บทที่ 2
แนวคิด ทฤษฎีและเอกสารที่เกี่ยวข้อง

1. แพะ

แพะเป็นสัตว์เศรษฐกิจที่มีอยู่ทั่วโลกและเป็นอาหารประเภทเนื้อที่สำคัญของโลกรวมถึงผลิตภัณฑ์จากแพะ เช่น นมแพะเป็นต้น ในรายงาน National and Internation Conference ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการเพิ่มปริมาณแพะที่เกิดขึ้นบนโลกในระยะ 20 ปีที่ผ่านมา 1 ซึ่งสะท้อนให้เห็นถึงปริมาณความต้องการที่จะบริโภคเนื้อแพะและผลิตภัณฑ์จากแพะมากขึ้น โดยเฉพาะ นมจากแพะ (FAO, 2001) ซึ่งเห็นได้จากฟาร์เลี้ยงแพะ เพื่อรีดน้ำนมมากขึ้นในปัจจุบันนี้ (Haenlein, 2004)

2. น้ำนมแพะ(Goat milk)

2.1. คุณสมบัติโดยทั่วไปของน้ำนมแพะ

น้ำนมแพะนอกจากเป็นอาหารที่สำคัญที่สุดของลูกแพะก่อนหย่านมแล้ว ยังใช้เป็นอาหารที่มีคุณภาพดีสำหรับมนุษย์อีกด้วย มีการทดลองทั้งในมนุษย์และสัตว์ บ่งชี้ว่าการบริโภคนมแพะให้ผลดีต่อสุขภาพมากกว่านมโค เนื่องจากคุณสมบัติของนมแพะที่มีปริมาณสารอาหาร วิตามิน และแร่ธาตุสูงกว่านมโค รวมทั้งนมแพะมีสัดส่วนของกรดไขมันสายสั้นสูงกว่านมโค และมีขนาดของเม็ดไขมันเฉลี่ยต่ำกว่านมโค ทำให้นมแพะย่อยง่าย และร่างกายสามารถนำสารอาหารจากนมแพะไปใช้ได้ประโยชน์ได้ดีกว่านมโค (Haenlein, 2004)

1) ไขมันในน้ำนม

ไขมันจากนมประกอบด้วยกรดไขมัน 3 กลุ่มคือ กรดไขมันสายสั้น สายกลาง และสายยาว โดยที่กรดไขมันสายสั้น และกรดไขมันสายปานกลาง (shot and medium chain fatty acids) เป็นกรดไขมันที่ประกอบด้วยคาร์บอน 4 – 8 อะตอม และ 10 – 12 อะตอม พบมากในไขมันจากพืช (ยกเว้นน้ำมันมะพร้าวและน้ำมันปาล์ม) อยู่ในสภาพที่เป็นน้ำมัน ส่วนกรดไขมันสายยาว (long chain fatty acid) ประกอบด้วยคาร์บอนตั้งแต่ 14 อะตอมขึ้นไปจนอาจจะมากถึง 24 อะตอม พบมากในไขมันสัตว์ แข็งตัวง่าย

ในแง่โภชนาการพบว่ากรดไขมันสายสั้นและสายกลางจะถูกย่อยสลายได้เร็ว และถูกนำมาใช้เป็นแหล่งพลังงานได้ทันที ในขณะที่กรดไขมันสายยาวส่วนใหญ่จะถูกนำไปเก็บสะสมอยู่ใต้ผิวหนัง บริเวณท้อง และไต นมแพะมีกรดไขมันสายสั้นและสายกลางอยู่ประมาณ 35% ในขณะที่นมโคมีอยู่เพียง 17% ส่วนที่เหลือเป็นกรดไขมันสายยาว ในหนูทดลองที่บริโภคกรดไขมันสาย

กลาง พบว่ามีไขมันสะสมตามจุดต่างๆของร่างกายและมีน้ำหนักน้อยกว่าหนูที่บริโภคกรดไขมันสายยาวอย่างชัดเจน (Hashim และ Tantibhedyangkul, 1987)

ไขมันอีกชนิดหนึ่งที่ทราบกันดีว่าหากบริโภคมากจะมีปัญหาต่อสุขภาพคือโคเลสเตอรอล ซึ่งพบว่าในนมแพะมีน้อยกว่าในนมโค นอกจากนั้นยังมีการวิจัยว่า กรดไขมันสายสั้นมีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างโคเลสเตอรอลจากตับและลำไส้ของผู้บริโภค โดยพบว่าหนูทดลองที่บริโภคกรดไขมันสายสั้น (ผสมผสานระหว่างกรดอะซิติก โพรพิโอนิก และบิวไทริก) นาน 14 วัน มีระดับของโคเลสเตอรอลในน้ำเลือดต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับกรดไขมันสายสั้นอย่างชัดเจน (Hara และคณะ, 1999) ดังนั้นการบริโภคนมแพะนอกจากจะได้รับโคเลสเตอรอลน้อยกว่าแล้ว ยังอาจมีผลช่วยลดการสร้างโคเลสเตอรอลจากตับอีกด้วย การทดลองการย่อยและดูดซึมไขมันในหนูทดลอง พบว่าไขมันจากนมแพะถูกดูดซึมและนำไปใช้ประโยชน์ได้ดีกว่านมโคอย่างชัดเจน นอกจากนั้นหนูทดลอง ที่ได้รับนมแพะ ยังมีปริมาณโคเลสเตอรอลในเลือดลดลงอีกด้วย (Alferez และคณะ, 2001)ซึ่งสนับสนุนกับเหตุผลดังกล่าวข้างต้น

นอกจากความแตกต่างด้านองค์ประกอบแล้ว คุณสมบัติอีกอย่างหนึ่งคือเรื่องของขนาดเม็ดไขมัน โดยไขมันในนมนั้นจะอยู่ในลักษณะแขวนลอยอยู่ในน้ำ ส่วนเม็ดไขมันในน้ำนมแพะนั้นมีขนาดเฉลี่ย 2.76 ไมครอน ในขณะที่น้ำนมโคจะอยู่ ที่ 3.51 ไมครอน เมื่อพิจารณาถึงพื้นที่ผิวโดยรวมแล้วไขมันในนมแพะมีพื้นที่มากกว่านมโคอยู่ประมาณ 1.3 เท่า

ตารางที่ 1 องค์ประกอบของนมแพะ โค และมนุษย์

สารอาหาร	**นมแพะ**	**นมโค**	**นมมนุษย์**
น้ำ (ก.)	87	88	87.5
แป้ง (ก.)	4.45	4.66	6.89
ไขมัน (ก.)	4.14	3.34	4.38
โคเลสเตอรอล (มก.)	11	14	14
โปรตีน (ก.)	3.56	3.29	1.03
แร่ธาตุ (มก.)			
แคลเซียม	134	119	32
ฟอสฟอรัส	111	93	14
โซเดียม	50	49	17
แมกนีเซียม	14	13	3

ตารางที่ 1 แสดงองค์ประกอบของนมแพะ โค และมนุษย์ (ต่อ)

สารอาหาร	**นมแพะ**	**นมโค**	**นมมนุษย์**
โพแทสเซียม	204	152	51
เหล็ก	.05	.05	.03
สังกะสี	.30	.38	.17
วิตามิน (มก.)			
วิตามินเอ(ยูนิต)	185	126	241
โฟลาซิน(มคก.)	1	5	5
ไนอาซิน	.277	.084	.177
กรดแพนโททีนิค	.310	.314	.223
ไรโบฟลาวิน	.138	.162	.036
ไทอะมีน	.048	.038	.014
วิตามินบี 6	.046	.042	.011
วิตามินบี 12(มคก.)	.065	.357	.045
วิตามินซี	1.29	.94	5.0

(ปริมาณในนม 100 กรัม)

ที่มา : (Ensminger และคณะ, 1995)

2) โปรตีนในน้ำนม

นมแพะมีความเข้มข้นของโปรตีนสูงกว่านมโค นอกจากนั้นยังพบว่ากรดอะมิโนที่มีความสำคัญมาก เป็นอันดับต้น ๆ เช่น Cascine, Globutin และ Bovineจะพบมีในน้ำนมแพะมากกว่านมโคทั้งสิ้น

3) แร่ธาตุและวิตามินในน้ำนม

ความเข้มข้นของแร่ธาตุ และวิตามินรวมในนมแพะมีสูงกว่านมโค นอกจากนั้น ระบบย่อยอาหารของมนุษย์ยังมีความสามารถในการดูดซึมแร่ธาตุเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ (Bioavailability) จากนมแพะได้สูงกว่านมโค ทั้งนี้เนื่องด้วยคุณสมบัติโดยรวมขององค์ประกอบต่าง ๆ เช่น ขนาดเม็ดไขมัน คุณสมบัติของกรดอะมิโน เป็นต้น ทำให้มีประสิทธิภาพในการดูดซึมสูงกว่า แร่ธาตุสำคัญที่ถูกนำมาวิเคราะห์อย่างมากคือแคลเซียม ซึ่งงานวิจัยหลายชิ้นสรุปตรงกันว่า ร่างกาย

สามารถดูดซึมแคลเซียมจากนมแพะไปใช้ประโยชน์ได้สูงกว่าจากนมโค (Heinlein and Caccese, 2007)

ซีลิเนียม (Selenium) เป็นแร่ธาตุอีกชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการทำงานของกล้ามเนื้อ และเป็นองค์ประกอบสำคัญของเอนไซม์กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส (Glutathione peroxidase; GP) ซึ่งเป็นเอนไซม์สำคัญในตับที่ทำหน้าที่ในการทำลายสารพิษ นอกจากนั้น ซีลิเนียมเองยังมีความสามารถในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์อีกด้วย ปัญหาการขาดซิลิเนียมมักพบในสตรีมีครรภ์และทารก งานวิจัยโดย Debski และคณะ (1987) พบว่านมแพะมีซีลีเนียมสูงกว่านมโคอย่างชัดเจน (13.3 ต่อ 9.6 นาโนกรัม/มิลลิลิตร)

ธาตุเหล็ก (Iron) เป็นองค์ประกอบสำคัญของเม็ดเลือดแดงพบว่าปริมาณธาตุเหล็กในน้ำนมจากสัตว์ทุกชนิดรวมทั้งมนุษย์ จะมีปริมาณธาตุเหล็กอยู่ต่ำอย่างไรก็ตาม การนำไปใช้ประโยชน์ของธาตุเหล็กจากน้ำนมที่ได้จากสัตว์แต่ละชนิดจะแตกต่างกันโดยทั่วไป นมแพะมีธาตุเหล็กสูงกว่านมโค การวิจัยโดย Park และคณะ (1986) พบว่าในหนูทดลองที่มีอาการโลหิตจางเมื่อได้รับอาหารที่มีนมแพะเป็นส่วนผสม จะมีอัตราการสร้างฮีโมโกลบิน (สารสำคัญในเม็ดเลือดแดงซึ่งมีธาตุเหล็กเป็นองค์ประกอบ) สูงกว่ากลุ่มที่ได้รับนมอย่างชัดเจน (51% ต่อ 13 %)

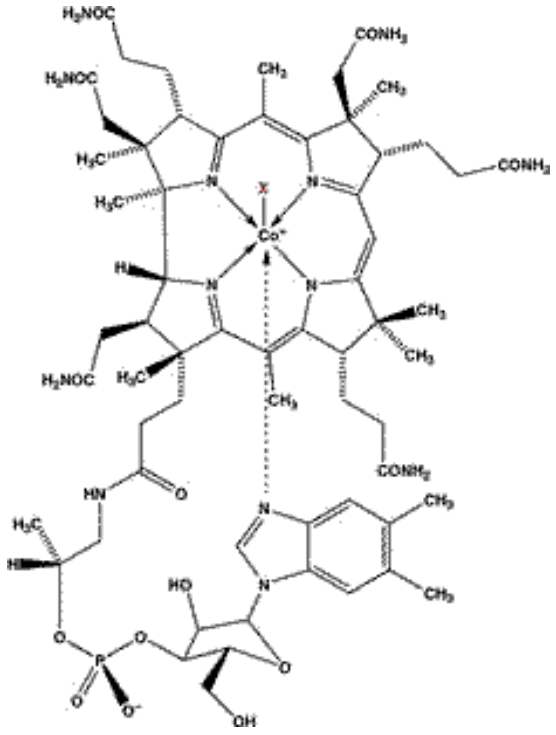
3. วิตามินบี 12(Cyanocobalamine)

3.1 สูตรเคมีและคุณสมบัติ

Hodgkin และคณะได้แสดงสูตรเคมีของวิตามิน บีสิบสอง ที่ถ่ายภาพด้วย X – ray crystallography ซึ่งเป็นผลงานส่วนหนึ่งที่ทำให้เขาได้รับรางวัลโนเบล สาขาเคมี เมื่อปี ค.ศ. 1694 วิตามิน นี้นับว่ามีสูตรที่สลับซับซ้อนที่สุด และแตกต่างไปจากวิตามินชนิดอื่น ๆ ที่ได้กล่าวมาแล้ว คือภายในอณูจะมีธาตุโคบอลต์ (Co) เป็นส่วนประกอบอยู่โดยจะจับกับ Corrin ring system จะเห็นได้จากสูตรว่า X สามารถแทนที่ ได้ด้วยอณูของ deoxyadenosine, CH_3 หรือ – CN ก็จะได้เป็น deoxyadenosyl-cobalamin, methylcobalamin หรือ cyanocobalamin ตามลำดับ ในอณูวิตามิน บีสิบสองนี้มี Corrin ring ที่คล้ายกับ porphyrin ring ใน heme แต่ต่างจาก heme ตรงที่ pyrrole ring 2 วงจะต่อกันโดยตรงแทนที่จะต่อด้วย methylene bridge และโคบอลท์ ที่อยู่ภายในอณูก็จะทำปฏิกิริยากับคาร์บอนของกลุ่ม เมทิล (CH_3) เป็น methylcobalamin หรือกับ 5'-carbon ของ deoxyadenosine เปลี่ยนเป็น 5' – deoxyadenosylcobalamin โคบอลท์ที่อยู่ภายในอณูของวิตามิน บีสิบสองนี้อาจมีวาเลนซี 1,2 หรือ 3 ก็ได้ โคบอลามิน (Co^{3+}) จะถูกทำให้มี

สภาพเป็นกลางได้โดยประจุลบ (-) จาก corrin ring phosphate ของนูคลีโอไทด์ และ cyanide โคบอลามินเมื่อถูกรีดิวส์แล้วจะเปลี่ยนไปเป็น โคบอลามิน (Co^{2+}) และโคบอลามิน(Co^{1+}) ได้

โคบอลามินจะเสียง่ายเมื่อถูกกับด่าง แสงสว่าง และสารที่มีฤทธิ์รีดิวส์ แต่ทนต่อกรดและความร้อนได้ดี สามารถผ่าน autoclave ได้โดยเสียคุณสมบัติของวิตามินไปเพียงเล็กน้อยเท่านั้น โคบอลามินเมื่อถูกแสงแล้วจะสลายเป็น โคบอลามิน (Co^{2+}) และโคบอลามิน(Co^{1+}) ตามลำดับ cyanocobalamin เป็นผลึกสีแดงเข้ม ละลายน้ำได้ แอลกอฮอล์ และอะซีโตน เป็นสารที่เสถียรที่สุดในบรรดา cobalamin ด้วยกัน ซึ่งเมื่อร่างกายได้รับเข้าไปก็จะสามารถเปลี่ยนไปเป็น adenosyl และ methylcobalamins ได้เช่นเดียวกับที่ได้จากธรรมชาติเพื่อนำไปใช้เป็นโคเอนไซม์ต่อไป ทั้ง adenosyl และ methylcobalamins จะถูกสลายโดยแสงสว่างได้ง่ายมาก ในการปรุงอาหารวิตามินชนิดนี้จะเสียไปประมาณ 30%



ภาพที่ 1 สูตรเคมีของวิตามินบีสิบสอง X = deoxyadenosine ใน deoxyadenosyl – cobalamin; X = CH_3 ใน methylcobalamin;X = CN ใน cyanocobalamin

ที่มา (www. KKU. ac.th, 2007)

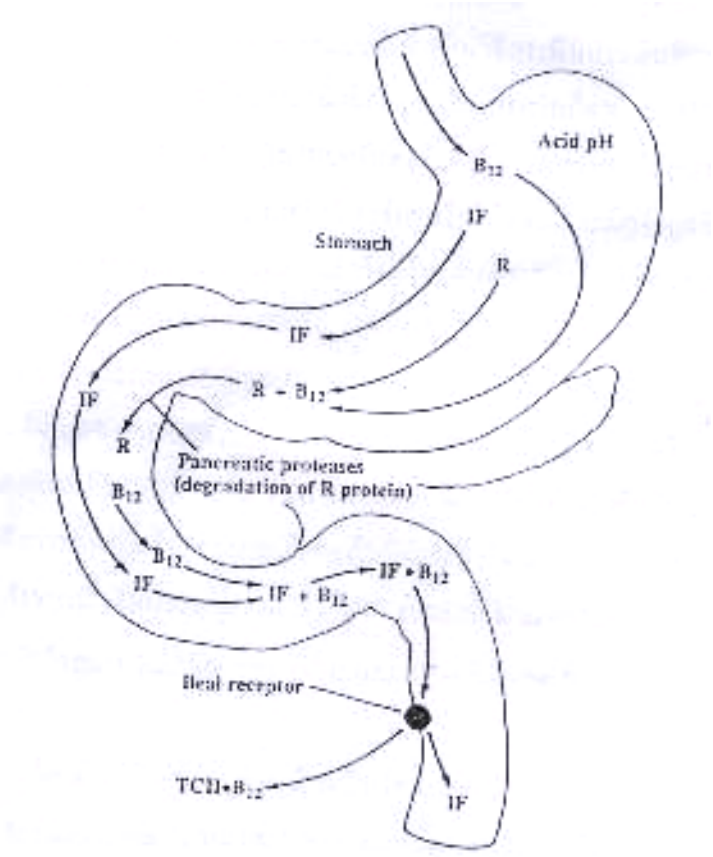
3.2 แหล่งกำเนิด

แหล่งที่ดีที่สุดของวิตามินบีสิบสองในธรรมชาติ คือ ได้จากการสังเคราะห์จากจุลชีพเท่านั้น สัตว์และพืชสังเคราะห์ไม่ได้ สัตว์ได้รับวิตามินนี้จากอาหารหรือน้ำที่มีจุลชีพปนเปื้อนอยู่ มนุษย์ได้รับวิตามินบีสิบสองในอาหารที่ได้จากสัตว์เท่านั้น พืชผักและผลไม้ไม่มีวิตามินชนิดนี้ เพราะพืชไม่มีการใช้ โคบอลท์ ฉะนั้นพวกมังสะวิรัติ (vegans) ที่กินแต่อาหารผักมักจะขาดวิตามินชนิดนี้และระดับของวิตามินบีสิบสองในเลือด ก็จะต่ำกว่าคนปกติ ซึ่งตรงกันข้ามกับกรดโฟลิคที่มีมากในผักสีเขียว ดังนั้นอาหารพวกถั่วและพืชที่กินได้ทั้งต้น (โดยเฉพาะราก) ซึ่งเข้าใจว่าอาจจะมีพวกจุลชีพที่สร้างวิตามินบีสิบสองปนเปื้อนอยู่มาก จึงเป็นแหล่งวิตามินนี้ที่ดีสำหรับพวกมังสะวิรัติ ตัวอย่างปริมาณวิตามินบีสิบสองจากอาหารที่ได้จากสัตว์มีมากน้อยตามชนิด

3.3 การดูดซึมและการขนส่ง

วิตามินบีสิบสองในอาหารส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของโคเอ็นไซม์ที่จับอยู่กับโปรตีน ซึ่งจะถูกละลายได้บ้างในขณะประกอบอาหาร และโดยความเป็นกรดหรือเอนไซม์ Pepsin ในกระเพาะอาหารอาหารจะสลายให้ได้วิตามินบีสิบสองเสรีออกมา ในผู้ที่ไม่มีกรดในกระเพาะอาหารหรือถูกตัดกระเพาะอาหารออกไปบ้างส่วนออกไป จะทำให้วิตามินบีสิบสองไม่แยกออกมาและทำให้การดูดซึมช้าลง อย่างไรก็ตามโคบอลามินก็อาจถูกปล่อยออกมาได้เมื่ออยู่ในลำไส้โดยอาศัยเอนไซม์ Protease จากตับอ่อน การดูดซึมวิตามินบีสิบสองเป็นการดูดซึมที่ต่างจากสารอาหารชนิดอื่น ๆ เนื่องจากต้องมีปัจจัยหลายชนิดเข้ามาเกี่ยวข้อง

วิตามินบีสิบสองเสรีที่ได้ออกมาในกระเพาะอาหารในครั้งแรกนี้สัมผัสกับ Intrinsic Factor (IF) ซึ่งเป็น Glycoprotein ชนิดหนึ่งหลั่งจาก Parietal Cell ของกระเพาะอาหาร และ R – Protein ซึ่งหลั่งจากต่อมน้ำลายและกระเพาะอาหาร ที่ในกระเพาะอาหารวิตามินบีสิบสองเสรีจะจับกับ R – Protein ได้อย่างรวดเร็วกว่า IF เป็น R – Protein –B 12 Complex การที่วิตามินนี้จับกับ R – protein ก็เพื่อป้องกันไม่ให้แบคทีเรียในลำไส้นำวิตามินบีสิบสองนี้ไปใช้ได้ R – Protein –B 12 Complex ดังกล่าวนี้จะผ่านต่อไปยังลำไส้เล็กส่วนต้นแล้ว R – Protein จะถูกแยกออกจากวิตามินบีสิบสองโดยเอนไซม์ Trypsin จากตับอ่อน ในรายที่ตับอ่อนทำหน้าที่บกพร่องอาจทำให้ขาดวิตามินบีสิบสองได้ วิตามินบีสิบสองที่ถูกปล่อยออกมาในครั้งที่สองนี้จะจับกับ IF ที่ตามลงมาจากกระเพาะอาหาร เป็น IF – B 12 Complex ที่มี B 12 จับอยู่กับ IF 2 อณู การที่ B12 ไม่รวมกับ IF ตั้งแต่อยู่ในกระเพาะอาหารนั้น เป็นเพราะวิตามินบีสิบสองมีความสัมพันธ์ต่อ R – Protein มากกว่า IF และอาศัยความเป็นด่างในลำไส้ (พีเอชประมาณ 6.8) IF จะมีความสัมพันธ์กับวิตามินบีสิบสองมากจึงรวมกันเป็น IF – B12 Complex แล้วผ่านต่อไปยังบริเวณ Ileum โดยมี Ca^{++} จับไปด้วยกัน จากนั้นก็จะส่ง IF – B 12 Complex นี้ให้กับ Receptor ของเซลล์ที่ผนัง



ภาพที่ 2 การดูดซึมวิตามินบีสิบสอง
ที่มา (Haenlein, 2004)

วิตามินบีสิบสอง ทำหน้าที่เป็นโคเอ็นไซม์ในร่างกาย ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปแบบคือ Methylcobalamin ในพลาสมา และ Adenosylcobalamin ในเนื้อเยื่อต่าง ๆ ในคนปกติมีวิตามินนี้สะสมไว้ในร่างกายประมาณ 2-5 มิลลิกรัม ส่วนใหญ่เก็บไว้ที่ตับ ถ้าร่างกายได้รับน้อยการเก็บสะสมก็น้อยจะทำให้มีการขับออกน้อยไปด้วย เนื่องจากร่างกายมีความต้องการวิตามินบีสิบสอง นี้น้อย จึงพบว่าปริมาณที่เก็บสะสมไว้ในร่างกายตามปกติก็เพียงพอที่ร่างกายจะใช้ไปได้นานเกินกว่าหนึ่งปี แม้จะไม่ได้รับวิตามินนี้เข้าไปเลยก็ตาม

การขับถ่ายของวิตามินบีสิบสอง ส่วนใหญ่มีการขับถ่ายทางน้ำดีประมาณ 65-75 % และถูกดูดกลับทางไอเลียมส่วนปลายโดย Enterhepatic Circulation ที่จะนำกลับไปใช้ได้ใหม่อีกส่วนที่เหลือรวมทั้งส่วนที่แบคทีเลียในลำไส้สังเคราะห์ขึ้นมาจะถูกขับถ่ายทางอุจจาระ ส่วนน้อยขับทาง

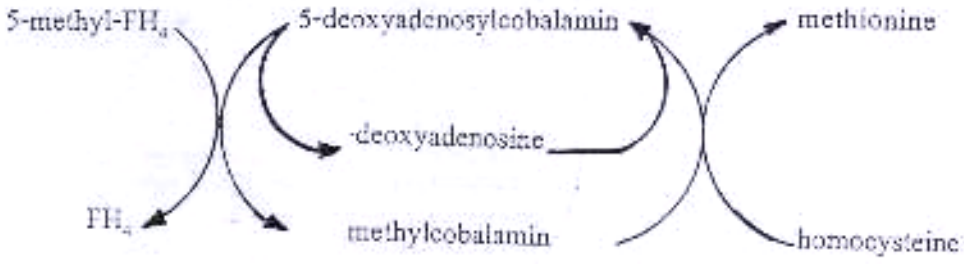
ปัสสาวะ โดยปกติร่างกายจะขับถ่ายวิตามินบีสิบสอง ออกมาทางอุจจาระและปัสสาวะประมาณวันละ 0.1 -0.2 % ของที่เก็บสะสมในร่างกายหรือประมาณ 2 - 5 ไมโครกรัม

3.4 หน้าที่

3.4.1 วิตามินบีสิบสองมีหน้าที่เกี่ยวกับเมตาบอลิซึมในร่างกายในรูปของโคเอ็นไซม์สองชนิดด้วยกัน คือ Adenosylcobalamin และ Methylcobalamin ซึ่งพบว่าในทางจุลินทรีย์มีการใช้โคเอ็นไซม์เพียงสามชนิดเท่านั้นที่เป็น Cobalamin – Dependent Enzymes คือ 5 – Methyltetrahydrofolate – Homocysteine Methyl Transferase, methylmalonyl CoA Mutase และ Leucine Mutase เอ็นไซม์ชนิดแรกใช้ในการสังเคราะห์ Methionine จาก Homocystein และ FH_4 จากกรดโฟลิค ส่วนเอ็นไซม์ชนิดที่สองและสามใช้ในปฏิกิริยาของการเปลี่ยน Methylmalonyl ไปเป็น Succinyl CoA และ L - α - Leucine ไปเป็น 3 – Aminoisocapronate ในการสังเคราะห์และสลายกรดอะมิโนตามลำดับ รายละเอียดของการทำหน้าที่ของโคเอ็นไซม์ Methylcobalamin และ Adenosylcobalamin มีดังต่อไปนี้

1) Methylcobalamin ทำหน้าที่เป็นโคเอ็นไซม์ของเอ็นไซม์ methyl Transferase ในการขนย้ายหมู่ CH_3 ที่ใช้สังเคราะห์ Methionine Choline และ Thymine ตัวอย่างเช่นการสังเคราะห์ Methionine จาก Homocysteine กล่าวคือ เมื่อร่างกายได้รับดฟแลตจากอาหารเข้าไปแล้วจะเกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็น 5- CH_3-FH_4 เก็บไว้ที่ตับและตามกล้ามเนื้อต่าง ๆ จากนั้น CH_3-FH_4 ก็จะส่งหมู่ CH_3 ให้กับ Homocysteine เพื่อสังเคราะห์เป็น methionine และ 5- CH_3-FH_4 เอ็นไซม์ที่ใช้ในปฏิกริยานี้ต้องอาศัยโคเอ็นไซม์ 5 –Deoxy –adnosylcobalamin เป็นตัวรับ CH_3 จาก CH_3–FH_4

$$CH_3 - FH_4 + \text{Homocysteine} \rightarrow FH_4 + \text{Methionine}$$



ภาพที่ 3 การสังเคราะห์ Methionine โดยอาศัยโฟแลตและวิตามินบีสิบสอง
ที่มา (Marks DB, Marks AD, Smith CM. 1996)

3.5 การขาด

การขาดวิตามินบีสิบสองเป็นสาเหตุทำให้การแบ่งเซลล์ช้าลงหรือเสียไปโดยเฉพาะอย่างยิ่งในเซลล์ที่มี turnover rate สูง ๆ เช่นเม็ดเลือดและเซลล์เอปิธีเลียมของทางเดินอาหารสาเหตุดังกล่าวอาจเนื่องมาจากร่างกายมี folate coenzyme, N^5, N^{10} methylene FH_4 ไม่เพียงพอสำหรับที่จะนำไปใช้สังเคราะห์ ดี เอ็น เอ มีผลทำให้เซลล์มีความผิดปกติเกิดขึ้น คือ มีขนาดใหญ่กว่าปกติ มีส่วนของ cytoplasm เพิ่มมากขึ้น เรียกว่า megaloblastic transformation ที่เห็นได้ชัดเจนในคนที่เป็นโรคโลหิตจาง จะพบว่ามีขนาดของเม็ดเลือดแดงโตขึ้น เรียกว่า macrocytic หรือ megaloblastic anemia

สาเหตุของการขาดจากวิตามินบีสิบสอง อาจเกิดได้จากสาเหตุหนึ่งหรือหลาย ๆ สาเหตุรวมกัน ได้ดังนี้ คือ

1) ได้รับจากอาหารไม่เพียงพอ ได้แก่ พวกที่ไม่กินเนื้อสัตว์ ในโรคพิษสุราเรื้อรัง ฯลฯ อย่างก็ตาม การได้รับวิตามินบีสิบสองจากอาหารไม่เพียงพอเกิดขึ้นน้อยมาก แต่อาจพบได้ในพวกมังสาวิรัติแบบเคร่ง (Vegan) ที่ไม่กินเนื้อสัตว์เลย

2) การดูดซึมไม่ดี เช่น ในรายที่มี malabsorption syndrome ขาดน้ำย่อยในตับอ่อนทำให้ R – protein ไม่ถูกสลายออกไป ในภาวะที่มีการทำลายเนื้อเยื่อบุไอเลียม ผู้ป่วยที่ถูกตัดไอเลียมออกบางส่วน หรือทำการเบี่ยง (by pass) ไม่ให้อาหารผ่านไอเลียม หรือได้รับยาที่ไปขัดขวางการดูดซึม เป็นต้น

3) ขาด instrinsic factor (IF) เช่น ผู้ป่วยที่ต้องตัดกระเพาะอาหารส่วนใหญ่ออกไปเพื่อรักษาโรคแผลเปื่อยเป็นติค หรือเยื่อบุกระเพาะอาหารฝ่อลีบ มี IF – antibodies หรือ parietal cell antibodies ทำให้ IF ทำหน้าที่ไม่ได้หรือหลั่งออกมาไม่ได้

4) มีพยาธิลำไส้ แย่งวิตามินบีสิบสองในลำไส้ไปใช้

ผู้ที่ขาดวิตามินบีสิบสองจะมีอาการเหมือนโรคโลหิตจางทั่ว ๆ ไป แต่มีอาการรุนแรงกว่าเรียกว่า โรคโลหิตจางชนิดร้ายแรง (pernicious anemia) ซึ่งมีลักษณะเป็นแบบ megaloblastic เช่นเดียวกับการขาดกรดโฟลิค และอาการอื่น ๆ ก็คล้ายคลึงกับการขาดกรดโฟลิค คือ ผิวหนังแห้ง ซีดหายใจเหนื่อยหอบ ท้องเดิน การดูดซึมอาหารเสียไป ลิ้นเลี่ยนอักเสบ และมีอาการประสาท ร่วมด้วย เช่น ชาตามปลายมือปลายเท้า กินอาหารไม่รู้รส ถ้าเป็นมากจะมีอาการเดินลำบากและไม่สามารถควบคุมการถ่ายปัสสาวะและอุจจาระได้ ความผิดปกติทางประสาทเกิดจากมี subacute combined degeneration ของไขสันหลัง คือ มีการเสื่อมของ myelin ของประสาทรอบนอก (peripheral nerve, posterior) และ lateral column) ของไขสันหลังมีอาการทางสมองเช่น ความจำเสื่อมและซึมเศร้าอีกด้วย สาเหตุของความผิดปกติดังกล่าวนี้ เข้าใจว่าเกิดจากการที่มี methylmalonic acid เพิ่มขึ้น และเนื่องจากการยับยั้งการสังเคราะห์กรดไขมันที่สมองและเนื้อเยื่อประสาท จึงทำให้เซลล์ประสาทมีโครงสร้างและการทำหน้าที่ผิดปกติไป

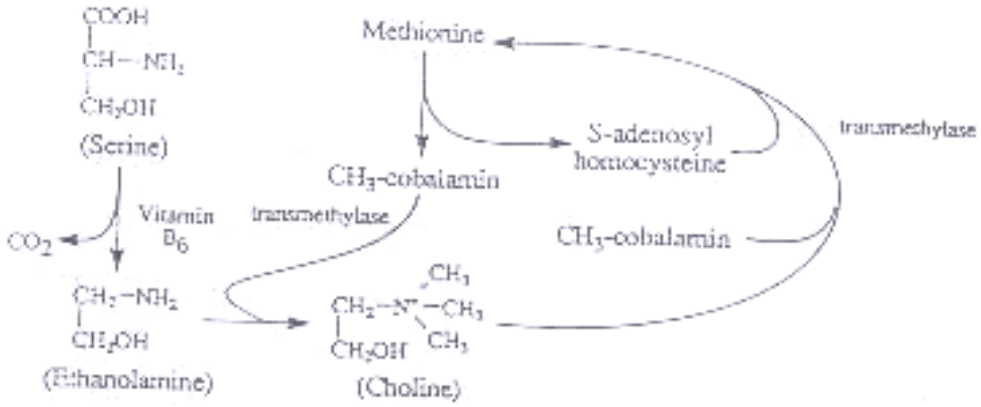
ความผิดปกติของระบบประสาทนี้ยังพบว่า homocysteine ยังเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่เข้ามาเกี่ยวข้องกับการที่ร่างกายขาดวิตามินบีสิบสองด้วย กล่าวคือ CH_3-FH_4 จะขนส่ง $-CH_3$ ให้กับ Homocysteine โดยผ่านวิตามินบีสิบสอง เพื่อนำไปสังเคราะห์เป็น methionine เมื่อร่างกายขาดวิตามินบีสิบสองก็จะเกิดการคั่งของ homocysteine ซึ่งเป็นสารที่เป็นพิษต่อระบบประสาท (neurotoxin) อย่างมาก จึงเท่ากับว่าการขาดวิตามินบีสิบสองแล้วทำให้เกิดพยาธิสภาพกับระบบประสาท นอกจากนี้ยังพบว่าการขาดวิตามินบีสิบสองยังเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ acetylcholine ซึ่งเป็น neurotransmitter ชนิดหนึ่งในระบบการทำงานของระบบประสาท parasympathetic ที่สังเคราะห์ได้จาก choline กับ acetyl CoA โดยใช้เอ็นไซม์ choline acetylase

$$\text{Choline} + \text{acetyl CoA} \xrightarrow{\text{choline acetylase}} \text{acetylcholine} + \text{CoA}$$

ถ้าร่างกายขาดวิตามินบีสิบสอง ทำให้การสังเคราะห์ methionine ลดลงก็จะส่งผลกระทบต่อการสังเคราะห์โคลีนด้วย จะเห็นได้ว่าการสังเคราะห์โคลีนในร่างกายจะเป็นไปแบบ denovo

synthesis กล่าวคือ เริ่มต้นด้วยกรดะมิโน serine ที่ใช้ปฏิกิริยา decarboxylation ดึงเอา CO_2 ออกไปแล้วเปลี่ยนไปเป็น ethanolamine โดยใช้วิตามินบีหก จากนั้นจะรับกลุ่ม CH_3 จาก methionine แล้วเปลี่ยนเป็นโคลีน ดังนั้นในการสังเคราะห์โคลีนจะต้องอาศัยทั้งวิตามินบีหก บีสิบสอง กรดโฟลิคและ homocysteine

โรคโลหิตจางชนิดร้ายจากการขาดวิตามินบีสิบสองนี้ถ้าได้รับการวินิจฉัยที่ผิดพลาดและให้กรดโฟลิคเพื่อทำการรักษา จะทำให้อาการทางเลือดดีขึ้น แต่ไม่สามารถรักษาอาการทางประสาทได้ อาการจะเป็นมากขึ้นถึงทำให้พิการได้



ภาพที่ 4 การสังเคราะห์โคลีน
ที่มา (Haenlein, 2004)

นอกจากนี้ยังมีโรคกรรมพันธุ์ที่ทำให้เซลล์ขาดหรือการใช้วิตามินบีสิบสองไม่ได้อีกดังนี้

1. Heredity transcobalamin II deficiency เป็นโรคกรรมพันธุ์ที่พบได้น้อย เกิดจากความผิดปกติที่มีการขาด TC –II เนื่องจากร่างกายสังเคราะห์ไม่ได้ทำให้ระดับวิตามินบีสิบสองในเลือดลดลงและเกิดโรคเลือดจางชนิดร้ายแรงได้ ในการรักษา ถ้าฉีดวิตามินชนิดนี้ให้ได้ขนาดสูง ๆ ก็จะได้ผลดี

2. Inherited defects of methylmalonyl CoA metabolism เป็นโรคพันธุกรรมที่มีความบกพร่องในการเปลี่ยน D – methylmalonyl CoA ไปเป็น L – methylmalonyl CoA ซึ่งอาจจะเกิดจากความผิดปกติของ apoenzyme methylmalonyl CoA mutase หรือ transferase ที่ทำหน้าที่สังเคราะห์ 5 – deoxyadenosylcobalamin จากโคบอลามิน ผู้ป่วยโรคนี้มักจะเริ่มมีอาการภายใน

อายุหนึ่งขวบ อาการที่สำคัญ คือมี acidosis และขับถ่าย methylmalonate ออกมาทางปัสสาวะมากกว่าปกติ คือ ประมาณวันละหนึ่งกรัมหรือมากกว่านั้น

4. โพแทสเซียม (Potassium)

ร่างกายมนุษย์มีโพแทสเซียมประมาณ 250 กรัม ส่วนใหญ่อยู่ในรูปของเหลวภายในเซลล์ โพแทสเซียมที่กินเข้าไปจะดูดซึมในลำไส้เล็ก และไตจะทำหน้าที่ขับถ่ายออกมากับน้ำปัสสาวะ

4.1 หน้าที่

1) เป็นส่วนประกอบสำคัญของของเหลวในเซลล์

2) ควบคุมดุลของน้ำและแรงดันออสโมซีส

3) ควบคุมความเป็นกรดด่างของร่างกาย

4) เกี่ยวข้องกับการทำงานของระบบประสาทและกล้ามเนื้อ

5) ช่วยกระตุ้นการทำงานของเอ็นไซม์หลายชนิด เช่น เอนไซม์ที่เกี่ยวกับกรดไพรูวิกและไมโอซิน (Myoin) ในกล้ามเนื้อ

4.2 ปริมาณที่ควรรับประทาน คนเราต้องการโพแทสเซียมอย่างน้อยที่สุดวันละ 0.8 – 1.3 กรัม และแนะนำให้รับประทานโพแทสเซียมวันละ 2 – 4 กรัม อาหารปกติมีโพแทสเซียม 0.8 – 1.5 กรัม ต่อ 1,000 แคลอรี

4.3 ผลของการกินน้อยเกินไป ไม่มีปัญหาการขาดโพแทสเซียมในคนปกติ สัตว์ทดลองที่ขาดโพแทสเซียมจะหยุดเติบโต ไตและหัวใจบวมโต ในเด็กที่เป็นโรคท้องเดินเป็นประจำหรือผู้ใหญ่ที่เบื่ออาหารหรืออดอาหารเป็นเวลานาน อาจมีอาการขาดธาตุนี้ได้คือกล้ามเนื้อเปลี้ยหรือเป็นอัมพาต ลำไส้หยุดทำงาน หัวใจและกล้ามเนื้อทางเดินหายใจผิดปกติ ปริมาณโพแทสเซียมในเลือดต่ำ

4.4 ผลของการกินมากเกินไป ขณะนี้ยังไม่ปรากฏโทษของการกินโพแทสเซียมมากเกินไป

4.5 อาหารที่มีมาก ได้แก่ ผักและผลไม้แทบทุกชนิด อาหารที่มาจากพืชมีโพแทสเซียมมากกว่าอาหารที่มาจากสัตว์

4.6 การออกฤทธิ์ โพแทสเซียมมีความจำเป็นอย่างยิ่งต่อการทำงานที่ลื่นไหลของกล้ามเนื้อและเส้นประสาทในร่างกาย ยังช่วยให้มั่นใจได้ว่าระดับของเหลวในร่างกายอยู่ในภาวะสมดุล เช่นเดียวกับความสมดุลของกรดและด่างที่ถูกรักษาไว้ โพแทสเซียมจำนวนมากถูกสะสมอยู่ภายในเซลล์ในร่างกายในปริมาณที่สมดุลกับเกลือแร่ซื่อโซเดียมที่อยู่ภายนอกเซลล์ บทบาทที่สำคัญอีกประการคือช่วยป้องกันไม่ให้แคลเซียมถูกขับออกทางปัสสาวะ โพแทสเซียมส่วนใหญ่มีในผักผลไม้

หลายชนิด ร่างกายสามารถดูดซึมนำไปใช้ประโยชน์ได้เป็นอย่างดี แต่ถ้าหากกินโซเดียมหรือเกลือปรุงอาหารมากเกินไป อาหารสำเร็จรูปและแอลกอฮอล์อาจมีผลต่อระดับโพแทสเซียม ยาขับปัสสาวะ ซึ่งใช้ลดการคั่งน้ำและยาคอร์ทิโคสเทียรอยด์ที่ใช้ลดการอักเสบ ทั้งหมดเหล่านี้สามารถรบกวนสมดุลของโพแทสเซียมในร่างกายได้ด้วย

4.7 ประโยชน์ในการรักษาโรค

1) หัวใจล้มเหลว ผู้ป่วยที่เกิดภาวะหัวใจล้มเหลวมักมีระดับโพแทสเซียมในกระแสเลือดต่ำ (หัวใจล้มเหลวคือการที่หัวใจไม่สามารถสูบฉีดเลือดไปสู่ร่างกายได้เพียงพอ) ภาวะหัวใจเต้นผิดจังหวะ ที่ตามมาภายหลังอาจจะลดลงได้หากกินโพแทสเซียมมากขึ้น

2) ก้อนนิ่วในไต บางครั้งร่างกายจะขับแคลเซียมออกมาทางปัสสาวะมาก ซึ่งหากไม่แก้ไขทำให้เสี่ยงต่อการเกิดก้อนนิ่วในไต ภาวะเช่นนี้จะยับยั้งได้โดยการกินอาหารที่มีโพแทสเซียมสูง

3) ลดความเสี่ยงจากโรคหลอดเลือดสมอง การเพิ่มอาหารโพแทสเซียม มีส่วนช่วยลดความเสี่ยงจากการตายด้วยโรคหลอดเลือดมองได้

4) ลดความดันโลหิตสูง ความดันโลหิตสูงมีส่วนเกี่ยวพันกับการกินอาหารโพแทสเซียมต่ำ ผลิตภัณฑ์เสริมโพแทสเซียมทำหน้าที่ลดความดันได้ทั้งในกรณีที่ความดันโลหิตสูงเพราะการใช้ยาขับปัสสาวะ และความดันโลหิตสูงเนื่องมาจากสาเหตุอื่น ๆ

5) กล้ามเนื้อเป็นตะคริวจากโพแทสเซียมต่ำ ผลิตภัณฑ์เสริมโพแทสเซียมคลอไรด์อาจ มีประโยชน์สำหรับคนซึ่งมักมีอาการกล้ามเนื้อเกร็งเช่นนี้อาจเกิดเพราะกินอาหารที่มีโพแทสเซียมต่ำหรือเป็นผลมาจากการสูญเสียโพแทสเซียมจากร่างกายเพิ่มขึ้น

5. **เครื่องวัดการดูดกลืนแสงโดยอะตอมอะตอม** (atomic absorption spectrophotometer, AAS)

การจำแนก (identify) ธาตุชนิดต่างๆ โดยอาศัยการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นจำเพาะของอะตอมของธาตุแต่ละชนิด ได้ถูกนำมาใช้ตั้งแต่ปี ค.ศ.1955 แต่เริ่มใช้กันอย่างแพร่หลายในช่วงปี ค.ศ.1963-1965 เนื่องจากสามารถสร้างเครื่องมือวัดการดูดกลืนแสงโดยอะตอม(atomic absorption spectrophotometer, AAS) ที่มีความถูกต้องและมีความแม่นยำสูง อีกทั้งวิเคราะห์ธาตุที่มีปริมาณน้อยๆได้ดี ในปัจจุบันเครื่องมือดังกล่าวได้ถูกพัฒนาจนสามารถวิเคราะห์ปริมาณธาตุได้ไม่น้อยกว่า 61 ชนิด ในสารตัวอย่างเกือบทุกชนิด ตัวอย่างธาตุเหล่านี้ได้แก่ Cu, Zn, Cd, Sb, Bi, Fe, Co, Mn, Ni, Ag, Au, Pb, Ca, Sn, As, Ge, Se, As, Te, Ru, Os, Ir, Al, Si, Be, Sr, Ba ฯลฯ แต่เนื่องจากเครื่องมือดังกล่าวมีราคาสูงมาก การใช้งานจึงยังไม่แพร่หลายในห้องปฏิบัติการทั่วไป (routine laboratory) เหมือนเครื่องมือวิทยาศาสตร์ชนิดอื่นๆ

5.1 หลักการวิเคราะห์

จากรูปที่ 2-5 แสดงให้เห็นว่าเมื่อสารตัวอย่างที่เป็นของเหลวถูกฉีดเข้าสู่เปลวไฟ ความร้อนจะทำให้ละอองของแก๊สผสมของเหลว (gas- liquid aerosol) กลายเป็นละอองของแก๊สผสมของ (solid- gas aerosol) แก๊สและโมเลกุล ของสารตัวอย่าง (MA) ตามลำดับ เมื่อโมเลกุลได้รับความร้อนที่เหมาะสม โมเลกุลจะแตกตัวเป็นอะตอมอิสระ M^0 และ A^0 ซึ่งในขั้นตอนนี้ ถ้าปล่อยพลังงานแสงจากแหล่งภายนอกที่มีความยาวคลื่นจำเพาะ สำหรับอะตอมนั้นๆ ผ่านกลุ่มอะตอมอิสระ พลังงานแสงนี้จะถูกดูดกลืนเป็นสัดส่วนโดยตรงกับจำนวนอะตอมอิสระ ดังสมการ

$$A = \log I_0 / I_t = knt$$

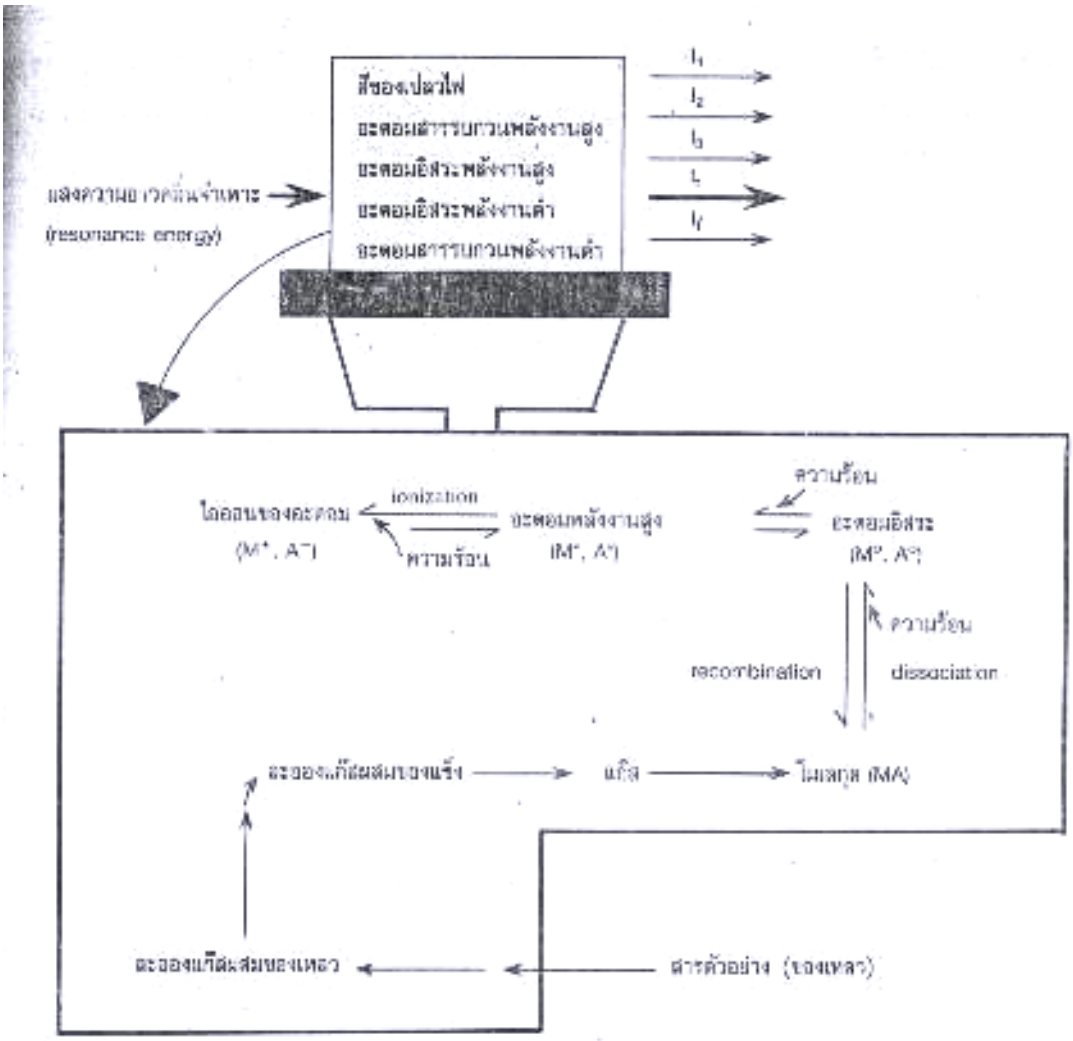
โดย A = ค่าการดูดกลืนแสง (absorbance)

k = สัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสง (absorption coefficient) ของอะตอมที่

ความยาวคลื่นที่กำหนด

n = จำนวนอะตอมอิสระที่มีพลังงานต่ำ/มล.

t = ความกว้างของเปลวไฟที่แสงผ่าน



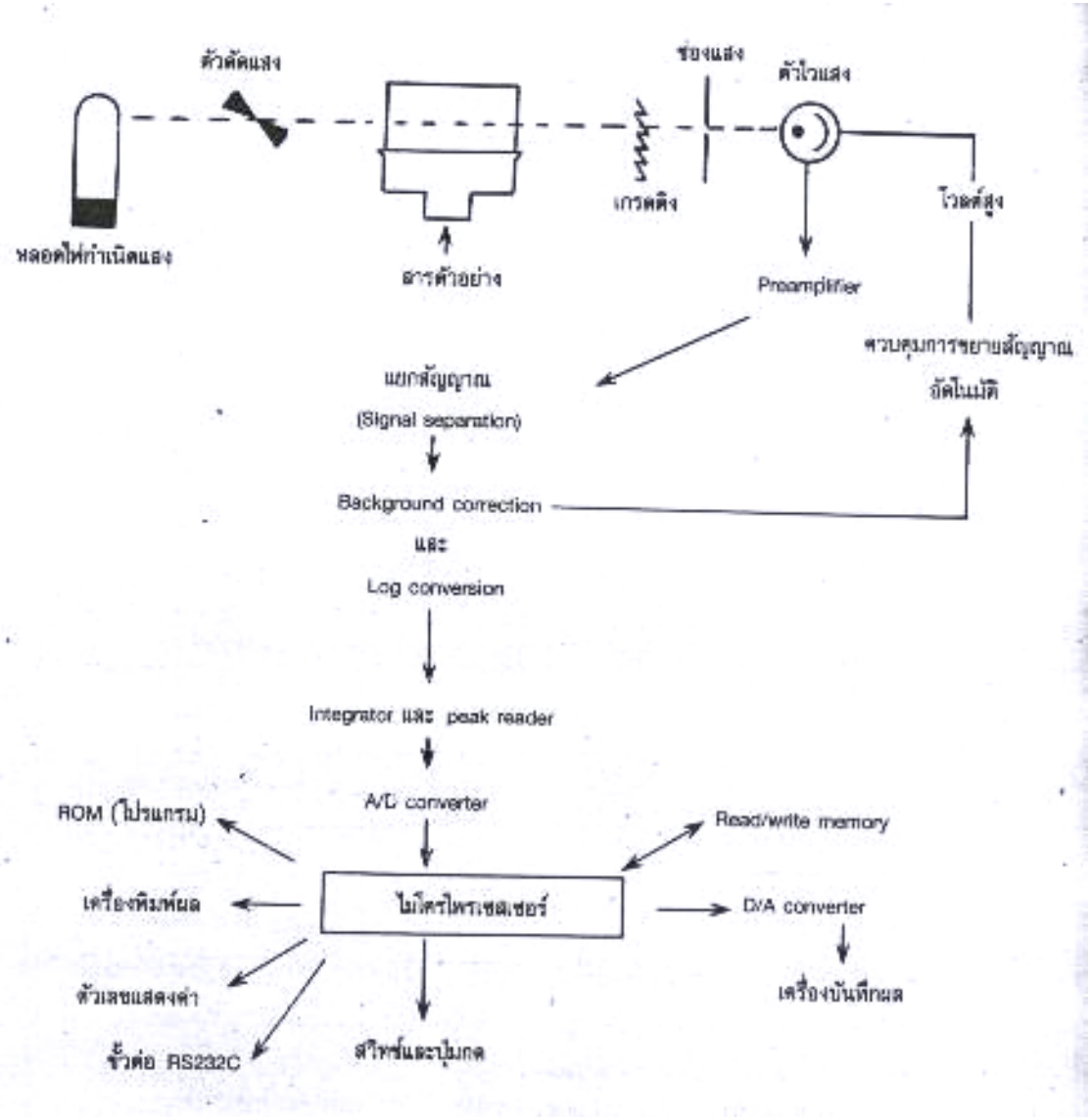
ภาพที่ 5 การดูดกลืนแสงและการเปล่งแสงของอะตอมในเปลวไฟ

ดังนั้นเมื่อวัดความเข้มของแสงที่เหลือจากการดูดกลืนโดยอะตอม จึงสามารถหาความเข้มข้นของธาตุได้โดยวิธีการของเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

5.2 องค์ประกอบและคุณสมบัติ

เครื่องวัดการดูดกลืนแสงโดยอะตอมมีองค์ประกอบหลักคล้ายกับเครื่องวัดการดูดกลืนแสง กล่าวคือ มีหลอดไฟกำเนิดแสง (light source) มีเปลวไฟ ซึ่งทำหน้าที่เหมือนคิวเวทท์ตัวแยกแสง (monochromator) ภาคขยายสัญญาณ และภาคแสดงผล แต่เพื่อให้การวัดปริมาณธาตุมีความถูกต้องสูง จึงจำเป็นต้องมีระบบไมโครโพเซสเซอร์ ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของระบบการ

วิเคราะห์ ตัวอย่างเช่น ระบบควบคุมอัตราการขยายสัญญาณอัตโนมัติ (automatic gain control) ระบบแก้การรบกวนจากพื้นหลัง (background correction) และโปรแกรมคำนวณต่างๆ ฯลฯ



ภาพที่ 6 แผนผังแสดงองค์ประกอบของเครื่องวัดการดูดกลืนแสงโดยอะตอม

1) หลอดไฟกำเนิดแสง เพื่อให้การวัดมี (sensitivity) มากที่สุด หลอดไฟกำเนิดแสงที่ดีควรปล่อยคลื่นแสงจำเพาะที่มีความเข้มและแคบมากออกมาอย่างสม่ำเสมอ หลอดไฟกำเนิดแสงที่มีคุณสมบัติดังกล่าวและนิยมใช้ทั่วๆไป

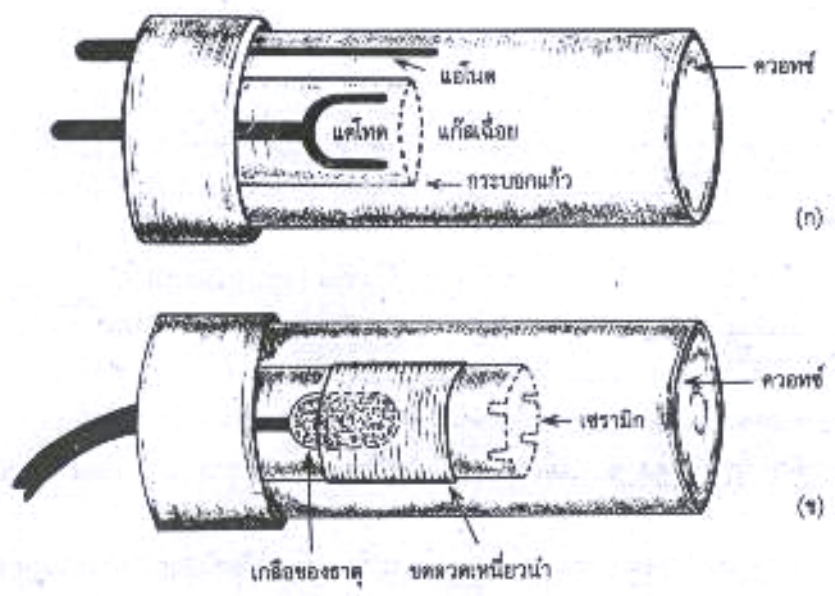
หลอดฮอลโลว์แคโทด (hollow cathode lamp) ประกอบด้วยขั้วบวก (cathode) ที่ทำจากลวดทังสเตน และขั้วลบ (anode) ซึ่งประกอบด้วยธาตุเดี่ยว หรือธาตุผสม (เมื่อต้องการใช้หลอด 1 อัน สำหรับวิเคราะห์หลายๆ ธาตุ) ชนิดเดียวกับธาตุที่ต้องการวิเคราะห์ ขั้วทั้งสองบรรจุอยู่ในกระบอกแก้วปิดที่มีแก๊สเฉื่อย ซึ่งอาจเป็นแก๊สนีออน แก๊สอาร์กอน หรือแก๊สฮีเลียม มีความดันประมาณ 1-5 ทอร์ เมื่อขั้วทั้งสองได้รับความต่างศักย์ประมาณ 200-400 โวลต์ แก๊สเฉื่อยจะแตกตัวเป็นไอออน (ioninize) และเกิดกระแสอิเล็กตรอนระหว่างขั้วทั้งสองประมาณ 5-10 มิลลิแอมแปร์ ความต่างศักย์ที่สูงจะทำให้อะตอมของแก๊สที่มีประจุบวก (gaseous cation) วิ่งชนแคโทด ทำให้เกิดกลุ่มอะตอม (atomic cloud) ในสถานะกระตุ้น (excited state) เมื่อพลังงานลดลงจะปล่อยคลื่นแสงที่มีความจำเพาะสำหรับแต่ละธาตุออกมา อะตอมส่วนใหญ่จะกลับไปเกาะที่แคโทด และส่วนน้อยเกาะที่ผิวแก้ว อายุการใช้งานของหลอดอยู่ในช่วง 100-300 ชั่วโมง หลอดที่ขั้วลบทำด้วยธาตุที่ระเหยง่าย ตัวอย่างเช่น Na, As, Sb, Bi, Mg, Pb มีอายุการใช้งานสั้นกว่าธาตุที่ระเหยยาก การเพิ่มความต่างศักย์ (หรือกระแสไฟฟ้า) ระหว่างขั้วหลอดจะทำให้แสงที่ปล่อยออกมามีความเข้มขึ้น แต่ถ้าเพิ่มมากเกินไป จะเกิดอะตอมอิสระพลังงานต่ำมากขึ้น ทำให้ดูดกลืนแสงที่ปล่อยออกมาจากอะตอมพลังงานสูงไว้เอง (Self Absorption) เป็นผลให้ความเข้มข้นของแสงจากหลอดไฟกำเนิดแสงลดลง หลอดฮอลโลว์แคโทดอาจแบ่งเป็น 2 ชนิดคือ

หลอดชนิดธาตุเดี่ยว (single element lamp) เป็นหลอดที่ขั้วลบประกอบด้วยธาตุที่เหมือนกับธาตุที่ต้องการวิเคราะห์เพียงธาตุเดียว

หลอดชนิดหลายธาตุ (multielement lamp) เป็นหลอดชนิดที่สามารถวิเคราะห์ธาตุได้มากกว่า 1 ชนิด (Ca/Mg, Na/K, Cu/Pb/Zn, Co/Cr/Cu/Fe/Mn) ซึ่งมีข้อดีที่ราคาของหลอดถูกกว่าการซื้อหลอดชนิดธาตุเดี่ยวหลายๆหลอด แต่มีข้อเสียตรงที่อายุการใช้งานจริงของแต่ละธาตุที่เป็นองค์ประกอบของขั้วลบจะน้อยกว่าหลอดชนิดธาตุเดี่ยว เพราะมีการเสื่อมสลายตลอดเวลาที่ใช้หลอดวิเคราะห์ธาตุอื่นๆ ใช้เวลาอุ่นหลอด (warm-up time) นานกว่าและให้แสงที่เข้มน้อยกว่าหลอดชนิดธาตุเดี่ยว และยังอาจมีการรบกวนทางแสงจากธาตุอื่นๆ ที่เป็นองค์ประกอบ

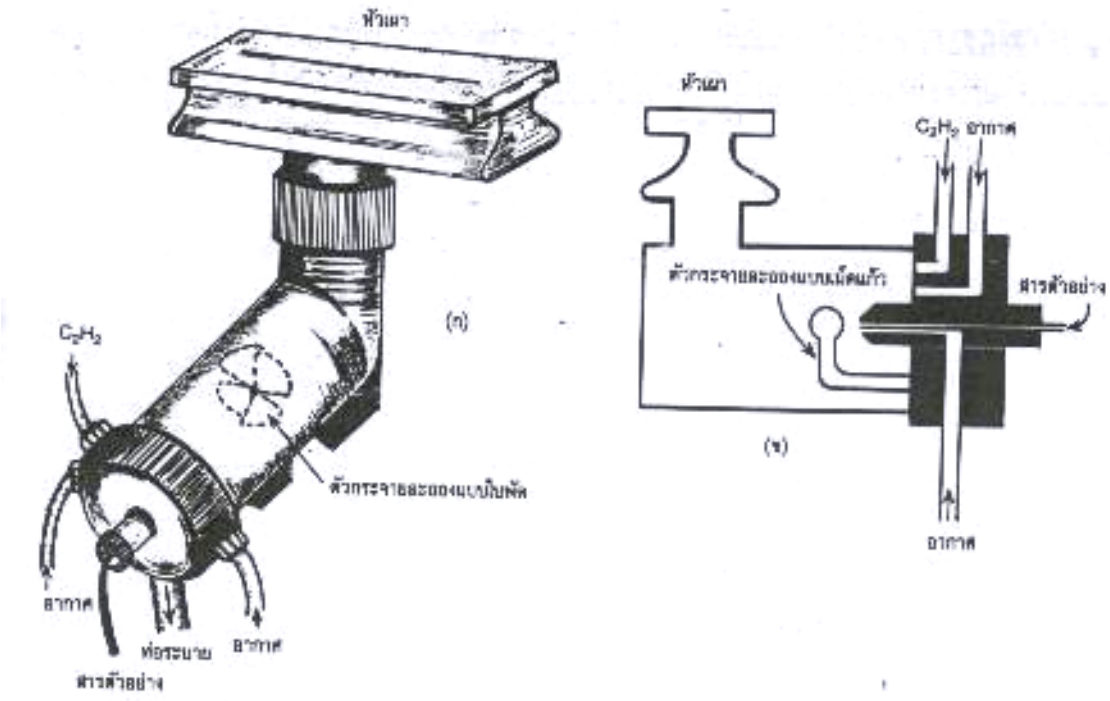
หลอดฮอลโลว์แคโทด อาจติดตั้งบนตัวยึดพร้อมๆกันได้หลายอัน (multiple lamp holder) ซึ่งจะช่วยลดเวลาในการเปลี่ยนและปรับตำแหน่งหลอดฮอลโลว์แคโทด และยังสามารถอุ่นหลอดไฟกำเนิดแสงได้พร้อมๆกันหลายๆ อัน ทำให้สามารถวิเคราะห์ธาตุหลายๆ ชนิดได้อย่างต่อเนื่อง

2) หลอดอิเล็กโทรดเลสดิสชาร์ก (Electrodeless discharge lamp, EDL) ภายในหลอดแก้วบรรจุไว้ด้วยเกลือของธาตุที่ต้องการวิเคราะห์ และขดลวดเหนี่ยวนำ (RF coil) ซึ่งพันอยู่บนแท่งเซรามิก เมื่อขดลวดได้รับกระแสไฟฟ้าจะเหนี่ยวนำให้เกลือธาตุกลายเป็นไอและแตกตัวเป็นไอออน ขณะที่พลังงานลดลงจะปล่อยแสงที่สว่างและมีความยาวคลื่นจำเพาะสำหรับแต่ละธาตุออกมา หลังจากนั้นความต่างศักย์จะลดลงอยู่ในระดับที่พอเพียงต่อการรักษาความคงที่ของการแตกตัวของไอของธาตุและความเข้มแสง ความต่างศักย์ที่สูงขึ้นจะทำให้แสงเข้มขึ้น แต่ความกว้างของความยาวคลื่นแสงที่ปล่อยออกมาจะกว้างขึ้น เป็นผลให้ความไวในการวิเคราะห์ลดลง หลอดชนิดนี้มีข้อดีกว่าหลอดฮอล์โลว์แคโทดอย่างน้อย 4 ประการคือ ประการแรก มีอายุการใช้งานนานกว่า โดยมีอายุการใช้งานนานถึง 1,000 ชั่วโมง ประการที่สอง ปล่อยแสงที่มีความเข้มมากกว่า (5 เท่าสำหรับหลอดชนิด Te และ 100 เท่า สำหรับหลอดชนิด Ge) ประการที่สาม มีความไวดีกว่า (As, Hg) ประการสุดท้าย มีขีดจำกัดการวิเคราะห์ช่วงต่ำ (Lower Detection Limit) ดีกว่าสำหรับหลอดชนิด As , Bi, Cd, Ge, Hg, Pb, Sn, Te, Tl และZn ถึงแม้ว่ามีคุณสมบัติที่เด่นกว่าก็ตาม แต่ในทางการค้าสามารถผลิตหลอดชนิดนี้สำหรับวิเคราะห์ธาตุได้เพียงสิบกว่าชนิดเท่านั้น ตัวอย่างเช่น As, Bi, Cd, Ge, Cs, Hg, P, Pb, Rb, Sb, Si, Sn, Te, Tl และ Zn เป็นต้น

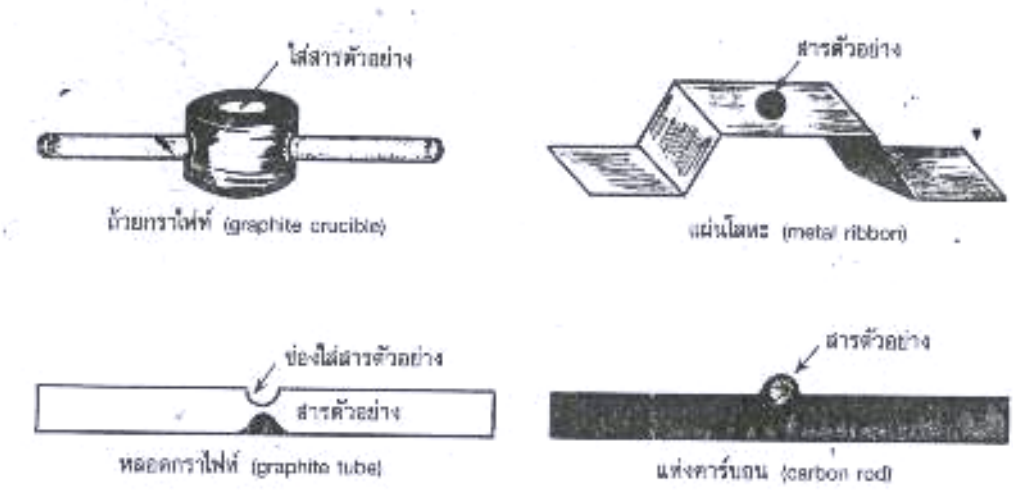


ภาพที่ 7 โครงสร้างของหลอดฮอลโลว์แคโทด (ก) และหลอดอิเล็กโทรดเลสดิสชาร์ก (ข)

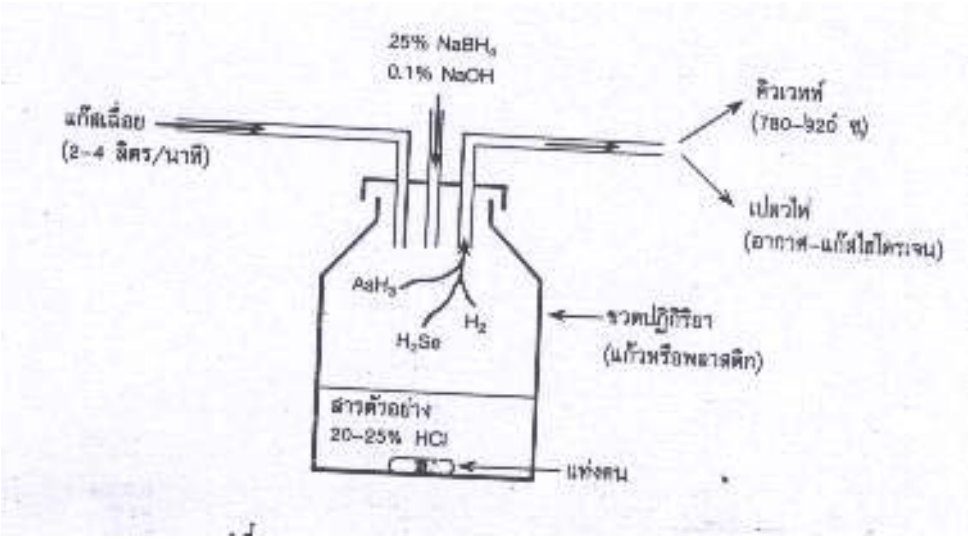
3) หลอดไฟกำเนิดแสงอ้างอิง (Reference light source) นิยมใช้หลอดไฮโดรเจน (Hydrogen lamp) ซึ่งปล่อยแสงช่วงความยาวคลื่น 190-280 นาโนเมตรหรือหลอดดิวทิเรียม (Deuterium lamp) ที่ปล่อยแสงช่วงความยาวคลื่น 190 – 325 นาโนเมตร สำหรับเป็นลำแสงอ้างอิงสำหรับการวิเคราะห์ในช่วงความยาวคลื่นแสงอุตราไวโอเลต และใช้หลอดทังสเตนฮาโลเจนสำหรับการวิเคราะห์ในช่วงคลื่นแสงที่ตามองเห็น (visible light) สัญญาณของลำแสงที่ผ่านอะตอมอิสระออกมาจะถูกเปรียบเทียบกับสัญญาณอ้างอิงอยู่ตลอดเวลาที่วัด สารรบกวนที่ดูดกลืนแสง สภาพของเปลวไฟและควันไฟ (ในกรณีที่ใช้ไฟฟ้าทำให้เกิดอะตอม)ที่ทำให้เกิดการดูดกลืนแสงที่ไม่จำเพาะ (non specific absorption) และไม่คงที่ทำให้ความเข้มของลำแสงอ้างอิงตกกระทบตัวไวแสงเปลี่ยนแปลงไปพร้อมๆ กับการเปลี่ยนแปลงของลำแสงที่ผ่านอะตอมอิสระ (I_t) ดังนั้นจึงทำให้การวิเคราะห์มีความถูกต้องและความแม่นยำเพิ่มขึ้น เมื่อใช้หลอดไฟกำเนิดแสงอ้างอิง การดูดกลืนแสงที่ไม่จำเพาะเจาะจงนิยมเรียกรวม ๆ ว่า “ การดูดกลืนโดยพื้นหลัง” (Background absorption) ซึ่งถ้ามีค่าเกิน 1 A การวัดความเข้มของลำแสงอ้างอิงจะผิดพลาด เป็นผลให้การแก้ความผิดพลาดโดยการใช้หลอดไฟกำเนิดแสงอ้างอิงมีประสิทธิภาพ



ภาพที่ 8 รูปร่างของตัวเผาแบบผสมแก๊สเชื้อเพลิงกับอากาศก่อนเผาไหม้ โดยใช้ตัวกระจายละออง แบบใบพัด (ก) หรือแบบเม็ดแก้ว (ข)



ภาพที่ 9 รูปร่างของตัวทำความร้อนแบบต่าง ๆ



ภาพที่ 10 การเกิดสารประกอบไฮโดรด์ในขวดปฏิกิริยา

4) ตัวสร้างอะตอม (atomizer) เป็นอุปกรณ์ที่ทำให้ธาตุแตกตัวเป็นอะตอมอิสระ (free atom) โดยใช้พลังงานความร้อนจากเปลวไฟหรือกระแสไฟฟ้า

5) ช่องแสง (slit) ใช้สำหรับปรับความกว้างของลำแสง (Band width) ที่ตกกระทบตัวไวแสงการวิเคราะห์โดยทั่วไปนิยมใช้ช่องแสงกว้าง (slit width) 0.7 นาโมเมตร การใช้ช่องแสงที่แคบลงจะช่วยลดการรบกวนจากความยาวคลื่นแสงข้างเคียงอื่น ๆ ได้ แต่ความเข้มของแสงน้อยเป็นผลให้มีการตอบสนองของตัวไวแสงไม่ดีเท่าที่ควรแต่ถ้าใช้ช่องแสงกว้างมากเกินการรบกวนจากคลื่นแสงข้างเคียงจะมีมากขึ้น และขีดจำกัดการวิเคราะห์ช่วงต่ำลดลง

6) ตัวแยกแสง (monochromator) นิยมใช้เกรตติงแยกแสงหลายความยาวคลื่นที่ผ่านออกมาจากเปลวไฟให้กลายเป็นแสงสีเดียว (monochromatic light) ที่มีความยาวคลื่นที่ต้องการ

7) ตัวไวแสง (photo sensor) เป็นหลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ทิวบ์ เนื่องจากมีอัตราการขยายตัวสูง สามารถวัดความเข้มของแสงปริมาณน้อย ๆ ได้ดี

8) ภาคขยายสัญญาณ (amplifier circuit) อาจประกอบด้วยวงจรขยายแบบล็อก (log amplifier) เพื่อเปลี่ยนสัญญาณจาก %T ให้เป็น A และวงจรขยายความแตกต่างของสัญญาณ (differential amplifier) และวงจรขยายแบบเส้นตรง (linear amplifier)

9) ภาคแสงผล (read out device) อาจประกอบด้วยตัวเลขแสดงผล (Digital display) เครื่องพิมพ์ผล (Printer) จอภาพ (Monitor) และเครื่องบันทึกผล (Recoder)

10) แผงควบคุมอาจประกอบด้วยปุ่มและสวิทช์ควบคุมต่าง ๆ ดังนี้

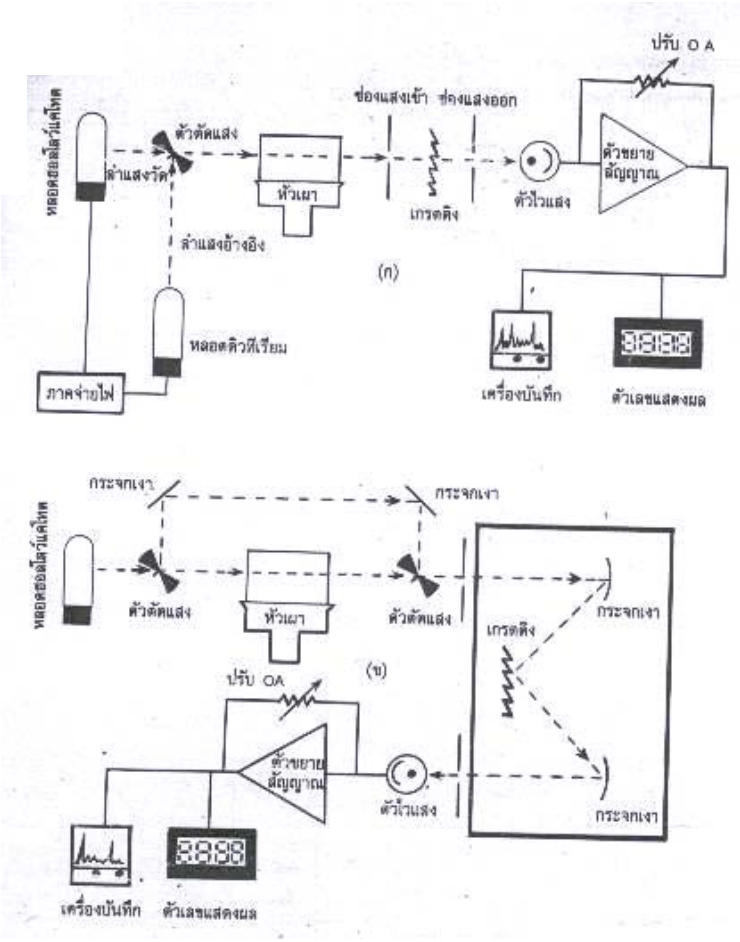
10.1) สวิทช์ปิดเปิดกระแสไฟฟ้า (ON/OFF switch)ใช้สำหรับปิดเปิดกระแสไฟฟ้าเข้าสู่เครื่องมือเพื่ออุ่นเครื่องมือ

10.2) ปุ่มปรับความกว้างของช่องแสง (Silt width) มีทั้งชนิดปรับหยาบ 3-8 ขนาด และชนิดปรับละเอียดแบบต่อเนื่อง

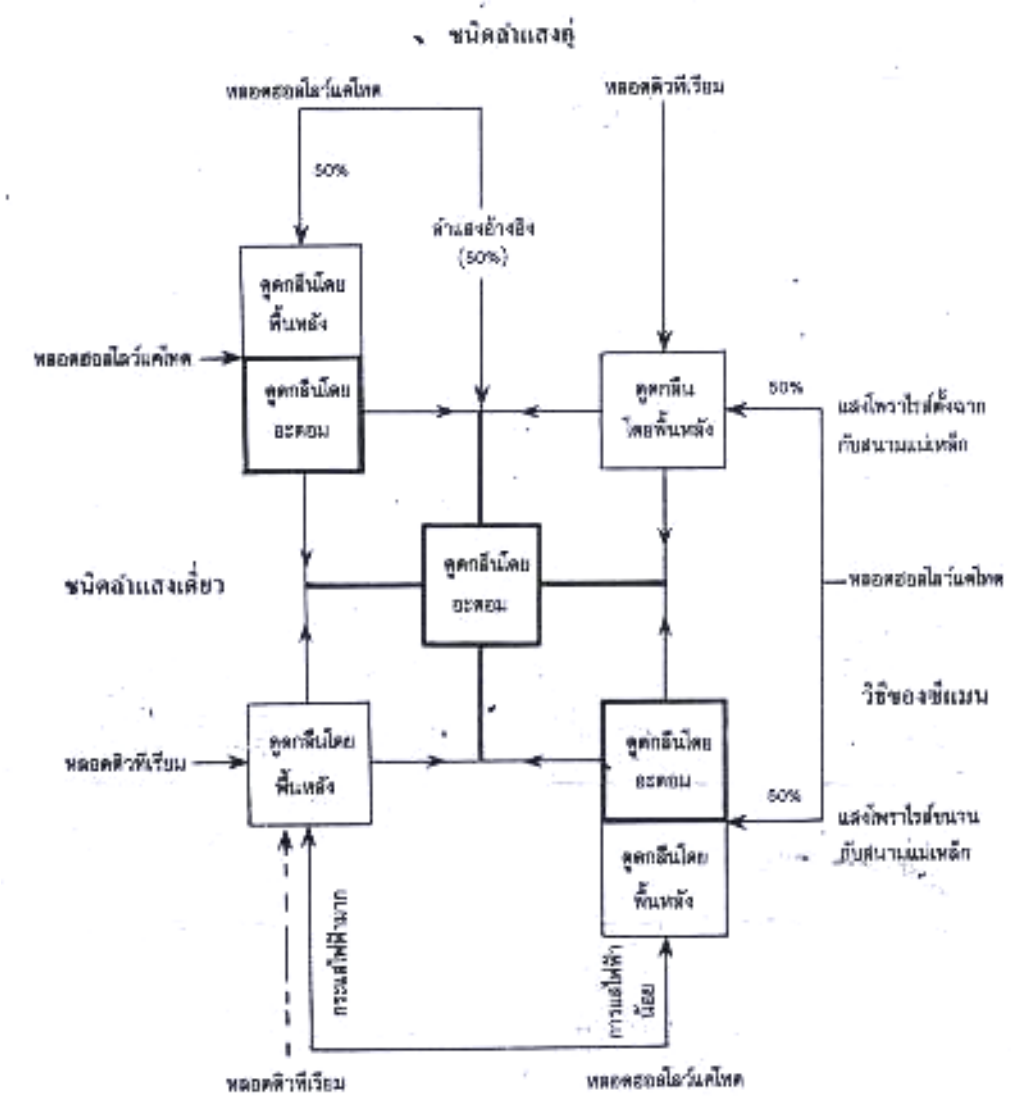
10.3) ปุ่มปรับกระแสของหลอดไฟกำเนิดแสง (Lamp current knob) ใช้ปรับความเข้มของแสงจากไส้หลอดไฟกำเนิดแสง โดยการปรับปริมาณกระแสไฟฟ้าที่เลี้ยงไส้หลอด (mA) ซึ่งปกติจะปรับปริมาณตามกระแสใช้งาน (Operating Current) ของหลอดแต่ละชนิด และไม่ควรปรับกระแสเลี้ยงไส้หลอดสูงกว่ากระเสสูงสุด (maximum current) ที่ผู้ผลิตกำหนด หลอดกำเนิดแสงควรอุ่นให้ความเข้มแสงคงที่ก่อนใช้งานนาน 5 -30 นาที

10.4) ปุ่มปรับอัตราการไหลของแก๊สเชื้อเพลิง เละแก๊สช่วยเผาไหม้ ใช้เพื่อปรับส่วนผสมของเชื้อเพลิงให้เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ธาตุแต่ละชนิด

10.5) ปุ่มปรับอัตราการขยายสัญญาณจากตัวไวแสง (gain control knob)



ภาพที่ 11 ทางเดินของแสงในเครื่องวัดดูดกลืนแสงโดยอะตอมชนิดลำแสงเดี่ยว (ก) และชนิดลำแสงคู่ (ข)



ภาพที่ 12 แผนผังเปรียบเทียบการแก้การดูดกลืนพื้นหลังโดยวิธีต่าง ๆ

10.6) ปุ่มจุดไฟ (ignitor) ทำงานโดยจุดขดลวดความร้อนให้ร้อนแดงด้วยกระแสไฟฟ้า หรือทำให้เกิดประกายไฟฟ้ากระโดดผ่านขั่วที่มีความต่างศักย์สูงเหนือหัวเผา

10.7) ปุ่มแก้การดูดกลืนพื้นหลัง (Background correction knob) ใช้เลือกอ่านเฉพาะค่าการดูดกลืนพื้นหลัง (background only) หรืออ่านค่าที่หักค่าการดูดกลืนแสงที่ไม่จำเพาะออกจากสัญญาณที่วัดได้โดยอัตโนมัติ (Automatic background Correction)

10.8) สวิทช์เลือกสัญญาณการวัด (Signal) ใช้เลือกวัดสัญญาณออกมาในรูปค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ความเข้มข้น (Concentration) หรือเปอร์เซ็นต์แสงส่องผ่าน (% T) เมื่อวิเคราะห์โดยใช้หลักการเปล่งแสงโดยเปลวไฟ (flame emission mode) การวัดเปอร์เซ็นต์แสงส่องผ่านดังกล่าว นิยมใช้เมื่อต้องการเพิ่มความไวในการวิเคราะห์ให้มากกว่าการวัดการดูดกลืนแสงโดยอะตอมสำหรับธาตุ Al, Ba, Ca, Eu, Ga, Ho, In, K, La, Li, Lu, Na, Rb, Re, Ru และ Sn

10.9) สวิทช์เลือกความแรงของสัญญาณที่ส่งออกไปยังเครื่องบันทึก (recorder)

10.10) สวิทช์ เลือกชนิดการตรวจจับสัญญาณ ใช้เลือกการวัดสัญญาณแบบต่อเนื่อง (continuous signal) ทุกช่วงเวลาที่กำหนด หรือตรวจวัดสัญญาณที่เกิดขึ้นแล้วคงค่าไว้ (hold signal) การบันทึกสัญญาณในเครื่องบันทึกผลแบบไม่ต่อเนื่อง คำนวณหาปริมาณของธาตุจากความสูงของสัญญาณ (peak hight) ส่วนการบันทึกสัญญาณแบบต่อเนื่องอาจคำนวณปริมาณธาตุจากพื้นที่ของสัญญาณ(peak area) หรือความสูงของสัญญาณก็ได้

10.11) ปุ่มสั่งพิมพ์ผลออกทางเครื่องพิมพ์

10.12) ปุ่มปรับ OA โดยอัตโนมัติ (auto zero knob) ใช้ปรับ OA ขณะที่ดูดน้ำปราศจากไอออนหรือรีเอเจนต์อ้างอิงเข้าสู่เปลวไฟก่อนทำการวิเคราะห์ธาตุ

10.13) ปุ่มใส่ค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐาน ใช้สำหรับใส่ค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐาน เพื่อนำไปสร้างเป็นกราฟมาตรฐาน ภายในเครื่องสำหรับคำนวณปริมาณธาตุจากตัวอย่าง ซึ่งมักใส่ได้ค่ามากกว่า 1 ค่า จนถึง 10 ค่า

10.14) ปุ่มสั่งให้คำนวณค่าเฉลี่ย ($\bar{x}$) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) และสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (C.V.) ของการอ่านค่าซ้ำกันหลายๆ ครั้ง

10.15) ปุ่ม scan ใช้สำหรับเลื่อนมุมของตัวแยกเพื่อหาความคลื่นแสงที่ดูดกลืนแสงได้ดี เพื่อใช้เป็นข้อมูลสำหรับการเลือกความยาวคลื่นที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์ธาตุนั้นๆ

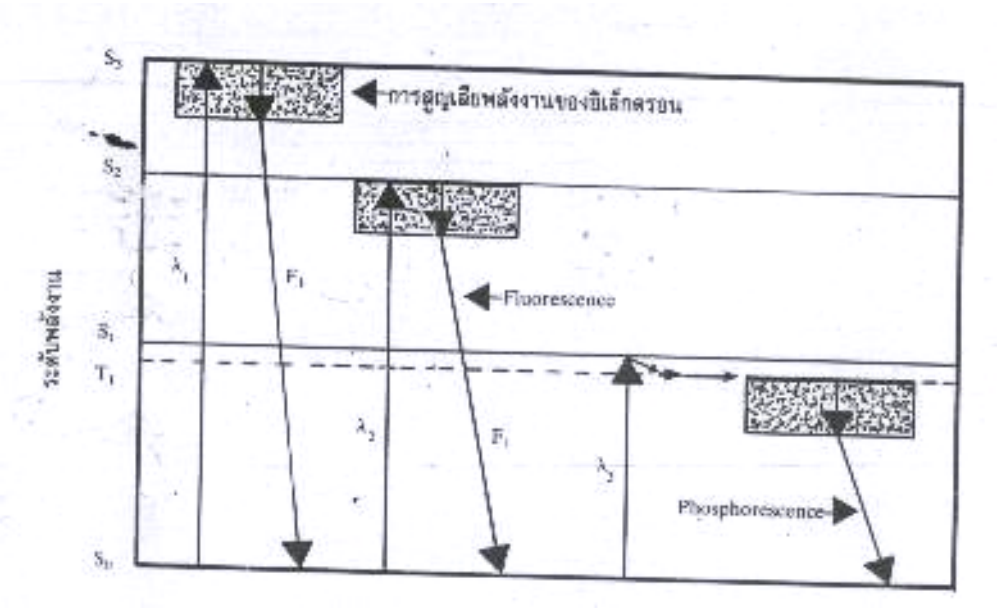
10.16) ปุ่มกำหนดอุณหภูมิและระยะเวลาสำหรับการสร้างอะตอมด้วยไฟฟ้า

นอกจากสวิทช์และปุ่มควบคุมดังกล่าวมาแล้วข้างต้น ในเครื่องบางแบบอาจมีองค์ประกอบที่ต่างออกไปอีกมาก ซึ่งผู้ใช้ควรศึกษาวิธีการใช้งานจากคู่มือใช้เครื่องแบบนั้นๆโดยละเอียด

6. เครื่องวัดแสงฟลูออเรสเซนต์

มีสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์หลายชนิดเมื่อดูดกลืนแสงจากภายนอกเข้าไปจะเปล่งแสงที่มีความยาวคลื่นเท่ากับความยาวคลื่นแสงที่ดูดกลืนเข้าไป (resonace radiation) หรือมีความยาวคลื่นมากกว่าออกมาจากทุกทิศทาง แต่ถ้าการเปล่งแสงออกมาอาศัยพลังงานจากปฏิกิริยาเคมีจะเรียกว่า “ การเปล่งแสงทางเคมี ” (Chemiluminescence) และอาศัยพลังงานจากกระบวนการทางชีววิทยาจะเรียกว่า “ การเปล่งแสงองสิ่งมีชีวิต ” (bioluminescence)

ปกติอิเล็กตรอนจะอยู่เป็นคู่ ในสถานะพื้น (ground state, S_0) เมื่อได้รับพลังงานแสงที่มาก (ความยาวคลื่นสั้น) ทำอิเล็กตรอนเดี่ยวมีพลังงานสูงขึ้นและกระโดดไปอยู่ในออร์บิทัล (orbital) ที่สูงขึ้นตามระดับของพลังงานที่ได้รับ ($S_1...S_2...S_3...$) เมื่อกลับสู่สถานะพื้นจะเปล่งแสงฟลูเรนเซนต์ที่มีความยาวคลื่นเท่ากับความยาวคลื่นที่ดูดกลืนเข้าไป (resonance fluorescence) แต่การกลับเข้าสู่สถานะพื้นของอิเล็กตรอนของสารเปล่งแสงมีการสูญเสียพลังงานไปส่วนหนึ่งเนื่องจากการชน (collision) และการสั่น (vibration) ของอะตอมและการถ่ายเทพลังงานให้สารละลาย ทำให้แสงที่เปล่งออกมาขณะกลับเข้าสู่สถานะพื้นมีความยาวคลื่นแสงมากกว่าแสงที่ถูกดูดกลืน (direct line fluorescence) แสงดังกล่าวจะเกิดขึ้นในช่วงสั้น ๆ (10^{-7}-10^{-9} วินาที) หลังจากหยุดแสงตกกระทบ (exitation light) เราเรียกว่าแสงชนิดนี้ว่า”การวาวแสง” (fluorescence) สารเปล่งแสงบางชนิดมีอิเล็กตรอนพลังงานสูงที่มีระดับพลังงานใกล้เคียงกัน (T_1,triplet state) (อิเล็กตรอนพลังงานสูงไม่อยู่เป็นคู่กับอิเล็กตรอนพลังงานต่ำเหมือนกับที่พบใน S_1) หลังจากการสูญเสียพลังงานบางส่วน อิเล็กตรอนจะกลับสู่สภาพพื้นพร้อมกับเปล่งแสงที่มีความยาวคลื่นกว่าออกมา แต่เนื่องจากการเปลี่ยนสถานะจาก triplet state มาสู่สถานะพื้นใช้เวลามากกว่า 10^{-9} วินาทีจนถึงหลายวินาที ทำให้สามารถมองเห็นแสงที่เปล่งออกมาเป็นเวลานานถึงแม้ว่าจะหยุดส่องแสงตกกระทบแล้วก็ตามเรียกกระบวนการนี้ว่า “การเรืองแสง” (phosphorescence)



ภาพที่ 13 การเปลี่ยนระดับพลังงานของอะตอมและการเปล่งแสง

จากภาพ 2-13 จะเห็นได้ว่าเมื่อใช้แสงตกกระทบที่มีความยาวคลื่นต่ำกว่า (λ_1) อิเล็กตรอนจะอยู่ในช่วงออร์บิทัลที่มีพลังงานสูงกว่า (S_3) เมื่อใช้แสงตกกระทบที่มีความยาวคลื่นมากกว่า (λ_2, λ_3) ในทางปฏิบัติถึงแม้ว่าจะใช้แสงสีเดียว (monochromatic light) ส่องกระทบสารเปล่งแสงก็ตาม แต่ความยาวคลื่นแสงที่เกิดขึ้นมักมีหลายความยาวคลื่น เพราะอิเล็กตรอนพลังงานสูงมีการสูญเสียพลังงานหลายขั้นตอน ซึ่งแต่ละขั้นตอนจะเปล่งแสงฟลูออเรสเซนส์ออกมา (stepwise fluorescence) และการชนของอะตอมพลังงานสูงกับอิเล็กตรอนของธาตุอื่นทำให้เกิดการเปล่งแสงฟลูออเรสเซนส์ได้เช่นกัน (sensitized fluorescence) เนื่องจากคลื่นแสงที่เปล่งออกมามีลักษณะคงที่ที่แต่ละความยาวคลื่นแสงตกกระทบ ดังนั้นจึงใช้รูปแบบของแสงฟลูออเรสเซนส์ในการจำแนก (identify) สารตัวอย่างได้

การหาปริมาณสารโดยการวัดความเข้มข้นของแสงฟลูออเรสเซนส์ได้เริ่มมาตั้งแต่ปี ค.ศ. 1966 โดยใช้แสงอัลตราไวโอเลตเป็นแสงตกกระทบ พบว่าสามารถวิเคราะห์สารปริมาณน้อย ๆ ได้ดีกว่าการวัดการดูดกลืนสี 5 -10 เท่า แต่การใช้งานยังไม่เป็นที่แพร่หลายมากนัก เนื่องจากเครื่องมือมีราคาแพงและมีวิธีการประยุกต์ใช้งานโดยทั่ว ๆ ไป น้อย แต่อย่างไรก็ตามแนวโน้มการใช้เทคนิคดังกล่าวคงจะมากขึ้น เพราะเครื่องวัดแสงฟลูออเรนเซนส์มีราคาถูกลง และมีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์สูงขึ้นมาก ในปัจจุบันสามารถวิเคราะห์ปริมาณสารหลายชนิดด้วย

เครื่องวัดแสงฟลูออเรสเซนส์ ตัวอย่างเช่น เอสโตรเจน วิตามินบี1 Ag Al B Be Br Ca Cd Cu F Ga Ge Li NO_2^- Pb Se Sb Zn Zr เป็นต้น

6.1 หลักการวัด

เมื่อแสงตกกระทบ (I_0) สารที่เปล่งแสงที่มีความหนา (t) แสงที่เหลือผ่านออกมา (I_t) จะมีความสัมพันธ์กับความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนส์ (F) จะเห็นได้ว่าความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนส์เป็นเส้นตรง เมื่อ εct มีค่าน้อยกว่า 0.05 แต่ถ้าค่า εct มากกว่า 0.05 ความสัมพันธ์จะเป็นเส้นโค้งที่ความเข้มข้นมาก กล่าวคือจะโค้งไปทางแกนความเข้มข้นในกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มของแสงและความเข้มข้นของสารเปล่งแสงทำให้อิเล็กตรอนพลังงานสูงสูญเสียพลังงานโดยการชนกันเองเพิ่มขึ้น (self quenching)

นอกจากความเข้มข้นของสารที่เปล่งแสงแล้วยังมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเปล่งแสงดังนี้

6.1.1 ออกซิเจนในสารละลาย จะลดการเปล่งแสงฟลูออเรสเซนต์ โดยการเร่งการเปลี่ยนสถานะของพลังงานอิเล็กตรอนพลังงานสูง (S_1) ไปเป็น tripet state

6.1.2 อุณหภูมิสูง ช่วยให้อิเล็กตรอนเกิดการชนกันมาก มีการถ่ายเทพลังงานไปสู่สารละลายมาก ทำให้แสงฟลูออเรสเซนต์มีความเข้มลดลง

6.1.3 ความหนืดของสารละลาย สารละลายที่มีความหนืดมากทำให้แสงฟลูออเรสเซนต์มีความเข้มแสงมากขึ้น เนื่องจากลดการชนกันของอเล็กตรอน

6.1.4 พีเอช มีผลต่อความเข้มของแสงและความยาวคลื่นแสงที่เปล่งออกมาของสรเปล่งแสงบางชนิด โดยเฉพาะสารประกอบอะโรมาติก (Aromatic compound)

6.1.5 โครงสร้างของสารเปล่งแสง จากการศึกษาพบว่าสารประกอบอะโรมาติกไฮโดรคาร บอน (aromatic hydrocarbon) ที่มีระดับพลังงานทรานซิชั่นต่ำ (low energy transition level) ($\pi \rightarrow \pi^*$) เปล่งแสงฟลูออเรสเซนต์ที่เข้มมากกว่าสารประกอบที่มีโครงสร้างแบบอะลิฟาติก (aliphatic) และอะลิไซคลิกคาร์บอนิล(alicyclic carbonyl)ที่มีพันธะคู่ (double bond)

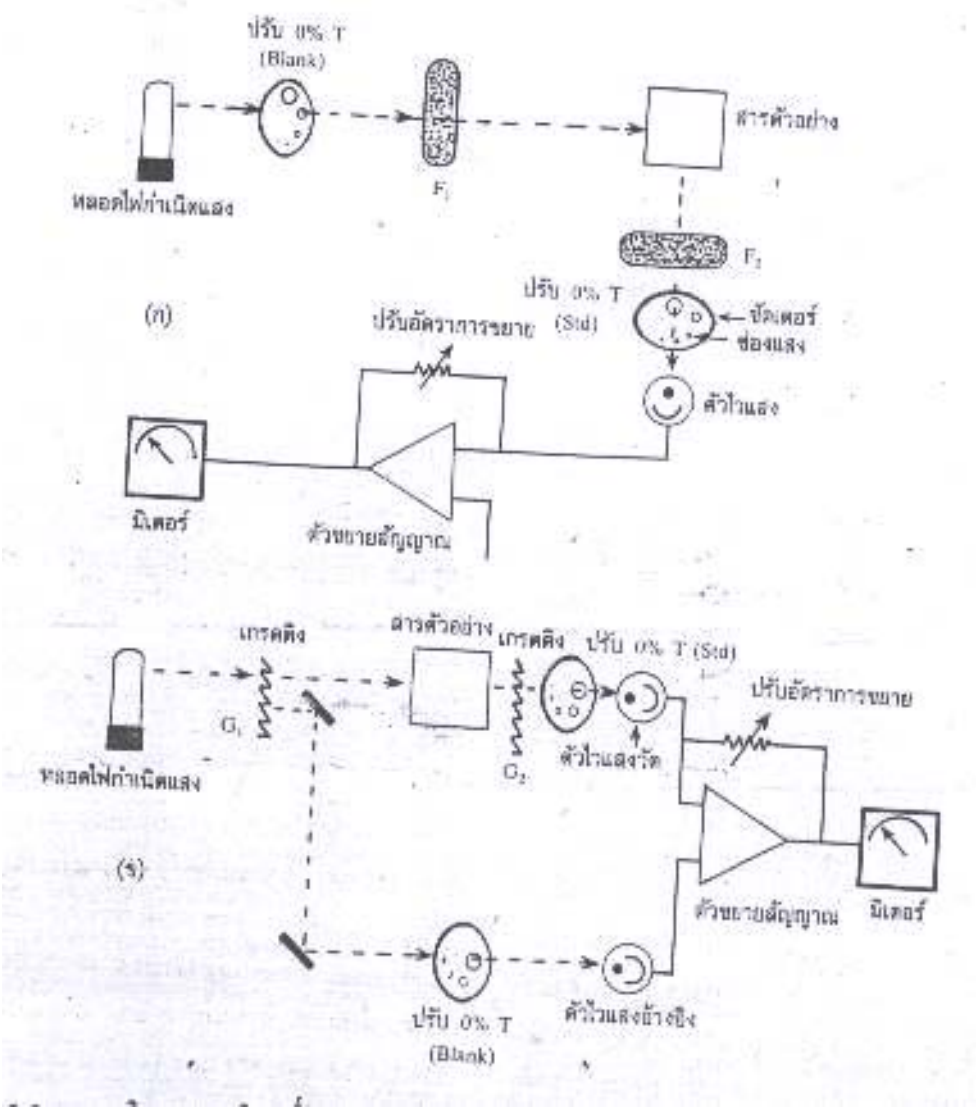
6.1.6 การดูดกลืนแสงด้วยสารเปล่งแสง (self absorption) เกิดขึ้นในกรณีที่แสงที่เปล่งออกมามีความยาวคลื่นใกล้เคียงกับแสงที่ตกกระทบสารเปล่งแสงมาก ทำให้ฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้นบางส่วนถูกดูดกลืนไว้ด้วยอะตอมของสารเปล่งแสง

6.2 องค์ประกอบและคุณสมบัติ

เครื่องวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์มีองค์ประกอบและคุณสมบัติคล้ายกับที่พบในเครื่องวัดการดูดกลืนแสง ดังนี้

6.2.1 หลอดไฟกำเนิดแสง นิยมใช้หลอดซีนอน (Xenon lamp) ซึ่งสามารถปล่อยแสงออกมาในช่วง 150 – 800 นาโนเมตร แต่มีความเข้มมากที่ 470 นาโนเมตร หลอดเมอคิวรีชนิดความดันสูง (high pressure mercury lamp) สามารถปล่อยแสงที่มีความเข้มมากที่ความยาวคลื่น 253.6, 280.4 334.1, 435.8, 546,577 และ1,014 นาโนเมตร ส่วนหลอดเมอคิวรีชนิดความดันต่ำ (low pressure mercury lamp) สามารถปล่อยแสงที่เข้มมากที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร

6.2.2 ตัวยกแสง มีทั้งชนิดที่เป็นตัวกรองแสงและเกรตติงไม่ค่อยมีปัญหาในการใช้งาน ส่วนตัวกรองแสงจำเป็นต้องเลือกใช้งานให้ถูกต้องเหมาะสม เนื่องจากให้แถบแสง (band width) ที่ผ่านออกมากว้างประมาณ 15 นาโนเมตร การใช้งานจึงควรให้ความกว้างของแถบแสงจากตัวกรองแสงทั้งสอง (F_1,F_2) มีค่าซ้อนทับกัน เพราะแสงตกกระทบที่ผ่านออกมาจากตัวกรองแสงตัวแรก (F_1) อาจจะผ่านตัวกรองแสงตัวที่สอง (F_2) ไปสู่ตัวไวแสงด้วย ทำให้วัดความเข้มของแสงได้สูงกว่าค่าจริง และเพื่อให้การวัดมีความไวมากที่สุด ตัวแยกแสงตัวแรก (F_1,G_1) ควรให้ลำแสงตกกระทบที่สารเปล่งแสงนั้นดูดกลืนได้มาก และควรมีความยาวคลื่นแสงใกล้เคียงกับความยาวคลื่นแสงที่เข้มมากของหลอดไฟกำเนิดแสง



ภาพที่ 14 ทางเดินของแสงในเครื่องวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์ชนิดลำแสงเดี่ยว(ก) และชนิดลำแสงแยก (ข)

6.2.3 คิวเวทท์ ที่ใช้มีทั้งชนิดกลมและชนิดสี่เหลี่ยม คิวเวทท์ที่ทำจากควอทซ์สามารถใช้งานได้ในทุกในช่วงความยาวคลื่นแสงตั้งแต่ 254 นาโนเมตรขึ้นไป ส่วนคิวเวทท์ที่ทำจากแก้วชนิดบอโรซิลิเคท (borosilicate glass) สามารถใช้งานได้เมื่อแสงตกกระทบมีความยาวคลื่นมากกว่า 320 นาโนเมตรขึ้นไป

6.2.4. ตัวไวแสง นิยมใช้โฟโตมัลติพลายเออทิวบ์ เนื่องจากแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่เปล่งออกมาก (emission light) มีความเข้มน้อยมาก

6.2.5 ภาคแสดงผล วัดความเข้มของแสงออกมาในหน่วย %T (transmittance) ด้วยระบบอ่านค่าแบบตัวเลข (digital) หรือแบบเข็มชี้ (meter)

6.2.6 แผงควบคุม อาจประกอบด้วยปุ่มควบคุมดังนี้

1) สวิทซ์ปิดเปิดไฟฟ้า (ON/OFF switch) ใช้เพื่ออุ่นเครื่องและหลอดไฟกำเนิดแสงก่อนใช้งาน

2) ปุ่มจ่ายกระแสไฟฟ้าให้หลอดไฟกำเนิดแสง (lamp start knob) ควรเปิดหลังจากเปิดสวิตซ์ไฟฟ้า

3) ปุ่มปรับศูนย์ (zero knob, blank adjust knob) ใช้ปรับ 0 % T เมื่อใส่รีเอเจนต์อ้างอิง (reagent blank) ลงในช่องใส่สารตัวอย่าง โดยการปรับความกว้างของช่องแสง (aperture) ที่อยู่บนชัตเตอร์ (shutter) เพื่อปรับปริมาณแสงที่ตกกระทบสารตัวอย่าง

4) ปุ่มเลือกความยาวคลื่นแสงตกกระทบ (Ex.knob) ใช้เลือกความยาวคลื่นแสงตกกระทบ โดยการเลื่อนตัวกรองแสงหรือการควบคุมการเคลื่อนที่ของเกรตติง

5) ปุ่มเลือกความยาวคลื่นแสงฟลูออเรสเซนซ์ (Em.knob) ทำงานเช่นเดียวกับปุ่มควบคุม

6) ปุ่ม Sid ใช้สำหรับปรับความกว้างของช่องแสงบนชัตเตอร์ที่อยู่หลังสารตัวอย่างเพื่อกำหนดปริมาณแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ตกกระทบบนตัวไวแสง

7) ปุ่มเลือกช่วงการวัด (range selector knob) ใช้สำหรับเพิ่มความไวในการวัดโดยการเปลี่ยนอัตราการขยายสัญญาณไฟฟ้าจากตัวไวแสง

6.3 ชนิดของเครื่องวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์

แบ่งตามระบบทางเดินแสงออกได้เป็น 2 ชนิด คือ

6.3.1 ชนิดลำแสงเดี่ยว (single beam type) พบในเครื่องวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์ราคาถูก ใช้ลำแสงเดียวกันกับสำหรับวัดสารอ้างอิง สารมาตรฐานและสารตัวอย่าง มีข้อดีและข้อเสียเช่นเดียวกับเครื่องวัดการดูดกลืนแสงชนิดลำแสงเดี่ยว นิยมวางสารตัวอย่างและตัวไวแสงเป็นมุมฉากซึ่งกันและกัน เพื่อลดการรบกวนจากแสงที่ไม่ต้องการ ตัวกรองแสงตัวแรก (F_1, Excitation filter) มีหน้าที่ดูดกลืนแสงที่มองเห็นได้ (visible light) แต่ปล่อยให้แสงอัลตราไวโอเลตผ่าน ส่วนตัวกรองแสงตัวที่ 2 (F_2,emission filter) มีหน้าที่ดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเลต แต่ยอมให้แสงที่มองเห็นได้ผ่านไปสู่ตัวไวแสง

6.3.2 ชนิดลำแสงแยก (splited beam type) สร้างขึ้นเพื่อลด ความผิดพลาดอันเนื่องมาจากความไม่คงที่ของแสงตกกระทบ โดยการแยกลำแสงตกกระทบส่วนหนึ่งให้ส่องไปยังตัวไวแสงอ้างอิงอยู่ตลอดเวลาที่วัดความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ สัญญาณไฟฟ้าที่เกิดจากตัวไวแสงวัด จะถูกเปรียบเทียบกับสัญญาณไฟฟ้าที่เกิดจากตัวไวแสงอ้างอิง ดังนั้นจึงมีความแม่นยำในการวัดความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ดีมาก ระบบนี้นิยมใช้เกรตติง 2 อันเป็นตัวแยกแสง เกรตติงตัวแรก (G_1) ทำหน้าที่กำหนดความยาวคลื่นแสงที่ตกกระทบ ส่วนเกรตติงตัวที่สอง (G_2) ทำหน้าที่เลือกแสงที่เปล่งออกมาให้ตกกระทบตัวไวแสงเกรตติงสามารถแยกความยาวคลื่นแสงได้ละเอียดและต่อเนื่อง จึงสามารถประยุกต์ใช้งานและเพิ่มประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ปริมาณสารเปล่งแสงได้ดีกว่าการใช้ตัวกรองแสง

กรอบแนวคิดในการวิจัย