

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คุณ วิจัย รัชดาภิเษกสมโภช



รายงานผลการวิจัย

การศึกษาความเสถียรของสารประกอบเชิงซ้อน  
ระหว่าง สารประกอบเปปไทด์ กับ ไอออนของโลหะบางตัว

โดย

สถาบันวิทยบริการ  
ดร. วิทยา เรืองพรวิสุทธิ์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

มกราคม 2533

18448094 12 S.A. 2543

ชื่อโครงการวิจัย การศึกษาความสัมพันธ์ของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง  
 สารประกอบเปปไทด์ กับ ไอออนของ โลหะบางตัว  
 ชื่อผู้วิจัย ดร. วิทยา เรืองพรวิสุทธิ  
 เดือนและปีที่ทำวิจัยเสร็จ มกราคม 2533

### บทคัดย่อ

การศึกษาหาค่าคงที่ของการสมดุลระหว่างสปีซีต่างๆที่เกี่ยวข้องกับการจ่ายรับ  
 โปรตอนของสารประกอบเอ็นอะซีตทิลแอลอะลานีน เอ็นอะซีตทิลแอลฮีสติดีน เอ็นอะซีต  
 ทิลแอลโลซีน และ เอ็นอะซีตทิลแอลวาซีน และค่าคงที่ของความเสถียรของสารประกอบ  
 เชิงซ้อนระหว่างสารประกอบเอ็นอะซีตทิลเปปไทด์ กับไอออนของโลหะต่างๆ ได้แก่  
 $Mn(II)$   $Co(II)$   $Ni(II)$   $Cu(II)$  และ  $Zn(II)$  ในสารละลาย  $0.5\ M\ KNO_3$   
 ที่อุณหภูมิ  $25\ ^\circ\ C$  โดยวิธีโพเทนชิโอเมตริกไทเทรชัน พบว่าระบบของสารประกอบ  
 เอ็นอะซีตทิลแอลอะลานีนมีค่า  $\log K_{st} = -3.62$  และสารประกอบเอ็นอะซีตทิลแอล  
 ฮีสติดีนมีค่า  $\log K_{st} = -7.19$ ,  $\log K_b = 2.96$  และ  $\log K_b' = 2.47$  สำหรับ  
 ระบบสารประกอบเอ็นอะซีตทิลแอลโลซีนมีค่า  $\log K_{st} = -9.11$  และ  $\log K_b = 2.37$   
 และเอ็นอะซีตทิลแอลวาซีนมีค่า  $\log K_{st} = -3.35$  และ  $\log K_b = 2.02$  และ  
 พบว่าสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างสารประสารประกอบเอ็นอะซีตทิลแอลอะลานีน กับ  
 $Zn(II)$  และ เอ็นอะซีตทิลแอลฮีสติดีนกับ  $Cu(II)$  มีความเสถียรมากที่สุด

การคำนวณทางเคมีควอนตัมโดยวิธีแอบอินิซิโอ พบว่าโปรตอนสามารถรวมตัวกับ  
 สารประกอบเอ็นอะซีตทิลแอลอะลานีนได้สองตัว โดยมีพลังงานการรวมตัวของโปรตอน  
 ตัวแรกและดังที่สองเท่ากับ  $-179.4$  และ  $-90.7\ kcal/mol$  ตามลำดับ

สถาบันวิทยบริการ  
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Project Title                 Stability of the Complexes between  
  Peptide Compounds and Various Metal Ions  
Name of the Investigator   Dr. Withaya Ruangpornvisuti  
Year                                 January 1990

Abstract

Equilibrium constants for proton-related species of N-acetyl-L-alanine, N-acetyl-L-histidine, N-acetyl-L-lysine and N-acetyl-L-valine, and the complex formations of those ligands with divalent metal ion such as Mn(II) Co(II) Ni(II) Cu(II) and Zn(II) have been determined by means of the potentiometric titration. The experiments were observed in 0.5 M potassium nitrate solution, under the nitrogen atmosphere, at 25 ° C. The equilibrium constants present as acidity and basicity constants are reported in term of logarithm value. The system of N-acetyl-L-alanine compound has resulted as  $\log K_a = -3.62$ , N-acetyl-L-histidine as  $\log K_a = -7.19$ ,  $\log K_b = 2.96$  and  $\log K_b' = 2.47$ , N-acetyl-L-lysine as  $\log K_a = -9.11$ ,  $\log K_b = 2.37$  and N-acetyl-L-valine as  $\log K_a = -3.35$ ,  $\log K_b = 2.02$ . Zn(II)/N-acetyl-L-alanine and Cu(II)/n-aetyl-L-histidine complexes are the most stable species.

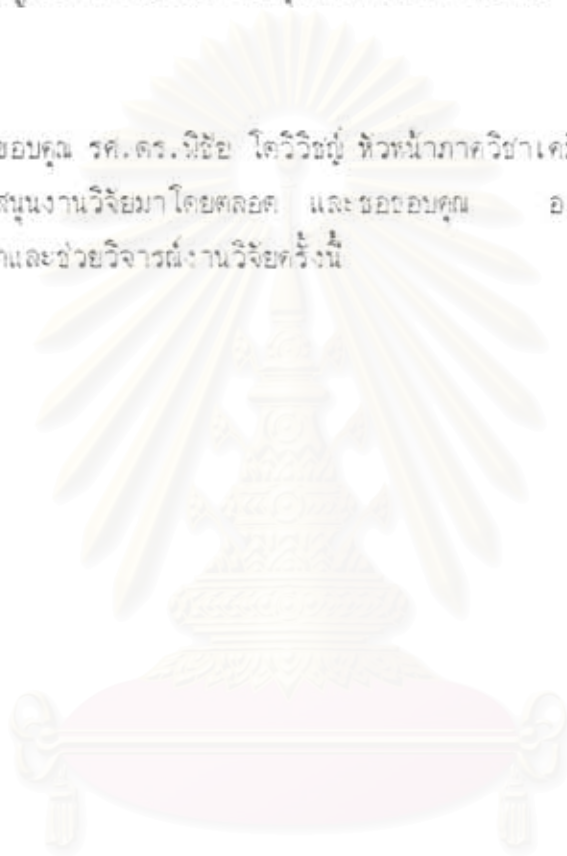
Quantum chemical calculations based on an ab-initio method result that N-acetyl-L-alanine can be protonated by two protons. For the first and second protonation energies are -179.4 and -90.7 kcal/mol respectively.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณฝ่ายวิจัยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้มอบทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช สำหรับงานวิจัยครั้งนี้ รวมถึงกรรมการพิจารณาทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภชทุกท่าน และขอขอบคุณศูนย์บริการคอมพิวเตอร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้การอนุเคราะห์การใช้คอมพิวเตอร์

ขอขอบคุณ รศ.ดร.วิชัย ไชยวิษณุ หัวหน้าภาควิชาเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้การสนับสนุนงานวิจัยมาโดยตลอด และขอขอบคุณ อ.ดร.อรพรรณ สงวนเรือง ที่ให้คำปรึกษาและช่วยวิจารณ์งานวิจัยครั้งนี้



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ii
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	iii
กิตติกรรมประกาศ	iv
สารบัญ	v
รายการตารางประกอบ	viii
รายการรูปภาพประกอบ	xi
<b>บทที่</b>	
1 : บทนำ	1
1.1 โครงสร้างของสารประกอบเปปไทด์	1
1.2 ธรรมชาติของของสารประกอบเปปไทด์และ สารประกอบเชิงซ้อน	3
1.3 โครงสร้างของสารประกอบเอ็นอะเซทิลเปปไทด์	3
2 : ทฤษฎีและการทดลอง	5
2.1 ทฤษฎีเคมีควอนตัม	5
2.1.1 การคำนวณโดยวิธี <i>ab initio</i> LCAO-MO-SCF	5
2.1.1.1 วิธีพื้นฐานการประมาณการคำนวณ	5
2.1.1.2 Hamiltonian ของโมเลกุล	5
2.1.1.3 Wave function ของโมเลกุล	6
2.1.1.4 สมการ LCAO-MO-SCF	6
2.1.1.5 SCF procedure	7
2.1.1.6 Basis function	8
2.1.2 เงื่อนไขในการคำนวณทางเคมีควอนตัม	9
2.2 การทดลอง	10
2.3 การทำ computer refinement.	11
3 : ระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-alanine	12
3.1 ทฤษฎีและการคำนวณทางเคมีควอนตัม	12

บทที่	หน้า
3.2 ผลการวิจัยของสารประกอบ N-acetyl-l-alanine	13
3.2.1 ผลการคำนวณทางเคมีควอนตัม	13
3.2.2 โครงสร้างที่เสถียรที่สุด	15
3.2.3 พลังงานการจ่ายโปรตอน	15
3.2.4 พลังงานรวมของ protonated species	16
3.2.5 พลังงานรวมของน้ำ	17
3.3 ผลการทดลองโดยวิธี potentiometric titration	19
3.3.1 ระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-alanine	20
3.3.2 ระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-alanine กับ Mn(II)	20
3.3.3 ระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-alanine กับ Cd(II)	22
3.3.4 ระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-alanine กับ Ni(II)	23
3.3.5 ระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-alanine กับ Cu(II)	24
3.3.6 ระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-alanine กับ Zn(II)	25
3.4 ผลการวิจัยของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง N-acetyl-l-alanine กับ ไอออนของโลหะต่างๆ	26
4 : ผลการวิจัยของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง N-acetyl-l-histidine กับ ไอออนของโลหะต่างๆ	28
4.1 ระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-histidine	28
4.2 ระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-histidine กับ Mn(II)	30
4.3 ระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-histidine กับ Co(II)	31
4.4 ระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-histidine กับ Ni(II)	32
4.5 ระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-histidine กับ Cu(II)	33
4.6 ระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-histidine กับ Zn(II)	35
5 : ระบบสารประกอบ N-acetyl-l-lysine	37
6 : ระบบสารประกอบ N-acetyl-l-valine	39
7 : บทสรุป	41
7.1 ระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-alanine	41
7.2 ระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-histidine	42

บทที่	หน้า
7.3 ระบบสารประกอบ N-acetyl-l-lysine และ ระบบสารประกอบ N-acetyl-l-valine	44
7.4 การไฮโดรไลซิสของไอออนของโลหะ	46
7.5 งานที่คาดว่าจะทำต่อไป	46
เอกสารอ้างอิง	47
ส่วนผนวกที่ 1	49
ส่วนผนวกที่ 2	66
ชีวประวัติ	81



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการตารางประกอบ

ตารางที่	หน้า	
2.1	ค่าเอกซ์โพเนนต์สำหรับ GLO basis set ของอะตอม	9
3.1	แสดงค่าโคออร์ดิเนตและประจุของ โครงสร้างที่เสถียรที่สุดของ สารประกอบ N-acetyl-l-alanine	13
3.2	แสดงคาร์ทีเซียนโคออร์ดิเนตของสารประกอบ N-acetyl-l-alanine	15
3.3	แสดงโคออร์ดิเนตของ deprotonated N-acetyl-l-alanine	16
3.4	แสดงค่าพลังงานรวมและพลังงานรวมกับโปรตอนแบบ stepwise ของสารประกอบ N-acetyl alanine	17
3.5	แสดงโคออร์ดิเนตของน้ำและไฮโดรเนียมไอออนที่เสถียรที่สุด	18
3.6	ข้อมูลของการไทเทรตที่ใช้ในการ refinement. เพื่อหาค่าคงที่ของความเสถียรของ N-acetyl-l-alanine	20
3.7	แสดงค่าคงที่ความเป็นกรดของ N-acetyl-l-alanine	20
3.8	ข้อมูลของการไทเทรตที่ใช้ในการ refinement. เพื่อหาค่าคงที่ของความเสถียรของสารประกอบเชิงซ้อน	21
3.9	แสดงค่าคงที่ของการสมดุลของสปีชีต่างๆที่เกี่ยวข้องกับระบบ N-acetyl-l-alanine กับ $Mn^{2+}$	21
3.10	ข้อมูลของการไทเทรตที่ใช้ในการ refinement. เพื่อหาค่าคงที่ของความเสถียรของ $Cd^{2+}$ /N-acetyl-l-alanine	22
3.11	แสดงค่าคงที่ของการสมดุลของสปีชีต่างๆที่เกี่ยวข้องกับระบบ N-acetyl-l-alanine กับ $Cd^{2+}$	23
3.12	ข้อมูลของการไทเทรตที่ใช้ในการ refinement เพื่อหาค่า คงที่ของความเสถียรของ $Ni^{2+}$ /N-acetyl-l-alanine	23
3.13	แสดงค่าคงที่ของการสมดุลของสปีชีต่างๆที่เกี่ยวข้องกับระบบ N-acetyl-l-alanine กับ $Ni^{2+}$	24
3.14	ข้อมูลของการไทเทรตที่ใช้ในการ refinement เพื่อหาค่า คงที่ของความเสถียรของ $Cu^{2+}$ /N-acetyl-l-alanine	24
3.15	แสดงค่าคงที่ของการสมดุลของสปีชีต่างๆที่เกี่ยวข้องกับระบบ N-acetyl-l-alanine กับ $Cu^{2+}$	25
3.16	ข้อมูลของการไทเทรตที่ใช้ในการ refinement เพื่อหาค่า คงที่ของความเสถียรของ $Zn^{2+}$ /N-acetyl-l-alanine	25



3.17	แสดงค่าคงที่ของการสมดุลของสเปซียต่างๆที่เกี่ยวข้องกับระบบ สารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง N-acetyl-l-alanine กับ $Zn^{2+}$	26
3.18	แสดงค่า formation constants ของสเปซียต่างๆที่เกี่ยวข้องกับระบบ N-acetyl-l-alanine กับ โลหะของโลหะต่างๆ	27
4.1	ข้อมูลของการโตเตรคที่ใช้ในการ refinement เพื่อหาค่าคงที่ของ การเกิดของสารประกอบ N-acetyl-l-histidine	28
4.2	ค่าคงที่ของการเกิดของ N-acetyl-l-histidine	28
4.3	ข้อมูลของการโตเตรคที่ใช้ในการ refinement เพื่อหาค่าคงที่ ของความเสถียรของ N-acetyl-l-histidine	30
4.4	ค่าคงที่ของความเสถียรของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง N-acetyl-l-histidine กับ $Mn^{2+}$	31
4.5	ข้อมูลของการโตเตรคที่ใช้ในการ refinement เพื่อหาค่าคงที่ ของความเสถียรของ N-acetyl-l-histidine	31
4.6	ค่าคงที่ของความเสถียรของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง N-acetyl-l-histidine กับ $Co^{2+}$	32
4.7	ข้อมูลของการโตเตรคที่ใช้ในการ refinement เพื่อหาค่าคงที่ ของความเสถียรของ $Ni^{2+}$ /N-acetyl-l-histidine	33
4.8	ค่าคงที่ของความเสถียรของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง N-acetyl-l-histidine กับ $Ni^{2+}$	33
4.9	ข้อมูลของการโตเตรคที่ใช้ในการ refinement เพื่อหาค่าคงที่ ของความเสถียรของ $Cu^{2+}$ /N-acetyl-l-histidine	34
4.10	ค่าคงที่ของความเสถียรของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง N-acetyl-l-histidine กับ $Cu^{2+}$	34
4.11	ข้อมูลของการโตเตรคที่ใช้ในการ refinement เพื่อหาค่าคงที่ ของความเสถียรของ $Zn^{2+}$ / N-acetyl-l-histidine	35
4.12	ค่าคงที่ของความเสถียรของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง N-acetyl-l-histidine กับ $Zn^{2+}$	36
5.1	ข้อมูลของการโตเตรคที่ใช้ในการ refinement เพื่อหาค่าคงที่ของ การเกิดของสารประกอบ N-acetyl-l-lysine	37
5.2	ค่าคงที่ของการเกิดของ N-acetyl-l-lysine	37

ตารางที่	หน้า
6.1 ข้อมูลของการโตเตรทที่ใช้ในการ refinement เพื่อหาค่าคงที่ของ การเกิดของสารประกอบ N-acetyl-l-valine	39
6.2 ค่าคงที่ของการเกิดของ N-acetyl-l-valine	39



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการรูปภาพประกอบ

รูปที่	หน้า
1.1 แสดง โครงสร้างของสารประกอบ เอ็น- อะซีทิลเบีนโดลด์	2
1.2 โครงสร้างของสารประกอบเบีนโดลด์	4
3.1 แสดง โครงสร้างที่เสถียรที่สุดของสารประกอบ N-acetyl-l-alanine	14
4.1 การกระจายของสเปกตรัมของสารละลาย N-acetyl-l-histidine เข้มข้น 0.00177 M	29
5.1 การกระจายของสเปกตรัมของสารละลาย N-acetyl-l-lysine เข้มข้น 0.000971 M	38
6.1 การกระจายของสเปกตรัมของสารละลาย N-acetyl-l-valine เข้มข้น 0.000970 M	40

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



สารประกอบไดเปปไทด์ (dipeptide) และสารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดจาก ไดเปปไทด์กับไอออนของโลหะชนิดต่างๆ ได้มีการศึกษากันอย่างกว้างขวาง โดยวิธีต่างๆ ทางเคมี (1-8) และพบว่าสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างสารประกอบไดเปปไทด์กับไอออนของโลหะไดวาเลนต์ที่มีสูตรเป็น  $ML$  (เมื่อ  $ML_2$  แทนสารประกอบไดเปปไทด์ และ  $M^{2+}$  แทนไอออนของโลหะไดวาเลนต์) จะไม่เสถียร (9)

โดยที่เรารู้ว่าสารประกอบไดเปปไทด์ และ พอลิเปปไทด์ในสารละลายน้ำจะอยู่ในรูปที่เรียกว่า สวิตเตอร์ไอออน (zwitterion) โดยที่ไอออนดังกล่าวสามารถแตกตัวให้โปรตอนหนึ่งตัว และสามารถรวมตัวกับโปรตอนได้อย่างน้อยหนึ่งตัว โปรตอนที่หลุดออกจากสารประกอบไดเปปไทด์จะเป็นโปรตอนที่ทำหน้าที่เป็นกรด (acid proton) และโปรตอนที่เข้าร่วมกับสารประกอบไดเปปไทด์ จะเกาะตรงตำแหน่งในโครเจนปลายสุด (N-terminal) แต่จะไม่ค่อยพบการเกาะตรงตำแหน่งในโครเจนที่เกิดเป็นพันธะเปปไทด์ (peptide bond)

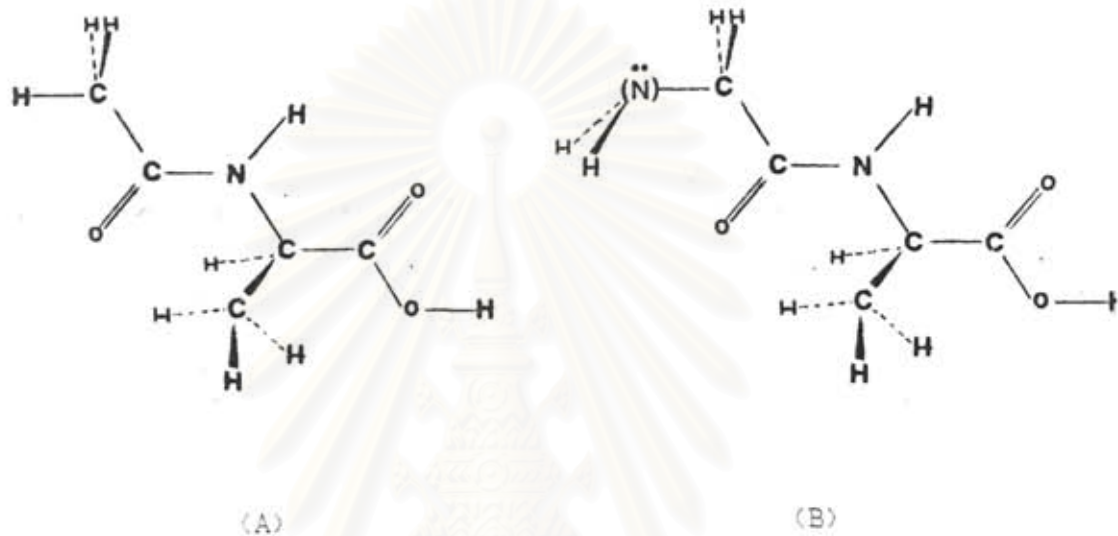
ด้วยเหตุนี้สารประกอบไดเปปไทด์ชนิด N-acetyl ซึ่งเป็นสารประกอบทางชีวเคมีในร่างกาย เช่นเดียวกับสารประกอบไดเปปไทด์ทั่วไป จึงมีลักษณะที่น่าสนใจอยู่มาก เพราะเนื่องจากเป็นสารประกอบไดเปปไทด์ที่ไม่มีในโครเจนปลายสุด (10) ดังนั้นในงานวิจัยครั้งนี้จึงเป็นการศึกษาพฤติกรรมของสารประกอบเปปไทด์ชนิด N-acetyl และสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างสารประกอบไดเปปไทด์ชนิดนี้กับไอออนของโลหะที่สำคัญๆ ซึ่งเป็นโลหะที่จำเป็นต่อร่างกายมนุษย์ (essential trace elements)

### 1.1 โครงสร้างของสารประกอบไดเปปไทด์

ลักษณะโครงสร้างของสารประกอบเปปไทด์ชนิด N-acetyl จะคล้ายคลึงกับโครงสร้างของสารประกอบไดเปปไทด์ ซึ่งเป็นโครงสร้างที่ประกอบด้วยพันธะเปปไทด์

( $-N-\overset{\overset{O}{\parallel}}{C}-$ ) และ คาร์บอกซิล ( $-\overset{\overset{O}{\parallel}}{C}-OH$ ) ส่วนที่แตกต่างของสารประกอบทั้งสองนั้น ได้แก่

สารประกอบเปปไทด์ชนิด N-acetyl ประกอบด้วยหมู่ acetyl ( $\text{H}_3\text{C}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-$ ) ตรง  
 หน้าเปปไทด์ ซึ่งจะไม่มีในไตรเจนปลายสุด ดังแสดงให้เห็นในรูปที่ 1.1



รูปที่ 1.1 แสดงโครงสร้างของสารประกอบเปปไทด์ชนิด N-acetyl ได้แก่  
 N-acetyl-L-alanine (A) และ สารประกอบไดเปปไทด์ชนิด ได้แก่  
 Glycyl-L-alanine (B)

สารละลายน้ำสารประกอบไดเปปไทด์จะเกิดเป็นไอออนที่เรียกว่าสวิตเตอร์ไอออน โดยที่  
 ไฮโดรเจนของ  $-\text{OH}$  ซึ่งทำหน้าที่เป็นกรดจะแตกตัวออกสู่อิออนลบ และจะเกาะติดกับ  
 อะตอมของไนโตรเจนตำแหน่งปลายสุด (ดูรูป 1.1 (B) ตรงตำแหน่ง (N)) แต่  
 โครงสร้างของสารประกอบเปปไทด์ชนิด N-acetyl (ดูรูป 1.1 (A) ตรงตำแหน่ง (N))  
 จะไม่มีไนโตรเจนตำแหน่งปลายสุด ดังนั้นตำแหน่งการเกาะของโปรตอนบนสารประกอบ  
 เปปไทด์ชนิด N-acetyl จึงไม่มี จึงทำให้ความแข็งแรงของการเกิดสารประกอบ  
 เชิงซ้อนและ โครงสร้างย่อมแตกต่างกันออกไป

### 1.2 อธิบายธรรมชาติของสารประกอบเบปีโตด์และสารประกอบเชิงซ้อน

สารประกอบเบปีโตด์ประกอบด้วยอะตอมที่มีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยว (lone-pair electron) ซึ่งได้แก่ อะตอมไนโตรเจน และ ออกซิเจน และโมเลกุลเชิงเส้นตรง สารประกอบเบปีโตด์สามารถรวมตัวกับ ไอออนของ โลหะ เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน

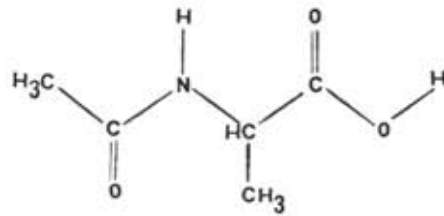
สารประกอบเชิงซ้อนเกิดขึ้นจากการรวมตัวระหว่างลิแกนด์ (ligand) เช่น สารประกอบเบปีโตด์ที่กำลังกล่าวถึงกับไอออนของโลหะ ซึ่งความเสถียรของสารประกอบเชิงซ้อนขึ้นอยู่กับสิ่งต่อไปนี้ (11-12)

- (1) ความแข็งแรงของประจุของ ไอออนของ โลหะ
- (2) ค่าคงที่ของการถ่ายโปรตอน (deprotonation constant) หรือเรียกว่าค่าคงที่ของความเป็นกรด (acidity constant) และ ค่าคงที่ของการรับโปรตอน (protonation constant) หรือเรียกว่าค่าคงที่ของความเป็นเบส (basicity constant)
- (3) ขนาดของลิแกนด์และ ไอออนของ โลหะ
- (4) โครงสร้างของลิแกนด์

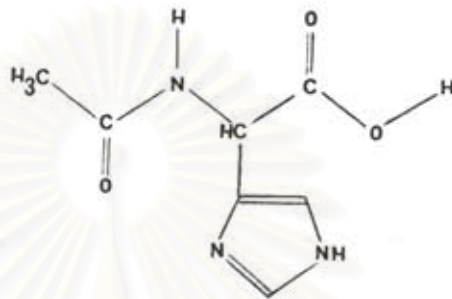
### 1.3 โครงสร้างของสารประกอบเบปีโตด์ชนิด N-acetyl

สารประกอบที่ใช้เป็นลิแกนด์ในการศึกษาวิจัย ได้แก่สารประกอบเบปีโตด์ชนิด N-acetyl ซึ่งโครงสร้างของสารประกอบเหล่านี้แสดงไว้ในรูปที่ 1.2

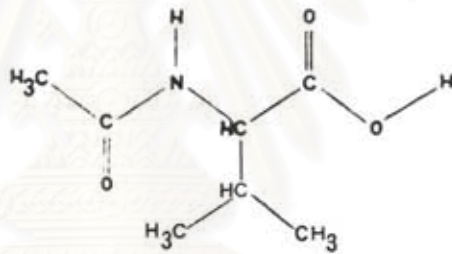
สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



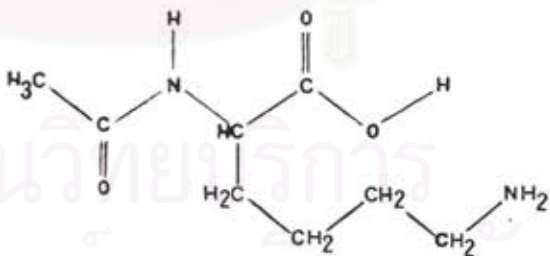
(a)



(b)



(c)



(d)

รูปที่ 1.2 โครงสร้างโมเลกุลของ N-acetyl-L-alanine (a), N-acetyl-L-histidine (b), N-acetyl-L-lysine (c) และ N-acetyl-L-valine (d).

บทที่ 2

ทฤษฎีและวิธีการคำนวณ

2.1 ทฤษฎีเคมีควอนตัม

การคำนวณหาพลังงานศักย์ระหว่างโมเลกุล อะตอม และ ไอออน จำเป็นต้องใช้การคำนวณทางเคมีควอนตัม โดยประมาณค่าพลังงานตามวิธี LCAO-MO-SCF ซึ่งกล่าวได้เป็นข้อๆดังนี้

2.1.1 การคำนวณโดยวิธี ab initio LCAO-MO-SCF

2.1.1.1 วิธีในการประมาณการคำนวณ

โดยวิธีนี้สมการของ LCAO-MO-SCF ได้จากการตีความเป็นผลจากสมการของ Schoedinger ภายใต้เงื่อนไขต่างๆดังนี้

- (1) การคำนวณโดยไม่รวม relativistic effects
- (2) กำหนดให้นิวเคลียสของอะตอมไม่เคลื่อนที่โดยวิธี "Born-Oppenheimer Approximation" (13)

(3) การคำนวณโดยคิดจลน์พลังงานจลน์ (kinetic energy) ของอิเล็กตรอนแต่ละตัวเป็นอิสระจากอิเล็กตรอนตัวอื่นๆ ดังนั้น wave function ของระบบจึงสามารถแยกได้เป็น eigen function ของแต่ละอนุภาคได้

2.1.1.2 Hamiltonian ของโมเลกุล

การประมาณการคำนวณในข้อ 2.1.1.1 เป็นผลให้ electronic hamiltonian operator ของระบบโมเลกุลที่มี 2n อิเล็กตรอน และ N นิวเคลียสสามารถเขียนให้อยู่ในหน่วย a.u. ได้ดังนี้

$$H = -\frac{1}{2} \sum_{i=1}^{2n} \Delta_i + \sum_{i=1}^{2n} \sum_{\mu=1}^N \frac{Z_\mu}{r_{i\mu}} + \sum_{i=1}^{2n} \sum_{i>j}^{2n} \frac{1}{r_{ij}} \quad (2.1)$$



เมื่อ  $i$  และ  $j$  เป็นดัชนีแทนอิเล็กตรอน และ  $N$  แทนนิวเคลียส

$$\Delta_i = \frac{\partial^2}{\partial x^2} + \frac{\partial^2}{\partial y^2} + \frac{\partial^2}{\partial z^2}$$

### 2.1.1.3 Wave function ของโมเลกุล

โมเลกุลที่เป็นแบบ closed shell พบว่า wave function ที่หาได้จาก molecular spin orbital สามารถเขียนให้อยู่ในรูปของ Slater determinant ได้ดังสมการ

$$\Psi = \frac{1}{\sqrt{2n!}} |\psi_1(1)\bar{\psi}_1(2)\dots\psi_n(2n-1)\bar{\psi}_n(2n)| \quad (2.2)$$

เมื่อ  $\psi_i$  และ  $\bar{\psi}_j$  เป็น wave function ของออร์บิทัลที่เป็น up และ down spin function ตามลำดับ

### 2.1.1.4 สมการ LCAO-MO-SCF

ออร์บิทัลของ โมเลกุลหาได้จากการประมาณค่าโดยวิธี LCAO (Linear Combination of Atomic Orbital) ดังสมการ

$$\psi_i = \sum_j c_{ij} \phi_j \quad (2.3)$$

เมื่อ  $c_{ij}$  เป็นค่าสัมประสิทธิ์ที่หาได้โดยวิธี Variation

$\phi_j$  เป็นออร์บิทัลของอะตอม

โดยวิธีการของ Hartree-Fock (14.15) และ LCAO-MO ภายใต้การประมาณโดยใช้ Variation Principle และเงื่อนไขของ orthonormality ทำให้ได้สมการที่เรียกว่า Roothaan Equation (16) ดังนี้

$$F C = S C E \quad (2.4)$$

- เมื่อ  $c$  เป็นเวกเตอร์ของสัมประสิทธิ์  $c_{ij}$  จากสมการ (2.5)  
 $H$  เป็นแฮมิลโทเนียนพลังงานของอิเล็กตรอน  
 $S$  เป็นเมทริกซ์ของ  $\langle \phi_i | \phi_j \rangle$  ซึ่งเรียกว่า overlap matrix  
 และ  $F$  เป็นเมทริกซ์ที่เรียกว่า Fock operator จะได้

$$\bar{F}_{\mu\nu} = H_{\mu\nu} + G_{\mu\nu} \quad (2.6)$$

- เมื่อ  $H_{\mu\nu}$  เป็น hamiltonian ของอิเล็กตรอนหนึ่งตัว  
 $G_{\mu\nu}$  เป็นสมาชิกที่เกี่ยวข้องกับอิเล็กตรอนสองตัวซึ่งมีค่าเป็นสมการ (2.6)

$$G_{\mu\nu} = \sum_{\lambda\sigma} P_{\lambda\sigma} [\langle \mu\nu | \lambda\sigma \rangle - \frac{1}{2} \langle \mu\lambda | \nu\sigma \rangle] \quad (2.6)$$

กรณีระบบที่เป็น closed shell จะได้ว่า  $P_{\lambda\sigma} = 2 \sum_i^{\text{occ}} c_{\lambda i}^* c_{\sigma i}$

สำหรับ  $\langle \mu\nu | \lambda\sigma \rangle$  และ  $\langle \mu\lambda | \nu\sigma \rangle$  เป็น integral terms ซึ่งมีค่าดังนี้

$$\langle \mu\nu | \lambda\sigma \rangle = \iint \phi_{\mu}^*(1) \phi_{\nu}(1) \frac{1}{r_{12}} \phi_{\lambda}^*(2) \phi_{\sigma}(2) d\tau_1 d\tau_2 \quad (2.7)$$

$$\langle \mu\lambda | \nu\sigma \rangle = \iint \phi_{\mu}^*(1) \phi_{\lambda}(1) \frac{1}{r_{12}} \phi_{\nu}^*(2) \phi_{\sigma}(2) d\tau_1 d\tau_2 \quad (2.8)$$

#### 2.1.1.5 SCF procedure

พลังงานของอิเล็กตรอน ( $E_{\text{elec}}$ ) คำนวณได้จากสมการของ Roothaan โดยวิธีที่เรียกว่า "Successive procedure" ดังขั้นตอนต่อไปนี้

- (1) C คำนวณได้จาก H
- (2) F คำนวณได้จากสมการ (2.5)
- (3) C คำนวณได้ใหม่จากสมการ (2.4)

ขั้นตอน (2) และ (3) จะถูกคำนวณซ้ำกลับไปมาจนกระทั่งเมทริก F และ C มีค่าไม่เปลี่ยนแปลง ซึ่งพลังงานที่ได้จากการคำนวณจะเป็น  $E_{elec}$  และพลังงานรวมสามารถคำนวณได้ดังนี้

$$E_{total} = E_{elec} + V \quad (2.9)$$

เมื่อ พลังงานศักย์  $V = \sum_{K,L}^N \frac{Z_K Z_L}{r_{KL}}$

#### 2.1.1.6 Basis Function

ความถูกต้องของการคำนวณพลังงานนั้นขึ้นอยู่กับ wave function และความถูกต้องของ wave function ขึ้นกับ basis function ที่ใช้ เพราะการคำนวณโดยวิธี SCF นั้น basis function เป็น function ที่ฐานของอะตอม

โดยทั่วไปเราแบ่ง basis function ออกเป็น 3 ขนาด คือ ขนาดเล็กสุด (minimal basis set) ขนาดขยายใหญ่ (extended basis set) และ ขนาดที่ใช้เฉพาะออร์บิทัลนอกสุด (valence basis set) สำหรับชนิดของ basis function แบ่งออกเป็น 3 ชนิดคือ

(1) STO (Slater-type-orbital) ที่ประกอบด้วย radial part  $(r^{n-1} \exp(-\zeta r))$  และ angular part  $Y_{l,m}(\theta, \phi)$  (17)

(2) GTO (Gaussian-type-orbital) เป็น function ที่คล้ายกับ GTO แต่ radial part เป็น  $\exp(-\zeta r^2)$  (18)

(3) GLO (Gaussian Lobe Orbital) ประกอบด้วย radial part เป็น  $\exp(-\zeta r^2)$  เท่านั้น (19)

ในการเลือกใช้ basis function นั้นขึ้นอยู่กับระบบที่ใช้ในการคำนวณ และ ขนาดของเครื่องคอมพิวเตอร์

### 2.1.2 เงื่อนไขการกำหนดพหุคูณ

การคำนวณที่โดยสังเขปใช้ GLO หรือ minimal basis set ซึ่งมีค่าคงที่ตารางที่ 2.1 ในการคำนวณโดยวิธี ab initio โปรแกรมที่ใช้คำนวณ GLO นี้ได้แก่ โปรแกรม HOMER (20)

เครื่องคอมพิวเตอร์ที่ใช้คำนวณคือ IBM 3091/08 ของศูนย์บริการคอมพิวเตอร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2.1 ค่า exponents สำหรับ GLO basis set ของอะตอม

	H	C	N	O
S1	0.695	8.407	13.080	17.360
S2	-	0.304	0.404	0.608
F1	-	0.033	0.337	0.605

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## 2.2 การทดลอง

สารเคมีที่ใช้ในการทดลองมีดังนี้ N-acetyl-l-histidine ที่เป็น Sigma grade และ  $\text{MnSO}_4$ ,  $\text{CoSO}_4$ ,  $\text{CdSO}_4$ ,  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{CuSO}_4$  และ  $\text{ZnSO}_4$  ที่เป็น analytical grade และ  $\text{KNO}_3$  (AR grade) ถูกใช้เป็น inert background ในการไทเทรต ใช้สารละลายมาตรฐาน 0.1 M HCl และ NaOH (Merck Chemicals) เพื่อปรับค่า pH ของสารละลาย เครื่องมือที่ใช้เป็น automatic potentiometer ของ CRION model EA 906 พร้อมด้วย pH electrode model 81-02 การปรับ pH electrode ให้ถูกต้องโดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐานที่มีค่า pH ต่างกัน 3 ค่า ได้แก่ pH = 4.00 7.00 และ 10.00

การทดลองทำภายใต้อุณหภูมิ  $25 \pm 0.1$  °c และ ระบบสารละลายที่ใช้ในการทดลองมีค่า ionic strength เท่ากับ 0.5 M  $\text{KNO}_3$  และการไทเทรตทำภายใต้บรรยากาศของไนโตรเจนซึ่งอิ่มตัวด้วยไอของสารละลาย 0.5 M  $\text{KNO}_3$  ความเป็นกรดของสารละลายปรับโดย HCl และใช้ 0.1 M NaOH (ใน 0.5 M  $\text{KNO}_3$ ) เป็นตัวปรับเปลี่ยนค่า pH ในการทดลองนั้นปริมาตรของแต่ละสารละลายที่ใช้ในการไทเทรตเท่ากับ  $50 \text{ cm}^3$

การไทเทรตของระบบสารประกอบเชิงซ้อน อัตราส่วนระหว่างจำนวน โมลของ โลหะต่อลิแกนด์เป็นดังนี้

ระบบสารประกอบเชิงซ้อน	อัตราส่วนระหว่างจำนวน โมลของ โลหะต่อลิแกนด์
N-acetyl-l-alanine	1:1 ถึง 1:3
N-acetyl-l-histidine	1:2 ถึง 1:5

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### 2.3 การทำ computer refinement.

ข้อมูลที่ได้อาจการทดลองข้างต้นนำไปใช้ในระบบการ refinement ได้แก่

- (1) จุดศูนย์กลางของการทดลอง
- (2) ปริมาณเริ่มต้นของสารละลายที่ใช้ในการทดลอง
- (3) จำนวนโมลของลิแกนด์ โลหะ และโปรตอน (จากกรดแก่ เช่น HCl)
- (4) ปริมาณของเบส (NaOH) ที่ใช้ในการไทเทรต และ ค่า pH ของน้ด่างการไทเทรต
- (5) ความเข้มข้นของเบส

การทำ refinement จำเป็นต้องใช้ข้อมูลของการไทเทรตที่ได้จากการทดลองหลายครั้ง ซึ่งจำนวนครั้งของการทดลองขึ้นอยู่กับ ตัวแปรที่เป็นค่าคงที่ของการวิเคราะห์ระบบ ข้อมูลจะถูกวิเคราะห์โดยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ MINITAB (21) บนเครื่องคอมพิวเตอร์ IEM 3031/08 ของศูนย์บริการคอมพิวเตอร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



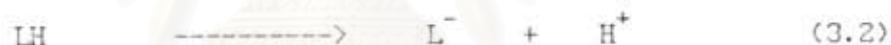
สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ระบบสารประกอบ N-acetyl-l-alanine

## 3.1 ทฤษฎีและการคำนวณทางเคมีควอนตัม

พลังงานการรับโปรตอน และการจ่ายโปรตอน หาได้จากพลังงานรวมของอะตอมหรือโมเลกุลที่เกี่ยวข้อง ซึ่งพลังงานรวมเหล่านี้ได้จากการคำนวณทางเคมีควอนตัมโดยวิธี *ab initio* โดยใช้โปรแกรม HONDO ในการคำนวณครั้งนี้ สำหรับ basis set ที่ใช้เป็นฟังก์ชันของออร์บิทัลนั้นเป็นขนาดเล็ก (minimal) เพราะเนื่องจากสารประกอบ N-acetyl-l-alanine เป็นโมเลกุลค่อนข้างใหญ่

ในการคำนวณพลังงานการรับโปรตอน และการจ่ายโปรตอนคำนวณได้จากพลังงานรวมของอนุภาคที่เกี่ยวข้อง ดังสมการการรับโปรตอน และการจ่ายโปรตอน ซึ่งเกี่ยวข้องกับลิแกนด์ LH ดังนี้



ค่าพลังงานการรับโปรตอน ( $\Delta E_1$ ) หาได้จากพลังงานรวม ( $E_{\text{LH}}$ ) และ พลังงานรวมตัวของ โครงสร้างที่เสถียรที่สุดของสเปซี  $\text{LH}_2^+$  ( $E_{\text{LH}_2^+}$ ) ดังนี้

$$\Delta E_1 = E_{\text{LH}_2^+} - (E_{\text{LH}} + E_{\text{H}^+}) \quad (3.3)$$

เมื่อ  $E_{\text{H}^+}$  เป็นค่าพลังงานรวมของ ไฮโดรเจนไอออน ซึ่งมีค่าเป็นศูนย์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### 3.2 ผลการวิจัยของระบบสารประกอบ N-acetyl-L-alanine

#### 3.2.1 การคำนวณ ab initio

ผลการคำนวณโดยวิธี ab initio โดยใช้ GLO basis set พบว่าพลังงานรวมของสารประกอบ N-acetyl-L-alanine มีค่าเท่ากับ  $-401.153602$  a. u. และค่าไดโพลโมเมนต์ (dipole moment) มีค่าเท่ากับ  $3.168$  D สำหรับโครงสร้างที่เสถียรที่สุดของสารประกอบ N-acetyl-L-alanine และประจุของแต่ละอะตอมซึ่งหาโดยวิธี Mulliken population analysis (22) มีค่าโคออร์ดิเนตและประจุดังตารางที่ 3.1.

ตารางที่ 3.1 แสดงค่าโคออร์ดิเนตและประจุของโครงสร้างที่เสถียรที่สุดของสารประกอบ N-acetyl-L-alanine

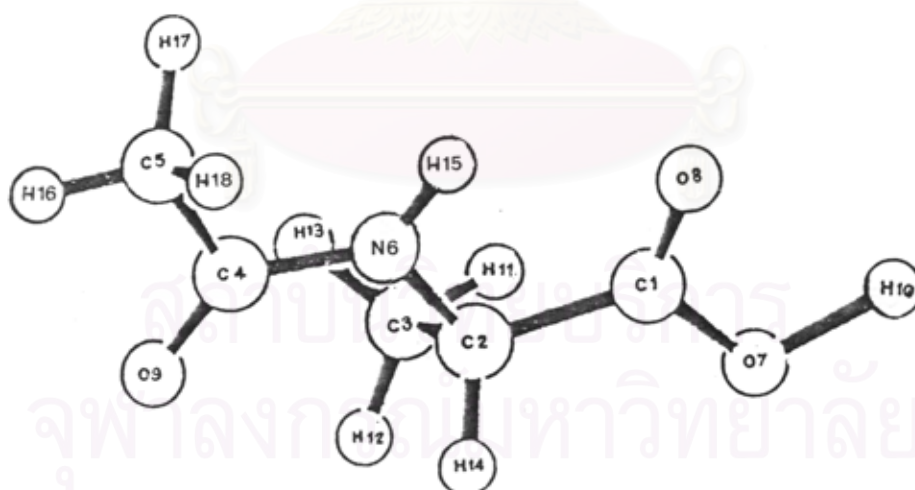
Atom*	โคออร์ดิเนต / Å			ประจุ (a. u.)
	x	y	z	
C1	1.53000	0.00000	0.00000	+0.466
C2	0.00000	0.00000	0.00000	-0.374
C3	-0.51330	1.25740	-0.72600	-0.515
C4	-1.78330	0.00000	1.64980	+0.240
C5	-2.11370	0.00000	3.14370	-0.636
N6	-0.45000	0.00000	1.38590	-0.524
O7	2.05040	0.00000	-1.21418	-0.345
O8	-2.13120	0.00000	1.08450	-0.247
O9	-2.68320	0.00000	0.79670	-0.196
H10	3.06027	0.00000	-1.16655	+0.303
H11	0.33450	1.85100	-1.06850	+0.196
H12	-1.11860	1.85100	-0.04090	+0.226



ต่อมาจากที่ 3.1.

อะตอม*	โคออร์ดิเนต / Å			ประจุ (a.u.)
	x	y	z	
H13	-1.11880	0.96070	-1.58240	+0.222
H14	-0.36330	-0.89000	-0.51380	+0.273
H15	0.21130	0.00000	2.09880	+0.251
H16	-3.19560	0.00000	3.27650	+0.227
H17	-1.69040	0.89000	3.60940	+0.241
H18	-1.69040	-0.89000	3.60940	+0.207

\* สัญลักษณ์ของอะตอมสอดคล้องกับอะตอมในรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 แสดงโมเดลที่สร้างขึ้นโดยโปรแกรม N-acetyl-L-alanine

### 3.2.2 โครงสร้างที่เสถียรที่สุด

โครงสร้างที่เสถียรที่สุดของ โปรตอนที่รวมตัวกับสารประกอบ N-acetyl -l-alanine ตรงตำแหน่งต่างๆของอะตอมที่เป็น electron donor นั้น พบว่าพลังงานการรวมตัวมีค่าดังแสดงไว้ในตารางที่ 3.2.

ตารางที่ 3.2 แสดงคาร์ที่เขียน โคออร์ดิเนต และ พลังงานการรวมตัวกับโปรตอน ตรงตำแหน่งของอะตอม N6, 07, 08 และ 09

ตำแหน่ง อะตอม	โคออร์ดิเนต X / Y / Z	ความยาวพันธะ ไฮโดรเจน(A)	T.E. <sup>(a)</sup> (a.u.)	B.E. <sup>(b)</sup> kcal/mol
N6	-1.14666/1.09095/ 1.96184	1.400	-402.13346	-88.3
07	1.53823/0.00000/-2.18767	1.100	-402.39489	-151.3
08	2.65240/0.00000/ 2.02469	1.075	-402.42169	-168.1
09	-3.46336/0.00000/ 0.05712	1.075	-402.43973	-179.4

<sup>(a)</sup> T.E. = พลังงานรวม <sup>(b)</sup> B.E. = พลังงานรวมตัว

### 3.2.3 พลังงานการจ่ายโปรตอน

พลังงานการจ่ายโปรตอนของ โปรตอนที่เป็นกรดหรือ โปรตอนตรง ตำแหน่ง 07 โดยการคำนวณจากพลังงานรวมของลิแกนด์ที่เป็นประจุลบหนึ่งอิเล็กตรอน ซึ่งไอออนนี้มีพลังงานรวมเท่ากับ -401.25272 a.u. และ ไดโพลโมเมนต์เท่ากับ 6.36 D. จากการคำนวณพบว่าพลังงานการจ่ายโปรตอนมีค่าเท่ากับ 464.1 kcal/mol (สำหรับโคออร์ดิเนตของสารประกอบ N-acetyl-l-alanine ที่จ่ายโปรตอนออกไปหนึ่งตัวนั้นแสดงในตารางที่ 3.3)



ตารางที่ 3.3 แสดงโคออร์ดิเนตของสารประกอบ N-acetyl-l-alanine ที่จ่ายโปรตอนออกหนึ่งตัว

อะตอม*	โคออร์ดิเนต / A			ประจุ (a.u.)
	x	y	z	
C1	1.53000	0.00000	0.00000	+0.568
C2	0.00000	0.00000	0.00000	-0.439
C3	-0.51330	1.25740	-0.72600	-0.501
C4	-1.78330	0.00000	1.64980	+0.255
C5	-2.11370	0.00000	3.14370	-0.654
N6	-0.45000	0.00000	1.38590	-0.503
O7	2.05200	0.00000	-1.08253	-0.542
O8	2.05200	0.00000	1.08253	-0.498
O9	-2.68320	0.00000	0.79670	-0.244
H11	0.33450	1.85100	-1.06850	+0.177
H12	-1.11880	1.85100	-0.04090	+0.172
H13	-1.11880	0.96070	-1.58240	+0.176
H14	-0.36330	-0.89000	-0.51380	+0.222
H15	0.21130	0.00000	2.09880	+0.215
H16	-3.19560	0.00000	3.27650	+0.178
H17	-1.69040	0.89000	3.60940	+0.222
H18	-1.69040	-0.89000	3.60940	+0.190

### 3.2.4 พลังงานรวมของ โปรโตเนตเตตสะปี้ (protonated species)

ผลการคำนวณการเกิดโปรโตเนตเตตสะปี้แบบ **stepwise**

ของสารประกอบ N-acetyl-l-alanine (NAA) พบว่ามีพลังงานรวม และพลังงานรวมตัวกับโปรตรอนมีค่าดังตารางที่ 3.4.

ตารางที่ 3.4 แสดงค่าพลังงานรวมและพลังงานการเกิดโปรโตเนตเตตสะเปีซี แบบ stepwise ของ โปรโตเนตเตตสะเปีซี เนื่องจากสารประกอบ N-acetylalanine (NAA)

สะเปีซีก่อนรวมตัว/ พลังงานรวม(a.u.)	สะเปีซีหลังรวมตัว/ พลังงานรวม(a.u.)	พลังงานรวมกับโปรตอน แบบ stepwise (kcal/mol)
NAA -402.15360	NAA(O9) -402.43973	1 <sup>st</sup> prot. energy -179.4
NAA(O9) -402.43973	NAA(O9)(O8) -402.58441	2 <sup>nd</sup> prot. energy -90.7
NAA(O9)(O8) -402.58441	NAA(O9)(O8)(O7) -402.49356	3 <sup>rd</sup> prot. energy ไม่เสถียร (+57.0)
NAA(O9)(O8)(O7) -402.49356	NAA(O9)(O8)(O7)(N6) -402.01032	4 <sup>th</sup> prot. energy ไม่เสถียร (+303.1)

### 3.2.5 พลังงานรวมของน้ำ

การคำนวณทางเคมีควอนตัมพบว่าพลังงานรวมของน้ำ และไฮโดร-เนียมไอออนที่เสถียรที่สุดโดยวิธีแอบอินซิโอโดยใช้ basis functions ต่างๆมีค่าดังแสดงในตารางที่ 3.5.

ตารางที่ 3.5 แสดง โคออร์ดิเนตของน้ำและไฮโดรเนียมไอออนที่เสถียรที่สุด และพลังงาน  
เกาะติดของโปรตอนโดยใช้ basis functions ต่างๆกัน

ชนิดของ basis set	พลังงานรวม ของน้ำ** (a.u.)	โคออร์ดิเนตของ โปรตอน (A)	ความยาว พันธะไฮโดรเจน (a.u.)	พลังงานรวม ของ $H_3O^+$	B.E. kcal/mol
GLO	-64.52117	0.000/0.000/1.100	1.100	-64.79656	-172.7
DZP	-76.04638	0.000/0.000/0.950	0.950	-76.32136	-172.5
STO	-74.96290	0.000/0.000/1.000	1.000	-75.31812	-222.8

\*\* โคออร์ดิเนตของน้ำเป็นดังนี้ : อะตอมออกซิเจน (0.000/0.000/0.000),  
อะตอมไฮโดรเจนตัวที่หนึ่ง (-1.43013/-1.10693/0.00000) และ  
อะตอมไฮโดรเจนตัวที่สอง ( 1.43013/-1.10693/0.00000)

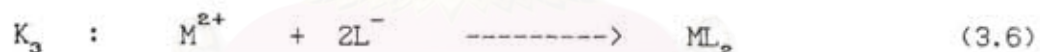
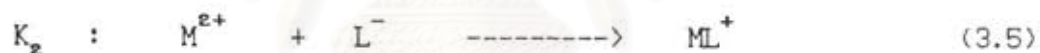
สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### 3.3 ผลการทดลองโดยวิธี potentiometric titration

การทดลองแบ่งเป็น 3 ระบบคือ (1) ระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-alanine เดี่ยวๆ ในสารละลายน้ำ (2) ระบบไอออนของโลหะเดี่ยวๆ และ (3) ระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-alanine กับไอออนของโลหะ

สำหรับข้อมูลที่ได้จากการไทเทรตของระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-alanine เดี่ยวๆ ในสารละลายน้ำ และระบบของ  $M^{2+}$  เดี่ยวๆ สำหรับใช้ในการ refinement เพื่อหาค่าคงที่ของความเสถียร (stability constant) ของ N-acetyl-l-alanine และค่าคงที่ของการไฮโดรไลซิส (hydrolysis constant) ของ  $M^{2+}$

สำหรับค่าคงที่ของการสมดุลที่เกี่ยวข้องกับสปีชีต่างๆถูกกำหนดตั้งสมการข้างล่าง



### 3.3.1 ระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-alanine

ตารางที่ 3.6 ข้อมูลของการไทเทรตที่ใช้ในการ refinement เพื่อหาค่าคงที่ของความเสถียรของ N-acetyl-l-alanine

การไทเทรต	ความเข้มข้นเริ่มต้น (mM)			ช่วง pH	จำนวนข้อมูล
	M(II)	NAA	HCl		
1	-	-	0.990	3.48-11.51	30
2	-	1.381	-	3.12-11.52	31
3	-	1.961	-	3.24-11.50	44

ค่าคงที่ของความเสถียรของ N-acetyl-l-alanine ได้จากการ refinement โดยโปรแกรม MINQUAD ดังแสดงตามตารางที่ 3.7.

ตารางที่ 3.7 แสดงค่าคงที่ของความเสถียรของ N-acetyl-l-alanine

	ค่า log K
$\log K_1$	$-3.52 \pm 0.05$

### 3.3.2 ระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-alanine กับ $Mn^{2+}$

ข้อมูลที่ได้จากการไทเทรตของระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-alanine และ  $Mn^{2+}$  เพื่อใช้ในการ refinement เพื่อหาค่าคงที่ของความเสถียร ของ  $Mn^{2+}$  สารประกอบเชิงซ้อน N-acetyl-l-alanine และค่าคงที่ของการเกิดของสปีซีที่เกี่ยวข้อง

ดังแสดงตามตารางที่ 3.8.

ตารางที่ 3.8 ข้อมูลของการไทเทรตที่ใช้ในการ refinement เพื่อหาค่า คงที่ของ  
 ความเสถียร ของ  $Mn^{2+}$  / สารประกอบเชิงซ้อน N-acetyl-l-alanine

การไทเทรต	ความเข้มข้นเริ่มต้น (mM)			pH range	จำนวนข้อมูล
	Mn(II)	NAA	HCl		
1	1.887	4.973	-	3.02-8.57	54
2	1.367	2.549	-	3.22-8.86	29
3	0.980	2.559	-	3.22-8.04	28

ค่าคงที่ของความเสถียรของ  $Mn^{2+}$  / สารประกอบเชิงซ้อน N-acetyl-l-alanine  
 ที่ได้จากการ refinement โดยโปรแกรม MINQUAD ดังแสดงตามตารางที่ 3.9.

ตารางที่ 3.9 แสดงค่าลอการิทึมของค่าคงที่ของการสมดุล ของสปีซีต่างๆที่เกี่ยวข้องกับ  
 ระบบ N-acetyl-l-alanine กับ  $Mn^{2+}$

	ค่า log K
$\log K_3$	$4.15 \pm 0.03$



### 3.3.3 ระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-alanine กับ $Cd^{2+}$

ข้อมูลที่ได้จากการไทเทรตของระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-alanine และ  $Cd^{2+}$  เพื่อใช้ในการ refinement เพื่อหาค่าคงที่ของความเสถียรของ  $Cd^{2+}$ / สารประกอบเชิงซ้อน N-acetyl-l-alanine และค่าคงที่ของการเกิดของ สะเปซีที่เกี่ยวข้อง ดังแสดงตามตารางที่ 3.10

ตารางที่ 3.10 ข้อมูลของการไทเทรตที่ใช้ในการ refinement เพื่อหาค่าคงที่ของความเสถียร ของ  $Cd^{2+}$ / สารประกอบเชิงซ้อน N-acetyl-l-alanine

การไทเทรต	ความเข้มข้นเริ่มต้น (mM)			ช่วง pH	จำนวนข้อมูล
	Cd(II)	NAA	HCl		
1	1.095	1.952	-	3.06-5.86	23
2	0.974	2.899	-	3.08-5.31	29
3	0.964	3.829	-	3.00-6.96	39
4	0.773	3.837	-	3.00-6.62	39
5	0.955	3.793	-	3.11-8.77	41
6	0.974	1.933	-	3.12-8.91	28

ค่าคงที่ของความเสถียรของ  $Cd^{2+}$ /สารประกอบเชิงซ้อน N-acetyl-l-alanine ที่ได้จากการ refinement โดยโปรแกรม MINQUAD ดังแสดงตามตารางที่ 3.11

ตารางที่ 3.11 แสดงค่าลอการิทึมของค่าคงที่ของการสมดุล ของสเปซี่ต่างๆที่เกี่ยวข้องกับ ระบบ N-acetyl-l-alanine กับ  $\text{Cd}^{2+}$

	ค่า log K
log $K_2$	$2.78 \pm 0.06$

### 3.3.4 ระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-alanine กับ $\text{Ni}^{2+}$

ข้อมูลที่ได้จากการไทเทรตของระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-alanine และ  $\text{Ni}^{2+}$  เพื่อใช้ในการ refinement เพื่อหาค่าคงที่ของความเสถียรของ  $\text{Ni}^{2+}$  / สารประกอบเชิงซ้อน N-acetyl-l-alanine และค่าคงที่ของการเกิดของสเปซี่ที่เกี่ยวข้อง ดังแสดงตามตารางที่ 3.12

ตารางที่ 3.12 ข้อมูลของการไทเทรตที่ใช้ในการ refinement เพื่อหาค่าคงที่ของความเสถียร ของ  $\text{Ni}^{2+}$  / สารประกอบเชิงซ้อน N-acetyl-l-alanine

การไทเทรต	ความเข้มข้นเริ่มต้น (mM)			ช่วง pH	จำนวนข้อมูล
	Ni(II)	NAA	HCl		
1	1.887	4.974	-	3.72-8.36	26
2	1.718	3.773	-	3.12-8.21	40
3	1.354	2.549	-	3.19-8.15	27

ค่าคงที่ของความเสถียรของ  $\text{Ni}^{2+}$  / สารประกอบเชิงซ้อน N-acetyl-l-alanine ที่ได้จากการ refinement โดยโปรแกรม MINQUAD ดังแสดงตามตารางที่ 3.13

ตารางที่ 3.13 แสดงค่าลอการิทึมของค่าคงที่ของการสมดุล ของสเปซีย์ต่างๆที่เกี่ยวข้องกับ ระบบ N-acetyl-l-alanine กับ  $Ni^{2+}$

	ค่า log K
log $K_3$	$3.66 \pm 0.07$

### 3.3.5 ระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-alanine กับ $Cu^{2+}$

ข้อมูลที่ได้จากการไทเทรตของระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-alanine และ  $Cu^{2+}$  เพื่อใช้ในการ refinement เพื่อหาค่าคงที่ของความเสถียร ของ  $Cu^{2+}$  สารประกอบเชิงซ้อน N-acetyl-l-alanine และค่าคงที่ของการเกิดของสเปซีย์ที่เกี่ยวข้อง ดังตารางที่ 3.14

ตารางที่ 3.14 ข้อมูลของการไทเทรตที่ใช้ในการ refinement เพื่อหาค่าคงที่ของความเสถียร ของ  $Cu^{2+}$  / สารประกอบเชิงซ้อน N-acetyl-l-alanine

การไทเทรต	ความเข้มข้นเริ่มต้น (mM)			ช่วง pH	จำนวนข้อมูล
	Cu(II)	NAA	HCl		
	1	1.898	1.898		
2	1.900	1.900	3.071	3.00-4.94	50
3	2.439	2.439	2.507	3.01-4.92	50

ค่าคงที่ของความเสถียรของ  $Cu^{2+}$  / สารประกอบเชิงซ้อน N-acetyl-l-alanine ที่ได้จากการ refinement โดยโปรแกรม MINIQUAD ดังแสดงตามตารางที่ 3.15

ตารางที่ 3.15 แสดงค่าลอการิทึมของค่าคงที่ของการสมดุล ของสเปซิท่างทุกที่เกี่ยวข้องกับระบบ N-acetyl-l-alanine กับ  $\text{Cu}^{2+}$

	ค่า log K
log $K_2$	$1.21 \pm 0.20$
log $K_3$	$4.36 \pm 0.04$

### 3.3.6 ระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-alanine กับ $\text{Zn}^{2+}$

ข้อมูลที่ได้จากการไทเทรตของระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-alanine และ  $\text{Zn}^{2+}$  เพื่อใช้ในการ refinement เพื่อหาค่าคงที่ของความเสถียร ของ  $\text{Zn}^{2+}$  สารประกอบเชิงซ้อน N-acetyl-l-alanine และค่าคงที่ของการเกิดของสเปซิท่างที่เกี่ยวข้อง ดังแสดงตามตารางที่ 3.16

ตารางที่ 3.16 ข้อมูลของการไทเทรตที่ใช้ในการ refinement เพื่อหาค่าคงที่ของความเสถียร ของ  $\text{Zn}^{2+}$  / สารประกอบเชิงซ้อน N-acetyl-l-alanine

การไทเทรต	ความเข้มข้นเริ่มต้น (mM)			ช่วง pH	จำนวนข้อมูล
	Zn(II)	NAA	HCl		
1	1.917	1.923	0.0385	3.73-7.92	13
2	1.881	3.774	0.0377	3.07-7.94	42
3	0.958	2.885	0.0192	3.20-7.99	34
4	0.949	3.809	0.0190	3.14-7.98	43
5	0.761	3.817	0.0153	3.12-7.94	41
6	0.641	3.896	0.0128	3.13-7.92	41

ค่าคงที่ของความเสถียรของสารประกอบเชิงซ้อน  $Zn^{2+}$  / N-acetyl-l-alanine ที่ได้จาก การ refinement โดยโปรแกรม MINQUAD ดังแสดงตามตารางที่ 3.17

ตารางที่ 3.17 แสดงค่าลอการิทึมของค่าคงที่ของการสมดุล ของสเปซี่ต่างๆที่เกี่ยวข้องกับ ระบบสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง N-acetyl-l-alanine กับ  $Zn^{2+}$

	ค่า log K
$\log K_1$	$-3.87 \pm 0.01$
$\log K_3$	$6.12 \pm 0.04$
$\log K_4$	$-8.23 \pm 0.30$
$\log K_6$	$-4.82 \pm 0.10$

#### 3.4 ผลของการวิจัยของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง N-acetyl-l-alanine กับ ไอออนของโลหะต่างๆ

ข้อมูลที่ได้จากการทำการทดลองโดยวิธี potentiometric titration ได้ถูกนำไปใช้ในการ refinement พบว่าค่าคงที่ของความเสถียรของระบบสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง N-acetyl-l-alanine กับไอออนของโลหะตัวอื่นๆ ได้แสดงไว้ในตารางที่ 3.18

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.18 แสดงค่าลอการิทึมของค่าคงที่ของการสมดุล (ในรูปของ  $\log K$ ) ของ สะเปีซีต่างๆที่เกี่ยวข้องกับ ระบบ N-acetyl-L-alanine กับ ไอออนของโลหะต่างๆ ในสารละลาย 0.5 M  $\text{KNO}_3$

ไอออนของโลหะ (M)	$\text{ML}^+$	$\text{ML}_2$
Mn(II)	a	$4.15 \pm 0.03$
Ni(II)	a	$3.66 \pm 0.07$
Cu(II)	$1.21 \pm 0.22$	$4.36 \pm 0.04$
Zn(II)	a	$6.12 \pm 0.04$
Co(II)	$2.78 \pm 0.06$	a

a สะเปีซีซึ่งไม่ถูกตรวจพบ

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการวิจัยของสารประกอบเชิงซ้อน

ระหว่าง N-acetyl-l-histidine กับ ไอออนของโลหะต่างๆ

4.1 ระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-histidine

ข้อมูลการไตเตรทเพื่อหาค่าคงที่ของการเกิดของสารประกอบ N-acetyl-l-histidine ดังแสดงตามตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ข้อมูลของการไตเตรทที่ใช้ในการ refinement เพื่อหาค่าคงที่ของการเกิดของสารประกอบ N-acetyl-l-histidine (NAH)

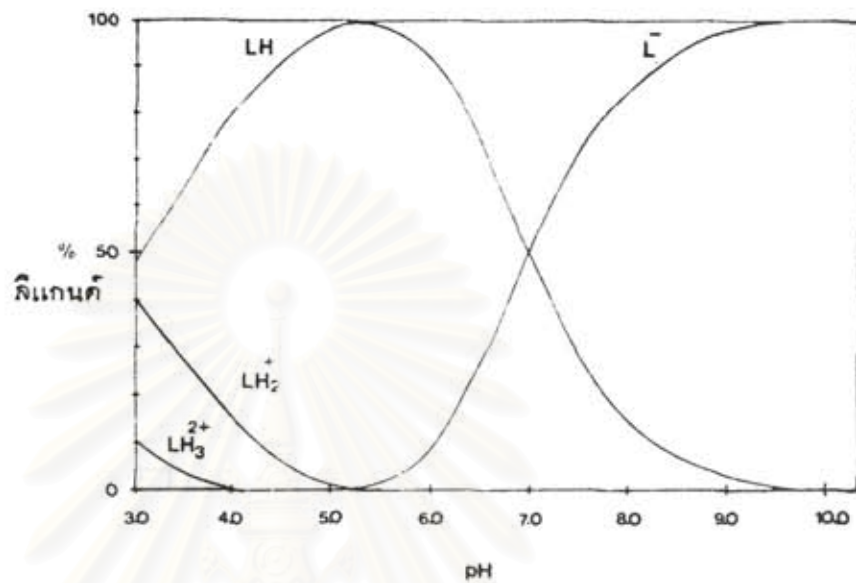
การไทเทรต	ความเข้มข้นเริ่มต้น (mM)		ช่วง pH	จำนวนข้อมูล
	N-AH	HCl		
1	1.773	1.773	5.21-11.05	36
2	3.478	3.477	5.17-11.01	43
3	1.739	3.662	3.05-11.03	54
4	2.608	3.569	3.49-11.02	53

ค่าคงที่ของการเกิดของ N-acetyl-l-histidine ที่ได้จากการ refinement แสดงตามตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 แสดงค่าลอการิทึมของค่าคงที่ของการสมดุล ของสารประกอบ N-acetyl-l-histidine

ค่าคงที่ของการสมดุล	log K
$K_1$ ( $LH \rightleftharpoons L^- + H^+$ )	$-7.19 \pm 0.01$
$K_2$ ( $LH + H^+ \rightleftharpoons LH_2^+$ )	$2.96 \pm 0.04$
$K_3$ ( $LH_2^+ + H^+ \rightleftharpoons LH_3^{2+}$ )	$2.47 \pm 0.11$

การกระจายของสเปซีสของสารละลาย N-acetyl-l-histidine ซึ่งอยู่ในรูปของ L  
 $LH$   $LH_2^+$  และ  $LH_3^{2+}$  ได้แสดงไว้ในรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 การกระจายของสเปซีสต่างๆของสารละลาย N-acetyl-l-histidine  
 เข้มข้น 0.00177 M

สถาบันวิทยบริการ  
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



#### 4.2 ระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-histidine กับ Mn(II)

สำหรับข้อมูลที่ได้จากการไทเทรตของระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-histidine กับ  $Mn^{2+}$  เพื่อใช้ในการ refinement เพื่อหาค่าคงที่ของความเสถียรของ N-acetyl-l-histidine ดังแสดงตามตารางที่ 4.3.

ตารางที่ 4.3 ข้อมูลของการไทเทรตที่ใช้ในการ refinement เพื่อหาค่าคงที่ของความเสถียรของ N-acetyl-l-histidine

การไทเทรต	ความเข้มข้นเริ่มต้น (mM)			ช่วง pH	จำนวนข้อมูล
	Mn(II)	NAH	HCl		
1	1.889	4.973	-	3.02-8.57	54
2	1.367	2.549	-	3.22-8.86	29
3	0.980	2.559	-	3.22-8.04	28

ค่าคงที่ของความเสถียรของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง N-acetyl-l-histidine กับ  $Mn^{2+}$  ได้จากการ refinement โดยโปรแกรม MINQUAD ดังแสดงตามตารางที่ 4.4

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.4 แสดงค่าลอการิทึมของค่าคงที่ของความเสถียรของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง N-acetyl-l-histidine กับ  $Mn^{2+}$

	ค่า log K
log $K_4$	$2.40 \pm 0.07$
log $K_7$	$2.36 \pm 0.07$

หมายเหตุ  $K_4$  และ  $K_7$  เป็นค่าคงที่ของการสมดุลที่แสดงไว้ในเอกสารแนบท้ายชุดที่ 1

#### 4.3 ระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-histidine กับ Co(II)

สำหรับข้อมูลที่ได้จากการไทเทรตของระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-histidine กับ  $Co^{2+}$  เพื่อใช้ในการ refinement เพื่อหาค่าคงที่ของความเสถียรของสารประกอบเชิงซ้อน N-acetyl-l-histidine ดังแสดงตามตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ข้อมูลของการไทเทรตที่ใช้ในการ refinement เพื่อหาค่าคงที่ของความเสถียรของ N-acetyl-l-histidine

การไทเทรต	ความเข้มข้นเริ่มต้น (mM)			ช่วง pH	จำนวนข้อมูล
	Co(II)	NAH	HCl		
1	1.891	3.448	1.967	3.24-8.76	55
2	1.331	3.467	1.978	3.25-8.75	54
3	0.751	3.423	3.676	2.84-8.80	76

ค่าคงที่ของความเสถียรของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง N-acetyl-l-histidine กับ  $\text{Co}^{2+}$  ได้จากการ refinement โดยโปรแกรม MINQUAD ดังแสดงตามตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 ค่าคงที่ของความเสถียรของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง N-acetyl-l-histidine กับ  $\text{Co}^{2+}$

	ค่า log K
$\log K_4$	$2.99 \pm 0.08$
$\log K_7$	$2.81 \pm 0.09$

หมายเหตุ  $K_4$  และ  $K_7$  เป็นค่าคงที่ของการสมดุลที่แสดงไว้ในเอกสารแนบท้ายชุดที่ 1

#### 4.4 ระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-histidine กับ Ni(II)

สำหรับข้อมูลที่ได้จากการไทเทรตของระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-histidine กับ  $\text{Ni}^{2+}$  เพื่อใช้ในการ refinement เพื่อหาค่าคงที่ของความเสถียรของ N-acetyl-l-histidine ดังแสดงตามตารางที่ 4.7.

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.7 ข้อมูลของการไทเทรตที่ใช้ในการ refinement เพื่อหาค่าคงที่ของความเสถียรของ  $\text{Ni}^{2+}$  /N-acetyl-l-histidine

การไทเทรต	ความเข้มข้นเริ่มต้น (mM)			ช่วง pH	จำนวนข้อมูล
	Ni(II)	NAH	HCl		
1	1.858	3.339	1.858	3.21-8.59	55
2	1.486	1.859	1.859	3.26-8.82	55
3	0.734	1.869	1.869	2.84-8.80	55

ค่าคงที่ของความเสถียรของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง N-acetyl-l-histidine กับ  $\text{Ni}^{2+}$  ได้จากการ refinement โดยโปรแกรม MINIQUAD ดังแสดงตามตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 ค่าคงที่ของความเสถียรของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง N-acetyl-l-histidine กับ  $\text{Ni}^{2+}$

ค่า log K

$\log K_4$   $3.25 \pm 0.03$

$\log K_7$   $2.24 \pm 0.07$

หมายเหตุ  $K_4$  และ  $K_7$  เป็นค่าคงที่ของการสมดุลที่แสดงไว้ในเอกสารแนบท้ายชุดที่ 1

## 4.5 ระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-histidine กับ Cu(II)

สำหรับข้อมูลที่ได้จากการไทเทรต (titrations) ของระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-histidine กับ  $\text{Cu}^{2+}$  เพื่อใช้ในการ refinement เพื่อหาค่าคงที่ของความเสถียรของ N-acetyl-l-histidine ดังแสดงตามตารางที่ 4.9.

ตารางที่ 4.9 ข้อมูลของการไทเทรตที่ใช้ในการ refinement เพื่อหาค่าคงที่ของความเสถียรของ  $\text{Cu}^{2+}$  /N-acetyl-l-histidine

การไทเทรต	ความเข้มข้นเริ่มต้น (mM)			ช่วง pH	จำนวนข้อมูล
	Cu(II)	NAH	HCl		
1	1.858	3.339	1.858	3.21-8.59	55
2	1.486	1.859	1.859	3.26-8.82	55
3	0.734	1.869	1.869	2.84-8.80	55

ค่าคงที่ของความเสถียรของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง N-acetyl-l-histidine กับ  $\text{Cu}^{2+}$  ได้จากการ refinement โดยโปรแกรม MINQUAD ดังแสดงตามตารางที่ 4.10

ตารางที่ 4.10 แสดงค่าลอการิทึมของค่าคงที่ของความเสถียรของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง N-acetyl-l-histidine กับ  $\text{Cu}^{2+}$

	ค่า log K
$\log K_4$	$3.25 \pm 0.03$
$\log K_7$	$2.24 \pm 0.07$

หมายเหตุ  $K_4$  และ  $K_7$  เป็นค่าคงที่ของการสมดุลที่แสดงไว้ในเอกสารแนบท้ายชุดที่ 1

#### 4.6 ระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-histidine กับ Zn(II)

สำหรับข้อมูลที่ได้จากการไทเทรตของระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-histidine กับ  $Zn^{2+}$  เพื่อใช้ในการ refinement เพื่อหาค่าคงที่ของความเสถียรของ N-acetyl-l-histidine ดังแสดงตามตารางที่ 4.11

ตารางที่ 4.11 ข้อมูลของการไทเทรตที่ใช้ในการ refinement เพื่อหาค่าคงที่ของความเสถียรของสารประกอบเชิงซ้อน  $Zn^{2+}$  / N-acetyl-l-histidine

การไทเทรต	ความเข้มข้นเริ่มต้น (mM)			ช่วง pH	จำนวนข้อมูล
	Zn(II)	NAH	HCl		
1	1.852	3.333	1.852	3.20-8.01	58
2	1.488	3.360	1.859	3.20-7.99	54
3	0.934	3.480	1.869	3.22-8.18	58
4	0.749	3.487	1.988	3.24-8.14	54

ค่าคงที่ของความเสถียรของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง N-acetyl-l-histidine กับ  $Zn^{2+}$  ได้จากการ refinement โดยโปรแกรม MINQUAD ดังแสดงตามตารางที่ 4.12

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.12 แสดงค่าลอการิทึมของค่าคงที่ของความเสถียรของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง N-acetyl-1-histidine กับ  $Zn^{2+}$

	ค่า log K
$\log K_4$	$3.01 \pm 0.04$
$\log K_6$	$-5.70 \pm 0.04$
$\log K_7$	$2.52 \pm 0.06$

หมายเหตุ  $K_4$   $K_6$  และ  $K_7$  เป็นค่าคงที่ของการสมดุลที่แสดงไว้ในเอกสารแนบท้ายชุดที่ 1

สำหรับการกระจายของสเปซของสารละลายของระบบสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง N-acetyl-1-histidine กับ ไอออนของโลหะที่ได้ทำการทดลองข้างต้นนั้น ได้แสดงไว้ในเอกสารแนบท้ายชุดที่ 1

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-lysine

ข้อมูลการไทเทรตเพื่อหาค่าคงที่ของการเกิดของสารประกอบ N-acetyl-l-lysine ดังแสดงตามตารางที่ 5.1

ตารางที่ 5.1 ข้อมูลของการไทเทรตที่ใช้ในการ refinement เพื่อหาค่าคงที่ของการสมดุลของสารประกอบ N-acetyl-l-lysine (NAL)

การไทเทรต	ความเข้มข้นเริ่มต้น (mM)		ช่วง pH	จำนวนข้อมูล
	NAL	HCl		
1	0.971	1.942	2.78-11.00	53
2	1.923	1.923	2.86-11.08	54
3	2.857	1.905	2.93-11.00	73

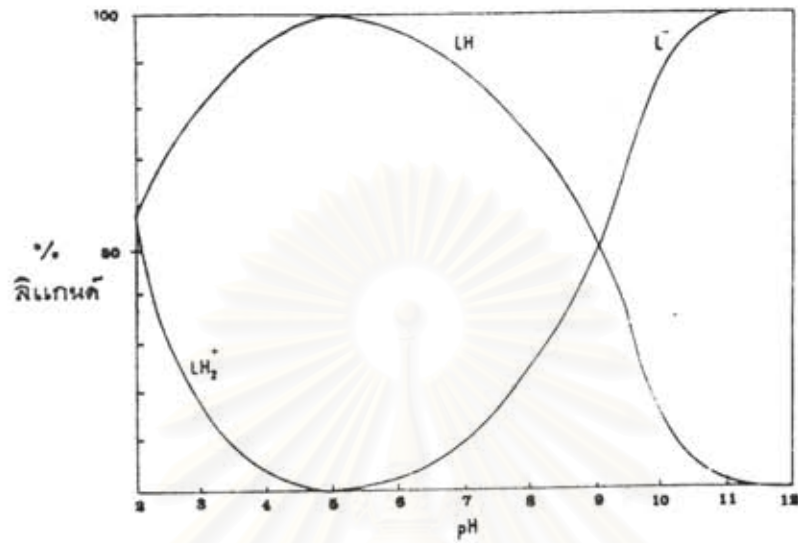
ค่าคงที่ของการสมดุลของ N-acetyl-l-lysine ที่ได้จากการ refinement แสดงตามตารางที่ 5.2

ตารางที่ 5.2 แสดงค่าลอการิทึมของค่าคงที่ของการสมดุลของ N-acetyl-l-lysine

ค่าคงที่ของการสมดุล	log K
$K_1$ ( $LH \rightleftharpoons L^- + H^+$ )	$-9.11 \pm 0.03$
$K_2$ ( $LH + H^+ \rightleftharpoons LH_2^+$ )	$2.37 \pm 0.009$



การกระจายของสปีซีของสารละลาย N-acetyl-l-lysine ซึ่งอยู่ในรูปของ  $L^-$  LH และ  $LH_2^+$  ได้แสดงไว้ในรูปที่ 5.1



รูปที่ 5.1 การกระจายของสปีซีต่างๆของสารละลาย N-acetyl-l-lysine  
เข้มข้น 0.000971 M

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ระบบของสารประกอบ N-acetyl-l-valine

ข้อมูลการไทเทรตเพื่อหาค่าคงที่ของการเกิดของสารประกอบ N-acetyl-l-valine ดังแสดงตามตารางที่ 6.1

ตารางที่ 6.1 ข้อมูลของการไทเทรตที่ใช้ในการ refinement เพื่อหาค่าคงที่ของการสมดุลสารประกอบ N-acetyl-l-valine (NAV)

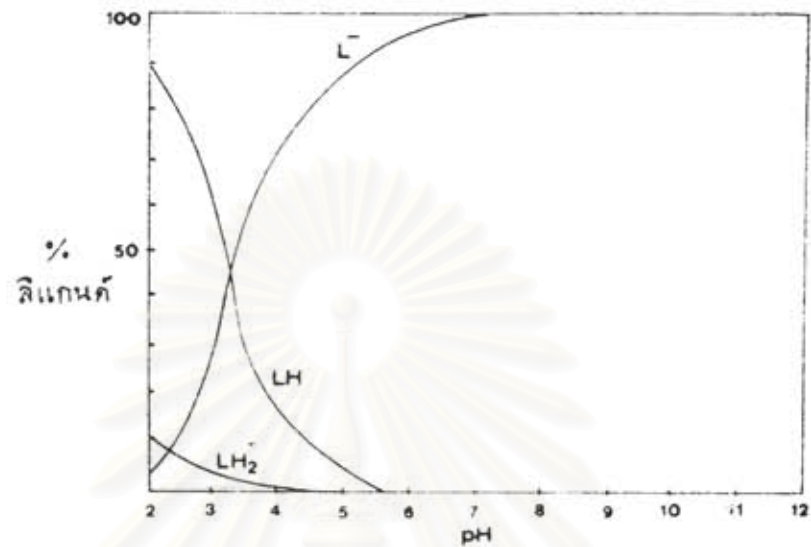
การไทเทรต	ความเข้มข้นเริ่มต้น (mM)		ช่วง pH	จำนวนข้อมูล
	NAV	HCl		
1	0.970	1.941	2.75-11.02	45
2	1.923	1.923	2.70-11.00	55
3	2.857	1.905	2.67-11.02	55

ค่าคงที่ของการสมดุล N-acetyl-l-valine ที่ได้จากการ refinement แสดงตามตารางที่ 6.2

ตารางที่ 6.2 แสดงค่าคงที่ของการสมดุล N-acetyl-l-valine

ค่าคงที่ของการสมดุล	log K
$K_1$ ( $LH \rightleftharpoons L^- + H^+$ )	$-3.35 \pm 0.02$
$K_2$ ( $LH + H^+ \rightleftharpoons LH_2^+$ )	$2.02 \pm 0.06$
$K_w$	$-13.75 \pm 0.05$

การกระจายของสปีซีของสารละลาย N-acetyl-l-valine ซึ่งอยู่ในรูปของ  $L^-$  LH และ  $LH_2^+$  ได้แสดงไว้ในรูปที่ 6.1



รูปที่ 6.1 การกระจายของสปีซีต่างๆของสารละลาย N-acetyl-l-valine  
เข้มข้น 0.000970 M

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### 7.1. ระบบสารประกอบ N-acetyl-l-alanine

การคำนวณทางเคมีควอนตัมโดยวิธีแอบอินซิโอบายใต้ minimal GLO basis function พบว่าพลังงานรวมของสารประกอบ N-acetyl-l-alanine ในสถานะที่เป็นก๊าซ มีความเสถียรมากที่สุดที่พลังงานเท่ากับ  $-401.153602$  a.u. และ ค่าไดโพลโมเมนต์เท่ากับ  $3.168$  D ออกซิเจนตรงตำแหน่ง O9 เป็นตำแหน่งที่เกาะติดของโปรตอนที่เสถียรที่สุด ซึ่งมีพลังงานเสถียรของการรวมตัวเท่ากับ  $-179.4$  kcal/mol สำหรับการคำนวณพลังงานการเกาะติดของโปรตอนตัวที่สอง (second protonation energy) พบว่ามีค่าเท่ากับ  $-90.7$  kcal/mol แต่การเกาะติดของโปรตอนตัวที่สามและสี่ไม่สามารถเกิดขึ้นได้แม้แต่ในสถานะที่เป็นก๊าซ หากพิจารณาการเกาะติดของโปรตอนบนโมเลกุลของ N-acetyl-l-alanine ในสารละลายที่มีน้ำเป็นตัวทำละลาย พบว่าพลังงานการเกาะติดของโปรตอนบนโมเลกุลของ N-acetyl-l-alanine ตรงตำแหน่ง O9 มีค่าพอๆกับพลังงานการเกาะติดของโปรตอนบนโมเลกุลของน้ำซึ่งมีพลังงานเท่ากับ  $-172.7$  kcal/mol จึงสรุปได้ว่าความเสถียรการรวมตัวของโปรตอนบนโมเลกุลของ N-acetyl-l-alanine มีค่าน้อยมากหรืออาจไม่เกิดขึ้นเลย

ผลที่ได้จากการทดลองโดยวิธี potentiometric titration พบว่าสารประกอบ N-acetyl-l-alanine ไม่รวมตัวกับโปรตอน แต่จะแตกตัวให้โปรตอนหนึ่งตัว โดยมีค่าความเป็นกรด  $\log K_a = -3.52$

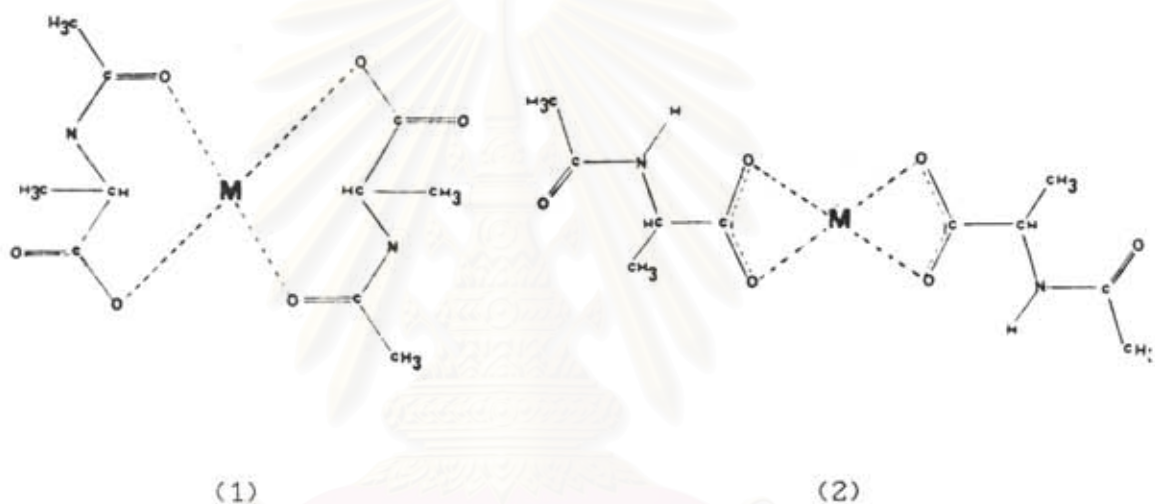
สารประกอบเชิงซ้อนของ Zn(II) การรวมตัวเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างสารประกอบ N-acetyl-l-alanine กับ  $Zn^{2+}$  พบว่าเกิดสะเปีชี  $ZnL_2$  มีความเสถียรสูงสุด ( $\log K = 6.12$ ) และ  $ZnL^+$  มีความเสถียรรองลงมา โดยจะเกิดสะเปีชี  $ZnL(OH)$  และ  $Zn(OH)^+$  เมื่อสารละลายเป็นเบส

การประกอบเชิงซ้อนของ Mn(II) และ Ni(II) สารประกอบเชิงซ้อนระหว่างสารประกอบ N-acetyl-l-alanine กับ  $Mn^{2+}$  และ  $Ni^{2+}$  เกิดขึ้นได้เฉพาะสะเปีชี  $ML_2$  โดยมีค่า  $\log k(MnL_2) = 4.15$  และ  $\log K(NiL_2) = 3.66$  สังเกตได้ว่าอัตราส่วนไอออนของโลหะต่อลิแกนด์เท่ากับ 1:2 ซึ่งเกิดขึ้นกับสารประกอบเชิงซ้อน โดยทั่วไป

สารประกอบเชิงซ้อนของ Cu(II) พบว่า  $CuL_2$  เป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่เสถียรที่สุดโดยมีค่า  $\log K = 4.36$  และ ที่ pH สูงๆพบว่าเกิดสเปซี่  $CuL^+$  อีกด้วย

สารประกอบเชิงซ้อนของ Co(II) สำหรับสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างสารประกอบ N-acetyl-l-alanine กับ  $Co^{2+}$  พบว่าเกิดสเปซี่  $CoL^+$  เพียงอย่างเดียว โดยที่ค่า  $\log K = 2.78$

โครงสร้างที่เป็นไปได้มากที่สุดของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างสารประกอบ N-acetyl-l-alanine กับ ไอออนของโลหะ ที่อยู่ในรูปของ  $ML_2$  เป็นดังนี้

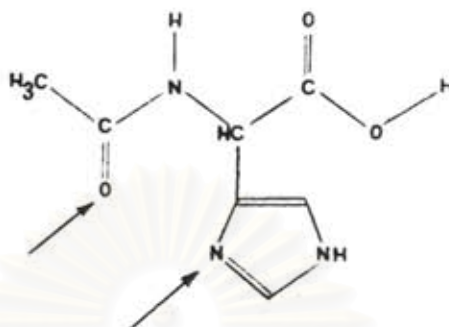


โครงสร้างของสารประกอบเชิงซ้อนจะเป็นแบบที่ (1) หรือ แบบที่ (2) นั้นขึ้นอยู่กับขนาดไอออนของโลหะ ถ้าหากไอออนของโลหะมีขนาดใหญ่ก็มักจะเกิดเป็นโครงสร้างแบบที่ (1)

## 7.2 ระบบสารประกอบ N-acetyl-l-histidine

สารประกอบ N-acetyl-l-histidine สามารถแตกตัวให้โปรตอนได้หนึ่งตัวโดยมีค่า  $\log K_a = -7.19$  ในสารละลายที่เป็นกรดพบว่าโปรตอนสามารถรวมตัวกับสารประกอบ N-acetyl-l-histidine ได้สองตัว ความเสถียรของการรวมตัวของโปรตอนตัวแรกและตัวที่สองจะพอกัน โดยที่ค่าความเสถียรของการรวมตัวของโปรตอนตัวแรกและตัวที่สองมีค่า  $\log K_b$  เท่ากับ 2.96 และ 2.47 ตามลำดับ ตำแหน่งอะตอม

บนสารประกอบ N-acetyl-l-histidine ที่เกิดพันธะไฮโดรเจนกับโปรตอนเป็นดังรูป  
ข้างล่าง



ลิแกนด์ที่ยังคงสภาพของโมเลกุลของ N-acetyl-l-histidine เกิดขึ้น  
ได้มากในช่วง pH 4 ถึง 6 และจะแตกตัวเป็น  $L^-$  ที่ pH มากกว่า 10 สำหรับสเปซีย์  
 $LH_2^+$  และ  $LH_3^{2+}$  เกิดขึ้นในสภาพของสารละลายที่เป็นกรด หรือ pH น้อยกว่า 6

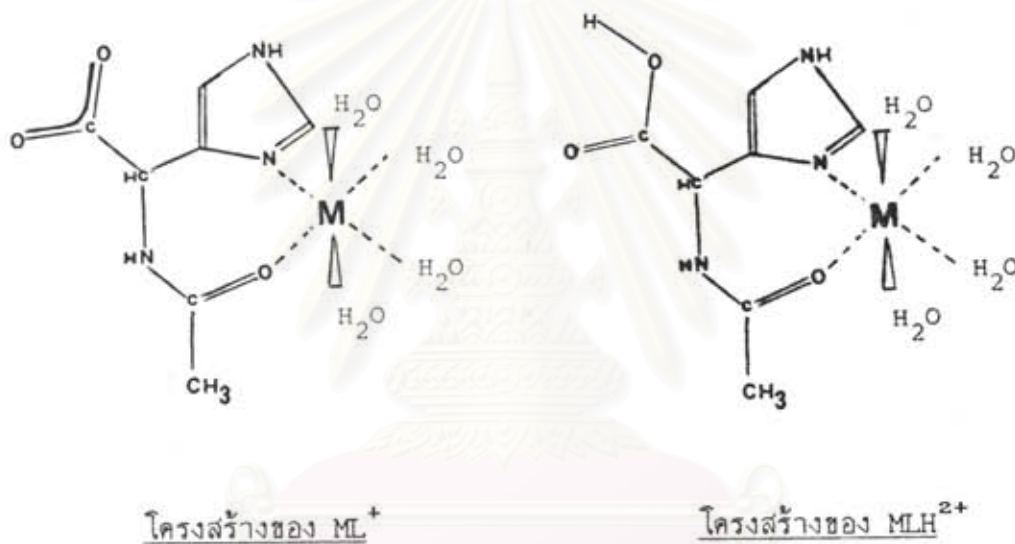
สารประกอบเชิงซ้อนระหว่างสารประกอบ N-acetyl-l-histidine กับ  
ไอออนของโลหะซึ่งได้แก่  $Mn^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  และ  $Zn^{2+}$  พบว่าเกิดอยู่ในรูป  
 $ML^+$  และ  $MLH^{2+}$  ได้ทุกตัว โดยที่สารประกอบเชิงซ้อน  $CuL^+$  จะเสถียรที่สุด และสเปซีย์  
 $ML^+$  เกิดขึ้นได้ในสารละลายที่ pH มากกว่า 4.5 ยกเว้น  $CuL^+$  เกิดขึ้นได้ที่ pH  
มากกว่า 3 สำหรับสเปซีย์  $MLH^{2+}$  ของสารประกอบเชิงซ้อนของแต่ละโลหะ จะเกิดขึ้น  
ได้มากในช่วง pH ที่แสดงไว้ในตารางข้างล่าง

ไอออนของโลหะ	ช่วง pH
$Mn^{2+}$	3 ถึง 7
$Co^{2+}$	3 ถึง 7
$Ni^{2+}$	3 ถึง 6
$Cu^{2+}$	3 ถึง 5
$Zn^{2+}$	3 ถึง 7

สารประกอบเชิงซ้อนของ  $\text{Cu}^{2+}$  เกิดขึ้นได้อีกสองสปีซี ได้แก่  $\text{CuL}_2$  และ  $\text{CuL}(\text{OH})$  ซึ่งเกิดขึ้นที่ pH มากกว่า 5 ทั้งคู่ และที่ pH สูงๆ พบว่าสปีซี  $\text{CuL}(\text{OH})$  เกิดขึ้นได้มากที่สุด

สำหรับระบบสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างสารประกอบ N-acetyl-l-alanine กับ  $\text{Zn}^{2+}$  จะเกิดสปีซี  $\text{ZnL}(\text{OH})$  ได้เช่นกัน โดยเกิดขึ้นที่ pH มากกว่า 7 อย่างไรก็ตาม ไอออนของโลหะทุกตัวจะเกิดไฮโดรไลซิสได้ และที่ pH สูงๆ จะเกิดสปีซี  $\text{M}(\text{OH})^+$  และจะเกิดเป็นตะกอน  $\text{M}(\text{OH})_2$  ที่ pH สูงมากๆ

โครงสร้างของสารประกอบเชิงซ้อนที่เป็นไปได้มากที่สุดของสปีซี  $\text{ML}^+$  และ  $\text{MLH}^{2+}$  เป็นไปได้ดังนี้

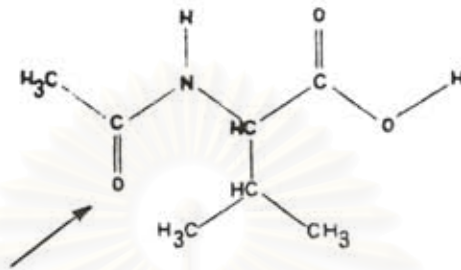


### 7.3 ระบบสารประกอบ N-acetyl-l-lysine และ N-acetyl-l-valine

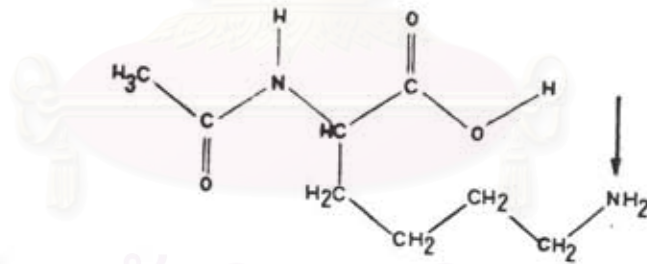
การวิจัยพบว่าสารประกอบ N-acetyl-l-lysine และ N-acetyl-l-valine แยกตัวให้โปรตอนหนึ่งตัว และสามารถรวมกับโปรตอนหนึ่งตัวได้ทั้งคู่ และพบว่าค่าคงที่ความเป็นกรดของสารประกอบ N-acetyl-l-lysine และ N-acetyl-l-valine มีค่า  $\log K_a$  เท่ากับ  $-9.11$  และ  $-3.35$  ตามลำดับ สรุปได้ว่าสารประกอบ N-acetyl-l-lysine มีความเป็นกรดน้อยกว่า N-acetyl-l-valine สำหรับค่าคงที่การรวมตัวของโปรตอนบนโมเลกุลของสารประกอบ N-acetyl-l-lysine และ N-acetyl-l-valine มีค่า  $\log K_b$  เท่ากับ  $2.37$  และ  $2.02$  ตามลำดับ ตำแหน่ง

ขอสงวนลิขสิทธิ์ในกรณีที่เกิดข้อสงสัย โปรดแจ้งเจ้าหน้าที่บริหาร  
ศูนย์วิจัยและพัฒนา

ศูนย์วิจัยและพัฒนา



โครงสร้างของ N-acetyl-L-lysine



โครงสร้างของ N-acetyl-L-valine

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

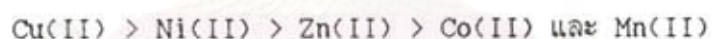


#### 7.4 การไฮโดรไลซิสของไอออนของโลหะในน้ำ

ค่าคงที่ของการไฮโดรไลซิสไอออนของโลหะในน้ำ ได้จากการทำ refinement พร้อมกันกับการหาค่าคงที่ของการแตกตัวของน้ำ  $K_w$  ซึ่ง  $\log K_w$  พบว่ามีค่าเท่ากับ 13.68 (23) ค่าคงที่ของการไฮโดรไลซิส (hydrolysis constant) ของโลหะดังกล่าวเป็นดังนี้

$M^{2+}$	$\log K_{\text{hydrolysis}} (M^{2+} + H_2O \rightleftharpoons M(OH)^+ + H^+)$
$Mn^{2+}$	$-9.53 \pm 0.08$
$Co^{2+}$	$-9.54 \pm 0.12$
$Ni^{2+}$	$-8.50 \pm 0.05$
$Cu^{2+}$	$-7.20 \pm 0.21$
$Zn^{2+}$	$-8.70 \pm 0.06$

ผลการวิจัยข้างบน พบว่าขนาดของค่าคงที่ไฮโดรไลซิสสอดคล้องกับลำดับความแข็งแรงของโลหะในเอกสารหมายเลข (11,24) ดังนี้



#### 7.5 งานที่คาดว่าจะทำต่อไป

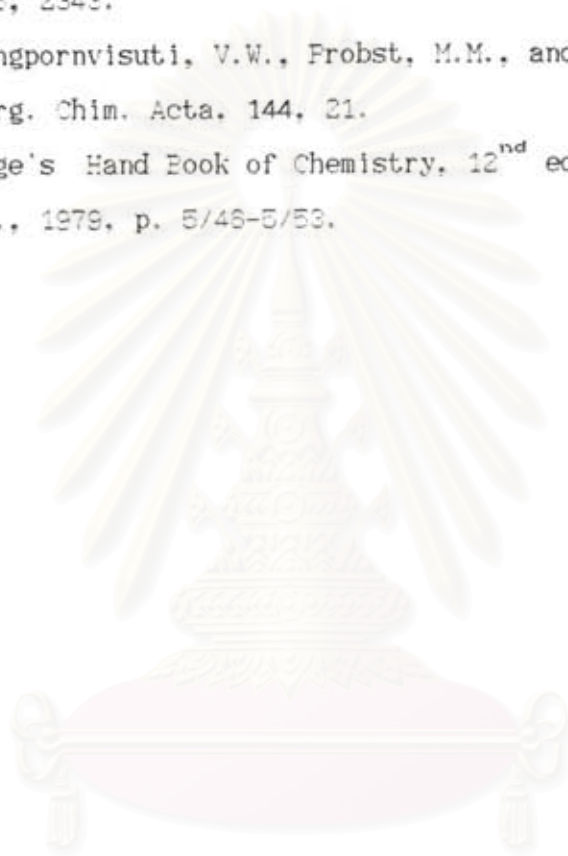
การศึกษาความสัมพันธ์สารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง N-acetyl-l-lysine และ N-acetyl-l-valine กับ ไอออนของโลหะ ซึ่งได้แก่  $Mn^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  และ  $Zn^{2+}$  จะเป็นงานวิจัยที่จะทำต่อไป



References:

- (1) Kittl, W.S. and Rode, B.M. (1981) Complex Formation of Ion with Aliphatic Dipeptides , Inor. Chim. Acta, 55, 21.
- (2) Kaneda, A. and Martell, A.E. (1975) , J. Coord., 4, 137.
- (3) Nagypal, I. and Gergely, A. (1977) Stability of Dipeptides-Metal ions Complexes , J. Chem. Soc., Dalton Trans., 55, 21.
- (4) Koltun, W.L. and Gurd, F.R.N. (1960) , J. Am. Chem. Soc., 82, 233.
- (5) Broodes, G. and Petti, L.D. (1975), J. Chem. Soc., Dalton Trans., 2106.
- (6) Kittl, W.S. and Rode, B.M. (1983) Complex Formation of Aliphatic Dipeptides with Zinc(II) and Manganese(II) , J. Chem. Soc., Dalton Trans., 63, 47.
- (7) Kittl, W.S. and Rode, B.M. (1982) Complex Formation of Nickel Ion with Aliphatic Dipeptides , Inorg. Chim. Acta, 63, 105.
- (8) Feige, P., Mocker, D., Dreyer, R., and Munze, R. (1973) , Inorg. Nucl. Chem., 35, 3369.
- (9) Stumpf, C. (1976) , Outlines of Biochemistry, 4<sup>th</sup> ed., Ch. 4, Willy & Son.
- (10) Lentini, A., et al (1987). Biol. Chem. Hoppe-Seyler, 368, 349.
- (11) Hay, R.W. (1987). Bio-Inorganic Chemistry, Ellis Horwood Ltd..
- (12) Bell, C.F. (1977). Principles and Applications of Metal Chelation, Ch. 2, Oxford Univ. Press.
- (13) Eorn, M., and Oppenheimer, J.R. (1927), Ann. Physik. 84, 487.
- (14) Slater, J.C. (1929), Phys. Rev., 34, 1293.
- (15) Hartree, D.R. (1928). Proc. Cambridge Phil. Soc., 24, 89.
- (16) Fock, V. (1930), Z. Physik, 61, 126.
- (17) Roothaan, C.C.J. (1951), Rev. Mod. Phys., 23, 69.; Roothaan, C.C.R. (1960), ibid, 32, 179.
- (18) Slater, J.C. (1936), Phys. Rev., 36, 57.

- (19) Ahlrichs, R. (1974) Ab Initio MO-SCF Calculations, Theoret. Chim. Acta Berlin, 33, 157.
- (20) FORTRAN Programme, Chemistry Department, Indiana University, Bloomington, Indiana 47405, USA.
- (21) Sabatini, A., Vacca, A., and Gans, P. (1974), Talanta, 21, 53.
- (22) Milliken, R.S. (1955), J. Chem. Phys., 23, 1833, 1842, 2338, 2343.
- (23) Ruangpornvisuti, V.W., Probst, M.M., and Rode, B.M. (1988), Inorg. Chim. Acta, 144, 21.
- (24) Lange's Hand Book of Chemistry, 12<sup>nd</sup> ed., McGraw Hill, N.Y., 1979, p. 5/46-5/53.



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## Basicity of N-Acetyl-l-Histidine and Stability of Its Complexes with Divalent Metal Ions

Vithaya W. Ruangpornvisuti

Department of Chemistry, Faculty of Science,  
Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand 10330

### Abstract

Formation constants for proton-related species of N-acetyl-l-histidine and stability constants for its complexes with Mn(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) and Zn(II) have been determined by potentiometric titration. Analysis of complex equilibria have been carried out below  $\text{pH} \sim 8.6$ .

### Introduction

Many of dipeptide compounds and their complexes with various metal ions (1-8) have been widely studied by various methods. We have found that most dipeptide complexes with divalent metal ions have been unstable as the form  $\text{ML}$  (if  $\text{LH}_2$  denotes dipeptide compound). It means that only one proton of dipeptide should depart from the  $\text{LH}^-$ . In general, we know that dipeptide or polypeptide present in form of zwitterionic species in aqueous solution and involve with one deprotonation and one protonation equilibria (1,8); the amino terminal (N-terminal) of amino acid can be protonated and on the other hand, its acid proton can be loosen strongly. However, peptide bond-forming nitrogen of dipeptide or polypeptide compounds (9) usually is too weak to be protonated.

As the N-acetyl-l-histidine is a bioactive compound, the stability of its complexes with those essential trace-elements could give much useful information to comprehend the biological mechanism. A study of non-amino terminal containing peptide

such as N-acetyl-l-histidine and its complexes with Mn(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) and Zn(II), is, therefore, an interesting work.

### Experimental

Chemicals used in the experiments are listed as follows. N-acetyl-l-histidine of Sigma grade and  $\text{MnSO}_4$ ,  $\text{CoSO}_4$ ,  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{CuSO}_4$  and  $\text{ZnSO}_4$  of analytical grade were used. Potassium nitrate (AR grade) was applied as the inert background solution. In the titration, the standard solutions of 0.1 M HCl and NaOH (Merck Chemicals) were used to adjust the pH of solution.

Measurements : An automatic potentiometer of ORION model EA 906 including combination pH electrode model 81-02 was performed. The pH electrode was calibrated by three standard pH buffers. Accuracy of the instrument was indicated by the slope value based on the isopotential point of  $\text{pH } 7.00 = 0.0 \text{ mV}$ , exceeding 99 %. Instrument disperser of the automatic potentiometer has been adjusted during experimental period of twenty titrations by deionized water.

All measurements of potentiometric titrations were carried out at  $25.0 \pm 0.1^\circ \text{C}$  and ionic strength of 0.5 M  $\text{KNO}_3$ . The acidity of the solution was adjusted by hydrochloric acid and the pH of the system solution was increasingly varied by 0.1 M sodium hydroxide (in 0.5 M  $\text{KNO}_3$ ). The initial volume of each titration was  $50 \text{ cm}^3$ . The titrations were performed under nitrogen atmosphere by flowing nitrogen gas, saturated by potassium nitrate vapour, through the titration chamber.

For the observations of alone N-acetyl-l-histidine ligand, three titrations were recorded within pH range  $\sim 3$  to 11 and five titrations of N-acetyl-l-histidine complexes were within  $\text{pH} \sim 3$  to 8.6 according to the precipitation of metal hydroxide.

In the titrations of complex system, the metal to ligand ratio was varied from 1:2 to 1:5. The initial concentration of

metal and ligand used in the experiments were below 0.004 M. At least 50 data points of each titration were obtained to be used in the process of computer refinements; sodium hydroxide titrant was added 0.05 cm<sup>3</sup> for each record.

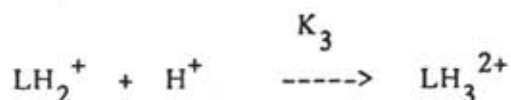
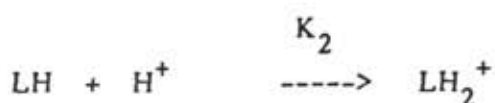
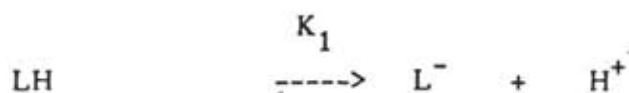
### Computer refinements

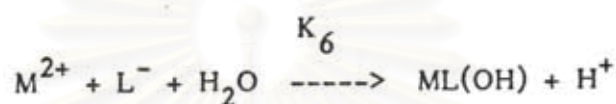
Dissociation and protonation constants of N-acetyl-l-histidine were obtained together with the dissociation constant of water ( $K_w$ ) by simultaneous optimization using MINQUID computer programme (10). Formation constants of N-acetyl-l-histidine are shown in Table I and dissociation constant of water refined from optimizing process is a reasonable value of  $\log K_w = 13.68$  (11).

Stability constants of complex species, obtained from the computer refinement are shown in Table II. These stability constants were optimized together with the previously obtained formation constants of ligand alone. Metal monohydroxide species,  $M(OH)^+$ , and  $K_w$  were also included in the optimizing process in order to precisely obtain the stability constants of the complex system.

### Results and discussion

Model of the equilibria concerning with the N-acetyl-l-histidine (LH) ligand and its complexes are listed below.





The most preferable model of N-acetyl-l-histidine complexes with various metal ions, obtained from the optimizing process of the computer refinement are shown as follows.

$M^{2+}$ /N-acetyl-l-histidine	present species
Mn <sup>2+</sup>	MnL <sup>+</sup> and MnLH <sup>2+</sup>
Co <sup>2+</sup>	CoL <sup>+</sup> and CoLH <sup>2+</sup>
Ni <sup>2+</sup>	NiL <sup>+</sup> and NiLH <sup>2+</sup>
Cu <sup>2+</sup>	CuL <sup>+</sup> , CuLH <sup>2+</sup> , CuL <sub>2</sub> and CuL(OH)
Zn <sup>2+</sup>	ZnL <sup>+</sup> , ZnLH <sup>2+</sup> and ZnL(OH)

Species distribution of N-acetyl-l-histidine, calculated according to its formation constants, is shown in Fig.1. Species domination of N-acetyl-l-histidine depending reasonably on the pH of the solution are in the sequence of  $LH_3^{2+} < LH_2^{+} < LH < L^{-}$  as increasing of the pH.

The stability constants of the N-acetyl-l-histidine



complexes with Mn(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) and Zn(II), which correspond to the equations are given in Table II. It remarks that in the complex system of N-acetyl-l-histidine with Mn(II), Co(II) and Ni(II), the species  $ML^+$  and  $ML_2$  can survive within the pH range of 3 to 8.6.

The species distribution of various complex systems, plotted according to data obtained from the evaluated formation constants are shown in Fig. 2. The similar distribution of  $ML^+$  and  $MLH^{2+}$  were observed as showing in Fig. 2(a), 2(b), and 2(c). The species  $MLH^{2+}$  dominantly exist in acidic range (maximum peak at  $pH \sim 5$ ) and  $ML$  in basic range of the maximum peak at  $pH \sim 8.2$ .

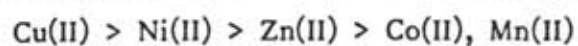
For Cu(II)/N-acetyl-l-histidine complex system,  $CuL^+$  and  $CuLH^{2+}$  not only exist in such a solution but  $CuL_2$  and  $CuL(OH)$  are surviving as well. The species distribution of complex species (Fig. 2(d)) shows that  $CuLH^+$  dominates in the acidic solution (maximum population located at  $pH \sim 4$ ) and  $CuL^+$  is within the pH range of 5.0 to 7.0.

In case of Zn(II)/N-acetyl-l-histidine complex system,  $ZnLH^{2+}$  numerously appears within the pH range of 4 to 6 and  $ZnL^+$  above the pH 5 (maximum peak  $\sim pH$  8). Species  $ZnL(OH)$  is existing above the pH 7 (see Fig. 2(c)).

Hydrolysis constants of various metal ions involving with the complex formations, obtained from the simultaneous optimizing process are tabulated below.

$M^{2+}$	$\log K_{\text{hydrolysis}} ( M^{2+} + H_2O \rightarrow M(OH)^+ + H^+ )$
Mn <sup>2+</sup>	-9.53 ± 0.08
Co <sup>2+</sup>	-9.54 ± 0.12
Ni <sup>2+</sup>	-8.50 ± 0.05
Cu <sup>2+</sup>	-7.20 ± 0.21
Zn <sup>2+</sup>	-8.70 ± 0.06

The above result corresponds to the order of magnitude of the hydrolysis constants of these metal ions as citing in refs. 12,13. The sequence of these constants is given below.



#### Acknowledgements

Financial support by Research Division of Chulalongkorn University and the Computer Service Center, Chulalongkorn University are gratefully acknowledged.



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## References

- (1) W.S. Kittl and B.M. Rode, *Inor. Chim. Acta*, 1981, **55**, 21.
- (2) A. Kaneda and A.E. Martell, *J. Coord.*, 1975, **4**, 137.
- (3) I. Nagypal and A. Gergely, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1977, **55**, 21.
- (4) W.L. Koltun, M. Fried and F.R.N. Gurd, *J. Am. Chem. Soc.*, 1960, **82**, 233.
- (5) G. Broodes and L.D. Petti, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1975, 2106.
- (6) W.S. Kittl and B.M. Rode, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1983, **63**, 47.
- (7) W.S. Kittl and B.M. Rode, *Inorg. Chim. Acta*, 1982, **63**, 47.
- (8) P. Feige, D. Mocker, R. Dreyer and R. Munze, *Inorg. Nucl. Chem.*, 1973, **35**, 329.
- (9) C. Stumpf, *Outlines of Biochemistry*, 4<sup>th</sup> ed., Ch. 4, Willy and Son, 1976.
- (10) A. Sabatini, A. Vacca and P. Gans, *Talanta*, 1974, **21**, 53.
- (11) V.W. Ruangpornvisuti, M.M. Probst and B.M. Rode, *Inorg. Chim. Acta*, 1988, **144**, 21.
- (12) C.F. Bell, *Principles and Applications of Metal Chelation*, Ch. 2, Oxford Univ. Press., 1977.
- (13) *Lange's Hand Book of Chemistry*, 12<sup>nd</sup> ed., McGraw Hill, N.Y., 1979, p. 5/48-5/53.

CAPTION OF FIGURES

Figure I. Species distribution of species according to N-acetyl-l-histidine ligand alone.

Figure II. Species distributions for complex species of N-acetyl-l-histidine complexes with (a) Mn(II), (b) Co(II), (c) Cu(II), (d) Ni(II) and (e) Zn(II). These curves were plotted using calculated data from the evaluated formation constants, based on the metal to ligand ratio of 1:2 (Concentration of metal ions and ligand are 0.001 and 0.002 M respectively).

Table I. Logarithmic value of dissociation and basicity constants of N-acetyl-l-histidine ( initial concentration of 0.001 M ligand ).

Table II. Formation constants given as log K of N-acetyl-l-histidine with divalent metal ions.

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Formation equations	log K
$K_1$ (LH $\rightleftharpoons$ L <sup>-</sup> + H <sup>+</sup> )	-7.19 ± 0.01
$K_2$ (LH + H <sup>+</sup> $\rightleftharpoons$ LH <sub>2</sub> <sup>+</sup> )	2.96 ± 0.04
$K_3$ (LH <sub>2</sub> <sup>+</sup> + H <sup>+</sup> $\rightleftharpoons$ LH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )	2.47 ± 0.11

TABLE I

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

$M^{2+}$	log K of complex species			
	$ML^+$	$ML_2$	$ML(OH)$	$MLH^{2+}$
$Mn^{2+}$	$2.40 \pm 0.07$	a	a	$2.36 \pm 0.07$
$Co^{2+}$	$2.99 \pm 0.08$	a	a	$2.81 \pm 0.09$
$Ni^{2+}$	$3.25 \pm 0.03$	a	a	$2.24 \pm 0.07$
$Cu^{2+}$	$4.65 \pm 0.04$	$7.58 \pm 0.06$	$-2.44 \pm 0.04$	$2.39 \pm 0.10$
$Zn^{2+}$	$3.01 \pm 0.04$	a	$-5.70 \pm 0.04$	$2.52 \pm 0.06$

a Species not detected below pH 8.6.

TABLE II

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

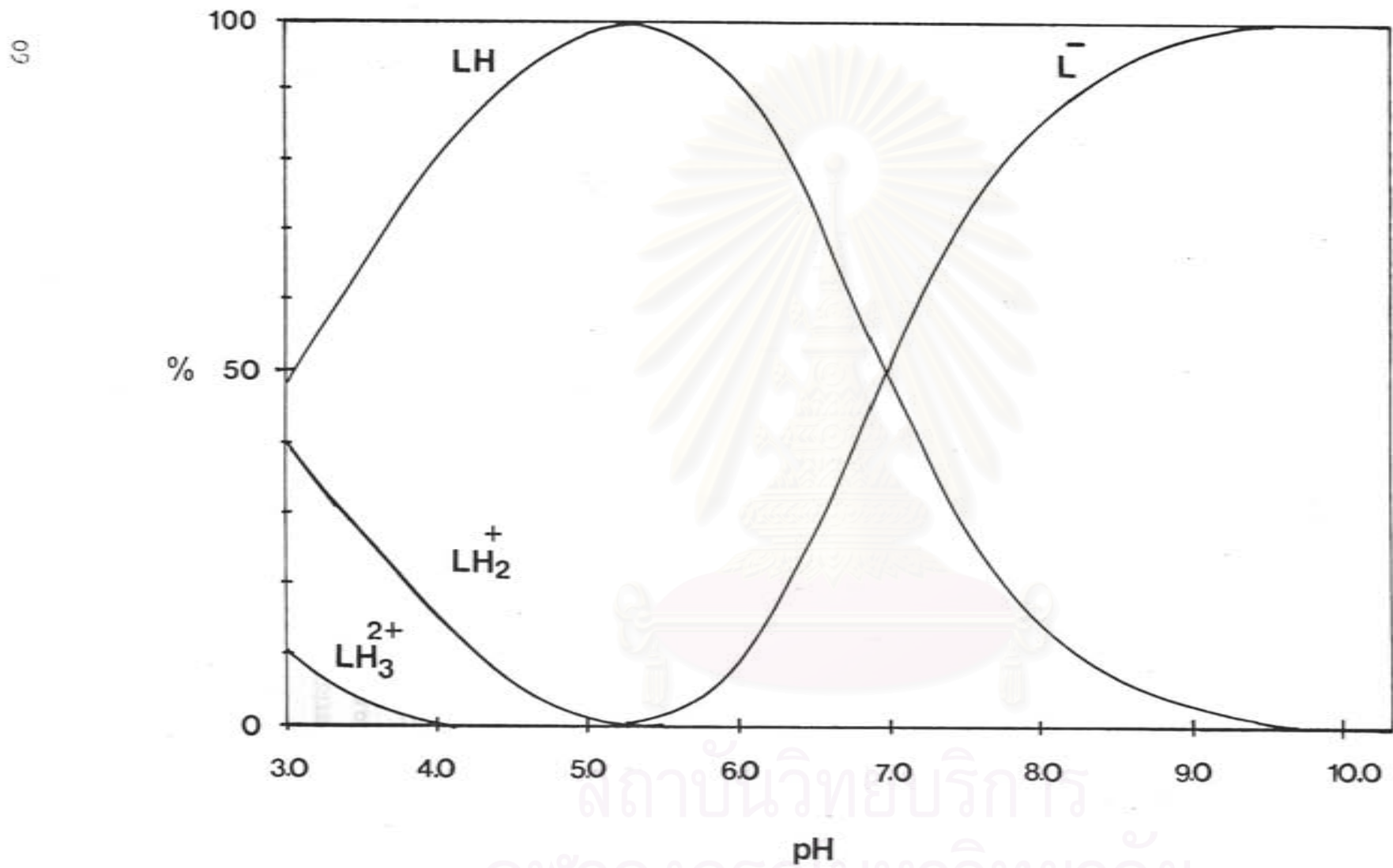


Figure I

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

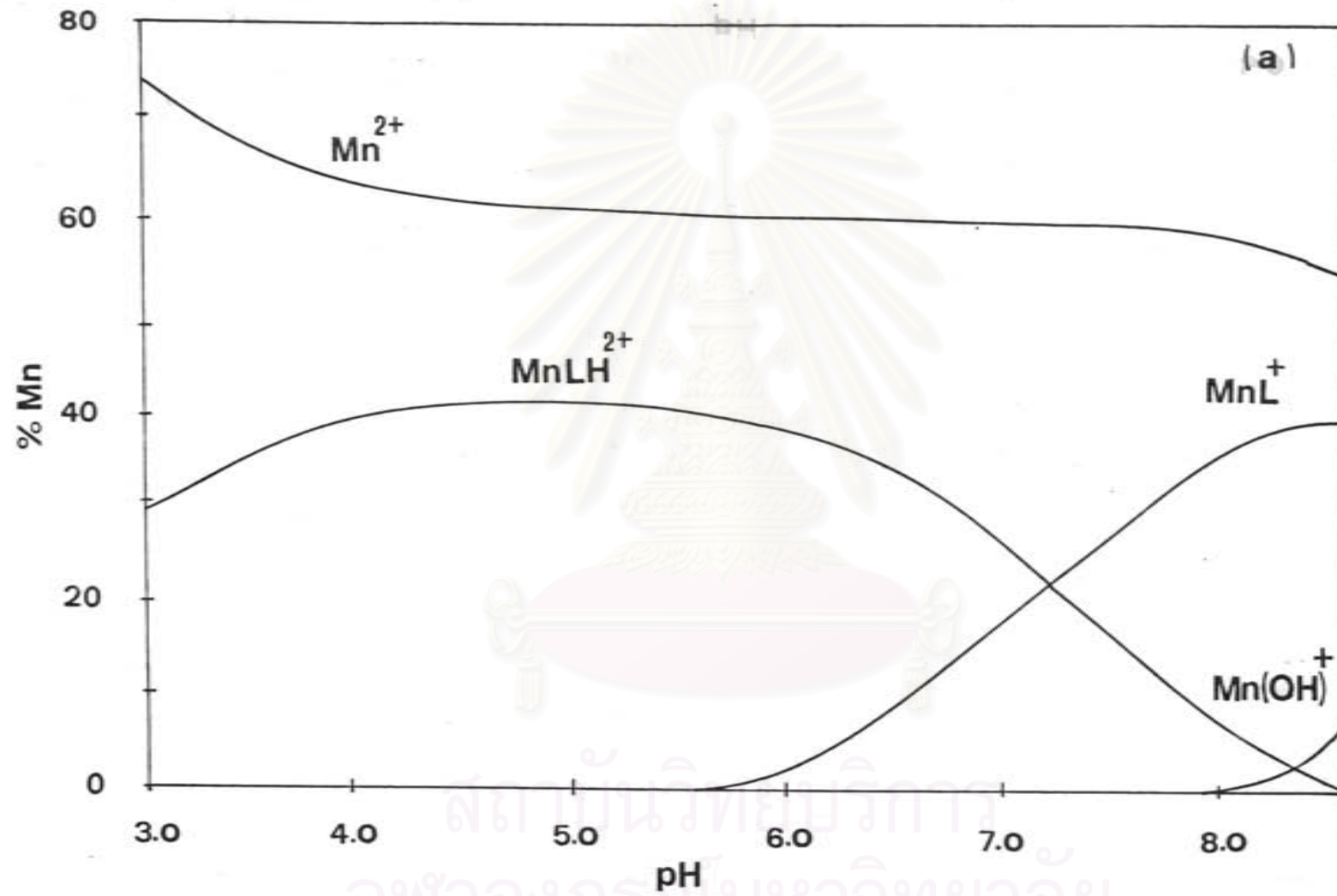


Figure II(a)



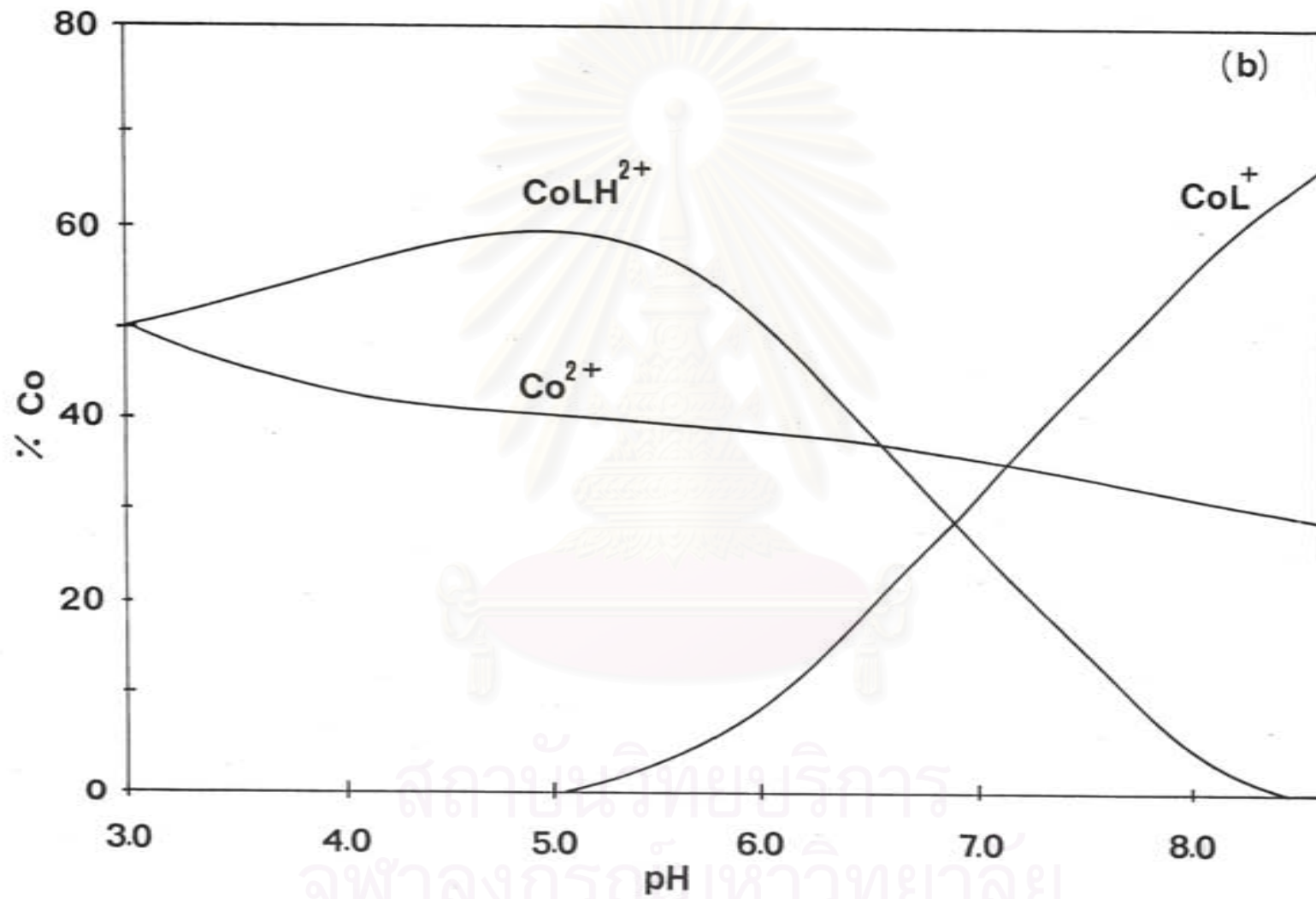


Figure II(b)

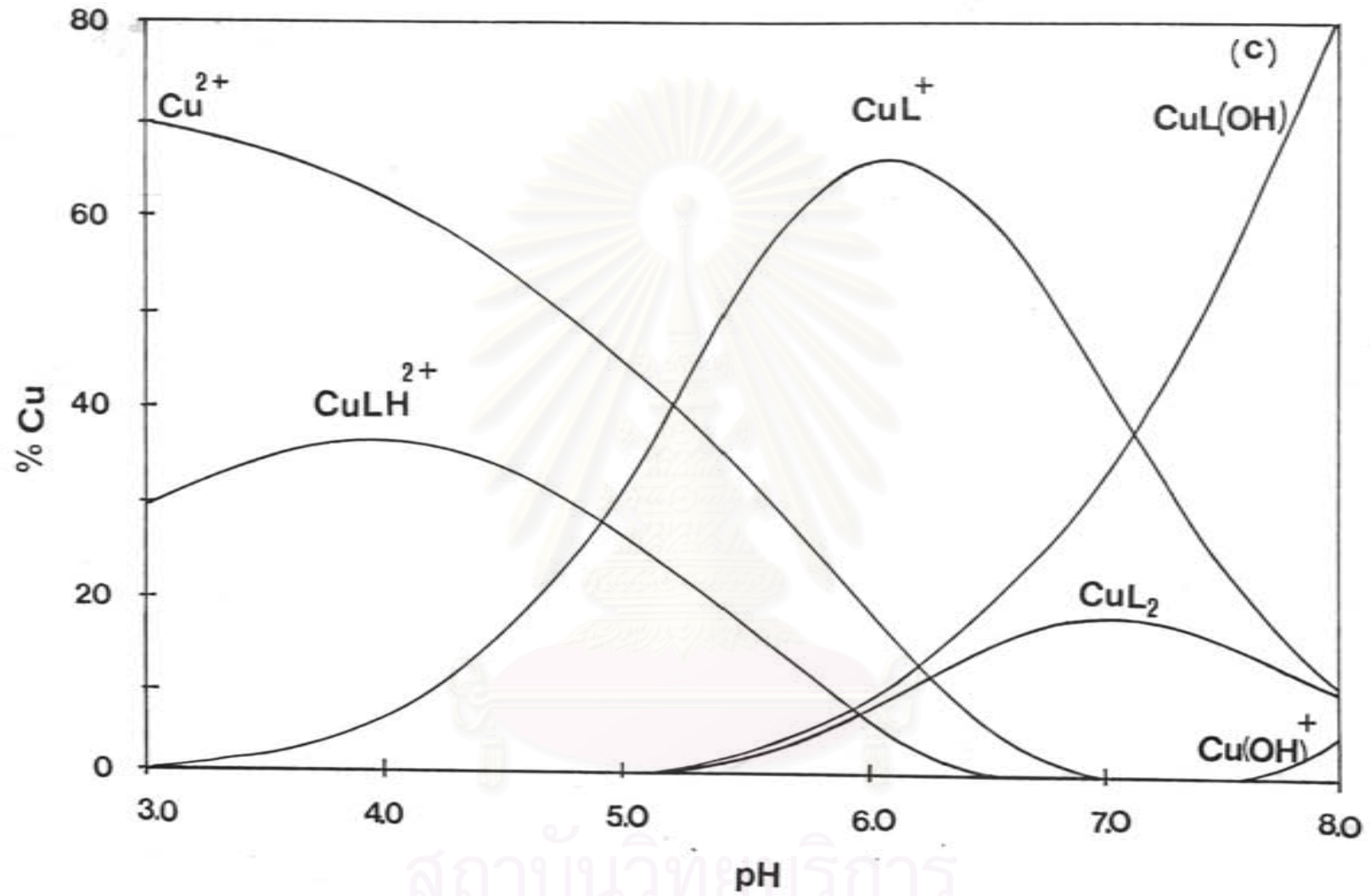


Figure II(c)

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

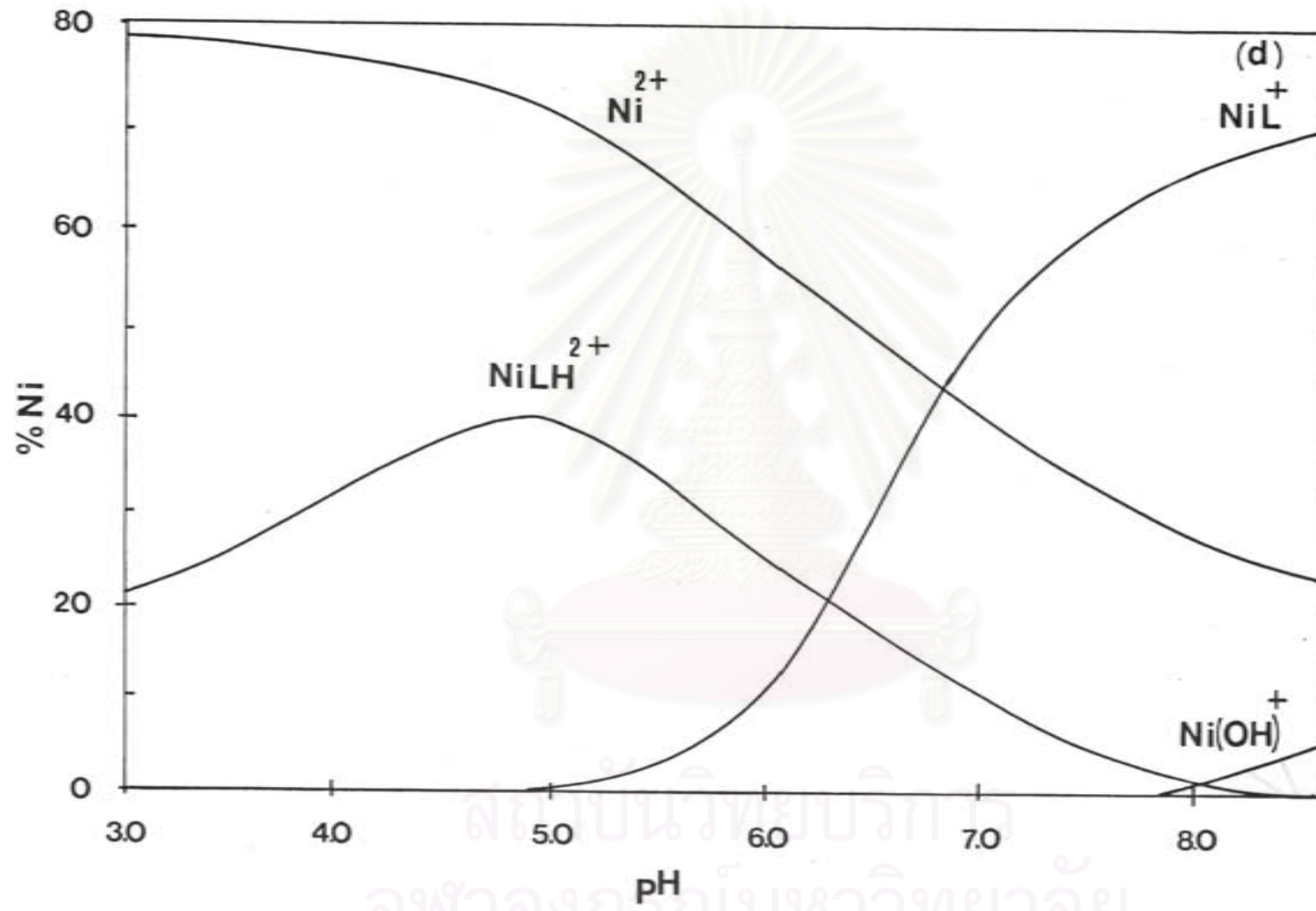


Figure II (d)

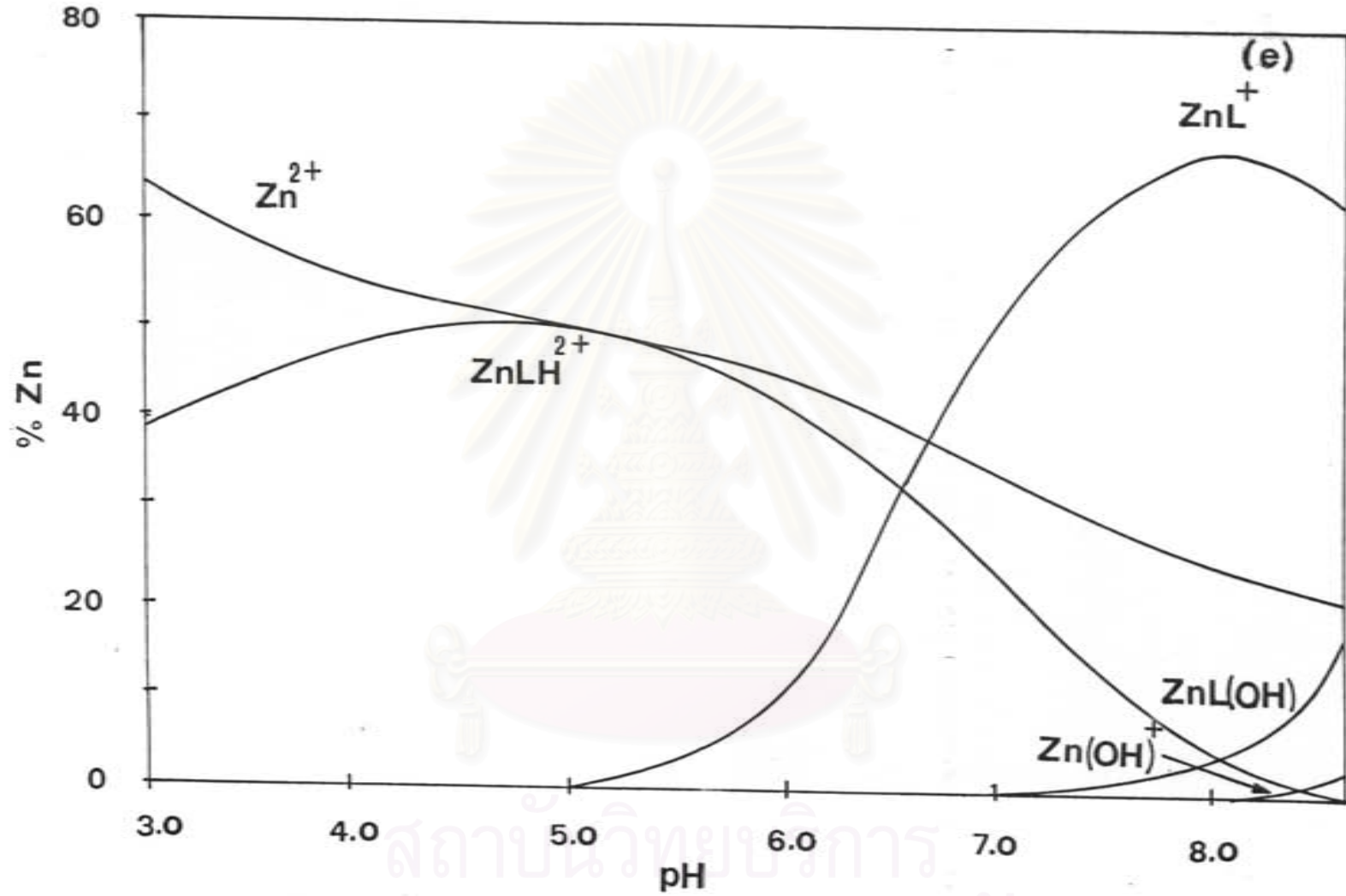


Figure II(e)

สถาบันวิจัยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

```

PROGRAM MINIQAD
IMPLICIT REAL*8(A-H,O-Z)
DIMENSION BABS(20), CI(20), KEY(20), BETA(20), JK(21), JQR(5,20)
DIMENSION IVAR(20), SIGMA(20), A(5,23), BR(20,20), TITLE(20), LPR(5)
DIMENSION X(620), S(620), U(620), V(620), W(620), B(10,620), BT(620,10)
DIMENSION T(5,300), CONC(5,300), STEPS(5,300), CB(10,300)
DIMENSION CX(5), TT(5), HX(5), EPS(5), TOTC(5), ADDC(5), TITRE(5)
DIMENSION JEL(3), EZERO(3), EMF(3), TOLC(3), DT(3), DDT(3,3)
COMMON JINP, JOUT, NF, LARS, NRUN, IFAIL, AL10, TOL, TOLU, ACCM, TITLE
C SPECIES SELECTOR BASED ON MARQUART MINIMISATION
1  FORMAT(20A4)
2  FORMAT('////' HYBRID 51 MODEL', I3, 2X, 20A4/)
22 FORMAT(10X, 15A4)
3  FORMAT(16I5)
4  FORMAT(' NO FREE CONCENTRATIONS TO CALCULATE')
5  FORMAT(40I2)
6  FORMAT(' ALL BETAS REJECTED')
   JINP=5
   JOUT=6
   TOL=1.E-03
   TOLU=1.E-04
   ACCM=1.E-77
20  NP=300
   AL10=ALOG(10.)
   LP=0
   MODEL=1
30  OPEN (UNIT=5, FILE='MINIQINP')
   READ(JINP,1) TITLE
   OPEN (UNIT=6, FILE='MINIQOUT')
   WRITE (JOUT,2) MODEL
   WRITE(JOUT,22) TITLE
   READ (JINP,3) LARS, NK, N, MAXIT, IPRIN, NMBE, NC, JPR, KPR, (LPR(K), K=1,5)
   IF (NC) 40,40,50
40  WRITE (JOUT,4)
   STOP
50  NMF=NMBE-NC
   IFAIL=0
   CALL DINP (NK, N, NMBE, NMF, NP, NC, BETA, JQR, KEY, BABS, T, CONC,
*   JEL, EZERO, EMF, TOTC, ADDC, TITRE, CX, TT, CI, HX, TOLC, DT, DDT, LP,
*   MAXIT, IPRIN)
   IF (IFAIL) 60,60,552
60  IU=1.
C COUNT THE NUMBER OF REFINABLE PARAMETRES, SET UP THE INDEX VECTOR
   M=0
   DO 80 I=1, NK
   IF (KEY(I)) 80,80,70
70  M=M+1
   IVAR(M)=I
80  CONTINUE
   NM=LP*NC
   IF (MAXIT .GT. 0) GOTO 200
   CALL FUNCT (NK, NMBE, NC, LP, JQR, BABS, T, CONC, CX, CI, SS, KEY,
*   CB, STEPS)
   GOTO 553
C SET THE REFINEMENT KEYS, AND THE FREE CONCENTRATIONS OF -VE BETAS TO Z
200 J=1
   IVAR(M+1)=0
   DO 250 I=1, NK
   IF (KEY(I)) 210,250,210
210 IF (I-IVAR(J)) 240,220,240
220 KEY(I)=1
   X(NM+J)=BETA(I)
   J=J+1
   GOTO 250
240 KEY(I)=-1
   CI(I)=0.
250 CONTINUE
   NF=0
   NRUN=0
   IFAIL=0
   Q=0.
   QC=1.
280 NMN=NM+M
   NPNC=M+NC
   CALL MAMIN (NK, M, NMBE, NC, NPNC, NMN, LP, Q, QC, S, U, V, W, X, B, BT,
*   CONC, T, IVAR, SIGMA, A, BB, BABS, CI, KEY,
*   JQR, CX, TT, HX, EPS, SS, CB, MAXIT, IPRIN, STEPS)
   IF (IFAIL) 300,400,400
300 M=M-1
   IFAIL=0

```

```

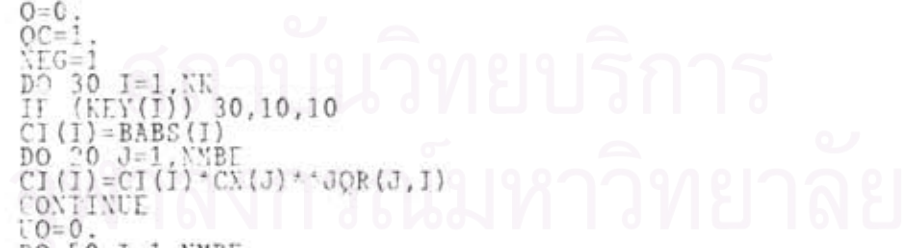
IF (M) 390,390,280
390 WRITE (JOUT,2) MODEL,TITLE
WRITE (JOUT,5)
GOTO 555
400 IF (SS .GT. UU) GOTO 552
UU =SS
DO 530 I=1,M
530 BETA (IVAR (I))=X (NM+I)
552 CALL DOUT3 (NK,M,NMBE,X,JQR,IVAR,SIGMA,SS,KEY,BB,BABS,
* MODEL,NM,NMN)
K=IFAIL+1
GOTO (553,600,600,600,555,555,555,555,553),K
553 NK1=NK+1
IF (NMBE .GT. NK1) NK1=NMBE
CALL STATS (NK,NMBE,LP,JQR,T,CONC,CB,SS,JPR,KPR,LPR,STEPS,JK,NK1)
555 READ (JINP,5) M,(IVAR(K),K=1,N)
IF (N-M) 555,560,560
560 IF (M) 600,600,570
570 MODEL=MODEL+1
IF (IPRIN .NE. 0) WRITE (JOUT,2) MODEL,TITLE
GOTO 200
600 STOP
END
SUBROUTINE DINP (NK,N,NMBE,NEMF,NP,NC,BETA,JOR,KEY,BABS,T,
* CONC,JEL,EZERO,EMF,TOTC,ADDC,TITRE,CX,TT,CI,
* HX,TOLC,DT,DDT,IP,MAXIT,IPRIN)
IMPLICIT REAL*8 (A-H,O-Z)
DIMENSION BABS(NK),BETA(NK),KEY(NK),CI(NK)
DIMENSION T(NMBE,NP),CONC(NMBE,NP),JQR(NMBE,NK),TITLE(20)
DIMENSION CX(NMBE),TT(NMBE),HX(NMBE),TOTC(NMBE),ADDC(NMBE)
DIMENSION JEL(NEMF),EZERO(NEMF),EMF(NEMF),TITRE(NMBE)
DIMENSION TOLC(NC),DT(NC),DDT(NC,NC)
DIMENSION A(5,3),V(3),U(3),S(3),D(3),CT(5),B(3,3)
COMMON JINP,JOUT,NF,LARS,NRUN,IFAIL,AL10,TOL,TOLU,ACCM,TITLE
1 FORMAT (2H (,I2,1H),F11.4,'E',I3,I8,7X,5I4)
2 FORMAT (//10X,'FORMATION REFINEMENT STOICHEIOMETRIC'/
* 10X,'CONSTANTS KEYS COEFFICIENTS'//)
3 FORMAT (6I5)
4 FORMAT (F10.6,7I5)
5 FORMAT (3F10.6)
6 FORMAT (15,8F8.3)
7 FORMAT (6E10.3)
8 FORMAT ('0 LARS MAXIT IPRIN TOL TOLU
* ACCM'/3I8,3E18.6/'0 THERE ARE',I3,'EQUILIBRIUM CONST
* NTS',I3,'OF WHICH ARE TO BE REFINED'//', THERE ARE',I3,
* ' MASS BALANCE EQUATIONS AND',I3,' UNKNOWN FREE CONCENTRATIONS
* PER DATA POINT'//6X,'REACTION TEMPERATURE',F6.2,
* 'DEGREES CENTIGRADES'//)
9 FORMAT (1H0,' THERE ARE RUN ABANDONES BEFORE REFINEMENT')
10 FORMAT (1H0,I5,'DATA POINTS HAVE BEEN READ IN AND',I5,
* 'MAXIMUM WERE EXPECTED'//)
11 FORMAT ('0 THE NUMBER OF CONSTANTS TO BE REFINED DOES NOT AGREE
* WITH THE NUMBER OF NON-ZERO KEYS')
12 FORMAT (/8X,'CURVE',I3,8E12.4/18X,6E12.4)
OPEN (UNIT=5,FILE='MINIQINP')
READ (JINP,5) TEMP
OPEN (UNIT=6,FILE='MINIOOUT')
WRITE (JOUT,3) LARS,MAXIT,IPRIN,TOL,TOLU,ACCM,NK,N,NMBE,NC,TEMP
J=0
WRITE (JOUT,2)
DO 105 I=1,NK
READ (JINP,4) BETA(I),L,(JQR(K,I),K=1,NMBE),KEY(I)
WRITE (JOUT,1) I,BETA(I),L,KEY(I),(JQR(K,I),K=1,NMBE)
BETA(I)=BETA(I)*DENP(AL10*L)
IF (KEY(I)) 103,105,103
103 J=J+1
CI(I)=0.
105 BABS(I)=BETA(I)
IF (N-J) 106,107,106
106 WRITE (JOUT,11)
WRITE (JOUT,9)
STOP
107 IP=0
NTC=1
DO 108 I=1,NC
108 CX(I)=1.D-10
110 READ (JINP,3) (JEL(L),L=1,NEMF)
111 READ (JINP,5) (TOTC(K),K=1,NMBE),(EZERO(L),L=1,NEMF)
READ (JINP,5) (ADDC(K),K=1,NMBE),VINIT
WRITE (JOUT,12) NTC,(TOTC(K),K=1,NMBE),(EZERO(L),L=1,NEMF)
MIN00780
MIN00790
MIN00800
MIN00810
MIN00820
MIN00830
MIN00840
MIN00850
MIN00860
MIN00870
MIN00880
MIN00890
MIN00900
MIN00910
MIN00920
MIN00930
MIN00940
MIN00950
MIN00960
MIN00970
MIN00980
MIN00990
MIN01000
MIN01010
MIN01020
MIN01030
MIN01040
MIN01050
MIN01060
MIN01070
MIN01080
MIN01090
MIN01100
MIN01110
MIN01120
MIN01130
MIN01140
MIN01150
MIN01160
MIN01170
MIN01180
MIN01190
MIN01200
MIN01210
MIN01220
MIN01230
MIN01240
MIN01250
MIN01260
MIN01270
MIN01280
MIN01290
MIN01300
MIN01310
MIN01320
MIN01330
MIN01340
MIN01350
MIN01360
MIN01370
MIN01380
MIN01390
MIN01400
MIN01410
MIN01420
MIN01430
MIN01440
MIN01450
MIN01460
MIN01470
MIN01480
MIN01490
MIN01500
MIN01510
MIN01520
MIN01530
MIN01540
MIN01550

```

```

WRITE (JOUT, 5) (ADDC(K), K=1, NMBE), VINIT
NTC=NTC-1
IF (IP .EQ. 0) GOTO 1116
DO 1113 L=1, NC
1113 CX(L)=CONC(L, 1, TAR)
1114 LSTAR=IP-1
1115 IS=LARS
1116 IP=IP-1
1117 READ (JINP, 6) IUFGL, (TITRE(K), K=1, NMBE), (EMF(L), L=1, NEMF)
IS=IS-1
IF (IUFGL) 115, 113, 115
1118 IF (IS) 115, 115, 113
1119 WRITE (JOUT, 6) IP, (TITRE(K), K=1, NMBE), (EMF(L), L=1, NEMF)
IF (IP-NP) 1115, 1115, 140
1120 DO 1118 L=1, NEMF
NCPL=NC-L
IF (JEL(L)) 116, 117, 116
1121 CX(NCPL)=-DABS(EMF(L))-EZERO(L)+JEL(L)*11.6049/(TEMP-273.16)
CX(NCPL)=DEXP(CX(NCPL))
GOTO 118
1122 CX(NCPL)=DEXP(-EMF(L)*AL10)
1123 CONTINUE
VOL=VINIT
DO 119 K=1, NMBE
1124 VOL=VOL-TITRE(K)
DO 120 K=1, NMBE
TT(K)=(TOTC(K)-TITRE(K)*ADDC(K))/VOL
1125 I(K, IP)=TT(K)
1126 CALL MO (NC, NK, NMBE, UO, KEY, CI, BABS, JOR, CX, TT, HX, A, V, U, S, D,
          CI, B)
IF (IFAIL) 129, 129, 300
1127 DO 130 K=1, NMBE
1128 CONC(K, IP)=CX(K)
1129 IF (IUFGL) 200, 112, 111
1130 WRITE (JOUT, 10) IP, NP
IF (IP-NP) 300, 300, 250
1131 WRITE (JOUT, 9)
STOP
1132 RETURN
END
SUBROUTINE MO (NC, NK, NMBE, UO, KEY, CI, BABS, JOR, CX, TT, EPS, A, V, U, S,
          D, CI, B)
IMPLICIT REAL*8 (A-H, O-Z)
DIMENSION KEY(NK), CI(NK), BABS(NK), JOR(NMBE, NK), CX(NMBE), TT(NMBE),
          EPS(NMBE), A(NMBE, NC), V(NC), U(NC), S(NC), D(NC), CT(NMBE),
          B(NC, NC), TITLE(20)
COMMON JINP, JOUT, NF, LARS, NRUN, IFAIL, AL10, TOL, TOLU, ACCM, TITLE
C CALCULATE THE FREE CONCENTRATIONS CX BY LEAST SQUARES
C REFINEMENT OF ALL THE MASS-BALANCE EQUATIONS. THE FLETCHER-
C MARQUART REFINEMENT IS USED
ITS=0
V=1.
O=0.
OC=1.
NEG=1
5 DO 30 I=1, NK
IF (KEY(I)) 30, 10, 10
10 CI(I)=BABS(I)
DO 20 J=1, NMBE
20 CI(I)=CI(I)+CX(J)*JOR(J, I)
30 CONTINUE
UO=0.
DO 50 J=1, NMBE
CT(I)=CX(J)
EPS(I)=CX(I)-TT(I)
DO 40 J=1, NK
40 EPS(I)=EPS(I)-JOR(I, J)*CI(J)
50 UO=UO-EPS(I)*EPS(I)
C MAIN REFINEMENT LOOP BEGINS
60 IENIT=2
DO 80 J=1, NC
DO 80 I=1, NMBE
Z=0.
DO 70 L=1, NK
70 Z=Z-CI(L)*JOR(J, L)*JOR(I, L)
80 A(I, J)=Z
90 A(J, J)=A(J, J)-CX(J)
DO 110 I=1, NC
Z=0.
DO 100 J=1, NMBE

```





```

100 Z=Z-A(J,I)*EPS(J) MIN02360
110 V(I)=Z MIN02370
DO 140 I=1,NC MIN02380
DO 130 J=I,NC MIN02390
Z=0. MIN02400
DO 120 K=1,NMBE MIN02410
120 Z=Z+A(K,I)*A(K,J) MIN02420
130 B(I,J)=Z MIN02430
140 U(I)=B(I,I) MIN02440
ITS=ITS+1 MIN02450
C ENTRY POINT FOR 2ND FUNCTION CALCULATION MIN02460
150 IF (Q .EQ. 0.) GOTO 170 MIN02470
Q1=Q+1. MIN02480
DO 160 I=1,NC MIN02490
160 B(I,I)=U(I)*Q1 MIN02500
170 DO 180 I=1,NC MIN02510
180 S(I)=V(I) MIN02520
CALL FACT (B,NC,S,D,1) MIN02530
IF (IFAIL .EQ. 1) RETURN MIN02540
C REL SHIFTS FOR THE FREE CONCS, ARE NOW IN S MIN02550
VW=0. MIN02560
DO 190 I=1,NC MIN02570
VW=VW+V(I)*S(I) MIN02580
IF (DABS(S(I)) .GT. TOL) IEXIT=1 MIN02590
IF (S(I) .EQ. -1.) S(I)=-.99999 MIN02600
190 CT(I)=CX(I)*(1.+S(I)) MIN02610
IF (IEXIT .EQ. 2) GO TO 225 MIN02620
IF (VW .GT. 0.) GO TO 200 MIN02630
IFAIL=2 MIN02640
RETURN MIN02650
200 DQ=0. MIN02660
IF (Q .EQ. 0.) GO TO 220 MIN02670
DO 210 I=1,NC MIN02680
210 DQ=DQ+S(I)*S(I)*U(I) MIN02690
220 DQ=VW+Q*DQ MIN02700
225 DO 250 I=1,NK MIN02710
IF (KEY(I)) 250,230,230 MIN02720
230 CI(I)=BABS(I) MIN02730
DO 240 J=1,NMBE MIN02740
240 CI(I)=CI(I)*CT(J)**JQR(J,I) MIN02750
250 CONTINUE MIN02760
UN=0. MIN02770
DO 270 I=1,NMBE MIN02780
EPS(I)=CT(I)-TT(I) MIN02790
DO 260 J=1,NK MIN02800
260 EPS(I)=EPS(I)+JQR(I,J)*CI(J) MIN02810
270 UN=UN+EPS(I)*EPS(I) MIN02820
IF (IEXIT .EQ. 2) GO TO 410 MIN02830
DU=UO-UN MIN02840
IF (DQ .GE. 0.) GO TO 280 MIN02850
IFAIL=2 MIN02860
RETURN MIN02870
280 IF (ITS .LT. 100) GO TO 290 MIN02880
IFAIL=3 MIN02890
RETURN MIN02900
C SET UP THE MARQUART FACTOR MIN02910
290 IF (DU .GE. .25*DQ) GO TO 370 MIN02920
Z=.5*VW-DU MIN02930
Y=.5 MIN02940
IF (Z .GT. 0.) Y=VW/Z MIN02950
IF (Y .GT. .5) Y=.5 MIN02960
IF (Y .LT. .1) Y=.1 MIN02970
IF (Q .NE. 0.) GO TO 360 MIN02980
C INVERSION OF THE NORMAL EQUATIONS MATRIX, IT IS ALREADY MIN02990
C CHOLESKI-FACTORISED BY FACT. MIN03000
IF (NC .EQ. 1) GO TO 330 MIN03010
NM1=NC-1 MIN03020
DO 320 I=1,NM1 MIN03030
IP1=I-1 MIN03040
DO 320 J=IP1,NC MIN03050
W=-B(J,I) MIN03060
IF (J .EQ. IP1) GO TO 320 MIN03070
JM1=J-1 MIN03080
DO 310 K=IP1,JM1 MIN03090
310 W=W-B(J,K)*B(K,I) MIN03100
320 B(J,I)=W MIN03110
C B NOW HOLDS THE INVERSE OF THE CHOLESKI FACTOR L. MIN03120
C THE DIAGONAL ELEMENTS OF THE INVERSE OF THE NEM ARE SUMMED IN T MIN03130
330 TR=0. MIN03140
DO 350 I=1,NC MIN03150

```

```

W=1./D(I)
IF (I .EQ. NC) GO TO 350
IP1=I+1
DO 340 K=IP1,NC
340 W=W-B(K,I)*B(K,I)/D(K)
350 TR=TR-W*U(I)
Y=2.*Y
Q=1./TR
QC=Q
360 Q=Q/Y
IF (DU) 150,150,380
370 IF (DU .LE. .75*DQ) GO TO 380
Q=Q*.5
IF (Q .LT. QC/4.) Q=0.
380 FR=1.
DO 390 K=1,NC
W=CX(K)*(1.+FR*S(K))
IF (W.GT. 0.) GO TO 390
FR=-.9/S(K)
390 CONTINUE
IF (FR .EQ. 1.) GO TO 410
DO 400 K=1,NC
400 CX(K)=CX(K)*(1.-FR*S(K))
NEG=NEG+1
IF (NEG .GT. 4) RETURN
GO TO 5
410 UO=UN
DO 420 K=1,NC
420 CX(K)=CT(K)
GO TO (60,430),JEXIT
430 RETURN
END
SUBROUTINE FACT (B,N,S,D,JFAIL)
IMPLICIT REAL*8 (A-H,O-Z)
DIMENSION B(N,N),S(N),D(N),TITLE(20)
COMMON JINP,JOUT,NF,LARS,NRUN,IFAIL,AL10,TOL,TOLU,ACCM,TITLE
C
C FACTORISES THE SYMMETRIC MATRIX B SO THAT LDL =B. UPON ENTRY THE UPPER
C TRIANGLE OF B IS FILLED. ON EXIT THE UPPER TRIANGLE IS UNCHANGED AND
C L IS IN THE STRICT LOWER TRIANGLE. THE EQUATIONS BX=S ARE SOLVED IN
C FORWARD LZ=S AND BACKWARD DL(T)X=Z SUBSTITUTIONS, S BEING
C SUCCESSIVELY OVERWRITTEN BY Z AND X. THE (UNIT) DIAGONAL ELEMENTS OF L
C ARE NOT STORED.
D(1)=B(1,1)
IF (D(1)) 30,30,10
10 IF (N-1) 40,20,40
20 S(1)=S(1)/D(1)
RETURN
30 IFAIL=JFAIL
RETURN
40 DO 50 K=2,N
50 B(K,1)=B(1,K)/D(1)
DO 100 I=2,N
D(I)=B(I,I)
IM1=I-1
DO 60 K=1,IM1
60 D(I)=D(I)-B(I,K)*B(I,K)*D(K)
IF (D(I)) 30,30,80
80 IP1=I+1
IF (IP1 .GT. N) GO TO 100
DO 90 J=IP1,N
Z=B(I,J)
DO 85 K=1,IM1
85 Z=Z-B(I,K)*B(J,K)*D(K)
90 B(J,I)=Z/D(I)
100 CONTINUE
C FORWARD SUBSTITUTION
DO 110 J=2,N
JM1=J-1
DO 110 K=1,JM1
110 S(J)=S(J)-B(J,K)*S(K)
C BACKWARD SUBSTITUTION
S(N)=S(N)/D(N)
J=N-1
120 JP1=J+1
S(J)=S(J)/D(J)
DO 130 K=JP1,N
130 S(J)=S(J)-B(K,J)*S(K)
J=J-1
IF (J .GE. 1) GO TO 120
MIN03160
MIN03170
MIN03180
MIN03190
MIN03200
MIN03210
MIN03220
MIN03230
MIN03240
MIN03250
MIN03260
MIN03270
MIN03280
MIN03290
MIN03300
MIN03310
MIN03320
MIN03330
MIN03340
MIN03350
MIN03360
MIN03370
MIN03380
MIN03390
MIN03400
MIN03410
MIN03420
MIN03430
MIN03440
MIN03450
MIN03460
MIN03470
MIN03480
MIN03490
MIN03500
MIN03510
MIN03520
MIN03530
MIN03540
MIN03550
MIN03560
MIN03570
MIN03580
MIN03590
MIN03600
MIN03610
MIN03620
MIN03630
MIN03640
MIN03650
MIN03660
MIN03670
MIN03680
MIN03690
MIN03700
MIN03710
MIN03720
MIN03730
MIN03740
MIN03750
MIN03760
MIN03770
MIN03780
MIN03790
MIN03800
MIN03810
MIN03820
MIN03830
MIN03840
MIN03850
MIN03860
MIN03870
MIN03880
MIN03890
MIN03900
MIN03910
MIN03920
MIN03930
MIN03940
MIN03950

```

```

RETURN
END
SUBROUTINE MAMIN (NK,N,NMBE,NC,NPNC,NMN,LP,Q,QC,S,U,V,W,X,
* B,BT,C,T,IVAR,SIGMA,A,BB,BABS,CI,
* KEY,JQR,CX,TT,HX,EPS,SS,CB,MAXIT,IPRIN,STEPS)
IMPLICIT REAL*8 (A-H,O-Z)
MINO3960
MINO3970
MINO3980
MINO3990
MINO4000
MINO4010
MINO4020
MINO4030
MINO4040
MINO4050
MINO4060
MINO4070
MINO4080
MINO4090
MINO4100
MINO4110
MINO4120
MINO4130
MINO4140
MINO4150
MINO4160
MINO4170
MINO4180
MINO4190
MINO4200
MINO4210
MINO4220
MINO4230
MINO4240
MINO4250
MINO4260
MINO4270
MINO4280
MINO4290
MINO4300
MINO4310
MINO4320
MINO4330
MINO4340
MINO4350
MINO4360
MINO4370
MINO4380
MINO4390
MINO4400
MINO4410
MINO4420
MINO4430
MINO4440
MINO4450
MINO4460
MINO4470
MINO4480
MINO4490
MINO4500
MINO4510
MINO4520
MINO4530
MINO4540
MINO4550
MINO4560
MINO4570
MINO4580
MINO4590
MINO4600
MINO4610
MINO4620
MINO4630
MINO4640
MINO4650
MINO4660
MINO4670
MINO4680
MINO4690
MINO4700
MINO4710
MINO4720
MINO4730
MINO4740
MINO4750
C MINIMISATION FOR SOLUTION EQUILIBRIA USING MARQUARTS METHOD
NC1=NC+1
NM=LP*NC
NM1=NM+1
Y=1.
1 K=0
DO 2 IP=1,LP
DO 2 I=1,NC
K=K+1
2 X(K)=C(I,IP)
DO 3 I=1,N
K=K+1
3 BABS(IVAR(I))=X(K)
CALL FUNCT (NK,NMBE,NC,LP,JQR,BABS,T,C,CX,CI,SS,KEY,CB,STEPS)
NF=NF-1
C MAIN REFINEMENT LOOP BEGINS
5 IEXIT=2
DO 10 J=NM1,NMN
V(J)=0.
DO 10 I=NC1,NPNC
10 B(I,J)=0.
C ASSEMBLE THE NORMAL EQUATIONS
NN=0
DO 30 IP=1,LP
CALL CALC (NK,N,NMBE,NC,IP,JQR,C,IVAR,A,EPS,CB,CI,
* NPNC,LP,NN,NM,NMN,V,STEPS)
DO 20 I=1,NC
L=NN-I
DO 19 J=I,NPNC
Z=0.
18 DO 18 K=1,NMBE
19 Z=Z+A(K,I)*A(K,J)
20 B(J,L)=Z
U(L)=B(I,L)
DO 25 I=1,N
L=NM-I
IPNC=I-NC
DO 25 J=IPNC,NPNC
Z=0.
23 DO 23 K=1,NMBE
25 Z=Z+A(K,IPNC)*A(K,J)
25 B(J,L)=B(J,L)+Z
30 NN=NN+NC
DO 40 I=NC1,NPNC
L=I-NC+NM
40 U(L)=B(I,L)
60 NRUN=NRUN+1
ITYPE=1
DO 70 K=1,100,5
70 IF (NRUN.EQ. K) ITYPE=2
IF (ITYPE.EQ. 2) Q=0.
C ENTRY POINT FOR 2ND FUNCTION IN ITERATION
90 IF (Q.EQ. 0.) GO TO 110
Q1=Q+1.
L=0
DO 95 IP= 1,LP
DO 95 I=1,NC
L=L+1
95 B(I,L)=U(L)+Q1
DO 100 I=1,N
L=NM-I
100 B(I-NC,L)=U(L)+Q1
110 DO 120 L=1,NM
120 S(L)=V(L)
CALL CHOLS (N,NC,NM,NMN,NPNC,LP,B,BT,S,IEXIT,NK,NMBE,X,W,
* IVAR,BABS,C)
C REL SHIFTS ARE NOW IN W, AND LT IN BT, B IS UNCHANGED
C NEW TRIAL PARAMS ARE IN S AND BABS

```

```

IF (IFAIL .NE. 0) RETURN
IF (ITYPE .EQ. 2) GO TO 600
VW=0.
DO 330 I=1,NMN
330 VW=VW+V(I)*W(I)
IF (VW .GT. 0.) GO TO 335
IFAIL =6
GO TO 405
335 DO=0.
IF (O .EQ. 0.) GO TO 345
DO 340 I=1,NMN
340 DQ=DQ+W(I)*W(I)*U(I)
345 DQ=VW-O*DQ
CALL FUNCT (NK,NMBE,NC,LP,JQR,BABS,T,C,CX,CI,SSP,KEY,CB,STEPS)
DS=SS-SSP
C CONVERGENCE TESTS
IF (DS/SS .GT. TOLU) IEXIT=1
IF (IEXIT .EQ. 2) GO TO 405
IF (DQ .GE. 0.) GO TO 390
IFAIL =7
GO TO 405
390 IF (NRUN .LT. MAXIT) GO TO 400
IFAIL=8
GO TO 405
C SET UP THE LAMDA MULTIPLICATION FACTOR
400 IF (DS .GE. .25*DQ) GO TO 590
Y=.5
Z=2.*VW-DS
IF (Z .GT. 0.) Y=VW/Z
IF (Y .GT. .5) Y=.5
IF (Y .LT. .1) Y=.1
IF (O .NE. 0.) GO TO 580
405 CALL INVER (N,NC,NM,NMN,NPNC,LP,BT,U,TR)
C CALCX STO DEVIATION CORRELATION COEFFS
Z=DSORT (SSP/((NMBE-NC)*LP-N))*100
DO 560 I=1,N
102 A(1,I)=DSORT (BT(I-NM,I-NC))
560 SIGMA(I)=A(1,I)*Z
DO 570 I=1,N
IPNC=I+NC
DO 570 J=1,I
570 BB(I,J)=BT(J+NM,IPNC)/A(1,I)/A(1,J)
IF (IEXIT .EQ. 2) GO TO 600
Y=2.*Y
Q=1./TR
QC=Q
580 Q=Q/Y
IF (DS) 90,90,600
590 IF (DS .LE. .75*DQ) GOTO 600
Q=Q*.5
IF (Q .LT. QC/4.) Q=0.
IF (IPRN .EQ. 0) GO TO 605
601 FORMAT ('OCYCLE',214,'FUNCTIONS CALCULATED,U=',1PE17.9/
* 'MARQUART PARAMETER',E17.9/22X,' VALUE REL SHIFT')
602 FORMAT (' BETA (' ,I2,')',2E13.5E3)
WRITE (JOUT,601) NRUN,NF,SS,Q
DO 603 I=1,N
L=NM+I
603 WRITE (JOUT,602) IVAR(I),X(L),W(L)
605 IF (ITYPE .EQ. 2) GO TO 700
J=1
NN=0
DO 608 IP=1,LP
FR=1.
DO 606 K=1,NC
IF (S(NN+K) .GT. 0.) GOTO 606
FR=-.99/W(NN+K)
J=2
606 CONTINUE
IF (FR .EQ. 1.) GOTO 608
DO 607 K=1,NC
L=NN+K
607 X(L)=X(L)*(1.+FR*W(L))
608 NN=NN+NC
609 CALL NEG (NK,N,NMN,NM,X,W,KEY,IVAR,CI)
SS=SSP
IF (IEXIT .EQ. 2 .OR. IFAIL .NE. 0) GO TO 620
GO TO (610,1),J
610 DO 615 I=1,NMN
615 X(I)=S(I)
MIN04760
MIN04770
MIN04780
MIN04790
MIN04800
MIN04810
MIN04820
MIN04830
MIN04840
MIN04850
MIN04860
MIN04870
MIN04880
MIN04890
MIN04900
MIN04910
MIN04920
MIN04930
MIN04940
MIN04950
MIN04960
MIN04970
MIN04980
MIN04990
MIN05000
MIN05010
MIN05020
MIN05030
MIN05040
MIN05050
MIN05060
MIN05070
MIN05080
MIN05090
MIN05100
MIN05110
MIN05120
MIN05130
MIN05140
MIN05150
MIN05160
MIN05170
MIN05180
MIN05190
MIN05200
MIN05210
MIN05220
MIN05230
MIN05240
MIN05250
MIN05260
MIN05270
MIN05280
MIN05290
MIN05300
MIN05310
MIN05320
MIN05330
MIN05340
MIN05350
MIN05360
MIN05370
MIN05380
MIN05390
MIN05400
MIN05410
MIN05420
MIN05430
MIN05440
MIN05450
MIN05460
MIN05470
MIN05480
MIN05490
MIN05500
MIN05510
MIN05520
MIN05530
MIN05540
MIN05550

```

```

        GO TO 5
620    K=0
        DO 630 IP=1,LP
        DO 630 I=1,NC
            K=K+1
630    C(I,IP)=X(K)
        RETURN
700    SSP=0.
        FR=1.
        DO 703 K=1,N
            L=NM+K
            XT=X(L)+FR*W(L)*X(L)
            IF (XT.GT. 0.) GOTO 703
            FR=-.99/W(L)
703    CONTINUE
            IF (FR.EQ. 1.) GOTO 709
            DO 706 K=1,N
                L=NM+K
                W(L)=FR*W(L)
706    BABS(IVAR(K))=X(L)+W(L)*X(L)
709    J=0
            DO 740 IP=1,LP
            DO 710 K=1,NMBE
                TT(K)=T(K,IP)
710    CX(K)=C(K,IP)
            DO 715 K=1,NC
715    CX(K)=X(K+J)
            CALL MQ (NC,NK,NMBE,SQ,KEY,CI,BABS,JQR,CX,TT,EPS,A,V,
            *   U,S,B,HX,BT)
            IF (IFAIL.NE. 0) RETURN
            SSP=SSP+SQ
            DO 720 K=1,NC
                J=J+1
720    X(J)=CX(K)
            DO 730 K=1,NMBE
                C(K,IP)=CX(K)
730    STEPS(K,IP)=EPS(K)
            DO 740 K=1,NC
740    CB(K,IP)=CI(K)
            IF (SSP.LT. SS) GOTO 790
            DO 750 K=1,N
                L=NM-K
                W(L)=W(L)*.5
                IV=IVAR(K)
750    BABS(IV)=BABS(IV)-W(L)*X(L)
            GOTO 700
790    DO 800 K=1,N
800    X(NM+K)=BABS(IVAR(K))
            SS=SSP
            GOTO 5
        END
        SUBROUTINE FUNCT (NK,NMBE,NC,LP,JQR,BABS,T,CONC,CX,
        *   CI,U,KEY,CB,STEPS)
        IMPLICIT REAL*8 (A-H,O-Z)
        DIMENSION JOR(NMBE,NK),TITLE(20),BABS(NK),CI(NK),KEY(NK)
        DIMENSION T(NMBE,LP),CONC(NMBE,LP),CB(NK,LP),STEPS(NMBE,LP)
        DIMENSION CX(NMBE)
        COMMON JINP,JOUT,NF,LARS,NRUN,IFAIL,AL10,TOL,TOLU,ACCM,TITLE
C THIS SUBROUTINE CALCULATES ONLY THE SUM OF SQUARES FOR ALL THE DATA
C BUT STORES THE CONCS OF ALL COMPLEXES.CALLED BY MAMIN(MARQUART MINIMIMIN06140
        U=0
        NF=NF+1
        DO 300 IP=1,LP
        DO 140 I=1,NMBE
140    CX(I)=CONC(I,IP)
        DO 152 I=1,NK
            IF (KEY(I)) 152,146,146
146    W=BABS(I)
            DO 149 J=1,NMBE
149    W=W+CX(J)**2+JQR(J,I)
            CI(I)=W
152    CB(I,IP)=CI(I)
            DO 170 I=1,NMBE
                EPS=CX(I)-T(I,IP)
                DO 168 J=1,NK
168    EPS=EPS+JOR(I,J)*CI(J)
                STEPS(I,IP)=EPS
170    U=U+EPS*EPS
300    CONTINUE
        RETURN
MIN05560
MIN05570
MIN05580
MIN05590
MIN05600
MIN05610
MIN05620
MIN05630
MIN05640
MIN05650
MIN05660
MIN05670
MIN05680
MIN05690
MIN05700
MIN05710
MIN05720
MIN05730
MIN05740
MIN05750
MIN05760
MIN05770
MIN05780
MIN05790
MIN05800
MIN05810
MIN05820
MIN05830
MIN05840
MIN05850
MIN05860
MIN05870
MIN05880
MIN05890
MIN05900
MIN05910
MIN05920
MIN05930
MIN05940
MIN05950
MIN05960
MIN05970
MIN05980
MIN05990
MIN06000
MIN06010
MIN06020
MIN06030
MIN06040
MIN06050
MIN06060
MIN06070
MIN06080
MIN06090
MIN06100
MIN06110
MIN06120
MIN06130
MIN06140
MIN06150
MIN06160
MIN06170
MIN06180
MIN06190
MIN06200
MIN06210
MIN06220
MIN06230
MIN06240
MIN06250
MIN06260
MIN06270
MIN06280
MIN06290
MIN06300
MIN06310
MIN06320
MIN06330
MIN06340
MIN06350

```

```

END
SUBROUTINE CALC (NK, N, NMBE, NC, IP, JQR, CONC, IVAR, A, EPS, CB,
* CI, NPNC, LP, NN, NM, NMN, V, STEPS)
  IMPLICIT REAL*8 (A-H, O-Z)
  DIMENSION TITLE(20), JQR(NMBE, NK), A(NMBE, NPNC), EPS(NMBE)
  DIMENSION CONC(NMBE, LP), CB(NK, LP), CI(NK)
  DIMENSION IVAR(N), V(NMN), STEPS(NMBE, LP)
  COMMON JINP, JOUT, NF, LARS, NRUN, IFAIL, AL10, TOL, TOLU, ACCM, TITLE
10  DO 10 J=1, NK
    CI(J)=CB(J, IP)
    DO 30 I=1, NMBE
30  EPS(I)=STEPS(I, IP)
    DO 60 J=1, NC
    DO 50 I=1, NMBE
    Z=0.
    DO 40 L=1, NK
40  Z=Z+CI(L)*JQR(J, L)*JQR(I, L)
50  A(I, J)=Z
60  A(J, J)=A(J, J)-CONC(J, IP)
    DO 70 J=1, N
    JPNC=J+NC
    IV=IVAR(J)
70  DO 70 I=1, NMBE
    A(I, JPNC)=CI(IV)*JQR(I, IV)
    DO 85 I=1, NC
    Z=0.
    DO 80 J=1, NMBE
80  Z=Z-A(J, I)*EPS(J)
85  V(NN+I)=Z
    DO 90 I=1, N
    IPNC=I+NC
    IPNM=I+NM
90  DO 90 J=1, NMBE
    V(IPNM)=V(IPNM)-A(J, IPNC)*EPS(J)
    RETURN
  END
SUBROUTINE CHOLS (N, NC, NM, NMN, NPNC, LP, B, BT, S, IEXIT, NK, NMBE, X,
* W, IVAR, BABS, C)
  IMPLICIT REAL*8 (A-H, O-Z)
  DIMENSION B(NPNC, NMN), BT(NMN, NPNC), S(NMN), TITLE(20)
  DIMENSION X(NMN), W(NMN), IVAR(N), BABS(NK), C(NMBE, LP)
  COMMON JINP, JOUT, NF, LARS, NRUN, IFAIL, AL10, TOL, TOLU, ACCM, TITLE
C SOLUTION OF THE NORMAL EQUATIONS. CHOLESKI FACTORISATION OF B,
C B=LL(T) WITH L(T) STORED IN COMPACTED FORM IN BT
  NN=0
  DO 150 IP=1, LP
  DO 145 I=1, NC
  I1=I-1
  L=NN+I
  DO 140 J=I, NPNC
  ST=B(J, L)
  IF (I1 .EQ. 0) GO TO 120
  DO 110 K=1, I1
110  ST=ST -BT(K+NN, J)*BT(K+NN, I)
120  XT=ST
  IF (J .NE. I) GO TO 135
  IF (XT .GT. 0.) GO TO 130
  IFAIL=4
  RETURN
130  BT(L, I)=1./DSQRT(XT)
  GO TO 140
135  BT(L, J)=XT*BT(L, I)
140  CONTINUE
145  CONTINUE
150  NN=NN+NC
C
C          CHOLESKI FACTORISATION FOR BETAS
  DO 200 I=1, N
  I1=I-1+NM
  IL= I+NC
  L=NM+I
  DO 200 J=I, N
  JL=J+NC
  ST=B(JL, L)
  DO 160 K= 1, I1
160  ST=ST-BT(K, JL)*BT(K, IL)
  XT=ST
  IF (J .NE. I) GO TO 190
  IF(XT .GT. 0.) GOTO 180
  IFAIL=5
  RETURN

```

MIN06360  
 MIN06370  
 MIN06380  
 MIN06390  
 MIN06400  
 MIN06410  
 MIN06420  
 MIN06430  
 MIN06440  
 MIN06450  
 MIN06460  
 MIN06470  
 MIN06480  
 MIN06490  
 MIN06500  
 MIN06510  
 MIN06520  
 MIN06530  
 MIN06540  
 MIN06550  
 MIN06560  
 MIN06570  
 MIN06580  
 MIN06590  
 MIN06600  
 MIN06610  
 MIN06620  
 MIN06630  
 MIN06640  
 MIN06650  
 MIN06660  
 MIN06670  
 MIN06680  
 MIN06690  
 MIN06700  
 MIN06710  
 MIN06720  
 MIN06730  
 MIN06740  
 MIN06750  
 MIN06760  
 MIN06770  
 MIN06780  
 MIN06790  
 MIN06800  
 MIN06810  
 MIN06820  
 MIN06830  
 MIN06840  
 MIN06850  
 MIN06860  
 MIN06870  
 MIN06880  
 MIN06890  
 MIN06900  
 MIN06910  
 MIN06920  
 MIN06930  
 MIN06940  
 MIN06950  
 MIN06960  
 MIN06970  
 MIN06980  
 MIN06990  
 MIN07000  
 MIN07010  
 MIN07020  
 MIN07030  
 MIN07040  
 MIN07050  
 MIN07060  
 MIN07070  
 MIN07080  
 MIN07090  
 MIN07100  
 MIN07110  
 MIN07120  
 MIN07130  
 MIN07140  
 MIN07150

```

180 BT(L, IL)=1./DSQRT(XT)
GO TO 200
190 BT(L, JL)=XT*BT(L, IL)
200 CONTINUE
C FORWARD SUSTITUTION FREE CONCS. FIRST
NN=0
DO 230 IP=1, LP
L=NN+1
S(L)=S(L)*BT(L, 1)
IF (NC .EQ. 1) GOTO 230
DO 220 I=2, NC
L=NN+I
I1=I-1
ST=S(L)
DO 210 K=1, I1
KL=NN+K
210 ST=ST-BT(KL, I)*S(KL)
220 S(L)=ST*BT(L, I)
230 NN=NN+NC
C FORWARD SUBSTITUTION FOR THE BETAS
DO 250 I=1, N
L=NM+I
I1=L-1
IPNC=I+NC
ST=S(L)
DO 240 K=1, I1
240 ST=ST-BT(K, IPNC)*S(K)
250 S(L)=ST*BT(L, IPNC)
C BACKWARD SUBSTITUTION , BETAS FIRST THIS TIME
DO 270 II=1, N
I=N-II+1
L=NM+I
I1=I+1
IPNC=I+NC
ST=S(L)
IF (I .EQ. N) GOTO 265
DO 260 K=I1, N
260 ST=ST-BT(L, K+NC)*W(K+NM)
265 ST=ST*BT(L, IPNC)
W(L)=ST
S(L)=X(L)+ST*X(L)
BABS(IVAR(I))=S(L)
270 IF (DABS(ST) .GE. TOL) IEXIT=1
C BACKWARD SUBSTITUTION, FREE CONCS. NOW
275 NN=NM
DO 300 IP=1, LP
DO 295 I=1, NC
II=NC-I+1
L=NN-I+1
ST=S(L)
DO 280 J=1, N
280 ST=ST-BT(L, J+NC)*W(J+NM)
IF (I .EQ. 1) GOTO 290
I1=II+1
KL=L
DO 285 K=I1, NC
KL=KL+1
285 ST=ST-BT(L, K)*W(KL)
290 ST=ST*BT(L, II)
W(L)=ST
S(L)=X(L)+ST*X(L)
KP=LP-IP+1
C(II, KP)=S(L)
295 IF (DABS(ST) .GE. TOL) IEXIT=1
300 NN=NN-NC
RETURN
END
SUBROUTINE INVER (N, NC, NM, NMN, NPNC, LP, BT, D, TR)
IMPLICIT REAL*8 (A-H, O-Z)
DIMENSION BT(NMN, NPNC), D(NMN)
C CALCN OF THE INVERSE OF THE NEM. FORWARD SUBSTITUTION
NN=0
DO 450 IP=1, LP
DO 445 I=1, NC
I1=I-NN
IF (I .EQ. NC) GOTO 420
I1=I+1
DO 415 J=I1, NC
J1=J-1
JL=J+NN

```

MIN07160  
MIN07170  
MIN07180  
MIN07190  
MIN07200  
MIN07210  
MIN07220  
MIN07230  
MIN07240  
MIN07250  
MIN07260  
MIN07270  
MIN07280  
MIN07290  
MIN07300  
MIN07310  
MIN07320  
MIN07330  
MIN07340  
MIN07350  
MIN07360  
MIN07370  
MIN07380  
MIN07390  
MIN07400  
MIN07410  
MIN07420  
MIN07430  
MIN07440  
MIN07450  
MIN07460  
MIN07470  
MIN07480  
MIN07490  
MIN07500  
MIN07510  
MIN07520  
MIN07530  
MIN07540  
MIN07550  
MIN07560  
MIN07570  
MIN07580  
MIN07590  
MIN07600  
MIN07610  
MIN07620  
MIN07630  
MIN07640  
MIN07650  
MIN07660  
MIN07670  
MIN07680  
MIN07690  
MIN07700  
MIN07710  
MIN07720  
MIN07730  
MIN07740  
MIN07750  
MIN07760  
MIN07770  
MIN07780  
MIN07790  
MIN07800  
MIN07810  
MIN07820  
MIN07830  
MIN07840  
MIN07850  
MIN07860  
MIN07870  
MIN07880  
MIN07890  
MIN07900  
MIN07910  
MIN07920  
MIN07930  
MIN07940  
MIN07950

```

Z=0.
DO 410 K=1,J1
410 Z=Z-BT(K+NM,J)*BT(IL,K)
415 BT(IL,J)=Z*BT(JL,J)
420 DO 440 J=1,N
    JPNC=J+NC
    Z=0.
    DO 425 K=J,NC
425 Z=Z-BT(K+NM,JPNC)*BT(IL,K)
    IF (J.EQ. 1) GOTO 435
    J1=J-1
    DO 430 K=1,J1
430 Z=Z-BT(K+NM,JPNC)*BT(IL,K+NC)
435 L=NM+J
440 BT(IL,JPNC)=Z*BT(L,JPNC)
445 CONTINUE
450 NN=NN+NC
    IF (N.EQ. 1) GOTO 500
    N1=N-1
    DO 470 I=1,N1
    IL=I+NM
    I1=I+1
    DO 470 J=I1,N
    J1=J-1
    JL=J+NM
    JPNC=J+NC
    Z=0.
    DO 460 K=I,J1
460 Z=Z-BT(K+NM,JPNC)*BT(IL,K+NC)
470 BT(IL,JPNC)=Z*BT(JL,JPNC)
C          -1 T -1 -1
C FORMATION OF THE INVERSE A = (L) (L)
C DIAG. ELEMENTS CALCD. BUT WHOLE PART PERTAINING TO BETA STORE
500 NN=0
    TR=0.
    DO 530 IP=1,LP
    DO 520 I=1,NC
    IL=NN+I
    Z=0.
    DO 510 K=I,NPNC
510 Z=Z+BT(IL,K)*BT(IL,K)
520 TR=TR+Z*D(IL)
530 NN=NN+NC
C INVERSION FOR BETAS
    DO 550 I=1,N
    IL=NM+I
    DO 550 J=I,N
    JL=NM+J
    JPNC=J+NC
    Z=0.
    DO 540 K=JPNC,NPNC
540 Z=Z+BT(IL,K)*BT(JL,K)
    IF (J.EQ. 1) TR=TR+Z*D(IL)
550 BT(IL,JPNC)=Z
    RETURN
    END
    SUBROUTINE NEG (NK,N,NMN,NM,X,W,KEY,IVAR,CI)
    IMPLICIT REAL*8 (A-H,O-Z)
    DIMENSION X(NMN),W(NMN),KEY(NK),IVAR(N),CI(NK),TITLE(20)
    COMMON JINP,JOUT,NF,LARS,NRUN,IFAIL,AL10,TOL,TOLU,ACCM,TITLE
C CHECK FOR AND ELIMINATION OF NEGATIVE PARAMETERS
    T=1.
    J=0
    DO 10 I=1,N
    L=NM+I
    XT=X(L)+T*W(L)*X(L)
    IF (XT.GT. 0) GOTO 10
    T=-1./W(L)
    J=I
10 CONTINUE
    IF (J.EQ. 0) RETURN
    IV=IVAR(J)
    KEY(IV)=-NRUN*2
    CI(IV)=0.
    IFAIL=-1
    IF (J.EQ. 1) GOTO 20
    J1=J-1
    DO 15 I=1,J1
    L=NM+I
15 X(L)=X(L)+T*W(L)*X(L)

```

```

MIN07960
MIN07970
MIN07980
MIN07990
MIN08000
MIN08010
MIN08020
MIN08030
MIN08040
MIN08050
MIN08060
MIN08070
MIN08080
MIN08090
MIN08100
MIN08110
MIN08120
MIN08130
MIN08140
MIN08150
MIN08160
MIN08170
MIN08180
MIN08190
MIN08200
MIN08210
MIN08220
MIN08230
MIN08240
MIN08250
MIN08260
MIN08270
MIN08280
MIN08290
MIN08300
MIN08310
MIN08320
MIN08330
MIN08340
MIN08350
MIN08360
MIN08370
MIN08380
MIN08390
MIN08400
MIN08410
MIN08420
MIN08430
MIN08440
MIN08450
MIN08460
MIN08470
MIN08480
MIN08490
MIN08500
MIN08510
MIN08520
MIN08530
MIN08540
MIN08550
MIN08560
MIN08570
MIN08580
MIN08590
MIN08600
MIN08610
MIN08620
MIN08630
MIN08640
MIN08650
MIN08660
MIN08670
MIN08680
MIN08690
MIN08700
MIN08710
MIN08720
MIN08730
MIN08740
MIN08750

```



```

20  N1=N-1
    IF (J.EQ. N) RETURN
    DO 30 I=J,N1
    L=NM+I
    LP=L+1
    IVAR(I)=IVAR(I+1)
30  X(L)=X(LP)+T*W(LP)*X(LP)
    RETURN
    END
    SUBROUTINE DOUT3 (M,N,NMBE,X,JQR,IVAR,SD,U,KEY,COCO,BABS,
*   MODEL,NM,NMN)
    IMPLICIT REAL*8 (A-H,O-Z)
    INTEGER SYM
    DIMENSION IVAR(N),SD(N),COCO(N,N),X(NMN),SYM(40)
    DIMENSION KEY(M),BABS(M),JQR(NMBE,M),TITLE(20)
    COMMON JINP,JOUT,NF,LARS,NRUN,IFAIL,AL10,TOL,TOLU,ACCM,TITLE
    DATA SYM/'A','B','C','D','E','F','G','H','I','J','K','L','M',
*   'N','O','P','Q','R','S','T','U','V','W','X','Y','Z','1','2',
*   '3','4','5','6','7','8','9','+','-','*','='/'
C  OUTPUT ROUTINE FOR MARQUART MINIMISATION
100 FORMAT ('1'///'MODEL',I3,4X,20A4/)
101 FORMAT (' FAILS',I2)
107 FORMAT(' REFINEMENT CONVERGED SUCCESSFULLY')
108 FORMAT ('+',35X,I4,' ITERATIONS',I4,' FUNCTION CALLS',
*   ' SUM OF SQUARES =',1PE17.9/32X,' VALUE STD DEVIATION
*   LOG BETA STD. DEVIATION'/46X,'(REL. PERCENT)')
109 FORMAT (7H BETA (,A1,3H) 5I2)
110 FORMAT ('+',23X,'REJECTED',CYCLE',I4)
113 FORMAT ('+',23X,'CONSTANT',1PE13.5,10X,OPF12.5)
114 FORMAT ('+',23X,'REFINED',1PE14.5,OPF10.2,2F12.5)
115 FORMAT (1H0,'MATRIX OF CORRELATION COEFFICIENTS RHO I,J'//4H I/)
116 FORMAT (I4,11F10.3/5X,11F10.3)
117 FORMAT (6H0 J I5,10I10,/ 5X,10I10/)
    WRITE (JOUT,100) MODEL,TITLE
    IF (IFAIL) 7,8,7
7  WRITE (JOUT,101) IFAIL
    GO TO (16,16,16,9,9,9,9,9),IFAIL
8  WRITE(JOUT,107)
9  WRITE(JOUT,108) NRUN,NF,U
    K=1
    DO 13 I=1,M
    IF (KEY(I).EQ. -1) GOTO 13
    WRITE(JOUT,109) SYM(I),(JQR(J,I),J=1,NMBE)
    J=KEY(I)-3
    IF (KEY(I).LT. -2) J=1
    GO TO (10,13,11,12),J
10  J=-KEY(I)/2
    WRITE (JOUT,110) J
    GO TO 13
11  XD=DLOG(BABS(I))/AL10
    WRITE (JOUT,113) BABS(I),XD
    GOTO 13
12  XL=DLOG(X(K+NM))/AL10
    SDL=SD(K)/100./AL10
    WRITE (JOUT,114) X(K+NM),SD(K),XL,SDL
    K=K-1
13  CONTINUE
    IF (N.EQ. 1) RETURN
130 WRITE (JOUT,115)
    DO 15 I=2,N
    IM=I-1
15  WRITE (JOUT,116) IVAR(I),(COCO(I,J),J=1,IM)
16  WRITE (JOUT,117) (IVAR(J),J=1,IM)
    RETURN
    END
    SUBROUTINE STATS (NK,NMBE,LP,JQR,T,CONC,CB,U,JPR,KPR,LPR,STEPS,
*   JK,NK1)
    IMPLICIT REAL*8 (A-H,O-Z)
    INTEGER PLUS,BLANK,SYM,PT
    DIMENSION JOR(NMBE,NK),T(NMBE,LP),CONC(NMBE,LP),CB(NK,LP),LPR(5)
    DIMENSION JPOP(8),CLIM(8),SYM(40),PT(116),TITLE(20)
    DIMENSION STEPS (NMBE,LP),JK(NK1),JIIPS(1),JIIBL(1)
    COMMON JINP,JOUT,NF,LARS,NRUN,IFAIL,AL10,TOL,TOLU,ACCM,TITLE
    DATA SYM/'A','B','C','D','E','F','G','H',
*   'I','J','K','L','M','N','O','P','Q','R','S','T','U','V','W','X',
*   'Y','Z','1','2','3','4','5','6','7','8','9','+','-','*','='/'
    DATA JIIPS/'-'/
    DATA JIIBL/'/'
C  A STATISTICAL ANALYSIS OF THE RESIDUALS OF ALL THE MASS-BALANCE
C  EQUATIONS, FOR FURTHER DETAILS SEE M.R.SPIEGEL,

```

MIN08760  
MIN08770  
MIN08780  
MIN08790  
MIN08800  
MIN08810  
MIN08820  
MIN08830  
MIN08840  
MIN08850  
MIN08860  
MIN08870  
MIN08880  
MIN08890  
MIN08900  
MIN08910  
MIN08920  
MIN08930  
MIN08940  
MIN08950  
MIN08960  
MIN08970  
MIN08980  
MIN08990  
MIN09000  
MIN09010  
MIN09020  
MIN09030  
MIN09040  
MIN09050  
MIN09060  
MIN09070  
MIN09080  
MIN09090  
MIN09100  
MIN09110  
MIN09120  
MIN09130  
MIN09140  
MIN09150  
MIN09160  
MIN09170  
MIN09180  
MIN09190  
MIN09200  
MIN09210  
MIN09220  
MIN09230  
MIN09240  
MIN09250  
MIN09260  
MIN09270  
MIN09280  
MIN09290  
MIN09300  
MIN09310  
MIN09320  
MIN09330  
MIN09340  
MIN09350  
MIN09360  
MIN09370  
MIN09380  
MIN09390  
MIN09400  
MIN09410  
MIN09420  
MIN09430  
MIN09440  
MIN09450  
MIN09460  
MIN09470  
MIN09480  
MIN09490  
MIN09500  
MIN09510  
  
MIN09520  
MIN09530

```

C      THEORY AND PROBLEMS OF STATISTICS, MCGRAW-HILL
      PLUS=JIIPS(1)
      BLANK=JIIBL(1)
2      FORMAT (/,14,11E10.2E3,(/,5X,11E10.2))
10     FORMAT (' ARITHMETIC MEAN ',1PE12.4,' MEAN DEVIATION ',E12.4)
11     FORMAT (' STANDART DEVIATION ',E12.4,' VARIANCE ',E12.4)
12     FORMAT (' SKEWNES ',0PF10.2,' KURTOSIS ',F10.2)
18     FORMAT (' OBSERVED CHI-SQUARE IS ',F10.2,' R FACTOR=',F12.6)
20     FORMAT (' MASS-BALANCE EQUATION ',I2)
21     FORMAT (14,116A1)
22     FORMAT (' PLOTS OF FORMATION PERCENTAGES '/')
24     FORMAT (' RESIDUALS PLOT '/' -3 SD',14X,' -2 SD',14X,' -1 SD',
*      16X,' 0',17X,' 1 SD',15X,' 2 SD',13X,' 3 SD')
25     FORMAT (/5X,' 0',49X,' 50',48X,' 100'/5X,A1,10(9X,A1)/1X,119A1)
      NR=8
      NTOT=LP*NMBE
      W=FLOAT(NTOT)
      SD=DSORT(U/W)
      CLIM(1)=-1.150*SD
      CLIM(2)=-0.675*SD
      CLIM(3)=-0.319*SD
      CLIM(4)=0.
      CLIM(5)=0.319*SD
      CLIM(6)=0.675*SD
      CLIM(7)=1.150*SD
      CLIM(8)=SD/ACCM
      DO 108 I=1,NR
108    JPOP(I)=0
      AM=0.
      DM=0.
      VAR=0.
      COSQ=0.
      COKU=0.
      RDEN=0.
      IF (JPR .EQ. 1) WRITE (JOUT,24)
      DO 110 I=1,NK1
110    JK(I)=1
      DO 114 J=1,116
114    PT(J)=BLANK
      DO 200 IP=1,LP
      DO 115 I=1,NMBE
115    PT(JK(I))=BLANK
      DO 116 J=2,116,19
116    PT(J)=PLUS
      DO 130 I=1,NMBE
      TT=T(I,IP)
      EPS=STEPS(I,IP)
      DO 119 K=1,NR
      IF (EPS-CLIM(K)) 118,118,119
118    JPOP(K)=JPOP(K)+1
      GO TO 120
119    CONTINUE
      JPOP(NR)=JPOP(NR)+1
120    AM=AM+EPS
      RDEN=RDEN+TT*TT
      DM=DM+DABS(EPS)
      EPSS=EPS*EPS
      VAR=VAR+EPSS
      COSQ=COSQ+EPS*EPSS
      COKU=COKU+EPSS*EPSS
      J=IDINT(EPS/SD*19.+59.5)
      IF (J .LT. 2) J=2
      IF (J .GT. 116) J=116
130    JK(I)=J
200    PT(J)=SYM(I)
      IF (JPR .EQ. 1) WRITE (JOUT,21) IP,PT
      AM=AM/NTOT
      DM=DM/NTOT
      VAR=VAR/W
      COSQ=COSQ/(NTOT*VAR*SD)
      COKU=COKU/(NTOT*VAR*VAR)
      WRITE (JOUT,10) AM,DM
      WRITE (JOUT,11) SD,VAR
      WRITE (JOUT,12) COSQ,COKU
      OBSCH=0.
      R1=-CLIM(NR)
      DO 350 K=1,NR
      EXPOP=W/8.
      OBFR=FLOAT(JPOP(K))/W
      RAPP=(JPOP(K)-EXPOP)**2/EXPOP

```

MIN09540  
MIN09550  
MIN09560  
MIN09570  
MIN09580  
MIN09590  
MIN09600  
MIN09610  
MIN09620  
MIN09630  
MIN09640  
MIN09650  
MIN09660  
MIN09670  
MIN09680  
MIN09690  
MIN09700  
MIN09710  
MIN09720  
MIN09730  
MIN09740  
MIN09750  
MIN09760  
MIN09770  
MIN09780  
MIN09790  
MIN09800  
MIN09810  
MIN09820  
MIN09830  
MIN09840  
MIN09850  
MIN09860  
MIN09870  
MIN09880  
MIN09890  
MIN09900  
MIN09910  
MIN09920  
MIN09930  
MIN09940  
MIN09950  
MIN09960  
MIN09970  
MIN09980  
MIN09990  
MIN10000  
MIN10010  
MIN10020  
MIN10030  
MIN10040  
MIN10050  
MIN10060  
MIN10070  
MIN10080  
MIN10090  
MIN10100  
MIN10110  
MIN10120  
MIN10130  
MIN10140  
MIN10150  
MIN10160  
MIN10170  
MIN10180  
MIN10190  
MIN10200  
MIN10210  
MIN10220  
MIN10230  
MIN10240  
MIN10250  
MIN10260  
MIN10270  
MIN10280  
MIN10290  
MIN10300  
MIN10310

	R1=CLIM(K)	MIN10320
350	OBSCH=OBSCH+RAPP	MIN10330
	RFACT=DSORT(U/RDEN)	MIN10340
	WRITE (JOUT,18) OBSCH,RFACT	MIN10350
	IF (KPR .EQ. 0) GO TO 395	MIN10360
	DO 380 IP=1,LP	MIN10370
380	WRITE (JOUT,2) IP, (T(J,IP),J=1,NMBE), (CONC(J,IP),J=1,NMBE),	MIN10380
	* (CB(J,IP),J=1,NK)	MIN10390
395	L=0	MIN10400
	DO 400 I=1,5	MIN10410
400	L=L+LPR(I)	MIN10420
	IF (L .GE. 1) WRITE (JOUT,22)	MIN10430
	DO 410 I=1,116	MIN10440
410	PT(I)=BLANK	MIN10450
	DO 480 I=1,NMBE	MIN10460
	IF (LPR(I) .EQ. 0) GOTO 480	MIN10470
	WRITE (JOUT,20) I	MIN10480
	WRITE (JOUT,25) (PLUS,K=1,130)	MIN10490
	DO 470 IP=1,LP	MIN10500
	TS=T(I,IP)	MIN10510
	DO 430 K=1,NK1	MIN10520
430	PT(JK(K))=BLANK	MIN10530
	PT(2)=PLUS	MIN10540
	PT(102)=PLUS	MIN10550
	DO 460 J=1,NK	MIN10560
	K=IDINT(CB(J,IP)*JQR(I,J)*100./TS+2.5)	MIN10570
	IF (K .LT. 2) K=2	MIN10580
	IF (K .GT. 116) K=116	MIN10590
	JK(J)=K	MIN10600
460	PT(K)=SYM(J)	MIN10610
	K=IDINT(CONC(I,IP)*100./TS+2.5)	MIN10620
	JK(NK1)=K	MIN10630
	PT(K)=SYM(NK1)	MIN10640
470	WRITE (JOUT,21) IP,PT	MIN10650
480	CONTINUE	MIN10660
	RETURN	MIN10670
	END	MIN10680

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

VITAE

Dr. Vithaya RUANGFORNVISUTHI, B.Sc., M.Sc., Dr. rer. nat.

PERSONAL

Date of Birth : 23 October 1957

Place of Birth : Phichit, Thailand

Citizenship : Thai

Languages : Thai, English, German

EDUCATION

1980 : B.Sc. (Chemistry) from Chiangmai University, Chiangmai

1984 : M.Sc. (Physical Chemistry) from Chulalongkorn University

1987 : Dr. rer. nat. (Computational & Analytical Chemistry) from  
Innsbruck University, Austria

EXPERIENCEAcademic Experience

1983. 1987-1989 : Lecturer, Department of Chemistry, Faculty of  
Education and Industry, KMUT (Thonburee)

1984 : Permanent Lecturer, Department of Chemistry, Faculty of  
Science, Chulalongkorn University

1984 : Computer Committee, Faculty of Science, Chulalongkorn  
University

1984 : Educational Science Committee, Faculty of Science,  
Chulalongkorn University

1989 : Representative of Physical Chemistry Field, Department of  
Chemistry

1983 : Production Supervisor, "Crown" Paint Factory Co. Ltd.

