สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การศึกษาค่าคงที่ทางอุณหพลศาสตร์สำหรับไอออไนเซชั่นของไพรีดอกซัลไอโซนิโคติโอนิลไฮดราโซน

นาย ธวัฒน์ชัย เกษสุรินทร์ชัย

นาย อมร พรหมเภสัชสกุล

ปพ.
ธ397ก
2536

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....
วัน,เดือน,ปี.....

612527075

โครงงานนิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต

ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2536

THERMODYNAMIC CONSTANTS FOR IONIZATION OF PYRIDOXAL ISONICOTIONYL HYDRAZONE

Mr. Thawatchai Kassurinchai

Mr. Amorn Prombhaesajsakul

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

Department of Industrial Chemistry

Faculty of Science

King Mongkut 's Institute of Technology Ladkrabang

1994

หัวข้อโครงงานพิเศษ การศึกษาค่าคงที่ทางอุณหพลศาสตร์สำหรับไอออไนเซชั่นของไพรีดอก
ซัลไอโซทิโคติโดปิลไฮดราโซน

โดย นาย ธวัชชัย เกษสุรินทร์ชัย
นาย สมร พรหมเภสัชสกุล

ภาควิชา เคมี

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร. ประยงค์ ดวงดี

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง อนุมัติให้นับโครงงานพิเศษฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต

รักษาการหัวหน้าภาควิชาเคมี
(ผศ. นงนุช เภตรานุวัฒน์)

คณะกรรมการตรวจสอบโครงงานพิเศษ

ประธานกรรมการ
(ผศ.ดร. เผชิญศักดิ์ ไชยสิทธิ์)

กรรมการ
(ดร. สุวรรณ ไชยสิทธิ์)

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การศึกษาค่าคงที่ทางอุณหพลศาสตร์สำหรับไอออไนเซชั่นของไพริดอกซัลไอโซนิโคติโอนิลไฮดราโซน
นักศึกษา	นาย ชวัฒน์ชัย เกษสุรินทร์ชัย
	นาย อมร พรหมเภสัชสกุล
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร. ประยงค์ ดวงดี
ภาควิชา	เคมี
ปีการศึกษา	2536

บทคัดย่อ

โครงงานพิเศษนี้ เป็นการทดลองเพื่อหาค่าคงที่โปรโตเนชันและดีโปรโตเนชัน (ในรูป log K) ของน้ำ, วิตามินบี 6 ไฮโดรคลอไรด์ และไพริดอกซัลไอโซนิโคติโอนิลไฮดราโซน (PIH) ในตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซนที่อัตราส่วน 100/0, 80/20, 60/40 และ 40/60 โดยใช้เทคนิคโพเทนชิโอเมตริกไทเทรชัน ทำการไทเทรตในช่วง pH ประมาณ 2-12 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความแรงไอออน 0.5 M KNO_3 แล้วนำผลที่ได้ไปคำนวณค่าคงที่โปรโตเนชันและดีโปรโตเนชัน โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ "SUPERQUAD" พบว่าค่าคงที่โปรโตเนชัน สปีชี $[LH_3]^+$ ของ PIH ที่เกิดขึ้นมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเปอร์เซนต์ไดออกเซนเพิ่มขึ้น ส่วนค่าคงที่ดีโปรเนชันของน้ำ รวมทั้งสปีชี $[LH]^-$ ที่เกิดจาก PIH และวิตามินบี 6 ไฮโดรคลอไรด์ และสปีชี $[L]^{2-}$ ของวิตามินบี 6 ไฮโดรคลอไรด์ มีแนวโน้มลดลงเมื่อปริมาณไดออกเซนเพิ่มขึ้น

Special Project Title	THERMODYNAMIC CONSTANTS FOR IONIZATION OF PYRIDOXAL ISONICOTIONYL HYDRAZONE
Name	Mr. Thawatchai Kassurinchai
	Mr. Amorn Prombhaesajsakul
Special Project Advisor	Dr. Prayong Doungdee
Department	Chemistry
Academic Year	1993

Abstract

Potentiometric titration is used to determine the protonation and deprotonation constants of water, vitamin B6 hydrochloride and pyridoxalisonicotionylhydrazone (PIH) at 37 degree celcius and ionic strength = 0.5 M KNO_3 in water/1,4-dioxane mixtures at ratio 100/0, 80/20, 60/40 and 60/40. The experiments are performed in the pH range from 2 to 12. Protonation and deprotonation constants are calculated by using the computer program "SUPERQUAD"

Protonation constants of specie $[LH_3]^+$ from PIH increases when ratio of 1,4-dioxane in water/1,4-dioxane mixtures is increased, but the opposite is observed for deprotonation constants of water, specie $[LH]^-$ from PIH and vitamin B6 hydrochloride and specie $[L]^{2-}$ from vitamin B6 hydrochloride.

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.ประยงค์ ดวงดี อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ที่ให้ความรู้ไม่ว่าจะเป็นด้านวิชาการหรือการดำเนินชีวิต รวมทั้งให้โอกาสและความช่วยเหลือมาตลอดในทุก ๆ ด้าน จนสามารถออกมาเป็นโครงงานพิเศษฉบับนี้

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.เผชิญชัย ไชยสิทธิ์ และ ดร.สุวรรณ ไชยสิทธิ์ ที่ช่วยตรวจทาน และกรุณาเป็นกรรมการในการสอบโครงงานพิเศษฉบับนี้ด้วย

ธวัฒน์ชัย เกษสุรินทร์ชัย

อมร พรหมเภสัชสกุล

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	(ก)
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	(ข)
กิตติกรรมประกาศ	(ค)
สารบัญ	(ง)
สารบัญตาราง	(ฉ)
สารบัญรูป	(ช)
คำย่อและสัญลักษณ์ที่ใช้	(ญ)
บทที่ 1 บทนำ	1
- ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับไพริดอกซัลไอโซนิโคติโอนิลไฮดราโซน	1
- ผลของตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซนที่มีต่อค่าคงที่สมดุลสำหรับการแตกตัวเป็นไอออนของน้ำ	2
- แนวคิดเบื้องต้น	4
บทที่ 2 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง	6
- วิธีโพเทนชิออเมตริก	6
- ขั้วกลาสสำหรับวัด pH	6
- ศักย์ไฟฟ้าของขั้ว	10
- โพเทนชิออเมตริกไทเทรชัน	13
- หลักการของโปรแกรม ELECTRODE CALIBRATION	13
- หลักการของโปรแกรม SUPERQUAD	15
บทที่ 3 การทดลอง	17
- สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	17

เรื่อง หน้า

- อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง 17
- การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการทดลอง 18
- การจัดชุดเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง 19
- วิธีการทดลอง 20
    1. การแคลิเบรทอิเล็กโทรด 20
    2. การหาค่าคงที่ protonation และ deprotonation ของน้ำและสารประกอบ 22
    3. การคำนวณโดยใช้โปรแกรม 24

บทที่ 4 ผลการวิจัยและดำเนินงาน 25

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 51

ภาคผนวก 53
- ภาคผนวก ก รายละเอียดเกี่ยวกับโปรแกรม TR-600 54
- ภาคผนวก ข Data Input สำหรับโปรแกรม SUPERQUAD และโปรแกรม ELE 58
- ภาคผนวก ค ตัวอย่าง INPUT ของโปรแกรม ELE 63
- ภาคผนวก ง ตัวอย่าง OUTPUT ของโปรแกรม ELE 65
- ภาคผนวก จ ตัวอย่าง INPUT ของโปรแกรม SUPERQUAD 68
- ภาคผนวก ฉ ตัวอย่าง OUTPUT ของโปรแกรม SUPERQUAD 72

บรรณานุกรม 75

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1-1 : Ionization Constants of Water in Aqueous Dioxanea 3

ตารางที่ 3-1 : แสดงปริมาตรสารละลายชนิดต่าง ๆ ที่ใช้ผสมเพื่อให้ได้ อัตราส่วนตัวทำละลายผสมน้ำ และไดออกเซนที่มีอัตราส่วนต่างกัน เพื่อใช้ในการแคลิเบรดอิเลกโทรด 21

ตารางที่ 3-2 : แสดงปริมาตรสารละลายชนิดต่าง ๆ ที่ใช้ผสมเพื่อให้ได้อัตราส่วนตัวทำละลายผสมน้ำ และไดออกเซนที่มีอัตราส่วนต่างกัน เพื่อใช้ในการหาค่าคงที่ protonation และ deprotonation ของสปีชีต่าง ๆ 22

ตารางที่ 4-1 : แสดงข้อมูลการไทเทรตของวิตามินบี 6 ไฮโดรคลอไรด์ ในตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซน ที่มีอัตราส่วน 100:0 28

ตารางที่ 4-2 : แสดงข้อมูลการไทเทรตของวิตามินบี 6 ไฮโดรคลอไรด์ ในตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซน ที่มีอัตราส่วน 80:20 29

ตารางที่ 4-3 : แสดงข้อมูลการไทเทรตของวิตามินบี 6 ไฮโดรคลอไรด์ ในตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซน ที่มีอัตราส่วน 60:40 31

ตารางที่ 4-4 : แสดงข้อมูลการไทเทรตของวิตามินบี 6 ไฮโดรคลอไรด์ ในตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซน ที่มีอัตราส่วน 40:60 32

ตารางที่ 4-5 : แสดงข้อมูลการไทเทรตของ PIH ในตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซน ที่มีอัตราส่วน 100:0 34

ตารางที่ 4-6 : แสดงข้อมูลการไทเทรตของ PIH ในตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซน ที่มีอัตราส่วน 80:20 35

ตารางที่ 4-7 : แสดงข้อมูลการไทเทรตของ PIH ในตัวทำละลายผสมน้ำและ

หน้า

ไดออกเซน ที่มีอัตราส่วน 60:40 37

ตารางที่ 4-8 : แสดงข้อมูลการไทเทรตของ PIH ในตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซน ที่มีอัตราส่วน 40:60 38

ตารางที่ 4-9 : แสดง Protonation และ Deprotonation constants ของสปีชีต่าง ๆ พร้อมทั้ง pH ที่พบของวิตามินบี 6 ไฮโดรคลอไรด์ในตัวทำละลายผสมน้ำ และไดออกเซนที่มีอัตราส่วนต่างกัน 39

ตารางที่ 4-10 : แสดง Protonation และ Deprotonation constants ของสปีชีต่าง ๆ พร้อมทั้ง pH ที่พบของ PIH ในตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซนที่มีอัตราส่วนต่างกัน 39

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 1-1 : โครงสร้างของไพรีดอกซัลไอโซนิโคติโอนิลไฮดราโซน (PIH) 1

รูปที่ 1-2 : โครงสร้างของวิตามิน บี6 ไฮโดรคลอไรด์ 5

รูปที่ 2-1 : ขั้วกลาสวัด pH 7

รูปที่ 2-2 : Combination electrode 8

รูปที่ 3-1 : การจัดชุดเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง 19

รูปที่ 4-1 : แสดงเส้นโค้งการกระจายตัวของสปีชีต่าง ๆ ของวิตามินบี 6 ไฮโดรคลอไรด์ ที่อัตราส่วน 100/0 ของตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซน 40

รูปที่ 4-2 : แสดงเส้นโค้งการกระจายตัวของสปีชีต่าง ๆ ของวิตามินบี 6 ไฮโดรคลอไรด์ ที่อัตราส่วน 80/20 ของตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซน 41

รูปที่ 4-3 : แสดงเส้นโค้งการกระจายตัวของสปีชีต่าง ๆ ของวิตามินบี 6 ไฮโดรคลอไรด์ ที่อัตราส่วน 60/40 ของตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซน 42

รูปที่ 4-4 : แสดงเส้นโค้งการกระจายตัวของสปีชีต่าง ๆ ของวิตามินบี 6 ไฮโดรคลอไรด์ ที่อัตราส่วน 40/60 ของตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซน 43

รูปที่ 4-5 : แสดงเส้นโค้งการกระจายตัวของสปีชีต่าง ๆ ของไพริดอกซัล-ไอโซนิโคติโอนิลไฮดราโซน (PIH) ที่อัตราส่วน 100/0 ของตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซน 44

รูปที่ 4-6 : แสดงเส้นโค้งการกระจายตัวของสปีชีต่าง ๆ ของไพริดอกซัล-

หน้า

ไอโซนิโคติโอนิลไฮดราโซน (PIH) ที่อัตราส่วน 80/20 ของตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซน 45

รูปที่ 4-7 : แสดงเส้นโค้งการกระจายตัวของสปีชีต่าง ๆ ของไพริดอกซัล-ไอโซนิโคติโอนิลไฮดราโซน (PIH) ที่อัตราส่วน 60/40 ของตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซน 46

รูปที่ 4-8 : แสดงเส้นโค้งการกระจายตัวของสปีชีต่าง ๆ ของไพริดอกซัล-ไอโซนิโคติโอนิลไฮดราโซน (PIH) ที่อัตราส่วน 40/60 ของตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซน 47

รูปที่ 4-9 : แสดงสภาวะสมดุลของการเกิด protonation และ deprotonation ของ PIH และวิตามินบี 6 ไฮโดรคลอไรด์ 48

รูปที่ 4-10 : แสดงค่าคงที่ protonation และ deprotonation ของสปีชีต่าง ๆ ของวิตามินบี 6 ไฮโดรคลอไรด์ ที่อัตราส่วนต่าง ๆ ของตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซน 49

รูปที่ 4-11 : แสดงค่าคงที่ protonation และ deprotonation ของสปีชีต่าง ๆ ของไพริดอกซัลไอโซนิโคติโอนิลไฮดราโซน (PIH) ที่อัตราส่วนต่าง ๆ ของตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซน 50

คำย่อและสัญลักษณ์ที่ใช้

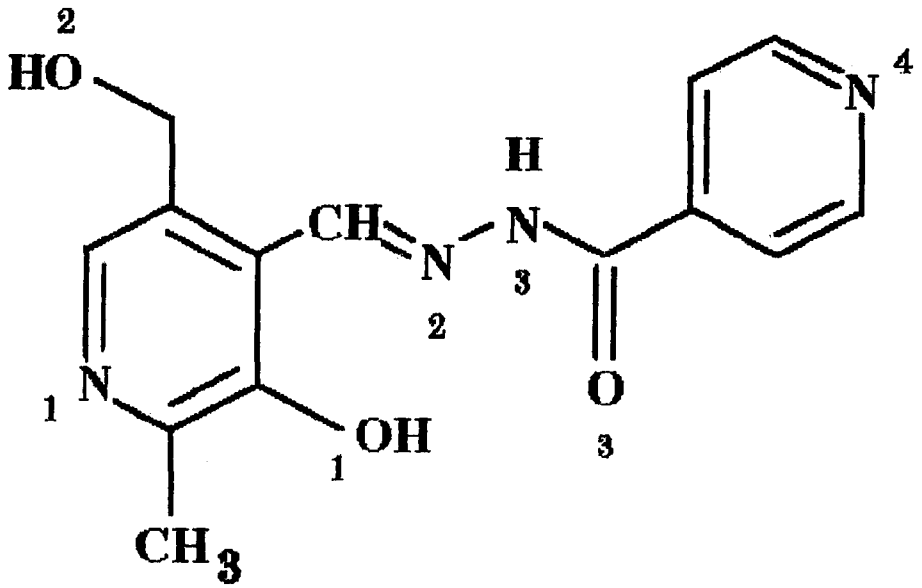
PIH	=	ไพริดอกซัลไอโซนิโคติโอนิลไฮดราโซน
H_2O	=	น้ำ
HNO_3	=	กรดไนตริก
KNO_3	=	โพแทสเซียมไนเตรต
NaOH	=	โซเดียมไฮดรอกไซด์
M	=	ค่าความเข้มข้นเป็นโมลาร์
pH	=	ค่าความเป็นกรดด่าง
mV.	=	มิลลิโวลต์
ml.	=	มิลลิลิตร
Kw	=	ค่าคงที่การแตกตัวเป็นไอออนของน้ำ
pKw	=	ค่าคงที่การแตกตัวเป็นไอออนของน้ำ ในรูปฟังก์ชัน p(x) ซึ่งมีค่าเท่ากับ -log(x)

บทที่ 1
บทนำ

ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับไพริดอกซัลไอโซนิโคติโอนิลไฮดราโซน (PIH)

ไพริดอกซัลไอโซนิโคติโอนิลไฮดราโซน (PIH) เป็นสารที่ถูกสังเคราะห์ขึ้น เพื่อใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์ ในการรักษาสภาพที่ร่างกายมีไอออนของโลหะเหล็กมากเกินไปในร่างกาย (Iron Overload) ซึ่งมักมีสาเหตุจากการรักษาโรคเกี่ยวกับเลือด โดยอาศัยคุณสมบัติในการจับกับไอออนของโลหะเหล็กเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน

ไพริดอกซัลไอโซนิโคติโอนิลไฮดราโซน (PIH) มีโครงสร้างดังแสดงในรูปที่ 1-1



รูปที่ 1-1 โครงสร้างของไพริดอกซัลไอโซนิโคติโอนิลไฮดราโซน (PIH)

ผลของตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซนที่มีต่อค่าคงที่สมดุลสำหรับการแตกตัวเป็นไอออนของน้ำ

ในราวปี คริสตศักราช 1970 เอิรส์ เอ็ม. วูลเลย์ ,โดนัล จี. เฮอคอท และ ลอเรน จี. เฮ็นท์เลอร์ [7] ได้ใช้เทคนิคโพเทนชิโอเมตริกไทเทรชั่น ศึกษาค่าคงที่การแตกตัวเป็นไอออนของน้ำ ในตัวทำละลายผสมน้ำและในตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ เช่น เอทานอล, โพรพานอล, อะซิโตน และ พาราไดออกเซน เป็นต้น

โดยการทดลอง ได้ให้สมการการแตกตัวเป็นไอออนของน้ำเป็นดังสมการ 1-1 และค่าคงที่สมดุลสามารถหาได้ดังสมการที่ (1-1) ถึง (1-4)

$$H_2O_{(s)} = H^+_{(s)} + OH^-_{(s)} \qquad (1\text{-}1)$$

$$K_{a/1} = C_H C_{OH} (\gamma\pm)^2 \qquad (1\text{-}2)$$

$$K_{a/c} = C_H C_{OH} (\gamma\pm)^2 / C_w = (K_{a/1}) C_w \qquad (1\text{-}3)$$

$$K_{a/a} = C_H C_{OH} (\gamma\pm)^2 / a_w = (K_{a/1}) / a_w \qquad (1\text{-}4)$$

โดยกำหนดให้

$K_{a/1}$ = ค่าคงที่สมดุลเมื่อคิดแอคทิวิตีเฉพาะ H^+ และ OH^-

$K_{a/c}$ = ค่าคงที่สมดุลเมื่อคิดแอคทิวิตีสำหรับ H^+ และ OH^- และคิดโมลาร์ลิตีสำหรับน้ำ

$K_{a/a}$ = ค่าคงที่สมดุลเมื่อคิดแอคทิวิตีสำหรับทุกสปีชี

C_H = ความเข้มข้นเป็นโมลาร์ของ H^+

C_{OH} = ความเข้มข้นเป็นโมลาร์ของ OH^-

C_w = ความเข้มข้นเป็นโมลาร์ของ H_2O

a_w = แอคทิวิตีของน้ำ

$(\gamma\pm)$ = สัมประสิทธิ์แอคทิวิตีเฉลี่ยของทุกสปีชีที่นำมาคิดแอคทิวิตี

จากผลการทดลอง พบว่าส่วนใหญ่เมื่อเพิ่มปริมาณตัวทำละลายอินทรีย์ ในตัวทำละลายผสมน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ ค่าคงที่สมดุลของปฏิกริยาการแตกตัวเป็นอิออนของน้ำในรูป pKw มีค่าเพิ่มขึ้น และในกรณีของน้ำและไดออกเซนก็มีแนวโน้มเป็นเช่นนี้ด้วยเช่นกัน ดังตัวอย่างผลการทดลองที่ได้แสดงในตารางที่ 1-1

ตารางที่ 1-1 : Ionization Constants of Water in Aqueous Dioxane

Wt % dioxane	$pK_{m/1}$	$pK_{m/m}$	$pK_{m/c}$
0.00	14.00	14.00	15.74
4.00	14.14	14.14	15.86
9.35	14.27	14.26	15.95
13.40	14.38	14.37	16.07
17.10	14.49	14.47	16.16
20.50	14.60	14.58	16.25
26.50	14.79	14.76	16.41
31.70	14.97	14.94	16.56
36.20	15.14	15.10	16.70

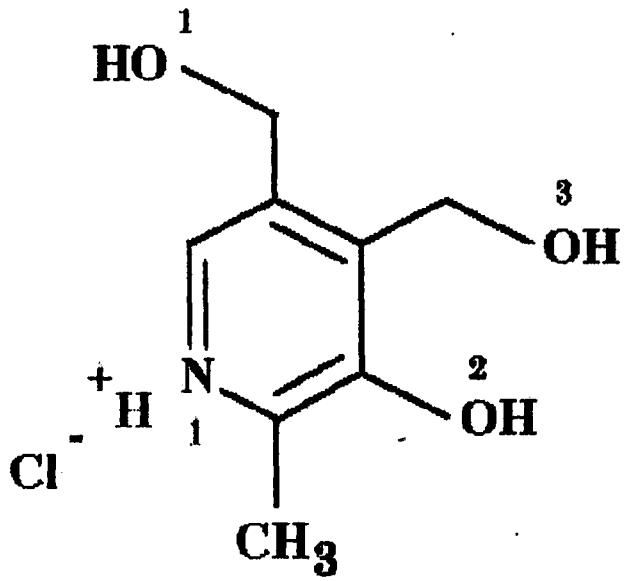
ตารางที่ 1-1 (ต่อ)

Wt % dioxane	$pK_{a/1}$	$pK_{a/a}$	$pK_{a/c}$
40.10	15.31	15.26	16.84
43.20	15.45	15.40	16.96
46.70	15.60	15.54	17.08
49.50	15.76	15.70	17.22
52.00	15.83	15.76	17.27
54.30	15.93	15.86	17.35
56.30	16.01	15.94	17.41

แนวคิดเบื้องต้น

การศึกษาโครงงานพิเศษนี้ ต้องการที่ศึกษาผลของตัวทำละลายว่ามีผลอย่างไร ต่อค่าคงที่โปรโตเนชันและดีโปรโตเนชัน (protonation and deprotonation constants) ของน้ำและสารประกอบสปีชีอื่น ๆ ในตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซนที่อัตราส่วนต่าง ๆ

สารที่นำมาศึกษาในโครงงานพิเศษนี้ ได้แก่ ไพริดอกซัลไอโซนิโคติโอนิลไฮดราโซน (PIH) ซึ่งเป็นสารที่เป็นอนุพันธ์เดียวกันกับ ไพริดอกซัล ดังนั้นในโครงงานพิเศษนี้ ก็จะทำการศึกษาอนุพันธ์ของไพริดอกซัลไปด้วย ซึ่งในที่นี้ได้เลือกเอา ไพริดอกซัลโมโนไฮโดรคลอไรด์ (วิตามินบี 6 ไฮโดรคลอไรด์) ซึ่งมีโครงสร้างดังรูปที่ 1-2 มาศึกษาร่วมเพื่อเปรียบเทียบผลการทดลองไปด้วยกัน



รูปที่ 1-2 โครงสร้างของวิตามินบี 6 ไฮโดรคลอไรด์

และสำหรับการศึกษาเบื้องต้นนี้ จะเน้นไปที่การรับและการปลดปล่อยโปรตอนที่ตำแหน่งฟีนอลิกไฮโดรเจน และไพริดิเนียมไฮโดรเจนเป็นหลัก (จากโครงสร้าง คือตำแหน่ง O1 และ N1 ตามลำดับ)

บทที่ 2
ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

วิธีโพเทนชิออเมตริก (Potentiometric method)[3]

วิธีโพเทนชิออเมตริก คือ วิธีการวัดศักย์ไฟฟ้าของขั้วชี้บอกที่ไวต่อสปีชีที่ต้องการวิเคราะห์ปริมาณ ลักษณะของเซลไฟฟ้าเคมีที่ใช้สำหรับวิธีการวิเคราะห์นี้ คือ กัลวานิกเซลล์ การใช้วิธีโพเทนชิออเมตริกควบคู่กับเทคนิคของการไทเทรต เรียกเทคนิคแบบนี้ว่า โพเทนชิออเมตริกไทเทรชัน (Potentiometric titration)

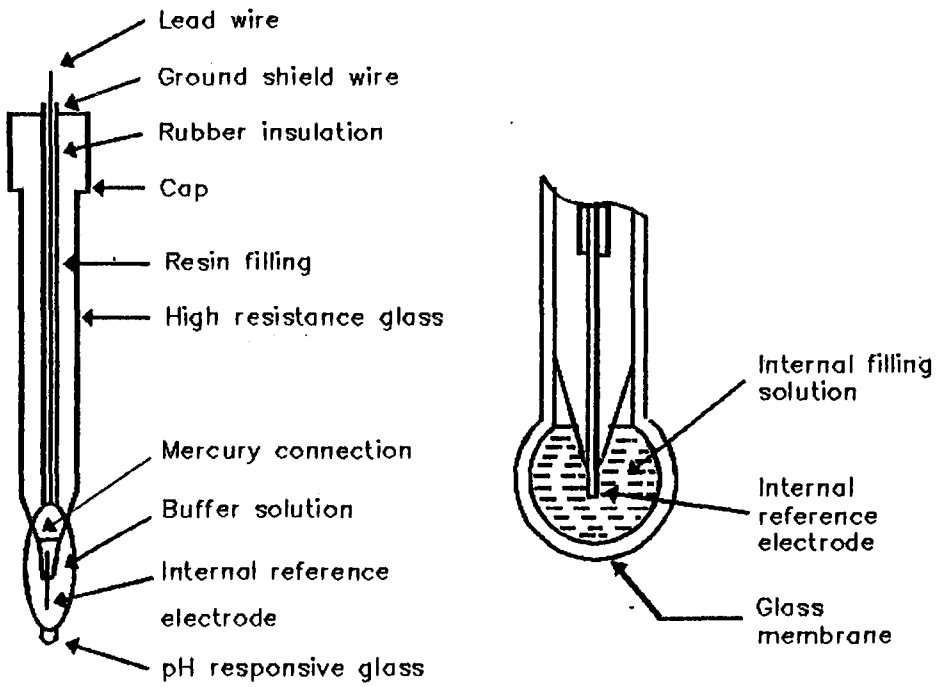
การวัดค่าศักย์ไฟฟ้าของเซลล์แบบกัลวานิกเซลล์ ขึ้นอยู่กับแอคทิวิตี (activity) ของไอออนที่ไวต่อขั้วที่มีอยู่ในสารละลาย ดังนั้นจึงสามารถนำมาประยุกต์ใช้ ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารได้ ถ้าขั้วหนึ่งของเซลที่นำมาใช้เป็นขั้วที่ไวต่อไอออนที่ต้องการวิเคราะห์หาปริมาณขั้วนั้นเรียกว่า ขั้วชี้บอก (indicator electrode) หรือขั้วทำงาน (working electrode) ส่วนอีกขั้วหนึ่งที่นำมาใช้ต้องเป็นขั้วที่ไม่ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของไอออนในสารละลาย และต้องมีค่าศักย์ไฟฟ้าคงที่เรียกว่า ขั้วอ้างอิง (reference electrode) นั่นคือค่าศักย์ไฟฟ้าของเซลที่วัดได้จะแปรผันโดยตรงกับศักย์ไฟฟ้าของขั้วชี้บอก หรือความเข้มข้นของไอออนในสารละลายการวัดค่าศักย์ไฟฟ้า ของเซลที่ต้องการวิเคราะห์ โดยไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นสามารถทำได้โดยใช้เครื่องมือที่ เรียกว่า โพเทนชิออเมเตอร์ (potentiometer)

ขั้วชี้บอกที่ใช้ในงานวิเคราะห์โดยวิธีโพเทนชิออเมตริกแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือขั้วชี้บอกที่เป็นแท่งโลหะ และขั้วชี้บอกที่เป็นเมมเบรน สำหรับในการศึกษานี้ใช้ขั้วกลาสเมมเบรนในการประกอบเซลเพื่อวัดค่า pH ของสารละลายและเครื่องโพเทนชิออเมเตอร์ที่ใช้วัดค่า pH จะมีชื่อเรียกเฉพาะว่า พีเอชมิเตอร์ (pH meter)

ขั้วกลาสสำหรับวัด pH (Glass electrode for pH measurement)[3]

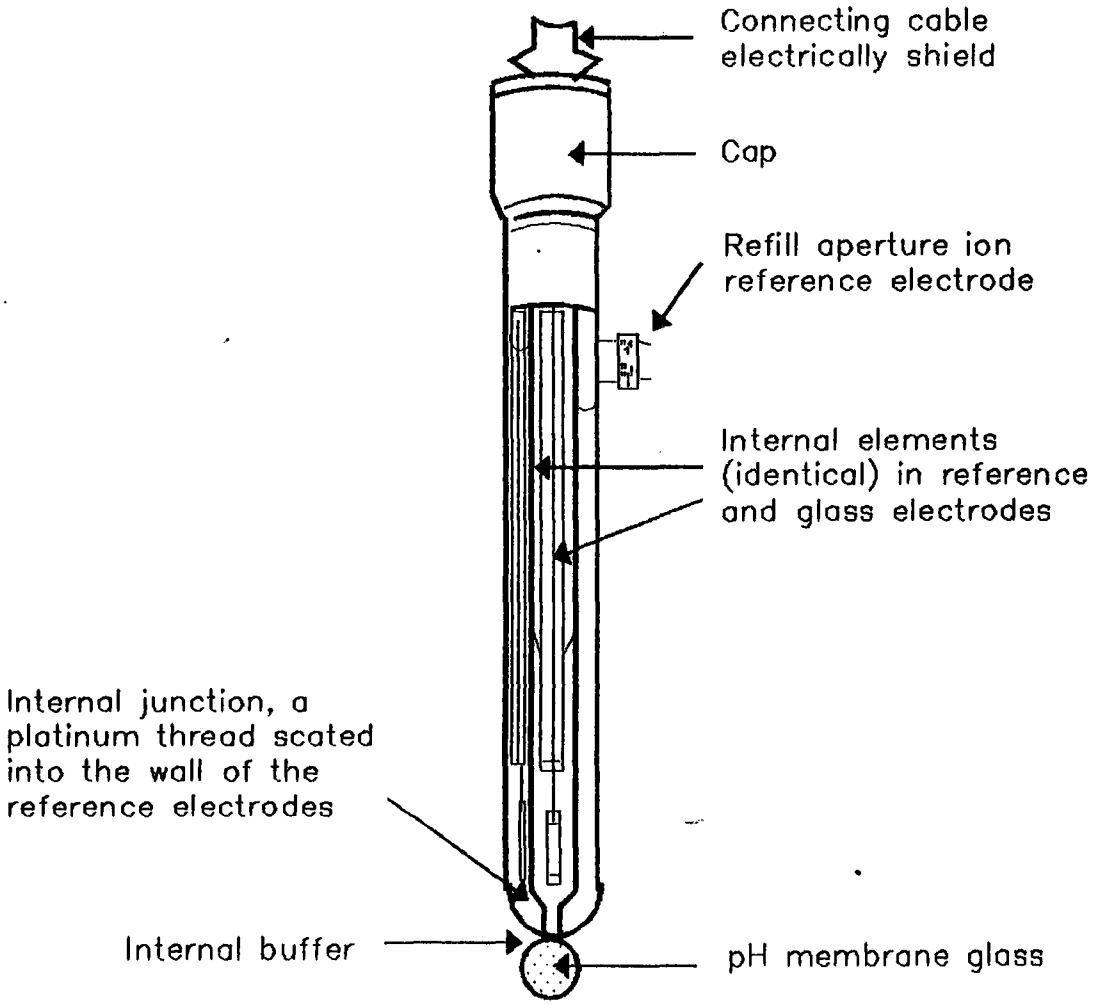
ขั้วกลาสที่ใช้วัด pH ของสารละลายมีลักษณะดังแสดงในรูปที่ 2-1 สารละลายอิเลกโทร-

ไลต์ที่บรรจุอยู่ภายใน คือ กรดไฮโดรคลอริก (HCl) และมีขั้ว Ag/AgCl เป็นขั้วอ้างอิงภายใน เพื่อทำให้สามารถต่อเซลได้ครบวงจร ศักย์ไฟฟ้าของขั้วขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของ HCl ภายนอก และภายใน



รูปที่ 2-1 : ขั้วกลาสวัด pH

เมื่อต้องการวัด pH ของสารละลายต้องใช้ขั้วกลาสเป็นขั้วชี้บอก และขั้วคาโลเมลอิ่มตัวเป็นขั้วอ้างอิง จุ่มลงในสารละลายที่ต้องการวัดค่า pH แล้วต่อเข้าเครื่อง pH มิเตอร์ หรือโพเทนชิออมิเตอร์ ในทางปฏิบัติขั้วกลาสที่ใช้จะเป็นการนำขั้วชี้บอกและขั้วอ้างอิงมาบบรรจุอยู่ในหลอดแก้วเดียวกัน เรียกว่า combination electrode มีรูปร่างดังรูปที่ 2-2 ซึ่งสามารถใช้จุ่มในสารละลายแล้วต่อเข้ากับเครื่องพีเอชมิเตอร์ได้เลย



รูปที่ 2-2 : Combination electrode

ขั้วกลาสที่นำมาใช้ในการวัดค่า pH ของสารละลาย สามารถรับความรู้สึกต่อสารละลายได้ไว และเปลี่ยนแปลง pH ได้อย่างรวดเร็ว เพื่อปรับค่าให้อ่านได้อย่างถูกต้องเมื่อสารละลายเป็นสารละลายบัฟเฟอร์ แต่ถ้าสารละลายนั้นไม่ใช่สารละลายบัฟเฟอร์ ขั้วจะรับความรู้สึกต่อค่า pH นั้นได้ช้า ต้องให้เวลานานพอสมควรจึงจะอ่านค่า pH ได้ถูกต้อง เมื่อต้องการนำขั้วมาใช้วัดค่า pH แต่ละครั้งต้องล้างด้วยน้ำกลั่นหลาย ๆ ครั้งแล้วล้างตามด้วย สารละลายที่ต้องการวัดค่า

pH (rinse) จากนั้นจึงค่อยอ่านค่า pH เมื่อขั้วกลาสจุ่มอยู่ในสารละลายจนค่าที่อ่านได้คงที่สารละลายที่ไม่มีสมบัติเป็นสารละลายบัฟเฟอร์เมื่อต้องการวัด pH ควรทำการคนสารละลายนั้นแรงๆ ขั้วกลาสสำหรับวัดค่า pH สามารถนำมาใช้ได้สะดวก มีสิ่งรบกวนน้อยกว่าการใช้ขั้วชนิดอื่น และมีราคาไม่แพง สารประเภทที่เป็นตัวออกซิไดซ์หรือตัวรีดิวซ์ โปรตีน และแก๊ส ไม่สามารถรบกวนการวัดค่า pH โดยใช้ขั้วกลาสได้

ข้อจำกัดบางประการของ pH electrode ที่อาจมีผลต่อการวัดความเข้มข้นของ H^+

1. ศักย์ไฟฟ้าที่ไม่สมมาตร (Asymmetry Potential) ถ้าสารละลายที่ต้องการวัดค่า pH มีคุณสมบัติเหมือนกับสารละลายภายใน pH electrode ทุกอย่าง และผิวของ glass membrane ทั้งสองข้างก็มีส่วนประกอบและคุณสมบัติเหมือนกัน ดังนั้นศักย์ไฟฟ้าของเซลล์ที่วัดได้ควรมีค่าเท่ากับศูนย์ แต่จากการวัดค่าจริง ๆ พบว่าศักย์ไฟฟ้าที่วัดได้ (E°) ไม่เป็นศูนย์ ศักย์ไฟฟ้าที่วัดได้นี้เรียกว่า ศักย์ไฟฟ้าที่ไม่สมมาตร

glass electrode ที่มีอายุการใช้งานนานขึ้นพบว่าศักย์ไฟฟ้าที่ไม่สมมาตรจะมีค่ามากขึ้น แต่อย่างไรก็ตามผลของค่าศักย์ไฟฟ้าที่ไม่สมมาตรที่เกิดขึ้นนี้สามารถขจัดได้ด้วยการ calibrate โดยใช้สารละลายมาตรฐานที่ทราบ pH ที่แน่นอนหรือโดยใช้วิธี acid-base titration ก็ได้

2. Dehydration ขั้วกลาสที่ใช้วัด pH ของสารละลาย ไม่ควรปล่อยทิ้งให้ผิวของ glass membrane แห้ง ควรต้องถูกไฮเดรตตลอดเวลาด้วยสารละลายเกลือที่เป็นชนิดเดียวกันและมีความเข้มข้นเท่ากับสารละลายภายในเอง(ในกรณีนี้จะเป็นสารละลาย KCl 3 M) มิฉะนั้นจะทำให้การวัดค่า pH ของสารละลายเกิดข้อผิดพลาดได้

3. Variation in junction potential ค่าศักย์ไฟฟ้าที่เกิดขึ้นที่รอยต่อของสารละลายอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงได้ทำให้ค่า pH ที่วัดได้ไม่แน่นอน โดยอาจเปลี่ยนแปลงได้ถึง 0.1 หน่วยของ pH

4. ข้อผิดพลาดจากค่า pH ของสารละลายบัฟเฟอร์ ในการวัดค่า pH ของสารละลายทุกครั้งจะต้องมีการทำ electrode calibration ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน ถ้าสารละลายบัฟเฟอร์ที่ใช้ทำ calibration มีค่า pH เปลี่ยนแปลงไปเนื่องจากการเก็บรักษาไว้ไม่ดี

ทำให้ส่วนประกอบเกิดการเปลี่ยนแปลงก็จะเป็นสาเหตุทำให้การวัด pH ของสารละลายตัวอย่างผิดพลาดด้วย ดังนั้นเพื่อขจัดข้อบกพร่องชนิดนี้และในกรณีที่ต้องปรับ ionic strength ของการทำ electrode calibration และionic strength ของสารละลายในขณะทำการทดลองให้ใกล้เคียงกัน (ionic strength ที่แตกต่างมีผลต่อค่า pH และelectrode parameters ที่ได้ออกมาแตกต่างกันด้วย) จึงทำ electrode calibration ด้วยวิธี acid-base titration ซึ่งเป็นการวัดค่าศักย์ไฟฟ้า (mV.) โดยตรงและใช้ computer software คำนวณค่า E°, electrode slope และค่าความเข้มข้นของ acid หรือ base ค่าใดค่าหนึ่ง ค่าทั้งหมดเหล่านี้สามารถนำมาคำนวณย้อนกลับเป็นค่า pH ได้

ศักย์ไฟฟ้าของขั้ว (Electrode Potential, E)[2,3]

ศักย์ไฟฟ้าของขั้ว หมายถึง พลังงานทางไฟฟ้าที่ต้องใช้ ในการทำให้ประจุลบเคลื่อนที่จากขั้วหนึ่งไปยังจุด ๆ หนึ่งที่มีระยะทางถึงอนันต์ หรือหมายถึงพลังงานทางไฟฟ้าที่ต้องใช้ในการดึงประจุบวกจากจุดอนันต์ให้เคลื่อนที่เข้าหาขั้วนั้น ปกติจะไม่สามารถวัดค่าพลังงานนั้นได้โดยตรงแต่สามารถหาความแตกต่างของพลังงานนั้นระหว่างขั้ว 2 ขั้วได้โดยนำขั้ว 2 ชนิดประกอบเป็นเซลไฟฟ้าเคมีแล้ววัดค่าศักย์ไฟฟ้าของเซล ศักย์ไฟฟ้าของขั้วที่วัดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นของสารละลายเท่ากับ 1 หน่วยแอคทิวิตี เรียกว่า ศักย์ไฟฟ้ามาตรฐานของขั้ว (standard electrode potential,E°) ถ้ามีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นและอุณหภูมิ ศักย์ไฟฟ้าของขั้วก็จะเปลี่ยนค่าไปตามสมการของเนิสท์ (nernst equation) ดังนี้

พิจารณาปฏิกริยาที่เกิดขึ้นคือ

$$A^{ox} + n = A^{red} \qquad (2\text{-}1)$$

$$E = E^{\circ} - 2.303[RT/nF]\log[a^{red}/a^{ox}] \qquad (2\text{-}2)$$

โดย

$$a^{red} = \gamma^{red}[A^{red}]$$

$$a^{ox} = \gamma^{ox}[A^{ox}]$$

แทนค่า a ลงในสมการ (2) จะได้

$$E = E^{\circ} - 2.303[RT/nF] \log[\gamma^{red}A^{red}/\gamma^{ox}A^{ox}] \qquad (2\text{-}3)$$

ปกติในกรณีของไอออนชนิดเดียวกันค่า γ จะไม่ต่างกันมากดังนั้นถือว่า $\gamma^{red} = \gamma^{ox}$

$$E = E^{\circ} - 2.303[RT/nF] \log[A^{red}/A^{ox}] \qquad (2\text{-}4)$$

เมื่อ E = ศักย์ไฟฟ้า มีหน่วยเป็นมิลลิโวลต์

E° = ศักย์ไฟฟ้ามาตรฐานของขั้ว มีหน่วยเป็นมิลลิโวลต์

R = ค่าคงที่ของแก๊สมีค่าเท่ากับ 8.314

T = อุณหภูมิ (เคลวิน)

F = ค่าคงที่ของฟาราเดย์ มีค่าเท่ากับ 96,500 คูลอมบ์

n = จำนวนอิเลกตรอนที่ถ่ายเทในปฏิกริยา

$[A^{ox}]$ = ค่าความเข้มข้นเป็นโมลาร์ของตัวออกซิไดซ์

$[A^{red}]$ = ค่าความเข้มข้นเป็นโมลาร์ของตัวรีดิวซ์

จากสมการของเนิสท์ ทำให้สามารถคำนวณหาศักย์ไฟฟ้าของขั้วที่จุ่มอยู่ในสารละลายที่มีความเข้มข้นและอุณหภูมิต่างๆ กันและเมื่อต้องการหาค่าศักย์ไฟฟ้าของเซลก็จะคำนวณจากสมการ

$$E = E_{cathode} - E_{anode} \qquad (2\text{-}5)$$

สำหรับ combination electrode ที่รวมเอา indicator electrode และ reference electrode เข้าด้วยกัน โดยให้ขั้วที่มี glass membrane เป็นขั้วแอโนดและขั้ว Ag/AgCl เป็นขั้วแคโทดนั้นศักย์ไฟฟ้าที่เกิดขึ้นภายในเซลล์จะมีค่าดังนี้คือ

$$E = E_{ref} - E_{Ag/AgCl} + E_j + (V_2 - V_1) \qquad (2\text{-}6)$$

E_j คือ ศักย์ไฟฟ้าที่รอยต่อของสารละลายระหว่างขั้ว E_{ref} กับสารละลายที่ต้องวิเคราะห์

V_1 คือ ศักย์ไฟฟ้าระหว่างรอยต่อ ที่กลาสเมมเบรนกับสารละลาย H^+ ที่ต้องการวิเคราะห์

V_2 คือ ศักย์ไฟฟ้าที่รอยต่อ ระหว่างกลาสเมมเบรน กับสารละลาย H^+ ที่อยู่ในขั้วกลาส

เนื่องจาก E_{ref}, $E_{Ag/AgCl}$ และ E_j เป็นค่าคงที่ ดังนั้นศักย์ไฟฟ้าของเซลจะมีค่าเท่าไรนั้น ขึ้นอยู่กับค่าความต่างศักย์ระหว่าง V_2 กับ V_1 และค่า V_2 กับ V_1 จะมีค่าเท่าไรขึ้นอยู่กับ pH ของสารละลาย เพราะเกิดการแลกเปลี่ยน H^+ ที่ผิวของกลาสเมมเบรนถ้าความต่างศักย์ของผิวกลาสเมมเบรนทั้งสองข้างมีค่าน้อย จะได้ว่า

$$V_2 - V_1 = \text{constant} + 2.303\,[RT/F]\,\log[1/H^+] \qquad (2\text{-}7)$$

แทนค่าสมการ (2-7) ลงใน (2-6) จะได้

$$E = E_{ref} - E_{Ag/AgCl} + E_j + \text{constant}$$

$$+ 2.303\,[RT/F]\,\log[1/H^+] \qquad (2\text{-}8)$$

จัดสมการใหม่ได้

$$E = k + 2.303\,[RT/F] * pH \qquad (2\text{-}9)$$

ค่า k คือ ค่าคงที่ที่สามารถคำนวณได้จากการวัดค่าศักย์ไฟฟ้าของสารละลายมาตรฐานที่ทราบค่า pH แน่นอน ในกรณีที่ความเข้มข้นของสารละลายเท่ากับ 1 หน่วยแอคทิวิตี ค่า pH จะเท่ากับ 0 ค่าศักย์ไฟฟ้าของเซลที่ได้ ก็คือค่าศักย์ไฟฟ้ามาตรฐาน (E°) นั่นเอง ดังนั้นค่าศักย์ไฟฟ้ามาตรฐานที่อุณหภูมิใดๆ ก็ตามจะมีค่าเท่ากันเสมอ (ในทางปฏิบัติมักจะอนุโลมถือค่า k ก็คือค่า E° ด้วย)

โพเทนชิออเมตริกไทเทรชัน (Potentiometric titration)

คือ วิธีการวิเคราะห์ที่ใช้การวัดค่าศักย์ไฟฟ้าควบคู่กับเทคนิคของการไทเทรต โดยการวัดค่าศักย์ไฟฟ้าของสารละลายที่ถูกไทเทรตทุก ๆ ครั้งที่มีการเติมไทแทรนต์ลงไป แล้วนำข้อมูลที่วัดได้อันประกอบด้วย ค่าศักย์ไฟฟ้าที่อ่านได้ และปริมาณไทแทรนต์ที่เติมลงไป พร้อมทั้งความเข้มข้นตั้งต้นของสารที่ใช้ทั้งหมด และชุดแบบจำลองค่าคงตัวของการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน นำมาคำนวณโดยวิธี numerical method ก็จะสามารถหาสารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นพร้อมค่าคงที่ของการเกิดปฏิกริยาได้ โดยมีหลักการกว้าง ๆ ซึ่งจะอธิบายพร้อมโปรแกรม SUPERQUAD และ ELE ดังต่อไปนี้

หลักการของโปรแกรม ELECTRODE CALIBRATION (ELE)

โปรแกรม ELE เป็นโปรแกรมที่ใช้ทำ electrode calibration สมการหลักที่ใช้สำหรับโปรแกรมนี้คือสมการ extended Nernst equation ซึ่งมีดังนี้คือ

$$E = E^\circ + S_L \log[H^+] + A[H^+] + B/[H^+] \qquad (2\text{-}10)$$

เมื่อ E คือ ค่าศักย์ไฟฟ้าที่วัดได้ (มิลลิโวลต์)

E° คือ ค่าศักย์ไฟฟ้ามาตรฐานของขั้วอิเลกโทรด (มิลลิโวลต์)

S_L คือ ค่าความชัน (มีค่าเท่ากับ RT/nF)

A คือ ค่า Acid correction factor

B คือ ค่า Base correction factor

สำหรับการไทเทรตที่ยังอยู่ในช่วงเป็นกรด (acidic range) และก่อนถึงจุดยุติ (end-point) $[H^+]$ คำนวณได้จาก

$$[H^+] = (C_AV_A - C_BV_B)/(V_A + V_B) \qquad (2\text{-}11)$$

เมื่อผ่านจุดยุติ (end point) ไปแล้วและอยู่ในช่วงที่เป็นด่าง $[H^+]$ คำนวณได้จาก

$$[H^+] = 10^{-Kw}/((C_BV_B - C_AV_A)/(V_A + V_B)) \qquad (2\text{-}12)$$

เมื่อ V_A, V_B คือ ปริมาตรของกรดและเบสที่ใช้

C_A, C_B คือ ความเข้มข้นของกรดและเบสที่ใช้ และ Kw คือค่าคงที่ของการแตกตัวของน้ำตามสมการ $H_2O = 2H^+ + O^-$ ซึ่งมีค่า pKw = 14 ที่สภาวะมาตรฐาน (standard state) หรือมีค่า 13.50 ที่สารละลาย KNO_3 0.15 โมลาร์ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ส่วน A และ B คือ acid correction และ base correction ในกรณีที่ electrode ไม่เป็นเชิงเส้นตามสมการของเนิสท์ (nerst equation)

จากสมการ (2-10) - (2-12) สามารถเขียนออกมาในรูปของฟังก์ชันได้ดังนี้

$$E = f(E^{\circ}, S_L, C_A, C_B, V_A, V_B, Kw) \qquad (2\text{-}13)$$

ตัวแปรทั้งหมด 8 ตัวจากสมการ (2-13) ค่า E และ V_B เราสามารถวัดได้ในขณะทำการไทเทรต C_A, C_B และ V_A เป็นค่าที่หาได้จากการเตรียมสารละลาย ดังนั้นทำให้เราสามารถคำนวณหาค่า E° และ Kw ได้ในกรณีที่มีข้อมูลจากการไทเทรตมากพอเราเพียงแต่วัดค่า E และ V_B ให้มากพอเท่านั้น ก็สามารถคำนวณตัวแปรที่เหลือคือ E°, S_L, C_A, C_B และ Kw ได้

ในการวัดค่าศักย์ไฟฟ้า E เราจะใช้ glass eleatrode เป็นตัววัดเมื่อทำการไทเทรตด้วยสารละลายเบส (เติม V_B) ค่าความเข้มข้นของ H^+ จะเปลี่ยนไปทำให้ค่า E ที่อ่านได้เปลี่ยนแปลง

ข้อดีของการใช้โปรแกรม ELE คือทำให้ได้ค่า E°, S_L อยู่ในเงื่อนไขที่ใกล้เคียงกับสภาวะการทดลองมากขึ้น (เช่นค่าความแรงไอออนและอุณหภูมิ) และทำให้สามารถตรวจสอบความเข้มข้นของกรดหรือเบสตัวใดตัวหนึ่งได้ด้วย

หลักการของโปรแกรม SUPERQUAD (SUPER)

โปรแกรม SUPERQUAD เป็นโปรแกรมคอมพิวเตอร์ภาษาฟอร์แทรนที่ได้รับการพัฒนามาใช้ในการคำนวณค่าคงที่ ของการเกิดปฏิกริยาของการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน โดยโปรแกรมนี้สามารถใช้คำนวณค่าความเข้มข้นของสารตั้งต้น หรือค่าศักย์ไฟฟ้ามาตรฐานของอิเลกโทรดได้ด้วย โดยโปรแกรมเปิดทางเลือกให้เราสามารถกำหนดตัวแปรเหล่านี้ เป็นตัวแปรที่ไม่ทราบค่าและ ให้คอมพิวเตอร์คำนวณค่าออกมา หลักการของโปรแกรม SUPERQUAD มีดังต่อไปนี้

สำหรับสปีชีทางเคมี $A_aB_b....$ แต่ละตัวที่เกิดขึ้นอันเนื่องจากปฏิกริยาเคมีในสารละลายจะมีค่าคงที่ของการเกิดปฏิกริยาดังนี้

$$\beta_{ab} = [A_aB_b...]/[A^a][B^b]... \qquad (2\text{-}14)$$

เมื่อ A,B คือ สารตั้งต้น (สำหรับโปรแกรมนี้มีได้ไม่เกิน 4 ตัว)

[A],[B] คือ ความเข้มข้นของสารที่เป็นอิสระแต่ละตัว

สมการสมดุลย์ของมวล (mass-balance equation) ที่จะสอดคล้องกับสปีชีทางเคมี และค่าคงที่ของการเกิดปฏิกริยา จากสมการที่ (2-14) จะเป็น

$$T_A = [A] + \Sigma a_k \beta_{ab}...[A]^a[B]^b...$$

$$T_B = [B] + \Sigma b_k \beta_{ab}...[A]^a[B]^b... \qquad (2\text{-}15)$$

$T_A, T_B...$ คือ ความเข้มข้นทั้งหมดของ สาร A, สาร B และอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องทั้งหมดในปฏิกริยา โดยสมมุติว่าจำนวนสปีชีที่มีทั้งหมดเท่ากับ k

ความเข้มข้นของสารตั้งต้นที่เป็นอิสระ [A],[B]... อย่างน้อยหนึ่งตัวจะถูกวัดหาปริมาณโดยตรงโดยอิเลกโทรดที่ไวต่อสารนั้น ๆ (ในการทดลองนี้ใช้ pH อิเลกโตรดวัดความเข้มข้น H^+ เพียงตัวเดียว) โดยวัดศักย์ไฟฟ้าทุก ๆ จุดของสมการ (2-15) ที่มีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของ T_A, T_B... อันเนื่องมาจากการไทเทรต

การแก้สมการที่ (2-15) โดยวิธี numerical method จะทำให้สามารถค่าตัวแปรที่ต้องการเช่นค่าคงที่การเกิดปฏิกริยา (K) หรือค่าความเข้มข้น T_A, T_B และอื่น ๆ ได้

เนื่องจากสมการ (2-15) จะเป็นจริงก็ต่อเมื่อ มีแบบจำลองของระบบสมดุลที่สมเหตุผล ซึ่งการคาดคะเนว่าระบบปฏิกริยาที่กำลังศึกษาอยู่จะมีสปีชีใดในระบบสมดุลบ้าง สามารถทำได้โดยทำการศึกษาปฏิกริยานั้นอย่างลึกซึ้งเท่านั้น ในทางปฏิบัติทำได้โดยอาศัย การศึกษาปฏิกริยาที่ใกล้เคียงและอาศัยหลักทางสถิติเข้าช่วย

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

บทที่ 3
การทดลอง

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

สารละลายกรดไนตริก เข้มข้นประมาณ 0.5 โมลาร์

สารละลายเบสโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้นประมาณ 0.5 โมลาร์

สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต เข้มข้น 0.4995 โมลาร์

สารละลายวิตามินบี 6 ไฮโดรคลอไรด์ เข้มข้นประมาณ 0.1 โมลาร์

สารละลายไพริดอกซัลไอโซนิโคติโอนิลไฮดราโซน (PIH)

ผงโพแทสเซียมไนเทรต

ไดออกเซน

น้ำกลั่น 3 ครั้ง

อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

เครื่องชั่งละเอียด

ไมโครปิเปต 0-50 ไมโครลิตร

อ่างน้ำร้อน (water bath) ที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้ พร้อมปั๊มน้ำขนาดเล็ก

เครื่องกวนสารละลายโดยใช้แรงทางแม่เหล็ก (magnetic stirrer)

แท่งแม่เหล็กสำหรับกวนสารละลาย (magnetic bar)

เทอร์โมมิเตอร์

แก๊สไนโตรเจน

อุปกรณ์เครื่องแก้วต่าง ๆ

เครื่องคอมพิวเตอร์ 32 บิต รุ่น 486 DX-33

เครื่องไทเทรตอัตโนมัติ พร้อมพีเอชมิเตอร์และอิเล็คโทรด ของ Schott รุ่น TR-600

การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการทดลอง

1. สารละลายกรดไนตริก (HNO_3) เข้มข้น 0.5 โมลาร์

นำกรดไนตริกเข้มข้น มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นจนได้ความเข้มข้นประมาณ 0.5 โมลาร์ ควบคุมความแรงไอออนให้ได้ 0.5 โมลาร์ ด้วยผงโพแทสเซียมไนเทรต

2. สารละลายเบสโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้น 0.5 โมลาร์

นำโซเดียมไฮดรอกไซด์เกรดวิเคราะห์ มาละลายด้วยน้ำกลั่นจน ได้ความเข้มข้นประมาณ 0.5 โมลาร์ ควบคุมความแรงไอออนให้ได้ 0.5 โมลาร์ด้วยผงโพแทสเซียมไนเทรตเช่นเดียวกัน

3. การหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์[2]

เตรียมสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต (KHP) ได้ความเข้มข้นที่แน่นอนเท่ากับ 0.4995 โมลาร์ นำมาไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) โดยให้สารละลาย NaOH เป็นไทแทรนต์ โดยใช้สารละลายฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ สารละลายจะเปลี่ยนจากไม่มีสีเป็นสีชมพูอ่อนที่จุดยุติ จดปริมาตรสารละลาย NaOH ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาสมมูลกับสารละลาย KHP ในขวดรูปชมพู่ นำปริมาตรที่ได้มาคำนวณหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลาย NaOH เมื่ออัตราส่วนจำนวนโมลในการทำปฏิกิริยาระหว่าง KHP:NaOH เท่ากับ 1:1

4. การหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายกรดไนตริก

การหาความเข้มข้นที่แน่นอนของกรดไนตริก อาศัยการคำนวณโดยโปรแกรม ELE จากการไทเทรตสารละลายที่ใช้ในการทดลอง จากสภาวะที่เป็นกรดจนเป็นเบสด้วยสารละลาย NaOH ที่ทราบความเข้มข้นแน่นอนแล้ว เมื่ออัตราส่วนจำนวนโมลในการทำปฏิกิริยา ระหว่าง NaOH:HNO_3 เท่ากับ 1:1

5. การเตรียมสารละลายโพแทสเซียมไนเทรต เข้มข้นประมาณ 2.5 โมลาร์

ชั่งโพแทสเซียมไนเทรตเกรดวิเคราะห์ ให้ได้จำนวนโมลที่ต้องการ นำมาละลายด้วยน้ำกลั่นโดยการเตรียมด้วยขวดวัดปริมาตร

6. สารละลายวิตามินบี 6 ไฮโดรคลอไรด์ เข้มข้นประมาณ 0.1 โมลาร์

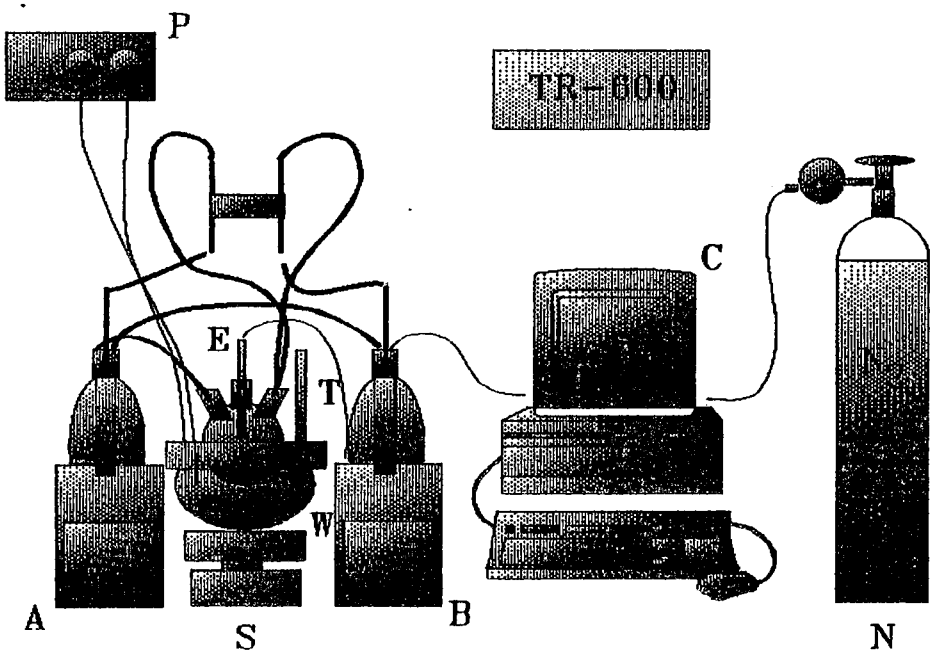
ชั่งวิตามินบี 6 ไฮโดรคลอไรด์เกรดวิเคราะห์ ให้ได้จำนวนโมลที่ต้องการนำมาละลายด้วยน้ำกลั่นโดยการเตรียมด้วยขวดวัดปริมาตร

7. สารละลายไพริดอกซัลไอโซนิโคติโอนิลไฮดราโซน (PIH)

นำ PIH มาจำนวนหนึ่ง มาเจือจางด้วยน้ำกลั่น โดยไม่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน

การจัดชุดเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง สำหรับวิธีโพเทนชิโอเมตริกไทเทรชันในการศึกษาโครงงานครั้งนี้ ประกอบด้วยส่วนต่าง ๆ ดังรูปที่ 3-1



รูปที่ 3-1 : การจัดชุดเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

อธิบายรูปที่ 3-1 ส่วนประกอบแต่ละส่วน คือ

A : เครื่องไทเทรตอัตโนมัติ รุ่น TR-200 ที่สามารถให้ค่าละเอียดได้ถึง 0.001 มิลลิลิตร ในการทดลองใช้บรรจุสารละลายกรดไนตริก 0.5 โมลาร์ ที่มีความแรงไอออน KNO_3 0.5 โมลาร์

B : เครื่องไทเทรตอัตโนมัติ ซึ่งใช้บรรจุสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.5 โมลาร์ ที่มีความแรงไอออน KNO_3 0.5 โมลาร์

C : เครื่องคอมพิวเตอร์ ที่ใช้ควบคุมเครื่องไทเทรตอัตโนมัติ TR-200 ด้วยโปรแกรม TR-600

E : อิเล็กโทรด

N : ก๊าซไนโตรเจน ซึ่งจะให้ไหลผ่านสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ แล้วส่งต่อไปยังสารละลายกรดไนตริก และท้ายสุดก็จะปล่อยให้ไหลผ่านสารละลายที่ในขวด 3 คอ ซึ่งขณะทำการทดลองจะทำการปล่อยก๊าซไนโตรเจนตลอดเวลา เพื่อให้อยู่ในบรรยากาศของก๊าซเฉื่อย

P : ปั๊มน้ำพร้อมอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ โดยการทดลองควบคุมไว้ที่ 37 องศาเซลเซียส

S : magnetic stirrer ใช้คู่กับ magnetic bar ในการปั่นกวนสารละลายให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกัน

T : เทอร์โมมิเตอร์

วิธีการทดลอง

1. การแคลิเบรทอิเล็กโทรด

เพื่อหาค่าศักย์ไฟฟ้ามาตรฐานของอิเล็กโทรดที่ใช้ (E°) มีวิธีการดังนี้

1.1 ล้างขวดก้นกลมให้สะอาดด้วยน้ำกลั่น

1.2 เติมสารละลายชนิดต่าง ๆ ลงไปในขวดก้นกลม ตามอัตราส่วนดังตารางที่ 4-1 จะได้สารละลายที่มีอัตราส่วนตัวทำละลายน้ำและไดออกเซน 0, 20, 40 และ 60 เปอร์เซนต์โดยปริมาตร

ตารางที่ 3-1 : แสดงปริมาตรสารละลายชนิดต่าง ๆ ที่ใช้ผสมเพื่อให้ได้อัตราส่วนตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซน ที่มีอัตราส่วนต่างกัน เพื่อใช้ในการแคลิเบรตอิเล็กโทรด

อัตราส่วนตัวทำละลายที่ต้องการ		ชนิดสารละลายที่ใช้			ปริมาตรรวม
น้ำ	ไดออกเซน	ชนิดที่ 1	ชนิดที่ 2	ชนิดที่ 3	
100	0	5.0	0.0	20.0	25.0
80	20	5.0	5.0	15.0	25.0
60	40	5.0	10.0	10.0	25.0
40	60	5.0	15.0	5.0	25.0

หมายเหตุ : สารละลายที่เตรียมได้จะมีความแรงไอออนเท่ากับ 0.5 โมลาร์โพแทสเซียมไนเตรท
สารชนิดที่ 1 คือ สารละลายโพแทสเซียมไนเตรท ความเข้มข้นประมาณ 2.5 โมลาร์
สารชนิดที่ 2 คือ ไดออกเซน เกรดวิเคราะห์
สารชนิดที่ 3 คือ น้ำกลั่น 3 ครั้ง

1.3 ใส่ magnetic bar ลงในขวด พร้อมทั้งเปิดเครื่อง magmetic stirrer กวนสารละลายให้เป็นเนื้อเดียวกัน

1.4 จัดชุดทดลองดังรูปที่ 3-1

1.5 เปิดวาล์วให้แก๊สไนโตรเจนไหลผ่านชุดทดลอง

1.6 ปล่อยให้สารละลายเข้าสู่สภาวะสมดุล โดยทิ้งไว้ประมาณ 3 นาที

1.7 ทำการไทเทรต ด้วยเครื่องไทเทรตอัตโนมัติด้วยโปรแกรม TR600 ด้วยโปรแกรมย่อย ECAL ซึ่งจะทำหน้าที่เติมสารละลายกรดไนตริกความเข้มข้น ประมาณ 0.5 โมลาร์ ปริมาตร 2.000 ml ลงในสารละลายที่ได้จากข้อ 1.6 จากนั้นจะทำการไทเทรตสารละลายจากสภาวะที่เป็นกรดจนกระทั่งเป็นเบส ด้วยสารละลาย NaOH ที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน รายละเอียดโปรแกรม ดูภาคผนวก ก

1.8 ทำซ้ำตั้งแต่ข้อ 1.1 โดยเปลี่ยนอัตราส่วนตัวทำละลายน้ำกับไดออกเซน ดังตารางที่ 4-1

1.9 นำผลการทดลองที่ได้ นำไปคำนวณหาค่า E° และความเข้มข้นกรดที่แน่นอน โดยใช้โปรแกรม ELE

2. การหาค่าคงที่ protonation และ deprotonation ของน้ำและสารประกอบ

เพื่อหาชนิดสารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นได้ในช่วง pH ที่ทำการทดลอง รวมทั้งหาค่าคงที่สมดุลการแตกตัวเป็นไอออนของน้ำและสารประกอบเชิงซ้อนแต่ละชนิดนั้นด้วย มีวิธีการดังนี้

ตอนที่ 1 : การหาค่าคงที่ protonation และ deprotonation ของน้ำ และสารประกอบวิตามินบี 6 ไฮโดรคลอไรด์ ในตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซน ที่มีอัตราส่วนต่างกัน

2.1 ล้างขวดก้นกลมให้สะอาดด้วยน้ำกลั่น

2.2 เติมสารละลายชนิดต่าง ๆ ลงไปในขวดก้นกลม ตามอัตราส่วนดังตารางที่ 4-2 จะได้สารละลายที่มีอัตราส่วนตัวทำละลายน้ำและไดออกเซน 0, 20, 40 และ 60 เปอร์เซนต์โดยปริมาตร

ตารางที่ 3-2 : แสดงปริมาตรสารละลายชนิดต่าง ๆ ที่ใช้ผสมเพื่อให้ได้อัตราส่วนตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซนที่มีอัตราส่วนต่างกัน เพื่อใช้ในการหาค่าที่ protonation และ deprotonation ของสมบัติต่าง ๆ

อัตราส่วนตัวทำละลายที่ต้องการ		ชนิดสารละลายที่ใช้				ปริมาตรรวม
น้ำ	ไดออกเซน	ชนิดที่ 1	ชนิดที่ 2	ชนิดที่ 3	ชนิดที่ 4	
100	0	5.0	0.0	15.0	5.0	25.0
80	20	5.0	5.0	10.0	5.0	25.0
60	40	5.0	10.0	5.0	5.0	25.0
40	60	5.0	15.0	0.0	5.0	25.0

หมายเหตุ : สารละลายที่เตรียมได้จะมีความแรงไอออนเท่ากับ 0.5 โมลาร์โพแทสเซียมไนเตรท
สารชนิดที่ 1 คือ สารละลายโพแทสเซียมไนเตรท ความเข้มข้นประมาณ 2.5 โมลาร์
สารชนิดที่ 2 คือ ไดออกเซน เกรดวิเคราะห์
สารชนิดที่ 3 คือ น้ำกลั่น 3 ครั้ง
สารชนิดที่ 4 คือ สารละลายวิตามินบี 6 ไฮโดรคลอไรด์ ความเข้มข้นประมาณ 0.1 โมลาร์

2.3 ใส่ magnetic bar ลงในขวดพร้อมทั้งเปิดเครื่อง magnetic stirrer กวนสารละลายให้เป็นเนื้อเดียวกัน

2.4 จัดชุดทดลองดังรูปที่ 3-1

2.5 เปิดวาล์วให้แก๊สไนโตรเจนไหลผ่านชุดทดลอง

2.6 ปล่อยให้สารละลายเข้าสู่สภาวะสมดุล โดยทิ้งไว้ประมาณ 3 นาที

2.7 ทำการไทเทรตด้วยเครื่องไทเทรตอัตโนมัติด้วยโปรแกรม TR600

2.7.1 โปรแกรมย่อย ADDA จะทำหน้าที่เติมสารละลายกรดไนตริกความเข้มข้นประมาณ 0.5 โมลาร์ ปริมาตร 2.000 ml ลงในสารละลายที่ได้จาก ข้อ 2.6 รายละเอียดโปรแกรมดูภาคผนวก ก

2.7.2 โปรแกรมย่อย ATOB จะเป็นการไทเทรตสารละลายที่ได้จากข้อ 2.7.1 จากสภาวะที่เป็นกรดจนกระทั่งเป็นเบส ด้วยสารละลาย NaOH ที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน รายละเอียดโปรแกรมดูภาคผนวก ก

2.7.3 โปรแกรมย่อย BTOA จะเป็นการไทเทรตสารละลายที่ได้จากข้อ 2.7.2 จากสภาวะที่เป็นเบสจนกระทั่งได้สารละลายที่เป็นกรด ด้วยสารละลายกรดไนตริกความเข้มข้นประมาณ 0.5 โมลาร์ รายละเอียดโปรแกรมดูภาคผนวก ก

2.8 ทำซ้ำตั้งแต่ข้อ 2.1 โดยเปลี่ยนอัตราส่วนตัวทำละลายน้ำกับไดออกเซน ดังตารางที่ 4-2

2.9 นำผลการทดลองที่ได้ นำไปคำนวณโดยใช้โปรแกรม SUPERQUAD

ตอนที่ 2 : การหาค่าคงที่ protonation และ deprotonation ของน้ำ และสารประกอบไพริดอกซัลไอโซนิโคติโอนิลไฮดราโซน (PIH) ในตัวทำละลายผสมน้ำ และไดออกเซน ที่มีอัตราส่วนต่างกัน

ทำการทดลองเหมือนตอนที่ 1 โดยเปลี่ยนสารละลายชนิดที่ 4 เป็นสารละลาย PIH โดยการทดลองต้องใช้สารละลาย PIH จากการเตรียมครั้งเดียวกัน เพื่อให้สารละลายที่ใช้เป็นสารละลายที่มีความเข้มข้นเดียวกัน

หมายเหตุ - ในการทดลอง ให้ทำการแคลิเบรทอิเล็กโทรดและการทดลองสำหรับหาค่าคงที่ protonation และ deprotonation ต่อเนื่องกัน ที่อัตราส่วนตัว

ทำละลายผสมน้ำและไดออกเซนเดียวกัน เพื่อเป็นการลดข้อผิดพลาดของอิเล็กโทรดในการวัดค่าศักย์ไฟฟ้า ที่มีผลทำให้ค่า E° ที่คำนวณได้จากขั้นแคลิเบรทอิเล็กโทรดนั้น ไม่เป็นตัวแทนที่ดีของ E° ที่จะเทียบเคียงให้กับสารละลาย ที่ทำการทดลองต่อไปในขั้นหาค่าคงที่ protonation และ deprotonation

3. การคำนวณโดยใช้โปรแกรม

เพื่อคำนวณหาค่าต่าง ๆ จากการแปลงข้อมูล ที่ได้จากการไทเทรต ให้เป็นรูปแบบที่นำไปคำนวณ จะใช้โปรแกรม DCO และนำผลที่ได้ไปคำนวณต่อด้วยโปรแกรม ELE และ SUPERQUAD โดยตัวอย่างและรายละเอียดลักษณะข้อมูลของแต่ละโปรแกรม เพิ่มเติมในภาคผนวก ข

บทที่ 4
ผลการวิจัยและดำเนินงาน

จากการทดลอง ศึกษาหาค่า protonation และ deprotonation constants ของน้ำ, วิตามินบี 6 ไฮโดรคลอไรด์ และไพริดอกซัลไอโซนิโคติโอนิลไฮดราโซน (PIH) ในตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซนที่มีอัตราส่วนต่างกัน โดยใช้เทคนิคโพเทนชิโอเมตริกไทเทรชัน ปรากฏว่า ได้ผลการทดลองดังนี้

ตอนที่ 1 : การหาค่าคงที่ protonation และ deprotonation ของน้ำ และสารประกอบวิตามินบี 6 ไฮโดรคลอไรด์ ในตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซน ที่มีอัตราส่วนต่างกัน

ข้อมูลที่ได้จากการไทเทรต ซึ่งประกอบด้วยปริมาตรไทแทรนต์ที่ใช้ ค่าศักย์ไฟฟ้า และค่า pH ของสารละลาย ที่เกิดขึ้นในแต่ละจุดของการไทเทรตนั้น ได้แสดงไว้ใน ตารางที่ 4-1 ถึง ตารางที่ 4-4

จากผลการทดลอง พบว่าสารละลายของวิตามินบี 6 ไฮโดรคลอไรด์ในตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซนนั้น จะมีการปลดปล่อยโปรตอน (deprotonation) ออกมา 2 ตัว โดยโปรตอนตัวแรกจะถูกปลดปล่อยได้เป็นสปีชี $[LH]^-$ และโปรตอนตัวที่ 2 จะถูกปลดปล่อยต่อได้เป็นสปีชี $[L]^{2-}$ ซึ่งแสดงดังสมการที่ (4-1) และ (4-2) และแสดงเส้นโค้งการกระจายตัวของสปีชีต่าง ๆ แสดง ดังรูปที่ 4-1 ถึงรูปที่ 4-4

$$[LH]_2 \text{ ----> } [LH]^- + H^+ \qquad (4\text{-}1)$$

$$[LH]^- \text{ ----> } [L]^{2-} + H^+ \qquad (4\text{-}2)$$

$$H_2O \text{ ----> } H^+ + OH^-$$

ตอนที่ 2 : การหาค่าคงที่ protonation และ deprotonation ของน้ำ และสารประกอบไพริดอกซัลไอโซนิโคติโอนิลไฮดราโซน (PIH) ในตัวทำละลายผสมน้ำ และไดออกเซน ที่มีอัตราส่วนต่างกัน

ข้อมูลที่ได้จากการไทเทรต ซึ่งประกอบด้วยปริมาตรไทแทรนต์ที่ใช้ ค่าศักย์ไฟฟ้าและค่า pH ของสารละลาย ที่เกิดขึ้นในแต่ละจุดของการไทเทรตนั้น ได้แสดงไว้ใน ตารางที่ 4-5 ถึง ตารางที่ 4-8

จากผลการทดลอง พบว่าสารละลายของ PIH ในตัวทำละลายผสมน้ำ และไดออกเซนนั้น จะมีการปลดปล่อยโปรตอน (deprotonation) และรับโปรตอน (protonation) อย่างละ 1 ตัว โดยโปรตอนตัวแรกจะรวมตัวกับ PIH ในช่วง pH ต่ำกว่า 4.6 ถึง 6.5 ขึ้นกับอัตราส่วนของตัวทำละลายผสม ได้เป็นสปีชี $[LH_3]^+$ และโปรตอนตัวที่ 2 จะเริ่มถูกปลดปล่อยในช่วง pH สูงกว่า 4.6 ถึง 7.2 ขึ้นกับอัตราส่วนของตัวทำละลายด้วยเช่นกัน ซึ่งจะได้เป็นสปีชี $[LH]^-$ ซึ่งแสดงดังสมการที่ (4-3) และ (4-4) และแสดงเส้นโค้งการกระจายตัวของสปีชีต่าง ๆ แสดงดังรูปที่ 4-5 ถึงรูปที่ 4-8

$$[LH_2] + H^+ \text{ ----> } [LH_3]^+ \qquad (4\text{-}3)$$

$$[LH_2] \text{ ----> } [LH]^- + H^+ \qquad (4\text{-}4)$$

$$H_2O \text{ ----> } H^+ + OH^-$$

จากผลการศึกษาค่าคงที่ protonation และ depronation ของน้ำ, วิตามินบี 6 ไฮโดรคลอไรด์ และ PIH ทั้งหมดที่กล่าวมา สรุปได้ว่าสภาวะสมดุลที่เกิดขึ้นจะเป็นดังรูปที่ 4-9

และแสดงรายละเอียดค่าคงที่ protonation และ deprotonation ของน้ำ พร้อมทั้งสารประกอบสปีชีต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นทั้งหมดในการทดลองสำหรับโครงงานพิเศษนี้ สามารถรวบรวมได้ดังตารางที่ 4-9 และ 4-10

จากรูปที่ 4-1 ถึง 4-8 ซึ่งแสดงเส้นโค้งการกระจายตัวของสปีชีต่าง ๆ แสดงให้เห็นว่า เมื่อปริมาณของไดออกเซนในตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซนเพิ่มมากขึ้น จะมีผลทำให้การเกิดสปีชีต่าง ๆ ของสารประกอบวิตามินบี 6 และ PIH มีแนวโน้มที่จะเกิดในช่วง pH ที่สูงขึ้น และค่าคงที่ deprotonation ของน้ำ (แสดงในรูป log K ซึ่งเป็นความหมายเดียวกันกับค่า pKw เพียงต่างกันที่เครื่องหมาย) มีแนวโน้มลดลง ซึ่งเป็นแนวโน้มเดียวกับที่เคยมีผู้ทำการทดลองไว้ตามเอกสารอ้างอิง ซึ่งหมายถึงน้ำแตกตัวให้โปรตอนได้น้อยลงเมื่อปริมาณไดออกเซนมากขึ้น ส่วนกรณีของสารประกอบวิตามินบี 6 จะมีค่าคงที่ deprotonation 2 ค่า ที่ตำแหน่งฟีนอลิกไฮโดรเจน และไพริดิเนียมไฮโดรเจน โดยค่าคงที่ deprotonation ที่ทั้งสองค่า มีแนวโน้มลดลง เมื่อปริมาณไดออกเซนในตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซนเพิ่มมากขึ้น และในกรณีของ PIH ซึ่งผลการคำนวณจะได้ว่า PIH จะมีค่าคงที่ deprotonation 1 ค่า ซึ่งน่าจะเกิดจากฟีนอลิกไฮโดรเจน ก็มีแนวโน้มที่ลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณไดออกเซนด้วยเช่นกัน นอกจากนี้ PIH ยังสามารถคำนวณหาค่าคงที่ protonation ได้อีก 1 ค่า ซึ่งน่าจะเกิดจากไพริดิเนียมไฮโดรเจน โดยมีแนวโน้มที่แตกต่างจากแนวโน้มของค่าคงที่ deprotonation คือจะมีแนวโน้มมากขึ้นตามปริมาณไดออกเซนที่เพิ่มมากขึ้น ซึ่งแนวโน้มของค่าคงที่ protonation และ deprotonation ของสารประกอบสปีชีต่าง ๆ ได้แสดงดังรูปที่ 4-10 ถึงรูปที่ 4-13

ตารางที่ 4–1 : แสดงข้อมูลการไทเทรตของวิตามิน บี6 ไฮโดรคลอไรด์ ในตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซน ที่อัตราส่วน 100 : 0

ECAL			ATOB			BTOA		
BASE(ml)	pH	E(mV)	BASE(ml)	pH	E(mV)	ACID(ml)	pH	E(mV)
0.0000	1.6323	328.8954	0.0000	1.5786	331.5665	0.0000	12.0043	−296.8984
0.0010	1.6287	328.9691	0.0010	1.5786	331.5296	0.0010	12.0040	−296.9536
0.0673	1.6391	327.9928	0.1010	1.6125	330.1481	0.1010	11.9780	−295.3694
0.1673	1.6696	326.6297	0.2010	1.6232	328.8954	0.2010	11.9536	−293.9879
0.2673	1.6852	325.3955	0.3010	1.6494	327.3665	0.3010	11.9194	−291.7958
0.3673	1.7151	323.6086	0.4010	1.6867	325.3402	0.4010	11.8934	−289.6037
0.4673	1.7481	321.4350	0.5010	1.7185	323.4429	0.5010	11.8339	−286.5274
0.5673	1.7857	319.4640	0.6010	1.7588	321.3613	0.6010	11.7884	−284.0959
0.6673	1.8275	317.0876	0.7010	1.7851	319.1508	0.7010	11.7435	−280.8722
0.7673	1.8620	314.6377	0.8010	1.8468	316.2956	0.8010	11.6818	−277.2986
0.8673	1.9133	311.6351	0.9010	1.8727	314.0851	0.9010	11.6256	−273.1355
0.9673	1.9674	308.4114	1.0010	1.9246	310.9351	1.0010	11.5178	−267.6092
1.0673	2.0425	304.5246	1.1010	1.9793	307.3615	1.1010	11.4267	−261.5303
1.1673	2.1012	300.2878	1.2010	2.0450	303.8246	1.2010	11.3052	−254.9909
1.2673	2.1627	295.4063	1.3010	2.1339	299.4036	1.3010	11.1717	−245.5042
1.3673	2.3263	288.9590	1.4010	2.2292	293.8958	1.4010	10.8479	−231.0438
1.4673	2.3581	284.0959	1.5010	2.3177	287.9643	1.4747	10.6830	−216.4913
1.5673	2.5227	275.0696	1.6010	2.4515	279.3617	1.5747	10.2865	−193.0968
1.6673	2.7823	259.5593	1.7010	2.7289	267.0566	1.6367	10.0575	−179.2259
1.7562	3.3526	226.7333	1.7850	3.0398	251.0673	1.7026	9.8376	−165.9813
1.7974	4.5642	152.6261	1.8508	3.3965	228.0228	1.7744	9.6470	−154.6893
1.8087	5.1192	116.1528	1.8983	3.6672	208.3308	1.8616	9.4597	−143.4894
1.8160	5.6036	82.0558	1.9439	3.7893	188.4179	1.9616	9.2756	−132.0869
1.8217	6.0453	59.3797	2.0304	4.3565	163.8260	2.0616	9.0996	−121.4764
1.8267	6.1277	19.1301	2.0708	4.3794	156.7524	2.1616	8.9625	−112.8002
1.8452	6.8113	−38.1588	2.1708	4.7175	142.4762	2.2616	8.8583	−103.2029
1.8545	8.4066	−84.5426	2.2418	4.8672	133.5789	2.3616	8.5746	−90.8241
1.8570	8.7490	−103.3319	2.3418	5.0300	121.9738	2.4440	8.2847	−78.4453
1.8601	8.8699	−110.9581	2.4418	5.2640	110.5529	2.5127	8.2187	−68.3322
1.8690	9.0743	−123.3369	2.5389	5.4610	99.5740	2.6127	7.8171	−42.9298
1.8829	9.1387	−135.3842	2.6389	5.7102	82.3505	2.6740	7.4817	−15.0775
1.9372	10.1503	−185.7469	2.7309	6.0844	60.0797	2.7212	6.9405	9.8275
1.9538	10.3458	−197.1862	2.7916	6.6268	37.5694	2.7463	6.6757	27.6589
1.9784	10.5587	−211.3519	2.8227	6.7930	15.9617	2.7733	6.5254	37.9746
2.0103	10.8510	−227.5622	2.8708	7.3880	−18.1169	2.8198	6.2756	50.3535
2.0407	10.9499	−234.3964	2.8944	7.6543	−33.3510	2.8677	5.9591	67.8533
2.1140	11.0877	−246.3884	2.9199	7.6167	−41.4009	2.9079	5.8764	75.9032
2.2140	11.3134	−256,1698	3.0199	8.2444	−70.4875	3.0079	5.5624	92.7951
2.3140	11.4518	−263.7961	3.0619	8.3730	−78.0769	3.0835	5.4265	101.9503
2.4140	11.5480	−269.7276	3.1392	8.5511	−89.0557	3.1835	5.2401	113.7765
2.5140	11.6228	−274.4434	3.2376	8.7478	−100.5503	3.2835	5.0065	123.1527
2.6140	11.7001	−278.7354	3.3376	8.9466	−111.2528	3.3807	4.8724	133.3395

ตารางที่ 4–1 (ต่อ)

ECAL			ATOB			BTOA		
BASE(ml)	pH	E(mV)	BASE(ml)	pH	E(mV)	ACID(ml)	pH	E(mV)
2.7140	11.7548	−282.1064	3.4376	9.1366	−122.0475	3.4807	4.6937	147.3209
2.8140	11.8107	−285.3116	3.5376	9.2951	−133.9842	3.5807	4.3816	165.5207
2.9140	11.8510	−287.6695	3.6376	9.5184	−147.0078	3.6567	4.0661	183.2785
3.0140	11.9090	−291.0590	3.7376	9.7985	−163.9181	3.7163	3.6525	203.6151
3.1140	11.9341	−292.6432	3.8209	10.2169	−183.3706	3.7548	3.6027	212.5308
3.2140	11.9683	−294.5958	3.8716	10.4182	−203.6519	3.8548	3.0251	246.0752
3.3140	11.9961	−296.9721	3.9336	10.5385	−216.7860	3.8998	2.8660	254.6777
3.4140	12.0315	−298.6115	4.0336	11.0055	−237.9884	3.9682	2.7017	264.1277
			4.0876	11.1363	−244.7489	4.0631	2.5328	274.4618
			4.1819	11.2768	−254.2356	4.1631	2.4094	281.7196
			4.2819	11.4264	−261.9724	4.2631	2.3208	287.3195
			4.3819	11.5248	−268.0329	4.3631	2.2432	292.0353
			4.4819	11.6008	−272.1776	4.4631	2.1724	296.0695
			4.5819	11.6717	−276.2486	4.5631	2.1177	299.5510
			4.6819	11.7190	−279.7486	4.6631	2.0618	302.6457
			4.7819	11.7694	−283.1012	4.7631	2.0306	305.6115
			4.8819	11.8265	−285.9011	4.8631	1.9821	308.0614
			4.9819	11.8559	−288.2958	4.9631	1.9396	310.4009
			5.0819	11.9170	−291.6853	5.0631	1.9051	312.5193
			5.1819	11.9478	−293.2142	5.1631	1.8669	314.2693
			5.2819	11.9704	−294.8537	5.2631	1.8474	316.0193
			5.3819	12.0006	−296.4747	5.3631	1.8132	317.7324
						5.4631	1.7838	319.1508

ตารางที่ 4–2 : แสดงข้อมูลการไทเทรตของวิตามิน บี6 ไฮโดรคลอไรด์ ในตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซน ที่อัตราส่วน 80 : 20

ECAL			ATOB			BTOA		
BASE(ml)	pH	E(mV)	BASE(ml)	pH	E(mV)	ACID(ml)	pH	E(mV)
0.0000	1.6351	328.5086	0.0000	1.6091	330.1665	0.0000	12.2419	−311.5798
0.0010	1.6256	329.0797	0.0010	1.6091	330.0559	0.0010	12.2453	−311.4693
0.0306	1.6302	328.8770	0.1010	1.6323	328.6744	0.0724	12.2279	−310.0140
0.1306	1.6540	327.1086	0.2010	1.6546	327.1270	0.1724	12.2028	−307.5825
0.2306	1.6809	325.3955	0.3010	1.6849	325.3402	0.2724	12.1350	−304.7457
0.3306	1.7133	323.7007	0.4010	1.7118	323.7376	0.3724	12.1027	−302.0562
0.4306	1.7386	321.9876	0.5010	1.7386	321.9692	0.4724	12.0266	−298.3168
0.5306	1.7780	319.9613	0.6010	1.7835	319.6666	0.5724	11.9915	−295.3510
0.6306	1.8071	318.0087	0.7010	1.8144	317.4377	0.6724	11.9341	−290.6537
0.7306	1.8474	315.7798	0.8010	1.8474	315.2271	0.7724	11.8412	−284.4643
0.8306	1.8859	313.3298	0.9010	1.9008	312.5377	0.8724	11.7190	−278.8643
0.9306	1.9292	310.4009	1.0010	1.9494	309.4062	0.9724	11.5627	−269.5434
1.0306	1.9732	307.8772	1.1010	1.9891	305.5009	1.0724	11.3134	−254.1067
1.1306	2.0319	304.4509	1.2010	2.0526	301.6325	1.1644	11.1079	−236.8463

ตารางที่ 4–2 (ต่อ)

ECAL			ATOB			BTOA		
BASE(ml)	pH	E(mV)	BASE(ml)	pH	E(mV)	ACID(ml)	pH	E(mV)
1.2306	2.0939	300.8773	1.3010	2.1330	297.6905	1.2644	10.6195	−209.6019
1.3306	2.1696	296.4563	1.4010	2.2273	292.3300	1.3163	10.2942	−193.3731
1.4306	2.2505	291.0958	1.5010	2.3327	286.4353	1.3583	10.1680	−181.3258
1.5306	2.3675	283.8564	1.6010	2.4631	278.1459	1.4368	9.8650	−167.3628
1.6306	2.5267	274.6460	1.7010	2.7322	265.9329	1.5003	9.7917	−159.4234
1.7306	2.8367	260.5724	1.7872	2.8293	252.5409	1.6003	9.4903	−143.3973
1.8070	3.1375	238.9832	1.8872	3.3990	213.8755	1.6786	9.3140	−134.3895
1.8694	4.3593	171.5075	1.9328	3.6800	202.1414	1.7786	9.1974	−124.1290
1.8854	5.5306	93.3293	1.9754	4.0975	177.9917	1.8786	8.9686	−113.3160
1.8906	5.9072	60.0244	2.0041	4.2469	170.6602	1.9776	8.7572	−100.9556
1.8958	6.4863	30.6063	2.0533	4.2566	168.5418	2.0776	8.6253	−89.0557
1.8994	7.2291	−18.8722	2.1533	4.5303	151.4472	2.1776	8.3721	−72.8085
1.9016	7.8095	−49.2298	2.2383	4.7988	137.6500	2.2684	7.9475	−43.5009
1.9033	7.9240	−66.3243	2.3135	4.8489	131.9948	2.3223	7.3516	−15.3722
1.9089	8.2221	−86.1084	2.4135	5.0609	118.3817	2.3482	7.1839	−0.8566
1.9157	8.6192	−108.0845	2.5135	5.3266	105.3029	2.3891	6.9622	19.5538
1.9220	9.1192	−132.9711	2.6006	5.4976	95.1530	2.4366	6.4020	44.0167
1.9269	9.4390	−142.4025	2.7006	5.8049	77.0085	2.4612	6.2334	52.1771
1.9326	9.5883	−152.8656	2.7776	5.8880	62.6770	2.5001	6.0334	63.4691
1.9451	9.8766	−168.8549	2.8776	7.0856	−1.5197	2.5498	5.9671	74.6874
1.9590	10.1210	−184.5495	2.9018	7.4136	−20.3643	2.6498	5.6757	86.0163
1.9765	10.1781	−200.5941	2.9236	7.4341	−28.0089	2.7304	5.5205	97.5109
2.0497	11.1353	−243.4963	3.0236	8.2884	−72.9374	2.8304	5.3177	109.1897
2.0722	11.2059	−248.4699	3.0559	8.3113	−77.4137	2.9304	5.1021	121.9738
2.1479	11.4496	−263.6119	3.1559	8.5346	−90.4557	3.0304	4.8009	137.5026
2.2219	11.6140	−273.4855	3.2559	8.8562	−107.0345	3.1088	4.6647	148.4814
2.3219	11.7697	−282.9354	3.3300	8.9851	−115.6554	3.2088	4.4717	164.6365
2.4219	11.8763	−289.3090	3.4300	9.1024	−123.5948	3.3088	4.1785	185.5258
2.5219	11.9750	−294.9642	3.5300	9.3919	−139.8605	3.3890	3.6555	217.9465
2.6219	12.0480	−299.6247	3.6110	9.5340	−149.8077	3.4296	3.3003	233.4753
2.7219	12.1185	−304.0089	3.7110	9.7016	−168.2839	3.4612	3.1094	241.6358
2.8219	12.1735	−307.0483	3.8110	10.2161	−189.8547	3.5046	2.9274	250.4778
2.9219	12.2019	−308.9272	3.8605	10.4866	−208.3308	3.5637	2.7542	261.2172
			3.9080	10.6732	−220.8018	3.6439	2.6577	270.0039
			3.9705	11.0165	−241.4332	3.7439	2.4876	277.9802
			4.0175	11.3085	−255.2672	3.8439	2.3654	284.6301
			4.0598	11.3742	−261.1066	3.9439	2.2951	290.0827
			4.1598	11.6033	−272.6749	4.0439	2.1834	295.1852
			4.2587	11.7126	−279.7486	4.1439	2.1220	298.9247
			4.3587	11.8278	−286.7669	4.2439	2.0722	302.3510
			4.4587	11.8999	−291.2432	4.3439	2.0233	305.2983
			4.5587	11.9875	−296.7326	4.4439	1.9683	308.1167

ตารางที่ 4–2 (ต่อ)

ECAL			ATOB			BTOA		
BASE(ml)	pH	E(mV)	BASE(ml)	pH	E(mV)	ACID(ml)	pH	E(mV)
			4.6587	12.0425	−299.8273	4.5439	1.9402	310.6404
			4.7587	12.1051	−302.9036	4.6439	1.8935	312.8693
			4.8587	12.1433	−305.7404			
			4.9587	12.1805	−308.2456			
			5.0587	12.2203	−310.6956			

ตารางที่ 4–3 : แสดงข้อมูลการไทเทรตของวิตามิน บี6 ไฮโดรคลอไรด์ ในตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซน ที่อัตราส่วน 60 : 40

ECAL			ATOB			BTOA		
BASE(ml)	pH	E(mV)	BASE(ml)	pH	E(mV)	ACID(ml)	pH	E(mV)
0.0000	1.5994	330.5717	0.0000	1.5703	332.1191	0.0000	12.5037	−326.8323
0.0010	1.5969	330.5349	0.0010	1.5728	332.4507	0.0010	12.5040	−327.0902
0.0946	1.6217	329.3191	0.0946	1.5981	330.6454	0.1010	12.4796	−324.9902
0.1946	1.6574	327.4034	0.1946	1.6256	329.1718	0.2010	12.4179	−321.8218
0.2946	1.6763	325.9665	0.2946	1.6534	327.3665	0.3010	12.3705	−317.8613
0.3946	1.7075	324.4560	0.3946	1.6763	325.9850	0.4010	12.3183	−314.2324
0.4946	1.7790	322.2086	0.4946	1.7105	323.8665	0.5010	12.1903	−307.7483
0.5946	1.7780	320.0350	0.5946	1.7411	321.6560	0.6010	12.0990	−301.9457
0.6946	1.7997	318.3955	0.6946	1.7750	319.6666	0.7010	11.9771	−293.8958
0.7946	1.8914	315.9087	0.7946	1.8181	317.5114	0.8010	11.7988	−284.1327
0.8946	1.8825	313.5508	0.8946	1.8605	314.7298	0.9010	11.5559	−269.6539
0.9946	1.9277	310.7877	0.9946	1.9088	311.6535	0.9951	11.3476	−245.1726
1.0946	1.9928	307.1956	1.0946	1.9720	307.8588	1.0951	10.6830	−210.5966
1.1946	2.0645	302.3510	1.1946	2.0340	304.3588	1.1351	10.5413	−198.9915
1.2946	2.1226	299.1457	1.2946	2.1113	299.6984	1.2033	10.1631	−184.5495
1.3946	2.2005	294.0984	1.3946	2.1895	293.6747	1.2499	10.1192	−178.6548
1.4946	2.3089	287.8537	1.4946	2.2683	288.6827	1.3499	9.9157	−166.6997
1.5946	2.4778	278.6801	1.5946	2.4265	280.7801	1.4499	9.4927	−145.2762
1.6946	2.6717	268.2171	1.6946	2.7655	267.5724	1.5086	9.3733	−138.1842
1.7946	3.1571	247.3462	1.7654	2.8174	259.3198	1.6086	9.1894	−125.9711
1.8468	3.4698	228.0964	1.8654	3.2847	228.6859	1.7086	9.0556	−116.7238
1.8905	4.6934	155.8682	1.9193	3.7023	203.3204	1.8086	8.9087	−108.5081
1.9023	4.9555	119.2659	1.9544	3.7469	189.2100	1.9086	8.6647	−90.2346
1.9166	6.3550	25.7247	2.0544	4.4017	161.5418	2.0023	8.2542	−70.6348
1.9207	7.0159	−4.6697	2.0949	4.4271	154.1735	2.0593	8.2099	−58.5692
1.9234	7.2151	−24.4169	2.1949	4.7594	140.2473	2.1593	7.4316	−16.1459
1.9286	7.6189	−47.2035	2.2670	4.9014	131.1474	2.1943	7.2081	−2.2381
1.9335	8.6253	−105.7819	2.3670	5.0764	119.6159	2.2356	6.6268	32.8905
1.9357	8.8602	−115.0291	2.4670	5.2679	108.4897	2.2567	6.3275	47.5719
1.9395	9.1311	−136.2131	2.5670	5.5566	93.5504	2.2777	6.1424	59.8586
1.9448	9.5633	−152.1288	2.6482	5.6620	82.8294	2.3092	6.0450	67.7428
1.9495	9.8266	−165.1339	2.7482	6.2065	56.7455	2.3858	5.7123	82.9768

ตารางที่ 4–3 (ต่อ)

ECAL			ATOB			BTOA		
BASE(ml)	pH	E(mV)	BASE(ml)	pH	E(mV)	ACID(ml)	pH	E(mV)
1.9560	10.0184	−176.0022	2.7956	6.4753	36.2431	2.4432	5.5810	91.7267
1.9673	10.2087	−188.5652	2.8414	6.8758	4.3750	2.5422	5.4414	103.4056
1.9854	10.5049	−203.3756	2.8731	7.5379	−27.9168	2.6422	5.1510	116.7054
2.0040	10.7612	−226.2543	2.8882	7.6476	−39.2457	2.7230	5.0492	126.1369
2.0255	11.2200	−249.0778	2.9253	7.9924	−55.2902	2.8230	4.8932	138.2763
2.0403	11.2352	−255.2856	2.9554	8.1610	−66.1033	2.9230	4.5596	152.1288
2.1403	11.8305	−282.6591	3.0016	8.4185	−80.1216	2.9948	4.4139	163.4023
2.1842	11.8146	−293.1037	3.0480	8.5309	−90.2346	3.0948	4.0856	190.6468
2.2842	12.1329	−301.6510	3.1423	8.8113	−104.1977	3.1676	3.4188	219.5676
2.3590	12.1989	−309.2220	3.2215	8.9460	−113.9055	3.1980	3.3074	227.1938
2.4590	12.2920	−314.4903	3.3215	9.1570	−125.8422	3.2643	3.0053	245.2278
2.5590	12.3580	−318.5429	3.4215	9.3586	−137.3921	3.3194	2.8877	256.2619
2.6590	12.4466	−323.4244	3.5215	9.5575	−150.0656	3.4194	2.6177	269.1934
			3.6215	9.8131	−165.2997	3.5054	2.4967	276.7644
			3.7116	10.1677	−184.5495	3.6054	2.3727	284.1143
			3.7740	10.5138	−200.2257	3.7054	2.2942	289.1432
			3.8206	10.6424	−215.6623	3.8054	2.2237	294.0063
			3.9050	11.1680	−246.3884	3.9054	2.1256	298.4089
			3.9472	11.3782	−258.9330	4.0054	2.0548	302.8852
			3.9983	11.4432	−268.2539	4.1054	2.0099	306.0904
			4.0983	11.8262	−287.0800	4.2054	1.9705	308.5404
			4.1622	11.9536	−293.7484			
			4.2622	12.0791	−302.0931			
			4.3622	12.1750	−307.2325			
			4.4622	12.2578	−312.7588			
			4.5622	12.3281	−316.5903			
			4.6622	12.3617	−318.9482			
			4.7622	12.3983	−321.6929			
			4.8622	12.4515	−324.8428			

ตารางที่ 4–4 : แสดงข้อมูลการไทเทรตของวิตามิน บี6 ไฮโดรคลอไรด์ ในตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซน ที่อัตราส่วน 40 : 60

ECAL			ATOB			BTOA		
BASE(ml)	pH	E(mV)	BASE(ml)	pH	E(mV)	ACID(ml)	pH	E(mV)
0.0000	1.6015	330.5717	0.0000	1.5801	331.9901	0.0000	13.0321	−359.0135
0.0010	1.5731	332.1928	0.0010	1.5734	332.2296	0.0010	13.0385	−359.3636
0.0126	1.5688	332.3401	0.0406	1.5853	331.7507	0.0422	13.0385	−359.3267
0.1126	1.6009	330.7007	0.1406	1.6018	330.1481	0.1422	13.0315	−358.0741
0.2126	1.6189	329.1718	0.2406	1.6244	328.8770	0.2422	12.9945	−356.4899
0.3126	1.6510	327.3665	0.3406	1.6479	326.9981	0.3422	12.9741	−354.9610
0.4126	1.6803	325.4876	0.4406	1.6861	324.8981	0.4422	12.9093	−351.1847
0.5126	1.7056	323.6823	0.5406	1.6989	324.2534	0.5422	12.8528	−347.8321

ตารางที่ 4–4 (ต่อ)

ECAL			ATOB			BTOA		
BASE(ml)	pH	E(mV)	BASE(ml)	pH	E(mV)	ACID(ml)	pH	E(mV)
0.6126	1.7481	321.4166	0.6406	1.7447	321.8034	0.6422	12.8009	−344.5900
0.7126	1.7783	320.0350	0.7406	1.7860	319.2245	0.7422	12.7551	−340.6479
0.8126	1.8220	317.0876	0.8406	1.8022	317.9719	0.8422	12.6586	−333.9796
0.9126	1.8474	314.4351	0.9406	1.8504	315.6140	0.9422	12.5156	−325.4691
1.0126	1.9250	311.1561	1.0406	1.9402	310.6035	1.0422	12.1256	−303.8430
1.1126	1.9772	306.7720	1.1406	1.9647	306.9562	1.1051	12.0349	−297.0642
1.2126	2.0233	303.8615	1.2406	2.0233	304.5983	1.2051	11.8589	−270.2250
1.3126	2.1296	298.2984	1.3406	2.1504	300.2878	1.3051	10.9423	−231.3385
1.4126	2.2301	292.6248	1.4406	2.2008	294.4484	1.3355	10.8424	−224.5412
1.5126	2.3214	286.3064	1.5406	2.3009	287.9643	1.4083	10.6818	−215.2018
1.6126	2.4903	277.0038	1.6406	2.3801	280.8354	1.5083	10.4582	−192.2126
1.7126	2.5957	265.0487	1.7406	2.7026	267.3329	1.6083	10.1234	−181.8600
1.8126	2.8639	243.6436	1.8145	2.8599	254.4199	1.6799	9.9527	−170.3654
1.8991	4.4188	134.1316	1.9145	3.4136	220.4518	1.7754	9.7300	−157.8392
1.9163	4.9017	125.8053	1.9612	3.7307	200.8151	1.8728	9.5288	−145.9762
1.9280	5.2145	103.1845	2.0005	4.1058	179.0785	1.9728	9.3635	−136.2684
1.9402	6.2456	29.6300	2.0299	4.1213	171.2865	2.0728	8.9490	−112.3397
1.9448	7.3761	−37.9194	2.1299	4.5230	152.8472	2.1325	8.8602	−105.2661
1.9467	8.3525	−86.6241	2.1912	4.7844	140.3394	2.2325	8.7032	−93.6057
1.9477	9.0013	−121.8448	2.2495	4.7918	136.1210	2.3325	7.3476	−12.9591
1.9487	9.1592	−129.2685	2.3495	4.9906	125.5290	2.3543	7.2279	−7.2855
1.9514	9.4151	−142.4025	2.4495	5.0786	109.3002	2.4013	7.0911	30.2010
1.9556	9.5834	−152.2393	2.5495	5.3220	104.7687	2.4819	6.4656	44.1640
1.9643	9.7068	−183.3706	2.6434	5.5184	91.2294	2.5169	6.2408	52.1219
1.9853	10.4579	−206.1203	2.7434	5.8422	73.9874	2.5581	6.1204	60.7428
1.9949	10.5895	−223.4544	2.8171	6.2582	48.6219	2.6385	5.9078	73.4532
2.0165	11.1668	−249.3910	2.8630	6.5089	20.1616	2.7260	5.6992	85.5189
2.0288	11.5547	−270.5381	2.9102	7.4704	−25.8537	2.8216	5.5074	96.5162
2.0394	11.5773	−273.8539	2.9256	7.7221	−40.3509	2.9216	5.3092	108.1397
2.1394	11.8635	−300.0852	2.9442	8.0098	−57.1876	3.0216	4.7762	139.0684
2.2212	12.1802	−321.0113	2.9637	8.0905	−62.5296	3.0698	4.7551	143.1946
2.2845	12.4619	−326.0034	3.0235	8.6393	−94.3241	3.1698	4.6360	149.3840
2.3407	12.5431	−333.5559	3.0539	8.7126	−99.3714	3.2698	4.4179	176.1127
2.4407	12.6946	−339.5795	3.1485	8.8822	−109.6871	3.3698	3.4598	219.7518
2.5407	12.8012	−345.9900	3.2485	9.0908	−123.8343	3.3991	3.2047	234.3779
2.6407	12.8867	−351.3505	3.3485	9.3284	−136.4894	3.4309	3.1717	238.0069
2.7407	12.9310	−353.4320	3.4443	9.5602	−150.6551	3.5309	3.0218	248.2673
			3.5387	9.7526	−161.4497	3.6309	2.7111	264.4961
			3.6387	10.1014	−180.9022	3.7072	2.6342	271.8828
			3.7079	10.2529	−192.6363	3.8072	2.5056	278.5880
			3.8079	10.6521	−215.0176	3.9072	2.4054	283.1196
			3.8696	10.9310	−233.5306	4.0072	2.2396	292.0353

ตารางที่ 4–4 (ต่อ)

ECAL			ATOB			BTOA		
BASE(ml)	pH	E(mV)	BASE(ml)	pH	E(mV)	ACID(ml)	pH	E(mV)
			3.9251	11.3718	−260.4250	4.1072	2.2157	294.2274
			3.9595	11.5318	−269.8013	4.2072	2.1748	296.4563
			4.0136	11.9081	−292.2932	4.3072	2.1015	300.8773
			4.0521	12.0153	−298.2247	4.4072	2.0658	303.1983
			4.1358	12.0816	−303.3273	4.5072	2.0312	305.0036
			4.2358	12.2615	−316.4245	4.6072	1.9921	307.0851
			4.3358	12.4472	−324.6218			
			4.4358	12.5498	−331.5480			
			4.5358	12.6317	−335.1033			
			4.6358	12.7056	−339.8190			
			4.7358	12.7648	−343.0795			
			4.8358	12.8064	−345.7690			
			4.9358	12.8357	−347.9795			
			5.0358	12.9652	−355.0162			

ตารางที่ 4–5 : แสดงข้อมูลการไทเทรตของ PIH ในตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซน ที่อัตราส่วน 100 : 0

ECAL			ATOB			BTOA		
BASE(ml)	pH	E(mV)	BASE(ml)	pH	E(mV)	ACID(ml)	pH	E(mV)
0.0000	1.5384	331.1060	0.0000	1.5344	331.4744	0.0000	12.0102	−300.3799
0.0010	1.5363	331.4191	0.0010	1.5305	331.2717	0.0010	12.0050	−300.2326
0.1010	1.5570	330.0559	0.0629	1.5488	330.3507	0.0503	11.9953	−299.4957
0.2010	1.5842	328.3981	0.1629	1.5668	329.0797	0.1503	11.9736	−298.1694
0.3010	1.6089	326.5376	0.2629	1.6117	327.3481	0.2503	11.9589	−296.8247
0.4010	1.6508	324.7507	0.3629	1.6328	325.3955	0.3503	11.9336	−295.1852
0.5010	1.6639	322.6876	0.4629	1.6816	323.4981	0.4503	11.8926	−293.2326
0.6010	1.7122	320.4402	0.5629	1.7171	321.2876	0.5503	11.8746	−291.2432
0.7010	1.7302	319.6666	0.6629	1.7394	318.8929	0.6503	11.8248	−289.1801
0.8010	1.7708	317.1061	0.7629	1.7772	316.4982	0.7503	11.8038	−287.0248
0.9010	1.8111	314.3245	0.8629	1.8539	312.9061	0.8503	11.7497	−284.6853
1.0010	1.8600	311.5614	0.9629	1.8686	310.6035	0.9503	11.7127	−282.4012
1.1010	1.9162	307.9878	1.0629	1.9104	307.8772	1.0503	11.6257	−277.0223
1.2010	1.9749	304.7457	1.1629	2.0934	302.0931	1.1503	11.5945	−274.6091
1.3010	2.3710	300.3431	1.2629	2.0903	298.2984	1.2503	11.5054	−270.0223
1.3631	2.0983	297.3405	1.3629	2.2302	292.1458	1.3503	11.4543	−265.8592
1.4200	2.1673	294.0984	1.4629	2.2840	286.1406	1.4503	11.3484	−260.2961
1.5200	2.2638	287.5774	1.5629	2.4403	277.2986	1.5503	11.2399	−253.8120
1.6200	2.3600	276.9302	1.6629	2.6700	263.0040	1.6503	11.1504	−245.1173
1.7200	2.6202	265.9698	1.7615	3.0534	239.2779	1.7503	10.9947	−235.9621
1.8087	2.9742	245.0252	1.8246	3.6496	205.7519	1.8503	10.4941	−209.6756
1.8704	4.0210	191.2363	1.8542	3.9834	177.6785	1.9012	10.1135	−185.9863
1.8884	7.2876	−15.3722	1.8797	4.0854	137.3000	1.9374	9.7531	−160.9524

ตารางที่ 4–5 (ต่อ)

ECAL			ATOB			BTOA		
BASE(ml)	pH	E(mV)	BASE(ml)	pH	E(mV)	ACID(ml)	pH	E(mV)
1.8908	7.2980	−43.3719	1.9412	7.1862	−12.9775	1.9658	9.6877	−159.9392
1.9484	10.2375	−200.8520	1.9483	7.4935	−33.2957	2.0643	6.1273	60.7428
1.9555	10.3963	−204.0019	1.9564	7.6340	−50.2429	2.0738	5.9556	84.7636
1.9698	10.5576	−213.8939	1.9741	7.9232	−100.0898	2.0909	5.0008	125.0132
1.9953	10.7259	−223.3070	1.9927	9.2879	−137.6868	2.0974	4.7552	141.0394
2.0355	10.9107	−233.1438	1.9979	9.3884	−146.8235	2.1065	4.6639	154.3945
2.0902	11.0218	−242.2252	2.0140	9.8569	−170.4023	2.1347	3.9993	182.3943
2.1902	11.2320	−253.6093	2.0254	10.0625	−182.1548	2.1483	3.9846	195.3073
2.2902	11.4079	−261.8435	2.0425	10.1095	−190.1494	2.2483	3.0045	241.2121
2.3902	11.4507	−267.2408	2.1271	10.5249	−221.8333	2.2770	3.0534	247.4015
2.4902	11.5163	−271.6618	2.1788	10.8728	−231.9464	2.3770	2.7158	264.0908
2.5902	11.6104	−276.2118	2.2184	10.9828	−240.1253	2.4481	2.6074	271.7170
2.6902	11.6556	−279.6749	2.3024	11.1633	−249.5383	2.5481	2.4147	280.7617
2.7902	11.7185	−282.8985	2.4024	11.3151	−258.4724	2.6481	2.2711	287.5774
2.8902	11.7757	−285.5511	2.5024	11.3884	−264.6066	2.7481	2.2058	292.5695
2.9902	11.7940	−287.9090	2.6024	11.4653	−267.9592	2.8481	2.1129	296.9536
3.0902	11.8539	−290.8195	2.7024	11.5594	−273.7433	2.9481	2.0375	300.9326
3.1902	11.8713	−292.3300	2.8024	11.6153	−277.6854	3.0481	1.9837	304.7457
3.2902	11.9009	−294.7616	2.9024	11.6914	−281.2222	3.1481	1.9440	307.6562
3.3902	11.9278	−295.9405	3.0024	11.7488	−284.6117	3.2481	1.9022	310.1614
3.4902	11.9574	−297.7089	3.1024	11.7940	−287.1169	3.3481	1.8490	312.5009
3.5902	11.9797	−298.9063	3.2024	11.8178	−289.0880			
3.6902	12.0057	−301.0799	3.3024	11.8477	−291.2432			
			3.4024	11.8838	−293.5458			
			3.5024	11.9070	−294.7800			
			3.6024	11.9565	−297.0826			
			3.7024	11.9745	−298.6115			
			3.8024	12.0011	−300.6378			

ตารางที่ 4–6 : แสดงข้อมูลการไทเทรตของ PIH ในตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซน ที่อัตราส่วน 80 : 20

ECAL			ATOB			BTOA		
BASE(ml)	pH	E(mV)	BASE(ml)	pH	E(mV)	ACID(ml)	pH	E(mV)
0.0000	1.5714	329.1718	0.0000	1.5634	329.6875	0.0000	12.2378	−314.0114
0.0010	1.5650	329.5954	0.0010	1.5656	329.4112	0.0010	12.2485	−314.8219
0.0422	1.5784	329.0612	0.1010	1.5928	327.7718	0.0277	12.2387	−314.2693
0.1422	1.5879	327.6981	0.2010	1.6193	326.1323	0.1277	12.2201	−312.8324
0.2422	1.6178	325.9297	0.3010	1.6535	324.4744	0.2277	12.1691	−309.2772
0.3422	1.6511	324.1613	0.4010	1.7049	321.7297	0.3277	12.1104	−306.4957
0.4422	1.6838	322.2086	0.5010	1.7659	319.8139	0.4277	12.0579	−303.2352
0.5422	1.7198	320.3297	0.6010	1.7699	318.2666	0.5277	12.0432	−300.4904
0.6422	1.7363	318.2482	0.7010	1.8148	315.6693	0.6277	11.9488	−296.5484

ตารางที่ 4–6 (ต่อ)

ECAL			ATOB			BTOA		
BASE(ml)	pH	E(mV)	BASE(ml)	pH	E(mV)	ACID(ml)	pH	E(mV)
0.7422	1.8148	315.0245	0.8010	1.8350	313.1824	0.7277	11.8917	-293.0116
0.8422	1.8337	313.3298	0.9010	1.8669	310.0140	0.8277	11.8291	-288.0011
0.9422	1.8939	310.1798	1.0010	1.9468	306.5878	0.9277	11.7201	-282.2722
1.0422	1.9321	307.4167	1.1010	2.0195	303.0510	1.0277	11.5429	-271.7907
1.1422	2.0152	303.3457	1.2010	2.0799	298.5378	1.1277	11.4495	-260.0014
1.2422	2.0592	299.7720	1.3010	2.1807	293.8037	1.2277	11.0267	-243.2384
1.3422	2.1807	294.8352	1.4010	2.2626	288.0379	1.2864	10.9730	-222.8649
1.4422	2.2180	289.5853	1.5010	2.3844	280.2827	1.3864	9.5655	-137.9815
1.5422	2.3615	281.5170	1.6010	2.5595	269.6355	1.4075	8.6465	-88.0057
1.6422	2.5521	271.1092	1.7010	2.8967	252.1725	1.4156	8.1483	-62.9717
1.7422	2.8744	251.0673	1.7722	3.2510	229.6806	1.4216	7.8013	-44.1456
1.8162	3.4416	218.5360	1.8233	3.8185	197.6836	1.4280	7.7378	-41.2535
1.8516	4.9012	130.4474	1.8491	4.2772	172.0786	1.4564	5.4751	83.2163
1.8601	4.7665	82.5163	1.8664	4.5475	153.8419	1.4612	5.3960	102.9450
1.8792	9.5118	-152.6445	1.8857	5.1749	109.6502	1.4797	4.8484	131.7737
1.8810	9.6291	-159.4971	1.8961	5.2131	93.8820	1.4909	4.6102	151.8340
1.8867	9.7503	-177.7706	1.9623	8.4611	-96.2583	1.5058	4.2241	169.1312
1.9016	10.0445	-196.5967	1.9696	8.7299	-142.1078	1.5184	4.1318	175.7812
1.9174	10.3817	-213.4334	1.9789	9.7790	-166.8286	1.5552	3.5558	210.4677
1.9322	10.7512	-225.6465	1.9825	9.8468	-172.1523	1.5745	3.4519	220.6360
1.9452	10.8752	-231.1543	1.9990	10.1850	-191.1994	1.6223	3.2446	236.4779
1.9746	10.9266	-243.7542	2.0144	10.3166	-205.5309	1.6797	2.8964	251.1225
2.0746	11.3865	-265.6013	2.0467	10.6877	-222.8649	1.7229	2.7565	258.5093
2.1293	11.5237	-271.6065	2.0718	10.8508	-234.4148	1.7966	2.5772	268.8987
2.2209	11.6474	-279.7486	2.1126	11.0820	-244.1963	1.8905	2.4232	277.8881
2.3209	11.7940	-287.7064	2.1584	11.2445	-254.7699	1.9905	2.3206	284.6669
2.4209	11.8569	-292.1089	2.2266	11.3890	-264.7171	2.0905	2.2171	290.1011
2.5209	11.9455	-296.9905	2.3266	11.6092	-275.1065	2.1905	2.1444	294.7247
2.6209	12.0151	-301.2089	2.4266	11.7192	-284.9985	2.2905	2.0769	298.1694
2.7209	12.0506	-303.5483	2.5266	11.8380	-289.7695	2.3905	2.0347	301.7615
2.8209	12.0869	-305.7957	2.6266	11.8820	-294.6142	2.4905	1.9721	305.0957
2.9209	12.1425	-309.1851	2.7266	11.9846	-299.2563	2.5905	1.9333	307.8404
3.0209	12.2219	-313.3482	2.8266	12.0377	-302.8299	2.6905	1.8756	310.0140
			2.9266	12.0970	-305.8878			
			3.0266	12.1681	-309.8114			
			3.1266	12.1898	-311.5061			
			3.2266	12.2204	-313.0351			

ตารางที่ 4–7 : แสดงข้อมูลการไทเทรตของ PIH ในตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซน ที่อัตราส่วน 60 : 40

ECAL			ATOB			BTOA		
BASE(ml)	pH	E(mV)	BASE(ml)	pH	E(mV)	ACID(ml)	pH	E(mV)
0.0000	1.5802	328.8770	0.0000	1.6227	325.9665	0.0000	12.5331	−332.1743
0.0010	1.5726	329.2454	0.0010	1.6181	326.3165	0.0010	12.5270	−331.9533
0.0365	1.5802	328.8770	0.0559	1.6187	324.5850	0.0440	12.5301	−331.6033
0.1365	1.6047	327.4218	0.1559	1.6535	323.2955	0.1440	12.4571	−327.3665
0.2365	1.6343	325.9297	0.2559	1.6731	322.5403	0.2440	12.4244	−324.8428
0.3365	1.6548	323.9771	0.3559	1.7024	321.2139	0.3440	12.3706	−319.8139
0.4365	1.6874	322.3929	0.4559	1.7730	317.3271	0.4440	12.2143	−312.4640
0.5365	1.7192	320.1639	0.5559	1.7632	316.4982	0.5440	12.0921	−304.9299
0.6365	1.7611	317.3456	0.6559	1.7934	315.1166	0.6440	12.0466	−299.1273
0.7365	1.7840	316.0745	0.7559	1.8600	311.6903	0.7440	11.5985	−275.0328
0.8365	1.8264	313.5693	0.8559	1.8906	309.3877	0.7999	11.4782	−256.6856
0.9365	1.8728	310.3825	0.9559	1.9312	307.0667	0.8999	10.2595	−187.5889
1.0365	1.9419	307.0299	1.0559	1.9831	303.3825	0.9238	9.4220	−141.6289
1.1365	1.9907	303.6773	1.1559	2.0479	299.8273	0.9335	8.8780	−108.2871
1.2365	2.0564	300.0115	1.2559	2.1679	290.9669	0.9400	8.5637	−89.6452
1.3365	2.2543	295.3510	1.3559	2.2595	288.6827	0.9474	8.4479	−81.9637
1.4365	2.2302	289.2722	1.4559	2.3267	283.7827	0.9667	8.0475	−40.0746
1.5365	2.3622	281.7196	1.5559	2.3906	272.3618	0.9819	7.2451	−2.6987
1.6365	2.6987	264.8461	1.6559	2.6581	262.2856	0.9888	6.7858	32.3747
1.7078	2.6010	266.4671	1.7425	2.9904	243.5331	0.9944	6.4083	56.8376
1.8078	3.2336	245.6331	1.8063	3.2555	208.7177	1.0000	5.0573	119.6159
1.8495	3.1783	227.4517	1.8659	4.2055	169.6286	1.0019	5.0399	123.7606
1.9495	9.4666	−174.5654	1.8849	4.2387	167.7865	1.0323	4.9571	160.6208
1.9554	10.1807	−226.4938	1.9849	6.8737	−116.1712	1.1177	3.3921	219.9360
1.9588	10.8154	−233.8806	1.9926	9.4238	−159.3682	1.1346	3.3738	227.1385
1.9611	10.9449	−238.7805	1.9979	9.7448	−168.4312	1.2346	3.0909	245.5226
1.9676	11.0588	−242.9436	2.0040	10.5023	−209.8782	1.3172	2.8273	263.0408
1.9851	11.2014	−253.9593	2.0073	10.5133	−211.0387	1.3918	2.5246	271.8828
2.0187	11.4910	−268.8434	2.0792	11.1339	−251.7857	1.4526	2.4403	276.9486
2.0508	11.6092	−278.1828	2.1112	11.4122	−265.0119	1.5526	2.3652	283.4880
2.1168	11.7250	−288.0011	2.1430	11.4861	−271.4960	1.6526	2.2430	288.7011
2.2168	11.9183	−300.4536	2.2406	11.7509	−289.7879	1.7526	2.1981	293.0484
2.3168	12.0918	−308.8351	2.3262	11.9714	−298.5563	1.8526	2.1080	296.8247
2.4168	12.2387	−315.6324	2.4157	12.1181	−307.1404	1.9526	2.0494	300.0483
2.5168	12.3025	−321.1218	2.5157	12.1993	−314.0482	2.0526	2.0210	303.2904
2.6168	12.3786	−325.3218	2.6157	12.2799	−319.5376	2.1526	1.9550	306.3115
2.7168	12.4815	−328.9691	2.7157	12.3914	−323.9955	2.2526	1.9095	308.5588
			2.8157	12.4440	−326.9060			

ตารางที่ 4–8 : แสดงข้อมูลการไทเทรตของ PIH ในตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซน ที่อัตราส่วน 40 : 60

ECAL			ATOB			BTOA		
BASE(ml)	pH	E(mV)	BASE(ml)	pH	E(mV)	ACID(ml)	pH	E(mV)
0.0000	1.6291	326.2428	0.0000	1.5863	328.1954	0.0000	13.0490	−363.4161
0.0010	1.6105	326.7586	0.0010	1.5888	328.1033	0.0010	13.0597	−363.7477
0.0176	1.6077	326.9060	0.0946	1.6163	326.5928	0.0277	13.0631	−363.7477
0.1176	1.6377	325.3955	0.1946	1.6435	324.7507	0.1277	13.0182	−360.9846
0.2176	1.6951	322.5771	0.2946	1.6651	322.9639	0.2277	12.9742	−358.4425
0.3176	1.6957	322.1534	0.3946	1.6936	321.2139	0.3277	12.9189	−354.6662
0.4176	1.7983	319.1508	0.4946	1.7317	319.3719	0.4277	12.8798	−351.4794
0.5176	1.7775	318.5982	0.5946	1.7568	316.9034	0.5277	12.7744	−345.1795
0.6176	1.8454	315.5403	0.6946	1.8078	314.6008	0.6277	12.6590	−338.3638
0.7176	1.8677	313.2377	0.7946	1.8420	312.4088	0.7277	12.5631	−328.4902
0.8176	1.8841	311.1930	0.8946	1.8994	309.2956	0.8277	12.2729	−314.9324
0.9176	1.9318	308.2456	0.9946	1.9480	306.1272	0.9086	12.1361	−296.7694
1.0176	1.9544	306.0536	1.0946	2.0240	302.4062	1.0086	10.6379	−215.3308
1.1176	2.1080	296.3642	1.1946	2.0781	298.2431	1.0286	10.0118	−170.4023
1.2176	2.1273	296.9168	1.2946	2.1584	293.8037	1.0393	9.5371	−144.4857
1.3176	2.3444	289.6037	1.3946	2.2485	288.2774	1.0473	9.1792	−124.0922
1.4176	2.2818	289.1985	1.4946	2.3725	280.9643	1.0552	9.0206	−104.3819
1.5176	2.4874	277.9617	1.5946	2.5314	271.1644	1.0708	8.6706	−78.3163
1.6176	2.5088	272.6934	1.6946	2.8313	257.1277	1.0850	8.2842	−57.0955
1.7176	2.9284	255.9488	1.7732	3.0989	237.0305	1.0971	7.4867	−10.4538
1.7767	3.0811	244.6752	1.8438	3.8307	198.0152	1.1028	7.1379	0.2487
1.8659	5.2757	126.6895	1.8712	4.2250	169.2970	1.1089	6.3304	44.7719
1.8790	4.7607	81.3005	1.8919	4.6535	139.4921	1.1120	6.0512	71.1138
1.8878	6.4770	20.6590	1.9071	5.7290	76.2164	1.1164	5.7244	85.6478
1.8901	7.6773	−45.1403	1.9125	6.0591	45.6377	1.1215	5.5478	112.5423
1.8911	7.8160	−65.8270	1.9186	6.6859	18.2275	1.1313	5.1373	115.2133
1.8941	8.2851	−83.8610	1.9225	7.4886	−33.1484	1.1397	5.0549	122.0843
1.8968	8.4950	−117.3502	1.9247	7.6144	−36.1878	1.1684	4.2558	171.1391
1.9017	9.5472	−176.2601	1.9311	7.6135	−47.6456	1.1802	3.9532	185.0469
1.9038	10.3713	−204.0572	2.0311	11.0481	−254.9909	1.1929	3.9590	195.3073
1.9050	10.4229	−207.2440	2.0410	11.3493	−262.0645	1.2929	3.2345	233.2174
1.9132	10.5206	−221.9623	2.0520	11.4165	−265.0119	1.3301	2.9773	246.0568
1.9375	11.2503	−258.2330	2.0950	11.6440	−278.3670	1.3688	2.8298	253.2041
1.9486	11.3453	−265.8776	2.1435	11.8844	−300.3431	1.4329	2.6847	261.9171
1.9808	11.5710	−276.5617	2.1948	12.1926	−311.3404	1.5328	2.5103	272.2881
2.0190	12.0014	−306.7535	2.2384	12.3022	−318.3587	1.6328	2.3970	279.4354
2.0445	12.1691	−310.3825	2.3297	12.4342	−330.3138	1.7328	2.3328	285.2932
2.0848	12.3016	−319.2429	2.4297	12.5710	−335.4533	1.8328	2.2091	289.8432
2.1575	12.4663	−330.4428	2.5297	12.6965	−341.9374	1.9328	2.1532	294.2458
2.2573	12.7259	−342.4164	2.6297	12.7555	−347.5190	2.0328	2.0815	298.2247
2.3460	12.7506	−344.8111	2.7297	12.8144	−350.7610	2.1328	2.0341	301.3194
2.4460	12.8218	−349.0110	2.8297	12.8978	−354.9978	2.2328	1.9904	303.7878

ตารางที่ 4–9 : แสดง Protonation และ Deprotonation constants ของสปีชีต่าง ๆ พร้อมทั้ง pH ที่พบของวิตามินบี 6 ไฮโดรคลอไรด์ ในตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซนที่อัตราส่วนต่างกัน

อัตราส่วนตัวทำละลาย		สปีชี [LH]–		สปีชี [L]2–		น้ำ
น้ำ	ไดออกเซน	pH ที่พบ	log K	pH ที่พบ	log K	log K
100	0	2.1–10.3	–4.56337	> 6.6	–8.52652	–13.23979
80	20	2.7–11.0	–5.06648	> 7.2	–9.06514	–13.71533
60	40	3.0–11.4	–5.36251	> 7.9	–9.38157	–14.06010
40	60	3.1–11.7	–5.44392	> 7.7	–9.71537	–14.43246

หมายเหตุ : ค่า log K มีเครื่องหมายเป็นบวก หมายถึง Protonation constants

ค่า log K มีเครื่องหมายเป็นลบ หมายถึง Deprotonation constants

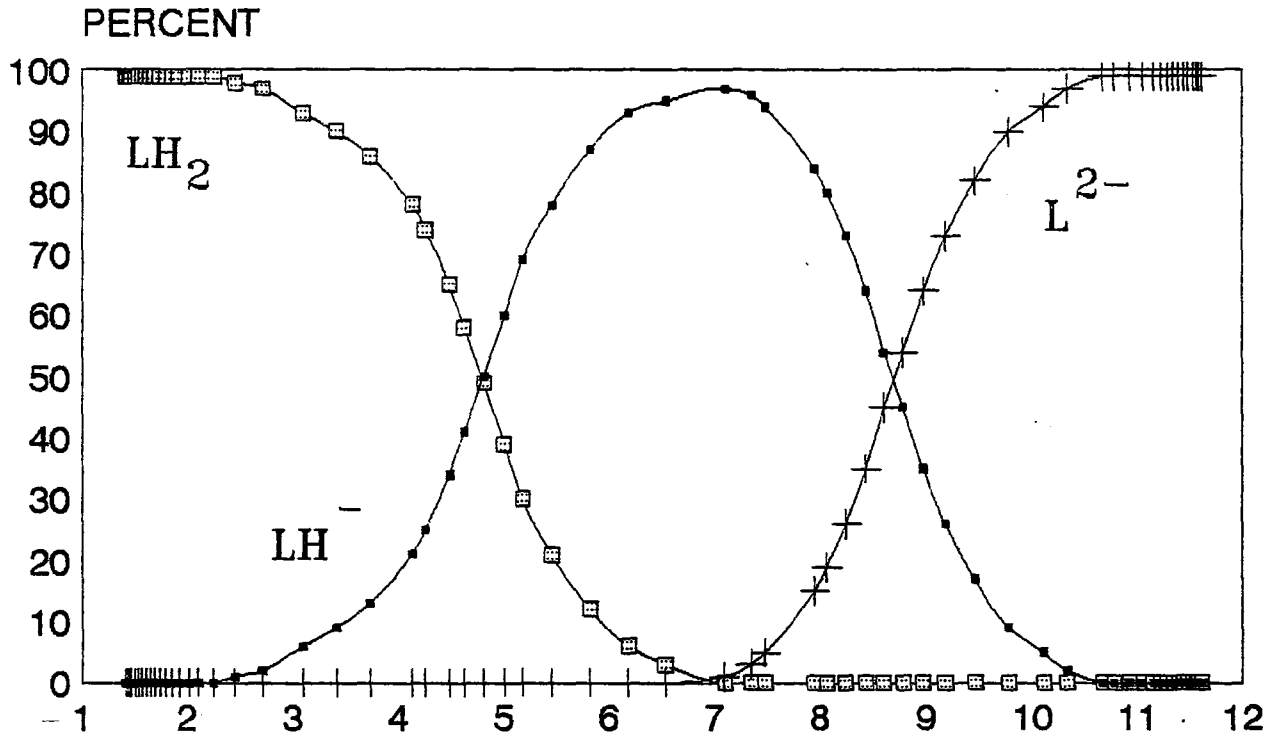
ตารางที่ 4–10 : แสดง Protonation และ Deprotonation constants ของสปีชีต่าง ๆ พร้อมทั้ง pH ที่พบของ PIH ในตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซนที่อัตราส่วนต่างกัน

อัตราส่วนตัวทำละลาย		สปีชี [LH3]+		สปีชี [LH]–		น้ำ
น้ำ	ไดออกเซน	pH ที่พบ	log K	pH ที่พบ	log K	log K
100	0	< 4.6	3.62067	> 4.6	–7.45455	–13.20214
80	20	< 5.0	3.72730	> 5.0	–8.03216	–13.64198
60	40	< 4.8	3.41541	> 4.0	–8.55610	–13.93771
40	60	< 6.5	4.04838	> 7.2	–8.86133	–14.45335

หมายเหตุ : ค่า log K มีเครื่องหมายเป็นบวก หมายถึง Protonation constants

ค่า log K มีเครื่องหมายเป็นลบ หมายถึง Deprotonation constants

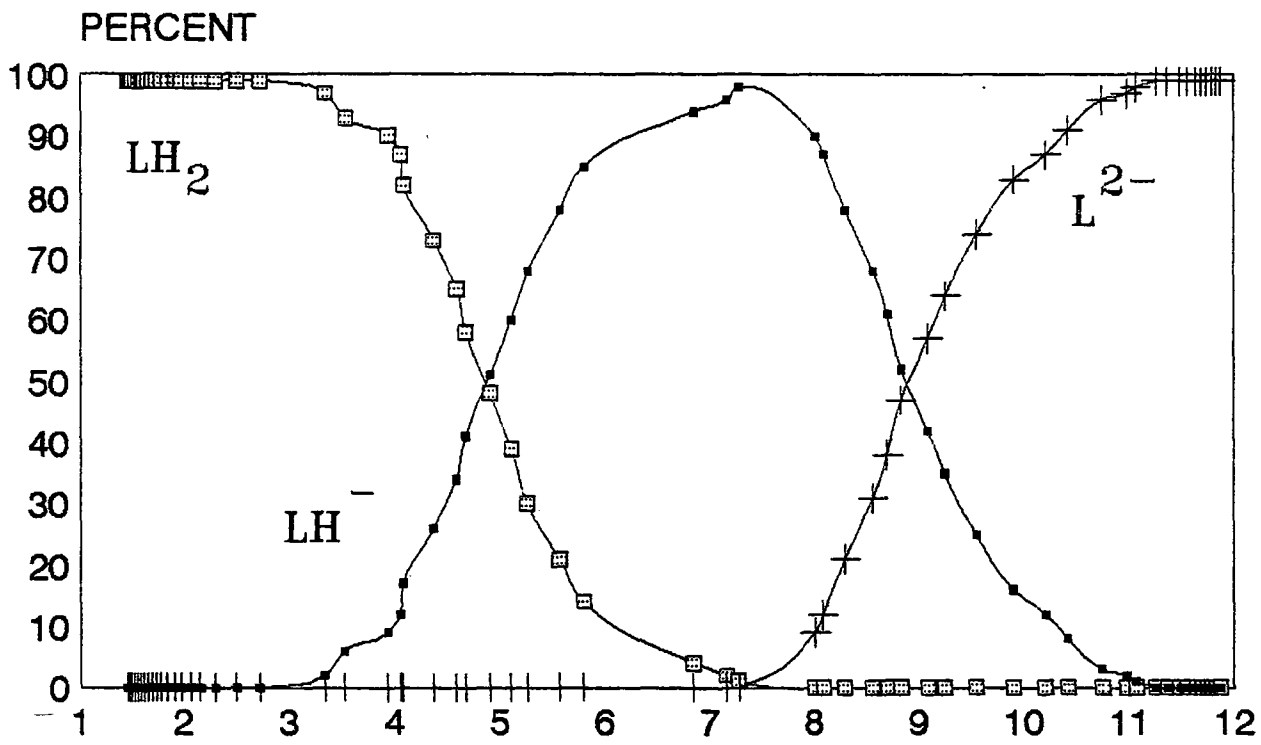
PERCENT FORMATION RELATIVE TO TOTAL CONCENTRATION OF VITAMIN B6



รูปที่ 4-1 : แสดงสัมประสิทธิ์การกระจายตัวของวิตามินบี 6 ไฮโดรคลอไรด์ ที่อัตราส่วน 100/0 ของตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซน

VITAMIN B6 IN 0 PERCENT DIOXANE/WATER

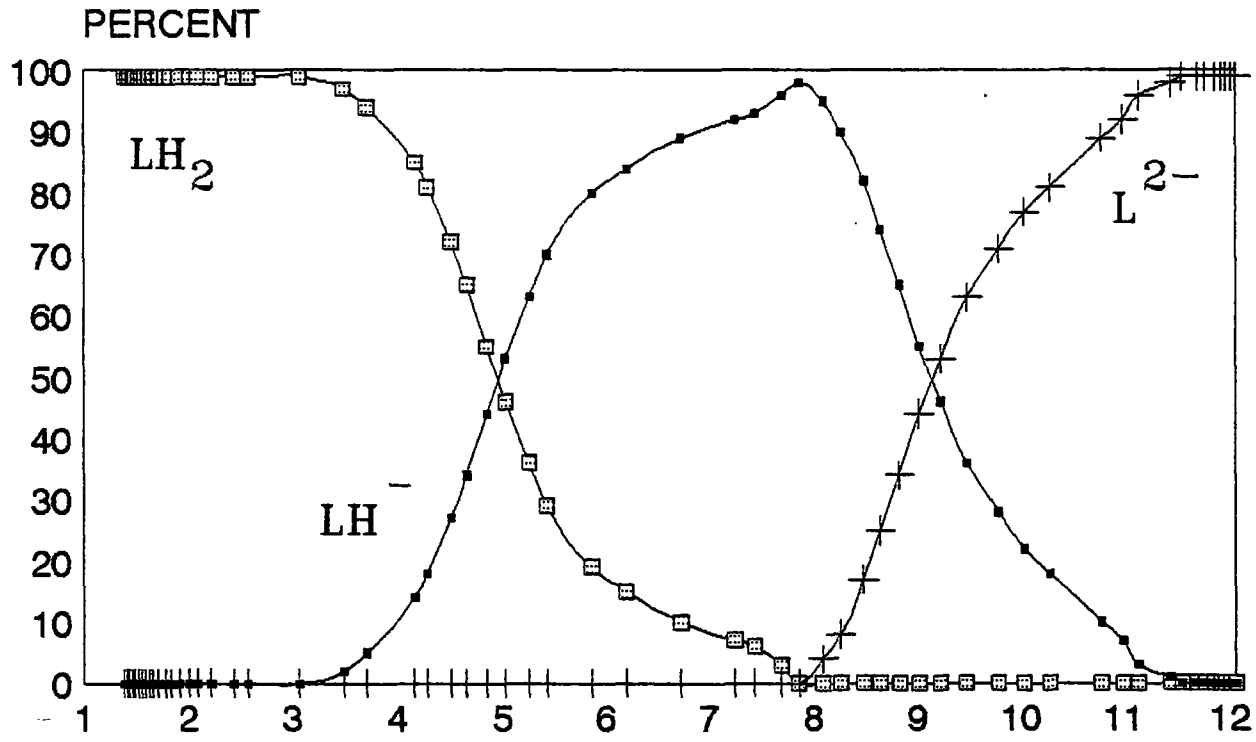
PERCENT FORMATION RELATIVE TO TOTAL CONCENTRATION OF VITAMIN B6



รูปที่ 4-2 : แสดงสัดส่วนการกระจายตัวของวิตามินบี 6 ไฮโดรคลอไรด์ ที่อัตราส่วน 80/20 ของตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซน

VITAMIN B6 IN 20 PERCENT DIOXANE/WATER

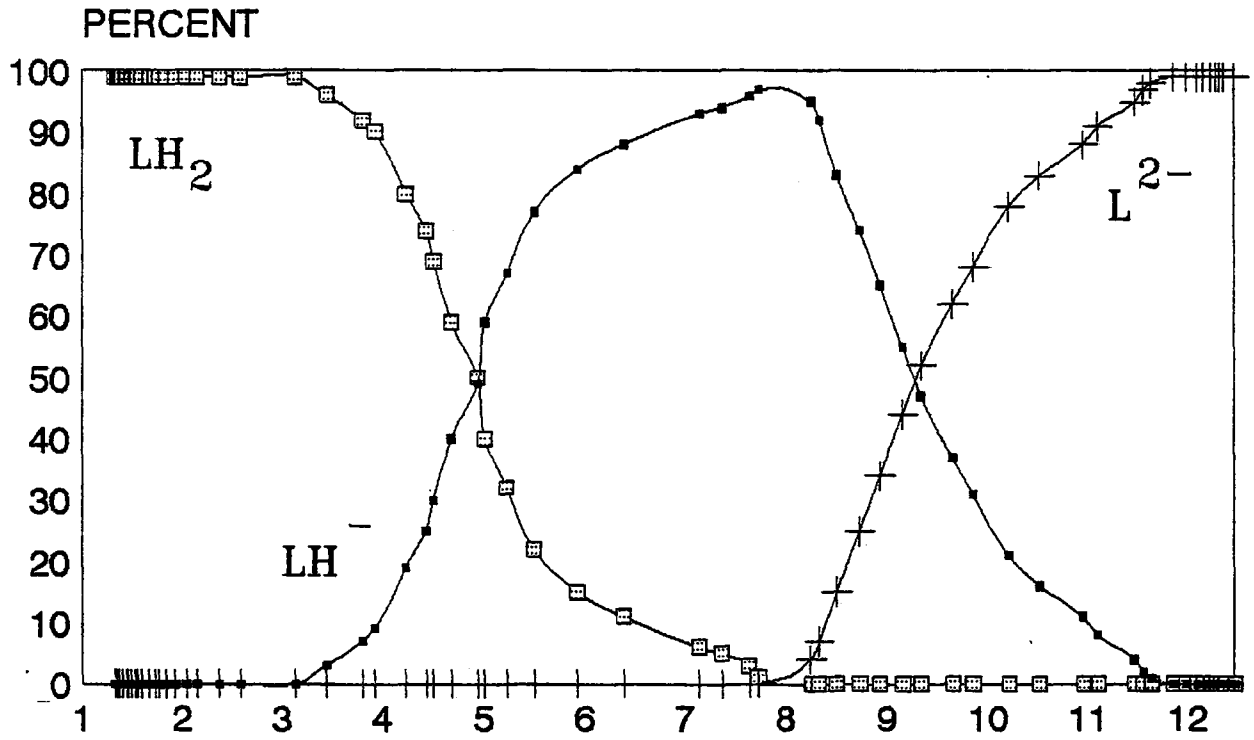
PERCENT FORMATION RELATIVE TO TOTAL CONCENTRATION OF VITAMIN B6



รูปที่ 4-3 : แสดงเส้นโค้งการกระจายตัวของวิตามินบี 6 ไฮโดรคลอไรด์ ที่อัตราส่วน 60/40 ของตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซน

VITAMIN B6 IN 40 PERCENT DIOXANE/WATER

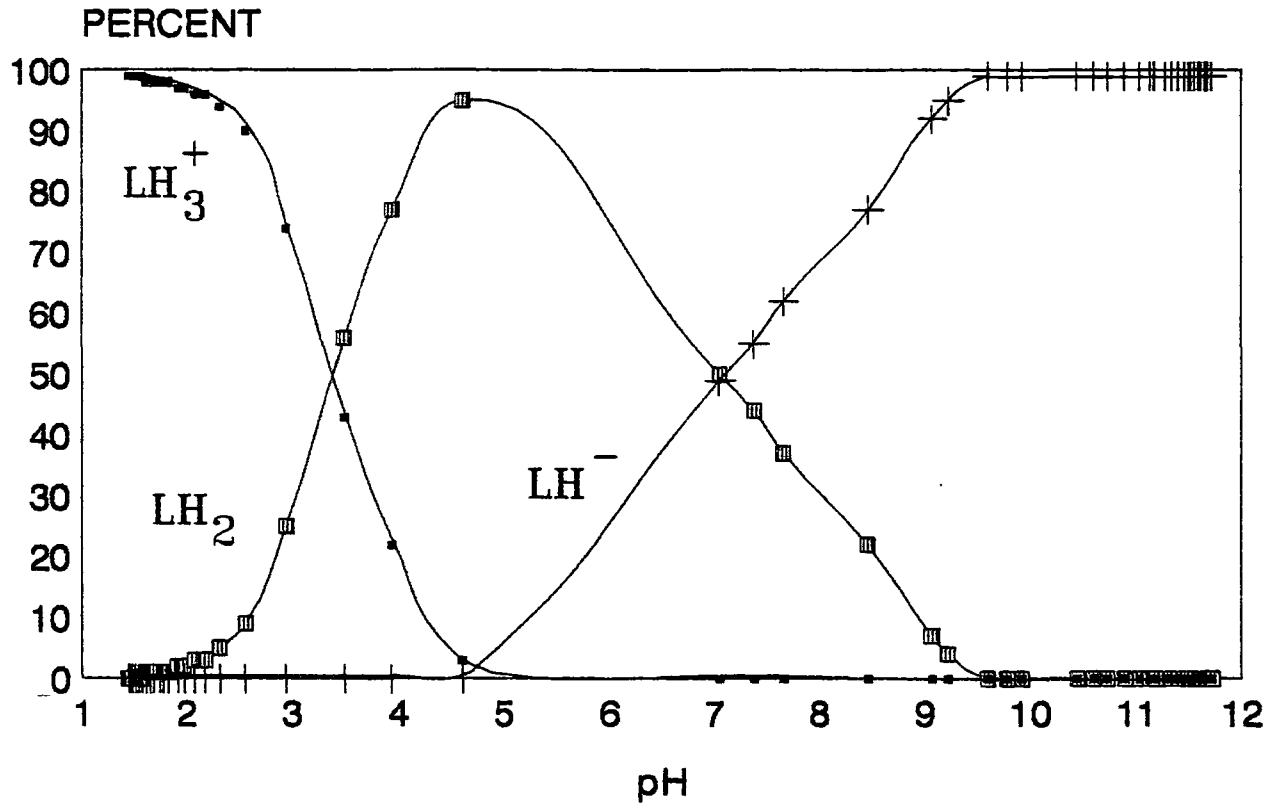
PERCENT FORMATION RELATIVE TO TOTAL CONCENTRATION OF VITAMIN B6



รูปที่ 4–4 : แสดงเส้นโค้งการกระจายตัวของสปีชีส์ต่าง ๆ ของวิตามินบี 6 ไฮโดรคลอไรด์ ที่อัตราส่วน 40/60 ของตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซน

VITAMIN B6 IN 60 PERCENT DIOXANE/WATER

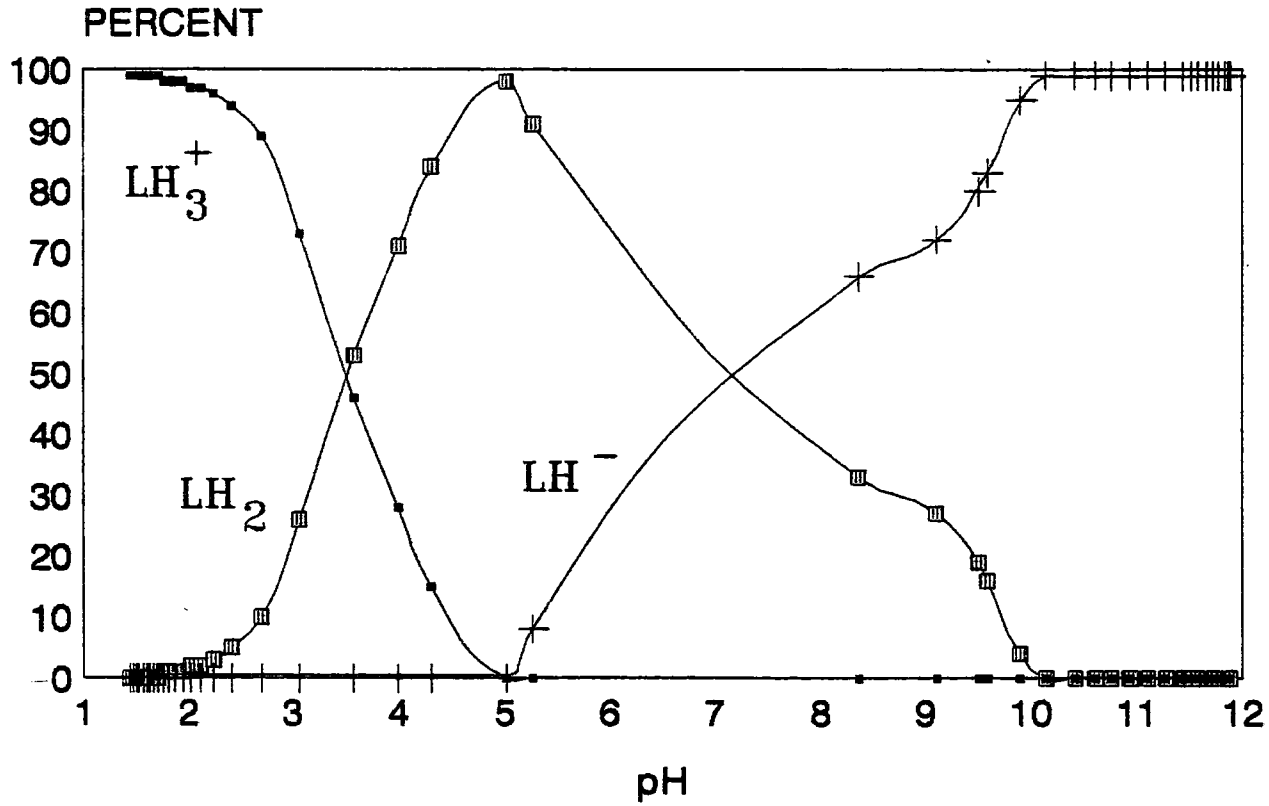
PERCENT FORMATION RELATIVE TO TOTAL CONCENTRATION OF PIH



PIH IN 0 PERCENT DIOXANE/WATER

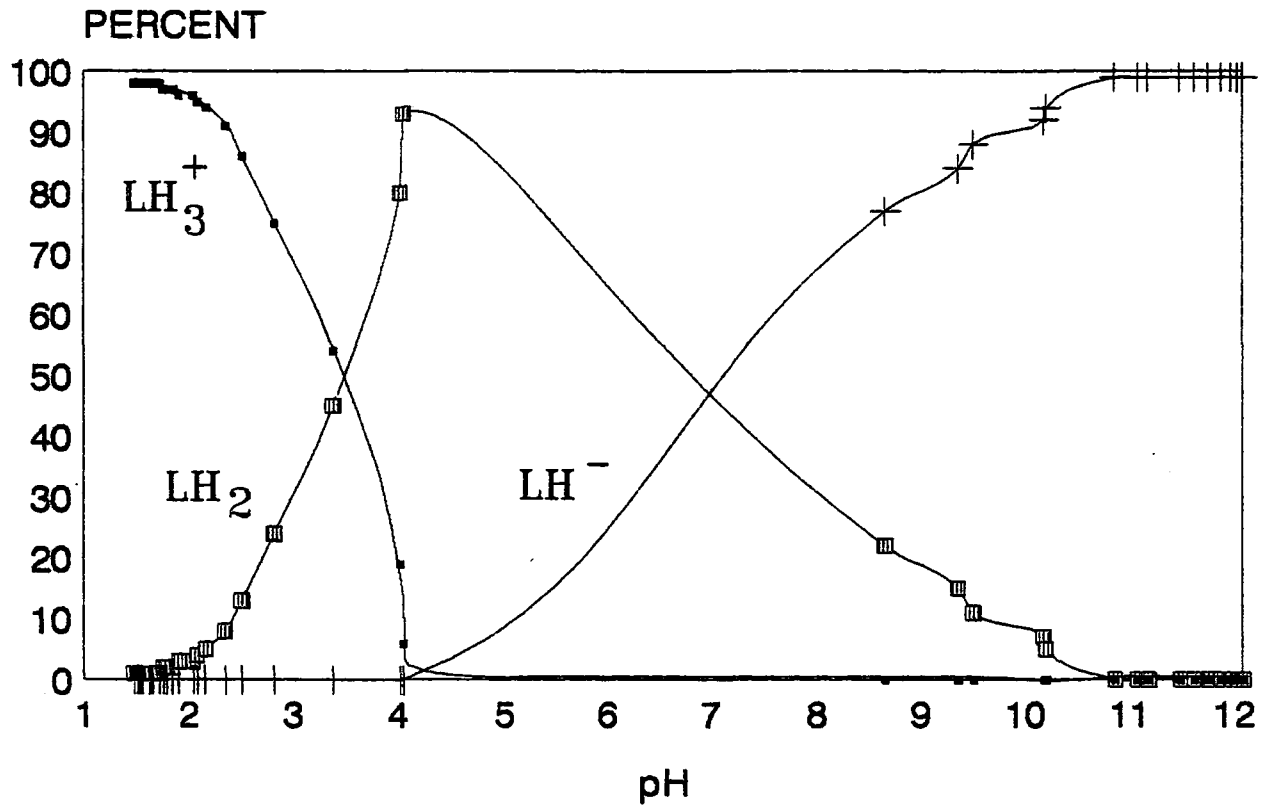
รูปที่ 4–5 : แสดงสัมประสิทธิ์การกระจายตัวของสปีชีส์ต่าง ๆ ของไพริดอกซัล–ไอโซนิโคตินิลไฮดราโซน (PIH) ที่อัตราส่วน 100/0 ของตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซน

PERCENT FORMATION RELATIVE TO TOTAL CONCENTRATION OF PIH



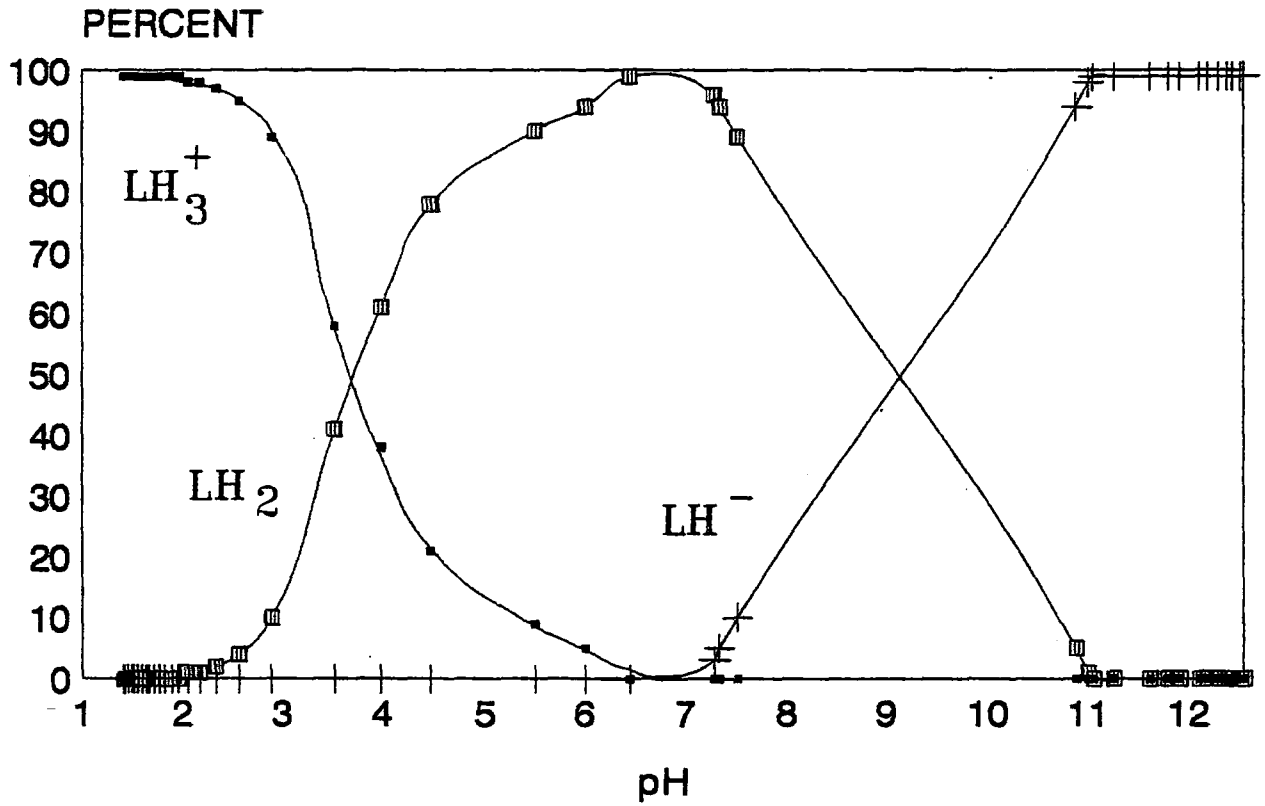
PIH IN 20 PERCENT DIOXANE/WATER

รูปที่ 4–6 : แสดงเส้นโค้งการกระจายด้วยของสปีชีส์ต่าง ๆ ของไพริดอกซัล–ไฮโซนิโคทิโนอิลไฮดราโซน (PIH) ที่อัตราส่วน 80/20 ของตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซน



PIH IN 40 PERCENT DIOXANE/WATER

รูปที่ 4–7 : แสดงสัดส่วนการกระจายตัวของสปีชีส์ต่าง ๆ ของไพริดอกซัล–ไฮโดรคลอไรด์ไดฮิโดรคลอไรด์ (PIH) ที่อัตราส่วน 60/40 ของตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซน

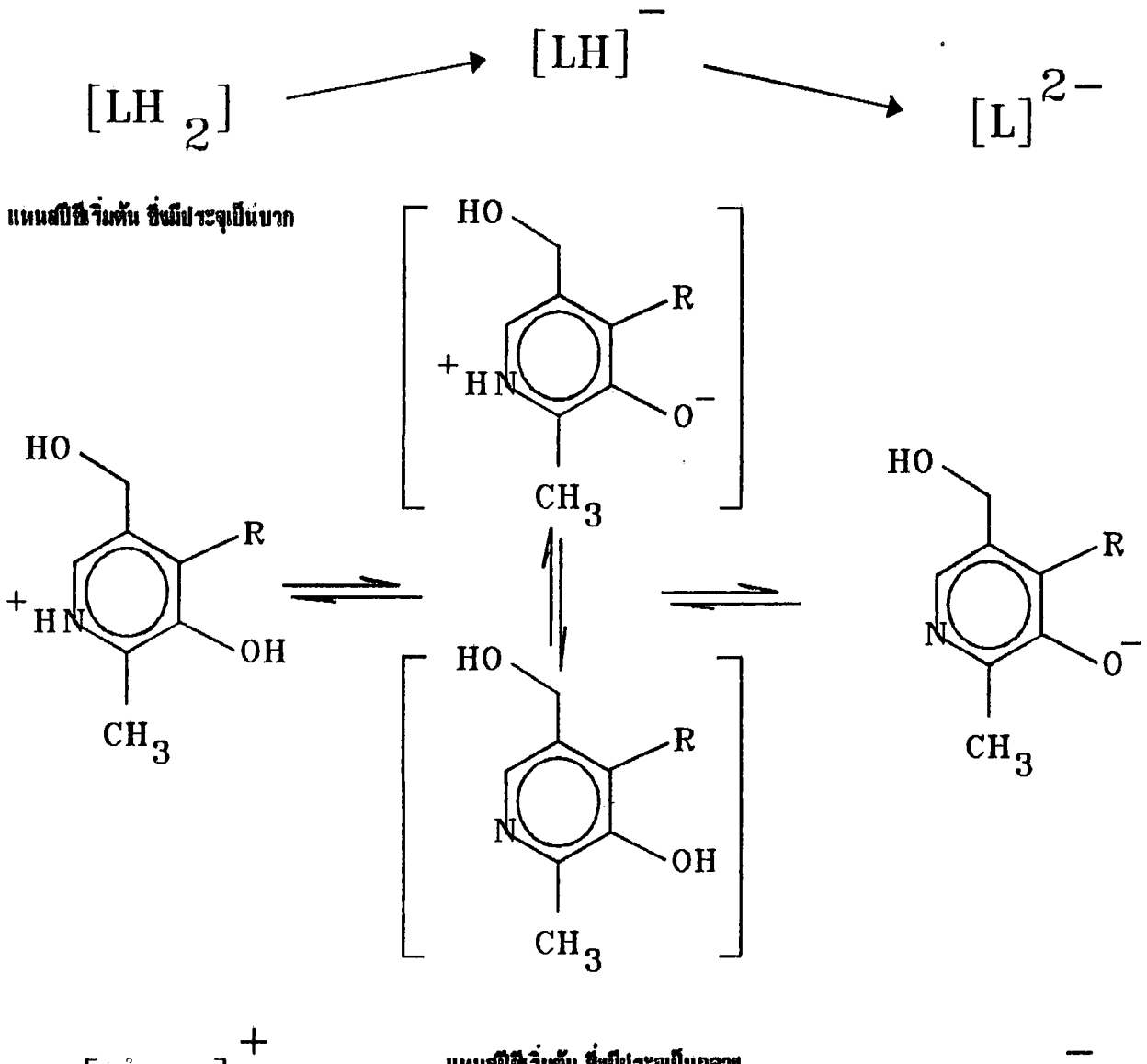


PIH IN 60 PERCENT DIOXANE/WATER

รูปที่ 4–8 : แสดงสัดส่วนการกระจายตัวของสปีชีส์ต่าง ๆ ของไพริดอกซัล–ไฮโซนิโคตินิลไฮดราโซน (PIH) ที่อัตราส่วน 40/60 ของตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซน

รูปที่ 4-9 : แสดงภาวะสมดุลการเกิด protonation และ deprotonation ของ PIH และวิตามินบี 6 ไฮโดรคลอไรด์

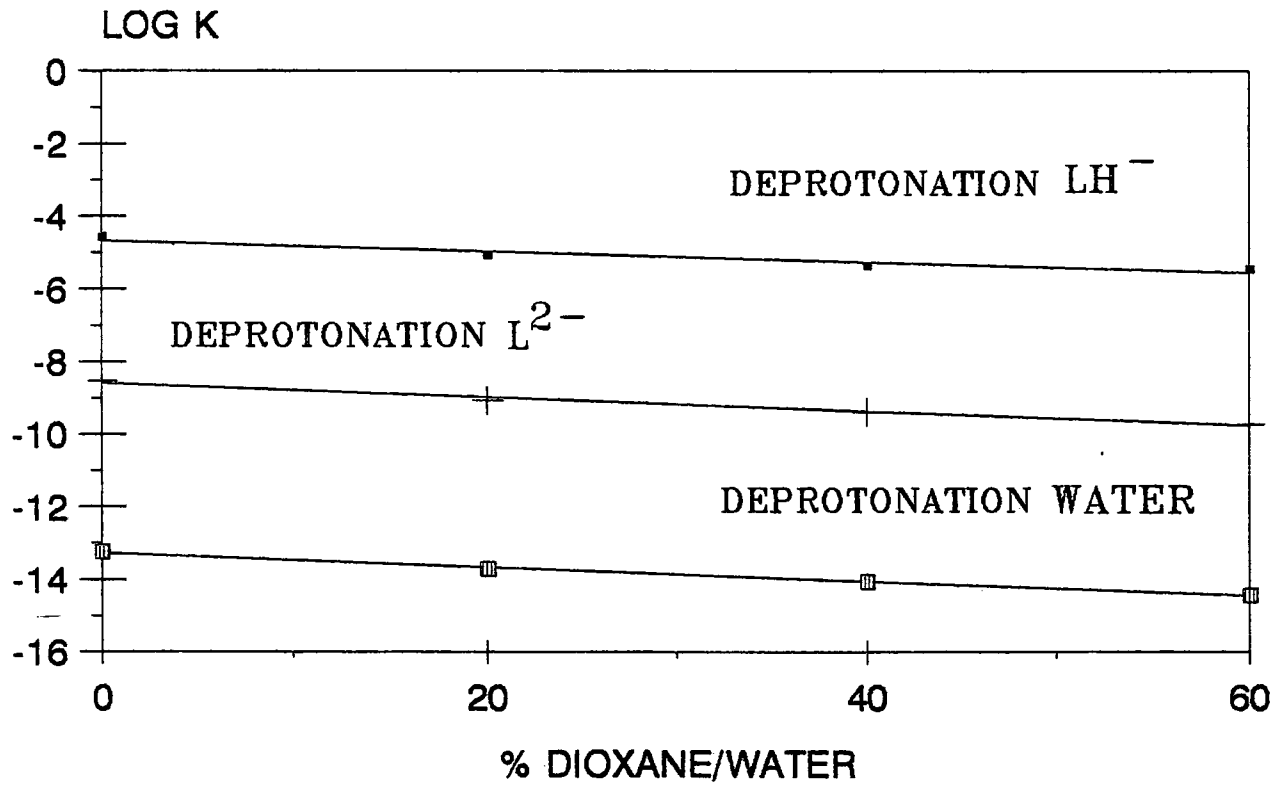
VITAMIN B6 (R = CH2-OH)



PIH (R = CH=N-NH-C-Py)

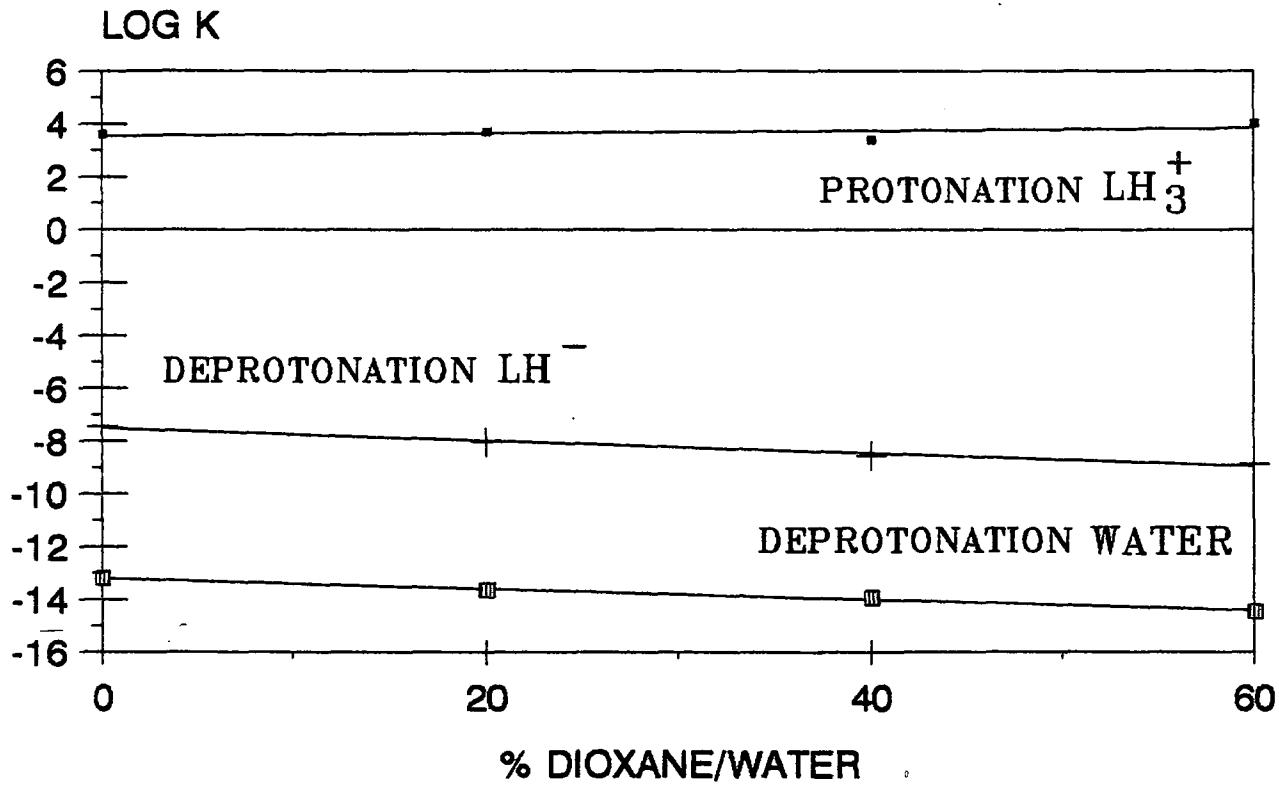
Py = Pyridine

Vitamin B6



รูปที่ 4–10 : แสดงค่าคงที่ protonation และ deprotonation ของสปีชีส์ต่าง ๆ ของวิตามินบี 6 ไฮโดรคลอไรด์ ที่อัตราส่วนต่าง ๆ ของตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซน

PIH



รูปที่ 4–11 : แสดงค่าคงที่ protonation และ deprotonation ของสารที่ศึกษา ๆ ลงในพล็อตระหว่างไพริดอกซัลไฮโดรคลอไรด์กับไดออกเซนในน้ำ (PIH) ที่อัตราส่วนต่าง ๆ ของตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซน

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาค่าคงที่ protonation และ deprotonation ของน้ำ, วิตามินบี 6 ไฮโดรคลอไรด์ และไพริดอกซัลไอโซนิโคติโอนิลไฮดราโซน (PIH) โดยใช้เทคนิคโพเทนชิโอเมตริกไทเทรชั่น ในตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซนที่มีอัตราส่วน 100/0, 80/20, 60/40 และ 40/60 โดยปริมาตร โดยคงความแรงไอออนด้วย KNO_3 0.5 โมลาร์ ที่ 37 องศาเซลเซียส ซึ่งได้แสดงค่าคงที่ protonation และ deprotonation ของสปีชีต่าง ๆ ในรูป log K ดังรวบรวมไว้ในตารางที่ 4-9 และ 4-10

การศึกษานี้จะเน้นที่ผลของตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซน ซึ่งพบว่าในตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซนที่มีปริมาณไดออกเซนมากขึ้น จะมีผลทำให้แต่ละสปีชีที่เกิดขึ้นในการทดลองนี้มีแนวโน้มเกิดที่ pH สูงขึ้น โดยมีค่าคงที่ deprotonation ของสปีชีต่าง ๆ ได้แก่ สปีชี $[LH]^-$ และ $[L]^{2-}$ ของวิตามินบี 6 ไฮโดรคลอไรด์ รวมทั้งสปีชี $[LH]^-$ ของ PIH จะมีแนวโน้มลดลง และสำหรับกรณีของน้ำค่าคงที่ deprotonation ก็มีความหมายเป็นไปในทางเดียวกันกับค่าคงที่การแตกตัวเป็นไอออน (ionization constants) ของน้ำ (แสดงในรูป pKw) ดังกล่าวไว้แล้วในบทที่ 1 ส่วนกรณีค่าคงที่ protonation ของสปีชีเดียวที่เกิดขึ้น ได้แก่ สปีชี $[LH_3]^+$ ของ PIH จะมีแนวโน้มในด้านตรงข้าม กล่าวคือ จะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามปริมาณของไดออกเซนที่เพิ่มขึ้นในตัวทำละลายผสมน้ำและไดออกเซน

สำหรับแนวทางในการทำวิจัยต่อไปคือ

1. การใช้ตัวทำละลายผสมน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ โดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดอื่นแทนไดออกเซน เพื่อศึกษาผลของตัวทำละลายที่มีต่อค่าคงที่สมดุลของการแตกตัวเป็นไอออน

2. การใช้อนุพันธ์ไพริดอกซัลชนิดอื่น ๆ เพื่อศึกษาผลของตัวทำละลาย ที่มีต่อค่าคงที่สมดุลการแตกตัวเป็นไอออนของไฮโดรเจนที่ตำแหน่งฟีนอลิกไฮโดรเจน และไพริดิเนียมไฮโดรเจน

3. การศึกษาการจับกับไอออนของโลหะเหล็ก และไอออนโลหะอื่น ๆ ในสภาวะที่ใกล้เคียงกับในร่างกายของมนุษย์ เพื่อพัฒนาการนำไปใช้จริงในทางการแพทย์

โดยการทดลอง ควรควบคุมสภาวะการทดลองแต่ละชุดให้ใกล้เคียงกันมากที่สุด เพื่อให้ผลการศึกษาที่ถูกต้อง และสามารถนำไปใช้และอ้างอิงได้ เพื่อประโยชน์ในการศึกษาต่อไปในอนาคต

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
รายละเอียดเกี่ยวกับโปรแกรม TR-600

โปรแกรม TR-600 เป็นโปรแกรมที่ใช้ควบคุมเครื่องไทเทรตอัตโนมัติของ Schott ซึ่งใช้ในการควบคุมการปล่อยสารละลายของเครื่องไทเทรต รุ่น TR-200, การวัดศักย์ดาไฟฟ้าโดยอิเล็กโทรด รวมทั้งการเชื่อมต่อและส่งผ่านข้อมูลกับคอมพิวเตอร์ ซึ่งรายละเอียดการใช้โปรแกรม TR-600 สามารถศึกษาเพิ่มเติมจากคู่มือการใช้เครื่องไทเทรตอัตโนมัติของ Schott

สำหรับการไทเทรตด้วยเครื่องไทเทรตอัตโนมัตินี้ ได้มีการเขียนโปรแกรมย่อยเพื่อช่วยขึ้นมา เพื่อช่วยในการควบคุมการไทเทรตให้เป็นไปตามต้องการ โดยแต่ละโปรแกรมมีรายละเอียด ดังต่อไปนี้

โปรแกรม ECAL

ใช้ในการไทเทรตเพื่อนำข้อมูลไปคำนวณทำ electrode calibration ซึ่งมีรายละเอียดโปรแกรมดังนี้

```
Initialize
Parameters
Work Graphics
Dose 2.000 ml (01/A)
Get Value Slot: 01A Range: 400 Dim: pH
Get Value Slot: 01A Range: 400 Dim: mV
WHILE (pH <= 12.2000) and (ml <= 5.0000) {
     Titrate from Burette  (01/C)
     Get Value Slot: 01A Range: 400 Dim: pH
     Get Value Slot: 01A Range: 400 Dim: mV
} ENDWHILE
online Graphics pH vs ml
Documentation
End of Method
```

โปรแกรม ATOB

ใช้ในการไทเทรตเพื่อนำข้อมูลที่ได้ ไปคำนวณหาค่าคงที่สมดุล ซึ่งหลักการของโปรแกรมนี้จะทำการไทเทรตสารละลายที่อยู่ในสภาพกรดไปเป็นด่างที่ pH ประมาณ 12 ซึ่งมีรายละเอียดโปรแกรมดังนี้

```
Initialize
Parameters
Work Graphics
Get Value Slot: 01A Range: 400 Dim: pH
Get Value Slot: 01A Range: 400 Dim: mV
WHILE (pH <= 12.2000) and (ml <= 7.0000) {
     Titrate from Burette  (01/C)
     Get Value Slot: 01A Range: 400 Dim: pH
     Get Value Slot: 01A Range: 400 Dim: mV
} ENDWHILE
online Graphics pH vs ml
Documentation
End of Method
```

โปรแกรม BTOA

ใช้ในการไทเทรตเพื่อนำข้อมูลที่ได้ ไปคำนวณหาค่าคงที่สมดุล ซึ่งหลักการของโปรแกรมนี้จะทำการไทเทรตสารละลายที่อยู่ในสภาพด่างไปเป็นกรดที่ pH ประมาณ 1.8 ซึ่งมีรายละเอียดโปรแกรมดังนี้

```
Initialize
Parameters
Work Graphics
Get Value Slot: 01A Range: 400 Dim: pH
Get Value Slot: 01A Range: 400 Dim: mV
```

```
WHILE (pH => 1.8000) and (ml <= 7.0000) {
     Titrate from Burette  (01/A)
     Get Value Slot: 01A Range: 400 Dim: pH
     Get Value Slot: 01A Range: 400 Dim: mV
} ENDWHILE
online Graphics pH vs ml
Documentation
End of Method
```

และนอกจาก 3 โปรแกรมสำคัญที่กล่าวมาแล้ว ยังได้เขียมโปรแกรมเสริมที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการเลือกเติมสารละลายกรดไนตริก และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ลงในสารละลายที่ต้องการไทเทรตอีกด้วย ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

โปรแกรม ADDA

ใช้ในการเติมสารละลายกรดไนตริก ปริมาตร 2.000 มิลลิลิตร

```
Initialize
Dose 2.000 ml (01/A)
End of Method
```

โปรแกรม ADDB

ใช้ในการเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ปริมาตร 2.000 มิลลิลิตร

```
Initialize
Dose 2.000 ml (01/C)
End of Method
```

และในทุกโปรแกรมจะตั้งค่าพารามิเตอร์ที่ใช้ในการไทเทรตเท่ากัน ซึ่งมีค่าดังต่อไปนี้

Titration Parameters:

Points for final value:	1
Points for delay :	1
Sum of differences :	1.000
Slope of value :	0.500
Difference of averages:	0.100
Linear step value :	0.001
Smallest step :	0.001
Largest step :	0.100
Dynamic curve shape :	0.200
Dynamic curve ship :	0.850
Dynamic titration :	on
Electrode Efficiency :	0.980
Electrode offset [pH] :	0.030
Temperature :	37.000

ภาคผนวก ข

Data Input สำหรับโปรแกรม SUPERQUAD และโปรแกรม ELE

รูปแบบมาตรฐานสำหรับการใส่ข้อมูล

Running Key = RK

Reactant Index = RI

Total Amount of Reactant (mmol) = TMMOL

Reactant Concentration (M) = CONC.

Error in Reading Volume of Burette = ERR.

Error in Millivolt = Emv.

Slope Factor = Sl

COLUMN

MENU

1 [Name 80 col.]

2 [No. of Loops] [Print Mode] [No. of Reactants] [Det Reactant]

3 [Name of Reactants]

...

4 [Working Temp.] [Initial Voltage] [Final Voltage]

5 [log K] [No. of Each Reactant] [No. of Ligand] [RK]

...

6 Blank Line

7 [Control No.] [RI] [TMMOL] [CONC.] [RK of TMMOL] [RK of CONC.]

...

8 Blank Line

9 [Control No.] [Initial Volume(ml)] [ERR.]

10 [Control No.] [Control No.] [RI] [E°] [Emv] [RK of E°] [Sl Factor]

11 Blank Line

12 [RK of Point] [Titrant Volume] [Reading Voltage(mv)] [Point No.]

...

13 Blank Line

14 Options

โดยรูปแบบของการใส่ข้อมูล เพื่อนำไปคำนวณโดยใช้โปรแกรม SUPERQUAD และ ELE ในบางรายการอาจมีข้อมูลมากกว่า 1 ได้ เช่น

รายการที่ 3 : สามารถมีข้อมูลได้มากที่สุด 4 บรรทัด แต่ละบรรทัดจะแทนสารตั้งต้นแต่ละตัว

รายการที่ 5 : สามารถมีข้อมูลได้มากที่สุด 18 บรรทัด แต่ละบรรทัดจะแทนค่าคงตัวเสถียรภาพของสารประกอบเชิงซ้อนแต่ละตัวที่กำหนดไว้

รายการที่ 7 : สามารถมีจำนวนข้อมูลได้เท่ากับจำนวนของสารตั้งต้น ข้อมูลแต่ละตัวแสดงรายละเอียดของสารตั้งต้นแต่ละชนิดในการไทเทรต

รายการที่ 12 : สามารถมีข้อมูลได้มากที่สุด 401 บรรทัด แต่ละบรรทัดจะแทนค่าของข้อมูลการไทเทรตแต่ละจุด

รายละเอียดของการจัดรูปแบบข้อมูลในแต่ละรายการมีดังนี้

รายการ	คอลัมน์	รูปแบบการจองเนื้อที่	ความหมาย
1	1-80	String[80]	Filename (ชื่อชุดข้อมูล)
2	1-5	INT	No. of Loops (จำนวนรอบสูงสุดในการทำงาน)
	6-10	INT	Print Mode (ตัวเลขควบคุมการพิมพ์) ได้แก่ 1 คือ พิมพ์เฉพาะผลการทดลอง 2 คือ พล็อตค่า Residuals 3 คือ พล็อตค่าความเข้มข้น 5 คือ พิมพ์เคอร์ฟการไทเทรต 6 คือ พิมพ์ตารางค่า Residualsในหน่วย emf 7 คือ พิมพ์ตารางค่าหน่วยความเข้มข้นในหน่วยโมลต่อลิตร 8 คือ พิมพ์ข้อมูลพิเศษของค่า chi-square 9 คือ พิมพ์ตารางของความเข้มข้นรวมและความเข้มข้นอิสระ ถ้ากำหนด IPRIN เป็น 9 เครื่องจะทำงานให้ตั้งแต่ที่ 1-9
	11-15	INT	No. of Reactants (จำนวนสารตั้งต้นทั้งหมดในระบบ)

รายการ	คอลัมน์	รูปแบบการจองเนื้อที่	ความหมาย
(ต่อ)			
	16-20	INT	Det Reactant (การเลือกความสำคัญของข้อมูล) 0 คือ ความสำคัญขึ้นอยู่กับข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 1 คือ ข้อมูลทุกตัวสำคัญเท่ากันหมด
3	1-12	String[12]	No. of Reactants (ชื่อของสารตั้งต้นแต่ละตัว)
4	1-10	Float-10.6	Working Temp. (อุณหภูมิที่ทำการทดลอง°C)
	11-15	Float-10.6	Upper Voltage Range
	16-20	FLoat-10.6	Lower Voltage Range
5	1-10	Float-10.6	ค่าลอการิทึมฐาน 10 ของค่าคงตัวเสถียรภาพ
	11-15	INT	Coefficient-ตัวเลขที่แสดงถึงสัมประสิทธิ์ปริมาณ
	16-20	INT	สัมพันธ์ของแต่ละสปีชีส์ที่เกิดขึ้น
	21-25	INT	
	26-30	INT	Running Key (RK) โดยที่ -1 คือ ไม่ต้องสนใจค่า log K นั้นในการคำนวณครั้งแรก 0 คือ ให้ค่า log K นั้นคงที่ตลอด 1 คือ ให้คำนวณค่า log K นั้นใหม่
6			เว้น 1 บรรทัด เพื่อแสดงจุดสิ้นสุดของข้อมูลเกี่ยวกับค่าคงที่การรวมตัว
7	3	INT	Control No. ตัวเลขควบคุมการพิมพ์สำหรับการพล็อตการกระจายของแต่ละสปีชีส์ 0 คือ ไม่ต้องพล็อต 1 คือ พล็อตค่าอัตราส่วนระหว่างความเข้มข้นของสปีชีส์นี้กับความเข้มข้นรวมสำหรับความเข้มข้นอิสระจะปรากฏในรูปดอกจัน (*)
	5	INT	Reactant Index(RI) ดัชนีของสารตั้งต้นจากข้อมูลที่ให้ไว้ในรายการที่ 3 เช่น 1. สำหรับสารตั้งต้นตัวแรก

รายการ	คอลัมน์	รูปแบบการจองเนื้อที่	ความหมาย
(ต่อ)			
			2. สำหรับสารตั้งต้นตัวที่สอง
			ฯลฯ
	6-15	Float-10.6	TMMOL ปริมาณรวมเป็นมิลลิโมลของสารตั้งต้นแต่ละตัวในขวดก้นกลมตอนเริ่มต้นกระบวนการไทเทรตสำหรับโปรแกรม SUPERQUAD หรือความเข้มข้นของสารตั้งต้นในขวดก้นกลมตอนเริ่มต้นกระบวนการไทเทรตสำหรับโปรแกรม ELE
	16-25	Float-10.6	CONC. ความเข้มข้นของสารตั้งต้นที่อยู่ในบิวเรต (โมลต่อลิตร)
	26-30	INT	Running Key of TMMOL
	31-35	INT	Running Key of CONC.
8			เว้น 1 บรรทัดเพื่อแสดงจุดสิ้นสุดของข้อมูลเกี่ยวกับสารตั้งต้น
9	1-5	INT	Control No.
	6-15	Float-10.6	Initial Volume ปริมาตรของสารในขวดก้นกลมตอนเริ่มต้นการไทเทรตในแต่ละครั้ง
	16-25	Float-10.6	Error in Reading Volume of Burette ค่าผิดพลาดในการอ่านปริมาตรสารในบิวเร็ต
10	1	INT	Control No. ชนิดของอิเล็กโทรด 0 คือ อ่านค่าเป็นมิลลิโวลต์ 1 คือ อ่านค่าเป็นพีเอช
	3	INT	Control No. จำนวนของอิเล็กตรอนที่ถูกถ่ายเทในระบบซึ่งขึ้นอยู่กับอิเล็กโทรดที่ใช้ 0 คือ มีการถ่ายเทอิเล็กตรอนจำนวน 1 อิเล็กตรอน
	5	INT	Reactant Index ดัชนีของสารตั้งต้นที่มีผลต่ออิเล็กโทรด ในที่นี้คือโปรตอน
	6-15	Float-10.6	E° ค่าศักย์ไฟฟ้ามาตรฐานของอิเล็กโทรดที่ใช้ (มิลลิโวลต์)

รายการ	คอลัมน์	รูปแบบการจองเนื้อที่	ความหมาย
(ต่อ)			
	16-25	Float-10.6	Error in Millivolt ค่าผิดพลาดในการอ่านค่ามิลลิโวลต์
	26-30	INT	Running Key ในการควบคุมค่า E°
	31-40	Float-10.6	Slope Factor ค่าที่จะต้องนำไปคูณกับความชัน Nernstain เพื่อหาความชันของการทดลอง
11			เว้น 1 บรรทัดเพื่อแสดงจุดสิ้นสุดของข้อมูลเกี่ยวกับอิเล็กโทรด
12	1	INT	Running Key of Point ตัวเลขควบคุมการนำข้อมูลไปคำนวณ 0 คือ ให้นำค่าของข้อมูลที่จุดนั้นไปคำนวณ 1 (หรือเลขจำนวนเต็มบวก) คือ ไม่นำจุดนั้นไปคำนวณ
	1-10	Float-10.4	Titrant Volume ปริมาตรของไทแทรนต์ที่ใช้ในการไทเทรตแต่ละจุด (มิลลิลิตร)
	11-20	Flaot-10.4	Reading Voltage ค่ามิลลิโวลต์หรือพีเอชที่อ่านจากอิเล็กโทรดในการไทเทรตแต่ละจุด
13			เว้น 1 บรรทัดเพื่อแสดงจุดสิ้นสุดของข้อมูลสำหรับการไทเทรตแต่ละครั้ง
14			ข้อมูลการไทเทรตครั้งต่อไป (ทำซ้ำตั้งแต่รายการที่ 7-13) หรือเว้นบรรทัดเพื่อแสดงจุดสิ้นสุดการใส่ข้อมูลในการคำนวณโดยใช้โปรแกรม SUPER QUAD

โดยรูปแบบการจองเนื้อที่ของข้อมูล มีความหมายดังนี้

String[n] หมายถึง การจองเนื้อที่สำหรับข้อมูลแบบตัวอักษร จำนวน n อักขระ
INT หมายถึง การจองเนื้อที่สำหรับข้อมูลแบบเลขจำนวนเต็ม
FLOAT-m.n หมายถึง การจองเนื้อที่สำหรับข้อมูลแบบเลขจำนวนจริง โดยมีจำนวนหลักทั้งหมด m หลัก และเป็นจุดทศนิยม n หลัก

ภาคผนวก ค
ตัวอย่าง INPUT ของโปรแกรม ELE

```
e25a9401     ecal____.001
   99     2     1     3
proton
  37.00   400.00   100.00        .002
 -13.25        -1,    0

  1 1     .50000    -.53320     1     0

    0   27.00000    2.00000
0 0 0 420.00000     .10000     1     .000

 0       .0000   331.1060                          1
 0       .0010   331.4191                          2
 0       .1010   330.0559                          3
 0       .2010   328.3981                          4
 0       .3010   326.5376                          5
 0       .4010   324.7507                          6
 0       .5010   322.6876                          7
 0       .6010   320.4402                          8
 0       .7010   319.6666                          9
 0       .8010   317.1061                         10
 0       .9010   314.3245                         11
 0      1.0010   311.5614                         12
 0      1.1010   307.9878                         13
 0      1.2010   304.7457                         14
 0      1.3010   300.3431                         15
 0      1.3631   297.3405                         16
 0      1.4200   294.0984                         17
 0      1.5200   287.5774                         18
 0      1.6200   276.9302                         19
 0      1.7200   265.9698                         20
```

0	1.8087 245.0252	21
0	1.8704 191.2363	22
0	1.8884 -15.3722	23
0	1.8908 -43.3719	24
0	1.9484 -200.8520	25
0	1.9555 -204.0019	26
0	1.9698 -213.8939	27
0	1.9953 -223.3070	28
0	2.0355 -233.1438	29
0	2.0902 -242.2252	30
0	2.1902 -253.6093	31
0	2.2902 -261.8435	32
0	2.3902 -267.2408	33
0	2.4902 -271.6618	34
0	2.5902 -276.2118	35
0	2.6902 -279.6749	36
0	2.7902 -282.8985	37
0	2.8902 -285.5511	38
0	2.9902 -287.9090	39
0	3.0902 -290.8195	40
0	3.1902 -292.3300	41
0	3.2902 -294.7616	42
0	3.3902 -295.9405	43
0	3.4902 -297.7089	44
0	3.5902 -298.9063	45
0	3.6902 -301.0799	46

ภาคผนวก ง
ตัวอย่าง OUTPUT ของโปรแกรม ELE

```
ELECTRODE FITTING PROGRAME

V. 2.0, WINTER 1994
DEPT. OF INDUSTRIAL CHEMISTRY
WRITTEN BY DR. P. DOUNGDEE
KMIT LADKRABANG, BANGKOK 10520



CONVERGENCE SATISFY AFTER   2 LOOPS
PARAMETERS CHANGE NOT MORE THAN   .10 %


FINAL VALUES OF THE PARAMETERS :

CHI-SQR =      .74851

PARAMETERS AND STANDARD DEV

PARAMETERS     420.34       1.0028
DEVIATION      .19371       .18302E-03
% DEVIATION    .46085E-01   .18250E-01
DEPENDENCIES    .13647       .13647

CORRELATION COEFFICIENTS :

        A 1  1.0000
        A 2 -.30544       1.0000

DEGREES OF FREEDOM =  20
FINAL LAMBDA =  .20000E-06
```

POINTS	EXP. MV	CAL. MV	RESIDUAL	PH
1	331.11	332.33	-1.2267	1.4501
2	331.42	332.32	-.89844	1.4450
3	330.06	330.76	-.70191	1.4671
4	328.40	329.11	-.71584	1.4941
5	326.54	327.38	-.83794	1.5243
6	324.75	325.53	-.77950	1.5534
7	322.69	323.56	-.87529	1.5869
8	320.44	321.46	-1.0150	1.6234
9	319.67	319.18	.48245	1.6360
10	317.11	316.72	.38534	1.6776
11	314.32	314.03	.29700	1.7228
12	311.56	311.05	.50667	1.7677
13	307.99	307.73	.25305	1.8258
14	304.75	303.97	.77378	1.8784
15	300.34	299.62	.71839	1.9500
16	297.34	296.54	.80218	1.9988
17	294.10	293.37	.72551	2.0515
18	287.58	286.74	.83699	2.1574
19	276.93	277.97	-1.0415	2.3305
20	265.97	264.95	1.0177	2.5086
21	245.03	243.43	1.5993	2.8489
22	191.24	191.54	-.30590	3.7230

THE LAST RESULT OF CALCULATION

CONCENTRATION OF ACID = .50141 SETRUN = 1

CONCENTRATION OF BASE = -.53320 SETRUN = 0

FINAL VALUE OF EZER = 420.33871 SETRUN = 1

FINAL VALUE OF SLOP = 61.53664 SETRUN = 0

OR CORRECTED FACTER = 1.00000

FINAL VALUE OF WCON = -13.25000 SETRUN = 0

INITIAL VOLUME = 27.00000

WORKING TEMPERATURE = 37.00000

TOTAL NO. OF PARAMETERS WERE FITED = 2

ภาคผนวก จ

ตัวอย่าง INPUT ของโปรแกรม SUPERQUAD

```
h25a9401     atob____.001
   99     1     2     3
PIH
proton
  37.00   400.00 -400.00    .99000
   3.32         1     1     1
  -7.41         1    -1     1
 -13.25         0    -1     1

  1 1     .06184     .00000     0     0
  1 2    1.00282    -.53320     1     0

    0   27.00000     .00200
0 0 2 420.33870    5.00000     3    1.000

 0      .0000   331.4744                              1
 0      .0010   331.2717                              2
 0      .0629   330.3507                              3
 0      .1629   329.0797                              4
 0      .2629   327.3481                              5
 0      .3629   325.3955                              6
 0      .4629   323.4981                              7
 0      .5629   321.2876                              8
 0      .6629   318.8929                              9
 0      .7629   316.4982                             10
 0      .8629   312.9061                             11
 0      .9629   310.6035                             12
 0     1.0629   307.8772                             13
 0     1.1629   302.0931                             14
 0     1.2629   298.2984                             15
 0     1.3629   292.1458                             16
```

0	1.4629	286.1406	17
0	1.5629	277.2986	18
0	1.6629	263.0040	19
0	1.7615	239.2779	20
0	1.8246	205.7519	21
0	1.8542	177.6785	22
0	1.8797	137.3000	23
0	1.9412	-12.9775	24
0	1.9483	-33.2957	25
0	1.9564	-50.2429	26
0	1.9741	-100.0898	27
0	1.9927	-137.6868	28
0	1.9979	-146.8235	29
0	2.0140	-170.4023	30
0	2.0254	-182.1548	31
0	2.0425	-190.1494	32
0	2.1271	-221.8333	33
0	2.1788	-231.9464	34
0	2.2184	-240.1253	35
0	2.3024	-249.5383	36
0	2.4024	-258.4724	37
0	2.5024	-264.6066	38
0	2.6024	-267.9592	39
0	2.7024	-273.7433	40
0	2.8024	-277.6854	41
0	2.9024	-281.2222	42
0	3.0024	-284.6117	43
0	3.1024	-287.1169	44
0	3.2024	-289.0880	45
0	3.3024	-291.2432	46
0	3.4024	-293.5458	47
0	3.5024	-294.7800	48
0	3.6024	-297.0826	49
0	3.7024	-298.6115	50

```
 0     3.8024 -300.6378                                  51

  1 1    .06184    .00000    0    0
  1 2  -1.02462    .50141    1    0

     0  30.80240    .00200
 0 0 2 420.33870   5.00000    3   1.000

 0      .0000 -300.3799                                   1
 0      .0010 -300.2326                                   2
 0      .0503 -299.4957                                   3
 0      .1503 -298.1694                                   4
 0      .2503 -296.8247                                   5
 0      .3503 -295.1852                                   6
 0      .4503 -293.2326                                   7
 0      .5503 -291.2432                                   8
 0      .6503 -289.1801                                   9
 0      .7503 -287.0248                                  10
 0      .8503 -284.6853                                  11
 0      .9503 -282.4012                                  12
 0     1.0503 -277.0223                                  13
 0     1.1503 -274.6091                                  14
 0     1.2503 -270.0223                                  15
 0     1.3503 -265.8592                                  16
 0     1.4503 -260.2961                                  17
 0     1.5503 -253.8120                                  18
 0     1.6503 -245.1173                                  19
 0     1.7503 -235.9621                                  20
 0     1.8503 -209.6756                                  21
 0     1.9012 -185.9863                                  22
 0     1.9374 -160.9524                                  23
 0     1.9658 -159.9392                                  24
 0     2.0643   60.7428                                  25
 0     2.0738   84.7636                                  26
```

0	2.0909	125.0132	27
0	2.0974	141.0394	28
0	2.1065	154.3945	29
0	2.1347	182.3943	30
0	2.1483	195.3073	31
0	2.2483	241.2121	32
0	2.2770	247.4015	33
0	2.3770	264.0908	34
0	2.4481	271.7170	35
0	2.5481	280.7617	36
0	2.6481	287.5774	37
0	2.7481	292.5695	38
0	2.8481	296.9536	39
0	2.9481	300.9326	40
0	3.0481	304.7457	41
0	3.1481	307.6562	42
0	3.2481	310.1614	43
0	3.3481	312.5009	44

ภาคผนวก ฉ

ตัวอย่าง OUTPUT ของโปรแกรม SUPERQUAD

```
                SUPERQUAD 1984A
h25a9401   atob___.001

 MAXIT IPRIN MODE  TOL    ACCM     RELAC
  99    1    3  .10E-03 .10E-74 .298023E-07

 REACTANT 1- PIH
 REACTANT 2- proton

THE TEMPERATURE OF SOLUTION(S) IS 37.00 DEGREES CENTIGRADE

THE TITRATIONS ARE IN RANGE 400.0 TO -400.0 ( IN MV )

THE SD-LIMITS =     .99

    FORMATION   LOG  REFINEMENT  STOICHIOMETRIC
    CONSTANTS   BETAS   KEYS     COEFFICIENTS

 A  2.0893E 3  3.3200    1       1  1
 B   .3890E -7  -7.4100   1       1 -1
 C   .5623E-13 -13.2500   1       0 -1

3 FORMATION CONSTANTS TO BE REFINED
SLOPE =   61.53891
SLOPE =   61.53891

4 SPECIAL PARAMETERS TO BE REFINED

                CURVE  VALUE
 TOT MMOLES  proton     1  1.0028E+00
 EZERO       proton     1  4.2034E+02
 TOT MMOLES  proton     2 -1.0246E+00
 EZERO       proton     2  4.2034E+02

1 CONSTRAINTS
 THE RELATIVE SHIFTS OF THE FOLLOWING PARAMETERS ARE CONSTRAINED TO BE EQUAL
 EZERO    proton    CURVE 2 = EZERO    proton    CURVE 1
h25a9401   atob___.001
 8 ITERATIONS
REFINEMENT TERMINATED SUCCESSFULLY
 CHI-SQUARED =161.42
 CHI SQUARED SHOULD BE LESS THAN 12.60 AT THE 95 PERCENT CONFIDENCE LEVEL
```

SIGMA = 2.3927

	VALUE	REL STD DEV	LOG BETA	STD DEVIATION		
BETA A REFINED	1.83715E 3	.3231	3.26415	.16950	1	1
BETA B REFINED	6.50462E −8	.2179	−7.18678	.10673	1	−1
BETA C REFINED	6.45059E−14	.1067	−13.19040	.04899	0	−1

			INITIAL VALUE	FINAL VALUE	STD DEV
TOT MMOLES	proton	1	1.00282	1.00275	.00065
EZERO	proton	1	420.33870	421.82139	2.20302
TOT MMOLES	proton	2	−1.02462	−1.04714	−.00080
EZERO	proton	2	420.33870	421.82139	2.20302

CORRELATION MATRIX – PARAMETERS ORDERED AS ABOVE

	1	2	3	4	5
2	−.39				
3	−.40	.34			
4	.36	−.45	−.11		
5	.46	−.40	−.78	.04	
6	−.50	.39	.11	−.32	−.05

REFINEMENT CONTINUES WITH WEIGHTS OBTAINED FROM THE CALCULATED TITRATION CURVES

h25a9401 atob___.001
8 ITERATIONS
REFINEMENT TERMINATED SUCCESSFULLY
CHI−SQUARED =127.74
CHI SQUARED SHOULD BE LESS THAN 12.60 AT THE 95 PERCENT CONFIDENCE LEVEL
SIGMA = 1.4714

	VALUE	REL STD DEV	LOG BETA	STD DEVIATION		
BETA A REFINED	4.17508E 3	.1907	3.62067	.09191	1	1
BETA B REFINED	3.51114E −8	.1776	−7.45455	.08492	1	−1
BETA C REFINED	6.27861E−14	.0652	−13.20214	.02928	0	−1

			INITIAL VALUE	FINAL VALUE	STD DEV
TOT MMOLES	proton	1	1.00275	1.00468	.00132
EZERO	proton	1	421.82139	421.96762	1.32863
TOT MMOLES	proton	2	−1.04714	−1.03922	−.00060
EZERO	proton	2	421.82139	421.96762	1.32863

CORRELATION MATRIX – PARAMETERS ORDERED AS ABOVE

	1	2	3	4	5
2	−.36				
3	−.35	.28			
4	.34	−.59	−.11		
5	.38	−.26	−.76	−.04	
6	−.43	.41	.09	−.34	.00

Stop – Program terminated.

บรรณานุกรม

1. จุฑาทิพย์ ตั้งพูลเจริญ และ นรพล สุขโข, "การศึกษาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนชนิดไบนิวเคลียร์ของโลหะทรานสิชั่น" วิทยานิพนธ์ระดับปริญญาตรี, ภาควิชาเคมี, คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, ปีการศึกษา 2534.
2. ชุติมา เลิศชวนะกุล, "เคมีวิเคราะห์ 1", พิมพ์ครั้งที่ 3 หน้า 16 สำนักพิมพ์ฝ่ายตำราและอุปกรณ์การศึกษามหาวิทยาลัยรามคำแหง, พ.ศ.2526.
3. ชวัชชัย ศรีวิบูลย์, "เคมีวิเคราะห์ 2", หน้า 21-59 สำนักพิมพ์ฝ่ายตำราและอุปกรณ์การศึกษามหาวิทยาลัยรามแหง, พ.ศ.2529.
4. D. E. Metzler and E. E. Snell, "Spectra and Ionization Constants of the Vitamin B_6 group and Related 3-Hydroxypyridine Derivatives", J. Am. Chem. Soc., 1955, 77, 2431.
5. K. Nakamoto and A. E. Martell, "Pyridoxine and Pyridoxal Analogs. III. Ultraviolet Absorption Studys and Solution Equilibria of 2- and 4-Hydroxymethyl-3-Hydroxypyridines and Pyridine-2, 3- and 4-Aldehydes", J. Am. Chem. Soc., 1959, 81, 5857.
6. K. Nakamoto and A. E. Martell, "Pyridoxine and Pyridoxal Analogs. IV. Ultraviolet Spectra and Solution Equilibria of 3-Methoxy pyridine-2 (and 4-)-aldehydes and of 3-Hydroxypyridine-2 (and 4-)-aldehydes, J. Am. Chem. Soc., 1959, 81, 5863.
7. E. M. Woolley, D. G. Hurkot, and L. H. Hepler, "Ionization Constants for Water in Aqueous Organic Mixtures", J. Phys. Chem., 1970, 74, 3908.

8. L. G. Van Uitert and C. E. Haas, "Studies on Coordinations compounds. I. A Method for Determining Thermodynamic Equilibrium Constants in Mixed Solvents", J. Am. Chem. Soc., 1953, 75, 451.

9. Manuel Cortijo, Juan LIor, and Jose M. sanchez-Ruiz, "Thermodynamic Constants for Tautomerism, Hydration, and Ionization of Vitamin B_6 Compounds in Water/Dioxane", J. Biochem., 1988, 263, 17960-17969.

10. Jose Manuel Sanchez-Ruiz, Juan Llor, and Manuel Cortijo, "Thermodynamic Constants for Tautomerism and Ionization of Pyridoxine and 3-Hydroxypyridine in Water-Dioxane", J. Chem. Soc. Perkin Trans. II., 1984, 2047-2051.