บทที่ 8
การตรวจสอบคุณสมบัติในการการดูดกลืนแสงของ Lemon และ Orange extract

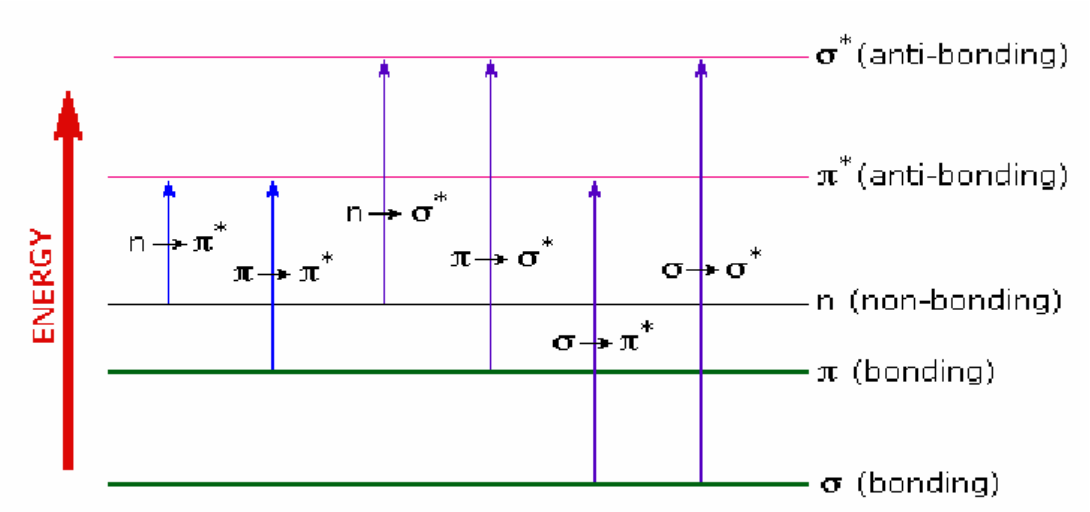
วัตถุประสงค์

เพื่อเรียนรู้วิธีการตรวจสอบคุณสมบัติในการดูดกลืนแสงของ lemon และ orange extract

---

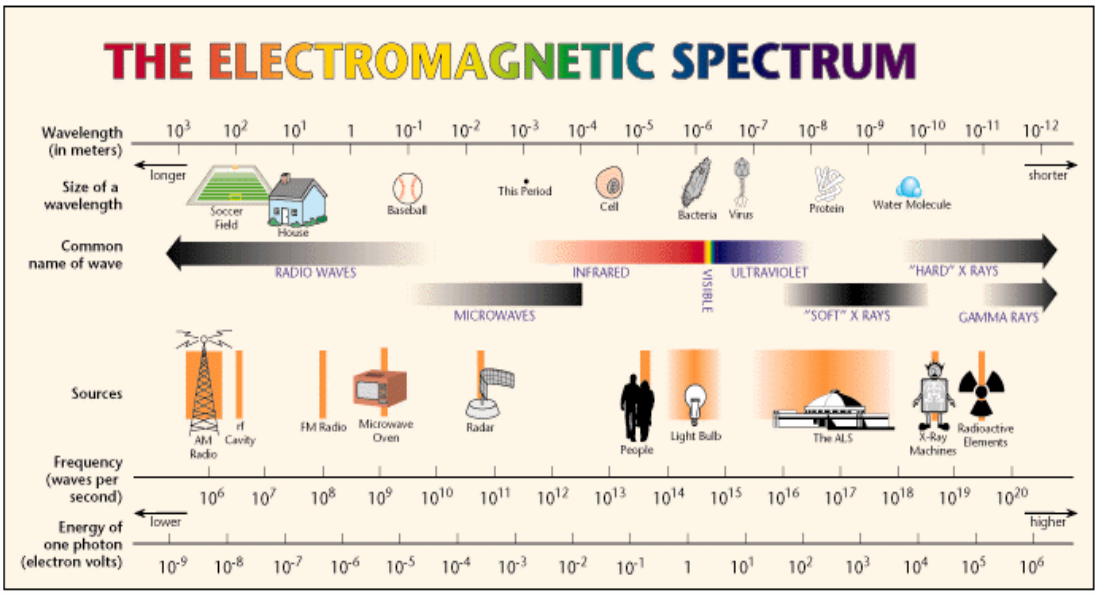
การวิเคราะห์โดยใช้ UV-Visible spectrophotometer

การวิเคราะห์โดยใช้ UV-Visible spectrophotometer จะอาศัยหลักการพื้นฐานคือเมื่อโมเลกุลได้รับพลังงานคลื่นแสงในช่วง UV-Visible อิเลคตรอนที่อยู่ภายในโมเลกุลจะถูกกระตุ้นให้มีระดับพลังงานที่สูงขึ้น

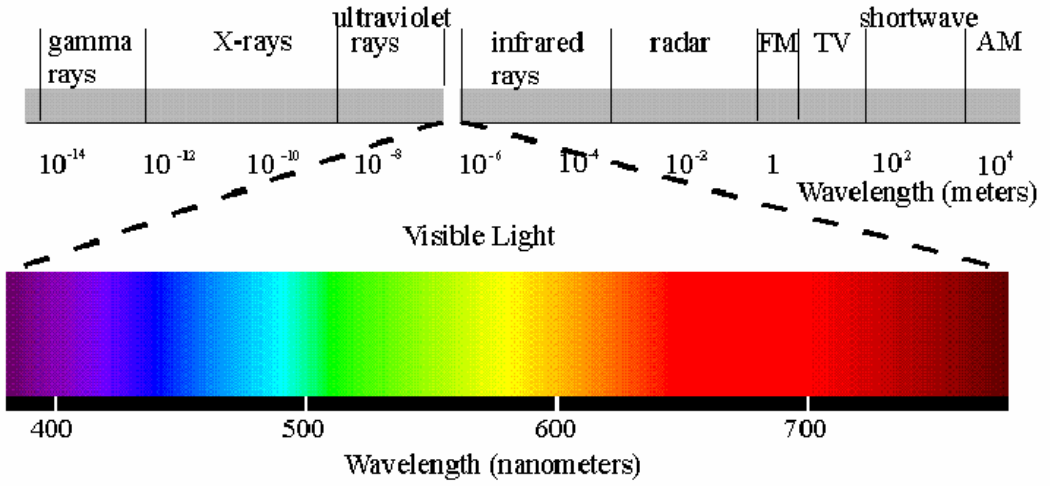


ภาพที่ 8.1 ระดับพลังงานเมื่ออิเลคตรอนที่อยู่ภายในโมเลกุลถูกกระตุ้นเมื่อได้รับพลังงานคลื่นแสงในช่วง UV-Visible

ที่มา : http://www.cem.msu.du/~reusch/VirtualText/Spectropy/UV-Vis/spectm.htm



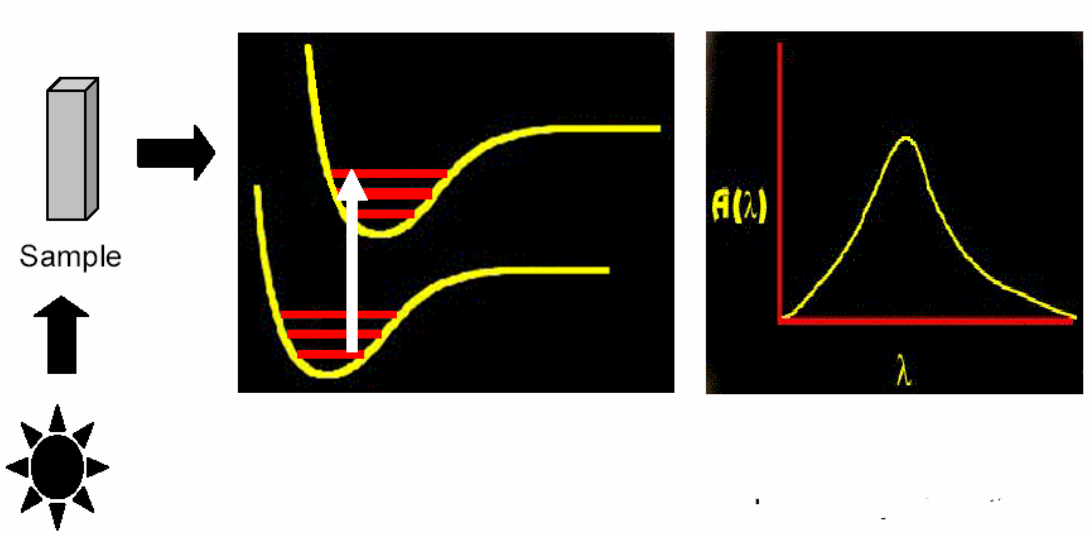
Source: http://www.lbl.gov/MicroWorlds/ALSTool/EMSpec/EMSpec2.html



ภาพที่ 8.2 ช่วงความยาวคลื่นของ electromagnetic spectrum

ที่มา : http://www.yorku.ca/eye/spectrum.gif&imgrefurl

เมื่อโมเลกุลของสารตัวอย่างได้รับพลังงานในช่วงคลื่นแสงที่ match กับ electronic transition ของ อิเลคตรอนภายในโมเลกุล พลังงานจะถูกดูดกลืนและอิเลคตรอนที่อยู่ภายในโมเลกุลจะมี higher energy orbital



ภาพที่ 8.3 การดูดกลืนแสงและการเปลี่ยนระดับพลังงานงานของอิเลคตรอนภายในโมเลกุล

ที่มา : http--bouman_chem_georgetown_edu-S02-lect10-spectrometer_gif

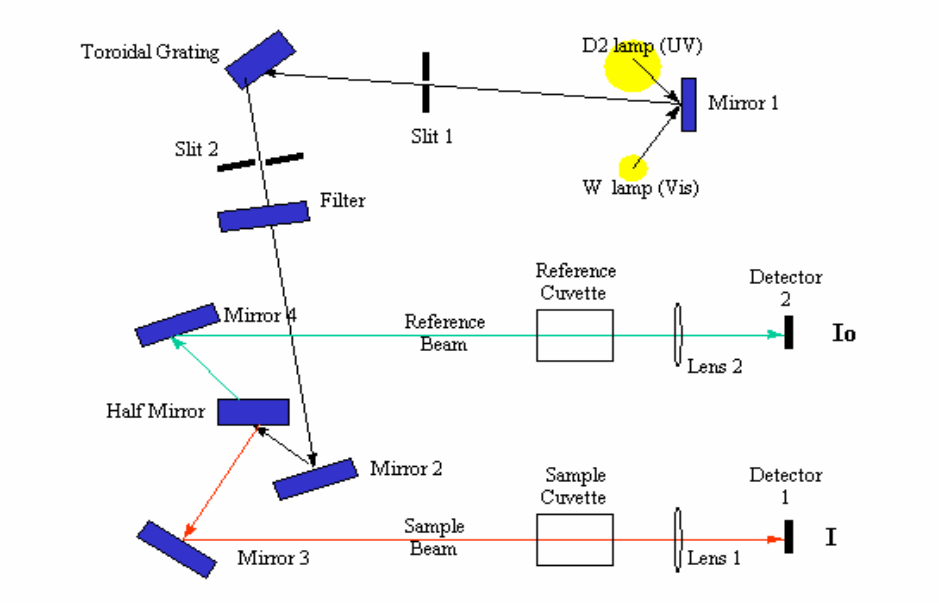
เครื่อง spectrophotometer จะ record ความยาวคลื่นที่เกิดการดูดกลืนแสงและปริมาณการดูดกลืนแสงในแต่ละความยาวคลื่น

ตารางที่ 8.1 ความสัมพันธ์ของสีและการดูดกลืนแสง

Wavelength of absorbance maximum (nm)	Color Absorbed	Color Remaining
380-420	Violet	Green-yellow
420-440	Violet-blue	Yellow
440-470	Blue	Orange
470-500	Blue-green	Red
500-520	Green	Purple
520-550	Yellow-green	Violet
550-580	Yellow	Violet-blue
580-620	Orange	Blue
620-680	Red	Blue-green
680-780	Purple	Green

ที่มา : http--bouman_chem_georgetown_edu-S02-lect10-spectrometer_gif

ภาพที่ 8.4 แสดงไดอะแกรมของ optical system ภายในเครื่อง UV-Visible spectrophotometer ซึ่งประกอบด้วยแหล่งกำเนิดแสง 2 ชนิดคือ Deuterium (D_2) lamp ซึ่งให้คลื่นแสงในช่วง UV และ Tungsten (W) lamp ซึ่งให้คลื่นแสงในช่วง visible หลักการทำงาน เมื่อแสงจากแหล่งกำเนิดแสงตกกระทบที่ mirror1 ลำแสงจะผ่านไปยัง slit และไปตกกระทบที่ diffraction grating ซึ่งอุปกรณ์ชนิดนี้จะถูกออกแบบให้สามารถหมุนเพื่อเลือกความยาวคลื่นแสงที่เฉพาะเจาะจง หลังจากนั้น monochromatic light (แสงซึ่งมีความยาวคลื่นเดียว) จะผ่านไปยัง slit และ filter จะทำหน้าที่กรองแสงที่รบกวนออก จากนั้นลำแสงจะตกกระทบ mirror 2 ก่อนที่จะสะท้อนและแบ่งออกเป็นสองส่วนโดย half mirror โดยครึ่งหนึ่งของลำแสงจะสะท้อนจะผ่านไปยัง reference cuvette (ซึ่ง



ภาพที่ 8.4 องค์ประกอบภายในของเครื่อง UV-Visible spectrophotometer

ที่มา : http--bouman_chem_georgetown_edu-S02-lect10-spectrometer_gif

การวิเคราะห์โดยใช้ UV-Visible spectrophotometer สามารถวิเคราะห์ได้ทั้งทางด้านคุณภาพและปริมาณโดย ความยาวคลื่นของแสงที่ถูกดูดกลืนจะสามารถใช้ในการ identify ชนิดของสารในขณะที่ปริมาณการดูดกลืนแสง จะใช้ในการบอกปริมาณของสารที่นำมาวิเคราะห์

การหาปริมาณของสารจะอาศัย Beer's law

A = εbc

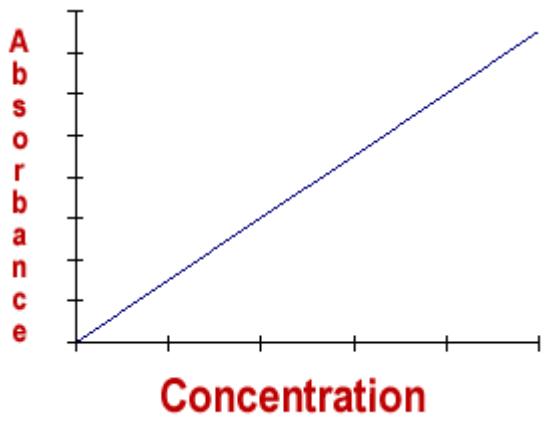
A = ค่าการดูดกลืนแสง

ε = molar absorptivity ($L.mol^{-1}.cm^{-1}$)

b = path length

c = ความเข้มข้นของสารที่นำมาวิเคราะห์ ($mol.L^{-1}$)

ในการหาปริมาณของสารจะ plot graph ความสัมพันธ์ระหว่าง ความเข้มข้นของสารที่ต้องการวิเคราะห์และค่าการดูดกลืนแสงดังแสดงในภาพที่ 8.5



ภาพที่ 8.5 การทำ calibration curve เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณของสาร

Orange และ lemon extract

องค์ประกอบทางเคมีใน orange และ lemon essential oil ประกอบไปด้วยสารประกอบ hydrocarbon, aldehyde และ alcohol ซึ่งโดยทั่วไปใน orange peel oil จะประกอบไปด้วย hydrocarbon > 97.6%, total aldehyde > 0.4% และ alcohol 0.5% ในขณะที่ lemon peel oil จะประกอบไปด้วย hydrocarbon > 95.4%, total aldehyde 1.1 % และ alcohol 0.7% โดยทั่วไป lemon peel oil จะมีปริมาณ limonene น้อยกว่า orange peel oil แต่จะมี γ-terpinene, β-pinene และ α- pinene ในปริมาณที่มากกว่า sesquiterpene hydrocarbon ใน lemon peel oil จะมีโครงสร้างที่มีความซับซ้อน และมีปริมาณที่มากกว่า orange peel oil

การทดลองนี้จะเป็นการตรวจสอบคุณสมบัติในการดูดกลืนแสงของ lemon และ orange extract ในช่วงคลื่นแสง UV

ภาพที่ 8.6 Lemon และ Orange extract

วิธีการทดลอง

- ชั่งตัวอย่างปริมาณ 1 กรัม ใส่ลงใน beaker ละลายด้วย แอลกอฮอล์ จากนั้นถ่ายสารละลายนี้ลงใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร แล้ว เจือจางด้วยแอลกอฮอล์ให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เขย่าให้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน
- ปิเปตสารละลายที่ได้ปริมาณ 25 มิลลิลิตรใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร เจือจางโดยใช้แอลกอฮอล์ เขย่าให้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน
- หาค่าการดูดกลืนแสง (A) จากสารละลายที่เตรียมได้ในช่วง UV ตั้งแต่ 260 – 375 nm โดยอ่านค่าการดูดกลืนแสงทุกช่วง 5 นาโนเมตร (nm) (5 nm interval) โดยใช้ alcohol เป็น reference (ในช่วงความยาวคลื่น 305 – 320 ให้อ่านค่าการดูดกลืนแสง ในช่วง 3 นาโนเมตร ที่ความยาวคลื่นสูงกว่า 325 ให้อ่านค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 10 นาโนเมตร)
- พล๊อตกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง ค่าการดูดกลืนแสง (แกน y) และความยาวคลื่น (แกน x)

ภาพที่ 8.7 UV-VISIBLE Spectrophotometer (Shimadzu UV-160A)

วิธีการใช้เครื่อง UV-VISIBLE Spectrophotometer (Shimadzu UV-160A) ในการ scan absorption spectrum

1. เปิด switch เครื่อง UV-VISIBLE Spectrophotometer ซึ่งอยู่บริเวณด้านข้างของเครื่อง จากนั้นรอประมาณ 3 นาที หน้าจอของเครื่องจะแสดง basic mode menu
2. ในกรณีที่ต้องการ scan spectrum การดูดกลืนแสงให้เลือก mode 2 โดยกดเลข 2 แล้วกด Enter
   - หน้าจอจะขึ้นหน้า spectrum โดยเครื่องจะถาม parameter change y/n?
   - ในกรณีที่ต้องการตั้งค่าความยาวคลื่นที่ต้องการ scan ให้กด yes จากนั้นกด 1 แล้วกด enter ทำการ set ช่วงความยาวคลื่นที่ต้องการ scan โดยในการทดลองนี้ให้ตั้งค่า λ_S ที่ 375 นาโนเมตร และ λ_E ที่ 200 นาโนเมตร แล้วกด Enter
   - หน้าจอจะขึ้นหน้า spectrum โดยเครื่องจะถาม parameter change y/n?
   - ทำการเลือก mode การ scan โดยกด 2 แล้วเลือกค่าการวัดคือ ABS จากนั้นกด Enter
   - หน้าจอจะขึ้นหน้า spectrum โดยเครื่องจะถาม parameter change y/n?
   - ทำการเลือก scan speed โดยเลือกให้เป็น medium แล้วกด Enter
   - หน้าจอจะขึ้นหน้า spectrum โดยเครื่องจะถาม parameter change y/n?

   เมื่อทำการเลือกค่า parameter ต่างๆเรียบร้อยแล้วให้กด start เครื่องจะทำการ scan absorption spectrum ตามช่วงความยาวคลื่นที่ set ไว้
3. เมื่อเครื่อง scan เสร็จเรียบร้อยแล้ว หน้าจอจะขึ้น Data processing y/n ? ให้กด yes แล้วกด print เครื่องจะถามว่าจะให้ print ข้อมูลการดูดกลืนแสงที่ช่วงความยาวคลื่นกี่นาโนเมตร ให้ตั้งไว้ที่ 1 นาโนเมตร แล้วกด Enter เครื่องจะพิมพ์ข้อมูลการดูดกลืนแสงตั้งแต่ความยาวคลื่น 200 นาโนเมตรจนถึง 375 นาโนเมตร
4. นำข้อมูลที่ได้มากรอกค่าการดูดกลืนแสงตามความยาวคลื่นที่ระบุในตารางบันทึกผลการทดลอง

การบันทึกผลการทดลอง

ความยาวคลื่น (nm)	ค่าการดูดกลืนแสง	
	Orange extract	Lemon Extract
200		
205		
210		
215		
220		
225		
230		
235		
240		
245		
250		
255		
260		
265		
270		
275		
280		
285		
290		
295		
300		
305		

ความยาวคลื่น (nm)	ค่าการดูดกลืนแสง	
	Orange extract	Lemon Extract
308		
311		
314		
317		
320		
323		
325		
335		
345		
355		
365		
375		

การรายงานผลการทดลอง

- พล๊อตกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง ค่าการดูดกลืนแสง (แกน y) และความยาวคลื่น (แกน x) ของ lemon และ orange extract โดย plot ให้อยู่ในแผ่นเดียวกัน
- รายงานจำนวน peak และ maximum wavelength ของการดูดกลืนแสงในช่วง UV ของทั้ง lemon และ orange extract