บทที่ 5
สรุปและอภิปรายผล

จากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานผสมของคาเฟอีนและวิตามินละลายในน้ำ 5 ชนิด โดยเทคนิคไมเซลลาร์อิเล็กโทรไคเนติกโครมาโทกราฟี เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานผสม โดยกำหนดสภาวะเริ่มต้นที่ใช้ในการทดลองคือ แคปิลารีชนิดฟิวซิลิกา มีความยาว 42.0 เซนติเมตร ความยาวของแคปิลารีที่ใช้ในการแยก 33.5 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 75 ไมโครเมตร อุณหภูมิของแคปิลารี 25 องศาเซลเซียส ศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ในการทดลอง 10 กิโลโวลท์ นำสารเข้าสู่แคปิลารีด้วยความดัน 50.0 มิลลิบาร์ เป็นเวลา 5 วินาที ตรวจวัดสัญญาณที่ความยาวคลื่น 220 นาโนเมตรและ 265 นาโนเมตร ความกว้างของช่องแสง 20 นาโนเมตร การปรับสภาพผิวภายในแคปิลารีระหว่างการฉีดซ้ำคือ ชะล้างด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 โมลาร์ เป็นเวลา 1 นาทีและ บัฟเฟอร์ 1 นาที

1. การศึกษาค่าพีเอชของสารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ ที่มีผลต่อการวิเคราะห์สารผสมคาเฟอีนและวิตามินละลายน้ำ 5 ชนิด ในเทอมค่าไมเกรชันไทม์ ค่าการแยกและเวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ได้ผลการทดลองดังภาพที่ 5 ที่ค่าพีเอชที่ศึกษา นิโคตินาไมด์และคาเฟอีนไม่แยกออกจากกัน ในระบบบัฟเฟอร์ที่ไม่มีการเติมโซเดียมโดเดคซิลซัลเฟต หรือเรียกว่าเทคนิคแคปิลารีโซนอิเล็กโทรโฟรีซิส (Capillary Zone Electrophoresis) เนื่องจากสารทั้งสองชนิดนี้มีประจุเป็นกลาง (นิโคตินาไมด์ มีค่า $pK_a = 3.42$ คาเฟอีน มีค่า $pK_a = 14.0$) ดังนั้นทั้งนิโคตินาไมด์และคาเฟอีนจะเคลื่อนที่ไปพร้อมกันด้วย Electroosmotic Flow เท่านั้น (Okamoto, Nakajima, & Ito, 2002) วิตามินบีหนึ่งเกิดการแตกตัวเป็นประจุบวกในระบบบัฟเฟอร์ที่ใช้ในช่วงพีเอชที่ทำการศึกษา ด้วยผลของ Positive Electrophoretic Effect ซึ่งเป็นผลให้สารที่มีประจุบวกมีทิศทางการเคลื่อนที่ไปในทิศทางเดียวกับ Electroosmotic Flow ทำให้เคลื่อนที่แยกออกมาก่อนสารที่มีประจุเป็นกลาง ในทางตรงข้าม วิตามินบีสอง วิตามินบีหก และวิตามินซี ซึ่งเป็นประจุลบในระบบบัฟเฟอร์ที่ใช้ในช่วงพีเอชที่ศึกษา จะแยกออกมาช้ากว่าสารที่มีประจุเป็นกลาง เพราะว่าผลของ Negative Electrophoretic Effect ทำให้สารที่มีประจุลบจะมีทิศทางการเคลื่อนที่ตรงข้ามกับ Electroosmotic Flow แต่เนื่องจาก Electroosmotic Flow มีค่ามากกว่า Negative Electrophoretic Effect ทำให้สารที่แตกตัวเป็นประจุลบสามารถเคลื่อนที่ไปตามทิศทาง Electroosmotic Flow ได้ แต่จะเคลื่อนที่ช้ากว่าสารที่เป็นกลาง (Fujiwara, Iwase, & Honda, 1988) ในช่วงพีเอช 7.0 – 9.0 เมื่อค่าพีเอชเพิ่มขึ้น สารเคลื่อนที่ได้เร็วขึ้น ใช้เวลาในการวิเคราะห์เร็วขึ้น เพราะว่าเมื่อค่าพีเอชของบัฟเฟอร์เพิ่มขึ้น กลุ่มซิลินอลที่ผิวภายในแคปิลารีจะแตกตัวมากขึ้น ทำให้ค่า Zeta potential สูงขึ้น เป็นผลให้

Electroosmotic Flow เพิ่มขึ้น สารแต่ละตัวเคลื่อนที่ได้เร็วขึ้น ใช้เวลาในการวิเคราะห์เร็วขึ้น ช่วงพีเอช 7.0 – 9.0 พบว่าการเคลื่อนที่ของสารแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มสารที่เคลื่อนที่ได้เร็วขึ้นเมื่อค่าพีเอชเพิ่มขึ้น และกลุ่มสารที่เคลื่อนที่ได้ช้าลง เมื่อค่าพีเอชเพิ่มขึ้น กลุ่มสารที่เคลื่อนที่ได้เร็วขึ้น เมื่อค่าพีเอชเพิ่มขึ้น คือ กลุ่มสารวิตามินบีหนึ่ง นิโคตินาไมด์ คาเฟอีน และวิตามินซี เนื่องจากเมื่อค่าพีเอชเพิ่มขึ้น Electroosmotic Flow เพิ่มขึ้น ทำให้สารเคลื่อนที่ได้เร็วขึ้น ส่วนกลุ่มสารที่เคลื่อนที่ได้ช้าลง เมื่อค่าพีเอชเพิ่มขึ้น คือ กลุ่มสารวิตามินบีสองและวิตามินบีหก เนื่องจากการเพิ่มค่าพีเอชในบอเรตบัฟเฟอร์ ($pK_a = 9.14$) ทำให้วิตามินบีสองและวิตามินบีหกมีการแตกตัวเป็นประจุลบมากขึ้น เป็นผลให้สารมีการเคลื่อนที่ต้าน Electroosmotic Flow มากขึ้น ทำให้สารเคลื่อนที่ได้ช้าลง (วิตามินบีสอง มีค่า $pK_{a1} = 1.9$ และ $pK_{a2} = 10.2$ วิตามินบีหก มีค่า $pK_{a1} = 5.0$ และ $pK_{a2} = 9.0$) (Fotsing, Fillet, Bechet, Hubert, & Crommen, 1997) ที่ค่าพีเอช 10.0 พบว่าวิตามินบีสองและวิตามินบีหก ไม่แยกออกจากกัน และจากความสัมพันธ์ระหว่างค่าพีเอชกับกระแสไฟฟ้าที่ได้รับดังภาพที่ 23 พบว่ากระแสไฟฟ้าที่ได้รับมีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อค่าพีเอชในสารละลายบอเรตบัฟเฟอร์เพิ่มขึ้น และเพิ่มขึ้นอย่างมากเมื่อค่าพีเอชในสารละลายบอเรตบัฟเฟอร์เปลี่ยนจาก พีเอช 9.0 เป็น 10.0 ดังนั้นค่าพีเอชของบอเรตบัฟเฟอร์ที่เหมาะสมที่สุดคือ 9.0 ใช้เวลาวิเคราะห์น้อยกว่า 6 นาที

2. การศึกษาความเข้มข้นของโซเดียมโดเดคซิลซัลเฟตในสารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ ที่มีผลต่อการวิเคราะห์สารผสมคาเฟอีนและวิตามินละลายน้ำ 5 ชนิด ในเทอมค่าไมเกรชันไทม์ ค่าการแยกและเวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ ได้ผลการทดลองดังภาพที่ 6 โดยศึกษาค่าความเข้มข้นของโซเดียมโดเดคซิลซัลเฟตในช่วง 10.0 – 30.0 มิลลิโมลาร์ ในสารละลายบอเรตบัฟเฟอร์เข้มข้น 10.0 มิลลิโมลาร์ พีเอชบัฟเฟอร์ 9.0 การเติมโซเดียมโดเดคซิลซัลเฟตลงในบัฟเฟอร์ จะเกิดเฟสไมเซลลาร์ ซึ่งช่วยในการแยกสารที่ไม่มีประจุออกจากกัน โดยโมเลกุลที่มี Hydrophobicity สูง จะกระจายอยู่ในเฟสไมเซลลาร์ได้ดี จะเคลื่อนที่ออกมาช้ากว่าสารที่กระจายในเฟสสารละลายได้ดี เนื่องจากโซเดียมโดเดคซิลซัลเฟตเป็นสารลดแรงตึงผิวชนิดประจุลบ ซึ่งเมื่อรวมตัวกลายเป็นเฟสไมเซลลาร์ขึ้นมา จะมีทิศทางการเคลื่อนที่ตรงข้ามกับ Electroosmotic flow ทำให้สารที่กระจายตัวในเฟสไมเซลลาร์ได้ดี จะเคลื่อนที่ช้ากว่าสารที่กระจายตัวในเฟสสารละลายได้ดี จากภาพที่ 6 เมื่อเติมความเข้มข้นของโซเดียมโดเดคซิลซัลเฟตลงไปในบัฟเฟอร์ 10.0 มิลลิโมลาร์ นิโคตินาไมด์และคาเฟอีนเริ่มแยกออกจากกัน โดยนิโคตินาไมด์แยกออกมาก่อนคาเฟอีน เนื่องจากคาเฟอีนกระจายตัวอยู่ในเฟสไมเซลลาร์ได้ดีกว่า ทำให้เคลื่อนที่ช้ากว่านิโคตินาไมด์ (Okamoto, Nakajima, & Ito, 2002) ในขณะที่วิตามินบีหนึ่ง มีลำดับการเคลื่อนที่ที่เปลี่ยนไป เมื่อเทียบกับระบบบัฟเฟอร์ที่ไม่มีการเติมโซเดียมโดเดคซิลซัลเฟต เนื่องจากในโมเลกุลวิตามินบีหนึ่งเกิดการแตกตัวให้ประจุบวก ซึ่งสามารถดึงดูดกับประจุลบของเฟสไมเซลลาร์ วิตามินบีหนึ่งกระจายในเฟส

ไมเซลลาร์ได้ดี ทำให้วิตามินบีหนึ่งมีการเคลื่อนที่ช้าลง เมื่อความเข้มข้นของโซเดียมโดเดคซิลซัลเฟตเพิ่มขึ้น วิตามินบีหนึ่งมีการกระจายตัวในเฟสไมเซลลาร์ได้ดียิ่งขึ้น ทำให้ใช้เวลาในการเคลื่อนที่มากขึ้น การเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมโดเดคซิลซัลเฟตลงในบัฟเฟอร์ ยังมีผลต่อวิตามินบีสองด้วย เนื่องจากเป็นการเพิ่ม Lipophilicity ของวิตามินบีสองให้เพิ่มขึ้น วิตามินบีสองสามารถกระจายตัวในเฟสไมเซลลาร์ได้มากขึ้น ทำให้ใช้เวลาในการเคลื่อนที่มากขึ้น (Nishi, Tsumagari, & Kakimoto, 1989) จากความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของโซเดียมโดเดคซิลซัลเฟตในสารละลายบัฟเฟอร์กับกระแสไฟฟ้าที่ได้รับ ดังภาพที่ 24 พบว่ากระแสไฟฟ้าที่ได้รับมีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นของโซเดียมโดเดคซิลซัลเฟตในสารละลายบอเรตบัฟเฟอร์เพิ่มขึ้น และความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของโซเดียมโดเดคซิลซัลเฟตในสารละลายบัฟเฟอร์กับค่าการแยกของนิโคตินาไมด์กับคาเฟอีน และวิตามินบีสองกับวิตามินบีหก ดังภาพที่ 25 ความเข้มข้นของโซเดียมโดเดคซิลซัลเฟตในบอเรตบัฟเฟอร์ 25.0 มิลลิโมลาร์ ให้ค่าการแยกระหว่างนิโคตินาไมด์กับคาเฟอีน และวิตามินบีสองกับวิตามินบีหก ให้ค่าการแยกมากกว่า 1.5 ดังนั้นความเข้มข้นของโซเดียมโดเดคซิลซัลเฟตในบอเรตบัฟเฟอร์ที่เหมาะสมที่สุดคือ 25.0 มิลลิโมลาร์ ใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยกว่า 10 นาที

3. การศึกษาความเข้มข้นของสารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ ที่มีผลต่อการวิเคราะห์สารผสมคาเฟอีนและวิตามินละลายน้ำ 5 ชนิด ในเทอมค่าไมเกรชันไทม์ ค่าการแยกและเวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ ได้ผลการทดลองดังภาพที่ 7 โดยทำการศึกษาค่าความเข้มข้นของบอเรตในช่วง 10.0 – 20.0 มิลลิโมลาร์ ในสารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ที่มีความเข้มข้นของโซเดียมโดเดคซิลซัลเฟต 25.0 มิลลิโมลาร์ พีเอช 9.0 ความเข้มข้นของบัฟเฟอร์มีผลต่อความหนืดของสารละลายบัฟเฟอร์และค่า Zeta Potential โดยเมื่อความเข้มข้นของบัฟเฟอร์เพิ่มขึ้น ความหนืดของสารละลายบัฟเฟอร์เพิ่มขึ้นค่า Zeta Potential ลดลง ทำให้ Electroosmotic Flow ลดลง สารเคลื่อนที่ใช้เวลามากขึ้น จากความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของบอเรตในสารละลายบัฟเฟอร์กับกระแสไฟฟ้าที่ได้รับ ดังภาพที่ 26 การเพิ่มความเข้มข้นบอเรตในสารละลายบัฟเฟอร์ กระแสในระหว่างการแยกมากขึ้น และการเพิ่มความเข้มข้นบอเรตในสารละลายบัฟเฟอร์ ใช้เวลาในการวิเคราะห์เพิ่มขึ้น ดังนั้นความเข้มข้นของบอเรตในสารละลายบัฟเฟอร์ที่เหมาะสมที่สุดคือ 10.0 มิลลิโมลาร์ ใช้เวลาวิเคราะห์น้อยกว่า 10 นาที

4. การศึกษาปริมาณอะซิโตไนไตร์ในสารละลายบัฟเฟอร์ ที่มีผลต่อการวิเคราะห์สารผสมคาเฟอีนและวิตามินละลายน้ำ 5 ชนิด ในเทอมค่าไมเกรชันไทม์ ค่าการแยกและเวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ ได้ผลการทดลองดังภาพที่ 8 โดยทำการศึกษาเปอร์เซ็นต์ของอะซิโตไนไตร์ ในช่วง 0 – 3% ในสารละลายบอเรตบัฟเฟอร์เข้มข้น 10.0 มิลลิโมลาร์ มีโซเดียมโดเดคซิลซัลเฟต

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

เข้มข้น 25.0 มิลลิโมลาร์ พีเอช 9.0 การเติมอะซิโตไนไตร์ลงไปในสารละลายบัฟเฟอร์มีผลต่อความเร็วของ Electroosmotic Flow โดยการเติมอะซิโตไนไตร์ลงในสารละลายบัฟเฟอร์ เป็นการลดค่าคงที่ไดอิเล็กทริคของสารละลายบัฟเฟอร์ เนื่องจากในสารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ มีน้ำเป็นตัวทำละลาย ซึ่งน้ำเป็นสารมีขั้ว มีค่าคงที่ไดอิเล็กทริคเท่ากับ 78 ในขณะที่อะซิโตไนไตร์มีค่าคงที่ไดอิเล็กทริคเท่ากับ 38 เมื่อเติมอะซิโตไนไตร์ลงในสารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ ทำให้ค่าคงที่ไดอิเล็กทริคของสารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ลดลง Electroosmotic Flow ลดลง สารเคลื่อนที่ใช้เวลามากขึ้น ใช้เวลาวิเคราะห์ในการวิเคราะห์เพิ่มขึ้น จากภาพที่ 8 พบว่าการเพิ่มปริมาณอะซิโตไนไตร์ลงในสารละลายบัฟเฟอร์ 1% ยังไม่เห็นผลการเปลี่ยนแปลงของค่าไมเกรชันไทม์ชัดเจน แต่เมื่อเพิ่มปริมาณอะซิโตไนไตร์ลงในสารละลายบัฟเฟอร์เป็น 2% และ 3% มีการเปลี่ยนแปลงไมเกรชันไทม์ชัดเจนมากขึ้น โดยสารเคลื่อนที่ใช้เวลามากขึ้น ใช้เวลาในการวิเคราะห์เพิ่มขึ้น ดังนั้นการไม่เติมอะซิโตไนไตร์ลงในสารละลายบัฟเฟอร์ เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุด ใช้เวลาวิเคราะห์น้อยกว่า 10 นาที

5. การศึกษาอุณหภูมิของแคปิลารี ที่มีผลต่อการวิเคราะห์สารผสมคาเฟอีนและวิตามินละลายน้ำ 5 ชนิด ในเทอมค่าไมเกรชันไทม์ ค่าการแยกและเวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ ได้ผลการทดลองดังภาพที่ 9 โดยทำการศึกษาค่าอุณหภูมิของแคปิลารีในช่วง 25 – 40 องศาเซลเซียส สารละลายบอเรตบัฟเฟอร์เข้มข้น 10.0 มิลลิโมลาร์ มีโซเดียมโดเดคซิลซัลเฟตเข้มข้น 25.0 มิลลิโมลาร์ พีเอช 9.0 อุณหภูมิของแคปิลารีมีผลต่อค่าไมเกรชันไทม์ของสาร เนื่องจากการเพิ่มอุณหภูมิของแคปิลารี เป็นการลดความหนืดของสารละลายบัฟเฟอร์ เป็นผลให้ค่า Electroosmotic Flow เพิ่มขึ้น สารเคลื่อนที่ได้เร็วขึ้น และใช้เวลาในการวิเคราะห์ลดลง จากภาพที่ 9 เมื่ออุณหภูมิของแคปิลารีเพิ่มขึ้น สารทุกตัวเคลื่อนที่ได้เร็วขึ้น จากความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิของแคปิลารี กับกระแสไฟฟ้าที่ได้รับ ดังภาพที่ 27 พบว่ากระแสไฟฟ้าที่ได้รับมีค่าเพิ่มขึ้น เมื่ออุณหภูมิของแคปิลารีเพิ่มขึ้น และความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิของแคปิลารีกับค่าการแยกของนิโคตินาไมด์กับคาเฟอีนและวิตามินบีสองกับวิตามินบีหก ดังภาพที่ 28 อุณหภูมิของแคปิลารี 30 องศาเซลเซียส ให้ค่าการแยกระหว่างนิโคตินาไมด์กับคาเฟอีน ประมาณ 1.85 แต่ใช้เวลาในการวิเคราะห์ประมาณ 9 นาที แต่ที่อุณหภูมิของแคปิลารี 40 องศาเซลเซียส ใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยกว่า 8 นาที ซึ่งให้ค่าการแยกระหว่างนิโคตินาไมด์กับคาเฟอีน ประมาณ 1.08 ซึ่งเป็นค่าการแยกที่น้อยกว่า 1.5 แต่สามารถเพิ่มค่าการแยกระหว่างนิโคตินาไมด์กับคาเฟอีนได้ โดยการลดปริมาณสารที่ฉีดเข้าสู่แคปิลารีได้ แต่ต้องสูญเสีย Sensitivity ของการวิเคราะห์ ซึ่งการวิเคราะห์หาปริมาณสารในเครื่องดื่มชูกำลัง ไม่จำเป็นต้องให้ Sensitivity ของการวิเคราะห์สูง เนื่องจากสารที่วิเคราะห์มีปริมาณมาก ต้องทำการเจือจางก่อนการวิเคราะห์ แต่ในเทอมเวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ ควรจะใช้

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

เวลาน้อยๆ เนื่องจากเทคนิคไมเซลลาร์อิเล็กโทรไคเนติกโครมาโทกราฟี เป็นเทคนิคการสร้างเฟสไมเซลลาร์ขึ้นมา ถ้าใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน อาจทำให้ความร้อนที่เกิดขึ้นในแคปิลารีเพิ่มมากขึ้น ทำให้เกิดฟองอากาศขึ้นภายในแคปิลารี ซึ่งส่งผลทำให้กระแสตก ไม่สามารถวิเคราะห์ เป็นปัญหาที่ควบคุมได้ยาก ดังนั้นจึงเลือกวิธีที่จะใช้เวลาในการวิเคราะห์ให้น้อยที่สุด ดังนั้นอุณหภูมิของแคปิลารีที่เหมาะสมที่สุดคือ 40 องศาเซลเซียส เนื่องจากใช้เวลาวิเคราะห์น้อยกว่า 8 นาที

6. ผลของเวลาที่ใช้ในการฉีดสารเข้าสู่แคปิลารีที่มีผลต่อการวิเคราะห์สารผสมคาเฟอีนและวิตามินละลายน้ำ 5 ชนิด ในเทอมค่าการแยกได้ผลการทดลองดังภาพที่ 10 โดยทำการศึกษาเวลาที่ใช้ในการฉีดสารเข้าสู่แคปิลารีในช่วง 3 – 5 วินาที ที่ความดันคงที่ 50.0 มิลลิบาร์ สารละลายบอเรตบัฟเฟอร์เข้มข้น 10.0 มิลลิโมลาร์ มีโซเดียมโดเดคซิลซัลเฟตเข้มข้น 25.0 มิลลิโมลาร์ พีเอช 9.0 อุณหภูมิของแคปิลารี 40.0 องศาเซลเซียส เวลาที่ใช้ในการฉีดสารเข้าสู่แคปิลารีมีผลต่อปริมาณของตัวอย่างที่เข้าสู่แคปิลารี สภาพไวของการวิเคราะห์ รูปร่างและความสูงของพีก และค่าการแยก การเพิ่มเวลาที่ใช้ในการฉีดสารเข้าสู่แคปิลารี ปริมาณสารที่เข้าสู่แคปิลารีมากขึ้นด้วย สภาพไวเพิ่มขึ้น พีกที่ได้สูงขึ้นและกว้างขึ้น การหาเวลาที่ใช้ในการฉีดสารเข้าสู่แคปิลารีที่เหมาะสม เพื่อหาปริมาณของสารที่มากสุดที่สามารถเข้าสู่แคปิลารีได้ โดยให้สภาพไวสูงสุด ได้พีกมีรูปร่างสูงและไม่เกิด Band Broadening ซึ่งจะทำให้ประสิทธิภาพการแยกลดลง แต่ในการศึกษานี้ มุ่งเน้นเพิ่มค่าการแยกของสารนิโคตินาไมด์กับคาเฟอีน จากความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการฉีดสาร กับค่าการแยกระหว่างนิโคตินาไมด์กับคาเฟอีนดังภาพที่ 29 เมื่อลดเวลาในการฉีดสารลง ค่าการแยกระหว่างนิโคตินาไมด์กับคาเฟอีนเพิ่มขึ้น ซึ่งเวลาในการฉีดสาร 5 วินาทีให้ค่าการแยกระหว่างนิโคตินาไมด์กับคาเฟอีนเท่ากับ 1.08 เวลาในการฉีดสาร 4 วินาทีให้ค่าการแยกระหว่างนิโคตินาไมด์กับคาเฟอีนเท่ากับ 1.38 และเวลาในการฉีดสาร 3 วินาทีให้ค่าการแยกระหว่างนิโคตินาไมด์กับคาเฟอีนเท่ากับ 1.54 ดังนั้นเวลาในการฉีดสารที่เหมาะสมที่สุดคือ 3 วินาที ที่ความดันคงที่ 50.0 มิลลิบาร์ โดยให้ค่าการแยกระหว่างนิโคตินาไมด์กับคาเฟอีนเกิน 1.5 และใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยกว่า 8 นาที

สรุปภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการวิเคราะห์สารกลุ่มคาเฟอีนและวิตามินละลายในน้ำ 5 ชนิด โดยวิธีไมเซลลาร์อิเล็กโทรไคเนติกโครมาโทกราฟี ดังตารางที่ 11

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 11 แสดงสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารกลุ่มคาเฟอีนและวิตามินละลายน้ำ 5 ชนิดโดยวิธีไมเซลลาร์อิเล็กโทรไคเนติกโครมาโทกราฟี

สภาวะที่ศึกษา	สภาวะที่เหมาะสม
สารละลายบัฟเฟอร์	บอเรตบัฟเฟอร์เข้มข้น 10.0 มิลลิโมลาร์ มีโซเดียมโดเดคซิลซัลเฟต 25.0 มิลลิโมลาร์ พีเอช 9.0
อุณหภูมิของแคปิลารี	40 องศาเซลเซียส
เวลาในการนำสารเข้าสู่แคปิลารี (ความดันคงที่ 50.0 มิลลิบาร์)	3 วินาที
ศักย์ไฟฟ้าที่ใช้	10 กิโลโวลท์
ความยาวคลื่น	220 นาโนเมตร และ 265 นาโนเมตร
การปรับสภาพผิวภายในแคปิลารีระหว่างการฉีดซ้ำ	โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 โมลาร์นาน 1 นาที และสารละลายบัฟเฟอร์ 1 นาที

10. การศึกษาความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์สารกลุ่มคาเฟอีนและวิตามินละลายในน้ำ 5 ชนิด พบว่าขีดจำกัดของการตรวจวัดอยู่ในช่วงความเข้มข้น 0.3 – 1.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ขีดจำกัดของการวิเคราะห์ปริมาณอยู่ในช่วงความเข้มข้น 1.5 – 3.5 มิลลิกรัมต่อลิตร กราฟมาตรฐานให้ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (r^2) ของสารทุกตัวมากกว่า 0.995 ผลการศึกษาความเที่ยง พบว่าค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของพื้นที่พีกอยู่ในช่วง 1.4 – 4.0 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของค่าไมเกรชันไทม์อยู่ในช่วง 0.2 – 1.7 และการหาความแม่นของวิธีวิเคราะห์ สำหรับนิโคตินาไมด์ คาเฟอีน และวิตามินบีหก ให้ค่าร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 100.7 – 109.7 มิลลิกรัมต่อลิตร 101.1 – 115.7 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 94.9 – 95.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

จากภาพที่ 12 เป็นการวิเคราะห์หาค่าขีดจำกัดของการตรวจวัด ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นที่ให้อัตราส่วนของสัญญาณต่อสัญญาณรบกวนของสารมาตรฐานทุกตัวอยู่ในช่วง 2 – 3 (Huber, 1998) พบว่าวิตามินบีสองและวิตามินบีหก มีค่าขีดจำกัดของการตรวจวัดต่ำสุดในการวิเคราะห์นี้ คือ 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 220 นาโนเมตร และวิตามินซีมีค่าขีดจำกัดของการตรวจวัดต่ำสุดในการวิเคราะห์นี้ คือ 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตรเช่นเดียวกัน แต่ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 265 นาโนเมตร จากภาพที่ 13 เป็นการวิเคราะห์หาค่าขีดจำกัดของการวิเคราะห์ปริมาณ ความเข้มข้นที่ให้ค่าอัตราส่วนของสัญญาณต่อสัญญาณรบกวนอยู่ในช่วง 10 – 12 (Huber, 1998) พบว่า วิตามินบีสองและวิตามินบีหก มีค่าขีดจำกัดของการวิเคราะห์ปริมาณต่ำสุดใน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การวิเคราะห์นี้ คือ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 220 นาโนเมตร และวิตามินซี มีค่าขีดจำกัดของการวิเคราะห์ปริมาณต่ำสุดในการวิเคราะห์นี้ คือ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตรเช่นเดียวกัน แต่ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 265 นาโนเมตร ในการสร้างกราฟมาตรฐาน วิตามินซีซึ่งใช้การวิเคราะห์ที่ 265 นาโนเมตร ให้ค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์ (r^2) สูงสุดคือ 0.9986 จากตารางที่ 4 ผลการหาความเที่ยง พบว่าที่ความเข้มข้น 20.0 มิลลิกรัมต่อลิตรให้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของพื้นที่พีกและไมเกรชันไทม์ต่ำกว่าที่ความเข้มข้น 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และการวิเคราะห์หาความเที่ยงของพื้นที่พีกและไมเกรชันไทม์ทุกๆ ความเข้มข้นให้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์น้อยกว่า 7.3 (Huber, 1998) จากตารางที่ 5 วิเคราะห์หาความแม่นในรูปร้อยละการกลับคืน พบว่าการ Spike นิโคตินาไมด์ คาเฟอีน และวิตามินบีหก ลงในเครื่องดื่มชูกำลังตัวอย่างที่ 1 ให้ค่าร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 80 – 110 (Huber, 1998) ยกเว้นการ Spike คาเฟอีน ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ค่าร้อยละการกลับคืน 115.7 มิลลิกรัมต่อลิตร การวิเคราะห์หาความแม่น ได้ทดลอง Spike นิโคตินาไมด์ คาเฟอีน และวิตามินบีหก ความเข้มข้น 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตรลงในเครื่องดื่มชูกำลังตัวอย่างที่ 1 เนื่องจากเครื่องดื่มชูกำลังตัวอย่างที่ 1 มีสารมาตรฐานที่เป็นส่วนผสมในการทดลองนี้อยู่ 5 ชนิด คือ นิโคตินาไมด์ คาเฟอีน วิตามินบีสอง วิตามินบีหก วิตามินบีหนึ่ง ยกเว้นวิตามินซี ซึ่งไม่มีในฉลาก การหาความแม่นในรูปร้อยละการกลับคืนสำหรับวิตามินบีสอง และวิตามินบีหนึ่ง ไม่สามารถหาได้ เนื่องจากการ Spike สารทั้ง 2 ชนิดนี้ลงในเครื่องดื่มชูกำลังตัวอย่างที่ 1 สารทั้ง 2 ชนิดนี้ให้ค่าสัญญาณต่ำมาก ไม่สามารถวิเคราะห์ได้ และเมื่อ Spike วิตามินซีลงในเครื่องดื่มชูกำลังตัวอย่างที่ 1 พีกวิตามินซีเกิดการซ้อนทับกับพีกของสารอื่นในเครื่องดื่มชูกำลังตัวอย่างที่ 1 ไม่สามารถวิเคราะห์ได้

11. การหาปริมาณสารกลุ่มคาเฟอีน และวิตามินละลายในน้ำ 5 ชนิด ในเครื่องดื่มชูกำลัง 5 ตัวอย่าง พบสารนิโคตินาไมด์ คาเฟอีนและวิตามินบีหก ในตัวอย่างทุกชนิด จากภาพที่ 31 – 36 เป็นภาพสเปกตรัมของสารมาตรฐานทั้ง 6 ชนิด และจากภาพที่ 37 – 39 เป็นภาพสเปกตรัมของสารในตัวอย่างเครื่องดื่มชูกำลัง การหาปริมาณสารในตัวอย่างเครื่องดื่มชูกำลัง 5 ตัวอย่าง แสดงผลดังตารางที่ 6 – 10 ตัวอย่างเครื่องดื่มชูกำลังตัวอย่างที่ 1 ไม่สามารถตรวจพบปริมาณวิตามินบีสองได้ จากภาพที่ 20 เมื่อ Spikeวิตามินบีสองลงในตัวอย่างเครื่องดื่มชูกำลังตัวอย่างที่ 1 เมื่อเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ได้ทำการ Spike ไม่พบพีกของวิตามินบีสอง ซึ่งวิตามินบีสองในเครื่องดื่มชูกำลังตัวอย่างที่ 1 อาจเกิดการสลายตัวกลายเป็นสารอื่นได้ เนื่องจากความร้อนที่เครื่องดื่มชูกำลังได้รับในขณะขนส่ง หรือการเก็บเพื่อการจำหน่าย ทำให้ไม่สามารถตรวจวัดปริมาณวิตามินบีสองได้ วิตามินบีหนึ่งในเครื่องดื่มชูกำลังตัวอย่างที่ 1 มีปริมาณน้อยกว่าขีดจำกัดของการวิเคราะห์ปริมาณ ทำให้ไม่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณได้ โดยเมื่อเปรียบเทียบตัวอย่างเครื่องดื่มชูกำลังตัวอย่างที่ 1 ที่ทำการ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Spike วิตามินบีหนึ่ง และที่ไม่ได้ทำการ Spike ไม่พบพีกของวิตามินบีหนึ่ง เครื่องดื่มชูกำลังตัวอย่างที่ 5 ไม่สามารถตรวจพบปริมาณวิตามินซี จากภาพที่ 21 เปรียบเทียบตัวอย่างที่ 5 Spike วิตามินซี และที่ไม่ได้ทำการ Spike ที่ความยาวคลื่น 265 นาโนเมตรปรากฏพีกวิตามินซีซ้อนทับสารอื่น จากภาพที่ 22 ที่ความยาวคลื่น 220 นาโนเมตร ไม่ปรากฏพีกวิตามินซีที่ทำการ Spike น่าสรุปได้ว่าพีกที่วิตามินซีที่ทำการ Spike ลงไปแล้วซ้อนทับ ไม่น่าใช่พีกของวิตามินซี ดังนั้นไม่สามารถตรวจพบปริมาณวิตามินซีได้ ในแต่ละตัวอย่างเครื่องดื่มชูกำลังจะมีสารไม่เหมือนกัน และบางสารก็มีในปริมาณที่ไม่เท่ากัน การวิเคราะห์หาปริมาณในแต่ละตัวอย่างเครื่องดื่มชูกำลัง จึงทำการวิเคราะห์และเปรียบเทียบกับในฉลากของตัวอย่างเครื่องดื่มชูกำลังนั้น ๆ

12. จากผลการทดลองทั้งหมดนี้ สามารถแยกกลุ่มสารคาเฟอีนและวิตามินละลายในน้ำ 5 ชนิด ภายในเวลา 8 นาที เมื่อเทียบกับการทดลองของฟูจิวาร่า (Fujiwara, Iwase & Honda, 1998) ซึ่งแยกกลุ่มสารวิตามินละลายในน้ำ 7 ชนิด ใช้เวลาในการแยก 22 นาที เทียบกับการทดลองของบุญเกิด (Boonkerd, Detaevernier & Michotte, 1994) ที่แยกกลุ่มสาร 4 ชนิด ซึ่งเป็นชนิดเดียวกันกับกลุ่มสารที่ทดลอง ซึ่งใช้เวลาในการแยกกลุ่มสารถึง 13 นาที หรือเทียบกับการทดลองของโอกาโมโตะ (Okamoto, Nakajima & Ito, 2002) ที่แยกกลุ่มสาร 6 ชนิด และมีสารชนิดเดียวกับการทดลองนี้ 5 ชนิด ยกเว้นวิตามินซีที่ไม่มีในการวิเคราะห์ ตัวอย่างที่วิเคราะห์เป็นเครื่องดื่มชูกำลังเช่นเดียวกัน ใช้เวลาในการแยกกลุ่มสารถึง 20 นาที เห็นได้ว่า สภาวะการทดลองที่ศึกษานี้ ใช้เวลาในการแยกกลุ่มสารคาเฟอีนและวิตามินละลายในน้ำน้อยกว่ามากเมื่อเทียบกับการทดลองอื่น ๆ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University