



สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

การประยุกต์ใช้เครื่องมือในทาง เภสัชวิเคราะห์

คณะผู้เขียน
กรกช กังวาลทัศน์
นันทนา นุชถาวร
ปองทิพย์ สิกิริสาร
ศรียรรณ ธีระมันคง
อรภา สกุลพานิชย์

บรรณาธิการ
ศรียรรณ ธีระมันคง

การประยุกต์ใช้เครื่องมือในทางเภสัชวิเคราะห์ 1

โครงการหนังสือวิชาการที่นำพิมพ์ได้รับทุนสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ให้จัดพิมพ์และจำหน่ายในราคาย่อมเยา



ถ่ายเอกสารแทนการใช้หนังสือ
คือการทำลายภูมิปัญญาสร้างสรรค์

การประยุกต์ใช้เครื่องมือในทางเภสัชวิเคราะห์ 1

คณะผู้เขียน
กรกช กังวาลทัศน์
นันทนา นุชถาวร
ปองทิพย์ สิทธิสาร
ศรียรรณ อีระมันคง
อรภา สกกุลพาณิชย์

บรรณาธิการ
ศรียรรณ อีระมันคง

หนังสือที่ได้รับทุนสนับสนุนการเขียนตำราจากมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ พ.ศ. 2559

การประยุกต์ใช้เครื่องมือในทางเภสัชวิเคราะห์ 1 / กรกช กังวาลทัศน์ ...

[และคนอื่นๆ] ; บรรณาธิการ ศีรวิรรณ วีระมั่นคง.

1. ยา – การวิเคราะห์.
2. เภสัชเคมี – วิธีการ.

QV 25

ISBN 978-616-314-521-5

ISBN (E-BOOK) 978-616-314-528-4

ลิขสิทธิ์ของ ดร. ญ. กรกช กังวาลทัศน์,

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ญ. นันทนา นุชถาวร,

รองศาสตราจารย์ ดร. ญ. ปองทิพย์ สิทธิสาร,

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ญ. ศีรวิรรณ วีระมั่นคง,

ดร. ญ. อรภา สกฤพาณิชย์

สงวนลิขสิทธิ์

ฉบับพิมพ์ครั้งที่ 1 เดือนตุลาคม 2562

จำนวน 100 เล่ม

ฉบับอิเล็กทรอนิกส์ (e-book) พฤศจิกายน 2562

จัดพิมพ์และจำหน่ายโดยสำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

ท่าพระจันทร์: อาคารธรรมศาสตร์ 60 ปี ชั้น U1 มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

ถนนพระจันทร์ กรุงเทพฯ 10200 โทร. 0-2223-9232

ศูนย์รังสิต: อาคารโดมบริหารชั้น 3 ห้อง 317 มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12121

โทร. 0-2564-2859-60 โทรสาร 0-2564-2860

<http://www.thammasatpress.tu.ac.th>, email: unipress@tu.ac.th

พิมพ์ที่ห้างหุ้นส่วนจำกัด เอ็มแอนด์เอ็ม เลเซอร์พริ้นต์

นายสมชาย คำขำ ผู้พิมพ์ผู้โฆษณา

แบบปกโดย ชนิสรา นานอม

ภาพปก Designed by Freepik

(<http://www.freepik.com>)

ราคาเล่มละ **220.- บาท**

สารบัญ

	หน้า
คำนำ	(9)
บทที่ 1 อัลตราไวโอเลต-วิสเบิลสเปกโทรสโกปี	1
1.1 ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับสเปกโทรสโกปี	2
1.2 รังสีอัลตราไวโอเลตและแสงที่มองเห็น	3
1.3 หลักการและทฤษฎีของเทคนิคอัลตราไวโอเลต-วิสเบิล สเปกโทรสโกปี	4
1.4 ปัจจัยที่ส่งผลต่อการวัดการดูดกลืนแสงช่วงอัลตราไวโอเลต-วิสเบิล	14
1.5 เครื่องมือและอุปกรณ์	17
1.6 วิธีวิเคราะห์และเทคนิคการวิเคราะห์	22
บทสรุป	29
เอกสารอ้างอิง	31
 บทที่ 2 ฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี	 33
2.1 ลูมิเนสเซนซ์	33
2.2 ประวัติศาสตร์การพบฟลูออเรสเซนซ์	34
2.3 หลักการของฟลูออเรสเซนซ์	34
2.4 จลนศาสตร์ของโฟโตลูมิเนสเซนซ์	38
2.5 ผลได้ควอนตัม	39
2.6 ความสัมพันธ์ระหว่างฟลูออเรสเซนซ์กับความเข้มข้นของสาร	40
2.7 สเปกตรัมฟลูออเรสเซนซ์	42
2.8 โครงสร้างโมเลกุลที่เกิดฟลูออเรสเซนซ์	43
2.9 ชนิดของฟลูออโรฟอร์	46
2.10 ปัจจัยที่ส่งผลต่อค่าความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์	47
2.11 ปรากฏการณ์การลดความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์	48
2.12 เครื่องสเปกโทรฟลูออโรโฟโตมิเตอร์	50
2.13 การประยุกต์เทคนิคฟลูออเรสเซนซ์ในงานเภสัชวิเคราะห์	53
2.14 ตัวอย่างการวิเคราะห์ตัวอย่างยาโดยใช้เทคนิคฟลูออเรสเซนซ์	54
บทสรุป	56
เอกสารอ้างอิง	57

	หน้า
บทที่ 3 อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี	59
3.1 หลักการและทฤษฎี	60
3.2 ลักษณะอินฟราเรดสเปกตรัม	67
3.3 เครื่องอินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์	72
3.4 เทคนิคการเตรียมสารตัวอย่าง	76
3.5 ชนิดของตัวทำละลาย	81
3.6 การวิเคราะห์เชิงคุณภาพและปริมาณ	82
3.7 ตัวอย่างการประยุกต์ใช้ทางเภสัชวิเคราะห์	95
บทสรุป	97
เอกสารอ้างอิง	98
 บทที่ 4 โปรตอน-นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี	 101
4.1 หลักการและทฤษฎี	102
4.2 สเปกตรัมโปรตอนเอ็นเอ็มอาร์	108
4.3 เครื่องเอ็นเอ็มอาร์	123
4.4 การเตรียมสารตัวอย่างวิเคราะห์	124
4.5 วิธีทดสอบหุ่มที่มีโปรตอนแลกเปลี่ยน	126
4.6 การประยุกต์เทคนิคเอ็นเอ็มอาร์ในทางเภสัชกรรม	126
4.7 ตัวอย่างการวิเคราะห์ตัวยาสำคัญในผลิตภัณฑ์ยา	128
บทสรุป	131
เอกสารอ้างอิง	132
 บทที่ 5 ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับโครมาโทกราฟี	 135
5.1 เทคนิคโครมาโทกราฟี	135
5.2 ประเภทของโครมาโทกราฟี	137
5.3 พันธะที่เกี่ยวข้องกับอันตรกิริยาระหว่างวัฏภาคหนึ่งและวัฏภาคเคลื่อนที่	139
5.4 สมบัติการแพร่กระจาย	140
5.5 ความคงอยู่ของสารในโครมาโทกราฟี	141
5.6 กลไกการดูดซับ	142
5.7 การตรวจวัดติดตาม	145
5.8 วิธีทางโครมาโทกราฟี	146
5.9 ค่าต่างๆ ทางโครมาโทกราฟี	155

	หน้า
บทสรุป	161
เอกสารอ้างอิง	162
บทที่ 6 เครื่องโครมาโทกราฟีที่แอลซีสมรรถนะสูง และเครื่องเดนสิโตมิเตอร์	163
6.1 หลักการและทฤษฎี	164
6.2 เครื่องมือที่ใช้	166
6.3 เทคนิคและวิธีการวิเคราะห์	171
6.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารตัวอย่างบนแผ่นที่แอลซี	175
6.5 ตัวอย่างการหาปริมาณสารสำคัญในพืชสมุนไพร	179
บทสรุป	183
เอกสารอ้างอิง	184
บทที่ 7 เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง	185
7.1 หลักการ	186
7.2 ปัจจัยที่มีผลต่อเวลาที่สารอยู่ในคอลัมน์	189
7.3 เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง	191
7.4 ภูมิภาคเคลื่อนที่	197
7.5 คอลัมน์	198
7.6 ระบบการชะสาร	212
7.7 ขั้นตอนการแยกสารด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง	213
7.8 เทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคูป้ออน	213
7.9 การวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ	214
บทสรุป	217
เอกสารอ้างอิง	218
บทที่ 8 เจลอิเล็กโตรโฟรีซิส	225
8.1 บทนำ	225
8.2 หลักการ	226
8.3 การจำแนกประเภทของเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส	227
8.4 เครื่องมือและอุปกรณ์	232
8.5 วิธีวิเคราะห์โดยเทคนิคเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส	235

	หน้า
8.6 เทคนิคการตรวจหาตัวอย่าง	246
บทสรุป	251
เอกสารอ้างอิง	252
บทที่ 9 แคพิลลารีอิเล็กโทรโฟรีซิส	255
9.1 บทนำ	255
9.2 หลักการ	257
9.3 การจำแนกวิธีการแยกสารโดยแคพิลลารีอิเล็กโทรโฟรีซิส	261
9.4 เครื่องมือแคพิลลารีอิเล็กโทรโฟรีซิส	269
9.5 การประยุกต์ใช้แคพิลลารีอิเล็กโทรโฟรีซิสในทางเภสัชศาสตร์	277
เอกสารอ้างอิง	279
ดัชนี	283

คำนำ

ยาหรือผลิตภัณฑ์ทางเภสัชกรรมถือเป็นสิ่งที่มีชีวิต การวิเคราะห์คุณภาพยาให้ถูกต้องจึงเป็นสิ่งสำคัญเช่นกัน การเข้าใจเทคนิคเครื่องมือต่างๆ ที่เกี่ยวกับการประยุกต์ในงานเภสัชวิเคราะห์จึงเป็นสิ่งที่ต้องตระหนักและควรศึกษาให้เข้าใจ ตำราการประยุกต์ใช้เครื่องมือในทางเภสัชวิเคราะห์ 1 เล่มนี้ นำเสนอหลักการเครื่องมือชนิดต่างๆ ที่เกี่ยวกับการวิเคราะห์ทางเภสัชกรรมทั้งทางด้านสเปกโทรสโกปี และด้านโครมาโทกราฟี ซึ่งเนื้อหาในตำรามีการกล่าวถึงหลักการ เทคนิค และการประยุกต์งานทางด้านเภสัชกรรม ทั้งนี้ยังมีเทคนิคอื่นๆ บางชนิดที่ยังไม่ได้กล่าวถึงในตำรา ซึ่งเป็นเทคนิคที่สำคัญเช่นกัน แต่ด้วยเทคนิคอื่นๆ นั้นมีรายละเอียดมาก ประกอบกับมีข้อจำกัดด้านเวลาด้วย ทำให้คณะผู้เขียนต้องกำหนดขอบเขตของตำราไว้เพียงเท่านี้ก่อน หากมีโอกาสคณะผู้เขียนจะรวบรวมเป็นตำราหรือหนังสือเพื่อให้ผู้อ่านได้มีโอกาสอ่านต่อไป

ตำราเล่มนี้ได้รับแรงบันดาลใจจากการเรียนการสอนในวิชา “ภส. 330 - การควบคุมคุณภาพเภสัชภัณฑ์ 2” คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ที่ต้องการให้นักศึกษาได้เข้าใจถึงเทคนิคเครื่องมือต่างๆ ซึ่งได้พยายามรวบรวมความรู้จากคณาจารย์ผู้มีประสบการณ์ด้านต่างๆ โดยตั้งใจให้เนื้อหาทางด้านวิชาการอ่านง่าย และสามารถเข้าถึงองค์ความรู้ได้ง่ายไม่ยากจนเกินไป อีกทั้งได้พยายามเพิ่มเติมตัวอย่างการนำเทคนิคไปใช้ประโยชน์ทางเภสัชกรรมต่างๆ คณะผู้เขียนหวังใจว่าตำราเล่มนี้จะช่วยให้นักศึกษาและผู้สนใจได้เข้าใจถึงความรู้เกี่ยวกับเครื่องมือต่างๆ และสามารถนำไปประยุกต์กับงานวิจัย หรืองานประจำต่างๆ ได้ไม่มากนักน้อ

คณะผู้เขียนขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่ได้สละเวลาเขียนตำราเพื่อถ่ายทอดความรู้และประสบการณ์ที่ดีเยี่ยมมาสู่ตำราเล่มนี้ และขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.อรลักษณ์ แพร่ดีกุล ที่ได้กรุณาสละเวลาอันมีค่าช่วยตรวจสอบภาษาในบางบทของตำราเล่มนี้ พร้อมชี้แนะและให้ความรู้แก่บรรณาธิการ และขอขอบคุณกองบริหารงานวิจัย มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ที่ได้ให้ทุนสนับสนุนการเขียนตำราเล่มนี้

สุดท้ายนี้หากตำราเล่มนี้มีข้อผิดพลาดประการใด คณะผู้เขียนต้องขอภัยมา ณ ที่นี้ และขอน้อมรับความผิดพลาดทุกประการไว้ พร้อมน้อมรับฟังข้อคิดเห็นหรือข้อเสนอแนะจากผู้อ่านทุกท่านไว้เพื่อแก้ไขปรับปรุงตำราให้ดีขึ้นและถูกต้องยิ่งขึ้นไป

ศรียรรณ อีระมั่นคง

บรรณาธิการ

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เภสัชกรรม

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

ตุลาคม 2562

1

อัลตราไวโอเลต-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี Ultraviolet-Visible Spectroscopy

อรภา สกุลพานิชย์*

สเปกโทรสโกปี (spectroscopy) เป็นการศึกษาอันตรกิริยาของวัตถุกับคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า หรือแสงทุกชนิด ศึกษาลักษณะของวัตถุหลังได้รับคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า เช่น การสั่นของโมเลกุล การหมุนของอะตอม การเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานของอิเล็กตรอน เป็นต้น รวมทั้งศึกษาและวิเคราะห์สเปกตรัมการดูดกลืน (absorption spectrum) หรือสเปกตรัมที่เกิดจากการปล่อยแสงของวัตถุ (emission spectrum) เครื่องมือที่ใช้ตรวจอันตรกิริยาของวัตถุกับคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าเรียกว่า เทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ในบทนี้จะกล่าวถึงเทคนิคอัลตราไวโอเลต-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี หรือเรียกสั้น ๆ ว่า ยูวี-วิส สเปกโทรสโกปี (UV-Vis spectroscopy)

*อาจารย์ ดร., เกษตรกรหญิงประจำสาขาวิทยาศาสตร์เกษตรกรรม คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัย
ธรรมศาสตร์

1.1 ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับสเปกโทรสโกปี

แสงจัดเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (electromagnetic wave) แสงหลายความยาวคลื่น (polychromatic) ที่ประกอบด้วยรังสีและคลื่นหลายชนิด ได้แก่ รังสีแกมมา รังสีเอกซ์ รังสีอัลตราไวโอเลต (ยูวี, UV) รังสีอินฟราเรด คลื่นไมโครเวฟ คลื่นวิทยุ รวมทั้งแสงที่มองเห็นได้ (visible light) ดังรูปที่ 1-1

แสงเป็นได้ทั้งพลังงาน และอนุภาค ซึ่งรังสี แอมป์ และคลื่นแต่ละชนิดมีพลังงาน ความถี่ และช่วงความยาวคลื่นที่แตกต่างกัน เมื่อพิจารณาตามกฎของพลังค์ (Planck)

$$E = h\nu \quad \text{สมการที่ 1-1}$$

โดย E คือ พลังงานของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า หน่วยเป็นจูล (J)

h คือ ค่าคงที่ของพลังค์ (Planck's constant) เท่ากับ 6.625×10^{-34} Js

ν คือ ความถี่ของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า หน่วยเป็นเฮิรตซ์ Hz หรือ s^{-1}

และจากสมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นกับความถี่ของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า คือ

$$c = \lambda\nu \quad \text{สมการที่ 1-2}$$

โดย λ คือ ความยาวคลื่น หน่วยเป็นนาโนเมตร

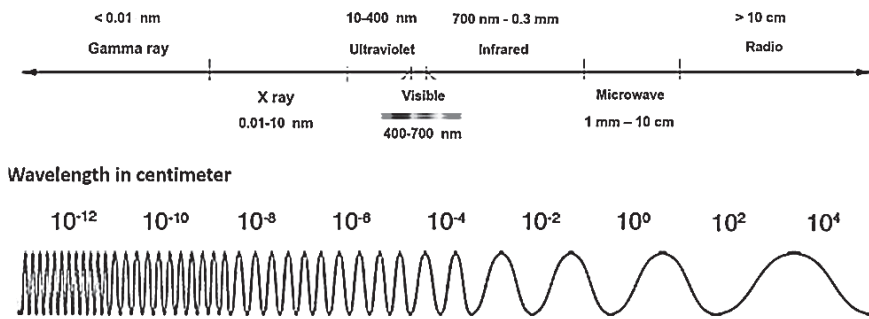
ν คือ ความถี่ของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า หน่วยเป็นเฮิรตซ์ Hz หรือ s^{-1}

ทำให้ได้สมการที่แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างพลังงาน ความยาวคลื่นและความถี่ คือ

$$E = hc/\lambda \quad \text{สมการที่ 1-3}$$

จากสมการที่ 1-3 และรูปที่ 1-1 นี้ทำให้เห็นว่าแต่ละรังสี คลื่น และแอมป์มีพลังงานที่แปรผกผันกับความยาวคลื่น เช่น รังสีอัลตราไวโอเลต (ความยาวคลื่นหน่วยนาโนเมตร) มีความยาวคลื่นสั้นกว่ารังสีอินฟราเรด แต่กลับมีความถี่และพลังงานมากกว่ารังสีอินฟราเรด เป็นต้น

เมื่อวัตถุได้รับรังสี รังสีส่งผลให้โมเลกุล อะตอม หรืออิเล็กตรอนมีพฤติกรรมเปลี่ยนแปลงไป รังสีมีพลังงานมากพอทำให้อิเล็กตรอนเกิดการเปลี่ยนแปลงของระดับพลังงานจนเกิดเป็นประจุ หรือไอออน เรียกรังสีที่มีความสามารถในการก่อให้เกิดประจุหรือไอออนนี้ว่ารังสีก่อไอออน (ionizing radiation) ได้แก่ รังสีแกมมา รังสีเอกซ์ และบางช่วงของรังสีอัลตราไวโอเลต ซึ่งรังสีแต่ละชนิดส่งผลต่ออิเล็กตรอนแตกต่างกัน เช่น รังสีเอกซ์สามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของอิเล็กตรอนที่อยู่ในวงโคจรชั้นในของอะตอม แต่รังสีอัลตราไวโอเลตก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ อิเล็กตรอน



รูปที่ 1-1 แสงประกอบด้วยรังสีต่างๆ ตั้งแต่รังสีแกมมาซึ่งมีความถี่สูงสุด พลังงานมากที่สุด แต่ความยาวคลื่นต่ำที่สุด คือ น้อยกว่า 0.01 นาโนเมตร ไปจนถึงคลื่นวิทยุที่มีความถี่ต่ำ พลังงานต่ำ แต่ความยาวคลื่นสูง คือ ความยาวคลื่นมากกว่า 10 นาโนเมตร (1)

ที่อยู่ในวงโคจรชั้นนอกสุดของอะตอม (valence electron) ในทางตรงกันข้าม รังสีที่ไม่สามารถทำให้เกิดประจุหรือไอออน เรียกว่ารังสีไม่ก่อไอออน (non-ionizing radiation) ได้แก่ แสงที่มองเห็น รังสีอินฟราเรด คลื่นไมโครเวฟ คลื่นวิทยุ ดังนั้น รังสีแต่ละชนิดมีความยาวคลื่น ความถี่ และพลังงานที่แตกต่างกัน เมื่อตกกระทบโมเลกุลหรืออะตอมของสารทำให้อิเล็กตรอนภายในโมเลกุลนั้นเกิดการเปลี่ยนแปลง ทำให้เราสามารถศึกษาผลของรังสีหรือคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าต่อสารได้ ซึ่งสารแต่ละชนิดจะมีการตอบสนองต่อรังสีได้แตกต่างกันขึ้นกับพลังงานของรังสีนั้นๆ

1.2 รังสีอัลตราไวโอเลตและแสงที่มองเห็น

1.2.1 รังสีอัลตราไวโอเลต รังสีเหนือม่วง หรือ รังสียูวี

รังสีชนิดนี้อยู่ในช่วงความยาวคลื่น 10-400 นาโนเมตร (รูปที่ 1-1) แบ่งได้เป็น 4 ช่วง คือ

- ช่วง extreme ultraviolet มีความยาวคลื่น 10-100 นาโนเมตร
- ช่วง far ultraviolet มีความยาวคลื่น 100-200 นาโนเมตร
- ช่วง middle ultraviolet มีความยาวคลื่น 200-300 นาโนเมตร
- ช่วง near ultraviolet มีความยาวคลื่น 300-400 นาโนเมตร

หรือสามารถแบ่งรังสีอัลตราไวโอเลตได้เป็น 3 แบบ คือ (2)

- UV-A มีความยาวคลื่นในช่วง 320-400 นาโนเมตร และแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิดย่อย คือ UV-A I ความยาวคลื่นในช่วง 340-400 นาโนเมตร และ UV-A II มีความยาวคลื่นในช่วง 320-340 นาโนเมตร

- UV-B มีความยาวคลื่นในช่วง 290-320 นาโนเมตร

- UV-C มีความยาวคลื่นในช่วง 100-290 นาโนเมตร ก่อให้เกิดอันตรายต่อ

ผิวหนังมากที่สุดแต่ชั้นบรรยากาศของโลกดูดกลืนรังสีชนิดนี้ไว้

ตารางที่ 1-1 ความสัมพันธ์ของแสงที่ถูกวัตถุดูดกลืนและสีที่มนุษย์เห็น

ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	สีที่วัตถุดูดกลืน	แสงที่มองเห็น
400	Violet	Yellow-green
425	Indigo blue	Yellow
450	Blue	Orange
490	Blue-green	Red
510	Green	Purple
530	Yellow-green	Violet
550	Yellow	Indigo blue
590	Orange	Blue
640	Red	Blue-green
730	Purple	Green

1.2.2 แสงที่มองเห็นได้

แสงที่มองเห็นได้เป็นส่วนหนึ่งของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่อยู่ถัดจากช่วงความยาวคลื่นของรังสีอัลตราไวโอเล็ตและส่งผลต่อการมองเห็นของมนุษย์ กล่าวคือ เมื่อแสงขาว (white light) ส่องผ่านปริซึม (prism) จะเกิดการหักเหทำให้เห็นเป็นแถบสี 7 สี คือ สีม่วง สีคราม สีน้ำเงิน สีเขียว สีเหลือง สีส้ม สีแดง โดยแต่ละแถบสีที่แยกได้นี้ เรียกว่า สเปกตรัม หรือเห็นได้จากปรากฏการณ์ทางธรรมชาติ คือ รุ้งกินน้ำ ซึ่งเกิดเมื่อแสงขาวส่องผ่านไอน้ำในอากาศก่อให้เกิดการหักเหของแสง ทำให้เห็นเป็นแถบสีสวยงามเจ็ดสี ซึ่งแถบสีทั้งเจ็ดนี้จัดเป็นแสงที่มนุษย์มองเห็นเป็นสีได้ ดังนั้น จึงเรียกแสงในช่วงที่ส่งผลต่อการมองเห็นและการตอบสนองต่อสีของมนุษย์ว่า “แสงที่มองเห็นได้” ซึ่งแสงที่มองเห็นได้มีความยาวคลื่นอยู่ในช่วง 400-700 นาโนเมตร ตัวอย่างเช่น มนุษย์มองเห็นดอกไม้มีสีเหลืองเนื่องจากแสงสีที่ถูกดูดกลืน คือ แสงสีน้ำเงิน ดังนั้นแสงที่ส่องผ่านออกมา คือ แสงสีเหลืองจึงทำให้มนุษย์มองเห็นดอกไม้เป็นสีเหลือง ความสัมพันธ์ของแสงสีที่ถูกวัตถุดูดกลืนที่ความยาวคลื่นต่าง ๆ ส่งผลต่อการมองเห็นสีของมนุษย์ดังแสดงในตารางที่ 1-1

1.3 หลักการและทฤษฎีของเทคนิคอัลตราไวโอเล็ต-วิสิเบิล สเปกโทรสโกปี

เมื่อวัตถุหรือสารได้รับพลังงานจากรังสีอัลตราไวโอเล็ตหรือแสงที่มองเห็นได้ โมเลกุลและอะตอมของวัตถุเกิดการดูดกลืนพลังงานหรือแสงก่อให้เกิดการกระตุ้นอิเล็กตรอนทำให้อิเล็กตรอนเคลื่อนที่ไปอยู่ในระดับพลังงานที่สูงขึ้น ประกอบกับโมเลกุลและอะตอมของสารแต่ละชนิดมีสมบัติดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเล็ตและแสงที่มองเห็นได้ที่มีความยาวคลื่นแตกต่างกัน เนื่องจากโครงสร้างทางเคมี จำนวนเวเลนซ์อิเล็กตรอน (valence electron) สภาวะการถูกกระตุ้น (excitation of

electrons) ตลอดจนการเปลี่ยนสภาวะของอิเล็กตรอน (electron transition) ของสารที่แตกต่างกัน ทำให้สามารถศึกษาสมบัติการดูดกลืนคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าในช่วงอัลตราไวโอเลต และแสงที่มองเห็นได้ของสารจากการพิจารณาสเปกตรัมการดูดกลืน

ดังนั้น การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอัลตราไวโอเลต-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ จึงเป็นการศึกษาการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลต และแสงที่มองเห็นได้ของวัตถุหรือสารซึ่งมีประโยชน์ในการนำไปใช้ในการวิเคราะห์ทางเคมีทั้งในเชิงปริมาณ และเชิงคุณภาพ เช่น การหาปริมาณของสาร การพิสูจน์เอกลักษณ์ของสาร การติดตามการเกิดปฏิกิริยาของสาร เครื่องมือที่ใช้วัดการดูดกลืนแสงในช่วงอัลตราไวโอเลตและแสงที่มองเห็นได้นี้ เรียกว่า เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเลต-วิสิเบิล สเปกโทรมิเตอร์ (ultraviolet-visible spectrophotometer, UV-Vis spectrophotometer)

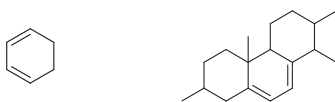
1.3.1 การดูดกลืนแสงของสารประกอบอินทรีย์

1.3.1.1 โครโมฟอร์ (chromophore)

การดูดกลืนแสงของสารประกอบอินทรีย์เป็นผลมาจากโครงสร้างทางเคมีของสารประกอบอินทรีย์ที่มีหมู่ฟังก์ชันแบบไม่อิ่มตัว (unsaturated functional group) ซึ่งหมู่ฟังก์ชันเหล่านี้สามารถดูดกลืนแสงในช่วงอัลตราไวโอเลต และแสงที่มองเห็นได้ เช่น หมู่อัลคีน (alkene: $\text{C}=\text{C}$) หมู่คาร์บอนิล (carbonyl: $\text{C}=\text{O}$) หมู่ไซยาโน (cyano: $\text{C}\equiv\text{N}$) หมู่อะโซ (azo: $\text{N}=\text{N}$) หมู่ไนโตร (nitro: NO_2) และโครงสร้างแบบวงควินอยด์ (quinoid ring) เป็นต้น เรียกหมู่ฟังก์ชันนี้ว่า “โครโมฟอร์ (chromophore)” และเรียกสารประกอบอินทรีย์ที่มีโครโมฟอร์ว่า “โครโมเจน (chromogen)” กล่าวโดยสรุปคือ โครโมฟอร์เป็นสารที่มักจะประกอบด้วยพันธะที่ไม่อิ่มตัว และมีหรือไม่มีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยว หรือพันธะที่ไม่อิ่มตัวประกอบกันเป็นโครงสร้างแบบคอนจูเกตที่สามารถดูดกลืนพลังงานหรือแสง และให้สี สามารถแบ่งได้เป็น 3 ชนิด คือ

ชนิดที่ 1 โครโมฟอร์ที่มีพันธะที่ไม่อิ่มตัว และไม่มีคู่อิเล็กตรอนโดดเดี่ยว

โครโมฟอร์แต่ละหมู่ที่อยู่ในโครงสร้างของโมเลกุลมีการดูดกลืนแสงที่ไม่มีผลซึ่งกันและกัน แต่การดูดกลืนแสงของโครโมฟอร์ชนิดนี้อาศัยผลรวม การดูดกลืนแสงของแต่ละโครโมฟอร์ เช่น หมู่อัลคีน



รูปที่ 1-2 โครงสร้างทางเคมีของโครโมฟอร์แบบที่ 1