

การวิเคราะห์วิตามินซีในยาเม็ดด้วยวิธีสเปกโทรโฟโตเมทรี
DETERMINATION OF L- ASCORBIC ACID IN
PHARMACEUTICAL BY SPECTROPHOTOMETRY



T117207



สาขา.....
เลขทะเบียน.....117207
วัน,เดือน,ปี.....19 ก.ค. 2554

b.....12341617
i.....

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม – เครื่องมือวิเคราะห์
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2553

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**DETERMINATION OF L- ASCORBIC ACID IN
PHARMACEUTICAL BY SPECTROPHOTOMETRY**



**A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE
IN INDUSTRIAL CHEMISTRY – ANALYTICAL INSTRUMENTATION
FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2010**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ การวิเคราะห์วิตามินซีในยาเม็ดด้วยวิธีสเปกโทรโฟโตเมทรี
Determination of L-Ascorbic acid in Pharmaceutical
by Spectrophotometry

ชื่อนักศึกษา นางสาวจิตติมา บุญเกิด 50050607
นางสาวชยาภา เตือดสันเทียะ 50050613
นางสาวลัดดาวลัย พิรกุลารักษ์ 50050656

ปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต

สาขาวิชา เคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร. วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้
โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตร์บัณฑิต
สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์ ประจำปีการศึกษา 2553

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ดร.ณัฐวดี เริงชัน	
อ.สุจินต์ ต้นดีพิสิฐกุล	
ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การวิเคราะห์วิตามินซีในยาเม็ดโดยวิธีสเปกโทรโฟโตเมทรี	
ชื่อนักศึกษา	นางสาวจิตติมา	บุญเกิด
	นางสาวชยาภา	เดียดสันเทียะ
	นางสาวลัดดาวัลย์	พีรกุลาลักษณ์
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต	
สาขาวิชา	เคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์	
ปีการศึกษา	2553	
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.วิบูลย์	ประดิษฐ์เวียงคำ

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาวิธีวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีในยาเม็ด โดยใช้วิธีสเปกโทรโฟโตเมทรี ในการตรวจวัดใช้ความยาวคลื่นที่ 250 นาโนเมตร จากกราฟมาตรฐานมีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 2.24×10^{-5} - 1.35×10^{-4} M ของสารมาตรฐาน L- ascorbic acid ได้สมการเชิงเส้น คือ $y = 8397x + 0.005$ และสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (r^2) เท่ากับ 0.999 ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยแบ่งเป็นสองแบบ คือแบบที่ไม่เติมโพแทสเซียมไอโอเดต (A_1) และแบบที่เติมโพแทสเซียมไอโอเดต (A_2) คำนวณหาปริมาณวิตามินซีจากผลต่างของค่าการดูดกลืนแสง ($A_1 - A_2$) ปริมาณวิตามินซีที่ตรวจพบใน 6 ตัวอย่างคือ 903.9, 1003.4, 963.5, 931.3, 498.4 และ 499.3 มิลลิกรัม/เม็ด ผลการศึกษาความถูกต้อง (Accuracy) ของวิธีวิเคราะห์แสดงด้วยค่าร้อยละการคืนกลับอยู่ในช่วง 80-120%

คำสำคัญ: วิตามินซี, โพแทสเซียมไอโอเดต, สเปกโทรโฟโตเมทรี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Determination of L-Ascorbic acid in Pharmaceutical by Spectrophotometry
Students	Ms. Jittima Boonkerd Ms. Chayapa Duedsanteia Ms. Laddawan Perakularak
Degree	Bachelor of Science
Major	Industrial Chemistry – Analytical Instrumentation
Academic Year	2010
Special Project Advisor	Dr. Wiboon Praditweangkum

ABSTRACT

The purpose of this special project was to study a spectrophotometric method for determination of L-ascorbic acid in commercial pharmaceutical. Absorbance at 250 nm was measured. Calibration graph was linear for 2.24×10^{-5} – 1.35×10^{-4} M of L-ascorbic acid standard solution. The linear equation, $y = 8937x + 0.0051$ and coefficient of determination (r^2) of 0.999 were obtained. The absorbance of iodate add less solution (A_1) and iodate added solution (A_2) were measured. The difference of the absorbance ($A_1 - A_2$) was evaluated for L-ascorbic acid. L-ascorbic acid 903.9, 1003.4, 963.5, 931.3, 498.4, 499.3 mg/tablet were found in 6 pharmaceutical samples. The recovery was evaluated with 80-120 % range.

Keywords: L-ascorbic acid, Potassium iodate, Spectrophotometry

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงการฉบับนี้สามารถสำเร็จลุล่วงได้อย่างดี เนื่องจากด้วยคำแนะนำ คำปรึกษาและแนวทางการแก้ไขปัญหาที่ดีจาก ดร. วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาและควบคุม กลุ่มผู้วิจัยซึ่งในความกรุณาและความอนุเคราะห์ จึงขอกราบขอบพระคุณท่านเป็นอย่างสูง และต้องขอขอบคุณ คุณจุฑามาศ โรจน์สัตตรัตน์ และคุณบรรเจิดศีกษ์ พูนทอง ที่ให้คำปรึกษาช่วยเหลือในการทำโครงการฉบับนี้

ขอขอบพระคุณดร.ณัฐวุฒิ เจริญชั้น และอ.สุจินต์ ต้นติพิสิฐกุล กรรมการการสอบโครงการที่กรุณาสละเวลาอันมีค่าในการเป็นกรรมการพิจารณาโครงการ พร้อมทั้งให้ข้อคิดเห็นและข้อเสนอแนะ ตลอดจนในการช่วยตรวจรายละเอียดต่างๆ ในโครงการฉบับนี้ให้เป็นไปอย่างถูกต้องและสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเคมี ดิถวิทยาศาสตร์ ที่ช่วยแนะนำเทคนิคการใช้เครื่องมือในการวิเคราะห์ และที่ให้ความอนุเคราะห์สารเคมี เครื่องมือและสถานที่สำหรับการทำการวิเคราะห์

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากโครงการ ฉบับนี้ กลุ่มผู้วิจัยขอขอบแต่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

นางสาวจิตติมา บุญเกิด
นางสาวชยาภา เตือดสันเทียะ
นางสาวลัดดาวัลย์ พิรกุลารักษ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	VI
สารบัญรูปภาพ	VII
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงการพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการพิเศษ	1
1.3 ขอบเขตของโครงการพิเศษ	1
1.4 ขั้นตอนการวิจัยและดำเนินงาน	1
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 วิตามินซี	3
2.2 เทคนิค ยูวี-วิสเปกโตรโฟโตเมทรี	8
2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	15
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย	
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	17
3.2 การเตรียมสารเคมี	18
3.3 วิธีทำดำเนินการทดลอง	
3.3.1 การสร้างกราฟมาตรฐาน	18
3.3.2 การเตรียมตัวอย่าง	19
3.3.3 การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์	19
3.3.4 การทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์	19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล	
4.1 การดูดกลืนแสงของวิตามินซี	22
4.2 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน L- ascorbic acid	24
4.3 ศึกษาปริมาณ L- ascorbic acid โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสง	25
4.4 การวิเคราะห์ปริมาณ L- ascorbic acid ในตัวอย่างยา	27
4.5 ค่าการวิเคราะห์ร้อยละคืนกลับ (% recovery)	29
4.6 ค่าขีดจำกัดการตรวจวัด (LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (LOQ)	30
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	
5.1 สรุปผลการวิจัย	32
5.2 ข้อเสนอแนะ	33
เอกสารอ้างอิง	34
ภาคผนวก ก	35
ภาคผนวก ข	39
ภาคผนวก ค	43
ภาคผนวก ง	44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 แสดงค่าความยาวคลื่นที่เหมาะสม	22
4.2 แสดงผลจากการสร้างกราฟมาตรฐาน	24
4.3 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างยา 6 ชนิด	25
4.4 แสดงค่าเฉลี่ย ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และ %RSD ของ L- ascorbic acid	26
4.5 แสดงปริมาณวิตามินซีที่เติม 0.5 mL, ค่าเฉลี่ยวิตามินซี, ค่า SD และ %RSD	27
4.6 แสดงปริมาณวิตามินซีที่เติม 1.0 mL, ค่าเฉลี่ยวิตามินซี, ค่า SD และ %RSD	28
4.7 ปริมาณ L- ascorbic acid ในตัวอย่างยาชนิดที่ 1 ที่มีการเติมสารมาตรฐาน	29
4.8 ค่าวิเคราะห์การคืนกลับของตัวอย่างยาที่ทำการเติม ในปริมาตร 5 , 7 และ 9 mL	30
4.9 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของกราฟมาตรฐาน ค่าเฉลี่ย ค่า SD , %RSD, LOD และ LOQ	30
ก.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงตัวอย่างยา 6 ชนิด	35
ก.2 แสดงปริมาณวิตามินซีที่ได้จากการคำนวณ	36
ข.1 ผลการทดลองหาปริมาณของวิตามินซีในตัวอย่างยา โดยเติมสารละลายมาตรฐาน 0.5 mL	39
ข.2 ผลการทดลองหาปริมาณของวิตามินซีในตัวอย่างยา โดยเติมสารละลายมาตรฐาน 1.0 mL	40
ข.3 ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างยาชนิดที่ 1 (1000mg) ที่มีการเติมสารมาตรฐาน	41
ข.4 ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างยาชนิดที่ 2 (1000mg) ที่มีการเติมสารมาตรฐาน	41
ข.5 ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างยาชนิดที่ 3 (1000mg) ที่มีการเติมสารมาตรฐาน	41
ข.6 ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างยาชนิดที่ 4 (1000mg) ที่มีการเติมสารมาตรฐาน	42
ข.7 ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างเม็ดยาชนิดที่ 5 (500mg) ที่มีการเติมสารมาตรฐาน	42
ข.8 ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างเม็ดยาชนิดที่ 6 (500mg) ที่มีการเติมสารมาตรฐาน	42
ค.1 แสดงผลจากการวัดหาปริมาณวิตามินซีใน ตัวอย่างและตัวอย่างที่มีการเติมสารมาตรฐาน และค่า %Recovery	43
ง.1 ผลการทดลองการทำกราฟมาตรฐาน โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสง	44
ง.2 ตารางแสดงความเข้มข้นของผลการวัดค่าการดูดกลืนแสง	45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ

รูปที่	หน้า
2.1 ออกซิเดชันและรีดักชันของกรดแอสคอร์บิก	3
2.2 แสดงโครงสร้างของวิตามินซีในรูปแบบต่าง ๆ	4
2.3 แสดงการเปลี่ยนรูปของเหล็ก	5
2.4. แสดงการวัดการดูดกลืนแสง	9
2.5 กราฟมาตรฐานทั่วไปที่ใช้หาปริมาณสาร	10
2.6 แสดงองค์ประกอบของเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์	11
2.7 หลอดควิที่เรียบ	12
2.8 เซลล์ที่ใช้บรรจุตัวอย่างในการตรวจวัด	13
4.1 แสดงสเปกตรัมของค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างชนิดที่ 1 แบบไม่เติมไอโอเดตในตัวอย่าง (A_1)	23
4.2 แสดงสเปกตรัมของการวัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างชนิดที่ 1 แบบเติมไอโอเดตในตัวอย่าง (A_2)	23
4.3 กราฟมาตรฐานสารมาตรฐาน L- ascorbic acid	24
4.4 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงในการหาค่า LOD, LOQ	31
ง.1 กราฟมาตรฐานโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน L-ascorbic	44
ง.2 กราฟมาตรฐานใช้ในการแสดงค่าขีดจำกัดการตรวจวัด	45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

ปัจจุบันความสำคัญของวิตามินซีมีความจำเป็นในการอุปโภคบริโภค และมีการนำมาใช้อุตสาหกรรมยา ซึ่งวัตถุดิบที่ใช้ผลิตจะต้องนำมาสังเคราะห์หรือทำอนุพันธ์กับสารตั้งต้นในอุตสาหกรรมการผลิตก่อน จึงจะได้วิตามินซีในรูปของยา ซึ่งวิตามินซีที่ใช้ในการผลิตอาจได้จากแหล่งธรรมชาติ เช่น ผลไม้รสเปรี้ยว หรือ ได้จากการสังเคราะห์ เมื่อเข้าสู่กระบวนการผลิตได้เป็นเม็ดยา จึงมีการตรวจสอบปริมาณและปรับปรุงคุณภาพ เพื่อให้เป็นไปตามมาตรฐานที่กำหนดไว้ ทำให้เกิดผลดีต่อผู้บริโภค โครงการงานพิเศษนี้ได้มีการพัฒนาวิธีการตรวจวัดปริมาณของวิตามินซีในตัวอย่างยา โดยใช้เทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี ซึ่งทำในสภาวะที่ต่างกัน โดยเปลี่ยนอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวิตามินซีเพื่อให้ค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วงความเข้มข้นที่เราปรับเปลี่ยนและได้สภาวะที่เหมาะสมที่สุด

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

เพื่อศึกษาและพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณ L-Ascorbic acid ในตัวอย่างยาเม็ด โดยใช้เทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรีในการวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงอัลตราไวโอเล็ต

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ของปริมาณ L-Ascorbic acid โดยวัดค่าการดูดกลืนแสง ในช่วงอัลตราไวโอเล็ต
2. ทดสอบความใช้ได้ของการวิเคราะห์ปริมาณ L-Ascorbic acid ที่พัฒนาขึ้น
3. นำวิธีที่พัฒนาขึ้นไปวิเคราะห์หาปริมาณ L-Ascorbic acid ในตัวอย่างยาเม็ด

1.4 ขั้นตอนการทำวิจัยและดำเนินงาน

1. สืบค้นข้อมูลจากแหล่งที่เกี่ยวข้อง
2. วางแผนการทดลอง เช่น การเตรียมอุปกรณ์ สารเคมี เครื่องมือที่ใช้
3. ดำเนินการทดลอง เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดปริมาณ L- ascorbic acid ด้วยวิธีสเปกโทรโฟโตเมทรี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.5. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทำให้ทราบสถานะที่เหมาะสมกับการวิเคราะห์หาปริมาณ L- ascorbic acid โดยการวัดการดูดกลืนแสงในช่วงอัลตราไวโอเลต
2. สามารถนำวิธีนี้พัฒนาขึ้นไปใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณ L- ascorbic acid ในตัวอย่างยาเม็ดได้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

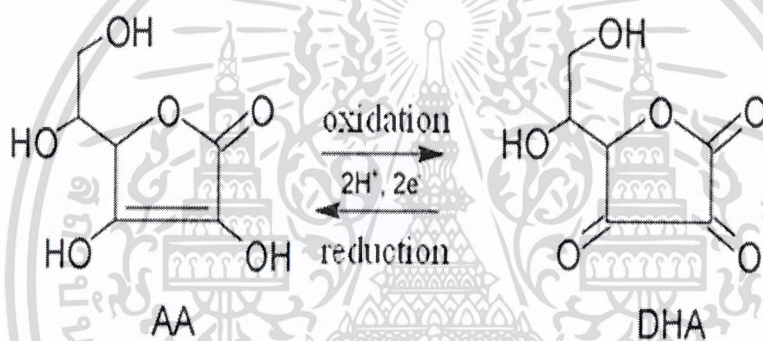
บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1. วิตามินซี [1]

โครงสร้างวิตามินซี

วิตามินซี หรือกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) มีลักษณะโมเลกุลคล้ายกับน้ำตาลกลูโคส ธรรมชาติของวิตามิน เป็น L-ascorbic acid (มีน้ำหนักอณู 176) มีคุณสมบัติเป็นสารที่มีฤทธิ์รีดิวส์อย่างแรง เมื่อถูกออกซิไดส์แล้วจะเปลี่ยนไปเป็น L-dehydroascorbic acid วิตามินซีในร่างกายจะอยู่ในสภาพรีดิวส์ ทั้ง L-ascorbic และ dehydroascorbic acid มีฤทธิ์เป็นวิตามินเหมือนกัน และสามารถกลับไปมาระหว่างสารประกอบทั้ง 2 ชนิดได้ โดยอาศัยปฏิกิริยา oxidation-reduction (รูปที่ 2.1) ที่ใช้เอนไซม์แอสคอร์บิกออกซิเดสและกลูตาไธโอนดีไฮโดรจีเนส



รูปที่ 2.1 ออกซิเดชันและรีดักชันของกรดแอสคอร์บิก [5]

คุณสมบัติ

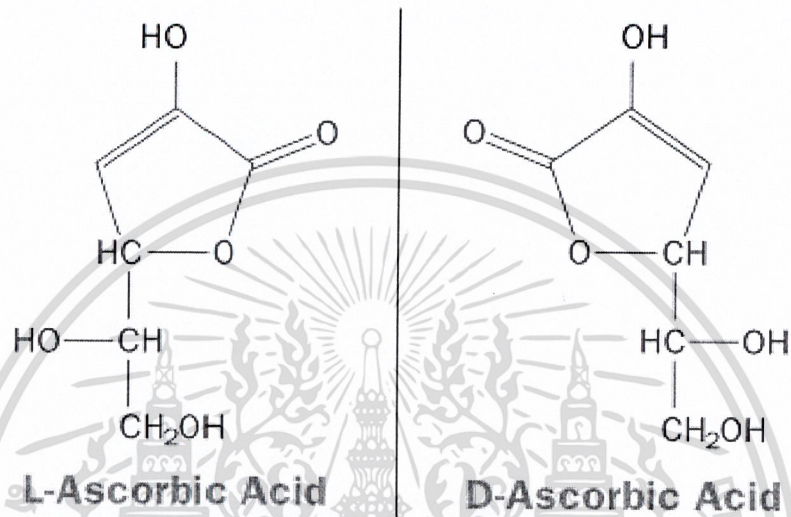
1. ทางกายภาพ

เป็นผงสีขาว ผลึกรูปเข็มและเกล็ดเล็กๆ ละลายน้ำได้ดี (0.3 กรัม ต่อ มิลลิลิตร) ละลายน้อยในอะซิโตนและแอลกอฮอล์ มีรสเป็นกรดอย่างแรง ดูดความชื้นในอากาศได้ สลายตัวได้ง่ายโดยแสงสว่าง ความร้อน ด่าง และสารออกซิไดส์ แต่คงทนต่อกรด วิตามินซีในลักษณะรีดิวส์สามารถรวมกับไอออนของสารโลหะเช่น Ca, Na, Cu, Fe, Pb, Hg เป็นเกลือแอสคอร์เบทได้ เมื่อถูกแสงสว่างจัด วิตามินซีจะเปลี่ยนจากสีขาวไปเป็นสีน้ำตาลหรือสีชา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ทางเคมี

วิตามินซีมีโมเลกุลขนาดเล็ก น้ำหนักโมเลกุลแค่ 176.12 กรัม ในรูปของ L- ascorbic acid ชื่อทางเคมีคือ L-xyloascorbic acid มีสูตรโครงสร้างโมเลกุลของวิตามินซี ก่อนข้างไม่อยู่ตัวตั้งนั้นแหล่งธรรมชาติจึงพบวิตามินซีอยู่ทั้งใน reduced form คือ L-xyloascorbic acid และ oxidized form คือ dehydroascorbic acid ทั้งสองรูปแบบนี้มีฤทธิ์ของวิตามินซี เท่ากัน



ปฏิกิริยาออกซิเดชันของวิตามินซี เกิดขึ้นได้ง่าย โดยการเร่งของสารออกซิไดส์ ซึ่งมักเป็นสารประกอบออกซิเจนที่ว่องไว เช่น สารไขมันเปอร์ออกไซด์ รวมทั้งไอออนเหล็กและไอออนทองแดง วิตามินซีจะเปลี่ยนจาก ascorbic acid ให้เป็น dehydroascorbic acid นั่นคือ เมื่อถูกออกซิไดส์หมู่ -OH ทั้งสองในวงแหวนของวิตามินซีจะเปลี่ยนเป็นหมู่ =O

ในน้ำยารีดิวซ์อย่างแรง dehydroascorbic acid จะถูกเปลี่ยนไปเป็น 2,3 diketo-L-gulonic ซึ่งเป็นกรดที่ไอออนไนซ์ให้ H^+ และมีค่า $pK_1 = 4.17$ และค่า $pK_2 = 11.57$ หมู่ diol ทั้งสองตรงตำแหน่งคาร์บอนที่ 2 และที่ 3 ที่ทำให้วิตามิน C มีคุณสมบัติ reduce ได้ดี

สารอนุพันธ์ ascorbic acid หลายชนิดมีฤทธิ์วิตามินซี ได้แก่ rhamnoascorbic acid, D-aracorbic acid, ascorbic acid-2-phosphate แต่สารสังเคราะห์ เช่น D-xylo-ascorbic acid และ L- arabino-ascorbic acid ไม่มีฤทธิ์ของวิตามินซีเลย Rhamno ascorbic acid (หรือ isoascorbic acid) และ D-arabino ascorbic acid ยังคงมีฤทธิ์ของวิตามินซี ประมาณ 0.2 และ 0.05 เท่าของ L-xylo-ascorbate ตามลำดับ ทั้งนี้อาศัยผลทดลองจากการใช้เพียงครั้งเดียว ในหนูตะเภาที่ขาดวิตามินซี สารทั้งสองสามารถทดแทนวิตามินซีอย่างรุนแรงแต่ถ้ามีการให้สาร isomer ดังกล่าวติดต่อกันนานๆ ใน

หนูที่กินอาหารที่ขาดวิตามินซีสารทั้งสองสามารถทดแทนวิตามินซีได้ดีเท่า ๆ กับ L-xyloascorbate
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาจเป็นเพราะว่าการดูดซึมของ isoascorbic acid ในลำไส้ของหนูตะเภาเป็นไปได้้น้อยมาก การให้กินครั้งเดียวจึงไม่ค่อยได้ผล เนื่องจาก isoascorbic acid มีราคาถูกกว่าวิตามินซี มากจึงมีผู้นำมาใช้ในขบวนการทำอาหาร โดยใช้ชื่อใหม่ว่า “erythorbic acid” ส่วนอนุพันธ์ของวิตามินซี สองชนิดคือ ascorbic-2-phosphate และ ascorbic acid-2-sulfate ซึ่งเป็นเมตะบอไลต์ ยังคงมีฤทธิ์ของวิตามินซีและมีความคงทนดีกว่า ascorbic acid จึงนำมาใช้เติมลงในอาหาร เครื่องดื่มและ ยา เมื่อผ่านทางเดินอาหาร ascorbic acid-2-phosphate จะถูก hydrolyse ด้วย phosphatases กลายเป็น ascorbic acid แล้วถูกดูดซึมเข้าไปในลำไส้

3.ทางชีวภาพ

ในร่างกาย วิตามินซีมีบทบาทต่อเมตะบอลิซึมของสารอื่น ๆ และทำให้เกิดปฏิกิริยาทางชีวภาพในร่างกายหลายอย่าง ดังต่อไปนี้

3.1 ช่วยการดูดซึมของธาตุเหล็กในทางเดินอาหาร

วิตามินซี ช่วยทำให้อิออนเหล็กอยู่ในสภาพของ ferrous (Fe) ซึ่งดึงดูดเข้าสู่เซลล์บุผิวของลำไส้ได้ โดยเหล็ก(Fe) 30 มิลลิกรัม ต้องการวิตามินซี 200 มิลลิกรัม ช่วยการดูดซึม วิตามินซีช่วยให้การดูดซึม Fe เพิ่มขึ้น 1-33 เท่า นอกจากนี้วิตามินซียังช่วยทำให้เหล็กในรูปของ Fe ที่เกาะกับ โปรตีน transferrin ในพลาสมาหลุดออกเป็นอิสระในรูปของ Fe ให้ไปเกาะกับ ferritin ในเซลล์ตับและเซลล์ทั่วไป



รูปที่ 2.3 แสดงการเปลี่ยนรูปของเหล็ก [2]

3.2 ช่วยการสลายตัวของโคเลสเตอรอล

เข้าใจว่าวิตามินซีกระตุ้นการรวมตัวของ Fe กับ heme ที่อยู่ใน cytochrome P₄₅₀ ซึ่งส่วนประกอบของเอนไซม์ cholesterol-7-hydroxylase ซึ่งใน limiting step ของการสลายโคเลสเตอรอลเป็นกรดน้ำดี การใช้วิตามินซี 1กรัม /วัน ช่วยลดระดับโคเลสเตอรอลในเลือดผู้ที่มีอายุน้อยกว่า 25 ปี ปรากฏว่าได้ผลดีมากแต่ไม่มีผลในผู้สูงอายุหรือผู้ที่ เป็นโรคผนังหลอดเลือดแข็งตัว

3.3 ช่วยการสร้างสารสื่อประสาทและฮอร์โมน

ช่วยในการเปลี่ยน tryptophan ให้เป็น serotonin ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงจาก tyrosine กลายเป็น dihydroxyphenylalanine (DOPA)ช่วยการฮอร์โมน dopamine,adrenalin และ tyroxine เข้าใจกันว่าวิตามิน C ช่วยในการทำงานของเอนไซม์เช่น tyrosine hydroxylase

3.4 เป็นโคแฟกเตอร์ในขบวนการสร้างคอลลาเจน

การสร้าง cross-links ภายในเส้นใยคอลลาเจน จำเป็นต้องอาศัยการทำงานของเอนไซม์ prolyl hydroxylase และ lysylhydroxylase ในการผลิต hydroxyproline และ hydroxylysine เพื่อให้คอลลาเจนสมบูรณ์ เหนียวและแข็งแรง สามารถเป็น basement membrane ที่ดีให้แก่หลอดเลือดฝอย ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้ และการเกาะพอกของเกลือแร่กับ basement membrane ในกระดูกและฟันได้ดี ฉะนั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันและเส้นเลือดจะแข็งแรง ไม่เปราะและแตกหือเลือดกันเลือดออกตามไรฟัน เกิดโรคลักปิดลักเปิด กลไกทางการออกฤทธิ์ของ ascorbic acid เข้าใจว่าช่วยรักษาสภาพของ ferrous ion (Fe) ซึ่งเป็น activator ของ hydroxylases ไม่ให้ถูกออกซิไดส์กลายเป็น Fe³⁺ ซึ่งจับกับ hydroxylases อย่างแน่นหนา ทำให้เอนไซม์เสียสภาพจึงไม่เกิด hydroxylation ทำให้เนื้อเยื่อพังผืดไม่แข็งแรง

3.6 เป็นตัวต้านออกซิเดชัน

วิตามินซี เป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระซึ่งเป็นสารที่่องไวมากในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ทำให้เกิดการทำลายสารชีวโมเลกุล โดยเฉพาะ ไขมัน โปรตีน และกรดนิวคลีอิกซึ่งทำให้เซลล์เสื่อมสภาพอย่างรวดเร็ว วิตามินซี สามารถป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชันในตัวอย่างที่เป็นน้ำและน้ำมันได้ดี โดยทำงานร่วมกับวิตามินอี มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในตัวกลางที่เป็นไขมันได้แน่นยิ่งขึ้น ช่วยรักษาสภาพของเนื้อเยื่อต่างๆและตับให้ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ เช่น ค่อมหมวกไตและรังไข่ในการสร้างสเตียรอยด์ ฮอร์โมน รักษาสภาพเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของกระดูก ฟัน และอวัยวะทั่วไปให้แข็งแรง ซ่อมแซมบาดแผลให้มีการสมานแผลได้เร็วขึ้นป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชันของ low density lipoprotein (LDL) และการแข็งตัวของผนังเส้นเลือดที่ไปเลี้ยงกล้ามเนื้อหัวใจ ลดอัตราเสี่ยงการเกิดโรคหัวใจ ป้องกันการเป็นหมัน การเกิดต่อกระจกตา และรักษาสภาพ reduced-SH ของกลูตาไธโอนและหมู่ sulfhydryl(-SH) ในเอนไซม์ทั้งหลาย

3.8 ส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกัน

นอกจากช่วยสร้างคอลลาเจนให้แก่ผิวหนังและบริเวณรูเปิดของอวัยวะภายนอก เพื่อป้องกันเชื้อโรคและสารแปลกปลอมให้แก่ร่างกายแล้ว ยังพบว่าวิตามินซี สะสมมากในเซลล์เม็ดเลือดขาว แสดงว่าวิตามินช่วยการทำงานของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด neutrophils ในการกำจัดเชื้อโรคให้มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น กลไกอาจโดยป้องกันการทำลายของเซลล์เม็ดเลือดขาวเนื่องจากอนุมูลอิสระควบคุมการทำงานของ 5-lipoxygenase ในการผลิตสาร leukotriene ซึ่งทำหน้าที่เป็น chemotactic factor ของเม็ดเลือดขาว ช่วยการผลิต interferon และสาร C1q ซึ่งเป็น complement component และกระตุ้นการแบ่งตัวของเซลล์น้ำเหลือง (lymphocytes) ดังนั้นการได้รับวิตามินซีเป็นประจำ ทำให้ร่างกายมีภูมิคุ้มกันแข็งแรง ไม่ค่อยจะเป็นหวัดหรือรอดต่อเชื้อโรคได้ง่าย

ในงานวิจัยพบว่าระดับของวิตามินซี จะลดลงมากในเซลล์เม็ดเลือดขาวของผู้ป่วยเชื้อ HIV และผู้ป่วย AIDS ทำให้ผู้ป่วยมีอาการโรคแทรกซ้อนหรือโรคติดเชื้อฉวยได้ง่าย จึงมีการแนะนำให้ผู้ป่วยเหล่านี้รับ 30-200 กรัมต่อวันตามภาวะผู้ป่วยและความรุนแรงของโรคหรือให้ sodium ascorbate ทางเส้นเลือด 60 กรัม/ลิตร รวม 3 ลิตรต่อวัน (รวม 180 กรัม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาโดยใช้สารผสมวิตามินซี วิตามินเอ วิตามินอี และเบต้าแคโรทีนพบว่า สามารถลดอัตราการเกิด oxidative stress lipid peroxidation และอาการทางคลินิกในผู้ป่วยโรคหัวใจเนื่องจากกล้ามเนื้อหัวใจตาย

3.9 หน้าทีเบ็ดเตล็ด

วิตามินซี ยับยั้งการเกิดสารก่อมะเร็งพวก nitrosamine ได้ โดยหยุดปฏิกิริยา nitrosation ที่เกิดจากเกลือไนไตรท์กับสารพวก amine ซึ่งพบในอาหารพวกเนื้อหมักด้วยเกลือไนไตรท์และไนเตรท เช่น แหนม ปลากะปิอง ปลาสำ และอาจเกิดในกระเพาะอาหารคนได้โดยตรง ฉะนั้นการเกิดวิตามินซีในอาหารดังกล่าวหรือรับประทานวิตามินซีอย่างสม่ำเสมอ จะป้องกันการเกิดสารก่อมะเร็งชนิดนี้ได้จึงเป็นการป้องกันการเกิดมะเร็งตับ มะเร็งกระเพาะอาหาร มะเร็งทางเดินอาหาร และมะเร็งอื่น ๆ

เนื่องจากช่วยการทำงานของเอนไซม์ cytochrome P-450 mixed function oxidase (MFO) และ flavin-containing monooxygenase (FMO) ในตับ ให้มีประสิทธิภาพในการออกซิไดส์สารแปลกปลอมในชีวภาพ (xenobiotics) เช่น ยา สารเคมี แอลกอฮอล์ วิตามินจึงช่วยทำลายพิษสารนั้น วิตามินซียับยั้ง lysosomal enzyme –glucuronidase ในหนูทดลองที่มี peritonitis-polyarthritis ได้ดี ทำให้ลดการบวมการอักเสบและอาการแพ้ได้ เมื่อเปรียบเทียบกับการให้ยาแก้อักเสบ phenylbutazone และ ASA การให้วิตามิน C ขนาดเดียวกันมีประสิทธิภาพในการแก้การอักเสบได้ถึงประมาณ 2 เท่าตัว

เนื่องจากวิตามินซี เป็นสารจับอออนโลหะ (metal ionchelators) ได้ดี จึงอาจนำมาใช้ในการลดและรักษาความเป็นพิษของสารโลหะหนัก เช่น ตะกั่วปรอท นิเกิล สารหนู ที่สะสมในร่างกายโดยการรวมตัว ทำให้การละลายดีขึ้น จึงขับออกจากร่างกายได้ง่าย นอกจากนี้วิตามินซี ยังกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ต่างๆเช่น cytochromes, oxidases, glycosidases, peroxidases, esterases ในตับช่วยการขับหรือทำลายพิษได้เช่น ช่วยในการขับสาร cortison, แอสไพริน

การสังเคราะห์กรดแอสคอร์บิก

ทั้งพืชและสัตว์ส่วนใหญ่สามารถสังเคราะห์วิตามินซีได้จาก D-glucose หรือ D-galactose โดยทาง glucuronic acid pathway เริ่มต้นด้วยมีการเปลี่ยนแปลงที่อนุของกลูโคสไปเป็น D-glucuronic acid และถูกรีดิวส์เป็น L-gulonate แล้วเปลี่ยนไปเป็น L-gulonolactone ซึ่งจะถูกออกซิไดส์เป็น 2-keto-L-gulonolactone โดยมี rate limiting enzyme ในการออกซิเดชัน คือ L-gulonolactone oxidase จากนั้นจะมีการ isomerized ไปเป็น L-ascorbic acid

พวก primates รวมทั้งคน ถึง หนูตะเภาและค่างวไม่สามารสังเคราะห์วิตามินซีขึ้นเองได้ ทั้งนี้เพราะขาดเอนไซม์ L-gulonolactone oxidase ที่ใช้ในการเปลี่ยน 2-keto-L-gulonolactone เป็น L-ascorbate ดังนั้นสิ่งมีชีวิตดังกล่าวจึงจำเป็นต้องได้รับวิตามินนี้จากภายนอก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แหล่งกำเนิด

วิตามินส่วนใหญ่มีต้นตอมาจากอาหารที่เป็นพืชในสัตว์มีน้อยมาก ยกเว้นที่ใด อาหารที่มีมาก ได้แก่ ส้ม มะนาว มะขามป้อม ลำไย มะเขือเทศ พริกหยวกและผักใบสีเขียว ในน้ำนมคนมีน้อย แต่ยังมีมากกว่าในน้ำนมวัว 3-4 เท่า อาหารที่จัดว่ามีวิตามินซี น้อยมาก หรือไม่มีเลยได้แก่ เนื้อสัตว์ ไข่ ข้าว เป็นต้น ปัจจุบันนี้จะเห็นว่ามีสารเติมวิตามินซี ลงในเครื่อง เป็น antioxidant เพื่อคงสภาพของรสชาติเดิมเอาไว้ หรือเติมลงในเนื้อสัตว์ ขนมัน และอาหารอื่น เพื่อช่วยในการเก็บรักษาไม่ให้เสื่อมคุณภาพ ดังนั้นในอาหารที่เสริมวิตามินซีดังกล่าวจึงเป็นต้นตอที่ดีสำหรับผู้บริโภค

2.2 เทคนิค ยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี[3]

สาเหตุของการดูดกลืนแสงในช่วงยูวี-วิสิเบิล (UV-VIS spectroscopy)

เมื่อแสงที่อยู่ในช่วงยูวี-วิสิเบิลผ่านเข้าไปใน โมเลกุลของสาร สารนั้นจะดูดกลืนแสงเฉพาะ บางช่วงทำให้เกิดมีการเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานของอิเล็กตรอน (electronic transition) ซึ่งโดยมาก จะใช้พลังงานประมาณ 30-150 kcal และอิเล็กตรอนที่เกี่ยวข้องคืออิเล็กตรอนวงนอกสุดหรืออิเล็กตรอนที่เกิดพันธะแล้ว หรืออิเล็กตรอนที่ยังไม่เกิดพันธะ (non-bonding electron) ซึ่งแต่ละชนิด จะมีพลังงานแตกต่างกันอิเล็กตรอนที่ได้รับพลังงานสูงขึ้นนี้เรียกว่า antibonding orbitals

สารอินทรีย์ใดที่มี unsaturated functional group สามารถดูดกลืนแสงในช่วงยูวี-วิสิเบิล ได้ ซึ่งแสดงลักษณะและสมบัติของมัน เรียกสารกลุ่มนี้ว่า โครโมฟอร์ โครโมฟอร์อย่างง่ายมี 3 แบบ

1. โครโมฟอร์ที่มี multiple bond ระหว่างอะตอม 2 อะตอมของธาตุ โดยไม่มีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยว
2. โครโมฟอร์ที่มี multiple bond ระหว่างอะตอม 2 อะตอมของธาตุ โดยที่อะตอมของธาตุหนึ่งมีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยว
3. โครโมฟอร์ที่มีวงเบนซีน ได้แก่ สารประกอบพวกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน ถ้าโครโมฟอร์อย่างง่ายเกิดคอนจูเกตกันเอง หรือกับโครโมฟอร์ชนิดอื่นจะทำให้เกิดแถบดูดกลืนใหม่ขึ้น และมักจะทำให้ สเปกตรัมเปลี่ยนไปทางความยาวเพิ่มขึ้น และมีบางกลุ่มที่เข้าไปแทนที่ไฮโดรเจนในวงเบนซีนซึ่งเรียกว่า ออกโซโครม

ออกโซโครม (auxochrome) เป็นกลุ่มธาตุที่ไม่ดูดกลืนแสง หรือถ้าดูดกลืนได้ก็เป็นเพียงเล็กน้อยในช่วงยูวีหรือวิสิเบิล แต่สามารถมีผลต่อสเปกตรัม ของโครโมฟอร์ที่ออกโซโครมไปเกาะอยู่เปลี่ยนไป โดยอาจทำให้ความยาวคลื่นเพิ่มหรือลดลง คือ

1. เกิด Bathochromic shift (red shift) จะทำให้สเปกตรัมเปลี่ยนไปในทางความยาวคลื่นมากขึ้น (λ_{max} เพิ่ม)

2. เกิด Hypsochromic shift (blue shift) ทำให้สเปกตรัมเปลี่ยนไปในทางความยาวคลื่นลดลง (λ_{max} ลดลง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนลิขสิทธิ์หรืออาจมีลิขสิทธิ์อื่นอยู่ หากมีข้อสงสัย กรุณาติดต่อเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. เกิด Hypochromic effect ทำให้เกิดการเพิ่มความเข้มหรือการดูดกลืนแสงมากขึ้น (ϵ_{\max} เพิ่มขึ้น)

4. เกิด Hypochromic effect ทำให้เกิดการลดความเข้มหรือการดูดกลืนแสงลดลง (ϵ_{\max} ลดลง) ออกโซโครที่มีผลต่อโครโมฟอร์จริงๆแล้วขึ้นอยู่กับความมีขั้วของออกโซโครม เช่น กลุ่มเมทิล เอทิล และฮาโลเจน มีผลเล็กน้อยโดยทำให้เกิด red shift

หลักการหาปริมาณของสารกับการวัดปริมาณของแสงที่ถูกดูดกลืน

1. การวัดปริมาณของแสง

ในการวัดปริมาณของแสงหรือ radiation ที่ถูกดูดกลืนด้วยสารตัวอย่างนั้น เราสามารถทำได้ โดยให้ลำแสงผ่านสารตัวอย่าง แล้ววัดปริมาณของแสงที่ทะลุผ่านออกมาโดยเปรียบเทียบกับแสงที่ทะลุออกมาเมื่อไม่มีสารตัวอย่าง



รูปที่ 2.4 แสดงการวัดการดูดกลืนแสง [3]

2. กฎการดูดกลืนแสง

1) กฎของแลมเบิร์ต(Lambert's law)

เมื่อมีแสงเดี่ยว (monochromatic light) ซึ่งคือแสงที่มีความยาวคลื่นเดียวผ่านตัวกลางเนื้อเดียว สัดส่วนของเนื้อเข้มของแสงที่ถูกตัวกลางนั้นดูดกลืนไว้ไม่ขึ้นอยู่กับความเข้มของแสงที่กระทบตัวกลางนั้นและความเข้มของแสงจะถูกแต่ละชั้นของตัวกลางดูดกลืนไว้ในสัดส่วนที่เท่ากัน

2) กฎของเบียร์ (Beer's law) มีใจความว่า “เมื่อแสงที่มีความยาวคลื่นเดียวผ่านตัวกลางที่มีเนื้อเดียว สัดส่วนความเข้มของแสงที่ถูกตัวกลางนั้นดูดกลืนไว้จะแปรโดยตรงกับปริมาณของตัวกลางที่ดูดกลืนแสงนั้น” เมื่อเราวัดการดูดกลืนแสงของสารละลาย ปริมาณความเข้มของแสงที่ถูกดูดกลืนจะขึ้นอยู่กับทั้งความเข้มข้นของสารละลายและความหนาของสารละลายที่ลำแสงนั้นผ่าน จึงจำเป็นต้องรวมกฎของเบียร์และกฎของแลมเบิร์ต เรียกกฎของเบียร์-แลมเบิร์ต (Beer-Lambert's law) และ เขียนเป็นรูปสมการได้ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \epsilon bc$$

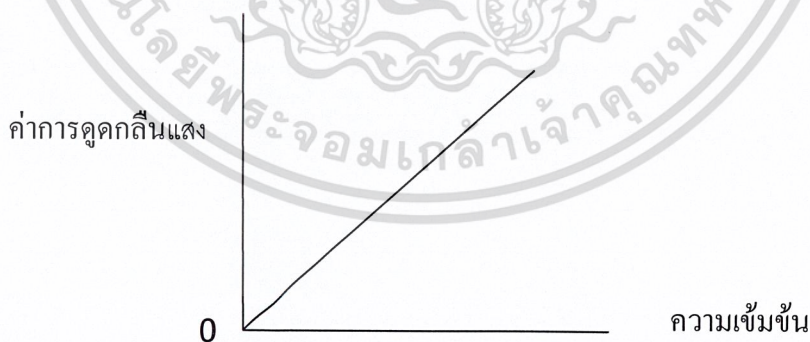
$$\%I = \frac{I}{I_0} \times 100$$

- โดย A = การดูดกลืนแสง (Absorbance)
 I และ I_0 = ความเข้มแสงเริ่มต้นและสุดท้ายตามลำดับ
 ϵ = โมลาร์แอบซอร์ปติวิตี (molar absorptivity)
 b = ความกว้างของเซลล์ในหน่วยเซนติเมตร
 c = ความเข้มข้นของสารละลายในหน่วยโมลาร์

การวิเคราะห์หาปริมาณด้วยเทคนิคทางยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี

วิธีวิเคราะห์ที่นิยมใช้กันทั่วไปมีดังนี้

ในกรณีสารตัวอย่างที่จะวิเคราะห์มีเพียงสารเดียว อาจทำโดยใช้กราฟมาตรฐานโดยเตรียมสารละลายที่มีความเข้มข้นต่างๆกันแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ λ_{\max} โดยเทียบกับสารละลายเบสค์ นำผลที่ได้มาเขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้น จะได้กราฟเป็นเส้นตรงดังรูปที่ 2.5 เมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างได้ ก็จะหาปริมาณวิเคราะห์ได้โดยอ่านจากกราฟมาตรฐาน

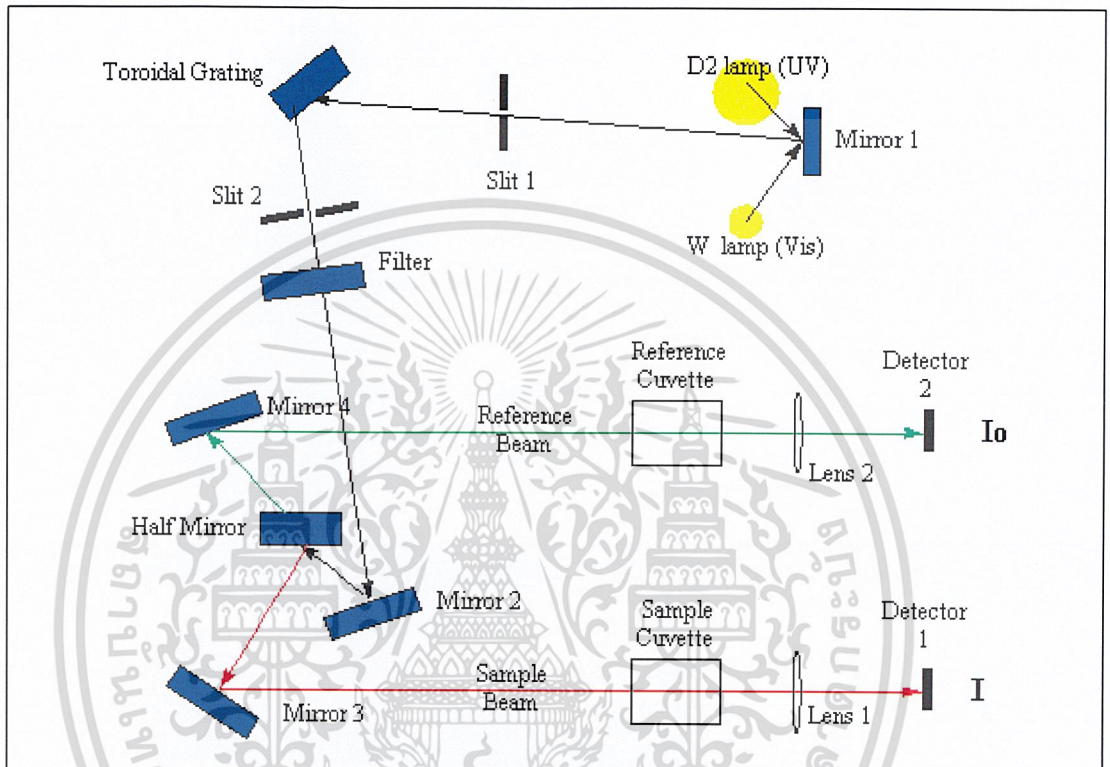


รูปที่ 2.5 กราฟมาตรฐานทั่วไปที่ใช้หาปริมาณสาร [3]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วงที่พอเหมาะเพื่อให้ได้ผลที่ถูกต้อง คือค่าการดูดกลืนแสงควรวอยู่ในช่วง 0.1-1.0 ถ้าสารละลายเจือจางเกินไป วัดค่าการดูดกลืนแสงได้น้อย ก็อาจแก้ไขโดยการใส่เซลล์ให้กว้างขึ้น แต่ถ้าสารละลายเข้มข้นเกินไปก็ใช้วิธีเจือจางให้น้อยลง

ส่วนประกอบของเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์



รูปที่ 2.6 แสดงองค์ประกอบของเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ [4]

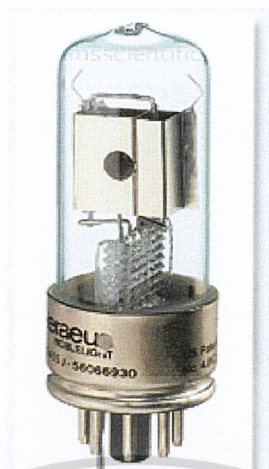
1. แหล่งกำเนิดแสง (Light source)

แหล่งกำเนิดแสงที่ใช้ในงานทางสเปกโทรโฟโตเมตรีนั้น ควรจะต้องมีลักษณะดังนี้

- จะต้องให้ลำแสง (Beam of radiation) ที่มีกำลังพอที่จะวัดได้ด้วยดีเทคเตอร์
- จะต้องให้การแผ่รังสี (radiation) ออกมาตลอดเวลาในช่วงความยาวคลื่นที่ต้องการ
- จะต้องให้การแผ่รังสีที่คงที่ตลอดเวลา มิฉะนั้นแล้วผลของการวิเคราะห์จะไม่แม่นยำ

1.1 หลอดไฮโดรเจน หรือหลอดควิที่เรียม ให้แสงในช่วงความยาวคลื่น 185-375 nm ซึ่งเกิดจากการคายพลังงานของไฮโดรเจนหรือควิที่เรียมอะตอมอยู่ในสถานะกระตุ้น ช่องที่แสงจะออกจากหลอดทำจาก ควอร์ตหรือ fused silica ทั้งหลอดไฮโดรเจนและหลอดควิที่เรียมจะบรรจุด้วยแก๊สนั้นไว้ที่ความกดดันต่ำ (5 มม.ปรอท) และใช้ระบบไฟฟ้าชนิด D.C. ขนาด 40 โวลต์เท่านั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.7 หลอดควิที่เรียม [3]

1.2 หลอดทังสเตน (tungsten filament lamp) ซึ่งมีลักษณะคล้ายหลอดไฟธรรมดาโดยใช้ไส้หลอดเป็นโลหะทังสเตน เมื่อใช้กระแสไฟฟ้าผ่านเข้าไป ลวดทังสเตนจะถูกเผาให้ร้อนและเปล่งแสงออกมาอยู่ในช่วง 320 – 2500 nm ถ้าใช้อุณหภูมิสูงขึ้น ลักษณะของสเปกตรัมจะเคลื่อนที่ไปทางความยาวคลื่นมากขึ้น แต่อายุของหลอดก็จะสั้นขึ้นเช่นกัน

2. โมโนโครมาเตอร์ (monochromator)

ส่วนประกอบนี้ถือเป็นหัวใจของเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์เพราะว่าเป็นส่วนที่ใช้ควบคุมแสงที่ออกมาจากต้นกำเนิดแสงซึ่งเป็นโพลีโครเมติก (คือแสงที่ประกอบด้วยแสงที่มีความยาวคลื่นต่างๆ) ให้เป็นแสงโมโนโครมาติกซึ่งเป็นแถบแสงแคบๆ โดยทั่วไปแล้วโมโนโครมาเตอร์ประกอบไปด้วย

- ช่องที่ปล่อยแสงให้เข้า (entrance slit) เพื่อให้แสงที่เข้ามาแรงพอที่จะผ่านออกไปยังสารตัวอย่างโดยคิดต่อพื้นที่ที่แสงผ่าน ดังนั้นความกว้างของสลิตจึงมีความสำคัญ

- กระจกและเลนส์ (mirror และ lens) เพื่อใช้ทำให้แสงเกิดการสะท้อนไปมาในเครื่อง บางครั้งทำให้แสงเกิดการรวมกัน ทั้งนี้เพื่อช่วยในการลดขนาดของเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ให้เล็กลงและบางครั้งทำให้แสงกลายเป็นแสงขนาน

- ส่วนที่ทำให้แสงกระจายออกเป็นความยาวคลื่นต่างกันเพื่อให้เหมาะแก่การเลือกใช้หรืออาจเป็นส่วนที่ตัดแสงบางช่วงออกไปให้เหลือเฉพาะช่วงคลื่นแสงที่ต้องการ อุปกรณ์ส่วนนี้อาจประกอบด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1 ฟิลเตอร์ (filters) จัดว่าเป็น โมโนโครมาเตอร์ที่ง่ายที่สุดซึ่งอาจประกอบด้วยกระจกสีต่างๆทำเป็นแผ่นกลม ฟิลเตอร์ชนิดนี้จะให้ความกว้างของแถบคลื่นแสงขนาด 25 nm หรือมากกว่านี้ ฟิลเตอร์ที่ใช้กันอีกชนิดเรียกว่า อินเทอร์เฟอเรนซ์ฟิลเตอร์ ซึ่งเป็นฟิลเตอร์ที่ฉาบด้วยสารที่มีค่าดัชนีหักเหต่ำและเป็นพวกอิเล็กทรอนิกส์ เช่น แมกนีเซียมฟลูออไรด์ แล้วฉาบด้วยเงินบางๆ เพื่อให้แสงผ่านออกมาที่ความยาวคลื่นต่างๆกันตามความยาวของแผ่นประมาณ 50% เท่านั้น และความกว้างของแถบคลื่นแสงประมาณ 10 nm

2.2 เกรตติง (Grating) ในเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ สมัยใหม่นี้ล้วนใช้เกรตติงเป็นส่วนกระจายแสงทั้งสิ้น เกรตติงที่มีใช้กันอยู่มี 2 แบบ คือ

1. ทรานสมิชันเกรตติง (transmission grating) ทำด้วยวัสดุโปร่งใสเพื่อให้แสงผ่านได้ เป็นกระจกแล้วนำมาขีดเป็นร่องขนานกัน จำนวนร่องเป็นมิลลิเมตรมีมากน้อยได้แตกต่างกัน เกรตติงชนิดนี้ปัจจุบันไม่นิยมใช้แล้ว

2. รีเฟลกชันเกรตติง (reflection grating) หรือเกรตติงแบบสะท้อน เป็นเกรตติงที่ใช้การสะท้อนแสง ดังนั้นผิวหน้าของร่องวัสดุจะต้องเรียบและสะท้อนแสงได้

3. ส่วนที่วางสารตัวอย่างเพื่อวัด (Cell compartment)

เซลล์ที่บรรจุสารตัวอย่างและสารเปรียบเทียบแล้วนำไปใส่ที่สำหรับวัด ซึ่งส่วนนี้จะมีฝาปิดเพื่อกันแสงจากภายนอกจะเข้าไป และถูกกั้นออกจากส่วนที่เป็นระบบอิเล็กทรอนิกส์และระบบแสง

เซลล์ที่ใส่ตัวอย่าง (sample cell) บางครั้งเรียกว่าคิวเวทท์ (cuvettes) มีด้วยกันหลายแบบรูปร่างต่างๆกัน ที่ใช้โดยทั่วไปดังนี้



รูปที่ 2.8 เซลล์ที่ใช้บรรจุตัวอย่างในการตรวจวัด [3]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลล์ที่ทำจากแก้วธรรมดา จะใช้ได้เฉพาะช่วงวิลิเบิลเพราะเนื้อแก้วธรรมดาสามารถดูดกลืนแสงช่วงยูวีได้ เซลล์ที่ทำด้วยซิลิกา (silica) และ ควอร์ตซ์ (Quartz) ใช้ได้ทั้งยูวีและวิลิเบิล

4. เครื่องวัดแสง (Detector)

เครื่องที่ใช้สำหรับวัดแสงนั้นมีด้วยกันหลายแบบ ซึ่งแต่ละแบบอาจแตกต่างกันบ้างที่ความกว้างของช่วงคลื่นแสงที่สามารถตรวจวัดได้ ความเร็วของการตอบสนองต่อแสง สภาพไวของการรับแสง เป็นต้น ทั้งนี้เพื่อต้องการเปลี่ยนพลังงานแสง (radiation energy) ให้เป็นสัญญาณไฟฟ้า (electrical signal) เครื่องวัดแสงที่นิยมใช้ในปัจจุบันนี้มีดังนี้

4.1 โฟโตโวลตาอิกเซลล์ (Photovoltaic cell) เป็นเซลล์ที่ใช้ตรวจวัดในช่วงวิลิเบิลและให้สภาพไวสูงสุดที่ความยาวคลื่น 550 nm แต่จะลดลงประมาณ 10% ที่ความยาวคลื่น 350 และ 750 nm

4.2 ลักษณะของเซลล์นี้ประกอบด้วยขั้วบวกและขั้วลบ เป็นแผ่นทองแดงหรือเหล็กฉาบ ผิวด้านนอกเป็นเซลล์บางๆ โปร่งแสง ทอง เงิน หรือ ตะกั่ว ทั้งหมดนี้อยู่ภายในกล่องพลาสติกและส่วนรับแสงเป็นแผ่นกระจกใส อิเล็กตรอนที่เกิดจากแผ่นซิลิเนียมจะไปยังแผ่นเหล็ก แล้วเกิดกระแสซึ่งเป็นสัดส่วนกับแสงที่ตกกระทบ

4.3 หลอดรับแสง (Phototube) เป็นหลอดที่ทำด้วยแก้วหรือซิลิกาภายในเป็นหลอดสุญญากาศ มีแคโทดที่ฉาบด้วยสารที่สามารถให้อิเล็กตรอนเมื่อถูกแสงอิเล็กตรอนที่เกิดขึ้นจะวิ่งไปที่แอโนดแล้วทำให้เกิดกระแสไฟฟ้าแคโทดมักทำเป็นรูปครึ่งวงกลม

4.4 หลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ (Photomultiplier tube = PMT) หลอด PMT เป็นหลอดที่มีลักษณะคล้ายกับหลอดรับแสง ดังได้กล่าวมาแล้วแต่ PMT มีสภาพไวดีกว่าและสามารถใช้ได้ในช่วงความยาวคลื่น 190-900 nm ดังนั้น PMT จึงนิยมใช้กัน ลักษณะของหลอด PMT ภายในหลอดประกอบด้วยแคโทดที่ฉาบผิวด้วยสารคล้ายหลอดรับแสง จำนวน 9 ชุด ซึ่งเรียกว่าไดโนด นั่นคือปริมาณอิเล็กตรอนเพิ่มขึ้น ทำให้ศักย์ไฟฟ้าแตกต่างกันระหว่างขั้วแคโทดและแอโนดเป็น 900 โวลต์ ดังนั้น หลอด PMT จึงเหมาะกับการวัดแสงที่มีกำลังต่ำ

4.5 เครื่องวัดแสงชนิดซิลิกอนไดโอด (silicon diode detector) หัววัดแสงชนิดนี้ประกอบด้วย reverse-biased pn junction นี้ทำให้เกิด depletion layer ซึ่งไปลดการนำไฟฟ้าของ junction จนเกือบเป็นศูนย์ ถ้าให้แสงตกลงบน depletion layer หลุมและอิเล็กตรอนที่เกิดขึ้น ซึ่งจะก่อให้เกิดกระแสไฟฟ้าจะเป็นปฏิภาคกับกำลังสองที่ได้รับ

2.3. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

C.Garnero และ M. Longhi [4] ได้ทำการพัฒนาเทคนิค HPLC และ UV spectrophotometry ในการวิเคราะห์ ascorbic acid โดยใช้สาร hydroxypropyl-beta-cyclodextrin และ triethanolamine เป็นตัวช่วยให้คงสภาพต่อแสง ซึ่งจากวิตามินซี หรือกรดแอสคอบิก (ascorbic acid) เป็นวิตามินที่รู้จักกันมานานและนำมาใช้กันมาก ตั้งแต่การรักษาโรคหวัดจนถึงการป้องกันมะเร็ง ซึ่งคุณสมบัติของวิตามินซีเป็นที่น่าสนใจและถูกกล่าวถึงกันมาก แหล่งของวิตามินซีจะอยู่ในพืช ผัก ผลไม้ ที่มีรสเปรี้ยว ซึ่งวิตามินซีเหล่านี้มีคุณสมบัติในการสลายตัวเมื่อได้รับปัจจัยต่าง ๆ เช่น PH, ความร้อน, ธาตุโลหะ, ออกซิเจน แสง เป็นต้น และเนื่องจากวิตามินซีมีการสลายตัวด้วยแสง การวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นในการรักษาความคงสภาพของวิตามินซีไว้ โดยทำให้วิตามินซีเกิดเชิงซ้อนกับสาร Triethanolamine และ Hydroxypropyl-beta-cyclodextrin : Triethanolamine แล้วนำไปฉายแสงโดยให้แหล่งกำเนิดแสงที่มีคุณสมบัติคล้ายแสงจากธรรมชาติ จากนั้นจึงนำไปวิเคราะห์ความเสถียรต่อแสง โดยใช้เทคนิค Spectrophotometry และเทคนิค Chromatography ซึ่งพบว่าการเกิดเชิงซ้อน วิตามินซีจะถูกสลายโดยแสงลดลงและมีความเสถียรต่อแสงมากยิ่งขึ้น ดูได้จาก ค่า k_0/k_{obs} ซึ่งเป็นอัตราส่วนของการสลายตัวของวิตามินซีที่ไม่มีการเกิดเชิงซ้อนกับค่าการสลายตัวของวิตามินซีที่เกิดเชิงซ้อน ซึ่งจะให้ค่ามากเมื่อมีความเสถียรต่อแสง เมื่อทราบถึงคุณสมบัติการเกิดเชิงซ้อนของวิตามินซีแล้ว เราได้ทำการวิเคราะห์กับตัวอย่างยา 4 ชนิดที่ได้บอกปริมาณวิตามินซีที่แน่นอนไว้ในแต่ละชนิด จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าการวิเคราะห์ด้วยวิธีดังกล่าวให้ %RSD ในช่วง 0.60-3.19 (UV method) และช่วง 0.04-0.69 (HPLC method) ซึ่งมีค่าที่น้อยกว่า 5% ให้ผลที่แม่นยำ และ %recovery ของตัวอย่างยาอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ จึงทำให้เห็นได้ว่าการเกิดเชิงซ้อนของสารมีผลต่อการเสถียรต่อแสงของวิตามินซี

J.-H. Ke และ H.-J. Tseng [5] ได้ทำการพัฒนาและการตรวจสอบความถูกต้องของการใช้เทคนิค liquid chromatography สำหรับการตรวจวัด ascorbic acid, dehydroascorbic acid และ acetaminophen ในยา ซึ่งเป็นการพัฒนาการตรวจวัด Dehydroascorbic (DHA), Ascorbic (AA) และ Acetaminophen โดยใช้เทคนิค Reversed phase ion pair liquid chromatographic method (RP-LC) ภายใต้เงื่อนไข Isocratic elution โดยใช้ Cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) เป็น ion-pairing reagent ใน mobile phase และใช้คอลัมน์ Phenomenex Synergi 4u hydro-RP (150×4.6 mm) ใช้ UV-DAD เป็น detector จากการทดลองพบว่า AA และ Acetaminophen สามารถตรวจวัดได้โดยตรงที่ความยาวคลื่น 245 nm (procedure A) สำหรับ DHA ต้องทำปฏิกิริยา Derivatization กับ 4,5-dimethyl-1,2-phenylenediamine (DMPD) ซึ่งเป็นสาร fluorogenic reagent ในสารละลาย Sodium acetate buffer (80mM:pH 3.7) โดยมี EDTA เป็น metal scavenger และทำการตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 360 nm (procedure B) เมื่อทำการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีการทดลองที่ทำการทดลองในวันเดียวกัน และคนละวันกันจากค่า F-test พบว่าค่า F-test ที่ $F_{0.05}$ ของสารทั้ง 3 ชนิดมีค่าน้อยกว่าค่า $F_{0.05}$ ที่ได้จากตาราง และ (R.S.D) อยู่ระหว่าง 0.56-1.82 จึงสรุปได้ว่าวิธีนี้มีความน่าเชื่อถือสามารถนำไปใช้ได้กับ

ห้องปฏิบัติการทั่วไป เมื่อนำมาทำการวิเคราะห์หาทั้ง 3 ชนิด โดยชนิด 1 เป็น ชนิดอ้างอิงและชนิดที่ 2,3 เป็นยาในทางการค้า พบว่ามี $DHA \leq 0.2\%$ ทำการตรวจสอบความถูกต้องจากค่า F-test พบว่า F-test ที่คำนวณได้มีค่าน้อยกว่า F-test จากตาราง และค่า t-test อยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ จึงสรุปได้ว่าการวิเคราะห์ทั้งสองวิธีมีความถูกต้องน่าเชื่อถือและไม่แตกต่างกันทางในนัยสำคัญ

M.G. Gioia และ P. Andreatta [6] ได้ทำการวิเคราะห์อัตราการใช้ของ Ascorbic acid ซึ่งขึ้นอยู่กับความร้อนทางเคมีไฟฟ้าที่ใช้ขั้ว screen-printed electrode วัดค่าทางไฟฟ้า ในบทความกล่าวถึงการศึกษาความร้อนทางเคมีไฟฟ้าของวิตามินซีที่ใช้ screen-printed electrode เพื่อวัดค่าทางไฟฟ้า ผลการศึกษาพบว่าวิตามินซีจะถูกยับยั้งได้ดีที่อุณหภูมิสูงขึ้นเมื่อ electrolyte ที่ประกอบด้วยวิตามินซีถูกให้ความร้อนโดยตรง ทำให้ขั้ว SPE ไม่สามารถวัดได้เนื่องจากบริเวณผิวหน้าขั้วเกิดการเสื่อมสลายได้ จึงมีการพัฒนาโดยนำ light source มาประยุกต์ใช้กับ screen-printed electrode เพื่อหลีกเลี่ยงการให้ความร้อนโดยตรงแก่ ขั้ว SPE ผลที่ได้พบว่า ความไวที่ตรวจวัดได้จากขั้ว SPE มีค่าความไวเพิ่มขึ้นโดยไม่ทำให้วิตามินซีเกิดการสลายตัว เพราะฉะนั้นจึงมีการออกแบบ FIA cell ชนิดพิเศษ ที่มี light source ให้ความร้อนแก่วิตามินซีในระบบ non-isothermal และสามารถเชื่อมต่อกับขั้ว SPE ได้เช่นเดียวกัน จากนั้นนำไปวิเคราะห์ผลที่ได้โดยทำการศึกษาความร้อนของวิตามินซีที่มีขั้ว SPE วัดค่าทางไฟฟ้า หลังจากนั้น ศึกษาความต้านทานของกระแสที่อุณหภูมิต่างๆกัน เพื่อวัดสัมประสิทธิ์การแพร่ที่ใช้เทคนิค Cyclic Voltammetry กราฟที่ได้จากการวิเคราะห์นำมาคำนวณหาค่าความชันกราฟมาตรฐานที่อุณหภูมิสูง จะได้ค่ากระแสที่ 0.034 A/M ซึ่งมากกว่าอุณหภูมิห้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

สารเคมี

1. กรดซิตริก (Citric acid) บริษัท Merck ประเทศเยอรมนี ความบริสุทธิ์ 99.5 %
2. โซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Disodium hydrogenphosphate) ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)

บริษัท fisher scientific ประเทศอังกฤษ ความบริสุทธิ์ 100.73 %

3. Ethylenediamine tetraacetic acid disodium salt dehydrate (EDTA)

บริษัท fisher scientific ประเทศอังกฤษ ความบริสุทธิ์ 100.39 %

4. L-ascorbic acid บริษัท Merck ประเทศเยอรมนี ความบริสุทธิ์ >99.0 %

5. Potassium iodate บริษัท Merck ประเทศเยอรมนี ความบริสุทธิ์ 99.5 %

อุปกรณ์

1. ขวดวัดปริมาตรขนาด 1000, 250, 25 mL

2. บีเปต

3. Quartz cell

4. Flask ขนาด 250 mL

5. ครกบดสาร

6. บีกเกอร์

7. จุกยาง

เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

1. เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์พร้อมเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

117207

3.2 การเตรียมสารเคมี

3.2.1. สารละลายบัฟเฟอร์ pH 4

ละลายกรดซิติริก 1.4 g กับ $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1.3 g ในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 mL

3.2.2. สารละลาย Stabilizer EDTA เข้มข้น 2.69×10^{-4} M

ละลายสาร ethylenediamine tetraacetic acid disodium salt dehydrate 0.10 g ด้วย Buffer pH 4 แล้วปรับปริมาตรในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 mL

3.2.3. สารละลาย L- Ascorbic acid เข้มข้น 1.13×10^{-3} M

ละลาย 0.05 g L-ascorbic acid ในสารละลาย Stabilizer solution ปรับปริมาตรในขวดวัดปริมาตร ขนาด 250 mL

3.2.4. สารละลายโพแทสเซียมไอโอเดต เข้มข้น 0.005 M

ละลายโพแทสเซียมไอโอเดต 0.27 g ในสารละลาย Stabilizer solution ปรับปริมาตรในขวดวัดปริมาตรขนาด 250 mL

3.2.5. สารละลาย L- Ascorbic acid เข้มข้น 0.02 M

ละลาย 0.88 g L-ascorbic acid ในสารละลาย Stabilizer solution ปรับปริมาตรในขวดวัดปริมาตร ขนาด 250 mL

3.3 วิธีดำเนินการทดลอง

3.3.1 การสร้างกราฟมาตรฐาน

1. ปิเปตสารละลาย L- Ascorbic acid เข้มข้น 1.13×10^{-3} M มาจำนวน 0.5, 1, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, mL ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 25 mL ปรับปริมาตรด้วยสารละลาย stabilizer จะได้ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน 6 ความเข้มข้นดังนี้ 2.26×10^{-5} , 4.52×10^{-5} , 6.78×10^{-5} , 9.04×10^{-5} , 1.13×10^{-4} , 1.35×10^{-4} M
2. ทำการตรวจวัดค่าการดูดกลืนด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 250 นาโนเมตร และใช้สารละลาย stabilizer เป็นแบล็กค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.2 การเตรียมตัวอย่าง

1. นำยาเม็ดวิตามินซีที่ต้องการวิเคราะห์ 5 เม็ด มาทำการบดให้ละเอียด ชั่งน้ำหนักตามต้องการ บันทึกน้ำหนักในหน่วยกรัม (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ละลายด้วยสารละลาย Stabilizer ในขวดวัดปริมาตรขนาด 250 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยสารละลาย stabilizer กรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 42
2. ปิเปิดตัวอย่างที่กรองได้ปริมาตร 2 mL ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 mL ปรับปริมาตรด้วยสารละลาย stabilizer

3.3.3 การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

3.3.3.1 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

1. ปิเปิดสารละลายตัวอย่างที่เตรียมได้ในข้อ 3.3.2 ปริมาณ 5 mL ใส่ในขวด 25 mL ปรับปริมาตรด้วยสารละลาย stabilizer
2. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 250 นาโนเมตร ใช้สารละลาย stabilizer เป็นเบลนจ์จะได้ค่าการดูดกลืนแสงกำหนดให้เป็น A_1
3. ปิเปิดสารละลายตัวอย่างที่เตรียมได้ในข้อ 3.3.2 ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 mL เติมสารละลายโพแทสเซียมไอโอเดต 1 mL และปรับปริมาตรด้วยสารละลาย stabilizer ปั่นทิ้งไว้ 15 นาที
4. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 250 นาโนเมตร โดยสารละลายเบลนจ์ที่ใช้เตรียมจาก 1 mL ของโพแทสเซียมไอโอเดตผสมกับ 1 mL ของสารละลาย L- Ascorbic acid $1.13 \times 10^{-3} M$ ปรับปริมาตรด้วยสารละลาย stabilizer ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 mL จะได้ค่าการดูดกลืนแสงกำหนดให้เป็น A_2 เมื่อนำมาคำนวณตามสูตรจะได้สัดส่วนของความเข้มข้นวิตามินซีในตัวอย่าง

$$\text{สูตรการคำนวณ} \quad A_1 - A_2 = A$$

3.3.4 การทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

ทำการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซี โดยอาศัยการเทคนิคยูวี- วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตเมทรีที่พัฒนาขึ้น โดยพิจารณาถึง

1. ความเป็นเส้นตรงของกราฟ standard addition ทำได้โดย

- นำยาเม็ดวิตามินซีที่ต้องการวิเคราะห์ 5 เม็ด มาทำการบดให้ละเอียด ชั่งน้ำหนักตามต้องการ บันทึกน้ำหนักในหน่วยกรัม (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ละลายด้วยสารละลาย Stabilizer ในขวดวัดปริมาตรขนาด 250 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยสารละลาย stabilizer กรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ปิเปตตัวอย่างที่กรองได้ปริมาตร 2 mL ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 mL ปรับปริมาตรด้วยสารละลาย stabilizer

- เติมสารละลายมาตรฐาน L- Ascorbic acid 1.13×10^{-3} M ปริมาณ 0.5, 1 mL ปรับปริมาตรด้วยสารละลาย stabilizer ตรวจวัดด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 250 นาโนเมตร

2. ขีดจำกัดการตรวจวัด

วิธีของ International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC)

สูตรการคำนวณและวิธีทดสอบ

- ปิเปตสารละลาย L- Ascorbic acid เข้มข้น 1.13×10^{-3} M มาจำนวน 0.5, 1, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 mL ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 25 mL ปรับปริมาตรด้วยสารละลาย stabilizer จะได้ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน 6 ความเข้มข้นดังนี้ 2.26×10^{-5} , 4.52×10^{-5} , 6.78×10^{-5} , 9.04×10^{-5} , 1.13×10^{-4} , 1.35×10^{-4} M ตรวจวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

- สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับพื้นที่พิคของสารมาตรฐานที่วัดได้ สามารถหาความชันของกราฟได้จากสมการ

$$Y = bX + a$$

เมื่อ b คือ ความชันของกราฟ

a คือ จุดตัดแกน y

- เมื่อหาความเข้มข้นของกราฟได้แล้ว นำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่าสัญญาณต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้และขีดจำกัดการตรวจวัดจากสูตร

$$\text{สัญญาณต่ำสุดที่วัดได้ } Y = Y_B + 3S_B$$

เมื่อ 3 คือ ค่าระดับความเชื่อมั่นที่ 99% เมื่อ $Y \geq Y_B + 3S_B$

$$\text{ขีดจำกัดการตรวจหา } LOD = Y - Y_B / b$$

$$\text{หรือ } LOD = 3S_B / b = 3S_{x/y} / b$$

เมื่อ Y คือ สัญญาณต่ำสุดที่วัดได้

Y คือ ค่าเฉลี่ยของสัญญาณจาก Blank

S_B คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ Blank

LOD คือ ความเข้มข้นต่ำสุดที่วัดได้

b คือ ความชันของกราฟ (สภาพไว)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- เมื่อคำนวณหาขีดจำกัดการตรวจวัดได้แล้ว นำค่าที่ได้มาหาปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ โดยมีความถูกต้องแม่นยำอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ (Limit Of Quantitation, LOQ)

$$\text{จากสูตร} \quad \text{LOQ} = 10S_{x/y} / b$$

4. การหาลอยละคืนกลับ

- ชั่งตัวอย่างยาเม็ด ทำการละลายด้วยสารละลาย stabilizer ในขวดวัดปริมาตร 250 mL และเติม L- Ascorbic acid solution 0.02 M ลงไป 5, 7, 9 mL ตามลำดับ นำไปกรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 42

- เปิดตัวอย่างที่เตรียมได้ปริมาตร 7 mL ปรับปริมาตรเป็น 100 mL แล้วนำไปวัดสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 250 นาโนเมตร แล้วนำมาคำนวณ % recovery



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผล

เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของ L-ascorbic acid และพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณ L-Ascorbic acid ในตัวอย่างยาเม็ด โดยใช้เทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรีในการวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงอัลตราไวโอเล็ต

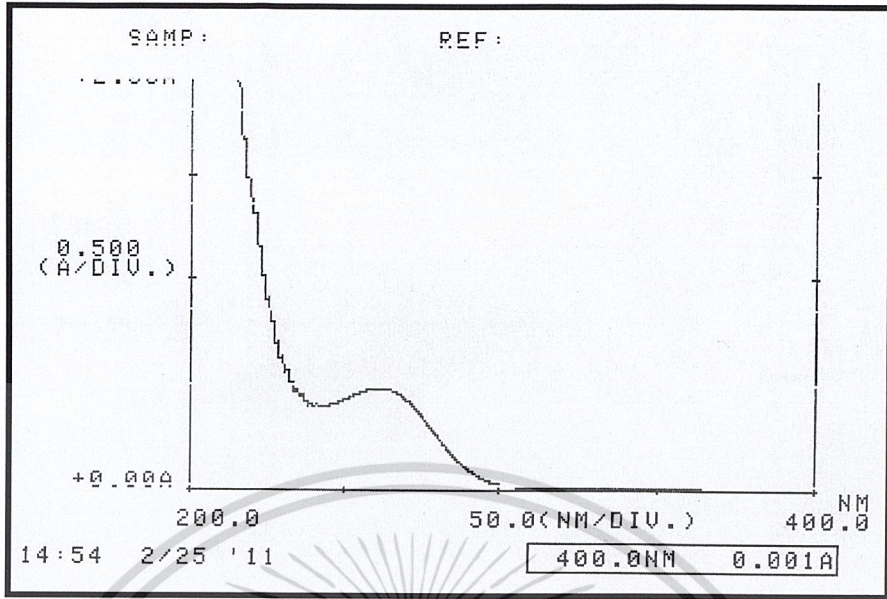
4.1. การดูดกลืนแสงของวิตามินซี

ทำการศึกษาวิเคราะห์ปริมาณ L- ascorbic acid โดยวิธีสเปกโทรโฟโตเมทรี ทำการตรวจวัดความยาวคลื่นของ L- ascorbic acid เพื่อให้ทราบช่วงการดูดกลืนแสงที่ถูกต้อง ในช่วง 250 นาโนเมตร โดยศึกษาทั้งสองค่า คือ ค่าที่หนึ่งเป็นการเตรียมตัวอย่างและปรับปริมาตรด้วย Stabilizer (A₁) ส่วนค่าที่สองคือเตรียมตัวอย่างโดยเติมโพแทสเซียมไอโอเดตลงไป ปรับปริมาตรด้วยสารละลาย stabilizer และตั้งทิ้งไว้ 15 นาที (A₂) นำทั้งสองค่าไปตรวจวัดโดยการ Scan Spectrum ในช่วง 400-200 นาโนเมตร เพื่อหาค่าการดูดกลืนแสงที่เหมาะสมที่สุด หลังจากทำการทดลองทั้งสองค่าพบว่า ได้ค่าที่เหมาะสมคือ ค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 250 นาโนเมตร ผลสรุปได้ดังตารางที่ 4.1

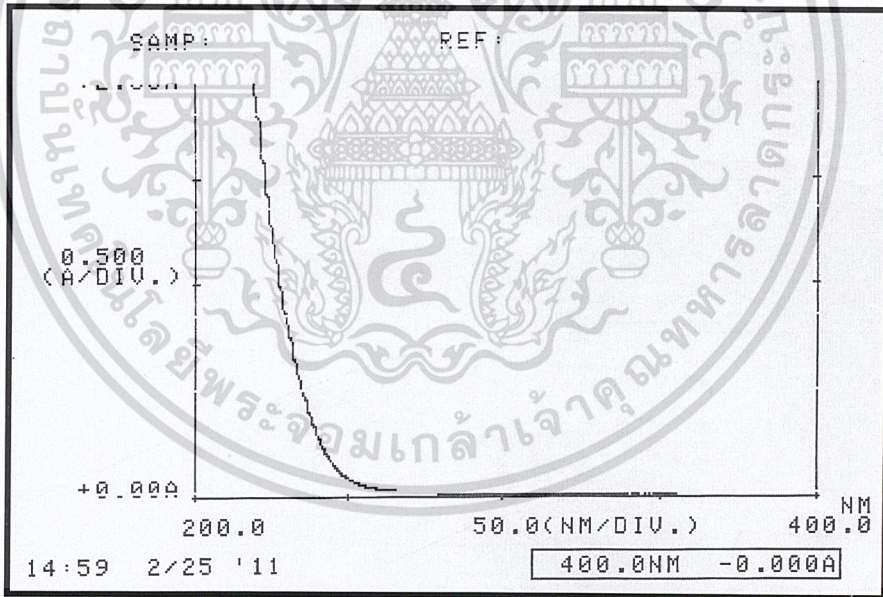
ตารางที่ 4.1 แสดงค่าความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ L- ascorbic acid โดยทำการ Scan Spectrum ในช่วง 400-200 นาโนเมตร

การเตรียมตัวอย่าง	ค่าความยาวคลื่นที่เหมาะสม
ค่าที่ 1	250 nm
ค่าที่ 2	250 nm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 แสดงสเปกตรัมของค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างชนิดที่ 1 แบบไม่เติมไอโอดีในตัวอย่าง (A₁) พบว่าจากสเปกตรัมได้มีค่าดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.423



รูปที่ 4.2 แสดงสเปกตรัมของการวัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างชนิดที่ 1 แบบเติมไอโอดีในตัวอย่าง (A₂) พบว่าจากสเปกตรัมได้ มีค่าดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.00

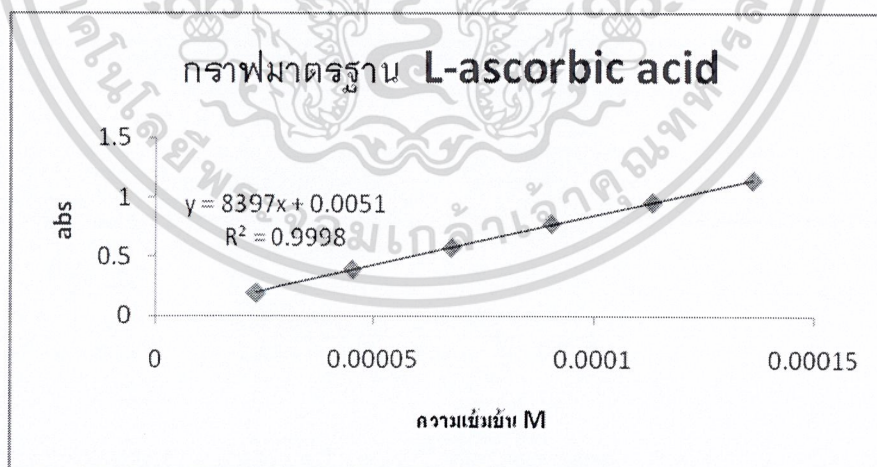
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน L- ascorbic acid

นำสถานะที่ได้จากการหาค่าการดูดกลืนแสงที่เหมาะสมของ L-ascorbic acid มาสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน L- ascorbic acid ปริมาตรในการวิเคราะห์คือ 0.5-3.0 mL ที่ช่วงความเข้มข้น 2.26×10^{-5} - 1.36×10^{-4} M ตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 250 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ได้ดังนี้

ตารางที่ 4.2 แสดงผลจากการสร้างกราฟมาตรฐาน ค่าการดูดกลืนแสงที่ความเข้มข้นต่าง, สมการเชิงเส้น และสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ

สารละลายมาตรฐาน L-ascorbic acid 1.13×10^{-3} M	ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย (nm)	ความเข้มข้น (M)	สมการเชิงเส้น	ส.ป.ส. การตัดสินใจ (r^2)
0.5 mL	0.190	2.26×10^{-5}	$y = 8397x + 0.0051$	$r^2 = 0.9998$
1.0 mL	0.389	4.52×10^{-5}		
1.5 mL	0.572	6.78×10^{-5}		
2.0 mL	0.772	9.04×10^{-5}		
2.5 mL	0.953	1.13×10^{-4}		
3.0 mL	1.140	1.35×10^{-4}		



รูปที่ 4.3 กราฟมาตรฐานของสารมาตรฐาน L-ascorbic acid เข้มข้น 1.13×10^{-5} M กราฟที่ได้มีความเป็นเส้นตรงได้สมการเชิงเส้นเท่ากับ $y = 8397x + 0.0051$ ส่วนค่า r^2 เท่ากับ 0.9998

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ศึกษาปริมาณ L- ascorbic acid โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสง

L-ascorbic acid เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับไอโอดีทในสภาวะที่เป็นกรด pH 4 หลังจากทำปฏิกิริยา L-ascorbic acid แตกตัวเกิด free radical ให้กับไอโอดีท จากนั้นจะเปลี่ยนรูปเป็น dehydro-L-ascorbic acid จากการทดลองจึงแบ่งเป็นสองค่า ค่าแรกไม่เติมไอโอดีทในตัวอย่าง ส่วนค่าที่สอง เติมไอโอดีทลงในตัวอย่างและทิ้งไว้ 15 นาที ทำการตรวจวัดด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ สรุปได้ดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างยา 6 ชนิดโดยตรวจวัดทั้งสองค่าที่ความยาวคลื่น 250 nm

ตัวอย่างยา	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 250 นาโนเมตร		
	ไม่เติมไอโอดีท (A_1)	เติมไอโอดีทและทิ้งไว้ 15 นาที (A_2)	$A_1 - A_2$
ยาชนิดที่ 1 (1000 mg/เม็ด)	0.406	0.006	0.400
	0.416	0.002	0.414
	0.447	0.004	0.443
ยาชนิดที่ 2 (1000 mg/เม็ด)	0.481	0.007	0.474
	0.477	0.005	0.472
	0.451	0.006	0.445
ยาชนิดที่ 3 (1000 mg/เม็ด)	0.435	0.008	0.427
	0.481	0.009	0.472
	0.448	0.007	0.441
ยาชนิดที่ 4 (1000 mg/เม็ด)	0.440	0.010	0.430
	0.435	0.005	0.430
	0.436	0.002	0.434
ยาชนิดที่ 5 (500 mg/เม็ด)	0.237	0.006	0.231
	0.239	0.004	0.235
	0.240	0.007	0.233
ยาชนิดที่ 6 (500 mg/เม็ด)	0.233	0.006	0.227
	0.253	0.004	0.249
	0.229	0.008	0.221

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลที่ได้จากการทดลองพบว่าค่าการดูดกลืนแสงของทั้งสองวิธีมีค่าแตกต่างกัน โดยที่เติมไอโอดีนมีค่าการดูดกลืนลดลงและน้อยกว่าแบบที่ไม่เติมไอโอดีน แสดงว่า ไอโอดีนที่เติมลงไปในตัวอย่่างมีผลต่อค่าการดูดกลืน เนื่องจากเติมไอโอดีนลงไปในตัวอย่่างและตั้งทิ้งไว้ 15 นาที ทำให้เกิดปฏิกิริยา Oxidation ของ L-ascorbic acid เปลี่ยนเป็น dehydro-L-ascorbic acid ค่าของ L-ascorbic acid จึงลดลง หลังจากนั้นคำนวณหาปริมาณวิตามินซีจากสมการของกราฟมาตรฐานดังแสดงใน ตาราง 4.4

ตารางที่ 4.4 แสดงค่าเฉลี่ย ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และ %RSD ของ L- ascorbic acid ในตัวอย่างยา

ตัวอย่างยา	ปริมาณค่าเฉลี่ย L-ascorbic acid(mg/g)	SD	%RSD
ยาชนิดที่ 1 (1000 mg/เม็ด)	903.90	46.00	5.00
ยาชนิดที่ 2 (1000 mg/เม็ด)	1003.40	37.47	3.73
ยาชนิดที่ 3 (1000 mg/เม็ด)	963.50	50.34	5.20
ยาชนิดที่ 4 (1000 mg/เม็ด)	931.30	5.08	0.55
ยาชนิดที่ 5 (500 mg/เม็ด)	498.40	4.58	0.92
ยาชนิดที่ 6 (500 mg/เม็ด)	499.30	26.60	5.30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 การวิเคราะห์ปริมาณ L- ascorbic acid ในตัวอย่างยา

นำสารละลายตัวอย่างทั้ง 6 ชนิด เติมสารละลายมาตรฐาน L-ascorbic acid เข้มข้น 1.13×10^{-3} M ที่ปริมาตรต่างกัน คือ 0.5 mL และ 1.0 mL พร้อมกับปรับปริมาตร โดยทำการทดลองในแต่ละตัวอย่างซ้ำกัน 3 ครั้ง ตรวจวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 250 nm

ตารางที่ 4.5 แสดงปริมาณวิตามินซีที่เติมสารละลายมาตรฐาน L-ascorbic acid เข้มข้น 1.13×10^{-3} M 0.5 mL, ค่าเฉลี่ยวิตามินซี, ค่า SD และ %RSD ในตัวอย่างยาเม็ด

ตัวอย่างยา	ปริมาณวิตามินซี (M)	ปริมาณวิตามินซีเฉลี่ย (M)	SD	%RSD
ชนิดที่1 1000 mg/เม็ด	7.17×10^{-5}	7.32×10^{-5}	2.72×10^{-6}	3.72
	7.29×10^{-5}			
	7.51×10^{-5}			
ชนิดที่2 1000mg/เม็ด	7.62×10^{-5}	7.66×10^{-5}	3.61×10^{-6}	0.47
	7.67×10^{-5}			
	7.69×10^{-5}			
ชนิดที่3 1000mg/เม็ด	6.91×10^{-5}	7.12×10^{-5}	2.59×10^{-6}	3.64
	7.41×10^{-5}			
	7.04×10^{-5}			
ชนิดที่ 4 1000 mg/เม็ด	6.42×10^{-5}	6.53×10^{-5}	1.90×10^{-6}	2.90
	6.42×10^{-5}			
	6.75×10^{-5}			
ชนิดที่5 500 mg/เม็ด	4.5×10^{-5}	4.59×10^{-5}	1.02×10^{-6}	2.20
	4.7×10^{-5}			
	4.56×10^{-5}			
ชนิดที่ 6 500 mg/เม็ด	4.36×10^{-5}	4.40×10^{-5}	1.40×10^{-6}	3.18
	4.56×10^{-5}			
	4.29×10^{-5}			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 แสดงปริมาณวิตามินซีที่เติมสารละลายมาตรฐาน L-ascorbic acid เข้มข้น 1.13×10^{-3} M 1.0 mL, ค่าเฉลี่ยวิตามินซี, ค่า SD และ %RSD ในตัวอย่างยาเม็ด

ตัวอย่างยา	ปริมาณวิตามินซี (M)	ปริมาณวิตามินซีเฉลี่ย (M)	SD	%RSD
ชนิดที่ 1 1000 mg/เม็ด	9.78×10^{-5} 9.57×10^{-5} 9.74×10^{-5}	9.69×10^{-5}	2.45×10^{-6}	2.53
ชนิดที่ 2 1000mg/เม็ด	9.72×10^{-5} 9.29×10^{-5} 9.06×10^{-5}	9.36×10^{-5}	3.53×10^{-6}	3.77
ชนิดที่ 3 1000mg/เม็ด	8.74×10^{-5} 9.29×10^{-5} 8.99×10^{-5}	9.01×10^{-5}	2.75×10^{-6}	3.10
ชนิดที่ 4 1000 mg/เม็ด	8.12×10^{-5} 8.31×10^{-5} 8.48×10^{-5}	8.3×10^{-5}	1.79×10^{-6}	2.16
ชนิดที่ 5 500 mg/เม็ด	6.33×10^{-5} 6.38×10^{-5} 6.42×10^{-5}	6.38×10^{-5}	4.53×10^{-7}	0.71
ชนิดที่ 6 500 mg/เม็ด	6.37×10^{-5} 6.37×10^{-5} 5.88×10^{-5}	6.21×10^{-5}	2.83×10^{-6}	4.56

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างการคำนวณปริมาณ L- ascorbic acid จากตัวอย่างยาเม็ด ด้วยเทคนิคการเติมสารมาตรฐานโดยใช้การเติมสารละลายมาตรฐาน L- Ascorbic acid ความเข้มข้น 1.13×10^{-3} M ปริมาตร 0.5, 1.0 mL ตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 250 นาโนเมตร

ตาราง 4.7 ปริมาณ L- ascorbic acid ในตัวอย่างยาเม็ดที่มีการเติมสารมาตรฐาน L- Ascorbic acid ความเข้มข้น 1.13×10^{-3} M

ชนิดตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ย	SD	%RSD
ชนิดที่1 1000 mg/เม็ด	955.93	18.62	1.940
ชนิดที่2 1000 mg/เม็ด	955.31	25.41	0.026
ชนิดที่3 1000 mg/เม็ด	891.90	59.23	0.066
ชนิดที่4 1000 mg/เม็ด	736.66	32.58	0.044
ชนิดที่5 500 mg/เม็ด	387.14	7.62	0.019
ชนิดที่6 500 mg/เม็ด	359.13	37.61	0.100

4.5 การวิเคราะห์ร้อยละคืนกลับ (% recovery)

นำตัวอย่างยาเม็ดที่บดละเอียดซึ่งน้ำหนักตามต้องการ ละลายด้วยสารละลาย stabilizer เติมสารมาตรฐาน L-ascorbic acid เข้มข้น 0.02 M ในปริมาณต่างกัน 3 ปริมาตร คือ 5 , 7 และ 9 mL ปรับปริมาตรด้วยสารละลาย stabilizer ในขวดวัดปริมาตร 250 mL กรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 42 ปิเปตสารละลายที่ได้ปริมาตร 7 mL ปรับปริมาตรเป็น 100 mL ด้วยสารละลาย stabilizer ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 250 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 แสดงผลของค่าวิเคราะห์การคืนกลับของตัวอย่างยาที่ทำการเติมในปริมาตร 5 , 7 และ 9mL เพื่อหาค่า %recovery ดังตาราง

ตัวอย่างยา	น้ำหนัก (g)	ค่าวิเคราะห์การคืนกลับ (% recovery)		
		Add 5.0 mL	Add 7.0 mL	Add 9.0 mL
ชนิดที่1 1000 mg/เม็ด	0.0500	108.10	119.00	109.70
ชนิดที่2 1000mg/เม็ด	0.0500	91.70	96.20	83.50
ชนิดที่3 1000mg/เม็ด	0.0500	119.00	105.00	109.00
ชนิดที่4 1000mg/เม็ด	0.0500	97.00	106.00	112.00
ชนิดที่5 500 mg/เม็ด	0.1000	92.00	99.80	102.70
ชนิดที่6 500 mg/เม็ด	0.1000	114.00	101.90	112.10

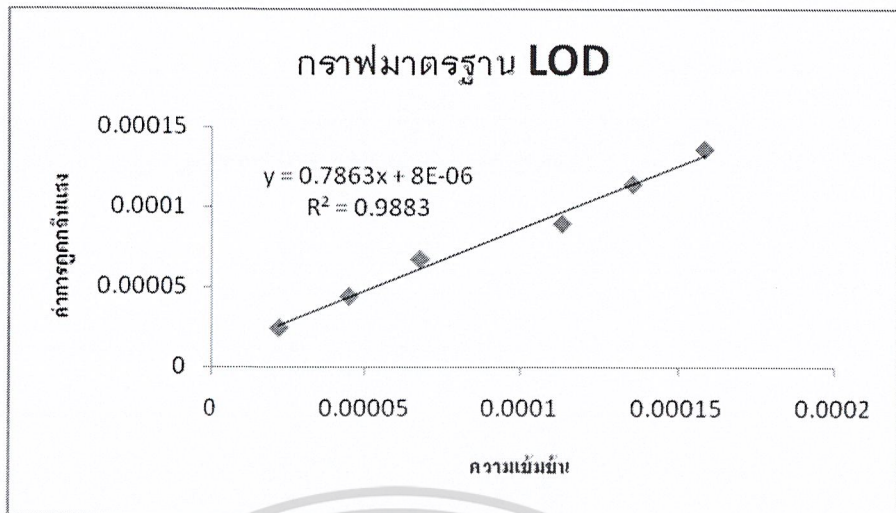
4.6 ค่าขีดจำกัดการตรวจวัด (LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (LOQ)

สร้างกราฟมาตรฐาน L- ascorbic acid โดยทำการทดสอบในช่วงความเข้มข้น 2.26×10^{-5} - 1.36×10^{-4} M ใช้สารละลาย L-ascorbic acid เข้มข้น 1.13×10^{-3} M เป็นสารมาตรฐาน ปริมาตรที่ใช้ทดสอบ คือ 0.5 mL- 3.0 mL ตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 250 นาโนเมตร ทำการทดลองซ้ำกัน 3 ครั้ง

ตารางที่ 4.9 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของกราฟมาตรฐาน ค่าเฉลี่ย ,ค่า SD , %RSD ,LOD และ LOQ

ความเข้มข้น (M)	ค่าการดูดกลืนแสง(abs)			ค่าเฉลี่ย	SD	%RSD	LOD	LOQ
	ครั้งที่1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3					
0.0000226	0.088	0.100	0.092	0.0093	0.0050	5.30	3.052×10^{-5}	1.018×10^{-4}
0.0000452	0.184	0.190	0.178	0.1840	0.0048	2.60		
0.0000678	0.296	0.289	0.288	0.2910	0.0035	1.20		
0.0001130	0.391	0.398	0.393	0.3940	0.0029	0.73		
0.0001356	0.504	0.518	0.494	0.5050	0.0098	1.90		
0.0001582	0.639	0.597	0.590	0.6080	0.0210	3.40		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 กราฟมาตรฐานการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ของสารมาตรฐาน L-ascorbic acid โดยทำการทดสอบในช่วงความเข้มข้น 2.43×10^{-5} - 1.36×10^{-4} M ตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 250 นาโนเมตร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษา L- ascorbic acid ในตัวอย่างยาทั้ง 6 ชนิด ด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 250 นาโนเมตร ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของค่าการดูดกลืนแสงได้โดยการ Scan Spectrum ในช่วง 200-400 นาโนเมตร เพื่อดูว่า L- ascorbic acid ดูดกลืนแสงในช่วงใด ผลปรากฏว่า L- ascorbic acid ดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 250 นาโนเมตร จากนั้นจึงใช้ความยาวคลื่นนี้ตรวจวัด L- ascorbic acid

การสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน L- ascorbic acid ในช่วงความเข้มข้น 0.5-3.0 M ทำการวิเคราะห์ได้ สมการเชิงเส้นกราฟมาตรฐาน $y = 8397x + 0.0051$ และค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (r^2) ของกราฟมาตรฐาน เท่ากับ 0.9998 จากนั้นวิเคราะห์ L- ascorbic acid เพื่อศึกษาการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยทำการวัดการดูดกลืนแสงเป็นสองค่า คือ แบบไม่เติมไอโอเดต (A_1) และแบบเติมไอโอเดตลงในตัวอย่างแล้วทิ้งไว้ 15 นาที (A_2) นำไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ เมื่อนำทั้งสองค่ามาเปรียบเทียบกัน พบว่า ค่าการดูดกลืนแสงของแบบที่เติมไอโอเดตมีค่าการดูดกลืนแสงลดลง เป็นผลมาจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ L-ascorbic acid กับไอโอเดต เพื่อเปลี่ยนรูปเป็น dehydro-L-ascorbic acid เมื่อค่า ($A_1 - A_2$) ก็จะได้ค่าการดูดกลืนแสงที่ตรวจวัดได้จาก L- ascorbic acid นำค่าดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาปริมาณ L- ascorbic acid เหลือในตัวอย่างยา 6 ชนิด เรียงตามลำดับได้ดังนี้ 903.9, 1003.4, 963.5, 931.3, 498.4, 499.3 mg/เม็ด ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรผัน (% RSD) มีค่าเท่ากับ 5.0, 3.73, 5.2, 0.55, 0.92, 5.3 ซึ่งอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ แสดงว่าผลการวิเคราะห์นี้สามารถยอมรับได้

การวิเคราะห์โดยเทคนิคการเติมสารมาตรฐาน (Standard addition) ทำการทดลองโดยนำสารละลายตัวอย่างยาเม็ดที่เตรียมได้ทั้ง 6 ชนิด เติมสารละลายมาตรฐาน L-ascorbic acid เข้มข้น 1.13×10^{-3} M ปริมาตร 0.5 mL และ 1.0 mL ตรวจวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 250 นาโนเมตร ได้ปริมาณ L- ascorbic acid เหลือจากการเติมสารมาตรฐาน 0.5 mL ของตัวอย่างทั้ง 6 ชนิด เรียงตามลำดับดังนี้ 7.32×10^{-5} , 7.66×10^{-5} , 7.12×10^{-5} , 6.53×10^{-5} , 4.59×10^{-5} , 4.40×10^{-5} M ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรผัน (% RSD) มีค่าเท่ากับ 3.72, 0.47, 3.64, 2.90, 2.2, 3.18 ส่วนการทดลองการวิเคราะห์หาปริมาณของ L- ascorbic acid ในตัวอย่างยา 6 ชนิด โดยเติมสารละลายมาตรฐาน L-ascorbic acid เข้มข้น 1.13×10^{-3} M 1.0 mL หาค่าปริมาณวิตามินซีที่เหลือได้เท่ากับ 9.69×10^{-5} , 9.36×10^{-5} , 9.01×10^{-5} , 8.3×10^{-5} , 6.38×10^{-5} , 6.21×10^{-5} M ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรผัน (% RSD) มีค่าเท่ากับ 2.53, 3.77, 3.10, 2.16, 0.71, 4.56 จากนั้นนำค่าที่ได้จากการเติมสารมาตรฐาน 0.5, 1.0 mL มาคำนวณหาปริมาณวิตามินซีเป็นมิลลิกรัม จะได้ค่าดังนี้ 955.93, 955.31, 891.90, 891.90, 891.90, 891.90 ไม่วางกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งหากนำไปใช้

387.14, 359.13 mg/เม็ด ค่า %RSD ในตัวอย่างยาชนิดที่ 1-6 มีดังนี้ 1.94% , 0.026%, 0.066%, 0.066%, 0.019%, 0.10%

การวิเคราะห์ค่าคืนกลับ(% Recovery) ของตัวอย่างยาทั้ง 6 ชนิด โดยทำการเติมสารมาตรฐาน L-ascorbic acid เข้มข้น 0.002 M ในปริมาณ 5,7,9 mL ดังนี้ % Recovery ชนิดที่ 1 เท่ากับ 108.10, 119.00, 109.70 % Recovery ชนิดที่ 2 เท่ากับ 91.70, 96.20, 83.50 % Recovery ชนิดที่ 3 เท่ากับ 119.00, 105.00, 109.00 % Recovery ชนิดที่ 4 เท่ากับ 97.00, 106.00, 112.00 % Recovery ชนิดที่ 5 เท่ากับ 92.00, 99.80, 102.70 และ % Recovery ชนิดที่ 6 เท่ากับ 114.00, 101.90, 112.10 การวิเคราะห์หาค่าขีดจำกัดการตรวจวัด(LOD) และค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (LOQ) โดยการสร้างกราฟมาตรฐานค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย 3 ครั้ง ได้สมการกราฟคือ $y = 4620X - 0.019$ ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (r^2) ของกราฟมาตรฐาน เท่ากับ 0.999 ส่วนกราฟมาตรฐาน LOD โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน L-ascorbic acid เข้มข้น 1.13×10^{-3} M ในช่วงความเข้มข้นเฉลี่ย 2.43×10^{-5} - 1.36×10^{-4} M ตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 250 นาโนเมตร ได้สมการกราฟ คือ $y = 0.786x - 8 \times 10^{-6}$ ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (r^2) ของกราฟ เท่ากับ 0.998 คำนวณค่า LOD และ LOQ ได้เท่ากับ 3.052×10^{-5} , 1.018×10^{-4} ตามลำดับ จากการทดลองและคำนวณผลที่ได้ทั้งหมดแสดงให้เห็นแนวคิดของการทดลองนี้สามารถนำไปใช้กับวิธีวิเคราะห์นี้ได้ โดยอาศัยปฏิกิริยาออกซิเดชันระหว่างไอโอดีนกับ L-ascorbic acid ซึ่งค่าที่ได้ใกล้เคียงกับค่าจริง

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรทำการศึกษาสถานะในการวิเคราะห์ก่อนเพื่อช่วยประหยัดเวลา เมื่อทำการวิเคราะห์ตัวอย่างยา

5.2.2 ควรทำการศึกษาคุณลักษณะและคุณสมบัติทางการเก็บรักษา การทำลายของสารที่ใช้ในการวิเคราะห์เพื่อการวิเคราะห์และเก็บรักษาที่ถูกต้อง

5.2.3 ควรตรวจสอบประสิทธิภาพของเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ก่อนการวิเคราะห์ให้อยู่ในค่าที่เหมาะสมเพื่อให้ผลการวิเคราะห์มีประสิทธิภาพ

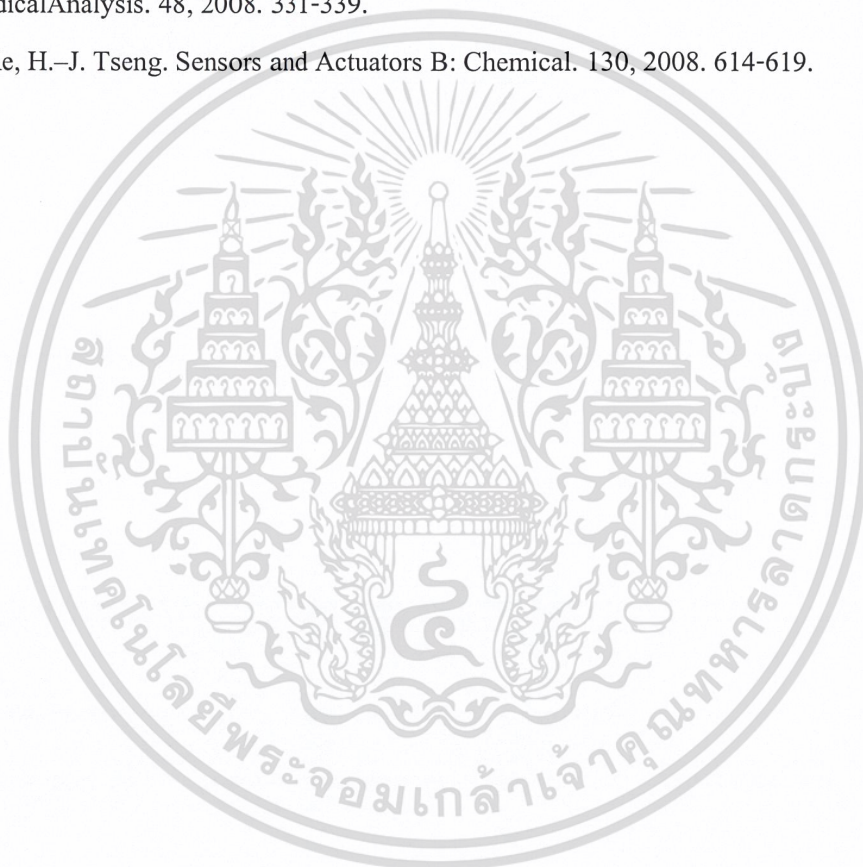
5.2.4 ศึกษาองค์ประกอบอื่นๆที่ซับซ้อนขึ้น เช่น น้ำส้ม หรือน้ำผลไม้ทั่วไป จะให้เห็นข้อดีที่ชัดเจนในการรบกวนของสารอื่นได้

5.2.5 การทำ Standard addition ควรทำการทดลองและคำนวณตามสูตร $A_1 - A_2$ เช่นเดียวกันกับวิธีวัดตัวอย่างที่ไม่ได้เติมสารมาตรฐาน L-ascorbic acid เพื่อให้ผลการวิเคราะห์ที่ได้มีค่าใกล้เคียงกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- [1] ศิริวรรณ สุทธิจิตต์. 2550. คู่มือสุขภาพเกี่ยวกับวิตามิน. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: The Knowledge.
- [2] สมทรง เลขะกุล. 2543. ชีวเคมีของวิตามิน. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: สุภาวนิชการพิมพ์.
- [3] แม้น อมรสิทธิ์ และคณะ. 2552. หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ชวนพิมพ์.
- [4] C. Garnero and M. Longhi. *Analytica Chimica Acta*. 659, 2010. 159–166.
- [5] M.G. Gio, P. Andreatta, S. Boschetti and R. Gatti. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 48, 2008. 331-339.
- [6] J.-H. Ke, H.-J. Tseng. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 130, 2008. 614-619.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ตารางผลการวิเคราะห์ L-ascorbic acid โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

ตารางที่ ก.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงตัวอย่างยา 6 ชนิด โดยตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงของทั้งสองแบบที่ความยาวคลื่น 250 nm

ตัวอย่างยา	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 250 นาโนเมตร	
	ไม่เติมไอโอดีนในตัวอย่าง	เติมไอโอดีนในตัวอย่างและทิ้งไว้ 15 นาที
ยาชนิดที่ 1 (1000 mg)	0.406	0.006
	0.416	0.002
	0.447	0.004
ยาชนิดที่ 2 (1000 mg)	0.481	0.007
	0.477	0.005
	0.451	0.006
ยาชนิดที่ 3 (1000 mg)	0.435	0.008
	0.481	0.009
	0.448	0.007
ยาชนิดที่ 4 (1000 mg)	0.440	0.010
	0.435	0.005
	0.436	0.002
ยาชนิดที่ 5 (500 mg)	0.237	0.006
	0.239	0.004
	0.240	0.007
ยาชนิดที่ 6 (500 mg)	0.233	0.006
	0.253	0.004
	0.229	0.008

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.2 แสดงปริมาณวิตามินซีที่ได้จากการคำนวณ

ตัวอย่างยา	ปริมาณวิตามินซีที่ได้จากการคำนวณ (mg/เม็ด)		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
ยาชนิดที่ 1 (1000 mg/เม็ด)	864.20	893.20	956.12
ยาชนิดที่ 2 (1000 mg/เม็ด)	1025.20	1024.80	960.10
ยาชนิดที่ 3 (1000 mg/เม็ด)	920.92	1019.04	950.40
ยาชนิดที่ 4 (1000 mg/เม็ด)	928.40	928.40	937.20
ยาชนิดที่ 5 (500 mg/เม็ด)	493.24	499.84	502.04
ยาชนิดที่ 6 (500 mg/เม็ด)	484.00	530.00	484.00

แสดงการคำนวณปริมาณวิตามินซีในตัวอย่างยาชนิดที่ 1 (1000 mg)

ครั้งที่ 1

แบบที่ 1 (A₁): การเตรียมตัวอย่างโดยไม่เติมไอโอเดต

ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างชนิดที่ 1 ครั้งที่ 1 0.406

ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างชนิดที่ 1 ครั้งที่ 2 0.416

ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างชนิดที่ 1 ครั้งที่ 3 0.447

แบบที่ 2 (A₂): การเตรียมตัวอย่างโดยเติมไอโอเดต

ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างชนิดที่ 1 ครั้งที่ 1 0.006

ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างชนิดที่ 1 ครั้งที่ 2 0.002

ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างชนิดที่ 1 ครั้งที่ 3 0.004

การคำนวณ

$$\text{ครั้งที่ 1} \quad A_1 - A_2 = 0.406 - 0.006 = 0.400$$

จากสมการที่ได้จากกราฟมาตรฐาน

$$Y = 8397x + 0.0051$$

แทนค่า $0.400 = 8397x + 0.0051$

$$X = 4.7029 \times 10^{-5} \text{ M}$$

เนื่องจากการเจือจางสารตัวอย่างสองครั้ง

ครั้งที่ 1 ปีเปตสารตัวอย่างจากขวดวัดปริมาตรขนาด 250 ml มา 2 ml ปรับปริมาตรเป็น 100 ml

ครั้งที่ 2 ปีเปตสารตัวอย่างจากขวดวัดปริมาตรขนาด 100 ml มา 3 ml ปรับปริมาตรเป็น 25 ml

จึงคิดเป็นจำนวนเท่าได้ 416.6 เท่า

ไม่วางกรรมใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื่องจากการเจือจางสารตัวอย่างสองครั้ง

ครั้งที่ 1 ปีเปตสารตัวอย่างจากขวดวัดปริมาตรขนาด 250 ml มา 2 ml ปรับปริมาตรเป็น 100 ml

ครั้งที่ 2 ปีเปตสารตัวอย่างจากขวดวัดปริมาตรขนาด 100 ml มา 3 ml ปรับปริมาตรเป็น 25 ml

จึงคิดเป็นจำนวนเท่าได้ 416.6 เท่า

หาค่า N โดยคูณกลับด้วย 416.6 เท่า จะได้ $4.8243 \times 10^{-5} \times 416.6 \text{ เท่า} = 0.0196 \text{ M}$

หาปริมาณวิตามินซี ใน 1000 mg จากสูตร

$$N = \frac{\text{mol} \times 1000}{V}$$

$$\text{Mol} = \frac{g}{MW}$$

$$N = \frac{g \times 1000}{MW \times V}$$

$$0.020098 = \frac{g \times 1000}{176 \times 250}$$

$$= 862.4 \text{ mg}$$

$$= 862.4 \text{ mg}$$

MW = มวลโมเลกุลของแอสคอบิก 176 g/L ; V = ปริมาตรของวิตามินซี

ครั้งที่ 2

$$A_1 - A_2 = 0.416 - 0.002 = 0.414$$

จากสมการที่ได้จากกราฟมาตรฐาน

$$Y = 8397x + 0.0051$$

แทนค่า $0.414 = 8397x + 0.0051$

$$X = 4.8696 \times 10^{-5} \text{ M}$$

หาค่า N โดยคูณกลับด้วย 416.6 เท่า จะได้ $4.991 \times 10^{-5} \times 416.6 \text{ เท่า} = 0.0203 \text{ M}$

หาปริมาณวิตามินซี ใน 1000 mg จากสูตร

$$N = \frac{\text{mol} \times 1000}{V}$$

$$\text{Mol} = \frac{g}{MW}$$

$$N = \frac{g \times 1000}{MW \times V}$$

$$0.0207 = \frac{g \times 1000}{176 \times 250}$$

$$= 893.2 \text{ mg}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ครั้งที่ 3

$$A_1 - A_2 = 0.447 - 0.004 = 0.443$$

จากสมการที่ได้จากกราฟมาตรฐาน

$$Y = 8397x + 0.0051$$

แทนค่า $0.443 = 8397x + 0.0051$

$$X = 5.2149 \times 10^{-5} \text{ M}$$

หาค่า N โดยคูณกลับด้วย 416.6 เท่า จะได้ $4.991 \times 10^{-5} \times 416.6 \text{ เท่า} = 0.02173 \text{ M}$

หาปริมาณวิตามินซี ใน 1000 mg จากสูตร

$$N = \frac{\text{mol} \times 1000}{V}$$

$$\text{Mol} = \frac{g}{MW}$$

$$N = \frac{g \times 1000}{MW \times V}$$

$$0.0222 = \frac{g \times 1000}{176 \times 250}$$

$$= 956.12 \text{ mg}$$



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การคำนวณปริมาณวิตามินซี ด้วยเทคนิคการเติมสารมาตรฐาน

ตาราง ข.1 แสดงผลการทดลองการวิเคราะห์หาปริมาณของวิตามินซีในตัวอย่างยา 6 ชนิด โดยเติมสารละลายมาตรฐาน L-ascorbic acid เข้มข้น 1.13×10^{-3} M 0.5 mL

ตัวอย่างยา	น้ำหนักตัวอย่างที่ชั่งได้(g)	ปริมาณสารที่เติมลงไป (mL)	ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย 3 ครั้ง (nm)	
			A ₁	A ₂
ชนิดที่1 1000 mg/เม็ด	1.2886 g	0.5	0.607	0.006
	1.2882 g		0.618	0.002
	1.2888 g		0.636	0.004
ชนิดที่2 1000mg/เม็ด	1.1324 g	0.5	0.652	0.007
	1.1311 g		0.654	0.005
	1.1312 g		0.657	0.006
ชนิดที่3 1000mg/เม็ด	1.4748 g	0.5	0.593	0.008
	1.4745 g		0.636	0.009
	1.4746 g		0.603	0.007
ชนิดที่4 1000 mg/เม็ด	1.1445 g	0.5	0.554	0.010
	1.1446 g		0.549	0.005
	1.1446 g		0.574	0.002
ชนิดที่5 500 mg/เม็ด	0.7683 g	0.5	0.389	0.006
	0.7696 g		0.394	0.004
	0.7696 g		0.393	0.007
ชนิดที่6 500 mg/เม็ด	1.9688 g	0.5	0.377	0.006
	1.9680 g		0.392	0.004
	1.9684 g		0.373	0.008

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ข.2 แสดงผลการทดลองการวิเคราะห์หาปริมาณของวิตามินซีในตัวอย่างยา 6 ชนิด โดยเติมสารละลายมาตรฐาน L-ascorbic acid เข้มข้น 1.13×10^{-3} M 1.0 mL

ตัวอย่างยา	น้ำหนักตัวอย่างที่ ชั่งได้ (g)	ปริมาตรสารที่เติมลงไป (mL)	ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย 3 ครั้ง (nm)	
			A ₁	A ₂
ชนิดที่1 1000 mg/เม็ด	1.2886 g	1.0	0.826	0.006
	1.2882 g		0.809	0.002
	1.2888 g		0.823	0.004
ชนิดที่2 1000mg/เม็ด	1.1324 g	1.0	0.828	0.007
	1.1311 g		0.791	0.005
	1.1312 g		0.772	0.006
ชนิดที่3 1000mg/เม็ด	1.4748 g	1.0	0.747	0.008
	1.4745 g		0.795	0.009
	1.4746 g		0.767	0.007
ชนิดที่ 4 1000 mg/เม็ด	1.1445 g	1.0	0.697	0.010
	1.1446 g		0.708	0.005
	1.1446 g		0.719	0.002
ชนิดที่5 500 mg/เม็ด	0.7683 g	1.0	0.543	0.006
	0.7696 g		0.545	0.004
	0.7696 g		0.549	0.007
ชนิดที่ 6 500 mg/เม็ด	1.9688 g	1.0	0.546	0.006
	1.9680 g		0.544	0.004
	1.9684 g		0.507	0.008

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การคำนวณปริมาณวิตามินซีในหน่วยมิลลิกรัมโดยการเติมสารมาตรฐาน

ตารางที่ ข.3 ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างยาชนิดที่ 1 (1000mg) ที่มีการเติมสารมาตรฐาน

ปริมาณสารมาตรฐานที่เติม mL	ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
0.5	0.619	0.58	0.604
1	0.806	0.801	0.819
ปริมาณวิตามินซีครั้งที่ 1	0.0196	-	-
ปริมาณวิตามินซีครั้งที่ 2	-	0.0203	-
ปริมาณวิตามินซีครั้งที่ 3	-	-	0.0217

ตารางที่ ข.4 ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างยาชนิดที่ 2 (1000mg) ที่มีการเติมสารมาตรฐาน

ปริมาณสารมาตรฐานที่เติม mL	ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
0.5	0.645	0.649	0.651
1	0.821	0.786	0.766
ปริมาณวิตามินซีครั้งที่ 1	0.0233	-	-
ปริมาณวิตามินซีครั้งที่ 2	-	0.0232	-
ปริมาณวิตามินซีครั้งที่ 3	-	-	0.0218

ตารางที่ ข.5 ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างยาชนิดที่ 3 (1000mg) ที่มีการเติมสารมาตรฐาน

ปริมาณสารมาตรฐานที่เติม mL	ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
0.5	0.585	0.627	0.596
1	0.739	0.786	0.760
ปริมาณวิตามินซีครั้งที่ 1	0.0214	-	-
ปริมาณวิตามินซีครั้งที่ 2	-	0.0231	-
ปริมาณวิตามินซีครั้งที่ 3	-	-	0.0216

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.6 ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างยาชนิดที่ 4 (1000mg) ที่มีการเติมสารมาตรฐาน

ปริมาณสารมาตรฐานที่เติม mL	ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
0.5	0.544	0.544	0.572
1	0.687	0.703	0.717
ปริมาณวิตามินซีครั้งที่ 1	0.0211	-	-
ปริมาณวิตามินซีครั้งที่ 2	-	0.0215	-
ปริมาณวิตามินซีครั้งที่ 3	-	-	0.0213

ตารางที่ ข.7 ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างเม็ดยาชนิดที่ 5 (500mg) ที่มีการเติมสารมาตรฐาน

ปริมาณสารมาตรฐานที่เติม mL	ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
0.5	0.383	0.390	0.388
1	0.537	0.541	0.544
ปริมาณวิตามินซีครั้งที่ 1 (M)	0.0112	-	-
ปริมาณวิตามินซีครั้งที่ 2 (M)	-	0.0113	-
ปริมาณวิตามินซีครั้งที่ 3 (M)	-	-	0.0114

ตารางที่ ข.8 ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างเม็ดยาชนิดที่ 6 (500mg) ที่มีการเติมสารมาตรฐาน

ปริมาณสารมาตรฐานที่เติม mL	ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
0.5	0.371	0.388	0.365
1	0.540	0.540	0.499
ปริมาณวิตามินซีครั้งที่ 1 (M)	0.011	-	-
ปริมาณวิตามินซีครั้งที่ 2 (M)	-	0.012	-
ปริมาณวิตามินซีครั้งที่ 3 (M)	-	-	0.011

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

แสดงการศึกษาความถูกต้อง (Accuracy) ของวิธีวิเคราะห์

ตาราง ค.1 แสดงผลจากการวัดหาปริมาณวิตามินซีใน ตัวอย่างและตัวอย่างที่มีการเติมสารมาตรฐาน และค่า %Recovery

ตัวอย่างยา	ปริมาณ std. (0.02 M)	ความเข้มข้น sample	ความเข้มข้นที่ spiked	% Recovery
ชนิดที่1 (1000mg)	5	7.79×10^{-4}	1.21×10^{-3}	108.10
	7	7.79×10^{-4}	1.44×10^{-3}	119.00
	9	7.79×10^{-4}	1.56×10^{-3}	109.70
ชนิดที่2 (1000mg)	5	1.04×10^{-4}	1.41×10^{-3}	91.70
	7	1.04×10^{-4}	1.58×10^{-3}	96.20
	9	1.04×10^{-4}	1.64×10^{-3}	83.50
ชนิดที่3 (1000mg)	5	7.26×10^{-4}	1.20×10^{-3}	119.00
	7	7.26×10^{-4}	1.31×10^{-3}	105.00
	9	7.26×10^{-4}	1.58×10^{-3}	109.00
ชนิดที่4 (1000mg)	5	9.39×10^{-4}	1.31×10^{-3}	97.00
	7	9.39×10^{-4}	1.51×10^{-3}	106.00
	9	9.39×10^{-4}	1.73×10^{-3}	112.00
ชนิดที่5 (500mg)	5	1.55×10^{-4}	1.91×10^{-3}	92.00
	7	1.55×10^{-4}	2.11×10^{-3}	99.80
	9	1.55×10^{-4}	2.27×10^{-3}	102.70
ชนิดที่6(500mg)	5	5.83×10^{-4}	1.03×10^{-3}	114.00
	7	5.83×10^{-4}	1.15×10^{-3}	101.90
	9	5.83×10^{-4}	1.39×10^{-3}	112.10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

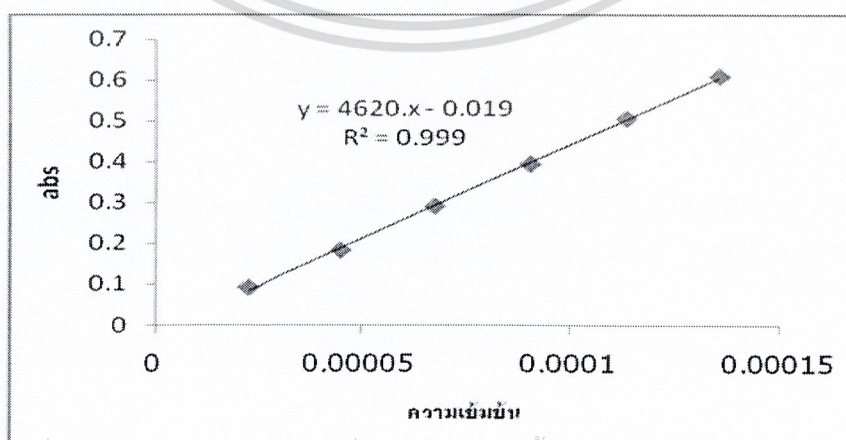
ภาคผนวก ง

การคำนวณขีดจำกัดการตรวจวัด

ตาราง ง.1 ผลการทดลองการทำกราฟมาตรฐานโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ของสารมาตรฐาน L-ascorbic โดยทำการทดสอบในช่วงความเข้มข้น 2.26×10^{-5} – 1.13×10^{-4} M ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 250 นาโนเมตร

ปริมาณ L-ascorbic (mL)	ค่าการดูดกลืนแสง			Mean
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
0.5	0.088	0.100	0.092	0.093
1.0	0.184	0.190	0.178	0.184
1.5	0.296	0.289	0.288	0.291
2.0	0.391	0.398	0.393	0.394
2.5	0.504	0.518	0.494	0.505
3.0	0.639	0.597	0.590	0.608

รูปที่ ง.1 กราฟมาตรฐานโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ของสารมาตรฐาน L-ascorbic โดยทำการทดสอบในช่วงความเข้มข้น 2.26×10^{-5} – 1.13×10^{-4} M ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 250 นาโนเมตร

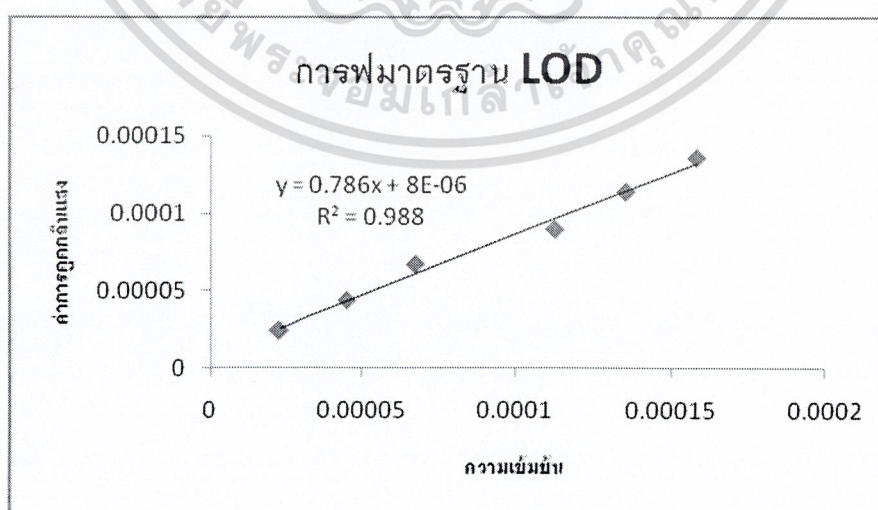


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.2 ตารางแสดงความเข้มข้นของผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงของการวัดค่าการดูดกลืนแสงแต่ละครั้ง ที่ความเข้มข้นต่างในช่วง $2.26 \times 10^{-5} - 1.13 \times 10^{-4} \text{ M}$ โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ของสารมาตรฐาน L-ascorbic ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 250 นาโนเมตรคำนวณจากสมการมาตรฐาน $y = 4620x - 0.019$

ปริมาณ L-ascorbic (mL)	ความเข้มข้นจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงต่าง			ความเข้มข้นเฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
0.5	2.32×10^{-5}	2.58×10^{-5}	0.40×10^{-5}	2.43×10^{-5}
1.0	4.39×10^{-5}	4.03×10^{-5}	4.26×10^{-5}	4.39×10^{-5}
1.5	6.82×10^{-5}	6.67×10^{-5}	6.64×10^{-5}	6.71×10^{-5}
2.0	8.87×10^{-5}	9.03×10^{-5}	8.92×10^{-5}	8.94×10^{-4}
2.5	1.13×10^{-4}	1.16×10^{-4}	1.13×10^{-4}	1.14×10^{-4}
3.0	1.42×10^{-4}	1.33×10^{-4}	1.35×10^{-4}	1.36×10^{-4}

รูปที่ ง.2 กราฟมาตรฐานโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวีสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ของสารมาตรฐาน L-ascorbic โดยทำการทดสอบในช่วงความเข้มข้นเฉลี่ย $2.43 \times 10^{-5} - 1.36 \times 10^{-4} \text{ M}$ ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 250 นาโนเมตร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การคำนวณค่า LOD และ LOQ

จากสูตร	LOD	=	$\frac{3S_{x/y}}{slope}$
	LOD	=	$\frac{3 \times 8 \times 10^{-6}}{0.786}$
	LOD	=	3.052×10^{-5}
	LOQ	=	$\frac{10S_{x/y}}{slope}$
	LOQ	=	$\frac{10 \times 8 \times 10^{-6}}{0.786}$
	LOQ	=	1.018×10^{-4}



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้