

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การผลิตชุดตรวจสอบปริมาณสารเคชัโทรเมอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์
ในยาแก้ไอ

73



เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 107714
วัน,เดือน,ปี 1.0 พ.ค. 2553

b. 12211011
i.

โครงการพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**Preparation of Test Kit for Quantitative Analysis of
Dextromethorphan Hydrobromide in cough drug**

Miss. Jirapan Sae-lim

Miss. Thitimaporn Duangmanee



**A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement for
the Degree of Bachelor of Science**

Department of Chemistry

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Academic Year 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงการพิเศษเรื่อง การผลิตชุดตรวจสอบปริมาณแคชทรเมอร์แฟนไฮโดรโบรไมต์ในยาแก้ไอ

นักศึกษา นางสาวจิรพรรณ แซ่ลิ่ม
นางสาวฐิติมาพร ดวงมณี

ภาควิชา เคมี
สาขาวิชา เคมีอุตสาหกรรมเครื่องมือวิเคราะห์
อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ. คณิดา ตั้งคณานูรักษ์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผศ. นงนุช ศิวะภิญโญยศ

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้
โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ รศ. อรุณี คงศักดิ์ไพศาล	
กรรมการ อ. สุจินต์ ต้นดีพิสิฐกุล	
กรรมการ ผศ. คณิดา ตั้งคณานูรักษ์	



(ผศ. ดร. ประยงค์ ดวงดี)

หัวหน้าภาควิชา

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงการพิเศษเรื่อง การผลิตชุดตรวจสอบปริมาณสารเดกซ์โทรเมธอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์
ในยาแก้ไอ

นักศึกษา นางสาวจิรพรรณ แซ่ลิ้ม
นางสาวจิตติมาพร ดวงมณี

ภาควิชา เคมี คณะวิทยาศาสตร์
สาขาวิชา เคมีอุตสาหกรรมเครื่องมือวิเคราะห์
ปีการศึกษา 2548
อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ. คณิดา ตั้งคณาบุรุษย์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผศ. นงนุช ศิวะภิญโญยศ

บทคัดย่อ

โครงการพิเศษนี้เป็นการศึกษาเพื่อผลิตชุดตรวจสอบปริมาณเดกซ์โทรเมธอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์ในยาแก้ไอ ซึ่งเป็นวิธีการที่สามารถตรวจสอบปริมาณสารได้ง่าย สะดวกและรวดเร็ว ผู้ใช้ชุดตรวจสอบนี้ไม่จำเป็นต้องมีความเชี่ยวชาญทางด้านเคมีวิเคราะห์ก็สามารถปฏิบัติงานได้ ชุดตรวจสอบนี้ประยุกต์และพัฒนาจากการไทเทรตสารละลายเดกซ์โทรเมธอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กับกรดเปอร์คลอริก ที่จุดยุติสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีฟ้าอมเขียว จากนั้นนำผลที่ได้มาทำเป็นตารางเปรียบเทียบของชุดตรวจสอบปริมาณสารเดกซ์โทรเมธอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์ ช่วงของความเข้มข้นที่มีในตารางเปรียบเทียบจะครอบคลุมช่วงความเข้มข้นที่คาดว่ามีในตัวอย่งยาแก้ไอ ผลการวิเคราะห์หาปริมาณเดกซ์โทรเมธอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์จากชุดตรวจสอบนำไปเปรียบเทียบประสิทธิภาพกับผลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title Preparation of Test Kit for Quantitative Analysis of
Dextromethorphan Hydrobromide in cough drug

Name Miss. Jirapan Sae-lim
Miss. Thitimaporn Duangmanee
Department Chemistry Faculty of Science
Program Analytical Instrument for Industrial Chemisry
Academic Year 2548
Special Project Advisor Asst. Prof. Kanita Tungkananurug
Asst. Prof. Nongnuch Siwapinyoyod

ABSTRACT

This special project is aimed study to the preparation of the test kit for quantitative and qualitative analysis of dextromethorphan hydrobromide in cough drug. This test kit was designed to simplify and to be fast and convenient for routine testing. This was applied for develop from the titration method of dextromethorphan hydrobromide solution which different concentration with perchloric acid and the color at the end point was blue-green. The volume of perchloric acid solution at the end point was prepared to the compared table which had the concentration cover the expected concentration rage of dextromethorphan hydrobromide in cough drug. The efficiency of this test kit was evaluated by comparing with HPLC method which has been developed for standard method. It was found that the result from test kit was concerned to the result from HPLC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษนี้สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี สืบเนื่องมาจากความช่วยเหลือและคำแนะนำที่กรุณาของ ผศ. คณิตา ตั้งคณาบุรุษย์ ที่ท่านได้กรุณาให้คำแนะนำในส่วนของการทดลองและรายงาน และนอกจากนี้ขอขอบพระคุณอาจารย์ภาควิชาเคมีทุกท่านที่ช่วยอบรมสั่งสอนและมอบความรู้ให้มีแนวทางในการคิดวิเคราะห์โครงการพิเศษนี้ อีกทั้งเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเคมี เจ้าหน้าที่ธุรการภาควิชาเคมีและเจ้าหน้าที่ทุกส่วนงานที่ให้ความช่วยเหลือในทุกด้านอย่างเต็มที่เพื่อความสะดวกในการดำเนินงาน และขอขอบคุณพี่ ๆ ปริญญาโท ทุกท่านที่ให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ในการทำโครงการพิเศษนี้

ขอขอบพระคุณ รศ. อรุณี คงศักดิ์ไพศาลและอาจารย์สุจินต์ ที่กรุณาติดตาม ตรวจสอบดูแลเอาใจใส่อย่างใกล้ชิด และให้คำปรึกษาและติชมผลงานจนสำเร็จลงได้ในที่สุด

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้ากราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และบุคคลในครอบครัวที่ให้ความรัก ความเข้าใจ และเป็นกำลังใจมาโดยตลอด รวมถึงขอขอบใจเพื่อนทุก ๆ คน ที่คอยให้ความช่วยเหลือเป็นอย่างดีตลอดการนำโครงการพิเศษฉบับนี้

คณะผู้จัดทำสำนึกในพระคุณของทุกท่าน และถือโอกาสนี้กราบขอบพระคุณทุก ๆ ท่านที่ให้ความกรุณาให้กำลังใจ ให้คำปรึกษา คำแนะนำที่ดี ๆ และความอดทนกับโครงการนี้มาโดยตลอด ขอขอบพระคุณ ณ โอกาสนี้ด้วย

จิรพรรณ แซ่ลิ่ม
ฐิติมาพร ดวงมณี

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูป	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญของเนื้อหาโครงการพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ขั้นตอนการวิจัยและวิธีการดำเนินงาน	3
1.5 ผลที่คาดว่าจะได้รับ	4
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการที่เกี่ยวข้อง	5
2.1 เดกซ์โทรเมธอร์เฟน (Dextromethorphan) และอนุพันธ์	5
2.2 คริสตัลไวโอเลต	8
2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	9
บทที่ 3 การดำเนินการทดลอง	11
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้	11
3.2 วิธีการเตรียมสารละลาย	12
3.3 วิธีการทดลอง	14
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล	17
4.1 ผลการศึกษาการแยกสารเดกซ์โทรเมธอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์ โดยเทคนิควิธี HPLC	17
4.2 ผลการเตรียมชุดตรวจสอบปริมาณสารเดกซ์โทรเมธอร์เฟน ไฮโดรโบรไมด์	25
4.3 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบกับเทคนิค HPLC	28
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	29
บรรณานุกรม	31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

ภาคผนวก	หน้า
ภาคผนวก ก ทฤษฎี Liquid Chromatography	32
ภาคผนวก ข การวิเคราะห์โดยการวัดปริมาตร	44
ภาคผนวก ค ผลการไทเทรต	47
ภาคผนวก ง โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานเดกซ์โทรเมธอร์ เฟนไฮโดรโบรไมด์ ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC	56



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 โครงสร้างของเดกซ์โทรเมอร์เฟน	5
2.2 โครงสร้างของคริสตัลไวโอเลต	8
2.3 ปฏิกริยาการเกิดสีของคริสตัลไวโอเลต	8
4.1 โครมาโทแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC ที่มีอัตราส่วนระหว่าง อะซิโทไนไตรล์กับน้ำเท่ากับ 70: 30	18
4.2 โครมาโทแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC ที่มีอัตราส่วนระหว่าง อะซิโทไนไตรล์กับน้ำเท่ากับ 60: 40	19
4.3 โครมาโทแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC ที่มีอัตราส่วนระหว่าง อะซิโทไนไตรล์กับน้ำเท่ากับ 50: 50	20
4.4 โครมาโทแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC ที่มีอัตราส่วนระหว่าง อะซิโทไนไตรล์กับน้ำเท่ากับ 40: 60	21
4.5 โครมาโทแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC ที่มีอัตราส่วนระหว่าง อะซิโทไนไตรล์กับน้ำเท่ากับ 30: 70	22
4.6 กราฟมาตรฐานของสารละลายเดกซ์โทรเมอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์ ความเข้มข้น 50-120 ppm	24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1.1 ขั้นตอนและระยะเวลาในการดำเนินโครงการพิเศษ	3
4.1 ตารางแสดงผลการทดสอบอัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่	17
4.2 ตารางแสดงผลการทดสอบอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่	23
4.3 ตารางแสดงพื้นที่ใต้พิกเฉลี่ยกับปริมาณสารเดกซ์โทรเมธอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์เฉลี่ยของกราฟมาตรฐาน	24
4.4 ตารางแสดงผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารเดกซ์โทรเมธอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์ที่ทำการทดลองซ้ำ 7 ครั้ง	25
4.5 ตารางแสดงผลการไทเทรตสารละลายมาตรฐานเดกซ์โทรเมธอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์ 50 ppm ด้วยสารละลายกรดเปอร์คลอริก 0.001 โมลาร์	26
4.6 ตารางชุดตรวจสอบปริมาณสารเดกซ์โทรเมธอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์	27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของเนื้อหาโครงการงานพิเศษ

ในปัจจุบันมีการนำสารเดกซ์โทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์ (Dextromethorphan Hydrobromide) มาผสมในยาแก้ไอเป็นจำนวนมาก ทั้งในรูปแบบของยาเม็ด ยาน้ำเชื่อมและยาอม แต่เนื่องจากเดกซ์โทรเมธอร์แฟนเป็นอนุพันธ์ของโคเดอีน (Codeine) ถ้าได้รับในปริมาณมากเกินไปขนาดที่มีผลในการรักษาจะออกฤทธิ์เหมือนได้รับสารเสพติดและอาจเป็นอันตรายถึงแก่ชีวิตได้ เมื่อคนเราได้รับยาที่มีเดกซ์โทรเมธอร์แฟนเข้าไปแล้วร่างกายจะดูดซึมอย่างรวดเร็วจากทางเดินอาหารและจากนั้นก็เกิดเมตาบอลิซึมที่ตับ โดยกระบวนการ O- และ N-demethylation เดกซ์โทรเมธอร์แฟนจะเปลี่ยนเป็นเดกซ์โทรแฟน (Dextrophan) หรือเมทอกซ์มอร์ฟีนแนน (Methoxymorphinan) ขึ้นอยู่กับกระบวนการ O- หรือ N-demethylation ตามลำดับ

การได้รับยาแก้ไอที่มีเดกซ์โทรเมธอร์แฟนในปริมาณที่อยู่ในขนาดที่แพทย์สั่งจะไม่ทำให้เกิดอันตราย แต่ในปัจจุบันมีการนำยาแก้ไอที่มีเดกซ์โทรเมธอร์แฟนมาใช้ในทางที่ผิด เช่น นำยาแก้ไอในรูปแบบน้ำเชื่อมขนาดที่ใช้คือ 100 มิลลิลิตร (300 มิลลิกรัม) ผสมกับเครื่องดื่มพวกโคคาโคล่า อาหารที่พบคือ เคลิมเคลิมเป็นสุข เพิ่มการรับรู้ต่อแสง เสียง ประสาทหลอน มึนงง คลื่นไส้ ชิมเสียว ถึงแม้ยาแก้ไอที่มีเดกซ์โทรเมธอร์แฟนจะเป็นยาควบคุมแต่ก็สามารถหาซื้อได้ง่ายตามร้านขายยาทั่วไป จึงมีความเสี่ยงที่จะถูกนำมาใช้ในทางที่ผิด ในปัจจุบันจึงมีการวิเคราะห์หาปริมาณของเดกซ์โทรเมธอร์แฟนมากขึ้นเพื่อเป็นประโยชน์ในการบริโภคและควบคุมการผลิตให้อยู่ในระดับที่ปลอดภัยสำหรับผู้บริโภค จากการค้นคว้าวารสารทางวิทยาศาสตร์พบว่ามีการพัฒนาวิธีที่ใช้วิเคราะห์หาปริมาณของเดกซ์โทรเมธอร์แฟนและอนุพันธ์หลายวิธี ซึ่งมีประสิทธิภาพในการหาปริมาณสูงและรวดเร็ว สามารถวิเคราะห์ได้ในปริมาณที่น้อย แต่หลาย ๆ วิธีมีขั้นตอนที่ซับซ้อนยุ่งยาก เครื่องมือวิเคราะห์มีขนาดใหญ่ ราคาแพง และต้องใช้ผู้วิจัยที่มีเชี่ยวชาญมาก

ดังนั้นการศึกษาโครงการงานพิเศษในครั้งนี้ได้คิดค้นเพื่อเตรียมชุดตรวจสอบสารเดกซ์โทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์ที่ใช้ได้โดยง่ายและสะดวก ไม่ต้องพึ่งพาเครื่องมือที่มีขนาดใหญ่และราคาแพง สามารถทราบผลในระยะเวลาอันสั้น ผู้ใช้ไม่จำเป็นต้องมีความเชี่ยวชาญด้านเคมีวิเคราะห์มากนัก และให้ผลตรวจสอบที่สอดคล้องกับวิธีมาตรฐาน ซึ่งในที่นี้จะใช้วิธีวิเคราะห์โครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) ตามวิธีของเอกสารมาตรฐาน United State Pharmacopeia ชุดตรวจสอบที่จะเตรียมขึ้นนี้พัฒนามาจากวิธีการไทเทรต (Titration)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หาปริมาณเดกซ์โทรเมอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์ของ USP โดยคณะผู้วิจัยจะทำการศึกษาหาปริมาณหรือจำนวนหยดที่แน่นอนของสารไทเทรนต์ (Titrant) ที่ใช้ในการไทเทรตสารละลายมาตรฐานเดกซ์โทรเมอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์แต่ละความเข้มข้น ซึ่งครอบคลุมปริมาณที่กองควบคุมวัตถุเสพติด สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุขกำหนดไว้และทำเป็นตารางเปรียบเทียบของชุดตรวจสอบปริมาณเดกซ์โทรเมอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์ วิธีที่ใช้ชุดตรวจสอบเดกซ์โทรเมอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์เพียงแต่นำสารละลายตัวอย่างยาแก้ไอที่ผ่านขั้นตอนการเตรียมมาเติมรีเอเจนต์ (reagent) ตามที่ชุดตรวจสอบกำหนดให้ แล้วบันทึกปริมาตรไทเทรนต์จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีฟ้าอมเขียว นำปริมาตรหรือจำนวนหยดของไทเทรนต์ไปเปรียบเทียบกับตารางของชุดตรวจสอบ โดยจะมีการประเมินความถูกต้องและประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบโดยนำตัวอย่างไปวิเคราะห์ด้วยวิธีมาตรฐานด้วยเครื่อง HPLC

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อพัฒนาวิธีการต่าง ๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการให้เป็นชุดตรวจสอบปริมาณสารเดกซ์โทรเมอร์แฟนที่มีวิธีการที่ง่าย สะดวก ประหยัด และไม่ต้องพึ่งพาเครื่องมือที่มีราคาแพง
2. เพื่อผลิตชุดตรวจสอบปริมาณเดกซ์โทรเมอร์แฟนที่ใช้งานได้จริงและมีประสิทธิภาพ โดยสามารถบ่งบอกได้ว่าตัวอย่างยาแก้ไอมีสารเดกซ์โทรเมอร์แฟนอยู่หรือไม่ และมีในปริมาณประมาณเท่าไร ซึ่งเป็นปริมาณที่สอดคล้องกับปริมาณที่ได้จากวิธีมาตรฐาน

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของ HPLC เช่น อัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่, อัตราการไหลและสร้างกราฟมาตรฐาน
 1. ศึกษาวิธีการเตรียมชุดตรวจสอบปริมาณสารเดกซ์โทรเมอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์และตารางเปรียบเทียบ
 2. ศึกษาประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบที่เตรียมได้โดยการนำไปตรวจสอบในตัวอย่างยาแก้ไอและเปรียบเทียบผลที่ได้กับวิธีมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ขั้นตอนการวิจัยและวิธีการดำเนินงาน

ตารางที่ 1.1 ขั้นตอนและระยะเวลาในการดำเนินโครงการพิเศษ

ขั้นตอนงานวิจัย และดำเนินการ	ระยะเวลาในการดำเนิน											
	การทดลอง											
	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	ม.ค.	ก.พ.	มี.ค.	
1. ศึกษาและ ค้นคว้าข้อมูล	←————→											
2. ตั้งวัตถุประสงค์ และขอบเขต	←————→											
3. จัดทำเค้า โครงงานวิจัย	←————→											
4. เสนอเค้า โครงงานวิจัย						↔						
5. เตรียมอุปกรณ์ และสารเคมี					↔							
6. ดำเนินการ ทดลอง												
6.1 การเตรียม สารละลาย					←————→							
6.2 การเตรียมชุด ตรวจสอบปริมาณ สารเดกซ์โทร เมอร์แฟน				←————→								
6.3 การวิเคราะห์ หาปริมาณเดกซ์ โทรเมอร์แฟนใน ตัวอย่างยาแก้ไอ					←————→							

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอนงานวิจัย และดำเนินการ	ระยะเวลาในการดำเนิน											
	การทดลอง											
	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	ม.ค.	ก.พ.	มี.ค.	
6.4 การประเมินผล และเปรียบเทียบ ประสิทธิภาพของ ชุดตรวจสอบ					←						→	
7. รวบรวมและ วิเคราะห์									←	→		
8. สรุปผลและ วิจารณ์											←	→
9. ค้นคว้าข้อมูล เพิ่มเติม							←	→				
10. จัดทำรูปเล่ม รายงาน										←	→	
11. เตรียมเสนอ โครงการพิเศษ										←	→	
12. เสนอโครงการ พิเศษ												↔

1.5 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ชุดตรวจสอบปริมาณสารเคช้โทรเมธอร์แฟนที่ใช้งานง่าย มีประสิทธิภาพ รวดเร็ว และราคาถูก
2. เพื่อเป็นแนวทางในการวิเคราะห์หาปริมาณเคช้โทรเมธอร์แฟนในตัวอย่างอื่น ๆ ได้
3. เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาชุดตรวจวัดปริมาณสารชนิดอื่น ๆ ที่มีในตัวอย่างยาได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

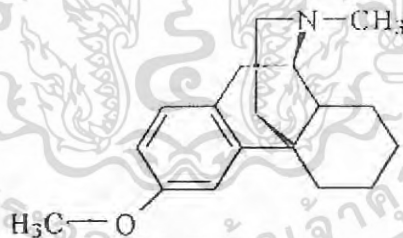
บทที่ 2

ทฤษฎีและหลักการที่เกี่ยวข้อง

2.1 เดกโทรเมธอร์แฟน (Dextromethorphan) และอนุพันธ์

2.1.1 คุณสมบัติของเดกโทรเมธอร์แฟน

เดกโทรเมธอร์แฟน (Dextromethorphan) หรือ d-3-methoxy-N-methylmorphinan เป็น d-isomer ของ codeine analog ของ levorphanol (levorphanol เป็นยาที่จัดอยู่ในกลุ่ม opioid agonist) มีฤทธิ์เป็นเบส มีจุดหลอมเหลว 122-124 °C และมีมวลโมเลกุล 271.41 ถูกนำมาใช้เป็นยาแก้ไอโดยอาจใช้เดี่ยว ๆ หรือใช้ร่วมกับยาในกลุ่ม ถึงแม้ว่าเดกซ์โทรเมธอร์แฟน (Dextromethorphan) จะมีสูตรโครงสร้างคล้ายคลึงกับมอร์ฟีน (Morphine) แต่ไม่มีฤทธิ์แก้ปวด และมีฤทธิ์ระงับประสาทเพียงเล็กน้อย เมื่อยาแก้ไอเดกซ์โทรเมธอร์แฟนเข้าสู่ร่างกายจะถูกดูดซึมอย่างรวดเร็วจากทางเดินอาหาร และถูก metabolized ที่ตับโดยกระบวนการ O- และ N-demethylation แล้ว conjugate กับ sulfate และ glucuronic acid ซึ่งถูกขับออกจากร่างกายทางปัสสาวะต่อไป metabolite ส่วนใหญ่ที่ได้คือ เดกซ์โทรแฟน (dextrophan) ซึ่งยังคงมีฤทธิ์แก้ไอแต่น้อยกว่าเดกซ์โทรเมธอร์แฟน



รูปที่ 2.1 โครงสร้างของเดกซ์โทรเมธอร์แฟน

2.1.2 กลไกการออกฤทธิ์

Dextromethorphan เป็น dextro isomer ของ Levorphanol ซึ่งเป็น analog ของ codeine สามารถลดอาการไอโดยออกฤทธิ์ที่ศูนย์ควบคุมการไอในสมองส่วนเมดูลลา (medulla) หรือสมองส่วนกลาง โดยเพิ่ม threshold ศูนย์ควบคุมการไอ (ออกฤทธิ์กระตุ้นที่ opiate s-receptors) แต่ไม่มีฤทธิ์อื่นๆ ของอนุพันธ์ฝิ่น เช่น ระงับปวด กดการหายใจ และ ไม่ทำให้เสพติด ในขนาด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่แนะนำให้ใช้ ยาถูกดูดซึมจากทางเดินอาหารได้ดี ระยะเวลาที่เริ่มออกฤทธิ์ประมาณ 15-30 นาที และมีช่วงระยะเวลาออกฤทธิ์นาน 5-6 ชั่วโมง

2.1.3 อันตรายจากการใช้ยา

โดยปกติ dextromethorphan เป็นยาที่ปลอดภัยในขนาดที่ใช้คือ 15-30 มิลลิกรัม แต่ผู้ใช้ใช้ในทางที่ผิด มักใช้ในปริมาณที่สูง โดยมักใช้มากกว่า 360 มิลลิกรัม ซึ่งจะทำให้เกิดอาการประสาทหลอนและมีอาการเหมือนได้รับ phencyclidine หรือ ketamine และยาจะมีฤทธิ์อยู่ประมาณ 6 ชั่วโมง ผู้ใช้ยาอาจทำอันตรายแก่ตนเองและผู้อื่นได้ เนื่องจากผลของยาที่ทำให้เกิดภาพหรือการรับรู้หลอน

พียงเทียบพลันจากการได้รับ dextromethorphan เกินขนาด ได้แก่ คลื่นไส้ อาเจียน เวียนศีรษะ ง่วงงม กล้ามเนื้อทำงานไม่ประสานกัน พูดไม่ชัด ม่านตาขยาย เคลิบเคลิ้ม หัวใจเต้นเร็ว ความดันโลหิตสูง ปัสสาวะไม่ออก มึนงง ประสาทหลอน กระวนกระวาย สั่น ชัก ปวดศีรษะ เซลล์สมองถูกทำลายถาวร หมดสติ และอาจถึงแก่ชีวิตได้

2.1.4 รูปแบบเภสัชภัณฑ์

- ชนิดเม็ด มีทั้งสูตรยาเดี่ยว เช่น Romilar® , Dexamet® ขนาดความแรง 15 มก./เม็ด และสูตรยาผสมมักผสมร่วมกับยาลดน้ำมูก เช่น Dextromine®
- ชนิดน้ำส่วนใหญ่เป็นสูตรยาผสม เช่น Robitussin DM® , Dextro osoth®

2.1.5 การควบคุมตามกฎหมาย

จัดเป็นยาอันตราย ตาม พ.ร.บ.ยา พ.ศ. 2510

2.1.6 ข้อมูลอื่น ๆ ที่สำคัญ

ชื่อการค้าที่มีจำหน่าย

เดค (DEC), คอร์ทุส (Cortuss), ดีทุซ (Detuss), ทุซโค (Tusco), ทุซซิล (Tussils 5)

รูปแบบยาที่มีจำหน่าย

- ยาเม็ด ขนาด 15 มิลลิกรัม
- ยาน้ำเชื่อม ความแรง 10 มิลลิกรัมต่อ 5 มิลลิลิตร (1 ช้อนชา)
- ยาอม ขนาด 5 มิลลิกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โรคหรืออาการที่ใช้ยานี้

ยานี้ใช้บรรเทาอาการไอชนิดไม่มีเสมหะ เช่น ไอจากโรคหวัด

ยานี้มีวิธีการใช้อย่างไร

1) ขนาดใช้ในเด็ก

อายุต่ำกว่า 2 ปี: ใช้ตามแพทย์สั่งเท่านั้น

อายุ 2-5 ปี: รับประทานยาน้ำเชื่อมครึ่งละก่อน (1/4)-1 ช้อนชา วันละ 3-4 ครั้ง เมื่อมีอาการ

ไอ

อายุ 6-12 ปี: รับประทานยาน้ำเชื่อมครึ่งละครึ่ง (1/2)-1 ช้อนชา ทุก 4 ชั่วโมงหรือยาเม็ดครึ่งละ 1 เม็ด ทุก 6-8 ชั่วโมงตามอาการที่เป็น สำหรับยาอม ให้อมครึ่งละ 1 เม็ด ทุก 4 ชั่วโมง

2) ขนาดใช้ในเด็กอายุมากกว่า 12 ปีและผู้ใหญ่ รับประทานยาน้ำเชื่อมครึ่งละ 1 ช้อนชา ทุก 4 ชั่วโมงหรือ ยาเม็ด ครึ่งละ 2 เม็ด ทุก 6-8 ชั่วโมงตามอาการที่เป็น สำหรับยาอมให้อมต่อเนื่อง 2 เม็ด ทุก 4-8 ชั่วโมง

ถ้าลืมรับประทานยานี้ควรทำอย่างไร

ให้รับประทานยาทันทีที่นึกได้ ถ้าใกล้กับเวลารับประทานครั้งต่อไป ไม่ต้องรับประทานยาที่ลืมนั้น ให้รับประทานยาตามปกติโดยไม่ต้องเพิ่มเป็น 2 เท่า

ข้อควรระวังในการใช้ยา

- ผู้ป่วยโรคตับ โรคหอบหืด ควรปรึกษาเภสัชกรก่อนใช้ยานี้
- เด็กเล็ก ผู้สูงอายุ ควรปรึกษาเภสัชกรก่อนใช้ยานี้

การเก็บรักษา

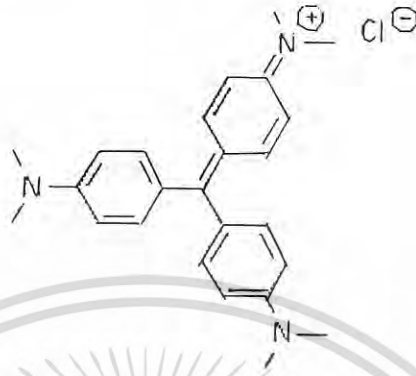
- เก็บยาให้พ้นมือเด็ก
- ไม่เก็บยาในที่ที่ถูกร้อนหรือแสงโดยตรง
- ไม่เก็บยาในที่ที่มีความชื้น
- เก็บยาน้ำในที่เย็น
- ไม่ควรเก็บยาที่หมดอายุหรือเก็บยาที่ไม่ได้ใช้แล้ว

คำแนะนำพิเศษในการใช้ยานี้

- ยานี้ใช้ระงับอาการไอที่มีสาเหตุจากโรคไม่รุนแรง
- ไม่ควรใช้ยานี้เป็นเวลานาน
- ไม่ควรใช้ยานี้เมื่อมีเสมหะมาก

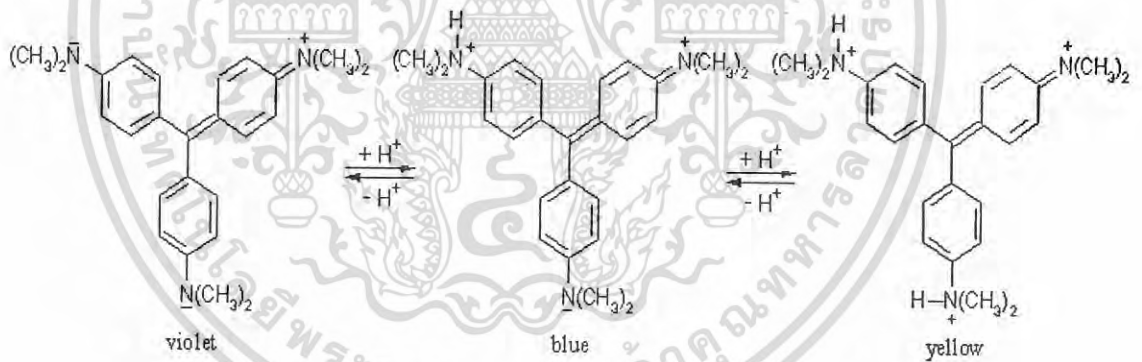
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 คริสตัลไวโอเลต (Crystal violet)



รูปที่ 2.2 โครงสร้างของคริสตัลไวโอเลต

คริสตัลไวโอเลตเป็นอินดิเคเตอร์ ใช้เพื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย แสดงปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสีของคริสตัลไวโอเลตดังรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 ปฏิกิริยาการเกิดสีของคริสตัลไวโอเลต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นับญาติให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. Oi-Wah Lau and Chuen-shing Mok (1995) วิธี HPLC ที่ใช้การตรวจวัดค่าการนำไฟฟ้าทางอ้อมได้นำมาศึกษาถึงการวิเคราะห์หาปริมาณองค์ประกอบที่สำคัญทั้ง 8 ชนิดพร้อม ๆ กันในยาน้ำแก้ไอ-แก้หวัด วิธีนี้ใช้คอลัมน์ (250 mm x 4.6 mm) เป็น Cyano column ที่มีขนาดของอนุภาค 5 μm และขนาดรูของอนุภาค 80 \AA เป็นเฟสอยู่กับที่และสารผสมระหว่างน้ำ acetonitrile และ ethanol (38: 60: 2) และมี 1 mM ของ perchloric acid อยู่เป็นเฟสเคลื่อนที่ องค์ประกอบที่สำคัญของยาน้ำแก้ไอ-แก้หวัด ประกอบด้วย bromhexine hydrochloride, chlorpheniramine maleate, codeine phosphate, dextromethorphan hydrobromide, diphenhydramine hydrochloride, ephedrine hydrochloride, papaverine hydrochloride, phenylephrine hydrochloride

ปัจจัยที่มีผลต่อความสามารถในการแยกของคอลัมน์ขององค์ประกอบที่สำคัญของยาถูกศึกษา กราฟมาตรฐานแสดงที่ช่วงความเข้มข้นระหว่าง 0-500 $\mu\text{g/ml}$ สำหรับปริมาณตัวอย่าง 20 μl ซึ่งได้ค่า correlation coefficient มากกว่า 0.999 สำหรับตัวยาทุกชนิดที่ทำการศึกษา ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ที่ได้จากการวัดองค์ประกอบของตัวยาแต่ละชนิดใน ยาน้ำแก้ไอแก้หวัด 10 ครั้งได้ค่าต่ำกว่า 3 % วิธีนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณองค์ประกอบที่สำคัญของยาน้ำแก้ไอ-แก้หวัดได้

2. Jussi-Pekka Rauha และคณะ (1996) ศึกษาการพัฒนา Liquid Chromatography สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณสารต่าง ๆ ในยาน้ำแก้ไอน้ำเชื่อม เช่น Bromhexine hydrochloride, methyl และ propyl *p*-hydroxybenzoate รวมทั้งเดกซ์โทรเมธอร์เฟน (dextromethorphan) ใช้วิธี A ในการวิเคราะห์หา Bromhexine hydrochloride, methyl และ propyl *p*-hydroxybenzoate. โดยมีสารละลายผสมระหว่าง acetonitrile : สารละลาย aqueous 15 mM triethylamine (43 : 57) เป็นเฟสเคลื่อนที่ และใช้วิธี B ซึ่งมีสารละลายผสมระหว่าง methanol : สารละลาย aqueous 3% ammonium formate buffer เป็นเฟสเคลื่อนที่ ทั้งสองวิธีใช้คอลัมน์แบบ reversed-phase มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 150 mm x 3.9 mm มี C_{18} เป็นเฟสคงที่สำหรับใช้กับวิธี A และเฟสคงที่ชนิด phenyl สำหรับวิธี B ใช้เครื่องตรวจวัดแบบ UV ซึ่งมีความยาวคลื่น 245 นาโนเมตรและ 278 นาโนเมตรสำหรับวิธี A และ B ตามลำดับ และสารละลายต้องมีการค่า pH 3.9 ด้วย orthophosphoric

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. V. Tantishaiyakul, C. Poeaknapo, P. Sribun and K. Sirisuppanon (1998) ศึกษาถึงเทคนิค HPLC ซึ่งเป็นวิธีที่รวดเร็วกว่าและง่ายสำหรับการวิเคราะห์หา dextromethorphan HBr และ bromhexine HCl ในยาเม็ดโดยวัดที่ความยาวคลื่น 234 และ 324 nm ตามลำดับ กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรงซึ่งได้ค่า correlation coefficient เท่ากับ 0.999 สำหรับตัวอย่างทั้งสองที่ทำการวิเคราะห์ จีดีจำกัดของการตรวจวัดเท่ากับ 0.033 และ 0.103 $\mu\text{g} / \text{ml}^{-1}$ สำหรับ dextromethorphan HBr และ bromhexine HCl ตามลำดับ เทคนิค HPLC ถูกพัฒนามาเป็นเทคนิคอ้างอิง ผลที่ได้จากเทคนิค first-derivative spectrophotometry อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้เมื่อเทียบกับเทคนิค HPLC

4. Minoo Afshar และคณะ (2004) ศึกษาการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณเดกซ์โทรเมธอร์แฟน (Dextromethorphan) และอนุพันธ์ในตัวอย่างพลาสมาของคน สำหรับการวิจัยในครั้งนี้ ได้พัฒนาและใช้วิธี Simple and selective high performance liquid-chromatography เป็นวิธีวิเคราะห์หาปริมาณของเดกซ์โทรเมธอร์แฟนและอนุพันธ์หลักที่เกิดจากการเมตาบอลิซึมของเดกซ์โทรเมธอร์แฟนในพลาสมาของคนพร้อม ๆ กันซึ่งใช้การตรวจวัดแบบฟลูออโรเมตริก วิธีการทดลองนี้ยังรวมถึงการศึกษาก่อนการตกตะกอนของโปรตีนอย่างง่ายและรวดเร็ว โดยใช้สารละลายผสมของ ZnSO_4 และเมทานอล การวิเคราะห์ที่ใช้คอลัมน์ชนิด C_{18} Tracer Excel ขนาดอนุภาคที่บรรจุภายในคอลัมน์ 3 ไมโครเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางคอลัมน์ 15×0.4 เซนติเมตร การไหลของเฟสเคลื่อนที่เป็นแบบ gradient elution และเฟสเคลื่อนที่ A ประกอบด้วยโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH = 3, 0.01 M) : เมทานอล : เตตระไฮโดรฟลูอแรน (68.5 : 31 : 0.5) และเฟสเคลื่อนที่ B ประกอบด้วย เมทานอล : เตตระไฮโดรฟลูอแรน (93.25 : 6.75) ซึ่งการสร้างกราฟมาตรฐานของเดกซ์โทรเมธอร์แฟน, เดกซ์โทรแฟน (dextrophan) และไฮดรอกซีมอร์ฟีน (hydroxymorphinan) อยู่ในช่วง 10-500 ng/ml แต่ละสารประกอบมีค่าปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (LOQ) 10 ng/ml การทดสอบภายในวันเดียวกันและคนละวันมีความเที่ยงสูงสุด 7.4 และ 7.8% ตามลำดับ ความแม่นยำที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน 4 ระดับอยู่ในช่วง 88.2 – 111.5% เปอร์เซ็นต์ recovery อยู่ระหว่าง 88.0 – 108.6% วิธีวิเคราะห์ถูกพัฒนาให้สำเร็จเพื่อวัดอัตราการเกิดเมตาบอลิซึมของเดกซ์โทรเมธอร์แฟน หลังการให้ยารับประทานที่มีเดกซ์โทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์ (Dextromethorphan HBr) 30 mg

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

การดำเนินการทดลอง

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้

3.1.1 สารเคมี

1. สารมาตรฐานเดกซ์โทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์ (Dextromethorphan Hydrobromide : $C_{18}H_{25}NO \cdot HBr$), ASSAN Reference Standard
2. อะซีโตนไทรล์ (Acetonitrile: CH_3CN) เกรด HPLC บริษัท Fisher Scientific UK Limited
3. แอมโมเนียมไนเตรท (Ammonium nitrate: NH_4NO_3) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Ajax Finechem: A division of Asia Pacific Specialty Chemicals Limited
4. คริสตัลไวโอเลต (Crystal violet: $C_{25}H_{30}ClN_3$) บริษัท Merck
5. กรดแกลเซียลอะซิติก (Glacial acetic acid: CH_3COOH) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Carlo Erba
6. กรดเปอร์คลอริก (Perchloric acid: $HClO_4$) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Merck
7. โพแทสเซียมไฮโดรเจนฟทาเลต (Potassiumhydrogenphthalate:KHP)
8. น้ำกลั่นปราศจากไอออน (Deionization water)
9. น้ำกลั่น
10. ตัวอย่างยาแก้ไอ

3.1.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1. เครื่องโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูงพร้อมเครื่องตรวจวัดยูวี (High performance Liquid chromatography with UV detector) รุ่น Waters 486
2. คอลัมน์ (Column) C_{18} 5 μm 4.6 x 150 mm
3. เครื่องอัลตราโซนิก (Ultrasonic)
4. เมมเบรน (Membrane) ที่มีขนาดรูพรุน 0.45 μm
5. เครื่องกรองสุญญากาศแบบลดความดัน
6. เครื่องชั่งน้ำหนักละเอียดชนิด 4 ตำแหน่ง (analytical balance) รุ่น 205A บริษัท Precisa
7. เครื่องวัดพีเอช (pH meter) รุ่น 713 pH meter บริษัท Metromh
8. เข็มฉีดยา (Syringe)
9. เครื่องแก้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 วิธีการเตรียมสารละลาย

3.2.1 สารละลายสต็อกเดกซ์โทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์เข้มข้น 150 ppm สำหรับเทคนิค HPLC

1) ชั่งน้ำหนักสารเดกซ์โทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์ ประมาณ 37.5 มิลลิกรัม (โดยละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ละลายด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน แล้วถ่ายสารละลายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนจนถึงขีดบอกปริมาตร

3.2.2 สารละลายสต็อกเดกซ์โทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์เข้มข้น 1000 ppm สำหรับชุดตรวจสอบ

1) ชั่งน้ำหนักสารเดกซ์โทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์ประมาณ 250 มิลลิกรัม (โดยละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ละลายด้วยกรดกลูเซียมซัลเฟตแล้วถ่ายสารละลายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยกรดกลูเซียมซัลเฟตจนถึงขีดบอกปริมาตร

3.2.3 สารละลายแอมโมเนียมไนเตรทเข้มข้น 0.007 โมลาร์

1) ชั่งน้ำหนักแอมโมเนียมไนเตรทประมาณ 0.0140 กรัม (โดยละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ละลายด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน แล้วถ่ายสารละลายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนจนถึงขีดบอกปริมาตร

3.2.4 สารละลายเฟสเคลื่อนที่

1) กรองอะซีโทไนไตรล์และน้ำกลั่นปราศจากไอออนด้วยเครื่องกรองสำหรับกรองสารละลายที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

2) นำอะซีโทไนไตรล์และน้ำกลั่นปราศจากไอออนผสมกันในอัตราส่วนต่างๆของอะซีโทไนไตรล์กับน้ำ เท่ากับ 30: 70, 40: 60, 50: 50, 60:40 และ 70: 30

3) เทสารละลายที่ผสมแต่ละอัตราส่วนลงในขวดวัดปริมาตรและเติมแอมโมเนียมไนเตรทเข้มข้น 0.007 โมลาร์ ลงไป

4) ปรับค่า pH ของสารละลายเท่ากับ 3.4 ด้วย กรดกลูเซียมซัลเฟต

5) นำสารละลายผสมมาทำการไล่ฟองอากาศด้วยเครื่องอัลตราโซนิก ประมาณ 10 นาที หรือจนกว่าฟองอากาศจะหมด

3.2.5 สารละลายกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น 0.1 โมลาร์

1) ปิเปตกรดเปอร์คลอริก 70 % โดยปริมาตรมา 0.94 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยกรดกลีเซอซิดิกจนถึงขีดบอกปริมาตรจะได้สารละลายกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น 0.1 โมลาร์

3.2.6 สารละลายกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น 0.001 โมลาร์

1) ปิเปตกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่เตรียมได้จากข้อ 3.2.5 มา 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยกรดกลีเซอซิดิกจนถึงขีดบอกปริมาตรจะได้กรดเปอร์คลอริกเข้มข้น 0.001 โมลาร์

2) ทำการเทียบมาตรฐานเพื่อหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายกรดเปอร์คลอริกด้วยโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต โดยใช้คริสตัลไวโอเลตเป็นอินดิเคเตอร์

3.2.7 สารละลายตัวอย่างยาแก้ไอ

สำหรับเทคนิค HPLC

ตัวอย่างยาแก้ไอชนิดเม็ด

- 1) ชั่งน้ำหนักยาเม็ดแก้ไอ จดบันทึกน้ำหนักและนำตัวอย่างยาเม็ดแก้ไอมาบดให้ละเอียด
- 2) ชั่งตัวอย่างยาแก้ไอที่บดแล้วประมาณ 10 มิลลิกรัม (โดยละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง)
- 3) ละลายตัวอย่างยาแก้ไอด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน แล้วถ่ายสารละลายตัวอย่างยาแก้ไอลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนจนถึงขีดบอกปริมาตร
- 4) นำสารละลายตัวอย่างยาแก้ไอที่เตรียมได้มากรองด้วยเครื่องกรองเมมเบรนซึ่งมีขนาดรูพรุน 0.45 ไมโครเมตร

ตัวอย่างยาแก้ไอน้ำเชื่อม

- 1) ปิเปตตัวอย่างยาแก้ไอมา 10 มิลลิลิตรใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร
- 2) ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนจนถึงขีดบอกปริมาตร
- 3) นำสารละลายตัวอย่างยาแก้ไอที่เตรียมได้มากรองด้วยเครื่องกรองเมมเบรนซึ่งมีขนาดรูพรุน 0.45 ไมโครเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับเตรียมชุดตรวจสอบ

ตัวอย่างยาแก้ไอชนิดเม็ด

- 1) ชั่งน้ำหนักยาเม็ดแก้ไอ จดบันทึกน้ำหนักและนำตัวอย่างยาเม็ดแก้ไอมาบดให้ละเอียด
- 2) ชั่งตัวอย่างยาแก้ไอที่บดแล้วประมาณ 10 มิลลิกรัม (โดยละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง)
- 3) ละลายตัวอย่างยาแก้ไอด้วยกรดแกลเชียลอะซิติก แล้วถ่ายสารละลายลงในขวดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยกรดแกลเชียลอะซิติก จนถึงขีดบอกริมาตร

ตัวอย่างยาแก้ไอน้ำเชื่อม

- 1) ปิเปตตัวอย่างยาแก้ไอมา 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร
- 2) ปรับปริมาตรด้วยกรดแกลเชียลอะซิติกจนถึงขีดบอกริมาตร

3.3 วิธีทดลอง

3.3.1 ศึกษาหาอัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสม

นำสารละลายมาตรฐานเดกซ์โทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์เข้มข้น 50 ppm ซึ่งเตรียมได้จากสารละลายสต็อกเดกซ์โทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์ในข้อ 3.2.1 ฉีดปริมาตร 20 ไมโครลิตร ใช้ตัวตรวจวัด UV ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตรและปรับเปลี่ยนเฟสเคลื่อนที่โดยใช้อัตราส่วนระหว่างอะซีโทไนโตรลกับน้ำ ดังนี้ 30: 70, 40: 60, 50: 50, 60: 40 และ 70: 30 ที่เตรียมได้จากข้อ

3.2.4

3.3.2 ศึกษาอัตราการไหล

ฉีดสารละลายมาตรฐานเดกซ์โทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์เข้มข้น 50 ppm ซึ่งเตรียมได้จากสารละลายสต็อกเดกซ์โทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์ในข้อ 3.2.1 ฉีดปริมาตร 20 ไมโครลิตร ใช้ตัวตรวจวัด UV ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตรและปรับเปลี่ยนอัตราการไหลดังนี้ 0.5, 1.0 และ 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที

3.3.3 เตรียมกราฟมาตรฐานของสารละลายเดกซ์โทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์

1) เตรียมสารละลายมาตรฐานเดกซ์โทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์ จากสารละลายสต็อกเดกซ์โทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์ในข้อ 3.2.1 ในขวดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน ให้ได้ความเข้มข้น 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110 และ 120 ppm ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) จากข้อ 3.3.1 และ 3.3.2 ใช้อัตราส่วนระหว่างอะซีโทไนท์รลกับน้ำที่เหมาะสมคือ 40: 60 และอัตราการไหล 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที

3) ฉีดสารละลายมาตรฐานเดกซ์โทรเมธอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์ ที่เตรียมแต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ฉีดเข้าเครื่อง HPLC ตามลำดับ

4) นำค่าที่ได้มาพลอตกราฟมาตรฐานระหว่างพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเดกซ์โทรเมธอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์

3.3.4 ตรวจสอบปริมาณเดกซ์โทรเมธอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์ในตัวอย่างยาแก้ไอ

1) นำสารละลายตัวอย่างยาแก้ไอที่เตรียมได้จากข้อ 3.2.7 มาวิเคราะห์หาปริมาณเดกซ์โทรเมธอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์ด้วยเครื่อง HPLC โดยฉีดสารละลายปริมาตร 20 ไมโครลิตรและใช้ตัวตรวจวัด UV ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

2) นำพื้นที่ใต้พีคของสารละลายตัวอย่างที่ได้มาเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อหาปริมาณเดกซ์โทรเมธอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์ในตัวอย่างยาแก้ไอ

3.3.5 การเตรียมชุดตรวจสอบปริมาณสารเดกซ์โทรเมธอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์

1) เตรียมสารละลายมาตรฐานเดกซ์โทรเมธอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์ จากสารละลายสต็อกเดกซ์โทรเมธอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์ ที่เตรียมได้จากข้อ 3.2.2 ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยกรดแกลเชียลอะซิติก ให้ได้ความเข้มข้น 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110 และ 120 ppm ตามลำดับ

2) เตรียมสารละลายกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น 0.001 โมลาร์ที่บรรจุอยู่ในหลอดฉีดลงในสารละลายมาตรฐานเดกซ์โทรเมธอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์ โดยใช้คริสตัลไวโอเล็ตเป็นอินดิเคเตอร์ จนถึงจุดยุติสารละลายเปลี่ยนเป็นสีฟ้าอมเขียว

3) บันทึกปริมาตรของกรดเปอร์คลอริกที่ใช้ในการไทเทรต

4) ทำการทดลองซ้ำ 7 ครั้งของแต่ละความเข้มข้น ในวันเดียวกัน

5) ทำการทดลองซ้ำตั้งแต่ข้อ 1-4 โดยในวันต่างกัน

6) นำผลที่ได้ของแต่ละความเข้มข้นของสารละลายเดกซ์โทรเมธอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์มาจัดทำเป็นตารางเปรียบเทียบของชุดตรวจสอบ

3.3.6 การวิเคราะห์หาปริมาณเดกซ์โทรเมธอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์ในตัวอย่างยาแก้ไอซึ่งผ่านการเตรียมตัวอย่างตามหัวข้อ 3.2.7 ด้วยชุดตรวจสอบตามหัวข้อ 3.3.5

3.3.7 การประเมินผลและเปรียบเทียบประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบ

1) นำผลการวิเคราะห์ทางสถิติของการวิเคราะห์หาปริมาณเดกซ์โทรเมธอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์ ด้วยชุดตรวจสอบเปรียบเทียบกับผลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 ผลการศึกษาการแยกสารเดกซ์โทรเมอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์โดยเทคนิค HPLC

4.1.1 ศึกษาอัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่

การทดสอบนำสารละลายมาตรฐานเดกซ์โทรเมอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์ความเข้มข้น 50 ppm วิเคราะห์ด้วย KYA TECH ODS-C₁₈ column ขนาด 4.6x150 มิลลิเมตร ขนาดอนุภาค 5 ไมครอน โดยใช้อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เท่ากับ 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที และปริมาตรในการฉีดวิเคราะห์คือ 20 ไมโครลิตร เฟสเคลื่อนที่ที่ใช้คือสารละลายอะซีโทไนไตรล์ : น้ำ ที่อัตราส่วน 30:70, 40: 60, 50: 50, 60: 40 และ 70: 30 ปริมาตรต่อปริมาตร ปรับ pH เท่ากับ 3.4 ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

จากการศึกษาอัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่สารละลายผสมระหว่างอะซีโทไนไตรล์ : น้ำ ได้ผลการทดสอบดังตารางที่ 4.1

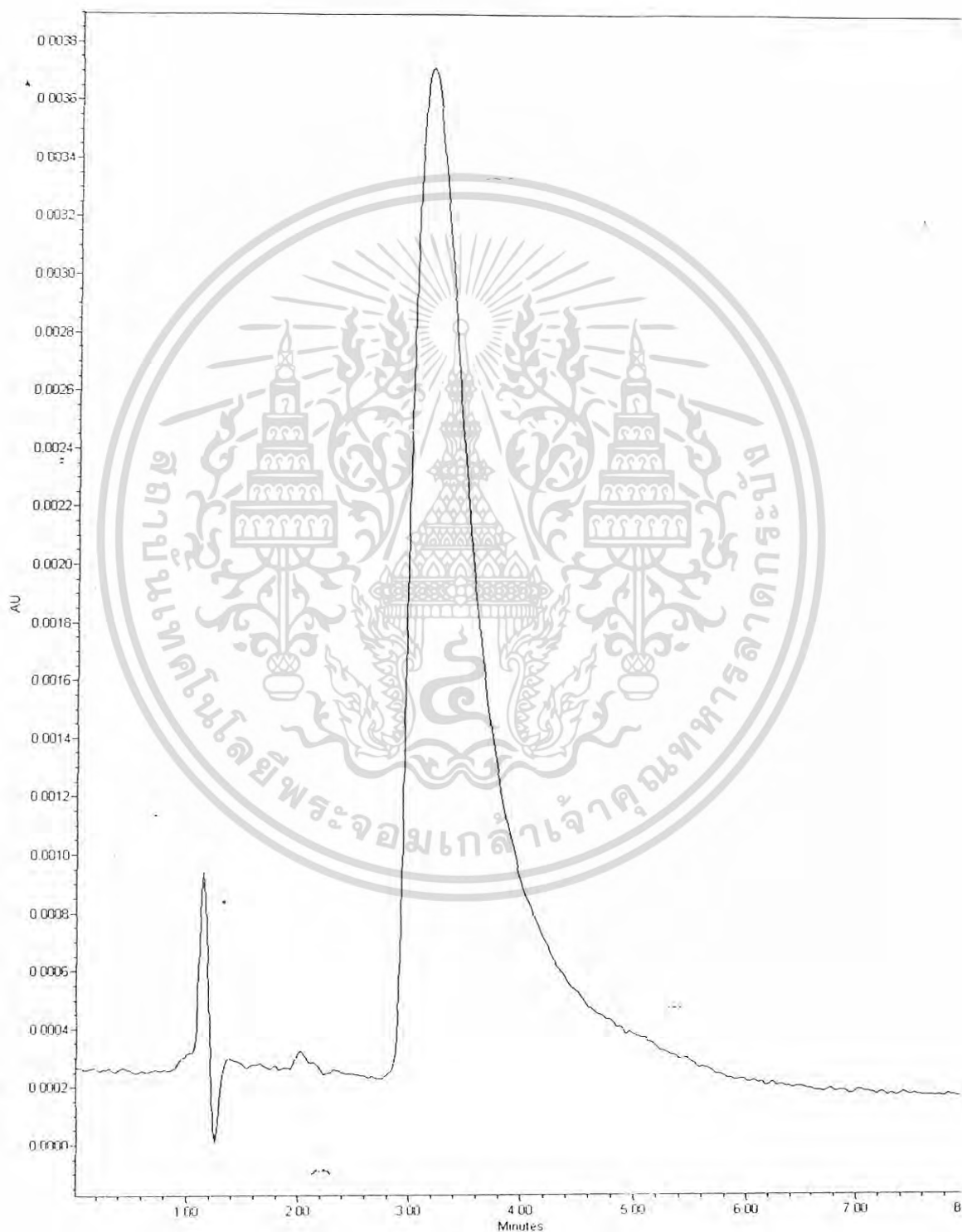
ตารางที่ 4.1 ตารางแสดงผลการทดสอบอัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่

อัตราส่วนระหว่าง อะซีโทไนไตรล์กับน้ำ	ลักษณะพีก
70: 30	ฐานกว้าง ยอดพีกกว้าง ด้านข้างไม่สม่ำเสมอ มีพีกเล็ก ๆ และกว้างเกิดหลังพีกใหญ่
60: 40	ฐานพีกกว้าง มีพีกเล็ก ๆ และกว้างเกิดหลังพีกใหญ่
50: 50	ฐานแคบ แต่ด้านข้างพีกไม่สม่ำเสมอ
40: 60	พีกเดี่ยว ฐานพีกแคบกว่าอัตราส่วน 50: 50 ยอดพีกแหลม
30: 70	พีกออกมาเร็ว ลักษณะเป็น 2 พีกติดกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิใช้ต้นแบบเอกสาร และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

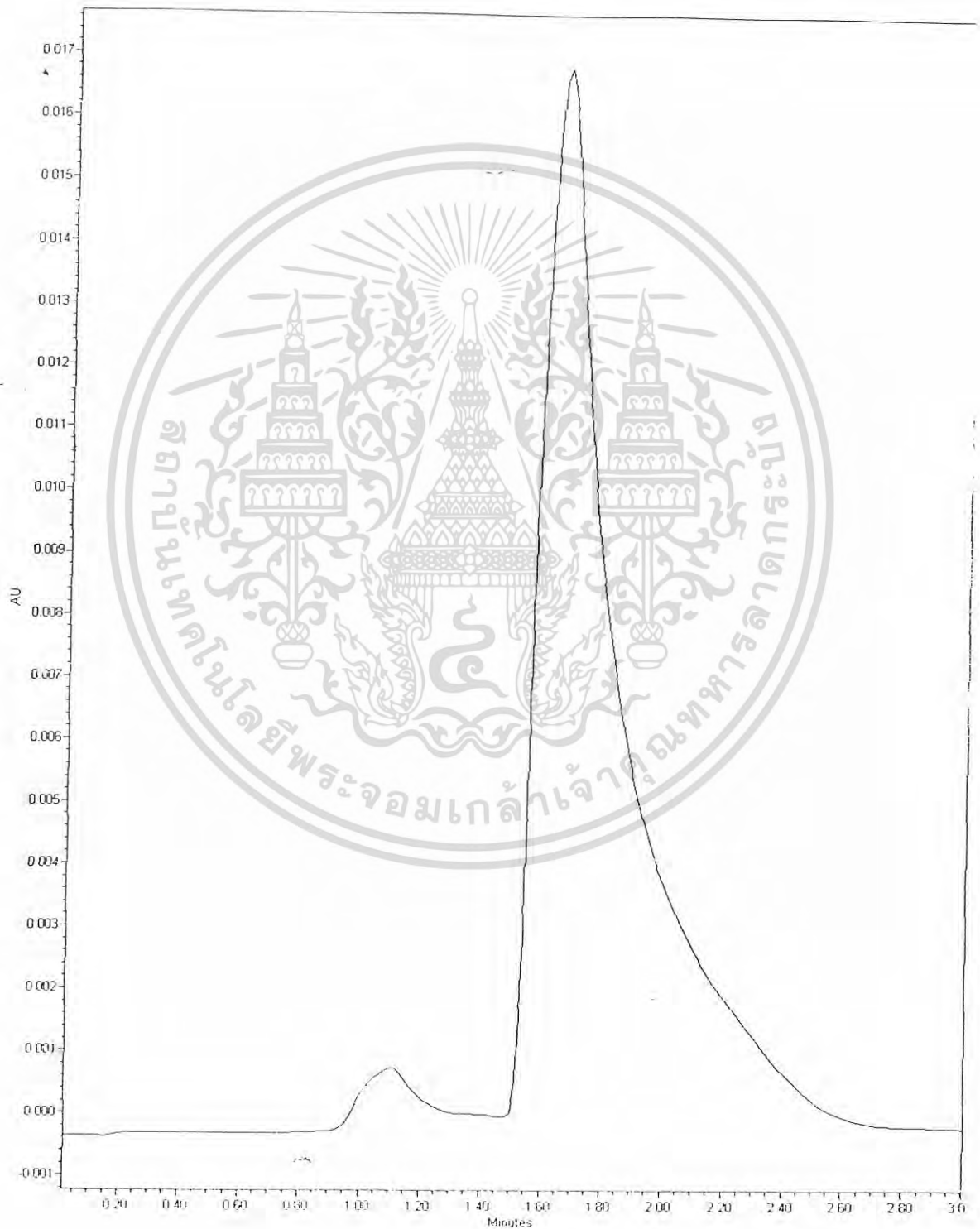
107714

รูปที่ 4.1 แสดงโครมาโทแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC ที่มีอัตราส่วนระหว่าง อะซิโตนไนโตรลกับน้ำเท่ากับ 70: 30



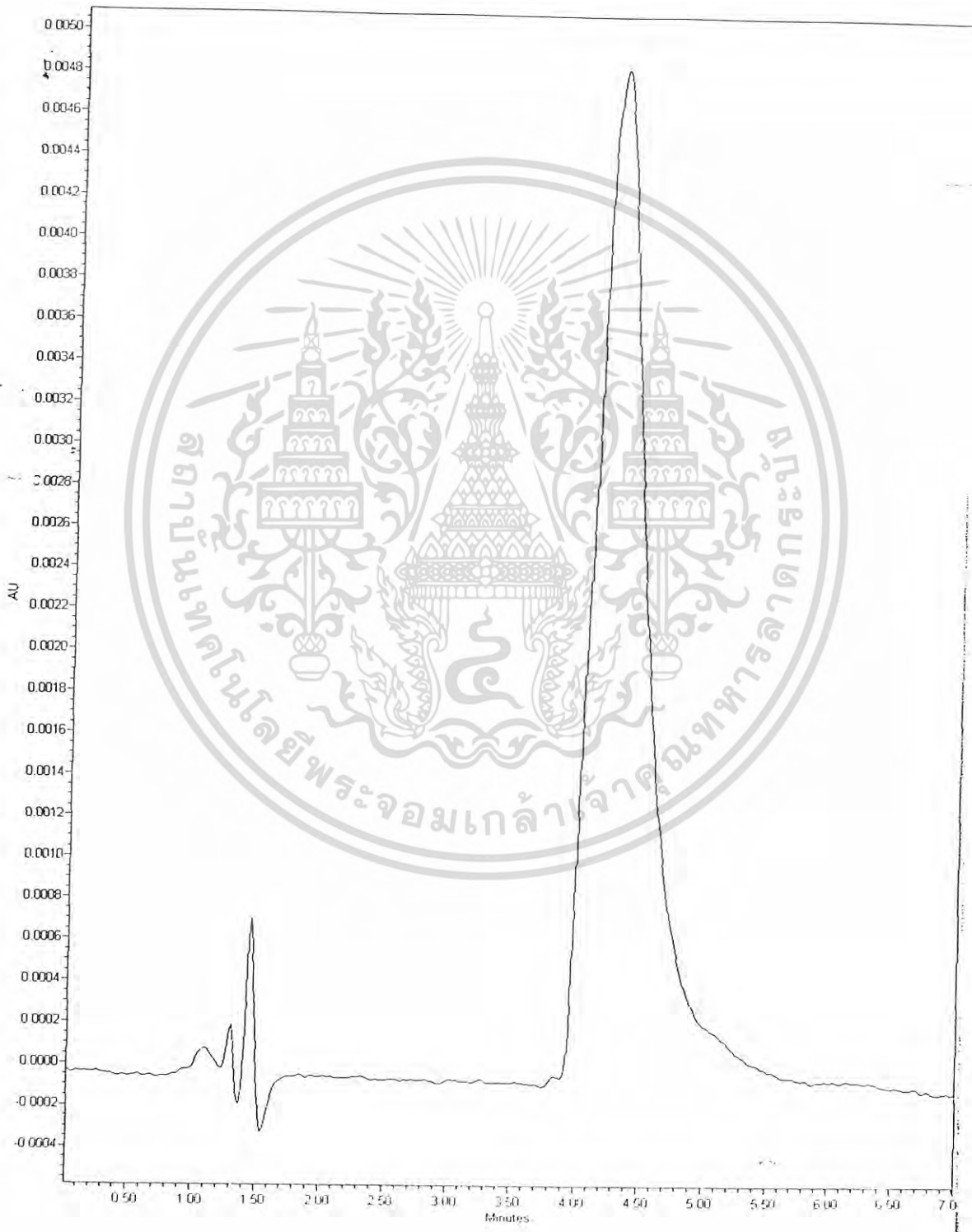
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.2 แสดงโครมาโทแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC ที่มีอัตราส่วนระหว่าง อะซิโทไนไตรต์กับน้ำเท่ากับ 60: 40



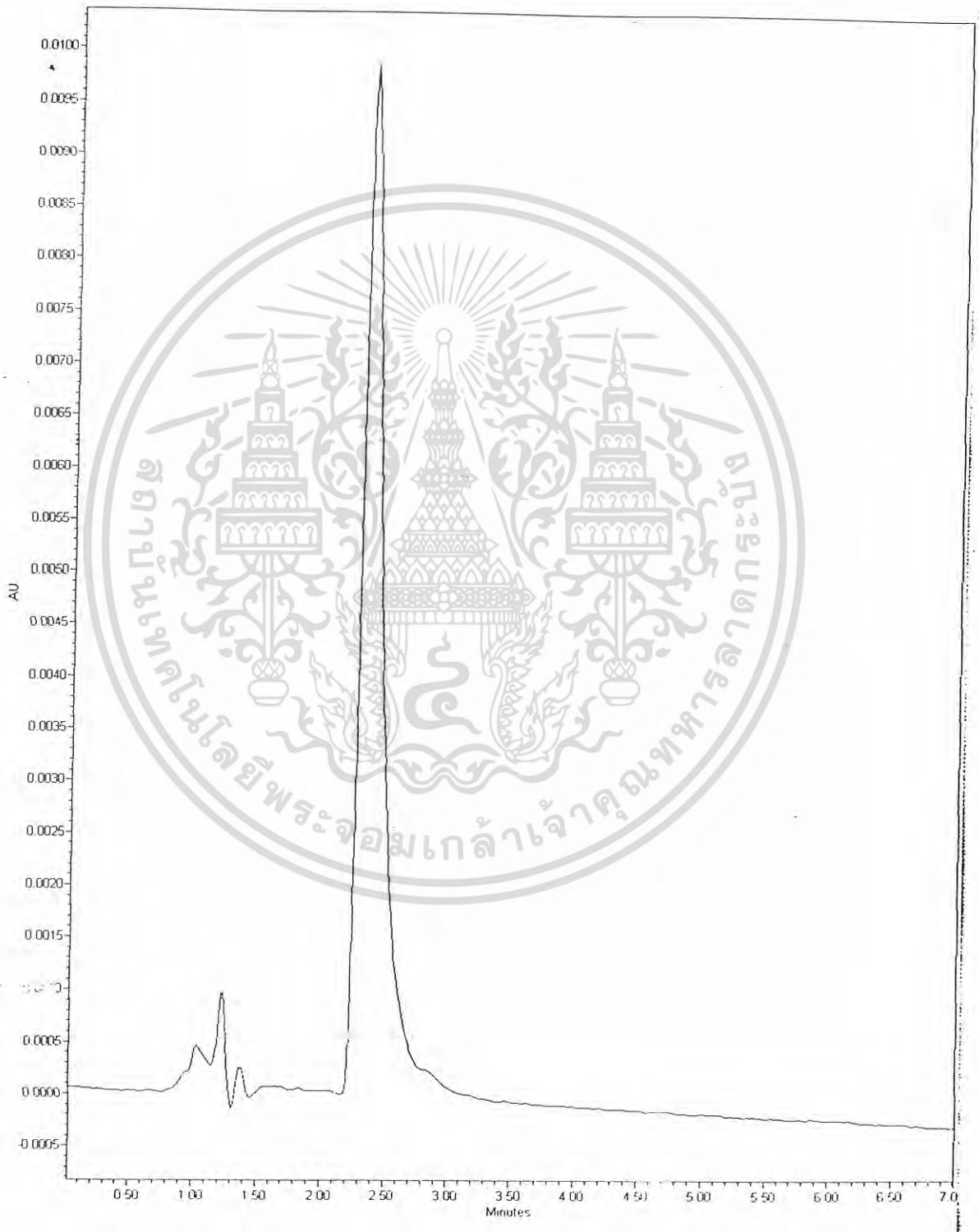
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.3 แสดงโครมาโทแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC ที่มีอัตราส่วนระหว่าง อะซิโทไนไตรต์กับน้ำเท่ากับ 50: 50



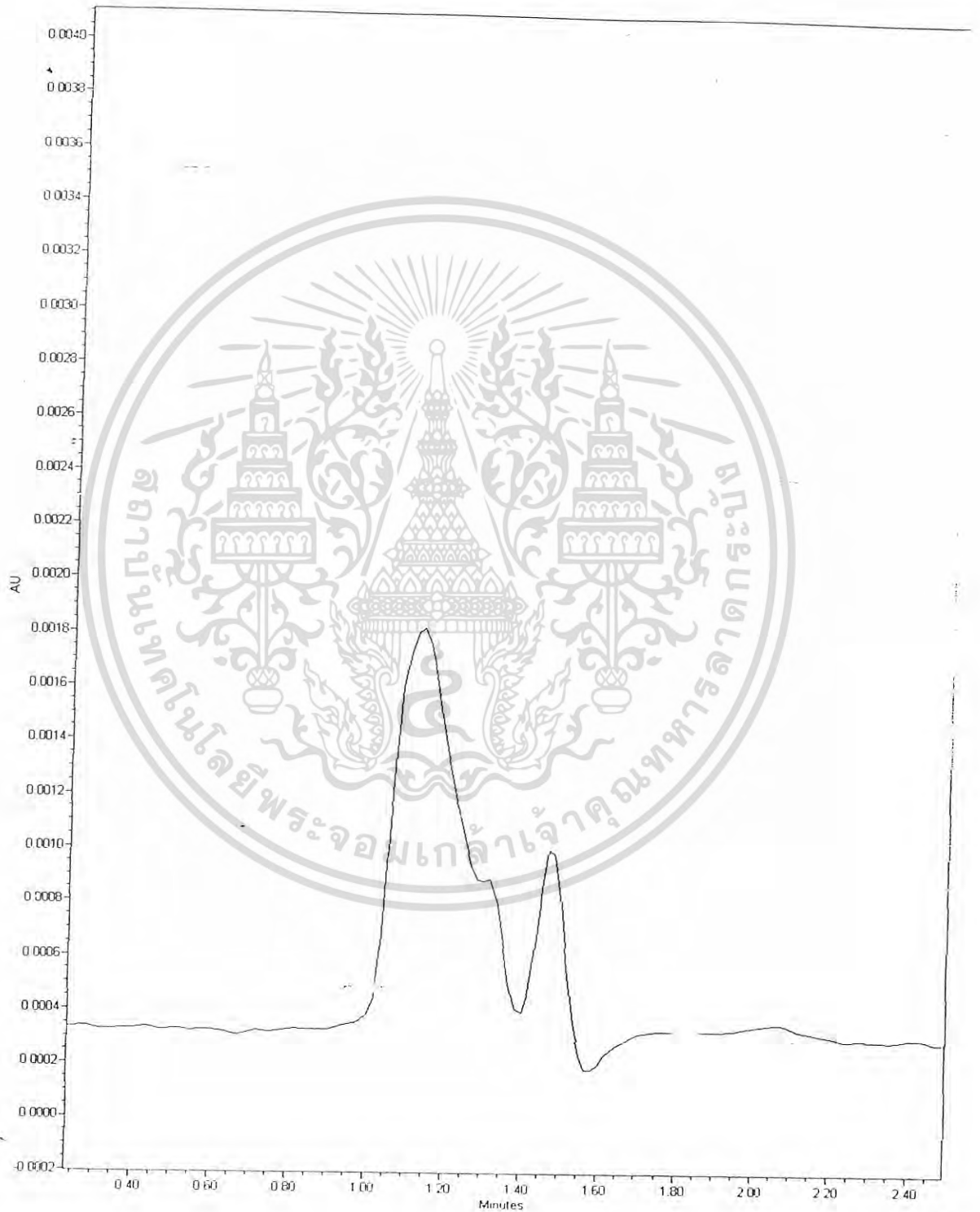
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.4 แสดงโครมาโทแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC ที่มีอัตราส่วนระหว่าง อะซิโตนไนโตรลกับน้ำเท่ากับ 40: 60



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.5 แสดงโครมาโทแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC ที่มีอัตราส่วนระหว่าง อะซิโตนไนโตรลกับน้ำเท่ากับ 30: 70



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นสรุปได้ว่าเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์สารละลายเดกซ์โทรเมอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์ คือ สารละลายอะซีโทไนไตรล์ : น้ำ ในอัตราส่วน 40: 60 ปริมาตรต่อปริมาตร

4.1.2 ศึกษาอัตราการไหล

การทดสอบนำสารละลายมาตรฐานเดกซ์โทรเมอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์ความเข้มข้น 50 ppm ฉีดเข้าเครื่อง HPLC โดยใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นอะซีโทไนไตรล์ : น้ำ ในอัตราส่วน 40: 60 ปริมาตรต่อปริมาตร และใช้อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 0.5, 1.0 และ 1.5 นาทีต่อมิลลิลิตร (min/ml) แสดงผลการทดสอบดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ตารางแสดงผลการทดสอบอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่

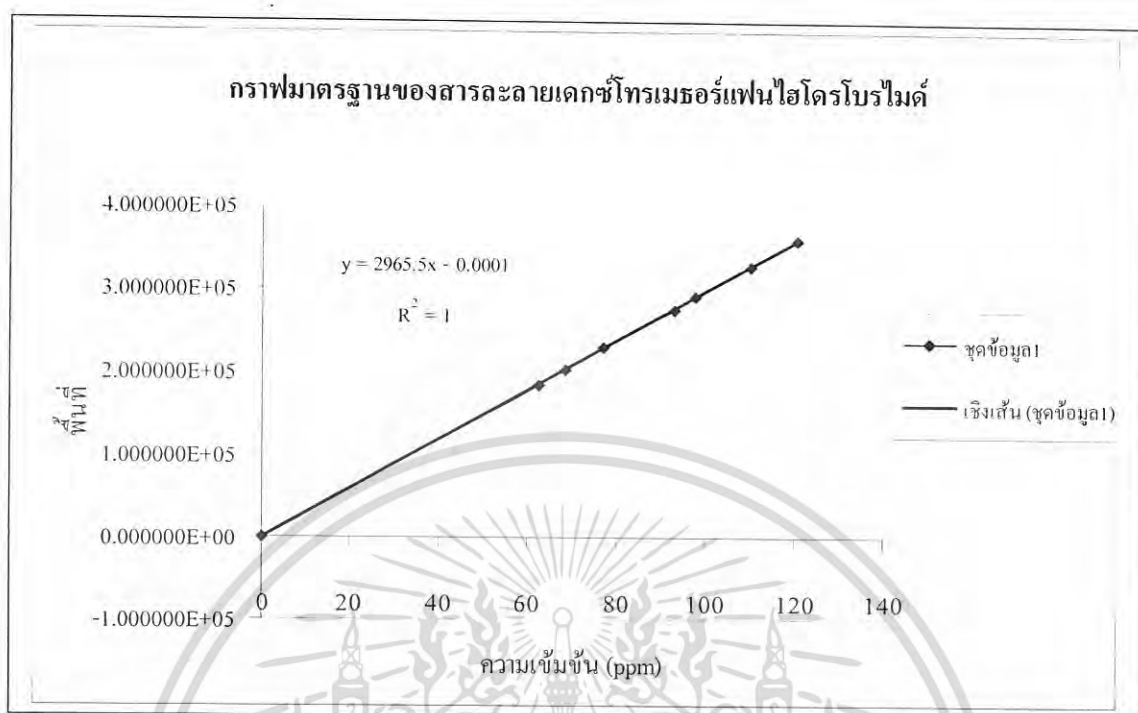
อัตราการไหล (min/ml)	เวลาที่ใช้ในการแยกสาร (นาที)
0.5	15.425
1.0	6.281
1.5	2.338

จากผลการทดสอบอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่สามารถเลือกใช้อัตราการไหลเท่ากับ 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที

4.1.3 การศึกษาความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน

ผลการศึกษาความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายเดกซ์โทรเมอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์ ซึ่งใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายอะซีโทไนไตรล์ : น้ำ ที่อัตราส่วน 40: 60 ปริมาตรต่อปริมาตร ปรับ pH เท่ากับ 3.4 อัตราเร็วในการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที พบว่ามีช่วงความเป็นเส้นตรงที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 50-120 ppm มีค่าสัมประสิทธิ์สหพันธ์ (Relative coefficient: R^2) เท่ากับ 1 ดังแสดงในรูปที่ 4.9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 กราฟมาตรฐานของสารละลายเดกซ์โทรเมอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์ความเข้มข้น 50-120 ppm

ตารางที่ 4.3 ตารางแสดงพื้นที่ที่ได้พิกเก็ตเกี่ยวกับปริมาณสารเดกซ์โทรเมอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์เฉลี่ยของกราฟมาตรฐาน

ปริมาณสารเดกซ์โทรเมอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์เฉลี่ย (ppm)	พื้นที่ที่ได้พิกเก็ตเฉลี่ย
62.435912	185153.937500
68.582077	203380.412371
77.102581	228648.000000
92.852856	275355.500000
97.966721	290520.688000
110.394403	327375.027027
120.733999	358037.137931

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารเดกซ์โทรเมธอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์ในตัวอย่างยาแก้ไอ โดยเทคนิค HPLC

เมื่อนำตัวอย่างยาแก้ไอมาเตรียมเป็นสารละลายและผ่านการกรองด้วยเมมเบรนขนาดรูพรุน 0.45 ไมโครเมตร และวิเคราะห์หาปริมาณเดกซ์โทรเมธอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์ด้วยเทคนิค HPLC ซึ่งผลการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 แสดงผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารเดกซ์โทรเมธอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์ที่ทำการทดลองซ้ำ 7 ครั้ง

ยี่ห้อ	ความเข้มข้นที่ได้จากการวิเคราะห์ (ppm)							เฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ครั้งที่ 5	ครั้งที่ 6	ครั้งที่ 7	
โรมิลาร์	72.302	65.356	65.984	65.744	66.505	65.875	66.629	66.914
ไอโคลิด	85.783	83.349	86.448	87.505	85.410	78.519	85.698	84.673

ผลการคำนวณที่ได้จากการทดลอง คือ ยาเม็ดแก้ไอยี่ห้อโรมิลาร์ มีปริมาณสารเดกซ์โทรเมธอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์เท่ากับ 15.182 มิลลิกรัมต่อเม็ดหรือ 16.729 % โดยปริมาตร และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 3.610 % และยาเม็ดแก้ไอยี่ห้อไอโคลิด มีปริมาณสารเดกซ์โทรเมธอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์เท่ากับ 15.525 มิลลิกรัมต่อเม็ดหรือ 19.600 % โดยปริมาตร และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 3.530 %

4.2 ผลการเตรียมชุดตรวจสอบปริมาณสารเดกซ์โทรเมธอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์

4.2.1 ผลการศึกษาตัวทำละลายสำหรับคริสตัลไวโอเลต

เมื่อซังคริสตัลไวโอเลตใส่ลงในบีกเกอร์ 2 ใบ บีกเกอร์ละ 10.00 มิลลิกรัม โดยบีกเกอร์ใบที่ 1 ละลายคริสตัลไวโอเลตด้วยน้ำกลั่นและบีกเกอร์ใบที่ 2 ละลายคริสตัลไวโอเลตด้วยกรดกลีเซอซิดิก พบว่าการละลายคริสตัลไวโอเลตด้วยกรดกลีเซอซิดิก ละลายได้ดี ส่วนการละลายคริสตัลไวโอเลตด้วยน้ำละลายได้เพียงเล็กน้อยและสังเกตเห็นตะกอนของคริสตัลไวโอเลตที่ไม่ละลายยังเหลืออยู่มาก

สามารถสรุปได้ว่าการเตรียมสารละลายคริสตัลไวโอเลตเพื่อใช้เป็นอินดิเคเตอร์ในการเตรียมชุดตรวจสอบปริมาณสารเดกซ์โทรเมธอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์ควรรว้ใช้กรดกลีเซอซิดิกเป็นตัวทำละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 การศึกษาการเปลี่ยนสีที่จุดยุติของการไทเทรตสารละลายมาตรฐานเดกซ์โทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์ด้วยสารละลายกรดเปอร์คลอริก 0.001 โมลาร์

เพื่อศึกษาหาตัวทำละลายที่เหมาะสม เพื่อให้การเห็นสีที่จุดยุติชัดเจน ในการศึกษานี้มีการเตรียมสารละลายมาตรฐานเดกซ์โทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์ เข้มข้น 50 ppm โดยใช้น้ำหรือกรดกลูเซิลอะซิติกเป็นตัวทำละลาย และเตรียมสารละลายกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น 0.001 โมลาร์ โดยใช้น้ำหรือกรดกลูเซิลอะซิติกในการปรับปริมาตร ดังแสดงในวิธีการทดลองหัวข้อ 4.2.2 เมื่อไทเทรตสารละลายมาตรฐานเดกซ์โทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์ ด้วยสารละลายกรดเปอร์คลอริก โดยใช้คริสตัลไวโอเลตเป็นอินดิเคเตอร์ จะได้ผลแตกต่างกัน 4 แบบ ดังแสดงในตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ตารางแสดงผลการไทเทรตสารละลายมาตรฐานเดกซ์โทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์ 50 ppm. ด้วยสารละลายกรดเปอร์คลอริก 0.001 โมลาร์

แบบที่	ไทเทรนต์		สีของสารละลายก่อนไทเทรต	สีของสารละลายหลังไทเทรต
	A	B		
1	A	C	สีม่วง	สีม่วง
2	A	D	สีม่วง	สีม่วง
3	B	C	สีม่วง	สีม่วง
4	B	D	สีม่วง	สีฟ้าอมเขียว

โดยให้

A คือ สารละลายมาตรฐานเดกซ์โทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์ 50 ppm ซึ่งใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย

B คือ สารละลายมาตรฐานเดกซ์โทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์ 50 ppm ซึ่งใช้กรดกลูเซิลอะซิติกเป็นตัวทำละลาย

C คือ สารละลายกรดเปอร์คลอริก 0.001 โมลาร์ ซึ่งเตรียมโดยใช้น้ำกลั่นปรับปริมาตร

D คือ สารละลายกรดเปอร์คลอริก 0.001 โมลาร์ ซึ่งใช้กรดกลูเซิลอะซิติกปรับปริมาตร

จากผลการศึกษาพบว่า การไทเทรตแบบที่ 4 ให้สีที่จุดยุติชัดเจนและแตกต่างจากก่อนจุดยุติ และการไทเทรตแบบที่ 1, 2 และ 3 ซึ่งมีน้ำเป็นส่วนประกอบในการไทเทรตจะไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย ดังนั้นในการเตรียมชุดตรวจตรวจสอบปริมาณสารเดกซ์โทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์ไม่ควรมีน้ำเป็นองค์ประกอบในการไทเทรต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.3 ผลการศึกษาการเตรียมชุดตรวจตรวจสอบปริมาณสารเคช้โทรเมธอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์

ในการเตรียมชุดตรวจสอบปริมาณสารเคช้โทรเมธอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์โดยการไทเทรตสารละลายมาตรฐานเคช้โทรเมธอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110 และ 120 ppm ด้วยกรดเปอร์คลอริก 0.001 โมลาร์ โดยใช้สารละลายคริสตัลไวโอเลตเป็นอินดิเคเตอร์ สามารถนำปริมาตรกรดเปอร์คลอริกซึ่งเป็นผลจากการไทเทรตมากำหนดช่วงเพื่อเทียบหาปริมาณของสารเคช้โทรเมธอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์ ตามตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 ตารางชุดตรวจสอบปริมาณสารเคช้โทรเมธอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์

ปริมาตรของกรดเปอร์คลอริก 0.001 โมลาร์ (มิลลิลิตร)	ปริมาณของสารเคช้โทรเมธอร์เฟน- ไฮโดรโบรไมด์ (ppm)
น้อยกว่า 1.00	น้อยกว่า 50
มากกว่า 1.00-2.00	50-80
มากกว่า 2.00-3.00	มากกว่า 90-100
มากกว่า 3.00-5.00	มากกว่า 100-120

4.2.4 การศึกษาการตรวจวัดปริมาณสารเคช้โทรเมธอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์ในตัวอย่างยาแก้ไอโดยใช้ชุดตรวจสอบ

การวิเคราะห์หาปริมาณสารเคช้โทรเมธอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์ในตัวอย่างยาเม็ดแก้ไอนั้นสามารถทำได้ง่าย โดยการบดและละลายตัวอย่างยาเม็ดแก้ไอด้วยกรดแกลเชียลอะซิติก เดิม คริสตัลไวโอเลต และเติมสารละลายกรดเปอร์คลอริก 0.001 โมลาร์ ที่บรรจุอยู่ในหลอดนิตยา ปริมาตร 1,2,3,4 และ 5 มิลลิลิตร พิจารณาว่าที่ปริมาตรเท่าใดสารละลายมีการเปลี่ยนสี ให้นำ ปริมาตรไปเทียบหาปริมาณของสารเคช้โทรเมธอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์ ที่เตรียมได้จากชุด ตรวจสอบ เพื่อหาปริมาณของสารเคช้โทรเมธอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์ แต่ถ้าเป็นตัวอย่างยา น้ำเชื่อมแก้ไอไม่สามารถนำตัวอย่างยาไปใช้ได้โดยตรง ต้องนำตัวอย่างไปผ่านการเตรียมตัวอย่าง เพื่อให้ตัวอย่างปราศจากน้ำก่อนนำไปไทเทรตและนำผลการไทเทรตไปเทียบกับชุดตรวจสอบ ปริมาณสารเคช้โทรเมธอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยญาติให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองใช้ชุดตรวจสอบปริมาณสารเคชัโทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์ในยาแก้ไอได้ผลการทดลองดังนี้ ปริมาตรกรดเปอร์คลอริกที่ใช้หยดลงในสารละลายตัวอย่างยาแก้ไอสำหรับยาเม็ดแก้ไอยี่ห้อโรมิลาร์เท่ากับ 1.5 มิลลิลิตรและสำหรับยี่ห้อไอโคลิคเท่ากับ 2.0 มิลลิลิตร เมื่อนำผลการทดลองที่ได้ไปเทียบกับชุดตรวจสอบพบว่าปริมาณของกรดเปอร์คลอริกที่ได้ของยาเม็ดแก้ไอทั้ง 2 ยี่ห้ออยู่ในช่วงปริมาณเคชัโทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์เข้มข้น 50-80 ppm

4.3 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบกับเทคนิค HPLC

ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารเคชัโทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์ในตัวอย่างยาเม็ดแก้ไอซึ่งผลที่ได้จากชุดตรวจสอบปริมาณสารเคชัโทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์อยู่ในช่วงความเข้มข้น 50-80 ppm เมื่อเปรียบเทียบกับผลการวิเคราะห์ที่ได้จากเทคนิค HPLC ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐาน พบว่าผลการวิเคราะห์ปริมาณสารเคชัโทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์จากเทคนิค HPLC ได้ปริมาณเท่ากับ 16.729 % โดยปริมาตร สำหรับยาเม็ดแก้ไอโรมิลาร์ และปริมาณเท่ากับ 19.600 % โดยปริมาตร ซึ่งอยู่ในช่วงความเข้มข้นเดียวกันกับช่วงที่กำหนดในชุดตรวจสอบปริมาณสารเคชัโทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

ในปัจจุบันการวิเคราะห์หาปริมาณสารต่าง ๆ อาศัยเครื่องมือวิเคราะห์ที่ทันสมัยซึ่งให้ผลการวิเคราะห์ทั้งชนิดและปริมาณสารที่ถูกต้องแม่นยำ อีกทั้งวิเคราะห์สารได้ในปริมาณที่น้อยมาก แต่การวิเคราะห์โดยใช้เครื่องมือวิเคราะห์นั้นต้องอาศัยผู้ที่มีความรู้ความเชี่ยวชาญทางด้านเคมีจึงจะสามารถปฏิบัติงานได้ และเนื่องจากเครื่องมือมีขนาดใหญ่และมีระบบที่ซับซ้อนไม่เหมาะกับงานที่ต้องปฏิบัติงานนอกห้องปฏิบัติการ

การวิเคราะห์โดยวิธีไทเทรตเป็นวิธีการวิเคราะห์โดยการวัดปริมาตร การไทเทรตจะกระทำจนถึงจุดที่สารทั้งสองชนิดทำปฏิกิริยากันหมดพอดี เรียกว่า จุดสมมูล (equivalent point) การชี้บอกจุดสมมูลทำได้หลายวิธี เช่น การใช้อินดิเคเตอร์ การวัดค่าไฟฟ้าที่เปลี่ยนแปลง การวัดค่าการดูดกลืนแสง และการวัดความขุ่น เป็นต้น สามารถเลือกใช้ได้ตามความเหมาะสมของปฏิกิริยาการไทเทรตที่เกิดขึ้นและที่จุดสมมูลจะบอกถึงปริมาตรของสารละลายมาตรฐานที่ทำปฏิกิริยาพอดีกับสารที่ต้องการวิเคราะห์ (analyte) นำไปคำนวณหาปริมาณของสารที่ต้องการได้โดยอาศัยปริมาณสารสัมพันธ์ (stoichiometry) ของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น

โครงการพิเศษนี้ได้คิดค้นการเตรียมชุดตรวจสอบปริมาณสารเคชั้โทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์ที่ใช้งานง่ายและสะดวกโดยอาศัยวิธีการไทเทรตสารละลายมาตรฐานเคชั้โทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กับกรดเปอร์คลอริก โดยใช้สารละลายคริสตัลไวโอเลตเป็นอินดิเคเตอร์ ที่จุดสมมูล (จุดยุติ) สารละลายเปลี่ยนเป็นสีฟ้าอมเขียวและนำผลการไทเทรตที่ได้จากแต่ละความเข้มข้นมาทำเป็นตารางชุดตรวจสอบปริมาณสารเคชั้โทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์และทำการวิเคราะห์ตัวอย่างยาแก้ไอ 2 ยี่ห้อ คือ ยี่ห้อ โรมิลาร์และยี่ห้อ ไอโคลิคจากตารางชุดตรวจสอบ ซึ่งได้ผลการวิเคราะห์คือ ยาแก้ไอยี่ห้อ โรมิลาร์มีปริมาณสารเคชั้โทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์อยู่ในช่วง 50-80 ppm และยาแก้ไอยี่ห้อ ไอโคลิคมีปริมาณสารเคชั้โทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์อยู่ในช่วง 50-80 ppm เมื่อนำผลการวิเคราะห์ที่ได้จากชุดตรวจสอบมาเปรียบเทียบกับผลการวิเคราะห์ที่ได้จากเทคนิค HPLC ได้ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารเคชั้โทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์ในตัวอย่างยาแก้ไอของชุดตรวจสอบให้ผลใกล้เคียงกับผลการวิเคราะห์ของเทคนิค HPLC และสามารถนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารเคชั้โทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์นอกห้องปฏิบัติการได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชุดตรวจสอบนี้สามารถวิเคราะห์หาปริมาณสารเดกซ์โทรเมอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์ในยา
แก้ไอได้ แต่เหมาะสมที่จะใช้กับยาแก้ไอชนิดเม็ด เพราะมีการเตรียมตัวอย่างที่ง่าย ส่วนการใช้ชุด
ตรวจสอบกับยาแก้ไอชนิดน้ำเชื่อมนั้นต้องมีการเตรียมตัวอย่างที่ยุ่งยากจึงไม่เหมาะที่จะใช้ชุด
ตรวจสอบปริมาณสารเดกซ์โทรเมอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

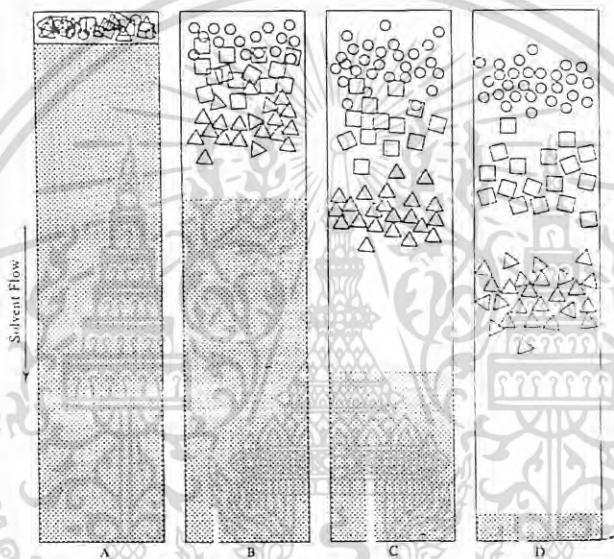
ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

1. Liquid Chromatography

1.1 หลักการขั้นพื้นฐานของ Liquid Chromatography

หลักการขั้นพื้นฐานของ Liquid Chromatography อาจทำให้เข้าใจได้ง่ายขึ้นโดยการพิจารณาถึงการแยกสารละลายผสมที่ประกอบด้วยสารสามชนิดด้วยกันในคอลัมน์ปิด (closed column) ซึ่งบรรจุด้วยอนุภาคของแข็งขนาดเล็ก ๆ ที่มีรูพรุนเส้นผ่าศูนย์กลางน้อยกว่า 150 ไมครอน ในหลอดยาว ๆ เรียกว่า “คอลัมน์”



รูปที่ 1 แสดงการแยกของผสมของสาร 3 ชนิด โดยสมมติให้สาร A เป็น Δ , สาร B เป็น \square , สาร C เป็น \circ พื้นที่ที่เป็นจุด ๆ แสดงถึงตัวทำละลายที่ใช้เป็นตัวชะล้าง

จากรูปที่ 1 แสดงให้เห็นถึงกระบวนการทางโครมาโทกราฟี สารละลายตัวอย่างจะถูกฉีดเข้าไปในส่วนบนของคอลัมน์ เฟสเคลื่อนที่จะทำหน้าที่พาสารผ่านไปยังคอลัมน์ สารประกอบแต่ละตัวจะถูกดูดซับและถูกทำให้หลุดออกไปจากการดูดซับ (desorption) บนอนุภาคที่บรรจุอยู่ในคอลัมน์ ผลที่ตามมาคือสารประกอบจะเคลื่อนที่ไปตามคอลัมน์ได้ช้าลง และอัตราเร็วของการเคลื่อนที่ที่จะขึ้นอยู่กับสัมพรรคภาพ (affinity) ของสารกับอนุภาคที่บรรจุอยู่ในคอลัมน์ สารประกอบ X มีการกระจายอยู่ระหว่างเฟสอยู่กับที่ (stationary phase) และเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) เมื่อมันผ่านไปตามคอลัมน์ ดังสมการ



ค่า distribution coefficient สำหรับสารประกอบที่สอดคล้องกับสมการข้างบน คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$K_x = [X]_s / [X]_m$$

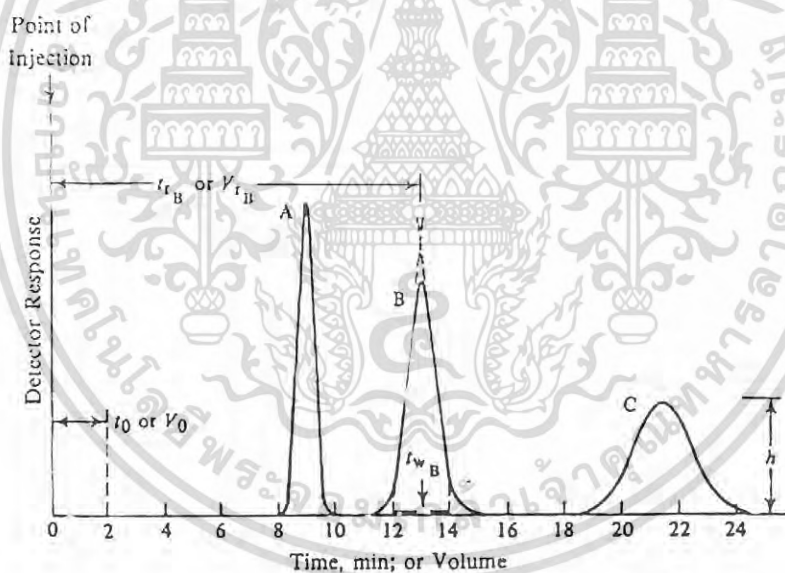
เมื่อ K_x = distribution coefficient ของสาร X

$[X]_s$ = ความเข้มข้นของสาร X ใน stationary phase

$[X]_m$ = ความเข้มข้นของสาร X ใน mobile phase

ถ้า K_x มีค่ามากแสดงว่าสารประกอบชอบที่จะละลายในเฟสที่อยู่กับที่มากกว่าเฟสที่เคลื่อนที่ ดังนั้นสารประกอบดังกล่าวจะเคลื่อนที่ไปตามคอลัมน์ได้ช้า ถ้า K_x มีค่าน้อย สารประกอบนี้ก็จะละลายในเฟสเคลื่อนที่ได้ดีกว่าเฟสอยู่กับที่และจะเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ได้อย่างรวดเร็ว

ความแตกต่างของอัตราการเคลื่อนที่ของสารประกอบจะมีผลทำให้เกิดการแยกสารประกอบนั้นในคอลัมน์ ใน elution chromatography สารประกอบซึ่งถูกแยกนั้นเคลื่อนที่ไปตามความยาวทั้งหมดของคอลัมน์โดยมีเฟสเคลื่อนที่เป็นตัวพาไป ถ้าเราทำการวัดความเข้มข้นของสารประกอบแต่ละชนิดที่ผ่านออกมาจากคอลัมน์และนำค่านี้ไปเขียนกราฟ (plot) กับปริมาตรของเฟสเคลื่อนที่ กราฟที่ได้คือ โครมาโทแกรม รูปที่ 2 แสดงลักษณะของโครมาโทแกรมของสารละลายซึ่งประกอบด้วยสารประกอบ 3 ชนิด



รูปที่ 2 แสดงโครมาโทแกรมของสารละลายซึ่งประกอบด้วยสารประกอบ 3 ชนิด

Liquid chromatography ที่ใช้ในการแยกสาร สามารถจำแนกออกตามกลไกของการแยกโดยอาศัยเฟสเป็นตัวกำหนด มีดังต่อไปนี้

1. Adsorption Chromatography
2. Liquid-Liquid (Partition) Chromatography
3. Ion Exchange Chromatography

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. Size Exclusion Chromatography

1.1.1 Adsorption Chromatography

Adsorption Chromatography คือ Liquid-Solid Chromatography หลักการของการแยกสารอาศัยการเกิดอันตรกิริยา (interaction) ที่ต่างกันระหว่างสารกับตำแหน่งซึ่ง active บนผิวของตัวดูดซับที่ใช้เป็นเฟสอยู่กับที่ ตัวดูดซับอาจจะถูกบรรจุอยู่ในคอลัมน์หรือเคลือบอยู่บนเพลท หรือซึมเข้าไปในส่วนของกระดาษที่มีรูพรุน ตัวดูดซับโดยทั่วไปแล้วจะต้องเป็นของแข็งที่มีรูพรุนและมีพื้นที่ผิวมาก เช่น ผง silica gel, alumina หรือถ่าน (charcoal) ตำแหน่งที่ active เช่น silanol group ที่อยู่บนผิวของ silica gel โดยทั่วไปแล้ว สามารถเกิดอันตรกิริยาได้กับสารประกอบที่มีฟังก์ชันนัลกรุปที่มีขั้ว (polar functional group) ส่วนของ non-polar ที่อยู่ในโมเลกุลนั้นจะมีอิทธิพลต่อการแยกสารภายนอกน้อยมาก ดังนั้น Liquid-Solid Chromatography (LSC) จึงมีความเหมาะสมมากสำหรับการแยกสารประกอบที่มีขั้ว (polar) เช่น การแยกสารประกอบพวก alcohol ออกจาก aromatic hydrocarbon

1.1.2 Partition Chromatography

ใน Partition Chromatography บางครั้งจะเรียกว่า “Liquid-Liquid Chromatography” ก็ได้ หลักการแยกสารโดยวิธีนี้อาศัยหลักการที่ว่า โมเลกุลของสารประกอบจะกระจายตัวของมันเองระหว่างเฟสทั้งสองที่ไม่ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน คือเฟสอยู่กับที่กับเฟสที่เคลื่อนที่ต่างกัน เฟสที่อยู่กับที่จะกระจายเป็นฟิล์มบางๆ บนผิวของ inert support ซึ่งอาจจะใช้อนุภาคซึ่งเป็นของแข็งที่มีรูพรุนหรือไม่มีรูพรุนก็ได้ หรืออาจจะใช้เป็นพวกกระดาษที่มีรูพรุนเพื่อหลีกเลี่ยงไม่ให้เฟสทั้งสองละลายซึ่งกันและกัน ดังนั้น เฟสทั้งสองจะต้องเลือกจากของเหลวที่มีสภาพขั้ว (polarity) แตกต่างกันอย่างมากมาย ถ้าเฟสอยู่กับพวกที่มีขั้ว (polar) จะต้องเลือกเฟสเคลื่อนที่ที่ไม่มีขั้ว (non-polar) สารประกอบที่มีขั้วจะถูกยึด (retain) อยู่กับเฟสอยู่กับที่อย่างแน่น เทคนิคนี้คือ normal phase chromatography แต่ถ้าเฟสอยู่กับที่มีสภาพที่ไม่มีขั้ว เฟสเคลื่อนที่ที่จะต้องขั้ว สารประกอบที่มีขั้วจะชอบเฟสเคลื่อนที่ ดังนั้นสารประกอบดังกล่าวจะถูกชะล้างออกมาอย่างรวดเร็วและเทคนิคก็คือ reverse-phase chromatography (RPC) ซึ่งเหมาะในการนำมาใช้แยกสารประกอบพวก homologs และ isomers

ในปัจจุบันอนุภาคที่ใช้บรรจุในคอลัมน์ (packing) ที่นิยมใช้ใน LLC อย่างกว้างขวาง จะเป็นการนำเอาเฟสอยู่กับที่ไปทำให้เกิดพันธะทางเคมีกับวัสดุหรืออนุภาคที่ใช้เป็นตัว support ซึ่งอนุภาคนั้นเรียกว่า “Bonded-Phase” มากกว่าการใช้ของเหลวเคลือบบนผิวของ inert support เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการนี้เรียกว่า Bonded-Phase Chromatography (BPC) สำหรับกลไกการแยกยังไม่เป็นที่เข้าใจชัดเจนนัก กลไกที่ใช้ในการแยกสาร โดยวิธีการนี้จะประกอบด้วย การดูดซับ และการ partition ซึ่งขึ้นอยู่กับเงื่อนไขของการทดลอง วิธีการแยกโดย BPC นี้ นิยมใช้กันมากใน HPLC

1.1.3 Ion Exchange Chromatography

Ion Exchange Chromatography หลักการของการแยกสารจะขึ้นอยู่กับสัมพรรคภาพของไอออนในสารละลายกับไอออนที่มีประจุตรงกันข้ามซึ่งอยู่ที่ผิวของเฟสอยู่กับที่ ion exchanger ประกอบด้วยของแข็งที่มีรูพรุนซึ่งปกติแล้วจะเป็นพวกเรซิน (resin) ที่มี ionic group ต่ออยู่ด้วยพันธะทางเคมี เฟสเคลื่อนที่ปกติแล้วใช้สารละลายบัฟเฟอร์ (buffer) ซึ่งประกอบด้วย counter ion ที่มีประจุตรงกันข้ามกับ group ที่อยู่บนผิวของอนุภาคที่บรรจุอยู่นั้นคือ ไอออนในเฟสเคลื่อนที่ที่มีประจุเหมือนกับไอออนที่ต้องการแยก ซึ่งไอออนดังกล่าวจะรวมกับ group ที่อยู่บนผิวของเรซินในลักษณะเป็น ion pair เพื่อให้ประจุทั้งหมดอยู่ในสภาวะสมดุล การแข่งขันกันระหว่างไอออนในสารละลายกับ counter ion เพื่อเข้าครอบครองตำแหน่งที่มีประจุบนผิวของเรซินจะมีผลทำให้เกิดการยึดเกาะขึ้น ion exchange chromatography จะถูกนำมาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางในวิชาอนินทรีย์เคมี เพื่อใช้แยกพวกไอออนของโลหะ และยังใช้ประโยชน์ในการแยกสารประกอบทางชีวภาพ (biological sample) ที่ละลายในน้ำได้อีกด้วย เช่น แยกโปรตีน (protein) และกรดอะมิโน (amino acids) เป็นต้น

1.1.4 Size Exclusion Chromatography

Size Exclusion Chromatography แบ่งออกได้เป็น

1.1.4.1 Gel Permeation Chromatography (GPC)

1.1.4.2 Gel Filtration Chromatography (GFC)

เฟสอยู่กับที่ควรจะมีความเหนียวทางเคมี กลไกการแยกสารโดย Size Exclusion Chromatography นั้นเกี่ยวข้องกับเวลาที่สารจะถูกเลือกให้แพร่ผ่านรูพรุนของ packings ที่มีลักษณะเป็น network 3 มิติ และ packings นี้ อาจเป็นพวก gel หรือของแข็งที่มีรูพรุน ซึ่งเป็นสารประกอบอนินทรีย์ การที่สารจะถูกยึดเหนี่ยวให้อยู่ในคอลัมน์นานหรือไม่นานขึ้นขึ้นอยู่กับขนาดของโมเลกุล เมื่อเทียบกับขนาดของรูของอนุภาคที่ถูกบรรจุในคอลัมน์แล้ว โมเลกุลเล็กสามารถที่จะแพร่ผ่านเข้าไปในรูที่เล็ก โมเลกุลที่มีขนาดกึ่งกลางไม่ใหญ่มากนักจะแพร่ผ่านเฉพาะบางส่วนของรูที่อยู่ของอนุภาคเท่านั้น และจะถูกกีดกันจากรูเล็กมากๆ สำหรับ โมเลกุลที่มีขนาดใหญ่จะถูกกีดกันออกไป และไม่สามารถแพร่เข้าไปในรูได้ ดังนั้น โมเลกุลที่มีขนาดใหญ่จะเดินทางเร็วมาก และจะออกมาจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คอลัมน์นี้เป็นพวกแรก ดังนั้น size exclusion chromatography จะมีประโยชน์มากสำหรับการแยกสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง เช่น polymer และ biopolymers ออกจากโมเลกุลเล็กๆ

1.2 ทฤษฎีสัมพันธ์กับภาคปฏิบัติ (Theory Related to Practice)

1.2.1 Retention

การแยกจะประสบความสำเร็จได้ก็ต่อเมื่อสารมีอัตราการเคลื่อนที่ที่แตกต่างกันภายในคอลัมน์ ดังนั้น จากนิยามของ distribution coefficient (K_x) คือ การวัดลำดับของสาร X ที่จะถูกยึดหรือทำให้เคลื่อนที่ได้ช้าลง ในทางปฏิบัติ ค่า capacity factor (k') จะเป็นค่าที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้มากกว่า และสามารถที่จะหาได้โดยตรงจากโครมาโทแกรม ซึ่งสมการของค่า k' เป็นดังนี้

$$k' = \frac{\text{จำนวน โมลทั้งหมดของสาร X ในเฟสอยู่กับที่}}{\text{จำนวน โมลทั้งหมดของสาร X ในเฟสเคลื่อนที่}}$$

1.2.2 เวลาการคงไว้ (retention time, t_r)

เวลาการคงไว้ คือ เวลาที่ใช้ในการทำให้สารตัวอย่างหรือตัวถูกวิเคราะห์เคลื่อนที่ได้เท่ากับ 1 คอลัมน์ หรือเท่ากับ ความยาวของคอลัมน์ (L)หารด้วยอัตราเร็วของการเคลื่อนที่ของตัวถูกละลายในโครมาโทแกรมซึ่งสามารถหาค่า t_r ได้จากการวัดระยะทางตั้งแต่เริ่มฉีดสารตัวอย่างจนถึงส่วนยอดของพีก (peak)

$$t_r = \frac{\text{ความยาวของคอลัมน์}}{\text{อัตราเร็วของการเคลื่อนที่ของตัวถูกละลาย}}$$

ปัจจัยที่มีผลต่อเวลาการคงไว้ ได้แก่

1. ธรรมชาติของเฟสอยู่กับที่
2. ความยาวของคอลัมน์
3. อุณหภูมิของคอลัมน์
4. อัตราเร็วในการเคลื่อนที่ของเฟสเคลื่อนที่

1.2.3 ประสิทธิภาพของคอลัมน์ (Column Efficiency)

ประสิทธิภาพของคอลัมน์สามารถพิจารณาได้จากอัตราการขยายตัวของแถบ (band) ให้กว้างขึ้น เมื่อแถบนี้หรือตัวทำละลายนี้เคลื่อนที่ไปตามคอลัมน์ หรือเคลื่อนที่ไปตาม plate หรือ กระดาษ โมเลกุลทุกตัวจะเคลื่อนที่ด้วยอัตราเร็วที่แตกต่างกัน การกระจายของโมเลกุลจะอยู่ในเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นับญาติให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะเป็นรูป Gaussian จุดกึ่งกลางของแถบนั้นคือ k'-value ของสารแต่ละชนิด ซึ่งหมายถึง อัตราเร็วโดยเฉลี่ยของการเคลื่อนที่ของโมเลกุลนั้น และถ้าเกิดการเบี่ยงเบนไปจากค่าเฉลี่ยเล็กน้อย จะเป็นผลเนื่องมาจาก nonequilibrium effect ระหว่างเฟสเคลื่อนที่และเฟสอยู่กับที่ของ สารประกอบนั้นซึ่งเรียกว่า “resistance to mass transfer” การไหลของโมเลกุลในระยะทางที่ แตกต่างกันจะมีสาเหตุมาจากลักษณะของอนุภาคที่ถูกบรรจุอยู่ในคอลัมน์ และอีกสาเหตุหนึ่งคือ การแพร่ในแนวการไหลของเฟสเคลื่อนที่

ค่าที่ใช้ในการวัดประสิทธิภาพของคอลัมน์คือจำนวน theoretical plates (N) ซึ่งสามารถ คำนวณได้จากโครมาโทแกรมโดยใช้สมการดังต่อไปนี้

$$N = 16(t_r/W)^2$$

$$= 5.54(t_r/W_{1/2})^2$$

เมื่อ t_r = retention time

W = ความกว้างของฐานพีก (หน่วยเดียวกันกับ t_r)

$W_{1/2}$ = ความกว้างของพีกที่ครึ่งหนึ่งของความสูง

ถ้าค่า N ยังมีค่ามาก ประสิทธิภาพในการแยกก็จะดีตามไปด้วย

พารามิเตอร์ (parameter) ที่มีประโยชน์อีกตัวที่ใช้ในการวัดประสิทธิภาพของคอลัมน์ คือ height equivalent to a theoretical plates (HETP) สมการต่อไปนี้เป็นการแสดงความสัมพันธ์ ระหว่างค่า H (HETP) กับค่าอื่น

$$H = L/N$$

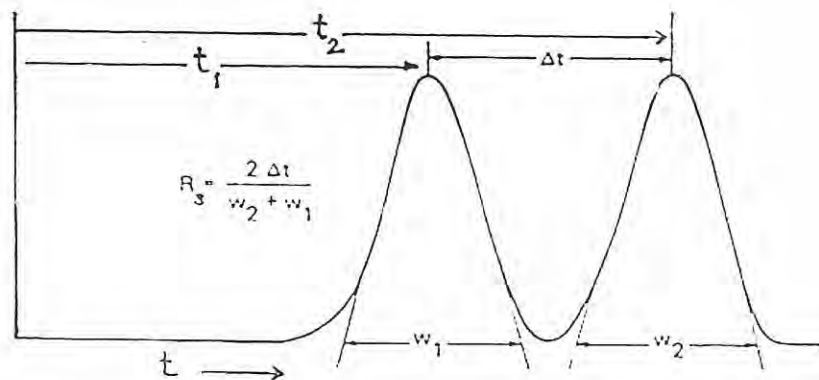
เมื่อ L = ความยาวของคอลัมน์

ดังนั้น คอลัมน์ที่มีค่า H ต่ำ จะดีกว่าคอลัมน์ที่มีค่า H สูง

1.2.4 การแยกและเวลาใช้แยก (Resolution and Separation time)

เป้าหมายของ LC คือ สามารถทำการแยกสารละลายของผสมได้และเพื่อให้บรรลุเป้าหมาย นั้นควรจะต้องสามารถวัดในเชิงปริมาณของการแยกให้ได้ หรือการแยก (resolution) ต้องประสบความสำเร็จ

นิยามของการแยก (R_s) แถบ (band) 2 แถบ ที่อยู่ใกล้กัน คือระยะห่างกันของแถบทั้งสอง หารด้วยความกว้างเฉลี่ยของแถบทั้งสอง ดังแสดงดังรูปที่ 3



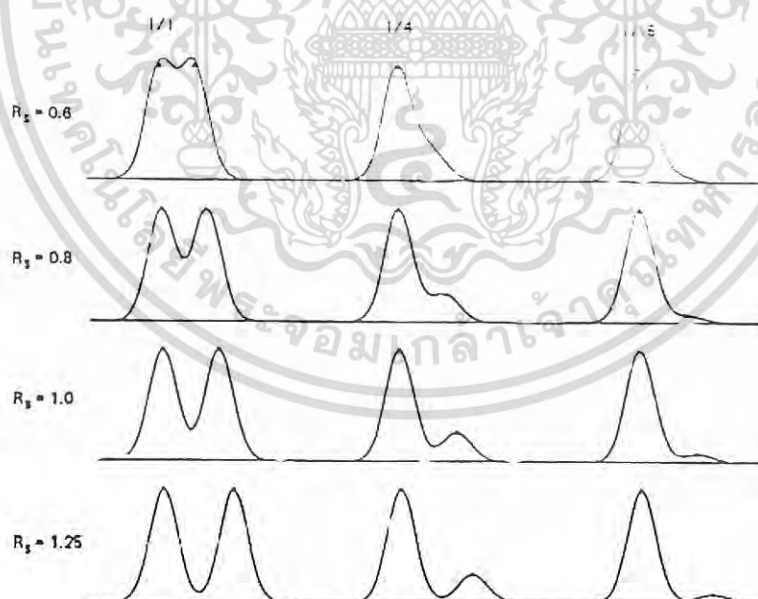
รูปที่ 3 แสดงการแยก (resolution) ใน LC

$$R_s = \frac{(t_2 - t_1)}{\frac{1}{2}(w_1 + w_2)}$$

เมื่อ t_1 และ t_2 คือ ค่า t_r ของ band 1 และ band 2

w_1 และ w_2 คือ ความกว้างของ band 1 และ band 2

ถ้า $R_s = 1$ หมายความว่า band ทั้งสองแยกออกจากกันประมาณ 98% เหลืออีก 2% เป็นส่วนที่ band ทั้งสองทับกัน ค่า R_s ยิ่งมีค่ามากเท่าใดแสดงว่าการแยกยิ่งดีขึ้นเท่านั้น ดังแสดงในรูปที่ 4

รูปที่ 4 แสดงการแยกที่ขึ้นอยู่กับค่า R_s และอัตราส่วนของความสูงของพีก

สำหรับค่า R_s ที่กำหนดให้การซ้อนทับของ band ทั้งสองเป็นเรื่องสำคัญมาก คือ band

หนึ่งใหญ่ อีก band หนึ่งเล็ก ค่า R_s นี้ถูกนำไปใช้ในการให้ความหมายของการแยก ในการควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การแยกควรจะต้องเข้าใจถึงการเปลี่ยนแปลงค่า R_s กับพารามิเตอร์ต่าง ๆ ของการทดลอง เช่น ค่า k' และ N อย่างไรก็ตาม เราทราบแล้วว่าค่า R_s มีความสัมพันธ์กับค่า k' , N และ α ดังสมการ

$$R_s = (1/4)(\alpha - 1)\sqrt{N} \left[\frac{k'}{1+k'} \right]$$

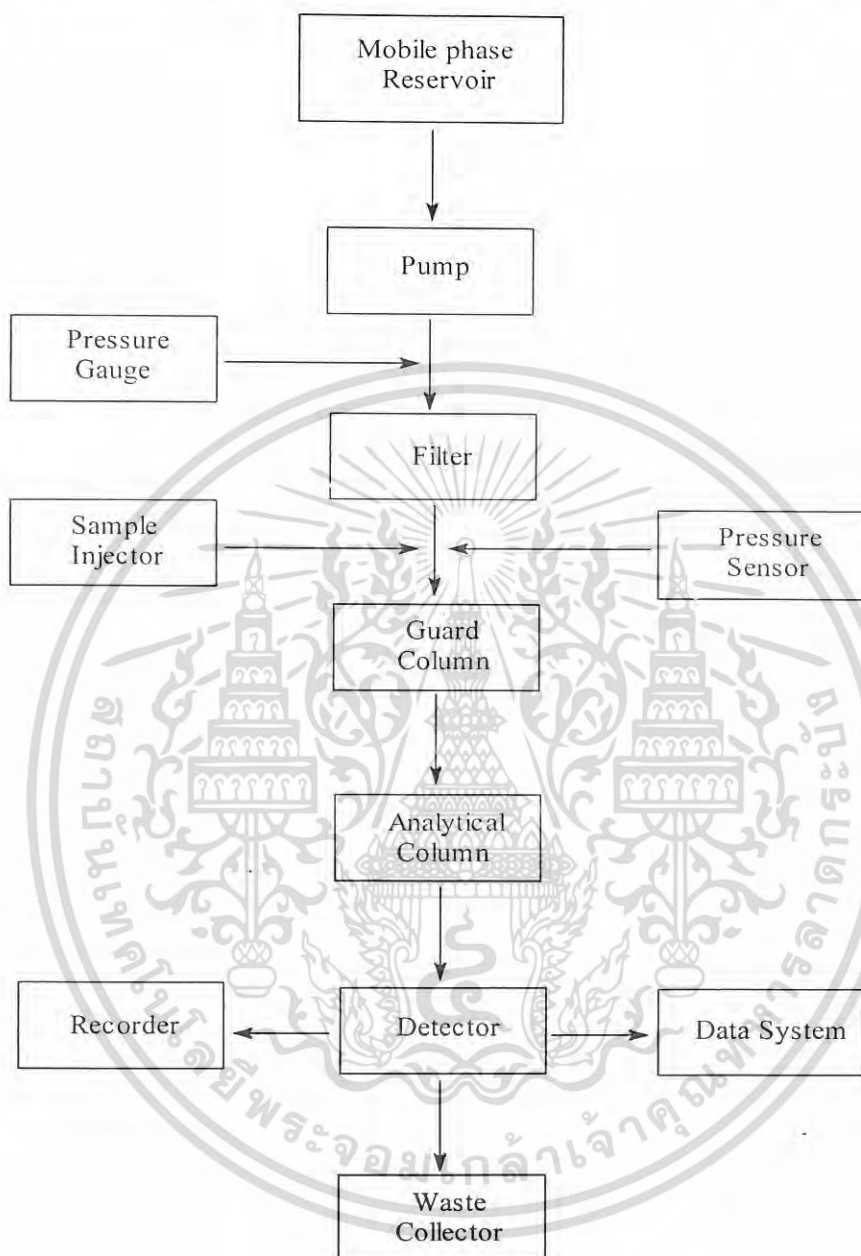
(i) (ii) (iii)

สมการนี้เป็นสมการพื้นฐานใน LC ซึ่งใช้ในการควบคุมการแยก โดยการเปลี่ยนแปลงค่าต่าง ๆ คือ α , N และ k' ซึ่งมีผลทำให้การแยกดีขึ้น สมการนี้ประกอบด้วยเทอมที่สำคัญ 3 เทอม คือ เทอม (i)-(iii) ซึ่งเป็นอิสระต่อกัน ถ้าพิจารณาเทอม (i) ค่า R_s จะมีค่ามาก ค่า α จะต้องมีค่ามากด้วย ซึ่งการเพิ่มค่า α ทำได้โดยการเปลี่ยนส่วนประกอบของเฟสเคลื่อนที่หรือเปลี่ยนเฟสอยู่กับที่ เทอม (ii) เกี่ยวข้องกับประสิทธิภาพของคอลัมน์ ซึ่งพารามิเตอร์ที่ใช้ในการวัดคือค่า N ถ้าจะให้ค่า R_s เพิ่มขึ้น จะต้องเปลี่ยนความยาวของคอลัมน์และความเร็วของเฟสเคลื่อนที่ ส่วนเทอม (iii) คือ R_s การเปลี่ยนแปลงค่า k' นี้ทำได้โดยการเปลี่ยนแปลงความแรงของตัวทำละลาย (Solvent strength) ซึ่งจะทำให้ค่า k' เพิ่มขึ้นหรือลดลงได้ โดยทั่วไปค่าที่เหมาะสมของค่า k' ใน LC จะอยู่ในช่วง 2-10 ในบางกรณีที่ค่า $t_1 \ll t_2$ และค่า α มีค่ามาก จะได้สมการดังนี้

$$R_s = (1/4) \left[\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right] \sqrt{N} \left[\frac{k'}{1+k'} \right]$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในปัจจุบันนี้เพื่อเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพของการแยกสารละลายผสมจึงได้นำเทคนิค High performance liquid chromatography เข้ามาใช้ซึ่งมีแผนผังการทำงาน ดังนี้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 เครื่อง High performance liquid chromatography

ประกอบด้วยส่วนต่างๆที่สำคัญดังนี้

1.3.1 ภาชนะที่บรรจุเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase reservoir)

ภาชนะที่บรรจุเฟสเคลื่อนที่โดยทั่วไปจะทำด้วยแก้วหรือโลหะสแตนเลส (Stainless steel) แต่โลหะสแตนเลสไม่ค่อยนิยมใช้เพราะอาจเกิดปัญหาเกี่ยวกับเฟสเคลื่อนที่ได้

ภาชนะที่บรรจุเฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วย

อุปกรณ์ที่ใช้ในการไล่อากาศที่ละลายอยู่เพื่อกำจัดแก๊สออกซิเจนและแก๊สไนโตรเจนซึ่งอาจจะทำปฏิกิริยากับเฟสเคลื่อนที่บางชนิดได้หรือเกิดฟองแก๊สภายในคอลัมน์หรืออาจจะเข้าไปรบกวนดีเทคเตอร์หรือไปทำให้การทำงานของปั๊มเสียไป การไล่แก๊สจะต้องทำเมื่อเฟสเคลื่อนที่เป็นสารมีขั้ว (Polar Solvents)

1.3.2 ปั๊ม (Pump)

ปั๊มจะทำหน้าที่นำเฟสเคลื่อนที่เข้าสู่คอลัมน์ด้วยความดันที่เหมาะสม ประมาณ 4000-5000 psi ปั๊มนำมาใช้ควรมีสมบัติดังนี้

1. สามารถให้ความดันได้สูงถึง 4000-6000 psi เพื่อปั๊มให้เฟสเคลื่อนที่ไหลผ่านคอลัมน์ขนาดเล็กซึ่งบรรจุด้วยอนุภาคขนาดเล็กได้และอย่างน้อยต้องให้ความดันได้ถึง 500 psi

2. ปั๊มและส่วนประกอบควรจะต้องทำด้วยวัสดุที่ทนต่อการสึกกร่อนด้วยตัวทำละลายต่างๆ ที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ ทั้งนี้รวมถึง Fittings และ flow cell ด้วย เป็นต้น เช่น ทำด้วยเหล็กไร้สนิมคุณภาพสูง inert polymer เช่น polytetrafluoroethylene (PTFE), ruby และ sapphire

3. ควรมีปริมาตรภายในต่ำเพื่อความสะดวกและรวดเร็วในการเปลี่ยนแปลงเฟสเคลื่อนที่

4. มีความจุความดันสูง (high pressure capacity) เพื่อจะให้เกิดการแยกได้อย่างรวดเร็ว มีประสิทธิภาพและมีการแยกออกที่ดีขึ้น (high resolution)

5. ช่วงอัตราการไหล (range of flow rate) ควรเปลี่ยนแปลงได้และจะต้องง่ายต่อการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลด้วย

6. ควรจะต้องสามารถปั๊มเฟสเคลื่อนที่ที่ปริมาตรมาก ๆ ได้อย่างต่อเนื่องโดยไม่มีอาการขัดข้อง

7. สามารถให้อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ได้สูงถึง 3 ml/min เป็นอย่างน้อยและคงที่

8. ความคลาดเคลื่อนของการควบคุมการไหลของเฟสเคลื่อนที่ต้องไม่เกิน 1-2 %

9. ต้องไม่มีพัลส์ (Pulse) หรือมีตัวที่ใช้ลดพัลส์ (pulse damper) หรือไม่ทำให้เกิด detector noise

10. ปั๊มควรมีลักษณะง่ายต่อการซ่อมแซม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3.3 Sample Introduction Devices (Injector)

การผ่านสารตัวอย่างเข้าไปยัง LC คอลัมน์นั้นมีความสำคัญค่อนข้างมากต่อการแยกสาร เนื่องจากสารตัวอย่างที่ผ่านเข้าไปในคอลัมน์ควรจะมีลักษณะที่เป็นแถบที่แคบมากที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้ ที่นิยมใช้คือ microsampling valve ส่วนวิธีที่ง่ายที่สุดคือใช้วิธีฉีดสารตัวอย่างผ่าน septum ด้วย microsyringe และควรระมัดระวังเนื่องจากความดันภายในสูง

1.3.4 Column

คอลัมน์มีลักษณะเป็นท่อทรงกระบอกซึ่งภายในจะบรรจุ stationary phase ไว้อย่างสมบูรณ์ และเหมาะสมซึ่งถือว่าเป็นสิ่งสำคัญหัวใจของ chromatographic system วัสดุที่ใช้ทำคอลัมน์, ขนาด, รูปร่าง, packing material (วัสดุที่บรรจุในคอลัมน์), วิธีการบรรจุคอลัมน์ (packing) จะมีความสำคัญกับการทำงานของ chromatograph ปัจจุบันได้มีบริษัทผลิตคอลัมน์ขนาดต่างๆ โดยที่ไม่จำเป็นต้องทำการเตรียมคอลัมน์เอง

วัสดุที่ใช้ในการเตรียม HPLC column คือ stainless steel เนื่องจากมีความแข็งแรงและเฉื่อยต่อปฏิกิริยาภายใต้ normal chromatographic conditions ถ้า stainless steel ความเฉื่อยต่อปฏิกิริยาไม่เพียงพอที่จะนิยมใช้ tantalum column หรือ titanium column Polyethylene และ PTFE ไม่เหมาะสมสำหรับ pressurized systems แต่ใช้ใน radial compression systems fused silica column นิยมใช้ใน capillary หรือ open-tubular LC

1.3.5 เครื่องตรวจวัด (Detector)

คุณสมบัติที่สำคัญของเครื่องตรวจวัดที่ต้องคำนึงถึงมีดังนี้

1. มีความไวสูงและให้สัญญาณตอบรับที่คาดคะเนได้
2. ให้สัญญาณตอบรับได้กับสารทุกชนิด
3. ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิและอัตราเร็วของการไหลของเฟสเคลื่อนที่
4. เชื้อถือได้และง่ายต่อการทำงาน
5. ความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและสัญญาณตอบรับของเครื่องตรวจวัดควรมีสภาพเชิงเส้นในช่วง (Linearity) ในช่วงกว้าง
6. ไม่ทำลายสารตัวอย่าง
7. ให้ข้อมูลเกี่ยวกับคุณภาพวิเคราะห์สำหรับพิกที่ต้องการตรวจสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยูวี- วิสิเบิล ดีเทคเตอร์ (UV-VIS Detectors)

หลักการการทำงานของเครื่องตรวจวัดชนิดนี้อาศัยการดูดกลืนแสงยูวีของสารตัวอย่าง เครื่องชนิดนี้เป็นที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวาง เพราะเครื่องตรวจวัดนี้มีลักษณะพิเศษ คือ ไม่ไวต่อการเปลี่ยนแปลงของการไหลและอุณหภูมิ แต่ค่อนข้างจะมีความไวสูงกับสารประกอบอินทรีย์เป็นส่วนใหญ่



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์โดยการวัดปริมาตร (Volumetric analysis)

เป็นการวิเคราะห์ที่ให้ความถูกต้องและแม่นยำสูง มีความรวดเร็วพอเหมาะ จึงจัดเป็นวิธีที่ดี และมีประโยชน์มากวิธีหนึ่ง ทำได้โดยนำสารตัวอย่างที่อยู่ในสภาพสารละลายและมีปริมาตรที่แน่นอนใส่ในขวดรูปกรวย เรียกว่า ไทเทรนต์ (titrand) มาทำปฏิกิริยากับสารละลายที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน เรียกว่า สารละลายมาตรฐาน (standard solution) ซึ่งใส่อยู่ในบิวเรต เรียกว่า ไทเทรนต์ (titrant) เรียกวิธีการนี้ว่า การไทเทรต (titration) บางครั้งจึงเรียกวิธีการวิเคราะห์โดยการวัดปริมาตรว่า การวิเคราะห์โดยการไทเทรต (titrimetric analysis) การไทเทรตจะกระทำจนถึงจุดที่สารทั้งสองชนิดทำปฏิกิริยากันหมดพอดี เรียกว่า จุดสมมูล (equivalent point) การชี้บอกจุดสมมูลทำได้หลายวิธี เช่น การใช้อินดิเคเตอร์ วัดศักย์ไฟฟ้าที่เปลี่ยนแปลง วัดค่าการดูดกลืนแสง และ วัดความขุ่น เป็นต้น สามารถเลือกใช้ได้ตามความเหมาะสมของปฏิกิริยาการไทเทรตที่เกิดขึ้น และที่จุดสมมูลจะบอกถึงปริมาตรของสารละลายมาตรฐานที่ทำปฏิกิริยาพอดีกับ analyte นำไปคำนวณหาปริมาณของ analyte ได้โดยอาศัยปริมาณสารสัมพันธ์ (stoichiometry) ของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น

การวิเคราะห์หาปริมาณสารในงานประจำนิยมใช้วิธีวิเคราะห์โดยการวัดปริมาตร เนื่องจาก การวิเคราะห์โดยการวัดปริมาตรทำได้รวดเร็ว สะดวก ให้ข้อมูลที่ถูกต้องและแม่นยำ นอกจากนี้ยังใช้วิเคราะห์กับสารได้หลายชนิด เนื่องจากปฏิกิริยาการไทเทรตมีหลายแบบ เช่น การไทเทรตกรด-เบส (Acid-base titration) การไทเทรตแบบตกตะกอน (Precipitation titration) การไทเทรตแบบเกิดสารประกอบเชิงซ้อน (Complexometric titration) และการไทเทรตแบบรีดอกซ์ (Redox titration) เป็นต้น

การไทเทรตกรด-เบส (Acid-base titration)

เป็นวิธีการวิเคราะห์โดยการวัดปริมาตร วิธีหนึ่งที่นิยมใช้ในงานทางด้านเคมีวิเคราะห์ เพื่อใช้หาปริมาณสารที่มีสมบัติเป็นกรดหรือเบสที่มีอยู่ในสารตัวอย่าง ทำโดยการสร้างกราฟที่แสดงว่าค่า pH ของสารละลายที่เป็นไทเทรนต์ (titrand) เปลี่ยนแปลงไปอย่างไร เมื่อเติมไทเทรนต์ (titrant) ที่อยู่ในบิวเรตลง ไป กราฟที่ได้เรียกว่า กราฟการไทเทรตกรด-เบส (Acid-base titration curve) ถ้าสร้างกราฟนี้ได้จะทำให้เราเข้าใจว่าเกิดอะไรขึ้นขณะทำการไทเทรตทราบจุดที่กรดและเบสทำปฏิกิริยากันพอดี เรียกว่า จุดสมมูล (equivalent point) หรือในบางกรณีนี้บางครั้งเรียกว่า จุดสะเทิน (neutralization point) และใช้หลักปริมาณสารสัมพันธ์มาช่วยคำนวณหาปริมาณกรดหรือเบสในสารตัวอย่างได้ นอกจากนี้ยังช่วยทำให้สามารถเลือกอินดิเคเตอร์ที่เหมาะสมได้อีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยการศึกษาในขั้นแรกต้องเขียนปฏิกิริยาระหว่างไทเทรนต์กับไทเทรนต์ (ในที่นี้คือสารที่ต้องกาวิเคราะห์ หรือ analyte) และอาศัยปริมาณสารสัมพันธ์ในการคำนวณ pH ที่จุดสำคัญ 4 จุดคือ

1. จุดก่อนเติมไทเทรนต์
2. จุดก่อนจุดสมมูลหรือจุดที่มีการเติมไทเทรนต์ในปริมาณต่าง ๆ กันก่อนถึงจุดสมมูล
3. จุดสมมูล
4. จุดหลังสมมูลหรือเมื่อเติมไทเทรต์ในปริมาณมากเกินไป

1. การไทเทรตระหว่างกรดแก่กับเบสแก่ (Titration of Strong Acid with Strong Base)
กรดแก่และเบสแก่จะแตกตัวได้สมบูรณ์ในสารละลายที่มีน้ำเป็นตัวทำละลายดังนั้นค่า pH ที่จุดต่าง ๆ ระหว่างการไทเทรต สามารถคำนวณได้โดยตรงจากปริมาณกรดหรือเบสที่ทำปฏิกิริยากัน ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างการไทเทรตกรด-เบส โดยทั่ว ๆ ไปเขียนได้ดังนี้



2. การไทเทรตระหว่างกรดอ่อนกับเบสแก่ (Titration of Weak Acid with Strong Base)
นิยมใช้สารละลายเบสแก่เป็นไทเทรนต์ สารละลายกรดอ่อนเป็นไทเทรนต์ และถือว่าปฏิกิริยาระหว่างกรดอ่อนกับเบสแก่จะเกิดขึ้นสมบูรณ์ทุกครั้งที่มีการเติมสารละลายเบสแก่ หรือ OH^- ลงไปซึ่งปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเขียนได้ดังนี้



3. การไทเทรตระหว่างเบสอ่อนกับกรดแก่ (Titration of Weak Base with Strong Acid)
นิยมใช้สารละลายกรดแก่ (H^+) เป็นไทเทรนต์ และสารละลายเบสอ่อน (B) เป็นไทเทรต์ และปฏิกิริยาระหว่างการไทเทรตเบสอ่อนกับกรดแก่เกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ทุกครั้งที่มีการเติมสารละลายกรดแก่หรือ H^+ ลงไป ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นขณะไทเทรตเขียนได้ดังนี้



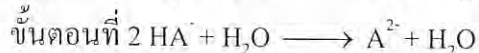
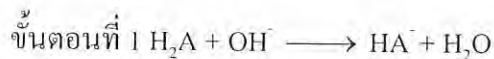
4. การไทเทรตในระบบไดโปรติก (Titration in Diprotic System)

เป็นการพัฒนาการไทเทรตของกรดและเบส แบบมอนอโปรติกไปเป็นการไทเทรตกรดและเบสแบบโพลีโปรติก คือมีการถ่ายโอนโปรตอนมากกว่า 1 ครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1 การไทเทรตระหว่างกรดไดโพรติกกับเบสแก่

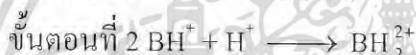
นิยมให้กรดไดโพรติก (H_2A) เป็นไทแทนต์และเบสแก่ (BOH) เป็นไทแทนต์ ดังที่ทราบกันแล้วว่ากรด H_2A แยกตัวได้ 2 ครั้งมีค่า K_a 2 ค่า ดังนั้นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นขณะไทเทรตจะมี 2 ขั้นตอน ดังนี้



จุดสมมูลจะมี 2 จุด กราฟการไทเทรตจะมีลักษณะหัก (break point) หรือเป็นขั้นบันได 2 ขั้น

4.2 การไทเทรตระหว่างไดโพรติกเบสกับกรดแก่

เบสที่กล่าวถึงในหัวข้อนี้เป็นไดเบสิก (dibasic) มีค่า K_b 2 ค่าคือ K_{b1} และ K_{b2} ทำปฏิกิริยากับ H^+ ได้ 2 ขั้นตอน ดังนี้



ลักษณะกราฟของการไทเทรตระหว่างไดโพรติกเบสกับกรดแก่ จะมีขั้นแตกหัก 2 ขั้น คือ มีจุดสมมูล 2 จุด เหมือนกราฟของการไทเทรตระหว่างกรดไดโพรติกกับเบสแก่

5. การไทเทรตในระบบไตรโพรติก (Titration in Triprotic system)

การไทเทรตในระบบไตรโพรติกคือการไทเทรตของสารละลายกรดไตรโพรติก (H_3A) กับสารละลายเบสแก่ ที่มีค่า K_a 3 ค่า คือ K_{a1} , K_{a2} และ K_{a3} ดังนั้นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นขณะไทเทรตจะมี 3 ขั้นตอน ดังนี้



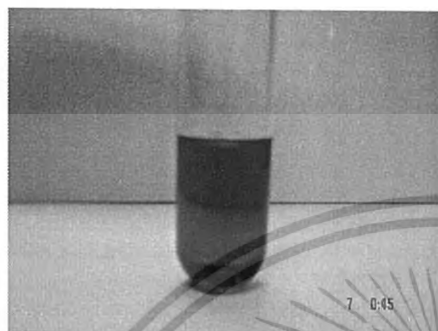
6. การไทเทรตสารละลายของกรด 2 ชนิด (Titration of a Mixture of Two Acids)

การไทเทรตสารละลายผสมของกรด 2 ชนิด จะได้กราฟลักษณะเหมือนกับกรดไดโพรติก (H_2A) ถ้าให้กรด 2 ชนิด ที่ผสมกันเป็นกรด HX และ HY มีค่า K_a เท่ากับ K_{a1} และ K_{a2} ตามลำดับ โดยกรด HX เป็นกรดที่แรงกว่ากรด HY ($K_{a1} > K_{a2}$) และกรดทั้ง 2 ชนิดต้องมีค่า pK_{a1} และ pK_{a2} ต่างกันอย่างน้อยเท่ากับ 4 หน่วยจึงจะเห็นการเปลี่ยนแปลง 2 ขั้น ชัดเจนขณะทำการไทเทรตกรดที่มีความแรงมากกว่าจะถูกไทเทรตก่อนในที่นี้กรด HX จะถูกไทเทรตก่อนกรด HY

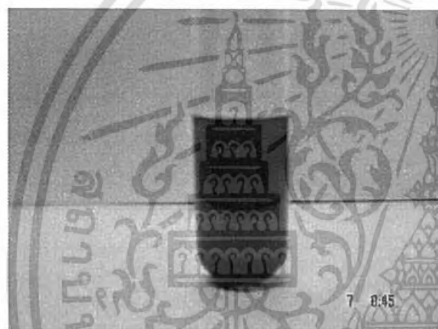
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

1. สีของสารละลายเมื่อทำการไทเทรตสารละลายมาตรฐานเดกซ์โทรเมธอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์ด้วยกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น 0.001 โมลาร์ โดยใช้สารละลายคริสตัลไวโอเลตเป็นอินดิเคเตอร์



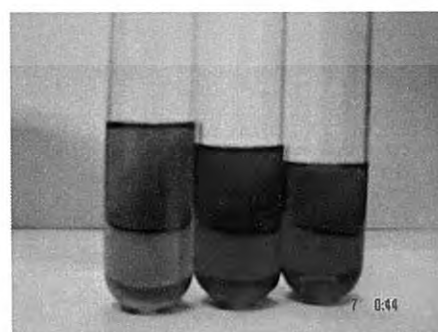
สารละลายเริ่มต้น คือ สารละลายสีม่วง



สารละลายก่อนถึงจุดยุติ คือ สารละลาย-
สีน้ำเงิน



สารละลายที่จุดยุติ คือ สารละลาย
สีฟ้าอมเขียว



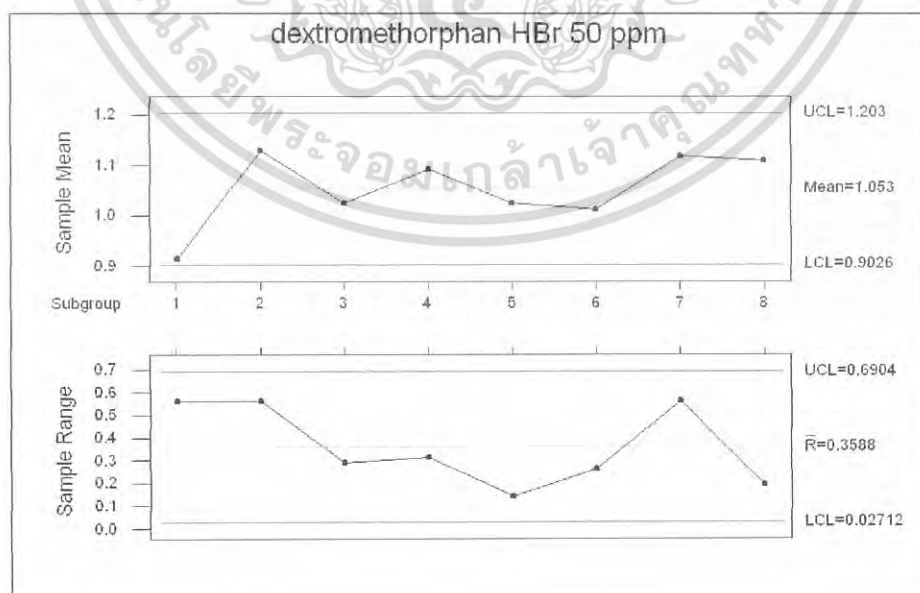
เปรียบเทียบสีของสารละลายตั้งแต่
เริ่มต้นจนถึงจุดยุติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ผลการไทเทรตสำหรับเตรียมชุดตรวจสอบปริมาณสารเดกซ์โทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์

2.1 ผลการไทเทรตระหว่างสารละลายมาตรฐานเดกซ์โทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์ 50 ppm กับกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น 0.001 โมลาร์

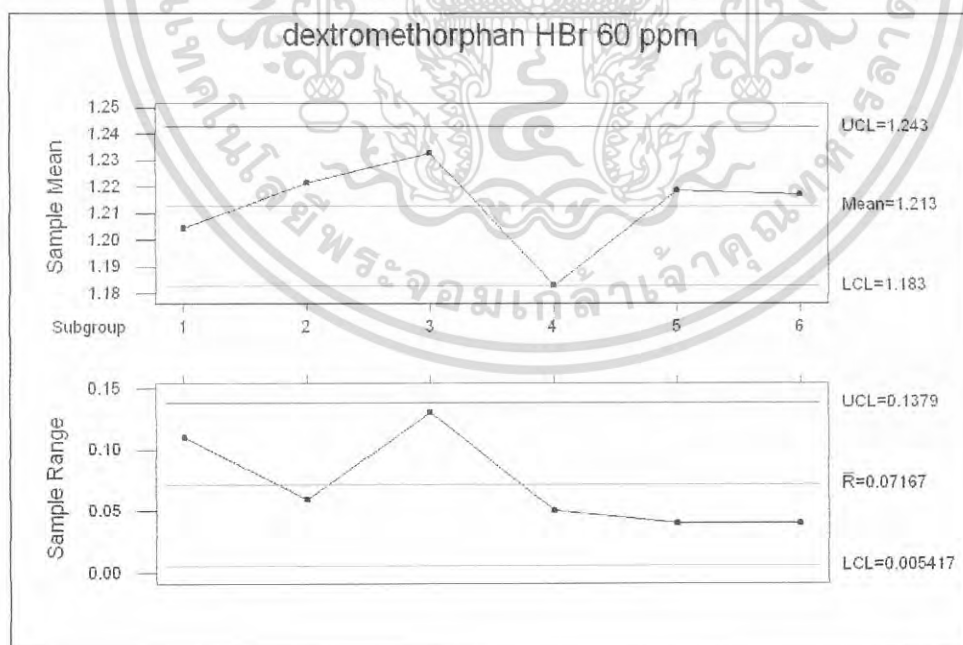
วัน	ปริมาตรกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น 0.001 โมลาร์ (ml)						
	1	2	3	4	5	6	7
1	0.98	0.97	0.84	1.03	0.54	1.10	0.94
2	1.12	1.56	1.02	1.05	1.00	1.07	1.08
3	1.10	0.95	0.9	1.11	1.70	0.96	1.06
4	0.96	1.01	0.84	1.03	1.10	1.10	1.13
5	1.12	1.11	1.02	1.06	0.96	1.10	1.27
6	0.96	0.98	1.10	1.00	1.03	1.05	1.05
7	0.96	0.84	1.01	1.10	1.10	1.03	1.05
8	0.98	0.91	0.84	1.03	0.54	1.00	0.86
9	1.05	1.56	1.02	1.05	1.00	1.07	1.08
10	1.10	1.23	1.04	1.11	1.06	1.07	1.16



หมายเหตุ ข้อมูลตัวสีแดง คือ ข้อมูลที่ถูกตัดทิ้งจากกราฟควบคุมคุณภาพ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 ผลการไทเทรตระหว่างสารละลายมาตรฐานเดกซ์โทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์ 60 ppm กับกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น 0.001 โมลาร์

วัน	ปริมาตรกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น 0.001 โมลาร์ (ml)						
	1	2	3	4	5	6	7
1	1.22	1.18	1.16	1.27	1.21	1.19	1.20
2	1.12	1.15	1.19	1.16	1.17	1.18	1.19
3	1.21	1.25	1.23	1.22	1.19	1.23	1.22
4	1.22	1.18	1.16	1.27	1.21	1.33	1.01
5	1.23	1.25	1.29	1.16	1.23	1.25	1.22
6	1.18	1.18	1.21	1.20	1.19	1.16	1.16
7	1.20	1.23	1.21	1.24	1.22	1.20	1.23
8	1.34	1.29	1.25	1.30	1.28	1.25	1.26
9	1.23	1.20	1.21	1.24	1.21	1.20	1.23
10	1.27	1.21	1.33	1.01	1.34	1.25	1.32

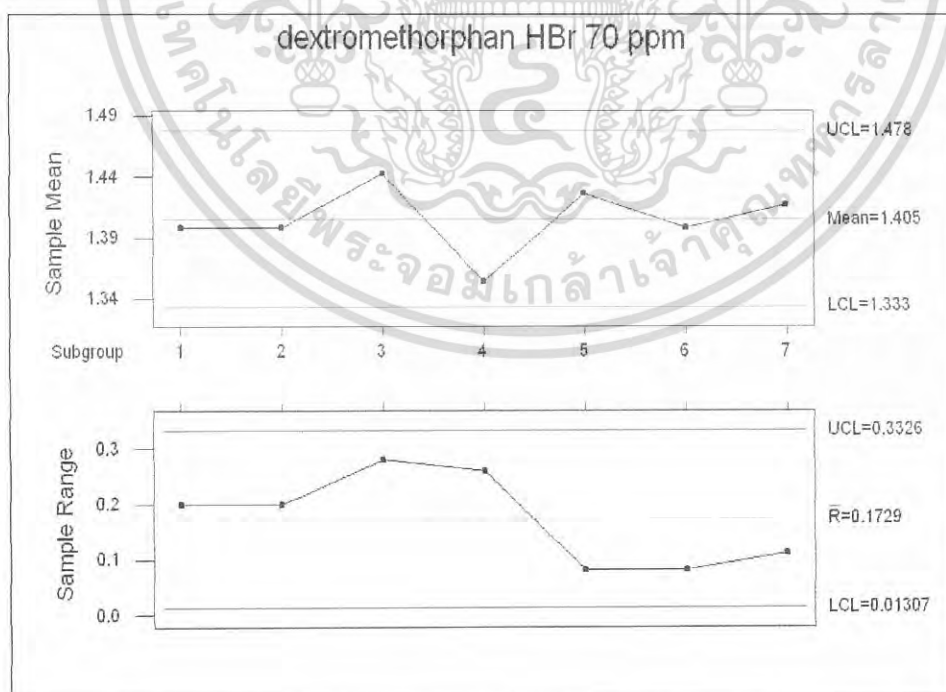


หมายเหตุ ข้อมูลตัวสีแดง คือ ข้อมูลที่ถูกตัดทิ้งจากกราฟควบคุมคุณภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 ผลการไทเทรตระหว่างสารละลายมาตรฐานเดกซ์โทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์ 70 ppm กับกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น 0.001 โมลาร์

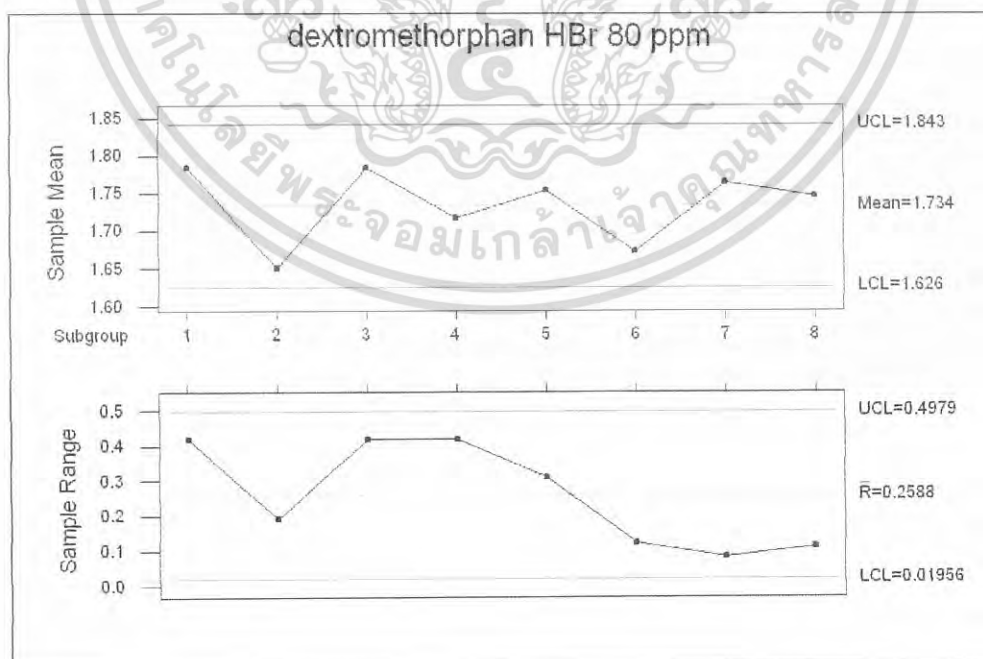
วัน	ปริมาตรกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น 0.001 โมลาร์						
	1	2	3	4	5	6	7
1	1.52	1.35	1.32	1.35	1.41	1.44	1.4
2	1.33	1.83	1.61	2.07	1.5	1.38	1.52
3	1.38	2.00	1.38	1.44	2.60	1.43	1.48
4	1.52	1.35	1.32	1.35	1.41	1.44	1.40
5	1.33	1.38	1.61	1.38	1.50	1.38	1.52
6	1.34	1.48	1.32	1.40	1.36	1.22	1.36
7	1.43	1.48	1.40	1.44	1.40	1.43	1.41
8	1.41	1.42	1.43	1.35	1.41	1.38	1.39
9	1.41	1.50	1.50	1.41	1.36	1.40	2.60
10	1.40	1.42	1.37	1.39	1.46	1.48	1.40



หมายเหตุ ข้อมูลตัวสีแดง คือ ข้อมูลที่ถูกตัดทิ้งจากกราฟควบคุมคุณภาพ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 ผลการไทเทรตระหว่างสารละลายมาตรฐานเดกซ์โทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์ 80 ppm กับกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น 0.001 โมลาร์

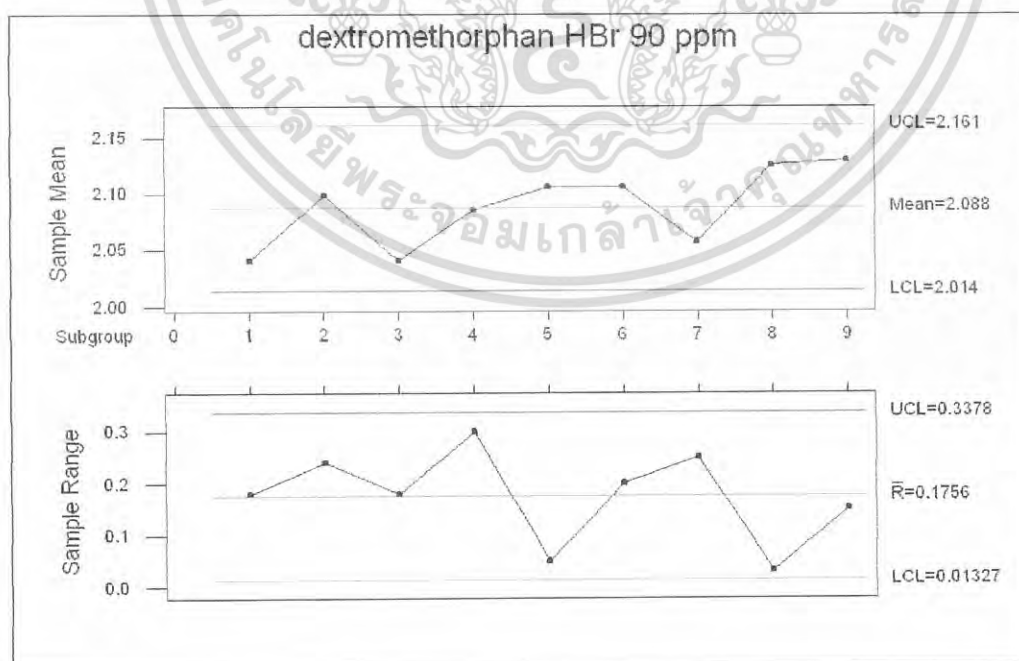
วัน	ปริมาตรกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น 0.001 โมลาร์						
	1	2	3	4	5	6	7
1	1.58	1.67	1.74	0.96	0.88	1.67	1.61
2	1.59	1.65	1.66	2.01	1.83	1.92	1.83
3	1.55	1.73	2.40	1.86	2.35	1.79	1.56
4	1.58	1.67	1.74	1.55	1.73	1.67	1.61
5	1.59	1.65	1.66	2.01	1.83	1.92	1.83
6	1.67	1.61	1.59	1.65	1.66	2.01	1.83
7	1.83	1.73	1.83	1.55	1.73	1.75	1.86
8	1.67	1.65	1.73	1.67	1.73	1.65	1.61
9	1.74	1.73	1.73	1.79	1.81	1.75	1.80
10	1.77	1.70	1.72	1.75	1.69	1.80	1.79



หมายเหตุ ข้อมูลตัวสีแดง คือ ข้อมูลที่ถูกตัดทิ้งจากกราฟควบคุมคุณภาพ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 ผลการไทเทรตระหว่างสารละลายมาตรฐานเดกซ์โทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์ 90 ppm กับกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น 0.001 โมลาร์

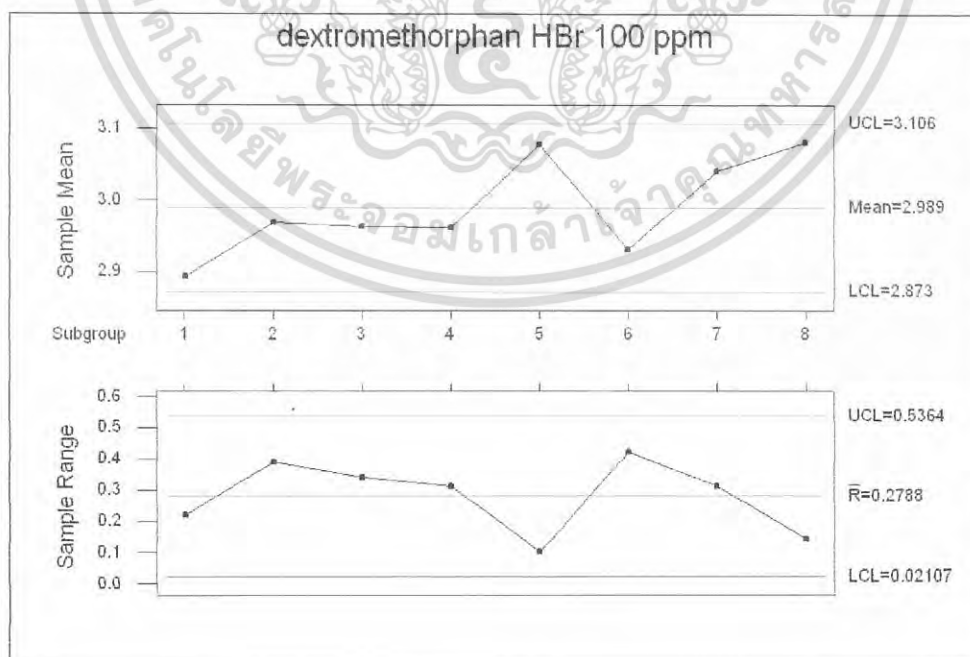
วัน	ปริมาณกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น 0.001 โมลาร์						
	1	2	3	4	5	6	7
1	2.03	1.98	2.12	2.00	2.11	1.94	2.10
2	2.2	1.99	2.14	1.96	2.16	2.09	2.15
3	2.03	2.11	2.12	2.06	2.04	2.24	2.79
4	2.03	1.98	2.12	2.00	2.11	1.94	2.10
5	2.20	1.90	2.14	1.96	2.16	2.09	2.15
6	2.10	2.09	2.13	2.08	2.10	2.11	2.13
7	2.12	2.00	2.11	2.09	2.10	2.20	2.12
8	1.91	1.99	2.14	1.96	2.16	2.09	2.15
9	2.12	2.14	2.12	2.12	2.14	2.13	2.11
10	2.14	2.13	2.10	2.08	2.12	2.11	2.23



หมายเหตุ ข้อมูลตัวสีแดง คือ ข้อมูลที่ถูกตัดทิ้งจากกราฟควบคุมคุณภาพ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่สามารถใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 ผลการไทเทรตระหว่างสารละลายมาตรฐานเดกซ์โทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์ 100 ppm กับกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น 0.001 โมลาร์

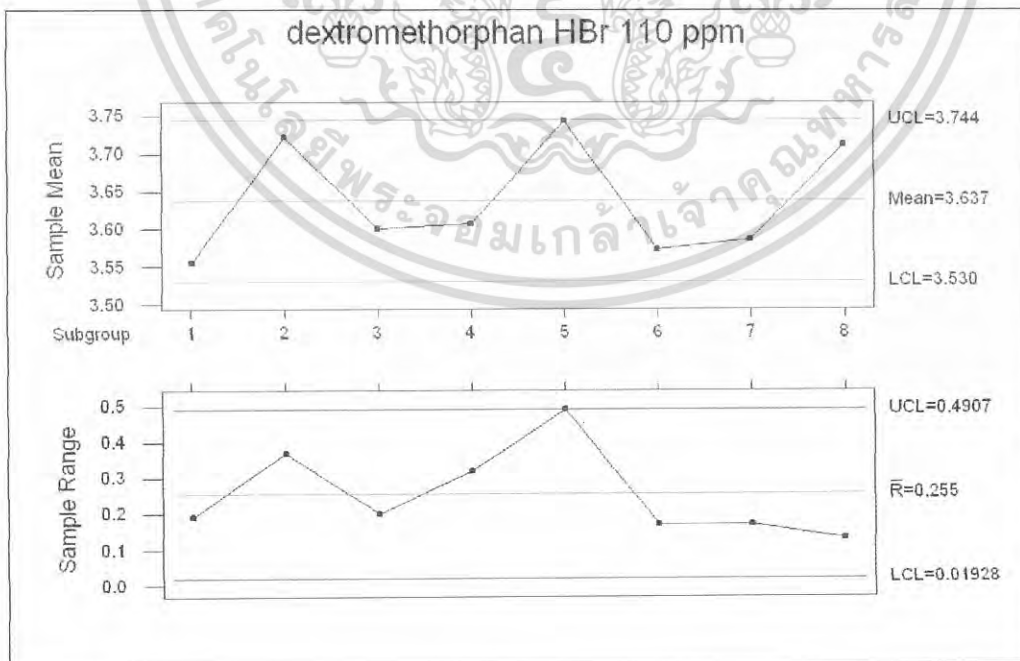
วัน	ปริมาตรกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น 0.001 โมลาร์						
	1	2	3	4	5	6	7
1	2.91	2.98	2.65	2.92	2.34	2.81	2.91
2	2.94	2.89	2.98	2.83	2.78	3.00	2.84
3	3.20	3.05	3.12	3.08	3.40	3.11	3.36
4	2.91	3.20	3.05	2.98	2.92	2.81	2.91
5	2.94	3.12	2.98	3.08	2.78	3.00	2.84
6	3.05	2.98	2.92	2.81	2.91	2.94	3.12
7	3.02	3.06	3.12	3.04	3.11	3.09	3.10
8	2.89	2.98	2.83	2.78	3.00	2.84	3.20
9	2.98	2.89	3.12	3.06	3.05	2.98	3.20
10	2.98	3.12	3.08	3.06	3.12	3.09	3.11



หมายเหตุ ข้อมูลตัวสีแดง คือ ข้อมูลที่ถูกตัดทิ้งจากกราฟควบคุมคุณภาพ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นับญาติให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7 ผลการไทเทรตระหว่างสารละลายมาตรฐานเดกซ์โทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์
110 ppm กับกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น 0.001 โมลาร์

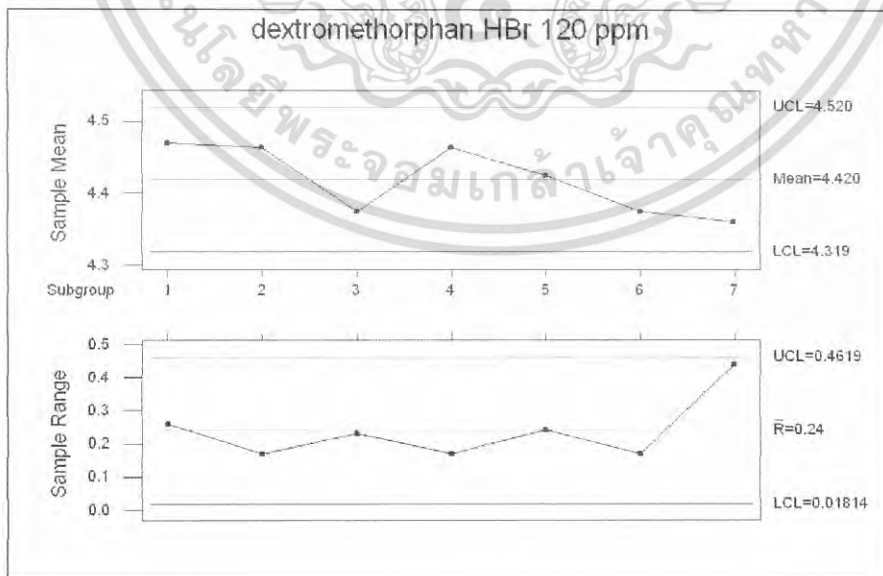
วัน	ปริมาตรกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น 0.001 โมลาร์						
	1	2	3	4	5	6	7
1	3.55	3.58	3.60	3.58	3.45	3.49	3.64
2	3.52	3.56	3.56	3.54	3.32	3.49	3.63
3	3.69	3.99	3.77	3.63	3.71	3.62	3.65
4	3.55	3.65	3.6	3.58	3.69	3.49	3.64
5	3.52	3.56	3.56	3.77	3.76	3.45	3.63
6	3.69	3.51	3.64	3.78	3.82	3.76	4.00
7	3.58	3.66	3.49	3.64	3.52	3.56	3.56
8	3.69	3.52	3.55	3.58	3.55	3.52	3.69
9	3.77	3.71	3.99	3.77	3.70	3.68	3.85
10	3.78	3.69	3.68	3.72	3.77	3.65	3.69



หมายเหตุ ข้อมูลตัวนี้เอง คือ ข้อมูลที่ถูกตัดทิ้งจากกราฟควบคุมคุณภาพ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8 ผลการไทเทรตระหว่างสารละลายมาตรฐานเดกซ์โทรเมธอร์แฟนไฮโดรโบรไมด์
120 ppm กับกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น 0.001 โมลาร์

วัน	ปริมาณกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น 0.001 โมลาร์						
	1	2	3	4	5	6	7
1	4.41	4.45	4.49	4.42	4.67	4.41	4.44
2	4.55	4.43	4.42	4.40	4.45	4.43	4.57
3	4.38	4.22	4.31	4.00	4.21	4.03	3.98
4	4.38	4.45	4.22	4.42	4.31	4.41	4.44
5	4.55	4.43	4.42	4.40	4.45	4.43	4.57
6	4.42	4.31	4.41	4.44	4.55	4.43	4.42
7	4.40	4.22	4.22	4.31	4.00	4.41	4.38
8	4.38	4.41	4.35	4.46	4.29	4.36	4.38
9	4.42	4.41	4.00	4.42	4.43	4.44	4.41
10	4.78	4.65	4.71	4.86	4.45	4.35	4.64



หมายเหตุ ข้อมูลตัวสีแดง คือ ข้อมูลที่ถูกตัดทิ้งจากกราฟควบคุมคุณภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

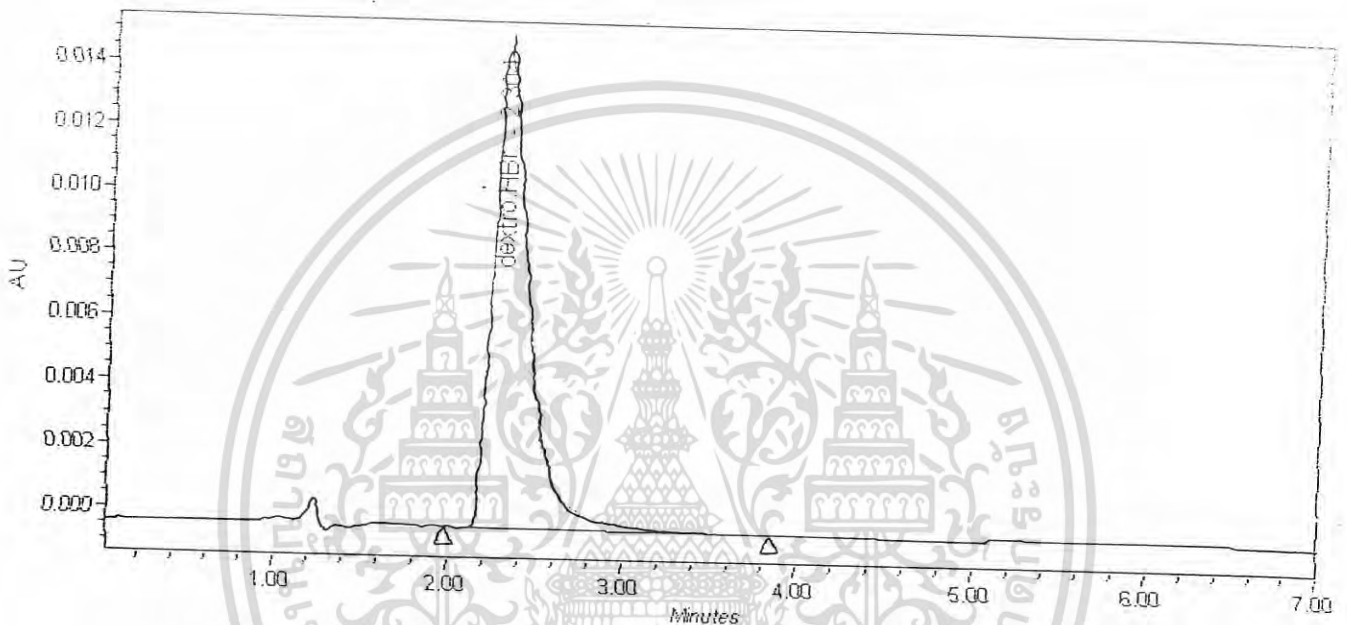
ภาคผนวก ง

โครมาโทแกรมแสดงผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารเดกซ์โทรเมธอร์เฟนไฮโดรโบรไมด์ด้วยเทคนิค

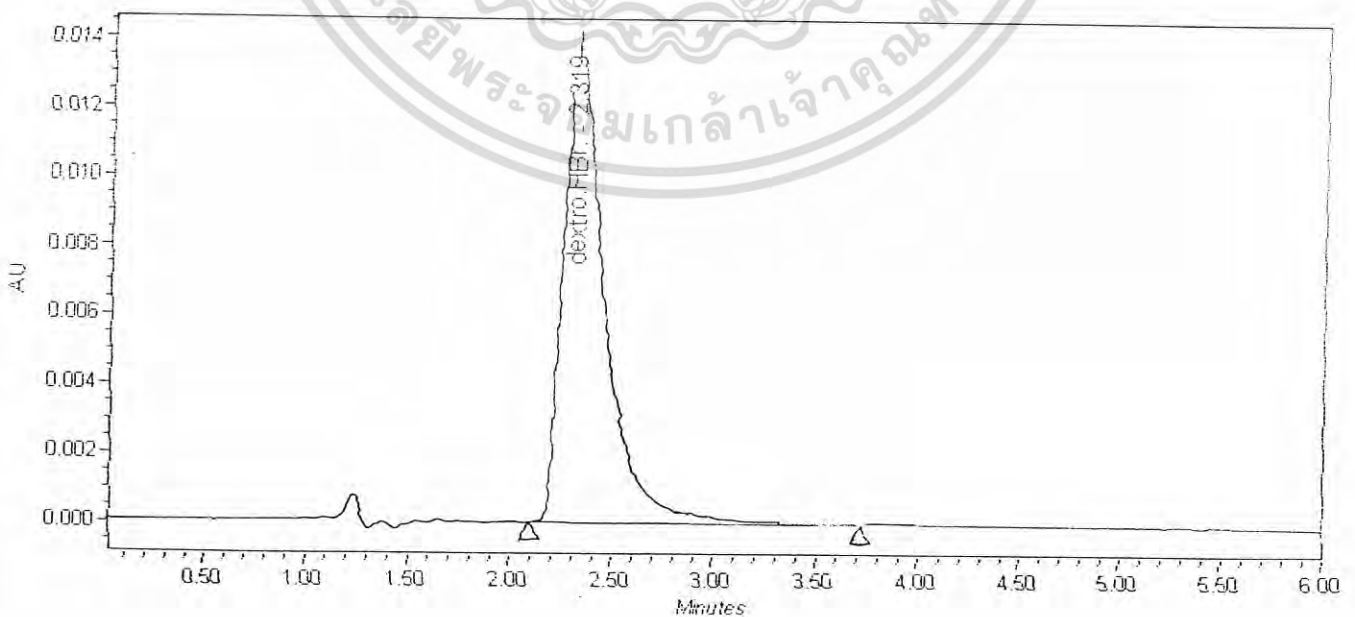
HPLC

ยี่ห้อโรมิลาร์

ครั้งที่ 1

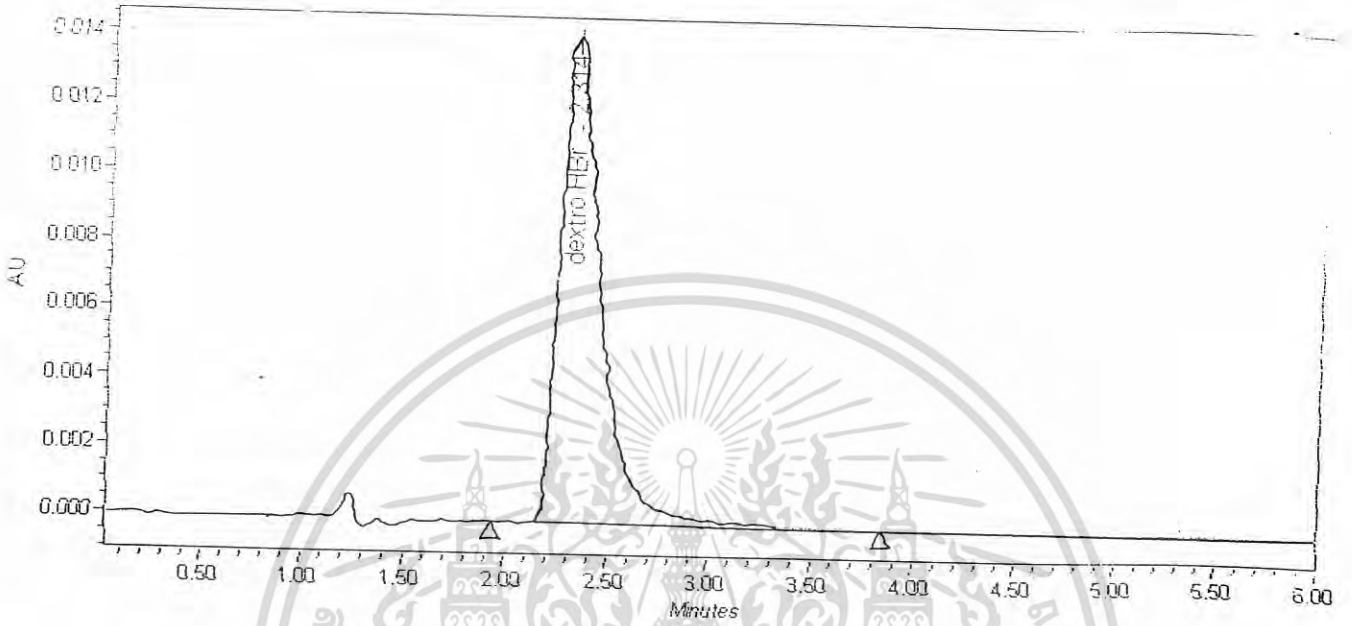


ครั้งที่ 2

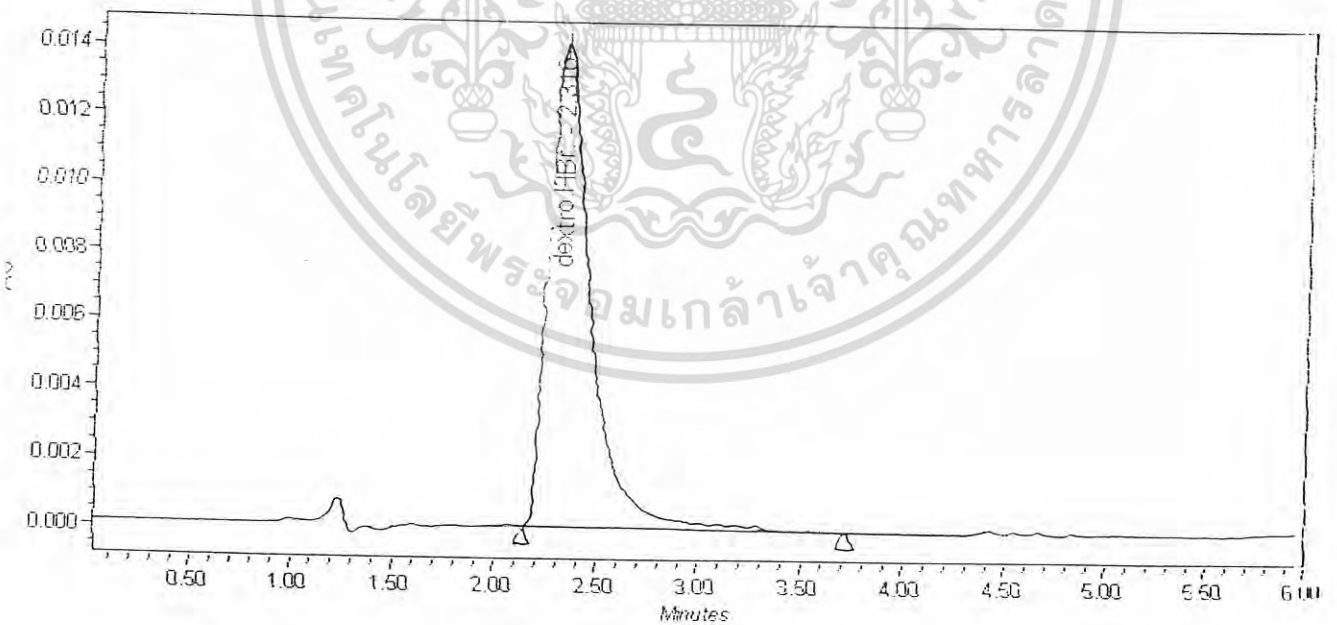


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ครั้งที่ 3

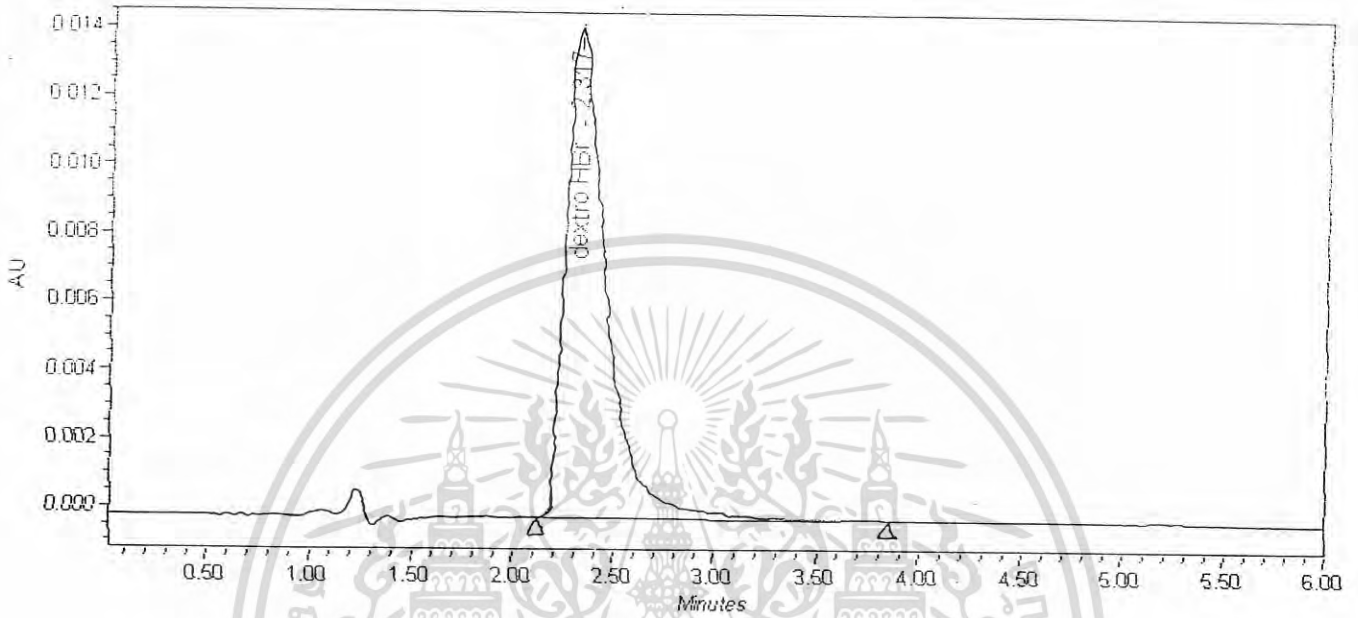


ครั้งที่ 4

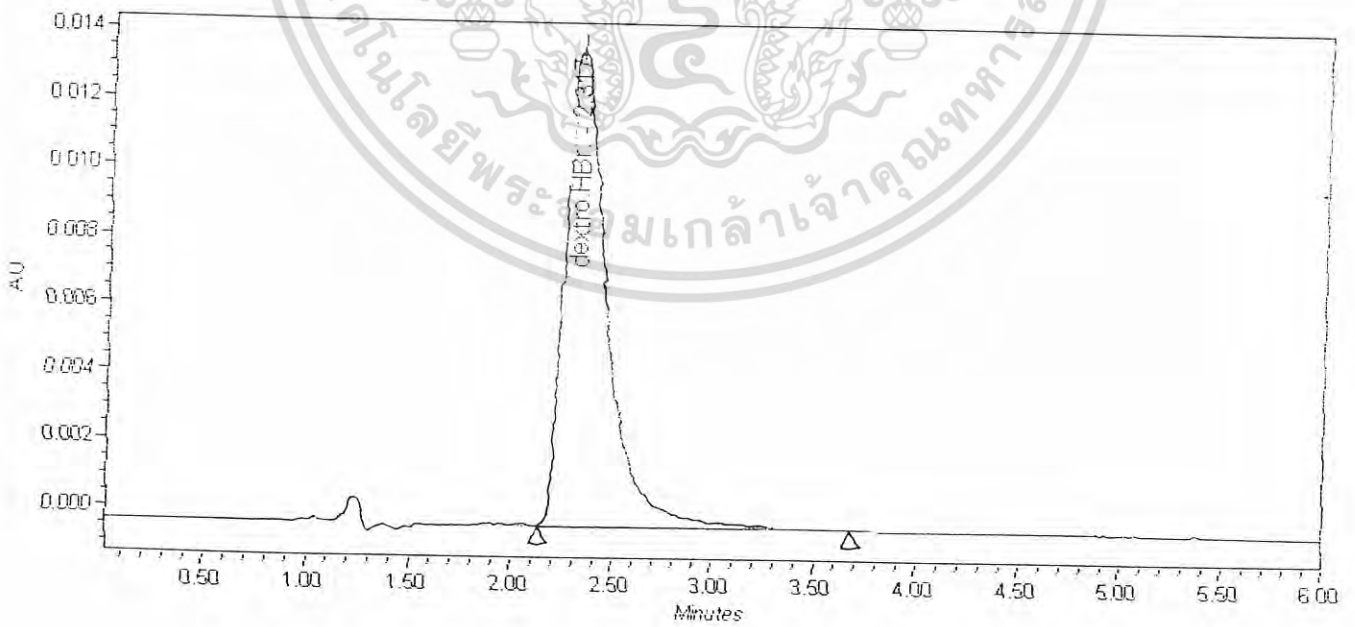


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ครั้งที่ 5

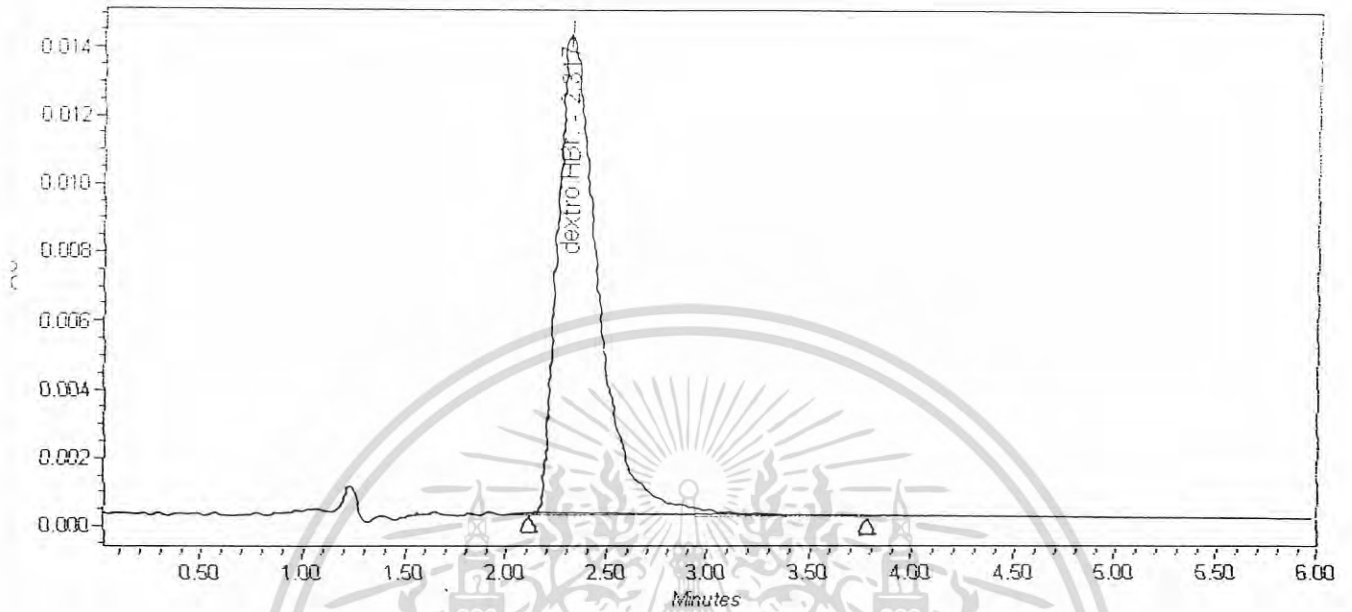


ครั้งที่ 6



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

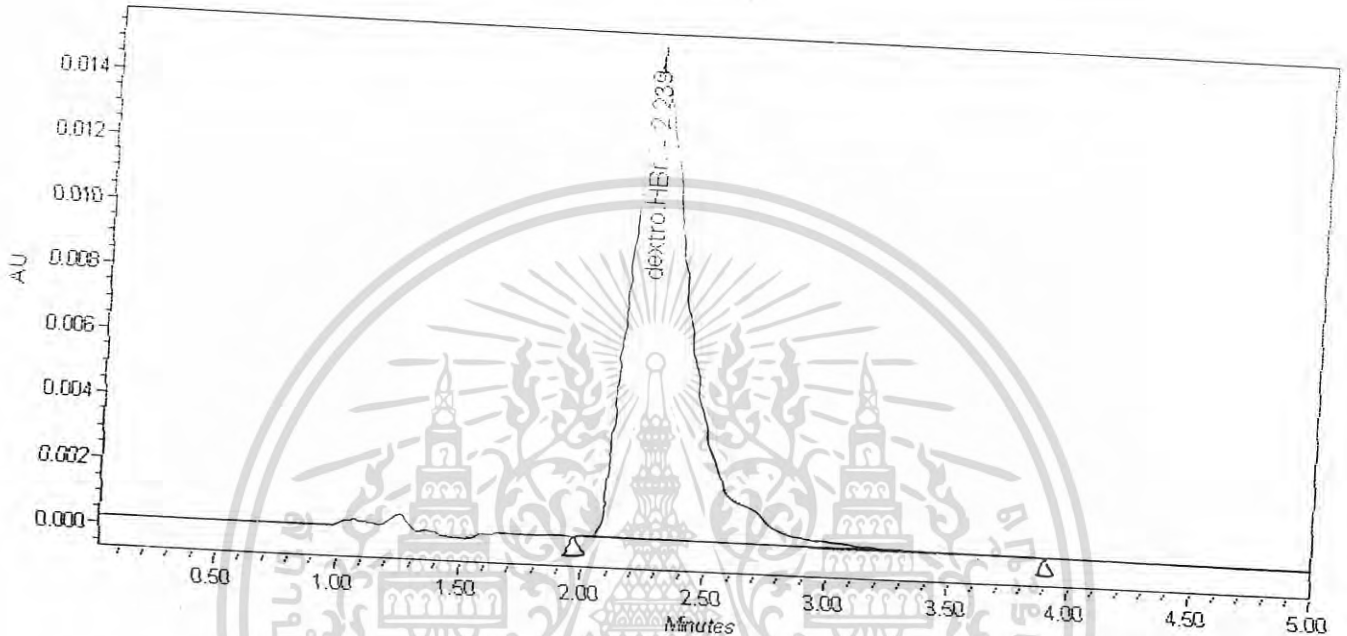
ครั้งที่ 7



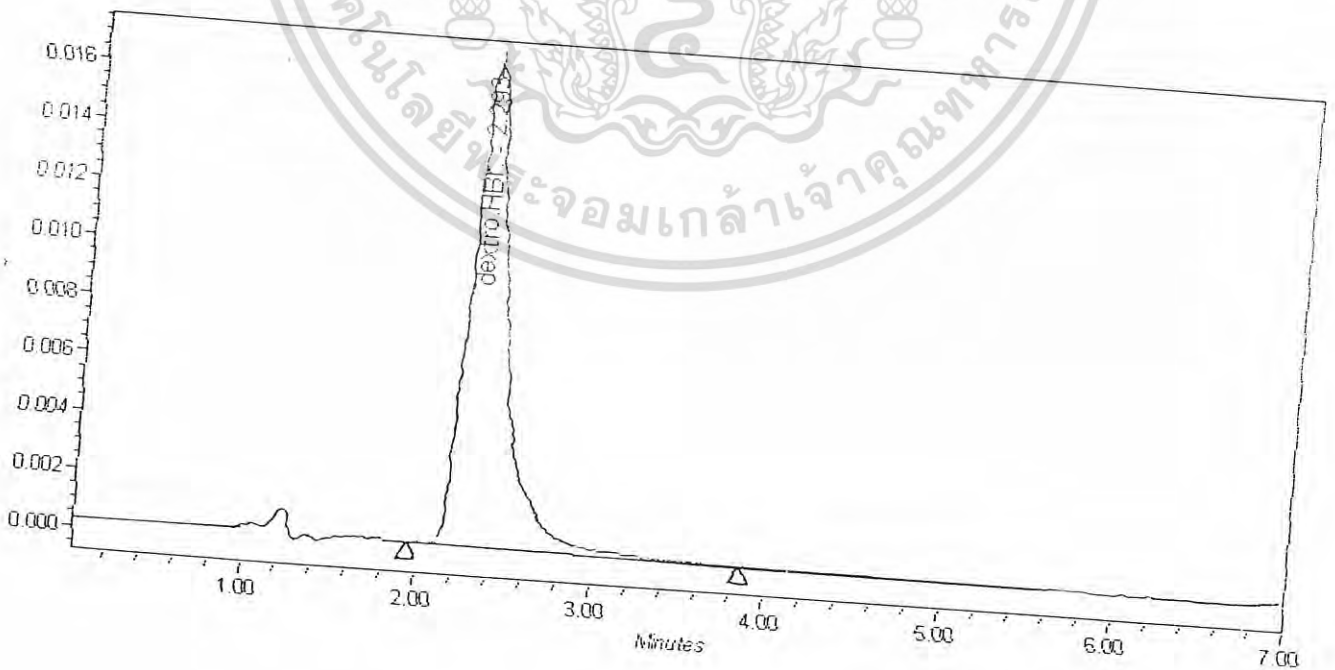
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยี่ห้อไอโคลด

ครั้งที่ 1

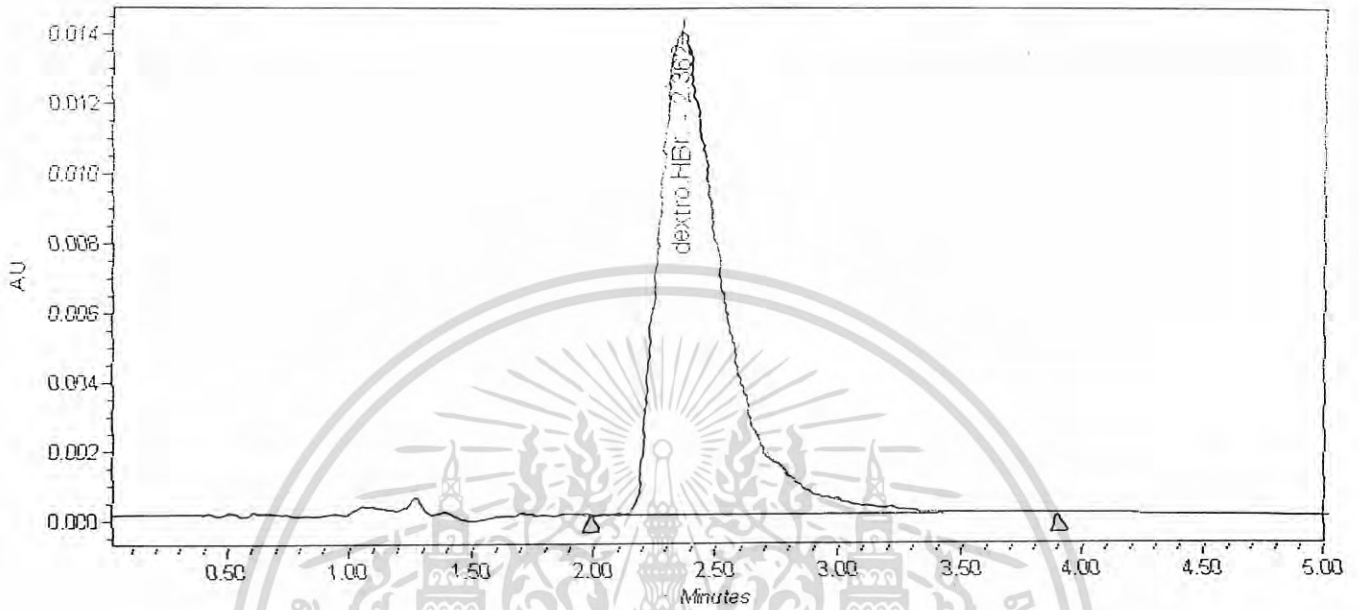


ครั้งที่ 2

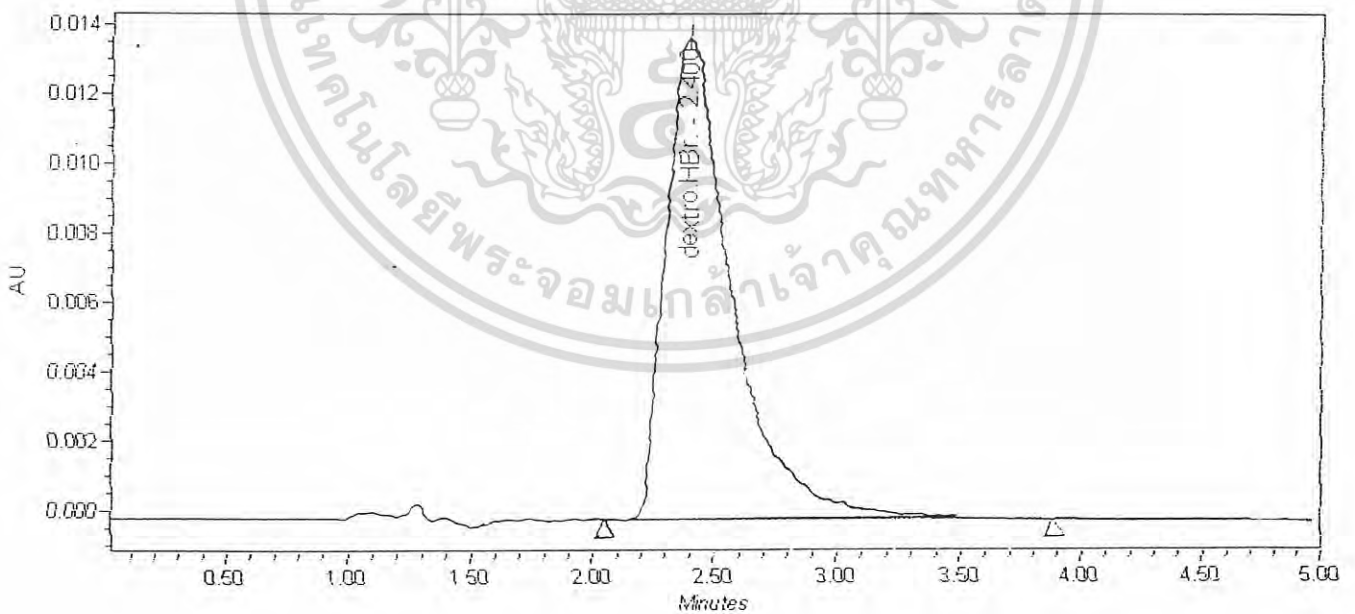


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ครั้งที่ 3

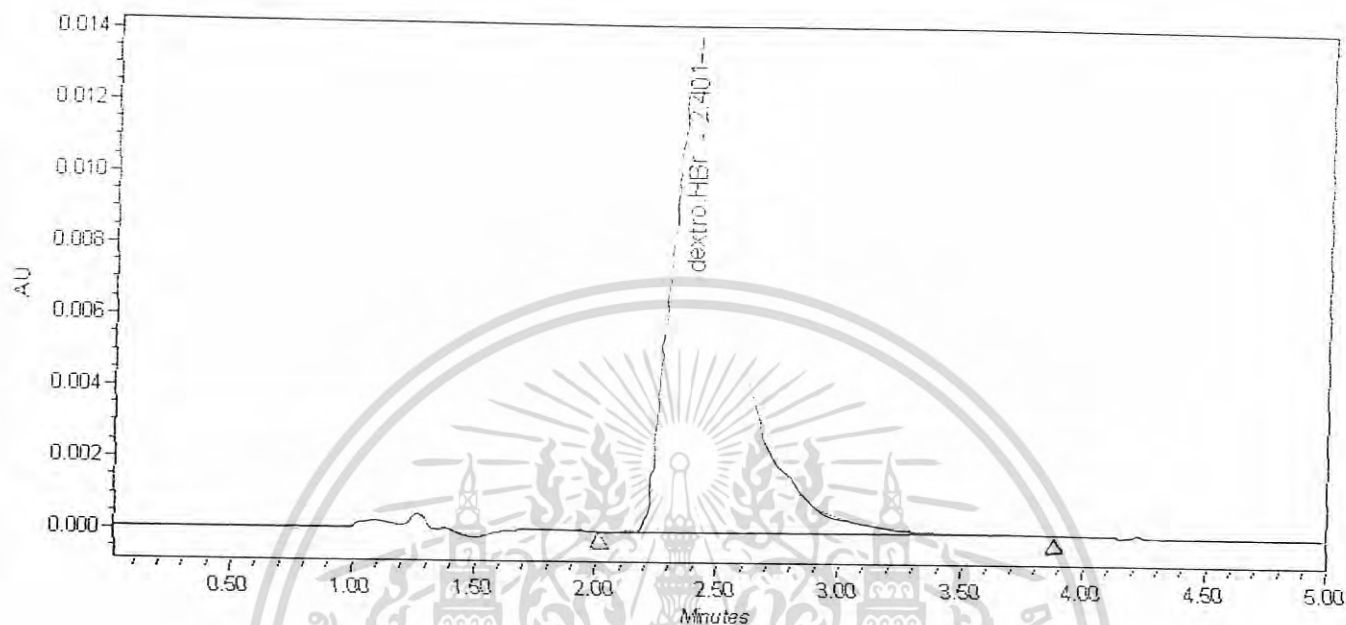


ครั้งที่ 4

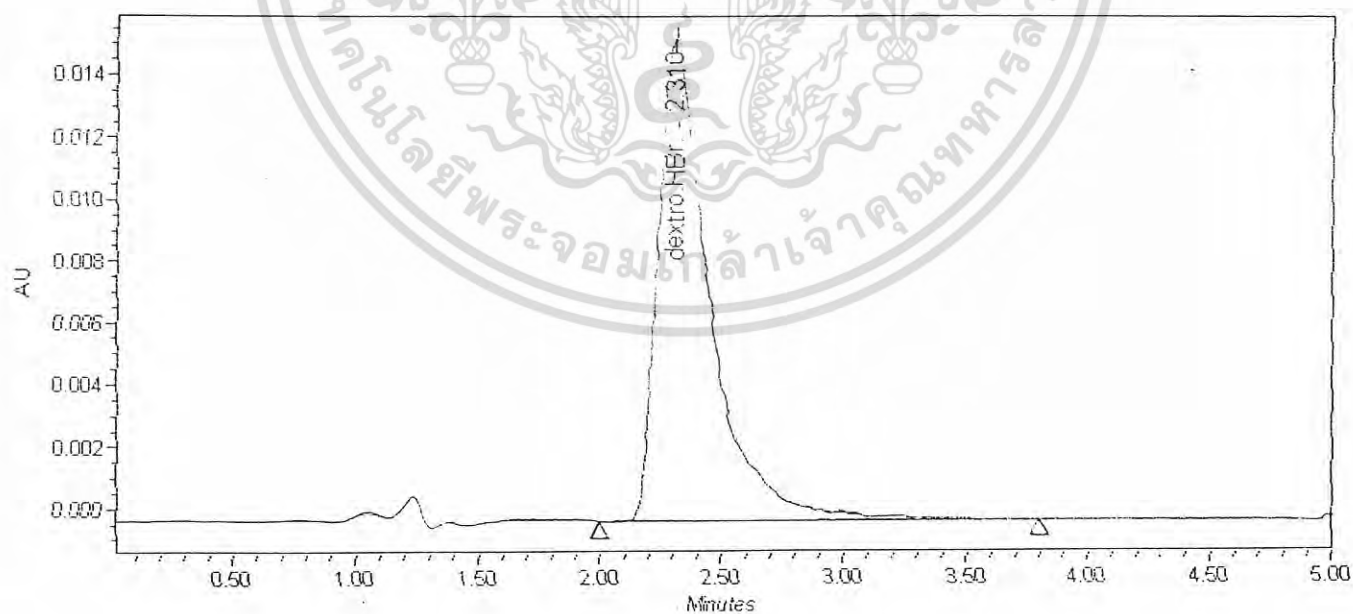


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ครั้งที่ 5

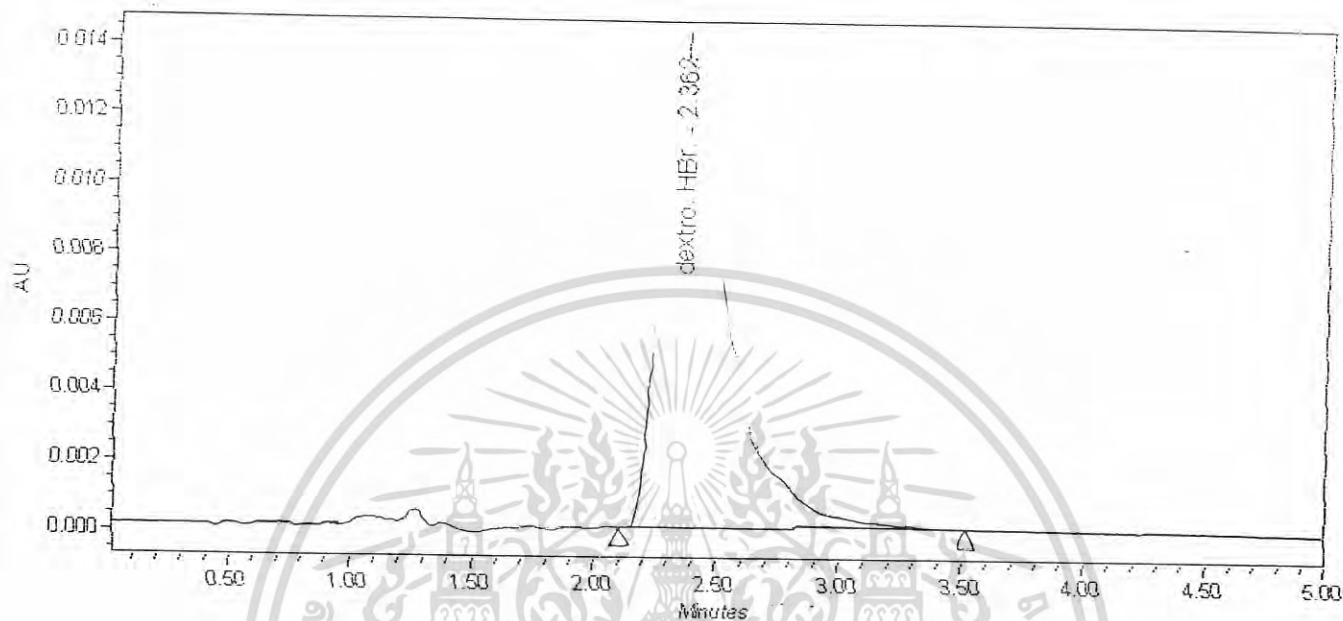


ครั้งที่ 6



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ครั้งที่ 7



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

- คณิตา ตั้งคณานุกรักษ์. เคมีวิเคราะห์ 1. กรุงเทพฯ : ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- แมน อมรสิทธิ์ และอมร เพชรสม. 2535. หลักและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ (Principles
and Techniques of Instrumental Analysis). กรุงเทพฯ : ชวนพิมพ์.
- สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข. ข้อเท็จจริงเกี่ยวกับข่าว “ยาแก้ไอ
เด็กซ์โท ผสมน้ำอัดลม สารเสพติดสูตรใหม่วัยรุ่นได้ฮิต”. กรุงเทพฯ : กองควบคุมวัตถุเสพติด
สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข.
- อัจฉรา ญาณวุฒิ, พิลาศลักษณ์ ดอกจันทร์ และประภัสสร อินตามูล. 2539. “การใช้
Dextromethorphan ในทางที่ผิด (บทความพิเศษ).” วารสารวิชาการสาธารณสุข : 496-497.
- Afshar, M. Rouini, M. R. and Amini M. 2004. “Simple chromatography method for
simultaneous determination of dextromethorphan and its main metabolites in human plasma
with fluorimetric detection.” *Journal of chromatography B.* 802 : 317-322.
- Gerhartz, W. *Ullmann’s Encyclopedia of Industrial Chemistry.* Volume A8, 5 th ed.
- Lau, Oi-Wah and Mok, Chuen-Shing. 1995. “High performance liquid chromatographic
determination of active ingredients in cough-cold syrups with indirect conductometric
detection.” *Journal of chromatography A.* 693 : 45-54.
- Rauha, J.P. Salomies, H. and Aalto, M. 1996. “Simultaneous determination of bromhexine
hydrochloride and methyl propyl *p*-hydroxybenzoate and determination of dextromethorphan
hydrobromide in cough-cold syrup by high-performance liquid chromatography.” *Journal of
Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* 15 : 287-293.
- Tantishaiyakul, V. Poeaknapo, C. Sribun, P. and Sirisuppanon K. 1998. “Simultaneous
determination of dextromethorphan HBr and bromhexine HCl in tablets by first-derivative
spectrophotometry.” *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* 17 : 237-243.
- The United states pharmacopeia the national formulary.* 2005. 28 th ed. Canada: Webcom.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้