

## แผนการสอนสัปดาห์ที่ 13

บทเรียนที่ 6.1 หลักการวิเคราะห์ทางสเปกโทรสโกปี

จำนวนชั่วโมง 3

### จุดประสงค์การสอน (จุดประสงค์ทั่วไป)

1. เพื่อให้เข้าใจหลักการวิเคราะห์โดยเทคนิคสเปกโทรสโกปี

### ผลการเรียนรู้ (จุดประสงค์เฉพาะ)

1. บอกรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า
2. บอกอันตรกิริยาระหว่างโฟตอนกับสสาร
3. บอกประเภทของสเปกโทรสโกปี
4. อธิบายการดูดกลืนรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า

### วิธีสอนและกิจกรรมการเรียนการสอน

1. การบรรยาย และอภิปราย
2. กิจกรรมกลุ่มในชั้นเรียน (Work@class)

### สื่อการสอน/อุปกรณ์การสอน

1. หนังสือ เคมีวิเคราะห์: หลักการและเทคนิคการคำนวณเชิงปริมาณ. สำนักพิมพ์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2563.
2. เอกสาร powerpoint
3. [http://web.rmutp.ac.th/woravith/?page\\_id=7](http://web.rmutp.ac.th/woravith/?page_id=7)
4. <http://facebook.com/chemographics>
5. <http://slideshare.net/woravith>

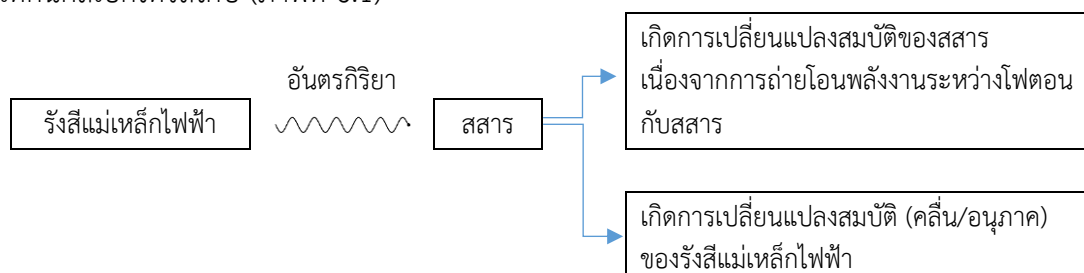
### การวัดผล

1. ประเมินจากกิจกรรมในชั้นเรียน
2. ประเมินจากกิจกรรมแบบฝึกหัด หรืองานที่มอบหมาย
3. ประเมินจากการสรุปประเด็นสำคัญ หรือการนำเสนอผลของการสืบค้นที่ได้รับมอบหมาย
4. ประเมินจากการสอบย่อยรายหน่วยเรียน

## หน่วยที่ 6 สเปกโทรสโกปีเบื้องต้น

### บทเรียนที่ 6.1 หลักการวิเคราะห์ทางสเปกโทรสโกปี

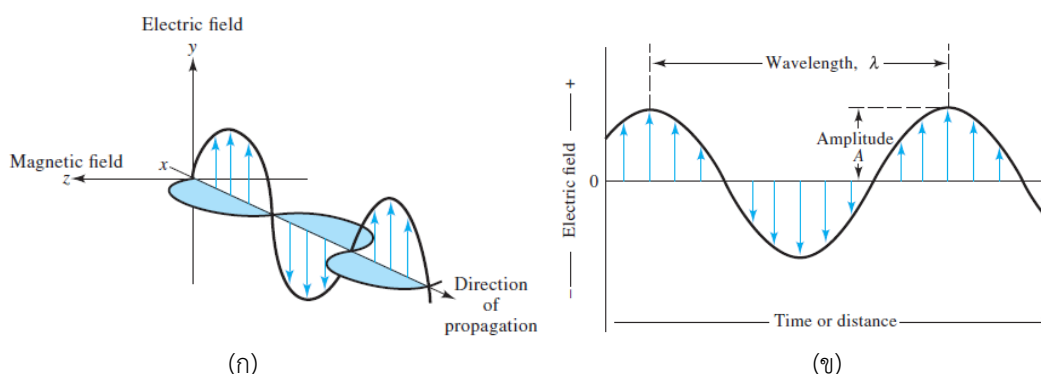
สเปกโทรสโกปี (spectroscopy) เป็นคำเรียกของวิธีวิเคราะห์ใด ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการใช้รังสีแม่เหล็กไฟฟ้า (electromagnetic radiation) เพื่อให้ได้ข้อมูล โครงสร้างและสมบัติของสสาร ซึ่งหลักการพื้นฐานโดยทั่วไปของเทคนิคสเปกโทรสโกปีคือการศึกษากการเกิดอันตรกิริยา (interaction) ระหว่างรังสีแม่เหล็กไฟฟ้ากับสสาร แล้วทำให้ได้ข้อมูลของสสารที่เกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติอย่างหนึ่งอย่างใด หรือเป็นการเปลี่ยนแปลงสมบัติเชิงคลื่น (wave properties) หรือสมบัติเชิงอนุภาค (particle properties) ของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าเมื่อเกิดอันตรกิริยากับสสาร ดังแนวคิดทั่วไปของเทคนิคสเปกโทรสโกปี (ภาพที่ 6.1)



ภาพที่ 6.1 แนวคิดทั่วไปเทคนิคสเปกโทรสโกปี

#### 6.1.1 รังสีแม่เหล็กไฟฟ้า

รังสีแม่เหล็กไฟฟ้า คือพลังงานรูปแบบหนึ่งที่แสดงสมบัติเป็นได้ทั้งคลื่นและอนุภาค โดยรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าสามารถทะลุผ่านตัวกลางด้วยความเร็วสูงมาก รังสีแม่เหล็กไฟฟ้าในย่านอัลตราไวโอเล็ต-วิสิเบิล หรือ ยูวี-วิสิเบิล (ultraviolet-visible; UV/vis) และบางช่วงในย่านอินฟราเรด (infrared; IR) เรียกว่า แสง (light) โดยที่แสงแสดงสมบัติเป็นคลื่นชนิดหนึ่งประกอบด้วยสนามแม่เหล็กไฟฟ้า และสนามแม่เหล็กเคลื่อนที่ไปในทิศทางเดียวกัน แต่อยู่ในระนาบตั้งฉากกัน ดังภาพที่ 6.2 แสงเคลื่อนที่ได้โดยไม่ต้องอาศัยตัวกลางใดๆ แสงจึงสามารถเคลื่อนที่ผ่านสุญญากาศได้อย่างรวดเร็ว ความเร็วของแสงที่เคลื่อนที่ผ่านสุญญากาศเท่ากับ  $3.00 \times 10^8$  m/s



ภาพที่ 6.2 การแกว่งกวัดของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าในสนามไฟฟ้าและสนามแม่เหล็ก. ดัดแปลงจาก *Principles of Instrumental Analysis* (p.121) by D.A. Skoog, et al., 2016, Brooks/Cole Publishing.

รังสีแม่เหล็กไฟฟ้าอธิบายในรูปของคลื่นที่เป็นการแกว่งกวัด (oscillation) ในสนามไฟฟ้า และสนามแม่เหล็กจะตั้งฉากกันและกันและมีทิศทางเดียวกัน ในภาพที่ 6.2 (ข) โดยมีศัพท์เฉพาะที่ใช้ในการศึกษาเกี่ยวกับสมบัติของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า ดังนี้

1) แอมพลิจูด (amplitude) หรือขนาดคลื่น คือปริมาณเวกเตอร์ที่วัดจุดสูงสุดของคลื่นจากสนามไฟฟ้าหรือสนามแม่เหล็ก แอมพลิจูดจะเปลี่ยนแปลงตามเวลา โดยมีการเปลี่ยนแปลงเป็นรูปคลื่นไซน์ (sin wave)

2) คาบ (period,  $p$ ) คือเวลาในหน่วยวินาที เวลาที่ใช้ระหว่างจุดยอดของคลื่น

3) ความถี่ (frequency,  $\nu$ ) คือจำนวนของคลื่นสมบูรณ์ที่มีการแกว่งกวัดต่อหน่วยเวลา (วินาที) หน่วยของความถี่เป็น เฮิรตซ์ (Hertz, Hz) ซึ่งสัมพันธ์กับ 1 รอบต่อวินาที ดังนั้น  $1 \text{ Hz} = 1 \text{ s}^{-1}$  หรืออาจเรียกว่า 1 Hz เท่ากับเศษหนึ่งส่วนคาบ ( $1/p$ )

4) ความยาวคลื่น (wavelength,  $\lambda$ ) คือระยะห่างระหว่างจุดยอด (จุดสูงสุดหรือจุดต่ำสุด) ของรังสีสองจุดที่ตรงกัน หน่วยวัดความยาวคลื่นที่ใช้กันคือ นาโนเมตร ( $1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$ ), พิโกเมตร ( $1 \text{ pm} = 10^{-12} \text{ m}$ ) และ อังสตรอม ( $1 \text{ \AA} = 10^{-10} \text{ m}$ )

5) เลขคลื่น (wavenumber,  $\bar{\nu}$ ) คือจำนวนคลื่นในระยะทาง 1 cm หรือเขียนได้เป็นเศษหนึ่งส่วนความยาวคลื่น ( $1/\lambda$ ) เลขคลื่นนิยมใช้กับรังสีอินฟราเรด เลขคลื่นมีหน่วยเป็น  $\text{cm}^{-1}$

พลังงานของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า ประกอบด้วยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าและคลื่นแม่เหล็ก ที่เคลื่อนที่ด้วยความเร็วเท่ากับความเร็วแสง โดยพลังงานของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าจะขึ้นกับความยาวคลื่น

$$\lambda = \frac{c}{\nu} \quad \text{.....(6.1)}$$

เมื่อ  $\lambda$  = ความยาวคลื่น (m)

$c$  = ความเร็วของแสงในสุญญากาศ ( $3.00 \times 10^8 \text{ m/s}$ )

$\nu$  = ความถี่ของคลื่นแสง (Hz)

จากสมการ (6.1) ถ้ารังสีแม่เหล็กไฟฟ้ามีความยาวคลื่นมาก ความถี่ของการแกว่งกวัดต่อหน่วยเวลา (วินาที) จะน้อย แต่ถ้ามีความยาวคลื่นน้อย คลื่นนั้นจะมีความถี่จะมาก

สมบัติความเป็นคลื่นของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า ได้แก่ การสะท้อน การหักเห การแทรกสอด การเลี้ยวเบน โดยสมบัติเชิงคลื่นเหล่านี้อาจทำให้อัตราเร็วและความยาวคลื่นเปลี่ยนไปได้ แต่ไม่ทำให้ความถี่เปลี่ยน

สมบัติความเป็นอนุภาคของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า เรียกว่า โฟตอน (photon) หรือสมบัติความเป็นควอนไทซ์ (quantized) กล่าวคือ อนุภาคมีพลังงานเฉพาะในระดับใดระดับหนึ่งที่แน่นอนและเคลื่อนที่ด้วยความเร็วเท่ากับแสง การเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานจะต้องมีกลไกการดูดกลืน (absorption) หรือเปล่งออก (emission) ที่พอดีกับผลต่างของระดับพลังงาน เมื่อสสารดูดกลืนรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า (ดูดกลืนโฟตอน) พลังงานของโฟตอนสัมพันธ์ความยาวคลื่น ( $\lambda$ ) และความถี่ ( $\nu$ ) ดังสมการ

$$E = h\nu \quad \text{.....(6.2)}$$

เมื่อ  $E$  = พลังงานของโฟตอน (J)

$h$  = ค่าคงที่ของพลังค์ ( $6.62 \times 10^{-34} \text{ J}\cdot\text{s}$ )

เมื่อแทนค่าสมการ (6.1) ลงในสมการ (6.2) จะได้ดังนี้

$$E = \frac{hc}{\lambda} \quad \dots(6.3)$$

จากสมการ (6.3) โฟตอนของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความถี่สูง (หรือความยาวคลื่นสั้น) จะมีพลังงานมากกว่าโฟตอนของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความถี่ต่ำ (หรือความยาวคลื่นมาก) ความเข้มของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าขึ้นอยู่กับจำนวนโฟตอน แต่ไม่ขึ้นกับพลังงานของแต่ละโฟตอน โดยสัญลักษณ์ความยาวคลื่นของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าเขียนแทนด้วยอักษรกรีก เรียกว่า  $\lambda$  (แลมบ์ดา, lambda) โดยที่รังสีแม่เหล็กไฟฟ้าแต่ละช่วงความยาวคลื่นถูกกำหนดให้มีชื่อเรียกแตกต่างกัน ดังตารางที่ 6.1

**ตารางที่ 6.1** ชื่อเรียกของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าในช่วงความยาวคลื่นต่าง ๆ

ชื่อเรียก	ความยาวคลื่น (nm)
ยูวีไกล (far-ultraviolet)	10 – 200
ยูวีใกล้ (near-ultraviolet)	200 – 380
วิสิเบิล (visible)	380 – 780
อินฟราเรดใกล้ (near-infrared)	780 – 3000
อินฟราเรดกลาง (middle-infrared)	3,000 – 30,000
อินฟราเรดไกล (far-infrared)	30,000 – 300,000
ไมโครเวฟ (microwave)	300,000 – 1,000,000,000

**ตัวอย่าง 6.1** คำนวณเลขคลื่นของรังสีอินฟราเรด ที่มีความยาวคลื่น 4,600 nm

**วิธีคิด** จากสมการ  $\bar{\nu} = \frac{1}{\lambda}$

คำนวณความยาวคลื่น 4,600 nm ให้เป็น cm

$$4,600 \text{ nm} \times \frac{10^{-9} \text{ m}}{1 \text{ nm}} \times \frac{10^2 \text{ cm}}{1 \text{ m}} = 4.60 \times 10^{-4} \text{ cm}$$

$$\bar{\nu} = \frac{1}{4.60 \times 10^{-4} \text{ cm}} = 2,174 \text{ cm}^{-1}$$

**ตัวอย่าง 6.2** คำนวณความยาวคลื่นรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความถี่ 1800 MHz

**วิธีคิด** จากสมการ  $\lambda = \frac{c}{\nu}$

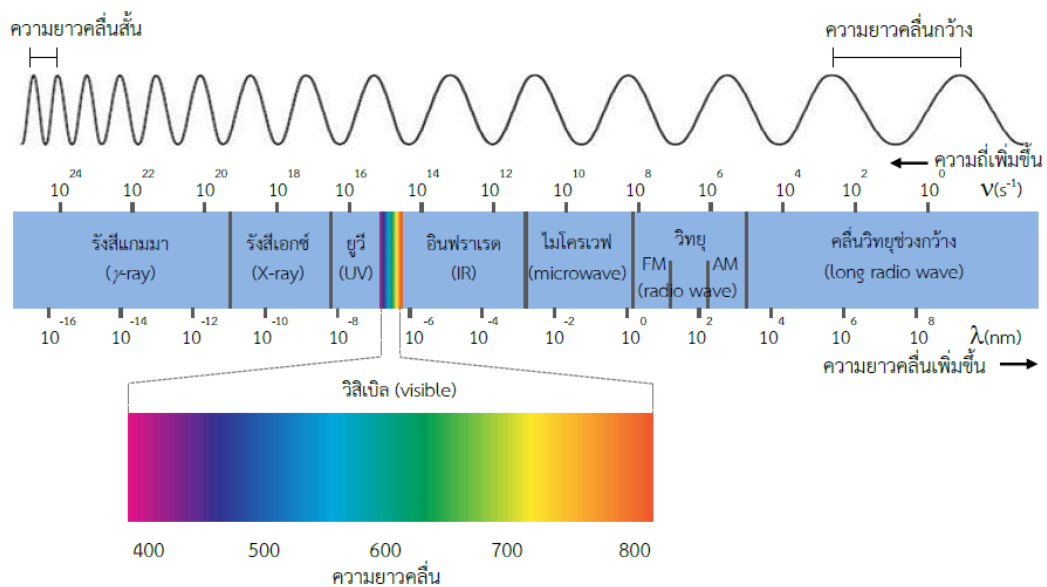
$$\lambda = \frac{3.0 \times 10^8 \text{ m/s}}{1800 \times 10^6 \text{ Hz}} = 1.67 \times 10^8 \text{ nm}$$

**ตัวอย่าง 6.3** คำนวณพลังงานของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความยาวคลื่น 527 nm

**วิธีคิด** จากสมการ (6.3)  $E = \frac{hc}{\lambda}$

$$E = \frac{(6.625 \times 10^{-34} \text{ Js})(3.0 \times 10^8 \text{ m/s})}{527 \text{ nm} \times \left( \frac{10^{-9} \text{ m}}{1 \text{ m}} \right)} = 3.771 \times 10^{-19} \text{ J}$$

การแบ่งรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าเป็นย่านความถี่หรือย่านความยาวคลื่นแตกต่างกันเรียกว่า สเปกตรัมรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า (spectrum) ดังภาพที่ 6.3 โดยขอบเขตของแต่ละย่านไม่ได้แยกออกจากกันอย่างสิ้นเชิง ซึ่งมีบางส่วนที่ซ้อนเหลื่อมกัน สเปกตรัมรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าประกอบด้วยช่วงคลื่นที่มีความถี่ต่างๆ กัน นับตั้งแต่ช่วงคลื่นวิทยุ (radio) ที่มีความถี่ต่ำ ( $10^3$  Hz) ซึ่งจะมีพลังงานน้อยสุด จนถึงรังสีแกมมา (gamma) ที่มีความถี่สูง ( $>10^{19}$  Hz) ซึ่งจะมีพลังงานมากที่สุด



ภาพที่ 6.3 สเปกตรัมรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า. ที่มาจาก เคมีวิเคราะห์: หลักการและเทคนิคการคำนวณเชิงปริมาณ (หน้า 343) โดย วรวิทย์ จันทรสุวรรณ, 2563, สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สเปกตรัมรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าในย่านมองเห็นได้ เรียกว่า วิสิเบิลสเปกตรัม (visible spectrum) มีย่านความยาวคลื่นในช่วง 380-780 nm ซึ่งเป็นแสงขาวตลอดช่วงความยาวคลื่น แต่ถ้าแสงถูกดุดกลืนในบางช่วงความยาวคลื่น แสงที่เรามองเห็นจะเป็นแสงสีผสม (complementary color) เมื่อแสงขาวถูกดุดกลืนคลื่นแสงไปบางช่วงความยาวคลื่น สีที่ปรากฏจะเป็นสีตรงกันข้ามในวงล้อสี ดังตารางที่ 6.2

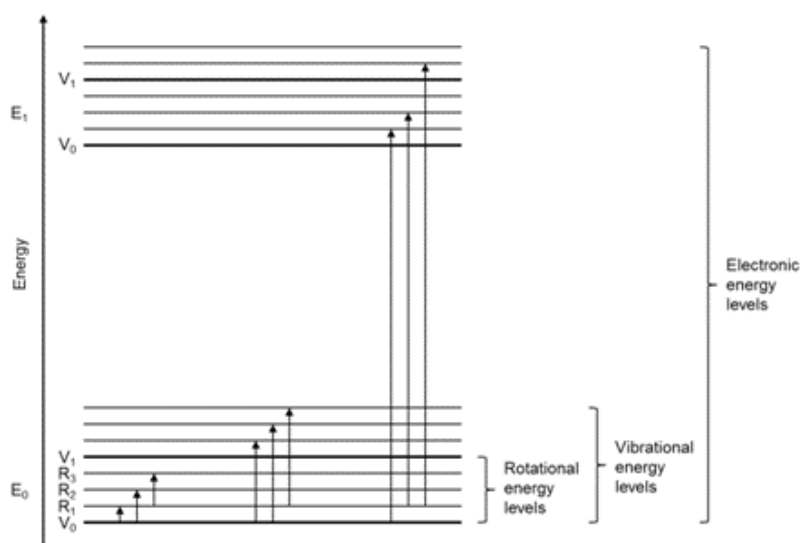
ตารางที่ 6.2 สเปกตรัมรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าในย่านมองเห็น

แสงที่ถูกดูดกลืน	ความยาวคลื่น (nm)	ความถี่ (THz)	พลังงานโฟตอน (eV)	แสงสีเติมเต็ม
ยูวี	<380			
ม่วง	380–450	668–789	2.75–3.26	เหลือง-เขียว
น้ำเงิน	450–495	606–668	2.50–2.75	เหลือง
เขียว	495–570	526–606	2.17–2.50	แดง-ม่วง
เหลือง	570–590	508–526	2.10–2.17	น้ำเงิน
ส้ม	590–620	484–508	2.00–2.10	เขียว-น้ำเงิน
แดง	620–750	400–484	1.65–2.00	น้ำเงิน-เขียว
อินฟราเรดใกล้	>750			

### 6.1.2 อันตรกิริยาระหว่างโฟตอนกับสสาร

หลักการพื้นฐานของสเปกโทรสโกปีอาศัยการเกิดอันตรกิริยาระหว่างโฟตอนกับสสารส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนระดับพลังงานของอนุภาค หรือที่เรียกว่า แทรนซิชัน (transition) โดยจะเป็นการเปลี่ยนระดับพลังงานจากสถานะพื้น (ground state,  $E_0$ ) ที่มีพลังงานต่ำ ไปยังสถานะที่มีระดับพลังงานสูงกว่า ที่เรียกว่า สถานะกระตุ้น (excited state,  $E_1$ ) ซึ่งการทรานซิชันจะสัมพันธ์กับพลังงานโฟตอนของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าโดยตรง การทรานซิชันอาจเป็นการเลื่อนไปยังระดับพลังงานอีกระดับหนึ่ง ( $E_0$  ไปยัง  $E_1$ ) หรือเป็นการเลื่อนไปยังระดับพลังงานที่สูงขึ้นที่อยู่ในชั้นพลังงานเดียวกัน (ระดับ  $E_0$  มีหลายชั้นพลังงานย่อย) เช่น ระดับพลังงานการสั่น (vibrational level) และระดับพลังงานการหมุน (rotational level) และอื่น ๆ ดังภาพที่ 6.4

การทรานซิชันของสสารเป็นผลอันเนื่องมาจากอันตรกิริยาระหว่างโฟตอนกับสสารไม่ว่าจะเป็นระดับอะตอม โมเลกุล หรือไอออน กล่าวคือโฟตอนของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีพลังงานแตกต่างกันทำให้เกิดอันตรกิริยากับสสารได้แตกต่างกัน เทคนิคทางสเปกโทรสโกปีอาจแบ่งอย่างกว้างเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ เทคนิคที่มีการถ่ายเทพลังงานระหว่างโฟตอนของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้ากับสสาร และเทคนิคที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงสมบัติของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า แสดงดังตารางที่ 6.3



ภาพที่ 6.4 รูปแบบการทรานซิชันของอนุภาค

### ตารางที่ 6.3 เทคนิคทางสเปกโทรสโกปี

เทคนิคที่มีการถ่ายเทพลังงานระหว่างโฟตอนของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้ากับสาร	เทคนิคที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงสมบัติของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ การดูดกลืน (absorption)</li> <li>▪ การเปล่งออก (emission)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ ความกว้าง (amplitude)</li> <li>▪ มุม (angle)</li> <li>▪ โพลาริเซชัน (polarization) หรือทิศทาง (direction of propagation) ซึ่งมีผลให้เกิดปรากฏการณ์เมื่อตกกระทบกับตัวอย่าง เช่น การหักเห (refraction) การสะท้อน (reflection) การกระเจิง (scattering) และการกระจาย (diffraction)</li> </ul>

เทคนิคสเปกโทรสโกปีที่มีการถ่ายเทพลังงานระหว่างโฟตอนของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าอาศัยการทรานซิชันระดับอะตอม (atomic transition) หรือระดับโมเลกุล (molecular transition) แสดงตารางที่ 6.4 โดยพลังงานโฟตอนจะมีผลต่อการทรานซิชันของสาร ระดับพลังงานโฟตอนที่ต่ำจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างอ่อนๆ โดยเป็นเพียงการเปลี่ยนการหมุนของอิเล็กตรอน (spin of electron) ซึ่งจะใช้กับเทคนิค NMR และ ESR ส่วนโฟตอนที่มีพลังงานสูงจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างรุนแรงถึงระดับนิวเคลียสของสาร

### ตารางที่ 6.4 เทคนิคสเปกโทรสโกปีที่เกี่ยวข้องกับการถ่ายเทพลังงานระหว่างโฟตอนกับสาร

รูปแบบการถ่ายโอนพลังงาน	ย่านคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า	เทคนิคการวิเคราะห์ทางสเปกโทรสโกปี
การดูดกลืน (absorption)	รังสีแกมมา	มอสเบาเออร์ (mossbauer spectroscopy)
	รังสีเอกซ์	เอกซเรย์แอบซอร์บชัน (X-ray absorption)
	ยูวี-วิสิเบิล	ยูวี-วิสิเบิล (UV-vis) อะตอมมิกแอบซอร์บชัน
	อินฟราเรด	อินฟราเรด (infrared) รามาน (Raman)
	คลื่นไมโครเวฟ	ไมโครเวฟ (microwave)
คลีนวิทยู		อิเล็กตรอนสปินเรโซแนนซ์ (electron spin resonance; ESR) นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ (nuclear magnetic resonance; NMR)
	ยูวี-วิสิเบิล	อะตอมมิกอิมิสชันสเปกโทรสโกปี (atomic emission)
การเปล่งแสงด้วยแสง (photoluminescence)	รังสีเอกซ์	เอกซเรย์ฟลูออเรสเซนซ์ (X-ray fluorescence)
	ยูวี-วิสิเบิล	ฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence) ฟอสฟอเรสเซนซ์ (phosphorescence) อะตอมมิกฟลูออเรสเซนซ์ (atomic fluorescence; AFS)
	ยูวี-วิสิเบิล	เคมีลูมิเนสเซนซ์ (chemiluminescence)

เทคนิคการวิเคราะห์ที่มีระดับพลังงานในย่านวิสิเบิลและอินฟราเรด อาจเรียกรวมว่า เทคนิคเกี่ยวกับการมองเห็น (optical method) แม้ว่าสายตาเราไม่สามารถสัมผัสรังสีย่านยูวีและอินฟราเรดได้ก็ตาม

การเกิดอันตรกิริยาระหว่างโฟตอนกับสสารทำให้ทราบข้อมูลเกี่ยวกับสารที่สนใจในรูปแบบต่างๆ ตามการเปลี่ยนแปลงอันเนื่องมาจากการทรานซิชันของอนุภาค ซึ่งการเกิดอันตรกิริยาระหว่างโฟตอนกับสสารทำให้เกิดวิธีการวิเคราะห์ทางสเปกโทรสโกปีอีกหลายเทคนิค ดังภาพที่ 6.5

ประเภทอันตรกิริยา	การสปีนของอิเล็กตรอน	การหมุน	การสั่น	การเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานของอิเล็กตรอน	นิวเคลียร์		
เลขคลื่น (cm <sup>-1</sup> )	10 <sup>-2</sup>	1	100	10 <sup>4</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>8</sup>	
ความยาวคลื่น	10 m	100 cm	1 cm	100 μm	1000 nm	10 nm	10 pm
ความถี่ (Hz)	3x10 <sup>6</sup>	3x10 <sup>8</sup>	3x10 <sup>10</sup>	3x10 <sup>12</sup>	3x10 <sup>14</sup>	3x10 <sup>16</sup>	3x10 <sup>18</sup>
พลังงาน (J/mol)	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-1</sup>	10	10 <sup>3</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>9</sup>
เทคนิคสเปกโทรสโกปี	NMR	ESR	microwave	IR	UV-vis	X-ray	γ-ray

ภาพที่ 6.5 ย่านของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าและชนิดการเปลี่ยนแปลงที่เกิดจากอันตรกิริยาของโฟตอนกับสารที่สนใจ. ที่มาจาก *เคมีวิเคราะห์: หลักการและเทคนิคการคำนวณเชิงปริมาณ* (หน้า 345) โดย วรวิทย์ จันทรสุวรรณ, 2563, สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ตารางที่ 6.5 ความยาวคลื่นและประเภทการทรานซิชันของวิธีเชิงสเปกโทรสโกปี

ประเภทสเปกโทรสโกปี	ช่วงความยาวคลื่น	ช่วงเลขคลื่น (cm <sup>-1</sup> )	ประเภทการทรานซิชัน
การเปล่งออกรังสีแกมมา	0.005-1.4 A	-	นิวเคลียร์
การดูดกลืนรังสีเอกซ์	0.1-100 A	-	อิเล็กตรอนวงใน
การเปล่งออกรังสีเอกซ์			
การร้าวแสงรังสีเอกซ์			
การเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์			
การดูดกลืนยูวี-วิสิเบิล	10-180 nm	1 x10 <sup>6</sup> -5x10 <sup>4</sup>	อิเล็กตรอนสร้างพันธะ
การดูดกลืนยูวี-วิสิเบิล	180-780 nm	5x10 <sup>4</sup> -1.3x10 <sup>4</sup>	อิเล็กตรอนสร้างพันธะ
การเปล่งออกยูวี-วิสิเบิล			
การร้าวแสงยูวี-วิสิเบิล			
การดูดกลืนอินฟราเรด	0.78-300 μm	1.3x10 <sup>4</sup> - 1.3x10 <sup>1</sup>	การหมุน/การสั่น
การกระเจิงรามาน			
การดูดกลืนไมโครเวฟ	0.75-3.75 mm	13-27	การหมุน
อิเล็กตรอนสปีน-เรโซแนนซ์	3 cm	0.33	การสปีนของอิเล็กตรอนในสนามแม่เหล็ก
นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์	0.6-10 m	1.7x10 <sup>-2</sup> -1x10 <sup>3</sup>	การสปีนของนิวคลีไอในสนามแม่เหล็ก



ส่วนเทคนิคที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงสมบัติของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า โดยไม่เกี่ยวข้องกับการแลกเปลี่ยนพลังงานระหว่างโฟตอนกับสสาร แสงดังตารางที่ 6.6

ตารางที่ 6.6 เทคนิคสเปกโทรสโกปีที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงสมบัติของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า

ย่านของสเปกตรัม รังสีแม่เหล็กไฟฟ้า	ประเภท	เทคนิคสเปกโทรสโกปี
รังสีเอกซ์	การเลี้ยวเบน	เอกซเรย์ดิฟแฟรกชัน (X-ray diffraction)
ยูวี-วิสิเบิล	การหักเห	รีแฟรคโตเมตรี (refractometry)
	การกระเจิง	เนฟโฟโลเมตรี (nephelometry) เทอบิดิเมตรี (turbidimetry)
	การกระจาย	ออปติคอลโรตารีดีสเพิซชัน (optical rotary dispersion)

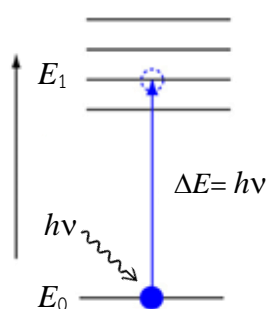
ตารางที่ 6.7 รูปแบบและเทคนิคการวิเคราะห์

อันตรกิริยา	ช่วงความถี่ (Hz)	รูปแบบและเทคนิคการวิเคราะห์
ย่านคลื่นวิทยุ	$3 \times 10^6 - 3 \times 10^{10}$	การเปลี่ยนแปลงของพลังงานในช่วง $10^{-3}$ ถึง $10$ J/mol เกิดจากการเปลี่ยนแปลงสปิน (spin) ของนิวเคลียสหรืออิเล็กตรอน แล้วเกิดอันตรกิริยากับสนามแม่เหล็กของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่ความถี่ที่เหมาะสม เทคนิค เช่น นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ (NMR) และอิเล็กตรอนพินเรโซแนนซ์ (ESR)
ย่านไมโครเวฟ	$3 \times 10^{10} - 3 \times 10^{12}$	การเปลี่ยนแปลงของพลังงานเกิดจากการหมุน (rotation) ของโมเลกุล ความแตกต่างของระดับพลังงานของการหมุนอยู่ในช่วง $10^2$ J/mol การหมุนของโมเลกุลจะเกิดสนามไฟฟ้า และให้สเปกตรัมไมโครเวฟออกมา เทคนิค เช่น ไมโครเวฟ
ย่านอินฟราเรด	$3 \times 10^{12} - 3 \times 10^{14}$	พลังงานควอนตัมของโฟตอนจากย่านรังสีอินฟราเรดอยู่ระหว่าง 0.001 ถึง 1.7 eV ซึ่งเป็นช่วงพลังงานที่ทำให้โมเลกุลเกิดการสั่น ความแตกต่างของระดับพลังงานของการสั่นอยู่ในช่วง $10^4$ J/mol เทคนิค เช่น อินฟราเรด (IR) และ รามาน (Raman)
ย่านยูวี-วิสิเบิล	$3 \times 10^{14} - 3 \times 10^{16}$	การเปลี่ยนแปลงของพลังงานที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนระดับพลังงานของอิเล็กตรอน ความแตกต่างของระดับพลังงานของอิเล็กตรอนวงนอกสุดประมาณ 100 kJ/mol เทคนิค เช่น ยูวี-วิสิเบิล (UV-Vis)
รังสีเอกซ์	$3 \times 10^{16} - 3 \times 10^{18}$	พลังงานควอนตัมของโฟตอนของรังสีเอกซ์มีค่าสูง จึงเกิดปฏิกิริยาโดยการชนอิเล็กตรอนจนหลุดออกจากอะตอม รังสีเอกซ์ทั้งหมดจึงเป็นรังสีที่ทำให้เกิดการแตกตัวเป็นไอออน เทคนิค เช่น เอกซเรย์ (X-ray)

### 6.1.3 ประเภทของสเปกโทรสโกปี

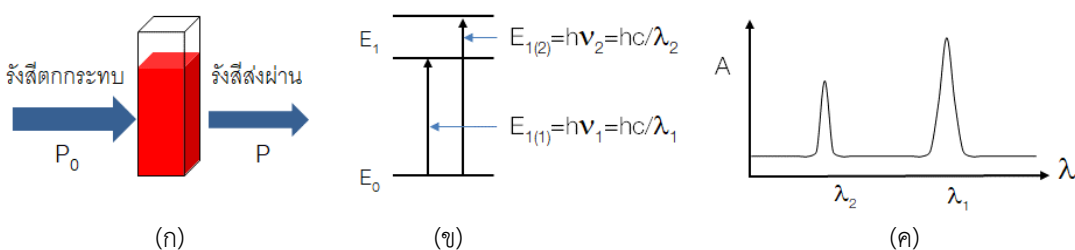
#### 1) สเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืน

เทคนิคสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืน (absorption spectroscopy) เป็นเทคนิคการวัดพลังงานของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า เมื่อสารที่สามารถดูดกลืนแสงได้ (absorbing species) ดูดกลืนโฟตอนแล้วเกิดการแทนที่ชั้นจากสถานะพื้นไปสู่สถานะกระตุ้น ดังภาพที่ 6.6 โดยชนิดการแทนที่ชั้นขึ้นอยู่กับพลังงานของโฟตอน เมื่ออิเล็กตรอนดูดกลืนพลังงานโฟตอนย้ายวิ-วิสิเบิล การแทนที่ชั้นจะเป็นการเลื่อนอิเล็กตรอนวงนอกสุดของอะตอมจากสถานะพื้นไปยังสถานะกระตุ้น แต่ถ้ากรณีสารนั้นดูดกลืนรังสีย่านอินฟราเรด พันธะใดพันธะหนึ่งของโมเลกุลจะเกิดการแทนที่ชั้นโดยการสั่น (vibration) การดูดกลืนจะเกิดขึ้นได้ก็ต่อเมื่อความแตกต่างของระดับพลังงาน ( $\Delta E$ ) ระหว่างสถานะพื้นกับสถานะกระตุ้นมีค่าเท่ากับพลังงานโฟตอน



ภาพที่ 6.6 แผนภาพพลังงานของการดูดกลืนโฟตอน

แผนภาพแสดงหลักการเทคนิคสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืน แสดงดังภาพที่ 6.7 เมื่อมีพลังงานโฟตอนจากภายนอกกระทำกับสาร รังสีตกกระทบ ( $P_0$ ) จะถูกดูดกลืนเมื่อมีการเลื่อนจากสถานะพื้นสู่สถานะกระตุ้น ในเทคนิคสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนจะวัดปริมาณของแสงที่ถูกดูดกลืนเป็นฟังก์ชันกับความยาวคลื่น หรือที่เรียกว่า สเปกตรัมการดูดกลืน (absorption spectrum) ดังภาพที่ 6.7 (ค)

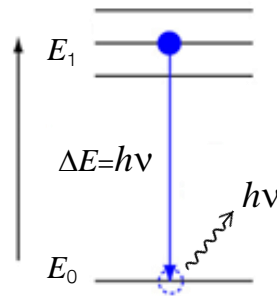


ภาพที่ 6.7 สเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืน (ก) กำลังรังสีตกกระทบ ( $P_0$ ) ถูกดูดกลืนด้วยสารสีน้ำเงิน (ข) แผนภาพพลังงานของการดูดกลืนโฟตอน และ (ค) ลักษณะสเปกตรัมดูดกลืน. ดัดแปลงจาก *Principles of Instrumental Analysis* (p.134) by D.A. Skoog, F.J. Holler, & S.R. Crouch, 2016, Brooks/Cole Publishing.

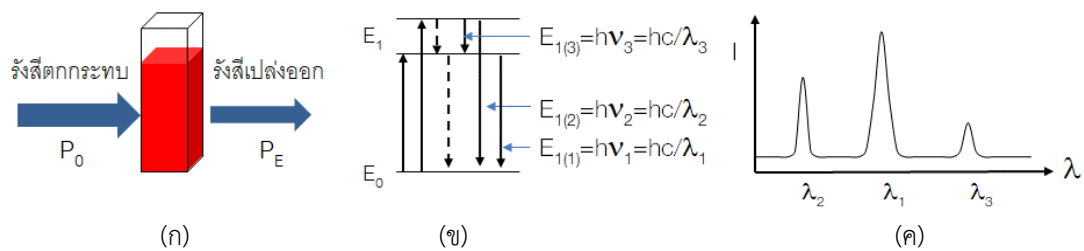
หลักการเทคนิคสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนยังรวมถึงการแทนที่ชั้นที่เกิดขึ้นในระดับพลังงานเดียวกันที่มีระดับพลังงานย่อย เช่น การแทนที่ชั้นโดยการสั่น และการแทนที่ชั้นโดยการหมุน เป็นต้น

## 2) สเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออก

เทคนิคสเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออก (emission spectroscopy) เป็นการวัดพลังงานที่คายออกมา เมื่ออะตอมหรือโมเลกุลเกิดการทรานซิชันจากสถานะกระตุ้นไปสู่สถานะพื้น ดังภาพที่ 6.8 กระบวนการที่เกิดขึ้นในเทคนิคสเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออก เมื่ออะตอมหรือโมเลกุลของสารที่สนใจ จะถูกกระตุ้นด้วยความร้อนหรือพลังงานไฟฟ้าหรือปฏิกิริยาเคมี การเปล่งออกจะเกิดขึ้นได้เมื่อพลังงานโฟตอน ( $h\nu$ ) เท่ากับความแตกต่างของพลังงานระหว่างสถานะพื้นกับสถานะกระตุ้น



ภาพที่ 6.8 แผนภาพพลังงานของการเปล่งโฟตอนของอะตอมหรือโมเลกุล



ภาพที่ 6.9 สเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออก. ดัดแปลงจาก *Principles of Instrumental Analysis* (p.133) by D.A. Skoog, F.J. Holler, & S.R. Crouch, 2016, Brooks/Cole Publishing.

### ตารางที่ 6.8 เทคนิคการวิเคราะห์ของสเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออก

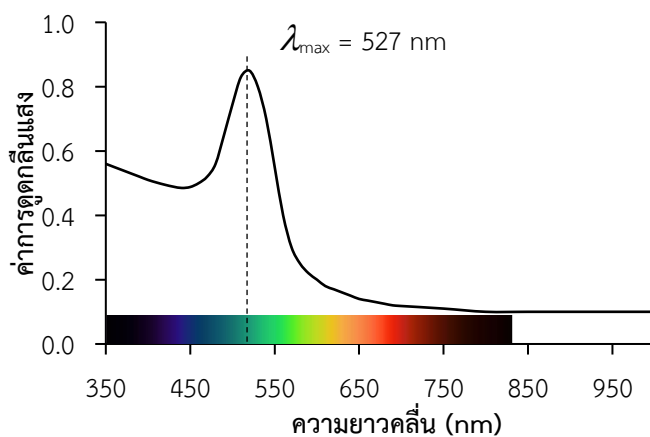
พลังงานกระตุ้น	ชื่อเรียก	เทคนิควิเคราะห์	หมายเหตุ
แสง (โฟตอน)	การเปล่งแสงด้วยแสง (photoluminescence)	การวาวแสง (fluorescence)	การวาวแสงและการ เรืองแสงแตกต่างกันที่
		การเรืองแสง (phosphorescence)	กระบวนการกลับเข้าสู่ สถานะพื้นใหม่
ปฏิกิริยาเคมี	การเปล่งแสงทางเคมี (chemiluminescence)	การเปล่งแสงทางเคมี (chemiluminescence)	
ความร้อนหรือไฟฟ้า		อินดักทีฟพลาสมา ออปติคอลลิมิเนสเซนซ์ (ICP-OES)	

### 6.1.4 การดูดกลืนรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า

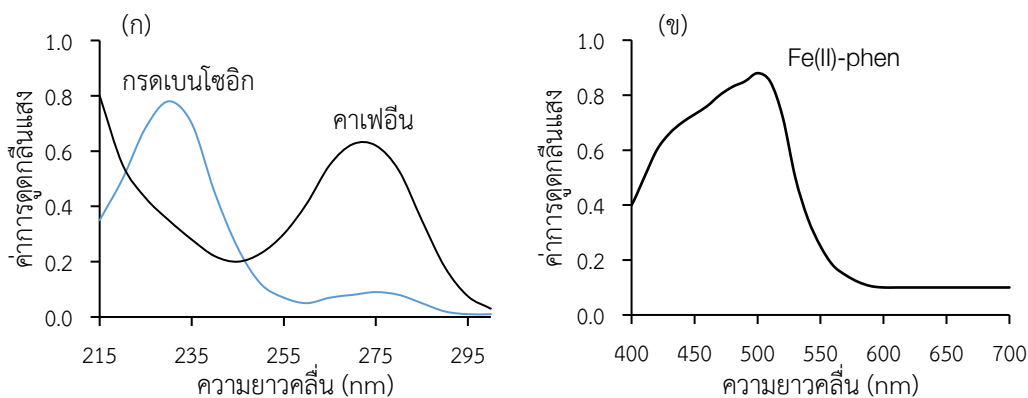
เมื่อรังสีย่านยูวี-วิสิเบิลผ่านไปยังสารที่มีอนุภาคที่สามารถดูดกลืนแสงได้ (absorbing species) จำนวนโฟตอนของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่ส่งผ่าน (transmittion) ออกมาจะลดลง เนื่องจากสารนั้นสามารถดูดกลืนโฟตอนบางส่วนไว้ได้ อันเนื่องมาจากเกิดการแทนที่ซึ่งกันและกันที่ช่วยให้ดูดกลืนแสงได้ ซึ่งในการวัดจำนวนโฟตอนที่ลดลงเปรียบเทียบกับโฟตอนเริ่มต้น เรียกว่า ค่าการดูดกลืน (absorbance; A)

แต่เนื่องจากสารไม่สามารถดูดกลืนคลื่นแสงได้ทุกช่วงความยาวคลื่นของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า ดังนั้นความสามารถในการดูดกลืนแสงในแต่ละความยาวคลื่นจึงวัดออกมาได้แตกต่างกัน เมื่อเขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนเป็นแกน x กับความยาวคลื่นเป็นแกน y เราจะได้กราฟที่เรียกว่า สเปกตรัมการดูดกลืน แสดงดังภาพที่ 6.10 ซึ่งเป็นสเปกตรัมการดูดกลืนของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองคำ (gold nanoparticle) ที่แสดงความสามารถในการดูดกลืนรังสีย่านยูวี-วิสิเบิลแต่ละช่วงความยาวคลื่นได้ไม่เท่ากัน

สเปกตรัมการดูดกลืนจะปรากฏที่ความยาวคลื่นของรังสีความยาวคลื่นหนึ่งที่สูงที่สุด เรียกว่า ความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดกลืนสูงสุด (maximum absorptivity wavelength,  $\lambda_{\max}$ ) ตัวอย่างอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองคำปรากฏ  $\lambda_{\max}$  ที่ความยาวคลื่น 527 nm หรือตัวอย่างในภาพที่ 6.11

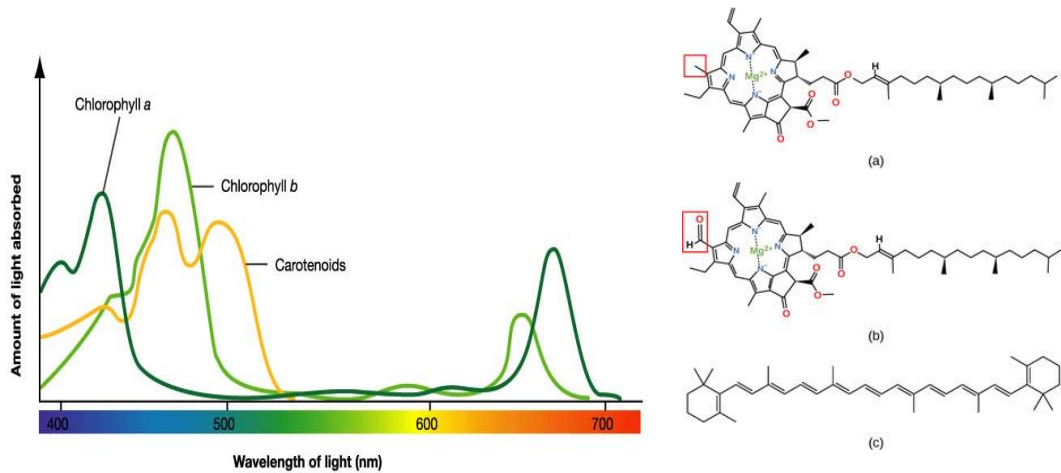


ภาพที่ 6.10 สเปกตรัมการดูดกลืนของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองคำ ที่มาจาก เคมีวิเคราะห์: หลักการและเทคนิคการคำนวณเชิงปริมาณ (หน้า 350) โดย วรวิทย์ จันทรสุวรรณ, 2563, สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.



ภาพที่ 6.11 ตัวอย่างสเปกตรัมการดูดกลืน. ที่มาจาก เคมีวิเคราะห์: หลักการและเทคนิคการคำนวณเชิงปริมาณ (หน้า 351) โดย วรวิทย์ จันทรสุวรรณ, 2563, สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

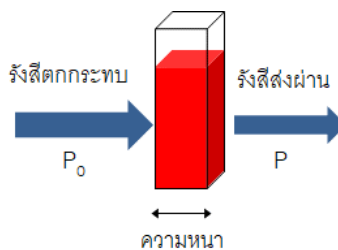
สารบางชนิดอาจปรากฏ  $\lambda_{max}$  เพียงค่าเดียว แต่สารบางชนิดอาจปรากฏ  $\lambda_{max}$  ได้สองหรือมากกว่าขึ้นอยู่กับโครงสร้างและหมู่ฟังก์ชัน



ภาพที่ 6.12 สเปกตรัมดูดกลืน (ภาพซ้าย) และโครงสร้าง (ภาพขวา) ของ (ก) คลอโรฟิลล์เอ (ข) คลอโรฟิลล์บี และ (ค) แคโรทีนอยด์

### 1) กฎของการดูดกลืนแสง

เมื่อรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าตกกระทบวัตถุที่สามารถดูดกลืนโฟตอนได้ การวัดการดูดกลืนแสงจะพิจารณาเฉพาะแสงที่ตกกระทบ (incident light) แสงที่ถูกดูดกลืน (absorbed light) และแสงที่ส่งผ่าน (transmitted light) โดยไม่ได้คำนึงผลของแสงรบกวน (stray light)



ภาพที่ 6.13 แสงที่อาจเกิดขึ้นเมื่อแสงตกกระทบสารตัวอย่าง

ความส่งผ่าน (transmittance, T) เป็นสัดส่วนปริมาณแสงที่ผ่านออกมา (P) ต่อปริมาณแสงที่ผ่านเข้าไปในตัวอย่าง ( $P_0$ ) เขียนสมการได้ดังนี้

$$T = \frac{P}{P_0} \quad \text{.....(6.4)}$$

ความส่งผ่านนิยมรายงานเป็นร้อยละความส่งผ่าน (transmittance percentage, %T)

$$\%T = \frac{P}{P_0} \times 100 \quad \text{.....(6.5)}$$

ค่าการดูดกลืนแสง หรือเรียกว่า แอบซอร์บแนนซ์ (absorbance, A) ของสารละลายสัมพันธ์กับค่าความส่งผ่าน ดังนี้

$$A = -\log T = -\log \frac{P}{P_0} = \log \frac{P_0}{P} \quad \dots(6.6)$$

ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายเพิ่มขึ้นค่าความส่องผ่านลดลง ค่าการดูดกลืนแสงสามารถคำนวณจาก %T ดังสมการ

$$\%T = 100 \left( \frac{P}{P_0} \right) \quad \dots(6.7)$$

$$A = -\log T \quad \dots(6.8)$$

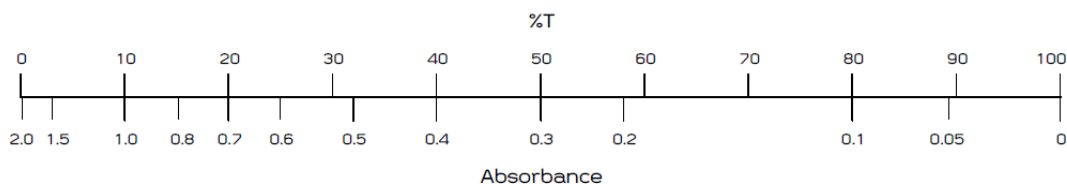
$$= -\log \%T + \log 100 \quad \dots(6.9)$$

$$= 2 - \log \%T \quad \dots(6.10)$$

ดังนั้น ค่า T มีค่าอยู่ในช่วง 0-1 และ %T มีค่าตั้งแต่ 0-100 ส่วน A มีค่าเท่ากับ 0 เมื่อแสงที่ผ่านเข้าไปในตัวกลางไม่ถูกดูดกลืนไว้เลย หรืออาจได้ว่าแสงส่องผ่านออกมา 100% แต่ถ้า A มีค่าเท่ากับ 1 เมื่อแสงส่องผ่านออกมาเพียง 10% และ A เท่ากับ 2 ถ้าแสงส่องผ่านออกมาน้อยมากเพียง 1% สรุปได้ดังตารางที่ 6.9

ตารางที่ 6.9 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการทะลุผ่านกับค่าการดูดกลืน

ความส่องผ่าน (P/P <sub>0</sub> )	%T (log P/P <sub>0</sub> )	log %T	การดูดกลืนแสง (-log T)
1	100	2	0
0.1	10	1	1
0.01	1	0	2
0.001	0.1	-1	3



ภาพที่ 6.14 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนกับร้อยละความส่องผ่าน

## 2) กฎของแลมเบิร์ต (Lambert's law)

แลมเบิร์ต (Johann Heinrich Lambert, ค.ศ.1760) นักคณิตศาสตร์ชาวฝรั่งเศส อธิบายแนวโน้มการลดลงของความส่องผ่านแบบเลขชี้กำลัง (exponential) ของแสง เมื่อลำแสงนั้นผ่านตัวกลางที่ดูดกลืนแสงได้ ซึ่งเป็นกฎที่เรียกว่า กฎการดูดกลืนของแลมเบิร์ต (Lambert's law of absorption) ซึ่งแสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่ถูกดูดกลืนกับความหนาของตัวกลางที่แสงผ่าน (b) ดังนั้นเมื่อพิจารณาจากสมการ (6.6) โดยความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนกับความหนาของตัวกลางที่แสงผ่าน ดังนี้

$$\log \frac{P_0}{P} = \frac{k'b}{2.303} \quad \text{.....(6.11)}$$

เมื่อ  $k'$  = ค่าคงที่สัดส่วนคงที่ (proportional constant)

$b$  = ความหนาของตัวกลางที่แสงผ่าน (path length)

$$\text{ดังนั้น} \quad A = k'b \quad \text{.....(6.12)}$$

สมการ (6.12) เรียกว่า “กฎแลมเบิร์ต” สรุปได้ดังนี้ “เมื่อรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความยาวคลื่นเดียวผ่านตัวกลางเนื้อเดียว ความส่องผ่านจะลดลงแบบเลขชี้กำลังตามความหนาของตัวกลางที่แสงผ่าน” หรืออาจกล่าวอย่างง่ายได้ว่า “ค่าการดูดกลืนแสงเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความหนาของตัวกลางที่แสงผ่าน”

### 3) กฎของเบียร์ (Beer's law)

เบียร์ (August Beer, ค.ศ.1852) นักเคมีชาวเยอรมัน แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้ากับความเข้มข้นของสารที่ดูดกลืนแสง สมการการคำนวณแสดงเช่นเดียวกับกฎของแลมเบิร์ต จะได้ดังนี้

$$\log \frac{P_0}{P} = \frac{k''c}{2.303} \quad \text{.....(6.13)}$$

$$\text{ดังนั้น} \quad A = k''c \quad \text{.....(6.14)}$$

เมื่อ  $k''$  = ค่าคงที่

$c$  = ความเข้มข้นของสารที่ดูดกลืนแสง

สมการ (6.14) เรียกว่า “กฎของเบียร์” สรุปได้ดังนี้ “เมื่อรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความยาวคลื่นเดียวผ่านตัวกลางเนื้อเดียว ความส่องผ่านจะลดลงแบบเลขชี้กำลังตามจำนวนของสารที่ดูดกลืนแสง” หรืออาจกล่าวอย่างง่ายได้ว่า “ค่าการดูดกลืนแสงเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสารที่ดูดกลืนแสง”

เมื่อพิจารณากฎของเบียร์และแลมเบิร์ตรวมกัน จะเห็นได้ว่าเมื่อผ่านแสงที่มีความยาวคลื่นเดียวเข้าไปในสารที่มีอนุภาคที่สามารถดูดกลืนแสง พลังงานแสงที่ถูกดูดกลืนจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นหรือปริมาณของสารที่สามารถดูดกลืนแสงนั้น ๆ ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ดังนี้

$$A = \epsilon bc \quad \text{.....(6.15)}$$

เมื่อ  $A$  = ค่าการดูดกลืนแสง

$\epsilon$  = สภาพดูดกลืนแสงต่อโมล ( $L \cdot \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ )

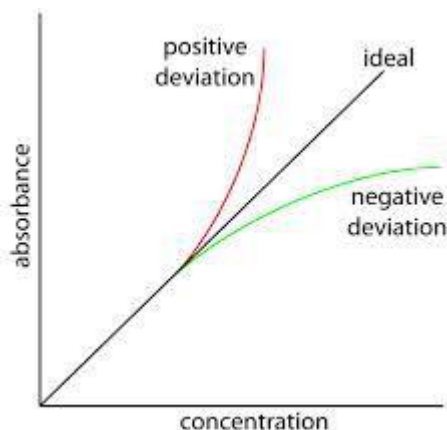
$b$  = ความหนาของตัวกลางที่แสงผ่าน (cm)

$c$  = ความเข้มข้นของสารที่สามารถดูดกลืนแสง (mol/L)

สมการ 6.15 เรียกสั้นๆ ว่า “กฎของเบียร์” (Beer's law) สามารถใช้คำนวณค่าสภาพดูดกลืนแสงต่อโมล (molar absorptivity,  $\epsilon$ ) ของอนุภาคที่สามารถดูดกลืนแสงได้ ในกรณีที่ทราบความเข้มข้นของสารที่สามารถดูดกลืนแสงนั้นๆ หรือในทำนองกลับกันกฎของเบียร์ สามารถใช้หา

ความเข้มข้นของสารที่สามารถดูดกลืนแสง เมื่อทราบสภาพดูดกลืนแสงต่อโมล ( $\epsilon$ ) และความหนาของตัวกลาง (b)

อย่างไรก็ตาม ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างค่าการดูดกลืนกับความเข้มข้นนั้นอาจเบี่ยงเบนไปทางบวกหรือทางลบ เรียกว่า การเบี่ยงเบนจากกฎของเบียร์ (deviation from Beer's law) ดังภาพที่ 6.15 ซึ่งมีสาเหตุสำคัญมาจากการเบี่ยงเบนทางเคมี (chemical deviation) และการเบี่ยงเบนจากเครื่องมือ (instrumental deviation) เช่น แสงที่มีหลายความยาวคลื่น หรือ แสงรบกวน (stray light)



ภาพที่ 6.15 การเบี่ยงเบนจากกฎของเบียร์

**ตัวอย่าง 6.4** สารละลาย  $\text{KMnO}_4$  เข้มข้น  $7.25 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$  มีค่า %T เท่ากับ 44.1% เมื่อทำการวัดการดูดกลืนที่ความยาวคลื่น 525 nm และใช้เซลล์หนา 2.10 cm จงคำนวณ (1) ค่าการดูดกลืนแสง และ (2) สภาพดูดกลืนแสงต่อโมล ( $\epsilon$ )

**วิธีคิด** (1) ค่าการดูดกลืนแสง

$$\begin{aligned} A &= -\log T = -\log 0.441 \\ &= -(-0.356) \\ &= 0.356 \end{aligned}$$

(2) สภาพดูดกลืนแสงต่อโมล

$$\begin{aligned} \epsilon &= \frac{A}{bc} = \frac{0.356}{(2.10 \text{ cm})(7.25 \times 10^{-5} \text{ mol/L})} \\ &= 2.34 \times 10^3 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1} \end{aligned}$$

**ตัวอย่าง 6.5** สารละลาย  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$  มีค่า  $\epsilon$  เท่ากับ  $5.11 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  บรรจุในเซลล์หนา 1 cm ที่ความยาวคลื่น 510 nm จงคำนวณ %T ของ  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$  ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.05 และ 0.10 mol/L

**วิธีคิด** จาก  $A = \epsilon bc$

$$\begin{aligned} &= (5.11 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1})(1 \text{ cm})(0.05 \text{ mol/L}) \\ &= 0.255 \end{aligned}$$

จาก  $A = 2 - \log(\%T)$



$$\log(\%T) = 1.745$$

$$\%T = 55.6$$

ดังนั้นในกรณี 0.10 mol/L คำนวณเช่นเดียวกัน จะได้  $\%T = 31.0$

### สรุปท้ายบทเรียน

สเปกโทรสโกปีเป็นเทคนิคการวิเคราะห์โดยอาศัยหลักการเกิดอันตรกิริยาระหว่างรังสีแม่เหล็กไฟฟ้ากับสสาร รูปแบบอันตรกิริยาขึ้นกับพลังงานโฟตอนของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าในแต่ละย่าน ซึ่งจะทำให้เกิดการแทรกซึมของอนุภาคจากสถานะพื้นเป็นสถานะกระตุ้น เทคนิคสเปกโทรสโกปีแบ่งได้สองกลุ่มใหญ่ ๆ คือ เทคนิคที่มีการเปลี่ยนแปลงของสารเนื่องจากการถ่ายเทพลังงานจากรังสีแม่เหล็กไฟฟ้ากับสาร และเทคนิคที่เป็นการเปลี่ยนแปลงสมบัติของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า การถ่ายเทพลังงานโฟตอนที่ระดับพลังงานเฉพาะหนึ่ง ๆ กับสารนั้นทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติได้หลายรูปแบบ เช่น การดูดกลืน การเปล่งออก การเปล่งแสงด้วยแสง และการเปล่งแสงทางเคมี เป็นต้น การวัดความสามารถในการดูดกลืนแสงของสารเป็นการวัดการดูดกลืนพลังงานโฟตอนของสารอันเนื่องจากการอันตรกิริยาอย่างใดอย่างหนึ่งระหว่างโฟตอนกับสาร สเปกตรัมดูดกลืนเป็นความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนกับความยาวคลื่น ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงอาศัยกฎของเบียร์

## กิจกรรม

ขั้นตอน	วิธีการ
แนะนำโจทย์ปัญหา (P)	แจกใบกิจกรรม 6.1
ไตร่ตรองทางแก้ไขเฉพาะตน (E)	แต่ละคนบอกวิธีการแก้ไขโจทย์ปัญหา (10 นาที)
ระดมสมองโดยกลุ่ม (T)	ให้รวมกลุ่ม มอบหมายโจทย์ให้แต่ละกลุ่มระดมสมองแก้ไขโดยวิธีการร่วมแสดงความคิดเห็น (10 นาที)
สื่อสารทางออก (C)	ให้แต่ละกลุ่มนำเสนอ วิธีการแก้ไขโจทย์ปัญหา 1) หลักการสำคัญหรือหลักพื้นฐานที่ถูกต้อง 2) วิธีการคำนวณค่าที่ถูกต้อง 3) วิธีอธิบายเชิงพฤติกรรม (วิธีปฏิบัติ) ที่ถูกต้อง โดยให้กลุ่มอื่น ๆ รับฟัง และซักถามในข้อที่สงสัย (10 นาที)
ถอดรหัสปรับใช้ (D)	ผู้สอนสรุป อภิปรายสรุปความถูกต้องและความผิดพลาด โดยเพิ่มเติมประเด็นที่เกี่ยวข้องให้สมบูรณ์

**แบบฝึกหัดท้ายบทเรียน**

1. จงคำนวณพลังงานของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความยาวคลื่น 430 nm
2. จงอธิบายรูปแบบของการแทรกซื่นของสสารเมื่อเกิดอันตรกิริยากับรังสีย่านยูวี-วิสิเบิล และอินฟราเรด
3. จงบอกความแตกต่างของสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืน (absorption) และแบบเปล่งออก (emission)
4. จงอธิบายกฎของเบียร์ และการคำนวณหน่วยของสภาพดูดกลืนแสงต่อโมล ( $\epsilon$ )
5. จงบอกเงื่อนไขของการดูดกลืนแสงของโมเลกุลสารตามกฎของเบียร์
6. การเบี่ยงเบนกฎของเบียร์ เนื่องจากการเบี่ยงเบนทางกายภาพและทางเคมี แตกต่างกันอย่างไร
7. จงคำนวณค่าการดูดกลืนแสง และสภาพดูดกลืนแสงต่อโมล ( $\epsilon$ ) ของสารละลาย  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$  เข้มข้น  $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$  มีค่า %T เท่ากับ 65.5% เมื่อทำการวัดการดูดกลืนที่ความยาวคลื่น 510 nm และใช้เซลล์หนา 1.00 cm

## เอกสารอ้างอิง

- ชุติมา ศรีวิบูลย์. (2556). *เคมีวิเคราะห์ 1*. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยรามคำแหง.
- นิพนธ์ ตังคณานุรักษ์, และ คณิตา ตังคณานุรักษ์. (2547). *สเปกโทรสโกปีด้านการวิเคราะห์*. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- แม่น อมรสิทธิ์, และ อมร เพชรสม. (2550). *หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ*. สำนักพิมพ์ชวนชม.
- เย็นหทัย แน่นหนา. (2549). *สเปกโทรสโกปีสำหรับเคมีอินทรีย์*. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- วรวิทย์ จันทรสุวรรณ. 2563. *เคมีวิเคราะห์: หลักการและเทคนิคการคำนวณเชิงปริมาณ*. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- Bonardi, Aude-Héloïse & Noirbent, Guillaume & Dumur, Frédéric & Gimes, Didier & Lalevée, Jacques. (2018). Organometallic vs organic photoredox catalysts for photocuring reactions in the visible region. *Beilstein J. Org. Chem.* 14. 3025-3046.
- Chansuvarn, W., Panich, S., & Imyim, A. (2013). Simple spectrophotometric method for determination of melamine in liquid milks based on green Mannich reaction. *Spectrochim. Acta A.* 113(-), p. 154-158.
- Christian, G.D., Dasgupta, P.K., & Schug, K.A. (2014). *Analytical Chemistry* (7<sup>th</sup> ed.). John Wiley & Sons.
- Harris, D.C. (2010). *Quantitative Chemical Analysis* (8<sup>th</sup> ed.). W. H. Freeman and Company.
- Harvey, D. (2019). *Analytical Chemistry 2.1*. <https://chem.libretexts.org/>
- Hofmann A., (2010). Spectroscopic Techniques: Spectrophotometric Techniques. in Samuel, C. (editor). *Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology*. Cambridge University Press.
- Mohapatra, Lagnamayee & Parida, Kulamani. (2017). A review of solar and visible light active oxo-bridged materials for energy and environment. *Catal. Sci. Technol.* 7. 10.1039/C7CY00116A.
- Owen, T. (1996). *Fundamental of UV-visible spectroscopy: A Primer*. Hewlett-Packard.
- Skoog, D.A., Holler, F.J., & Crouch, S.R. (2016). *Principles of Instrumental Analysis* (7<sup>th</sup> ed.). Brooks/Cole Publishing.
- Upstone, S. (2012). *UV/Vis Spectroscopy: Validating UV/Visible Spectrophotometers*. <https://www.perkinelmer.com/labsolutions/resources/docs/TCH-Validating-UV-Visible.pdf>

## แผนการสอนสัปดาห์ที่ 14

บทเรียนที่ 6.2 เทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมตรี

จำนวนชั่วโมง 3

### จุดประสงค์การสอน (จุดประสงค์ทั่วไป)

1. เพื่อให้เข้าใจหลักการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิล

### ผลการเรียนรู้ (จุดประสงค์เฉพาะ)

1. อธิบายการแทนสีชั้นของอเล็กตรอน
2. บอกเครื่องสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืน
3. บอกชนิดของเครื่องสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืน

### วิธีสอนและกิจกรรมการเรียนการสอน

1. การบรรยาย และอภิปราย
2. กิจกรรมกลุ่มในชั้นเรียน (Work@class)

### สื่อการสอน/อุปกรณ์การสอน

1. หนังสือ เคมีวิเคราะห์: หลักการและเทคนิคการคำนวณเชิงปริมาณ. สำนักพิมพ์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2563.
2. เอกสาร powerpoint
3. [http://web.rmutp.ac.th/woravith/?page\\_id=135](http://web.rmutp.ac.th/woravith/?page_id=135)
4. <http://facebook.com/chemographics>
5. <http://slideshare.net/woravith>

### การวัดผล

1. ประเมินจากกิจกรรมในชั้นเรียน
2. ประเมินจากกิจกรรมแบบฝึกหัด หรืองานที่มอบหมาย
3. ประเมินจากการสรุปประเด็นสำคัญ หรือการนำเสนอผลของการสืบค้นที่ได้รับมอบหมาย
4. ประเมินจากการสอบย่อยรายหน่วยเรียน

## หน่วยที่ 6 สเปกโทรสโกปีเบื้องต้น

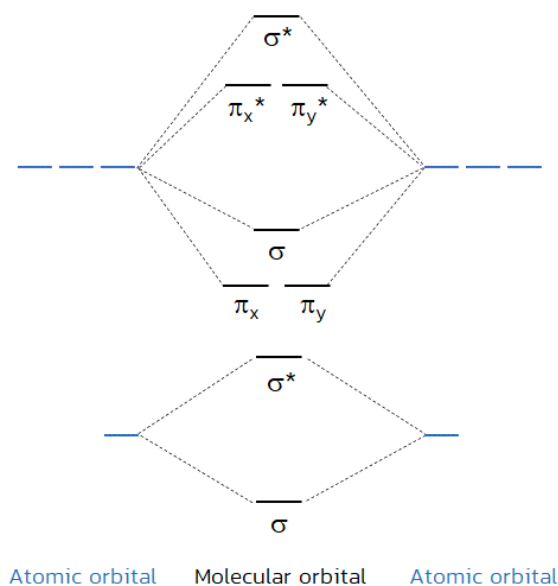
### บทเรียนที่ 6.2 เทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมตรี

วิธียูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมตรี (UV-vis spectrophotometry) เป็นเทคนิคการวิเคราะห์สารที่สามารถดูดกลืนแสงย่านยูวี-วิสิเบิลได้ กลไกการดูดกลืนเป็นอันตรกิริยาที่เกิดจากการแทนที่ชั้นของอิเล็กตรอนจากระดับพลังงานในสถานะพื้นไปยังสถานะกระตุ้น โดยลักษณะสเปกตรัมการดูดกลืนแสง (absorption spectrum) ขึ้นอยู่กับชนิดของพันธะหรืออนุภาคที่ดูดกลืนแสง (absorbing species) และการวิเคราะห์เชิงปริมาณจะอาศัยวิธีกราฟมาตรฐานความเข้มข้นตามกฎของเบียร์

#### 6.2.1 หลักการแทนที่ชั้นของอิเล็กตรอน

##### 1) การแทนที่ชั้นของซิกมาอิเล็กตรอน ไพอิเล็กตรอน และอิเล็กตรอนที่ไม่ได้สร้างพันธะ

ทฤษฎีออร์บิทัลเชิงโมเลกุล (molecular orbital theory) อธิบายถึงการซ้อนเหลื่อมของออร์บิทัลเชิงอะตอม (atomic orbital; AO) เกิดเป็นออร์บิทัลเชิงโมเลกุลแบบสร้างพันธะ (bonding molecular orbital; BMO) คือ ออร์บิทัลซิกมา ( $\sigma$ -orbital) และออร์บิทัลไพ ( $\pi$ -orbital) และเกิดเป็นออร์บิทัลเชิงโมเลกุลแบบต้านพันธะ (anti-bonding molecular orbital; AMO) คือ ออร์บิทัลแบบต้านพันธะซิกมา ( $\sigma^*$ -orbital) และออร์บิทัลแบบต้านพันธะไพ ( $\pi^*$ -orbital) ดังภาพที่ 6.16 ส่วนกรณีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวจะบรรจุในออร์บิทัลเชิงโมเลกุลแบบไม่สร้างพันธะ (non-bonding molecular orbital; n)



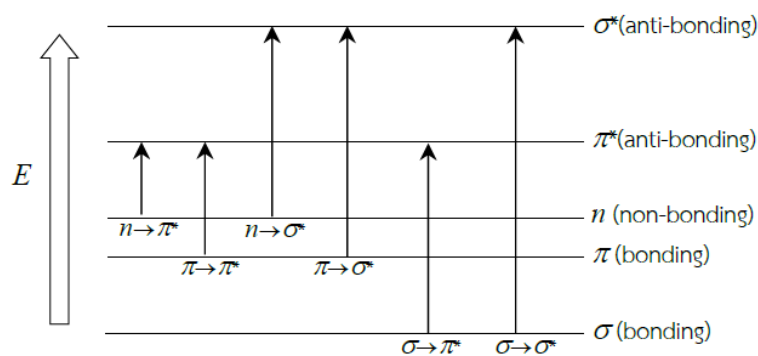
ภาพที่ 6.16 ออร์บิทัลเชิงโมเลกุล

การแทนที่ชั้นของอิเล็กตรอนจะเกิดขึ้นเมื่อมีการดูดกลืนรังสีที่มีระดับพลังงานแน่นอน อิเล็กตรอนที่เกิดแทนที่ชั้นเป็นอิเล็กตรอนวงนอกสุดที่สามารถหลุดจากวงโคจรได้ง่าย การแทนที่ชั้นของอิเล็กตรอนที่อาจเกิดขึ้นได้ในโมเลกุลสารอินทรีย์ แบ่งออกได้ 3 ประเภทดังนี้

- 1) อิเล็กตรอนที่ทำให้เกิดพันธะซิกมา ( $\sigma$ -bond) หรือเรียกว่า ซิกมาอิเล็กตรอน ( $\sigma$ -electron)
- 2) อิเล็กตรอนที่ทำให้เกิดพันธะไพ ( $\pi$ -bond) หรือเรียกว่า ไพอิเล็กตรอน ( $\pi$ -electron)
- 3) อิเล็กตรอนที่ไม่ได้สร้างพันธะ (non-bonding electron;  $n$ -electron)

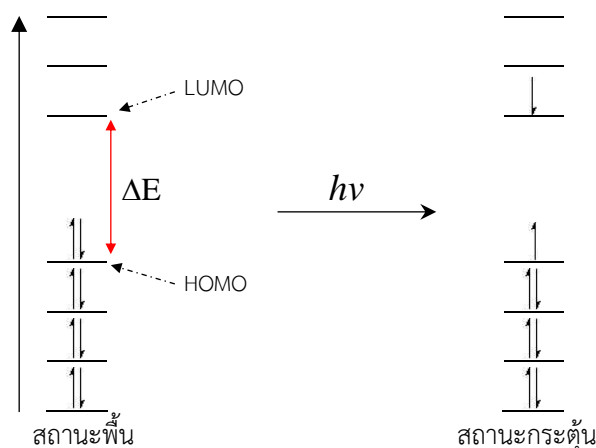
กรณีโมเลกุลสารอินทรีย์มีเฉพาะพันธะเดี่ยว อิเล็กตรอนจะบรรจุในออร์บิทัลซิกมาจึงเรียกเป็น ซิกมาอิเล็กตรอน ส่วนสารอินทรีย์ที่มีพันธะคู่และพันธะสาม อิเล็กตรอนจะบรรจุที่ออร์บิทัลไพจึงเรียกเป็นไพอิเล็กตรอน ส่วนออร์บิทัลที่ไม่ได้มีส่วนเกี่ยวข้องในการสร้างพันธะ ( $n$ -orbital) อิเล็กตรอนที่บรรจุในออร์บิทัลดังกล่าว เรียกว่า อิเล็กตรอนที่ไม่ได้สร้างพันธะ

สำหรับโมเลกุลสารอินทรีย์ที่มีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวที่ไม่ได้เกิดพันธะ เมื่อโมเลกุลดูดกลืนพลังงานย่านยูวี-วิสิเบิล อิเล็กตรอนจะเกิดแทรนซิชันจากสถานะพื้น ( $\sigma$ ,  $\pi$  และ  $n$ ) ไปยังสถานะกระตุ้น ( $\sigma^*$  และ  $\pi^*$ ) การแทรนซิชันอาจเกิดได้ทั้งหมด 6 แบบ ได้แก่  $\sigma \rightarrow \sigma^*$ ,  $\sigma \rightarrow \pi^*$ ,  $\pi \rightarrow \sigma^*$ ,  $\pi \rightarrow \pi^*$ ,  $n \rightarrow \sigma^*$  และ  $n \rightarrow \pi^*$  ดังภาพที่ 6.17



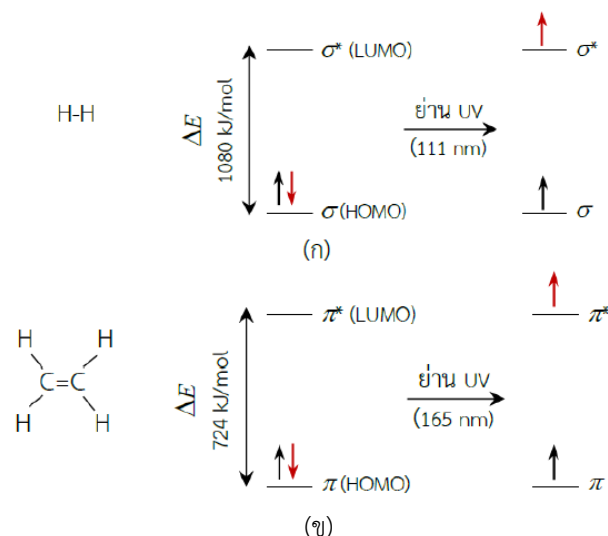
ภาพที่ 6.17 แผนภาพการแทรนซิชันของซิกมาอิเล็กตรอน ไพอิเล็กตรอน และอิเล็กตรอนที่ไม่ได้สร้างพันธะ

การแทรนซิชันของอิเล็กตรอนเป็นการกระตุ้นอิเล็กตรอนจากสถานะพื้นไปยังสถานะกระตุ้นซึ่งในสถานะพื้น ระดับพลังงานของออร์บิทัลเชิงโมเลกุลที่สร้างพันธะ (bonding molecular orbital) จะเป็นระดับที่สูงที่สุดที่อิเล็กตรอนสามารถครอบครองอยู่ได้ (highest occupied molecular orbital; HOMO) ส่วนในสถานะกระตุ้น ระดับพลังงานของออร์บิทัลเชิงโมเลกุลที่ต้านการสร้างพันธะ (antibonding molecular orbital) จะเป็นระดับที่ต่ำที่สุดที่ไม่มีอิเล็กตรอนครอบครองอยู่ได้ (lowest unoccupied molecular orbital; LUMO) ดังนั้นการแทรนซิชันของอิเล็กตรอนจึงเป็นการกระตุ้นอิเล็กตรอนจาก HOMO ไปยัง LUMO ดังภาพที่ 6.18



ภาพที่ 6.18 การแทนชั้ของอิเล็กตรอนจาก HOMO ไปยัง LUMO

จากแผนภาพการแทนชั้ (ภาพที่ 6.17) จะเห็นว่าผลต่างของระดับพลังงาน ( $\Delta E$ ) ของการแทนชั้จะแตกต่างกันตามประเภทของการแทนชั้ของอิเล็กตรอน เช่น  $n \rightarrow \pi^*$  และ  $\pi \rightarrow \pi^*$  จะมีค่าต่ำสุดเมื่อเทียบกับการแทนชั้ของอิเล็กตรอนแบบอื่นๆ ซึ่งผลต่างของระดับพลังงานเกี่ยวข้องกับพลังงานของโฟตอนที่ถูกดูดกลืนโดยสาร ภาพที่ 6.19 สารที่เกิดการแทนชั้ของอิเล็กตรอนแบบ  $\sigma \rightarrow \sigma^*$  จะมีผลต่างพลังงานจากการแทนชั้มากกว่า  $\pi \rightarrow \pi^*$  ซึ่งจะเห็นว่าช่วงความยาวคลื่นที่ถูกดูดกลืนของ  $H_2$  (111 nm) จะน้อยกว่า  $C_2H_4$  (165 nm)



ภาพที่ 6.19 แผนภาพการแทนชั้ของ (ก) แก๊สไฮโดรเจน ( $H_2$ ) และ (ข) เอทิลีน.

การแทนชั้ในสารอินทรีย์เรียงเป็นไปได้ 4 แบบ และตามลำดับพลังงานจากมากไปน้อยคือ  $\sigma \rightarrow \sigma^*$ ,  $n \rightarrow \sigma^*$ ,  $\pi \rightarrow \pi^*$  และ  $n \rightarrow \pi^*$  โดย ความยาวคลื่นที่พอเหมาะสำหรับการแทนชั้เกี่ยวข้องกับชนิดพันธะหรือหมู่ฟังก์ชัน (functional group) แสดงดังตารางที่ 6.10 ซึ่งส่วนใหญ่การแทนชั้ของอิเล็กตรอนในสารอินทรีย์ (ยกเว้นแอลเคน) จะเปลี่ยนระดับพลังงานได้มากกว่าหนึ่งแบบ การแทนชั้ที่สำคัญที่สุดคือ  $n \rightarrow \pi^*$  และ  $\pi \rightarrow \pi^*$  เนื่องจากการแทนชั้แบบนี้เกี่ยวข้องกับหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญซึ่งจะแสดงลักษณะเฉพาะของสารอินทรีย์ โดยชนิดพันธะหรือหมู่ฟังก์ชันที่ส่งผลให้มีการดูดกลืนรังสีย่านยูวี-วิสิเบิลมากขึ้น เรียกว่า โครโมฟอร์ (chromophore)



ตารางที่ 6.10 การแทนซีชันของอิเล็กตรอน

ประเภทแทนซีชัน	ช่วงความยาวคลื่น (nm)	ตัวอย่างหมู่ฟังก์ชัน
$\sigma \rightarrow \sigma^*$	<200	C-C, C-H
$n \rightarrow \sigma^*$	160 - 260	H <sub>2</sub> O, CH <sub>3</sub> OH, CH <sub>3</sub> Cl
$\pi \rightarrow \pi^*$	200 - 500	C=C, C=O, C=N, C $\equiv$ C
$n \rightarrow \pi^*$	250 - 600	C=O, C=N, N=N, N=O

#### การแทนซีชัน $\sigma \rightarrow \sigma^*$

การแทนซีชันของอิเล็กตรอนในออร์บิทัลเชิงโมเลกุลที่สร้างพันธะซิกมา ( $\sigma$ -bonding molecular orbital) ถูกกระตุ้นไปสู่ออร์บิทัลแบบต้านทานการสร้างพันธะ ( $\sigma^*$ -antibonding molecular orbital) โดยการดูดกลืนโฟตอนที่ทำให้เกิดการแทนซีชันของอิเล็กตรอนจาก  $\sigma \rightarrow \sigma^*$  มีค่ามาก (ภาพที่ 6.17) เช่น CH<sub>4</sub> เมื่อเกิดการแทนซีชันจาก  $\sigma \rightarrow \sigma^*$  จะดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 125 nm หรือ CH<sub>3</sub>CH<sub>3</sub> เมื่อเกิดการแทนซีชันจาก  $\sigma \rightarrow \sigma^*$  จะดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 135 nm ซึ่ง CH<sub>3</sub>CH<sub>3</sub> ใช้พลังงานในการดูดกลืนรังสีน้อยกว่า CH<sub>4</sub> เพราะว่าความแรงของพันธะ C-C น้อยกว่าพันธะ C-H การดูดกลืนเนื่องจากการแทนซีชัน  $\sigma \rightarrow \sigma^*$  พบในย่านยูวี การเกิดแทนซีชันแบบ  $\sigma \rightarrow \sigma^*$  จะต้องทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือในสถานะสุญญากาศ ซึ่งมีความยุ่งยากมาก จึงไม่นิยมใช้เทคนิคนี้ในการวิเคราะห์

#### การแทนซีชัน $n \rightarrow \sigma^*$

สารอินทรีย์ที่อะตอมมีอิเล็กตรอนแบบไม่สร้างพันธะ (non-bonding electron) สารประกอบที่ภายในโครงสร้างประกอบด้วยอะตอมออกซิเจน (O) ไนโตรเจน (N) ซัลเฟอร์ (S) และแฮโลเจน (F, Cl, Br) เป็นต้น ซึ่งอะตอมเหล่านี้จะมีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยว จะเกิดการแทนซีชันแบบ  $n \rightarrow \sigma^*$  การแทนซีชันแบบนี้ใช้พลังงานน้อยกว่า  $\sigma \rightarrow \sigma^*$  ช่วงความยาวคลื่นที่เกิดการแทนซีชันแบบ  $n \rightarrow \sigma^*$  จะมีค่า 150-250 nm การดูดกลืนรังสีเนื่องจากการแทนซีชันแบบ  $n \rightarrow \sigma^*$  พลังงานที่ใช้ในการแทนซีชันขึ้นกับชนิดของพันธะของอะตอมเป็นส่วนใหญ่ ไม่ขึ้นกับโครงสร้างของโมเลกุล สภาพดูดกลืนแสงต่อโมล ( $\epsilon$ ) มีค่าระหว่าง 100 ถึง 3000 dm<sup>3</sup>/cm ความยาวคลื่นที่ใช้ในการดูดกลืนแบบ  $n \rightarrow \sigma^*$  จะมีค่าลดลงเมื่ออยู่ในตัวทำละลายมีขั้ว เช่น น้ำ หรือเอทานอล

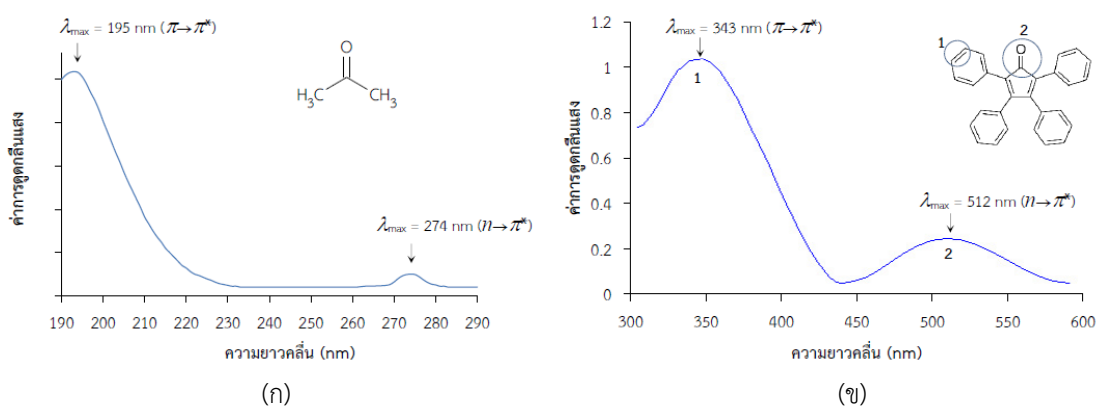
ตารางที่ 6.11 สารที่มีการดูดกลืนเนื่องจากการแทนซีชัน  $n \rightarrow \sigma^*$ 

สารประกอบ	ความยาวคลื่น (nm)	$\epsilon$ (dm <sup>3</sup> /cm)
H <sub>2</sub> O	167	1480
CH <sub>3</sub> OH	184	150
CH <sub>3</sub> Cl	173	200
CH <sub>3</sub> I	258	365
(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> S	229	140
(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> O	184	2,520
CH <sub>3</sub> NH <sub>2</sub>	215	600
(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> N	227	900

**การแทนขีชั้นแบบ  $n \rightarrow \pi^*$  และ  $\pi \rightarrow \pi^*$**

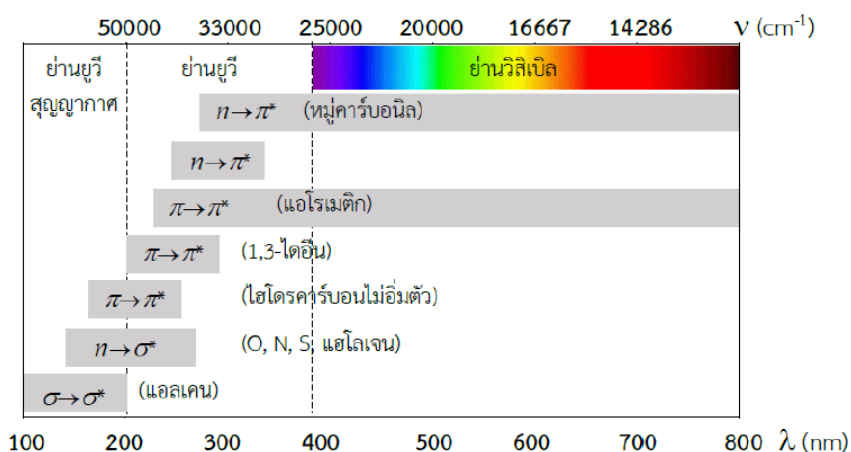
การดูดกลืนเนื่องจากการแทนขีชั้นแบบ  $n \rightarrow \pi^*$  และ  $\pi \rightarrow \pi^*$  จะมีพลังงานโฟตอนอยู่ในช่วงความยาวคลื่น 200 ถึง 800 nm ซึ่งการแทนขีชั้นแบบ  $n \rightarrow \pi^*$  และ  $\pi \rightarrow \pi^*$  เกี่ยวข้องกับหมู่โครโมฟอร์

โมเลกุลสารอินทรีย์ไม่อิ่มตัว เช่น แอลคีน แอลไคน์ และแอโรแมติก จะเกิดแทนขีชั้นแบบ  $\pi \rightarrow \pi^*$  ส่วนสารประกอบคาร์บอนิล เช่น กรดคาร์บอกซิลิก คีโตน แอลดีไฮด์ เอสเทอร์ และเอไมด์ ในโครงสร้างมีหมู่คาร์บอนิล (C=O) ซึ่งระหว่างอะตอมคาร์บอนและออกซิเจนมีพันธะคู่ และอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวจำนวนมากที่ตัวบนอะตอมออกซิเจน ทำให้เกิดแทนขีชั้นได้ 2 แบบ คือ  $\pi \rightarrow \pi^*$  และ  $n \rightarrow \sigma^*$  ส่วนการแทนขีชั้นแบบ  $n \rightarrow \pi^*$  จะเห็นในสเปกตรัมได้แต่มีความเข้มต่ำมาก ๆ ดังภาพที่ 6.20



ภาพที่ 6.20 สเปกตรัมการดูดกลืนของสารประกอบคาร์บอนิล (ก) แอซิโตน และ (ข) เทตระฟีนิลไซโคลเพนตะไดอีน

ช่วงความยาวคลื่นของการดูดกลืนแสงเนื่องจากการแทนขีชั้นของอิเล็กตรอนในแต่ละแบบ ขึ้นกับหมู่ฟังก์ชัน รูปร่างโมเลกุล และพันธะระหว่างโมเลกุลแต่ละชนิด แสดงดังภาพที่ 6.21



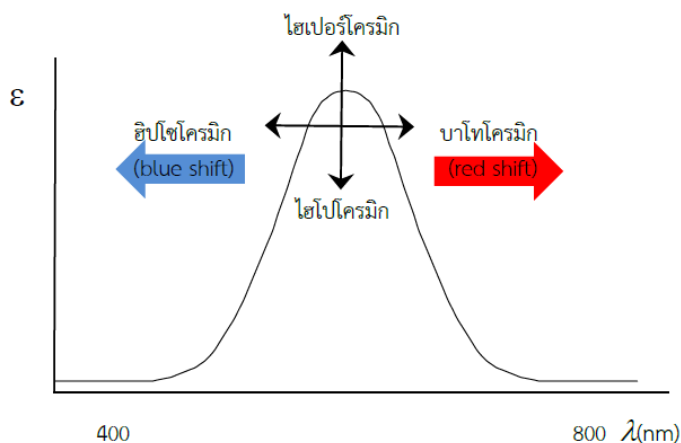
ภาพที่ 6.21 ย่านความยาวคลื่นของการดูดกลืนเนื่องจากการแทนขีชั้นของอิเล็กตรอน. ที่มาจาก เคมีวิเคราะห์: หลักการและเทคนิคการคำนวณเชิงปริมาณ (หน้า 374) โดย วรวิทย์ จันทร์สุวรรณ, 2563, สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

หมู่โครโมฟอร์ ของสารอินทรีย์บางชนิด มีค่าสภาพดูดกลืนแสงต่อโมลของสเปกตรัมที่เกิดจากการแทนที่ชั้นแบบ  $n \rightarrow \pi^*$  มีค่าน้อย อยู่ในช่วง 10-100  $\text{dm}^3/\text{cm}$  และการแทนที่ชั้นแบบ  $\pi \rightarrow \pi^*$  อยู่ในช่วง 100-10000  $\text{dm}^3/\text{cm}$  ดังตารางที่ 6.12

ตารางที่ 6.12 โครโมฟอร์สารอินทรีย์บางชนิด

ชนิด	ตัวอย่างโมเลกุล	การแทนที่ชั้น	$\lambda_{\text{max}}$ (nm)	$\epsilon$	ตัวทำละลาย
แอลคีน	$\text{CH}_2=\text{CH}_2$	$\pi \rightarrow \pi^*$	175	10,000	
	$\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}_2$	$\pi \rightarrow \pi^*$	217	20,900	<i>n</i> -hexane
	$\text{CH}_3-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_3$	$\pi \rightarrow \pi^*$	227	22,500	<i>n</i> -hexane
แอลไคน์	$\text{CH}_3-\text{C}\equiv\text{CH}$	$\pi \rightarrow \pi^*$	186.5	450	cyclohexane
	$\text{C}_5\text{H}_{11}\text{C}\equiv\text{C}-\text{CH}_3$	$\pi \rightarrow \pi^*$	178	10,000	<i>n</i> -heptane
			196	2,000	
คาร์บอนิล	$(\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{O}$	$n \rightarrow \pi^*$	280	15	<i>n</i> -hexane
		$\pi \rightarrow \pi^*$	190	1,100	cyclohexane
		$n \rightarrow \sigma^*$	186	strong	<i>n</i> -hexane
		$n \rightarrow \pi^*$	324	24	alcohol
คาร์บอกซิลิก	$\text{CH}_2=\text{CH}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_3$	$\pi \rightarrow \pi^*$	219	3,600	
	$\text{CH}_3\text{COOH}$	$n \rightarrow \pi^*$	204	41	ethanol
เอไมด์	$\text{CH}_3-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{NH}_2$	$n \rightarrow \pi^*$	214	60	water
เอโซ	$\text{CH}_3\text{N}=\text{NCH}_3$	$n \rightarrow \pi^*$	339	5	ethanol
ไนโตร	$\text{CH}_3\text{NO}_2$	$n \rightarrow \pi^*$	280	22	<i>iso</i> -octane
แอลเคน	$\text{CH}_4$	$\sigma \rightarrow \sigma^*$	121.9	strong	vapor
	$\text{CH}_3-\text{CH}_3$	$\sigma \rightarrow \sigma^*$	135	strong	vapor
แอลคิลแฮไลด์	$\text{CH}_3-\text{Cl}$	$\sigma \rightarrow \sigma^*$	172.5	weak	vapor
	$\text{CH}_3-\text{Br}$	$\sigma \rightarrow \sigma^*$	204	200	vapor
	$\text{CH}_3-\text{I}$	$\sigma \rightarrow \sigma^*$	257.5	365	<i>n</i> -pentane
แอลกอฮอล์	$\text{CH}_3-\text{O}-\text{H}$	$n \rightarrow \sigma^*$	183.5	150	vapor
อีเทอร์	$\text{CH}_3-\text{O}-\text{CH}_3$	$n \rightarrow \sigma^*$	183.8	2,520	vapor

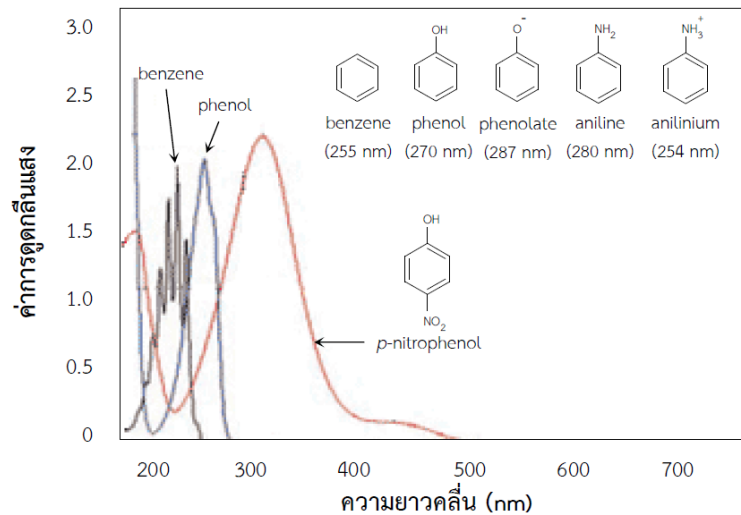
ออกโซโครม (auxochrome) คือหมู่แทนที่มาเกาะที่โครโมฟอร์ ของโมเลกุลสารอินทรีย์ เช่น อะมิโน ( $-\text{NH}_2$ ), ไฮดรอกซิล ( $-\text{OH}$ ), ไนโตร ( $-\text{NO}_2$ ), คาร์บอนิล ( $-\text{C}=\text{O}$ ), แฮไลด์ ( $-\text{Cl}$ ,  $-\text{Br}$ ) เป็นต้น โดยที่หมู่ออกโซโครม ไม่ดูดกลืนแสง แต่จะมีผลส่งเสริมให้โมเลกุลที่มีหมู่ออกโซโครมมาเกาะนั้นดูดกลืนรังสีที่มีความยาวคลื่นมากขึ้น หรือความเข้มของรังสีมากขึ้น จำแนกเป็น คือบาโทโครมิก (bathochromic หรือ red-shift) ฮิปโซโครมิก (hypsochromic หรือ blue shift) ไฮเปอร์โครมิก (hyperchromic) และไฮโปโครมิก (hypochromic) ดังภาพที่ 6.22 และตัวอย่างผลของออกโซโครมสรุปได้ดังตารางที่ 6.13



ภาพที่ 6.22 ผลของสเปกตรัมที่เกิดบาโทโครมิก ชิฟต์โครมิก ไฮเปอร์โครมิก และไฮโปโครมิก

### ตารางที่ 6.13 ผลของหมู่ออกซิโครม

ชื่อ	ผล	ตัวอย่าง
บาโทโครมิก	หมู่ออกซิโครมที่เกาะบนโครโมฟอร์ ทำให้การดูดกลืนแสงมีแนวโน้มไปทางความยาวคลื่นที่มากขึ้น	เบนซีน ( $C_6H_6$ ) ดูดกลืนรังสียูวี จะเกิดการแทนที่ของอิเล็กตรอนแบบ $\pi \rightarrow \pi^*$ สเปกตรัมมี $\lambda_{max}$ สองตำแหน่ง คือ 203.5 nm ( $\epsilon \sim 7,400$ ) และ 255 nm ( $\epsilon \sim 204$ ) (ดังภาพที่ 6.21) เมื่อมีหมู่แทนที่มาเกาะ <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ แอนิลีน (aniline) ซึ่งมีหมู่อะมิโน (<math>-NH_2</math>) ส่งผลให้สเปกตรัมมี <math>\lambda_{max}</math> มากขึ้นเป็น 280 nm (<math>\epsilon \sim 8,600</math>)</li> <li>▪ พาราไนโตรฟินอล (<i>p</i>-nitrophenol) ซึ่งมีหมู่ไนโตร (<math>-NO_2</math>) มี <math>\lambda_{max}</math> มากขึ้นเป็น 320 nm</li> </ul>
ชิฟต์โครมิก	หมู่ออกซิโครมที่เกาะบนโครโมฟอร์ ทำให้ดูดกลืนรังสีที่ความยาวคลื่นสั้นลง	แอนิลีนในสภาพที่เป็นกรดมี $\lambda_{max} = 280$ nm เมื่อเกิดเป็นไอออนแอนิลีนเนียม (anilinium ion) ซึ่งบนอะตอมไนโตรเจนจะไม่มีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวที่จับคู่ (conjugate) กับพันธะไพของแอมโรแมติก ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานของอิเล็กตรอนแบบ $\pi \rightarrow \pi^*$ มีความยาวคลื่นสั้นลงเป็น 254 nm เมื่อเทียบกับแอนิลีน ดังภาพที่ 6.23
ไฮเปอร์โครมิก	การเลื่อนสเปกตรัมที่ทำให้ความเข้มของแสงที่ถูกดูดกลืนหรือมีค่าสภาพดูดกลืนแสงต่อโมลมากขึ้น เมื่อมีหมู่แทนที่เกาะบนโครโมฟอร์	ไพริดีน (pyridine) มี $\lambda_{max}$ ที่ 257 nm ( $\epsilon \sim 2,750$ ) เมื่อมีหมู่แทนที่เป็น 2-เมทิลไพริดีน (2-methyl pyridine) มี $\lambda_{max}$ มากขึ้นเล็กน้อย 260 nm แต่มี $\epsilon$ สูงขึ้นเกือบสองเท่า
ไฮโปโครมิก	การเลื่อนสเปกตรัมที่ทำให้ความเข้มของแสงที่ถูกดูดกลืนหรือสภาพดูดกลืนแสงต่อโมลน้อยลง เมื่อมีหมู่แทนที่เกาะบนโครโมฟอร์	แนฟทาลีน (naphthalene) มี $\lambda_{max}$ ที่ 235 nm และมีสภาพดูดกลืนแสงต่อโมล $\sim 19,000$ เมื่อมีหมู่แทนที่เป็น 2-เมทิลแนฟทาลีน (2-methyl naphthalene) มี $\lambda_{max}$ มากขึ้นเล็กน้อย 260 nm แต่มี $\epsilon$ ลดลงเป็น $\sim 10,250$



ภาพที่ 6.23 ผลของออกโซโครมบนเบนซีน. ดัดแปลงจาก The relationship between UV-vis absorption and structure of organic compounds. สืบค้นจาก <https://www.shimadzu.com/an/uv/support/uv/ap/apl.html>

## 2) การถ่ายโอนประจุอิเล็กตรอน

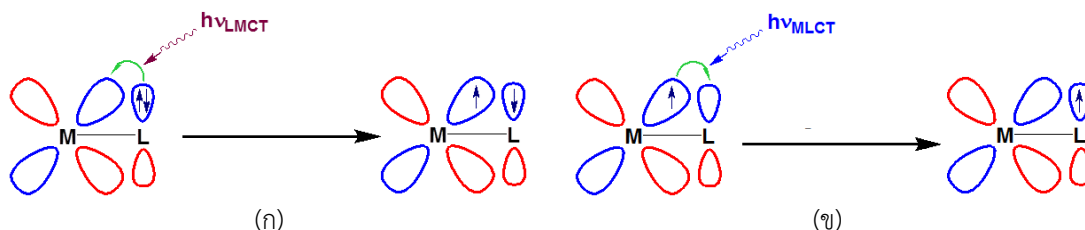
การถ่ายโอนประจุอิเล็กตรอน (electron charge transfer) คือการถ่ายโอนประจุอิเล็กตรอนระหว่างโลหะอะตอมกลางซึ่งเป็นตัวให้อิเล็กตรอน (electron donor) กับลิแกนด์ซึ่งเป็นตัวรับอิเล็กตรอน (electron acceptor) ทำให้เกิดสเปกตรัมถ่ายโอนประจุ (charge transfer band) ขึ้น ซึ่งจะพบเห็นได้จากการเกิดสีของไอออนเชิงซ้อนของโลหะทรานซิชัน เนื่องจากอิเล็กตรอนที่อยู่ในออร์บิทัลดี ( $d$ -orbital) ที่ระดับพลังงานต่ำกว่าถูกกระตุ้นไปยังออร์บิทัลที่มีพลังงานสูงกว่า โดยย่านที่ดูดกลืนจะเป็นย่านวิสิเบิล และสีของไอออนเชิงซ้อนจะเป็นสีที่มองเห็น

สเปกตรัมการถ่ายโอนประจุอิเล็กตรอนเป็นการถ่ายโอนอิเล็กตรอนภายในโมเลกุลระหว่างโลหะกับลิแกนด์ ทำให้มีพลังงานสูงชันและจะมีค่าสภาพดูดกลืนแสงต่อโมลสูง ( $>50,000$ ) (Mohapatra & Parida, 2017, Bonardi, 2018) ซึ่งเกิดขึ้นได้สองแบบคือ

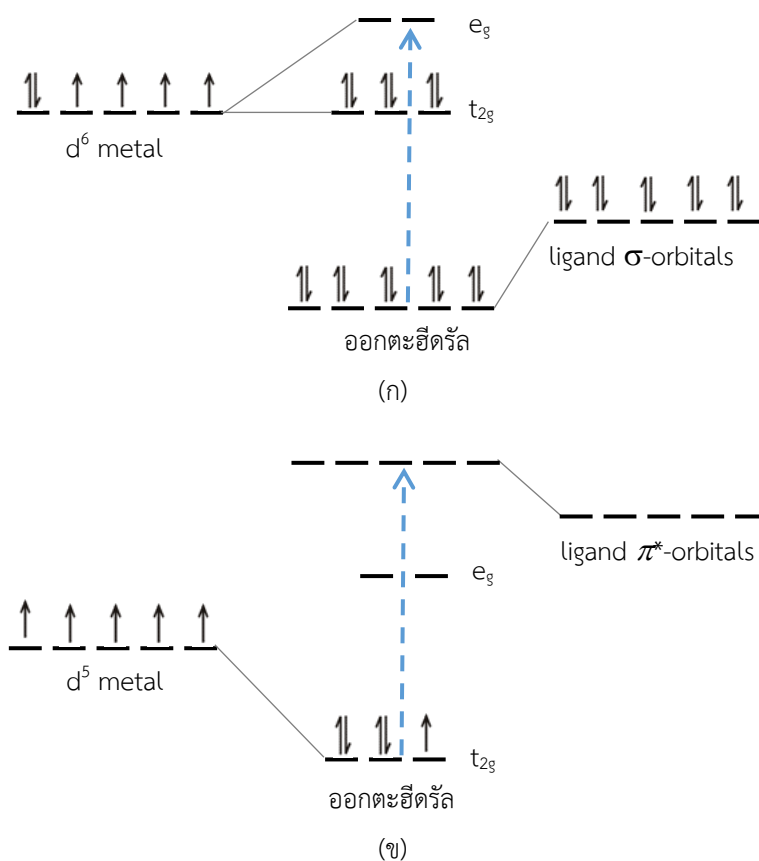
1) การถ่ายโอนอิเล็กตรอนจากลิแกนด์ไปยังโลหะ (ligand to metal charge transfer; LMCT) ดังภาพที่ 6.24 (ก) โดยสเปกตรัมถ่ายโอนประจุเกี่ยวข้องกับการถ่ายโอนอิเล็กตรอนจากออร์บิทัล  $\pi^*$  ของลิแกนด์ (ที่ครอบครองในออร์บิทัลแบบเต็มหรือบางส่วน) ไปยังออร์บิทัลดีของโลหะ จากแผนภาพ LMCT ภาพที่ 6.25 (ก) เมื่อออร์บิทัลของลิแกนด์มีอิเล็กตรอนครอบครองเต็มในซิกมาออร์บิทัล สเปกตรัมการถ่ายโอนประจุอิเล็กตรอนเกิดขึ้นได้เนื่องจากอิเล็กตรอนของลิแกนด์ถ่ายโอนไปยังออร์บิทัลที่ว่างหรือที่ยังไม่เต็มของอะตอมโลหะ

2) การถ่ายโอนอิเล็กตรอนจากโลหะไปยังลิแกนด์ (metal to ligand charge transfer; MLCT) ดังภาพที่ 6.24 (ข) โดยสเปกตรัมถ่ายโอนประจุเกี่ยวข้องกับการถ่ายโอนอิเล็กตรอนจากออร์บิทัลดี (ที่ครอบครองในออร์บิทัลแบบเต็มหรือบางส่วน) ของโลหะไปยังออร์บิทัล- $\pi^*$  ที่ว่างหรือยังไม่เต็มของลิแกนด์ ดังภาพที่ 6.25 (ข) ซึ่งไอออนของโลหะสามารถดูดกลืนแสงย่านวิสิเบิลเนื่องจากการทรานซิชันของเวเลนซ์อิเล็กตรอนของไอออนโลหะในออร์บิทัลดีในไอออนโลหะอิสระ (free metal ion) ออร์บิทัลดีทั้งหมด 5 ออร์บิทัลจะมีพลังงานเท่ากัน (degenerated  $d$ -orbitals) แต่เมื่อเกิดเป็นไอออนเชิงซ้อนระหว่างไอออนโลหะกับลิแกนด์ ออร์บิทัลดีจะแยกระดับพลังงานเป็นสองกลุ่มคือ กลุ่มที่มีระดับพลังงานสูงกว่ามี 2 ออร์บิทัล เรียกว่า อีจี ( $e_g$ ) และกลุ่มที่มีระดับพลังงาน

ต่ำกว่า มี 3 ออร์บิทัล เรียกว่า ทีทูจี ( $t_{2g}$ ) สเปกตรัมดูดกลืนแสงจะสัมพันธ์กับพลังงานที่ใช้ในการกระตุ้นอิเล็กตรอนจากระดับ  $t_{2g}$  ไปยัง  $e_g$  โดยผลต่างของระดับพลังงาน ( $\Delta E$ ) จะมากหรือน้อยขึ้นกับธรรมชาติของโลหะแทรนซิชัน เลขออกซิเดชันของโลหะ และธรรมชาติของลิแกนด์

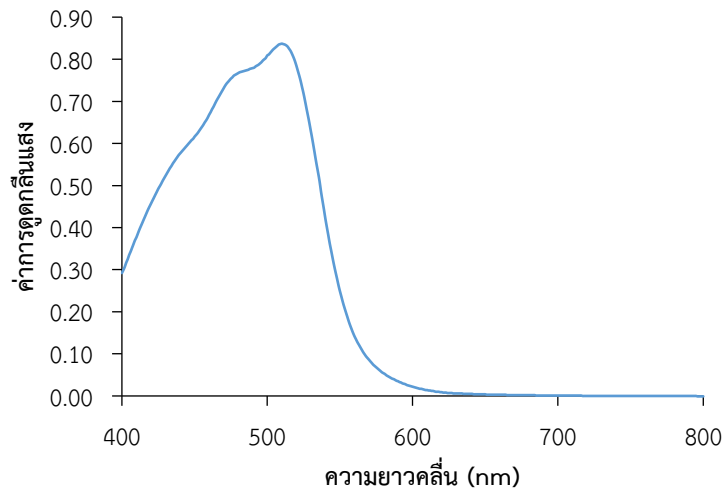


ภาพที่ 6.24 แผนภาพการถ่ายโอนอิเล็กตรอน (ก) จากลิแกนด์ไปยังโลหะ และ (ข) จากโลหะไปยังลิแกนด์. ที่มาจาก *Inorganic Chemistry* by G.L. Miessler, P.J. Fischer, & D.A. Tarr, 2010, Prentice-Hall/Pearson.



ภาพที่ 6.25 แผนภาพการถ่ายโอนประจุอิเล็กตรอน (ก) LMCT และ (ข) MLCT

ตัวอย่างไอออนเชิงซ้อนที่ถ่ายโอนประจุอิเล็กตรอน เช่น ไอออนเชิงซ้อนระหว่างเหล็ก(II) กับ 1,10-ฟีแนนโทรลีน ซึ่งมีสเปกตรัมดูดกลืนแสง แสดงดังภาพที่ 6.26 โดยที่เกิดการถ่ายโอนประจุอิเล็กตรอนจากลิแกนด์ไปยังโลหะ



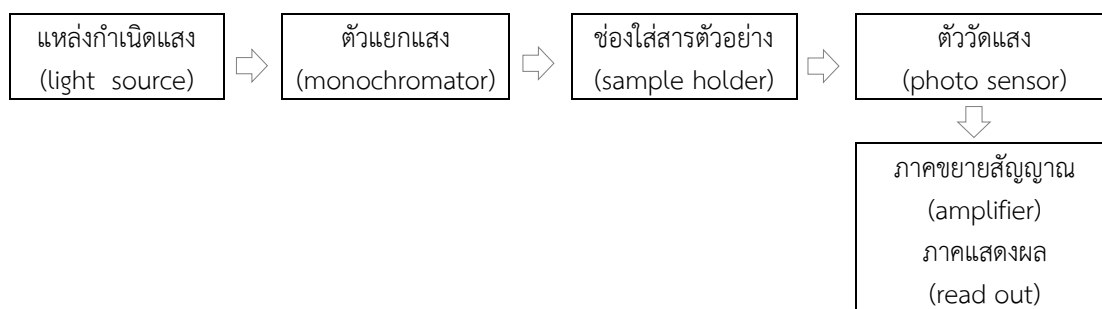
ภาพที่ 6.26 สเปกตรัมดูดกลืนแสงของไอออนเชิงซ้อนของเหล็ก-พีแนนโทรลีน. วัดด้วยเครื่อง UV-1700 Shimadzu โดยผู้แต่ง, 2563.

### 3) การแทนชั้ในออร์บิทัลดี และออร์บิทัลเอฟ

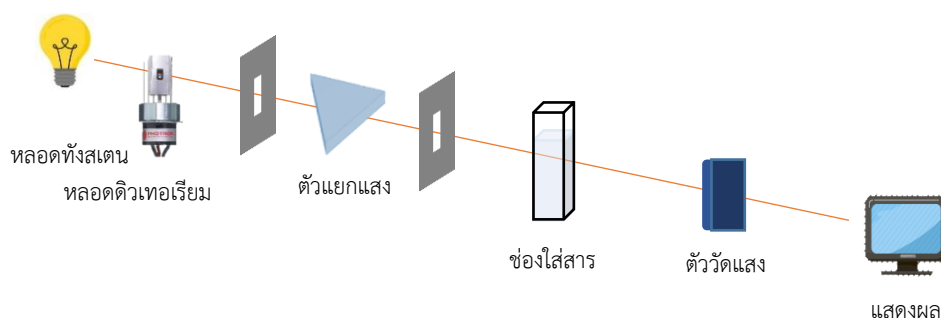
ไอออนเชิงซ้อนของโลหะแทนชั้จะสามารถเกิดการแทนชั้ในออร์บิทัลดี ( $d-d$  transition) เมื่อมีการกระตุ้นอิเล็กตรอนที่อยู่ในออร์บิทัลดีด้วยโฟตอน ให้ไปอยู่ในออร์บิทัลดีที่มีระดับพลังงานสูงกว่า แต่การเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานแบบ  $d-d$  มีโอกาสเกิดขึ้นได้น้อยมาก จึงมีแถบการดูดกลืนแสงต่ำและความเข้มสีของสารละลายค่อนข้างต่ำ ยกเว้น ไอออนเชิงซ้อนของโลหะที่เป็น  $d^0$  และ  $d^{10}$  อย่างไรก็ตาม การแทนชั้ของอิเล็กตรอนแบบออร์บิทัล  $d-d$  สามารถเกิดขึ้นได้ทั้งย่านยูวีและวิสิเบิล แต่เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานต้องห้ามจึงทำให้มีความเข้มต่ำ โดยสีของสารละลายไอออนเชิงซ้อนของโลหะแทนชั้จะขึ้นกับชนิดโลหะ สถานะออกซิเดชันของโลหะ และจำนวนอิเล็กตรอนในออร์บิทัลดีของโลหะ เช่น ไอออนเชิงซ้อนของ  $\text{Fe}^{2+}$  มีสีเขียว แต่  $\text{Fe}^{3+}$  มีสีส้มหรือสีน้ำตาล

### 6.2.2 เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์แบบดูดกลืน

เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer) เรียกว่า เครื่องยูวี-วิสิเบิล (UV-vis) ซึ่งเป็นเครื่องมือสำหรับวัดการดูดกลืนแสงของสารที่สามารถดูดกลืนแสงได้ในช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 200 ถึง 800 nm โดยทั่วไปมีองค์ประกอบพื้นฐานที่เหมือนกันคือ แหล่งกำเนิดแสง (light source) แสงส่องเข้า (entrance slit) ช่องแสงออก (exit slit) ตัวแยกแสง (monochromator) ช่องใส่สารตัวอย่าง (sample holder) ตัววัดแสง (photo sensor) ภาควิทยาสัญญาณ (amplifier) และภาคแสดงผล (read out) ภาพที่ 6.27 และ 6.28



ภาพที่ 6.27 แผนภาพส่วนประกอบหลักของเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์. โดยผู้แต่ง, 2563.



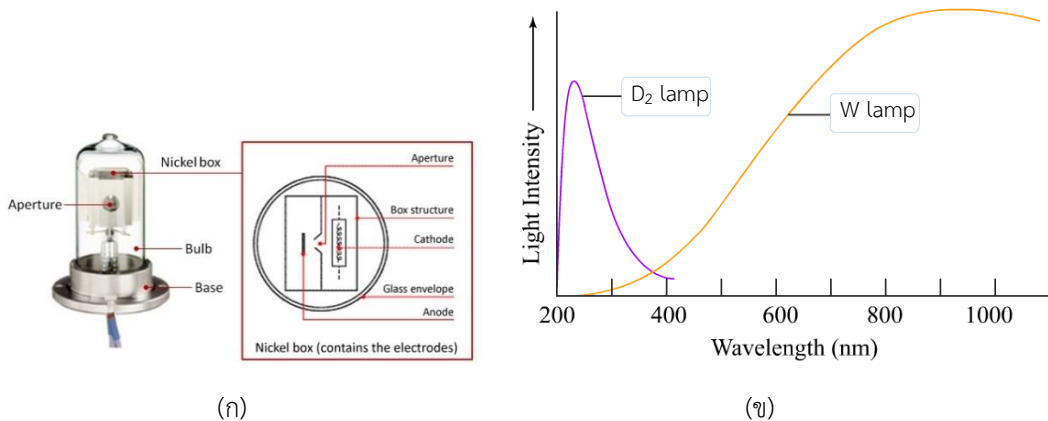
ภาพที่ 6.28 ส่วนประกอบหลักของเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์. โดยผู้แต่ง, 2563.

1) แหล่งกำเนิดแสง (light source) เป็นส่วนกำเนิดแสงที่ต้องมีความเข้มแสงคงที่และแบบต่อเนื่อง (continuous source) จะเปล่งแสงที่มีการเปลี่ยนแปลงความเข้มของแสงอย่างช้า ๆ ตามฟังก์ชันของความยาวคลื่น แสงที่เปล่งออกมาจะมีช่วงกว้างของความยาวคลื่น แหล่งกำเนิดแสงแบบต่อเนื่องที่นิยมใช้ในเทคนิคยูวี-วิสิเบิลมีหลายชนิดตามความยาวของคลื่นแสงที่เปล่งออกมา ดังตารางที่ 6.14



ตารางที่ 6.14 แหล่งกำเนิดแสงแบบต่อเนื่องที่นิยมใช้ในเทคนิคยูวี-วิสิเบิล

แหล่งกำเนิดแสง	ช่วงความยาวคลื่น	คำอธิบาย
หลอดทังสเตน (tungsten) 	320-2,200 nm	แหล่งกำเนิดแสงที่นิยมใช้มากในช่วงคลื่นแสงวิสิเบิล เนื่องจากมีราคาถูก ให้แสงที่มีความเข้มคงที่ ใส้หลอดทังสเตนเมื่อถูกทำให้ร้อนประมาณ 2,870 K จะเกิดการเปลี่ยนสถานะของอิเล็กตรอนทำให้เกิดการปล่อยแสงช่วง 200 ถึง 20,000 nm แต่เนื่องจากเป็นแก๊วธรรมดา แสงที่สูงกว่า 2,500 nm และที่ต่ำกว่า 300 nm จึงถูกดูดกลืนไว้ ลักษณะสเปกตรัมของหลอดทังสเตนแสดงดังภาพที่ 6.29 (ข)
หลอดไฮโดรเจน (H <sub>2</sub> ) หรือ หลอดดิวทีเรียม (D <sub>2</sub> ) 	160-380 nm	เป็นหลอดที่ประกอบด้วยขั้วแอโนด (บวก) ขั้วแคโทด (ลบ) และแผ่นความร้อนบรรจุอยู่ในกระเปาะควอตซ์ที่บรรจุไว้ด้วยแก๊ส H <sub>2</sub> หรือ D <sub>2</sub> ที่ความดันต่ำ เมื่อปล่อยกระแสไฟฟ้าให้แผ่นความร้อนรอบ ๆ ขั้วแคโทดจนอุณหภูมิสูงประมาณ 3000°C ขั้วแคโทดจะเริ่มปล่อยอิเล็กตรอนออกมา ดังภาพที่ 6.29 (ก) หลังจากนั้นกระแสไฟฟ้าจะถูกตัดออกจากแผ่นความร้อนแต่จะจ่ายกระแสไฟฟ้าให้ขั้วลบแทน โวลต์ที่สูงนี้จะทำให้เกิดการกระโดด (arc) ของอิเล็กตรอนระหว่างขั้วบวกและขั้วลบ เป็นผลให้อิเล็กตรอนของแก๊สอยู่ในสถานะกระตุ้น เมื่อพลังงานของอิเล็กตรอนลดลง อิเล็กตรอนจะกลับสู่สถานะพื้น พร้อม ๆ กับปล่อยแสงในช่วงความยาวคลื่นช่วง 180 ถึง 350 nm ออกมา ลักษณะสเปกตรัมของหลอดดิวทีเรียมแสดงดังภาพที่ 6.29 (ข)
หลอดทังสเตนแฮโลเจน (W halogen) 	240-2,500 nm	เป็นแหล่งกำเนิดแสงที่พัฒนามาจากหลอดทังสเตน โดยการเติมธาตุกลุ่มแฮโลเจน (ไอโอดีน) ในกระเปาะหลอดไฟ และใช้ควอตซ์ทำกระเปาะหลอดไฟแทนแก้ว โดยที่ควอตซ์มีความบริสุทธิ์สูงจึงดูดกลืนแสงในช่วง 300-400 nm ได้น้อย ประกอบกับสามารถทนความร้อนได้มากกว่าแก้วมาก จึงสามารถเพิ่มความเข้มของแสงได้

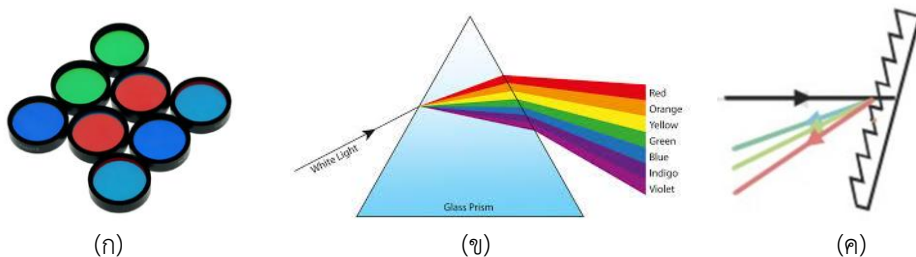


ภาพที่ 6.29 แหล่งกำเนิดแสง (ก) แผนภาพวงจรหลอดดิวทีเรียม และ (ข) สเปกตรัมของหลอดดิวทีเรียมและทังสเตน

2) ตัวแยกแสง (wavelength selector) เป็นอุปกรณ์ทำหน้าที่แยกแสงหลายสีหรือหลายความยาวคลื่น (polychromatic radiation) ให้เป็นแสงสีเดียว (monochromatic radiation) ซึ่งต้องการให้ผลลัพธ์จากตัวแยกแสงทำให้แสงแยกออกมาเป็นเพียงความยาวคลื่นเดียว แต่ในทางปฏิบัติไม่มีตัวแยกแสงใดที่ทำให้ได้รังสีเดียวเพียงความยาวคลื่นเดียวเท่านั้น แต่จะทำให้ได้ช่วงของความยาวคลื่นที่ต่อเนื่องกันอย่างแคบ ๆ ที่เรียกว่า แถบ (band)

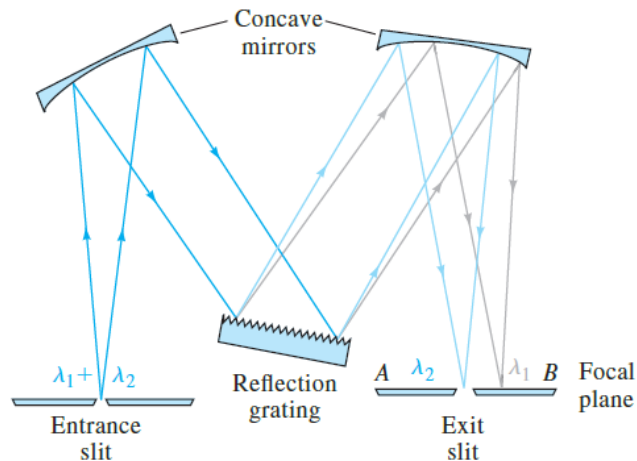
เครื่องยูวี-วิสิเบิลจึงใช้ตัวแยกแสงเดี่ยว (monochromator) เพื่อทำการแยกแสงจากแหล่งกำเนิดแสงแบบต่อเนื่องให้เป็นช่วงความยาวคลื่นแคบ ๆ ที่ต้องการ ตัวแยกแสงเดี่ยวที่นิยมใช้ในเครื่องยูวี-วิสิเบิลมีอยู่ 3 ชนิดคือ

- ตัวกรองแสง (filter) เป็นกระจกสีที่สามารถคัดเลือกช่วงความยาวคลื่น ดังภาพที่ 6.30 (ก) แต่ไม่นิยมใช้ในเครื่องยูวี-วิสิเบิล เนื่องจากค่อนข้างยุ่งยากในการใช้งานและการแยกแสงได้ช่วงกว้าง
- ปริซึม (prism) อาศัยหลักการแยกตามความแตกต่างของดัชนีหักเห (refractive index) ของแต่ละความยาวคลื่น ดังภาพที่ 6.30 (ข)
- เกรตติง (grating) เป็นแผ่นโลหะที่มีร่องขนาดเล็กมาก ๆ ขนานกันจำนวน 600-2,000 ร่องต่อมิลลิเมตร ดังภาพที่ 6.30 (ค)



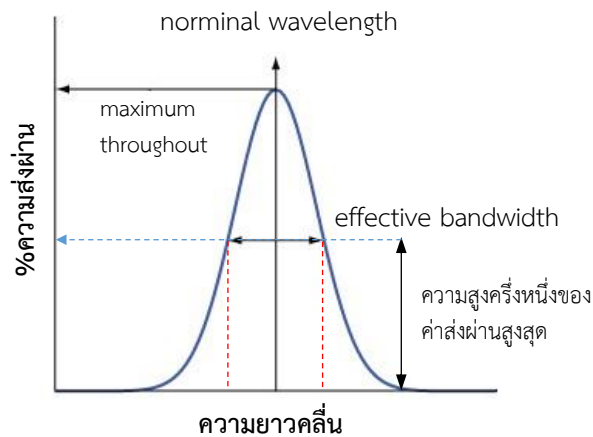
ภาพที่ 6.30 ชนิดตัวแยกแสงเดี่ยว (ก) ตัวกรองแสง (ข) ปริซึม และ (ค) เกรตติง

เครื่องยูวี-วิสิเบิลในรุ่นเก่า ๆ จะใช้ตัวกรองแสง หรือปริซึมเป็นตัวแยกแสงเดี่ยว แต่ในเครื่องยูวี-วิสิเบิลรุ่นใหม่จะนิยมใช้เกรตติงแบบสะท้อนแสง (reflection grating) โดยเกรตติงชนิดอีเชล (echelle grating) นิยมใช้มากในปัจจุบัน (ภาพที่ 6.31) เนื่องจากมีราคาถูก การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิมีผลกระทบน้อยมาก การเกิดแสงสีเดียวไม่ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของสารที่ใช้ทำเกรตติง ระยะห่างระหว่างลำแสงเดี่ยวที่เกิดขึ้นเท่ากันทำให้สะดวกต่อการออกแบบสร้างเครื่องมือ และความกว้างของลำแสงไม่เปลี่ยนแปลงตามความยาวคลื่นที่ใช้งาน



ภาพที่ 6.31 ประเภทตัวแยกแสงเดี่ยวแบบเกรตติง. ดัดแปลงจาก *Principles of Instrumental Analysis* (p.165) by D.A. Skoog, F.J. Holler, & S.R. Crouch, 2016. Brooks/Cole Publishing.

ความยาวคลื่นของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่ต่างกันจะถูกแยกโดยการหมุนเกรตติงผ่านออกช่องแคบทางออก (exit slit) ความยาวคลื่นที่ผ่านตัวแยกแสงเดี่ยว เรียกว่า แถบแสงผ่าน (spectral band pass) หรือ ความกว้างของแถบแสงใช้งาน (effective bandwidth) โดยความกว้างของแถบแสงใช้งานเป็นสมบัติหนึ่งของความส่องผ่าน เกรตติงที่มีคุณภาพสูงมาก จะสามารถแยกแสงเดี่ยวได้ถึงระดับน้อยกว่า 1 nm

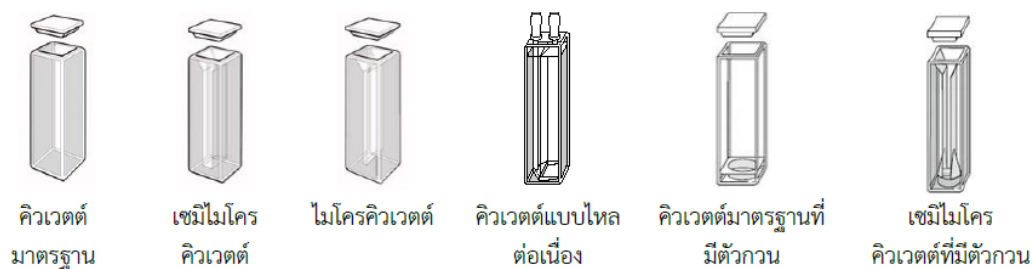


ภาพที่ 6.32 ความกว้างของแถบแสงใช้งาน

3) ช่องแสงผ่าน (slit) เป็นอุปกรณ์ที่ใช้ควบคุมปริมาณแสงที่เข้าสู่ตัวแยกแสงหรือแสงที่ออกจากตัวแยกแสง ช่องแสงผ่านประกอบด้วยโลหะขอบบาง 2 แผ่น วางขนานกันในระนาบเดียวกัน ระยะห่างระหว่างช่องแสงอาจคงที่หรือปรับเปลี่ยนได้ด้วยกลไก

- ช่องแสงเข้า (entrance slit) เป็นช่องที่รับแสงจากแหล่งกำเนิดแสงส่องผ่านเลนส์ทำแสงขนาน (collimating lens) เพื่อให้ลำแสงเป็นลำแสงขนานก่อนตกกระทบตัวแยกแสง
- ช่องแสงออก (exit slit) เป็นทางผ่านของแสงรังสีเดี่ยวไปสู่สารตัวอย่าง ความกว้างช่องแสงออก (slit width) ถ้ายังมีค่าน้อยยิ่งเพิ่มกำลังแยกความยาวคลื่นแสงที่ต้องการออกจากความยาวคลื่นแสงอื่นได้

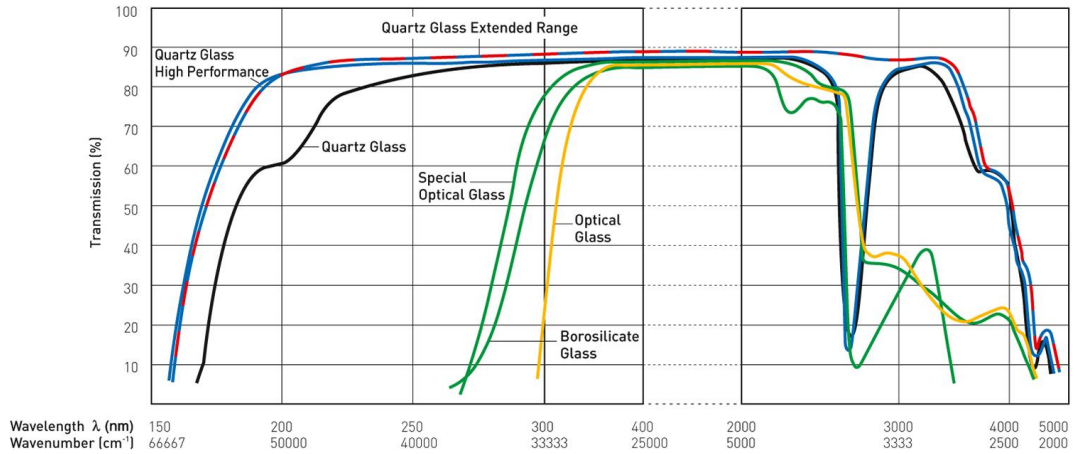
4) ช่องใส่ตัวอย่าง (sample holder) เป็นหน้าต่างบรรจุสารละลายตัวอย่างที่ให้แสงความยาวคลื่นเดี่ยวที่ผ่านจากตัวแยกแสงผ่านไปสัมผัสกับสารตัวอย่าง นิยมเรียกอุปกรณ์ที่ใส่ในช่องตัวอย่างว่า เซลล์ (cell) หรือคิวเวตต์ (cuvette) ลักษณะทั่วไปของคิวเวตต์มีหลายขนาดและปริมาตรบรรจุ ดังภาพที่ 6.33 วัสดุที่ใช้ทำคิวเวตต์มีหลายชนิด เช่น แก้ว ควอตซ์ และพลาสติก สมบัติทั่วไปของวัสดุที่ใช้ทำคิวเวตต์ ดังตารางที่ 6.15 การเลือกใช้คิวเวตต์ต้องพิจารณาปัจจัยของธรรมชาติของวัสดุที่จะมีผลต่อการดูดกลืนแสงด้วยดังสเปกตรัมการดูดกลืน แสดงดังภาพที่ 6.34



ภาพที่ 6.33 ลักษณะทั่วไปของคิวเวตต์

ตารางที่ 6.15 วัสดุและสมบัติของคิวเวตต์

วัสดุ	สมบัติ
แก้ว (glass)	เป็นแก้วชนิดโบโรซิลิเกต เนื่องจากมีความแข็ง ทนต่อการขีดข่วนได้ดีและทนความร้อนได้สูง ข้อเสียคือดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 270 nm ได้เกือบ 100% และดูดกลืนแสงประมาณครึ่งหนึ่ง (50%T) ที่ความยาวคลื่น 310 nm และดูดกลืนแสงไม่เกิน 20%T ที่ความยาวคลื่น 340 nm ช่วงใช้งานของคิวเวตต์ชนิดแก้วจึงควรเริ่มตั้งแต่ 360-2,000 nm
ควอตซ์ (quartz หรือ fused silica)	การดูดกลืนแสงของควอตซ์ขึ้นอยู่กับความบริสุทธิ์ของซิลิกา <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ เกรดอัลตราไวโอเล็ต (ultraviolet grade) เหมาะสำหรับการใช้งานช่วง 185-220 nm (คิวเวตต์เปล่าให้แสงส่งผ่านประมาณ 80%T)</li> <li>▪ เกรดมาตรฐาน (standard grade) เหมาะสำหรับการใช้งานช่วง 220-340 nm (คิวเวตต์เปล่าให้แสงส่งผ่านมากกว่า 80%T)</li> <li>▪ เกรดอินฟราเรด (infrared grade) เหมาะสำหรับการวัดในช่วงความยาวคลื่นมากกว่า 2,700 nm (คิวเวตต์เปล่าให้แสงส่งผ่านมากกว่า 85%T)</li> </ul>
พลาสติก	ทำจากพลาสติกพอลิโพรพิลีน โพร่งใส ยอมให้แสงส่องผ่านได้มาก สามารถใช้งานได้ในช่วง 340-750 nm มีราคาถูก ทำให้สามารถใช้แล้วทิ้งโดยไม่ต้องล้างเพื่อนำมาใช้ใหม่ซึ่งเสี่ยงต่อการติดเชื้อโรคหรือได้รับอันตรายจากสารเคมี นอกจากนี้คิวเวตต์พลาสติกยังเหมาะสมกับงานที่ต้องใช้คิวเวตต์ในปริมาณมากหรืองานที่คิวเวตต์เสี่ยงต่อการแตกได้ง่าย



ภาพที่ 6.34 สเปกตรัมการดูดกลืนของวัสดุที่ทำคิวเวตต์. ที่มา <https://www.hellma.com/en/laboratory-supplies/cuvettes/material-and-technical-information/>

## 5) ตัววัดแสง

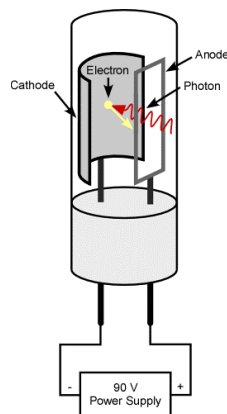
ตัววัดแสง (photo detector) เป็นอุปกรณ์ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนความเข้มของแสงให้เป็นสัญญาณไฟฟ้าแล้วส่งต่อไปยังภาคขยายสัญญาณและวงจรรีเลย์ทรอนิกส์เพื่อให้สามารถแสดงค่าออกมาในรูปการดูดกลืนแสงหรือความส่องผ่าน ตัววัดแสงแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันในด้านช่วงความยาวคลื่นที่ตอบสนอง อัตราในการตอบสนอง (speed of response) ความเป็นเส้นตรงของการตอบสนอง (linearity of response) และความไว (sensitivity) ตัววัดแสงมีอยู่หลายชนิด ในอุปกรณ์สมัยใหม่ตัวแปลงสัญญาณ (transducer) ทำหน้าที่แปลงสัญญาณที่ไม่ใช่สัญญาณไฟฟ้า (ความเข้มแสง, pH, อุณหภูมิ) ให้เป็นสัญญาณไฟฟ้า ซึ่งสามารถขยายสัญญาณและสุดท้ายจะเปลี่ยนเป็นตัวเลขที่เป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณการวัดเริ่มต้นได้ ชนิดของตัวแปลงสัญญาณรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าเกี่ยวข้องกับโฟตอน เรียกว่า ตัวแปลงสัญญาณ หรือตัววัดโฟตอน (photon detector) ซึ่งครอบคลุมช่วงความยาวคลื่นเฉพาะดังแสดงในตารางที่ 6.16

ตารางที่ 6.16 ชนิดตัววัดโฟตอนสำหรับเทคนิคสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืน

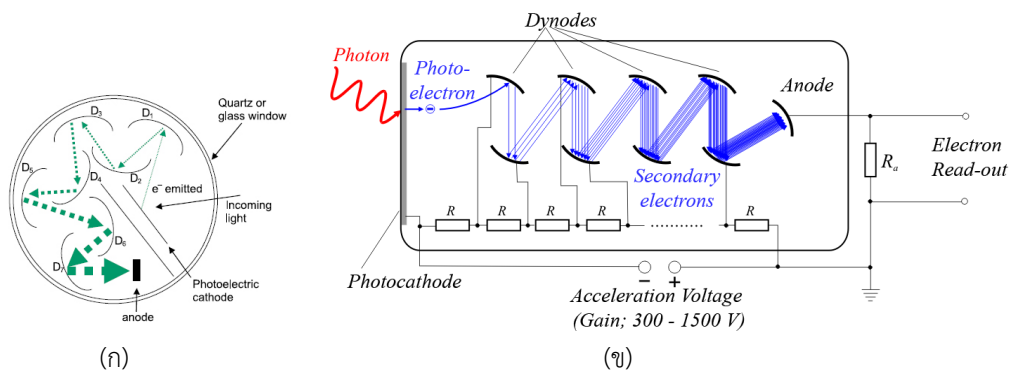
ประเภทตัววัดแสง	ช่วงความยาวคลื่น (nm)
โฟโตทิวบ์ (phototube)	150-1000
โฟโตมัลติพลายเออร์ทิวบ์ (photomultiplier tube; PMT)	150-1000
ซิลิคอนโฟโตไดโอด (silicon photodiode)	350-1100
โฟโตไดโอดอาร์เรย์ (photodiode array)	

การตอบสนองสัญญาณของตัววัดแสงชนิดโฟโตทิวบ์และโฟโตมัลติพลายเออร์ทิวบ์เกิดจากปรากฏการณ์โฟโตอิเล็กทริก (photoelectric effect) โฟตอนของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าชนกับขั้วแคโทด (photocathode) ที่ผิวเคลือบด้วยชั้นสารที่เปล่งแสงได้ เช่น โลหะแอลคาไล หรือโลหะออกไซด์ ซึ่งจะปล่อยอิเล็กตรอนที่เรียกว่า โฟโตอิเล็กตรอน (photoelectron) ออกมาเมื่อมีการให้ศักย์ไฟฟ้าที่เพียงพอระหว่างขั้วทั้งสอง (90 V หรือมากกว่า) โฟโตอิเล็กตรอนจะเคลื่อนที่เข้าหาขั้วบวก (anode) อิเล็กตรอนเหล่านี้จะถูกเปลี่ยนเป็นสัญญาณไฟฟ้าในวงจรขยายสัญญาณ โดยจำนวนของโฟโต

อิเล็กตรอนที่หลุดออกจากขั้วแคโทดต่อหน่วยเวลาจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับพลังงานรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่พุ่งชนขั้วแคโทด



ภาพที่ 6.35 ตัววัดแสงชนิดโฟโตทิวบ์



ภาพที่ 6.36 ตัววัดแสงชนิดโฟโตมัลติพลายเออร์ทิวบ์ (ก) มองด้านบน และ (ข) มองด้านข้าง

## 6) ภาคขยายสัญญาณและภาคแสดงผล

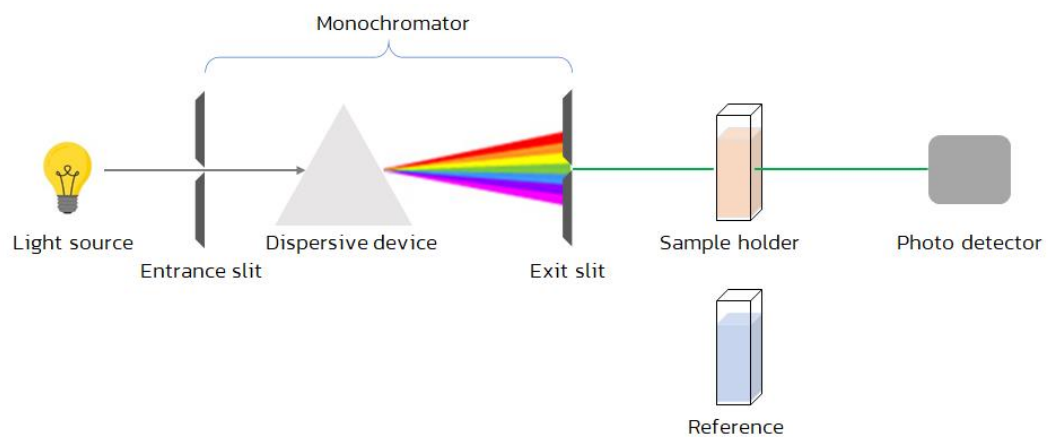
ภาคขยายสัญญาณ (amplifier) มีหน้าที่หลักในการขยายสัญญาณไฟฟ้าจากตัววัดแสงให้มีปริมาณมากพอที่จะอ่านค่าออกมาได้โดยการรบกวนจากสัญญาณอื่นๆ ให้น้อยที่สุด

ภาคแสดงผล (read out device) มีหน้าที่เปลี่ยนสัญญาณไฟฟ้าให้มาเป็นหน่วยวัดที่ต้องการ ตัวอย่างเช่นค่าการดูดกลืนแสง (A) ค่าเปอร์เซ็นต์แสงส่องผ่าน (%T) และค่าความเข้มข้น (concentration) เป็นต้น สัญญาณไฟฟ้าที่สามารถเปรียบเทียบกับหน่วยวัดที่ต้องการได้โดยตรง เรียกว่า สัญญาณอะนาล็อก (analog signal) และถ้าสัญญาณนี้ต้องเปลี่ยนเป็นสัญญาณเชิงตัวเลข (analog to digital convertor) และในทางกลับกันสามารถแปลงสัญญาณเชิงตัวเลขให้เป็นสัญญาณอะนาล็อกได้ด้วยวงจรแปลงสัญญาณเชิงตัวเลขเป็นสัญญาณอะนาล็อก (digital to analog convertor)

### 6.2.3 ชนิดของเครื่องสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืน

#### 1) เครื่องสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนชนิดลำแสงเดี่ยว

เครื่องสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนชนิดลำแสงเดี่ยว (single beam) ใช้ลำแสงอันเดียวกันสำหรับวัดสารอ้างอิง (reference หรือ blank) และวัดสารตัวอย่าง (sample) องค์ประกอบหลักของเครื่องวัดการดูดกลืนแสงชนิดลำแสงเดี่ยวแสดงดังภาพที่ 6.37 ข้อดีคือมีองค์ประกอบน้อย และมีความเข้มแสงส่องผ่านไปยังสารตัวอย่างมาก เครื่องวัดการดูดกลืนชนิดลำแสงเดี่ยวเหมาะสำหรับการวัดค่าการดูดกลืนที่ความยาวคลื่นหนึ่ง ๆ แต่มีข้อเสียตรงที่มีเสถียรภาพในการอ่านค่าต่ำและค่าเปลี่ยนแปลงได้ง่าย และไม่สามารถติดตามการดูดกลืนแสงแบบกราด (scan) ที่ความยาวคลื่นต่าง ๆ กันอย่างต่อเนื่องได้ ซึ่งต้องทำการปรับส่วนแยกแสงทุกครั้งเมื่อเปลี่ยนแปลงความยาวคลื่น



ภาพที่ 6.37 แผนภาพองค์ประกอบของเครื่องวัดการดูดกลืนชนิดลำแสงเดี่ยว

ขั้นตอนการวัดความเข้มแสงของเครื่องชนิดลำแสงเดี่ยว ทำได้ดังนี้

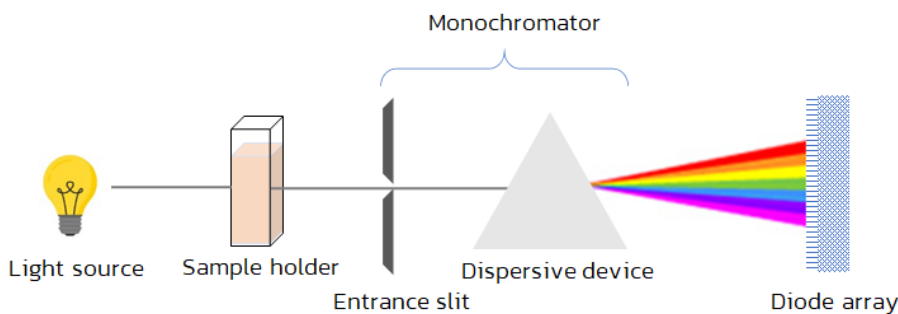
- 1) ทำได้โดยปรับศูนย์ (zero) 0%T โดยปิดชัตเตอร์ (shutter) เพื่อไม่ให้รังสีจากแหล่งกำเนิดแสงตกกระทบตัววัดแสง (detector) แล้วปรับมิเตอร์จนอ่านได้ 0%T
- 2) ปรับ 0A หรือ 100%T โดยใช้สารอ้างอิง (reference) หรือสารละลายแบบลงค์ (blank) วางที่ช่องใส่สารตัวอย่างแล้วเปิดชัตเตอร์และปรับความเข้มของแสงหรือกำลังขยายของสัญญาณ จนกระทั่งมิเตอร์อ่านได้ 100%T
- 3) ทำการวัดค่า %T ของสารตัวอย่าง โดยเซลล์สารตัวอย่างที่ช่องใส่สารตัวอย่าง แล้วอ่านค่า A หรือ %T

จากภาพที่ 6.37 แสดงให้เห็นถึงรังสีจากตัวแยกแสงผ่านสารอ้างอิง (reference cell) หรือสารตัวอย่างแล้วตกกระทบตัววัดแสง และอ่านค่า A และ %T นอกจากนี้การวัดค่า A หรือ %T จะมีสภาพทำซ้ำได้ (reproducibility) สูง ถ้าพลังงานของรังสีของแหล่งกำเนิดแสงมีค่าคงที่ในขณะที่ปรับ 100%T และอ่านค่า %T ของสารตัวอย่าง โดยทั่วไปจึงควบคุมค่าแรงดันไฟฟ้าของ แหล่งกำเนิดพลังงานให้คงที่

ภาพที่ 6.38 แสดงองค์ประกอบเครื่องสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนชนิดลำแสงเดี่ยวที่มีตัววัดแสงเป็นไดโอดอาร์เรย์ (diode array) หรือเรียกว่า เครื่องวัดแบบหลายช่อง (multichannel) แสงจากแหล่งกำเนิดแสงที่มีหลายความยาวคลื่น (polychromatic) ส่องผ่านไปยังสารตัวอย่าง ผ่านช่องแสงเข้า (entrance slit) แล้วผ่านออกไปยังชุดอุปกรณ์ตัวแยกแสง (polychromator) ในส่วนนี้จะ

แตกต่างจากเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์แบบพื้นฐาน (conventional spectrophotometer) ตัวแยกแสงจะกระจายแสงที่ผ่านจากช่องแสงเข้าไปยังตัววัดแสงไดโอดอาร์เรย์

เครื่องวัดแบบหลายช่องมักเป็นชนิดลำแสงเดี่ยว โดยมีตัวกระจายแสง (dispersion device) เช่น เกรตติงอยู่ต่อจากช่องสารตัวอย่าง และมีตัววัดแสงเป็นไดโอดอาร์เรย์ หรือ CCD โดยเครื่องวัดแบบหลายช่องจะสามารถวัดสเปกตรัมได้อย่างรวดเร็ว โดยใช้เวลาน้อยกว่า 1 วินาที และตัววัดแสงไดโอดอาร์เรย์ หรือ CCD สามารถวัดรังสีในช่วงความยาวคลื่นหนึ่งได้พร้อม ๆ กัน แต่ข้อด้อยคือจะมีความละเอียด (resolution) ต่ำกว่าเครื่องมือพื้นฐาน



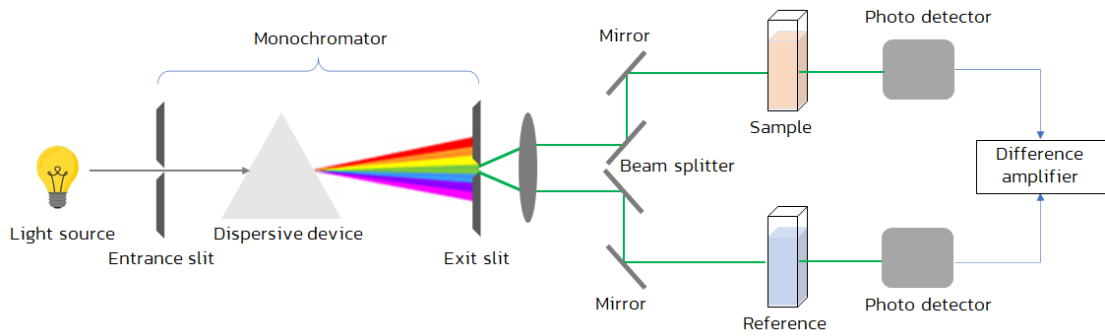
ภาพที่ 6.38 สเปกโทรสโกปีชนิดลำแสงเดี่ยว diode array spectrophotometer

## 2) เครื่องสเปกโทรสโกปีแบบดुकกลืนชนิดลำแสงคู่

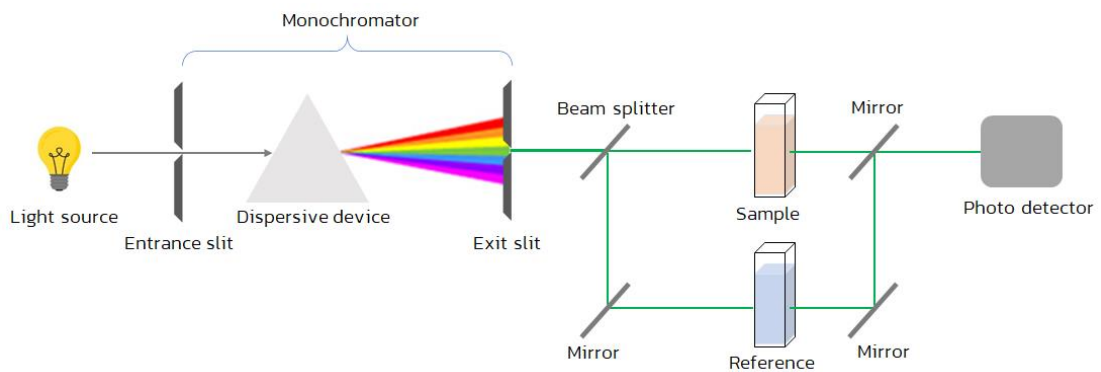
เครื่องสเปกโทรสโกปีแบบดुकกลืนชนิดลำแสงคู่ (double beam) เมื่อลำแสงจากแหล่งกำเนิดแสงออกจากช่องแสงออก (exit slit) แล้ว ลำแสงจะไปสู่อุปกรณ์ตัดลำแสง (beam splitter) หรือกระจก (mirror) ซึ่งจะทำหน้าที่สะท้อนลำแสงไปผ่านสารตัวอย่าง (sample) ในขณะที่จะสะท้อนลำแสงไปผ่านสารอ้างอิง (reference) โดยที่ลำแสงทั้งสองจะมีความเข้มแสงเท่ากันก่อนที่จะผ่านสารตัวอย่างหรือสารอ้างอิง เมื่อลำแสงทั้งสองนี้ไปตกกระทบตัววัดแสง ความแตกต่างของความเข้มแสงหลังจากผ่านสารตัวอย่างหรือสารอ้างอิงจะเป็นค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

จากภาพที่ 6.39 ความเข้มของแสงโดยการสะท้อนแสงที่ผ่านออกมาจากตัวแยกแสงให้ผ่านสารอ้างอิงและสารตัวอย่างสลับกัน ทำให้ความเข้มของแสงที่ผ่านสารตัวอย่างลดลงครึ่งหนึ่ง วงจรขยายจะขยายสัญญาณที่ได้จากการเปรียบเทียบสัญญาณที่ได้รับจากสารตัวอย่างกับสารอ้างอิงอยู่ตลอดเวลาในขณะที่วัดความเข้มของแสง ดังนั้นจึงมีเสถียรภาพในการวัดความเข้มของแสงดีมาก แต่เครื่องวัดความเข้มของแสงชนิดนี้มีองค์ประกอบซับซ้อนเนื่องจากใช้ตัววัดแสงอันเดียวจึงต้องมีวงจรเลือก (switching) วัดสัญญาณและหลอดไฟฟ้กำเนิดแสงมีกำลังส่องสว่างสูงจึงทำให้ราคาสูงกว่าเครื่องมือชนิดลำแสงเดี่ยว





ภาพที่ 6.39 องค์ประกอบของเครื่องวัดการดูดกลืนชนิดลำแสงคู่



ภาพที่ 6.40 องค์ประกอบของเครื่องวัดการดูดกลืนชนิดลำแสงคู่ (ก) ตัววัดแสงสองตัว และ (ข) ตัววัดแสงหนึ่งตัว

### สรุปท้ายบทเรียน

วิธียูวี-วิสิเบิล สเปกโทรสโกปี เป็นการประยุกต์เทคนิคการดูดกลืนแสงของสาร หรืออนุภาคของสารที่ดูดกลืนแสงอันเนื่องมาจากการแทนที่ชั้นของออร์บิทัลจากสถานะพื้นไปยังสถานะกระตุ้น (HOMO ไปยัง LUMO) หรือการถ่ายโอนประจุอิเล็กตรอน หรือการแทนที่ชั้นของออร์บิทัลในออร์บิทัลดีและออร์บิทัลเอฟ สารอินทรีย์สามารถดูดกลืนแสงได้ในย่านยูวี แต่ถ้าโครงสร้างมีส่วนที่ทำให้มองเห็นเป็นสีได้ เราเรียกว่า โครโมฟอร์ ส่วนมากเป็นส่วนของพันธะที่ไม่อิ่มตัว การแทนที่ชั้นที่สำคัญของสารอินทรีย์ คือ  $n \rightarrow \pi^*$  และ  $\pi \rightarrow \pi^*$  ซึ่งจะสามารถดูดกลืนแสงได้ทั้งในย่านยูวีและวิสิเบิล นอกจากปัจจัยของโครโมฟอร์แล้ว การแทนที่ชั้นยังเกี่ยวข้องกับชนิดตัวทำละลาย และหมู่แทนที่ในโครงสร้างโมเลกุลที่เรียกว่า ออกโซโครม ซึ่งปัจจัยดังกล่าวนี้อาจส่งผลให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดเลื่อนไปทางความยาวคลื่นมากขึ้น หรือความยาวคลื่นสั้นเพิ่มขึ้น และอาจส่งผลให้สภาพดูดกลืนแสงต่อโมลเพิ่มขึ้นหรือลงก็ได้ เครื่องยูวี-วิสิเบิลประกอบด้วยส่วนหลัก คือ แหล่งกำเนิดแสง ตัวแยกแสง ช่องใส่สารตัวอย่าง ตัววัดแสง ภาคขยายสัญญาณ และภาคแสดงผล โดยแบ่งประเภทของเครื่องยูวี-วิสิเบิลตามลำแสงเป็นสองประเภทคือ ชนิดลำแสงเดี่ยว และชนิดลำแสงคู่

## กิจกรรม

ขั้นตอน	วิธีการ
แนะนำโจทย์ปัญหา (P)	แจกใบกิจกรรม 6.2
ไตร่ตรองทางแก้ไขเฉพาะตน (E)	แต่ละคนบอกวิธีการแก้ไขโจทย์ปัญหา (10 นาที)
ระดมสมองโดยกลุ่ม (T)	ให้รวมกลุ่ม มอบหมายโจทย์ให้แต่ละกลุ่มระดมสมองแก้ไขโดยวิธีการร่วมแสดงความคิดเห็น (10 นาที)
สื่อสารทางออก (C)	ให้แต่ละกลุ่มนำเสนอ วิธีการแก้ไขโจทย์ปัญหา 1) หลักการสำคัญหรือหลักพื้นฐานที่ถูกต้อง 2) วิธีการคำนวณค่าที่ถูกต้อง 3) วิธีอธิบายเชิงพฤติกรรม (วิธีปฏิบัติ) ที่ถูกต้อง โดยให้กลุ่มอื่น ๆ รับฟัง และซักถามในข้อที่สงสัย (10 นาที)
ถอดรหัสปรับใช้ (D)	ผู้สอนสรุป อภิปรายสรุปความถูกต้องและความผิดพลาด โดยเพิ่มเติมประเด็นที่เกี่ยวข้องให้สมบูรณ์

**แบบฝึกหัดท้ายบทเรียน**

1. จงอธิบายหลักการของการแทรกซึมชั้นระหว่าง  $\sigma \rightarrow \sigma^*$  และ  $\pi \rightarrow \pi^*$
2. โครโมฟอร์ หมายถึง
3. ออกโซโครม หมายถึง
4. จงอธิบายลักษณะสเปกตรัมการดูดกลืนอันเนื่องมาจากผลของการเกิดฮิโซโครมิก (blue-shift) และบาโทโครมิก (red-shift)
5. จงเขียนส่วนประกอบหลัก (block diagram) ของเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์
6. จงอธิบายความแตกต่างระหว่างแหล่งกำเนิดแสงแบบต่อเนื่องและแหล่งกำเนิดแสงแบบเส้น
7. จงอธิบายวัสดุที่ใช้ทำควอตซ์ มีผลต่อการวัดค่าการดูดกลืนแสงอย่างไร

## เอกสารอ้างอิง

- ชุติมา ศรีวิบูลย์. (2556). *เคมีวิเคราะห์ 1*. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยรามคำแหง.
- นิพนธ์ ตั้งคณานุรักษ์, และ คณิตา ตั้งคณานุรักษ์. (2547). *สเปกโทรสโกปีด้านการวิเคราะห์*. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- แม่น อมรสิทธิ์, และ อมร เพชรสม. (2550). *หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ*. สำนักพิมพ์ชวนชม.
- วรวิทย์ จันทร์สุวรรณ. 2563. *เคมีวิเคราะห์: หลักการและเทคนิคการคำนวณเชิงปริมาณ*. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- Bonardi, Aude-Héloïse & Noirbent, Guillaume & Dumur, Frédéric & Gimes, Didier & Lalevée, Jacques. (2018). Organometallic vs organic photoredox catalysts for photocuring reactions in the visible region. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*. 14. 3025–3046. 10.3762/bjoc.14.282.
- Christian, G.D., Dasgupta, P.K., & Schug, K.A. (2014). *Analytical Chemistry* (7<sup>th</sup> ed.). John Wiley & Sons.
- Harris, D.C. (2010). *Quantitative Chemical Analysis* (8<sup>th</sup> ed.). W. H. Freeman and Company.
- Harvey, D. (2019). *Analytical Chemistry 2.1*. <https://chem.libretexts.org/>
- Hofmann A., (2010). Spectroscopic Techniques: Spectrophotometric Techniques. in Samuel, C. (editor). *Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology*. Cambridge University Press.
- Mohapatra, Lagnamayee & Parida, Kulamani. (2017). A review of solar and visible light active oxo-bridged materials for energy and environment. *Catal. Sci. Technol.* 7. 10.1039/C7CY00116A.
- Owen, T. (1996). *Fundamental of UV-visible spectroscopy: A Primer*. Hewlett-Packard.
- Pavia, D.L., et al. (2019). *Introduction to Spectroscopy* (4<sup>th</sup> ed.). Brooks/Cole.
- Skoog, D.A., Holler, F.J., & Crouch, S.R. (2016). *Principles of Instrumental Analysis* (7<sup>th</sup> ed.). Brooks/Cole Publishing.
- Upstone, S. (2012). *UV/Vis Spectroscopy: Validating UV/Visible Spectrophotometers*. <https://www.perkinelmer.com/labsolutions/resources/docs/TCH-Validating-UV-Visible.pdf>

## แผนการสอนสัปดาห์ที่ 15

บทเรียนที่ 6.3 การประยุกต์ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ

จำนวนชั่วโมง 3

### จุดประสงค์การสอน (จุดประสงค์ทั่วไป)

1. เพื่อให้เข้าใจการประยุกต์วิธียูวี-วิสิเบิลในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ

### ผลการเรียนรู้ (จุดประสงค์เฉพาะ)

1. บอกกราฟมาตรฐานความเข้มข้น
2. บอกวิธีการสร้างกราฟมาตรฐานความเข้มข้น
3. อธิบายการวิเคราะห์เชิงปริมาณ
4. บอกวิธีการเติมสารมาตรฐาน

### วิธีสอนและกิจกรรมการเรียนการสอน

1. การบรรยาย และอภิปราย
2. กิจกรรมกลุ่มในชั้นเรียน (Work@class)

### สื่อการสอน/อุปกรณ์การสอน

1. หนังสือ เคมีวิเคราะห์: หลักการและเทคนิคการคำนวณเชิงปริมาณ. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2563.
2. เอกสาร powerpoint
3. [http://web.rmutp.ac.th/woravith/?page\\_id=135](http://web.rmutp.ac.th/woravith/?page_id=135)
4. <http://facebook.com/chemographics>
5. <http://slideshare.net/woravith>

### การวัดผล

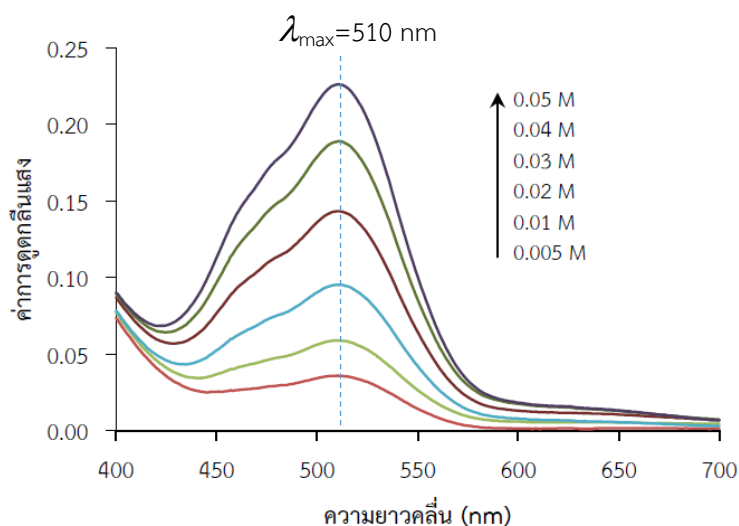
1. ประเมินจากกิจกรรมในชั้นเรียน
2. ประเมินจากกิจกรรมแบบฝึกหัด หรืองานที่มอบหมาย
3. ประเมินจากการสรุปประเด็นสำคัญ หรือการนำเสนอผลของการสืบค้นที่ได้รับมอบหมาย
4. ประเมินจากการสอบย่อยรายหน่วยเรียน

## บทเรียนที่ 6.3 การประยุกต์ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ

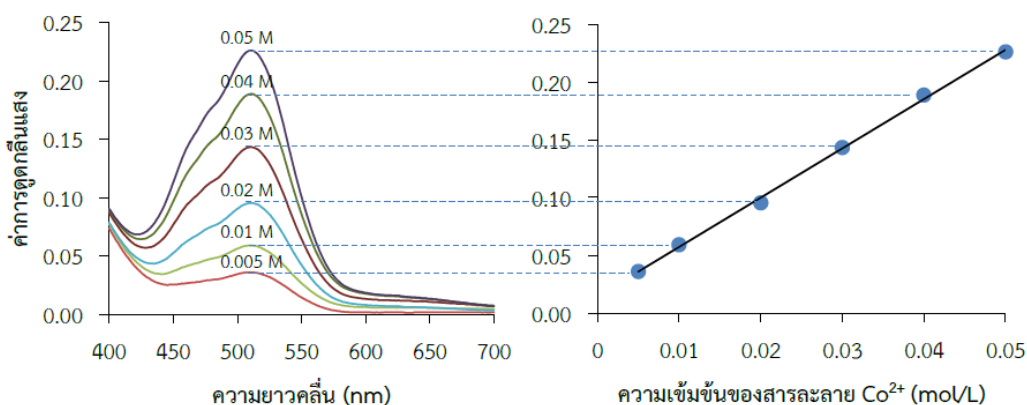
การวิเคราะห์เชิงปริมาณโดยวิธียูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตเมทรีเป็นการวัดการดูดกลืนแสงอาศัยกฎของเบียร์ที่ว่า “ค่าการดูดกลืนแสงแปรผันโดยตรงกับความเข้มข้นของสารที่ดูดกลืนแสง” โดยหลักการพื้นฐานของการวิเคราะห์เชิงปริมาณคือการวัดความสามารถในการดูดกลืนแสงของสารในช่วงความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด ( $\lambda_{\max}$ ) โดยสามารถคำนวณความเข้มข้นของสารที่สนใจเทียบกับกราฟมาตรฐานความเข้มข้น

### 6.3.1 กราฟมาตรฐานความเข้มข้น

กราฟมาตรฐานความเข้มข้น คือกราฟเส้นตรงที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน (ที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน) ในที่นี้ขอยกตัวอย่างสารละลาย  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$  ที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 0.0050 ถึง 0.050 mol/L เมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงในย่านวิสิเบิล (400-800 nm) จะได้ลักษณะสเปกตรัมดูดกลืนแสงแต่ละความเข้มข้น ดังภาพที่ 6.41 และจะพบว่าที่ความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด ( $\lambda_{\max}$ ) อยู่ที่ 510 nm และค่าการดูดกลืนแสงจะเพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสารที่ดูดกลืนแสง ดังภาพที่ 6.42



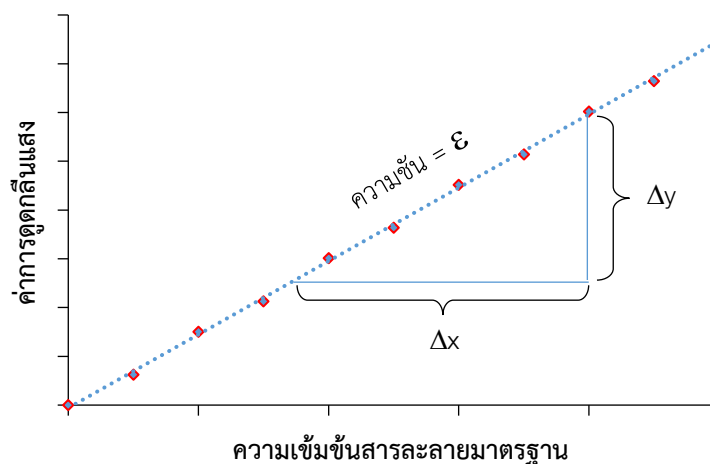
ภาพที่ 6.41 สเปกตรัมดูดกลืนแสงของสารละลาย  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$  วัดด้วยเครื่อง UV-1700 Shimadzu. โดยผู้แต่ง, 2563.



ภาพที่ 6.42 สเปกตรัมดูดกลืนแสงของสารละลาย  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$  วัดด้วยเครื่อง UV-1700 Shimadzu. โดยผู้แต่ง, 2563.

กราฟมาตรฐานความเข้มข้น คือกราฟเส้นตรงที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน (ที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน) เมื่อเขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (แกน x) กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน (แกน y) ดังภาพที่ 6.43

จากสมการกฎของเบียร์  $A = \epsilon bc$  เมื่อเขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลาย  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$  เมื่อความหนาของตัวกลางที่แสงผ่านคงที่ ( $b=1 \text{ cm}$ ) จะได้กราฟเส้นตรงที่มีจุดตัดแกนค่าหนึ่ง และมีความชันเป็น  $\epsilon$  ดังภาพที่ 6.43 เรียกกราฟนี้ว่า กราฟมาตรฐานความเข้มข้น (concentration calibration curve) หรือวิธีกราฟมาตรฐาน (standard calibration method)



ภาพที่ 6.43 กราฟมาตรฐานความเข้มข้น

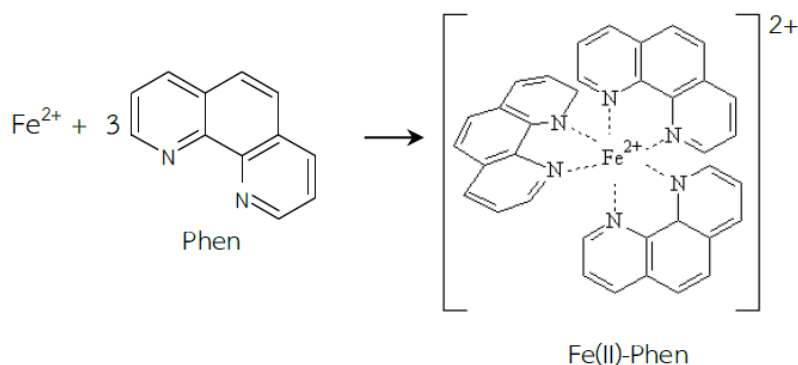
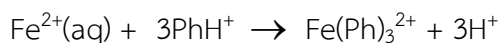
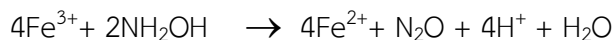
จุดประสงค์ที่สำคัญของการทำกราฟมาตรฐานเพื่อให้ได้สัญญาณการดูดกลืนแสงจากเครื่องมือวัดในขณะนั้น เมื่อใช้ความเข้มข้นของสารมาตรฐานภายนอก (external standard) ที่ความเข้มข้นต่างกันตามลำดับ สัญญาณการดูดกลืนแสงที่ได้จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นตามกฎของเบียร์ และที่สำคัญกราฟมาตรฐานจะเป็นเครื่องมือในการหาความเข้มข้นของสารที่สนใจในสารตัวอย่าง โดยอาศัยสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานความเข้มข้น

### 6.3.2 วิธีสร้างกราฟมาตรฐานความเข้มข้น

การสร้างกราฟมาตรฐานความเข้มข้น ทำได้โดยนำสารละลายมาตรฐานที่ทราบค่าความเข้มข้นที่แน่นอนอย่างน้อย 5-6 ความเข้มข้น วัดค่าการดูดกลืนแสง จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ของแต่ละความเข้มข้นได้เขียนกราฟระหว่างความเข้มข้นกับค่าการดูดกลืนแสง และเมื่อนำตัวอย่างไปวัดค่าการดูดกลืนแสง เครื่องมือจะรายงานค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างไปหาความเข้มข้นของสารตัวอย่างโดยอาศัยสมการเส้นตรง จะทราบค่าความเข้มข้นของสารที่สนใจในสารตัวอย่างได้

ตัวอย่างการวิเคราะห์ปริมาณเหล็กด้วยวิธีวัดค่าการดูดกลืนแสง ทำได้โดยให้เกิดไอออนเชิงซ้อนที่มีสี (สีแดงถึงส้ม) ระหว่าง  $\text{Fe}^{2+}$  กับ 1,10-ฟีแนนโทรลีน เรียกว่าไอออนเชิงซ้อนเหล็ก-ฟีแนนโทรลีน ( $\text{Fe}(\text{II})\text{-Phen}$ ) ดังภาพที่ 6.44 ซึ่งไอออนเชิงซ้อนดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 nm โดย

ควบคุม pH ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ประมาณ pH 3.5 เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดตะกอนเป็น  $\text{Fe}(\text{OH})_2$  และจะต้องเติมตัวรีดิวซ์เพื่อทำการรีดิวซ์เหล็กทั้งหมดในสารละลายให้เป็น  $\text{Fe}^{2+}$  เสียก่อนโดยใช้สารละลายไฮดรอกซีลามีนไฮโดรคลอไรด์ (hydroxylamine hydrochloride) สีของไอออนเชิงซ้อนระหว่างเหล็ก(II) กับฟีแนนโทรลีนจะเสถียรได้นาน



ภาพที่ 6.44 ไอออนเชิงซ้อนระหว่างเหล็ก(II) กับฟีแนนโทรลีน.

การเตรียมกราฟมาตรฐานทำได้โดย เตรียมสารละลายเหล็กมาตรฐานให้มีความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นลำดับจำนวน 6 ความเข้มข้นในขวดวัดปริมาตร (ในการเตรียมชุดสารละลายมาตรฐานจะต้องไม่มีความคลาดเคลื่อนเกี่ยวกับการเตรียม เช่น ปริมาตรที่ปิเปตและการปรับปริมาตรสุดท้าย) ความเข้มข้นของเหล็กที่เตรียมดังตารางที่ 6.17

ตารางที่ 6.17 ความเข้มข้นของเหล็ก(II) สำหรับทำกราฟมาตรฐาน

ขวดที่	ความเข้มข้น (mg/L)
1	0.20
2	0.40
3	0.60
4	0.80
5	1.00
6	1.20

จากนั้นเติมสารละลาย  $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$  และแอซิติเตดบัฟเฟอร์อย่างละ 1 mL ลงไป แล้วเติม 1,10-ฟีแนนโทรลีน ปริมาตร 2 mL แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปจนครบขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ประมาณ 10 นาที จะได้สารละลายสีส้มแดงของไอออนเชิงซ้อนเหล็ก(II) กับฟีแนนโทรลีน ดังภาพที่ 6.44 จากนั้นนำสารละลายแต่ละขวดวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ค่าการดูดกลืนแสงของไอออนเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นแต่ละความเข้มข้นของสารละลายเหล็กได้ผลดังตารางที่ 6.18

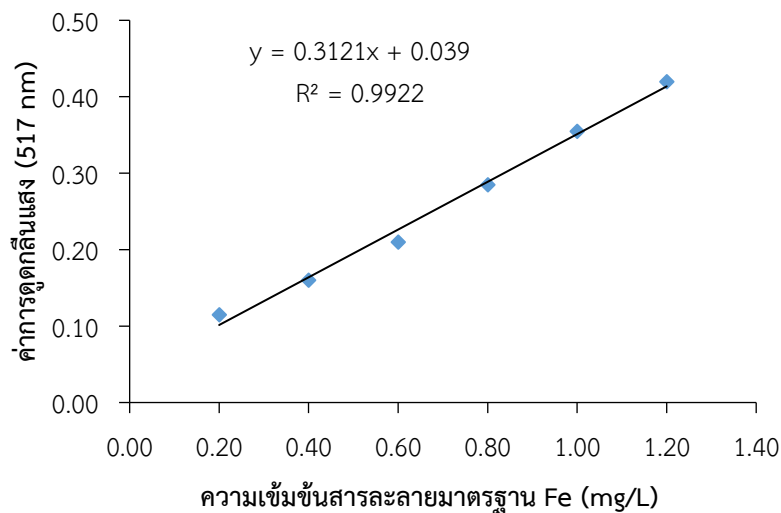




ตารางที่ 6.18 ค่าการดูดกลืนแสงของไอออนเชิงซ้อนเหล็ก(II)-ฟีแนนโทรีน

ขวดที่	ความเข้มข้น (mg/L)	ค่าการดูดกลืนแสง (517 nm)
1	0.20	0.115
2	0.40	0.160
3	0.60	0.210
4	0.80	0.285
5	1.00	0.355
6	1.20	0.420

จากตารางที่ 6.18 เมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงของแต่ละความเข้มข้นมาเขียนกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเหล็กกับค่าการดูดกลืนแสง จะได้กราฟเส้นตรง ดังภาพที่ 6.46



ภาพที่ 6.46 กราฟมาตรฐานความเข้มข้นของไอออนเชิงซ้อนเหล็ก-ฟีแนนโทรีน สร้างกราฟด้วยโปรแกรมเอกซ์เซล โดยผู้แต่ง, 2563.

กราฟมาตรฐานที่สร้างโดยใช้โปรแกรมเอกซ์เซลจะได้ข้อมูลเกี่ยวกับสมการเส้นตรงที่บอกค่าความชันและจุดตัดแกน  $y$  และยังสามารถบอกความเป็นเส้นตรงว่ากราฟนั้นมีความเป็นเส้นตรงมากน้อยเพียงใด ถ้าค่า  $R^2$  ใกล้ 1 แสดงว่ากราฟนั้นมีความเป็นเส้นตรงสูง โดยทั่วไปในการวิเคราะห์

เชิงปริมาณค่า  $R^2$  ต้องมากกว่า 0.99 ซึ่งจากกราฟเส้นตรงของไอออนเชิงซ้อนเหล็ก(II)-พีแนโนโทรลีน พบว่า ค่าความชันเท่ากับ 0.3121 จุดตัดแกน  $y$  เท่ากับ 0.039 และ  $R^2$  เท่ากับ 0.9925

### 6.3.3 การวิเคราะห์เชิงปริมาณ

กราฟมาตรฐานความเข้มข้นของไอออนเชิงซ้อนเหล็ก(II)-พีแนโนโทรลีน (ภาพที่ 6.46) เป็นความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน ที่ได้สัญญาณตอบสนองจากเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ซึ่งสัญญาณที่ได้นั้นมาจากสารมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้น ดังนั้นเมื่อเรานำสารตัวอย่างมาทำการทดลองเช่นเดียวกับสารมาตรฐาน โดยทำการทดลองในสภาวะเดียวกัน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นเดียวกัน เราจะได้สัญญาณตอบสนองเป็นค่าการดูดกลืนแสงค่าหนึ่ง ซึ่งเป็นค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างนั้น แต่เราไม่สามารถทราบความเข้มข้นของสารตัวอย่างได้โดยตรงจากเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ เราต้องนำค่าการดูดกลืนแสงมาเทียบกับกราฟมาตรฐานความเข้มข้น

ถ้าสมมตินำสารตัวอย่างน้ำหนักปริมาตร 50.00 mL เติมสารละลายเช่นเดียวกับการเตรียมกราฟมาตรฐาน และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm ได้เท่ากับ 0.380 เราสามารถคำนวณปริมาณเหล็กในสารตัวอย่างเทียบกับเตรียมกราฟมาตรฐาน โดยอาศัยสมการเส้นตรง (ภาพที่ 6.46)

$$y = 0.3121x + 0.039 \quad \text{.....(6.16)}$$

$$x = \frac{y - 0.039}{0.3121} \quad \text{.....(6.17)}$$

เมื่อ  $y$  คือค่าการดูดกลืนแสงของสารที่สนใจในตัวอย่าง เท่ากับ 0.380 ดังนั้น

$$x = \frac{0.380 - 0.039}{0.3121} = 1.09 \text{ mgFe/L} \quad \text{.....(6.18)}$$

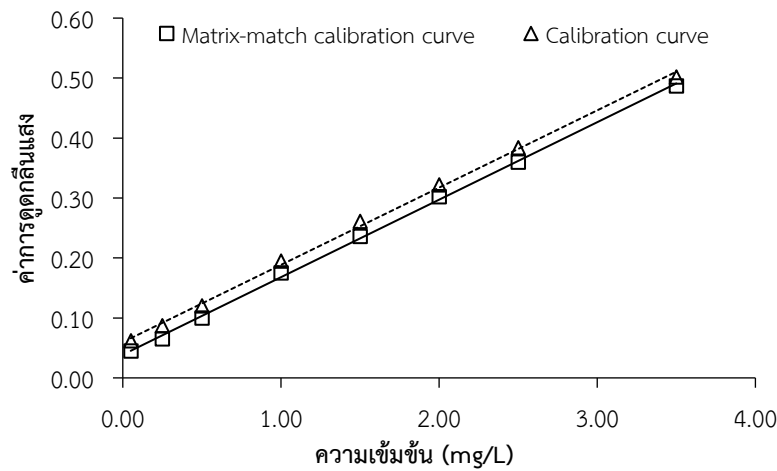
ดังนั้น สรุปได้ว่าในสารตัวอย่างมีปริมาณเหล็กเท่ากับ 1.09 mg/L (ppm)

การวิเคราะห์เชิงปริมาณนอกจากจะดำเนินการทดลองเพื่อวิเคราะห์สารที่สนใจแล้ว ยังจำเป็นต้องศึกษาผลการรบกวนของตัวกลาง (matrix) ที่เป็นองค์ประกอบในสารที่สนใจ และสารเคมีในการทดลอง โดยตัวกลางอาจส่งกระทบในการวิเคราะห์ได้ทั้งทางบวกหรือทางลบ ซึ่งจะส่งผลให้การวิเคราะห์ห่างไกลจากค่าแท้จริง หรือกล่าวได้ว่า ผลการวิเคราะห์มีความแม่นยำต่ำ

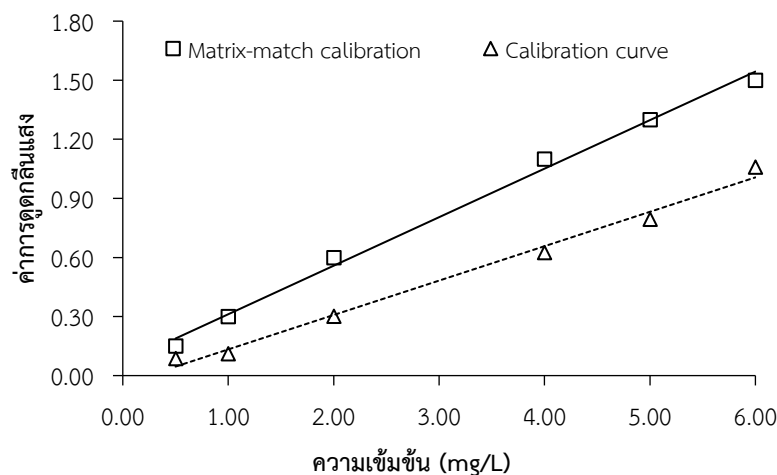
จากการทำกราฟมาตรฐานความเข้มข้น สารเคมีและตัวทำละลายจะเป็นสารที่บริสุทธิ์หรือมีการเจือปนค่อนข้างน้อย แต่ในสารตัวอย่างจะมีตัวกลางที่ทำให้องค์ประกอบส่วนใหญ่แตกต่างจากสารละลายมาตรฐาน และอาจมีผลต่อการดูดกลืนแสงได้

วิธีตรวจสอบผลของตัวกลางทำได้โดยเติมสารละลายมาตรฐานลงในสารละลายตัวอย่าง แล้ววัดค่าการดูดกลืน เรียกวินี้ว่า กราฟมาตรฐานเมทริกซ์แมทซ์ (matrix-matched calibration) โดยวิธีการเตรียมกราฟมาตรฐานความเข้มข้นที่มีสารตัวอย่างเป็นองค์ประกอบที่คงที่ (ปริมาณเท่ากันในทุกขวดกำหนดปริมาตร) โดยวิธีนี้สามารถบ่งชี้ถึงผลของสิ่งรบกวนจากตัวกลางในสารตัวอย่างโดยดูจากกราฟเส้นตรง ถ้ากราฟมาตรฐานความเข้มข้นกับกราฟมาตรฐานเมทริกซ์แมทซ์มีความชันเท่ากันหรือใกล้เคียงกัน เส้นกราฟจะขนานกัน ดังภาพที่ 6.47 อธิบายได้ว่าผลของตัวกลางในสารตัวอย่างไม่มีผลต่อการวิเคราะห์ แต่ถ้าความชันไม่เท่ากันหรือไม่ใกล้เคียงกัน เส้นกราฟจะไม่ขนานกัน (ภาพที่

6.48) อธิบายได้ว่าตัวกลางหรือสารเจือปนในสารตัวอย่างมีผลโดยตรงต่อการวิเคราะห์ ดังนั้นในการทดลองจำเป็นต้องกำจัดสิ่งรบกวนออกเสียก่อน



ภาพที่ 6.47 ผลการทำกราฟมาตรฐานเมทริกซ์แมทซ์มีความชันเท่ากัน. ที่มาจาก เคมีวิเคราะห์: หลักการและเทคนิคการคำนวณเชิงปริมาณ (หน้า 364) โดย วรวิทย์ จันทรสุวรรณ, 2563, สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.



ภาพที่ 6.48 ผลการทำกราฟมาตรฐานเมทริกซ์แมทซ์ความชันไม่เท่ากัน. ที่มาจาก เคมีวิเคราะห์: หลักการและเทคนิคการคำนวณเชิงปริมาณ (หน้า 365) โดย วรวิทย์ จันทรสุวรรณ, 2563, สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

#### 6.3.4 วิธีการเติมสารมาตรฐาน

วิธีการเติมสารมาตรฐาน (standard addition หรือ spiked method) เป็นอีกวิธีที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณของสารที่สนใจที่มีสารเจือปนมาก (matrix effect) ซึ่งอาจจะมีผลต่อการวิเคราะห์ได้ โดยหลักการของวิธีนี้คือการเติมสารละลายมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนลงในสารตัวอย่างจะทำการวิเคราะห์สารที่สนใจ โดยขั้นตอนวิธีเติมสารละลาย ทำได้ดังนี้

1) เตรียมสารตัวอย่างที่ไม่ทราบความเข้มข้น ( $C_x$ ) ปริมาตรแน่นอน ( $V_x$ ) ในขวดวัดปริมาตร 4-5 ขวด (ปริมาตรรวม  $V_t$ )

2) เติมสารละลายมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้น ( $C_s$ ) และปริมาตรที่แตกต่างกันเป็นลำดับ ( $V_s$ )

3) เติมสารอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องในปฏิกิริยา ให้เท่ากันทุกๆ ชนิด และปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลาย (ปริมาตรรวม  $V_t$ )

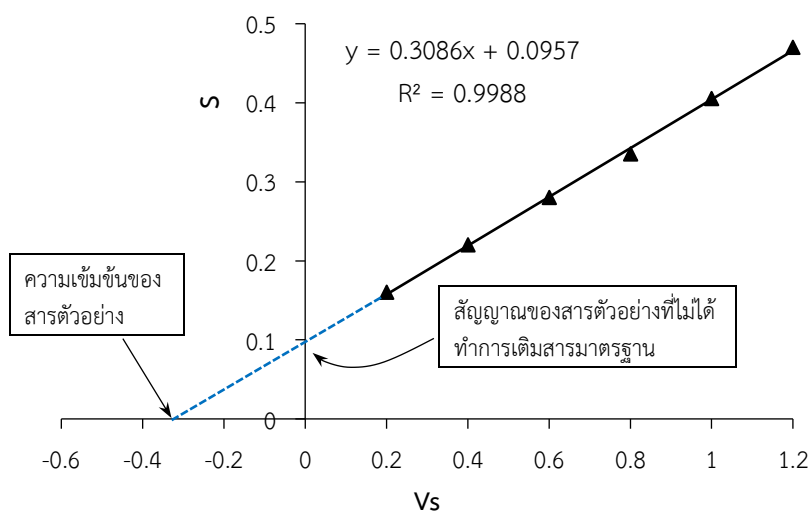
4) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่กำหนด ได้สัญญาณเป็น  $S$  สัญญาณ ( $S$ ) ที่ได้จะเป็นผลรวมของสัญญาณจากสารตัวอย่างกับสารมาตรฐานที่เติมลงไป ดังนี้

$$S = \frac{V_s C_s}{V_t} + \frac{V_x C_x}{V_t} \quad \text{.....(6.19)}$$

จากสมการ (6.19) ถ้าเขียนกราฟระหว่าง  $S$  กับ  $V_s$  จะได้กราฟเส้นตรง ดังภาพที่ 6.49 โดยมี

ความชัน คือ  $m = \frac{C_s}{V_t}$  .....(6.20)

จุดตัดแกน  $y$  คือ  $b = \frac{V_x C_x}{V_t}$  .....(6.21)



ภาพที่ 6.49 กราฟมาตรฐานของวิธีการเติมสารมาตรฐาน

สารตัวอย่างที่ไม่ทราบความเข้มข้น ( $C_x$ ) สามารถหาความเข้มข้น ได้ดังนี้

$$\frac{b}{m} = \left( \frac{V_x C_x}{V_t} \right) \left( \frac{V_t}{C_s} \right) \quad \text{.....(6.22)}$$

$$C_x = \frac{b C_s}{m V_x} \quad \text{.....(6.23)}$$

จากกราฟภาพที่ 6.49 เมื่อลากเส้นต่อจากเส้นตรงไปตัดแกน  $y$  ที่จุดตัดแกน  $y$  จะเป็นสัญญาณของสารตัวอย่างที่ไม่ได้ทำการเติมสารมาตรฐาน ( $S_x$ ) และที่จุดตัดแกน  $x$  จะเป็นความเข้มข้นของสารที่สนใจในสารตัวอย่าง ( $C_x$ )

$$S = \frac{V_s C_s}{V_t} + \frac{V_x C_x}{V_t} = 0 \quad \text{.....(6.24)}$$

$$C_x = \frac{(V_s)_0 C_s}{V_x} \quad \text{.....(6.25)}$$

### สรุปท้ายบทเรียน

การวิเคราะห์เชิงปริมาณของสารที่สนใจโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงในเทคนิคยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตเมทรีอาศัยกฎของเบียร์ โดยการทำการกราฟมาตรฐานความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน (สารที่สนใจ) ที่ทราบความเข้มข้นที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันตามลำดับ ค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากเครื่องยูวี-วิสิเบิลจะสัมพันธ์เป็นเส้นตรงกับความเข้มข้นตามกฎของเบียร์ ความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างที่มีค่าการดูดกลืนค่าหนึ่ง สามารถคำนวณได้จากสมการเส้นตรง วิธีการเติมสารมาตรฐาน เป็นอีกวิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณของสารที่สนใจที่มีสารเจือปนอาจจะมีผลต่อการวิเคราะห์ได้ โดยหลักการของวิธีนี้คือการเติมสารละลายมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนลงในสารตัวอย่างจะทำการวิเคราะห์สารที่สนใจ

## กิจกรรม

ขั้นตอน	วิธีการ
ผู้สอนสาธิต	แนวทางการสร้างกราฟมาตรฐานความเข้มข้นด้วยโปรแกรมเอกซ์เซล <a href="http://web.rmutp.ac.th/woravith/?page_id=8206">http://web.rmutp.ac.th/woravith/?page_id=8206</a>
แนะนำโจทย์ปัญหา (P)	แจกใบกิจกรรม 6.3 แจกกระดาษกราฟ
ไต่ตรองทางแก้ไขเฉพาะตน (E)	แต่ละคนบอกวิธีการแก้ไขโจทย์ปัญหา (10 นาที)
ระดมสมองโดยกลุ่ม (T)	ให้รวมกลุ่ม มอบหมายโจทย์ให้แต่ละกลุ่มระดมสมองแก้ไขโดยวิธีการร่วมแสดงความคิดเห็น (10 นาที)
สื่อสารทางออก (C)	ให้แต่ละกลุ่มนำเสนอ วิธีการแก้ไขโจทย์ปัญหา 1) หลักการสำคัญหรือหลักพื้นฐานที่ถูกต้อง 2) วิธีการคำนวณค่าที่ถูกต้อง 3) วิธีอธิบายเชิงพฤติกรรม (วิธีปฏิบัติ) ที่ถูกต้อง โดยให้กลุ่มอื่น ๆ รับฟัง และซักถามในข้อที่สงสัย (10 นาที)
ถอดรหัสปรับใช้ (D)	ผู้สอนสรุป อภิปรายสรุปความถูกต้องและความผิดพลาด โดยเพิ่มเติมประเด็นที่เกี่ยวข้องให้สมบูรณ์

**แบบฝึกหัดท้ายบทเรียน**

1. จงอธิบายเหตุผลของการทำกราฟมาตรฐานความเข้มข้น
2. จงอธิบายวิธีการทำกราฟมาตรฐานความเข้มข้น
3. จงอธิบายความแตกต่างระหว่างการทำกราฟมาตรฐานความเข้มข้น และ matrix matched calibration
4. ถ้าในการทำกราฟมาตรฐานความเข้มข้น พบว่ากราฟเส้นตรงมีค่า coefficient correlation ( $R^2$ ) น้อยกว่า 0.99 จงอธิบายว่าการวิเคราะห์สารตัวอย่างจะมีผลอย่างไร
5. ในการวัดวิเคราะห์สารตัวอย่าง พบว่ามีสารตัวอย่างวัดค่าการดูดกลืนแสงแล้วได้ค่ามากกว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานที่มีความเข้มข้นสูงสุด เราจะมึวิธีการแก้ไขปัญหอย่างไร
6. จงอธิบายเหตุผลของการทำการวิเคราะห์โดยวิธีการเติมสารมาตรฐาน

## เอกสารอ้างอิง

- แม่น อมรสิทธิ์, และ อมร เพชรสม. (2550). *หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ*. สำนักพิมพ์ชวนชม.
- วรวิทย์ จันทร์สุวรรณ. 2563. *เคมีวิเคราะห์: หลักการและเทคนิคการคำนวณเชิงปริมาณ*. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- Brown, J.Q., et al. (2009). Advances in quantitative UV-visible spectroscopy for clinical and pre-clinical application in cancer. *Curr Opin Biotechnol.* 20(1), p.119-131. doi: 10.1016/j.copbio.2009.02.004.
- Chansuvarn, W., Panich, S., & Imyim, A. (2013). Simple spectrophotometric method for determination of melamine in liquid milks based on green Mannich reaction. *Spectrochim. Acta A.* 113(-), p. 154-158.
- Christian, G.D., Dasgupta, P.K., & Schug, K.A. (2014). *Analytical Chemistry* (7<sup>th</sup> ed.). John Wiley & Sons.
- Choudhary, A. (2011). *Standard operating procedure to calibrate the UV-Vis Spectrophotometer*. <https://www.pharmaguideline.com/2011/02/sop-for-calibration-of-uv-vis.html>
- Gaines, P. (n.d.). *Calibration Curves*. <https://www.inorganicventures.com/icp-guide/calibration-curves>
- Harris, D.C. (2010). *Quantitative Chemical Analysis* (8<sup>th</sup> ed.). W. H. Freeman and Company.
- Harvey, D. (2019). *Analytical Chemistry 2.1*. <https://chem.libretexts.org/>
- Mejdal, A. (2014, June 4), *Determining chemical concentration with standard addition: An application of linear regression in JMP*. JMP blog. <https://community.jmp.com/t5/JMP-Blog/Determining-chemical-concentration-with-standard-addition-An/ba-p/30290>
- Ojeda, C.B., & Rojas, F.S. (2009). Process Analytical Chemistry: Applications of Ultraviolet/Visible Spectrometry in Environmental Analysis: An Overview. *Applied Spectroscopy Reviews*, 44(3), p.245-265, DOI: 10.1080/05704920902717898
- Owen, T. (1996). *Fundamental of UV-visible spectroscopy: A Primer*. Hewlett-Packard.
- Pino, L.K., et al. (2020). Matrix-matched calibration curves for assessing analytical figures of merit in quantitative proteomics. *Journal of Proteome Research*. 19(3), p.1147-1153. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jproteome.9b00666>
- Rodriguez, L.C., et al. (2007). Principles of analytical calibration/quantification for the separation sciences. *Journal of Chromatography A*, 1158, p.33-46.
- Skoog, D.A., Holler, F.J., & Crouch, S.R. (2016). *Principles of Instrumental Analysis* (7<sup>th</sup> ed.). Brooks/Cole Publishing.