

หน่วยที่ 1

วิธีวิ-วิสิเบิล สเปกโทรสโกปี

หน่วยที่ 1 วิธีวิ-วิสิเบิล สเปกโทรสโกปี

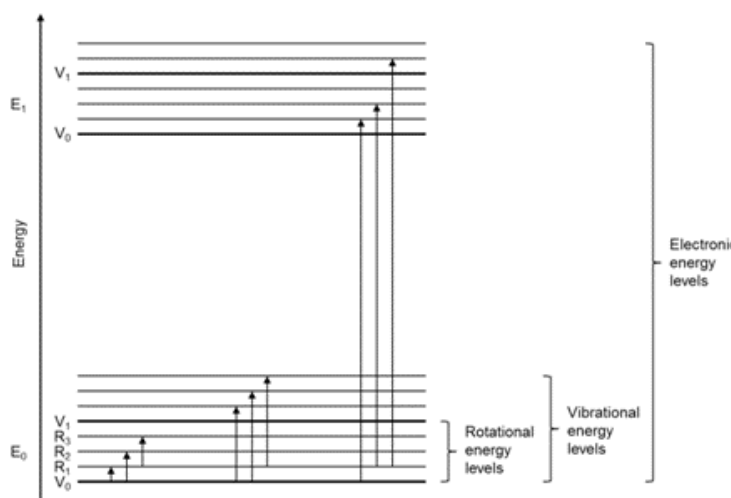
บทเรียน 1.1 การดูดกลืนระดับโมเลกุล

จุดประสงค์การสอน

- บอกอันตรกิริยาระหว่างโฟตอนกับสสาร
- อธิบายการดูดกลืนรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า
- อธิบายกฎการดูดกลืนและการเบี่ยงเบน
- ปฏิบัติการส่วนประกอบของเครื่อง UV-Vis

1.1.1 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 1.1



ภาพที่ 1.1 รูปแบบการทรานซิชันของอนุภาค

การแทรกซึมของสสารเป็นผลอันเนื่องมาจากอันตรกิริยาระหว่างโฟตอนกับสสารไม่ว่าจะเป็นระดับอะตอม โมเลกุล หรือไอออน กล่าวคือ โฟตอนของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีพลังงานแตกต่างกันทำให้เกิดอันตรกิริยากับสสารได้แตกต่างกัน เทคนิคทางสเปกโทรสโกปีอาจแบ่งอย่างกว้างเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ

- 1) เทคนิคที่มีการถ่ายเทพลังงานระหว่างโฟตอนของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้ากับสสาร เช่น การดูดกลืน และการเปล่งออก
- 2) เทคนิคที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงสมบัติของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า

ตารางที่ 1.1 เทคนิคทางสเปกโทรสโกปี

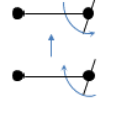
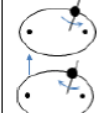
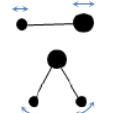
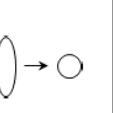
เทคนิคที่มีการถ่ายเทพลังงานระหว่างโฟตอนของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้ากับสสาร	เทคนิคที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงสมบัติของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า
▪ การดูดกลืน (absorption) ▪ การเปล่งออก (emission)	▪ ความกว้าง (amplitude) ▪ มุม (angle) ▪ โพลาไรเซชัน (polarization) หรือทิศทาง (direction of propagation) ซึ่งมีผลให้เกิดปรากฏการณ์เมื่อตกกระทบกับตัวอย่าง เช่น การหักเห (refraction) การสะท้อน (reflection) การกระเจิง (scattering) และการกระจาย (diffraction)

เทคนิคสเปกโทรสโกปีที่มีการถ่ายเทพลังงานระหว่างโฟตอนของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าอาศัยการแทรกซึมระดับอะตอม (atomic transition) หรือระดับโมเลกุล (molecular transition) แสดงตารางที่ 1.2 โดยพลังงานโฟตอนจะมีผลต่อการแทรกซึมของสสาร ระดับพลังงานโฟตอนที่ต่ำจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างอ่อน ๆ โดยเป็นเพียงการเปลี่ยนการหมุนของอิเล็กตรอน (spin of electron) ซึ่งจะใช้กับเทคนิค NMR และ ESR ส่วนโฟตอนที่มีพลังงานสูงจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างรุนแรงถึงระดับนิวเคลียสของสสาร

เทคนิคการวิเคราะห์ที่มีระดับพลังงานในย่านวิสิเบิลและอินฟราเรด อาจเรียกรวมว่า เทคนิคเกี่ยวกับการมองเห็น (optical method) แม้ว่าสายตาเราไม่สามารถสัมผัสรังสีย่านยูวีและอินฟราเรดได้ก็ตาม การเกิดอันตรกิริยาระหว่างโฟตอนกับสสารทำให้ทราบข้อมูลเกี่ยวกับสารที่สนใจในรูปแบบต่าง ๆ ตามการเปลี่ยนแปลงอันเนื่องมาจากการแทรกซึมของอนุภาค ซึ่งการเกิดอันตรกิริยาระหว่างโฟตอนกับสสารทำให้เกิดวิธีการวิเคราะห์ทางสเปกโทรสโกปีอีกหลายเทคนิค ดังภาพที่ 1.2

ตารางที่ 1.2 เทคนิคสเปกโทรสโกปีที่เกี่ยวข้องกับการถ่ายเทพลังงานระหว่างโฟตอนกับสาร

รูปแบบการถ่ายโอนพลังงาน	ย่านคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า	เทคนิคการวิเคราะห์ทางสเปกโทรสโกปี
การดูดกลืน (absorption)	รังสีแกมมา	มอสเบาเออร์ (mossbauer spectroscopy)
	รังสีเอกซ์	เอกซเรย์แอมบอร์บชัน (X-ray absorption)
	ยูวี-วิสิเบิล	ยูวี-วิสิเบิล (UV-vis) อะตอมมิกแอมบอร์บชัน
	อินฟราเรด	อินฟราเรด (infrared) รามาน (Raman)
	คลื่นไมโครเวฟ	ไมโครเวฟ (microwave)
	คลื่นวิทยุ	อิเล็กตรอนสปินเรโซแนนซ์ (electron spin resonance; ESR) นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ (nuclear magnetic resonance; NMR)
การเปล่งออก (emission)	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)

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

ภาพที่ 1.2 ย่านของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าและชนิดการเปลี่ยนแปลงที่เกิดจากอันตรกิริยาของโฟตอนกับสารที่สนใจ. ที่มาจาก เคมีวิเคราะห์: หลักการและเทคนิคการคำนวณเชิงปริมาณ (หน้า 345) โดย วรวิทย์ จันทร์สุวรรณ, 2563, สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ตารางที่ 1.3 ความยาวคลื่นและประเภทการแทรกซึมของวิธีเชิงสเปกโทรสโกปี

ประเภทสเปกโทรสโกปี	ย่านความยาวคลื่น	เลขคลื่น (cm ⁻¹)	ประเภทการแทรกซึม
การเปล่งออกรังสีแกมมา	0.005-1.4 A	-	นิวเคลียร์
การดูดกลืนรังสีเอกซ์	0.1-100 A	-	อิเล็กทรอนิกส์ใน
การเปล่งออกรังสีเอกซ์			
การวาวแสงรังสีเอกซ์			
การเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์			
การดูดกลืนยูวีสุญญากาศ	10-180 nm	1 x10 ⁶ -5x10 ⁴	อิเล็กทรอนิกส์สร้างพันธะ
การดูดกลืนยูวี-วิสิเบิล	180-780 nm	5x10 ⁴ -1.3x10 ⁴	อิเล็กทรอนิกส์สร้างพันธะ
การเปล่งออกยูวี-วิสิเบิล			
การวาวแสงยูวี-วิสิเบิล			
การดูดกลืนอินฟราเรด	0.78-300 μm	1.3x10 ⁴ -1.3x10 ¹	การหมุน/การสั่น
การกระเจิงรามาน			
การดูดกลืนไมโครเวฟ	0.75-3.75 mm	13-27	การหมุน
อิเล็กทรอนิกส์สปิน เรโซแนนซ์	3 cm	0.33	การสปินของอิเล็กตรอนใน สนามแม่เหล็ก
นิวเคลียร์แมกเนติก เรโซแนนซ์	0.6-10 m	1.7x10 ⁻² -1x10 ³	การสปินของนิวคลีไอใน สนามแม่เหล็ก

ส่วนเทคนิคที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงสมบัติของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า โดยไม่เกี่ยวข้องกับการแลกเปลี่ยนพลังงานระหว่างโฟตอนกับสสาร แสดงดังตารางที่ 1.4

ตารางที่ 1.4 เทคนิคสเปกโทรสโกปีที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงสมบัติของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า

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

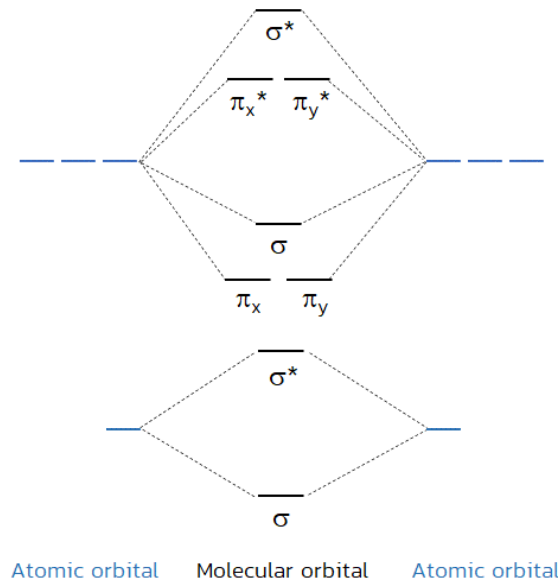
ตารางที่ 1.5 รูปแบบและเทคนิคการวิเคราะห์

อันตรกิริยา	ช่วงความถี่ (Hz)	รูปแบบและเทคนิคการวิเคราะห์
ย่านคลื่นวิทยุ	$3 \times 10^6 - 3 \times 10^{10}$	การเปลี่ยนแปลงของพลังงานในช่วง 10^{-3} ถึง 10 J/mol เกิดจากการเปลี่ยนแปลงสปิน (spin) ของนิวเคลียสหรืออิเล็กตรอน แล้วเกิดอันตรกิริยากับสนามแม่เหล็กของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความถี่ที่เหมาะสม เทคนิค เช่น นิวเคลียร์แมกเนติก เรโซแนนซ์ (NMR) และอิเล็กตรอนสปิน เรโซแนนซ์ (ESR)
ย่านไมโครเวฟ	$3 \times 10^{10} - 3 \times 10^{12}$	การเปลี่ยนแปลงของพลังงานเกิดจากการหมุน (rotation) ของโมเลกุล ความแตกต่างของระดับพลังงานของการหมุนอยู่ในช่วง 10^2 J/mol การหมุนของโมเลกุลจะเกิดสนามไฟฟ้าและให้สเปกตรัมไมโครเวฟออกมา 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)

1.1.2 การดูดกลืนรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า

1) การแทรกซ้นของซิกมาอิเล็กตรอน ไพอิเล็กตรอน และอิเล็กตรอนที่ไม่ได้สร้างพันธะ

ทฤษฎีออร์บิทัลเชิงโมเลกุล (molecular orbital theory) อธิบายถึงการซ้อนเหลื่อมของออร์บิทัลเชิงอะตอม (atomic orbital; AO) เกิดเป็นออร์บิทัลเชิงโมเลกุลแบบสร้างพันธะ (bonding molecular orbital; BMO) คือ ออร์บิทัลซิกมา (σ -orbital) และออร์บิทัลไพ (π -orbital) และเกิดเป็นออร์บิทัลเชิงโมเลกุลแบบต้านพันธะ (anti-bonding molecular orbital; AMO) คือ ออร์บิทัลแบบต้านพันธะซิกมา (σ^* -orbital) และออร์บิทัลแบบต้านพันธะไพ (π^* -orbital) ดังภาพที่ 1.3 ส่วนกรณีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวจะบรรจุในออร์บิทัลเชิงโมเลกุลแบบไม่สร้างพันธะ (non-bonding molecular orbital; n)



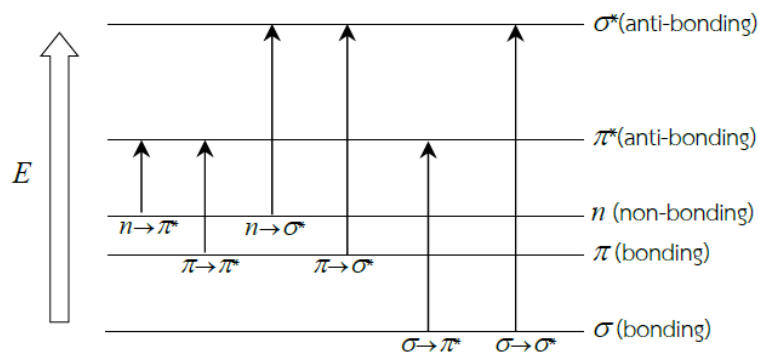
ภาพที่ 1.3 ออร์บิทัลเชิงโมเลกุล

การแทรกซึมของอิเล็กตรอนจะเกิดขึ้นเมื่อมีการดูดกลืนรังสีที่มีระดับพลังงานแน่นอน อิเล็กตรอนที่เกิดแทรกซึมเป็นอิเล็กตรอนวงนอกสุดที่สามารถหลุดจากวงโคจรได้ง่าย การแทรกซึมของอิเล็กตรอนที่อาจเกิดขึ้นได้ในโมเลกุลสารอินทรีย์ แบ่งออกได้ 3 ประเภทดังนี้

- 1) อิเล็กตรอนที่ทำให้เกิดพันธะซิกมา (σ -bond) หรือเรียกว่า ซิกมาอิเล็กตรอน (σ -electron)
- 2) อิเล็กตรอนที่ทำให้เกิดพันธะไพ (π -bond) หรือเรียกว่า ไพอิเล็กตรอน (π -electron)
- 3) อิเล็กตรอนที่ไม่ได้สร้างพันธะ (non-bonding electron; n -electron)

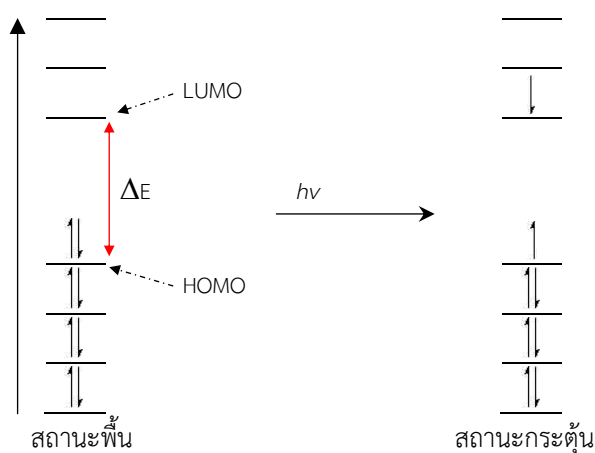
กรณีโมเลกุลสารอินทรีย์มีเฉพาะพันธะเดี่ยว อิเล็กตรอนจะบรรจุในออร์บิทัลซิกมาจึงเรียกเป็น ซิกมาอิเล็กตรอน ส่วนสารอินทรีย์ที่มีพันธะคู่และพันธะสาม อิเล็กตรอนจะบรรจุที่ออร์บิทัลไพจึงเรียกเป็นไพอิเล็กตรอน ส่วนออร์บิทัลที่ไม่ได้มีส่วนเกี่ยวข้องในการสร้างพันธะ (n -orbital) อิเล็กตรอนที่บรรจุในออร์บิทัลดังกล่าว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

สำหรับโมเลกุลสารอินทรีย์ที่มีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวที่ไม่ได้เกิดพันธะ เมื่อโมเลกุลดูดกลืนพลังงานย่านยูวี-วิสิเบิล อิเล็กตรอนจะเกิดแทรกซึมจากสถานะพื้น (σ , π และ n) ไปยังสถานะกระตุ้น (σ^* และ π^*) การแทรกซึมอาจเกิดได้ทั้งหมด 6 แบบ ได้แก่ $\sigma \rightarrow \sigma^*$, $\sigma \rightarrow \pi^*$, $\pi \rightarrow \sigma^*$, $\pi \rightarrow \pi^*$, $n \rightarrow \sigma^*$ และ $n \rightarrow \pi^*$ ดังภาพที่ 1.4



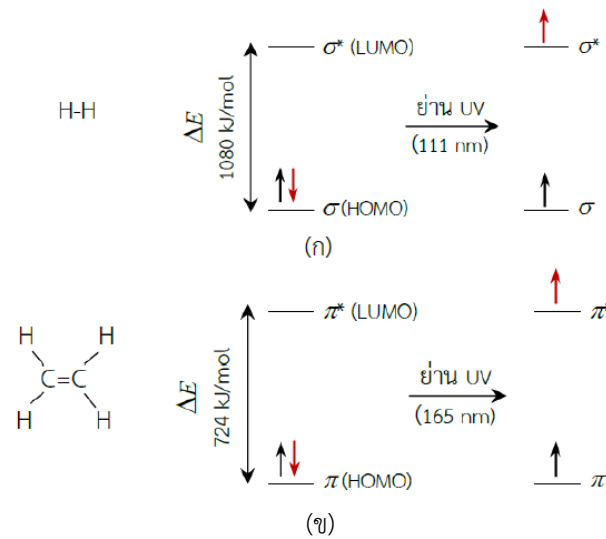
ภาพที่ 1.4 แผนภาพการแทนขี้นของขีมาอิล็กตรอน ไขอิล็กตรอน และอิล็กตรอนที่ไม่ได้สร้างพันธะ

การแทนขี้นของอิล็กตรอนเป็นการกระตุ้นอิล็กตรอนจากสถานะพื้นไปยังสถานะกระตุ้น ซึ่งในสถานะพื้น ระดับพลังงานของออร์บิทัลเชิงโมเลกุลที่สร้างพันธะ (bonding molecular orbital) จะเป็นระดับที่สูงที่สุดที่อิล็กตรอนสามารถครอบครองอยู่ได้ (highest occupied molecular orbital; HOMO) ส่วนในสถานะกระตุ้น ระดับพลังงานของออร์บิทัลเชิงโมเลกุลที่ต้านการสร้างพันธะ (antibonding molecular orbital) จะเป็นระดับที่ต่ำที่สุดที่ไม่มีอิล็กตรอนครอบครองอยู่ได้ (lowest unoccupied molecular orbital; LUMO) ดังนั้นการแทนขี้นของอิล็กตรอนจึงเป็นการกระตุ้นอิล็กตรอนจาก HOMO ไปยัง LUMO ดังภาพที่ 1.5



ภาพที่ 1.5 การแทนขี้นของอิล็กตรอนจาก HOMO ไปยัง LUMO

จากแผนภาพการแทนขี้น (ภาพที่ 1.5) จะเห็นว่าผลต่างของระดับพลังงาน (ΔE) ของการแทนขี้นจะแตกต่างกันตามประเภทของการแทนขี้นของอิล็กตรอน เช่น $n \rightarrow \pi^*$ และ $\pi \rightarrow \pi^*$ จะมีค่าต่ำสุดเมื่อเทียบกับการแทนขี้นของอิล็กตรอนแบบอื่น ๆ ซึ่งผลต่างของระดับพลังงานเกี่ยวข้องกับพลังงานของโฟตอนที่ถูกดูดกลืนโดยสาร ภาพที่ 1.6 สารที่เกิดการแทนขี้นของอิล็กตรอนแบบ $\sigma \rightarrow \sigma^*$ จะมีผลต่างพลังงานจากการแทนขี้นมากกว่า $\pi \rightarrow \pi^*$ ซึ่งจะเห็นว่าย่านความยาวคลื่นที่ถูกดูดกลืนของ H_2 (111 nm) จะน้อยกว่า C_2H_4 (165 nm)



ภาพที่ 1.6 แผนภาพการแทนขี้นของ (ก) แก๊สไฮโดรเจน (H₂) และ (ข) เอทิลีน

การแทนขี้นในสารอินทรีย์เรียงเป็นไปได้ 4 แบบ และตามลำดับพลังงานจากมากไปน้อยคือ $\sigma \rightarrow \sigma^*$, $n \rightarrow \sigma^*$, $\pi \rightarrow \pi^*$ และ $n \rightarrow \pi^*$ โดย ความยาวคลื่นที่พอเหมาะสำหรับการแทนขี้นเกี่ยวข้องกับ ชนิดพันธะหรือหมู่ฟังก์ชัน (functional group) แสดงดังตารางที่ 1.6 ซึ่งส่วนใหญ่การแทนขี้นของ อิเล็กตรอนในสารอินทรีย์ (ยกเว้น แอลเคน) จะเปลี่ยนระดับพลังงานได้มากกว่าหนึ่งแบบ การแทนขี้นที่สำคัญที่สุดคือ $n \rightarrow \pi^*$ และ $\pi \rightarrow \pi^*$ เนื่องจากการแทนขี้นแบบนี้เกี่ยวข้องกับหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญซึ่งจะแสดง ลักษณะเฉพาะของสารอินทรีย์ โดยชนิดพันธะหรือหมู่ฟังก์ชันที่ส่งผลให้มีการดูดกลืนรังสีย่าน ยูวี-วิสิเบิลมากขึ้น เรียกว่า โครโมฟอร์ (chromophore)

ตารางที่ 1.6 การแทนขี้นของอิเล็กตรอน

ประเภทการแทนขี้น	ย่านความยาวคลื่น (nm)	ตัวอย่างหมู่ฟังก์ชัน
$\sigma \rightarrow \sigma^*$	<200	C-C, C-H
$n \rightarrow \sigma^*$	160 – 260	H ₂ O, CH ₃ OH, CH ₃ 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

การแทนขี้น $\sigma \rightarrow \sigma^*$

การแทนขี้นของอิเล็กตรอนในออร์บิทัลเชิงโมเลกุลที่สร้างพันธะซิกมา (σ -bonding molecular orbital) ถูกกระตุ้นไปสู่ออร์บิทัลแบบต้านทานการสร้างพันธะ (σ^* -antibonding molecular orbital) โดยการดูดกลืนโฟตอนที่ทำให้เกิดการแทนขี้นของอิเล็กตรอนจาก $\sigma \rightarrow \sigma^*$ มีค่ามาก เช่น CH₄ เมื่อเกิดการแทนขี้นจาก $\sigma \rightarrow \sigma^*$ จะดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 125 nm หรือ CH₃CH₃ เมื่อเกิดการแทนขี้นจาก $\sigma \rightarrow \sigma^*$ จะดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 135 nm ซึ่ง CH₃CH₃ ใช้พลังงานในการดูดกลืนรังสีน้อยกว่า CH₄ เพราะว่าความแรงของพันธะ C-C น้อยกว่าพันธะ C-H การดูดกลืนเนื่องจากการแทนขี้น $\sigma \rightarrow \sigma^*$ พบใน

ย่านยูวี การเกิดแทรนซิชันแบบ $\sigma \rightarrow \sigma^*$ จะต้องทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือในสภาวะสุญญากาศ ซึ่งมีความยุ่งยากมาก จึงไม่นิยมใช้เทคนิคนี้ในการวิเคราะห์

การแทรนซิชัน $n \rightarrow \sigma^*$

สารอินทรีย์ที่อะตอมมีอิเล็กตรอนแบบไม่สร้างพันธะ (non-bonding electron) สารประกอบที่อยู่ในโครงสร้างประกอบด้วยอะตอมออกซิเจน (O) ไนโตรเจน (N) ซัลเฟอร์ (S) และแฮโลเจน (F, Cl, Br) เป็นต้น ซึ่งอะตอมเหล่านี้จะมีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยว จะเกิดการแทรนซิชันแบบ $n \rightarrow \sigma^*$ การแทรนซิชันแบบนี้ใช้พลังงานน้อยกว่า $\sigma \rightarrow \sigma^*$ ย่านความยาวคลื่นที่เกิดการแทรนซิชันแบบ $n \rightarrow \sigma^*$ จะมีค่า 150-250 nm การดูดกลืนรังสีเนื่องจากการแทรนซิชันแบบ $n \rightarrow \sigma^*$ พลังงานที่ใช้ในการแทรนซิชันขึ้นกับชนิดของพันธะของอะตอมเป็นส่วนใหญ่ ไม่ขึ้นกับโครงสร้างของโมเลกุล สภาพดูดกลืนแสงต่อโมล (ϵ) มีค่าระหว่าง 100 ถึง 3000 dm^3/cm ความยาวคลื่นที่ใช้ในการดูดกลืนแบบ $n \rightarrow \sigma^*$ จะมีค่าลดลงเมื่ออยู่ในตัวทำละลายมีขั้ว เช่น น้ำหรือเอทานอล

ตารางที่ 1.7 สารที่มีการดูดกลืนเนื่องจากการแทรนซิชัน $n \rightarrow \sigma^*$

สารประกอบ	ความยาวคลื่น (nm)	ϵ (dm^3/cm)
H ₂ O	167	1480
CH ₃ OH	184	150
CH ₃ Cl	173	200
CH ₃ I	258	365
(CH ₃) ₂ S	229	140
(CH ₃) ₂ O	184	2,520
CH ₃ NH ₂	215	600
(CH ₃) ₃ N	227	900

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

การดูดกลืนเนื่องจากการแทรนซิชันแบบ $n \rightarrow \pi^*$ และ $\pi \rightarrow \pi^*$ จะมีพลังงานโฟตอนอยู่ในย่านความยาวคลื่น 200 ถึง 800 nm ซึ่งการแทรนซิชันแบบ $n \rightarrow \pi^*$ และ $\pi \rightarrow \pi^*$ เกี่ยวข้องกับหมู่ โครโมฟอร์

โมเลกุลสารอินทรีย์ไม่อิ่มตัว เช่น แอลคีน แอลไคน์ และแอโรแมติก จะเกิดแทรนซิชันแบบ $\pi \rightarrow \pi^*$ ส่วนสารประกอบคาร์บอนิล เช่น กรดคาร์บอกซิลิก คีโตน แอลดีไฮด์ เอสเทอร์ และเอไมด์ ในโครงสร้างมีหมู่คาร์บอนิล (C=O) ซึ่งระหว่างอะตอมคาร์บอนและออกซิเจนมีพันธะคู่ และอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวจำนวนสี่ตัวบนอะตอมออกซิเจน ทำให้เกิดแทรนซิชันได้ 2 แบบ คือ $\pi \rightarrow \pi^*$ และ $n \rightarrow \sigma^*$ ส่วนการแทรนซิชันแบบ $n \rightarrow \pi^*$ จะเห็นในสเปกตรัมได้แต่มีความเข้มต่ำมาก ๆ ดังภาพที่ 1.7



ได้อีโนน

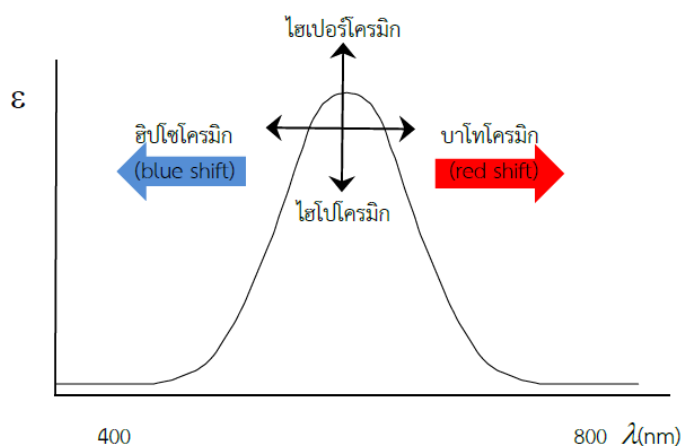
ฟังก์ชัน รูปร่างโมเลกุล และพันธะระหว่างโมเลกุลแต่ละชนิด แสดงดังภาพที่ 1.8



วิเคราะห์: หลักการและเทคนิคการคำนวณเชิงปริมาณ (หน้า 374) โดย วรวิทย์ จันท์สุวรรณ, 2563, สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

10,000 dm³/cm ดังตารางที่ 1.8

ภาพที่ 1.9 และตัวอย่างผลของออกไซด์โครมสรุปได้ดังตารางที่ 1.9



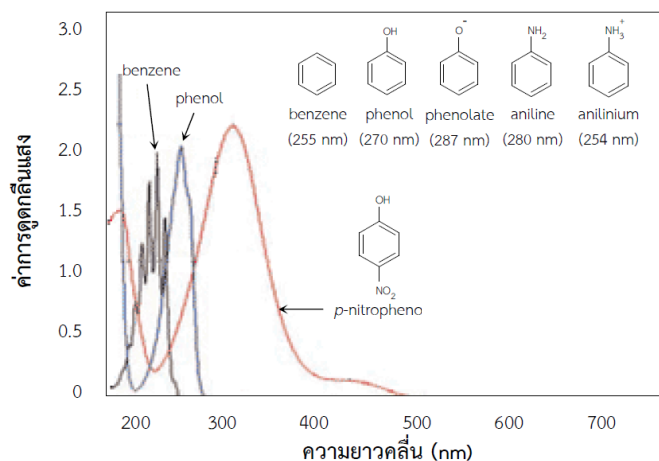
ภาพที่ 1.9 ผลของสเปกตรัมที่เกิดบาโทโครมิก ชิฟต์โครมิก ไฮเปอร์โครมิก และไฮโปโครมิก

ตารางที่ 1.8 โครโมฟอร์สารอินทรีย์บางชนิด

ชนิด	ตัวอย่างโมเลกุล	การแทนขีซัน	$\lambda_{\max}$ (nm)	ϵ	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
	$\text{CH}_2=\text{CH}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_3$	$n \rightarrow \pi^*$	324	24	alcohol
		$\pi \rightarrow \pi^*$	219	3,600	
คาร์บอกซิลิก	CH_3COOH	$n \rightarrow \pi^*$	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	CH_3NO_2	$n \rightarrow \pi^*$	280	22	<i>iso</i> -octane
แอลเคน	CH_4	$\sigma \rightarrow \sigma^*$	121.9	strong	vapor
	CH_3-CH_3	$\sigma \rightarrow \sigma^*$	135	strong	vapor
แอลคิล	CH_3-Cl	$\sigma \rightarrow \sigma^*$	172.5	weak	vapor
แฮไลด์	CH_3-Br	$\sigma \rightarrow \sigma^*$	204	200	vapor
	CH_3-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

ตารางที่ 1.9 ผลของหมู่ออกโซโครม

ชื่อ	ผล	ตัวอย่าง
บาโทโครมิก	หมู่ออกโซโครมที่เกาะบนโครโมฟอร์ ทำให้การดูดกลืนแสงมีแนวโน้มไปทางความยาวคลื่นที่มากขึ้น	เบนซีน (C_6H_6) ดูดกลืนรังสีย่านยูวี จะเกิดการแทนที่ชั้นของอิเล็กตรอนแบบ $\pi \rightarrow \pi^*$ สเปกตรัมมี λ_{max} สองตำแหน่ง คือ 203.5 nm ($\epsilon \sim 7,400$) และ 255 nm ($\epsilon \sim 204$) (ดังภาพที่ 1.10) เมื่อมีหมู่แทนที่มาเกาะ ■ แอนิลีน (aniline) ซึ่งมีหมู่อะมิโน ($-NH_2$) ส่งผลให้สเปกตรัมมี λ_{max} มากขึ้นเป็น 280 nm ($\epsilon \sim 8,600$) ■ พาราไนโตรฟีนอล (<i>p</i>-nitrophenol) ซึ่งมีหมู่นิโตร ($-NO_2$) มี λ_{max} มากขึ้นเป็น 320 nm
อิโซโครมิก	หมู่ออกโซโครมที่เกาะบนโครโมฟอร์ ทำให้ดูดกลืนรังสีที่ความยาวคลื่นสั้นลง	แอนิลีนในสภาพที่เป็นกรดมี $\lambda_{max} = 280$ nm เมื่อเกิดเป็นไอออนแอนิลีนเนียม (anilinium ion) ซึ่งบนอะตอมไนโตรเจนจะไม่มีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวที่จับคู่ (conjugate) กับพันธะไพของแอมโรแมติก ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานของอิเล็กตรอนแบบ $\pi \rightarrow \pi^*$ มีความยาวคลื่นสั้นลงเป็น 254 nm เมื่อเทียบกับแอนิลีน ดังภาพที่ 1.10
ไฮเปอร์โครมิก	การเลื่อนสเปกตรัมที่ทำให้ความเข้มของแสงที่ถูกดูดกลืนหรือมีค่าสภาพดูดกลืนแสงต่อโมลมากขึ้น เมื่อมีหมู่แทนที่เกาะบนโครโมฟอร์	ไพรีดีน (pyridine) มี λ_{max} ที่ 257 nm ($\epsilon \sim 2,750$) เมื่อมีหมู่แทนที่เป็น 2-เมทิลไพรีดีน (2-methyl pyridine) มี λ_{max} มากขึ้นเล็กน้อย 260 nm แต่มี ϵ สูงขึ้นเกือบสองเท่า
ไฮโปโครมิก	การเลื่อนสเปกตรัมที่ทำให้ความเข้มของแสงที่ถูกดูดกลืนหรือสภาพดูดกลืนแสงต่อโมลน้อยลง เมื่อมีหมู่แทนที่เกาะบนโครโมฟอร์	แนฟทาเลน (naphthalene) มี λ_{max} ที่ 235 nm และมีสภาพดูดกลืนแสงต่อโมล $\sim 19,000$ เมื่อมีหมู่แทนที่เป็น 2-เมทิลแนฟทาเลน (2-methyl naphthalene) มี λ_{max} มากขึ้นเล็กน้อย 260 nm แต่มี ϵ ลดลงเป็น $\sim 10,250$



ภาพที่ 1.10 ผลของออกโซโครมบนเบนซีน

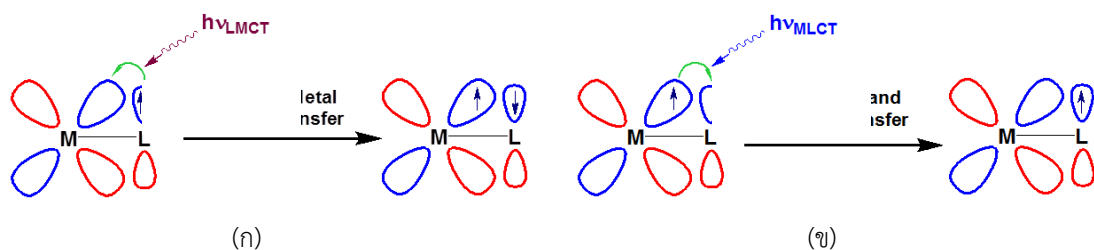
2) การถ่ายโอนประจุอิเล็กตรอน

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

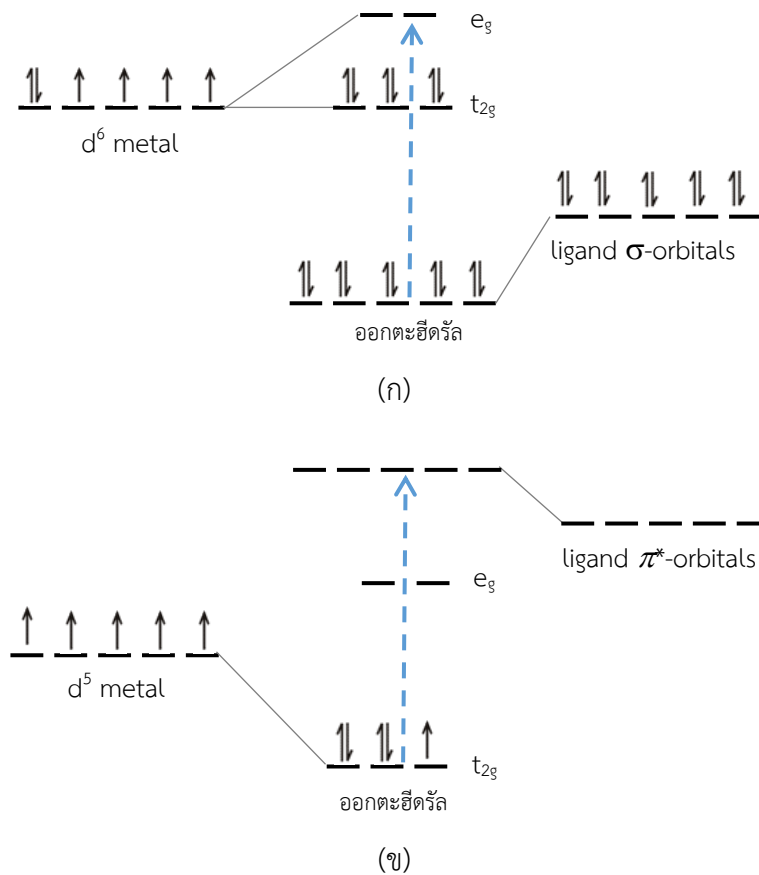
สเปกตรัมการถ่ายโอนประจุอิเล็กตรอนเป็นการถ่ายโอนอิเล็กตรอนภายในโมเลกุลระหว่างโลหะกับลิแกนด์ ทำให้มีพลังงานสูงขึ้นและจะมีค่าสภาพดูดกลืนแสงต่อโมลสูง ($>50,000$) (Mohapatra & Parida, 2017, Bonardi, 2018) ซึ่งเกิดขึ้นได้สองแบบคือ

1) การถ่ายโอนอิเล็กตรอนจากลิแกนด์ไปยังโลหะ (ligand to metal charge transfer; LMCT) ดังภาพที่ 1.11 (ก) โดยสเปกตรัมถ่ายโอนประจุเกี่ยวข้องกับการถ่ายโอนอิเล็กตรอนจากออร์บิทัล π^* ของลิแกนด์ (ที่ครอบครองในออร์บิทัลแบบเต็มหรือบางส่วน) ไปยังออร์บิทัลดีของโลหะ จากแผนภาพ LMCT ภาพที่ 1.12 (ก) เมื่อออร์บิทัลของลิแกนด์มีอิเล็กตรอนครอบครองเต็มในซิกมาออร์บิทัล สเปกตรัมการถ่ายโอนประจุอิเล็กตรอนเกิดขึ้นได้เนื่องจากอิเล็กตรอนของลิแกนด์ถ่ายโอนไปยังออร์บิทัลดีที่ว่างหรือที่ยังไม่เต็มของอะตอมโลหะ

2) การถ่ายโอนอิเล็กตรอนจากโลหะไปยังลิแกนด์ (metal to ligand charge transfer; MLCT) ดังภาพที่ 1.11 (ข) โดยสเปกตรัมถ่ายโอนประจุเกี่ยวข้องกับการถ่ายโอนอิเล็กตรอนจากออร์บิทัลดี (ที่ครอบครองในออร์บิทัลแบบเต็มหรือบางส่วน) ของโลหะไปยังออร์บิทัลดี- π^* ที่ว่างหรือที่ยังไม่เต็มของลิแกนด์ ดังภาพที่ 1.12 (ข) ซึ่งไอออนของโลหะสามารถดูดกลืนแสงย่านวิสิเบิล เนื่องจากการแทรนซิชันของเวเลนซ์อิเล็กตรอนของไอออนโลหะในออร์บิทัลดีในไอออนโลหะอิสระ (free metal ion) ออร์บิทัลดีทั้งหมด 5 ออร์บิทัลจะมีพลังงานเท่ากัน (degenerated d -orbitals) แต่เมื่อเกิดเป็นไอออนเชิงซ้อนระหว่างไอออนโลหะกับลิแกนด์ ออร์บิทัลดีจะแยกระดับพลังงานเป็นสองกลุ่มคือ กลุ่มที่มีระดับพลังงานสูงกว่ามี 2 ออร์บิทัล เรียกว่า อีจี (e_g) และกลุ่มที่มีระดับพลังงานต่ำกว่า มี 3 ออร์บิทัล เรียกว่า ทีทูจี (t_{2g}) สเปกตรัมดูดกลืนแสงจะสัมพันธ์กับพลังงานที่ใช้ในการกระตุ้นอิเล็กตรอนจากระดับ t_{2g} ไปยัง e_g โดยผลต่างของระดับพลังงาน (ΔE) จะมากหรือน้อยขึ้นกับธรรมชาติของโลหะแทรนซิชัน เลขออกซิเดชันของโลหะ และธรรมชาติของลิแกนด์

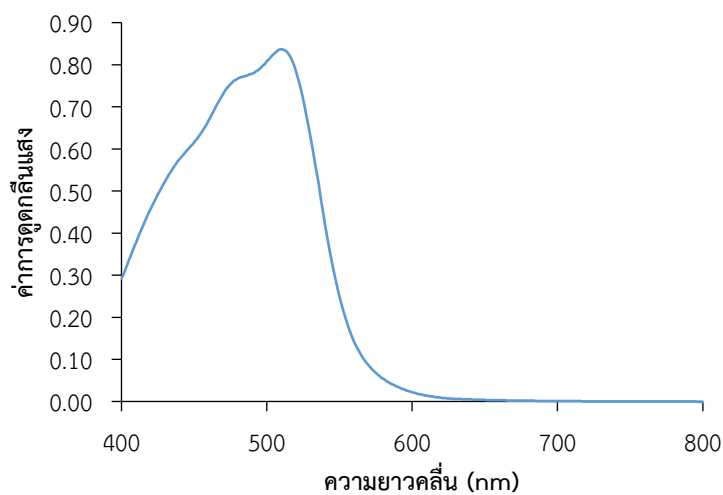


ภาพที่ 1.11 แผนภาพการถ่ายโอนอิเล็กตรอน (ก) จากลิแกนด์ไปยังโลหะ และ (ข) จากโลหะไปยังลิแกนด์. ที่มาจาก *Inorganic Chemistry* by G. L. Miessler, P. J. Fischer, & D. A. Tarr, 2010, Prentice-Hall/Pearson.



ภาพที่ 1.12 แผนภาพการถ่ายโอนประจุอิเล็กตรอน (ก) LMCT และ (ข) MLCT

ตัวอย่างไอออนเชิงซ้อนที่ถ่ายโอนประจุอิเล็กตรอน เช่น ไอออนเชิงซ้อนระหว่างเหล็ก(II) กับ 1,10-ฟีแนนโทรลีน ซึ่งมีสเปกตรัมดูดกลืนแสง แสดงดังภาพที่ 1.13 โดยที่เกิดการถ่ายโอนประจุอิเล็กตรอนจากลิแกนด์ไปยังโลหะ



ภาพที่ 1.13 สเปกตรัมดูดกลืนแสงของไอออนเชิงซ้อนของเหล็ก-ฟีแนนโทรลีน

3) การแทนชี่ยนในออร์บิทัลดี และออร์บิทัลเอฟ

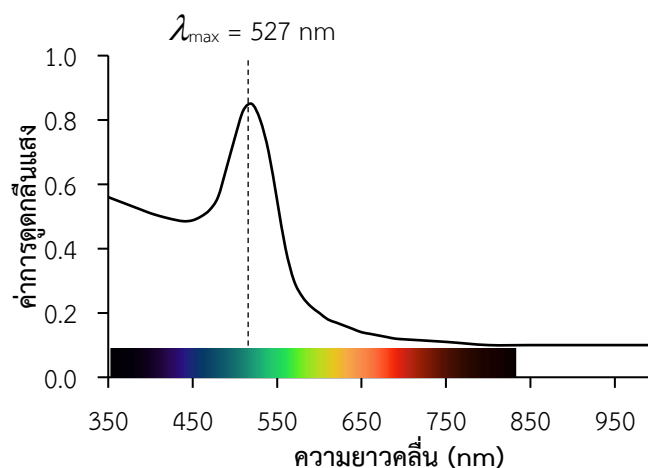
ไอออนเชิงซ้อนของโลหะแทนชี่ยนจะสามารถเกิดการแทนชี่ยนในออร์บิทัลดี ($d-d$ transition) เมื่อมีการกระตุ้นอิเล็กตรอนที่อยู่ในออร์บิทัลดีด้วยโฟตอน ให้ไปอยู่ในออร์บิทัลที่มีระดับพลังงานสูงกว่า แต่การเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานแบบ $d-d$ มีโอกาสเกิดขึ้นได้น้อยมาก จึงมีแถบการดูดกลืนแสงต่ำและความเข้มสีของสารละลายค่อนข้างต่ำ ยกเว้น ไอออนเชิงซ้อนของโลหะที่เป็น d^0 และ d^{10} อย่างไรก็ตาม การแทนชี่ยนของอิเล็กตรอนแบบออร์บิทัล $d-d$ สามารถเกิดขึ้นได้ทั้งย่านยูวีและวิสิเบิล แต่เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานต้องห้ามจึงทำให้มีความเข้มต่ำ โดยสีของสารละลายไอออนเชิงซ้อนของโลหะแทนชี่ยนจะขึ้นกับชนิดโลหะ สถานะออกซิเดชันของโลหะ และจำนวนอิเล็กตรอนในออร์บิทัลดีของโลหะ เช่น ไอออนเชิงซ้อนของ Fe^{2+} มีสีเขียว แต่ Fe^{3+} มีสีส้มหรือสีน้ำตาล

1.1.3 กฎการดูดกลืนและการเบี่ยงเบน

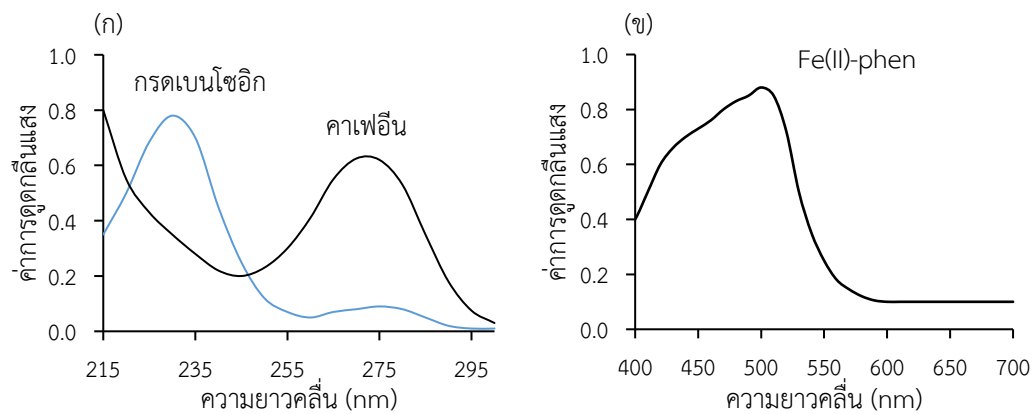
เมื่อรังสีย่านยูวี-วิสิเบิลผ่านไปยังสารที่มีอนุภาคที่สามารถดูดกลืนแสงได้ (absorbing species) จำนวนโฟตอนของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่ส่งผ่าน (transmittance) ออกมาจะลดลง เนื่องจากสารนั้นสามารถดูดกลืนโฟตอนบางส่วนไว้ได้ อันเนื่องมาจากการแทนชี่ยนที่ทำให้ดูดกลืนแสงได้ ซึ่งในการวัดจำนวนโฟตอนที่ลดลงเปรียบเทียบกับโฟตอนเริ่มต้น เรียกว่า ค่าการดูดกลืน (แอบซอร์บแนนซ์, absorbance; A)

แต่เนื่องจากสารไม่สามารถดูดกลืนคลื่นแสงได้ทุกย่านความยาวคลื่นของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า ดังนั้นความสามารถในการดูดกลืนแสงในแต่ละความยาวคลื่นจึงวัดออกมาได้แตกต่างกัน เมื่อเขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนเป็นแกน x กับความยาวคลื่นเป็นแกน y เราจะได้กราฟที่เรียกว่า สเปกตรัมการดูดกลืน แสดงดังภาพที่ 1.14 ซึ่งเป็นสเปกตรัมการดูดกลืนของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองคำ (gold nanoparticle) ที่แสดงความสามารถในการดูดกลืนรังสีย่านยูวี-วิสิเบิลแต่ละย่านความยาวคลื่นได้ไม่เท่ากัน

สเปกตรัมการดูดกลืนจะปรากฏที่ความยาวคลื่นของรังสีความยาวคลื่นหนึ่งที่สูงสุด เรียกว่า ความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดกลืนสูงสุด (maximum absorptivity wavelength, λ_{max}) ตัวอย่างอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองคำปรากฏ λ_{max} ที่ความยาวคลื่น 527 nm หรือตัวอย่างในภาพที่ 1.15

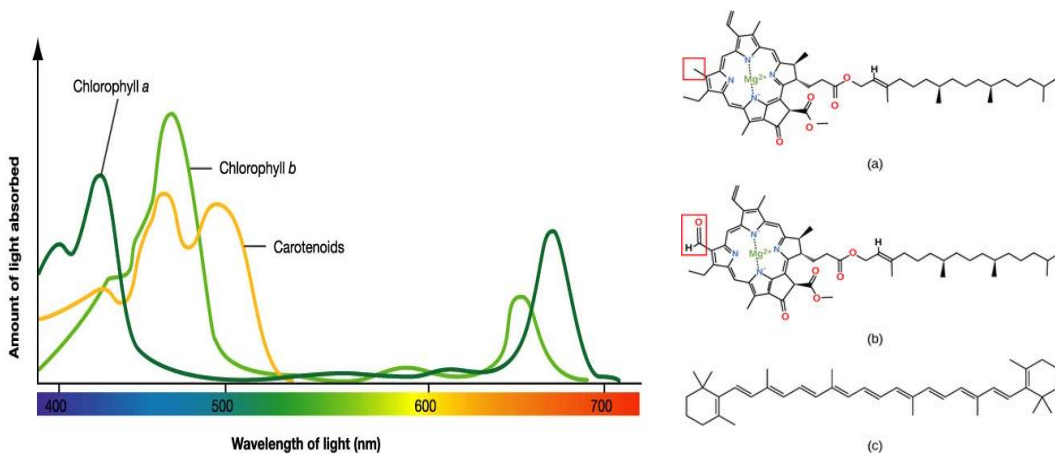


ภาพที่ 1.14 สเปกตรัมการดูดกลืนของอนุภาคระดับนาโนเมตรของทองคำ



ภาพที่ 1.15 ตัวอย่างสเปกตรัมการดูดกลืน. ที่มาจาก เคมีวิเคราะห์: หลักการและเทคนิคการคำนวณเชิงปริมาณ (หน้า 351) โดย วรวิทย์ จันทร์สุวรรณ, 2563, สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

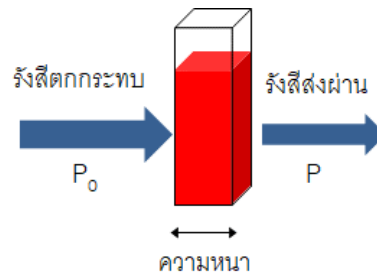
สารบางชนิดอาจปรากฏ $\lambda_{\max}$ เพียงค่าเดียว แต่สารบางชนิดอาจปรากฏ $\lambda_{\max}$ ได้สองหรือมากกว่า ขึ้นอยู่กับโครงสร้างและหมู่ฟังก์ชัน



ภาพที่ 1.16 สเปกตรัมดูดกลืน (ภาพซ้าย) และโครงสร้าง (ภาพขวา) ของ (ก) คลอโรฟิลล์เอ (ข) คลอโรฟิลล์บี และ (ค) แคโรทีนอยด์

1) กฎของการดูดกลืนแสง

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



ภาพที่ 1.17 แสงที่อาจเกิดขึ้นเมื่อแสงตกกระทบสารตัวอย่าง

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

$$T = \frac{P}{P_0} \quad \text{.....(1.1)}$$

ความส่งผ่านนิยมรายงานเป็นร้อยละความส่งผ่าน (transmittance percentage, %T) ซึ่งหลักการเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์จะรายงานค่านี้เป็นร้อยละของการส่งผ่าน มีหน่วยเป็น %

$$\%T = \frac{P}{P_0} \times 100 \quad \text{.....(1.2)}$$

นอกจากนี้ เรายังนิยมใช้ส่วนกลับของอัตราส่วนข้างต้นในการรายงานค่าการดูดกลืนแสงอีกด้วย อัตราส่วนนี้ได้จากการนำปริมาณแสง (P_0) ไปหารด้วยปริมาณแสงที่ผ่านไปถึงรับสัญญาณ (P) ในทางปฏิบัติเราไม่นิยมแสดงปริมาณการดูดกลืนแสงด้วยอัตราส่วนนี้โดยตรง แต่จะใช้ค่าลอการิทึมฐานสิบของอัตราส่วนนี้แทน ค่าลอการิทึมที่ได้เรียกว่า ค่าการดูดกลืนแสง หรือ แอบซอร์บแนนซ์ (absorbance, A) ของสารละลายสัมพันธ์กับค่าความส่งผ่าน ดังนี้

$$A = -\log T = -\log \frac{P}{P_0} = \log \frac{P_0}{P} \quad \text{.....(1.3)}$$

ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายเพิ่มขึ้นค่าความส่งผ่านลดลง ค่าการดูดกลืนแสงสามารถคำนวณจาก %T ดังสมการ

$$\%T = 100 \left(\frac{P}{P_0} \right) \quad \text{.....(1.4)}$$

$$A = -\log T \quad \text{.....(1.5)}$$

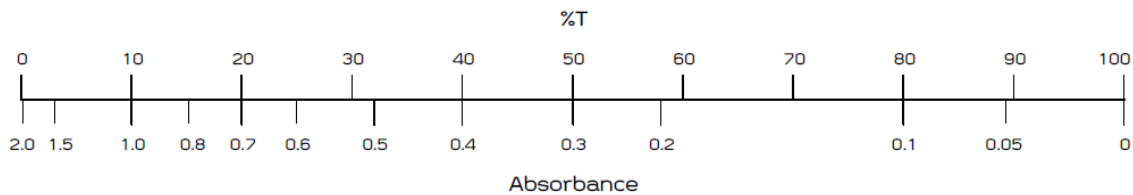
$$= -\log \%T + \log 100 \quad \text{.....(1.6)}$$

$$= 2 - \log \%T \quad \text{.....(1.7)}$$

ดังนั้น ค่า T มีค่าอยู่ในช่วง 0-1 และ %T มีค่าตั้งแต่ 0-100 ส่วน A มีค่าเท่ากับ 0 เมื่อแสงที่ผ่านเข้าไปในตัวกลางไม่ถูกดูดกลืนไว้เลย หรืออาจได้ว่าแสงส่งผ่านออกมา 100% แต่ถ้า A มีค่าเท่ากับ 1 เมื่อแสงส่งผ่านออกมาเพียง 10% และ A เท่ากับ 2 ถ้าแสงส่งผ่านออกมาน้อยมากเพียง 1% สรุปได้ดังตารางที่ 1.10

ตารางที่ 1.10 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการทะลุผ่านกับค่าการดูดกลืน

ความส่องผ่าน (P/P ₀)	%T (log P/P ₀)	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 1.18 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนกับร้อยละความส่องผ่าน (%T)

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) ดังนั้น เมื่อพิจารณาจากสมการ (1.3) โดยความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนกับความหนาของตัวกลางที่แสงผ่าน ดังนี้

$$\log \frac{P_0}{P} = \frac{k'b}{2.303} \quad \text{.....(1.8)}$$

เมื่อ k' = ค่าคงที่สัดส่วนคงที่ (proportional constant)
 b = ความหนาของตัวกลางที่แสงผ่าน (path length)
 ดังนั้น $A = k'b$

.....(1.9)

สมการ (1.9) เรียกว่า “กฎแลมเบิร์ต” สรุปได้ดังนี้ “เมื่อรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความยาวคลื่นเดียวผ่านตัวกลางเนื้อเดียว ความส่องผ่านจะลดลงแบบเลขชี้กำลังตามความหนาของตัวกลางที่แสงผ่าน” หรืออาจกล่าวอย่างง่ายได้ว่า “ค่าการดูดกลืนแสงเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความหนาของตัวกลางที่แสงผ่าน”

3) กฎของเบียร์ (Beer's law)

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

$$\log \frac{P_0}{P} = \frac{k''c}{2.303} \quad \text{.....(1.10)}$$

$$\text{ดังนั้น} \quad A = k''c \quad \text{.....(1.11)}$$

เมื่อ $k'' =$ ค่าคงที่

$c =$ ความเข้มข้นของสารที่ดูดกลืนแสง

สมการ (1.11) เรียกว่า “กฎของเบียร์” สรุปได้ดังนี้ “เมื่อรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความยาวคลื่นเดียว ผ่านตัวกลางเนื้อเดียว ความส่องผ่านจะลดลงแบบเลขชี้กำลังตามจำนวนของสารที่ดูดกลืนแสง” หรืออาจกล่าวอย่างง่ายได้ว่า “ค่าการดูดกลืนแสงเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสารที่ดูดกลืนแสง”

เมื่อพิจารณากฎของเบียร์และแลมเบิร์ตรวมกัน จะเห็นได้ว่าเมื่อผ่านแสงที่มีความยาวคลื่นเดียวเข้าไปในสารที่มีอนุภาคที่สามารถดูดกลืนแสง พลังงานแสงที่ถูกดูดกลืนจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นหรือปริมาณของสารที่สามารถดูดกลืนแสงนั้น ๆ ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ดังนี้

$$A = \epsilon bc \quad \text{.....(1.12)}$$

เมื่อ $A =$ แอ็บซอร์เบ้นซ์ หรือ ค่าการดูดกลืนแสง

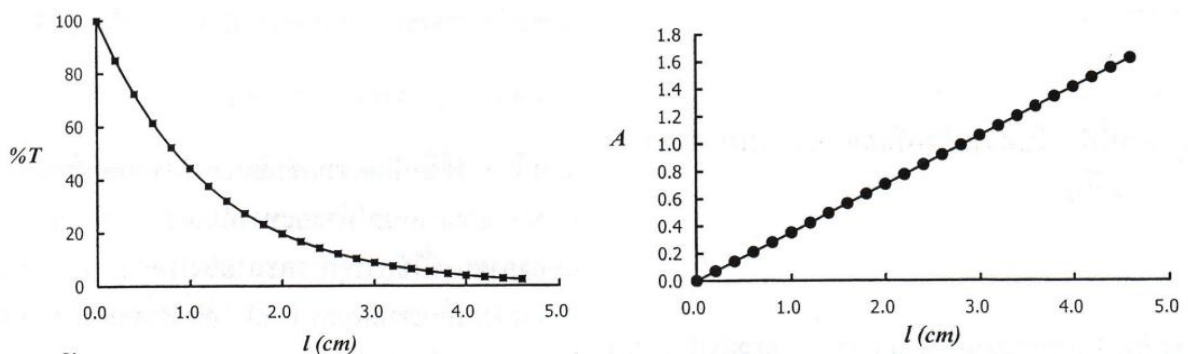
$\epsilon =$ สภาพดูดกลืนแสงต่อโมล ($\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$) เรียกว่า *เฮปลิลอน*

$b =$ ความหนาของตัวกลางที่แสงผ่าน (cm)

$c =$ ความเข้มข้นของสารที่สามารถดูดกลืนแสง (mol/L)

สมการ 1.12 เรียกสั้น ๆ ว่า “กฎของเบียร์” (Beer’s law) สามารถใช้คำนวณค่าสภาพดูดกลืนแสงต่อโมล (molar absorptivity, ϵ) ของอนุภาคที่สามารถดูดกลืนแสงได้ ในกรณีที่ทราบความเข้มข้นของสารที่สามารถดูดกลืนแสงนั้น ๆ หรือในทำนองกลับกันกฎของเบียร์ สามารถใช้หาความเข้มข้นของสารที่สามารถดูดกลืนแสง เมื่อทราบสภาพดูดกลืนแสงต่อโมล (ϵ) และความหนาของตัวกลาง (b)

จากสมการของเบียร์ จะแสดงความสัมพันธ์ระหว่างการดูดกลืนแสงกับตัวแปรสำคัญ คือ ความเข้มข้น (c) และระยะทางที่แสงผ่าน (b) แต่ในทางปฏิบัติเรามักกำหนดให้ตัวแปรตัวใดตัวหนึ่งมีค่าคงที่ แล้วจึงวัดแอ็บซอร์เบ้นซ์หรือร้อยละความส่องผ่าน ซึ่งเปลี่ยนแปลงไปตามค่าของตัวแปรที่เหลือ ดังภาพที่ 1.19 แสดงการดูดกลืนแสงที่วัดได้ซึ่งผันแปรไปตามระยะทางที่แสงเดินทางผ่านโดยความเข้มข้นคงที่ จะเห็นได้ว่ากราฟของร้อยละความส่องผ่านเป็นเส้นโค้งแบบเลขชี้กำลัง (exponential) ในขณะที่กราฟของแอ็บซอร์เบ้นซ์เป็นเส้นตรง ซึ่งนำไปใช้ประโยชน์สะดวกกว่าแบบเส้นโค้ง



ภาพที่ 1.19 ความสัมพันธ์ระหว่างการดูดกลืนแสงกับระยะทางตามกฎของเบียร์ (ก) ระหว่างร้อยละความส่องผ่าน (%T) กับระยะทาง (b) และ (ข) ระหว่างแอ็บซอร์เบ้นซ์ (A) กับระยะทาง

โดยค่า ϵ เป็นค่าคงที่สำหรับความสัมพันธ์แบบแปรผันโดยตรง (proportionality constant) ซึ่งใช้เป็นสัญลักษณ์ที่ใช้แทนค่าสภาพดูดกลืนแสงต่อโมล (molar absorptivity) หรือที่เรียกว่า molar extinction coefficient มีหน่วยเป็น $M^{-1}cm^{-1}$ เนื่องจากแอบซอร์บแบนซ์ซึ่งเป็นค่าลอการิทึมไม่มีหน่วย หน่วยของสภาพดูดกลืนแสงต่อโมลจึงเป็นส่วนกลับของความเข้มข้น (c ซึ่งมีหน่วยเป็น M) และระยะทาง (b ซึ่งมีหน่วยเป็น cm)

ค่า ϵ บอกถึงความสามารถในการดูดกลืนแสง ซึ่งเป็นสมบัติเฉพาะของสารชนิดหนึ่ง ๆ ณ ความยาวคลื่นค่าหนึ่ง และจะไม่เปลี่ยนแปลงตราบเท่าที่เราควบคุมสภาวะแวดล้อม เช่น pH ของสารละลาย ชนิดของตัวทำละลาย และอุณหภูมิให้คงที่ ค่า ϵ ช่วยให้เราหาความเข้มข้นของสารจากแอบซอร์บแบนซ์ได้อย่างง่ายดายโดยหลักการแล้ว หากเราทราบค่า ϵ ของสารชนิดหนึ่งที่มีความยาวคลื่นหนึ่ง เราก็สามารถหาความเข้มข้นของสารนั้น โดยวัดค่าแอบซอร์บแบนซ์ของสารนั้นที่มีความยาวคลื่นนั้น แล้วหาความเข้มข้นจากสมการของเบียร์ ในทางปฏิบัติเรามักจะเริ่มต้นด้วยการสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างแอบซอร์บแบนซ์ที่วัดได้กับความเข้มข้นของสารที่ทราบค่าแน่นอน ลักษณะกราฟเหมือนกราฟในภาพที่ 1.19 (ข) เรียกว่ากราฟมาตรฐาน (standard curve หรือ calibration curve) จากนั้นจึงหาค่า ϵ จากความชันของกราฟ ซึ่งมีค่าเท่ากับผลคูณของค่า ϵ ระยะทาง แต่เนื่องจากเส้นผ่านศูนย์กลาง (หรือความกว้าง) ของคิวเวตต์มาตรฐานมีค่า 1 cm ค่า ϵ มีค่าตัวเลขเท่ากับความชัน (slope) ของกราฟมาตรฐาน

4) การเบี่ยงเบนจากกฎของเบียร์

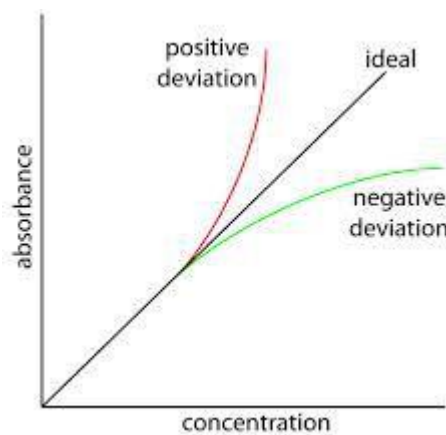
การเบี่ยงเบนจากกฎของเบียร์ (deviation from Beer's law) หมายถึงปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นเมื่อค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ไม่สัมพันธ์กับความเข้มข้นหรือระยะทางที่แสงเดินทางผ่านในลักษณะที่ควรจะเป็น กล่าวคือ ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นนั้นไม่เป็นเส้นตรง หรือไม่ก็เป็นเส้นโค้งแบบเลขชี้กำลัง (exponential) ในกรณีที่เกิดการดูดกลืนแสงด้วยค่าร้อยละความส่องผ่าน (%T) การเบี่ยงเบนอาจเกิดขึ้นทั้งในทางลบหรือทางบวก สาเหตุหลักของการเบี่ยงเบนจากกฎของเบียร์ ดังนี้

4.1) การเบี่ยงเบนจากเครื่องมือ (instrumental deviation) โดยเป็นการเบี่ยงเบนที่เกี่ยวข้องขีดจำกัดของเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ มักมีสาเหตุมาจากสองกรณี ดังนี้

- แสงที่ให้สารดูดกลืนนั้นประกอบด้วยความยาวคลื่นมากกว่าหนึ่งค่า (polychromaticity) ในกรณีนี้เป็นเรื่องปกติของเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ทั่วไป คือการขาดความสามารถในการจำแนกแสงจากแหล่งกำเนิดได้ละเอียดจนมีค่าความยาวคลื่นเพียงค่าเดียวได้ แสงที่เดินทางผ่านไปถึงสารละลายจึงไม่ใช่แสงเอกรงค์ (monochromatic light) ซึ่งมีความยาวคลื่นเพียงค่าเดียวตามทฤษฎี แต่เป็นแสงตลอดย่านความยาวคลื่นช่วงหนึ่ง (โดยทั่วไปเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ราคาถูกมีปัญหาการจำแนกความยาวคลื่นมากกว่าเครื่องราคาแพง) ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มีค่าสูงหรือต่ำไปจากค่าที่ควรเป็นและเกิดการเบี่ยงเบนขึ้นในทางบวกหรือทางลบ

- มีแสงรบกวน (stray lights) กล่าวคือ มีส่วนเกินสะท้อนหรือรั่วผ่านไปถึงตัวรับสัญญาณ ทำให้เกิดการเบี่ยงเบนจากกฎของเบียร์ โดยทำให้อ่านค่าการดูดกลืนแสงได้น้อยกว่าที่ควรเป็นเนื่องจากแสงส่วนนี้ไม่ได้เกิดจากการดูดกลืนแสง แต่ผ่านไปถึงตัวรับสัญญาณซึ่งจะอ่านค่ารวมไปกับแสงส่วนที่เหลือจากการดูดกลืนแสง จึงเป็นเหตุให้เกิดการเบี่ยงเบนในทางลบได้ ปัญหาแสงส่วนเกินจะพบมากเวลาใช้แสงที่มีความยาวคลื่นใกล้กับขีดจำกัดที่เครื่องนั้นจะสามารถให้กำเนิดได้ หรือไม่เกิดจากแสงภายนอกที่รั่วเข้าไปถึงตัวรับสัญญาณ เช่น ในขณะที่วัดการดูดกลืนแสงโดยลึบปิดฝาปิดบนตัวเครื่องที่ครอบ หลอดคิวเวตต์ไว้ให้สนิท

การเบี่ยงเบนที่เกิดจากขีดจำกัดของเครื่องมือทั้งสองกรณีข้างต้นนี้เป็นปัจจัยภายนอก ไม่ขึ้นกับสารที่วัด เรามีวิธีตรวจสอบว่าเกิดการเบี่ยงเบนในลักษณะดังกล่าวหรือไม่ โดยดูจากกราฟที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนกับระยะทาง โดยให้ความเข้มข้นคงที่ (ภาพที่ 1.19(ข)) ถ้ากราฟที่ได้เป็นเส้นตรง ก็สามารถสรุปได้ว่าเครื่องมือที่เราใช้วัดนั้นทำงานได้ตามปกติ และการวัดของเรายังอยู่ภายในขอบเขตที่เครื่องมือวัดทำงานได้



ภาพที่ 1.20 การเบี่ยงเบนจากกฎของเบียร์

4.2) การเปลี่ยนแปลงสมดุลเคมี สารที่ต้องการวัดมีการเปลี่ยนแปลงทางเคมีเกิดขึ้นซึ่งนำไปสู่การเบี่ยงเบนจากกฎของเบียร์ได้ เช่น การแตกตัว (dissociation) การรวมตัว (association) การเกิดสารประกอบเชิงซ้อน (complex formation) หรือการเกิดพอลิเมอร์ (polymerization) โดยปฏิกิริยาเหล่านี้ล้วนเกี่ยวข้องกับสถานะของสารมากกว่าหนึ่งสถานะ และสารในแต่ละสถานะก็อาจมีความสามารถในการดูดกลืนแสงได้ไม่เท่ากัน ปริมาณสารในแต่ละสถานะนั้นจะมากหรือน้อยเพียงใดไม่ขึ้นกับค่าคงที่สมดุล (equilibrium constant) ของปฏิกิริยา แต่เมื่อความเข้มข้นของสารเปลี่ยนแปลงไปหรือเมื่อเงื่อนไขที่มีอิทธิพลต่อสมดุลเคมี เช่น ค่า pH เปลี่ยนแปลงไป สัดส่วนของสารในสถานะต่าง ๆ เหล่านี้จะเปลี่ยนแปลงตามไปด้วย ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ไม่สอดคล้องกับค่าที่ควรจะเป็น

4.3) ความเข้มข้นสูง เมื่อเราอธิบายความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ที่วัดได้กับปริมาณของสาร เรามักใช้กฎของเบียร์ (Beer's Law) ซึ่งอธิบายว่าค่าการดูดกลืนแสงขึ้นอยู่กับ 3 ปัจจัยหลัก ได้แก่ ความเข้มข้นของสาร ความยาวของเส้นทางที่แสงเดินทางผ่าน (path length) และค่าคงที่โมลาร์แอบซอร์ปทิวิตี (ϵ) โดยสมมติว่าปัจจัยอื่น ๆ เช่น อุณหภูมิ ตัวทำละลาย หรือดัชนีหักเหของแสง จะไม่มีผลต่อการดูดกลืน เพราะมักถือว่าคงที่ตลอดช่วงการวัด

อย่างไรก็ตาม เมื่อความเข้มข้นของสารในสารละลายสูงมาก ดัชนีหักเหของแสงจะเริ่มเปลี่ยนแปลงและไม่คงที่ ส่งผลให้ค่าการดูดกลืนที่วัดได้ต่ำกว่าค่าจริง ซึ่งเป็นการเบี่ยงเบนจากกฎของเบียร์ในทางลบ การเบี่ยงเบนนี้อาจทำให้การวัดคลาดเคลื่อนได้ เพื่อหลีกเลี่ยงปัญหานี้ แนะนำให้ใช้สารละลายที่มีความเข้มข้นต่ำกว่า 0.01 โมลต่อลิตร หรือเลือกช่วงความเข้มข้นที่ให้ความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าการดูดกลืนกับความเข้มข้น โดยดูจากกราฟมาตรฐาน (calibration curve) ซึ่งช่วงที่เหมาะสม คือช่วงที่กราฟยังคงเป็นเส้นตรง

นอกจากนี้ ยังมีปัจจัยอื่นที่ส่งผลกระทบต่อค่าการดูดกลืน เช่น สารเจือปน หรือองค์ประกอบอื่นในสารละลาย เพื่อควบคุมปัจจัยเหล่านี้ให้น้อยที่สุด นิยมใช้สารละลายเปรียบเทียบกับที่เรียกว่า "แบล็ก" (blank)

ซึ่งเป็นสารละลายที่มีองค์ประกอบทุกอย่างเหมือนกับสารตัวอย่าง ยกเว้นสารที่ต้องการวัด เมื่อนำค่าการดูดกลืนของสารตัวอย่างมาหักลบกับค่าการดูดกลืนของแบล็ก จะได้ค่าการดูดกลืนที่แท้จริงของสารที่ต้องการศึกษา เช่น ในการวัดค่าการดูดกลืนของสารละลายต่างที่บ่มในน้ำกลั่น เราจะใช้น้ำกลั่นเป็นแบล็ก เมื่อนำค่าการดูดกลืนของต่างที่บ่มมาลบด้วยค่าของน้ำกลั่น ก็จะได้ค่าที่แสดงเฉพาะการดูดกลืนของต่างที่บ่มเพียงอย่างเดียว ซึ่งช่วยลดความคลาดเคลื่อนจากองค์ประกอบอื่นในระบบ.

ตัวอย่าง 1.1 สารละลาย 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 (ϵ)

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 1.2 สารละลาย $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ มีค่า ϵ 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 $A = \epsilon bc$

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

จาก $A = 2 - \log(\%T)$

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

$$\%T = 55.6$$

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

1.1.4 ปฏิบัติการกราฟสเปกตรัมการดูดกลืนแสงและกฎของเบียร์

- 1) ปฏิบัติการกราฟสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายต่างที่บ่ม
- 2) ปฏิบัติการพิสูจน์กฎของเบียร์
- 3) การหาความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ของความเข้มข้น
(คู่มือปฏิบัติการ)

สรุปท้ายบทเรียน

สเปกโทรสโกปีเป็นเทคนิคการวิเคราะห์โดยอาศัยหลักการเกิดอันตรกิริยาระหว่างรังสีแม่เหล็กไฟฟ้ากับสาร รูปแบบอันตรกิริยาขึ้นกับพลังงานโฟตอนของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าในแต่ละย่านซึ่งจะทำให้เกิดการทรานซิชันของอนุภาคจากสถานะพื้นเป็นสถานะกระตุ้น เทคนิคสเปกโทรสโกปีแบ่งได้สองกลุ่มใหญ่ ๆ คือ เทคนิคที่มีการเปลี่ยนแปลงของสารเนื่องจากการถ่ายเทพลังงานจากรังสีแม่เหล็กไฟฟ้ากับสาร และเทคนิคที่เป็นการเปลี่ยนแปลงสมบัติของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า การถ่ายเทพลังงานโฟตอนที่ระดับพลังงานเฉพาะหนึ่ง ๆ กับสารนั้นทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติได้หลายรูปแบบ เช่น การดูดกลืน การเปล่งออก การเปล่งแสงด้วยแสง และการเปล่งแสงทางเคมี เป็นต้น การวัดความสามารถในการดูดกลืนแสงของสารเป็นการวัดการดูดกลืนพลังงานโฟตอนของสารอันเนื่องจากการอันตรกิริยาอย่างใดอย่างหนึ่งระหว่างโฟตอนกับสาร สเปกตรัมดูดกลืนเป็นความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนกับความยาวคลื่น

วิธียูวี-วิสิเบิล สเปกโทรสโกปี เป็นเทคนิคการดูดกลืนแสงของสารหรืออนุภาคของสารที่ดูดกลืนแสง อันเนื่องมาจากการทรานซิชันของอิเล็กตรอนจากสถานะพื้นไปยังสถานะกระตุ้น (HOMO ไปยัง LUMO) หรือการถ่ายโอนประจุอิเล็กตรอน หรือการทรานซิชันของอิเล็กตรอนในออร์บิทัล-ดี และออร์บิทัล-เอฟ สารอินทรีย์สามารถดูดกลืนแสงได้ในย่านยูวี แต่ถ้าโครงสร้างมีส่วนที่ทำให้มองเห็นเป็นสีได้ เราเรียกว่า โครโมฟอร์ ส่วนมากเป็นส่วนของพันธะที่ไม่อิ่มตัว การทรานซิชันที่สำคัญของสารอินทรีย์ คือ $n \rightarrow \pi^*$ และ $\pi \rightarrow \pi^*$ ซึ่งจะสามารถดูดกลืนแสงได้ทั้งในย่านยูวีและวิสิเบิล นอกจากปัจจัยของโครโมฟอร์แล้ว การทรานซิชันยังเกี่ยวข้องกับชนิดตัวทำละลาย และหมู่แทนที่ในโครงสร้างโมเลกุลที่เรียกว่า ออกโซโครม ซึ่งปัจจัยดังกล่าวนี้อาจส่งผลให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดเลื่อนไปทางความยาวคลื่นมากขึ้น หรือความยาวคลื่นสั้นเพิ่มขึ้น และอาจส่งผลให้สภาพดูดกลืนแสงต่อโมลเพิ่มขึ้นหรือลงก็ได้ ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงอาศัยกฎของเบียร์

วิธีการสอนและกิจกรรม

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ใบกิจกรรม

สื่อการสอนและอุปกรณ์การสอน

1. หนังสือ เคมีวิเคราะห์: หลักการและเทคนิคการคำนวณเชิงปริมาณ
2. เอกสารประกอบการสอน
3. สื่อการเรียนรู้ (power point)

งานที่มอบหมาย

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ใบกิจกรรม

การวัดผล

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ใบกิจกรรม

แบบฝึกหัด

1. ทำกิจกรรม
2. ใบกิจกรรม

บรรณานุกรม

1. ชูติมา ศรีวิบูลย์. (2556). *เคมีวิเคราะห์ 1*. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยรามคำแหง
2. แม้น อมรสิทธิ์, และอมร เพชรสม. (2550). *หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ*. สำนักพิมพ์ชวนชม
3. นิพนธ์ ตั้งคณานุรักษ์ และคณิดา ตั้งคณานุรักษ์. (2547). *สเปกโทรสโกปีด้านการวิเคราะห์*. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
4. เย็นหทัย แนนหนา. (2549). *สเปกโทรสโกปีสำหรับเคมีอินทรีย์*. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
5. วรวิทย์ จันทรสุวรรณ. (2565). *เคมีวิเคราะห์: หลักการและเทคนิคการคำนวณเชิงปริมาณ* (พิมพ์ครั้งที่ 2). สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
6. Averill, B. A. (2012). *Principles of General Chemistry*.
<https://2012books.lardbucket.org/books/principles-of-general-chemistry-v1.0m/index.html>
7. Christian, G. D., Dasgupta, P. K., & Schug, K. A. (2014). *Analytical Chemistry* (7th ed.). John Wiley & Sons
8. Harris, D. C. (2010). *Quantitative Chemical Analysis* (8th ed.). W. H. Freeman and Company
9. Harvey, D. (2019). *Analytical Chemistry 2.1*. <https://chem.libretexts.org/>
10. Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S., & Vyvyan, J. R. (2009). *Introduction to Spectroscopy* (4th ed.). Brooks/Cole Publishing
11. Robinson, J. W., Frame, E. M. S, & Frame G. M. (2021). *Instrumental Analytical Chemistry*. CRC Press
12. Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2022). *Fundamentals of Analytical Chemistry* (10th ed.). Brooks/Cole Publishing
13. Skoog, D. A., Holler, F.J., & Crouch, S. R. (2018). *Principles of Instrumental Analysis* (7th ed.). David Harris.

หน่วยที่ 1

วิธียูวี-วิสิเบิล สเปกโทรสโกปี

บทเรียน 1.2 ส่วนประกอบของเครื่องมือและเทคนิคการวัด

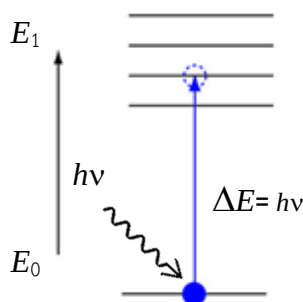
จุดประสงค์การสอน

1. บอกประเภทของสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนและเปล่งออก
2. บอกส่วนประกอบของเครื่อง UV-Vis
3. อธิบายการเตรียมตัวอย่างและการเจือจาง
4. ปฏิบัติการส่วนประกอบของเครื่อง UV-Vis

1.2.1 ประเภทของสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนและเปล่งออก

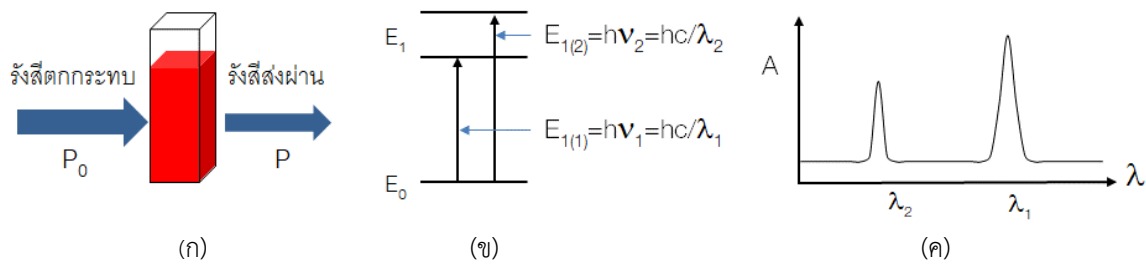
1) สเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืน

เทคนิคสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืน (absorption spectroscopy) เป็นเทคนิคการวัดพลังงานของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า เมื่อสารที่สามารถดูดกลืนแสงได้ (absorbing species) ดูดกลืนโฟตอนแล้วเกิดการกระตุ้นจากสถานะพื้นไปสู่สถานะกระตุ้น ดังภาพที่ 1.21 โดยชนิดการกระตุ้นขึ้นอยู่กับพลังงานของโฟตอน เมื่ออิเล็กตรอนดูดกลืนพลังงานโฟตอนย่านยูวี-วิสิเบิล การกระตุ้นจะเป็นการเลื่อนอิเล็กตรอนวงนอกสุดของอะตอมจากสถานะพื้นไปยังสถานะกระตุ้น แต่ถ้ากรณีสารนั้นดูดกลืนรังสีย่านอินฟราเรด พันธะใดพันธะหนึ่งของโมเลกุลจะเกิดการกระตุ้นโดยการสั่น (vibration) การดูดกลืนจะเกิดขึ้นได้ก็ต่อเมื่อความแตกต่างของระดับพลังงาน (ΔE) ระหว่างสถานะพื้นกับสถานะกระตุ้นมีค่าเท่ากับพลังงานโฟตอน



ภาพที่ 1.21 แผนภาพพลังงานของการดูดกลืนโฟตอน

แผนภาพแสดงหลักการเทคนิคสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืน แสดงดังภาพที่ 1.22 เมื่อมีพลังงานโฟตอนจากภายนอกกระทำกับสาร รังสีตกกระทบ (P_0) จะถูกดูดกลืนเมื่อมีการเลื่อนจากสถานะพื้นสู่สถานะกระตุ้น ในเทคนิคสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนจะวัดปริมาณของแสงที่ถูกดูดกลืน เป็นฟังก์ชันกับความยาวคลื่น หรือที่เรียกว่า สเปกตรัมการดูดกลืน (absorption spectrum) ดังภาพที่ 1.22 (ค)

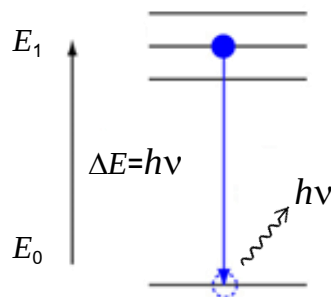


ภาพที่ 1.22 สเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืน (ก) กำลังรังสีตกกระทบ (P_0) ถูกดูดกลืนด้วยสารสนใจ (ข) แผนภาพพลังงานของการดูดกลืนโฟตอน และ (ค) ลักษณะสเปกตรัมดูดกลืน

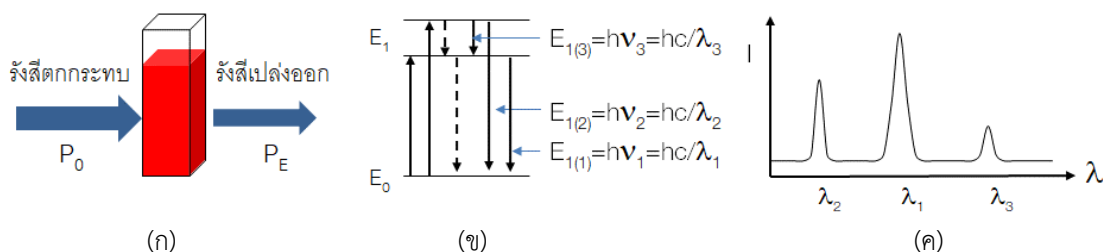
หลักการเทคนิคสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนยังรวมถึงการแทรกซึมที่เกิดขึ้นในระดับพลังงานเดียวกันที่มีระดับพลังงานย่อย เช่น การแทรกซึมโดยการสั่น และการแทรกซึมโดยการหมุน เป็นต้น

2) สเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออก

เทคนิคสเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออก (emission spectroscopy) เป็นการวัดพลังงานที่คายออกมาเมื่ออะตอมหรือโมเลกุลเกิดการแทรกซึมจากสถานะกระตุ้นไปสู่สถานะพื้น ดังภาพที่ 1.23 กระบวนการที่เกิดขึ้นในเทคนิคสเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออก เมื่ออะตอมหรือโมเลกุลของสารที่สนใจจะถูกกระตุ้นด้วยความร้อนหรือพลังงานไฟฟ้าหรือปฏิกิริยาเคมี การเปล่งออกจะเกิดขึ้นได้เมื่อพลังงานโฟตอน ($h\nu$) เท่ากับความแตกต่างของพลังงานระหว่างสถานะพื้นกับสถานะกระตุ้น



ภาพที่ 1.23 แผนภาพพลังงานของการเปล่งโฟตอนของอะตอมหรือโมเลกุล

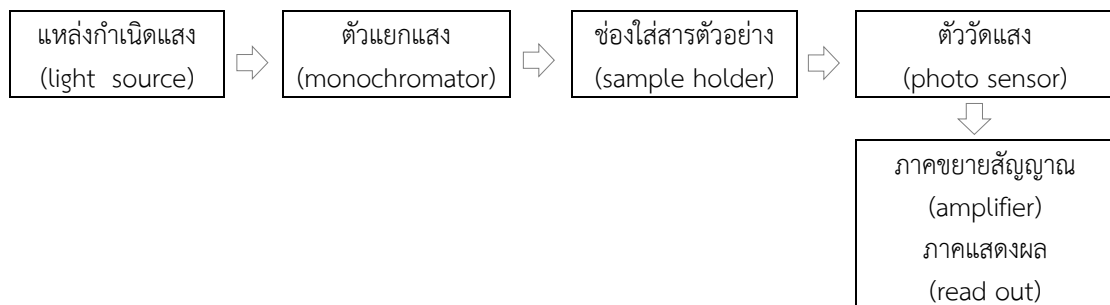


ภาพที่ 1.24 สเปกโทรสโกปีแบบเปล่งออก

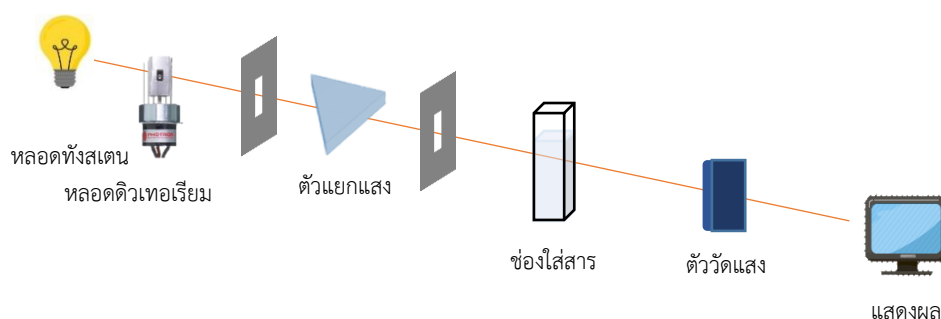
สรุปได้ว่าสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนและแบบเปล่งออก โดยทั้งสองเทคนิคมีหลักการและการนำไปใช้งานที่แตกต่างกันในสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืน ตัวอย่างจะดูดกลืนพลังงานของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความยาวคลื่นเฉพาะ ส่งผลให้อิเล็กตรอนในอะตอมหรือโมเลกุลเปลี่ยนระดับพลังงานจากสถานะพื้น (ground state) ไปสู่สถานะกระตุ้น (excited state) การวิเคราะห์จะพิจารณาการลดลงของความเข้มของแสงที่ส่งผ่านตัวอย่าง เพื่อหาความเข้มข้นของสารหรือระบุชนิดของสารนั้น เทคนิคนี้ใช้ในเครื่องมือ เช่น UV-Vis, IR และ AAS ในทางตรงกันข้ามสเปกโทรสโกปีแบบแบบเปล่งออก ตรวจวัดพลังงานแสงที่อะตอมหรือโมเลกุลเปล่งออกมาเมื่ออิเล็กตรอนกลับจากสถานะกระตุ้นสู่สถานะพื้น พลังงานที่ปลดปล่อยออกมาในรูปของโฟตอนจะมีความยาวคลื่นเฉพาะซึ่งสามารถใช้ระบุชนิดของธาตุหรือโมเลกุลได้ เช่น เทคนิค AES (atomic emission spectroscopy) และ AFS fluorescence spectroscopy

1.2.2 ส่วนประกอบของเครื่อง UV-Vis

เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer) เรียกว่า เครื่องยูวี-วิสิเบิล (UV-vis) ซึ่งเป็นเครื่องมือสำหรับวัดการดูดกลืนแสงของสารที่สามารถดูดกลืนแสงได้ในย่านความยาวคลื่นตั้งแต่ 200 ถึง 800 nm โดยทั่วไปมีองค์ประกอบพื้นฐานที่เหมือนกันคือ แหล่งกำเนิดแสง (light source) แสงส่องเข้า (entrance slit) ช่องแสงออก (exit slit) ตัวแยกแสง (monochromator) ช่องใส่สารตัวอย่าง (sample holder) ตัวตรวจวัด (detector) หรือตัววัดแสง (photo sensor) ภาขยายสัญญาณ (amplifier) และภาคแสดงผล (read out) ภาพที่ 1.25 และ 1.26



ภาพที่ 1.25 แผนภาพส่วนประกอบหลักของเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์

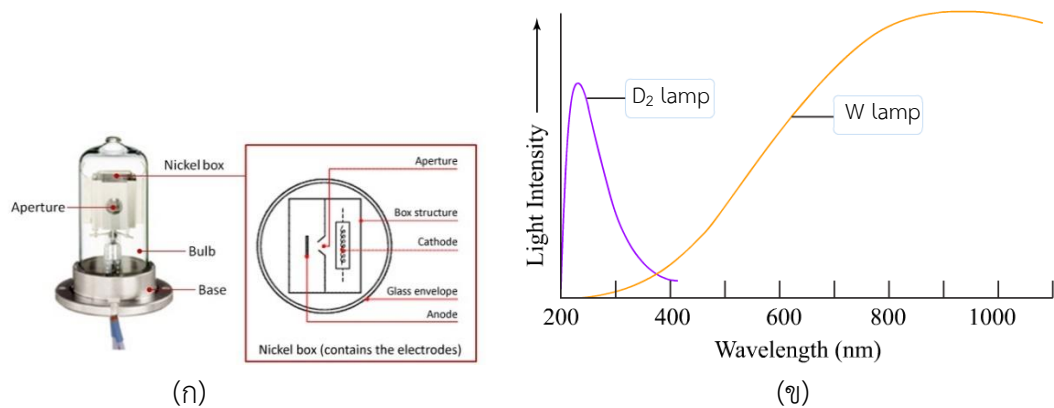


ภาพที่ 1.26 ส่วนประกอบหลักของเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์

1) แหล่งกำเนิดแสง (light source) เป็นส่วนกำเนิดแสงที่ต้องมีความเข้มแสงคงที่และแบบต่อเนื่อง (continuous source) จะเปล่งแสงที่มีการเปลี่ยนแปลงความเข้มของแสงอย่างช้า ๆ ตามฟังก์ชันของความยาวคลื่น แสงที่เปล่งออกมาจะมีช่วงกว้างของความยาวคลื่น แหล่งกำเนิดแสงแบบต่อเนื่องที่นิยมใช้ในเทคนิคยูวี-วิสิเบิลมีหลายชนิดตามความยาวของคลื่นแสงที่เปล่งออกมา ดังตารางที่ 1.11

ตารางที่ 1.11 แหล่งกำเนิดแสงแบบต่อเนื่องที่นิยมใช้ในเทคนิคยูวี-วิสิเบิล

แหล่งกำเนิดแสง	ย่านความยาวคลื่น	คำอธิบาย
หลอดทังสเทน (tungsten) 	320-2,200 nm	แหล่งกำเนิดแสงที่นิยมใช้มากในย่านคลื่นแสงวิสิเบิล เนื่องจากมีราคาถูก ให้แสงที่มีความเข้มคงที่ ใส่หลอดทังสเทนเมื่อถูกทำให้ร้อนประมาณ 2,870 K จะเกิดการเปลี่ยนสถานะของอิเล็กตรอน ทำให้เกิดการปล่อยแสงช่วง 200 ถึง 20,000 nm แต่เนื่องจากเป็นแก๊วธรรมดา แสงที่สูงกว่า 2,500 nm และที่ต่ำกว่า 300 nm จึงถูกดูดกลืนไว้ ลักษณะสเปกตรัมของหลอดทังสเทนแสดงดังภาพที่ 1.27(ข)
หลอดไฮโดรเจน (H ₂) หรือ หลอดดิวทีเรียม (D ₂) 	160-380 nm	เป็นหลอดที่ประกอบด้วยขั้วแอโนด (บวก) ขั้วแคโทด (ลบ) และแผ่นความร้อนบรรจุอยู่ในกระเปาะควอตซ์ที่บรรจุไว้ด้วยแก๊ส H ₂ หรือ D ₂ ที่ความดันต่ำ เมื่อปล่อยกระแสไฟฟ้าให้แผ่นความร้อนรอบ ๆ ขั้วแคโทดจนอุณหภูมิสูงประมาณ 3000°C ขั้วแคโทดจะเริ่มปล่อยอิเล็กตรอนออกมา ดังภาพที่ 1.27(ก)หลังจากนั้นกระแสไฟฟ้าจะถูกตัดออกจากแผ่นความร้อนแต่จะจ่ายกระแสไฟฟ้าให้ขั้วลบแทน โวลต์ที่สูงนี้จะทำให้เกิดการกระโดด (arc) ของอิเล็กตรอนระหว่างขั้วบวกและขั้วลบ เป็นผลให้อิเล็กตรอนของแก๊สอยู่ในสถานะกระตุ้น เมื่อพลังงานของอิเล็กตรอนลดลง อิเล็กตรอนจะกลับสู่สถานะพื้น พร้อม ๆ กับปล่อยแสงในย่านความยาวคลื่นช่วง 180 ถึง 350 nm ออกมา ลักษณะสเปกตรัมของหลอดดิวทีเรียมแสดงดังภาพที่ 1.27(ข)
หลอดทังสเทน แฮโลเจน (W halogen) 	240-2,500 nm	เป็นแหล่งกำเนิดแสงที่พัฒนามาจากหลอดทังสเทน โดยการเติมธาตุกลุ่มแฮโลเจน (ไอโอดีน) ในกระเปาะหลอดไฟ และใช้ควอตซ์ทำกระเปาะหลอดไฟแทนแก้ว โดยที่ควอตซ์มีความบริสุทธิ์สูงจึงดูดกลืนแสงในช่วง 300-400 nm ได้น้อย ประกอบกับสามารถทนความร้อนได้มากกว่าแก้วมาก จึงสามารถเพิ่มความเข้มของแสงได้

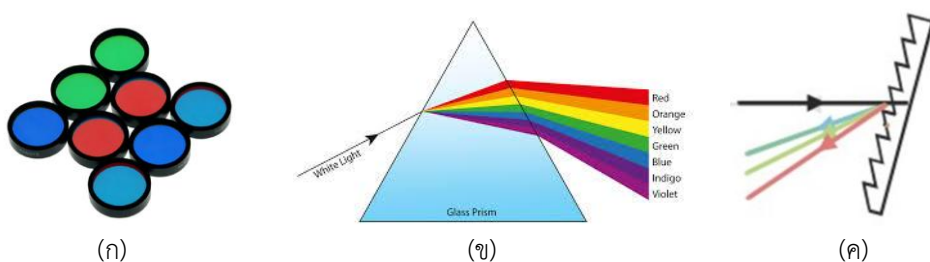


ภาพที่ 1.27 แหล่งกำเนิดแสง (ก) แผนภาพวงจรหลอดดิวทีเรียม และ (ข) สเปกตรัมของหลอดดิวทีเรียมและทังสเทน

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

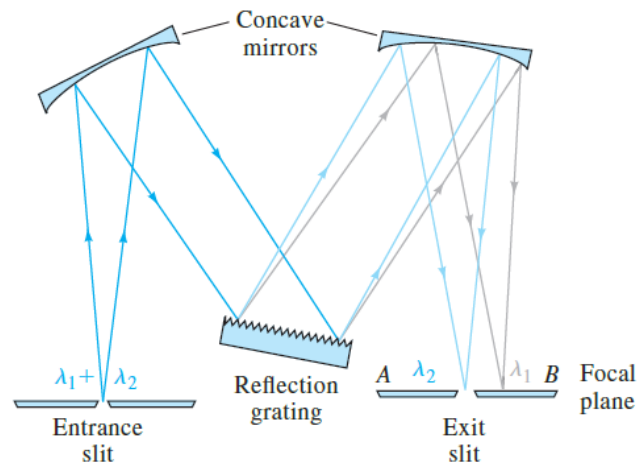
เครื่องยูวี-วิสิเบิลจึงใช้ตัวแยกแสงเดียว (monochromator) เพื่อทำการแยกแสงจากแหล่งกำเนิดแสงแบบต่อเนื่องให้เป็นย่านความยาวคลื่นแคบ ๆ ที่ต้องการ ตัวแยกแสงเดียวที่นิยมใช้ในเครื่องยูวี-วิสิเบิลมีอยู่ 3 ชนิดคือ

- ตัวกรองแสง (filter) เป็นกระจกสีที่สามารถคัดเลือกย่านความยาวคลื่น ดังภาพที่ 1.28(ก) แต่ไม่นิยมใช้ในเครื่องยูวี-วิสิเบิล เนื่องจากค่อนข้างยุ่งยากในการใช้งานและการแยกแสงได้ช่วงกว้าง
- ปริซึม (prism) อาศัยหลักการแยกตามความแตกต่างของดัชนีหักเห (refractive index) ของแต่ละความยาวคลื่น ดังภาพที่ 1.28(ข)
- เกรตติง (grating) เป็นแผ่นโลหะที่มีร่องขนาดเล็กมาก ๆ หนาแน่นกันจำนวน 600-2,000 ร่องต่อมิลลิเมตร ดังภาพที่ 1.28(ค)



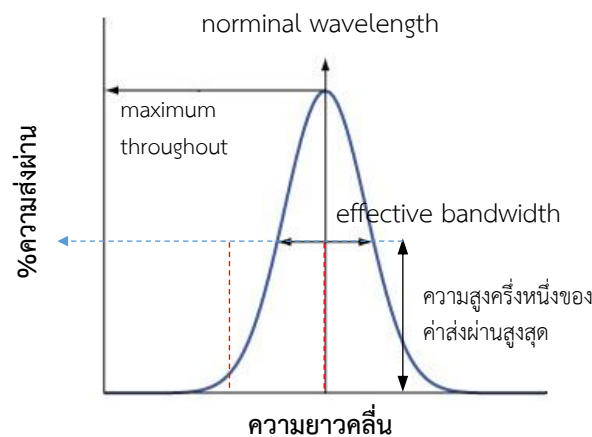
ภาพที่ 1.28 ชนิดตัวแยกแสงเดียว (ก) ตัวกรองแสง (ข) ปริซึม และ (ค) เกรตติง

เครื่องยูวี-วิสิเบิลในรุ่นเก่าจะใช้ตัวกรองแสง หรือปริซึมเป็นตัวแยกแสงเดียว แต่ในเครื่องยูวี-วิสิเบิลรุ่นใหม่จะนิยมใช้เกรตติงแบบสะท้อนแสง (reflection grating) โดยเกรตติงชนิดอีเชล (echelle grating) นิยมใช้มากในปัจจุบัน (ภาพที่ 1.29) เนื่องจากมีราคาถูก การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิมีผลกระทบน้อยมาก การเกิดแสงสีเดียวไม่ขึ้นอยู่กับสมบัติของสารที่ใช้ทำเกรตติง ระยะห่างระหว่างลำแสงเดียวที่เกิดขึ้นเท่ากันทำให้สะดวกต่อการออกแบบสร้างเครื่องมือ และความกว้างของลำแสงไม่เปลี่ยนแปลงตามความยาวคลื่นที่ใช้งาน



ภาพที่ 1.29 ประเภทตัวแยกแสงเดี่ยวแบบเกรตติง. ดัดแปลงจาก *Principles of Instrumental Analysis* (p.165) by D.A. Skoog, F.J. Holler, & S.R. Crouch, 2016. Brooks/Cole Publishing.

ความยาวคลื่นของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่ต่างกันจะถูกแยกโดยการหมุนเกรตติงผ่านช่องแคบทางออก (exit slit) ความยาวคลื่นที่ผ่านตัวแยกแสงเดี่ยว เรียกว่า แถบแสงผ่าน (spectral band pass) หรือความกว้างของแถบแสงใช้งาน (effective bandwidth) โดยความกว้างของแถบแสงใช้งานเป็นสมบัติหนึ่งของความส่องผ่าน เกรตติงที่มีคุณภาพสูงมาก จะสามารถแยกแสงเดี่ยวได้ถึงระดับน้อยกว่า 1 nm

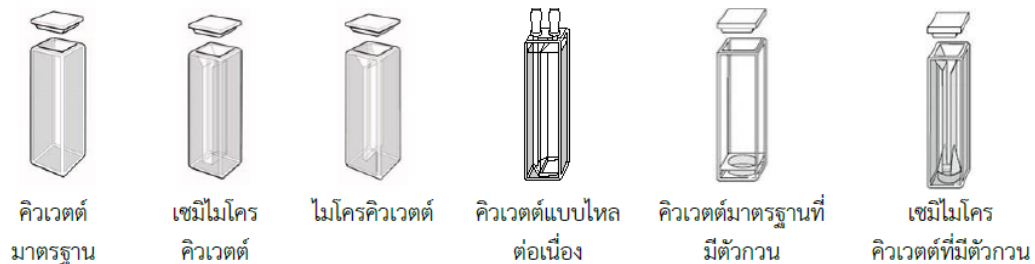


ภาพที่ 1.30 ความกว้างของแถบแสงใช้งาน

3) ช่องแสงผ่าน (slit) เป็นอุปกรณ์ที่ใช้ควบคุมปริมาณแสงที่เข้าสู่ตัวแยกแสงหรือแสงที่ออกจากตัวแยกแสง ช่องแสงผ่านประกอบด้วยโลหะขอบบาง 2 แผ่น วางขนานกันในระนาบเดียวกันระยะห่างระหว่างช่องแสงอาจคงที่หรือปรับเปลี่ยนได้ด้วยกลไก

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

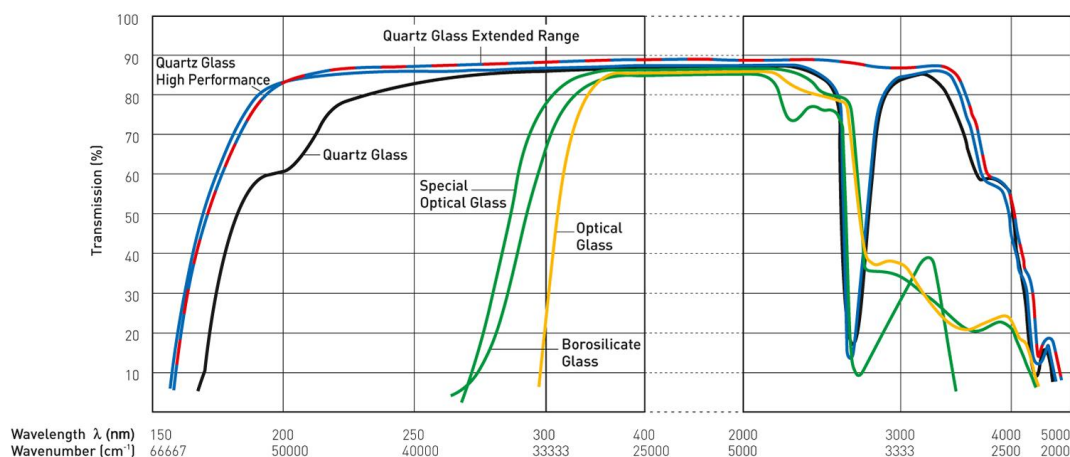
4) ช่องใส่ตัวอย่าง (sample holder) เป็นหน้าต่างบรรจุสารละลายตัวอย่างที่ให้แสงความยาวคลื่นเดียวที่ผ่านจากตัวแยกแสงผ่านไปสัมผัสกับสารตัวอย่าง นิยมเรียกอุปกรณ์ที่ใส่ในช่องตัวอย่างว่า เซลล์ (cell) หรือคิวเวตต์ (cuvette) ลักษณะทั่วไปของคิวเวตต์มีหลายขนาดและปริมาตรบรรจุ ดังภาพที่ 1.31 วัสดุที่ใช้ทำคิวเวตต์มีหลายชนิด เช่น แก้ว ควอตซ์ และพลาสติก สมบัติทั่วไปของวัสดุที่ใช้ทำคิวเวตต์ ดังตารางที่ 1.12 การเลือกใช้คิวเวตต์ต้องพิจารณาปัจจัยของธรรมชาติของวัสดุที่จะมีผลต่อการดูดกลืนแสงด้วยดังสเปกตรัมการดูดกลืน แสดงดังภาพที่ 1.32



ภาพที่ 1.31 ลักษณะคิวเวตต์

ตารางที่ 1.12 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 ▪ เกรดอัลตราไวโอเลต (ultraviolet grade) เหมาะสำหรับการใช้งานช่วง 185-220 nm (คิวเวตต์เปล่าให้แสงส่งผ่านประมาณ 80%T) ▪ เกรดมาตรฐาน (standard grade) เหมาะสำหรับการใช้งานช่วง 220-340 nm (คิวเวตต์เปล่าให้แสงส่งผ่านมากกว่า 80%T) ▪ เกรดอินฟราเรด (infrared grade) เหมาะสำหรับการวัดในย่านความยาวคลื่นมากกว่า 2,700 nm (คิวเวตต์เปล่าให้แสงส่งผ่านมากกว่า 85%T)
พลาสติก	ทำจากพลาสติกพอลิสไตรีน โพร่งใส ยอมให้แสงส่องผ่านได้มาก สามารถใช้งานได้ในช่วง 340-750 nm มีราคาถูก ทำให้สามารถใช้แล้วทิ้งโดยไม่ต้องล้างเพื่อนำมาใช้ใหม่ซึ่งเสี่ยงต่อการติดเชื้อโรคหรือได้รับอันตรายจากสารเคมี นอกจากนี้คิวเวตต์พลาสติกยังเหมาะสมกับงานที่ต้องใช้คิวเวตต์ในปริมาณมากหรืองานที่คิวเวตต์เสี่ยงต่อการแตกได้ง่าย



ภาพที่ 1.32 สเปกตรัมการดูดกลืนของวัสดุที่ทำคิวเวตต์

ที่มาภาพ: <https://www.hellma.com/en/laboratory-supplies/cuvettes/material-and-technical-information/>

5) ตัววัดแสง

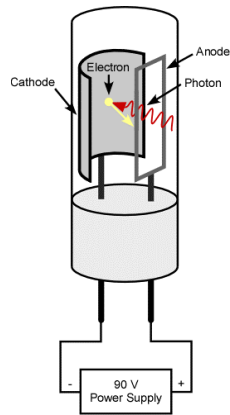
ตัววัดแสง (photo detector) เป็นอุปกรณ์ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนความเข้มของแสงให้เป็นสัญญาณไฟฟ้าแล้วส่งต่อไปยังภาคขยายสัญญาณและวงจรอิเล็กทรอนิกส์เพื่อให้สามารถแสดงค่าออกมาในรูปการดูดกลืนแสงหรือความส่องผ่าน ตัววัดแสงแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันในด้านย่านความยาวคลื่นที่ตอบสนอง อัตราในการตอบสนอง (speed of response) ความเป็นเส้นตรงของการตอบสนอง (linearity of response) และความไว (sensitivity) ตัววัดแสงมีอยู่หลายชนิด ในอุปกรณ์สมัยใหม่ตัวแปลงสัญญาณ (transducer) ทำหน้าที่แปลงสัญญาณที่ไม่ใช่สัญญาณไฟฟ้า (ความเข้มแสง, pH, อุณหภูมิ) ให้เป็นสัญญาณไฟฟ้า ซึ่งสามารถขยายสัญญาณและสุดท้ายจะเปลี่ยนเป็นตัวเลขที่เป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณการวัดเริ่มต้นได้ ชนิดของตัวแปลงสัญญาณรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าเกี่ยวข้องกับโฟตอน เรียกว่า ตัวแปลงสัญญาณ หรือตัววัดโฟตอน (photon detector) ซึ่งครอบคลุมย่านความยาวคลื่นเฉพาะ ดังแสดงในตารางที่ 1.13

ตารางที่ 1.13 ชนิดตัววัดโฟตอนสำหรับเทคนิคสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืน

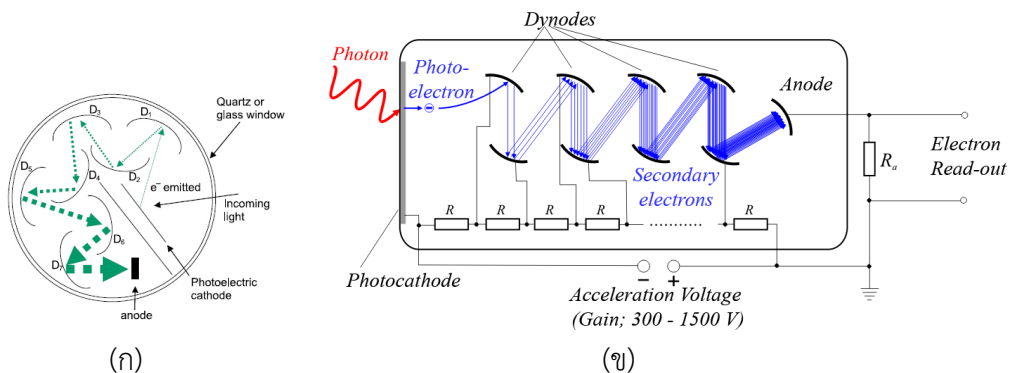
ประเภทตัววัดแสง	ย่านความยาวคลื่น (nm)
โฟโตทิวบ์ (phototube)	150-1000
โฟโตมัลติพลายเออร์ทิวบ์ (photomultiplier tube; PMT)	150-1000
ซิลิคอนโฟโตไดโอด (silicon photodiode)	350-1100
โฟโตไดโอดอาร์เรย์ (photodiode array)	

การตอบสนองสัญญาณของตัววัดแสงชนิดโฟโตทิวบ์และโฟโตมัลติพลายเออร์ทิวบ์เกิดจากปรากฏการณ์โฟโตอิเล็กทริก (photoelectric effect) โฟตอนของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าชนกับชั้นแคโทด (photocathode) ที่ผิวเคลือบด้วยชั้นสารที่เปล่งแสงได้ เช่น โลหะแอลคาไล หรือโลหะออกไซด์ ซึ่งจะปล่อยอิเล็กตรอนที่เรียกว่า โฟโตอิเล็กตรอน (photoelectron) ออกมาเมื่อมีการให้ศักย์ไฟฟ้าที่เพียงพอระหว่างชั้น

ทั้งสอง (90 V หรือมากกว่า) โฟโตอิเล็กตรอนจะเคลื่อนที่เข้าหาขั้วบวก (anode) อิเล็กตรอนเหล่านี้จะถูกเปลี่ยนเป็นสัญญาณไฟฟ้าในวงจรขยายสัญญาณ โดยจำนวนของโฟโตอิเล็กตรอนที่หลุดออกจากขั้วแคโทดต่อหน่วยเวลาจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับพลังงานรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่พุ่งชนขั้วแคโทด



ภาพที่ 1.33 ตัววัดแสงชนิดโฟโตทิวบ์



ภาพที่ 1.34 ตัววัดแสงชนิดโฟโตมัลติพลายเออร์ทิวบ์ (ก) มองด้านบน และ (ข) มองด้านข้าง

6) ภาขยายสัญญาณและภาคแสดงผล

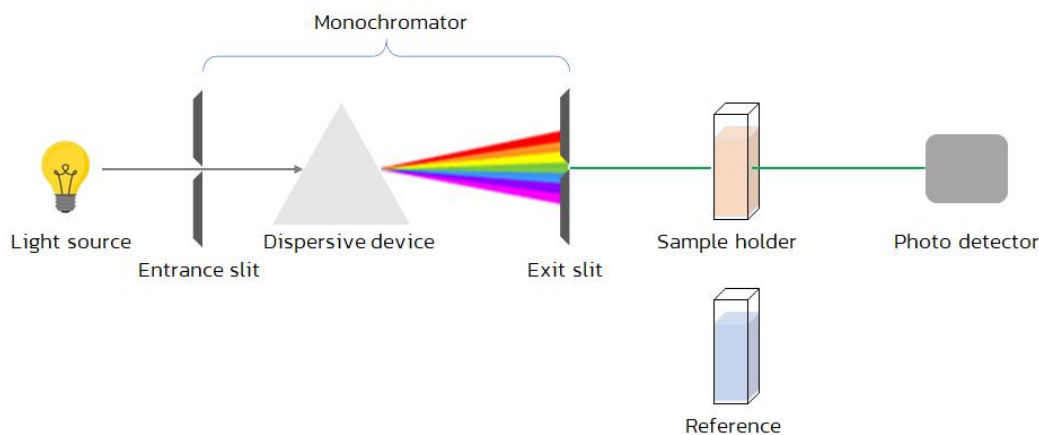
ภาขยายสัญญาณ (amplifier) มีหน้าที่หลักในการขยายสัญญาณไฟฟ้าจากตัววัดแสงให้มีปริมาณมากพอที่จะอ่านค่าออกมาได้โดยการรบกวนจากสัญญาณอื่น ๆ ให้น้อยที่สุด

ภาคแสดงผล (read out device) มีหน้าที่เปลี่ยนสัญญาณไฟฟ้าให้มาเป็นหน่วยวัดที่ต้องการ เช่น ค่าการดูดกลืนแสง (A) ค่าเปอร์เซ็นต์แสงส่องผ่าน (%T) และค่าความเข้มข้น (concentration) เป็นต้น สัญญาณไฟฟ้าที่สามารถเปรียบเทียบกับหน่วยวัดที่ต้องการได้โดยตรงเรียกว่า สัญญาณอะนาล็อก (analog signal) และถ้าสัญญาณนี้ต้องเปลี่ยนเป็นสัญญาณเชิงตัวเลข (analog to digital convertor) และในทางกลับกันสามารถแปลงสัญญาณเชิงตัวเลขให้เป็นสัญญาณอะนาล็อกได้ด้วยวงจรแปลงสัญญาณเชิงตัวเลขเป็นสัญญาณอะนาล็อก (digital to analog convertor)

การจำแนกประเภทเครื่องสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนตามชนิดลำแสง จำแนกได้เป็น ชนิดลำแสงเดี่ยว และลำแสงคู่

1) เครื่องสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนชนิดลำแสงเดี่ยว

เครื่องสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนชนิดลำแสงเดี่ยว (single beam) ใช้ลำแสงอันเดียวกันสำหรับ วัดสารอ้างอิง (reference หรือ blank) และวัดสารตัวอย่าง (sample) องค์ประกอบหลักของเครื่องวัดการดูดกลืนแสงชนิดลำแสงเดี่ยวแสดงดังภาพที่ 1.35 ข้อดีคือมีองค์ประกอบน้อย และมีความเข้มแสงส่องผ่านไป ยังสารตัวอย่างมาก เครื่องวัดการดูดกลืนชนิดลำแสงเดี่ยวเหมาะสำหรับการวัดค่าการดูดกลืนที่ความยาวคลื่น หนึ่ง ๆ แต่มีข้อเสียตรงที่มีเสถียรภาพในการอ่านค่าต่ำและค่าเปลี่ยนแปลงได้ง่าย และไม่สามารถติดตามการดูดกลืนแสงแบบกราด (scan) ที่ความยาวคลื่นต่าง ๆ กันอย่างต่อเนื่องได้ ซึ่งต้องทำการปรับส่วนแยกแสงทุกครั้งเมื่อเปลี่ยนแปลงความยาวคลื่น



ภาพที่ 1.35 แผนภาพองค์ประกอบของเครื่องวัดการดูดกลืนชนิดลำแสงเดี่ยว

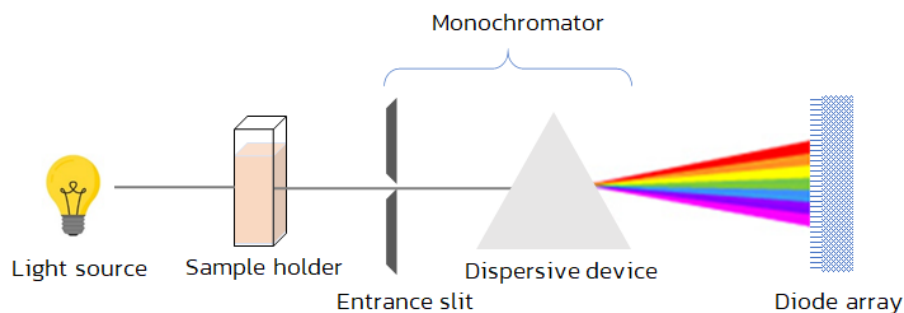
ขั้นตอนการวัดความเข้มแสงของเครื่องชนิดลำแสงเดี่ยว ทำได้ดังนี้

- 1) ทำได้โดยปรับศูนย์ (zero) 0%T โดยปิดชัตเตอร์ (shutter) เพื่อไม่ให้รังสีจากแหล่งกำเนิดแสงตกกระทบบัววัดแสง (detector) แล้วปรับมิเตอร์จนอ่านได้ 0%T
- 2) ปรับ 0A หรือ 100%T ด้วยใช้สารอ้างอิง (reference) หรือสารละลายแบล็ก (blank) วางที่ช่องใส่สารตัวอย่างแล้วเปิดชัตเตอร์และปรับความเข้มของแสงหรือกำลังขยายของสัญญาณ จนกระทั่งมิเตอร์อ่านได้ 100%T
- 3) ทำการวัดค่า %T ของสารตัวอย่าง โดยเซลล์สารตัวอย่างที่ช่องใส่สารตัวอย่างแล้วอ่านค่า A หรือ %T

จากภาพที่ 1.35 แสดงให้เห็นถึงรังสีจากตัวแยกแสงผ่านสารอ้างอิง (reference cell) หรือสารตัวอย่างแล้วตกกระทบบัววัดแสง และอ่านค่า A และ %T นอกจากนี้การวัดค่า A หรือ %T จะมีสภาพทำซ้ำได้ (reproducibility) สูง ถ้าพลังงานของรังสีของแหล่งกำเนิดแสงมีค่าคงที่ในขณะที่ปรับ 100%T และอ่านค่า %T ของสารตัวอย่าง โดยทั่วไปจึงควบคุมค่าแรงดันไฟฟ้าของ แหล่งกำเนิดพลังงานให้คงที่

ภาพที่ 1.36 แสดงองค์ประกอบเครื่องสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนชนิดลำแสงเดี่ยวที่มีตัววัดแสงเป็นไดโอดอาร์เรย์ (diode array) หรือเรียกว่า เครื่องวัดแบบหลายช่อง (multichannel) แสงจากแหล่งกำเนิดแสงที่มีหลายความยาวคลื่น (polychromatic) ส่งผ่านไปยังสารตัวอย่าง ผ่านช่องแสงเข้า (entrance slit) แล้วผ่านออกไปยังชุดอุปกรณ์ตัวแยกแสง (polychromator) ในส่วนนี้จะแตกต่างจากเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์แบบพื้นฐาน (conventional spectrophotometer) ตัวแยกแสงจะกระจายแสงที่ผ่านจากช่องแสงเข้าไปยังตัววัดแสงไดโอดอาร์เรย์

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

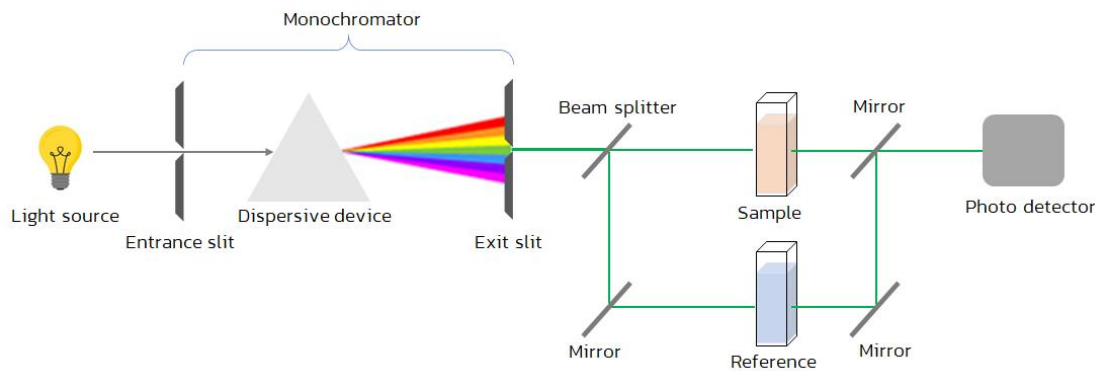


ภาพที่ 1.36 สเปกโทรสโกปีชนิดลำแสงเดี่ยว diode array spectrophotometer

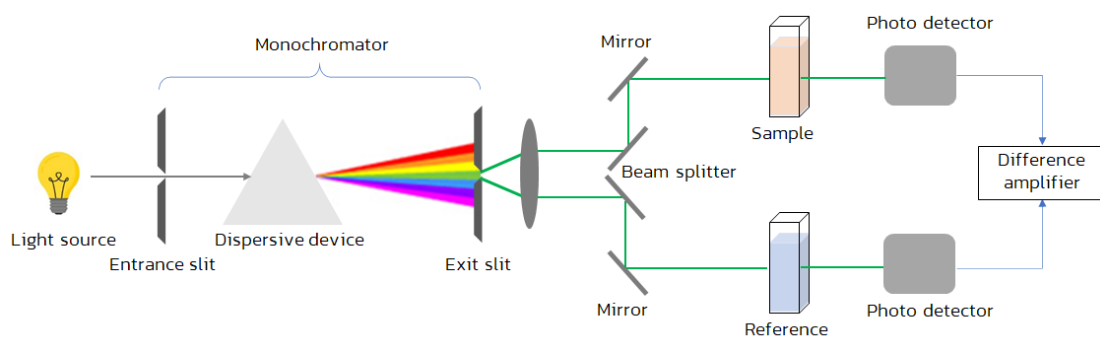
2) เครื่องสเปกโทรสโกปีแบบดูดกลืนชนิดลำแสงคู่

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

จากภาพที่ 1.37 ความเข้มของแสงโดยการสะท้อนแสงที่ผ่านออกมาจากตัวแยกแสงให้ผ่านสารอ้างอิงและสารตัวอย่างสลับกัน ทำให้ความเข้มของแสงที่ผ่านสารตัวอย่างลดลงครึ่งหนึ่ง วงจรขยายจะขยายสัญญาณที่ได้จากการเปรียบเทียบสัญญาณที่ได้รับจากสารตัวอย่างกับสารอ้างอิงอยู่ตลอดเวลาในขณะที่วัดความเข้มของแสง ดังนั้นจึงมีเสถียรภาพในการวัดความเข้มของแสงดีมาก แต่เครื่องวัดความเข้มของแสงชนิดนี้มีองค์ประกอบซับซ้อนเนื่องจากใช้ตัววัดแสงอันเดียวจึงต้องมีวงจรเลือก (switching) วัดสัญญาณและหลอดไฟฟ้ากำเนิดแสงมีกำลังส่องสว่างสูงจึงทำให้ราคาสูงกว่าเครื่องมือชนิดลำแสงเดี่ยว



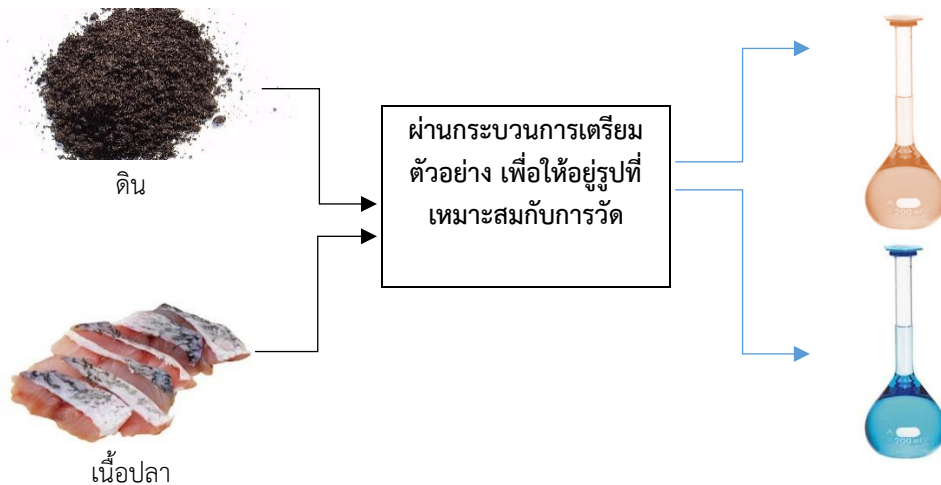
ภาพที่ 1.37 องค์ประกอบของเครื่องวัดการดูดกลืนชนิดลำแสงคู่ (ตัววัดแสงหนึ่งตัว)



ภาพที่ 1.38 องค์ประกอบของเครื่องวัดการดูดกลืนชนิดลำแสงคู่ (ตัววัดแสงสองตัว)

1.2.3 การเตรียมตัวอย่างและการเจือจาง

การเตรียมตัวอย่าง เป็นขั้นตอนการเปลี่ยนรูปหรือสถานะของตัวอย่างให้อยู่ในรูปทางเคมี และ/หรือสถานะที่เหมาะสมกับเครื่องมือวัด การเตรียมตัวอย่างแต่ละวิธีขึ้นอยู่กับสมบัติของตัวอย่าง ชนิดสารที่สนใจ ตัวรบกวน ระดับความเข้มข้น เป็นต้น โดยส่วนใหญ่แล้วตัวอย่างจะอยู่ในสถานะที่ไม่เหมาะสมสำหรับการนำไปวิเคราะห์กับเครื่องมือได้โดยตรง เช่น การหาปริมาณโลหะตะกั่วในดินหรืออาหาร เราไม่สามารถนำดินหรืออาหารนั้นไปใส่ในเครื่องมือวิเคราะห์ได้โดยตรง ตัวอย่างดินหรืออาหารจะต้องผ่านการเตรียมด้วยวิธีที่เหมาะสมเสียก่อนเพื่อให้ตะกั่วละลายออกมาอยู่ในรูปของไอออนในสารละลาย แล้วจึงจะสามารถนำไปเข้าเครื่องมือวิเคราะห์ ดังภาพที่ 1.39



ภาพที่ 1.39 แนวคิดการเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์

ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง จึงเป็นขั้นตอนหนึ่งที่สำคัญและเป็นสาเหตุของความคลาดเคลื่อนในการดำเนินการวิเคราะห์มากที่สุด โดยทั่วไปแล้ว วิธีการเตรียมตัวอย่างจะสอดคล้องตามวิธีวิเคราะห์ ทั้งนี้ วิธีการเตรียมตัวอย่างอาจแบ่งตามคุณลักษณะ เช่น การละลาย (dissolution) การทำให้สลายตัว (decomposition) การแยก (separation) การสกัด (extraction) เป็นต้น โดยทั่วไปตัวอย่างที่เป็นของแข็งมักนิยมใช้วิธีการทำให้สลายตัว ดังนี้

1) การทำให้สลายด้วยความร้อน (thermal decomposition) เป็นการให้ความร้อนอุณหภูมิสูงเพื่อทำให้สารอินทรีย์สลายตัว เช่น การวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักในอาหาร สามารถทำได้โดยนำอาหารที่บดละเอียดเผาที่อุณหภูมิสูงจนกลายเป็นเถ้า แล้วจึงละลายเถ้าด้วยกรดเจือจาง อย่างไรก็ตามในการเผาด้วยอุณหภูมิสูงจะต้องพิจารณาถึงการสลายตัวของสารที่สนใจด้วย เพราะสารสนที่เจือบางชนิดอาจสลายตัวได้ บางกรณีต้องเติมสารเคมีเพื่อป้องกันการสลายตัว

2) การย่อยสลายแบบเปียก (wet decomposition หรือ acid wet digestion) นิยมใช้สารละลายกรดเป็นสารเคมี ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์เพื่อสำหรับการวิเคราะห์สารอนินทรีย์ โดยกรดที่มีความแรงในการออกซิไดส์สูง หรือในกรณีใช้เบสจะเรียกการย่อยแบบฟลักซ์ (flux digestion) โดยเฉพาะสารอนินทรีย์ที่สลายตัวยาก อาจจำเป็นต้องใช้เกลือของโลหะแอลคาไลในการทำการฟลักซ์

1) การละลาย

การละลายเกี่ยวข้องกับแรงยึดระหว่างอนุภาค (ไอออน และ/หรือ โมเลกุล) ของตัวละลาย และแรงยึดของตัวทำละลาย รวมถึงแรงระหว่างตัวทำละลายและตัวละลาย การเลือกตัวทำละลายจึงจำเป็นต้องพิจารณาถึงองค์ประกอบและโครงสร้างของสารที่ต้องการละลาย ควรเลือกตัวทำละลายให้เหมาะกับชนิดของตัวอย่างโดยต้องสามารถละลายสารที่สนใจได้อย่างสมบูรณ์ เนื่องจากตัวทำละลายมีหลายชนิดและแต่ละชนิดมีสมบัติที่แตกต่างกัน การละลายจึงอาศัยหลักของสภาพขั้วที่เรียกว่า like-dissolve-like เช่น สารอินทรีย์ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ สารอนินทรีย์สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีขั้ว เช่น น้ำ เกลือ หรือ กรด เป็นต้น การละลายของสารอนินทรีย์ในน้ำมีแนวทางดังนี้

ตารางที่ 1.14 แนวทางการพิจารณาการละลายของสารอนินทรีย์ในน้ำ

การละลายของเกลือ	ข้อยกเว้น
เกลือของ Na^+ , K^+ และ NH_4^+ ละลายในน้ำได้	ยกเว้น Na_2S , K_2PtCl_4 , $\text{K}_2\text{NaCo}(\text{NO}_2)_6$, $(\text{NH}_4)_2\text{NaCo}(\text{NO}_2)_6$ และ $(\text{NH}_4)_2\text{PtCl}_4$
เกลือไนเตรต เกลือไนไตรต์ เกลือคลอเรต และเกลือแอสเตตละลายได้ในน้ำ	ยกเว้น $\text{AgC}_2\text{H}_3\text{O}_2$ ละลายน้ำได้ปานกลาง
ออกไซด์ และไฮดรอกไซด์ของโลหะ (metallic oxides) ไม่ละลายน้ำ	ยกเว้น ออกไซด์ และไฮดรอกไซด์ของโลหะแอลคาไล (หมู่ 1A) NH_4^+ และ Ba^{2+} ส่วนออกไซด์ และไฮดรอกไซด์ของ Sr^{2+} และ Ca^{2+} ละลายน้ำได้น้อย
เกลือซัลไฟด์ของโลหะ (metallic sulfides) ไม่ละลายน้ำ	ยกเว้น เกลือของโลหะแอลคาไล และแอลคาไลน์เอิร์ท (Ca, Sr, Ba และ Mg) ส่วนเกลือซัลไฟด์ของ Al^{3+} กับ Cr^{3+} สามารถเกิดปฏิกิริยาการแยกสลายด้วยน้ำกลายเป็นตะกอนในรูปของไฮดรอกไซด์
เกลือคลอไรด์ เกลือโบรไมด์ และเกลือไอโอไดด์ของโลหะละลายน้ำได้	ยกเว้น เกลือของ Ag^+ , Hg_2^{2+} และ Pb^{2+} (แต่ PbCl_2 ละลายได้ปานกลางในน้ำร้อน)
เกลือฟลูออไรด์ไม่ละลายน้ำ	ยกเว้น เกลือฟลูออไรด์ของโลหะแอลคาไล และเกลือฟลูออไรด์ของ Ag^+ , Bi^{3+} , Fe^{3+} และ Sn^{4+}
เกลือซัลเฟตละลายน้ำได้	ยกเว้น PbSO_4 , BaSO_4 และ SrSO_4 ที่ไม่ละลาย ส่วนเกลือซัลเฟตของ Ca^{2+} , Hg^{2+} และ Ag^+ ละลายน้ำได้น้อยมาก
เกลือโครเมตไม่ละลายน้ำ	ยกเว้น เกลือโครเมตของโลหะแอลคาไล และเกลือโครเมตของ Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+}
เกลือคาร์บอเนต เกลือซิลไฟต์ เกลือฟอสเฟต เกลือโบเรต เกลืออาร์เซเนต เกลืออาร์เซไนต์ และเกลือออกซาลेट ไม่ละลายน้ำ	ยกเว้น เกลือของโลหะแอลคาไล
เกลือของ Ag^+ ไม่ละลายน้ำ	ยกเว้น AgNO_3 และ AgClO_4 ส่วน $\text{AgC}_2\text{H}_3\text{O}_2$ และ Ag_2SO_4 ละลายน้ำได้ปานกลาง

2) การเผาให้เป็นเถ้า

การเผาให้เป็นเถ้า (dry ashing) เป็นวิธีการย่อยที่เหมาะสมสำหรับกำจัดสารอินทรีย์ เนื่องจากสารประกอบอินทรีย์จะถูกออกซิไดซ์ด้วยแก๊สออกซิเจนและแปรสภาพเป็นออกไซด์ของธาตุต่าง ๆ เมื่อทำการเผาสารอินทรีย์ด้วยความร้อนที่สูงมาก ๆ เช่น คาร์บอน (C) จะเปลี่ยนเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) และไฮโดรเจนจะเปลี่ยนเป็นไอน้ำ โดยทั่วไปการเผาให้เป็นเถ้านิยมทำในเตาเผา (furnace) ที่อุณหภูมิ $450-800^\circ\text{C}$ ที่ความดันบรรยากาศ ดังภาพที่ 1.40 และเถ้าจะถูกละลายด้วยตัวทำละลายที่เป็นกรดที่เหมาะสมเพื่อให้เป็นสารละลายสำหรับการวิเคราะห์ขั้นต่อไป



ภาพที่ 1.40 การเผาตัวอย่างในเตาเผา (ก) ตัวอย่างทำการระเหยตัวทำลาย (ข) เผาด้วยเตาเผา และ (ค) ส่วนที่เหลือจากการเผา

3) การย่อยสลายโดยใช้กรด

การละลายตัวอย่างด้วยกรดเป็นการใช้กรดที่สามารถทำลายพันธะระหว่างสารที่สนใจกับองค์ประกอบอื่น ๆ ในสารตัวอย่าง การเลือกใช้กรดจะต้องพิจารณาถึงผลที่จะเกิดขึ้นได้ทั้งระหว่างการย่อย และ/หรือ ภายหลังการย่อย ดังตารางที่ 1.15 การเลือกใช้กรดจะเกิดปฏิกิริยาข้างเคียง เช่น

- ถ้าตัวอย่างมีแบเรียมหรือเกลือของแบเรียมเป็นองค์ประกอบ จะไม่ใช้กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) เนื่องจากจะทำให้เกิดตะกอน BaSO_4 ซึ่งเป็นเกลือที่ละลายน้ำได้น้อยมาก
- ตัวอย่างมีซิลเวอร์เป็นองค์ประกอบ จะไม่ใช้กรดกรดไฮโดรคลอริก (HCl) เนื่องจากเกิดตะกอน AgCl ซึ่งเป็นเกลือที่ละลายน้ำได้น้อยมาก
- การหาปริมาณคาร์บอน หรือซัลเฟอร์ในตัวอย่างที่มีเกลือคาร์บอเนตหรือเกลือซัลไฟด์ ถ้าละลายตัวอย่างด้วยกรดจึงเกิดแก๊ส CO_2 และ H_2S ขึ้น จะทำให้คาร์บอนและซัลเฟอร์สลายตัว

ตารางที่ 1.15 ชนิดของกรดที่นิยมใช้ในการย่อยสลายแบบเปียก

ชนิดกรด	สมบัติ
กรดไนตริก (HNO_3)	กรดไนตริกสามารถละลายพวกโลหะได้เกือบทุกชนิด ยกเว้น Al, Cr, Sn, W และ Sb ทั้งนี้เพราะ Al และ Cr จะเกิดการรวมตัวเป็นแผ่นออกไซด์ ส่วน Sn, W และ Sb จะเกิดเป็นสารประกอบละลายยาก • กรดไนตริกเข้มข้น (69% w/w) สามารถละลายโลหะได้หลายชนิด เช่น Mn, Fe, Co, Ag, Pd, Se, As, Bi เป็นต้น • กรดไนตริกเจือจาง (10-15% v/v) สามารถละลายสารประกอบออกไซด์ของโลหะแอลคาไลน์เอิร์ท และออกไซด์ของโลหะแทรนซิชัน เช่น La_2O_3, At_2O_3, Sc_2O_3, Y_2O_3 • กรดไนตริกเจือจาง (50% v/v) สามารถละลายออกไซด์ของโลหะ เช่น V_2O_5, Mn_2O_3, CuO, CdO, HgO, TlO, PbO, Bi_2O_3 และสามารถละลายโลหะ Cu, Zn, Cd, Hg, Pb ได้

ชนิดกรด	สมบัติ
	• กรดผสมระหว่างกรดไนตริกเข้มข้นและกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (อัตราส่วน 1:3 v/v) สามารถละลายโลหะพวกแพลทินัม (Pt) ทองคำ (Au) เหล็กกล้าไม่เป็นสนิม โลหะผสม Fe/Ni โลหะผสมทองแดง (Cu alloy) เหล็กกล้าผสม Cr/Ni • กรดผสมของกรดไนตริก กรดไฮโดรฟลูออริก (HF) และน้ำในอัตราส่วน 1:1:1 v/v สามารถละลายโลหะและออกไซด์ของธาตุหลายชนิด เช่น Ti, Zr, Hf, Nb, W, Sn, Al, Si, Ge, Sb, Te, As, Se, Mo
กรดไฮโดรคลอริก หรือกรดเกลือ	กรดไฮโดรคลอริก นิยมใช้ละลายตัวอย่างของแข็งพวกโลหะที่ถูกออกซิไดส์ได้ง่ายของแข็งที่เป็นสารที่เกิดในธรรมชาติ เช่น เกลือคาร์บอเนตของโลหะ Mg, Ca, Fe, Mn และออกไซด์ของ Fe และ Mn จะละลายได้ดี แต่ออกไซด์ของ Al, Si, Sn, Ti จะไม่ละลาย กรดไฮโดรคลอริกผสมกับกรดบอริก (H_3BO_3) ใช้ละลายเกลือฟลูออไรด์บางชนิดได้ เช่น CaF_2 กรดไฮโดรคลอริกผสมกับตัวออกซิไดส์บางชนิด (เช่น HNO_3 , H_2O_2 , $KClO_3$, Br_2) จะใช้ละลายตัวอย่างแร่ซัลไฟด์
กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4)	กรดซัลฟิวริกเข้มข้นมีจุดเดือดประมาณ $340^{\circ}C$ จึงนิยมใช้กรดเข้มข้นที่ร้อนละลายตัวอย่างที่เป็นโลหะและโลหะผสม โดยจะทำให้เกิดการสลายตัว
กรดเปอร์คลอริก ($HClO_4$)	กรดเปอร์คลอริกเข้มข้นที่ร้อนเป็นตัวออกซิไดส์ที่แรง จึงใช้ละลายเหล็กกล้าไม่สนิมและโลหะผสมที่มีเหล็กเป็นองค์ประกอบได้ดี การใช้กรดนี้ต้องระมัดระวังเนื่องจากกรดนี้ทำปฏิกิริยารุนแรงกับสารอินทรีย์ อาจทำให้เกิดระเบิดได้ ดังนั้น ควรใช้สารละลายกรดเจือจาง หรือใช้กรดเข้มข้นที่เย็นใส่ลงในตัวอย่าง แล้วจึงนำไปต้มโดยค่อย ๆ เพิ่มความร้อนในตู้ควันทิ้งที่สะอาดปราศจากฝุ่นละอองและสารอินทรีย์ ทั้งนี้ต้องระวังไม่ให้สารละลายแห้งและเมื่อสารละลายเหลือน้อยต้องระมัดระวังเนื่องจากจะมีความเข้มข้นของกรดสูงมาก
กรดฟอสฟอริก (H_3PO_4)	กรดฟอสฟอริกสามารถละลายสารประกอบออกไซด์ที่เกิดในธรรมชาติที่ย่อยสลายได้ยาก เช่น ไตรยูเรเนียมออกไซด์ (U_3O_8) และโครไมต์ ($FeCr_2O_4$) กรดฟอสฟอริกผสมกับกรด H_2SO_4 และ $HClO_4$ จะละลายออกไซด์ของเหล็กและของอะลูมิเนียมได้ การละลายแร่โดยใช้กรดชนิดนี้หรือกรดผสมของ H_2SO_4 , $HClO_4$, H_3PO_4 , H_3BO_3 จะเกี่ยวข้องกับกระบวนการเติมโปรตอน (protonation) และการเกิดไอออนเชิงซ้อน
กรดไฮโดรฟลูออริก	กรดไฮโดรฟลูออริกเป็นกรดพิเศษเมื่อเปรียบเทียบกับกรดชนิดอื่น ๆ ที่ใช้สำหรับการละลายตัวอย่างของแข็ง การละลายเกี่ยวข้องกับการเกิดไอออนเชิงซ้อนเนื่องจากไอออนฟลูออไรด์มีประสิทธิภาพมากกว่าแฮไลด์ของกรดอื่น ๆ ไอออนฟลูออไรด์ทำปฏิกิริยาเกิดเป็นไอออนเชิงซ้อนที่เสถียร โดยเฉพาะพวกแคตไอออนที่มีความหนาแน่นประจุสูง (Zr^{4+} , Ti^{4+} , Al^{3+} , Fe^{3+}) เนื่องจากฟลูออไรด์มีขนาดอะตอมเล็ก จึงสามารถไปล้อมรอบไอออนโลหะตรงกลางได้มาก ซึ่งจำนวนที่ล้อมรอบอาจถึงจำนวนโคออร์ดิเนชันสูงสุดที่เป็นไปได้สำหรับไอออนเชิงซ้อนนั้น ๆ กรดไฮโดรฟลูออริกทำปฏิกิริยากับซิลิโคนได้ จึงเป็นประโยชน์มากในการสลายซิลิเกต และกำจัดซิลิโคนออกจากสารละลายนี้ได้โดยใช้สมบัติการระเหยง่ายของ H_2SiF_6 ที่เกิดขึ้น ภาชนะที่ใช้ต้องเป็นแพลทินัม หรือพลาสติก

ชนิดกรด	สมบัติ
กรดกัดทอง (aqua regia)	กรดกัดทองเป็นกรดผสมระหว่างกรดไนตริกเข้มข้นกับกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นในอัตราส่วน 1 ต่อ 3 โดยปริมาตร ($\text{HNO}_3\text{:HCl}$, 1:3 v/v) กรดกัดทองใช้ละลายโลหะได้เกือบทุกชนิดและใช้ละลายสารประกอบไอออนที่ละลายได้น้อยมากในกรดชนิดอื่น ๆ และยังสามารถละลายสารอินทรีย์ที่เป็นองค์ประกอบของตัวอย่างได้ดีอีกด้วย นอกจากนี้อาจเพิ่มประสิทธิภาพของกรดกัดทองโดยเติม Br_2 หรือ H_2O_2

4) การย่อยด้วยคลื่นไมโครเวฟ

การย่อยด้วยคลื่นไมโครเวฟ (microwave digestion) เป็นวิธีการย่อยตัวอย่างโดยอาศัยคลื่นไมโครเวฟเป็นแหล่งพลังงานกระตุ้นให้โมเลกุลเกิดการหมุนและเสียดสีหรือชนกระทบกันอย่างไม่เป็นระเบียบทำให้เกิดความร้อนขึ้น การให้ความร้อนโดยใช้คลื่นไมโครเวฟสามารถควบคุมความร้อนให้มีระดับพลังงานคงที่อย่างต่อเนื่องและหยุดทำงานได้ทันที พลังงานของคลื่นไมโครเวฟจะถูกดูดกลืนโดยวัตถุที่บรรจุอยู่ในภาชนะ (สารเคมีหรือส่วนผสมของสารตัวอย่าง) แล้วเปลี่ยนเป็นความร้อนทำให้สารที่บรรจุในหลอด (vessel) มีอุณหภูมิเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ความร้อนจะถูกถ่ายโอนจากตัวอย่างไปยังภาชนะบรรจุทำให้อุณหภูมิของภาชนะสูงขึ้นและกระจายตัวสู่สิ่งแวดล้อม โดยทั่วไปกระบวนการย่อยสลายจะอาศัยกรดอนินทรีย์ เช่น H_2SO_4 , HCl , HNO_3 และ HF เป็นตัวออกซิไดส์ช่วยย่อยสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ในสารตัวอย่าง



(ก)



(ข)

ภาพที่ 1.41 เครื่องย่อยด้วยคลื่นไมโครเวฟ

โดยทั่วไปปริมาณตัวอย่างที่เหมาะสมต่อการย่อยจะค่อนข้างน้อย เช่น ตัวอย่างที่เป็นสารอินทรีย์ประมาณ 0.1-1.0 กรัม สารอนินทรีย์ประมาณ 0.5-5 กรัม และใช้ปริมาตรของกรดหรือสารเคมีน้อย ประมาณ 2-10 mL ใช้เวลาในการย่อยประมาณ 5 ถึง 10 นาที การย่อยในภาชนะแบบปิดใช้ระยะเวลาไม่นาน ให้อุณหภูมิและความดันของปฏิกิริยาที่สูง ทำให้สามารถย่อยตัวอย่างได้อย่างสมบูรณ์

ตารางที่ 1.16 การย่อยเครื่องสำอางด้วยกรดผสมร่วมด้วยเทคนิคไมโครเวฟ

	HNO ₃ (mL)	HCl (mL)	HF (mL)	H ₃ BO ₃ (g)	H ₂ O (mL)
Lip Gloss Standard (PT-CS-20)	3.5	0.5	2	1	10
Powdered Cosmetics Standard (PT-CS-21)	3.5	0.5	2	1	10
Lip Gloss	3.5	0.5	2	1	10
Lipstick (HF)	3.5	0.5	2	1	10
Lipstick (No HF)	3.5	0.5	0	0	0
Powder Foundation	3.5	0.5	2	1	10
Eyeshadow	3.5	0.5	2	1	10
Mascara	3.5	0.5	1	0.5	10
Plant-Based Mascara	3.5	0.5	1	0.5	10
Liquid Foundation	3.5	0.5	1	0.5	10

1.2.4 ปฏิบัติการส่วนประกอบของเครื่อง UV-Vis และเทคนิคการเตรียมตัวอย่าง

- 1) ปฏิบัติการส่วนประกอบเครื่อง UV-Vis
- 2) ปฏิบัติการการเตรียมตัวอย่าง
(คู่มือปฏิบัติการ)

สรุปท้ายบทเรียน

เครื่องยูวี-วิสิเบิลประกอบด้วยส่วนหลัก คือ แหล่งกำเนิดแสง ตัวแยกแสง ช่องใส่สารตัวอย่าง ตัววัดแสง ภาชนะยาสัญญาณ และภาคแสดงผล โดยแบ่งประเภทของเครื่องยูวี-วิสิเบิลตามลำแสงเป็นสองประเภท คือ ชนิดลำแสงเดี่ยว และชนิดลำแสงคู่ ส่วนประกอบหลักที่สำคัญของเครื่อง UV-Vis ได้แก่ แหล่งกำเนิดแสง เป็นส่วนกำเนิดแสงที่ต้องมีความเข้มแสงคงที่และแบบต่อเนื่อง ที่นิยมใช้ เช่น หลอดทังสเตน หลอดไฮโดรเจน (H₂) หรือ หลอดดิวทีเรียม และหลอดทังสเตนแฮโลเจน ตัวแยกแสงเป็นอุปกรณ์ทำหน้าที่แยกแสงหลายสีหรือหลายความยาวคลื่นให้เป็นแสงสีเดียว เครื่องมือสมัยใหม่จะนิยมใช้เกรตติงแบบสะท้อนแสงชนิดอีเชล (echelle grating) เนื่องจากมีราคาถูกลง การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิมีผลกระทบน้อยมาก ส่วนบรรจุสารตัวอย่างเรียกว่า เซลล์หรือคิวเวตต์ ซึ่งลักษณะทั่วไปของคิวเวตต์มีหลายขนาดและปริมาตรบรรจุ วัสดุที่ใช้ทำคิวเวตต์มีหลายชนิด เช่น แก้ว ควอตซ์ และพลาสติก ตัววัดแสงเป็นอุปกรณ์ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนความเข้มของแสงให้เป็นสัญญาณไฟฟ้าแล้วส่งต่อไปยังภาชนะยาสัญญาณและวงจรอิเล็กทรอนิกส์เพื่อให้สามารถแสดงค่าออกมาในรูปการดูดกลืนแสงหรือความส่องผ่าน ตัววัดแสงมีอยู่หลายชนิด เช่น โฟโตทิวบ์ โฟโตมัลติพลายเออร์ ทิวบ์ ซีลิกอนโฟโตไดโอด และโฟโตไดโอดอาร์เรย์ นอกจากนี้ตัวแปลงสัญญาณรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าเกี่ยวข้องกับโฟตอน เรียกว่า ตัววัดโฟตอน การเตรียมตัวอย่างเป็นขั้นตอนหนึ่งที่สำคัญสำหรับการวิเคราะห์ เนื่องจากตัวอย่างจะทำการวิเคราะห์จะต้องเป็นตัวแทนของตัวอย่างได้ การเตรียมตัวอย่างเป็นขั้นตอนการเปลี่ยนรูป

หรือสถานะของตัวอย่างให้อยู่ในรูปทางเคมี และ/หรือ สถานะที่เหมาะสมกับเครื่องมือวัด การเตรียมตัวอย่างแต่ละวิธีขึ้นอยู่กับสมบัติของตัวอย่าง ชนิดสารที่สนใจ ตัวรบกวน ระดับความเข้มข้น เป็นต้น โดยส่วนใหญ่แล้วสถานะของตัวอย่างจะอยู่ในรูปที่ไม่เหมาะสมสำหรับการนำไปวิเคราะห์กับเครื่องมือได้โดยตรง

วิธีการสอนและกิจกรรม

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ไปกิจกรรม

สื่อการสอนและอุปกรณ์การสอน

1. หนังสือ เคมีวิเคราะห์: หลักการและเทคนิคการคำนวณเชิงปริมาณ
2. เอกสารประกอบการสอน
3. สื่อการเรียนรู้ (power point)
4. <https://www.agilent.com/cs/library/primers/public/primer-uv-vis-basics-5980-1397en-agilent.pdf>

งานที่มอบหมาย

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ไปกิจกรรม

การวัดผล

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ไปกิจกรรม

แบบฝึกหัด

1. ทำกิจกรรม
2. ไปกิจกรรม

บรรณานุกรม

1. ชูติมา ศรีวิบูลย์. (2556). เคมีวิเคราะห์ 1. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยรามคำแหง
2. แม้น อมรสิทธิ์, และอมร เพชรสม. (2550). หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ. สำนักพิมพ์ชวนชม
3. นิพนธ์ ตั้งคณานุรักษ์ และคณิตา ตั้งคณานุรักษ์. (2547). สเปกโทรสโกปีด้านการวิเคราะห์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
4. เย็นหทัย แนนหนา. (2549). สเปกโทรสโกปีสำหรับเคมีอินทรีย์. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5. วรวิทย์ จันทรสุวรรณ. (2565). *เคมีวิเคราะห์: หลักการและเทคนิคการคำนวณเชิงปริมาณ* (พิมพ์ครั้งที่ 2). สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
6. Averill, B. A. (2012). *Principles of General Chemistry*.
<https://2012books.lardbucket.org/books/principles-of-general-chemistry-v1.0m/index.html>
7. Christian, G. D., Dasgupta, P. K., & Schug, K. A. (2014). *Analytical Chemistry* (7th ed.). John Wiley & Sons
8. Harris, D. C. (2010). *Quantitative Chemical Analysis* (8th ed.). W.H. Freeman and Company
9. Harvey, D. (2019). *Analytical Chemistry 2.1*. <https://chem.libretexts.org/>
10. Robinson, J. W., Frame, E. M. S, & Frame G. M. (2021). *Instrumental Analytical Chemistry*. CRC Press
11. Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2022). *Fundamentals of Analytical Chemistry* (10th ed.). Brooks/Cole Publishing
12. Skoog, D. A., Holler, F.J., & Crouch, S. R. (2018). *Principles of Instrumental Analysis* (7th ed.). David Harris.

หน่วยที่ 1

วิธีวิวิ-วิสิเบิล สเปกโทรสโกปี

บทเรียน 1.3 การวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วยเทคนิค UV-Vis

จุดประสงค์การสอน

1. บอกการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ
2. คำนวณวิธีการหาปริมาณวิเคราะห์
3. อธิบายวิธีเติมสารมาตรฐาน
4. ปฏิบัติการสร้างกราฟมาตรฐานความเข้มข้น และการวิเคราะห์ปริมาณ

1.3.1 การวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ

1) การวิเคราะห์เชิงคุณภาพ

การวิเคราะห์เชิงคุณภาพด้วยเทคนิค UV-Vis คือการใช้การดูดกลืนแสงในย่าน UV-Vis เพื่อระบุชนิดของสารหรือกลุ่มฟังก์ชันทางเคมีในสารตัวอย่าง เทคนิคนี้อาศัยหลักการที่ว่าสารต่างชนิดกันจะดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่นเฉพาะเจาะจงแตกต่างกัน ทำให้สามารถใช้เป็นข้อมูลบ่งชี้ชนิดของสารได้ โดยอาศัยการวัดตำแหน่งของค่าการดูดกลืนสูงสุด ($\lambda_{\max}$) และลักษณะของสเปกตรัมการดูดกลืนแสงเป็นข้อมูลที่ใช้ในการระบุสารหรือเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน เช่น

- การตรวจสอบสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจากพืช ซึ่งสารฟีนอลิก เช่น ฟลาโวนอยด์ หรือกรดฟีนอลิก มีโครงสร้างแอรโमेติกคอนจูเกต ซึ่งดูดกลืนแสงในช่วง 250–400 nm สามารถใช้เปรียบเทียบ $\lambda_{\max}$ กับข้อมูลอ้างอิง เพื่อยืนยันชนิดของฟีนอลในสารสกัด
- การตรวจสอบไนเตรต (NO_3^-) และไนไตรต์ (NO_2^-) โดยไนเตรตมีการดูดกลืนที่ ~ 210 nm ขณะที่ไนไตรต์ดูดกลืนที่ ~ 354 nm สามารถระบุชนิดของไอออนในน้ำหรืออาหารได้ด้วยการวัดสเปกตรัม UV
- การยืนยันการเกิดปฏิกิริยาสำหรับสารเชิงซ้อนโลหะ (metal complexes) โลหะแทรนซิชันจะเกิดการดูดกลืนแสงเฉพาะเมื่อสร้างเชิงซ้อนกับลิแกนด์ ใช้ดูการเปลี่ยนแปลง $\lambda_{\max}$ หรือการเปลี่ยนสีเพื่อระบุว่าการเกิดเชิงซ้อน

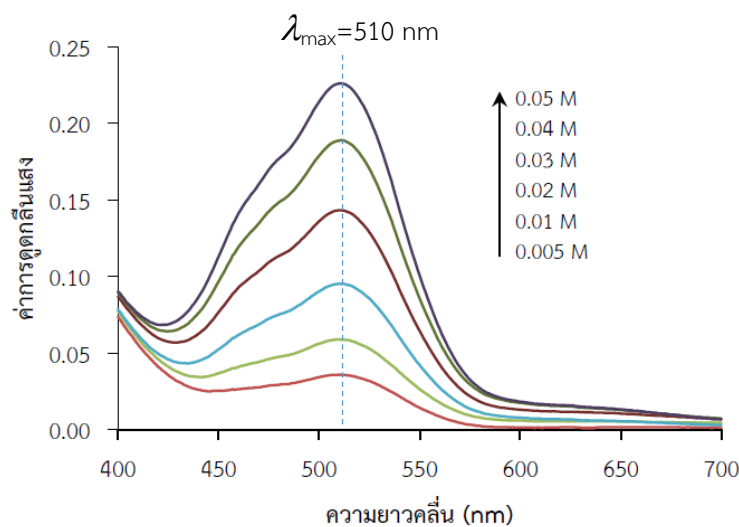
2) การวิเคราะห์เชิงปริมาณ

การวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วย UV-Vis เป็นเทคนิคที่ใช้วัด ปริมาณของสาร (concentration) โดยอาศัยหลักการที่ว่าสารสามารถดูดกลืนแสงย่าน UV-Vis ได้ตามกฎของเบียร์ ซึ่งระบุว่าค่าการดูดกลืนแสง (A) มีความสัมพันธ์โดยตรงกับความเข้มข้นของสาร (C) ซึ่งกล่าวมาแล้วในบทเรียนที่ผ่านมา

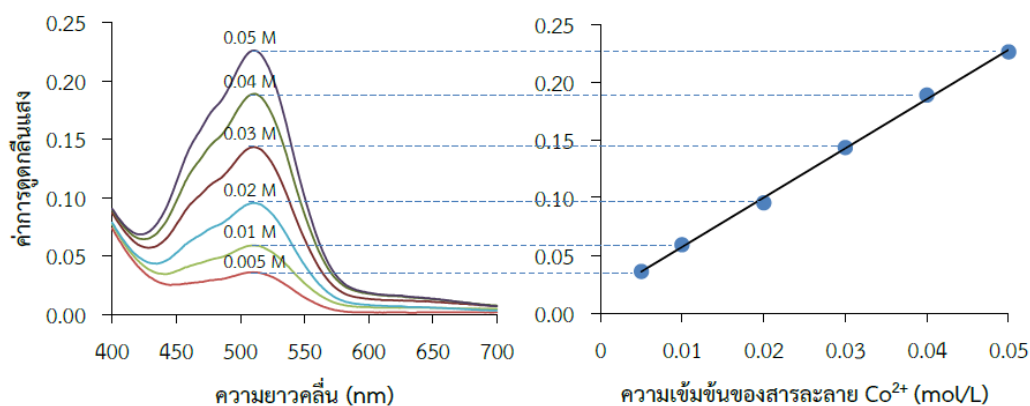
1.3.2 วิธีการทำปริมาณวิเคราะห์

1) วิธีการมาตรฐานความเข้มข้น

กราฟมาตรฐานความเข้มข้น (calibration curve) คือ กราฟเส้นตรงที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน (ที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน) ในที่นี้ขอยกตัวอย่าง สารละลาย $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ ที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 0.0050 ถึง 0.050 mol/L เมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงในย่านวิสิเบิล (400-800 nm) จะได้ลักษณะสเปกตรัมดูดกลืนแสงแต่ละความเข้มข้น ดังภาพที่ 1.42 และจะพบว่าที่ความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) อยู่ที่ 510 nm และค่าการดูดกลืนแสงจะเพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสารที่ดูดกลืนแสง ดังภาพที่ 1.43



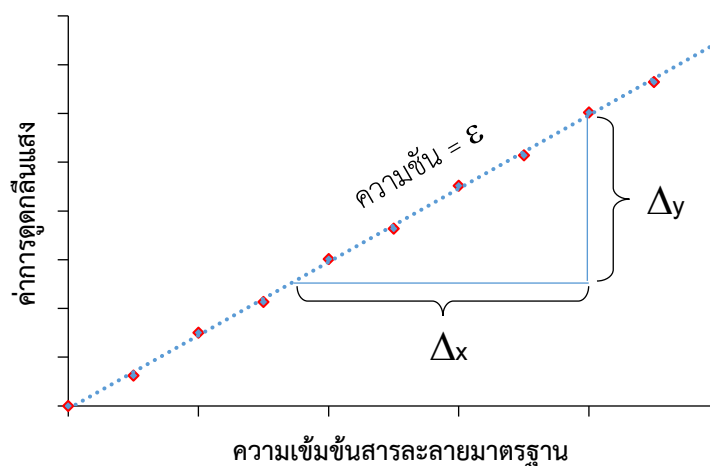
ภาพที่ 1.42 สเปกตรัมดูดกลืนแสงของสารละลาย $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$



ภาพที่ 1.43 ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงกับสเปกตรัมดูดกลืนแสงของสารละลาย $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$

กราฟมาตรฐานความเข้มข้น คือกราฟเส้นตรงที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน (ที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน) เมื่อเขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (แกน x) กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน (แกน y) ดังภาพที่ 1.44

จากสมการกฎของเบียร์ $A = \epsilon bc$ เมื่อเขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลาย $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ เมื่อความหนาของตัวกลางที่แสงผ่านคงที่ ($b=1 \text{ cm}$) จะได้กราฟเส้นตรงที่มีจุดตัดแกนค่าหนึ่ง และมีความชันเป็น ϵ ดังภาพที่ 1.44 เรียกกราฟนี้ว่า กราฟมาตรฐานความเข้มข้น (concentration calibration curve) หรือวิธีกราฟมาตรฐาน (standard calibration method)



ภาพที่ 1.44 กราฟมาตรฐานความเข้มข้น

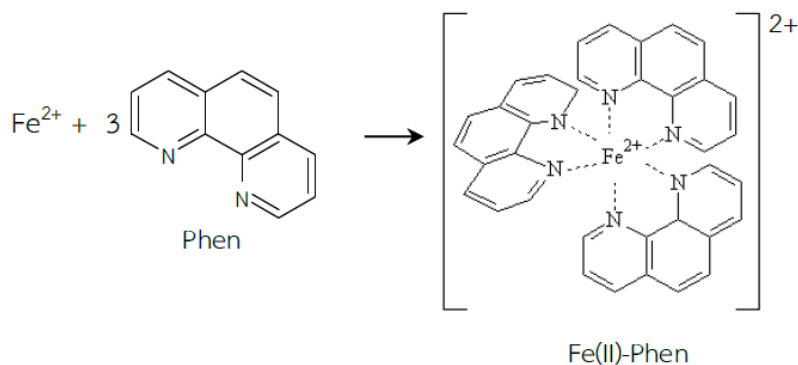
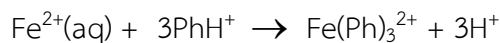
จุดประสงค์ที่สำคัญของการทำกราฟมาตรฐานเพื่อให้ได้สัญญาณการดูดกลืนแสงจากเครื่องมือวัดในขณะนั้น เมื่อใช้ความเข้มข้นของสารมาตรฐานภายนอก (external standard) ที่ความเข้มข้นต่างกันตามลำดับ สัญญาณการดูดกลืนแสงที่ได้จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นตามกฎของเบียร์ และที่สำคัญกราฟมาตรฐานจะเป็นเครื่องมือในการหาความเข้มข้นของสารที่สนใจในสารตัวอย่าง โดยอาศัยสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานความเข้มข้น

2) วิธีสร้างกราฟมาตรฐานความเข้มข้น

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

ตัวอย่างการวิเคราะห์ปริมาณเหล็กด้วยวิธีวัดค่าการดูดกลืนแสง ทำได้โดยให้เกิดไอออนเชิงซ้อนที่มีสี (สีแดงถึงส้ม) ระหว่าง Fe^{2+} กับ 1,10-ฟีแนนโทรลีน เรียกว่าไอออนเชิงซ้อนเหล็ก-ฟีแนนโทรลีน ($\text{Fe}(\text{II})\text{-Phen}$) ดังภาพที่ 1.45 ซึ่งไอออนเชิงซ้อนดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 nm โดยควบคุม pH ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ประมาณ pH 3.5 เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดตะกอนเป็น $\text{Fe}(\text{OH})_2$ และจะต้องเติมตัวรีดิวซ์เพื่อทำการรีดิวซ์เหล็กทั้งหมดในสารละลายให้เป็น Fe^{2+} เสียก่อนโดยใช้

สารละลายไฮดรอกซีลามีนไฮโดรคลอไรด์ (hydroxylamine hydrochloride) สีของไอออนเชิงซ้อนระหว่างเหล็ก(II) กับฟีแนนโทรลีนจะเสถียรได้นาน



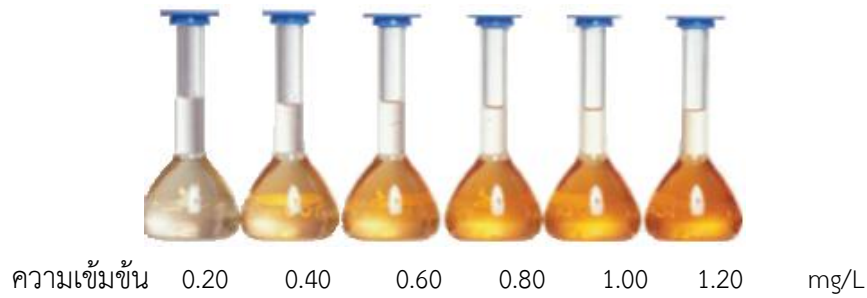
ภาพที่ 1.45 ไอออนเชิงซ้อนระหว่างเหล็ก(II) กับฟีแนนโทรลีน.

การเตรียมกราฟมาตรฐานทำได้โดย เตรียมสารละลายเหล็กมาตรฐานให้มีความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นลำดับจำนวน 6 ความเข้มข้นในขวดวัดปริมาตร (ในการเตรียมชุดสารละลายมาตรฐานจะต้องไม่มีความคลาดเคลื่อนเกี่ยวกับการเตรียม เช่น ปริมาตรที่ปิเปตและการปรับปริมาตรสุดท้าย) ความเข้มข้นของเหล็กที่เตรียมดังตารางที่ 1.17

ตารางที่ 1.17 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 $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ และแอสซีเตตบัฟเฟอร์อย่างละ 1 mL ลงไป แล้วเติม 1,10-ฟีแนนโทรลีน ปริมาตร 2 mL แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปจนครบขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ประมาณ 10 นาที จะได้สารละลายสีส้มแดงของไอออนเชิงซ้อนเหล็ก(II) กับฟีแนนโทรลีน ดังภาพที่ 1.46 จากนั้นนำสารละลายแต่ละขวดวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ค่าการดูดกลืนแสงของไอออนเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นแต่ละความเข้มข้นของสารละลายเหล็กได้ผลดังตารางที่ 1.18

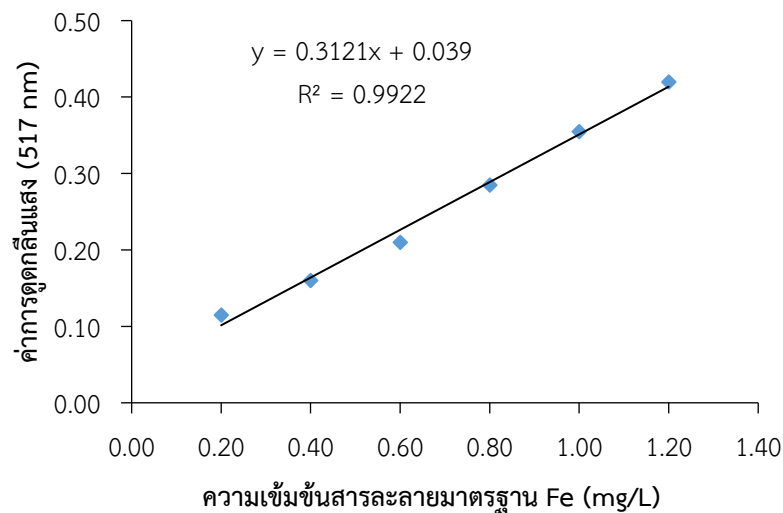


ภาพที่ 1.46 สารละลายไอออนเชิงซ้อนเหล็ก(II)-ฟิแนโนโทรลีน

ตารางที่ 1.18 ค่าการดูดกลืนแสงของไอออนเชิงซ้อนเหล็ก(II)-ฟิแนโนโทรลีน

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 1.18 เมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงของแต่ละความเข้มข้นมาเขียนกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเหล็กกับค่าการดูดกลืนแสง จะได้กราฟเส้นตรง ดังภาพที่ 1.47



ภาพที่ 1.47 กราฟมาตรฐานความเข้มข้นของไอออนเชิงซ้อนเหล็ก-ฟิแนโนโทรลีน

กราฟมาตรฐานที่สร้างโดยใช้โปรแกรมเอกเซลล์จะได้ข้อมูลเกี่ยวกับสมการเส้นตรงที่บอกค่าความชันและจุดตัดแกน y และยังสามารถบอกความเป็นเส้นตรงว่ากราฟนั้นมีความเป็นเส้นตรงมากน้อยเพียงใด ถ้าค่า R^2 ใกล้ 1 แสดงว่ากราฟนั้นมีความเป็นเส้นตรงสูง โดยทั่วไปในการวิเคราะห์เชิง

ปริมาณค่า R^2 ต้องมากกว่า 0.99 ซึ่งจากกราฟเส้นตรงของไอออนเชิงซ้อนเหล็ก(II)-พีแนโนทรอลีน พบว่า ค่าความชันเท่ากับ 0.3121 จุดตัดแกน y เท่ากับ 0.039 และ R^2 เท่ากับ 0.9925

3) การคำนวณปริมาณจากกราฟมาตรฐาน

กราฟมาตรฐานความเข้มข้นของไอออนเชิงซ้อนเหล็ก(II)-พีแนโนทรอลีน (ภาพที่ 1.47) เป็นความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน ที่ได้สัญญาณตอบสนองจากเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ซึ่งสัญญาณที่ได้นั้นมาจากสารมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้น ดังนั้นเมื่อเรานำสารตัวอย่างมาทำการทดลองเช่นเดียวกับสารมาตรฐาน โดยทำการทดลองในสภาวะเดียวกัน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นเดียวกัน เราจะได้สัญญาณตอบสนองเป็นค่าการดูดกลืนแสงค่าหนึ่ง ซึ่งเป็นค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างนั้น แต่เราไม่สามารถทราบความเข้มข้นของสารตัวอย่างได้โดยตรงจากเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ เราต้องนำค่าการดูดกลืนแสงมาเทียบกับกราฟมาตรฐานความเข้มข้น

ถ้าสมมตินำสารตัวอย่างน้ำบาดาล ปริมาตร 50.00 mL เติมสารละลายเช่นเดียวกับการเตรียมกราฟมาตรฐาน และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm ได้เท่ากับ 0.380 เราสามารถคำนวณปริมาณเหล็กในสารตัวอย่างเทียบกับเตรียมกราฟมาตรฐาน โดยอาศัยสมการเส้นตรง (ภาพที่ 1.47)

$$y = 0.3121x + 0.039 \quad \text{.....(1.13)}$$

$$x = \frac{y - 0.039}{0.3121} \quad \text{.....(1.14)}$$

เมื่อ y คือค่าการดูดกลืนแสงของสารที่สนใจในตัวอย่าง เท่ากับ 0.380 ดังนั้น

$$x = \frac{0.380 - 0.039}{0.3121} = 1.09 \text{ mgFe/L} \quad \text{.....(1.15)}$$

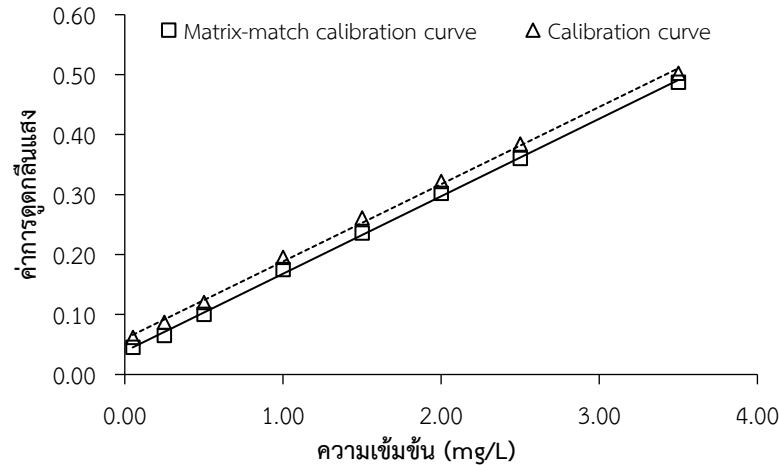
ดังนั้น สรุปได้ว่าในสารตัวอย่างมีปริมาณเหล็กเท่ากับ 1.09 mg/L (ppm)

การวิเคราะห์เชิงปริมาณนอกจะดำเนินการทดลองเพื่อวิเคราะห์สารที่สนใจแล้ว ยังจำเป็นต้องศึกษาผลการรบกวนของตัวกลาง (matrix) ที่เป็นองค์ประกอบในสารที่สนใจ และสารเคมีในการทดลอง โดยตัวกลางอาจส่งกระทบในการวิเคราะห์ได้ทั้งทางบวกหรือทางลบ ซึ่งจะส่งผลให้การวิเคราะห์ห่างไกลจากค่าแท้จริง หรือกล่าวได้ว่า ผลการวิเคราะห์มีความแม่นยำต่ำ

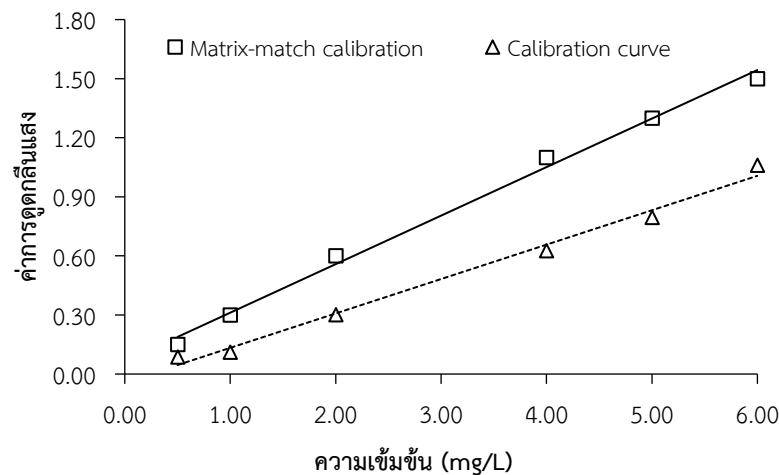
จากการทำกราฟมาตรฐานความเข้มข้น สารเคมีและตัวทำละลายจะเป็นสารที่บริสุทธิ์หรือมีการเจือปนค่อนข้างน้อย แต่ในสารตัวอย่างจะมีตัวกลางที่ทำให้องค์ประกอบส่วนใหญ่แตกต่างจากสารละลายมาตรฐาน และอาจมีผลต่อการดูดกลืนแสงได้

วิธีตรวจสอบผลของตัวกลางทำได้โดยเติมสารละลายมาตรฐานลงในสารละลายตัวอย่าง แล้ววัดค่าการดูดกลืน เรียกวิธีนี้ว่า กราฟมาตรฐานเมทริกซ์แมตช์ (matrix-matched calibration) โดยวิธีการเตรียมกราฟมาตรฐานความเข้มข้นที่มีสารตัวอย่างเป็นองค์ประกอบที่คงที่ (ปริมาณเท่ากันในทุกขวดกำหนดปริมาตร) โดยวิธีนี้สามารถบ่งชี้ถึงผลของสิ่งรบกวนจากตัวกลางในสารตัวอย่างโดยดูจากกราฟเส้นตรง ถ้ากราฟมาตรฐานความเข้มข้นกับกราฟมาตรฐานเมทริกซ์แมตช์มีความชันเท่ากันหรือใกล้เคียงกัน เส้นกราฟจะขนานกัน ดังภาพที่ 1.48 อธิบายได้ว่าผลของตัวกลางในสารตัวอย่างไม่มีผลต่อการวิเคราะห์ แต่ถ้าความชันไม่เท่ากันหรือไม่ใกล้เคียงกัน เส้นกราฟจะไม่ขนานกัน (ภาพที่

1.49) อธิบายได้ว่าตัวกลางหรือสารเจือปนในสารตัวอย่างมีผลโดยตรงต่อการวิเคราะห์ ดังนั้นในการทดลองจำเป็นต้องกำจัดสิ่งรบกวนออกเสียก่อน



ภาพที่ 1.48 ผลการทำกราฟมาตรฐานเมทริกซ์แมทช์มีความเข้มข้นเท่ากัน



ภาพที่ 1.49 ผลการทำกราฟมาตรฐานเมทริกซ์แมทช์ความเข้มข้นไม่เท่ากัน

1.3.3 วิธีเติมสารมาตรฐาน

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) เติมนสารละลายมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้น (C_s) และปริมาตรที่แตกต่างกันเป็นลำดับ (V_s)

3) เติมนสารอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องในปฏิกิริยาให้เท่ากันทุก ๆ ชนิด และปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลาย (ปริมาตรรวม V_t)

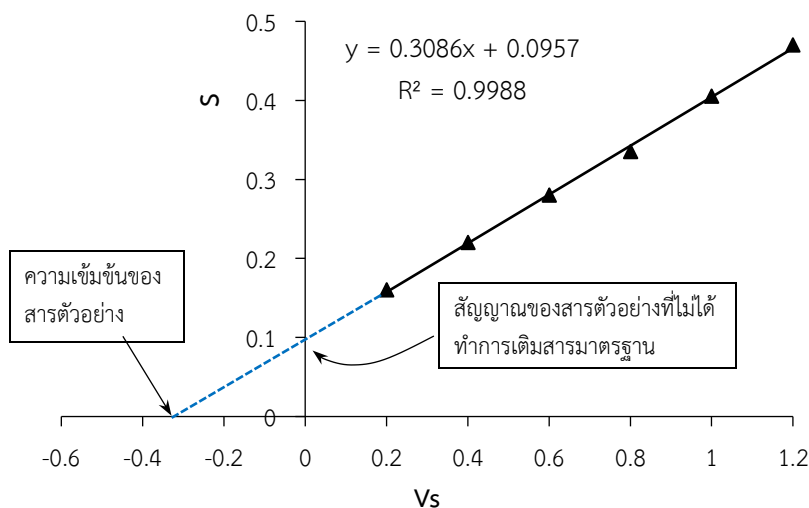
4) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่กำหนด ได้สัญญาณเป็น S
สัญญาณ (S) ที่ได้จะเป็นผลรวมของสัญญาณจากสารตัวอย่างกับสารมาตรฐานที่เติมลงไป
ดังนี้

$$S = \frac{V_s C_s}{V_t} + \frac{V_x C_x}{V_t} \quad \text{.....(1.16)}$$

จากสมการ (1.16) ถ้าเขียนกราฟระหว่าง S กับ V_s จะได้กราฟเส้นตรง ดังภาพที่ 1.50 โดยมี

ความชัน คือ $m = \frac{C_s}{V_t}$ (1.17)

จุดตัดแกน y คือ $b = \frac{V_x C_x}{V_t}$ (1.18)



ภาพที่ 1.50 กราฟมาตรฐานของวิธีการเติมสารมาตรฐาน

สารตัวอย่างที่ไม่ทราบความเข้มข้น (C_x) สามารถหาความเข้มข้น ได้ดังนี้

$$\frac{b}{m} = \left(\frac{V_x C_x}{V_t} \right) \left(\frac{V_t}{C_s} \right) \quad \text{.....(1.19)}$$

$$C_x = \frac{b C_s}{m V_x} \quad \text{.....(1.20)}$$

จากกราฟภาพที่ 1.50 เมื่อลากเส้นต่อจากเส้นตรงไปตัดแกน y ที่จุดตัดแกน y จะเป็นสัญญาณของสารตัวอย่างที่ไม่ได้ทำการเติมสารมาตรฐาน (S_x) และที่จุดตัดแกน x จะเป็นความเข้มข้นของสารที่สนใจในสารตัวอย่าง (C_x)

$$S = \frac{V_s C_s}{V_t} + \frac{V_x C_x}{V_t} = 0 \quad \text{.....(1.21)}$$

$$C_x = \frac{(V_s)_0 C_s}{V_x} \quad \text{.....(1.22)}$$

1.3.4 ปฏิบัติการสร้างกราฟมาตรฐานความเข้มข้นและการวิเคราะห์ปริมาณ

- 1) ปฏิบัติการสร้างกราฟมาตรฐานความเข้มข้น
- 2) ปฏิบัติการวิเคราะห์ปริมาณ
(ดูคู่มือปฏิบัติการ)

สรุปท้ายบทเรียน

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

วิธีการสอนและกิจกรรม

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ใบกิจกรรม

สื่อการสอนและอุปกรณ์การสอน

1. หนังสือ เคมีวิเคราะห์: หลักการและเทคนิคการคำนวณเชิงปริมาณ
2. เอกสารประกอบการสอน
3. สื่อการเรียนรู้ (power point)
4. <https://www.agilent.com/cs/library/primers/public/primer-uv-vis-basics-5980-1397en-agilent.pdf>

งานที่มอบหมาย

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ใบกิจกรรม

การวัดผล

1. ทำกิจกรรมกลุ่ม
2. ใบกิจกรรม

แบบฝึกหัด

1. ทำกิจกรรม
2. ใบกิจกรรม

บรรณานุกรม

1. ชูติมา ศรีวิบูลย์. (2556). *เคมีวิเคราะห์ 1*. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยรามคำแหง
2. แม้น อมรสิทธิ์, และอมร เพชรสม. (2550). *หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ*. สำนักพิมพ์ชวนชม
3. นิพนธ์ ตั้งคณานุรักษ์ และคณิตา ตั้งคณานุรักษ์. (2547). *สเปกโทรสโกปีด้านการวิเคราะห์*. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
4. เอ็นหทัย แน่นหนา. (2549). *สเปกโทรสโกปีสำหรับเคมีอินทรีย์*. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
5. วรวิทย์ จันทร์สุวรรณ. (2565). *เคมีวิเคราะห์: หลักการและเทคนิคการคำนวณเชิงปริมาณ* (พิมพ์ครั้งที่ 2). สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
6. Averill, B. A. (2012). *Principles of General Chemistry*.
<https://2012books.lardbucket.org/books/principles-of-general-chemistry-v1.0m/index.html>
7. Christian, G. D., Dasgupta, P. K., & Schug, K. A. (2014). *Analytical Chemistry* (7th ed.). John Wiley & Sons
8. Harris, D. C. (2010). *Quantitative Chemical Analysis* (8th ed.). W.H. Freeman and Company
9. Harvey, D. (2019). *Analytical Chemistry 2.1*. <https://chem.libretexts.org/>
10. Robinson, J. W., Frame, E. M. S., & Frame G. M. (2021). *Instrumental Analytical Chemistry*. CRC Press
11. Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2022). *Fundamentals of Analytical Chemistry* (10th ed.). Brooks/Cole Publishing
12. Skoog, D. A., Holler, F.J., & Crouch, S. R. (2018). *Principles of Instrumental Analysis* (7th ed.). David Harris.