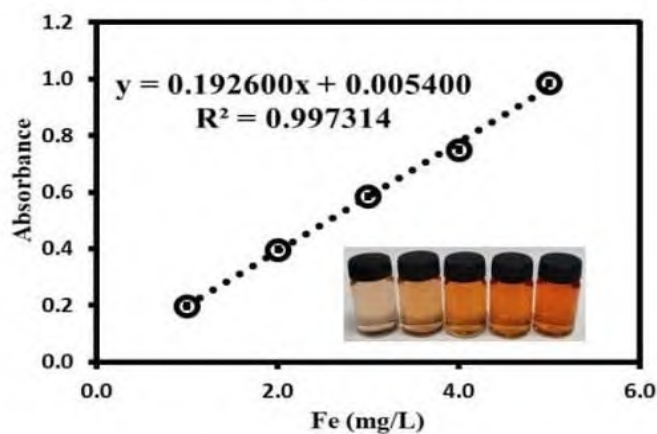
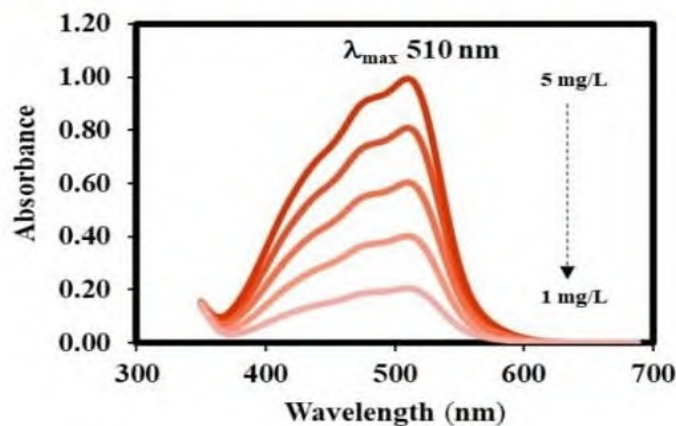


ผศ. ดร. นภา ตั้งเตรียมจิตมั่น

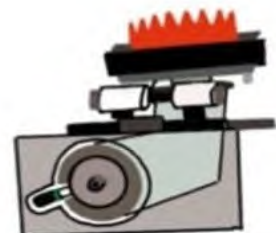
เทคนิคสเปกโทรสโกปี

UV-Visible
Only

ปริมาณวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ



ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยบูรพา

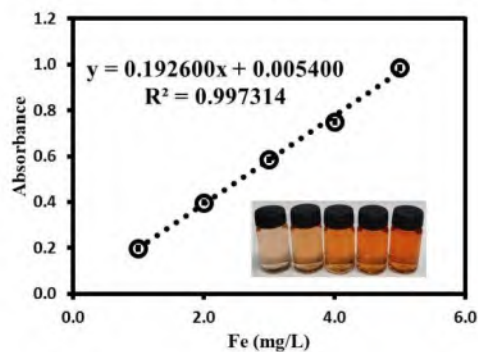
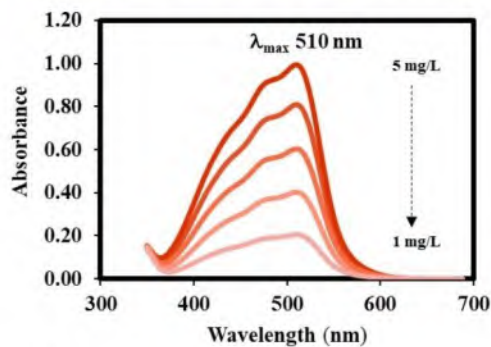


ผศ. ดร. นภา ตั้งเตรียมจิตมั่น

เทคนิคสเปกโทรสโกปี

UV-Visible
Only

ปริมาณวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ



ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยบูรพา

ปริมาณวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ
ด้วย
เทคนิค สเปกโทรสโกปี
ชนิด UV-Visible Only

โดย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นภา ตั้งเตรียมจิตมั่น

วาดรูปประกอบ นภาพร บุญนราหุรักษ์ และ อลิชา เมรุค

สงวนลิขสิทธิ์
กุมภาพันธ์ 2568

คำนำ

หนังสือปริมาณวิเคราะห์เชิงเครื่องมือด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปีเล่มนี้เป็นเนื้อหาส่วนหนึ่งของเอกสารประกอบการสอนรายวิชาเคมีวิเคราะห์เชิงเครื่องมือของนิสิตระดับปริญญาตรี ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่มีการปรับปรุงเนื้อหาตามการปรับปรุงหลักสูตรจนตกผลึกออกมาได้เป็นเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ พื้นฐาน 4 เครื่อง ซึ่งใช้หลักการวัดสมบัติทางแสงของสารย่านยูวี วิสิเบิล เป็นเครื่องที่นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ทั่วไป ในบริษัทวิเคราะห์ทั้งส่วนราชการและเอกชน รวมทั้งในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ที่สนับสนุนการผลิตในโรงงานอุตสาหกรรม ความรู้เบื้องต้นทั้งทางทฤษฎีและเทคนิคการใช้และดูแลรักษาเครื่องมือนี้สามารถนำไปใช้ในการทำโครงการ การฝึกงาน การฝึกสหกิจ หรือการเริ่มต้นทำงานครั้งแรกในชีวิตของนิสิต นักศึกษา ถ้าต้องมีการใช้งานเครื่องมือพื้นฐานเหล่านี้ในการวิเคราะห์ปริมาณสาร

ผู้เขียนหวังเป็นอย่างยิ่งว่าหนังสือเล่มนี้จะเป็นประโยชน์ต่อการเรียนการสอน และการใช้เครื่องมือเหล่านี้ตามสมควร หากนิสิต นักศึกษาหรือท่านที่นำไปใช้มีข้อเสนอแนะหรือคำติชม โปรดติดต่อผู้เขียนได้ที่ อีเมล napa@go.buu.ac.th ผู้เขียนยินดีรับฟังข้อคิดเห็นและขอขอบคุณล่วงหน้ามา ณ โอกาสนี้

ในท้ายที่สุดนี้ผู้เขียนขอชื่นชม บริษัท เมพ คอร์ปอเรชั่น จำกัด (มหาชน) ที่ทำให้การจัดพิมพ์อีบุ๊คเป็นเรื่องง่ายตาย สะดวกรวดเร็ว สำหรับผู้เขียนทุกท่านที่อยากนำผลงานของตัวเองออกเผยแพร่

นภา ตั้งเตรียมจิตมั่น

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นภา ตั้งเตรียมจิตมั่น)

กุมภาพันธ์ 2568

สารบัญ

บทที่ 1 สิ่งควรรู้ก่อนทำปริมาณวิเคราะห์ด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปี 1

- 1.1 รังสีแม่เหล็กไฟฟ้า 1
- 1.2 เทคนิควิเคราะห์ทางสเปกโทรสโกปี 7
 - 1.2.1 เทคนิคที่วัดการเปลี่ยนแปลงพลังงาน 7
 - 1.2.2 เทคนิคที่วัดการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางคลื่น 8
- 1.3 วิธีทำปริมาณวิเคราะห์ 9
 - 1.3.1 วิธีกราฟมาตรฐาน 9
 - 1.3.2 วิธี standard addition 17
- 1.4 คำศัพท์เฉพาะที่ใช้ในการทำปริมาณวิเคราะห์ทางเคมี 20
- 1.5 การทดเครื่องคิดเลขเพื่อคำนวณค่าทางสถิติ 28
- แบบฝึกหัดท้ายบทที่ 1 31

บทที่ 2 ยูวี-วิสิเบิล แอบซอร์พชัน สเปกโทรสโกปี 37

- 2.1 การดูดกลืนแสงของโมเลกุลหรือไอออนที่มีหลายอะตอม 38
- 2.2 การทำปริมาณวิเคราะห์ด้วยกฎของเบียร์ 46
- 2.3 ข้อจำกัดการทำปริมาณวิเคราะห์ด้วยกฎของเบียร์ 48
- 2.4 ขั้นตอนการทำปริมาณวิเคราะห์ด้วยกฎของเบียร์ 49
- 2.5 การเบี่ยงเบนจากกฎของเบียร์ 53
- 2.6 เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ 55
 - 2.6.1 แหล่งกำเนิดแสง 55
 - 2.6.2 ตัวเลือกความยาวคลื่น 56

2.6.3 ดีเทคเตอร์ 57

2.7 ประเภทเครื่องยวี่-วิลีเปิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ 59

2.7.1 แบบลำแสงเดี่ยว 59

2.7.2 แบบไดโอดแอเรย์ดีเทคเตอร์สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ 61

2.7.3 แบบลำแสงคู่ 62

2.8 การดูแลรักษาเครื่องมือสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ 63

แบบฝึกหัดท้ายบทที่ 2 67

บทที่ 3 ฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี 73

3.1 โฟโตลูมิเนสเซนซ์ 74

3.2 การเกิดฟลูออเรสเซนซ์และฟอสฟอเรสเซนซ์ 77

3.3 ความสัมพันธ์ระหว่างฟลูออเรสเซนซ์และความเข้มข้น 81

3.4 เครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ 84

3.5 การทำปริมาณวิเคราะห์ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์ 86

3.6 การเกิดเคมีลูมิเนสเซนซ์ 93

3.7 การดูแลรักษาเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ 95

แบบฝึกหัดท้ายบทที่ 3 96

บทที่ 4 อะตอมมิก แอปซอร์พชัน สเปกโทรสโกปี 101

4.1 ทฤษฎีการดูดกลืนแสงในระดับอะตอม 102

4.2 เครื่องอะตอมมิกแอปซอร์พชันสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ 106

4.2.1 แหล่งกำเนิดแสงแบบเส้น 107

4.2.2 อะตอมไมเซอร์ 110

4.2.3 โมโนโครมาเตอร์และดีเทคเตอร์ 115

4.3 การทำปริมาณวิเคราะห์ด้วยเทคนิค AAS 115

4.4 เทคนิคการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง AAS 118

4.4.1 เทคนิคเฟลมอะตอมไมเซชัน 118

4.4.2 เทคนิคไฮโดรด์เจนเนอเรชัน 120

4.4.3 เทคนิคแกรไฟท์ เฟอเนซ 121

4.5 สิ่งรบกวนการวิเคราะห์ 124

4.5.1 การรบกวนจากเมทริกซ์ของตัวอย่างและเปลวไฟ 124

4.5.2 การรบกวนจากการแทรกสอดของสเปกตรัม 126

4.5.3 การรบกวนจากสมบัติทางกายภาพ 127

4.5.4 การรบกวนจากสมบัติทางเคมี 127

4.5.5 การเกิดไอออไนเซชันของอะตอมอิสระ 128

4.6 เทคโนโลยีปัจจุบันของเครื่อง AAS 128

4.7 การดูแลรักษาเครื่อง AAS 129

แบบฝึกหัดท้ายบทที่ 4 131

บทที่ 5 อินดักทีฟลี คัพเพิล พลาสมา ออพติคัล อิมิชชัน สเปกโทรสโกปี
135

5.1 ทฤษฎีการคายแสงในระดับอะตอม 136

5.2 ส่วนประกอบของเครื่อง ICP-OES 137

5.2.1 เนบิวไลเซอร์ 137

5.2.2 พลาสมา 139

5.2.3 อุปกรณ์กระจายแสง 142

5.2.4 ดีเทคเตอร์ 144

5.3 ประเภทของเครื่อง ICP-OES 145

5.4 การทำปริมาณวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ICP-OES 146

5.5 ประสิทธิภาพของเครื่อง ICP-OES 153

5.6 การดูแลรักษาเครื่อง ICP-OES 156

แบบฝึกหัดท้ายบทที่ 5 158

เอกสารอ้างอิง 163

คำตอบแบบฝึกหัดท้ายบทบางข้อ 164

ภาคผนวก คู่มือปฏิบัติการ 168

ดรชรณี 179

INDEX 181

บทที่ 1

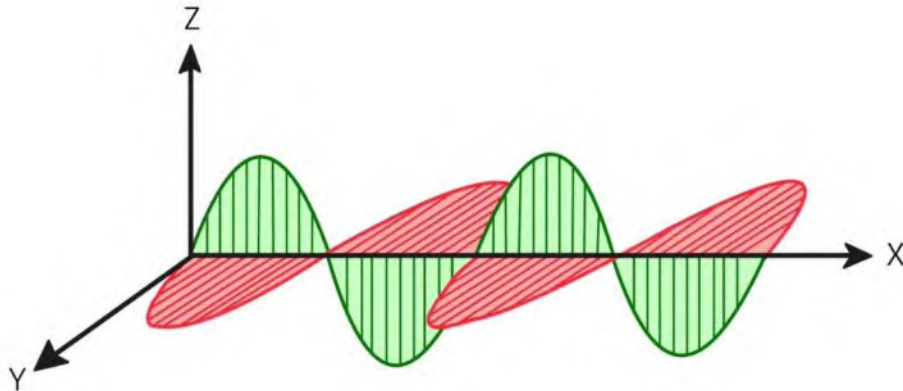
สิ่งควรรู้ก่อนทำปริมาณวิเคราะห์ ด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปี

เทคนิควิเคราะห์ทางสเปกโทรสโกปี (spectroscopy analytical techniques) อาศัยหลักความสัมพันธ์ระหว่างรังสีแม่เหล็กไฟฟ้ากับสาร ซึ่งใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณ (quantitative analysis) และวิเคราะห์คุณภาพ (qualitative analysis) รวมทั้งใช้ในการหาสูตรโครงสร้างของสารได้ โดยขึ้นกับช่วงคลื่นของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่ใช้ และสมบัติทางแสงของสารที่ตรวจวัด เครื่องมือกลุ่มนี้จึงมีหลายชนิด มีชื่อรวมเรียกว่าสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) และจัดเป็นเครื่องมือวิเคราะห์ทางสเปกโทรสโกปี (spectroscopic instrumentation) หรือเครื่องมือวิเคราะห์ทางสเปกโตรโฟโตเมทรี (spectrophotometry instrumentation)

1.1 รังสีแม่เหล็กไฟฟ้า

รังสีแม่เหล็กไฟฟ้า (electromagnetic radiation) เป็นพลังงานรูปหนึ่งมีชื่อเรียกว่า โฟตอน (photon) มีลักษณะเป็นทั้งอนุภาค (particle) และคลื่น (wave) ประกอบด้วย สนามแม่เหล็ก (magnetic field) บนระนาบ XY และสนามไฟฟ้า (electric field) บนระนาบ XZ สั่นหรือกวัดแกว่ง (oscillation) อยู่ในแนวตั้งฉากซึ่งกันและกัน เดินทาง (propagation) ไปตามแนวแกน X ดังในรูปที่ 1.1

เมื่อรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าตกกระทบบสาร องค์ประกอบของสารที่มีสมบัติทางไฟฟ้าคืออิเล็กตรอน จะดูดกลืนพลังงานจากสนามไฟฟ้าของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า ค่าการดูดกลืนแสงนี้จะแปรผันตรงกับปริมาณอิเล็กตรอนหรือความเข้มข้นของสารนั่นเอง จึงเป็นหลักการสำคัญของเครื่องมือทางสเปกโทรสโกปีที่จะกล่าวถึงกันต่อไป



รูปที่ 1.1 รังสีแม่เหล็กไฟฟ้าประกอบด้วยสนามแม่เหล็ก(สีแดง) และสนามไฟฟ้า (สีเขียว)

พลังงานของโฟตอนในหน่วยจูล (Joules) จะสัมพันธ์กับความถี่ (frequency; ν) ความยาวคลื่น (wavelength; λ) หรือเลขคลื่น (wavenumber; $\bar{\nu}$) ดังสมการต่อไปนี้

$$E = h\nu \quad (1.1)$$

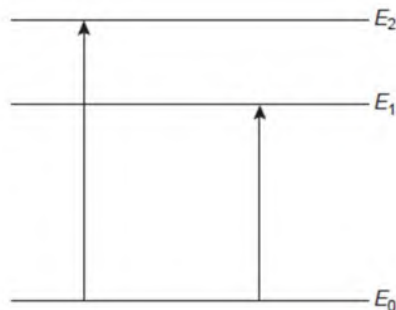
$$E = h \frac{c}{\lambda} \quad (1.2)$$

$$E = hc\bar{\nu} \quad (1.3)$$

โดย h คือ Planck's constant มีค่า 6.626×10^{-34} J·s และ c คือความเร็วแสง มีค่า 3×10^8 m/s ($J = \text{kg} \cdot \text{m}^2/\text{s}^2$)

ปริมาณวิเคราะห์ด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปี

อิเล็กตรอนในอะตอมหรือโมเลกุลของสารจะดูดกลืนพลังงานนี้ได้ต่อเมื่อ พลังงานของแสงที่ความยาวคลื่นหนึ่ง ๆ มีค่าเท่ากับผลต่างของระดับพลังงานของ อิเล็กตรอน ($E_1 - E_0$) หรือ ($E_2 - E_0$) ดังรูปที่ 1.2 อิเล็กตรอนที่สถานะพื้น E_0 (ground state) จะดูดกลืนพลังงานเข้าไปและขึ้นไปอยู่ที่สถานะที่มีพลังงานสูงขึ้น E_1 และ E_2 เรียกว่า สถานะกระตุ้น (excited state)

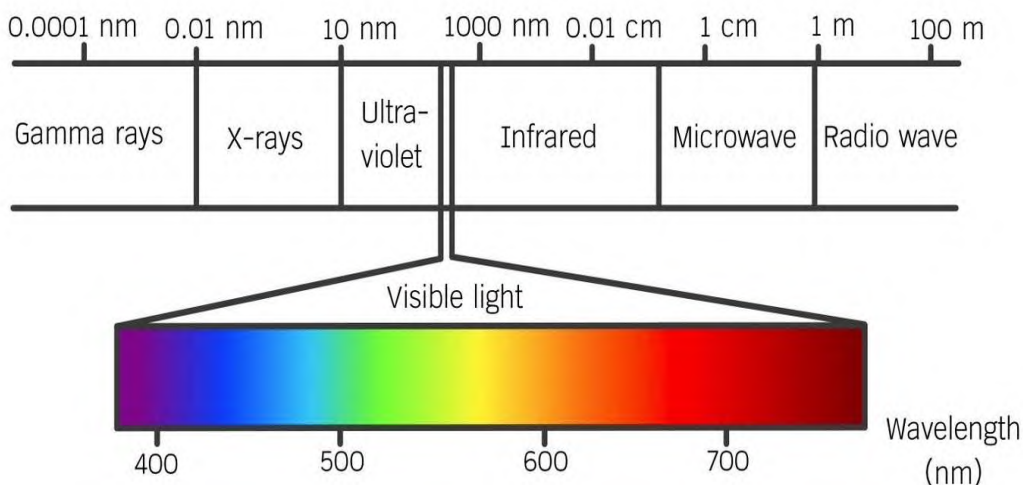


รูปที่ 1.2 แผนภาพอย่างง่ายแสดงระดับพลังงานของอิเล็กตรอน E_0 เป็นสถานะพื้น (ground state) มีพลังงานต่ำสุด E_1 และ E_2 เป็นสถานะกระตุ้น (excited state) โดย E_2 มีพลังงานสูงกว่า E_1

เมื่อพิจารณาสมบัติทางคลื่น คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าจะมีลักษณะเฉพาะที่เป็น สมบัติต่าง ๆ เช่น ความเร็ว (velocity) แอมพลิจูด (amplitude) ความถี่ (frequency) มุมเฟส (phase angle; มุมที่ใช้กำหนดตำแหน่งบนคลื่นขณะที่เคลื่อนที่) โพลาไรเซชัน (polarization; กระบวนการที่จำกัดให้สนามไฟฟ้าของคลื่นแสงสั้นในระนาบเดียว) และทิศทางการเคลื่อนที่ของคลื่น (direction of propagation) ส่วนความเข้มแสง (intensity) คือฟลักซ์ของพลังงานแสงที่ส่งมาต่อหน่วยพื้นที่ในหนึ่งหน่วยเวลา จะเห็นว่าสมบัติที่กล่าวมาความเข้มแสงเป็นสมบัติเดียวที่เกี่ยวข้องกับพลังงานของแสง หรือคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า ดังนั้นเมื่อความเข้มแสงมีการเปลี่ยนแปลงแสดงว่าพลังงานของแสงจะเปลี่ยนด้วย

รังสีแม่เหล็กไฟฟ้ามีความยาวคลื่นอยู่ในช่วงตั้งแต่ 10^{-13} - 10^2 m หรือ 0.0001 nm - 100 m แบ่งเป็นช่วงความยาวคลื่น มีชื่อเรียกต่าง ๆ กัน ได้แก่ รังสีแกมมา (γ -ray) รังสีเอกซ์ (X-ray) รังสีเหนือม่วง หรืออัลตราไวโอเล็ต (ultraviolet radiation)

รังสีวิสิเบิล (visible radiation) รังสีใต้แดง หรืออินฟราเรด (infrared radiation) รังสีไมโครเวฟ (microwave radiation) และคลื่นวิทยุ (radio wave) เรียงตามความถี่สูงไปหาต่ำ หรือเรียงตามความยาวคลื่นต่ำไปหาความยาวคลื่นสูงดังในรูปที่ 1.3



รูปที่ 1.3 สเปกตรัมคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าแบ่งตามความยาวคลื่น

รังสีแม่เหล็กไฟฟ้าที่ความยาวคลื่นต่างกัน เมื่อตกกระทบสารจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่ต่างกัน ถ้าความยาวคลื่นสั้น พลังงานจะสูง สามารถทำให้อิเล็กตรอนขึ้นไปอยู่ในระดับพลังงานที่สูงขึ้น หรือ สามารถทำให้อิเล็กตรอนวงใน (core electron) หลุดออกมาจากอะตอมได้อย่างเช่น รังสีเอกซ์ สำหรับแสงช่วงยูวี-วิสิเบิล จะมีพลังงานพอดีที่ทำให้อิเล็กตรอนวงนอกสุด (valence electron) เปลี่ยนสถานะขึ้นไปอยู่ในระดับพลังงานที่สูงขึ้น เรียกว่า เกิดการเปลี่ยนระดับพลังงานของอิเล็กตรอน (electronic transition) ส่วนแสงช่วงอินฟราเรด ช่วงไมโครเวฟ และคลื่นวิทยุจะมีพลังงานต่ำจึงสามารถทำได้แค่เกิดการสั่น (vibration) หรือการหมุน (rotation) ของพันธะโมเลกุล ของอิเล็กตรอนหรือของนิวเคลียสเท่านั้น

คลื่นแสงช่วงยูวี-วิสิเบิล จึงสำคัญมากเป็นช่วงคลื่นที่ใช้ในเครื่องมือทางสเปกโทรสโกปีพื้นฐาน ที่นิยมใช้สำหรับการทำปริมาณวิเคราะห์ที่จะกล่าวถึงต่อไป

ตัวอย่างที่ 1.1 เติมชื่อเรียกช่วงคลื่นและค่าที่สอดคล้องในแถวเดียวกันลงในช่องว่าง พร้อมแสดงการคำนวณมาค่าละ 1 ตัวอย่าง

ช่วงคลื่น	ความยาวคลื่น (m)	ความถี่ (s ⁻¹)	เลขคลื่น (cm ⁻¹)	พลังงาน (J)
				8.64x10 ⁻¹³
			5.00x10 ⁷	
		9.84x10 ¹⁴		
visible	6.63x10 ⁻⁷			
		2.00x10 ¹³		
			1.21	
				2.23x10 ⁻²⁶

คำตอบ

ช่วงคลื่น	ความยาวคลื่น (m)	ความถี่ (s ⁻¹)	เลขคลื่น (cm ⁻¹)	พลังงาน (J)
γ -ray	2.30x10 ⁻¹³	1.30x10 ²¹	4.35x10 ¹⁰	8.64x10⁻¹³
X-ray	2.00x10 ⁻¹⁰	1.50x10 ¹⁸	5.00x10⁷	9.94x10 ⁻¹⁶
UV	3.05x10 ⁻⁷	9.84x10¹⁴	3.28x10 ⁴	6.52x10 ⁻¹⁹
visible	6.63x10⁻⁷	4.53x10 ¹⁴	1.51x10 ⁴	3.00x10 ⁻¹⁹
IR	1.50x10 ⁻⁵	2.00x10¹³	6.67x10 ²	1.33x10 ⁻²⁰
microwave	8.29x10 ⁻³	3.62x10 ¹⁰	1.21	2.40x10 ⁻²³
radio wave	8.91	3.37x10 ⁷	1.12x10 ⁻³	2.23x10⁻²⁶

แสดงการคำนวณ

การหา λ ของรังสีแกมมา)

$$\text{ใช้สมการที่ 1.2 } E = h \frac{c}{\lambda}$$

$$\text{โดยที่ } h = 6.63 \times 10^{-34} \text{ จ}\cdot\text{s}$$

$$E = 8.64 \times 10^{-13} \text{ จ}$$

$$C = 3.00 \times 10^8 \text{ m/s}$$

แทนค่า

$$\lambda = \frac{hc}{E}$$

$$\lambda = \frac{(6.63 \times 10^{-34} \text{ จ}\cdot\text{s})(3.00 \times 10^8 \text{ m/s})}{(8.64 \times 10^{-13} \text{ จ})}$$

$$\lambda = 2.30 \times 10^{-13} \text{ m}$$

การหา V ของรังสีเอ็กซ์

$$\text{ใช้สมการที่ 1.1 } E = h\nu$$

$$\text{และสมการที่ 1.3 } E = hc\bar{V}$$

$$\text{โดยที่ } C = 3.00 \times 10^8 \text{ m/s}$$

$$\bar{V} = 5.00 \times 10^7 \text{ cm}^{-1}$$

แทนค่า

$$V = c\bar{V}$$

$$V = (3.00 \times 10^8 \text{ m/s})(5.00 \times 10^7 \text{ m}^{-1})$$

$$V = 1.50 \times 10^{16} \text{ s}^{-1}$$

การหา E ของรังสีอินฟราเรด

$$\text{ใช้สมการที่ 1.1 } E = h\nu$$

$$\text{โดยที่ } h = 6.63 \times 10^{-34} \text{ จ}\cdot\text{s}$$

$$V = 2.00 \times 10^{13} \text{ s}^{-1}$$

แทนค่า

$$E = (6.63 \times 10^{-34} \text{ จ}\cdot\text{s})(2.00 \times 10^{13} \text{ s}^{-1})$$

$$E = 1.33 \times 10^{-20} \text{ จ}$$

การหา $\bar{V}$ ของรังสีคลื่นวิทยุ

$$\text{ใช้สมการที่ 1.3 } E = hc\bar{V}$$

$$\text{โดยที่ } h = 6.63 \times 10^{-34} \text{ จ}\cdot\text{s}$$

$$C = 3.00 \times 10^8 \text{ m/s}$$

$$E = 2.23 \times 10^{-26} \text{ จ}$$

แทนค่า

$$\bar{V} = \frac{(2.23 \times 10^{-26} \text{ จ})}{(6.63 \times 10^{-34} \text{ จ}\cdot\text{s})(3.00 \times 10^8 \text{ m/s})}$$

$$\bar{V} = 1.12 \times 10^9 \text{ cm}^{-1}$$

1.2 เทคนิควิเคราะห์ทางสเปกโทรสโกปี

เมื่อคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า ตกกระทบสาร จะเกิดอันตรกิริยา (interaction) ที่ทำให้สมบัติของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าเปลี่ยนไป การวัดสมบัติที่เปลี่ยนไปนี้ ทำให้เกิดเทคนิควิเคราะห์ทางสเปกโทรสโกปี ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ เทคนิคที่วัดการเปลี่ยนความเข้มแสง หรือการเปลี่ยนแปลงพลังงาน และเทคนิคที่วัดการเปลี่ยนสมบัติอื่นของแสง

1.2.1 เทคนิคที่วัดการเปลี่ยนแปลงพลังงานหรือความเข้มของแสง

อันตรกิริยาที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงพลังงาน ได้แก่ การดูดกลืนแสง (absorption) เมื่อสารดูดกลืนแสง สารจะได้รับพลังงานจากแสง หรือเรียกว่าถูกกระตุ้น (excited) และขึ้นไปอยู่ที่สถานะกระตุ้น (excited state) ที่ระดับพลังงานสูงขึ้น หรือบางกรณีอาจเกิดแค่การสั่นหรือหมุนของโมเลกุลเท่านั้นถ้าแสงที่ดูดกลืนมีพลังงานต่ำ ส่วนการคายแสง (emission) เกิดเมื่อสารได้รับความร้อน (หรือเรียกว่าถูกกระตุ้นด้วยความร้อน: thermal excitation) ทำให้มีพลังงานสูงขึ้น และคายพลังงานออกมาในรูปแสงเพื่อกลับมาอยู่ในสถานะพื้นที่สุดยิร สำหรับอันตรกิริยาการเกิดโฟโตลูมิเนสเซนซ์ (photoluminescence) เกิดเมื่อสารถูกกระตุ้นด้วยแสง และคายพลังงานออกมาในรูปแสงเพื่อกลับมาอยู่ในสถานะพื้นที่สุดยิร เทคนิคในกลุ่มนี้แบ่งตามชนิดของอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นในแต่ละช่วงคลื่น รายละเอียดดังนี้

Absorption

- Gamma-ray: Mossbauer spectroscopy
- X-ray: X-ray absorption spectroscopy
- UV/Vis: UV/Vis spectroscopy, Atomic absorption spectroscopy
- Infrared: Infrared spectroscopy, Raman spectroscopy
- Microwave: Microwave spectroscopy, Electron spin resonance spectroscopy
- Radio waves: Nuclear magnetic resonance spectroscopy

Emission (Thermal Excitation)

- UV/Vis: Atomic emission spectroscopy

Photoluminescence

- UV/Vis: Fluorescence spectroscopy, Phosphorescence spectroscopy, Atomic fluorescence spectroscopy
- X-ray: X-ray fluorescence spectroscopy

1.2.2 เทคนิคที่วัดการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางคลื่นที่ไม่เกี่ยวกับพลังงาน

อันตรกิริยาที่ทำให้สมบัติทางคลื่นอื่น ๆ ที่กล่าวมาเบื้องต้น คือ แอมพลิจูด มุมเฟส โพลาไรเซชัน หรือทิศทางการเคลื่อนที่ของคลื่นเปลี่ยนไป ได้แก่ อันตรกิริยาที่เรียกว่า การหักเหของแสง (refraction) การสะท้อนแสง (reflection) การกระเจิงแสง (scattering) การเลี้ยวเบนของแสง (diffraction) หรือการกระจายแสง (dispersion) เทคนิคในกลุ่มนี้แบ่งตามชนิดของอันตรกิริยาในช่วงคลื่น X-ray และยูวี-วิสิเบิล ดังนี้

X-ray	Diffraction	X-ray diffraction
UV/Vis	Refraction	Refractometry
	Scattering	Nephelometry
		Turbidimetry
	Dispersion	Optical Rotary Dispersion

เทคนิคทางสเปกโทรสโกปีที่นิยมใช้กันมากในการทำปริมาณวิเคราะห์สามารถจำแนกด้วยระดับของอนุภาคที่เกิดอันตรกิริยากับคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า โดยแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ เทคนิคที่วัดในระดับโมเลกุลของสาร ได้แก่ เทคนิค uv-visible spectroscopy และเทคนิค fluorescence spectroscopy ส่วนอีกประเภทเป็นการวัดในระดับอะตอมของสาร ได้แก่ เทคนิค atomic absorption spectroscopy และเทคนิค atomic emission spectroscopy หรือ เทคนิค inductively couple plasma optical emission spectroscopy ซึ่งจะได้กล่าวถึงรายละเอียดในบทต่อไป

1.3 วิธีทำปริมาณวิเคราะห์

การหาปริมาณของสารด้วยเครื่องมือทางสเปกโทรสโกปี ใช้หลักการเหมือนการทำปริมาณวิเคราะห์เชิงเครื่องมือทั่วไปที่ต่างจากการทำปริมาณวิเคราะห์แบบดั้งเดิม อย่างการไทเทรตหรือการตกตะกอน ที่อาศัยการทำปฏิกิริยากันของสาร เป็นวิธีแบบเสร็จสมบูรณ์ในแต่ละตัวอย่าง ที่เรียกว่า absolute method ส่วนวิธีเชิงเครื่องมือเป็นวิธีแบบสัมพัทธ์ที่เรียกว่า relative method ซึ่งอาศัยความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารกับสัญญาณที่ตรวจวัดได้จากเครื่องมือ มี 2 วิธีคือ

1.3.1 วิธีกราฟมาตรฐาน (calibration curve หรือ standard curve)

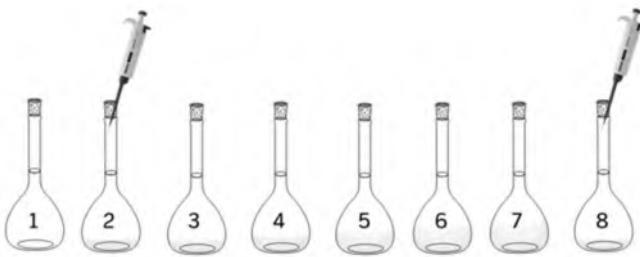
การสร้างกราฟมาตรฐานทำโดยเตรียมสารละลายมาตรฐาน 4-6 ความเข้มข้น เดิมรีเอเจนต์ ปรับปริมาตร ดังในรูป โดยเตรียมพร้อมรีเอเจนต์แบลงค์และสารตัวอย่าง

ขั้นที่ 1 เตรียมขวดวัดปริมาตร 8 ใบ

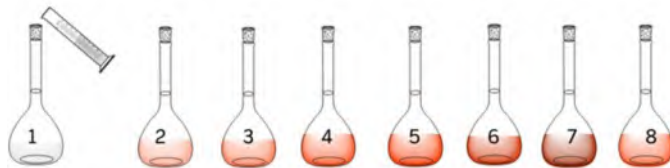


เบลนค์ /----สารละลายมาตรฐาน -----/ ตัวอย่าง

ขั้นที่ 2 บีบสารมาตรฐานลงในขวดใบที่ 2-7 และบีบตัวอย่างลงในขวดใบที่ 8



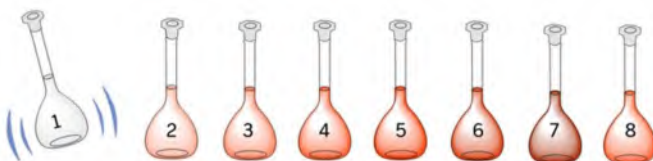
ขั้นที่ 3 เติมน้ำเอเจนต์ลงในขวดทุกใบ



ขั้นที่ 4 ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น



ขั้นที่ 5 ปิดจุกขวดวัดปริมาตร เขย่าสารละลายให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน



ปริมาณวิเคราะห์ด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปี

ขั้นที่ 6 นำสารละลายที่เตรียมได้ทั้ง 8 ขวดไปตรวจวัดด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ โดยนำสารละลายรีเอเจนต์แบลนด์ (ขวดที่ 1) เช็ทสัญญาณของเครื่องให้เป็นศูนย์ก่อนตรวจวัดสารละลายทั้งหมดที่เหลือ

ค่าสัญญาณที่ตรวจวัดได้ (เช่น ค่าการดูดกลืนแสงของสาร หรือค่าความเข้มแสงที่สารคายออกมา)ให้นำมาพลอตเป็นแกน y ส่วนแกน x เป็นค่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เตรียม จะได้สมการเส้นตรง $y = mx + b$ แสดงความสัมพันธ์ของสัญญาณและความเข้มข้นของสารมาตรฐาน จากนั้นนำสัญญาณของสารตัวอย่างที่ได้แทนค่า y ลงในสมการของกราฟมาตรฐานเพื่อหาค่าความเข้มข้นของสารในตัวอย่างนั้น

ค่า R^2 เรียกว่า ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (coefficient of determination) เป็นค่าที่แสดงว่าความเข้มข้นมีอิทธิพลทำให้สัญญาณเปลี่ยนไป มากน้อยเพียงใด เช่นในตัวอย่างที่ 1.2 ได้ค่า $R^2 = 0.9995$ คิดเป็น 99.9% ซึ่งหมายความว่า ค่าสัญญาณที่ตรวจวัดได้ สามารถใช้ทำนายความเข้มข้นได้ถูกต้อง ถึง 99.9%

นอกจากนี้โดยทั่วไปในการพลอตกราฟมาตรฐาน ค่าสัญญาณที่ได้จะมีการตรวจวัดซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้งและนำค่าเฉลี่ยมาพลอตกราฟ ส่วนค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (s หรือ sd) ของสัญญาณจะนำมาพลอตเป็น error bar ไว้ที่แต่ละจุดของกราฟตามแนวแกน y ในบทนี้จะยังไม่ได้แสดงไว้ แต่จะพบได้ในบทต่อไป

ตัวอย่างที่ 1.2 ในการหาปริมาณเหล็กในตัวอย่างของห้องเรียนปฏิบัติการเคมีวิเคราะห์แห่งหนึ่ง โดยให้ทำปฏิกิริยากับ o-phenanthroline ได้ข้อมูลดังในตาราง จงสร้างกราฟมาตรฐาน แสดงการคำนวณหาปริมาณเหล็กในตัวอย่าง (unknown) ว่ามีค่าเท่าไร