คู่มือเทคนิค

การวิเคราะห์ทดสอบตัวอย่างสิ่งแวดล้อม

กรมควบคุมมลพิษ

กรมควบคุมมลพิษ
POLLUTION CONTROL DEPARTMENT

คำนำ

กลุ่มห้องปฏิบัติการ ฝ่ายคุณภาพสิ่งแวดล้อมและห้องปฏิบัติการ กรมควบคุมมลพิษ ได้จัดทำโครงการจัดทำคู่มือการพัฒนาคุณภาพและประสิทธิภาพการดำเนินงานด้านการวิเคราะห์ทดสอบตัวอย่างสิ่งแวดล้อม เพื่อดำเนินงานด้านระบบคุณภาพห้องปฏิบัติการและจัดทำคู่มือ จำนวน 4 เล่ม

1. คู่มือความรู้พื้นฐานสำหรับเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการสิ่งแวดล้อม
2. คู่มือเทคนิคการวิเคราะห์ทดสอบตัวอย่างสิ่งแวดล้อม
3. คู่มือการควบคุมและประกันคุณภาพงานห้องปฏิบัติการสิ่งแวดล้อม
4. คู่มือการจัดการของเสียของห้องปฏิบัติการสิ่งแวดล้อม

เอกสารคู่มือเทคนิคการวิเคราะห์ทดสอบตัวอย่างสิ่งแวดล้อมเล่มนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อปูพื้นฐานความรู้ และทบทวนเทคนิคการวิเคราะห์ทางทฤษฎี อย่างย่อ แก่เจ้าหน้าที่ที่จะต้องเริ่มปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการสิ่งแวดล้อม เนื้อหามุ่งเพื่อดึงความสนใจให้ผู้อ่านกลับไปฟื้นฟูและติดตามความรู้ด้านเทคนิคการวิเคราะห์ตัวอย่าง ตามทฤษฎีเคมีวิเคราะห์สมัยใหม่ ที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย เพื่อให้เข้าใจการเลือกวิธีมาตรฐานที่เหมาะสม และเข้าใจที่มาของเทคนิคต่างๆ เหล่านั้น

อย่างไรก็ตาม คู่มือนี้ไม่มีขอบเขตที่จะบรรยายรายละเอียดของเทคนิคการวิเคราะห์ได้ครบถ้วน จึงได้พยายามคัดสรรเนื้อหาสำคัญพื้นฐานเท่านั้น คงจะไม่สามารถนำไปใช้เป็นคู่มือปฏิบัติงานได้อย่างละเอียด เพียงแต่เป็นเอกสารประกอบการทบทวนความรู้ และก่อให้เกิดความสนใจในการศึกษารายละเอียดมากขึ้นในโอกาสต่อไป

กลุ่มห้องปฏิบัติการ

สิงหาคม 2547

สารบัญ

1. ภาษาของเคมีวิเคราะห์ (The Language of Analytical Chemistry) **4**

2. เทคนิคในงานวิเคราะห์ทดสอบที่จำเป็น (Essential techniques) **7**

2.1 ประเภทของเทคนิคการวิเคราะห์ (Classifying analytical techniques) 7

2.2 การเลือกวิธีการวิเคราะห์ (Selecting an analytical method) 8

2.3 การพัฒนาขั้นตอนการปฏิบัติงานวิเคราะห์มาใช้งาน (Developing the Procedure) 13

2.4 การสอบเทียบ การปรับเทียบมาตรฐาน และการแก้ค่าแบลงค์ (Calibration, Standardization and blank correction) 15

3. ประเภทของเทคนิคในการวิเคราะห์ทดสอบตัวอย่างสิ่งแวดล้อม (Classification of environmental analysis) **18**

3.1 การแยกและสกัดตัวอย่าง (Separation and Extraction) 18

3.2 หลักการหาน้ำหนักของมวล (Gravimetric methods) 23

3.3 หลักการไตเตรท (Titrimetric methods) 25

3.4 หลักการสเปคโตรสโคปี (Spectroscopic methods) 27

3.5 หลักการเคมีไฟฟ้า (Electrochemical methods) 31

3.6 หลักการโครมาโตกราฟฟี (Chromatographic methods) 35

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1 ประเภทของเทคนิคการแยกตัวอย่าง **18**

สารบัญรูป

รูปที่ 1 ตัวอย่างความสัมพันธ์ของเทคนิค, วิธีการ, ขั้นตอนการปฏิบัติงาน และขั้นตอนบังคับใช้ **6**

รูปที่ 2 ไดอะแกรมของ Soxhlet extractor **22**

รูปที่ 3 ไดอะแกรมของระบบสกัดแบบ purge and trap **22**

รูปที่ 4 ตัวอย่างกราฟการไตเตรตติดตามความคืบหน้าของปฏิกิริยา **27**

รูปที่ 5 สเปคตรัมคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าย่านต่างๆ ซึ่งใช้เป็นพื้นฐานของเทคนิคสเปคโครสโคปิคต่างๆ **28**

รูปที่ 6 ไดอะแกรมของวงจรไฟฟ้าที่ประกอบด้วยอิเลคโทรด 3 ขั้ว **32**

รูปที่ 7 เซลเคมีไฟฟ้าแบบโพเทนทิโอเมตรี **33**

รูปที่ 8 แอมเพอโรเมตรแบบ Clark สำหรับการตรวจวัดออกซิเจนละลายน้ำ **35**

รูปที่ 9 ไดอะแกรมทั่วไปของ แก๊ซโครมาโตกราฟ **38**

รูปที่ 10 ไดอะแกรมของระบบ High Performance Liquid Chromatograph **39**

คู่มือเทคนิค
การวิเคราะห์ทดสอบตัวอย่างสิ่งแวดล้อม

1. ภาษาของเคมีวิเคราะห์ (The Language of Analytical Chemistry)

นักเคมีวิเคราะห์ใช้คำศัพท์เฉพาะต่างๆ ในการอธิบายความหมาย และสื่อสารให้เข้าใจตรงกัน ระหว่างกันเอง ดังนั้นความเข้าใจในภาษาของเคมีวิเคราะห์พื้นฐาน จึงเป็นสิ่งจำเป็นที่ต้องทราบก่อนจะศึกษาเทคนิคการวิเคราะห์ต่างๆ บทนำส่วนนี้จะรวบรวมภาษาเหล่านี้ให้ผู้อ่านเข้าใจก่อนจะลงรายละเอียดของเนื้อหาอื่นๆ

1.1 Analysis, Determination, and Measurement

คำจำกัดความ

การวิเคราะห์ (Analysis)

หมายถึง ขบวนการหนึ่งๆ ที่ใช้หาข้อมูลด้านกายภาพ หรือเคมีขององค์ประกอบในตัวอย่าง หรือของตัวอย่างนั้นเอง

องค์ประกอบในตัวอย่างที่เราสนใจเรียกว่า สารวิเคราะห์ (Analytes) ส่วนอื่นๆ นอกจากนั้นที่เราไม่สนใจในตัวอย่างเรียกว่า ตัวกลาง (Matrix)

การบ่งชี้หา (Determination)

หมายถึง การบ่งชี้หาความเข้มข้น หรือคุณสมบัติของสารวิเคราะห์ในตัวอย่าง โดยขบวนการวิเคราะห์

การวัด (Measurement)

หมายถึง การทดลองหา และวัดคุณสมบัติทางเคมี หรือกายภาพ ของสารวิเคราะห์ ตัวอย่างเช่น ในการวิเคราะห์ (Analysis) ตัวอย่างน้ำดื่ม เพื่อเฝ้าระวังคุณภาพน้ำดื่ม ให้ได้ตามมาตรฐานที่กำหนด สารวิเคราะห์ตัวหนึ่งที่สนใจ (Analyte) คือ โคลิฟอร์มแบคทีเรีย เราจึงเก็บตัวอย่างน้ำจากแหล่งผลิตน้ำดื่มเพื่อทำการวิเคราะห์ ในขบวนการวิเคราะห์ (Analysis) จะทำการบ่งชี้หา (Determination) ความเข้มข้นของโคลิฟอร์มแบคทีเรีย โดยการกรองตัวอย่างน้ำดื่มผ่านกระดาษกรองเมมเบรน แล้วนำกระดาษกรองนั้นวางลงบนจานที่มีอาหาร และบ่มทิ้งไว้ เมื่อบ่มตามสภาวะและเวลาที่กำหนด ก็ทำการวัดโดยการนับจำนวน (Measurement) โคโลนีของแบคทีเรียที่เติบโตขึ้นในช่วงเวลาที่บ่ม

1.2 เทคนิค วิธีการ ขั้นตอนการปฏิบัติงาน และขั้นตอนบังคับใช้ (Techniques, Methods, Procedures และ Protocols)

เพื่อให้เข้าใจความหมายของคำสำคัญเหล่านี้ ยกตัวอย่างเช่น เราต้องการจะบ่งชี้หาความเข้มข้นของตะกั่วในน้ำเสีย

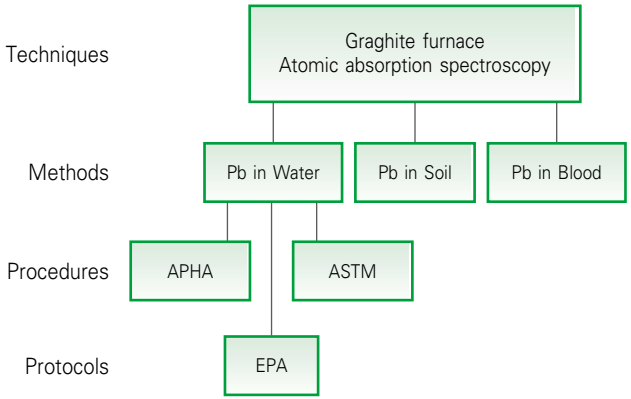
เทคนิค (Technique) คือ หลักการทางเคมี หรือกายภาพ ที่จะใช้ในการหาสารวิเคราะห์ ยกตัวอย่าง ได้แก่ มีเทคนิคหลายประเภท สามารถใช้ในการหาตะกั่ว เช่น เทคนิคกราไฟต์เฟอเนซ อะตอมมิคแอบซอพชั่น สเปคโตรสโคปี (Graphite furnace atomic absorption spectroscopy) จะอะตอมไมซ์ ตะกั่ว และตรวจวัดความสามารถที่อะตอมอิสระของตะกั่วดูดกลืนแสง ดังนั้น เทคนิคนี้ใช้หลักการทางเคมี (Atomization) และหลักการทางกายภาพ (Absorption) ในการตรวจวัดตะกั่ว

วิธีการ (Method) คือ การประยุกต์ใช้เทคนิคหนึ่งๆ ในการบ่งชี้หาสารวิเคราะห์หนึ่งๆ ที่อยู่ในตัวกลางเฉพาะใดๆ (Matrix) วิธีการตรวจหาตะกั่วโดยใช้เทคนิคกราไฟต์เฟอเนซ อะตอมมิคแอบซอพชั่น สเปคโตรสโคปี ในตัวอย่างน้ำเสีย จะแตกต่างจากวิธีการตรวจหาในตัวอย่างดิน ตัวอย่างเลือด ตัวอย่างเนื้อเยื่อสิ่งมีชีวิต การเลือกวิธีการในการวิเคราะห์ตะกั่วในน้ำเสีย ที่เหมาะสมขึ้นกับจุดประสงค์ของการใช้ข้อมูลนั้น และการออกแบบวิธี (เช่น ระดับความถูกต้อง แม่นยำ ความรวดเร็ว ค่าใช้จ่าย เป็นต้น) ในกรณีหนึ่ง วิธีการที่ดีที่สุด อาจใช้เทคนิคกราไฟต์เฟอเนซ ฯ แต่กรณีอื่น อาจจะเลือกวิธีการที่ใช้เทคนิคอื่น เช่น แอนโนดิคสติปปิ้ง โวลทาเมทรี (Anodic stripping voltammetry) เหมาะสมกว่า

ขั้นตอนปฏิบัติงาน (Procedure) คือ เอกสารที่เขียนขึ้น ระบุขั้นตอนปฏิบัติงานการใช้วิธีการที่เลือกในการวิเคราะห์ อย่างละเอียด เพื่อประยุกต์ใช้กับตัวอย่างเฉพาะเจาะจงประเภทที่สนใจ ซึ่งอาจรวมรายละเอียดอื่นที่เกี่ยวข้อง เช่น การเก็บตัวอย่างที่เหมาะสม การระมัดระวังเรื่องสารแทรกสอด เป็นต้น วิธีการหนึ่งๆ (Method) อาจจะมีการเขียนเป็นหลายเอกสารขั้นตอนปฏิบัติงาน เนื่องจากมีการปรับปรุง ประยุกต์ไปตามต้องการเฉพาะของหน่วยงาน และห้องปฏิบัติการ

ขั้นตอนบังคับใช้ (Protocol) คือ เอกสารที่เขียนขึ้นระบุขั้นตอนปฏิบัติงานอย่างเคร่งครัดโดยองค์กร หน่วยงาน ซึ่งเป็นที่ยอมรับ และต้องปฏิบัติตามในการใช้ เพื่อสามารถอ้างได้

เมื่อผลการวิเคราะห์ทดสอบเสร็จ และรายงานผล เอกสารลักษณะนี้ มีจุดประสงค์หลัก เพื่อให้ห้องปฏิบัติการสามารถนำไปอ้างอิง เพื่อให้ผลการทดสอบนั้นนำไปใช้ในทางกฎหมายได้



รูปที่ 1 ตัวอย่างความสัมพันธ์ของเทคนิค, วิธีการ, ขั้นตอนการปฏิบัติงาน และขั้นตอนการบังคับใช้

โดยสรุปจะเห็นได้ว่า ความหมายของคำสำคัญทั้งสี่ ที่กล่าวข้างบนนั้น มีลำดับชัดเจน ขั้นตอนบังคับใช้ (Protocol) เกิดจากขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Procedures) ที่ได้รับการตรวจสอบว่าใช้ได้มาก่อน และก่อนจะมีขั้นตอนการปฏิบัติงาน ก็ต้องมีการเลือก วิธีการ (Method) ในการวิเคราะห์ และก่อนจะมีวิธีการ ก็ต้องมีการเลือกเทคนิค (Technique) ที่เหมาะสมในการบ่งชี้หาสารวิเคราะห์ที่สนใจในตัวอย่าง ดังตัวอย่างความสัมพันธ์ตามลำดับขั้น ดังรูปที่ 1

2. เทคนิคในงานวิเคราะห์ทดสอบที่จำเป็น (Essential techniques)

2.1 ประเภทของเทคนิคการวิเคราะห์ (Classifying analytical techniques)

การวิเคราะห์ตัวอย่าง มักทำโดยการทำให้เกิดสัญญาณ (signal) ทางกายภาพ หรือเคมี ซึ่งมีขนาด เป็นสัดส่วนกับปริมาณสารวิเคราะห์ (analyte) ในตัวอย่าง สัญญาณอาจเป็นอะไรได้หลายอย่างที่เราสามารถวัดได้ เช่น มวล ปริมาตร การดูดกลืนแสง หากจะแบ่งประเภทของเทคนิคการวิเคราะห์กว้างๆ โดยยึดหลักว่า สัญญาณที่เราตรวจวัดนั้นเป็นสัดส่วนกับปริมาณสัมบูรณ์ (absolute amount) หรือ ปริมาณสัมพัทธ์ (relative amount) ของสารวิเคราะห์ ก็จะแบ่งได้ คือ

2.1.1 เทคนิคที่วิเคราะห์สารทั้งหมด (Total analysis techniques)

เทคนิคประเภทนี้ตรวจวัดสัญญาณ (signal) ที่เป็นสัดส่วนโดยสัมบูรณ์กับสารวิเคราะห์ในตัวอย่าง แสดงโดยสมการ

$$S_A = kn_A$$

S_A คือ สัญญาณ ที่ตรวจวัดได้ซึ่งเกิดจากสารวิเคราะห์ A

n_A คือ จำนวนโมล หรือกรัมของสารวิเคราะห์ A ในตัวอย่าง

k คือ ค่าคงที่ (เป็นสัดส่วนโดยตรง)

เทคนิควิธีการวิเคราะห์ยุคแรกๆ มักเป็นประเภทนี้ บางครั้งจึงมักอ้างว่าเป็น classical techniques ตัวอย่างที่รู้จักกันดี ได้แก่ การตรวจวัดมวล ปริมาตร ประจุ เทคนิคที่รู้จักกันดี ได้แก่ gravimetry, titrimetry, และ coulometry

2.1.2 เทคนิคที่วิเคราะห์ความเข้มข้นของสาร (Concentration techniques)

เทคนิคประเภทนี้ตรวจวัดสัญญาณที่เป็นสัดส่วนกับปริมาณสัมพัทธ์ของสารวิเคราะห์ในตัวอย่าง แสดงโดยสมการ

$$S_A = kC_A$$

C_A คือ ความเข้มข้นของสารวิเคราะห์ A ในตัวอย่าง

k คือ ค่าคงที่

เทคนิควิธีการวิเคราะห์ประเภทนี้ ส่วนใหญ่อาศัยการตรวจวัด สัญญาณ optical หรือ electrical จึงมักมีอีกชื่อเรียกว่า instrumental techniques ความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณและสารวิเคราะห์ เป็นฟังก์ชันที่ขึ้นกับภาวะการทดลอง และเครื่องมือ ที่ใช้ในการวัด ดังนั้น ค่าคงที่ k จึงเปลี่ยนแปลงไปได้หลายๆ ค่า

2.2 การเลือกวิธีการวิเคราะห์ (Selecting an analytical method)

ดังที่ได้อธิบายแล้วว่า วิธีการ (method) เป็นการประยุกต์นำเทคนิค (technique) หนึ่งๆ สำหรับการบ่งชี้หาสารวิเคราะห์หนึ่งในตัวกลางในตัวกลางหนึ่ง ตัวอย่างเช่น วิธีการวิเคราะห์ตะกั่วในน้ำ อาจพัฒนาขึ้นได้โดยหลายเทคนิค ได้แก่ หากเป็นตะกั่วในรูปเกลือ เช่น ตะกั่วซัลเฟต ตะกั่วโครเมต ก็อาจใช้เทคนิคกราวิเมตริก (gravimetric) ได้ ตะกั่วสามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนได้หลายรูป ซึ่งอาจใช้เทคนิคไตเตรตคอมเพลคเซชั่น (complexation titration) หรือถ้าสารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดขึ้น สามารถดูดกลืนแสงได้ดี ก็อาจใช้เทคนิค สเปคโตรโฟโตเมตริค (spectrophotometric) ได้ กรณีสามารถทำให้ตะกั่วอะตอมไมซ์ เป็นในสภาพก๊าซอิสระ ก็สามารถใช้เทคนิค อะตอมมิคแอบซอพชั่น สเปคโตรสโคปิค (Atomic absorption spectroscopic) ได้

การเลือกวิธีการจึงมีได้หลากหลาย หากประยุกต์อยู่บนพื้นฐานของเทคนิคที่แตกต่างกัน ความต้องการและข้อกำหนด (requirement) ของกระบวนการวิเคราะห์ จะเป็นปัจจัยบ่งชี้ว่า วิธีการวิเคราะห์ใดดีที่สุด ในการเลือกวิธีวิเคราะห์ที่เหมาะสม จึงต้องคำนึงถึงเกณฑ์การออกแบบ (design criteria) ที่สำคัญ ได้แก่ ความถูกต้อง (accuracy), ความแม่นยำ (precision), ความว่องไว (sensitivity), ความเสถียรคงตัว (robustness), ความทนต่อการเปลี่ยนแปลง (ruggedness), เวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ (analysis time), เครื่องมืออุปกรณ์ที่ใช้ (available of equipment), ความละเอียดของการวิเคราะห์ (scale of operation) และค่าใช้จ่าย (cost)

2.2.1 ความถูกต้อง (Accuracy)

ความถูกต้อง เป็นการวัดว่าผลการวิเคราะห์ที่ได้มีความใกล้เคียงกับค่าที่คาดว่าจะเป็น (expected value) มากน้อยเพียงใด ความแตกต่างของผลที่ได้ กับผลที่คาดว่าจะเป็นหารด้วย ผลที่คาดว่าจะเป็น แล้วคิดเป็นร้อยละ เรียกว่า ร้อยละของความผิดพลาดสัมพัทธ์ (relative percent error)

วิธีการวิเคราะห์ อาจจะจำแนกตามระดับของความถูกต้อง ได้เป็น 3 ระดับ กรณีที่ผลการวิเคราะห์ที่ได้ใกล้เคียงกับ ผลที่คาดว่าจะได้รับ มีความแตกต่างน้อยกว่าร้อยละ 1, ระหว่างร้อยละ 1 ถึงร้อยละ 5 และมากกว่าร้อยละ 5 จะจัดวิธีวิเคราะห์นั้น เป็นวิธีที่มีความถูกต้องสูงมาก, ปานกลาง, ต่ำ ตามลำดับ ระดับความถูกต้องนี้ ขึ้นกับว่า วิธีการนั้นสามารถตรวจวัดสัญญาณได้ถูกต้องเพียงใด ความยากง่ายในการไม่สูญเสียสารวิเคราะห์ หรือการปนเปื้อนของตัวอย่าง โดยทั่วไปแล้ว วิธีการแบบวิเคราะห์ทั้งหมด (total analysis method) จะมีความถูกต้องสูงกว่า วิธีการแบบความเข้มข้น (concentration method) กล่าวแล้วในหัวข้อ 2.1.1 และ 2.1.2

2.2.2 ความแม่นยำ (Precision)

เมื่อตัวอย่างหนึ่งถูกวิเคราะห์หลายๆ ครั้ง ผลการวิเคราะห์แต่ละครั้ง ยากที่จะเท่ากัน แต่ค่าที่ได้จะกระจายกันไปแบบสุ่ม อนึ่งความแม่นยำ คือ การวัดการกระจายของการวัดซ้ำๆ กันนี้ หากค่าที่วัดซ้ำๆ กันใกล้กันเท่าไร ก็แสดงว่ามีความแม่นยำสูงเท่านั้น ประเด็นสำคัญที่ต้องเข้าใจ คือ ความแม่นยำไม่บอกว่าผลการวิเคราะห์ถูกต้องหรือไม่

ความแม่นยำ ขึ้นกับปัจจัยที่มีผลต่อความสัมพันธ์ระหว่าง สัญญาณ กับ สารวิเคราะห์ ปัจจัยที่สำคัญ ได้แก่ ความไม่แน่นอนในการวัดสัญญาณ ความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างที่ชักมาวิเคราะห์ซ้ำๆ ส่วนใหญ่แล้ว วิธีการแบบวิเคราะห์ทั้งหมด จะให้ความแม่นยำสูงกว่าวิธีการแบบความเข้มข้น

2.2.3 ความว่องไว (Sensitivity)

ความว่องไวของวิธีการ คือ การวัดความสามารถของวิธีการหนึ่งๆ ในการแยกว่าตัวอย่าง 2 ตัวอย่าง มีสารวิเคราะห์ในปริมาณที่แตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญ ความหมายของ

คำนี้ มักสับสนกับ **"ขีดจำกัดการตรวจวัดของวิธีการ (Method detection limit)"** ขีดจำกัดการตรวจวัด หมายถึงปริมาณของสารวิเคราะห์ต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (ด้วยความเชื่อมั่น) ดังนั้น คำหลังนี้จึงเป็นพารามิเตอร์ทางสถิติ

อีกนัยหนึ่ง ความว่องไว คือ ปริมาณการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณ ต่อหน่วยการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารวิเคราะห์ (ซึ่งมีค่าคงที่ k) มีค่าดังสมการ

$$\Delta n_A = \frac{\Delta S_A}{k}$$ (กรณี total analysis method)

หรือ

$$\Delta C_A = \frac{\Delta S_A}{k}$$ (กรณี concentration method)

เมื่อ ΔS_A คือ การเปลี่ยนแปลงของสัญญาณที่เล็กที่สุด ซึ่งสามารถตรวจวัดได้โดยวิธีนั้น ตัวอย่างเช่น ชั่งน้ำหนักมวลโดยใช้เครื่องชั่ง ซึ่งสามารถชั่งได้เปลี่ยนแปลงต่ำสุดที่ $\pm$ 0.0001 กรัม ความว่องไวของวิธีการ มีค่า 0.200 ดังนั้น วิธีนี้สามารถใช้ตรวจสอบความแตกต่างของน้ำหนักที่จะชั่งได้เท่ากับ

$$\Delta n_A = \frac{\pm\ 0.0001}{0.200}\ \mathbf{g} = \pm\ 0.0005 \text{ กรัม}$$

หมายถึง เครื่องชั่งนี้มีความว่องไวที่สามารถตรวจวัดความแตกต่างของน้ำหนัก ของสองตัวอย่างได้แตกต่างกันในระดับต่ำถึง $\pm$ 0.0005 กรัม

2.2.4 ความเจาะจง (Selectivity)

วิธีการวิเคราะห์ จะมีความเจาะจง หากสัญญาณที่ตรวจวัดได้ ขึ้นโดยตรงกับปริมาณสารวิเคราะห์ที่เราสนใจตรวจวัดเท่านั้น ในกรณีที่มีสารอื่นแทรกสอดในตัวอย่างจะทำให้เกิดสัญญาณอื่นของสารแทรกสอด ดังสมการ

$$S_{samp} = S_A + S_I = k_A n_A + k_I n_I \quad \text{(กรณี total analysis method)}$$
$$S_{samp} = S_A + S_I = k_A C_A + k_I C_I \quad \text{(กรณี concentration analysis method)}$$

S_{samp} คือ สัญญาณที่ตรวจวัดได้ในตัวอย่าง

S_I คือ สัญญาณที่เกิดจากสารแทรกสอด (interferences)

ความเจาะจง กรณีที่มีสารอื่นแทรกสอด สามารถหาได้โดยคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความเจาะจง (selectivity coefficient); $K_{A,I}$

$$K_{A,I} = \frac{k_I}{k_A}$$

K_I คือ ค่าคงที่ (เนื่องจากสารแทรกสอด)

K_A คือ ค่าคงที่ (เนื่องจากสารวิเคราะห์ A)

$K_{A,I}$ อาจจะเป็นค่าบวกหรือค่าลบก็ได้ หากค่าสัมประสิทธิ์ความเจาะจง มากกว่า +1 หรือต่ำกว่า -1 หมายความว่า วิธีวิเคราะห์นั้น มีความเจาะจงกับสารอื่นแทรกสอด มากกว่าสารวิเคราะห์ที่สนใจ การที่เราทราบค่าสัมประสิทธิ์ความเจาะจง จะทำให้เราประเมินได้ว่าสารอื่นแทรกสอดมีผลต่อการตรวจวัดสารวิเคราะห์ที่เราสนใจมากน้อยเพียงใด

2.2.5 ความเสถียรคงตัว และความทนต่อการเปลี่ยนแปลง (Robustness and Ruggedness)

วิธีการวิเคราะห์ใด ที่มีคุณสมบัติใช้ในการบ่งชี้หาสารวิเคราะห์ได้เจาะจงดีกับสารวิเคราะห์ ถึงแม้ว่ามีสารอื่นแทรกสอด อยู่ในตัวกลางของตัวอย่าง เราจัดว่าวิธีนั้นมีคุณสมบัติเสถียรคงตัว (robust) ใช้งานได้กว้างขวาง ในสภาวะการทดลองต่างๆ กัน ในการใช้วิธีการวิเคราะห์หนึ่งๆ จะทำให้เกิดความแตกต่าง ก่อให้ความไม่แน่นอนในการวัด วิธีที่มีความว่องไวสูง เมื่อสภาวะการทดลองเปลี่ยนไป เช่น อุณหภูมิ ความเป็นกรด ช่วงเวลาปฏิกิริยา อาจส่งผลให้ผลการวิเคราะห์แตกต่างกันได้ง่าย วิธีที่ทนต่อการเปลี่ยนแปลง (rugged) จะไม่ว่องไวต่อการเปลี่ยนแปลงสภาวะการทดลองจนเกินไป

2.2.6 เครื่องมือ เวลา และค่าใช้จ่าย (Equipment, time and cost)

สุดท้ายแล้ว วิธีการวิเคราห์จะเปรียบเทียบกัน โดยพิจารณาว่า ต้องใช้เครื่องมืออะไร ใช้เวลาในการวิเคราะห์เท่าใด ค่าใช้จ่ายต่อตัวอย่างเท่าไร วิธีการวิเคราะห์ที่ใช้เครื่องมืออาจต้องการเจ้าหน้าที่ที่มีความสามารถ ผ่านการอบรม เวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่างหนึ่งๆ มักจะใกล้เคียงกัน เมื่อใช้ต่างวิธีการ อย่างไรก็ตาม เวลาส่วนใหญ่จะใช้ไปในการเตรียมตัวอย่าง เตรียมเครื่องมือ อุปกรณ์ก่อนการวิเคราะห์ เมื่อใดก็ตามที่สารเคมีและเครื่องมือพร้อม จำนวนตัวอย่างที่สามารถวิเคราะห์ได้ต่อชั่วโมง จะขึ้นกับแต่ละวิธีการวิเคราะห์

ค่าใช้จ่ายในขบวนการวิเคราะห์ ขึ้นกับปัจจัยหลายอย่าง ได้แก่ เครื่องมือ สารเคมี วัสดุสิ้นเปลือง ค่าจ้างนักวิเคราะห์ โดยทั่วไป วิธีการที่ต้องใช้เครื่องมือจะมีค่าใช้จ่ายต่อตัวอย่างสูงกว่า

2.2.7 การตัดสินใจเลือกวิธีการวิเคราะห์ (Making the final choice)

การตัดสินใจสุดท้ายในการเลือกวิธีการวิเคราะห์ โดยพิจารณาเกณฑ์การออกแบบ (design criteria) ตามที่กล่าวมานั้น ค่อนข้างยุ่งยาก เนื่องจาก เกณฑ์ต่างๆ เหล่านั้นต้องพิจารณาควบคู่กันไป และไม่เป็นอิสระต่อกัน เช่น การปรับปรุงให้วิธีการมีความเฉพาะเจาะจง (selectivity) มักทำให้ความแม่นยำ (precision) ลดลง การลดค่าใช้จ่ายและเวลาในการวิเคราะห์อาจลดระดับความถูกต้อง (accuracy) ดังนั้นการเลือกวิธีการวิเคราะห์หนึ่งๆ ต้องชั่งน้ำหนักผลดี ผลเสีย ของเกณฑ์การออกแบบต่างๆ โดยทั่วไป มักยึดว่า ความถูกต้องเป็นเกณฑ์ที่สำคัญมากที่สุด บางกรณีเวลาการวิเคราะห์ที่ต้องเร่งด่วนเป็นเกณฑ์สำคัญ เช่น งานด้านคลีนิคที่ต้องการผลรวดเร็วในการตัดสินใจ

วิธีการที่ดีที่สุด มักถูกเลือกจากคุณสมบัติของตัวอย่างเอง เช่น การวิเคราะห์หาสารวิเคราะห์อยู่ในตัวกลาง (matrix) ต้องการวิธีการที่มีความเฉพาะเจาะจง (selectivity) สูง เพื่อหลีกเลี่ยงสารแทรกสอด

2.3 การพัฒนาขั้นตอนการปฏิบัติงานวิเคราะห์มาใช้งาน (Developing the Procedure)

หลังจากที่ได้คัดเลือกวิธีการวิเคราะห์ที่เหมาะสมตามต้องการแล้ว ขั้นตอนถัดมาคือการพัฒนาขั้นตอนการปฏิบัติงาน (procedure) ตามเป้าหมายของขบวนการวิเคราะห์นั้น สิ่งจำเป็นที่ต้องพิจารณา ได้แก่ การชดเชยสิ่งที่แทรกสอดในตัวอย่าง การเลือกและสอบเทียบเครื่องมืออุปกรณ์ การปรับมาตรฐานวิธีการวิเคราะห์ (Standardization) การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี (validation)

2.3.1 การชดเชยผลจากสารแทรกสอด (Compensation for Interferences)

ความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์ ขึ้นกับความเฉพาะเจาะจง ต่อสารวิเคราะห์ที่สนใจ แม้แต่วิธีที่ดีที่สุด สารแทรกสอดอาจปรากฏในตัวอย่าง หรือในสารละลายที่ใช้ สัญญาณที่เกิดจากสารละลายที่ใช้ (reagent) อาจหาได้โดยการวัดสัญญาณของ method blank ซึ่งไม่มีตัวอย่างอยู่ กรณีตัวอย่างเป็นของเหลว หรืออยู่ในรูปสารละลาย ก็ใช้สารละลายแทนตัวอย่างในปริมาตรเดียวกัน และตรวจวัดสัญญาณ เพื่อดูว่ามีสัญญาณของสารแทรกสอด มาหักลบออกหรือไม่

กรณีที่ต้องการชดเชยผลจากสารแทรกสอด ที่อยู่ในตัวกลางตัวอย่าง จะยุ่งยากมากกว่า เนื่องจากเราอาจไม่ทราบแน่นอนว่า สารอะไรที่ผสมในตัวกลาง มีผลต่อสัญญาณของสารวิเคราะห์ที่เราสนใจ หากทราบว่าสารอะไรมีผลแทรกสอด ก็อาจจะเติมลงใน method blank เพื่อวัดสัญญาณนั้นมาหักลบกับสัญญาณของตัวอย่าง

2.3.2 การสอบเทียบ และการปรับเทียบมาตรฐาน (Calibration and Standardization)

การสอบเทียบ (Calibration) หมายถึง การดำเนินงานให้แน่ใจว่า เครื่องมือ หรืออุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจวัดสัญญาณ ทำงานได้ถูกต้อง โดยการใช้สารหรือวัสดุมาตรฐานมาตรวจวัดผลิตสัญญาณที่ทราบค่าที่แน่นอนว่า ควรตรวจวัดได้เท่าใด ตัวอย่างเช่น เครื่องชั่ง ใช้ตุ้มน้ำหนักมาตรฐาน (Standard weight) ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน มาทำการสอบเทียบ

การปรับเทียบมาตรฐาน (Standardization) หมายถึง ขบวนการทดลองหาความสัมพันธ์ระหว่าง สัญญาณ และปริมาณสารวิเคราะห์ที่สนใจ ในกรณีวิธีแบบวิเคราะห์สารทั้งหมด (total analysis method) ก็จะเป็น stoichiometry ของปฏิกิริยาเคมี ที่ทำให้เกิดสัญญาณ ส่วนกรณีเป็นวิธีแบบความเข้มข้น (concentration method) จะหาความสัมพันธ์นี้ได้โดยทำการทดลองวัดสัญญาณของสารมาตรฐานหลายๆ ความเข้มข้น ต่ำไปสูง ตามลำดับ แล้วพล๊อตสัญญาณที่วัดได้ กับ ความเข้มข้นลำดับต่างๆ ที่เรารู้จักกันดีในเส้นกราฟสอบเทียบ (calibration curve)

2.3.3 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี (Validation)

ก่อนที่จะมั่นใจว่าขั้นตอนปฏิบัติงาน (procedure) สามารถผลิตข้อมูลผลการวิเคราะห์ได้ จะเป็นต้องมีการยืนยันตรวจสอบก่อน การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี (validation) เป็นการประเมินว่า ความแม่นยำ และความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์ ตามขั้นตอนปฏิบัติงานนั้น ดีเพียงพอกับการวิเคราะห์ตัวอย่างหรือไม่ นอกจากนี้ การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี จะทำให้มั่นใจว่า ขั้นตอนปฏิบัติงานที่เขียนขึ้น มีรายละเอียดชัดเจน เพียงพอที่เจ้าหน้าที่วิเคราะห์ หรือห้องปฏิบัติการต่างกัน จะปฏิบัติงานได้เหมือนกัน ได้ผลเทียบเคียงกัน ในทางอุดมคติแล้ว การตรวจสอบนี้ จะใช้ตัวอย่างมาตรฐาน (standard sample) ซึ่งองค์ประกอบเหมือนกับตัวอย่างที่จะวิเคราะห์ ทำการวิเคราะห์ซ้ำๆ เพื่อประเมินความแม่นยำและความถูกต้อง หรืออาจใช้เปรียบเทียบความแตกต่างของต่างห้องปฏิบัติการ และต่างนักวิเคราะห์ (Intralaboratory and Interlaboratory differences) ในกรณีที่ไม่มีสารมาตรฐานที่เหมาะสมก็อาจทำการเปรียบเทียบความถูกต้องของวิธีการใหม่นั้น กับวิธีการอื่นที่ทราบค่าความถูกต้อง

2.4 การสอบเทียบ การปรับเทียบมาตรฐาน และการแก้ค่าแบลงค์ (Calibration, Standardization and blank correction)

ในหัวข้อ 2.2.4 ได้กล่าวถึงการหาความสัมพันธ์ระหว่าง สัญญาณที่ตรวจวัด และปริมาณ หรือความเข้มข้นของสารวิเคราะห์ โดยการหาค่าคงที่ (k) ซึ่งเป็นความว่องไวของวิธีการวิเคราะห์ ตามสมการ

$$S_{meas} = k\, n_A + S_{reag}$$

หรือ

$$S_{meas} = k\, C_A + S_{reag}$$

n_A คือ จำนวนโมลของสารวิเคราะห์ A

C_A คือ ความเข้มข้นของสารวิเคราะห์ A

k คือ ความว่องไวของวิธีวิเคราะห์

S_{meas} คือ สัญญาณที่ตรวจวัดได้

S_{reag} คือ สัญญาณที่เกิดจากสารแทรกสอดในสารละลาย reagent

ในการหาค่าที่ถูกต้องของ n_A หรือ C_A เราจำเป็นต้องพยายามลดความผิดพลาดที่เกิดขึ้นจากการหาค่า S_{meas} , k และ S_{reag}

2.4.1 การสอบเทียบ (Calibration and Standardization)

ได้กล่าวถึงความหมายของการสอบเทียบไว้แล้วในหัวข้อ 2.3.2 การสอบเทียบ เป็นสิ่งจำเป็นและสำคัญมาก ในการใช้เครื่องมือของห้องปฏิบัติการ และเป็นขั้นตอนแรกก่อนใช้งาน การสอบเทียบดำเนินการได้โดย การวัดเทียบกับมาตรฐาน (standard) ที่ทราบค่าการวัดนั้นที่แน่นอน โดยการปรับสัญญาณ (signal) จนเครื่องมือ อุปกรณ์นั้น อ่านสัญญาณได้เท่ากับมาตรฐานที่ทราบค่าการวัด ตัวอย่างเช่น สัญญาณคือ การวัดมวลของสาร โดยการใช้เครื่องชั่ง เราทำการสอบเทียบเครื่องชั่งไฟฟ้า กับตุ้มน้ำหนักมาตรฐาน (Reference standard weight) เมื่อนำตุ้มน้ำหนักมาตรฐาน มาวางบนจานเครื่องชั่ง น้ำหนักโดยแรงโน้มถ่วง บนเครื่องชั่งก็ ทำให้

กระแสเกิดกระแสไฟฟ้า ให้ผลิตแรงสนามแม่เหล็กไฟฟ้า ต้านน้ำหนักที่กดลงบนจานเครื่องชั่ง แปรผันตามน้ำหนักนั้น

อย่างไรก็ตามการสอบเทียบเครื่องชั่ง ไม่ได้ขจัดแหล่งที่มาของความผิดพลาดทั้งหมด วัตถุที่ชั่งในอากาศ จะมีน้ำหนักเบากว่าที่ชั่งในสูญญากาศเสมอ เนื่องจากแรงลอยตัว (buoyancy) ความหนาแน่นของวัตถุที่ชั่ง และความหนาแน่นของตุ้มน้ำหนักที่ใช้สอบเทียบเครื่องชั่งนั้น จึงต้องมีการแก้ไขค่า เพื่อชดเชยความผิดพลาด ตัวอย่างที่ยกขึ้นนี้ ชี้ให้เห็นว่า การสอบเทียบใดๆ จำเป็นต้องพิจารณา การปรับแก้ไขค่าความผิดพลาด เพื่อสอบเทียบกับมาตรฐานใดๆ

อีกตัวอย่าง ในกรณีของการสอบเทียบเครื่องมือของห้องปฏิบัติการ (laboratory equipment) ต้องใช้มาตรฐานที่รู้ค่าการตอบสนอง (known response) เช่น ความถูกต้องของเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ สอบเทียบได้โดย การวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่เตรียมจาก 60.60 ส่วนในล้านส่วนของ $K_2Cr_2O_7$ ในกรด 0.0050 M H_2SO_4 โดยต้องได้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 350.0 nm อยู่ในช่วง 0.640 $\pm$ 0.010 หน่วย ก่อนจะเริ่มใช้งานเครื่องได้อย่างถูกต้อง

2.4.2 วิธีการปรับเทียบมาตรฐาน (Standardization Methods)

ได้กล่าวถึงความหมายของการปรับเทียบมาตรฐาน ไว้ในหัวข้อ 2.3.2 อีกนัยหนึ่ง วิธีการวิเคราะห์ใดๆ ที่ได้หาความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณ และปริมาณสารวิเคราะห์ ก็จะทราบค่าคงที่ k ในสมการที่กล่าวในหัวข้อ 2.4 โดยหลักการแล้ว น่าจะเป็นไปได้ที่จะหาค่า k ของวิธีการวิเคราะห์ โดยการพิจารณาขบวนการทางเคมีและกายภาพ ที่ทำให้เกิดสัญญาณโดยตรง แต่ในทางปฏิบัติเป็นได้ยาก มีข้อจำกัดที่จะหาความสัมพันธ์โดยตรง โดยส่วนใหญ่เราจึงมักใช้การวิเคราะห์สารมาตรฐานที่ทราบค่า หลายความเข้มข้น เพื่อหาสัญญาณหลายครั้ง เพื่อหาความสัมพันธ์ วิธีการเหล่านี้มีหลายเทคนิคได้แก่

ใช้สารละลายเป็นมาตรฐาน (Reagents used as standards)

ความถูกต้องของการปรับเทียบมาตรฐาน ขึ้นกับคุณภาพของสารละลาย และเครื่องแก้วที่ใช้ในการเตรียมสารมาตรฐาน ตัวอย่างเช่น ในการไตเตรต กรด-ด่าง ปริมาณที่สารวิเคราะห์ที่เราสนใจ สัมพันธ์กับปริมาณสารที่ใช้ไตเตรต (titrant) โดยปฏิกิริยาระหว่างสารวิเคราะห์กับสารที่ใช้ในการไตเตรต ปริมาณสารที่ใช้ไปในปฏิกิริยา คือผลคูณระหว่างสัญญาณ (ปริมาตรนั้นเอง) กับความเข้มข้นของสารที่ใช้ในการไตเตรตนั่นเอง ดังนั้นความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์แบบไตเตรต จะไม่ดีไปกว่าความถูกต้องของความเข้มข้นของสารที่ใช้ในการไตเตรต

- สารละลายมาตรฐาน (Primary and Secondary reagents)

สารละลายที่ทราบค่าความบริสุทธิ์ ใช้ในการเตรียมสารละลายมาตรฐานของสารวิเคราะห์ที่ทราบปริมาณ หรือความเข้มข้นแน่นอน และต้องมีความเสถียร ในการเก็บไว้ได้นาน จัดเป็นสารละลายมาตรฐานปฐมภูมิ (Primary reagents) ในกรณีที่สารนั้นต้องมีการทำให้แห้งเพื่อเก็บ มักจะไม่พิจารณาเป็น primary reagent ส่วนสารละลายอื่นที่ไม่มีคุณสมบัติตามนี้ แต่ใช้ในการเตรียมสารมาตรฐานของสารวิเคราะห์ที่สนใจ จะจัดเป็นสารละลายมาตรฐานทุติยภูมิ (secondary reagent) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องเตรียม และวัดสารละลายมาตรฐานทุติยภูมินี้ ควบคู่กับสารละลายมาตรฐานปฐมภูมิ

- สารละลายอื่นๆ (Other reagents)

ในการเตรียมสารมาตรฐาน มักจำเป็นต้องใช้สารที่ไม่ใช่สารมาตรฐานปฐมภูมิ หรือทุติยภูมิด้วย ตัวอย่างเช่น เมื่อต้องการเตรียมสารมาตรฐาน ในรูปสารละลาย ก็จำเป็นต้องใช้ตัวทำละลาย หรือตัวกลางที่เหมาะสม สารละลายอื่นๆ เพิ่มเติมเหล่านี้อาจเป็นที่มาของสารวิเคราะห์ที่เราสนใจ หากเราไม่ระมัดระวัง ซึ่งอาจไปเพิ่มสัญญาณของการตรวจวัด จากความไม่บริสุทธิ์ของตัวกลางตัวอย่าง

3. ประเภทของเทคนิคในการวิเคราะห์ทดสอบตัวอย่างสิ่งแวดล้อม (Classification of environmental analysis)

3.1 การแยกและการสกัดตัวอย่าง (Separation and Extraction)

กรณีที่วิธีการวิเคราะห์หนึ่งๆ มีความสามารถในการเจาะจงหาสารที่สนใจ ของการวิเคราะห์นั้น ไม่ว่าจะเป็นเชิงคุณภาพ เชิงปริมาณ ก็จะทำได้ง่าย อย่างไรก็ตาม วิธีการหนึ่งยากที่จะเจาะจงกับสารวิเคราะห์เพียงชนิดเดียว นี่คือสาเหตุทำให้เราจำเป็นต้องใส่ใจกับเทคนิคการเตรียม การแยก และการสกัดก่อน หรือ เพิ่มเติมในขั้นตอนปฏิบัติงาน

วัตถุประสงค์ของการแยก (separation) ก็คือการดึงเอาสารวิเคราะห์ (analyte) หรือสารแทรกสอด (interferente) ออกจากตัวกลางของตัวอย่าง เราจะทำการแยกได้ ก็ต้องมีคุณสมบัติทางเคมี หรือกายภาพอย่างใดอย่างหนึ่งของสารวิเคราะห์ และสารแทรกสอดที่แตกต่างกัน ที่สำคัญคือ การแยกต้องมีความเจาะจง (selectivity) มิฉะนั้น ขณะที่แยกสารแทรกสอดออกก็อาจจะไปทำให้สารวิเคราะห์หายไปจากตัวอย่างด้วยบางส่วน

เทคนิคการแยก มีทั้งที่ใช้คุณสมบัติทางกายภาพและเคมี จำแนกสรุปได้ดังตารางที่ 1 รายละเอียดดังนี้

ตารางที่ 1 ประเภทของเทคนิคการแยกตัวอย่าง

Basis of Separation	Separation Technique
Size	Filtration
	Dialysis
	Size-exclusion chromatography
Mass and density	Centrifugation
Complex formation	Distillation
	Sublimation
	Recrystallization
Change in chemical state	Precipitation
	Ion exchange
	Electrodeposition
	Volatilization
Partitioning between phases	Extraction
	Chromatography

1) การแยกตามขนาด (size)

คุณสมบัติกายภาพที่ง่ายที่สุด คือขนาดที่แตกต่างกันของสารวิเคราะห์ และสารแทรกสอด ทำการแยกโดยใช้ตัวกลางมีรูพรุน (porous medium) ที่ยอมให้เฉพาะสารวิเคราะห์หรือสารแทรกสอดผ่านได้เท่านั้น ตัวอย่างเช่น การกรอง (filtration) ใช้แยกสารแทรกสอดที่แขวนลอยจากสารวิเคราะห์ที่ละลาย และการ dialysis ก็ใช้หลักแยกตามขนาด โดยใช้ semipermeable membrane แยกสารแทรกสอด และสารวิเคราะห์จากกัน เมมเบรนทำจากเซลลูโลสที่มีรูพรุนเล็กมากขนาด 1-5 นาโนเมตร อีกเทคนิคหนึ่งได้แก่ size-exclusive chromatography โดยให้ตัวอย่างผสมนั้นผ่านอนุภาคที่มีรูพรุน สารที่มีขนาดเล็กกว่า จะใช้เวลานานกว่า เนื่องจากความแตกต่างในความสามารถผ่านโครงสร้างรูพรุน

2) การแยกตามมวล หรือความหนาแน่น (mass or density)

หากน้ำหนักมวล หรือความหนาแน่นของสารวิเคราะห์ และสารแทรกสอด แตกต่างกัน เราก็อาจแยกสารทั้งสองจากกัน โดยเทคนิคนี้ เช่น การปั่นเหวี่ยง (centrifugation) อนุภาคที่หนักกว่า หรือมีความหนาแน่นสูงกว่า จะมีอัตราการตกตะกอนเร็วกว่า และถูกดึงลงสู่ตอนล่างของหลอดเหวี่ยง เทคนิคการปั่นเหวี่ยงใช้มากในงานทางชีวเคมี ที่แยกองค์ประกอบด้านเซลออกจากกัน โดยการปั่นเหวี่ยง แยกหลายๆ ครั้ง

3) การแยกโดยใช้ปฏิกิริยาเชิงซ้อน (complexation reactions)

บางทีเรียกเทคนิคนี้ว่า masking ทำโดยให้สารแทรกสอดถูกดึงไว้โดยสารละลายที่มีสารที่ทำปฏิกิริยาเชิงซ้อน เพื่อขัดขวางไม่ให้ไปยุ่งเกี่ยว รบกวน สารวิเคราะห์ จริงๆ แล้วเทคนิคนี้ไม่ได้แยกจริงๆ จึงอาจเรียกได้ว่าเป็น pseudo-separation technique เท่านั้น

4) การแยกโดยการเปลี่ยนแปลงสถานะ (change of state)

เนื่องจากสารวิเคราะห์ที่สนใจ และสารแทรกสอด มักอยู่ในสถานะเดียวกัน การแยกมักทำได้โดยการเปลี่ยนแปลงสถานะทางกายภาพ หรือเคมี สถานะทางกายภาพ ได้แก่ เปลี่ยนสถานะจากของเหลวเป็นก๊าซ, ของแข็งเป็นก๊าซ สถานะทางเคมี ได้แก่ การแยกโดยปฏิกิริยาเคมีต่างๆ เทคนิคการแยกทางกายภาพ ได้แก่ การกลั่น (distillation) อาศัยที่สาร

วิเคราะห์และสารแทรกสอด มีจุดเดือดต่างๆ ซึ่งขณะแยกจะเกิดขบวนการกลายเป็นไอ (vaporization) และการควบแน่น (condensation) ค่อยๆ แยกสารออกจากกัน กรณีที่ตัวอย่างเป็นของแข็ง การแยกใช้วิธี sublimation โดยการให้ความร้อนกับตัวอย่างและให้แรงกดดันจนของแข็งระเหิดเป็นไอ โดยไม่ผ่านสถานะของเหลว

การแยกอีกแบบโดยเปลี่ยนแปลงสถานะโดยใช้ปฏิกิริยาเคมี ตัวอย่างเช่น NH_4^+ แยกออกจากตัวอย่างที่มีสภาพเป็นด่าง ทำให้เปลี่ยนเป็นแอมโมเนีย (NH_3) ซึ่งสามารถกลั่นออกมาได้ ปฏิกิริยาเคมีที่ใช้ในการแยก ได้แก่ การตกตะกอน (precipitation) การแลกเปลี่ยนอิออน (ion exchange)

5) การแยกโดยการแบ่งส่วนระหว่างเฟส (Partitioning between phases)

เป็นเทคนิคการแยกที่สำคัญที่สุด โดยให้สารละลายตัวอย่างที่อยู่ในเฟสหนึ่งสัมผัสกับสารในเฟสที่สอง แล้วสารที่อยู่ในตัวอย่าง จะแยกแบ่งส่วนระหว่างสองเฟสนั้น จนเมื่อถึงภาวะสมดุล คือ

$$K_D = \frac{[S_{phase2}]}{[S_{phase1}]}$$

K_D คือ สัมประสิทธิ์การแบ่งส่วน (partition coefficient)

$[S_{phase2}]$ คือ ความเข้มข้นของสารละลาย (solute) ในเฟสที่ 2

$[S_{phase1}]$ คือ ความเข้มข้นของสารละลาย (solute) ในเฟสที่1

การแยกโดยวิธีนี้ เรียกว่า การสกัด (extraction) ซึ่งสารที่ละลายอยู่ในเฟสหนึ่งถ่ายไปอยู่ในเฟสใหม่ เทคนิคการสกัดแบบนี้ มีหลายลักษณะได้แก่

5.1) Liquid-liquid extraction

เป็นเทคนิคการสกัดที่ใช้กันมากในการวิเคราะห์ด้านสิ่งแวดล้อม โดยทั่วไปสารละลายจะถูกแยกแบ่งส่วน (partition) ระหว่างสองเฟส โดยเฟสหนึ่งเป็นของเหลว อีกเฟสหนึ่งตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvent) เช่น diethyl ether, คลอโรฟอร์ม เนื่องจาก

เฟสทั้งสองไม่ละลายต่อกัน (immiscible) จึงแยกเป็นสองชั้น ชั้นที่หนักกว่าอยู่ล่าง ประสิทธิภาพการสกัดขึ้นอยู่กับค่าคงที่สมดุล (equilibrium constant) ระหว่างการแบ่งแยกส่วนของสารในสารละลาย ซึ่งเป็นผลจากปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้นตามมาได้แก่ สมดุลกรด-ด่าง, สมดุลการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน เป็นต้น

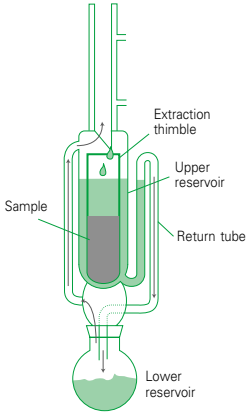
5.2) Solid-phase extraction

วิธีนี้สารละลายตัวอย่างจะผ่านแผ่นคาทริดจ์ ซึ่งประกอบด้วยอนุภาคของแข็งขนาดเล็ก (solid particulates) ทำหน้าที่เป็นวัสดุดูดซับ ชนิดของวัสดุดูดซับเลือกขึ้นตามคุณสมบัติขององค์ประกอบ และสารวิเคราะห์ที่เราสนใจ จะแยกออกมา ได้แก่ ตัวดูดซับชนิด octadecyl (C-18) จะสามารถดูดสารที่มีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำ (hydrophobic) เช่น ยาฆ่าแมลง สารไฮโดรคาร์บอน แผ่นคาทริดจ์จะถูกล้าง (elute) หลังจากที่ดูดซับสารที่ต้องการ ปัจจุบันวิธีการนี้กำลังแทนที่วิธี liquid-liquid extraction เพราะง่ายกว่า รวดเร็วกว่า ลดปริมาตรตัวทำละลาย มีความสามารถในการเพิ่มความเข้มข้นของสารวิเคราะห์

ปัจจุบันวิธีการนี้ได้พัฒนาขึ้นอีกระดับ เรียกว่า solid-phase micro extraction โดยใช้ fused silica fiber สอดลงภายในเข็มไซลิ้ง (syringe needle) ตัว fiber เคลือบด้วยฟิล์มสารอินทรีย์บางๆ เช่น poly (dimethyl siloxane) แล้วแหย่เข็มที่เคลือบสารนี้ลงโดยตรงในสารละลายตัวอย่าง ให้สกัดตัวอย่างในเวลาที่กำหนด แล้วถอนเข็มนี้ถ่ายเข้าวิเคราะห์ด้วยแก๊ซโครมาโกราฟทันที

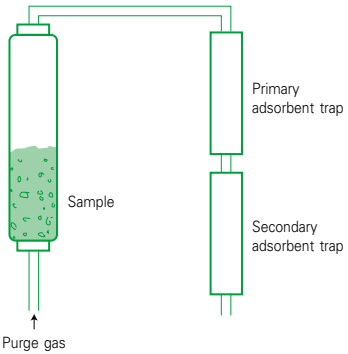
5.3) Continuous extraction

วิธีการสกัดจะยังใช้ได้ในกรณีที่องค์ประกอบที่เราสนใจ จะแยกในตัวอย่างมีสัมประสิทธิ์การแบ่งส่วน (partition coefficient) สูงกว่าขององค์ประกอบอื่นในตัวอย่าง หากไม่เป็นกรณีแบบนี้ การสกัดแบบต่อเนื่องโดยผ่านตัวอย่างกลับไปกลับมา ย้อนกลับไปกลั่นหลายๆ รอบ อย่างเช่น การใช้ soxhlet extrator (รูปที่ 2) ปัจจุบันมีการสกัดโดยใช้ microwave assisted extraction ซึ่งดีกว่า soxhlet extraction ในแง่ที่ไม่มีข้อจำกัดในการใช้ระดับอุณหภูมิที่ความดันบรรยากาศของสารละลายสกัดตัวอย่าง เนื่องจากควบคุมความดันได้ ทำให้อุณหภูมิสูงมากขึ้น เช่น อะซีโตน จะเดือดที่ 56 องศาเซลเซียส ที่ความดันบรรยากาศในการใช้ soxhlet แต่สามารถทำให้อุณหภูมิสูงถึง 150 องศาเซลเซียส โดยใช้ไมโครเวฟ



รูปที่ 2 ไดอะแกรมของ Soxhlet extractor

อีกตัวอย่างหนึ่งการสกัดแบบต่อเนื่อง คือ เทคนิค purge and trap โดยการไล่ก๊าซเฉื่อย เช่น ฮีเลียม ไล่สารประกอบอินทรีย์ระเหยง่าย (Volatile organic compounds; VOCs) จากตัวอย่างของเหลว เป็นการสกัดแบบ liquid-gas extration เมื่อ VOCs ออกจากตัวอย่างก็จะผ่านมาถูกจับไว้โดย adsorbent trap 2 ตัวต่อเนื่อง เมื่อการสกัดสมบูรณ์ก็ให้ความร้อนกับตัวจับนี้ เพื่อคาย VOCs ออกเข้าเครื่องมือวิเคราะห์ต่อไป (รูปที่ 3)



รูปที่ 3 ไดอะแกรมของระบบสกัดแบบ purge and trap

นอกจากนี้ยังมีเทคนิคอื่นที่เป็นแบบต่อเนื่อง ได้แก่ supercritical fluid extraction (ไม่กล่าวในที่นี้) และที่สำคัญคือ การแยกแบบโครมาโตกราฟฟี ซึ่งจะกล่าวรายละเอียดในเทคนิคโครมาโตกราฟฟีโดยเฉพาะ

นอกจากเทคนิคการแยกและการสกัดที่กล่าวมานี้ ยังมี เทคนิคอีกลักษณะหนึ่งที่ช่วยแก้ปัญหากรณีที่สารวิเคราะห์ปรากฏในตัวอย่าง ปริมาณต่ำมาก จนทำให้วิธีวิเคราะห์หาอย่างถูกต้องได้ยาก เทคนิคนี้คือ การทำให้สารวิเคราะห์มีความเข้มข้นสูงขึ้นในตัวอย่างก่อนจะวิเคราะห์เรียกว่า preconcentration ยกตัวอย่าง เช่น การวิเคราะห์สารยาฆ่าแมลงกลุ่มออแกโนฟอสฟอรัส (organophosphorus) ในน้ำตัวอย่าง 1000 มิลลิลิตร จะทำการแยกสกัดโดยใช้เอธิลอะซิเตต 15 มิลลิลิตร โดยวิธี solid-phase extraction ทำให้ตัวอย่างมีความเข้มข้นของสารประกอบนี้ สูงขึ้น 67 เท่าของตัวอย่างดั้งเดิม (ถ้าการสกัดมีประสิทธิภาพร้อยเปอร์เซ็นต์) อีกตัวอย่างหนึ่งได้แก่ การทำให้โลหะอิออนในตัวอย่างน้ำ มีความเข้มข้นสูงขึ้น โดยการสกัดด้วยตัวจับโลหะ (metal chelator) เช่น methyl isobutyl ketone (MIBK) โดยใช้ ammonium pyrrolidine dithiocarbamate (APDC) จะทำให้โลหะมีความเข้มข้นมากขึ้นถึง 10 เท่า เป็นต้น

3.2 หลักการหาน้ำหนักของมวล (Gravimetric method)

Gravimetry ครอบคลุมเทคนิคทุกประเภทที่เราตรวจวัดมวล หรือการเปลี่ยนแปลงของมวล ตัวอย่างเช่น เมื่อเรายืนบนเครื่องชั่ง ก็เป็นหลักการวัดโดยตรง การวัดมวลเป็นหลักการวิเคราะห์ทดสอบพื้นฐานที่สุด และเก่าแก่ที่สุด เทคนิคนี้วัดสัญญาณเป็นมวลของสาร มีวิธีการอย่างน้อยสองวิธีที่เป็นไปได้ คือ การวัดมวลของสารวิเคราะห์โดยตรง เช่น การหาปริมาณสารแขวนลอยในน้ำ โดยการกรองน้ำตัวอย่างที่ได้กรองน้ำตัวอย่าง หักน้ำหนักกระดาษกรองเปล่า คือมวลของสารแขวนลอยโดยตรง ส่วนอีกวิธีคือ การวัดมวลของสารวิเคราะห์โดยอ้อม เช่น การวัดหาปริมาณตะกั่ว (Pb^{2+}) ที่ละลายน้ำอยู่ เราไม่สามารถแยกรูปนี้ได้โดยตรงจากน้ำ ก็ให้ตะกั่วที่ละลายน้ำอยู่ทำปฏิกิริยาออกซิเดชั่น ตกตะกอนเป็น PbO_2 โดยใช้แพลตตินัมอิเลคโทรด เหนี่ยวนำไฟฟ้าจน Pb^{2+} ไปตกตะกอนที่ขั้วไฟฟ้า น้ำหนักของขั้วแพลตตินัมเปล่า จะเพิ่มขึ้นเมื่อตะกั่วไปตกตะกอนที่ขั้ว แล้วก็ชั่งน้ำหนักที่ต่างกันได้มวลของ PbO_2

บางครั้งจะง่ายกว่าในการเอาสารวิเคราะห์ออกจากตัวอย่างและดูการเปลี่ยนแปลงของมวลแทน ตัวอย่างเช่น การหาความชื้นในอาหาร โดยวิธีวัดมวลโดยตรง อาจทำได้โดยการให้ความร้อนตัวอย่างอาหาร ให้อุณหภูมิจนน้ำระเหย แล้วจับไอน้ำที่ระเหยด้วยตัวดูดซับ (ที่ทราบน้ำหนักเปล่า) แล้วก็ชั่งมวลของตัวดูดซับหลังจากดูดไอน้ำไว้ ก็จะทราบน้ำหนักของน้ำ (ความชื้น) ในตัวอย่างอาหาร อีกวิธีที่ง่ายกว่า ชั่งน้ำหนักอาหารก่อน และหลังให้ความร้อนจนแห้ง การเปลี่ยนแปลงของมวลตัวอย่างอาหาร ก็จะเป็นตัวบ่งชี้ปริมาณน้ำในอาหารนั่นเอง จึงเป็น การวัดโดยอ้อม

โดยสรุปแล้วเราสามารถใช้หลักการนี้ โดยการวัดมวลของสารวิเคราะห์ที่สนใจโดยตรง หรือมวลของสารประกอบที่มีสารวิเคราะห์ที่เราสนใจอยู่ อีกวิธีหนึ่งคือ การวัดโดยอ้อม โดยวัดการเปลี่ยนแปลงของมวล เนื่องจากการสูญเสีย (loss) ไป หรือมวลของสารประกอบที่เกิดขึ้นใหม่จากผลของปฏิกิริยาที่เนื่องมาจากสารวิเคราะห์ที่เราสนใจ

ประเภทของวิธีหาน้ำหนักของมวล (Types of Gravimetric Methods)

เทคนิคหากพิจารณาจำแนกได้เป็น 4 ประเภทคือ

1) Precipitation gravimetry

วัดมวลของสารที่ตกตะกอน ตัวอย่างเช่น การหาฟอสเฟต (PO_3^{3-}) โดยการตกตะกอนด้วย $HgCl_2$ โดยทำให้เกิดตะกอนของ Hg_2Cl_2 ได้เมื่อในสารละลายมี Cl^-

2) Electrogravimetry

สารวิเคราะห์ตกตะกอนเป็นฟิล์มของแข็ง บนขั้วอิเลคโทรด เช่น ปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของตะกั่ว (Pb^{2+}) ตกตะกอนเป็น PbO_2 บนขั้วอิเลคโทรดแพลตตินัม

3) Volatilization gravimetry

ใช้พลังงานความร้อนหรือ พลังงานเคมี แยกเอา species ที่ระเหยได้ เช่น ปริมาณคาร์บอนในสารประกอบอินทรีย์ หาได้โดยใช้พลังงานเคมีที่เกิดจากการเผาไหม้เปลี่ยนคาร์บอนเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

4) Particulate gravimetry

ใช้การแยกสารวิเคราะห์ออกจากตัวกลางของตัวอย่าง โดยการกรองหรือการสกัด เช่น การหาสารแขวนลอยในตัวอย่างน้ำ

ความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ที่ใช้ เทคนิคการหาน้ำหนักมวล (gravimetry) ขึ้นกับว่ามวลของสารวิเคราะห์ที่สนใจ เป็นสัดส่วนโดยตรงกับมวลหรือการเปลี่ยนแปลงมวลที่ทำให้เกิดสัญญาณ มากน้อยอย่างไร เทคนิคนี้ใช้หลักการ การสงวนมวลสาร (Conservation of Mass) อย่างเช่น วิธีวิเคราะห์สารแขวนลอยในตัวอย่างน้ำ สมการสงวนมวลสาร คือ

น้ำหนักกระดาษกรองที่ได้กรองตัวอย่างน้ำ - น้ำหนักกระดาษกรองเปล่า
= กรัมของสารแขวนลอย

เทคนิคนี้ถึงแม้ปัจจุบันจะใช้น้อย แต่ก็ยังเป็นเทคนิคที่มีความสำคัญมาก เพราะเป็นเทคนิคหนึ่งในจำนวนไม่มากนัก ที่การวัดสามารถอิงไปถึง SI units เช่น มวลสาร โมล และค่าคงที่ต่างๆ (เช่น อะโวกาโด มวลของ ^{12}C) อีกนัยหนึ่ง เทคนิคนี้ หามวลสัมพันธ์ไปได้ถึงคุณสมบัติกายภาพดั้งเดิม นักเคมีวิเคราะห์ส่วนใหญ่ ไม่เคยใช้เทคนิคนี้ในการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี แต่ไปใช้สารมาตรฐานอ้างอิง (standard reference material) แทน แต่เทคนิคนี้มีส่วนสำคัญในการผลิตสารมาตรฐานอ้างอิงที่ใช้กันนั่นเอง

3.3 หลักการไตเตรต (Titrimetric Methods)

Titrimetry เป็นเทคนิคที่เราวัดปริมาตรของสารเคมี (reagent) ที่ทำปฏิกิริยากับสารวิเคราะห์ที่สนใจในตัวอย่าง เทคนิคนี้เริ่มใช้มานาน ตั้งแต่ต้นศตวรรษที่ 18 แต่ไม่ค่อยได้รับการยอมรับ ไม่เหมือนกับเทคนิคการหาน้ำหนักโดยมวล (gravimetry) อย่างไรก็ตามพอถึงต้นศตวรรษที่ 20 เทคนิค titrimetry ก็เริ่มแทนที่เทคนิค gravimetry และกลายเป็นเทคนิคที่คุ้นเคยกันต่อมาการพัฒนาเทคนิคนี้จนเป็นที่ยอมรับต้องอาศัยความเข้าใจเรื่อง stoichiometry เทอร์โมไดนามิค สมดุลเคมี อย่างดี ดังนั้นกว่าเทคนิคนี้จะเป็นที่ยอมรับในความถูกต้อง และแม่นยำ เทียบเท่ากับเทคนิค gravimetry จึงต้องรอจนถึงต้นศตวรรษที่ 20

วิธีไตตริเมตริค แบ่งออกได้เป็น 4 กลุ่ม แตกต่างตามชนิดของปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ การไตเตรตกรด-ด่าง (acid-base titration) การไตเตรตคอมเพลคโซเมตริค (complexometric titration) เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาเชิงซ้อนของโลหะลิแกนด์ การไตเตรตรีดอกซ์ (redox titration)

โดยใช้สารไตเตรตเป็นสารละลายออกซิไดซ์ หรือรีดิวซ์ และการไตเตรตพรีซิพิเทชั่น (precipitation titration) โดยให้สารวิเคราะห์ที่สนใจทำปฏิกิริยากับสารไตเตรต ทำให้เกิดการตกตะกอน

หลักการที่เหมือนกันของทุกกลุ่มที่กล่าวมาของเทคนิคไตตริเมตริค ได้แก่

1) จุดสมดุล และจุดยุติ (Equivalence Points and End points)

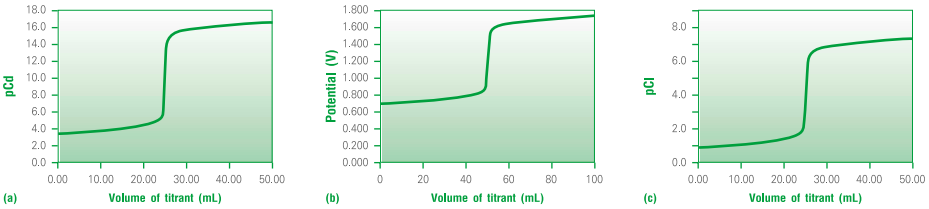
ในการไตเตรตให้ถูกต้อง เราต้องเติมสารไตแตรนท์ (titrant) ลงไปจนทำปฏิกิริยากับสารวิเคราะห์ (analyte) จนสมดุล ที่จุดสมดุลหนึ่ง ปริมาตรที่เติมลงไปจนถึงจุดนี้ (equivalence point volume, V_{eq}) คูณกับความเข้มข้นของไตแตรนท์ จะได้จำนวนโมลของไตแตรนท์ ซึ่งเมื่อทราบสมดุลเคมีกับสารวิเคราะห์ ก็จะสามารถคำนวณหาสารวิเคราะห์ได้ ในทางปฏิบัติเรามักจะไม่ทราบว่าจุดสมดุลถึงหรือยัง แต่เราใช้การสังเกตที่จุดยุติ (end point) บ่อยครั้งที่ใช้การเปลี่ยนสีของสารละลาย โดยใช้อินดิเคเตอร์ ดังนั้นการเลือกจุดยุติที่เหมาะสม จึงมีความสำคัญต่อความถูกต้องของวิธีไตเตรชั่นมาก

2) การตรวจวัดสัญญาณโดยใช้ปริมาตร (volume as a signal)

เงื่อนไขที่จะทำให้สามารถใช้เทคนิคไตเตรชั่น ได้มี 3 กรณีคือ กรณีแรก ปฏิกิริยาเคมีระหว่างสารไตแตรนท์กับสารวิเคราะห์ ต้องทราบสมดุลเคมีที่แน่นอน กรณีที่สอง ปฏิกิริยาไตเตรชั่นที่เกิดขึ้นต้องรวดเร็ว ถ้าเราเติมสารไตแตรนท์ในอัตราที่สูงกว่า อัตราการเกิดปฏิกิริยา เราก็จะพลาดจุดสมดุล และกรณีสุดท้าย ก็คือ การหาและเลือกจุดยุตินั้น เป็นไปได้ที่ระดับความถูกต้องที่ต้องการ ดังนั้นการตรวจหาปริมาตรของไตแตรนท์ อาจจะมีเทคนิคเพื่อแก้ไขเงื่อนไขทั้งสามกรณีนี้ ให้เป็นไปได้ เช่น วิธี back titration โดยการเติมสารไตแตรนท์ลงไปทำปฏิกิริยากับสารวิเคราะห์ จนเกินพอ และค่อยไตเตรต หาปริมาตรของไตแตรนท์ที่เกินพอนั้นอีกต่อหนึ่ง เมื่อจุดยุติเกิดเร็วจนสังเกตได้ยาก เป็นต้น

3) การใช้กราฟการไตเตรต (Titration curve)

เป็นวิธีการที่เราจะติดตามได้ชัดเจนว่า จุดยุติของการไตเตรตอยู่ที่ใด โดยการพล๊อตกราฟ การเปลี่ยนแปลงคืบหน้าของปฏิกิริยา กับปริมาตรของสารไตแตรนท์ที่ค่อยๆ เติมลงไป กราฟการไตเตรตนี้ จึงเป็นการทำให้เราเห็นภาพชัดเจนว่า คุณสมบัติที่เราติดตามอยู่เปลี่ยนแปลงอย่างไร

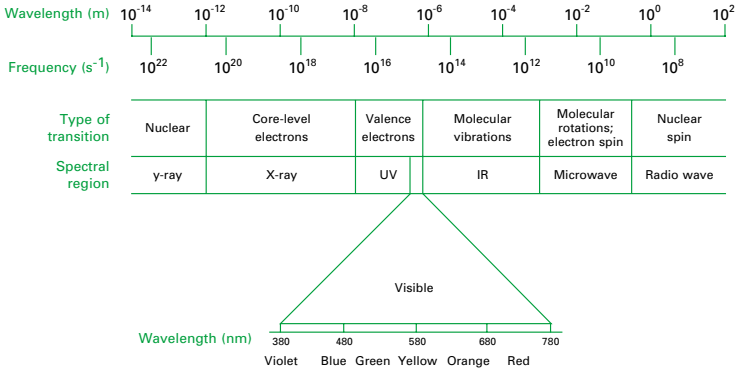


รูปที่ 4 ตัวอย่างกราฟการไตเตรตติดตามความคืบหน้าของปฏิกิริยา

3.4 หลักการสเปคโตรสโคปิค (Spectroscopic methods)

ก่อนจะเริ่มศตวรรษที่ 20 วิธีวิเคราะห์ทางเคมีส่วนใหญ่ใช้เทคนิคกราวิเมตริคหรือไตตริเมตริค ซึ่งใช้ได้ดีในการหาสารวิเคราะห์ที่มีปริมาณมากและน้อย พอถึงต้นศตวรรษที่ 20 วิธีวิเคราะห์ที่หาปริมาณน้อยมาก (trace level) เริ่มพัฒนามากขึ้น วิธีหนึ่งคือคัลเลอริเมตรี (colorimetry) ตัวอย่างหนึ่งของการใช้วิธีนี้ได้แก่ Nessler's method สำหรับวิเคราะห์แอมโมเนีย ซึ่งเสนอขึ้นตั้งแต่ปี ค.ศ. 1856 ซึ่งวิธีนี้ได้รับการพัฒนาตามลำดับจนปัจจุบัน คัลเลอริเมตรีเป็นตัวอย่างหนึ่งของวิธีที่ใช้หลักการสเปคโตรสโคปิค ให้ตัวอย่างดูดกลืนแสง ต่อมาช่วงปลายศตวรรษที่19 เทคนิคสเปคโตรสโคปิค ครอบคลุมขบวนการดูดกลืนแสง (absorption) การกระจายแสง (emission) การแผ่รังสีของแสงที่ตาเห็น (visible) แสงอุลตราไวโอเลต และอินฟราเรด จนถึงศตวรรษที่ 20 สเปคโตรสโคปิคขยายไปถึง การแผ่รังสีคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (photon spectroscopy) เช่น รังสีเอกซ์ ไมโครเวฟ คลื่นวิทยุ รวมทั้งอนุภาคพลังงาน (particle spectroscopy) เช่น อิเลคตรอนและอิออน

หลักการสเปคโตรสโคปิค เริ่มจากความเข้าใจเรื่องคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (electromagnetic radiation) ซึ่งเป็นพลังงานรูปหนึ่ง ที่อธิบายคุณลักษณะได้เป็นทั้งคลื่นและอนุภาค คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าหนึ่งๆ มีคุณสมบัติพื้นฐานหลายประการ ได้แก่ ความเร็ว ความสูงของคลื่น (amplitude) ความถี่ (frequency) มุมเฟส (phase angle) โพลาไรเซชั่น (polarization) และทิศทางที่เคลื่อนที่ ย่านความถี่สเปคตรัมของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าจึงกว้างขวาง กระจายความถี่และความยาวคลื่นหลายแบบ ได้แก่ (γ-ray, X-ray, ultraviolet, visible infrared, microwave, radiowave เป็นต้น



รูปที่ 5 สเปคตรัมคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าย่านต่างๆ ซึ่งใช้เป็นพื้นฐานเทคนิคสเปคโตรสโคปิคต่างๆ

เนื่องจากมีหลายย่านนี้ จึงมักแยกง่ายๆ ตามประเภทของการเปลี่ยนแปลง (transition) เป็นเพียง 2 ลักษณะคือ การเปลี่ยนแปลงในลักษณะดูดกลืน (absorption) และในลักษณะปล่อยออก (emission) ของโฟตอน

หลักการสเปคโตรสโคปิค จะใช้ได้ก็เฉพาะในกรณีที่โฟตอนทำปฏิสัมพันธ์กับตัวอย่างแล้วทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติพื้นฐานของคลื่นสนามแม่เหล็กไฟฟ้า อย่างน้อยอย่างใดอย่างหนึ่ง ตามที่กล่าวมาแล้ว หลักการนี้แบ่งได้เป็น 2 เทคนิคใหญ่ๆ คือ

3.4.1 กลุ่มที่ใช้หลักการถ่ายเทพลังงานโฟตอน (energy transfer) กับสารวิเคราะห์

3.4.1.1 Absorption spectroscopy

พลังงานของโฟตอนถูกสารวิเคราะห์ที่เราสนใจในตัวอย่างดูดกลืนไว้ ส่งผลให้สารวิเคราะห์เปลี่ยนสถานะระดับพลังงานจากระดับต่ำไประดับสูงขึ้น (excited state) แหล่งที่มาของสถานภาพพลังงาน ขึ้นกับว่า เป็นพลังงานของโฟตอนจากคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าย่านใด เช่น ถ้าดูดกลืนพลังงานโฟตอนของย่านแสง visible ก็จะทำให้ electron ของสารวิเคราะห์เคลื่อนจากระดับต่ำไปสูง หากดูดกลืนพลังงานของย่านอินฟราเรด จะส่งผลให้พันธะเคมีของสารวิเคราะห์เกิดการเปลี่ยนแปลงพลังงานสั่นสะเทือน (vibration energy)

ความหนาแน่นของโฟตอน ที่ผ่านตัวอย่างและพลังงานลดลง (attenuate) เพราะถูกดูดกลืนไปนี้ การวัดการลดลงของพลังงานนี้ ก็คือ การวัดการดูดกลืน (absorbance) อีกนัยหนึ่ง คือ เทคนิคนี้ตรวจวัดโฟตอนเป็นสัญญาณ (signal) ระดับพลังงานที่ถูกดูดกลืนจากระดับหนึ่งไปสู่อีกระดับจะมีค่าคงตัว (well-defined value) การดูดกลืนก็จะจับคู่กับความแตกต่างของพลังงานสองระดับที่ต่างกัน (ΔE)

3.4.1.2 Emission spectroscopy

การปล่อยออกของพลังงานโฟตอน (emission) เกิดขึ้นเมื่อสารวิเคราะห์ที่เราสนใจเปลี่ยนสถานะจากระดับพลังงานสูงไปสู่ระดับที่ต่ำลง การทำให้เกิดภาวะที่พลังงานอยู่ในระดับที่สูงกว่า อาจเกิดได้โดยให้พลังงานความร้อน (thermal energy) หรือพลังงานจากปฏิกิริยาเคมี ทำให้เกิดเทคนิค ได้แก่ photoluminescence, chemiluminescence เป็นต้น

3.4.2 กลุ่มเทคนิคที่ไม่ใช้หลักการถ่ายเทพลังงานของโฟตอน

เทคนิคกลุ่มนี้ใช้ปฏิสัมพันธ์อื่นๆ ได้แก่ การหักเห (diffraction) การกระจาย (scattering & dispersion) เป็นต้น ทำให้เกิดเทคนิค ได้แก่ X-ray diffraction, nephelometry เป็นต้น (กลุ่มนี้จะไม่กล่าวถึงในที่นี้)

เครื่องมือที่ใช้หลักการสเปคโตรสโคปี

เครื่องมือด้านสเปคโตรสโคปี มีองค์ประกอบหลายส่วนที่ต้องทำความเข้าใจ ที่สำคัญ ได้แก่ แหล่งพลังงานที่ให้แก่ตัวอย่าง ส่วนที่ทำหน้าที่แยกความยาวคลื่นที่ต้องการให้แคบลง ส่วนตรวจจับสัญญาณ ส่วนประมวลแปรสัญญาณ รายละเอียดดังนี้

1. แหล่งพลังงาน (source of energy)

เทคนิคสเปคโตรสโคปี ทุกวิธีต้องการแหล่งพลังงาน กรณีของ absorption และ scattering spectroscopy แหล่งพลังงานคือ โฟตอน ส่วนกรณีของ emission และ luminescence spectroscopy แหล่งพลังงานคือ ความร้อน รังสี หรือ พลังงานเคมี

2. การเลือกความยาวคลื่น (wavelength selection)

เนื่องจากในตัวอย่าง อาจมีองค์ประกอบอื่นนอกจากสารวิเคราะห์ที่จะตรวจวัดที่จะดูดกลืนหรือปล่อยออกพลังงานร่วมอยู่ด้วย เราจึงมักพยายามเลือกพลังงานความยาวคลื่นเดียว ซึ่งสารวิเคราะห์นั้นดูดกลืน อย่างไรก็ตาม เราไม่สามารถแยกความยาว คลื่นเดียวจากแหล่งพลังงานต่อเนื่องได้ จึงใช้ส่วนแยกความยาวคลื่น (filters) ยอมให้แถบแคบของรังสีผ่านไป ส่วนแยกความยาวคลื่นที่ดี จะยอมรับให้รังสีผ่านไป (throughput) และอยู่มีความกว้างช่วงคลื่น (band width) แคบๆ การที่รังสีผ่านไปได้ในลักษณะนี้ จะทำให้สัญญาณที่ตรวจวัดแรง และมีสิ่งรบกวนต่ำ การเลือกความยาวคลื่นทำได้หลายแบบ เช่น แบบง่ายที่สุดก็ใช้ตัวกรองดูดซับ (absorption filter) ข้อจำกัดของการใช้ตัวกรองดูดซับนี้ คือกรองได้ทีละความยาวคลื่น ทางเลือกอื่นได้แก่ การใช้ momochromator หรือ polychromator ซึ่งกรองได้ทีละหลายความยาวคลื่น จนถึงการใช้ interferometer ซึ่งเลือกกรองได้ทุกความยาวคลื่น

3. ส่วนตรวจวัด (detector)

ตัวตรวจวัดสมัยใหม่ใช้ transducer ทำหน้าที่ แปลงสัญญาณที่ประกอบด้วยโฟตอนไปเป็นสัญญาณกระแสไฟฟ้า ในทางอุดมคติแล้ว สัญญาณของตัวตรวจจับ (S) ต้องเป็นฟังก์ชั่นโดยตรงกับกำลังรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า (P) ตัวอย่างของส่วนตรวจวัด ประเภทต่างๆ ได้แก่ photon transducer เช่น phototube, photomultiplier และ photodiode อีกประเภท ได้แก่ thermal transducer ใช้กับกรณีรังสีอินฟราเรด ซึ่งมีพลังงานต่ำเกินไปที่จะทำให้เกิดกระแสไฟฟ้า เช่น pneumatic transducer

4. ส่วนประมวลสัญญาณ (Signal processor)

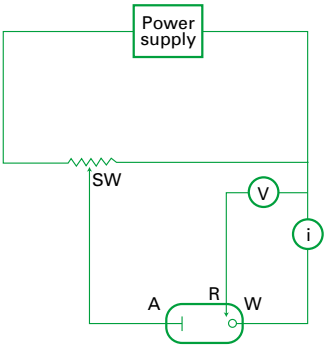
กระแสไฟฟ้าที่ได้จากส่วนตรวจวัดโดย transducer จะถูกส่งต่อมายังส่วนประมวลสัญญาณ ได้แก่ analog หรือ digital meter recorder และคอมพิวเตอร์

3.5 หลักการเคมีไฟฟ้า (Electrochemical methods)

หลักการเคมีไฟฟ้า ตรวจวัดสัญญาณที่เป็นความต่างศักย์ (potential) กระแส (current) และประจุไฟฟ้า (charge) ซึ่งมีการพัฒนาวิธีวิเคราะห์มากมายในการตรวจวัดสัญญาณกลุ่มนี้ แต่ที่แบ่งง่ายๆ มี 2 กลุ่มคือ วิธีวิเคราะห์สัญญาณทั้งหมดในตัวอย่าง (bulk methods) ซึ่งหาคุณสมบัติของสัญญาณทั้งหมด เช่นการวัดความเหนี่ยวนำไฟฟ้าของตัวอย่างน้ำ และวิธีวิเคราะห์เฉพาะส่วนสัมผัส (interfacial methods) ตรวจวัดสัญญาณเฉพาะบริเวณที่สัมผัสกันระหว่างอิเลคโทรดกับสารละลาย เช่น การวัด pH โดยใช้อิเลคโทรด ในที่นี้จะเน้นเฉพาะเทคนิคที่เป็น interfacial method

เทคนิคเคมีไฟฟ้าทาง interfacial นี้ แบ่งได้กว้างๆ เป็น 2 กลุ่ม เรียกว่า วิธี static และวิธี dynamic กรณีวิธีทาง static จะไม่มีกระแสไฟฟ้าเคลื่อนระหว่างอิเลคโทรด ความเข้มข้นของสารในเซลไฟฟ้าไม่เปลี่ยนแปลง คงที่นั่นเอง ตัวอย่างได้แก่ วิธีโพเทนทิโอเมตรี (Potentimetry) ส่วนกรณีวิธีทาง dynamic มีหลายวิธีมาก จะมีกระแสไฟฟ้าไหลระหว่างอิเลคโทรด ความเข้มข้นของสารจะเปลี่ยนแปลงตามปฏิกิริยารีดอกซ์ วิธีทาง dynamic แบ่งย่อยเป็น วิธีที่ควบคุมความต่างศักย์ (potential) และควบคุมกระแสไฟฟ้า (current) ได้แก่ วิธีคูโลเมตรี (coulometry) วิธีโวลแทมเมตรี (voltammetry)

การวัดทางเคมีไฟฟ้า ต้องใช้เซลเคมีไฟฟ้าที่ประกอบด้วยอิเลคโทรดสอง หรือมากกว่าสองตัว และกอปรด้วย ส่วนประกอบอิเลคโทรด สำหรับควบคุมและวัดกระแสไฟฟ้า และความต่างศักย์ อิเลคโทรดขั้วหนึ่งจะว่องไวต่อความเข้มข้นของสารวิเคราะห์ เรียกว่า indicator electrode (หรือ working electrode) ส่วนอีกขั้วหนึ่ง ทำหน้าที่ให้กระแสไฟฟ้าครบวงจร ให้ความต่างศักย์อ้างอิงต้านความต่างศักย์ของขั้วแรก เรียกว่า counter electrode ซึ่งทางอุดมคติเราต้องรักษาให้ความต่างศักย์ของ counter electrode คงที่ แต่ในกรณีวิธีแบบ dynamic ความต่างศักย์ของขั้วนี้จะเปลี่ยนแปลง ดังนั้นจึงแก้ไขปัญหาโดยแทนขั้วนี้ด้วยสองอิเลคโทรดตัวหนึ่งคือ reference electrode ไม่มีกระแสผ่าน ความต่างศักย์คงที่ และเติมอิเลคโทรดตัวที่สามทำหน้าที่ทำให้ไฟฟ้าครบวงจร เรียกว่า auxillary electrode



รูปที่ 6 ไดอะแกรมวงจรไฟฟ้าที่ประกอบด้วยอิเลคโทรด 3 ขั้ว

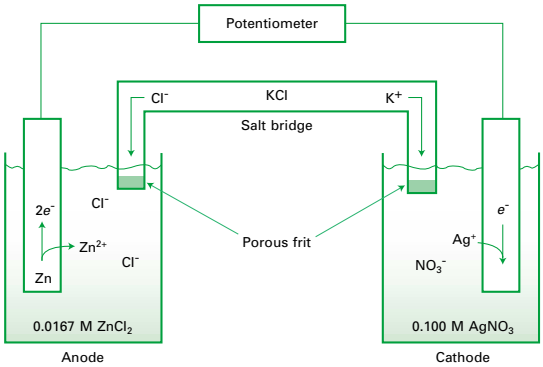
แม้ว่าหลักการเคมีไฟฟ้า จะแตกแขนงไปหลายวิธี แต่วิธีทั้งหมดออกแบบการทดลองโดยมีพื้นฐานการวัด 3 กรณีเท่านั้น คือ

1. วัดความต่างศักย์ในสภาวะไม่มีกระแสไฟฟ้า
2. วัดความต่างศักย์ในสภาวะควบคุมกระแสไฟฟ้า
3. วัดกระแสไฟฟ้าในสภาวะควบคุมความต่างศักย์

3.5.1 วิธีโพเทนทิโอเมตรี (Potentiometry)

ความต่างศักย์ของเซลเคมีไฟฟ้า ถูกวัดภายในสภาวะคงที่ ไม่มีกระแสไฟฟ้าไหลผ่านองค์ประกอบจึงคงที่ ทำให้เป็นวิธีการตรวจวัดทางปริมาณที่เป็นประโยชน์ วิธีนี้พัฒนามานานตั้งแต่ ค.ศ. 1889 เริ่มต้นใช้ขั้วอิเลคโทรดโลหะให้เกิดสมดุลรีดอกซ์ แล้วต่อมาเป็นอิเลคโทรดแก้วนำไปสู่การพัฒนา glass pH electrode ในปี ค.ศ. 1906 วิธีนี้จะใช้เครื่องมือ potentiometer ในการวัดความต่างศักย์ไฟฟ้าระหว่างสองอิเลคโทรด

ลักษณะของเซลเคมีไฟฟ้าแบบ potentimetric แบ่งออกเป็น ครึ่งเซล 2 ขั้ว (two half-cells) แต่ละขั้วจุ่มอยู่ในสารละลายอิออนที่มีความเข้มข้นของมัน เป็นความต่างศักย์ไฟฟ้า การแยกขั้วทั้งสองจึงจำเป็น เพื่อไม่ให้เกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ที่ผิวของขั้วใดขั้วหนึ่ง มีส่วนของ salt bridge ที่มีอิเลคโทรดเฉื่อย (inert electrode) เช่น KCl เชื่อมครึ่งเซลทั้งสอง



รูปที่ 7 เซลเคมีไฟฟ้าแบบโพเทนทิโอเมตรี

ปลายทั้งสองข้างของ salt bridge ในสารละลายของขั้วทั้งสองมีตัวกรองที่ 3 กันไม่ให้อิออนเคลื่อนออกจาก salt bridge ทำให้กระแสไฟฟ้าครบวงจร ขั้วที่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นเรียกว่า anode และขั้วที่เกิดปฏิกิริยารีดักชั่น เรียกว่า cathode โดยคำจำกัดความของเซลเคมีไฟฟ้า กำหนดให้ cathode (right half-cell) เป็น indicator electrode และให้ anode (left half-cell) เป็น reference electrode

ขั้วอ้างอิงที่เราต้องการควรจะมีความต่างศักย์คงที่ เพื่อให้ความต่างศักย์ของเซลเคมีไฟฟ้าที่วัดได้ แปรผันกับความเข้มข้นของสารวิเคราะห์ที่เราสนใจ นอกจากนี้ ขั้วอ้างอิงควรทำและใช้ง่าย ตัวอย่างที่สำคัญได้แก่ อิเลคโทรดไฮโดรเจนมาตรฐาน (standard hydrogen electrode, SHE) ไม่ค่อยใช้ในงานประจำทั่วไป แพลตตินัมอิเลคโทรด โดยให้เกิดปฏิกิริยารีดักชั่นเปลี่ยนไฮโดรเจนอิออนเป็นก๊าซไฮโดรเจน ส่วนคาโลเมลอิเลคโทรด (calomel electrode) ใช้ปฏิกิริยารีดอกซ์ ระหว่าง Hg_2Cl_2 (ภาษาสามัญเรียกว่า คาโลเมล) กับปรอทในสถานะของเหลว ความต่างศักย์ของคาโลเมลอิเลคโทรด หาจากความเข้มข้นของ Cl^- อิออน นอกจากนี้ได้แก่ Silver/Silver chloride อิเลคโทรด ใช้ปฏิกิริยารีดอกซ์ของ AgCl กับ Ag สถานะของแข็ง เป็นต้น

เทคนิคการวัดแบบ potentiometric นี้ เป็นหนึ่งในหลายวิธีที่นิยมใช้ในงานเคมีวิเคราะห์มากที่สุด เช่น การวัด pH มีการประยุกต์ใช้ในงานด้านการแพทย์ และด้านสิ่งแวดล้อม ในงานด้านสิ่งแวดล้อม การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคนี้ เป็นวิธีมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ ไซยาไนด์ (CN^-)

ฟลูออไรด์ (F^-) แอมโมเนีย และไนเตรต และยังมีการพัฒนา biosensor ขึ้นใช้ในงานภาคสนาม และการติดตามตรวจสอบมลพิษหลายชนิด

3.5.2 วิธีคูโลเมตรี (Coulometry)

เป็นวิธีเคมีไฟฟ้ากลุ่ม dynamic ใช้หลักการ การเกิดปฏิกิริยาอิเลคโตรไลซิส ของสารวิเคราะห์ที่สนใจ โดยตลอดจนหมด (exhausive) อีกนัยหนึ่ง สารวิเคราะห์ถูกออกซิไดซ์ หรือรีดิวซ์ที่อิเลคโทรดจนสมดุล หรือทำปฏิกิริยากับสารที่เกิดขึ้นที่อิเลคโทรด จนสมมูลย์ ประจุไฟฟ้าทั้งหมด (Q) ที่ผ่านอิเลคโตรไลซิส สัมพันธ์กับปริมาณสารวิเคราะห์ ตามกฎของฟาราเดย์ (Faraday's Law) ซึ่งถ้าปฏิกิริยาอิเลคโตรไลซิส มีประสิทธิภาพสมบูรณ์เต็มร้อยเปอร์เซ็นต์ ในการทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น หรือรีดักชั่น ก็จะทำให้จำนวนประจุไฟฟ้าทั้งหมดที่วัดได้แปรตามปริมาณสารวิเคราะห์ในตัวอย่าง

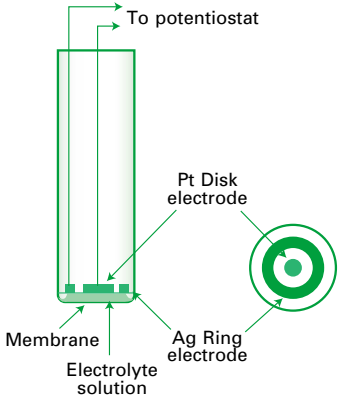
3.5.3 โวลแทมเมตรี (Voltammetry)

เป็นวิธีการเคมีไฟฟ้า ที่วัดกระแสไฟฟ้าในเซลเคมีไฟฟ้า ที่ขึ้นกับความต่างศักย์ที่เราใส่เข้าไปตามเวลา (time-dependent) มีการพัฒนาใช้วัสดุทำขั้วอิเลคโทรด ได้แก่ ปรอท แพลตตินัม ทอง เงิน คาร์บอน เทคนิคใหม่ๆ ด้านนี้ ใช้ปรอทเป็นขั้วอิเลคโทรด วิธีวิเคราะห์ที่ใช้เทคนิคนี้ ทั้งเชิงคุณภาพและปริมาณ มีหลายวิธีได้แก่ โพลาโรกราฟฟี (polarography) วิธีนี้ใช้กว้างขวาง การวิเคราะห์อิออนโลหะ และอิออนลบชนิดอนินทรีย์ เช่น ไนเตรต อีกวิธีซึ่งเป็นที่แพร่หลายมากที่สุดคือ stripping voltammetry ซึ่งมีรายละเอียดทั้งแบบ anodic cathodic และ adsorption แต่ที่มีการประยุกต์ใช้กว้างขวางคือ anodic voltammetry ในขั้นแรก วิธีนี้สารวิเคราะห์ที่สนใจจะเริ่มสะสมมากที่ขั้วอิเลคโทรด แล้วขั้นที่สอง ก็ทำการ scan ความต่างศักย์เพิ่มขึ้นทางบวกเรื่อยๆ จนขั้วอิเลคโทรด มีค่าบวกเพียงพอที่ทำให้สารวิเคราะห์ที่เกาะอยู่ที่ขั้วออกซิไดซ์ หลุดออกมาสู่สารละลาย กระแสไฟฟ้าที่ใช้ระหว่างการทำให้สารวิเคราะห์หลุดออกมา จะเป็นสัดส่วน โดยตรงกับความเข้มข้นของสารวิเคราะห์

เทคนิคโวลแทมเมตรี นำมาใช้ในการวิเคราะห์ด้านสิ่งแวดล้อม ได้แก่ การวิเคราะห์โลหะปริมาณน้อย (trace element) การประยุกต์ที่น่าสนใจได้แก่ การตรวจวัดรูปแบบทางเคมีของโลหะ (speciation)

3.5.4 แอมเพอโรเมตรี (Amperometry)

เป็นวิธีเคมีไฟฟ้าที่ให้ความต่างศักย์ไฟฟ้าคงที่แก่อิเลคโทรด และวัดกระแสไฟฟ้าตามเวลา การประยุกต์หลักนี้ ใช้ในการผลิต chemical sensor ตัวอย่างที่สำคัญ ได้แก่ การพัฒนา oxygen sensor โดย L.C. Clark ในปี ค.ศ. 1956 ประกอบด้วยอิเลคโทรดเป็นแผ่นคาโทดของแพลตตินัม และมีขั้วลบแอโนดเป็นวงแหวนเงิน ปลายสุดของ sensor เป็นเมมเบรน ที่ก๊าซซึมผ่านได้ โดยแยกจากขั้วบวกและลบ โดยสารละลายชั้นบางๆ ของ KCl เทคนิคนี้นำมาใช้ในวิธีการวิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนในตัวอย่างน้ำ ปริมาณบีโอดีในน้ำ



รูปที่ 8 แอมเพอโรเมตรีแบบ Clark สำหรับการตรวจวัดออกซิเจนละลายน้ำ

3.6 หลักการโครมาโตกราฟฟี (Chromatography)

หลักการเคมีวิเคราะห์ต่างๆ ที่กล่าวมา ได้พยายามพัฒนาออกแบบวิธีการให้สามารถตรวจวัดสารวิเคราะห์ในระดับปริมาณต่ำๆ ลง และตรวจวัดในตัวกลางที่ซับซ้อนให้ได้มากขึ้นเรื่อยๆ หลายเทคนิคจึงมีข้อจำกัดเรื่องความเฉพาะเจาะจง (selectivity) ด้วยเหตุนี้หลายวิธีจึงมักมีการออกแบบขั้นตอนที่จะแยกสารวิเคราะห์จากสารแทรกสอด หลักการโครมาโตกราฟีก็เป็นเทคนิคหนึ่งที่รวมขั้นตอนการแยก (separation) และการวิเคราะห์ (analysis) ไว้ด้วยกัน

แม้ว่าเราจะมีเทคนิคช่วยในการแยกและสกัดสารวิเคราะห์ออกจากตัวกลางตัวอย่างหลายแบบ แต่วิธีการเหล่านั้นก็ยังมีข้อจำกัดหลายประการ ได้แก่

1) ปัญหาในการแยกแบบง่าย (Simple separation)

ยกตัวอย่างเช่น เรามีตัวอย่างที่มีสารวิเคราะห์ที่สนใจอยู่ในตัวกลาง เราจำเป็นต้องแยกเฉพาะสารวิเคราะห์ออกจากตัวกลาง เช่น โดยการสกัดด้วยตัวทำละลาย การแยกขึ้นอยู่กับสัดส่วนการแพร่กระจาย (distribution ratio) แต่ละสารที่ปรากฏในตัวอย่าง เพื่อที่เราจะแยกสารวิเคราะห์ที่สนใจออกจากตัวอย่างได้ สัดส่วนการแพร่กระจายของสารนั่น ต้องมีสูงกว่าของทุกสารที่ปรากฏในตัวอย่าง มิฉะนั้นการแยกจะเป็นไปไม่ได้ หลายกรณี อาจจะต้องสกัดแยกหลายครั้ง เพื่อให้ได้สารวิเคราะห์เพียงพอ แต่ขณะที่เพิ่มจำนวนครั้งการสกัด หรือเปลี่ยนปริมาตรสารสกัดที่ใช้ สารอื่นในตัวกลางก็จะออกมาปนเพิ่มขึ้นด้วย

2) วิธีการแยกสารผสมที่ดีกว่า (Separation mixtures)

เราสามารถปรับปรุงการสกัดได้อีกลักษณะ โดยครั้งแรกสกัดสารที่เราสนใจเข้ามาอยู่ใน extracting phase แล้วสกัดต่อโดยการเติม initial phase ใหม่เพิ่มเข้าไป เพื่อดึงสารแทรกสอดอื่นๆ ที่เราไม่สนใจกลับออกจาก extracting phase ที่เราต้องการ เนื่องจากสารที่เราสนใจมีสัดส่วนการแพร่กระจายสูงกว่า จึงถูกสกัดมากกว่าในครั้งที่หนึ่ง และน้อยกว่าในครั้งที่สอง การทำแบบนี้จะทำให้สัดส่วนความเข้มข้นของสารที่สนใจสูงขึ้น วิธีการสกัดกลับไปกลับมา (back and forth) ระหว่างสารละลายใหม่ของสองเฟสนี้ เรียกว่า counter-current extraction ซึ่งเป็นพื้นฐานสำคัญของเทคนิคโครมาโตกราฟฟี

การแยกโดยเทคนิคโครมาโตกราฟฟี ทำโดยการผ่านสารละลายที่ไม่มีสารที่สนใจเป็นเฟสเคลื่อนที่ เรียกว่า mobile phase แล้วตามด้วยสารละลายที่สอง ที่ไม่มีสารที่สนใจเช่นกัน เป็นเฟสคงที่ เรียกว่า stationary phase แล้วฉีดหรือใส่ตัวอย่าง ลงไปใน mobile phase เมื่อมันเคลื่อนที่ไปองค์ประกอบในตัวอย่างจะแยกตัว (partition) ระหว่างทั้งสองเฟสนี้ สารที่ชอบอยู่กับ stationary phase มากกว่า ก็จะเคลื่อนที่ช้ากว่า ใช้เวลานานกว่าในการผ่านระบบทั้งหมด ถ้าเราให้เวลาเพียงพอ และมีเฟสเพียงพอ สารละลายที่มีสัดส่วนการแพร่กระจายจะแยกออก

ประวัติศาสตร์ของโครมาโตกราฟสมัยใหม่ ระบุว่า เทคนิคนี้เริ่มต้นตั้งแต่ต้นศตวรรษที่ 19 โดยนักพฤกษศาสตร์ชาวรัสเซีย ชื่อ Mikhail Tswett ใช้คอลัมน์แยกเม็ดสี (pigment) ของต้นไม้ โดยการสกัด เขาเป็นผู้ตั้งชื่อคำว่า chromatography คนแรก จนถึงงานพัฒนาสำคัญของ Martin and Synge (1941) ที่พัฒนาเทคนิค liquid-liquid extraction อันเป็นพื้นฐานสำคัญของเทคนิคการแยกและการสกัดอื่นๆ ตามลำดับมา

ประเภทของเทคนิคโครมาโตกราฟ (Classifying analytical separations)

เทคนิคการแยกนี้จำแนกได้ 3 ลักษณะคือ

1) โดยสภาพกายภาพของเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase)
2) โดยวิธีที่เฟสเคลื่อนที่และเฟสคงที่สัมผัสกัน (contact)
3) โดยกลไกทางเคมีหรือกายภาพที่แยกองค์ประกอบของตัวอย่าง (mechanism)

เฟสเคลื่อนที่มักจะมีสถานะเป็นของเหลว หรือก๊าซ ส่วนเฟสคงที่ (ถ้ามี) เป็นของแข็งหรือฟิล์มของเหลวที่เคลือบบนผิวของแข็ง เทคนิคโครมาโตกราฟมักตั้งชื่อโดยการบอกเรียงชนิดของเฟสเคลื่อนที่ และตามด้วยเฟสคงที่ ดังนั้นในกรณี gas-liquid chromatograph หมายถึงเฟสเคลื่อนที่เป็นก๊าซ และเฟสคงที่เป็นของเหลว ถ้าระบุเฟสใดเฟสหนึ่งเท่านั้น ก็หมายถึงที่กล่าวนั่นเป็นเฟสเคลื่อนที่ เช่น gas chromatography

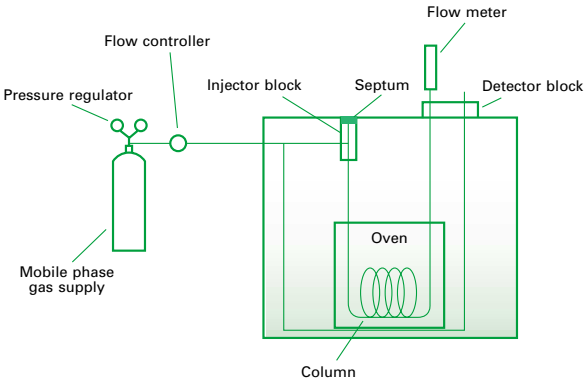
การสัมผัสกันของเฟสเคลื่อนที่ และเฟสคงที่มี 2 แบบ แบบแรกคือ column chromatography เฟสคงที่จะใส่ไว้ในหลอดแคบๆ ซึ่งเฟสเคลื่อนที่จะเคลื่อนตามอิทธิพลของแรงโน้มถ่วง หรือความกดดัน เฟสคงที่เป็นของแข็งหรือฟิล์มของเหลวบางๆ บนวัสดุอนุภาคที่อัดรวมกัน ส่วนแบบที่สองคือ planar chromatography จะเคลือบแผ่นแก้ว, โลหะ หรือพลาสติกด้วยเฟสคงที่ และใส่ไว้ในช่อง (chamber) มีส่วนเก็บกักที่ใส่เฟสเคลื่อนที่ให้สัมผัสกับเฟสคงที่ โดยการเคลื่อนที่มาจาก capillary action

กลไกซึ่งสารละลายแยกจากกัน มีหลายลักษณะ ได้แก่ การดูดซับในกรณีของ adsorption chromatography สารแยกออกตามคุณสมบัติการดูดซับบนเฟสคงที่ที่เป็นของแข็ง ส่วนกรณี partition chromatography แผ่นฟิล์มของเหลวบางๆ ซึ่งเคลือบบนตัวรองของแข็งจะทำหน้าที่เป็นเฟสคงที่ การแยกเกิดขึ้นจากความแตกต่างของการแยกตัวแบบสมดุลของสารละลายระหว่างเฟสคงที่และเฟสเคลื่อนที่

ตัวอย่างที่สำคัญของเทคนิคโครมาโตกราฟ ที่สมควรทราบได้แก่

1) Gas Chromatography

เทคนิคนี้ ตัวอย่างที่จะวิเคราะห์ อาจอยู่ในรูปของเหลว หรือก๊าซ ถูกฉีดเข้าไปในก๊าซเฉื่อยที่ทำหน้าที่เป็นเฟสเคลื่อนที่ (มักเรียกว่า carrier gas) ตัวอย่างถูกพาผ่าน packed หรือ capillary คอลัมน์ ซึ่งเป็นส่วนที่องค์ประกอบของตัวอย่างจะแยกออกจากกัน ตามความสามารถ ในการกระจายอยู่ระหว่างเฟสเคลื่อนที่ และเฟสคงที่

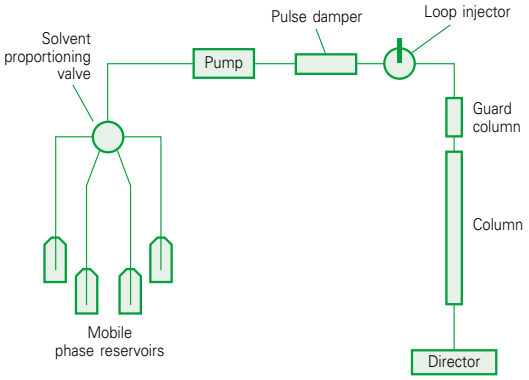


รูปที่ 9 ไดอะแกรมทั่วไปของแก๊สโครมาโตกราฟ

ไดอะแกรมของระบบมีลักษณะดังรูปที่ 9 เฟสเคลื่อนที่มักเป็นฮีเลียม (He), อาร์กอน (Ar) และไนโตรเจน เพราะเฉื่อยต่อปฏิกิริยาเคมีกับทั้งตัวอย่าง และเฟสคงที่ ชนิดของก๊าซที่เหมาะสมขึ้นกับชนิดของตัวตรวจจับ (detector) ของระบบ ส่วนประกอบสำคัญคือตัวคอลัมน์ซึ่งเป็นส่วนที่เก็บรักษาเฟสคงที่ การผลิตคอลัมน์นั้นมีผลต่อปริมาณตัวอย่างที่สามารถจะรับได้ ประสิทธิภาพของการแยก จำนวนชนิดของสารที่วิเคราะห์ที่ต้องการแยกได้ เวลาที่จะใช้ในการแยก ในเทคนิคนี้ มีคอลัมน์สองประเภทคือ packed และ capillary column

2) High-Performance Liquid Chromatography (HPLC)

แม้ว่าเทคนิค gas chromatography จะแพร่หลาย แต่ก็มีข้อจำกัดที่เหมาะกับตัวอย่างที่คงที่ในสภาพความร้อนและ ระเหยได้ง่าย จะวิเคราะห์สารที่ไม่ระเหย หรือระเหยยากได้ไม่ง่าย แต่เทคนิค HPLC นี้ ตัวอย่างที่เป็นของเหลว หรือของแข็งที่ละลายในตัวทำละลายที่เหมาะสม จะถูกนำพาผ่านคอลัมน์ โดยเฟสเคลื่อนที่ที่เป็นของเหลว การแยกเกิดขึ้นโดยปฏิสัมพันธ์ของสารละลาย และเฟสคงที่ ได้แก่ liquid-solid adsorption, liquid-liquid partitioning, ion-exchange and size exclusion เป็นต้น ไดอะแกรมของระบบมีลักษณะดังรูปที่ 10



รูปที่ 10 ไดอะแกรมของระบบ High Performance Liquid Chromatograph

เทคนิคนี้จะใช้คอลัมน์ 2 ประเภท ตัวหนึ่งเป็นคอลัมน์วิเคราะห์ ทำหน้าที่ในการแยก และอีกตัวหนึ่ง เป็น guard column วางไว้ก่อนหน้าคอลัมน์แยก เพื่อห้องกันการปนเปื้อน เฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ใน HPLC จะเป็นสารละลายไม่มีขั้ว (nonpolar) หรือมีขั้ว (polar) อย่างใดอย่างหนึ่ง ส่วนเฟสเคลื่อนที่จะมีความมีขั้วตรงข้าม ซึ่งถูกผลึกเชื่อมไว้กับวัสดุ particulate ที่บรรจุในคอลัมน์ เทคนิค HPLC สามารถประยุกต์กับตัวอย่างได้กว้างขวางกับเทคนิค GC แต่ประสิทธิภาพการแยกจะไม่สูงเท่ากับ GC

นอกจากสองเทคนิคที่กล่านี้ เทคนิคโครมาโตกราฟอื่นๆ ที่ไม่ได้กล่าวถึงในที่นี้ยังมีอีกหลายประเภท ได้แก่ ion-exchange chromatography, size-exclusion chromatography, supercritical fluid chromatography เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

1. Harvey, D., 2000. Modern Analytical Chemistry, The McGraw-Hill Companies, Inc., International Edition ISBN 0-07-116-953-9

คณะทำงาน

ที่ปรึกษา

นายอนุพันธ์ อิฐรัตน์ ผู้อำนวยการฝ่ายคุณภาพสิ่งแวดล้อมและห้องปฏิบัติการ

ผู้เรียบเรียง

นายวิเทศ ศรีเนตร

บรรณาธิการ

นางสาวพรรนิภา ธีระจินดาชล
นางสาวดารารัตน์ รื่นรมย์สุข
นางสาววัลภา จุฬารัตน
นางสาวศิวาพร แผ่นทอง
นายมนูชัย ดังวาย

ผู้ช่วยเบ็ดเตล็ด

นางสาวมณีรัตน์ อุ่นจิตต์วรรธนะ
นายพรชัย กะการดี

กรมควบคุมมลพิษ
กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

92 ซอยพหลโยธิน 7 ถนนพหลโยธิน แขวงสามเสนใน เขตพญาไท กทม. 10400
โทร. 0 2298 2000 โทรสาร 0 2298 2002
http://www.pcd.go.th