



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

ชุดเครื่องมือต้นแบบสำหรับหาปริมาณกาบาในข้าวกล้องงอกจากข้าวไร่
A prototype for determination of GABA in germinated brown rice
from upland rice

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ณัฐวุฒิ เจริญชัย

b00269983

งานวิจัยนี้ได้ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัย
จากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2559
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย)	ชุดเครื่องมือต้นแบบสำหรับหาปริมาณกาบาในข้าวกล้องงอกจากข้าวไร่
แหล่งเงิน	เงินงบประมาณแผ่นดิน
ประจำปีงบประมาณ	2559 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 360,000 บาท
ระยะเวลาทำการวิจัย	1 ปี ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2558 ถึง 30 กันยายน 2559
หัวหน้าโครงการ	ผศ.ดร. ณัฐวุฒิ เชิงชั้น ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ผู้ร่วมโครงการวิจัย	ผศ.ดร. นพดล มณีรัตน์ ภาควิชาวิศวกรรมการวัดและควบคุม คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ ทำการพัฒนาวิธีสำหรับทำปฏิกิริยาอนุพันธ์แบบเพื่อหาปริมาณแกมมาอะมิโนบิวทริกแอซิด หรือ กาบา โดยอาศัยเทคนิคซีควอนเซียลอินเจกชันอะนาไลซิส (เอสไอเอ) ร่วมกับเทคนิคสเปคโตรโฟโตเมทรี กาบาจะทำปฏิกิริยาอนุพันธ์กับ 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์ ความเข้มข้นร้อยละ 6 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในสภาวะเบสโดยใช้บอเรตบัฟเฟอร์ (พีเอช 8.0) โดยมีอะซิโตนไตรเอทิลเป็นสารละลายตัวพา พบว่า ความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดคือ 420 นาโนเมตร ซึ่งใช้ในการติดตามผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น กราฟมาตรฐานของระบบเอสไอเอมีความเป็นเส้นตรงที่ดีในช่วงความเข้มข้น 300 – 2,000 มิลลิกรัมต่อลิตร (ค่าการดูดกลืนแสง $420 = 2.21 \times 10^{-3} [\text{กาบา}] - 0.0418$, $R^2 = 0.999$) พบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิเป็น 60 องศาเซลเซียส ขณะทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ ส่งผลให้ความไวในการวิเคราะห์เพิ่มขึ้นและยังพบว่า ระบบเอสไอเอมีความเที่ยงสูง (ร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.17 เมื่อศึกษาที่กาบาความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร) และมีความแม่นยำสูง (ร้อยละค่าการวิเคราะห์คืนกลับอยู่ในช่วง 94.28 ถึง 106.84) ได้ประยุกต์ระบบเอสไอเอที่พัฒนาขึ้นเพื่อหาปริมาณกาบาในตัวอย่าง แล้วทำการตรวจสอบความถูกต้องของระบบเอสไอเอโดยใช้วิธีทางสถิติ คือ Paired t-test เพื่อเปรียบเทียบผลวิเคราะห์ที่ได้กับวิธีแบบแบทช์ซึ่งอาศัยหลักการตรวจวัดเดียวกัน พบว่า ผลวิเคราะห์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($t_{\text{stat}} = 0.27$, $t_{\text{crit.}} = 2.23$) จึงอาจกล่าวได้ว่าระบบเอสไอเอมีความถูกต้องน่าเชื่อถือ

คำสำคัญ : กาบา, การทำอนุพันธ์แบบอัตโนมัติ, เอสไอเอ, สเปคโตรโฟโตเมทรี

Research Title : A prototype for determination of GABA in germinated brown rice from upland rice

Fiscal year : 2016

Period : One year (2015 – 2016) Budget: 360,000 THB

Researchers : Asst.Prof.Dr. Nathawut Choengchan

Faculty: Science **Department:** Chemistry

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Asst.Prof.Dr. Noppadol Maneerat

Faculty: Engineering **Department:** Instrumentation engineering

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

ABSTRACT

In this work, a method for automated derivatization with subsequent determination of γ -aminobutyric acid or GABA was presented. The method was developed based on using sequential injection analysis (SIA) with spectrophotometric detection. GABA was derivatized with 2-hydroxy-1-naphthaldehyde (6 % w/v) in the presence of borate buffer (pH 8.0). Acetonitrile was exploited as carrier. The maximum absorption wavelength of the derivative was located at 420 nm and was employed as the monitored wavelength. Linear calibration (from SIA) was observed in the concentration range of 300 to 2,000 mg L⁻¹ GABA with good linearity ($Abs_{420} = 2.21 \times 10^{-3} [GABA] - 0.0418$, $R^2 = 0.999$). It was also observed that increasing derivatization temperature from room temperature to 60°C resulted in increasing sensitivity. The SIA method provided high precision (RSD = 0.17 % at 300 mg/L GABA) and high accuracy (recovery = 94.28 - 106.84 %). The developed method was applied to GABA supplemented tablet and capsule and was validated against batchwise method based on the same detection reaction. From the statistical paired t-test, it was found that the results obtained by the SIA and by the batchwise method were not significantly different at 95 % confidence level ($t_{stat} = 0.27$, $t_{crit} = 2.23$). This implies that the developed was successfully validated.

Keywords: GABA, Automated Derivatization, SIA, Spectrophotometry

กิตติกรรมประกาศ

การดำเนินงานวิจัยตามโครงการนี้ สำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์ได้เป็นอย่างดี เนื่องด้วยได้รับทุนสนับสนุนทุนวิจัยจากเงินทุนงบประมาณแผ่นดินประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2559 โดยสภาวิจัยแห่งชาติ (วช.) และสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ผู้วิจัยต้องขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นพดล มณีรัตน์ ภาควิชาวิศวกรรมการวัดและควบคุม คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ได้ร่วมพัฒนาโปรแกรมควบคุมการทำงานของชุดเครื่องมือต้นแบบที่ใช้ในงานวิจัยนี้

ขอขอบคุณหน่วยวิจัยเคมีวิเคราะห์เชิงประยุกต์สำหรับสถานที่ในการทำงานวิจัยและอำนวยความสะดวกด้านอุปกรณ์ในการทำงานวิจัยโดยตลอด

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณ นางสาวพรวิ แทนประมุข นักศึกษาปริญญาเอก หลักสูตรวิชาเคมีประยุกต์ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่มีส่วนช่วยในการพัฒนาและทดสอบประสิทธิภาพของชุดเครื่องมือต้นแบบนี้ โดยทุ่มเททำงานวิจัยนี้ด้วยดีตลอดมา ตั้งแต่เริ่มต้นจนถึงสิ้นสุดโครงการ

ผศ.ดร. ณัฐวุฒิ เชิงชั้น
(หัวหน้าโครงการวิจัย)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ.....	IV
สารบัญตาราง.....	VII
สารบัญรูป	XI
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตงานวิจัย.....	2
1.4 วิธีการดำเนินการวิจัย.....	3
1.5 คำสำคัญ (keywords) ของโครงการวิจัย.....	4
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	6
2.1 แนวคิด ทฤษฎีหลักตามประเด็นให้ครอบคลุมเรื่องที่วิจัย.....	6
2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	8
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	13
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์.....	13
3.1.1 สารเคมี.....	13
3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องตรวจวัด.....	13
3.2 การเตรียมสารละลาย.....	14
3.2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานภาษาสำหรับวิธีวิเคราะห์แบบไม่ต่อเนื่อง (Batch method).....	14
3.2.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานภาษาสำหรับระบบซีเควินเซียลอินเจคชันอะนาไลซิส	15
3.2.3 การเตรียมสารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ (พีเอช 8.0).....	15
3.2.4 การเตรียมสารละลาย 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์	16

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
3.3.1 ศึกษาการทำอนุพันธ์ด้วยวิธีแบบไม่ต่อเนื่อง.....	16
3.3.2 ออกแบบระบบซีควนเชียลอินเจคชันอะนาไลซิส.....	16
3.3.3 ศึกษาการทำอนุพันธ์แบบอัตโนมัติด้วยระบบซีควนเชียลอินเจคชันอะนาไลซิส...	16
3.3.4 การศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์.....	17
3.3.5 การสร้างกราฟมาตรฐานที่ได้จากสภาวะที่เหมาะสม.....	18
3.3.6 ประเมินลักษณะเด่นของวิธีการวิเคราะห์.....	20
3.3.7 ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีที่พัฒนาขึ้นกับการวิเคราะห์ปริมาณกาบาโดยอาศัย การทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ด้วยวิธีแบบไม่ต่อเนื่อง.....	20
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการวิจารณ์.....	22
4.1 ผลการศึกษาเพื่อหาความยาวคลื่นที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดสารอนุพันธ์ของ กาบา.....	23
4.2 ออกแบบระบบซีควนเชียลอินเจคชันอะนาไลซิส.....	23
4.3 การศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์.....	25
4.3.1 ผลการศึกษาปัจจัยทางกายภาพ.....	25
4.3.2 ผลปัจจัยทางด้านเคมี.....	26
4.4 กราฟมาตรฐานที่ได้จากสภาวะที่เหมาะสม.....	32
4.5 ประเมินคุณลักษณะเด่นของวิธีวิเคราะห์.....	35
4.5.1 ความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์.....	36
4.5.2 ความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์.....	36
4.5.3 ขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด และขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ เชิงปริมาณ.....	37
4.6 ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีที่พัฒนาขึ้นกับการวิเคราะห์ปริมาณกาบา โดยอาศัยเทคนิคการทำอนุพันธ์แบบไม่ต่อเนื่อง.....	38
บทที่ 5 สรุปผลและวิจารณ์และข้อเสนอแนะ.....	39
5.1 สรุปผลการทดลอง.....	39

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	40
บทที่ 6 สรุปผลผลิตที่ได้จากงานวิจัย.....	41
6.1 ชุดเครื่องมือต้นแบบสำหรับหาปริมาณกาบาในข้าวกล้องงอกจากข้าวไร่.....	41
6.1 การเผยแพร่งานวิจัย	42
เอกสารอ้างอิง.....	46
ภาคผนวก.....	48



สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1.1 วิธีการดำเนินการวิจัย และสถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล	3
ตารางที่ 3.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกาบาที่ความเข้มข้นต่างๆ สำหรับวิเคราะห์ด้วยวิธี แบบไม่ต่อเนื่อง	14
ตารางที่ 3.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกาบาที่ความเข้มข้นต่างๆ สำหรับวิเคราะห์ด้วย ระบบซีควอนเซียลอินเจคชันอะนาไลซิส.....	15
ตารางที่ 4.1 สรุปสมการเชิงเส้นตรงและสัมประสิทธิ์การตัดสนใจเมื่อใช้อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา อนุพันธ์ที่แตกต่างกัน.....	26
ตารางที่ 4.2 สรุปสมการเชิงเส้นตรงและสัมประสิทธิ์การตัดสนใจเมื่อใช้ปริมาตรของสารละลาย มาตรฐานกาบาที่ดูดเข้าสู่ระบบในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ที่แตกต่างกัน.....	27
ตารางที่ 4.3 สรุปสมการเชิงเส้นตรงและสัมประสิทธิ์การตัดสนใจเมื่อใช้เวลาในการให้ความร้อน ของปฏิกิริยาอนุพันธ์ที่แตกต่างกัน.....	28
ตารางที่ 4.4 สรุปสมการเชิงเส้นตรงและสัมประสิทธิ์การตัดสนใจเมื่อให้ความยาวของมิกซิงคอยด์ ในระบบเอสไอเอสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณกาบาต่างๆ กัน	29
ตารางที่ 4.5 สรุปสมการเชิงเส้นตรงและสัมประสิทธิ์การตัดสนใจเมื่อใช้ลำดับที่ต่างกัน	30
ตารางที่ 4.6 สรุปสมการเชิงเส้นตรงและสัมประสิทธิ์การตัดสนใจเมื่อใช้อัตราการไหลที่ต่างๆกัน ...	31
ตารางที่ 4.7 สรุปสมการเชิงเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์การตัดสนใจ เมื่อใช้พีเอชของการเกิด ปฏิกิริยาอนุพันธ์ที่ต่างๆ กัน.....	32
ตารางที่ 4.8 สรุปสมการเชิงเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์การตัดสนใจเมื่อใช้ความเข้มข้นของ 2- ไฮดรอกซีเนปทาลดีไฮด์ต่างๆ กัน	33
ตารางที่ 4.9 สรุปการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณกาบาโดยอาศัยระบบ ซีควอนเซียลอินเจคชัน	34
ตารางที่ 4.10 ผลการคำนวณหาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณ กาบา	36
ตารางที่ 4.11 สรุปคุณลักษณะเด่นของวิธีวิเคราะห์ในการวิเคราะห์ปริมาณกาบาโดยอาศัยระบบ ซีควอนเซียลอินเจคชัน	37
ตารางที่ 4.12 ผลการวิเคราะห์ปริมาณกาบาโดยเทคนิคที่พัฒนาขึ้นและเทคนิคการทำอนุพันธ์แบบ ไม่ต่อเนื่อง.....	38

สารบัญตาราง(ต่อ)

	หน้า
ตารางที่ ก.1 (ก) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ที่ อุณหภูมิห้อง	48
ตารางที่ ก.1 (ข) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อให้อุณหภูมิขณะทำปฏิกิริยา อนุพันธ์เท่ากับ 50 องศาเซลเซียส.....	50
ตารางที่ ก.1 (ค) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อให้อุณหภูมิขณะทำปฏิกิริยา อนุพันธ์เท่ากับ 60 องศาเซลเซียส.....	50
ตารางที่ ก.1 (ง) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อให้อุณหภูมิขณะทำปฏิกิริยา อนุพันธ์เท่ากับ 70 องศาเซลเซียส.....	52
ตารางที่ ก.2 (ก) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อให้ปริมาตรของสารละลาย มาตรฐานที่ดูดเข้าสู่ระบบเพื่อเข้าทำปฏิกิริยาเท่ากับ 50 ไมโครลิตร	53
ตารางที่ ก.2 (ข) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อให้ปริมาตรของสารละลาย มาตรฐานที่ดูดเข้าสู่ระบบเพื่อเข้าทำปฏิกิริยาเท่ากับ 100 ไมโครลิตร	54
ตารางที่ ก.2 (ค) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อให้ปริมาตรของสารละลาย มาตรฐานที่ดูดเข้าสู่ระบบเพื่อเข้าทำปฏิกิริยาเท่ากับ 150 ไมโครลิตร	56
ตารางที่ ก.3 (ก) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อให้ความร้อนในขั้นตอนการทำ ปฏิกิริยาอนุพันธ์เป็นเวลา 1 นาที	57
ตารางที่ ก.3 (ข) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อให้ความร้อนในขั้นตอนการทำ ปฏิกิริยาอนุพันธ์เป็นเวลา 3 นาที	58
ตารางที่ ก.3 (ค) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อให้ความร้อนในขั้นตอนการทำ ปฏิกิริยาอนุพันธ์เป็นเวลา 5 นาที	59
ตารางที่ ก.4 (ก) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อใช้ความยาวมิกซิงคอยตีใน ขั้นตอน การทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ 100 เซนติเมตร.....	60
ตารางที่ ก.4 (ข) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อใช้ความยาวมิกซิงคอยตีใน ขั้นตอนการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ 200 เซนติเมตร.....	62
ตารางที่ ก.4 (ค) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อใช้ความยาวมิกซิงคอยตีใน ขั้นตอนการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ 300 เซนติเมตร.....	63
ตารางที่ ก.4 (ง) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อใช้ความยาวมิกซิงคอยตีใน ขั้นตอนการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ 400 เซนติเมตร.....	65

สารบัญตาราง(ต่อ)

หน้า

ตารางที่ ก.5 (ก) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อใช้ลำดับในการทำปฏิกิริยา อนุพันธ์แบบ non-sandwich.....	66
ตารางที่ ก.5 (ข) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อใช้ลำดับในการทำปฏิกิริยา อนุพันธ์แบบ sandwich	68
ตารางที่ ก.6 (ก) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อใช้อัตราการไหลของสารในขณะ เข้าสู่ระบบตรวจวัดเท่ากับ 25 ไมโครลิตร/นาที	69
ตารางที่ ก.6 (ข) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อใช้อัตราการไหลของสารในขณะ เข้าสู่ระบบตรวจวัดเท่ากับ 50 ไมโครลิตร/นาที	71
ตารางที่ ก.6 (ค) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อใช้อัตราการไหลของสารในขณะ เข้าสู่ระบบตรวจวัดเท่ากับ 100 ไมโครลิตร/นาที	72
ตารางที่ ก.7 (ก) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อใช้พีเอชของบอเรตบัฟเฟอร์ใน การทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ 8.....	74
ตารางที่ ก.7 (ข) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อใช้พีเอชของบอเรตบัฟเฟอร์ใน การทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ 9	75
ตารางที่ ก.7 (ค) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อใช้พีเอชของบอเรตบัฟเฟอร์ในการ ทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ 10	76
ตารางที่ ก.8 (ก) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อใช้ความเข้มข้นสำหรับรีเอเจนต์ ของ 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์ในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ ร้อยละ 0.3 (น้ำหนัก/ ปริมาตร).....	78
ตารางที่ ก.8 (ข) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อใช้ความเข้มข้นสำหรับรีเอเจนต์ ของ 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์ ในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ ร้อยละ 3 (น้ำหนัก/ ปริมาตร).....	79
ตารางที่ ก.8 (ค) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อใช้ความเข้มข้นสำหรับรีเอเจนต์ ของ 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์ ในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ ร้อยละ 6 (น้ำหนัก/ ปริมาตร).....	81
ตารางที่ ก.8 (ง) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อใช้ความเข้มข้นสำหรับรีเอเจนต์ ของ 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์ ในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ ร้อยละ 7.5 (น้ำหนัก/ ปริมาตร).....	81

สารบัญตาราง(ต่อ)

	หน้า
ตารางที่ ข.1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม.....	82
ตารางที่ ค.1 ค่าการดูดกลืนแสงสารอนุพันธ์กาบา ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ที่เติม สารละลายมาตรฐานกาบาที่ความเข้มข้นสุดท้าย 200 มิลลิกรัม/ลิตรลงไป	84
ตารางที่ ค.2 ค่าการดูดกลืนแสงสารอนุพันธ์ของสารละลายมาตรฐานกาบาที่ความเข้มข้น 300 .. มิลลิกรัม/ลิตร ซ้ำๆ เป็นจำนวน 10 ครั้ง.....	86
ตารางที่ ง. การเปรียบเทียบผลวิเคราะห์ด้วยวิธีการทางสถิติ paired t - test.....	87



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 2.1 แสดงกลไกการเกิดกาบา.....	6
รูปที่ 2.2 แสดงปฏิกิริยาในการทำอนุพันธ์ระหว่างกาบา และ 2-Hydroxynaphthaldehyde.....	7
รูปที่ 2.3 แสดงระบบ Sequential injection analysis (SIA) อย่างง่าย.....	7
รูปที่ 3.1 แสดงระบบซีเควนเซียลอินเจคชันที่ได้พัฒนาขึ้นสำหรับการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์แบบอัตโนมัติในการหาปริมาณกาบา; C: อะซิโตนไนไตรล์, R: สารละลาย 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์, B: สารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ พีเอช 8.0, S: สารละลายมาตรฐานกาบา, SP: โซริงค์ปั๊ม, HC: โสลดิงคอยล์ ความยาว 60 เซนติเมตร, MV: มัลติซีเลกชันวาล์ว, IS: ระบบให้ความร้อน, D: ยูวี-วิสิเบิล สเปคโตรโฟโตมิเตอร์	16
รูปที่ 3.2 แสดงหน้าจอของซอฟต์แวร์ MGC Auto-Pret Version 4 ซึ่งระบุลำดับขั้นตอนการหาปริมาณกาบาโดยอาศัยระบบซีเควนเซียลอินเจคชันอะนาไลซิส	17
รูปที่ 3.3 แสดงลำดับการทำปฏิกิริยาแบบ non-sandwich; std.GABA: สารละลายมาตรฐานกาบา ความเข้มข้น 100-2000 มิลลิกรัม/ลิตร, buffer: บอเรตบัฟเฟอร์พีเอช 8, HN: 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์ ร้อยละ 6 (น้ำหนัก/ปริมาตร).....	19
รูปที่ 3.4 แสดงลำดับการทำปฏิกิริยาแบบ sandwich; std.GABA: สารละลายมาตรฐานกาบา ความเข้มข้น 100-2000 มิลลิกรัม/ลิตร, buffer: บอเรตบัฟเฟอร์พีเอช 8, HN: 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์ ร้อยละ 6 (น้ำหนัก/ปริมาตร)	19
รูปที่ 4.1 แสดงสมการการเกิดปฏิกิริยาอนุพันธ์ระหว่างกาบากับ 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์.....	23
รูปที่ 4.2 แสดง (ก) สเปคตรัมที่ได้จากสารอนุพันธ์ของกาบาในช่วงยูวีและวิสิเบิล, (ข) สเปคตรัมที่ได้จากสารอนุพันธ์ของกาบาในช่วงวิสิเบิล และ(ค) กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกาบาชั่งความเข้มข้น 50 - 400 มิลลิกรัม/ลิตร.....	24
รูปที่ 4.3 แสดงระบบซีเควนเซียลอินเจคชันที่ได้พัฒนาขึ้นสำหรับการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์แบบอัตโนมัติในการหาปริมาณกาบา; C: อะซิโตนไนไตรล์, R: สารละลาย 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์, B: สารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ พีเอช 8.0, S: สารละลายมาตรฐานกาบา, SP: โซริงค์ปั๊ม, HC: โสลดิงคอยล์ ความยาว 60 เซนติเมตร, MV: มัลติซีเลกชันวาล์ว, IS: ระบบให้ความร้อน, D: ยูวี-วิสิเบิล สเปคโตรโฟโตมิเตอร์	25
รูปที่ 4.4 แสดงผลของการให้อุณหภูมิห้อง, 40, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส ในขั้นตอนการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ต่อค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา ตามลำดับ	26

สารบัญรูป (ต่อ)

หน้า

รูปที่ 4.5	แสดงผลปริมาตรที่ดูดเข้าสู่ระบบของสารละลายมาตรฐานกาบา 50 - 150 มิลลิกรัม/ลิตร ในขั้นตอนการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ที่ส่งผลต่อค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบาตามลำดับ	27
รูปที่ 4.6	แสดงผลของเวลาในการให้ความร้อนของปฏิกิริยาอนุพันธ์ที่ 1, 3 และ 5 นาที ซึ่งส่งผลต่อค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา ตามลำดับ	28
รูปที่ 4.7	แสดงผลของความยาวของมิกซิงคอยด์ที่ 100, 200, 300 และ 400 เซนติเมตร ซึ่งส่งผลต่อค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา ตามลำดับ	29
รูปที่ 4.8	แสดงผลของลำดับในการทำปฏิกิริยาแบบ sandwich และ non-sandwich ซึ่งส่งผลต่อค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา ตามลำดับ	30
รูปที่ 4.9	แสดงผลของอัตราการไหลของสารละลายภายในท่อขณะผลึกเข้าสู่ระบบตรวจวัดที่ส่งผลต่อค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา ตามลำดับ	31
รูปที่ 4.10	แสดงผลของพีเอช 8, 9 และ 10 ในขั้นตอนการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ต่อค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา ตามลำดับ	32
รูปที่ 4.11	แสดงผลของ 2-ไฮดรอกซีเนบพาลดีไฮด์ ความเข้มข้นร้อยละ 0.3, 3, 6 และ 7.5 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ในขั้นตอนการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ต่อค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา ตามลำดับ	33
รูปที่ 4.12	สัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานกาบาความเข้มข้น 300 – 2000 มิลลิกรัมต่อลิตร	35
รูปที่ 4.13	กราฟมาตรฐานของสารละลายกาบา ช่วงความเข้มข้น 300 – 2000 มิลลิกรัมต่อลิตร..	35
รูปที่ 6.1	แสดงชุดเครื่องมือต้นแบบสำหรับหาปริมาณกาบาในข้าวกล้องงอกจากข้าวไรที่มีการควบคุมอุณหภูมิ	41
รูปที่ 6.2	หน้าปก proceeding ของงาน Applied Chemistry International Conference 2016 (PACCON 2016)	42
รูปที่ 6.3	แสดงสารบัญสำหรับ proceeding ในงาน Applied Chemistry International Conference 2016 (PACCON 2016)	43
รูปที่ 6.4	แสดง Proceeding ที่นำเสนอในงาน Applied Chemistry International Conference 2016 (PACCON 2016)	44

สารบัญรูป (ต่อ)

หน้า

รูปที่ 6.6	โปสเตอร์ที่แสดงในงาน Applied Chemistry International Conference 2016 (PACCON 2016).....	45
รูปที่ ก.1 (ก)	แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ที่อุณหภูมิห้อง	48
รูปที่ ก.1 (ข)	แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส.....	49
รูปที่ ก.1 (ค)	แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส.....	51
รูปที่ ก.1 (ง)	แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส.....	52
รูปที่ ก.2 (ก)	แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อให้ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานที่ดูดเข้าสู่ระบบเพื่อเข้าทำปฏิกิริยาเท่ากับ 50 ไมโครลิตร.....	53
รูปที่ ก.2 (ข)	แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อให้ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานที่ดูดเข้าสู่ระบบเพื่อเข้าทำปฏิกิริยาเท่ากับ 100 ไมโครลิตร.....	54
รูปที่ ก.2 (ค)	แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อให้ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานที่ดูดเข้าสู่ระบบเพื่อเข้าทำปฏิกิริยาเท่ากับ 150 ไมโครลิตร.....	55
รูปที่ ก.3 (ก)	แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อให้ความร้อนในขั้นตอนการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เป็นเวลา 1 นาที.....	57
รูปที่ ก.3 (ข)	แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อให้ความร้อนในขั้นตอนการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เป็นเวลา 3 นาที.....	58
รูปที่ ก.3 (ค)	แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อให้ความร้อนในขั้นตอนการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เป็นเวลา 5 นาที.....	59
รูปที่ ก.4 (ก)	แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อใช้ความยาวมิกซิงคอยตีในขั้นตอนการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ 100 เซนติเมตร.....	60
รูปที่ ก.4 (ข)	แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อใช้ความยาวมิกซิงคอยตีในขั้นตอนการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ 200 เซนติเมตร.....	61
รูปที่ ก.4 (ค)	แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อใช้ความยาวมิกซิงคอยตีในขั้นตอนการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ 300 เซนติเมตร.....	63
รูปที่ ก.4 (ง)	แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อใช้ความยาวมิกซิงคอยตีในขั้นตอนการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ 400 เซนติเมตร.....	64

สารบัญรูป (ต่อ)

หน้า

รูปที่ ก.5 (ก) แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อใช้ลำดับในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์แบบ non-sandwich	66
รูปที่ ก.5 (ข) แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อใช้ลำดับในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์แบบ sandwich	67
รูปที่ ก.6 (ก) แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อใช้อัตราการไหลของสารในขณะที่เข้าสู่ระบบตรวจวัดเท่ากับ 25 ไมโครลิตร/นาที.....	69
รูปที่ ก.6 (ข) แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อใช้อัตราการไหลของสารในขณะที่เข้าสู่ระบบตรวจวัดเท่ากับ 50 ไมโครลิตร/นาที.....	70
รูปที่ ก.6 (ค) แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อใช้อัตราการไหลของสารในขณะที่เข้าสู่ระบบตรวจวัดเท่ากับ 100 ไมโครลิตร/นาที.....	72
รูปที่ ก.7 (ก) แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อใช้พีเอชของบอเรตบัฟเฟอร์ในการกาบาทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ 8.....	73
รูปที่ ก.7 (ข) แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อใช้พีเอชของบอเรตบัฟเฟอร์ในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ 9.....	75
รูปที่ ก.7 (ค) แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อใช้พีเอชของบอเรตบัฟเฟอร์ในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ 10.....	76
รูปที่ ก.8 (ก) แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อใช้ความเข้มข้นสำหรับรีเอเจนต์ของ 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์ ในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ ร้อยละ 0.3 (น้ำหนัก/ ปริมาตร).....	77
รูปที่ ก.8 (ข) แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อใช้ความเข้มข้นสำหรับรีเอเจนต์ของ 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์ ในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ ร้อยละ 3 (น้ำหนัก/ ปริมาตร).....	79
รูปที่ ก.8 (ค) แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อใช้ความเข้มข้นสำหรับรีเอเจนต์ของ 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์ ในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ ร้อยละ 6 (น้ำหนัก/ ปริมาตร).....	80
รูปที่ ก.8 (ง) แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อใช้ความเข้มข้นสำหรับรีเอเจนต์ของ 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์ ในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ ร้อยละ 7.5 (น้ำหนัก/ ปริมาตร).....	81

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ ข. แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบา ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม.....	82
รูปที่ ค. แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบา ที่ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัม/ลิตร ซ้ำๆเป็น จำนวน 10 ครั้ง.....	85



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

‘ข้าวไร่’ คือ ข้าวที่ปลูกในเขตพื้นที่ดอนหรือในสภาพไร่ ซึ่งไม่สามารถอาศัยระบบชลประทานน้ำฝนในการให้น้ำได้เหมือนปกติ [1] การปลูกข้าวไร่จึงต้องปลูกแบบไม่มีน้ำท่วมขัง พันธุ์ข้าวไร่นำมาเพาะปลูกต้องเป็นสายพันธุ์ที่ทนสภาพแล้งและทนวัชพืชได้ดี เพื่อเพิ่มผลผลิตต่อไร่ โดยที่ไม่ต้องมีการดูแลรักษามากนัก [2, 3] สำหรับในประเทศไทย นิยมปลูกข้าวไร่ในบริเวณที่ราบสูงตามไหล่เขาทางภาคเหนือ ภาคใต้ ภาคตะวันออก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คิดเป็นพื้นที่เพาะปลูกประมาณร้อยละ 10 ของพื้นที่การเพาะปลูกข้าวทั่วประเทศ [4] ในปัจจุบัน ความนิยมในการบริโภคข้าวไร่ยังจำกัดอยู่เฉพาะคนในท้องถิ่นเท่านั้น เช่น ชาวเขา เพราะคนทั่วไปอาจยังไม่รู้จักข้าวไร่

จากรายงานของสำนักพัฒนาผลิตภัณฑ์ข้าว กรมการข้าว กระทรวงเกษตรและสหกรณ์การเกษตร ระบุว่า ข้าวไร่มีคุณค่าทางโภชนาการ เพราะประกอบไปด้วยสารอาหารจำพวก คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน แร่ธาตุ และใยอาหาร หากบริโภคข้าวไร่ในรูปของ ‘ข้าวกล้อง’ จะได้รับวิตามินบี 1 บี 2 ไลซีน และไนอาซินเพิ่มขึ้นด้วย นอกจากนี้สารอาหารเหล่านี้ ยังมีรายงานการวิจัยเป็นจำนวนมากที่ระบุว่า ในข้าวไร่ยังอุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ อาทิเช่น แกมมาโอไรซานอล (γ -oryzanol) สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) และ เบตาแคโรทีน (β -carotene) [4] อย่างไรก็ตาม จากการสำรวจข้อมูลและผลงานวิจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของข้าวไร่ พบว่า ยังไม่ค่อยมีผลงานวิจัยที่เกี่ยวกับการหาปริมาณ ‘แกมมาอะมิโนบิวทีริกแอซิด’ (γ -aminobutyric acid, GABA) หรือ ‘กาบา’ ในข้าวกล้องงอกจากข้าวไร่เท่าใดนัก รายงานส่วนใหญ่จะเกี่ยวข้องกับการหาปริมาณ GABA ในข้าวกล้องงอกสายพันธุ์ที่ปลูกแบบปกติ (มีน้ำท่วมขัง) พบแต่เพียงงานวิจัยที่เกี่ยวกับการวิเคราะห์ปริมาณ GABA ในข้าวกล้องมอลต์ที่ผลิตจากข้าวไร่เท่านั้น [5]

GABA จัดเป็นโปรตีนที่ช่วยบำรุงเซลล์ประสาท ทำให้สมองเกิดการผ่อนคลาย ป้องกันการทำลายสมองซึ่งเป็นสาเหตุของโรคอัลไซเมอร์ มีงานวิจัยหนึ่ง [6] ศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของข้าวญี่ปุ่น พบว่าปริมาณ GABA ในข้าวกล้องงอกมีมากกว่าข้าวขัดสีถึง 10 เท่า ดังนั้น หากสามารถวิเคราะห์หาปริมาณ GABA ในข้าวกล้องงอกจากข้าวไร่ได้ จะช่วยยืนยันถึงคุณค่าทางโภชนาการของข้าวกล้องงอกจากข้าวไร่ และอาจช่วยส่งเสริมการบริโภคข้าวไร่ของคนทั่วไปให้แพร่หลายได้อีกทางหนึ่ง ดังนั้น การวิเคราะห์หาปริมาณ GABA ในข้าวกล้องงอกจากข้าวไร่ จึงเป็นสิ่งที่มีความสำคัญทั้งในแง่ของการประเมินคุณค่าทางโภชนาการของข้าวไร่และในแง่ของการกระตุ้นการบริโภคข้าวไร่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เคมีที่ใช้ในการตรวจวัด ซึ่งอาศัยการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ของ GABA โดยศึกษาด้วยวิธีแบบไม่อัตโนมัติก่อน ขั้นตอนนี้ นักเคมีวิเคราะห์จะเป็นผู้รับผิดชอบ ในขณะที่เดียวกัน วิศวกรก็จะทำการพัฒนาซอฟต์แวร์ที่ใช้ควบคุมการทำงานของอุปกรณ์ต่างๆที่ใช้ประกอบเป็นระบบ SIA ไปพร้อมๆกัน จากนั้นจึงนำองค์ความรู้ทั้งสองมาบูรณาการร่วมกัน เพื่อสร้างเป็นชุดเครื่องมือต้นแบบ ขั้นตอนหลังจากนี้ นักเคมีวิเคราะห์จะเป็นผู้รับผิดชอบดำเนินการทั้งหมด เริ่มจากการหาสภาวะการวิเคราะห์ที่เหมาะสมที่สุด (Optimization) โดยทำการศึกษาปัจจัยทางเคมี เช่น ความเข้มข้นของสารที่ใช้ทำอนุพันธ์ และ pH ของสารละลายบัฟเฟอร์ รวมถึงปัจจัยทางกายภาพ เช่น ความยาวของ mixing coil ในระบบ SIA เป็นต้น ซึ่งปัจจัยต่างๆเหล่านี้ จะส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์และเวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ เมื่อเลือกสภาวะที่เหมาะสมได้แล้ว จะดำเนินการทดสอบประสิทธิภาพของชุดเครื่องมือต้นแบบ โดยการประเมินคุณลักษณะของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Analytical performances) เช่น ช่วงความเป็นเส้นตรงและช่วงใช้งาน (Linear working range) ความเที่ยง (Precision) ความแม่นยำ (Accuracy) ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (Limit of detection, LOD) และ ขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ) เป็นต้น จากนั้น จะศึกษาขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างซ้ำกลั่นออกจากข้าวไร่เพื่อสกัด GABA ออกมา แล้วจึงนำชุดเครื่องมือไปประยุกต์ใช้วิเคราะห์สารสกัดจากข้าวไร่ และทดสอบความถูกต้องของชุดเครื่องมือที่พัฒนาขึ้นกับวิธี HPLC โดยเปรียบเทียบผลวิเคราะห์ด้วยวิธีทางสถิติคือ Paired t-test จากนั้นจะได้ประยุกต์ใช้วิเคราะห์หาปริมาณกาบาในตัวอย่างซ้ำกลั่นออกจากสายพันธุ์อื่นๆเพื่อเปรียบเทียบคุณค่าทางโภชนาการกับข้าวไร่ ในขั้นตอนสุดท้ายจะได้ดำเนินการรวบรวมผลและเผยแพร่ผลงานวิจัยต่อไป

1.4 วิธีการดำเนินการวิจัย

ตารางที่ 1.1 วิธีการดำเนินการวิจัย และสถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

หัวข้อที่ศึกษา/วิธีการดำเนินการวิจัย	สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล
1. ทบทวนวรรณกรรมและทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย	ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
2. ศึกษาปฏิกิริยาเคมีที่ใช้ตรวจวัด GABA	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร
3. ออกแบบและสร้างชุดเครื่องมือต้นแบบ	ลาดกระบัง
4. พัฒนาโปรแกรมที่ใช้ควบคุมการทำงานของชุดเครื่องมือต้นแบบ และทดสอบโปรแกรมเบื้องต้น	ภาควิชาวิศวกรรมการวัดและควบคุม คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1.1 วิธีการดำเนินการวิจัย และสถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล (ต่อ)

หัวข้อที่ศึกษา/วิธีการดำเนินการวิจัย	สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล
5. นำโปรแกรมมาใช้กับชุดเครื่องมือต้นแบบ	ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง
6. ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมที่มีผลต่อการตรวจวัด GABA	
7. ทดสอบความถูกต้องของชุดเครื่องมือ	
8. ประยุกต์ใช้กับตัวอย่างข้าวกล้องงอกจากข้าวไร่	
9. เปรียบเทียบปริมาณ GABA ที่หาได้ในข้าวกล้องงอก จากข้าวไร่ และข้าวกล้องงอกสายพันธุ์อื่นๆ	

1.5 คำสำคัญ (keywords) ของโครงการวิจัย

ภาษาไทย: กาบา, ข้าวกล้องงอก, ข้าวไร่, การวิเคราะห์เชิงปริมาณ, เอสไอเอ, การทำอนุพันธ์

ภาษาอังกฤษ: GABA, Germinated brown rice, Upland rice, Quantitative analysis, SIA, Derivatization

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.6.1 ด้านวิชาการ

1.6.1.1 ได้องค์ความรู้ใหม่เกี่ยวกับการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ GABA อย่างอัตโนมัติ โดยอาศัยระบบ SIA

1.6.1.2 ได้ข้อมูลเชิงโภชนาการเกี่ยวกับการเปรียบเทียบปริมาณของกาบาในข้าวกล้องงอกจากข้าวไร่และในข้าวกล้องงอกสายพันธุ์อื่นๆ

1.6.1.3 ได้ผลงานวิจัย ที่ตีพิมพ์ลงในวารสารการประชุมวิชาการระดับนานาชาติ และ/หรือตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติที่ได้รับการยอมรับ

1.6.2 ด้านเศรษฐกิจ/พาณิชย์

เมื่อพัฒนาชุดเครื่องมือต้นแบบแล้วเสร็จ สามารถพัฒนาต่อยอดสู่เชิงพาณิชย์ได้ จะช่วยลดการนำเข้าเครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์ในปัจจุบัน (เครื่อง GC หรือ HPLC) ต้องนำเข้าจากต่างประเทศลดการขาดดุลของประเทศได้

1.6.3 ด้านสังคมและชุมชน

จากข้อมูลเชิงโภชนาการ อาจช่วยส่งเสริมให้เกษตรกรหันมาเพาะปลูกข้าวไร่ทดแทนการปลูกข้าวสายพันธุ์เดิมๆที่ยังต้องปลูกโดยให้น้ำท่วมขังเป็นเวลานาน เหมาะกับเกษตรกรที่อยู่ในชุมชนที่ห่างไกลระบบชลประทาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.6.4 หน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

คาดหวังให้ ศูนย์วิจัยข้าว สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว (สวช.) กรมการข้าว กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เป็นหน่วยงานที่จะเอาชุดเครื่องมือต้นแบบไปใช้ประโยชน์ เพื่อรับรองว่าชุดเครื่องมือต้นแบบให้ผลวิเคราะห์ที่มีความถูกต้องแม่นยำ ทัดเทียมกับเครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์ในปัจจุบัน และเพื่อช่วยเผยแพร่ข้อมูลคุณค่าทางโภชนาการเกี่ยวกับปริมาณ GABA ในข้าวกล้องงอกจากข้าวไร่



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

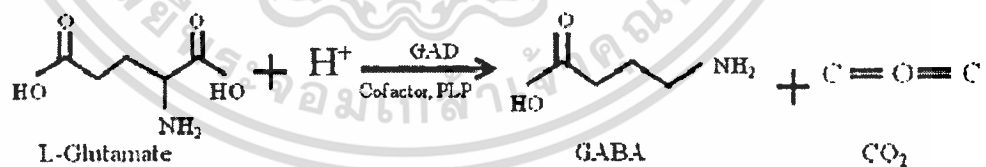
2.1 แนวคิดและทฤษฎีหลัก

เนื่องด้วยโครงการวิจัยนี้จะเกี่ยวข้องกับกรอบแนวคิด 2 ส่วน คือ ส่วนที่ 1 ข้อมูลทั่วไปของ GABA และการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ และ ส่วนที่ 2 คือ หลักการของ SIA ดังนั้น จึงจะบรรยายถึงทฤษฎีของในแต่ละส่วนพอสังเขป ดังต่อไปนี้

2.1.1 ข้อมูลทั่วไปของ GABA และการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์

กาบา (Gamma-aminobutyric acid, GABA) มีสมบัติทางกายภาพดังต่อไปนี้: สูตรโมเลกุล: $C_4H_9NO_2$, มวลโมเลกุล: 103.120 กรัม/โมล, ความสามารถในการละลายน้ำ: 130 กรัม/100 มิลลิลิตร, ลักษณะทางกายภาพ: เป็นผงละเอียด สีขาว, จุดหลอมเหลว: 195 องศาเซลเซียส, ความสามารถในการดูดกลืนแสง: ไม่ดูดกลืนแสงทั้งในช่วงยูวีและวิสิเบิล

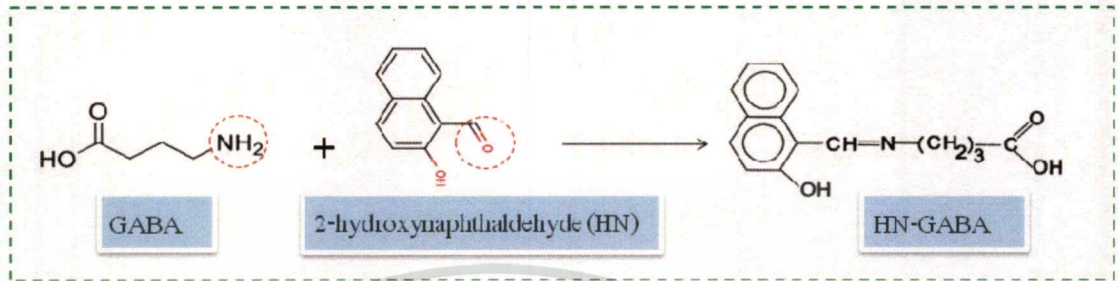
กาบาเป็นกรดอะมิโนที่ผลิตจากกระบวนการดีคาร์บอกซิเลชัน (Decarboxylation) ของกรดกลูตามิก (Glutamic acid) และย่อยสลายโดยเอนไซม์ กลูตาเมท ดีคาร์บอกซิเลส (Glutamate-decarboxylase, GAD) ดังแสดงเป็นสมการเคมีในรูปที่ 1 กาบามีบทบาทสำคัญในการทำหน้าที่เป็นสารสื่อประสาท (Neurotransmitter) ในระบบประสาทส่วนกลาง นอกจากนี้ กาบายังถือเป็นสารสื่อประสาทประเภทสารยับยั้ง (Inhibitor) ทำหน้าที่รักษาสมดุลในสมอง ทำให้สมองเกิดการผ่อนคลายอีกทั้งยังทำหน้าที่ช่วยกระตุ้นต่อมไร้ท่อ (Anterior pituitary) ซึ่งทำหน้าที่ผลิต ฮิวแมน โกรท ฮอร์โมน (Human growth hormone, HGH) ที่ช่วยในการเจริญเติบโตทำให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อ



รูปที่ 2.1 แสดงกลไกการเกิดกรดแกมมาอะมิโนบิวทริก เอซิด

เนื่องจาก GABA ไม่สามารถดูดกลืนแสงได้ไม่ว่าจะเป็นช่วงยูวีหรือวิสิเบิล จึงไม่สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้โดยตรง จำเป็นต้องทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เพื่อให้เกิดเป็นสารอนุพันธ์ที่ดูดกลืนแสงได้เสียก่อน จากการสืบค้นและทบทวนเอกสารอ้างอิงที่เกี่ยวข้องพบว่า มีงานวิจัยเป็นจำนวนมาก ที่กล่าวถึงการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ของ GABA แต่ในโครงการนี้ ได้เลือกปฏิกิริยาระหว่าง GABA และ 2-Hydroxynaphthaldehyde ในการทำอนุพันธ์ เนื่องจากมีขั้นตอนไม่ยุ่งยากซับซ้อน และสารเคมีที่ใช้มีราคาไม่แพงเมื่อเทียบกับงานวิจัยอื่นๆ ปฏิกิริยาในไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

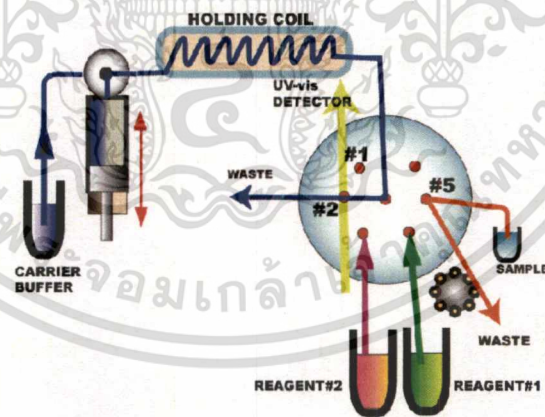
การทำอนุพันธ์เป็นดั่งสมการด้านล่างในรูปที่ 2 จากรูปที่ 2 จะเห็นว่าตำแหน่งหรือหมู่ฟังก์ชันที่เข้าทำปฏิกิริยากันได้แก่ หมู่อะมิโน (-NH₂) ของกาบา และ หมู่คาร์บอนิล (-CO) ของ 2-Hydroxynaphthaldehyde



รูปที่ 2.2 แสดงปฏิกิริยาในการทำอนุพันธ์ระหว่างกาบา และ 2-Hydroxynaphthaldehyde

2.1.2 หลักการของ SIA [26]

เทคนิคนี้พัฒนาขึ้นในปี ค.ศ. 1990 โดย Ruzicka และ Marshall [26] ได้ออกแบบให้เป็นระบบวิเคราะห์ซึ่งมีการดูดสารที่ต้องการวิเคราะห์และสารเคมีในปริมาณน้อยมากๆ (ในระดับไมโครลิตร) เข้ามาเป็นลำดับขั้นตามลำดับการเกิดปฏิกิริยาเคมี จึงไม่สิ้นเปลืองและลดการผลิตของเสีย ระบบ SIA อย่างง่ายแสดงดังรูปที่ 3



รูปที่ 2.3 ระบบ Sequential injection analysis (SIA) อย่างง่าย

(ที่มาจาก <http://www.flowinjection.com/method2.html>)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนประกอบของระบบ Sequential injection analysis มีดังนี้

2.1.2.1 หน่วยของการขับเคลื่อนของเหลว (Propulsion unit) คือส่วนของปั๊ม ปั๊มที่ใช้มักเป็นปั๊มกำลังขับเคลื่อนสูง เพื่อเป็นตัวขับเคลื่อนตัวอย่างและสารเคมีเข้าสู่ระบบ เช่น Syringe pump ซึ่งเป็น pump ที่ให้อัตราการไหลที่คงที่มาก

2.1.2.2 ระบบของการฉีด (Multiposition valve) คือ ส่วนที่ดูดสารเคมี และ/หรือ สารตัวอย่างเข้าไปเก็บไว้ที่ holding coil มีลักษณะเป็น multiport valve สามารถมี port ได้มากถึง 10 port

2.1.2.3 Holding coil คือ เป็นส่วนที่ดูดสารเคมี และ/หรือ ตัวอย่างมาเก็บไว้ (ส่วนที่ 1 ถึง 3 นี้ เป็นส่วนที่เกี่ยวข้องกับการทำให้สารตัวอย่างและสารเคมีเกิดปฏิกิริยาได้เป็นผลิตภัณฑ์เพื่อตรวจวัดต่อไป)

2.1.2.4 Flow through cell คือ อุปกรณ์ในส่วนที่เป็นระบบท่อที่ใช้ลำเลียงผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นให้ไหลเข้าสู่ตัวตรวจวัด Flow through cell นี้จะบรรจุอยู่ในเครื่องตรวจวัด

2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

มีคณะนักวิจัยจำนวนมาก ใช้หลักการทางเคมีวิเคราะห์ ซึ่งส่วนใหญ่ใช้หลักการของเทคนิคโครมาโทกราฟี เพื่อพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณ GABA ในตัวอย่างประเภทต่างๆ ตัวอย่างของงานวิจัยเหล่านั้น สามารถสรุปขั้นตอนและวิธีวิเคราะห์ที่ได้ดังต่อไปนี้

J. Kehr [8] พัฒนารูปวิธีการตรวจหาปริมาณ GABA จากของเหลวในสมองหนูทดลอง โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High performance liquid chromatography, HPLC) ร่วมกับการตรวจวัดฟลูออเรสเซนซ์ โดยสารตัวอย่างต้องทำอนุพันธ์กับ Phthalaadehyde-2-mercaptoethanol ก่อนที่ผลิตภัณฑ์จะถูกแยกโดยคอลัมน์ C_{18} ภายในบรรจุเม็ดซิลิกาขนาด 30 ไมโครเมตร สำหรับสภาวะในการแยกองค์ประกอบของตัวอย่างนั้นใช้เฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) เป็น Sodium acetate ผสมกับ 20 % acetonitrile มี pH ประมาณ 5.4 และใช้อัตราการไหล (flow rate) 50 ไมโครลิตรต่อนาที พบว่า พบปริมาณ GABA น้อยกว่า 1.5 นาโนโมลาร์ ในตัวอย่างของเหลวจากสมองของหนู

T. A. C. Vermeji และคณะ [9] ได้ตรวจหาปริมาณ Pregabalin, Gabapentin และ Vibagatrin ในของเหลวจากเลือดมนุษย์โดยอาศัยเทคนิคโครมาโทกราฟี ร่วมกับการตรวจวัดฟลูออเรสเซนซ์ ซึ่งทำโดยอาศัยการทำอนุพันธ์ของตัวอย่างก่อนการแยก (Precolumn derivatization) ด้วย o-phataldehyde (OPA) และ 3-mercaptopropionic acid กับตัวอย่างของเหลวในเลือดมนุษย์ ก่อนฉีดเข้าสู่เครื่อง HPLC ที่ใช้คอลัมน์ C_{18} และใช้อัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่คงที่ตลอด (Isocratic Elution) ก่อนจะนำไปวัดฟลูออเรสเซนซ์ อาศัย Norvaline เป็น internal standard การทดลองอาศัย

การออกแบบและคำนวณค่าทางสถิติด้วย ANOVA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

L. Y. Zhang และคณะ [10] ได้ทำการตรวจวัดหาปริมาณ GABA, Glutamate (Glu) และ Alanine (Ala) โดยอาศัยเทคนิคโครมาโทกราฟีร่วมกับการตรวจวัดฟลูออเรสเซนซ์ ซึ่งทำโดยการนำตัวอย่างของเหลวทางชีวภาพของมนุษย์มาทำอนุพันธ์ (derivatization) กับ naphthalene-2, 3-dicarboxaldehyde (NDA) ใช้เฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) เป็น phosphate buffer pH 8.7 ผสมกับ sodium chloride (SC) 24 มิลลิโมลาร์ และ sodium dodecyl sulfate (SDS) 26 มิลลิโมลาร์ เพื่อทำให้เกิดการแยกสารที่ต้องการวิเคราะห์ออกจากกรดอะมิโนตัวอื่นๆ หลังจากนั้นนำไปตรวจวัดฟลูออเรสเซนซ์ พบว่ามีปริมาณ GABA, Glu และ Ala เท่ากับ 4.0×10^{-8} , 1.1×10^{-8} และ 1.3×10^{-8} โมลาร์ ตามลำดับ และนำผลเหล่านี้ไปประยุกต์ใช้กับผู้ป่วยที่มีอาการเครียด เพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณของสารดังกล่าวเพื่อการวินิจฉัยและหาแนวทางในการรักษาต่อไป

G. Yu และคณะ [11] ได้ทำการพัฒนาวิธีการหาปริมาณ GABA ในระอองเรณูของต้นยาสูบโดยใช้ควอนตัมดอท ซึ่งทำโดยการติดตามปริมาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ลดลงของควอนตัมดอท ซึ่งเป็นองค์ประกอบของ CdSe-ZnS ซึ่งจะจับกับ GABA ที่เป็นองค์ประกอบหนึ่งใน ระอองเรณู ซึ่งพบว่ามีปริมาณ GABA อยู่ในระอองเรณูประมาณ 1 ไมโครโมลต่อลิตร

T. Yamamoto และคณะ [12] ได้พัฒนาวิธีการตรวจวัด GABA ที่ถูกปล่อยออกมาจากสมองหนูด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี ร่วมกับเทคนิคทางไฟฟ้าเคมี (Electrochemistry) ซึ่งทำโดยการนำตัวอย่างผ่านการแยกด้วยการใช้เครื่อง HPLC แล้วทำการตรวจวัดโดยใช้ reductive-oxidative mode พบว่าให้ความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 1 -100 นาโนกรัม/มิลลิลิตร และสำหรับวิธีนี้มีขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดน้อยกว่า 0.5 นาโนกรัม/มิลลิลิตร

Y. Song และคณะ [13] ได้พัฒนาวิธีในการหาปริมาณ GABA ในตัวอย่างทางชีวภาพโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟี ร่วมกับวิธีทางสเปกโทรเมตรี ซึ่งทำโดยการนำตัวอย่าง พลาสมาและของเหลวจากระบบประสาทส่วนกลางของมนุษย์มาทำการวิเคราะห์ด้วยแคพิลลารีลิกวิดโครมาโทกราฟี (capillary liquid chromatography) ในการแยกองค์ประกอบของตัวอย่างและต่อเข้ากับระบบตรวจวัดแบบแมสสเปกโทรเมตรี (MS/MS) โดยมีการทำอนุพันธ์ โดยการติดฉลากสารที่ต้องการวิเคราะห์ด้วยดิวทีเรียม (deuterium- labeled) แล้วนำมาทำอนุพันธ์กับ 7-fluoro-4-nitrobenzoxadiazole (NBD-F) ก่อนเข้าสู่กระบวนการเพิ่มความเข้มข้นให้สารที่ต้องการตรวจวัดแบบ in-line (in-line preconcentration) ด้วยคอลัมน์สำหรับการสกัด (extraction column) ซึ่งมีขนาด 10 มิลลิเมตร x 0.25 มิลลิเมตร, 7 มิลลิเมตร, C18 และคอลัมน์สำหรับการวิเคราะห์ (analytical column) ขนาด 50 มิลลิเมตร x 0.25 มิลลิเมตร, 5 มิลลิเมตร, C₁₈ ในส่วนของแมสสเปกโทรเมตรี (mass-spectrometry) กำหนดการตรวจวัดที่ m/z 267 \rightarrow 249 สำหรับ nitrobenzoxadiazole-aminobutyric acid (NBD-GABA) และ m/z 269 \rightarrow 251 สำหรับ NBD -GABA-d₂ พบว่า ได้รับความเป็นเส้นตรงในช่วง 10-250 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ได้ค่า r^2 เท่ากับ 0.9994 สำหรับในพลาสมาและในของเหลวจากระบบประสาท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนกลางมีปริมาณ GABA อยู่ 44.3 ± 10.0 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ($n=6$) และ 98.6 ± 33.9 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ($\text{mean} \pm \text{S.D.}, n=12$) ตามลำดับ

J. A. Eckstein และคณะ [14] ได้ศึกษาหาปริมาณกรดอะมิโนหลากหลายชนิดโดยอาศัยเทคนิคโครมาโทกราฟีร่วมกับวิธีทางสเปกโทรเมทรี ซึ่งทำโดยการนำตัวอย่างซึ่งเป็นของเหลวจากระบบประสาทส่วนกลาง ประกอบด้วย glutamine, glutamate, pyroglutamate และ GABA มาทำปริมาณวิเคราะห์ โดยการแยกด้วย HPLC โดยไม่ต้องอาศัยการทำอนุพันธ์ (derivatization) หรือ กระบวนการสกัด (extraction) เพิ่มความเข้มข้นของตัวอย่างแต่อย่างใด เป็นผลให้ใช้ระยะเวลาในการวิเคราะห์ที่ต่ำลงเพียงตัวอย่างละ 5 นาที เมื่อสิ้นสุดกระบวนการแยกจะเข้าสู่ระบบการตรวจวัดที่ใช้ เทคนิคแมสสเปกโทรเมทรี และพบว่าความสามารถต่ำสุดในการวิเคราะห์ (LOQ) เท่ากับ 7.8 นาโนกรัม/มิลลิลิตร นอกจากนี้การเก็บค่าเพื่อแสดงข้อมูลทางสถิติจะทำแบบภายในวันเดียวกัน (intra-day) และต่างวันกัน (inter-day) เพื่อหาค่าความเที่ยงและความแม่นยำสำหรับสารที่ต้องการวิเคราะห์ซึ่งพบว่าวิธีดังกล่าวให้ความไว ความจำเพาะเจาะจง และความทนทานต่อการติดตามผลในตัวอย่างที่ดี

K. Buck และ คณะ [15] ได้ทำการพัฒนาระบบที่มีความรวดเร็วในการหาปริมาณ GABA และ glutamate โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟี ร่วมกับเทคนิคสเปกโทรเมทรี ซึ่งทำโดยการวิเคราะห์ตัวอย่างจากสมองหนู เพื่อศึกษาหาปริมาณของ GABA และ glutamate ในส่วนของเทคนิคโครมาโทกราฟี ใช้คอลัมน์ชนิด HILIC (hydrophilic interaction liquid Chromatography) ซึ่งสามารถจับกับกรดอะมิโนที่เป็นสารสื่อประสาทได้ นอกจากนั้นยังใช้เฟสเคลื่อนที่ ที่ได้จากการผสมของ 0.1% formic acid ในน้ำกับ acetonitrile เมื่อการแยกสิ้นสุดลงในส่วนของการตรวจวัดใช้เครื่องแมสสเปกโทรมิเตอร์ ในโหมด positive electroscopy ionization อาศัยเวลาในการวิเคราะห์ส่วนนี้ 3 นาที ทำให้พบว่าการพัฒนาวิธีดังกล่าว ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วง 1 นาโนโมลาร์ ถึง 10 นาโนโมลาร์ สำหรับ GABA และ 10 นาโนโมลาร์ ถึง 100 นาโนโมลาร์ สำหรับ glutamate นอกจากนี้ ยังมีขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ (LOQ) สำหรับ GABA เท่ากับ 1 นาโนโมลาร์ และสำหรับ glutamate เท่ากับ 10 นาโนโมลาร์ ต่อปริมาตรสารที่ใช้ฉีด 10 ไมโครลิตร

D. W. Johnson [16] ได้พัฒนาวิธีการหาปริมาณ GABA โดยอาศัยวิธีการติดฉลากด้วยไอโซโทป (isotope labeling) โดยอาศัยเทคนิคโครมาโทกราฟี ร่วมกับสเปกโทรเมทรี ซึ่งทำโดยการพัฒนาสารที่ใช้ทำอนุพันธ์ตัวใหม่ขึ้นมาสำหรับการตรวจวัดโดย LC/MS/MS ซึ่งรีเอเจนต์ตัวใหม่ เกิดจากการผสมระหว่าง 4-methylpiperazineacetic acid (MPAS) กับ iTRAQ (Isobaric tags for relative and absolute quantitation) ซึ่งเมื่อทำอนุพันธ์กับกรดอะมิโนให้ได้สัญญาณที่ดีขึ้นกว่าการใช้ MPAS หรือ iTRAQ เพียงชนิดเดียว

H. L. Rowley และคณะ [17] ได้พัฒนาวิธีในการหาปริมาณกรดอะมิโนต่างๆ ที่ทำหน้าที่เป็นสารสื่อประสาทของระบบประสาทส่วนกลางของหนูทดลอง โดยนำของเหลวในสมองมาทำอนุพันธ์กับ o-phthalaldehyde (OPA) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาอย่างน้อย 5 ชั่วโมง แล้วนำไปแยกโดยอาศัยเฟส

เคลื่อนที่ (mobile phase) ที่มีอัตราส่วนคงที่ (isocratic elution) พบว่า ในตัวอย่างประกอบด้วย กรดอะมิโน 7 ชนิด แยกออกมาตามลำดับดังนี้ serine, glycine, taurine, glutamate, arginine, alanine และ GABA

I. M. Perl และคณะ [18] ได้ทำการศึกษาความเสถียรของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำอนุพันธ์ ระหว่างกรดอะมิโนชนิดต่างๆ กับ *o*-phthalaldehyde / N-acetyl-L-cysteine (OPA/NAC) กับ *o*-phthalaldehyde/3-mercaptopropionic acid (OPA/MPA) โดยอาศัยเทคนิคโครมาโทกราฟี ทำ โดยการนำตัวอย่างที่ประกอบด้วยกรดอะมิโน 24 ชนิด ทำอนุพันธ์กับสารละลาย OPA/MPA และ OPA/NAC ภายใต้ระยะเวลา 6 ชม ก่อนจะนำไปศึกษาโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีแล้วตรวจวัดฟลูออเรสเซนซ์และแอบซอร์เบ้นซ์ พบว่า เมื่อศึกษาความเสถียรและประสิทธิภาพการแยก ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการทำอนุพันธ์ของตัวอย่างกับ OPA/MPA ให้ผลซึ่งดีกว่า OPA/NAC

T. P. Piepponen และคณะ [19] ได้พัฒนาวิธีทางโครมาโทกราฟีที่รวดเร็ว และมีความไวในการตรวจวัด glutamate, glycine, taurine และ GABA โดยอาศัยการตรวจวัดฟลูออเรสเซนซ์ ซึ่งทำโดยการนำตัวอย่าง มาทำอนุพันธ์กับ *o*-phthalaldehyde -2-mercaptoethanol ด้วยระบบการฉีดตัวอย่าง แบบอัตโนมัติ ใช้ ODS-II HPLC คอลัมน์ พบว่า ในหนึ่งตัวอย่างอาศัยระยะเวลาในการแยก 12 นาที รวมขั้นตอนการล้างระบบก่อนฉีดตัวอย่างถัดไป เมื่อการแยกสิ้นสุดจะถูกวัดฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่นเดียว พบว่า มีปริมาณ GABA 80 แพนโทโมล ในตัวอย่างปริมาตร 15 ไมโครลิตรในส่วนของ glutamate, glycine รวมถึง taurine ไม่สามารถทำการตรวจหาปริมาณได้เนื่องจากมีปริมาณมากเกินไป ความสามารถในการตรวจวัด

M. Y. Khuhawar และคณะ [20] ได้พัฒนาวิธีการตรวจหาปริมาณ GABA ด้วยการทำอนุพันธ์ แล้ว ตรวจวัดด้วยวิธีโครมาโทกราฟี ซึ่งทำโดยการนำตัวอย่างซึ่งประกอบด้วย glycine, l-Lysine, tyramine และ GABA มาทำอนุพันธ์กับ 2-hydroxynaphthaldehyde การแยกใช้คอลัมน์ชนิด phenomenex C₁₈ โดยใช้เฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) เป็น methanol: water (62:38 v/v) เมื่อการแยกเสร็จสมบูรณ์จะทำการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง ยูวี-สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 330nm พบว่าได้กราฟมาตรฐานที่มีความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 1.2- 28.0 ไมโครกรัม/ มิลลิตร ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD) คือ 2.8 นาโนกรัม/ ปริมาตรการฉีด 5 ไมโครลิตร และทำให้ พบว่าในตัวอย่างของเหลวจากระบบประสาทส่วนกลาง มีปริมาณ GABA อยู่ในช่วง 19.0-22.4 ไมโครกรัม/ มิลลิตร พร้อมกับค่าสัมประสิทธิ์ของความผันแปร (coefficient of variation; CV) 2.4%

S. Zhang และคณะ [21] ได้ทำการพัฒนาวิธีในการตรวจหาปริมาณ GABA และ glutamate โดยใช้ HPLC เริ่มด้วยการนำตัวอย่างมาทำอนุพันธ์กับ *o*-phthalaldehyde (OPA) แล้วเข้าสู่กระบวนการแยกด้วย HPLC ภายใต้สภาวะที่อัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่คงที่ (isocratic elution) ผ่านการแยกด้วย microbore คอลัมน์แล้วทำการตรวจวัดด้วยเทคนิคทางไฟฟ้าเคมี ส่งผลให้สามารถหาปริมาณ GABA ได้ต่ำถึง 0.03 พิกโคโมล และหาปริมาณ glutamate ได้ต่ำถึง 0.8 พิกโคโมล

X. Kang และคณะ [22] ได้ทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดตัวอย่างที่เป็นกรดอะมิโนในระบบประสาท ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี ซึ่งทำโดยการนำตัวอย่างสมองของหนูและพลาสมาของกระต่ายมาทำการหาปริมาณโดยการทำอนุพันธ์กับ dansyl chloride เพื่อหากรดอะมิโนที่สำคัญ เช่น tuarine, aspartate, glutamate, glycine, alanine และ GABA โดยอาศัยระบบการใช้สัดส่วนของเคลื่อนที่ (mobile phase) คงที่ เพื่อลดระยะเวลาในการตรวจวัด และค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ ใช้เวลาในการวิเคราะห์ 35 นาที หลังจากนั้นไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรมิเตอร์ พบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่ค้นพบนั้นให้ พีคของกรดอะมิโน 12 ตัว ในครั้งเดียวเป็นผลให้สามารถตรวจวัดอะมิโนสำคัญดังที่กล่าวมาได้ในคราวเดียวกัน และนำไปประยุกต์ใช้กับตัวอย่างทางชีวภาพ ได้เป็นอย่างดี

J. F. Staden และคณะ [23] ได้พัฒนาวิธีการหาปริมาณกรดอะมิโนโดยใช้เทคนิคสเปกโตรเมทรีร่วมกับระบบของไหลที่มีการฉีดสารอย่างเป็นลำดับ sequential injection analysis (SIA) ซึ่งทำโดยการนำตัวอย่างมาทำอนุพันธ์กับ 2,4,6-trinitrobenzenesulphonic acid (TNBS) ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์สีเหลือง และทำการตรวจวัดด้วยเครื่อง ยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 350 นาโนเมตร ซึ่งพบว่าสามารถทำการวิเคราะห์กรดอะมิโนได้ถึง 15 ตัวอย่างต่อเวลา 1 ชั่วโมง และให้ค่า S.D. (Standard deviation) < 2.3% รวมถึงกราฟเส้นตรงที่ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงตั้งแต่ $0-1 \times 10^{-2}$ โมล/ลิตร

C. K. Zacharis และคณะ [24] ได้ทำการตรวจวัดหาปริมาณ GABA ต่อเนื่องด้วยระบบ SIA ร่วมกับเทคนิคทางโครมาโทกราฟี ในตัวอย่างชีวภาพซึ่งทำโดย การนำตัวอย่างสารชีวภาพจากมนุษย์ ซึ่งเป็นของเหลวจากระบบประสาทส่วนกลางมาทำอนุพันธ์ ด้วย o-phthalaldehyde (OPA) อย่างอัตโนมัติภายในระบบแล้วนำผลิตภัณฑ์ที่ได้เข้าสู่ส่วนที่เป็นการแยกด้วย HPLC ก่อนทำการวัดด้วยฟลูออโรมิเตอร์ เป็นผลให้ลดขั้นตอนในการเตรียมตัวอย่างให้น้อยลง และพบว่าสามารถวิเคราะห์หาปริมาณ GABA ได้ต่ำระดับ ppb (part per billion) ในการวิเคราะห์ตัวอย่างทางชีวภาพ

C. K. Zacharis และคณะ [25] ได้วิเคราะห์หากรดอะมิโนและแบปไทด์ โดยระบบ SIA ภายใต้การวิเคราะห์ด้วยแคพิลลารี อิเล็กโทรโพรซิสร่วมกับการตรวจวัดฟลูออเรสเซนซ์อย่างต่อเนื่อง ซึ่งทำโดยการสร้างระบบให้มีการทำอนุพันธ์อย่างอัตโนมัติแล้วอาศัยหลักการทางไฟฟ้าเคมี ในการแยกองค์ประกอบในตัวอย่าง ก่อนทำการตรวจวัดด้วยฟลูออเรสเซนซ์ ซึ่งมีการหาสภาวะที่เหมาะสมในการทดลองจากหลายตัวแปร เช่น ระยะเวลาที่ใช้ในการเกิดอนุพันธ์ของตัวอย่างกับรีเอเจนต์ ความเข้มข้นของรีเอเจนต์ รวมถึงค่า pH ที่เหมาะสมในการเกิดอนุพันธ์ทำให้ได้ผลการทดลองว่าวิธีมีความเป็นเส้นตรงในช่วง 0.5-5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร, $R^2 \geq 0.994$, $RSD < 4.5\%$ และความสามารถต่ำสุดในการตรวจวัดอยู่ที่ 30 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ($S/N = 3$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

3.1.1. สารเคมี

ชื่อสารเคมี	สูตรเคมี	ความบริสุทธิ์ (%)	ยี่ห้อและประเทศผู้ผลิต
แกมมา อะมิโนบิวทิริก แอซิด (γ -aminobutyric acid)	$C_4H_9NO_2$	99.00	Sigma, USA
2- ไฮดรอกซีแนฟทาลดีไฮด์ (2-hydroxynaphthaldehyde)	$C_{11}H_8O_2$	-	Aldrich, USA
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide)	NaOH	98.00	Rankem, India
กรดบอริก (Boric acid)	H_3BO_3	99.00	Sigma, USA
โพแทสเซียมคลอไรด์ (Potassium chloride)	KCl	99.50	Merck, USA
อะซิโตไนไตรล์ (Acetonitrile)	CH_3CN	99.98	RCI Labscan, Thailand

3.1.2. อุปกรณ์และเครื่องตรวจวัด

1. ขวดวัดปริมาตร
2. ปีกเกอร์
3. ปิเปต และ ไมโครปิเปต
4. ขวดรูปชมพู่
5. หลอดหยด
6. กระจกตวง
7. ขวดทดลองแบบมีฝาปิด
8. ซ้อนตักสาร
9. อลูมิเนียมฟอยล์
10. แท่งแก้วคนสาร
11. นาฬิกาจับเวลา
12. เครื่องวัดพีเอช - Metrohm, 827 pH Lab Meter, USA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ใดได้เห็นว่าไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

13. เครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า – Heidolph, MR 1000, Germany
14. เครื่องยูวี - วิสิเบิลสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ - Jasco V630, USA
15. อุปกรณ์สำหรับสร้างระบบซีควนเซียลอินเจคชัน ได้แก่
 - 15.1 มัลติซีเลกชันวาล์วแบบ 8 พอร์ต - HAMILTON, Serial MVP, Switzerland
 - 15.2 โมลาร์วาล์วโพซิชั่นเนอร์- HAMILTON, HVC 'T' 3-2, Switzerland
 - 15.3 โซริงค์ไดร์โมดูล- HAMILTON, PSD/ 4, Switzerland
 - 15.4 โพลทูลูเซลล์สำหรับใช้กับเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปคโตรโฟโตมิเตอร์- Hellma, 176.052-QS, USA
 - 15.5 PTFE tube ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 1.0 มิลลิเมตร- Vici AG International, JR-T6807-M 25, Switzerland

3.2 การเตรียมสารละลาย

สารละลายทั้งหมดใช้น้ำกลั่นปราศจากไอออนในการเตรียม สารเคมีทุกตัวเป็นเกรดสำหรับงานวิเคราะห์ทางเคมี (Analytical reagent grade)

3.2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกานาสำหรับวิธีแบบไม่ต่อเนื่อง (Batch method)

เตรียมสารละลายมาตรฐานกานา 2000 มิลลิกรัม/ลิตร (Stock solution) โดยชั่งกานา 0.05xx กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำเป็น 25.00 มิลลิลิตร และนำสารละลายมาตรฐานกานาที่ได้ไปใช้สำหรับเตรียมสารละลายมาตรฐานกานาความเข้มข้นอื่นๆ ดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกานาที่ความเข้มข้นต่างๆ สำหรับวิเคราะห์ด้วยวิธีแบบไม่ต่อเนื่อง

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกานา (มิลลิกรัม/ลิตร)	ปริมาตรสารละลายที่ต้องปิเปต* (มิลลิลิตร)	ปริมาตรสุดท้าย** (มิลลิลิตร)
50	0.25	10.00
100	0.50	10.00
200	1.00	10.00
300	1.50	10.00
400	2.00	10.00

* ปิเปตจากสารละลายมาตรฐานกานาความเข้มข้น 2000 มิลลิกรัม/ลิตร

**ปรับปริมาตรด้วยน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกาบาสำหรับระบบซีเควนเซียลอินเจกชันอะนาไลซิส

เตรียมสารละลายมาตรฐานกาบา 5000 มิลลิกรัม/ลิตร (Stock solution) โดยชั่งกาบา 0.125x กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 25.00 มิลลิลิตร และนำสารละลายมาตรฐานกาบาที่ได้ไปใช้สำหรับเตรียมสารละลายมาตรฐานกาบาความเข้มข้นอื่นๆ ดังตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกาบาที่ความเข้มข้นต่างๆ สำหรับวิเคราะห์ด้วยระบบซีเควนเซียลอินเจกชันอะนาไลซิส

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกาบา (มิลลิกรัม/ลิตร)	ปริมาตรสารละลายที่ต้องปิเปต* (มิลลิลิตร)	ปริมาตรสุดท้าย** (มิลลิลิตร)
100	0.20	10.00
300	0.60	10.00
500	1.00	10.00
700	1.40	10.00
1000	2.00	10.00
2000	4.00	10.00
3000	6.00	10.00

* ปิเปตจากสารละลายมาตรฐานกาบาความเข้มข้น 5000 มิลลิกรัม/ลิตร

**ปรับปริมาตรด้วยน้ำ

3.2.3 การเตรียมสารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ (พีเอช 8.0)

1. เตรียมสารละลายกรดบอริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ โดยชั่งกรดบอริกมา 0.62xx กรัม ละลายด้วยน้ำ และปรับปริมาตรจนครบ 100.00 มิลลิลิตร
2. เตรียมสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ โดยชั่งโพแทสเซียมคลอไรด์ 0.74xx กรัม ละลายด้วยน้ำและปรับปริมาตรจนครบ 100.00 มิลลิลิตร
3. เตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ โดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.04xx กรัม ละลายด้วยน้ำและปรับปริมาตรจนครบ 10.00 มิลลิลิตร
4. จากนั้นนำสารละลายกรดบอริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 100.00 มิลลิลิตร (จากข้อ 1) มาผสมกับสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 100.00 มิลลิลิตร (จากข้อ 2) และปรับพีเอชให้เท่ากับ 8.0 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.4 การเตรียมสารละลาย 2-ไฮดรอกซีแนฟทาลดีไฮด์ (2-hydroxy-naphthaldehyde)

เตรียมสารละลาย 2-ไฮดรอกซีแนฟทาลดีไฮด์ ร้อยละ 6 (น้ำหนัก/ปริมาตร) โดยชั่ง 2-ไฮดรอกซีแนฟทาลดีไฮด์ 1.50 กรัม ละลายและปรับปริมาตรจนครบ 25.00 มิลลิลิตรด้วยอะซิโตไนโตรล์

3.3 วิธีดำเนินการทดลอง

3.3.1 ศึกษาการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ด้วยวิธีแบบไม่ต่อเนื่อง

1. เปิดสารละลายมาตรฐานกาบาแต่ละความเข้มข้น (50, 100, 200, 300 และ 400 มิลลิกรัม/ลิตร) ปริมาตร 1000 ไมโครลิตร สารละลายบอเรนัทเพอร์ พีเอช 8.0 ปริมาตร 600 ไมโครลิตร และสารละลาย 2-ไฮดรอกซีแนฟทาลดีไฮด์ ร้อยละ 6 (น้ำหนัก/ปริมาตร) 2000 ไมโครลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยอะซิโตไนโตรล์ (สำหรับรีเอเจนต์แบลงค์ใช้น้ำกลั่นแทนสารละลายมาตรฐานกาบา)

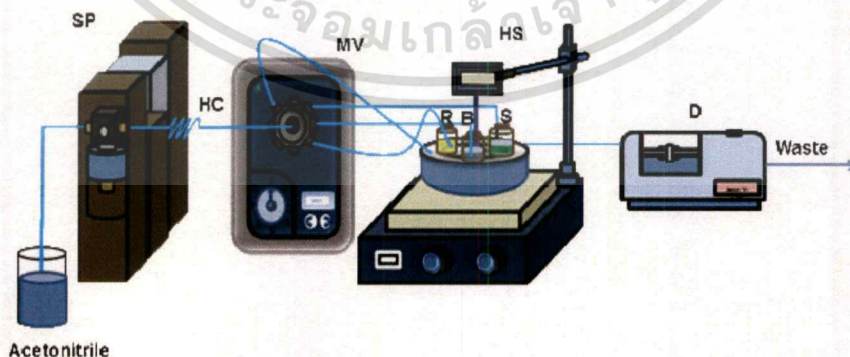
2. นำสารละลายจากข้อ 1 เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องและในที่มืด เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3. นำสารละลายจากข้อ 2 มาทำการวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยปรับเป็นศูนย์ด้วยรีเอเจนต์แบลงค์ จากนั้นทำการวัดสเปกตรัมของสารอนุพันธ์แต่ละความเข้มข้น ที่ความยาวคลื่น 400 - 800 นาโนเมตร บันทึกตรัมและหาความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดเพื่อใช้เป็นความยาวคลื่นในการติดตามสารอนุพันธ์ที่เกิดขึ้น

4. นำผลการทดลองที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสูงสุดกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกาบา

3.3.2 ออกแบบระบบซีเควนเซียลอินเจกชันอะนาไลซิส

ระบบซีเควนเซียลอินเจกชันอะนาไลซิส ที่ใช้ในการทำอนุพันธ์แบบอัตโนมัติเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณกาบา แสดงดังรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 แสดงระบบซีเควนเซียลอินเจกชันที่ได้พัฒนาขึ้นสำหรับการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ แบบอัตโนมัติในการหาปริมาณกาบา; C: อะซิโตไนโตรล์, R: สารละลาย 2-ไฮดรอกซีแนฟทาลดีไฮด์ (ร้อยละ 6 น้ำหนัก/เอกลสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

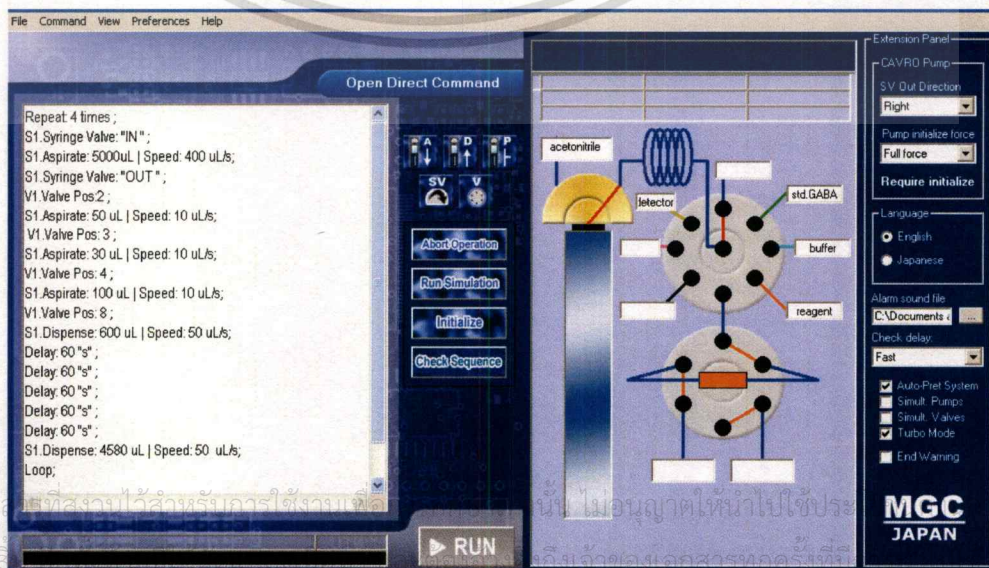
ปริมาณ), B: สารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ พีเอช 8.0, S: สารละลายมาตรฐานกาบา, SP: โซริงค์ปั๊ม, HC: โฮลดิ้งคอยล์ ความยาว 200 เซนติเมตร, MV: มัลติซีเลกชันวาล์ว, IS: ระบบให้ความร้อน, D: ยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

3.3.3 ศึกษาการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์แบบอัตโนมัติด้วยระบบซีเคาน์เชียนเจคชันอะนาไลซิส

ในการทดลองจะใช้ซอฟต์แวร์ MGC Auto-Pret Version 4 ในการควบคุมการทำงานของระบบซีเคาน์เชียนเจคชันอะนาไลซิสทั้งหมด โดยลำดับขั้นตอนในการหาปริมาณกาบามีดังต่อไปนี้

1. ดูดสารละลายตัวพา (อะซิโตนไตรล) ปริมาตร 5000 ไมโครลิตร เข้าสู่ระบบด้วยอัตราเร็ว 400 ไมโครลิตร/วินาที
2. ดูดสารละลายมาตรฐานกาบาแต่ละความเข้มข้น (100, 500, 1000, 2000 และ 3000 มิลลิกรัม/ลิตร) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ด้วยอัตราเร็ว 10 ไมโครลิตร/วินาที เข้าสู่ระบบโดยเก็บไว้ที่โฮลดิ้งคอยล์
3. ดูดสารละลายบอเรตบัฟเฟอร์พีเอช 8.0 ปริมาตร 30 ไมโครลิตร ด้วยอัตราเร็ว 10 ไมโครลิตร/วินาที เข้าสู่ระบบโดยเก็บไว้ที่โฮลดิ้งคอยล์
4. ดูดสารละลาย 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์ ร้อยละ 6 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ด้วยอัตราเร็ว 10 ไมโครลิตร/วินาที เข้าสู่ระบบและเก็บไว้ที่โฮลดิ้งคอยล์ เป็นลำดับสุดท้าย
5. ผลักสารละลายที่เก็บไว้ในโฮลดิ้งคอยล์ ปริมาตร 600 ไมโครลิตร เข้าสู่ระบบให้ความร้อน (Incubation system) โดยกำหนดอุณหภูมิไว้ที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที
6. ผลักผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นไปยังเครื่องตรวจวัดเพื่อตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสง

ลำดับขั้นตอนข้างต้น สามารถแสดงได้ดังรูปที่ 3.2 โดยรูปดังกล่าวเป็นขั้นตอนที่ได้จากโปรแกรมที่ใช้ควบคุมการทำงานของระบบซีเคาน์เชียนเจคชันอะนาไลซิส



รูปที่ 3.2 แสดงหน้าจอของซอฟต์แวร์ MGC Auto-Pret Version 4 ซึ่งระบุลำดับขั้นตอนการหาปริมาณกาบา โดยอาศัยระบบซีเควนเชียลอินเจคชันอะนาไลซิส

3.3.4 การศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์

ในการศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกาบา ได้ทำการศึกษา ปัจจัยต่างๆ ทั้งทางด้านเคมีและทางด้านกายภาพที่สามารถส่งผลต่อการดูดกลืนแสงของสาร ผลิตภัณฑ์ โดยระบบที่ใช้ในการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมนี้จะใช้ระบบดังแสดงในรูปที่ 3.1 และมีลำดับการวิเคราะห์เช่นเดียวกับหัวข้อ 3.3.3 ดังแสดงในรูปที่ 3.2

3.3.4.1 การศึกษาปัจจัยทางกายภาพ

1. ศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิต่อการเกิดปฏิกิริยาอนุพันธ์

ทำการศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิในขั้นตอนการทำอนุพันธ์ที่ส่งผลต่อความไว ในการวิเคราะห์ที่เลือกศึกษาคือ อุณหภูมิมีห้อง 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

2. ศึกษาอิทธิพลของปริมาตรสารละลายมาตรฐานกาบาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์

ทำการศึกษาอิทธิพลสำหรับปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกาบาในขั้นตอนการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ที่ส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์ โดยมี ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกาบาที่เลือกศึกษาคือ 50, 100 และ 150 ไมโครลิตร

3. ศึกษาอิทธิพลของเวลาในการให้ความร้อน

ทำการศึกษาอิทธิพลของเวลาในการให้ความร้อนในขั้นตอนการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ที่ส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์ โดยใช้ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกาบาเท่ากับ 150 ไมโครลิตรและเวลาที่เลือกศึกษาคือ 1, 3 และ 5 นาที

4. ศึกษาอิทธิพลของความยาวมิกซิงคอยด์

ทำการศึกษาอิทธิพลของความยาวมิกซิงคอยด์ในขั้นตอนการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ที่ส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์ ใช้ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกาบาเท่ากับ 150 ไมโครลิตรและความยาวที่เลือกศึกษาคือ 100, 200, 300 และ 400 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. ศึกษาอิทธิพลของลำดับในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์

ทำการศึกษาอิทธิพลของลำดับในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ที่ส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์ โดยใช้มิกซิงคอยด์ความยาว 200 เซนติเมตร และลำดับในการทำปฏิกิริยาที่เลือกศึกษาคือ

1. ลำดับการทำปฏิกิริยาแบบ non-sandwich ใช้สารละลายมาตรฐานกาบาปริมาณ 150 ไมโครลิตร บอเรตบัฟเฟอร์พีเอช 8.0 ปริมาตร 30 ไมโครลิตร และรีเอเจนต์ (2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์) ร้อยละ 6 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ตามลำดับโดยสามารถแสดงเป็นรูปที่ 3.3

	Std.GABA	buffer	HN	
--	----------	--------	----	--

รูปที่ 3.3 แสดงลำดับการทำปฏิกิริยาแบบ non-sandwich; std.GABA: สารละลายมาตรฐานกาบาความเข้มข้น 100-2000 มิลลิกรัม/ลิตร, buffer: บอเรตบัฟเฟอร์พีเอช 8, HN: 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์ ร้อยละ 6 (น้ำหนัก/ปริมาตร)

2. ลำดับการทำปฏิกิริยาแบบ sandwich ใช้รีเอเจนต์ (2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์) ร้อยละ 6 (น้ำหนัก/ปริมาตร) 50 ไมโครลิตร สารละลายมาตรฐานกาบาปริมาณ 150 ไมโครลิตร บอเรตบัฟเฟอร์พีเอช 8.0 ปริมาตร 30 ไมโครลิตร และรีเอเจนต์ (2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์) ร้อยละ 6 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ตามลำดับ

หมายเหตุ มีขั้นตอนการวิเคราะห์เช่นเดียวกับหัวข้อ 3.3.3 และแสดงได้ดังรูปที่ 3.2 แต่กำหนดให้ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกาบาในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ 150 ไมโครลิตรตามลำดับโดยสามารถแสดงเป็นรูปที่ 3.4

	HN	Std.GABA	buffer	HN	
--	----	----------	--------	----	--

รูปที่ 3.4 แสดงลำดับการทำปฏิกิริยาแบบ sandwich; std.GABA: สารละลายมาตรฐานกาบาความเข้มข้น 100-2000 มิลลิกรัม/ลิตร, buffer: บอเรตบัฟเฟอร์พีเอช 8, HN: 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์ ร้อยละ 6 (น้ำหนัก/ปริมาตร)

6. ศึกษาอิทธิพลของอัตราการไหล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำการศึกษาอิทธิพลของอัตราการใช้ของสารในขณะเข้าสู่ระบบตรวจวัดที่ส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์ โดยใช้ปริมาณของสารละลายมาตรฐานกาบาในการทำปฏิกิริยานุพันธ์เท่ากับ 150 ไมโครลิตร ความยาวมิกซิงคอยด์ 200 เซนติเมตร และลำดับการทำปฏิกิริยานุพันธ์แบบ sandwich และอัตราการใช้ที่เลือกศึกษาคือ 25, 50 และ 100 ไมโครลิตร/นาที่

3.3.4.2 ศึกษาปัจจัยทางเคมี

1. ศึกษาอิทธิพลของพีเอชต่อการเกิดปฏิกิริยานุพันธ์

การศึกษาอิทธิพลของพีเอชของบอเรตบัฟเฟอร์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยานุพันธ์ที่ส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์โดยพีเอชที่เลือกศึกษาคือ 8, 9 และ 10 ตามลำดับ

2. ศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นรีเอเจนต์ (2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์)

ต่อการเกิดปฏิกิริยานุพันธ์

การศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นสำหรับรีเอเจนต์ของ 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์ ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยานุพันธ์ ที่ส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์ โดยปริมาณของสารละลายมาตรฐานกาบาในการทำปฏิกิริยานุพันธ์เท่ากับ 150 ไมโครลิตรและความเข้มข้นที่เลือกศึกษาคือร้อยละ 0.3, 3, 6 และ 7.5 (น้ำหนัก/ ปริมาตร)

3.3.5 การสร้างกราฟมาตรฐานที่ได้จากสภาวะที่เหมาะสม

เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกาบาโดยอาศัยระบบ ซีควนเซียลอินเจกชันอะนาลิซิสแล้ว จึงได้ทำการสร้างกราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกาบา โดยสารละลายทุกชนิดจะถูกดูดเข้าสู่ระบบที่มีลำดับการดูดสารแบบ sandwich ดังนี้ รีเอเจนต์ (2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์) ร้อยละ 6 (น้ำหนัก/ ปริมาตร) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร สารละลายมาตรฐานกาบา ปริมาตร 150 ไมโครลิตร บอเรตบัฟเฟอร์พีเอช 8.0 ปริมาตร 30 ไมโครลิตร และรีเอเจนต์ (2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์) ร้อยละ 6 (น้ำหนัก/ ปริมาตร) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ตามลำดับ เคลื่อนที่เข้าสู่มิกซิงคอยด์ความยาว 200 เซนติเมตร พร้อมการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที และใช้อัตราการใช้ของสารในขณะส่งเข้าสู่ระบบตรวจวัดเป็น 50 ไมโครลิตรต่อวินาที โดยมีอะซิโตนไตรอลเป็นสารละลายตัวพา

3.3.6 ประเมินคุณลักษณะเด่นของวิธีวิเคราะห์

3.3.6.1 ความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์

ในการหาความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ จะพิจารณาโดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐานกาบาที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงไป จากนั้นคำนวณหาความเข้มข้นของ

ตัวอย่างที่มีการเติมสารละลายมาตรฐาน และคำนวณหาร้อยละของการคืนกลับ ตามสูตร ดังนี้

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{Spiked sample} - \text{Sample}}{\text{Standard}}$$

เมื่อ Spiked sample คือ ความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่มีการเติมสารละลายมาตรฐาน
 Sample คือ ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง
 Standard คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติมลงไป

3.3.6.2 ความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์

ในการหาความเที่ยงของวิธี จะพิจารณาจากค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ โดยทำการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัม/ลิตร ซ้ำๆ เป็นจำนวน 10 ครั้ง จากนั้นหาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ตามสูตรดังนี้

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

เมื่อ SD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
 $\frac{\text{SD}}{\bar{X}}$ คือ ค่าเฉลี่ย

3.3.6.3 ขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (Limit of detection, LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ) [24]

ในส่วนนี้เป็นการหาขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด และขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ของวิธี ซึ่งคำนวณได้ตามสูตรดังนี้

$$\text{LOD} = y_B + 3S_B$$

$$\text{LOQ} = y_B + 10S_B$$

เมื่อ y_B คือ จุดตัดแกน y

$$S_B \text{ คือ } \sqrt{\frac{\sum_i (y_j - \hat{y}_i)^2}{n-2}}$$

y_j คือ ค่าจริงที่อ่านได้จากเครื่องมือ

\hat{y}_i คือ ค่าที่ได้จากแทนค่า x ลงในสมการเส้นตรง

n คือ จำนวนข้อมูล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.7 ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีที่พัฒนาขึ้นกับการวิเคราะห์ปริมาณกาบาโดยอาศัยการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ด้วยวิธีแบบไม่ต่อเนื่อง

ทำการตรวจวัดปริมาณกาบาในตัวอย่างและเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ที่ได้จากวิธีการวิเคราะห์ปริมาณกาบาโดยอาศัยการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ด้วยระบบเอสไอเอที่พัฒนาขึ้นกับการวิเคราะห์ปริมาณกาบาโดยอาศัยการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ด้วยวิธีแบบไม่ต่อเนื่องด้วยวิธีการทางสถิติโดยตัวอย่าง คือ ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารชนิดเม็ดและชนิดแคปซูล ดังขั้นตอนต่อไปนี้

1. เปิดตัวอย่าง ปริมาตร 1000 ไมโครลิตร สารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ พีเอช 8.0 ปริมาตร 600 ไมโครลิตร และสารละลาย 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์ ร้อยละ 6 (น้ำหนัก/ปริมาตร) 2000 ไมโครลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยอะซิโตนไตรล (สำหรับรีเอเจนต์แบลนค์ใช้น้ำกลั่นแทนตัวอย่าง)
2. นำสารละลายจากข้อ 1 เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องและในที่มืด เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
3. นำสารละลายจากข้อ 2 มาทำการวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยปรับค่าศูนย์ด้วยรีเอเจนต์-แบลนค์ จากนั้นทำการวัดสเปกตรัมของสารอนุพันธ์ ที่ความยาวคลื่น 400 - 800 นาโนเมตร บันทึกสเปกตรัมและหาความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดเพื่อใช้เป็นความยาวคลื่นในการติดตามสารอนุพันธ์ที่เกิดขึ้น
4. นำผลการทดลองที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสูงสุดกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกาบา
5. คำนวณหาปริมาณกาบาโดยแทนค่าลงในสมการเส้นตรงที่ได้จากการสร้างกราฟมาตรฐานในข้อ 4
6. นำปริมาณกาบาที่คำนวณได้ไปเปรียบเทียบกับปริมาณกาบาที่ได้จากวิธีที่พัฒนาขึ้นด้วย Paired *t*-test แบบ two tailed test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

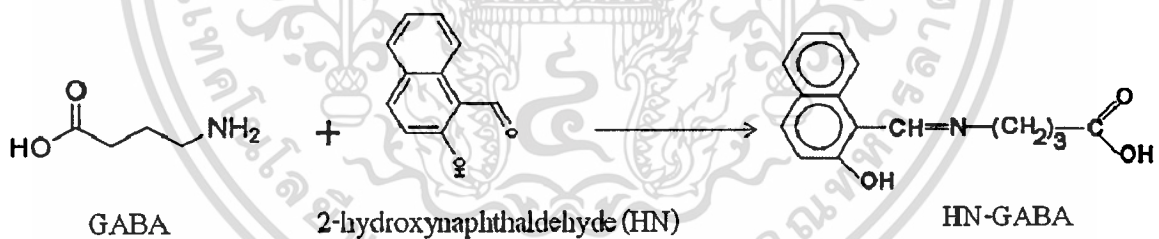
บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

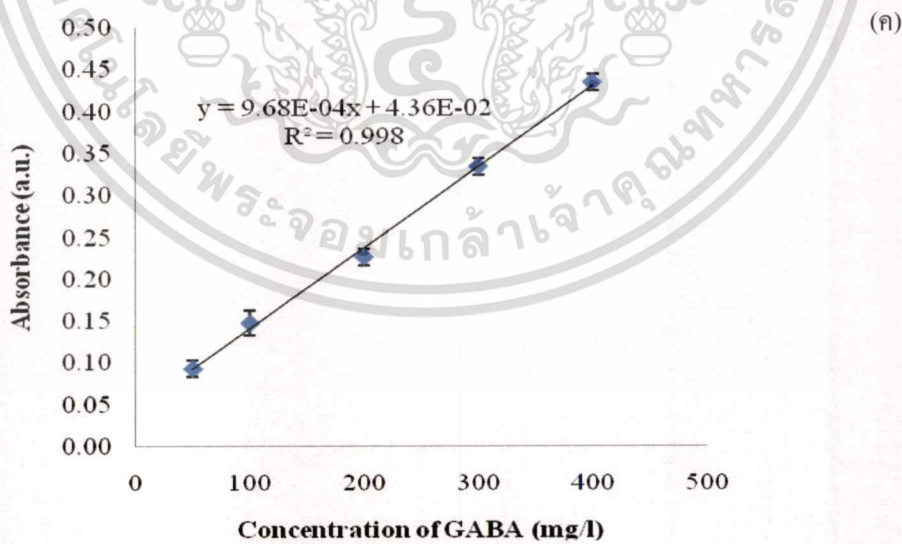
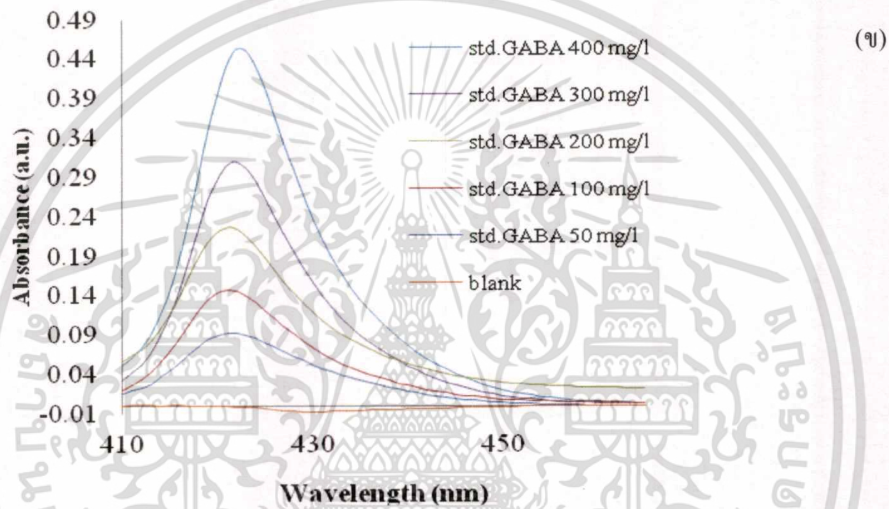
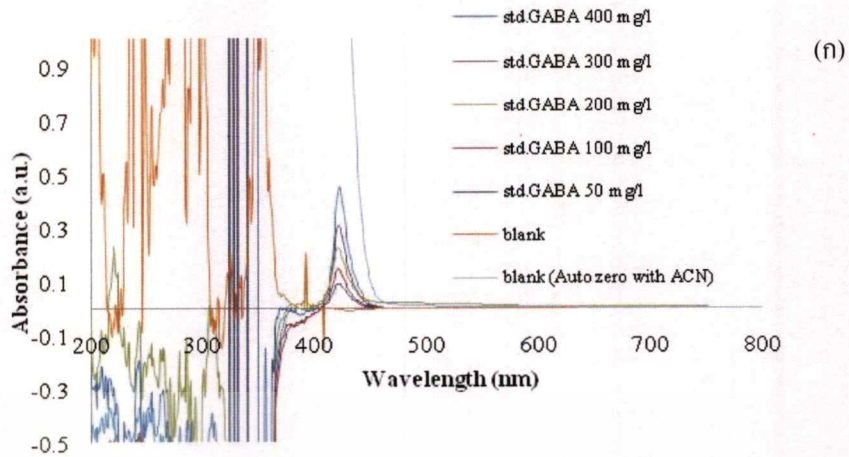
งานวิจัยนี้ได้พัฒนาระบบซีควนเชียลอินเจกชันอะนาไลซิส (เอสไอเอ) ในการทำอนุพันธ์แบบอัตโนมัติ เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณกาบา ในบทนี้จะได้กล่าวถึงผล และการอภิปรายผลการศึกษาปฏิกิริยาการตรวจวัด การหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์ การประเมินคุณลักษณะต่างๆ ของวิธี การนำระบบที่พัฒนาขึ้นนี้มาประยุกต์ใช้สำหรับหาปริมาณกาบาในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร รวมถึงการตรวจสอบความถูกต้องของระบบที่พัฒนาขึ้น

4.1 ผลการศึกษาเพื่อหาความยาวคลื่นที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดสารอนุพันธ์ของกาบา

การหาความยาวคลื่นที่เหมาะสมสำหรับติดตามสารอนุพันธ์ของกาบา ได้ศึกษาโดยใช้สารละลายมาตรฐานกาบาคความเข้มข้นในช่วง 50 – 400 มิลลิกรัม/ลิตร ทำปฏิกิริยาอนุพันธ์กับ 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์ ร้อยละ 6 (น้ำหนัก/ปริมาตร) เกิดปฏิกิริยาอนุพันธ์ดังสมการในรูปที่ 4.1 ในสภาวะที่เป็นเบสโดยใช้บอเรตบัฟเฟอร์ พีเอช 8 แล้วให้อุณหภูมิในการทำอนุพันธ์ที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ก่อนนำไปติดตามสเปกตรัมในช่วงความยาวคลื่น 200 – 800 นาโนเมตร โดยใช้รีเอเจนต์เป็นแบลนด์สำหรับปรับค่าศูนย์ (Auto zero) เพื่อหาความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุด



รูปที่ 4.1 แสดงสมการการเกิดปฏิกิริยาอนุพันธ์ระหว่างกาบากับ 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์



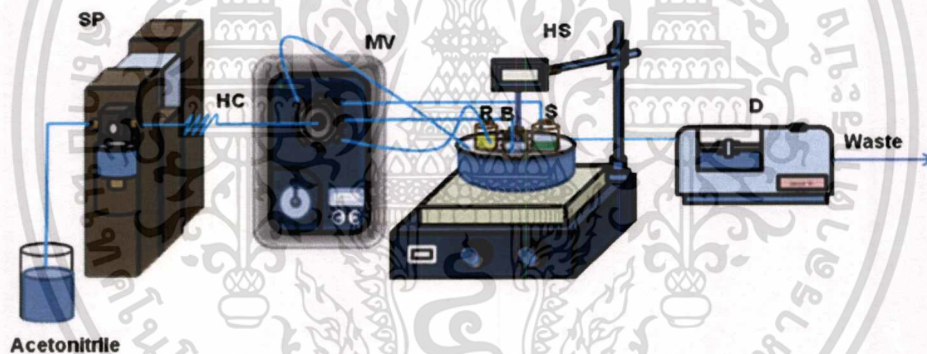
รูปที่ 4.2 แสดง (ก) สเปกตรัมที่ได้จากสารอนุพันธ์ของกาบาในช่วงยูวีและวิสิเบิล, (ข) สเปกตรัมที่ได้จากสารอนุพันธ์ของกาบาในช่วงวิสิเบิล และ(ค) กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกาบาช่วงความเข้มข้น 50 - 400 มิลลิกรัม/ลิตรที่มีความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากสเปกตรัมที่ได้พบว่า ในรูปที่ 4.2(ก) สารอนุพันธ์ที่เกิดขึ้นไม่สามารถติดตามค่าการดูดกลืนแสงในช่วงยูวีได้ แต่อย่างไรก็ตามในรูปที่ 4.2(ข) สำหรับช่วงวิสิเบิล พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบาเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกาบาโดยค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดอยู่ที่ 420 นาโนเมตร (λ_{\max}) และเมื่อนำผลการทดลองที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐานดังรูป 4.2(ค) ได้ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสิ้นใจ ($R^2 = 0.998$) และความเที่ยงที่ดี ดังนั้นจึงใช้ความยาวคลื่นดังกล่าวติดตามสารอนุพันธ์ของกาบาตลอดงานวิจัยนี้

4.2 ออกแบบระบบซีเควนเซียลอินเจคชันอะนาไลซิส

เมื่อพบว่าปฏิกิริยาอนุพันธ์ระหว่าง 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์ กับสารละลายมาตรฐาน กาบา มีความเป็นไปได้ที่จะใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณ จึงได้ทำการออกแบบระบบซีเควนเซียลอินเจคชันอะนาไลซิส โดยความยาวของโพลดิคคอยด์ และมิคซิงคอยด์พิจารณาจากปริมาตรรวมทั้งหมดของสารที่ถูกดูดเข้าสู่ระบบ โดยแรกเริ่มจะอ้างอิงจากอัตราส่วนในการทำปฏิกิริยาที่ใช้จาก การศึกษาการทำอนุพันธ์แบบไม่ต่อเนื่อง ระบบที่ออกแบบแสดงดังรูปที่ 4.3 โดยระบบนี้จะใช้เพื่อการศึกษาในหัวข้ออื่นๆ ต่อไป



รูปที่ 4.3 แสดงระบบซีเควนเซียลอินเจคชันที่ได้พัฒนาขึ้นสำหรับการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์แบบอัตโนมัติในการหาปริมาณกาบา; C: อะซิโตไนโตรล, R: สารละลาย 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์ (ร้อยละ 6 น้ำหนัก/ปริมาตร), B: สารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ พีเอช 8.0, S: สารละลายมาตรฐานกาบา, SP: โซริงค์ปั๊ม, HC: โพลดิคคอยด์ ความยาว 100 เซนติเมตร, MV: มัลติซีเลกชันวาล์ว, IS: ระบบให้ความร้อน, D: ยูวี-วิสิเบิล สเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (420 นาโนเมตร)

4.3 ผลการศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์

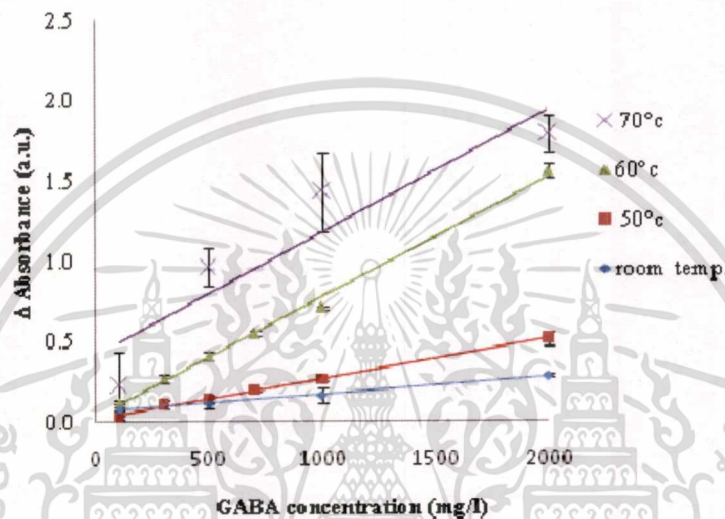
ในการศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกาบา โดยการทำอนุพันธ์อย่างอัตโนมัติด้วยระบบเอสไอเอ ดังแสดงในรูปที่ 4.3 ซึ่งลำดับขั้นตอนการวิเคราะห์ เช่นเดียวกับหัวข้อ 3.3.3 มีเกณฑ์ในการเลือกสภาวะที่เหมาะสมคือ จะเลือกสภาวะที่เมื่อนำผลการทดลองมาสร้างกราฟมาตรฐานแล้วให้ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสิ้นใจ และให้ความไวในการวิเคราะห์รวมถึงความเที่ยงที่ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1 ผลการศึกษาปัจจัยทางกายภาพ

4.3.1.1 ผลการศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิต่อการเกิดปฏิกิริยาอนุพันธ์

ในการศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิต่อการเกิดปฏิกิริยา ใช้สารละลายมาตรฐานกาบา ความเข้มข้นในช่วง 100 – 2000 มิลลิกรัม/ลิตร อุณหภูมิที่เลือกใช้ในขั้นตอนการทำอนุพันธ์ที่ศึกษาได้แก่ อุณหภูมิห้อง 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส ได้ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.4 และตาราง 4.1



รูปที่ 4.4 แสดงผลของการให้อุณหภูมิห้อง, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส ในขั้นตอนการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ ต่อค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา ตามลำดับ

ตารางที่ 4.1 สรุปสมการเชิงเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเมื่อใช้อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ที่แตกต่างกัน

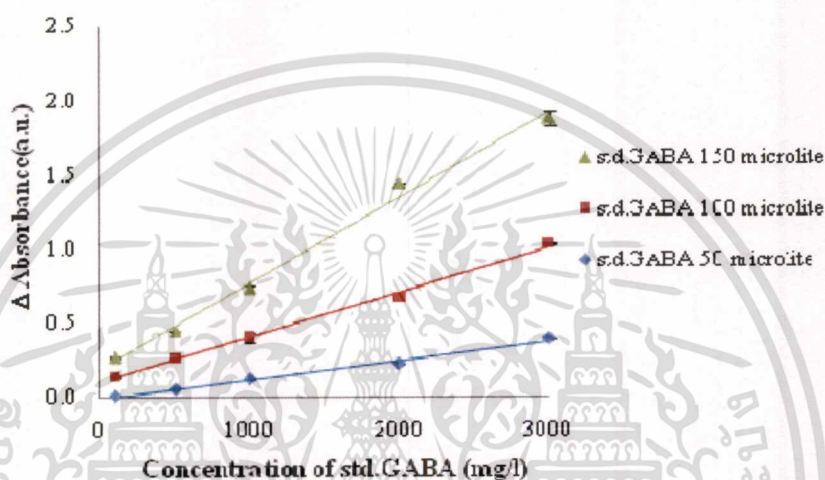
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	สมการเชิงเส้นตรง	ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R ²)
อุณหภูมิห้อง	$y = 9.00 \times 10^{-5}x + 0.068$	0.998
50	$y = 2.50 \times 10^{-4}x + 0.018$	0.996
60	$y = 7.47 \times 10^{-4}x + 0.031$	0.995
70	$y = 7.64 \times 10^{-4}x + 0.042$	0.866

จากผลการทดลองในรูปที่ 4.4 พบว่าความไวในการตรวจวัดเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นเพราะโมเลกุลสามารถชนกันได้เร็วและแรงขึ้น ปฏิกิริยาจึงเกิดได้ตีมากขึ้นพิจารณาจากความชันของสมการเส้นตรงที่เพิ่มขึ้น แต่ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ให้ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจที่ไม่ดี (R²) น้อยกว่า 0.9 เนื่องจากปัญหาการเอกสารนี้เป็นเอกสารที่ส่งวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกิดฟองในระบบเอสไอเอสส่งผลให้กระบวนการตรวจวัดทำให้สัญญาณมีความเที่ยงต่ำ จึงเลือกใช้อุณหภูมิรองลงมาคือ 60 องศาเซลเซียส ซึ่งค่าสัมประสิทธิ์การตัดสิ้นใจ ($R^2 = 0.995$) และความไวในการตรวจวัดที่ดีไม่แตกต่างจากที่ 70 องศาเซลเซียสเท่าใดนัก

4.3.1.2 ปริมาตรสารละลายมาตรฐานกาบาที่ดูดเข้าสู่ระบบ

ทำการศึกษาปริมาณสารละลายมาตรฐานกาบาที่ดูดเข้าสู่ระบบ ที่ส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์ โดยปริมาตรที่เลือกศึกษาคือ 50, 100 และ 150 ไมโครลิตร ตามลำดับ แสดงผลดังรูปที่ 4.5 และตารางที่ 4.2



รูปที่ 4.5 แสดงผลของปริมาตรที่ดูดเข้าสู่ระบบของสารละลายมาตรฐานกาบาที่ส่งผลต่อค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบาตามลำดับ

ตารางที่ 4.2 สรุปสมการเชิงเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์การตัดสิ้นใจเมื่อใช้ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกาบาที่ดูดเข้าสู่ระบบในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ที่แตกต่างกัน

ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกาบา (ไมโครลิตร)	สมการเชิงเส้นตรง	ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสิ้นใจ (R^2)
50	$y = 1.30 \times 10^{-4} x + 0.014$	0.992
100	$y = 3.11 \times 10^{-4} x + 0.079$	0.995
150	$y = 5.77 \times 10^{-4} x + 0.188$	0.993

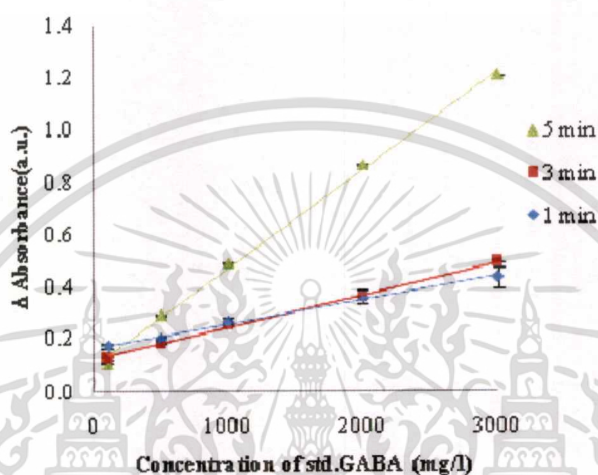
จากผลการทดลองในรูปที่ 4.5 พบว่าความไวในการตรวจวัดเพิ่มขึ้นตามปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกาบา พิจารณาจากความชันของสมการเส้นตรงที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากเมื่อปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกาบาเพิ่มขึ้นส่งผลให้จำนวนโมลที่เข้าทำปฏิกิริยาอนุพันธ์กับรีเอเจนต์ (2-ไฮดรอกซีเนบพาลดีไฮด์) มีมากขึ้น ปฏิกิริยาจึงสามารถเกิดได้ดีขึ้น จากข้อมูลผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการดูดสารละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มาตรฐานกาบาเข้าสู่ระบบที่ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ให้ความไวในการตรวจวัดที่ดีที่สุดรวมถึงให้ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจที่ดีที่สุด ($R^2 = 0.993$) จึงเลือกปริมาตรดังกล่าวในการทำปฏิกิริยานุพันธ์

4.3.1.3 ผลการศึกษาอิทธิพลของเวลาในการให้ความร้อนของปฏิกิริยานุพันธ์

ทำการศึกษาอิทธิพลของเวลาในการให้ความร้อนของปฏิกิริยานุพันธ์ที่ส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์ โดยเวลาที่เลือกศึกษาคือ 1, 3 และ 5 นาที แสดงผลดังรูปที่ 4.6 และตารางที่ 4.3



รูปที่ 4.6 แสดงผลของเวลาในการให้ความร้อนของปฏิกิริยานุพันธ์ที่ 1, 3 และ 5 นาที ซึ่งส่งผลต่อค่าการดูดกลืนของสารอนุพันธ์ของกาบา ตามลำดับ

ตารางที่ 4.3 สรุปสมการเชิงเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเมื่อใช้เวลาในการให้ความร้อนของปฏิกิริยานุพันธ์ที่แตกต่างกัน

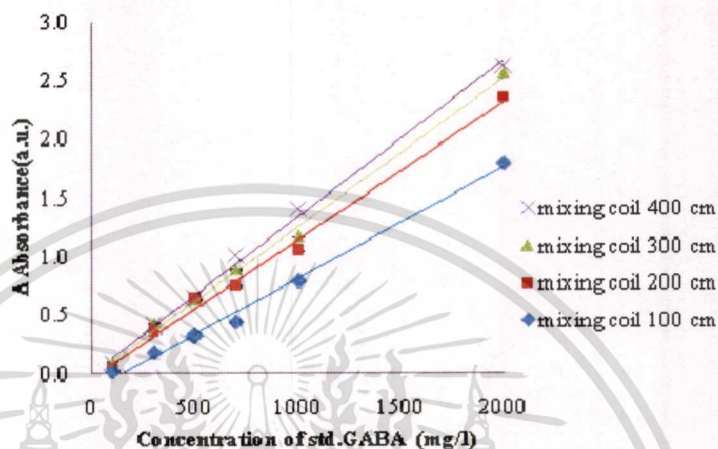
เวลาในการให้ความร้อน (นาที)	สมการเชิงเส้นตรง	ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2)
1	$y = 9.00 \times 10^{-5} x + 0.163$	0.992
3	$y = 1.24 \times 10^{-4} x + 0.120$	0.998
5	$y = 3.76 \times 10^{-4} x + 0.070$	0.998

จากผลการทดลองในรูปที่ 4.6 พบว่า ความไวในการตรวจวัดเพิ่มขึ้นตามเวลาในการให้ความร้อนของปฏิกิริยานุพันธ์ พิจารณาความชันของสมการเส้นตรงที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากเมื่อเพิ่มเวลาในการให้ความร้อนแก่สารละลายภายในท่อทำให้มีเวลาในการผสมของสารละลายแต่ละชนิดเข้าหากันเกิดการปฏิกิริยานุพันธ์ได้มากขึ้น ดังนั้นจากข้อมูลผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการให้ความร้อนขณะทำปฏิกิริยานุพันธ์ที่ 5 นาที ให้ความไวในการตรวจวัดมากที่สุด และให้ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ ($R^2 = 0.998$) จึงเลือกปริมาตรดังกล่าวในการทำปฏิกิริยานุพันธ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1.4 ผลการศึกษาอิทธิพลของความยาวของมิกซิงคอยด์

ทำการศึกษาอิทธิพลของความยาวของมิกซิงคอยด์ซึ่งอยู่ภายในระบบให้ความร้อนแก่สารละลายภายในท่อที่ส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์ โดยใช้ความยาวมิกซิงคอยด์เป็น 100, 200, 300 และ 400 เซนติเมตร แสดงผลดังรูปที่ 4.7 และตารางที่ 4.4



รูปที่ 4.7 แสดงผลของความยาวของมิกซิงคอยด์ที่ 100, 200, 300 และ 400 เซนติเมตร ซึ่งส่งผลต่อค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา ตามลำดับ

ตารางที่ 4.4 สรุปสมการเชิงเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเมื่อให้ความยาวของมิกซิงคอยด์ในระบบเอสไอเอสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณกาบาต่างๆ กัน

ความยาวของมิกซิงคอยด์ (เซนติเมตร)	สมการเชิงเส้นตรง	ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2)	อัตราการวิเคราะห์ (ตัวอย่าง / ชั่วโมง)
100	$y = 9.50 \times 10^{-4} x - 0.132$	0.996	9
200	$y = 1.18 \times 10^{-3} x - 0.0373$	0.996	8
300	$y = 1.23 \times 10^{-3} x - 0.005$	0.993	7
400	$y = 1.33 \times 10^{-3} x + 0.0111$	0.994	6

จากผลการทดลองในรูปที่ 4.7 พบว่าความไวในการตรวจวัดเพิ่มขึ้นเมื่อความยาวของ- มิกซิงคอยด์เพิ่มขึ้น พิจารณาความชันของสมการเส้นตรงที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากเมื่อความยาวของมิกซิงคอยด์เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ระยะทางในการผสมของสารละลายภายในท่อเกิดได้มากขึ้น ปฏิกิริยาอนุพันธ์จึงเกิดได้ดีขึ้น แต่อย่างไรก็ตาม อัตราในการวิเคราะห์ก็จะต่ำลงตามความยาวของมิกซิงคอยด์ที่เพิ่มขึ้น จึงเลือกให้ความยาวมิกซิงคอยด์ที่ไม่มากเกินไปแต่ยังคงให้ความไวในการวิเคราะห์ที่ดีที่สุดคือที่ 200 เซนติเมตร ที่ให้ความไวในการตรวจวัดและความเป็นเส้นตรงที่ดี ($R^2 = 0.993$)

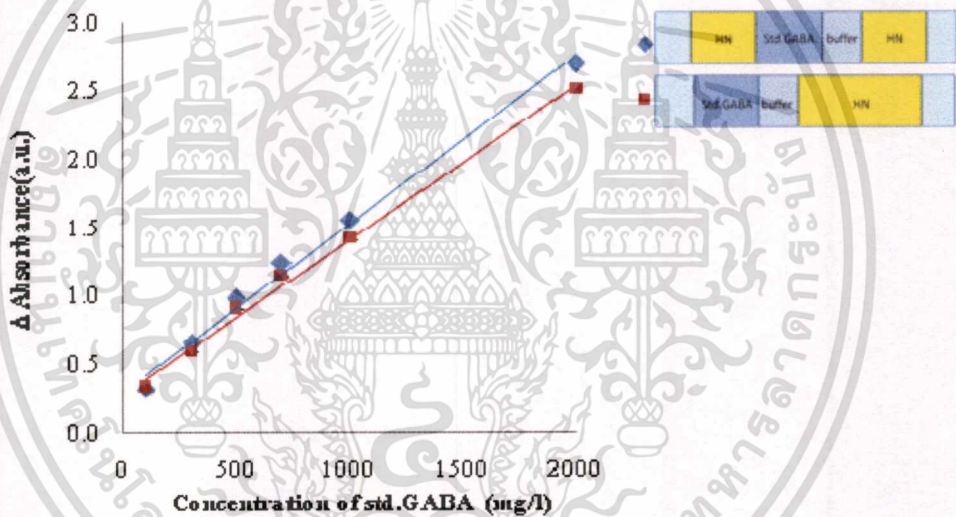
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1.5 ผลการศึกษาอิทธิพลของลำดับในการทำปฏิกิริยา

ทำการศึกษาอิทธิพลของลำดับในการทำปฏิกิริยาที่ส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์ โดยลำดับที่เลือกศึกษา

1. ลำดับการทำปฏิกิริยาแบบ non-sandwich ใช้ลำดับดังนี้ สารละลายมาตรฐาน กาบ 150 ไมโครลิตร บอเรตบัฟเฟอร์ pH 8.0 ปริมาตร 30 ไมโครลิตร และรีเอเจนต์ (2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์) ร้อยละ 6 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ปริมาตร 100 ไมโครลิตรตามลำดับ

2. ลำดับการทำปฏิกิริยาแบบ sandwich ใช้รีเอเจนต์ (2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์) ร้อยละ 6 (น้ำหนัก/ปริมาตร) 50 ไมโครลิตร สารละลายมาตรฐาน กาบ ปริมาตร 150 ไมโครลิตร บอเรตบัฟเฟอร์พีเอช 8.0 ปริมาตร 30 ไมโครลิตร และรีเอเจนต์ (2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์) ร้อยละ 6 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ตามลำดับได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.8 และตารางที่ 4.5



รูปที่ 4.8 แสดงผลของลำดับในการทำปฏิกิริยาแบบ sandwich และ non-sandwich ซึ่งส่งผลต่อค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบ ตามลำดับ

ตารางที่ 4.5 สรุปสมการเชิงเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเมื่อใช้ลำดับที่ต่างกัน

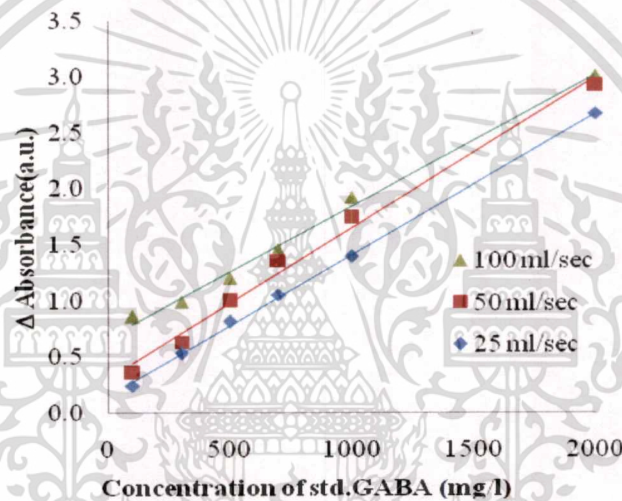
ลำดับของปฏิกิริยา	สมการเชิงเส้นตรง	ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2)
Std.GABA/ buffer/ HN (non sandwich)	$y = 1.13 \times 10^{-3} x + 0.289$	0.995
HN/ Std.GABA/ buffer/ HN (sandwich)	$y = 1.22 \times 10^{-3} x + 0.304$	0.992

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองพบว่าจากรูปที่ 4.8 เมื่อใช้ลำดับปฏิกิริยาแบบ sandwich จะให้ความไวในการวิเคราะห์ดีกว่าเล็กน้อย เนื่องจากมีพื้นที่ผิวในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ระหว่าง 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์ กับ สารละลายมาตรฐานกาบามากกว่า เป็นผลให้ปฏิกิริยาสามารถเกิดได้ดีขึ้น ดังนั้นจากข้อมูลผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าลำดับการทำปฏิกิริยาแบบ sandwich ให้ความไวในการวิเคราะห์ที่ดีกว่าและให้ความเป็นเส้นตรงที่ดี ($R^2 = 0.992$) จึงเลือกลำดับดังกล่าวในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์

4.3.1.6 ผลการศึกษาอิทธิพลของอัตราการไหล

ทำการศึกษาอัตราการไหลของสารละลายภายในท่อขณะผลึกเข้าสู่ระบบตรวจวัดที่ส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์ โดยอัตราการไหลที่ศึกษาคือ 25, 50 และ 100 ไมโครลิตร/วินาที ตามลำดับ แสดงผลดังรูปที่ 4.9 และตารางที่ 4.5



รูปที่ 4.9 แสดงผลของอัตราการไหลของสารละลายภายในท่อขณะผลึกเข้าสู่ระบบตรวจวัดที่ส่งผลต่อค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบ ตามลำดับ

ตารางที่ 4.6 สรุปสมการเชิงเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเมื่อใช้อัตราการไหลที่ต่างกัน

อัตราการไหล (ไมโครลิตร / วินาที)	สมการเชิงเส้นตรง	ค่าสัมประสิทธิ์การ ตัดสินใจ (R^2)	อัตราการวิเคราะห์ (ตัวอย่าง / ชั่วโมง)
25	$y = 1.26 \times 10^{-3} x + 0.069$	0.990	7
50	$y = 1.34 \times 10^{-3} x + 0.261$	0.990	9
100	$y = 1.17 \times 10^{-3} x + 0.673$	0.994	11

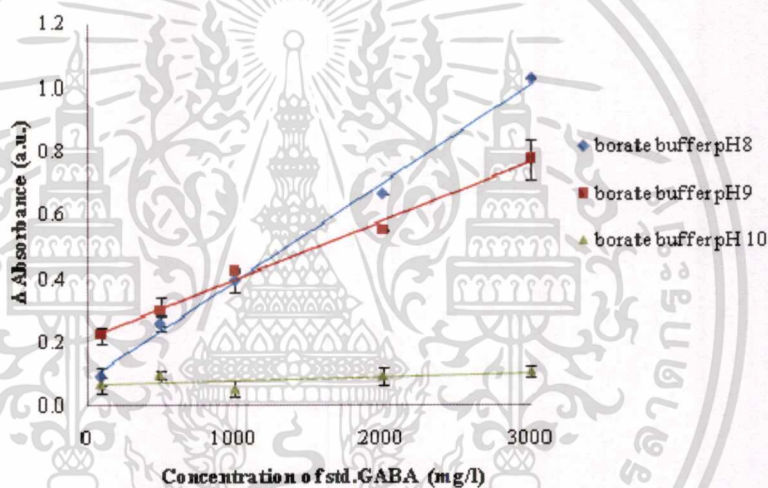
จากผลการทดลองพบว่า ที่อัตราการไหล 50 ไมโครลิตร/วินาที ให้ความไวในการวิเคราะห์ที่ดีที่สุด รองลงมาคือ 25 ไมโครลิตร/วินาที และที่อัตราการไหลเท่ากับ 100 แต่อย่างไรก็ตามความไวในการวิเคราะห์เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของแต่ละสภาวะรวมถึงค่าความเป็นเส้นตรงก็ให้ผลที่ดีและมีค่าไม่ต่างกันมากนัก จึงเลือกพิจารณาที่อัตราเร็วในการวิเคราะห์ตัวอย่าง ดังนั้นจากข้อมูลผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าอัตราการไหลที่ 100 ไมโครลิตร/วินาที ให้อัตราเร็วในการวิเคราะห์ที่ดีที่สุดรวมถึงให้ความไวในการวิเคราะห์และให้ความเป็นเส้นตรงที่ดี ($R^2 = 0.994$) จึงเลือกอัตราเร็วดังกล่าวในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์

4.3.2 ผลการศึกษาปัจจัยทางเคมี

4.3.2.1 ผลการศึกษาอิทธิพลของพีเอชต่อการเกิดปฏิกิริยาอนุพันธ์

ในการศึกษาอิทธิพลของพีเอชต่อการเกิดปฏิกิริยา ใช้สารละลายมาตรฐานกาบา ความเข้มข้นในช่วง 100 – 3000 มิลลิกรัม/ลิตร ทำปฏิกิริยาอนุพันธ์กับ 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์ร้อยละ 6 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส โดยพีเอชของบอเรตบัฟเฟอร์ในขั้นตอนการทำอนุพันธ์ที่ศึกษาได้แก่ พีเอช 8, 9 และ 10 ได้ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.10 และตารางที่ 4.7



รูปที่ 4.10 แสดงผลของพีเอช 8, 9 และ 10 ในขั้นตอนการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ต่อค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา ตามลำดับ

ตารางที่ 4.7 สรุปสมการเชิงเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ เมื่อใช้พีเอชของการเกิดปฏิกิริยาอนุพันธ์ที่ต่างกัน

พีเอช	สมการเชิงเส้นตรง	ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2)
8.0	$y = 3.11 \times 10^{-4} x + 0.072$	0.996
9.0	$y = 1.85 \times 10^{-4} x + 0.210$	0.992
10.0	$y = 0.76 \times 10^{-6} x + 0.079$	0.180

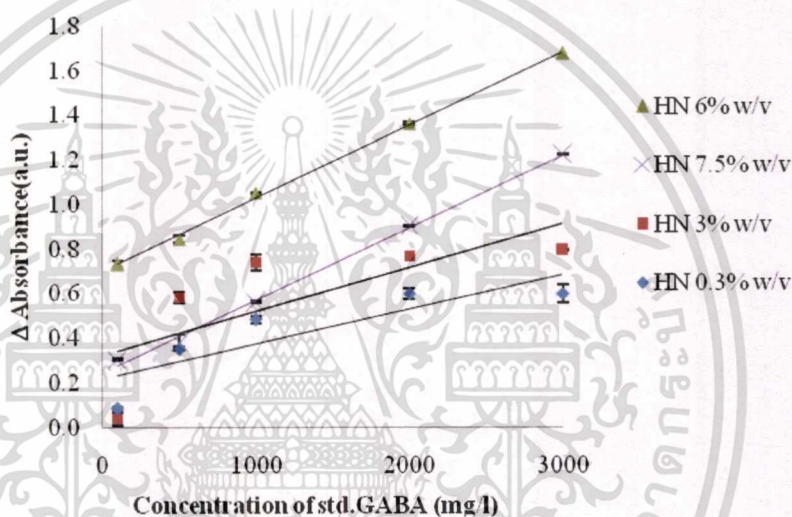
จากผลการทดลองพบว่าจากรูปที่ 4.10 ความไวในการตรวจวัดลดลงเมื่อค่าพีเอชของบอเรตบัฟเฟอร์ที่เพิ่มขึ้น พิจารณาจากความชันของสมการเส้นตรงที่ลดลงและที่พีเอช 10 แทบจะไม่เห็นความแตกต่างของค่าเอกสารเป็นเอกสารที่ส่งวนเวียนสำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การดูดกลืนแสงจากสารอนุพันธ์ของกาบาที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน จากข้อมูลผลการทดลองดังกล่าว แสดงให้เห็นว่าที่พีเอช 8 หมูอะมิโนสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับหมู่แอลดีไฮด์ในโครงสร้างของรีเอเจนต์ได้ดีเนื่องจากเป็นสภาวะที่ทำให้เกิดกรดช่วยในการเร่งปฏิกิริยา โดยพิจารณาจากความไวในการตรวจวัด และความเป็นเส้นตรงที่ดี ($R^2 = 0.996$) จึงเลือกบอเรตบัฟเฟอร์ที่พีเอช 8 ในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์

4.3.2.2 ผลการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของรีเอเจนต์ (2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์)

ต่อการเกิดปฏิกิริยาอนุพันธ์

ทำการศึกษาความเข้มข้นของ 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์ ที่ส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์ โดยความเข้มข้นของ 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์ที่เลือกศึกษาคือร้อยละ 0.3, 3, 6 และ 7.5 (น้ำหนัก/ ปริมาตร) ตามลำดับ แสดงผลดังรูปที่ 4.11 และตารางที่ 4.8



รูปที่ 4.11 แสดงผลของ 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์ ความเข้มข้นร้อยละ 0.3, 3, 6 และ 7.5 (น้ำหนัก/ ปริมาตร) ในขั้นตอนการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ต่อการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา ตามลำดับ

ตารางที่ 4.8 สรุปสมการเชิงเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเมื่อใช้ความเข้มข้นของ 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์ต่างๆกัน

ร้อยละความเข้มข้นของ 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์ (น้ำหนัก/ ปริมาตร)	สมการเชิงเส้นตรง	ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2)
0.3	$y = 1.56 \times 10^{-4} x + 0.216$	0.773
3	$y = 1.88 \times 10^{-4} x + 0.344$	0.551
6	$y = 3.27 \times 10^{-4} x + 0.246$	0.998
7.5	$y = 3.24 \times 10^{-4} x + 0.699$	0.997

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองพบว่าความเข้มข้นของ 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์ ร้อยละ 0.3 และ 3 (น้ำหนัก/ ปริมาตร) ให้ค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นในช่วงความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกาบาต่างๆ และเริ่มคงที่ เมื่อสารละลายมาตรฐานกาบาเพิ่มสูงขึ้นเนื่องมาจากมีปริมาณโมลของสารละลายรีเอเจนต์ที่ใช้ในการทำ ปฏิกริยาไม่เพียงพอต่อการทำปฏิกริยาอนุพันธ์กับสารละลายมาตรฐานกาบา แต่ที่ความเข้มข้นร้อยละ 6 และ 7.5 (น้ำหนัก/ ปริมาตร) โมลของ 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์ เพียงพอต่อการทำปฏิกริยาจึงให้ค่าสัมประสิทธิ์ การดูดกลืนใจและความไวในการตรวจวัดที่ดีและใกล้เคียงกันมากจึงเลือกใช้ 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 6 (น้ำหนัก/ปริมาตร) เพราะใช้สารเคมีดังกล่าวปริมาณน้อยกว่า ในการทำปฏิกริยาอนุพันธ์ จาก ที่ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมดังกล่าวมาแล้วข้างต้น สามารถสรุปผลการศึกษาได้ดังตารางที่ 4.9

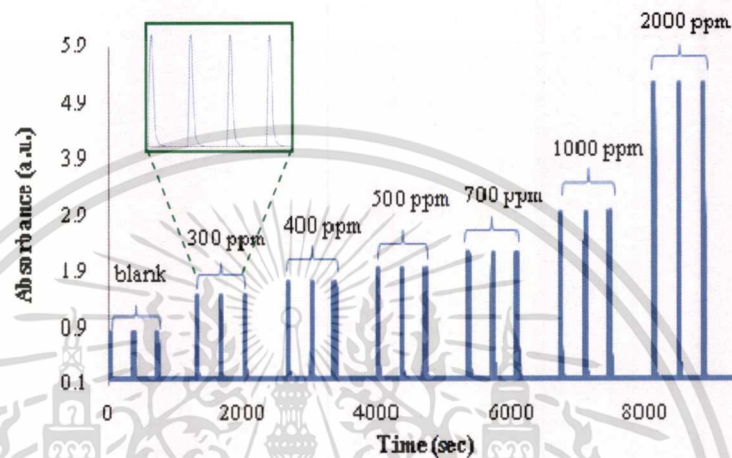
ตารางที่ 4.9 สรุปการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณกาบาโดยระบบซีควอนเซียลอินเจกชัน

ปัจจัยที่ศึกษา	ชนิด / ช่วงที่ศึกษา	ค่าที่เลือก
อุณหภูมิในการทำปฏิกริยาอนุพันธ์	40 -70 องศาเซลเซียส	60 องศาเซลเซียส
ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกาบา	50 -150 ไมโครลิตร	150 ไมโครลิตร
เวลาในการทำปฏิกริยาอนุพันธ์	1 – 5 นาที	5 นาที
ความยาวมิกซิงคอยด์	100 – 400 เซนติเมตร	200 เซนติเมตร
ลำดับการทำปฏิกริยา	1. Std.GABA/ buffer/ HN 2. HN/ Std.GABA/ buffer/ HN	HN/ Std.GABA/ buffer/ HN
พีเอชของบัฟเฟอร์	8.0 – 10.0	8.0
ความเข้มข้นของ 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์	ร้อยละ 0.3 – 7.5 น้ำหนัก/ ปริมาตร	ร้อยละ 6 น้ำหนัก/ ปริมาตร

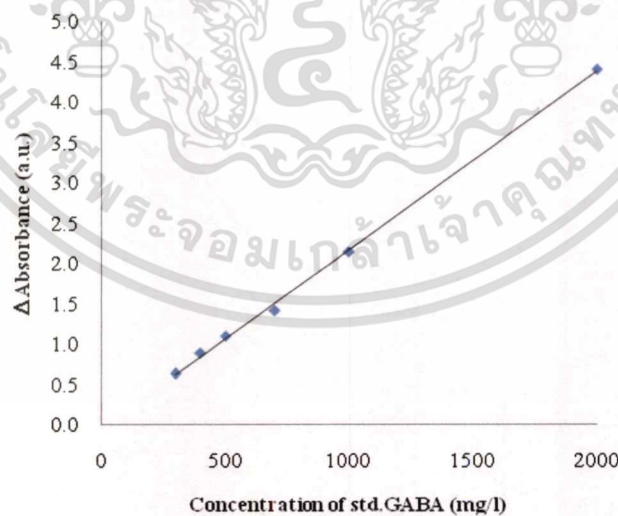
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 กราฟมาตรฐานที่ได้จากสภาวะที่เหมาะสม

เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกาบาโดยอาศัยระบบซีควอนเซียล- อินเจคชันอะนาไลซิสแล้ว จึงได้ทำการสร้างมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกาบา แสดงตัวอย่างลักษณะสัญญาณและกราฟมาตรฐาน ดังรูปที่ 4. 12 และ 4.13 ตามลำดับ



รูปที่ 4. 12 แสดงสัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานกาบาความเข้มข้น 300 – 2000 มิลลิกรัม/ลิตร



รูปที่ 4. 13 กราฟมาตรฐานของสารละลายกาบา ช่วงความเข้มข้น 300 – 2000 มิลลิกรัม/ลิตร

จากการศึกษาพบว่าระบบซีควอนเซียลอินเจคชันอะนาไลซิสที่ได้พัฒนาขึ้นสามารถ วิเคราะห์ปริมาณกาบาได้ในช่วง 300 – 2000 มิลลิกรัม/ลิตร โดยมีสมการเส้นตรงตามความสัมพันธ์เป็น $Abs = 2.21 \times 10^{-3} [GABA] - 0.0418$ และมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ ($R^2 = 0.999$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 ประเมินคุณลักษณะเด่นของวิธีวิเคราะห์

4.5.1 ความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์

ในการหาความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์จะประเมินจากค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่าง จากนั้นคำนวณหาความเข้มข้นของตัวอย่างที่มีการเติมสารละลายมาตรฐาน และค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ ซึ่งแสดงในตารางที่ 4.10

ตารางที่ 4.10 ผลการคำนวณหาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกาบา

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกาบา (มิลลิกรัม/เมตร)			ร้อยละของ การวิเคราะห์คืนกลับ
	ที่มีอยู่เดิม	ที่เติมลงไป	ที่ตรวจพบ	
1	107.39	203.00	303.47±0.0013	96.59
2	107.53	203.00	312.01±0.0083	100.73
3	110.22	203.00	307.99±0.0103	97.42
4	110.42	203.00	305.49±0.0042	96.09
5	111.34	203.00	302.73±0.0018	94.28
6	502.78	203.00	709.41±0.0004	101.79
7	511.40	203.00	728.30±0.0080	106.84
8	488.31	203.00	683.56±0.0010	96.18
9	505.94	203.00	704.88±0.0100	98.00
10	504.92	203.00	701.15±0.0020	96.66
11	504.45	203.00	708.48±0.0001	100.51

จากตารางที่ 4.10 จะเห็นได้ว่าการวิเคราะห์ปริมาณกาบามีร้อยละค่าคืนกลับอยู่ในช่วงร้อยละ 94.28 - 106.84 นั่นคือ วิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นนี้ ไม่ถูกรบกวนจากองค์ประกอบภายในตัวอย่าง จึงถือได้ว่าวิธีวิเคราะห์นี้มีความแม่นยำสูง

4.5.2 ความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์

ในการหาความเที่ยงของวิธี จะพิจารณาจากค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ โดยทำการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานกาบา ที่ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัม/ลิตร ซ้ำๆ เป็นจำนวน 10 ครั้ง จากนั้นหาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ พบว่าค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์มีค่าเท่ากับ 0.17 จึงถือได้ว่าวิธีนี้มีความเที่ยงที่สูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.3 ขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (Limit of detection, LOD) และ ขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ)

ในส่วนนี้เป็นการหาขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดและขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ ของวิธี ซึ่งคำนวณได้ตามสูตรดังนี้

$$LOD = y_B + 3S_B$$

$$LOQ = y_B + 10S_B$$

เมื่อ y_B คือ จุดตัดแกน y

$$S_B = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2}}$$

S_B

คือ

y_i

คือ ค่าจริงที่อ่านได้จากเครื่องมือ

\hat{y}_i

คือ ค่าที่ได้จากแทนค่า x ลงในสมการเส้นตรง

n

คือ จำนวนข้อมูล

เมื่อแทนค่าที่วิเคราะห์ได้ลงในสมการจะได้ LOD เท่ากับ 80.79 และ LOQ เท่ากับ 307.13 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ

จากที่ได้คุณลักษณะเด่นของวิธีวิเคราะห์ดังกล่าวมาแล้วข้างต้น สามารถสรุปผลการศึกษาได้ ดังตารางที่ 4.11

ตารางที่ 4.11 สรุปคุณลักษณะเด่นของวิธีในการวิเคราะห์ปริมาณกาบาโดยอาศัยระบบซีเควนเซียลอินเจคชัน

คุณลักษณะเด่น	ค่าที่ได้
ช่วงความเป็นเส้นตรง (มิลลิกรัม/ลิตร)	300 - 2000
สมการเชิงเส้นตรง	Abs = 2.21×10^{-3} [GABA] - 0.0418
ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2)	0.999
ร้อยละของการคืนกลับ (% recovery)	94.28 - 106.84
ความเที่ยง (% RSD) $n = 10$	0.17
ขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (มิลลิกรัม/ลิตร)	80.79
ขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ (มิลลิกรัม/ลิตร)	307.13
อัตราการวิเคราะห์(ตัวอย่าง/ชั่วโมง)	11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.6 ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีที่พัฒนาขึ้นกับการวิเคราะห์ปริมาณกาบาโดยอาศัยเทคนิคการทำอนุพันธ์แบบไม่ต่อเนื่อง

ทำการตรวจวัดปริมาณกาบา ที่มีการเติมสารละลายมาตรฐานกาบาที่ความเข้มข้นต่างๆลงไป และเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ที่ได้ จากวิธีที่พัฒนาขึ้น และเทคนิคการทำอนุพันธ์แบบไม่ต่อเนื่อง ด้วยวิธีการทางสถิติ ผลการวิเคราะห์และการเปรียบเทียบผลวิเคราะห์ด้วยวิธีการทางสถิติแสดงผลดังตารางที่ 4.12

ตารางที่ 4.12 ผลการวิเคราะห์ปริมาณกาบาโดยเทคนิคที่พัฒนาขึ้นและเทคนิค การทำอนุพันธ์แบบไม่ต่อเนื่อง

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกาบา (มิลลิกรัม/เม็ด)		
	ระบุช่วงฉลาก	การทำอนุพันธ์แบบไม่ต่อเนื่อง	งานวิจัยนี้
1	20	20.90 ± 0.0006	21.48 ± 0.0033
2	20	21.20 ± 0.0001	21.51 ± 0.0006
3	20	21.30 ± 0.0001	22.04 ± 0.0047
4	20	21.45 ± 0.0007	22.08 ± 0.0025
5	20	21.40 ± 0.0002	22.27 ± 0.0059
6	500	501.00 ± 0.0051	502.78 ± 0.0010
7	500	502.00 ± 0.0001	511.40 ± 0.0020
8	500	501.00 ± 0.0009	488.31 ± 0.0005
9	750	757.00 ± 0.0001	758.91 ± 0.0050
10	750	758.00 ± 0.0002	757.38 ± 0.0040
11	750	755.00 ± 0.0003	756.67 ± 0.0010

จากผลการวิเคราะห์และการเปรียบเทียบผลด้วยวิธีการทางสถิติพบว่า การวิเคราะห์ทั้ง 2 วิธีให้ผลที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ($t_{stat} = 0.27 < t_{critical} = 2.23$) จึงสามารถสรุปได้ว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นนี้มีความแม่นยำสูงและสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณกาบาในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารชนิดต่างๆ ได้

บทที่ 5

สรุปผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

5.1.1 ในงานวิจัยนี้ได้พัฒนาเทคนิคในการตรวจวัดปริมาณกาบาในตัวอย่าง โดยอาศัยเทคนิคสเปกโตรเมทรีร่วมกับระบบซีควนเซียล อินเจกชันอะนาไลซิส และตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นของสารอนุพันธ์ระหว่างสารละลายมาตรฐานกาบากับ 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์ พบว่าได้สภาวะที่เหมาะสมดังต่อไปนี้

- (1) อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ 60 องศาเซลเซียส
- (2) พีเอชของบัฟเฟอร์ 8.0
- (3) ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกาบา 150 ไมโครลิตร
- (4) ความเข้มข้นของ 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์ ร้อยละ 6 น้ำหนัก/ ปริมาตร
- (5) เวลาในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ 5 นาที
- (6) ความยาวมิกซิงคอยด์ 200 เซนติเมตร
- (7) ลำดับการทำปฏิกิริยา Sandwich
- (8) อัตราการไหลที่ใช้ผลึกเข้าสู่เครื่องตรวจวัด 100 ไมโครลิตร/วินาที

5.1.2 ผลจากการประเมินคุณลักษณะเด่นของวิธี เป็นดังนี้

- (1) ช่วงความเป็นเส้นตรง เท่ากับ 300-2000 มิลลิกรัม/ลิตร ของกาบา
- (2) สมการเชิงเส้นตรงตามความสัมพันธ์ $Abs = 2.21 \times 10^{-3} [GABA] - 0.0418$
- (3) สัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.999
- (4) ค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับอยู่ในช่วง 94.28 - 106.84
- (5) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ร้อยละ 0.17 เมื่อศึกษาด้วยสารละลายมาตรฐานกาบา ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัม/ลิตร
- (6) ซีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดเท่ากับ 80.79 และ ซีดจำกัดในการวิเคราะห์เท่ากับ 307.13 มิลลิกรัม/ลิตรตามลำดับ
- (7) อัตราการวิเคราะห์ เท่ากับ 11 ตัวอย่าง/ชั่วโมง

5.1.3 เมื่อพัฒนาวิธีได้แล้ว จึงนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดปริมาณกาบาในตัวอย่า พบว่าสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณกาบาได้อย่างมีประสิทธิภาพ

5.2 ข้อเสนอแนะ

ในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ จำเป็นต้องใช้อุณหภูมิสูงที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 นาที อาจเกิดเป็นฟองอากาศขึ้นภายในระบบ ส่งผลให้รบกวนการตรวจวัด การเพิ่มความดันภายในระบบ และบริเวณปลายท่อที่ปล่อยสารออกจากระบบสามารถช่วยลดปัญหาดังกล่าวได้



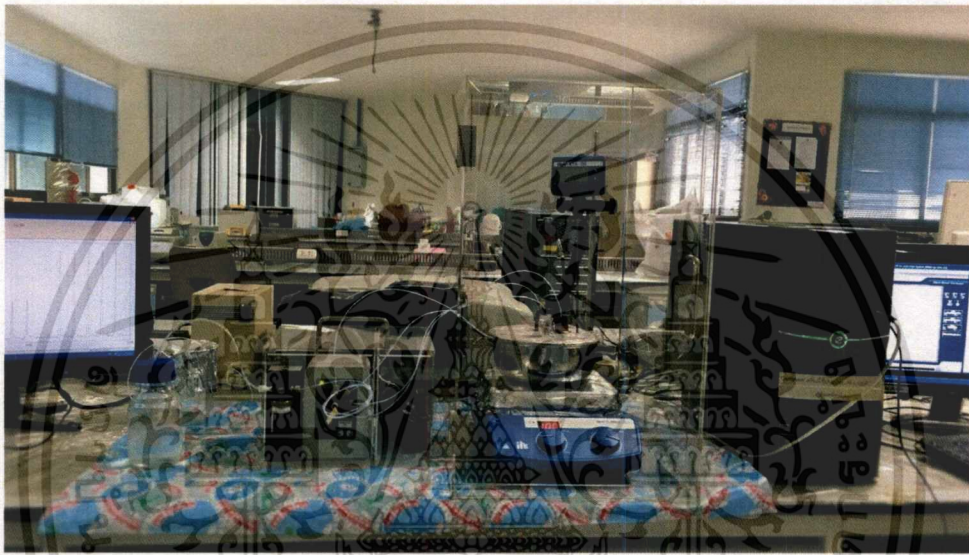
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 6

สรุปผลผลิตงานวิจัย

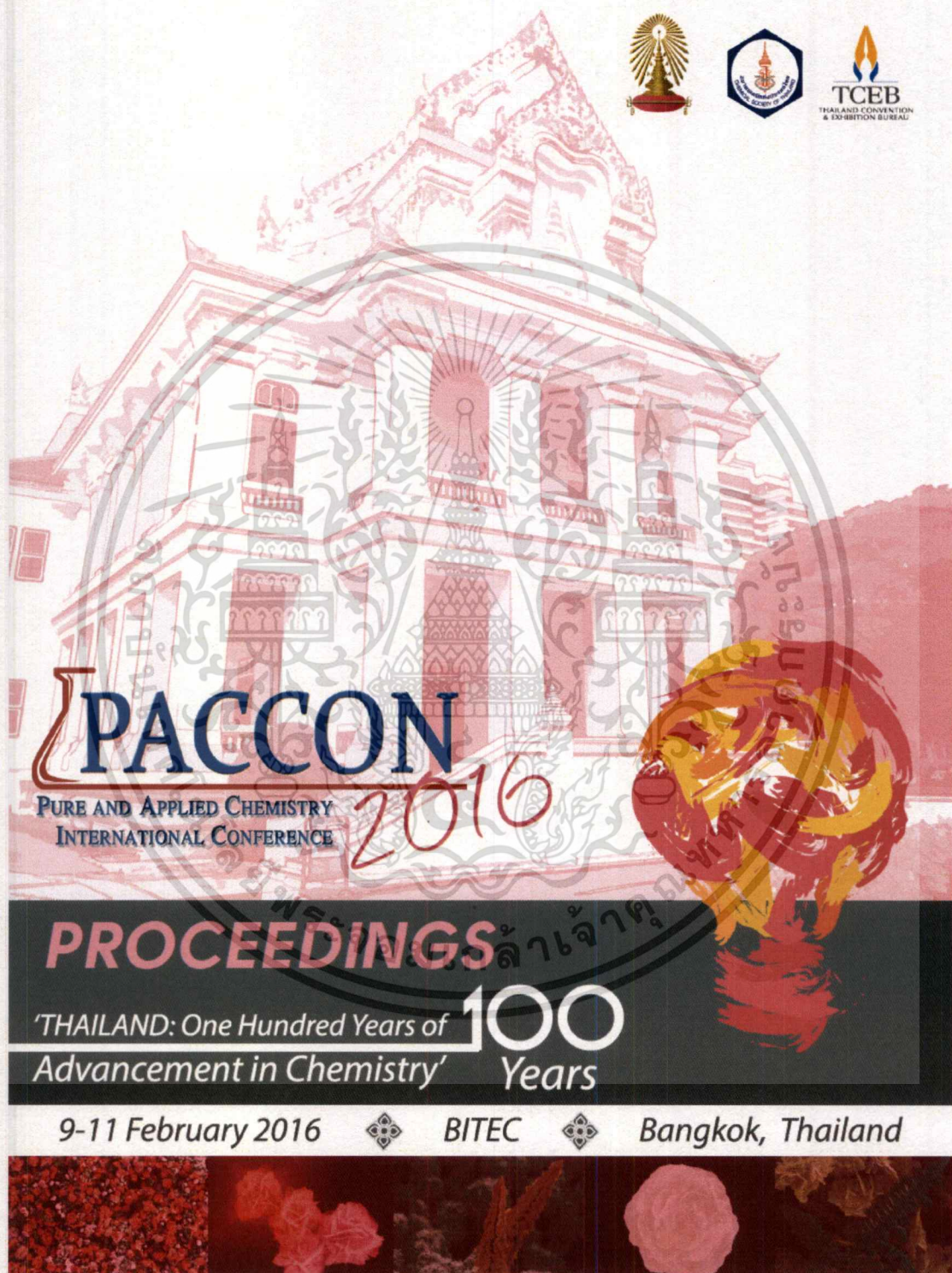
6.1 ชุดเครื่องมือต้นแบบสำหรับหาปริมาณกาบาในข้าวกล้องงอกจากข้าวไร้

ชุดเครื่องมือต้นแบบสำหรับหาปริมาณกาบาในข้าวกล้องงอกจากข้าวไร้ที่มีการควบคุม
อุณหภูมิของระบบโดยกล่องควบคุมอุณหภูมิ



รูปที่ 6.1 แสดงชุดเครื่องมือต้นแบบสำหรับหาปริมาณกาบาในข้าวกล้องงอกจากข้าวไร้ที่มีการควบคุมอุณหภูมิ

6.2 การเผยแพร่งานวิจัยในระดับนานาชาติที่ Applied Chemistry International Conference
2016 (PACCON 2016)



รูปที่ 6.2 หน้าปก proceeding ของงาน Applied Chemistry International Conference 2016
(PACCON 2016)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

PACCON Proceedings 2016: Article Content

A comparison of principal component analysis (PCA) and self-organizing map (SOM) for exploratory data analysis of near-infrared reflectance (NIR) spectra of rice grains	Sakunna Wongsapun, Grissana Sudtasarn, Sila Kittiwachana	ANC-1681	89 - 94
Comparison of volatile fatty acid (VFA) number with individually determined acid concentrations by high performance liquid chromatography (HPLC) method in natural rubber <i>Hevea brasiliensis</i> latex	Dewi Kusuma Arti, Wilairat Cheewasedtham	ANC-1720	95 - 104
Sequential injection system for automated derivatization with subsequent spectrophotometric determination of GABA	Pronrawee Tanpramoon, Nathawut Choengchan	ANC-1727	105 - 109
Determination of PAHs accumulation in lichen by high performance liquid chromatography coupled with FLD and DAD	Prichukorn Khongsatra, Chutima Sriviboon, Kansri Boonpragob, Kulaya Otaka	ANC-2068	110 - 115
Determination of amylose contents in rice grains using near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) and supervised self-organizing map (SOM)	Sujitra Funsueb, Grissana Sudtasarn, Sila Kittiwachana	ANC-2081	116 - 120
Improving protocols for radiation dosimetry using the alanine/EPR method	Bernard A. Goodman, Niramon Worasith, Sumalee Ninlaphruk, Wen Deng	ANC-2117	121 - 126
Determination of oxalate content in the lichen <i>Parmotrema tinctorum</i>	Tunsinee Jhumpasri, Tawatchai Sriviboon, Chutima Sriviboon, Kansri Boonpragob	ANC-2148	127 - 131
Ladder dipstick test for visual semi-quantitative detection of lead ion using DNAzyme	Pasara Vijitvarasan, Sukunya Oaew, Sombat Rukpratanporn, Werasak Surareungchai	ANC-2157	132 - 137
Paper-based sensor for the determination of cadmium	Nattapong Thuwakhom, Prachak Inkaew	ANC-2160	138 - 142
Automated on-line spectrophotometric system for lead determination	Supunee Duangthong, Weena Amaig Tapchai, Saowalee Lomkaw	ANC-2281	143 - 146
HPLC conditions for determination of snake phospholipase A₂ in energetic products	Wanita Donwang, Thitima Rujiralai, Wilairat Cheewasedtham	ANC-2308	147 - 152
Carbon nanotube-reinforced hollow fiber membrane with application of electric field for extraction of metal oxyanion	Khanitta Janput, Pakorn Varanusupakul	ANC-2383	153 - 157
Comparison of GFAAS, IC, and ICP-MS techniques for determination of metal accumulation in lichen	Tawatchai Sriviboon, Duangkamon Sangiamdee, Kansri Boonpragob, Wanchana Sisuthok	ANC-2433	158 - 162
On-line hollow fiber membrane liquid phase microextraction of salicylic acid in drug samples	Rungaroon Pimparu, Pakorn Varanusupakul	ANC-2436	163 - 167
Azo coupling-based surface enhanced Raman scattering for a facile detection of carbofuran	Thanyada Sukmanee, Kanet Wongravee, Sanong Ekgasit, Chuchaat Thammacharoen, Prompong Pienpinijtham	ANC-2729	168 - 172
Indirect measurement of hydroquinone in cosmetics based on Fe(III)-thiocyanate complexation using spectrophotometer and paired emitter detector diodes	Thitaporn Sornsa-Ard, Pappatcha Kaewrungrueang, Raweevan Nanthapan, Sarawut Yamee, Saowapak Teerasong	ANC-2935	173 - 179

รูปที่ 6.3 แสดงสารบัญสำหรับ Proceeding ในงาน Applied Chemistry International Conference 2016 (PACCON 2016)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sequential injection system for automated derivatization with subsequent spectrophotometric determination of GABA

Pronrawee Tanpramoon^{*1,2} Nathawut Choengchan^{1,2}

¹Flow Innovation-Research for Science and Technology Laboratories (FIRST Labs), King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand

²Applied Analytical Chemistry Research Unit, Department of Chemistry, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand

*e-mail: pronrawee.tan@gmail.com

Abstract:

In this work, an automated system for derivatization with subsequent determination of γ -aminobutyric acid or GABA was developed. The system was based on using sequential injection analysis (SIA) with spectrophotometric detection. GABA was derivatized with 2-hydroxy-1-naphthaldehyde (6% w/v) in the presence of 0.1 mol L⁻¹ borate buffer (pH 8.0). Pure acetonitrile was used as carrier. The derivative was monitored at 425 nm which is the maximum absorption wavelength. Linear calibration was observed in the concentration range of 300 to 2000 mg L⁻¹ GABA with good linearity ($Abs_{425} = 2.21 \times 10^{-3} [GABA] - 0.0418$, $r^2 = 0.999$). Increasing in derivatization temperature from room temperature to 60°C resulted in greater sensitivity. The SIA system provided good precision (RSD = 0.2% at 300 mg L⁻¹ GABA) and good recovery (94–107%). The developed system was applied to GABA supplemented products (tablet and capsule) and was validated against batchwise method with the same detection reaction. By statistical paired *t*-test, the results obtained by both methods were not significantly different at 95% confidence level ($t_{stat} = 0.27$, $t_{crit} = 2.23$, d.f. = 10). This implies that the system was successfully developed.

1. Introduction

γ -Aminobutyric acid (GABA) is the main inhibitory neurotransmitter in the mammalian central nervous system. It is produced from glutamate by glutamate decarboxylase¹. GABA can affect various bioactivities on human health.¹⁻⁸ Nowadays, there are large numbers of commercial dietary GABA supplemented products, it is therefore important to monitor GABA concentration for control quality of the products.

Various analytical methods have been presented for determination of GABA such as high - performance liquid chromatography,^{9,10} gas chromatography¹¹ and capillary electrophoresis.¹² It was observed that derivatization was necessary prior to analysis. Derivatizing agents that were reported such as, 2-hydroxy-1-naphthaldehyde (HN),⁹ ethyl-chloroformate,¹¹ (4-carboxybenzoyl)-2-quinoline-

carboxaldehyde (CBQCA).¹² The separation techniques are very useful for determination of GABA in complicated matrix samples such as cerebrospinal fluid⁹ and brain tissue.¹⁰ For simple matrix sample, namely supplemented tablet, non-separation technique such as spectrophotometric method, is more interesting in term of simplicity and cost-effectiveness. However in cases of large number of samples, batchwise method is not convenience for derivatization and determination.

The aim of this work is therefore to develop an analytical method for automated derivatization with subsequent spectrophotometric determination of GABA. Sequential injection analysis or SIA was selected for method development since the technique is regarded as the fully automated method with the advantages of simplicity and rapid analysis. HN was

รูปที่ 6.4 แสดง Proceeding ที่นำเสนอในงาน Applied Chemistry International Conference 2016 (PACCON 2016)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sequential Injection System for Automated Derivatization with Subsequent Spectrophotometric Determination of GABA



Pronravee Tanramoon^{1,2*}, Nathawut Choengchan^{1,2}
¹ Flow Innovation-Research for Science and Technology Laboratories (FIRST Labs),
² Applied Analytical Chemistry Research Unit, Department of Chemistry, Faculty of Science,
 King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520 Thailand
 *e-mail: pronravee.tan@gmail.com



Abstract

In this work, an automated system for derivatization with subsequent determination of γ -aminobutyric acid or GABA was developed. The system was based on using sequential injection analysis (SIA) with spectrophotometric detection. GABA was derivatized with 2-hydroxy-1-naphthaldehyde (6 % w/v) in the presence of 0.1 mol L⁻¹ borate buffer (pH 8.0). Pure acetonitrile was used as carrier. The derivative was monitored at 425 nm which is the maximum absorption wavelength. Linear calibration was observed in the concentration range of 300 to 2000 mg L⁻¹ GABA with good linearity ($Abs_{425} = 2.21 \times 10^{-3} [GABA] - 0.0418$, $r^2 = 0.999$). Increasing in derivatization temperature from room temperature to 60°C resulted in greater sensitivity. The SIA system provided good precision (RSD = 0.2 % at 300 mg L⁻¹ GABA) and good recovery (94 - 107 %). The developed system was applied to GABA supplemented products (tablet and capsule) and was validated against batchwise method with the same detection reaction. By statistical paired *t*-test, the results obtained by both methods were not significantly different at 95 % confidence level ($t_{stat} = 0.27$, $t_{crit} = 2.23$, d.f. = 10). This implies that the system was successfully developed.

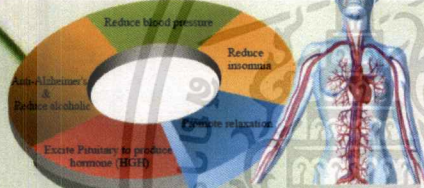
What is GABA ?

GABA → Gamma-aminobutyric acid



GABA supplemented products

The benefits of GABA



Objectives of this research

- To develop method for automated derivatization with subsequent spectrophotometric determination of GABA using sequential injection analysis (SIA)
- To apply the developed method to determination of GABA GABA supplemented tablet and capsule.

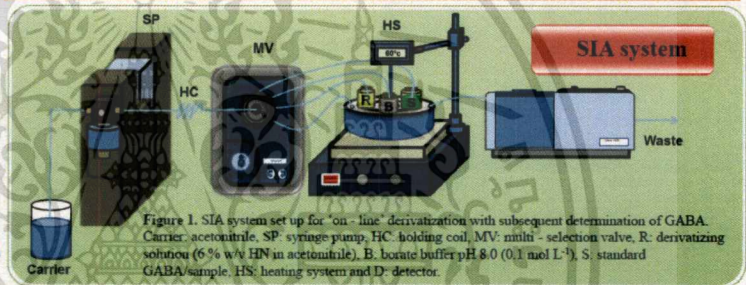


Figure 1. SIA system set up for 'on-line' derivatization with subsequent determination of GABA. Carrier: acetonitrile, SP: syringe pump, HC: holding coil, MV: multi-selection valve, R: derivatizing solution (6% w/v HN in acetonitrile), B: borate buffer pH 8.0 (0.1 mol L⁻¹), S: standard GABA/sample, HS: heating system and D: detector.

Results & Discussion

Detection principle

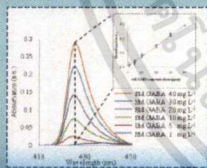


Figure 2. (a) Absorption spectra of the derivatives when 0.5 % (w/v) HN in 0.1 mol L⁻¹ borate buffer (pH 8) was used. (b) Example of linear calibration curve by batchwise detection.

Optimization of SIA system

Effect of the derivatizing agent concentration

Table 1. Effect of concentration of derivatizing agent

HN concentration (% w/v)	Calibration equation	r ²
0.3	y = 0.0156x + 0.216	0.773
3	y = 0.0188x + 0.344	0.551
6	y = 0.0324x + 0.246	0.997
7.5	y = 0.0327x + 0.699	0.998

Effect of pH

Table 2. Effect of pH of borate buffer

pH	Calibration equation	r ²
8	y = 0.0311x + 0.216	0.996
9	y = 0.0185x + 0.344	0.992
10	y = 0.0076x + 0.246	0.180

Effect of incubation time

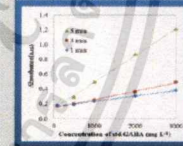


Figure 3. Effect of incubation time on absorbance reading

Effect of temperature

The effect of temperature on derivatization reaction was studied by varying the temperature from room temperature to 70°C. As the temperature was increased, sensitivity was also increased. However, at 70°C, air bubble was observed. Therefore, temperature of 60°C was chosen as the suitable temperature.

SIA profiles & calibration graph

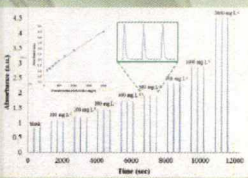


Figure 4. Typical SIA peak profiles for GABA standards (0 - 2000 mg L⁻¹ GABA).

Table 3. The concentration of GABA in commercial supplemented products

Sample	Type	Concentration of GABA (mg L ⁻¹)		
		Label	Batch wise method	SIA
1	tablet	20	20.90 ± 0.0006	21.48 ± 0.0033
2	tablet	20	21.20 ± 0.0001	21.51 ± 0.0006
3	tablet	20	21.30 ± 0.0001	22.04 ± 0.0047
4	tablet	20	21.45 ± 0.0007	22.08 ± 0.0025
5	tablet	20	21.40 ± 0.0002	22.27 ± 0.0059
6	capsule	500	501.00 ± 0.0051	502.78 ± 0.0010
7	capsule	500	502.00 ± 0.0001	511.40 ± 0.0020
8	capsule	500	501.00 ± 0.0009	488.31 ± 0.0005
9	capsule	750	757.00 ± 0.0001	758.91 ± 0.0050
10	capsule	750	758.00 ± 0.0002	757.38 ± 0.0040
11	capsule	750	755.00 ± 0.0003	756.67 ± 0.0010

Conclusions

In this work, an on-line derivatization system with subsequent spectrophotometric determination of GABA was successfully developed. This method gave good precision and good accuracy. The method was also applicable for determination of GABA in GABA supplemented tablet and capsule.

Acknowledgements

Applied Analytical Chemistry Research Unit, Department of Chemistry, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang and National Research Council of Thailand (NRCT) are grateful acknowledged for equipments and financial supports.

รูปที่ 6.5 โปสเตอร์ที่แสดงในงาน Applied Chemistry International Conference 2016 (PACCON 2016)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรรมใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- [1] ประพาส วีระแพทย์, ความรู้เรื่องข้าว, สาขาตัดพันธุ์ด้านทานศัตรูข้าว กองการข้าว กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ (www.servicelink.doae.go.th/webpage/.../rice/r003.pdf)
- [2] กิตติชัย นารีนุช, จิรวัดน์ สนิทชน และ พัทธิน สงศรี, การคัดเลือกข้าวไร่พันธุ์พื้นเมือง ทนทานต่อสภาพแล้งต้นฤดูปลูก, แก่นเกษตร, 39 ฉบับพิเศษ 2, 2554, 67-71
- [3] ร่วมจิตร นกเขา, ถิรายุทธ์ วิจิตรภาพ และ สดางค์ หัสนันท์, การคัดเลือกพันธุ์ข้าวไร่นาห้วยพิช, วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร ปีที่ 41 ฉบับที่ 3/1 (พิเศษ) ก.ย.-ธ.ค. 2553, 57-60
- [4] ไกรสิทธิ์ ดันติศรีรินทร์, *ข้าวไร่กับโภชนาการ* (www.biotech.or.th/rice2012/images/stories/.../poster03)
- [5] ยุพกนิษฐ์ พวงวีระกุล, รัชฎาพร อินพา และ ทิพวรรณ ใจกว้าง, การผลิตข้าวกล้องมอลต์จากข้าวไร่พื้นที่สูงในจังหวัดเชียงใหม่, วารสารวิชาการสมาคมสถาบันอุดมศึกษาเอกชนแห่งประเทศไทย (สสอท.), ปีที่ 18, ฉบับที่ 1, พฤษภาคม 2555, 105-118
- [6] H. Kayahara and K. Tsukahara, Flavor, health and nutritional quality of pre-germinated brown rice, International chemical congress of pacific basin societies in Hawaii, 2000
- [7] สุนันทา วงศ์ปิยชน, กฤษณา สุตหะสาร และ วชิรี สุขวิวัฒน์, ข้าวกล้องงอกและผลิตภัณฑ์ข้าวกล้องงอก (ลิขสิทธิ์ของสำนักวิจัยและพัฒนาข้าว) (www.brrd.in.th/main/document/conference2/03062554/14.pdf)
- [8] J. Kehr, *Journal of Chromatography B.* 708 (1998) 49-54.
- [9] T. A. C. Vermeij and P. M. Edelbroek, *Journal of Chromatography B.* 810 (2004) 297-303.
- [10] L. Y. Zhang and M. X. Sun, *Journal of Chromatography A.* 1095 (2005) 185-188.
- [11] G. Yu, J. Liang and Z. He, *Chemistry & Biology.* 13 (2006) 723-731.
- [12] T. Yamamoto, C. Nanjoh and I. Kuruma, *Neurochemistry International.* 7 (1985) 77-82.
- [13] Y. Song, M. Shenwu, D. M. Dhossche and Y. M. Liu, *Journal of Chromatography B.* 814 (2005) 295-302.
- [14] J. A. Eckstein, G. M. Ammerman, J. M. Reveles and B. L. Ackerman, *Journal of Neuroscience Methods.* 171 (2008) 190-196.
- [15] K. Buck, P. Voehringer and B. Ferger, *Journal of Neuroscience Method* 182 (2009) 78-84.
- [16] D. W. Johnson, *Journal of Chromatography B.* 879 (2011) 1345-1352.
- [17] H. L. Rowley, K. F. Martin and C. A. Marsden, *Journal of Neuroscience Methods.* 57 (1995) 93- 99.
- [18] I. M. Perl and A. Vasanits, *Journal of Chromatography A .* 835 (1999) 73-91.
- [19] T. P. Piepponen and A. Skujins, *Journal of Chromatography B.* 757 (2001) 277-283.

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- [20] M. Y. Khuhawar and A. D. Rajper, *Journal of Chromatography B*. **788** (2003) 413-418.
- [21] S. Zhang, Y. Takeda, S. Hagioka, K. Takata, H. Aoe and H. Nakatsuka, *Brian Research Protocols*. **14** (2005) 61-66.
- [22] X. Kang, J. Xiao, X. Huang and Z. Gu, *Clinica Chimica Acta*. **366** (2006) 352-356.
- [23] J. F. van Staden and T. McCormack, *Analytica Chimica Acta*. **369** (1998) 163-170.
- [24] C. K. Zacharis, G. A. Theodoridis and A. N. Voulgaropoulos, *Journal of Chromatography B*. **808** (2004) 169-175.
- [25] C. K. Zacharis, F. W. A. Tempels, G. A. Theodoridis, A. N. Voulgaropoulos, W. J. M. Underberg, G. W. Somson and G. J. de Jong, *Journal of Chromatography A*. **1132** (2006) 297-303.
- [26] <http://www.flowinjection.com>



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

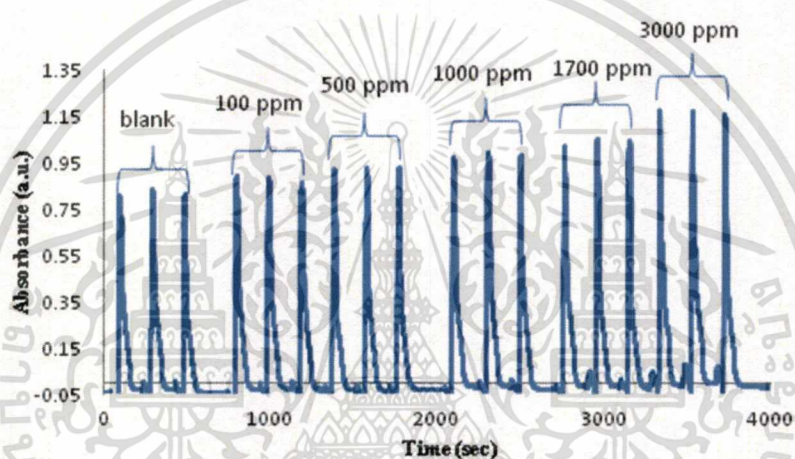
ภาคผนวก ก

ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทดลอง

1. การศึกษาปัจจัยทางกายภาพ

1.1 ศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิต่อการเกิดปฏิกิริยาอนุพันธ์

ทำการศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิในขั้นตอนการทำอนุพันธ์ที่ส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์ โดยเลือกศึกษาที่อุณหภูมิห้อง 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส ตามลำดับ



รูปที่ ก.1 (ก) แสดงสัญญาณที่ได้สารอนุพันธ์จากบาเมื่อทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้อง

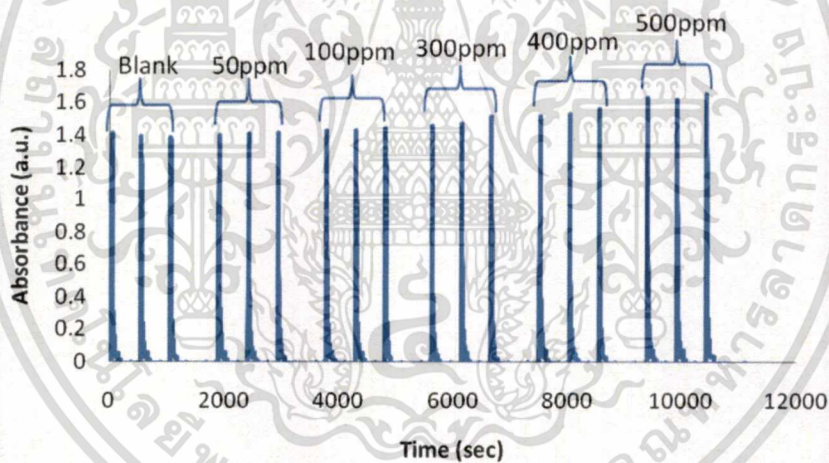
ตารางที่ ก.1 (ก) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกบาเมื่อทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ที่อุณหภูมิห้อง

Conc. (ppm)	abs	corr	avg	SD	%RSD
blank	0.8004	0	0.8121	0.015	1.955
	0.8302				
	0.8058				
100	0.8956	0.0836	0.0800	0.005	3.56
	0.8860	0.0740			
	0.8945	0.0825			
500	0.9229	0.1109	0.1119	0.001	0.94
	0.9238	0.1118			
	0.9250	0.1130			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.1 (ก) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ที่อุณหภูมิห้อง (ต่อ)

Conc (ppm)	abs	corr	avg	SD	%RSD
1000	0.9686	0.1566	0.1671	0.013	2.70
	0.9957	0.1837			
	0.9730	0.1610			
1700	1.0111	0.1991	0.2207	0.019	8.63
	1.0472	0.2352			
	1.0396	0.2276			
3000	1.1513	0.3393	0.3491	0.011	3.28
	1.1737	0.3617			
	1.1583	0.3463			



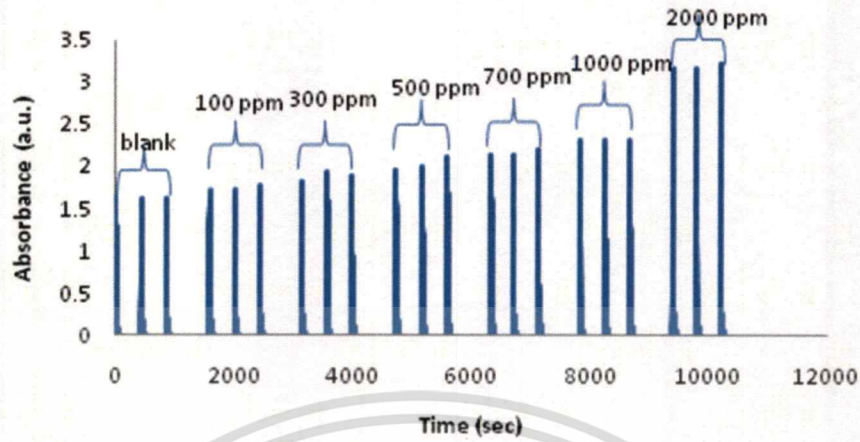
รูปที่ ก.1 (ข) แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ 50 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.1 (ข) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อให้อุณหภูมิขณะทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ 50 องศาเซลเซียส

Conc. (ppm)	abs	avg	corr	SD	%RSD
blank	1.4103	1.396	0	0.014	0.97
	1.3937				
	1.3835				
50	1.3965	1.405	0.0096	0.008	0.57
	1.4079				
	1.4118				
100	1.4246	1.431	0.0355	0.008	0.57
	1.4292				
	1.4403				
300	1.4562	1.479	0.0832	0.029	1.99
	1.4687				
	1.5122				
400	1.5179	1.536	0.1397	0.022	1.45
	1.5281				
	1.5606				
500	1.6327	1.635	0.2390	0.017	1.05
	1.6189				
	1.6531				

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

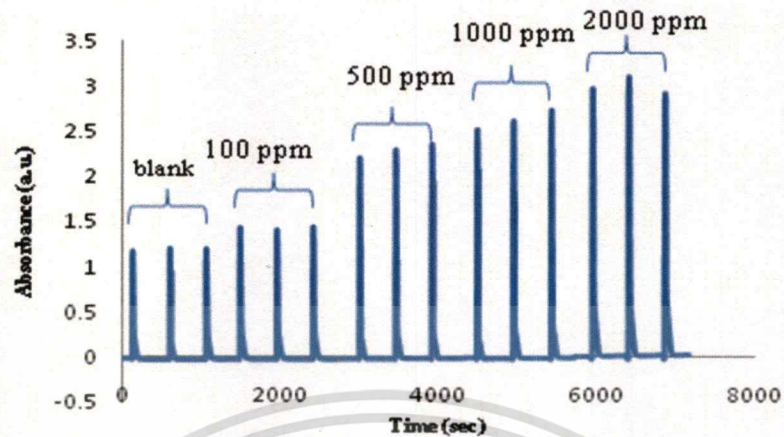


รูปที่ ก.1 (ค) แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกานาเมื่อทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ 60 องศาเซลเซียส

ตารางที่ ก.1 (ค) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกานาเมื่อให้อุณหภูมิขณะทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ 60 องศาเซลเซียส

Conc. (ppm)	abs	avg	corr	SD	%RSD
blank	1.5780	1.6039	0	0.025	1.54
	1.6270				
	1.6067				
100	1.7090	1.7296	0.1257	0.033	1.88
	1.7128				
	1.7671				
500	1.8156	1.8741	0.2702	0.053	2.84
	1.9198				
	1.8870				
700	1.9490	2.0140	0.4101	0.083	4.10
	1.9860				
	2.1070				
1000	2.1248	2.1532	0.5493	0.047	2.19
	2.1271				
	2.2077				
2000	2.7152	2.3136	0.7097	0.002	0.09
	2.7144				
	2.7112				

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ในห้องปฏิบัติการเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก.1 (ง) แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ 70 องศาเซลเซียส

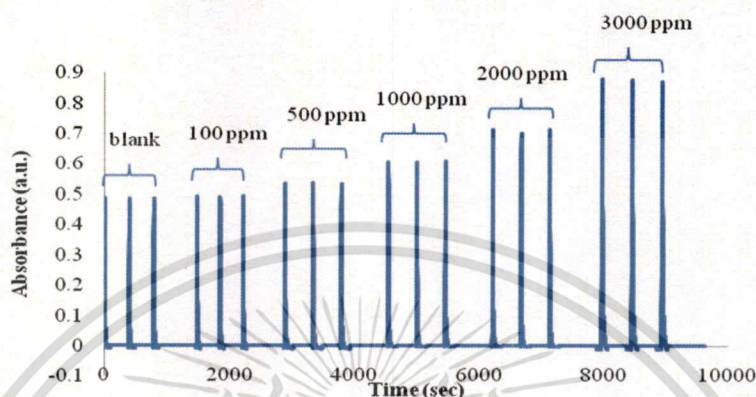
ตารางที่ ก.1 (ง) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อให้อุณหภูมิขณะทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ 70 องศาเซลเซียส

Conc. (ppm)	abs	avg	corr	SD	%RSD
blank	1.1687	1.1900	0	0.016	1.38
	1.1997				
	1.1932				
100	1.4269	1.4200	0.23	0.018	1.24
	1.4043				
	1.4392				
500	1.8250	2.1600	0.97	0.289	13.39
	2.2897				
	2.354				
1000	2.5192	2.6200	1.43	0.109	4.14
	2.6175				
	2.7362				
2000	2.9200	2.9800	1.79	0.105	3.52
	3.1044				
	2.9243				

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 ศึกษาอิทธิพลของปริมาณสารละลายมาตรฐานกาบาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์

ทำการศึกษาอิทธิพลสำหรับปริมาณของสารละลายมาตรฐานกาบาในขั้นตอนการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ที่ส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์ โดยมีปริมาณของสารละลายมาตรฐานกาบาที่เลือกศึกษา คือ 50, 100 และ 150 ไมโครลิตร



รูปที่ ก.2 (ก) แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อให้ปริมาณของสารละลายมาตรฐาน ที่ดูดเข้าสู่ระบบเพื่อเข้าทำปฏิกิริยาเท่ากับ 50 ไมโครลิตร

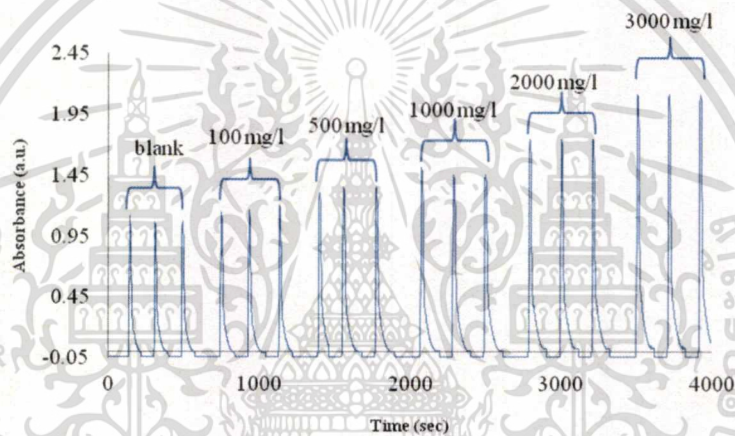
ตารางที่ ก.2 (ก) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อให้ปริมาณของสารละลายมาตรฐานที่ดูดเข้าสู่ระบบเพื่อเข้าทำปฏิกิริยาเท่ากับ 50 ไมโครลิตร

Conc. (ppm)	abs	corr	avg	SD	% RSD
blank	0.4882	0	0.4870	0.001	0.20
	0.4867				
	0.4863				
100	0.4929	0.0060	0.0062	0.002	3.04
	0.4910	0.0040			
	0.4957	0.0090			
500	0.5360	0.0490	0.0493	0.001	2.72
	0.5378	0.0510			
	0.5351	0.0480			
1000	0.6051	0.1180	0.1192	0.002	1.63
	0.6051	0.1180			
	0.6085	0.1210			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.2 (ก) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อให้ปริมาณของสารละลายมาตรฐานที่ดูดเข้าสู่ระบบเพื่อเข้าทำปฏิกิริยาเท่ากับ 50 ไมโครลิตร (ต่อ)

Conc. (ppm)	abs	corr	avg	SD	% RSD
2000	0.7151	0.2280	0.2234	0.007	3.06
	0.7025	0.2160			
	0.7136	0.2270			
3000	0.8794	0.3920	0.3886	0.004	1.05
	0.8763	0.3890			
	0.8713	0.3840			



รูปที่ ก.2 (ข) แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อให้ปริมาณของสารละลายมาตรฐานที่ดูดเข้าสู่ระบบเพื่อเข้าทำปฏิกิริยาเท่ากับ 100 ไมโครลิตร

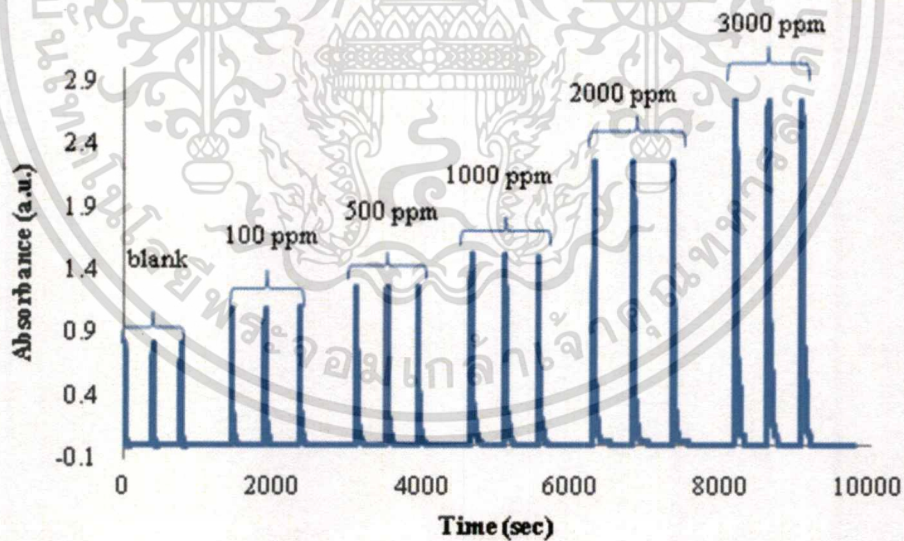
ตารางที่ ก.2 (ข) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อให้ปริมาณของสารละลายมาตรฐานที่ดูดเข้าสู่ระบบเพื่อเข้าทำปฏิกิริยาเท่ากับ 100 ไมโครลิตร

Conc. (ppm)	abs	corr	avg	SD	%RSD
0	1.1110	0	1.0797	0.028	2.60
	1.0568				
	1.0713				
100	1.2195	0.1398	0.1363	0.006	4.28
	1.2193	0.1396			
	1.2093	0.1296			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.2 (ข) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อให้ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานที่ดูดเข้าสู่ระบบเพื่อเข้าทำปฏิกิริยาเท่ากับ 100 ไมโครลิตร (ต่อ)

Conc. (ppm)	abs	corr	avg	SD	%RSD
500	1.3113	0.2316	0.2590	0.024	9.17
	1.3524	0.2727			
	1.3524	0.2727			
1000	1.5192	0.4395	0.3996	0.035	8.65
	1.4597	0.3800			
	1.4590	0.3793			
2000	1.7454	0.6657	0.6638	0.002	0.32
	1.7412	0.6615			
	1.7441	0.6644			
3000	2.1155	1.0358	1.0296	0.005	0.52
	2.1071	1.0273			
	2.1054	1.0257			



รูปที่ ก.2 (ค) แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อให้ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานที่ดูดเข้าสู่ระบบเพื่อเข้าทำปฏิกิริยาเท่ากับ 150 ไมโครลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

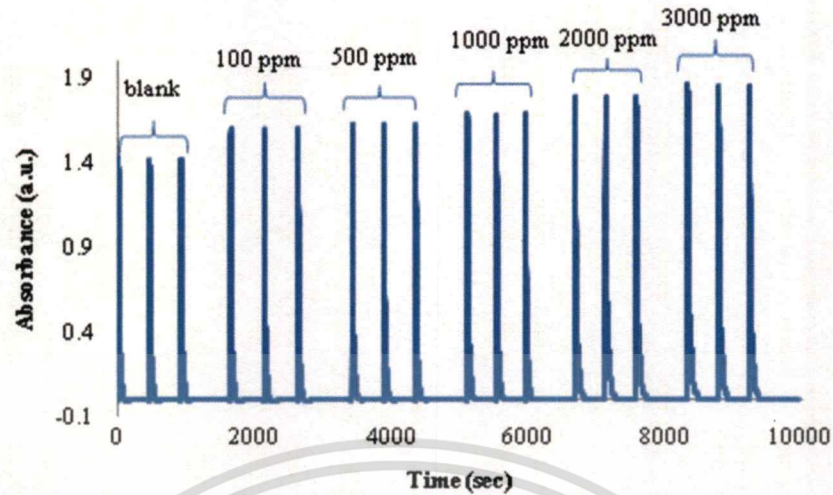
ตารางที่ ก.2 (ค) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อให้ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานที่ดูดเข้าสู่ระบบเพื่อเข้าทำปฏิกิริยาเท่ากับ 150 ไมโครลิตร

Conc. (ppm)	abs	corr	avg	SD	% RSD
blank	0.8295	0	0.824	0.005	0.62
	0.8200				
	0.8215				
100	1.0885	0.264	0.2666	0.008	2.90
	1.0841	0.260			
	1.0992	0.275			
500	1.2697	0.446	0.4427	0.003	0.75
	1.2672	0.443			
	1.2631	0.439			
1000	1.5812	0.757	0.7317	0.022	3.05
	1.5458	0.722			
	1.5400	0.716			
2000	2.2622	1.438	1.4381	0.001	0.08
	2.2610	1.437			
	2.2632	1.439			
3000	2.7537	1.930	1.8736	0.049	2.60
	2.6730	1.849			
	2.6662	1.842			

1.3 ศึกษาอิทธิพลของเวลาในการให้ความร้อน

ทำการศึกษาอิทธิพลของเวลาในการให้ความร้อนในขั้นตอนการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ที่ส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์ โดยใช้ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกาบาเท่ากับ 150 ไมโครลิตร และเวลาที่เลือกศึกษาคือ 1, 3 และ 5 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

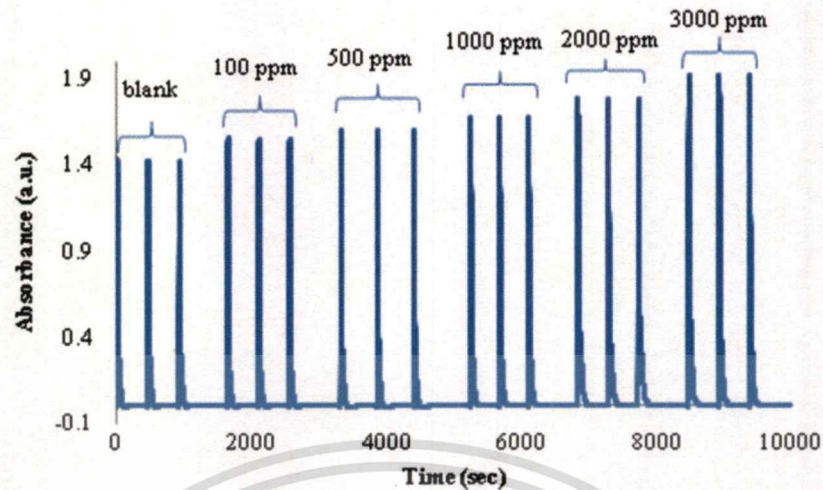


รูปที่ ก.3 (ก) แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อให้ความร้อนในขั้นตอนการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เป็นเวลา 1 นาที

ตารางที่ ก.3 (ก) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อให้ความร้อนในขั้นตอนการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เป็นเวลา 1 นาที

Conc. (ppm)	abs	corr	avg	SD	%RSD
blank	1.4330	0	1.4234	0.008	0.58
	1.4190				
	1.4183				
100	1.5972	0.1738	0.1728	0.001	0.55
	1.5953	0.1719			
	1.5963	0.1729			
500	1.6116	0.1882	0.1889	0.002	0.96
	1.6144	0.1910			
	1.6110	0.1876			
1000	1.6553	0.2319	0.2310	0.004	1.73
	1.6500	0.2266			
	1.6579	0.2345			
2000	1.7242	0.3008	0.3006	0.001	0.43
	1.7226	0.2992			
	1.7251	0.3017			
3000	1.8069	0.3835	0.3837	0.002	0.60
	1.8049	0.3815			
	1.8095	0.3861			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

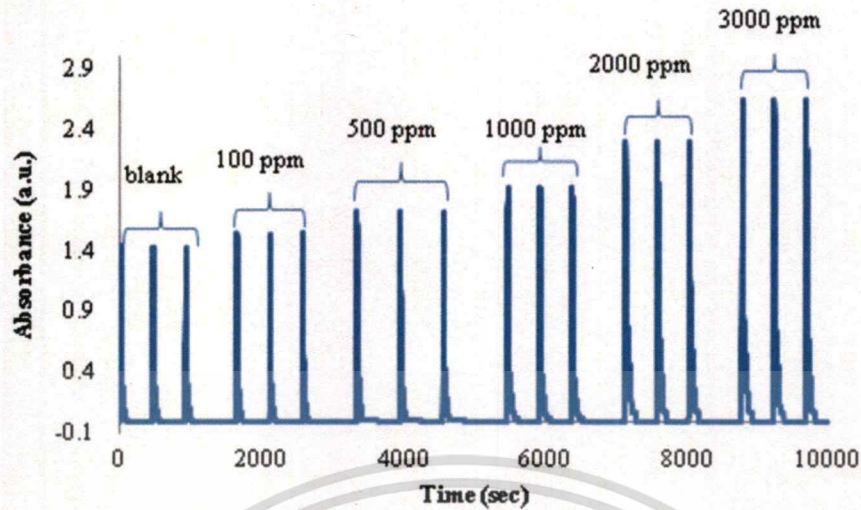


รูปที่ ก.3 (ข) แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อให้ความร้อนในขั้นตอนการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เป็นเวลา 3 นาที

ตารางที่ ก.3 (ข) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อให้ความร้อนในขั้นตอนการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เป็นเวลา 3 นาที

Conc. (ppm)	abs	corr	avg	SD	%RSD
blank	1.4330	0	1.4234	0.008	0.58
	1.4190				
	1.4183				
100	1.5913	0.1679	0.1683	0.000	0.28
	1.5916	0.1682			
	1.5922	0.1688			
500	1.6059	0.1825	0.1820	0.001	0.56
	1.6060	0.1826			
	1.6042	0.1808			
1000	1.6760	0.2526	0.2523	0.001	0.26
	1.6761	0.2527			
	1.6749	0.2515			
2000	1.7859	0.3625	0.3602	0.002	0.60
	1.7816	0.3582			
	1.7832	0.3598			
3000	1.9169	0.4935	0.4935	0.002	0.47
	1.9146	0.4912			
	1.9192	0.4958			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ในการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น ไม่อนุญาตให้拿去ใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก.3 (ค) แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อให้ความร้อนในขั้นตอนการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เป็นเวลา 5 นาที

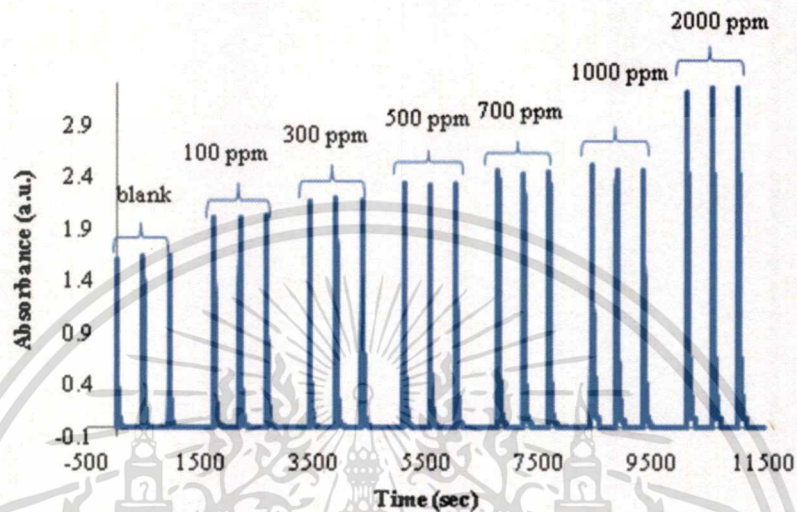
ตารางที่ ก.3 (ค) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อให้ความร้อนในขั้นตอนการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เป็นเวลา 5 นาที

Conc. (ppm)	abs	corr	avg	SD	%RSD
blank	1.4330	0	1.4234	0.008	0.58
	1.4190				
	1.4183				
100	1.6024	0.1790	1.6179	0.002	0.99
	1.6012	0.1778			
	1.6047	0.1813			
500	1.7142	0.2908	1.7142	0.001	0.31
	1.7157	0.2923			
	1.7141	0.2907			
1000	1.9121	0.4887	1.9154	0.003	0.53
	1.9154	0.4920			
	1.9172	0.4938			
2000	2.2901	0.8667	2.2913	0.002	0.21
	2.2899	0.8665			
	2.2931	0.8697			
3000	2.6300	1.2066	2.6300	0.002	0.15
	2.6291	1.2057			
	2.6325	1.2091			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ศึกษาอิทธิพลของความยาวมิกซิงคอยด์

ทำการศึกษาอิทธิพลของความยาวมิกซิงคอยด์ในขั้นตอนการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ที่ส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์ ใช้ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกาบาเท่ากับ 150 ไมโครลิตรและความยาวที่เลือกศึกษาคือ 100, 200, 300 และ 400 เซนติเมตร



รูปที่ ก.4 (ก) แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อใช้ความยาวมิกซิงคอยด์ในขั้นตอนการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ 100 เซนติเมตร

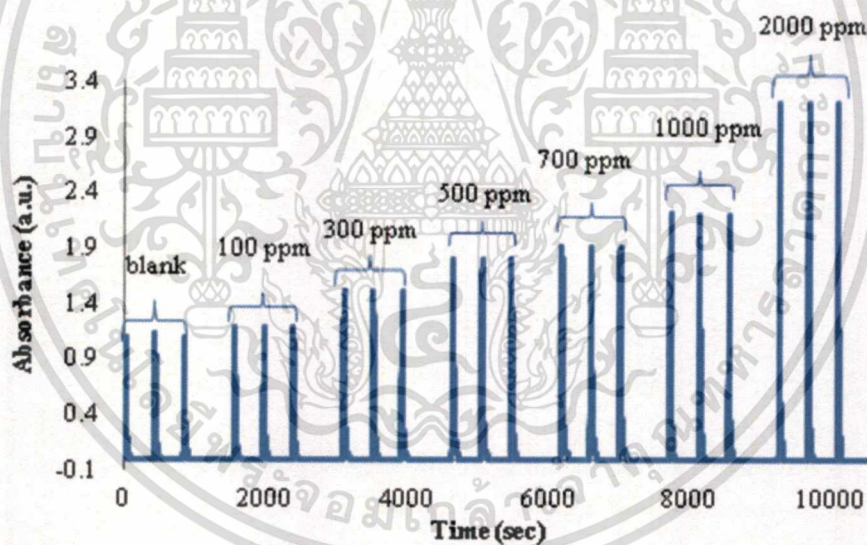
ตารางที่ ก.4 (ก) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อใช้ความยาวมิกซิงคอยด์ในขั้นตอนการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ 100 เซนติเมตร

Conc. (ppm)	abs	corr	avg	SD	%RSD
blank	1.6150	0	1.6271	0.011	0.70
	1.6290				
	1.6374				
100	2.0157	0.3886	0.3916	0.006	1.42
	2.0152	0.3881			
	2.0251	0.3980			
300	2.1742	0.5471	0.5564	0.015	2.63
	2.2004	0.5733			
	2.1761	0.5490			
500	2.3414	0.7143	0.7061	0.007	1.04
	2.3275	0.7004			
	2.3306	0.7035			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.4 (ก) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อใช้ความยาวมิกซิงคอยตีในขั้นตอนการทำ
ปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ 100 เซนติเมตร (ต่อ)

Conc. (ppm)	abs	corr	avg	SD	%RSD
700	2.4595	0.8324	0.8190	0.012	1.52
	2.4351	0.8080			
	2.4436	0.8165			
1000	2.5907	0.9636	0.9652	0.003	0.27
	2.5909	0.9638			
	2.5952	0.9681			
2000	3.1752	1.5481	1.5485	0.002	0.10
	3.1773	1.5502			
	3.1743	1.5472			



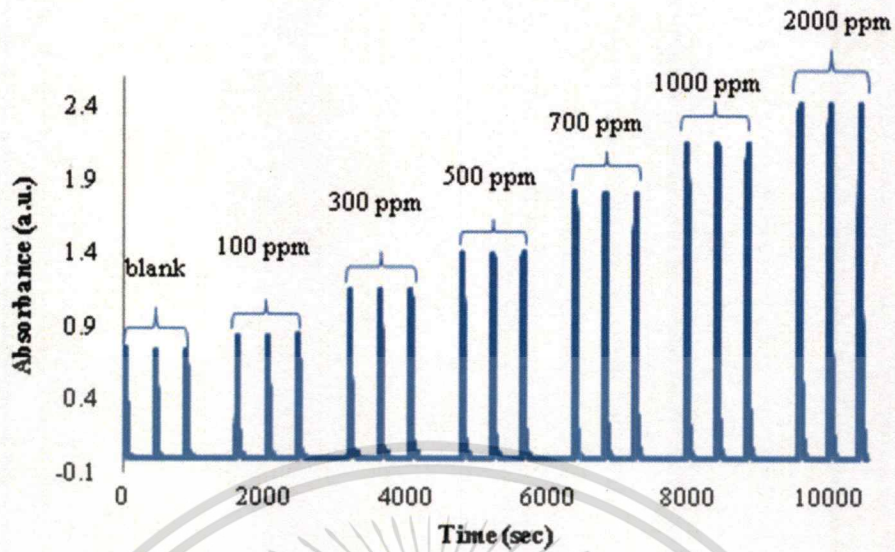
รูปที่ ก.4 (ข) แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อใช้ความยาวมิกซิงคอยตีในขั้นตอนการทำ
ปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ 200 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.4 (ข) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อใช้ความยาวมิกซิงคอยตีในขั้นตอนการทำ
ปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ 200 เซนติเมตร

Conc. (ppm)	abs	corr	avg	SD	%RSD
blank	1.1017	0	1.1477	0.043	3.76
	1.1872				
	1.1541				
100	1.1872	0.0395	0.037	0.003	8.60
	1.1854	0.0377			
	1.1811	0.0334			
300	1.5183	0.3706	0.363	0.007	1.88
	1.5058	0.3581			
	1.5073	0.3596			
500	1.7087	0.5610	0.618	0.049	7.97
	1.7925	0.6448			
	1.7953	0.6476			
700	1.9008	0.7531	0.755	0.003	0.39
	1.9059	0.7582			
	1.9008	0.7531			
1000	2.2095	1.0618	1.058	0.003	0.32
	2.2032	1.0555			
	2.2043	1.0566			
2000	3.5100	2.3623	2.356	0.005	0.22
	3.5010	2.3533			
	3.5007	2.3530			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก.4 (ค) แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อใช้ความยาวมิกซิงคอยด์ในขั้นตอนการทำ ปฏิกริยาอนุพันธ์เท่ากับ 300 เซนติเมตร

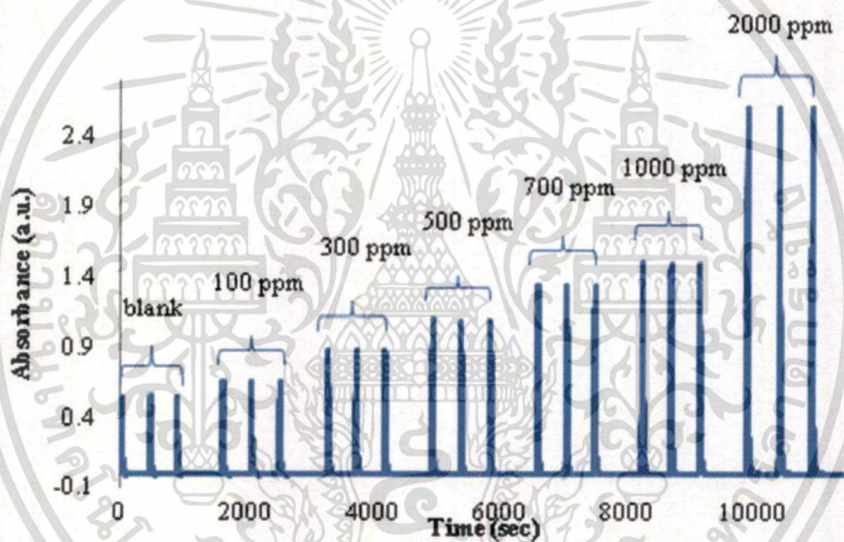
ตารางที่ ก.4 (ค) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อใช้ความยาวมิกซิงคอยด์ในขั้นตอนการทำ ปฏิกริยาอนุพันธ์เท่ากับ 300 เซนติเมตร

Conc. (ppm)	abs	corr	avg	SD	%RSD
blank	0.7489	0	0.7452	0.004	0.49
	0.7452				
	0.7415				
100	0.8469	0.1017	0.1021	0.0007	0.67
	0.8481	0.1029			
	0.8470	0.1018			
300	1.1702	0.4250	0.4269	0.002	0.43
	1.1738	0.4286			
	1.1724	0.4272			
500	1.3545	0.6093	0.6220	0.025	3.95
	1.3515	0.6063			
	1.3955	0.6503			
700	1.6275	0.8823	0.8810	0.001	0.13
	1.6252	0.8800			
	1.6259	0.8807			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้拿去ใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.4 (ค) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อใช้ความยาวมิกซิงคอยด์ในขั้นตอนการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ 300 เซนติเมตร (ต่อ)

Conc. (ppm)	abs	corr	avg	SD	%RSD
1000	1.9176	1.1724	1.1711	0.003	0.28
	1.9125	1.1673			
	1.9188	1.1736			
2000	3.3232	2.5780	2.5772	0.001	0.03
	3.3215	2.5763			
	3.3225	2.5773			



รูปที่ ก.4 (ง) แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อใช้ความยาวมิกซิงคอยด์ในขั้นตอนการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ 400 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.4 (ง) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกบชา เมื่อใช้ความยาวมิกซิงคอยด์ในขั้นตอนการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ 400 เซนติเมตร

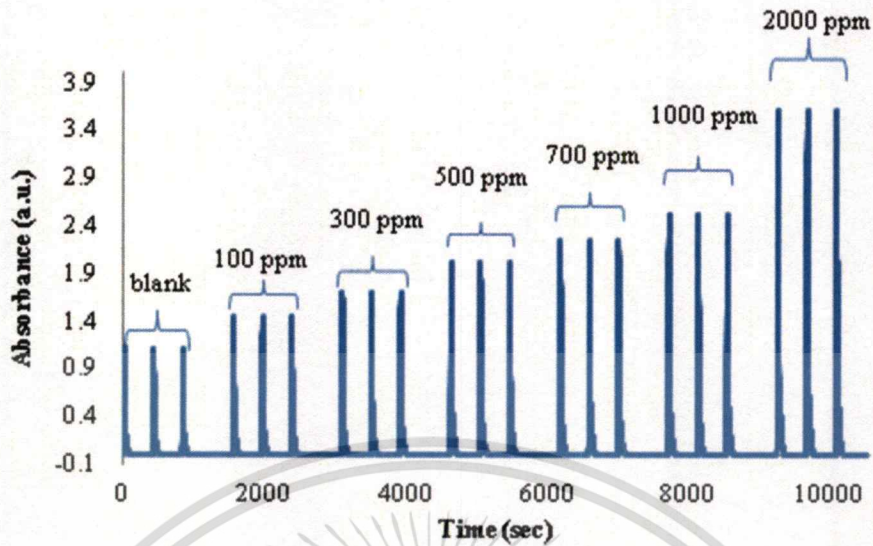
Conc. (ppm)	abs	corr	avg	SD	%RSD
blank	0.5485	0	0.5487	0.001	0.10
	0.5493				
	0.5483				
100	0.6398	0.0911	0.0905	0.0009	0.96
	0.6382	0.0895			
	0.6395	0.0908			
300	0.9577	0.4090	0.4050	0.004	0.92
	0.9503	0.4016			
	0.9532	0.4045			
500	1.1912	0.6425	0.6457	0.004	0.65
	1.1992	0.6505			
	1.1929	0.6442			
700	1.5623	1.0136	1.0139	0.0003	0.03
	1.5630	1.0143			
	1.5625	1.0138			
1000	1.9586	1.4099	1.4070	0.003	0.19
	1.9551	1.4064			
	1.9533	1.4046			
2000	3.1757	2.6270	2.6268	0.0003	0.01
	3.1755	2.6268			
	3.1752	2.6265			

1.5 ศึกษาอิทธิพลของลำดับในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์

ทำการศึกษาอิทธิพลของลำดับในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ที่ส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์ โดยใช้มิกซิงคอยด์ความยาว 200 เซนติเมตร และลำดับในการทำปฏิกิริยาที่เลือกศึกษาคือ

1. ลำดับการทำปฏิกิริยาแบบ non-sandwich
2. ลำดับการทำปฏิกิริยาแบบ sandwich

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก.5 (ก) แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อใช้ลำดับในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์แบบ non-sandwich

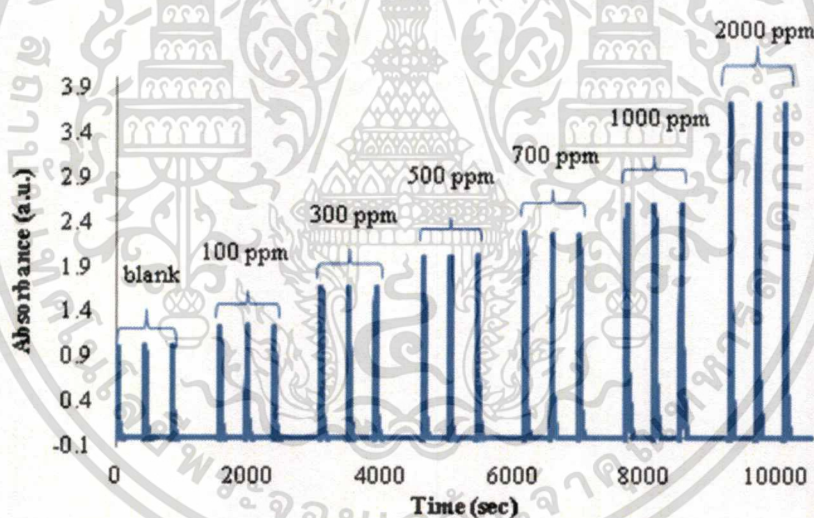
ตารางที่ ก.5 (ก) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อใช้ลำดับในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์แบบ non-sandwich

Conc. (ppm)	abs	corr	avg	SD	%RSD
blank	1.1002	0	1.1037	0.004	0.40
	1.1022				
	1.1087				
100	1.4415	0.3378	0.338	0.001	0.23
	1.4418	0.3381			
	1.4429	0.3392			
300	1.6963	0.5926	0.592	0.001	0.18
	1.6952	0.5915			
	1.6941	0.5904			
500	2.0165	0.9128	0.910	0.003	0.36
	2.0100	0.9063			
	2.0140	0.9103			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.5 (ก) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อใช้ลำดับในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์แบบ non-sandwich (ต่อ)

Conc. (ppm)	abs	corr	avg	SD	%RSD
700	2.2512	1.1475	1.148	0.001	0.06
	2.2518	1.1481			
	2.2525	1.1488			
1000	2.5230	1.4193	1.419	0.000	0.01
	2.5233	1.4196			
	2.5233	1.4196			
2000	3.6131	2.5094	2.511	0.001	0.05
	3.6144	2.5107			
	3.6157	2.5120			



รูปที่ ก.5 (ข) แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อใช้ลำดับในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์แบบ sandwich

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

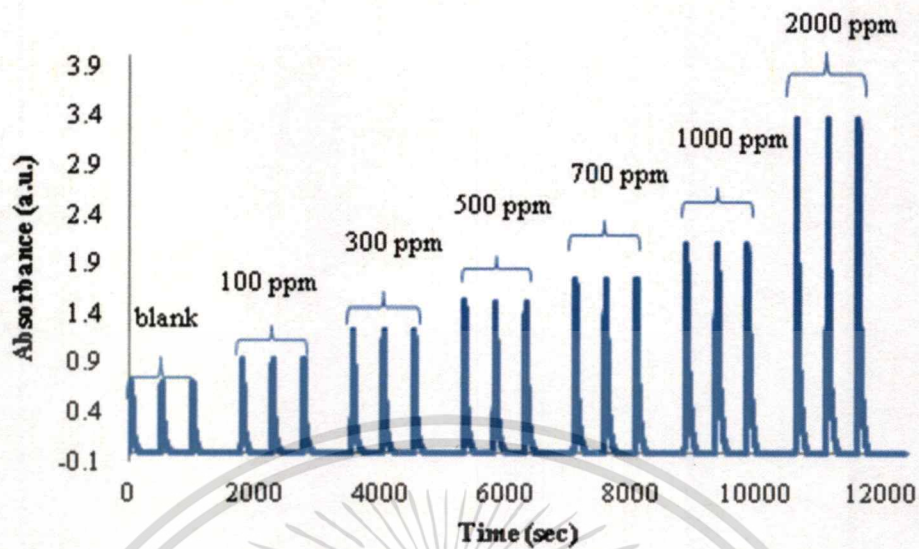
ตารางที่ ก.5 (ข) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อใช้ลำดับในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์แบบ sandwich

Conc. (ppm)	abs	corr	avg	SD	%RSD
blank	1.0109	0	1.0220	0.010	1.01
	1.0237				
	1.0312				
100	1.3399	0.3179	0.3200	0.003	0.89
	1.3454	0.3234			
	1.3412	0.3192			
300	1.6758	0.6538	0.6510	0.003	0.53
	1.6730	0.6510			
	1.6690	0.6470			
500	2.0035	0.9815	0.9810	0.000	0.03
	2.0036	0.9816			
	2.0031	0.9811			
700	2.2655	1.2435	1.2440	0.003	0.25
	2.2631	1.2411			
	2.2692	1.2472			
1000	2.5832	1.5612	1.5600	0.001	0.06
	2.5815	1.5595			
	2.5817	1.5597			
2000	3.7216	2.6996	2.7000	0.000	0.01
	3.7212	2.6992			
	3.7220	2.7000			

1.6 ศึกษาอิทธิพลของอัตราการไหล

ทำการศึกษาอิทธิพลของอัตราการไหลของสารในขณะที่เข้าสู่ระบบตรวจวัดที่ส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์ โดยใช้ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกาบาในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ 150 ไมโครลิตร ความยาวมิกซิงคอยด์ 200 เซนติเมตร และลำดับการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์แบบ sandwich และอัตราการไหลที่เลือกศึกษาคือ 25, 50 และ 100 ไมโครลิตร/นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก.6 (ก) แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกานา เมื่อใช้อัตราการไหลของสารในขณะที่เข้าสู่ระบบ
ตรวจวัดเท่ากับ 25 ไมโครลิตร/นาที

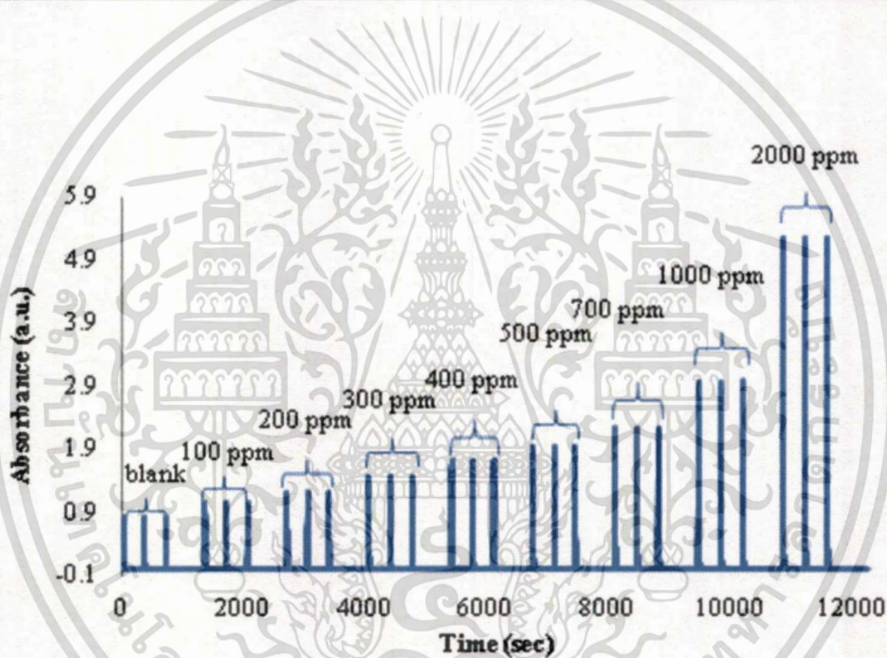
ตารางที่ ก.6 (ก) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกานา เมื่อใช้อัตราการไหลของสารในขณะที่เข้าสู่ระบบ
ตรวจวัดเท่ากับ 25 ไมโครลิตร/นาที

Conc. (ppm)	abs	corr	avg	SD	%RSD
blank	0.7061	0	0.7051	0.002	0.33
	0.7068				
	0.7025				
100	0.9471	0.2420	0.242	0.003	1.33
	0.9508	0.2457			
	0.9443	0.2392			
300	1.2355	0.5304	0.532	0.002	0.36
	1.2388	0.5337			
	1.2355	0.5304			
500	1.5208	0.8157	0.816	0.001	0.07
	1.5216	0.8165			
	1.5219	0.8168			
700	1.7539	1.0488	1.049	0.001	0.08
	1.7549	1.0498			
	1.7532	1.0481			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้拿去ใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.6 (ก) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อใช้อัตราการไหลของสารในขณะที่เข้าสู่ระบบ
ตรวจวัดเท่ากับ 25 ไมโครลิตร/นาที (ต่อ)

Conc. (ppm)	abs	corr	avg	SD	%RSD
1000	2.0951	1.3900	1.390	0.000	0.03
	2.0956	1.3905			
	2.0958	1.3907			
2000	3.3752	2.6701	2.669	0.001	0.05
	3.3740	2.6689			
	3.3727	2.6676			



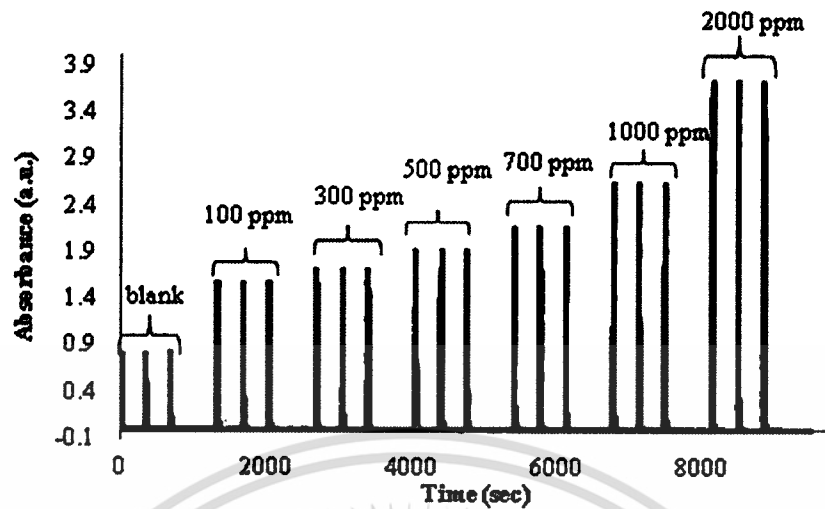
รูปที่ ก.6 (ข) แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อใช้อัตราการไหลของสารในขณะที่เข้าสู่ระบบ
ตรวจวัดเท่ากับ 50 ไมโครลิตร/นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.6 (ข) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อใช้อัตราการไหลของสารในขณะที่เข้าสู่ระบบ
ตรวจวัดเท่ากับ 50 ไมโครลิตร/นาที

Conc. (ppm)	abs	corr	avg	SD	%RSD
blank	0.7589	0	0.7567	0.003	0.35
	0.7575				
	0.7538				
100	1.1241	0.3674	0.3540	0.012	3.42
	1.1020	0.3453			
	1.1046	0.3479			
300	1.3920	0.6353	0.6330	0.002	0.37
	1.3874	0.6307			
	1.3890	0.6323			
500	1.7730	1.0163	0.9950	0.019	1.88
	1.7408	0.9841			
	1.7405	0.9838			
700	2.1154	1.3587	1.3560	0.003	0.23
	2.1127	1.3560			
	2.1092	1.3525			
1000	2.4951	1.7384	1.7390	0.000	0.02
	2.4956	1.7389			
	2.4958	1.7391			
2000	3.6752	2.9185	2.917	0.001	0.04
	3.6740	2.9173			
	3.6727	2.9160			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก.6 (ค) แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อใช้อัตราการไหลของสารในขณะเข้าสู่ระบบ
ตรวจวัดเท่ากับ 100 ไมโครลิตร/นาที

ตารางที่ ก.6 (ค) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อใช้อัตราการไหลของสารในขณะเข้าสู่ระบบ
ตรวจวัดเท่ากับ 100 ไมโครลิตร/นาที

Conc. (ppm)	abs	corr	avg	SD	%RSD
blank	0.8018	0	0.8057	0.003	0.43
	0.8069				
	0.8085				
100	1.5621	0.8564	0.8580	0.003	0.39
	1.5676	0.8619			
	1.5614	0.8557			
300	1.6940	0.9883	0.9890	0.002	0.16
	1.6959	0.9902			
	1.6928	0.9871			
500	1.9044	1.1987	1.1980	0.001	0.12
	1.9045	1.1988			
	1.9019	1.1962			
700	2.1500	1.4443	1.4460	0.002	0.11
	2.1514	1.4457			
	2.1532	1.4475			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

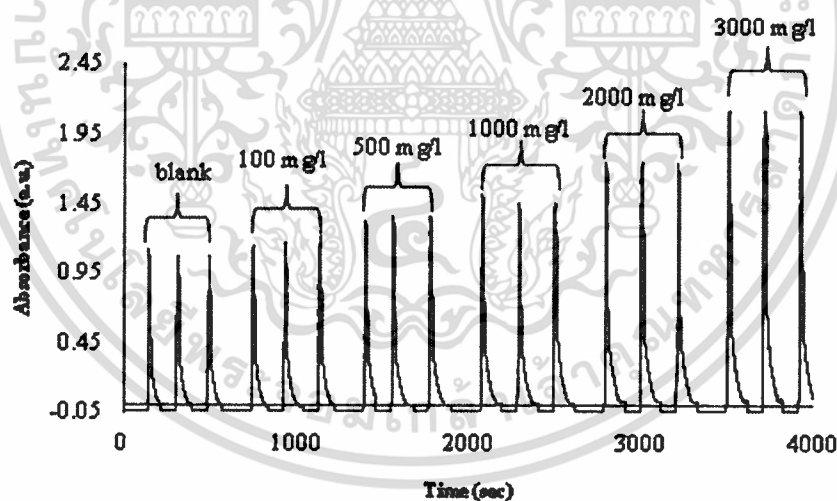
ตารางที่ ก.6 (ค) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อใช้อัตราการไหลของสารในขณะที่เข้าสู่ระบบตรวจวัดเท่ากับ 100 ไมโครลิตร/นาที (ต่อ)

Conc. (ppm)	abs	corr	avg	SD	%RSD
1000	2.6325	1.9268	1.9260	0.001	0.03
	2.6312	1.9255			
	2.6316	1.9259			
2000	3.7101	3.0044	3.0050	0.0003	0.02
	3.7110	3.0053			
	3.7104	3.0047			

2. การศึกษาปัจจัยทางเคมี

2.1 ศึกษาอิทธิพลของพีเอชต่อการเกิดปฏิกิริยาอนุพันธ์

การศึกษาอิทธิพลของพีเอชของบอเรตบัฟเฟอร์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์ ที่ส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์โดยพีเอชที่เลือกศึกษาคือ 8, 9 และ 10 ตามลำดับ



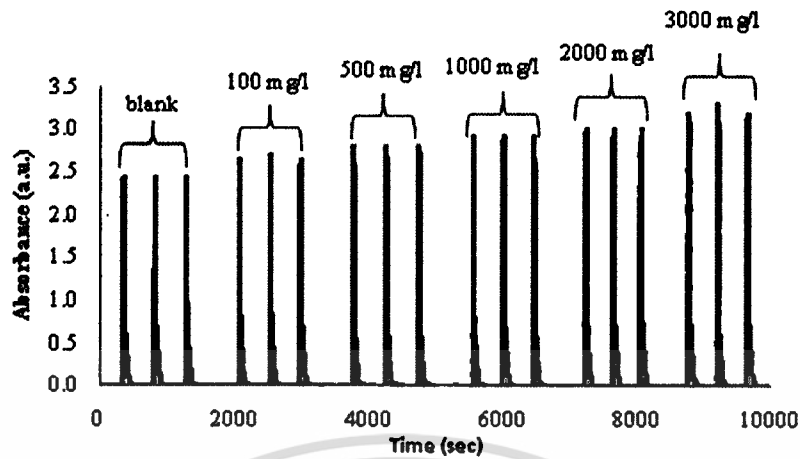
รูปที่ ก.7 (ก) แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อใช้พีเอชของบอเรตบัฟเฟอร์ในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ 8.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.7 (ก) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อใช้พีเอชของบอเรตบัฟเฟอร์ในการทำ
ปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ 8.0 (ต่อ)

Conc. (ppm)	abs	corr	avg	SD	%RSD
blank	1.1110	0	1.0797	0.028	2.60
	1.0568				
	1.0713				
100	1.1513	0.0715	0.0936	0.031	32.76
	1.1603	0.0806			
	1.2083	0.1286			
500	1.3113	0.2316	0.2590	0.024	9.17
	1.3524	0.2727			
	1.3524	0.2727			
1000	1.5152	0.4355	0.3936	0.036	9.24
	1.4547	0.3750			
	1.4500	0.3703			
2000	1.7459	0.6662	0.6650	0.001	0.15
	1.7442	0.6645			
	1.7441	0.6644			
3000	2.1105	1.0308	1.0269	0.003	0.33
	2.1041	1.0243			
	2.1054	1.0257			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

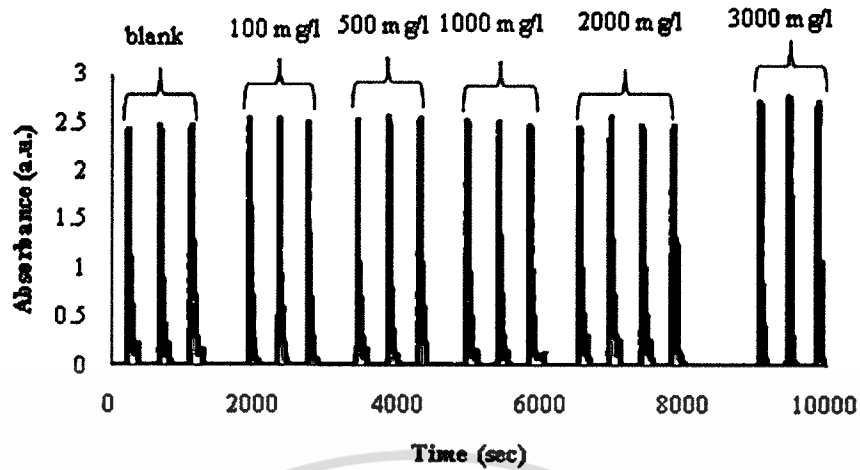


รูปที่ ก.7 (ข) แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อใช้พีเอชของบอเรตบัฟเฟอร์ในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ 9.0

ตารางที่ ก.7 (ข) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อใช้พีเอชของบอเรตบัฟเฟอร์ในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ 9.0

Conc. (ppm)	abs	corr	avg	SD	%RSD
blank	2.4234	0	2.443	0.046	1.88
	2.4956				
	2.4100				
100	2.6373	0.194	0.2228	0.026	11.79
	2.6890	0.246			
	2.6711	0.228			
500	2.7871	0.344	0.2967	0.044	14.86
	2.7000	0.257			
	2.7319	0.289			
1000	2.8667	0.424	0.4217	0.003	0.81
	2.8608	0.418			
	2.8667	0.424			
2000	2.9986	0.556	0.5535	0.003	0.59
	2.9981	0.555			
	2.9927	0.550			
3000	3.1798	0.737	0.7734	0.063	8.18
	3.2895	0.847			
	3.1800	0.737			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก.7 (ค) แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อใช้พีเอชของบอเรตบัฟเฟอร์ในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ 10.0

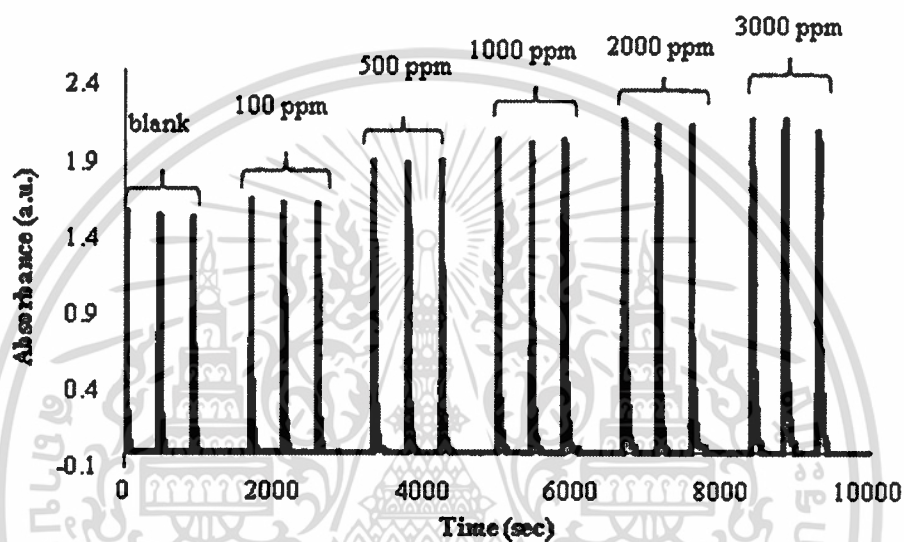
ตารางที่ ก.7 (ค) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อใช้พีเอชของบอเรตบัฟเฟอร์ในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ 10.0

Conc. (ppm)	abs	corr	avg	SD	%RSD
blank	2.4044	0	2.4387	0.030	1.22
	2.4568				
	2.4548				
100	2.5060	0.0670	0.0665	0.005	7.12
	2.5099	0.0710			
	2.5005	0.0620			
500	2.5288	0.0900	0.0976	0.013	1.49
	2.5518	0.1130			
	2.5292	0.0900			
1000	2.5105	0.0710	0.0540	0.025	4.84
	2.5045	0.0660			
	2.4640	0.0250			
2000	2.5174	0.0780	0.0944	0.028	2.82
	2.5659	0.1270			
	2.5169	0.0780			
3000	2.5298	0.0910	0.1103	0.017	1.74
	2.5630	0.1240			
	2.5552	0.1160			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 ศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นรีเอเจนต์ (2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์) ต่อการเกิดปฏิกิริยาอนุพันธ์

การศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นสำหรับรีเอเจนต์ของ 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์ ที่ใช้ในการทำอนุพันธ์ ที่ส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์ โดยปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน กาบ่าในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ 150 ไมโครลิตรและความเข้มข้นที่เลือกศึกษาคือร้อยละ 3, 5, 6 และ 7 (น้ำหนัก/ ปริมาตร)

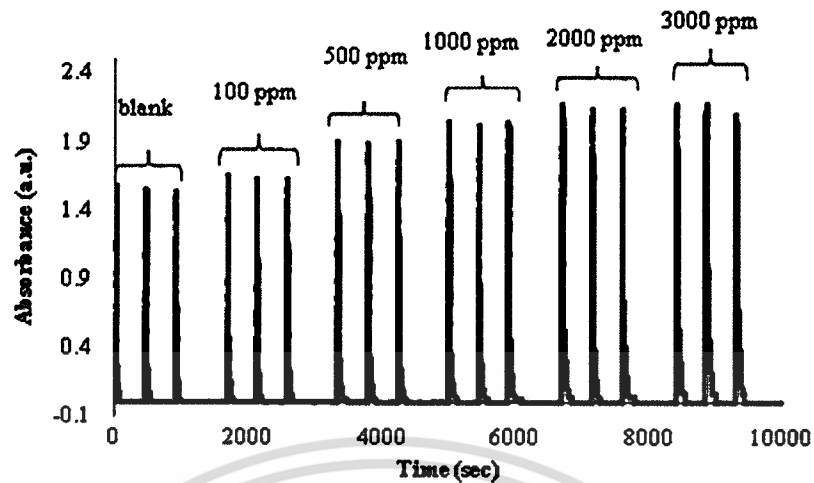


รูปที่ ก.8 (ก) แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบ่าเมื่อใช้ความเข้มข้นสำหรับรีเอเจนต์ของ 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์ ในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ ร้อยละ 0.3 (น้ำหนัก/ ปริมาตร)

ตารางที่ ก.8 (ก) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อใช้ความเข้มข้นสำหรับรีเอเจนต์ของ 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์ ในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ ร้อยละ 0.3 (น้ำหนัก/ ปริมาตร)

Conc. (ppm)	abs	corr	avg	SD	%RSD
blank	1.5715	0	1.5512	0.019	1.21
	1.5479				
	1.5342				
100	1.6491	0.0979	0.0842	0.012	14.25
	1.6308	0.0796			
	1.6264	0.0752			
500	1.9047	0.3535	0.3504	0.007	2.11
	1.8932	0.3420			
	1.9070	0.3558			
1000	2.0469	0.4957	0.4822	0.017	3.48
	2.0147	0.4635			
	2.0388	0.4876			
2000	2.1769	0.6257	0.5967	0.025	4.22
	2.1321	0.5809			
	2.1346	0.5834			
3000	2.1734	0.6222	0.5977	0.042	7.05
	2.1731	0.6219			
	2.1003	0.5491			

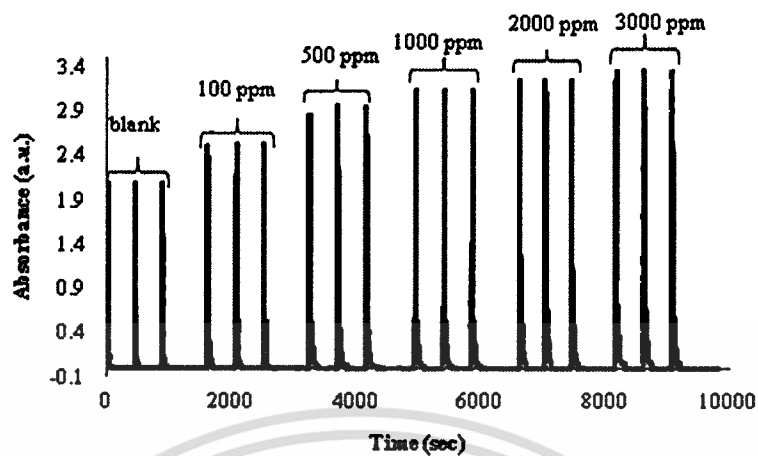
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก.8 (ข) แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อใช้ความเข้มข้นสำหรับรีเอเจนต์ของ 2-ไฮดรอกซีเนปทาเลดีไฮด์ ในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ ร้อยละ 3 (น้ำหนัก/ ปริมาตร)

ตารางที่ ก.8 (ข) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อใช้ความเข้มข้นสำหรับรีเอเจนต์ของ 2-ไฮดรอกซีเนปทาเลดีไฮด์ ในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ ร้อยละ 3 (น้ำหนัก/ ปริมาตร)

Conc. (ppm)	abs	corr	avg	SD	%RSD
blank	1.6415	0	1.6392	0.005	0.29
	1.6337				
	1.6423				
100	1.6758	0.0366	0.0388	0.002	5.05
	1.6795	0.0404			
	1.6785	0.0393			
500	2.2178	0.5786	0.5811	0.036	6.22
	2.2576	0.6184			
	2.1854	0.5463			
1000	2.3843	0.7452	0.7390	0.005	0.72
	2.3750	0.7358			
	2.3753	0.7361			
2000	2.4076	0.7684	0.7670	0.017	2.26
	2.3882	0.7490			
	2.4227	0.7836			
3000	2.4312	0.7920	0.7916	0.001	0.08
	2.4300	0.7908			
	2.4310	0.7918			

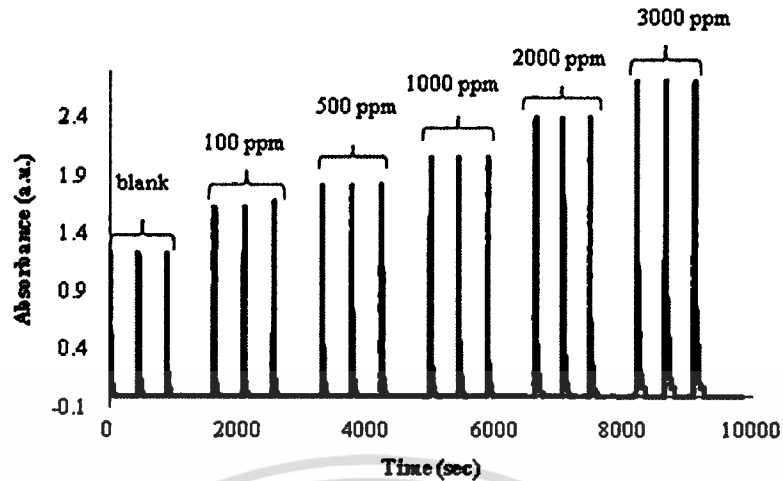


รูปที่ ก.8 (ค) แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อใช้ความเข้มข้นสำหรับรีเอเจนต์ของ 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์ ในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ ร้อยละ 6 (น้ำหนัก/ ปริมาตร)

ตารางที่ ก.8 (ค) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อใช้ความเข้มข้นสำหรับรีเอเจนต์ของ 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์ ในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ ร้อยละ 6 (น้ำหนัก/ ปริมาตร)

Conc. (ppm)	abs	corr	avg	SD	% RSD
blank	2.0936	0	2.0927	0.001	0.07
	2.0935				
	2.0911				
100	2.8095	0.7165	0.7316	0.013	1.80
	2.8334	0.7404			
	2.8311	0.7381			
500	2.9184	0.8254	0.8428	0.016	1.87
	2.9398	0.8468			
	2.9491	0.8561			
1000	3.1423	1.0493	1.0492	0.001	0.11
	3.1410	1.0480			
	3.1433	1.0503			
2000	3.4510	1.3580	1.3610	0.005	0.35
	3.4514	1.3584			
	3.4594	1.3664			
3000	3.7650	1.6720	1.6729	0.001	0.06
	3.7659	1.6729			
	3.7669	1.6739			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ภายในห้องเรียนเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก.8 (ง) แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบาเมื่อใช้ความเข้มข้นสำหรับรีเอเจนต์ของ 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์ ในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ ร้อยละ 7.5 (น้ำหนัก/ ปริมาตร)

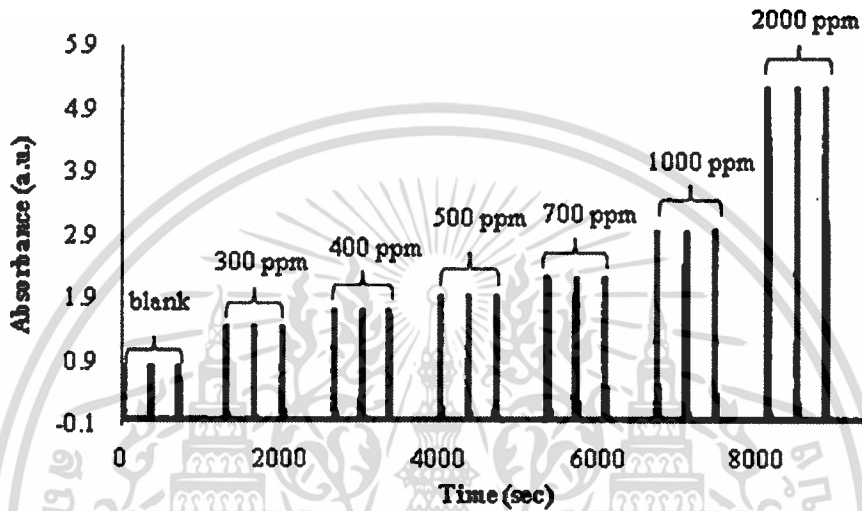
ตารางที่ ก.8 (ง) ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา เมื่อใช้ความเข้มข้นสำหรับรีเอเจนต์ของ 2-ไฮดรอกซีแนปทาลดีไฮด์ ในการทำปฏิกิริยาอนุพันธ์เท่ากับ ร้อยละ 7.5 (น้ำหนัก/ ปริมาตร)

Conc. (ppm)	abs	corr	avg	SD	% RSD
blank	1.2284	0	1.4929	0.004	0.28
	1.2201				
	1.2232				
100	1.6140	0.1210	0.1430	0.032	22.20
	1.6215	0.1290			
	1.6724	0.1790			
500	1.8705	0.3780	0.3817	0.004	1.16
	1.8742	0.3810			
	1.8794	0.3860			
1000	2.0539	0.5610	0.5607	0.000	0.09
	2.0539	0.5610			
	2.0531	0.5600			
2000	2.3959	0.9030	0.9002	0.003	0.28
	2.3910	0.8980			
	2.3925	0.9000			
3000	2.7106	1.2180	1.2217	0.004	0.29
	2.7159	1.2230			
	2.7174	1.2240			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น ไม่อนุญาตให้拿來ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
 กราฟมาตรฐานที่ได้จากสภาวะที่เหมาะสม

เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกาบาโดยอาศัยระบบซีควอนเซียลอินเจกชันอะนาไลซิสแล้ว จึงได้ทำการสร้างมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกาบา



รูปที่ ข. แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบา ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม

ตารางที่ ข. ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกาบา ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม

Conc. (ppm)	abs	corr	avg	SD	%RSD
blank	0.8135	0	0.8135	0.00001	0.00
	0.8135				
	0.8135				

ตารางที่ ข. ค่าการดูดกลืนแสงของสารอนุพันธ์ของกบา ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม (ต่อ)

Conc. (ppm)	abs	corr	avg	SD	%RSD
300	1.4439	0.6283	0.628	0.001	0.14
	1.4428	0.6272			
	1.4446	0.6290			
400	1.7071	0.8915	0.890	0.002	0.17
	1.7041	0.8885			
	1.7062	0.8906			
500	1.9135	1.0979	1.099	0.002	0.18
	1.9174	1.1018			
	1.9143	1.0987			
700	2.2254	1.4098	1.409	0.001	0.05
	2.2240	1.4084			
	2.2242	1.4086			
1000	2.9542	2.1386	2.139	0.001	0.05
	2.9539	2.1383			
	2.9558	2.1402			
2000	5.2134	4.3978	4.398	0.0003	0.01
	5.2135	4.3979			
	5.2130	4.3974			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
ประเมินคุณลักษณะเด่นของวิธีวิเคราะห์

1. ความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์

ในการหาความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ จะประเมินจากค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ที่เติมสารละลายมาตรฐานกาบาที่ความเข้มข้นสุดท้าย 200 มิลลิกรัม/ลิตรลงไป จากนั้นคำนวณหาความเข้มข้นของตัวอย่างที่มีการเติมสารละลายมาตรฐาน และค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ

ตารางที่ ค.1 ค่าการดูดกลืนแสงสารอนุพันธ์กาบา ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ที่เติมสารละลายมาตรฐานกาบาที่ความเข้มข้นสุดท้าย 200 มิลลิกรัม/ลิตรลงไป

sample	corr	original conc.	spiked	found	%recovery
GABA tablet 1	0.1993	107.39	203.00	303.47±0.0013	96.59
	0.1931				
	0.1942				
GABA tablet 2	0.1965	107.53	203.00	312.01±0.0083	100.73
	0.1955				
	0.1955				
GABA tablet 3	0.1989	110.22	203.00	307.99±0.0103	97.42
	0.1992				
	0.2072				
GABA tablet 4	0.2039	110.42	203.00	305.49±0.0042	96.09
	0.1994				
	0.2035				
GABA tablet 5	0.2011	111.34	203.00	302.73±0.0018	94.28
	0.2111				
	0.2006				
GABA 500 mg 1	1.0696	502.78	203.00	709.41±0.0004	101.79
	1.0698				
	1.0686				

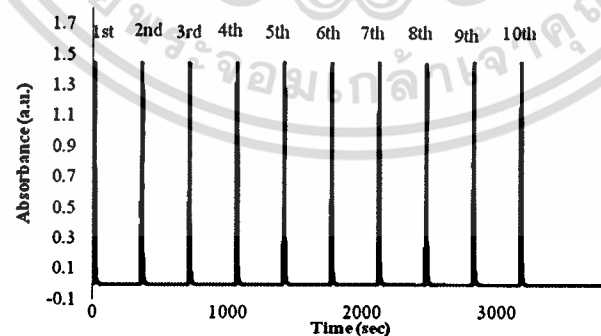
ตารางที่ ค.1 ค่าการดูดกลืนแสงสารอนุพันธ์กาบา ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ที่เติมสารละลายมาตรฐานกาบาที่ความเข้มข้นสุดท้าย 200 มิลลิกรัม/ลิตรลงไป (ต่อ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

sample	Corr.	original conc.	spiked	found	%recovery
GABA 500 mg 2	1.0884	511.40	203.00	728.30±0.0080	106.84
	1.0867				
	1.0901				
GABA 500 mg 3	1.0372	488.31	203.00	683.56±0.0010	96.18
	1.0379				
	1.0370				
GABA 750 mg 1	1.0816	505.94	203.00	704.88±0.0100	98.00
	1.0738				
	1.0736				
GABA 750 mg 2	1.0784	504.92	203.00	701.15±0.0020	96.66
	1.0737				
	1.0701				
GABA 750 mg 3	1.0742	504.45	203.00	708.48±0.0001	100.51
	1.0729				
	1.0720				

4. 2 ความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์

ในการหาความเที่ยงของวิธี จะพิจารณาจากค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ โดยทำการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานกาบา ที่ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัม/ลิตร ซ้ำๆเป็นจำนวน 10 ครั้ง จากนั้นหาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์



รูปที่ ค. แสดงสัญญาณที่ได้ของสารอนุพันธ์ของกาบา ที่ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัม/ลิตร ซ้ำๆเป็นจำนวน 10 ครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.2 ค่าการดูดกลืนแสงสารอนุพันธ์ของสารละลายมาตรฐานกาบาที่ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัม/ลิตร ซ้ำๆเป็นจำนวน 10 ครั้ง

No.	abs	avg	SD	%RSD
1	1.4439	1.4442	0.003	0.17
2	1.4428			
3	1.4396			
4	1.4451			
5	1.4422			
6	1.4436			
7	1.4492			
8	1.4457			
9	1.4453			
10	1.4449			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง
 ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีที่พัฒนาขึ้นกับการวิเคราะห์
 ปริมาณกาบาโดยอาศัยเทคนิคแบบไม่ต่อเนื่อง

ตารางที่ ง การเปรียบเทียบผลวิเคราะห์ด้วยวิธีการทางสถิติ Paired t - test

t-Test: Paired Two Sample for Means

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	353.1663636	352.75
Variance	110528.4713	110514.3815
Observations	11	11
Pearson Correlation	0.999882553	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	10	
t Stat	0.271022932	
P(T<=t) one-tail	0.395942764	
t Critical one-tail	1.812461102	
P(T<=t) two-tail	0.791885528	
t Critical two-tail	2.228138842	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บันทึกการยกยารับ-จ่ายเงิน โครงการวิจัย สัญญาเลขที่ 2559A11802076 ตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม 2558 ถึงวันที่ 30 กันยายน 2559

แหล่งทุน: เงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2559

ชื่อโครงการ : ชุดเครื่องมือต้นแบบสำหรับหาคาบในข้าวกล้องงอกจากข้าวไร่

ชื่อหัวหน้าโครงการ: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ณัฐวุฒิ เจริญชัย

ว/ด/ป	รายการ	เลขที่อ้างอิง	รายการรับ - จ่าย		คงเหลือ	รายการรับ ดอกเบี้ยรับ	งบบุคลากร ค่าจ้างชั่วคราว	รายการจ่าย			งบลงทุน ค่าครุภัณฑ์	รวม รายการจ่าย
			รับ	จ่าย				ค่าตอบแทน	ค่าวัสดุ	ค่าสาธารณูปโภค		
	งบประมาณที่ได้รับ (รวม)		360,000.00		360,000.00							
	จำนวนเงินที่ได้รับ (งวดที่ 1 = 85%)		306,000.00		306,000.00		46,720.00	25,000.00	185,041.80			
	จำนวนเงินที่ได้รับ (งวดที่ 2 = 15%)		54,000.00		54,000.00		46,720.00	36,550.00	19,980.00			
	หัก ค่าใช้จ่าย			360,011.80			93,440.00	61,550.00	205,021.80			360,011.80
	งบประมาณคงเหลือ		360,000.00		11.80	833.20						
	รายละเอียดค่าใช้จ่าย											
23 พ.ย. 15	โอนเงินงวดแรก		306,000.00		306,000.00							
1 ธ.ค. 15	ค่าเขียน software เพื่อควบคุมการทำงาน			25,000.00	281,000.00							
22 ธ.ค. 15	gamma-Aminobutyric Acid, 25 g + Acetonitrile AR, 4 L	43735		4,815.00	276,185.00				1,605.00			1,605.00
25 ธ.ค. 15	ดอกเบี้ยครั้งที่ 1					138.74			3,210.00			3,210.00
16 ก.พ. 16	2-hydroxy-1-naphthaldehyde, 98% 100 g, IV 5908011			6,462.80	269,722.20				6,462.80			6,462.80
18 มี.ค. 16	ค่าตอบแทนผู้ช่วยวิจัย ครั้งที่ 1			46,720.00	223,002.20		46,720.00					46,720.00
17 มี.ค. 16	ค่าอุปกรณ์ต้นแบบ (syringe pump-PSD2)	2016-101		10,000.00	213,002.20				10,000.00			10,000.00
	ค่าอุปกรณ์ต้นแบบ (syringe pump-PSD4)	2016-102		10,000.00	203,002.20				10,000.00			10,000.00
	ค่าอุปกรณ์ต้นแบบ (multi-valve-8 port)	2016-103		10,000.00	193,002.20				10,000.00			10,000.00
	ค่าอุปกรณ์ต้นแบบ (multi-valve-8 port)	2016-104		10,000.00	183,002.20				10,000.00			10,000.00
	ค่าอุปกรณ์ต้นแบบ (glass syringe-0.25 mL)	2016-105		8,500.00	174,502.20				8,500.00			8,500.00
	ค่าอุปกรณ์ต้นแบบ (glass syringe-0.25 mL)	2016-106		8,500.00	166,002.20				8,500.00			8,500.00
	ค่าอุปกรณ์ต้นแบบ (glass syringe-0.25 mL)	2016-107		8,500.00	157,502.20				8,500.00			8,500.00
	ค่าอุปกรณ์ต้นแบบ (glass syringe-0.125 mL)	2016-108		7,900.00	149,602.20				7,900.00			7,900.00
	ค่าอุปกรณ์ต้นแบบ (glass syringe-0.125 mL)	2016-109		7,900.00	141,702.20				7,900.00			7,900.00
	ค่าอุปกรณ์ต้นแบบ (glass syringe-0.125 mL)	2016-110		7,900.00	133,802.20				7,900.00			7,900.00
	ค่าอุปกรณ์ต้นแบบ (T-way valve-ceramic)	2016-111		10,000.00	123,802.20				10,000.00			10,000.00
	ค่าอุปกรณ์ต้นแบบ (T-way valve-PiFE)	2016-112		9,800.00	114,002.20				9,800.00			9,800.00
	ค่าอุปกรณ์ต้นแบบ (valve module)	2016-113		10,000.00	104,002.20				10,000.00			10,000.00

บันทึกการรับ-จ่ายเงิน โครงการวิจัย สัญญาเลขที่ 2559A11802076 ตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม 2558 ถึงวันที่ 30 กันยายน 2559

แหล่งทุน: เงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2559

ชื่อโครงการ : ชุดเครื่องมือต้นแบบสำหรับบริหารสถานการณ์ในข้าวกุ้งจากข้าวไร้

ชื่อหัวหน้าโครงการ: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ณัฐฤดี เจริญชัน

ว/ด/ป	รายการ	เลขที่อ้างอิง	รายการรับ - จ่าย		คงเหลือ	รายรับ	รายการจ่าย		งบลงทุน	รวม
			รับ	จ่าย			งบบุคลากร	งบดำเนินงาน		
	ค่าอุปกรณ์ต้นแบบ (valve module)	2016-114		10,000.00	94,002.20			10,000.00		
	ค่าอุปกรณ์ต้นแบบ (screw nut)	2016-115		7,500.00	86,502.20			7,500.00		
	ค่าอุปกรณ์ต้นแบบ (ferrule fitting)	2016-116		3,000.00	83,502.20			3,000.00		
	ค่าอุปกรณ์ต้นแบบ (PTFE tubing)	2016-117		5,000.00	78,502.20			5,000.00		
18 มี.ค. 16	ค่าวัสดุคอมพิวเตอร์ (RAM 4GB)	No.259140		2,100.00	76,402.20			2,100.00		
	ค่าวัสดุคอมพิวเตอร์ (External hard disk+Ton)	No.259136		8,130.00	68,272.20			8,130.00		
	ค่าวัสดุคอมพิวเตอร์ (Keyboard+Mouse)	No.259134		8,970.00	59,302.20			8,970.00		
	ค่าวัสดุคอมพิวเตอร์ (HDD+Toner)	No.259133		9,950.00	49,352.20			9,950.00		
22 มี.ค. 16	ค่าตอบแทนผู้ช่วยนักวิจัย	325659030070		114.00	49,238.20			114.00		114.00
10 มี.ย. 16	ค่าตอบแทนผู้ช่วยนักวิจัย			46,720.00	2,518.20		46,720.00			46,720.00
25 มี.ย. 16	ดอกเบี้ยครั้งที่ 2					694.46				
15 ก.ค. 16	โอนเงินงวดสอง		54,000.00		56,518.20					
16 ก.ค. 16	ค่าออกแบบและจัดทำกล่องควบคุมอุณหภูมิ			15,000.00	41,518.20		15,000.00			
27 ก.ค. 16	แผ่นพลาสติกอะคริลิก + กาวอะคริลิก	ES-C-5907-0206		4,280.00	37,238.20			4,280.00		4,280.00
28 ก.ค. 16	ค่าเช่ารถเก็บตัวอย่าง (หมายจ่ายรวมค่าน้ำมัน)			15,000.00	22,238.20		15,000.00			
	ค่าตัวอย่าง			3,000.00	19,238.20			3,000.00		
15 ส.ค. 16	ค่าจ้างพิมพ์รายงานและทำบัญชีการเงิน			5,000.00	14,238.20		5,000.00			
19 ส.ค. 16	หมึกพิมพ์ Toner	IV5902875		6,350.00	7,888.20			6,350.00		6,350.00
	หมึกพิมพ์ Toner	IV5902874		6,350.00	1,538.20			6,350.00		6,350.00
26 ส.ค. 16	ค่าถ่ายเอกสาร			590.00	948.20			590.00		
30 ส.ค. 16	ค่าจัดทำรายงานฉบับสมบูรณ์			960.00	11.80			960.00		
	รวม		54,000.00	360,011.80	11.80	833.20	93,440.00	205,021.80	-	360,011.80

หมายเหตุ ใช้เงินงบประมาณที่ได้รับเป็นจำนวน 11.80 บาท ซึ่งรายการส่วนที่เกินนี้ หัวหน้าโครงการจะเป็นผู้จ่ายเอง

ลงชื่อหัวหน้าโครงการ

วันที่ 31 ส.ค. 2559

ข้อมูลประวัติผู้ทำวิจัย

ประวัติหัวหน้าโครงการวิจัย

1. ชื่อ-นามสกุล (ภาษาไทย) นายณัฐวุฒิ เจริญชัย
ชื่อ-นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mr. NathawutChoengchan
2. หมายเลขประจำตัวบัตรประชาชน 3 1699 00248 24 8
3. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์
4. หน่วยงานและสถานที่ที่สามารถติดต่อได้สะดวก
ที่อยู่: สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
กรุงเทพฯ 10520
โทรศัพท์: 02-4344-326 โทรสาร: 02-326-4354
E-mail : kcnathaw@kmitl.ac.th และ nchoengchan@gmail.com
5. ประวัติการศึกษา

ปีที่จบการศึกษา	วุฒิการศึกษา	อักษรย่อ	สาขาวิชา	สถาบันการศึกษา	ประเทศ
		ปริญญาและชื่อเต็ม			
2542	ปริญญาตรี	วท.บ. (เคมี)	เคมี	มหาวิทยาลัยมหิดล	ไทย
2545	ปริญญาโท	วท.ม. (เคมี)	เคมีวิเคราะห์และเคมีอินทรีย์ประยุกต์	มหาวิทยาลัยมหิดล	ไทย
2549	ปริญญาเอก	Ph. D.	เคมีวิเคราะห์	มหาวิทยาลัยมหิดล	ไทย

(Analytical Chemistry)

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ
Analytical method development using flow-based technique

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ผู้ใดให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7.1 หัวหน้าโครงการวิจัย :

ชื่อโครงการ: อุปกรณ์ร่องขนาดเล็ก: การออกแบบและการประยุกต์ใช้กับระบบวิเคราะห์ที่อาศัยการไหล

แหล่งทุน: ทุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานของอาจารย์รุ่นใหม่ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยปี 2552

ชื่อโครงการ: ชุดเครื่องมือขนาดเล็กแบบพกพาได้สำหรับการวินิจฉัยโรคไตนอกห้องปฏิบัติการ

แหล่งทุน: กองทุนวิจัย สจล. ปี 2552

ชื่อโครงการ: การพัฒนาวิธีวิเคราะห์แบบอัตโนมัติเพื่อหาปริมาณเอทานอลและอะซีทัลดีไฮด์ในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์พื้นบ้านของไทย

แหล่งทุน: เงินรายได้ คณะวิทยาศาสตร์ สจล. ปี 2552

ชื่อโครงการ: ชุดต้นแบบสำหรับตรวจวัดอะซีทัลดีไฮด์และฟอร์มัลดีไฮด์ในอากาศ

แหล่งทุน: เงินรายได้ คณะวิทยาศาสตร์ สจล. ปี 2553

ชื่อโครงการ: ชุดต้นแบบเพื่อทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของผักและผลไม้แบบอัตโนมัติ

แหล่งทุน: เงินรายได้ คณะวิทยาศาสตร์ สจล. ปี 2554

ชื่อโครงการ: ชุดเครื่องมือต้นแบบชนิดรู้ผลเร็วสำหรับวิเคราะห์เอทานอลและอะซีทัลดีไฮด์ในเครื่องดื่มสุราชุมชน

แหล่งทุน: เงินงบประมาณแผ่นดิน ปีงบประมาณ 2554

ชื่อโครงการ: เครื่องมือต้นแบบสำหรับสกัดและแยกองค์ประกอบน้ำส้มควนไม้

แหล่งทุน: เงินรายได้ คณะวิทยาศาสตร์ สจล. ปี 2555

ชื่อโครงการ: ชุดเครื่องมือต้นแบบอัตโนมัติสำหรับประเมินฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของน้ำส้มควนไม้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แหล่งทุน: เงินงบประมาณแผ่นดิน ปีงบประมาณ 2555

7.2 งานวิจัยที่ทำสำเร็จแล้ว

1. Choengchan N, Uraisin K, Choden K, Veerasai W, Grudpan K, Nacapricha D. (2002) Simple Flow Injection System for Colorimetric Determination of Iodate in Iodized Salt. *Talanta* 58: 1195-1201. (impact factor = 2.391) ที่มา : Journal Citation Reports, 2005.
2. Choengchan N, Lukkanakul K, Ratanawimarnwong N, Waiyawat W, Wilairat P, Nacapricha D. (2003) Use of Pseudo-First Order Kinetics in Flow Injection for Determination of Trace Inorganic Iodine. *Anal. Chim. Acta* 499: 115-122. (impact factor = 2.760) ที่มา : Journal Citation Reports, 2005.
3. Ratanawimarnwong N, Amornthammarong N, Choengchan N, Chaisuwan P, Amatongchai M, Wilairat P, McKelvie I D, Nacapricha D. (2005) Determination of iodide by detection of iodine using gas-diffusion flow injection and chemiluminescence. *Talanta*, 65: 756-761. (impact factor = 2.391) ที่มา : Journal Citation Reports, 2005.
4. Choengchan N, Mantim T, Wilairat P, Dasgupta P K, Motomizu S, Nacapricha D (2006) A membraneless gas diffusion unit: Design and its application to determination of ethanol in liquors by spectrophotometric flow injection. *Anal. Chim. Acta* 579: 33-37 (impact factor = 2.760) ที่มา : Journal Citation Reports, 2005.
5. Muncharoen S, Sitanurak J, Tiyapongpattana W, Choengchan N, Ratanawimarnwong N, Motomizu S, Wilairat P, Nacapricha D (2009) Quality control of gasohol using a micro-unit for membraneless gas diffusion, *Microchim Acta* 164: 203-210 (impact factor = 1.237) ที่มา: Journal Citation Reports, 2006.
6. K. Sereenonchai, S. Teerasong, S. Chan-Eam, P. Saetear, N. Choengchan, K. Uraisin, N. Amornthammarong, S. Motomizu and D. Nacapricha, A low-cost method for determination of calcium carbonate in cement by membraneless vaporization with capacitively coupled contactless conductivity detection *Talanta* 81 (2010) 1040-1044. (Impact factor 2009 = 3.206)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. S. Janya, P. Sastranurak, T. Mantim, N. Chauyprasatwattana, C. Boonpanaid, N. Choengchan, D. Nacapricha and K. Uraisin, "An automatic phosphate analyzer by cross injection analysis", Pure and Applied Chemistry Conference (PACCON) proceedings 2010, Jan. 21-23, 2010, UbonRachathani University, UbonRachathani, Thailand, p. 33-36.
8. P. Inpota, A. Kongsakphaisal, D. Nacapricha and N. Choengchan, "Selective determination of acetaldehyde by membrane permeation with spectrophotometric flow injection" Pure and Applied Chemistry Conference (PACCON) proceedings 2010, Jan. 21-23, 2010, UbonRachathani University, UbonRachathani, Thailand, p. 37-40.
9. S. Kokilarat, S. Teerasong, D. Nacapricha, N. Maneerat and N. Choengchan "AUTOMATED SIMULTANEOUS INJECTION SYSTEM FOR DETERMINATION OF PHOSPHATE AND AMMONIUM" Pure and Applied Chemistry Conference (PACCON) proceedings, 2011, Srinakarinwirote University, Bangkok, Thailand
10. P. Inpota, S. Teerasong, A. Kongsakphaisal, N. Maneerat, D. Nacapricha and N. Choengchan "PARALLEL CROSS INJECTION ANALYSIS SYSTEM FOR DETERMINATION OF ALBUMIN TO CREATININE RATIO IN URINE" Pure and Applied Chemistry Conference (PACCON) proceedings, 2011, Srinakarinwirote University, Bangkok, Thailand
11. B. Poontong, N. Maneerat and N. Choengchan, "MEMBRANELESS GAS-DIFFUSION UNIT WITH FLOW-BASED TECHNIQUE FOR DETERMINATION OF ACETALDEHYDE" Pure and Applied Chemistry Conference (PACCON) proceedings, 2012, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand
12. S. Phanrudee, N. Choengchan, and P. Charoenying "METHOD DEVELOPMENT FOR EVALUATION OF TOTAL ANTI-OXIDANT CAPACITY OF *Tagetes erecta* Linn. FLOWER EXTRACT" Pure and Applied Chemistry Conference (PACCON) proceedings, 2012, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand

ประวัติผู้ร่วมวิจัย

1. ชื่อ-นามสกุล (ภาษาไทย) ดร. นพดล มณีรัตน์
ชื่อ-นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Dr. Noppadol Maneerat
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน x-xxxx-xxxxx-xxx
3. ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์
4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้สะดวก
ที่อยู่: สาขาวิชาวิศวกรรมการวัดและควบคุม คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า
เจ้าคุณทหารลาดกระบัง ถนนฉลองกรุง เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520
โทรศัพท์: 081-450-3308, 0-2329-8353 โทรสาร 0-2329-8354
E-mail : kmnoppad@kmitl.ac.th
5. ประวัติการศึกษา

ปีที่จบ การศึกษา	วุฒิการศึกษา	อักษรย่อ	สาขาวิชา	ชื่อสถาบันการศึกษา	ประเทศ
		ปริญญาและชื่อเต็ม			
2533	ปริญญาตรี	วท.บ.	ฟิสิกส์	มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ พิชญ์โลก	ไทย
2540	ปริญญาโท	วศ.ม.	วิศวกรรมไฟฟ้า	สถาบันเทคโนโลยีพระจอม เกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง	ไทย
2549	ปริญญาเอก	Ph.D	วิศวกรรมไฟฟ้า	สถาบันเทคโนโลยีพระจอม เกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง	ไทย

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

การออกแบบและพัฒนาโปรแกรม

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

- การวิเคราะห์เชิงเลข

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- การประมวลผลสัญญาณดิจิทัล
- ไมโครโปรเซสเซอร์
- การประยุกต์ใช้งานไมโครคอนโทรลเลอร์
- คอมพิวเตอร์เบื้องต้น
- คอมพิวเตอร์และเทคโนโลยีข่าวสาร
- การเขียนโปรแกรมคอมพิวเตอร์
- การออกแบบวงจรอิเล็กทรอนิกส์
- เซนเซอร์
- การสื่อสารไร้สาย
- วิศวกรรมความปลอดภัย

งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว

1. Tawatchai CHONTONG, NoppadolManeerat, and RuttikornVarakulsiripunth, "Suitability of Cyclic Prefix Modification for Signal Transmission in OFDM", The 2007 ECTI International Conference (ECTI-CON 2007), Chiang Rai, Thailand, pp.659-662, May 9-12, 2007.
2. PraphanPavarangkoon, RuttikornVarakulsiripunth, and NoppadolManeerat, "An Effective Lightpath Selection Algorithm Based on Adaptive Weight Functions for WDM Optical Networks", International Conference on Engineering, Applied Sciences, and Technology (ICEAST 2007), Bangkok Thailand, pp.671-674, November 21-23, 2007.
3. ThayachanokNantiruj, NoppadolManeerat, RuttikornVarakulsiripunth, Satoru Izumi, Norio Shiratori, Takumi Kato, Yasushi Kato and Kaoru Takahashi, "An e-Health Advice System with Thai Herb and Ontology", The 3rd International Symposium on Biomedical Engineering (ISBME 2008) in conjunction with The 1st Biomedical Engineering International Conference (BMEiCON 2008) (ISBME &BMEiCON 2008), Bangkok, Thailand, pp.315-319, November 10-11, 2008.
4. DThomasHattaFudholi, NoppadolManeerat, RuttikornVarakulsiripunth, "Ontology-Based Daily Menu Assistance System", The 2009 ECTI International Conference (ECTI-CON 2009), Pattaya, Chonburi, Thailand, pp.694-697, May 6-9, 2009.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. Takumi Kato, NoppadolManeerat, RuttikornVarakulsiripunth, Yasushi Kato and Kaoru Takahashi, "Ontology-based E-health System with Thai Herb Recommendation", The 6th International Joint Conference on Computer Science and Software Engineering (JCSSE 2009), Phuket, Thailand, pp.172-177, May 13-15, 2009.
6. NoppadolManeerat, RuttikornVarakulsiripunth, Norio Shiratori, Yasushi Kato and Kaoru Takahashi, "The e-health advice system with Thai herbs using an ontology", Asia Pacific Telecommunications and ICT Development Forum (ADF) Bangkok, Thailand, November 11-13, 2008.
7. NoppadolManeerat, RuttikornVarakulsiripunth, Norio Shiratori, Yasushi Kato and Kaoru Takahashi, "Electronic Health Advice System via Communication Networks", The 1st AUN/SEED-Net Regional Conference in Manufacturing Engineering (AUN/SEED-Net – RC ManuE 2008), Manila, Philippines, November 24-25, 2008.
8. DhomashHattaFudholi, NoppadolManeerat, RuttikornVarakulsiripunth and Yasushi Kato, "Application of Protégé, SWRL and SQWRL in Fuzzy Ontology-Based Menu Recommendation", 2009 International Symposium on Intelligent Signal Processing and Communication Systems (ISPACS 2009), Kanazawa, Japan, December 7-9, 2009.
9. SungkornsarunLongchupole, NoppadolManeerat and RuttikornVarakulsiripunth, "Anamaly Detection through Packet Header Data", The 7th International Conference on Information, communications & Signal Processing (ICICS 2009), Macau, Republic of China, December 8-10, 2009.
10. Takumi Kato, NoppadolManeerat, RuttikornVarakulsiripunth, Satoru Izumi, Hideyuki Takahashi, TakuoSugunuma, Kaoru Takahashi, Yasushi Kato and Norio Shiratori, "Provision of Thai Herbal Recommendation Based on an Ontology", The 3rd International Conference on Human System Interaction, Rzeszow, Poland, May 13-15 2010.