

**SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF
VITAMIN B1 IN TABLET**



**A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIRMENT 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 การวิเคราะห์วิตามินบี1 ในตัวอย่างยาโดยเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมทรี
Spectrophotometric Determination of Vitamin B1 in Tablet

ชื่อนักศึกษา นางสาวคุณากรณ์ อินธิจิต 50050605
นางสาวนัตยา ยังสนอง 50050634
นางสาวเบญจา พันธุ์เมฆ 50050637



ปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต

สาขาวิชา เคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์

ปีการศึกษา 2553

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้
โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตร์บัณฑิต
สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม - เครื่องมือวิเคราะห์ ประจำปีการศึกษา 2553

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ดร.ณัฐวุฒิ เริงชั้น	
ดร.เสาวภาคย์ ชีราทรง	
ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การวิเคราะห์วิตามินบี1 โดยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี	
ชื่อนักศึกษา	นางสาวคุณากรณ์	อินธิจิต
	นางสาวนาตยา	ยังสนอง
	นางสาวเบญจา	พันธุ์เมฆ
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต	
สาขาวิชา	เคมีอุตสาหกรรม - เครื่องมือวิเคราะห์	
ปีการศึกษา	2553	
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.วิบูลย์	ประดิษฐ์เวียงคำ

บทคัดย่อ

โครงการพิเศษนี้ศึกษาการวิเคราะห์วิตามินบี1 ในตัวอย่างยาเม็ดด้วยวิธีสเปกโทรโฟโตเมทรี โดยอาศัยปฏิกิริยาระหว่างวิตามินบี1 กับโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตในสารละลายที่มีสถานะเป็นกรดและวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่ความยาวคลื่น 525 นาโนเมตร ได้สถานะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาวิตามินบี1 โดยใช้กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 2.0 โมลาร์ และโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตเข้มข้น 0.02 โมลาร์ ได้กราฟมาตรฐานของวิตามินบี1 เป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 10-50 ppm มีสมการเส้นตรง คือ $y = -0.0035x + 1.0337$ และค่าสัมประสิทธิ์การตัดคลื่นใจ (R^2) เท่ากับ 0.9925 ค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (LOD) มีค่าเท่ากับ 1.82 ppm และค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถวัดได้โดยมีความถูกต้อง (LOQ) มีค่าเท่ากับ 6.06 ppm วิธีวิเคราะห์ที่ได้มีความเที่ยงแสดงด้วยค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 6.43-24.65 % ความแม่นยำของวิธีแสดงด้วยค่าร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 60-120 %

คำสำคัญ: วิตามินบี1, โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต, สเปกโทรโฟโตเมทรี

Title	Spectrophotometric Determination of Vitamin B1 in Tablet
Students	Miss Kunaporn Inthichit Miss Nattaya Youngsanong Miss Benja Punthumake
Degree	Bachelor of Science
Major Program	Industrial Chemistry - Analytical Instrumentation
Academic Year	2010
Advisor	Dr. Wiboon Praditweangkum

ABSTRACT

The purpose of this special project was to develop a method for determination of vitamin B1 in tablet by spectrophotometry. The reaction was based on an interaction between vitamin B1 and potassium permanganate in solution containing the acidic media. The decreasing of absorbance of potassium permanganate solution at wavelength 525 nm was recorded. The condition for analysis of vitamin B1 was optimized by using 2.0 M sulfuric acid and 0.02 M potassium permanganate solution. A standard curve of vitamin B1 was linear in the concentration range of 10-50 ppm. A linear equation was $y = - 0.0035x + 1.0337$ and coefficient of determination (R^2) was 0.9925. The limit of detection (LOD) and the limit of quantitation (LOQ) were 1.82 ppm and 6.06 ppm, respectively. Precision of vitamin B1 measurement in term of the relative standard deviation (%RSD) was in 6.43–24.65 % range. Accuracy expressed in term of recovery was in the range of 60-120 %.

Keywords: Vitamin B1, Potassium permanganate, Spectrophotometry

กิตติกรรมประกาศ

การจัดทำโครงการพิเศษนี้ สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี สืบเนื่องมาจากความร่วมมือ การได้รับการดูแล เอาใจใส่ ช่วยเหลือ แนะนำ และความกรุณาของทุก ๆ ท่าน ทั้งอาจารย์ที่ปรึกษา คณะกรรมการและผู้ที่เกี่ยวข้องที่กรุณาติดตาม ตรวจสอบ และแก้ไขโครงการพิเศษฉบับนี้จน สำเร็จไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ดร.วิบูลย์ประดิษฐ์เวียงคำ เป็นอย่างสูงที่ให้คำปรึกษา ช่วยแก้ไขปัญหา เอาใจใส่ดูแล ให้ความช่วยเหลือในการทำโครงการพิเศษนี้มาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณ ดร.ณัฐวุฒิ เจริญชั้น เป็นอย่างสูงที่ให้ความช่วยเหลือในการใช้เครื่อง สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ และแก้ไขปัญหาในโครงการพิเศษนี้

ขอขอบพระคุณ ดร.เสาวภาคย์ ชีราทรง เป็นอย่างสูงที่ให้ความช่วยเหลือในการแก้ไข ปัญหาในโครงการพิเศษนี้

ขอขอบพระคุณ คุณสุรินทร์ เหล่าพระจันทร์ ที่ช่วยดูแลเรื่องการใช้เครื่องสเปกโทรโฟโต มิเตอร์ในการทำโครงการพิเศษนี้ดำเนินไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ คุณสุภัทร บานเย็น ที่คอยให้คำปรึกษาเกี่ยวกับโครงการพิเศษนี้ให้ลุล่วง ไปได้ด้วยดี

ขอบคุณ พี่นฤชิต ไพโรจน์ ที่คอยให้คำปรึกษา และช่วยดูแลให้ความช่วยเหลือในการทำ โครงการพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการสาขาวิชาเคมี รวมทั้งแม่บ้านที่คอยให้ความ ช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในทุก ๆ ด้าน

ขอขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ ญาติพี่น้อง เพื่อน ๆ รวมถึงรุ่นพี่ รุ่นน้องทุก ๆ คน ที่คอยให้ กำลังใจและช่วยเหลือในทุก ๆ ด้าน ทำให้โครงการพิเศษนี้ดำเนินไปได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยที่ไม่ได้กล่าวไว้ ณ ที่นี้ที่ช่วยทำให้โครงการ พิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	VII
สารบัญรูป	VIII
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความสำคัญและที่มาของ โครงการงานพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์	1
1.3 ขอบเขตของโครงการงานพิเศษ	2
1.4 ขั้นตอนของการวิจัยและการดำเนินงาน	2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 วิตามินบี 1	3
2.1.1 สมบัติของวิตามินบี1	3
2.1.2 บทบาทหน้าที่ของวิตามินบี1	3
2.1.3 แหล่งที่พบวิตามินบี1	5
2.1.4 ปริมาณที่แนะนำ	7
2.1.5 สาเหตุของการขาดวิตามินบี1	9
2.1.6 ผลของการขาด	9
2.1.8 การรักษา	10
2.1.9 ผลของการได้รับวิตามินบี1 มากเกินไป	11
2.1.10 การเก็บรักษาคุณค่าทางอาหาร	11
2.1.11 คุณประโยชน์ของวิตามินบี1	11
2.2 โฟลีสเซียมเปอร์เมงกาเนต	13
2.2.1 โครงสร้างและการเตรียม	14
2.2.2 การใช้งาน	14
2.3 อัสตราไวโอเลตและวิตามินดี	17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
3.4.5.2 การตรวจวัดปริมาณวิตามินบี1 ในสารละลาย Spiked sample	28
3.4.5.3 ความเที่ยงของการวิเคราะห์ (Precision)	28
3.4.5.4 ช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน	29
3.4.5.5 ขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (Limit of Detection) และค่าต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้โดยมีความถูกต้องและ ความเที่ยงที่ยอมรับได้ (Limit of Quantitative)	29
บทที่ 4 ผลการทดลองและการอภิปรายผล	30
4.1 การหาความยาวคลื่นที่เหมาะสม	30
4.2 การหาสภาวะที่เหมาะสม	31
4.2.1 ศึกษาความเข้มข้นสารละลายกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสม	31
4.2.2 ศึกษาความเข้มข้นสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่เหมาะสม	32
4.2.3 ศึกษาปริมาตรสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่เหมาะสม	33
4.3 กราฟมาตรฐาน	35
4.4 การประเมินความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์	36
4.4.1 การศึกษาความสัมพันธ์เชิงเส้น (Linearity)	36
4.4.2 การศึกษาความถูกต้อง (Accuracy) ของวิธีการวิเคราะห์	36
4.4.3 การศึกษาความเที่ยง (Precision) ของวิธีวิเคราะห์	38
4.4.4 การศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (Limit of Detection) และขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้โดยมีความถูกต้องและ ความเที่ยงที่ยอมรับได้ (Limit of Quantitation)	39
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ	40
เอกสารอ้างอิง	42
ภาคผนวก	43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 แสดงปริมาณวิตามินบี1 ในอาหารแต่ละชนิด	6
2.2 ปริมาณโทอะมินอ้างอิงที่ควรได้รับประจำวันสำหรับกลุ่มบุคคลวัยต่าง ๆ	8
2.3 แสดงคุณสมบัติของโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต	13
4.1 แสดงผลการทดลองเมื่อปรับเปลี่ยนความเข้มข้นสารละลายกรดซัลฟิวริกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	31
4.2 แสดงผลการทดลองเมื่อปรับเปลี่ยนความเข้มข้นสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	32
4.3 แสดงผลการทดลองเมื่อปรับเปลี่ยนปริมาณของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่ปริมาณต่าง ๆ	34
4.4 แสดงผลการตรวจวัดปริมาณวิตามินบี1 ที่มีในตัวอย่างยา	35
4.5 แสดงค่าร้อยละของการคืนกลับได้ (%Recovery)	37
4.6 แสดงค่าร้อยละของการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% Relative Standard Deviation; %RSD)	38
ก 1.1 แสดงความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 (ppm) และค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 ของผลิตภัณฑ์ A	42
ก 1.2 แสดงความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 (ppm) และค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 ของผลิตภัณฑ์ B	42
ก 1.3 แสดงความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 (ppm) และค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 ของผลิตภัณฑ์ C	43
ก 1.4 แสดงความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 (ppm) และค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 ของผลิตภัณฑ์ D	43
ก 1.5 แสดงความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 (ppm) และค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 ของผลิตภัณฑ์ E	43

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ค. แสดงค่าความเที่ยงของการวิเคราะห์	45
ง. 1 แสดงผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน	47
ง. 2 แสดงผลการวัดความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเพื่อหาค่า LOD และ LOQ	47
จ. แสดงความเข้มแสงของสารละลายมาตรฐานวิตามินบี 1	49
ฉ. แสดงผลตรวจวัดปริมาณวิตามินบี 1 ที่มีในตัวอย่างยา	50



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ

รูปที่	หน้า
2.1 โครงสร้างวิตามินบี1	3
2.2 โครงสร้าง Thiamine Pyrophosphate	4
2.3 โครงสร้าง Thiamine Triphosphate	4
2.4 โครงสร้าง Thiamine Monophosphate	4
2.5 โฟลอสเฟอรัสเพอร์แมงกาเนต	13
2.6 แผนภาพแสดงแสงความยาวคลื่นเดินทางผ่านตัวกลาง	17
2.7 แผนภาพแสดงเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer	18
2.8 แผนภาพแสดงหลอดรังสีที่ใช้เป็นแหล่งกำเนิดรังสีในสเปกโตรโฟโตมิเตอร์	19
2.9 แผนผังแสดงส่วนประกอบของเครื่อง UV-Vis spectrophotometer แบบลำแสงเดี่ยว	20
2.10 แผนผังแสดงส่วนประกอบของเครื่อง UV-Vis spectrophotometer แบบลำแสงคู่	21
4.1 กราฟแสดงค่าการสเปกตรัมของสารละลายโพแทสเซียมเพอร์แมงกาเนตเมื่อความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 เพิ่มขึ้น	30
4.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นสารละลายกรดซัลฟิวริก (M) ที่ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 แตกต่างกัน	31
4.3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นสารละลายโพแทสเซียมเพอร์แมงกาเนต (M) ที่ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 แตกต่างกัน	33
4.4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาตรสารละลายโพแทสเซียมเพอร์แมงกาเนต (M) ที่ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 แตกต่างกัน	34
4.5 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1	35
4.6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 กับค่าความเข้มข้นของวิตามินบี1 ที่ตรวจวัดได้ (Detector Response)	39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงการงานพิเศษ [1]

วิตามินบี1หรือไทอะมีน(Thiamine) เป็นสารอาหารที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิต มีหน้าที่สำคัญคือเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการเผาผลาญอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรต โปรตีนและไขมันเพื่อทำให้เกิดพลังงานดังนั้นถ้าใช้พลังงานมากหรือกินคาร์โบไฮเดรตมากจะต้องการวิตามินนี้มากขึ้นด้วย มีส่วนช่วยในการนำออกซิเจนไปเลี้ยงส่วนต่างๆ ของร่างกาย ช่วยการทำงานของระบบทางเดินอาหารจึงเกี่ยวข้องกับความอยากอาหาร การย่อยอาหารและการขับถ่าย อาหารที่มีวิตามินบี1 สูงจะช่วยให้มีความอยากอาหารดีขึ้นจึงสามารถป้องกันท้องผูกได้ ทำให้ระบบย่อยและระบบขับถ่ายดีขึ้น ช่วยให้กล้ามเนื้อทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ ช่วยในการเจริญเติบโต การสืบพันธุ์ และการผลิตน้ำนม นอกจากนี้ยังช่วยในการทำงานของระบบประสาทและหัวใจ เพราะวิตามินบี1 จำเป็นสำหรับการสังเคราะห์สารพวกอะซิติลโคลีน (Acetylcholine) ซึ่งควบคุมการทำงานของระบบประสาท ถ้าร่างกายได้รับวิตามินบี1 ไม่เพียงพอจะมีผลถึงประสาทและกล้ามเนื้อทั่วร่างกายทำให้เกิดโรคเหน็บชา คือ กล้ามเนื้ออ่อนปวกเปียกไม่มีแรง ผิวหนังไม่มีความรู้สึก และเป็นอัมพาตตามแขนและขา นอกจากนี้อาจมีอาการบวมตามตัว แขน ขา และหัวใจบวมโต ถ้าเป็นมากอาจถึงตายได้

วิตามินบี1 มีอยู่ในอาหารหลายชนิดในปริมาณน้อย ๆ คือ มักต่ำกว่า 0.1 มิลลิกรัมต่อ100 กรัม แหล่งสำคัญของไทอะมีน ได้แก่ เนื้อหมู ตับ ถั่วเหลือง ข้าว ข้าวซ้อมมือ สำหรับข้าวที่สีจนขาวจะมีไทอะมีนเหลืออยู่น้อยมาก นอกจากนี้แบคทีเรียสามารถสังเคราะห์ได้เองในลำไส้ ปัจจุบันยังพบว่าบุคคลทั่วไปมักจะไม่เป็นโรคขาดวิตามินบี1 นอกจากจะพบได้ในคนที่เป็โรคพิษสุราเรื้อรังและผู้ป่วยโรคเหน็บชา

การวิเคราะห์วิตามินบี1 สามารถทำได้โดยวัดปริมาณวิตามินบี1 ในปัสสาวะ การวัดการทำงานของเอนไซม์ Transketolase ในเม็ดเลือดแดง และการวัดปริมาณไทอะไดฟอสเฟต (Thiamine diphosphate) ในเม็ดเลือดแดง โดยปกติระดับของไทอะมีนในซีรัมจะเท่ากับ 0.21-0.43 ไมโครกรัมต่อลิตร ในปัสสาวะจะมากกว่า 100 ไมโครกรัมใน 24 ชั่วโมง

ในงานวิจัยนี้จะมุ่งเน้นการวิเคราะห์หาวิตามินบี 1 ในยาเม็ด

1.2 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาและพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาวิตามินบี1 โดยใช้เทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรีและอาศัยเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับครูใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ปฏิบัติระหว่างวิตามินบี1 กับโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ขอบเขตของโครงการพิเศษ

1. เพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์วิตามินบี1 โดยอาศัยปฏิกิริยาระหว่างวิตามินบี1 กับโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตและตรวจวัดด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี
2. ทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์วิตามินบี1 ที่พัฒนาขึ้นโดยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี
3. นำวิธีการวิเคราะห์วิตามินบี1 ที่พัฒนาขึ้นไปใช้สำหรับการวิเคราะห์วิตามินบี1 ในตัวอย่างยาเม็ด

1.4 ขั้นตอนของการวิจัยและการดำเนินงาน

1. สืบค้นข้อมูลที่เกี่ยวข้อง
2. ออกแบบการทดลอง จัดหาอุปกรณ์และสารเคมี
3. ดำเนินการทดลองเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์วิตามินบี1 โดยอาศัยปฏิกิริยาระหว่างวิตามินบี1 กับโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตและตรวจวัดด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี
4. ใช้วิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นเพื่อวิเคราะห์วิตามินบี1 ในตัวอย่างยาเม็ด

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทำให้ทราบถึงสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์วิตามินบี1 โดยอาศัยปฏิกิริยาระหว่างวิตามินบี1 กับโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตและตรวจวัดด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี
2. สามารถนำวิธีที่พัฒนาขึ้นนี้ไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์วิตามินบี1

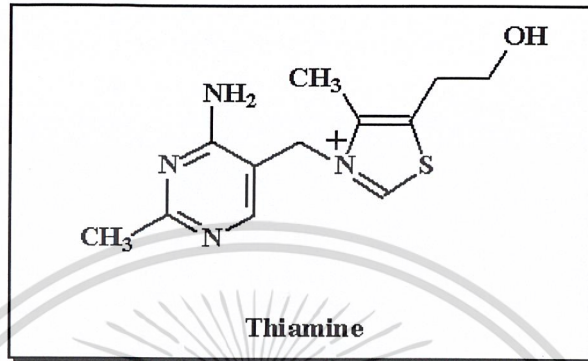
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 วิตามินบี 1 (Vitamin B1) [2]

2.1.1 สมบัติของวิตามินบี 1



รูปที่ 2.1 โครงสร้างวิตามินบี 1 [3]

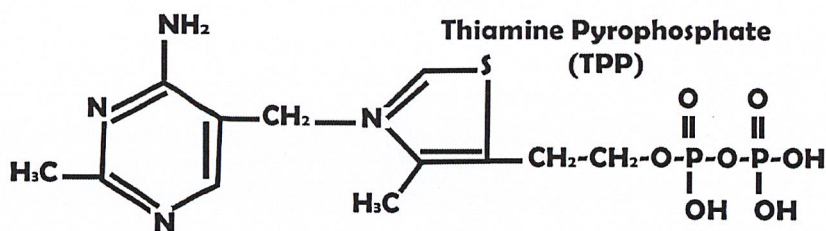
- เป็นวิตามินตัวหนึ่งในวิตามินบีรวม บางครั้งเรียกวิตามินบี1 ว่าแอนตีเบอริเบอริแฟคเตอร์ หรือแอนตีนิวริติกแฟคเตอร์ เนื่องจากเป็นวิตามินที่สามารถป้องกันการกระตุกของประสาท แต่ส่วนใหญ่เป็นที่รู้จักในชื่อไทอะมิน (Thiamine) หรือวิตามินบี1 (Vitamin B1)

- เป็นอินทรีย์โมเลกุลที่ประกอบด้วยไพริดีน (Pyridine) และไทอะโซล (Thiazole)
- เป็นผลึกสีขาว ละลายน้ำได้ (Water soluble vitamine) มีรสเค็ม กลิ่นคล้ายยีสต์ สลายตัวได้ง่ายในสภาวะด่าง แต่ในรูปกรดสามารถทนได้แม้อุณหภูมิสูงถึง 120 องศาเซลเซียส แต่ปกติสลายตัวได้ง่ายในความร้อน และเป็นวิตามินที่สลายตัวได้ง่ายที่สุดในบรรดาวิตามินบีทั้งหมด
- ร่างกายมนุษย์ไม่สามารถสังเคราะห์วิตามินบี1 ได้ จำเป็นต้องได้รับจากอาหารที่กิน
- สารหรืออาหารเสริมฤทธิ์ในการทำงานของวิตามินบี1 ได้แก่ วิตามินบีรวม วิตามินบี2 กรดโฟลิก ไนอะซิน วิตามินอี แมงกานีส กำมะถัน และวิตามินซี

2.1.2 บทบาทหน้าที่ของวิตามินบี1

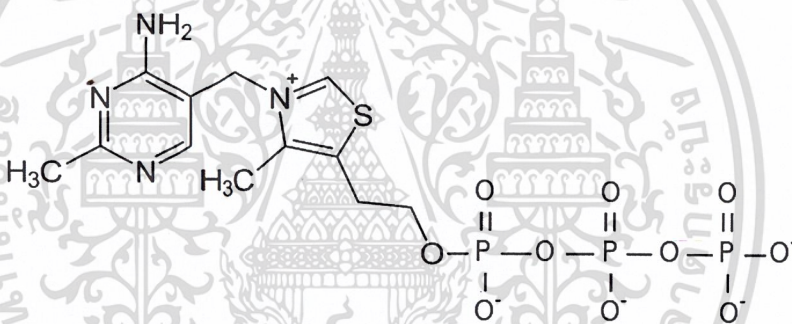
วิตามินบี1 หรือไทอะมิน (Thiamine) ที่ได้รับจากอาหารที่เรากินเข้าไปส่วนใหญ่อยู่ในรูปของไทอะมินอิสระและไทอะมินไพโรฟอสเฟต (Thiamine Pyrophosphate, TPP) หรือรวมอยู่กับโปรตีน-ฟอสเฟต เป็นสารเชิงซ้อนซึ่งจะต้องถูกย่อยสลายในระบบทางเดินอาหารก่อนที่จะดูดซึมผ่านผนังลำไส้ ร่างกายจะสะสมไทอะมินไว้ได้เพียงเล็กน้อยกระจายอยู่ตามเนื้อเยื่อต่าง ๆ ได้แก่ ตับ ไต หัวใจ สมอง และกล้ามเนื้อ ซึ่งจะมีความเข้มข้นสูงกว่าในเลือดเล็กน้อย โดยไทอะมินจะถูกนำไปใช้จนหมดอย่างรวดเร็วถ้าไม่ได้รับเพิ่มจากอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

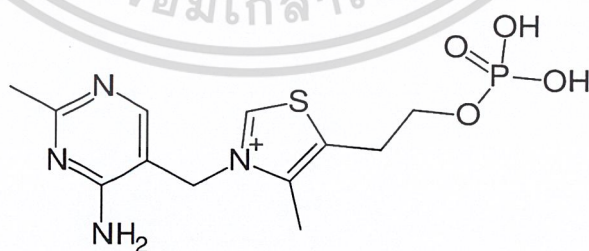


รูปที่ 2.2 โครงสร้าง Thiamine Pyrophosphate (TPP) [4]

ไทอะมีนในร่างกายมีประมาณ 30 มิลลิกรัม ประมาณครึ่งหนึ่งจะอยู่ในกล้ามเนื้อ ปริมาณที่เหลือจะกระจายอยู่ในหัวใจ ตับ ไต และเนื้อเยื่อระบบประสาท ครึ่งชีวิต (half life) ของไทอะมีนมีค่าประมาณ 9 ถึง 18 วัน ร้อยละ 80 ของไทอะมีนในร่างกายอยู่ในรูป Thiamine Pyrophosphate (TPP) หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่าไทอะมีนไดฟอสเฟต (Thiamine Diphosphate, TDP) อีกร้อยละ 10 อยู่ในรูป Thiamine Triphosphate (TMP) และที่เหลือ (ร้อยละ 10) จะอยู่ในรูป Thiamine Monophosphate (TTP) และไทอะมีนอิสระ (free thiamine)



รูปที่ 2.3 โครงสร้าง Thiamine Triphosphate (TTP) [5]



รูปที่ 2.4 โครงสร้าง Thiamine Monophosphate (TMP) [6]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไทอะมีนในอาหารถูกดูดซึมได้ดี ส่วนใหญ่จะถูกดูดซึมในลำไส้เล็กบริเวณเจจูนัม (jejunum) เนื่องจากไทอะมีนเป็นวิตามินที่ละลายในน้ำจึงไม่สะสมในร่างกาย ดังนั้นไทอะมีนที่ไม่ถูกดูดซึม จะถูกขับออกทางปัสสาวะ ไทอะมีนในเลือดประมาณร้อยละ 90 จะอยู่ในเม็ดเลือดแดงซึ่งส่วนใหญ่อยู่ในรูปของ TPP (Thiamine Triphosphate) ไทอะมีนที่ออกฤทธิ์ภายในร่างกาย คือ TTP และ TPP โดยที่ TPP เป็นโคเอนไซม์ในกระบวนการเมตาบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตและกรดอะมิโนชนิดโซ่กิ่ง หน้าที่ของ TPP ที่สำคัญมีดังนี้

- เป็นโคเอนไซม์ของเอนไซม์ pyruvate dehydrogenase ซึ่งมีความสำคัญโดยทำหน้าที่เชื่อมระหว่าง glycolytic pathway และ citric acid cycle
- เป็นโคเอนไซม์ของ a - ketoglutarate dehydrogenase ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของ citric acid cycle
- เป็นโคเอนไซม์ของเอนไซม์ transketolase ซึ่งเกี่ยวข้องกับ pentose phosphate pathway
- เป็นโคเอนไซม์ของเอนไซม์ branched-chain keto acid dehydrogenase ในกระบวนการเมตาบอลิซึมของกรดอะมิโนชนิดโซ่กิ่ง สำหรับ TTP พบว่าเป็นส่วนประกอบสำคัญของเยื่อประสาท (neural membrane) ถูกหลั่งออกจากสมอง ไขสันหลัง และ sciatic nerves เมื่อได้รับการกระตุ้นโดยสื่อไฟฟ้า มีหลักฐานบ่งชี้ว่า TTP เกี่ยวข้องกับการทำงานของระบบประสาทการส่งผ่านกระแสความรู้สึก

2.1.3 แหล่งที่พบวิตามินบี1

ร่างกายมนุษย์ไม่สามารถสังเคราะห์วิตามินบี1 ได้ จำเป็นต้องได้รับจากอาหาร แหล่งที่พบวิตามินบี1 พบมากในอาหารประเภทเนื้อสัตว์ เช่น ไข่ ตับ เนื้อ หมู ไก่ ปลา ยีสต์ ข้าวสาลี ข้าวโอ๊ต ข้าวซ้อมมือ ข้าวกล้อง ขนบึง โยลิวิท แป้งข้าวหมาก แป้งถั่วเหลือง ถั่วเมล็ดแห้ง ไข่แดง นม และผลไม้ก็พบได้บ้าง วิตามินตัวนี้จะพบในอาหารสดโดยเฉพาะตอนที่ยังไม่ถูกความร้อน ในอาหารจำพวกผักและผลไม้ ถึงแม้ว่าจะมีปริมาณของไทอะมีนน้อย แต่ถ้าคิดจากที่กินในแต่ละวันแล้วร่างกายก็จะได้รับไทอะมีนพอประมาณ

ตารางที่ 2.1 แสดงปริมาณวิตามินบี1 ในอาหารแต่ละชนิด

ชนิดของอาหาร	ปริมาณวิตามินบี 1 (มิลลิกรัมต่ออาหาร 100 กรัม)
ถั่วแระ, ต้ม	0.69
หมู, ตับ	0.40
เนื้อวัว, สด	0.07
วัว, ตับ	0.32
ไก่, เนื้อ	0.08
ไก่, ตับ	0.36
ปลาคู	0.20
ปลาหนึ่ง	0.09
ไข่เบ็ด 1 ฟอง	0.28
ไข่ไก่ 1 ฟอง	0.15
ข้าวกล้อง, ข้าวหอมมะลิ	0.55
ข้าวเจ้า, ข้าวซ้อมมือ	0.34
ข้าวมันปู	0.46
ข้าวเหนียว	0.08
งาขาวคั่ว	0.55
ข้าวเหนียวดำ	0.83
งาดำอบ	0.75
ถั่วเหลืองคิบ	0.73
ถั่วเขียวคิบ	0.38
ถั่วแดงคิบ	0.31
เนื้อหมูสด	0.73

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.4 ปริมาณที่แนะนำ

แต่ละบุคคลจะมีความต้องการวิตามินบี1 ในปริมาณแตกต่างกันขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายด้าน เช่น เพศ น้ำหนักตัว ดังที่กล่าวแล้วว่าวิตามินบี1 มีหน้าที่หลักในกระบวนการเผาผลาญพลังงาน ดังนั้นถ้ารับประทานอาหารที่มีพลังงานมากก็ต้องใช้วิตามินบี1 มาก แต่โดยทั่วไปร่างกายต้องการวิตามินบี1 0.5 มิลลิกรัมต่อ1000 กิโลแคลอรี ซึ่งในแต่ละวันจะต้องการดังนี้ ผู้ชายต้องการ 1.2-1.4 มิลลิกรัมต่อวัน ผู้หญิงต้องการ 1.0 มิลลิกรัมต่อวัน เด็กต้องการ 0.6-1.1 มิลลิกรัมต่อวัน สตรีตั้งครรภ์ต้องการ 1.4 มิลลิกรัมต่อวัน สตรีให้นมบุตรต้องการ 1.5 มิลลิกรัมต่อวัน

การเผาผลาญคาร์โบไฮเดรต ไขมันและแอลกอฮอล์ให้เป็นพลังงานนั้นต้องอาศัยไทอะมีนไพโรฟอสเฟต (Thiamine Pyrophosphate, TPP) เป็นโคเอนไซม์ ดังนั้นร่างกายต้องการไทอะมีนเพิ่มขึ้นเมื่อมีการใช้พลังงานมากขึ้น จึงมีการกำหนดความต้องการไทอะมีนต่อพลังงานที่ได้รับจากอาหาร จากการศึกษาพบว่าผู้ใหญ่ปกติเมื่อได้รับไทอะมีนต่ำกว่า 0.16 มิลลิกรัมต่อพลังงาน 1,000 กิโลแคลอรี จะเกิดอาการของโรคเหน็บชา คือ ตัวยวมและหัวใจล้มเหลว (wet beriberi) และชาปลายมือปลายเท้า (dry beriberi) เมื่อได้รับไทอะมีนเพิ่มขึ้นเป็น 0.3 มิลลิกรัมต่อพลังงาน 1,000 กิโลแคลอรี อาการนั้นจะหายไปรวมทั้งค่าไทอะมีนในปัสสาวะและเอนไซม์ transketolase ในเม็ดเลือดแดงจะเพิ่มขึ้นสู่ระดับปกติ

การกำหนดค่าปริมาณสารอาหารอ้างอิงที่ควรได้รับประจำวัน (Dietary Reference Intake, DRI) ของประเทศสหรัฐอเมริกาและแคนาดา ปี ค.ศ. 2000 กำหนดค่าประมาณของความต้องการไทอะมีนที่ควรได้รับประจำวัน (Estimated Average Requirement, EAR) ซึ่งเท่ากับ 1.0 มิลลิกรัมต่อวันในผู้ชายและ 0.9 มิลลิกรัมต่อวันในผู้หญิงแล้วนำไปคำนวณหาปริมาณไทอะมีนที่ควรได้รับประจำวันตามความต้องการของบุคคล (Recommended Dietary Allowance, RDA) ของกลุ่มอายุต่าง ๆ ตั้งแต่ 1 ปีขึ้นไป สำหรับทารกแรกเกิดถึงอายุ 12 เดือน กำหนดค่าปริมาณไทอะมีนอ้างอิงที่ควรได้รับประจำวัน (DRI) โดยใช้ค่าปริมาณไทอะมีนที่พอเพียงในแต่ละวัน (Adequate Intake, AI) ดังแสดงไว้ในตาราง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 ปริมาณไทอะมินอ้างอิงที่ควรได้รับประจำวันสำหรับกลุ่มบุคคลวัยต่าง ๆ

กลุ่มบุคคล	อายุ	ปริมาณไทอะมินอ้างอิงที่ควรได้รับประจำวัน (มิลลิกรัมต่อวัน)
ทารก	0-5 เดือน	น้ำนมแม่ (0.2)
	6-11 เดือน	0.3
เด็ก	1-3 ปี	0.5
	4-5 ปี	0.6
	6-8 ปี	0.6
วัยรุ่นชาย	9-12 ปี	0.9
	13-15 ปี	1.2
	16-18 ปี	1.2
	หญิง	9-12 ปี
หญิง	13-15 ปี	1.0
	16-18 ปี	1.0
	ผู้ใหญ่ชาย	19-30 ปี
31-50 ปี		1.2
51-70 ปี		1.2
71 ปี		1.2
หญิง		19-30 ปี
หญิง	31-50 ปี	1.1
	51-70 ปี	1.1
	71 ปี	1.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.5 สาเหตุของการขาดวิตามินบี1

1. การรับประทานวิตามินบี1 ไม่เพียงพอต่อความต้องการ อาจเกิดจากความอดอยากหรือการรับประทานอาหารไม่ถูกสัดส่วนหรือได้รับสารอาหารไม่ครบถ้วนจากการได้รับสารอาหารทางหลอดเลือดดำ (parenteral nutrition) เป็นต้น

2. การรับประทานอาหารที่มีสารต้านฤทธิ์ของวิตามินบี1 ซึ่งมี 2 ประเภท ได้แก่

- สารต้านฤทธิ์ที่ไม่ทนต่อความร้อน (heat labile) ได้แก่ น้ำย่อยไทอะมิเนส (thiaminase) พบได้ในอาหารจำพวกปลา น้ำจืด ปลาร้า และหอยลาย ถ้ากินอาหารพวกนี้ดิบ ๆ จะทำให้น้ำย่อยทำลายวิตามินบี1 โดยตรง

- สารต้านฤทธิ์ที่ทนต่อความร้อน (heat stable) ได้แก่ กรดแทนนิก กรดคาเฟอิก ซึ่งพบในชา กาแฟ ผัก และผลไม้บางชนิด เช่น แอปเปิ้ล ใบบลู ใบบวม ใบเหมียง ผักบุง ผักกระเฉด ใบชา โดยสารที่ได้ของเหล่านี้จะส่งผลทำลายวิตามินบี1 โดยสารเหล่านี้จะไปรวมกับวิตามินบี1 ทำให้เสียโครงสร้างไป ถึงแม้สารพวกนี้จะผ่านความร้อนแล้วก็ตาม แต่ก็ยังสามารถทำลายวิตามินบี1 ได้

3. ภาวะที่มีการเพิ่มเมตาบอลิซึมของร่างกาย จะมีการสลายตัวของคาร์โบไฮเดรตเพิ่มขึ้น ความต้องการวิตามินบี1 จึงสูงขึ้นด้วย ภาวะดังกล่าวได้แก่

- ภาวะทางสรีระวิทยา ได้แก่ เด็กในวัยเจริญเติบโต หญิงมีครรภ์ หญิงให้นมบุตร และการทำงานหนัก

- ภาวะทางพยาธิวิทยา ได้แก่ โรคติดเชื้อ หรือมีความเจ็บป่วยต่าง ๆ ได้แก่ การผ่าตัด ภาวะเครียด ภาวะต่อมไทรอยด์ทำงานมาก

4. การลดการดูดซึมวิตามินบี1 จากลำไส้หรือการสูญเสียวิตามินบี1 ซึ่งลำไส้จะลดการดูดซึมในกรณีผู้ป่วยขาดสารอาหารเรื้อรัง ขาดสารอาหาร โฟลิกแอซิด อาการท้องร่วง และพิษสุราเรื้อรังจะทำให้การบริโภคอาหารรวมทั้งวิตามินบี1 ลดลง และความสามารถของตับที่จะเปลี่ยนวิตามินบี1 เป็น TPP จะลดลงในรายที่เป็นโรคตับแข็ง นอกจากนี้ร่างกายจะสูญเสียวิตามินบี1 จากการใช้ยาขับปัสสาวะ ท้องร่วง และการฟอกเลือด ล้างไต (hemodialysis)

2.1.6 ผลของการขาด

การขาดวิตามินบี1 อาจเกิดจากการขาดการอุปโภคที่ดี รวมทั้งโรคที่ก่อให้เกิดความต้องการวิตามินมากขึ้น เช่น โรคต่อมไทรอยด์ทำงานมากกว่าปกติ โรคติดเชื้อ เป็นต้น รวมทั้งโรคที่ขัดขวางการดูดซึมของวิตามินบี1 เช่น โรคตับ โดยส่งผลให้วิตามินบี1 น้อยลงทำให้เกิดโรคเหน็บชา อาจมีสัญญาณเตือนคืออาการเบื่ออาหารตามมาด้วยอาการท้องผูก มีความผิดปกติทางระบบประสาทและกล้ามเนื้อทั่วร่างกายคือ กล้ามเนื้ออ่อนปวกเปียกไม่มีแรง ผิวหนังไม่มี

ความรู้สึก เป็นอัมพาตตามแขนขา อาจมีอาการบวมตามตัวแขนขา มีความผิดปกติทางระบบประสาท เช่น ประสาทอักเสบ ความจำไม่ดี นอนไม่หลับ มีอาการทางหัวใจ เช่น คลื่นไฟฟ้าหัวใจ

ผิดปกติ หัวใจบวมโต หรืออาจทำให้เกิดหัวใจล้มเหลวได้ ในรายที่ขาดมากๆ อาจมีอาการเบื่ออาหารตามมาด้วยอาการท้องผูกได้ รวมทั้งสามารถทำให้เกิดโรคไหลตายได้

2.1.7 ภาวะผิดปกติ/ภาวะเป็นโรค

การขาดไทอะมีนอย่างรุนแรงจะมีอาการของโรคเหน็บชาซึ่งมีหลายแบบขึ้นอยู่กับอายุ และอวัยวะที่ได้รับผลกระทบจากการที่ร่างกายได้รับไทอะมีนไม่เพียงพอ แบ่งออกเป็นโรคเหน็บชาในเด็ก (infantile beriberi) และโรคเหน็บชาในผู้ใหญ่ (adult beriberi)

1. โรคเหน็บชาในเด็ก (infantile beriberi)

พบบ่อยในทารกอายุ 2-3 เดือน มักเป็นในทารกที่ดื่มน้ำนมแม่และแม่กินอาหารที่ขาดวิตามินบี1 ทารกมักถูกนำมาพบแพทย์ด้วยอาการอย่างใดอย่างหนึ่งหรือหลายอย่างร่วมกัน เช่น หน้าเขียว หอบเหนื่อย ตัวบวม หัวใจเต้นเร็ว หัวใจโต ร้องเสียงแหบหรือไม่มีเสียง อาจตายภายใน 2-3 ชั่วโมง ถ้าไม่ได้รับการรักษาที่ถูกต้อง ในผู้ป่วยที่มีอาการหนักมากอาจจะฉีดไทอะมีน 25 มิลลิกรัมเข้าเส้นเลือดดำซ้ำๆ และตามด้วยอีก 25 มิลลิกรัม ฉีดเข้ากล้ามเนื้อ หลังจากนั้นควรฉีดไทอะมีนให้อีก 20 มิลลิกรัมทุกวันหรือวันเว้นวันจนกระทั่งอาการหายไป ต่อจากนั้นควรให้กินไทอะมีน 10 มิลลิกรัมทุกวันต่อกันอีกหลายสัปดาห์ และแม่ควรได้รับการฉีดไทอะมีน 50 มิลลิกรัมเข้ากล้ามเนื้อทุกวันใน 2-3 วันแรก

2. โรคเหน็บชาในผู้ใหญ่ (adult beriberi)

อาการในเด็กโตหรือผู้ใหญ่แบ่งได้เป็น 3 แบบ คือ

- Dry (paralytic or nervous) beriberi

มีอาการชาโดยไม่บวม มักชาปลายมือปลายเท้า กล้ามเนื้อของแขนและขาไม่มีกำลัง อาจทดสอบได้โดยให้ผู้ป่วยนั่งยองๆ แล้วลุกขึ้นเอง ผู้ป่วยจะทำได้

- Wet (cardiac) beriberi

นอกจากชาปลายมือปลายเท้าแล้ว ผู้ป่วยจะมีอาการบวมด้วย มีน้ำคั่งในช่องท้องและช่องปอด บางรายจะมีอาการหอบเหนื่อย หัวใจโตและเต้นเร็ว หัวใจอาจวายได้ถ้าไม่ได้รับการรักษาทันที่ที่ ผู้ป่วยอาจตายได้

- Wernicke-Korsakoff (cerebral) syndrome

พบบ่อยในผู้ป่วยที่เป็นโรคพิษสุราเรื้อรังร่วมด้วย มีอาการทางสมอง 3 อย่างคือ การเคลื่อนไหวของลูกตาทำได้น้อยหรือไม่ได้เลย เดินเซ และมีความผิดปกติทางจิตใจ พวกที่เป็นมากจะมีอาการทางจิตที่เรียกว่า Korsakoff's psychosis

2.1.8 การรักษา

ในผู้ใหญ่หรือเด็กโตที่มีอาการของโรคเหน็บชารุนแรง การฉีดไทอะมีนในครั้งแรกอาจให้ได้สูงถึง 100 มิลลิกรัมทางเส้นเลือดดำโดยไม่มีอาการเป็นพิษใดๆ ผู้ฉีดควรจะพยายามฉีดไทอะมีนเข้าเส้นเลือดดำอย่างซ้ำๆ เพื่อให้ได้ผลการรักษาอย่างเต็มที่ในทันที

2.1.9 ผลของการได้รับวิตามินบี1 มากเกินไป

วิตามินบี1 เป็นวิตามินที่ละลายในน้ำจึงไม่มีการสะสมในร่างกาย โดยจะขับออกทางปัสสาวะ จึงมักไม่ปรากฏอาการเป็นพิษ การบริโภควิตามินบี1 ปริมาณสูงเกินความต้องการของร่างกายจะไม่ถูกดูดซึมและถูกขับออกมาทางปัสสาวะเกือบหมดภายใน 4 ชั่วโมง สารหรืออาหารที่เสริมฤทธิ์ของวิตามินบี1 ได้แก่ วิตามินบีรวม, วิตามินบี2 ,วิตามินบี3, กรดโฟลิก,วิตามินอี แมงกานีส, กำมะถัน และวิตามินซี

2.1.10 การเก็บรักษาคุณค่าทางอาหาร

การหุงต้มธรรมดาจะไม่สูญเสียวิตามินบี1 แต่ถ้าอาหารที่มีการเคี้ยวหรือใช้ความร้อนนานๆ เช่น นานาน ๆ หรือผสมกับด่าง เช่น โซดา ผงฟู จะทำให้สูญเสียวิตามินบี1 ได้ การหุงข้าวโดยการชาน้ำทิ้งหลายครั้ง ก็ทำให้สูญเสียวิตามินบี1 เพิ่มขึ้น ดังนั้นจึงควรเลือกข้าวที่สะอาดเพื่อจะได้ไม่ต้องชาน้ำทิ้งหลายครั้ง

การย่างหรืออบอาหารจำพวกเนื้อสัตว์อาจสูญเสียวิตามินบี1 ไม่เกิน 25 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การต้มหรือลวกเนื้อแล้วทิ้งน้ำไปจะทำให้สูญเสียวิตามินบี1 สูงถึง 50 เปอร์เซ็นต์ แต่ถ้ารับประทานทั้งเนื้อและน้ำด้วยจะสูญเสียวิตามินบี1 ไปประมาณ 25 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น การต้มผักในน้ำน้อย ๆ ให้สุกโดยเร็วจะสูญเสียวิตามินบี1 น้อยกว่าการต้มนาน ๆ ในน้ำมาก ๆ

2.1.11 คุณประโยชน์ของวิตามินบี1 [7]

1. ป้องกันและรักษาอาการพิษสุราเรื้อรัง

คนป่วยที่เป็นโรคพิษสุราเรื้อรังจะขาดวิตามินบี1 เพราะแอลกอฮอล์ทำลายวิตามินบี1 ที่มีอยู่ในร่างกายได้

2. ปกป้องหัวใจ

การขาดวิตามินบี1 เป็นสาเหตุแห่งการตายของกล้ามเนื้อหัวใจ ซึ่งแสดงออกโดยการที่หัวใจโต แต่ขาดพลังในการสูบฉีดโลหิต เมื่อใดที่ขาดแคลนวิตามินบี1 หัวใจจะเป็นอวัยวะแรกที่กระทบกระเทือน การขาดวิตามินบี1 ในระยะแรกจะทำให้หัวใจเต้นช้าลง และเมื่อภาวะขาดวิตามินรุนแรงขึ้น กล้ามเนื้อหัวใจจะเกิดการสะสมของกรดไพโรวิกและแลคติกกลายเป็นอาการปวดเสียวหัวใจ การศึกษาในมนุษย์โดยตรวจดูหัวใจของผู้ที่ป่วยตายด้วยโรคหัวใจ พบว่ากล้ามเนื้อหัวใจของผู้เสียชีวิตด้วยเหตุหัวใจวายจะมีปริมาณวิตามินบี1 ต่ำกว่าหัวใจของผู้ป่วยที่ตายด้วยโรคสาเหตุอื่น ๆ ถึงแม้การขาดวิตามินบี1 มิใช่สาเหตุโดยตรงของโรคหัวใจ แต่เราสามารถป้องกันโรคหัวใจได้โดยกินวิตามินบี1 หรือข้าวซ้อมมือในปริมาณที่เพียงพอ

3. พิทักษ์ระบบประสาทและกล้ามเนื้อ

วิตามินบี1 จำเป็นต่อกล้ามเนื้อร่างกายทั้งกล้ามเนื้อลายและกล้ามเนื้อเรียบหากขาดวิตามิน

บี1 ระบบในร่างกายของจะแปรปรวน เช่น ปวดศีรษะ ประสาทอ่อน เส้นประสาทอักเสบ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า กระเพาะอาหารบีบตัวลดลง ลดปริมาณน้ำดี นำย่อยจากตับอ่อนและลำไส้เล็ก ทำให้เกิดอาการไม่สบายใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ท้องอืด จุกเสียด เบื่ออาหาร น้ำหนักตัวลด เมื่อกล้ามเนื้อขาดวิตามินบี1 จะทำให้ทำงานได้ไม่เต็มที่หรืออาจเป็นอัมพาตเฉพาะส่วน ถ้าเป็นที่แขนขา ก็ปรากฏในรูปตะคริว เหน็บชาแต่อาจปรากฏที่อื่น เช่น กล้ามเนื้อตาทำให้กลายเป็นโรคหนังตาตก เป็นต้น

4. รักษาโลหิตจาง

สาเหตุหลักรักษากภาวะโลหิตจางเพราะร่างกายใช้เหล็กสร้างเม็ดเลือดแดง แต่ยังมีโรคโลหิตจางประเภทหนึ่งเรียกในทางการแพทย์ว่า 'Thiamine Responsive Anemia Syndrome' เป็นโรคโลหิตจางประหลาดเพราะคนที่เป็นโรคนี้อาการโลหิตจางโดยไม่ขาดธาตุเหล็กและวิตามินบี1 แต่เมื่อให้วิตามินบี1 ปริมาณสูง (100 มิลลิกรัมต่อวัน) โรคนี้อาจหายไป นักวิทยาศาสตร์เชื่อว่าเกิดจากความผิดปกติในการแปรรูปวิตามินบี 1 ให้เป็นสารพร้อมใช้งาน

5. ขับพิษตะกั่ว (จากมลภาวะ)

ตะกั่วเป็น โลหะหนักที่เราต้องเผชิญในชีวิตประจำวัน มีการศึกษาพบว่าวิตามินบี1 จัดเป็นสารต้านพิษตะกั่ว สัตว์ทดลองที่ได้รับการฉีดวิตามินบี1 ในขนาดสูง 10 เท่าของปกติ จะสามารถป้องกันพิษและการสะสมของตะกั่วในสมอง ตับ ไต และเนื้อเยื่อ นอกจากนี้การรับประทานข้าวซ้อมมือเป็นประจำอาจช่วยลดพิษจากมลภาวะได้

6. ส่งเสริมบุคลิกภาพและเชาวน์ปัญญา

ผู้ที่ขาดวิตามินบี1 หรือบริโภควิตามินบี1 ต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานเป็นเวลานาน ซึ่งก็หมายถึงคนส่วนใหญ่ในโลกนี้จะขี้หลงขี้ลืม ขาดความกระตือรือร้น ขาดความคิดริเริ่มสร้างสรรค์ ความคิดวุ่นวายสับสน และมีภาวะซึมเศร้า ที่เป็นเช่นนี้เพราะเซลล์สมองซึ่งทำหน้าที่เกี่ยวกับความคิดความจำจะอาศัยน้ำตาลในกระแสเลือดเป็นแหล่งพลังงาน เมื่อปราศจากวิตามินบี1 น้ำตาลในกระแสเลือดจึงไม่อาจเปลี่ยนเป็นพลังงานให้แก่สมองได้

7.) ควบคุมเบาหวาน

วิตามินบี1 อาจไม่มีผลต่อการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดของคนไข้เบาหวานโดยทั่วไป แต่จะมีคนไข้อีกประเภทหนึ่งที่เป็นเบาหวานเทียมกล่าวคือ ร่างกายไม่ยอมรับน้ำตาลกลูโคสเหมือนคนเป็นเบาหวาน แต่เมื่อได้รับวิตามินบี1 ติดต่อกันภาวะน้ำตาลสูงสามารถกลับคืนปกติได้ และเป็นความจริงอย่างยิ่งว่าคนเป็นเบาหวานควรรับประทานข้าวซ้อมมือ เพราะเป็นแป้งเชิงซ้อนไม่ทำให้น้ำตาลพุ่งสูง

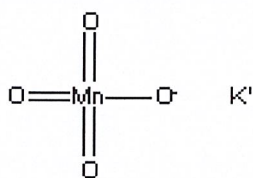
8. เสริมการรักษาโรคติดเชื้อ

มีรายงานว่าวิตามินบี1 สามารถช่วยการรักษาโรคติดเชื้อและเริ่มบางชนิดให้หายเร็วขึ้น วิตามินบี1 ช่วยกระตุ้นการทำงานของเซลล์คุ้มกัน โรคตัวหนึ่งที่มีชื่อว่าโทรฟิลล์

9. ป้องกันโรคไหลตาย (Suds)

ในทางการแพทย์เรียกว่า 'SUDS' หรือย่อจาก 'Sudden Unexplained Death Syndrome' เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับครูผู้สอนเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า แปลว่า อาการตายเฉียบพลันโดยไม่ทราบสาเหตุ และพบว่าคนที่ตายมีภาวะขาดวิตามินบี1 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต (Potassium permanganate) [8]



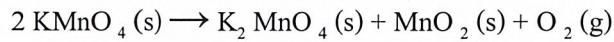
รูปที่ 2.5 โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต (Potassium permanganate)

ตารางที่ 2.3 แสดงคุณสมบัติของโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต

ชื่อ IUPAC	Potassium permanganate
ชื่อเรียกอื่น	Permanganic acid potassium salt, chameleon mineral, ค้างทับทิม
CAS No.	7722-64-7
สูตรโมเลกุล	KMnO_4
น้ำหนักโมเลกุล	158.03
จุดหลอมเหลว	240 องศาเซลเซียส
รูปร่าง	ลักษณะเป็นเข็มสีม่วง – บรอนซ์เทา
กลิ่น	ไม่มีกลิ่น
ความหนาแน่น	2.703 g/cm^3
การละลายในน้ำ	$6.38 \text{ g/100 ml (20 }^\circ\text{C)}$ $25 \text{ g/100 ml (65 }^\circ\text{C)}$
การละลาย	ละลายในน้ำ แอลกอฮอล์ และตัวทำละลายอินทรีย์
โครงสร้างผลึก	Orthorhombic

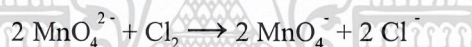
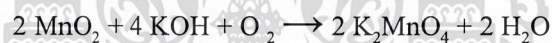
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตเป็นสารประกอบอนินทรีย์ มีสูตรโครงสร้างคือ KMnO_4 เป็นเกลือที่ประกอบด้วยโพแทสเซียมไอออน (K^+) และแมงกานีสออกไซด์ไอออน (MnO_4^-) รู้จักในรูปของ permanganate of potash หรือ Condy's crystals โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตมีลักษณะเป็นผลึกรูปเข็มสีม่วงเทา เป็นของแข็งที่อุณหภูมิห้อง ละลายน้ำได้ดี เป็นตัวออกซิไดซ์ที่แรง เมื่อละลายน้ำจะได้สารละลายเป็นสีม่วงและจะออกซิไดซ์ได้ดีเนื่องจากโมเลกุลมีออกซิเจนอยู่มาก โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตมีฤทธิ์เป็นเบสอ่อนๆ สลายตัวเมื่อสัมผัสกับแสง



2.2.1 โครงสร้างและการเตรียม

โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตเป็นผลึกอยู่ในรูปแบบออร์โธโรมบิก (orthorhombic) มีค่าคงที่ : $a = 910.5 \text{ pm}$, $b = 572.0 \text{ pm}$, $c = 742.5 \text{ pm}$ เป็นพันธะ Mn-O ระยะห่าง 162.9 pm สามารถผลิตได้จากแมงกานีสออกไซด์ ซึ่งเกิดจากแร่ไพโรลูไซต์ (pyrolusite) แมงกานีสออกไซด์ผสมกับโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ และความร้อนในอากาศจะได้โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต หรือแมงกานีสออกไซด์กับโพแทสเซียมไนเตรตจะได้โพแทสเซียมแมงกาเนตซึ่งเมื่อเกิดออกซิเดชันในสารละลายอัลคาไลน์จะให้โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต



เปอร์แมงกาเนตยังสามารถทำได้จากสารละลายแมงกานีส (II) ไอออน (Mn^{2+}) กับตัวออกซิไดซ์ที่แรงเช่นเลดไดออกไซด์ (PbO_2) หรือโซเดียมบิสมูเทรต (NaBiO_3) ปฏิกริยาเหล่านี้จะให้สีม่วงสดของเปอร์แมงกาเนตสำหรับทดสอบหาแมงกานีส

2.2.2 การใช้งาน

เกือบทุกการใช้งานของโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในด้านของคุณสมบัติออกซิไดซ์ ซึ่งเป็นตัวออกซิเดนต์ที่ไม่ก่อให้เกิดสารพิษตกค้าง โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตยังสามารถใช้ได้หลายด้านดังนี้

1. ยาฆ่าเชื้อและบำบัดน้ำเสีย

ทำหน้าที่เป็นตัวออกซิเดนต์ โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตสามารถทำหน้าที่เป็นยาฆ่าเชื้อโรค ตัวอย่างเช่น เจือจางสารละลายใช้ในการรักษาแผลเปื่อย ยาฆ่าเชื้อสำหรับมือ แผลพุพอง โรคผิวหนัง เชื้อรา และการติดเชื้อของมือหรือเท้า โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตมีการใช้อย่างกว้างขวาง ในอุตสาหกรรมบำบัดน้ำเสียใช้เป็นสารเคมีในการกำจัดเหล็กและไฮโดรเจนซัลไฟด์ (แก๊สไข่เน่า) จากน้ำที่ผ่านทาง "Manganese Greensand Filter" และยังใช้ "Pot - Perm" ไล่ลงในสระว่ายน้ำเพื่อบำบัดน้ำเสีย ในอดีตโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตใช้ในการฆ่าเชื้อน้ำดื่ม แต่

ขณะนี้พบการประยุกต์ใช้ในการเก็บน้ำจืดและระบบบำบัดน้ำเสีย อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ชีวการแพทย์

นอกจากใช้โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตสำหรับการบำบัดน้ำเสีย เกล็ดของโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตนี้นำมาใช้งานทำเป็นยาฆ่าเชื้อเฉพาะสำหรับการรักษาโรคของมนุษย์และสัตว์ในเนื้อเยื่อ โดยจะใช้ในการฟอกสีเมลานินใช้ในการปิดกั้นเนื้อเยื่อ โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตยังสามารถใช้ในการแยกความแตกต่าง amyloid AA จากประเภทอื่นๆ ของ amyloid pathologically ในเนื้อเยื่อของร่างกาย โดยบ่มเพาะเนื้อเยื่อถาวรกับโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตเพื่อจะป้องกัน amyloid AA จาก congo red ในขณะที่ amyloid ชนิดอื่นๆ จะไม่ได้รับผลกระทบ เปอร์แมงกาเนตถูกนำมาใช้ในการรักษา โรคหนองใน และยังใช้ในการรักษา เชื้อรา

3. การสังเคราะห์สารอินทรีย์

นอกเหนือจากการนำไปใช้ในการบำบัดน้ำเสีย การประยุกต์ใช้ที่สำคัญของโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตคือใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ของสารประกอบสารอินทรีย์ ใช้ในการสังเคราะห์วิตามินซี โคลามฟนิคอลล แซกคาริน ไอโซนิโคตินิก แอซิด และไพราซิโนอิก แอซิด

4. การรักษาผลไม้

ใช้โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตสำหรับการส่งออกกล้วยเพื่อยืดระยะเวลาการสุกของกล้วย

5. ด้านเคมี

5.1 วิเคราะห์

โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตสามารถใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณ total oxidisable organic material ในตัวอย่างที่มีน้ำเป็นตัวทำละลาย ค่าที่ได้จากการตรวจวัด คือค่าของเปอร์แมงกาเนต ในเคมีวิเคราะห์สารละลายมาตรฐาน โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตในบางครั้งใช้เป็นออกซิไดซ์ไทเทรนต์ สำหรับปฏิกิริยารีดอกซ์ไทเทรชัน (เปอร์แมงกาโนเมตรี) สามารถใช้เป็นสารเพื่อตรวจสอบ the Kappa number ของเยื่อไม้ นอกจากนี้ยังใช้สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตในปฏิกิริยารีดักชันของกรดออกซาลิก

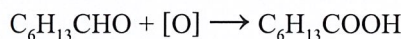
5.2 อินทรีย์

สารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่เจือจาง สามารถเปลี่ยนแอลคีน (Alkene) เป็น diols (ไดออล) ลักษณะการทำงานนี้สามารถใช้ในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพของพันธะคู่หรือพันธะสามในโมเลกุลเนื่องจากปฏิกิริยา decolourises สารละลายเกล็ดของเปอร์แมงกาเนต บางครั้งเรียกว่า เบเยอร์รีเอเจนต์ (Baeyer's reagent) อย่างไรก็ตาม โบรมีนเป็นตัวที่ใช้ในการตรวจหาปริมาณสารที่ไม่อิ่มตัวได้ดี (พันธะคู่หรือพันธะสาม) โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตเป็นตัวออกซิไดซ์ที่ดีมาก สามารถทำปฏิกิริยากับสารที่มีสิ่งเจือปนในกลุ่มตัวอย่าง ภายใต้สภาวะที่เป็นกรดแอลคีนมีพันธะคู่สามารถแตกตัวให้กรดคาร์บอกซิลิก



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตเปลี่ยนแอลดีไฮด์เป็นคาร์บอกซิลิกแอซิด เช่น นอร์มอล- เฮพเทน เปลี่ยนไปเป็นเฮพทานอิกแอซิด



แม้กลุ่มอัลคิลบนวงแหวนอะโรมาติก สามารถออกซิไดซ์ เช่น โทลูอิน กับ กรดเบนโซอิก

5.3 ปฏิกริยากับกรด

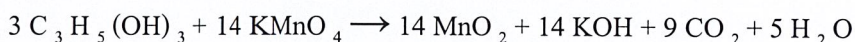
กรดซัลฟูริกเข้มข้นทำปฏิกริยากับโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตได้เป็นแมงกานีส (VII) ออกไซด์ (Mn_2O_7) ซึ่งสามารถทำระเบิดได้ ในทำนองเดียวกันกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นจะให้คลอรีน แมงกานีสที่เป็นผลิตภัณฑ์จากปฏิกริยารีดอกซ์จะขึ้นอยู่กับค่าพีเอช สารละลายกรดของเกลือของแมงกานีสจะรีดิวส์ไปเป็นแมงกานีส (II) อีออน (Mn^{2+}) สีชมพูอ่อนและน้ำในสารละลายที่เป็นกลางของเกลือแมงกานีสเท่านั้นที่จะรีดิวส์จะให้ $3e^-$ กับ แมงกานีสออกไซด์ (MnO_2) แมงกานีสในสถานะออกซิเดชัน มีเลขออกซิเดชันเท่ากับ +4 วัสดุที่สัมผัสโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตจะเกิดรอยต่างของโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต การสังเกตปฏิกริยาเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกรดซัลฟูริกเมื่อเติมโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต อย่างไรก็ตามเป็นปฏิกริยาที่เกิดอาจจะเห็นได้ไม่ชัดเจน โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตและกรดซัลฟูริกทำปฏิกริยาในบางครั้งได้ไอโซน ซึ่งมีการออกซิไดซ์ที่ให้พลังงานสูงและถูกออกซิไดซ์อย่างรวดเร็วด้วยแอลกอฮอล์ ปฏิกริยาเหล่านี้ยังผลิตระเบิดแมงกานีส (VII) ออกไซด์ (Mn_2O_7) ควรให้ความสำคัญกับการดูแลเป็นอย่างดี

5.4 การจัดการ

เป็นตัวออกซิไดซ์ที่ให้ผลิตภัณฑ์เป็นแมงกานีสออกไซด์ (MnO_2) สีน้ำตาลเข้ม ทำให้เกิดการบป้อนอย่างรวดเร็วกับสารอินทรีย์เกือบทุกชนิด เช่น ผิว กระดาษ และเสื้อผ้า สีข้อมนี้ใช้ในการพัฒนาแผ่น TLC ปฏิกริยารีดอกซ์จะถูกใช้เกี่ยวกับซิลปะ เป็นตัวเตรียมสำหรับการฟอกสีกระดาษได้อย่างรวดเร็ว เครื่องแก้วผิวเรียบที่มีสารละลายของโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตจะกลายเป็นแมงกานีสออกไซด์ที่มีสีน้ำตาล จะสามารถลบออกโดยขัดกับกรดเจือจางหรือด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์

5.5 ความปลอดภัย

โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตเป็นตัวออกซิไดซ์ที่แรงมากจึงควรเก็บแยกออกจากสารที่สามารถเกิดออกซิไดซ์ได้ ในการเกิดปฏิกริยากับกรดซัลฟูริกเข้มข้น สามารถผลิตระเบิดที่มีความรุนแรงได้แมงกานีส (VII) ออกไซด์ (Mn_2O_7) เมื่อโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตผสมกับกลีเซอรอลบริสุทรีหรือแอลกอฮอล์ ก็จะทำให้เกิดการเผาไหม้เกิดปฏิกริยารุนแรง



โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตอาจทิ้งรอยต่างสีน้ำตาลอ่อนซึ่งสามารถลบออกได้โดยใช้โซเดียมไบซัลไฟต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 อัลตราไวโอเลตและวิสิเบิลสเปกโทรสโกปี [9]

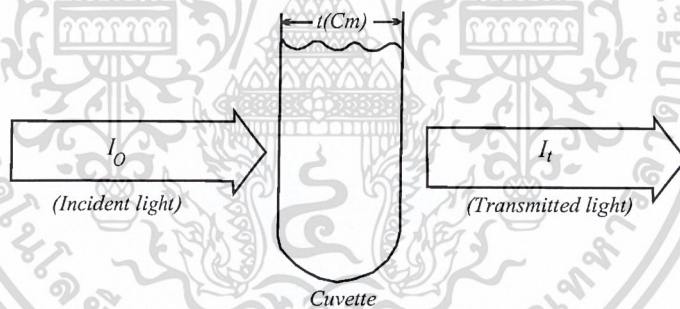
2.3.1 หลักการของ UV-Visible Spectrophotometer

UV-Visible spectrophotometer เป็นเทคนิคการวิเคราะห์สารโดยใช้หลักการดูดกลืนแสงที่อยู่ในช่วงอัลตราไวโอเลตและวิสิเบิล ช่วงความยาวคลื่นประมาณ 190-1000 นาโนเมตรของสารเคมีซึ่งโดยส่วนใหญ่จะเป็นสารอินทรีย์ (organic compound) สารประกอบเชิงซ้อน (complex compound) และสารอนินทรีย์ (inorganic compound) โดยนำสารตัวอย่างใส่ในเซลล์ที่ใส่ตัวอย่างแล้ววางในบริเวณใกล้แหล่งกำเนิดแสง สารตัวอย่างจะดูดกลืนรังสีหรือแสงบางส่วนไว้แสงที่ไม่ดูดกลืนจะผ่านออกมายังเครื่องวัดแสงแล้วทำการวัดปริมาณแสงออกมาโดยการหักล้างกับปริมาณของแสงก่อนดูดกลืน จากนั้นจะทำการประมวลผลเป็น curve หรือ spectrum ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) และค่าความยาวคลื่น

2.3.2 กฎแห่งการดูดกลืนแสง [10]

กฎการดูดกลืนแสงที่สำคัญที่เกี่ยวข้องกับสเปกโทรสโกปีมีอยู่ 2 กฎ ดังนี้คือ

1. กฎของแลมเบิร์ต (Lambert's law) กล่าวว่า “ เมื่อแสงสีเดียวหรือแสงความยาวคลื่นเดียวผ่านตัวกลางเนื้อเดียว (homogeneous) สัดส่วนของความเข้มแสงที่ถูกตัวกลางนั้นดูดกลืนไว้จะมีค่าแปรผันตรงกับความหนาของตัวกลางนั้น ”



รูปที่ 2.6 แผนภาพแสดงแสงความยาวคลื่นเดินทางผ่านตัวกลาง

เขียนในรูปสมการได้ดังนี้

$$\log \frac{I}{I_0} = \epsilon b$$

เมื่อ

I = ความเข้มของแสงความยาวคลื่นเดียว

ϵ = สัมประสิทธิ์ของการดูดกลืนแสง ปกติเปลี่ยนแปลงตามความยาวคลื่นและ

อุณหภูมิ

I_0 = ความเข้มของแสงก่อนผ่านตัวกลาง เมื่อ $b = 0$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ของสำนักหอสมุดกลางพระจอมเกล้าลาดกระบัง อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากสมการจะเห็นได้ว่าแสงในแต่ละความยาวคลื่นเมื่อเคลื่อนที่ผ่านตัวกลางที่เป็นเนื้อเดียวกันแล้วความเข้มของแสงจะลดลงเป็นแบบ Exponential กับความหนาของตัวกลางนั้น ๆ

2. กฎของเบียร์ (Beer's law) กล่าวไว้ว่า “เมื่อแสงที่ความยาวคลื่นหนึ่งผ่านตัวกลางเนื้อเดียว สัดส่วนของความเข้มแสงที่ถูกตัวกลางนั้นดูดกลืนไว้จะแปร โดยตรงกับค่าความเข้มข้นของสารตัวกลางนั้น” เขียนในรูปสมการได้ดังนี้

$$\text{Log } \frac{I}{I_0} = \epsilon bc$$

$$I_0$$

$$A = \epsilon bc$$

เมื่อ c = ความเข้มข้นของสารในหน่วย โมล/ลิตร

A = ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance)

2.3.2 หลักการทำงานของ UV-Visible Spectrophotometer

เครื่องชนิดนี้มี photoelectric cell เป็น sensing element กระแสที่เกิดขึ้นโดย photoelectric cell จะถูกเปลี่ยนไปเป็นเปอร์เซ็นต์ทรานสมิชชันหรือค่าแอบซอเบแนนซ์ โดยเครื่องกัลป์วานอมิเตอร์ (Galvanometer) แหล่งกำเนิดแสงเป็นหลอดไฟธรรมดา คือ หลอดทังสแตน (tungsten lamp) และแสงโมโนโครมาติก (Monochromatic Light) ที่ได้จากการให้ลำแสงส่งผ่านแก้วปริซึมหรือดิฟแฟรกชันเกรตติง (Diffraction grating) อย่างใดอย่างหนึ่งเพื่อให้ได้แสงโมโนโครมาติกที่มีความยาวคลื่นในช่วงแสงที่มองเห็นได้ นอกจากนี้เครื่องมือชนิดนี้ยังสามารถให้แสงในช่วงอัลตราไวโอเล็ต (Ultraviolet) และช่วงใกล้อินฟราเรด (Near Infrared) ได้อีกด้วย

2.3.3 ส่วนประกอบที่สำคัญของ UV-Visible Spectrophotometer



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนรูปที่ 2.7 แผนภาพแสดงเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer ระเบียบขั้นตอนการดำเนินงาน
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. แหล่งกำเนิดรังสี (Source) [11] คือ แหล่งกำเนิดรังสีในสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่นิยมใช้กันแพร่หลาย มีดังนี้

1.1 หลอดไฮโดรเจนและหลอดควิเทียมความดันต่ำ เป็นแหล่งกำเนิดรังสีต่อเนื่องที่ดีที่สุดตั้งแต่ช่วงความยาวคลื่นประมาณ 160-360 nm มีทั้งประเภทใช้ศักย์ไฟฟ้าสูง (2200-6600 โวลต์) และประเภทใช้ศักย์ไฟฟ้าต่ำ (ประมาณ 40 โวลต์) หลอดชนิดนี้ให้รังสีที่มีความเข้มสูงจนถึงความยาวคลื่นประมาณ 360 nm หลังจากนั้นความเข้มของรังสีจะลดลงอย่างรวดเร็ว



รูปที่ 2.8 แผนภาพแสดงหลอดรังสีที่ใช้เป็นแหล่งกำเนิดรังสีในสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

1.2 หลอดทังสเตน ประกอบด้วยหลอดทังสเตนอยู่ในหลอดสุญญากาศซึ่งให้รังสีที่มีความยาวคลื่น ตั้งแต่ช่วง UV ใกล้ช่วงแสงที่มองเห็นได้จนถึงช่วง IR หลอดชนิดนี้มีราคาถูกและหาได้ง่ายตามท้องตลาด

2. โมโนโครมาเตอร์ (Monochromator) เป็นส่วนสำคัญในการกำหนดคุณภาพของในสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ทำหน้าที่แยกลำรังสีที่มีความยาวคลื่นต่อเนื่องออกเป็นลำรังสีความยาวคลื่นเดียว ในช่วงที่แสงมองเห็นได้อาจใช้ปริซึมแก้ว ส่วนในช่วงของ UV จำเป็นต้องใช้ปริซึมที่ทำด้วยควอตซ์ สำหรับในสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่มีราคาแพงมักใช้โมโนโครมาเตอร์แบบ diffraction grating ซึ่งเป็นอุปกรณ์ที่มีร่องเป็นจำนวนมากและความกว้างของร่องใกล้เคียงกับความยาวคลื่นรังสี ซึ่งโมโนโครมาเตอร์จะประกอบไปด้วย

-ช่องที่ปล่อยให้แสงเข้า (entrance slit)

-กระจกและเลนส์ (mirror และ lens)

-ส่วนที่ใช้ทำให้แสงกระจายออกเป็นความยาวคลื่นต่าง ๆ กันเพื่อให้เหมาะแก่การเลือกใช้หรืออาจเป็นส่วนที่ตัดแสงบางช่วงออกไปให้เหลือเฉพาะช่วงคลื่นแสงที่ต้องการอุปกรณ์ส่วนนี้อาจ

ประกอบไปด้วยฟิลเตอร์ ปริซึม และเกรตติง

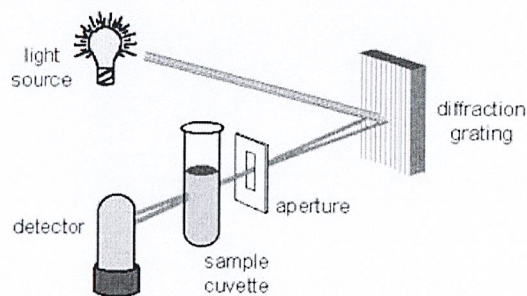
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ภายในเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. อุปกรณ์บันทึกสัญญาณ (Recorder) หลังจากทีลำรังสีมีความยาวคลื่นเดียวผ่านสารที่ต้องการวัดการดูดกลืนแล้วจะ ไปตกที่อุปกรณ์รับสัญญาณซึ่งให้ข้อมูลการดูดกลืนแสงแก่เรา สำหรับสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ราคาถูกข้อมูลนี้จะปรากฏออกมาในรูปป้ายเบนของเข็มบนหน้าปัดมิเตอร์หรือปรากฏเป็นตัวเลขก็ได้ ในกรณีเช่นนี้ต้องบันทึกข้อมูลเหล่านี้สำหรับแต่ละความยาวคลื่นในกระดาษกราฟ เส้นที่เชื่อมจุดต่าง ๆ หรือ สเปกตรัม (Spectrum) นั้นเอง สำหรับสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่สามารถเปลี่ยนความยาวคลื่นเองโดยอัตโนมัติจะมีอุปกรณ์ที่บันทึกสัญญาณอยู่ด้วย สามารถบันทึกออกมาเป็นสเปกตรัมได้โดยตรง ซึ่งสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ชนิดนี้มีราคาแพง

4. เซลล์บรรจุสารตัวอย่าง เนื่องจากแก้วธรรมดาดูดกลืนรังสีในช่วง UV จึงจำเป็นต้องใช้เซลล์ที่ทำด้วยควอตซ์แทน เซลล์ที่นิยมใช้มีความหนา 1.00 cm การรักษาความสะอาดเซลล์เป็นเรื่องที่สำคัญมากสำหรับการวัดสเปกตรัม ไม่ควรปล่อยให้ตัวทำละลายระเหยไปจนเหลือสารตัวอย่างติดอยู่กับเซลล์ ควรล้างเซลล์ให้สะอาดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์หรือน้ำกลั่นตามความเหมาะสม เช็ดผิวภายนอกเซลล์ด้วยกระดาษเช็ดเซลล์แล้วปล่อยให้แห้งในอากาศก็เป็นการเพียงพอ ไม่ควรใช้กรด โครมิกล้างเซลล์ ควรแยกเซลล์ที่ใช้บรรจุสารละลายของสารอินทรีย์ออกจากเซลล์ที่บรรจุสารอนินทรีย์เพื่อให้ง่ายต่อการล้างทำความสะอาด เซลล์ควอตซ์นี้มีราคาแพงจึงควรเก็บรักษาไว้อย่างดีที่สุด

2.3.4 ชนิดของเครื่องวัดการดูดกลืนแสง [12]

1. ชนิดลำแสงเดี่ยว (single beam type) ใช้ลำแสงลำเดียวกันสำหรับวัดสารอ้างอิง (reference หรือ blank) และสารตัวอย่าง (sample) การวัดความเข้มแสงกระทำโดยปรับ 0 %T แล้วปรับ 0 A หรือ 100 %T ด้วยสารอ้างอิง หลังจากนั้นวัดค่าของสารตัวอย่างในหน่วย A หรือ %T ชนิดลำแสงเดี่ยวมีข้อดีตรงที่มีองค์ประกอบน้อย และมีแสงผ่านไปยังสารตัวอย่างมากกว่าแบบอื่น ๆ แต่มีข้อเสียตรงที่มีเสถียรภาพในการอ่านค่าต่ำและค่าเปลี่ยนแปลงได้ง่าย นอกจากนี้ยังไม่สามารถกวาด (scan) ดูการดูดกลืนของแสงต่าง ๆ อย่างต่อเนื่องได้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
รูปที่ 2.9 แผนผังแสดงส่วนประกอบของเครื่อง UV-Vis spectrophotometer แบบลำแสงเดี่ยว

2. ชนิดลำแสงคู่ (double beam type) วัดความเข้มของแสงโดยการสะท้อนแสงที่ผ่านออกมาจากตัวแยกแสงให้ผ่านสารอ้างอิงและสารตัวอย่างสลับกัน ทำให้ความเข้มแสงที่ผ่านตัวอย่างลดลงครึ่งหนึ่ง วงจรจะขยายสัญญาณที่ได้จากการเปรียบเทียบสัญญาณที่ได้รับจากสารตัวอย่างกับสารอ้างอิงอยู่ตลอดเวลา ดังนั้นจึงมีเสถียรภาพในการวัดความเข้มของแสงดีมาก แต่เครื่องวัดชนิดนี้มีองค์ประกอบซับซ้อน เนื่องจากใช้ตัวไวแสงอันเดียวจึงต้องมีวงจรถอดสัญญาณ และใช้หลอดไฟกำเนิดแสงมีกำลังส่องสว่างสูง จึงทำให้มีราคาแพงกว่าเครื่องมือชนิดลำแสงเดี่ยว สำหรับเครื่องแบบลำแสงคู่ นั้น แสงจะถูกแยกออกเป็น 2 ลำ ก่อนที่จะไปตกลงบนตัวอย่าง โดยแสงลำหนึ่งจะใช้เป็นลำแสงอ้างอิง ขณะที่อีกลำจะผ่านไปยังตัวอย่าง เครื่องมือที่เป็นแบบลำแสงคู่บางรุ่นจะมีเครื่องตรวจวัด 2 ตัว เพื่อที่จะตรวจวัดแสงอ้างอิงและแสงที่มาจากตัวอย่างได้พร้อมกัน แต่ในบางรุ่นจะมีเครื่องตรวจวัดเพียงตัวเดียว โดยแสงทั้งสองลำจะผ่านตัว beam chopper ซึ่งจะทำหน้าที่กักแสงลำหนึ่งไว้ในช่วงระยะเวลาหนึ่งเครื่องตรวจวัดจึงสามารถตรวจวัดความแตกต่างของแสงทั้งสองลำได้



รูปที่ 2.10 แผนผังแสดงส่วนประกอบของเครื่อง UV-Vis spectrophotometer แบบลำแสงคู่

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

S.A. Al-Tamrah [13] ได้ใช้วิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีหรืออธิบายการหาปริมาณสารนิโคติน โดยอาศัยหลักการเกิดปฏิกิริยาระหว่างนิโคตินกับโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตในโซเดียมไฮดรอกไซด์ได้สารละลายสีเขียวที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 610 นาโนเมตร จากกฎของเบียร์จะมีช่วงความเข้มข้นตั้งแต่ 0.1-7.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ คือ 2.2 % สำหรับการทำซ้ำ 10 ครั้งที่มีความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ชิดจำกัดของการตรวจวัด คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

0.08 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการหาค่าพารามิเตอร์ที่เหมาะสมและวิธีการนี้ถูกนำไปใช้ในการวิเคราะห์หานิโคตินในบุหรื

M. A. Korany และคณะ [14] ได้ใช้วิธี extraction-spectrophotometric ในการวิเคราะห์ phenytoin ในแคปซูลและพลาสมา โดยอาศัยหลักการเกิดออกซิเดชันของ phenytoin โดยใช้สารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต ในคลอโรฟอร์ม:ไซโคลเฮกเซน (1:1) หลังจากเกิด crowning กับ dicyclohexano - 24 - Crown - 8 (DC - 24 - C - 8) benzophenone ที่เกิดขึ้นเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งตรวจวัดที่ 238 นาโนเมตร สภาวะที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาที่ศึกษาและขีดจำกัดของการตรวจวัดมีค่าเท่ากับ 1.2 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร วิธีการที่พัฒนาขึ้นนี้ นำไปใช้ในการตรวจวัดยาในแคปซูลและพลาสมา วิธีนี้เป็นวิธีที่ง่าย ถูกต้องและหลีกเลี่ยงการสกัด

U. V. Prasad และคณะ [15] ได้ใช้วิธีสเปกโตรโคมทรีในการตรวจสอบสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งพัฒนาโดยใช้โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตและเมทอล (p-N-methyl amino phenol) เมทอลถูกออกซิไดซ์ที่ pH 3.0 ด้วยโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตและจับกับสารต้านอนุมูลอิสระแล้วให้ความยาวคลื่นสูงสุดที่ 560 นาโนเมตรสำหรับ propyl gallate และ gallic acid และ 510 นาโนเมตรสำหรับ butylated hydroxy anisole วิธีนี้เป็นวิธีที่ง่าย ไว ความเที่ยงและความแม่นยำใน ± 1 เปอร์เซ็นต์ และนำไปใช้วิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ (gallic acid, propyl gallate and butylated hydroxy anisole) ในน้ำมันและไขมัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สารเคมี

1. วิตามินบี1 (Thiamine hydrochloride) บริสุทธิ์ 98.5-101.5% บริษัท ACROS organics
2. โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต (Potassium permanganate) บริสุทธิ์ 99.0% บริษัท CARLO ERBA reagents
3. กรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid) บริสุทธิ์ $96 \pm 1\%$ บริษัท CARLO ERBA reagents
4. น้ำปราศจากไอออน (Deionization water)
5. ตัวอย่างยาวิตามินบี1

3.2 เครื่องมือ

1. เครื่อง Spectrophotometer พร้อมเซลล์ควอตซ์
2. เครื่องชั่งน้ำหนักละเอียด 4 ตำแหน่ง
3. ขวดวัดปริมาตร
4. บีกเกอร์
5. ปิเปต
6. กระจกตวง
7. แท่งแก้วคนสาร
8. กระจกกรอง
9. ซ้อนตักสาร
10. ครกบดสาร
11. ลูกยาง

3.3 การเตรียมสารละลายเคมี

3.3.1 สารละลายสต็อกมาตรฐานวิตามินบี1 เข้มข้น 500 ppm

1. ชั่งวิตามินบี1 จำนวน 0.5004 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์
2. ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนเล็กน้อย
3. เติสารละลายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร
4. ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดบอกริมาตร จะได้สต็อก

สารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 เข้มข้น 500 ppm

5. เก็บไว้ในตู้เย็นสามารถเก็บไว้ได้นาน 1 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.2 สารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต เข้มข้น 0.02 โมลาร์

1. ชั่งโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต 3.2 กรัมลงในบีกเกอร์
2. ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน 1 ลิตร คนด้วยแท่งแก้วจนละลายหมด
3. ต้มบนแท่นให้ความร้อนนาน 1 ชั่วโมง
4. ปิดฝาทิ้งไว้ข้ามคืนจนเห็นตะกอนแมงกานีสออกไซด์
5. กรองสารละลายผ่านเครื่องกรองแบบลดความดัน จะได้สารละลาย

โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตเข้มข้น 0.02 โมลาร์

3.3.3 สารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 2.0 โมลาร์

1. เปิดสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 96 % จำนวน 111.4 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร
2. ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดบอกริมาตร จะได้สารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 2.0 โมลาร์

3.3.4 สารละลายตัวอย่าง (ความเข้มข้นวิตามินบี1 ประมาณ 1000 ppm)

1. นำตัวอย่างยิวตามินบี1 จำนวน 10 เม็ดมาบดให้ละเอียด
2. ชั่งตัวอย่างยาให้มีปริมาณวิตามินบี1 ที่เหมาะสมใส่บีกเกอร์แล้วละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน
3. เทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน จนถึงขีดบอกริมาตรแล้วเขย่าให้ให้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน
4. กรองสารละลายตัวอย่างที่ได้ผ่านกระดาษกรองใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายตัวอย่างเข้มข้น 1000 ppm

3.3.5 สารละลายตัวอย่าง (ความเข้มข้นวิตามินบี1 ประมาณ 500 ppm)

1. เปิดสารละลายตัวอย่างเข้มข้น 1000 ppm จำนวน 50 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร
2. ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดบอกริมาตร เขย่าผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน จะได้สารละลายตัวอย่างเข้มข้น 500 ppm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 วิธีการดำเนินการทดลอง

3.4.1 การหาความยาวคลื่นที่เหมาะสม

1. ปิเปตกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 2.0 โมลาร์ จำนวน 15 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร
2. ปิเปตโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต 0.02 โมลาร์ จำนวน 1 มิลลิลิตรลงไป
3. ปิเปตสารละลายมาตรฐานวิตามินบี 1 เข้มข้น 500 ppm จำนวน 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตรลงไป
4. ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดบอกปริมาตร เขย่าผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน
5. นำสารละลายที่เตรียมได้ไปสแกนสเปกตรัมเพื่อหาความยาวคลื่นที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ และบันทึกค่าการดูดกลืนแสง

3.4.2 การหาสภาวะที่เหมาะสม

3.4.2.1 การศึกษาความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟิวริก

1. ปิเปตกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.0 และ 3.0 โมลาร์ จำนวน 15 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร
2. ปิเปตโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต 0.02 โมลาร์ จำนวน 1 มิลลิลิตรลงไป
3. ปิเปตสารละลายมาตรฐานวิตามินบี 1 เข้มข้น 500 ppm จำนวน 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตรลงไป
4. ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดบอกปริมาตร เขย่าผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน
5. นำสารละลายที่เตรียมได้ไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 525 นาโนเมตร

3.4.2.2 การศึกษาความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต

1. ปิเปตกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 2.0 โมลาร์ จำนวน 15 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร
2. ปิเปตโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต 0.01 และ 0.02 โมลาร์ จำนวน 1 มิลลิลิตรลงไป
3. ปิเปตสารละลายมาตรฐานวิตามินบี 1 เข้มข้น 500 ppm จำนวน 1, 2, 3, 4 และ 5

เอกสาร 1 มิลลิลิตรลงไป ลงจนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดบอกปริมาตร เขย่าผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน

5. นำสารละลายที่เตรียมได้ไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 525 นาโนเมตร

3.4.2.3 การศึกษาปริมาตรของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต

1. ปิเปตกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 2.0 โมลาร์ จำนวน 15 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร

2. ปิเปตโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต 0.02 โมลาร์ จำนวน 0.5 และ 1 มิลลิลิตร ลงไป

3. ปิเปตสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 เข้มข้น 500 ppm จำนวน 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตรลงไป

4. ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดบอกปริมาตร เขย่าผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน

5. นำสารละลายที่เตรียมได้ไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 525 นาโนเมตร

3.4.3 การทำกราฟมาตรฐาน

1. ปิเปตกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 2.0 โมลาร์ จำนวน 15 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร

2. ปิเปตโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต 0.02 โมลาร์ จำนวน 1 มิลลิลิตรลงไป

3. ปิเปตสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 เข้มข้น 500 ppm จำนวน 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตรลงไป

4. ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดบอกปริมาตร เขย่าผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน

5. นำสารละลายมาตรฐานที่เตรียมได้ไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 525 นาโนเมตร

6. สร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ จากกราฟมาตรฐานที่ได้จากการทดลอง นำมาคำนวณหาสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient of Determination ; R^2) จากสมการเส้นตรงของการวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.4 การวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินบี1 ในตัวอย่างยา

1. ปิเปตกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 2.0 โมลาร์ จำนวน 15 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร
2. ปิเปตโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต 0.02 โมลาร์ จำนวน 1 มิลลิลิตร
3. ปิเปตสารละลายตัวอย่างยาวิตามินบี1 เข้มข้น 500 ppm จำนวน 2.5 มิลลิลิตร
4. ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดบอกริมาตร เขย่าผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน
5. นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 525 นาโนเมตร

3.4.5 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น

ทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินบี1 โดยอาศัยปฏิกิริยาระหว่างวิตามินบี1 กับโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตและทำการตรวจวัดด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี โดยพิจารณาถึง

3.4.5.1 ความแม่นยำของวิธีการวิเคราะห์ (accuracy)

ศึกษาโดยนำข้อมูลที่ได้จากการตรวจวัดวิตามินบี1 ในสารละลาย spiked sample และสารละลายตัวอย่างแล้วนำมาคำนวณหาร้อยละของการคืนกลับได้ (%recovery) จากสมการ

$$\% \text{Recovery} = \left(\frac{\bar{C}_{\text{Spiked sample}} - \bar{C}_{\text{Sample}}}{C_{\text{Standard}}} \right) \times 100$$

เมื่อ $\bar{C}_{\text{Spiked sample}}$ คือ ความเข้มข้นเฉลี่ยของวิตามินบี1 ในสารละลาย Spiked sample

\bar{C}_{Sample} คือ ความเข้มข้นเฉลี่ยของสารละลายตัวอย่าง

C_{Standard} คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่ใช้เติม

เกณฑ์การยอมรับค่า % Recovery อยู่ในช่วง 80 – 120%

ค่า $\bar{C}_{\text{Spiked sample}}$ และค่า \bar{C}_{Sample} สามารถหาได้จากการทดลองดังต่อไปนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.5.1.1 การตรวจวัดปริมาณวิตามินบี1 ในสารละลาย Spiked sample

1. ปิเปตกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 2.0 โมลาร์ จำนวน 15 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร
2. ปิเปตโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต 0.02 โมลาร์ จำนวน 1 มิลลิลิตร
3. ปิเปตสารละลายตัวอย่างยิวิตามินบี1 เข้มข้น 500 ppm จำนวน 2.5 มิลลิลิตร
4. ปิเปตสารละลายมาตรฐานยิวิตามินบี1 เข้มข้น 500 ppm จำนวน 1 มิลลิลิตร
5. ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดบอกปริมาตร เขย่าผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน
6. นำสารละลาย Spiked sample ที่เตรียมได้ไปวัดค่าดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 525 นาโนเมตร โดยใช้ น้ำปราศจากไอออนเป็นสารละลายเบลงค์ โดยแต่ละตัวอย่างทำการวัดซ้ำ 3 ครั้ง นำค่าไปเทียบหาความเข้มข้นของยิวิตามินบี1 จากกราฟมาตรฐานที่เตรียมได้ จะได้ $\bar{C}_{\text{Spiked sample}}$
7. ปิเปตกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 2.0 โมลาร์ จำนวน 15 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร
8. ปิเปตโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต 0.02 โมลาร์ จำนวน 1 มิลลิลิตร
9. ปิเปตสารละลายตัวอย่างยิวิตามินบี1 เข้มข้น 500 ppm จำนวน 2.5 มิลลิลิตร
10. ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดบอกปริมาตร เขย่าผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน
11. นำสารละลายที่เตรียมได้ไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 525 นาโนเมตร โดยใช้ น้ำปราศจากไอออนเป็นสารละลายเบลงค์ โดยแต่ละตัวอย่างทำการวัดซ้ำ 3 ครั้ง นำค่าไปเทียบหาความเข้มข้นของยิวิตามินบี1 จากกราฟมาตรฐานที่เตรียมได้ จะได้ \bar{C}_{Sample}
12. คำนวณร้อยละของการคืนกลับได้ (%Recovery) จากสมการข้างต้น

3.4.5.2 ความเที่ยงของการวิเคราะห์ (Precision)

ศึกษาโดยนำสารละลายตัวอย่างเข้มข้น 25 ppm มาตรวจวัดซ้ำ 3 ซ้ำ แล้วนำผลมาคำนวณหาค่าเฉลี่ย (Mean; \bar{X}) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation; SD) และร้อยละของการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%Relative Standard Deviation; %RSD) ของแต่ละความเข้มข้นจากสมการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\bar{X} = \frac{\sum X_i}{n}$$

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{n - 1}}$$

$$\% RSD = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100$$

3.4.5.3 ช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน

จากกราฟมาตรฐานนำมาคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient Determination; R^2) จากสมการต่อไปนี้

$$r = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\{[\sum_i \{(x_i - \bar{x})^2\}][\sum_i \{(y_i - \bar{y})^2\}]\}^{1/2}}$$

3.4.5.4 ขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (Limit of Detection; LOD) และค่าต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้โดยมีความถูกต้อง และความเที่ยงที่ยอมรับได้ (Limit of Quantitative)

นำสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 ที่ใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐานที่ความเข้มข้น 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยแต่ละความเข้มข้นทำการวัดซ้ำ 3 ครั้ง โดยเรียงลำดับตามความเข้มข้น นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อหาความเข้มข้นที่ตรวจวัดได้ แล้วนำมาสร้างกราฟเทียบกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 ที่เตรียมได้และนำค่าจุดตัดแกน y และค่าความชันมาคำนวณค่า LOD และ LOQ จากสมการ

$$LOD = \frac{3S_{x/y}}{slope}$$

$$LOQ = \frac{10S_{x/y}}{slope}$$

โดย $S_{x/y}$ คือ จุดตัดแกน y ของกราฟ

Slope คือ ความชันของกราฟ

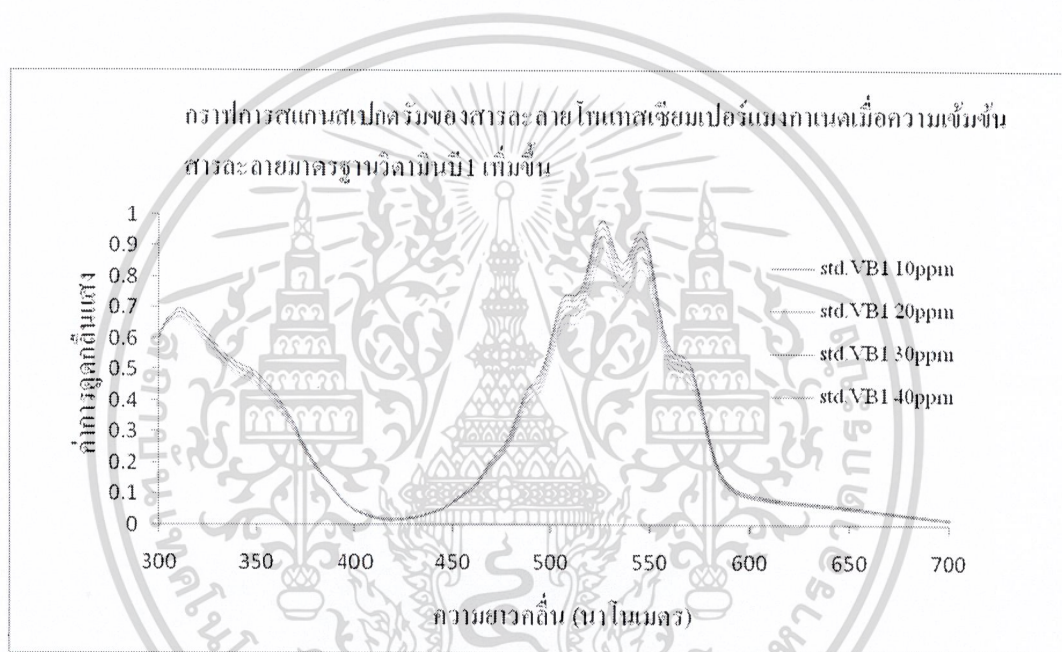
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและการอภิปรายผล

4.1 การหาความยาวคลื่นที่เหมาะสม

การศึกษาหาความยาวคลื่นที่เหมาะสมสำหรับการทดลอง ศึกษาโดยนำสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 ที่ความเข้มข้นต่างกัน ไปสแกนหาความยาวคลื่นที่สารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตสามารถดูดกลืนแสงได้ดีที่สุด ผลที่ได้แสดงดังกราฟ



ปีที่ 4.1 กราฟการสแกนสเปกตรัมของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตเมื่อความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 เพิ่มขึ้น

จากกราฟจะเห็นได้ว่าสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 เพิ่มขึ้นสามารถดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 525 นาโนเมตรได้ดีที่สุด ดังนั้นความยาวคลื่นที่เหมาะสมที่จะใช้ในการทดลองหาวิตามินบี1 คือ ความยาวคลื่นที่ 525 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การหาสภาวะที่เหมาะสม

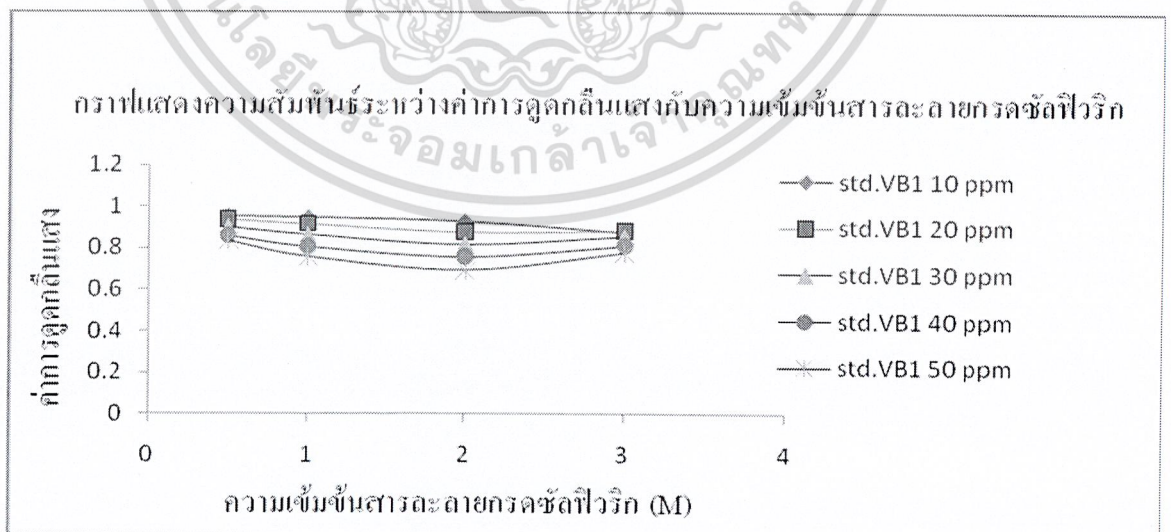
4.2.1 ศึกษาความเข้มข้นสารละลายกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสม

การศึกษาค้นหาความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสมสำหรับการทดลองศึกษาโดยนำสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้นต่างกันไปทำการทดลองได้ผลดังตารางที่ 4.1 และรูปที่ 4.2

ตารางที่ 4.1 แสดงผลการทดลองเมื่อปรับเปลี่ยนความเข้มข้นสารละลายกรดซัลฟิวริกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้น กรดซัลฟิวริก (M)	ค่าการดูดกลืนแสง					สมการเส้นตรง	R ²
	ความเข้มข้นสารละลายวิตามินบี 1 (ppm)						
	10	20	30	40	50		
0.5	0.9547	0.9384	0.9013	0.8612	0.8350	$y = -0.0032x + 0.9931$	0.9845
1.0	0.9495	0.9171	0.8668	0.8083	0.7573	$y = -0.0049x + 1.0078$	0.9913
2.0	0.9299	0.8770	0.8199	0.7587	0.6924	$y = -0.0059x + 0.9936$	0.9981
3.0	0.8763	0.8844	0.8584	0.8126	0.7775	$y = -0.0027x + 0.9227$	0.8778

จากตารางสามารถนำมาสร้างกราฟได้ผลดังนี้



รูปที่ 4.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นสารละลายกรดซัลฟิวริก
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับอาจารย์ผู้สอนเพื่อใช้ในการสอนเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
(M) ที่ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานวิตามินบี 1 แตกต่างกัน
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 4.1 และ รูปที่ 4.2 เมื่อศึกษาความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่ความเข้มข้นต่างกัน จากการทดลองพบว่าสถานะความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสมในการทดลอง คือ 2.0 โมลาร์เนื่องจากมีค่าการดูดกลืนแสงดีที่สุด ได้สมการเส้นตรงเท่ากับ $y = -0.0059x + 0.9936$ และค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.9981

4.2.2 ศึกษาความเข้มข้นสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่เหมาะสม

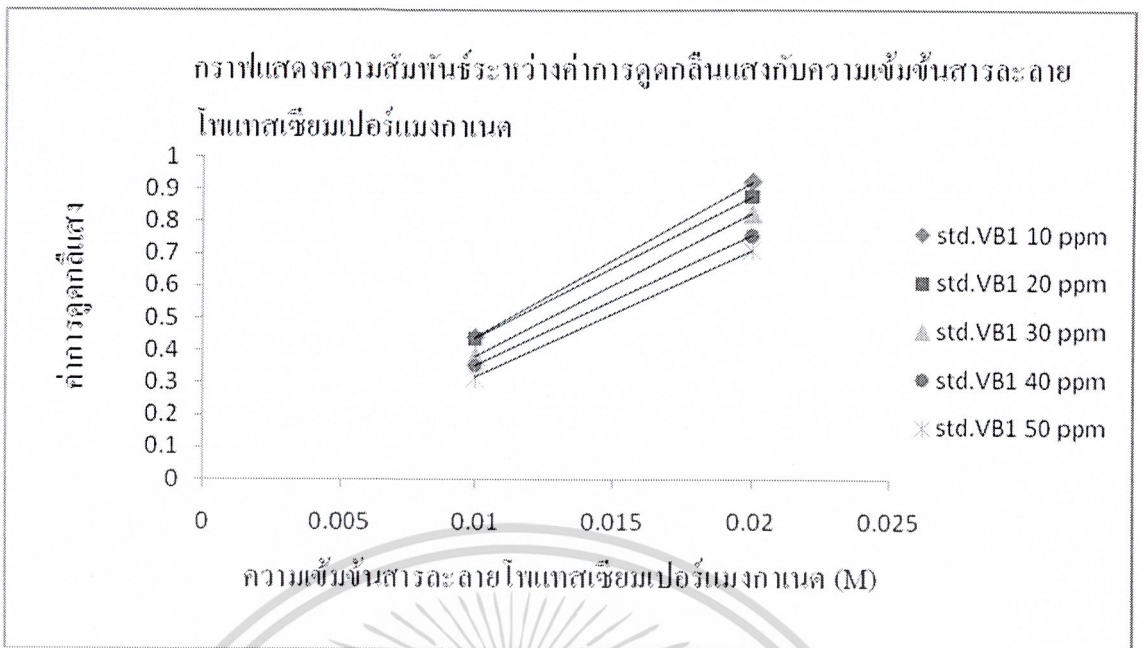
การศึกษาค้นหาความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่เหมาะสมสำหรับการทดลอง ศึกษาโดยนำสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตความเข้มข้นต่างกัน จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงแล้วพลอตกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตได้ผลดังตาราง 4.2 และ รูปที่ 4.3

ตารางที่ 4.2 แสดงผลการทดลองเมื่อปรับเปลี่ยนความเข้มข้นสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้น โพแทสเซียมเปอร์ แมงกาเนต (M)	ค่าการดูดกลืนแสง					สมการเส้นตรง	R^2
	ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานวิตามินบี 1 (ppm)						
	10	20	30	40	50		
0.01	0.4411	0.4367	0.3821	0.3523	0.3157	$y = -0.0033x + 0.4831$	0.9751
0.02	0.9299	0.8770	0.8243	0.7567	0.7102	$y = -0.0056x + 0.9875$	0.9974

จากตารางสามารถนำมาสร้างกราฟได้ผลดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นสารละลาย โปแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต (M) ที่ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 แตกต่างกัน

จากรายเมื่อศึกษาความเข้มข้นของสารละลาย โปแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่ความเข้มข้นต่างกัน พบว่าสภาวะความเข้มข้นของสารละลาย โปแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่เหมาะสมในการทดลอง คือ 0.02 โมลาร์ เนื่องจากมีค่าการดูดกลืนแสงดี ได้สมการเส้นตรงเท่ากับ $y = -0.0056x + 0.9875$ และมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.9974

4.2.3 ศึกษาปริมาตรสารละลายโปแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่เหมาะสม

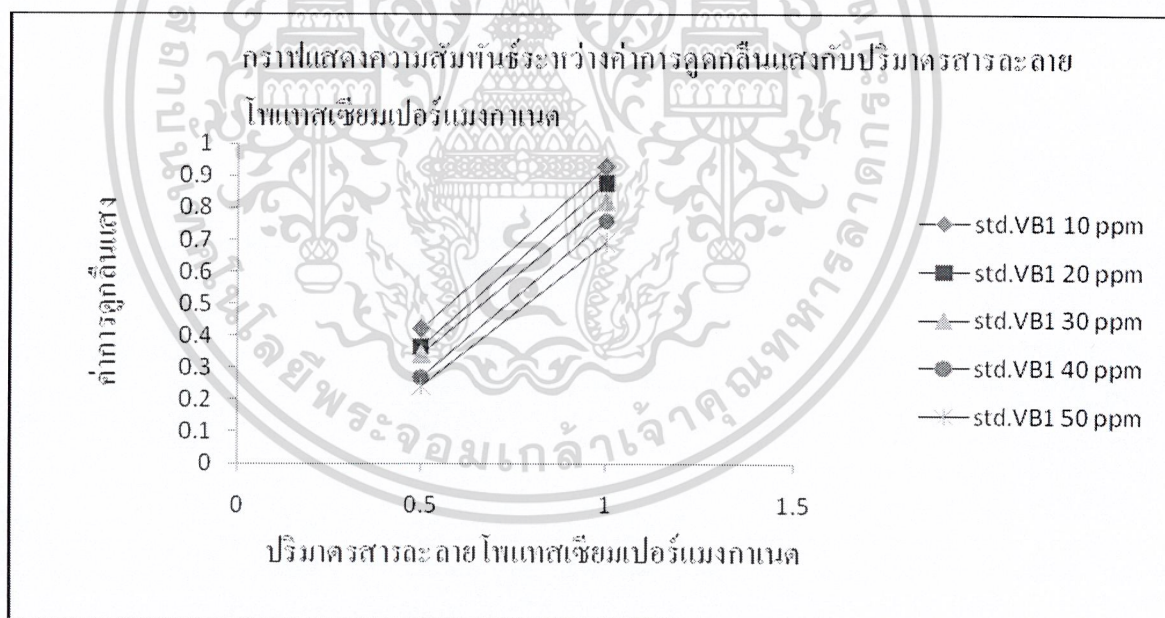
การศึกษหาปริมาตรของสารละลายโปแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่เหมาะสมสำหรับการทดลองศึกษาได้โดยนำสารละลายโปแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตปริมาตรต่างกัน จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงแล้วพลอตกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 ได้ผลดังตารางที่ 4.3 และ รูปที่ 4.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 แสดงผลการทดลองเมื่อปรับเปลี่ยนปริมาตรของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่ปริมาตรต่าง ๆ

ปริมาตร โพแทสเซียม เปอร์แมงกาเนต (ml)	ค่าการดูดกลืนแสง					สมการเส้นตรง	R ²
	ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 (ppm)						
	10	20	30	40	50		
0.5	0.4221	0.3656	0.3415	0.2693	0.2421	$y = -0.0046x + 0.4650$	0.9786
1.0	0.9299	0.8770	0.8199	0.7587	0.6924	$y = -0.0059x + 0.9936$	0.9981

จากตารางสามารถนำมาสร้างกราฟได้ผลดังนี้



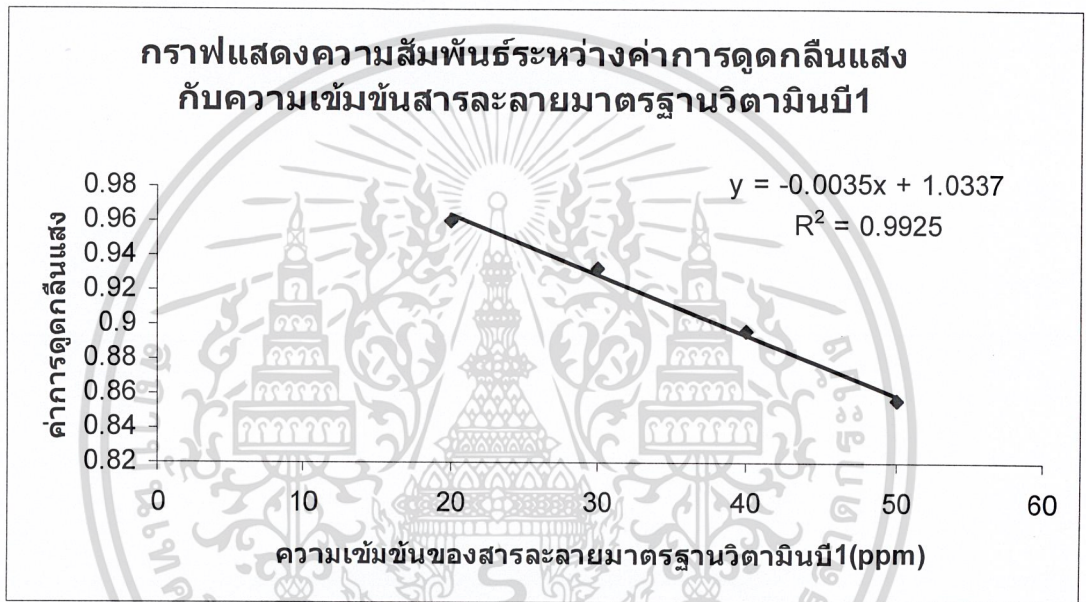
รูปที่ 4.4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาตรสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต (M) ที่ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางเมื่อศึกษาปริมาณของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่ต่างกัน พบว่า ปริมาณของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่เหมาะสมในการทดลองคือ 1.0 มิลลิตร เนื่องจากมีค่าการดูดกลืนแสงดี ได้สมการเส้นตรงเท่ากับ $y = -0.0059x + 0.9936$ ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสิ้นใจ (R^2) เท่ากับ 0.9981

4.3 การทำกราฟมาตรฐาน

จากการทดลองตามสถานะที่เหมาะสม คือ ใช้สารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตเข้มข้น 0.02 โมลาร์ที่ปริมาตร 1 มิลลิตรกับสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 2.0 โมลาร์ มาวิเคราะห์กับสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 ได้กราฟมาตรฐานดังรูป 4.5



รูปที่ 4.5 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1

จากกราฟมาตรฐานวิตามินบี1 ได้สมการเส้นตรง $y = -0.0035x + 1.0337$ ได้ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสิ้นใจ (R^2) เท่ากับ 0.9925 และจากการทดลองการตรวจวัดหาปริมาณวิตามินบี1 ในตัวอย่างยาได้ผลดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 แสดงผลการตรวจวัดปริมาณวิตามินบี 1 ที่มีในตัวอย่างยา

ชนิดตัวอย่างยา	น้ำหนักตัวอย่าง (g)	ปริมาณวิตามินบี1 ในตัวอย่าง (mg/g)
A	0.4310	119.07
B	0.4317	143.28
C	0.4308	117.12
D	0.4305	101.28
E	0.4307	110.14

4.4 การประเมินความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

โดยใช้หลักสถิติประเมินได้ผลดังนี้

4.4.1 การศึกษาความสัมพันธ์เชิงเส้น (Linearity)

จากกราฟสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 ได้สมการเส้นตรง $y = - 0.0035x + 1.0337$ และค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) มีค่าเท่ากับ 0.9925 ซึ่งเป็นค่าที่ยอมรับได้ (R^2 ไม่น้อยกว่า 0.99)

4.4.2 การศึกษาความถูกต้อง (Accuracy) ของวิธีการวิเคราะห์

ความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์โดยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรีศึกษาได้โดยการตรวจวัดปริมาณวิตามินบี1 ในสารละลาย spiked sample และในตัวอย่างที่ไม่มีการเติมสารมาตรฐานลงไป โดยแต่ละตัวอย่างทำการตรวจวัดซ้ำ 3 ครั้ง แล้วนำผลมาคำนวณหาร้อยละของการคืนกลับได้ (% Recovery)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 แสดงค่าร้อยละของการคืนกลับได้ (%Recovery)

ตัวอย่าง ยาวิตามิน บี1	ความ เข้มข้น วิตามินบี1 ในตัวอย่าง ยาที่พบ (ppm)	ความเข้มข้น สารละลาย มาตรฐาน วิตามินบี1 ที่ เติม(ppm)	ความเข้มข้นที่ตรวจพบ (ppm)			ความเข้มข้น เฉลี่ย (ppm)	%Recovery
A	34.57	10	39.63	39.17	37.89	38.89	90.60
		20	49.49	47.43	45.26	47.39	87.80
		30	57.09	56.23	52.69	55.34	85.03
B	41.71	10	44.03	43.57	46.86	44.82	88.90
		20	52.74	50.91	57.49	53.71	88.90
		30	63.23	60.29	65.63	63.05	90.40
C	33.98	10	33.09	41.06	38.43	37.53	82.00
		20	40.94	46.37	44.74	44.02	73.45
		30	52.51	52.54	52.11	52.39	76.87
D	29.33	10	37.89	37.91	32.89	36.23	108.60
		20	48.80	41.06	43.37	44.41	95.35
		30	64.97	58.97	50.46	58.13	109.30
E	32.00	10	38.57	28.71	34.23	33.84	62.10
		20	52.89	36.14	41.37	43.47	79.20
		30	57.11	46.29	49.57	55.99	94.53

จากตารางที่ 4.5 จะเห็นได้ว่าค่าร้อยละการคืนกลับ (% Recovery) อยู่ในช่วง 60-120 % ตัวอย่าง
การคำนวณแสดงไว้ในภาคผนวกที่ ข

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.3 การศึกษาความเที่ยง (Precision) ของวิธีวิเคราะห์

ความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรีศึกษาได้โดยการนำสารละลายตัวอย่างวิตามินบี1ที่ความเข้มข้น 25 ppm มาทำการตรวจวัดซ้ำ 3 ครั้ง แล้วนำผลมาคำนวณหาค่าเฉลี่ย (Mean; \bar{X}) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation; SD) และร้อยละของการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% Relative Standard Deviation; %RSD)

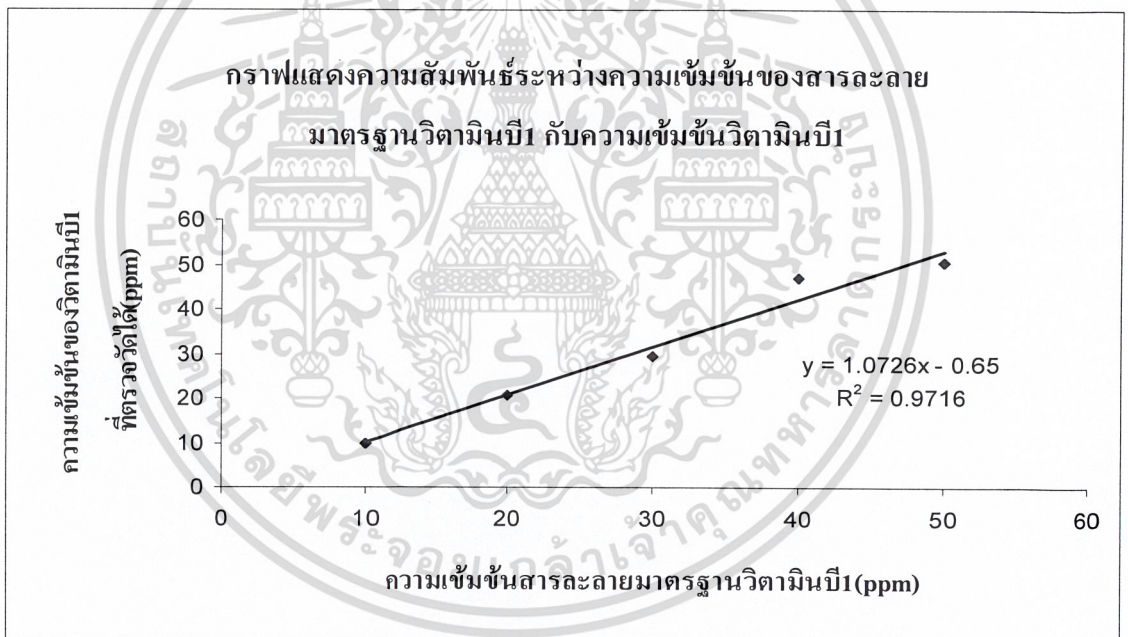
ตารางที่ 4.6 แสดงค่าร้อยละของการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (n = 3)

สารตัวอย่าง	ความเข้มข้นที่ใช้ (ppm)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	% RSD
A	25	3.50	11.73
B	25	2.31	6.43
C	25	7.08	24.14
D	25	3.76	14.84
E	25	6.81	24.65

จากตารางที่ 4.6 สารตัวอย่าง A, B, C, D, E จะได้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 3.50, 2.31, 7.08, 3.76 และ 6.81 และค่าร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 11.73, 06.43, 24.14, 14.84 และ 24.65 ตามลำดับ ในตัวอย่าง C และ E มีค่า %RSD สูงมาก เนื่องจากเกิดการรบกวนของเมทริกซ์ในตัวอย่างยาที่นำมาวิเคราะห์ ตัวอย่างการคำนวณแสดงไว้ในภาคผนวก ค.1

4.4.4 การศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (Limit of Detection; LOD) และ ขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้โดยมีความถูกต้องและความเที่ยงที่ยอมรับได้ (Limit of Quantitation ; LOQ)

ค่า LOD และ LOQ ศึกษาได้โดยการตรวจวัดปริมาณวิตามินบี1 ในสารละลายมาตรฐาน วิตามินบี1 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในช่วง 10-50 ppm โดยแต่ละตัวอย่างทำการตรวจวัดซ้ำ 3 ครั้ง จะ ได้ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย แล้วนำค่าที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานจะให้ความเข้มข้นที่ ตรวจวัดได้ แล้วนำมาสร้างกราฟเทียบกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 จะได้ กราฟดังแสดงในรูปที่ 4.6 นำค่าที่ได้จากกราฟ (ค่าจุดตัดบนแกนตั้งและค่าความชัน) มาคำนวณหา ค่า LOD และ LOQ ได้ค่าดังแสดงในภาคผนวกที่ ง.2 ซึ่งได้ค่า LOD เท่ากับ 1.82 และค่า LOQ เท่ากับ 6.06



รูปที่ 4.6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 กับค่า ความเข้มข้นของวิตามินบี1 ที่ตรวจวัดได้ (Detector Response)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาการตรวจวัดหาวิตามินบี 1 ในตัวอย่างยาเม็ด ซึ่งทางคณะผู้วิจัยมีจุดประสงค์ เพื่อหาวิตามินบี1 ที่ใช้ในการบ่งบอกถึงคุณภาพของยาวิตามินบี1 ตามร้านขายยาแผนปัจจุบันในท้องตลาด นอกจากนี้ยังต้องการตรวจสอบประสิทธิภาพ และความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรีว่าเป็นวิธีวิเคราะห์ที่มีความเที่ยงตรง ความแม่นยำในการให้ผลการวิเคราะห์ที่น่าเชื่อถือ และยอมรับได้หรือไม่ ซึ่งสามารถสรุปผลการวิเคราะห์ได้ดังนี้

สภาวะที่เหมาะสมที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินบี1 ในตัวอย่างยา โดยค่าความยาวคลื่นที่ใช้เท่ากับ 525 นาโนเมตร ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกเท่ากับ 2.0 โมลาร์ ความเข้มข้นสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต เข้มข้น 0.02 โมลาร์ และปริมาตรสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต 1 มิลลิลิตร

ตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์เตรียมจากการนำตัวอย่างยาวิตามินบี1 มาบดให้ละเอียดแล้วละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน จากนั้นปรับปริมาตรจนถึงขีดบอกปริมาตรแล้วมาทำการกรองสารละลายตัวอย่างยาให้ได้สารละลายใส และนำมาวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินบี1 โดยเติมสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของวิธี ทำโดยการนำสารละลายตัวอย่าง 2.5 มิลลิลิตรมาเติมสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 ที่ความเข้มข้น 500 ppm ที่ปริมาตรต่างๆ จากนั้นนำไปตรวจวัดด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ซึ่งสามารถวัดตัวอย่างยาวิตามินบี1 ชนิด A, B, C, D และ E ได้เท่ากับ 119.07, 143.28, 117.12, 101.28 และ 110.14 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักเม็ดยา

จากการประเมินประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์พบว่า

1. สแกนสเปกตรัมของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต ได้ค่าความยาวคลื่นที่เหมาะสมคือ 525 นาโนเมตร
2. กราฟมาตรฐานได้สมการเส้นตรง $y = - 0.0035x + 1.0337$ สัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.9925
3. ความเที่ยงของวิธีที่สามารถบ่งบอกได้ด้วยค่าร้อยละการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 6.43 – 24.65 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ความแม่นยำของวิธีซึ่งสามารถบอกได้ด้วยร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 60 – 120 %

5. ค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (LOD) มีค่าเท่ากับ 1.82 และค่าขีดการจำกัดต่ำสุดที่สามารถวัดได้โดยมีความถูกต้อง (LOQ) มีค่าเท่ากับ 6.06

สรุปได้ว่าความสัมพันธ์เชิงเส้นและความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์อยู่ในเกณฑ์ดี ส่วนความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์มีค่าการกระจายตัวของสารตัวอย่างมาก เนื่องจากการรบกวนของเมทริกซ์ในตัวอย่างยา ทำให้ค่าที่ได้ไม่อยู่ในเกณฑ์ที่ดี

ข้อเสนอแนะ

1. สารละลายที่เตรียมมาตรวจวัดจะต้องเป็นสารละลายใส ไม่มีตะกอนเจือปน ซึ่งทำโดยการกรองสารละลายด้วยกระดาษกรอง เพราะจะได้ไม่เกิดข้อผิดพลาดของค่าที่ตรวจวัดได้
2. จากการตรวจวัดพบว่าเวลามีผลต่อค่าของการดูดกลืนแสง
3. การทดลองมีการรบกวนจากเมทริกซ์ในตัวอย่างยา จึงควรตรวจสอบวิธีวิเคราะห์โดยเติมสารละลายมาตรฐานวิตามินบี₁ ลงในตัวอย่างก่อนกรอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- [1] <http://www.bloggang.com/viewdiary.php?id=earth-ice&month=04-200>.
- [2] <http://nutrition.anamai.moph.go.th/b1.htm>.
- [3] http://www2.warwick.ac.uk/fac/med/research/csri/proteindamage/researchinterest/thiamine_and_benfotiamine/9&date=06&group=5&gblog=2.
- [4] <http://hikaeru.livejournal.com/28418.html>.
- [5] http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Thiamine_triphosphate.svg.
- [6] http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Thiamine_monophosphate.svg.
- [7] http://www.novabizz.com/Health/Supplement/Vitamin_B1.htm.
- [8] http://en.wikipedia.org/wiki/potassium_permanganate.
- [9] http://www.science.mju.ac.th/chemistrydownloadt_tangkuaramCH210-Anal_chem_UV-VIS-1-53.pdf.
- [10] <http://www.nicaonline.com/download/present8.ppt>.
- [11] <http://share.psu.ac.th/blog/secpin/9174>.
- [12] <http://aquatovou.com/index.php>.
- [13] S.A. Al-Tamrah, Spectrophotometric Determination of Nicotine, *Analytica Chimica Acta*, 379(1999) 75-80.
- [14] M. A. Korany, M.M. Bedair and R.S. Haggag, Extraction-Spectrophotometric Determination of Phenytoin in Capsules and Plasma using Potassium Permanganate : Dicyclohexano-24-Crown-8, *Talanta*, 46(1998) 9-14.
- [15] U.V. Prasad, K.E. Rao and C.S.P. Sastry, Spectrophotometric Determination of Some Antioxidants with Potassium Permanganate and Metol, *Food Chemistry*, 17(1985) 209-213.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ก. การตรวจสอบความเหมาะสมของการวิเคราะห์

ก.1 ตารางแสดงผลค่าการดูดกลืนแสงของวิตามินบี1 ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์แต่ละชนิด

ตารางที่ ก 1.1 แสดงความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 (ppm) และค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 ของผลิตภัณฑ์ A

ความเข้มข้นสารละลาย มาตรฐานวิตามินบี1 (ppm)	ค่าการดูดกลืนแสง			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	$\bar{x} \pm SD$
-	0.9284	0.9278	0.9317	0.9293 \pm 0.0701
10	0.8950	0.8966	0.9011	0.8976 \pm 0.0032
20	0.8605	0.8677	0.8753	0.8678 \pm 0.0074
30	0.8339	0.8369	0.8493	0.8400 \pm 0.0069

ตารางที่ ก 1.2 แสดงความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 (ppm) และค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 ของผลิตภัณฑ์ B

ความเข้มข้นสารละลาย มาตรฐานวิตามินบี1 (ppm)	ค่าการดูดกลืนแสง			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	$\bar{x} \pm SD$
-	0.9098	0.9148	0.8990	0.9079 \pm 0.0081
10	0.8796	0.8812	0.8697	0.8768 \pm 0.0062
20	0.8491	0.8555	0.8325	0.8457 \pm 0.0119
30	0.8124	0.8227	0.8040	0.8130 \pm 0.0094

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก 1.3 แสดงความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 (ppm) และค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 ของผลิตภัณฑ์ C

ความเข้มข้นสารละลาย มาตรฐานวิตามินบี1 (ppm)	ค่าการดูดกลืนแสง			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	$\bar{X} \pm SD$
-	0.9585	0.9103	0.9244	0.9311 \pm 0.0248
10	0.9179	0.8900	0.8992	0.9024 \pm 0.0142
20	0.8904	0.8714	0.8771	0.8796 \pm 0.0098
30	0.8499	0.8498	0.8513	0.8503 \pm 0.0008

ตารางที่ ก 1.4 แสดงความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 (ppm) และค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 ของผลิตภัณฑ์ D

ความเข้มข้นสารละลาย มาตรฐานวิตามินบี1 (ppm)	ค่าการดูดกลืนแสง			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	$\bar{X} \pm SD$
-	0.9445	0.9321	0.9584	0.9450 \pm 0.0132
10	0.9011	0.9010	0.9186	0.9068 \pm 0.0101
20	0.8629	0.8900	0.8819	0.8783 \pm 0.0139
30	0.8063	0.8273	0.8571	0.8302 \pm 0.0255

ตารางที่ ก 1.5 แสดงความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 (ppm) และค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1 ของผลิตภัณฑ์ E

ความเข้มข้นสารละลาย มาตรฐานวิตามินบี1 (ppm)	ค่าการดูดกลืนแสง			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	$\bar{X} \pm SD$
-	0.9113	0.9584	0.9413	0.9370 \pm 0.0238
10	0.8987	0.9332	0.9139	0.9153 \pm 0.0173
20	0.8485	0.9072	0.8889	0.8815 \pm 0.0300
30	0.8338	0.8717	0.8602	0.8552 \pm 0.0194

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข. การศึกษาความถูกต้อง (accuracy) ของวิธีการวิเคราะห์

คำนวณค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย

$$\begin{aligned} \text{จาก} \quad \bar{X} &= \frac{\sum X_i}{n} \\ \bar{X} &= \frac{0.8605 + 0.8677 + 0.8753}{3} \\ \bar{X} &= 0.8678 \end{aligned}$$

คำนวณค่าความเข้มข้น

- ความเข้มข้น spiked sample

$$\begin{aligned} \text{จาก} \quad y &= -0.0035x + 1.0337 \\ 0.8678 &= -0.0035x + 1.0337 \\ x &= \frac{0.8678 - 1.0337}{-0.0035} \\ x &= 47.39 \text{ ppm} \end{aligned}$$

ความเข้มข้น sample

$$\begin{aligned} \text{จาก} \quad y &= -0.0035x + 1.0337 \\ 0.9293 &= -0.0035x + 1.0337 \\ x &= \frac{0.9293 - 1.0337}{-0.0035} \\ x &= 29.583 \text{ ppm} \end{aligned}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนวณค่าร้อยละของการกลับคืนได้ (%Recovery) ตัวอย่างที่ A

$$\begin{aligned} \text{จาก } \% \text{ Recovery} &= \frac{\bar{C} \text{ spike sample} - \bar{C} \text{ sample}}{C \text{ standard}} \times 100 \\ \% \text{ Recovery} &= \frac{47.39 - 29.83}{20} \times 100 \\ \% \text{ Recovery} &= 87.80 \end{aligned}$$

ค. การศึกษาความเที่ยง (Precision) ของการวิเคราะห์ ตารางที่ ค. แสดงค่าความเที่ยงของการวิเคราะห์

สารตัวอย่าง	ความเข้มข้นที่ใช้ (ppm)	ความเข้มข้นที่วัดได้ (ppm)	ค่าเฉลี่ย (ppm)	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน	% RSD
A1	25	30.09 30.26 29.14	29.83	0.60	2.01

คำนวณค่าความเข้มข้นเฉลี่ย

$$\begin{aligned} \text{จาก } \bar{X} &= \frac{\sum X_i}{n} \\ \bar{X} &= \frac{30.09 + 30.26 + 29.14}{3} \\ \bar{X} &= 29.83 \end{aligned}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

$$\begin{aligned} \text{จาก } SD &= \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{(n - 1)}} \\ SD &= \sqrt{\frac{(30.09-29.83)^2+(30.26-29.83)^2+(29.14-29.83)^2}{3-1}} \\ SD &= 0.60 \end{aligned}$$

คำนวณร้อยละของการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์

$$\begin{aligned} \text{จาก } \%RSD &= \frac{SD}{\bar{X}} \times 100 \\ \%RSD &= \frac{0.60}{29.83} \times 100 \\ \%RSD &= 2.01 \end{aligned}$$



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง. การศึกษาค่าต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (Limit of detection ; LOD) และค่าต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้โดยมีความถูกต้อง และความเที่ยงที่ยอมรับได้ (Limit of Quantitative)

ตารางที่ ง. 1 แสดงผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานวิตามินบี 1

ความเข้มข้นของสารละลาย มาตรฐานวิตามินบี 1 (ppm)	ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้			ค่าการดูดกลืน แสงเฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
10	0.9667	0.9621	0.9688	0.9659
20	0.9304	0.9425	0.9403	0.9377
30	0.9149	0.9172	0.9131	0.9151
40	0.8985	0.8612	0.8972	0.8856
50	0.8612	0.8501	0.8704	0.8608

ตารางที่ ง. 2 แสดงผลการวัดความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเพื่อหาค่า LOD และ LOQ

ความเข้มข้นของสารละลาย มาตรฐานวิตามินบี 1 (ppm)	ความเข้มข้นที่วัดได้ (ppm)			ความเข้มข้น เฉลี่ย(ppm)
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
10	9.62	11.38	8.81	9.94
20	23.58	18.92	19.77	20.76
30	29.54	28.65	30.23	29.47
40	35.85	50.19	36.35	47.07
50	50.19	54.46	46.65	50.43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ในการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนวณความเข้มข้นที่วัดได้

$$\text{จาก } y = -0.0026x + 0.9917$$

$$0.9667 = -0.0026x + 0.9917$$

$$x = 9.62$$

นำความเข้มข้นเฉลี่ยไปพลอตกับความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานวิตามินบี 1 จะได้

$$y = 1.0726x - 0.6500$$

คำนวณค่า LOD และ LOQ

$$\text{จาก } y = 1.0726x - 0.6500$$

$$R^2 = 0.9716$$

- **คำนวณหาค่า LOD**

จาก

$$\text{LOD} = \frac{3S_{x/y}}{\text{slope}}$$

$$\text{LOD} = \frac{3 \times 0.6500}{1.0726}$$

$$1.82$$

$$\text{LOD} = 1.82$$

- **คำนวณหาค่า LOQ**

จาก

$$\text{LOQ} = \frac{10S_{x/y}}{\text{slope}}$$

$$\text{LOQ} = \frac{10 \times 0.6500}{1.0726}$$

$$6.06$$

$$\text{LOQ} = 6.06$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จ.การศึกษาการตอบสนองความเป็นเส้นตรง (Linearity)

ตารางที่ จ. แสดงความเข้มแสงของสารละลายมาตรฐานวิตามินบี1

ความเข้มข้นของสารละลาย มาตรฐานวิตามินบี1 (ppm)	ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้			ค่าการดูดกลืนแสง เฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
10	0.9667	0.9621	0.9688	0.9659±0.0034
20	0.9304	0.9425	0.9403	0.9377±0.0064
30	0.9149	0.9172	0.9131	0.9151±0.0021
40	0.8985	0.8612	0.8972	0.8856±0.0212
50	0.8612	0.8501	0.8704	0.8608±0.0102

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฉ. การตรวจวัดหาปริมาณวิตามินบี 1 ในตัวอย่างยา

ตารางที่ ฉ. แสดงผลการตรวจวัดปริมาณวิตามินบี 1 ที่มีในตัวอย่างยา

ชนิดตัวอย่างยา	น้ำหนักตัวอย่าง (g)	ความเข้มข้นของ วิตามินบี 1 ใน สารละลายตัวอย่าง (ppm)	ปริมาณวิตามินบี 1 ในตัวอย่าง (mg/g)	$\bar{X} \pm SD$ (mg/g)
A	0.4310	30.09	120.11	119.07 ± 2.41
		30.26	120.79	
		29.14	116.32	
B	0.4317	35.40	141.08	143.28 ± 9.87
		33.97	135.38	
		38.49	153.39	
C	0.4308	21.49	85.82	117.12 ± 28.27
		35.26	140.81	
		31.23	124.72	
D	0.4305	25.49	101.87	101.28 ± 15.03
		29.03	116.01	
		21.51	85.96	
E	0.4307	34.97	139.69	110.14 ± 27.50
		21.51	85.29	
		26.40	105.45	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนวณปริมาณวิตามินบี1 ในตัวอย่างยา : ตัวอย่าง A

จากผลการตรวจวัดที่ได้จากสมการในกราฟมาตรฐาน โดยชั่งตัวอย่างมา 0.4310 กรัม วัดได้ 20.87 ppm

เจือจางครั้งที่ 1 จากความเข้มข้น 1000 ppm เป็น 500 ppm เท่ากับ $\frac{1000}{500} = 2$ เท่า

เจือจางครั้งที่ 2 จากความเข้มข้น 500 ppm เป็น 25 ppm เท่ากับ $\frac{500}{25} = 20$ เท่า

เจือจางทั้งหมด 40 เท่า

จากความเข้มข้นที่วัดได้ $30.09 \times 40 = 1203.6$ ppm

ในสารละลายปริมาตร 1000 มิลลิลิตร มีวิตามินบี1 1203.6 มิลลิกรัม

ในสารละลายปริมาตร 100 มิลลิลิตร มีวิตามินบี1 เท่ากับ $\frac{1203.6 \times 100}{1000} = 120.36$ มิลลิกรัม

ในตัวอย่างยา 1 เม็ด น้ำหนัก 0.4301 กรัม

ตัวอย่างยาน้ำหนัก 0.4310 กรัม มีวิตามินบี1 120.36 มิลลิกรัม

ตัวอย่างยาน้ำหนัก 0.4301 กรัม มีวิตามินบี1 $\frac{120.36 \times 0.4301}{0.4310} = 120.11$ มิลลิกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้