



Pathumwan Institute of Technology

Faculty of Science and Technology



คู่มือปฏิบัติงานของนักวิทยาศาสตร์

จัดทำโดย

นางสาว ภัทรีวรรณ อิมสุวรรณ

นักวิทยาศาสตร์

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันเทคโนโลยีปทุมวัน

ฉบับปรับปรุงล่าสุดวันที่ 2 กันยายน 2565

คำนำ

คู่มือการจัดเก็บสารเคมี การขอใช้อุปกรณ์และเครื่องมือ ในห้องปฏิบัติการเคมี จัดทำขึ้นเพื่อการแยกประเภท และการจัดเก็บสารเคมีในห้องปฏิบัติการให้เป็นระเบียบ มีประสิทธิภาพ เพื่อความสะดวกในการใช้งาน และเพื่อความเป็นระเบียบเรียบร้อย ในการยืม-คืนอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ การติดตามความเคลื่อนไหวจากผู้ยืม จึงจำเป็นต้องมีการจัดระบบเพื่อความสะดวกในการดูแลห้องปฏิบัติการ

ผู้จัดทำได้มีการรวบรวมข้อมูลเพื่อให้คู่มือการจัดเก็บสารเคมี การขอใช้อุปกรณ์ และเครื่องมือ ในห้องปฏิบัติการเคมีฉบับนี้มีความสมบูรณ์ แต่หากมีข้อผิดพลาดประการใด ทางผู้จัดทำต้องขออภัยไว้ ณ ที่นี้

นางสาว ภัทรีวรรณ อิ่มสุวรรณ
นักวิทยาศาสตร์

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
คำนำ	1
การจัดแยกสารเคมีในห้องปฏิบัติการ	4
หลักการจัดเก็บสารเคมีในห้องปฏิบัติการ	7
การจัดการของเสีย	8
การจัดเก็บสารเคมีในห้องปฏิบัติการเคมี	10
การค้นหารสารจากตู้เก็บสาร	10
รายชื่อสารเคมีในตู้เก็บสาร	12
การขอใช้อุปกรณ์/เครื่องแก้ว เครื่องมือ ในห้องปฏิบัติการ	17
❖ ตัวอย่างแบบฟอร์มที่ 1	18
❖ ตัวอย่างแบบฟอร์มที่ 2	19
ความปลอดภัยในการใช้ห้องปฏิบัติการ	21
การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อการวิจัย	31
กระบวนการสกัดหยาบ (Crude extract)	32
การกลั่นด้วยเครื่องระเหยแห้ง (Evaporator Distillation)	36
เทคนิคโครมาโตกราฟีแบบเยื่อบาง (Thin layer chromatography, TLC)	37
การกลั่นลำดับส่วน (Fractional distillation)	44
ปัญหา-อุปสรรค และข้อเสนอแนะ	45
บรรณานุกรม	

การจัดแยกสารเคมีภายในห้องปฏิบัติการ

การจัดแยกสารเคมีในห้องปฏิบัติการ

การใช้สารเคมีเป็นปัจจัยเสี่ยงที่อาจเกิดอันตรายได้ โดยเฉพาะการใช้สารเคมีในห้องปฏิบัติการมีเป็นจำนวนมาก ดังนั้น ทุกห้องปฏิบัติการจึงต้องให้ความสำคัญในการควบคุมและจัดการสารเคมีที่ใช้ในแต่ละห้องปฏิบัติการเริ่มตั้งแต่ การจัดซื้อ การเคลื่อนย้าย การจัดเก็บ การใช้ และการกำจัดของเสียที่เกิดขึ้นจากการใช้สารเคมี

การแยกประเภทสารเคมีในห้องปฏิบัติการ

1. การแยกตามสถานะ เช่น ของแข็ง ไวไฟ (flammable solid) ของแข็งทำปฏิกิริยารว่งไว กับน้ำ (water reactive solids) ของเหลว เช่น ของเหลวออกซิไดส์ (oxidizing liquids) ของเหลวที่มีฤทธิ์เป็นกรด (acid liquids) แก๊สบรรจุที่อัดความดัน เช่น แก๊สพิษ (toxic gases) แก๊สเฉื่อย (inert gases)
2. การแยกตามความเป็นอันตราย เช่น สารที่ไม่เสถียร (unstable chemicals) สารที่ทำปฏิกิริยากับน้ำ (chemicals that react with water) สารกัดกร่อน (corrosive chemicals) สารเปอร์ออกไซด์อินทรีย์ (organic peroxides)
3. แยกตามความเข้ากันได้/ไม่ได้ซึ่งสารเคมี ที่เข้ากันไม่ได้ (incompatible chemicals) ต้องจัดเก็บ ให้ห่างกันเพราะหากสารสัมผัสกันจะเกิดอันตรายจากการ ที่สารทำปฏิกิริยากันก่อให้เกิดความร้อนสูงจนลุกไหม้ หรือระเบิด หรือให้แก๊สพิษออกมาได้ ตัวอย่างสารเคมี ที่เข้ากันไม่ได้เช่น nitrate เข้าไม่ได้กับ sulfuric acid หรือ arsenic compounds เข้าไม่ได้กับ reducing agents

4. ระบบการจำแนกประเภท การติดฉลากและข้อมูลเกี่ยวกับความเป็นอันตรายของสารเคมี (Globally Harmonized System, GHS) โดยใช้สัญลักษณ์แสดง ความเป็นอันตราย และระดับความรุนแรงของอันตราย จากสารเคมีซึ่งแบ่งความเป็นอันตรายเป็น 3 ด้านคือ ด้านกายภาพ สุขภาพ และสิ่งแวดล้อม



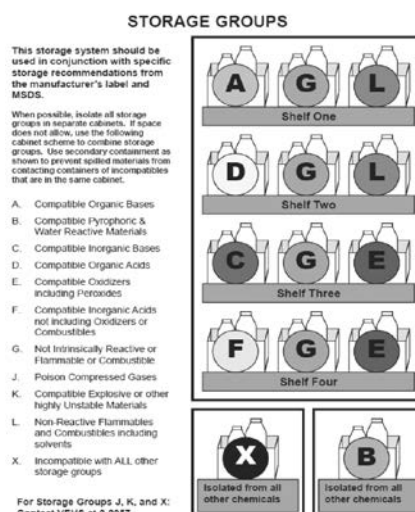
ภาพที่ 1 ภาพตัวอย่างแสดงสัญลักษณ์ข้อมูลเกี่ยวกับการอันตรายของสารเคมี (Globally Harmonized System, GHS)

หลักการจัดเก็บสารเคมีในห้องปฏิบัติการ

หลักการในการจัดเก็บสารเคมีในห้องปฏิบัติการ

เมื่อทำการแยกประเภทสารเคมีที่มีตามหลักการแยกประเภทของสารเคมีแล้ว ก็ควรมีหลักการจัดเก็บสารเคมี ซึ่งควรพิจารณาตามข้อปฏิบัติต่างๆดังนี้

1. การจัดการข้อมูลสารเคมีและเอกสารข้อมูลความปลอดภัย (Safety Data Sheet: SDS) โดยจัดทำ บัญชีข้อมูลสารเคมี ควรบันทึกข้อมูล ปริมาณการใช้ และเชื่อมโยงกับ ข้อมูลความปลอดภัยที่มีการตรวจสอบ ความถูกต้องและความทันสมัยของข้อมูลความปลอดภัย อยู่เสมอ ที่สำคัญคือต้องจัดเก็บข้อมูลความปลอดภัยใน ตำแหน่งที่ ผู้ปฏิบัติงานสามารถนำมาใช้งานได้ทันที
2. การสำรวจและคัดออกของสารเคมีที่หมดอายุ และเลิกใช้เป็นการกำจัดสารเคมี ที่ไม่ต้องการใช้หรือใช้ ไม่ได้ออกจากห้องปฏิบัติการ เพื่อลดความเสี่ยงอันตราย จากสารเคมีที่ไม่จำเป็น ทั้งนี้ต้องปรับข้อมูลในระบบให้ ถูกต้องและทันสมัยอยู่เสมอ
3. การจัดเก็บสารเคมี ควรจัดเก็บในบริเวณที่มีความปลอดภัย มีการจัดเรียงอย่างเป็น ระบบ จัดเก็บ ตามลำดับ การเข้ามาก่อน-หลัง และต้องมีตำแหน่ง การเก็บที่แน่นหนา สะดวกต่อการนำสารเคมีมาใช้งาน จัดเก็บสารเคมีโดยแยกตามประเภทของสารเคมี หรือ คำแนะนำใน SDS ดังตัวอย่าง



ภาพที่ 2 ภาพตัวอย่างการจัดเก็บสารเคมี

4. การเคลื่อนย้ายสารเคมีต้องทำด้วยความระมัดระวังปฏิบัติตามข้อกำหนดความปลอดภัยของสารเคมีนั้นๆ ผู้เคลื่อนย้ายต้องใช้อุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล เช่น ถุงมือ แวนตานิรภัย เสื้อคลุมปฏิบัติการณ์ระหว่างการเคลื่อนย้าย

การจัดการของเสีย

วิธีที่ดีที่สุดในการจัดการ ของเสียในห้องปฏิบัติการคือ การป้องกันไม่ให้เกิดของเสีย หรือให้เกิดของเสียในปริมาณน้อยที่สุด ทำให้ค่าใช้จ่าย ในการจัดการของเสีย และผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ลดลงด้วย ส่วนแนวทางในการกำจัดของเสียจากห้องปฏิบัติการ เริ่มจากสำรวจและจัดการข้อมูลสารเคมี และของเสียเพื่อการบริหารจัดการและติดตามความ เคลื่อนไหวของสารเคมี และของเสียทั้งหมด ทำการจำแนก ประเภทของของเสียเพื่อเก็บรวบรวมแล้วนำไปบำบัด หรือ กำจัดด้วยวิธีที่ถูกต้องเหมาะสมและปลอดภัย เกณฑ์การจำแนกประเภทของเสียนั้นขึ้นอยู่กับชนิด ลักษณะความเป็นอันตราย อาจแยกได้หลายประเภท ขึ้นอยู่กับกิจกรรมที่ก่อให้เกิดของเสีย ชนิดของของเสีย หรือลักษณะอันตรายของของเสีย จากนั้นรวบรวมและ จัดเก็บของเสีย โดยใช้ภาชนะบรรจุและเก็บไว้ในบริเวณ ที่เหมาะสม ขั้นตอนสุดท้ายคือการบำบัดและกำจัด ของเสีย โดยอาศัยหลักการบำบัดเพื่อให้เป็นของเสียที่ไม่เป็นอันตรายหรือมีอันตรายน้อยลง ซึ่งของเสียบางชนิด สามารถบำบัดหรือกำจัดได้เองในห้องปฏิบัติการ ส่วน ของเสียที่ไม่สามารถบำบัดหรือกำจัดในห้องปฏิบัติการได้ ต้องส่งไปบำบัดหรือกำจัดยังโรงงานที่รับบำบัดหรือกำจัดต่อไป

การจัดเก็บสารเคมีในห้องปฏิบัติการเคมี

การจัดเก็บสารเคมีในห้องปฏิบัติการเคมีนั้นทำการจัดระบบ การแยกชนิด และประเภทของสารเคมีตามหลักการข้างต้น โดยทำการแยกสารเคมีที่เป็นของแข็งและของเหลว สารเคมีที่เป็นประเภทของแข็งจะถูกจัดเก็บไว้ในตู้เก็บสารเคมี และสารเคมีที่เป็นของเหลวนั้นจะถูกจัดเก็บไว้ในชั้นล่างของตู้ดูดควัน (hood)

สารเคมีที่ได้ทำการแบ่งประเภทแล้วนั้นจะทำการจัดเรียงตามชื่อสามัญ (Common name) โดยจัดเรียงตามหมวดหมู่ของตัวอักษรในภาษาอังกฤษ A-Z

การค้นหาสารเคมีจากตู้เก็บสาร

หากต้องการค้นหาสารเคมีในตู้เก็บสารด้วยตนเองสามารถทำได้โดย การค้นหาจากชื่อสามัญ(Common name)ของสารโดยหาจากบัญชีรายชื่อของสารเคมีเพื่อทำการตรวจสอบชั้นของที่เก็บสาร

ตัวอย่างเช่น

ต้องการหา สาร Sodium Hydroxide

ขั้นตอนการค้นหาสารเคมี

1. ตรวจสอบรายชื่อของสารเคมีจากหน้าตู้เก็บสาร



สารเคมี	ชนิด	ปริมาณ	สถานที่เก็บ	หมายเหตุ
Hydrochloric Acid	3	1		
Sulfuric Acid	3	1		
Nitric Acid	3	1		
Phosphoric Acid	3	1		
Acetic Acid	3	1		
Formic Acid	3	1		
Benzoic Acid	3	1		
Salicylic Acid	3	1		
Ascorbic Acid	3	1		
Glucuronic Acid	3	1		
Gallic Acid	3	1		
Ellagic Acid	3	1		
Shikic Acid	3	1		
Quinic Acid	3	1		
Glucuronic Acid	3	1		
Gallic Acid	3	1		
Ellagic Acid	3	1		
Shikic Acid	3	1		
Quinic Acid	3	1		

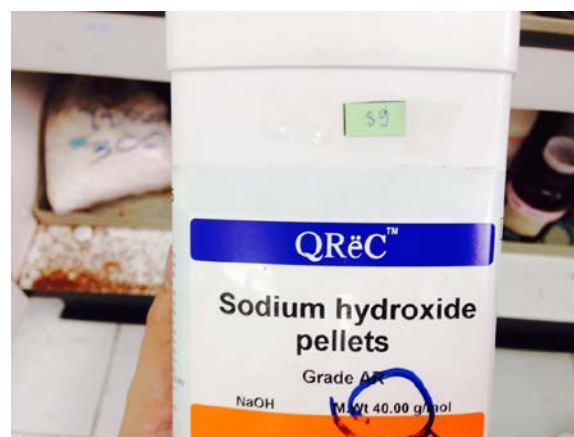
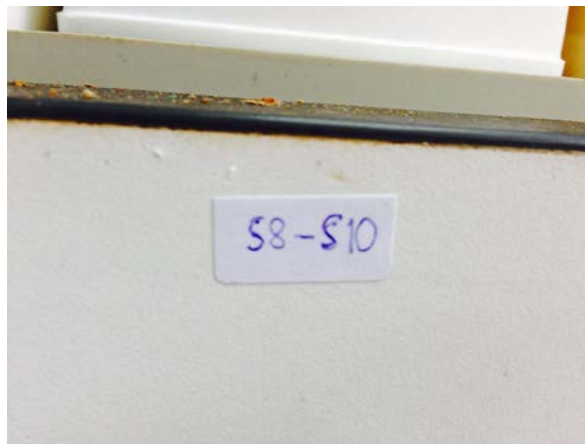
2. หารหัสของสาร และตำแหน่งของชั้นที่เก็บสาร

S8	Sodium Chloride	2	5
S9	Sodium Hydroxide	2	5
S10	Sodium Iodide	1	5

รหัสของสารเคมี

ชั้นเก็บสารเคมี

3. จากนั้นตรวจสอบสารเคมีที่ต้องการจากการรหัสของสารเคมีและชั้นที่เก็บสาร



รายชื่อสารเคมีในตู้เก็บสารเคมี

หมวด A			
ที่	ชื่อสามัญ	จำนวน (ขวด)	ชั้นที่
A1	Acetanilide	1	1
A2	Antimony Potassium Tartrate	1	1
A3	Aluminiumoxide	1	1
A4	Ammonium Acetate	1	1
A5	Ammonium Chloride	1	1
A6	Ammonium Fluoride	2	1
A7	Ammonium Iron (II) Sulfate	1	1
A8	Ammonium Molybdate	1	1
A9	Ammonium Oxalate	1	1
A10	Ammonium Sulfate	1	1
A11	Ammonium Vanadate	1	1
A12	L(+) – Arabinos	1	1
หมวด B			
ที่	ชื่อสามัญ	จำนวน (ขวด)	ชั้นที่
B1	Barium Hydroxide	2	1
B2	Benzoic Acid	2	1
หมวด C			
ที่	ชื่อสามัญ	จำนวน (ขวด)	ชั้นที่
C1	Calcium Carbide	1	
C2	Calcium Carbamate	1	
C3	Calcium Fluoride	1	
C4	Calcium Sulfate	2	

C5	Citric Acid	1	
C6	Copper Acetate	1	
C7	Cuprus Oxide	1	
C8	Charcoal (ผงถ่านไม้)	1	

หมวด D			
ที่	ชื่อสามัญ	จำนวน (ขวด)	ชั้นที่
D1	4-(N,N-Dimethylamio)-azobenzene	1	
D2	Dimethhylglyoxime	1	
D3	Diphenylamine-4-sulfunic Acid	1	
D4	Dextrin from potato starch	1	
หมวด E			
ที่	ชื่อสามัญ	จำนวน (ขวด)	ชั้นที่
E1	Ethelenediaminetetra acetate (EDTA)	1	
E2	Eriochrome Black T	1	
หมวด F			
ที่	ชื่อสามัญ	จำนวน (ขวด)	ชั้นที่
F1	Fuchsin Basic Pure For Schiff's Felgen	2	
หมวด I			
ที่	ชื่อสามัญ	จำนวน (ขวด)	ชั้นที่
I1	Iron (II) Sulfate	2	
I2	ผงตะไบเหล็ก (Iron metal filing)	2	
หมวด L			

ที่	ชื่อสามัญ	จำนวน (ขวด)	ชั้นที่
L1	Lead Meatal	1	
L2	Lead Nitrate	1	
หมวด M			
ที่	ชื่อสามัญ	จำนวน (ขวด)	ชั้นที่
M1	Magnesium Powder	2	
M2	Magnesium Sulfate	1	
M3	Manganese Sulfate	1	

หมวด M			
ที่	ชื่อสามัญ	จำนวน (ขวด)	ชั้นที่
M4	D(+) – Maltose Monohydrate	1	
M5	Mercury Sulfate	1	
M6	N,N-Methylenebisacylamine	4	
M7	Methylene Blue	1	
M8	Molybdenum (VI) Oxide	1	
M9	Mikrobiologie	1	
หมวด N			
ที่	ชื่อสามัญ	จำนวน (ขวด)	ชั้นที่
N1	Nickle Sulfate	1	
N2	2-Naphthol	1	
หมวด O			
ที่	ชื่อสามัญ	จำนวน (ขวด)	ชั้นที่

O1	Oxalic Acid	1	
หมวด P			
ที่	ชื่อสามัญ	จำนวน (ขวด)	ชั้นที่
P1	O-Phenanthroline	3	
P2	Potassium Bromide	1	
P3	Potassium Bromate	1	
P4	Potassium Chromate	3	
P5	Potassium DiChromate	1	
P6	Potassium Ferricyanide	1	
P7	Potassium Hydrogen Diiodate	1	
P8	Potassium Hydrogen Sulphate	1	
P9	Potassium Dihydrogen Phosphate	1	
P10	Potassium Iodide	1	
P11	Potassium Nitrate	1	

หมวด P			
ที่	ชื่อสามัญ	จำนวน (ขวด)	ชั้นที่
P12	Potassium Oxalate	1	
P13	Potassium Permanganate	1	
P14	Potassium Sulfate	1	
หมวด S			
ที่	ชื่อสามัญ	จำนวน (ขวด)	ชั้นที่
S1	Salicylic Acid	3	
S2	Silver Nitrate	1	
S3	Silver Sulfate	1	

S4	Sodium Azide	1	
S5	Sodium Carbamate	2	
S6	Sodium Chromate	1	
S7	Sodium Dichromate	1	
S8	Sodium Chloride	2	
S9	Sodium Hydroxide	2	
S10	Sodium Iodide	1	
S11	Sodium Nitroprusside	1	
S12	Sodium Sulphite	2	
S13	Sodium Thiosulfate	2	
S14	Steric Acid	1	
S15	Sulphamic Acid	1	
หมวด T			
ที่	ชื่อสามัญ	จำนวน (ขวด)	ชั้นที่
T1	Tartaric Acid	1	
หมวด Z			
ที่	ชื่อสามัญ	จำนวน (ขวด)	ชั้นที่
Z1	Zinc Chloride	1	

การขอใช้อุปกรณ์/เครื่องแก้ว และเครื่องมือ ในห้องปฏิบัติการ

การขอใช้อุปกรณ์/เครื่องแก้ว และเครื่องมือในห้องปฏิบัติการ

เพื่อความสะดวกในการจัดระเบียบอุปกรณ์/เครื่องแก้ว และเครื่องมือในห้องปฏิบัติการ และเพื่อการติดตามอุปกรณ์ต่างๆ ที่ผู้ยืมนั้นทำการยืมไปจากห้องปฏิบัติการ เพื่อไม่ให้เกิดการสูญหาย หรือเพื่อการตรวจสอบเมื่ออุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการนั้นเกิดการชำรุด

หากนักศึกษาหรืออาจารย์ในสถาบันนั้นมีความสนใจ ความต้องการ หรือความประสงค์ ในการใช้อุปกรณ์/เครื่องแก้ว หรือเครื่องมือของทางห้องปฏิบัติการ จำเป็นจะต้องกรอกแบบฟอร์ม เพื่อการขอรับบริการ ตามจุดประสงค์ของผู้ขอรับบริการ ดังนี้

- หากผู้ขอรับบริการมีความประสงค์จะยืม-คืน อุปกรณ์/เครื่องแก้ว และเครื่องมือ

ที่จะนำเคลื่อนย้ายออกนอกห้องปฏิบัติการ ให้ทำการกรอกแบบฟอร์มการขอรับบริการ ตาม แบบฟอร์มที่ 1

- หากผู้ขอรับบริการมีความประสงค์จะยืม-คืน อุปกรณ์/เครื่องแก้ว หรือเครื่องมือ (Instruments) ที่มีขนาดใหญ่ ที่มีความจำเป็นจะต้องใช้ภายในห้องปฏิบัติการเท่านั้น ให้ทำการกรอกแบบฟอร์มการขอรับบริการตาม แบบฟอร์มที่ 2





ตัวอย่างแบบฟอร์มที่ 1

แบบฟอร์มขอยืมอุปกรณ์/เครื่องมือ เครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการ

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันเทคโนโลยีปทุมวัน

☐ อาจารย์

☐ นักศึกษา

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

ข้าพเจ้า นาย/นาง/นางสาว.....นักศึกษาชั้นปีที่.....เลขประจำตัว.....

สาขาวิชา.....

ปฏิบัติงาน ☐ ปฏิญาณพนธ์ ☐ การทำวิจัย ☐ วิชา ☐ อื่นๆ.....

โดยมีอาจารย์.....เป็น ☐ ที่ปรึกษาโครงการ ☐ ผู้สอน

มีความประสงค์ขอยืมเครื่องมือ/เครื่องแก้ว อุปกรณ์ ดังรายการต่อไปนี้

ลำดับที่	รายการที่ยืม	จำนวนที่ยืม	จำนวนที่คืน

วันที่...../...../.....

วันที่ทำการยืม

วันที่...../...../.....

วันที่รับคืน

(ลงชื่อ).....

(.....)

นักวิทยาศาสตร์ผู้ดูแลห้องปฏิบัติการ

(ลงชื่อ).....

(.....)

นักวิทยาศาสตร์ผู้ดูแลห้องปฏิบัติการ

ตัวอย่างแบบฟอร์มที่ 2



แบบฟอร์มการขอใช้บริการเครื่องมือในห้องปฏิบัติการ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันเทคโนโลยีปทุมวัน

ข้าพเจ้า นาย/นาง/นางสาว.....นักศึกษาชั้นปีที่.....เลขประจำตัว.....
หน่วยงาน/สาขาวิชา.....โทรศัพท์.....

มีความประสงค์ที่จะขอใช้บริการ/เครื่องมือที่ต้องการใช้ในห้องปฏิบัติการ (โปรดระบุ)

1.
2.
3.

เพื่อ.....
.....
.....

วันและเวลาที่ต้องการใช้บริการ

- | | |
|-------------------------------|-----------------------------|
| 1.วัน.....เดือน.....พ.ศ. | เวลา.....น. ถึงเวลาน. |
| 2.วัน.....เดือน.....พ.ศ. | เวลา.....น. ถึงเวลาน. |
| 3.วัน.....เดือน.....พ.ศ. | เวลา.....น. ถึงเวลาน. |

(ลงชื่อ).....

(.....)

ตำแหน่ง.....

ผู้ขอรับบริการ

(ลงชื่อ).....

(.....)

นักวิทยาศาสตร์ผู้ดูแลห้องปฏิบัติการ

การจัดเก็บอุปกรณ์และครุภัณฑ์สำหรับห้องปฏิบัติการ

เพื่อให้เกิดความเป็นระเบียบเรียบร้อย และความสะดวกในการใช้งาน ความปลอดภัยใน
ห้องปฏิบัติการ และป้องกันการสูญหายของครุภัณฑ์และอุปกรณ์ในห้องแลป จึงจัดระบบการเก็บครุภัณฑ์ใน
ห้องปฏิบัติการตามหลักการ 5 ส ดังนี้

กิจกรรม 5ส เป็นกระบวนการหนึ่งที่เป็นระบบมีแนวปฏิบัติ ที่เหมาะสมสามารถนำมาใช้เพื่อ
ปรับปรุงแก้ไขงานและรักษาสิ่งแวดล้อมในสถานที่ทำงานให้ดีขึ้น ทั้งในส่วนงานด้านการผลิต
และด้านการบริการ ซึ่งนำมาใช้ในการเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานขององค์กร ได้อีกทางหนึ่ง

สะสาง Seiri (เซริ) (ทำให้เป็นระเบียบ) คือ การแยกระหว่างของที่จำเป็นต้องใช้กับของ
ที่ไม่จำเป็นต้องใช้จัดของที่ไม่จำเป็นต้องใช้ทิ้งไป

สะดวก Seiton (เซตง) = สะดวก (วางของในที่ที่ควรอยู่) คือ การจัดวางของที่จำเป็นต้องใช้
ให้เป็นระเบียบสามารถหยิบใช้งานได้ทันที

สะอาด Seiso (เซโซ) = สะอาด (ทำความสะอาด) คือการปิดกวาดเช็ดถูสถานที่
สิ่งของ อุปกรณ์ เครื่องมือเครื่องจักร ให้สะอาดอยู่เสมอ

สุขลักษณะ Seiketsu (เซเคทซึ) = สุขลักษณะ (รักษาความสะอาด) คือ การรักษา
และปฏิบัติ 3ส ได้แก่ สะสาง สะดวก และสะอาดให้ดีตลอดไป

สร้างนิสัย Shitsuke (ชิทซึเคะ) = สร้างนิสัย (ฝึกให้เป็นนิสัย) คือ การรักษาและปฏิบัติ
4ส หรือสิ่งที่ กำหนดไว้แล้วอย่างถูกต้องจนติดเป็นนิสัย

ความปลอดภัยในการใช้งานห้องปฏิบัติการ

การปฏิบัติในการใช้ห้องปฏิบัติการ



เพื่อให้ผลที่ได้มีความผิดพลาดน้อยที่สุดและเกิดความปลอดภัยต่อผู้วิเคราะห์
เมื่ออยู่ในห้องปฏิบัติการจึงควรปฏิบัติดังต่อไปนี้ (ประเสริฐ, ๒๕๓๙; Garfield, 1991; Beran,
1993)

ข้อควรปฏิบัติ

- ✓ อุปกรณ์ต่างๆ ที่นำมาใช้ในการวิเคราะห์ต้องสะอาด ความสกปรกเป็นสาเหตุ สำคัญประการหนึ่งที่ทำให้ผลการวิเคราะห์ผิดพลาดหรือคลาดเคลื่อนไป
- ✓ ก่อนนำเอาสารละลายในขวดไปใช้ จะต้องดูข้อมูลสารบนฉลากติดขวดสารละลาย อย่างน้อยสองครั้ง เพื่อให้แน่ใจว่าใช้สารที่ต้องการไม่ผิด
- ✓ หลังการวิเคราะห์ตัวอย่างแต่ละครั้งต้องล้างมือให้สะอาด โดยเฉพาะอย่างยิ่งก่อนกินอาหาร เพราะอาจมีสารเคมีที่เป็นอันตรายเปื้อนอยู่
- ✓ เมื่อเกิดไฟไหม้ในห้องปฏิบัติการ จะต้องรีบนำสารที่ติดไฟง่ายออกไปให้ห่างจากไฟมากที่สุด ผู้ใช้ห้องปฏิบัติการทุกคนควรจรรู้แหล่งที่เก็บเครื่องดับเพลิงและรู้จักวิธีใช้ ทั้งนี้เพื่อสะดวกในการนำมาใช้ได้ทันเวลาที่
- ✓ หากนักศึกษาเกิดอุบัติเหตุในขณะที่ทำการวิเคราะห์ ต้องรายงานอุบัติเหตุที่เกิดขึ้นทุกครั้งกับ **อาจารย์หรือนักวิทยาศาสตร์** ไม่ว่าจะเกิดมากหรือน้อยเพียงใดก็ตาม
- ✓ เมื่อต้องการจะเตรียมหรือใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายหรือสารที่ว่องไวต่อปฏิกิริยา หรือสารที่มีกลิ่นเหม็นจะ **ต้องทำในตู้ควันเสมอ**
- ✓ เมื่อการวิเคราะห์ได้ใช้สารที่เป็นอันตราย หรือเป็นการวิเคราะห์ที่อาจจะระเบิดได้ นักศึกษาควรสวมแว่นตานิรภัยเพื่อป้องกันอันตรายที่อาจจะเกิดขึ้น
- ✓ เมื่อเสร็จสิ้นการวิเคราะห์ ต้องทำความสะอาดพื้นโต๊ะปฏิบัติการ แล้วล้างมือให้สะอาดก่อนออกจากห้องปฏิบัติการ

ข้อห้าม

- ❌ ห้ามสูบบุหรี่ในห้องปฏิบัติการ เพราะการสูบบุหรี่อาจทำให้สารที่ติดไฟง่ายติดไฟได้ หรืออาจทำให้อนุภาคของสารเคมีที่ระเหยกลายเป็นไอถูกเผาผลาญในขณะที่สูบบุหรี่ แล้วถูกดูดเข้าไปในปอด นอกจากนี้ควันบุหรี่ยังมีสารอินทรีย์และโลหะหนักบางชนิดปนเปื้อนอยู่
- ❌ ไม่รับประทานอาหารหรือเครื่องดื่มในห้องปฏิบัติการ และไม่นำเครื่องแก้วหรืออุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเป็นภาชนะใส่อาหารหรือเครื่องดื่ม
- ❌ ห้ามชิมสารเคมีหรือสารละลาย เพราะสารเคมีส่วนมากเป็นพิษอาจเกิดอันตรายได้
- ❌ อย่าใช้มือหยิบสารเคมีใดๆ เป็นอันตราย และพยายามไม่ให้ส่วนอื่นๆ ของร่างกายถูกสารเคมีด้วย
- ❌ ห้ามเทน้ำลงบนกรดเข้มข้นทุกชนิด ในการเตรียมสารละลายกรดจะต้องค่อยๆ เทกรดเข้มข้นลงในน้ำอย่างช้าๆ พร้อมกับกวนตลอดเวลา
- ❌ ห้ามดมสารเคมีโดยตรง ควรถือขวดที่ใส่สารเคมีไว้ห่างตัวประมาณ ๑ ฟุต แล้วใช้มือโบกพัดกลั่นสารเคมีเข้าหาตัว อย่าสูดดมกลั่นสารเคมีแรงๆ
- ❌ อย่าทิ้งของแข็งต่างๆ ที่ไม่ต้องการ เช่น ไม้ขีดไฟ หรือแผ่นกรองที่ใช้แล้ว ฯลฯ ลงในอ่างน้ำเป็นอันตราย ควรทิ้งในถังขยะที่จัดไว้ให้

ข้อควรปฏิบัติเมื่อสารเคมีหก

๑. **สารที่เป็นของแข็ง** เมื่อสารเคมีที่เป็นของแข็งหกควรใช้แปรงกวาดรวมกันใส่ในช้อนตักหรือกระดาษแข็งก่อน แล้วจึงนำไปใส่ในภาชนะสำหรับเก็บสารที่ไม่ใช้

๒. **สารละลายที่เป็นกรด** เมื่อกรดหกจะต้องรีบทำให้เจือจางด้วยน้ำก่อน แล้วโรยโซดาแอส หรือ โซเดียมไบคาร์บอเนต หรือเทสารละลายต่าง เพื่อทำให้กรดเป็นกลาง ต่อจากนั้นจึงล้างด้วยน้ำให้สะอาด

ข้อควรระวัง เมื่อเทน้ำลงบนกรดเข้มข้นที่หก เช่น กรดซัลฟูริกเข้มข้น จะมีความร้อนเกิดขึ้นมากและกรดอาจกระเด็นออกมา จึงควรค่อยๆ เทน้ำลงไปหลายๆ เพื่อให้กรดเจือจาง

๓. **สารละลายที่เป็นด่าง** เมื่อสารเคมีที่เป็นด่างหกจะต้องเทน้ำลงไป เพื่อลดความเข้มข้นของด่างแล้วเช็ดให้แห้ง โดยใช้ไม้มิที่ปูผุๆที่ปลายสำหรับซับน้ำบนพื้น พยายามอย่าให้กระเด็นขณะเช็ด เนื่องจากสารละลายด่างจะทำให้พื้นลื่น เมื่อล้างด้วยน้ำหลายๆ ครั้งแล้วยังไม่หายควรใช้ทรายโรยบริเวณที่ต่างหาก แล้วเก็บกวาดทรายออกไป จะช่วยแก้ปัญหานี้ได้

๔. **สารที่เป็นน้ำมัน** สารพวกนี้เช็ดออกได้โดยใช้น้ำมันมากๆ เมื่อเช็ดออกแล้วพื้นบริเวณที่สารหกจะลื่น จึงต้องล้างด้วยผงซักฟอกอีกครั้งหนึ่ง เพื่อให้สารที่ติดอยู่ออกไปให้หมด

๕. **สารปรอท** เนื่องจากสารปรอทไม่ว่าจะอยู่ในรูปใดล้วนเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต ทั้งสิ้นเพราะทำอันตรายต่อระบบประสาท ทำให้มีอาการทางประสาท เช่น กล้ามเนื้อเต้น มึนงง ความจำเสื่อม ถ้าได้รับเข้าไปมากๆ อาจทำให้แขนขาพิการหรือถึงตายได้ ดังนั้นการวิเคราะห์ใดที่เกี่ยวข้องกับสารปรอทต้องใช้ความระมัดระวังให้มากในกรณีที่สารปรอทหกวิธีการที่ถูกต้องควรปฏิบัติดังนี้

๑). กวาดสารปรอทมากองรวมกัน

๒). เก็บสารปรอทโดยใช้เครื่องดูด

ถ้าพื้นที่สารปรอทหกรอยแตกหรือรอยร้าว จะมีสารปรอทเข้าไปอยู่ข้างใน จึงไม่สามารถเก็บปรอทโดยใช้เครื่องดูดดังกล่าวได้ ควรปิดรอยแตกหรือรอยร้าวด้วยซีเมนต์ทาพื้นหนาๆ เพื่อกันการระเหยของปรอทหรืออาจใช้ผงกำมะถันพรมลงไป ปรอทจะเปลี่ยนเป็นสารประกอบซัลไฟด์ แล้วเก็บกวาดอีกครั้งหนึ่ง

การปฐมพยาบาลเมื่อถูกสารเคมี



สารเคมีกรดผิวหนัง

- พิจารณาว่าสารเกิดปฏิกิริยาเคมีกับน้ำหรือไม่
 - กรณีที่สารเกิดปฏิกิริยาเคมีกับน้ำ (เช่น โลหะโซเดียม โลหะโพแทสเซียม กรดกำมะถันเข้มข้น) ใช้ผ้าที่สะอาดเช็ดสารออกจากบริเวณผิวหนัง แล้วล้างออกด้วยน้ำทันที อย่างน้อย 15 นาที
 - กรณีที่สารไม่เกิดปฏิกิริยาเคมีกับน้ำ ให้ล้างออกด้วยน้ำทันทีอย่างน้อย 15 นาที
- กรณีสารกรดร่างกายบริเวณที่มีเสื้อผ้าปกคลุมให้รีบถอดเสื้อผ้าออก แล้วล้างออกหรืออาบน้ำแล้วแต่ปริมาณสารที่กรด
- เมื่อล้างออกด้วยน้ำแล้ว
 - หากเป็นแผลที่เกิดจากด่างกรด ให้ใช้สารละลายกรดน้ำส้มสายชูความเข้มข้น 1% (1% acetic acid) ชุบสำลีทำความสะอาดแผลอีกครั้ง
 - หากเป็นแผลที่เกิดจากกรดกรด ให้ใช้สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเจือจาง ชุบสำลีทำความสะอาดแผลอีกครั้ง
- หลังจากทำความสะอาดแผลแล้ว
 - กรณีทั่วไปให้ทาแผลด้วย magnesia-glycerol paste (แมกนีเซียมออกไซด์ (magnesium oxide) 200 กรัม ผสมกับกลีเซอริน (glycerine) 240 ลูกบาศก์เซนติเมตร)
 - กรณีถูกกรดไฮโดรฟลูออริก (hydrofluoric acid) ให้ทาแผลด้วย magnesium oxide 90 กรัม ผสมกับ heavy mineral oil 120 ลูกบาศก์เซนติเมตร และวาสลีนขาว (white Vaseline) 330 ลูกบาศก์เซนติเมตร
 - กรณีถูกฟีนอล (phenol) ให้ทาแผลด้วยกลีเซอริน (glycerine) อิมัลชันด้วยโบรมีน (bromine)
 - กรณีถูกฟอสฟอรัสให้ใช้สำลีชุบสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต (copper sulfate) ความเข้มข้น 3% ปิดแผลไว้ประมาณ 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำ

สารเคมีเข้าตา

รีบล้างออกด้วยน้ำสะอาด โดยพยายามลืมตาในน้ำและเปิดเปลือกตาออก อย่างน้อย 15 นาที เพื่อล้างสารเคมีที่ค้างอยู่ใต้เปลือกตาออกให้หมด จากนั้นจึงไปพบแพทย์

คำแนะนำในการป้องกันอันตราย

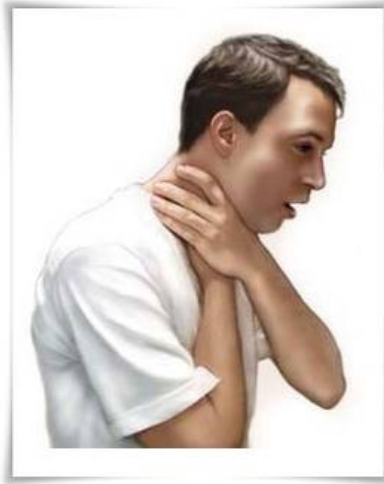
การแก้ไขเมื่อสารเข้าตาแล้วอาจสายเกินแก้ วิธีป้องกันจึงเป็นทางเลือกที่ดีกว่า สิ่งที่คุณปฏิบัติงานเกี่ยวข้องกับสารเคมีทุกคนควรปฏิบัติมีดังนี้

- ผู้ที่สายตาสั้นหรือยาว ไม่ควรใช้ contact lens ขณะปฏิบัติงานเกี่ยวข้องกับสารเคมี
- ควรสวมแว่นป้องกันตาขณะปฏิบัติงานเกี่ยวข้องกับสารเคมี
- ปฏิบัติงานเคมีที่รุนแรงควรทำในตู้ดูดควัน และต้องสังเกตปฏิกิริยาผ่านกระจกนิรภัย



การล้างควรใช้น้ำเปล่า ล้างโดยระวังอย่าให้น้ำที่ล้างไปโดนทำอันตรายส่วนอื่น

การสูดแก๊สหรือไอพิษ



- หากรู้สึกผิดปกติเกิดขึ้นกับร่างกายในขณะที่ปฏิบัติงานเกี่ยวข้องกับสารเคมี เช่น วิงเวียนศีรษะ ปวดศีรษะ แสบตา แสบจมูก หรือได้กลิ่นผิดปกติ เป็นต้น ให้รีบหนีออกจากบริเวณนั้นไปสูดอากาศในที่โล่ง
- ควรเปิดประตูหน้าต่างเพื่อทำให้ความเข้มข้นของแก๊สเจือจางลง หากแก๊สที่รั่วไหลเป็นแก๊สไวไฟ ควรหลีกเลี่ยงการกระทำใดๆ ที่จะก่อให้เกิดประกายไฟ เช่น ปิดสวิตช์เครื่องใช้ไฟฟ้า เป็นต้น
- การช่วยเหลือผู้ป่วยหมดสติ ผู้ช่วยเหลือควรสวมหน้ากากป้องกันแก๊สพิษ หรือสวมเครื่องช่วยหายใจ จากนั้นจึงรีบนำผู้ป่วยไปยังพื้นที่โล่งแจ้ง
- แก๊สบางชนิดสามารถซึมเข้าสู่ผิวหนังได้ เช่น คาร์บอนมอนอกไซด์ (carbon monoxide), ไฮโดรเจนไซยาไนด์ (hydrogen cyanide), ไนตริกออกไซด์ (nitric oxide), ฟอสจีน (phosgene) และซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (sulfur dioxide) เป็นต้น การเข้าไปในบริเวณที่มีแก๊สเหล่านี้นอกจากต้องสวมหน้ากากและเครื่องช่วยหายใจแล้ว จำเป็นต้องสวมเสื้อผ้าปกปิดร่างกายให้มิดชิดด้วย
- ผู้ป่วยที่ได้รับพิษไฮโดรเจนไซยาไนด์ (hydrogen cyanide) อาจช่วยเหลือโดยให้ดมเอมิลไนไตร (amyl nitrite) หรือแอมโมเนีย (ammonia) ทุก 5 นาที ติดต่อกันประมาณ 20 นาที หากผู้ป่วยหยุดหายใจให้รีบผายปอด

การกลืนกินสารเคมี



อุบัติเหตุจากการกลืนกินสารเคมีไม่เกิดขึ้นบ่อยนัก หากผู้ปฏิบัติงานเกี่ยวข้องกับสารเคมีปฏิบัติงานอย่างเหมาะสม เช่น ไม่ดูดไปเปิดด้วยปาก ไม่ดูดท่อหรือสายยางด้วยปาก เมื่อต้องการถ่ายเทสารเคมีด้วยวิธีกาลักน้ำ (siphon) เป็นต้น หลักในการปฐมพยาบาลโดยทั่วไปมีดังนี้

- พยายามทำให้อาเจียนโดยการใช้นิ้วหรือวัสดุไม่มีคมกดโคนลิ้น ยกเว้นการกลืนสารกัดกร่อนรุนแรงห้ามทำให้เกิดการอาเจียนโดยเด็ดขาด
- หากผู้ป่วยหมดสติ การทำให้อาเจียนจะต้องให้ผู้ป่วยนอนคว่ำ ศีรษะต่ำกว่าสะโพกเพื่อป้องกันการสำลักเข้าปอด
- พยายามดื่มน้ำมากๆ
- ดื่มน้ำแก้มขี้ยา ยาแก้มขี้ยาที่ใช้ได้ทั่วไปประกอบด้วยถ่านกัมมัน (activated charcoal) 2 ส่วน ผสมกับแมกนีเซียมออกไซด์ (magnesium oxide) 1 ส่วน และกรดแทนนิก (tannic acid) 1 ส่วน ละลายส่วนผสมนี้ 15 กรัมในน้ำ 125 มิลลิลิตร

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ (PDA : Potato Dextrose Agar) สำหรับเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดบริสุทธิ์

ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อบริสุทธิ์นั้นจำเป็นต้องนำส่วนผสมลงไปด้วย เพื่อทำหน้าที่พองเส้นใยให้เจริญบนผิวและให้ความชื้นระหว่างการเจริญเติบโต สูตรอาหารวุ้นที่นิยมใช้กันมากในการเพาะเห็ดคือ PDA (Potato Dextrose Agar) เพราะเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่สามารถเตรียมได้ง่ายและสามารถหาซื้อได้ตามท้องตลาดทั่วไป

ส่วนผสมสำหรับการเตรียม PDA

1. มันฝรั่งจำนวน 200 – 300 กรัม หรือ 10 ส่วนโดยปริมาตร
2. น้ำตาล Dextrose หรือ Glucose จำนวน 20 กรัม หรือ 1 ส่วน
3. วุ้นทำขนมประมาณ 15 – 20 กรัม หรือ 1 ส่วน
4. น้ำกลั่นหรือน้ำสะอาด จำนวน 1,000 มิลลิลิตร หรือ 50 ส่วน

วิธีการทำ

1. นำมันฝรั่งมาปอกเปลือก แล้วหั่นเป็นชิ้นเล็กๆขนาดประมาณลูกเต๋า หรือประมาณ 1 x 1 ลบ.ซม.
2. นำมันฝรั่งมาต้มกับน้ำสะอาดปริมาณ 1,000 ซี.ซี. โดยใช้ไฟอ่อน ทั้งนี้หากต้มด้วยไฟแรงอาจจะทำให้มันฝรั่งเปื่อยยุ่ย และละลายออกมาอาจจะทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อมีลักษณะขุ่นขาว ซึ่งหากอาหารมีลักษณะขุ่นจะทำให้ยากต่อการสังเกตการณ์การเดินของเส้นใยเห็ด การต้มมันฝรั่งด้วยไฟอ่อนอาจต้องใช้เวลาประมาณ 15 – 20 นาที นับจากน้ำเดือด ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของวุ้น
3. กรองเอากากมันฝรั่งออกแล้วตม้ที่กรองแล้วต่อไป จากนั้นจึงเติมน้ำตาล Dextrose หรือ Glucose ปริมาณตามสูตรลงไป คนจนกระทั่งน้ำตาลละลายหมด
4. ส่วนวุ้นทำขนมควรนำมาผสมกับน้ำเย็นเสียก่อน เพราะหากใส่ลงไปในขณะที่ของเหลวจะร้อนอาจจะทำให้วุ้นจับกันเป็นก้อนได้หลังจากนำอาหารวุ้นผสมกับน้ำเย็นแล้ว จึงเทกลับลงไปในส่วนผสม
5. เมื่ออาหารวุ้นละลายหมดจึงค่อยทำการเทส่วนผสมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ลงใน Sterile Plastic Plates ปริมาณ 20 – 30 ซี.ซี.

การกลั่นด้วยเครื่องระเหยแห้ง (Evaporator Distillation)

หลักการ

Evaporator เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการระเหยสารตัวอย่างที่เป็นของเหลวโดยการกลั่นเพื่อแยกตัวทำละลายที่ผสมอยู่ออกจากสารที่สนใจ ทำให้สารที่สนใจเข้มข้นขึ้น โดยตัวทำละลายที่ละลายสารที่สนใจจะถูกทำให้กลายเป็นไอ ด้วยระบบสุญญากาศจาก pump และให้ความร้อนแก่ตัวอย่าง เพื่อให้การกลายเป็นไอง่ายขึ้น จากนั้นไอสารละลายจะผ่าน condenser ที่มีระบบหล่อเย็น ทำให้ไอสารควบแน่นกลายเป็นของเหลว ไหลลงสู่ receiving flask โดยระบบประกอบด้วยส่วนสำคัญ 3 ส่วนคือ

1. ส่วนให้ความร้อนและกลั่นแยกสาร (Rotary Evaporator)

- 1.1. เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการระเหยสารตัวอย่าง โดยกลั่นเพื่อแยกตัวทำละลายที่ผสมอยู่
- 1.2. สามารถควบคุมความเร็วในการหมุนได้
- 1.3. มีอ่างให้ความร้อนที่สามารถใช้กับของเหลวที่เป็นน้ำหรือน้ำมัน ในกรณีน้ำช่วงที่เหมาะสมตั้งแต่ 20 °C ถึง 85 °C และใช้ได้ถึง 250 °C ในกรณีน้ำมัน

2. ส่วนทำสุญญากาศภายในระบบ

- 2.1. เป็นส่วนทำสุญญากาศภายในระบบส่วนใหญ่เป็นแบบ Pump สุญญากาศ
- 2.2. เครื่องในปัจจุบันควบคุมความดันแบบอิเล็กทรอนิกส์ สามารถควบคุมความดันได้ตั้งแต่ ความดันบรรยากาศ ถึง 0 mbar
- 2.3. เครื่องใหม่ ๆ จะมีระบบ condenser ชุดที่สอง ในการควบแน่นตัวทำละลายที่ระเหยผ่าน condenser ชุดที่หนึ่งออกมา (รูปที่เอามา คิดว่าน่าจะมี condenser ชุดเดียวจะครบ)

3. ส่วนควบคุมอุณหภูมิภายในระบบ

- 3.1. เป็นอ่างน้ำหมุนเวียนที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้ต่ำกว่าอุณหภูมิห้อง
- 3.2. ช่วงปรับอุณหภูมิที่เหมาะสม จากประสบการณ์ที่มี ควรอยู่ในช่วง น้ำไม่เป็นน้ำแข็ง (มากกว่า 0 องศา, เคยใช้อุณหภูมิใกล้จุดเยือกแข็งของน้ำมากเกินไป สารควบแน่นออกมาดีขึ้นก็จริง แต่ต้องปิดระบบ จัดน้ำแข็งก็บ่อยเหลือเกิน) ถึงไม่เกิน 10 องศา

สิ่งที่ควรทำหลังการใช้งานเครื่อง Rotary Evaporator

เมื่อตัวทำละลายระเหยออกได้ตามที่ต้องการ ให้เอา สารออกจาก Evaporation flask แล้ว ตัวทำละลายที่ระเหยออกมาได้ใน collection flask ให้นำไปทิ้งใน waste ที่เหมาะสมตามชนิดตัวทำละลาย เพื่อนำไปจัดการที่ถูกต้อง เพราะตัวทำละลายพวกนี้ ถ้าทิ้งตาม อ่างน้ำ จะไม่ละลายน้ำ แยกชั้นชัดเจน เมื่อออกสู่สิ่งแวดล้อมก็เป็นพิษต่อระบบนิเวศ

ด้วย capillary action ก็จะทำให้สารตัวอย่างขึ้นไปด้วย จึงเกิดการแยกของสารเกิดขึ้น ตัวอย่างเช่น หากใช้ซิลิกาเป็นวัฏภาคหนึ่งและใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วต่ำเป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ สารที่มีขั้วน้อยจะละลายได้ดีในวัฏภาคเคลื่อนที่จึงเคลื่อนที่ขึ้นไปพร้อมกับวัฏภาคเคลื่อนที่ ส่วนสารที่มีขั้วมากจะถูกดูดซับไว้ที่วัฏภาคหนึ่งหรือซิลิกาจึงไม่เคลื่อนที่หรือเคลื่อนที่ได้น้อย จึงเกิดการแยกขึ้นในระบบ

เนื่องจากใช้สารปริมาณน้อยมากในการแยก เทคนิค TLC จึงเหมาะสมเป็นเครื่องมือวิเคราะห์มากกว่าที่จะเป็นเครื่องมือในการแยกสารเพื่อเก็บแต่ละองค์ประกอบ

การเลือกใช้ตัวทำละลายสำหรับเทคนิค TLC (solvent system)

ประสิทธิภาพในการแยกสารจะดีหรือไม่ อยู่ที่การเลือกใช้ระบบตัวทำละลายที่เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ เนื่องจากสารผสมที่อยู่ในสารตัวอย่างมีสภาพขั้วที่แตกต่างกัน หากเป็นสารที่มีขั้วมากก็จะถูกดูดซับไว้ที่ซิลิกาเจลได้ดีจึงไม่เคลื่อนที่หรือเคลื่อนที่ได้น้อย ส่วนสารที่มีสภาพขั้วต่ำซึ่งละลายได้ดีในตัวทำละลายที่เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ จะเคลื่อนที่ไปกับวัฏภาคเคลื่อนที่ได้ดี จึงทำให้เกิดการแยกในระบบ

ระบบตัวทำละลายที่เหมาะสม ต้องสามารถนำสารผสมในตัวอย่างเคลื่อนที่ออกจากจุดที่แต้มสารได้ทุกสาร ช่วงค่า Rf ที่ถือว่าเป็นระบบตัวทำละลายที่ดี ควรเคลื่อนที่สารให้มีช่วงค่า Rf ตั้งแต่ 0.15 – 0.85 (ตามทฤษฎีควรเป็น 0.2 – 0.4)

ตัวทำละลายที่เหมาะสมที่จะใช้เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ อาจเป็นระบบตัวทำละลายเดี่ยวหรือเป็นระบบตัวทำละลายผสมก็ได้ การเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมมีขั้นตอนในการเลือกดังนี้ เนื่องจากปกติแผ่น TLC จะมีวัฏภาคหนึ่งเป็นซิลิกาเจล (silica gel) ซึ่งมีขั้วสูง ตัวทำละลายที่จะเลือกจะมีสภาพขั้วต่ำกว่า ดังนั้นจึงควรเลือกตัวทำละลายที่มีขั้วต่างกันมาหลาย ๆ ชนิด เช่น ปิโตรเลียมอีเทอร์ เบนซีน อีเทอร์ และเมทานอล เรียงลำดับตามจากสภาพขั้วต่ำไปยังสภาพขั้วสูง การใช้กรดคาร์บอกซิลิก เช่น กรดอะซิติกก็สามารถใช้ได้แต่จะใช้ในอัตราส่วนที่ต่ำเพราะกรดมีฤทธิ์กัดกร่อนและมีขั้วสูงมาก เมทิลีนคลอไรด์และคลอโรฟอร์มเป็นตัวทำละลายที่ดีแต่มีความเป็นพิษจึงควรใช้เท่าที่จำเป็นเท่านั้น

เมื่อเรียงลำดับความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์แล้ว ให้วางแผ่น TLC ที่แต้มสารตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ลงบนแผ่น TLC แล้ววางลงในตัวทำละลายแต่ละชนิด ๆ ละแผ่น หาค่า Rf ของแต่ละแผ่นที่วางในตัวทำละลายแต่ละชนิด แล้วจึงเลือกตัวทำละลายที่สามารถแยกสารได้ดีที่สุด

หากระบบตัวทำละลายเดี่ยวไม่สามารถแยกสารได้ชัดเจน จะต้องเลือกใช้ระบบตัวทำละลายผสม โดยการผสมตัวทำละลายไม่มีขั้ว เช่น เฮกเซน กับตัวทำละลายมีขั้วเช่น เอทิล อะซิเตต หรืออะซิโตน ในอัตราส่วนต่าง ๆ แล้วเลือกอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุด

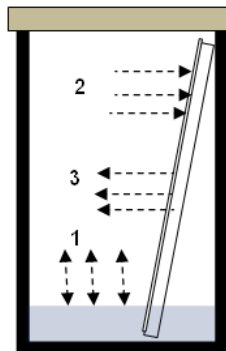
ขั้นตอนการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค TLC

1. การเตรียม TLC Chamber สำหรับการ develop แผ่น TLC

1.1 เตรียมตัวทำละลายผสมที่เหมาะสมกับสารที่ต้องการจะแยก

1.2 เติมตัวทำละลายในภาชนะอาจเป็นปิกเกอร์หรือโถแก้วที่มีขนาดเหมาะสมกับแผ่น TLC ที่ใช้ เติมตัวทำละลายที่เป็นเฟสเคลื่อนที่ กะประมาณให้ระดับของตัวทำละลายสูงจากก้นภาชนะไม่เกินระดับที่ขีดไว้บนแผ่น TLC ให้เส้นที่ขีดไว้อยู่เหนือระดับตัวทำละลายเล็กน้อย ปิดฝาให้สนิทแล้วตั้งไว้สักครู่เพื่อให้ไอของตัวทำละลายอิ่มตัวในระบบ

การทำให้ภายในภาชนะอิ่มตัวด้วยไอของตัวทำละลายเคลื่อนที่ เป็นการป้องกันไม่ให้ตัวดูดซับที่เป็นเฟสที่อยู่กับที่แห้งก่อนที่จะทำการทดลองเสร็จ โดยเมื่อวางแผ่น TLC ลงในภาชนะที่อิ่มตัวด้วยไอของตัวทำละลายเคลื่อนที่ ของแข็งที่เป็นตัวดูดซับส่วนด้านบนที่ยังไม่เปียกด้วยตัวทำละลายเคลื่อนที่จะดูดซับไอระเหยที่อยู่ภายในภาชนะไว้จนตัวดูดซับอิ่มตัวด้วยไอของตัวทำละลายเคลื่อนที่ ตัวทำละลายเคลื่อนที่ที่ซึมผ่านตัวดูดซับจากด้านล่างจะระเหยออกจากตัวดูดซับได้ช้าลงหรือไม่ระเหยออกไป ทำให้ตัวทำละลายเคลื่อนที่ เคลื่อนที่ผ่านตัวดูดซับได้เร็วขึ้น ผลการแยกจึงมีประสิทธิภาพดีกว่าและเร็วกว่าการที่ไม่ได้ทำให้ภายในภาชนะอิ่มตัวด้วยไอของตัวทำละลายเคลื่อนที่เสียก่อน ดังกระบวนการที่เกิดขึ้นต่อไปนี้



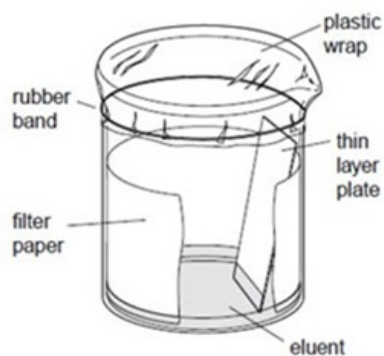
1. ตัวทำละลายที่เป็นเฟสเคลื่อนที่ระเหยกลายเป็นไอและเกิดสมดุลระหว่างสถานะแก๊สและของเหลวขึ้นภายใน chamber
2. เมื่อวางแผ่น TLC ลงใน chamber ตัวทำละลายจะซึมแพร่ขึ้นไปบนตัวดูดซับ ส่วนตัวดูดซับที่ยังแห้งอยู่ด้านบนจะดูดซับไอของตัวทำละลาย เกิดความอิ่มตัวของไอของตัวทำละลายที่ผิวของตัวดูดซับ
3. ในขณะที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่ขึ้นสู่ตัวดูดซับ จะมีตัวทำละลายบางส่วนระเหยกลายเป็นไอออกไปจากตัวดูดซับ

ดังนั้นจึงพบว่า หากไม่ทำให้ภายใน chamber อิ่มตัวด้วยไอของตัวทำละลายก่อนแล้ว อัตราการระเหยของตัวทำละลายออกจากตัวดูดซับจะเป็นไปได้มาก ทำให้ตัวดูดซับแห้งและไม่สามารถเคลื่อนที่ต่อไปได้อย่างสม่ำเสมอ และเคลื่อนที่ได้ช้าลง แต่หากภายใน chamber อิ่มตัวด้วยไอของตัวทำละลายแล้วอัตราการระเหย

ของตัวทำละลายออกจากตัวดูดซับจะน้อยลง ทำให้ตัวทำละลายเคลื่อนที่ไปได้ดี เกิดประสิทธิภาพในการแยกสารตัวอย่างได้ดีขึ้น

การวางกระดาษกรองที่เปียกชุ่มด้วยตัวทำละลายลงใน chamber เป็นการช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวสำหรับการระเหยกลายเป็นไอของตัวทำละลายให้มากขึ้น ทำให้ภายใน chamber อิ่มตัวด้วยไอของตัวทำละลายได้เร็วขึ้นด้วย

ภาพแสดงการวางกระดาษกรองที่เปียกชุ่มด้วยตัวทำละลายที่เป็นเฟสเคลื่อนที่ใน TLC chamber

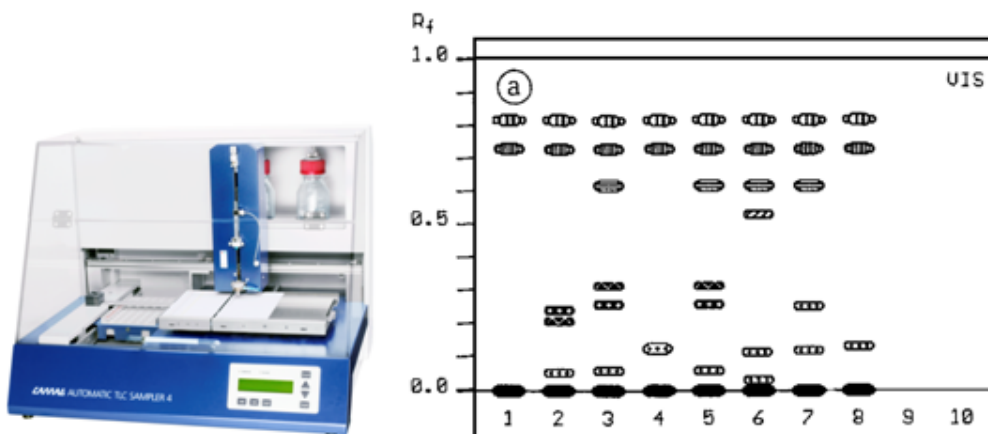


2. การใส่สารตัวอย่างลงบนแผ่น TLC

การใส่สารตัวอย่างลงบนแผ่น TLC สามารถทำได้ 2 ลักษณะ ได้แก่

2.1 ทำเป็นจุด (spot wise) โดยการใช้หลอดแคปิลารีปลายเล็กหยดสารตัวอย่างลงไป ต้องพยายามทำให้จุดที่หยดสารตัวอย่างลงมีขนาดเล็กที่สุด โดยส่วนมากขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางไม่ควรเกิน 2-3 มิลลิเมตร สามารถทำได้ด้วยมือ และใช้เครื่องมืออัตโนมัติ ที่สามารถกำหนดปริมาณของสารตัวอย่างที่หยดลงไปได้ด้วย

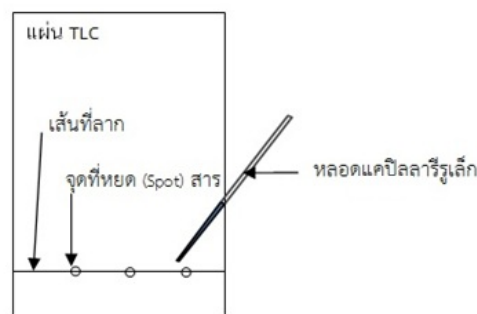
2.2 ทำให้เป็นแถบ (แบนด์ ; Bandwise) วิธีการนี้ต้องใช้เครื่องมืออัตโนมัติช่วย เนื่องจากมือคนไม่สามารถลากขนาดของแถบสารให้เท่ากันอย่างสม่ำเสมอได้ การใช้เครื่องมืออัตโนมัติจึงจะทำให้ได้แถบที่สม่ำเสมอและแม่นยำกว่า



ภาพแสดงเครื่องใส่สารตัวอย่างแบบแถบอัตโนมัติและแผ่น TLC ที่ใส่สารตัวอย่างแบบแถบ

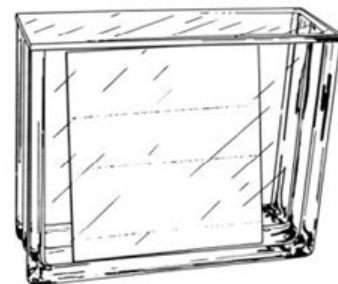
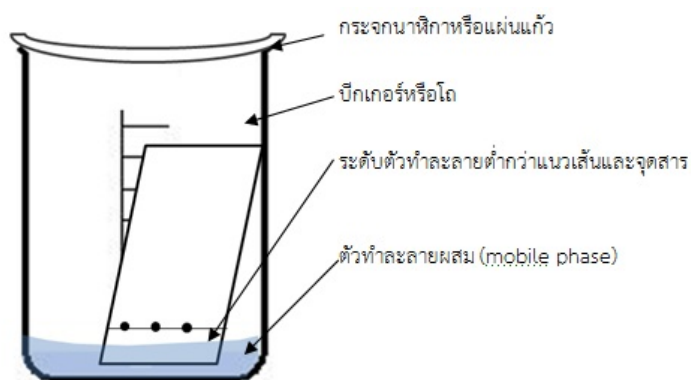
ขั้นตอนการใส่สารตัวอย่างลงในแผ่น TLC

1. ลากเส้นเบา ๆ อย่าให้ทะลุซิลิกาเจลที่เคลือบจนถึงแผ่นแก้ว ให้ห่างจากขอบประมาณ 1 – 1.5 เซนติเมตร ที่ด้านใดด้านหนึ่งของแผ่น TLC
2. หยด (spot) สารละลายที่ต้องการจะแยกด้วยหลอดคิปลาร์รูเล็ก พยายามอย่าให้จุดที่หยด (spot) ลงไปมีขนาดใหญ่เกินไป ลงบนซิลิกาเจลตามแนวเส้นที่ลากไว้ให้มีระยะห่างพอสมควรแล้วตั้งทิ้งไว้



ภาพแสดงขั้นตอนการหยดสารลงบนแผ่น TLC

3. นำแผ่น TLC มาวางในภาชนะ ปิดภาชนะด้วยกระจกนาฬิกาหรือแผ่นแก้วปิดโถ เพื่อป้องกันมิให้ตัวทำละลายระเหย



ภาพแสดงวิธีการวางแผ่น TLC ในโถตัวทำละลายเคลื่อนที่ และภาชนะแก้วหรือแท่งสำหรับใช้แช่แผ่น TLC

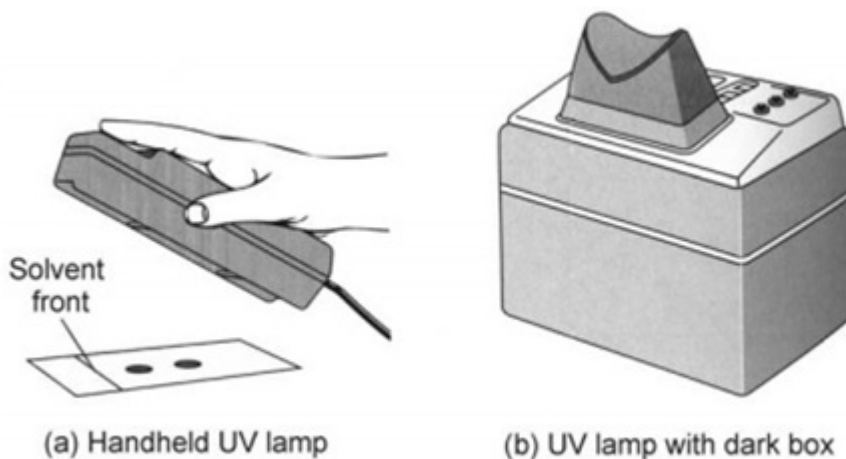
4. ตั้งทิ้งไว้ให้ตัวทำละลายสูงขึ้นประมาณสามในสี่ของแผ่น TLC นำออกมาทำเครื่องหมายที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่มาถึง (solvent front) แล้วปล่อยให้แห้งด้วยอากาศ หรือเป่าให้แห้งด้วยเครื่องเป่าร้อน (Dryer)

3. การอ่านผลหรือตรวจสอบผลการ develop แผ่น TLC

3.1 หากสารตัวอย่างที่วิเคราะห์สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ผู้ทดลองสามารถนำแผ่น TLC วิเคราะห์ผลได้เลย

3.2 สารตัวอย่างบางประเภทต้องนำไปย้อมด้วยสารเคมีชนิดอื่นก่อนจึงสามารถเห็นจุดของสารตัวอย่างที่แยกได้ เช่น การนำแผ่น TLC ไปวางไว้ในภาชนะที่เต็มไปด้วยไอระเหยของไอโอดีน ซึ่งไอระเหยของไอโอดีนจะถูกซึบเข้าไปในสารอินทรีย์ที่อยู่บนแผ่น TLC สารตัวอย่างที่เป็นสารอินทรีย์เมื่อดูดซับไอระเหยของไอโอดีนแล้วจะเปลี่ยนสีจากไม่มีสีกลายเป็นสีน้ำตาล จากนั้นจึงต้องรีบใช้ดินสอวงรอบจุดของสารตัวอย่างไว้ก่อนที่สีของจุดนั้นจะหายไปเมื่อวางทิ้งไว้ระยะหนึ่ง

3.3 การอ่านแผ่น TLC ภายใต้แสง UV ซึ่งต้องใช้ตัวดูดซับที่ผสมอินดิเคเตอร์ฟลูออเรสเซนต์ (Fluorescent indicator) ซึ่งเมื่อแผ่น TLC กระทบแสง UV ที่ช่วงความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร จะสะท้อนแสงออกมาเป็นสีเขียว ดังนั้นเมื่อมีสารตัวอย่างที่สามารถดูดซับแสง UV ได้ตรงจุดใดบนแผ่น TLC ก็จะทำให้เกิดการเรืองแสงของแผ่น TLC เกิดเป็นจุดสีม่วงขึ้นที่จุดนั้น ๆ จึงทำให้สามารถสังเกตเห็นจุดของสารตัวอย่างที่ develop ได้



ภาพแสดงวิธีการอ่านแผ่น TLC ภายใต้แสง UV ด้วยหลอดให้กำเนิดแสง UV 2 ชนิด ได้แก่

(a) แบบส่องแสง UV แบบมือถือ และ (b) ส่องแสง UV ภายในกล่องกำเนิดแสง UV

ในบางครั้งสารตัวอย่างอาจจะมีทั้งสารที่ต้องย้อมด้วยไอโอดีนก่อนและสารที่ต้องอ่านผ่านแสง UV ดังนั้นจึงอาจใช้ทั้งสองวิธีเพื่อให้สามารถสังเกตจุดของสารตัวอย่างได้แม่นยำยิ่งขึ้น

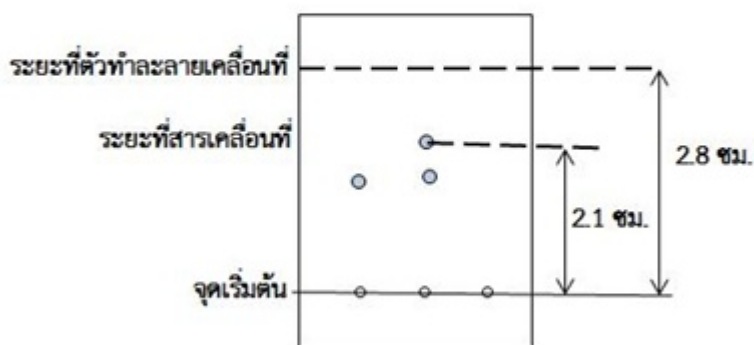
4. การวิเคราะห์ผลการทดลอง

4.1 วัดระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่โดยเริ่มวัดจากแนวที่ขีดไว้ในแผ่นเป็นจุดเริ่มต้นไปจนถึงจุดที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่ไปถึง และวัดระยะทางที่สารเคลื่อนที่ไปเช่นเดียวกับการวัดระยะทางนี้ใช้หน่วยเป็นเซนติเมตร

หมายเหตุ หากสารไม่มีสีจะไม่ทราบว่ายาวขึ้นไปถึง ณ ตำแหน่งใดจำเป็นจะต้องพ่นด้วยสารเคมีเพื่อทำให้เกิดสีจะได้เห็นว่าสารอยู่ที่ใด

4.2 หาค่า R_f ซึ่งหาได้จากอัตราส่วนระหว่างระยะทางที่สารเคลื่อนที่กับระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่ ดังนี้

$$R_f = \frac{\text{ระยะทางที่สารเคลื่อนที่ (ซม)}}{\text{ระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่ (ซม)}}$$



$$R_f = \frac{2.1 \text{ cm.}}{2.8 \text{ cm.}} = 0.75$$

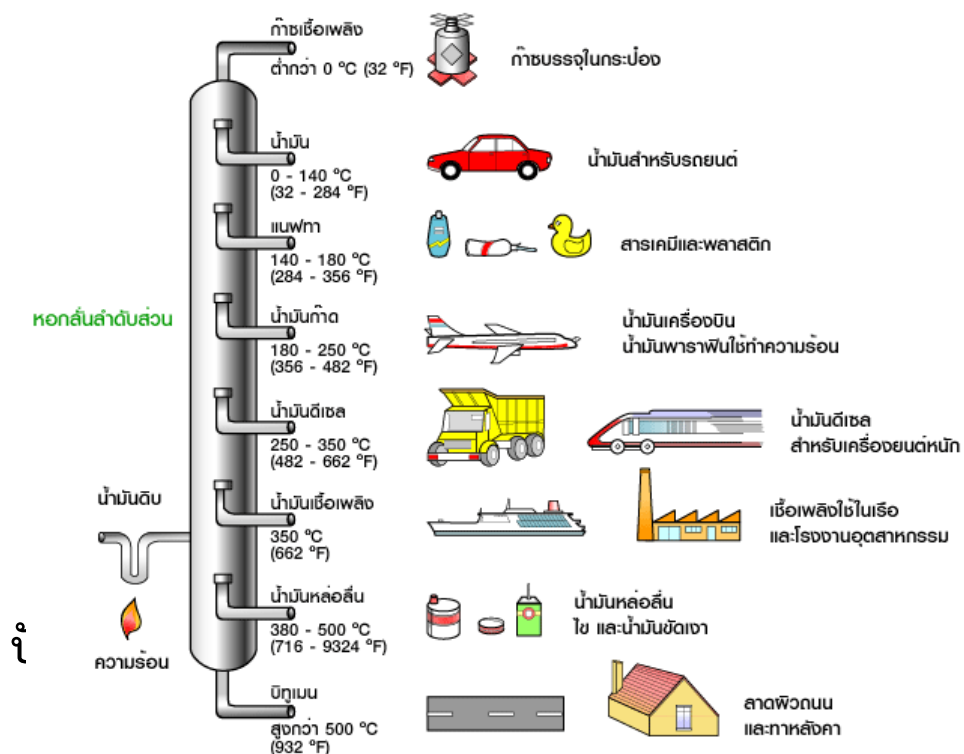
ค่า R_f ของสารแต่ละชนิดจะคงที่เสมอหากสามารถควบคุมสภาวะที่ใช้ทดลองให้เหมือนเดิมได้ทุกครั้ง ที่ทดลอง สิ่งที่ต้องควบคุมให้คงที่ (เหมือนเดิม) เสมอในแต่ละการทดลองได้แก่

1. ระบบตัวทำละลาย จะต้องใช้ระบบเดียวกัน ใช้ตัวทำละลายเดียวกันและอัตราส่วนเดียวกัน
2. ตัวดูดซับ ต้องใช้ตัวดูดซับเดียวกันทุกครั้งที่ทำทดลอง
3. ความหนาของตัวดูดซับ
4. ปริมาณของสารที่หยดลงบน TLC
5. อุณหภูมิขณะทดลอง

แต่เนื่องจากการควบคุมสภาวะดังกล่าวนี้เป็นได้ยาก ในการวิเคราะห์สารตัวอย่างว่าเป็นสารใด อาจพิจารณาเปรียบเทียบกับค่า R_f ของสารที่วิเคราะห์ กับค่า R_f ของสารมาตรฐาน (ค่า R_f ที่ทราบอยู่แล้ว) หรืออาจใช้สารมาตรฐาน (สารจริงที่ต้องการวิเคราะห์) หยดลงไปในแผ่น TLC แผ่นเดียวกับสารตัวอย่าง

การกลั่นลำดับส่วน (Fractional distillation)

การกลั่นลำดับส่วนเหมาะสำหรับกลั่นแยกของเหลวที่มีจุดเดือดใกล้เคียงกัน หรือแยกสารละลายที่ตัวทำละลายและตัวถูกละลายเป็นสารที่ระเหยง่ายทั้งคู่ ซึ่งถ้ากลั่นแบบธรรมดาเพียงครั้งเดียวจะได้สารที่ไม่บริสุทธิ์ เช่น การกลั่นน้ำผสมเอทานอล ต้องกลั่นซ้ำหลาย ๆ ครั้ง จึงจะได้เอทานอลที่มีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้นทุกครั้ง แต่ในทางปฏิบัติแทนที่จะนำของเหลวไปกลั่นซ้ำ ๆ กันหลาย ๆ ครั้ง ซึ่งจะทำให้สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายและใช้เวลานาน จึงได้นำไปกลั่นในคอลัมน์ลำดับส่วนหรือในหอกลั่น ซึ่งทำหน้าที่เหมือนกับเป็นการกลั่นซ้ำหลาย ๆ ครั้ง การกลั่นในหอกลั่นนี้เรียกว่า **การกลั่นลำดับส่วน** เช่น การกลั่นน้ำมันดิบหรือน้ำมันปิโตรเลียม ซึ่งสามารถแยกน้ำมันดิบออกเป็นส่วน (Fractions) ต่างๆ กระบวนการนี้ใช้หลักการจากลักษณะของส่วนต่างๆ ของน้ำมันดิบที่มีค่าอุณหภูมิจุดเดือด (Boiling point) ที่แตกต่างกันออกไป และเป็นผลให้ส่วนต่างๆ ของน้ำมันดิบนั้นมีจุดควบแน่น (Condensation point) ที่แตกต่างกันออกไปด้วย น้ำมันดิบจากถังจะได้รับการสูบผ่านเข้าไปในเตาเผา (Furnace) ที่มีอุณหภูมิสูงมากพอที่จะทำให้ทุกๆ ส่วนของน้ำมันดิบแปรสภาพไปเป็นไอได้ แล้วไอน้ำมันดังกล่าวก็จะถูกส่งผ่านเข้าไปในหอกลั่นลำดับส่วน (Fractionating tower) ที่มีรูปร่างเป็นทรงกระบอก มีขนาดความสูงประมาณ 30 เมตร และมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2.5-8 เมตร ภายในหอกลั่นดังกล่าวมีการแบ่งเป็นห้องต่างๆ หลายห้องตามแนวนอน โดยมีแผ่นกั้นห้องที่มีลักษณะคล้ายถาดกลม โดยแผ่นกั้นห้องทุกแผ่นจะมีการเจาะรูเอาไว้ เพื่อให้ไอน้ำมันที่ร้อนสามารถผ่านทะลุขึ้นสู่ส่วนบนของหอกลั่นได้ และมีท่อต่อเพื่อนำน้ำมันที่กลั่นตัวแล้วออกไปจากหอกลั่น เมื่อไอน้ำมันดิบที่ร้อนถูกส่งให้เข้าไปสู่หอกลั่นทางท่อ ไอน้ำมันจะเคลื่อนตัวขึ้นไปสู่ส่วนบนสุดของหอกลั่น และขณะที่เคลื่อนตัวขึ้นไปนั้น ไอน้ำมันจะเย็นตัวลงและควบแน่นไปเรื่อย



- ปัญหา-อุปสรรคที่พบในการปฏิบัติงาน

- o ไม่มีท่อน้ำทิ้งที่ต่อเข้ากับเครื่อง autoclave ทำให้ตัวผู้ใช้งานต้องนำน้ำที่เป็นน้ำร้อนประมาณ 100 องศาเซลเซียสทิ้งในส่วนของถังพลาสติกด้วยตัวเอง
- o เครื่องมือบางอย่างขาดความทันสมัย อาจทำให้เวลาทำการทดลองเกิดความคลาดเคลื่อนได้ เช่น ขาดเครื่องกลั่นน้ำ ทำให้น้ำที่ใช้ในห้องแล็บไม่มีความบริสุทธิ์มากพอ

- แนวทางการแก้ไขปัญหา

- o ควรต่อท่อน้ำทิ้งกับตัวเครื่องมือ หรือต่ออุปกรณ์เสริมสำหรับเครื่องมือต่างๆให้ครบถ้วน เพื่อให้การใช้งานของเครื่องมือเป็นไปได้อย่างเต็มประสิทธิภาพ
- o ควรซื้อเครื่องกลั่นน้ำเพื่อใช้ในห้องปฏิบัติการ

บรรณานุกรม

1. สุชาดา ไชยสวัสดิ์. 2555. เอกสารประกอบการอบรมวิธีการทำงานอย่าง ถูกต้องและความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ. ศูนย์การจัดการด้าน พลังงาน สิ่งแวดล้อม ความปลอดภัยและอาชีวอนามัย มหาวิทยาลัย เทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.
2. วารสารกรมวิทยาศาสตร์บริการ . (2557). ความสำคัญของการได้รับการรับรองความสามารถบุคลากรสาขาการควบคุมและการจัดการสารเคมีในห้องปฏิบัติการ เข้าถึงข้อมูลได้จาก : http://lib3.dss.go.th/fulltext/dss_j/2557_62_194_P20-22.pdf (วันที่สืบค้น 25 สิงหาคม 2558)
3. E-life เข้าถึงข้อมูลได้จาก : <http://elife-news.blogspot.com/2017/06/thin-layer-chromatography-tlc.html> (วันที่สืบค้น 18 สิงหาคม 2561)
4. tananop32903 เข้าถึงข้อมูลได้จาก <https://tananop32903.wordpress.com/2015/06/06/%E0%B8%81%E0%B8%B2%E0%B8%A3%E0%B8%81%E0%B8%A5%E0%B8%B1%E0%B9%88%E0%B8%99%E0%B8%A5%E0%B8%B3%E0%B8%94%E0%B8%B1%E0%B8%9A%E0%B8%AA%E0%B9%88%E0%B8%A7%E0%B8%99-fractional-distillation/>