



วารสาร ไทยโกชัยนิพนธ์

ปีที่ 4 ฉบับที่ 3 เดือนกันยายน 2552 (หน้า 1-20)

บทความพิเศษวิชาการ สำหรับการศึกษาต่อเนื่องทางเภสัชศาสตร์ (on-line)



สเปกโทรโฟโตเมตรีเชิงอนุพันธ์ในงานเภสัชวิเคราะห์

Derivative spectrophotometry in pharmaceutical analysis

รองศาสตราจารย์ ลาวัลย์ ศรีพงษ์

ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

รหัส 1-000-SPU-000-0909-01

จำนวน 3.33 หน่วยกิตการศึกษาต่อเนื่อง

วันที่รับรอง: 18 กันยายน พ.ศ. 2552

วันที่หมดอายุ: 18 กันยายน พ.ศ. 2554

วัตถุประสงค์เชิงพฤติกรรม เพื่อให้สามารถ

1. เข้าใจหลักการ ข้อดี ข้อเสีย ของวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีเชิงอนุพันธ์
2. เข้าใจการวิเคราะห์ด้วยวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีเชิงอนุพันธ์ประเภทต่าง ๆ
3. เข้าใจเกี่ยวกับการประยุกต์ใช้วิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีเชิงอนุพันธ์ในงานเภสัชวิเคราะห์

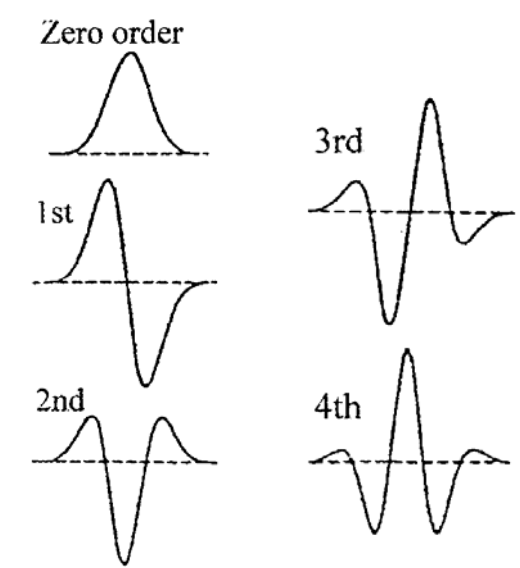
บทคัดย่อ

สเปกโทรโฟโตเมตรีเชิงอนุพันธ์ถูกนำเสนอครั้งแรกในปี 1953 ต่อมาเมื่อเทคโนโลยีไมโครคอมพิวเตอร์มีการพัฒนามากขึ้น ทำให้การคำนวณและแสดงสเปกตรัมเชิงอนุพันธ์อันดับหนึ่ง อันดับสอง และอันดับสูงขึ้นไปสามารถทำได้ง่ายสะดวกรวดเร็ว จึงมีการนำวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีเชิงอนุพันธ์มาประยุกต์ใช้ในงานวิเคราะห์ด้านต่าง ๆ อย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะในงานด้านเภสัชวิเคราะห์ สามารถใช้ได้กับการวิเคราะห์ตำรับยา การทดสอบการละลายของยาเม็ด การวิเคราะห์สารปนเปื้อน รวมทั้งการวิเคราะห์ในการศึกษาความคงสภาพยา บทความนี้นำเสนอหลักการของวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีเชิงอนุพันธ์ ข้อดี ข้อเสียของวิธี การวิเคราะห์ด้วยสเปกโทรโฟโตเมตรีเชิงอนุพันธ์ และการประยุกต์ใช้วิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีเชิงอนุพันธ์ในงานเภสัชวิเคราะห์ประเภทต่าง ๆ

คำสำคัญ: สเปกโทรโฟโตเมตรี สเปกโทรโฟโตเมตรีเชิงอนุพันธ์ งานเภสัชวิเคราะห์

1. หลักการ

สเปกโทรโฟโตเมตรีเชิงอนุพันธ์ (derivative spectrophotometry) เป็นวิธีที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนสเปกตรัมการดูดกลืนแสง (absorption spectra) หรือสเปกตรัมอันดับศูนย์ (zero-order) ไปเป็นสเปกตรัมของอนุพันธ์อันดับหนึ่ง อันดับสอง หรืออันดับสูงกว่า สเปกตรัมของอนุพันธ์อันดับหนึ่ง (first order-derivative spectrum) เป็นการพล็อตความชันของเส้นกราฟการดูดกลืนแสง หรือ อัตราการเปลี่ยนค่าการดูดกลืนแสงต่อความยาวคลื่น ($dA/d\lambda$) เทียบกับความยาวคลื่น สเปกตรัมของอนุพันธ์อันดับสอง (second order-derivative spectrum) เป็นการพล็อตความโค้งของเส้นกราฟการดูดกลืนแสง ($d^2A/d\lambda^2$) เทียบกับความยาวคลื่น¹



รูปที่ 1 สเปกตรัมอันดับศูนย์ (Zero order) สเปกตรัมอนุพันธ์อันดับหนึ่ง (1st) สเปกตรัมอนุพันธ์อันดับสอง (2nd) สเปกตรัมอนุพันธ์อันดับสาม (3rd) และสเปกตรัมอนุพันธ์อันดับสี่ (4th) [ที่มา เอกสารอ้างอิงหมายเลข 2]

สเปกตรัมอนุพันธ์เป็นการพล็อตความชันของสเปกตรัมพื้นฐานกับความยาวคลื่น ซึ่งความยาวคลื่นที่ความชันสูงสุดและความชันต่ำสุดของสเปกตรัมปกติ จะเป็นค่าแอมพลิจูดสูงสุด (maximum amplitude) และค่าแอมพลิจูดต่ำสุด (minimum amplitude) ของสเปกตรัมอนุพันธ์อันดับต่อมา λ_{max} และ λ_{min} ในสเปกตรัมอันดับศูนย์เป็นความยาวคลื่นที่มีความชันเท่ากับศูนย์ ($dA/d\lambda = 0$) เรียกจุดบนสเปกตรัมอนุพันธ์อันดับหนึ่งนี้ว่า “จุดข้ามตัด” (cross-over point) หรือ “จุดข้ามศูนย์” (zero-crossing point) ส่วนแอมพลิจูดสูงสุดและต่ำสุดของสเปกตรัมอนุพันธ์ก็จะกลายเป็นจุดข้ามศูนย์ของ สเปกตรัมอนุพันธ์อันดับต่อมาเช่นเดียวกัน ลักษณะของสเปกตรัมอันดับศูนย์ สเปกตรัมอนุพันธ์อันดับหนึ่ง อันดับสอง อันดับสาม และอันดับสี่ แสดงในรูปที่ 1

การเปลี่ยนแปลงสเปกตรัมอันดับศูนย์ไปเป็นสเปกตรัมเชิงอนุพันธ์มีข้อดี คือ แแถบความกว้างของสเปกตรัมอนุพันธ์แคบกว่าแถบความกว้างของสเปกตรัมพื้นฐานเดิม จึงให้รายละเอียดของสเปกตรัมมากขึ้น สเปกตรัมอนุพันธ์สามารถแยกแถบการดูดกลืนที่ซ้อนทับกันได้ ดีกว่าสเปกตรัมพื้นฐาน และให้ความถูกต้องในการกำหนดค่า λ_{\max} ของแถบการดูดกลืนมากกว่า สเปกตรัมอนุพันธ์สามารถแยกสารที่มีแถบความกว้างของสเปกตรัมแคบ ออกจากสารที่มีแถบความกว้างของสเปกตรัมกว้างได้ จึงเพิ่มความสามารถในการแยกแถบการดูดกลืนของสารที่ซ้อนทับ ทำให้การวิเคราะห์สารตัวอย่างที่มีสิ่งรบกวนมีความจำเพาะเจาะจงมากขึ้น²⁻³ สเปกโทรโฟโตเมตรีเชิงอนุพันธ์มีประโยชน์มากในการวิเคราะห์ของผสมหลายองค์ประกอบ ที่มีสเปกตรัมการดูดกลืนแสงซ้อนทับกัน และมีการนำมาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ยาผสมจำนวนมาก⁴⁻⁸

2. ข้อดีและข้อเสียของวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีเชิงอนุพันธ์

2.1. ข้อดี

ความจำเพาะเจาะจง

วิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีเชิงอนุพันธ์เป็นเทคนิคที่เพิ่มความจำเพาะเจาะจงในการวิเคราะห์ของผสม โดยการเพิ่มการแยก (resolution) ของสเปกตรัม ทำให้การเพิ่มความสามารถในการตรวจพบรูปร่างของสเปกตรัมขนาดเล็ก และยังให้ข้อมูลทั้งเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพของสเปกตรัมที่ไม่สามารถแยกออกได้ วิธีนี้จึงนิยมใช้ในการวิเคราะห์ตำรับยาสูตรผสมการวิเคราะห์เพื่อทดสอบความคงตัวของยา รวมทั้งการวิเคราะห์สารปนเปื้อน เนื่องจากมีความจำเพาะเจาะจงสูงสามารถวิเคราะห์สารผสมพร้อมกันได้ สเปกตรัมในอันดับศูนย์ซึ่งมีตำแหน่งของ λ_{\max} หนึ่งความยาวคลื่น ดังรูปที่ 1 เมื่อเปลี่ยนเป็นสเปกตรัมอนุพันธ์จะมีแอมพลิจูดสูงสุด แอมพลิจูดต่ำสุด รวมทั้งจุดข้ามศูนย์หลายความยาวคลื่น ซึ่งรูปร่างของสเปกตรัมอนุพันธ์แบบนี้มีความจำเพาะเจาะจงหรือมีลักษณะเฉพาะมากขึ้น เมื่อเทียบกับสเปกตรัมในอันดับศูนย์ ดังตัวอย่างของสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของ terbinafine hydrochloride และ triamcinolone acetonide ในรูปที่ 2⁹

ความแม่นยำและความเที่ยง³⁻⁸

วิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีเชิงอนุพันธ์เป็นวิธีที่มีความแม่นยำและความเที่ยง เมื่อทำการเปรียบเทียบวิธีกับวิธีอ้างอิงให้ผลการวิเคราะห์ไม่แตกต่างจากวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

ความไวของการวิเคราะห์³⁻⁸

ความไวในการวิเคราะห์ด้วยวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีเชิงอนุพันธ์ จะอยู่ในช่วงของไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนใหญ่มีความไวใกล้เคียงกับวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง และมีความไวสูงกว่าวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีของสเปกตรัมอันดับศูนย์

ความสะดวกรวดเร็ว³⁻⁸

วิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีเชิงอนุพันธ์มีข้อได้เปรียบกว่าวิธีอื่น ๆ ในการเตรียมตัวอย่างที่ไม่ต้องแยกสารออกจากกัน จึงเตรียมได้ง่ายและสะดวก การวิเคราะห์ใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อย วิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็วเหมาะสำหรับการประยุกต์ใช้ในการควบคุมคุณภาพยา

2.2. ข้อเสีย

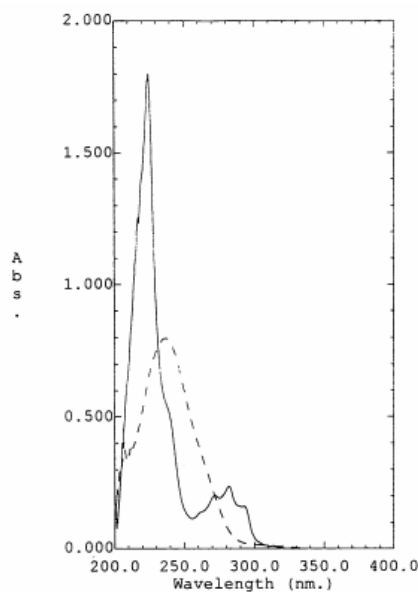
สัญญาณต่อสัญญาณรบกวน²

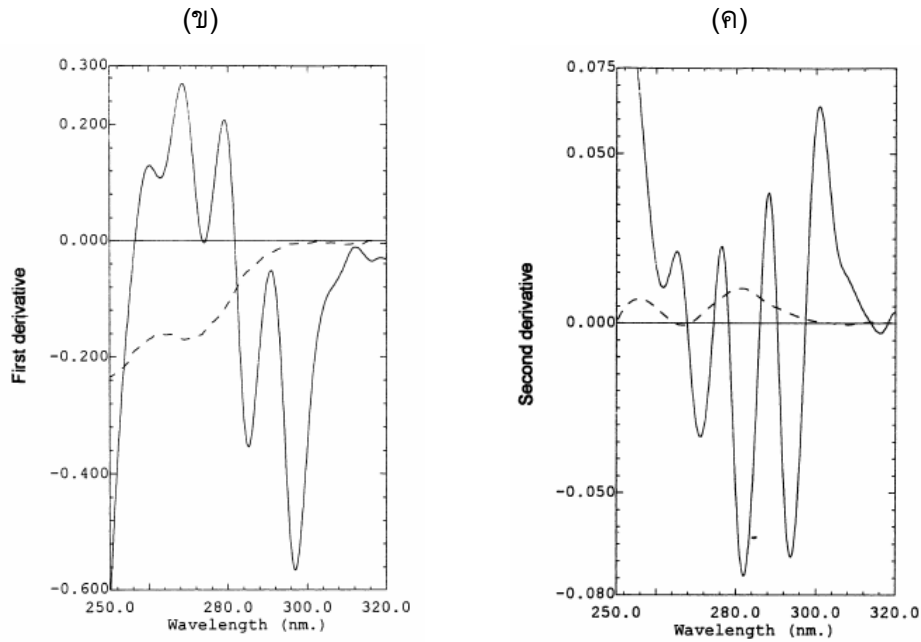
ข้อเสียหลักของวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีเชิงอนุพันธ์ คือ สัญญาณต่อสัญญาณรบกวนที่เพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มอันดับของอนุพันธ์

เครื่องมือ²

เครื่องมือสำหรับการวิเคราะห์ด้วยวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรี จะต้องมีการโปรแกรมในการทำสเปกตรัมอนุพันธ์ ซึ่งมีราคาสูงกว่าเครื่องมือสเปกโทรโฟโตเมตรีอย่างง่ายทั่วไป

(ก)





รูปที่ 2 สเปกตรัมของ (—) terbinafine hydrochloride (10 µg/ml) ในเมทานอล และ (- - -) triamcinolone acetonide (10 µg/ml) ในเมทานอล (ก) สเปกตรัมอันดับศูนย์ (ข) สเปกตรัมอันดับหนึ่ง (ค) สเปกตรัมอันดับสอง [ที่มา เอกสารอ้างอิงหมายเลข 9]

3. การวิเคราะห์ด้วยวิธีสเปกโทโฟโตเมตรีเชิงอนุพันธ์

3.1. การวิเคราะห์เชิงคุณภาพ²

การวิเคราะห์เชิงคุณภาพสามารถใช้สเปกตรัมอนุพันธ์ในการพิสูจน์เอกลักษณ์ หรือ ตรวจสอบสารได้ดีกว่าสเปกตรัมอันดับศูนย์ เนื่องจากสเปกตรัมมีการแยกสเปกตรัมที่ดี ดังรูปที่ 2⁹ ที่สเปกตรัมอนุพันธ์อันดับหนึ่งและสองมีรายละเอียดมากกว่าสเปกตรัมอันดับศูนย์ ทำให้การพิสูจน์เอกลักษณ์มีความน่าเชื่อถือมากขึ้นและสเปกตรัมของสารสามารถแยกความแตกต่างได้ชัดเจน

3.2. การวิเคราะห์เชิงปริมาณ

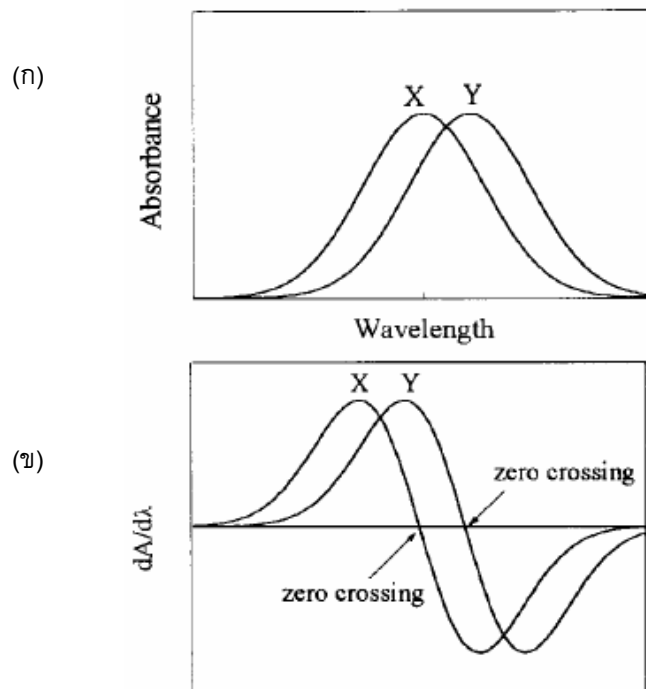
การวิเคราะห์เชิงปริมาณมีสองเทคนิคหลัก คือ วิธีจุดข้ามศูนย์ (zero-crossing methods) และ วิธีอนุพันธ์ของสเปกตรัมอัตราส่วน (ratio-spectra derivative methods)

วิธีจุดข้ามศูนย์

วิธีนี้เป็นการบันทึกสเปกตรัมอนุพันธ์ของสารละลายมาตรฐานแต่ละตัว แล้วทำการเลือกความยาวคลื่นในการวิเคราะห์ ซึ่งเป็นการเลือกที่จุดข้ามศูนย์ (zero-crossing) ของสารอีกตัว วัดค่าอนุพันธ์ของสารละลายมาตรฐานแต่ละตัวที่ความยาวคลื่นที่เลือก ดังรูปที่ 3 (ก) เป็นการวิเคราะห์สารละลาย X และ Y ซึ่งมีสเปกตรัมซ้อนทับกัน โดยบันทึกสเปกตรัมอนุพันธ์อันดับหนึ่งของสารละลาย X และ Y ดังรูปที่ 3 (ข) จึงวิเคราะห์โดยการวัดค่าอนุพันธ์อันดับหนึ่งของสารละลาย X ที่ความยาวคลื่นที่เป็นจุดข้ามศูนย์ของสารละลาย Y และ วัดค่าอนุพันธ์อันดับหนึ่ง

ของสารละลาย Y ที่ความยาวคลื่นที่เป็นจุดข้ามศูนย์ของสารละลาย X แล้วนำอนุพันธ์อันดับหนึ่งของสารละลายแต่ละตัวมาสร้างเส้นกราฟมาตรฐาน เมื่อเตรียมสารละลายตัวอย่างแล้ววัดค่าอนุพันธ์อันดับหนึ่งที่ความยาวคลื่นที่เลือก สามารถวิเคราะห์หาปริมาณของสารละลายตัวอย่างได้จากเส้นกราฟมาตรฐาน³

ตัวอย่างการวิเคราะห์ด้วยยา terbinafine hydrochloride และ triamcinolone acetonide พร้อมกันโดยวิธีสเปกตรัมอันดับศูนย์ พบว่าสเปกตรัมซ้อนทับกัน ดังรูปที่ 2 (ก) การวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคจุดข้ามศูนย์ของสเปกตรัมอนุพันธ์อันดับหนึ่ง สามารถวิเคราะห์ terbinafine hydrochloride และ triamcinolone acetonide ที่ความยาวคลื่น 297 and 274 นาโนเมตร ดังรูปที่ 2 (ข) ซึ่งเป็นจุดข้ามศูนย์ของ triamcinolone acetonide และ terbinafine hydrochloride ตามลำดับ ถึงแม้ว่าวิธีสเปกตรัมอนุพันธ์อันดับสอง สามารถแยกสเปกตรัมที่ซ้อนทับกันได้ของ terbinafine hydrochloride ที่ความยาวคลื่น 300 นาโนเมตร และของ triamcinolone acetonide ที่ความยาวคลื่น 278 นาโนเมตร ดังรูปที่ 2 (ค) ซึ่งพบว่าผลการวิเคราะห์ด้วยวิธีอนุพันธ์อันดับหนึ่งมีความถูกต้องมากกว่า⁹



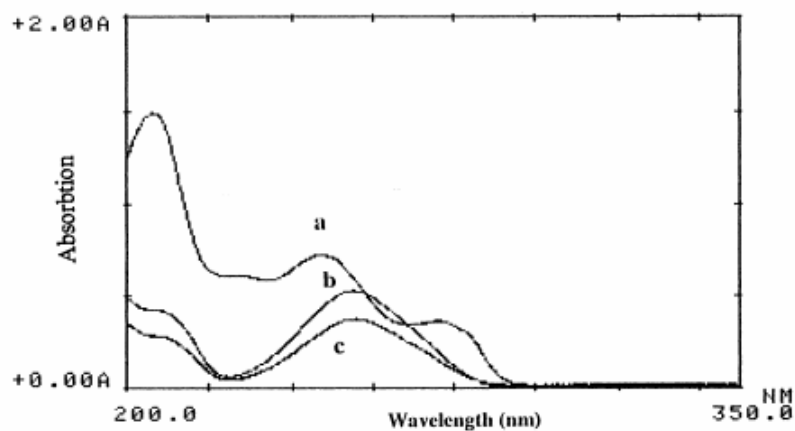
รูปที่ 3 (ก) สเปกตรัมอันดับศูนย์ของสาร X และ Y และ (ข) สเปกตรัมอนุพันธ์อันดับหนึ่งของสาร X และ Y [ที่มา เอกสารอ้างอิงหมายเลข 3]

อีกตัวอย่างเป็นการวิเคราะห์ด้วยยาสำคัญ droperidol โดยมี methylparaben และ propylparaben ที่เป็นสารกันบูดในยาน้ำ และยาฉีด สเปกตรัมอันดับศูนย์ของยาและสารทั้งสามตัวนี้ซ้อนทับกันมากทำให้วิเคราะห์โดยการวัดการดูดกลืนโดยตรงได้ยาก (รูปที่ 4 ก) สเปกตรัม

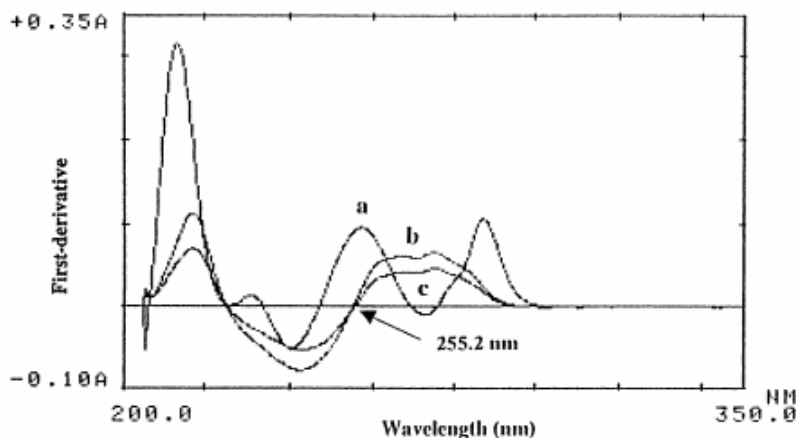
อนุพันธ์อันดับหนึ่งของ methylparaben มีจุดข้ามศูนย์ที่ความยาวคลื่น 217.8 225.2 และ 255.2 นาโนเมตร และของ propylparaben มีจุดข้ามศูนย์ที่ความยาวคลื่น 217.4 225 และ 255.2 นาโนเมตร

การเลือกความยาวคลื่นในการวิเคราะห์ จะเลือกความยาวคลื่นที่เป็นจุดข้ามศูนย์ของยาอีกตัวหนึ่ง ซึ่งสเปกตรัมอนุพันธ์อันดับหนึ่งของทั้ง methylparaben และ propylparaben มีจุดข้ามศูนย์อยู่ที่เดียวกันที่ 255.2 นาโนเมตร จึงวิเคราะห์ droperidol โดยการวัดแอมพลิจูดอันดับหนึ่งที่ความยาวคลื่น 255.2 นาโนเมตร โดยไม่มีผลรบกวนจาก methylparaben และ propylparaben¹⁰

(ก)



(ข)

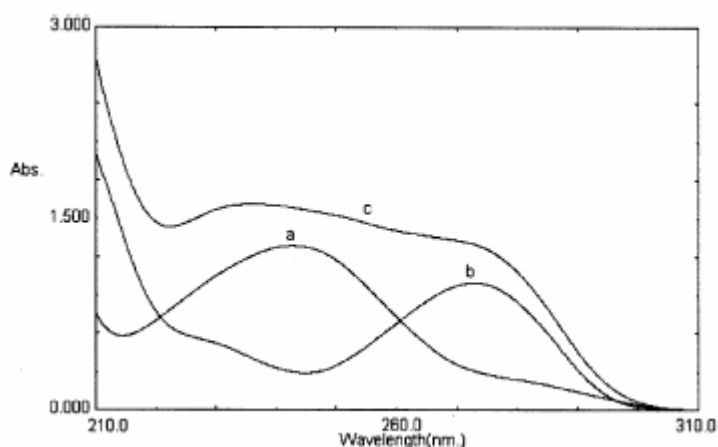


รูปที่ 4 (ก) สเปกตรัมอันดับศูนย์ และ (ข) สเปกตรัมอนุพันธ์อันดับหนึ่งของ (a) droperidol (20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) (b) methylparaben (5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และ (c) propylparaben (2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) โดยใช้สารละลายกรดแลคติก (1%) พีเอช 3.40 เป็นสารละลายอ้างอิง [ที่มา เอกสารอ้างอิงหมายเลข 10]

วิธีหาพื้นที่ของสเปกตรัมอัตราส่วน

วิธีหาพื้นที่ของสเปกตรัมอัตราส่วน เป็นการบันทึกสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานแต่ละตัว หาค่าด้วยสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานอีกตัวหนึ่งที่อยู่ในองค์ประกอบแบบแอมพลิฟิแคชันต่อแอมพลิฟิแคชัน แล้วทำการหาอนุพันธ์อันดับหนึ่งหรือสองของสเปกตรัมอัตราส่วน การวิเคราะห์ตัวอย่างเป็นการบันทึกสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายผสม หาค่าด้วยสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานตัวหนึ่งในองค์ประกอบแบบแอมพลิฟิแคชันต่อแอมพลิฟิแคชัน แล้วทำการหาอนุพันธ์เช่นเดียวกับสารละลายมาตรฐาน ซึ่งค่าแอมพลิฟิแคชันของค่าอนุพันธ์ของอัตราส่วนของสเปกตรัมที่วัดได้ มีความสัมพันธ์ตามกฎของเบียร์ ความเข้มข้นของอีกองค์ประกอบหนึ่งหาจากเส้นกราฟมาตรฐานของแอมพลิฟิแคชันของค่าอนุพันธ์อัตราส่วนของสารละลายมาตรฐาน

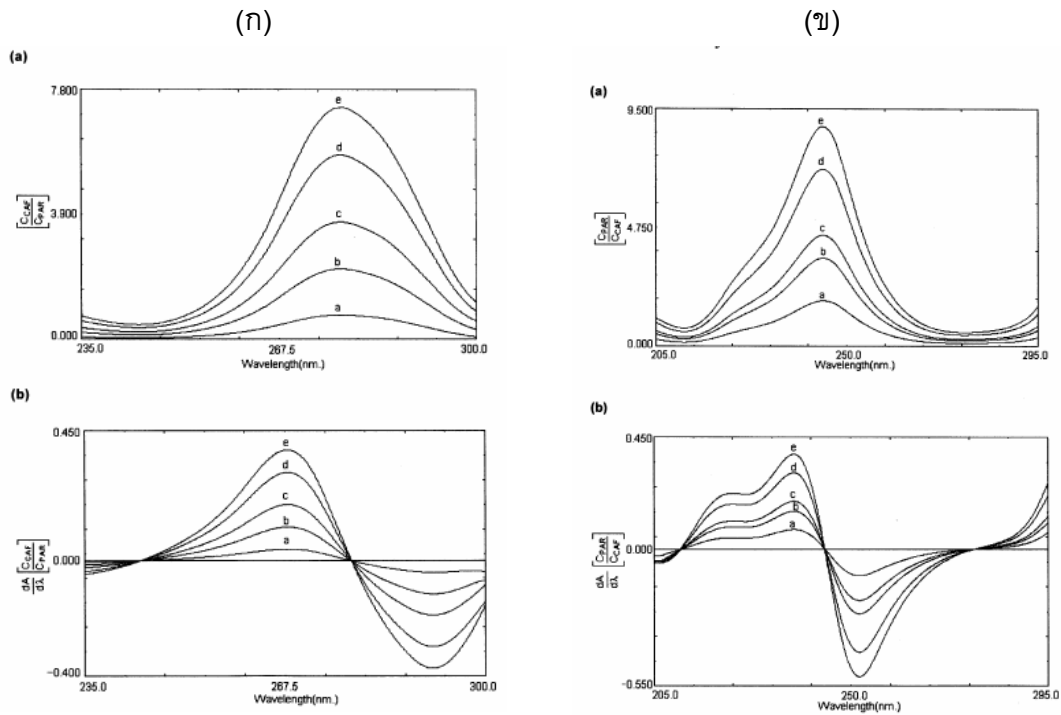
ตัวอย่างสเปกตรัมอันดับศูนย์ของ paracetamol (a) caffeine (b) และของผสมของยาทั้ง (c) ดังรูปที่ 5 นั้น paracetamol ดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 242.9 นาโนเมตรและ caffeine ดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 273.0 นาโนเมตร



รูปที่ 5 สเปกตรัมอันดับศูนย์ของ (a) paracetamol (b) caffeine และ (c) ของผสมของยาทั้งสอง [ที่มา เอกสารอ้างอิงหมายเลข 11]

การบันทึกสเปกตรัมอัตราส่วนของ caffeine ทำโดยการบันทึกสเปกตรัมอันดับศูนย์ของ paracetamol 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ใช้เป็นตัวหารและบันทึกอันดับศูนย์สเปกตรัมของ caffeine ที่ความเข้มข้น 4 12 20 32 และ 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร อัตราส่วนของสเปกตรัม caffeine หาค่าด้วยสเปกตรัมของ paracetamol แสดงในรูปที่ 6 (ก) และเมื่อทำอนุพันธ์ของค่าอัตราส่วนในช่วง $\Delta\lambda$ 8 นาโนเมตร จะได้สเปกตรัมอนุพันธ์ของสเปกตรัมอัตราส่วนดังรูปที่ 6 (ก) ซึ่งความเข้มข้นของ caffeine เป็นสัดส่วนโดยตรงกับแอมพลิฟิแคชันที่ความยาวคลื่น 267.9 และ 291.0 นาโนเมตร สเปกตรัมอัตราส่วนของ paracetamol ดังรูปที่ 6 (ข) นั้น ได้จากอัตราส่วนของสเปกตรัมอันดับศูนย์ของ paracetamol ความเข้มข้น 8 16 20 32 และ 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ใช้สเปกตรัมอันดับศูนย์ของ caffeine 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นตัวหาร และ

สเปกตรัมอนุพันธ์ของสเปกตรัมอัตราส่วนในช่วง ($\Delta\lambda$) 8 นาโนเมตร นั้น แสดงในรูปที่ 6 (ข) ซึ่งความเข้มข้นของ paracetamol จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับแอมพลิจูดที่ความยาวคลื่น 237.0 และ 251.8 นาโนเมตร ในการวิเคราะห์ caffeine และ paracetamol จึงเลือกวิเคราะห์ยาแต่ละตัวจากสเปกตรัมอนุพันธ์ของสเปกตรัมอัตราส่วนที่ความยาวคลื่น 267.9 และ 251.8 นาโนเมตร ตามลำดับ



รูปที่ 6 (ก) สเปกตรัมอัตราส่วนของ (a) caffeine ต่อ paracetamol และ (b) สเปกตรัมอนุพันธ์ของสเปกตรัมอัตราส่วนของ caffeine ต่อ paracetamol (ข) สเปกตรัมอัตราส่วนของ (a) paracetamol ต่อ caffeine และ สเปกตรัมอนุพันธ์ของสเปกตรัมอัตราส่วนของ (b) paracetamol ต่อ caffeine [ที่มา เอกสารอ้างอิงหมายเลข 11]

4. การประยุกต์ใช้ประโยชน์

วิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีเชิงอนุพันธ์มีหลักการที่ง่าย รวดเร็ว ไม่ซับซ้อน การเพิ่มขึ้นของความเฉพาเจาะจง และความไวในการวิเคราะห์องค์ประกอบ ซึ่งมีหลายองค์ประกอบ ทำให้มีการนำวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีเชิงอนุพันธ์มาประยุกต์ใช้กับงานวิเคราะห์จำนวนมาก ซึ่งส่วนหนึ่งเป็นผลมาจากการพัฒนาเครื่องวัดสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ซึ่งมีคอมพิวเตอร์สำหรับการประมวลผลรวมทั้งโปรแกรมต่าง ๆ ซึ่งรองรับการสร้างอนุพันธ์ในอันดับแตกต่างกัน ปัจจุบันมีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเทคนิคนี้ตีพิมพ์เผยแพร่เป็นจำนวนมาก โดยงานวิจัยเหล่านี้อธิบายถึงการประยุกต์ใช้วิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีเชิงอนุพันธ์ในสาขาต่าง ๆ เช่น การวิเคราะห์ทางคลินิก การวิเคราะห์ทางเภสัชศาสตร์ การวิเคราะห์ทางชีวเภสัชศาสตร์ และการวิเคราะห์ที่เกี่ยวข้องกับ

สิ่งแวดล้อมและอาหาร ซึ่งมีนิพนธ์ปริทัศน์จำนวนมากที่รวบรวมงานวิจัยที่ประยุกต์วิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีเชิงอนุพันธ์ในงานด้านต่าง ๆ ตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 นิพนธ์ปริทัศน์เกี่ยวกับการประยุกต์ใช้สเปกโทรโฟโตเมตรีเชิงอนุพันธ์

นิพนธ์ปริทัศน์	ปี	ผู้นิพนธ์	เอกสารอ้างอิง
Recent development in derivative ultraviolet/visible absorption spectrophotometry: 2004–2008 A review.	2009	Sánchez RF.	8
Derivative spectrophotometric and NMR spectroscopic study in pharmaceutical science.	2007	Kitamura K.	7
Recent developments of derivative spectrophotometry and their analytical applications.	2005	El-Sayad A-AY.	6
Recent developments in derivative ultraviolet/visible absorption spectrophotometry.	2004	Ojeda CB.	5
Derivative spectrophotometry-recent applications and directions of developments.	2004	Karpińska J.	4
Analytical application of derivative spectrophotometry.	2000	Popovic GV.	3

การประยุกต์ใช้ประโยชน์ของวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีเชิงอนุพันธ์ในงานเภสัชวิเคราะห์นั้นได้รับความนิยมมากและใช้กับงานหลายด้าน เช่น การวิเคราะห์หาปริมาณตัวยาสำคัญในตำรับยาสูตรผสม การทดสอบการละลายของยาเม็ด การวิเคราะห์สารปนเปื้อน การวิเคราะห์ในการศึกษาความคงสภาพและการสลายตัวของยา การหาค่าสัมประสิทธิ์การแบ่งภาค (partition coefficient) ของยา การศึกษาปฏิกิริยาของยากับซีรัมอัลบูมินของวัว การศึกษาอัตราการเกิด deacetylation ของโคโทแซน การศึกษาสมมูลปฏิกิริยาโดยเฉพาะสมมูลกรด-ด่าง การหาค่าคงที่สมมูลของปฏิกิริยา ตัวอย่างของการประยุกต์ใช้ประโยชน์ในงานเภสัชวิเคราะห์มีดังนี้

4.1. การวิเคราะห์ตำรับยา

เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีแบบเดิมแล้ว วิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีเชิงอนุพันธ์สามารถแก้ปัญหา การซ้อนทับกันของสเปกตรัมในการวิเคราะห์เภสัชภัณฑ์ที่มีของผสมของยาที่มีสเปกตรัมซ้อนทับใกล้เคียง ๆ กันได้ นอกจากนี้วิธีนี้สามารถวิเคราะห์สารผสมได้โดยตรง เป็นวิธีที่ง่าย รวดเร็ว และมีความไว วิธีเชิงอนุพันธ์มีข้อดีในการกำจัดสารปนเปื้อนจากสารปรุงแต่ง (excipient) และยาอื่นที่มีในสูตรตำรับ ซึ่งมีประโยชน์มากในการวิเคราะห์ยาในรูปแบบยาเตรียม ที่นอกจากตัวยาสำคัญแล้วยังมีองค์ประกอบต่าง ๆ ในตำรับที่อาจรบกวนการวิเคราะห์ด้วยวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีแบบธรรมดา วิธีวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีเชิงอนุพันธ์จึงนิยมใช้ในงานด้านนี้มากที่สุด²⁻⁸

ตัวอย่างเช่น การใช้เทคนิคจุดข้ามศูนย์และการวัดอนุพันธ์อันดับหนึ่งในการวิเคราะห์ยา losartan ในยาเม็ด¹² ambroxol ในยาเม็ด¹³ โดยไม่มีผลรบกวนจากสารปรุงแต่งที่ดูดกลืนแสง พบว่าวิธีมีความรวดเร็วและประหยัดกว่าวิธี HPLC สามารถใช้กับงานประจำในห้องปฏิบัติการ

และเหมาะสำหรับการควบคุมคุณภาพยา¹²⁻¹³ เทคนิคจุดข้ามศูนย์และการวัดอนุพันธ์อันดับหนึ่ง
นี้มิใช่ในการวิเคราะห์ยาสูตรผสมที่มียาเป็นองค์ประกอบหลายตัว เช่นตำรับยาสูตรผสมของ
ยาสองตัวของ dapsone และ pyrimethamine¹⁴ nebivolol hydrochloride และ
hydrochlorothiazide¹⁵ และมีการวิเคราะห์โดยการใช้นิยามจุดข้ามศูนย์และการวัดอนุพันธ์
อันดับสาม ในการวิเคราะห์ยา cyproterone acetate และ ethinylestradiol พร้อมกันในยาครีม
โดยไม่มีผลรบกวนจากสารปรุงแต่ง¹⁶

ตัวอย่างการใช้เทคนิคสเปกตรัมอนุพันธ์อัตราส่วนในการวิเคราะห์ยาสูตรผสมสองตัว
เช่น cyproterone acetate และ estradiol valerate ในตำรับยาเม็ดเคลือบน้ำตาล¹⁷
pseudoephedrine sulfate-dexbrompheniramine maleate และ pseudoephedrine sulfate-
loratadine ในตำรับยา¹⁸ การวิเคราะห์ยาสูตรผสมสามตัว เช่น caffeine 8-chlorotheophylline
และ chlorphenoxamine hydrochloride ในผงยาลูกอมและตำรับยา¹⁹ doxylamine succinate
pyridoxine hydrochloride และ folic acid ในตำรับยาเม็ด²⁰

วิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีเชิงอนุพันธ์สามารถประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ยาและเภสัช
ภัณฑ์ที่มีสารปรุงแต่ง เช่น สารกันเสีย รบกวนการดูดกลืนแสง เช่น การวิเคราะห์ droperidol ใน
ยาน้ำและยาฉีดเมื่อมี methylparaben and propylparaben อยู่¹⁰ การวิเคราะห์ bifonazole ใน
ยาครีม เมื่อมี methylparaben and propylparaben อยู่²¹

4.2. การทดสอบการละลายของยาเม็ด²²⁻²⁵

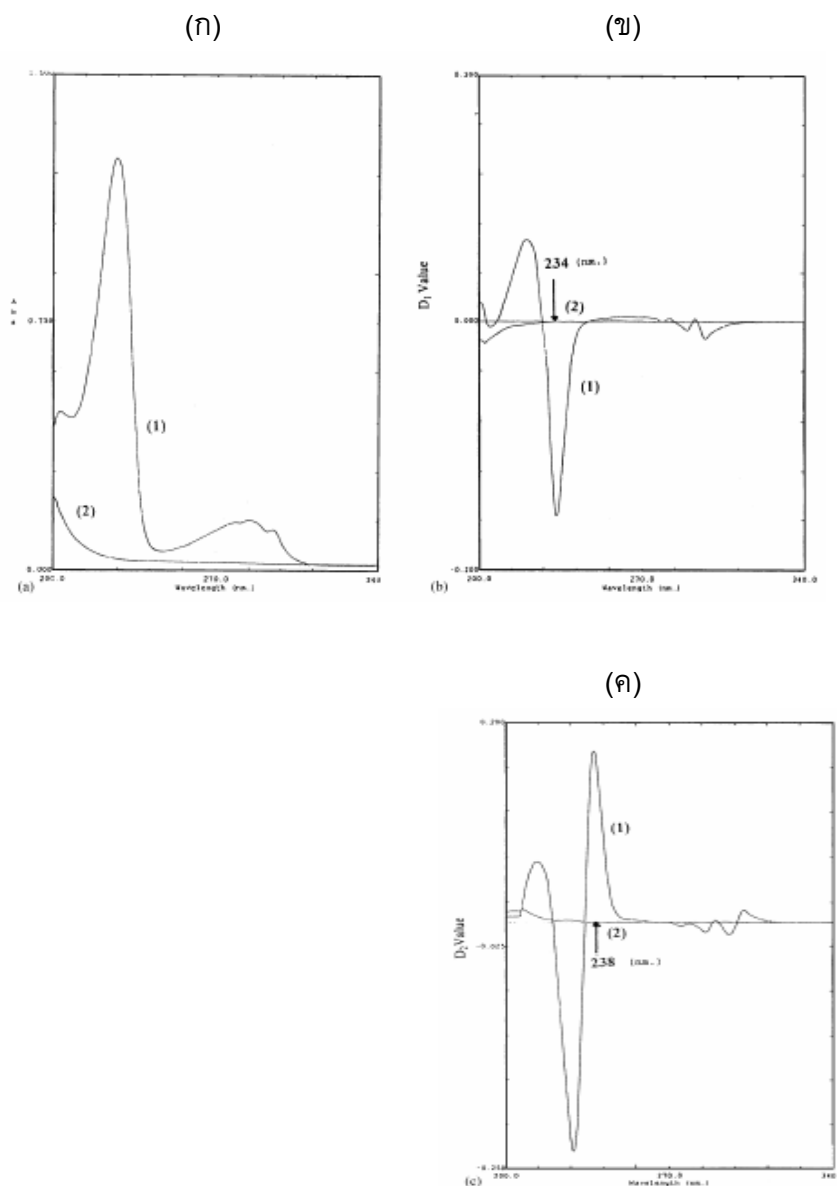
การทดสอบการละลายของยาเตรียมที่มีตัวยาสองตัวหรือมากกว่านั้น เช่นการวิเคราะห์
ยา repaglinide ในยาเม็ด²² levodopa-benserazide ในยาเม็ด²³ flunarizine ในยาเม็ด²⁴ และ
สารละลายผสมสามตัวและผลิตภัณฑ์ที่มีจำหน่ายของ chlorpheniramine maleate และ
caffeine ผสมกับ paracetamol หรือ acetylsalicylic acid และยาสูตรผสมของ acetylsalicylic
acid ผสมกับ paracetamol และ caffeine²⁵ พบว่าวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีเชิงอนุพันธ์มีการ
ตรวจสอบความถูกต้องของวิธีสามารถประยุกต์ใช้ได้ดีในการทดสอบการละลายของยาเม็ด²³
และให้ผลการทดสอบที่ไม่แตกต่างจากวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง^{22,24-25}

4.3. การวิเคราะห์สารปนเปื้อน²⁶⁻²⁹

การวิเคราะห์ยาและสารปนเปื้อนพร้อมกันด้วยวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีเชิงอนุพันธ์ ได้แก่
การวิเคราะห์ drotaverine HCl และ nifuroxazide ที่มีสารปนเปื้อน 4-hydroxybenzohydrazide
(4-HBH) ในยาเม็ดแคปซูลด้วยวิธีอนุพันธ์ของสเปกตรัมอัตราส่วน²⁶ การวิเคราะห์ยา
indomethacin และสารปนเปื้อน 5-methoxy-2-methyl-3-indoleacetic acid ในยาฉีด Metindol
ด้วยวิธีอนุพันธ์ของสเปกตรัมอัตราส่วน²⁷ การวิเคราะห์ยา imipramine และ สารปนเปื้อน
iminodibenzyl ด้วยวิธีจุดข้ามศูนย์และอนุพันธ์ของสเปกตรัมอัตราส่วน²⁸ การวิเคราะห์ยา
omeprazole และ pantoprazole sodium salt พร้อมสารปนเปื้อนที่เกี่ยวข้อง คือ omeprazole
sulphone และ N-methylpantoprazole ด้วยวิธีจุดข้ามศูนย์²⁹ พบว่าวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีเชิง
อนุพันธ์เป็นวิธีที่รวดเร็ว มีความแม่นยำ และเชื่อถือได้²⁷⁻²⁸

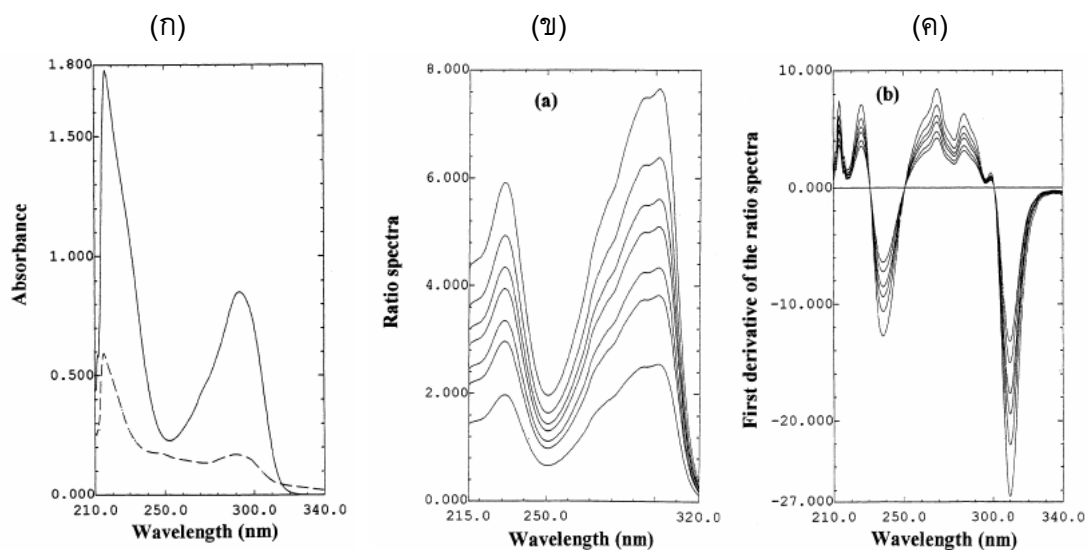
4.4. การวิเคราะห์ในการศึกษาความคงสภาพยา³⁰⁻³⁸

การประยุกต์ใช้ประโยชน์ในงานเภสัชวิเคราะห์ให้มีความสำคัญในการวิเคราะห์ยาที่มีผลิตภัณฑ์จากการสลายตัวปนอยู่ และการศึกษาความคงสภาพยา ซึ่งวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีเชิงอนุพันธ์ก็สามารถประยุกต์ใช้ได้ ตัวอย่างเช่น การวิเคราะห์ cilostazol³⁰ Zaleplon³¹ norfloxacin และ tinidazole³² vincamine³³ trimebutine maleate³⁴ trimebutine maleate³⁵ nizatidine³⁶ sumatriptan succinate³⁷ และ rabeprazole³⁸



รูปที่ 7 สเปกตรัมของ (1) sumatriptan (10 µg/ml) และ (2) สารสลายตัวของ sumatriptan (10 µg/ml) ในเมทานอล (ก) สเปกตรัมการดูดกลืนแสงอันดับศูนย์ (ข) สเปกตรัมอนุพันธ์อันดับหนึ่ง และ (ค) สเปกตรัมอนุพันธ์อันดับสอง [ที่มา เอกสารอ้างอิง หมายเลข 37]

การวิเคราะห์ sumatriptan พร้อมกับสารละลายตัวโดยวิธีสเปกตรัมอนุพันธ์อันดับหนึ่ง และสเปกตรัมอนุพันธ์อันดับสอง สามารถวิเคราะห์ sumatriptan ได้ที่ความยาวคลื่น 234 และ 238 นาโนเมตร ซึ่งเป็นความยาวคลื่นที่สารละลายตัวมีค่าอนุพันธ์อันดับหนึ่งและที่สองเป็นศูนย์ และ sumatriptan มีแอมพลิจูดที่สูงดังรูปที่ 7 ส่วนการวิเคราะห์ rabeprazole พร้อมกับสารละลายตัวโดยวิธีอนุพันธ์อันดับหนึ่งของสเปกตรัมอัตราส่วน โดยการวัดแอมพลิจูดที่ความยาวคลื่น 310.2 นาโนเมตร ซึ่งเป็นความยาวคลื่นที่อนุพันธ์อันดับหนึ่งของสเปกตรัมอัตราส่วนมีค่าแอมพลิจูดสูงสุดดังรูปที่ 8 (ค)



รูปที่ 8 สเปกตรัมของ (—) rabeprazole (6 $\mu\text{g/ml}$) และ (- - -) สารละลายตัวของ rabeprazole ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล (ก) สเปกตรัมการดูดกลืนแสง rabeprazole (20 $\mu\text{g/ml}$) และ สารละลายตัวของ rabeprazole (6 $\mu\text{g/ml}$) (ข) สเปกตรัมอัตราส่วนของ rabeprazole (10 15 17 20 22 30 $\mu\text{g/ml}$) โดยใช้สเปกตรัมของสารละลายตัวของ rabeprazole (6 $\mu\text{g/ml}$) เป็นตัวหาร และ (ค) สเปกตรัมอนุพันธ์อันดับหนึ่งของสเปกตรัมอัตราส่วน [ที่มา เอกสารอ้างอิงหมายเลข 38]

5. สรุป

วิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีเชิงอนุพันธ์เป็นวิธีที่ใช้มานานและยังคงใช้ได้จนถึงปัจจุบันซึ่งเครื่องมือมีความสามารถในการประมวลผลได้ดี และวิธีสะดวกไม่ต้องเตรียมสารตัวอย่างมาก การประยุกต์ใช้ในงานเภสัชวิเคราะห์สำหรับใช้กับงานประจำในการควบคุมคุณภาพยา โดยเฉพาะกับยาตำรับสูตรผสมนั้นมีประโยชน์มาก เมื่อทำการเลือกความยาวคลื่นในการวิเคราะห์ที่เหมาะสม และมีการตรวจสอบความถูกต้องของวิธี วิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีเชิงอนุพันธ์จึงเป็นวิธีทางเลือกอีกวิธีหนึ่งที่สามารถใช้แทนวิธีที่ใช้เครื่องมือราคาสูงเช่นโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงในการวิเคราะห์ยาตำรับสูตรผสมได้

เอกสารอ้างอิง

1. Appendix IIB. Ultraviolet and Visible Absorption Spectrophotometry. British Pharmacopoeia, London Her Majesty's Stationery Office, University Press, Cambridge London. 2008.
2. ลาวัลย์ ศรีพงษ์ พ.ศ. 2543 อัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโทรสโกปี พิมพ์ครั้งที่ 2 โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยศิลปากร หน้า 177-181.
3. Popovic GV, Pfenndt LB, Stefanovic VM. Analytical application of derivative spectrophotometry. J. Serb. Chem. Soc. 2000; 65(7): 457-472.
4. Karpińska J. Derivative spectrophotometry-recent applications and directions of developments. Talanta. 2004; 64(4): 801-22.
5. Ojeda CB, Rojas FS. Recent developments in derivative ultraviolet/visible absorption spectrophotometry. Analytica Chimica Acta 2004; 518(1-2): 1-24.
6. El-Sayad A-AY, El-Salem NA. Recent developments of derivative spectrophotometry and their analytical applications. Analytical Sciences. 2005; 21(6): 595-614.
7. Kitamura K. Derivative spectrophotometric and NMR spectroscopic study in pharmaceutical science. Yakugaku Zasshi. 2007; 127(10): 1621-42.
8. Sánchez Rojas F, Bosch Ojeda C. Recent development in derivative ultraviolet/visible absorption spectrophotometry: 2004-2008: a review. Anal Chim Acta. 2009; 635(1): 22-44.
9. El-Saharty YS, Hassan NY, Mrtwalliy FH. Simultaneous determination of terbinafine HCl and triamcinolone acetonide by UV derivative spectrophotometry and spectrodensitometry. J Pharm Biomed Anal. 2002; 28(3-4): 569-80.
10. Trabelsi H, Raouafi F, Limam M, et al. Derivative spectrophotometric determination of droperidol in presence of parabens. J Pharm Biomed Anal. 2002; 29(1-2): 239-45.
11. Dinç E. A comparative study of the ratio spectra derivative spectrophotometry, Vierordt's method and high-performance liquid chromatography applied to the simultaneous analysis of caffeine and paracetamol in tablets. J Pharm Biomed Anal. 1999; 21(4): 723-30.
12. Ansari M, Kazemipour M, Khosravi F, Baradaran M. A comparative study of first-derivative spectrophotometry and high-performance liquid chromatography applied to the determination of losartan potassium in tablets. Chem Pharm Bull. 2004; 52(10): 1166-70.

13. Dinçer Z, Basan H, Göger NG. Quantitative determination of ambroxol in tablets by derivative UV spectrophotometric method and HPLC. *J Pharm Biomed Anal.* 2003; 31(5): 867-72.
14. Toral MI, Tassara A, Soto C, et al. Simultaneous determination of dapsone and pyrimethamine by derivative spectrophotometry in pharmaceutical formulations. *J AOAC Int.* 2003; 86(2): 241-5.
15. Shah DA, Bhatt KK, Mehta RS, et al. Determination of nebivolol hydrochloride and hydrochlorothiazide in tablets by first-order derivative spectrophotometry and liquid chromatography. *J AOAC Int.* 2008; 91(5): 1075-82.
16. Souri E, Jalalizadeh H, Farsam H, et al. Simultaneous determination of cyproterone acetate and ethinylestradiol in tablets by derivative spectrophotometry. *Chem Pharm Bull.* 2005; 53(8): 949-51.
17. Dinç E, Yücesoy C, Palabiyik IM, et al. Simultaneous spectrophotometric determination of cyproterone acetate and estradiol valerate in pharmaceutical preparations by ratio spectra derivative and chemometric methods. *J Pharm Biomed Anal.* 2003; 32(3): 539-47.
18. Onur F, Yücesoy C, Dermiş S, et al. Simultaneous determination of pseudoephedrine sulfate, dexbrompheniramine maleate and loratadine in pharmaceutical preparations using derivative spectrophotometry and ratio spectra derivative spectrophotometry. *Talanta.* 2000; 51(2): 269-79.
19. Kelani KM. Simultaneous determination of caffeine, 8-chlorotheophylline, and chlorphenoxamine hydrochloride in ternary mixtures by ratio-spectra zero-crossing first-derivative spectrophotometric and chemometric methods. *J AOAC Int.* 2005; 88(4): 1126-34.
20. Pathak A, Rajput SJ. Simultaneous determination of a ternary mixture of doxylamine succinate, pyridoxine hydrochloride, and folic acid by the ratio spectra-zero-crossing, double divisor-ratio spectra derivative, and column high-performance liquid chromatographic methods. *J AOAC Int.* 2008; 91(5): 1059-69.
21. Popović G, Cakar M, Agbaba D. Determination of bifonazole in creams containing methyl- and propyl p-hydroxybenzoate by derivative spectrophotometric method. *J Pharm Biomed Anal.* 2003; 33(1): 131-6.

22. AlKhalidi BA, Shtaiwi M, AlKhatib HS, et al. A comparative study of first-derivative spectrophotometry and column high-performance liquid chromatography applied to the determination of repaglinide in tablets and for dissolution testing. *J AOAC Int.* 2008; 91(3): 530-5.
23. Dinç E, Kaya S, Doganay T, et al. Continuous wavelet and derivative transforms for the simultaneous quantitative analysis and dissolution test of levodopa-benserazide tablets. *J Pharm Biomed Anal.* 2007; 44(4): 991-5.
24. Busaranon K, Suntornsuk W, Suntornsuk L. Comparison of UV spectrophotometric method and high performance liquid chromatography for the analysis of flunarizine and its application for the dissolution test. *J Pharm Biomed Anal.* 2006; 41(1): 158-64.
25. Markopoulou CK, Malliou ET, Koundourellis JE. Content uniformity and dissolution tests of triplicate mixtures by a double divisor-ratio spectra derivative method. *Farmaco.* 2005; 60(9): 755-62.
26. Ayad MM, Youssef NF, Abdellatif HE, et al. A comparative study on various spectrometries with thin layer chromatography for simultaneous analysis of drotaverine and nifuroxazide in capsules. *Chem Pharm Bull.* 2006; 54(6): 807-13.
27. Stolarczyk M, Krzek J, Rzeszutko W. Application of derivative spectrophotometry to simultaneous determination of indomethacin and 5-methoxy-2-methyl-3-indoleacetic acid in metindol injections. *J AOAC Int.* 2004; 87(3): 592-5.
28. el-Zeany BA, Moustafa AA, Farid NF. Determination of imipramine in presence of iminodibenzyl and in pharmaceutical dosage form. *J Pharm Biomed Anal.* 2003; 33(4): 775-82.
29. Karljikovic-Rajic K, Novovic D, Marinkovic V, et al. First-order UV-derivative spectrophotometry in the analysis of omeprazole and pantoprazole sodium salt and corresponding impurities. *J Pharm Biomed Anal.* 2003; 32(4-5): 1019-27.
30. Fayed AS, Shehata MA, Ashour A, et al. Validated stability-indicating methods for determination of cilostazol in the presence of its degradation products according to the ICH guidelines. *J Pharm Biomed Anal.* 2007; 45(3): 407-16.

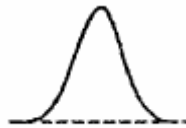
31. Metwally FH, Abdelkawy M, Abdelwahab NS. Application of spectrophotometric, densitometric, and HPLC techniques as stability indicating methods for determination of Zaleplon in pharmaceutical preparations. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 2007; 68(5): 1220-30.
32. Mohammad MA, Zawilla NH, El-Anwar FM, et al. Stability indicating methods for the determination of norfloxacin in mixture with tinidazole. *Chem Pharm Bull.* 2007;55(1):1-6.
33. Shehata MA, El Sayed MA, El Tarras MF, et al. Stability-indicating methods for determination of vincamine in presence of its degradation product. *J Pharm Biomed Anal.* 2005; 38(1): 72-8.
34. El-Gindy A, Emara S, Hadad GM. Spectrophotometric and liquid chromatographic determination of trimebutine maleate in the presence of its degradation products. *J Pharm Biomed Anal.* 2003; 33(2): 231-41.
35. Ragno G, Garofalo A, Vetuschi C. Photodegradation monitoring of amlodipine by derivative spectrophotometry. *J Pharm Biomed Anal.* 2002; 27(1-2): 19-24.
36. Youssef RM. Validated stability-indicating methods for the determination of nizatidine in the presence of its sulfoxide derivative. *J AOAC Int.* 2008; 91(1): 73-82.
37. El-Gindy A, El-Yazby F, Maher MM. Spectrophotometric and chromatographic determination of rabeprazole in presence of its degradation products. *J Pharm Biomed Anal.* 2003; 31(2): 229-42.
38. Bebawy LI, Moustafa AA, Abo-Talib NF. Stability-indicating methods for the determination of sumatriptan succinate. *J Pharm Biomed Anal.* 2003; 32(6): 1123-33.

คำถาม

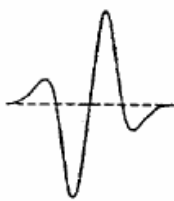
1. ข้อใดผิดเกี่ยวกับวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีเชิงอนุพันธ์

1. จุดข้ามศูนย์ตรงกับ λ_{\max} ของแถบการดูดกลืนแสงเดิม
2. ยิ่งเพิ่มอันดับของอนุพันธ์ ยิ่งเพิ่มสัญญาณต่อสัญญาณรบกวน
3. แถบความกว้างของสเปกตรัมอนุพันธ์กว้างกว่าของสเปกตรัมพื้นฐานเดิม
4. สเปกตรัมอนุพันธ์แยกแถบการดูดกลืนที่ซ้อนทับกันได้ดีกว่าสเปกตรัมพื้นฐาน
5. แอมพลิจูดในสเปกตรัมเชิงอนุพันธ์เป็นไปตามกฎของเบียร์

2. สเปกตรัมการดูดกลืนแสงดังรูปต่อไปนี้ จะมีสเปกตรัมอนุพันธ์อันดับสองในรูปใด



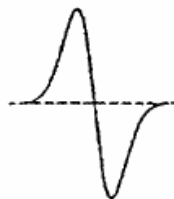
1.



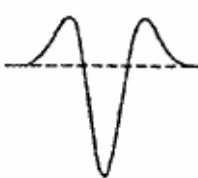
2.



3.

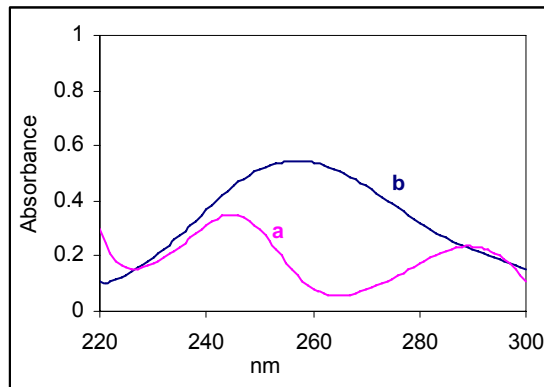


4.



5. ไม่มีข้อถูก

3. สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสาร a และ b เป็นดังรูปต่อไปนี้



สาร a มีจุดข้ามศูนย์ในสเปกตรัมอนุพันธ์อันดับหนึ่งกี่จุด

- | | |
|-------------|-----------|
| 1. หนึ่งจุด | 2. สองจุด |
| 3. สามจุด | 4. สี่จุด |
| 5. ห้าจุด | |

4. จากข้อ 3. สาร b มีจุดข้ามศูนย์กี่จุด ในสเปกตรัมอนุพันธ์อันดับสอง

1. หนึ่งจุด
2. สองจุด
3. สามจุด
4. สี่จุด
5. ห้าจุด

5. จากข้อ 3. จุดข้ามศูนย์ของสาร b ในสเปกตรัมอนุพันธ์อันดับหนึ่งอยู่ที่ความยาวคลื่นกี่นาโนเมตร

1. 226 นาโนเมตร
2. 244 นาโนเมตร
3. 257 นาโนเมตร
4. 265 นาโนเมตร
5. 289 นาโนเมตร

6. จากข้อ 3. ข้อใดคือความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สาร a เมื่อมีสาร b ผสมอยู่ด้วย โดยการวัดค่าอนุพันธ์อันดับหนึ่ง

1. 226 นาโนเมตร
2. 244 นาโนเมตร
3. 257 นาโนเมตร
4. 265 นาโนเมตร
5. 289 นาโนเมตร

7. วิธีวิเคราะห์ใดต่อไปนี้นิยมใช้ในการวิเคราะห์ด้วยวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีเชิงอนุพันธ์
 1. วิธีจุดข้ามศูนย์ และ วิธีสเปกตรัมอัตราส่วน
 2. วิธีจุดข้ามศูนย์ และ วิธีอนุพันธ์ของสเปกตรัมอัตราส่วน
 3. วิธีจุดข้ามศูนย์ และ วิธีสเปกตรัมอนุพันธ์
 4. วิธีสเปกตรัมอัตราส่วน และ วิธีสเปกตรัมอนุพันธ์
 5. วิธีอนุพันธ์ของสเปกตรัมอัตราส่วน และ วิธีสเปกตรัมอนุพันธ์

8. ข้อใดต่อไปนี้เป็นถูกต้องเกี่ยวกับการวิเคราะห์ด้วยวิธีอนุพันธ์ของสเปกตรัมอัตราส่วน
 1. เริ่มจากการหาอัตราส่วนของสเปกตรัมอันดับที่ศูนย์
 2. เริ่มจากการหาอนุพันธ์ของสเปกตรัมอันดับที่ศูนย์
 3. วัดแอมพลิจูดที่จุดข้ามศูนย์ของอีกสเปกตรัม
 4. วัดแอมพลิจูดที่แอมพลิจูดต่ำสุดของอีกสเปกตรัม
 5. ตัวหารเป็นสเปกตรัมของชุดสารละลายมาตรฐานที่ใช้เตรียมกราฟมาตรฐาน

9. วิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีเชิงอนุพันธ์นิยมในการประยุกต์ใช้ประโยชน์ในงานใดมากที่สุด
 1. การวิเคราะห์หาปริมาณตัวยาสัญสำคัญในตำรับยาสูตรผสม
 2. การทดสอบการละลายของยาเม็ด
 3. การศึกษาความคงสภาพยา
 4. การวิเคราะห์สารปนเปื้อน
 5. ถูกทุกข้อ

10. วิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีเชิงอนุพันธ์ไม่เหมาะสำหรับในการประยุกต์ใช้ประโยชน์ในงานใด
 1. การวิเคราะห์สารปนเปื้อน
 2. การหาค่าสัมประสิทธิ์การแบ่งภาค
 3. การศึกษาชีวสมมูล
 4. การหาค่าคงที่สมดุลของปฏิกิริยา
 5. ถูกทุกข้อ