเคราะห์สารในระดับน้อยมาก (trace analysis) มีความแม่นยำสูง และไม่จำเป็นต้องใช้สารมาตรฐานเปรียบเทียบ

วิธีการสอนและกิจกรรม

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ใบกิจกรรม

สื่อการสอนและอุปกรณ์การสอน

1. หนังสือ/ตำรา
2. เอกสารประกอบการสอน
3. สื่อการสอน power point

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

หน่วยที่ 6

วิเคราะห์ด้วยเทคนิคทางเอ็กซ์เรย์และนิวเคลียร์

บทเรียน 6.1 เทคนิครังสีเอกซ์

จุดประสงค์การสอน

1. บอกสมบัติรังสีเอกซ์
2. อธิบายเทคนิค X-ray Diffraction (XRD)
3. อธิบายเทคนิค X-ray Fluorescence (XRF)
4. ปฏิบัติการทดสอบวัสดุและวัตถุสืบ

6.1.1 สมบัติรังสีเอกซ์

รังสีเอกซ์ (X-ray) เป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีพลังงานสูง อยู่ในย่านความยาวคลื่นประมาณ 0.01 ถึง 10 นาโนเมตร (nm) หรือความถี่ในย่านประมาณ 3×10^{16} ถึง 3×10^{19} เฮิรตซ์ (Hz) สมบัติทั่วไปของรังสีเอกซ์ เช่น

- ไม่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่า
- มีพลังทะลุทะลวงสูง สามารถทะลุผ่านวัสดุได้หลายชนิด โดยเฉพาะวัสดุที่มีความหนาแน่นต่ำ เช่น เนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิต แต่จะถูกดูดกลืนหรือสะท้อนกลับเมื่อพบวัสดุที่มีเลขเชิงอะตอมสูง เช่น กระดูก หรือโลหะ
- เดินทางเป็นเส้นตรง เช่นเดียวกับคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าอื่น ๆ รังสีเอกซ์สามารถเดินทางในสุญญากาศได้ด้วยความเร็วเท่ากับความเร็วแสง
- สามารถก่อให้เกิดการวาวแสง (fluorescence) วัสดุบางชนิดสามารถเรืองแสงได้เมื่อถูกรังสีเอกซ์กระตุ้น
- สามารถก่อให้เกิดการแตกตัวเป็นไอออน มีความสามารถในการดั่งอิเล็กทรอนิกส์ออกจากอะตอม ส่งผลให้เกิดไอออน

1) การเกิดรังสีเอกซ์

รังสีเอกซ์เกิดขึ้นเมื่ออิเล็กตรอนอิสระซึ่งมีพลังงานจลน์สูงและถูกทำให้ลดความเร็วหรือถูกหยุดนิ่งโดยกระทันหันได้เมื่ออิเล็กตรอนอิสระวิ่งไปกระทบเป้าโลหะ (metal target) พลังงานจลน์ของอิเล็กตรอนอิสระจะถูกถ่ายเทให้กับเป้าโลหะและถูกเปลี่ยนเป็นพลังงานความร้อนร้อยละ 99 ซึ่งถูกดูดกลืนไว้ที่ผิวของเป้าโลหะ ส่วนอีกประมาณร้อยละ 1 จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงภายในโครงสร้างของโลหะที่เป็นเป้า ผลของการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวทำให้เกิดรังสีเอกซ์ที่ถูกนำมาใช้งาน

ต่อไป ในทางปฏิบัตินั้นจะใช้หลอดรังสีเอกซ์ (x-ray tube) เป็นเครื่องมือในการผลิตรังสีเอกซ์ ภายในหลอดรังสีเอกซ์จะประกอบด้วยส่วนที่สำคัญดังนี้

- แคโทด หรือแหล่งผลิตอิเล็กตรอนอิสระจะใช้ไส้หลอด (filament) ที่ทำจากโลหะทังสแตน ซึ่งถูกเผาให้ร้อนด้วยกระแสไฟฟ้า ไส้หลอดนี้ทำหน้าที่เป็นแคโทด (ขั้วลบ) ของหลอดรังสีเอกซ์ เมื่อจ่ายกระแสไฟฟ้าจะเกิดความร้อน ทำให้อิเล็กตรอนหลุดออกมา (thermionic emission)

- แอโนด (anode) หรือ เป้าโลหะ (target) เป็นขั้วบวก เป็นบริเวณที่ทำหน้าที่ผลิตรังสีเอกซ์ ทำหน้าที่รับอิเล็กตรอนจากแคโทด ทำจากโลหะที่มีเลขเชิงอะตอมสูง เช่น ทังสแตน (W) โมลิบดีนัม (Mo) หรือทองแดง (Cu) จุดที่อิเล็กตรอนชนกับแอโนดเรียกว่า focal spot ธาตุที่จะนำมาทำเป็นเป้าโลหะควรมีสมบัติดังนี้

- เป็นธาตุที่มีเลขเชิงอะตอมสูง (เลขเชิงอะตอมอยู่ระหว่าง 25 ถึง 75) เช่น Mo, W, Cr, Cu, Ag, Rh หรือ Pt

- เป็นธาตุที่มีจุดหลอมเหลวสูง

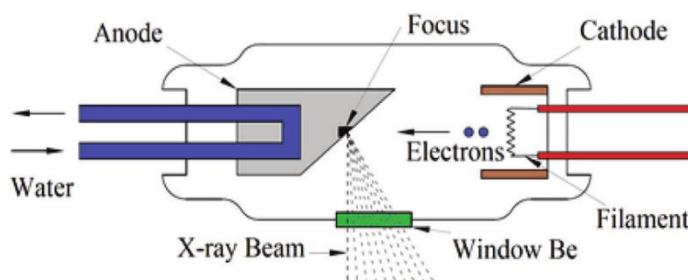
- เป็นธาตุที่นำความร้อนได้ดี (high thermal conductivity)

- เป็นธาตุที่มีความดันไอต่ำ (เปลี่ยนเป็นไอได้ยาก)

- หลอดสุญญากาศ (vacuum tube) บรรจุแคโทดและแอโนดไว้ภายใน เพื่อให้อิเล็กตรอนเคลื่อนที่ได้อย่างอิสระโดยไม่ชนกับโมเลกุลของอากาศ

- แหล่งให้ความต่างศักย์สูง (high acceleration voltage) หรือศักย์ไฟฟ้าแรง เพื่อเร่งพลังงานของอิเล็กตรอนอิสระให้เคลื่อนที่จากแคโทดไปยังแอโนด ด้วยแรงดันไฟฟ้าระหว่าง 20–150 kV

หลอดรังสีเอกซ์เป็นหลอดสุญญากาศทำจากแก้วทนความร้อนหรือเซรามิก ซึ่งจะทนต่อความร้อนและขั้วไฟฟ้าเกิดเป็นสารประกอบออกไซด์ เพื่อทำให้อิเล็กตรอนอิสระที่ขั้วลบเคลื่อนที่ไปยังเป้าโลหะ โดยไม่มีการสูญเสียพลังงาน และเพื่อให้เป็นฉนวนไฟฟ้าระหว่างขั้วไฟฟ้าทั้งสอง



ภาพที่ 6.1 ส่วนประกอบหลอดรังสีเอกซ์

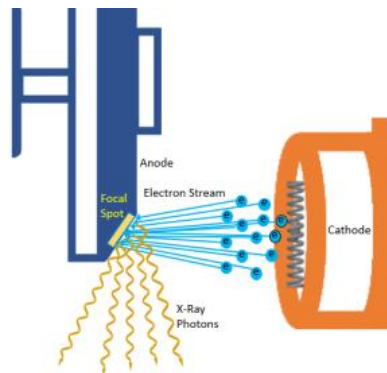
จากภาพที่ 6.1 รังสีเอกซ์ที่เกิดขึ้นจากหลอดรังสีเอกซ์จะถูกส่งผ่านออกมาทางหน้าต่างที่ทำด้วยเบริลเลียม (beryllium window) เป็นบริเวณที่บางและทนต่อความดันสุญญากาศภายในหลอดรังสีเอกซ์ได้ เพื่อลดปริมาณการสูญเสียรังสีเอกซ์

เมื่อไส้หลอดทังสแตนถูกเผาให้ร้อนด้วยกระแสไฟฟ้าจากภายนอก จะได้อิเล็กตรอนอิสระหลุดออกมาจากผิวไส้หลอดทังสแตนและถูกเร่งไปที่เป้าโลหะด้วยแหล่งให้ความต่างศักย์สูงระหว่างขั้วบวก

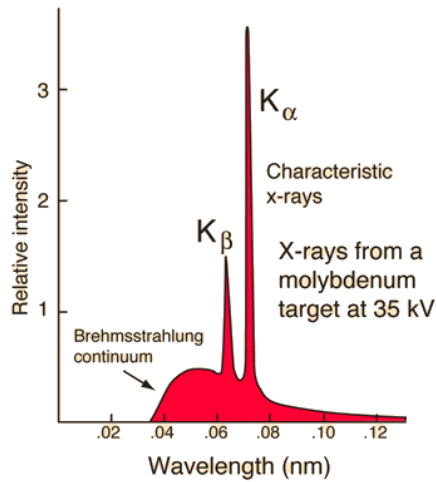
และช้าลง เมื่ออิเล็กตรอนอิสระชนเป้าโลหะจะทำให้เกิดความร้อน รังสีเอกซ์ และการกระเจิงของอิเล็กตรอน

ขั้นตอนในการผลิตรังสีเอกซ์ของหลอดรังสีเอกซ์ สรุปได้ดังนี้

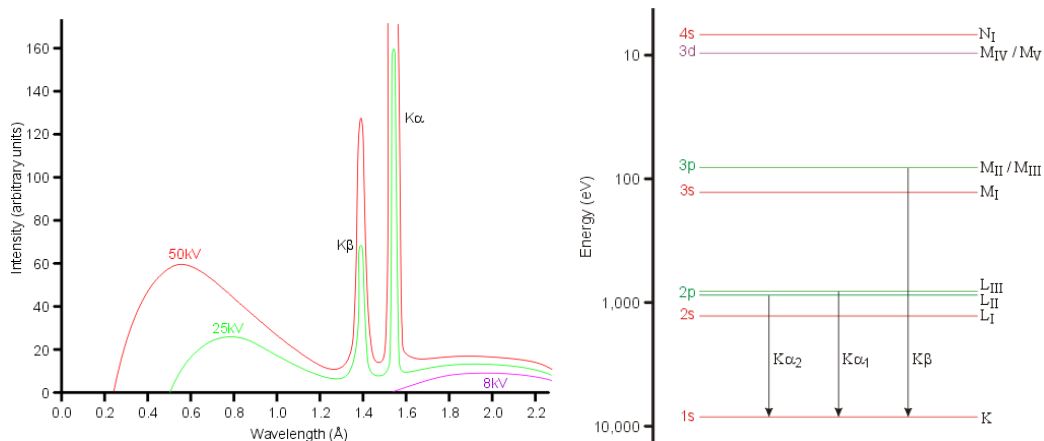
1. การปล่อยอิเล็กตรอนจากแคโทด กล่าวคือเมื่อไส้หลอดถูกทำให้ร้อน อิเล็กตรอนจะถูกปล่อยออกมาเนื่องด้วยความร้อน (thermionic emission)
2. การเร่งอิเล็กตรอน อิเล็กตรอนอิสระที่หลุดจากผิวไส้หลอดจะถูกเร่งให้เคลื่อนที่ด้วยแรงดันไฟฟ้าสูง ไปยังแอโนดด้วยความเร็วสูงมาก
3. การชนของอิเล็กตรอนกับเป้าโลหะ (target) เมื่ออิเล็กตรอนพลังงานสูงชนกับอะตอมของโลหะในแอโนด จะเกิดการปล่อยพลังงานในรูปของรังสีเอกซ์ ซึ่งเกิดได้ 2 แบบ คือ รังสีเอกซ์แบบต่อเนื่อง (Bremsstrahlung) เกิดจากการเบี่ยงเบนของอิเล็กตรอนเมื่อเข้าใกล้นิวเคลียส และ รังสีเอกซ์ลักษณะเฉพาะตัว (characteristic) เกิดจากการที่อิเล็กตรอนตีอิเล็กตรอนชั้นในของอะตอมเป้าออก แล้วมีอิเล็กตรอนจากชั้นพลังงานที่สูงกว่าลงมาแทนที่ พร้อมปล่อยพลังงานในรูปของรังสีเอกซ์
4. การควบคุมลำแสงรังสีเอกซ์ที่เกิดขึ้นจะถูกกำหนดทิศทางและกรองด้วย collimator และ filter เพื่อให้เหมาะสมกับการใช้งาน เช่น การถ่ายภาพหรือการวิเคราะห์



อิเล็กตรอนอิสระที่มีพลังงานสูงวิ่งชนเป้าโลหะจะเกิดการกระเจิงของอิเล็กตรอนพร้อมกับปลดปล่อยรังสีเอกซ์ต่อเนื่อง (continuous x-ray หรือ polychromatic หรือ white-radiation หรือ bremsstrahlung หรือ breaking radiation) ออกมา แต่เมื่อเพิ่มศักย์ไฟฟ้าเร่งให้มากกว่าแรงยึดเหนี่ยวของอิเล็กตรอนในวงโคจรชั้นใน (inner electron shell) ของโลหะที่เป็นเป้า ทำให้มีการปลดปล่อยรังสีเอกซ์ลักษณะเฉพาะตัวออกมาด้วย ดังนั้น สเปกตรัมที่ได้จากหลอดรังสีเอกซ์จะมีลักษณะเป็นสเปกตรัมแบบต่อเนื่อง หรือรังสีเอกซ์ต่อเนื่อง และสเปกตรัมแบบเส้น (line spectrum) หรือรังสีเอกซ์เฉพาะตัวที่ซ้อนอยู่บนสเปกตรัมแบบต่อเนื่อง เราเรียกสเปกตรัมนี้ว่า รังสีเอกซ์เฉพาะตัว (characteristic X-ray) ซึ่งจะมีลักษณะเป็นพีกที่ชัดเจน (discrete peaks) โดยพลังงาน (หรือความยาวคลื่น) ของพีกเหล่านี้จะขึ้นอยู่กับชนิดของโลหะที่ใช้ทำแอโนดเท่านั้น และเกิดจากการที่อิเล็กตรอนในอะตอมของโลหะเป้าถูกทำให้หลุดออกจากชั้นพลังงานวงโคจรชั้นใน



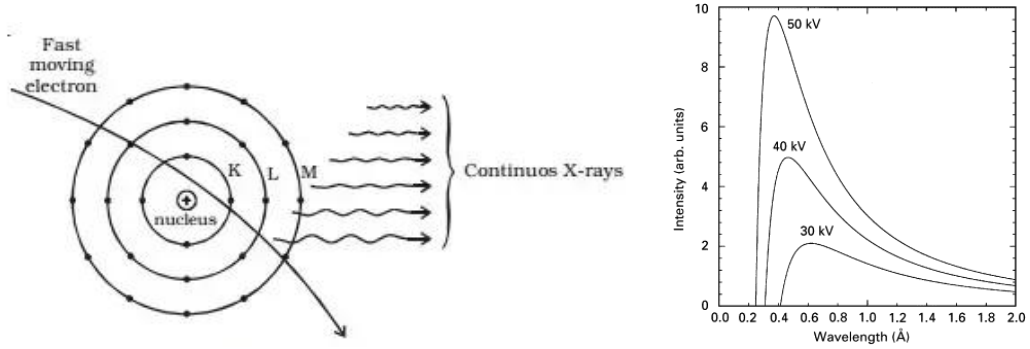
ภาพที่ 6.2 สเปกตรัมรังสีเอกซ์ที่ใช้เป้าโลหะ Mo



ภาพที่ 6.3 สเปกตรัมรังสีเอกซ์ที่ใช้เป้าโลหะ Cu และแผนภาพระดับพลังงาน

1.1) รังสีเอกซ์แบบต่อเนื่อง

รังสีเอกซ์แบบต่อเนื่อง (continuous X-ray) เกิดจากการที่อิเล็กตรอนพลังงานสูง ซึ่งถูกเร่งให้เคลื่อนที่จากขั้วแคโทดไปยังขั้วแอโนดในหลอดรังสีเอกซ์ วิ่งเข้าใกล้นิวเคลียสของอะตอมจะชะลอความเร็วอย่างรวดเร็ว อิเล็กตรอนจะสูญเสียพลังงานจลน์บางส่วนในรูปของรังสีเอกซ์ (พร้อมปล่อยโฟตอนรังสีเอกซ์) ออกมา พลังงานจลน์ที่ลดลงจะเป็นไปอย่างต่อเนื่อง ยิ่งอิเล็กตรอนเคลื่อนที่เข้าใกล้นิวเคลียสมากเท่าใด พลังงานจลน์ก็ยิ่งลดลง เป็นผลให้พลังงานของรังสีเอกซ์ที่ปล่อยออกมาก็จะยิ่งสูงขึ้น เกิดเป็นสเปกตรัมต่อเนื่องของรังสีเอกซ์ โดยพลังงานที่ปล่อยออกมามีค่าหลากหลายขึ้นอยู่กับระดับพลังงานที่อิเล็กตรอนสูญเสียในแต่ละการชน ดังภาพที่ 6.4



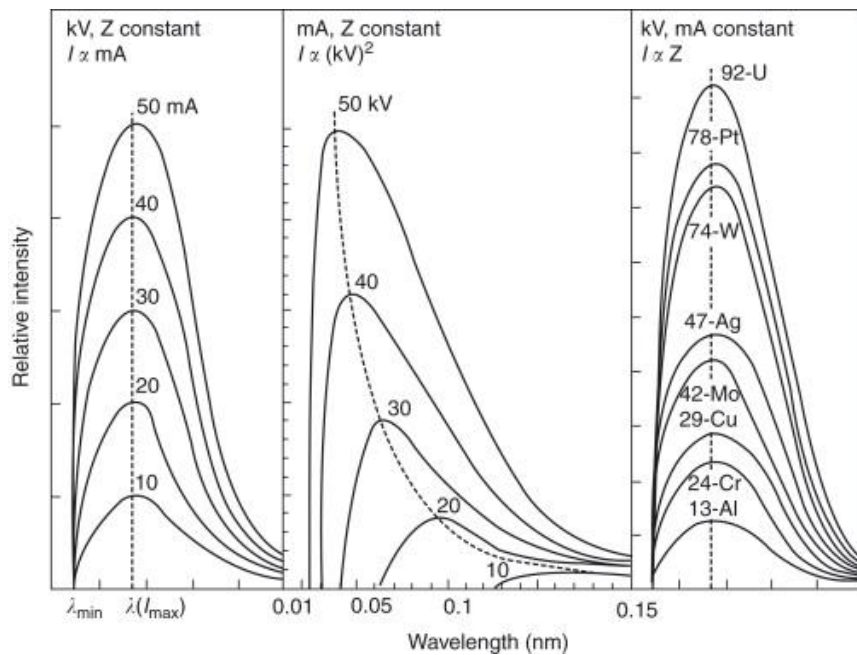
ภาพที่ 6.4 แสดงการเกิดรังสีเอ็กซ์แบบต่อเนื่อง

เมื่อเพิ่มความต่างศักย์ระหว่างขั้วแอโนดและแคโทดของหลอดรังสีเอ็กซ์ ทั้งพลังงานและความเข้มของรังสีเอ็กซ์ต่อเนื่องจะเพิ่มขึ้น

$$I = kiZV^2 \quad \dots(6.1)$$

- เมื่อ I = ความเข้ม
- i = กระแสไฟฟ้าของรังสีเอ็กซ์
- V = ศักย์ไฟฟ้า
- Z = เลขเชิงอะตอมของธาตุที่ใช้ทำแอโนด
- k = ค่าคงที่

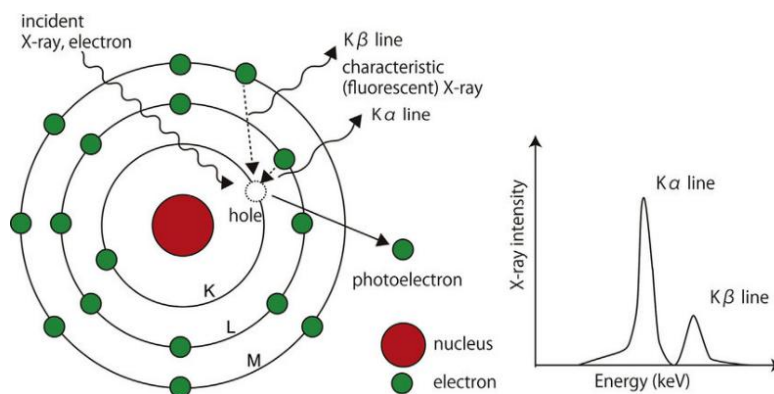
จากสมการ 6.1 ความเข้มของรังสีเอ็กซ์แบบต่อเนื่องขึ้นอยู่กับกระแสไฟฟ้า ความต่างศักย์ และเลขเชิงอะตอมของธาตุที่ใช้ทำเป้า



ภาพที่ 6.5 สเปกตรัมรังสีเอ็กซ์แบบต่อเนื่องเมื่อความต่างศักย์แตกต่างกัน

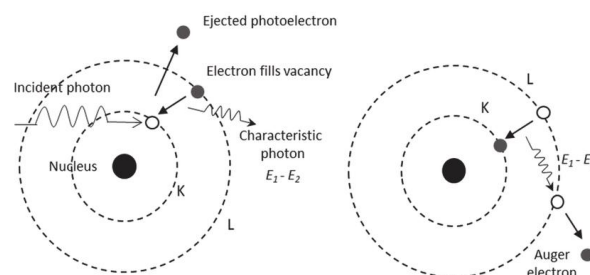
1.2) รังสีเอกซ์เฉพาะตัว

เมื่ออิเล็กตรอนอิสระที่มีพลังงานจลน์สูง (high kinetic energy electrons) ซึ่งถูกเร่งด้วยแรงดันไฟฟ้าในหลอดรังสีเอกซ์ เคลื่อนที่ไปชนกับวัสดุเป้าหมายที่เป็นโลหะ (เช่น ทังสเตน โมลิบดีนัม หรือทองแดง) อิเล็กตรอนเหล่านี้จะถ่ายโอนพลังงานให้กับอิเล็กตรอนในวงโคจรชั้นในของอะตอมในเป้า เช่น ชั้น K, L หรือ M ถ้าอิเล็กตรอนอิสระมีพลังงานมากเพียงพอที่จะเอาชนะแรงยึดเหนี่ยวของนิวเคลียสที่ยึดอิเล็กตรอนไว้ในชั้นโคจร (binding energy) อิเล็กตรอนในชั้นโคจรนั้นจะหลุดออกจากอะตอม ทำให้เกิดช่องว่างในระดับพลังงานภายในอะตอม ส่งผลให้อะตอมอยู่ในสถานะกระตุ้น (excited state) หลังจากนั้น เพื่อกลับสู่สถานะพื้น (ground state) อิเล็กตรอนจากชั้นพลังงานที่สูงกว่าจะเคลื่อนที่ลงมาแทนที่ตำแหน่งที่ว่างอยู่ในชั้นพลังงานที่ต่ำกว่า การเปลี่ยนแปลงนี้จะปล่อยพลังงานส่วนต่างออกมาในรูปของโฟตอนรังสีเอกซ์ ซึ่งมีพลังงานเฉพาะตามผลต่างระหว่างสองระดับพลังงานนั้น เรียกว่า รังสีเอกซ์เฉพาะตัว (characteristic X-ray) ดังภาพที่ 6.6



ภาพที่ 6.6 แสดงการเกิดรังสีเอกซ์ลักษณะเฉพาะตัว

จากภาพที่ 6.6 เมื่ออิเล็กตรอนอิสระที่มีพลังงานจลน์สูงชนอิเล็กตรอนในระดับพลังงานชั้น K ทำให้อิเล็กตรอนในระดับพลังงานชั้น K หลุดออกมา เรียกอิเล็กตรอนนี้ว่า photoelectron ทำให้เกิดช่องว่างในชั้น K อิเล็กตรอนจากระดับพลังงานชั้น L จะเข้ามาแทนที่พร้อมกับให้รังสีเอกซ์ขึ้น คือรังสีเอกซ์ชั้น K (K-shell X-ray) รังสีเอกซ์นี้แทนที่จะหลุดออกไปแต่กลับไปเกิดอันตรกิริยากับอิเล็กตรอนในระดับพลังงานชั้น L อีก อิเล็กตรอนในระดับพลังงาน L จะหลุดออกไปและเรียกว่า Auger electron อิเล็กตรอนจากระดับพลังงานชั้น M จะเข้ามาแทนที่พร้อมกับปล่อยรังสีเอกซ์ออกมาเป็น L-shell X-ray

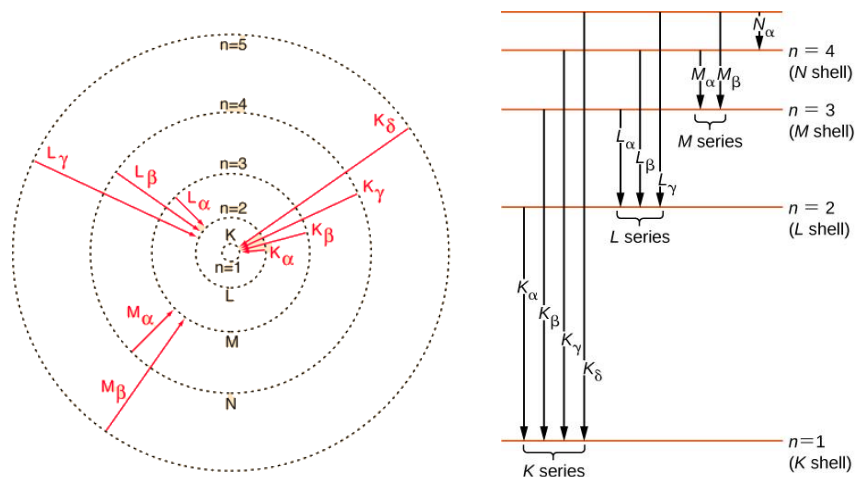


ภาพที่ 6.7 การเกิด Auger electron

อิเล็กตรอนในระดับพลังงานชั้น L, M และ N เข้ามาแทนที่ว่างของอิเล็กตรอนในระดับพลังงานชั้น K พร้อมกับปลดปล่อยรังสีเอกซ์เฉพาะตัวออกมา จะได้รังสีเอกซ์กลุ่มชุดชั้น K (K-series line spectrum) และเรียกว่า $K\alpha$, $K\beta$ และ $K\gamma$ ตามลำดับ

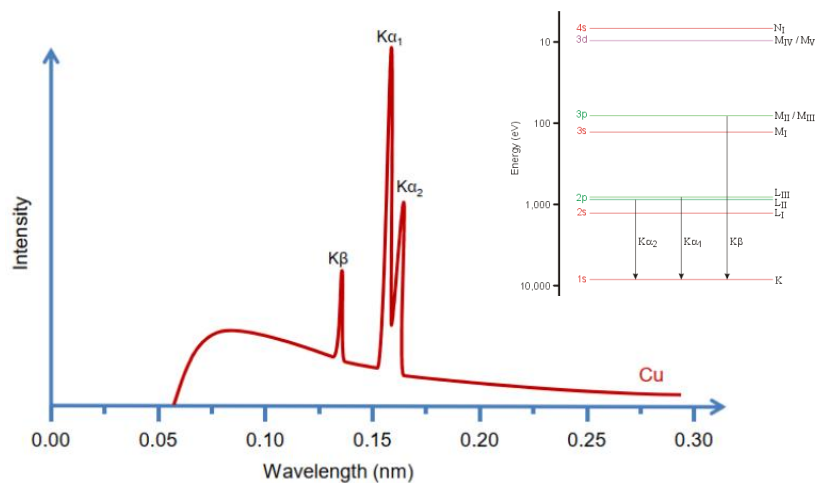
อิเล็กตรอนในระดับพลังงานชั้น M และ N เข้ามาแทนที่ว่างของอิเล็กตรอนในระดับพลังงานชั้น L พร้อมกับปลดปล่อยรังสีเอกซ์เฉพาะตัวออกมา จะได้รังสีเอกซ์กลุ่มชุดชั้น L (L-series line spectrum) และเรียกว่า $L\alpha$ และ $L\beta$ ตามลำดับ

อิเล็กตรอนในระดับพลังงานชั้น N เข้ามาแทนที่ว่างของอิเล็กตรอนในระดับพลังงานชั้น M พร้อมกับปลดปล่อยรังสีเอกซ์เฉพาะตัวออกมา จะได้รังสีเอกซ์กลุ่มชุดชั้น M (M-series line spectrum) และเรียกว่า $M\alpha$



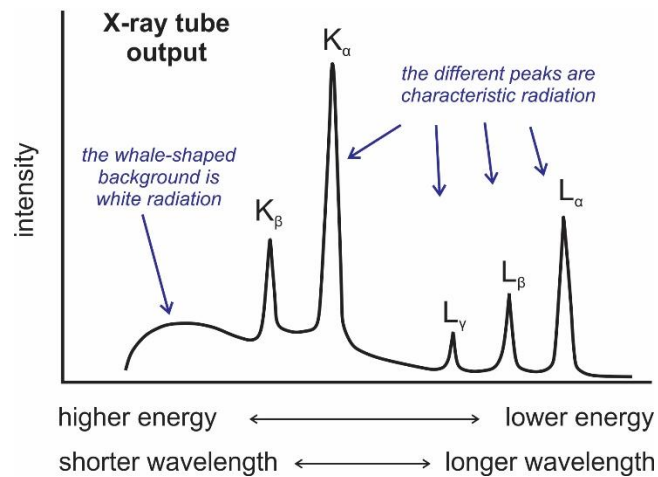
ภาพที่ 6.8 รังสีเอกซ์กลุ่มชุดชั้น K, L, และ M

ภาพที่ 6.9 ในหลอดรังสีเอกซ์ที่มีทองแดงเป็นเป้า จะเห็นเส้นสเปกตรัมที่เป็นรังสีเอกซ์เฉพาะตัวที่มีความเข้มค่อนข้างสูง ซึ่งเป็นรังสีเอกซ์กลุ่มชุดชั้น K จำนวน 3 เส้น คือ $K\alpha_1$, $K\alpha_2$ และ $K\beta$



ภาพที่ 6.9 สเปกตรัมหลอดรังสีเอกซ์ที่มีทองแดงเป็นเป้า

การเห็นรังสีเอกซ์เฉพาะตัวที่ขึ้นอยู่บนรังสีเอกซ์แบบต่อเนื่องเป็นลักษณะเฉพาะของธาตุแต่ละธาตุ ธาตุที่มีเลขเชิงอะตอมต่ำกว่า 23 จะให้รังสีเอกซ์เฉพาะตัวของกลุ่มชุดชั้น K และธาตุที่มีเลขเชิงอะตอมมากกว่า 23 จะมีทั้งรังสีเอกซ์เฉพาะตัวของกลุ่มชั้น K และกลุ่มชั้น L โดยที่รังสีเอกซ์เฉพาะตัวของกลุ่มชั้น K จะมีพลังงานมากกว่ากลุ่มชั้น L แต่มีความยาวคลื่นสั้นกว่ากลุ่มชั้น L แต่ในกรณีธาตุหนัก อาจมีรังสีเอกซ์เฉพาะตัวของกลุ่ม M และ N แต่มีความยาวคลื่นยาวและมีความเข้มต่ำ จึงถูกนำมาใช้ประโยชน์ได้น้อย



ภาพที่ 6.10 รังสีเอกซ์เฉพาะตัวของกลุ่มชั้น K และกลุ่มชั้น L

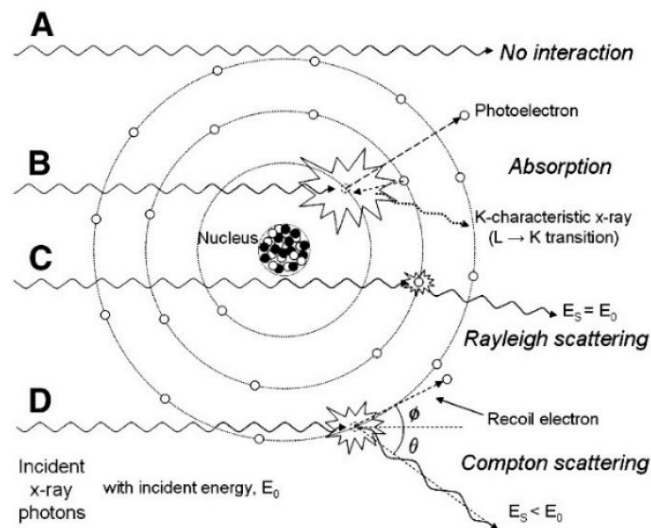
2) อันตรกิริยาของรังสีเอกซ์กับวัตถุ

อันตรกิริยาของรังสีเอกซ์กับสสาร เกิดขึ้นเมื่อรังสีเอกซ์ตกกระทบวัสดุแล้วจะเกิดอันตรกิริยาได้หลายรูปแบบขึ้นอยู่กับพลังงานของรังสีเอกซ์ และชนิดของวัสดุที่รังสีตกกระทบ เช่น

1) การดูดกลืนแบบโฟโตอิเล็กทริก (photoelectric absorption) เกิดเมื่อรังสีเอกซ์ชนกับอิเล็กตรอนในชั้นในของอะตอม ทำให้อิเล็กตรอนหลุดออกจากอะตอม (เกิดการไอออนไนซ์) กระบวนการนี้เกิดขึ้นมากเมื่อใช้รังสีเอกซ์พลังงานต่ำ และวัสดุมีเลขเชิงอะตอมสูง (Z สูง)

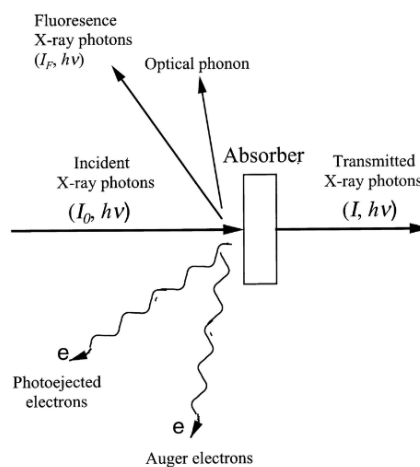
2) การกระเจิงแบบคอมป์ตัน (Compton scattering) เกิดเมื่อรังสีเอกซ์ชนกับอิเล็กตรอนชั้นนอก ทำให้เกิดการกระเจิงของรังสีและอิเล็กตรอน พลังงานบางส่วนของรังสีเอกซ์จะถูกถ่ายโอนไปยังอิเล็กตรอน ทำให้รังสีเอกซ์ที่เหลือมีพลังงานลดลง มักเกิดขึ้นในย่านพลังงานรังสีเอกซ์ระดับกลาง และเกี่ยวข้องกับวัสดุที่มีเลขเชิงอะตอมต่ำถึงปานกลาง

3) การกระเจิงแบบเรย์ไลย์ (Rayleigh or coherent scattering) เป็นการกระเจิงแบบยืดหยุ่น รังสีเอกซ์ชนกับอะตอมโดยไม่สูญเสียพลังงาน แต่มีการเบี่ยงเบนของทิศทาง พบน้อยเมื่อเทียบกับ photoelectric และ Compton



ภาพที่ 6.11 อันตรกิริยาของรังสีเอ็กซ์กับสสาร

รังสีเอ็กซ์มีลักษณะคล้ายรังสีแกมมา ดังนั้นเมื่อรังสีเหล่านี้ผ่านเข้าไปในวัตถุจะเกิดปรากฏการณ์หลาย ๆ อย่าง เช่น การดูดกลืน (absorption) การเลี้ยวเบน (diffraction) การเรืองรังสีเอ็กซ์ (fluorescence) หรือเกิดอันตรกิริยากับวัตถุทำให้วัตถุนั้นเกิดไอออนไนเซชัน



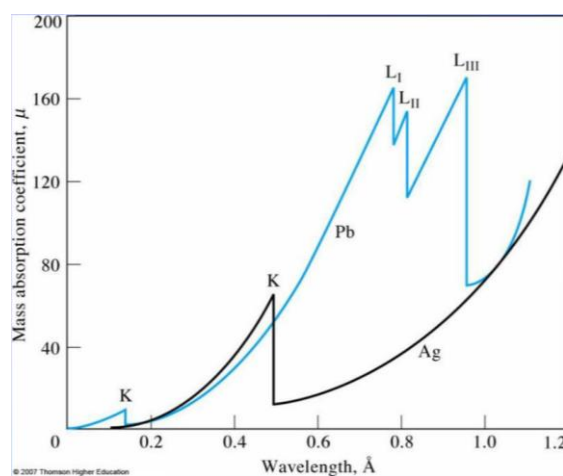
ภาพที่ 6.12 อันตรกิริยาของรังสีเอ็กซ์กับวัตถุ

2.1) การดูดกลืนรังสีเอ็กซ์

เมื่อให้ลำรังสีเอ็กซ์ผ่านแคบ ผ่านวัตถุที่เป็นชั้นบาง ๆ ความเข้มหรือกำลังของรังสีเอ็กซ์จะลดลงเนื่องจากถูกดูดกลืนและเกิดการกระเจิง แต่ผลที่เกิดจากการกระเจิงสำหรับธาตุเบา ๆ นั้นจะมีผลน้อยมาก ดังนั้นหากพลังงานของรังสีเอ็กซ์มีค่ามากพอที่จะเอาชนะแรงยึดเหนี่ยว (binding energy) ของอิเล็กตรอนในแต่ละชั้นพลังงาน อิเล็กตรอนเหล่านั้นจะถูกทำให้หลุดออกจากอะตอม ทำให้เกิดลักษณะฟีกหรือขอบการดูดกลืน (absorption edges) ที่เฉพาะตัว

กระบวนการดูดกลืนของรังสีเอกซ์เกิดจากพลังงานจลน์ของโฟโตอิเล็กตรอนที่มีค่ามากพอชนอิเล็กตรอนวงในสุดหลุดออกมาทำให้เกิดไอออนในสถานะกระตุ้น โอกาสของการดูดกลืนมีค่าสูงสุดเมื่อพลังงานของโฟโตอิเล็กตรอนมีค่าเท่ากับพลังงานที่ต้องใช้ในการดึงอิเล็กตรอนจากวงในสุดของอะตอม (พลังงานจลน์ของอิเล็กตรอนที่หลุดออกมามีค่าเป็นศูนย์)

ภาพที่ 6.13 แสดงสเปกตรัมดูดกลืนของตะกั่วและซิลเวอร์คล้ายกับสเปกตรัมเปล่งออก สเปกตรัมดูดกลืนของรังสีเอกซ์มีเพียง 2-3 พีก ความยาวคลื่นของพีกนี้มีค่าเฉพาะขึ้นกับชนิดของธาตุ แต่ไม่ขึ้นกับสภาพทางเคมี สเปกตรัมดูดกลืนรังสีเอกซ์เห็นได้ชัดและไม่ต่อเนื่อง เรียกว่า แอ็บซอร์บชันเอจ (absorption edge) กล่าวคือ บริเวณความยาวคลื่นที่มีการเปลี่ยนแปลงการดูดกลืนมากที่สุด ค่าการดูดกลืนลดลงทันทีเมื่อความยาวคลื่นเปลี่ยนไปเล็กน้อย



ภาพที่ 6.13 สเปกตรัมดูดกลืนของตะกั่วและซิลเวอร์

ภาพที่ 6.13 สเปกตรัมดูดกลืนของตะกั่วมี 4 พีก ดังนี้

พีกแรกเกิดที่ความยาวคลื่น 0.14 อังสตรอม (Å) ซึ่งสอดคล้องกับพลังงานที่ทำให้อิเล็กตรอนในวง K (K-shell) หลุดออกมา

- ถ้าความยาวคลื่นของรังสีเอกซ์มากกว่า 0.14 Å (พลังงานต่ำลง) รังสีจะไม่มีพลังงานมากพอที่จะดึงอิเล็กตรอนจากวง K ออกมาได้ ส่งผลให้ค่าการดูดกลืน (absorbance) ลดลงอย่างชัดเจนทันที เรียกว่า K-absorption edge
- เมื่อความยาวคลื่นต่ำกว่า 0.14 Å (พลังงานสูงขึ้น) แม้จะไม่มีเกิด K-edge ใหม่ แต่พลังงานส่วนเกินที่ได้รับจะกลายเป็นพลังงานจลน์ของโฟโตอิเล็กตรอน ที่หลุดออกมาจาก K-shell พลังงานจลน์ของโฟโตอิเล็กตรอนจะเพิ่มขึ้นต่อเนื่อง เมื่อความยาวคลื่นของรังสีลดลง

พีกถัดมา ที่พบในสเปกตรัมเกิดจากอิเล็กตรอนในวง L (L-shell) ของตะกั่วถูกทำให้หลุดออกมา

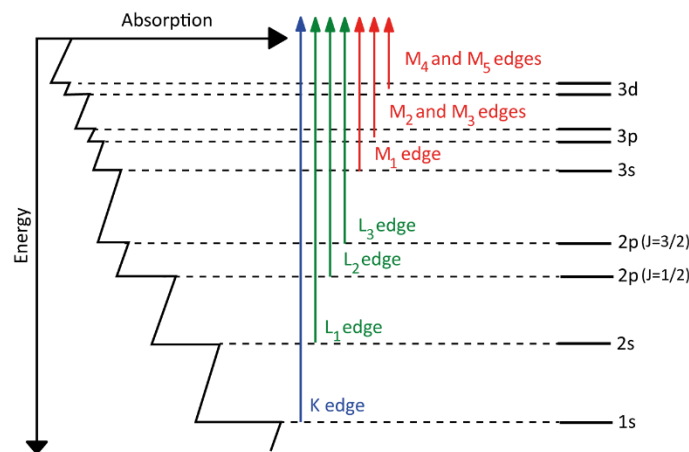
- L-shell มี 3 ระดับย่อย (L_I , L_{II} , L_{III}) ซึ่งเกี่ยวข้องกับออร์บิทัล p_x , p_y และ p_z ที่มีพลังงานต่างกัน

- จึงปรากฏเป็น 3 พีกย่อยของ L-edge (L_I , L_{II} , L_{III}) ในย่านความยาวคลื่นที่มากกว่า K-edge

นอกจากนี้ อาจพบพีกเพิ่มเติมที่เกิดจากอิเล็กตรอนในวง M (M-shell) หลุดออกมา โดยพีกนี้จะอยู่ที่ความยาวคลื่นมากกว่าพีกของ L-edge เนื่องจาก M-shell มีพลังงานยึดเหนี่ยวน้อยกว่า L-shell

ส่วน K-absorption edge ของเงินเกิดที่ 0.485 อังสตรอม พีกของเงินเกิดที่ความยาวคลื่นมากกว่าพีกของตะกั่ว เนื่องจากเงินมีเลขเชิงอะตอมน้อยกว่าตะกั่ว

ภาพที่ 6.14 ซึ่งแสดงสเปกตรัมการดูดกลืน และพีก absorption edge ซึ่งแสดงถึงอิเล็กตรอนในเชลล์ (shell) หลุดออกจากอะตอมกลายเป็นไอออน

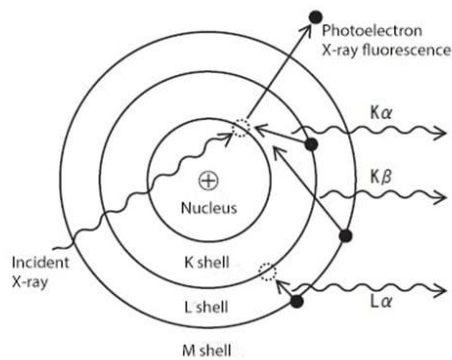


ภาพที่ 6.14 แผนภาพการแทรกซึ้นใน X-ray absorption spectroscopy (XAS)

2.2) การเรืองรังสีเอ็กซ์

การทำให้อิเล็กตรอนในวงโคจรที่อยู่ใกล้นิวเคลียส เช่น วงโคจร K และ L เกิดไอออไนซ์ (ionization) คือการทำให้อิเล็กตรอนหลุดออกจากอะตอมโดยการยิงรังสีปฐมภูมิ (primary radiation) เข้าไป อิเล็กตรอนที่หลุดออกมานี้ เรียกว่า โฟโตอิเล็กตรอน (photoelectron)

การเกิดโฟโตอิเล็กตรอนทำให้เกิดที่ว่างขึ้น (vacancy) ซึ่งจะอาศัยช่วงเวลาเร็วมาก และจะมีผลทำให้อิเล็กตรอนในวงโคจรถัดไปซึ่งมีพลังงานสูงกว่าเข้ามาแทนที่พร้อมกับปลดปล่อยพลังงานส่วนเกินออกมาในรูปของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า เรียกว่า รังสีเอ็กซ์เรือง (fluorescent X-rays) และเรียกกระบวนการการเกิดรังสีเอ็กซ์เรืองว่า การเรืองรังสีเอ็กซ์ (X-ray fluorescence) เนื่องจากพลังงานของรังสีเอ็กซ์เรืองนั้นมีค่าเฉพาะสำหรับธาตุแต่ละชนิด จึงเรียกว่า รังสีเอ็กซ์เฉพาะตัว



ภาพที่ 6.15 การเกิดรังสีเอกซ์เรือง

พลังงานของรังสีเอกซ์ที่เกิดขึ้นมีค่าเฉพาะสำหรับธาตุแต่ละธาตุคือมีค่าเท่ากับความแตกต่างระดับพลังงานของอิเล็กตรอนในวงโคจรชั้นนอกที่เข้ามาแทนที่กับระดับพลังงานอิเล็กตรอนชั้นในที่เกิดว่างลง ซึ่งสามารถเขียนเป็นสมการได้ดังนี้

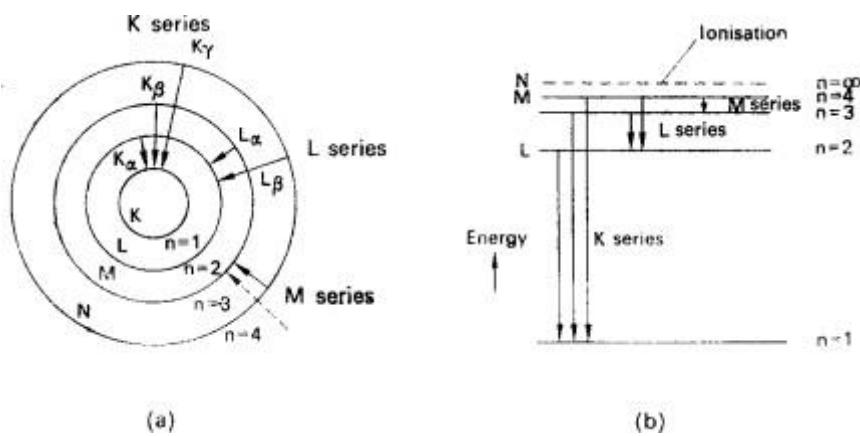
$$E_x = E_i - E_f$$

เมื่อ E_x = พลังงานของรังสีเอกซ์

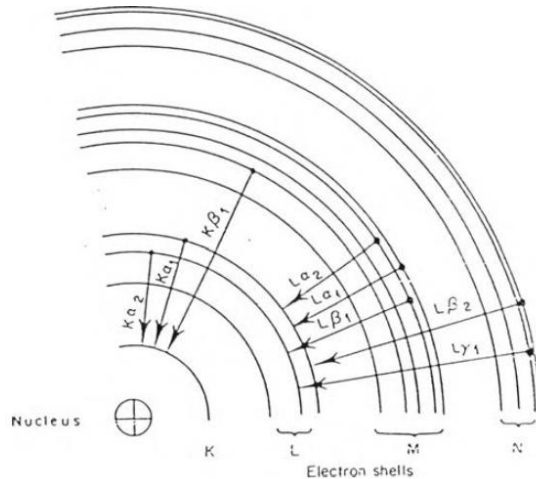
E_i = ระดับพลังงานของอิเล็กตรอนในวงโคจรชั้นนอกที่เข้าไปแทนที่

E_f = ระดับพลังงานของอิเล็กตรอนในวงโคจรที่เกิดว่างขึ้น

เราจะเรียกชื่อรังสีเอกซ์ตามเชลล์ (shell) หรือวงโคจรที่เกิดที่ว่างขึ้น เช่น วงโคจร K เกิดที่ว่างขึ้น อิเล็กตรอนในวงโคจรอื่น ๆ เข้ามาแทนที่และปล่อยรังสีเอกซ์ออกมาเราจะเรียกรังสีเอกซ์นั้นว่า K X-rays. และนอกจากนี้ ในชั้นหนึ่ง ๆ ยังแบ่งเป็นชั้นย่อย (subshell) อีก มีจำนวน $(2n-1)$ subshell เมื่อ n เป็นเลขควอนตัมหลัก (principal quantum number) มีค่าเป็นเลขจำนวนเต็มบวก ตั้งแต่ 1, 2, 3,... ดังนั้น K, L, M.... จะมีวงโคจรย่อยได้ 1, 3, 5.. ตามลำดับ ทำให้เห็นว่าพลังงานเฉพาะตัวในวงโคจรหนึ่ง ๆ สามารถมีได้หลายค่า ดังภาพที่ 6.16 และ 6.17



ภาพที่ 6.16 รังสีเอกซ์ตามวงโคจร (shell)



ภาพที่ 6.17 รังสีเอกซ์ตามวงโคจรย่อย (subshell)

2.3) การเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์

การเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ (X-ray diffraction) เป็นเทคนิคพื้นฐานในการศึกษาความเป็นผลึกและลักษณะการจัดเรียงตัวของอะตอมองค์ประกอบต่าง ๆ ภายในโครงสร้างผลึกของสาร โดยพบว่ารูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ที่ปรากฏนั้นมีความจำเพาะซึ่งสามารถใช้ในการระบุอัตลักษณ์ของผลึกของสารแต่ละชนิด หรือองค์ประกอบ รวมถึงความบริสุทธิ์ของสาร

ภายในระบบผลึกหนึ่ง ๆ ประกอบด้วยระนาบผลึก (lattice planes) ซึ่งเป็นระนาบสมมติที่พาดผ่านบริเวณที่มีความหนาแน่นของอิเล็กตรอนสูง ซึ่งโดยทั่วไปแล้วเป็นบริเวณที่พบอะตอมของธาตุองค์ประกอบภายในโครงสร้างผลึก เมื่อพิจารณาระนาบผลึกในระบบเดียวกันจะพบว่าระนาบผลึกเหล่านี้ จะเรียงขนานกันอย่างเป็นระเบียบ โดยมีระยะห่างระหว่างระนาบผลึกชนิดเดียวกัน (d-spacing) เป็นค่าที่แน่นอนและมีความจำเพาะในแต่ละชนิดผลึก เมื่อรังสีเอกซ์ตกกระทบระนาบผลึกชุดใด ๆ จะพบการกระเจิงของรังสีเอกซ์ที่เป็นไปตามเงื่อนไขของการเกิดการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ได้ ก็ต่อเมื่อเป็นการกระเจิงแบบอนุรักษพลังงานและทำให้เกิดการแทรกสอดกันแบบเสริม ซึ่งทำให้สามารถระบุความสัมพันธ์ระหว่างค่ามุมของการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ (Bragg angle, or theta) ที่มีค่าจำเพาะต่อระยะห่างระหว่างระนาบผลึกหนึ่ง ๆ ตามสมการของแบรกก์ (Bragg's equation) ดังนี้

$$n\lambda = 2d\sin\theta \quad \dots(6.2)$$

เมื่อ d = ระยะห่างระหว่างระนาบของผลึก

θ = มุมตกกระทบของรังสีเอกซ์

n = ค่าตัวเลขจำนวนเต็มบวกใด ๆ เช่น 1, 2, 3...

λ = ความยาวคลื่นของรังสีเอกซ์

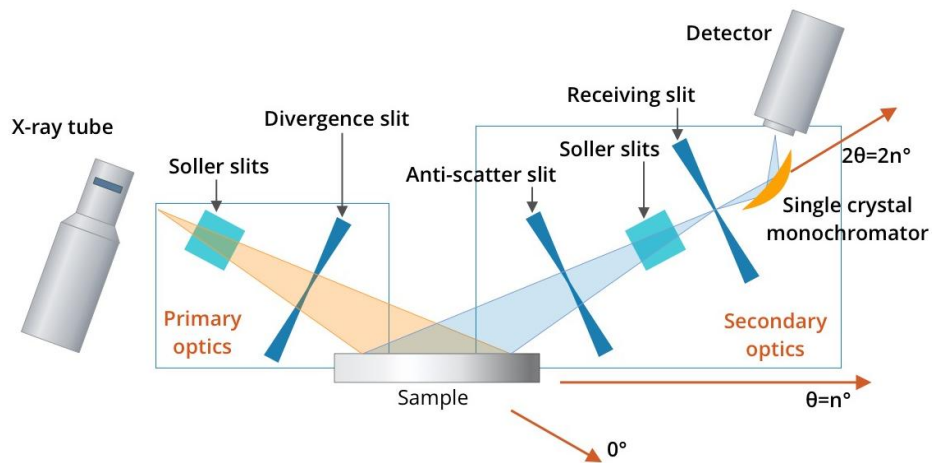
ในการวัดการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ของสารที่มีลักษณะเป็นผงผลึกขนาดเล็ก (polycrystalline powder) ซึ่งจะประกอบด้วยผลึกเดี่ยวขนาดเล็กจำนวนมากเรียงตัวกันแบบกระจาย จะพบสัญญาณการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ที่สัมพันธ์กับระนาบผลึกชุดหนึ่ง ๆ ด้วยมุมของการเลี้ยวเบนที่มีค่าเฉพาะตัว แต่ทิศทางของการเลี้ยวเบนจะเกิดขึ้นในทุกทิศทางเนื่องจากเป็นผลรวมของ

การเลี้ยวเบนของผลึกขนาดเล็กที่มีทิศทางการจัดวางของแต่ละผลึกต่อทิศทางที่รังสีเอกซ์ตกกระทบอย่างกระจาดกระจาย ส่งผลให้รูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ของสารตัวอย่างที่เป็นผงผลึกจึงมีลักษณะเป็นโคนของการเลี้ยวเบน (Debye diffraction cones) กระจายออกจากสารตัวอย่างอย่างต่อเนื่องด้วยมุมการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ตามสมการของแบรกก์ นอกจากนี้ ในกรณีที่สารตัวอย่างที่เป็นฟิล์มบางของผลึกที่เคลือบอยู่บนผิวของวัสดุรองรับอาจเกิดการจัดเรียงตัวของทิศทางของผลึกขนาดเล็กในทิศทางใดทิศทางหนึ่ง (preferred orientation) จึงทำให้โคนของการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์มีรูปร่างไม่สม่ำเสมอและมีความเข้มเฉพาะจุดที่สัมพันธ์กับทิศทางการจัดเรียงตัวของผลึกขนาดเล็กนั้น ๆ บนพื้นผิวของวัสดุรองรับ

6.1.2 เทคนิค X-ray Diffraction

เครื่องวิเคราะห์การเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-ray diffractometer) ใช้ในการวิเคราะห์สมบัติเชิงโครงสร้างของวัสดุที่ไม่ทำลายตัวอย่าง โดยอาศัยหลักการการกระเจิงของรังสีเอกซ์เมื่อผ่านเข้าสู่โครงสร้างผลึกของวัสดุ อะตอมภายในผลึกจะทำหน้าที่กระเจิงรังสีเอกซ์ออกมาในรูปแบบเฉพาะ ซึ่งสามารถตรวจวัดและวิเคราะห์ได้โดยอาศัยกฎของแบรกก์ (Bragg's Law) กล่าวคือ เมื่อรังสีเอกซ์ตกกระทบกับระนาบผลึก ภายในผลึกที่มุมตกกระทบรังสีเอกซ์จะเกิดการสะท้อนที่มุมสะท้อนเท่ากับมุมตกกระทบ ทำให้มีการนำมาใช้ศึกษารูปแบบโครงสร้างผลึกของสารตัวอย่าง ซึ่งผลึกของสารตัวอย่างแต่ละชนิดจะมีขนาดของเซลล์หน่วย (unit cell) ที่ไม่เท่ากัน ทำให้รูปแบบของการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ที่ได้ออกมาแตกต่างกัน สามารถหาความสัมพันธ์ของสารประกอบต่าง ๆ กับรูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ได้ ข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย XRD ครอบคลุมถึงลักษณะของเซลล์หน่วย เช่น ขนาดรูปร่าง และพารามิเตอร์โครงสร้าง รวมถึงการจัดเรียงตัวของอะตอมภายในผลึก และการระบุชนิดของเฟสที่มีอยู่ในตัวอย่าง จึงเหมาะอย่างยิ่งสำหรับการวิเคราะห์วัสดุที่มีลักษณะเป็นผลึก (crystalline materials) เช่น แร่ โลหะ เซรามิก หรือวัสดุอื่น ๆ ที่มีโครงสร้างผลึกชัดเจน

ภายในเครื่องวิเคราะห์การเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-ray diffractometer) ประกอบด้วย หลอดกำเนิดรังสีเอกซ์ ที่เป็นหลอดปิดและอยู่ภายใต้สถานะสุญญากาศ ซึ่งรังสีเอกซ์จะถูกสร้างขึ้นโดยให้กระแสไฟฟ้าแก่เส้นลวด (filament) ที่อยู่ภายในหลอดกำเนิดรังสีเอกซ์ทำให้เส้นลวดร้อนขึ้นและก่อให้เกิดการปลดปล่อยอิเล็กตรอนออกจากเส้นลวด อิเล็กตรอนเหล่านี้จะถูกเร่งด้วยความต่างศักย์สูง ทำให้เคลื่อนที่ด้วยความเร็วสูงจากเส้นลวดที่เป็นขั้วแคโทดเข้าชนขั้วแอโนด ซึ่งโดยทั่วไปทำจากโลหะทองแดง อิเล็กตรอนที่พุ่งเข้าชนจะทำให้อิเล็กตรอนวงในสุด (K-shell) ของอะตอมทองแดงหลุดออกไปจึงเกิดเป็นช่องว่างขึ้น เป็นผลให้อิเล็กตรอนวงนอกที่อยู่ถัดมา (L- และ M-shell) เกิดการเปลี่ยนระดับพลังงานลงมาแทนที่ช่องว่างนั้น โดยการคายรังสีเอกซ์ออกมาจากหลอดกำเนิดรังสีเอกซ์ไปยังสารตัวอย่าง และรังสีเอกซ์ที่กระเจิงออกจากสารตัวอย่างจะถูกตรวจจับด้วย อุปกรณ์ตรวจวัดรังสีเอกซ์ (detector)



ภาพที่ 6.18 แผนภาพเครื่องวิเคราะห์การเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์

ในด้านการประยุกต์ใช้งาน XRD นิยมใช้ในหลายสาขา เช่น การระบุชนิดของแร่ในตัวอย่างดิน การวิเคราะห์เฟสของโลหะหรือเซรามิกในงานวิจัยวัสดุศาสตร์ การตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสาร และการศึกษาการเปลี่ยนแปลงเฟสของวัสดุต่าง ๆ ตัวอย่างที่พบได้ทั่วไปคือการวิเคราะห์โครงสร้างผลึกของควอตซ์ในตัวอย่างดิน หรือการตรวจสอบการจัดเรียงอะตอมในเซรามิกที่ผ่านกระบวนการเผา

6.1.3 เทคนิค X-ray Fluorescence (XRF)

1) หลักการเทคนิค XRF

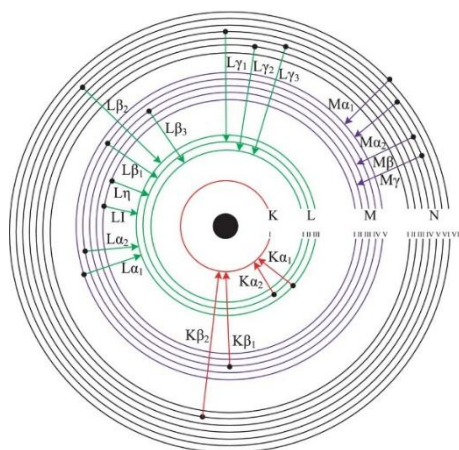
เทคนิค X-ray fluorescence (XRF) เป็นเทคนิคที่อาศัยหลักการกระตุ้นพลังงานแก่สารตัวอย่าง ซึ่งก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงระดับชั้นพลังงานของอิเล็กตรอนในอะตอมสารตัวอย่าง ทำให้เกิดการคายพลังงานอยู่ในรูปของรังสีเอ็กซ์ เรียกว่า ฟลูออเรสเซนซ์รังสีเอ็กซ์ หรือ เรืองรังสีเอ็กซ์ เทคนิค XRF จะสามารถวิเคราะห์ผลได้ทั้งในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ

การวิเคราะห์เชิงคุณภาพเกิดจากสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่มีค่าพลังงานเฉพาะธาตุ หรือมีความยาวคลื่นเฉพาะตัว จึงทำให้สามารถบ่งบอกได้ถึงชนิดธาตุในสารตัวอย่างและความเข้ม (intensity) ของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์สามารถบ่งบอกผลในเชิงปริมาณธาตุที่มีอยู่ในสารตัวอย่างได้

การวิเคราะห์ผลเชิงปริมาณ สามารถทำได้โดยการสร้างกราฟมาตรฐาน (calibration curve) เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่วัดได้กับปริมาณความเข้มข้นของธาตุที่อยู่ในสารมาตรฐาน โดยกราฟนี้จะสร้างขึ้นมาจากสารมาตรฐานที่ทราบค่าความเข้มข้นของธาตุที่แน่นอน เมื่อต้องการหาปริมาณความเข้มข้นของธาตุในสารตัวอย่างจะสามารถนำค่าความเข้มฟลูออเรสเซนซ์ของสารตัวอย่างมาเทียบในกราฟมาตรฐาน ซึ่งจะช่วยให้ทราบค่าความเข้มข้นธาตุที่สนใจในสารตัวอย่างได้ ดังนั้นในการสร้างกราฟมาตรฐานจึงจำเป็นต้องมีการเตรียมสารมาตรฐานเพื่อนำมาใช้เปรียบเทียบ ซึ่งลักษณะของสารตัวอย่างและสารมาตรฐานควรมีลักษณะเหมือนกัน กล่าวคือ ควรมีสถานะและองค์ประกอบเดียวกันในเนื้อสาร วิธีที่นิยมใช้ในการเตรียมสารมาตรฐานเพื่อใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐาน จะสามารถเตรียมได้ด้วยวิธีการหลอม (fusion method) และเตรียมด้วยวิธีอัดให้เป็นเม็ด (pressed powder) ดังนั้น ในการทดลองครั้งนี้จะศึกษาผลการวิเคราะห์ในเชิงคุณภาพของ

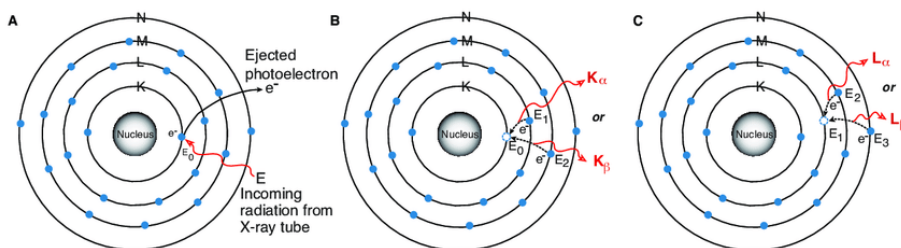
สารมาตรฐานที่ถูกเตรียมด้วยวิธีต่างชนิด รวมไปถึงผลการวิเคราะห์ในเชิงปริมาณ โดยจะศึกษาผลของการเตรียมสารมาตรฐานต่างวิธีที่มีผลต่อลักษณะของกราฟมาตรฐาน ตามลำดับ

วิธีเอกซ์เรย์ฟลูออเรสเซนซ์ เป็นเทคนิคการวิเคราะห์ชนิดของธาตุและปริมาณธาตุในสารตัวอย่าง โดยอาศัยหลักการที่อิเล็กตรอนในวงโคจรของอะตอมเปลี่ยนระดับชั้นที่มีพลังงานสูงไปยังชั้นที่มีพลังงานต่ำกว่า และคายพลังงานออกมาในรูปของรังสีเอกซ์ที่มีลักษณะเฉพาะตัว (characteristic X ray) ของแต่ละธาตุ อิเล็กตรอนในวงโคจรของอะตอม แบ่งเป็นชั้น (shells) โดยชั้นในสุด ได้แก่ ชั้น K มีระดับพลังงาน (energy level) ต่ำสุด ถัดออกมาเป็นชั้น L, M, N, ... ซึ่งจะมีระดับพลังงานสูงขึ้นตามลำดับ นอกจากนี้อิเล็กตรอนในชั้น K ที่มีระดับพลังงานเดียวแล้ว อิเล็กตรอนในชั้นอื่น ยังแบ่งเป็นชั้นย่อย ได้แก่ L_I, L_{II}, L_{III} และ $M_I, M_{II}, M_{III}, M_{IV}, M_V$ ซึ่งอะตอมของธาตุแต่ละชนิด จะมีความแตกต่างของพลังงานของอิเล็กตรอนในแต่ละชั้นไม่เท่ากัน อิเล็กตรอนในแต่ละชั้นของวงโคจรมีพลังงานยึดเหนี่ยว (binding energy) ที่ได้รับจากนิวเคลียสแตกต่างกัน อิเล็กตรอนวงในที่อยู่ใกล้ นิวเคลียสจะได้รับพลังงานยึดเหนี่ยวมากกว่าอิเล็กตรอนวงนอก ๆ และธาตุที่มีเลขเชิงอะตอม (Z) สูงขึ้น จะมีพลังงานยึดเหนี่ยวต่ออิเล็กตรอนมากขึ้น



ภาพที่ 6.19 สัญลักษณ์ของรังสีเอกซ์เฉพาะตัวจากการเปลี่ยนชั้นของอิเล็กตรอน

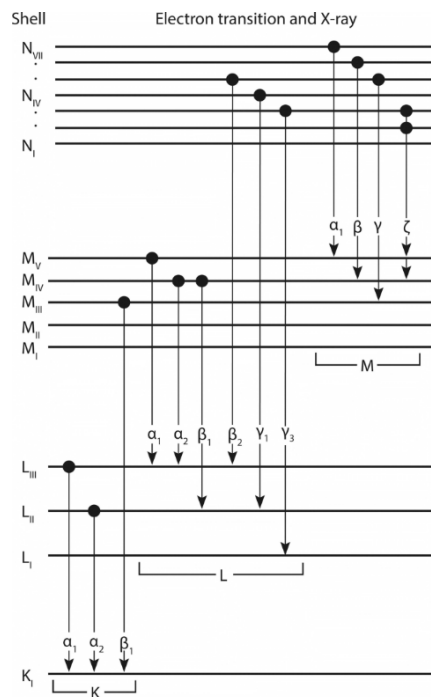
เมื่อยิงพลังงานภายนอก (รังสีเอกซ์ รังสีแกมมา อิเล็กตรอน หรือโปรตอน) ไปยังอะตอมของธาตุ จะชนกับอิเล็กตรอนในวงโคจรและทำให้อิเล็กตรอนหลุดออกไปจากอะตอม ทำให้ตำแหน่งนั้นว่าง อิเล็กตรอนในชั้นที่มีพลังงานสูงกว่าจะเข้ามาแทนที่ เช่น จากชั้น L ไปชั้น K จากชั้น M ไปชั้น K หรือจากชั้น M ไปชั้น L โดยคายพลังงานส่วนเกินออกมาในรูปของรังสีเอกซ์เฉพาะตัว



ภาพที่ 6.20 รังสีเอกซ์ (ก) อิเล็กตรอนในชั้น K หลุดออกไปจากวงโคจร (ข) อิเล็กตรอนในชั้น L หรือ M ที่มีพลังงานสูงกว่าลงมาแทนที่ และ (ค) รังสีเอกซ์เฉพาะตัว

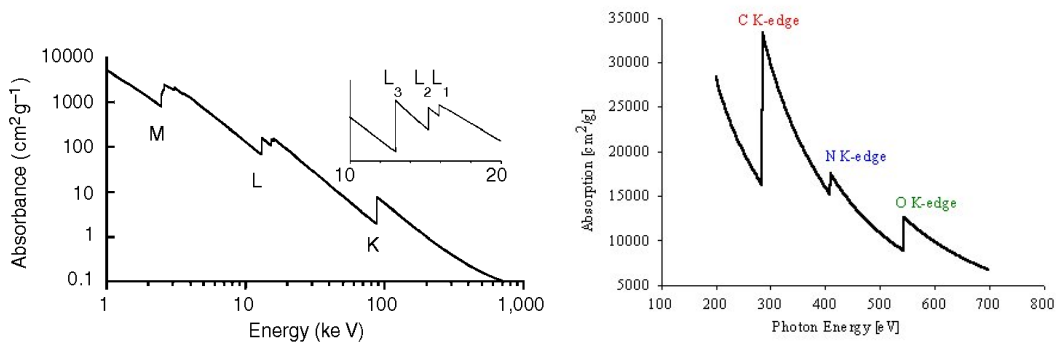
รังสีเอกซ์เฉพาะตัว (characteristic X-ray) ที่เกิดจากอิเล็กตรอนในชั้นที่สูงกว่า ลงไปแทนที่ว่างในชั้น K เรียกว่า K X-ray และเรียกว่า L X-ray ถ้าเป็นรังสีเอกซ์ที่เกิดจากอิเล็กตรอน ลงไปแทนที่ว่างในชั้น L โดยส่วนใหญ่อิเล็กตรอนที่หลุดออกไปจากวงโคจรจะเป็นอิเล็กตรอนในชั้น K ทำให้รังสีเอกซ์เฉพาะตัวที่คายออกมา มีความเข้มของ K X-ray มากกว่า L X-ray รังสีเอกซ์เฉพาะตัวจากอิเล็กตรอนในชั้นที่สูงกว่าหนึ่งระดับจะกำกับด้วยเครื่องหมาย α เช่น อิเล็กตรอนจากชั้น L ไป K = $K\alpha$ หรือ อิเล็กตรอนจากชั้น M ไป L = $L\alpha$

รังสีเอกซ์เฉพาะตัวจากอิเล็กตรอนในชั้นย่อยของแต่ละระดับที่ลงไปแทนที่ว่าง จะกำกับเพิ่มด้วยหมายเลข เช่น อิเล็กตรอนจากชั้นย่อยของ L_{III} ไป K = $K\alpha_1$ และ L_{II} ไป K = $K\alpha_2$ หรือ M_V ไป L_{III} = $L\alpha_1$ และ M_{IV} ไป L_{III} = $L\alpha_2$ นอกจากนี้ รังสีเอกซ์จากอิเล็กตรอนจากชั้นอื่นที่ลงมาแทนที่ จะมีเครื่องหมายและหมายเลขกำกับแตกต่างกัน เช่น $K\beta_1$, $K\beta_2$, $L\beta_1$, $L\beta_2$, $L\alpha_1$, $L\alpha_2$ ดังภาพที่ 6.21



ภาพที่ 6.21 รังสีเอกซ์เฉพาะตัวจากอิเล็กตรอนในชั้นย่อย

รังสีที่ทำให้อิเล็กตรอนหลุดจากอะตอม จะต้องมีความพลังงานสูงกว่าพลังงานยึดเหนี่ยวของอิเล็กตรอน หรือ แอ็บซอร์บชันเอจ (absorption edge) โดยจะมีสัมประสิทธิ์ในการเกิดปฏิกิริยาสูงสุดเมื่อมีความถี่ใกล้เคียงกับ absorption edge และจะมีค่าลดลงเมื่อรังสีที่เข้าทำปฏิกิริยามีพลังงานสูงขึ้น โดยมีค่าแตกต่างกันสำหรับอิเล็กตรอนแต่ละชั้นและแตกต่างกันในแต่ละธาตุ ดังภาพ 6.23



ภาพที่ 6.22 แอ็บซอร์บชันเอ็ดจ์ของอิเล็กตรอนในชั้น K, L, M และแอ็บซอร์บชันเอ็ดจ์ของคาร์บอน ไนโตรเจนและออกซิเจน

การหาชนิดของธาตุ สามารถทำได้โดยการวิเคราะห์พลังงานของรังสีเอกซ์เฉพาะตัว ขณะที่การหาปริมาณธาตุ สามารถทำได้โดยการวิเคราะห์ความเข้มของรังสีเอกซ์ที่คายออกมา ตารางที่ 6.1 แสดงค่าของ absorption edge ของอิเล็กตรอนในชั้น K และชั้น L และค่าของพลังงานรังสีเอกซ์เฉพาะตัวของแต่ละธาตุ

การวิเคราะห์โดยวิธีเอกซเรย์ฟลูออเรสเซนซ์ โดยทั่วไปจะทำให้อิเล็กตรอนหลุดออกจากอะตอม โดยใช้รังสีเอกซ์พลังงานสูงจากหลอดรังสีเอกซ์ (X-ray tube) หรือไอโซโทปรังสี (radio isotope) ที่ให้รังสีเอกซ์หลอดรังสีเอกซ์ประกอบด้วยไส้หลอด (filament) ที่เป็นแคโทด (cathode) หรือขั้วลบ และแอโนด (anode) หรือขั้วบวกที่มีความต่างศักย์สูง (high voltage) ทำด้วยโลหะที่มีเลขเชิงอะตอมสูงและทนความร้อนได้ดี เช่น W, Mo หรือ Rh เมื่อป้อนไฟฟ้าเข้าไป จะทำให้เกิดความร้อนที่แคโทดและมีอิเล็กตรอนหลุดออกมา ความต่างศักย์จะทำให้อิเล็กตรอนเคลื่อนที่เข้าชนแอโนดที่เป็นเป้า (target) และปล่อยรังสีเอกซ์แบบต่อเนื่อง หรือเบรมสตราห์ลุง (Bremsstrahlung) ออกมา

ตารางที่ 6.1 ขอบการดูดกลืนและพลังงานของรังสีเอกซ์เฉพาะตัว (keV) ของธาตุ

Element	Z	K _{abs}	K _{α₁}	K _{β₁}	L-III _{abs}	L _{α₁}	L _{β₁}
F	9	0.687	0.677				
Na	11	1.072	1.041	1.067			
Mg	12	1.305	1.253	1.295			
Al	13	1.559	1.486	1.553			
Si	14	1.838	1.740	1.829			
P	15	2.142	2.013	2.136			
S	16	2.472	2.307	2.464			
Cl	17	2.822	2.622				
Ar	18	3.202	2.957	3.190			
K	19	3.607	3.313	3.589			
Ca	20	4.038	3.691	4.012	0.346	0.341	0.345
Sc	21	4.496	4.090	4.460	0.403	0.395	0.400

Element	Z	K _{abs}	K _{α₁}	K _{β₁}	L-III _{abs}	L _{α₁}	L _{β₁}
Ti	22	4.965	4.510	4.931	0.454	0.452	0.458
V	23	5.465	4.951	5.426	0.513	0.511	0.519
Cr	24	5.989	5.414	5.946	0.574	0.573	0.583
Mn	25	6.540	5.898	6.489	0.641	0.637	0.649
Fe	26	7.112	6.403	7.057	0.709	0.705	0.718
Co	27	7.709	6.929	7.648	0.779	0.776	0.791
Ni	28	8.333	7.477	8.263	0.855	0.851	0.869
Cu	29	8.979	8.046	8.904	0.932	0.930	0.950
Zn	30	9.659	8.637	9.570	1.021	1.012	1.034
Sr	38	16.105	14.163	15.833	1.940	1.806	1.871
Zr	40	17.998	15.772	17.665	2.223	2.042	2.124
Ba	56	37.441	32.188	36.372	5.247	4.465	4.827
La	57	38.925	33.436	37.795	5.483	4.650	5.041
Ce	58	40.449	34.714	39.251	5.724	4.839	5.261
Nd	60	43.571	37.355	42.264	6.208	5.229	5.721
Hf	72	65.351	55.781	63.222	9.561	7.898	9.021
Pb	82	88.006	74.965	84.922	13.035	10.550	12.612
Th	90	109.646	93.334	105.591	16.300	12.967	16.199
U	92	115.036	98.422	111.281	17.167	13.612	17.217

2) ระบบและส่วนประกอบเครื่อง XRF

2.1) ระบบกระจายความยาวคลื่น (wavelength dispersive X-ray fluorescence, WDX) เป็นระบบที่มีการแจกแจงพลังงานของรังสีเอกซ์ในผลึกเดี่ยว (single crystal) เช่น ลิเทียมฟลูออไรด์ (LiF) ซึ่งทำหน้าที่เลี้ยวเบนแยกพลังงานของรังสีเอกซ์เรียงที่ตกกระทบผลึกตามหลักการของคลื่นแบบเสริมและคลื่นแบบหักล้าง คลื่นที่สะท้อนออกจากผลึกจะเสริมกันเมื่อค่าความยาวคลื่น (λ) ของรังสีเอกซ์มีความสัมพันธ์กับมุมตกกระทบหรือมุมสะท้อนตามสมการของแบรกก์

$$2d\sin\theta = n\lambda$$

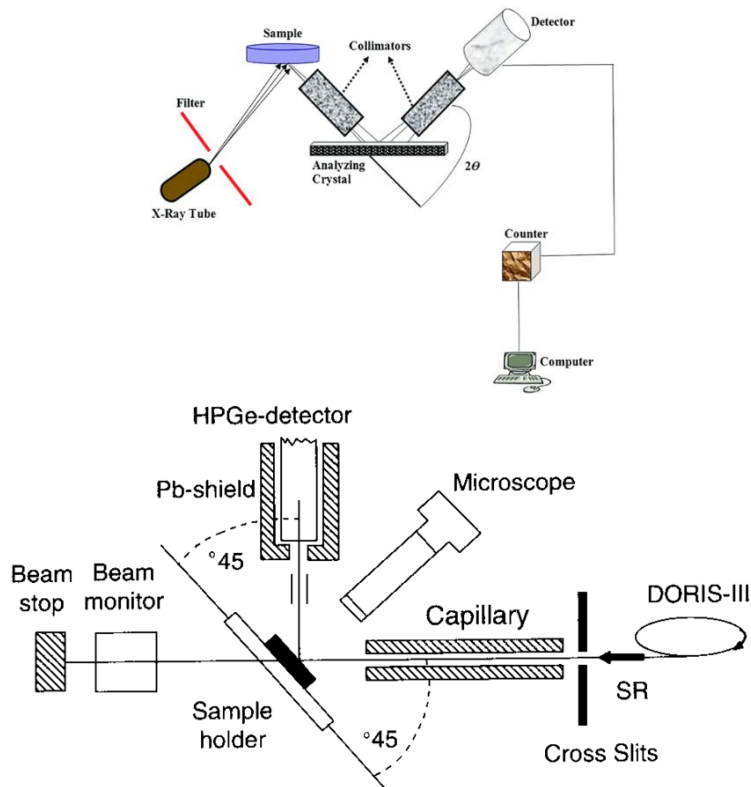
เมื่อ d คือ ระยะห่างระหว่างอะตอมของผลึก

θ คือมุมตกกระทบของรังสีเอกซ์

n คือค่าตัวเลขจำนวนเต็มบวกใด ๆ เช่น 1, 2, 3....

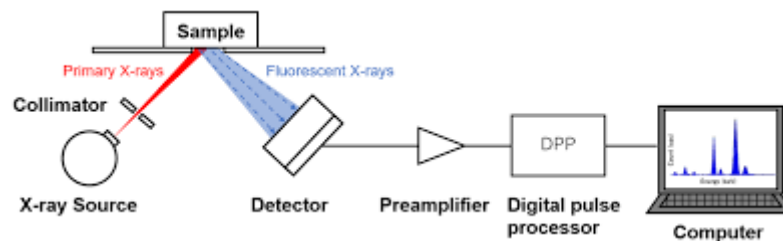
ระบบวิเคราะห์แบบ WDX ใช้หลอดรังสีเอกซ์เป็นต้นกำเนิดรังสีปฐมภูมิยิงรังสีเอกซ์ไปยังตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ รังสีเอกซ์เรียงของธาตุต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นเมื่อตกกระทบผลึกวิเคราะห์ (analyzing crystal) จะสะท้อนกระจายรังสีเอกซ์ไปที่มุมต่าง ๆ โดยมีหัววัดรังสีเคลื่อนที่อยู่รอบวงกลมที่มีผลึกเป็นจุดศูนย์กลาง เมื่อรังสีเอกซ์ทำมุมกับผลึกเท่ากับ θ หัววัดรังสีจะอยู่ที่มุม 2θ สเปกตรัมของรังสีเอกซ์ที่ได้จากระบบนี้เป็นกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มรังสีเอกซ์กับมุม 2θ ซึ่งมีความสามารถในการแยกพลังงานดีมาก โดยเฉพาะในช่วงต่ำกว่า 10 keV ลงมา หัววัดรังสีเอกซ์ที่

ใช้กับระบบนี้ส่วนใหญ่ใช้หัววัดรังสีเอกซ์แบบพรอพอร์ชันแนล (proportional X-ray detector) สำหรับรังสีเอกซ์พลังงานต่ำและใช้หัววัดรังสีเอกซ์แบบไบโซเดียมไอโอไดต์ (เทลเลียม) ชนิดบาง [thin NaI (TI)] สำหรับรังสีเอกซ์พลังงานสูง หัววัดรังสีแบบกึ่งตัวนำ ได้แก่ ซิลิกอน (ลิเทียม) [Si(Li)] และเจอร์เมเนียมบริสุทธิ์สูง (high purity germanium, HPGe) ซึ่งมีความสามารถในการแยกพลังงานดีกว่าไม่จำเป็นต้องใช้ในระบบนี้ เพราะผลึกวิเคราะห์ทำหน้าที่แยกพลังงานก่อนถึงหัววัดรังสีแล้ว



ภาพที่ 6.23 ระบบวิเคราะห์แบบ WDX

2.2) ระบบวิเคราะห์แบบกระจายพลังงาน (energy dispersive X-ray fluorescence, EDX) ระบบนี้ไม่ใช้ผลึกวิเคราะห์ในการกระจายเพื่อแยกพลังงานให้หัววัดรังสี แต่ใช้หัววัดรังสีทำการวัดรังสีเอกซ์เรืองที่เกิดจากตัวอย่างโดยตรง ความสามารถในการแยกพลังงานจึงขึ้นอยู่กับชนิดของหัววัดรังสีที่ใช้การที่ใช้หัววัดรังสีทำการวัดรังสีเอกซ์เรืองโดยตรงโดยไม่ใช้ผลึกวิเคราะห์ ทำให้การสูญเสียรังสีเอกซ์เรืองมีน้อยและสามารถวางหัววัดรังสีใกล้กับตัวอย่างได้ ซึ่งสามารถใช้แหล่งกำเนิดรังสีชนิดไอโซโทปรังสีได้ด้วย ระบบนี้จึงใช้แหล่งกำเนิดรังสีได้ทั้งหลอดกำเนิดรังสีเอกซ์และไอโซโทปรังสี เนื่องจากการวิเคราะห์ในระบบนี้แสดงผลออกมาในรูปพลังงาน



ภาพที่ 6.24 ระบบวิเคราะห์แบบกระจายพลังงาน

6.1.4 ปฏิบัติการทดสอบวัสดุและวัตถุดิบ

- 1) ปฏิบัติการทดสอบด้วยเทคนิค XRD
- 2) ปฏิบัติการทดสอบด้วยเทคนิค XRF
(ดูคู่มือปฏิบัติการ)

สรุปท้ายบทเรียน

รังสีเอ็กซ์ผ่านเข้าไปในวัตถุจะเกิดปรากฏการณ์หลาย ๆ อย่าง เช่น การดูดกลืน การเลี้ยวเบน การเรืองรังสีเอ็กซ์ หรือเกิดอันตรกิริยากับวัตถุทำให้วัตถุนั้นเกิดไอออนไนเซชัน เทคนิคการวิเคราะห์การเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์ (XRD) ใช้ในการวิเคราะห์สมบัติเชิงโครงสร้างของวัสดุที่ไม่ทำลายตัวอย่าง โดยอาศัยหลักการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ที่ตกกระทบผิวหน้าผลึกของสารตัวอย่างที่มุมต่าง ๆ กันโดยอาศัยหลักการของ Bragg's law ส่วนเทคนิค XRF เป็นเทคนิคที่อาศัยหลักการกระตุ้นพลังงานแก่สารตัวอย่าง ซึ่งก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงระดับชั้นพลังงานของอิเล็กตรอนในอะตอมสารตัวอย่าง ทำให้เกิดการคายพลังงานอยู่ในรูปของรังสีเอ็กซ์ เทคนิค XRF จะสามารถวิเคราะห์ผลได้ทั้งในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ

วิธีการสอนและกิจกรรม

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ใบกิจกรรม

สื่อการสอนและอุปกรณ์การสอน

1. หนังสือ/ตำรา
2. เอกสารประกอบการสอน
3. เอกสาร power point
4. <https://th.jeol.com/products/science/sx.php>
5. <https://www.atlearner.com/2020/03/what-is-x-ray.html>
6. <https://howradiologyworks.com/xrayproduction/>

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. นิพนธ์ ตั้งคณานุรักษ์ และคณิตา ตั้งคณานุรักษ์. (2547). *สเปกโทรสโกปีด้านการวิเคราะห์*. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
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. Davis. (2015, 30 September). *XRF Sample Preparation Methods/Procedure*. <https://www.911metallurgist.com/blog/sample-preparation-methods-for-xrf-analysis/>
6. *Generation of X-rays*. (n.d.).
<http://pd.chem.ucl.ac.uk/pdnn/inst1/xrays.htm>
7. Harris, D. C. (2010). *Quantitative Chemical Analysis* (8th ed.). W.H. Freeman and Company
8. Harvey, D. (2019). *Analytical Chemistry 2.1*. <https://chem.libretexts.org>
9. Nett, B. (n.d.). *X-ray Generation, pictorial Guide [Bremsstrahlung, Characteristic]*. <https://howradiologyworks.com/xrayproduction>
10. Robinson, J. W., Frame, E. M. S., & Frame G. M. (2021). *Instrumental Analytical Chemistry*. CRC Press
11. Takahashi, G. (2015) Sample preparation for X-ray fluorescence analysis III: pressed and loose powder methods. *The Rigaku Journal*, 31, 26-30.

หน่วยที่ 6

วิเคราะห์ด้วยเทคนิคทางเอ็กซ์เรย์และนิวเคลียร์

บทเรียน 6.2 นิวเคลียร์สเปกโทรสโกปี

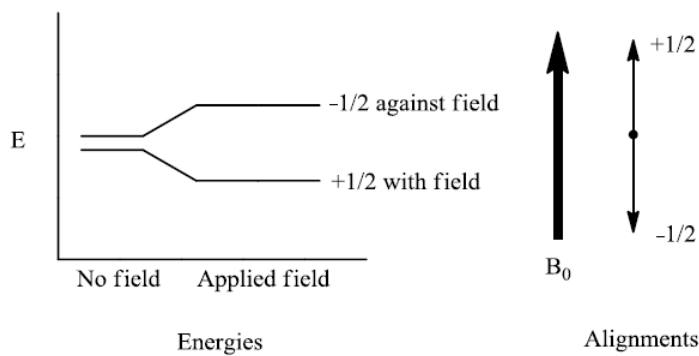
จุดประสงค์การสอน

- อธิบายนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ สเปกโทรสโกปี
- บอกส่วนประกอบเครื่อง NMR
- ปฏิบัติการทดสอบเชิงคุณภาพด้วย NMR

6.2.1 นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ สเปกโทรสโกปี

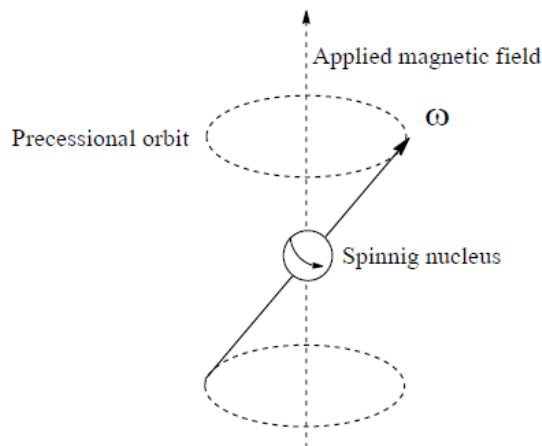
นิวเคลียสทุกชนิดมีประจุและสมบัติที่เรียกว่า เลขสปิน (spin quantum number) สามารถเขียนแทนด้วยสัญลักษณ์ I โดยเลขสปินจะขึ้นอยู่กับเลขเชิงมวล (mass number) และเลขเชิงอะตอม (atomic number) ของนิวเคลียสนั้น ๆ ปรากฏการณ์ NMR จะเกิดขึ้นได้เฉพาะกับนิวเคลียสที่มีเลขสปินมากกว่าศูนย์ ($I > 0$) ถ้านิวเคลียสมีเลขเชิงมวลและเลขเชิงอะตอมเป็นเลขคู่ เช่น ^{12}C หรือ ^{16}O ซึ่งมีเลขสปินเท่ากับศูนย์ ($I = 0$) จะไม่สามารถเกิดปรากฏการณ์ NMR ได้ แต่ถ้านิวเคลียสมีเลขเชิงมวล และ/หรือเลขเชิงอะตอมเป็นเลขคี่ ซึ่งจะมีเลขสปินมากกว่าศูนย์ ($I > 0$) ทำให้สามารถเกิดปรากฏการณ์ NMR ได้เช่น ^1H , ^2H , ^{13}C , ^{14}N , ^{17}O และ ^{19}F เป็นต้น การที่นิวเคลียสมีเลขสปินมากกว่าศูนย์ทำให้นิวเคลียสสามารถหมุนรอบตัวเองได้ ซึ่งจะทำให้มีสนามแม่เหล็กเกิดขึ้น ดังนั้นนิวเคลียสเหล่านี้จึงประพฤติตัวเหมือนกับแท่งแม่เหล็กเล็ก ๆ ที่มีแกนไปในทิศเดียวกับสปินของนิวเคลียส และเกิดแมกเนติกโมเมนต์ (magnetic moment) เขียนแทนด้วยสัญลักษณ์ μ

ในสภาวะปกติสปินของนิวเคลียสเหล่านี้จะมีพลังงานเท่ากัน สำหรับโปรตอนมีค่า I เท่ากับ $1/2$ จะมี spin state ได้ $2I+1 = 2 \times (1/2) + 1 = 2$ ทิศทางคือ ชี้นขึ้นและชี้นลงซึ่งมีพลังงานเท่ากัน แต่เมื่อมีสนามแม่เหล็กภายนอกมา กระทำจะส่งผลให้สปินของโปรตอนในแต่ละทิศมีพลังงานต่างกัน แบบแรกคือสปินในทิศต้านกับสนามแม่เหล็กภายนอก (ชี้นลง) จะมีระดับพลังงานสูงกว่าระดับพลังงานเดิม แบบที่สองคือสปินในทิศตามแกนสนามแม่เหล็กภายนอก (ชี้นขึ้น) จะมีระดับพลังงานต่ำกว่าระดับพลังงานเดิม ดังภาพที่ 6.25



ภาพที่ 6.25 แสดงการจัดเรียงตัวของสปินของโปรตอนเมื่ออยู่ในสนามแม่เหล็กภายนอก

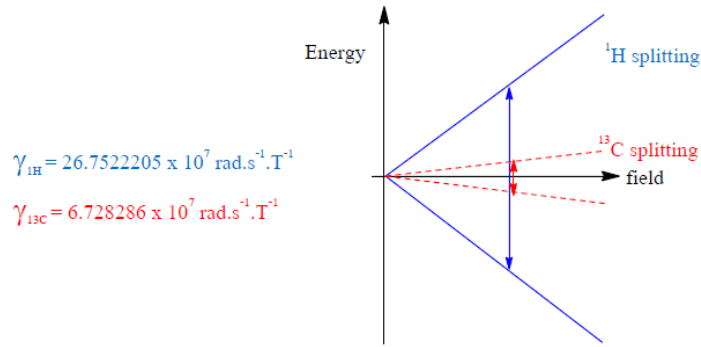
โปรตอนสามารถหมุนรอบตัวเองได้ การหมุนนี้จะทำให้โปรตอนสายเป็นวงกลมรอบแนวสนามแม่เหล็กภายนอก (B_0) ลักษณะเหมือนลูกข่าง ทำให้โปรตอนมีความถี่เชิงมุม (ω) ตามสมการของ Larmor โดยลักษณะการเคลื่อนที่แบบนี้เรียกว่า precession ดังภาพที่ 6.26



ภาพที่ 6.26 แสดงการเคลื่อนที่ของโปรตอนในสนามแม่เหล็ก

จากสมการของ Larmor กล่าวไว้ว่า $\omega = \gamma B_0$

เมื่อความเข้มของสนามแม่เหล็ก B_0 มีค่าเพิ่มมากขึ้นจะทำให้ความถี่เชิงมุม (ω) มีค่าเพิ่มมากขึ้น และเนื่องจากสมการ $\omega = 2\pi\nu$ มีความสัมพันธ์กับสมการ $\Delta E = h\nu$ จึงส่งผลให้ผลต่างของระดับพลังงานทั้งสอง (ΔE) มีค่าสูงขึ้น ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับค่า Gyromagnetic ratio (γ) ของแต่ละนิวเคลียสด้วย ดังภาพที่ 6.27



ภาพที่ 6.27 แสดงผลต่างของระดับพลังงานของ ^1H และ ^{13}C

เมื่อระดับพลังงานของสถานะการเกิดสปินของนิวเคลียสต่างกันจำนวนนิวเคลียสในแต่ละสถานะจึงต่างกันด้วย โดยสถานะที่มีพลังงานต่ำกว่าจะมีจำนวนนิวเคลียสมากกว่า ซึ่งสามารถคำนวณจำนวนโปรตอนที่วางตัวในสนามแม่เหล็กทั้งสองทิศทางได้โดยใช้สมการของ Boltzmann ดังนี้

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

เมื่อ N_{upper} = จำนวนโปรตอนที่วางตัวในทิศด้านสนามแม่เหล็กภายนอก

N_{lower} = จำนวนโปรตอนที่วางตัวในทิศตามสนามแม่เหล็กภายนอก

k = ค่าคงที่ของ Boltzmann (1.380×10^{-23} J/K)

T = อุณหภูมิ (K)

h = ค่าคงที่ของพลังค์ (6.624×10^{-34} J/sec)

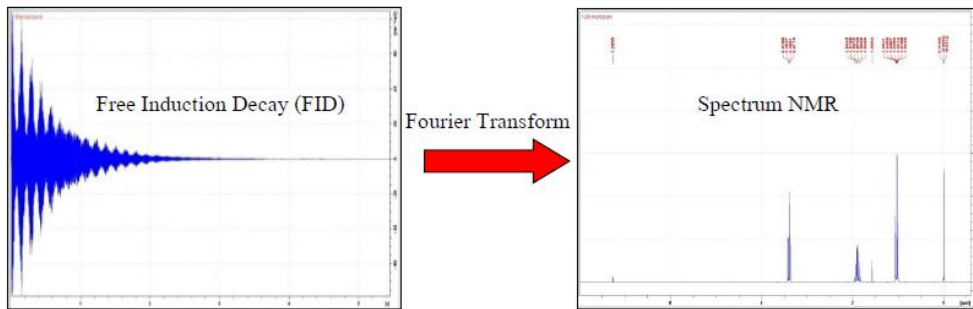
ν = ความถี่ (Hz)

ถ้ามีโปรตอนประมาณสองล้านตัววางตัวอยู่ในสนามแม่เหล็ก 300 MHz ที่อุณหภูมิ 298 K จากการคำนวณโดยใช้สมการของ Boltzmann พบว่ามีโปรตอนที่วางตัวในทิศตามสนามแม่เหล็ก 1,000,048 ตัวและวางตัวในทิศด้านสนามแม่เหล็ก 1,000,000 ตัว แสดงว่ามีโปรตอนที่วางตัวในทิศตามสนามแม่เหล็กมากกว่าทิศด้านสนามแม่เหล็กเพียง 48 ตัวเท่านั้น โปรตอนจำนวนนี้เรียกว่า excess nuclei โดยจำนวนโปรตอนเพียง 48 ตัวนี้เองที่ทำให้มีสัญญาณ NMR จึงทำให้เทคนิคนี้มีสภาพไวน้อยกว่าเทคนิคอื่น ๆ เช่น UV และ IR spectroscopy เป็นต้น

จากสมการของ Boltzmann พบว่าถ้าผลต่างของระดับพลังงานทั้งสอง (ΔE) มีค่าสูงขึ้น ค่า $N_{\text{upper}}/N_{\text{lower}}$ ก็จะมีค่าสูงขึ้นด้วย กล่าวคือ excess nuclei มีปริมาณมากขึ้น ทำให้สัญญาณ NMR ที่ได้มีความเข้มสูงขึ้นด้วย

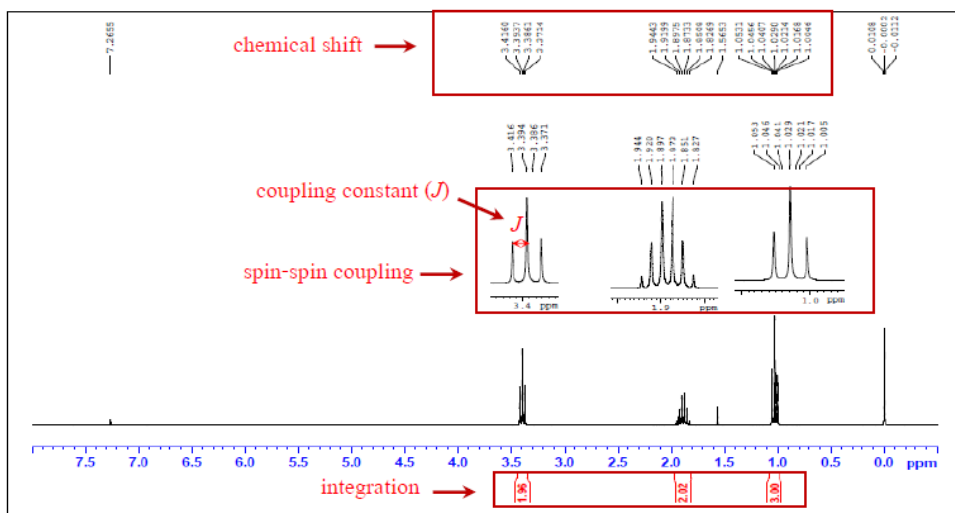
เมื่อโปรตอนที่วางตัวในทิศตามสนามแม่เหล็กซึ่งมีระดับพลังงานต่ำได้รับพลังงานในย่านความถี่คลื่นวิทยุที่เหมาะสม โปรตอนจะดูดกลืนพลังงานแล้วเปลี่ยนไปวางตัวในทิศด้านสนามแม่เหล็กซึ่งมีระดับพลังงานสูง การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้เรียกว่าการเกิดเรโซแนนซ์ (resonance) และเนื่องจาก ΔE มีค่าน้อย ดังนั้นในขณะที่เกิดเรโซแนนซ์ โปรตอนตัวอื่นที่วางตัวในทิศด้าน

สนามแม่เหล็กสามารถคายพลังงานและตกกลับมาวางตัวในทิศตามสนามแม่เหล็กได้ เรียกกระบวนการนี้ว่า relaxation เวลาที่ใช้ในการเกิด relaxation จะขึ้นอยู่กับชนิดของนิวเคลียสและสิ่งแวดล้อมของนิวเคลียสนั้น ๆ โดยพลังงานที่โปรตอนคายออกมาเพื่อกลับมาวางตัวในทิศตามสนามแม่เหล็กนี้คือสัญญาณ NMR ซึ่งจะถูกเก็บในรูปแบบของสัญญาณ free induction decay (FID) เป็นค่าของสัญญาณกับเวลา และสามารถเปลี่ยนจากเวลาเป็นค่า chemical shift (δ , ppm) ได้โดยใช้สมการทางคณิตศาสตร์ Fourier Transform ซึ่งจะได้สเปกตรัม NMR ดังภาพที่ 6.28



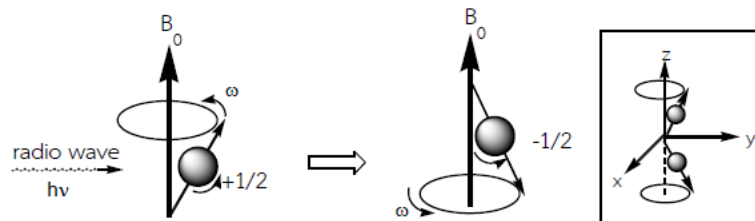
ภาพที่ 6.28 การเปลี่ยนสัญญาณ free induction decay (FID) เป็นสเปกตรัม NMR

ข้อมูลที่ใช้ในการแปลผลสเปกตรัม NMR ประกอบไปด้วยค่า chemical shift ใช้ในการบอกตำแหน่งของสัญญาณ integration บอกถึงพื้นที่ใต้สัญญาณ spin-spin coupling อธิบายถึงรูปแบบของสัญญาณที่แตกต่างกันและ coupling constant บอกถึงระยะห่างระหว่างสัญญาณ ดังภาพที่ 6.29



ภาพที่ 6.29 แสดงองค์ประกอบของข้อมูลที่ใช้ในการแปลผลสเปกตรัม NMR

นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ (nuclear magnetic resonance; NMR) เกิดได้โดยให้ความถี่คลื่นวิทยุ (ν) ตรงกับความถี่เชิงมุม (ω) เช่น โปรตอนที่อยู่ในความเข้มสนามแม่เหล็กภายนอก (B_0) เท่ากับ 1.41 เทสลา จะเกิดการหมุนควงรอบแกน z ด้วยความถี่เชิงมุม เท่ากับ 60 MHz ต้องให้ความถี่คลื่นวิทยุเท่ากับ 60 MHz ด้วยเช่นกัน ส่งผลให้นิวเคลียสโปรตอนส่วนเกินที่สถานะแอลฟา (สภาวะสปิน $+1/2$) ดูดกลืนพลังงาน เปลี่ยนไปสู่สถานะบีตา และเปลี่ยนสภาวะสปินเป็น $-1/2$ ดังภาพที่ 6.30 เรียกปรากฏการณ์ว่า เรโซแนนซ์ ซึ่งสัญญาณจะปรากฏขึ้น โดยเรโซแนนซ์จะเกิดอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งจำนวนนิวเคลียสโปรตอนที่สถานะทั้งสองเท่ากัน เรียกว่า การอิ่มตัว (saturation) ซึ่งจะไม่ปรากฏสัญญาณ แล้วโปรตอนสภาวะสปิน $-1/2$ (สถานะบีตา) จะกลับลงสู่สถานะแอลฟา พร้อมทั้งเปลี่ยนสภาวะสปินเป็น $+1/2$ และคายพลังงานออกมาเท่ากับพลังงานที่ดูดกลืนเข้าไป ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดโปรตอน เรียกการกลับสู่สถานะเดิมนี้ว่า การผ่อนคลาย (relaxation)



ภาพที่ 6.30 การดูดกลืนพลังงานย่านความถี่คลื่นวิทยุของโปรตอนและการเกิดเรโซแนนซ์

ปัจจัยที่สำคัญต่อความเข้มสัญญาณนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ คือ จำนวนนิวเคลียสส่วนเกินที่สถานะแอลฟา กล่าวคือ ถ้ามีจำนวนนิวเคลียสส่วนเกินยิ่งมาก ความเข้มสัญญาณจะเพิ่มขึ้นด้วย ซึ่งการเพิ่มนิวเคลียสส่วนเกินอาจทำได้โดยเพิ่มความเข้มสนามแม่เหล็กภายนอกและความถี่คลื่นวิทยุ ดังตารางที่ 6.2 ซึ่งใช้เป็นหลักการในการพัฒนาเครื่องนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์หรือเครื่อง เอ็นเอ็มอาร์ (NMR)

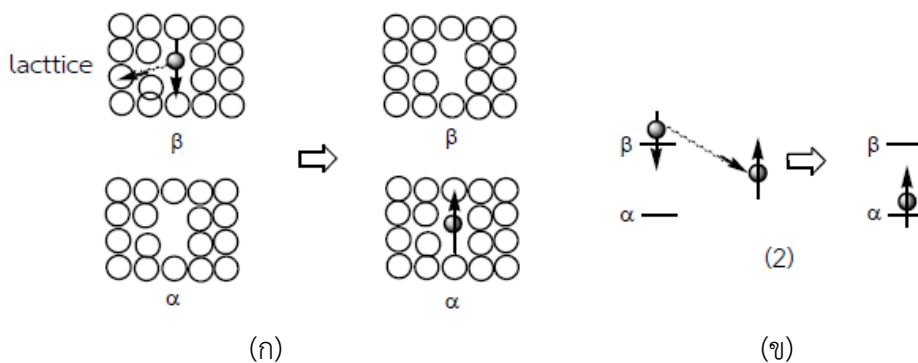
ตารางที่ 6.2 จำนวนนิวเคลียสส่วนเกินที่ความเข้มสนามแม่เหล็กภายนอกและความถี่คลื่นวิทยุ

ความเข้มสนามแม่เหล็กภายนอก (B_0) (เทสลา, Tesla)	ความถี่คลื่นวิทยุ (ν) (เมกะเฮิรตซ์, MHz)	นิวเคลียสส่วนเกิน
1.41	60	9
2.35	100	16
4.70	200	32
7.05	300	48
14.09	600	96

การผ่อนคลายของโปรตอนที่สถานะถูกกระตุ้นกลับลงสู่สถานะพื้นเกิดผ่านกระบวนการ 2 แบบ ดังภาพที่ 6.31 ดังนี้

1. การผ่อนคลายแบบสปินกับแลตทิซ (spin-lattice relaxation) หรือการผ่อนคลายตามยาว (longitudinal relaxation, T_1) คือ โปรตอน (สถานะสปิน $-1/2$) คายพลังงานให้แลตทิซหรือสปินของ นิวเคลียสอื่นภายในโมเลกุลเดียวกันหรือระหว่างโมเลกุล การผ่อนคลายเกิดตามทิศทางแกน z (ตามแนวเดียวกับสนามแม่เหล็ก B_0)

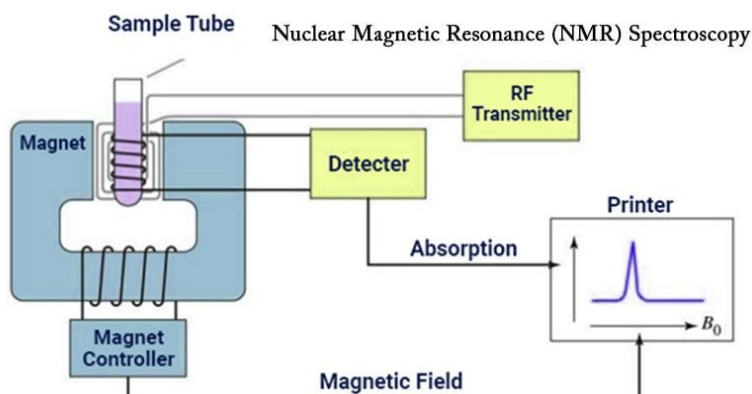
2. การผ่อนคลายแบบสปินกับสปิน (spin-spin relaxation) หรือการผ่อนคลายตามขวาง (transverse relaxation; T_2) คือ โปรตอน (สถานะสปิน $-1/2$) คายพลังงานให้โปรตอนข้างเคียงในทิศทางระนาบ xy (แนวตั้งฉากกับสนามแม่เหล็ก B_0)



ภาพที่ 6.31 การผ่อนคลาย (ก) แบบสปินกับแลตทิซ และ (ข) แบบสปินกับสปิน

6.2.2 ส่วนประกอบเครื่อง NMR

เครื่องนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ (NMR) สามารถแบ่งตามความถี่ เช่น 60, 100, 300 หรือ 600 MHz เป็นต้น โดยความถี่มากขึ้นจะเพิ่มประสิทธิภาพการแยกและความเข้มสัญญาณ แต่เครื่องก็จะมีราคาแพงมากขึ้นด้วย การเกิดเรโซแนนซ์ของโปรตอนจะขึ้นอยู่กับความเข้มสนามแม่เหล็กภายนอก (B_0) และความถี่คลื่นวิทยุ (ν) ดังนั้น การพัฒนาเครื่อง NMR จึงสามารถทำได้ 2 แบบ ได้แก่ คงที่ B_0 และเปลี่ยน ν หรือคงที่ ν และเปลี่ยน B_0 ซึ่งแบบหลังนี้จะพัฒนาเครื่องมือได้ง่ายกว่า

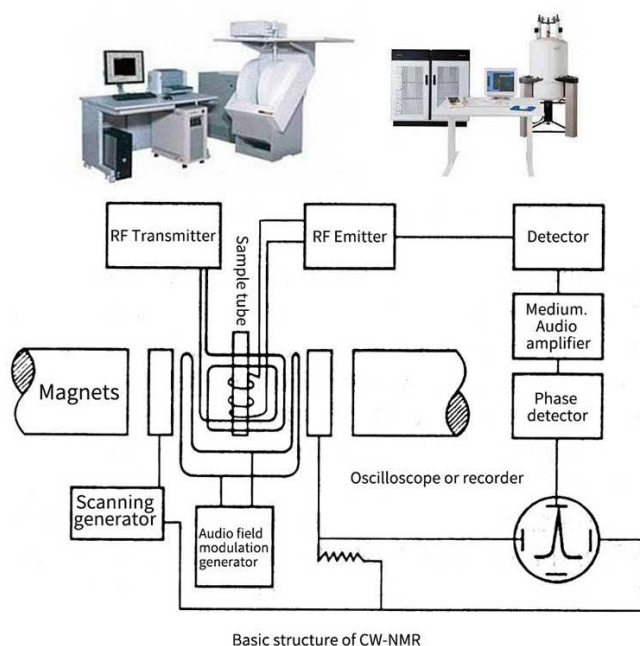


ภาพที่ 6.32 องค์ประกอบหลักของเครื่อง NMR

เครื่อง NMR สามารถจำแนกออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ เครื่องสเปกโทรมิเตอร์ NMR แบบคลื่นต่อเนื่อง (continuous-wave NMR spectrometer, CW-NMR) และเครื่องสเปกโทรมิเตอร์ NMR แบบฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์ม (Fourier transform NMR spectrometer, FT-NMR) โดยเครื่อง NMR ทั้งสองประเภทมีส่วนประกอบที่สำคัญเหมือนกัน ดังนี้

1. แม่เหล็ก (magnet) ทำหน้าที่ให้ความเข้มสนามแม่เหล็กภายนอก
2. โพรบ (NMR probe) ประกอบด้วยขดลวดความถี่คลื่นวิทยุและอยู่บริเวณตรงกลางของสนามแม่เหล็กภายนอก เมื่อเซลล์ตัวอย่างถูกใส่เข้าไปในโพรบ ซึ่งทำหน้าที่กระตุ้นสถานะสปินของโปรตอนและตรวจหาสัญญาณ NMR ของตัวอย่าง
3. เครื่องกำเนิดสัญญาณกวาด (sweep generator) ทำหน้าที่เปลี่ยนความเข้มสนามแม่เหล็กภายนอก
4. ที่ควบคุมปฏิบัติการ (NMR console) ส่วนนี้ประกอบด้วยเครื่องกำเนิดความถี่คลื่นวิทยุ เครื่องตรวจหาความถี่คลื่นวิทยุ และเครื่องขยายสัญญาณ
5. เครื่องบันทึกสัญญาณ

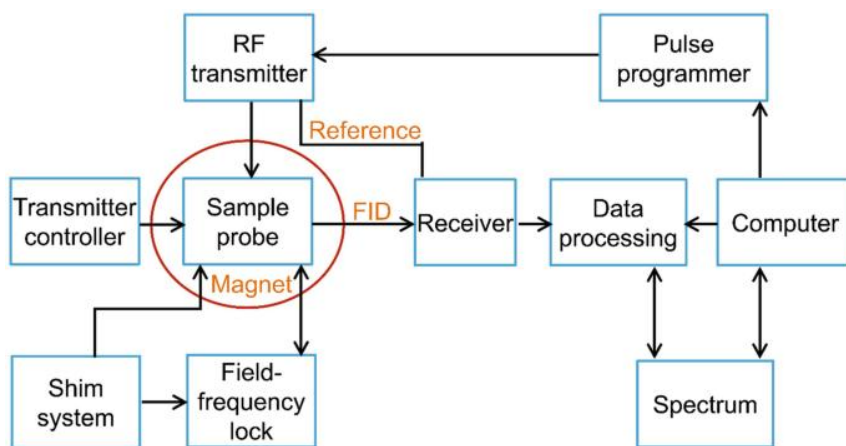
เครื่อง CW-NMR มีหลักการทำงานคือ คงที่ ν และเปลี่ยน B_0 ซึ่งเครื่องกำเนิดสัญญาณกวาดจะค่อย ๆ เพิ่มความเข้มสนามแม่เหล็ก (B_0) เช่น ความเข้มสนามแม่เหล็กประมาณ 14,100 เกาส์ สำหรับเครื่อง NMR ความถี่ 60 MHz หรือความเข้มสนามแม่เหล็กประมาณ 23,500 เกาส์ สำหรับเครื่อง NMR ความถี่ 100 MHz เป็นต้น ในขณะที่ B_0 เพิ่มขึ้นนั้น ความถี่เชิงมุมของโปรตอนจะเพิ่มขึ้นจนกระทั่งเท่ากับความถี่คลื่นวิทยุ เช่น 60 หรือ 100 MHz เป็นต้น ระหว่างแม่เหล็กซึ่งมีขดลวดพันรอบหลอดบรรจุตัวอย่างต่อไปยังเครื่องรับและส่งความถี่คลื่นวิทยุ ส่งผลให้โปรตอนเกิดเรโซแนนซ์ จากนั้นตรวจหาและบันทึกสัญญาณปรากฏเป็นสเปกตรัม ^1H NMR



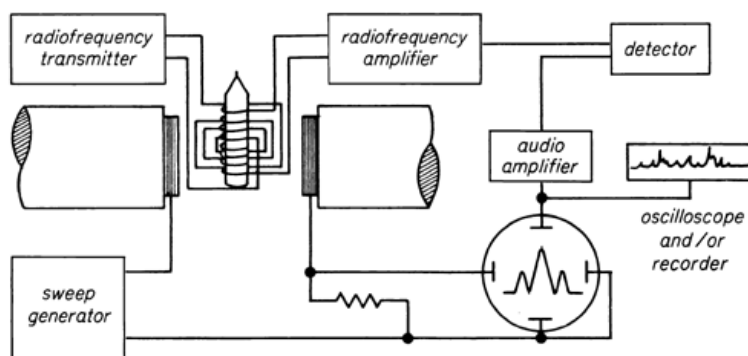
ภาพที่ 6.33 แผนภาพส่วนประกอบของเครื่อง CW-NMR

ข้อเสียของเครื่อง CW-NMR คือ โปรตอนภายในโมเลกุลจะถูกกระตุ้นให้เกิดเรโซแนนซ์ไม่พร้อมกัน โดยความถี่เรโซแนนซ์ของแต่ละโปรตอนจะถูกบันทึกไว้จนกระทั่งครบทุกโปรตอน หลังจากนั้นจึงเกิดการประมวลผลเป็นสเปกตรัม ^1H NMR ทำให้การวิเคราะห์ที่ใช้เวลานาน

ในปัจจุบัน เครื่อง FT-NMR จึงถูกพัฒนาขึ้นและเป็นที่นิยมมากกว่าเครื่อง CW-NMR มีส่วนประกอบดังภาพที่ 6.34 หลักการทำงานจะคล้ายกับเครื่อง CW-NMR แต่จะเปิดปิดเครื่องกำเนิดความถี่คลื่นวิทยุช่วงระยะเวลาสั้นประมาณ 10^{-5} วินาที เกิดพัลส์ (pulse) ซึ่งพัลส์จะเกิดไม่ต่อเนื่อง ทำให้โปรตอนชนิดต่าง ๆ ภายในโมเลกุลถูกกระตุ้นและเหนี่ยวนำให้เกิดเรโซแนนซ์พร้อมกัน

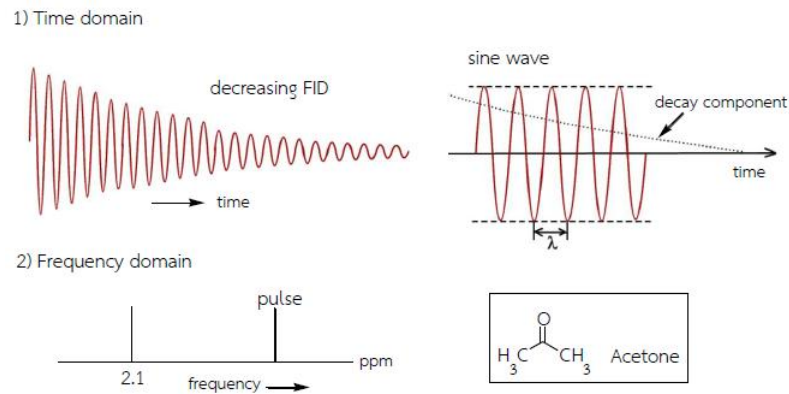


ภาพที่ 6.34 ส่วนประกอบของเครื่อง FT-NMR



ภาพที่ 6.35 แผนภาพส่วนประกอบของเครื่อง FT-NMR

หลังจากโปรตอนถูกกระตุ้นไปที่สถานะปิตาแล้ว ริงส์แม่เหล็กไฟฟ้าจะคายพลังงานออกมาเพื่อกลับลงมาสู่สถานะเดิม (สถานะแอลฟา) ทั้งนี้โปรตอนชนิดต่าง ๆ จะคายพลังงานออกมาไม่เท่ากัน เรียกว่า การสลายแบบเหนี่ยวนำอิสระ (free-induction decay, FID) เมื่อเวลาผ่านไปแต่ละนิวเคลียสโปรตอนจะมีความเข้ม FID ลดลง จนกระทั่งเป็นศูนย์เมื่อกลับสู่สถานะแอลฟา แต่ถ้าความเข้ม FID ไม่ลดลง จะมีลักษณะเป็นคลื่นไซน์ (sine wave) หรือคลื่นโคไซน์ (cosine wave) ดังภาพที่ 6.36 สัญญาณในสเปกตรัมเกิดจากการแปลงฟูเรียร์จากโดเมนเวลา (time domain) ให้เป็นโดเมนความถี่ (frequency domain)



ภาพที่ 6.36 การแปลงฟูเรียร์ของแอสีโตน (ก) โดเมนเวลา และ (ข) โดเมนความถี่

6.2.3 ปฏิบัติการทดสอบเชิงคุณภาพด้วย NMR

- 1) การแปรผลสเปกตรัม ^1H -NMR
 - 2) การแปรผลสเปกตรัม ^{13}C -NMR
- (ดูคู่มือปฏิบัติการ)

สรุปท้ายบทเรียน

เทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ เกิดเฉพาะอะตอมที่มีเลขสปินควอนตัมมีค่าไม่เท่ากับ ศูนย์ เช่น ^1H ^{13}C ^{19}F และ ^{31}P เป็นต้น สังเกตได้ว่านิวเคลียสของอะตอมเหล่านี้จะมีจำนวนนิวตรอนรวมกับจำนวนโปรตอนเป็นเลขคี่ ได้แก่ ^1H ^{13}C ^{19}F ^{31}P และ ^{37}Cl หรือนิวเคลียสมีจำนวนนิวตรอนและโปรตอนเป็นเลขคี่ทั้งคู่ ได้แก่ ^2H เมื่ออะตอมเหล่านั้นถูกคลื่นรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าคลื่นวิทยุย่านความถี่ 3 Hz ถึง 300 GHz ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสปินภายในนิวเคลียส

เทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์หรือเรียกว่า ^1H -NMR มีประโยชน์สำคัญต่อการพิสูจน์โครงสร้างในเคมีอินทรีย์สังเคราะห์และเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ นอกจากนี้ยังสามารถประยุกต์ใช้ในงานวิจัยอื่นอีก เช่น ยาง วัสดุศาสตร์ พอลิเมอร์สังเคราะห์ และอาหาร เป็นต้น

วิธีการสอนและกิจกรรม

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ใบกิจกรรม

สื่อการสอนและอุปกรณ์การสอน

1. หนังสือ/ตำรา
2. เอกสารประกอบการสอน
3. เอกสาร power point

4. <https://teaching.shu.ac.uk/hwb/chemistry/tutorials/molspec/nmr1.htm>

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. Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S., & Vyvyan, J. R. (2009). *Introduction to Spectroscopy* (4th ed.). Brooks/Cole Publishing
7. Robinson, J. W., Frame, E. M. S., & Frame G. M. (2021). *Instrumental Analytical Chemistry*. CRC Press

บรรณานุกรม

1. ชูติมา ศรีวิบูลย์. (2556). *เคมีวิเคราะห์ 1*. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยรามคำแหง
2. แม้น อมรสิทธิ์, และอมร เพชรสม. (2550). *หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ*. สำนักพิมพ์ชวนชม
3. นิพนธ์ ตังคณานุรักษ์ และคณิตา ตังคณานุรักษ์. (2547). *สเปกโทรสโกปีด้านการวิเคราะห์*. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
4. เย็นหทัย แน่นหนา. (2549). *สเปกโทรสโกปีสำหรับเคมีอินทรีย์*. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
5. วรวิทย์ จันทร์สุวรรณ. (2565). *เคมีวิเคราะห์: หลักการและเทคนิคการคำนวณเชิงปริมาณ* (พิมพ์ครั้งที่ 2). สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
6. อนุวัฒน์ รัศมีสมศรี และวารวุธ ดิยพงศ์พัฒนา. (2562). แก๊สโครมาโทกราฟีที่มีการตรวจวัดแบบเฟลมไอออนเซชัน สำหรับการหาปริมาณอะคริลาไมด์ในมันฝรั่งทอด. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*. 27(3) 389-406.
7. *Analysis of Preservatives in Cosmetics by HPLC*. (March 25, 2021). PerkinElmer, Inc.
8. Averill, B. A. (2012). *Principles of General Chemistry*. <https://2012books.lardbucket.org/books/principles-of-general-chemistry-v1.0m/index.html>
9. Chanthathamrongsiri, N., Anannaweenusorn, P., Chuenta, W., Saraarporn, S., & Plianwong, S. (2023). Analytical method development and validation for simultaneous determination of triamcinolone acetate, betamethasone valerate and clobetasol propionate in cream formulation by RP-HPLC. *Science, Engineering and Health Studies*, 17, 23050024. <https://doi.org/10.69598/sehs.17.23050024>
10. Christian, G. D., Dasgupta, P. K., & Schug, K. A. (2014). *Analytical Chemistry* (7th ed.). John Wiley & Sons
11. Gao, W., & Legido-Quigley, C. (2011). Fast and sensitive high performance liquid chromatography analysis of cosmetic creams for hydroquinone, phenol and six preservatives. *Journal of chromatography. A*, 1218(28), 4307–4311. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.04.064>
12. Harris, D. C. (2010). *Quantitative Chemical Analysis* (8th ed.). W.H. Freeman and Company
13. Harvey, D. (2019). *Analytical Chemistry 2.1*. <https://chem.libretexts.org/>
14. Huang, X., Liu, L., Xu, Q., & Rohrer, J. (n.d.). *Determination of Coumarins in Cosmetics*. <https://assets.fishersci.com/TFS-Assets/CMD/Application-Notes/AN-1128-LC-Coumarins-Cosmetics-AN71662-EN.pdf>

15. Kenneth C. Ugoeze, Nora Amadi, Ngozi A. Okoronkwo, Sunday O. Abali, Kennedy E. Oluigbo, Bruno C. Chinko. (2023). GC-FID guided identification and quantification of detectable phytochemicals in selected commercial chamomile herbal tea. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*. 14, 1-11
16. Lehotay, S. J., & Hajšlová, J. (2002). Application of gas chromatography in food analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 21(9–10) 686-697.
[https://doi.org/10.1016/S0165-9936\(02\)00805-1](https://doi.org/10.1016/S0165-9936(02)00805-1).
17. Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S., & Vyvyan, J. R. (2009). *Introduction to Spectroscopy* (4th ed.). Brooks/Cole Publishing
18. Robinson, J. W., Frame, E. M. S, & Frame G. M. (2021). *Instrumental Analytical Chemistry*. CRC Press
19. Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2022). *Fundamentals of Analytical Chemistry* (10th ed.). Brooks/Cole Publishing
20. Skoog, D. A., Holler, F.J., & Crouch, S. R. (2018). *Principles of Instrumental Analysis* (7th ed.). David Harris.
21. Yuniati, W., Amelia, T., Ibrahim, S., & Damayanti, S. (2021). Analytical method development for determining formaldehyde in cream cosmetics using hyphenated gas chromatography. *ACS Omega*, 6, 42, 28403–28409.
<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsomega.1c04792>

ประวัติผู้เขียน

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรวิทย์ จันทรสุวรรณ



การศึกษา

- วทด.เคมี (เคมีวิเคราะห์) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2555
- วทม.เคมี (เคมีวิเคราะห์) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2546
- วทบ.เคมี (เกียรตินิยม อันดับ 2) สถาบันราชภัฏกาญจนบุรี, 2543

ผลงานวิจัย

- Triteeyaprasert, K., Chansuvarn, W., Praphairaksit, N., & Imyim, A. (2025). Speciation analysis of inorganic arsenic in water samples using thiol-ligand and cotton fibres followed by ICP-OES determination. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 105(2) 261-275. <https://doi.org/10.1080/03067319.2023.2258069>
- Musik, P., Limchoowong, N., Sricharoen, P., Nateewattana, J., Amnuaywattanukul, T., Chansuvarn, W., & Wanthong, U. (2025). Topographic and flow direction model: A case study of Khuan Kreng peat swamp forest, Southern Thailand. *International Journal of Electrical and Computer Engineering*, 15(2) 1978-1989. <http://doi.org/10.11591/ijece.v15i2.pp1978-1989>
- Meechai, T. Harnroongroj, T., Sukosit, P., Yatsomboon, A., Sasing, N., Nateewattana, J., Panich, S., Amnuaywattanukul, T., Chansuvarn, W., & Sricharoen, P. (2024). Water quality assessment of Khlong Thawi Watthana, Thailand: Physical, chemical and microbiological analysis. *Journal of Southwest Jiaotong University*, 59(2) 69-78. <https://doi.org/10.35741/issn.0258-2724.59.2.5>
- Chansuvarn, W., & Panich, S. (2024). Nutritional and sensory properties of plant-based milk produced from Sacha inchi seeds (*Plukenetia volubilis* L.). *Food Science and Applied Biotechnology*, 7(1) 14-23. <https://doi.org/10.30721/fsab2024.v7.i1.303>
- Chansuvarn, W. (2019). Determination of total arsenic using microwave digestion technique: Graphite furnace atomic absorption spectrophotometry. *Appl. Mech. Mater.* 891, 154-160
- Chansuvarn, W., Tuntulani, T., & Imyim, A. (2015). Colorimetric detection of mercury(II) based on gold nanoparticles, fluorescent gold nanoclusters and other gold-based nanomaterials. *Trends in Analytical Chemistry*, 65, 83-96
- Chansuvarn, W., Panich, S., & Imyim, A. (2013). Simple spectrophotometric method for determination of melamine in liquid milks based on green Mannich reaction, *Spectrochim. Acta A*, 113, 154-158

- Chansuvarn, W., & Imyim, A. (2012). Visual and colorimetric detection of Hg(II) ion using gold nanoparticles stabilized with dithia-diaza ligand, *Microchim. Acta*, 176(1-2) 56-67.
- วรวิทย์ จันทร์สุวรรณ. (2557). การออกแบบเซนเซอร์ทางเคมีสำหรับตรวจวัดไอออนปรอทด้วยตาเปล่า, *วารสารวิทยาศาสตร์ มช.* 42(4) 748-760

หนังสือ/ตำรา

- เคมีวิเคราะห์ (หลักการและเทคนิคการคำนวณเชิงปริมาณ) (พิมพ์ครั้งที่ 2). สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2565.
- ตำราเรียน วิชาเคมีสำหรับวิศวกร. 2559.
- เคมี เล่ม 1 (คัมภีร์วิทยาศาสตร์และวิศวกรรมศาสตร์)

ติดต่อ

สาขาวิชาเทคโนโลยีสุขภาพ เครื่องสำอางและการชะลอวัย
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร
โทร 0 2836 3000 ต่อ 7507
อีเมล: woravith.c@rmutp.ac.th
เว็บไซต์: <http://sci.rmutp.ac.th/woravith>



woravith