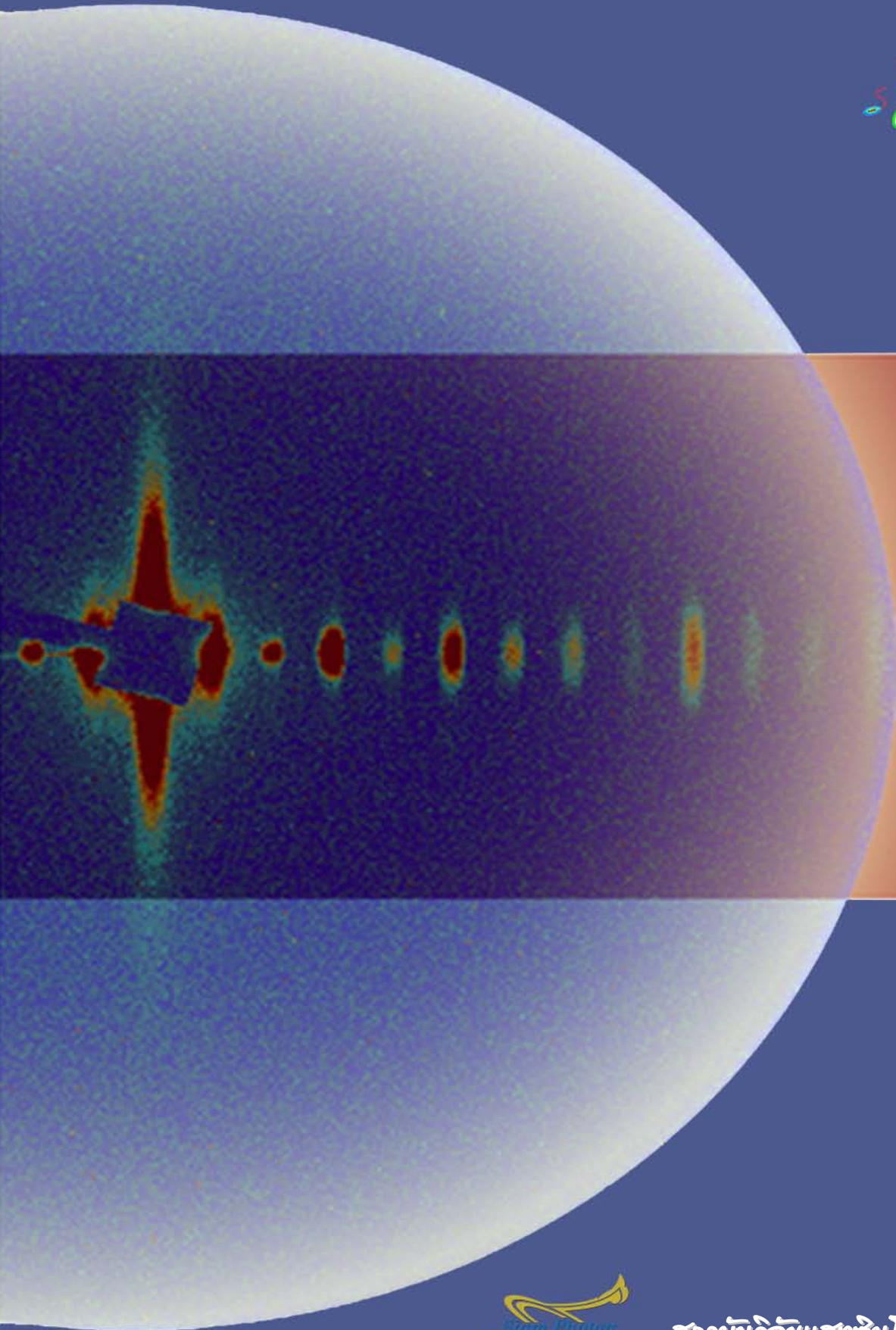


คู่มือสถานีทดลองการกระเจิงรังสีเอกซ์

Small/Wide Angle X-ray Scattering (SAXS/WAXS) Station Manual



สถาบันวิจัยแสงซินโครตรอน (องค์การมหาชน)

คู่มือสถานีทดลองการกระเจิงรังสีเอกซ์

SAXS/WAXS Station Manual

Version 1.5 : มกราคม 2557

สำหรับสถานีทดลอง BL1.3W

ศุภกร รักใหม่

supagorn@slri.or.th

<http://www.slri.or.th/th/beamlines/SAXS>

สถาบันวิจัยแสงซินโครตรอน (องค์การมหาชน)

กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

<http://www.slri.or.th>

Tel: 044217040

Fax: 044217047

ทีมงานสถานีทดลองการกระเจิงรังสีเอกซ์



ดร.ศิริวัช สุนทรานนท์

siriwat@slri.or.th



ดร.แพร จิรวัฒน์กุล

prae@slri.or.th



ชลธิชา แก้วหาญ

chonthicha@slri.or.th



ดร.ศุภกร รักใหม่

supagorn@slri.or.th

<http://www.slri.or.th/th/beamlines/SAXS>

สารบัญ

Small/Wide Angle X-ray Scattering (SAXS/WAXS)

คำนำ	9
บทที่ 1 สิ่งที่สามารถศึกษาได้ด้วย SAXS และ WAXS	11
1.1 รูปร่าง และขนาดของอนุภาคนาโน	11
1.2 วัสดุพอลิเมอร์ หรือวัสดุชีวภาพที่มีโครงสร้างเป็นระเบียบ	11
1.3 ทิศทางการเรียงตัวของโครงสร้าง	12
1.4 ไมเซลล์	12
1.5 ไมโครอิมัลชัน	12
1.6 ผลึกเหลว	13
1.7 โมเลกุลโปรตีน	13
1.8 ระดับความเป็นผลึกของสารกึ่งผลึก	13
บทที่ 2 หลักการและทฤษฎีของ SAXS	15
2.1 หลักการวัด SAXS	15
2.2 ความหมายของค่าความเข้มการกระเจิงจากการวัด SAXS	17
2.3 การกระเจิง x-ray โดยอนุภาคเดี่ยว	21
2.4 การกระเจิงโดยอนุภาคที่มีหลายขนาด	23
2.5 รัศมีไจเรชัน และ Guinier approximation	25
2.6 การกระเจิง x-ray โดยระบบของอนุภาคที่มี interaction ต่อกัน	28
2.7 Correlation function และ Pair Distance Distribution Function	29

2.8	ความชันของกราฟความเข้มการกระเจิงและมิติของโครงสร้าง	31
2.9	การกระเจิง x-ray โดยโครงสร้างที่เป็นระเบียบ (periodic structure)	32
2.10	การศึกษาโครงสร้างแบบชั้น (lamella structure)	33
บทที่ 3	ระบบลำแสงและอุปกรณ์ในสถานีทดลอง	34
3.1	Detector	37
3.2	การเลือกกระยะ sample-detector	38
บทที่ 4	การเตรียมตัวอย่าง	40
4.1	ผง	41
4.2	ของแข็ง	42
4.3	ฟิล์ม	42
4.4	เส้นใย	42
4.5	เจล หรือของเหลว	42
4.6	ตัวอย่างที่ต้องทำการดึงขณะวัด	44
4.7	ตัวอย่างที่ต้องให้ความร้อนขณะวัด	45
บทที่ 5	การตรวจสอบระบบก่อนเริ่มวัด	46
5.1	ตรวจสอบสถานะ ionization chamber และ photodiode	46
5.2	ตรวจสอบสถานะของ detector	47
บทที่ 6	การวัดสารมาตรฐานสำหรับการทำ pattern alignment และการปรับเทียบกระยะ sample-detector	49
บทที่ 7	การวัด	53
7.1	การวัดด้วย CCD detector	53
7.2	การวัดด้วย Image Plate detector	58

บทที่ 8	การจัดการข้อมูลด้วยโปรแกรม SAXSIT	63
8.1	การติดตั้งโปรแกรม SAXSIT	63
8.2	การเริ่มใช้งานโปรแกรม SAXSIT	64
8.3	ไฟล์ parameter และ input สำหรับโปรแกรม SAXSIT	65
8.4	การทำ pattern alignment และปรับเทียบระยะ sample-detector	68
8.5	การอ่านไฟล์ input	70
8.6	การอ่านแผนผังการกระเจิง และการลบ background	71
8.7	การคำนวณกราฟการกระเจิง (Scattering profile) และการทำ circular averaging ของข้อมูล	73
บทที่ 9	การแปลผลข้อมูล	75
9.1	การพิจารณาลักษณะเบื้องต้นของกราฟ SAXS intensity profile	76
9.2	การหาดำแหน่ง peak และระยะ period (ค่า d-spacing)	78
9.3	การหารูปร่าง และขนาดอนุภาคโดย Guinier approximation	79
9.4	การหาขนาด และการกระจายขนาดของอนุภาคนาโน	81
9.5	การหาขนาด และการกระจายขนาดของอนุภาคนาโนที่มีการเกาะกลุ่มกัน	92
9.6	การทำ fitting ของ structure factor สำหรับโครงสร้างแบบ lamella	96
9.7	การคำนวณค่า Hermans orientation factor	99
9.8	การทำ fitting ของ peak	101
9.9	การทำ modeling ของรูปร่างโมเลกุลโปรตีน	102
9.10	การแปลผลข้อมูลจาก Pair Distance Distribution Function (PDDF)	103
บทที่ 10	แหล่งข้อมูล SAXS/WAXS	115
10.1	หนังสือ	115

10.2	Review paper	115
10.3	ข้อมูล SAXS/WAXS ในอินเทอร์เน็ต	116

*"One of the advantages of being disorganized is that one is always having
surprising discoveries"*

A.A. Milne, *Winnie the Pooh*

คำนำ

เอกสารฉบับนี้จัดทำขึ้นโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อประกอบการใช้งานสถานีทดลองเทคนิคการกระเจิงรังสีเอกซ์ (Small / Wide Angle X-ray Scattering: SAXS/WAXS) ณ สถาบันวิจัยแสงซินโครตรอน เนื้อหาภายในบรรจุรายละเอียดขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง ขั้นตอนการวัด SAXS/WAXS การจัดการข้อมูล การแปลผลข้อมูล รวมถึงอุปกรณ์ และการใช้โปรแกรมต่างๆ ที่ให้บริการที่สถานีทดลอง นอกจากนั้น เนื้อหาภายในยังบรรจุหลักการและทฤษฎีของเทคนิค SAXS/WAXS เพื่อให้ผู้ใช้ที่ไม่คุ้นเคยได้มีความเข้าใจเบื้องต้น อย่างไรก็ตาม เอกสารฉบับนี้ไม่ได้มีจุดมุ่งหมายให้เป็นเอกสารอ้างอิงทางทฤษฎี ซึ่งในส่วนนั้นผู้ใช้สามารถค้นจากหนังสือและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเทคนิค SAXS/WAXS ซึ่งมีอยู่มากมาย แหล่งข้อมูลที่สำคัญบางส่วนได้ให้ไว้ในตอนท้ายของเอกสารฉบับนี้

คู่มือฉบับนี้จะถูกปรับปรุงให้ทันสมัย และเพิ่มเติมข้อมูลเป็นระยะ หากผู้ใช้พบเจอข้อผิดพลาด หรือมีคำแนะนำ โปรดติดต่อผู้เขียน หรือทีมงานสถานีทดลองการกระเจิงรังสีเอกซ์ เพื่อทำการปรับปรุงเอกสารให้มีความถูกต้องเป็นประโยชน์กับผู้ใช้ท่านมากที่สุด

ศุภกร รักใหม่

โคราช

มกราคม 2557

บทที่ 1 สิ่งที่สามารถศึกษาได้ด้วย SAXS และ WAXS

ด้านล่าง เป็นตัวอย่างของสิ่งที่สามารถวิเคราะห์ได้จากการวัด SAXS หรือ WAXS

1.1 รูปร่าง และขนาดของอนุภาคนาโน

เนื่องจากการกระเจิง x-ray โดยอนุภาคนั้น ลักษณะการกระเจิงขึ้นกับขนาดและรูปร่างของอนุภาค ดังนั้น เมื่อทำการวัด SAXS ของตัวอย่างที่เป็นอนุภาคนาโน จึงสามารถแปลผลเพื่อหารูปร่าง และขนาดเฉลี่ยของอนุภาคในตัวอย่าง รวมถึงลักษณะการกระจายขนาด (size distribution) ของอนุภาคได้ โดยในการศึกษาขนาดของอนุภาคนี สามารถเตรียมตัวอย่างโดยการ disperse อนุภาคในของเหลว เช่น ตัวอย่างอนุภาคทองที่แขวนลอยในน้ำ

การใช้ SAXS ศึกษาขนาดอนุภาคนี จะให้ผลคล้ายกับการวัดขนาดอนุภาคโดยเทคนิค Dynamic Light Scattering (DLS) แต่เนื่องจาก SAXS เป็นการกระเจิงของ x-ray ซึ่งวัดการกระเจิงโดยตรง ลักษณะรูปร่างและขนาดของอนุภาคจึงปรากฏในผลการวัด ทำให้สามารถระบุทั้งรูปร่าง และขนาดของอนุภาคที่กระเจิงได้ อีกทั้งการกระเจิงของ x-ray นั้นไวต่อโครงสร้างระดับนาโนเมตรเท่านั้น SAXS จึงมีข้อได้เปรียบตรงที่ผลการวัดจะมีผลกระทบจากสิ่งแวดล้อมน้อย (เช่นการปนเปื้อนของฝุ่นละออง หรือลักษณะของของเหลวที่ใช้ disperse)

1.2 วัสดุพอลิเมอร์ หรือวัสดุชีวภาพที่มีโครงสร้างเป็นระเบียบ

ในวัสดุที่เป็น soft matter เช่น พอลิเมอร์ หรือวัสดุชีวภาพ ในบางกรณีอาจมีโครงสร้างภายในที่มีลักษณะคล้ายผลึก ซึ่งเกิดจากการจัดเรียงตัวที่เป็นระเบียบของโมเลกุลภายในวัสดุที่ทำให้เกิดส่วนที่มีความหนาแน่นสูง สลับกับส่วนที่มีความหนาแน่นต่ำกว่า และเรียงตัวเป็นชั้น (lamellar structure) เมื่อเกิดการกระเจิงของ x-ray จากโครงสร้างที่เป็นระเบียบเช่นนี้ จะเกิดการแทรกสอดของ x-ray ที่กระเจิง ทำให้เกิด peak ที่ค่ามุมกระเจิงเฉพาะ คล้ายกับการวัดการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-ray Diffraction) ของผลึก แต่เนื่องจากเป็นโครงสร้างระดับโมเลกุล ความเป็นระเบียบที่เกิดขึ้นจึงมีขนาดอยู่ในระดับของนาโนเมตร ทำให้มุมกระเจิงที่เกิด peak อยู่ในช่วงมุมที่เล็ก (โดยปกติจะอยู่ในช่วงน้อยกว่า 4 องศา) ซึ่งสามารถวัดได้ด้วยเทคนิค SAXS

ตัวอย่างที่มีการศึกษาความเป็นระเบียบของการเรียงตัวของโมเลกุลโดยการวัด SAXS เช่น วัสดุพอลิเมอร์, วัสดุ block co-polymer, ผลึกเหลว (liquid crystal), วัสดุชีวภาพ เช่น คอลลาเจน (ในเส้นเอ็น กล้ามเนื้อ), แป้ง

นอกจากนั้น เนื่องจากสถานีทดลอง SAXS มีความสามารถในการปรับเปลี่ยนระบบจับยึดตัวอย่าง จึงสามารถทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างแบบ dynamic เช่น สามารถดูการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างขณะให้ความร้อน หรือขณะมีแรงดึงได้

1.3 ทิศทางการเรียงตัวของโครงสร้าง

เนื่องจาก detector สำหรับวัด SAXS เป็น detector แบบสองมิติ (area detector) เช่น CCD detector ขนาดใหญ่ ซึ่งสามารถบันทึกการกระเจิง x-ray ได้ในทุกทิศทางพร้อมกัน ในกรณีที่โครงสร้างของวัสดุมีการเรียงตัวเป็นระเบียบในทิศทางเฉพาะ ลักษณะการจัดเรียงตัวจึงปรากฏในแผนผังการกระเจิงที่เกิดขึ้น ทำให้สามารถศึกษาทิศทางการเรียงตัวของโครงสร้าง รวมถึงการหาค่า orientation factor ได้ ตัวอย่างที่มีการศึกษาในลักษณะนี้ เช่น โครงสร้างเส้นใย และพอลิเมอร์บางประเภท รวมถึงสามารถศึกษาการเปลี่ยนแปลงทิศทางการเรียงตัวของโครงสร้างขณะมีแรงดึง (ศึกษาลักษณะการเรียงตัวของโครงสร้างที่ค่า stress-strain ต่างๆ) ได้

1.4 ไมเซลล์

อนุภาคที่มีลักษณะเป็นไมเซลล์ (micelles) คือมีแกนเป็นอนุภาคทรงกลม หรือรูปร่างต่างๆ และมีสายโซ่พอลิเมอร์เกาะอยู่รอบๆ จะให้การกระเจิง x-ray ที่เป็นผลรวมจากการกระเจิงจากส่วนที่เป็นแกนอนุภาค และส่วนที่เป็นโซ่พอลิเมอร์ ซึ่งสามารถวิเคราะห์ขนาดและลักษณะรูปร่างได้โดยการทำ modeling ของผลการวัด SAXS

1.5 ไมโครอิมัลชัน

ไมโครอิมัลชัน (micro-emulsion) เป็น bi-continuous system เกิดจากการผสมของน้ำและน้ำมันที่มีลักษณะโครงสร้างเป็น quasi-periodic โดยสามารถทำ modeling ของผลการวัด SAXS เพื่อหาขนาดของระยะคาบ (หรือ domain size) และ correlation function ได้

1.6 ผลึกเหลว

ผลึกเหลว (liquid crystal) เป็นอนุภาค (ซึ่งส่วนใหญ่เป็นพอลิเมอร์) ที่เรียงตัวกันเป็นระเบียบเหมือนผลึก โดยมีค่า d-spacing อยู่ในระดับนาโนเมตร เทคนิค SAXS สามารถใช้ศึกษาโครงสร้างผลึกเหลวได้ เช่นเดียวกับการศึกษาโครงสร้างผลึกด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-ray Diffraction)

เทคนิค SAXS สามารถศึกษารูปแบบการจัดเรียงตัวเป็นผลึกของผลึกเหลว (เช่นเป็นแบบ cubic หรือ hexagonal หรือ lamellar), หาค่า d-spacing และศึกษาความเสถียรของโครงสร้างผลึกเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ เป็นต้น

1.7 โมเลกุลโปรตีน

เทคนิค SAXS สามารถใช้วัดโมเลกุลโปรตีน (หรือโมเลกุลขนาดใหญ่อื่นๆ ที่มีขนาดอยู่ในช่วงของนาโนเมตร) ที่อยู่ในสารละลายเพื่อศึกษารูปร่าง (morphology) ของโมเลกุลจากการทำ modeling ของกราฟการกระเจิง ซึ่งการศึกษาโมเลกุลโปรตีนด้วย SAXS นี้ ไม่จำเป็นต้องทำการตกผลึกโปรตีน แต่เป็นการศึกษารูปร่างของโมเลกุลในสภาพธรรมชาติ โดยข้อมูลรูปร่างโมเลกุลที่ได้ มีประโยชน์ในการศึกษาสภาพโปรตีนที่อยู่ในสภาวะต่างๆ (เช่นเมื่อค่า pH เปลี่ยน) หรือการเปลี่ยนแปลงสภาพเมื่อเกิด interaction กับสภาพแวดล้อมในสารละลาย และในบางกรณี มีประโยชน์ในการเปรียบเทียบ หรือเป็นข้อมูลตั้งต้นในการศึกษาโครงสร้างโมเลกุลสามมิติของผลึกโปรตีนนั้นด้วยเทคนิค Protein Crystallography

1.8 ระดับความเป็นผลึกของสารกึ่งผลึก

การวัด Wide Angle X-ray Scattering (WAXS) สามารถศึกษาโครงสร้างผลึกได้เช่นเดียวกับเทคนิค X-ray Diffraction (XRD) โดยที่สถานีทดลอง SAXS/WAXS สามารถวัดได้ถึงค่ามุม 2θ ประมาณ 60 องศา หรือเทียบเท่ากับค่า d-spacing ประมาณ 1.6 อังสตรอม ซึ่งครอบคลุมโครงสร้างผลึกของสารกึ่งผลึก เช่นสารพอลิเมอร์ หรือสารชีวภาพ รวมทั้งผลึกสารอนินทรีย์บางส่วน ผลการวัด WAXS ที่ได้จะแสดง Bragg peak ของโครงสร้างผลึก (ซึ่งสามารถใช้ระบุโครงสร้างผลึก) และยังปรากฏผลการกระเจิง x-ray จากโครงสร้างส่วนที่เป็นอสัณฐาน (amorphous) จึงสามารถใช้ในการคำนวณค่าความเป็นผลึก (crystallinity) ได้โดยการหาสัดส่วนพื้นที่ใต้กราฟการกระเจิงของส่วน Bragg peak ต่อพื้นที่ใต้กราฟรวม

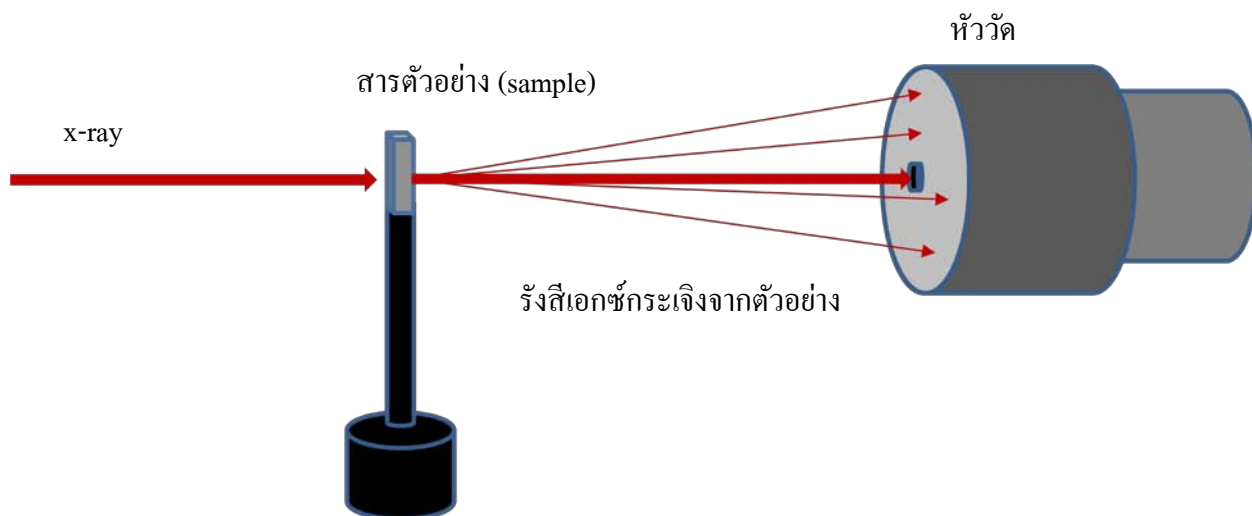
นอกจากนั้น ที่สถานีทดลองยังมีระบบการให้ความร้อนกับสารตัวอย่างสำหรับการศึกษา crystallinity เป็นฟังก์ชันของอุณหภูมิ และมีระบบดึงตัวอย่างเพื่อศึกษา crystallinity ที่ค่า stress-strain ต่างๆ สำหรับตัวอย่างเส้นใยหรือพอลิเมอร์ได้

นอกจากที่กล่าวมาด้านบน เทคนิค SAXS/WAXS ยังสามารถใช้ศึกษาคุณสมบัติอื่นๆ ของวัสดุประเภทต่างๆ อีกทั้งความยืดหยุ่นในการปรับเปลี่ยนระบบติดตั้งสารตัวอย่าง และความสามารถในการการเปลี่ยนแปลงสถานะแวดล้อมของสารตัวอย่างในขณะทำการวัด ทำให้สามารถศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของวัสดุแบบ real time ได้

บทที่ 2 หลักการและทฤษฎีของ SAXS

2.1 หลักการวัด SAXS

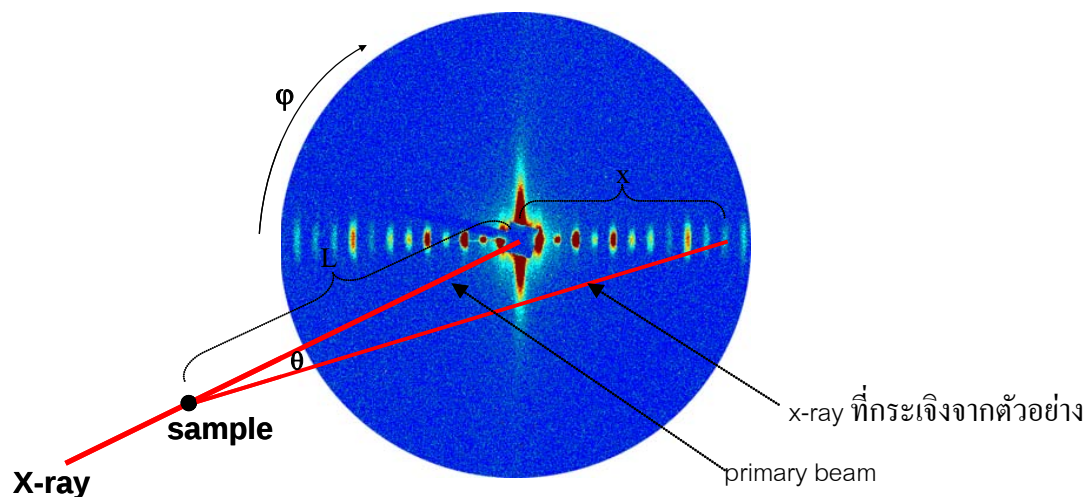
การวัด SAXS และ WAXS ทำได้โดยการให้รังสีเอกซ์ที่มีค่าความยาวคลื่นเดี่ยว ทะลุผ่านชิ้นตัวอย่างและวัดความเข้มของรังสีเอกซ์ที่กระเจิงไปที่มุมต่างๆ โดยหัววัดที่ใช้เป็นหัววัด 2 มิติ เช่น กล้อง CCD หรือ Image Plate รังสีเอกซ์ที่กระเจิงจากตัวอย่างจะทำให้เกิดภาพแผนผังการกระเจิง (scattering pattern) ซึ่งสามารถนำมาแปลความหมายเป็นลักษณะโครงสร้างโมเลกุลได้



รูป 2.1 หลักการวัด SAXS/WAXS

หัววัดประกอบด้วยเซ็นเซอร์วัดความเข้ม x-ray จำนวนมาก เรียกว่าพิกเซล (pixel) โดยสำหรับกล้อง CCD ที่สถานีทดลอง BL1.3W ประกอบด้วยพิกเซลจำนวน 4,194,304 พิกเซล (วางเรียงกันเป็น matrix ขนาด 2048x2048) แต่ละพิกเซลมีขนาด 79.59 ไมครอน เมื่อ x-ray กระเจิงจากตัวอย่างมาตกกระทบหัววัด แต่ละพิกเซลในหัววัดจะวัดค่าความเข้มของ x-ray ที่ตกกระทบ ดังนั้นภาพแผนผังการกระเจิงที่ได้จากการวัด จึงเป็นค่าตัวเลขความเข้มรังสีเอกซ์จำนวน 4,194,304 ค่า บรรจุอยู่ในไฟล์ภาพแผนผังการกระเจิง ซึ่งเราสามารถอ่านค่า หรือทำกระบวนการต่างๆ กับตัวเลขเหล่านี้ได้ด้วยโปรแกรมจัดการแผนผังการกระเจิง เช่น การแปลงแผนผังการกระเจิงมาเป็นกราฟค่าความเข้มรังสีเอกซ์ที่มุมกระเจิงต่างๆ

ตำแหน่งของแต่ละพิกเซลในหัววัด สามารถถูกเปลี่ยนเป็นค่ามุมกระเจิงได้ ดังรูปที่ 2.2



รูป 2.2 ตัวอย่างแผนผังการกระเจิง

มุมการกระเจิงของพิกเซลที่มีระยะห่าง x จากตำแหน่งศูนย์กลาง คือ

$$\theta = \tan^{-1}\left(\frac{x}{L}\right) \quad 2.1$$

โดย L เป็นระยะห่างระหว่างสารตัวอย่างถึงหัววัด (ระยะ sample-detector) และโดยที่ตำแหน่งศูนย์กลาง ของ detector นั้น เราหมายถึงตำแหน่งพิกเซลบน detector ที่ลำ x-ray หลักที่ทะลุตัวอย่างมา (เรียกว่า primary beam) ตกกระทบบ หมายเหตุในที่นี้ว่ามุมกระเจิง θ ในที่นี้ เป็นสิ่งเดียวกับมุม 2θ ในแควดของ X-ray Diffraction

โดยค่ามุม azimuth (มุม ϕ ในรูป) จะเป็นตัวบอกทิศทางการเรียงตัวของโครงสร้างในตัวอย่าง เช่น กรณีโครงสร้างเป็นแบบ random แผนผังที่ได้ก็จะเป็นวงกลม ไม่ขึ้นกับมุม ϕ หรือหากโครงสร้างมีความเป็นระเบียบในแนวนอน แผนผังที่ได้ก็จะปรากฏความเป็นระเบียบอยู่ในแนวนอน (คือที่มุม $\phi=0$ ดังตัวอย่างแผนผังในรูปที่ 2.2) จากแผนผังการกระเจิงที่ได้ จึงสามารถแปลงเป็นกราฟระหว่างค่ามุมกระเจิง θ กับค่าความเข้ม x-ray ในทิศมุม azimuth ต่างๆ เพื่อนำไปวิเคราะห์โครงสร้างในทิศทางต่างๆ ภายในตัวอย่างต่อไปได้

สำหรับการวัด SAXS นั้น นิยมเปลี่ยนค่ามุมกระเจิงเป็นค่าเวกเตอร์การกระเจิง (scattering vector) ซึ่งใช้สัญลักษณ์ q โดยที่

$$q = \frac{4\pi}{\lambda} \sin \frac{\theta}{2} \quad 2.2$$

โดย λ เป็นค่าความยาวคลื่นของ x-ray ที่ใช้

เมื่อ x-ray ตกกระทบตัวอย่าง จะเกิดการกระเจิงจากอิเล็กตรอนภายในตัวอย่าง ดังนั้นลักษณะการกระเจิงของ x-ray จึงขึ้นกับลักษณะความหนาแน่นอิเล็กตรอนที่บริเวณต่างๆ ภายในตัวอย่าง ซึ่งโดยทั่วไปเป็นสิ่งเดียวกันกับความหนาแน่นโมเลกุลภายในตัวอย่างนั่นเอง ดังนั้นภาพการกระเจิง x-ray ที่ได้ จึงบอกลักษณะการกระจายตัวของโมเลกุลในตัวอย่าง เช่น หากภายในตัวอย่างมีบริเวณที่มีโมเลกุลเรียงตัวกันอยู่ด้วยความหนาแน่นสูงสลับกับบริเวณที่มีความหนาแน่นต่ำ x-ray ก็จะกระเจิงจากทั้งสองบริเวณต่างกัน และหากตัวอย่างมีโครงสร้างที่มีบริเวณที่มีความหนาแน่นสูงสลับกับความหนาแน่นต่ำเช่นนี้ไปเรื่อยๆ อย่างเป็นระเบียบ ก็จะมีการแทรกสอดของ x-ray เกิดเป็นแผนผังการกระเจิงที่มีลักษณะเฉพาะ เราจึงสามารถนำแผนผังการกระเจิงนี้ไปแปลผลเป็นโครงสร้างระดับโมเลกุลของตัวอย่างที่วัดได้

2.2 ความหมายของค่าความเข้มการกระเจิงจากการวัด SAXS

ค่าความเข้ม x-ray ที่เกิดจากการกระเจิงจากสารตัวอย่าง สัมพันธ์กับปริมาณต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับคุณสมบัติของระบบวัด สารตัวอย่าง และโครงสร้างตัวอย่าง โดยหาก $I_{abs}(q)$ เป็นค่าความเข้ม x-ray ที่วัดได้ (ซึ่งเป็นฟังก์ชันของ q ในสมการ 2.2) จะสามารถเขียนเป็นความสัมพันธ์กับปริมาณเหล่านี้ได้ คือ

$$I_{abs}(q) = \Phi_0 VT \epsilon \Omega \frac{d\sigma}{d\Omega}(q) \quad 2.3$$

โดยที่

Φ_0 เป็นค่าความเข้ม x-ray ที่ตกกระทบสารตัวอย่าง (incident flux)

V เป็นปริมาตรของสารตัวอย่างที่ x-ray ตกกระทบ

T เป็นค่าการส่องผ่าน x-ray (transmission) ของสารตัวอย่าง

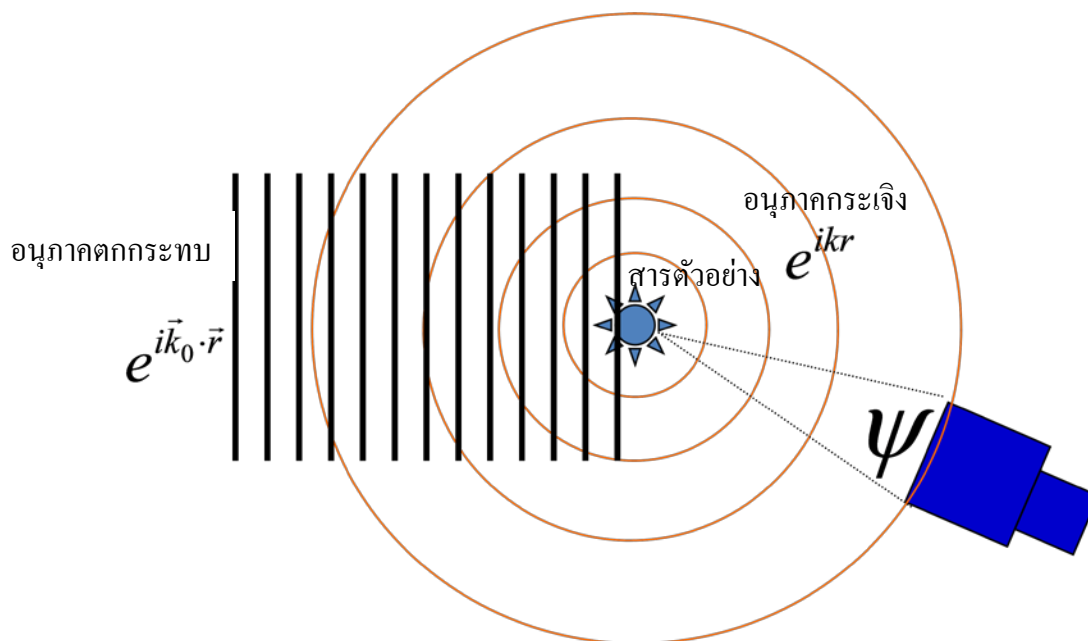
ϵ เป็นค่าประสิทธิภาพของ detector (detector efficiency)

Ω เป็นค่ามุมตัน (solid angle) ของ detector ที่รับ x-ray ที่กระเจิงมา

$\frac{d\sigma}{d\Omega}(q)$ เรียกว่า differential cross-section เป็นความเข้ม x-ray ที่กระเจิงเข้า detector ต่อหน่วยปริมาตรของตัวอย่าง ต่อหน่วยมุมตัน ต่อหน่วยความเข้ม x-ray ที่ตกกระทบตัวอย่าง (number of photons per second per unit radiated volume per unit solid angle per unit incident flux)

ค่า $I_{abs}(q)$ เรียกว่าค่าความเข้มสัมบูรณ์ (absolute intensity) ซึ่งเป็นค่าความเข้ม x-ray ที่อ่านได้จาก detector โดยจะเห็นว่า absolute intensity นี้ขึ้นกับค่าคงที่ต่างๆ ที่มาจากลักษณะทางกายภาพของสารตัวอย่าง และระบบวัด แต่เนื่องจากการทำการทดลองด้วยเทคนิค SAXS นั้น เรามักสนใจเฉพาะโครงสร้างภายในของสารตัวอย่าง ซึ่งจะปรากฏอยู่ในลักษณะรูปร่างของแผนผังการกระเจิง จึงไม่จำเป็นต้องรู้ค่าความเข้มสัมบูรณ์ (ยกเว้นบางกรณีที่ค่า absolute intensity มีความสำคัญ เช่นการหา molecular mass หรือ specific surface area) ซึ่งส่วนที่บรรจุข้อมูลโครงสร้างภายในของสารตัวอย่างนี้คือ differential cross-section $\frac{d\sigma}{d\Omega}(q)$ เท่านั้น ดังนั้นโดยส่วนใหญ่แล้วความเข้ม x-ray ที่ได้จากการวัด SAXS จึงหมายถึง $\frac{d\sigma}{d\Omega}(q)$ ซึ่งในทางทฤษฎีมีหน่วยเป็นพื้นที่ แต่เนื่องจากโดยส่วนใหญ่จะถูกพิจารณาเฉพาะรูปร่างของกราฟ จึงถูกแสดงผลโดยไม่มีหน่วยแน่นอน (arbitrary unit)

เราพิจารณาการกระเจิงของอนุภาค (รวมถึง x-ray ซึ่งเป็นอนุภาคโฟตอน) ในทางกลศาสตร์ควอนตัม ดังรูป



รูป 2.3 การกระเจิงของอนุภาค พิจารณาในทางกลศาสตร์ควอนตัม

ในทางกลศาสตร์ควอนตัม อนุภาคเป็นปริมาณคณิตศาสตร์ที่เรียกว่าฟังก์ชันคลื่น (wave function) ซึ่งหาได้จากการแก้สมการที่เรียกว่าสมการชโรดิงเงอร์ (Schrodinger equation) ในการทดลองการกระเจิงของอนุภาค อนุภาคตกกระทบมักถูกผลิตจากเครื่องเร่งอนุภาค, หลอด x-ray หรือเครื่องกำเนิดแสงซินโครตรอน จึงมีลักษณะเฉพาะ เช่น มีพลังงานที่แน่นอน และถูกทดแทนด้วย wave function ของอนุภาคอิสระ เรียกว่า plane wave โดยมีรูปทางคณิตศาสตร์ เป็น $e^{i\vec{k}_0 \cdot \vec{r}}$ โดยที่ $\vec{k}_0$ เป็นเลขคลื่นตกกระทบ (incident wave number) (มีค่าเท่ากับ $\frac{2\pi}{\lambda}$ เมื่อ λ เป็นความยาวคลื่น) เมื่ออนุภาคกระเจิงจากสารตัวอย่าง อนุภาคที่กระเจิงจะมีลักษณะเป็นคลื่นทรงกลม ซึ่งแทนด้วย e^{ikr} โดยที่ k เป็นขนาดของเลขคลื่นกระเจิง (scattering wave number) เมื่อเราทำการทดลองการกระเจิง สิ่งที่ตกกระทบ detector คือฟังก์ชันคลื่นกระเจิง (scattering wave function) ซึ่งเป็นส่วนผสมของ wave function ทั้งสองส่วน และค่าความเข้มที่ detector อ่านได้คือค่ากำลังสองของ wave function ที่ตกกระทบดังกล่าว

โดยถ้าให้ ψ แทน scattering wave function ที่ตกกระทบ detector ที่ระยะไกลมากๆ (เมื่อเทียบกับขนาดของความยาวคลื่น และโครงสร้างอะตอม หรือโมเลกุลในสารตัวอย่าง) เราจะได้ว่า

$$\psi \xrightarrow{r \rightarrow \infty} e^{i\vec{k}_0 \cdot \vec{r}} + f \frac{e^{ikr}}{r} \quad 2.4$$

โดยในเทอมที่สองทางขวามือนั้น ฟังก์ชันคลื่นกระเจิงทรงกลมถูกหารด้วยระยะทาง เนื่องมาจากความเข้มของคลื่นต้องลดลงตามกฎกำลังสองผกผัน และถูกคูณด้วยค่า f ซึ่งบรรจุข้อมูลการบิดเบี้ยวของฟังก์ชันคลื่นกระเจิงทรงกลม เนื่องมาจากการเกิด interaction ระหว่างอนุภาคตกกระทบและโครงสร้างภายในสารตัวอย่าง ค่า f จึงเป็นฟังก์ชันของมุมกระเจิง หรือเป็นฟังก์ชันของ scattering vector $\vec{q}$ โดยที่ $\vec{q}$ มีความสัมพันธ์กับ incident wave number และ scattering wave number คือ

$$\vec{q} = \vec{k} - \vec{k}_0 \quad 2.5$$

ในกรณีการกระเจิงที่พลังงานอนุภาคตกกระทบเท่ากับพลังงานอนุภาคกระเจิง (การกระเจิงแบบยืดหยุ่น) กล่าวคือ $|\vec{k}| = |\vec{k}_0| = k$ เราได้ขนาดของ scattering vector คือ

$$q = |\vec{k} - \vec{k}_0| = 2k \sin \frac{\theta}{2} = \frac{4\pi}{\lambda} \sin \frac{\theta}{2} \quad 2.6$$

ซึ่งคือนิยามของ scattering vector ตามสมการ 2.2

เราเรียกค่า f ในสมการ 2.4 นี้ว่า แอมพลิจูดการกระเจิง (scattering amplitude) และเป็นปริมาณสำคัญซึ่งสัมพันธ์กับ differential cross-section ที่วัดได้จากการทดลอง ตามทฤษฎีการกระเจิงในกลศาสตร์ควอนตัม ค่า differential cross-section มีความสัมพันธ์กับค่ากำลังสองมอดดูลัส (squared modulus) ของ scattering amplitude $f(\vec{q})$ คือ

$$\frac{d\sigma}{d\Omega}(\vec{q}) = f^*(\vec{q})f(\vec{q}) = |f(\vec{q})|^2 \quad 2.7$$

โดยที่ scattering amplitude มีความสัมพันธ์กับ interaction และ scattering wave function คือ

$$f(\vec{q}) = A \int U(\vec{r}) \psi d\vec{r} \quad 2.8$$

โดย A เป็นค่าคงที่ U เป็น interaction (ซึ่งเป็นฟังก์ชันของเวกเตอร์บอกตำแหน่ง $\vec{r}$) ในส่วนของ scattering wave function ψ นั้น หามาได้จากการแก้ Schrodinger equation ซึ่งโดยปกติจะมีความซับซ้อน แต่ในกรณีที่มีเงื่อนไขพิเศษ เช่น ในกรณีที่ interaction มีค่าน้อยเมื่อเทียบกับพลังงานของอนุภาคที่ตกกระทบ เช่นในกรณีของ Small Angle Scattering นั้น เราสามารถประมาณ scattering wave function ให้อยู่ในรูปเดียวกับ plane wave ซึ่งจะทำให้ได้ scattering amplitude อยู่ในรูปของ Fourier transform ของ interaction กล่าวคือ

$$f(\vec{q}) = A \int U(\vec{r}) e^{i\vec{q} \cdot \vec{r}} d\vec{r} \quad 2.9$$

โดยเราเรียกการประมาณนี้ว่าการประมาณของบอร์น (Born Approximation)

ในส่วนของค่าคงที่ A นั้น ขึ้นอยู่กับสิ่งที่เกิดการกระเจิง ตัวอย่างเช่น หากเป็นการกระเจิงของอนุภาคสองตัวที่มีมวลเป็น m_1 และ m_2 เราจะได้ scattering amplitude เป็น

$$f(\vec{q}) = -\frac{\mu}{2\pi\hbar^2} \int U(\vec{r}) e^{i\vec{q} \cdot \vec{r}} d\vec{r} \quad 2.10$$

โดย $\mu = \frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2}$ เรียกว่า reduced mass และ $\hbar$ เป็นค่าคงที่ของพลังค์ (Planck's constant) หารด้วย 2π

ในกรณีของการกระเจิงของ x-ray โดยอะตอมนั้น เนื่องจากความยาวคลื่นของ x-ray ที่ใช้ยาวกว่าระยะของ interaction มาก เราจึงสามารถเฉลี่ย interaction ในแต่ละบริเวณเล็กๆ ให้กลายเป็นค่าการกระจายความหนาแน่นอิเล็กตรอน และดังนั้น scattering amplitude กลายเป็น

$$f(\vec{q}) = r_e \int \rho_e(\vec{r}) e^{i\vec{q} \cdot \vec{r}} d\vec{r} \quad 2.11$$

โดยค่าคงที่ r_e เป็นค่าที่เรียกว่า classical electron radius และ $\rho_e(\vec{r})$ เป็นการกระจายความหนาแน่นอิเล็กตรอน (electron density distribution) ของอะตอม

เนื่องจากเราอาจประมาณอะตอมเป็นทรงกลม นั้นหมายความว่า electron density distribution ขึ้นกับระยะ r และไม่ขึ้นกับทิศทางของเวกเตอร์ $\vec{r}$ เราจึงทำการอินทิเกรตรอบทิศทางได้ โดยใช้ Debye formula คือ

$$\langle e^{i\vec{q} \cdot \vec{r}} \rangle = \frac{\sin(qr)}{qr} \quad 2.12$$

ดังนั้น จึงได้ scattering amplitude เป็น

$$f(q) = r_e 4\pi \int \rho_e(r) \frac{\sin(qr)}{qr} r^2 dr \quad 2.13$$

และค่า differential cross-section $\frac{d\sigma}{d\Omega}(q)$ เป็น squared modulus ของ scattering amplitude นี้

2.3 การกระเจิง x-ray โดยอนุภาคเดี่ยว

เนื่องจากค่า differential cross-section $\frac{d\sigma}{d\Omega}(q)$ เป็นค่าความเข้ม x-ray ที่วัดได้ ดังนั้นเพื่อความสะดวกจากนี้ไป เราจะใช้สัญลักษณ์ $I(q)$ และเขียนสมการ 2.7 ใหม่ คือ

$$I(q) = F^*(q)F(q) = |F(q)|^2 \quad 2.14$$

โดย $F(q)$ เป็น scattering amplitude ที่บรรจุข้อมูลของ electron density distribution ของอนุภาคลำตัวคือ

$$F(q) = 4\pi \int_0^\infty \rho(r) \frac{\sin(qr)}{qr} r^2 dr \quad 2.15$$

โดย $\rho(r)$ เป็น electron density distribution ของอนุภาค

เราเรียก $F(q)$ ว่า Form factor เช่นในกรณีการกระเจิงของ x-ray จากอนุภาคทรงกลมตันที่มีรัศมี R ซึ่งมีค่าความหนาแน่นคงที่เป็น ρ_0 ภายในอนุภาค และเป็น 0 ภายนอกอนุภาค หรือเขียน electron density distribution ได้คือ

$$\rho(r) = \begin{cases} \rho_0, & r \leq R \\ 0, & r > R \end{cases} \quad 2.16$$

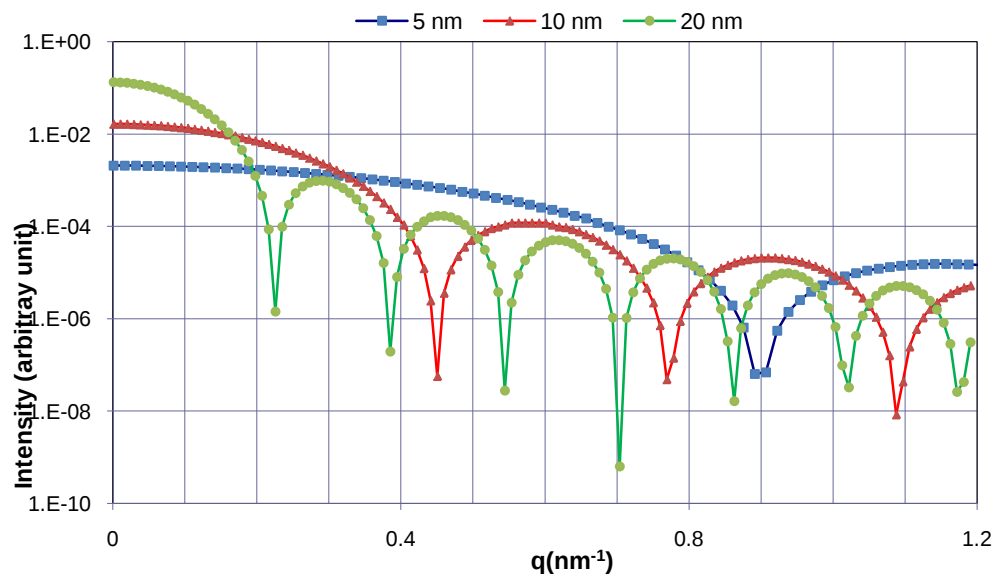
จากการอินทิเกรตตามสมการ 2.15 จะได้ form factor เป็น

$$F(q) = 4\pi\rho_0^2 \frac{\sin(qR) - qR \cos(qR)}{(qR)^3} \quad 2.17$$

ซึ่งจะได้ $I(q)$ เป็น

$$I(q) = |F(q)|^2 = (4\pi)^2 \rho_0^2 \left[3 \frac{\sin(qR) - qR \cos(qR)}{(qR)^3} \right]^2 \quad 2.18$$

และเราวาดกราฟการกระเจิงของอนุภาคทรงกลมรัศมีต่างๆ ได้ดังรูปที่ 2.4 ซึ่งจะเห็นว่ารูปร่างของความเข้มการกระเจิงนั้นขึ้นกับขนาดของอนุภาค



รูป 2.4 กราฟการกระเจิงของทรงกลมตันที่มีขนาดรัศมีต่างๆ

2.4 การกระเจิงโดยอนุภาคที่มีหลายขนาด

กรณีการกระเจิง x-ray จากอนุภาคจำนวนมากที่มีขนาดต่างๆ กัน ค่าความเข้มการกระเจิงที่ได้เป็นค่าเฉลี่ยจากอนุภาคทั้งหมด โดยหากอนุภาคมีการกระจายขนาด (size distribution) เป็นฟังก์ชัน $G(r, \mu, \sigma)$ ซึ่งมี location parameter เป็น μ และมีค่า width parameter เป็น σ เราได้ความเข้มการกระเจิงจากกลุ่มอนุภาคนี้อย่างไร

$$I(q) = \int_{-\infty}^{\infty} |F(q, r)|^2 G(r, \mu, \sigma) dr \quad 2.19$$

เช่น หากอนุภาคมีการกระจายขนาดเป็นแบบ Log normal จะมี size distribution เป็น

$$G_{LN}(r, \mu, \sigma) = \frac{1}{r\sigma\sqrt{2\pi}} \exp\left\{-\frac{\left(\ln\left(\frac{r}{\mu}\right)\right)^2}{2\sigma^2}\right\} \quad 2.20$$

โดย parameter ของ Log normal distribution นั้น สัมพันธ์กับค่ารัศมีเฉลี่ย $\langle R \rangle$ และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) SD ว่าเป็น

$$\langle R \rangle = \mu \exp\left(\frac{\sigma^2}{2}\right) \quad 2.21$$

$$SD = \mu \sqrt{\omega(\omega - 1)} \quad 2.22$$

โดยที่ $\omega = \exp(\sigma^2)$

ในกรณีการกระจายขนาดเป็นแบบ Gaussian เราได้

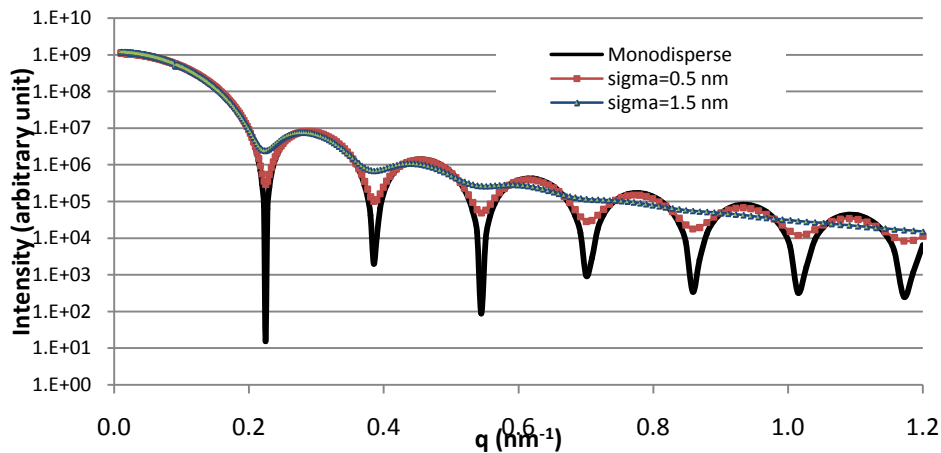
$$G_{guass}(r, \mu, \sigma) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma} \exp\left\{-\frac{(r-\mu)^2}{2\sigma^2}\right\} \quad 2.23$$

โดย parameter ของ Gaussian distribution นั้นเป็นค่ารัศมีเฉลี่ย $\langle R \rangle$ และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) SD โดยตรง ว่าเป็น

$$\langle R \rangle = \mu \quad 2.24$$

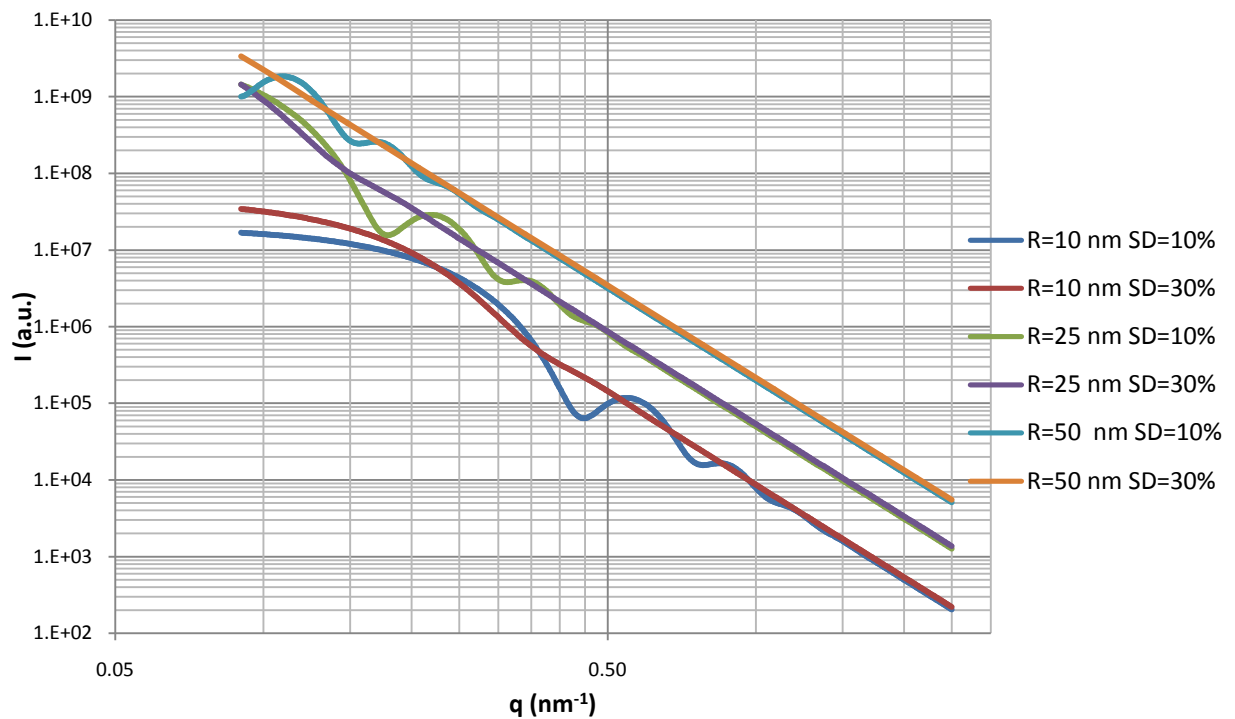
$$SD = \sigma \quad 2.25$$

รูปที่ 2.5a แสดงความเข้มการกระเจิงจากกลุ่มอนุภาคขนาดรัศมีเฉลี่ย 20 นาโนเมตร เปรียบเทียบอนุภาคที่มีขนาดแน่นอนเป็น 20 นาโนเมตรทั้งหมด (Monodisperse) และที่มีการกระจายขนาดเป็น Gaussian ที่มีค่า standard deviation ต่างๆ จะเห็นว่าผลของ size distribution คือการ smear กราฟความเข้มการกระเจิง



รูป 2.5a ความเข้มการกระเจิงของอนุภาคทรงกลมตันรัศมีเฉลี่ย 20 นาโนเมตร แสดงผลของการกระจายขนาดแบบ Gaussian ที่ค่า standard deviation (sigma) ต่างๆ

ในการวัด SAXS ของตัวอย่างที่เป็นอนุภาคนาโนนั้น การกระเจิงที่ได้จะขึ้นกับหลายปัจจัย ช่วง q -range (ซึ่งคือระยะ sample-detector) ที่ใช้วัดต้องเหมาะสมกับขนาดของอนุภาคด้วย ยิ่งอนุภาคมีขนาดใหญ่ ค่า q ที่วัดยิ่งต้องน้อย มิฉะนั้น scattering profile ที่ได้อาจเป็นเพียงเส้นตรงเรียบๆ ทำให้ไม่สามารถวิเคราะห์ขนาดอนุภาคจากข้อมูลได้ รูป 2.5b แสดง simulation ของ scattering profile สำหรับช่วงค่า q ที่วัดได้ที่ BL1.3W ($q=0.09 - 2.5 \text{ nm}^{-1}$) ซึ่งจะเห็นว่า สำหรับอนุภาคที่มีขนาดใหญ่และมีการกระจายขนาดที่กว้าง จะให้ผล scattering profile ที่เป็นเส้นตรงเรียบ โดยคร่าวๆ แล้ว เราจะไม่เห็น oscillation เมื่อค่า standard deviation ของการกระจายขนาดมีค่าเกิน 30% (สำหรับผู้ที่ยังคุ้นเคยกับเทคนิค Dynamic Light Scattering (DLS) การกระจายขนาดในระดับนี้สัมพันธ์กับค่า Polydispersity Index ที่นิยามใน DLS ประมาณ 0.1)



รูป 2.5b ความเข้มการกระเจิงของอนุภาคทรงกลมตัน สำหรับ x-ray พลังงาน 8 keV ในช่วงค่า q ที่วัดได้ที่ BL1.3W แสดงผลของค่ารัศมีเฉลี่ย (R) และการกระจายขนาดแบบ Gaussian ที่ค่า standard deviation (SD) ต่างๆ

2.5 รัศมีไจเรชัน และ Guinier approximation

เราสามารถกระจาย power series ของค่าความเข้มการกระเจิง และประมาณค่าความเข้มการกระเจิงที่ค่าเวกเตอร์การกระเจิง q น้อยๆ ได้ โดยเรียกการประมาณนี้ว่า Guinier approximation โดยสำหรับอนุภาคทรงกลมจะได้

$$I(q) = N e^{-\frac{q^2 R_g^2}{3}} \quad 2.26$$

โดย N เป็นค่าคงที่ และ R_g เรียกว่ารัศมีไจเรชัน (radius of gyration) ซึ่งสัมพันธ์กับค่ารัศมี R ของอนุภาค โดย

$$R_g = cR \quad 2.27$$

โดย c เป็นค่าคงที่ขึ้นกับลักษณะรูปร่างของอนุภาค เช่น สำหรับอนุภาคทรงกลม มีค่า

$$R_g = \sqrt{\frac{3}{5}} R \quad 2.28$$

จาก Guinier approximation นี้ เราสามารถหาขนาดรัศมีของอนุภาคได้ทันที โดยถ้าเราเขียนสมการ 2.26 ในรูป logarithm เราจะได้

$$\ln I(q) = -\frac{R_g^2}{3} q^2 + \ln N \quad 2.29$$

ดังนั้น หากเราเขียนกราฟระหว่าง $\ln I(q)$ และ q^2 เราได้เส้นตรงที่มีความชันของกราฟคือ $-\frac{R_g^2}{3}$ ซึ่งทำให้หาค่า radius of gyration ของอนุภาคทรงกลมเป็น $R_g = \sqrt{-3m}$ เมื่อ m เป็นความชันของกราฟการกระเจิง (ซึ่งเป็นลบ) อย่างไรก็ตาม เนื่องจาก Guinier approximation นั้นเป็นการประมาณค่าความเข้มการกระเจิงที่ค่า q น้อยๆ การหาขนาดอนุภาคโดยวิธีนี้จึงต้องใช้ค่าความเข้มการกระเจิงที่ q น้อยๆ เท่านั้น โดยปกติ เราสามารถใช้ Guinier approximation ได้ที่เงื่อนไข

$$qR_g < 1.3 \quad 2.30$$

นอกจากการหาค่ารัศมีอนุภาคแล้ว Guinier approximation ยังสามารถหาค่ารัศมีหน้าตัดของอนุภาคทรงกระบอก และความหนาของอนุภาคแบนได้ โดยสำหรับอนุภาคทรงกระบอก เราได้ความสัมพันธ์

$$\ln qI(q) = -\frac{R_{gc}^2}{2} q^2 + \ln N \quad 2.31$$

โดย R_{gc} เรียกว่ารัศมีใจเรชันของหน้าตัด (cross-sectional radius of gyration) โดยสัมพันธ์กับค่ารัศมีของหน้าตัด R_c คือ

$$R_{gc} = \frac{1}{\sqrt{2}} R_c \quad 2.32$$

ดังนั้น หากเราเขียนกราฟระหว่าง $\ln qI(q)$ และ q^2 เราได้เส้นตรงที่มีความชันของกราฟคือ $-\frac{R_{gc}^2}{2}$ ซึ่งทำให้หาค่า crosssectional radius of gyration เป็น $R_{gc} = \sqrt{-2m}$ เมื่อ m เป็นความชันของกราฟการกระเจิง (ซึ่งเป็นลบ)

ในกรณีอนุภาคแบน เราได้

$$\ln q^2 I(q) = -R_{gt}^2 q^2 + \ln N \quad 2.33$$

โดย R_{gt} เรียกว่ารัศมีไจเรชันของความหนา (thickness radius of gyration) โดยสัมพันธ์กับค่าความหนา T ของอนุภาคคือ

$$R_{gt} = \frac{1}{\sqrt{12}} T \quad 2.34$$

ดังนั้น หากเราเขียนกราฟระหว่าง $\ln q^2 I(q)$ และ q^2 เราได้เส้นตรงที่มีความชันของกราฟคือ $-R_{gt}^2$ ซึ่งทำให้หาค่า thickness radius of gyration เป็น $R_{gt} = \sqrt{-m}$ เมื่อ m เป็นความชันของกราฟการกระเจิง (ซึ่งเป็นลบ) หมายเหตุอีกครั้งว่า ในทุกกรณีที่กล่าวมานี้ Guinier approximation ใช้ได้ในเงื่อนไขที่ q น้อยๆ คือ $qR_g < 1.3$

ตารางด้านล่างเป็นความสัมพันธ์ระหว่างรัศมีไจเรชัน R_g และขนาด (geometrical size) ของอนุภาครูปทรงต่างๆ

อนุภาค	ความสัมพันธ์
ทรงกลมตัน รัศมี R	$R_g^2 = \frac{3}{5} R^2$
ทรงกลมกลวง รัศมี $R_1 > R_2$	$R_g^2 = \frac{3}{5} \frac{R_1^5 - R_2^5}{R_1^3 - R_2^3}$
วงรีที่มี semiaxes a and b	$R_g^2 = \frac{a^2 + b^2}{4}$
Ellipsoid ที่มี semiaxes a, b and c	$R_g^2 = \frac{a^2 + b^2 + c^2}{5}$
ปริซึม ความยาวด้าน A, B and C	$R_g^2 = \frac{A^2 + B^2 + C^2}{12}$
ทรงกระบอกตันยาว h และหน้าตัดวงรี semiaxes a and b	$R_g^2 = \frac{a^2 + b^2}{4} + \frac{h^2}{12}$
ทรงกระบอกกลวง ยาว h รัศมีหน้าตัด $R_1 > R_2$	$R_g^2 = \frac{R_1^2 + R_2^2}{2} + \frac{h^2}{12}$

2.6 การกระเจิง x-ray โดยระบบของอนุภาคที่มี interaction ต่อกัน

ค่าความเข้มการกระเจิงตามสมการ 2.14 นั้น เป็นการกระเจิงจากอนุภาคเดี่ยว ในกรณีที่เป็นการกระเจิงจากหลายอนุภาค แต่เป็นอนุภาคที่เป็นอิสระต่อกัน ค่าความเข้มการกระเจิงจะเป็นค่าเฉลี่ยของการกระเจิงจากแต่ละอนุภาค (กล่าวคือ เป็นค่าเฉลี่ยของกำลังสองของ form factor ซึ่งเราเขียนความเข้มการกระเจิงได้เป็น

$$I(q) = \langle |F(q)|^2 \rangle = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |F_i(q)|^2 \quad 2.35$$

เมื่อ $\langle |F(q)|^2 \rangle$ เป็นค่าเฉลี่ยของกำลังสองของ form factor และ N เป็นจำนวนอนุภาค โดยในกรณีที่อนุภาคไม่เป็นอิสระต่อกัน กล่าวคือมีการเกิด interaction ระหว่างอนุภาค จะส่งผลให้เกิดการแทรกสอดของ x-ray ที่กระเจิง ค่าความเข้มการกระเจิงในกรณีเช่นนี้ นอกจากจะขึ้นกับ form factor ของแต่ละอนุภาคแล้ว ยังขึ้นกับปริมาณที่เรียกว่า Structure factor ซึ่งขึ้นกับ interaction ระหว่างอนุภาค โดยเราได้ค่าความเข้มการกระเจิงในกรณีนี้ คือ

$$I(q) = \langle |F(q)|^2 \rangle \left\{ 1 + \frac{\langle F(q) \rangle^2}{\langle |F(q)|^2 \rangle} [S(q) - 1] \right\} \quad 2.36$$

โดยที่ $S(q)$ เรียกว่า Structure factor โดยค่า $\langle F(q) \rangle^2$ เป็นค่ากำลังสองของค่าเฉลี่ยของ form factor ซึ่งมีค่าแตกต่างกับค่าเฉลี่ยของกำลังสองของ form factor $\langle |F(q)|^2 \rangle$ ในกรณีที่อนุภาคแต่ละอนุภาคมีความแตกต่างกัน หรือรูปร่างของอนุภาคไม่มีสมมาตรรอบทิศทาง แต่ในกรณีที่อนุภาคเหมือนกัน และมีสมมาตรรอบทิศทาง ค่าทั้งสองจะเท่ากัน คือ $\langle F(q) \rangle^2 = \langle |F(q)|^2 \rangle$ ซึ่งทำให้เราได้ความเข้มการกระเจิงที่ลดรูปเป็น

$$I(q) = \langle |F(q)|^2 \rangle S(q) \quad 2.37$$

ค่า Structure factor $S(q)$ นั้นขึ้นกับรูปแบบของ interaction ระหว่างอนุภาคที่กระเจิง x-ray ซึ่งในบางกรณีอาจหาได้ในรูป analytical form แต่ในหลายกรณีก็มีความซับซ้อน และส่งผลให้การแปรข้อมูลการวัด SAXS มีความซับซ้อนเช่นกัน

2.7 Correlation function และ Pair Distance Distribution Function

สมการสำหรับความเข้มการกระเจิง อาจถูกพิจารณาจากความแตกต่างของความหนาแน่น (density contrast) ในโครงสร้างของสารตัวอย่าง เช่น กรณีของอนุภาค หรือโมเลกุลที่แขวนลอยอยู่ในของเหลว โดยหากเราเขียนความเข้มการกระเจิงในสมการ 2.14 ใหม่ คือ

$$I(q) = F^*(q)F(q) = \iint \rho(\vec{r}_1) \rho^*(\vec{r}_2) e^{i\vec{q} \cdot (\vec{r}_1 - \vec{r}_2)} d\vec{r}_1 d\vec{r}_2 \quad 2.38$$

จากนั้นเรานิยามปริมาณที่เรียกว่า Auto-correlation (หรือเรียกว่า Patterson function) คือ

$$\tilde{\rho}^2(\vec{r}) = \int \rho(\vec{r}_1) \rho^*(\vec{r}_1 - \vec{r}) d\vec{r}_1 \quad 2.39$$

โดย $\vec{r} = \vec{r}_1 - \vec{r}_2$ และทำให้ได้ความเข้มการกระเจิงเป็น

$$I(q) = \int \tilde{\rho}^2(\vec{r}) e^{i\vec{q} \cdot \vec{r}} d\vec{r} \quad 2.40$$

และเมื่ออินทิเกรตรอบทิศทาง เราได้

$$I(q) = 4\pi \int_0^\infty \tilde{\rho}^2(r) \frac{\sin(qr)}{qr} r^2 dr \quad 2.41$$

ในกรณีของการกระเจิงจากอนุภาคที่อยู่ในตัวกลางที่มีความหนาแน่นคงที่ โดยมีค่าความแตกต่างความหนาแน่น หรือ density contrast ระหว่างอนุภาคและตัวกลางเป็น

$$\eta(\vec{r}) = \rho(\vec{r}) - \rho_0 \quad 2.42$$

เมื่อ ρ เป็นความหนาแน่นของอนุภาค และ ρ_0 เป็นความหนาแน่นของตัวกลางซึ่งเป็นค่าคงที่ เนื่องจากที่ระยะ r มากๆ เลขขนาดของอนุภาคนั้น ความหนาแน่นเป็นความหนาแน่น ρ_0 ของตัวกลาง และ auto-correlation ตามสมการ 2.39 กลายเป็น $V\rho_0^2$ ดังนั้น เราได้ auto-correlation ของ density contrast เป็น

$$\tilde{\eta}^2(\vec{r}) = \tilde{\rho}^2(\vec{r}) - V\rho_0^2 \quad 2.43$$

และเนื่องจากส่วน $V\rho_0^2$ เป็นเพียงค่าคงที่ซึ่งไม่มีผลกับรูปร่างความเข้มการกระเจิงที่วัดได้ ดังนั้นการกระเจิง x-ray จึงขึ้นกับความแตกต่างความหนาแน่น หรือ density contrast ในสารตัวอย่างเท่านั้น และเราสามารถแทน $\bar{\rho}^2$ ในสมการ 2.41 ด้วย $\bar{\eta}^2$ โดยไม่ส่งผลกับการแปลความหมายของผลการวัดการกระเจิง x-ray

จาก auto-correlation ที่ได้ เรานิยามปริมาณสำคัญอีกหนึ่งค่า เรียกว่า Correlation function $\gamma(r)$ ซึ่งเป็นค่าเฉลี่ยต่อปริมาตรของ auto-correlation ของ density contrast กล่าวคือ

$$\gamma(r) = \frac{1}{V} \bar{\eta}^2(r) \quad 2.44$$

และเขียนสมการความเข้มการกระเจิงในสมการ 3.41 ใหม่ได้เป็น

$$I(q) = 4\pi V \int_0^\infty \gamma(r) \frac{\sin(qr)}{qr} r^2 dr \quad 2.45$$

Correlation function $\gamma(r)$ นี้เป็นปริมาณที่บอกการกระจาย density contrast ภายในสารตัวอย่าง และจากสมการ 2.45 เราสามารถหา Correlation function ได้จากการทำ inverse Fourier transform ของค่าความเข้มการกระเจิงที่วัดได้ กล่าวคือ

$$V\gamma(r) = \frac{1}{2\pi^2} \int_0^\infty I(q) \frac{\sin(qr)}{qr} q^2 dq \quad 2.46$$

อีกปริมาณที่สำคัญและพบบ่อยในการแปลผลข้อมูล SAXS คือปริมาณที่เรียกว่า Pair Distance Distribution Function $p(r)$ ซึ่งสัมพันธ์กับ Correlation function คือ

$$p(r) = r^2 \gamma(r) \quad 2.47$$

Correlation function และ Pair Distance Distribution Function มีความสำคัญในการแปลผลการวัดการกระเจิง x-ray ในหลายกรณี เช่นในการวัด SAXS ของโมเลกุลโปรตีนในสารละลายเพื่อหารูปร่างและขนาดของโมเลกุล โดยในการทำ inverse Fourier transform ตามสมการ 2.46 นั้น เนื่องจากเราไม่สามารถได้ค่าความเข้มการกระเจิงตลอดช่วงของ q ได้ จึงจำเป็นต้องอาศัยเทคนิคทางคณิตศาสตร์และการคำนวณด้วยคอมพิวเตอร์

เมื่อพิจารณาสมการ 2.46 มีกรณีสำคัญที่ควรกล่าวไว้ในที่นี้ คือ เมื่อพิจารณาที่ $r = 0$ นั้นเราได้ว่า

$$V\gamma(0) = V\bar{\eta}^2 = \frac{1}{2\pi^2} \int_0^\infty I(q) q^2 dq \quad 2.48$$

ซึ่งเป็นค่าคงที่ที่ไม่ขึ้นกับรูปร่างของโครงสร้างที่กระเจิงแต่ขึ้นกับค่าเฉลี่ยของ density contrast เช่น ตัวอย่างชนิดเดียวกันแต่มีลักษณะรูปร่างโครงสร้างแตกต่างกัน ค่าความเข้มการกระเจิงจะต่างกัน แต่ปริมาณในสมการ 2.48 ยังคงเดิม โดยเรานิยามปริมาณที่เรียกว่า Invariance Q คือ

$$Q = \int_0^\infty I(q)q^2 dq \quad 2.49$$

โดยค่า Q นี้สามารถใช้หาปริมาณสำคัญบางอย่างจากการวัด SAXS ได้เช่น การหาสัดส่วนปริมาตร (volume fraction) ของสารตัวอย่างที่เป็นสารผสมสองเฟส

2.8 ความชันของกราฟความเข้มการกระเจิงและมิติของโครงสร้าง

ความชันของกราฟการกระเจิงที่วัดได้บรรจุข้อมูลมิติของโครงสร้างที่กระเจิง x-ray โดยหลักการนั้นมาจากทฤษฎีทางคณิตศาสตร์ที่เรียกว่า Fractals

จากทฤษฎีของ Fractals นั้นหากเราพิจารณาจำนวนอนุภาคในระบบอนุภาค (cluster) จะได้ว่าจำนวนอนุภาคใน cluster นั้นเป็นไปตามกฎการยกกำลัง (power law) กล่าวคือ จำนวนอนุภาคแปรผันโดยตรงกับขนาดของ cluster ยกกำลังมิติของอนุภาค โดยเขียนเป็นสมการได้เป็น

$$N = CR^{d_m} \quad 2.50$$

โดย N เป็นจำนวนอนุภาค, C เป็นค่าคงที่ขึ้นกับขนาดของอนุภาคเดี่ยว, R เป็นขนาดของ cluster และ d_m เป็นมิติของอนุภาคเรียกว่า mass fractal dimension

สำหรับการกระเจิง x-ray นั้น ค่าความเข้มที่ได้สัมพันธ์กับจำนวนอนุภาคเช่นกัน แต่เป็นค่าใน reciprocal space จึงมีความสัมพันธ์เป็นส่วนกลับของ power law กล่าวคือ

$$I(q) = \frac{B}{q^{d_m}} \quad 2.51$$

โดย B เป็นค่าคงที่ อย่างไรก็ตาม ความสัมพันธ์นี้ใช้ได้เฉพาะอนุภาค 1 มิติ (เส้น) และ 2 มิติ (แผ่น) เท่านั้น โดยในกรณี 1 มิติค่า $d_m = 1$ และในกรณีแผ่นสองมิติ $d_m = 2$ ในกรณีที่เป็นแผ่นสองมิติที่มีผิวขรุขระ ค่ามิติ d_m จะมีค่าอยู่ระหว่าง 2 และ 3

สำหรับกรณีอนุภาค 3 มิติ เช่น ทรงกลมนั้น มีส่วนที่ต้องพิจารณาสองส่วน คือ ส่วนที่เป็นปริมาตร และ ส่วนที่เป็นพื้นที่ผิว โดยเราได้ความสัมพันธ์ในกรณีอนุภาค 3 มิติ คือ

$$I(q) = \frac{B}{q^{2d_m-d_s}} = \frac{B}{q^{6-d_s}} \quad 2.52$$

โดยที่ d_s เป็น fractal dimension ของพื้นผิว เช่น พื้นผิวเรียบจะมีค่า $d_s = 2$ หรือพื้นผิวที่ขรุขระจะมีค่า $2 \leq d_s \leq 3$ ดังนั้น ในกรณีการกระเจิง x-ray จากระบบของอนุภาค 3 มิติพื้นผิวเรียบ เราจะได้

$$I(q) = \frac{B}{q^4} \quad 2.53$$

ซึ่งเรียกความสัมพันธ์นี้ว่ากฎของพอร์ด (Porod's law) เช่นการวัดการกระเจิงของอนุภาคนาโนที่แขวนลอยในของเหลว และมีลักษณะการกระจายตัวที่ดี ไม่เกาะติดกัน เราจะได้ความชันของความเข้มการกระเจิงเป็น -4 เสมอ แต่หากอนุภาคมีการเกาะตัวกันกลายเป็นกลุ่มที่มีผิวขรุขระ เราจะได้ความชันของความเข้มการกระเจิงอยู่ระหว่าง -4 และ -3

2.9 การกระเจิง x-ray โดยโครงสร้างที่เป็นระเบียบ (periodic structure)

เมื่อ x-ray กระเจิงจากโครงสร้างที่เป็นระเบียบ จะเกิดการแทรกสอดของ x-ray ที่กระเจิงทำให้เกิด peak ที่มีตำแหน่งสัมพันธ์กับค่า period ของโครงสร้างที่กระเจิง เช่นเดียวกับการเกิด peak ของการเลี้ยวเบน x-ray ผ่านผลึก ในการวัด X-ray Diffraction (XRD)

โดยหากให้มุมกระเจิงเป็น θ และความยาวคลื่นของ x-ray เป็น λ จากนิยามของค่าเวกเตอร์การกระเจิง q คือ

$$q = \frac{4\pi}{\lambda} \sin \frac{\theta}{2} \quad 2.54$$

และสมการของ Bragg คือ

$$2d \sin \frac{\theta}{2} = n\lambda \quad 2.55$$

โดย n เป็นลำดับการแทรกสอดเราได้ค่า d-spacing ของโครงสร้างที่ตำแหน่ง peak ของความเข้มการกระเจิง $I(q)$ คือ

$$d = \frac{2\pi n}{q_{peak}} \quad 2.56$$

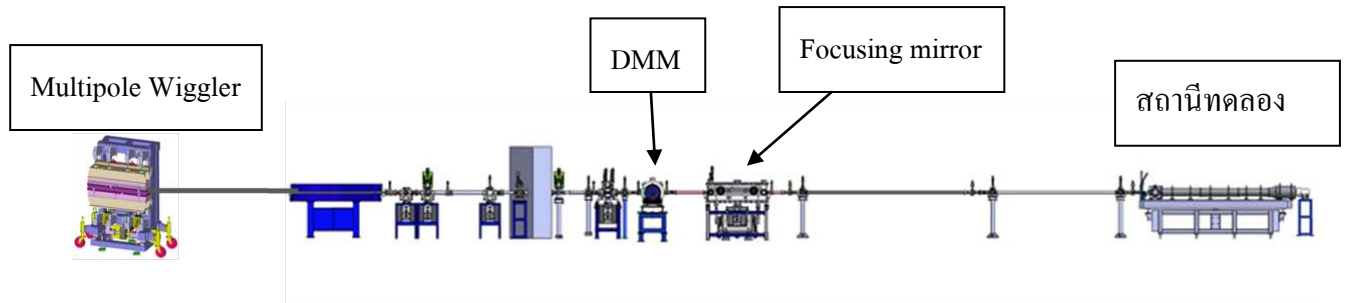
ในกรณีของ SAXS นั้น เนื่องจากการกระเจิงจากโครงสร้างระดับโมเลกุลซึ่งมักมีความเป็นระเบียบต่ำ ลักษณะ peak ที่ได้โดยปกติจึงมักไม่คมเหมือน peak ของ XRD นอกจากนั้น เนื่องจากความเป็นระเบียบที่ต่ำ ค่า d-spacing จึงอาจต้องเป็นค่าเฉลี่ย ซึ่งมีความจำเป็นต้องรวมผลจากการกระจายขนาด และอาจต้องหาโครงสร้างที่ถูกต้องโดยการทำ fitting ของค่าความเข้มการกระเจิงโดยใช้ Form factor และ Structure factor ตามสมการ 2.36 หรือ 2.37 แทนการใช้ค่าตำแหน่ง q_{peak} โดยตรง (ดูหัวข้อ 2.10)

2.10 การศึกษาโครงสร้างแบบชั้น (lamella structure)

พอลิเมอร์จำนวนมาก (รวมถึงเส้นใย) มีโครงสร้างระดับนาโนที่มีลักษณะเป็นชั้น (lamella structure) ซึ่งเกิดจากโครงสร้างที่มีการสลับกันระหว่างส่วนที่เป็นผลึก (crystalline) ซึ่งมีความหนาแน่นสูง และส่วนที่เป็นอสัณฐาน (amorphous) ซึ่งมีความหนาแน่นต่ำ เมื่อเกิดการกระเจิง x-ray จะได้ลักษณะแผนผังการกระเจิงที่คล้ายการกระเจิงของโครงสร้างผลึก คืออาจมีลักษณะเป็นวง (ในกรณีที่ทิศทางการเรียงตัวเป็นแบบสุ่ม หรือ ตัวอย่างเป็นผง) หรือมีลักษณะแผนผังการกระเจิงที่มีทิศทางการเรียงตัวที่แน่นอนอน อย่างไรก็ตาม เนื่องจากการกระเจิงจากโครงสร้างระดับโมเลกุลซึ่งมักมีความเป็นระเบียบต่ำ ค่า d-spacing ของแต่ละคาบของโครงสร้างจึงแตกต่างกัน โดยมี distribution ของค่า d-spacing (คล้ายกับ size distribution ของอนุภาคนาโน) ซึ่งลักษณะโครงสร้างเช่นนี้ ให้ peak ที่มีลักษณะเป็น broad peak การแปรข้อมูล SAXS ของ lamellar structure เช่นนี้ จึงมักต้องทำ fitting ของค่าความเข้มการกระเจิงโดยใช้ Form factor และ Structure factor เพื่อหาค่า d-spacing เฉลี่ย และ distribution ของค่า d-spacing ตัวอย่างการวิเคราะห์ผล SAXS สำหรับโครงสร้างแบบ lamella ให้ไว้ในหัวข้อ 9.5

บทที่ 3 ระบบลำเลียงแสง และอุปกรณ์ในสถานีทดลอง

ระบบลำเลียงแสง BL1.3W สำหรับสถานีทดลอง SAXS/WAXS ใช้แสงซินโครตรอนจากอุปกรณ์ที่เรียกว่า Multipole Wiggler ซึ่งเป็นแม่เหล็กถาวรความเข้มสนามแม่เหล็กสูง (2.2 เทสลา) ที่ติดตั้งอยู่ในวงกักเก็บอิเล็กตรอน ระบบลำเลียงแสงมีส่วนประกอบดังรูป



รูป 3.1a แหล่งกำเนิดแสง และระบบลำเลียงแสง BL1.3W

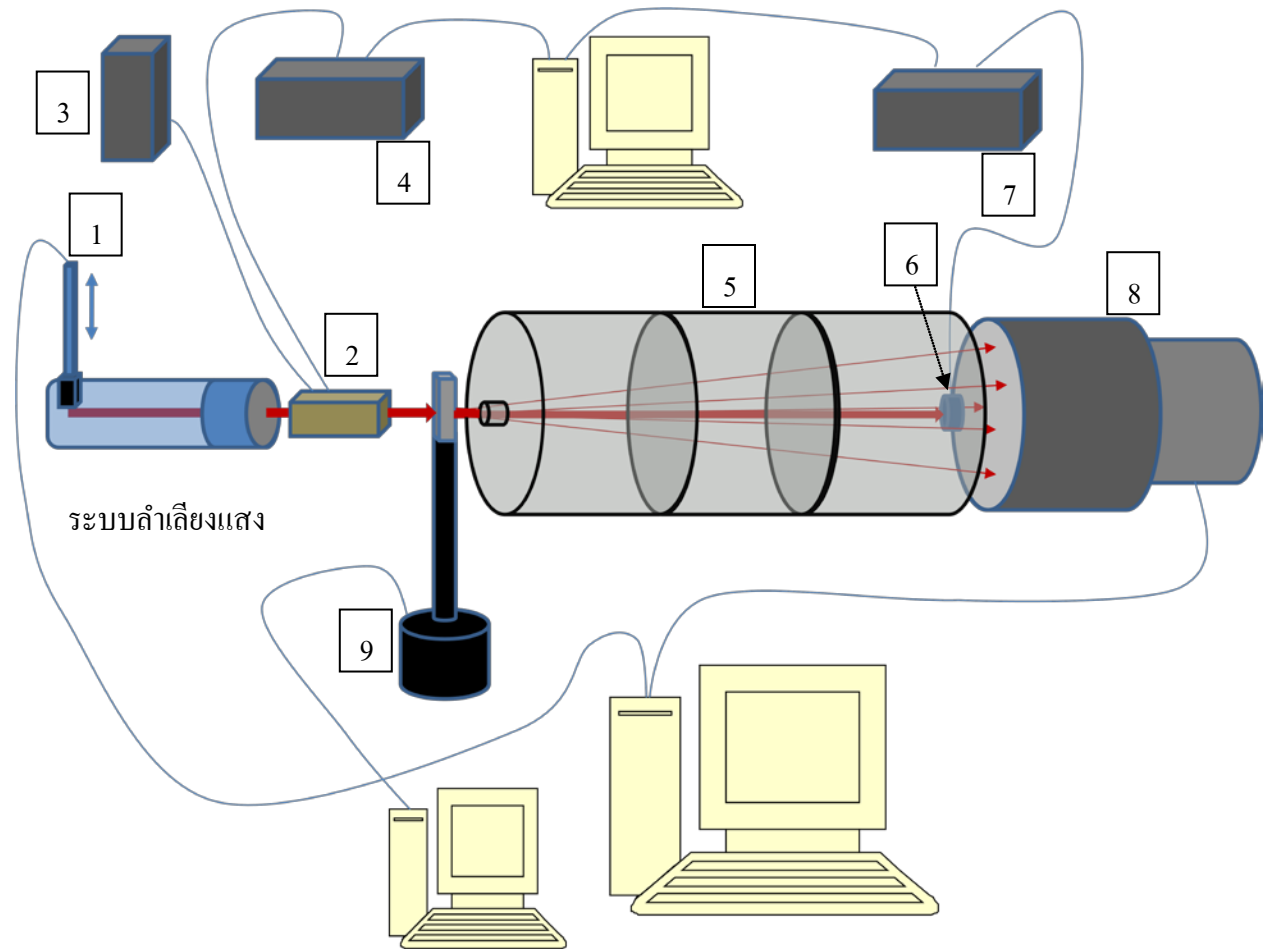


รูป 3.1b ภาพถ่ายสถานีทดลอง BL1.3W

แสงซินโครตรอนจาก Multipole Wiggler จะถูกคัดเลือกพลังงานด้วย Double Multilayer Monochromator (DMM) ซึ่งเป็นกระจกที่เคลือบด้วยชั้นทั้งสแตนเลสกับโบรอนคาร์ไบด์ มีความหนาชั้น 2.5 นาโนเมตร จำนวน 150 ชั้น คัดเลือกพลังงานแสงซินโครตรอนให้ได้ x-ray พลังงาน 8 keV (ความยาวคลื่น 1.55 อังสตรอม) ผ่านไปยังสถานีทดลอง (สามารถปรับเปลี่ยนค่าพลังงาน x-ray ได้ ในช่วง 6-9 keV) จากนั้น x-ray ที่คัดเลือกพลังงานด้วย DMM จะผ่านไปยังกระจกโฟกัสแสง (Focusing mirror) เพื่อโฟกัส x-ray ไปที่ตำแหน่งของสารตัวอย่าง

x-ray ถูกนำส่งมาตามท่อสุญญากาศของระบบลำเลียงแสง โดยปลายท่อเป็นหน้าต่างเบอริลเลียม (Be window) สำหรับกั้นสุญญากาศของระบบลำเลียงแสงกับสถานีทดลอง ในระบบลำเลียงแสง มีอุปกรณ์ที่เรียกว่า beam shutter สำหรับ เปิด-ปิด x-ray ที่จะผ่านออกมายังสถานีทดลอง การวัด SAXS/WAXS ทำได้โดยสั่ง computer ให้เปิด beam shutter พร้อมๆ กับสั่งหัววัดให้ทำการบันทึกค่าความเข้ม x-ray ที่กระเจิงมา

ที่สถานีทดลองของเทคนิค SAXS/WAXS ประกอบด้วยอุปกรณ์และเครื่องมือวัดดังรูป



รูป 3.2 อุปกรณ์ในสถานีทดลอง

หมายเลข	อุปกรณ์	หน้าที่
1	Beam shutter	เปิด-ปิด x-ray เมื่อทำการวัด
2	Ionization chamber	วัดความเข้ม x-ray ที่ตกกระทบตัวอย่าง
3	High voltage power supply	จ่าย high voltage 1800 V ให้ ionization chamber
4	Current amplifier	ขยายสัญญาณจาก ionization chamber
5	ท่อสุญญากาศ	ลดการกระเจิง x-ray โดยอากาศ
6	Photodiode และ beamstop	วัดความเข้ม x-ray หลังผ่านตัวอย่าง และหยุด x-ray ที่ทะลุตัวอย่างไปโดยไม่กระเจิง (primary beam) เพื่อ

		ป้องกัน detector
7	Current amplifier	ขยายสัญญาณจาก photo diode
8	Detector	วัดความเข้ม x-ray ที่กระเจิงมาจากตัวอย่าง (ทำงานสัมพันธ์กับ beam shutter)
9	Sample holder	ยึดจับและปรับตำแหน่งตัวอย่าง

3.1 Detector

ที่สถานีทดลอง SAXS/WAXS มี detector สองชนิดสำหรับใช้ในการบันทึกแผนผังการกระเจิง คือ

- **Mar SX165 detector**

เป็น detector ชนิด CCD (Charge Couple Device) มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ sensor 165 มิลลิเมตร มีขนาดพิกเซล 79.59 ไมครอน มีจำนวนพิกเซล 2048x2048 พิกเซล มีช่วงการบันทึกความเข้ม x-ray ระหว่าง 0-65,000 ให้ภาพแผนผังการกระเจิงเป็นไฟล์ที่มีนามสกุล .mccd ซึ่งเป็นไฟล์ภาพประเภท Tiff file ที่มี resolution 16 bit โดยที่ CCD detector นี้สามารถบันทึกแผนผังด้วยความเร็ว 2.5 วินาที

- **Mar345 IP detector**

เป็น detector แบบแผ่นฟอสฟอรัส (Image Plate) มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง sensor 345 มิลลิเมตร มีขนาดพิกเซล 150 ไมครอน มีจำนวนพิกเซล 2300x2300 พิกเซล มีช่วงการบันทึกความเข้ม x-ray ระหว่าง 0-130,000 ให้ภาพแผนผังการกระเจิงเป็นไฟล์ที่มีนามสกุล .mar2300 ซึ่งเป็นไฟล์เฉพาะ ก่อนการ process ต้องเปลี่ยนเป็นไฟล์ภาพประเภท Tiff file ที่มี resolution 16 bit ก่อน โดยที่ Image Plate detector นี้ต้องใช้เวลาในการอ่านแผนผังแต่ละครั้งประมาณ 2 นาที

รายละเอียดของ detector สรุปได้ดังนี้

	Mar SX165 CCD	Mar345 Image Plate
ชนิดของ sensor	CCD	Phosphore
ขนาดพิกเซล (ไมครอน)	79.59	150
จำนวนพิกเซล	2048x2048	2300x2300

ชนิดไฟล์ output	Tiff file 16 บิต นามสกุล .mccd	ไฟล์เฉพาะ นามสกุล .mar2300 (ต้องเปลี่ยนเป็น Tiff file 16 บิต ก่อน)
ค่าความเข้มสูงสุดที่ บันทึกได้	65,000	130,000
ความเร็วในการอ่าน	2.5 วินาที	2 นาที

3.2 การเลือกระยะ sample-detector

สำหรับการวัด SAXS ระยะ sample-detector สามารถเปลี่ยนได้โดยการเปลี่ยนระยะท่อสุญญากาศ (อุปกรณ์หมายเลข 5 ในรูปที่ 3.1) และเลื่อนตำแหน่ง detector ตามระยะท่อสุญญากาศ โดยมีระยะความยาวท่อให้เลือกได้ระหว่าง 500 ถึง 5000 มิลลิเมตร ส่วนการวัด WAXS สามารถทำได้โดยการยกท่อสุญญากาศออกไป และขยับ detector เข้าใกล้ตัวอย่าง เช่น ใช้ระยะ sample-detector ที่ 150 มิลลิเมตร

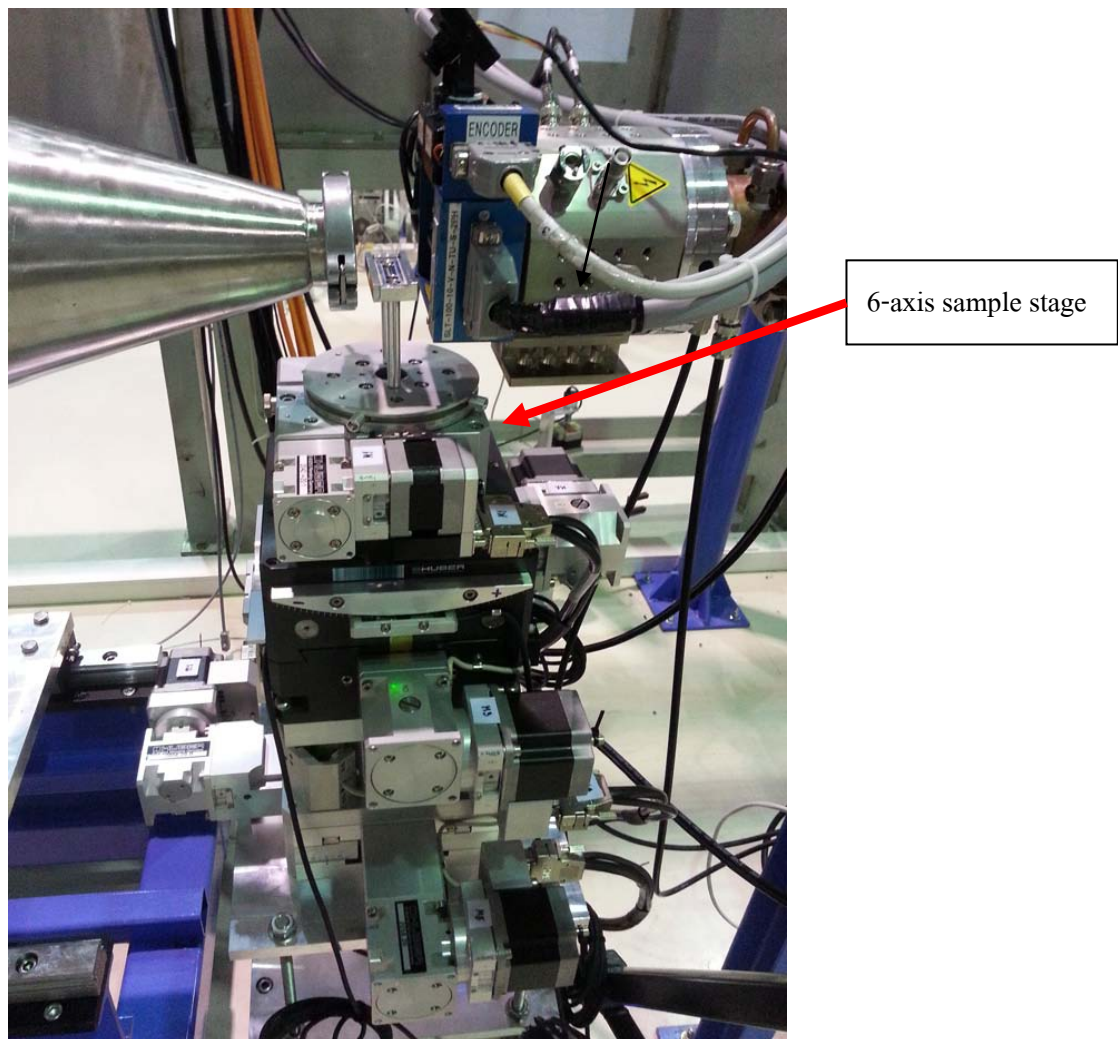
การเลือกระยะ sample-detector คือการเลือกช่วงมุมกระเจิง (ค่า θ) หรือช่วง scattering vector (ค่า q) ที่ต้องการ ยิ่งระยะ sample-detector มาก ค่า θ หรือ q ต่ำสุดก็จะน้อย และในทางกลับกัน ยิ่งระยะ sample-detector น้อย ค่า θ หรือ q สูงสุดก็จะมากขึ้น โดยสำหรับสถานีทดลอง SAXS/WAXS ซึ่งใช้ x-ray ความยาวคลื่น 1.55 Angstrom (พลังงาน 8 keV) จะได้ช่วง θ และ q สัมพันธ์กับระยะ sample-detector ดังนี้

ระยะ sample-detector (ม.ม.)	ช่วง θ (องศา)	ช่วง q (nm^{-1})	หมายเหตุ
150	2.5 – 60	2 - 40	ใช้ Image Plate detector
150	2.70 – 28.81	1.91 – 20.17	ใช้ CCD detector
500	0.81 – 9.36	0.57 – 6.62	ใช้ CCD detector
1000	0.40 – 4.71	0.28 – 3.33	ใช้ CCD detector
1500	0.27 – 3.14	0.19 – 2.22	ใช้ CCD detector
2000	0.20 – 2.36	0.14 – 1.67	ใช้ CCD detector
2500	0.16 – 1.89	0.11 – 1.33	ใช้ CCD detector

3000	0.13 – 1.57	0.09 – 1.11	ใช้ CCD detector
3500	0.11 – 1.35	0.08 – 0.95	ใช้ CCD detector
4000	0.10 – 1.18	0.07 – 0.83	ใช้ CCD detector
4500	0.09 – 1.05	0.06 – 0.74	ใช้ CCD detector
5000	0.08 – 0.94	0.05 – 0.66	ใช้ CCD detector

บทที่ 4 การเตรียมตัวอย่าง

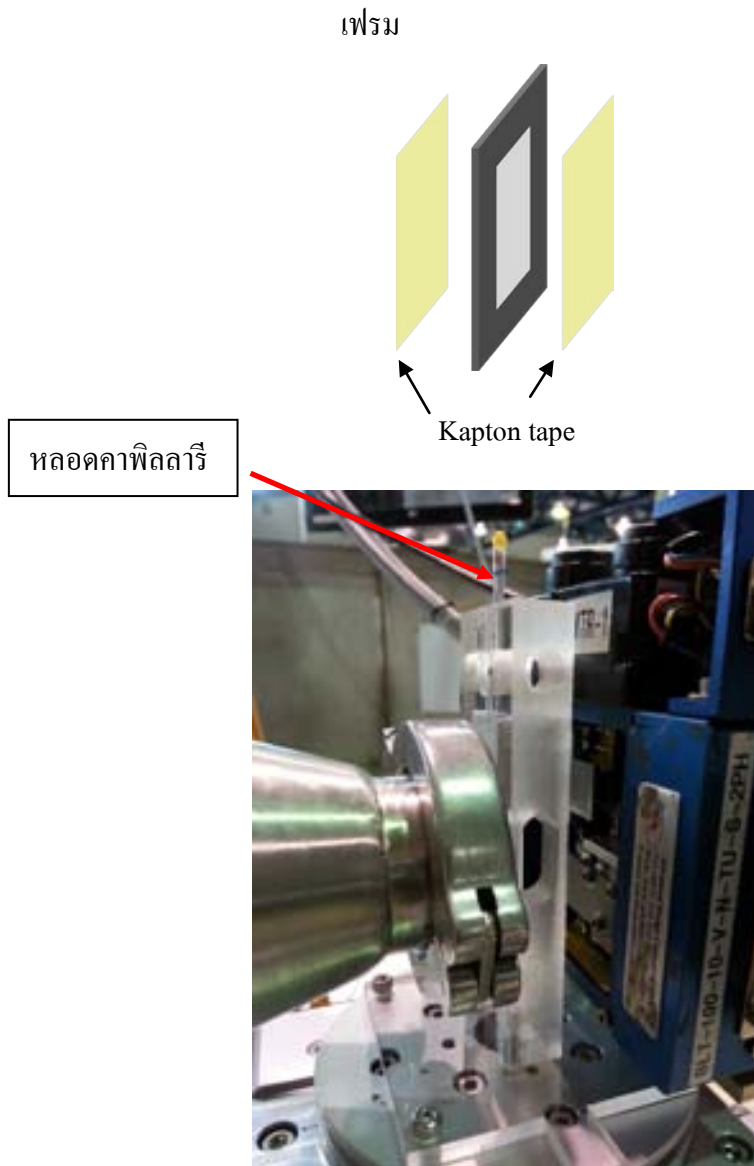
สถานีทดลอง SAXS/WAXS สามารถวัดตัวอย่างที่อยู่ในรูปของแข็ง ผง फिल्म เส้นใย เจล หรือของเหลวได้ โดยตัวอย่างจะถูกติดตั้งบนตัวจับยึดตัวอย่าง (sample holder) ที่วางอยู่บนฐานวางตัวอย่างแบบ 6 แกน (6-axis sample stage) ซึ่งควบคุมตำแหน่งด้วยมอเตอร์ และควบคุมด้วยคอมพิวเตอร์ ลักษณะ sample stage แสดงในรูปที่ 4.1



รูป 4.1 6-axis sample stage ควบคุมตำแหน่งด้วยมอเตอร์

4.1 ผง

สำหรับตัวอย่างที่เป็นผง (หรือเป็นของแข็งที่สามารถบดได้) ใช้วิธีการป้ายผงตัวอย่างลงบน kapton tape ที่ติดบนเฟรมโลหะ และนำ frame โลหะติดตั้งบน sample holder หรือสามารถบรรจุตัวอย่างลงในหลอดคาพิลลารีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 มม. หรือ 1.5 มม.



รูป 4.2 (บน) เฟรมโลหะขนาด 2×2.5 ซม.² ประกอบด้วย kapton tape (ล่าง) หลอดคาพิลลารี
บรรจุตัวอย่างติดตั้งใน holder

4.2 ของแข็ง

สำหรับตัวอย่างที่เป็นของแข็ง สามารถใช้เทป (โดยปกติจะใช้ kapton tape) ติดตัวอย่างบนเฟรมโลหะ แล้ววางบน sample holder

4.3 ฟิล์ม

สำหรับตัวอย่างที่เป็นฟิล์ม หรือเป็นแผ่น ใช้วิธีการติดตัวอย่างลงบน frame โลหะ และนำเฟรมโลหะติดตั้งบน sample holder

4.4 เส้นใย

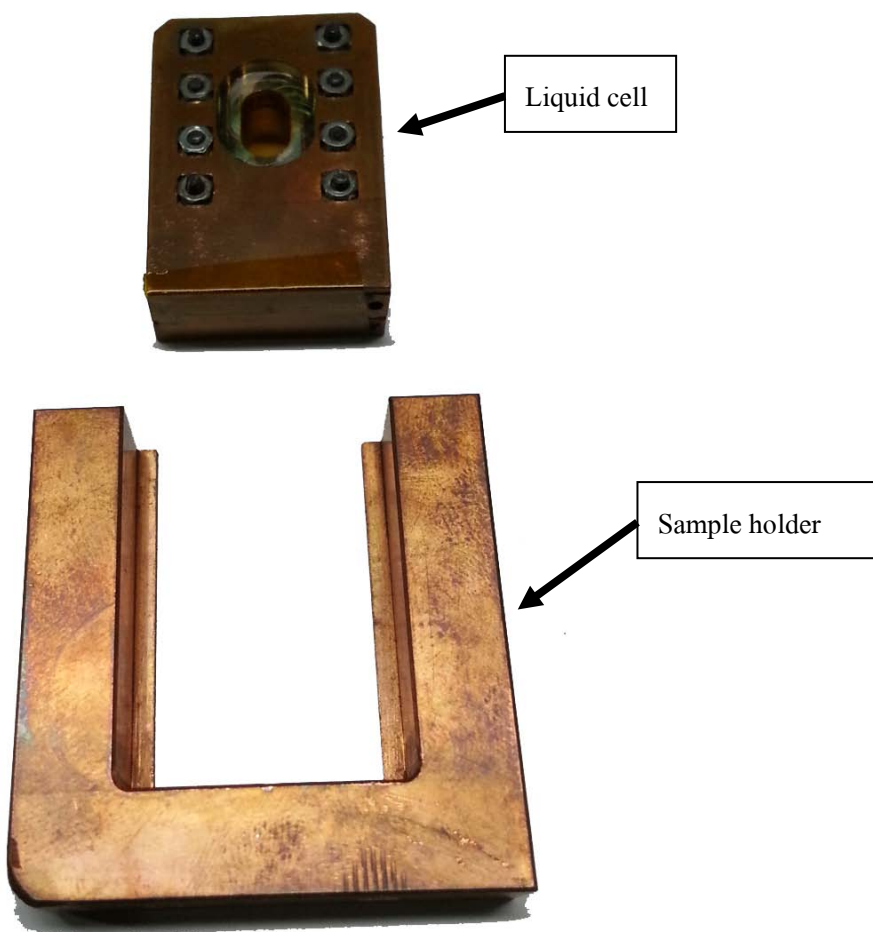
สำหรับตัวอย่างที่เป็นเส้น สามารถใช้วิธีการติดตัวอย่างลงบน frame โลหะ และนำเฟรมโลหะติดตั้งบน sample holder

4.5 เจล หรือของเหลว

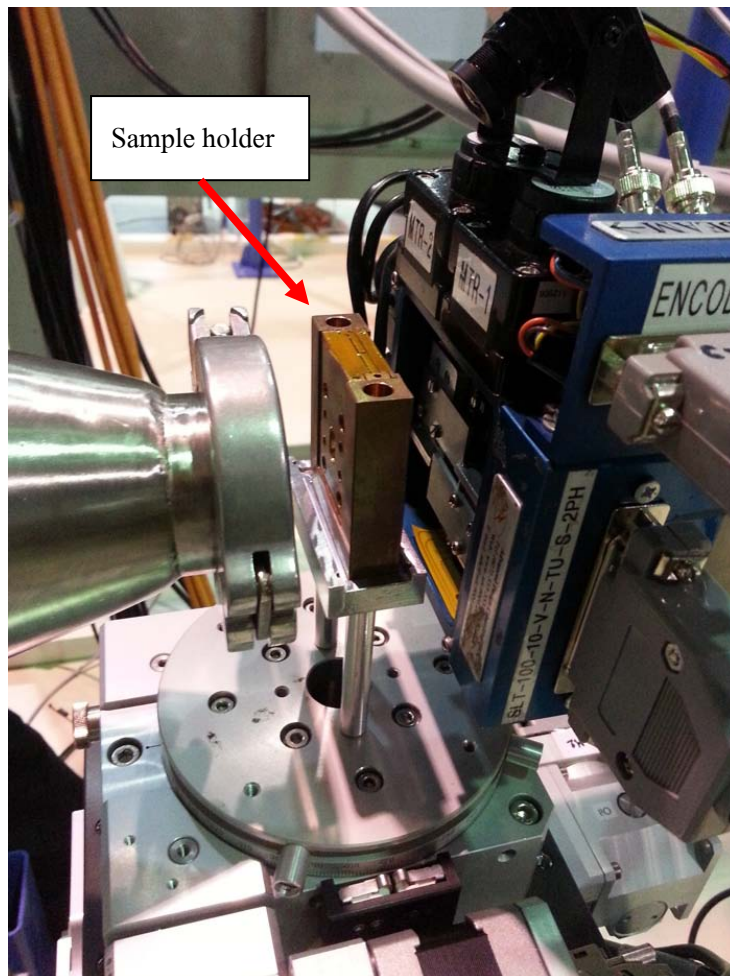
สำหรับตัวอย่างที่เป็นเจล หรือของเหลว สามารถบรรจุตัวอย่างในเซลล์ของเหลว (liquid cell) และนำ liquid cell ติดตั้งใน sample holder ลักษณะของ liquid cell แสดงดังรูปที่ 4.3

Liquid cell เป็นแผ่นทองแดงเจาะช่องตรงกลาง มีความหนาในส่วนบรรจุตัวอย่าง ประมาณ 1 มม. มีช่องตรงกลางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5×10 มม.² สำหรับบรรจุสารตัวอย่าง ช่องถูกปิดด้วย window ซึ่งสามารถใช้ kapton tape, แผ่นอลูมิเนียมบาง หรือ mica จากนั้นถูกประกบทั้งสองด้านด้วย ทองแดงรูปร่างเดียวกัน ชันยึดด้วยน็อต ดังนั้นในการวัดตัวอย่างที่เป็นของเหลว จะใช้ปริมาณตัวอย่างประมาณ 50 ไมโครลิตร

หรือสามารถใช้หลอดคาพิลลารี (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 มม. หรือ 1.5 มม.) บรรจุตัวอย่างได้เช่นกัน



รูป 4.3 Liquid cell และ sample holder สำหรับตัวอย่างที่เป็นของเหลว



รูป 4.4 แสดง Liquid cell ที่ติดตั้งใน sample holder

4.6 ตัวอย่างที่ต้องทำการดึงขณะวัด

สำหรับตัวอย่างพอลิเมอร์ หรือเส้นใย ที่สถานีทดลอง SAXS/WAXS มีอุปกรณ์ดึงตัวอย่าง (tensile stage) ที่สามารถติดตั้งขึ้นตัวอย่างเพื่อทำการดึง ไปพร้อมๆ กับการวัด SAXS/WAXS ได้ โดยที่ tensile stage นี้ สามารถดึงตัวอย่างแบบใช้แรงคงที่ หรือกำหนดระยะ การดึงได้ โดยมีค่าแรงดึงสูงสุด 20 กิโลนิวตัน ระยะดึงสูงสุดประมาณ 70 มิลลิเมตร ความเร็วในการดึง 1-1000 ไมครอนต่อวินาที ขนาดตัวอย่าง ยาว 26 มิลลิเมตร หนาไม่เกิน 2 มิลลิเมตร และกว้างไม่เกิน 7 มิลลิเมตร การใช้ tensile stage นี้ ทำให้สามารถวัด SAXS/WAXS ที่ตำแหน่งต่างๆ บน stress-strain curve ได้

4.7 ตัวอย่างที่ต้องให้ความร้อนขณะวัด

ที่สถานีทดลอง SAXS/WAXS มีเซลล์บรรจุตัวอย่างที่สามารถให้ความร้อนได้ โดยให้ความร้อนได้ถึงประมาณ 250 เซลเซียส

บทที่ 5 การตรวจสอบระบบก่อนเริ่มวัด

ก่อนการเริ่มวัด ระบบต่างๆ ที่สถานีทดลองจะต้องถูกติดตั้งให้พร้อม คือ

- ❖ ความยาวท่อสุญญากาศ ตามระยะ sample-detector ที่จะใช้
- ❖ ชนิดของ detector ที่จะใช้
- ❖ ท่อสุญญากาศและ detector ถูก align ให้ x-ray ผ่านกลางท่อ และ primary beam ตกลงกลาง beamstop
- ❖ High Voltage power supply สำหรับ ionization chamber ถูก set ค่าที่ 1800 V
- ❖ ค่า gain ของ current amplifier สำหรับ ionization chamber และสำหรับ photo diode ถูก set ที่ค่า 1×10^6 และ 1×10^4 V/A ตามลำดับ

โดยปกติแล้ว ระบบเหล่านี้จะถูกติดตั้ง และ set ค่าโดยผู้รับผิดชอบสถานีทดลอง หรือหากมีการเปลี่ยน setup ระหว่างการทดลอง เช่น มีการเปลี่ยนระยะ sample-detector ผู้รับผิดชอบสถานีทดลองจะเป็นผู้ดำเนินการเตรียม setup ใหม่ โดยผู้ให้บริการอาจช่วยเหลือบางส่วน

อย่างไรก็ตาม ก่อนทำการเริ่มวัด ผู้ทำการทดลองควรตรวจสอบระบบให้แน่ใจ และทำการตรวจสอบดังต่อไปนี้

5.1 ตรวจสอบสถานะ ionization chamber และ photodiode

ความเข้มแสงก่อนและหลังสารตัวอย่าง จะถูกวัดโดย ionization chamber และ photodiode ตามลำดับ การอ่านค่า ionization chamber และ photodiode ถูกควบคุมโดยโปรแกรม ซึ่งจะอ่านค่าความเข้มแสงทุกๆ 0.1 วินาที

ในขณะที่ไม่มี x-ray (beam shutter ปิด) ค่าที่อ่านได้จะเป็นค่า background ดังรูปที่ 5.1 ผู้ทำการทดลองควรตรวจสอบว่าโปรแกรมควบคุม ionization chamber และ photodiode กำลังทำงาน โดยแสดงค่า ionization chamber ประมาณ 2350 – 2400 และค่า photodiode ประมาณ 2050 – 2100 หากค่าที่ได้แตกต่างกันไป ควรแจ้งผู้รับผิดชอบสถานีทดลองทันที



รูป 5.1 จอแสดงค่าความเข้มแสงจาก ionization chamber (ตัวเลขสีน้ำเงิน) และ photodiode (ตัวเลขสีชมพู) แสดงค่า background ขณะที่ปิด beam shutter

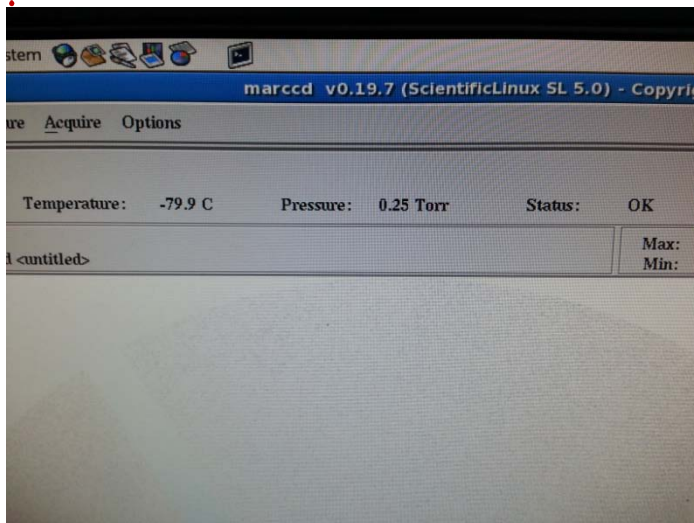
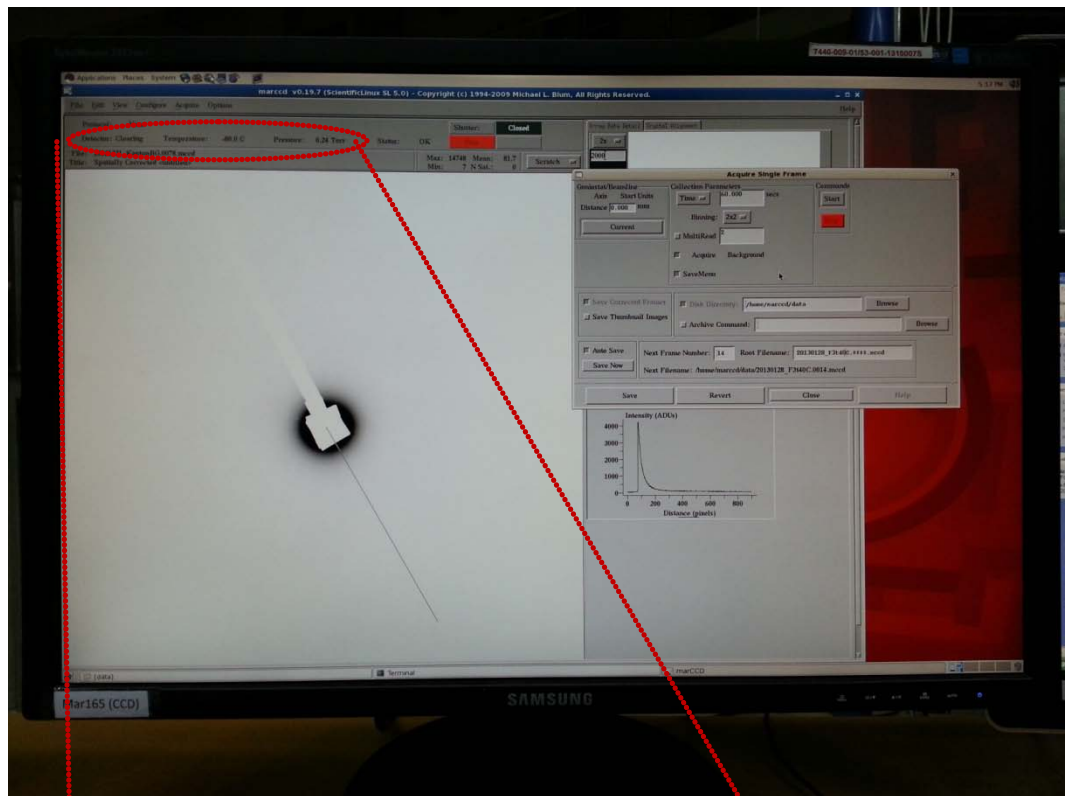
5.2 ตรวจสอบสถานะของ detector

CCD detector ถูกควบคุมจากคอมพิวเตอร์ โดยเป็นโปรแกรมเฉพาะของ CCD detector มีชื่อโปรแกรมว่า marccd ตัวโปรแกรมควบคุม CCD นี้จะควบคุมการเปิด-ปิด detector พร้อมๆ กับควบคุมการเปิด-ปิด beam shutter ดังนั้นการกดปุ่ม start ในโปรแกรมควบคุม CCD จึงเป็นการสั่งให้ beam shutter เปิด ซึ่งหมายถึงการเริ่มวัด ดังนั้น ก่อนกดปุ่ม start ผู้ทำการทดลองจึงควรตรวจสอบสถานะของ detector โดยหน้าจอโปรแกรมควบคุม CCD จะมีลักษณะดังรูปที่ 5.2 ด้านล่าง

สถานะของ detector แสดงอยู่บริเวณด้านบนหน้าจอแสดงผล โดยควรแสดงค่า

Temperature: -80 C , Pressure: 0.1 Torr, Status: OK

ดังแสดงในรูปขยายด้านล่าง หากสถานะที่แสดงแตกต่างกันไป ควรแจ้งผู้รับผิดชอบสถานิตดลองทันที



รูป 5.2 หน้าจอแสดงผลของ CCD detector และส่วนแสดงสถานะของ detector

บทที่ 6 การวัดสารมาตรฐานสำหรับการทำ pattern alignment และการ ปรับเทียบระยะ sample-detector

ในการแปลงแผนผังการกระเจิงเป็นกราฟการกระเจิงซึ่งเป็นฟังก์ชันของมุมกระเจิง θ หรือเวกเตอร์การกระเจิง q นั้น จำเป็นต้องรู้ระยะทางจากตำแหน่งของฟิสิกเซลบน detector ไปยังตำแหน่งของ primary beam (ระยะ X ในรูปที่ 2.2) แต่เนื่องจาก primary beam นั้นไม่ได้ตกกระทบ detector เนื่องจากมี beamstop บังไว้เพื่อป้องกัน detector เสียหายจากความเข้มที่สูงมากของ primary beam จึงไม่สามารถดูตำแหน่งของ primary beam โดยตรงได้ ดังนั้นเราจึงต้องหาตำแหน่งของ primary beam จากการวัดสารมาตรฐานที่มีลักษณะแผนผังการกระเจิงเป็นวงกลม ซึ่งทำให้สามารถหาตำแหน่ง primary beam ได้จากตำแหน่งจุดศูนย์กลางวงกลม โดยสารมาตรฐานที่ใช้บ่อยสำหรับ SAXS คือ silver behenate (AgBh) และสำหรับ WAXS คือ 4-Bromobenzoic acid โดยที่สารมาตรฐานทั้งสองนี้มีลักษณะเป็นผง จึงสามารถเตรียมโดยใช้ kapton tape และเฟรมโลหะ ดังที่อธิบายในหัวข้อ 4.1 และเมื่อได้ตำแหน่งของ primary beam แล้ว ระยะ X ของจุดใดๆ บนแผนผังจะถูกคำนวณเทียบกับตำแหน่งของ primary beam

เมื่อวัดสารมาตรฐาน และได้แผนผังการกระเจิงแล้ว โปรแกรม SAXSIT จะทำการค้นหาศูนย์กลางของแผนผังการกระเจิงรูปวงกลม ซึ่งตำแหน่งศูนย์กลางที่ได้คือตำแหน่งของ primary beam จากนั้นแผนผังการกระเจิงของตัวอย่างอื่นๆ ที่วัดด้วย setup เดียวกัน จะถูกขยับให้ align กับตำแหน่งของ primary beam ก่อนการแปลงแผนผังเป็นกราฟการกระเจิงที่เป็นฟังก์ชันของมุมกระเจิง θ หรือเวกเตอร์การกระเจิง q

นอกจากการทำ pattern alignment แล้ว แผนผังการกระเจิงของสารมาตรฐานนั้นยังสามารถนำมา ใช้ทำการปรับเทียบระยะ sample-detector (ระยะ L ในรูปที่ 2.2) ได้ด้วย เนื่องจากเรารู้ค่า d-spacing ของสารมาตรฐานเหล่านี้ ซึ่งทำให้สามารถหาค่ามุมที่ตำแหน่ง peak ของการกระเจิงได้จากสมการ Bragg ดังนี้

จากสมการ 2.1 เราได้ระยะ L คือ

$$L = \frac{x}{\tan \theta_{peak}} \quad 6.1$$

โดยที่ θ_{peak} เป็นมุมกระเจิงที่ตำแหน่ง peak ของสารมาตรฐาน ซึ่งหาได้จากสมการ Bragg คือ

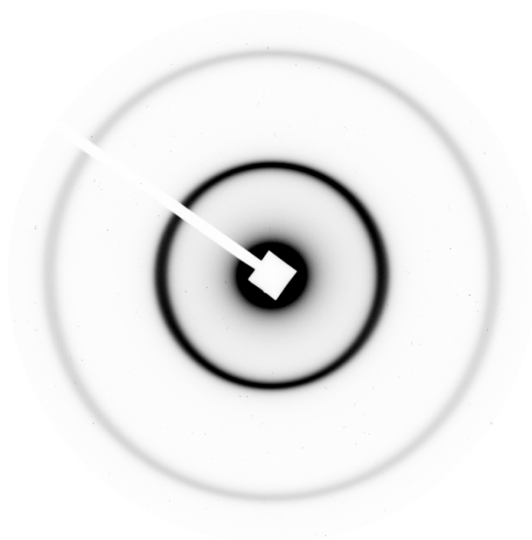
$$2d \sin \theta_{peak} = \lambda \quad 6.2$$

หรือ

$$\theta_{peak} = \sin^{-1} \left(\frac{\lambda}{2d} \right) \quad 6.3$$

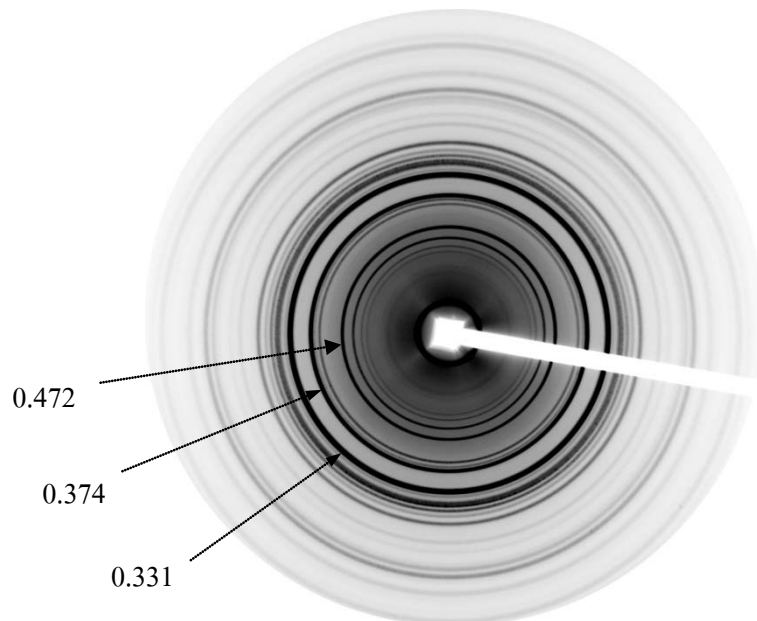
โดย d เป็นค่า d -spacing ที่สัมพันธ์กับ peak นั้น

ตัวอย่างแผนผังการกระเจิงของ silver behenate แสดงในรูปที่ 6.1 แผนผังการกระเจิงที่เป็นวงกลม นั่นคือตำแหน่ง peak ที่เกิดจากการแทรกสอดของ x-ray ที่กระเจิงจากโครงสร้างที่เป็น periodic ซึ่งมีค่า d -spacing เท่ากับ 5.838 นาโนเมตร

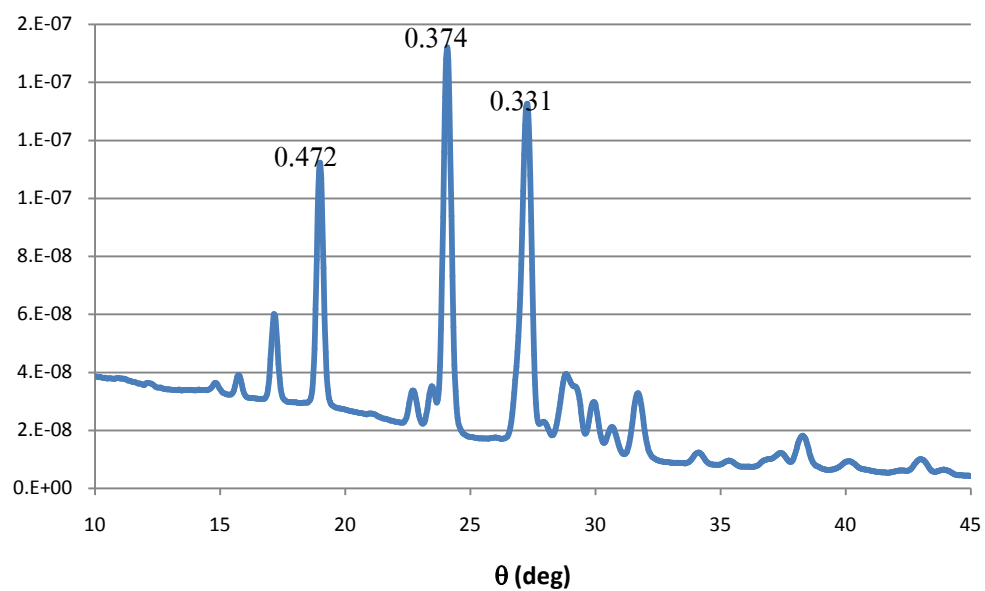


รูป 6.1 แผนผังการกระเจิงของ silver behenate แสดงให้เห็นวงซึ่งเป็นตำแหน่ง Bragg peak ของ order ที่ 1 (วงด้านใน) และ order ที่ 2 (วงด้านนอก)

ตัวอย่างแผนผังการกระเจิงของ 4-Bromobenzoic acid แสดงในรูปที่ 6.2



รูป 6.2 แผนผังการกระเจิงของ 4-Bromobenzoic acid ตัวเลขที่ peak เค้น 3 peak แสดงค่า d-spacing ของแต่ละ peak ในหน่วยนาโนเมตร



รูป 6.3 กราฟการกระเจิงของ 4-Bromobenzoic acid ตัวเลขที่ peak เค้น 3 peak แสดงค่า d-spacing ของแต่ละ peak ในหน่วยนาโนเมตร (หมายเหตุ: แกนนอนคือมุม Bragg ซึ่งหมายถึง 2θ ในแวดวง X-ray Diffraction)

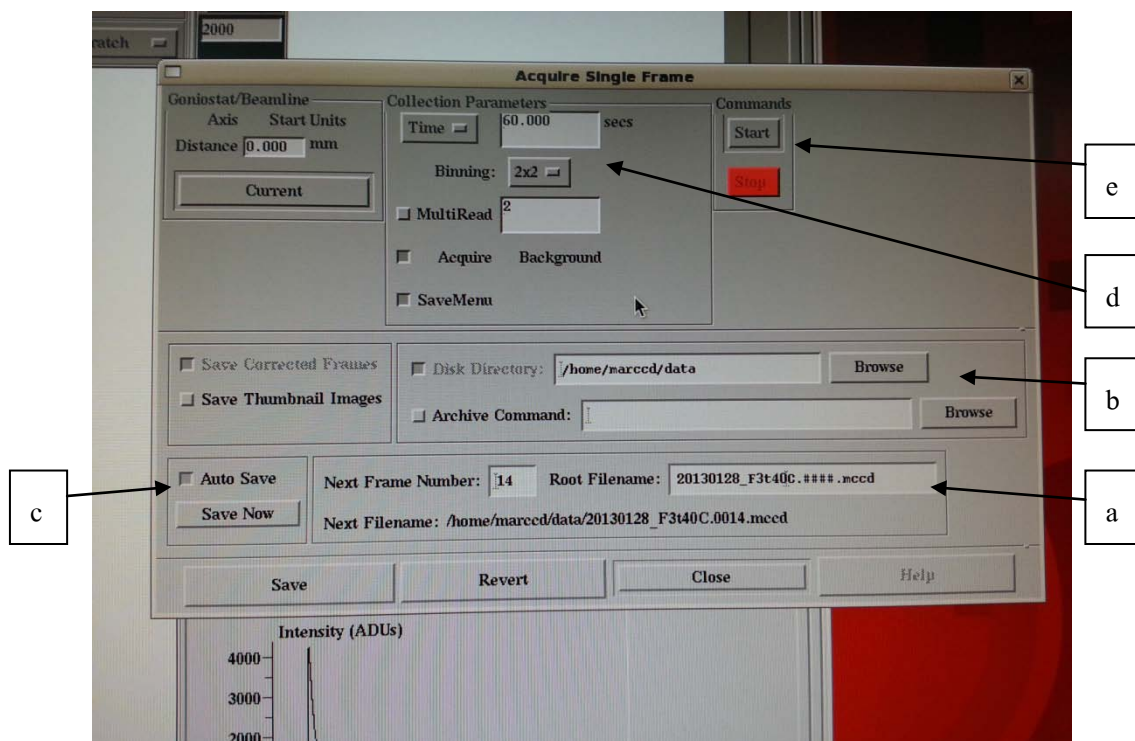
ในกรณีการวัด SAXS ที่ระยะท่อ 3 เมตร ไม่สามารถใช้แผนผังการกระเจิงของ silver behenate ในการทำ pattern alignment ได้ เนื่องจากวงที่ได้อยู่นอกขนาดของ detector แต่ที่สถานีทดลองมีสารมาตรฐานที่สามารถใช้ได้ในระยะท่อยาวเช่นนี้ คือ SEBS ซึ่งเป็น block co-polymer ที่มีโครงสร้าง periodic ให้แผนผังการกระเจิงเป็นวงกลม และมีค่า d-spacing เท่ากับ 32.7778 นาโนเมตร

เมื่อเลือกสารมาตรฐานและทำการวัดแล้ว การทำ pattern alignment และการปรับเทียบระยะ sample-detector สามารถดำเนินการได้ด้วยโปรแกรม เช่น SAXSIT (ดูหัวข้อ 8.4)

บทที่ 7 การวัด

7.1 การวัดด้วย CCD detector

หน้าจอโปรแกรมควบคุม CCD detector แสดงดังรูป



รูป 7.1 หน้าจอควบคุม CCD detector

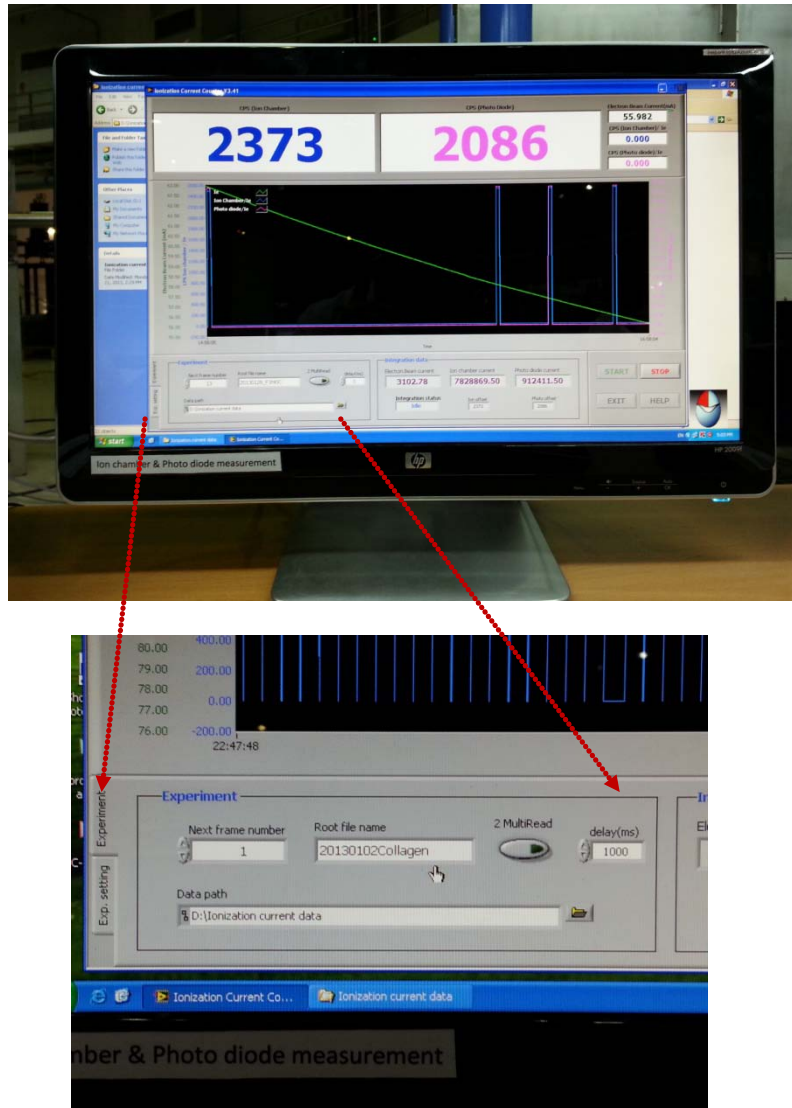
ภายในหน้าจอควบคุม มีส่วนประกอบ และสิ่งที่ต้องทำ ดังนี้

a. การตั้งชื่อไฟล์

ในกล่อง Root Filename เป็นชื่อไฟล์ของแผนผังการกระเจิงที่จะถูกบันทึกไว้ โดยตัวโปรแกรมมีระบบการตั้งหมายเลขไฟล์ต่อเนื่องอัตโนมัติโดยใช้หมายเลขในกล่อง Next Frame Number เช่นดังในรูป เมื่อเราใส่ชื่อไฟล์ในกล่อง Root Filename เป็น 20130128_F3t40C.####.mccd และเลขในกล่อง Next Frame Number เป็น 14 เมื่อทำการวัด ไฟล์แผนผังการกระเจิงที่ได้จะถูกบันทึกในชื่อ 20130128_F3t40C.0014.mccd จากนั้นหมายเลข

ในกล่อง Next Frame Number จะเปลี่ยนเป็น 15 และเมื่อทำการวัดอีก ไฟล์แผนผังการกระเจิงที่ได้จะถูกบันทึกในชื่อ 20130128_F3t40C.0015.mccd และเป็นดังนี้ไปเรื่อยๆ ดังนั้นสิ่งที่ควรทำในส่วนนี้ก่อนการวัดครั้งแรก คือ

- ❖ ใส่ตัวเลข 1 ในกล่อง Next Frame Number และตั้งชื่อไฟล์ในกล่อง Root Filename โดยชื่อไฟล์ควรเริ่มต้นด้วยวันที่ทำการทดลอง (ปี ค.ศ. เดือน วัน เช่น หากทำการวัดในวันที่ 2 มกราคม 2013 ชื่อไฟล์ควรเริ่มต้นด้วย 20130102 จากนั้นต่อด้วยชื่อการทดลอง และลงท้ายด้วย .####.mccd เช่น เมื่อทำการทดลองที่เกี่ยวกับคอลลาเจนในวันที่ 2 มกราคม 2013 ชื่อไฟล์ในกล่อง Root Filename ควรเป็น 20130102Collagen.####.mccd
- ❖ หากเป็นการทดลองชุดเดียวกัน ไม่ควรเปลี่ยนชื่อไฟล์ แต่ควรทำการวัดจนเสร็จการทดลองชุดนั้นด้วยชื่อไฟล์เดิม และให้โปรแกรม run หมายเลขไฟล์เอง ทั้งนี้เพื่อป้องกันความสับสนเมื่อมีการค้นหาไฟล์ในภายหลัง
- ❖ ใส่หมายเลข Next Frame Number และส่วนต้นของชื่อไฟล์ชื่อเดียวกัน (เช่น 20130102Collagen) ในกล่องบริเวณมุมล่างซ้ายของโปรแกรมควบคุม ionization chamber และ photoiode (ดังรูปที่ 7.2) เมื่อทำการวัด โปรแกรมควบคุม ionization chamber และ photoiode จะทำการบันทึกค่าความเข้ม x-ray ที่อ่านได้ และ integrate ค่า และสร้างไฟล์ข้อมูลไว้ ซึ่งไฟล์นี้จะมีผลจำเป็นในการจัดการข้อมูลต่อไป



รูป 7.2 ใส่ชื่อไฟล์ และหมายเลขไฟล์ในโปรแกรมควบคุม ionization chamber และ photodiode

บ. Directory สำหรับเก็บไฟล์

ในกล่อง Disk Directory ควรเป็น /home/marccd/data ซึ่งเป็นชื่อ directory ที่ใช้เก็บแผนผังการกระเจิงในคอมพิวเตอร์

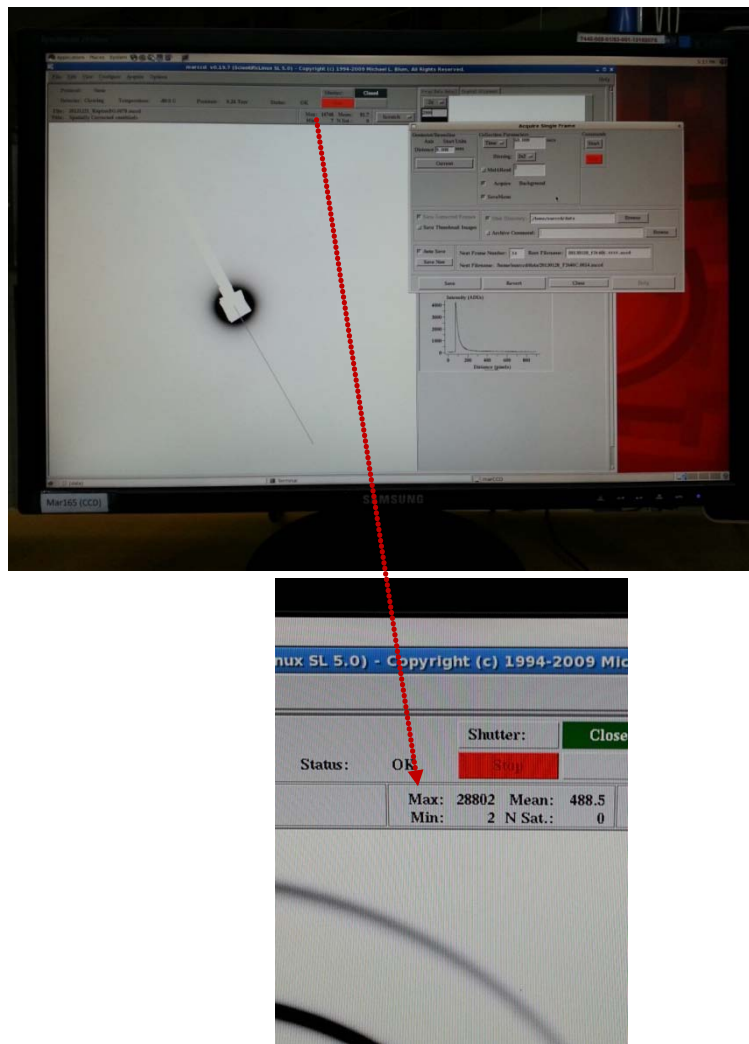
c. การ save ไฟล์อัตโนมัติ

ปุ่ม Auto Save ควรถูกเลือก ซึ่งจะทำให้โปรแกรมทำการบันทึกแผนผังการกระเจิง และทำการตั้งหมายเลขไฟล์โดยอัตโนมัติ เมื่อมีการวัด

d. การตั้งช่วงเวลาวัด (exposure time)

ในหน้าต่าง Collection Parameters มีกล่อง Time ซึ่งใช้สำหรับการตั้งระยะเวลาที่ detector จะทำการเปิด beam shutter และบันทึกค่า x-ray ที่กระเจิง หรือเรียกว่า exposure time และปุ่มต่างๆ ดังนี้

- ❖ ค่า exposure time ที่ใช้จะขึ้นกับหลายปัจจัย เช่น ระดับการกระเจิง x-ray ของตัวอย่าง ความเข้ม x-ray ในขณะนั้น หรือความเร็วในการวัดที่ต้องการ ก่อนทำการวัดจริง ควรตั้งค่า exposure time สั้นๆ เช่น 0.5 หรือ 1 วินาที เพื่อตรวจสอบว่าแผนผังการกระเจิงที่ได้มีลักษณะอย่างไร และตัวอย่างการกระเจิง x-ray ได้ดีขนาดไหน โดยดูจากความเข้มสูงสุดที่ได้ในแผนผังการกระเจิง ซึ่งจะถูกแสดงไว้ที่ค่า Max ที่มุมขวบนของโปรแกรมควบคุม CCD detector (ดังรูปที่ 7.3) จากนั้นจึงทำการประมาณค่า exposure time โดยควรให้ได้ค่าความเข้มสูงสุดอยู่ในช่วง 10,000 – 50,000 และไม่ควรเกิน 60,000 (CCD สามารถอ่านค่าความเข้มได้ไม่เกิน 65,000) โดยค่าความเข้มจะประมาณเป็นสัดส่วนโดยตรงกับ exposure time



รูป 7.3 ค่าความเข้มสูงสุดที่ detector อ่านได้ แสดงบน

- ❖ ปุ่ม MultiRead ใช้สำหรับในกรณีต้องการอ่านแผนผังเดิมสองครั้ง เพื่อให้โปรแกรมทำการเฉลี่ยและกำจัดจุดที่มีความเข้มสูงจากการที่รังสีคอสมิกตกกระทบบ detector โดยปกติจะไม่มี ความจำเป็นต้องใช้ จึงไม่เลือก
- ❖ ปุ่ม Acquire Background ควรถูกเลือกเพื่อให้ detector ทำการวัดสัญญาณ background ที่ เรียกว่า dark current และหักลบออกจากแผนผังการกระเจิงที่วัดโดยอัตโนมัติ

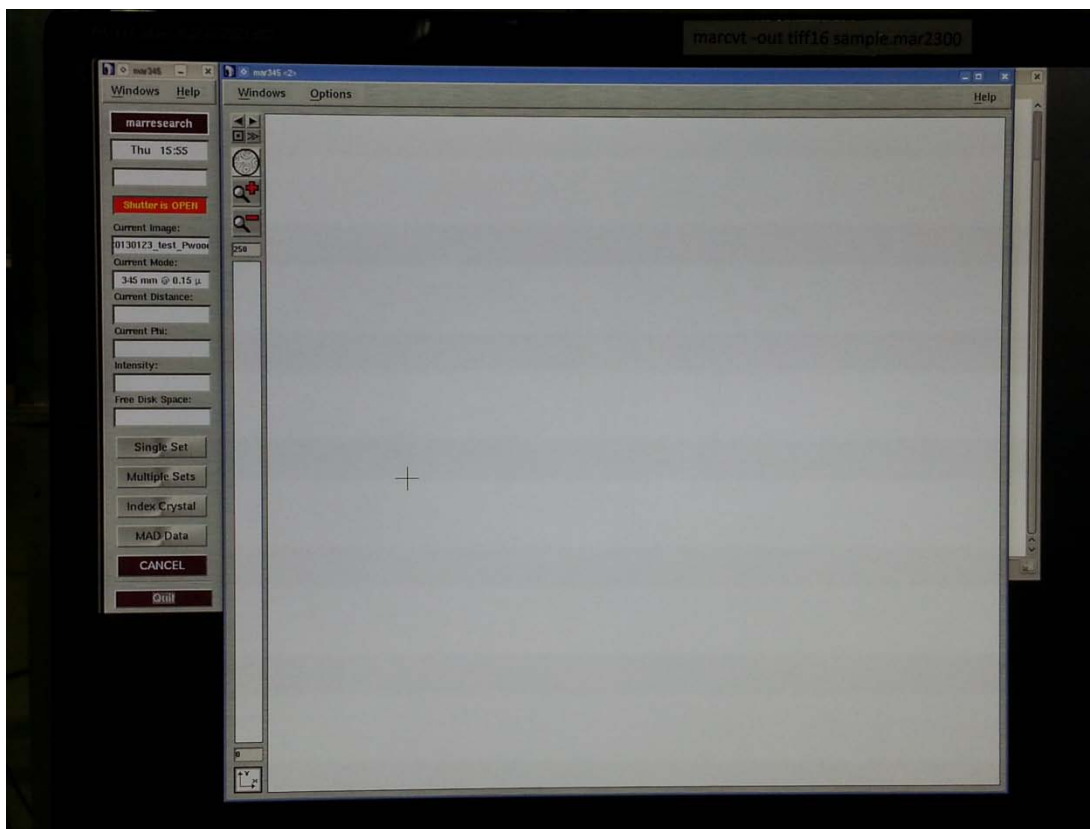
e. ปุ่ม start

เมื่อกดปุ่ม start โปรแกรมจะสั่งเปิด beam shutter และสั่ง detector ให้เริ่มบันทึก เมื่อครบระยะเวลาที่ตั้ง exposure time โปรแกรมจะปิด beam shutter และบันทึกไฟล์แผนผังการกระเจิง

ก่อนการลงมือวัด ผู้ทำการทดลองควรมีการจดบันทึกชื่อไฟล์ และรายละเอียดการวัดในแต่ละครั้ง

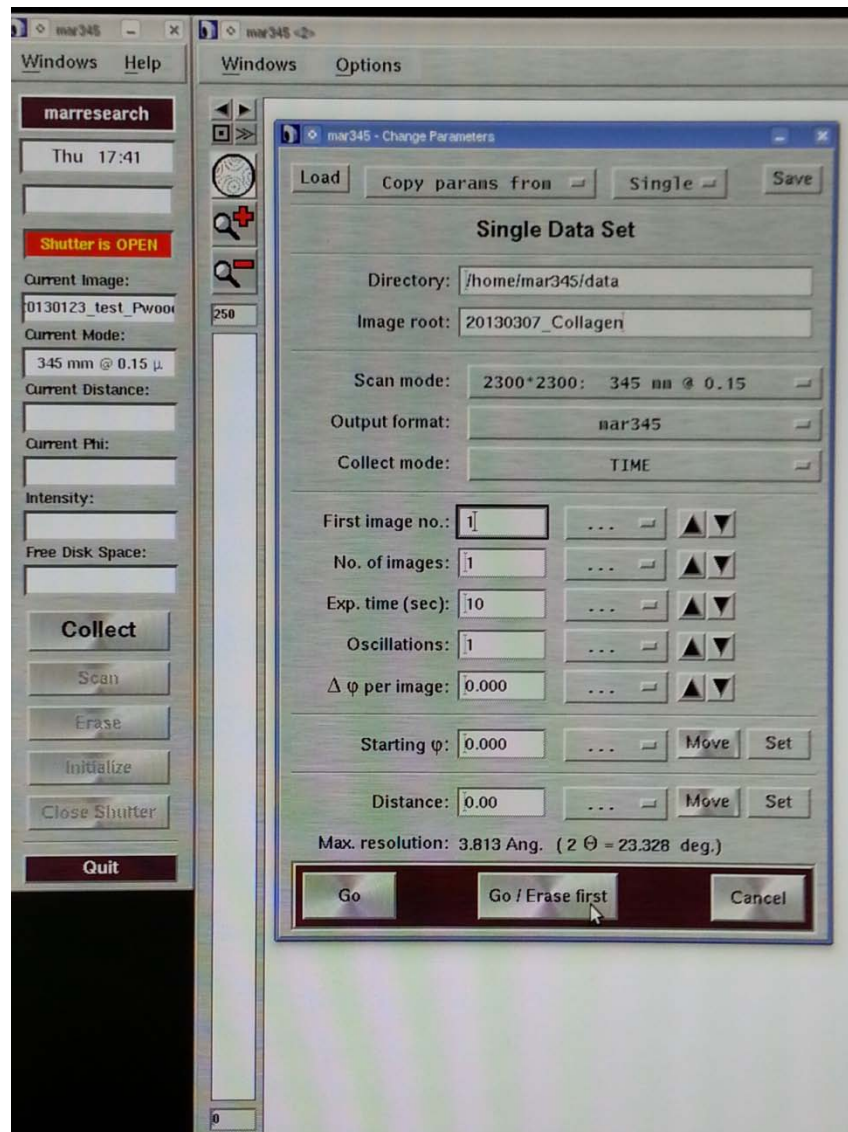
7.2 การวัดด้วย Image Plate detector

การวัดด้วย Image Plate detector มีขั้นตอนคล้ายกับ การใช้ CCD detector โดยโปรแกรมควบคุม Image Plate detector ชื่อว่า mar345 มีหน้าต่างโปรแกรมควบคุม Image Plate detector เป็นดังรูป



รูป 7.4 หน้าต่างโปรแกรมควบคุม Image Plate detector

เมื่อกดปุ่ม Single Set จะปรากฏหน้าต่าง Single Data Set สำหรับเมนูสำหรับควบคุม detector ดังรูป



รูป 7.5 หน้าต่างเมนูควบคุม Image Plate detector

ภายในเมนู มีส่วนประกอบ และสิ่งที่ต้องทำ ดังนี้

a. กล่อง Directory:

เป็นที่อยู่ไฟล์แผนผังการกระเจิงที่จะถูกบันทึกไว้เมื่อทำการวัด ที่อยู่ไฟล์ในกล่องนี้ควรเป็น

/home/mar345/data

b. กล่อง Image root:

เป็นชื่อไฟล์แผนผังการกระเจิง ควรตั้งชื่อไฟล์เริ่มต้นด้วยวันที่ทำการ ทดลอง (ปี ค.ศ. เดือน วัน เช่น หากทำการวัดในวันที่ 7 มีนาคม 2013 ชื่อไฟล์ควรเริ่มต้นด้วย 20130307) จากนั้นต่อด้วยชื่อการทดลอง เช่น ตัวอย่างเป็น collagen ชื่อไฟล์ควรเป็น 20130307_Collagen สำหรับตัวอย่างชุดเดียวกัน ไม่มีความจำเป็นต้องเปลี่ยนชื่อไฟล์ เนื่องจากเมื่อทำการวัด ชื่อไฟล์จะถูกต่อท้ายด้วยตัวเลขอัตโนมัติ (ดูข้อ f.)

c. แท็บ Scan mode:

ใช้สำหรับเลือกขนาดไฟล์แผนผังการกระเจิง ควรเป็น 2300*2300: 345 mm @ 0.15 ซึ่งจะให้ไฟล์แผนผังการกระเจิงขนาด 2300*2300 พิกเซล และขนาดพิกเซล 150 ไมครอน

d. แท็บ Output format:

ใช้สำหรับเลือกประเภทไฟล์ ควรเป็น mar345 ซึ่งจะได้ไฟล์นามสกุล .mar345

e. แท็บ Collect mode:

ควรเป็น Time ซึ่งเป็นการวัดโดยระบุ exposure time

f. กล่อง First image no.:

ใช้สำหรับระบุหมายเลขของไฟล์แผนผังการกระเจิงแรก เช่น หากเป็นการวัดครั้งแรก ตัวเลขนี้ควรจะเป็น 1 ซึ่งเมื่อทำการวัด แผนผังการกระเจิงที่ได้จะถูกบันทึกตามชื่อไฟล์ที่ตั้งด้านบน ต่อท้ายด้วย _001 เช่น ในการนี้ชื่อไฟล์ในกล่อง Image root: เป็น 20130307_Collagen แผนผังที่วัดได้จะถูกบันทึกเป็น 20130307_Collagen_001.mar345 จากนั้นตัวเลขนี้จะถูกเพิ่มโดยอัตโนมัติหลังการวัดแต่ละครั้ง เช่น เมื่อวัดครั้งต่อไป จะได้ไฟล์เป็น 20130307_Collagen_002.mar345

g. กล่อง Exp. Time (sec):

ใช้สำหรับกำหนดเวลา exposure time (ช่วงเวลาที่ beam shutter เปิด) ค่า exposure time ที่ใช้จะขึ้นกับหลายปัจจัย เช่น ระดับการกระเจิง x-ray ของตัวอย่าง ความเข้ม x-ray ในขณะนั้น หรือความเร็วในการวัดที่ต้องการ ก่อนทำการวัดจริง ควรตั้งค่า exposure time สั้นๆ เช่น 3 วินาที เพื่อตรวจสอบว่าแผนผังการกระเจิงที่ได้มีลักษณะอย่างไร และตัวอย่างกระเจิง x-ray ได้ดีขนาดไหน โดยดูจากความเข้มสูงสุดที่ได้ในแผนผังการกระเจิง ซึ่งจะถูกแสดงไว้ที่ค่า Max Int.: ที่มุมซ้ายล่างของหน้าต่างแสดงแผนผังการกระเจิง (ดังรูปด้านล่าง) จากนั้นจึง

ทำการประมาณค่า exposure time โดยควรให้ได้ค่าความเข้มสูงสุดไม่เกินประมาณ 100,000 (Image Plate detector อ่านค่าความเข้มได้ไม่เกิน 130,000) โดยค่าความเข้มจะประมาณเป็นสัดส่วนโดยตรงกับ exposure time

h. กล้องที่เหลือด้านล่างของเมนู

ไม่เกี่ยวข้อง ไม่จำเป็นต้องตั้งค่า

i. ปุ่ม Go และปุ่ม Go / Erase first

เป็นปุ่มสำหรับสั่งระบบควบคุมให้เปิด beam shutter และเริ่มทำการวัด โดย beam shutter จะเปิดทันที หากคลิกปุ่ม Go แต่หากคลิกปุ่ม Go / Erase first จะสั่งให้ detector ทำการล้างภาพแผนผังการกระเจิงเดิมก่อน ซึ่งในกรณีที่ Image Plate detector ถูกปล่อยทิ้งไว้นาน ควรใช้ปุ่ม Go / Erase first (เนื่องจาก Image Plate detector จะรับ x-ray อยู่ตลอดเวลา ดังนั้นเมื่อผ่านไปนานๆ จะทำให้มีสัญญาณจากรังสีพื้นหลัง ต่างกับ CCD ซึ่งมีระบบปิดตัวรับภาพของ detector จึงไม่เป็นปัญหา) จากนั้นเมื่อทำการวัดครั้งต่อไป จึงสามารถใช้ปุ่ม Go ได้ เนื่องจากเมื่อวัดเสร็จแต่ละครั้ง detector จะอ่านภาพแผนผังการกระเจิงและลบภาพออกโดยอัตโนมัติ

ก่อนการลงมือวัด ผู้ทำการทดลองควรมีการจดบันทึกชื่อไฟล์ และรายละเอียดการวัดในแต่ละครั้ง

เนื่องจากไฟล์แผนผังการกระเจิงที่ได้จากการวัดด้วย Image Plate detector เป็นไฟล์เฉพาะ (นามสกุล .mar2300) ก่อนการจัดการข้อมูลด้วยโปรแกรม SAXSIT จำเป็นต้องเปลี่ยนไฟล์เป็นไฟล์ภาพที่ SAXSIT สามารถอ่านได้ โดยสามารถเปลี่ยนไฟล์เป็นไฟล์ Tiff 16 bit ที่มีนามสกุล .tiff16 ด้วยคำสั่ง `marcv -out tiff16 samplefile.mar2300` (โดย samplefile.mar2300 เป็นชื่อไฟล์ที่ได้จากการวัด) ซึ่ง จะทำให้ได้ไฟล์ประเภท Tiff 16 bit ชื่อ samplefile.tiff16 เพื่อนำไปจัดการด้วย SAXSIT ได้

สิ่งสำคัญที่ต้องระวังคือ ก่อนการสั่งเริ่มวัด ต้องแน่ใจว่า beamstop อยู่ในตำแหน่งที่ถูกต้อง เพื่อให้ไม่ทำให้ primary beam ตกกระทบ detector ซึ่งจะทำให้ ฉากรับภาพไหม้ และเกิดความเสียหายกับ detector



รูป 7.6 ค่าความเข้มสูงสุดถูกแสดงที่มุมล่างซ้ายของหน้าต่างแสดงแผนผังการกระเจิง

บทที่ 8 การจัดการข้อมูลด้วยโปรแกรม SAXSIT

ในบทนี้เป็นกระบวนการจัดการข้อมูล scattering pattern ที่ได้จากการวัด SAXS หรือ WAXS โดยใช้โปรแกรม SAXSIT ซึ่งเป็นโปรแกรมที่เขียนขึ้นสำหรับการจัดการข้อมูล SAXS/WAXS ที่วัดจากสถานีทดลอง SAXS/WAXS ของสถาบันวิจัยแสงซินโครตรอน เมื่อการจัดการข้อมูลเสร็จสิ้น สิ่งที่ได้ก็คือค่าความเข้มการกระเจิงที่เป็นฟังก์ชันของ scattering vector หรือเป็นฟังก์ชันของมุมกระเจิง (scattering profile) เพื่อนำไปแปลผลต่อไป

8.1 การติดตั้งโปรแกรม SAXSIT

โปรแกรม SAXSIT สามารถ download ได้ฟรีจากเว็บไซต์ของสถานีทดลอง SAXS/WAXS สถาบันวิจัยแสงซินโครตรอน (<http://www.slri.or.th/th/beamlines/SAXS>) โดยโปรแกรม SAXSIT ถูกเขียนขึ้นบน Matlab และถูกแปลงเป็น executable file (นามสกุล .exe) ซึ่งสามารถใช้งานได้บนระบบปฏิบัติการ Windows โดยไม่จำเป็นต้องติดตั้งโปรแกรม Matlab เพียงแต่ต้องทำการ run โปรแกรมที่ชื่อว่า MCRInstaller.exe หนึ่งครั้งก่อนการ run โปรแกรม SAXSIT ในที่นี่จะใช้โปรแกรม SAXSIT version 3.66

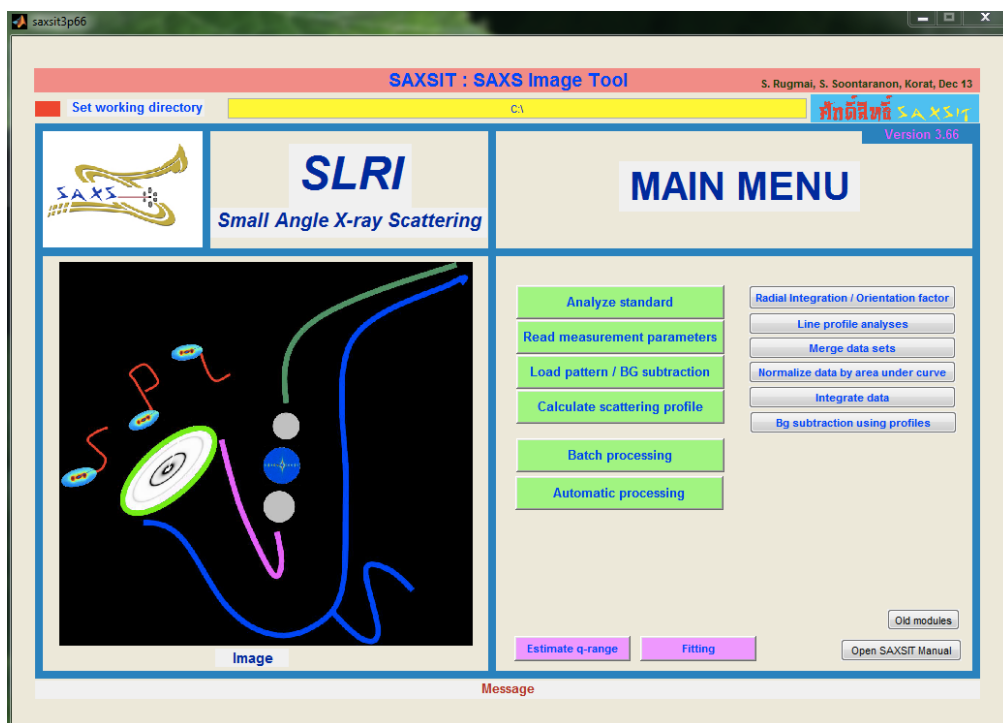
ขั้นตอนการติดตั้งโปรแกรม SAXSIT มีดังนี้

- ทำการ copy ไฟล์ MCRInstaller.exe มายังเครื่องคอมพิวเตอร์ (ซึ่งใช้ระบบปฏิบัติการ Windows)
- ทำการ copy โปรแกรม SAXSIT มายังเครื่องคอมพิวเตอร์ โดยสามารถ download โปรแกรม SAXSIT ได้จากเว็บไซต์ของสถาบันวิจัยแสงซินโครตรอน หรือที่สถานีทดลอง SAXS/WAXS โดยหากโปรแกรมอยู่ในรูป zip file ให้ทำการ unzip ซึ่งจะได้อีก folder ของโปรแกรม SAXSIT ที่บรรจุไฟล์อยู่เป็นจำนวนมาก
- มองหาไฟล์ saxsit3p66.exe และทำ shortcut มาบน desktop
- Double click ไฟล์ MCRInstaller.exe (เพื่อติดตั้ง library ของ Matlab)

8.2 การเริ่มใช้งานโปรแกรม SAXSIT

การเริ่มใช้งานโปรแกรม SAXSIT ทำได้ ดังนี้

- ทำการ double click ตัว shortcut ของโปรแกรม saxsit3p66.exe ซึ่งจะปรากฏหน้าต่างเมนูหลัก (MAIN MENU) ดังรูปที่ 8.1
- สร้าง folder ข้อมูลในคอมพิวเตอร์ที่จะใช้เป็นที่บรรจุข้อมูลและผลลัพธ์ที่ได้ทั้งหมด
- นำ pathname ของ folder ดังกล่าวใส่ในช่อง Set working directory ที่ด้านบนของหน้าต่าง MAIN MENU
- Copy ไฟล์ Excel ใน folder ของโปรแกรม SAXSIT ชื่อ MeasPara.xlsx วางใน folder ข้อมูล
- Copy ไฟล์แผนผังการกระเจิงที่ได้จากการวัด และไฟล์ parameter ของ Ionization chamber และ Photodiode ทั้งหมดที่เกี่ยวข้อง (ดูหัวข้อ 8.3) วางไว้ใน folder ข้อมูลที่สร้างขึ้น



รูป 8.1 หน้าต่าง MAIN MENU ของโปรแกรม SAXSIT

8.3 ไฟล์ parameter และ input สำหรับโปรแกรม SAXSIT

ไฟล์ input หลักของโปรแกรม SAXSIT คือไฟล์ MeasPara.xlsx ซึ่งจะบรรจุข้อมูลที่จำเป็นต่างๆ เช่น ชื่อไฟล์แผนผังการกระเจิงต่างๆ, ชื่อไฟล์บรรจุข้อมูลค่า ionization chamber และ photodiode ที่อ่านได้, ค่า parameter สำหรับการทำ pattern alignment, ข้อมูล detector และค่า parameter สำหรับคำนวณกราฟความเข้มการกระเจิง (scattering profile)

ข้อมูลต่างๆ ในไฟล์ MeasPara.xlsx แบ่งเป็นส่วนๆ ดังนี้

a. Experimental condition

สำหรับใส่ชื่อการทดลอง และค่าพลังงาน x-ray ที่ใช้

b. Dark current

สำหรับข้อมูล dark current ของ CCD detector ซึ่งปกติจะไม่มีค่าจำเป็น

c. Reference

สำหรับใส่ชื่อไฟล์ (ไฟล์นามสกุล .txt) บรรจุข้อมูล ionization chamber และ photodiode ที่อ่านได้เมื่อทำการวัด reference ซึ่งโดยปกติเป็นอากาศ หรือ liquid cell เปล่า (ใช้เป็นค่าอ้างอิงสำหรับการคำนวณการดูดกลืน x-ray ของสารตัวอย่าง)

ไฟล์นามสกุล .txt ที่บรรจุข้อมูล ionization chamber และ photodiode ที่อ่านได้นี้ จะถูกสร้างขึ้นโดยคอมพิวเตอร์ควบคุม ionization chamber และ photodiode ขณะทำการวัด

d. Sample

สำหรับใส่ข้อมูลของการวัดสารตัวอย่าง โดยมี

- ❖ ชื่อไฟล์แผนผังการกระเจิงของสารตัวอย่าง ไฟล์แผนผังการกระเจิงเป็นไฟล์ประเภท tiff ที่มี resolution 16 บิต (เป็น ไฟล์นามสกุล .mccd จาก CCD detector หรือนามสกุล .tiff16 จาก Image Plate detector)

- ❖ ชื่อไฟล์ (ไฟล์นามสกุล .txt) บรรจุข้อมูล ionization chamber และ photodiode ที่อ่านได้เมื่อทำการวัดสารตัวอย่าง โดยไฟล์จะถูกสร้างขึ้นโดยคอมพิวเตอร์ควบคุม ionization chamber และ photodiode ขณะทำการวัด
- ❖ เงื่อนไขสำหรับทำ median masking ของแผนผังการกระเจิง (ใส่ Y หากต้องการให้ทำ) โดยปกติ การทำ median masking นี้มีความจำเป็นสำหรับการวัดด้วย CCD detector โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อใช้เวลา exposure time นาน เนื่องจาก CCD detector นี้มีความไวต่ออนุภาครังสีคอสมิกจากอวกาศ ซึ่งจะทำให้เกิดจุดดำขนาดเล็กความเข้มสูงบนแผนผังการกระเจิง ซึ่งจุดดำนี้จะยิ่งเพิ่มจำนวนมากขึ้นตามเวลา exposure time โดยการทำ median masking จะสามารถกำจัดจุดจากรังสีคอสมิกเหล่านี้ได้ โดยไม่ส่งผลกับส่วนอื่นของแผนผังการกระเจิง

e. Background

สำหรับใส่ข้อมูลเช่นเดียวกับในข้อ d แต่เป็นของการวัด background (ที่จะใช้ลบออกจากของสารตัวอย่างระหว่างการจัดการข้อมูล) โดย background นั้นอาจเป็นอากาศ (กรณีสารตัวอย่างเป็นของแข็ง) หรือเป็นของเหลว (กรณีสารตัวอย่างเป็นอนุภาคแขวนลอยในของเหลว)

f. Parameters obtained from standard sample

สำหรับใส่ชื่อไฟล์แผนผังการกระเจิงของสารมาตรฐานที่จะใช้ทำ pattern alignment และปรับเทียบ sample-detector distance โดยค่า Center Offset X, Center Offset Y และ Sample-detector distance นั้นจะได้หลังจากการทำ pattern alignment และปรับเทียบ sample-detector distance (ดูหัวข้อ 8.4 และ 8.5)

g. Detector parameter

สำหรับใส่ค่าขนาด pixel (มีค่า 0.07959 มม. สำหรับ CCD detector และ 0.15 มม. สำหรับ Image Plate detector) และขนาดรัศมีของ detector (มีค่า 82.5 มม. สำหรับ CCD detector และ 172.5 มม. สำหรับ Image Plate detector)

h. Profile calculation parameter

สำหรับบอกเงื่อนไขการคำนวณค่าความเข้มการกระเจิง (scattering profile) และ parameter สำหรับการทำ circular averaging ของข้อมูล ดังนี้

- ❖ Normalize beam current

หากเป็น Y โปรแกรมจะทำการหาค่าความเข้มที่วัดได้ด้วยค่าอินทิเกรตของความเข้ม x-ray (integrated beam intensity) ขณะวัดที่อ่านโดย ionization chamber เพื่อให้ได้ความเข้มการกระเจิงต่อหน่วยความเข้ม x-ray ที่ตกกระทบ ซึ่งจะทำให้สามารถเปรียบเทียบค่าความเข้มการกระเจิงที่วัดที่เวลาต่างกันได้

❖ Normalize exposure time

หากเป็น Y โปรแกรมจะทำการหาค่าความเข้มที่วัดได้ด้วยค่า exposure time เพื่อให้ได้ความเข้มการกระเจิงต่อหน่วยเวลา โดยปกติขั้นตอนนี้จะไม่มีค่าจำเป็น (ใส่เป็น N) เนื่องจากการทำ Normalize beam current โดยการหารด้วย integrated beam intensity นั้น เป็นการ normalize exposure time โดยอัตโนมัติอยู่แล้ว

❖ Subtract dark current pattern

สำหรับบอกให้โปรแกรมลบ dark current pattern ออกจากแผนผังการกระเจิงที่วัดได้ โดยปกติขั้นตอนนี้จะไม่มีค่าจำเป็น (ใส่เป็น N)

❖ Normalize transmission

หากเป็น Y โปรแกรมจะทำการหาค่าความเข้มที่วัดได้ด้วยค่า transmission ของสารตัวอย่าง (หรือ background) เพื่อชดเชยค่าความเข้ม x-ray ที่ถูกดูดกลืนโดยสารตัวอย่าง (หรือ background)

❖ Sample concentration

เป็นค่าความเข้มข้นของตัวอย่างที่กระเจิง x-ray ซึ่งจะมีความจำเป็นในกระบวนการลบ background โดยโปรแกรมจะทำการคูณ background ด้วยค่า $1/c$ (เมื่อ c เป็นค่า sample concentration) ก่อนทำการลบ background หากไม่รู้ค่า หรือกรณีตัวอย่างอนุภาคในของเหลว ซึ่งมีความเข้มข้นต่ำ มักใส่ค่าความเข้มข้นเป็น 0

❖ Direction to calculate profile, Averaging range และ Step size เป็นค่า parameter สำหรับการทำ circular averaging ของแผนผังการกระเจิง (ดูหัวข้อ 8.6)

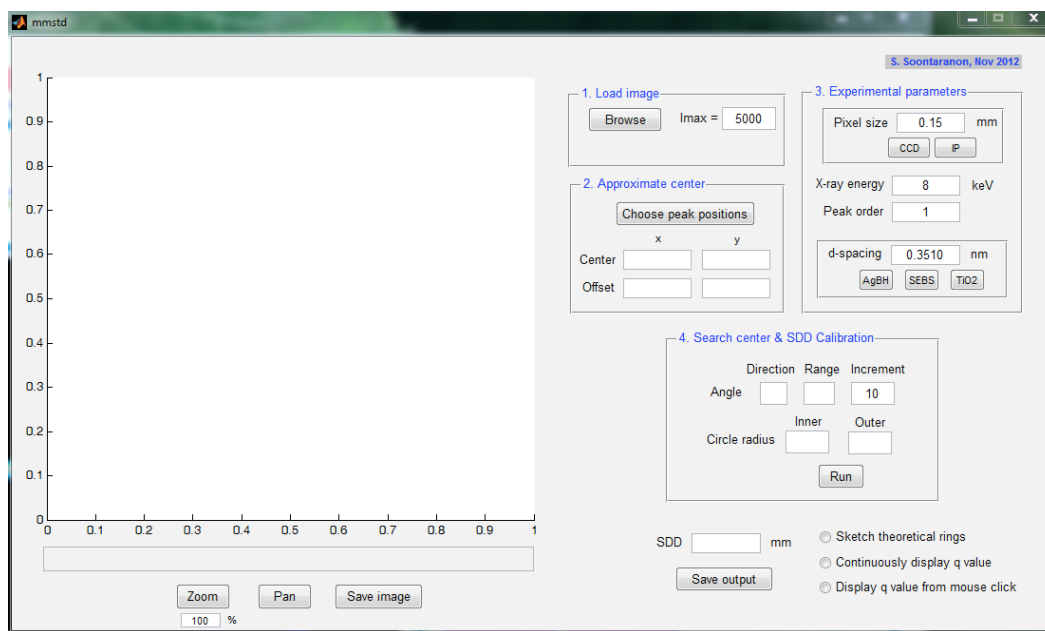
ในขั้นตอนนี้ ข้อมูลในไฟล์ MeasPara.xlsx ไม่จำเป็นต้องกรบ เช่น ข้อมูลในส่วน Parameters obtained from standard sample สามารถใส่เพิ่มหลังจากการทำ pattern alignment ได้

8.4 การทำ pattern alignment และปรับเทียบระยะ sample-detector

เมื่อทำการวัด และได้แผนผังการกระเจิง สิ่งที่ต้องดำเนินการคือการระบุตำแหน่ง primary beam บนแผนผังการกระเจิง เนื่องจากค่ามุมกระเจิงที่ตำแหน่งต่างๆ บนแผนผังการกระเจิงจะถูกอ้างอิงจากตำแหน่งของ primary beam การทำ pattern alignment คือการหาตำแหน่งของ primary beam โดยใช้วิธีหาจุดศูนย์กลางของแผนผังการกระเจิงของสารมาตรฐานที่ให้รูปแบบการกระเจิงเป็นวงกลม

ขั้นตอนการทำ pattern alignment (หลังจากทำการวัดสารมาตรฐานแล้ว) คือ

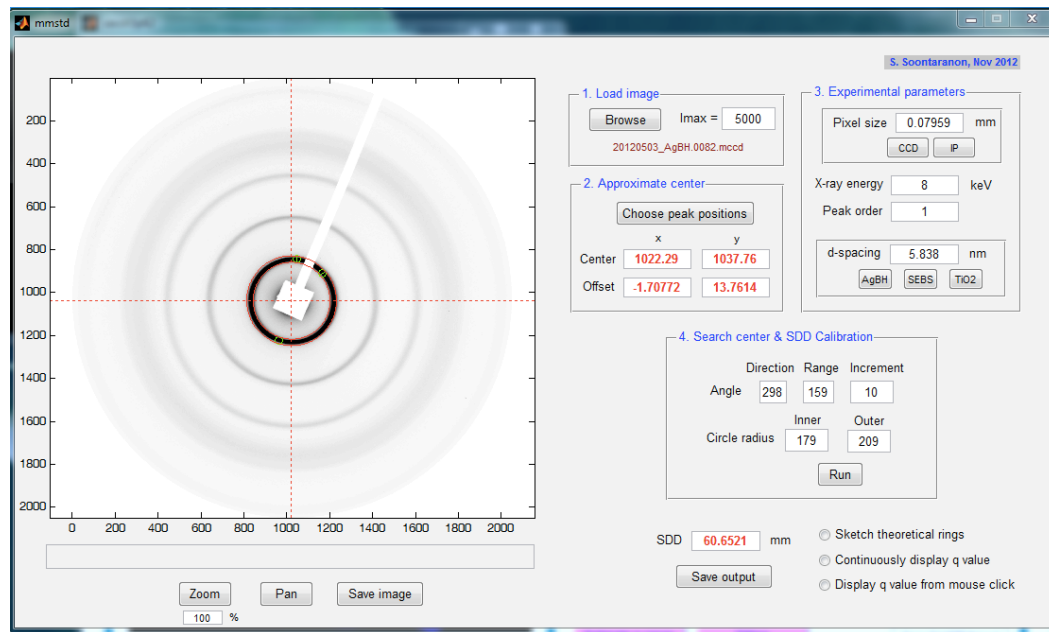
- คลิกเมนู Analyze standard ในหน้าต่าง MAIN MENU ของโปรแกรม SAXSIT ซึ่งจะปรากฏหน้าต่างดังรูปที่ 8.2



รูป 8.2 หน้าต่างเมนู Analyze standard จากโปรแกรม SAXSIT

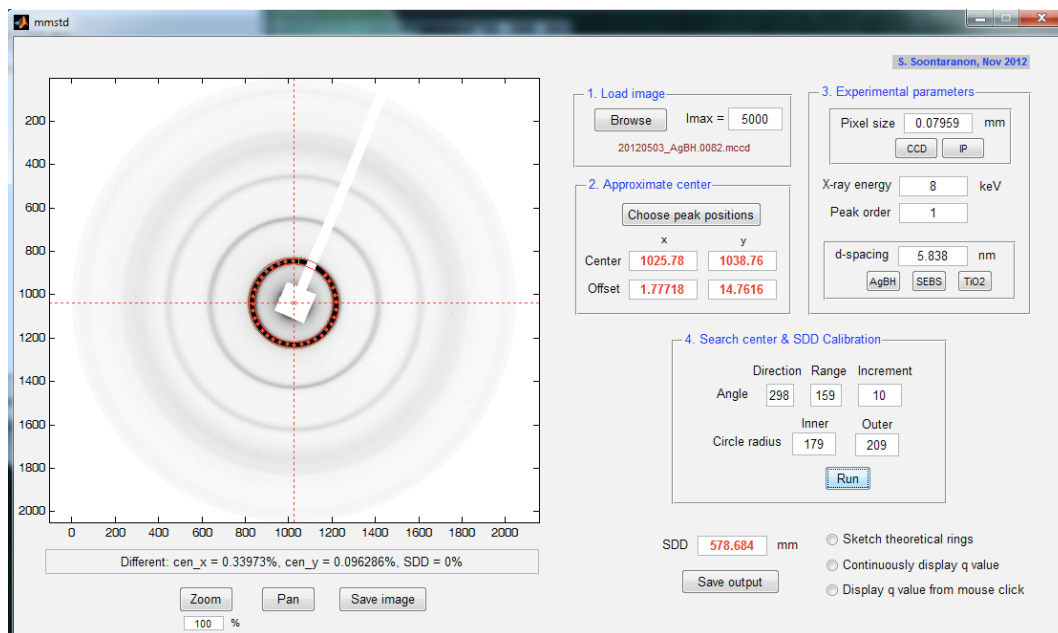
- ในกล่อง 1.Load image คลิก Browse และเลือกไฟล์แผนผังการกระเจิงของสารมาตรฐาน (เช่น AgBh) และปรับค่า Imax ให้เห็นวงการกระเจิงชัดเจน

- c. ในกล่อง 2. Approximate center คลิกบนวงการกระเจิงที่ต้องการใช้ (เช่น วงการแทรกสอดลำดับที่ 1 ของ AgBH) บริเวณกลางแถบจำนวน 3 จุด โดยเริ่มจากบริเวณถัดจากเงาของ beamstop ในทิศทางเข็มนาฬิกา (รูปที่ 8.3) เพื่อให้โปรแกรมประมาณตำแหน่งศูนย์กลางวงกลม



รูป 8.3 หน้าต่างเมนู Analyze standard จากโปรแกรม SAXSIT แสดงการคลิกเลือกตำแหน่งสามตำแหน่งบนแถบการกระเจิง เพื่อประมาณจุดศูนย์กลางเริ่มต้น

- d. ในกล่อง 3. Experimental parameters ใส่ค่า Pixel size หรือคลิกเลือกชนิด detector, ค่า X-ray energy, ค่า Peak order และค่า d-spacing ของสารมาตรฐาน (หรือคลิกเลือกชนิดสารมาตรฐาน)
- e. ในกล่อง 4. Search center and SDD Calibration คลิกปุ่ม Run จากนั้นโปรแกรมจะคำนวณตำแหน่งศูนย์กลางวงกลมโดยการ fit หาค่าตำแหน่ง peak ที่จุดต่างๆ บนแถบการกระเจิงทีละจุด เริ่มจากจุดที่เลือกจุดแรกในข้อ c. ไปจนถึงจุดสุดท้ายในทิศทางเข็มนาฬิกา (รูป 8.4) พร้อมทั้งคำนวณค่า sample-detector distance (SDD)



รูป 8.4 หน้าต่างเมนู Analyze standard จากโปรแกรม SAXSIT หลังการคลิกปุ่ม Run โปรแกรมจะคำนวณจุดศูนย์กลางวงกลมแถบการกระเจิง และค่า Sample-detector distance (SDD)

- f. เมื่อเสร็จ ควรคลิกปุ่ม Run อีกครั้ง (หรือทำหลายครั้ง) ซึ่งจะทำให้ได้ค่าที่ถูกต้องมากขึ้น
- g. คลิกปุ่ม Save output โปรแกรมจะบันทึกค่าที่คำนวณได้ในไฟล์ alignstandard.txt
- h. นำค่าที่ได้ (Offset X, Offset Y และ SDD) สุดท้ายใส่ในไฟล์ MeasPara.xlsx ของ SAXSIT (ดูหัวข้อ 8.3 g.)

8.5 การอ่านไฟล์ input

ในหน้าต่าง MAIN MENU ของโปรแกรม SAXSIT เมื่อคลิกเมนู Read measurement parameters โปรแกรมจะถามให้เลือกไฟล์ที่บรรจุ input (ซึ่งคือไฟล์ Measpara.xlsx) จากนั้นเมื่อเลือกไฟล์แล้วโปรแกรมจะอ่านค่าทั้งหมดและแสดงหน้าต่างที่ปรากฏค่าเหล่านั้น (รูปที่ 8.5) โดยผู้ใช้สามารถแก้ไขค่าที่ปรากฏในหน้าต่างนี้ได้ จากนั้นเมื่อคลิกปุ่ม Save parameters โปรแกรมจะบันทึกค่าตามที่ปรากฏในหน้าต่าง

	Exposure time (sec)	IC (count)	Integrated IC (count)	PD (count)	Integrated PD (count)	Transmission
Reference	120	0	3881412.5	0	1151773	
Sample	120	0	3788514.5	0	1121237	0.99736
Background	120	0	3834008	0	459827	0.40417

รูป 8.5 หน้าต่างแสดงค่าที่อ่านจากไฟล์ MeasPara.xlsx

8.6 การอ่านแผนผังการกระเจิง และการลบ background

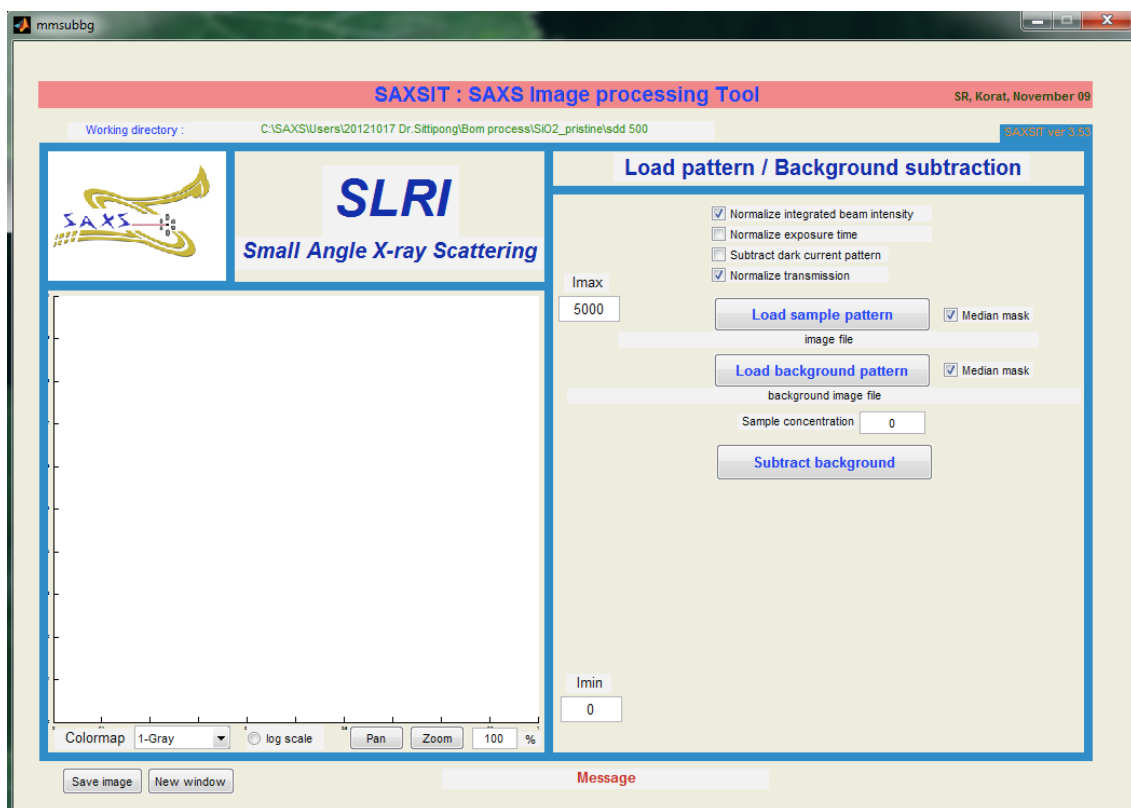
ในหน้าต่าง MAIN MENU ของ SAXSIT เมื่อคลิกเมนู Load pattern / BG subtraction จะปรากฏหน้าต่างดังรูปที่ 8.6 โดยหน้าต่างนี้จะเป็นตัวใช้เลือกแผนผังการกระเจิงที่จะนำไปใช้คำนวณกราฟการกระเจิงต่อไป ในหน้าต่างจะมีตัวเลือกสำหรับการทำเงื่อนไขต่างๆ ซึ่งจะถูกเลือกล่วงหน้าโดย input ในไฟล์ MeasPara.xlsx (ดูหัวข้อ 8.3 h.) แต่ผู้ใช้สามารถเลือกใหม่ได้ในหน้าต่างนี้

ในการอ่านแผนผังการกระเจิง จะมีปุ่มสามปุ่ม คือ

- ❖ Load sample pattern เมื่อคลิกปุ่มนี้ โปรแกรมจะอ่านแผนผังการกระเจิงของตัวอย่างจากชื่อไฟล์ในไฟล์ MeasPara.xlsx (ดูหัวข้อ 8.3 d.)
- ❖ Load background pattern เมื่อคลิกปุ่มนี้ โปรแกรมจะอ่านแผนผังการกระเจิงของ background จากชื่อไฟล์ในไฟล์ MeasPara.xlsx (ดูหัวข้อ 8.3 e.)

- ❖ Subtract background เมื่อคลิกปุ่มนี้ โปรแกรมจะลบค่าความเข้มของแผนผังการกระเจิงของ background ออกจากแผนผังการกระเจิงของตัวอย่าง โดยทำการ scale ความเข้มของ background ด้วยค่า (1-Sample concentration)

หากไม่ต้องการลบ background ผู้ใช้สามารถคลิกเฉพาะ Load sample pattern และข้ามไปทำการคำนวณกราฟการกระเจิงได้เลย

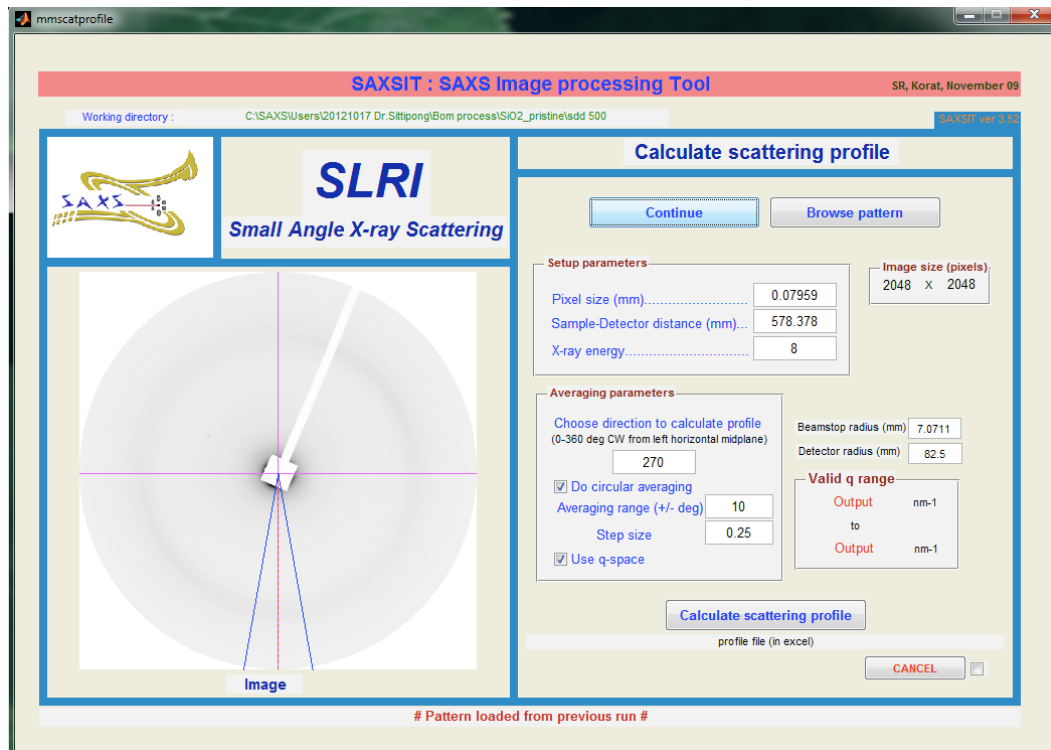


รูป 8.6 หน้าต่างสำหรับเมนู Load pattern / BG subtraction

8.7 การคำนวณกราฟการกระเจิง (Scattering profile) และการทำ circular averaging ของข้อมูล

เนื่องจาก detector ที่ใช้เป็นสองมิติ ดังนั้นจุดบน detector ที่ระยะจากศูนย์กลาง (หมายถึงตำแหน่งของ primary beam) เท่ากันจะเป็นตำแหน่งที่มีค่ามุมกระเจิง และค่าเวกเตอร์การกระเจิง q เท่ากัน กล่าวคือ หากวาดวงกลมบนแผนผังการกระเจิงที่มีตำแหน่งศูนย์กลางที่ primary beam จะได้ว่าทุกๆ จุดบนวงกลมนั้นจะมีค่า q เท่ากัน ดังนั้น เราจึงสามารถทำการเฉลี่ยความเข้มบนแผนผังการกระเจิงรอบมุม azimuth ที่ค่า q ต่างๆ ได้ เพื่อให้ได้กราฟความเข้มการกระเจิงที่มีสถิติดีขึ้น (คือได้กราฟที่เรียบขึ้น) โดยเราเรียกกระบวนการนี้ว่าการทำเฉลี่ยแนววงกลม (Circular averaging) อย่างไรก็ตาม เนื่องจากลำ x-ray ที่ตกกระทบตัวอย่างนั้นมีรูปร่างเป็นวงรีที่มีความกว้างในแนวนอนมาก (ประมาณ 1 มม.) แต่ขนาดแนวตั้งน้อย (ประมาณ 0.2 มม.) ดังนั้นแผนผังการกระเจิงในแนวนอนจะขยายกว้างออกเนื่องจากผลของขนาดของลำ x-ray (เรียกผลนี้ว่า smearing) แต่แผนผังการกระเจิงในแนวตั้งจะไม่มีผลจาก smearing ดังนั้นในการเลือกทำ circular averaging จึงควรเลือกทิศในแนวตั้ง เช่นที่มุม 90 (แนวตั้งด้านบน) หรือ 270 องศา (แนวตั้งด้านล่าง) และทำ circular averaging ในช่วงที่ไม่กว้างมาก เช่น 10 องศา โดยหลบด้านที่มีเงาของ beamstop เช่น รูปที่ 8.7 แสดงการทำ circular averaging ที่มุม 270 องศา ช่วงมุม ± 10 องศา และขนาดช่วง (step size) ที่ใช้เฉลี่ย 0.25 องศา

ค่า parameter ต่างๆ ในการทำ circular averaging นี้ถูกบรรจุไว้ในไฟล์ MeasPara.xlsx แต่ผู้ใช้สามารถเปลี่ยนแปลงแก้ไขได้ในหน้าต่าง Calculate scattering profile



รูป 8.7 หน้าต่างสำหรับเมนู Calculate scattering profile

เมื่อการคำนวณเสร็จสิ้น โปรแกรมจะสร้างไฟล์ output ซึ่งเป็นไฟล์ Excel ชื่อเดียวกับชื่อไฟล์แผนผังการกระเจิงของตัวอย่างต่อท้ายด้วย _SP_ และมุม azimuth ที่คำนวณ เช่น หากไฟล์แผนผังการกระเจิงของตัวอย่างชื่อ Sample.mccd และทำการคำนวณที่มุม 270 องศา ไฟล์ output จะเป็น Sample.mccd_SP_270deg.xlsx โดยในไฟล์ output จะปรากฏ worksheet ต่างๆ ที่บรรจุค่าความเข้มการกระเจิงเป็นฟังก์ชันของมุมกระเจิง และเวกเตอร์การกระเจิง

บทที่ 9 การแปลผลข้อมูล

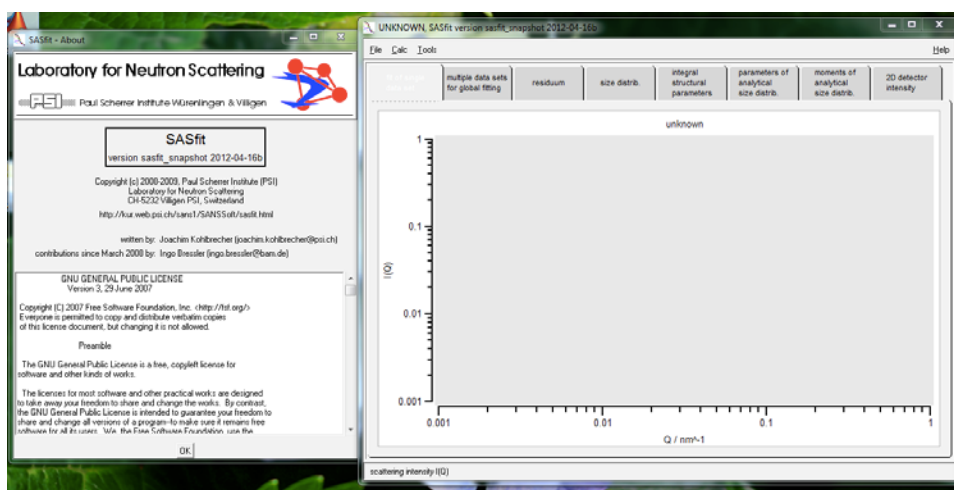
เทคนิค SAXS และ WAXS นั้นเป็นเทคนิคที่ใช้ทำการศึกษาได้หลากหลายสาขา ดังนั้นวิธีการแปลผลข้อมูลจึงมีความหลากหลายเช่นกัน การแปลผลข้อมูลที่ตรงไปตรงมาไม่ซับซ้อน เช่นการหาระยะ period ของโครงสร้างจากตำแหน่ง peak อาจทำได้ง่ายๆ โดยไม่ต้องใช้โปรแกรมเฉพาะ แต่หากเป็นการแปลผลโครงสร้างที่ซับซ้อน จำเป็นต้องใช้โปรแกรมเฉพาะเพื่อทำ modeling และ fitting ของ form factor และ structure factor หรือการทำ Fourier transform เพื่อหา Pair Distance Distribution Function

โปรแกรม SAXSIT มีโมดูลสำหรับการตรวจสอบลักษณะ scattering profile และการวิเคราะห์ผลขั้นต้น เช่นการหาตำแหน่ง peak, การหาความชันของกราฟ และการทำ fitting บางประเภท แต่การวิเคราะห์ผลเชิงลึกที่ต้องใช้ form factor และ structure factor ที่ซับซ้อน จำเป็นต้องใช้โปรแกรมเฉพาะ

มีโปรแกรมหลายโปรแกรมที่ถูกใช้ในการวิเคราะห์ และแปลผลข้อมูล SAXS โดยเฉพาะ โดยโปรแกรมส่วนใหญ่สามารถ download ได้ฟรีทางเว็บไซต์ต่างๆ เช่น

- ❖ โปรแกรม SASfit เขียนโดย Joachim Kohlbrecher ของ Paul Scherrer Institute (PSI) ประเทศสวิตเซอร์แลนด์ เป็นโปรแกรมที่ใช้ในการทำ fitting ของข้อมูล Small Angle Scattering โดยเฉพาะตัวโปรแกรมบรรจุ form factor และ structure factor รวมทั้ง size distribution function มากมายหลายแบบให้ผู้ใช้เลือก โดยสามารถ download โปรแกรมได้จาก

<http://kur.web.psi.ch/sans1/SANSSoft/sasfit.html>



รูป 9.1 หน้าต่างโปรแกรม SASfit

- ❖ ชุดโปรแกรม ATSAS เขียนโดย D.I. Svergun และทีมของ European Molecular Biology Laboratory (EMBL) เป็นโปรแกรมเฉพาะสำหรับการทำ modeling ของรูปร่างโมเลกุล และการทำ Fourier transform ของข้อมูล Small Angle Scattering เพื่อหา Pair Distance Distribution Function โดยสามารถ download โปรแกรมได้จาก <http://www.embl-hamburg.de/biosaxs/software.html>

9.1 การพิจารณาลักษณะเบื้องต้นของกราฟ SAXS intensity profile

เราอาจได้ข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับรูปร่างหรือโครงสร้างของสารตัวอย่างได้จากการพิจารณา SAXS intensity profile ในรูปกราฟแบบต่างๆ โดยโปรแกรม SAXSIT มีโมดูลที่ชื่อ 'Guinier and Porod fit' สำหรับการวาดกราฟในรูปแบบต่างๆ ดังนี้

- **Power law plot**

เป็นการพิจารณากราฟระหว่าง $\ln q$ กับ $\ln I$ (กราฟ q vs I ในสเกล $\ln$ - $\ln$) ซึ่งนอกจากจะทำให้เห็นลักษณะต่างๆ ในกราฟได้ชัดเจนกว่าการ plot ใน linear scale แล้ว ยังอาจทำให้เห็นลักษณะรูปร่างของโครงสร้างตัวอย่าง เช่น ในกรณีตัวอย่างเป็นอนุภาคทรงกลมที่ไม่เกาะกลุ่มกัน เราควรจะได้เห็นกราฟเส้นตรงที่มีความชัน -4 (Porod law) ในช่วงค่า q สูงๆ และหาก size distribution ไม่กว้างมาก (ไม่เกิน 30% โดยประมาณ) เราควรจะได้เห็น oscillation ของ SAXS profile หรือหากอนุภาคเป็นทรงกระบอกยาว หรือเป็นแผ่นแบน เราควรจะได้เห็นกราฟที่มีความชัน -1 และ -2 ตามลำดับ เป็นต้น (ดูหัวข้อ 2.8)

- **Porod plot**

เป็นการพิจารณากราฟระหว่าง q กับ $q^4 I$ ซึ่งสำหรับอนุภาคสามมิติผิวเรียบ ควรให้กราฟที่เป็นค่าคงที่ที่ค่า q สูงๆ

- **Guinier plot**

หากการทดลองสามารถวัด SAXS ในช่วง q ที่มีค่าน้อยอยู่ในช่วงของ Guinier approximation เราสามารถพิจารณา SAXS profile ในรูป Guinier plot ซึ่งมี 3 ประเภท ขึ้นอยู่กับรูปร่างของอนุภาค คือ

Globular Guinier plot: กราฟ q^2 กับ $\ln I$ ให้เส้นตรงสำหรับอนุภาคทรงกลม

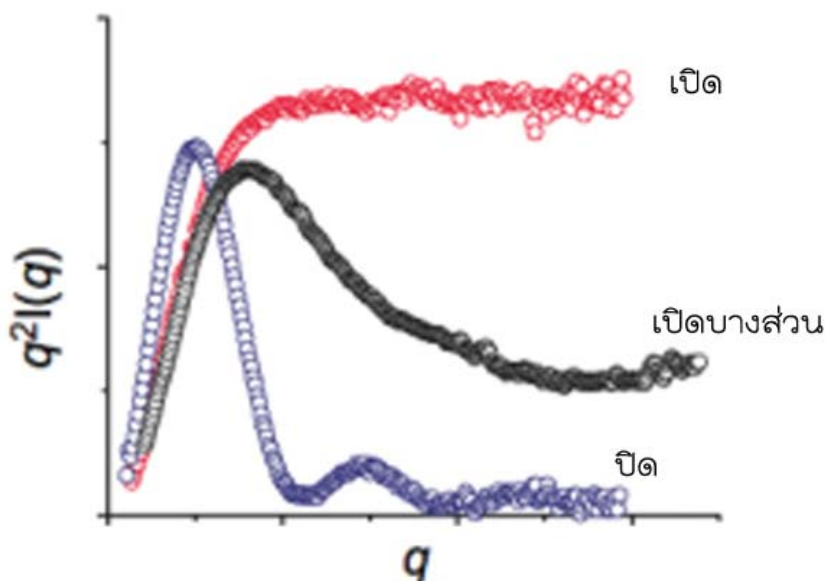
Cross-sectional Guinier plot: กราฟ q^2 กับ $\ln qI$ ให้เส้นตรงสำหรับอนุภาคทรงกระบอกยาว

Thickness Guinier plot: กราฟ q^2 กับ $\ln q^2 I$ ให้เส้นตรงสำหรับอนุภาคแบน

ซึ่งความชันของกราฟนั้นสัมพันธ์กับรัศมีไจเรชันประเภทต่างๆ (ดูหัวข้อ 2.5) ดังนั้น การพิจารณา Guinier plot และดูว่ากราฟชนิดไหนให้เส้นตรงในช่วง q ต่ำๆ อาจบอกข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับรูปร่างอนุภาคได้

- **Kratky plot**

เป็นการพิจารณากราฟระหว่าง q กับ $q^2 I$ ซึ่งลักษณะกราฟที่ได้จะบอกความเป็น globular (หรือ compactness) ของตัวอย่าง กล่าวคือ ตัวอย่างที่เป็น globular จะให้ Kratky plot ที่มีลักษณะเป็นระฆังคว่ำ ในขณะที่ตัวอย่างที่เป็นสายจะให้ Kratky plot ที่มีลักษณะปลายเปิดยิ่งขึ้น การพิจารณา Kratky plot นี้ มีประโยชน์เป็นอย่างยิ่งกับตัวอย่างโมเลกุลโปรตีน ซึ่งจะบอกลักษณะโมเลกุลที่เป็นแบบปิด (folded) หรือเปิด (unfolded) ดังแสดงในรูป 9.2



รูป 9.2 ตัวอย่าง Kratky plot [C.D. Putnam et. al., Rev. Biophys 40(2007)191]

- Porod-Debye plot และ Kratky-Debye plot

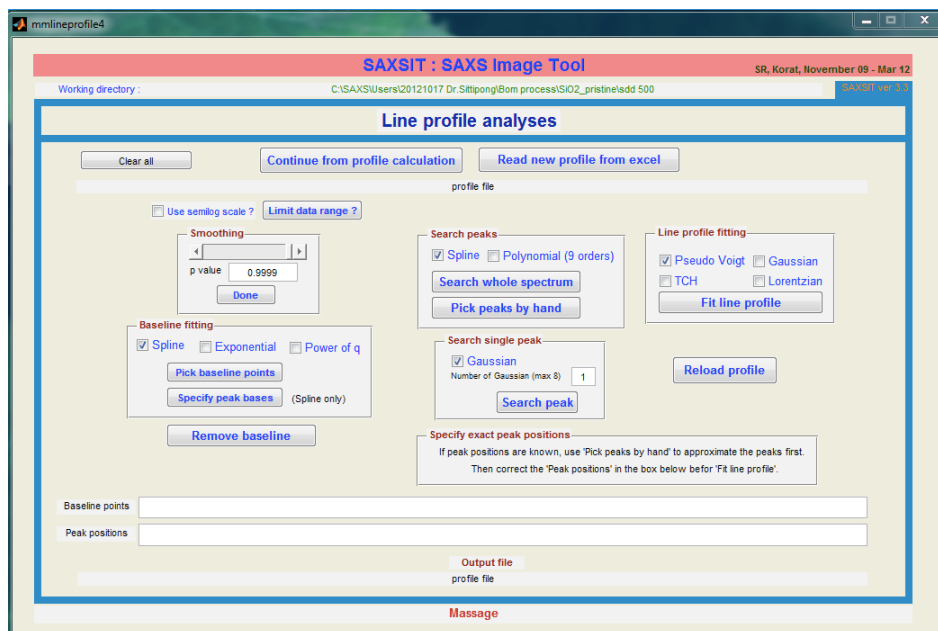
เป็นการพิจารณากราฟระหว่าง q^4 กับ $q^4 I$ (Porod-Debye plot) และ ระหว่าง q^2 กับ $q^2 I$ (Kratky-Debye plot) มีประโยชน์สำหรับการพิจารณา compactness หรือ flexibility ของโมเลกุลโปรตีน [รายละเอียดใน R.P. Rambo and J.A. Tainer, Biopolymers 95(2011)559]

9.2 การหาตำแหน่ง peak และระยะ period (ค่า d-spacing)

การหาตำแหน่ง peak ทำได้ง่ายๆ โดยการนำส่วน peak ของกราฟการกระเจิงมาทำ fitting ด้วยฟังก์ชันมาตรฐาน เช่น Gaussian function หรือ Lorentzian function หรือฟังก์ชันผสมระหว่างสองฟังก์ชัน โปรแกรม SAXSIT มีเมนูชื่อ Line profile analyses (แสดงรูปหน้าต่างในรูปที่ 9.2) ซึ่งสามารถใช้ในการเลือกส่วน peak, ทำ smoothing, ลบ baseline และทำ fitting ของ peak โดยใช้ฟังก์ชันมาตรฐาน เพื่อหาตำแหน่ง peak ได้ เมื่อได้ตำแหน่ง peak แล้ว ค่าระยะ period ของโครงสร้างที่ทำให้เกิด peak หาได้จากสมการที่ 2.56 คือ

$$d = \frac{2\pi n}{q_{peak}} \quad 9.1$$

เมื่อ n เป็นลำดับของการแทรกสอด



รูป 9.3 หน้าต่างสำหรับเมนู Line profile analyses

เนื่องจากโครงสร้างระดับนาโนเมตรที่เป็นระเบียบนั้นมักมีการเรียงตัวเป็นแบบชั้น (lamella structure) จึงมักมีค่า d-spacing เพียงค่าเดียว และตำแหน่งของ peak ที่ลำดับการแทรกสอดต่างๆ เป็นจำนวนเท่าของลำดับที่หนึ่ง ทำให้การหาค่า d-spacing ไม่ซับซ้อน แต่ในบางกรณี ตัวอย่างอาจมีโครงสร้างที่มีการเรียงตัวเป็นแบบอื่นได้ เช่นกรณีของตัวอย่างที่เป็นผลึกเหลว (liquid crystal) บางประเภทที่อาจมีการเรียงตัวของอนุภาคเป็นแบบปริมิต หรือลูกบาศก์ หรือแบบผลึกอื่นๆ ได้ ในกรณีเช่นนี้จำเป็นต้องใช้ความรู้ทาง crystallography ในการแปลผล

นอกจากนั้น โครงสร้าง lamella ของตัวอย่างส่วนใหญ่จะมีค่า d-spacing ที่ไม่แน่นอนเหมือนกรณีของผลึก จึงอาจต้องอาศัยการทำ fitting ของโครงสร้าง และรวมการกระจายขนาดของค่า d-spacing ด้วย ตัวอย่างในกรณีเช่นนี้ให้ไว้ในหัวข้อ 9.5

9.3 การหารูปร่าง และขนาดอนุภาคโดย Guinier approximation

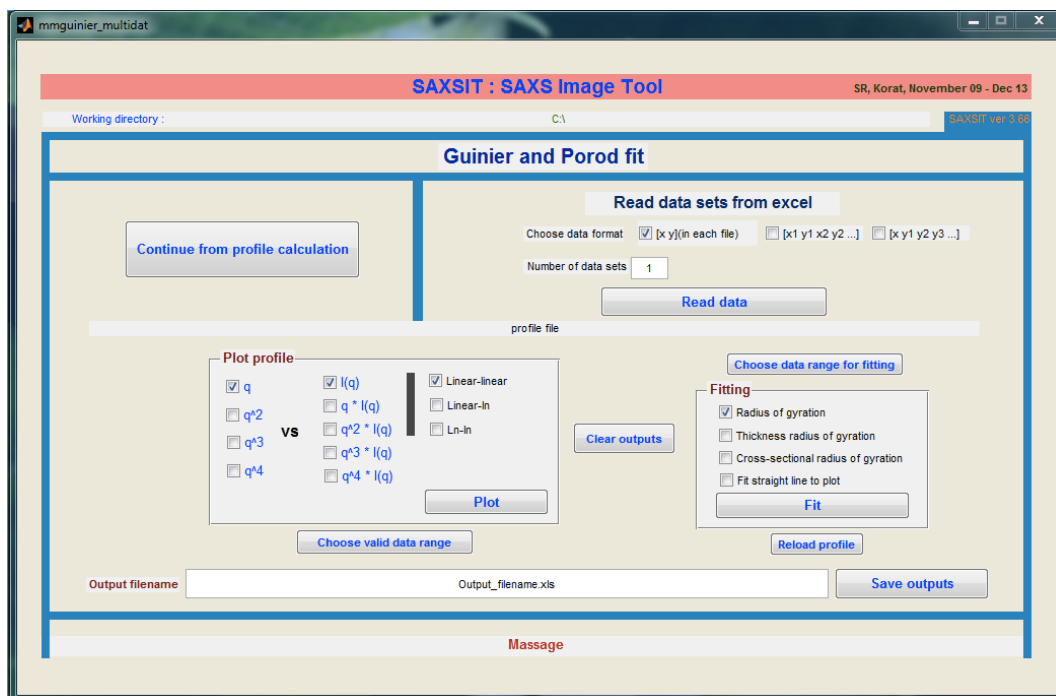
หากการทดลองสามารถวัด SAXS ที่ให้ข้อมูลอยู่ในช่วงของ Guinier approximation ได้ กล่าวคือ ได้ข้อมูลที่มีช่วงค่า $qR < 1$ ก็สามารถหาขนาดอนุภาคได้จากค่ารัศมีไจเรชันโดยใช้ Guinier approximation ได้ (ดูหลักการในหัวข้อ 2.5) ในโปรแกรม SAXSIT มีเมนู Fitting ซึ่งภายในบรรจุเมนู Guinier and Porod fit ซึ่งสามารถใช้ในการตรวจสอบกราฟการกระเจิง และหาค่ารัศมีไจเรชันของอนุภาคทรงกลม ทรงกระบอก หรือแผ่นได้ โดยมีขั้นตอน ดังนี้

- เลือกเมนู Guinier and Porod fit (จากภายในเมนู Fitting ของ MAIN MENU)
- อ่านข้อมูล scattering profile จากไฟล์ Excel โดยคลิกปุ่ม Read data โดยสามารถอ่านข้อมูลหลายชุดเพื่อจัดการพร้อมกันได้ โดยเลือกรูปแบบข้อมูลตามตัวเลือก
- วาดกราฟ $q^n I(q^n)$ โดยเลือกประเภทกราฟจากในกล่อง Plot profile เช่นสำหรับอนุภาคทรงกลม เลือก q^2 และ $I(q)$ และวาดกราฟ Ln-ln
- ตัดกราฟในส่วนที่ไม่เกี่ยวข้องออก โดยการคลิกปุ่ม Choose valid data range และเลือกช่วงกราฟที่ต้องการโดยใช้เมาส์คลิก
- พิจารณาลักษณะกราฟในส่วนค่า q น้อยๆ เพื่อเลือกช่วงที่เป็นเส้นตรงสำหรับ fit
- คลิกปุ่ม Choose data range for fitting และเลือกช่วงข้อมูลสำหรับ fit

g. ในกล่อง Fitting เลือก Radius of gyration (สำหรับอนุภาคทรงกลม) และคลิกปุ่ม Fit จากนั้นโปรแกรมจะ fit และแสดงค่า radius of gyration (R_G) ในแถบ Message ด้านล่าง

เน้นอีกครั้งว่าค่า radius of gyration ไม่ใช่รัศมีของอนุภาค แต่สัมพันธ์กับรัศมีของอนุภาค เช่น อนุภาคทรงกลมมี

$$\text{ค่ารัศมี } R = \sqrt{\frac{5}{3}} R_G$$



รูป 9.4 หน้าต่างสำหรับเมนู Guinier and Porod fit

หมายเหตุในที่นี้ว่าในการใช้งานเมนู Guinier and Porod fit นี้ การ fit หา radius of gyration ชนิดต่างๆ จะเป็นตามนิยามในหัวข้อ 2.5 โดยไม่ขึ้นกับการวาดกราฟจากกล่อง Plot profile ทางซ้ายมือ แต่การทำ Fit straight line to plot เพื่อหาความชันของกราฟนั้นจะทำกับกราฟที่วาดโดยตรง ความชันที่ได้จึงขึ้นกับการเลือกวาดกราฟ

นอกจากการหาค่าความชันตามกระบวนการด้านบนแล้ว โปรแกรม SASfit สามารถทำการฟิต Guinier approximation ได้โดยการ fit สมการของ Guinier approximation เช่น สมการ 2.26 โดยตรง (โดยการเลือก form factor เป็น Guinier)

9.4 การหาขนาด และการกระจายขนาดของอนุภาคนาโน

ในกรณีนี้โปรแกรม SASfit มีตัวเลือกของ form factor และ size distribution หลากหลายให้เลือก โดยเราจะยกตัวอย่างการทำ fitting หาขนาด และ size distribution ของอนุภาคทองที่วัดที่สถานี SAXS/WAXS (BL2.2)

ตัวอย่างเป็นอนุภาคทอง (gold nano particles) แขนงลอยในน้ำ ทำการวัดโดยใช้ liquid cell โดยในการจัดการข้อมูลในกรณีนี้ ค่าความเข้มการกระเจิงของอนุภาคที่แขวนลอยในของเหลวหาได้จากการวัดตัวอย่าง และทำการลบ background (คือของเหลว) พร้อมทั้งการแก้ค่าการดูดกลืน x-ray ของตัวอย่าง โดยโปรแกรม SAXSIT จะทำการคำนวณแผนผังการกระเจิงของอนุภาคจาก

$$I_{particle} = \tilde{I}_{sample} - (1 - c)\tilde{I}_{background} \quad 9.2$$

โดยที่

$$\tilde{I}_{sample} = \frac{I_{sample}}{T_{sample} \cdot i_{sample, IC}},$$

$$\tilde{I}_{background} = \frac{I_{background}}{T_{background} \cdot i_{background, IC}},$$

โดยค่า *transmission* ของตัวอย่างอนุภาคในของเหลว (*sample*) และของของเหลวเปล่า (*background*) ได้จาก

$$T_{sample} = \frac{i_{sample, PD} / i_{sample, IC}}{i_{cell, PD} / i_{cell, IC}}$$

$$T_{background} = \frac{i_{background, PD} / i_{background, IC}}{i_{cell, PD} / i_{cell, IC}}$$

โดย

I_{sample} เป็นแผนผังการกระเจิงของตัวอย่างอนุภาคในของเหลว

$I_{background}$ เป็นแผนผังการกระเจิงของของเหลวเปล่า

C เป็นค่าความเข้มข้น (concentration) ของอนุภาคในของเหลว ซึ่งโดยปกติเราจะใช้ตัวอย่างที่เจือจางเพียงพอ และสามารถประมาณความเข้มข้นเป็นศูนย์ได้

$i_{sample, IC}$ เป็นค่า integrated intensity ของ x-ray ที่วัดด้วย ionization chamber ในช่วงเวลาที่วัดตัวอย่างอนุภาคในของเหลว

$i_{sample, PD}$ เป็นค่า integrated intensity ของ x-ray ที่วัดด้วย photodiode ด้านหน้า beamstop ในช่วงเวลาที่วัดตัวอย่างอนุภาคในของเหลว

$i_{background, IC}$ เป็นค่า integrated intensity ของ x-ray ที่วัดด้วย ionization chamber ในช่วงเวลาที่วัดของเหลวเปล่า

$i_{background, PD}$ เป็นค่า integrated intensity ของ x-ray ที่วัดด้วย photodiode ด้านหน้า beamstop ในช่วงเวลาที่วัดของเหลวเปล่า

$i_{cell, IC}$ เป็นค่า integrated intensity ของ x-ray ที่วัดด้วย ionization chamber ในช่วงเวลาที่วัด cell เปล่า

$i_{cell, PD}$ เป็นค่า integrated intensity ของ x-ray ที่วัดด้วย photodiode ด้านหน้า beamstop ในช่วงเวลาที่วัด cell เปล่า

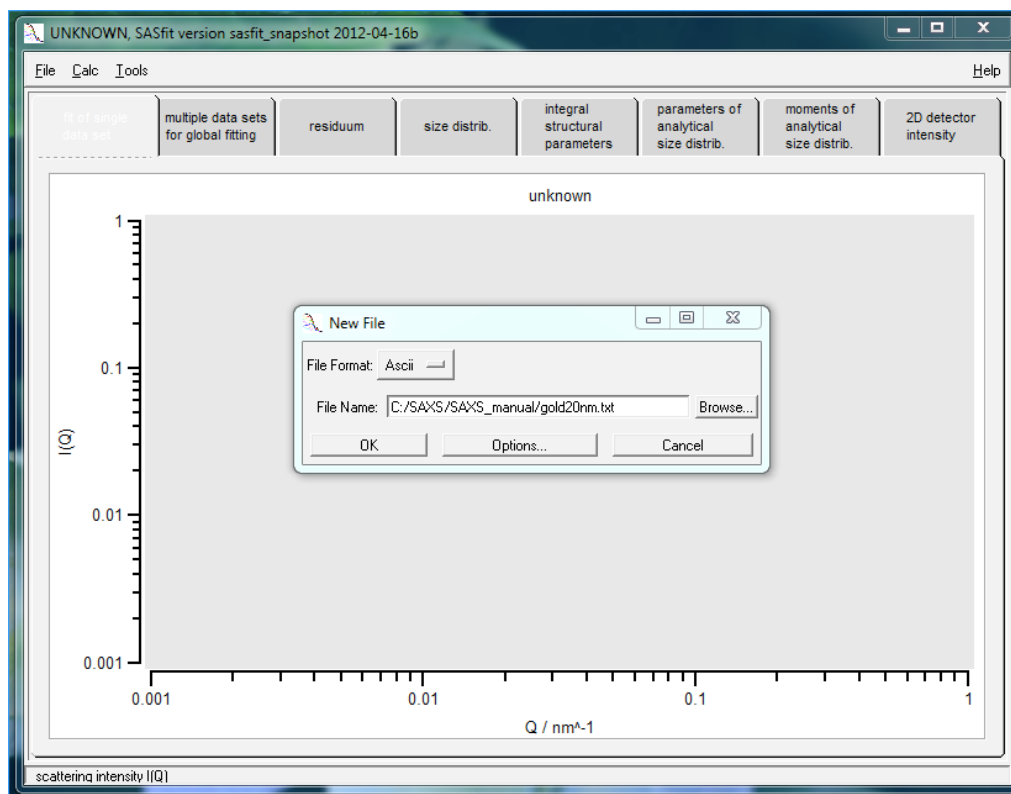
ดังนั้น การวัด SAXS ของอนุภาคทองที่แขวนลอยในน้ำ จึงมีขั้นตอน คือ

- ❖ วัด liquid cell เปล่า สำหรับเป็น reference pattern
- ❖ วัด liquid cell บรรจุน้ำ สำหรับเป็น background pattern
- ❖ วัด liquid cell บรรจุตัวอย่าง (อนุภาคทอง แขวนลอยในน้ำ) สำหรับเป็น sample pattern
- ❖ จัดการแผนผังการกระเจิงด้วยโปรแกรม SAXSIT ให้ได้ scattering profile (ลบ background, normalize beam current และ normalize transmission แล้ว) ตามวิธีการในบทที่ 8.

จากนั้นทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรม SASfit ตามขั้นตอน ดังนี้

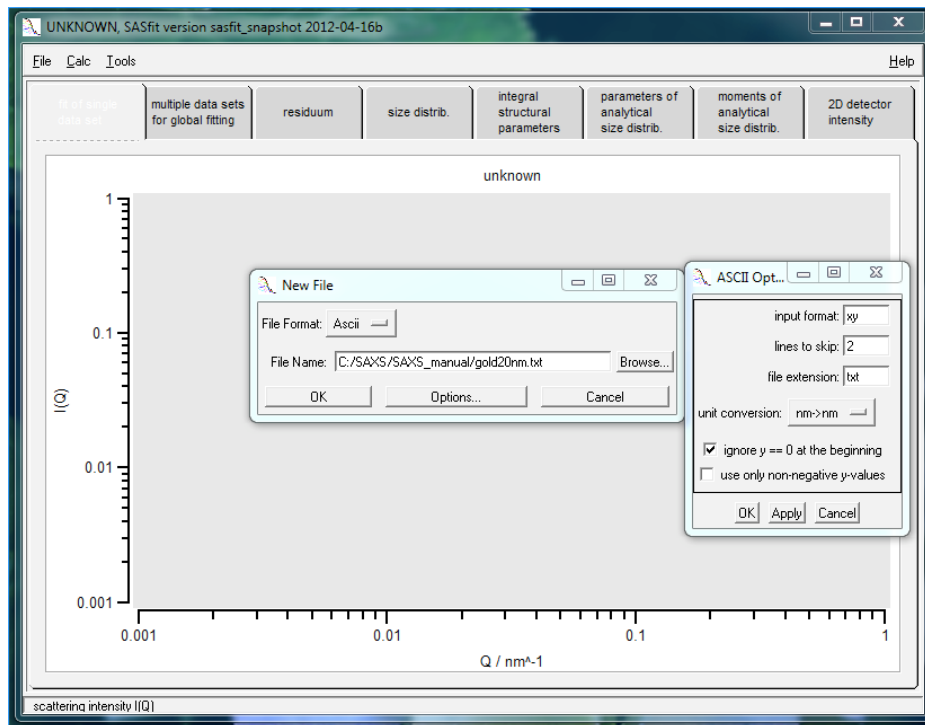
- a. เปิดไฟล์ Excel ที่เป็น output จากเมนู Calculate scattering profile ของโปรแกรม SAXSIT ในหน้า worksheet ที่ชื่อ Averaged I(q) และทำการ Save as เป็นไฟล์ประเภท Text (Tab delimited) (เนื่องจากโปรแกรม SASfit จะอ่านข้อมูลจาก text file)

- b. เปิดโปรแกรม SASfit เลือกเมนู File -> Single Data Set... -> Browse (รูปที่ 9.4) และเลือกไฟล์ข้อมูลที่เป็น text file จากข้อ a.

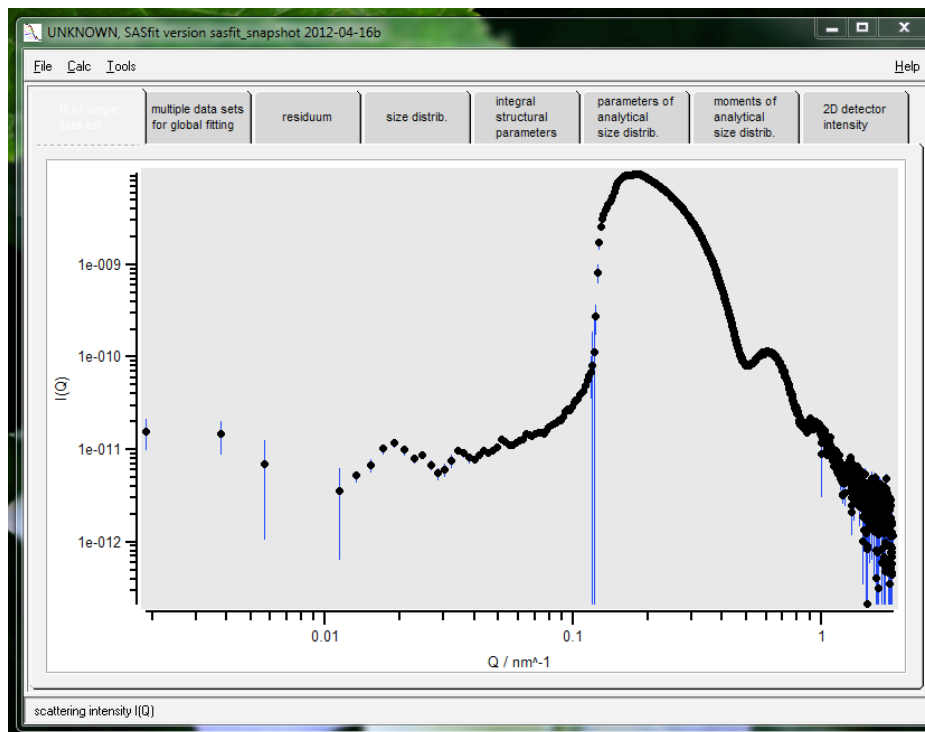


รูป 9.5 การอ่านข้อมูลเข้าโปรแกรม SASfit

- c. คลิกปุ่ม Options ใส่ลักษณะข้อมูล (รูปที่ 9.6a) เช่น Input format: xy (หมายถึงเป็นสองคอลัมน์ ไม่มี error bar), lines to skip: 1 (หมายถึงข้ามบรรทัดแรกในข้อมูลซึ่งเป็นหัวข้อตัวแปร), File extension: txt (นามสกุลของไฟล์ข้อมูล) จากนั้นคลิกปุ่ม OK จะได้กราฟการกระเจิงดังรูปที่ 9.6b

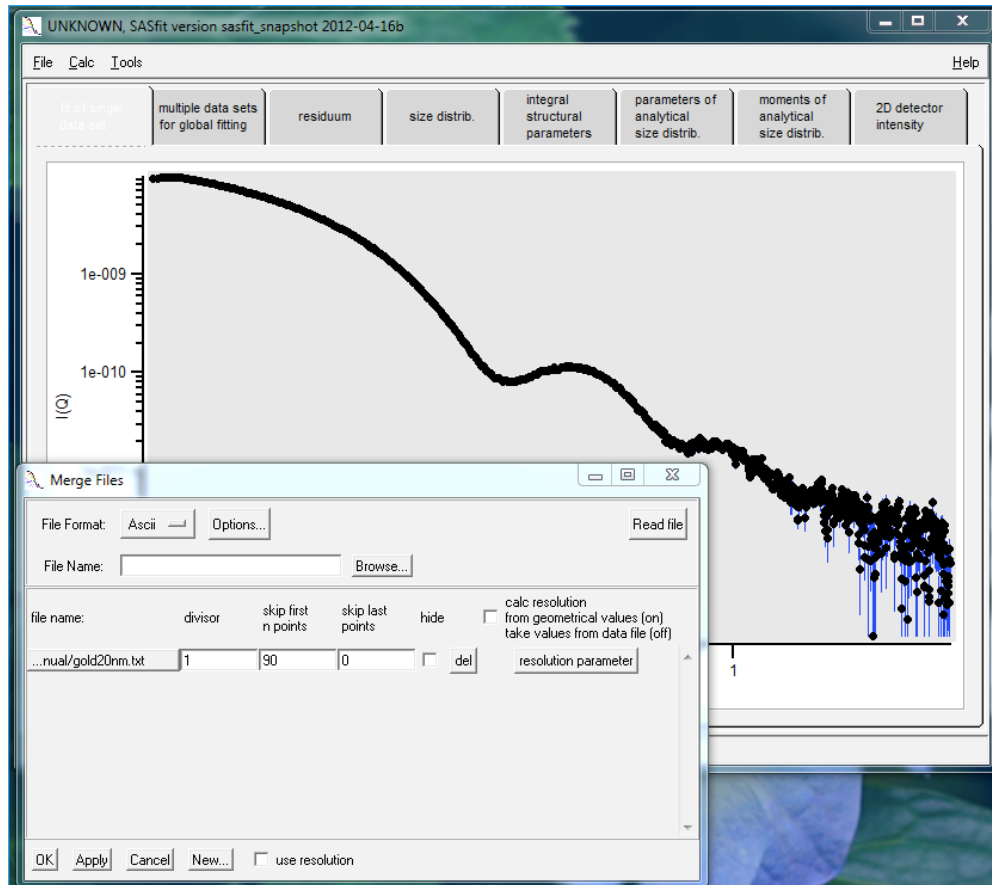


รูป 9.6a การ set ลักษณะข้อมูลที่จะอ่าน



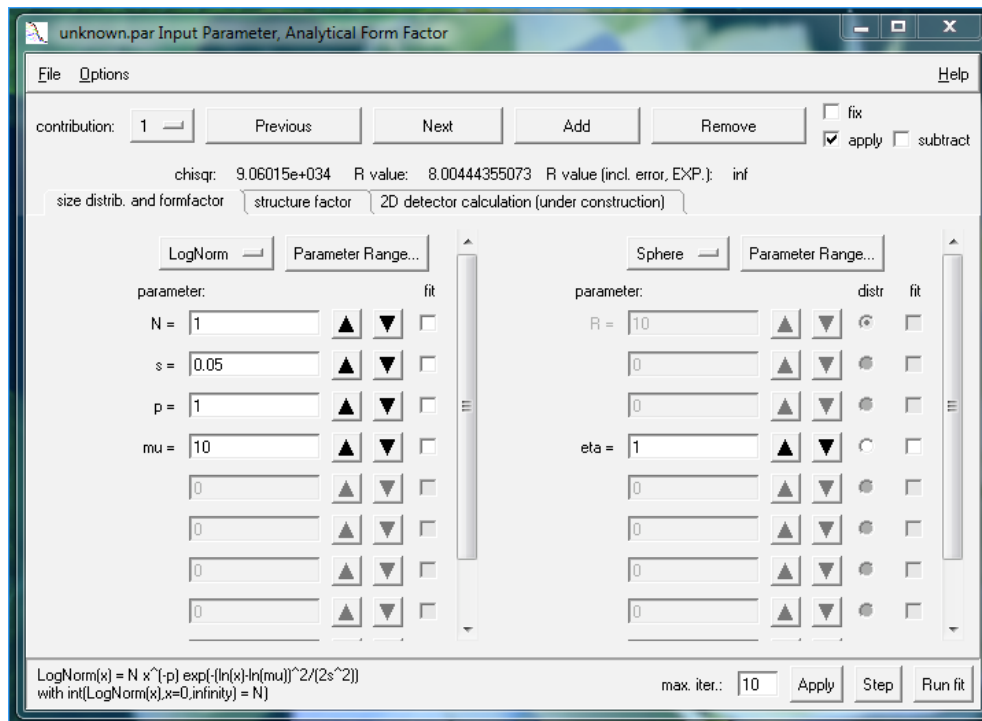
รูป 9.6b ข้อมูลที่อ่าน

- d. ตัดกราฟส่วนที่ไม่เกี่ยวข้อง หรือผิดปกติออกโดยการเลือกเมนู File -> Single Data Set... ซึ่งโปรแกรมจะเปิดกล่องชื่อ Merge Files ขึ้นมา เราสามารถตัดช่วงต้นและช่วงท้ายข้อมูลที่ไม่ต้องการออกโดยใส่ตัวเลขจำนวนจุดที่ต้องการตัดในกล่อง Skip first n points และ Skip last points (รูปที่ 9.7) (หลังใส่ตัวเลข กดปุ่ม Apply จะทำให้เห็นว่ากราฟที่ถูกตัดเป็นอย่างไร) จากนั้นกดคลิกปุ่ม OK



รูป 9.7 การตัดส่วนต้นและปลายข้อมูลที่ไม่ใช้

- e. เลือกเมนู File -> Calc -> Single Data Set... -> fit จะได้หน้าต่างสำหรับทำ fitting (รูปที่ 9.8) โดยในแท็บ size distrib. and formfactor จะประกอบด้วยสองส่วน ด้านซ้ายเป็น size distribution ด้านขวาเป็น form factor



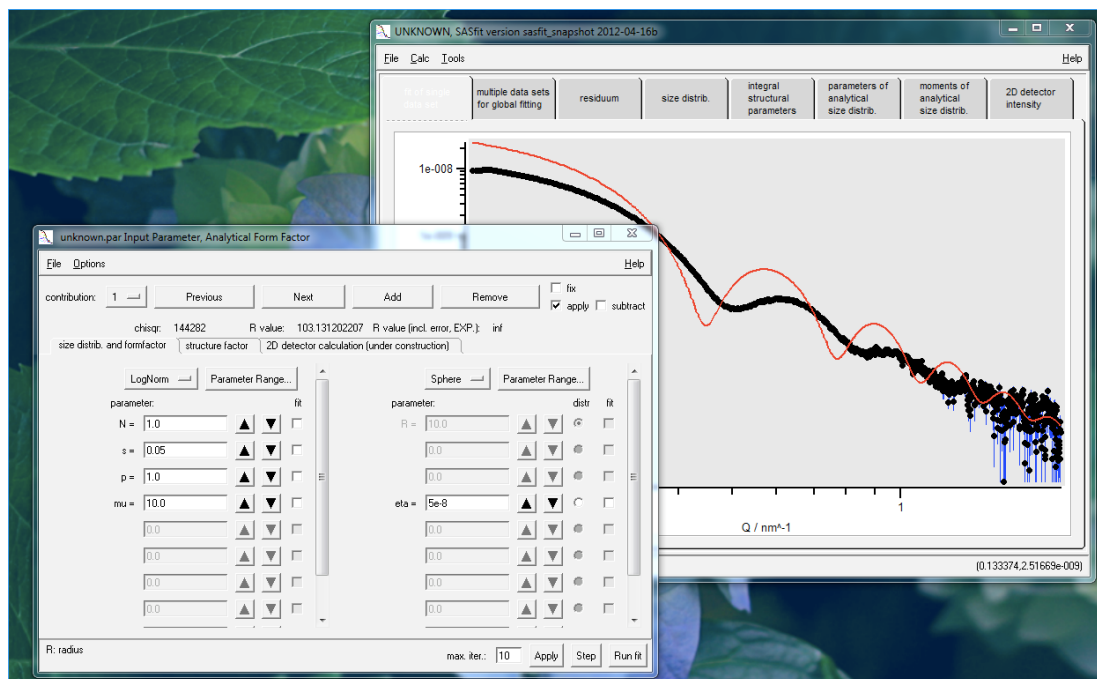
รูป 9.8 หน้าต่างสำหรับทำ fitting

- f. ด้านซ้าย มีเมนูให้เลือกฟังก์ชันสำหรับ size distribution ในกรณีนี้เราเลือก LogNorm ซึ่งเป็นฟังก์ชัน Log Normal สำหรับ size distribution
- g. ด้านขวามีเมนูสำหรับให้เลือก form factor ในกรณีนี้เลือก Sphere เมื่อคลิก Apply จะปรากฏเส้นกราฟสีแดง เป็นค่า model ที่ถูกคำนวณจาก form factor และ size distribution ที่เลือก
- h. ในหน้าต่างสำหรับทำ fitting จะมีกล่องสำหรับค่า parameter ต่างๆ ของ form factor และ size distribution พร้อมทั้งช่องสี่เหลี่ยมด้านหลัง สำหรับเลือก fit เนื่องจากการ fit นั้นเป็นการทำ chi-square minimization ซึ่งอาจมีคำตอบได้หลายแบบ ดังนั้นในขั้นแรกเราจำเป็นต้องประมาณค่า parameter ให้ได้ model ใกล้เคียงกับข้อมูลก่อนทำการ fit

การทำ fitting ในกรณีนี้ มี parameter สำหรับ form factor คือ R (รัศมีของอนุภาค) และ eta (ค่า density contrast) และมีช่องสี่เหลี่ยม distr. สำหรับให้เลือกว่า parameter ตัวใดที่จะมี distribution ซึ่งในกรณีนี้เราเลือก R

ในส่วนของ size distribution มี parameter คือ N (normalization factor), s (width parameter ของ log normal), p (shape parameter ของ log normal) และ μ (location parameter ของ log normal)

ก่อนทำการ fit เราประมาณค่าให้ model ให้ใกล้เคียงกับข้อมูล โดยการปรับค่า η ของ form factor และค่า μ และ s ของ size distribution (รูปที่ 9.9) โดยที่ค่า η จะเป็นตัวกำหนด amplitude ของกราฟ, ค่า μ เป็นตัวกำหนดตำแหน่งสูงสุดของ oscillation และค่า s เป็นตัวกำหนดความถี่ของ oscillation



รูป 9.9 การประมาณค่า parameter ก่อน fit

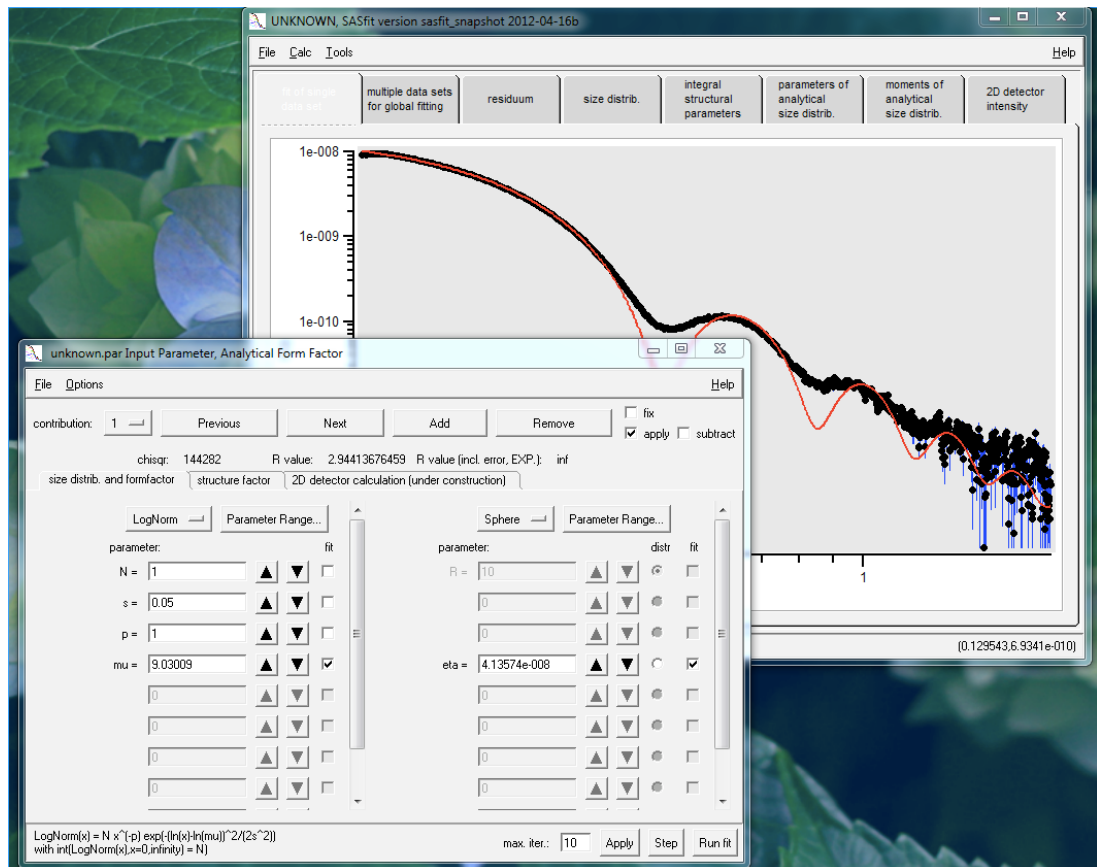
เมื่อได้ model ที่ใกล้เคียงพอสมควรแล้ว เราเริ่มทำการฟิต โดยก่อน fit ผู้ใช้ควรทำความเข้าใจความหมาย และผลของ parameter ต่างๆ ก่อน

เช่นในกรณีนี้ ค่า η นั้นเป็นเหมือนค่า scaling factor และไม่มีความสำคัญเนื่องจากเราวิเคราะห์แบบ relative และต้องการเพียงรูปร่างของกราฟเท่านั้น และเนื่องจาก N นั้นเป็น

normalization factor จึงเป็น scaling factor เช่นเดียวกัน ดังนั้นการ fit ค่า eta และ N จึงมีผลเหมือนกัน เราจึงจะเลือก fit เฉพาะ eta

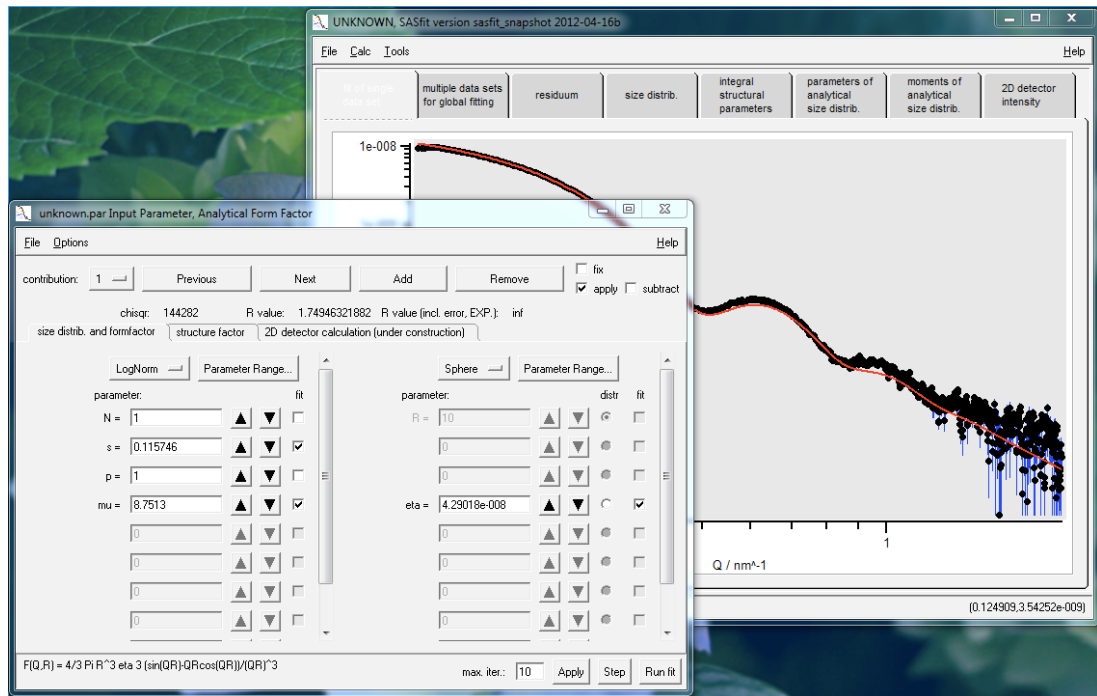
ค่า s เป็นความกว้างของ log normal distribution ซึ่งการ fit ค่า s อาจจะใช้เวลาในการคำนวณพอสมควร และจะส่งผลกระทบต่อ parameter อื่น ดังนั้น ในขั้นแรกเราควรเลือก fit เฉพาะค่า eta และ mu เพื่อให้ได้ model ที่ใกล้เคียงข้อมูลยิ่งขึ้น

- i. เลือกช่องสี่เหลี่ยมหลัง mu และ eta เพื่อเลือกเป็น fit parameter จากนั้นคลิกปุ่ม Run fit โปรแกรมจะทำการ fit หาค่า parameter ทั้งสองที่เหมาะสม และให้ค่า model ใกล้เคียงข้อมูลมากที่สุด (รูปที่ 9.10)



รูป 9.10 ผลการ fit เริ่มต้น

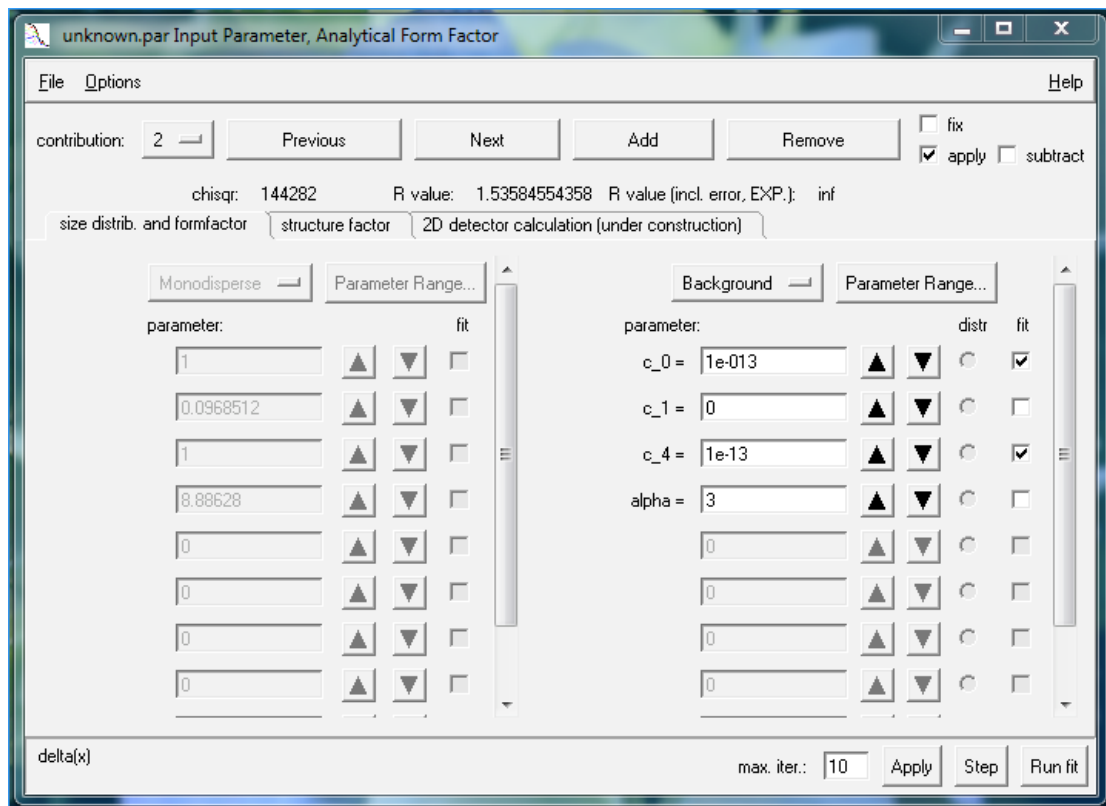
- j. เลือกช่องสี่เหลี่ยมหลัง s และคลิก Run fit (ทำการ fit ค่า eta, mu และ s พร้อมกัน) ซึ่งจะได้ model ที่ใกล้เคียงขึ้น (รูปที่ 9.11)



รูป 9.11 ผลการฟิตถัดไป

อย่างไรก็ตาม model ที่ได้จากการ fit อาจยังไม่ใกล้เคียงเท่าที่ควร ปัญหาที่เกิดขึ้นนั้นเนื่องมาจากข้อมูลที่ได้จากการวัดมักไม่ได้มีเฉพาะการกระเจิงของตัวอย่างเท่านั้น แต่มีสิ่งอื่นปะปนอยู่ เช่น background ที่ลอบออกไม่หมด หรือมีการกระเจิงจากกลุ่มอนุภาคที่เกาะตัวกันปนอยู่ด้วย ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องเพิ่มส่วนเหล่านี้เข้าไปในการทำ fitting ด้วย โดยการเพิ่ม background เข้าไปในการ fit โดยในโปรแกรม SASfit จะมีส่วนของ background อยู่ในตัวเลือกของ form factor โดยใน background จะอยู่ในรูปของ $c_0 + c_1 q + c_4 q^{-\alpha}$ โดยเทอมแรกเป็นค่าคงที่ เทอมที่สองเป็น background ที่เพิ่มเป็นเส้นตรงกับค่า q และเทอมที่สามเป็น power law ซึ่งเกิดจากการกระเจิงจากกลุ่มอนุภาคที่เกาะตัวกัน ในกรณีนี้เราจะใช้เทอมที่ 1 และเทอมที่สาม เป็นส่วนของ background

- k. ในหน้าต่างสำหรับการ fit ในบรรทัดที่เขียนว่า contribution: จะเห็นว่าที่เราทำการ fit นั้นเป็น contribution: 1 ให้คลิกปุ่ม Add ซึ่งหน้าต่างจะเพิ่ม contribution: 2 โดยเราสามารถเปลี่ยนกลับไปกลับมาระหว่างสอง contribution ได้โดยการคลิกปุ่ม Previous หรือ Next
- l. สำหรับ contribution: 2 ในส่วนของ size distribution เลือก monodisperse และในส่วนของ form factor เลือก background (รูปที่ 9.12)



รูป 9.12 หน้าต่าง contribution ของส่วน background

- m. ในส่วนของ background ใส่ค่า $c_1=0$, ปรับค่า $\alpha=3$ (q^{-3} เป็นลักษณะของการกระเจิงจากกลุ่มอนุภาคที่เกาะเป็นก้อน) และปรับค่า c_0 และ c_4 ให้ค่า model (กราฟเส้นสีแดง) มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย (โดยปกติค่าสัมประสิทธิ์ของ background จะอยู่ในระดับเดียวกับค่าของข้อมูลในช่วงปลาย)
- n. เลือกกล่องสี่เหลี่ยมหลัง c_0 และ c_4 เพื่อให้เป็น fit parameter จากนั้นคลิก Run fit

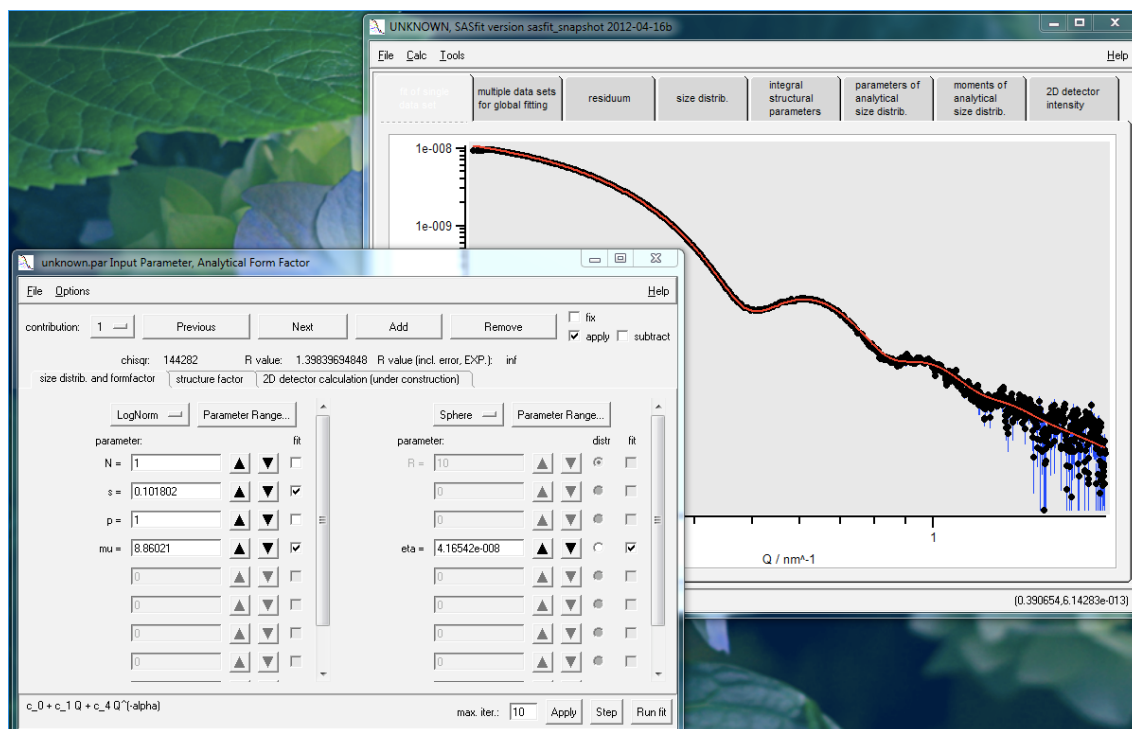
o. เอากล่องสี่เหลี่ยม หลัง c_0 และ c_4 ออก และเลือกกล่องสี่เหลี่ยมหลัง alpha จากนั้นคลิก Run fit

เราจะได้ผลการฟิตดังรูปที่ 9.13 และได้ค่า parameter ของ log normal distribution จากผลการ fit อย่างไรก็ตาม เน้นอีกครั้งว่าค่า mu และ s ที่ได้จาก Log normal distribution มีความสัมพันธ์กับค่ารัศมีเฉลี่ย และ standard deviation (ดูหัวข้อ 2.4) คือ

$$\langle R \rangle = \mu \exp\left(\frac{\sigma^2}{2}\right) \quad 9.3$$

$$SD = \mu \sqrt{\omega(\omega - 1)} \quad 9.4$$

เมื่อ $\omega = \exp(\sigma^2)$ โดยที่ μ และ σ คือ mu และ s



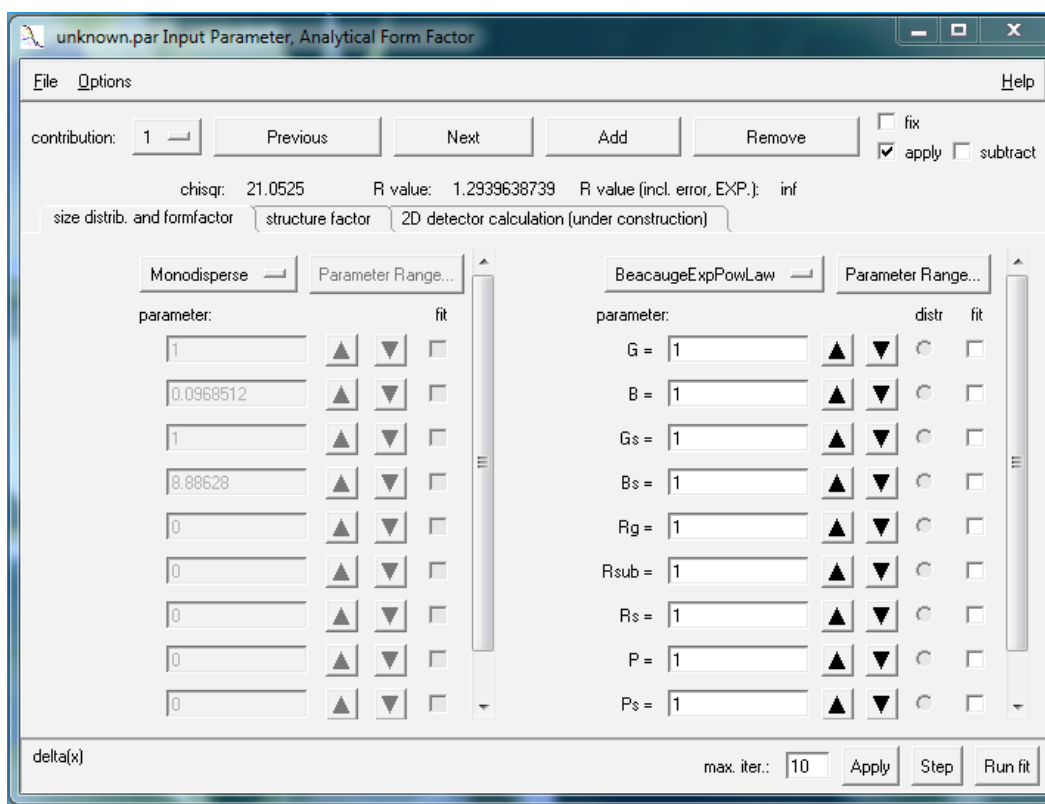
รูป 9.13 ผลการฟิตสุดท้าย

ข้อมูล parameter ต่างๆ จากผลการฟิตที่ได้ถูกแสดงอยู่ใน tab ต่างๆ ในหน้าต่างของ SASfit ในส่วนของค่า model จากการ fit (เส้นกราฟสีแดง) ในรูปตัวเลข สามารถดึงมาได้โดยการคลิกขวานหน้าต่างกราฟ ซึ่งจะปรากฏเมนูต่างๆ รวมทั้งเมนู Export Data... ซึ่งผู้ใช้สามารถดึงข้อมูลออกเป็น ascii ในรูปของไฟล์ text ได้

นอกจากนั้น เมื่อคลิกขวบนหน้าต่างกราฟ ยังปรากฏเมนู Graph ให้ผู้ใช้จัดการลักษณะกราฟได้ เช่นเปลี่ยนแกนของกราฟเป็นแบบ linear หรือเปลี่ยนช่วงการวาดกราฟใหม่

9.5 การหาขนาด และการกระจายขนาดของอนุภาคนาโนที่มีการเกาะกลุ่มกัน

ในกรณีของตัวอย่างของอนุภาคนาโนที่มีการเกาะกลุ่มกัน ทำให้เกิดอนุภาคที่มีขนาดหลายระดับอยู่ในตัวอย่าง เราอาจหาการกระจายขนาดอนุภาคได้โดยใช้วิธีที่เรียกว่า Global fit โดยใช้การผสมระหว่าง Guinier approximation และ Power law ตามวิธีการของ Beaucage [G. Beaucage, Journal of Applied Crystallography 28(1995)717-728] โดยในโปรแกรม SASfit มี form factor สำหรับทำ Global fit ชื่อว่า BeaucageExpPowLaw ซึ่งอยู่ในกลุ่ม non-particular structures ของ form factor (รูปที่ 9.14) โดยมีขั้นตอนการทำ fitting คล้ายกับการ fit สำหรับ size distribution ในหัวข้อ 9.3 ซึ่งในขั้นแรก ผู้ใช้ต้องพยายามประมาณค่าเริ่มต้นให้ได้ model ที่ใกล้เคียงกับข้อมูลก่อน



รูป 9.14 Beaucage unified exponential-power law ใน form factor ของ SASfit

สมการสำหรับ unified exponential-power law (สำหรับขนาดอนุภาคสองระดับ) ของ Beaucage คือ

$$I(q) = G \exp\left(-\frac{q^2 R_g^2}{3}\right) + B \exp\left(-\frac{q^2 R_{sub}^2}{3}\right) \left\{ \frac{\left[\operatorname{erf}\left(\frac{q R_g}{\sqrt{6}}\right)\right]^3}{q} \right\}^P + G_s \exp\left(-\frac{q^2 R_s^2}{3}\right) + B_s \left\{ \frac{\left[\operatorname{erf}\left(\frac{q R_g}{\sqrt{6}}\right)\right]^3}{q} \right\}^{P_s} \quad 9.5$$

ในกรณีเช่นนี้ แต่ละส่วนของข้อมูลจะแสดงส่วนของ contribution ในสมการด้านบนค่อนข้างชัดเจน เช่น เมื่อทำการ plot กราฟใน ln-ln scale ที่ช่วง q ต่ำๆ จะแสดงลักษณะของ exponential ในขณะที่ส่วนถัดมาจะแสดง power law ซึ่งเป็นเส้นตรงที่มีความชัน P และส่วนสุดท้ายที่ค่า q สูงๆ จะแสดงลักษณะ power law ที่มีความชัน P_s

เนื่องจากการกระเจิงจากอนุภาคขนาดใหญ่จะปรากฏที่ค่า q ต่ำ ในขณะที่การกระเจิงจากอนุภาคขนาดเล็กจะปรากฏที่ค่า q สูง ดังนั้นในกรณีที่อนุภาคมีการเกาะกลุ่มกันหลายระดับ ข้อมูลที่ได้ควรมีลักษณะการแยกส่วนของกลุ่มอนุภาคระดับต่างๆ ชัดเจน โดยสามารถสังเกตได้จากการปรากฏส่วนเส้นตรงที่มีค่าความชันต่างกันในแต่ละช่วง q ในกราฟระหว่าง $\ln(I)$ และ $\ln(q)$ เช่น หากทำการวัดที่ค่า q สูงพอ มักจะปรากฏส่วนของกราฟที่มีค่าความชันเป็น -4 ซึ่งเป็นลักษณะของการกระเจิงของอนุภาคผิวเรียบ (ดูหัวข้อ 2.8) นั่นก็即是ส่วนการกระเจิงของอนุภาคดั้งเดิม (primary particles) ที่ไม่เกาะกลุ่มกัน เมื่ออนุภาคเกาะกลุ่มกัน ทำให้มีขนาดใหญ่ขึ้นกลายเป็นก้อนอนุภาค (หรือแผ่นอนุภาค) ที่ผิวขรุขระ จึงปรากฏการกระเจิงที่มีค่าความชันระหว่าง -4 และ -3 (กรณีเกาะกลุ่มเป็นก้อน) หรือความชันระหว่าง -3 ถึง -2 (กรณีเกาะกลุ่มเป็นแผ่น)

ในกรณีที่มิมีขนาดอนุภาคในระดับเดียว ข้อมูลปรากฏส่วนที่เป็นเส้นตรงส่วนเดียว สมการของ Beaucage เป็น

$$I(q) = G \exp\left(-\frac{q^2 R_g^2}{3}\right) + B \left\{ \frac{\left[\operatorname{erf}\left(\frac{q R_g}{\sqrt{6}}\right)\right]^3}{q} \right\}^P \quad 9.6$$

ซึ่งสามารถทำการ fit ได้ในโปรแกรม SASfit โดยการ set ค่า $G_s=B_s=R_{sub}=0$

เมื่อได้ค่า parameter จากการ fit แล้ว สมการของ Beaucage ยังให้ค่า parameter ของ Log normal distribution โดยอัสโนมิตี [G. Beaucage, H. K. Kammler, S. E. Platsinis, Journal of Applied Crystallography, 37 (2004), 523–535] โดยสำหรับอนุภาคทรงกลมเราได้ค่า μ และ σ ของ Log normal distribution ในกรณีนี้คือ

$$\mu = \sqrt{\frac{5R_g^2}{3 \exp(14\sigma^2)}} \quad 9.7$$

$$\sigma = \sqrt{\frac{\ln\left[\frac{BR_g^4}{1.62G}\right]}{12}} \quad 9.8$$

ซึ่งสามารถนำไปหาค่ารัศมีเฉลี่ยและ standard deviation ได้ คือ

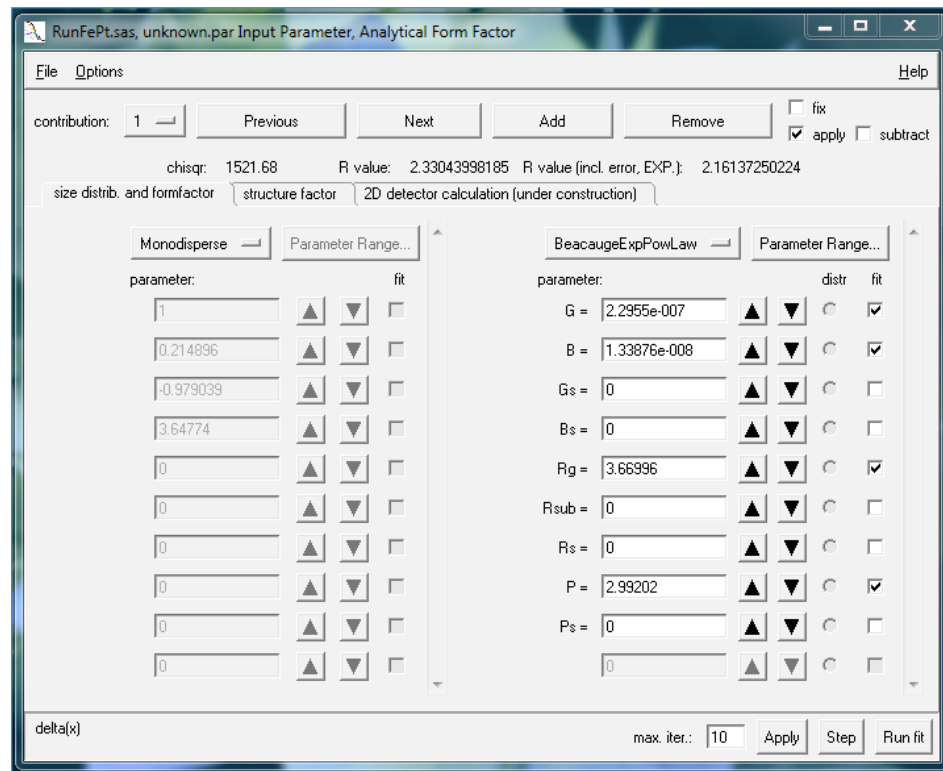
$$\langle R \rangle = \mu \exp\left(\frac{\sigma^2}{2}\right) \quad 9.9$$

$$SD = \mu \sqrt{\omega(\omega - 1)} \quad 9.10$$

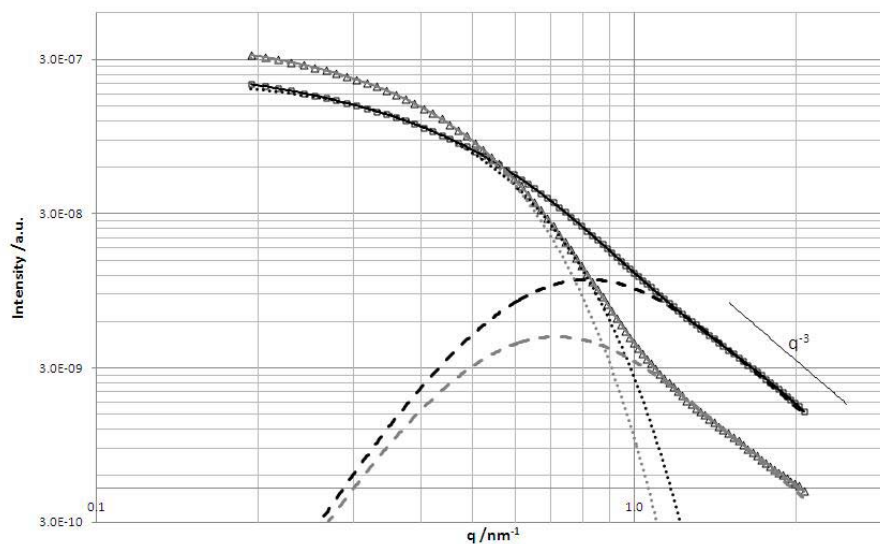
เมื่อ $\omega = \exp(\sigma^2)$

รูปที่ 9.15 แสดงหน้าต่างสำหรับการ fit ของ SASfit ที่ใช้ form factor สำหรับ Global fit ของ Beaucage ในกรณีที่มีอนุภาคระดับเดียว

รูปที่ 9.16 แสดงตัวอย่างข้อมูล SAXS ของอนุภาคนาโนสองชนิด และผลการทำ Global fit จาก SASfit แสดงค่า model ที่ได้จากการ fit และแสดงส่วนของ exponential และส่วนของ power law ของ model ที่ได้



รูป 9.15 หน้าต่างสำหรับ fitting ของ SASfit ในกรณีใช้สมการของ Beaucage สำหรับอนุภาคที่มีขนาดระดับเดียว



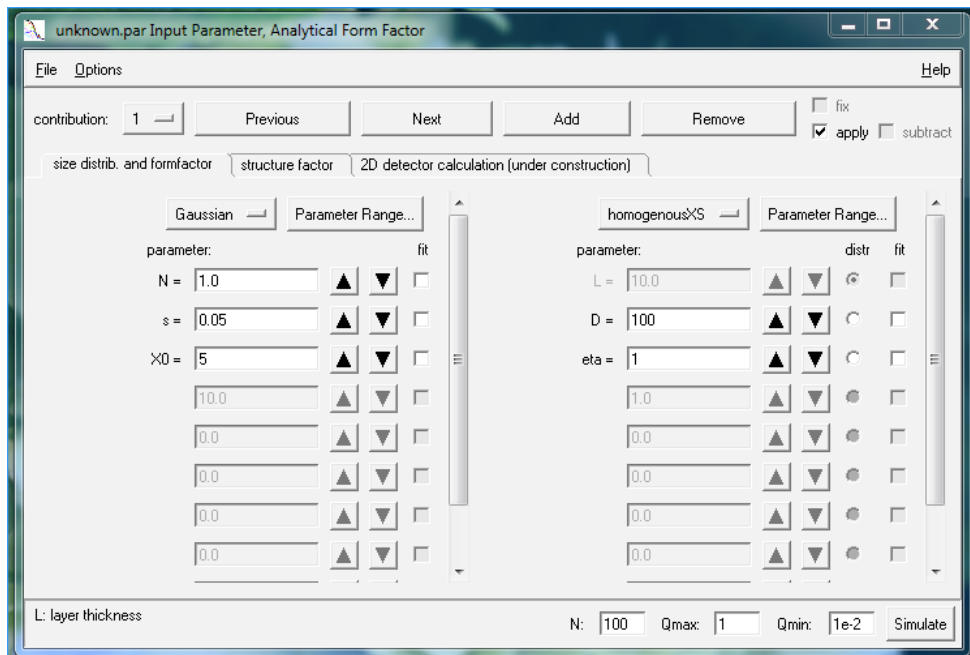
รูป 9.16 ตัวอย่างผลการวัด SAXS ของอนุภาคนาโน FePt (สี่เหลี่ยม) และ Fe₃O₄ (สามเหลี่ยม) และผลการทำ Global fit โดยสมการของ Beaucage (เส้นทึบ) และแสดง contribution ในส่วนของ exponential (เส้นจุด) และ power law (เส้นประ) [S. Rugmai et al., Materials and Technology 46(2012)369]

9.6 การทำ fitting ของ structure factor สำหรับโครงสร้างแบบ lamella

ในกรณีที่ตัวอย่างเป็นโครงสร้างที่มีการเรียงตัวเป็นระเบียบ เช่น โครงสร้างที่เป็นชั้น (lamella structure) เราจำเป็นต้องรวมส่วนของ structure factor ในการทำ fitting เพื่อหา model สำหรับอธิบายโครงสร้างดังกล่าว โครงสร้างที่พบบ่อยในตัวอย่างประเภทพอลิเมอร์หรือสารชีวภาพคือ โครงสร้างแบบ lamella ซึ่งเป็นโครงสร้างที่ประกอบด้วย cluster ของโมเลกุลที่เกาะตัวกันเป็นส่วนที่มีความหนาแน่นสูงสลับกับส่วนที่มีความหนาแน่นต่ำ และจัดตัวเป็นระเบียบแบบหลวมๆ ผลการวัด SAXS ของตัวอย่างเหล่านี้มักให้ peak ที่มีลักษณะกว้าง (diffuse peaks)

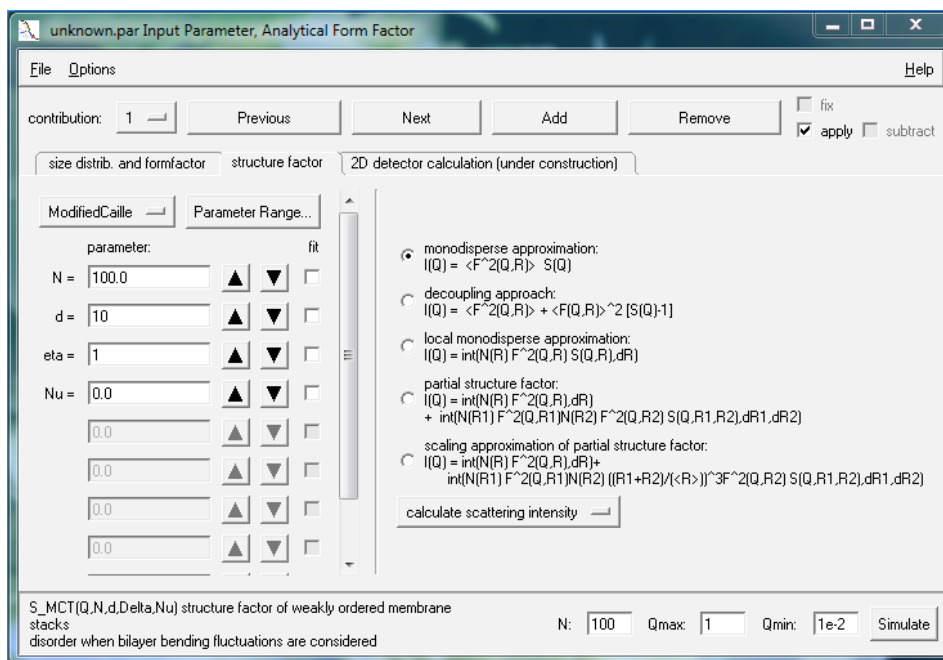
Model ที่ใช้บ่อยในการอธิบายโครงสร้างแบบ lamellar เช่นนี้ เรียกว่า paracrystalline theory และ model ใกล้เคียงที่เพิ่มเติมผลจากความไร้ระเบียบชนิดต่างๆ เช่น thermal disorder ที่มีผลของความร้อน หรือ Modified Caille theory ที่มีผลจากการโค้งงอของ lamella [G. Pabst et al., Journal of Applied Crystallography 36(2003)1378] [T. Fruehwirth et al., Journal of Applied Crystallography 37(2004)703]

เมื่อใช้โปรแกรม SASfit ในการทำ fitting ของโครงสร้างแบบ lamella เราอาจเลือก form factor เป็นอนุภาคที่เป็นแผ่น โดยส่วนของ form factor นี้เป็นส่วนความหนาแน่นสูง (เช่นส่วนที่เป็นผลึก) ในโครงสร้าง โดย form factor ที่เป็นแผ่นนี้อยู่ใน planar obj. > homogeneousXS และสามารถใส่ size distribution เป็น Gaussian หรือ Log normal สำหรับ distribution ของความหนาของแผ่น (พารามิเตอร์ L) (ดูรูปที่ 9.17) หรือส่วนของ form factor อาจเป็น Guassian Bilayer ซึ่งอยู่ใน planar obj. > BiLayerGauss (เช่น กรณีของ membrane stacks)



รูป 9.17 form factor อนุภาคเป็นแผ่น โดยมีค่าความหนาเป็น Gaussian distribution

ในส่วนของ structure factor สำหรับ lamellar structure โปรแกรม SASfit มีตัวเลือกคือ ThermalDisorder, Paracrystalline และ ModifiedCaille ซึ่งอยู่ในกลุ่ม Multi Lamellar Structures (รูปที่ 9.18)



รูป 9.18 structure factor ใช้ Modified Caille Theory สำหรับ lamellar structure

ขั้นตอนการทำ fitting นั้นเป็นเช่นเดียวกับการ fit ขนาดอนุภาคนาโน (ดูหัวข้อ 9.3) โดยผู้ใช้ต้องทำความเข้าใจความหมายของ parameter ต่างๆ (มีคำอธิบายในคู่มือโปรแกรม SASfit) และพยายามประมาณค่าให้ได้ model ที่ใกล้เคียงข้อมูลก่อน รวมทั้งอาจต้องใส่ contribution จาก background ด้วย นอกจากนั้น เนื่องจาก model ในกรณีเช่นนี้มีความซับซ้อน โปรแกรมจึงอาจใช้เวลานานในการ fit แต่ละครั้ง

หากต้องการทำ fitting ในกรณีที่นอกเหนือจากนี้ จำเป็นต้องอาศัยการเขียนโปรแกรมคำนวณ เช่น ในโปรแกรม SAXSIT มีเมนูสำหรับการทำ fitting โดยใช้ Paracrystalline theory (รูปที่ 9.19) ซึ่งให้ค่าความเข้มการกระเจิงของโครงสร้าง lamella เป็น

$$I(q) = Aq^{-1}|f(q)|^2S(q) + Background \quad 9.11$$

โดย A เป็นค่าคงที่และ $f(q)$ เป็น form factor ของ crystalline lamella ซึ่งในกรณีที่ใช้ model เป็นแผ่นที่มีความหนา L เราได้ form factor

$$f(q) = L \frac{\sin(\frac{qL}{2})}{qL/2} \quad 9.12$$

และในส่วนของ structure factor จาก Paracrystalline theory [R. Hosemann and S.N. Bagchi, Direct analysis of diffraction by matter, Noth-Holland 1962] [B.K. Vainshtein, Diffraction of x-ray by chain molecules, Elsevier 1966] เป็น

$$S(q) = \frac{1-|F(q)|^2}{1-2|F(q)|\cos(q\alpha)+|F(q)|^2} \quad 9.13$$

โดยที่ $F(q)$ เป็น Fourier transform ของ distribution function ของตำแหน่งศูนย์กลางของ crystalline lamellae ที่มีค่าเฉลี่ยของระยะระหว่าง lamella เป็น α เช่นในกรณีที่ distribution function เป็น Gaussian function ที่มี standard deviation เป็น σ คือ

$$H(x) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma} \exp\left(-\frac{(x+\alpha)^2}{2\sigma^2}\right) \quad 9.14$$

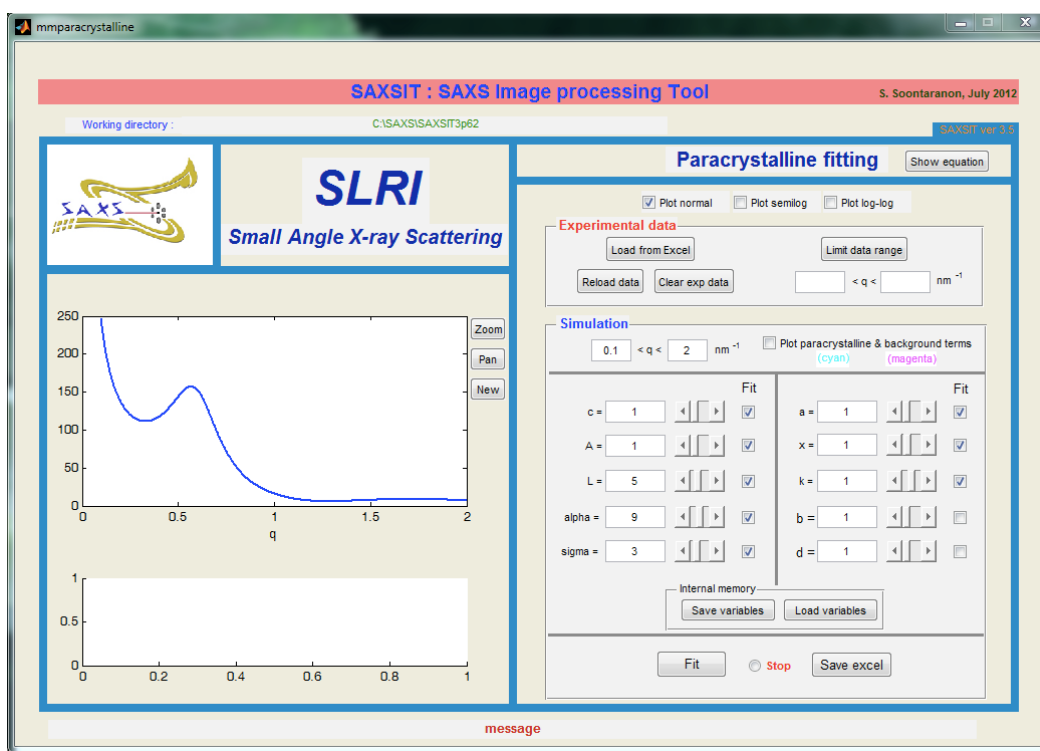
โดย $F(q)$ เป็น Fourier transform ของ $H(x)$

ในส่วนของ Background นั้น เป็นค่าคงที่ และส่วนของการกระเจิงจากอนุภาคนอกเหนือจากส่วน lamella โดยอาจเป็นในรูปของ power law เช่น

$$Background = k + aq^{-p} \quad 9.15$$

ซึ่งเราสามารถสร้าง model ได้จากการทำ least square fit ที่มี parameter คือ $A, L, \alpha, \sigma, k, a$ และ p

ในกรณีอื่นๆ สามารถทำการปรับเปลี่ยน model ให้เฉพาะเจาะจงกับที่ต้องการได้โดยการแก้ไข source code ใน Matlab



รูป 9.19 หน้าต่างสำหรับทำ fitting ของ paracrystalline model สำหรับ lamellar structure

9.7 การคำนวณค่า Hermans orientation factor

ในกรณีของตัวอย่างที่เป็นเส้นใย หรือพอลิเมอร์ หรือสารอื่นที่มีการจัดเรียงตัวของโครงสร้างที่เป็นระเบียบ และมีทิศทาง ทิศทางการเรียงตัวของโครงสร้างนี้จะปรากฏในแผนผังการกระเจิงที่วัดได้ โดยเรา

สามารถศึกษาทิศทางการเรียงตัวของโครงสร้างเหล่านี้ในเชิงปริมาณได้จากการคำนวณค่า orientation เทียบกับ ทิศทางอ้างอิง ซึ่งปริมาณหนึ่งที่น่าสนใจคือ Hermans orientation factor (f_C) ซึ่งถูกนิยามเป็น

$$f_C = \frac{3\langle \cos^2 \varphi \rangle - 1}{2} \quad 9.16$$

โดย

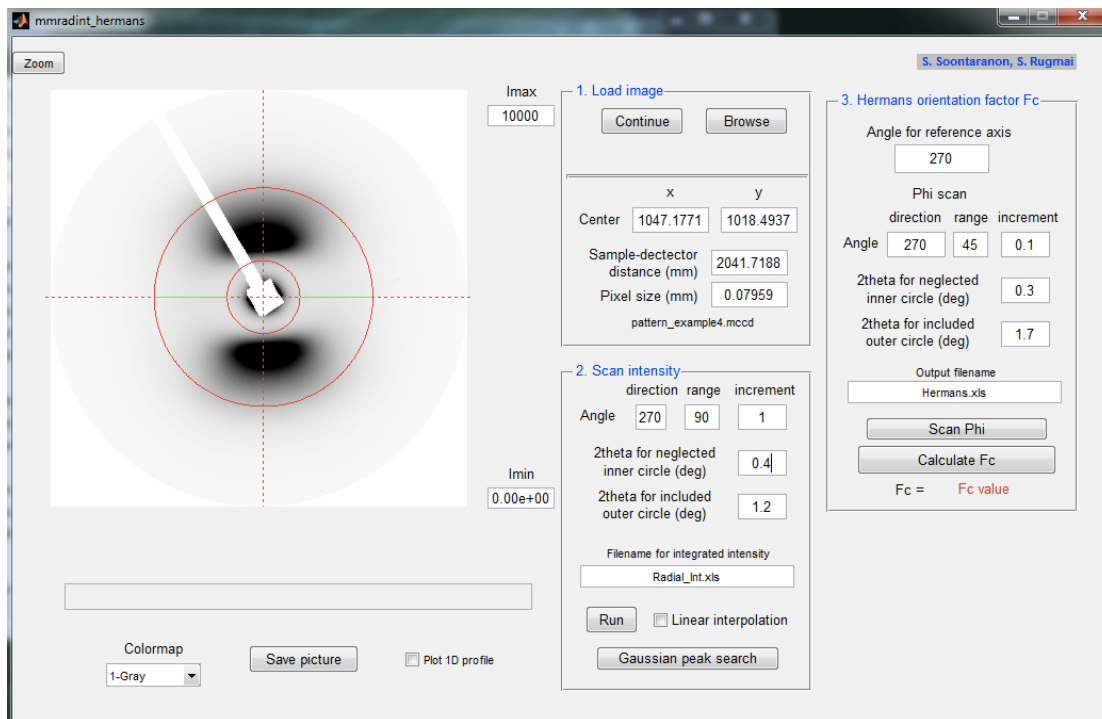
$$\langle \cos^2 \varphi \rangle = \frac{\int_0^{\pi/2} I(\varphi) \cos^2 \varphi \sin \varphi d\varphi}{\int_0^{\pi/2} I(\varphi) \sin \varphi d\varphi} \quad 9.17$$

และ

$$I(\varphi) = \int_{\theta_{\min}}^{\theta_{\max}} I(\theta, \varphi) d\theta \quad 9.18$$

โดยที่มุม φ เป็นมุม azimuth (ดูรูป 2.2)

โปรแกรม SAXSIT มีโมดูลที่สามารถใช้คำนวณ Hermans orientation factor จากแผนผังการกระเจิง โดยอยู่ในเมนู Radial integration / orientation factor

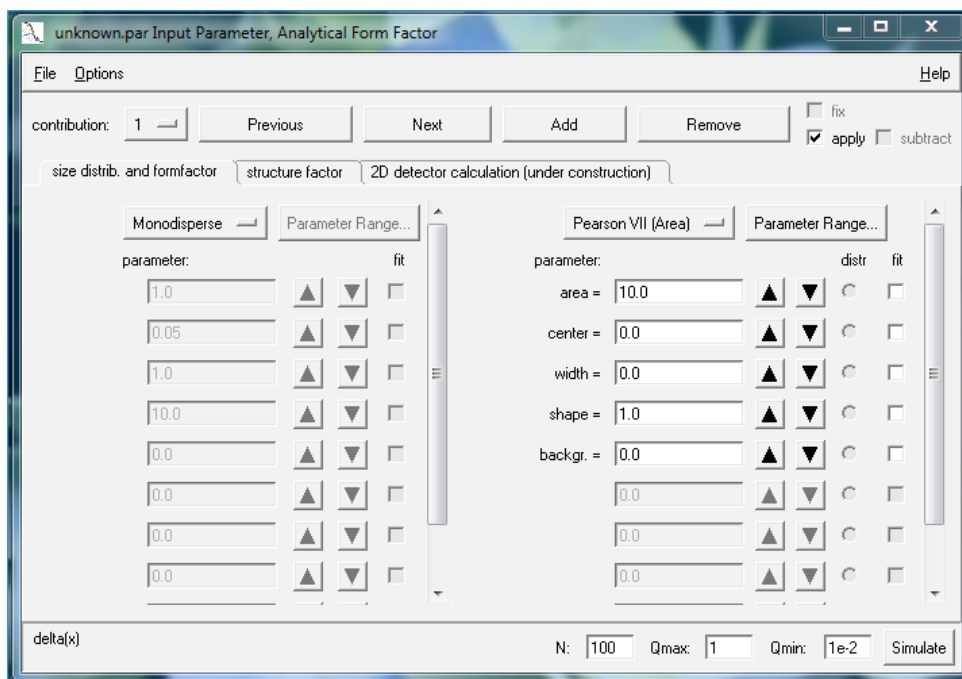


รูป 9.20 หน้าต่างเมนูคำนวณ Hermans orientation factor ของโปรแกรม SAXSIT

9.8 การทำ fitting ของ peak

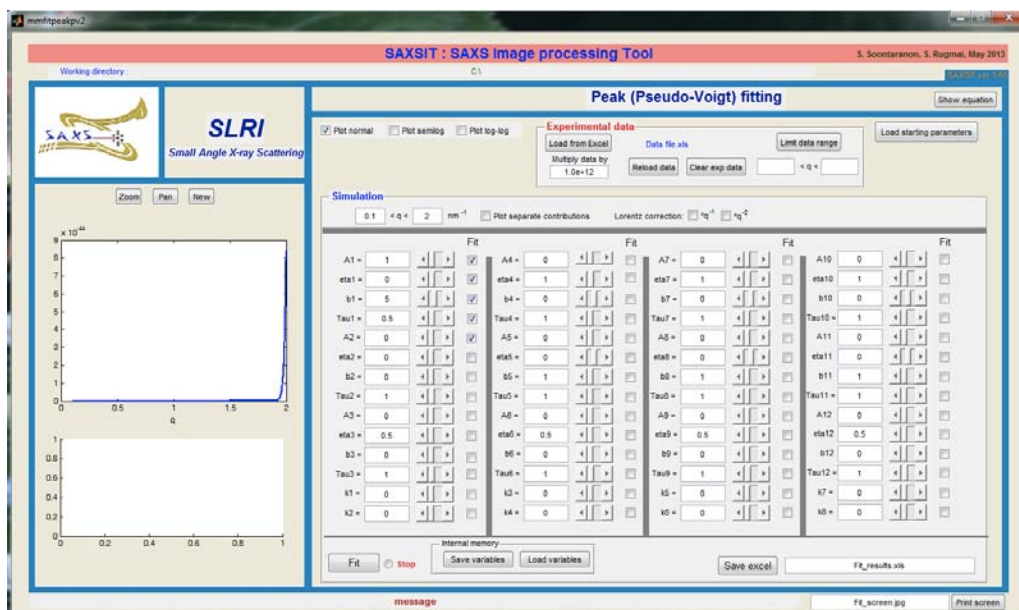
ในการวัด WAXS หลายกรณีมีความจำเป็นต้องทำ fitting ของ peak การกระเจิงที่ได้โดยใช้ฟังก์ชันต่างๆ เช่น Gaussian, Lorentzian หรือฟังก์ชันผสมที่นิยมใช้เช่น Pseudo Voigt หรือ Pearson VII โดยในโปรแกรม SASfit มี peak function ให้เลือกหลายชนิด โดยอยู่ในเมนู Peaks ของ form factor และมีให้เลือกในรูปของพื้นที่ของ peak (Area Functions) ซึ่งมีพื้นที่ใต้ peak เป็น parameter สำหรับ fit หรือในรูปความสูงของ peak (Amplitude function) ซึ่งมีความสูงของ peak เป็น parameter สำหรับ fit

ในกรณีที่ทำกร fit หลาย peak พร้อมกัน ต้องมี contribution สำหรับแต่ละ peak (ใช้ปุ่ม Add ในแถบ contribution) และผู้ใช้ต้องพยายามประมาณค่า parameter ของแต่ละ contribution ให้ใกล้เคียงกับ peak นั้นๆ ก่อนทำการ fit เพื่อให้ได้ผลที่ถูกต้อง



รูป 9.21 ตัวอย่าง peak function ประเภท Pearson VII (Area) ใน SASfit

การทำ peak fitting สามารถทำได้ด้วยโปรแกรม SAXSIT เช่นกัน โดยมี peak function ให้เลือกใช้ได้ 2 ชนิด คือ Pseudo Voigt และ Pearson VII โดยสามารถฟิตได้สูงสุด 12 peaks



รูป 9.22 หน้าต่างการทำ peak fitting ด้วย Pseudo Voigt ในโปรแกรม SAXSIT

9.9 การทำ modeling ของรูปร่างโมเลกุลโปรตีน

การศึกษารูปร่างโมเลกุลโปรตีนโดยการวัด SAXS ทำได้โดยการเตรียมตัวอย่างโปรตีนในสารละลาย จากนั้นทำการวัด SAXS เช่นเดียวกับการศึกษาขนาดอนุภาคนาโน (ดูหัวข้อ 9.3) ในส่วนของการแปลผลข้อมูลนั้นใช้วิธีการทำ modeling ของรูปร่างโมเลกุลเพื่อคำนวณ SAXS profile และเปลี่ยนรูปร่างของโมเลกุล เพื่อทำ fitting ของ SAXS profile เข้ากับผลการวัด

ชุดโปรแกรม ATSAS ซึ่ง เขียนโดย D.I. Svergun และทีมของ European Molecular Biology Laboratory (EMBL) เป็นโปรแกรมเฉพาะสำหรับการทำ modeling ของรูปร่างโมเลกุล จากการทำ fitting ข้อมูล SAXS profile โดยสามารถ download โปรแกรมได้ฟรีจากเว็บไซต์

<http://www.embl-hamburg.de/biosaxs/software.html>

9.10 การแปรผลข้อมูลจาก Pair Distance Distribution Function (PDDF)

เราสามารถบอกข้อมูลโครงสร้างหลายประเภทจาก PDDF ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการแปรผลข้อมูลตัวอย่างประเภทอนุภาคนาโน หรือโปรตีน โดยเรานิยาม PDDF ตามสมการ (2.47) คือ

$$p(r) = r^2 \gamma(r) \quad (9.19)$$

โดย $\gamma(r)$ เป็น correlation function ได้จาก Fourier transform ของ SAXS intensity profile ตามสมการ (2.46) และโดยที่ PDDF นี้สามารถคำนวณได้จากผลการวัด SAXS โดยใช้โปรแกรม เช่น ATSAS

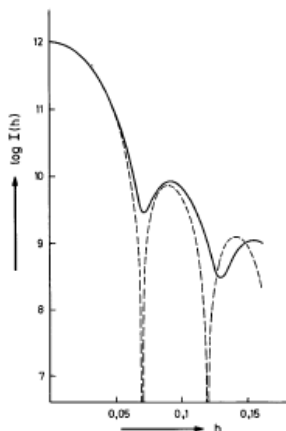
ในที่นี้เราจะสรุปคร่าวๆ เกี่ยวกับข้อมูลที่เราได้จาก PDDF (ข้อมูลส่วนใหญ่ และรูป จาก O. Glatter and O. Kratky, Small Angle X-ray Scattering, Academic Press, Chapter 5-6 หนังสือเล่มนี้ได้รับอนุญาตจากสำนักพิมพ์ให้เผยแพร่ได้)

- อนุภาคเป็นก้อน (Globular particles)

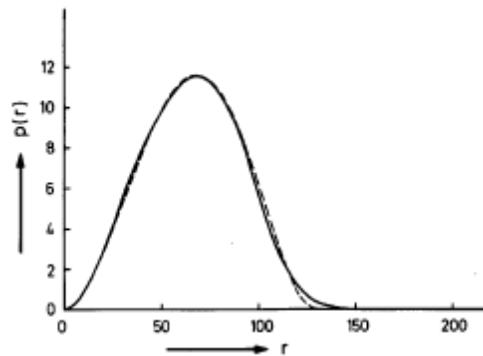
กรณีนี้รวมถึงอนุภาคที่เป็นรูปทรงสามมิติที่มีลักษณะเป็นก้อน เช่น ทรงกลม หรือลูกบาศก์ สำหรับอนุภาคทรงกลม PDDF ของอนุภาคทรงกลม สามารถเขียนเป็น analytical function ได้ คือ

$$p(r) = 12x^2(2 - 3x + x^3) \quad (9.20)$$

โดยที่ $x = r/D$ เมื่อ D เป็นเส้นผ่านศูนย์กลางของทรงกลม โดยที่ PDDF ของทรงกลมนี้เป็นรูปประฆังคว่ำ และมีจุด maximum ที่ $x=0.525$



รูป 9.23 SAXS profile ของอนุภาคทรงกลม (เส้นทึบ) และลูกบาศก์ (เส้นประ)



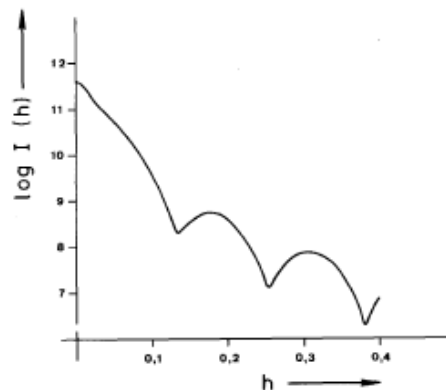
รูป 9.24 PDDF ของอนุภาคทรงกลม (เส้นทึบ) และลูกบาศก์ (เส้นประ)

- อนุภาคนาน (Rod-like particles)

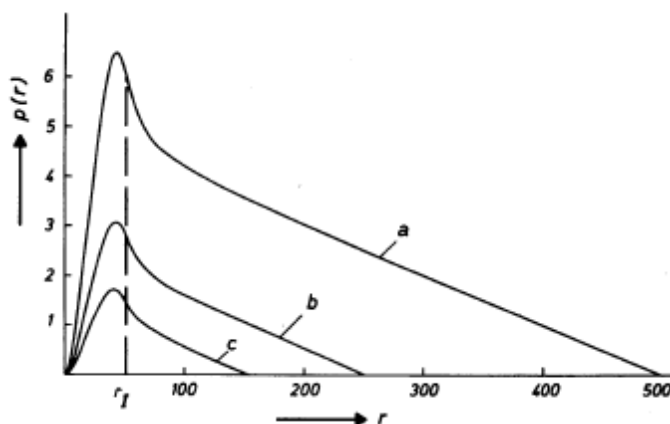
อนุภาคในกลุ่มนี้รวมถึงรูปร่างที่เป็นทรงกระบอก และปริซึม ซึ่งมีขนาดสูงสุดของหน้าตัด (เช่นเส้นผ่านศูนย์กลาง) d น้อยกว่าความยาว L มากๆ ($d \ll L$) หรือเงื่อนไขโดยประมาณ คือ $\frac{L}{d} > 2.5$ โดยกราฟ PDDF ของอนุภาคประเภทนี้จะมีลักษณะเด่นคือส่วนท้ายมีลักษณะเป็นเส้นตรง และเป็นศูนย์ที่ตำแหน่ง $r = L$ (รูป 9.26) ในกรณีนี้ PDDF เป็น

$$p(r) = \frac{1}{2\pi} \rho_c^2 A^2 (L - r) \quad (9.21)$$

โดย ρ_c เป็นค่า density contrast และ A เป็นพื้นที่หน้าตัด ซึ่งจะเห็นว่าความชันของ PDDF ในส่วนนี้แปรผันตรงกับพื้นที่หน้าตัดกำลังสอง



รูป 9.25 SAXS profile ของปริซึม (อัตราส่วนความยาวด้าน 1:1:5)

รูป 9.26 PDDF ของปริซึม อัตราส่วนความยาวด้าน 1:1:10 (a), 1:1:5 (b), 1:1:3 (c) ตำแหน่งที่กราฟเริ่มเป็นเส้นตรง (ตำแหน่ง r_f) แปรตามขนาดพื้นที่หน้าตัด

- อนุภาคแบน (Flat particles)

อนุภาคแบนหมายถึงอนุภาครูปร่างเป็นจาน (disc) ปริซึมแบน หรือเป็นแผ่นที่มีขนาดใหญ่กว่าความหนาหลายๆ สำหรับอนุภาคที่เป็นจานแบนที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางใหญ่กว่าความหนาหลายๆ เราได้ PDDF เป็น

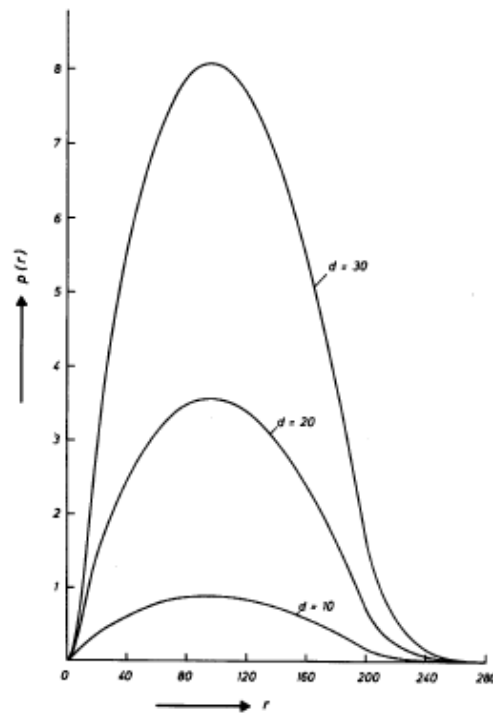
$$p(r) = \frac{16}{\pi} x (\cos x - x \sqrt{1 - x^2}) \quad (9.22)$$

โดย $x = r/D$ โดย D เป็นเส้นผ่านศูนย์กลาง

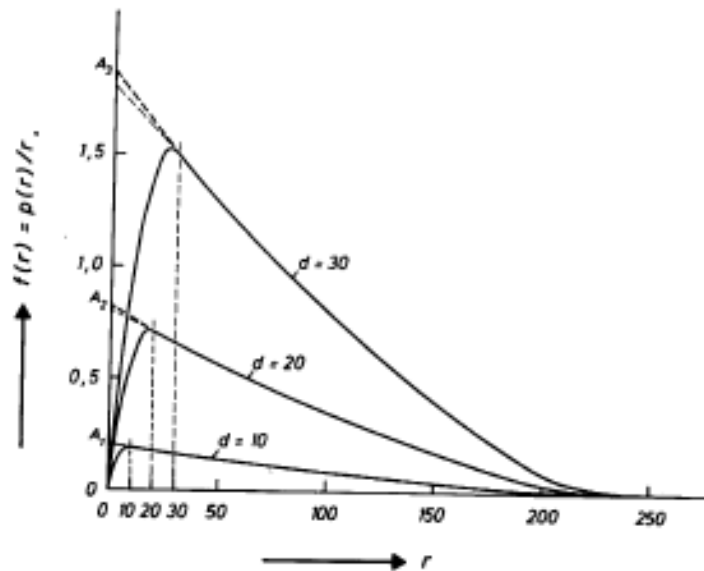
ในกรณีอนุภาคแบนนี้ PDDF มีลักษณะเป็นระฆังคว่ำเช่นกัน แต่เราจะเห็นลักษณะได้ชัดเจนหากดูจากฟังก์ชัน $f(r)$ แทน โดยที่

$$f(r) = p(r)/r \quad (9.23)$$

ซึ่งจะเห็นจุดหักในส่วนท้าย เริ่มที่ตำแหน่ง $r=d$ เมื่อ d เป็นความหนา (รูป 9.28)



รูป 9.27 PPDF ของอนุภาคเบนที่มีขนาดฐาน $10 \times 10 \text{ nm}^2$ และความหนา (d) ต่างๆ



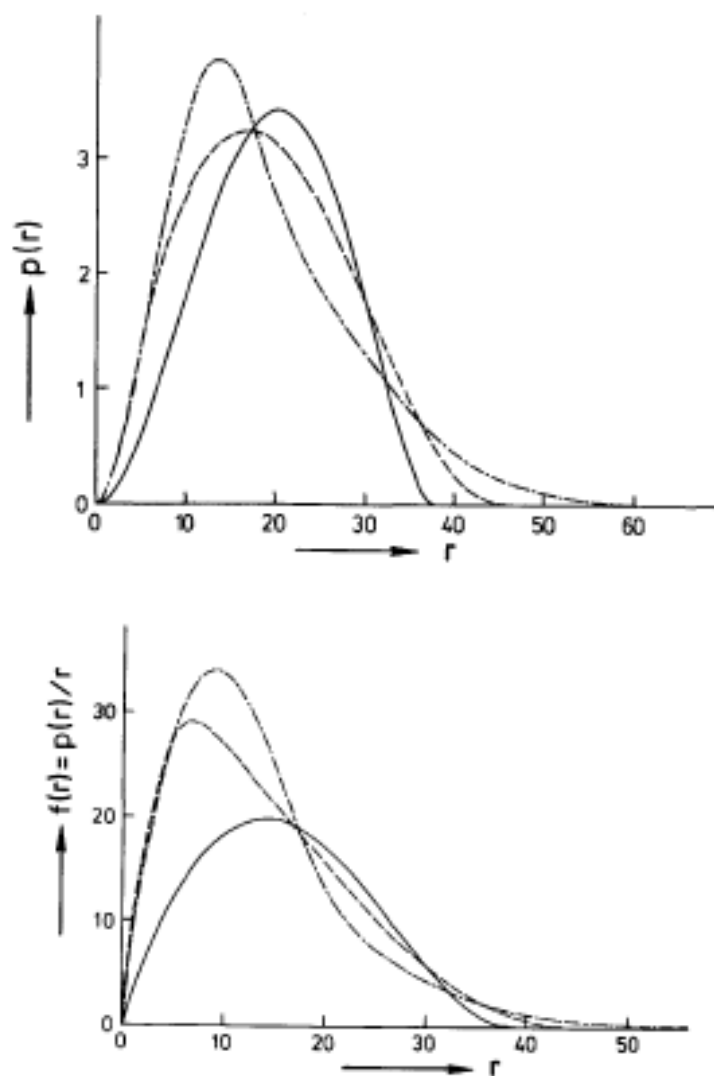
รูป 9.28 ฟังก์ชัน $f(r)$ จาก PPDF ของอนุภาคเบนในรูป 9.27 จุดตัดแกนตั้งที่ extrapolate มาจากเส้นตรง ส่วนท้ายจะสัมพันธ์กับพื้นที่หน้าตัด

- อนุภาครูปร่างระหว่างกลาง

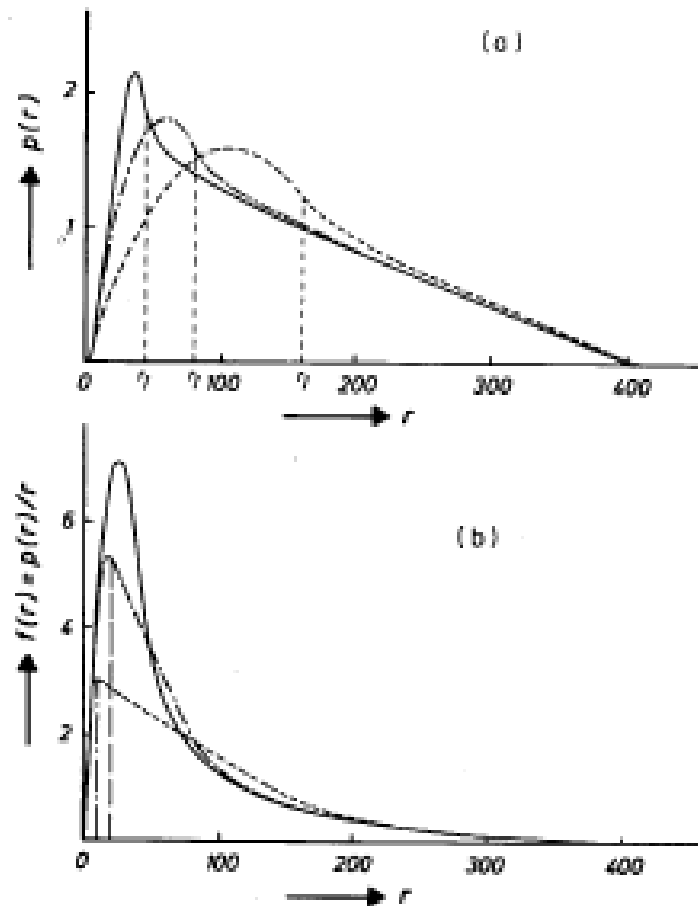
อนุภาคที่มีรูปร่างอยู่ระหว่างกลางของการเป็นทรงกลม ทรงกระบอก และจาน จะมีลักษณะ PDDF ที่อยู่ระหว่างลักษณะของทั้งสามรูปร่างเช่นกัน โดยเราอาจจะสามารถบอกลักษณะรูปร่างได้คร่าวๆ จากการพิจารณา PDDF ที่ได้

รูป 9.29 แสดง PDDF และ $f(r)$ ของอนุภาครูปร่างทรงกลม ลูกรักบี้ยาว (prolate ellipsoid) และลูกรักบี้แบน (oblate ellipsoid) จะเห็นว่ากรณีลูกรักบี้ยาว ซึ่งอาจพิจารณาเป็นทรงกระบอกที่ขนาดหน้าตัดไม่คงที่ จะให้ลักษณะ PDDF จะคล้ายกรณีทรงกระบอก แต่ส่วนท้ายไม่เป็นเส้นตรงเสียทีเดียว ในกรณีลูกรักบี้แบน ลักษณะ $f(r)$ หักเป็นเส้นตรงคล้ายกรณีอนุภาคแบน

รูป 9.30 แสดง PDDF ของอนุภาครูปร่างเป็นปริซึมที่มีความยาว 40 nm และพื้นที่หน้าตัด 16 nm² เท่ากัน แต่มีความยาวขอบฐานเป็น 4x4, 8x2 และ 16x1 จะเห็นว่า PDDF จะค่อยๆ เปลี่ยนจากลักษณะของอนุภาคยาวไปเป็นอนุภาคแบน



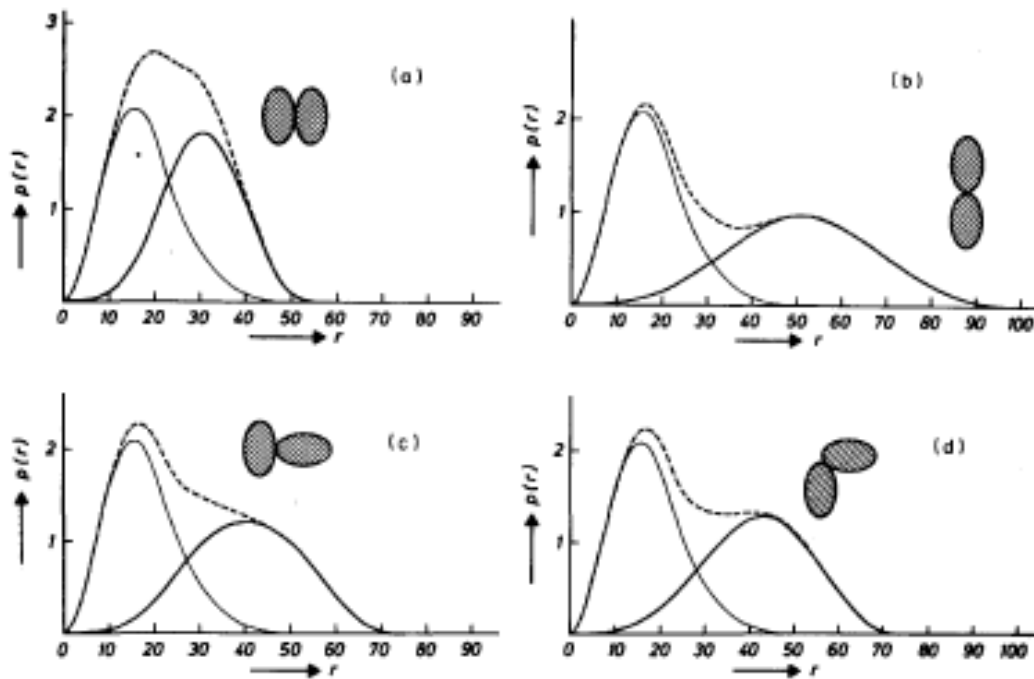
รูป 9.29 PDDF และ $f(r)$ ของทรงกลม (เส้นทึบ) ลูกรีกบี้ยาวขนาด 1:1:3 (เส้นประจุด) และลูกรีกบี้แบน
ขนาด 1:1:0.2 (เส้นประ)



รูป 9.30 PDDF และ $f(r)$ ของอนุภาครูปรีซึม ความยาว 40 nm และพื้นที่หน้าตัด 16 nm^2 ความยาวขอบฐานเป็น 4×4 (เส้นทึบ), 8×2 (เส้นประจุด) และ 16×1 (เส้นประ)

- โมเลกุลรูปร่างเป็นดัมเบล (Dimers)

โปรตีนบางชนิดมีลักษณะโมเลกุลที่ประกอบด้วยสองโมโนเมอร์ ทำให้ได้โมเลกุลที่มีรูปร่างคล้ายดัมเบล หรือเรียกว่า dimer แต่ละโมโนเมอร์มักมีรูปร่างเป็นลูกรีกบี้ยาวซึ่งให้ PDDF ลักษณะคล้ายของทรงกระบอก เมื่อรวมเป็น dimer ทำให้ได้ลักษณะ PDDF คล้ายทรงกลมหรือทรงกระบอกที่มีฟีกเพิ่มขึ้นมาอีกหนึ่งฟีกบริเวณ r สูงๆ โดยตำแหน่งฟีกขึ้นกับลักษณะการจัดเรียงตัวของโมโนเมอร์ทั้งสอง



รูป 9.31 PDDF ของโมเลกุลที่เป็น dimer (เส้นประ) แสดง PDDF ของโมโนเมอร์เดี่ยว (เส้นทึบบาง) และผลต่างของ PDDF ของ dimer และโมโนเมอร์ (เส้นทึบหนา)

- ทรงกลมกลวง (Hollow sphere)

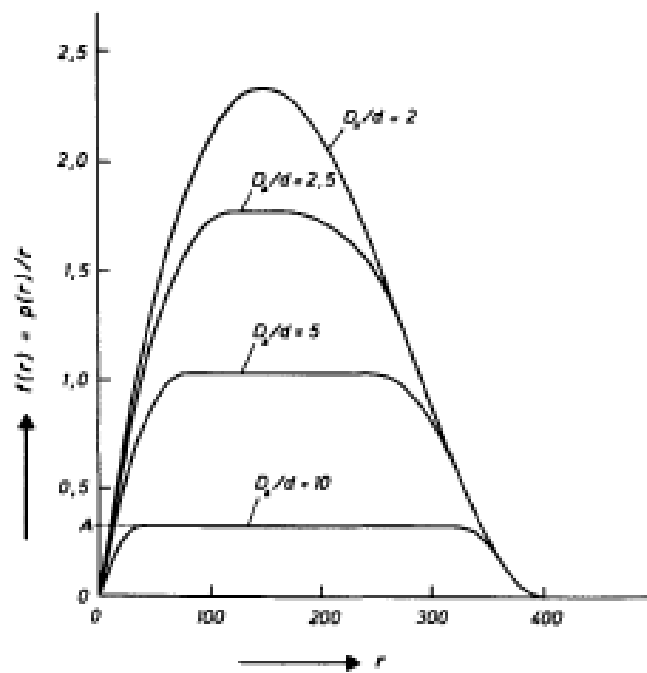
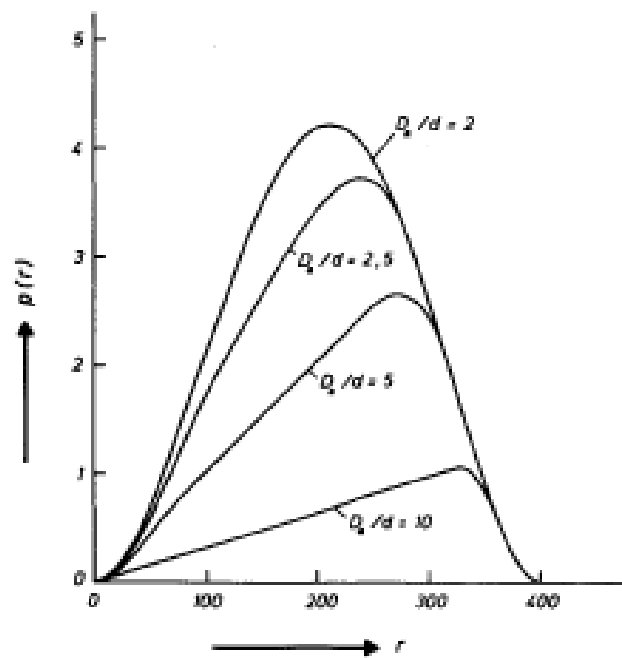
PDDF ของทรงกลมกลวงสามารถเขียนในรูป analytical form ได้ คือ

$$p(r) = \begin{cases} \rho_c^2 \left[\frac{4\pi}{3} (R_a^3 - R_i^3) r^2 - (R_a^2 + R_i^2) \pi \cdot r^3 + \frac{\pi}{6} \cdot r^5 \right] & 0 \leq r \leq (R_a - R_i) \\ \rho_c^2 \left[\frac{\pi}{2} (R_a^2 - R_i^2)^2 \cdot r \right] & (R_a - R_i) \leq r \leq 2R_i \\ \rho_c^2 \left[\frac{\pi}{2} (R_a^2 - R_i^2)^2 \cdot r - \frac{4\pi}{3} R_i^3 \cdot r^2 + \pi R_i^2 \cdot r^3 - \frac{\pi}{12} r^5 \right] & 2R_i \leq r \leq (R_a + R_i) \\ \rho_c^2 \left[\frac{4\pi}{3} R_a^3 \cdot r^2 - R_a^2 \pi \cdot r^3 + \frac{\pi}{12} r^5 \right] & (R_a + R_i) \leq r \leq 2R_a \end{cases} \quad (9.24)$$

โดยที่ R_o เป็นรัศมีด้านนอก และ R_i เป็นรัศมีด้านใน ในกรณีที่ทรงกลมกลวงผนังบาง (thin shell) เราได้ PDDF ในช่วง r ของสมการที่สองในสมการ (9.24) เป็น

$$p(r) \approx \frac{\rho_c^2 V d}{2} r \quad (9.25)$$

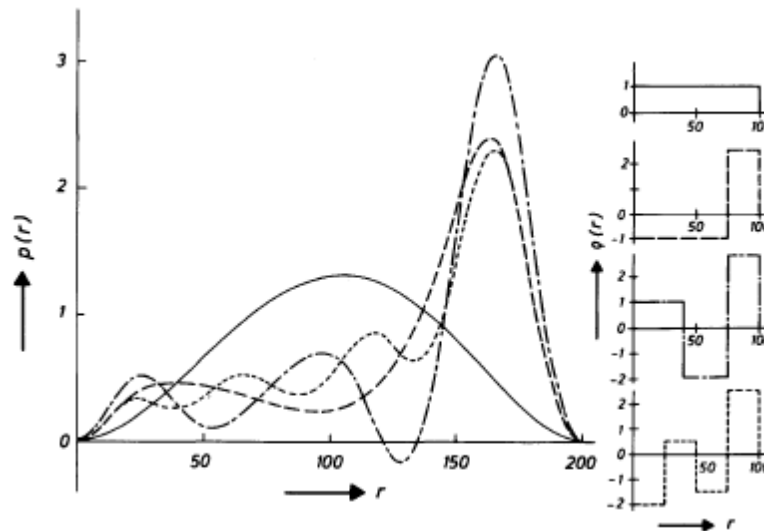
โดย V เป็นปริมาตรทรงกลม และ d เป็นความหนาของ shell จะเห็นว่าในกรณีนี้จะได้ PDDF เป็นเส้นตรง ในช่วง r อยู่ระหว่าง d และ $2R_i$ นอกจากนั้น กรณีทรงกลมกลวงที่เป็น thin shell นี้ มีลักษณะคล้ายอนุภาคแบน จึงแสดงลักษณะชัดเจนในรูปร่างของฟังก์ชัน $f(r)$ ดังแสดงในรูป 9.32 จะเห็นว่ายังเป็น shell บางเท่าไร PDDF ก็ จะแสดงลักษณะเส้นตรงมากยิ่งขึ้น และ $f(r)$ เป็นเส้นตรงแนวราบที่มีความสูง (ค่า A) สัมพันธ์กับความหนาของ shell



รูป 9.32 PDDF และ $f(r)$ ของทรงกลมกลวง โดย D_s เป็นเส้นผ่านศูนย์กลางด้านนอกและ d เป็นความหนา shell ($D_s/d=2$ คือทรงกลมตัน)

- ทรงกลมเป็นชั้น (Spherical multilayers)

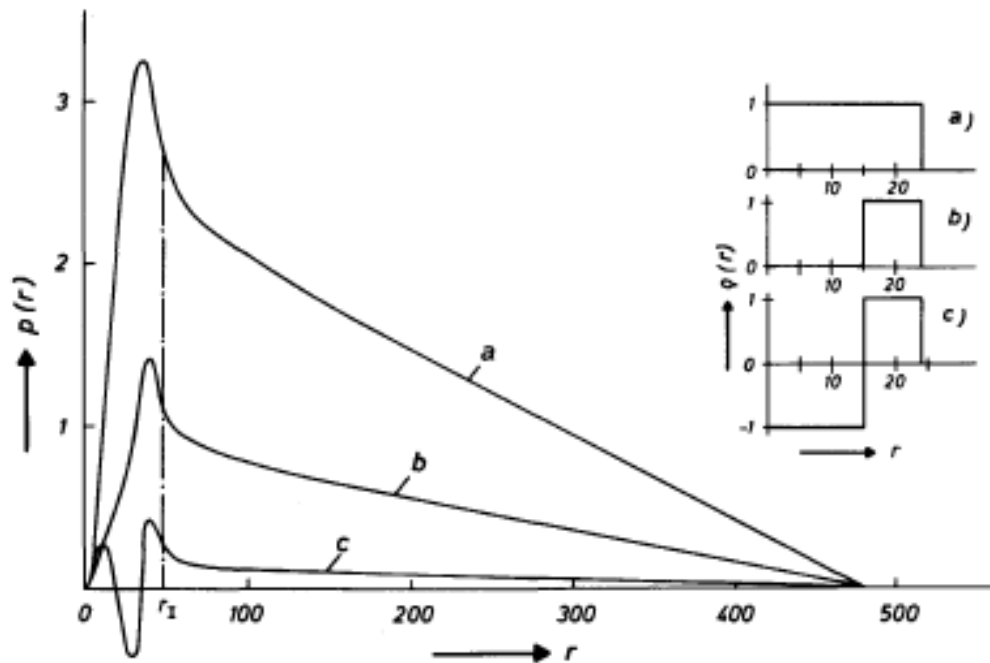
รูป 9.33 แสดง PDDF และ electron density profile ของทรงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 nm ที่ประกอบด้วยชั้นที่มีความหนาแน่นไม่เท่ากัน (เช่น อนุภาคที่เป็น core shell)



รูป 9.33 PDDF (ซ้าย) และ electron density profile (ขวา) ของทรงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 nm ที่เป็นชั้น (เส้นทึบเป็นทรงกลมตันที่มีความหนาแน่นคงที่)

- ทรงกระบอกกลวง (Hollow cylinder)

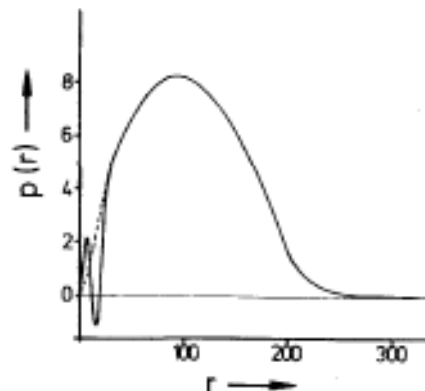
ทรงกระบอกกลวง หรือที่มีความหนาแน่นไม่คงที่ในแนวรัศมียังคงให้ PDDF ที่แสดงลักษณะทรงกระบอก คือ เป็นเส้นตรงในช่วงปลาย และเป็นศูนย์ที่ $r=L$ เพียงแต่ลักษณะ PDDF จะแตกต่างออกไปในช่วง r น้อยกว่ารัศมี ทรงกระบอก รูป 9.34 แสดง PDDF และ electron density profile ของทรงกระบอกความยาว 48 nm และเส้นผ่านศูนย์กลางด้านนอก 4.8 nm



รูป 9.34 PDDF (ซ้าย) และ electron density profile (ขวา) ของทรงระบอ สำหรับทรงระบอตันความหนาแน่นคงที่ (a) ทรงระบอกลวง (b) และทรงระบอตันความหนาแน่นไม่คงที่ (c)

- อนุภาคแบนเป็นชั้นความหนาแน่นไม่คงที่ (Inhomogeneous flat particles)

PDDF ของอนุภาคแบนที่มีความหนาแน่นไม่คงที่ในแนวความหนา จะมีความแตกต่างจาก PDDF ของอนุภาคแบนความหนาแน่นคงที่ในช่วง r ที่น้อยกว่าค่าความหนา ดังแสดงในรูป 9.35



รูป 9.35 PDDF ของอนุภาคแบนสามชั้นนี้มีค่า electron density distribution เป็น +1, -1, +1 (เส้นทึบ) เทียบกับอนุภาคแบนความหนาแน่นคงที่เป็น +1

บทที่ 10 แหล่งข้อมูล SAXS/WAXS

ด้านล่างเป็นแหล่งข้อมูลที่น่าจะเป็นประโยชน์สำหรับข้อมูลเชิงทฤษฎี และภาพรวมของเทคนิค SAXS/WAXS

10.1 หนังสือ

- ❖ *Small Angle X-ray Scattering*, O. Glatter and O. Kratky, Academic Press, 1982
บรรจุทฤษฎี หลักการวัด อุปกรณ์ และข้อมูลอื่นๆ เกี่ยวกับเทคนิค SAXS หนังสือ ในรูปไฟล์ PDF สามารถ download ได้จากเว็บไซต์ของ University of Graz ที่ <http://physchem.kfunigraz.ac.at/sm/>
- ❖ *Structure Analysis by Small Angle X-ray and Neutron Scattering*, L.A. Feigin and D.I. Svergun, Plenum Press, 1987
- ❖ *Small Angle Scattering of X-ray*, A. Guinier and G. Founet, John Wiley and Sons, 1955
- ❖ *Small angle techniques*, O. Glatter and R. may, International table for Crystallography (2006) Vol. C, Chapetr 2.6, pp. 89-112
- ❖ *Diffraction of x-rays by chain molecules*, B.K. Vainshtein, Elsevier Publishing Company, 1966
- ❖ *Direct analysis of diffraction by matter*, R. Hosemann and S.N. Bagchi, North Holland Publishing Company, 1962

10.2 Review paper

- ❖ *Small angle x-ray scattering of polymers*, B. Chu and B.S. Hsiao, Chem. Rev. 101(2001)1727
- ❖ *How nano are nano composites ?*, D.W. Schaefer and R.S. Justice, Macromolecules 40(2007)8501
- ❖ *Small angle scattering of block co-polymers in the melt, solution and crystal states*, I.W. Hamley and V. Castelletto, Prog. Polym. Sci. 29(2004)909
- ❖ *Small angle scattering of biological macromolecules in solution*, D.I. Svergun and M.H.J. Koch, Rep. Prog. Phys. 66(2003)1735

- ❖ *Small angle scattering: a view on the properties, structures and structural changes of biological macromolecules in solution*, M.H.J. Koch, P. Vachette and V.I. Svergun, Quarterly Reviews of Biophysics 36(2003)147
- ❖ *Applications of small angle x-ray scattering to biomacromolecular solutions*, M.V. Petoukhov and D.I. Svergun, International Journal of Biochemistry and Cell Biology, 45(2013)429
- ❖ *Small angle x-ray scattering from RNA, protein and protein complexes*, J. Lipfert and S. Doniach, Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct. 36(2007)307
- ❖ *X-ray solution scattering (SAXS) combined with crystallography and comoutation: defining accurate molecular structures, conformations and assemblies in solution*, C.D. Putnam et. al., Quarterly Reviews of Biophysics 40(2007)191

10.3 ข้อมูล SAXS/WAXS ในอินเทอร์เน็ต

- ❖ <http://www.embl-hamburg.de/biosaxs/software.html>
ชุดโปรแกรม ATSAS สำหรับการทำ modeling ของรูปร่างโมเลกุลจากข้อมูล Small Angle Scattering และการทำ Fourier transform ของข้อมูลเพื่อหา Pair Distance Distribution Function
- ❖ <http://kur.web.psi.ch/sans1/SANSSoft/sasfit.html>
โปรแกรม SASfit เขียนโดย Joachim Kohlbrecher ของ Paul Scherrer Institute (PSI) ประเทศสวิตเซอร์แลนด์ เป็นโปรแกรมที่ใช้ในการทำ fitting ของข้อมูล Small Angle Scattering โดยเฉพาะ ตัวโปรแกรมบรรจุ form factor และ structure factor รวมทั้ง size distribution function มากมายหลายแบบ
- ❖ <http://www.esrf.eu/computing/scientific/FIT2D/>
โปรแกรม image processing ของ European Synchrotron Radiation Facility (ESRF) สำหรับการจัดการแผนผังการกระเจิง
- ❖ http://henke.lbl.gov/optical_constants/

จาก Center for X-ray Optics (CXRO) ของ Lawrence Berkley Lab บรรจุข้อมูล และโปรแกรมคำนวณเกี่ยวกับคุณสมบัติทาง x-ray ของวัสดุ เช่น Atomic scattering factors, X-ray properties of elements, Index of refraction, Attenuation length, X-ray transmission และ X-ray reflectivity

❖ <http://www.ncnr.nist.gov/resources/>

ข้อมูลและเครื่องมือการคำนวณที่มีประโยชน์หลายอย่าง เช่น การคำนวณค่า Scattering Length Density สำหรับนิวตรอนและ x-ray และ scattering form factor ของอนุภาครูปร่างต่างๆ โดย National Institute of Standard and Technology (NIST)

❖ <http://webmineral.com/MySQL/xray.php?ed1=3.51&minmax=2>

ข้อมูล x-ray diffraction ของแร่ต่างๆ

❖ <http://scattering.tripod.com/#SAXS>

บรรจุ Weblink ที่มีประโยชน์เกี่ยวกับ Small Angle Scattering

นอกจากนี้ ข้อมูลมากมายเกี่ยวกับ SAXS ยังหาได้จากเว็บไซต์ของ SAXS beamline ของห้องปฏิบัติการซินโครตรอนทุกที่ในโลก รวมทั้งเว็บไซต์ของสถานีทดลอง SAXS/WAXS ของสถาบันวิจัยแสงซินโครตรอนของประเทศไทย (<http://www.slri.or.th/th/beamlines/SAXS>)

