

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 ชนิดของการเปล่งแสง (Types of Luminescence)

การเปล่งแสงมีด้วยกันหลายชนิดขึ้นกับแหล่งพลังงานที่ทำให้โมเลกุลไปอยู่ที่สถานะกระตุ้น (excited state) เช่น

2.1.1 Photoluminescence คือ โมเลกุลที่เกิดอันตรกิริยากับโฟตอนของการแผ่รังสีแม่เหล็กไฟฟ้า ทำให้เกิด luminescent molecule ซึ่งแบ่งออกเป็น

2.1.1.1 การวาวแสง (fluorescence)

2.1.1.2 การเรืองแสง (phosphoresence)

2.1.2 Chemical luminescence คือ โมเลกุลของสารที่ใช้พลังงานที่ได้จากปฏิกิริยาเคมี หรือ chemiluminescence

2.1.3 Radioluminescence คือ การที่โมเลกุลได้รับพลังงานจากอนุภาคที่มีพลังงานสูงไปเป็นโมเลกุลที่สถานะกระตุ้น

2.2 หลักการของโฟโตลูมิเนสเซนซ์ (Principles of photoluminescence)

โฟโตลูมิเนสเซนซ์เป็นกระบวนการไปสู่สถานะกระตุ้นและการกลับสู่สถานะพื้น (excitation – deexcitation process) โดยมีโฟตอนเข้าไปเกี่ยวข้อง มีการดูดกลืนโฟตอนและให้โฟตอนออกมา เนื่องจากกระบวนการที่เกิดขึ้นต้องแข่งขันกัน ดังนั้น อัตราการเกิดของกระบวนการเหล่านี้จึงมีความสำคัญ

2.2.1 กระบวนการกระตุ้น (Excitation)

เมื่อโมเลกุลดูดกลืนรังสีจากการแผ่รังสีแม่เหล็กไฟฟ้าขึ้นไปอยู่ที่สถานะกระตุ้น (excited state) จะต้องมีกลไกที่จะลดพลังงานที่มากเกินไปมาสู่สถานะพื้น (deexcited state)

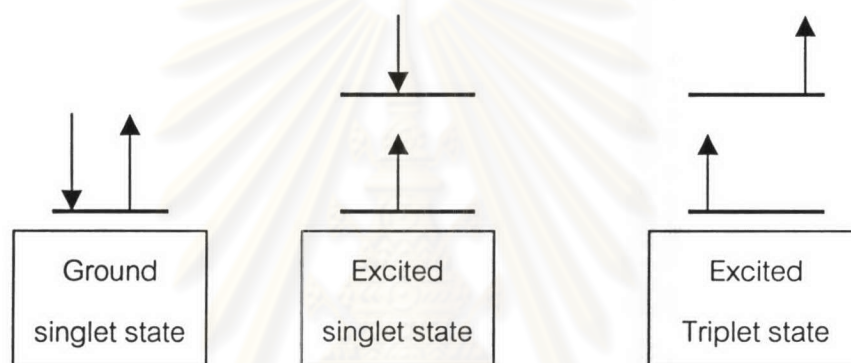
ถ้าให้มัลติพลิตี (multiplicity) ของโมเลกุลเป็น M ซึ่งแสดงถึง orbital angular momentum ของแต่ละสถานะ (state) และเกี่ยวข้องกับ spin ดังสมการ

$$M = 2S + 1$$

S = spin quantum number ของโมเลกุล และเป็นผลรวมของ spin ของอิเล็กตรอนในโมเลกุลสำหรับโมเลกุลของสารอินทรีย์ส่วนใหญ่ $S=0$ เพราะโมเลกุลมีจำนวนอิเล็กตรอนเป็นเลขคู่ ดังนั้นสถานะที่มีพลังงานต่ำที่สุด ซึ่งเรียกว่าสถานะพื้น อิเล็กตรอนจะต้องอยู่เป็นคู่ (pair)

$$S = (+1/2) - (1/2) = 0$$

$M = 2(0) + 1 = 1$ เรียกว่า singlet state (single electronic state) และให้ singlet state พื้น (ground singlet state) เป็น S_0 ถ้าเป็น S_1 และ S_2 จะหมายถึง singlet state กระตุ้นที่หนึ่ง และที่สองตามลำดับ (first and second excited singlet states)



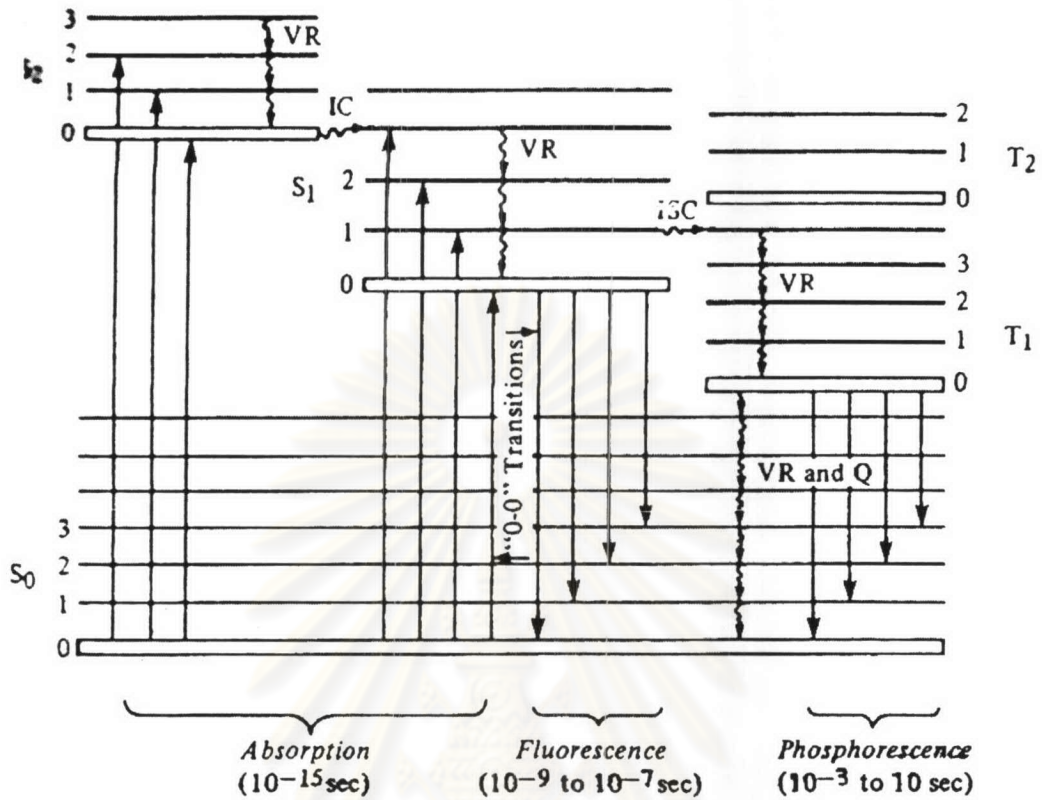
ขณะที่โมเลกุลอยู่ในสถานะกระตุ้น อิเล็กตรอนตัวหนึ่งมีโอกาสที่เปลี่ยน spin กลับทาง ดังนั้น

$$S = (+1/2) + (+1/2) = 1$$

$$M = (2 \times 1) + 1 = 3 \quad \text{เรียกว่า triplet state}$$

และ triplet state ที่มีพลังงานต่ำที่สุดให้เป็น T_1 ดังนั้น โมเลกุลใดที่มีจำนวนอิเล็กตรอนเป็นเลขคู่ จึงไม่สามารถมี triplet state พื้น (ground triplet state) เพราะอิเล็กตรอนมีพลังงานต่ำที่สุดมี spin paired ดังนั้นโมเลกุลที่มีหนึ่ง unpair อิเล็กตรอน (จำนวนอิเล็กตรอนเป็นเลขคี่) จึงมีสถานะเป็น doublet state เช่น พวก free radicals เป็นต้น

เพื่อให้เห็นกระบวนการเกิดการกระตุ้นเนื่องจากดูดกลืนพลังงานและกระบวนการแผ่รังสีสามารถแสดงได้ง่าย ๆ โดยใช้แผนภาพแสดงระดับพลังงาน Jablonski ดังรูป 2.1



รูปที่ 2.1 ระดับพลังงาน Jablonski เกี่ยวกับการดูดกลืนและการแผ่รังสี

ในแผนภาพนี้แสดงระดับพลังงานให้เห็นเฉพาะ electronic และ vibrational energy levels เท่านั้น แต่ rotation energy level จะไม่มี เพราะไม่สามารถวัดและแยกออกได้ด้วยเครื่องสเปกโทรมิเตอร์ธรรมดา ดังแสดงในตารางด้านล่าง ซึ่งระดับพลังงานความยาวคลื่นแสงที่ให้ออกมาก็แตกต่างกันอย่างมากและยังขึ้นกับชนิดของสารอินทรีย์ด้วย

ตารางที่ 2.1 พลังงานและความยาวคลื่นโดยประมาณของการเกิดแทรนซิชันต่าง ๆ

Transition	Approx. Energy (kJ/mole)	Approx. (nm)
Electronic (E_e)	400	3×10^2
Vibrational (E_v)	20	6×10^3
Rotational (E_R)	0.4	3×10^8

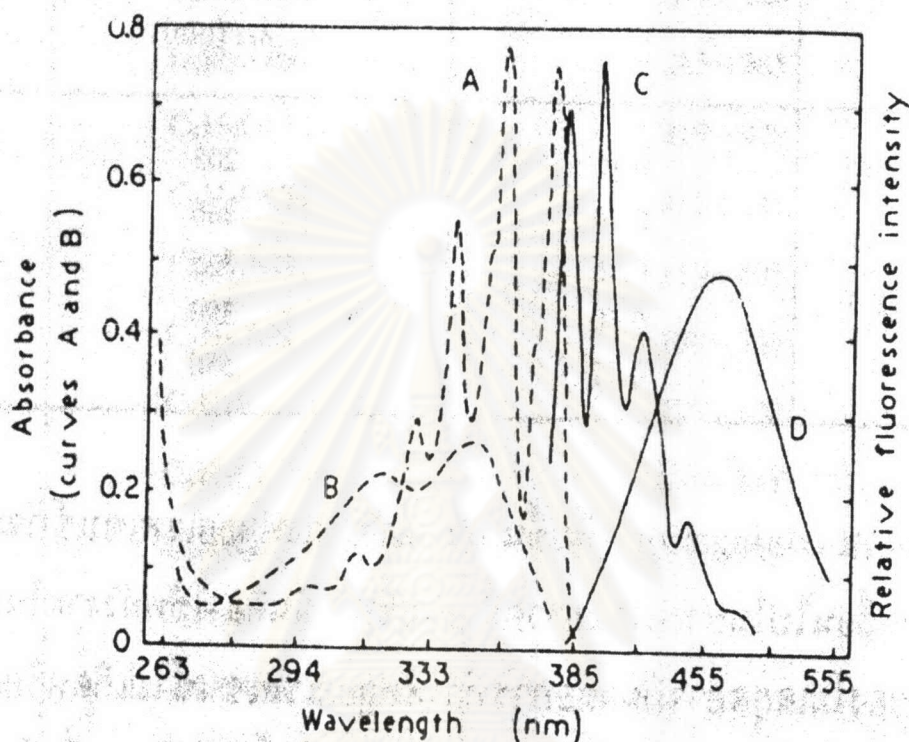
2.2.2 กระบวนการลดระดับพลังงาน (Deexcitation)

เมื่อโมเลกุลถูกกระตุ้นไปสู่สถานะกระตุ้น (excited state) S_2 การที่โมเลกุลจะกลับลงมาสู่สถานะพื้นนั้นจะมีกลไกหลายขั้นตอน ถ้าโมเลกุลนั้นอยู่ในสารละลาย โมเลกุลนั้นสามารถลด vibrational energy ที่เกินไปลงด้วยการชนกับโมเลกุลของตัวทำละลาย กลายเป็นความร้อนโดยผ่านกระบวนการที่เรียกว่า Vibrational Relaxation (VR) ในขณะเดียวกัน โมเลกุลที่อยู่ S_2 จะมีระดับพลังงานของ vibrational energy ลดต่ำลงมาอยู่ในระดับเดียวกันกับ vibrational energy ที่สูงของ excited singlet แรก S_1 นั่นคือ S_2 พลังงานต่ำกลายเป็น S_1 พลังงานสูง เรียกว่าเกิดกระบวนการ Internal Conversion (IC) กระบวนการลดพลังงานทั้งของ VR และ IC เกิดขึ้นรวดเร็ว (ประมาณ 10^{-12} วินาที) จนโมเลกุลลงสู่สถานะ S_1 โดยไม่มีการแผ่รังสี ดังนั้น จะเห็นว่าการ deexcited จาก state สูงกว่า S_1 มาสู่ vibrational energy ต่ำ ($V=0$) โดยมีการแผ่รังสีจะพบน้อย มีเพียงไม่กี่โมเลกุลที่เกิดแบบนี้ เช่น azulene และอนุพันธ์ เมื่อโมเลกุลลงสู่ระดับพลังงาน S_1 ที่มีพลังงานต่ำแล้วก็จะเกิด deexcited ไปสู่ S_0 โดยมีการให้โฟตอนเรียกว่า เกิดฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence) ซึ่งเกิดรวดเร็วมาก (ประมาณ 10^{-9} - 10^{-7} วินาที) จะเห็นจากแผนภาพที่ 2.2.1 ว่า มีอยู่ระดับหนึ่งที่พลังงานที่สารดูดกลืนเข้าไปทำให้เกิดสถานะกระตุ้นเท่ากับพลังงานที่สารนั้นให้ออกมา เมื่อกลับสู่สถานะพื้น เรียกว่า "0-0" transitions แต่ในทางปฏิบัติ พลังงานอาจแตกต่างกันเล็กน้อย แบนด์ของสเปกตรัมอาจเคลื่อนที่บ้างเนื่องจาก solvent effects สำหรับในกรณีที่โมเลกุลกำลังอยู่ที่สถานะกระตุ้น อิเล็กตรอนตัวหนึ่งอาจเกิด spin กลับทาง (reverse spin) ทำให้ค่า multiplicity เป็น 3 ดังได้กล่าวมาแล้ว โมเลกุลนั้นจะถูกเปลี่ยนจาก singlet state ไปเป็น triplet state โดยที่กระบวนการเกิดนี้ไม่มีการให้รังสีออกมา (non-radiative transfer) เรียกว่า Intersystem crossing (ISC) Triplet state นั้นจะมีพลังงานต่ำกว่าของ singlet state เดิม

โมเลกุลของสารอินทรีย์นั้นมีจำนวนอิเล็กตรอนเป็นเลขคู่ ทำให้โมเลกุลนั้นไม่มี ground triplet state (จากรูปที่ 2.2.1) เนื่องจากอิเล็กตรอนที่อยู่ใน orbital มีพลังงานต่ำสุด และ spin paired ตามกฎของ Hund (Hund's rule) เกี่ยวกับ multiplicity หลังจากเปลี่ยนไปเป็น triplet state ที่มีพลังงานสูงแล้วก็จะเกิดกระบวนการ VR เพื่อลดพลังงานให้เป็น triplet state (T_1) ที่มีพลังงานต่ำ แล้วเกิดกระบวนการลดระดับพลังงานจาก T_1 ไปยัง S_0 โดยให้โฟตอนเกิดขึ้น เรียกว่า ฟอสฟอเรสเซนซ์ (Phosphorescence)

การเกิดแตรนซิชันระหว่าง state ที่มี multiplicity ต่างกันจะเกิดไม่ได้กระบวนการเกิดฟอสฟอเรสเซนซ์จะต้องใช้เวลาหรือมีชีวิตรยาวกว่า (ประมาณ 10^{-3} - 10 วินาที) ฟลูออเรสเซนซ์ ดังนั้นจึงทำให้เราสามารถเห็นการเรืองแสงของสารตัวอย่างได้หลังจากทำให้เกิดสถานะกระตุ้นแล้ว ทั้งนี้จะต้องอยู่ที่อุณหภูมิต่ำ ๆ เท่านั้น รูปที่ 2.2 แสดงลักษณะของสเปกตรัมจากการดูดกลืนแสงและการให้ฟลูออเรสเซนซ์ของแอนทราซีนและควินิน จะเห็นได้ว่าสเปกตรัมการดูดกลืนแสง

ของแอนทราซีนมีถึง 4 พิก จากการเกิดทรานซิชัน $S_0 \rightarrow S_1$ ซึ่งมี vibrational level ต่างกัน ในขณะเดียวกันก็พบว่ามี การให้ฟลูออเรสเซนซ์ออกมา 4 พิกด้วย สำหรับของควินินนั้นปรากฏว่ามี excitation peaks 2 พิก คือที่ 250 nm จากกระบวนการ $S_0 \rightarrow S_2$ และที่ 350 nm เนื่องจาก $S_0 \rightarrow S_1$ ส่วนฟลูออเรสเซนซ์เกิดขึ้นพิกเดียวที่ 450 nm เนื่องจาก $S_1 \rightarrow S_0$



รูปที่ 2.2 สเปกตรัมของการดูดกลืนแสงและฟลูออเรสเซนซ์ของแอนทราซีน (ในเอทานอล) และควินิน (ใน 0.05 M H_2SO_4)

curve A เป็น anthracene absorption ;

curve B เป็น quinine absorption ;

curve C เป็น anthracene fluorescence ;

curve D เป็น quinine fluorescence ;

2.3 แพกเตอร์ต่าง ๆ ที่มีผลต่อฟลูออเรสเซนซ์และฟอสฟอเรสเซนซ์

2.3.1 ผลจากโครงสร้างของโมเลกุล (Structural Effects)

โครงสร้างของโมเลกุลที่จะให้ฟลูออเรสเซนซ์ที่ดีควรมีลักษณะดังนี้

2.3.1.1. เป็นสารที่มีอิเล็กตรอนซึ่งสามารถเกิดทรานซิชันได้ง่าย ๆ โดยใช้พลังงานต่ำและมีค่า ϵ_{\max} สูงๆ เนื่องจากเกิด $\pi \rightarrow \pi^*$ สารพวกนี้ได้แก่สารที่มี aromatic functional group

2.3.1.2. เป็นสารที่มี conjugated multiple double bonds ซึ่งถ้าเป็นพวก aliphatic และ alicyclic carbonyl structures จะมีน้อยกว่า aromatic system

2.3.1.3. พวก aromatic hydrocarbons ที่ไม่มี substituted groups จะให้ฟลูออเรสเซนซ์มากขึ้น ถ้าจำนวนวงแหวนเพิ่มขึ้น โดยจะทำให้ค่า quantum efficiency เพิ่มขึ้น ดังแสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ฟลูออเรสเซนซ์ และ quantum efficiency ของ linear aromatics

สารประกอบ	quantum eff.	ความยาวคลื่นของการเกิด excitation (nm)	ความยาวคลื่นของฟลูออเรสเซนซ์ (nm)
Benzene	0.11	205	278
Naphthalene	0.29	286	321
Anthracene	0.46	365	400
Tetracene	0.6	390	480
Pentacene	0.52	580	640

พบว่าจำนวน conjugation เพิ่มขึ้น ความเข้มของฟลูออเรสเซนซ์ก็เพิ่มขึ้นด้วยและฟลูออเรสเซนซ์สเปกตรัมก็จะเคลื่อนไปในทางความยาวคลื่นเพิ่มขึ้น นั่นคือ ใช้พลังงานในการทำให้เกิดทรานซิชันต่ำลง ส่วนโครงสร้างของโมเลกุลอาจมีผลต่อการทำให้ฟลูออเรสเซนซ์ไม่เกิดหรือเกิดขึ้นน้อยลงได้

2.3.1.4 สารที่มีอิเล็กตรอนซึ่งจะเป็นตัวที่ทำให้เกิดการกระตุ้นนั้นเกิดพันธะที่แข็งแรง จึงอาจทำให้สารนั้นเกิดการแตกตัวพร้อม ๆ กับการทำให้เกิดการกระตุ้น ฟลูออเรสเซนซ์อาจไม่เกิดได้

2.3.1.5 โมเลกุลที่มีหมู่ฟังก์ชันนัลที่เป็นส่วนส่งเสริมให้เกิดกระบวนการทรานซิชันโดยไม่ให้รังสีเกิดขึ้น หมู่เหล่านี้มีผลต่อความเข้มของฟลูออเรสเซนซ์มาก

2.3.1.6 สารพวกที่เป็น heterocyclics ธรรมดา เช่น pyridine, furan, thiophene และ pyrrole ไม่ให้ ฟลูออเรสเซนซ์ เพราะการเกิดแทรนซิชันจาก $n \rightarrow \pi^*$ แล้วเปลี่ยนเป็น triplet state อย่างรวดเร็วทำให้ไม่เกิดฟลูออเรสเซนซ์ แต่ถ้าเป็นพวก fused rings ที่มี heterocyclic nucleus จะให้ฟลูออเรสเซนซ์ได้ เช่น quinolin, isoquinolin และ indole เป็นต้น

2.3.1.7 หมู่ที่เข้าไปแทนที่ในวงแหวนเบนซีนก็มีอิทธิพลต่อการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ หมู่ฟังก์ชันบางชนิดช่วยให้ฟลูออเรสเซนซ์เพิ่มขึ้น บางชนิดทำให้ลดลง ดังแสดงในตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 ผลของการแทนที่ต่อการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ของเบนซีนในสารละลายเอทานอล

สารประกอบ	สูตร	ความยาวคลื่นของฟลูออเรสเซนซ์ (nm)	ความเข้มสัมพัทธ์ของฟลูออเรสเซนซ์
Benzene	C_6H_6	270-310	10
Toluene	$C_6H_5 \cdot CH_3$	270-320	17
Propylbenzene	$C_6H_5 \cdot C_3H_7$	270-320	17
Phenol	$C_6H_5 \cdot OH$	285-365	18
Phenolate ion	$C_6H_5O^-$	310-400	10
Anisole	$C_6H_5OCH_3$	285-345	20
Aniline	$C_6H_5 \cdot NH_2$	310-405	20
Benzonitrile	$C_6H_5 \cdot CN$	280-360	20
Fluorobenzene	C_6H_5F	270-320	10
Chlorobenzene	C_6H_5Cl	275-345	7
Bromobenzene	C_6H_5Br	290-380	5
Iodobenzene	C_6H_5I	-	0
Aniliniumion	$C_6H_5NH_3^+$	-	0
Benzoic acid	C_6H_5COOH	310-390	3
Nitrobenzene	$C_6H_5 \cdot NO_2$	-	0

จากตารางพบว่า หมู่ซึ่งเป็นตัวดึงคู่อิเล็กตรอน (electron withdraw) เป็นหมู่ที่ไปลดความเข้มของฟลูออเรสเซนซ์ หรือเป็นตัวทำลายฟลูออเรสเซนซ์ แต่ถ้าหมู่ที่เข้าเกาะกับเบนซีนเป็นตัว

ให้อิเล็กตรอน (electron donating groups) จะช่วยทำให้ฟลูออเรสเซนซ์เกิดขึ้นและได้ความเข้มของฟลูออเรสเซนซ์เพิ่มขึ้นด้วย

2.3.2 ผลของโครงสร้างที่มีความแข็งแรงแรง (Effect of Structural Rigidity)

โมเลกุลที่มีโครงสร้างที่มีความแข็งแรงแรง มีโอกาสให้ฟลูออเรสเซนซ์ดีกว่า โดยมีค่า quantum efficiency สูง เช่น quantum efficiency ของ fluorene ใกล้เคียง 1.0 แต่ของ biphenyl มีค่า 0.2

2.3.3 ผลของ Quantum yield หรือ Quantum Efficiency

Kinetic ของฟลูออเรสเซนซ์ และฟอสฟอเรสเซนซ์

ถ้าให้โมเลกุลดูดกลืนแสงเป็น ΔI

$$\Delta I = I_0 - I_T$$

$$\Delta I = \text{อัตราการดูดกลืนแสง}$$

$$I_0 = \text{ความเข้มของแสงเดิม}$$

$$I_T = \text{ความเข้มของแสงที่ผ่านออกไป}$$

ถ้าเรากระตุ้นสารตัวอย่างเป็นเวลาหนึ่งนานพอ ถ้าจะเทียบกับกระบวนการ deexcitation ทั้งที่ให้รังสีและไม่ให้รังสี จำนวนโมเลกุลที่ S_1 state จะถึงจุด ready state นั่นคือ อัตราการเกิด S_1 state จะเท่ากับอัตราของการ deexcitation ของ state นี้ เมื่อเขียนเป็นสมการทางคณิตศาสตร์ จะได้

$$\Delta I = (k_{ic} + k_{isc} + k_f + k_q[Q])[S_1]$$

$$k_{ic}, k_{isc}, k_f = \text{constant (จากตารางที่ 2.3)}$$

$$[Q] = \text{quencher concentration}$$

$$k_q = \text{second-order quenching rate constant}$$

ดั่งกระบวนการ excitation และ deexcitation แสดงในตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 สรุปกระบวนการ excitation และ deexcitation

กระบวนการ	สมการ	First-order Rate Const.
Absorption	$S_0 + h\nu_a \longrightarrow S_2(\text{or } S_1)$	k_a
IC / VR	$S_2 \rightsquigarrow S_1$	k_{IC}
Fluorescence	$S_1 \longrightarrow S_0 + h\nu_f$	k_f
ISC	$S_1 \rightsquigarrow T_1$	k_{ISC}
Phosphorescence	$T_1 \longrightarrow S_0 + h\nu_p$	k_p
Collisional Quenching of S_1	$S_1 + Q \longrightarrow S_0 + Q + \text{heat}$	$k_Q(Q)$
		(pseudo 1 st order)

ถ้าจำนวนโฟตอนส่วนหนึ่งของจำนวนโฟตอนทั้งหมดถูกดูดกลืนเพื่อทำให้เกิด Fluorescence emission เรียก fraction ส่วนนี้เป็น ϕ_f

$$\phi_f = (\text{จำนวนโฟตอนที่เกิดขึ้นทั้งหมด/จำนวนโฟตอนที่ถูกดูดกลืน})$$

ดังนั้น rate of fluorescence จะเป็นปฏิภาคโดยตรงกับ rate of absorption นั่นคือ

$$I_f = \phi_f \Delta I = k_f [S_1] = \phi_f (k_{IC} + k_{ISC} + k_f + k_Q [Q]) [S_1]$$

เมื่อจัดสมการใหม่จะได้เป็น

$$\phi_f = \frac{k_f}{k_{IC} + k_{ISC} + k_f + k_Q [Q]}$$

ดังนั้น life time ของ S_1 state กำหนดให้เป็น

$$\tau = \frac{1}{k_{IC} + k_{ISC} + k_f + k_Q [Q]}$$

ถ้ากระบวนการทั้งหมดที่เกิดขึ้นไม่มีการแข่งกับกระบวนการฟลูออเรสเซนซ์ เราอาจกำหนดให้ life time ของการเกิดรังสี เป็น

$$\tau_r = 1/k_r$$

จากการรวมสมการจะได้

$$\phi_f = \frac{\tau}{\tau_r}$$

สำหรับฟอสฟอเรสเซนซ์ก็หามาได้อย่างเดียวกัน นั่นคือ

$$\tau_p = \frac{1}{k_p + k_{VR} + k_{QP}[Q_p]}$$

$$\frac{\phi_p}{\phi_t} = \frac{\tau_p}{\tau_{pR}}$$

กำหนดให้ k_p = first-order decay constant ของ T ไปยัง S

k_{VR} = constant สำหรับกระบวนการ VR ของ T state

$k_{QP}[Q_p]$ = pseudo first-order rate constant สำหรับการทำให้ไม่เกิด triplet state ด้วยสารเจือปน Quancher, Q

τ_p และ τ_{pR} = life time ของการมีและไม่มีกระบวนการที่ไม่ให้รังสีเข้าแข่งขัน

ϕ_t = efficiency ของการเกิด triplet state

จากสมการทั้งหมดที่ได้นี้ ได้ตัดทิ้งเกี่ยวกับกระบวนการจาก triplet state ไปยัง singlet state ซึ่งทำให้เกิด decayed fluorescence จากสมการสามารถนำมาใช้อธิบายเกี่ยวกับผลของโครงสร้างและสภาพแวดล้อมต่อการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ ตัวแปรใดก็ตามที่มีส่วนทำให้ค่า k_r สูงขึ้น และทำให้ค่า k ของตัวอื่น ๆ ต่ำลง ย่อมทำให้เกิดฟลูออเรสเซนซ์มากขึ้น

Quantum Efficiency กับการเกิดแทรนซิชัน

เป็นที่ปรากฏแล้วว่า พฤติกรรมของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์นั้นมักจะเกิดกับสารประกอบที่มีค่าพลังงานกระตุ้นของการเกิด $\pi \rightarrow \pi^*$ ต่ำที่สุด มากกว่าสารประกอบที่มีค่าพลังงานกระตุ้นของการเกิด $n \rightarrow \pi^*$ ต่ำที่สุด นั่นคือ ค่า quantum efficiency ของการเกิดแทรนซิชันจาก $\pi^* \rightarrow \pi$ มีค่ามาก

การที่ quantum efficiency ของการเกิด $\pi^* \rightarrow \pi$ มีค่ามาก อาจเนื่องมาจาก 2 กรณีด้วยกัน คือ

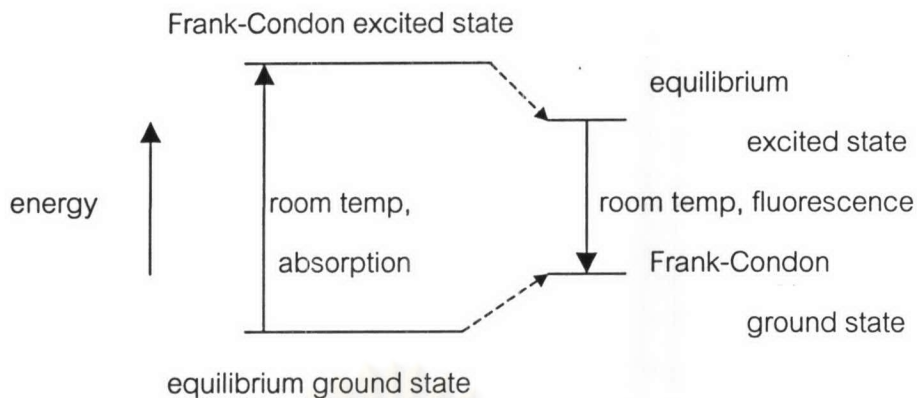
2.3.3.1 ค่า molar absorptivity ของการเกิดแทรนซิชันจาก $\pi \rightarrow \pi^*$ จะมากกว่าการเกิดกระบวนการ $n \rightarrow \pi^*$ ถึงประมาณ 100-1000 เท่า และยังเกี่ยวข้องกับ life time ของการเกิดแทรนซิชัน $\pi \rightarrow \pi^*$ สั้นกว่า (10^{-7} - 10^{-9} วินาที) เมื่อเทียบกับกระบวนการ $n \rightarrow \pi^*$ ซึ่งมี life time 10^{-5} - 10^{-7} วินาที จึงทำให้ค่า k_f มากขึ้น

2.3.3.2 เชื่อว่าค่า k_{isc} นี้น้อยกว่าสำหรับ $\pi \rightarrow \pi^*$ excited state เพราะว่าค่าพลังงานที่แตกต่างกันระหว่าง singlet-triplet state มีค่ามากกว่า นั่นคือ ต้องใช้พลังงานมากกว่าในการทำให้ unpaired electron อยู่ที่สถานะกระตุ้น และเป็นผลให้ vibrational level ของ triplet state และ singlet state ต่างกันน้อย โอกาสที่จะเกิด intersystem crossing ก็จะมีได้น้อยด้วย

2.3.4 ผลจากสภาพแวดล้อม (Environmental Effects) สภาพแวดล้อมหลายอย่างจะมีผลอย่างมากต่อการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ของพวกพอลิอะตอมมิกโมเลกุล เช่น ตัวทำละลาย, pH, อุณหภูมิ, ออกซิเจนที่ละลายอยู่ หรือการเกิดพันธะไฮโดรเจน เป็นต้น

2.3.4.1 ผลของตัวทำละลาย (solvent effects)

โดยทั่วไปการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคทางฟลูออโรเมตรีนี้มักจะทำในสารละลาย และเกือบทุกกรณีตัวทำละลายจะทำให้ฟลูออเรสเซนซ์แบนด์กว้างขึ้น polarity ก็มีผลสำคัญในการบ่งบอกถึงการเกิดอันตรกิริยาระหว่างตัวถูกละลายและตัวทำละลาย การเกิด electro-static attraction ก็ช่วย stabilizes หรือลดระดับของพลังงานลง ซึ่งขึ้นอยู่กับว่าสถานะพื้นหรือสถานะกระตุ้นของสารที่จะวิเคราะห์หรือตัวถูกละลายจะถูก stabilized มากกว่ากัน เพื่อที่จะให้เข้าใจดียิ่งขึ้นเกี่ยวกับผลกระทบของตัวทำละลายต่อการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ จะแสดงดังรูป 2.3



รูปที่ 2.3 แผนภูมิการเกิดผลกระทบของตัวทำละลายต่อการเกิดฟลูออเรสเซนซ์
เส้นประแสดงถึงการเกิดทรานซิชันโดยไม่ให้รังสี

ตาม Frank-Condon principle กล่าวคือ nuclear positions ในโมเลกุลจะไม่มีเวลาพอที่จะเปลี่ยนตำแหน่งในขณะที่อิเล็กตรอนเกิดทรานซิชัน แต่ตามด้วยการดูดกลืนแสงเกิดขึ้นระหว่างอิเล็กตรอนเกิดทรานซิชันจาก equilibrium ground state ไปยัง non-equilibrium excited singlet state (Frank-Condon state) ขณะอยู่ที่ excited state พันธะจะมีการเปลี่ยนแปลงในตัวของมันเองให้อยู่ตัวมากขึ้น (lower energy) ดังจุดปะข้างบน ฟลูออเรสเซนซ์จะเกิดขึ้นเมื่ออิเล็กตรอนที่อยู่ที่ equilibrium excited state ลงมายัง Frank-Condon ground state การจัดพันธะในโมเลกุลจะเกิดขึ้น เพื่อไม่ให้โมเลกุลลงมาสู่สถานะที่มีพลังงานต่ำกว่าของ equilibrium ground state ดังเส้นจุดปะข้างล่าง พลังงานที่ต่างกันระหว่าง Frank-Condon excited state กับ equilibrium excited state และระหว่าง Frank-Condon ground state กับ equilibrium ground state นั้น ขึ้นอยู่กับอันตรกิริยาระหว่างตัวทำละลายกับ excited state และ ground state ของโมเลกุลนั้นถ้า excited state เป็น polar มากกว่า ground state คือ polarity ของตัวทำละลายเพิ่มขึ้น สถานะข้างบนซึ่งมีพลังงานสูงกว่าจะถูก stabilized มากกว่า ground state และพลังงานของ equilibrium excited state ลดลง ขณะที่พลังงานของ ground state เปลี่ยนแปลงเล็กน้อย ทำให้ฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้นมีพลังงานลดลง และ ความยาวคลื่นของฟลูออเรสเซนซ์จะเพิ่มขึ้น เมื่อตัวทำละลายมี polarity เพิ่มขึ้น ในทางตรงข้าม ถ้า ground state เป็น polar มากกว่า excited state, ground state จะเพิ่มขึ้น ทำให้ความยาวคลื่นของฟลูออเรสเซนซ์เคลื่อนที่ไปทางความยาวคลื่นที่สั้นลงเมื่อตัวทำละลายมี Polarity เพิ่มขึ้น

สำหรับ $n \rightarrow \pi^*$ ทรานซิชัน ground state ของโมเลกุลจะเป็น polar มากกว่า excited state ดังนั้น ความยาวคลื่นของแสงที่ให้ออกมาจะสั้นลง ถ้า polarity ของตัวทำละลายเพิ่มขึ้น และสำหรับ $\pi \rightarrow \pi^*$ ทรานซิชัน excited state ของโมเลกุลจะเป็น polar มากกว่า ground state ดังนั้น ความยาวคลื่นของแสงที่ให้ออกมาจะยาวขึ้นเมื่อ polarity ของตัวทำละลายเพิ่มขึ้น ตัวทำ

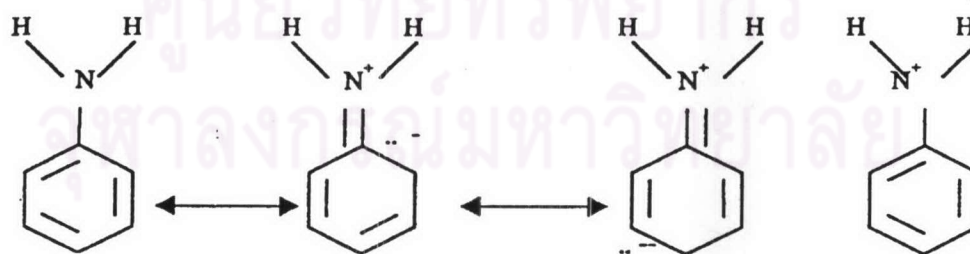
ละลายที่ประกอบด้วยธาตุหนักๆ ก็จะมีผลต่อการเกิดโฟโตลูมิเนสเซนซ์ เมื่อมวลของอะตอมเพิ่มขึ้น ฟลูออเรสเซนซ์จะลดลง แต่ความเข้มข้นของฟอสฟอเรสเซนซ์จะเพิ่มขึ้น ดังนั้น ในการศึกษาการเกิดฟอสฟอเรสเซนซ์ของสารประกอบจึงมักเลือกใช้ตัวทำละลายที่มีอะตอมของธาตุหนักอยู่ด้วย

2.3.4.2 ผลกระทบของอุณหภูมิ (temperature effects)

ถ้าอุณหภูมิเพิ่มขึ้นจะทำให้ความเร็วเฉลี่ยของโมเลกุลเพิ่มขึ้น ทั้งที่อยู่สถานะพื้นและที่อยู่สถานะกระตุ้น การที่โมเลกุลมีความเร็วเพิ่มขึ้นทำให้เกิดการชนกันมากขึ้นด้วย ดังนั้น โมเลกุลที่อยู่สถานะกระตุ้นจะชนกับโมเลกุลที่อยู่ในสถานะพื้น ทำให้เกิด internal conversion (IC) เพิ่มขึ้น เป็นเหตุให้ความเข้มข้นของฟลูออเรสเซนซ์ลดลง นอกจากนี้ อุณหภูมิทำให้ค่า quantum efficiency ลดลงด้วย

2.3.4.3 ผลของ pH (effect of pH)

สารประกอบอินทรีย์ที่ประกอบด้วยหมู่ฟังก์ชัน ที่เป็นกรดหรือเบส การเปลี่ยนแปลง pH จะมีผลอย่างมากต่อการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ ทั้งความยาวคลื่นและความเข้มของฟลูออเรสเซนซ์จะเปลี่ยนแปลงไป สาเหตุที่เป็นเช่นนี้เพราะสารประกอบนั้นอาจจะอยู่ในรูปของโมเลกุลหรืออยู่ในรูปของไอออนแตกต่างกัน ค่า pK_a ของสารพวกนี้จะขึ้นอยู่กับ pH อยู่แล้ว นอกจากนี้ pH ยังเข้าไปเกี่ยวข้องกับการเกิด resonance ซึ่งช่วย stabilize excited state อีกด้วย ดังแสดงในตารางที่ 2.3 จะเห็นได้อย่างชัดเจนว่า pH มีผลต่อการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ของ phenol และ aniline ยังมี resonance forms ได้หลายชนิดอีกด้วย



การเกิด resonance ของ aniline

aniline ion

2.3.4.4 ผลของพันธะไฮโดรเจน (effect of hydrogen bond)

การเกิดพันธะไฮโดรเจนของหมู่ฟังก์ชันในโมเลกุลกับตัวทำละลายหรือสารอื่นที่ปนอยู่จะมีผลอย่างมากต่อการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ เพราะไปทำให้ค่า quantum efficiency เปลี่ยนแปลงซึ่งมักจะทำให้ลดลง โดยทั่วไป โมเลกุลใดที่ละลายในตัวทำละลายที่เกิดพันธะไฮโดรเจนโดยเป็นพวกกรดแก่ เมื่ออยู่ที่สถานะกระตุ้นมากกว่าที่สถานะพื้น จะมีผลทำให้เกิด ฟลูออเรสเซนซ์ มีความยาวคลื่นสั้นลงมากกว่าโมเลกุลที่เป็นเบสแก่เมื่ออยู่ที่สถานะกระตุ้นในบางกรณี พันธะไฮโดรเจนสามารถลดความเข้มของฟลูออเรสเซนซ์ได้เนื่องจากไปเพิ่มการเกิด internal conversion ให้กับโมเลกุลที่เกิดพันธะไฮโดรเจน

2.3.4.5 ผลของออกซิเจนที่ละลายอยู่ (effect of dissolved oxygen)

ออกซิเจนที่ละลายอยู่ในสารละลายนั้นมักจะไปลดความเข้มของทั้งฟอสฟอเรสเซนซ์และฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเกิดออกซิเดชันกับสารที่ให้ฟลูออเรสเซนซ์หรือฟอสฟอเรสเซนซ์ นอกจากนี้ ออกซิเจนยังช่วยส่งเสริมให้เกิด intersystem crossing (ISC) และการเปลี่ยนโมเลกุลที่สถานะกระตุ้นไปเป็น triplet state แล้วทำให้ไม่เกิดฟลูออเรสเซนซ์

2.3.4.6 ผลของสารเจือปน (effect of impurities)

ในการที่มีสารอื่นเจือปนอยู่ด้วยในสารละลายตัวอย่าง สารเหล่านั้นอาจมีผลกระทบต่อการศึกษาฟลูออเรสเซนซ์กับสารที่จะวิเคราะห์ได้ ถ้าสารเหล่านั้นสามารถดูดกลืนหรือให้แสงออกมาที่ความยาวคลื่นเดียวกันกับความยาวคลื่นของแสงเพื่อทำให้เกิดการกระตุ้น หรือที่จะให้ออกมาจากสารตัวอย่าง คือสารเจือปนนั้นดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่นเดียวกันกับของแสงที่ให้ ออกมาจากสารตัวอย่าง ก็จะทำให้ความเข้มของฟลูออเรสเซนซ์ลดลงไปส่วนหนึ่ง การที่สารเจือปนนี้ดูดกลืนแสงที่จะทำให้เกิดการกระตุ้นหรือฟลูออเรสเซนซ์ที่ได้ออกมา เรียกว่าเกิด " Inner-Filter Effect "

2.3.4.7 ผลของความเข้มข้นต่อความเข้มของฟลูออเรสเซนซ์ (effect of concentration on fluorescent intensity)

ปริมาณของแสงที่เกิดจากโฟโตลูมิเนสเซนซ์นั้นขึ้นอยู่กับปริมาณของแสงที่ถูกดูดกลืนเพื่อทำให้เกิดสถานะกระตุ้น

$$I_f \propto \Delta I \propto (I_0 - I_T)$$

$$I_f = \phi_f (I_0 - I_T)$$

I_f = ความเข้มชั้นของฟลูออเรสเซนซ์

I_o = ความเข้มชั้นของแสงเริ่มต้น

I_T = ความเข้มชั้นของแสงที่ผ่านออกมา

ϕ_f = quantum efficiency ของกระบวนการเกิดฟลูออเรสเซนซ์

เพื่อที่จะแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ของ I_f กับความเข้มชั้นของแสงที่เกิดฟลูออเรสเซนซ์

จึงนำ Beer's law มาใช้

$$I_f = I_o \times 10^{-\epsilon bc} = I_o e^{-2.303\epsilon bc}$$

นำไปแทนค่าในสมการจะได้

$$I_f = \phi_f (I_o - I_o e^{-2.303\epsilon bc})$$

$$I_f = \phi_f I_o (1 - e^{-2.303\epsilon bc})$$

เมื่อกระจายสมการ (10.15) ออกไปเป็นแบบ

$$e^x = 1 + X + \frac{X^2}{2*1} + \frac{X^3}{3*2*1} + \dots + \frac{X^n}{n*(n-1)*\dots*1}$$

เมื่อกระจายสมการ จะได้เป็น

$$I_f = \phi_f I_o \left[1 - 1 + 2.303\epsilon bc - \frac{(2.303\epsilon bc)^2}{2*1} + \frac{(2.303\epsilon bc)^3}{3*2*1} \dots \right]$$

$$I_f = \phi_f I_o \left[2.303\epsilon bc - \frac{(2.303\epsilon bc)^2}{2*1} + \frac{(2.303\epsilon bc)^3}{6} \dots \right]$$

ถ้าสารละลายเจือจางค่าแอมซอร์เบนต์ (ϵbc) จะมีค่าน้อย ถ้าค่าแอมซอร์เบนต์ (A) ≤ 0.05 เทอมที่สองและเทอมต่อไปในสมการจะมีค่าน้อย (~ 2.5% -ของเทอมแรก)

$$I_f = \Phi_f I_0 2.303 \epsilon b c$$

เมื่อเขียนสมการเสียใหม่ให้ง่ายขึ้นจะได้เป็น

$$I_f = KC$$

แสดงว่าความเข้มของฟลูออเรสเซนซ์เป็นปฏิภาคโดยตรงกับความเข้มข้นของสารที่ให้ฟลูออเรสเซนซ์ เมื่อเขียนกราฟระหว่าง I_f กับ C จะได้กราฟเป็นเส้นตรงเมื่อสารละลายเจือจาง แต่ถ้าความเข้มข้นสูงจะทำให้ความเข้มของฟลูออเรสเซนซ์ลดลง ซึ่งจะเห็นว่าการเบี่ยงเบนไปจากเส้นตรงนั้นมีแพกเตอร์ใหญ่ที่เกี่ยวข้องคือ การเกิด self-quenching กับ self-absorption

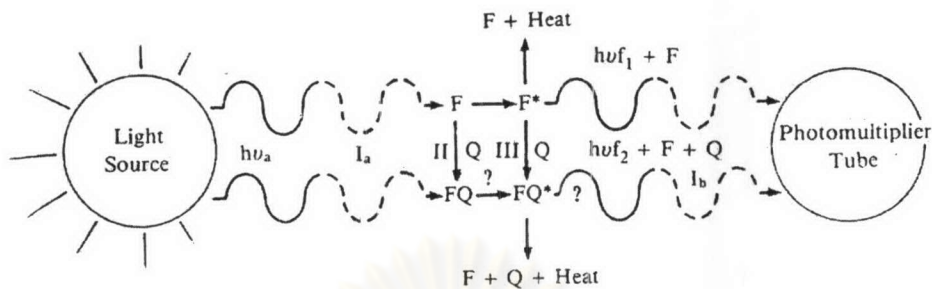
สำหรับ self-quenching นั้นเป็นผลจากการชนกันระหว่างโมเลกุลที่สถานะกระตุ้น ทำให้เกิดการเสียพลังงานโดยไม่มีกรให้รังสีแกมมาตัวทำละลาย ซึ่งจัดว่าเกิด external conversion ก็ได้ self-quenching นี้ ยิ่งความเข้มข้นสูงก็ยิ่งเกิดมากขึ้น เพราะเกิดการชนกันมากตามไปด้วย

Self-absorption เกิดขึ้นจากการที่โมเลกุลของสารนั้นดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นเดียวกันกับฟลูออเรสเซนซ์ จึงทำให้ความเข้มของฟลูออเรสเซนซ์ลดลง

2.4 ข้อจำกัดของเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์และฟอสฟอเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี (Limitations of Fluorescence and Phosphorescence spectroscopy)

ดังได้กล่าวมาแล้วว่า สัญญาณของฟลูออเรสเซนซ์หรือฟอสฟอเรสเซนซ์ที่วัดได้นั้นเป็นความเข้มของแสงที่เกิดขึ้นสูงกว่า background แต่ค่าความเข้มของแสงที่วัดได้มิได้มีความหมายว่ามีการหักล้าง background ออกแล้ว ดังนั้น background จึงเป็นปัญหาใหญ่ของเทคนิคนี้ เพราะจะเป็นส่วนที่ทำให้ค่า detection limit ผิดพลาดได้ แพกเตอร์ที่สำคัญที่ทำให้ค่า luminescence blank สูงขึ้นมีดังนี้ คือ

- 2.4.1 จาก Raman Scattering ที่เกิดจากตัวทำละลาย
- 2.4.2 ลูมิเนสเซนซ์ที่เกิดจากเซลล์ที่ใส่สาร
- 2.4.3 แสงที่กระเจิงจาก Tyndall และ Rayleigh effects
- 2.4.4 ฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดจากสารเจือปนในตัวทำละลาย
- 2.4.5 สารตัวอย่างเกิดการสลายตัวด้วยแสง



รูปที่ 2.4 กระบวนการเกิด inner-filter และ quenching ฟลูออเรสเซนซ์

F = สารประกอบที่เกิดฟลูออเรสเซนซ์

Q = เป็น quencher

I_a = การดูดกลืนแสงที่ใช้กระตุ้น

I_b = การดูดกลืนแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้น

II = static quenching

III = dynamic quenching

? = เป็นกระบวนการอย่างหนึ่งซึ่งไม่จำเป็นจะต้องเกิดขึ้น

2.4.6 ฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้นจากสารอื่นที่มีอยู่ในสารตัวอย่าง

2.4.7 สารเจือปนอยู่ทั้งในสารตัวอย่างและในตัวทำลาย อาจไปทำให้เกิด quenching แบ่งออกได้เป็น static quenching (II) ซึ่งเป็นการเกิดอันตรกิริยาของสารที่เป็นตัวเกิดฟลูออเรสเซนซ์ที่สถานะพื้นกับ λ_{em} แล้วทำให้สเปกตรัมเปลี่ยนไป อีกอย่างหนึ่งเรียกว่า Dynamic quenching (III) ซึ่งเป็นกระบวนการเกิดอันตรกิริยาของโมเลกุลที่เกิดฟลูออเรสเซนซ์ที่อยู่ในสถานะกระตุ้น ซึ่งจะทำให้ฟลูออเรสเซนซ์สเปกตรัมเปลี่ยนแปลงไป นอกจากนี้ ฟลูออเรสเซนซ์ที่ลดลงเนื่องจากเกิด "inner-filter" effect (I_a) ซึ่งเป็นผลจากสารตัวอย่างและโมเลกุลของสารอื่น ๆ ที่มากเกินไปดูดกลืนแสงที่ใช้กระตุ้นหรือจำนวนโฟตอนที่ใช้กระตุ้น และถ้าฟลูออเรสเซนซ์ถูกดูดกลืนด้วยเป็น I_b ก็จะทำให้ความเข้มของฟลูออเรสเซนซ์ลดลงด้วย ดังแสดงในรูปที่ 2.4

กระบวนการ inner-filter effect กับ quenching effect นั้นแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด เพราะการเกิด quenching นั้นเป็นการลด quantum efficiency แต่ inner-filter effect เป็นเพียงกระบวนการ

ลดความเข้มข้นของฟลูออเรสเซนซ์โดยการลดจำนวนโมเลกุลที่ถูกกระตุ้นหรือลดความเข้มข้นของฟลูออเรสเซนซ์ลง

ในการเกิด quenching ของสารฟลูออเรสเซนซ์อาจเกิดขึ้นโดยเฉพาะกับสารอย่างหนึ่ง แต่อาจจะไม่เกิดกับสารอีกชนิดหนึ่ง เช่น โบรมีน จะทำลายฟลูออเรสเซนซ์เฉพาะที่เกิดกับ Benzopyrene ในของผสมระหว่าง Benzopyrene กับ Benzofluoranthene ซึ่งสามารถนำไปใช้หาปริมาณของสารแต่ละชนิดในของผสมได้ ด้วยเหตุนี้ ถ้าการเกิด quenching มีได้เฉพาะสารแล้วก็สามารถนำไปใช้เป็นประโยชน์

$$\frac{I_f^0}{I_f} = k_{sv}[Q] + 1$$

ในการวิเคราะห์ทางเคมีได้ด้วย Stern-Volmer ได้หาความสัมพันธ์ระหว่างค่าฟลูออเรสเซนซ์กับความเข้มข้นของ quencher ซึ่งเขียนเป็นสมการได้เป็น

I_f^0 = fluorescence intensity เมื่อไม่มี quencher Q

I_f = fluorescence intensity เมื่อมี quencher Q

k_{sv} = Stern-Volmer constant

ดังนั้น เมื่อเขียนกราฟระหว่าง I_f^0/I_f กับความเข้มข้นของ quencher จะได้กราฟเป็นเส้นตรง โดยมีค่า slope = k_{sv} และมีจุดตัดเป็น +1 ซึ่งนับว่าเป็นประโยชน์ในการนำไปวิเคราะห์ด้วยวิธีอ้อม

2.4.8 ปัญหาที่สำคัญอีกประการหนึ่งของการศึกษาทางฟลูออเรสเซนซ์และฟอสฟอเรสเซนซ์ได้แก่ เรื่องการสลายตัวของโมเลกุลด้วยแสงยูวี จึงทำให้ฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้นลดลงเรื่อยๆ เมื่อถูกกับแสงนานๆ เข้า เช่น การศึกษาการสลายตัวด้วยวิธีของควินิน ดังแสดงในตารางที่ 2.5

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2.5 ผลของแสงยูวีที่มีต่อการสลายตัวของ 0.01 $\mu\text{g/mL}$ สารละลายควินิน

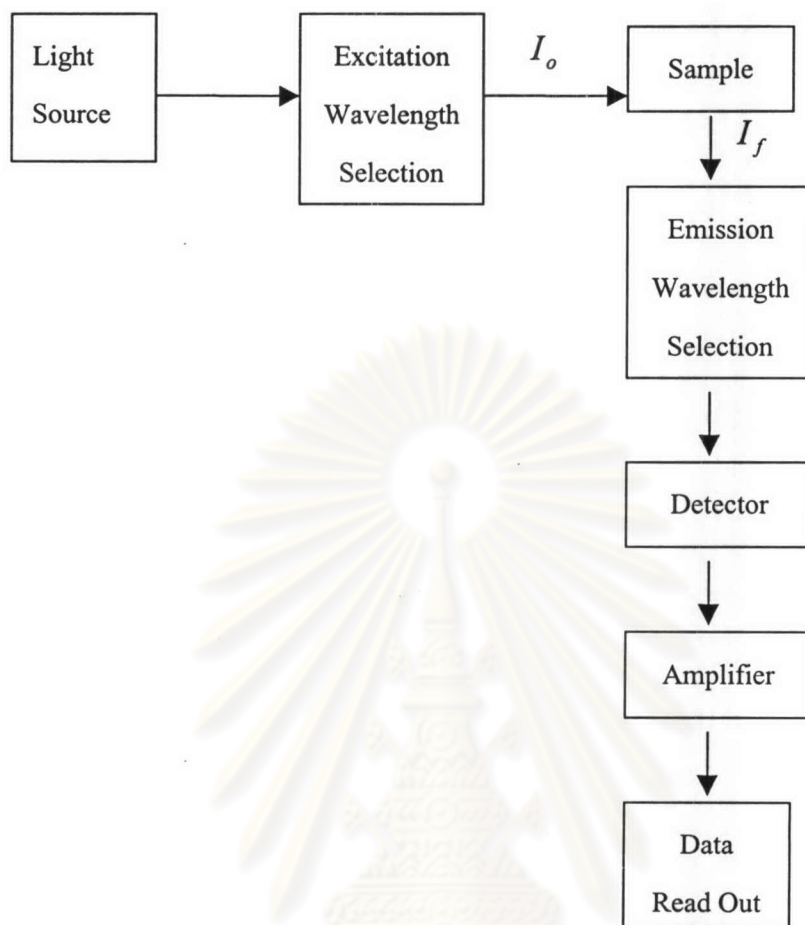
เวลาของการถูกแสงยูวี (min)	ฟลูออเรสเซนซ์ (% of initial)
0	100
2	99.4
21	92.9
38	88.1
86	74.3
97	69.2
100	68.0

ดังนั้น ในทางปฏิบัติให้อ่านค่าฟลูออเรสเซนซ์ 3 ครั้ง (นำมาเฉลี่ย) เพื่อลดการสลายตัว

2.5 ส่วนประกอบของเครื่องฟลูออเรสเซนซ์และฟอสฟอเรสเซนซ์สเปกโทรโฟโตมิเตอร์

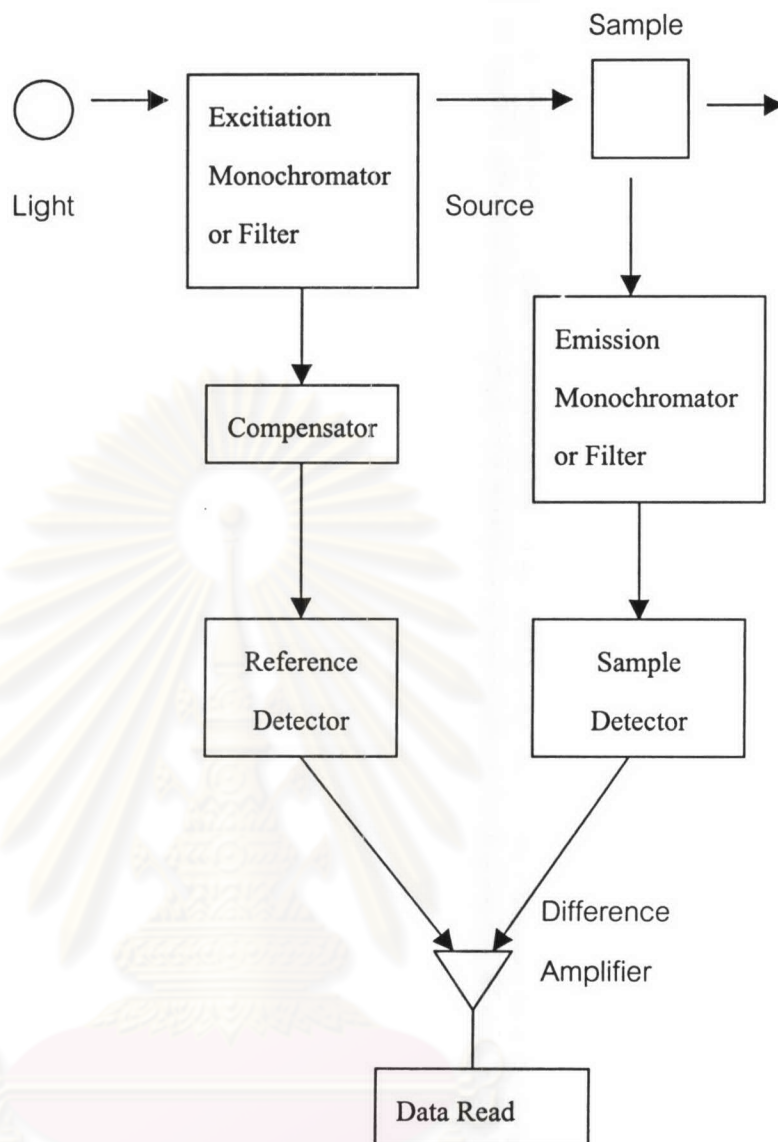
เครื่องฟลูออเรสเซนซ์และฟอสฟอเรสเซนซ์สเปกโทรโฟโตมิเตอร์คล้ายกับเครื่องยูวีวิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ บางอย่างก็เหมือนกัน ส่วนประกอบเครื่องดังแสดงในรูปที่ 2.5

ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 2.5 แผนภาพองค์ประกอบของเครื่องฟลูออเรสเซนซ์ สเปกโทรโฟโตมิเตอร์

เครื่องฟลูออโรมิเตอร์หรือสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์เกือบทั้งหมดมักจะเป็น double beam เพื่อใช้แก้ปัญหาเกี่ยวกับความไม่คงที่ของแหล่งกำเนิดแสง (source) และ background ดังได้กล่าวมาแล้ว และองค์ประกอบของเครื่องมือดังแสดงในรูปที่ 2.6



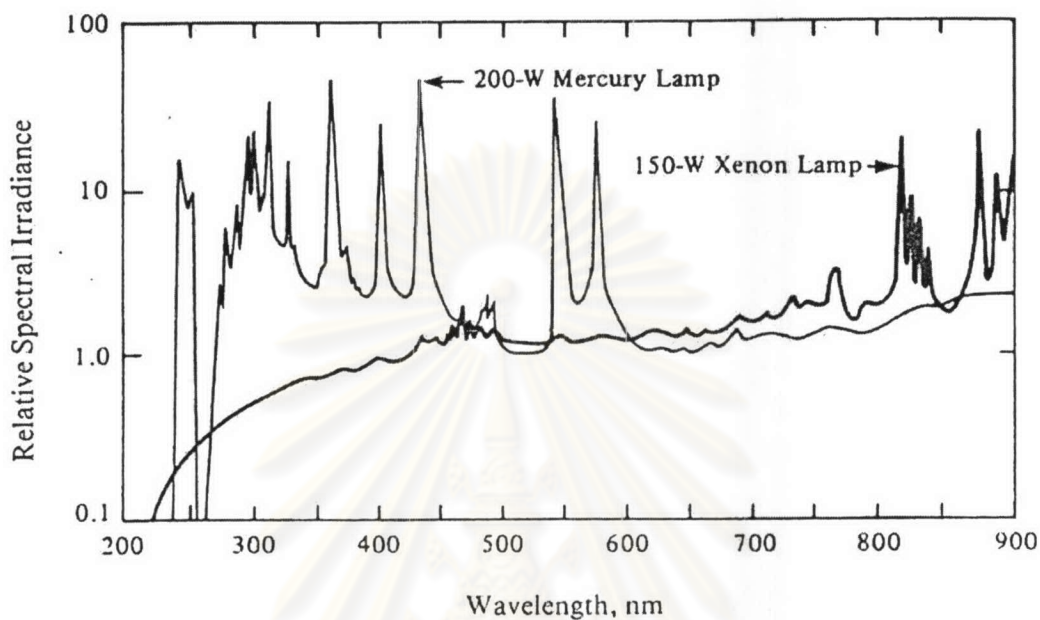
รูปที่ 2.6 แผนภาพขององค์ประกอบของเครื่อง Double Beam Spectrofluorometer

2.5.1 แหล่งกำเนิดแสง (light Source)

เนื่องจากเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ต้องการแสงที่ค่อนข้างมีความเข้มสูงกว่าหลอดทังสเตน หรือไฮโดรเจน เพราะสภาพไวของเทคนิคนี้ขึ้นอยู่กับความเข้มของแสง หรือกำลังของแสงที่จะใช้ทำให้สารเกิดการกระตุ้น ดังนั้น หลอดกำเนิดแสงที่นิยมใช้กันก็มี Xenon-arc lamp และ Mercury-arc lamp

Xenon-arc lamp เป็นแหล่งกำเนิดแสงที่ให้ความเข้มของแสงสูงในช่วงความยาวคลื่น 250-600 nm ซึ่งเป็น continuum radiation และให้ฟลักที่ประมาณ 470 nm ดังแสดงในรูปที่ 2.7 Xenon lamp โดยทั่วไปใช้ประมาณ 150 W Xenon lamp จำเป็นที่จะต้องใช้เครื่องที่ควบคุมกำลัง

ไฟฟ้าให้คงที่อย่างดี เพราะมีผลต่อเสถียรภาพและอายุของหลอดมาก ถ้ากำลังไฟฟ้าที่ผ่านเข้าไปไม่คงที่ จะเกิดอาร์กเคลื่อนตำแหน่งไปทำให้เกิดปัญหา กับสเปกตรัมที่เปลี่ยนไป



รูปที่ 2.7 สเปกตรัมของ Xenon และ Mercury lamps

Mercury-arc lamp หลอดที่ใช้เป็นแหล่งกำเนิดแสงชนิดนี้มักจะใช้กับเครื่องฟลูออโรมิเตอร์ ที่ใช้ filter เพราะแสงที่ให้ออกมาค่อนข้างคงที่และมีความเข้มสูง Mercury-arc lamp ให้ resonance lines ของสเปกตรัมที่มีความยาวคลื่น 365-366 nm ตารางที่ 2.6 แสดง relative intensities ของแต่ละเส้นสเปกตรัม

ศูนย์ยาไทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2.6 Relative intensities ของ Spectral Lines ของ Mercury-arc lamp

Line (nm)	Relative Intensity	Lines (nm)	Relative Intensity
253.7	1	366.3	1.4×10^{-3}
296.5	6.0×10^{-3}	404.7	8.9×10^{-3}
302.2	1.1×10^{-2}	435.8	1.7×10^{-2}
312.2	7.1×10^{-3}	546.1	1.2×10^{-2}
313.2	1.1×10^{-2}	577	1.7×10^{-3}
365	8.9×10^{-3}	579	1.8×10^{-3}
365.5	2.1×10^{-3}		

แม้บางส่วนของสเปกตรัมที่ได้จาก Mercury-arc lamp จะสูงกว่า Xenon lamp หลายเท่าก็ตาม Mercury-arc lamp ไม่สามารถนำไปใช้เป็นแหล่งกำเนิดแสงในเครื่อง Scanning Spectrofluorometer ได้เพราะ excitation spectrum ของ Mercury ไปซ้อนพอดีกับ excitation spectrum ของสารตัวอย่าง

สำหรับการพัฒนาใหม่ ได้มีการใช้เลเซอร์เข้ามาเป็นแหล่งกำเนิดแสง ซึ่งสามารถใช้ monochromatic filter สำหรับตัดแสงบางช่วงที่ไม่ต้องการออกไป แต่ถ้าเป็นสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ โดยทั่วไปจะใช้เกรตติง (grating) เป็นโมโนโครเมเตอร์ ซึ่งสามารถเลือกใช้ความยาวคลื่นที่ต้องการสำหรับทำให้เกิดการกระตุ้น และเลือกใช้ความยาวคลื่นของฟลูออเรสเซนซ์ที่วัดได้ ลักษณะของฟิลเตอร์และเกรตติงก็เป็นแบบเดียวกันกับที่ใช้ในเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ดังได้กล่าวมาแล้ว เพียงแต่แตกต่างกันที่มีสองโมโนโครเมเตอร์ คือ เป็น excitation monochromator และ emission monochromator ซึ่งจะต้องอยู่ในตำแหน่ง 90° ของกันและกัน

2.5.2 เซลล์ใส่สารตัวอย่าง (Sample Cell หรือ Cuvette)

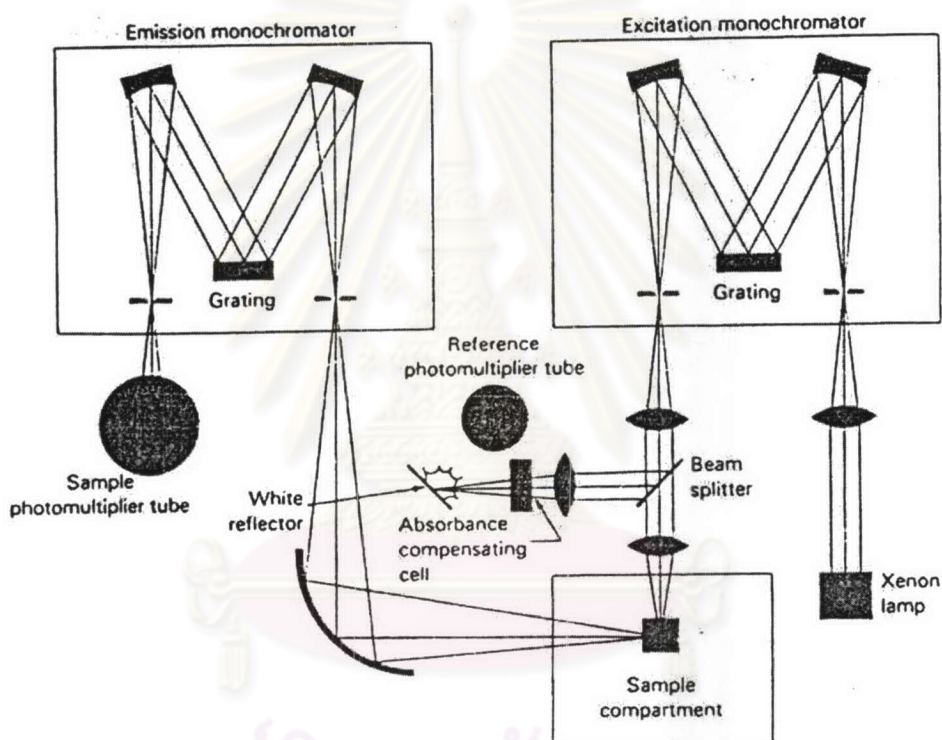
เซลล์ที่ใช้โดยทั่วไปเป็นเซลล์สี่เหลี่ยมด้านเท่า ทำด้วยควอร์ตซ์ เพื่อให้แสงยูวีผ่านได้ มีขนาด 1 ซม. ใสทั้ง 4 ด้าน เซลล์ชนิดนี้ค่อนข้างราคาแพง จำเป็นต้องใช้ด้วยความระมัดระวังและรักษาความสะอาดให้ดีด้วย

2.5.3 เครื่องวัดฟลูออเรสเซนซ์ (Detector)

เนื่องจากความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่จะวัดโดยทั่วไปมีความเข้มต่ำ จำเป็นต้องมีการขยายสัญญาณที่วัดได้ด้วยหลอดโฟโตมัลติพลายเออร์มากๆ หรืออาจใช้ diode array

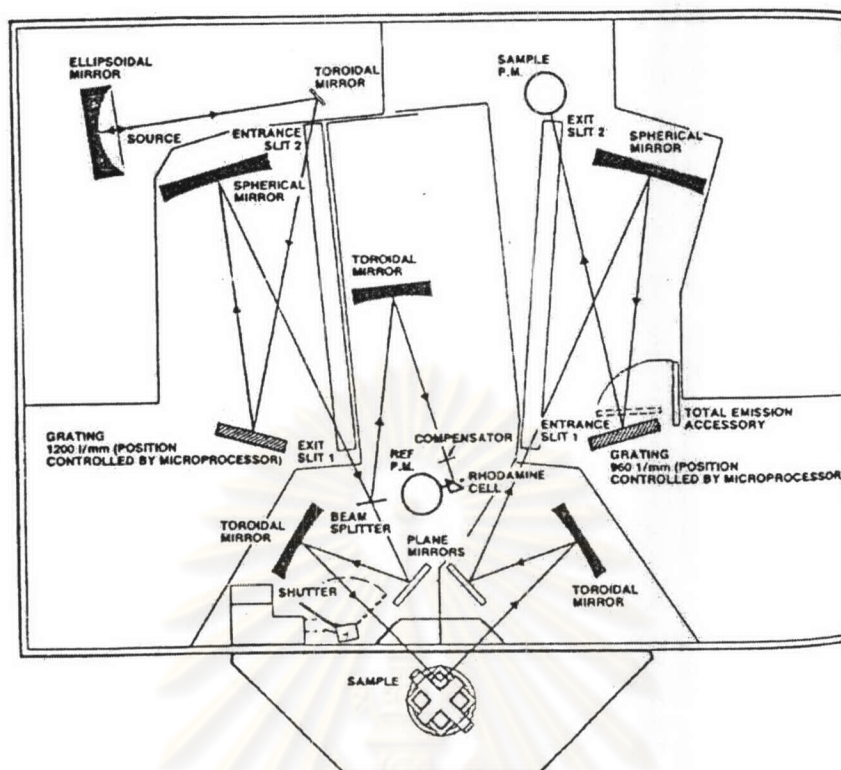
detectors ก็ได้ ฟลูออเรสเซนซ์โดยทั่วไปก็อยู่ในช่วงของยูวี-วิสิเบิลอยู่แล้ว ดังนั้น detector จึงใช้เหมือนกับเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ได้เลย

สำหรับเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์จะต่างไปจากเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์อีกอย่างหนึ่งก็คือ จะมี detector 2 ตัว ตัวหนึ่งวัดฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้นจากสารตัวอย่าง อีกตัวหนึ่งเรียก reference detector เพื่อใช้สำหรับทำ spectral correction อันเนื่องจากข้อบกพร่องหรือขีดจำกัดต่างๆ ดังได้กล่าวมาแล้วข้างต้น และรูปเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ดังแสดงในรูปที่ 2.8 และ 2.9



รูปที่ 2.8 ลักษณะการออกแบบของเครื่อง Double-Beam Spectro-Fluorometer

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 2.9 ลักษณะการออกแบบของเครื่อง Double-Beam Spectro-Fluorometer

2.5.4 เครื่องบันทึกสัญญาณและเครื่องประมวลผล (Signal Processors and Data Read Out)

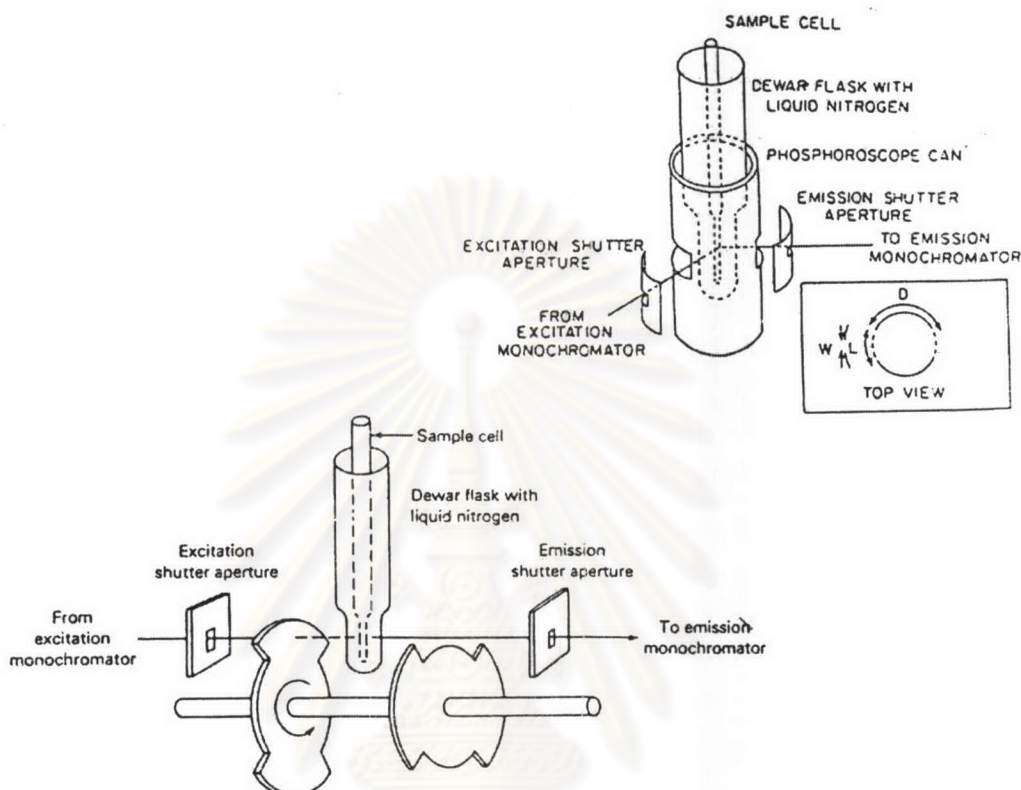
สัญญาณที่ได้จากเครื่องวัดจะผ่านเข้ากระบวนการอิเล็กทรอนิกส์แล้วแสดงผลออกมา อาจเป็นอย่างไรอย่างหนึ่งหรือหลายอย่างก็ได้ต่อไปนี้

- ก. มิเตอร์ หรือดิจิตัลมิเตอร์
- ข. เรคอร์ดเดอร์ หรือพริ้นเตอร์
- ค. คอมพิวเตอร์ หรือไมโครโปรเซสเซอร์

สำหรับฟอสฟอริมิเตอร์ (phosphorimeter) ซึ่งเป็นเครื่องที่จะใช้วัดฟอสฟอเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้นกับสารตัวอย่าง จะมีลักษณะคล้ายกันอย่างมากกับเครื่องฟลูออโรมิเตอร์หรือสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ มีอยู่เพียง 2 ส่วนที่ต่างกัน คือ

2.5.4.1 ตามปกติการวัดฟอสฟอเรสเซนซ์จะต้องวัดที่อุณหภูมิต่ำมากๆ เช่น วัดที่อุณหภูมิของไนโตรเจนเหลว (77 K) เพื่อป้องกันการเกิดหรือทำให้เกิด quenching น้อยที่สุด ซึ่งสารตัวอย่างจะใส่ในหลอดแช่ไนโตรเจนเหลวดังรูปที่ 2.10 จนสารตัวอย่างและตัวทำละลาย

กลายเป็นแก๊ส ตัวทำละลายที่ดีที่สุด คือ EPA (ether, isopentane และ ethyl alcohol ผสมกันด้วยอัตราส่วน 5:5:2)



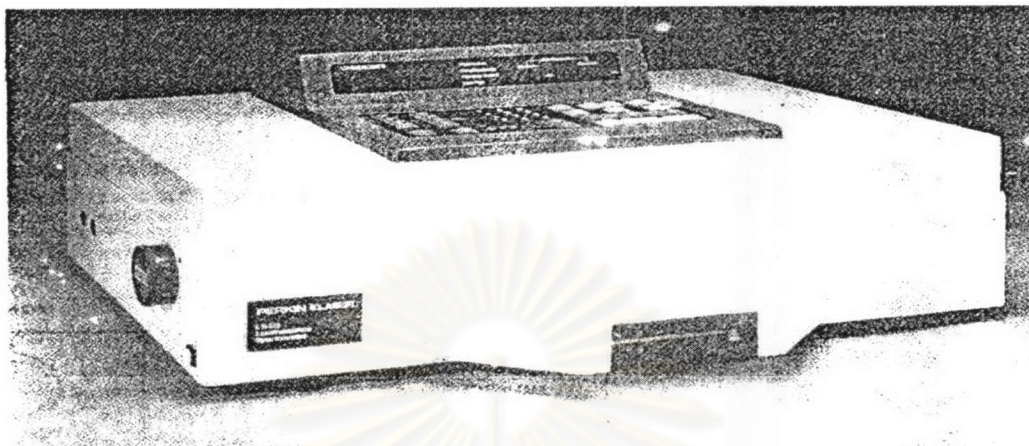
รูปที่ 2.10 ลักษณะของอุปกรณ์ในการวัดฟอสฟอเรสเซนซ์

2.5.4.2 ต้องมีเครื่องสำหรับกั้นแสง (gate) จาก source ที่ทำให้เกิดการกระตุ้นและทิ้งไว้ในช่วงระยะเวลาหนึ่ง (delay time) ก่อนที่จะทำการวัดฟอสฟอเรสเซนซ์ ซึ่งการควบคุมระบบนี้อาจใช้ระบบอิเล็กทรอนิกส์ หรือเครื่องกลก็ได้ อุปกรณ์ส่วนนี้มักจะเป็นอุปกรณ์เพิ่มเติมเข้ามาในส่วน of เครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ เพื่อให้เครื่องสามารถทำงานได้ทั้งฟลูออเรสเซนซ์และฟอสฟอเรสเซนซ์

อีกวิธีหนึ่งที่สามารถทำได้โดยแทนที่จะใช้เครื่องกั้นแสง อาจใช้วิธีการกระตุ้นสารตัวอย่างเป็นช่วงๆ (pulsed excitation source) แทนสัญญาณที่ได้จาก detector ที่วัดเป็นช่วงๆจะถูกเก็บรวบรวมได้ด้วยเครื่องไมโครโปรเซสเซอร์ หรือคอมพิวเตอร์อีกครั้งหนึ่ง

เครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ ที่ผลิตจำหน่ายในปัจจุบันเพื่อใช้ในงานวิเคราะห์ทางด้านการศึกษาและการวิจัยทั่วไปดังต่อไปนี้

เครื่อง Fluorescence และ Phosphorescence Spectrometer ที่ผลิตโดยบริษัท Perkin-Elmer Corp. U.S.A. ดังรูปที่ 2.11 และ 2.12



รูปที่ 2.11 เครื่อง Scanning Spectrometer model LS-5 B ซึ่งสามารถใช้วัดได้ทั้งฟลูออเรสเซนซ์และฟอสฟอเรสเซนซ์ โดยใช้ stroboscopic xenon source ที่ให้ความเข้มของแสงสูง มี software ที่สามารถทำ prescan, wavelength programming 6 g subtraction, corrected emission และ recorder formatting



รูปที่ 2.12 เครื่อง Fluorescence Spectrophotometer model MPF-66 เป็นเครื่องมือวิจัยชนิดเยี่ยม ซึ่งให้ sensitivity และ resolution ที่ดีมาก ควบคุมและประมวลผลด้วยเครื่องคอมพิวเตอร์ Perkin-Elmer Series 7000 Professional Computer

2.6 ทฤษฎีการสกัด

การแยกสกัดสารเป็นกระบวนการถ่ายเทมวลสารที่สำคัญในอุตสาหกรรมเคมี เป็นวิธีใช้แยกสารออกจากของผสมที่มีลักษณะเป็นของเหลวหรือของแข็ง โดยใช้ตัวทำละลายที่เป็นของเหลว กระบวนการนี้แบ่งออกเป็น

2.6.1 การสกัดสารออกจากของเหลวด้วยของเหลว (liquid-liquid extraction)

ใช้แยกของผสมออกจากของผสมเดิมที่มีสถานะเป็นของเหลว ใช้ตัวทำละลายที่ไม่ผสมเป็นเนื้อเดียวกับสารละลายเดิม ตัวทำละลายต้องมีความสามารถที่จะละลายสารชนิดหนึ่งออกจากของผสมเดิมได้ดี แต่ละลายสารอีกชนิดหนึ่งได้ไม่ดีหรือไม่ได้เลย

โดยทั่วไปการแยกเอาสารผสมที่เป็นของเหลวออกจากกันทำได้ด้วยการกลั่น แต่ในบางครั้งการกลั่นก็มีข้อจำกัดที่ไม่สามารถแยกสารออกจากกันได้หรือไม่เหมาะสม เช่น การกลั่นแยกสารที่มีค่าความดันไอใกล้เคียงกันจะทำได้ยาก สารที่เป็นของผสมอาซีโอโทรป (azeotrope mixture) ไม่สามารถแยกได้ด้วยการกลั่นปกติ ของผสมที่มีความเจือจางมากๆ การกลั่นจะต้องใช้พลังงานมาก สารบางชนิดมีจุดเดือดสูง การกลั่นต้องใช้อุณหภูมิสูงทำให้เกิดการสลายตัวของสารได้ ดังนั้นการกลั่นสารประเภทดังกล่าวจึงไม่เหมาะสม ต้องหาวิธีการอื่นๆ มาแทน วิธีการสกัดสารออกจากของเหลวด้วยของเหลวอาจเป็นวิธีการหนึ่งที่น่ามาใช้ในการแยกสกัดสารได้

2.6.2 การแยกสกัดสารออกจากของแข็งด้วยของเหลว (leaching)

การสกัดของแข็งด้วยของเหลว เป็นวิธีการแยกเอาส่วนประกอบที่ละลายได้ออกจากของแข็งโดยใช้ของเหลว วิธีการนี้คล้ายกับวิธีล้างตะกอน ความแตกต่างคือตัวถูกละลายที่อยู่ภายในเม็ดของแข็งละลายออกมาอยู่รวมกับของเหลว ส่วนประกอบที่ละลายได้อาจอยู่ในรูปของแข็งหรือของเหลวก็ได้ ของเหลวที่ใช้ในการสกัดเรียกว่า “ ตัวทำละลาย ” การสกัดแบบนี้จำนวนของสารซึ่งละลายได้ จะถูกแยกออกมามากกว่าในการล้างตะกอนธรรมดา อีกทั้งสมบัติของของแข็งอาจมีการเปลี่ยนแปลงไปในขณะที่ทำการสกัดก็ได้

จากการศึกษาพบว่ากระบวนการสกัดแบบนี้จะทำได้ผลดีโดยการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสต่อหน่วยปริมาตรของของแข็งที่ถูกสกัด และทำการลดระยะเวลาเร็วเพียงลดลง เพื่อให้ระยะเวลาสัมผัสของตัวถูกละลายและตัวทำละลายสั้นลง ทั้งสองกรณีอาจทำได้โดยการลดขนาดของอนุภาคหรือใช้ของแข็งที่มีขนาดเล็ก

2.6.2.1 ขั้นตอนต่างๆ ของกระบวนการสกัด

- การเตรียมตัวถูกละลายให้เหมาะสมกับตัวทำละลาย ซึ่งอาจรวมถึง การบด การไม่การลดขนาดหรือเปลี่ยนสภาพใหม่

- การสัมผัสระหว่างตัวทำละลายกับของแข็งเพื่อทำให้เกิดการถ่ายเทตัวถูกละลาย (ส่วนประกอบที่ละลายได้) ไปยังตัวทำละลายหลังจากการสัมผัสแล้วจะแยกออกเป็น 2 ส่วน ส่วนหนึ่งประกอบด้วยตัวทำละลายอยู่กับตัวถูกละลายซึ่งแยกออกจากของแข็ง เรียกว่า "overflow" อีกส่วนหนึ่งประกอบด้วยของแข็งอยู่กับตัวถูกละลายที่สกัดไม่หมด และมีตัวทำละลายปนอยู่บ้างเรียกว่า "underflow or hold-up"
- ขั้นตอนการแยกระหว่าง underflow และ overflow
- นำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่ โดยแยกออกจากตัวถูกละลายซึ่งอาจใช้วิธีอื่นๆ เช่น การกลั่น การระเหย

2.6.2.2 กลไกของการสกัด

การสกัดเป็นวิธีการแยกส่วนที่ต้องการออกจากส่วนที่ไม่ต้องการโดยใช้ตัวพา (carrier) ซึ่งจะประกอบด้วยกระบวนการสำคัญ 3 กระบวนการ ได้แก่

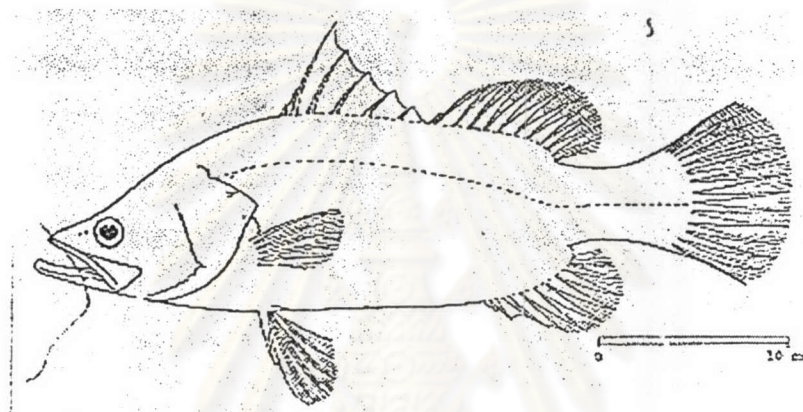
1. กระบวนการเปลี่ยนสถานะของตัวถูกละลายขณะที่ละลายในตัวทำละลาย
 2. กระบวนการแพร่ (diffusion) ของตัวถูกละลายในตัวทำละลายที่อยู่ในช่องว่างของสิ่งที่ต้องการสกัด
 3. กระบวนการถ่ายโอนมวลสารของตัวถูกละลายออกสู่สารละลายทั้งหมด
- กระบวนการแรกปกติจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วจึงไม่ค่อยมีผลต่ออัตราเร็วในการสกัด ถ้ากระบวนการที่สองเป็นกระบวนการควบคุมอัตราการสกัด ขนาดของเกล็ดปลาจะมีผลต่อการสกัด เพื่อให้การสกัดเร็วขึ้นอาจทำได้โดย การเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสให้ตัวทำละลาย เช่น การลดขนาดของเกล็ดปลาและถ้ากระบวนการที่สามมีผลต่อการสกัดการกวนหรือการเพิ่มอุณหภูมิขณะทำการสกัดจะช่วยให้การถ่ายโอนมวลสารเกิดได้เร็วขึ้น

2.7 ปลากระพงขาว

2.7.1 ลักษณะโดยทั่ว ๆ ไป

ปลากระพงขาวมีลักษณะลำตัวค่อนข้างยาวและหน้าแบนข้างเล็กน้อย บริเวณไหล่จะโค้งมน ส่วนตัวจะลาดชันและเว้า ส่วนของขากรรไกรล่างยื่นยาวกว่าขากรรไกรบนเล็กน้อย ปากกว้าง ขอบปากบนเป็นแผ่นใหญ่แยกเป็นแนวตอนต้น และตอนท้ายอย่างชัดเจน บริเวณส่วนปากจะยึดหดได้บ้าง ช่องปากเฉียงลงด้านล่างเล็กน้อย มีฟันเล็กละเอียดบนขากรรไกรบนและล่าง และที่เพดานปาก ตาของเพดานชนิดนี้มีขนาดกลาง ไม่มีเนื้อเยื่อที่เป็นไขมันหุ้ม แผ่นแก้มมีขนาดใหญ่ มีขอบล่างเป็นหนามแหลม 4 ซี่ และเรียงตัวต่อกันด้วยซี่เล็ก ๆ จัดตามแนวหลัง ด้านบนส่วนหัวและ

บนแผ่นเหงือก มีเกล็ดขนาดต่าง ๆ กัน เกล็ดบริเวณลำตัวค่อนข้างใหญ่ ด้านหลังมีสีเทาเงินหรือสีเขียวปนเทา ส่วนท้องมีสีเงินแกมเหลือง บริเวณด้านข้างของลำตัวมีสีเงิน ครีบหลัง ครีบกัน ครีบหาง จะมีสีเทาปนดำบาง ๆ มีครีบหลังสองตอน ตอนแรกอยู่บนตำแหน่งครีบท้อง มีก้านครีบแข็ง ที่แหลมคมขนาดใหญ่ 7-8 ก้าน เชื่อมต่อกันด้วยเยื่อบาง ๆ ครีบหลังตอนที่ 2 แยกจากตอนแรกอย่างเห็นได้ชัด มีก้านครีบแข็ง 1 ก้าน ช่อหางสั้น ครีบหางค่อนข้างกลม เส้นข้างตัวโค้งไปตามสันหลัง มีเกล็ดบนเส้นข้างตัว 52-61 เกล็ด ดังรูปที่ 2.13



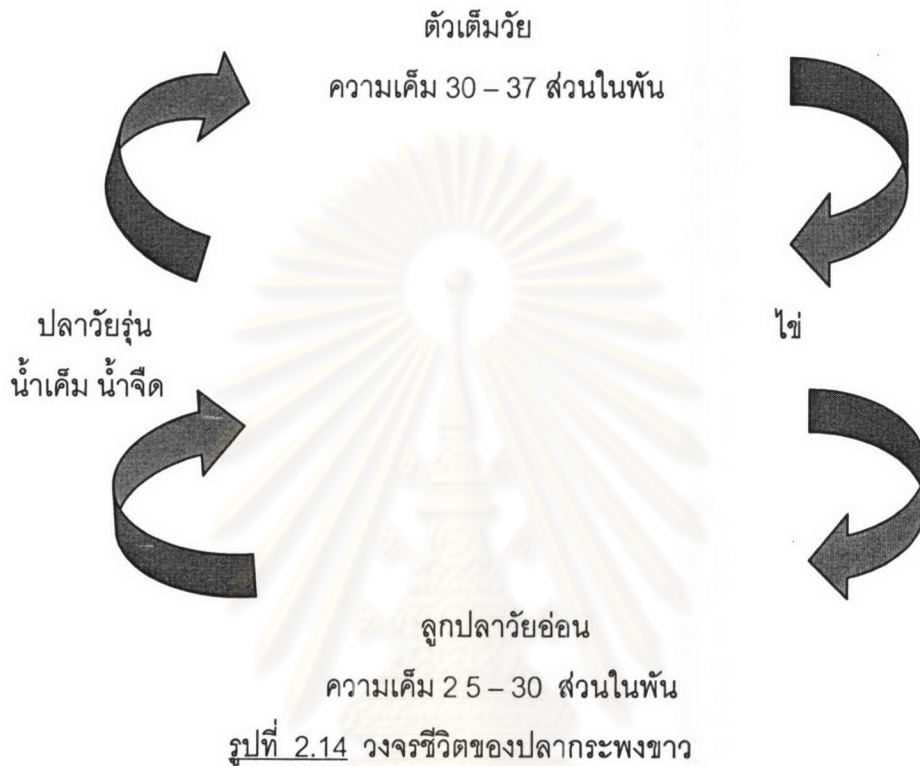
รูปที่ 2.13 รูปเกล็ดปลากระพงขาว

2.7.2) การแพร่กระจาย

ปลากระพงขาวเป็นปลาน้ำกร่อยขนาดใหญ่ที่สุด เจริญเติบโตได้ดีในน้ำกร่อยและน้ำจืด จัดได้ว่าเป็นปลาประเภทสองน้ำ คือในช่วงชีวิตของปลากระพงขาวจะมีการเคลื่อนย้ายไปมาระหว่างแหล่งน้ำจืดและน้ำเค็ม ปลากระพงขาวขนาดใหญ่จะอาศัยอยู่ในแหล่งน้ำที่ห่างไกลออกไปจากฝั่งมากนัก พบมากบริเวณปากแม่น้ำลำคลอง ปากทะเลสาบและปากอ่าวบริเวณที่เป็นป่าไม้ชายเลน ที่มีน้ำเค็มท่วมถึง โดยจะพบอยู่ทั่ว ๆ ไปในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ นับตั้งแต่พม่า ไทย มาเลเซีย เวียดนามและแถบชายฝั่งทะเลของจีนก็พบปลาชนิดนี้เหมือนกัน สำหรับในประเทศไทยเวลานั้นสามารถพบปลากระพงขาวตามชายฝั่งทะเลโดยเฉพาะบริเวณปากแม่น้ำใหญ่ ๆ ที่มีทางออกติดต่อกับทะเลที่มีป่าไม้ชายเลนขึ้นปกคลุมทางจังหวัดตราด จันทบุรี ฉะเชิงเทรา สมุทรปราการ สมุทรสงคราม ฯลฯ

ปลากระพงขาวจะผสมพันธุ์และวางไข่ในน้ำทะเลที่มีความเค็มประมาณ 28-32 ส่วนในพันส่วน ในทะเลที่มีความลึกหลังจากนั้นไข่จะถูกน้ำพัดพาเข้าสู่บริเวณชายฝั่งและฝั่งออกเป็นตัว

ลูกปลาระพงขาวที่ฝักออกเป็นตัว จะดำรงชีวิตอยู่ในน้ำกร่อยและน้ำจืด จนมีอายุอยู่ได้ 2-3 ปี มีขนาด 3-5 กิโลกรัม จะเคลื่อนตัวออกสู่ทะเล เพื่อทำการผสมพันธุ์และวางไข่ต่อไป ดังรูปที่ 2.14



2.7.3 การแยกเพศ

ปลาระพงขาวเป็นปลาที่สังเกตแยกเพศได้ยาก แต่สามารถสังเกตได้จากลักษณะภายนอกของตัวปลา โดยปลาเพศผู้จะมีลำตัวยาวเรียวกว่าปลาเพศเมีย ลำตัวมีส่วนเล็กที่น้อยกว่าปลาเพศเมีย และมีน้ำหนักน้อยกว่าปลาเพศเมียที่มีขนาดลำตัวยาวเท่ากัน ในปลาเพศเมียนั้นเมื่อถึงฤดูวางไข่ในช่วงเดือน พฤษภาคม – กันยายน ส่วนท้องจะอวบโป่ง จนสังเกตได้ชัดเจนเมื่อเวลาเอามือคลำที่ท้องจะมีไข่ไหลออกมา

2.7.4 การจัดลำดับทางอนุกรมวิธาน

ปลากะพงขาวมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ (Scientific name) ว่า *Lates calcarifer* (Bloch) นักวิทยาศาสตร์ได้จัดจำแนกปลากะพงขาว ตามหลักอนุกรมวิธานดังนี้

Phylum Chordata

Sub – Phylum Vertebrata

Sub – class Teleostomi

Order Percomorphi

Family Centropomidae

Genus Lates

Species Calcarifer

2.7.5 ชื่อปลากะพงขาว

เนื่องจากปลากะพงขาวพบในหลายประเทศ ทำให้มีชื่อเรียกที่แตกต่างกันไป ขึ้นกับประเทศนั้น ๆ ดังนี้ ชื่อสามัญภาษาอังกฤษ Giant Perch ; white seabass, silver seaperch, giant perch, palmer, Cock-up seabass

ไทย	Pla Kapongkao, Pla ka pong
อินเดีย	Begti, bekti, Dangara, woliji, gitador, todah Kora, boor'
ศรีลังกา	Modha Koliya, Keduwa
มาเลเซีย	SaiKap, Kakap
บอร์เนียวเหนือ	Ikan, Saling-Sung
เวียดนาม	Ca-Chem, Carvot
กัมพูชา	Tvey Spong
ฟิลิปปินส์	Kakap, Apahap, bulgan, salong-song, Katuyot, matan pusa
อินโดนีเซีย	Kakap, Pelak, Petcham, telap

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Sakuratani Y et al (2001) ได้ประดิษฐ์เครื่อง Organic electroluminescent (EL) ที่สามารถอยู่ในอากาศได้โดยไม่ต้องใช้ภาวะสุญญากาศ ซึ่งภาวะนี้จะต้องใช้เครื่องมือสำหรับดูดอากาศ เครื่องมือชนิดนี้ประกอบไปด้วยส่วนประกอบของสาร indium - tin oxide (ITO) ผสมลึย้อมที่ทำจาก poly(N-vinylcarbazole) (PVK) ซึ่งมีลักษณะเป็นฟิล์ม ฟิล์มชนิดนี้ถูกเคลือบไปในแต่ละส่วน มีลักษณะเป็นชั้นๆ โดยนำแท่งแคโทดที่ทำมาจากโลหะที่วาวมาเคลือบด้วยฟิล์มแล้วนำไปดูดซับ SnCl_2 หลังจากนั้นฟิล์มถูกเปลี่ยนไปเป็น Plasma เครื่องมือชนิดนี้ทดลองให้เห็นชัดเจนได้ด้วยการขีดสารตัวอย่างแล้วปล่อยแสงออกมา ความสว่างที่ถูกวัดได้คือ 82 cd/m^2 ที่ 19 Vat 75 mA/cm^2

Chen ZJ et al (2000) สามารถประดิษฐ์เซลล์ Electroluminescent ได้ 2 ชนิดดังนี้ ชนิดแรกขั้วเซลล์ประกอบไปด้วยส่วนประกอบที่ทำจาก glass/indium-tin oxide (ITO), $300\text{nm}/\text{Au}$, $600\text{nm}/\text{N,N}'\text{-diphenyl-N,N}'\text{-(3-methylphenyl)-1,1'-biphenyl-4,4'-d(TDP):poly(N-vinylcarbazole)(PVK)$, $50\text{nm}/\text{tris(8-hydroxyquinoline)aluminum (Alq(3))}$, $300\text{nm}/\text{Mg:Ag}$, $700\text{nm}/\text{Ag cap}$, 100nm และชนิดที่สองขั้วเซลล์ประกอบไปด้วยส่วนประกอบที่ทำจาก glass / ITO, $300\text{nm} / \text{TPD:PVK}$, $60 / \text{nm}/\text{Alq(3)}$, $300\text{nm}/\text{Mg:Ag}$, $700\text{nm} / \text{Ag cap}$, 100 nm การทดลองนี้เป็นการหาประสิทธิภาพของขั้วหลอดที่เตรียมจากวัสดุที่แตกต่างกัน เมื่อนำขั้วหลอดทั้ง 2 มาทดสอบหาความกว้างที่สุดของลำแสงที่ปล่อยออกมา พบว่าความกว้างที่สุดของลำแสงที่ปล่อยออกมามีค่าเป็นครึ่งหนึ่งของค่า emission narrowing การทดสอบทำที่ประสิทธิภาพสูงสุดของเครื่อง Electroluminescent โดยขั้วหลอดทั้ง 2 ให้ผลเหมือนกัน ขณะที่การเพิ่มสนามไฟฟ้าจากภายนอก จะพบว่าในขั้วเซลล์ชนิดแรกมีค่าประมาณ $2.0 \times 10^3 \text{ A cm}^{-2}$ ในขณะที่ขั้วเซลล์ชนิดที่ 2 ความกว้างที่สุดของลำแสงที่ปล่อยออกมาไม่เปลี่ยนแปลงจากเดิมเมื่อทำการเพิ่มสนามไฟฟ้า

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย