

UV-Visible Spectroscopy (UV-Vis)



CH210 Analytical Chemistry, Maejo University

Supaporn Sangsrichan

1

สเปกโทรสโกปี (Spectroscopy)

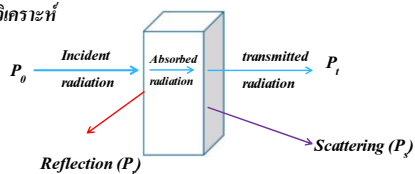
1. บทนำ
2. เทคนิคอัลตราไวโอเลตและวิสิเบิลสเปกโทรสโกปี (UV-Vis Spectroscopy)
3. ส่วนประกอบของเครื่องอัลตราไวโอเลตและวิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-Vis Spectrophotometer)
4. การประยุกต์ใช้ (Application)

2

2

สเปกโทรสโกปี

- * หมายถึง การแยก การตรวจสอบและการบันทึกพลังงานที่เปลี่ยนไป เกี่ยวกับ นิวเคลียส อะตอม ไอออน หรือโมเลกุล
- * พลังงานที่เปลี่ยนไปนั้นเนื่องจากเกิด อิมิซชัน (Emission) การดูดกลืน (Absorption) การกระเจิง (Scattering)
- * ในธรรมชาติ สสารสามารถดูดกลืนแสง รังสี หรือแสงได้แตกต่างกัน ทำให้วัตถุเหล่านั้นมีสีแตกต่างกันไปด้วย นักวิทยาศาสตร์จึงนำสมบัติเหล่านี้ไปใช้เป็นวิธีวิเคราะห์

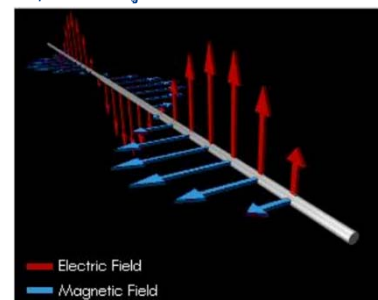


3

3

แสง

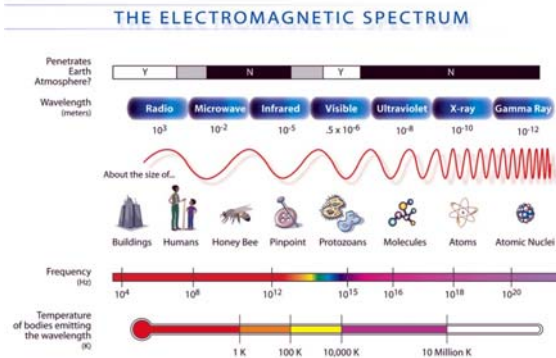
- * แสงเป็นคลื่นชนิดหนึ่งซึ่งประกอบไปด้วยสนามแม่เหล็ก (magnetic field) และ สนามไฟฟ้า (electric field) ที่วางตัวตั้งฉากกันและสามารถเคลื่อนที่ได้ เราจึงเรียกว่า "electromagnetic spectrum" ดังรูป



4

4

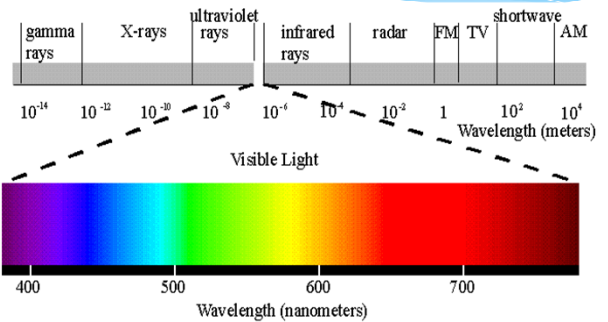
ช่วงของสเปกตรัมของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (Electromagnetic spectrum)



<http://mysatdata.larc.nasa.gov/science-processes/electromagnetic-diagram/>

5

ตัวอย่างสเปกตรัมของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า



<http://www.yorku.ca/eye/spectru.htm>

6

ความสัมพันธ์ระหว่างพลังงาน (E) กับความถี่ (frequency, ν (อ่านว่านิว; nu))

$$E = h\nu = hc/\lambda$$

เมื่อ

E = พลังงาน 1 โฟตอน หน่วยเป็น J

h = ค่าคงตัวของพลังค์ (Planck's constant)

$$= 6.626 \times 10^{-34} \text{ J s}$$

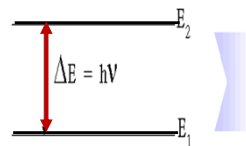
$$= 6.626 \times 10^{-34} \text{ m}^2 \text{ kg s}^{-1}$$

$$= 6.62 \times 10^{-27} \text{ เอิร์ก-วินาที (erg-s)}$$

$$c = \text{speed of light} = 3 \times 10^8 \text{ m s}^{-1}$$

พลังงานจะสูงขึ้นเมื่อความถี่สูงขึ้น

ความถี่แปรผกผันกับความยาวคลื่น (wavelength; λ (lambda))



7

ตัวอย่าง

- จงหาความถี่ (Hz) ของคลื่นที่เคลื่อนที่ในอากาศที่มีความยาวคลื่น 5 cm ($\nu = 6 \times 10^3 \text{ MHz}$)

$$E = h\nu = hc/\lambda$$

$$\nu = c/\lambda$$

8

7

8

ตัวอย่าง

2. รังสีแม่เหล็กไฟฟ้ามีเลขคลื่น $3.125 \times 10^4 \text{ cm}^{-1}$ จงหาความถี่ (Hz) และความยาวคลื่น (nm) ($V = 9.375 \times 10^{14} \text{ Hz}$ และ $\lambda = 320 \text{ nm}$)

9

ตัวอย่าง

3. จงคำนวณหาพลังงานในหน่วย J ของรังสีวิลลิเบิลที่มีความยาวคลื่น 300 nm ($E = 6.626 \times 10^{-19} \text{ J}$)
 $h = \text{Planck's constant} = 6.626 \times 10^{-34} \text{ Js}$

10

ตัวอย่าง

4. จงหาพลังงาน (J) และความถี่ (Hz) ของรังสีที่มีความยาวคลื่น 30 Å ($V = 1.0 \times 10^{17} \text{ Hz}$ และ $E = 6.626 \times 10^{-17} \text{ J}$)

11

อัลตราไวโอเลตและวิลลิเบิลสเปกโทรสโกปี

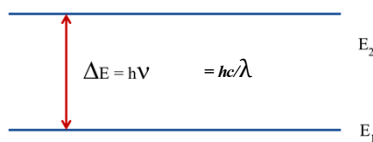
เป็นเทคนิคที่วัดการดูดกลืนแสงหรือรังสีในช่วงอัลตราไวโอเลตและวิลลิเบิล โดยมีชื่อเรียก “เครื่องยูวีวิลลิเบิล”

- ❖ ใช้แสงที่มีความยาวคลื่นที่ 190-800 nm “อยู่ในช่วง ยูวี และ วิลลิเบิล”
- ❖ สารที่สามารถดูดกลืนรังสีได้แก่พวกสารอินทรีย์ (Organic compound), สารประกอบเชิงซ้อน (Complex compound), สารประกอบอนินทรีย์ (Inorganic compound)
- ❖ วิเคราะห์สารทั้งที่มีสี และไม่มีสี ในรูปธาตุหรือโมเลกุล
- ❖ วิเคราะห์ทั้งเชิงคุณภาพ (ต้องใช้ร่วมกับเทคนิค IR, NMR spectroscopy) และเชิงปริมาณ

12

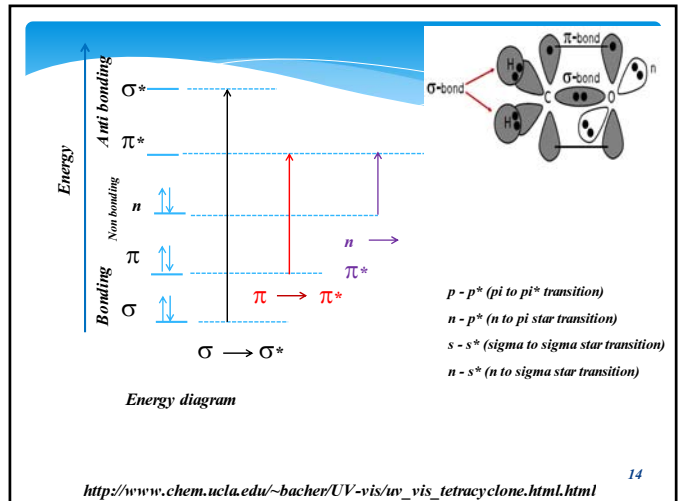
หลักการดูดกลืนแสงยูวี

- ❖ เกิดจากการที่สารดูดกลืนแสงที่ผ่านเข้ามา ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานของอิเล็กตรอน (Electronic transition) วงรอบนอกสุด (valence electron) หรืออิเล็กตรอนที่เกิดพันธะ (bonding electron) หรืออิเล็กตรอนที่ยังไม่เกิดพันธะ (non-bonding electron)
- ❖ การรับพลังงานของธาตุหรือโมเลกุลแต่ละชนิดแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดของพันธะ ทำให้เทคนิคนี้มีความเลือกเฉพาะ และใช้ทั้งในคุณภาพวิเคราะห์และปริมาณวิเคราะห์



13

13



14

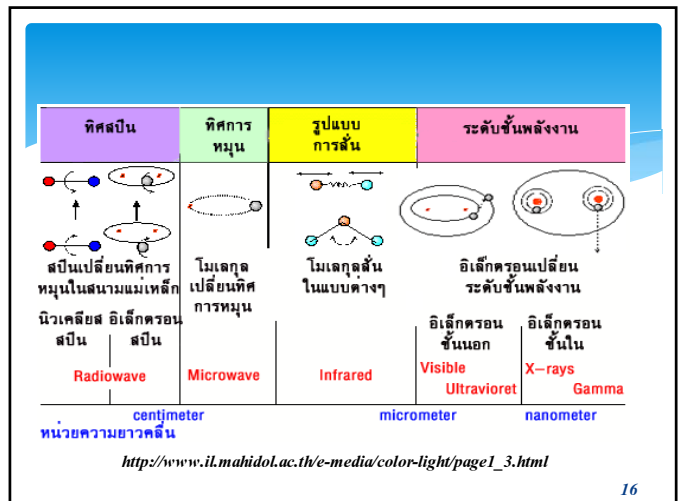
14

Common functional groups

Compound	λ (nm)	Intensity/ε	transition with lowest energy
CH_4	122	intense	$s-s^*$ (C-H)
CH_3CH_3	130	intense	$s-s^*$ (C-C)
CH_3OH	183	200	$n-s^*$ (C-O)
CH_3SH	235	180	$n-s^*$ (C-S)
CH_3NH_2	210	800	$n-s^*$ (C-N)
CH_3Cl	173	200	$n-s^*$ (C-Cl)
CH_3I	258	380	$n-s^*$ (C-I)
$CH_2=CH_2$	165	16000	$p-p^*$ (C=C)
CH_3COCH_3	187	950	$p-p^*$ (C=O)
	273	14	$n-p^*$ (C=O)
CH_3CSCH_3	460	weak	$n-p^*$ (C=S)
$CH_3N=NCH_3$	347	15	$n-p^*$ (N=N)

15

15



16

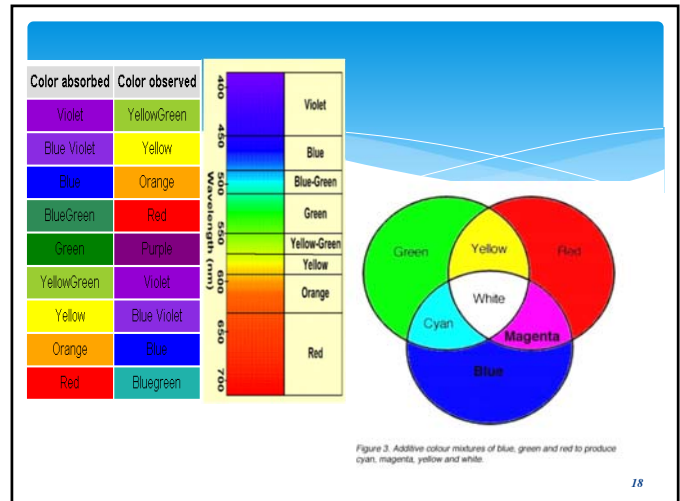
16

- ❖ ช่วงคลื่นวิทยุ มีผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทิศป็นของอิเล็กตรอน
- ❖ ช่วงคลื่นไมโครเวฟ มีผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทิศทางการหมุนของโมเลกุล
- ❖ ช่วงรังสีอินฟราเรด มีผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการสั่นของโมเลกุล
- ❖ ช่วงวิสิเบิลและยูวี มีผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานของอิเล็กตรอนชั้นนอก
- ❖ ช่วงรังสีเอ็กซ์ มีผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานของอิเล็กตรอนชั้นใน
- ❖ ช่วงรังสีแกมมา มีผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสถานะของนิวเคลียส

ช่วงคลื่นวิสิเบิลและอัลตราไวโอเลต (Visible and Ultraviolet region) : อยู่ในช่วงความถี่ 3×10^{14} ถึง 3×10^{16} Hz หรือมีความยาวคลื่นประมาณ $1 \mu\text{m}$ ถึง 10 mm การเปลี่ยนแปลงของพลังงานที่เกี่ยวข้องเกิดจากการ เปลี่ยนระดับพลังงานของอิเล็กตรอน ความแตกต่างของระดับพลังงานของอิเล็กตรอน วงนอกสุดประมาณ 100 kJ mol^{-1}

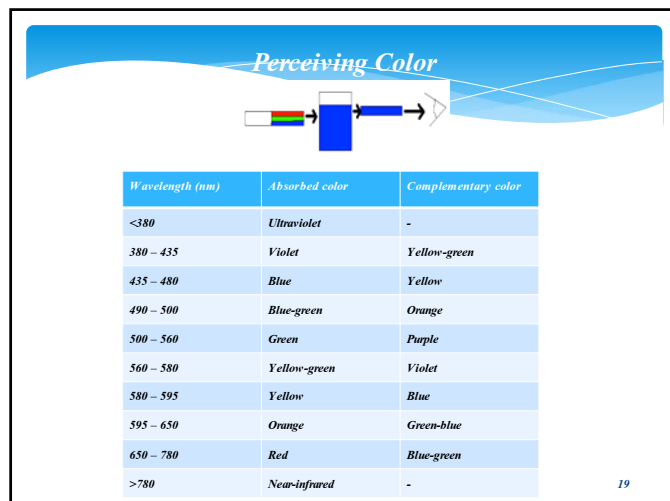
17

17



18

18



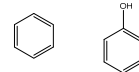
19

19

ปัจจัยที่มีผลต่อการดูดกลืนแสง

1. โครโมฟอร์ (Chromophore) คือโมเลกุลของสารอินทรีย์ที่มีหมู่ฟังก์ชันแบบไม่เสถียร (Unsaturated functional group) ซึ่งดูดกลืนแสงในช่วงยูวี-วิสิเบิลและแสดงสมบัติของมัน มีด้วยกัน 3 แบบ

- ❖ โครโมฟอร์ที่มี multiple bond ระหว่าง 2 อะตอมของธาตุ โดยไม่มีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยว เช่น $\text{C}=\text{C}$
- ❖ โครโมฟอร์ที่มี multiple bond ระหว่าง 2 อะตอมของธาตุ โดยไม่มีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยว เช่น $\text{C}=\text{O}$
- ❖ โครโมฟอร์ที่มี benzene ring ได้แก่สารประกอบพวกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน เช่น benzene, phenol



20

20

2. ออกโซโครม (auxochrome) เป็นกลุ่มของธาตุที่ไม่ดูดกลืนแสง แต่สามารถมีผลต่อ absorption spectrum ของโครโมฟอร์ที่มีออกโซโครมเกาะอยู่ ทำให้เกิดผลดังต่อไปนี้

- ❖ เกิด Bathochromic shift (red shift) ทำให้ spectrum เคลื่อนไปทางที่มีความยาวคลื่นมากขึ้น (λ_{max} เพิ่มขึ้น)
- ❖ เกิด Hypsochromic shift (blue shift) ทำให้ spectrum เคลื่อนไปทางที่มีความยาวคลื่นลดลง (λ_{max} ลด)
- ❖ เกิด Hyperchromic effect ทำให้เกิดการดูดกลืนแสงมากขึ้น ϵ_{max} เพิ่มขึ้น
- ❖ เกิด Hypochromic effect ทำให้เกิดการดูดกลืนแสงน้อยลง ϵ_{max} น้อยลง

21

ปัจจัยที่มีผลต่อการดูดกลืนแสง

3. ตัวทำละลาย (Solvent effect)

ตัวทำละลายที่มีขั้วเช่นสารอินทรีย์บางที่มีหมู่คาร์บอนิล ($C=O$) ทำให้เกิดการเคลื่อนไปของแถบการดูดกลืนพลังงานเรียกว่า solvent shift

4. สเตอริกของโมเลกุล (Steric effect)

ผลของโครงสร้างที่มีความกะทัดรัดทำให้เกิดอันตรกิริยาของอิเล็กตรอนเปลี่ยนแปลงส่งผลให้การวัดการดูดกลืนแสงเปลี่ยนแปลงเช่นสารประกอบที่มีหมู่ฟังก์ชันใหญ่ๆ จะทำให้ λ_{max} เคลื่อนไปทางที่สั้นกว่าและค่า ϵ_{max} ลดลง

22

กฎของเบียร์ (Beer's law) กล่าวว่าไว้ว่า "อัตราการลดลงของความเข้มของแสงที่ถูกดูดกลืน เป็นสัดส่วน โดยตรงกับความเข้มข้นของสาร"

กฎของแลมเบิร์ต (Lambert's law) "แสงที่มีความยาวคลื่นเดียวกันผ่านตัวกลางเนื้อเดียว สัดส่วนของความเข้มของแสงที่ถูกดูดกลืนไม่ขึ้นอยู่กับความเข้มของแสง แต่จะขึ้นอยู่กับความหนาของตัวกลาง" ดังนั้นตัวกลางชนิดเดียวกันที่มีความหนาเท่ากัน จะดูดกลืนพลังงานแสงได้เท่ากัน

กฎของเบียร์ แลมเบิร์ต (Beer-Lambert's law): ความเข้มของแสงที่ถูกดูดกลืนขึ้นอยู่กับความเข้มข้นและความหนาของสารละลายตัวกลาง

$$A = \epsilon bc$$

23

Beer Lambert's Law

Transmittance, $T = P / P_0$

% Transmittance, $\%T = 100 T$

Absorbance,

$$A = \log_{10} P_0 / P$$

$$A = \log_{10} 1 / T \text{ หรือ } A = -\log T$$

$$A = \log_{10} 100 / \%T$$

$$A = 2 - \log_{10} \%T$$

$A = \epsilon bc$ (Beer's and Lambert's law)

โดยที่

A = แอ็บซอร์เบอแนซ์ (Absorbance)

ϵ = Molar absorptivity ($L \text{ mole}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)

b = ความกว้างของเซลล์ เป็น (cm)

C = ความเข้มข้นเป็นโมลาร์ (mole L^{-1})

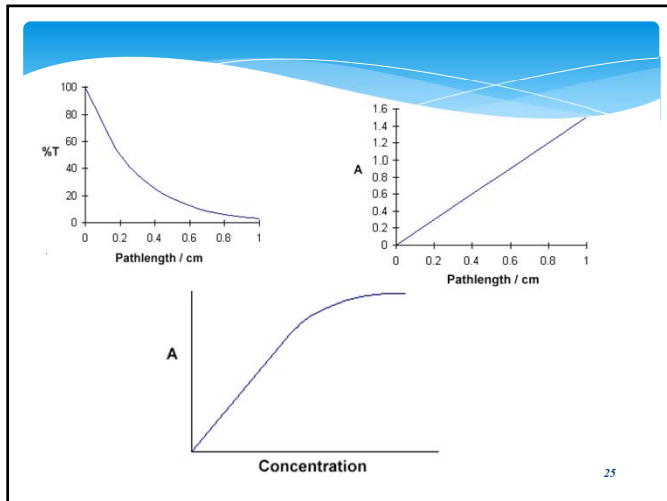
$$A = abc$$

a = absorptivity กรณี ความเข้มข้นเป็นหน่วยอื่น เช่น g/L

24

23

24



25

5. เครื่อง UV-Vis จะทำการวิเคราะห์ได้ถูกต้องมากที่สุด เมื่อวัดเปอร์เซ็นต์ ทรานสมิตเทนซ์ (%T) ได้ 30.5% จงคำนวณว่าที่ %T ดังกล่าวจะมีการดูดแสง (Absorbance) เท่ากับเท่าไร

จาก $A = \epsilon bc = -\log T$

$\%T = 30.5 \quad \%T = 30.5/100$

$A = -\log T$

26

ตัวอย่างโจทย์

6. สารละลายชนิดหนึ่ง ดูดกลืนแสงร้อยละ 40 ที่ความยาวคลื่น 200 nm สารละลายนี้ใช้สารอินทรีย์ที่มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 400 g mol^{-1} หาก 0.100 mg ละลายในเฮกเซน 25.00 cm^3 ในการวัดการดูดกลืนแสงใช้เซลล์ที่มีความหนา 1 cm จงคำนวณหาค่า molar absorptivity ของสารละลายนี้ (ตอบ $\epsilon = 4.0 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)

27

ตัวอย่างโจทย์

7. สารละลายชนิดหนึ่งวัดค่า absorbance ได้ 0.6 จงหา %T (ตอบ 25.12%)

การบ้าน: สารละลายชนิดหนึ่งมีความเข้มข้น เท่ากับ 0.0010 โมลาร์ จากการทดลองโดยใช้เทคนิคสเปกโตรสโคปี พบว่า สารละลายดังกล่าวมีค่า Transmission เท่ากับ 0.10 และความกว้างของเซลล์เท่ากับ 10 มิลลิเมตร จงหาค่า Absorbance และค่า molar absorptivity ของสารละลายนี้

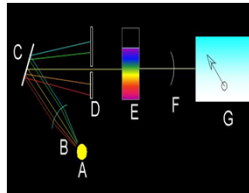
28

เครื่อง UV-VIS spectrometer

องค์ประกอบ

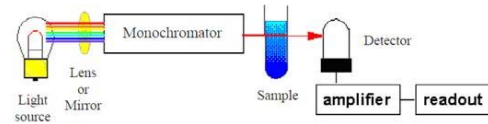
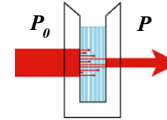
ประกอบด้วย 5 ส่วนหลัก

1. ต้นกำเนิดแสง (Light source)
2. โมโนโครมาเตอร์ (Monochromator)
3. เซลล์ใส่สารตัวอย่าง (Cell compartment)
4. มาตรฐานแสง (Detector)
5. เครื่องบันทึกและอ่านผล (Readout system)



29

* การวัดปริมาณของแสงที่ถูกดูดกลืนทำได้โดยการให้แสงผ่านเข้าไปในสารตัวอย่าง (P_0) แล้ววัดปริมาณของแสงที่ผ่านทะลุ (P) โดยเปรียบเทียบกับแสงที่ให้ (P_0)



30

ข้อกำหนด

- ❖ แสงที่ใช้ต้องเป็นแสงเอกรงค์ (monochromatic radiation)
- ❖ ช่อง slit ต้องแคบจึงจะทำให้การวัดที่มีประสิทธิภาพ
- ❖ ต้องไม่มีแสงหลงมาจากแหล่งอื่น (stray light)
- ❖ กระบวนการดูดกลืนแสงต้องไม่ขึ้นแก่กัน นั่นคือ สารละลายต้องเจือจาง
- ❖ สารละลายที่นำไปวัดต้องเป็นเนื้อเดียวกัน
- ❖ สารละลายต้องไม่ขุ่น ไม่เป็นตะกอน ไม่เป็นคอลลอยด์

31

1. ต้นกำเนิดแสง (Light source)

ลักษณะต้นกำเนิดแสง (Light source)

- ❖ ต้องให้กำลังพอที่จะวัดด้วยมาตรวัดแสง
- ❖ ต้องแผ่รังสี (radiation) ออกมาตลอดในช่วงความยาวคลื่นที่ต้องการ
- ❖ ต้องให้การแผ่รังสีคงที่ (P_0 คงที่)

ตัวอย่างของต้นกำเนิดแสงได้แก่

- ❖ หลอดไฮโดรเจน หรือ หลอดคิวเทอเรียม (deuterium lamp) 185-375 nm
- ❖ หลอดทั้งสแตน 320-2500 nm
- ❖ หลอดไอปรอท 365 nm
- ❖ หลอดซีนอน 250-600 nm



tungsten lamp



deuterium lamp

32

31

32

2. โมโนโครมาเตอร์ (monochromator)

เป็นส่วนที่ใช้ควบคุมแสงที่ออกมาจากต้นกำเนิดแสง โมโนโครมาเตอร์จะทำให้แสงโพลาไรซ์และกลายเป็นแสงโครมติกที่เป็นแสงแคบๆ

ประกอบด้วย

2.1 ช่องแสงเข้า (entrance slit) เพื่อปล่อยให้แสงมีความแรงพอ ดังนั้น

ความกว้างของช่องสลิตจึงเป็นส่วนสำคัญ

2.2 กระจกและเลนส์ (mirror and lens) เพื่อทำให้แสงเกิดการสะท้อน

หรือบางครั้งทำให้แสงรวมตัวกัน บางครั้งทำให้แสงแยกกัน

2.3 ส่วนที่ทำให้แสงเกิดการกระจายออกเป็นความยาวคลื่นต่างๆ เพื่อเหมาะแก่การเลือกใช้

2.3.1 ฟิลเตอร์

2.3.2 ปริซึม

33

33

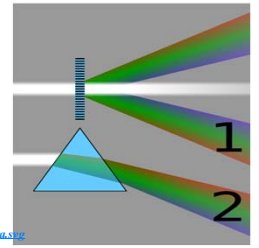
2.3.1 ฟิลเตอร์ เป็นโมโนโครมาเตอร์ที่ง่ายที่สุด

❖ กระจกสีต่างๆ เป็นแผ่น ให้ความกว้างของแถบคลื่นแสง 25 nm

❖ อินเตอร์เฟอเรนซ์เป็นฟิเตอร์ที่ลบล้างสารที่มีค่าความถี่หักเหและเป็นไดอิเล็กทริกฟิเตอร์

2.3.2 ปริซึม (Prism) เป็นตัวที่ทำให้แสงเกิดการกระจายเป็นความยาวคลื่นต่างๆ แล้วเลือกใช้ความยาวคลื่นที่ต้องการ ตอนนี้เลือกใช้แล้ว

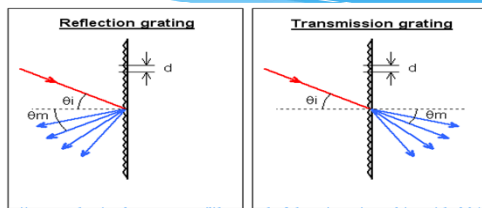
Comparison of the spectra obtained from a diffraction grating by diffraction (1), and a prism by refraction (2). Longer wavelengths (red) are diffracted more, but refracted less than shorter wavelengths (violet).



http://en.wikipedia.org/wiki/File:Comparison_refraction_diffraction_spectra.jpg

34

2.3.3 เกรตติง (grating) นิยมใช้กันมากในเครื่องมือสมัยใหม่



http://www.physicsforums.com/library.php?do=view_item&itemid=201

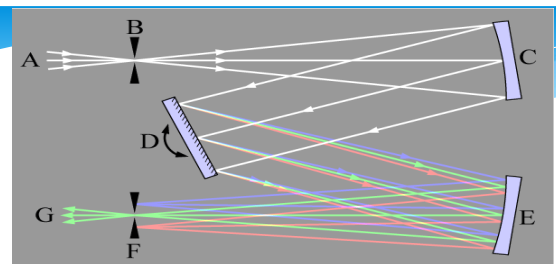
1. transmission grating ทำด้วยวัสดุโปร่งใส เป็นกระจกที่นำมาขีดให้ร่องขนานกัน ให้ความออกเป็นหลาย ความยาวคลื่นในด้านที่ตรงข้ามกับแสงเข้า

2. reflection grating ชนิดสะท้อนแสง ผิวหน้าวัสดุที่ขีดทำต้องเรียบและสะท้อนแสงได้ ด้านหน้าจะเหมาะสำหรับช่วง UV-Vis 300-2000 ร่อง ต่อมิลลิเมตร

2.4 ช่องแสงออก (Exit slit) เป็นส่วนที่ปล่อยให้แสงผ่านตัวอย่างแล้วผ่านไปยังมาตรวัดแสง

35

35



(A) broad band illumination source (B) entrance slit

(C) curved mirror (the collimator), (D) Grating ; collimated light is diffracted

(E) mirror which refocuses the light, (F) exit slit

Czerny-Turner monochromator

<http://en.wikipedia.org/wiki/Monochromator>

36

3. เซลล์สำหรับใส่สารตัวอย่าง

ส่วนใหญ่มีฝาปิดเพื่อกันแสงจากภายนอกเข้าไปรบกวน เซลล์ใส่สารตัวอย่าง (sample cell) หรือ cuvette ทำจากแก้วควอตซ์ (quartz) ซิลิกา (silica) มีหลายแบบ หลากรูปร่าง ขึ้นอยู่กับลักษณะงานที่ใช้



<http://sciencefair.math.iit.edu/techniques/spectrophotometer/>

37

37

4. เครื่องวัดแสง (Radiation detector)

เครื่องวัดแสงที่ดีควรมีลักษณะดังต่อไปนี้

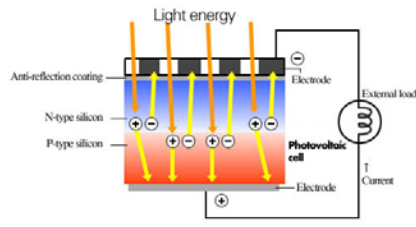
- 4.1 มีสภาพไวสูง แม้ความเข้มแสงต่ำก็สามารถตรวจวัดได้
- 4.2 มีการตอบสนองเป็นแบบเชิงเส้นตรง
- 4.3 สัญญาณรบกวนต่อน้อย
- 4.4 การตอบสนองขึ้นอยู่กับความถี่หรือความยาวคลื่นแสง
- 4.5 ต้องมีเสถียรภาพดี
- 4.6 ขนาดเล็ก
- 4.7 ราคาไม่แพง

38

38

4.1 โฟโตโวลตาอิกเซลล์ (Photovoltaic cells) เป็นเซลล์ที่ใช้ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 550 nm ได้ดี แต่ความไวจะลดลง 10% ที่ความยาวคลื่น 350 หรือ 750 nm เมื่อแสงจากภายนอกตกลงบนผิวของสารกึ่งตัวนำ (ใช้ selenium) ทำให้เกิดอิเล็กตรอนแล้ววิ่งไปยังโลหะที่ต่อไปยังวงจรภายนอก ปริมาณของกระแสจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปริมาณของแสงที่ตกกระทบ

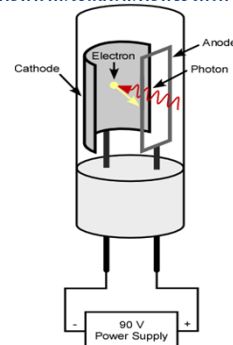
A photovoltaic cell generates electricity when irradiated by sunlight.



<http://www.apec-vc.or.jp/e/modules/tinyd00/index.php?id=74>

39

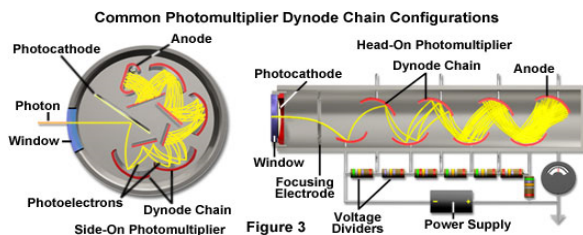
4.2 หลอดรับแสง (Phototube) เป็นหลอดที่ทำด้วยซิลิกา ภายในหลอดเป็นสุญญากาศ ฉาบผิวแคโทดด้วยสารที่สามารถให้อิเล็กตรอนเมื่อถูกแสง แล้วอิเล็กตรอนวิ่งไปยังขั้วแอโนด ดีเทกเตอร์ ชนิดนี้จะต้องต่อกับชุดขยายสัญญาณอีกครั้งเพื่อให้กระแสมากพอที่จะวัดได้



40

40

4.3 หลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ (Photomultiplier tube : PMT) มีลักษณะคล้ายหลอดรับแสง แต่ให้สภาพไวดีกว่า และสามารถใช้งานได้กับความยาวคลื่น 190-900 nm ภายในหลอด PMT ประกอบด้วยชุดไดโนด Dynodes 9 ชุด ซึ่งแต่ละชุดไดโนดจะเพิ่มขึ้น 90 โวลต์ จนครบ 9 ไดโนด ทำให้ศักย์ไฟฟ้าแตกต่างกันระหว่างขั้วแคโทดและ ไดโนดเป็น 900 โวลต์ ดังนั้นหลอดชนิดนี้จึงมีประสิทธิภาพสูงเหมาะสำหรับวัดแสงต่ำ หลอดวัดแสงชนิดนี้นิยมใช้มากที่สุดในปัจจุบัน

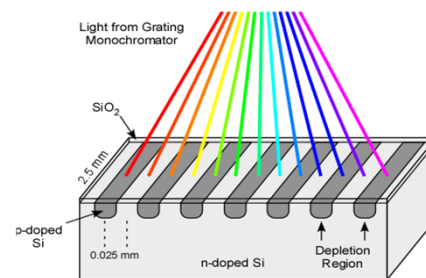


<http://www.olympusconfocal.com/theory/pmtintro.html>

41

41

4.4 หลอดวัดแสงชนิดซิลิคอนไดโอด ทำงานโดยการเกิด depletion layer ที่การทำให้การนำไฟฟ้าลดลง เมื่อแสงตกกระทบ depletion layer จะเกิดกระแสไฟฟ้าและเป็นปฏิกิริยากับกำลังแสงที่ได้รับ



http://people.whitman.edu/~dunnivfm/FAASICPMS_Ebook/CH2/2_2_9.html

42

42

5. เครื่องขยาย-แยกสัญญาณและประมวลผล

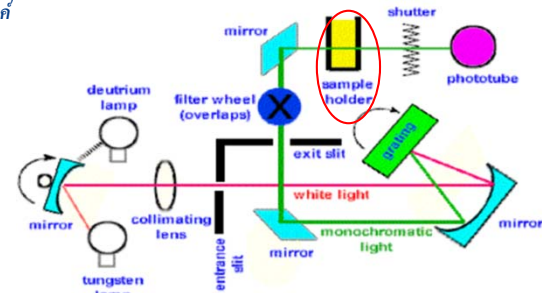
เป็นการนำสัญญาณที่ได้ไปเข้ากระบวนการของระบบอิเล็กทรอนิกส์ เช่น ขยายสัญญาณ กรองสัญญาณ แล้วนำผลของการวิเคราะห์ดังกล่าวเสนอ ในรูปของมิเตอร์ ดิจิตอลมิเตอร์ เครื่องบันทึก เรคคอร์ดเดอร์ และเครื่องไมโครคอมพิวเตอร์

43

43

เครื่องสเปกโตรมิเตอร์แบบต่างๆ

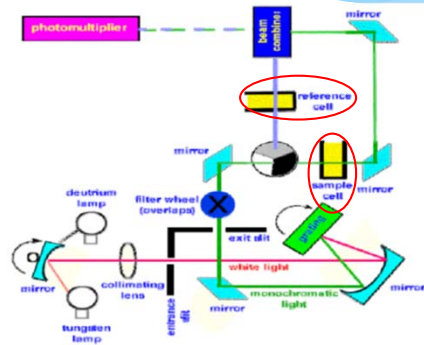
1. single beam เป็นเครื่องที่ใช้ลำแสงเดียวจากต้นกำเนิดแสงผ่านโมโนโครมาเตอร์ แล้วผ่านสารละลาย แล้วจึงไปยังมาตรวัดแสง ทำให้การวัดต้องปรับ 0 และ 100% T ด้วยสารละลายแบบแสง



44

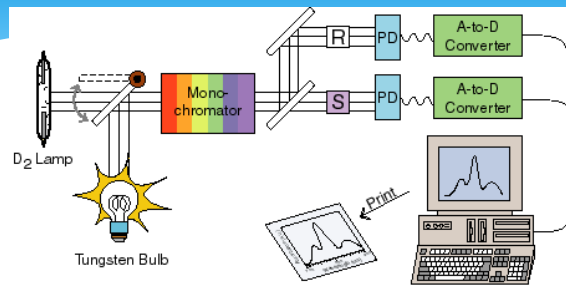
44

2. แบบ double beam แสงที่ผ่าน monochromator ถูกแยกออกเป็น 2 ลำแสงด้วย beam splitter แสงแรกผ่าน sample cell และอีกแสงหนึ่งผ่าน blank แล้วผ่านไปยังเครื่องวัดแสง



45

Absorbance Spectrophotometer

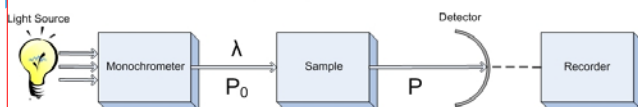


Absorbance Spectrophotometer

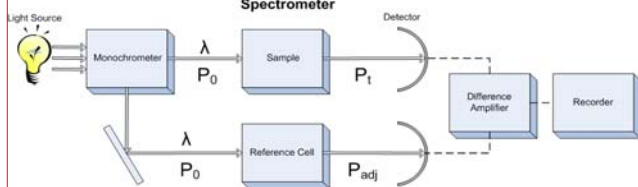
<http://www.public.asu.edu/~laserweb/woodbury/classes/chm467/bioanalytical/spectroscopy/absfr.html>

46

Simple Spectrophotometer



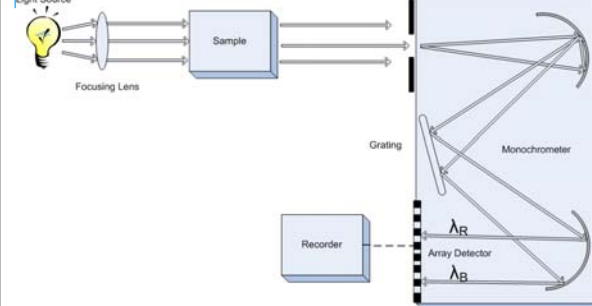
Dual Beam Spectrometer



http://chemwiki.ucdavis.edu/Physical_Chemistry/Spectroscopy/Electronic_Spectroscopy/Electronic_Spectroscopy%3A_Application

47

Multichannel Array Spectrometer



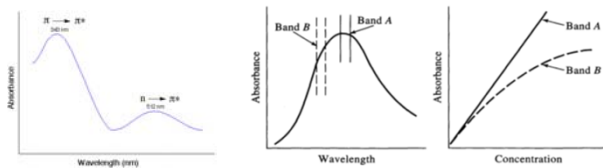
http://chemwiki.ucdavis.edu/Physical_Chemistry/Spectroscopy/Electronic_Spectroscopy/Electronic_Spectroscopy%3A_Application

48

การตรวจวัด

1. เลือกตัวทำละลายที่ไม่ดูดกลืนแสงในช่วงเดียวกับสารตัวอย่าง และมีค่าความยาวคลื่นต่ำสุด (cut-off points) ที่จะใช้ได้อยู่ต่ำกว่าสารตัวอย่าง
2. เลือกใช้แหล่งกำเนิดแสงและความกว้างช่อง slit ให้ถูกต้อง
3. สแกนสเปกตรัม สเปกตรัมที่ได้แสดงคุณสมบัติเฉพาะตัวของสารนั้นๆ แล้วเลือกใช้ที่ λ_{max} หรือ λ ที่เหมาะสมสำหรับหาปริมาณสารต่อไป

Solvent	lower limit (nm)
Acetonitrile	190
Chloroform	240
Cyclohexane	205
95% Ethanol	205
n-Hexane	195
Methanol	205
Water	190



49

การทำปริมาณวิเคราะห์

วิธีหาปริมาณสาร โดยการทำให้ calibration curve มีหลายวิธี เช่น

1. วิธีสารมาตรฐานภายนอก External standard method

1.1 เตรียมสารมาตรฐานหลายๆ ความเข้มข้น วัดค่า Abs และสร้างกราฟมาตรฐาน (calibration graph)

1.2 วิเคราะห์สารตัวอย่างแบบเดียวกันกับสารมาตรฐาน และนำค่าการดูดกลืนของสารตัวอย่าง ไปเทียบกับ calibration graph เพื่อหาความเข้มข้นของสารตัวอย่างโดยตรง

1.3 คำนวณหาความเข้มข้นที่แท้จริง (ในกรณีที่เกิดการเจือจาง หรือเพิ่มความเข้มข้น)

2. วิธีเติมสารมาตรฐาน (standard addition method)

2.1 เตรียมสารมาตรฐานที่มีปริมาณต่างๆ กัน ลงไปในสารตัวอย่าง

2.2 วัดค่า Abs และสร้างกราฟมาตรฐาน (calibration graph)

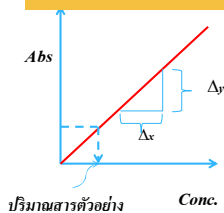
2.3 จากกราฟมาตรฐาน หากจุดตัดแกน x คือปริมาณสารตัวอย่าง

2.4 คำนวณหาความเข้มข้นที่แท้จริง (ในกรณีที่เกิดการเจือจาง หรือเพิ่มความเข้มข้น)

50

Calibration curves

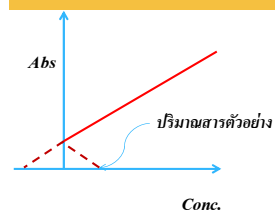
1 External calibration curve



สมการเส้นตรง $y = mx + c$

$$\text{Slope} = m = \Delta y / \Delta x$$

2 Standard addition calibration curve

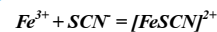


!!!อย่าลืม

คำนวณความเข้มข้นที่แท้จริงกรณีที่เกิดการเจือจางหรือเพิ่มความเข้มข้น

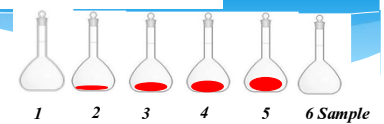
51

การหาปริมาณเหล็กด้วยวิธีสเปกโตรโฟโตเมตรี



สีส้มแดง

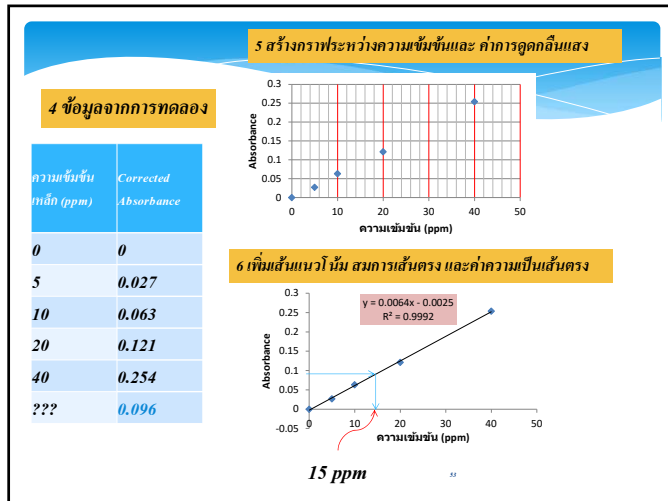
วิธีที่ 1 สารมาตรฐานภายนอก



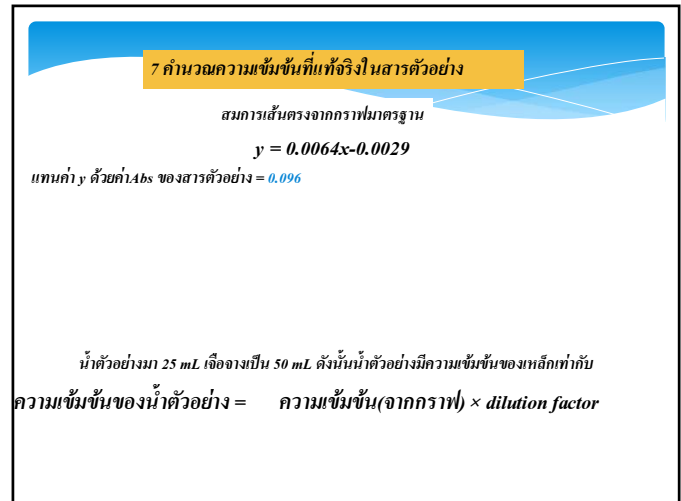
1. เตรียมสารโดยขวดที่ 1-5 เป็นสารละลายเหล็กมาตรฐาน เติมน้ำเพื่อเกิดสี ปริมาตร 50.0 mL
2. เตรียมสารตัวอย่างขวดที่ 6 เติมน้ำเพื่อเกิดสี แต่ไม่เติมเหล็ก และปริมาตร 50.0 mL
3. วัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 450 nm

ขวดที่	เหล็ก มาตรฐาน 100 ppm (mL)	น้ำตัวอย่าง (mL)	reagent SCN ⁻ /H ₂ O ₂	ความเข้มข้นเหล็ก (ppm)
1	0	0	0.5/0.5	0
2	2.5	0	0.5/0.5	5
3	5	0	0.5/0.5	10
4	10	0	0.5/0.5	20
5	20	0	0.5/0.5	40
6	0	25	0.5/0.5	???

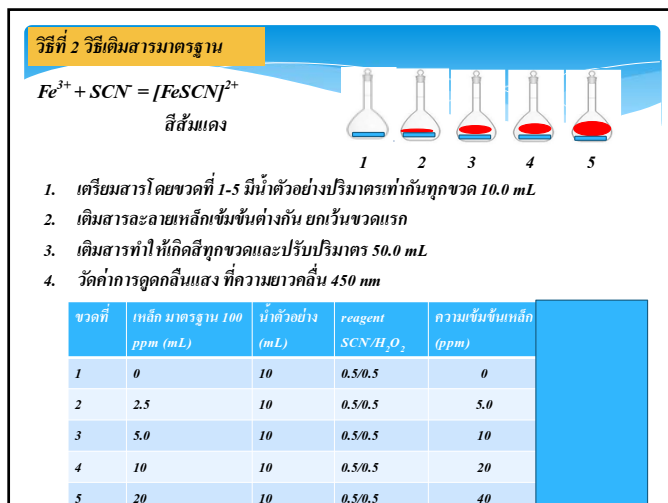
52



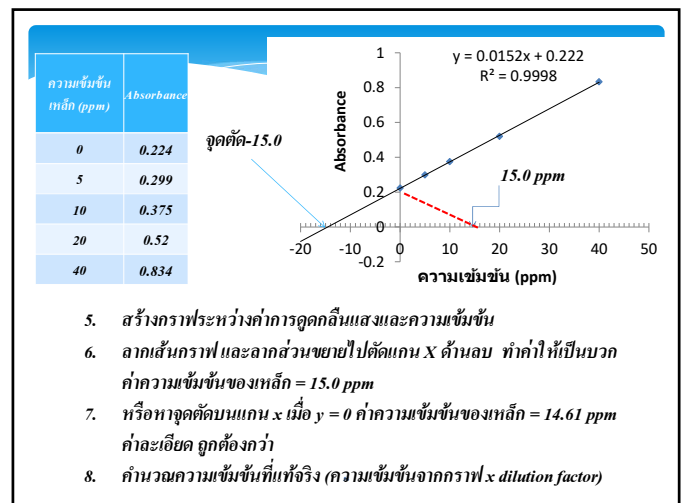
53



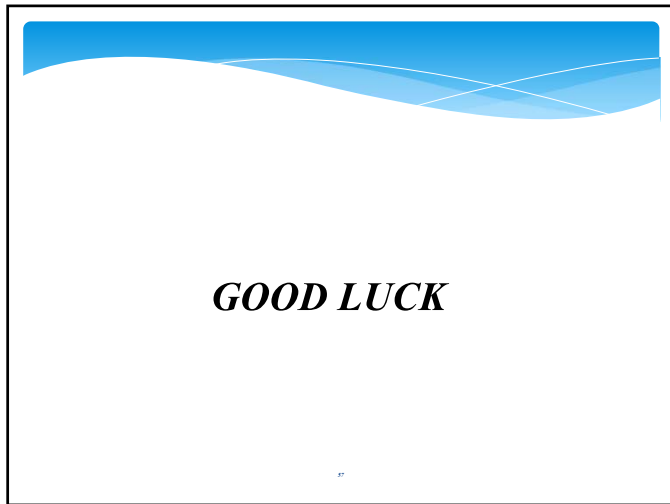
54



55



56



57