การพัฒนาวิธีการตรวจวัดเชิงสีสำหรับประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์วิตามินบี 6 ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเสริมวิตามิน

DEVELOPMENT OF A COLORIMETRIC METHOD FOR DETERMINATING OF VITAMIN B6 IN FUNCTIONAL DRINK PRODUCT

ลักษ์คนา บู่ทอง

อัจฉรานันท์ ไกลภัย

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2565

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

DEVELOPMENT OF A COLORIMETRIC METHOD FOR DETERMINATING OF VITAMIN B6 IN FUNCTIONAL DRINK PRODUCT

LAKKHANA BOOTHONG
ACHARANAN KLAIPAI

A SPECIAL PROJECT SUBMMITTED INPARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (INDUSTRIAL CHEMISTRY)
DEPARTMENT OF CHEMISTRY, SCHOOL OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2022

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การพัฒนาวิธีการตรวจวัดเชิงสีสำหรับประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์วิตามินบี 6 ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเสริมวิตามิน DEVELOPMENT OF A COLORIMETRIC METHOD FOR DETERMINATING OF VITAMIN B6 IN FUNCTIONAL DRINK PRODUCT
ชื่อนักศึกษา	นางสาวลักษ์คนา บู่ทอง รหัสนักศึกษา 62050325 นางสาวอัจฉรานันท์ ไกลภัย รหัสนักศึกษา 62050358
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	เคมี
ปีการศึกษา	2565
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.อาจณรงค์ เมธาวีสรรเสริญ

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2565

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ ประธานกรรมการ	
รศ.ดร.เอกรัฐ เดชศรี กรรมการ	
ผศ.ดร.อาจณรงค์ เมธาวีสรรเสริญ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การพัฒนาวิธีการตรวจวัดเชิงสีสำหรับประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์วิตามินบี 6 ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเสริมวิตามิน

ชื่อนักศึกษา นางสาวลักษ์คนา บู่ทอง รหัสนักศึกษา 62050325
นางสาวอัจฉรานันท์ ไกลภัย รหัสนักศึกษา 62050358

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)

ภาควิชา เคมี

คณะ วิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)

ปีการศึกษา 2565

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.อาจณรงค์ เมธาวีสรรเสริญ

บทคัดย่อ

โครงงานพิเศษนี้ได้พัฒนาวิธีในการตรวจวัดเชิงสีอย่างง่ายและรวดเร็วในการตรวจวัดวิตามินบี 6 กลไกการตรวจวัดจะอาศัยการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาระว่างเคอร์คูมินกับกรดบอริก ซึ่งให้ผลิตภัณฑ์ที่มีแดงของสารประกอบเชิงซ้อนของโรโซไซยานิน ด้วยวิตามินบี 6 เมื่อวิตามินบี 6 ความเข้มข้นสูงขึ้น สารประกอบเชิงซ้อนของโรโซไซยานินจะเกิดขึ้นได้น้อยลง และทำการตรวจวัดโดยใช้เครื่อง UV-Vis spectrophotometer ติดตามที่ 540 นาโนเมตร จากการทดลองพบว่ามีช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วง 0 – 100 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ (LOQ) เท่ากับ 0.46 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.56 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ความเที่ยงของการวิเคราะห์ ในการวิเคราะห์วิตามินบี 6 ที่ความเข้มข้น 5, 20 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าเท่ากับ 1.41%, 4.07% และ 7.73% ตามลำดับ และมีค่าร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 91.7 - 117.6% ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

คำสำคัญ : วิตามินบี 6, เครื่องดื่มเสริมวิตามิน, เทคนิคการตรวจวัดเชิงสี, ยูวี-วิซิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Development of a colorimetric method for determinating of vitamin B6 in functional drink product
Student	Miss Lakkhana Boothong Student ID 62050325
	Miss Acharanan Klaipai Student ID 62050358
Degree	Bachelor of Science (Indutrial Chemistry)
Department	Chemistry
School	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2022
Co-advisor	Asst. Prof. Dr. Arjnarong Mathaweesansurn

Abstract

This work, the simple and rapid colorimetric method for determination of vitamin B6 in functional drink products was developed. The detection reaction was based on inhibition of the reaction between curcumin and boric acid, where the red color of rosocyanin complex was occurred. When the vitamin B6 concentration was increased, the rosocyanin complex was decreased, which was monitored by UV - visible spectrophotometer. Calibration curve plotted between the absorbance at 540 nm and vitamin B6 concentration was made with linearity of 0 – 100 mg L^{-1}. The limit of detection and the limit of quantitation were found at 0.46 mg L^{-1} and 0.56 mg L^{-1}, respectively. The precision of the method (%RSD) at 5, 20 and 100 mg L^{-1} of vitamin B6 were 1.41%, 4.07% and 7.73%, respectively. The recovery was in range 91.7 – 117.6%.

Keyword : Vitamin B6, Colorimetric method, Functional drink, UV-Vis Spectrophotometer

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่อง “การพัฒนาวิธีการตรวจวัดเชิงสีสำหรับประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์วิตามินบี 6 ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเสริมวิตามิน” ฉบับนี้ สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณาอย่างยิ่งจากผู้ช่วยศาสตราจารย์ อาจณรงค์ เมธาวีสรรเสริญ ที่ได้เสียสระเวลาอันมีค่าในการให้คำปรึกษา คำแนะนำ เสนอแนวคิด ให้ความรู้อันเป็นประโยชน์ต่องานวิจัยนี้ และยังเอาใจใส่ในทุกรายละเอียดทุกขั้นตอนของงานวิจัย ตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆเพื่อให้งานวิจัยสมบูรณ์ยิ่งขึ้น พร้อมทั้งยังช่วยพัฒนาการทำงาน ของผู้วิจัยให้เป็นไปอย่างมีคุณภาพ ทำให้ผู้วิจัยได้รับประสบการณ์ในการทำงานครั้งนี้ รวมถึงคณาจารย์ ทุกท่านในภาควิชาเคมีคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง ที่คอยให้ความรู้และกำลังใจ จนงานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์ ผู้วิจัยรู้สึกทราบซึ้งถึงความกรุณาดังกล่าว และขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ เอกรัตฐ เดชศรี ผู้ช่วยศาสตราจารย์ อาจณรงค์ เมธาวีสรรเสริญ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ ที่ได้เป็นคณะกรรมการตรวจสอบงานวิจัยนี้ ทั้งยังให้คำแนะนำข้อคิดที่เป็นประโยชน์แก่งานวิจัยนี้

ขอขอบคุณคณาจารย์ทุกท่านที่ทำการสอนในคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง ที่ได้ถ่ายทอดวิชาความรู้และเสียสละเวลาท้ายคาบการเรียนการสอน เพื่อให้ผู้วิจัยเก็บข้อมูลเพื่อการทำวิจัยในครั้งนี้

ท้ายที่สุดของความสำเร็จในครั้งนี้ผู้วิจัยขอขอบคุณทุกท่านที่มีส่วนร่วมในงานวิจัยจนสำเร็จไปได้ด้วยดี ทั้งบุคคลที่ได้กล่าวมาและยังไม่ได้กล่าวถึง ขอขอบคุณ บิดา มารดาและเพื่อนๆทุกคนที่คอยให้กำลังใจ และให้การสนับสนุนให้ความช่วยเหลือ หากมีสิ่งใดบกพร่องผู้วิจัยขอน้อมรับไว้และขออภัยไว้ ณ โอกาสนี้

ลักษ์คนา บู่ทอง
อัจฉรานันท์ ไกลภัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฌ
สารบัญรูป	ญ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับ วิตามนบี 6	3
2.1.1 วิตามินบี 6	3
2.1.2 วิตามินบี 6 ชนิดให้เสริม	3
2.1.3 ประโยชน์ของวิตามินบี 6	4
2.1.4 แหล่งอาหารที่พบวิตามินบี 6	4
2.1.5 วิตามินบี 6 ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร	4
2.1.6 การขาดวิตามินบี 6	4
2.1.6 การได้รับวิตามินบี 6 มากเกินไป	4
2.1.8 ข้อแนะนำในการรับประทานวิตามินบี 6	4
2.2 เคอร์คูมิน	5
2.2.1 ข้อมูลทั่วไป	5
2.2.2 ข้อแนะนำและข้อควรระวัง	5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.3 กรดบอริก..... 6
2.3.1 ข้อมูลทั่วไปของกรดบอริก..... 6
2.3.2 คุณประโยชน์..... 6
2.3.3 การจัดเก็บ..... 6
2.3.4 อันตรายของกรดบอริก..... 7
2.4 เครื่องยูวีวิซิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์..... 7
2.4.1 หลักการทำงาน..... 7
2.4.2 ส่วนประกอบของเครื่อง Uv-Vis spectrpmeter..... 8
2.4.3 ลักษณะของผลที่ได้..... 9
2.4.4 การประยุกต์ใช้งาน..... 9
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 9
2.5.1 Curcumin nanoparticle doped starch thin film as a green colorimetric sensor for detection of boron..... 9
2.5.2 Boric acid complexes with thiamine (vitamin B1) and pyridoxine (vitamin B6)..... 10
2.5.3 Investigation on the Peroxidase-like Activity of Vitamin B6 and Its Applications in Colorimetric Detection of Hydrogen Peroxide and Total Antioxidant Capacity Evaluation..... 10
2.5.4 Development and validation of a RP-HPLC method for simultaneous estimation of pyridoxine hydrochloride (Vitamin B6) and its degraded products formed under effect of different solvents..... 10
2.5.5 Detection and Assay of Vitamin B6 (Pyridoxine Hydrochloride) Utilizing Isocratic High Performance Liquid Chromatography..... 11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 12
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์ 12
3.1.1 สารเคมี 12
3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องตรวจวัด 12
3.2 การเตรียมสารละลาย 13
3.2.1 การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1 โมลาร์ 13
3.2.2 การเตรียมสารละลายกรดบอริกเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร 13
3.2.3 การเตรียมสารละลายกรดบอริกที่ความเข้มข้น 20, 50 และ80 มิลลิกรัมต่อลิตร 13
3.2.4 การเตรียมสารละลายเคอร์คูมินเข้มข้น 0.02% 13
3.2.5 การเตรียมสารละลายเคอร์คูมินที่ความเข้มข้น 0.005%, 0.01% และ0.015% 13
3.2.6 การเตรียมสารละลาย วิตามินบี 6 (วิตามินบี 6) เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ผสมกับโซเดียมไบคาร์บอเนตที่มีความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร 13
3.2.7 การเตรียมสารละลาย วิตามินบี 6 (วิตามินบี 6) เข้มข้น 1, 5, 10, 20, 50 และ 80 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ผสมโซเดียมไบคาร์บอเนตเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร 13
3.2.8 การเตรียมสารละลาย วิตามินบี 6 (วิตามินบี 6) เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร 14
3.2.9 การเตรียมสารละลาย วิตามินบี 6 (วิตามินบี 6) เข้มข้น 1, 5, 10, 20, 50 และ 80 มิลลิกรัมต่อลิตร 14
3.3 วิธีการทดลอง 14
3.3.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดวิตามินบี 6 โดยใช้เครื่อง UV-Vis Spectrophotometer 14
3.3.1.1 การศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดบอริก 14
3.3.1.2 การศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของเคอร์คูมิน 14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.3.1.3 การศึกษาเวลาในการตรวจวัด วิตามินบี 6..... 15
3.3.1.4 การศึกษาผลของการเติมโซเดียมไบคาร์บอเนต..... 15
3.3.1.5 การศึกษา pH ที่เหมาะสมของสารละลายกรดบอริก..... 15
3.3.2 การศึกษาคุณลักษณะของวิธีวิเคราะห์..... 15
3.3.2.1 ศึกษาความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัด วิตามินบี 6 โดยใช้เครื่อง UV-Vis Spectrophotometer..... 15
3.3.2.2 ศึกษาความเที่ยงของการวิเคราะห์..... 16
3.3.2.3 ศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (Limit of detection, LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ)..... 16
3.3.2.4 การตรวจวัด วิตามินบี 6 ในน้ำตัวอย่าง และหา Recovery ของสารละลาย..... 16
บทที่ 4 ผลวิจัยและการอภิปรายผล..... 17
4.1 ศึกษากลไกการตรวจวัดเบื้องต้น..... 17
4.1.1 ศึกษากลไกการตรวจวัดเบื้องต้น..... 17
4.2 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของการทดลอง..... 18
4.2.1 ศึกษาความเข้มข้นของกรดบอริกที่เหมาะสม..... 18
4.2.2 ศึกษาความเข้มข้นของเคอร์คูมินที่เหมาะสม..... 20
4.2.3 ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยา..... 22
4.2.4 ผลของการเติมโซเดียมไบคาร์บอเนต..... 24
4.2.5 ศึกษาพีเอชในการทำปฏิกิริยาที่เหมาะสม..... 25
4.3 การศึกษาคุณลักษณะของวิธีวิเคราะห์..... 27
4.3.1 ศึกษาความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัดวิตามินบี 6..... 27
4.3.2 การศึกษาความเที่ยงของวิธี..... 28
4.3.3 ศึกษาความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (การหาร้อยละค่าคืนกลับ)..... 29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.3.4 ศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (Limit of detection, LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ)..... 29

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ..... 30

5.1 สรุปผลการวิจัย..... 30

5.1.1 การศึกษาสภาวะที่ใช้ในการตรวจวัดวิตามินบี 6..... 30

5.1.2 การศึกษาคุณลักษณะของวิธีวิเคราะห์..... 30

5.2 ข้อเสนอแนะ..... 30

เอกสารอ้างอิง..... 31

ภาคผนวก 33

ภาคผนวก ก..... 34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

4.1 ค่า Absorbance และ%RSD ของวิตามินบี 6 ที่ความเข้มข้น 5, 20 และ 100 mg/L... 28

4.2 ร้อยละค่าคืนกลับ (% recovery)..... 29

ก.1 ค่าการดูดกลืนแสงเมื่อทำการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดบอกริก..... 34

ก.2 ค่าการดูดกลืนแสงเมื่อทำการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของเคอร์คูมิน..... 34

ก.3 ค่าการดูดกลืนแสงเมื่อทำการศึกษาหาเวลาที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยา..... 35

ก.4 ค่าการดูดกลืนแสงเมื่อทำการศึกษาผลของการเติมโซเดียมไบคาร์บอเนต..... 35

ก.5 ค่าการดูดกลืนแสงเมื่อทำการศึกษาพีเอชที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยา..... 36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

2.1 โครงสร้างทางเคมีของ Curcumin ($C_{21}H_{20}0_6$)..... 5

2.2 โครงสร้างทางเคมีของ กรดบอริก..... 6

2.3 ตัวอย่าง Quartz cuvette..... 8

2.4 ลักษณะของเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer..... 9

4.1 กลไกลการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารละลายกรดบอริกและวิตามินบี 6..... 17

4.2 กลไกลการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารละลายเคอร์คูมินกับกรดบอริก..... 17

4.3 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายเคอร์คูมินเมื่อทำปฏิกิริยากับกรดบอริก และสารละลายเคอร์คูมินเมื่อทำปฏิกิริยากับกรดบอริกที่มีวิตามินบี 6 เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร..... 18

4.4 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายในการตรวจวัดวิตามินบี 6 ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อใช้สารละลารกรดบอริกความเข้มข้น ก. 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ข. 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ค. 80 มิลลิกรัมต่อลิตร และ ง. 100 มิลลิกรัมต่อลิตร..... 19

4.5 กราฟเส้นตรงพลอตระหว่างความเข้มข้นของวิตามินบี 6 กับค่าดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร เมื่อใช้กรดบอริกที่ความเข้มข้น 20, 50, 80 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร..... 20

4.6 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายในการตรวจวัดวิตามินบี 6 ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อใช้สารละลารเคอร์คูมินความเข้มข้น ก. 0.005% ข. 0.01% ค. 0.015% และ ง. 0.02%..... 21

4.7 กราฟเส้นตรงพลอตระหว่างความเข้มข้นของวิตามินบี 6 กับค่าดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร เมื่อใช้เคอร์คูมินที่ความเข้มข้น 0.005%, 0.01%, 0.015% และ 0.02%..... 22

4.8 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายในการตรวจวัดวิตามินบี 6 ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อใช้เวลาในการตรวจวัด ก. 0 นาที ข. 1 นาที ค. 3 นาที และ ง. 5 นาที..... 23

4.9 กราฟเส้นตรงพลอตระหว่างความเข้มข้นของวิตามินบี 6 กับค่าดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร เมื่อตรวจวัดที่เวลา 0 นาที, 1 นาที, 3 นาที และ 5 นาที..... 24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ **หน้า**

4.10 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายในการตรวจวัดวิตามินบี 6 ที่ความเข้มข้นต่างๆ ก. วิตามินบี 6 ที่เติมโซเดียมไบคาร์บอเนตและ ข. วิตามินบี 6 ที่ไม่เติมโซเดียมไบคาร์บอเนต..... 24
4.11 กราฟเส้นตรงพลอตระหว่างความเข้มข้นของวิตามินบี 6 กับค่าดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร เมื่อตรวจวัดที่สารละลายวิตามินบี 6 ที่เติมโซเดียมไบคาร์บอเนตและไม่ได้เติม..... 25
4.12 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายในการตรวจวัดวิตามินบี 6 ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อใช้พีเอชของกรดบอริก ก. pH 7 ข. pH 8 ค. pH 9 และ ง. pH 10..... 26
4.13 กราฟเส้นตรงพลอตระหว่างความเข้มข้นของวิตามินบี 6 กับค่าดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร เมื่อกรดบอริกมีพีเอชเท่ากับ 7, 8, 9 และ 10..... 27
4.14 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายในการตรวจวัดวิตามินบี 6 ที่ความเข้มข้นต่างๆ..... 27
4.15 กราฟเส้นตรงพลอตระหว่างความเข้มข้นของวิตามินบี 6 กับค่าดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร..... 28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบันด้วยสภาพสังคมที่เร่งรีบ สภาวะความเครียด ความกดดันจากการทำงาน การดำรงชีวิตประจำวัน ส่งผลให้ผู้คนในสังคมขาดการดูแลเอาใจใส่ในเรื่องสุขภาพ อาทิ การพักผ่อน การออกกำลังกาย ตลอดจนการรับประทานอาหารที่มีประโยชน์ตามหลักโภชนาการ ซึ่งสิ่งเหล่านี้ล้วนส่งผลต่อสุขภาพ ทำให้ร่างการอ่อนแอ เกิดโรคภัย ไข้เจ็บต่างๆ รวมไปถึงภาวะการขาดสารอาหาร ทำให้หลายๆ คนหันมาบริโภคผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร (dietary supplement) ชนิดต่างๆ เพื่อช่วยให้ได้รับสารอาหารที่ครบถ้วน ปัจจุบันผลิตภัณฑ์เสริมอาหารได้ถูกผลิตขึ้นมาในหลายรูปแบบ ไม่ว่าจะเป็นรูปแบบเม็ด หรือแคปซูน คล้ายยา หรือผลิตมาในรูปแบบอาหารหรือเครื่องดื่ม เสริมแร่ธาตุ วิตามิน ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเหล่านี้ มีจำหน่ายอย่างแพร่หลาย หาซื้อได้ง่ายตามร้านขายยา ร้านสะดวกซื้อต่างๆ ซึ่งสารอาหารที่ได้รับความนิยมหนึ่งในนั้นก็คือ วิตามินบี 6

วิตามินบี 6 (วิตามินบี 6) เป็นวิตามินที่สามารถละลายได้ในน้ำ มีความจำเป็นต่อร่างกายมนุษย์ มีความสำคัญต่อการพัฒนาสมองตามปกติ และทำให้ระบบประสาทและระบบภูมิคุ้มกันแข็งแรง ในธรรมชาติพบในรูป pyridoxol (ในรูปของแอลกอฮอล์) pyridoxamine (ในรูปของเอมีน) และ pyridoxal (ในรูปของอัลดีไฮด์) [1] สำหรับการใช้งานในทางยาหรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร นิยมใช้วิตามินบี 6 ในรูปของไพริดอกซีน ไฮโดรคลอร์ (วิตามินบี 6 hydrochloride) และไพริดอกซอล 5-ฟอสเฟต (pyridoxal 5-phosphate) โดยใช้เพื่อรักษาโรคปลายประสาทอักเสบเนื่องจาก isoniazid และภาวะขาดวิตามินบี 6 [2] อย่างไรก็ตามหากได้รับวิตามินบี 6 มากเกินไปจะก่อให้เกิดผลเสียต่อร่างกาย อาจเป็นอันตรายต่อประสาทส่วนปลาย (peripheral neuropathy) ทำให้รู้สึกเสียวแปลบ (tingling), แสบร้อน (burning) หรือชา (numbness) มักเกิดที่มือหรือเท้า หรืออาจเกิดอันตรายต่อประสาทส่วนปลายที่อื่น เช่น ที่กระเพาะปัสสาวะทำให้เกิดปัญหาในการขับถ่าย [3] the European Food Safety Authority (EFSA) ได้กำหนดขีดจำกัดสูงสุดในการได้รับวิตามินบี 6 สำหรับคนปกติอยู่ที่ 25 มิลลิกรัมต่อวัน ในขณะที่ the US-based Food and Nutrition Board แนะนำให้ได้รับได้ไม่เกิน 100 มิลลิกรัมต่อวัน [4]

ในประเทศไทย ปัจจุบันยังไม่มีข้อกำหนดที่ชัดเจนในการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ส่งผลให้มีผู้ประกอบการบางรายใช้วัตถุดิบที่ไม่ได้มาตรฐาน หรือเติมสารอาหารต่างๆ ในปริมาณที่ไม่เป็นไปตามที่ระบุบนฉลาก ตลอดจนมีกระบวนการผลิตและการควบคุมคุณภาพที่ไม่ได้มาตรฐาน ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการวิเคราะห์หาสารเติมแต่ง จำพวกวิตามินในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร เพื่อเป็นการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ให้ได้มาตรฐาน และปลอดภัยต่อผู้บริโภค ด้วยเหตุผลข้างต้นนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษนี้จึงมีแนวคิดในการพัฒนาวิธีการตรวจวัดเชิงสีอย่างง่ายในการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินบี 6 ในเครื่องดื่มเสริมวิตามิน

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1) เพื่อพัฒนาวิธีการตรวจวัดเชิงสีอย่างง่ายสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินบี 6
2) เพื่อนำวิธีที่พัฒนาขึ้นไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดหาปริมาณวิตามินบี 6 ในตัวอย่างเครื่องดื่มเสริมวิตามิน

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

โครงงานพิเศษนี้ จะเริ่มจากการศึกษากลไกการตรวจวัด โดยการตรวจวัดจะอาศัยการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารละลายเคอร์คูมินกับกรดบอริก ซึ่งจะให้สารละลายผลิตภัณฑ์ที่มีสีแดง (rubrocurcumin) แต่เมื่อมีวิตามินบี 6 กรดบอริกจะทำปฏิกิริยากับวิตามินบี 6 เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน ส่งผลให้กรดบอริกไม่ไปทำปฏิกิริยากับเคอร์คูมิน และทำให้ผลิตภัณฑ์ที่มีสีแดงของ rubrocurcumin ลดลงโดยทำการติดตามการเปลี่ยนแปลงได้ด้วยเครื่องยูวีวิซิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ จากนั้นโครงงานพิเศษนี้จะศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่างๆ หาปริมาณวิตามินบี 6 เช่น ความเข้มข้นสารละลายเคอร์คูมิน ความเข้มข้นของกรดบอริก พีเอชที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยา เวลาในการทำปฏิกิริยาที่เหมาะสม ผลของการใช้สารละลาบบัฟเฟอร์ เป็นต้น เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมต่างๆ แล้ว จะศึกษาหาความถูกต้องของวิธี และประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินบี 6 ในตัวอย่างเครื่องดื่มเสริมวิตามิน

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) ได้วิธีใหม่อย่างง่ายในการการตรวจวัดเชิงสีอย่างง่ายสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินบี 6
2) สามารถนำวิธีที่พัฒนาขึ้นไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดหาปริมาณวิตามินบี 6 ในตัวอย่างเครื่องดื่มเสริมวิตามิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับ วิตามินบี 6

2.1.1 วิตามินบี 6[5]

วิตามินบี 6 (Vitamin B6) หรือไพริดอกซีน (Pyridoxine) เป็นสารอาหารที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารสื่อประสาทเซโรโทนินและนอร์อิพิเนฟริน ซึ่งสำคัญต่อการทำงานของร่างกาย ใช้รักษาและป้องกันการขาดวิตามินบี 6 หรืออาจใช้เพื่อจุดประสงค์อื่น ๆ เช่น รักษาโรคโลหิตจางบางชนิด และอาการชักบางชนิดในเด็กทารก นอกจากนี้ ยังใช้ตามดุลยพินิจของแพทย์

วิตามินบี 6 พบได้ในอาหารหลากหลายชนิด เช่น ธัญพืช กล้วย แครอท อะโวคาโด ผักโขม ถั่ว มันฝรั่ง ชีส นม ไข่ ปลา เนื้อสัตว์ และตับ ส่วนวิตามินบี 6 ในรูปแบบอาหารเสริม อาจมีข้อห้ามใช้ในผู้ป่วยบางราย และอาจทำให้เกิดอาการข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์ได้ ดังนั้น ควรปรึกษาแพทย์หรือเภสัชกรก่อนใช้เสมอ

2.1.2 วิตามินบี 6 ชนิดให้เสริม

วิตามินบี 6 เป็นวิตามินที่ละลายน้ำได้ มีความจำเป็นต่อร่างกายทุกช่วงอายุ ในธรรมชาติพบในรูป pyridoxine (หรือ pyridoxol เป็น alcohol), pyridoxamine (เป็น amine) และ pyridoxal (เป็น aldehyde) ในทางยาส่วนใหญ่ใช้ในรูป pyridoxine hydrochloride เพื่อรักษาปลายประสาทอักเสบเนื่องจาก isoniazid และภาวะขาดวิตามินบี 6 วิตามินชนิดนี้ยังพบในผลิตภัณฑ์ชนิดให้เสริมอาหารประเภทวิตามินรวมและแร่ธาตุ (multivitamin and mineral supplements) ซึ่งมีจำหน่ายหลายผลิตภัณฑ์ จึงเสี่ยงต่อการได้รับวิตามินบี 6 ซ้ำซ้อน แม้วิตามินนี้ละลายน้ำได้แต่การได้รับมากเกินอาจเป็นอันตรายต่อประสาทส่วนปลาย ทำให้รู้สึกเสียวแปลบ (tingling), แสบร้อน (burning) หรือชา (numbness) มักเกิดที่มือหรือเท้า หรืออาจเกิดอันตรายต่อประสาทส่วนปลายที่อื่น เช่น ที่กระเพาะปัสสาวะ ทำให้เกิดปัญหาในการขับถ่าย หากได้รับการวินิจฉัยล่าช้าและยังคงบริโภควิตามินบี 6 มากเกินอาจทำให้ประสาทส่วนปลายเสียหายมากขึ้น ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารวิตามินบี 6 ที่มีขนาดรับประทาน 50 มิลลิกรัมต่อวันขึ้นไป จะมีเอกสารคำเตือนกำกับถึงการรับประทานในขนาดสูงเป็นเวลานานว่าอาจทำให้เกิดโรคของประสาทส่วนปลาย แต่สำหรับผลิตภัณฑ์ที่มีขนาดรับประทานต่ำส่วนใหญ่จะไม่ระบุคำเตือน ที่ผ่านมามีรายงานออกมาถึงการได้รับวิตามินบี 6 มากเกินจนเกิดโรคของประสาทส่วนปลาย

2.1.3 ประโยชน์ของวิตามินบี 6

- ช่วยเสริมสร้างภูมิต้านทานของร่างกาย ช่วยให้ร่างกายแข็งแรง ไม่เจ็บป่วยง่าย
- เป็นยาขับปัสสาวะตามธรรมชาติ ป้องกันการเกิดนิ่วในไต

เอกสารนี้เป็นเอกสาร[illegible]ให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ช่วยลดความเสี่ยงการเป็นโรคหัวใจ

- ช่วยให้ร่างกายดูดซึมไขมันและโปรตีนได้ดี ซึ่งเป็นสิ่งจำเป็นต่อระบบการทำงานของร่างกาย

- ช่วยป้องกันโรคทางประสาทและโรคผิวหนัง ลดอาการกล้ามเนื้อหดเกร็ง ลดอาการตะคริว ป้องกันอาการชัก

- ช่วยลดอาการง่วงซึมและอ่อนเพลียในตอนเช้า

- ช่วยลดอาการปากแห้ง ช่วยชะลอการเสื่อมสภาพของเซลล์ในร่างกาย

2.1.4 แหล่งอาหารที่พบวิตามินบี 6

พบมากในเนื้อสัตว์ ปลา ไก่ ตับ มันฝรั่ง กล้วย แตงโม นม ไข่แดง ข้าวกล้อง รำข้าว จมูกข้าวสาลี และถั่ว ต่างๆ

2.1.5 วิตามินบี 6 ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

มีจำหน่ายในหลากหลายขนาดตั้งแต่ 50-500 มิลลิกรัม ทั้งในรูปแบบแยกเดี่ยว วิตามินบีรวม และวิตามินรวมหลายชนิด

2.1.6 การขาดวิตามินบี 6

พบเจอได้น้อย อาจพบได้ในผู้มีภาวะดูดซึมสารอาหารได้ไม่ดี หรือได้รับสารบางชนิดมากเกินไป เช่น เอสโตเจน (estrogens) คอร์ติโคสเตียรอยด์ (corticosteroids) ยากันชัก (anticonvulsants) การรับประทานแอลกอฮอร์เป็นระยะเวลานาน อาการที่อาจพบได้ เช่น ปวด ชา ปลายมือปลายเท้า โลหิตจาง ลมชัก ซึมเศร้า ภาวะสับสน ภูมิต้านทานต่ำ[6]

2.1.7 การได้รับวิตามินบี 6 มากเกินไป

หากรับประทานมากเกินไปเป็นระยะเวลานาน อาจพบปัญหาทางระบบประสาทและสมอง และอาจพบอาการ คลื่นไส้ กรดไหลย้อน ผิวไวต่อแสงแดด

2.1.8 ข้อแนะนำในการรับประทานวิตามินบี 6

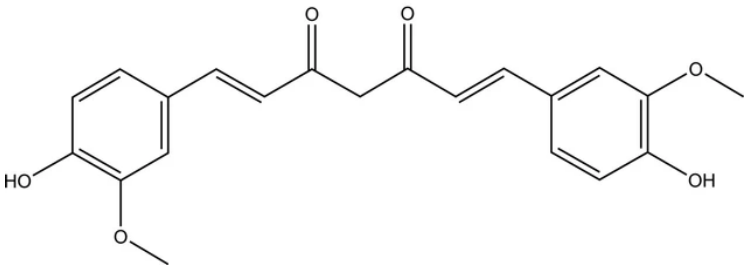
ควรระวังในผู้ที่แพ้วิตามินบี 6 อาจพบอาการคลื่นไส้ อาเจียน ท้องเสีย ปวดท้อง เบื่ออาหาร การนอนหลับผิดปกติ เป็นต้น หากรับประทานยาคุมกำเนิดมีความเป็นไปได้สูงที่ร่างกายต้องการวิตามินบี 6 เพิ่ม ผู้ที่รับประทานอาหารในกลุ่มโปรตีนสูงจะต้องการวิตามินชนิดนี้มากเป็นพิเศษ

2.2 เคอร์คูมิน [7]

2.2.1 ข้อมูลทั่วไป

เคอร์คูมิน (Curcumin) หรือ Diferuloyl methane มีชื่อเรียกตามโครงสร้างทางเคมีว่า 1, 7-bis (4-hydroxyl-3-methoxyphenyl) 1, 6-heptadiene 3, 5 dione fhua Tuanatvinnu 368.28 g / mol Uazilansmanatilu $C_{21}H_{20}0_6$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.1 โครงสร้างทางเคมีของ Curcumin ($C_{21}H_{20}0_6$)

สารเคอร์คูมินนี้เป็นสารกลุ่มโพลีฟีนอลและเป็นองค์ประกอบหลักในสารกลุ่มเคอร์คูมินนอยด์มีลักษณะเป็นผงขนาดเล็ก สีเหลืองอมส้มไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ดีในแอลกอฮอล์ อะซีโตนโพรพิลีนไกลคอล (propylene glycol) กรดน้ำส้มเข้มข้น และเบนซินโดยจะมีสีน้ำตาลแดงในด่าง สีเหลืองในกรด และช่วงที่เปลี่ยนแปลงสีคือช่วงที่ค่า pH ประมาณ 8-9 มีจุดหลอมเหลวประมาณ 183 องศาเซลเซียส และสารเคอร์คูมินยังเป็นสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพอีกมากมายดังที่จะกล่าวถึงในหัวข้อต่อไปสำหรับประเภทของเคอร์คูมินนั้นมีอยู่เพียงประเภทเดียว แต่เมื่อสารเคอร์คูมินไปรวมกับสารอนุพันธ์อีก2ชนิด คือ Monodesmethoxycumin หรือ desmethoxy curcumin และ Didesmethoxycurcumin หรือ bis-desmethoxy curcumin ก็จะได้สารกลุ่ม (Curcuminoids)

2.2.2 ข้อแนะนำและข้อควรระวัง

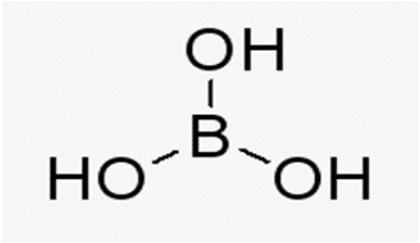
ถึงแม้ว่าจะมีผลการศึกษาวิจัยหลายฉบับที่ได้ระบุว่าเคอร์คูมินสามารถช่วยป้องกันและรักษาโรคต่างๆที่สำคัญได้ แต่สำหรับขนาดและปริมาณการใช้รวมถึงรายละเอียดระยะเวลาในการใช้ที่ปลอดภัยยังไม่มีข้อกำหนดหรือข้อบ่งใช้ที่ชัดเจนดังนั้นในการใช้เคอร์คูมินในรูปแบบผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจึงถึงปรึกษาแพทย์ผู้เชี่ยวชาญก่อนใช้เสมอส่วนในการใช้สารเคอร์คูมินโดยการบริโภคขมิ้นเงข่ากระชาย ฯลฯ ซึ่งเป็นแหล่งของเคอร์คูมินนั้นก็ควรระมัดระวังในการบริโภคด้วยเช่นกันโดยเฉพาะผู้ที่แพ้พืชตระกูลชิงซึ่งไม่ควรบริโภอย่างเด็ดขาดอีกทั้งพืชตระกูลหากบริโภคในปริมาณที่มากอาจส่งผลกระทบและผลข้างเคียงได้เช่นเกิดแผลในกระเพาะอาหารปวดหัวนอนไม่หลับมีกรดในกระเพาะมากกว่าปกตินอกจากนี้ยังควรระวังในการใช้ร่วมกับยาด้านการแข็งตัวของเลือดเนื่องจากจะเสริมฤทธิ์กันซึ่งอาจทำให้เลือดแข็งตัวและหยุดไหลได้ยาก

2.3 กรดบอริก

2.3.1 ข้อมูลทั่วไปของ กรดบอริก[8]

กรดบอริก Boric Acid สูตรโครงสร้าง H_3BO_3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่2.2 โครงสร้างทางเคมีของ กรดบอริก

กรดบอริกเป็นสารใส ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น เป็นผลึกหรือผงสีขาว บางครั้งเป็นเงาคล้ายไข่มุก ละลายได้ดีในน้ำและแอลกอฮอล์ จะละลายได้ดียิ่งขึ้นในน้ำร้อนและกลีเซอรอล กรดบอริกจะระเหยในไอน้ำเมื่อให้ความร้อนถึง 100 องศาเซลเซียส จะสูญเสียน้ำและค่อยๆ เปลี่ยนเป็นเมตาบอริกแอซิด อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส จะเปลี่ยนเป็นเตตราบอริคแอซิด และที่อุณหภูมิสูงๆ จะเปลี่ยนเป็นโบรอนไตรออกไซด์ (boron trioxide, B_2O_3) กรดบอริก (boric Acid) ใช้เป็นสารต้านจุลชีพ (antiseptic) เป็นวัตถุกันเสีย (preservative) และใช้เป็นตัวหยุดยั้งการเจริญของเชื้อรา (mold) ในแป้งทาตัว ประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 151 (พ.ศ. 2536) เรื่องวัตถุที่ห้ามใช้ในอาหารกรดบอริกเป็นวัตถุที่ห้ามใช้ในอาหาร (prohibit substances) เป็นอันตรายในอาหาร (food hazard) ประเภทอันตรายทางเคมี (chemical hazard) ทั้งบอร์แรกซ์และกรดบอริกมีคุณสมบัติการดูดซึม การขับถ่าย และพิษที่เกิดขึ้นคล้ายคลึงกัน บอริคแอซิด (H_3BO_3) : ช่วยในการเคลื่อนย้ายน้ำตาลไปยังส่วนต่างๆ ของพืช ถ้าขาดสารกลุ่มนี้ พืชจะโตผิดปกติ หรือหยุดการเจริญเติบโต

2.3.2 คุณประโยชน์

เป็นสารเคมีที่ใช้ในอุสาหกรรมเซรามิก, ซิเมนต์, สารประกอบวัตถุกันเสียในอาหาร, เป็นสารสำหรับหนังรวมทั้งการตกแต่งและสารประกอบในการจัดทำหนังก่อนที่จะมีการฟอกหนัง, อัญมนีเทียม, อุตสาหกรรมสี สีเคลือบ, เคลือบกระดาษ, เครื่องสำอาง, สบู่, ยา, สิ่งทอ

2.3.3 การจัดเก็บ

- เก็บในภาชนะบรรจุที่ปิดมิดชิด
- เก็บภายในที่ที่เย็น แห้ง
- สำหรับการเก็บในสภาวะที่มีความชื้นควรใช้ภาชนะบรรจุที่ทำจากสแตนเลส
- ควรเก็บสารนี้ในห้องที่มีการควบคุมหรือป้องกันฝุ่นละอองในอากาศ
- หลังจากทำการเคลื่อนย้ายสารทุกครั้งให้ทำการล้างมือ
- หลีกเลี่ยงการสัมผัสกับสารนี้โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อผิวหนังถลอกหรือเป็นแผล
- ภาชนะบรรจุที่ว่างเปล่าแต่มีสารเคมีตกค้างอยู่อาจเป็นอันตรายได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.4 อันตรายของ บอริก

กรดบอริกทำให้เกิดอาการพิษเฉียบพลัน อาการที่เกิดขึ้น ได้แก่ อาเจียน และท้องเสีย เป็นเมือกและเลือด ผิวหนังร้อนแดง ตามด้วยการลอกเป็นแผ่น ผิวหนังเป็นตุ่มพอง และมีการตายของหนังกำพร้า อาการง่วงซึม กล้ามเนื้อ ใบหน้า และปลายแขนขามีอาการบิดเกร็ง ตามด้วย การชัก มีไข้สูง ตัวเหลือง ปัสสาวะขัด มีการทำลายของไต ตัวเขียวจากการที่เลือดขาดออกซิเจน ความดันโลหิตลดลง ล้มฟุบหมดสติ และตายในที่สุด อาการเรื้อรัง ได้แก่ เบื่ออาหาร น้ำหนักลด อาเจียน ผมร่วง ชัก และโลหิตจาง เมื่อมีการสัมผัสถูกผิวหนังจะก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนัง สารดูดซึมอย่างรวดเร็วจะทำลายผิวหนังหรือเป็นแผลไหม้ การดูดซึมผ่านผิวหนังจะมีอาการเช่นเดียวกับการหายใจ และการกลืนหรือกินเข้าไป ในผู้ใหญ่ถ้ากลืนหรือกินเข้าไปมากกว่า 30 กรัม อาจทำให้เสียชีวิต

2.4 เครื่องยูวีวิซิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์[9]

2.4.1 หลักการทำงาน

หลักการทำงาน: UV-VIS Spectrophotometer เป็นเครื่องมือที่ใช้ในวิเคราะห์สาร โดยอาศัยหลักการดูดกลืนรังสีของสารที่อยู่ในช่วง Ultra violet (UV) และ Visible (VIS) ความยาวคลื่นประมาณ 190-1000 nm โดยที่ความยาวคลื่นแสงจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณและชนิดของสารที่อยู่ในตัวอย่าง เมื่อทำการวัดปริมาณของแสงที่ผ่านหรือสะท้อนมาจากตัวอย่างเทียบกับแสงจากแหล่งกำเนิดที่ความยาวคลื่นค่าต่างๆตามกฎของ Beer-Lambert ค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ของสารจะแปรผันกับจำนวนโมเลกุลที่มีการดูดกลืนแสง ดังนั้นจึงสามารถใช้เทคนิคนี้ในการระบุชนิดและปริมาณของสารต่างๆที่มีอยู่ในตัวอย่างได้

เป็นเทคนิคที่เกี่ยวข้องกับแสงที่มีความยาวคลื่นอยู่ในช่วง Ultraviolet (UV) จนถึงช่วง Visible light หรือแสงขาว โดยเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคนี้ คือ เครื่อง UV-Vis spectrophotometer ซึ่งเป็นเครื่องมือที่ใช้ในการตรวจวัดปริมาณของแสงและค่า intensity หรือความเข้มแสงในช่วงรังสียูวีจนถึงช่วงแสงขาวที่เกิดจากทั้งการทะลุผ่าน การส่องผ่าน และการสะท้อนของวัสดุตัวอย่างที่ถูกวางไว้ในตัวเครื่องมือ โดยที่แต่ละความยาวคลื่นตลอดช่วงการวัดจะมีความสัมพันธ์กับทั้งในเชิงปริมาณ และชนิดของสารที่อยู่ในตัวอย่าง ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นสารอินทรีย์ สารประกอบเชิงซ้อน และสารอนินทรีย์ที่สามารถดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นเหล่านี้ได้[11]

โดยหลักการทั่วไปของการฉายแสงในช่วงความยาวคลื่นดังกล่าวที่มีพลังงานที่เหมาะสมนั้นไปที่วัสดุตัวอย่างจะทำให้เกิดการย้ายระดับพลังงานของอิเล็กตรอนภายในอะตอมของสสารนั้นๆ ที่เกิดจากการดูดกลืนแสงดังกล่าว ทำให้อิเล็กตรอนเหล่านั้นไปอยู่ในระดับชั้นพลังงานที่สูงกว่า แล้วเกิดการคายพลังงานออกมาอยู่ในระดับชั้นพลังงานที่เหมาะสมในรูปของความยาวคลื่นต่างๆ ซึ่งตัวเครื่องจะทำการ detect ช่วงของพลังงานเหล่านั้น เพื่อทำการวัดปริมาณของแสงที่ผ่านการสะท้อน และการส่องผ่านจากวัสดุตัวอย่าง แล้วนำมาทำการเทียบกับแสงจากแหล่งกำเนิดที่ความยาวคลื่นค่าต่างๆ ตามกฎของ Beer-Lambert โดยค่าการดูดกลืนแสงหรือค่า absorbance

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของสสารนั้นๆ จะแปรผันตรงกับจำนวนโมเลกุลที่มีการดูดกลืนแสง ดังนั้น เราจึงสามารถนำเทคนิคนี้มาใช้สำหรับการระบุทั้งชนิด และปริมาณของสารต่างๆ ที่มีอยู่ในวัสดุตัวอย่างได้

2.4.2 ส่วนประกอบของเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer

1. แหล่งกำเนิดแสง

แหล่งกำเนิดแสงในเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์จะต้องให้รังสีในช่วงความยาวคลื่นที่ต้องการอย่างต่อเนื่องและคงที่ตลอดเวลา รวมทั้งมีความเข้มแสงที่มากพอด้วย หลอดกำเนิดแสงมีหลายชนิดตามความยาวคลื่นแสงที่เปล่งออกมา ซึ่งต้องเลือกใช้ให้ถูกต้องเหมาะสมกับของเหลวที่นำมาวัดค่าดูดกลืนแสง

แหล่งกำเนิดแสง ช่วง UV จะใช้หลอด D_2 lamp ให้ความยาวคลื่นอยู่ในย่าน 160-380 นาโนเมตร และช่วง visible ใช้หลอด Tungsten/halogen ให้ความยาวคลื่นในช่วง 240-2,500 นาโนเมตร ชนิดของสเปกโทรสโกปีเป็นแบบ UV/visible/near-IR molecular absorption

2. Monochromator

ส่วนประกอบนี้เป็นส่วนที่ใช้ควบคุมแสงโดยจะทำให้แสงที่ออกมาจากต้นกำเนิดแสงซึ่งเป็นพอลิโครเมติก ให้เป็นแสงโมโนโครเมติก ซึ่งเป็นแถบแสงแคบๆ หรือมีความยาวคลื่นเดียว ใช้ฟิลเตอร์(กระจกสี) ปริซึม (prism) หรือ เกรตติ้ง (grating)

3. เซลล์ที่ใช้บรรจุสารละลายตัวอย่าง เซลล์ที่ใส่สารตัวอย่าง (cell sample)

ภาชนะใส่สารตัวอย่างสำหรับสเปกโทรโฟโตมิเตอร์จะเรียกว่า เซลล์หรือคิวเวทท์ (cuvette) คิวเวทท์ มีหลายแบบหลายขนาดด้วยกันขึ้นกับการใช้งาน หลักสำคัญในการเลือกใช้ก็คือการวัดในช่วงแสงอัลตราไวโอเลต จะต้องใช้เซลล์ที่ทำจากควอตซ์ (quartz) เท่านั้น เนื่องจากแก้วสามารถดูดกลืนแสงในช่วงอัลตราไวโอเลตได้ ส่วนเซลล์ที่ทำจากแก้วจะใช้วัดในช่วงแสงที่มองเห็นได้ นั่นหมายความว่า ถ้าเราต้องการวัดสารในช่วงแสงที่มองเห็นได้ก็ควรจะใช้เซลล์ที่ทำจากแก้ว การใช้เซลล์ควอตซ์ไม่ได้มีผลให้การวัดแสงดีขึ้น แต่จะสิ้นเปลืองเปล่าประโยชน์เพราะควอตซ์ราคาแพงกว่าแก้ว

รูปที่ 2.3 ตัวอย่าง Quartz Cuvette

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. Detector

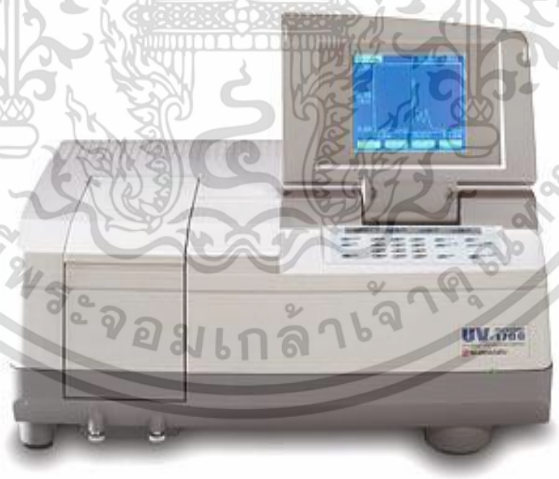
ทำหน้าที่ในการวัดความเข้มของรังสีที่ถูกดูดกลืนโดยการแปลงพลังงานคลื่นรังสีเป็นพลังงานไฟฟ้าเครื่องตรวจจับสัญญาณที่ดีต้องมีสภาพไวสูง คือแม้ปริมาณแสงจะเปลี่ยนไปเล็กน้อยก็สามารถตรวจจับสัญญาณความแตกต่างได้ เครื่องวัดแสงที่ยังนิยมกันอยู่ในปัจจุบัน คือ หลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ (photomultiplier tube, PMT) และเครื่องวัดแสงชนิดซิลิกอนไดโอด (silicon diode detector)

2.4.3 ลักษณะของผลที่ได้

ผลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคนี้จะแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) และค่าความยาวคลื่น (Wavelength) ซึ่งเรียกว่า Spectrum

2.4.4 การประยุกต์ใช้งาน

ส่วนใหญ่จะใช้วิเคราะห์สารอินทรีย์ สารประกอบเชิงซ้อน หรือสารอนินทรีย์ ทั้งที่มีสีและไม่มีสี สารแต่ละชนิดจะดูดกลืนรังสีในช่วงความยาวคลื่นที่แตกต่างกันและปริมาณการดูดกลืนรังสีก็ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารนั้น การดูดกลืนแสงของสารต่างๆเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสาร จึงสามารถวิเคราะห์ได้ในเชิงคุณภาพและปริมาณ เป็นเทคนิคที่ให้สภาพไวที่ดีและใช้กันอย่างแพร่หลาย



รูปที่ 2.4 ลักษณะของเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.5.1 Curcumin nanoparticle doped starch thin film as a green colorimetric sensor for detection of boron [12]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชนิตา บุญแคนและคณะได้พัฒนาฟิล์มสีเหลืองจากแป้งมันสำปะหลังและน้ำสกัดขมิ้นชันเพื่อใช้ในการวัดปริมาณโบรอนด้วยวิธีการเปลี่ยนสี ฟิล์มสีเหลืองจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดงหลังจากแช่สารละลายมาตรฐานโบรอน เป็นเวลา 15 นาที และทำในสภาวะการทดลองที่ pH 9 ผู้วิจัยได้ใช้ฟิล์มสีนี้ร่วมกับวิธีการ Digital image colorimetry เพื่อวัดปริมาณโบรอน สามารถวัดค่าได้ในระดับความเข้มของสารสูงสุดถึง 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีค่าสัมประสิทธิ์เท่ากับ ($R > 0.99$) การใช้เซ็นเซอร์ใหม่นี้ร่วมกับ วิธีการ Digital image colorimetry เป็นวิธีการที่ง่าย พกพาได้ และมีราคาประหยัดสำหรับการวัดปริมาณโบรอนในสภาพแวดล้อมต่าง

2.5.2 Boric acid complexes with thiamine (vitamin B1) and pyridoxine (vitamin B6) [13]

Dursun Ali Köseและคณะได้ทำการศึกษาปฏิกิริยาระหว่างกรดบอริกและวิตามินบี 1 (Thiamine)และวิตามินบี 6 (Pyridoxine) การระบุคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการละลายน้ำและการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค (FT-IR) เทคนิค ^{13}C MAS NMR และ Thermal methods ผลการวิเคราะห์ทางเคมีและสเปกตรัมระบุให้เห็นว่า Thiaminechloride hydrochloride และ H_3BO_3 ในน้ำได้ผลิตภัณฑ์เป็นเกลือและไม่เกิดปฏิกิริยาระหว่าง Thiamine และ Boron ในขณะที่ Boron เกิด mono และ bis-chelate กับ Pyridoxine

2.5.3 Investigation on the Peroxidase-like Activity of Vitamin B6 and Its Applications in Colorimetric Detection of Hydrogen Peroxide and Total Antioxidant Capacity Evaluation [14]

Chun-Yan Zhang ได้ทำการศึกษา ปฏิกิริยาเอนไซม์ peroxidase ของวิตามินบี 6 ได้ถูกพิสูจน์ครั้งแรกโดยการกระตุ้นสารตัวชี้วัดสีเปลี่ยนแปลง 3,30,5,50-เทตราเมทิลเบนซิดีน (TMB) ด้วย H_2O_2 ในการศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อคุณสมบัติการเร่งปฏิกิริยาของวิตามินบี 6 เช่น pH อุณหภูมิ ความเข้มข้นของวิตามินบี 6 และเวลาในการบ่ม ผลการศึกษายืนยันว่าวิตามินบี 6 มีความชอบ H_2O_2 สูงกว่า horseradish peroxidase และบางชนิดของตัวเร่งปฏิกิริยา Peroxidase อื่นๆ นอกจากนี้ ผลการทดลองดับรังสีรองยืนยันว่ารัง Hydroxyl (•OH) เป็นสาเหตุของกระบวนการเร่งปฏิกิริยา เนื่องจาก วิตามินบี 6 มีความสามารถเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา Peroxidase อย่างดี จึงพัฒนาวิธีการวัด H_2O_2 และกรดกาลิก (GA) โดยการวัดค่าความดันของระบบการเร่งปฏิกิริยา ภายใต้เงื่อนไขที่เหมาะสม ช่วงเชิงเส้นของวิธีสำหรับการกำหนดปริมาณ H_2O_2 และ GA ที่มีความไวต่อการเลือกสรร

2.5.4 Development and validation of a RP-HPLC method for simultaneous estimation of pyridoxine hydrochloride (Vitamin B6) and its degraded products formed under effect of different solvents [15]

Elasdig H. Kh. Adam และ Ramadan Al-shdefat ได้ทำการศึกษาและพัฒนาวิธีการตรวจหาสารไพริดอกซินไฮโดรคลอไรด์ด้วยเทคนิคไฮเปอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโตกราฟี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(HPLC) ซึ่งไพริดอกซินมีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตรและตัวอย่างที่ทำการตรวจวัดจะผสมโดยใช้สารโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (pH 3 ± 0.2) และเมทานอลในอัตราส่วน 70 : 30 ตามลำดับ สำหรับเครื่อง HPLC จะมีการปรับให้เฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) มีอัตราการไหลอยู่ที่ 1.0 มล./นาที ใช้คอลัมน์ชนิด C18 (thermo 250*4.6 mm. id, 5 µm) ซึ่งผลการศึกษาพบว่า การทดสอบความเป็นเส้นตรงของสารอยู่ในช่วง 10-50 µg/mL โดยมีค่าการถดถอยเชิงเส้น (r^2) = 0.9996 เวลาในการแยกสาร คือ 3.5 ± 0.02 นาที ค่าร้อยละการกลับคืน (recovery) พบว่าอยู่ระหว่าง 98.8-100.86% จากผลการศึกษาวิธีการตรวจวัดไพริดอกซินด้วยเทคนิคไฮเปอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิด โครมาโตกราฟี (HPLC) ประสบความสำเร็จและสามารถวิเคราะห์หาสารไพริดอกซินได้จริง

2.5.5 Detection and Assay of Vitamin B6 (Pyridoxine Hydrochloride) Utilizing Isocratic High Performance Liquid Chromatography [16]

Ronald Bartzatt ได้ทำการการวิเคราะห์หาวิตามินบี 6 จากผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเพื่อโภชนาการเชิงพานิชย์ และยาชนิดเม็ดแข็ง โดยเทคนิค High performance liquid chromatography (HPLC) และการตรวจจับรังสียูวีที่ 290 นาโนเมตร และพบว่า ระดับวิตามินบี 6 ที่ตรวจพบต่ำสุดที่ 4.4029×10-5 โมลาร์ถึง 7.8081×10-4 โมลาร์ ความไวต่อวิตามินบี 6 สูงสุดที่ 290 นาโนเมตร สภาวะ isocratic แบบเฟสย้อนกลับแสดงให้เห็นว่ามีประสิทธิภาพสำหรับการวัดวิตามินบี 6 ในตัวอย่างที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบ เส้นโค้งมาตรฐานที่ใช้เป็นเส้นตรงสูงในช่วงต้นตั้งแต่ 0 ถึง 7.8081×10-4 โมลาร์ (y = 112,521,145.5x+2,818.6) มีค่า Coefficient of determination (R=0.9948) และค่า Positive correlation coefficient (r=0.9974) มี Percent recovery อยู่ระหว่าง 95% ถึง 105% ซึ่งเป็นปริมาณวิตามินในเครื่องดื่มจากผู้ผลิตรายเดียวกันที่มีความสม่ำเสมอ และสรุปได้ว่า การใช้คอลัมน์เฟสย้อนกลับ สภาวะตัวทำละลายแบบไอโซเครติกด้วยเอทานอลในน้ำ และชุดตรวจจับรังสียูวีที่ 290 นาโนเมตร มีประสิทธิผลในการตรวจวัดวิตามินบี 6 ที่ปริมาณต่างๆ ในตัวทำละลายเอทานอลและน้ำ จึงสามารถตรวจวัดวิตามินบี 6 ในเครื่องดื่มบำรุงกำลังได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

3.1.1 สารเคมี

ชื่อสารเคมี	สูตรเคมี	ยี่ห้อและประเทศผู้ผลิต
กรดบอริก (Boric Acid)	H_3BO_3	-
เคอร์คูมิน (Curcumin)	$C_{21}H_{20}O_6$	INDIA
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide)	NaOH	-
ไพริดอกซีน (วิตามินบี 6)	$C_8H_{11}NO_3$	GERMANY
เอทานอล (Ethanol)	C_2H_5OH	-
โซเดียมไบคาร์บอเนต (Sodium bicarbonate)	$NaHCO_3$	QRëC

3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องตรวจวัด

1. ขวดวัดปริมาตร
2. บีกเกอร์
3. ไมโครปิเปต
4. หลอดหยด
5. แท่งคนสาร
6. ช้อนตักสาร
7. กระบอกน้ำกลั่น
8. ฟรอยด์
9. เครื่องวัด pH Mettler-Toledo AG 8603 Switzerland
10. เครื่อง UV-Vis Spectrophotometer U-2900

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 การเตรียมสารละลาย

สารละลายทุกชนิดเป็นชนิดเกรดวิเคราะห์ (Analytical reagent grade) และเตรียมโดยใช้น้ำปราศจากไอออนที่ได้จากเครื่อง ZENEER UP 900 (ยี่ห้อ human corporation, ประเทศเกาหลี)

3.2.1 การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1 โมลาร์

ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 กรัม ด้วยน้ำปราศจากไอออนเล็กน้อย แล้วเทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 50 มิลลิลิตร ด้วยน้ำปราศจากไอออน

3.2.2 การเตรียมสารละลายกรดบอริกเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

ละลายกรดบอริก 0.01 กรัม ด้วยน้ำปราศจากไอออนเล็กน้อย แล้วเทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำปราศจากไอออน

3.2.3 การเตรียมสารละลายกรดบอริกที่ความเข้มข้น 20, 50 และ80 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปิเปตสารละลายกรดบอกริกเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตรมา 10, 25, 40 มิลลิลิตร แล้วเทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร อย่างละขวด ปรับปริมาตรให้ครบ 50 มิลลิลิตรด้วยน้ำปราศจากไอออน จะได้สารละลายเข้มข้น 20, 50 และ80 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

3.2.4 การเตรียมสารละลายเคอร์คูมินเข้มข้น 0.02%

ละลายเคอร์คูมิน 0.01 กรัม ด้วยเอทานอลเล็กน้อย แล้วเทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 50 มิลลิลิตร ด้วยเอทานอลและห่อฟรอยด์ป้องกันแสง

3.2.5 การเตรียมสารละลายเคอร์คูมินที่ความเข้มข้น 0.005%, 0.01% และ0.015%

ปิเปตสารละลายเคอร์คูมินเข้มข้น 0.02% มา 6.5, 12.5, 18.7 มิลลิลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร อย่างละขวด ปรับปริมาตรให้ครบ 25 มิลลิลิตรด้วยเอทานอล จะได้สารละลายเข้มข้น 0.005%, 0.01% และ0.015% ตามลำดับและห่อฟรอยด์ป้องกันแสง

3.2.6 การเตรียมสารละลาย วิตามินบี 6 (วิตามินบี 6) เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตรผสมกับโซเดียมไบคาร์บอเนตที่มีความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

ละลาย วิตามินบี 6 0.01 กรัม และโซเดียมไบคาร์บอเนต 0.005 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนเล็กน้อย เทใส่ขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำปราศจากไอออน

3.2.7 การเตรียมสารละลาย วิตามินบี 6 (วิตามินบี 6) เข้มข้น 1, 5, 10, 20, 50 และ 80 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ผสมโซเดียมไบคาร์บอเนตเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปิเปตสารละลาย วิตามินบี 6 เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตรที่ผสมโซดียมไบคาร์บอเนตมา 0.25, 1.25, 2.5, 5, 1.5, 20 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตร 25 มิลลิลิตร อย่างละขวด ปรับปริมาตรให้ครบ 25 มิลลิลิตร ด้วยน้ำปราศจากไอออน จะได้สารละลาย 1, 5, 10, 20, 50 และ 80 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.8 การเตรียมสารละลาย วิตามินบี 6 (วิตามินบี 6) เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

ละลาย วิตามินบี 6 0.01 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนเล็กน้อย เทใส่ขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

3.2.9 การเตรียมสารละลาย วิตามินบี 6 (วิตามินบี 6) เข้มข้น 1, 5, 10, 20, 50 และ 80 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปิเปตสารละลาย วิตามินบี 6 เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร มา 0.25, 1.25, 2.5, 5, 1.5, 20 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตร 25 มิลลิลิตร อย่างละขวด ปรับปริมาตรให้ครบ 25 มิลลิลิตร ด้วยน้ำปราศจากไอออน จะได้สารละลาย 1, 5, 10, 20, 50 และ 80 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

3.3 วิธีการทดลอง

3.3.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดวิตามินบี 6 โดยใช้เครื่อง UV-Vis Spectrophotometer

3.3.1.1 การศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดบอริก

ทำการเตรียมสารละลายกรดดบอริกความเข้มข้น 20, 50, 80 และ100 มิลลิกรัมต่อลิตร ปรับ pH ให้เท่ากับ 9 โดยการเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 โมลาร์ แล้วทำการวัด pH ด้วยเครื่อง pH- meter

ปิเปตสารละลายกรดบอริกเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 2.0 มิลลิลิตร ใส่บีกเกอร์แล้วปิเปตสารละลาย วิตามินบี 6 เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตรที่ผสมกับโซเดียมไบคาร์บอเนต ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ทำการจับเวลา 1 นาที จากนั้นปิเปตสารละลายเคอร์คูมินเข้มข้น 0.01% ปริมาตร 0.4 มิลลิลิตร ทำการจับเวลาต่ออีก 2 นาที นำไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสง ทำซ้ำโดยการเปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายวิตามินบี 6 เป็น 5, 10, 20, 50, 80 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตรและเมื่อครบทุกความเข้มข้นของวิตามินบี 6 แล้วให้เปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายกรดบอริก

3.3.1.2 การศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของเคอร์คูมิน

ทำการเตรียมสารละลายเคอร์คูมินความเข้มข้น 0.005%, 0.01%, 0.015% และ 0.02%

ปิเปตสารละลายกรดบอริกที่ 80 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มี pH 9 ปริมาตร 2.0 มิลลิลิตร ใส่บีกเกอร์แล้วปิเปตสารละลาย วิตามินบี 6 เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตรที่ผสมกับโซเดียมไบคาร์บอเนต ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ทำการจับเวลา 1 นาที จากนั้นปิเปตสารละลายเคอร์คูมินเข้มข้น 0.005% ปริมาตร 0.4 มิลลิลิตร ทำการจับเวลาต่ออีก 2 นาที นำไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสง ทำซ้ำโดยการเปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายวิตามินบี 6 เป็น 5, 10, 20, 50, 80 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตรและเมื่อครบทุกความเข้มข้นของวิตามินบี 6 แล้วให้เปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายเคอร์คูมินเป็น 0.01%, 0.015% และ0.02%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.1.3 การศึกษาเวลาในการตรวจวัด วิตามินบี 6

ปิเปตสารละลายกรดบอริกเข้มข้น 80 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มี pH 9 ปริมาตร 2.0 มิลลิลิตร ใส่บีกเกอร์แล้วปิเปตสารละลาย วิตามินบี 6 เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตรที่ผสมกับโซเดียมไบคาร์บอเนต ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ทำการจับเวลา 1 นาที แล้ว ปิเปตสารละลายเคอร์คูมินเข้มข้น 0.015% ปริมาตร 0.4 มิลลิลิตร ทำการจับเวลาต่ออีก 2 นาที นำไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่เวลา 0, 1, 3 และ 5 นาที ทำซ้ำโดยการเปลี่ยนความเข้มข้นของวิตามินบี 6 เป็น 5, 10, 20, 50, 80 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

3.3.1.4 การศึกษาผลของการเติมโซเดียมไบคาร์บอเนต

ปิเปตสารละลายกรดบอริกที่ 80 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มี pH 9 ปริมาตร 2.0 มิลลิลิตร ใส่บีกเกอร์แล้วปิเปตสารละลาย วิตามินบี 6 เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตรที่ผสมกับโซเดียมไบคาร์บอเนต ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ทำการจับเวลา 1 นาที แล้ว ปิเปตสารละลายเคอร์คูมินเข้มข้น 0.01% ปริมาตร 0.4 มิลลิลิตร ทำการจับเวลาต่ออีก 2 นาที นำไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสง ทำซ้ำโดยการเปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายวิตามินบี 6 เป็น 5, 10, 20, 50, 80 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตรและเมื่อครบทุกความเข้มข้นของวิตามินบี 6 แล้วให้เปลี่ยนเป็นสารละลายวิตามินบี 6 ที่ไม่ผสมกับโซเดียมไบคาร์บอเนต

3.3.1.5 การศึกษา pH ที่เหมาะสมของสารละลายกรดบอริก

เตรียมสารละลายกรดบอริกเข้มข้น 80 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยทำการปรับค่า pH ให้มี pH เท่ากับ 7, 8, 9 และ 10 แล้วนำไปวัดด้วยเครื่อง pH-metler

ปิเปตสารละลายกรดบอริกที่ 80 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มี pH 7 ปริมาตร 2.0 มิลลิลิตร ใส่บีกเกอร์แล้วปิเปตสารละลาย วิตามินบี 6 เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ผสมกับโซเดียมไบคาร์บอเนต ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ทำการจับเวลา 1 นาที แล้วปิเปตสารละลายเคอร์คูมินเข้มข้น 0.01% ปริมาตร 0.4 มิลลิลิตร ทำการจับเวลาต่ออีก 2 นาที นำไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสง ทำซ้ำโดยการเปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายวิตามินบี 6 เป็น 5, 10, 20, 50, 80 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตรและเมื่อครบทุกความเข้มข้นของวิตามินบี 6 แล้วให้เปลี่ยน pH ของกรดบอริกเป็น pH 8, 9 และ10

3.3.2 การศึกษาคุณลักษณะของวิธีวิเคราะห์

3.3.2.1 ศึกษาความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัด วิตามินบี 6 โดยใช้เครื่อง UV-Vis Spectrophotometer

เตรียมสารละลายมารตฐานวิตามินบี 6 ที่ความเข้มข้น 1, 5, 10, 20, 40, 50, 80, 100, 200, 500, 800 และ1000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปิเปตสารละลายกรดบอริกที่ 80 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มี pH 9 ปริมาตร 2.0 มิลลิลิตร ใส่บีกเกอร์แล้วปิเปตสารละลายวิตามินบี 6 เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ผสมกับโซเดียม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไบคาร์บอเนต ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ทำการจับเวลา 1 นาที แล้ว ปิเปตสารละลายเคอร์คูมินเข้มข้น 0.015% ปริมาตร 0.4 มิลลิลิตร ทำการจับเวลาต่ออีก 2 นาที นำไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสง ทำซ้ำโดยการเปลี่ยนความเข้มข้นของ วิตามินบี 6 เป็น 5, 10, 20, 40, 50, 80, 100, 200, 500, 800 และ1000 มิลลิกรัมต่อลิตร

3.3.2.2 ศึกษาความเที่ยงของการวิเคราะห์

ทำการตรวจวัดสารละลาย วิตามินบี 6 ที่ความเข้มข้น 5, 20 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นละ 4 ครั้ง จากนั้นจะนำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD)

3.3.2.3 ศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (Limit of detection, LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ)

ทำการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายแบลงก์จำนวน 10 ครั้ง จากนั้น คำนวณหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าการดูดกลืนแสง และนำไปคำนวณหาขีดจำกัดต่ำสุดของการ ตรวจวัด (LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (LOQ)

3.3.2.4 การศึกษาความถูกต้องของวิธี

ทำการเตรียมตัวอย่าง เครื่องดื่มเสริมวิตามิน แบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน

1. ทำการเตรียมตัวอย่างเครื่องดื่มเสริมวิตามิน โดยการปิเปตเครื่องดื่มมา 12.5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดปรับปริมาตร 25 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเติมน้ำปราศจากไอออนจนครบ 25 มิลลิลิตร

2. ทำการเตรียมตัวอย่างเครื่องดื่มเสริมวิตามิน โดยการปิเปตเครื่องดื่มมา 12.5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดปรับปริมาตร 25 มิลลิลิตร และใส่สารละลาย วิตามินบี 6 ลงไป 0.25, 1.0 และ 5.0 มิลลิลิตรเพื่อให้ได้ความเข้มข้นของ วิตามินบี 6 5, 20 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ลงไปหลังจากนั้นเติมน้ำปราศจากไอออนจนครบ 25 มิลลิลิตร ทั้ง 3 ขวด

นำน้ำทั้งสองขั้นตอนไปตรวจวัดด้วยเครื่องยูวี-วิซิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์

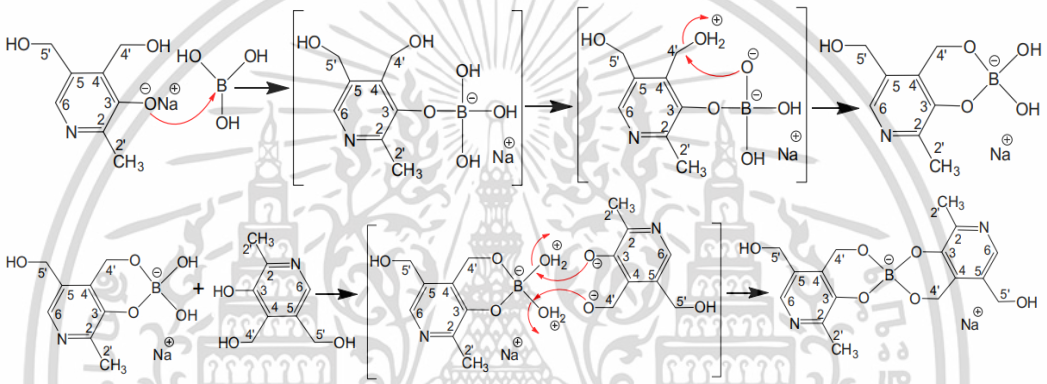
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ศึกษากลไกการตรวจวัดเบื้องต้น

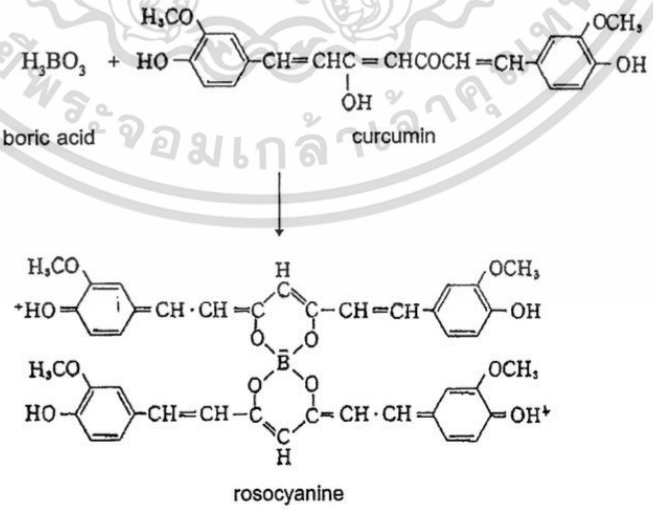
4.1.1 ศึกษากลไกการตรวจวัดเบื้องต้น

โครงงานพิเศษนี้ได้พัฒนาวิธีตรวจวัดเชิงสีอย่างง่ายในการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินบี 6 โดยอาศัยการเกิดปฏิกิริยาระหว่างกรดบอริกกับวิตามินบี 6 เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน ดังรูปที่ 4.1 เมื่อทำปฏิกิริยาแล้วส่งผลให้กรดบอริกไม่ไปทำปฏิกิริยากับเคอร์คูมิน ซึ่งจะทำให้สารละลายผลิตภัณฑ์ที่มีสีแดง (rosocyanin complex) นั้นลดลง ดังรูปที่ 4.2



รูปที่ 4.1 กลไกลการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารละลายกรดบอริกและวิตามินบี 6

[Ref : Boric acid complexes with thiamine (vitamin B1) and pyridoxine (vitamin B6) – ScienceDirect]

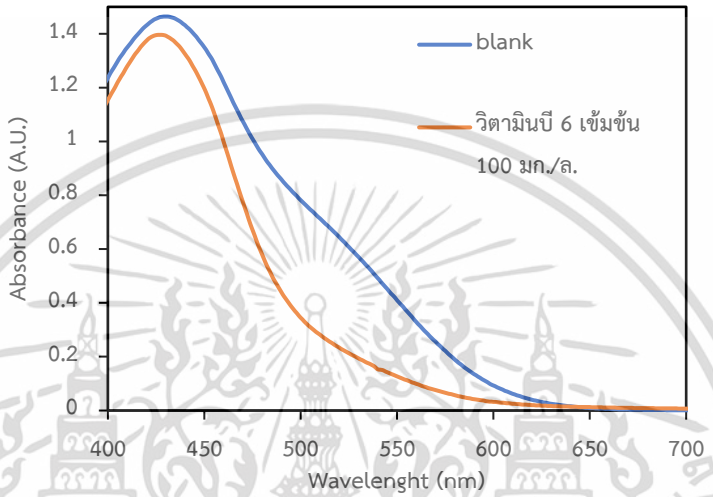


รูปที่ 4.2 กลไกลการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารละลายเคอร์คูมินกับกรดบอริก

[Ref : http://bqsf.dmsc.moph.go.th/bqsfWeb/]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการศึกษากลไกการตรวจวัดเบื้องต้นในการตรวจวัดวิตามินบี 6 ในการทดลองได้ใช้สารละลายมาตรฐานวิตามินบี 6 ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร มาทำปฏิกิริยากับสารละลายกรดบอริกที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยการผสมและเขย่าเป็นเวลา 3 นาที จากนั้นเติมสารละลายเคอร์คูมิน เข้มข้น 0.01% ลงไป และรอให้เกิดปฏิกิริยาต่ออีก 5 นาที แล้วจึงนำสารละลายผสมที่ได้ไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสง ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 4.3



รูปที่ 4.3 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายเคอร์คูมินเมื่อทำปฏิกิริยากับกรดบอริก และสารละลายเคอร์คูมินเมื่อทำปฏิกิริยากับกรดบอริกที่มีวิตามินบี 6 เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

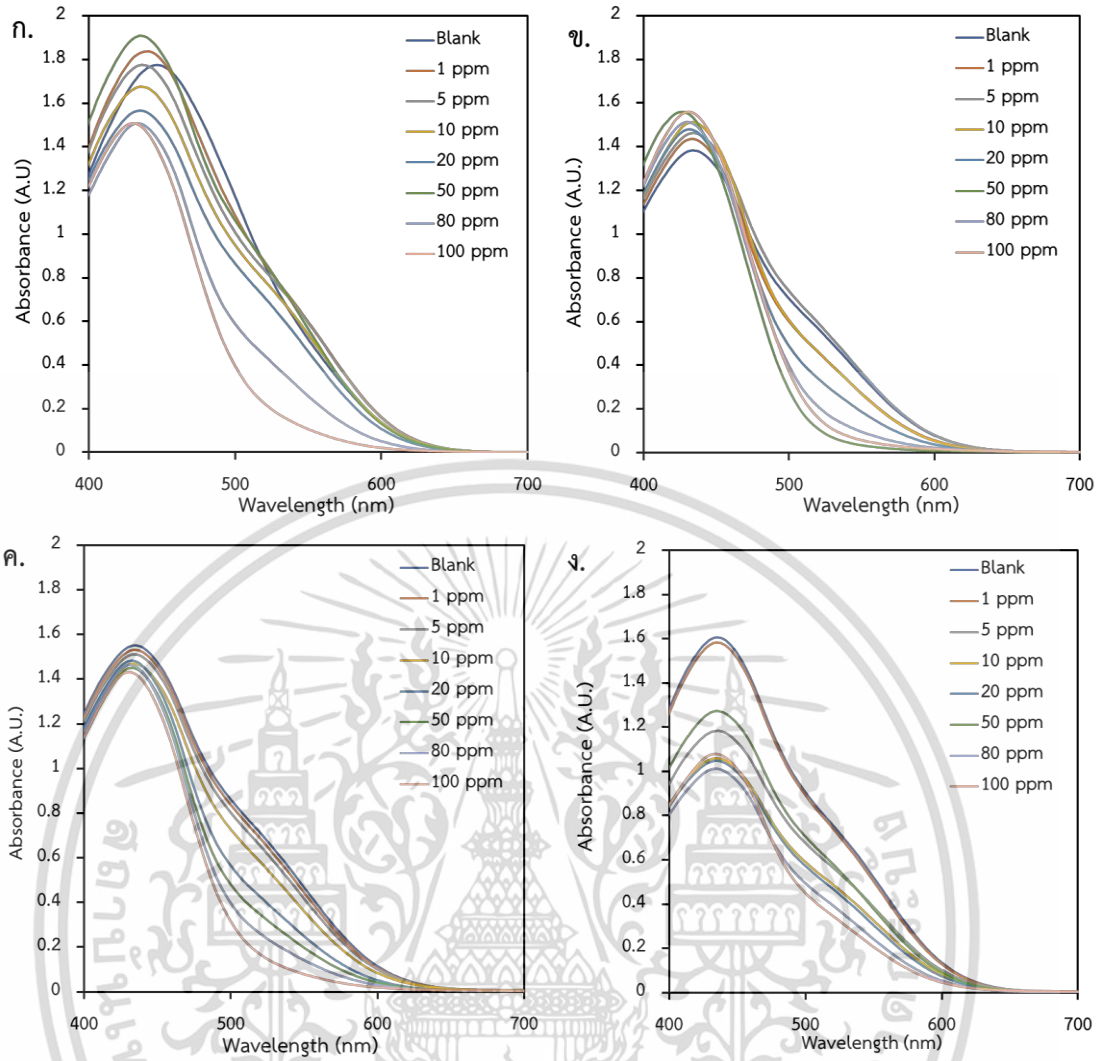
จากรูป 4.3 พบว่าวิตามินบี 6 สามารถยับยั้งการเกิดผลิตภัณฑ์สีแดงของ rosocyanin จากปฏิกิริยาระหว่างเคอร์คูมินกับกรดบอริกได้ส่งผลให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร ลดลง แสดงให้เห็นว่าสามารถใช้กลไกการเกิดปฏิกิริยานี้มาประยุกต์ใช้ในการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินบี 6 ได้ และจะต้องมีการศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดต่อไป

4.2 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของการทดลอง

4.2.1 ศึกษาความเข้มข้นของกรดบอริกที่เหมาะสม

ในส่วนนี้ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของกรดบอริกที่เหมาะสมต่อการทำปฏิกิริยา โดยได้ศึกษาสารละลายกรดบอริกที่ความเข้มข้น 20, 50, 80 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ในการทดลองจะทำการผสมสารละลายกรดบอริกกับสารละลายวิตามินบี 6 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และเขย่าเป็นเวลา 1 นาที จากนั้นเติมสารละลายเคอร์คูมิน เข้มข้น 0.01% ลงไป และจับเวลาต่ออีก 2 นาที แล้วจึงนำสารละลายผสมที่ได้ไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสง ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 4.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

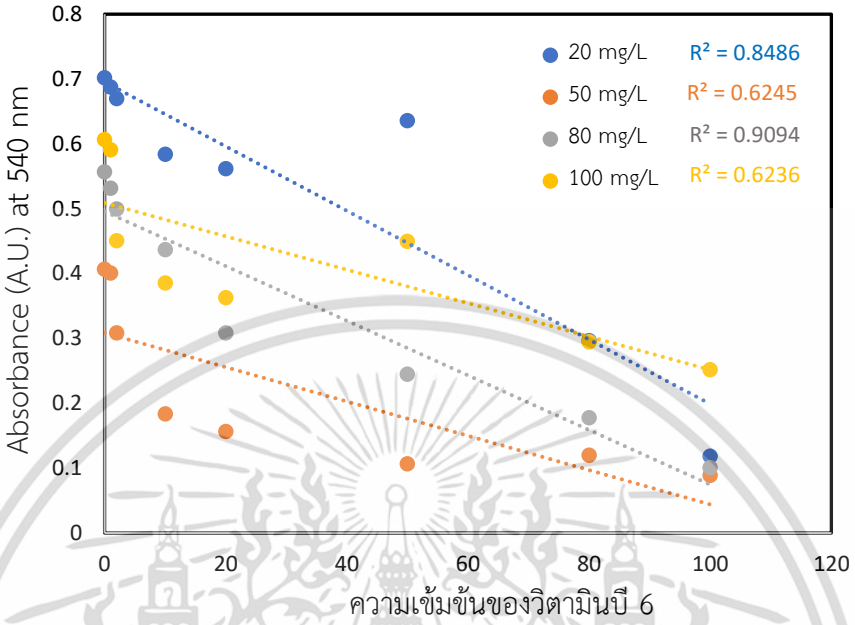


รูปที่ 4.4 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายในการตรวจวัดวิตามินบี 6 ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อใช้สารละลารกรดบอริกความเข้มข้น ก. 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ข. 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ค. 80 มิลลิกรัมต่อลิตร และ ง. 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากผลการทดลองพบว่า กรดบอริกที่ความเข้มข้นต่ำๆ (รูปที่ 4.4 ก. และ ข.) กรดบอริกจะทำปฏิกิริยากับวิตามินบี 6 จนหมด ทำให้เมื่อเติมวิตามินบี 6 ที่ความเข้มข้นสูง กรดบอริกจึงไม่เพียงพอที่จะเกิดปฏิกิริยากับเคอร์คูมิน ส่งผลให้เมื่อเติมวิตามินบี 6 ที่ความเข้มข้นสูงๆ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ไม่ลดลงตามความเข้มข้นของวิตามินบี 6 แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกรดบอริกให้สูงขึ้น พบว่าผลิตภัณฑ์สีแดงของ rosocyanin ลดลงตามความเข้มข้นของวิตามินบี 6 ที่สูงขึ้น (รูปที่ 4.4 ค.) และเมื่อใช้กรดบอริกที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ากรดบอริกมีความเข้มข้นสูงเกินไปจึงส่งผลให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ไม่เป็นไปตามแนวโน้มความเข้มข้นของวิตามินบี 6 (รูปที่ 4.4 ง.) และเมื่อพิจารณาจากกราฟเส้นตรงที่พลอตระหว่างความเข้มข้นวิตามินบี 6 กับค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร (รูปที่ 4.5) พบว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อใช้กรดบอริกที่ความเข้มข้น 80 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ค่าความเป็นเส้นตรงดีที่สุด ดังนั้นจึงเลือกความเข้มข้นนี้สำหรับการทดลองต่อไป

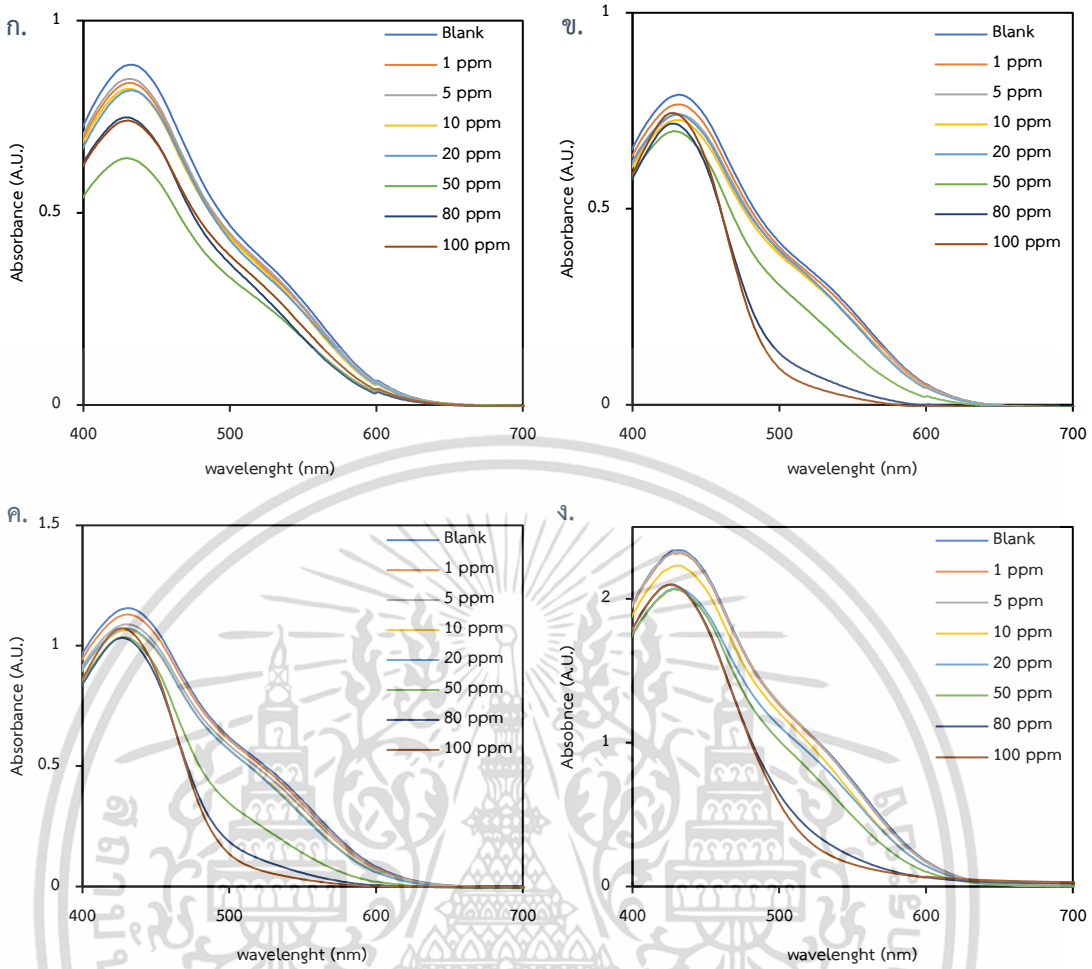


รูปที่ 4.5 กราฟเส้นตรงพลอตระหว่างความเข้มข้นของวิตามินบี 6 กับค่าดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร เมื่อใช้กรดบอริกที่ความเข้มข้น 20, 50, 80 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

4.2.2 ศึกษาความเข้มข้นของเคอร์คูมินที่เหมาะสม

ในส่วนนี้ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของเคอร์คูมินที่เหมาะสมต่อการทำปฏิกิริยา โดยได้ศึกษาสารละลายเคอร์คูมินที่ความเข้มข้น 0.005%, 0.01%, 0.015% และ 0.02% ในการทดลองจะทำการผสมสารละลายกรดบอริกกับสารละลายวิตามินบี 6 และเขย่าเป็นเวลา 1 นาที จากนั้นเติมสารละลายเคอร์คูมินที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และจับเวลาต่ออีก 2 นาที แล้วจึงนำสารละลายผสมที่ได้ไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสง ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 4.6

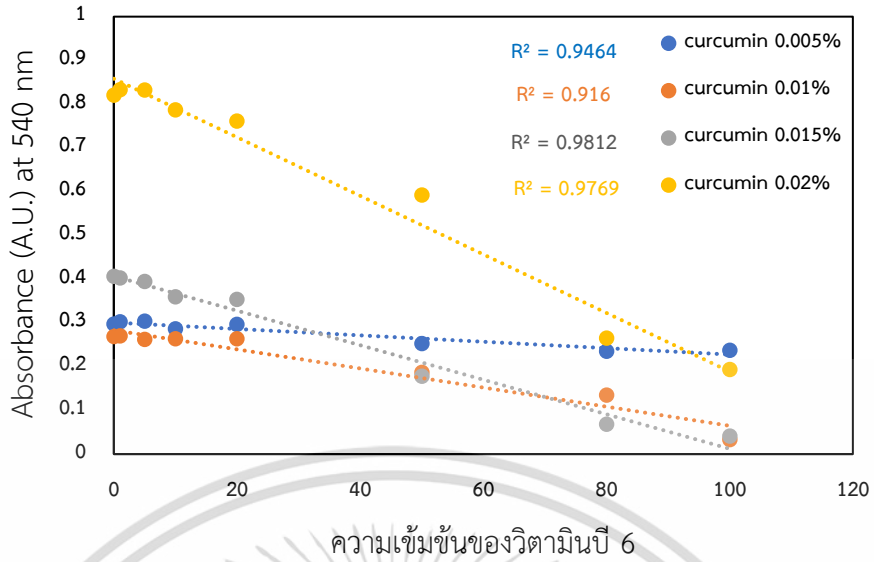
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายในการตรวจวัดวิตามินบี 6 ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อใช้สารละลารเคอร์คูมินความเข้มข้น ก. 0.005% ข. 0.01% ค. 0.015% และ ง. 0.02%

จากผลการทดลองพบว่า เคอร์คูมินที่ความเข้มข้นต่ำ (รูปที่ 4.6 ก.) จะเห็นความแตกต่างของค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร ไม่ชัดเจนเนื่องจากความเข้มข้นอาจต่ำเกินไป ทำให้เคอร์คูมินไม่เพียงพอที่จะเกิดปฏิกิริยากับกรดบอริก จึงทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ของวิตามินบี 6 ในแต่ละความเข้มข้นมีความใกล้เคียงกัน เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเคอร์คูมิน (รูปที่ 4.6 ข. และค.) จะเห็นว่าค่าการดูดกลืนที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร มีความเป็นแนวโน้มและชัดเจนมากขึ้น แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเคอร์คูมินให้สูงเกินไป พบว่าค่าการดูดกลืนแสงมีค่าที่สูงเกินไป (รูปที่ 4.6 ง.) ส่งผลให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ไม่เป็นไปตามแนวโน้มความเข้มข้นของวิตามินบี 6 และเมื่อพิจารณาจากกราฟเส้นตรงที่พลอตระหว่างความเข้มข้นวิตามินบี 6 กับค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร (รูปที่ 4.7) พบว่าเมื่อใช้เคอร์คูมินที่ความเข้มข้น 0.015% ให้ค่าความเป็นเส้นตรงดีที่สุด ดังนั้นจึงเลือกความเข้มข้นนี้สำหรับการทดลองต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

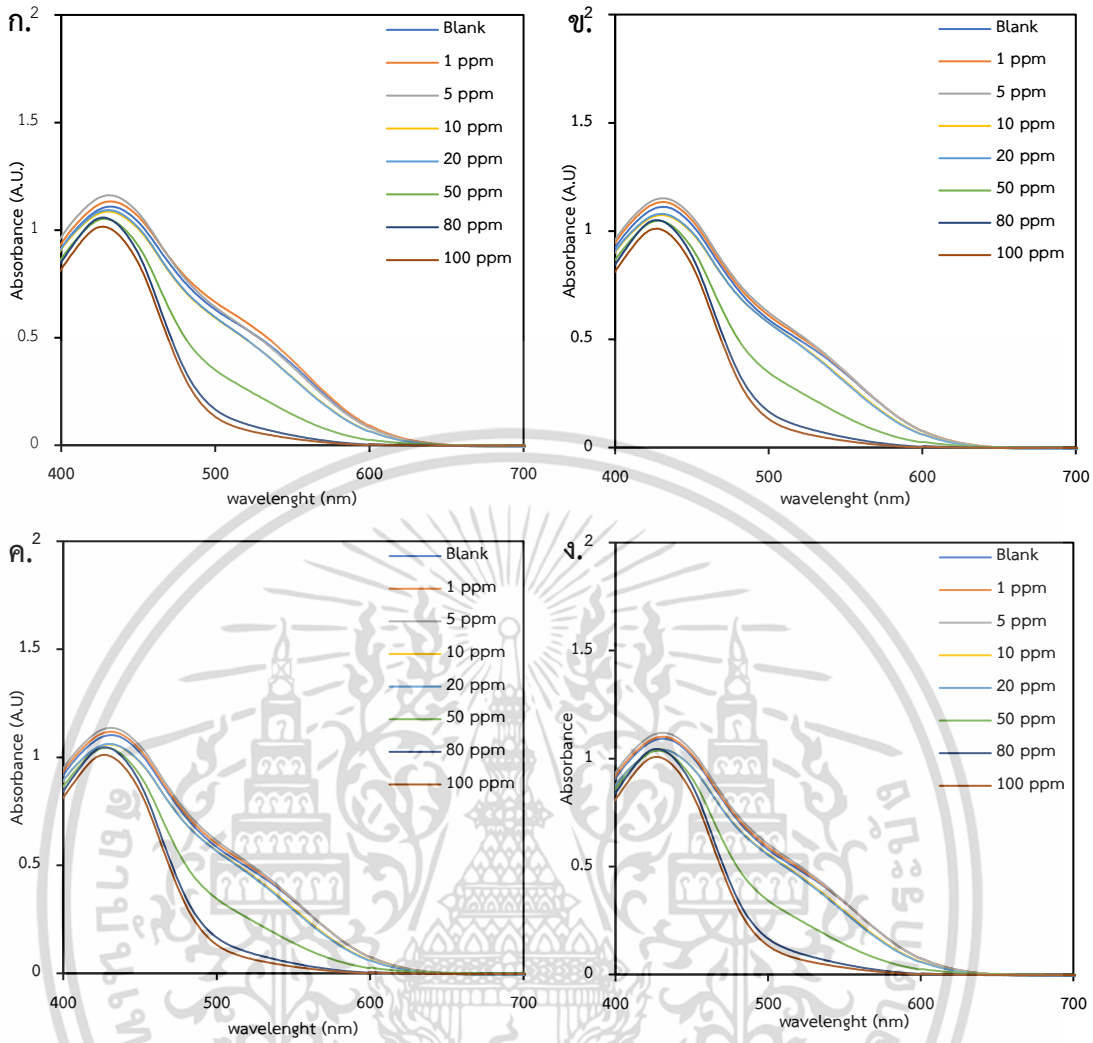


รูปที่ 4.7 กราฟเส้นตรงพลอตระหว่างความเข้มข้นของวิตามินบี 6 กับค่าดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร เมื่อใช้เคอร์คูมินที่ความเข้มข้น 0.005%, 0.01%, 0.015% และ 0.02%

4.2.3 ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยา

ในส่วนนี้ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของเวลาที่เหมาะสมต่อการทำปฏิกิริยา โดยได้ศึกษาเวลาที่ใช้ในการการตรวจวัดหลังจากเตรียมสารละลาย คือ 0, 1, 3 และ 5 นาที ในการทดลองจะทำการผสมสารละลายกรดบอริกกับสารละลายวิตามินบี 6 และเขย่าเป็นเวลา 1 นาที จากนั้นเติมสารละลายเคอร์คูมิน และจับเวลาต่ออีก 2 นาที แล้วจึงนำสารละลายผสมที่ได้ไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสง ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 4.8

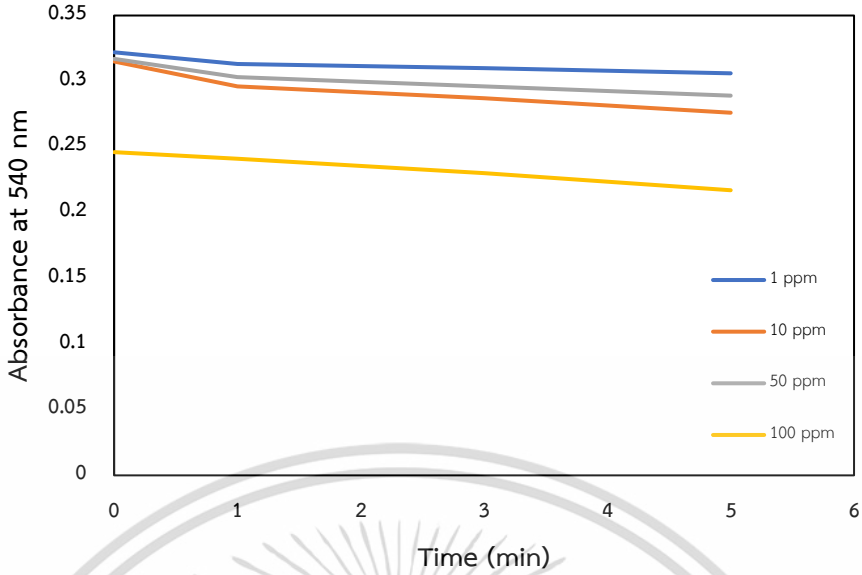
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.8 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายในการตรวจวัดวิตามินบี 6 ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อใช้เวลาในการตรวจวัด ก. 0 นาที ข. 1 นาที ค. 3 นาที และ ง. 5 นาที

จากผลการทดลองพบว่า เมื่อทำการตรวจวัดที่เวลาต่างๆ กัน ค่าการดูดกลืนแสงในแต่ละเวลามีค่าใกล้เคียงกัน แสดงว่า เวลาที่ใช้ในการตรวจวัดไม่ส่งผลต่อการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย และเมื่อพิจารณาจากกราฟพลอตระหว่างเวลากับค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร (รูปที่ 4.9) พบว่าเมื่อวัดที่เวลา 0-3 นาที มีค่าการดูดกลืนแสงที่ใกล้เคียงกัน แต่เพื่อความชัดเจน และง่ายต่อการเตรียมสาร จะเลือกใช้การตรวจวัดที่เวลา 3 นาที สำหรับการทดลองต่อไป

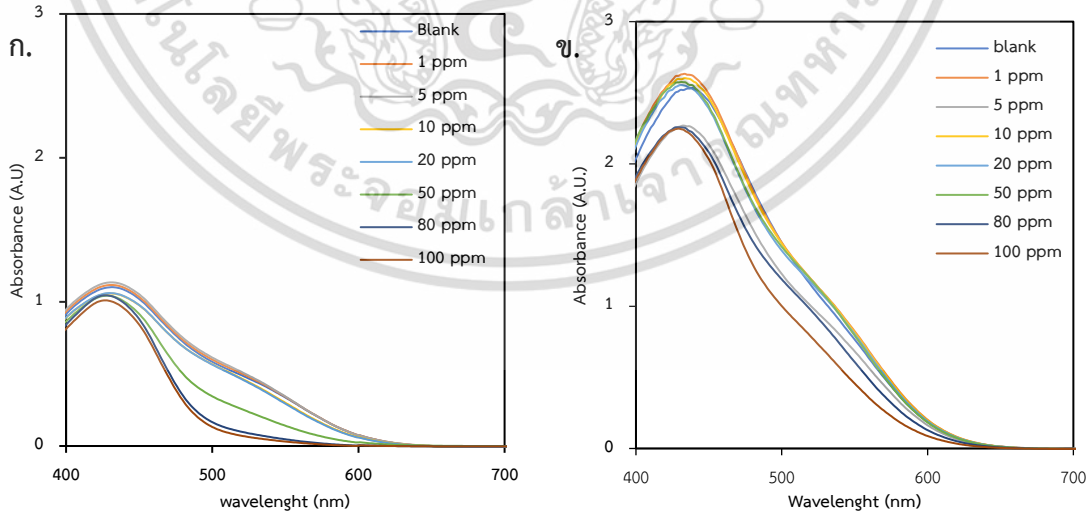
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.9 กราฟเส้นตรงพลอตระหว่างความเข้มข้นของวิตามินบี 6 กับค่าดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร เมื่อตรวจวัดที่เวลา 0 นาที, 1 นาที, 3 นาที และ 5 นาที

4.2.4 ผลของการเติมโซเดียมไบคาร์บอเนต

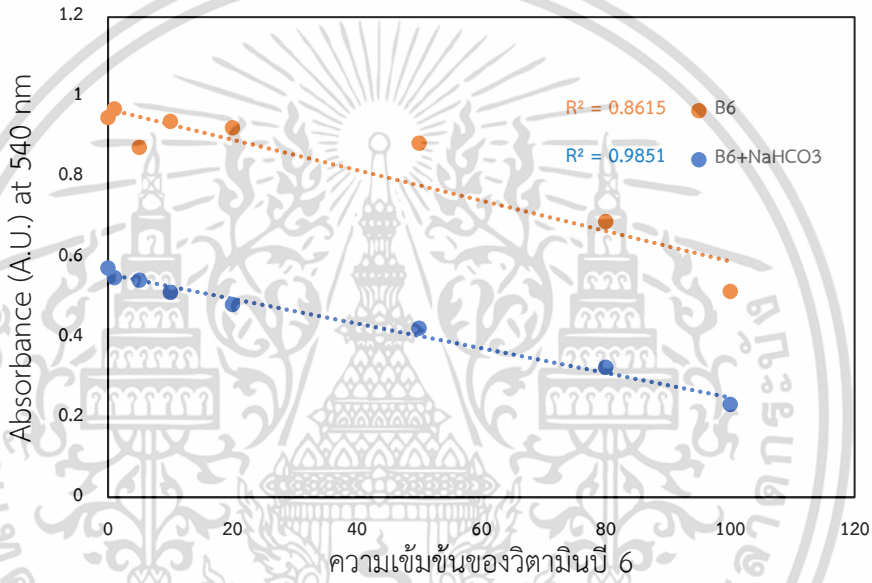
ในส่วนนี้ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของการเติมโซเดียมไบคาร์บอเนตต่อการทำปฏิกิริยา โดยได้ศึกษาการเติมโซเดียมไบคาร์บอเนตในวิตามินบี 6 ในการทดลองจะทำการผสมสารละลายกรดบอริกกับสารละลายวิตามินบี 6 และเขย่าเป็นเวลา 1 นาที จากนั้นเติมสารละลายเคอร์คูมินและจับเวลาต่ออีก 2 นาที แล้วจึงนำสารละลายผสมที่ได้ไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสง ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 4.10



รูปที่ 4.10 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายในการตรวจวัดวิตามินบี 6 ที่ความเข้มข้นต่างๆ 6 ก. วิตามินบี 6 ที่เติมโซเดียมไบคาร์บอเนต และ ข. วิตามินบี 6 ที่ไม่เติมโซเดียมไบคาร์บอเนต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองพบว่า เมื่อทำการตรวจวัดวิตามินบี 6 ที่เติมโซเดียมไบคาร์บอเนต (รูปที่ 4.10 ก.) ค่าการดูดกลืนแสงมีค่าที่ไม่สูงเกินไปและมีแนวโน้มตามความเข้มข้นของวิตามินบี 6 แต่เมื่อตรวจวัดวิตามินบี 6 ที่ไม่เติมโซเดียมไบคาร์บอเนต (รูปที่ 4.10 ข.) ค่าการดูดกลืนแสงมีค่าที่สูงเกินไป แสดงว่า การเติมโซเดียมไบคาร์บอเนตช่วยให้ผลดีขึ้นเนื่องจากว่า โซเดียมไบคาร์บอเนตจะช่วยเปลี่ยนโครงสร้างของวิตามินบี 6 ให้อยู่ในรูปของโซเดียมซอลต์ ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับกรดบอริกได้ดีมากยิ่งขึ้นและเมื่อพิจารณาจากกราฟเส้นตรงที่พลอตระหว่างความเข้มข้นวิตามินบี 6 กับค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร (รูปที่ 4.11) พบว่าการเติมโซเดียมไบคาร์บอเนตในสารละลายวิตามินบี 6 ส่งผลให้กราฟมีความเป็นเส้นตรงมากกว่า ดังนั้นจึงเลือกใช้การสารละลายวิตามินบี 6 ที่มีการเติมโซเดียมไบคาร์บอเนต สำหรับการทดลองต่อไป

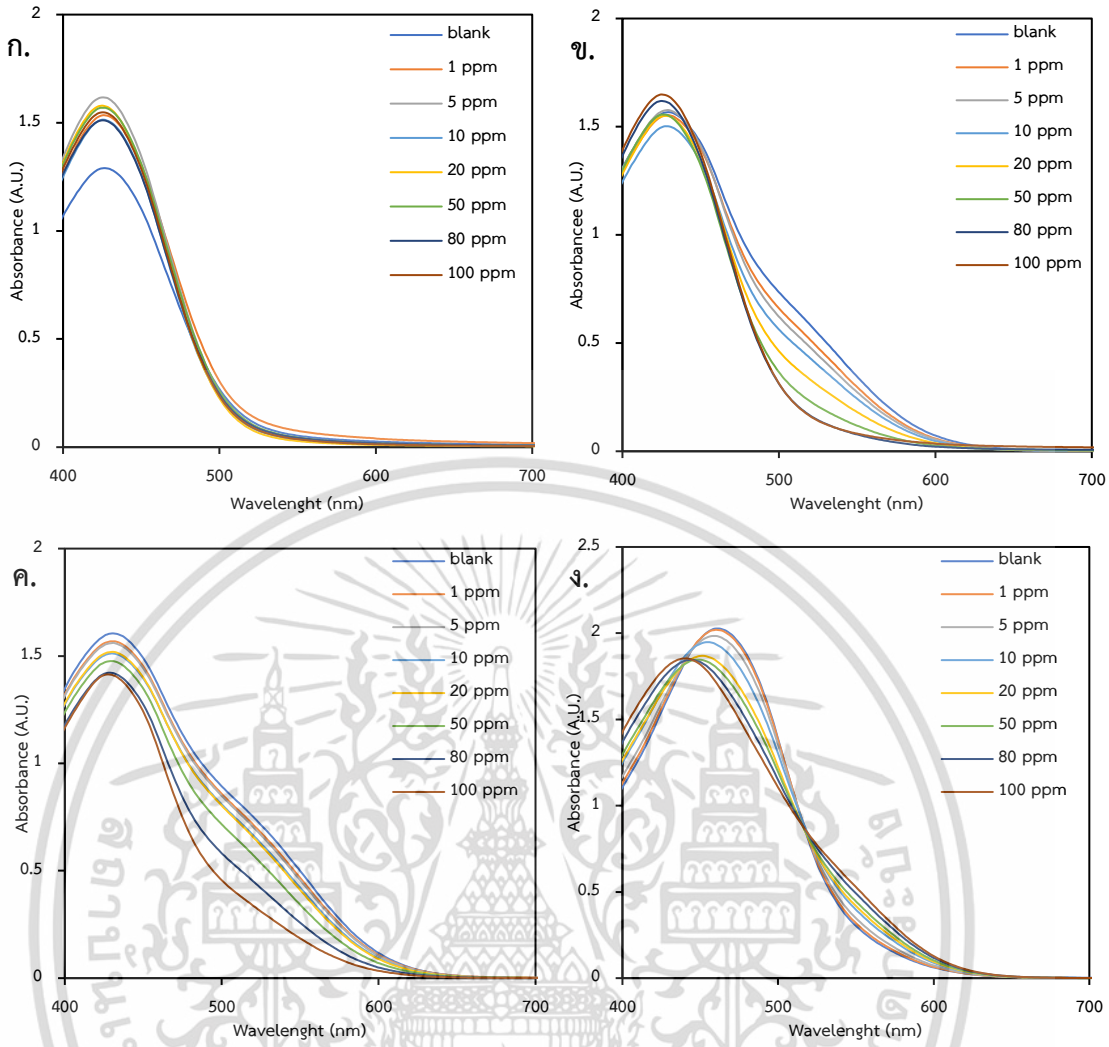


รูปที่ 4.11 กราฟเส้นตรงพลอตระหว่างความเข้มข้นของวิตามินบี 6 กับค่าดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร เมื่อตรวจวัดที่สารละลายวิตามินบี 6 ที่เติมโซเดียมไบคาร์บอเนตและไม่ได้เติม

4.2.5 ศึกษาพีเอชในการทำปฏิกิริยาที่เหมาะสม

ในส่วนนี้ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของพีเอชต่อการทำปฏิกิริยา โดยได้ศึกษาพีเอชของกรดบอริกที่ 7, 8, 9 และ 10 ในการทดลองจะทำการผสมสารละลายกรดบอริกกับสารละลายวิตามินบี 6 และเขย่าเป็นเวลา 1 นาที จากนั้นเติมสารละลายเคอร์คูมิน และจับเวลาต่ออีก 2 นาที แล้วจึงนำสารละลายผสมที่ได้ไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสง ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 4.12

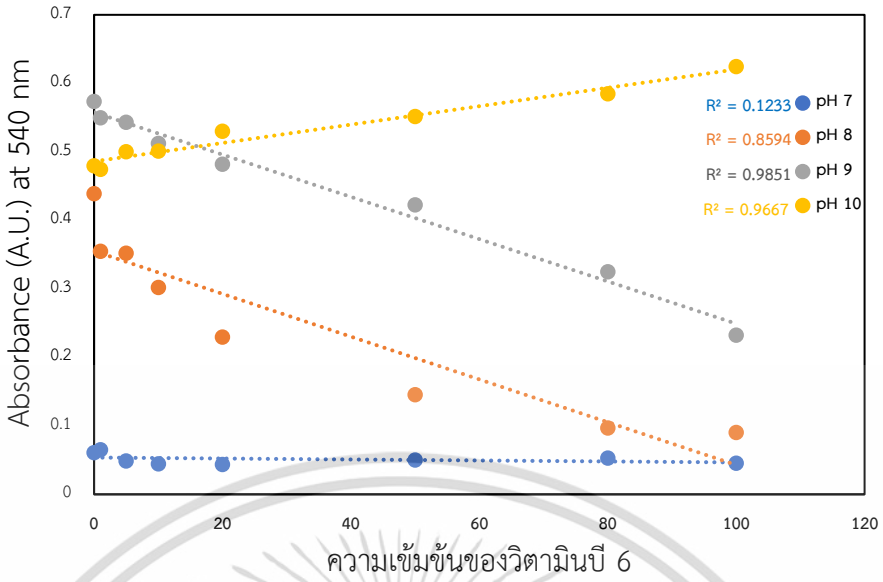
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.12 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายในการตรวจวัดวิตามินบี 6 ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อใช้พีเอชของกรดบอริก ก. pH 7 ข. pH 8 ค. pH 9 และ ง. pH 10

จากผลการทดลองพบว่า กรดบอริกที่มีพีเอชต่ำ (รูปที่ 4.12 ก.) จะเห็นความแตกต่างของค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร ไม่ชัดเจนเนื่องจากพีเอชของกรดบอริกต่ำเกินไปทำให้กรดบอริกเกิดปฏิกิริยากับเคอร์คูมินได้ไม่ดีพอจึงทำให้ค่าการดูดกลืนที่ได้มีความใกล้เคียงกัน เมื่อเพิ่มพีเอชของกรดบอริก (รูปที่ 4.12 ข. และค.) จะเห็นว่าค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร มีความเป็นแนวโน้มและชัดเจนมากขึ้น เมื่อเพิ่มพีเอชของกรดบิอริกให้สูง (รูปที่ 4.12 ง.) ส่งผลให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ไม่เป็นไปตามแนวโน้มความเข้มข้นของวิตามินบี 6 ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงมีค่าสูงมากเกินไปและเมื่อพิจารณาจากกราฟเส้นตรงที่พลอตระหว่างความเข้มข้นวิตามินบี 6 กับค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร (รูปที่ 4.13) พบว่าเมื่อใช้พีเอชของกรดบอริกเท่ากับ 9 ให้ค่าความเป็นเส้นตรงดีที่สุด ดังนั้นจึงเลือกค่าพีเอชนี้สำหรับการทดลองต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

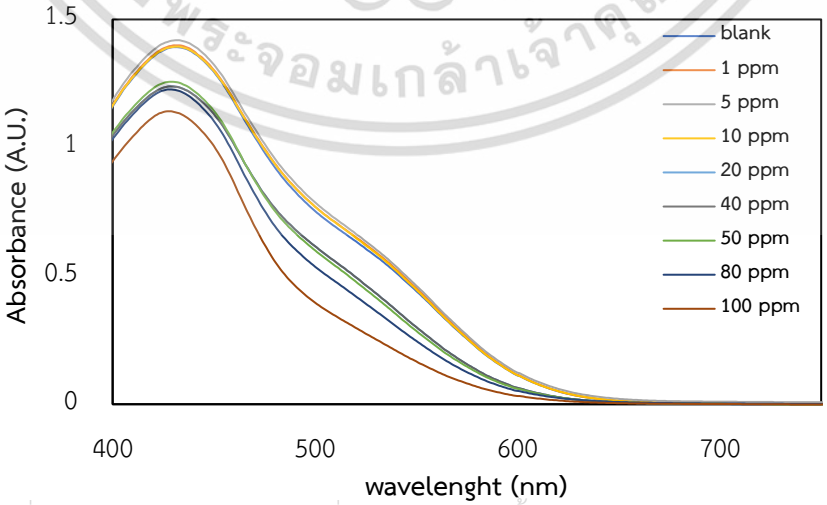


รูปที่ 4.13 กราฟเส้นตรงพลอตระหว่างความเข้มข้นของวิตามินบี 6 กับค่าดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร เมื่อกรดบอริกมีพีเอชเท่ากับ 7, 8, 9 และ 10

4.3 การศึกษาคุณลักษณะของวิธีวิเคราะห์

4.3.1 ศึกษาความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัดวิตามินบี 6

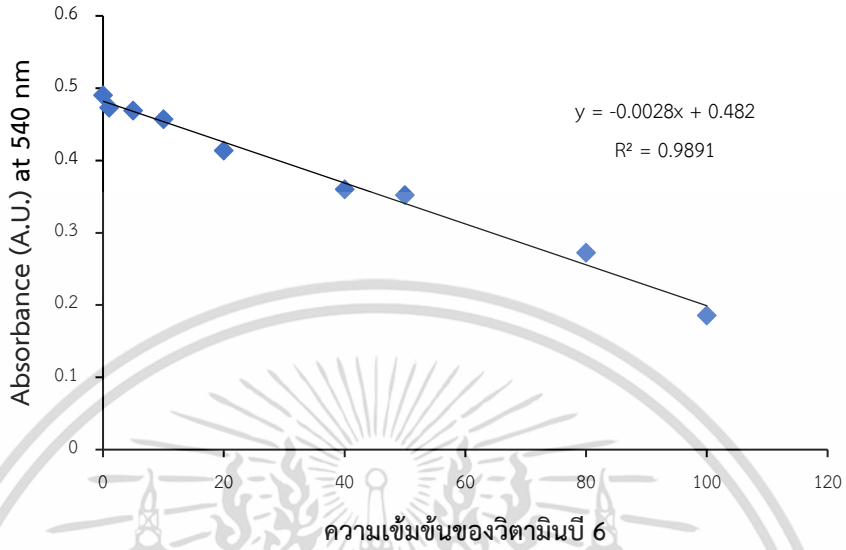
ในส่วนนี้ได้ทำการศึกษาความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัดวิตามินบี 6 โดยได้ศึกษาวิตามินบี 6 ที่ความเข้มข้นที่ 1, 5, 10, 20, 40, 50, 80, 100, 200, 500, 800 และ1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ในการทดลองจะทำการผสมสารละลายกรดบอริกกับสารละลายวิตามินบี 6 และเขย่าเป็นเวลา 1 นาที จากนั้นเติมสารละลายเคอร์คูมิน และจับเวลาต่ออีก 2 นาที แล้วจึงนำสารละลายผสมที่ได้ไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสง ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 4.14



รูปที่ 4.14 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายในการตรวจวัดวิตามินบี 6 ที่ความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองพบว่า ความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานวิตามินบี 6 จะได้ช่วงความเป็นเส้นตรงที่ความเข้มข้นช่วง 1-100 mg/Lและเมื่อพลอตกราฟเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นวิตามินบี 6 กับค่าดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร ดังแสดงในรูปที่ 4.15



รูปที่ 4.15 กราฟเส้นตรงพลอตระหว่างความเข้มข้นของวิตามินบี 6 กับค่าดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร

4.3.2 ศึกษาความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์

ในส่วนนี้ได้ทำการศึกษาความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ โดยได้ศึกษาวิตามินบี 6 ที่ความเข้มข้นที่ 5, 20 และ100 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ ในการทดลองจะทำการผสมสารละลายกรดบอริกกับสารละลายวิตามินบี 6 และเขย่าเป็นเวลา 1 นาที จากนั้นเติมสารละลายเคอร์คูมิน และจับเวลาต่ออีก 2 นาที แล้วจึงนำสารละลายผสมที่ได้ไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสง ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ค่า Absorbance และ%RSD ของวิตามินบี 6 ที่ความเข้มข้น 5, 20 และ 100 mg/L

concentration Of B6 5 mg/L						
ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	mean	SD	%RSD
0.533	0.518	0.519	0.518	0.522	0.007	1.407
concentration Of B6 20 mg/L						
ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	mean	SD	%RSD
0.43	0.415	0.399	0.393	0.409	0.016	4.071
concentration Of B6 100 mg/L						
ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	mean	SD	%RSD
0.138	0.148	0.166	0.149	0.15	0.011	7.73

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองพบว่า การตรวจสอบคุณลักษณะของวิธีได้ดังนี้ ที่ความเข้มข้นวิตามินบี 6 เท่ากับ 5 mg/L , 20 mg/L และ 100 mg/L จะมีค่า %RSD เท่ากับ 3.0376 , 6.4126 และ 20.4298 ตามลำดับ

4.3.3 ศึกษาความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (การหาร้อยละค่าคืนกลับ)

ในส่วนนี้ได้ทำการศึกษาความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ โดยได้ศึกษาวิตามินบี 6 ที่ความเข้มข้นที่ 5, 20 และ100 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ ในการทดลองจะทำการผสมสารละลายกรดบอริกกับสารละลายวิตามินบี 6 และเขย่าเป็นเวลา 1 นาที จากนั้นเติมสารละลายเคอร์คูมิน และจับเวลาต่ออีก 2 นาที แล้วจึงนำสารละลายผสมที่ได้ไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสง ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ร้อยละค่าคืนกลับ (% recovery)

ความเข้มข้น	% recovery
5 mg/L	108.57
20 mg/L	117.62
100 mg/L	91.71

จากผลการทดลองพบว่า ร้อยค่าคืนกลับของวิตามินบี 6 ในตัวอย่างเครื่องดื่มเสริมวิตามินมีเปอร์เซ็นต์อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

4.3.4 ศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (Limit of detection, LOD) และ ขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ)

ในส่วนนี้ได้ทำการศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (Limit of detection, LOD) และ ขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ) ในการทดลองจะทำการผสมสารละลายกรดบอริกกับน้ำกลั่น และเขย่าเป็นเวลา 1 นาที จากนั้นเติมสารละลายเคอร์คูมิน และจับเวลาต่ออีก 2 นาที แล้วจึงนำสารละลายผสมที่ได้ไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยทำซ้ำทั้งหมด 10 ครั้ง หลังจากนั้นนำค่าที่ได้มาคำนวณหา LOD และ LOQ จากสมการ

$$LOD = mean + 3(SD) \quad (1)$$

และ $$LOQ = mean + 10(SD) \quad (2)$$

จากการคำนวณในสมการที่ 1 และ 2 พบว่าได้ค่า LOD เท่ากับ 0.4568 mg/L และ LOQ เท่ากับ 0.5574 mg/L

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

5.1.1 การศึกษาสภาวะที่ใช้ในการตรวจวัดหาวิตามินบี 6

1. ความเข้มข้นของกรดบอริกที่ใช้ 80 มิลลิกรัมต่อลิตร
2. ความเข้มข้นของเคอร์คูมินที่ใช้ 0.015%
3. เวลาไม่มีผลต่อการตรวจวัด
4. ใช้วิตามินบี 6 ที่เติม $NaHCO_3$
5. pH ที่ใช้ คือ pH 9

5.1.2 การศึกษาคุณลักษณะของวิธีวิเคราะห์

1. ความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วงความเข้มข้นที่ 1-100 มิลลิกรัมต่อลิตร

2. ความเที่ยงของวิธี ที่ความเข้มข้นวิตามินบี 6 เท่ากับ 5 mg/L , 20 mg/L และ 100 mg/L จะมีค่า %RSD เท่ากับ 1.407 , 4.071 และ 7.73

3. ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (Limit of detection, LOD) และ ขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ) ค่า LOD จะได้ค่าเท่ากับ 0.4568 และค่า LOQ เท่ากับ 0.5574

4. ร้อยละการคืนกลับ ดังนี้ ที่ spiked sample ที่เติมสารมาตรฐานวิตามินบี 6 เท่ากับ 5 mg/L , 20 mg/L และ 100 mg/L จะมีค่า %recovery เท่ากับ 108.57% , 117.62% และ 91.71% ตามลำดับ ซึ่งมีค่าที่อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ

จากผลการทดลองทั้งหมดจึงสรุปได้ว่า โครงงานพิเศษนี้ประสบความสำเร็จในการพัฒนาวิธีที่ง่ายและรวดเร็วในการตรวจวัดวิตามินบี 6 และสามารถประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินบี 6 ในเครื่องดื่มเสริมวิตามินได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. เคอร์คูมินมีความว่องไวต่อแสงดังนั้น ในการเตรียมสารละลายเคอร์คูมิน ควรเตรียมในขวดสีชาเพื่อป้องกันแสงที่จะมาทำปฏิกิริยากับเคอร์คูมิน
2. ในการทำการการทดลอง ควรเตรียมสารใหม่ทุกครั้ง เพื่อให้ได้ผลที่แม่นยำ
3. พัฒนาวิธีการตรวจวัดนี้ให้เป็นชุดทดสอบภาคสนามต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

[1] F. Hadtstein, M. Vrolijk, Vitamin B-6-Induced Neuropathy: Exploring the Mechanisms of วิตามินบี 6 Toxicity. Adv Nutr. 12(5):1911-1929. https://doi.org/10.1093/advances/nmab033.

[2] C. Beckhouse, A. Schulz, C. Larter, Peripheral neuropathy with supplementary vitamin B6 (pyridoxine).[Online].Availble:https://www.tga.gov.au/news/safety-updates/peripheral-neuropathy-supplementary-vitamin-b6-pyridoxine ; ค้นหาวันที่ 6 มีนาคม 2566

[3] วิตามินบี 6 ชนิดให้เสริม อาจได้รับมากเกินจนเกิดโรคของประสาทส่วนปลาย (peripheral neuropathy). [Online]. Availble: https://pharmacy.mahidol.ac.th/dic/news_week_full.php?id=1688 ; ค้นหาวันที่ 6 มีนาคม 2566

[4] EFSA Scientific Committee on Food; Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies; Tolerable Upper Intake Levels for vitamins and minerals. EFSA J. 2006.

[5] วิตามินบี 6. พบแพทย์. สืบค้นเมื่อ 5 เมษายน 2566 จาก https://www.pobpad.com/วิตามิน บี-6

[6] Health Benefits of Vitamin B6. WebMD. สืบค้นเมื่อ 5 เมษายน 2566 จาก https://www.webmd.com/diet/health-benefits-vitamin-b6

[7] ประเภทและข้อแตกต่างของเคอร์คูมิน.สืบค้นเมื่อ 5 เมษายน 2566 จาก https://www.disthai.com/ 17269145/เคอร์คูมิน

[8] Boric Acid 99.9%. สืบค้นเมื่อ 6 เมษายน 2566 จาก https://www.pueantaechemipan.com/product

[9] UV-VIS Spectrophotometer.สืบค้นเมื่อ 6 เมษายน 2566.จากhttp://mic.eng.ku.ac.th

[10] หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ. แม้น อมรสิทธิ์ และ อมร เพชรสม. พิมพ์ครั้งที่ 1 พ.ศ. 2535. สืบค้นเมื่อ 6 เมษายน 2566

[11] หลักการและการประยุกต์ใช้สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer).สืบค้นเมื่อ 5 เมษายน 2566 จากhttps://www.entech.co.th/?lang=th

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[12] Chanita Boonkanon. (2019). Curcumin nanoparticle doped starch thin film as a green colorimetric sensor for detection of boron. ศูนย์วิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีบูรณาการคณะเทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อมมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์วิทยาเขตเพลิน เขตกะทู้ ภูเก็ต 83120 ประเทศไทย

[13] Dursun Ali Köse. (2014). Boric acid complexes with thiamine (vitamin B1) and pyridoxine (vitamin B6). Hitit University, Department of Chemistry, 19030 Ulukavak, Çorum, Turkey

[14] Chun-Yan Zhang. (2022). Investigation on the Peroxidase-like Activity of Vitamin B6 and Its Applications in Colorimetric Detection of Hydrogen Peroxide and Total Antioxidant Capacity Evaluation. School of Chemistry and Chemical Engineering, Chongqing University, Chongqing 401331

[15] Elasadic H. Kh. Adam และ Ramadan Al-Shdefat. (2015). Development and validation of a RP-HPLC method for simultaneous estimation of pyridoxine hydrochloride (Vitamin B6) and its degraded products formed under effect of different solvents, Chemical and Pharmaceutical Sciences. Al-kharj 11942, Saudi Arabia

[16] Ronald Bartzatt. (2016). Detection and Assay of Vitamin B6 (Pyridoxine Hydrochloride) Utilizing Isocratic High Performance Liquid Chromatography. Scientific Research & Reports. 28991, USA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ตาราง ก.1 ค่าการดูดกลืนแสงเมื่อทำการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดบอกริก

วิตามินบี 6 (mg/L)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร			
	ความเข้มข้นของกรดบอริก (mg/L)			
	20	50	80	100
0	0.702	0.407	0.557	0.607
1	0.688	0.401	0.532	0.591
2	0.67	0.309	0.5	0.451
10	0.584	0.184	0.437	0.386
20	0.562	0.157	0.309	0.363
50	0.636	0.107	0.245	0.45
80	0.297	0.12	0.178	0.295
100	0.119	0.089	0.101	0.252

ตาราง ก.2 ค่าการดูดกลืนแสงเมื่อทำการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของเคอร์คูมิน

วิตามินบี 6 (mg/L)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร			
	ความเข้มข้นของเคอร์คูมิน(%)			
	0.005	0.01	0.015	0.02
0	0.394	0.419	0.782	0.859
1	0.401	0.404	0.823	0.843
2	0.406	0.384	0.821	0.844
10	0.36	0.359	0.808	0.766
20	0.354	0.353	0.793	0.729
50	0.178	0.178	0.587	0.597
80	0.062	0.074	0.27	0.26
100	0.042	0.041	0.195	0.192

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ก.3 ค่าการดูดกลืนแสงเมื่อทำการศึกษาหาเวลาที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยา

วิตามินบี 6 (mg/L)	ค่าการดูกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร			
	เวลาที่ใช้ในการตรวจวัด (นาที)			
	0	1	3	5
1	0.462	0.409	0.401	0.394
10	0.379	0.367	0.36	0.353
50	0.181	0.179	0.178	0.176
100	0.042	0.042	0.042	0.043

ตาราง ก.4 ค่าการดูดกลืนแสงเมื่อทำการศึกษาผลของการเติมโซเดียมไบคาร์บอเนต

วิตามินบี 6 (mg/L)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร	
	วิตามินบี6 ที่เติม $NaHCO_3$	วิตามินบี6 ที่ไม่เติม $NaHCO_3$
0	0.5735	0.949
1	0.5495	0.9705
5	0.543	0.8745
10	0.5125	0.9395
20	0.482	0.924
50	0.4225	0.8855
80	0.325	0.689
100	0.2325	0.5145

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ก.5 ค่าการดูดกลืนแสงเมื่อทำการศึกษาพีเอชที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยา

วิตามินบี 6 (mg/L)	ค่าการดูกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร			
	ค่าพีเอชของสารละลาย			
	7	8	9	10
0	0.061	0.439	0.5735	0.4795
1	0.065	0.355	0.5495	0.4745
2	0.0485	0.352	0.543	0.5
10	0.0445	0.302	0.5125	0.501
20	0.0435	0.2295	0.482	0.53
50	0.05	0.1455	0.4225	0.5515
80	0.053	0.097	0.325	0.5845
100	0.0455	0.0905	0.2325	0.6245

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

งานทะเบียนคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

คำรับรองเล่มโครงงานพิเศษ

วันที่ 15 เดือน มิถุนายน พ.ศ 2566

ข้าพเจ้า นางสาวลักษ์คนา บู่ทอง รหัสประจำตัว 62050325

นางสาวอัจฉรานันท์ ไกลภัย รหัสประจำตัว 62050358

นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชา เคมีอุตสาหกรรม ภาควิชาเคมี

ขอรับรองว่าโครงงานพิเศษ เรื่อง

การพัฒนาวิธีการตรวจวัดเชิงสีสำหรับประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์วิตามินบี 6 ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเสริมวิตามิน

DEVELOPMENT OF A COLORIMETRIC METHOD FOR DETERMINATING OF VITAMIN B6 IN FUNCTIONAL DRINK PRODUCT

ปีการศึกษา 2566

เป็นผลงานวิจัยที่มิได้คัดลอกหรือละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่นและได้ผ่านการตรวจสอบความซ้ำซ้อนเรียบร้อยแล้ว และได้แนบเอกสารการตรวจสอบการลอกเลียนงานวรรณกรรมที่ตรวจสอบจากเล่มโครงงานพิเศษฉบับสมบูรณ์แล้ว

โปรแกรมอักขราวิสุทธิ์ 1.88 %

ลงชื่อ.....ลักษ์คนา บู่ทอง..... ลงชื่อ.....อัจฉรานันท์ ไกลภัย.....

(นางสาวลักษ์คนา บู่ทอง) (นางสาวอัจฉรานันท์ ไกลภัย)

นักศึกษา นักศึกษา

ข้าพเจ้า ผศ.ดร.อาจณรงค์ เมธาวีสรรเสริญ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ได้ตรวจสอบโครงงานพิเศษของนักศึกษาข้างต้น แล้ว ขอรับรองว่าเป็นผลงานวิจัยของนักศึกษาจริงและมีเนื้อหาสมบูรณ์ จึงลงชื่อไว้เป็นหลักฐาน

ลงชื่อ.....

อาจารย์ที่ปรึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้