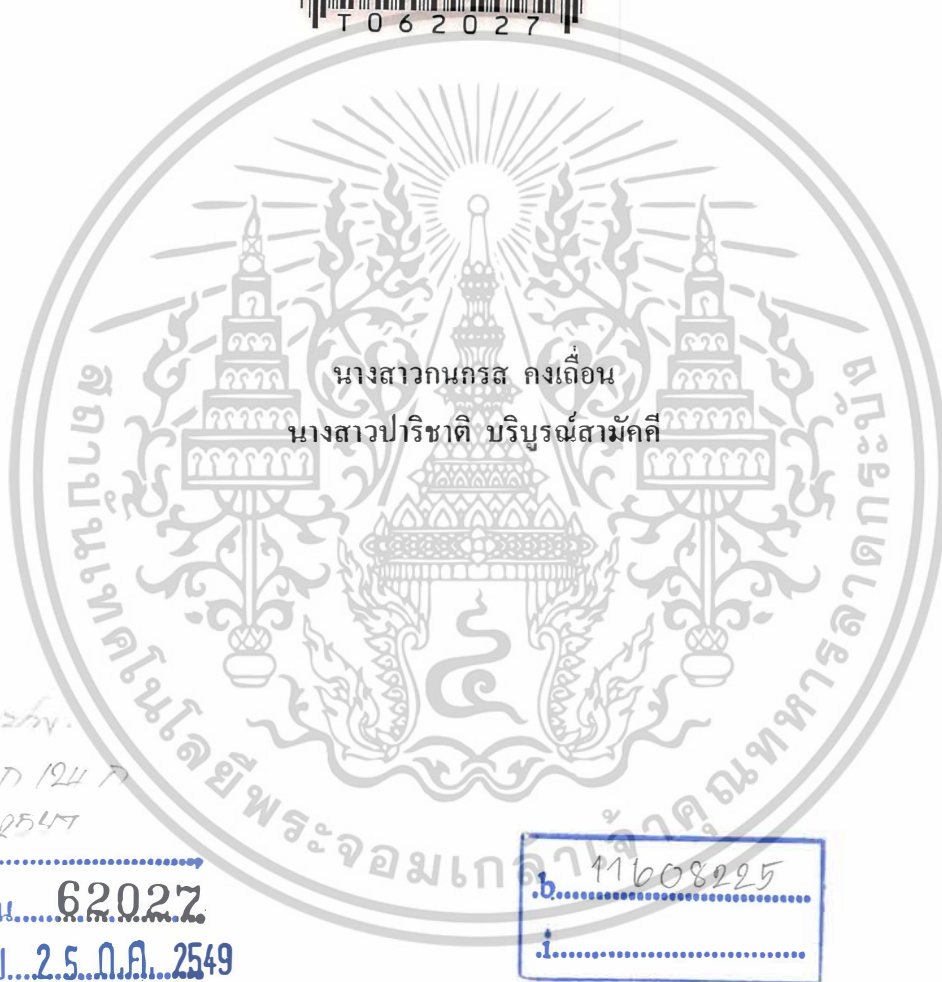


สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การปรับปรุงความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ของแอล-ไทโรซีน
และแอล-เฟนิลอะลานีนด้วยบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน



เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....62027
วัน,เดือน,ปี...2.5..ค.ค..2549

b. 11608225
i.

โครงการพิเศษเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2547

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**An Improvement of Fluorescence Intensity of L-tyrosine and
L-phenylalanine by β -cyclodextrin**



**Miss Kanokrod Kongthun
Miss Parichat Boriboonsamakkee**

**A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement for the Degree
of Bachelor of Science
Department of Chemistry
Faculty of Science
King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang
Academic Year 2004**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงการพิเศษเรื่อง การปรับปรุงความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ของแอล-ไทโรซีน และแอล-ฟีนิลอะลานีนด้วยบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน
An Improvement of Fluorescence Intensity of L-tyrosine and L-phenylalanine by β -cyclodextrin

นักศึกษานางสาวกนกกรส คงเดือน
นางสาวปาริชาติ บริบูรณ์สามัคคี

ภาควิชาเคมี

สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์

ปีการศึกษา 2547

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.สุวรรณ ไชยสิทธิ์

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้
โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

| คณะกรรมการตรวจสอบ | ลายมือชื่อ |
|--------------------------------------|--|
| ประธานกรรมการ รศ.อรุณี คงศักดิ์ไพศาล |  |
| กรรมการ ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ |  |
| กรรมการ ผศ.ดร.สุวรรณ ไชยสิทธิ์ |  |



(ผศ.ดร.ประยงค์ ดวงดี)

หัวหน้าภาควิชาเคมี

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | |
|--------------------|--|
| โครงการพิเศษเรื่อง | การปรับปรุงความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ของแอล-ไทโรซีน และแอล-ฟีนิลอะลานีนด้วยบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน |
| นักศึกษา | นางสาวกนกกรส กงเถื่อน นางสาวปาริชาติ บริบูรณ์สามัคคี |
| ภาควิชา | เคมี คณะวิทยาศาสตร์ |
| สาขาวิชา | เคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์ |
| ปีการศึกษา | 2547 |
| อาจารย์ที่ปรึกษา | ผศ.ดร.สุวรรณ ไชยสิทธิ์ |

บทคัดย่อ

โครงการพิเศษนี้ได้นำบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินมาใช้ในการปรับปรุงความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ของแอล-ไทโรซีนและแอล-ฟีนิลอะลานีน โดยใช้เทคนิคทางฟลูออโรเมตรีในการวัดความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ โดยได้ใช้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ความเข้มข้น 0.1 M เป็นตัวควบคุมสภาวะความเป็นกรด และได้ทำการเปรียบเทียบความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ที่ตรวจวัดได้ระหว่างที่มีและไม่มีบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน พบว่าจากการตรวจวัดแอล-ไทโรซีนและแอล-ฟีนิลอะลานีน ที่มีและไม่มีบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน จะให้ค่าความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 302 นาโนเมตร และ 281 นาโนเมตร ตามลำดับ ซึ่ดจำกัดของการตรวจวัดสำหรับแอล-ไทโรซีนที่มีและไม่มีบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน คือ 0.20 และ 0.22 ppm ตามลำดับ และสำหรับแอล-ฟีนิลอะลานีน คือ 5.78 และ 6.08 ppm ตามลำดับ ช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงที่สามารถตรวจวัดได้ของแอล-ไทโรซีนและแอล-ฟีนิลอะลานีน ในกรณีที่มีและไม่มีบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน มีค่าเท่ากับ 0 - 40 ppm ($r^2 = 0.99$) และ 0 - 200 ppm ($r^2 = 1.00$) ตามลำดับ ร้อยละของการคืนกลับได้ของแอล-ไทโรซีนที่มีและไม่มีบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน มีค่าเท่ากับ 105.63 และ 107.07 % ตามลำดับ และสำหรับแอล-ฟีนิลอะลานีน มีค่าเท่ากับ 106.59 และ 108.89 % ตามลำดับ

| | |
|--------------------------------|---|
| Project title | An Improvement of Fluorescence Intensity of L-tyrosine and L-phenylalanine by β -cyclodextrin |
| Name | Miss Kanokrod Kongthun Miss Parichat Boriboonsamakkee |
| Department | Chemistry Faculty of Science |
| Programme | Industrial Chemistry-Analytical Instrumentation |
| Year | 2004 |
| Special Project Advisor | Asst. Prof. Dr. Suwan Chaiyasith |

ABSTRACT

In this special project, β -cyclodextrin were used to improve fluorescence intensity of L-tyrosine and L-phenylalanine. Fluorescence intensity was measured by Spectrofluorometric technique. Phosphate buffer 0.1 M pH 4.0 were used in these experiment. Fluorescence intensity of L-tyrosine and L-phenylalanine with and without β -cyclodextrin were measured 302 nm and 281 nm, respectively. Limit of detection for L-tyrosine with and without β -cyclodextrin were 0.20 and 0.22 ppm, respectively. And for L-phenylalanine were 5.78 and 6.08 ppm, respectively. Linear range of L-tyrosine and L-phenylalanine with and without β -cyclodextrin were 0-40 ppm ($r^2 = 0.99$) and 0-200 ppm ($r^2 = 1.00$), respectively. Recovery percentage for L-tyrosine with and without β -cyclodextrin were 105.63 and 107.0 %, respectively. And for L-phenylalanine were 106.59 and 108.89 %, respectively.

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษสามารถลุล่วงไปด้วยดีในครั้งนี้ สืบเนื่องมาจากความร่วมมือและความกรุณาของทุกๆ ท่าน ทั้งอาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.สุวรรณ ไชยสิทธิ์ ที่กรุณาติดตาม ตรวจสอบ ดูแลเอาใจใส่เป็นอย่างดี จนโครงการพิเศษนี้สามารถลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณ รศ.อรุณี คงศักดิ์ไพศาล และ ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ ที่ให้คำปรึกษาในด้านต่างๆ รวมถึงอาจารย์ภาคเคมีทุกท่านที่ไม่ได้กล่าวถึง อีกทั้งเจ้าหน้าที่และนักวิทยาศาสตร์ภาคเคมีที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้อุปกรณ์วิทยาศาสตร์และคำปรึกษาที่ดี รวมถึงเจ้าหน้าที่และอาจารย์ภาควิชาฟิสิกส์ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องมือ รวมถึงเจ้าหน้าที่ในห้องปฏิบัติการ และเจ้าหน้าที่ฝ่ายธุรการภาคเคมีทุกๆ ท่าน

ขอขอบคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ญาติพี่น้อง เพื่อนๆ รวมถึงรุ่นพี่ รุ่นน้องทุกๆ คนที่ให้การกำลังใจและช่วยเหลือในทุกๆ ด้านจนโครงการพิเศษนี้สำเร็จในที่สุด

นางสาวกนกกรส คงเดือน

นางสาวปารีชาติ บริบูรณ์สามัคคี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

| | หน้า |
|---|------|
| บทคัดย่อภาษาไทย..... | I |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... | II |
| กิตติกรรมประกาศ..... | III |
| สารบัญ..... | IV |
| สารบัญตาราง..... | VIII |
| สารบัญรูป..... | XI |
| บทที่ 1 บทนำ..... | 1 |
| 1.1 ที่มาและความสำคัญของโครงการพิเศษ..... | 1 |
| 1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการพิเศษ..... | 2 |
| 1.3 ขอบเขตการศึกษาของโครงการพิเศษ..... | 2 |
| 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... | 3 |
| บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ..... | 4 |
| 2.1 การวิเคราะห์เชิงฟลูออโรเมทรี..... | 4 |
| 2.2 โซโคลดอกซ์ทริน..... | 20 |
| 2.3 แอล-ไทโรซีน..... | 25 |
| 2.4 แอล-เฟนิลอะลานีน..... | 26 |
| 2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... | 27 |
| บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย..... | 29 |
| 3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ..... | 29 |
| 3.2 สารเคมี..... | 29 |
| 3.3 ขั้นตอนการวิจัย..... | 30 |
| 3.3.1 การเตรียมสารละลาย..... | 30 |
| 3.3.1.1 การเตรียมสารละลายสโตอิกมาตรฐานแอล-ไทโรซีน เข้มข้น 100 ppm..... | 30 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

| | หน้า |
|---|------|
| 3.3.1.2 การเตรียมสารละลายสต็อกมาตรฐานแอล-เฟนิลอะลานีน เข้มข้น 1000 ppm..... | 30 |
| 3.3.1.3 การเตรียมสารละลายสต็อกมาตรฐานบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน เข้มข้น 5000 ppm..... | 30 |
| 3.4 วิธีการทดลอง | |
| 3.4.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดแอล-ไทโรซีน และแอล-เฟนิลอะลานีนด้วยเทคนิคทางฟลูออโรเมทรี..... | 30 |
| 3.4.1.1 การศึกษาหาความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการดูดกลืนแสง และการคายแสง..... | 30 |
| 3.4.1.2 การศึกษา pH ที่เหมาะสมต่อการตรวจวัดแอล-ไทโรซีน และแอล-เฟนิลอะลานีน..... | 31 |
| 3.4.1.3 การศึกษาความเข้มข้นของสารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์ ที่เหมาะสมต่อการตรวจวัดแอล-ไทโรซีน และแอล-เฟนิล อะลานีน..... | 31 |
| 3.4.2 การศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในการ ตรวจวัดแอล-ไทโรซีน และแอล-เฟนิลอะลานีน..... | 31 |
| 3.4.3 การตรวจสอบความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์..... | 32 |
| 3.4.3.1 ศึกษาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง (Linearity)..... | 32 |
| 3.4.3.2 ศึกษาความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (Limit of detection)..... | 32 |
| 3.4.3.3 ศึกษาความเที่ยงตรง (Precision) ของวิธีวิเคราะห์..... | 33 |
| 3.4.4 การวิเคราะห์หาปริมาณแอล-ไทโรซีน และแอล-เฟนิลอะลานีน ในตัวอย่างยา..... | 33 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

| | หน้า |
|---|------|
| บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล..... | 37 |
| 4.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดแอล-ไทโรซีน และ แอล-เฟนิลอะลานีนด้วยเทคนิคทางฟลูออโรเมทรี..... | 37 |
| 4.1.1 การศึกษาหาความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการดูดกลืนแสง และ การคายแสง..... | 37 |
| 4.1.2 การศึกษา pH ที่เหมาะสมต่อการตรวจวัดแอล-ไทโรซีน และ แอล-เฟนิลอะลานีน..... | 39 |
| 4.1.3 การศึกษาความเข้มข้นของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่เหมาะสม ต่อการตรวจวัดแอล-ไทโรซีน และแอล-เฟนิลอะลานีน..... | 40 |
| 4.2 การศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในการตรวจวัด แอล-ไทโรซีน และแอล-เฟนิลอะลานีน..... | 42 |
| 4.3 การตรวจสอบความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์..... | 44 |
| 4.3.1 ศึกษาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง (Linearity)..... | 44 |
| 4.3.1.1 สารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีน..... | 44 |
| 4.3.1.2 สารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-ไทโรซีน กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน..... | 45 |
| 4.3.1.3 สารละลายมาตรฐานแอล-เฟนิลอะลานีน..... | 46 |
| 4.3.1.4 สารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-เฟนิลอะลานีน กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน..... | 47 |
| 4.3.2 ศึกษาความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (Limit of detection)..... | 48 |
| 4.3.3 ศึกษาความเที่ยงตรง (Precision) ของวิธีวิเคราะห์..... | 48 |
| 4.3.3.1 สารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีน..... | 48 |
| 4.3.3.2 สารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-ไทโรซีน กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน..... | 49 |
| 4.3.3.3 สารละลายมาตรฐานแอล-เฟนิลอะลานีน..... | 50 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

| | หน้า |
|--|------|
| 4.3.3.4 สารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-เฟนิลอะลานีน กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน..... | 50 |
| 4.4 การวิเคราะห์หาปริมาณแอล-ไทโรซีน และแอล-เฟนิลอะลานีน ในตัวอย่างยา..... | 52 |
| บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ..... | 53 |
| 5.1 สรุปผลการวิจัย..... | 53 |
| เอกสารอ้างอิง..... | 55 |
| ภาคผนวก..... | 57 |
| ภาคผนวก ก. การเตรียมสารเคมี..... | 57 |
| ภาคผนวก ข. ผลการทดลอง..... | 59 |
| ภาคผนวก ค. การคำนวณขีดจำกัดในการตรวจวัด..... | 71 |
| ภาคผนวก ง. การวิเคราะห์หาปริมาณแอล-ไทโรซีนและแอล-เฟนิลอะลานีน ในตัวอย่างยา..... | 75 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

| ตารางที่ | หน้า |
|---|------|
| 2.1 ผลของหมู่แทนที่กับการฟลูออเรสเซนซ์..... | 8 |
| 2.2 ลักษณะทางกายภาพที่สำคัญของไซโคลเดกซ์ทริน..... | 21 |
| 3.1 ปริมาณสารละลายที่ใช้ในการเตรียมสารละลายตัวอย่างสำหรับการตรวจวัดปริมาณแอล-ไทโรซีนด้วยวิธีเติมสารละลายมาตรฐาน..... | 34 |
| 3.2 ปริมาณสารละลายที่ใช้ในการเตรียมสารละลายตัวอย่างสำหรับการตรวจวัดปริมาณแอล-ไทโรซีนด้วยวิธีเติมสารละลายมาตรฐาน (แบบเติมบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน)..... | 34 |
| 3.3 ปริมาณสารละลายที่ใช้ในการเตรียมสารละลายตัวอย่างสำหรับการตรวจวัดปริมาณแอล-ฟีนิลอะลานีนด้วยวิธีเติมสารละลายมาตรฐาน..... | 35 |
| 3.4 ปริมาณสารละลายที่ใช้ในการเตรียมสารละลายตัวอย่างสำหรับการตรวจวัดปริมาณแอล-ฟีนิลอะลานีนด้วยวิธีเติมสารละลายมาตรฐาน (แบบเติมบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน)..... | 38 |
| 4.1 ความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการดูดกลืนแสง และการคายแสงของสารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีน และแอล-ฟีนิลอะลานีน..... | 36 |
| 4.2 ความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้..... | 48 |
| 4.3 ผลการคำนวณการวิเคราะห์หาปริมาณแอล-ไทโรซีนในตัวอย่าง GNC L- tyrosine. | 52 |
| 4.4 ผลการคำนวณการวิเคราะห์หาปริมาณแอล-ฟีนิลอะลานีนในตัวอย่างยา GNC L- phenylalanine..... | 52 |
| ข.1 ผลของความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีน เข้มข้น 10 ppm ในสารละลาย 0.2 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH ต่างๆ..... | 59 |
| ข.2 ผลของความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานแอล-ฟีนิลอะลานีน เข้มข้น 100 ppm ในสารละลาย 0.2 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH ต่างๆ..... | 59 |
| ข.3 ผลของความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีน เข้มข้น 10 ppm ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ที่ความเข้มข้นต่างๆ..... | 60 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

| ตารางที่ | หน้า |
|--|------|
| ข.4 ผลของความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานแอล-ฟีนิลอะลานีน เข้มข้น 100 ppm ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ที่ความเข้มข้นต่างๆ.... | 60 |
| ข.5 ผลของความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานผสมระหว่าง แอล-ไทโรซีน เข้มข้น 10 ppm กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินที่ความเข้มข้นต่างๆ ในสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 (ครั้งที่ 1)..... | 61 |
| ข.6 ผลของความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานผสมระหว่าง แอล-ไทโรซีน เข้มข้น 10 ppm กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินที่ความเข้มข้นต่างๆ ในสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 (ครั้งที่ 2)..... | 62 |
| ข.7 ผลของความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานผสมระหว่าง แอล-ฟีนิลอะลานีน เข้มข้น 100 ppm กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินที่ความ เข้มข้นต่างๆ ในสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 (ครั้งที่ 1)..... | 63 |
| ข.8 ผลของความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานผสมระหว่าง แอล-ฟีนิลอะลานีน เข้มข้น 100 ppm กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินที่ความ เข้มข้นต่างๆ ในสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 (ครั้งที่ 2)..... | 64 |
| ข.9 ผลของความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีน ความเข้มข้นต่างๆ ในสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0..... | 65 |
| ข.10 ผลของความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานผสมระหว่าง แอล-ไทโรซีน ความเข้มข้นต่างๆ กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินที่ความเข้มข้น 80 ppm ในสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0..... | 65 |
| ข.11 ผลของความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานแอล-ฟีนิลอะลานีน ความเข้มข้นต่างๆ ในสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0..... | 66 |
| ข.12 ผลของความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานผสมระหว่าง แอล-ฟีนิลอะลานีน ความเข้มข้นต่างๆ กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินที่ความ เข้มข้น 900 ppm ในสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0..... | 66 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

| ตารางที่ | หน้า |
|--|------|
| ข.13 ผลของความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีน เข้มข้น 10 ppm ในสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0..... | 67 |
| ข.14 ผลของความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานผสมระหว่าง แอล-ไทโรซีน เข้มข้น 10 ppm กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ความเข้มข้น 80 ppm ในสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0..... | 68 |
| ข.15 ผลของความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานแอล-เฟนิลอะลานีน เข้มข้น 100 ppm ในสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0..... | 69 |
| ข.16 ผลของความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานผสมระหว่าง แอล-เฟนิลอะลานีน เข้มข้น 100 ppm กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ความเข้มข้น 900 ppm ในสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0..... | 70 |
| ค.1 ความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ด้วยเทคนิคทางฟลูออโรเมทรี โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 271 นาโนเมตร..... | 72 |
| ค.2 ความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ด้วยเทคนิคทางฟลูออโรเมทรี โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 254 นาโนเมตร..... | 73 |
| ง.1 ผลของความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดตัวอย่างยา GNC L-tyrosine ในสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0..... | 75 |
| ง.2 ผลของความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดตัวอย่างยา GNC L-tyrosine ในสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 (แบบเติมบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน)..... | 75 |
| ง.3 ผลของความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดตัวอย่างยา GNC L-phenylalanine ในสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0..... | 76 |
| ง.4 ผลของความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดตัวอย่างยา GNC L-phenylalanine ในสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 (แบบเติมบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน)..... | 76 |
| ง.5 สรุปสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ สารมาตรฐานกับความเข้มแสงที่ตรวจวัดได้..... | 79 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

| รูปที่ | หน้า |
|--|------|
| 2.1 แผนภาพการเกิดฟลูออเรสเซนซ์เมื่อกระตุ้นด้วยแสงความเข้ม P_0 | 9 |
| 2.2 การเกิดฟลูออเรสเซนซ์ของฟีนอลในน้ำ (สารละลายมีพีเอช 6.5) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์กับความเข้มข้น ความยาวคลื่นที่ใช้กระตุ้น 290 นาโนเมตร และวัดการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ที่ 330 นาโนเมตร..... | 12 |
| 2.3 การจัดเครื่องมือที่ใช้วัดการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ทั่วไป..... | 17 |
| 2.4 เซลล์สำหรับวัดการเกิดฟลูออเรสเซนซ์..... | 19 |
| 2.5 โครงสร้างทางเคมีของแอลฟา และบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน..... | 20 |
| 2.6 ปริมาตรช่องว่างภายในของแอลฟา, บีต้า และแกมมา-ไซโคลเดกซ์ทริน..... | 21 |
| 2.7 ลักษณะภายนอกของไซโคลเดกซ์ทริน..... | 22 |
| 2.8 โครงสร้างของแอล-ไทโรซีน..... | 25 |
| 2.9 โครงสร้างของแอล-เฟนิลอะลานีน..... | 26 |
| 4.1 สเปกตรัมของสารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีน เข้มข้น 10 ppm ที่ได้จากการทดลองตั้งค่าความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสงค่าต่างๆ..... | 37 |
| 4.2 สเปกตรัมของสารละลายมาตรฐานแอล-เฟนิลอะลานีน เข้มข้น 100 ppm ที่ได้จากการทดลองตั้งค่าความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสงค่าต่างๆ..... | 38 |
| 4.3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสง ที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีน เข้มข้น 10 ppm ในสารละลาย 0.2 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ และค่า pH ตั้งแต่ 2.0 ถึง 8.0..... | 39 |
| 4.4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสง ที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานแอล-เฟนิลอะลานีน เข้มข้น 100 ppm ในสารละลาย 0.2 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ และค่า pH ตั้งแต่ 2.0 ถึง 8.0..... | 40 |
| 4.5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสง ที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีน ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ที่ความเข้มข้นต่างๆ ตั้งแต่ 0.1 ถึง 0.5 M..... | 41 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญญรูป (ต่อ)

| รูปที่ | หน้า |
|--|------|
| 4.6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสง ที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานแอล-เฟนิลอะลานีน ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ที่ความเข้มข้นต่างๆ ตั้งแต่ 0.1 ถึง 0.5 M..... | 41 |
| 4.7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสง ที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-ไทโรซีน เข้มข้น 10 ppm กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ที่ความเข้มข้นต่างๆ ตั้งแต่ 10 ถึง 180 ppm ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ความเข้มข้น 0.1 M..... | 42 |
| 4.8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสง ที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-เฟนิลอะลานีน เข้มข้น 100 ppm กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินที่ความเข้มข้นต่างๆ ตั้งแต่ 100 ถึง 1300 ppm ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ความเข้มข้น 0.1 M..... | 43 |
| 4.9 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสง กับความเข้มข้นในช่วงที่เป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีน ตั้งแต่ 0 ถึง 40 ppm ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ความเข้มข้น 0.1 M..... | 44 |
| 4.10 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสง กับความเข้มข้นในช่วงที่เป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-ไทโรซีน ความเข้มข้น 0 ถึง 40 ppm กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ความเข้มข้น 80 ppm ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ความเข้มข้น 0.1 M..... | 45 |
| 4.11 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสง กับความเข้มข้นในช่วงที่เป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานแอล-เฟนิลอะลานีน ตั้งแต่ 0 ถึง 350 ppm ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ความเข้มข้น 0.1 M..... | 46 |

สารบัญรูป (ต่อ)

| รูปที่ | หน้า |
|---|------|
| 4.12 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสง กับความเข้มข้นในช่วงที่เป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานแอล-ฟีนิลอะลานีน ความเข้มข้น 0 ถึง 350 ppm กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ความเข้มข้น 900 ppm ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ความเข้มข้น 0.1 M..... | 47 |
| 4.13 กราฟแสดงความเข้มแสง ที่ตรวจวัดได้จากสารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีน เข้มข้น 10 ppm ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ความเข้มข้น 0.1 M (ตรวจวัดสารละลายเดิมซ้ำ 15 ครั้ง)..... | 48 |
| 4.14 กราฟแสดงความเข้มแสงที่ตรวจวัดได้จากสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-ไทโรซีน เข้มข้น 10 ppm กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน เข้มข้น 80 ppm ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ความเข้มข้น 0.1 M (ตรวจวัดสารละลายเดิมซ้ำ 15 ครั้ง)..... | 49 |
| 4.15 กราฟแสดงความเข้มแสงที่ตรวจวัดได้จากสารละลายมาตรฐานแอล-ฟีนิลอะลานีน เข้มข้น 100 ppm ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ความเข้มข้น 0.1 M (ตรวจวัดสารละลายเดิมซ้ำ 15 ครั้ง)..... | 50 |
| 4.16 กราฟแสดงความเข้มแสงที่ตรวจวัดได้จากสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-ฟีนิลอะลานีน เข้มข้น 100 ppm กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน เข้มข้น 900 ppm ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ความเข้มข้น 0.1 M (ตรวจวัดสารละลายเดิมซ้ำ 15 ครั้ง)..... | 51 |
| ง.1 กราฟการหาปริมาณแอล-ไทโรซีนในตัวอย่างยา GNC L-tyrosine ด้วยวิธีเดิมสารละลายมาตรฐาน โดยใช้เทคนิคทางฟลูออโรเมทรี..... | 77 |
| ง.2 กราฟการหาปริมาณแอล-ไทโรซีนในตัวอย่างยา GNC L-tyrosine ด้วยวิธีเดิมสารละลายมาตรฐาน โดยใช้เทคนิคทางฟลูออโรเมทรี (แบบเดิม-บีต้าไซโคลเดกซ์ทริน)..... | 78 |
| ง.3 กราฟการหาปริมาณแอล-ฟีนิลอะลานีนในตัวอย่างยา GNC L-phenylalanine ด้วยวิธีเดิมสารละลายมาตรฐาน โดยใช้เทคนิคทางฟลูออโรเมทรี..... | 78 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

| รูปที่ | หน้า |
|---|------|
| ง.4 กราฟการหาปริมาณแอล-เฟนิลอะลานีนในตัวอย่างยา GNC L- phenylalanine ด้วยวิธีเติมสารละลายมาตรฐาน โดยใช้เทคนิคทางฟลูออโรเมทรี (แบบเต็ม-ปีต้าไซโคลเดคซ์ทริน)..... | 79 |



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของโครงการพิเศษ [1-3]

ไซโคลเดกซ์ทริน (Cyclodextrin, CD) เป็นสารในกลุ่มไซคลิกโกลิโกแซคคาไรด์ (Cyclic oligosaccharide) ที่ได้จากการย่อยสลายแป้งด้วยเอนไซม์ มีลักษณะโครงสร้างคล้ายกรวยตัด ซึ่งประกอบด้วยหน่วยกลูโคสที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ 1,4 ดิกลูโคไพราโนส (1,4-linked D-glucopyranose) กับช่องว่างภายในแบบไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) ซึ่งลักษณะดังกล่าวทำให้ไซโคลเดกซ์ทรินสามารถเกิดการรวมตัวกันเป็นสารประกอบเชิงซ้อนอินคลูชัน (Inclusion) กับโมเลกุลของสารต่างๆ ได้อย่างดีเยี่ยม จากคุณลักษณะพิเศษนี้ ทำให้ไซโคลเดกซ์ทรินเป็นสารประกอบที่ถูกนำมาใช้ในงานอุตสาหกรรมประเภทต่างๆ อย่างกว้างขวาง อาทิเช่น อุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมยา อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง เป็นต้น

ฟีนิลอะลานีนและไทโรซีน (Phenylalanine and tyrosine) เป็นกรดอะมิโนที่มีหมู่ R ด้านข้าง (R - group side chain) ที่เป็นวงเบนซีน (Benzene ring) อยู่ด้วย ใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ฮอร์โมนอะดรีนาลีนและไทรอกซีน (Adrenaline and thyroxine) ทั้งยังเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์สารสี (Pigment) พิวเมลานิน (Melanin) ของเส้นผม เส้นขอบตาและผิวหนัง นอกจากนี้ยังพบว่า ถ้าร่างกายขาดฟีนิลอะลานีนหรือมีระดับฟีนิลอะลานีนอยู่ในระดับต่ำกว่าปกติ จะมีผลทำให้มีอาการของโรค Phenylketonuria หรือที่เรียกว่า โรค PKU ซึ่งเป็นโรคทางพันธุกรรมที่ขาดเอนไซม์ L-phenylalanine hydroxylase ทำให้เป็นโรคปัญญาอ่อนได้ ส่วนมากจะพบในเด็ก ดังนั้นจำเป็นที่จะต้องกินฟีนิลอะลานีนเข้าไป โดยร่างกายสามารถเปลี่ยนฟีนิลอะลานีนไปเป็นไทโรซีนได้ แต่ไม่สามารถเปลี่ยนไทโรซีนกลับมาเป็นฟีนิลอะลานีนได้อีก โดยปกติแล้วกรดอะมิโนทั้งสองชนิดจะเกิดการเปล่งแสงฟลูออเรสเซนซ์ตามธรรมชาติได้น้อย ดังนั้นในงานวิจัยนี้ขอนำเสนอการใช้บีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน (β -Cyclodextrin) มาใช้ในการเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนร่วมกับกรดอะมิโนทั้งสองชนิด คือ แอล-ไทโรซีน และแอล-ฟีนิลอะลานีน เพื่อเพิ่มความสามารถของการเปล่งแสงฟลูออเรสเซนซ์ให้สูงขึ้นและง่ายต่อการตรวจวิเคราะห์ โดยข้อมูลที่ได้จากการศึกษาสามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโนทั้งสองชนิดในตัวอย่างยาต่อไปได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการพิเศษ

- 1.2.1 เพื่อเปรียบเทียบความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดแอล-ไทโรซีนระหว่างในกรณีที่มีบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน และไม่มีบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินเป็นองค์ประกอบ
- 1.2.2 เพื่อเปรียบเทียบความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดแอล-เฟนิลอะลานีนระหว่างในกรณีที่มีบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน และไม่มีบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินเป็นองค์ประกอบ
- 1.2.3 เพื่อตรวจวิเคราะห์หาปริมาณแอล-ไทโรซีนและแอล-เฟนิลอะลานีน ในตัวอย่างยา

1.3 ขอบเขตการศึกษาของโครงการพิเศษ

- 1.3.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดแอล-ไทโรซีนและแอล-เฟนิลอะลานีน ทั้ง
 - ความยาวคลื่นที่ใช้กระตุ้น
 - ความยาวคลื่นในการคายแสง
 - pH ของสารละลายบัฟเฟอร์
 - ความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์
- 1.3.2 ศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ทั้งในสารละลายมาตรฐาน แอล-ไทโรซีนและแอล-เฟนิลอะลานีน
- 1.3.3 ทำการตรวจสอบความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์ โดยศึกษาปัจจัยต่างๆ ดังนี้
 - ช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง (Linearity) ของสารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีนและแอล-เฟนิลอะลานีน ทั้งในกรณีที่มีและไม่มีบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน เป็นองค์ประกอบ
 - ขีดจำกัดของการตรวจวัด (Limit of detection) ของสารละลายมาตรฐาน แอล-ไทโรซีนและแอล-เฟนิลอะลานีน ทั้งในกรณีที่มีและไม่มีบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน เป็นองค์ประกอบ
 - ความเที่ยงตรง (Precision) ของวิธีวิเคราะห์
- 1.3.4 ทำการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณแอล-ไทโรซีนและแอล-เฟนิลอะลานีน ในตัวอย่างยา โดยรายงานในรูปร้อยละของการคืนกลับได้ (% Recovery)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.4.1 ทราบถึงสภาวะที่เหมาะสมของสารที่ทำการตรวจวัด ซึ่งมีผลต่อความเข้มข้นของการคายแสงของสาร
- 1.4.2 ทราบถึงอัตราส่วนที่เหมาะสมของบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ที่ใช้ในสารละลายแอล-ไทโรซีนและแอล-เฟนิลอะลานีน ซึ่งมีผลทำให้ความเข้มข้นของการคายแสงเพิ่มขึ้น
- 1.4.3 ทราบถึงความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์เพื่อที่จะนำไปใช้ในการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณแอล-ไทโรซีนและแอล-เฟนิลอะลานีน ในตัวอย่างยา
- 1.4.4 ทราบถึงประสิทธิภาพในการตรวจวัดแอล-ไทโรซีนและแอล-เฟนิลอะลานีน ในตัวอย่างยา
- 1.4.5 สามารถนำข้อมูลที่ี้ได้จากการศึกษามาใช้เป็นแนวทางในการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณแอล-ไทโรซีนและแอล-เฟนิลอะลานีน ในตัวอย่างยาต่อไป



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและหลักการ

2.1 การวิเคราะห์เชิงฟลูออโรเมทรี [4]

การวิเคราะห์เชิงฟลูออโรเมทรี (Fluorometric analysis) เป็นการวิเคราะห์ที่เกี่ยวข้องกับการวัดคุณสมบัติการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ของสาร ซึ่งเป็นการศึกษาเกี่ยวกับการลดพลังงานในรูปการเปล่งแสงหรือลูมิเนสเซนซ์ (Luminescence) ของโมเลกุลที่ถูกกระตุ้น โดยการดูดกลืนพลังงานแสงโดยใช้เทคนิคและเครื่องมือประเภทต่างๆ

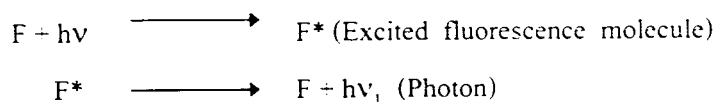
2.1.1 ลูมิเนสเซนซ์

ลูมิเนสเซนซ์ (Luminescence) หรือการเปล่งแสง เป็นปรากฏการณ์ของโมเลกุลที่ถูกกระตุ้น (Excited molecules) เกิดการคายพลังงานออกมาในรูปแสงหรือโฟตอน (Photon emission) โดยกระบวนการที่ไม่เกี่ยวข้องกับการพลังงานความร้อน หรือ พลังงานไฟฟ้า บางครั้งจึงเรียกการเกิดลูมิเนสเซนซ์ว่า ปรากฏการณ์แสงเย็น (“cold light” phenomena)

ชนิดของลูมิเนสเซนซ์แบ่งตามแหล่งพลังงานที่ให้กับโมเลกุล ซึ่งเรียกชื่อโดยการเติมชื่อชนิดของพลังงานไว้หน้าคำว่า “ลูมิเนสเซนซ์” เช่น การเรืองแสงของหนอนเรืองแสง (Glow-worm) หรือ หิ่งห้อย (Fireflies) เกิดจากกระบวนการทางชีววิทยา จึงเรียกการเปล่งแสงชนิดนี้ว่า การเปล่งแสงของสิ่งมีชีวิต หรือ ไบโอลูมิเนสเซนซ์ (Bioluminescence) แสงที่เกิดจากผลของปฏิกิริยาเคมี เรียกว่า การเปล่งแสงทางเคมี หรือ เคมีลูมิเนสเซนซ์ (Chemiluminescence) ถ้าพลังงานมาจากอนุภาคที่มีพลังงานสูง หรืออนุภาคกัมมันตรังสี เรียกว่า เรดิโอลูมิเนสเซนซ์ (Radioluminescence) การเปล่งแสงที่พลังงานกระตุ้นเป็นแสงจึง เรียกว่า โฟโตลูมิเนสเซนซ์ (Photoluminescence)

โฟโตลูมิเนสเซนซ์ (Photoluminescence) แบ่งได้อีก 2 ชนิด คือ การวาวแสง หรือ ฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence) และการเรืองแสง หรือ ฟอสฟอเรสเซนซ์ (Phosphorescence) ขั้นตอนของการเกิดปรากฏการณ์ฟลูออเรสเซนซ์ เป็นดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



1.2 การเกิดฟลูออเรสเซนซ์ของโมเลกุล

หลังจากโมเลกุลดูดกลืนพลังงานแสงในช่วงอัลตราไวโอเล็ตแล้ว โมเลกุลที่ถูกกระตุ้นจะกลับสู่สถานะพื้นโดยการลดพลังงานในกระบวนการที่เรียกว่า การลดการกระตุ้น (Deexcitation หรือ Deactivation process) ซึ่งมีทั้งกระบวนการที่ไม่เกิดแสง (Radiationless process) และกระบวนการที่เกิดแสง (Radiation process) โมเลกุลส่วนใหญ่สูญเสียพลังงานโดยการคายพลังงานในรูปความร้อนที่เกิดจากการชนกันของโมเลกุล บางโมเลกุลหลังจากสูญเสียพลังงานจากการชนกันแล้วอิเล็กตรอนจะกลับสู่สถานะพื้น (Ground state) โดยการคายพลังงานในรูปแสงหรือเกิดโฟโตลูมิเนสเซนซ์

การกลับสู่สถานะพื้นของอิเล็กตรอนจากชั้นพลังงานของการสั่นต่ำสุดของชั้นพลังงานกระตุ้นสถานะเดี่ยว (Singlet excited state) แล้วคายพลังงานในรูปแสงนั้นเรียกปรากฏการณ์นี้ว่า “ฟลูออเรสเซนซ์” โดยส่วนมากการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ของโมเลกุลจะเกิดขึ้นที่ความยาวคลื่นที่ยาวกว่าการดูดกลืนแสง การเลื่อนไปที่ยาวคลื่นที่ยาวขึ้นนี้เรียกว่า “Stokes shift”

โดยหลักการแล้ว โฟโตลูมิเนสเซนซ์เป็นกระบวนการกระตุ้นและลดการกระตุ้นที่เกี่ยวข้องกับโฟตอน แต่เนื่องจากมีกระบวนการอื่นๆ ที่เกิดขึ้นพร้อมกันในลักษณะแข่งขัน อัตราของกระบวนการทั้งหมดเหล่านี้จึงมีความสำคัญต่อการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ของโมเลกุล

1.3 ฟลูออเรสเซนซ์สเปกตรัม

การบันทึกค่าความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence intensity, F) กับความยาวคลื่นที่ใช้กระตุ้น (Excitation wavelength) หรือ ความยาวคลื่นที่คายพลังงานแสงออกมา (Emission wavelength) เรียกเส้นกราฟที่บันทึกนี้ว่า ฟลูออเรสเซนซ์สเปกตรัม (Fluorescence spectrum) ซึ่งมี 2 ชนิดคือ สเปกตรัมการกระตุ้น (Excitation spectrum) และสเปกตรัมการคายแสงหรือเปล่งแสง (Emission spectrum)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3.1 สเปกตรัมการกระตุ้นและสเปกตรัมการคายแสง

สเปกตรัมการกระตุ้นเป็นการบันทึกค่าความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์กับความยาวคลื่นที่ใช้กระตุ้น โดยให้ความยาวคลื่นที่คายพลังงานแสงคงที่ รูปร่างของสเปกตรัมการกระตุ้นโดยทั่วไปจะเหมือนกับสเปกตรัมการดูดกลืนแสง (Absorption spectrum) เพราะค่าความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ไม่ขึ้นอยู่กับความยาวคลื่น

สเปกตรัมการคายแสงเป็นการบันทึกค่าความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์กับความยาวคลื่นที่คายพลังงานแสง โดยให้ความยาวคลื่นการกระตุ้นคงที่

เนื่องจากสเปกตรัมการคายแสงแสดงลักษณะของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ จึงเกิดที่ความยาวคลื่นที่ยาวกว่าสเปกตรัมการกระตุ้น และหากสารเกิดกระบวนการฟอสฟอเรสเซนซ์ สเปกตรัมการคายแสงที่บันทึกได้ก็จะเกิดที่ความยาวคลื่นที่ยาวกว่าการเกิดฟลูออเรสเซนซ์

1.3.2 ภาพเหมือนกระจกสะท้อน

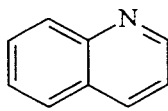
รูปร่างของสเปกตรัมการคายแสงของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ ส่วนมากจะเหมือนกับสเปกตรัมการกระตุ้น ซึ่งความสัมพันธ์แบบนี้เรียกว่า “ภาพเหมือนกระจกสะท้อน” (Mirror-image) ลักษณะของภาพเหมือนกระจกสะท้อนแบบนี้พบทั่วไปในสเปกตรัมของฟลูออโรฟอร์ (Fluorophores) เช่น perylene, anthracence, fluorescein, rhodamine B เป็นต้น

1.4 สูตรโครงสร้างกับการเกิดฟลูออเรสเซนซ์

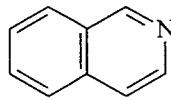
โดยหลักการแล้วโมเลกุลใดที่ดูดกลืนแสงในช่วงอัลตราไวโอเล็ตแล้วจะเกิดฟลูออเรสเซนซ์ได้ แต่พบว่ามีเพียงโมเลกุลบางชนิดเท่านั้นที่เกิดฟลูออเรสเซนซ์ได้ โดยทั่วไปสารที่เกิดฟลูออเรสเซนซ์ได้มากมักเป็นสารที่มีวงแหวนอะโรมาติก ซึ่งมีระดับพลังงานของการทรานซิชันชนิด $\pi \rightarrow \pi^*$ ที่ค่าอยู่ในสูตรโครงสร้าง ส่วนสารที่มีหมู่คาร์บอนิลชนิด Aliphatic และ Alicyclic หรือมีพันธะคู่ที่คอนจูเกตกันมาก (Highly conjugated double-bond) ในสูตรโครงสร้างอาจเกิดฟลูออเรสเซนซ์ได้ แต่พบน้อยกว่าสารกลุ่มอะโรมาติก

เมื่อค่อวงแหวนเบนซีนด้วย Simple heterocyclic ring จะทำให้เกิดฟลูออเรสเซนซ์เพิ่มมากขึ้น ตัวอย่างเช่น quinoline, isoquinoline และ indole นั้นเกิดฟลูออเรสเซนซ์ได้ดี และมีความเข้มสูง

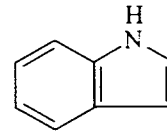
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



quinoline



isoquinoline



indole

1.4.1 ฟลูออโรฟอร์

โครงสร้างใดที่เกิดฟลูออเรสเซนซ์ได้จะเรียกว่า “ฟลูออโรฟอร์” (Fluorophors) ซึ่งโดยทั่วไปมักเป็นสารประกอบอะโรมาติกที่มีการคอนจูเกตกับพันธะคู่

สารใดที่เกิดฟลูออเรสเซนซ์ได้เองจะเรียกว่า “ฟลูออโรฟอร์จากภายใน” (intrinsic fluorophors) หากสารใดที่ไม่เกิดฟลูออเรสเซนซ์แต่เมื่อทำปฏิกิริยาต่อสูตรโครงสร้างกับฟลูออโรฟอร์บางตัวแล้วฟลูออเรสเซนซ์ได้จะเรียกฟลูออโรฟอร์ประเภทนี้ว่า “ฟลูออโรฟอร์จากภายนอก” (Extrinsic fluorophors)

1.4.2 พันธะคู่แบบคอนจูเกตกับโครงสร้างเรโซแนนซ์

ความสัมพันธ์ของปรากฏการณ์การเกิดฟลูออเรสเซนซ์ของสารประกอบอินทรีย์กับสูตรโครงสร้างพบว่า

1. โมเลกุลที่มีโครงสร้างเรโซแนนซ์กับพันธะคู่แบบคอนจูเกตจะเกิดการฟลูออเรสเซนซ์ ยังมีจำนวนพันธะคู่แบบคอนจูเกตมากขึ้นเท่าไร ยิ่งมีความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์มากขึ้นเท่านั้น
2. โมเลกุลอาจฟลูออเรสเซนซ์ได้ถ้าหมู่แทนที่เปลี่ยนแปลงความหนาแน่นของอิเล็กตรอนในโครงสร้างเรโซแนนซ์กับพันธะคู่ที่คอนจูเกตได้ง่าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 ผลของหมู่แทนที่กับการเกิดฟลูออเรสเซนซ์

| หมู่แทนที่ | ผลต่อความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ |
|--|---|
| -OH, -OCH ₃ , -OC ₂ H ₅ | เพิ่มขึ้น |
| -COOH, -CH ₂ -COOH | เพิ่มขึ้น |
| -N(CH ₃) ₃ , -NHCOCH | ลดลงอย่างมาก |
| -SH, -F, -Cl, -Br, -I | ลดลง |
| -NH ₂ , -NHR, -NR ₂ | เพิ่มขึ้น |
| -NO ₂ , -NO | ไม่เกิดฟลูออเรสเซนซ์หรือหายไปอย่างสมบูรณ์ |
| -CN | เพิ่มขึ้น |
| -SO ₃ H | ไม่เปลี่ยนแปลง |
| -CO, -CHO | ลดลง |
| Alkyl | เพิ่มขึ้นหรือลดลงเล็กน้อย |

การแทนที่วงแหวนเบนซีนมีผลต่อทั้งความยาวคลื่นของกระบวนการดูดกลืนแสง การเกิดฟลูออเรสเซนซ์ และความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ด้วย เมื่อมีหมู่แทนที่ชนิดหมู่ให้อิเล็กตรอน เช่น -OH, -NH₂ และ -OCH₃ จะเพิ่มการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ การแทนที่ด้วยฮาโลเจนจะยังลดการเกิดฟลูออเรสเซนซ์เมื่อเพิ่มจำนวนอะตอมของฮาโลเจน ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของผลจากอะตอมหนักที่เพิ่มโอกาสของการเกิด Intersystem crossing ไปยังสถานะสาม

การแทนที่ด้วยหมู่คาร์บอกซิลิกหรือคาร์บอนิลบนวงแหวนอะโรมาติก โดยทั่วไปจะยับยั้งการเกิดฟลูออเรสเซนซ์

1.5 ผลของพีเอชกับการเกิดฟลูออเรสเซนซ์

การเกิดฟลูออเรสเซนซ์ของสารประกอบอะโรมาติกที่มีหมู่แทนที่ชนิดกรดหรือด่างจะขึ้นอยู่กับผลของพีเอชของสารละลาย สารตัวเดียวกันในรูปแบบที่แตกตัวและไม่แตกตัวเกิดฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่นและมีความเข้มที่ต่างกัน พีเอชมีผลต่อทั้งความเข้มและความยาวคลื่นของการฟลูออเรสเซนซ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.6 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์

การเข้าใจถึงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น (Concentration) กับความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence intensity) มีประโยชน์ต่อการวิเคราะห์เชิงปริมาณโดยวิธีทางสเปกโทรฟลูออโรเมตรี ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดฟลูออเรสเซนซ์มาจากตัวสารเองและสภาพแวดล้อม ในการวิเคราะห์จำเป็นต้องทราบถึงปัจจัยต่างๆ เหล่านี้ด้วยเช่นกัน

พิจารณาสารดูดกลืนแสงความเข้ม P_0 แล้วแสงเหลือความเข้ม P สารเกิดการฟลูออเรสเซนซ์ ในทุกทิศทางตามลูกศรเส้นประ (----►) ดังรูปที่ 2.1 พลังงานของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ทั้งหมด (F') มีค่าดังนี้

เมื่อ

$$F' = \phi (P_0 - P)$$

เมื่อ

$$F' = \text{Total fluorescence output}$$

ϕ = Quantum yield หรือ Quantum efficiency

จากกฎของเบียร์

$$P/P_0 = 10^{-\epsilon bc}$$

หรือ

$$P = P_0 \times 10^{-\epsilon bc}$$

รูปที่ 2.1 แผนภาพการเกิดฟลูออเรสเซนซ์เมื่อกระตุ้นด้วยแสงความเข้ม P_0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวัดการเกิดฟลูออเรสเซนซ์นั้นค่าที่วัดได้เป็นค่าความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence intensity, F) ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ทั้งหมด (Total fluorescence output, F') คือวัดเพียงกำลังหรือความเข้มของแสงจากการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ที่ไปถึงเครื่องวัดแสง ซึ่งจะวัดเฉพาะแสงในทิศทางที่ตั้งฉากกับทิศทางที่แสงผ่านมาที่สาร ดังนั้น F จะเป็นส่วนหนึ่งของ F' และมีค่าเท่ากับ

$$F = k \phi (P_0 - P_0 \times 10^{-\epsilon bc})$$

$$= k \phi P_0 (1 - 10^{-\epsilon bc})$$

เมื่อ k เป็นค่าคงที่จากการวัดของเครื่องมือที่วัด F เพียงบางส่วนของ F'

$$A \text{ หรือ Absorbance} = \epsilon bc$$

ที่ความเข้มข้นต่ำๆ (ค่า $A < 0.02$) จะได้ความสัมพันธ์ ดังนี้

$$F = 2.303 k \phi P_0 (\epsilon bc)$$

$$F = Kc$$

เมื่อ K เป็นค่าคงที่มีค่าเท่ากับ $2.303 k \phi P_0 (\epsilon bc)$ ค่าคงที่ K นี้จะเป็นสัดส่วนโดยตรงต่อค่า ϕ ถ้า ϕ มีค่ามาก K ก็มีค่ามากด้วยเช่นกัน

1.6.1 ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง

ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์กับความเข้มข้นนี้เป็นความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงในช่วงความเข้มข้นต่ำ (โดยทั่วไปเมื่อค่าแอบซอร์เบ้นซ์น้อยกว่า 0.02) โดยถ้าพล็อตระหว่างค่า F กับ C จะได้เส้นกราฟเส้นตรงที่มีความชันเท่ากับ K

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.6.2 ความสัมพันธ์ไม่เป็นเส้นตรง

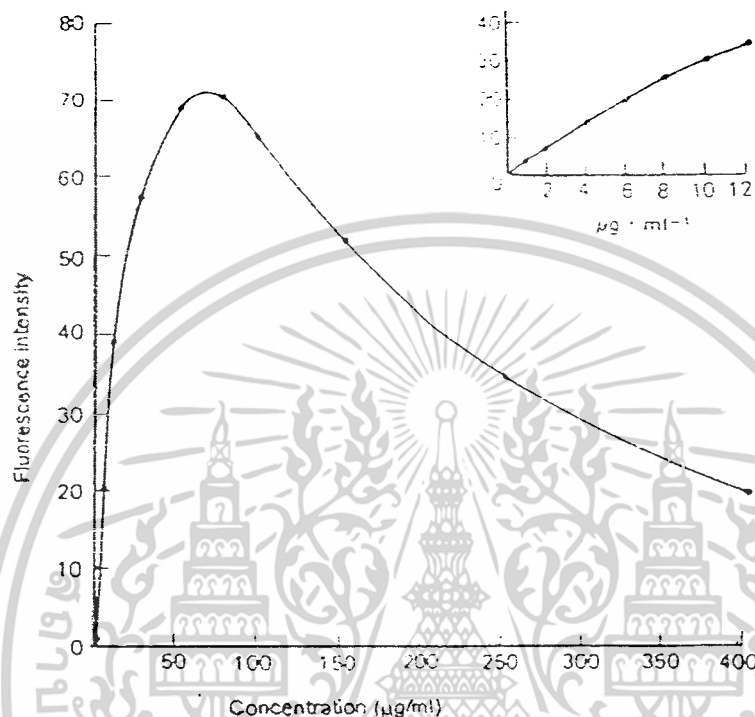
เมื่อความเข้มข้นสูงขึ้นจะทำให้ค่า ϵ_{bc} มีค่ามาก และเทอม $10^{-\epsilon_{bc}}$ จะมีค่าน้อยมากเมื่อเทียบกับ 1 และ F จะเป็นค่าคงที่ดังนี้

$$F = \phi P_0$$

ยิ่งเพิ่มความเข้มข้นมากขึ้นอีกค่าความเข้มข้นของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์อาจมีค่าลดลงตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์กับความเข้มข้นในช่วงต่างๆ ของสารละลายฟีนอลในน้ำ ในรูปที่ 2.2 พบว่าในช่วงความเข้มข้นประมาณ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ความสัมพันธ์ใกล้เคียงกับเส้นตรงดังรูปเล็ก ที่ขยายช่วงกราฟใกล้บริเวณจุดตั้งต้น และค่าความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์จะคงที่ ไม่เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นในช่วงความเข้มข้นประมาณ 70 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร หลังจากช่วงความเข้มข้นนี้แล้วเส้นกราฟจะลดลงอย่างมาก

การที่ค่าความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ลดลงเมื่อสารละลายมีความเข้มข้นสูงทำให้ความสัมพันธ์เบี่ยงเบนจากเส้นตรงไปในทางลบ เรียกว่าการเกิด Concentration quenching ซึ่งมีสาเหตุ 2 สาเหตุคือ Self-quenching และ Self-absorption

เมื่อต้องการวิเคราะห์โดยวิธีฟลูออโรเมทรี ก่อนทำการวิเคราะห์ควรทำเส้นกราฟมาตรฐานระหว่างค่าความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์กับความเข้มข้นเพื่อตรวจสอบว่าช่วงความเข้มข้นใดที่ความสัมพันธ์ใกล้เคียงเส้นตรงมากที่สุดเพื่อให้มีความผิดพลาดน้อยที่สุด แล้วเตรียมสารที่ต้องการวัดให้อยู่ในช่วงความเข้มข้นดังกล่าวนี้ ซึ่งโดยทั่วไปความเข้มข้นที่ใช้จะอยู่ในช่วงส่วนในล้านส่วน (ppm) ถึง ส่วนในพันส่วน (ppb) แล้วแต่ชนิดของสาร วิธีทางฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรโฟโตเมทรีจะใช้ได้สำหรับการวิเคราะห์ที่สารละลายมีความเข้มข้นต่ำมาก และต่ำกว่าช่วงที่เหมาะสมสำหรับการวัดค่าแอบซอร์เบ้นซ์ (Absorbance) ในวิธีอัตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโตรสโกปี



รูปที่ 2.2 การเกิดฟลูออเรสเซนซ์ของฟีนอลในน้ำ (สารละลายมีพีเอช 6.5) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์กับความเข้มข้น ความยาวคลื่นที่ใช้กระตุ้น 290 นาโนเมตร และวัดการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ที่ 330 นาโนเมตร

1.7 ปัจจัยที่มีผลต่อความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์

1.7.1 ความเข้มข้น

ค่าความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์จะเป็นสัดส่วนโดยตรงต่อความเข้มข้นเมื่อค่าแอมพลิจูดของสารละลายในเซลล์ขนาด 1 เซนติเมตร ต่ำกว่า 0.02 ถ้าความเข้มข้นสูงเกินไปจะทำให้เกิดทั้ง Self quenching และ Self absorption

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.7.2 Quantum yield (ϕ)

Quantum yield เป็นอัตราส่วนของจำนวนโฟตอนที่คายออกมาต่อจำนวนโฟตอนที่ถูกดูดกลืน จึงเป็นค่าที่แสดงว่าสารเกิดฟลูออเรสเซนซ์ได้มากน้อยเพียงใด สารที่เกิดฟลูออเรสเซนซ์ได้มากจะมีค่า Quantum yield ใกล้เคียง 1 ตัวอย่างเช่น ฟลูออเรสเซนซ์ใน 0.1 M โซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ 23 องศาเซลเซียส มีค่า ϕ เท่ากับ 0.85 และควินิน ใน 0.05 M กรดซัลฟูริก ที่ 23 องศาเซลเซียส มีค่า ϕ เท่ากับ 0.54 สารที่ไม่เกิดฟลูออเรสเซนซ์มีค่า ϕ เท่ากับศูนย์

Quantum yield ที่มีค่ามาก มักจะเกี่ยวข้องกับระบบ π, π^* ซึ่งเกิดจาก 2 สาเหตุประการแรก คือ ค่าโมลาร์แอบซอร์บิวิตี (Molar absorptivity) ของการทรานซิชันชนิด $\pi \rightarrow \pi^*$ จะมีค่าเป็นร้อยถึงพันเท่าของการทรานซิชันชนิด $n \rightarrow \pi^*$ ซึ่งแสดงถึงโอกาสของการเกิดกระบวนการกระตุ้นชนิด $\pi \rightarrow \pi^*$ นั้นมีมากกว่า ก็มีโอกาสเกิดฟลูออเรสเซนซ์ได้มากกว่า

ประการที่สอง ระยะเวลาชีวิต (Lifetime) ของการทรานซิชันชนิด $\pi \rightarrow \pi^*$ (10^{-7} ถึง 10^{-9} วินาที) สั้นกว่าเมื่อเทียบกับการทรานซิชันชนิด $n \rightarrow \pi^*$ (10^{-5} ถึง 10^{-7} วินาที) อัตราการเกิดทรานซิชันชนิด $\pi \rightarrow \pi^*$ ซึ่งเร็วกว่าจะมีโอกาสจะเกิดการคายพลังงานแบบฟลูออเรสเซนซ์ได้มากกว่าด้วย

1.7.3 ความเข้มของแสงที่ตกกระทบ

การเพิ่มความเข้มของแสงที่ไปยังสารตัวอย่างจะทำให้ค่าความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์เพิ่มขึ้นตามสัดส่วนของความเข้มแสง ความเข้มของแสงขึ้นกับความเข้มของแสงที่เปล่งออกมาจากแหล่งกำเนิดแสง และคุณสมบัติของโมโนโครมาเตอร์ในการให้แสงผ่าน และแถบความกว้างของช่องแสงการกระตุ้น การเพิ่มความกว้างของช่องแสงการกระตุ้นจะทำให้ความเข้มของแสง และความไวของการวัดค่าความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์เพิ่มขึ้น แต่ทำให้เกิดปัญหาของการสลายตัวจากแสง (Photochemical decomposition) หรือการซ้อนทับกันของสเปกตรัมซึ่งทำให้ความจำเพาะเจาะจงลดลง การเลือกความกว้างของความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์จึงต้อง พิจารณาระหว่างความไว ความจำเพาะเจาะจง และความคงตัวของแสงประกอบกัน

1.7.4 ระยะทางที่แสงผ่าน

ระยะทางที่แสงผ่านนั้น บอกเพียงปริมาตรภายในของสารละลายตัวอย่างที่เกิดฟลูออเรสเซนซ์และถูกตรวจวัด ระยะทางที่วัดโดยเครื่องวัดแสงจะขึ้นกับทั้งความกว้างของช่องเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แสงการกระตุ้น (Excitation slitwidth) และความกว้างของช่องแสงการคายแสง (Emission slitwidth) ดังนั้นการใช้ไมโครคิวเวต (Microcuvettes) ไม่ทำให้ค่าความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ที่วัดได้มีค่าลดลง ในความเป็นจริงหากเกิด Inner-filter quenching และ Self-absorption อย่างมีนัยสำคัญ การใช้ไมโครคิวเวตอาจลดผลกระทบเหล่านี้ และทำให้ค่าความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ที่วัดได้มีค่าเพิ่มขึ้น

1.7.5 การดูดซับ

วิธีการฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรโฟโตเมทรี จะต้องใช้สารละลายที่เจือจางมาก คือ เจือจางประมาณ 10 ถึง 100 เท่าของสารละลายที่ใช้ในอัลตราไวโอเลตสเปกโตรโฟโตเมทรี การดูดซับของสารบนผนังภาชนะบรรจุอาจเป็นปัญหาที่ยุ่งยาก การวัดค่าความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์จึงต้องเตรียมเป็นสารละลายที่มีความเข้มข้นสูง (Stock solution) แล้วเจือจางเมื่อต้องการวัดเท่านั้น ตัวอย่างของสารที่ดูดซับบนผนังของคิวเวตเป็นประจำ คือ ควินีน

1.7.6 ออกซิเจน

การมีออกซิเจนอยู่ในสารละลายที่วัดอาจรบกวนได้โดย 2 ทาง คือ การเกิดออกซิเดชันโดยตรงทำให้สารจากที่เกิดฟลูออเรสเซนซ์ได้เปลี่ยนไปเป็นสารที่ไม่ฟลูออเรสเซนซ์ หรือการเกิด Quenching โดยออกซิเจนทำให้เกิด Intersystem crossing มากขึ้น จึงทำให้โมเลกุลในสถานะกระตุ้นเปลี่ยนไปที่สถานะสามมากขึ้นแล้วเกิดฟลูออเรสเซนซ์ลดลง

1.7.7 พิเอช

การเปลี่ยนแปลงพีเอชของสารละลายจะมีผลต่อการเกิดฟลูออเรสเซนซ์อย่างมาก ถ้าสเปกตรัมของการดูดกลืนแสงเปลี่ยนแปลงไปเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงพีเอช สารประกอบฟีนอลหลายตัวเป็นตัวอย่างของสารที่เกิดฟลูออเรสเซนซ์ทั้งในรูปแตกตัวและรูปที่ไม่แตกตัว แต่สารบางชนิดในรูปของไอออนที่แตกต่างกันบางรูปก็ไม่สามารถเกิดฟลูออเรสเซนซ์ ตัวอย่างเช่น กรณียของอะนินินที่เกิดฟลูออเรสเซนซ์ได้ แต่ถ้าพีเอชเป็นกรดสารจะอยู่ในรูป Aninium ion จะไม่เกิดฟลูออเรสเซนซ์

1.7.8 การสลายตัวเมื่อสัมผัสแสง

วิธีการอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโตรโฟโตเมทรี ความเข้มของแสงที่ผ่านสารละลายจะน้อยเมื่อเทียบกับมาตรฐานทางเคมีเชิงแสง (Photochemical standards) ถึงแม้ว่าจะเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยามให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มากพอสำหรับการวัด แต่ไม่ทำให้เกิดการสลายตัวของสารในขณะที่วัดหากเป็นสารที่ไม่ไวต่อการสลายตัวโดยแสง ส่วนวิธีทางฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรโฟโตเมทรีนั้นต้องใช้แสงที่มีความเข้มสูงมาก โอกาสที่สารจะเกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีเนื่องจากแสงจะเพิ่มขึ้น ในการวัดการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ของสารจึงควรทำในเวลาที่รวดเร็ว เพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาการสลายตัวดังกล่าว

1.7.9 อุณหภูมิและความหนืด

การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิและความหนืด จะทำให้ความถี่ของการชนกันระหว่างโมเลกุลเกิดการเปลี่ยนแปลงตามด้วยเช่นกัน การเพิ่มอุณหภูมิหรือความหนืดจะทำให้การเกิดฟลูออเรสเซนซ์ลดลง เนื่องจากเกิดกระบวนการลดการกระตุ้นของโมเลกุลในสถานะกระตุ้น โดยเกิดการชนกันของโมเลกุลมากขึ้น ในทำนองเดียวกันสารหลายชนิดที่ไม่เกิดฟลูออเรสเซนซ์ ที่อุณหภูมิห้องสามารถทำให้เกิดฟลูออเรสเซนซ์ได้โดยการกระตุ้นที่อุณหภูมิต่ำลง หรือใช้ตัวทำละลายที่หนืดมากขึ้น ค่าสัมประสิทธิ์อุณหภูมิ (Temperature coefficients) ของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ โดยทั่วไปลดลงประมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ต่อองศาของอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น

1.7.10 Quenchers

Quenchers คือสารตัวอื่นที่ลดการเกิดฟลูออเรสเซนซ์โดยการชนโมเลกุลของสาร ทำให้เกิดการสูญเสียพลังงานในรูปความร้อนโดยการดูดกลืนแสงจากการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ หรือเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติในสถานะกระตุ้นของสาร โดยเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนทางเคมีกับสารที่เกิดฟลูออเรสเซนซ์ทำให้คุณสมบัติในการเกิดฟลูออเรสเซนซ์เปลี่ยนแปลงไป หรือโดยการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมีของสาร ธาตุกลุ่มทรานซิชัน โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ไอออนของโลหะที่มีสี เช่น Cr^{3+} , Fe^{3+} , Ni^{2+} , และ Cu^{2+} และไอออนเช่น Br^- , I^- และ NO_3^- เป็น Quenchers โดยทั่วไป

1.7.11 การกระเจิงแสง

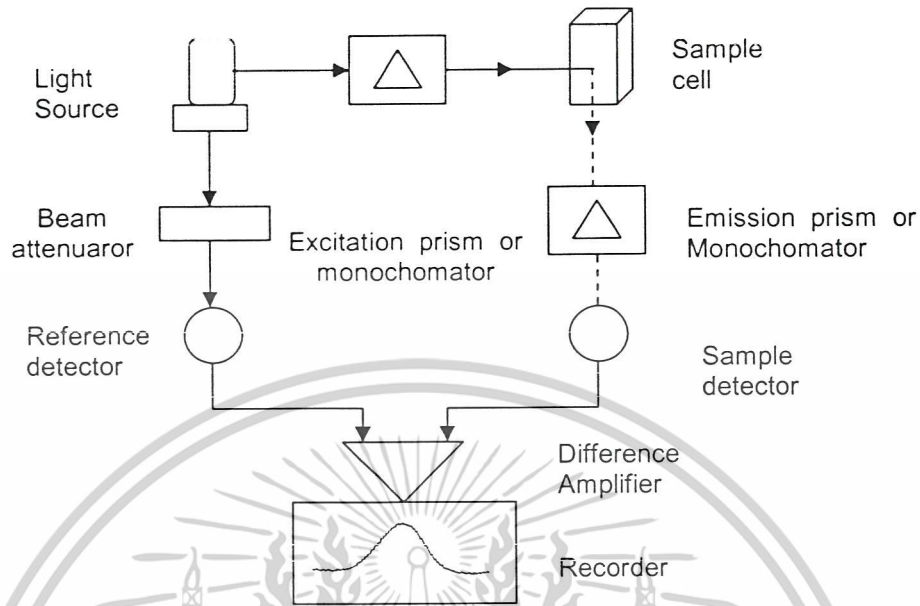
เมื่อโมโนโครมาเตอร์การกระตุ้นและการคายแสง อยู่ที่ความยาวคลื่นเดียวกันจะเกิดการกระเจิงแสงจากอนุภาคที่อยู่ในสารละลาย (ที่เรียกว่า Tyndall scatter) หรือจากโมเลกุลสาร (ที่เรียกว่า Rayleigh scatter) การกระเจิงแสงแบบ Rayleigh - Tyndall scatter อาจตรวจวัดได้ถึงแม้ว่าจะมีการทดแทนโดยการวัดสารละลายแบบรงค์แล้วก็ตาม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การกระเจิงแสงแบบรามาน (Raman scatter) เป็นการกระเจิงแสงที่เกิดจากการเปลี่ยนพลังงานแสงไปเป็นพลังงานของการสั่นหรือการหมุนโดยโมเลกุลของตัวทำละลาย แสงที่เกิดการกระเจิงแบบนี้จะมีพลังงานต่ำลงหรือเกิดที่ความยาวคลื่นที่ยาวขึ้น ปกติผลของการเกิดการกระเจิงแสงแบบรามานมีน้อยมากเมื่อเทียบกับความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์จากสารตัวอย่าง แต่ผลนี้จะมีความสำคัญมากขึ้นเมื่อวัดสารละลายเจือจางมากที่ความยาวคลื่นที่ซ้อนทับกับแถบการกระเจิงแสงแบบรามานที่เกิดขึ้น

1.8 เครื่องมือ

การจัดองค์ประกอบทั่วไปของเครื่องมือฟลูออโรมิเตอร์ (Fluorometer) และสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ (Spectrofluorometer) แสดงในรูปที่ 2.3 องค์ประกอบหลักนั้นคล้ายกับเครื่องมือที่ใช้ในอัตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโตรโฟโตเมทรี แต่มีความแตกต่างในการจัดวางส่วนประกอบทางเรขาคณิต คือ การจัดทิศทางของแสงที่เข้าไปยังสารตัวอย่างกับแสงที่คายออกมา จัดให้ทำมุม 90 องศา เพื่อหลีกเลี่ยงการวัดแสงใดๆ ที่ผ่านออกมาพร้อมกับแสงจากการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ เครื่องมือทางฟลูออโรเมทรีเกือบทั้งหมดเป็นชนิดลำแสงคู่เพื่อทดแทนการแกว่งขึ้นลงของกำลังแสงจากแหล่งกำเนิด



รูปที่ 2.3 การจัดเครื่องมือที่ใช้วัดการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ทั่วไป

1.8.1 ส่วนประกอบของเครื่องมือ

1.8.1.1 แหล่งกำเนิดแสง

เนื่องจากค่าความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ เป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มของแสงที่ตกกระทบ ดังนั้นการเพิ่มความเข้มของแสงจากแหล่งกำเนิดจะทำให้สัญญาณที่วัดใหญ่ขึ้น สำหรับช่วงความเข้มที่ใช้วัดและทำให้ความไวของการวัดเพิ่มขึ้น ทั้งลดได้ทั้งสแตนด์และหลอดคิวเทอเรียมไม่สามารถใช้สำหรับวัดการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ได้ เพราะไม่สามารถให้ความเข้มของแสงที่เหมาะสมได้

แถบของการดูดกลืนแสงที่ทำให้เกิดฟลูออเรสเซนซ์ส่วนใหญ่มีลักษณะกว้างครอบคลุมความยาวคลื่นเป็นช่วง การให้แสงที่มีความยาวคลื่นใดๆ เพียงให้อยู่ในช่วงดังกล่าวก็ทำให้เกิดฟลูออเรสเซนซ์ได้ ดังนั้นแหล่งกำเนิดแสงสำหรับการวัดการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ไม่จำเป็นต้องเป็นแหล่งกำเนิดแสงแบบต่อเนื่อง แหล่งกำเนิดแสงแบบหลอดที่ใช้ทั่วไปมี 4 ชนิดคือ Mercury discharge, Xenon arc, Xenon-mercury และ Pulsed-xenon lamp ส่วนแหล่งกำเนิดแสงแบบเลเซอร์ (Laser) เป็นแหล่งกำเนิดแสงชนิดใหม่ที่ทำให้ความเข้มแสงสูงมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัด 62027 และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.8.1.2 ตัวเลือกความยาวคลื่น

หน้าที่ของตัวเลือกความยาวคลื่นการกระตุ้นคือเลือกแสงความยาวคลื่นเดียว หรือแถบแสงที่แคบสำหรับกระบวนการกระตุ้นสารตัวอย่าง หรือ P_0 ตัวเลือกความยาวคลื่นนี้สามารถใช้ได้ทั้งฟิลเตอร์ และเกรตติงโมโนโครมาเตอร์ แต่โมโนโครมาเตอร์จะให้ผลที่ดีกว่าฟิลเตอร์เพราะการกระตุ้นด้วยแถบแสงที่กว้างจะมีโอกาสเกิดการรบกวนมากขึ้นกว่าแถบแสงที่แคบ

ส่วนตัวเลือกความยาวคลื่นการคายแสง มีระบบของตัวเลือกความยาวคลื่นที่คล้ายกับตัวเลือกความยาวคลื่นการกระตุ้น เนื่องจากตัวเลือกความยาวคลื่นส่วนนี้ทำหน้าที่วัดแสงที่เปล่งออกมา โดยทั่วไปวางไว้ตำแหน่งที่ทำมุม 90 องศา กับแกนของตัวเลือกความยาวคลื่นการกระตุ้น เพื่อลดการรบกวนจากแสงที่ผ่านออกมาหลังการดูดกลืนแสง หรือแสงที่เกิดการกระเจิงจากการกระตุ้น ในกรณีของเครื่องมือที่ใช้ฟิลเตอร์นั้นแถบความกว้างของฟิลเตอร์อันแรก (Primary filter) และฟิลเตอร์อันที่สอง (Secondary filter) ไม่ควรซ้อนทับกัน

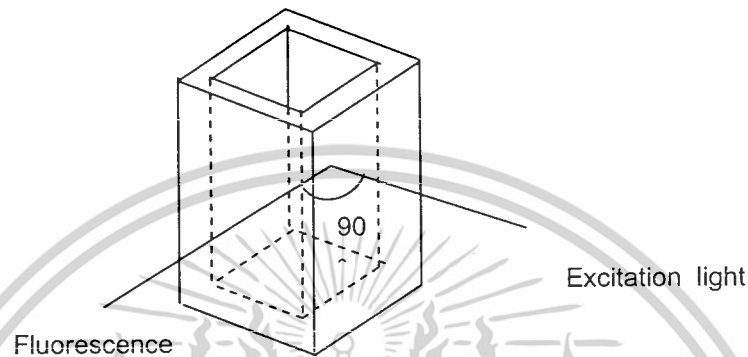
1.8.1.3 เซลล์บรรจุสารตัวอย่าง

จะมีทั้งแบบทรงกระบอกและทรงสี่เหลี่ยม เซลล์ที่นิยมใช้มากที่สุดเป็นขนาด 1 cm^2 ทำจากวัสดุประเภทซิลิกาหลอมหรือควอทซ์ สิ่งสำคัญของเซลล์สำหรับวัดการเกิดฟลูออเรสเซนซ์คือผนังทั้ง 4 ด้านของเซลล์ต้องมีคุณสมบัติให้แสงผ่านไป โดยไม่รบกวนการดูดกลืน หรือการเปล่งแสง จึงต้องเป็นผนังใสทั้ง 4 ด้าน ดังรูปที่ 2.4

เนื่องจากมีความถูกต้องของความหนาและระนาบคู่ขนานที่ผนังเซลล์ที่กำลังส่งผ่านการเปล่งแสงในวิธีฟลูออโรเมทรีนั้นออกไปทุกทิศทาง ทำให้การวัดการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ของคิวเวตเหมาะกับการตรวจวัดการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ที่มุมด้านขวาของแสงกระตุ้นเพื่อลดแสงจากการกระเจิงแสงให้มึนน้อยที่สุด ในขณะที่ฟลูออโรมิเตอร์มีการใช้เซลล์ทรงกลมบ่อยมากกว่าคิวเวต

เซลล์ที่ทำจากแก้วไพเร็กซ์ (Pyrex glass) ใช้สำหรับการวัดที่ความยาวคลื่นมากกว่า 320 นาโนเมตร ส่วนควอทซ์ใช้ในการวัดช่วงอัลตราไวโอเล็ต

เซลล์ของการวิเคราะห์เชิงฟลูออโรเมทรีที่ต่อกับ HPLC เป็นชนิดไมโครคิวเวด ซึ่งบรรจุปริมาตรสารละลายตัวอย่างจำนวนน้อยประมาณ 5-20 ไมโครลิตร และเซลล์วัดการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ในเครื่องมือเคปิลารีอิเล็กโตรโฟรีซิสมีขนาดบรรจุประมาณ 3-40 พิโคลิตร



รูปที่ 2.4 เซลล์สำหรับวัดการเกิดฟลูออเรสเซนซ์

1.8.1.4 เครื่องวัดแสง

สัญญาณจากการเกิดฟลูออเรสเซนซ์จะมีความเข้มต่ำ การขยายสัญญาณให้ใหญ่ขึ้นจึงมีความจำเป็นในการวัด หลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ (Photomultiplier tube) เป็นเครื่องวัดแสงที่มีความไวที่สุดในกลุ่มของเครื่องวัดแสงในช่วงอัลตราไวโอเลตวิสิเบิล หลอดโฟโตมัลติพลายเออร์จึงเป็นเครื่องวัดแสงของเครื่องมือสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ที่นิยมใช้มากที่สุด ส่วนเครื่องวัดแสงชนิดโฟโตไดโอดอาร์เรย์ (Photodiode-arrays) ก็มีการนำมาใช้บ้างกับเครื่องประเภทสเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์

คุณสมบัติที่สำคัญของเครื่องวัดแสงในฟลูออโรมิเตอร์คือ

- มีความไวสูง
- วัดได้ครอบคลุมช่วงความยาวคลื่นที่วัด
- ให้สัญญาณต่อสัญญาณรบกวนสูง
- ให้ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง

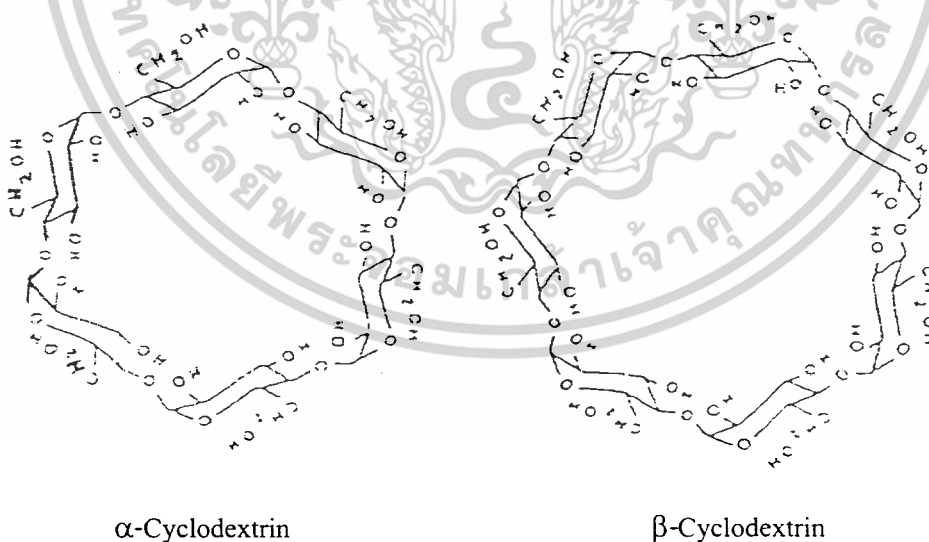
1.8.1.5 ส่วนประมวลผลและบันทึกผล

มีลักษณะเช่นเดียวกับเครื่องมือทางสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ทั่วไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

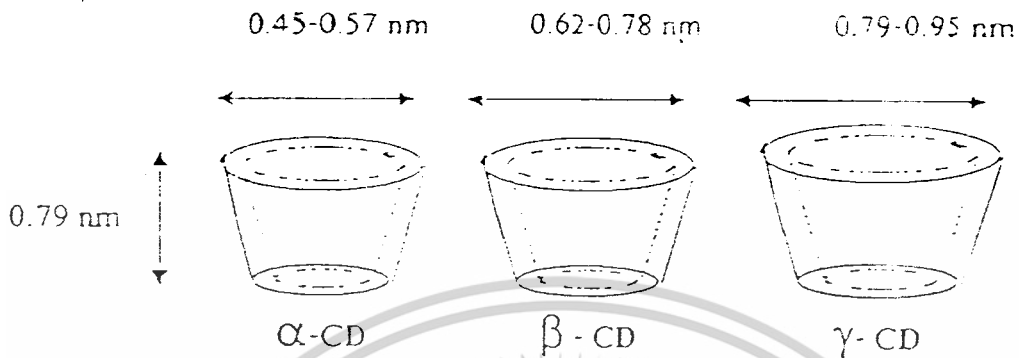
2.2 ไซโคลเดกซ์ทริน (Cyclodextrin)

ไซโคลเดกซ์ทรินมีชื่อทางการค้าว่า ไซโคลกลูโคอะไมโลส (Cycloglucoamylose) จัดเป็นสารจำพวกไซคลิกโอลิโกแซคคาไรด์ (Cyclic oligosaccharide) มีลักษณะเป็นผงละเอียดสีขาว สามารถเตรียมได้จากการสลายโมเลกุลของแป้งด้วยเอนไซม์กลูโคซิลทรานเฟอเรส (Glucosyltransferase) จากแบคทีเรีย [5] โดยแต่ละหน่วยของกลูโคสจะเกิดการเชื่อมต่อกัน (Coupling) ด้วยพันธะแอลฟา 1, 4 (α -1, 4 bond) ดังรูปที่ 2.5 เกิดเป็นสารที่มีลักษณะเป็นโพรง และมีปริมาตรที่แน่นอนคล้ายถ้วย สำหรับไซโคลเดกซ์ทรินที่สังเคราะห์ได้นั้น จะมีชื่อเรียกแตกต่างกันไป เช่น แอลฟา, บีต้า หรือแกมมา-ไซโคลเดกซ์ทริน (α , β และ γ -Cyclodextrin) ขึ้นอยู่กับจำนวนหน่วยของกลูโคสที่เชื่อมต่อกัน โดยแอลฟา, บีต้า หรือแกมมา-ไซโคลเดกซ์ทริน จะประกอบด้วยกลูโคส 6 , 7 และ 8 หน่วย ตามลำดับ ส่งผลให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายนอกและภายในต่างกันด้วย ดังรูปที่ 2.6 นอกจากนี้ยังมี σ , ϵ และ η -Cyclodextrin ที่ประกอบด้วยกลูโคสจำนวนมากตั้งแต่ 10 หน่วยขึ้นไป โดยบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินจัดเป็นไซโคลเดกซ์ทรินที่มีการนำไปใช้ประโยชน์มากที่สุด เนื่องจากสามารถนำไปใช้ได้อย่างกว้างขวางและมีราคาไม่แพง ส่วน σ , ϵ และ η -Cyclodextrin จะมีขนาดใหญ่เกินไป ตลอดจนคุณสมบัติเฉพาะตัวที่ไม่เหมาะสมจึงนำมาใช้ประโยชน์ไม่มากนัก [6-7]



รูปที่ 2.5 โครงสร้างทางเคมีของแอลฟา และบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน [5]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.6 ปริมาตรช่องว่างภายในของแอลฟา, บีต้า และแกมมา-ไซโคลเดกซ์ทริน [6]

สำหรับลักษณะทางกายภาพที่สำคัญของไซโคลเดกซ์ทริน แสดงดังตารางที่ 2.2

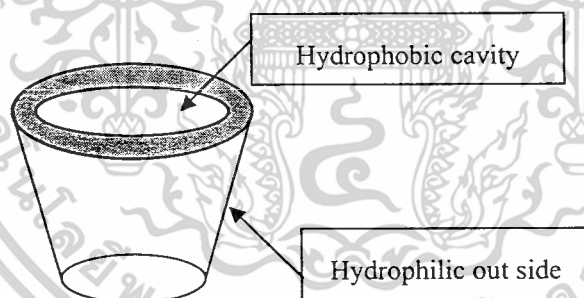
ตารางที่ 2.2 ลักษณะทางกายภาพที่สำคัญของไซโคลเดกซ์ทริน [8]

| ลักษณะเฉพาะ | $\alpha\text{-CD}$ | $\beta\text{-CD}$ | $\gamma\text{-CD}$ | |
|--|--------------------|-------------------|--------------------|-----|
| จำนวนหน่วยกลูโคส | 6 | 7 | 8 | |
| น้ำหนักโมเลกุล (กรัม/โมล) | 972 | 1135 | 1297 | |
| ความสามารถในการละลายน้ำ (กรัม/มิลลิลิตร) | 14.5 | 18.5 | 23.2 | |
| ค่าคงที่การแตกตัว (pKa) | 12.33 | 12.2 | 12.08 | |
| เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน (นาโนเมตร) | 0.45 - 0.57 | 0.62 - 0.78 | 0.79 -- 0.95 | |
| เส้นผ่านศูนย์กลางภายนอก (นาโนเมตร) | 1.37 | 1.53 | 1.69 | |
| ความสูง (นาโนเมตร) | 0.79 | 0.79 | 0.79 | |
| ปริมาตรช่องว่างภายใน (ลูกบาศก์นาโนเมตร) | 0.174 | 0.262 | 0.472 | |
| ปริมาตรช่องว่างภายใน (มิลลิลิตร) | ต่อ 1 โมล | 104 | 157 | 256 |
| | ต่อ 1 กรัม | 0.1 | 0.14 | 0.2 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.1 โครงสร้างทางเคมี

ลักษณะภายนอกของไซโคลเดกซ์ทริน ประกอบด้วยหน่วยกลูโคส ซึ่งทั้งหมดจัดเป็นโครงแบบเก้าอี้ (C_1 chair conformation) ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะแอลฟา 1,4 (α -1,4 bond) รูปร่างของไซโคลเดกซ์ทรินมีลักษณะเป็นชามกลวงซึ่งด้านกว้างกว่าเกิดการจัดตัวของหมู่ 2-3-ไฮดรอกซิลทุติยภูมิ (Secondary 2-3-hydroxyl) และด้านที่แคบกว่าเกิดจากการจัดตัวของหมู่ 6-ไฮดรอกซิลปฐมภูมิ (Primary 6-hydroxyl) และจำนวนของหน่วยกลูโคสสามารถบอกมิติ และขนาดของรูพรุนของแอลฟา บีต้า และแกมมา-ไซโคลเดกซ์ทริน ได้ดังรูปที่ 2.5 รูพรุนถูกกำหนดโดยอะตอมของไฮโดรเจน และไกลโคซิดิกออกซิเจนบริดจ์ (Glycosidic oxygen bridge) โดยอิเล็กตรอนคู่ไม่เกิดพันธะของออกซิเจนตัวดังกล่าวถูกกำหนดทิศทางไปยังด้านในของรูพรุน ทำให้เกิดความหนาแน่นของอิเล็กตรอนที่สูง ทำให้แสดงลักษณะเป็นลิวอิสเบส (Lewis base) ซึ่งผลของการจัดเรียงตัวที่เฉพาะเจาะจงของหมู่ฟังก์ชันในโมเลกุลไซโคลเดกซ์ทริน รูพรุนภายในจะมีลักษณะเป็นส่วนที่ไม่ชอบน้ำ ในขณะที่ภายนอกมีลักษณะที่ชอบน้ำ ในโมเลกุลของไซโคลเดกซ์ทริน พันธะไฮโดรเจนจะเกิดการจับตัวของหมู่ 2-ไฮดรอกซิล และ 3-ไฮดรอกซิล ภายในหน่วยกลูโคสเดียวกัน ซึ่งวงของพันธะไฮโดรเจนนี้ส่งผลให้โครงสร้างของไซโคลเดกซ์ทรินมีลักษณะที่แข็งแรง



รูปที่ 2.7 ลักษณะภายนอกของไซโคลเดกซ์ทริน [5]

และเนื่องจากไซโคลเดกซ์ทรินมีลักษณะเป็นถ้วยกลวง จึงมีโอกาที่โมเลกุลของสารอื่น เช่น สารประกอบอินทรีย์-อนินทรีย์ ทั้งที่เป็นกลางและมีประจุเคลื่อนที่เข้าสู่โพรงภายในช่องว่างดังกล่าว เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนขึ้น เรียกสารประกอบอินคลูชัน [7]

ข้อมูลจำเพาะของบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน [9]

| | |
|-----------------------------|---|
| - ชื่อการค้า | Cycloheptamylose , β -Schardinger dextrin |
| - CAS NO | 68168-23-0 |
| - ลักษณะภายนอก | ผงสีขาว |
| - จุดหลอมเหลว | 298 °C |
| - pH | 6.87 |
| - Chloride | 0.018 % |
| - Glucose | 0.2 % |
| - Loss on drying | 11.2 % |
| - Specific optical rotation | + 162 |
| - Residual on ignition | 0.002 % |
| - ขนาด | 80 mesh |
| - การปนเปื้อนของโลหะหนัก | 5 ppm |
| - ความเป็นพิษ | อาจเกิดการระคายเคืองต่อตา ทางเดินหายใจ และผิวหนัง (ยังไม่ได้มีการศึกษาอย่างจริงจัง) |
| - การป้องกัน | หลีกเลี่ยงการสัมผัสทางผิวหนังและตา |

2.2.2 การประยุกต์ใช้ในทางอุตสาหกรรม [10]

เนื่องจากคุณสมบัติเฉพาะตัวของไซโคลเดกซ์ทรินที่ไม่ต่างจากสารประเภทอื่นๆ ทำให้มีการนำไซโคลเดกซ์ทรินไปใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น อุตสาหกรรมอาหาร เครื่องดื่ม ยา และอุตสาหกรรมเคมี เป็นต้น ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

▪ เครื่องสำอาง

ส่วนใหญ่จะใช้ไซโคลเดกซ์ทรินในการรักษาเสถียรภาพ (Stabilization) ควบคุมกลิ่นและใช้ในกระบวนการปรับปรุงส่วนประกอบต่างๆที่อยู่ในรูปของเหลวให้เป็นของแข็ง นอกจากนี้ยังมีการนำไปใช้เป็นส่วนหนึ่งในการผลิตยาสีฟัน และครีมทาผิว

▪ อาหารและกลิ่น

โดยทั่วไปแล้วกลิ่น มักจะอยู่ในรูปของน้ำมันระเหย (Volatile oil) หรืออยู่ในรูปของของเหลว ซึ่งการเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับไซโคลเดกซ์ทริน จะช่วยป้องกันกลิ่นที่ไม่เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฟังก์ชันนี้ได้ นอกจากนี้ยังนำไปใช้ในการกำจัดโคเลสเตอรอล (Cholesterol) จากผลิตภัณฑ์จำพวก นม, เนย และไข่ เป็นต้น

- **อุตสาหกรรมเคมี**

ไซโคลเดกซ์ทรินถูกนำไปใช้อย่างกว้างในผลิตภัณฑ์เกี่ยวกับเคมีทางการเกษตร เช่น ยากำจัดวัชพืช, ยาฆ่าแมลง, ยาฆ่าเชื้อรา, สารไล่แมลงฟีโรโมน (Pheromone) และสารควบคุมการเจริญเติบโต สำหรับการใช้อย่างอื่น ๆ ได้แก่ การรักษาเสถียรภาพ (Stabilization) การช่วยเพิ่มความสามารถในการละลายในอุตสาหกรรมเคมี ใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา และปัจจุบันเริ่มมีการนำไซโคลเดกซ์ทรินมาใช้ในการกำจัดสารพิษที่ปนเปื้อนในของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม

- **การเคลือบผิวและพอลิเมอร์**

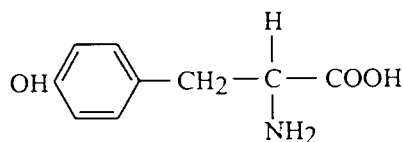
โดยไซโคลเดกซ์ทรินจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการยึดติดของวัตถุที่มีอุณหภูมิสูง สำหรับปฏิกิริยาระหว่างพอลิเมอร์จะทำให้พอลิเมอร์มีความหนืดสูงขึ้น และยังเป็นตัวขัดขวางผลกระทบที่ไม่พึงประสงค์จากปฏิกิริยาระหว่างพอลิเมอร์

- **ยา**

เนื่องจากยาจะละลายน้ำ และแพร่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ (Cellular membrane) และจะมีคุณสมบัติที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) มากพอที่จะแพร่ผ่านเมมเบรนได้ แต่ยาส่วนใหญ่จะเป็นแอลกอฮอล์ที่ไม่ละลายน้ำ สารละลายอินทรีย์ และเซอร์แฟกแทนท์อื่นๆ หรือที่ pH ไม่เหมาะสม (สูงหรือต่ำเกินไป) อันเป็นสาเหตุทำให้เกิดการระคายเคือง และความไม่มีประสิทธิภาพของยา จึงได้นำไซโคลเดกซ์ทรินไปใช้ในการผลิตยาด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 แอล-ไทโรซีน (L-tyrosine) [11-13]



รูปที่ 2.8 โครงสร้างของแอล-ไทโรซีน

| | |
|----------------|--|
| สูตรโมเลกุล | : $C_9H_{11}NO_3$ |
| คำย่อ | : Tyr หรือ Y |
| ชื่อทางการค้า | : Rxosine (Tyson Nutraceuticals), Free-From L-tyrosine (Solaray), Tyrosine Power (Nature's Herb) |
| น้ำหนักโมเลกุล | : 181.19 ดอลตัน |
| จุดหลอมเหลว | : $344^{\circ}C$ |

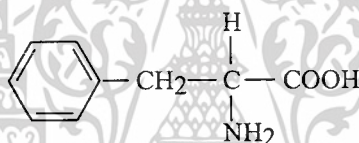
แอล-ไทโรซีนรู้จักกันในชื่อ Beta-(para-hydroxyphenyl) alanine, Alpha-amino-para-hydroxyhydrocinnamic acid and (S)-alpha-amino-4-hydroxybenzenepropanoic acid เป็นกรดอะมิโนชนิดอะโรมาติกที่จัดอยู่ในประเภทกรดอะมิโนที่ไม่จำเป็นต่อร่างกาย เนื่องจากร่างกายสามารถสังเคราะห์ขึ้นเองได้ โดยส่วนใหญ่สังเคราะห์มาจาก แอล-ฟีนิลอะลานีน ซึ่งจะพบแอล-ไทโรซีนอยู่ในอาหารควบคุมน้ำหนัก เช่น เนื้อสัตว์, เนื้อปลา, ข้าวสาลี และข้าวโอ๊ต เป็นต้น นอกจากนี้ แอล-ไทโรซีน ยังเป็นสารตั้งต้นของสารสื่อประสาทหลายชนิด ได้แก่ Epinephrine, Norepinephrine และ Dopamine เป็นต้น จึงนิยมใช้สำหรับป้องกันอาการหดหู่ซึมเศร้า (Depression) ในผู้ป่วยที่มีอาการหลงลืม (Alzheimer's disease) พวกที่มีความผิดปกติของอารมณ์ มีความเครียดบ่อยๆ นอนไม่หลับ ใช้แก้ปัญหาการหลงลืมบ่อยๆ (Mental retardation) เนื่องจากขาดสารสื่อประสาทและยังช่วยลดความผิดปกติของเม็ดสี (Melanin pigment) เช่น ในผู้ที่เป็นค่างขาว (Vitiligo) ได้อีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับคุณสมบัติทางกายภาพอื่นๆ ของแอล-ไทโรซีน เป็นดังนี้

| | |
|--------|--------------------------|
| ลักษณะ | ผงสีขาว หรือ สีขาวผสมเทา |
| กลิ่น | ไม่มี |
| pKa | 2.20 |
| pKb | 9.11 |
| pKx | 10.07 |
| pI | 5.66 |
| S | 0.5 |

2.4 แอล-ฟีนิลอะลานีน (L-phenylalanine) [14-15]



รูปที่ 2.9 โครงสร้างของแอล-ฟีนิลอะลานีน

สูตรโมเลกุล : $C_9H_{11}NO_2$

คำย่อ : Phe หรือ F

น้ำหนักโมเลกุล : 165.19 คอลตัน

จุดหลอมเหลว : $284^{\circ}C$

แอล-ฟีนิลอะลานีนรู้จักกันในชื่อ Beta-phenylalanine, Alpha-aminohydrocinnamic acid, (S)-2-amino-3-phenylpropanoic acid และ Alpha-amino-beta-phenylpropanoic acid เป็นกรดอะมิโนชนิดอะโรมาติกที่จัดอยู่ในประเภทกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย เนื่องจากร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นเองได้ ด้วยเหตุนี้จึงต้องได้รับแอล-ฟีนิลอะลานีนจากอาหาร ซึ่งร่างกายสามารถเปลี่ยนแอล-ฟีนิลอะลานีน ไปเป็นแอล-ไทโรซีน ได้ แต่ไม่สามารถเปลี่ยนแอล-ไทโรซีน กลับมาเป็น แอล-ฟีนิลอะลานีน ได้อีก นอกจากนี้ แอล-ฟีนิลอะลานีน ยังเป็นสารตั้งต้นของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารเฟนิลเอธิลลามีน (Phenylethylamine) ซึ่งมีผลทำให้ระดับของเอ็นโดพามีนในร่างกายมีมากขึ้น ช่วยให้ผู้รู้สึกสดชื่นและอารมณ์ดีขึ้นได้ มีสรรพคุณลดอาการผิดปกติของเม็ดสี (Melanin pigment) เช่น ในผู้ป่วยที่เป็นโรคคางขาว (Vitiligo) ลดอาการผิดปกติในผู้ป่วยพาร์กินสัน (Parkinson's disease) เช่น ลดอาการแข็งเกร็ง เดินไม่ตรง และยังสามารถช่วยลดอาการเจ็บ หรืออาการปวดต่างๆ ได้

สำหรับคุณสมบัติทางกายภาพอื่นๆ ของแอล-เฟนิลอะลานีน เป็นดังนี้

| | |
|-------------------------------------|--|
| ลักษณะ | ผงสีขาว หรือ สีขาวผสมเทา |
| กลิ่น | ไม่มี |
| ความสามารถในการละลาย | 1 g สามารถละลายในน้ำได้ 35 ml ละลายในแอลกอฮอล์, กรดเจือจางและสารละลาย Alkali hydroxide ได้เล็กน้อย |
| Specific rotation $[\alpha]_D^{25}$ | -33.2 ถึง -35.2 องศา (C = 0.2%, DI H ₂ O) |
| Residue on ignition | ≤ 0.1% |
| Loss on drying | ≤ 0.2 % |
| Assay (dried basis) | 98.5% ถึง 101.5% |
| pKa | 1.83 |
| pKb | 9.13 |
| pI | 5.48 |

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

John A Ambrose และคณะ [16] การปรับปรุงเทคนิคทางฟลูออโรเมตรีสำหรับการวิเคราะห์หาเฟนิลอะลานีนในเซรัม โดยทำการปรับปรุง reproducibility, stability และ sensitivity ของวิธีให้มีค่าเพิ่มขึ้นโดย 1)ทำการตรวจวัดในสารละลายบัฟเฟอร์กรด และอัลคาไลน์บัฟเฟอร์ 2)ทำการวิเคราะห์หาความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดของโคเปปไทด์และนินไฮดริน 3)ลดความเข้มข้นของสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติก 4)กำจัดสิ่งปนเปื้อนออกจาก Chemical reagent โดยการใช้กระดาษกรอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Zhang Lefeng และคณะ [17] วิธีโดยตรงสำหรับการวิเคราะห์เฟนิลอะลานีนในเซรุ่มสกัด โดยใช้วิธี Reversed-phase high-performance liquid chromatography และใช้คอลัมน์เป็น Octadecylsilane ทำการตรวจวัดเฟนิลอะลานีนที่ความยาวคลื่น 220 นาโนเมตร ด้วย UV detector สารละลายเคลื่อนที่ที่ใช้เป็นสารละลายผสมระหว่างเมทานอลและน้ำ (10:90) ทำการเติมกรดฟอสฟอริก และโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ค่า pH เท่ากับ 4.3 ปริมาณเฉลี่ยของเฟนิลอะลานีนที่พบในผู้ใหญ่ และเด็กปกติ เท่ากับ 12 และ 15 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ และสำหรับปริมาณเฟนิลอะลานีนในเซรุ่มของเด็กที่เป็นโรค PKU มีค่าสูงกว่า 10 ถึง 15 เท่า

Bo Tang และคณะ [18] ศึกษาการเกิดปฏิกิริยา Supramolecular ระหว่าง N,N-diethyl-2-(1-naphthalenyloxy) propamide (napropamide) กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ทำการศึกษาโดยใช้วิธีทางฟลูออโรเมทรี ผลที่ได้แสดงว่าบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินนั้นทำปฏิกิริยากับ napropamide ในรูปของสารประกอบอินclusion ค่าคงที่ในการรวมตัว คือ $3.18 \times 10^4 \text{ l mol}^{-1}$ เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนอัตราส่วน 1:1 ($\beta\text{-CD} : \text{napropamide}$) การเพิ่มความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ของ napropamide ในสารประกอบอินclusion โดยใช้วิธีทางฟลูออโรเมทรีจะให้ค่า sensitivity และ selectivity ที่สูง โดยได้พัฒนาสำหรับใช้ในการวิเคราะห์สารละลาย napropamide ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมที่สุด สารประกอบอินclusion มีค่าการดูดกลืนแสง และค่าการคายแสงสูงที่สุดที่ 285 และ 339 นาโนเมตร ตามลำดับ ช่วงของความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงของวิธี คือ 3.7-1500 ng ml^{-1} ขีดจำกัดในการตรวจวัด คือ 1.1 ng ml^{-1} วิธีนี้มีประโยชน์ในการวิเคราะห์หา napropamide จากน้ำในแม่น้

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1. เครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ รุ่น RF - 301 PC บริษัท Shimadzu
2. เครื่องวัดค่าความเป็นกรด - ด่าง รุ่น 215 บริษัท Denver Instrument
3. เครื่องปั่นกวนแบบให้ความร้อน รุ่น M21/1 บริษัท Fisher Scientific
4. เครื่องชั่งน้ำหนักไฟฟ้าแบบละเอียด รุ่น TC - 254 บริษัท Denver Instrument Company
5. ขวดวัดปริมาตรขนาด 25, 50, 100, 500 และ 1000 ml
6. บีกเกอร์ขนาด 100, 150, 500 และ 1000 ml
7. เซลล์ควอดซ์
8. แท่งแม่เหล็ก
9. ซ้อนตักสาร
10. แท่งแก้วคน
11. บีเปตขนาด 1, 5 และ 10 ml
12. กระจกตวง 150 ml
13. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 ml
14. หลอดหยด
15. กระจกกรองเบอร์ 42 บริษัท วอทแมน
16. ชุดเครื่องกรองสูญญากาศ
17. โกร่งบดสาร

3.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. L - phenylalanine, $C_9H_{11}NO_2$ เกรดชีวเคมี บริษัท Fluka
2. L - tyrosine, $C_9H_{11}NO_3$ เกรดชีวเคมี บริษัท Fluka
3. Beta - cyclodextrin เกรด HPLC บริษัท Fluka
4. Phosphoric acid, H_3PO_4 เกรดวิเคราะห์ บริษัท Carlo Erba
5. Disodium hydrogen phosphate, Na_2HPO_4 เกรดวิเคราะห์ บริษัท Carlo Erba
6. Monosodium hydrogen phosphate, NaH_2PO_4 เกรดวิเคราะห์ บริษัท Carlo Erba

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. น้ำกลั่น

3.3 การเตรียมสารละลาย

3.3.1 การเตรียมสารละลายสต็อกมาตรฐานแอล-ไทโรซีน เข้มข้น 100 ppm

ชั่งแอล-ไทโรซีน จำนวน 100 mg ละลายด้วยน้ำกลั่นจนผงแอล-ไทโรซีนละลายหมด จากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 1 L ด้วยน้ำกลั่น ในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 ml

3.3.2 การเตรียมสารละลายสต็อกมาตรฐานแอล-เฟนิลอะลานีน เข้มข้น 1000 ppm

ชั่งแอล-เฟนิลอะลานีน จำนวน 1000 mg ละลายด้วยน้ำกลั่นจนผงแอล-เฟนิลอะลานีนละลายหมด จากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 1 L ด้วยน้ำกลั่น ในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 ml

3.3.3 การเตรียมสารละลายสต็อกมาตรฐานบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน เข้มข้น 5000 ppm

ชั่งบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน จำนวน 5000 mg ละลายด้วยน้ำกลั่นจนผงบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินละลายหมด จากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 1 L ด้วยน้ำกลั่น ในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 ml

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดแอล-ไทโรซีนและแอล-เฟนิลอะลานีนด้วยเทคนิคทางฟลูออโรเมทรี

3.4.1.1 การศึกษาหาความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการดูดกลืนแสงและการคายแสง

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีน เข้มข้น 10 ppm ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 ml จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร
2. นำไปวัดค่าการคายแสงด้วยเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ โดยทดลองตั้งค่าความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสงตั้งแต่ 265 ถึง 275 นาโนเมตร เพื่อหาค่าการคายแสงที่เหมาะสมที่สุด
3. ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้างต้นแต่เปลี่ยนจากแอล-ไทโรซีน เป็นแอล-เฟนิลอะลานีน เข้มข้น 100 ppm และทดลองตั้งค่าความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสงตั้งแต่ 250 ถึง 260 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.1.2 การศึกษา pH ที่เหมาะสมต่อการตรวจวัดแอล-ไทโรซีนและแอล-เฟนิลอะลานีน

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีน เข้มข้น 10 ppm ในสารละลาย 0.2 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 2
2. นำไปวัดค่าการคายแสงด้วยเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่นที่เหมาะสมจากข้อ 3.4.1.1
3. ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้างต้น แต่เปลี่ยนค่า pH ของสารละลาย 0.2 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์จาก 2 เป็น 3, 4, 5, 6, 7 และ 8 ตามลำดับ
4. ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1-3 โดยเปลี่ยนจากแอล-ไทโรซีน เป็นแอล-เฟนิลอะลานีน เข้มข้น 100 ppm

3.4.1.3 การศึกษาความเข้มข้นของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่เหมาะสมต่อการตรวจวัดแอล-ไทโรซีนและแอล-เฟนิลอะลานีน

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีน เข้มข้น 10 ppm ในสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH ที่เหมาะสมจากข้อ 3.4.1.2
2. นำไปวัดค่าการคายแสงด้วยเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่นที่เหมาะสมจากข้อ 3.4.1.1
3. ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้างต้น แต่เปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์จาก 0.1 เป็น 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 M ตามลำดับ
4. ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1-3 โดยเปลี่ยนจากแอล-ไทโรซีน เป็นแอล-เฟนิลอะลานีน เข้มข้น 100 ppm

3.4.2 การศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในการตรวจวัดแอล-ไทโรซีนและแอล-เฟนิลอะลานีน

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-ไทโรซีน เข้มข้น 10 ppm กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน เข้มข้น 10 ppm ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH ที่เหมาะสมจากข้อ 3.4.1.2 ความเข้มข้นที่เหมาะสมจากข้อ 3.4.1.3
2. นำไปวัดค่าการคายแสงด้วยเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่นที่เหมาะสมจากข้อ 3.4.1.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้างต้น แต่เปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินทริน จาก 10 เป็น 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170 และ 180 ppm ตามลำดับ
4. ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1-3 โดยเปลี่ยนจากแอล-ไทโรซีน เป็นแอล-เฟนิลอะลานีนเข้มข้น 100 ppm กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินเข้มข้น 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200 และ 1300 ppm ตามลำดับ

3.4.3 การตรวจสอบความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์

3.4.3.1 ศึกษาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง (Linearity)

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-ไทโรซีน ที่ความเข้มข้น 0 - 40 ppm กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ที่ความเข้มข้นที่เหมาะสมจากข้อ 3.4.2 ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH ที่เหมาะสมจากข้อ 3.4.1.2 ความเข้มข้นที่เหมาะสมจากข้อ 3.4.1.3
2. นำไปวัดค่าการคายแสงด้วยเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่นที่เหมาะสมจากข้อ 3.4.1.1
3. สร้างกราฟระหว่างความเข้มแสงกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-ไทโรซีน กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินเพื่อดูช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟ ซึ่งเป็นค่าตอบสนองเชิงเส้นของสารที่ทำการศึกษา (Linear range)
4. ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้างต้นแต่เปลี่ยนจากแอล-ไทโรซีน เป็นแอล-เฟนิลอะลานีน ที่ความเข้มข้น 0 - 350 ppm
5. ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1-4 โดยไม่เติมบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน

3.4.3.2 ศึกษาความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (Limit of detection)

1. เตรียมสารละลายแบบล่งค์ของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH ที่เหมาะสมจากข้อ 3.4.1.2 ความเข้มข้นที่เหมาะสมจากข้อ 3.4.1.3
2. นำไปวัดค่าการคายแสงด้วยเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่นที่เหมาะสมจากข้อ 3.4.1.1
3. คำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) ของความเข้มแสงของสารละลายแบบล่งค์
4. คำนวณค่าขีดจำกัดในการวิเคราะห์ (Limit of detection) ของสารละลายแบบล่งค์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.3.3 ศึกษาความเที่ยงตรง (Precision) ของวิธีวิเคราะห์

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-ไทโรซีน เข้มข้น 10 ppm กับ บีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ที่ความเข้มข้นที่เหมาะสมจากข้อ 3.4.2 ในสารละลาย ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH ที่เหมาะสมจากข้อ 3.4.1.2 ความเข้มข้นที่เหมาะสมจาก ข้อ 3.4.1.3
2. นำไปวัดค่าการคายแสงด้วยเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่นที่เหมาะสม จากข้อ 3.4.1.1
3. คำนวณหาค่าเฉลี่ย (Mean) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) ของความเข้มข้น ของสารมาตรฐานผสมระหว่างแอล-ไทโรซีน กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน
4. คำนวณหาค่าร้อยละของการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ของความ เข้มข้นของสารมาตรฐานผสมระหว่างแอล-ไทโรซีน กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ซึ่งคำนวณได้ดังนี้
5. ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้างต้นแต่เปลี่ยนจากแอล-ไทโรซีน เป็นแอล-ฟีนิลอะ ลานีน เข้มข้น 100 ppm
6. ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1-5 โดยไม่เติมบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน

3.4.4 การวิเคราะห์หาปริมาณแอล-ไทโรซีนและแอล-ฟีนิลอะลานีน ในตัวอย่างยา

ศึกษาการตรวจวัดปริมาณแอล-ไทโรซีนและแอล-ฟีนิลอะลานีน ในตัวอย่างยา GNC L-tyrosine 500 และ GNC L-phenylalanine 500 ตามลำดับ โดยใช้เทคนิคทางฟลูออโรเมทรี ขึ้นตอนการทดลองเป็นดังนี้

1. ชั่งน้ำหนักเม็ดยาตัวอย่าง GNC L-tyrosine 20 เม็ด แล้วหาค่าเฉลี่ยน้ำหนักเม็ดยา ต่อเม็ด
2. บดเม็ดยาตัวอย่างให้ละเอียดแล้วชั่งมา 50 mg จดบันทึกน้ำหนักเม็ดยาอย่างละเอียด
3. นำมาละลายในน้ำกลั่นและหยดสารละลายกรด 1.0 M ไฮโดรคลอริก จำนวน 40 หยด คนของผสมด้วยแท่งแก้วนาน 5 นาที แล้วนำของผสมที่ได้ไปกรองด้วยเครื่องกรอง สูญญากาศ เก็บสารละลายที่กรองได้นำมาปรับปริมาตรให้เป็น 50 ml
4. เตรียมสารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีน เข้มข้น 100 ppm
5. เตรียมสารละลายสำหรับตรวจวัดปริมาณแอล-ไทโรซีนด้วยวิธีเตรียมสารละลายมาตรฐาน

โดยเตรียมสารละลายในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 ml แสดงดังตารางที่ 3.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 ปริมาณสารละลายที่ใช้ในการเตรียมสารละลายตัวอย่างสำหรับการตรวจวัดปริมาณ แอล-ไทโรซีนด้วยวิธีเติมสารละลายมาตรฐาน

| ขวด ที่ | ปริมาตรสาร ตัวอย่าง (ml) | ปริมาตรสารมาตรฐาน แอล-ไทโรซีน 100 ppm (ml) | ปริมาตรสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (ml) | ปริมาตรรวม |
|------------|-----------------------------|--|--|------------|
| 1 | 1.00 | 0.00 | 24.00 | 25.00 |
| 2 | 1.00 | 0.50 | 23.50 | 25.00 |
| 3 | 1.00 | 1.00 | 23.00 | 25.00 |
| 4 | 1.00 | 2.00 | 22.00 | 25.00 |

จากตารางที่ 3.1 จะได้ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานของขวดที่ 1, 2, 3 และ 4 เท่ากับ 0, 2, 4 และ 8 ppm ตามลำดับ

6. ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1-3

7. เตรียมสารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีน เข้มข้น 100 ppm

8. เตรียมสารละลายมาตรฐานบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน เข้มข้น 400 ppm

9. เตรียมสารละลายสำหรับตรวจวัดปริมาณแอล-ไทโรซีนด้วยวิธีเติมสารละลายมาตรฐาน โดยเตรียมสารละลายในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 ml แสดงดังตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 ปริมาณสารละลายที่ใช้ในการเตรียมสารละลายตัวอย่างสำหรับการตรวจวัดปริมาณ แอล-ไทโรซีนด้วยวิธีเติมสารละลายมาตรฐาน(แบบเติมบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน)

| ขวด ที่ | ปริมาตรสาร ตัวอย่าง (ml) | ปริมาตรสาร มาตรฐาน แอล-ไทโรซีน 100 ppm (ml) | ปริมาตรสาร มาตรฐานบีต้า-ไซ โคลเดกซ์ทริน 400 ppm (ml) | ปริมาตร สารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (ml) | ปริมาตร รวม |
|------------|--------------------------------|---|---|---|----------------|
| 1 | 1.00 | 0.00 | 5.00 | 19.00 | 25.00 |
| 2 | 1.00 | 0.50 | 5.00 | 18.50 | 25.00 |
| 3 | 1.00 | 1.00 | 5.00 | 18.00 | 25.00 |
| 4 | 1.00 | 2.00 | 5.00 | 17.00 | 25.00 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้ในเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 3.2 จะได้ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานของขวดที่ 1, 2, 3 และ 4 เท่ากับ 0, 2, 4 และ 8 ppm ตามลำดับ

10. ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1-3 โดยเปลี่ยนตัวอย่างเม็ดยาเป็น GNC L - phenylalanine
11. เตรียมสารละลายมาตรฐานแอล-ฟีนิลอะลานีน เข้มข้น 1000 ppm
12. เตรียมสารละลายสำหรับตรวจวัดปริมาณแอล-ฟีนิลอะลานีนด้วยวิธีเติมสารละลายมาตรฐาน โดยเตรียมสารละลายในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 ml แสดงดังตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 ปริมาณสารละลายที่ใช้ในการเตรียมสารละลายตัวอย่างสำหรับการตรวจวัดปริมาณแอล-ฟีนิลอะลานีนด้วยวิธีเติมสารละลายมาตรฐาน

| ขวดที่ | ปริมาตรสารตัวอย่าง (ml) | ปริมาตรสารมาตรฐานแอล-ฟีนิลอะลานีน 1000 ppm (ml) | ปริมาตรสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (ml) | ปริมาตรรวม |
|--------|-------------------------|---|---|------------|
| 1 | 1.00 | 0.00 | 24.00 | 25.00 |
| 2 | 1.00 | 0.25 | 23.75 | 25.00 |
| 3 | 1.00 | 2.50 | 21.50 | 25.00 |
| 4 | 1.00 | 5.00 | 19.00 | 25.00 |

จากตารางที่ 3.3 จะได้ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานของขวดที่ 1, 2, 3 และ 4 เท่ากับ 0, 10, 100 และ 200 ppm ตามลำดับ

13. ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1-3
14. เตรียมสารละลายมาตรฐานแอล-ฟีนิลอะลานีน เข้มข้น 1000 ppm
15. เตรียมสารละลายมาตรฐานบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน เข้มข้น 4500 ppm
16. เตรียมสารละลายสำหรับตรวจวัดปริมาณแอล-ฟีนิลอะลานีนด้วยวิธีเติมสารละลายมาตรฐาน โดยเตรียมสารละลายในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 ml แสดงดังตารางที่ 3.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.4 ปริมาณสารละลายที่ใช้ในการเตรียมสารละลายตัวอย่างสำหรับการตรวจวัดปริมาณ
แอล-เฟนิลอะลานีนด้วยวิธีเติมสารละลายมาตรฐาน(แบบเติมบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน)

| ขวด ที่ | ปริมาตรสาร ตัวอย่าง (ml) | ปริมาตรสาร มาตรฐาน แอล-เฟนิลอะ ลานีน 1000 ppm (ml) | ปริมาตรสาร มาตรฐานบีต้า-ไซ โคลเดกซ์ทริน 4500 ppm (ml) | ปริมาตร สารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (ml) | ปริมาตร รวม |
|------------|--------------------------------|--|--|---|----------------|
| 1 | 1.00 | 0.00 | 5.00 | 19.00 | 25.00 |
| 2 | 1.00 | 0.25 | 5.00 | 18.75 | 25.00 |
| 3 | 1.00 | 2.50 | 5.00 | 16.50 | 25.00 |
| 4 | 1.00 | 5.00 | 5.00 | 14.00 | 25.00 |

จากตารางที่ 3.4 จะได้ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานของขวดที่ 1, 2, 3 และ 4 เท่ากับ 0, 10, 100 และ 200 ppm ตามลำดับ

17. นำสารละลายที่เตรียมได้จากตารางที่ 3.1, 3.2, 3.3 และ 3.4 ไปตรวจวัดหาปริมาณ แอล-ไทโรซีน และแอล-เฟนิลอะลานีนด้วยเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์

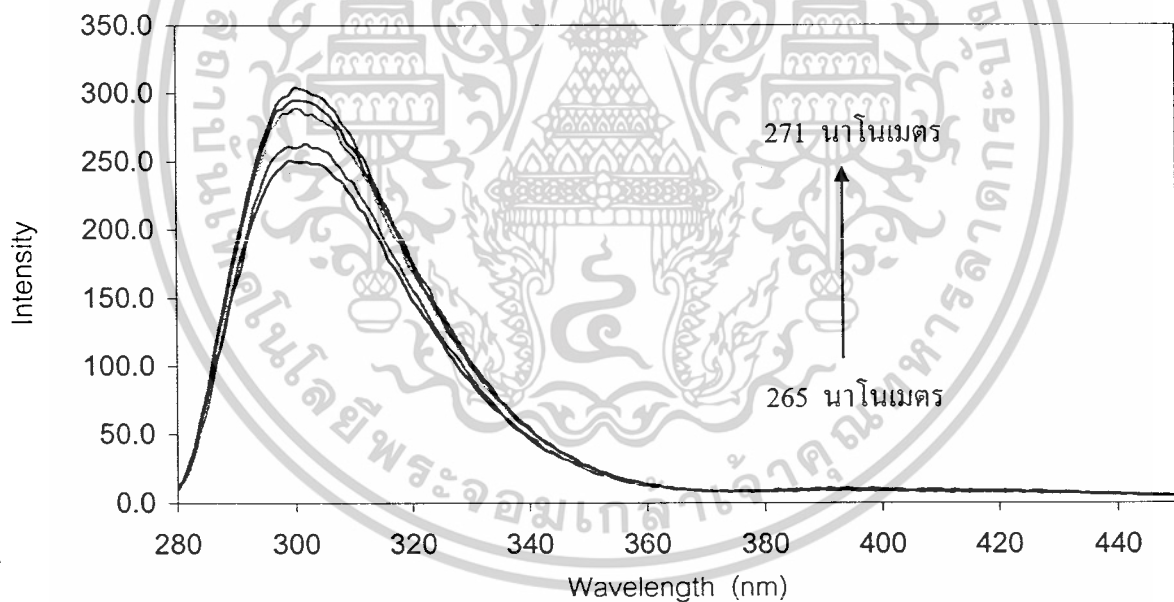
บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

4.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดแอล-ไทโรซีนและแอล-ฟีนิลอะลานีนด้วยเทคนิคทางฟลูออโรเมทรี

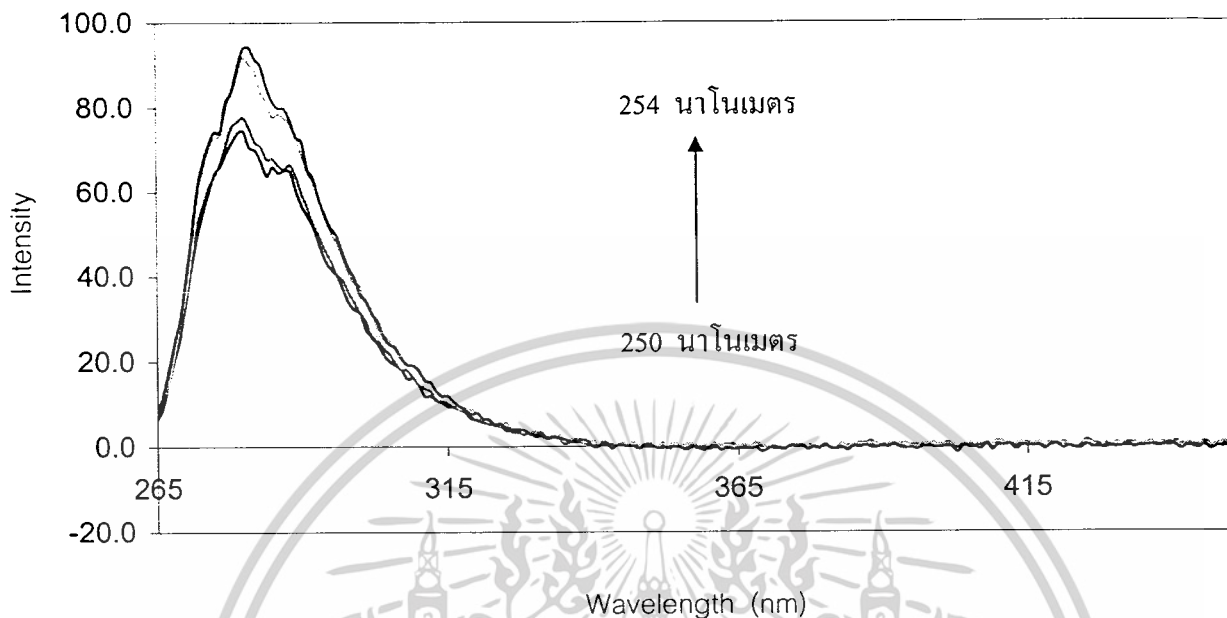
4.1.1 การศึกษาหาความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการดูดกลืนแสงและการคายแสง

ศึกษาโดยทำการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีน เข้มข้น 10 ppm และแอล-ฟีนิลอะลานีน เข้มข้น 100 ppm โดยทดลองตั้งค่าความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสงตั้งแต่ 265 ถึง 275 นาโนเมตร สำหรับแอล-ไทโรซีน และ 250 ถึง 260 นาโนเมตร สำหรับแอล-ฟีนิลอะลานีน สเปกตรัมที่ได้แสดงดังรูปที่ 4.1 และ 4.2



รูปที่ 4.1 สเปกตรัมของสารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีน เข้มข้น 10 ppm ที่ได้จากการทดลองตั้งค่าความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสงค่าต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 สเปกตรัมของสารละลายมาตรฐานแอล-เฟนิลอะลานีน เข้มข้น 100 ppm ที่ได้จากการทดลองตั้งค่าความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสงค่าต่างๆ

จากลักษณะของสเปกตรัมที่ได้จากรูปที่ 4.1 และ 4.2 ค่าความยาวคลื่นที่เหมาะสมที่สุดในการดูดกลืนแสงและการคายแสงของแอล-ไทโรซีน และแอล-เฟนิลอะลานีน แสดงดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการดูดกลืนแสงและการคายแสงของสารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีนและแอล-เฟนิลอะลานีน

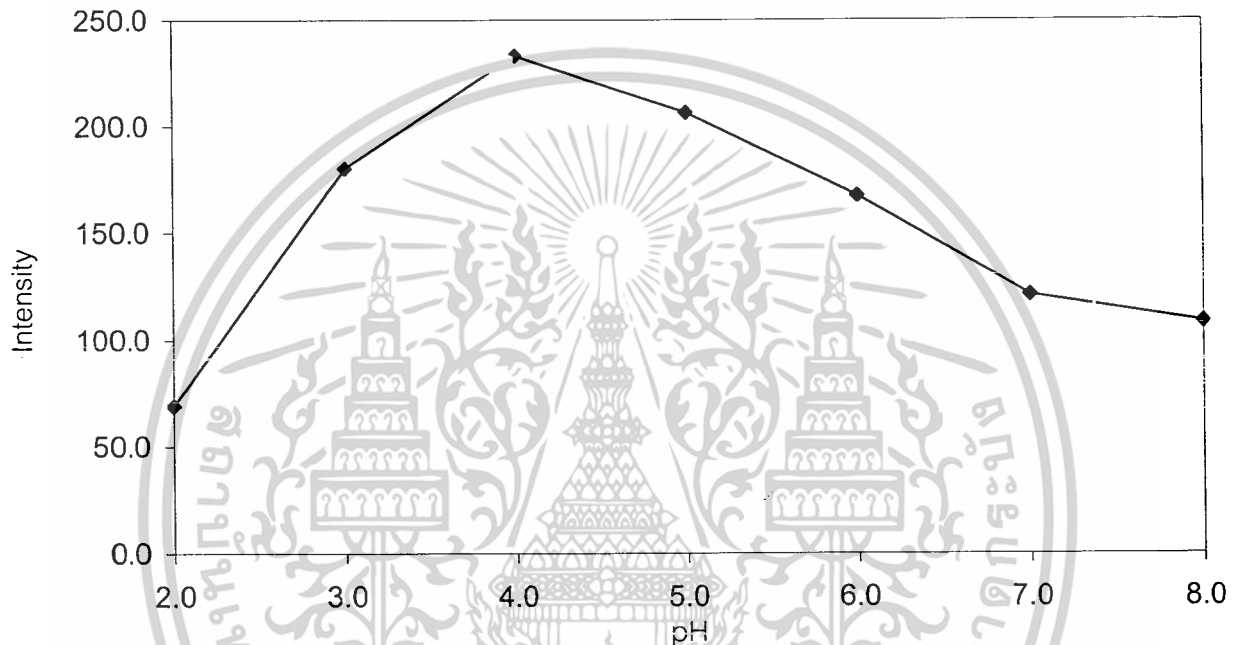
| | Excitation wavelength (nm) | Emission wavelength (nm) |
|------------------|----------------------------|--------------------------|
| แอล-ไทโรซีน | 271 | 302 |
| แอล-เฟนิลอะลานีน | 254 | 281 |

จากตารางที่ 4.1 ค่าความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการดูดกลืนแสงและการคายแสง สำหรับแอล-ไทโรซีน คือ 271 และ 302 นาโนเมตร ตามลำดับ และสำหรับแอล-เฟนิลอะลานีน คือ 254 และ 281 นาโนเมตร ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

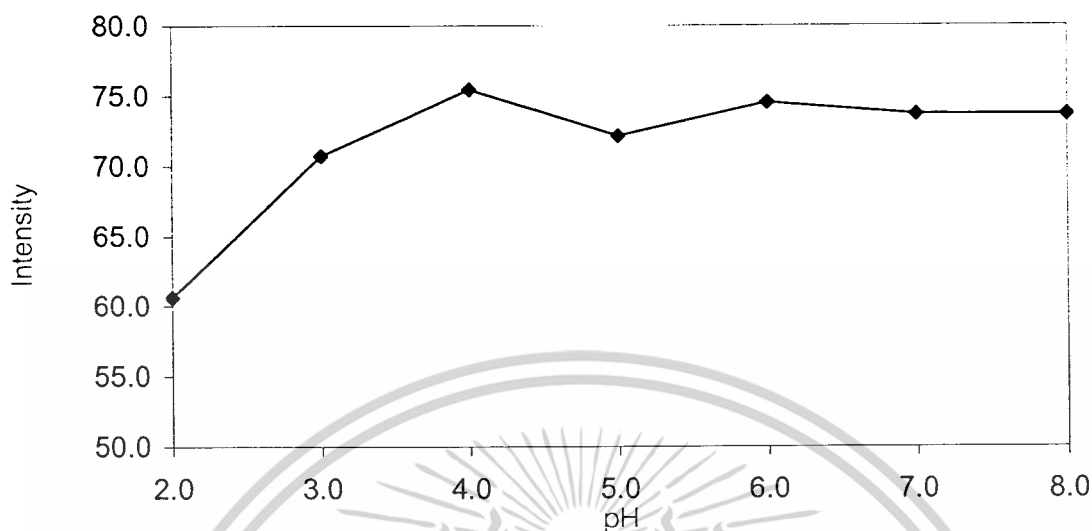
4.1.2 การศึกษา pH ที่เหมาะสมต่อการตรวจวัดแอล-ไทโรซีนและแอล-ฟีนิลอะลานีน

ศึกษาโดยทำการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีน เข้มข้น 10 ppm และแอล-ฟีนิลอะลานีน เข้มข้น 100 ppm ในสารละลาย 0.2 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 2.0 ถึง 8.0 พล็อตกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสง กับค่า pH ต่างๆ ของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ดังแสดงในรูปที่ 4.3 และ 4.4



รูปที่ 4.3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีน เข้มข้น 10 ppm ในสารละลาย 0.2 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ และค่า pH ตั้งแต่ 2.0 ถึง 8.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

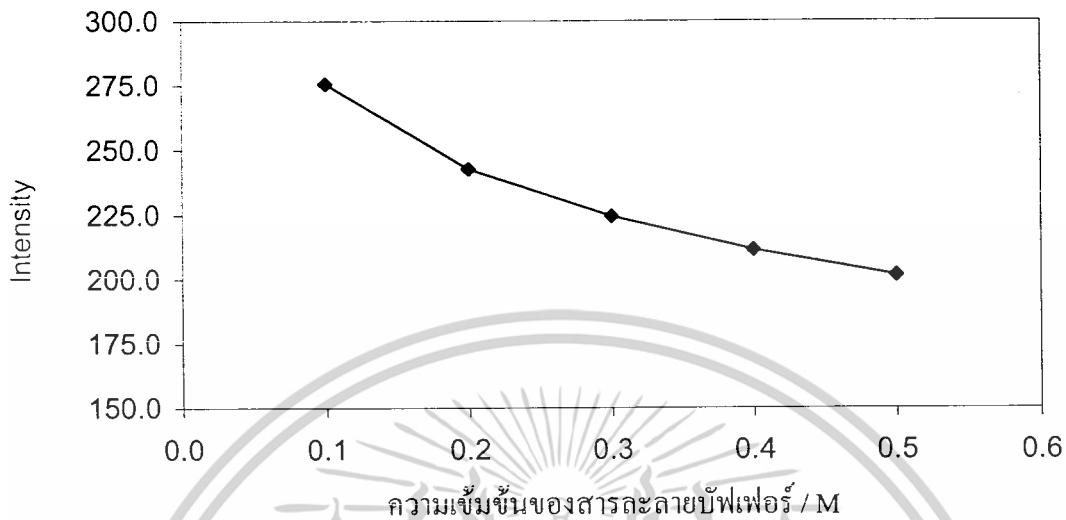


รูปที่ 4.4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐาน แอล-ฟีนิลอะลานีน เข้มข้น 100 ppm ในสารละลาย 0.2 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ และค่า pH ตั้งแต่ 2.0 ถึง 8.0

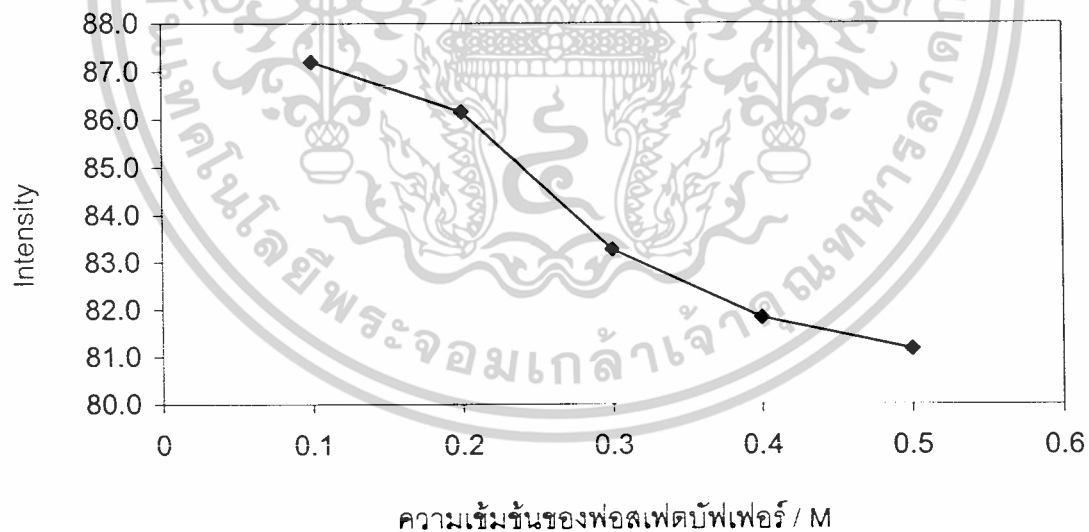
จากรูปที่ 4.3 และ 4.4 เมื่อพิจารณาการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีนและแอล-ฟีนิลอะลานีน ในสารละลาย 0.2 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 2.0 ถึง 8.0 พบว่าเมื่อใช้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่มีค่า pH 4.0 เป็นตัวควบคุมสภาวะความเป็นกรดจะได้ค่าความเข้มแสงจากการตรวจวัดสูงที่สุด ดังนั้นจึงเลือกใช้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 สำหรับการตรวจวัดแอล-ไทโรซีนและแอล-ฟีนิลอะลานีนตลอดการทดลองนี้

4.1.3 การศึกษาความเข้มข้นของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่เหมาะสมต่อการตรวจวัดแอล-ไทโรซีนและแอล-ฟีนิลอะลานีน

ศึกษาโดยทำการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีน เข้มข้น 10 ppm และแอล-ฟีนิลอะลานีน เข้มข้น 100 ppm ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ความเข้มข้น 0.1 ถึง 0.5 M พล็อตกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสง กับความเข้มข้นของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ดังแสดงในรูปที่ 4.5 และ 4.6



รูปที่ 4.5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐาน แอล-ไทโรซีน ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ที่ความเข้มข้นต่างๆ ตั้งแต่ 0.1 ถึง 0.5 M



รูปที่ 4.6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐาน แอล-เฟนิลอะลานีน ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ที่ความเข้มข้นต่างๆ ตั้งแต่ 0.1 ถึง 0.5 M

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.5 และ 4.6 เมื่อพิจารณาจากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีน และแอล-เฟนิลอะลานีน ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ความเข้มข้น 0.1 ถึง 0.5 M พบว่าเมื่อใช้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M ในการตรวจวัดสารละลายแอล-ไทโรซีน และแอล-เฟนิลอะลานีน จะให้ความเข้มแสงจากการตรวจวัดสูงที่สุด ดังนั้นจึงเลือกใช้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M ในการตรวจวัดสารละลายแอล-ไทโรซีนและแอล-เฟนิลอะลานีน

4.2 การศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในการตรวจวัดแอล-ไทโรซีนและแอล-เฟนิลอะลานีน

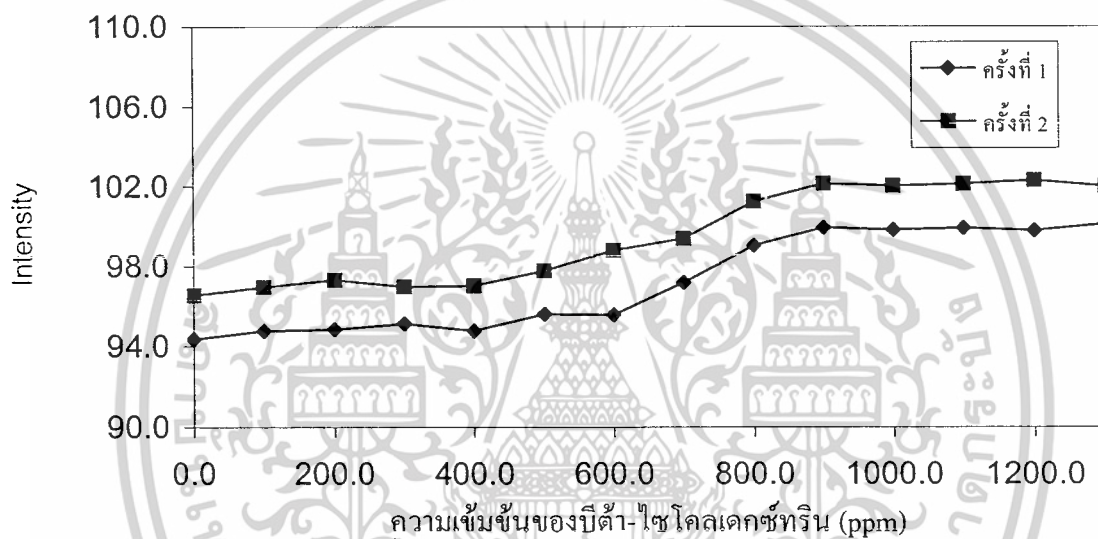
ศึกษาโดยทำการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-ไทโรซีน เข้มข้น 10 ppm กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ที่ความเข้มข้นต่างๆ ตั้งแต่ 10 ถึง 180 ppm และสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-เฟนิลอะลานีน เข้มข้น 100 ppm กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ที่ความเข้มข้นต่างๆ ตั้งแต่ 10 ถึง 1300 ppm ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ความเข้มข้น 0.1 M พล็อตกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มแสงกับความเข้มข้นของบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ดังแสดงในรูปที่ 4.7 และ 4.8



รูปที่ 4.7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-ไทโรซีน เข้มข้น 10 ppm กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินที่ความเข้มข้นต่างๆ 10 ถึง 180 ppm ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ความเข้มข้น 0.1 M

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.7 เมื่อพิจารณาการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานผสมแอล-ไทโรซีน กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ความเข้มข้น 10 ถึง 180 ppm ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ความเข้มข้น 0.1 M พบว่าเมื่อความเข้มข้นของบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินเพิ่มขึ้น ความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายแอล-ไทโรซีนจะเพิ่มสูงขึ้น และเมื่อพิจารณาความเข้มข้นของบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในช่วง 80 ถึง 180 ppm พบว่าความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายแอล-ไทโรซีนมีค่าเพิ่มขึ้นไม่มาก ดังนั้นจึงเลือกใช้บีต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินความเข้มข้น 80 ppm ในการตรวจวัดสารละลายแอล-ไทโรซีน



รูปที่ 4.8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-ฟีนิลอะลานีน เข้มข้น 100 ppm กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินที่ความเข้มข้นต่างๆ ตั้งแต่ 100 ถึง 1300 ppm ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ความเข้มข้น 0.1 M

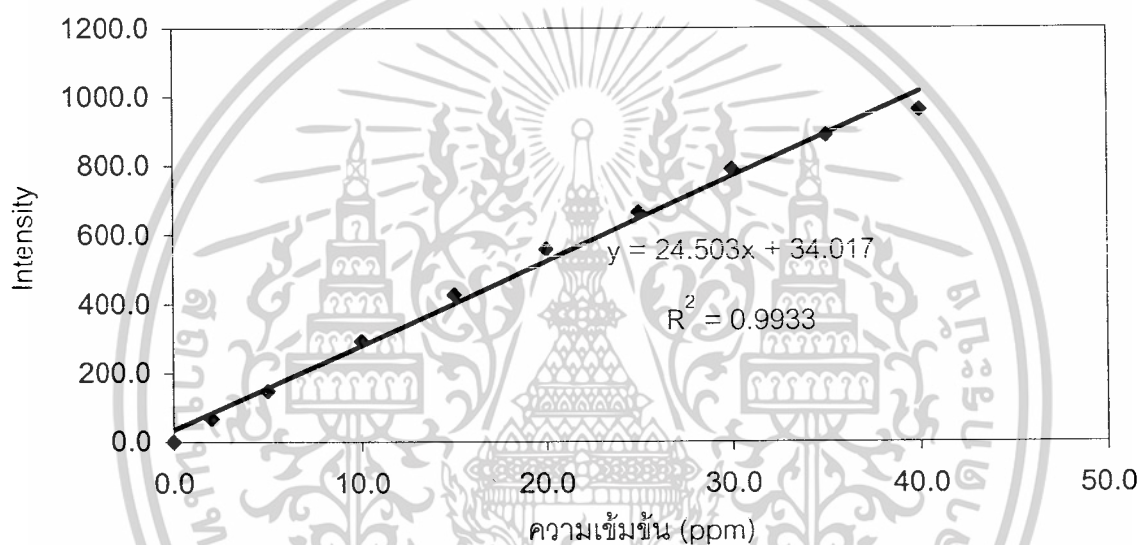
จากรูปที่ 4.8 เมื่อพิจารณาการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานผสมแอล-ฟีนิลอะลานีน กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินที่ความเข้มข้น 100 ถึง 1300 ppm ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ความเข้มข้น 0.1 M พบว่าความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายแอล-ฟีนิลอะลานีนจะเพิ่มสูงขึ้น จนเมื่อความเข้มข้นของบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินเพิ่มขึ้นถึง 900 ppm ความเข้มแสงที่ได้จะมีแนวโน้มคงที่ ดังนั้นจึงเลือกใช้สารละลายบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินความเข้มข้น 900 ppm ในการตรวจวัดสารละลายแอล-ฟีนิลอะลานีน

4.3 การตรวจสอบความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์

4.3.1 ศึกษาช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง (Linearity)

4.3.1.1 สารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีน

ศึกษาโดยทำการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีน ความเข้มข้นต่างๆ ตั้งแต่ 0 ถึง 40 ppm ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ความเข้มข้น 0.1 M พล็อตกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสง กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีน ดังแสดงในรูปที่ 4.9

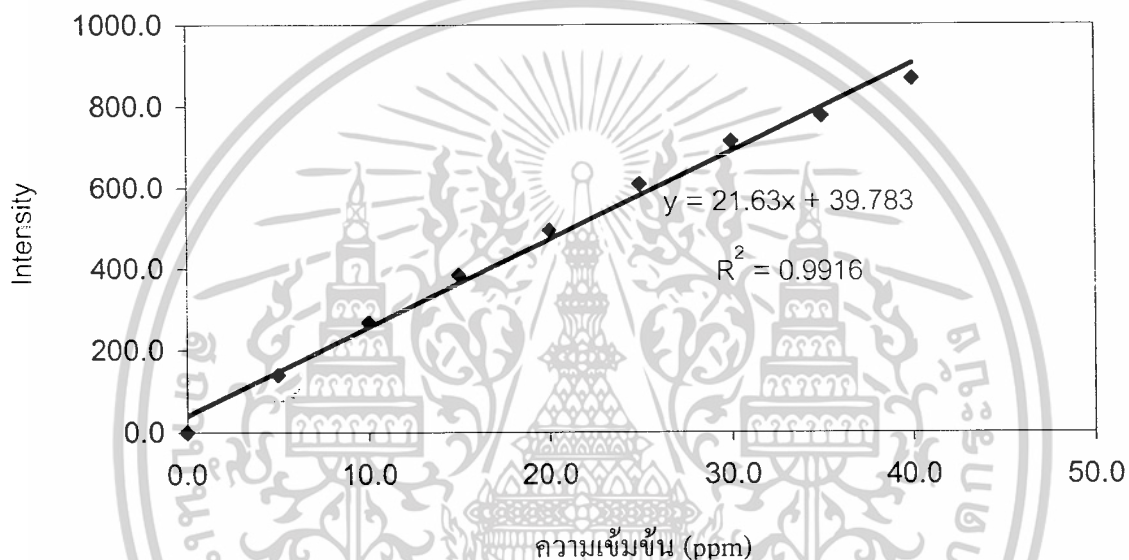


รูปที่ 4.9 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสง กับความเข้มข้นในช่วงที่เป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีน ตั้งแต่ 0 ถึง 40 ppm ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ความเข้มข้น 0.1 M

จากกราฟรูปที่ 4.9 สามารถหาช่วงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีน ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ความเข้มข้น 0.1 M ได้ โดยช่วงของความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงของแอล-ไทโรซีน อยู่ในช่วง 0 ถึง 40 ppm

4.3.1.2 สารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-ไทโรซีน กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน

ศึกษาโดยทำการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-ไทโรซีน ความเข้มข้นต่างๆ ตั้งแต่ 0 ถึง 40 ppm กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ที่ความเข้มข้น 80 ppm ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ความเข้มข้น 0.1 M พล็อตกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสง กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-ไทโรซีน กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินดังแสดงในรูปที่ 4.10

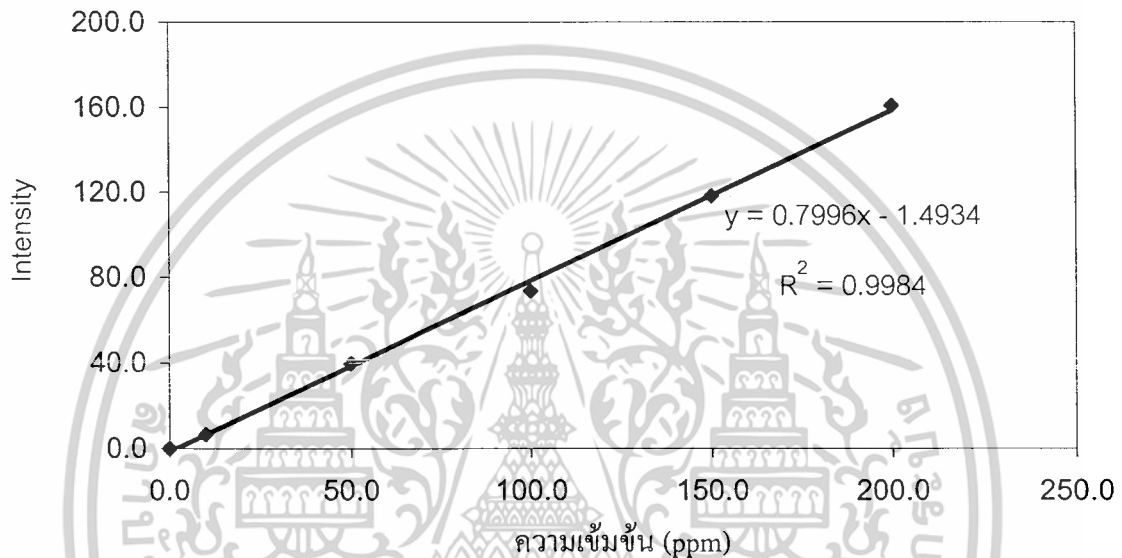


รูปที่ 4.10 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสง กับความเข้มข้นในช่วงที่เป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-ไทโรซีน ความเข้มข้น 0 ถึง 40 ppm กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ความเข้มข้น 80 ppm ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ความเข้มข้น 0.1 M

จากกราฟรูปที่ 4.10 สามารถหาช่วงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-ไทโรซีน กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ความเข้มข้น 0.1 M ได้ โดยช่วงของความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-ไทโรซีน กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน อยู่ในช่วง 0 ถึง 40 ppm

4.3.1.3 สารละลายมาตรฐานแอล-เฟนิลอะลานีน

ศึกษาโดยทำการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานแอล-เฟนิลอะลานีน ความเข้มข้นต่างๆ ตั้งแต่ 0 ถึง 300 ppm ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ความเข้มข้น 0.1 M พล็อตกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสง กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแอล-เฟนิลอะลานีน ดังแสดงในรูปที่ 4.11



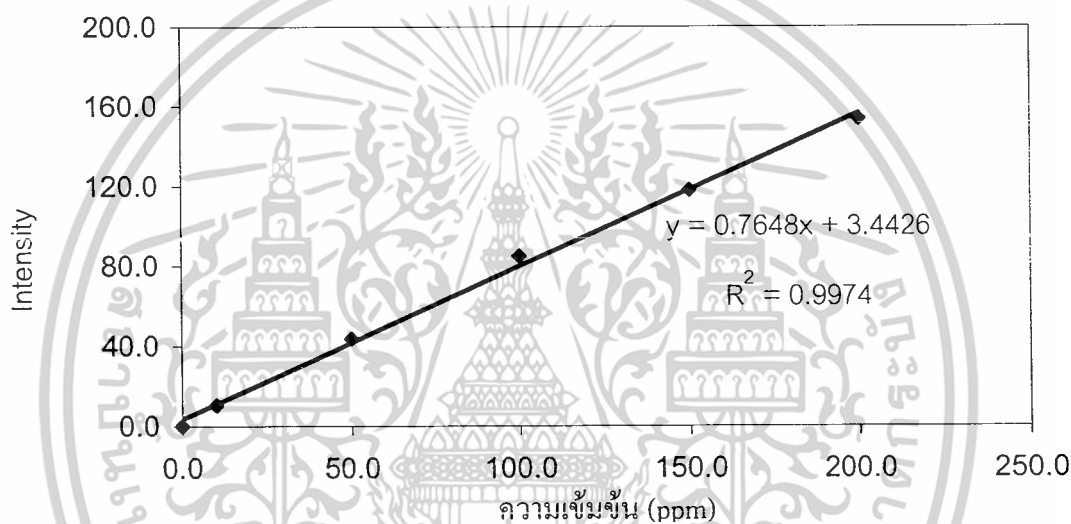
รูปที่ 4.11 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสง กับความเข้มข้นในช่วงที่เป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานแอล-เฟนิลอะลานีน ตั้งแต่ 0 ถึง 300 ppm ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ความเข้มข้น 0.1 M

จากกราฟรูปที่ 4.11 สามารถหาช่วงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานแอล-เฟนิลอะลานีน ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ความเข้มข้น 0.1 M ได้โดยช่วงของความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงของแอล-เฟนิลอะลานีนอยู่ในช่วง 0 ถึง 200 ppm

4.3.1.4 สารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-เฟนิลอะลานีน กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน

ทริน

ศึกษาโดยทำการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-เฟนิลอะลานีน ความเข้มข้นต่างๆ ตั้งแต่ 0 ถึง 350 ppm กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ที่ความเข้มข้น 900 ppm ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ความเข้มข้น 0.1 M พล็อตกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสง กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-เฟนิลอะลานีน กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ดังแสดงในรูปที่ 4.12



รูปที่ 4.12 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสง กับความเข้มข้นในช่วงที่เป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานแอล-เฟนิลอะลานีน ความเข้มข้น 0 ถึง 350 ppm กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ความเข้มข้น 900 ppm ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ความเข้มข้น 0.1 M

จากกราฟรูปที่ 4.12 สามารถหาช่วงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-เฟนิลอะลานีน กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ความเข้มข้น 0.1 M ได้ โดยช่วงของความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-เฟนิลอะลานีน กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน อยู่ในช่วง 0 ถึง 200 ppm

4.3.2 ศึกษาความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (Limit of detection)

จากการคำนวณตามภาคผนวก ก. ได้ผลของขีดจำกัดในการตรวจวัด ที่จะสามารถตรวจวัดสารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีนและแอล-เฟนิลอะลานีน ทั้งในแบบที่มีและไม่มีบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน แสดงดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้

| สารละลาย | ความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ (ppm) |
|--|---|
| แอล-ไทโรซีน | 0.20 |
| แอล-ไทโรซีน กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน | 0.22 |
| แอล-เฟนิลอะลานีน | 5.78 |
| แอล-เฟนิลอะลานีน กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน | 6.08 |

4.3.3 ศึกษาความเที่ยงตรง (Precision) ของวิธีวิเคราะห์

4.3.3.1 สารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีน

ศึกษาโดยทำการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีน เข้มข้น 10 ppm ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ความเข้มข้น 0.1 M และทำการตรวจวัดสารละลายเดิม 15 ครั้ง จะได้กราฟแสดงดังรูปที่ 4.13



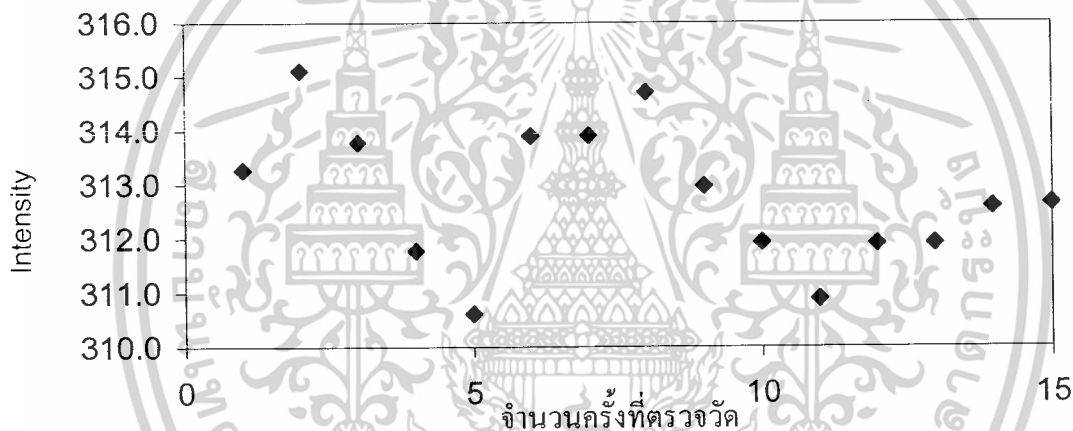
รูปที่ 4.13 กราฟแสดงความเข้มแสงที่ตรวจวัดได้จากสารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีนเข้มข้น 10 ppm ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ความเข้มข้น 0.1 M (ตรวจวัดสารละลายเดิมซ้ำ 15 ครั้ง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากกราฟรูปที่ 4.13 ค่าเฉลี่ยของความเข้มแสงที่ตรวจวัดได้จากสารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีน คือ 302.61 และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) คือ 2.66 และค่า %RSD (Relative standard deviation; $\%RSD = \frac{S.D.}{X} \times 100\%$) มีค่าเท่ากับ 0.88 %

4.3.3.2 สารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-ไทโรซีน กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน

ศึกษาโดยทำการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-ไทโรซีน เข้มข้น 10 ppm กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ที่ความเข้มข้น 80 ppm ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ความเข้มข้น 0.1 M และทำการตรวจวัดสารละลายเดิม 15 ครั้ง จะได้กราฟแสดงดังรูปที่ 4.14

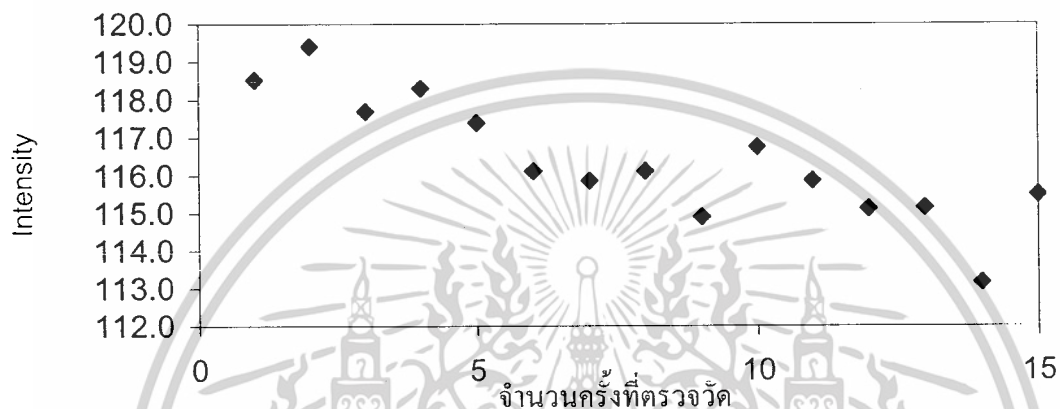


รูปที่ 4.14 กราฟแสดงความเข้มแสงที่ตรวจวัดได้จากสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-ไทโรซีน เข้มข้น 10 ppm กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน เข้มข้น 80 ppm ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ความเข้มข้น 0.1 M (ตรวจวัดสารละลายเดิมซ้ำ 15 ครั้ง)

จากกราฟรูปที่ 4.14 ค่าเฉลี่ยของความเข้มแสงที่ตรวจวัดได้จากสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-ไทโรซีน กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน คือ 312.79 และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) คือ 1.32 และค่า %RSD (Relative standard deviation; $\%RSD = \frac{S.D.}{X} \times 100\%$) มีค่าเท่ากับ 0.42 %

4.3.3.3 สารละลายมาตรฐานแอล-เฟนิลอะลานีน

ศึกษาโดยทำการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานแอล-เฟนิลอะลานีน เข้มข้น 100 ppm ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ความเข้มข้น 0.1 M และทำการตรวจวัดสารละลายเดิม 15 ครั้ง จะได้กราฟแสดงดังรูปที่ 4.15

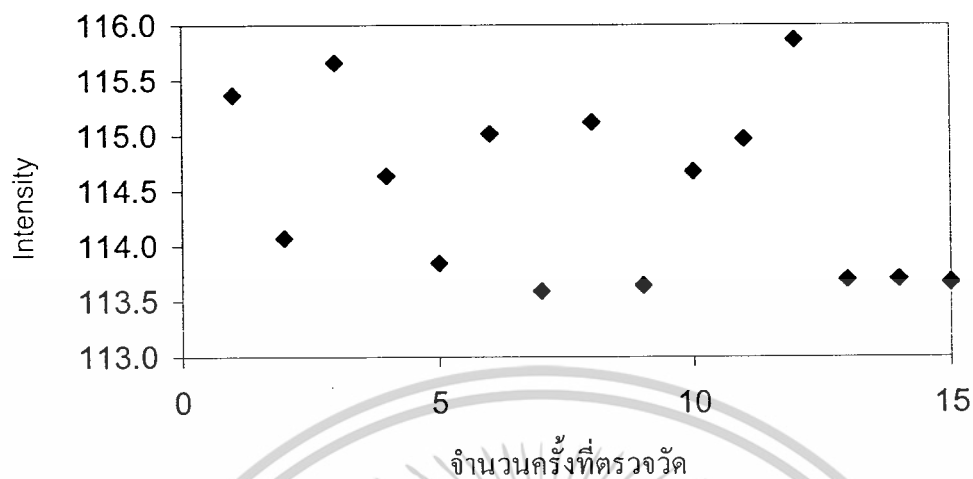


รูปที่ 4.15 กราฟแสดงความเข้มแสงที่ตรวจวัดได้จากสารละลายมาตรฐานแอล-เฟนิลอะลานีน เข้มข้น 100 ppm ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ความเข้มข้น 0.1 M (ตรวจวัดสารละลายเดิมซ้ำ 15 ครั้ง)

จากกราฟรูปที่ 4.15 ค่าเฉลี่ยของความเข้มแสงที่ตรวจวัดได้จากสารละลายมาตรฐานแอล-เฟนิลอะลานีน คือ 114.50 และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) คือ 0.80 และค่า %RSD (Relative standard deviation; $\%RSD = \frac{S.D.}{X} \times 100\%$) มีค่าเท่ากับ 0.70 %

4.3.3.4 สารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-เฟนิลอะลานีน กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน

ศึกษาโดยทำการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-เฟนิลอะลานีน เข้มข้น 100 ppm กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ที่ความเข้มข้น 900 ppm ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ความเข้มข้น 0.1 M และทำการตรวจวัดสารละลายเดิม 15 ครั้ง จะได้กราฟแสดงดังรูปที่ 4.16



รูปที่ 4.16 กราฟแสดงความเข้มแสงที่ตรวจวัดได้จากสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-เฟนิลอะลานีน เข้มข้น 100 ppm กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน เข้มข้น 900 ppm ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ความเข้มข้น 0.1 M (ตรวจวัดสารละลายเดิมซ้ำ 15 ครั้ง)

จากกราฟรูปที่ 4.16 ค่าเฉลี่ยของความเข้มแสงที่ตรวจวัดได้จากสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-เฟนิลอะลานีน กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน คือ 116.39 และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) คือ 1.64 และค่า %RSD (Relative standard deviation; $\%RSD = \frac{S.D.}{X} \times 100\%$) มีค่าเท่ากับ 1.41 %

4.4 การวิเคราะห์หาปริมาณแอล-ไทโรซีนและแอล-ฟีนิลอะลานีน ในตัวอย่างยา

ผลการตรวจวัดปริมาณแอล-ไทโรซีนและแอล-ฟีนิลอะลานีน ในตัวอย่างยา GNC L-tyrosine 500 และ GNC L-phenylalanine 500 ตามลำดับ โดยใช้เทคนิคทางฟลูออโรเมทรี ด้วยวิธีการเติมสารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีน และแอล-ฟีนิลอะลานีน แสดงวิธีการคำนวณในภาคผนวก ง. และผลการวิเคราะห์ตัวอย่างแสดงดังตารางที่ 4.3 และ 4.4

ตารางที่ 4.3 ผลการคำนวณการวิเคราะห์หาปริมาณแอล-ไทโรซีน ในตัวอย่างยา GNC L-tyrosine

| สารละลาย | สมการเส้นตรง | ค่า X (ppm) | ปริมาณ L - tyrosine ในตัวอย่างยา (mg/เม็ด) | | เปอร์เซ็นต์การกลับคืน (%) |
|--------------------------------------|------------------------|-------------|--|---------------------|---------------------------|
| | | | ปริมาณจริง | ปริมาณที่ตรวจวัดได้ | |
| แอล-ไทโรซีน | $y = 22.806x + 594.03$ | 26.04 | 500 | 535.36 | 107.07 |
| แอล-ไทโรซีน กับ บีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน | $y = 24.612x + 631.26$ | 25.64 | 500 | 528.64 | 105.63 |

ตารางที่ 4.4 ผลการคำนวณการวิเคราะห์หาปริมาณแอล-ฟีนิลอะลานีน ในตัวอย่างยา GNC L-phenylalanine

| สารละลาย | สมการเส้นตรง | ค่า X (ppm) | ปริมาณ L-phenylalanine ในตัวอย่างยา (mg/เม็ด) | | เปอร์เซ็นต์การกลับคืน (%) |
|---|------------------------|-------------|---|---------------------|---------------------------|
| | | | ปริมาณจริง | ปริมาณที่ตรวจวัดได้ | |
| แอล-ฟีนิลอะลานีน | $y = 0.7687x + 26.919$ | 35.01 | 500 | 544.43 | 108.89 |
| แอล-ฟีนิลอะลานีน กับ บีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน | $y = 0.7965x + 27.304$ | 34.27 | 500 | 532.95 | 106.59 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

การปรับปรุงความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ของแอล-ไทโรซีนและแอล-เฟนิลอะลานีน ด้วยบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน มีจุดประสงค์เพื่อเปรียบเทียบความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ระหว่างกรณีที่มีและไม่มีบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน เป็นองค์ประกอบ และเปรียบเทียบความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ระหว่างแอล-ไทโรซีนและแอล-เฟนิลอะลานีน ในสภาวะที่เหมาะสม และทำการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณแอล-ไทโรซีนและแอล-เฟนิลอะลานีน ในตัวอย่างยาได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ โดยใช้ตัวอย่างยา GNC L-tyrosine 500 และ GNC L-phenylalanine 500 ตามลำดับ ซึ่งตรวจวัดด้วยเทคนิคทางสเปกโตรฟลูออโรเมทรี สามารถสรุปผลได้ดังนี้

สภาวะที่เหมาะสมที่สุดที่ใช้ในการตรวจวัดกรดอะมิโนทั้งสองชนิด คือ การใช้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ความเข้มข้น 0.1 M เป็นตัวควบคุมสภาวะความเป็นกรด โดยแอล-ไทโรซีน จะให้ค่าความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 302 นาโนเมตร และแอล-เฟนิลอะลานีน จะให้ค่าความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 281 นาโนเมตร ทั้งในกรณีที่มีและไม่มีบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน เป็นองค์ประกอบ ดังนั้น สรุปได้ว่า บีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน มีผลทำให้ความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์เด่นชัดขึ้น และไม่มีผลต่อความยาวคลื่นทั้งที่ใช้กระตุ้นและคายแสงของกรดอะมิโนทั้งสองชนิด

การศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน สำหรับกรดอะมิโนทั้งสองชนิด พบว่าแอล-ไทโรซีน จะให้ค่าความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ที่ดีที่สุด เมื่อใช้บีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ที่ความเข้มข้น 80 ppm (คิดเป็นอัตราส่วน แอล-ไทโรซีน : บีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน เท่ากับ 1 : 8) และสำหรับแอล-เฟนิลอะลานีน จะใช้ความเข้มข้นของบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินที่ 900 ppm (คิดเป็นอัตราส่วน แอล-เฟนิลอะลานีน : บีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน เท่ากับ 1 : 9) ดังนั้น สรุปได้ว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมของบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน สำหรับแอล-ไทโรซีน จะใช้ในอัตราส่วนที่น้อยกว่าแอล-เฟนิลอะลานีน ทั้งนี้เนื่องมาจากลักษณะโครงสร้างที่แตกต่างกันของกรดอะมิโนทั้งสองชนิด โดยแอล-ไทโรซีน จะมีโครงสร้างที่ใหญ่และแข็งแรงกว่าแอล-เฟนิลอะลานีน ซึ่งมีผลทำให้ความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์มีค่าสูงกว่า สำหรับกรณีที่มีและไม่มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน เป็นองค์ประกอบ จึงทำให้มีการใช้อัตราส่วนบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน สำหรับแอล-ไทโรซีน ที่น้อยกว่าแอล-เฟนิลอะลานีน นอกจากนี้ยังพบว่า ผลของหมู่แทนที่ที่มีผล ต่อความเข้มของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์เช่นกัน กล่าวคือ หมู่แทนที่ -OH บนวงแหวนอะโรมาติก ของแอล-ไทโรซีน ซึ่งเป็นหมู่แทนที่ชนิดหมู่ให้อิเล็กตรอน มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความ หนาแน่นของอิเล็กตรอนในโครงสร้างเรโซแนนซ์ในวงแหวนอะโรมาติกของแอล-ไทโรซีนได้ง่าย กว่า ในขณะที่แอล-เฟนิลอะลานีน ไม่สามารถเกิดปรากฏการณ์ในลักษณะนี้ได้ จึงมีผลทำให้ แอล-ไทโรซีนเกิดฟลูออเรสเซนซ์ได้ดี และเด่นชัดกว่าแอล-เฟนิลอะลานีนมาก สำหรับในกรณีทั้ง ที่มีและไม่มีบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินเป็นองค์ประกอบ

สำหรับการตรวจสอบความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์ (Method validation) โดยทำการ ตรวจสอบช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง (Linearity), ความเข้มข้นในระดับต่ำที่สุดที่สามารถ วิเคราะห์ได้ หรือเรียกอีกอย่างว่า ขีดจำกัดของการตรวจวัด (Limit of detection) และการ ตรวจสอบความเที่ยงตรง (Precision) ของวิธีวิเคราะห์ สามารถสรุปผลการทดลองได้ดังตาราง ข้างล่างนี้

| Method Validation | L-tyrosine | | L-phenylalanine | |
|--------------------|------------------|---------------------|------------------|---------------------|
| | with β -CD | without β -CD | with β -CD | without β -CD |
| Linearity | 0-40 ppm | 0-40 ppm | 0-200 ppm | 0-200 ppm |
| Limit of detection | 0.20 ppm | 0.22 ppm | 5.78 ppm | 6.08 ppm |
| Precision | 0.42 | 0.88 | 1.41 | 0.70 |

และสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโนทั้งสองชนิด ทั้งในกรณีที่มีและไม่มีบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ในตัวอย่างยา GNC L-tyrosine 500 และ GNC L-phenylalanine 500 โดย รายงานอยู่ในรูปร้อยละของการคืนกลับได้ (%recovery) พบว่าปริมาณแอล-ไทโรซีนที่ตรวจวัดได้ ในกรณีที่มีบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน เท่ากับ 105.63 % และกรณีที่ไม่มีบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน เท่ากับ 107.07% สำหรับแอล-เฟนิลอะลานีน กรณีที่มีและไม่มีบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน เท่ากับ 106.59 % และ 108.89% ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากสรุปผลการทดลองพบว่า การใช้บีต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินมาเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับสารที่ทำการวิเคราะห์ ทำให้ตรวจวัดค่าความเข้มข้นของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ได้ชัดเจนขึ้นและสามารถวิเคราะห์หาปริมาณสารได้ง่ายอีกด้วย เนื่องจากบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินมีความสามารถในการรวมตัวกับสารที่ทำการตรวจวัดได้ดี จึงมีผลทำให้โครงสร้างของโมเลกุลที่เกิดจากการรวมตัวแข็งแรงมากขึ้น ซึ่งส่งผลให้ค่าความเข้มข้นของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์เด่นชัดมากขึ้นอีกด้วย



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- [1] คุษฎี มั่นภักดี. วรุศม์ ตากแสง และวิลาวัลย์ ภูมิศชัยเคษา. 2546. “การบำบัดพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนด้วยพอลิเมอร์บีต้าไซโคลเด็คซ์ทริน”. โครงการพิเศษ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- [2] [Online] Availble : <http://rbu.rb.ac.th/~cow/science/4031102/lesson1/lesson1.6.html>.
- [3] Chunhui Deng, Yonghui Deng, Bin Wang and Xiuhan Yang. 2002. “Gas chromatography-mass spectrometry method for determination of phenylalanine and tyrosine in neonatal blood spots”. **Journal of Chromatography B**. 780 : 407-413.
- [4] ลาวัลย์ ศรีพงษ์. 2544. การวิเคราะห์เชิงฟลูออโรเมทรี. พิมพ์ครั้งที่ 1. นครปฐม : โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยศิลปากร. หน้า 2-66.
- [5] Dondon, R. and Suzanne. 1999. “Fery-Forgues Spectroscopy in Molecular Assemblies. Structure of Inclusion Complex in β -Cyclodextrin Highlighted by Fluorescent Coumerin Derivatives”. **Toulouse Cedex, France** : 258-262.
- [6] Szejtli, J. 1998. “Inclusion of Guest Molecules, Selectivity and Molecular Recognition by Cyclodextrins”. **John Wiley & Sons, Inc., Hurgary** :189-203.
- [7] Belosludov, R. 2002. “Theoretical Study on Inclusion Complex of Polyaniline Covered by Cyclodextrin for Molecular Device”. **The Japan Society of Applied Physics**. 41 : 2739-2741.
- [8] ปวีณา ปรัชญาวศิน และวริศรา เสประธานนท์. 2544. “การบำบัดสารอินทรีย์ในน้ำทิ้งด้วยพอลิเมอร์บีต้าไซโคลเด็คซ์ทริน”. โครงการพิเศษ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- [9] [Online] Availble : <http://physchem.ox.ac.uk/MSDS/CY/beta-cyclodextrin>.
- [10] [Online] Availble : <http://www.peakchem.com/products/Cyclodextrin.htm>.
- [11] Koch R. 1996. Tyrosine supplementation for phenylketonuria treatment. *Am J Clin Nutr*. 64 : 974-975.
- [12] Alvestrand A, Ahlberg M, Frost P, Bergstrom J. 1983. “Clinical results of long-term treatment with a low protein diet and a new amino acid preparation in patients with chronic uremia”. **Clin Nephrol**. 19 : 67-73.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- [13] [Online] Available : http://pdrhealth.com/drug_info/nmdrugprofile/nutsupdrugs/ph_0256.shtml.
- [14] Sabelli HC. 1986. "Clinical studies on the phenylethylamine hypothesis of affective disorder : Urine and blood phenylacetic acid and phenylalanine dietary supplements". **J Clin Psychiatry**. 47: 66-70.
- [15] [Online] Available : http://pdrhealth.com/drug_info/nmdrugprofile/nutsupdrugs/ph_0201.shtml.
- [16] Bo Tang, Wen-Liu, Yan Wang, Zhen Chen. 2004. "Studies on the supramolecular interaction between napropamind and β -Cyclodextrin by spectrofluorometry and its analytical application". **Analytical Chimica Acta**. 509 : 145-150.
- [17] Zhang Lefeng, Yu Yunlu and Yang Ruiyu. 1983. "Direct determination of phenylalanine in serum extracts of phenylketonuria patients by reversed – phase high – performance liquid chromatography". **Journal of Chromatography A**. 282 : 333-339.
- [18] John, A. Ambrose, Ann Ingerson, Lorne, G. Garrettson and Choong W. Chung. 1967. "A Study of the fluorometric method for phenylalanine in serum samples". **Clinica Chimica Acta**. 15 : 493-503.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

การเตรียมสารเคมี

- ก.1 การเตรียมสารละลายโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตความเข้มข้น 0.2 M ปริมาตร 1000 ml
ชั่งโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (NaH_2PO_4 ; น้ำหนักโมเลกุล 120) 27.6 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น นำไปปั่นจนจนโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตละลายหมด เทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 ml ปรับปริมาตรเป็น 1000 ml ด้วยน้ำกลั่น
- ก.2 การเตรียมสารละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตความเข้มข้น 0.2 M ปริมาตร 1000 ml
ชั่งไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4 ; น้ำหนักโมเลกุล 142) 28.41 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น นำไปปั่นจนจนไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตละลายหมด เทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 ml ปรับปริมาตรเป็น 1000 ml ด้วยน้ำกลั่น
- ก.3 การเตรียมสารละลายกรดฟอสฟอริกความเข้มข้น 1 M ปริมาตร 500 ml
ปีเปตกรดฟอสฟอริกเข้มข้น (87% w/w ความหนาแน่น 1.695 g/ml) 33 ml ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 500 ml ที่มีน้ำกลั่นอยู่ประมาณ 200 ml ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนปริมาตรสารละลายเป็น 500 ml เก็บสารละลายที่เตรียมได้ไว้ในขวดแก้วสีชา
- ก.4 การเตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 1 M จำนวน 500 ml
ปีเปตกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (37% w/w ความหนาแน่น 1.18 g/ml) 40 ml ลงในขวดวัดปริมาตรขนาดขนาด 500 ml ที่มีน้ำกลั่นอยู่ประมาณ 200 ml ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนปริมาตรสารละลายเป็น 500 ml เก็บสารละลายที่เตรียมได้ไว้ในขวดแก้วสีชา
- ก.5 การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ pH 2.0 - 4.0
เทสารละลายโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตความเข้มข้น 0.2 M ที่เตรียมได้จากภาคผนวก ก.1 ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 100 ml ปริมาตร 70-80 ml นำไปวัดค่า pH ด้วยเครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ใช้หลอดหยด หยดสารละลายกรดฟอสฟอริกความเข้มข้น 1 M เพื่อปรับค่า pH ให้ได้ตามต้องการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก.6 การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ pH 5.0 - 8.0

เทสารละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตความเข้มข้น 0.2 M ที่เตรียมได้จากภาคผนวก ก.2 ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 100 ml ปริมาตร 70–80 ml นำไปวัดค่า pH ด้วยเครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ใช้หลอดหยด หยดสารละลายกรดฟอสฟอริกความเข้มข้น 1 M เพื่อปรับค่า pH ให้ได้ตามต้องการ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.

ผลการทดลอง

ข.1 สภาวะที่เหมาะสมต่อการตรวจวัดสารละลายแอล-ไทโรซีนและแอล-เฟนิลอะลานีน

ข.1.1 ค่า pH ของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่เหมาะสม

ตารางที่ ข.1 ผลของความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีน

เข้มข้น 10 ppm ในสารละลาย 0.2 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH ต่างๆ

| pH | Intensity 1 | Intensity 2 | Intensity 3 | Intensity เฉลี่ย |
|-----|-------------|-------------|-------------|------------------|
| 2.0 | 54.78 | 63.58 | 89.31 | 69.23 |
| 3.0 | 145.54 | 163.73 | 231.64 | 130.30 |
| 4.0 | 179.56 | 217.35 | 305.19 | 234.03 |
| 5.0 | 162.83 | 187.33 | 264.67 | 204.94 |
| 6.0 | 131.31 | 154.81 | 216.48 | 167.54 |
| 7.0 | 95.22 | 109.88 | 157.34 | 120.81 |
| 8.0 | 84.29 | 100.61 | 141.80 | 108.90 |

ตารางที่ ข.2 ผลของความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานแอล-เฟนิลอะลานีน

เข้มข้น 100 ppm ในสารละลาย 0.2 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH ต่างๆ

| pH | Intensity 1 | Intensity 2 | Intensity 3 | Intensity เฉลี่ย |
|-----|-------------|-------------|-------------|------------------|
| 2.0 | 60.26 | 63.36 | 58.26 | 60.62 |
| 3.0 | 70.78 | 72.16 | 69.25 | 70.73 |
| 4.0 | 74.69 | 75.99 | 74.69 | 75.12 |
| 5.0 | 72.01 | 74.64 | 69.87 | 72.17 |
| 6.0 | 75.51 | 76.83 | 71.24 | 74.53 |
| 7.0 | 72.81 | 76.45 | 71.78 | 73.68 |
| 8.0 | 73.39 | 78.03 | 69.53 | 73.65 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.1.2 ความเข้มข้นของสารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์ที่เหมาะสม

ตารางที่ ข.3 ผลของความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีน

เข้มข้น 10 ppm ในสารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์ pH 4.0 ที่ความเข้มข้นต่างๆ

| ความเข้มข้นของสารละลาย ฟอสเฟตบัพเฟอร์ (M) | Intensity 1 | Intensity 2 | Intensity 3 | Intensity เฉลี่ย |
|--|-------------|-------------|-------------|------------------|
| 0.1 | 275.47 | 274.86 | 276.48 | 275.60 |
| 0.2 | 242.44 | 243.22 | 242.29 | 242.65 |
| 0.3 | 223.81 | 225.28 | 224.30 | 224.46 |
| 0.4 | 209.86 | 211.26 | 213.25 | 211.46 |
| 0.5 | 200.28 | 202.37 | 202.31 | 201.65 |

ตารางที่ ข.4 ผลของความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานแอล-เฟนิลอะลานีน

เข้มข้น 100 ppm ในสารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์ pH 4.0 ที่ความเข้มข้นต่างๆ

| ความเข้มข้นของสารละลาย ฟอสเฟตบัพเฟอร์ (M) | Intensity 1 | Intensity 2 | Intensity 3 | Intensity เฉลี่ย |
|--|-------------|-------------|-------------|------------------|
| 0.1 | 87.94 | 86.89 | 86.75 | 87.19 |
| 0.2 | 86.16 | 85.24 | 87.08 | 86.16 |
| 0.3 | 83.39 | 83.20 | 83.19 | 83.26 |
| 0.4 | 81.03 | 81.93 | 82.50 | 81.82 |
| 0.5 | 81.54 | 80.04 | 81.95 | 81.17 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.2 อัตราส่วนที่เหมาะสมของบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน

ตารางที่ ข.5 ผลของความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-ไทโรซีน เข้มข้น 10 ppm กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินที่ความเข้มข้นต่างๆ ในสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 (ครั้งที่ 1)

| ความเข้มข้นของสารละลาย บีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน (ppm) | Intensity 1 | Intensity 2 | Intensity 3 | Intensity เฉลี่ย |
|---|-------------|-------------|-------------|------------------|
| 0 | 261.30 | 261.50 | 261.46 | 261.42 |
| 10 | 264.55 | 264.62 | 264.42 | 264.53 |
| 20 | 264.67 | 264.18 | 266.26 | 282.52 |
| 30 | 268.73 | 270.01 | 270.62 | 269.79 |
| 40 | 273.36 | 273.54 | 275.56 | 274.15 |
| 50 | 276.22 | 277.38 | 279.57 | 277.72 |
| 60 | 276.86 | 275.58 | 275.92 | 276.12 |
| 70 | 282.52 | 282.67 | 281.27 | 282.16 |
| 80 | 285.68 | 286.70 | 287.14 | 286.51 |
| 90 | 273.73 | 273.68 | 274.31 | 273.90 |
| 100 | 278.62 | 279.11 | 278.42 | 278.72 |
| 110 | 287.70 | 289.89 | 288.74 | 288.78 |
| 120 | 285.00 | 277.71 | 282.90 | 281.87 |
| 130 | 290.57 | 287.98 | 288.82 | 289.12 |
| 140 | 294.09 | 291.54 | 292.68 | 292.77 |
| 150 | 293.20 | 292.75 | 292.45 | 292.80 |
| 160 | 291.13 | 286.75 | 290.02 | 289.30 |
| 170 | 297.60 | 289.91 | 292.38 | 293.30 |
| 180 | 296.86 | 292.69 | 292.53 | 294.02 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.6 ผลของความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-ไทโรซีน เข้มข้น 10 ppm กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินที่ความเข้มข้นต่างๆ ในสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 (ครั้งที่ 2)

| ความเข้มข้นของสารละลาย บีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน (ppm) | Intensity 1 | Intensity 2 | Intensity 3 | Intensity เฉลี่ย |
|---|-------------|-------------|-------------|------------------|
| 0 | 263.25 | 269.47 | 269.63 | 267.45 |
| 10 | 289.81 | 289.01 | 290.96 | 289.93 |
| 20 | 286.33 | 288.50 | 290.48 | 288.44 |
| 30 | 288.21 | 288.79 | 288.40 | 288.47 |
| 40 | 290.03 | 288.94 | 292.18 | 290.38 |
| 50 | 288.25 | 288.20 | 288.96 | 288.47 |
| 60 | 300.27 | 297.36 | 298.18 | 298.60 |
| 70 | 299.50 | 299.08 | 298.48 | 299.02 |
| 80 | 305.70 | 305.97 | 306.11 | 305.93 |
| 90 | 203.95 | 297.09 | 298.13 | 296.94 |
| 100 | 298.70 | 298.50 | 298.13 | 298.44 |
| 110 | 304.96 | 301.01 | 299.93 | 301.97 |
| 120 | 301.54 | 299.51 | 297.43 | 299.49 |
| 130 | 299.62 | 296.43 | 298.32 | 298.12 |
| 140 | 311.64 | 306.30 | 305.29 | 307.74 |
| 150 | 307.67 | 305.64 | 307.02 | 306.78 |
| 160 | 313.40 | 313.90 | 313.35 | 313.55 |
| 170 | 317.09 | 319.24 | 320.40 | 318.91 |
| 180 | 319.18 | 318.28 | 319.38 | 318.95 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.7 ผลของความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-เฟนิลอะลานีน เข้มข้น 100 ppm กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินที่ความเข้มข้นต่างๆ ในสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 (ครั้งที่ 1)

| ความเข้มข้นของสารละลาย บีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน (ppm) | Intensity 1 | Intensity 2 | Intensity 3 | Intensity เฉลี่ย |
|---|-------------|-------------|-------------|------------------|
| 0 | 93.70 | 95.50 | 93.82 | 94.34 |
| 100 | 94.08 | 95.20 | 94.98 | 94.75 |
| 200 | 94.99 | 94.80 | 94.72 | 94.83 |
| 300 | 95.24 | 95.26 | 94.87 | 95.12 |
| 400 | 94.78 | 94.94 | 94.63 | 94.78 |
| 500 | 95.70 | 95.30 | 95.90 | 95.60 |
| 600 | 95.22 | 95.63 | 95.87 | 95.58 |
| 700 | 96.84 | 98.18 | 96.56 | 97.19 |
| 800 | 99.18 | 99.03 | 98.92 | 99.04 |
| 900 | 99.36 | 101.25 | 99.20 | 99.94 |
| 1000 | 99.23 | 99.62 | 99.73 | 99.83 |
| 1100 | 101.12 | 99.86 | 98.80 | 99.93 |
| 1200 | 99.76 | 98.53 | 98.10 | 99.80 |
| 1300 | 100.72 | 100.84 | 100.16 | 100.11 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.8 ผลของความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-
 เฟนิลอะลานีน เข้มข้น 100 ppm กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินที่ความเข้มข้นต่างๆ
 ในสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 (ครั้งที่ 2)

| ความเข้มข้นของสารละลาย บีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน (ppm) | Intensity 1 | Intensity 2 | Intensity 3 | Intensity เฉลี่ย |
|---|-------------|-------------|-------------|------------------|
| 0 | 95.90 | 97.70 | 96.02 | 96.54 |
| 100 | 96.28 | 97.40 | 97.18 | 96.95 |
| 200 | 96.98 | 97.14 | 96.83 | 97.03 |
| 300 | 97.19 | 97.00 | 96.92 | 97.32 |
| 400 | 97.44 | 97.46 | 97.07 | 96.98 |
| 500 | 97.90 | 97.50 | 98.00 | 97.80 |
| 600 | 97.42 | 97.83 | 97.77 | 97.78 |
| 700 | 99.04 | 100.38 | 98.76 | 99.39 |
| 800 | 101.38 | 101.23 | 101.12 | 101.24 |
| 900 | 101.56 | 103.45 | 101.40 | 102.14 |
| 1000 | 101.43 | 101.82 | 102.93 | 102.03 |
| 1100 | 103.32 | 102.06 | 101.00 | 102.13 |
| 1200 | 102.92 | 101.04 | 102.36 | 102.11 |
| 1300 | 101.96 | 102.73 | 102.30 | 102.31 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.3 ตรวจสอบความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์

ข.3.1 ช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง (Linearity)

ตารางที่ ข.9 ผลของความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีน

ความเข้มข้นต่างๆ ในสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0

| ความเข้มข้น (ppm) | Intensity 1 | Intensity 2 | Intensity 3 | Intensity เฉลี่ย |
|-------------------|-------------|-------------|-------------|------------------|
| 2 | 66.58 | 67.41 | 67.45 | 67.15 |
| 5 | 147.90 | 147.19 | 148.14 | 147.74 |
| 10 | 293.85 | 291.16 | 296.18 | 293.73 |
| 15 | 428.88 | 428.75 | 427.56 | 428.40 |
| 20 | 559.40 | 559.31 | 557.87 | 558.86 |
| 25 | 666.06 | 663.57 | 665.74 | 665.12 |
| 30 | 788.76 | 790.68 | 789.03 | 789.49 |
| 35 | 888.67 | 890.02 | 884.98 | 887.89 |
| 40 | 962.72 | 959.68 | 961.32 | 961.24 |

ตารางที่ ข.10 ผลของความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-ไทโรซีน ความเข้มข้นต่างๆ กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินที่ความเข้มข้น 80 ppm ในสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0

| ความเข้มข้น (ppm) | Intensity 1 | Intensity 2 | Intensity 3 | Intensity เฉลี่ย |
|-------------------|-------------|-------------|-------------|------------------|
| 5 | 139.35 | 140.07 | 140.81 | 140.07 |
| 10 | 266.70 | 267.45 | 269.79 | 267.98 |
| 15 | 382.71 | 384.49 | 385.74 | 384.31 |
| 20 | 493.84 | 493.95 | 496.81 | 494.86 |
| 25 | 607.15 | 607.14 | 611.35 | 608.55 |
| 30 | 714.38 | 710.57 | 713.91 | 712.95 |
| 35 | 778.57 | 772.69 | 776.01 | 775.76 |
| 40 | 869.00 | 862.86 | 868.99 | 866.95 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.11 ผลของความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานแอล-เฟนิลอะลานีน ความเข้มข้นต่างๆ ในสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0

| ความเข้มข้น (ppm) | Intensity 1 | Intensity 2 | Intensity 3 | Intensity เฉลี่ย |
|-------------------|-------------|-------------|-------------|------------------|
| 10 | 6.32 | 6.96 | 6.57 | 6.62 |
| 50 | 39.15 | 39.32 | 40.61 | 39.69 |
| 100 | 73.35 | 74.22 | 73.14 | 73.54 |
| 150 | 118.82 | 118.41 | 117.45 | 118.23 |
| 200 | 161.28 | 159.44 | 161.48 | 160.73 |
| 250 | 189.09 | 188.39 | 190.14 | 189.21 |
| 300 | 198.65 | 196.73 | 195.86 | 197.08 |

ตารางที่ ข.12 ผลของความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-เฟนิลอะลานีน ความเข้มข้นต่างๆ กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินที่ความเข้มข้น 900 ppm ในสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0

| ความเข้มข้น (ppm) | Intensity 1 | Intensity 2 | Intensity 3 | Intensity เฉลี่ย |
|-------------------|-------------|-------------|-------------|------------------|
| 10 | 10.82 | 10.25 | 10.61 | 10.56 |
| 50 | 43.55 | 44.01 | 43.46 | 43.67 |
| 100 | 84.52 | 85.56 | 84.72 | 84.94 |
| 150 | 119.37 | 118.25 | 116.16 | 117.93 |
| 200 | 153.97 | 152.79 | 154.04 | 153.60 |
| 250 | 178.87 | 175.84 | 176.17 | 176.96 |
| 300 | 203.33 | 206.40 | 203.02 | 204.25 |
| 350 | 228.27 | 222.33 | 220.89 | 223.83 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.3.3 ความเที่ยงตรง (Precision) ของวิธีวิเคราะห์

ตารางที่ ข.13 ผลของความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีน
เข้มข้น 10 ppm ในสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0

| ครั้งที่ | Intensity |
|-----------|-----------|
| 1 | 298.41 |
| 2 | 300.68 |
| 3 | 300.94 |
| 4 | 302.60 |
| 5 | 301.60 |
| 6 | 300.91 |
| 7 | 302.20 |
| 8 | 300.83 |
| 9 | 303.02 |
| 10 | 303.91 |
| 11 | 301.59 |
| 12 | 302.78 |
| 13 | 303.18 |
| 14 | 309.03 |
| 15 | 307.46 |
| ผลรวม | 4539.21 |
| ค่าเฉลี่ย | 302.61 |
| S.D. | 2.66 |
| %RSD | 0.88 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.14 ผลของความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-ไทโรซีน เข้มข้น 10 ppm กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ความเข้มข้น 80 ppm ในสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0

| ครั้งที่ | Intensity |
|-----------|-----------|
| 1 | 313.26 |
| 2 | 315.10 |
| 3 | 313.77 |
| 4 | 311.77 |
| 5 | 310.61 |
| 6 | 313.90 |
| 7 | 313.90 |
| 8 | 314.70 |
| 9 | 312.97 |
| 10 | 311.93 |
| 11 | 310.88 |
| 12 | 311.90 |
| 13 | 311.91 |
| 14 | 312.58 |
| 15 | 312.64 |
| ผลรวม | 4691.89 |
| ค่าเฉลี่ย | 312.79 |
| S.D. | 1.32 |
| %RSD | 0.42 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.15 ผลของความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานแอล-เฟนิลอะลานีน
เข้มข้น 100 ppm ในสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0

| ครั้งที่ | Intensity |
|-----------|-----------|
| 1 | 115.36 |
| 2 | 114.07 |
| 3 | 115.66 |
| 4 | 114.63 |
| 5 | 113.84 |
| 6 | 115.01 |
| 7 | 113.59 |
| 8 | 115.12 |
| 9 | 113.64 |
| 10 | 114.67 |
| 11 | 114.97 |
| 12 | 115.86 |
| 13 | 113.69 |
| 14 | 113.70 |
| 15 | 113.66 |
| ผลรวม | 1717.53 |
| ค่าเฉลี่ย | 114.50 |
| S.D. | 0.80 |
| %RSD | 0.70 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.16 ผลของความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-เฟนิลอะลานีน เข้มข้น 100 ppm กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ความเข้มข้น 900 ppm ในสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0

| ครั้งที่ | Intensity |
|-----------|-----------|
| 1 | 118.53 |
| 2 | 119.41 |
| 3 | 117.70 |
| 4 | 118.30 |
| 5 | 117.39 |
| 6 | 116.11 |
| 7 | 115.86 |
| 8 | 116.11 |
| 9 | 114.89 |
| 10 | 116.74 |
| 11 | 115.85 |
| 12 | 115.12 |
| 13 | 115.14 |
| 14 | 113.16 |
| 15 | 115.49 |
| ผลรวม | 1745.86 |
| ค่าเฉลี่ย | 116.39 |
| S.D. | 1.63 |
| %RSD | 1.40 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

การคำนวณขีดจำกัดในการตรวจวัด

การคำนวณขีดจำกัดในการตรวจวัดตามวิธีของ International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC)

สูตรการคำนวณและวิธีทำการทดสอบ

1. สร้างกราฟความสัมพันธ์ของการตรวจวัดสารในช่วงที่เป็นเส้นตรง นำผลการทดลองที่ได้มาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับความเข้มแสงที่ตรวจวัดได้ จะได้กราฟเส้นตรง จากนั้นนำมาคำนวณหาความชันของกราฟ จากสมการ

$$Y = mX + c$$

| | | | |
|-------|---|-----|--------------------|
| เมื่อ | m | แทน | ความชันของเส้นกราฟ |
| | c | แทน | จุดตัดแกนตั้ง |
| | X | แทน | ความเข้มข้น |
| | Y | แทน | ความเข้มแสง |

2. เมื่อสามารถหาความชันของเส้นกราฟได้แล้ว นำสารละลายแบลงค์ (สารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0) มาวัดความเข้มแสงสุ่มเลือกความเข้มแสง 20 ค่า แล้วนำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความเข้มแสงจากสารละลายแบลงค์

$$\text{ค่าเฉลี่ยของความเข้มแสงของสารละลายแบลงค์ } (\bar{Y}_B) = \frac{\sum_{j=1}^{n_B} Y_{Bj}}{n_B}$$

$$\text{ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสารละลายแบลงค์ } (S_B) = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^{n_B} (Y_{Bj} - \bar{Y}_B)^2}{(n_B - 1)}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. นำค่าที่ได้ทั้งหมดมาคำนวณหาค่าขีดจำกัดในการตรวจวัด

$$\text{หรือ ความเข้มข้นต่ำสุดที่วัดได้ (C}_L) = \frac{3(S_B)}{m}$$

(3 คือค่า k = Confidence Level of 99.86% เมื่อ $(Y_L) \geq \bar{Y}_B + 3(S_B)$)

ค.1 คำนวณหาขีดจำกัดในการตรวจวัดแอล-ไทโรซีนและแอส-เฟนิลอะลานีน

1. หาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความเข้มแสงจากแบลด์จี้

ตารางที่ ค.1 ความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัพเฟอร์ pH 4.0 ด้วยเทคนิคทางฟลูออโรเมทรี โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 271 นาโนเมตร

| ลำดับที่ | Intensity |
|----------|-----------|
| 1 | 12.25 |
| 2 | 9.69 |
| 3 | 10.51 |
| 4 | 11.77 |
| 5 | 10.61 |
| 6 | 13.90 |
| 7 | 13.90 |
| 8 | 14.70 |
| 9 | 12.97 |
| 10 | 11.93 |
| 11 | 10.88 |
| 12 | 11.90 |
| 13 | 11.91 |
| 14 | 12.58 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.1 (ต่อ)

| ลำดับที่ | Intensity |
|---------------------|-----------|
| 15 | 12.64 |
| 16 | 9.03 |
| 17 | 13.26 |
| 18 | 9.10 |
| 19 | 13.77 |
| 20 | 12.20 |
| ผลรวม | 239.61 |
| ค่าเฉลี่ย | 11.98 |
| ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน | 1.60 |

ตารางที่ ค.2 ความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 ด้วยเทคนิคทางฟลูออโรเมทรี โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 254 นาโนเมตร

| ลำดับที่ | Intensity |
|----------|-----------|
| 1 | 19.12 |
| 2 | 20.78 |
| 3 | 17.46 |
| 4 | 18.09 |
| 5 | 20.07 |
| 6 | 17.78 |
| 7 | 18.62 |
| 8 | 17.63 |
| 9 | 16.01 |
| 10 | 17.45 |
| 11 | 16.41 |
| 12 | 19.45 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.2 (ต่อ)

| ลำดับที่ | Intensity |
|---------------------|-----------|
| 13 | 21.18 |
| 14 | 20.42 |
| 15 | 20.80 |
| 16 | 20.93 |
| 17 | 18.34 |
| 18 | 20.12 |
| 19 | 18.06 |
| 20 | 19.31 |
| ผลรวม | 378.10 |
| ค่าเฉลี่ย | 18.90 |
| ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน | 1.54 |

2. หาค่าขีดจำกัดในการตรวจวัด

ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวัดได้ (ppm)

$$\begin{aligned} \text{แอล-ไทโรซีน} &= (3 \times 1.60) / 24.50 \\ &= 0.1959 \text{ ppm} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{แอล-ไทโรซีน กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน} &= (3 \times 1.60) / 21.63 \\ &= 0.2219 \text{ ppm} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{แอล-เฟนิลอะลานีน} &= (3 \times 1.54) / 0.80 \\ &= 5.7750 \text{ ppm} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{แอล-เฟนิลอะลานีน กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน} &= (3 \times 1.54) / 0.76 \\ &= 6.0789 \text{ ppm} \end{aligned}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง.

การวิเคราะห์หาปริมาณแอล-ไทโรซีน
และแอล-เฟนิลอะลานีน ในตัวอย่างยา

ตารางที่ ง.1 ผลของความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดตัวอย่างยา GNC L- tyrosine ใน
สารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0

| ความเข้มข้นของสารละลาย มาตรฐานแอล-ไทโรซีน (ppm) | Intensity 1 | Intensity 2 | Intensity 3 | Intensity เฉลี่ย |
|---|-------------|-------------|-------------|------------------|
| 0 | 589.01 | 589.29 | 587.90 | 588.73 |
| 2 | 650.19 | 645.47 | 644.23 | 646.63 |
| 4 | 692.98 | 683.98 | 679.17 | 685.38 |
| 8 | 785.90 | 775.81 | 762.31 | 774.67 |

ตารางที่ ง.2 ผลของความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดตัวอย่างยา GNC L- tyrosine ใน
สารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 (แบบเติมบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน)

| ความเข้มข้น ของสารละลาย มาตรฐานแอล- ไทโรซีน (ppm) | ความเข้มข้นของ สารละลายบีต้า- ไซโคลเดกซ์ทริน (ppm) | Intensity 1 | Intensity 2 | Intensity 3 | Intensity เฉลี่ย |
|--|---|-------------|-------------|-------------|---------------------|
| 0 | 80 | 633.52 | 618.85 | 617.34 | 623.24 |
| 2 | 80 | 693.83 | 689.12 | 688.46 | 690.47 |
| 4 | 80 | 736.55 | 726.97 | 728.79 | 730.77 |
| 8 | 80 | 832.02 | 822.05 | 821.32 | 825.13 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.3 ผลของความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดตัวอย่างยา GNC L- phenylalanine
ในสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0

| ความเข้มข้นของสารละลาย มาตรฐานแอล-ฟีนิลอะ ลานีน(ppm) | Intensity 1 | Intensity 2 | Intensity 3 | Intensity เฉลี่ย |
|--|-------------|-------------|-------------|------------------|
| 0 | 24.07 | 24.75 | 24.83 | 24.55 |
| 10 | 35.05 | 33.80 | 35.96 | 34.93 |
| 100 | 106.78 | 108.38 | 108.57 | 107.91 |
| 200 | 178.09 | 178.22 | 179.46 | 178.59 |

ตารางที่ ง.4 ผลของความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดตัวอย่างยา GNC L- phenylalanine
ในสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.0 (แบบเติมบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน)

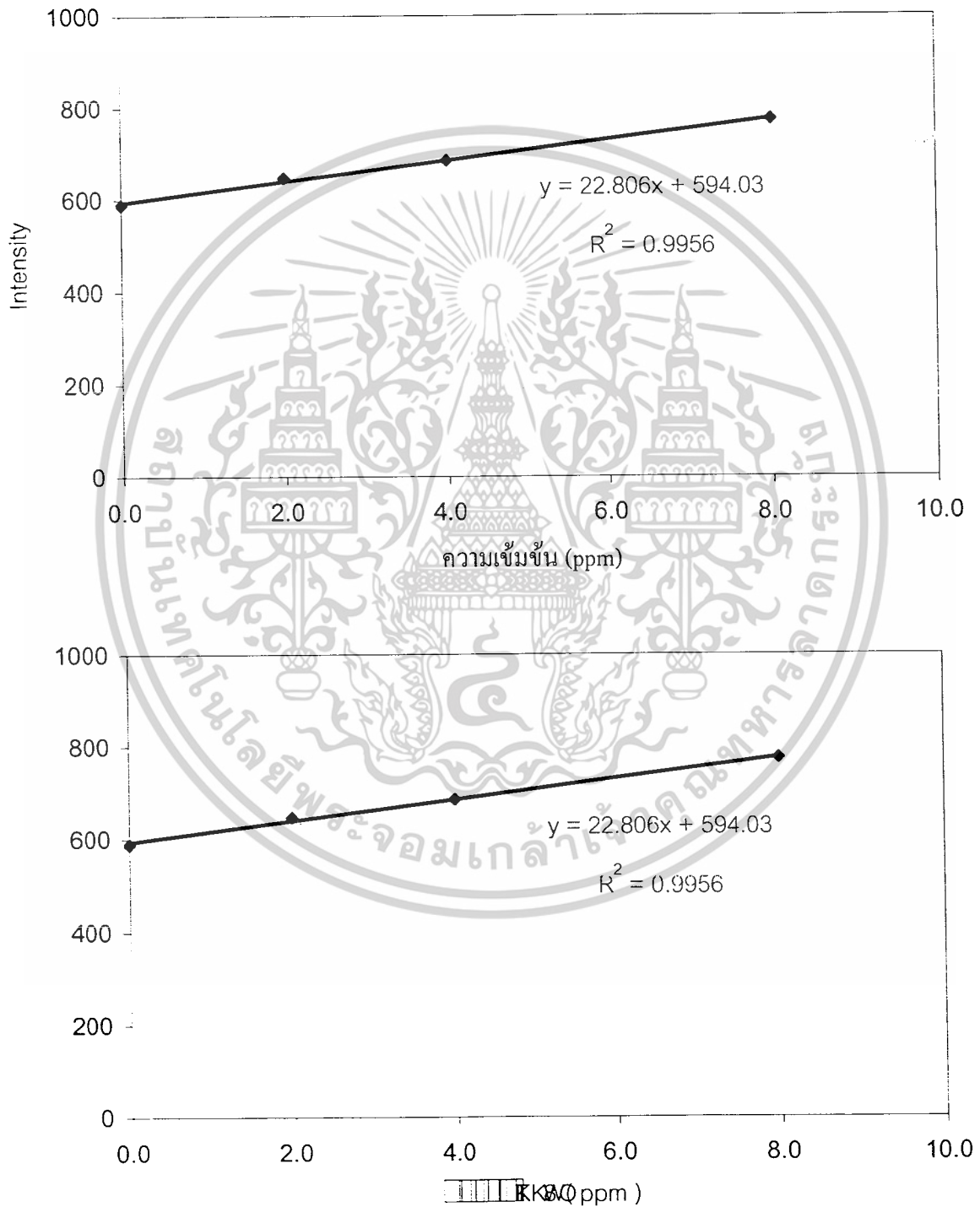
| ความเข้มข้น ของสารละลาย มาตรฐานแอล- ฟีนิลอะลานีน (ppm) | ความเข้มข้นของ สารละลายบีต้า- ไซโคลเดกซ์ทริน (ppm) | Intensity 1 | Intensity 2 | Intensity 3 | Intensity เฉลี่ย |
|--|---|-------------|-------------|-------------|---------------------|
| 0 | 900 | 26.33 | 25.17 | 23.94 | 25.14 |
| 10 | 900 | 34.33 | 32.95 | 35.16 | 34.25 |
| 100 | 900 | 110.40 | 113.14 | 116.03 | 113.19 |
| 200 | 900 | 184.26 | 182.81 | 183.55 | 183.54 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การคำนวณ % Recovery

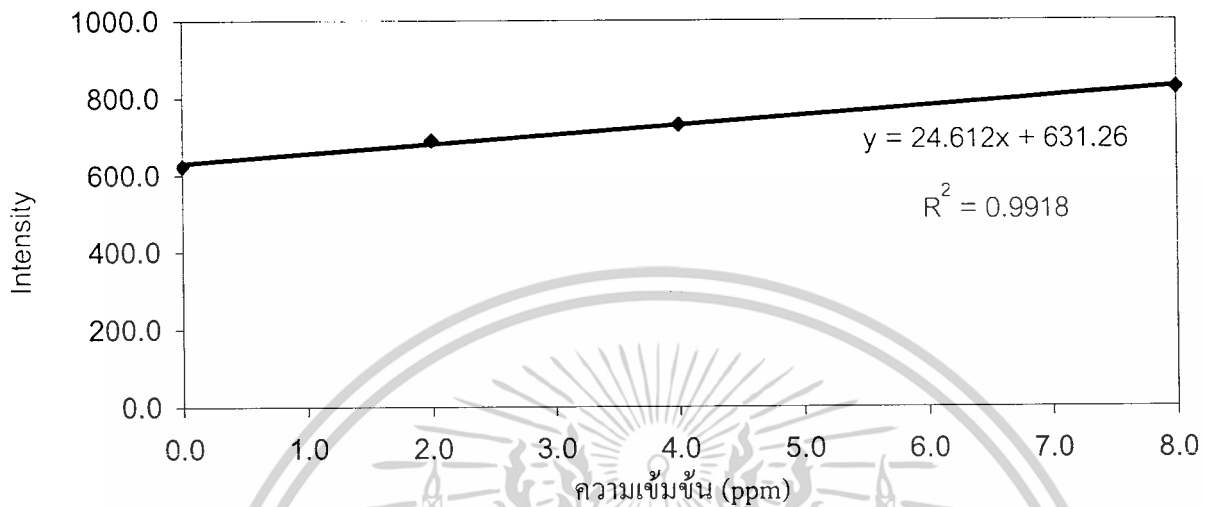
1. สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง ความเข้มข้นของสารมาตรฐานกับความเข้มแสงที่ตรวจวัดได้

1.1 ตารางลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีน



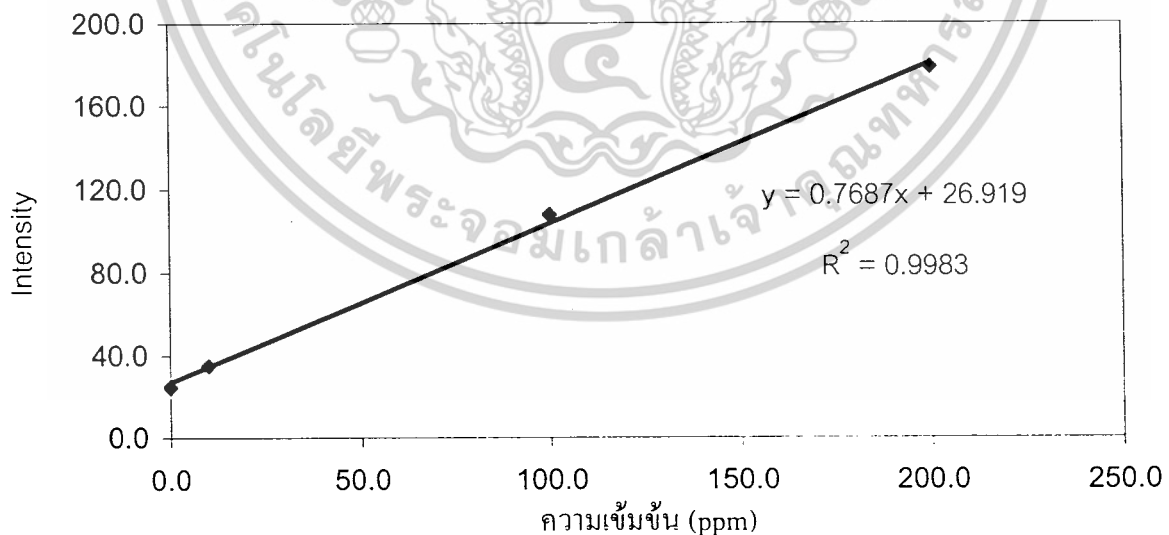
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 สารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-ไทโรซีน กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน



รูปที่ ๓.2 กราฟการหาปริมาณแอล-ไทโรซีนในตัวอย่างยา GNC L-tyrosine ด้วยวิธีเดิมสารละลายมาตรฐาน โดยใช้เทคนิคทางฟลูออโรเมตรี

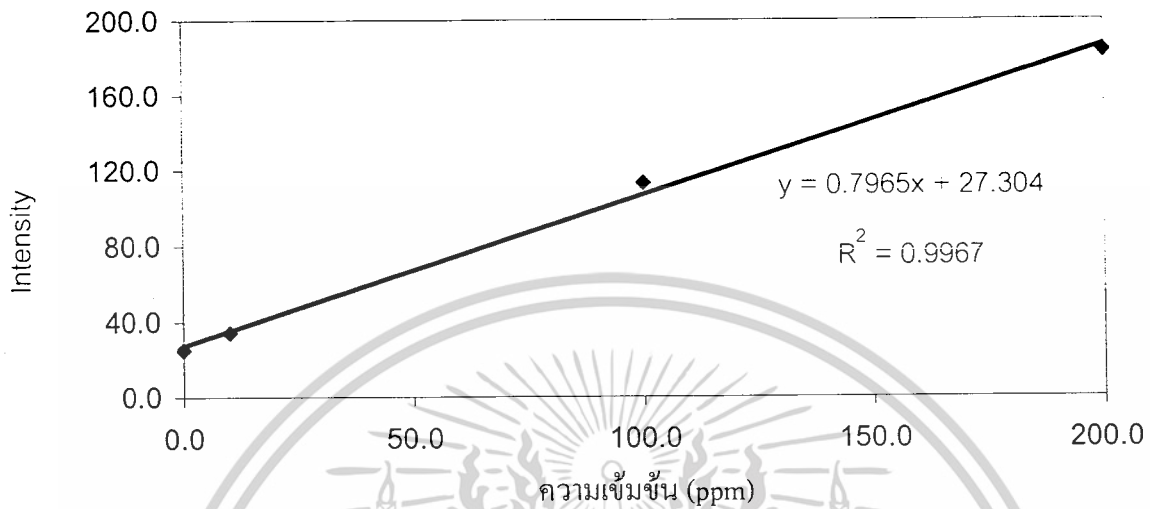
1.3 สารละลายมาตรฐานแอล-ฟีนิลอะลานีน



รูปที่ ๓.3 กราฟการหาปริมาณแอล-ฟีนิลอะลานีนในตัวอย่างยา GNC L-phenylalanine ด้วยวิธีเดิมสารละลายมาตรฐาน โดยใช้เทคนิคทางฟลูออโรเมตรี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 สารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-ฟีนิลอะลานีน กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน



รูปที่ ๑.4 กราฟการหาปริมาณแอล-ฟีนิลอะลานีนในตัวอย่างยา GNC L-phenylalanine ด้วยวิธีเติมสารละลายมาตรฐาน โดยใช้เทคนิคทางฟลูออโรเมทรี

จากรูปที่ ๑.1 – ๑.4 สรุปได้ดังตารางที่ ๑.5

ตารางที่ ๑.5 สรุปสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานกับความเข้มแสงที่ตรวจวัดได้

| สารละลายมาตรฐาน | สมการเส้นตรง |
|--|------------------------|
| แอล-ไทโรซีน | $y = 22.806x + 594.03$ |
| แอล-ไทโรซีน กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน | $y = 24.612x + 631.26$ |
| แอล-ฟีนิลอะลานีน | $y = 0.7687x + 26.919$ |
| แอล-ฟีนิลอะลานีน กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน | $y = 0.7965x - 27.304$ |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การคำนวณ

2.1 สารละลายมาตรฐานแอล-ไทโรซีน

ตัวอย่างยา GNC L- tyrosine (มีปริมาณ L- tyrosine 500 mg/ เม็ด) น้ำหนักเม็ดยาเฉลี่ยต่อเม็ด เท่ากับ 0.8419 g ชั่งมา 0.0512 g นำมาละลายน้ำและละลายด้วยสารละลาย 1.0 M HCl 40 หยด นำสารของผสมที่ได้ไปกรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ เก็บสารละลายที่กรองได้นำมาปรับปริมาตรเป็น 50 ml

ปีเปตสารละลายตัวอย่าง (ที่ปรับปริมาตรเป็น 50 ml) มา 1 ml ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 ml แล้วตรวจวัดหาปริมาณด้วยเทคนิคทางฟลูออโรเมทรีโดยใช้วิธีเดิมสารละลายมาตรฐาน

ได้สมการเส้นตรงคือ $y = 22.806x + 594.03$

จะได้ค่าความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง (X) = 26.0471 ppm

หรือ ในสารละลาย 25 ml จะมี L- tyrosine = $\frac{25 \times 26.0471}{1000}$

= 0.6512 mg

ดังนั้นในสารละลาย 50 ml จะมี L- tyrosine = 50×0.6512

= 32.5600 mg

และในเม็ดยา 1 เม็ดจะมี L- tyrosine = $\frac{32.5600 \times 0.8419}{0.0512}$

= 535.3640 mg

เปอร์เซ็นต์การกลับคืน = $\frac{535.3640 \times 1000}{500}$

= 107.07 %

2.2 สารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-ไทโรซีน กับบีต้า-ไซโคลเดคซทริน

ตัวอย่างยา GNC L- tyrosine (มีปริมาณ L- tyrosine 500 mg/ เม็ด) น้ำหนักเม็ดยาเฉลี่ยต่อเม็ด เท่ากับ 0.8419 g ชั่งมา 0.0511 g นำมาละลายน้ำและละลายด้วยสารละลาย 1.0 M HCl 40 หยด นำสารของผสมที่ได้ไปกรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ เก็บสารละลายที่กรองได้นำมาปรับปริมาตรเป็น 50 ml

ปีเปตสารละลายตัวอย่าง (ที่ปรับปริมาตรเป็น 50 ml) มา 1 ml ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 ml แล้วตรวจวัดหาปริมาณด้วยเทคนิคทางฟลูออโรเมทรีโดยใช้วิธีเดิมสารละลายมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้สมการเส้นตรงคือ $y = 24.612x + 631.26$

จะได้ค่าความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง (X) = 25.6485 ppm

หรือ ในสารละลาย 25 ml จะมี L-tyrosine = $\frac{25 \times 25.6485}{1000}$
= 0.6412 mg

ดังนั้นในสารละลาย 50 ml จะมี L-tyrosine = 50×0.6412
= 32.0600 mg

และในเม็ดยา 1 เม็ดจะมี L-tyrosine = $\frac{32.0600 \times 0.8419}{0.0511}$

เปอร์เซ็นต์การกลับคืน = $\frac{528.1744 \text{ mg}}{528.1744 \times 1000}$
= $\frac{500}{105.63 \%}$

2.3 สารละลายมาตรฐานแอล-ฟีนีลอะลานีน

ตัวอย่างยา GNC L-phenylalanine (มีปริมาณ L-phenylalanine 500 mg/เม็ด) นำหนักเม็ดยาเฉลี่ยต่อเม็ด เท่ากับ 0.6281 g ชั่งมา 0.0505 g นำมาละลายน้ำและละลายด้วยสารละลาย 1.0 M HCl 40 หยด นำสารของผสมที่ได้ไปกรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ เก็บสารละลายที่กรองได้ นำมาปรับปริมาตรเป็น 50 ml

ปิเปตสารละลายตัวอย่าง (ที่ปรับปริมาตรเป็น 50 ml) มา 1 ml ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 ml แล้วตรวจวัดหาปริมาณด้วยเทคนิคทางฟลูออโรเมทรีโดยใช้วิธีเดิมสารละลายมาตรฐาน

ได้สมการเส้นตรงคือ $y = 0.7687x + 26.919$

จะได้ค่าความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง (X) = 35.0189 ppm

หรือ ในสารละลาย 25 ml จะมี L-phenylalanine = $\frac{25 \times 35.0189}{1000}$

= 0.8755 mg

ดังนั้นในสารละลาย 50 ml จะมี L-phenylalanine = 50×0.8755

= 43.7736 mg

และในเม็ดยา 1 เม็ดจะมี L-phenylalanine = $\frac{43.7736 \times 0.6281}{0.0505}$

0.0505

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\begin{aligned}
 &= 544.4393 \text{ mg} \\
 \text{เปอร์เซ็นต์การกลับคืน} &= \frac{544.4393 \times 1000}{500} \\
 &= 108.88 \%
 \end{aligned}$$

2.4 สารละลายมาตรฐานผสมระหว่างแอล-เฟนิลอะลานีน กับบีต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน

ตัวอย่างยา GNC L- phenylalanine (มีปริมาณ L- phenylalanine 500 mg/ เม็ด) นำหนักเม็ดยาเฉลี่ยต่อเม็ด เท่ากับ 0.6281 g ซึ่งมา 0.0505 g นำมาละลายน้ำและละลายด้วยสารละลาย 1.0 M HCl 40 หยด นำสารของผสมที่ได้ไปกรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ เก็บสารละลายที่กรองได้ นำมาปรับปริมาตรเป็น 50 ml

ปิเปตสารละลายตัวอย่าง (ที่ปรับปริมาตรเป็น 50 ml) มา 1 ml ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 ml แล้วตรวจวัดหาปริมาณด้วยเทคนิคทางฟลูออโรเมทรี โดยใช้วิธีเติมสารละลายมาตรฐาน

ได้สมการเส้นตรงคือ $y = 0.7965x + 27.304$

$$\text{จะได้ค่าความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง (X)} = 34.2799 \text{ ppm}$$

$$\text{หรือ ในสารละลาย 25 ml จะมี L- phenylalanine} = \frac{25 \times 34.2799}{1000}$$

$$= 0.8570 \text{ mg}$$

$$\text{ดังนั้นในสารละลาย 50 ml จะมี L- phenylalanine} = 50 \times 0.8570$$

$$= 42.8499 \text{ mg}$$

$$\text{และในเม็ดยา 1 เม็ดจะมี L- phenylalanine} = \frac{42.8499 \times 0.6281}{0.0505}$$

$$= 532.9518 \text{ mg}$$

$$\text{เปอร์เซ็นต์การกลับคืน} = \frac{532.9518 \times 1000}{500}$$

$$= 106.59 \%$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 สรุปผลการคำนวณการวิเคราะห์หาปริมาณแอล-ไทโรซีน ในตัวอย่างยา

GNC L- tyrosine

| สารละลาย | สมการเส้นตรง | ค่า X (ppm) | ปริมาณ L - tyrosine ใน ตัวอย่างยา (mg/เม็ด) | | เปอร์เซ็นต์ การ กลับคืน (%) |
|--|------------------------|----------------|--|-----------------------------|--------------------------------------|
| | | | ปริมาณจริง | ปริมาณที่ ตรวจวัด ได้ | |
| แอล-ไทโรซีน | $y = 22.806x + 594.03$ | 26.0471 | 500 | 535.3640 | 107.07 |
| แอล-ไทโรซีน กับบีต้า-ไซโคล เดกซ์ทริน | $y = 24.612x + 631.26$ | 25.6485 | 500 | 528.6485 | 105.63 |

ตารางที่ 4.3 สรุปผลการคำนวณการวิเคราะห์หาปริมาณแอล-ฟีนิลอะลานีน ในตัวอย่างยา

GNC L- phenylalanine

| สารละลาย | สมการเส้นตรง | ค่า X (ppm) | ปริมาณ L - phenylalanine ในตัวอย่างยา (mg/เม็ด) | | เปอร์เซ็นต์ การ กลับคืน (%) |
|--|------------------------|----------------|--|-----------------------------|--------------------------------------|
| | | | ปริมาณจริง | ปริมาณที่ ตรวจวัด ได้ | |
| แอล-ฟีนิลอะ ลานีน | $y = 0.7687x + 26.919$ | 35.0189 | 500 | 544.4393 | 108.88 |
| แอล-ฟีนิลอะ ลานีน กับบีต้า- ไซโคลเดกซ์ ทริน | $y = 0.7965x + 27.304$ | 34.2799 | 500 | 532.9518 | 106.59 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้