

บทที่ 4

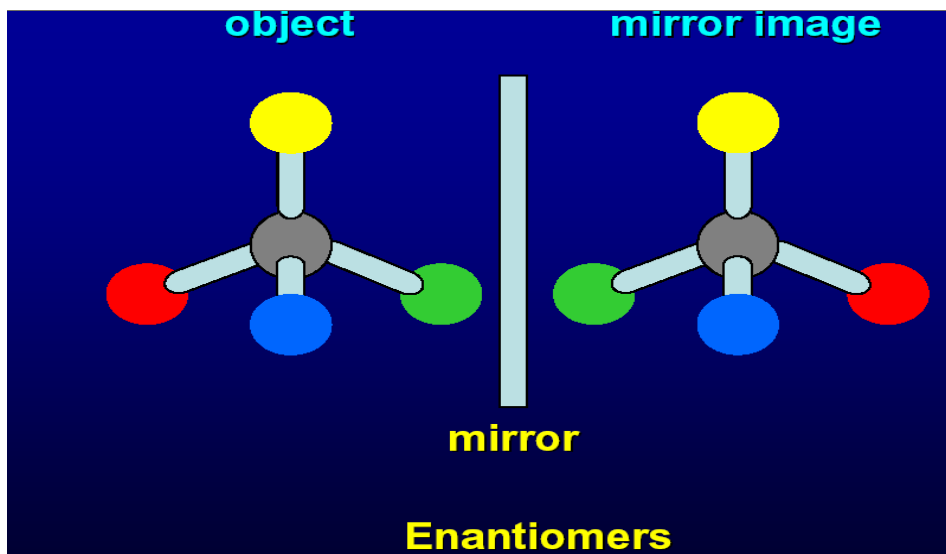
การตรวจสอบออปติคัลโรเทชัน (Optical Rotation)

โดยใช้เครื่อง polarimeter

วัตถุประสงค์

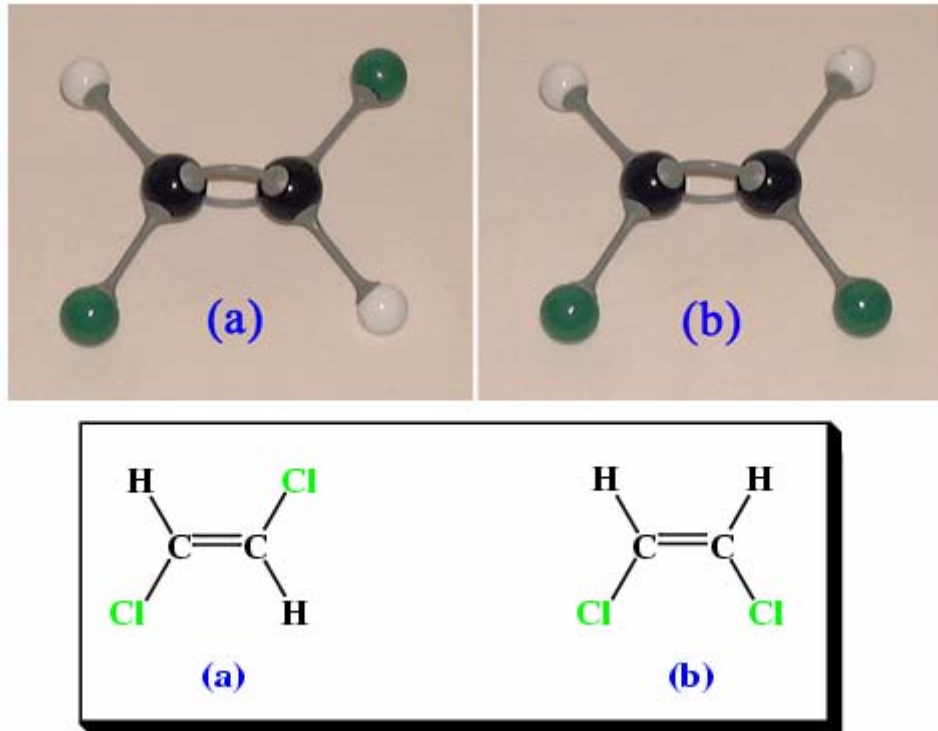
เพื่อเรียนรู้วิธีการตรวจสอบออปติคัลโรเทชันและวิธีการใช้เครื่อง polarimeter ในการวิเคราะห์คุณภาพของ flavoring material

สารที่มีคุณสมบัติในการบิด plane of polarized light ได้จะต้องมี chiral center ในโมเลกุล (โมเลกุลที่มี asymmetric carbon) ซึ่งเรียกสารประเภทนี้ว่า Enantiomer



ภาพที่ 4.1 โครงสร้างของโมเลกุลของ Enantiomer

ที่มา : <http://www.Stereoisomers> Stereoisomerism Optical isomerism_ Polarised light.htm



ภาพที่ 4.2 trans และ cis isomer

ที่มา : <http://www.Stereoisomers> Stereoisomerism Geometric isomerism.htm

ค่าออปติคัลโรเทชัน จะมีความสัมพันธ์กับ องค์ประกอบในส่วนผสม และจะมีความไว (sensitive) กับ ชนิดและความเข้มข้นขององค์ประกอบซึ่งการทดสอบคุณสมบัติในการบิด plane of polarized light จะให้ข้อมูลเพิ่มเติมจากค่าความถ่วงจำเพาะ (SG) และค่าดัชนีการหักเหแสง (RI) ใน 2 กรณี

- เนื่องจากมีสารประกอบเพียงบางชนิดเท่านั้นที่จะแสดงออปติคัลโรเทชัน ดังนั้นวิธีนี้จึงเป็นวิธีที่เฉพาะในการตรวจหาองค์ประกอบของสารในสารผสม เนื่องจากตัวทำละลายส่วนใหญ่ที่ใช้ผสมในสูตรของสารให้กลิ่นรส (flavor formulation) จะไม่มีคุณสมบัติในการบิด plane of polarized light ซึ่งทำให้สามารถเจาะจงไปที่องค์ประกอบ ของสารให้กลิ่นรส (flavoring constituents) เพียงอย่างเดียวได้

- ออปติคอลโรเทชันเป็นเทคนิคการวิเคราะห์ที่สามารถ ตรวจสอบความผิดพลาดที่อาจเกิดระหว่างขั้นตอนการผสมสูตร (compounding errors) และตรวจสอบการปลอมปนในผลิตภัณฑ์ได้

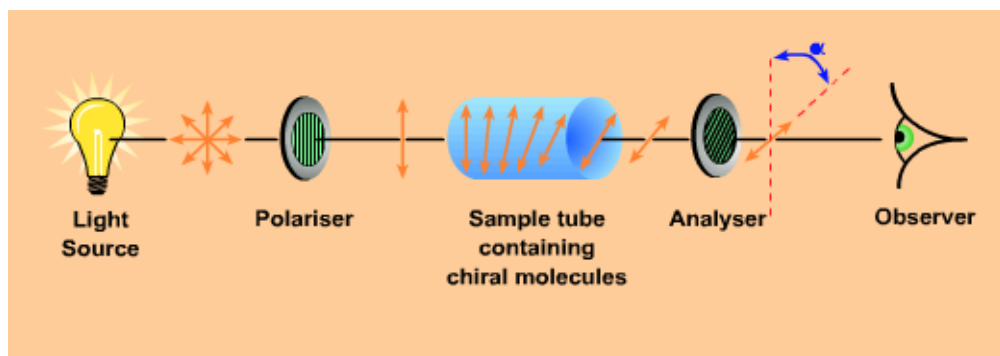
สารเคมีที่สังเคราะห์จาก petroleum source กับ artificial chemicals จะมีลักษณะเป็น racemic mixture (ส่วนผสมขององค์ประกอบของสารเคมีซึ่งจะบิด plane of polarized light ไปทางซ้ายและ ขวาได้เท่าๆกัน) ดังนั้นจึงไม่มี net rotation of light ในขณะที่สารเคมีซึ่งได้จากธรรมชาติ (product of biological activity) จะมีคุณสมบัติในการบิด plane of polarized light

การวัดค่าออปติคอลโรเทชันจะใช้เครื่อง polarimeter ซึ่งสามารถใช้ในการตรวจสอบ compounded flavoring , essential oil และ oleoresin

ส่วนประกอบของ polarimeter

1. แหล่งกำเนิดแสง (light source)

คลื่นแสง unpolarized light จะ vibrate ในทุกทิศทาง แหล่งกำเนิดแสงที่นิยมใช้ในเครื่อง polarimeter ได้แก่ monochromatic light จาก sodium vapour lamp



ภาพที่ 4.3 องค์ประกอบของเครื่อง polarimeter

ที่มา : [http://www .The polarimeter.htm](http://www.The.polarimeter.htm)

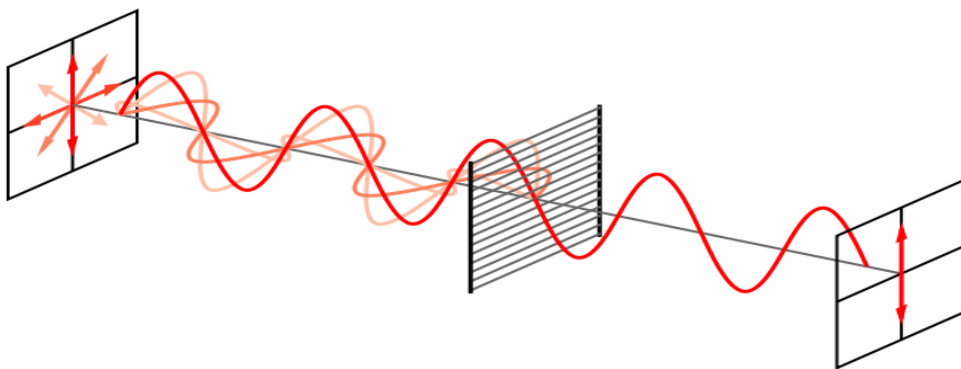


ภาพที่ 4.4 เครื่อง polarimeter

ที่มา : [http://www .The.polarimeter.htm](http://www.The.polarimeter.htm)

2. polarizer

Polarizer จะเป็นอุปกรณ์ที่ทำให้แสง vibrate ในลักษณะ single plane ทำให้เกิด plane polarized light



ภาพที่ 4.5 การทำงานของ polarizer

ที่มา : [http://www .The.polarimeter.htm](http://www.The.polarimeter.htm)

3. sample tube

ถ้าใส่สารที่มีคุณสมบัติในการบิด plane of polarized light ลงไปใน sample tube ตัวอย่างจะบิด plane of polarized light



ภาพที่ 4.6 sample tube ของ polarimeter

ที่มา : [http://www .The polarimeter.htm](http://www.The.polarimeter.htm)

4. Analyser

Polarizer ตัวที่ 2 ซึ่งเรียกว่า analyser จะใช้ในการปรับให้สามารถเห็นแสงได้ตามปกติอีกครั้ง ซึ่งค่าที่ได้สามารถรายงานในรูปของทิศทางและ size of rotation

การทำงานของเครื่อง polarimeter จะอาศัยหลักการเมื่อแสงส่องผ่านตัวอย่างซึ่งมีความสามารถในการบิด plane polarized light เมื่อมองผ่าน polarimeter ตาจะเห็นแสงมัวลงเนื่องจากแสงจะไม่ผ่านไปยัง polarizing filter ความสามารถในการบิด plane

การวัด Optical Activity

การวัดค่า optical activity โดยใช้ polarimeter จะบอกออกมาในรูป observed rotation เนื่องจากการบิด plane polarized light จะขึ้นกับระยะทางที่แสงเคลื่อนที่ผ่าน ตัวอย่าง (path length, l) และความเข้มข้นของตัวอย่าง (c) เมื่อปัจจัยเหล่านี้ถูกกำจัดจะสามารถเปรียบเทียบเป็นค่ามาตรฐานสำหรับโมเลกุลต่างๆโดยใช้ค่า specific rotation,

$$[\alpha]_D^T$$

$$[\alpha]_D^T = \alpha / cl$$

α = Observed rotation

T = อุณหภูมิที่ทำการวัด ($^{\circ}\text{C}$)

D = sodium D line (589.3 nm)

c = ความเข้มข้น (g/ml)

l = ความยาวของหลอดบรรจุตัวอย่าง (dm)

Specific rotation จะเป็นคุณสมบัติทางกายภาพคล้ายกับ จุดเดือดของตัวอย่าง ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของสารแต่ละชนิด

สารที่มีคุณสมบัติในการบิด plane of polarized light ในทิศทางตามเข็มนาฬิกาจะจัดอยู่ในกลุ่ม Dextrorotatory (+)

สารที่มีคุณสมบัติในการบิด plane of polarized light ในทิศทางตามเข็มนาฬิกาจะจัดอยู่ในกลุ่ม Levorotatory (-)

การประยุกต์ใช้เครื่อง polarimeter

1. ใช้ในการหาค่า specific rotation ของตัวอย่าง

ตัวอย่างเช่น สารละลายตัวอย่างที่นำมาวัด optical rotation มีความเข้มข้น 0.25 กรัม / 10 มิลลิลิตร ใช้หลอดใส่ตัวอย่างที่มีความยาว 1 dm เมื่อนำไปวัดค่า optical rotation

$$[\alpha]_D^F = \alpha / cl$$

$$[\alpha]_D^F = -0.85/1 \times 0.025$$

$$[\alpha]_D^F = -34^\circ$$

2. ใช้หาค่า optical purity

ถ้าทราบค่า specific rotation ของ pure enantiomer สามารถใช้ค่า observed rotation ของตัวอย่างเพื่อคำนวณหา optical purity

$$\text{Optical purity} = \frac{\text{observed } \alpha}{\alpha \text{ of pure enantiomer}} \times 100$$

ตัวอย่างเช่น α -D-(+)- glucose บริสุทธิ์มีค่า specific rotation เท่ากับ $+113.4^\circ$ ตัวอย่างสารละลาย glucose มีค่า observed rotation เท่ากับ $+55.2^\circ$ ให้คำนวณหา % optical purity ของสารละลาย glucose

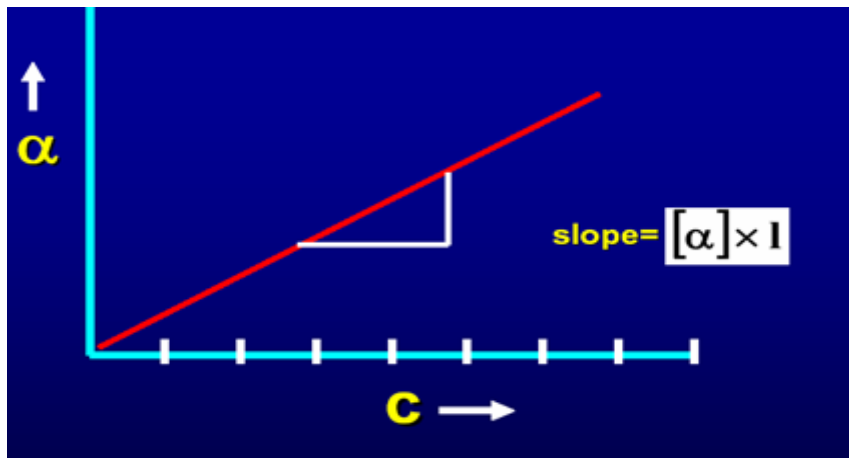
$$\begin{aligned} \text{Optical purity} &= \frac{+55.2^\circ}{+113.4^\circ} \times 100 \\ &= 48.68\% \end{aligned}$$

3. ใช้วิเคราะห์หาปริมาณของสาร

Optical rotation ซึ่งวัดโดยใช้เครื่อง polarimeter นั้นมีความสัมพันธ์ระหว่าง observed rotation (α) และความเข้มข้นของ optically active compounds ในตัวอย่าง

$$\alpha = [\alpha] \times l \times c$$

ถ้า plot ความสัมพันธ์ระหว่าง observed rotation (α) และ ความเข้มข้น (c) ของสารละลายมาตรฐานจะได้ calibration curve ดังภาพที่ 4.7

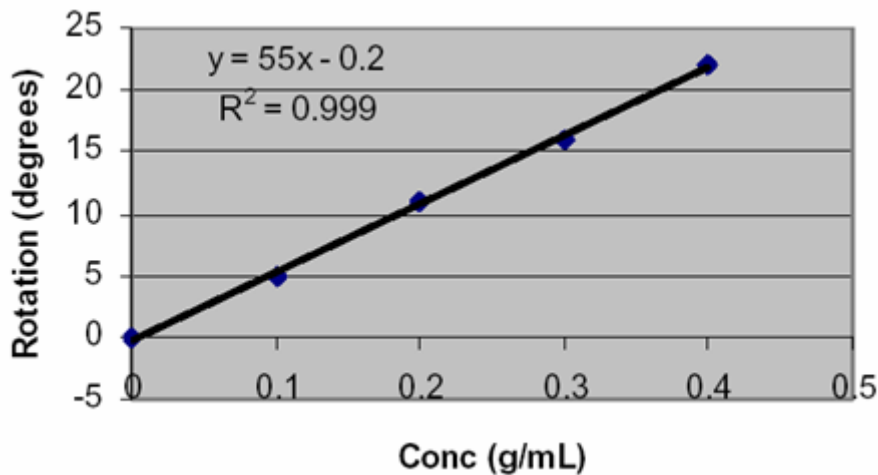


ภาพที่ 4.7 กราฟความสัมพันธ์ระหว่าง α และความเข้มข้น (c) ของสารละลายมาตรฐาน

ตัวอย่าง สารละลาย α -D-(+)- glucose ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.3 และ 0.4 กรัม/มิลลิลิตรมีค่า observed rotation เท่ากับ 0, 5, 11, 16 และ 22^o ตามลำดับ ตัวอย่างสารละลาย α -D-(+)- glucose (unknown) เมื่อนำมาวัดค่า observed rotation ได้เท่ากับ 12^o ให้หาความเข้มข้นของตัวอย่างสารละลาย α -D-(+)- glucose

concentration (g/mL)	observed rotation (degrees)
0	0
0.1	5
0.2	11
0.3	16
0.4	22
unknown	12

เมื่อ plot graph ความสัมพันธ์ระหว่าง observed rotation และความเข้มข้น



จากกราฟ

$$y = 55x - 0.2$$

$$X = (y + 0.2) / 55$$

$$X = (12 + 0.2) / 55$$

ความเข้มข้นของสารละลาย α -D-(+)- glucose (unknown) = 0.22 กรัม/มิลลิลิตร

การประยุกต์ใช้ เทคนิคการวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง **polarimeter** ในอุตสาหกรรมยา
ใช้หา product purity ของ amino acid, amino sugars, antibiotics, cocaine, dextrose, vitamin

การประยุกต์ใช้ เทคนิคการวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง **polarimeter** ใน **flavor, fragrance และ essential oil industry**

ใช้ตรวจสอบคุณภาพวัตถุดิบ เช่น การบูร (camphor), น้ำมันส้ม (orange oil), spearmint oil, lemon oil

การประยุกต์ใช้ เทคนิคการวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง **polarimeter** ใน อุตสาหกรรมอาหาร

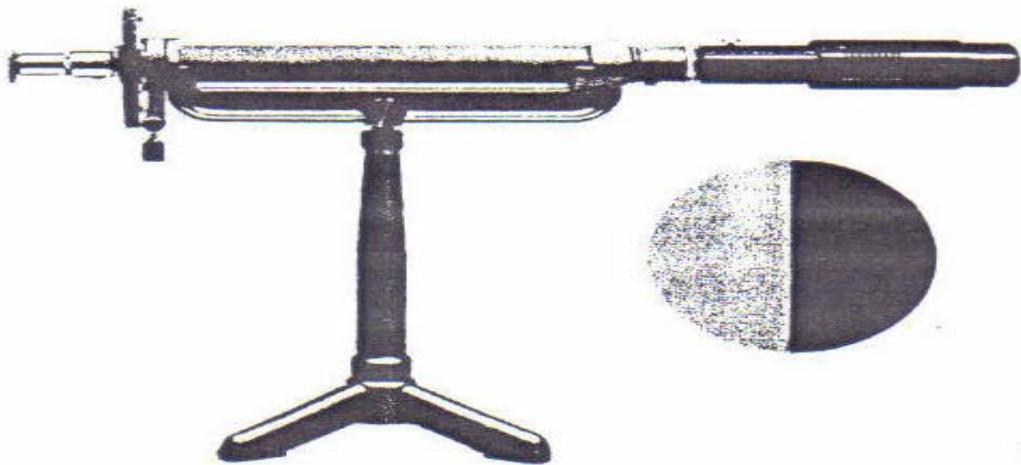
ใช้ตรวจสอบคุณภาพโดยหาความเข้มข้นและความบริสุทธิ์ของ carbohydrate, fructose, glucose, lactose, maltose, sucrose และ xylose

การประยุกต์ใช้ เทคนิคการวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง polarimeter ในอุตสาหกรรมเคมี

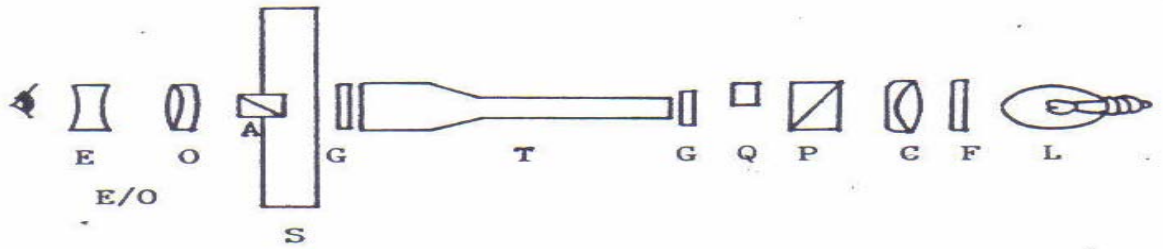
ใช้ตรวจหาชนิดของ biopolymer, natural polymer และ synthetic polymer

เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

Half-shade Polarimeter (Erma, Inc)

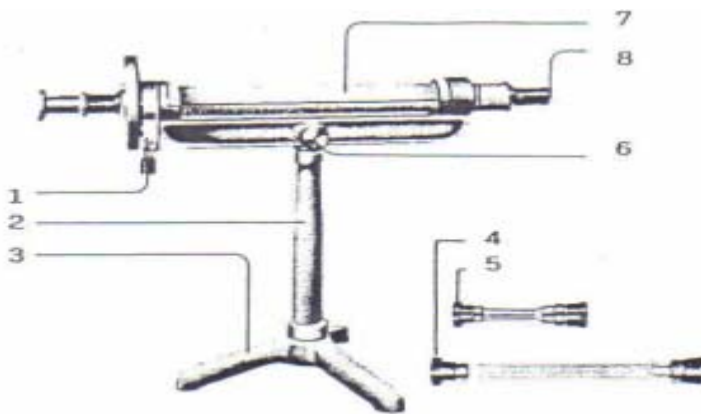


ภาพที่ 4.8 Half-shade Polarimeter (Erma, Inc)

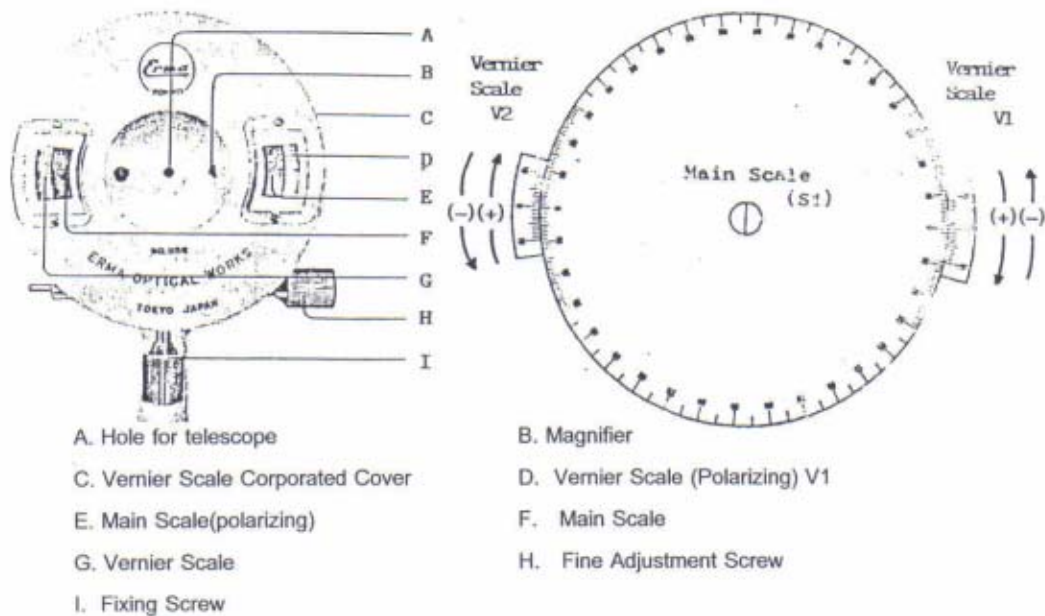


ภาพที่ 4.9 โครงสร้างภายในของเครื่อง Half-shade Polarimeter

- | | |
|-------------------------|-------------------------|
| E. Eyepiece | O. Objective Lens |
| A. Analyzer | S. Graduated Scale Disc |
| G. Cover Glass Plate | T. Observation Tube |
| Q. Laurent Quartz Plate | P. Polarizer |
| C. Condenser Lens | F. Filter |
| L. Light Source | |



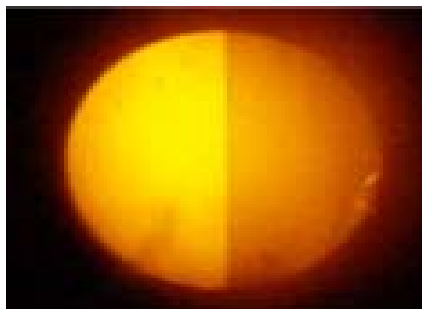
- | | |
|-------------------------------------|--|
| 1. Main Body | 2. Vertical Post |
| 3. Tri-pod | 4. Observation tube, 200 mm |
| 5. Observation tube, 100 mm | 6. Fixing screw for main body with vertical post |
| 7. Cover plate for observation tube | 8. Driver for fixing vertical post with Tri-Pod |



ภาพที่ 4.10 ส่วนประกอบของเครื่อง Half-shade Polarimeter

วิธีการวัดค่าออกปติคอลโรเทชัน

1. เปิด switch แหล่งกำเนิดแสง (sodium lamp) โดยใช้เวลาในการ warm เครื่อง ประมาณ 10 นาทีเพื่อให้ลำแสง stabilized
2. มองผ่าน eyepiece จากนั้นหมุน eyepiece เพื่อ focus ให้เห็นเส้น boundary line ใน visual field



ภาพที่ 4.11 ลักษณะของ boundary line ใน visual field ของ polarimeter

3. ปรับความสว่างของครึ่งวงกลมทั้งสองข้างให้เท่ากันซึ่งเป็นการปรับ zero point
4. บรรจุกตัวอย่างที่ต้องการวัดค่าออปติคัลโรเทชันใน observation tube
5. คลาย vertical screw
6. มองผ่าน eyepiece และหมุน vernier จากนั้นปรับความสว่างของครึ่งวงกลมทั้งสองข้างให้เท่ากัน
7. ชัน vertical screw จากนั้นปรับความสว่างของแสงให้ละเอียดขึ้นโดยใช้ fine adjustment screw แล้วจึงอ่านค่า
8. ทำซ้ำประมาณ 3 ครั้ง และอ่านค่าเฉลี่ยทั้งทางด้านซ้ายและขวา ค่าที่ได้จะเป็นค่า polarization degree ของตัวอย่าง

ในกรณีที่หมุน vernier ไปตามเข็มนาฬิกา ตัวอย่างที่นำมาวัดค่าออปติคัลโรเทชันจะเรียกว่า dextrorotatory material ในขณะที่ถ้าต้องหมุนทวนเข็มนาฬิกาจะเรียกว่า Levorotatory material

ตารางบันทึกผลการทดลอง

ตัวอย่างสารให้กลีหรส	ค่า observed rotation

การรายงานผลการทดลอง

1. คำนวณหา specific rotation $[\alpha]_D^T$ ของตัวอย่าง
2. ตัวอย่างที่ทดลองมีคุณสมบัติในการบิด plane of polarized light เป็นแบบใด
(dextrorotatory หรือ levorotatory)
3. ปัจจัยที่มีผลต่อความถูกต้องในการวัดค่า optical rotation ได้แก่อะไรบ้าง