

บทที่ 4

ผลการทดลอง

ผลการทดลองกลุ่มสารโรโบฟลาวินและอนุพันธ์

1. ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์โดยเทคนิคแคปิลารีอิเล็กโตรโฟรีซิส

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารโรโบฟลาวิน ฟลาวิน โมโน

นิวคลีโอไทด์และฟลาวิน อะคีนิน ไดนิวคลีโอไทด์ โดยเทคนิคแคปิลารีอิเล็กโตรโฟรีซิส

โดยสภาวะของการทดลองมีดังนี้ ความยาวแคปิลารี 45.0 เซนติเมตร ความยาวของแคปิลารีที่ใช้

ในการแยก 36.5 เซนติเมตร ความแรงของสนามไฟฟ้า 10 กิโลโวลต์ นำสารตัวอย่างเข้าสู่แคปิลารี

ด้วยความดัน 50 มิลลิบาร์ ตรวจวัดสัญญาณที่ความยาวคลื่น 267 นาโนเมตร ความกว้างของ

ช่องแสง 20 นาโนเมตร

1.1 ผลการศึกษานิตของสารละลายบัฟเฟอร์ จากการศึกษาชนิดของสารละลาย

บัฟเฟอร์ โดยทำการศึกษาฟอสเฟต (PBS) และบอเรตบัฟเฟอร์ (BBS) ความเข้มข้นบัฟเฟอร์

แต่ละชนิดเท่ากับ 30 มิลลิโมลาร์ กำหนดค่าพีเอชเท่ากับ 8.5 ซึ่งพิจารณาในเทอมของค่า

ไมเกรชันไทม์ การแยกและสภาพไวของสารในการวิเคราะห์ภายใต้สภาวะที่กำหนดในแต่ละชนิด

ของบัฟเฟอร์ แสดงผลการศึกษาชนิดของสารละลายบัฟเฟอร์ดัง ภาพที่ 7 และภาพที่ 8 พบว่า

สารละลายบัฟเฟอร์ที่เหมาะสมที่สุดคือ สารละลายบอเรตบัฟเฟอร์

1.2 ผลการศึกษาค่าพีเอชของสารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ จากการศึกษาผลของ

พีเอชของสารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ ที่ความเข้มข้น 30 มิลลิโมลาร์ ที่พีเอชต่าง ๆ ต่อการวิเคราะห์

สารละลายผสมโรโบฟลาวิน ฟลาวิน โมโนนิวคลีโอไทด์ และฟลาวิน อะคีนิน ไดนิวคลีโอไทด์

ซึ่งพิจารณาในเทอมของค่าไมเกรชันไทม์และการแยก แสดงผลการศึกษาค่าพีเอชของสารละลาย

บอเรตบัฟเฟอร์ดังภาพที่ 9 พบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่สุดคือ สารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ที่ค่าพีเอช

เท่ากับ 8.5

1.3 ผลการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ จากการศึกษาผลของ

ความเข้มข้นของสารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในการวิเคราะห์สารละลายผสม

โรโบฟลาวิน ฟลาวิน โมโนนิวคลีโอไทด์และฟลาวิน อะคีนิน ไดนิวคลีโอไทด์ พิจารณาในเทอม

ของค่าไมเกรชันไทม์ การแยก และสภาพไว แสดงผลการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายบอเรต

บัฟเฟอร์ดังภาพที่ 10 และภาพที่ 11 พบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่สุดคือ สารละลายบอเรตบัฟเฟอร์

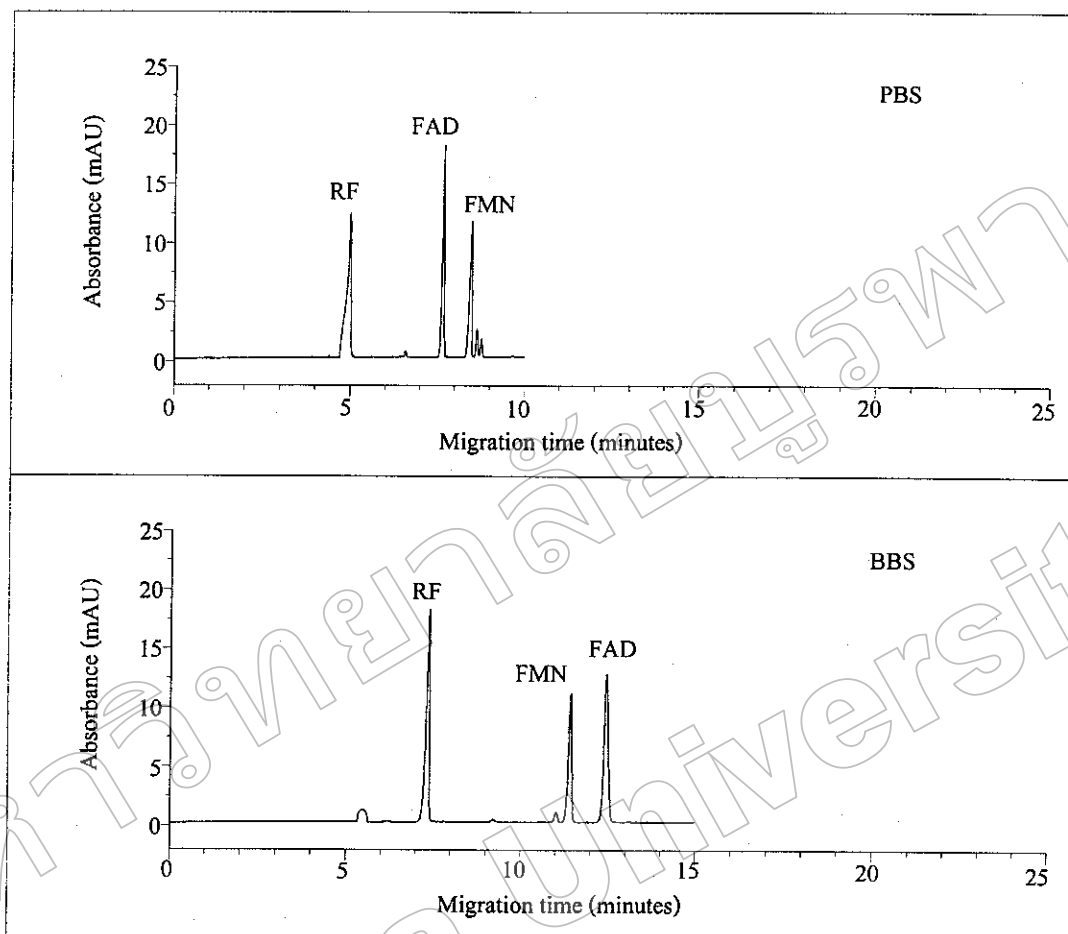
ความเข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์

1.4 ผลการศึกษาอิทธิพลของตัวทำละลายอินทรีย์ที่เติมในบัฟเฟอร์ จากการศึกษาโดยการเติมสารละลายเมทานอลและอะซิโตนในไตรล์โบเรตบัฟเฟอร์ที่ความเข้มข้นเปอร์เซ็นต์ต่าง ๆ ในการวิเคราะห์สารละลายผสมไรโบฟลาวิน ฟลาวินโมโนนิวคลีโอไทด์ และฟลาวินอะดีนีน ไดนิวคลีโอไทด์ พบว่าตัวทำละลายที่เติมในบัฟเฟอร์มีผลต่อการแยกและไมเกรชันไหม้ดังแสดงในภาพที่ 12 และ 13 พบว่าสภาวะที่เหมาะสมคือ 0% ตัวทำละลายอินทรีย์

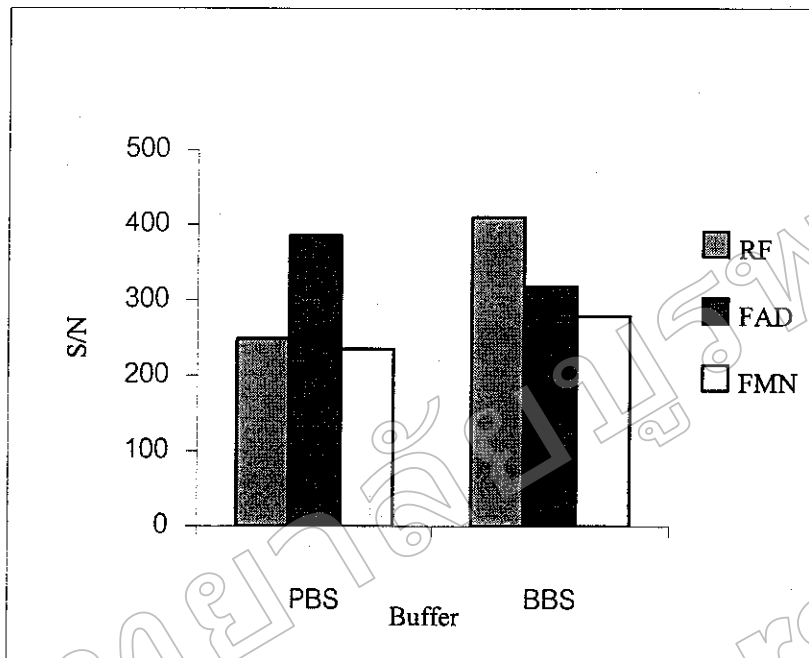
1.5 ผลการศึกษาอุณหภูมิที่ใช้ในการวิเคราะห์ จากการศึกษาผลของอุณหภูมิ 20-40 องศาเซลเซียส ในการวิเคราะห์สารละลายผสมไรโบฟลาวิน ฟลาวินโมโนนิวคลีโอไทด์ และฟลาวิน อะดีนีน ไดนิวคลีโอไทด์ พิจารณาในเทอมของค่าไมเกรชันไหม้และสภาพไวแสดงผลการศึกษาอุณหภูมิที่ใช้ในการแยกดังภาพที่ 14 และ 15 พบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่สุดคืออุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

1.6 ผลการศึกษาเวลาในการนำสารเข้าสู่แคปิลารี จากการศึกษาผลของเวลาในการนำสารตัวอย่างเข้าสู่แคปิลารี 3-10 วินาที ในการวิเคราะห์สารละลายผสมไรโบฟลาวิน ฟลาวินโมโนนิวคลีโอไทด์และฟลาวิน อะดีนีน ไดนิวคลีโอไทด์ พิจารณาในเทอมของค่าไมเกรชันไหม้ การแยกและสภาพไว แสดงผลการศึกษาเวลาในการนำสารเข้าสู่แคปิลารีดังภาพที่ 16 และ 17 พบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่สุดคือใช้เวลาในการนำสารตัวอย่างเข้าสู่แคปิลารีเป็นเวลา 7 วินาที

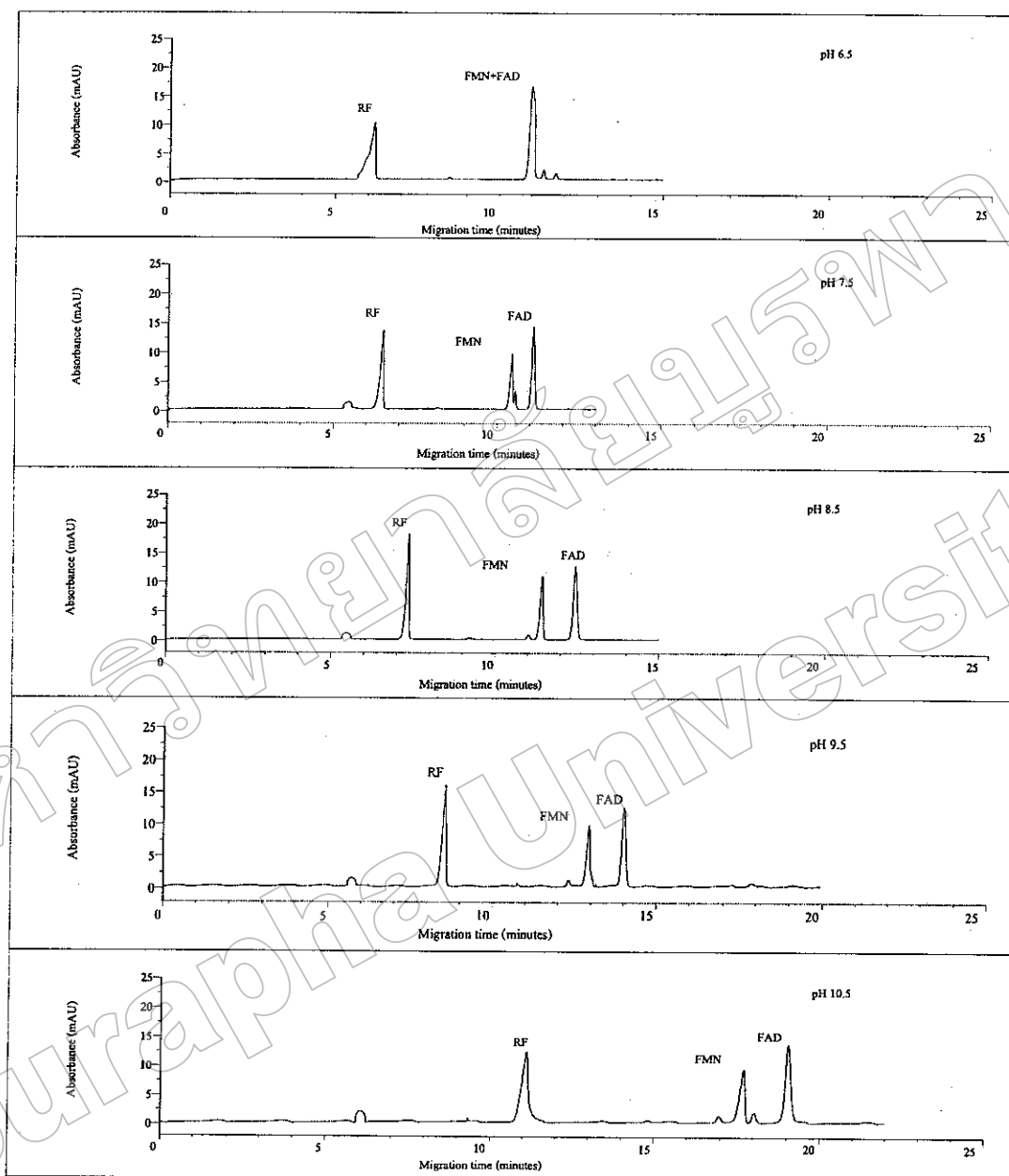
1.7 ผลการศึกษาการปรับสภาพผิวภายในแคปิลารี จากการศึกษาผลของการปรับสภาพผิวภายในของแคปิลารี ซึ่งทำการวิเคราะห์ด้วย 5 สภาวะ ดังนี้ สภาวะที่ 1 คือ 0.1 โมลาร์ NaOH 2 นาที่ น้ำ 2 นาที่ บัฟเฟอร์ 2 นาที่ สภาวะที่ 2 คือ 0.1 โมลาร์ NaOH 2 นาที่ บัฟเฟอร์ 2 นาที่ สภาวะที่ 3 คือ 0.1 โมลาร์ NaOH 1 นาที่ น้ำ 1 นาที่ บัฟเฟอร์ 1 นาที่ สภาวะที่ 4 คือ 0.1 โมลาร์ NaOH 1 นาที่ บัฟเฟอร์ 1 นาที่ และสภาวะที่ 5 คือ บัฟเฟอร์ 2 นาที่ ทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้งในแต่ละสภาวะ โดยพิจารณาในเทอมของค่าร้อยละความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของไมเกรชันไหม้และพื้นที่พิภพของสารมาตรฐานผสม แสดงผลดังภาพที่ 18 และ 19 ซึ่งสภาวะที่เหมาะสมที่สุดคือ สภาวะที่ 5 บัฟเฟอร์ 2 นาที่



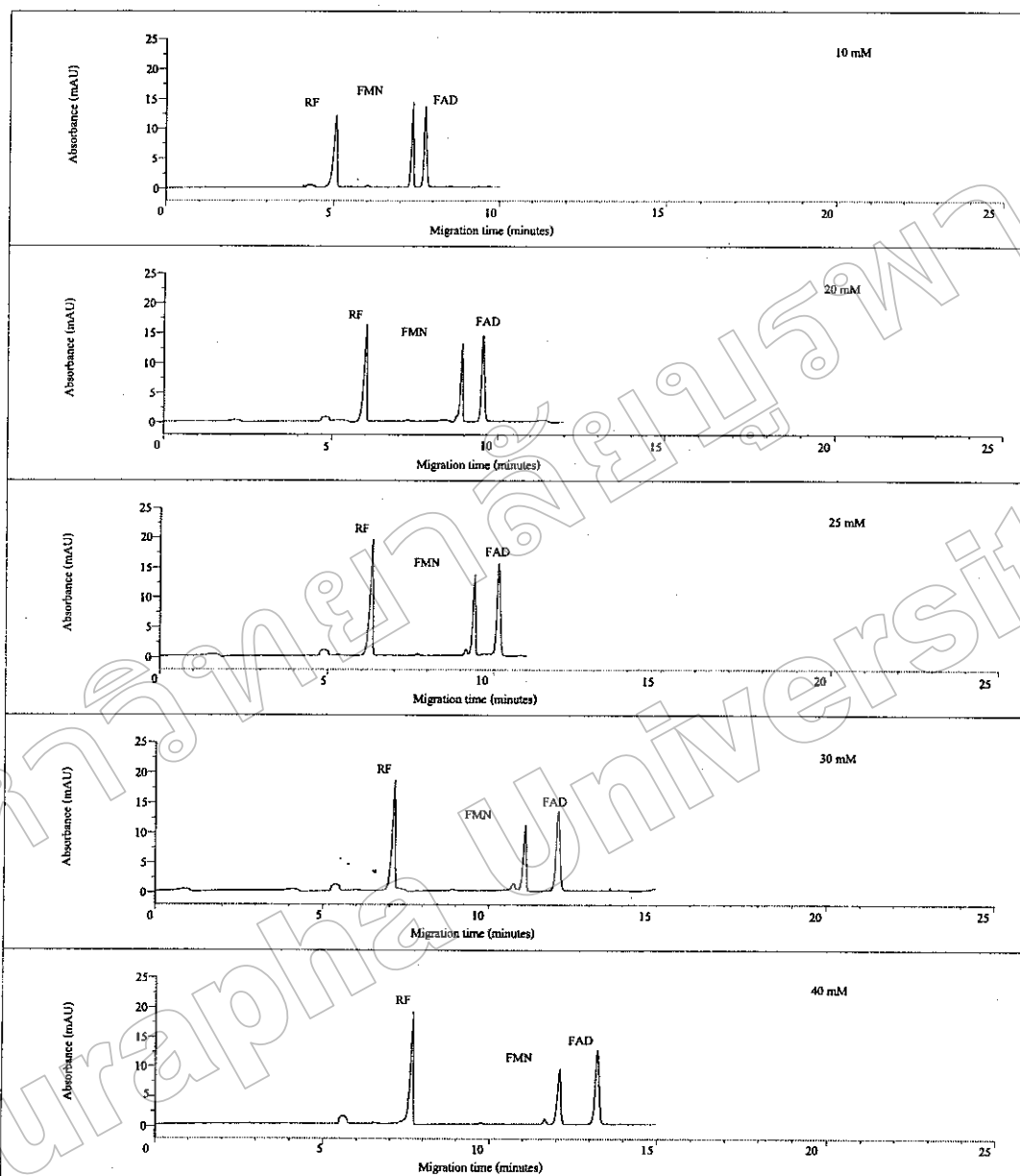
ภาพที่ 7 อิทธิพลของชนิดของบอเรตบัฟเฟอร์ และฟอสเฟตต่ออิเล็กโตรฟีโรแกรมของสารกลุ่มไรโบฟลาวินและอนุพันธ์ สภาวะของการทดลองดังนี้ สารละลายบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 30 มิลลิโมลาร์ ค่าพีเอช 8.5 ความยาวของแคปิลลารี 45.0 เซนติเมตร ความยาวของแคปิลลารีที่ใช้ ในการแยก 36.5 เซนติเมตร ความแรงสนามไฟฟ้า 10 กิโลโวลต์ อุณหภูมิ แคปิลลารี 20 องศาเซลเซียส นำสารตัวอย่างเข้าสู่แคปิลลารีด้วยความดัน 50 มิลลิบาร์ เวลา 5 วินาที ตรวจวัดสัญญาณที่ความยาวคลื่น 267 นาโนเมตร ความกว้างของช่องแสง 20 นาโนเมตร ความเข้มข้น RF, FMN และ FAD เท่ากับ 20 ppm



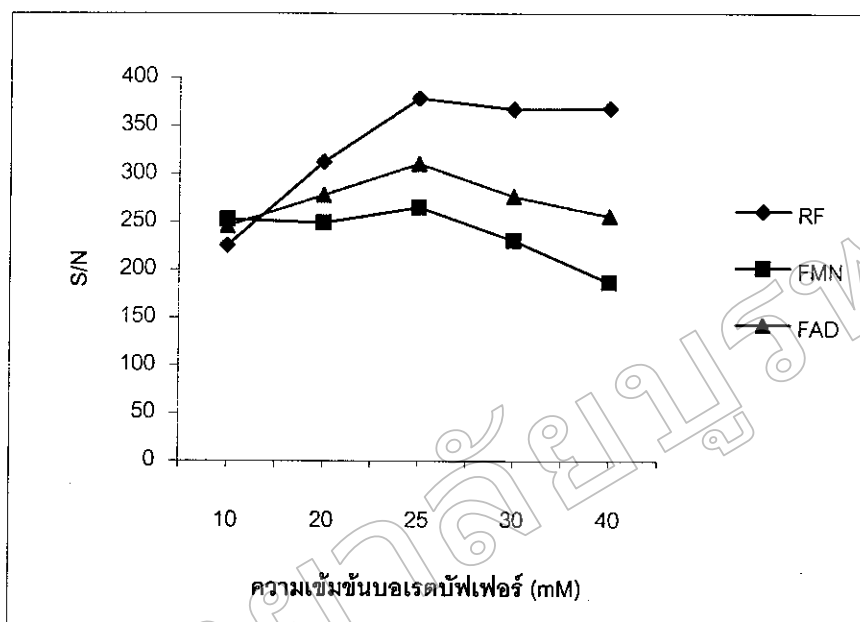
ภาพที่ 8 ผลของชนิดสารละลายบัฟเฟอร์ต่อสภาพไวของสารกลุ่มโรโบฟลาวินและอนุพันธ์
 สภาพะของการทดลองดังนี้ สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ และบอเรตบัฟเฟอร์
 ความเข้มข้น 30 มิลลิโมลาร์ ค่าพีเอช 8.5 ความยาวของแคปิลลารี 45.0 เซนติเมตร
 ความยาวของแคปิลลารีที่ใช้ในการแยก 36.5 เซนติเมตร ความแรงสนามไฟฟ้า 10
 กิโลโวลต์ อุนทอมิแคปิลลารี 20 องศาเซลเซียส นำสารตัวอย่างเข้าสู่แคปิลลารีด้วยความดัน
 50 มิลลิบาร์ เป็นเวลา 5 วินาที ตรวจวัดสัญญาณที่ความยาวคลื่น 267 นาโนเมตร
 ความกว้างของช่องแสง 20 นาโนเมตร ความเข้มข้นของ RF, FMN และ FAD เท่ากับ
 20 ppm



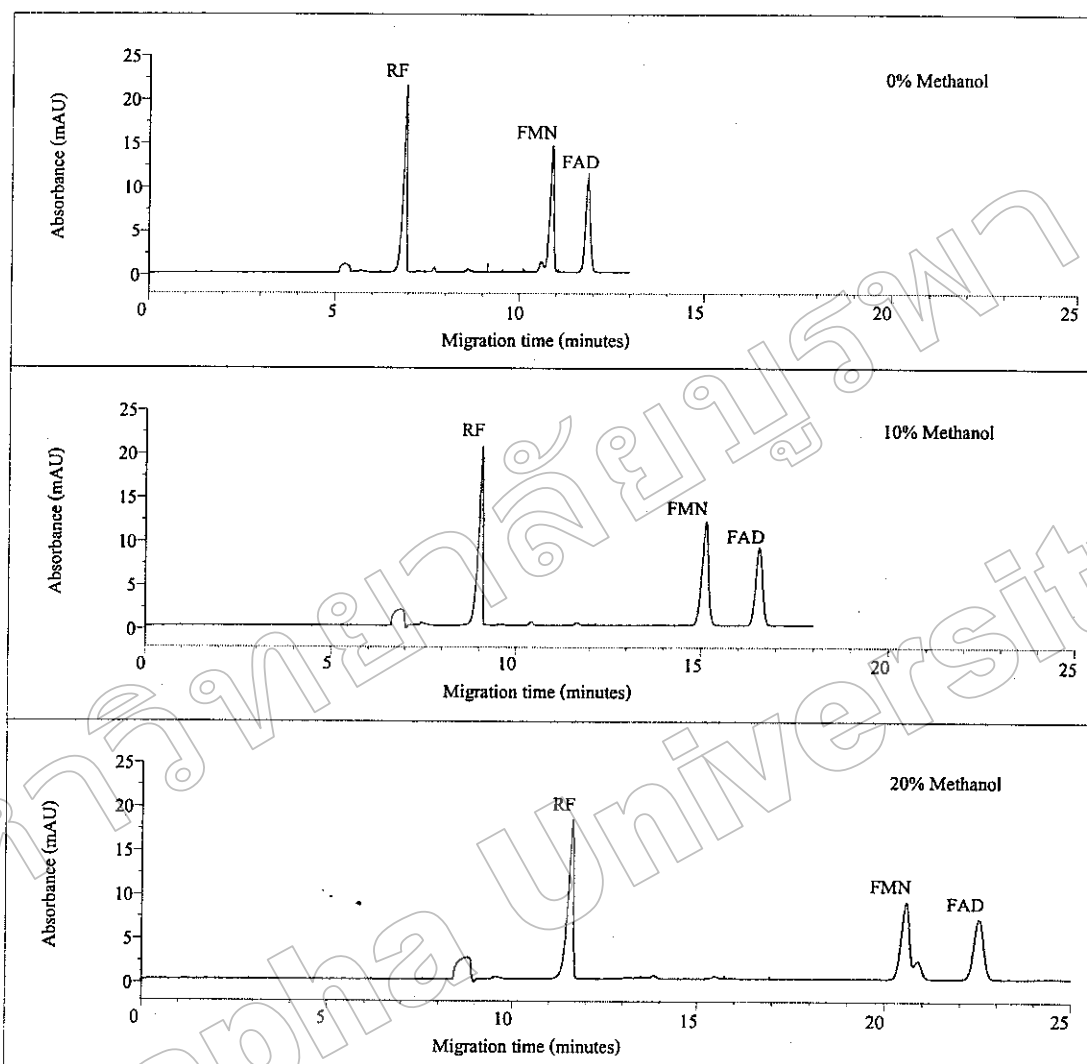
ภาพที่ 9 อิทธิพลของค่าพีเอชของสารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ต่ออิเล็กโตรฟีโกราฟีของสารกลุ่มไรโบฟลาวินและอนุพันธ์ สภาพของการทดลองดังนี้ สารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 30 มิลลิโมลาร์ ความยาวของแคปิลลารี 45.0 เซนติเมตร ความยาวของแคปิลลารีที่ใช้ในการแยก 36.5 เซนติเมตร ความแรงสนามไฟฟ้า 10 กิโลโวลต์ อุณหภูมิแคปิลลารี 20 องศาเซลเซียส นำสารตัวอย่างเข้าสู่แคปิลลารีด้วยความดัน 50 มิลลิบาร์ เวลา 5 วินาที ตรวจวัดสัญญาณที่ความยาวคลื่น 267 นาโนเมตร ความกว้างของช่องแสง 20 นาโนเมตร ความเข้มข้น RF, FMN และ FAD เท่ากับ 20 ppm



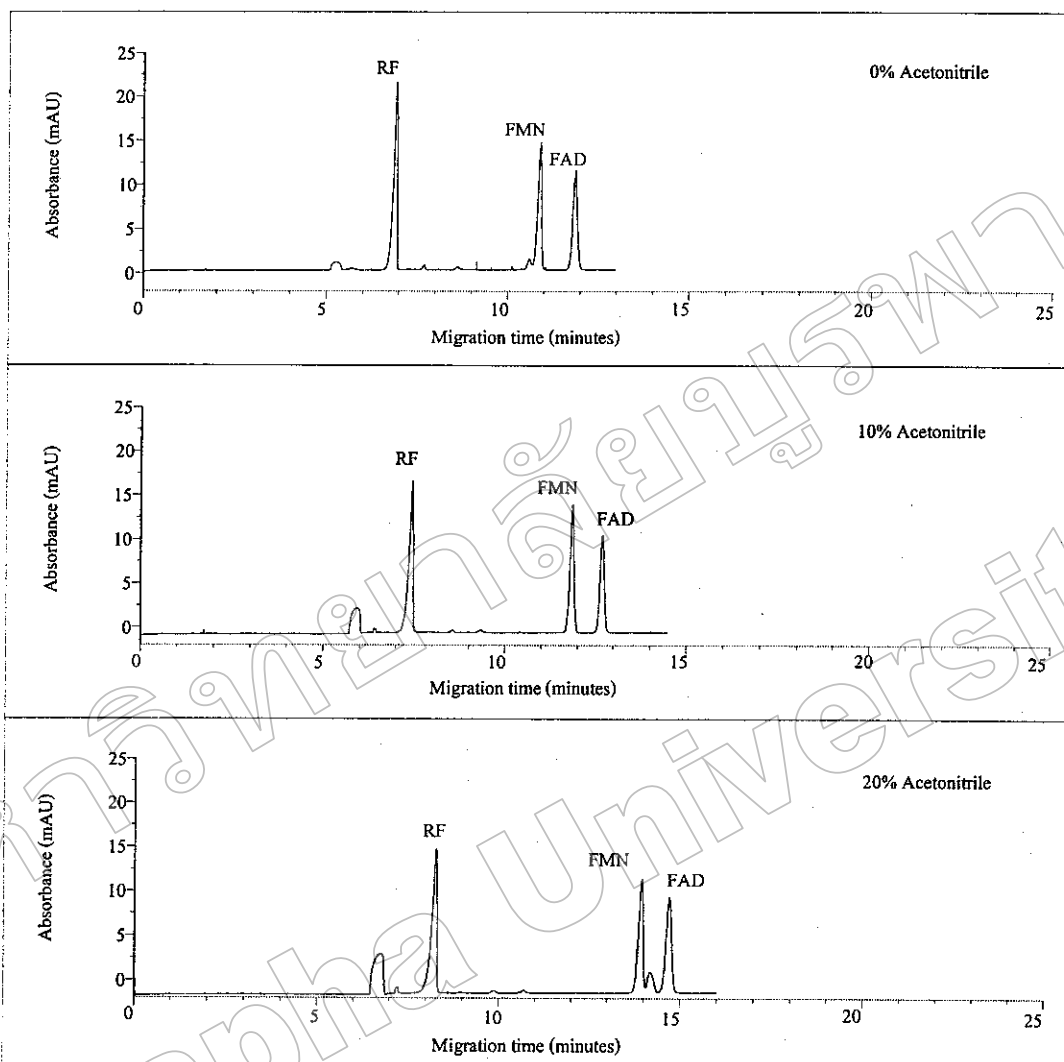
ภาพที่ 10 ผลของความเข้มข้นของสารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ต่ออิเล็กโตรฟีโกราเมของสารกลุ่มไรโบฟลาวินและอนุพันธ์ สภาวะของการทดลองดังนี้ สารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ พีเอช 8.5 ความยาวของแคปิลารี 45.0 เซนติเมตร ความยาวของแคปิลารีที่ใช้ในการแยก 36.5 เซนติเมตร ความแรงสนามไฟฟ้า 10 กิโลโวลต์ อุณหภูมิแคปิลารี 20 องศาเซลเซียส นำสารตัวอย่างเข้าสู่แคปิลารีด้วยความดัน 50 มิลลิบาร์ เวลา 5 วินาที ตรวจวัดสัญญาณที่ความยาวคลื่น 267 นาโนเมตร ความกว้างของช่องแสง 20 นาโนเมตร ความเข้มข้น RF, FMN และ FAD 20 ppm



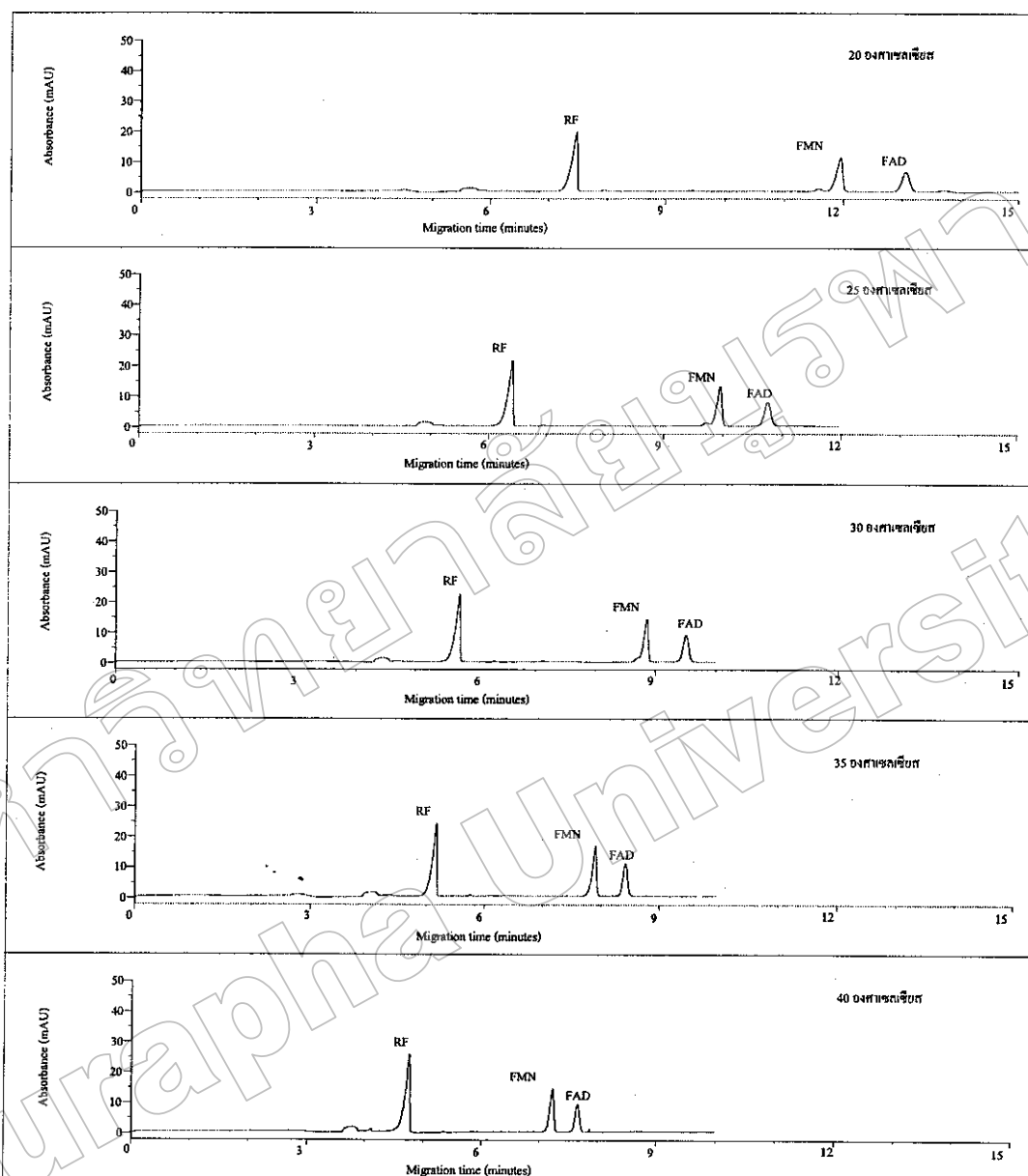
ภาพที่ 11 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายรีโบฟลาวินต่อสภาพไวของสารกลุ่มไรโบฟลาวินและอนุพันธ์ สภาพะของการทดลองดังนี้ สารละลายรีโบฟลาวินพีเอช 8.5 ความยาวของแคปิลารี 45.0 เซนติเมตร ความยาวของแคปิลารีที่ใช้ในการแยก 36.5 เซนติเมตร ความแรงของสนามไฟฟ้า 10 กิโลโวลต์ อุณหภูมิแคปิลารี 20 องศาเซลเซียส นำสารตัวอย่างเข้าสู่แคปิลารีด้วยความดัน 50 มิลลิบาร์ เวลา 5 วินาที ตรวจวัดสัญญาณที่ความยาวคลื่น 267 นาโนเมตร ความกว้างของช่องแสง 20 นาโนเมตร



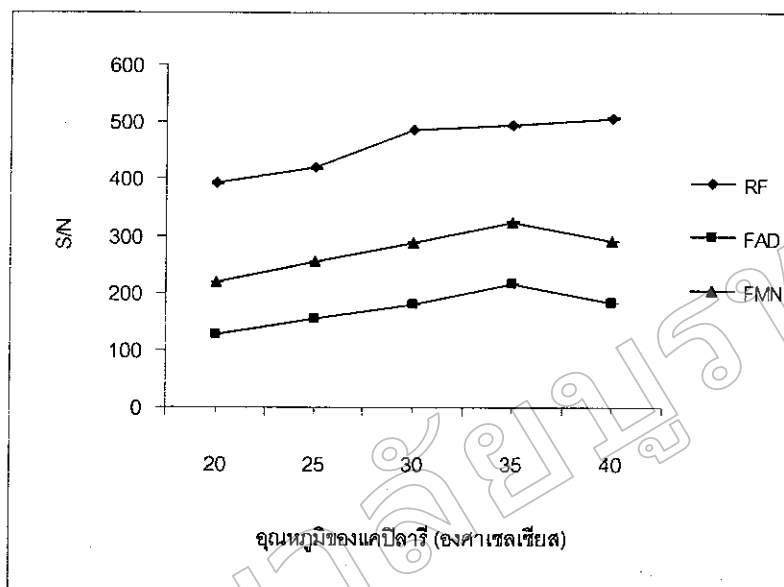
ภาพที่ 12 ผลของเมทานอลที่เติมลงในสารละลายบอร์ดัฟเฟอร์ต่ออิเล็กโตรฟีโรแกรมของสารกลุ่มไรโบฟลาวินและอนุพันธ์ สภาพะของการทดลองคือ สารละลายบอร์ดัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์ พีเอช 8.5 ความยาวของแคปิลารี 45.0 เซนติเมตร ความยาวของแคปิลารีที่ใช้ในการแยก 36.5 เซนติเมตร ความแรงของสนามไฟฟ้า 10 กิโลโวลต์ นำสารตัวอย่างเข้าสู่แคปิลารีด้วยความดัน 50 มิลลิบาร์ เวลา 5 วินาที ตรวจวัดสัญญาณที่ความยาวคลื่น 267 นาโนเมตร ความกว้างของช่องแสง 20 นาโนเมตร ความเข้มข้น RF, FMN และ FAD เท่ากับ 20 ppm



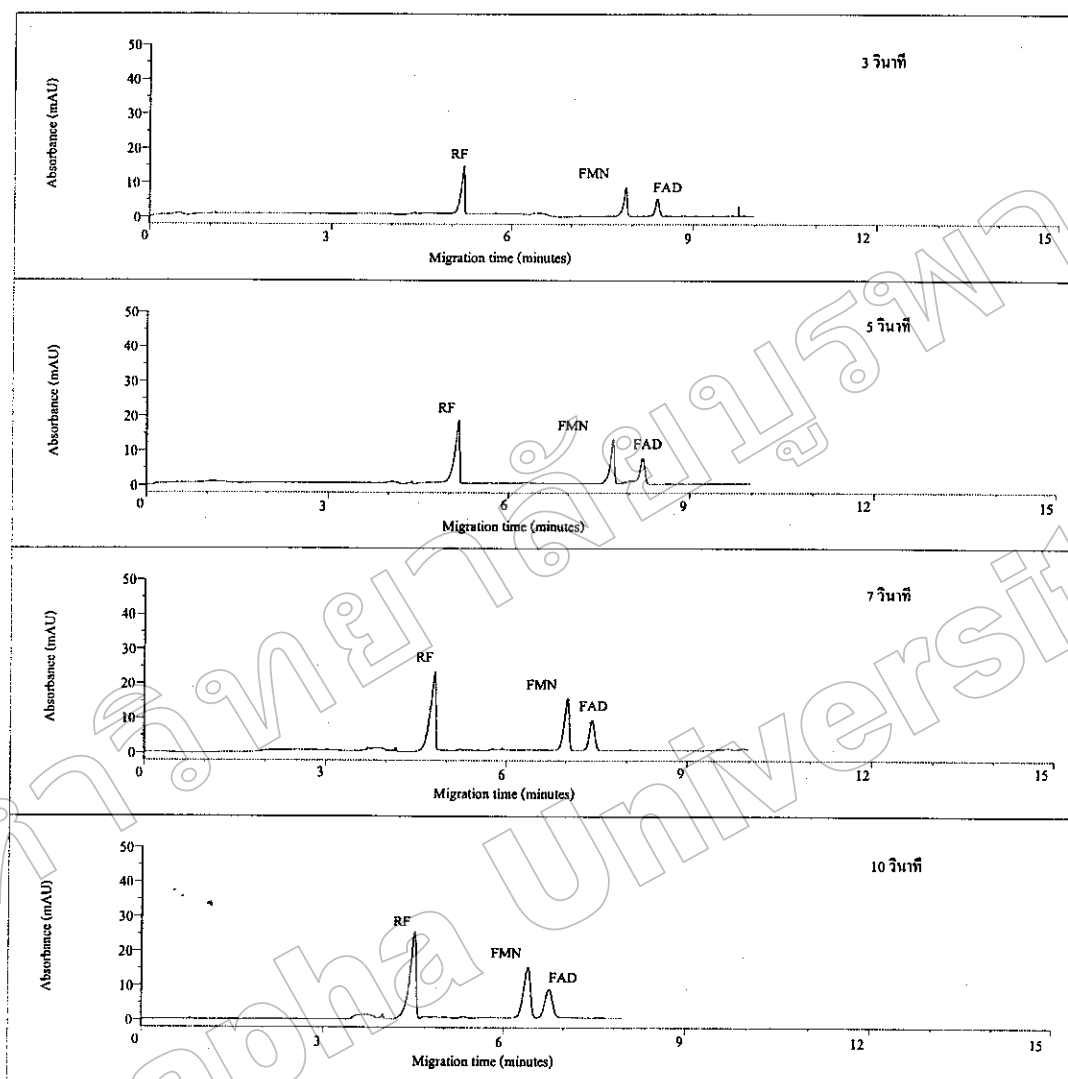
ภาพที่ 13 ผลของอะซีโตไนไตรท์ที่เติมลงในสารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ต่ออิเล็กโตรฟีโรแกรมของสารกลุ่มไรโบฟลาวินและอนุพันธ์ สถานะของการทดลองคือ สารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์ พีเอช 8.5 ความยาวของแคปิลลารี 45.0 เซนติเมตร ความยาวของแคปิลลารีที่ใช้ในการแยก 36.5 เซนติเมตร ความแรงของสนามไฟฟ้า 10 กิโลโวลต์ นำสารตัวอย่างเข้าสู่แคปิลลารีด้วยความดัน 50 มิลลิบาร์ เวลา 5 วินาที ตรวจวัดสัญญาณที่ความยาวคลื่น 267 นาโนเมตร ความกว้างของช่องแสง 20 นาโนเมตร ความเข้มข้น RF, FMN และ FAD เท่ากับ 20 ppm



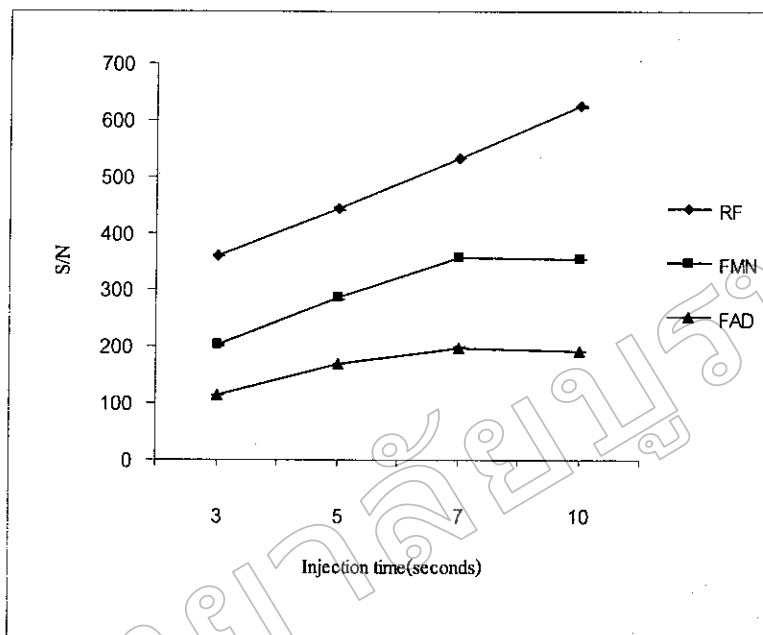
ภาพที่ 14 ผลของอุณหภูมิต่ออิเล็กโทรโฟเรแกรมของสารกลุ่มไรโบฟลาวินและอนุพันธ์
สภาวะของการทดลองคือ สารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์
พีเอช 8.5 ความยาวของแคปิลารี 45.0 เซนติเมตร ความยาวของแคปิลารีที่ใช้ในการแยก
36.5 เซนติเมตร ความแรงของสนามไฟฟ้า 10 กิโลโวลต์ นำสารตัวอย่างเข้าสู่แคปิลารี
ด้วยความดัน 50 มิลลิบาร์ เวลา 5 วินาที ตรวจวัดสัญญาณที่ความยาวคลื่น 267
นาโนเมตร ความกว้างของช่องแสง 20 นาโนเมตร ความเข้มข้น RF, FMN และ FAD
เท่ากับ 20 ppm



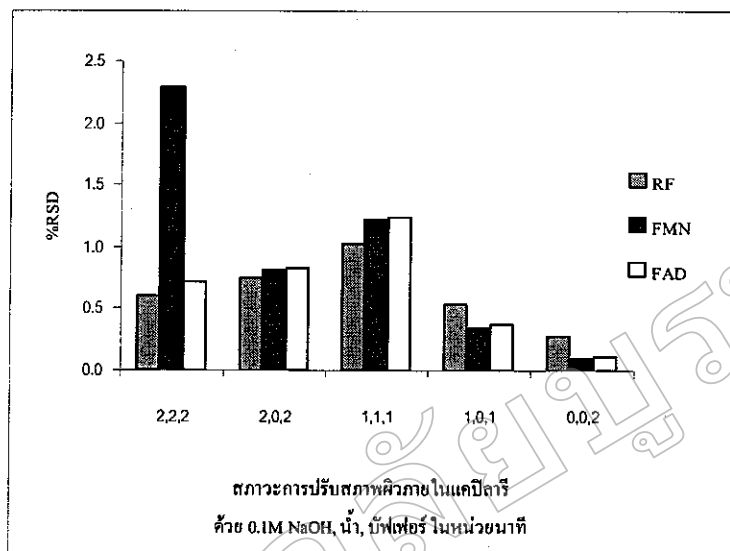
ภาพที่ 15 ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิของแคปิลารีและสภาพไวของสารกลุ่มโรโบฟลาวิน และอนุพันธ์ (n=3)



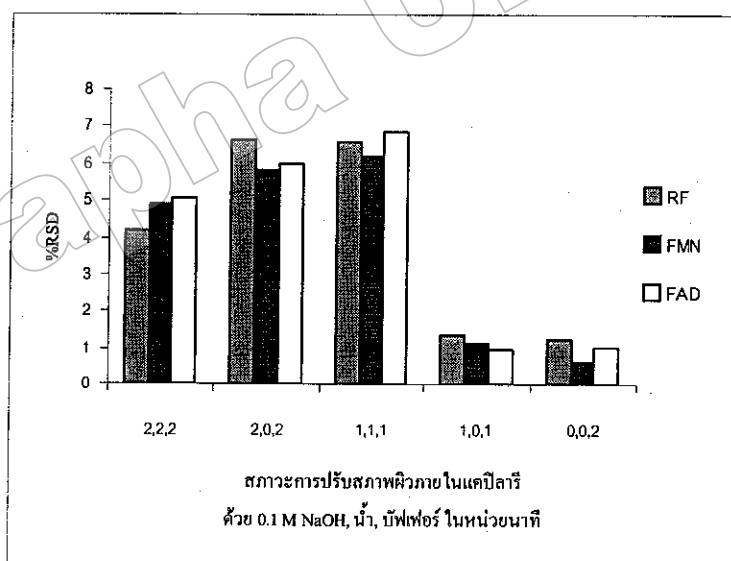
ภาพที่ 16 ผลของเวลาในการนำสารเข้าสู่แคปิลารีต่ออิเล็กโทรฟีโกราฟีของสารกลุ่มไรโบฟลาวินและอนุพันธ์ สภาวะของการทดลองคือ สารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์ พีเอช 8.5 ความยาวของแคปิลารี 45.0 เซนติเมตร ความยาวของแคปิลารีที่ใช้ในการแยก 36.5 เซนติเมตร ความแรงของสนามไฟฟ้า 10 กิโลโวลต์ นำสารตัวอย่างเข้าสู่แคปิลารีด้วยความดัน 50 มิลลิบาร์ อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ตรวจวัดสัญญาณที่ความยาวคลื่น 267 นาโนเมตร ความกว้างของช่องแสง 20 นาโนเมตร ความเข้มข้น RF, FMN และ FAD เท่ากับ 20 ppm



ภาพที่ 17 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในการนำสารตัวอย่างเข้าสู่แคปิลารีกับสภาพไวของสารกลุ่มไรโบฟลาวินและอนุพันธ์ (n=3)



ภาพที่ 18 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าร้อยละความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของค่าโมเกรชันใหม่ กับสถานะการปรับสภาพผิวภายในแคปิลลารีด้วย 0.1 โมลาร์ ของ NaOH, น้ำ, บัฟเฟอร์ ในหน่วยนาที่ ทั้ง 5 สถานะ ทำการวิเคราะห์ภายใต้สถานะที่เหมาะสม (n=5)



ภาพที่ 19 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าร้อยละความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของพื้นที่ฟีกสารกับ สถานะการปรับสภาพผิวภายในแคปิลลารีด้วย 0.1 โมลาร์ ของ NaOH, น้ำ, บัฟเฟอร์ ในหน่วยนาที่ ทั้ง 5 สถานะ ทำการวิเคราะห์ภายใต้สถานะที่เหมาะสม (n=5)

2. ผลการหาสถานะที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างโดยวิธี Solid-phase extraction

2.1 เปอร์เซ็นต์ของเมทานอลที่เหมาะสมในการชะ

จากการนำสารละลายผสมไรโบฟลาวินและอนุพันธ์ ความเข้มข้น 1.0 ppm ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ไปผ่านคอลัมน์ที่บรรจุ t-C18 แล้วชะด้วย 5% เมทานอล ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ตามด้วย 50% เมทานอล 5 มิลลิลิตร เปรียบเทียบผลกับการชะด้วย 5% เมทานอล 3 มิลลิลิตร ตามด้วย 100 % เมทานอล 5 มิลลิลิตร แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแคปิลารีอิเล็กโตรโฟรีซิส ได้ร้อยละการกลับคืนแสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ร้อยละการกลับคืนของการชะคอลัมน์ด้วยเปอร์เซ็นต์เมทานอลต่างๆ (n=3)

สาร	ร้อยละการกลับคืน $\pm$ SD	
	50%	100%
RF	61.1 $\pm$ 1.4	86.7 $\pm$ 3.0
FMN	75.4 $\pm$ 3.4	80.0 $\pm$ 2.1
FAD	107.6 $\pm$ 6.0	110.6 $\pm$ 2.6

2.2 ปริมาตรของเมทานอลที่เหมาะสมในการชะ

จากการนำสารละลายผสมไรโบฟลาวินและอนุพันธ์ ความเข้มข้น 1.0 ppm ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ไปผ่านคอลัมน์ที่บรรจุ t-C18 แล้วชะด้วย 5% เมทานอล ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ตามด้วย 100% เมทานอล 5 มิลลิลิตร เปรียบเทียบกับเมทานอล 7 มิลลิลิตร แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแคปิลารีอิเล็กโตรโฟรีซิส ได้ร้อยละการกลับคืนแสดงดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ร้อยละการกลับคืนของการชะคอลัมน์ด้วยปริมาตรเมทานอลต่าง ๆ (n=3)

สาร	ร้อยละการกลับคืน $\pm$ SD	
	5 มิลลิลิตร	7 มิลลิลิตร
RF	86.7 $\pm$ 3.0	93.2 $\pm$ 3.7
FMN	80.0 $\pm$ 2.1	81.3 $\pm$ 3.6
FAD	110.6 $\pm$ 2.6	109.5 $\pm$ 4.2

3. ผลการศึกษาความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์

สภาวะที่ใช้ในการทดลองคือสารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์ ค่าพีเอช 8.5 ความยาวของแคปิลารี 45.0 เซนติเมตร ความยาวของแคปิลารีที่ใช้ในการแยก 36.5 เซนติเมตร ความแรงของสนามไฟฟ้า 10 กิโลโวลต์ อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นำสารตัวอย่าง เข้าสู่แคปิลารีด้วยความดัน 50 มิลลิบาร์ ใช้เวลา 7 วินาที ตรวจวัดสัญญาณ ที่ความยาวคลื่น 267 นาโนเมตร ความกว้างของช่องแสง 20 นาโนเมตร

3.1 ผลการหาขีดจำกัดของการตรวจวัด

จากการหาขีดจำกัดของการตรวจวัด พบว่าความเข้มข้นของสารที่ทำการวิเคราะห์ซึ่ง ให้สัญญาณเป็น 3 เท่าของสัญญาณรบกวน แสดงผลดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ขีดจำกัดของการตรวจวัดของสารกลุ่มไรโบฟลาวินและอนุพันธ์ (n=5)

สาร	ความเข้มข้น (ppm)
RF	0.20
FMN	0.50
FAD	0.50

3.2 ผลการหาขีดจำกัดของการวิเคราะห์ปริมาณ

จากการหาขีดจำกัดของการวิเคราะห์ปริมาณพบว่าความเข้มข้นของสารที่ทำการ วิเคราะห์ซึ่งให้สัญญาณเป็น 10 เท่าของสัญญาณรบกวน ได้แสดงดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ขีด จำกัดของการวิเคราะห์ปริมาณของสารไรโบฟลาวินและอนุพันธ์ (n=5)

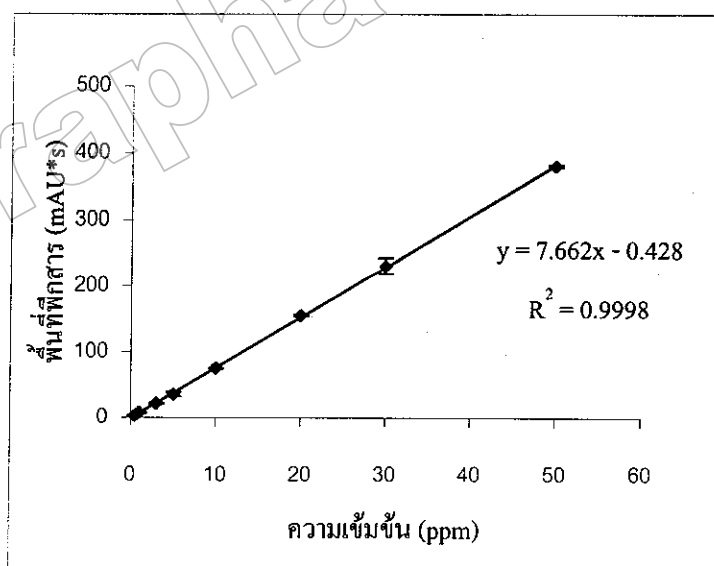
สาร	ความเข้มข้น (ppm)
RF	0.50
FMN	0.80
FAD	0.80

3.3 การหาความเป็นเส้นตรง

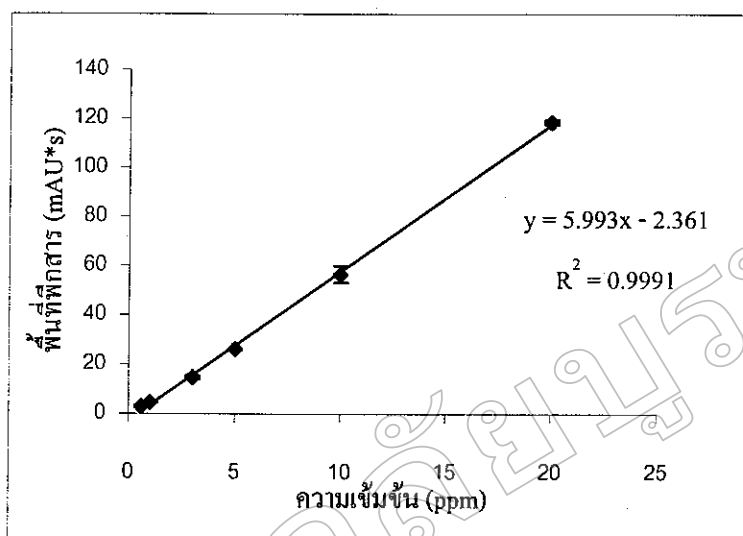
ความเป็นเส้นตรงของสาร RF ศึกษาในช่วงความเข้มข้น 0.50 ppm ถึง 50.0 ppm FMN ศึกษาในช่วงความเข้มข้น 0.80 ppm ถึง 20.0 ppm และ FAD ศึกษาในช่วงความเข้มข้น 0.80 ppm ถึง 20.0 ppm แต่ละความเข้มข้น วัดซ้ำ 5 ครั้ง ค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์และสมการเส้นตรงของ RF, FMN และ FAD แสดงดังตารางที่ 7 ช่วงการเป็นเส้นตรงของ RF, FMN และ FAD แสดงดังภาพที่ 20, 21 และ 22 ตามลำดับ

ตารางที่ 7 ช่วงความเป็นเส้นตรงของสารกลุ่มไรโบฟลาวิน และอนุพันธ์ (n=5)

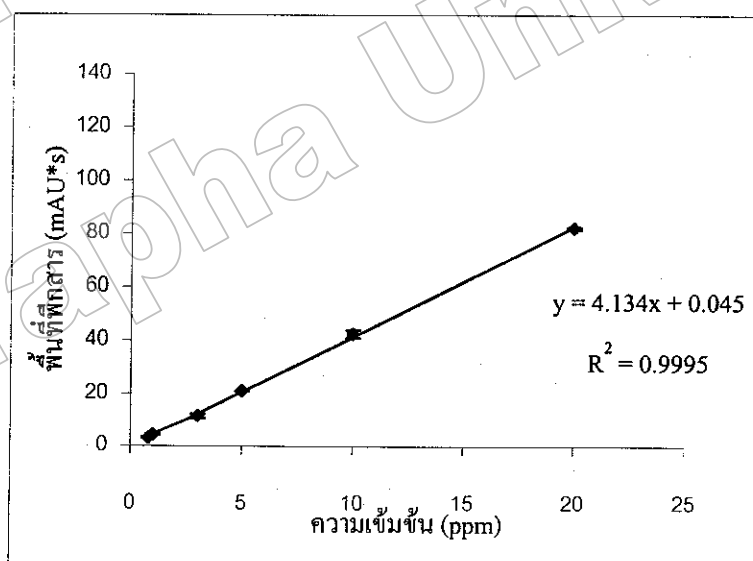
สาร	ช่วงความเข้มข้น (ppm)	สัมประสิทธิ์ของความ สัมพันธ์ (r^2)	สมการ
RF	0.50-50.0	0.9998	$y = 7.662x - 0.428$
FMN	0.80-20.0	0.9991	$y = 5.993x - 2.361$
FAD	0.80-20.0	0.9995	$y = 4.134x + 0.045$



ภาพที่ 20 ช่วงการเป็นเส้นตรงของสารไรโบฟลาวิน



ภาพที่ 21 ช่วงการเป็นเส้นตรงของสารฟลาวิน โมโนนิวคลีโอไทด์



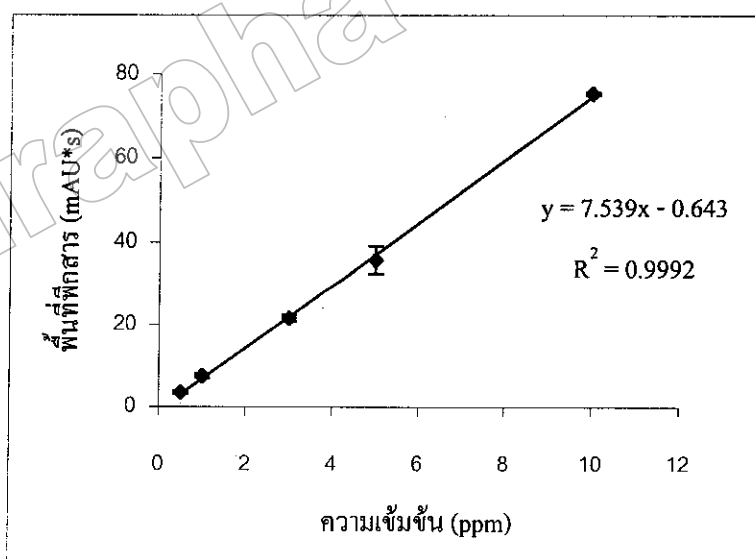
ภาพที่ 22 ช่วงการเป็นเส้นตรงของสารฟลาวิน อะดีนีน ไดนิวคลีโอไทด์

3.4 ผลการสร้างกราฟมาตรฐาน

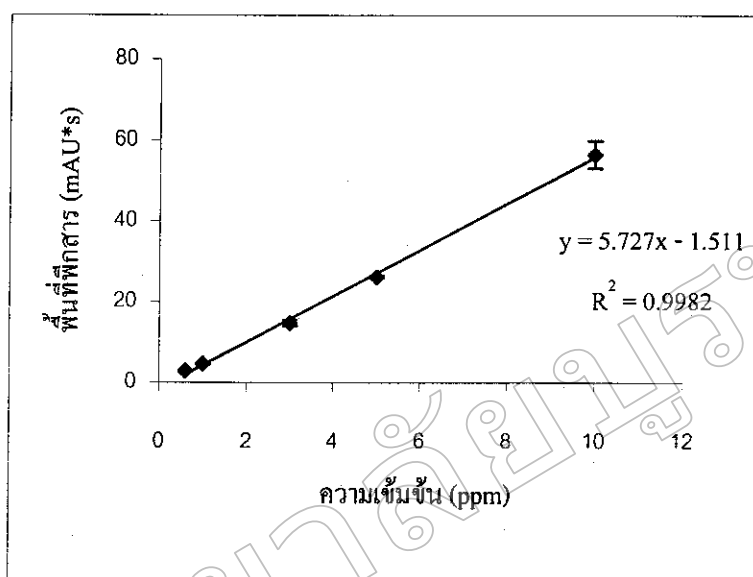
การสร้างกราฟมาตรฐานของ RF ศึกษาในช่วงความเข้มข้น 0.50 ppm ถึง 10.0 ppm FMN ศึกษาในช่วงความเข้มข้น 0.80 ppm ถึง 10.0 ppm และ FAD ศึกษาในช่วงความเข้มข้น 0.80 ppm ถึง 10.0 ppm แต่ละความเข้มข้น ฉีดซ้ำ 5 ครั้ง ค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์และสมการเส้นตรงของ RF, FMN และ FAD แสดงในตารางที่ 8 กราฟมาตรฐานของสาร RF, FMN และ FAD แสดงดังภาพที่ 23, 24 และ 25 ตามลำดับ

ตารางที่ 8 กราฟมาตรฐานของสารไรโบฟลาวินและอนุพันธ์ (n=5)

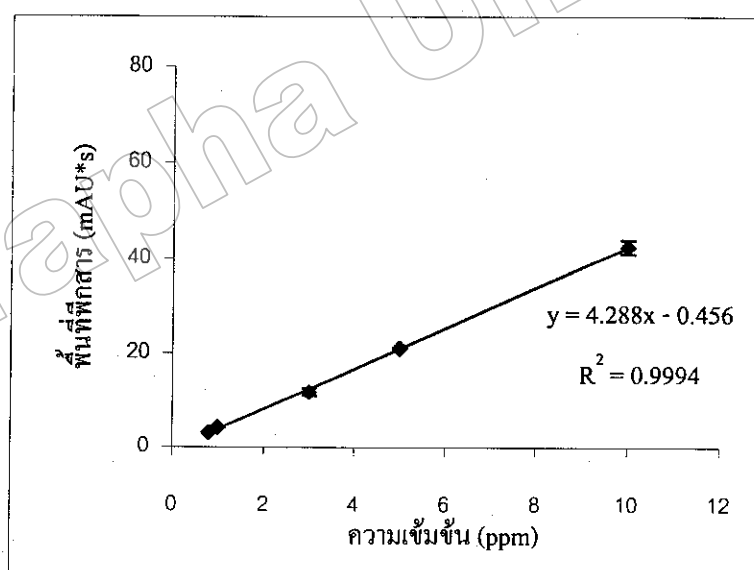
สาร	ช่วงความเข้มข้น (ppm)	สัมประสิทธิ์ของความ สัมพันธ์ (r^2)	สมการ
RF	0.50-10.0	0.9992	$y = 7.539x - 0.643$
FMN	0.80-10.0	0.9982	$y = 5.727x - 1.511$
FAD	0.80-10.0	0.9994	$y = 4.288x - 0.456$



ภาพที่ 23 กราฟมาตรฐานของสารไรโบฟลาวิน



ภาพที่ 24 กราฟมาตรฐานของสารฟลาวิน โมโนนิวคลีโอไทด์



ภาพที่ 25 กราฟมาตรฐานของสารฟลาวิน อะดีนีน ไดนิวคลีโอไทด์

3.5 ความเที่ยงของการวิเคราะห์ ทำการวิเคราะห์สารมาตรฐานผสมความเข้มข้น 1.0, 3.0 และ 5.0 ppm โดยวิเคราะห์ซ้ำความเข้มข้นละ 6 ครั้ง ด้วยเครื่องแคปิลารีอิเล็กโตรโฟรีซิสตามสภาวะที่เหมาะสม ผลแสดงดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 ความเที่ยงของการวิเคราะห์พิจารณาในเทอมของร้อยละความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของพื้นที่พีคและไมเกรชันไทม์ (n=6)

สาร	% RSD ไมเกรชันไทม์			% RSD พื้นที่พีคสาร		
	1.0 ppm	3.0 ppm	5.0 ppm	1.0 ppm	3.0 ppm	5.0 ppm
RF	4.47	0.14	0.48	4.23	0.98	1.02
FMN	2.81	0.54	0.64	4.89	1.46	0.44
FAD	2.44	0.41	0.24	2.55	4.34	0.35

3.6 ความแม่นยำของการวิเคราะห์ ทำการวิเคราะห์ผลโดยเติมสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 20 ppm ปริมาตร 150, 250 และ 500 ไมโครลิตรลงในสารตัวอย่างเบียร์ 5 มิลลิตรนำไปผ่านคอลัมน์ t-C18 ตามสภาวะที่เหมาะสม แล้วนำไประเหยให้แห้ง ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น 1.0 มิลลิตร ได้ความเข้มข้น 3.0, 5.0 และ 10.0 ppm และทำการวิเคราะห์ซ้ำระดับความเข้มข้นละ 5 ครั้ง ด้วยเครื่องแคปิลารีอิเล็กโตรโฟรีซิสตามสภาวะที่เหมาะสม ผลแสดงดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 ความแม่นยำของการวิเคราะห์พิจารณาในเทอมค่าร้อยละการกลับคืนของพื้นที่พีค (n=5)

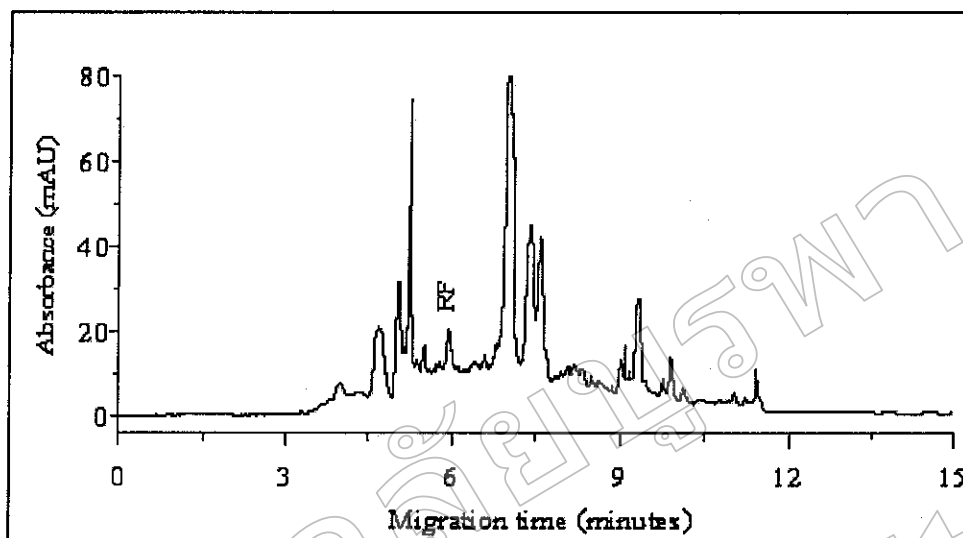
สาร	ร้อยละการกลับคืน $\pm$ SD		
	3.0 ppm	5.0 ppm	10.0 ppm
RF	102.1 $\pm$ 7.2	106.4 $\pm$ 8.0	91.7 $\pm$ 5.2
FMN	99.9 $\pm$ 5.2	108.3 $\pm$ 3.6	109.1 $\pm$ 7.7
FAD	102.4 $\pm$ 5.8	106.6 $\pm$ 4.1	97.9 $\pm$ 3.6

4. ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มไรโบฟลาวินและอนุพันธ์ในตัวอย่างโดยใช้
กราฟมาตรฐาน

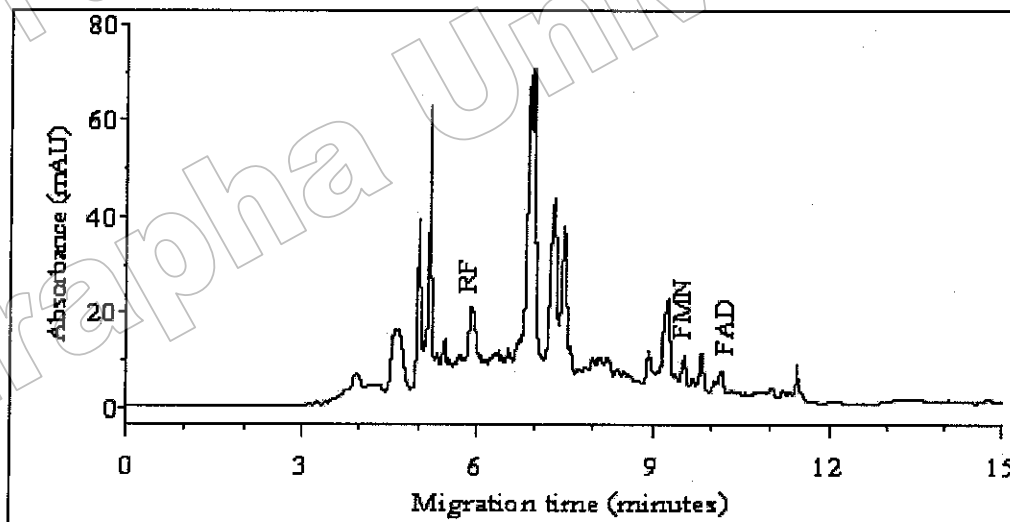
ตารางที่ 11 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มไรโบฟลาวินและอนุพันธ์ในตัวอย่าง (n=5)

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น($\mu\text{g/ml}$) $\pm$ SD		
	RF	FMN	FAD
เบียร์ไฮเนเก้นท์	0.9 ± 0.0	0.5 ± 0.0	n.d.
เบียร์ช้าง	0.7 ± 0.0	0.5 ± 0.0	n.d.
เบียร์สิงห์	1.1 ± 0.0	n.d.	n.d.
เบียร์ลิโ	0.9 ± 0.0	0.4 ± 0.0	n.d.
เบียร์ไท	0.7 ± 0.0	1.0 ± 0.0	n.d.

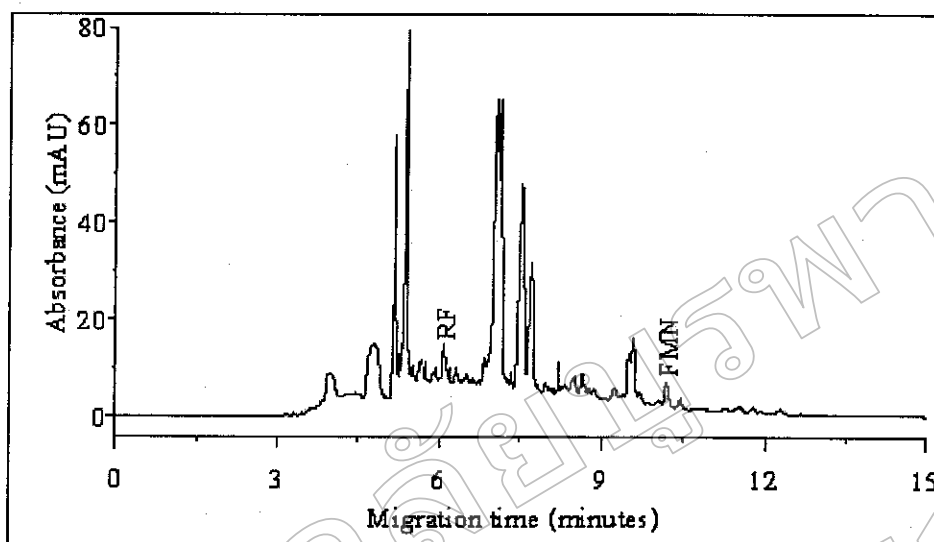
n.d.= Not detected



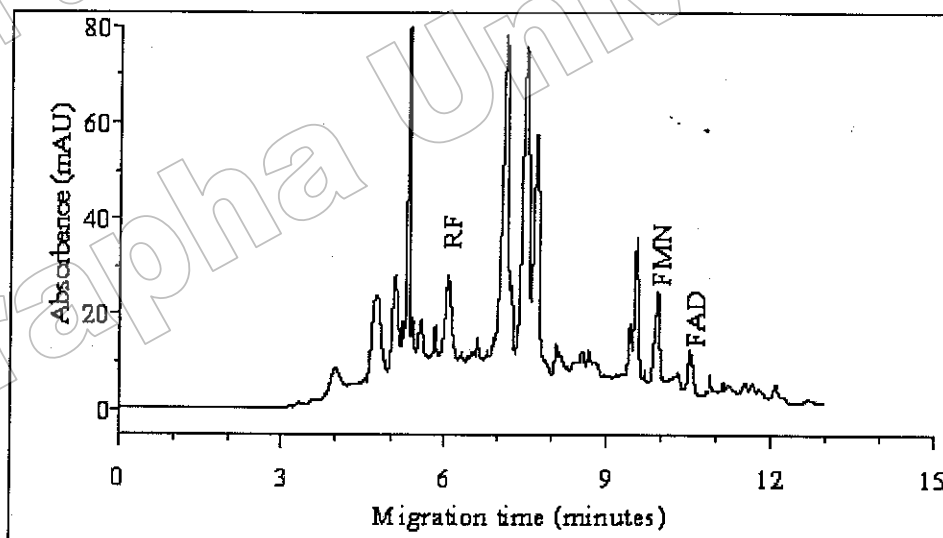
ภาพที่ 26 อิเล็กโทรฟีโรแกรมของตัวอย่างเบียร์สิงห์



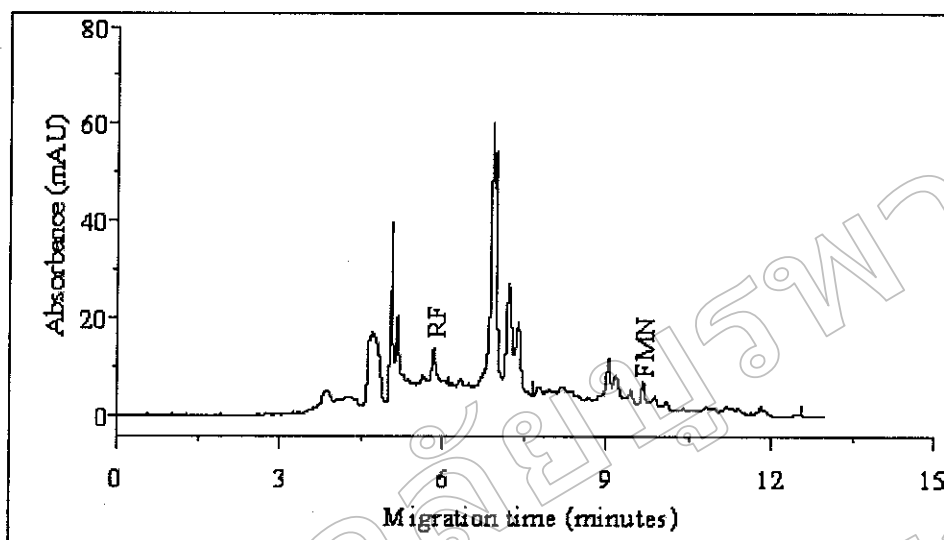
ภาพที่ 27 อิเล็กโทรฟีโรแกรมของตัวอย่างเบียร์สิงห์เติมสารละลายมาตรฐานผสม RF, FMN และ FAD ความเข้มข้น 20 ppm ปริมาตร 150 ไมโครลิตร



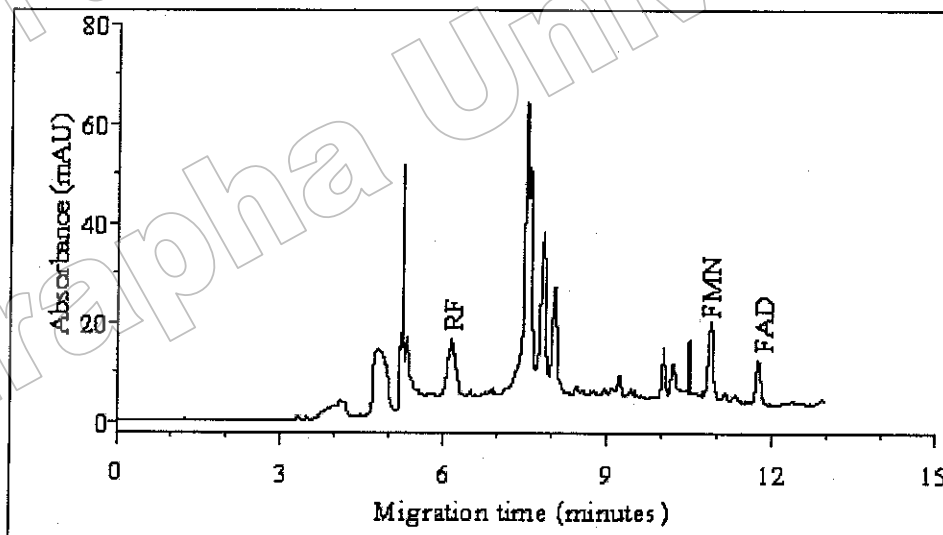
ภาพที่ 28 อิเล็กโทรฟีโรแกรมของตัวอย่างเบียร์ไฮเนเก้นท์



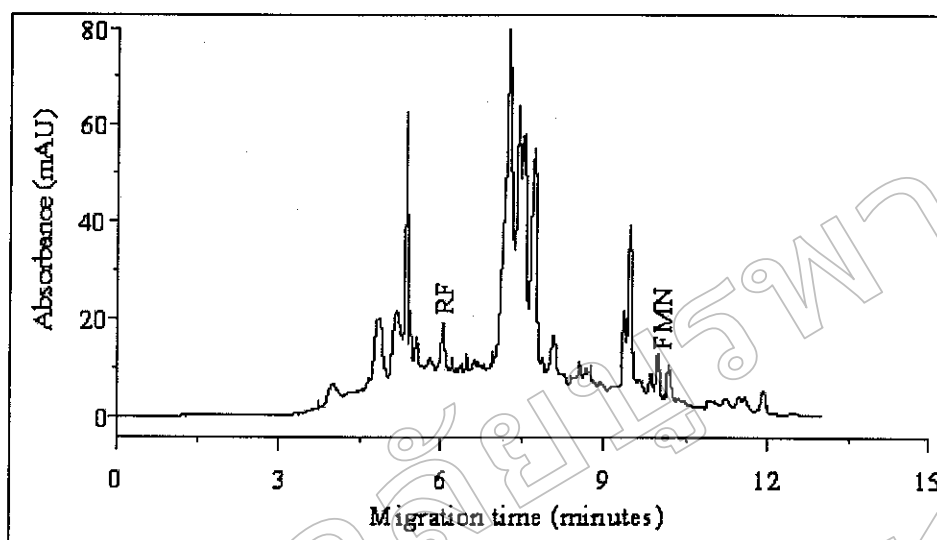
ภาพที่ 29 อิเล็กโทรฟีโรแกรมของตัวอย่างเบียร์ไฮเนเก้นท์เติมสารละลายมาตรฐานผสม RF, FMN และ FAD ความเข้มข้น 20 ppm ปริมาตร 250 ไมโครลิตร



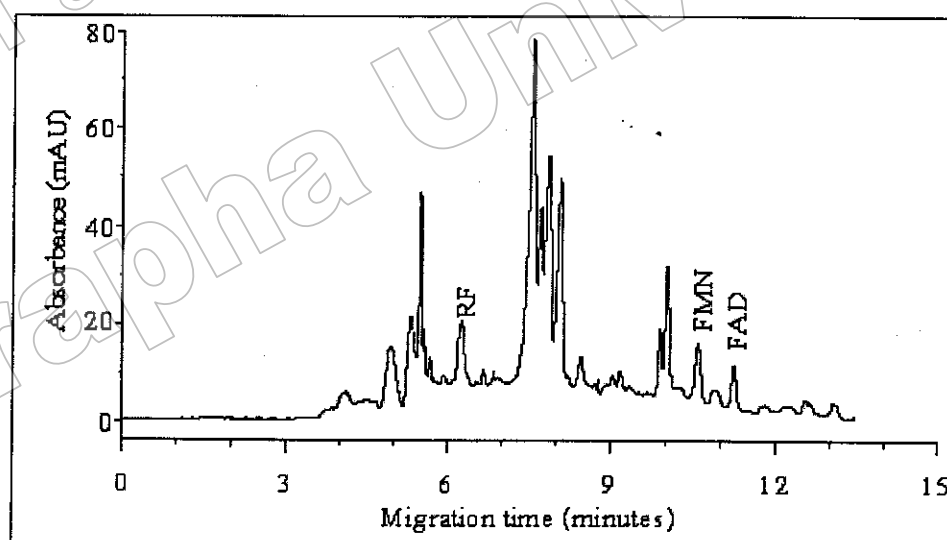
ภาพที่ 30 อิเล็กโทรฟีโรแกรมของตัวอย่างเบียร์ลิโอ



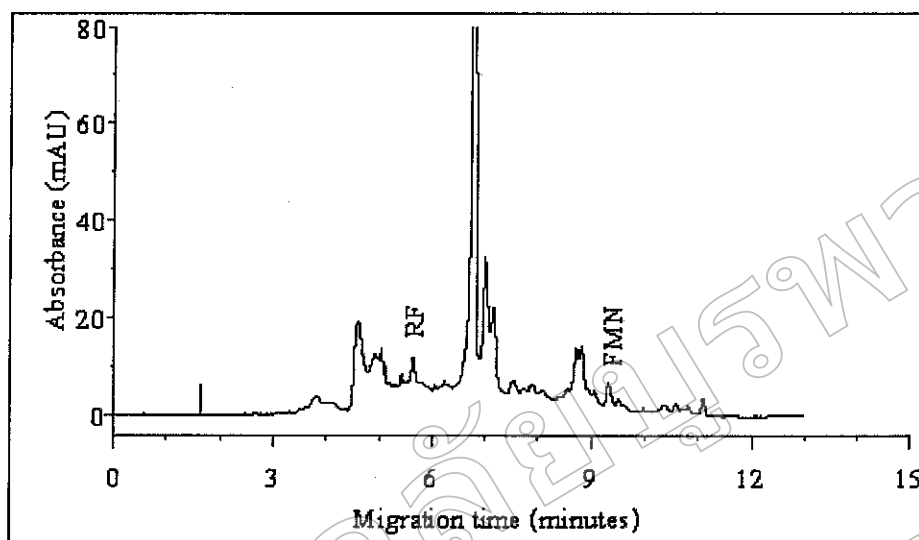
ภาพที่ 31 อิเล็กโทรฟีโรแกรมของตัวอย่างเบียร์ลิโอเติมสารละลายมาตรฐานผสม RF, FMN และ FAD ความเข้มข้น 20 ppm ปริมาตร 250 ไมโครลิตร



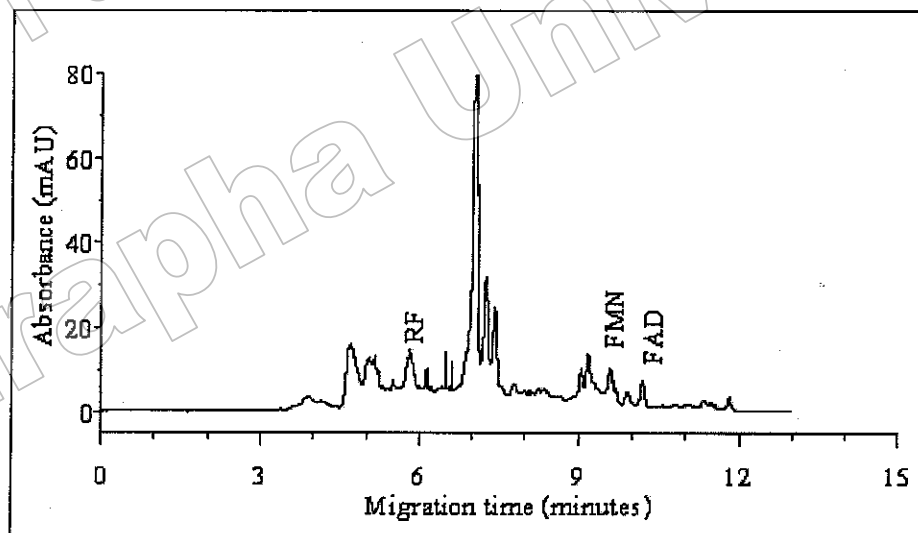
ภาพที่ 32 อิเล็กโทรฟีโรแกรมของตัวอย่างเบียร์ช้าง



ภาพที่ 33 อิเล็กโทรฟีโรแกรมของตัวอย่างเบียร์ช้างเติมสารละลายมาตรฐานผสม RF, FMN และ FAD ความเข้มข้น 20 ppm ปริมาตร 250 ไมโครลิตร



ภาพที่ 34 อิเล็กโทรฟีโรแกรมของตัวอย่างเบียร์ไท



ภาพที่ 35 อิเล็กโทรฟีโรแกรมของตัวอย่างเบียร์ไทเติมสารละลายมาตรฐานผสม RF, FMN และ FAD ความเข้มข้น 20 ppm ปริมาตร 150 ไมโครลิตร

ผลการทดลองกลุ่มสารเบต้าอะโกนิสต์

1. ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์โดยเทคนิคแคปิลารีอิเล็กโตรโฟรีซิส

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารคลนบูเทอรอลและซาลบูตามอล ซึ่งเป็นสารในกลุ่มเบต้า-อะโกนิสต์ โดยเทคนิคแคปิลารีอิเล็กโตรโฟรีซิส โดยสภาวะของการทดลองมีดังนี้ ความยาวแคปิลารี 34.0 เซนติเมตร ความยาวของแคปิลารีที่ใช้ในการแยก 25.5 เซนติเมตร ความแรงของสนามไฟฟ้า 10 กิโลโวลต์ นำสารตัวอย่างเข้าสู่แคปิลารีด้วยความดัน 50 มิลลิบาร์ ตรวจวัดสัญญาณที่ความยาวคลื่น 205 นาโนเมตร ความกว้างของช่องแสง 20 นาโนเมตร

1.1 ผลการศึกษาค่าพีเอชของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ จากการศึกษาผลของพีเอชของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ค่าพีเอชต่าง ๆ ต่อการวิเคราะห์สารละลายผสมคลนบูเทอรอลและซาลบูตามอล ซึ่งพิจารณาในเทอมของค่าไมเกรชันไทม์และการแยก แสดงผลการศึกษาค่าพีเอชของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ดังภาพที่ 36 พบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่สุดคือ สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ค่าพีเอช 9.5

1.2 ผลการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ จากการศึกษาผลของความเข้มข้นของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในการวิเคราะห์สารละลายผสมคลนบูเทอรอลและซาลบูตามอล พิจารณาในเทอมของค่าไมเกรชันไทม์และการแยกแสดงผลการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ดังภาพที่ 37 พบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่สุดคือ สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์

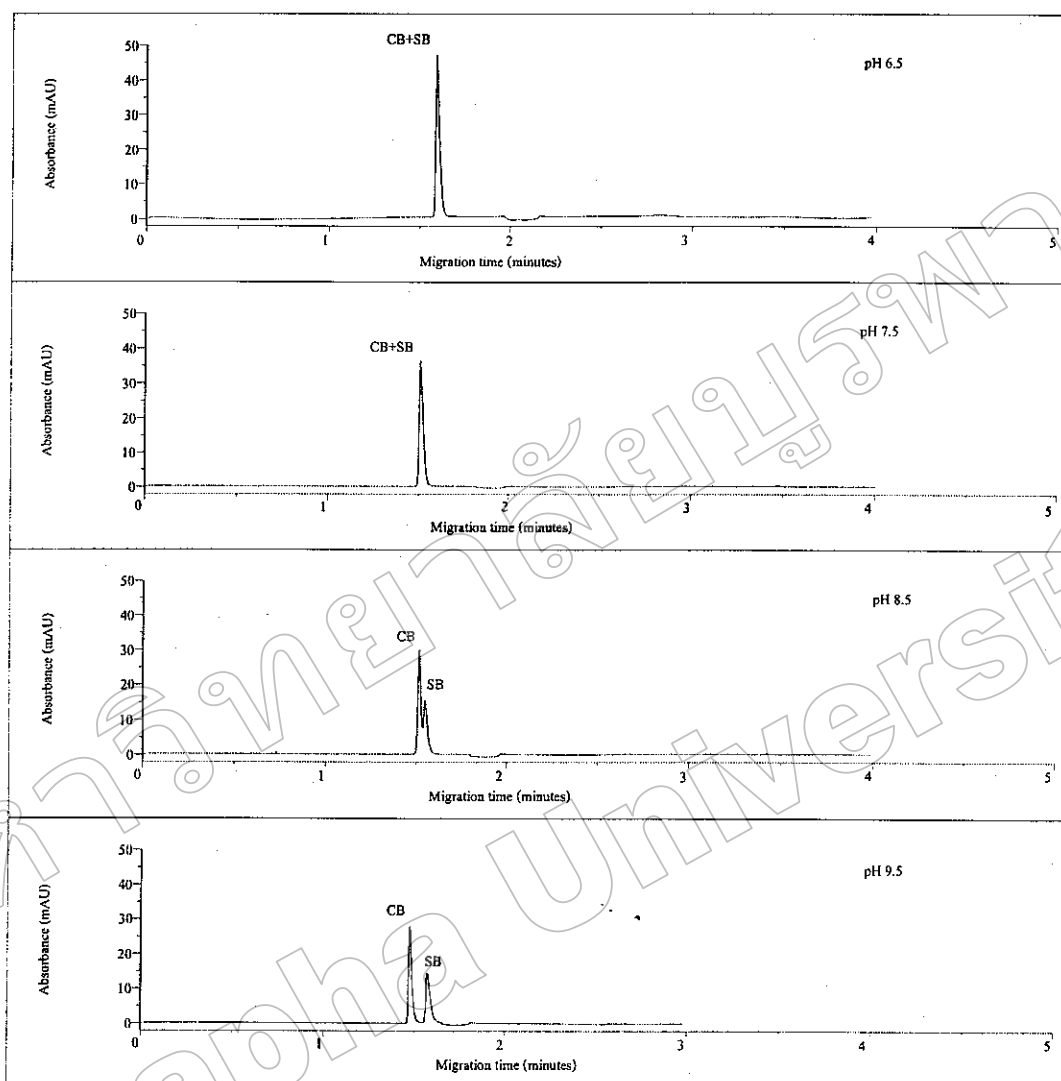
1.3 ผลการศึกษอิทธิพลของตัวทำละลายอินทรีย์ที่เติมในบัฟเฟอร์ จากการศึกษาโดยการเติมตัวทำละลายอินทรีย์เมทานอลและอะซิโตนในบัฟเฟอร์ ที่ความเข้มข้นเปอร์เซ็นต์ต่าง ๆ ในการวิเคราะห์สารละลายผสมคลนบูเทอรอลและซาลบูตามอล พบว่าตัวทำละลายที่เติมในบัฟเฟอร์มีผลต่อการแยกและค่าไมเกรชันไทม์ดังแสดงในภาพที่ 38 และ 39 สภาวะที่เหมาะสมคือ 0% ตัวทำละลายอินทรีย์

1.4 ผลการศึกษาอุณหภูมิที่ใช้ในการแยก จากการศึกษาผลของอุณหภูมิต่าง ๆ ในการวิเคราะห์สารละลายผสมคลนบูเทอรอลและซาลบูตามอล พิจารณาในเทอมของค่าไมเกรชันไทม์และสภาพไว แสดงผลการศึกษาอุณหภูมิที่ใช้ในการแยกดังภาพที่ 40 พบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่สุดคือ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

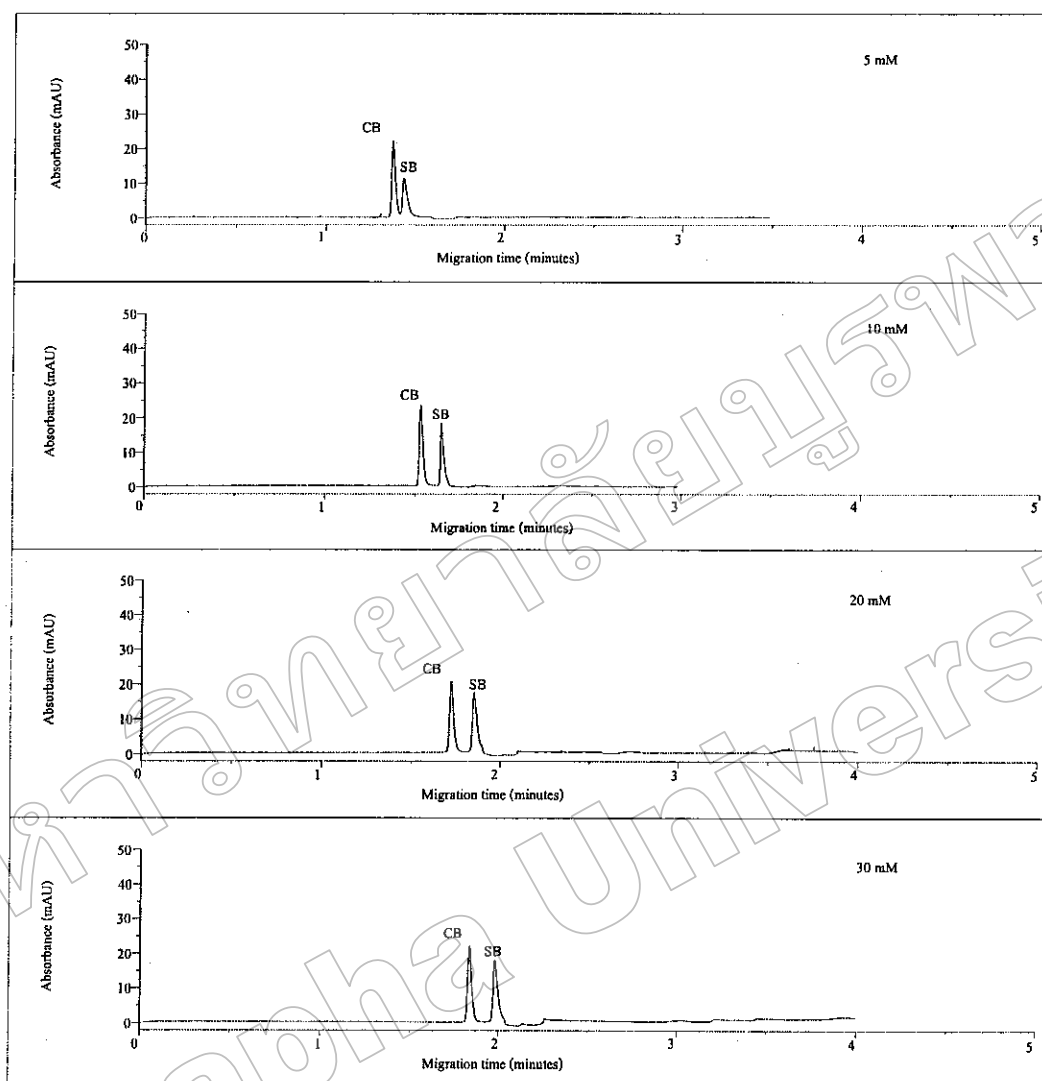
1.5 ผลการศึกษาเวลาในการนำสารเข้าสู่แคปิลารี จากการศึกษาผลของเวลาในการนำสารตัวอย่างเข้าสู่แคปิลารี ในการวิเคราะห์สารละลายผสมคลนบูเทอรอลและซาลบูตามอล พิจารณาในเทอมของค่าไมเกรชันไทม์และการแยก แสดงผลการศึกษาเวลาในการนำสารเข้าสู่

แคปิลารีดังภาพที่ 41 และ 42 พบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่สุดคือใช้เวลาในการนำสารตัวอย่างเข้าสู่แคปิลารี เป็นเวลา 5 วินาที

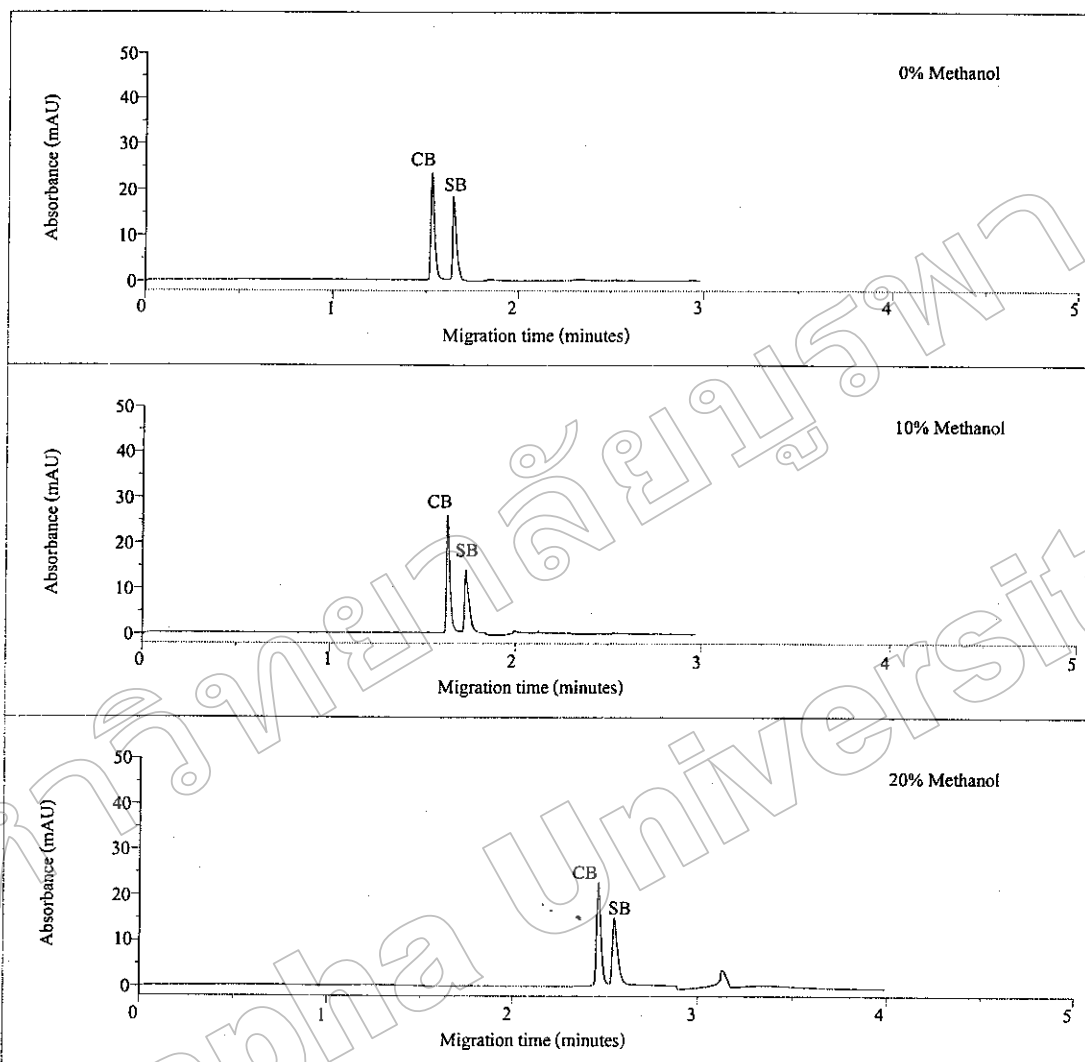
1.6 ผลการศึกษาการปรับสภาพที่ผิวภายในแคปิลารี จากการศึกษาผลการปรับสภาพที่ผิวภายในแคปิลารีต่อค่า Reproducibility ในการวิเคราะห์สารละลายผสมกลูตาไมด์และซาลิไซลิกแอซิด พิจารณาในเทอมของค่าร้อยละความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของค่าไมเกรชันไทม์และพื้นที่ฟีกสาร แสดงผลการศึกษาเวลาในการนำสารเข้าสู่ แคปิลารีดังภาพที่ 43 และ 44 พบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่สุดคือ สภาวะ 0.1 โมลาร์ NaOH 1.0 นาทีและบัฟเฟอร์ 1.0 นาที



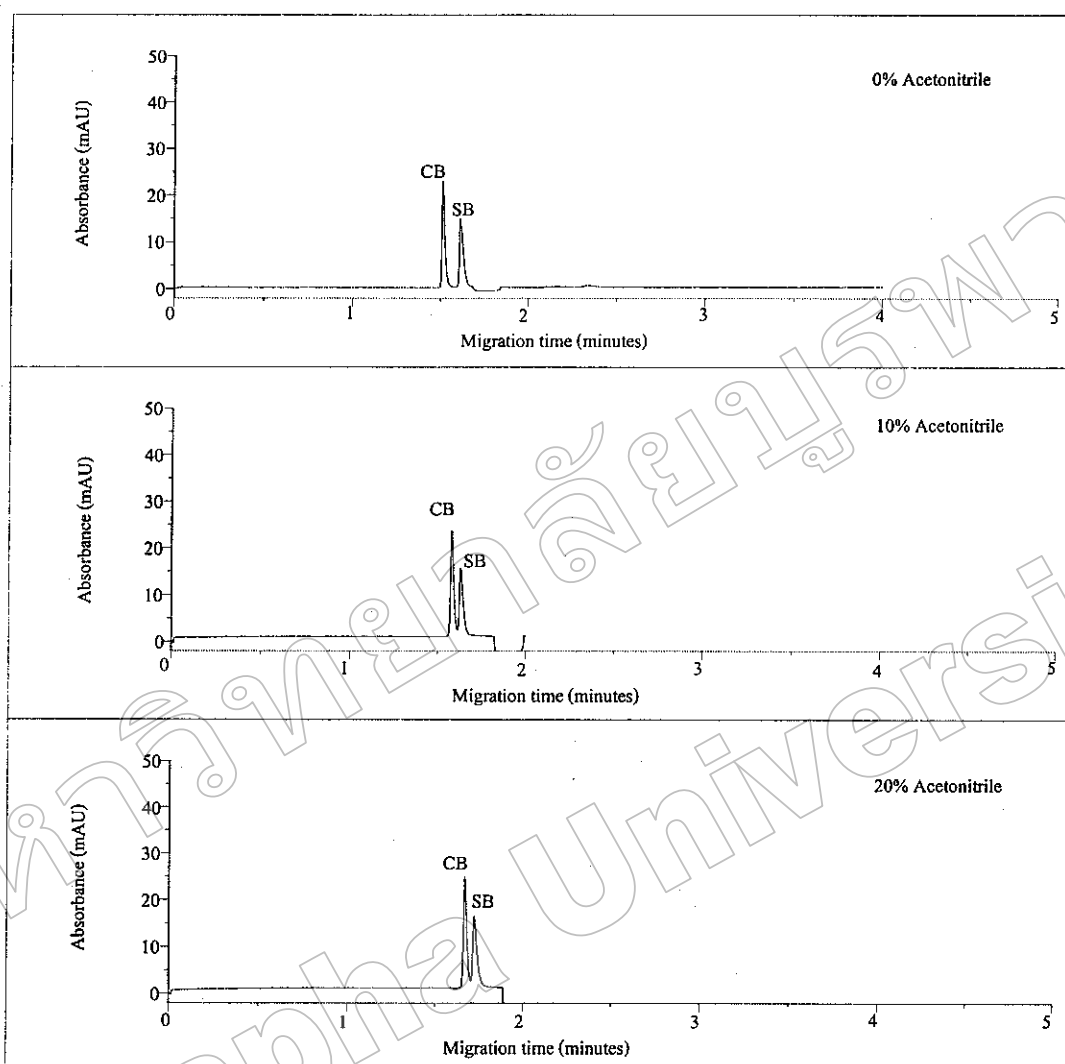
ภาพที่ 36 อิทธิพลของค่าพีเอชของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ต่ออิเล็กโตรฟีโรแกรมของสารกลุ่มเบต้าอะโกนิสต์ สภาวะของการทดลองดังนี้ สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ความยาวของแคปิลารี 34.0 เซนติเมตร ความยาวของแคปิลารีที่ใช้ในการแยก 25.5 เซนติเมตร ความแรงสนามไฟฟ้า 10 กิโลโวลต์ อุณหภูมิ แคปิลารี 25 องศาเซลเซียส นำสารตัวอย่างเข้าสู่แคปิลารีด้วยความดัน 50 มิลลิบาร์ เวลา 5 วินาที ตรวจวัดสัญญาณที่ความยาวคลื่น 205 นาโนเมตร ความกว้างของช่องแสง 20 นาโนเมตร ความเข้มข้น CB และ SB เท่ากับ 10 ppm



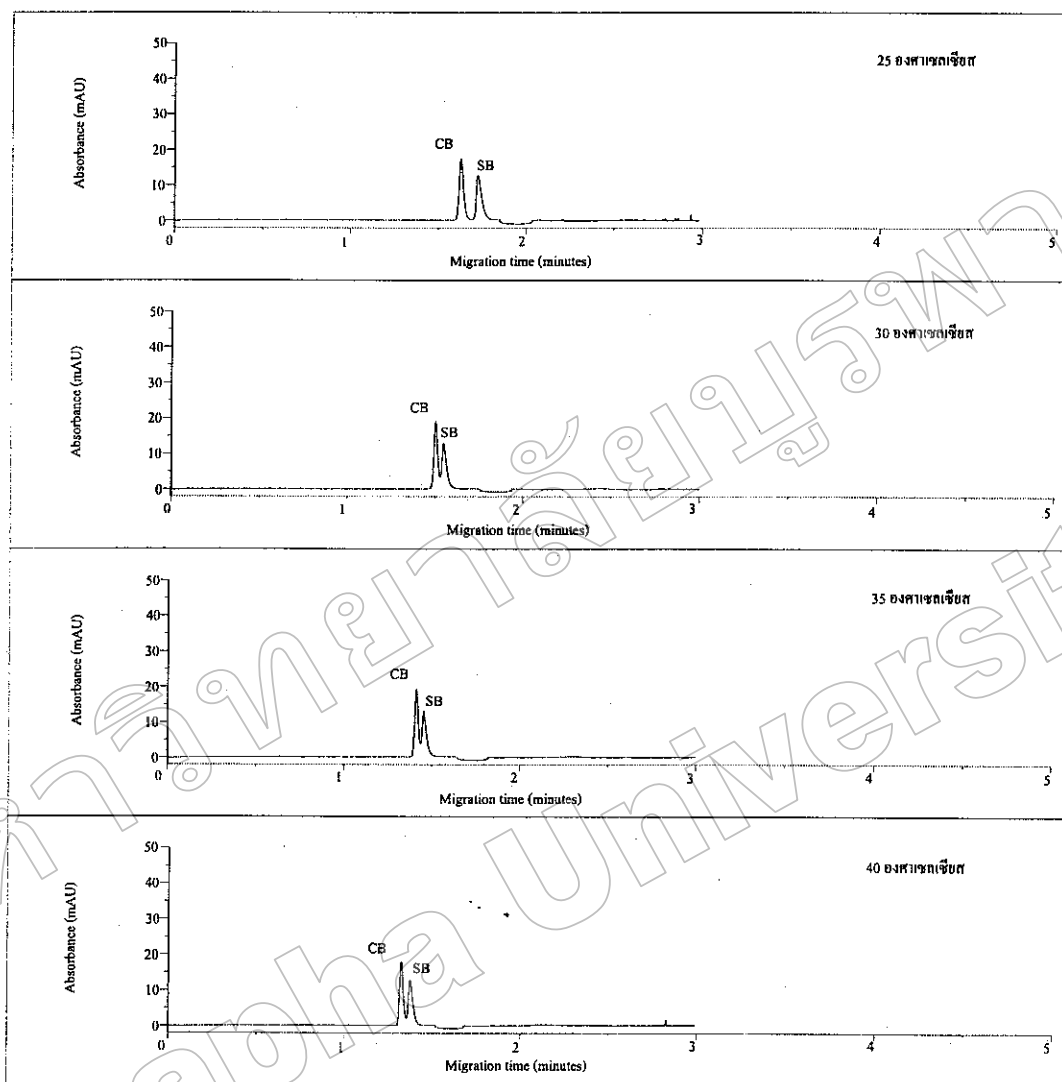
ภาพที่ 37 ผลของความเข้มข้นของสารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์ต่ออิเล็กโตรฟีโรแกรมของสารกลุ่มเบต้าอะโกนิสต์ สภาวะของการทดลองดังนี้ สารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์ พีเอช 9.5 ความยาวของแคปิลารี 34.0 เซนติเมตร ความยาวของแคปิลารีที่ใช้ในการแยก 25.5 เซนติเมตร ความแรงของสนามไฟฟ้า 10 กิโลโวลต์ อุณหภูมิแคปิลารี 25 องศาเซลเซียส นำสารตัวอย่างเข้าสู่แคปิลารีด้วยความดัน 50 มิลลิบาร์ เวลา 5 วินาที ตรวจวัดสัญญาณที่ความยาวคลื่น 205 นาโนเมตร ความกว้างของช่องแสง 20 นาโนเมตร ความเข้มข้น SB และ CB เท่ากับ 10 ppm



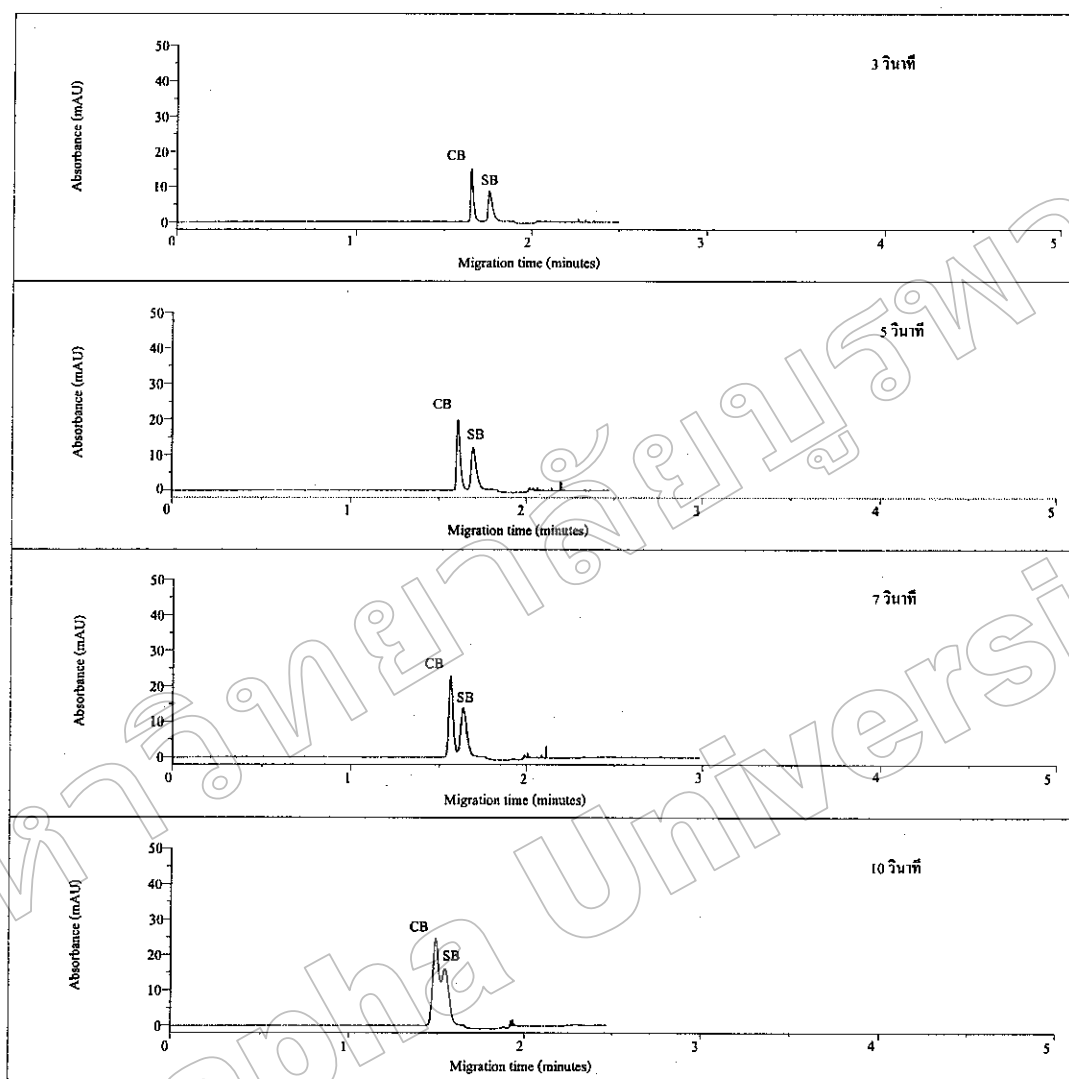
ภาพที่ 38 อิทธิพลของเมทานอลที่เติมลงในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ต่ออิเล็กโตรฟีโรแกรมของสารกลุ่มเบต้าอะโกนิสต์ สภาวะของการทดลองดังนี้ สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 10 มิลลิโมลาร์ พีเอช 9.5 ความยาวของแคปิลารี 34.0 เซนติเมตร ความยาวของแคปิลารีที่ใช้ในการแยก 25.5 เซนติเมตร ความแรงของสนามไฟฟ้า 10 กิโลโวลต์ อุณหภูมิแคปิลารี 25 องศาเซลเซียส นำสารตัวอย่างเข้าสู่แคปิลารีด้วยความดัน 50 มิลลิบาร์ เวลา 5 วินาที ตรวจวัดสัญญาณที่ความยาวคลื่น 205 นาโนเมตร ความกว้างของช่องแสง 20 นาโนเมตร ความเข้มข้น CB และ SB เท่ากับ 10 ppm



ภาพที่ 39 อิทธิพลของอะซีโตไนไตรล์ที่เติมลงในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ต่ออิเล็กโทรฟีโกราฟีโรแกรมของสารกลุ่มเบต้าอะโกนิสต์ สภาวะของการทดลองดังนี้ สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 10 มิลลิโมลาร์ พีเอช 9.5 ความยาวของแคปิลลารี 34.0 เซนติเมตร ความยาวของแคปิลลารีที่ใช้ในการแยก 25.5 เซนติเมตร ความแรงของสนามไฟฟ้า 10 กิโลโวลต์ อุณหภูมิแคปิลลารี 25 องศาเซลเซียส นำสารตัวอย่างเข้าสู่แคปิลลารีด้วยความดัน 50 มิลลิบาร์ เวลา 5 วินาที ตรวจวัดสัญญาณที่ความยาวคลื่น 205 นาโนเมตร ความกว้างของช่องแสง 20 นาโนเมตร ความเข้มข้น CB และ SB เท่ากับ 10 ppm



ภาพที่ 40 อิทธิพลของอุณหภูมิภายในแคปิลารีต่ออิเล็กโตรฟีโกราฟีของสารกลุ่มเบต้า-อะโกนิสต์ สภาวะของการทดลองดังนี้ สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 10 มิลลิโมลาร์ พีเอช 9.5 ความยาวของแคปิลารี 34.0 เซนติเมตร ความยาวของแคปิลารีที่ใช้ในการแยก 25.5 เซนติเมตร ความแรงของสนามไฟฟ้า 10 กิโลโวลต์ นำสารตัวอย่างเข้าสู่แคปิลารีด้วยความดัน 50 มิลลิบาร์ เวลา 5 วินาที ตรวจวัดสัญญาณที่ความยาวคลื่น 205 นาโนเมตร ความกว้างของช่องแสง 20 นาโนเมตร ความเข้มข้น CB และ SB เท่ากับ 10 ppm



ภาพที่ 41 ผลของเวลาในการนำสารเข้าสู่แคปิลารีต่ออิเล็กโตรโฟโแกรมของสารกลุ่มเบต้า

อะ โคนิสต์ สภาวะของการทดลองดังนี้ สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 9.5

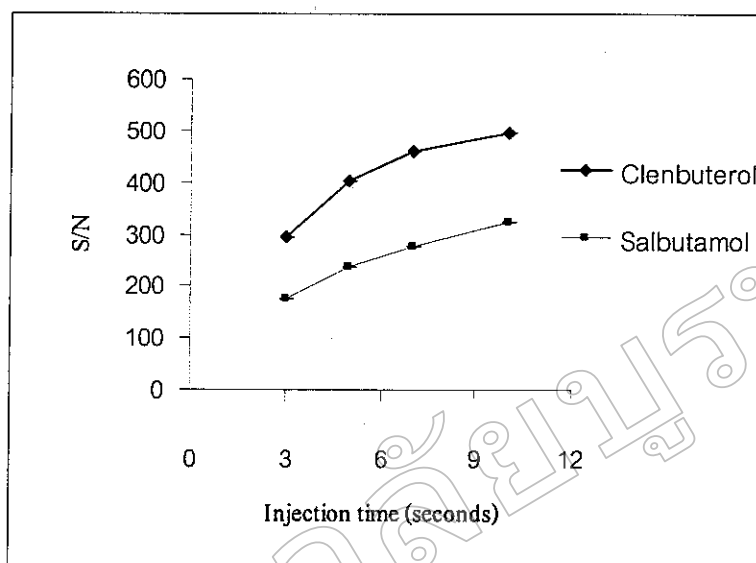
ความยาวของแคปิลารี 34.0 เซนติเมตร ความยาวของแคปิลารีที่ใช้ในการแยก 25.5

เซนติเมตร ความแรงของสนามไฟฟ้า 10 กิโลโวลต์ อุณหภูมิแคปิลารี 25 องศาเซลเซียส

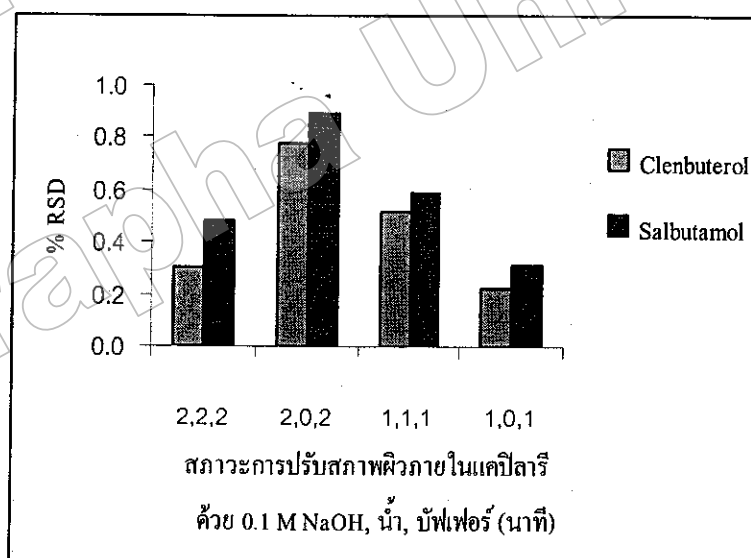
นำสารตัวอย่างเข้าสู่แคปิลารีด้วยความดัน 50 มิลลิบาร์ ตรวจวัดสัญญาณที่ความยาวคลื่น

205 นาโนเมตร ความกว้างของช่องแสง 20 นาโนเมตร ความเข้มข้น CB และ SB เท่ากับ

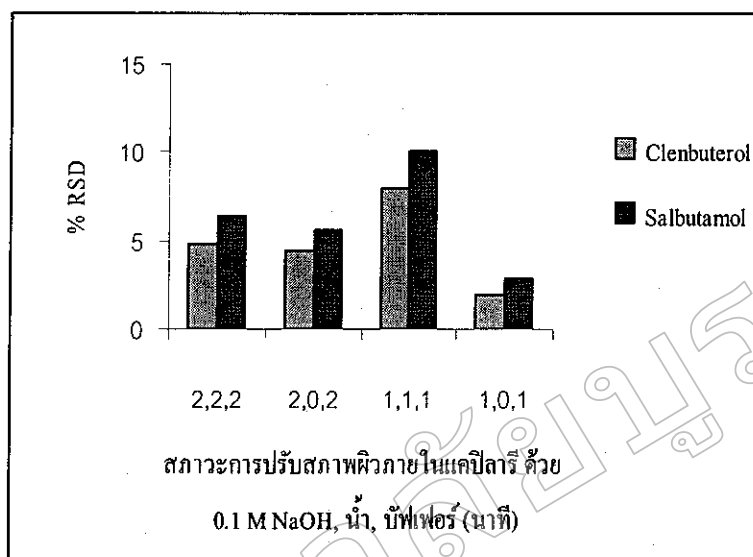
10 ppm



ภาพที่ 42 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในการนำสารตัวอย่างเข้าสู่แคปิลารีกับสภาพไวของ
คลีนบูเทอรอลและซาลบูตามอล (n=3)



ภาพที่ 43 ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของค่าไมเกรชันใหม่
กับสถานะการปรับสภาพที่ผิวภายในแคปิลารีด้วย 0.1 โมลาร์ ของ NaOH, น้ำ, บัฟเฟอร์
ในหน่วยนาที่ ทั้ง 4 สถานะ ทำการวิเคราะห์ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม



ภาพที่ 44 ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของพื้นที่ที่ฟลักสาร กับสภาวะการปรับสภาพที่ผิวภายในแคปิลาร์ด้วย 0.1 โมลาร์ ของ NaOH, น้ำ, บัฟเฟอร์ ในหน่วยนาที ทั้ง 4 สภาวะ ทำการวิเคราะห์ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม

2. ผลการหาสถานะที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างโดยวิธี Solid-phase extraction

2.1 ผลของเปอร์เซ็นต์เมทานอลในการชะ

จากการนำสารละลายผสมเกลนบูเทอรอลและซาลบูทามอลความเข้มข้น

1.0 ppm ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ไปผ่านคอลัมน์ที่บรรจุ t-C18 แล้วชะด้วย 5% เมทานอล ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ตามด้วย 50% เมทานอล 5 มิลลิลิตร เปรียบเทียบผลกับการชะด้วย 5% เมทานอล 3 มิลลิลิตร ตามด้วย 100% เมทานอล 5 มิลลิลิตร แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแคปิลารี อิเล็กโทรโฟรีซิส ได้ร้อยละการกลับคืนแสดงดังตารางที่ 12

ตารางที่ 12 ร้อยละการกลับคืนของการชะคอลัมน์ด้วยเปอร์เซ็นต์เมทานอลต่าง ๆ (n=3)

สาร	ร้อยละการกลับคืน $\pm$ SD	
	50%	100%
เกลนบูเทอรอล	70.0 $\pm$ 2.0	83.4 $\pm$ 1.4
ซาลบูทามอล	67.5 $\pm$ 2.3	76.0 $\pm$ 1.7

2.2 ผลของปริมาตรเมทานอลในการชะ

จากการนำสารละลายผสมเกลนบูเทอรอลและซาลบูทามอลความเข้มข้น 1.0 ppm ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ไปผ่านคอลัมน์ที่บรรจุ t-C18 แล้วชะด้วย 5% เมทานอล ปริมาตร 3 มิลลิลิตร และ 100% เมทานอล 5 มิลลิลิตร เปรียบเทียบผลกับการชะด้วย 5 มิลลิลิตร และ 7 มิลลิลิตร 100% เมทานอล แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแคปิลารีอิเล็กโทรโฟรีซิส ได้ร้อยละการกลับคืนแสดงดังตารางที่ 13

ตารางที่ 13 ร้อยละการกลับคืนของการชะลอตัวด้วยปริมาตรเมทานอลต่าง ๆ (n=3)

สาร	ร้อยละการกลับคืน $\pm$ SD	
	5 มิลลิลิตร	7 มิลลิลิตร
เกลนบูเทอรอล	83.4 $\pm$ 1.4	86.9 $\pm$ 2.8
ซาลบูตามอล	76.0 $\pm$ 1.7	80.2 $\pm$ 1.7

3. ผลการศึกษาความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์

สถานะที่ใช้ในการทดลองคือสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ค่าพีเอช 9.5 ความยาวของแคปิลารี 34.0 เซนติเมตร ความยาวของแคปิลารีที่ใช้ในการแยก 25.5 เซนติเมตร ความแรงของสนามไฟฟ้า 10 กิโลโวลต์ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นำสารตัวอย่างเข้าสู่แคปิลารีด้วยความดัน 50 มิลลิบาร์ ใช้เวลา 5 วินาที ตรวจวัดสัญญาณที่ความยาวคลื่น 205 นาโนเมตรและความกว้างของช่องแสง 20 นาโนเมตร

3.1 ผลการหาขีดจำกัดของการตรวจวัด

จากการหาขีดจำกัดของการตรวจวัด พบว่าความเข้มข้นของสารที่ทำการวิเคราะห์ ซึ่งให้สัญญาณเป็น 2-5 เท่าของสัญญาณรบกวน แสดงผลดังตารางที่ 14

ตารางที่ 14 ขีดจำกัดของการตรวจวัดของเกลนบูเทอรอลและซาลบูตามอล (n=5)

สาร	ความเข้มข้น (ppm)
เกลนบูเทอรอล	0.05
ซาลบูตามอล	0.05

3.2 ผลการหาขีดจำกัดของการวิเคราะห์ปริมาณ

จากการหาขีดจำกัดของการวิเคราะห์ปริมาณ พบว่าความเข้มข้นของสารที่ทำการวิเคราะห์ซึ่งให้สัญญาณเป็น 10 เท่าของสัญญาณรบกวน ได้แสดงดังตารางที่ 15

ตารางที่ 15 ซึ่ดจำกัคของการหาปริมาณของเคลนบูเทอรอลและซาลบูตามอล (n=5)

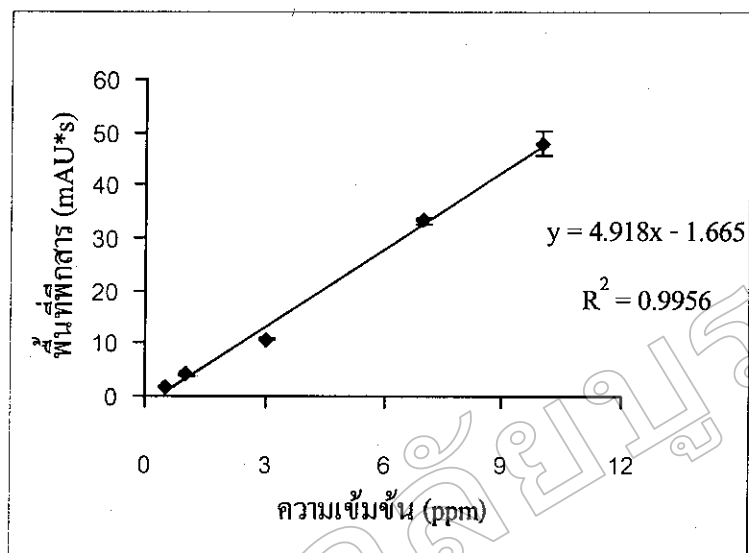
สาร	ความเข้มข้น (ppm)
เคลนบูเทอรอล	0.10
ซาลบูตามอล	0.20

3.3 การหาความเป็นเส้นตรง

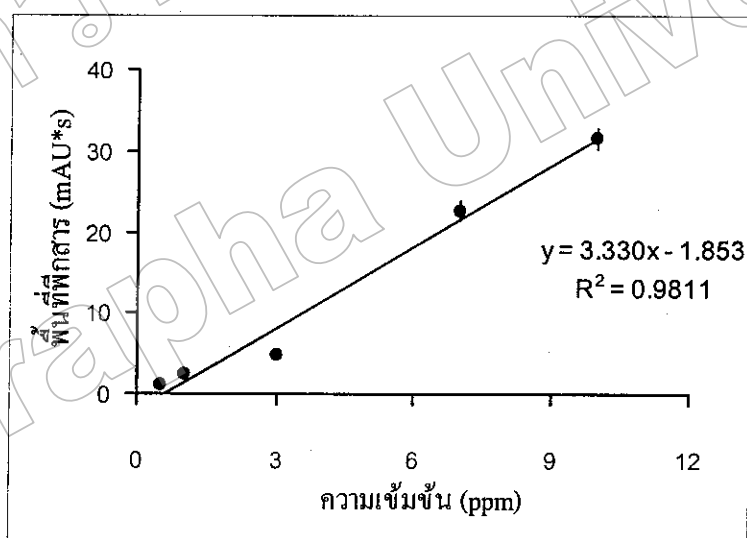
ความเป็นเส้นตรงของเคลนบูเทอรอล ศึกษาในช่วงความเข้มข้น 0.50 ppm ถึง 10.0 ppm และซาลบูตามอล ศึกษาในช่วงความเข้มข้น 0.50 ppm ถึง 10.0 ppm แต่ละความเข้มข้น นิดซ้ำ 5 ครั้ง ค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์และสมการเส้นตรงของเคลนบูเทอรอลและซาลบูตามอล แสดงผลดังตารางที่ 16 กราฟช่วงความเป็นเส้นตรงของเคลนบูเทอรอลและซาลบูตามอล แสดงดังภาพที่ 45 และ 46

ตารางที่ 16 ช่วงความเป็นเส้นตรงของเคลนบูเทอรอลและซาลบูตามอล (n=5)

สาร	ช่วงความเข้มข้น (ppm)	สัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์ (r^2)	สมการ
เคลนบูเทอรอล	0.50-10.0	0.9956	$y = 4.918x - 1.665$
ซาลบูตามอล	0.50-10.0	0.9811	$y = 3.330x - 1.853$



ภาพที่ 45 ช่วงความเป็นเส้นตรงของสารเคานบูเทอรอล



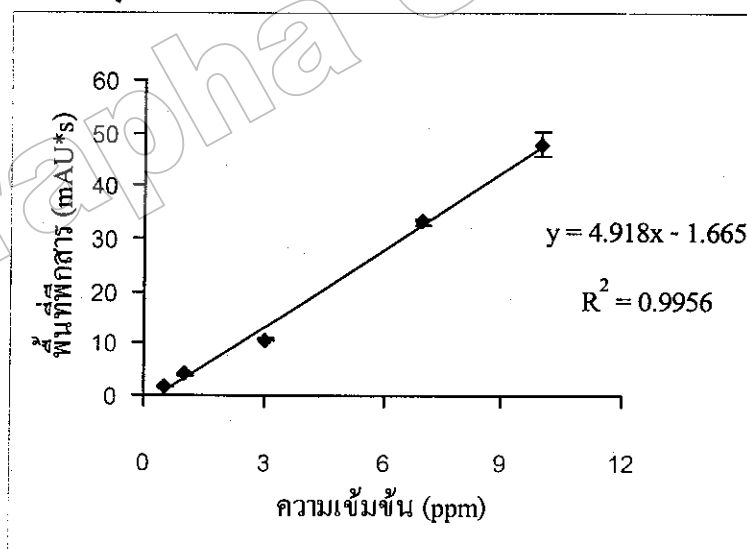
ภาพที่ 46 ช่วงความเป็นเส้นตรงของสารชาลบูตามอล

3.5 ผลการสร้างกราฟมาตรฐาน

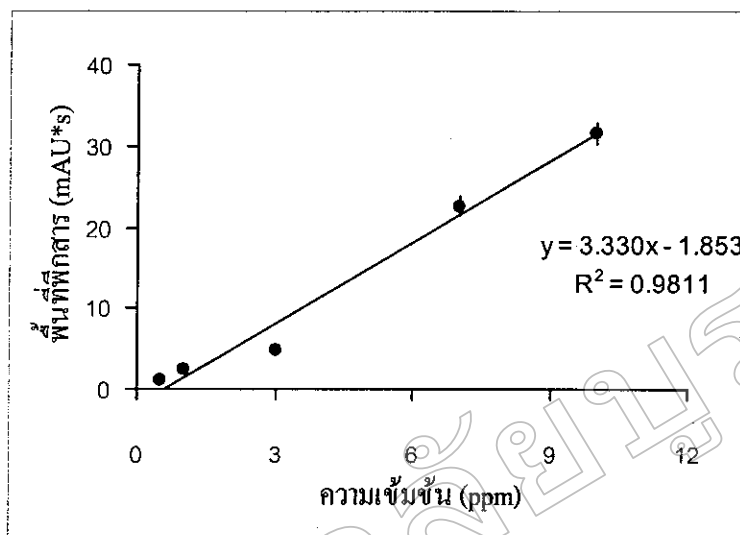
การสร้างกราฟมาตรฐานของแคลนบูเทอรอล ศึกษาในช่วงความเข้มข้น 0.50 ppm ถึง 10.0 ppm และซาลบูตามอลศึกษาในช่วงความเข้มข้น 0.50 ppm ถึง 10.0 ppm แต่ละความเข้มข้นฉีดซ้ำ 5 ครั้ง ค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์และสมการเส้นตรง ของแคลนบูเทอรอลและซาลบูตามอล แสดงดังตารางที่ 17 กราฟมาตรฐานของสารแคลนบูเทอรอลและซาลบูตามอล แสดงดังภาพที่ 47 และ 48 ตามลำดับ

ตารางที่ 17 กราฟมาตรฐานของสารแคลนบูเทอรอลและซาลบูตามอล (n=5)

สาร	ช่วงความเข้มข้น (ppm)	สัมประสิทธิ์ของความ สัมพันธ์ (r^2)	สมการ
แคลนบูเทอรอล	0.50-10.00	0.9956	$y = 4.918x - 1.665$
ซาลบูตามอล	0.50-10.00	0.9811	$y = 3.330x - 1.853$



ภาพที่ 47 กราฟมาตรฐานของสารแคลนบูเทอรอล



ภาพที่ 48 กราฟมาตรฐานของสารคลอโรฟิลล์

3.6 ความเที่ยงของการวิเคราะห์ ทำการวิเคราะห์สารมาตรฐานผสมความเข้มข้น 1.0, 3.0 และ 5.0 ppm โดยวิเคราะห์ซ้ำ 6 ครั้ง ด้วยเครื่องแคปิลารีอิเล็กโตรโฟรีซิสตามสภาวะที่เหมาะสม ผลแสดงดังตารางที่ 18

ตารางที่ 18 ความเที่ยงของการวิเคราะห์ที่พิจารณาในทอมของร้อยละความเบี่ยงเบนมาตรฐาน สัมพัทธ์ของพื้นที่ฟลัก และไมเกรชันไทม์ (n = 6)

สาร	%RSD ไมเกรชันไทม์			%RSD พื้นที่ฟลักสาร		
	1.0 ppm	3.0 ppm	5.0 ppm	1.0 ppm	3.0 ppm	5.0 ppm
คลอโรฟิลล์	0.49	1.11	0.33	2.41	5.27	2.22
คลอโรฟิลล์	0.69	1.19	0.69	5.67	6.71	2.83

3.7 ความแม่นยำของการวิเคราะห์ ทำการวิเคราะห์ผลโดยเติมสารละลายมาตรฐานผสมความเข้มข้น 20 ppm ปริมาตร 150, 250 และ 500 ไมโครลิตร ลงในสารตัวอย่าง เพื่อให้ได้ความเข้มข้น 3.0, 5.0 และ 10.0 ppm ในตัวอย่างเนื้อหยาบ เมื่อปริมาตรสุดท้ายหลังระเหยด้วยไนโตรเจนเท่ากับ 1.0 มิลลิตร ทำการวิเคราะห์ซ้ำระดับความเข้มข้นละ 5 ครั้ง ด้วยเครื่องแคปิลารีอิเล็กโตรโฟรีซิสตามสภาวะที่เหมาะสม ผลที่ได้แสดงดังตารางที่ 19

ตารางที่ 19 ความแม่นยำของการวิเคราะห์พิจารณาในเทอมของร้อยละการกลับคืน (n=5)

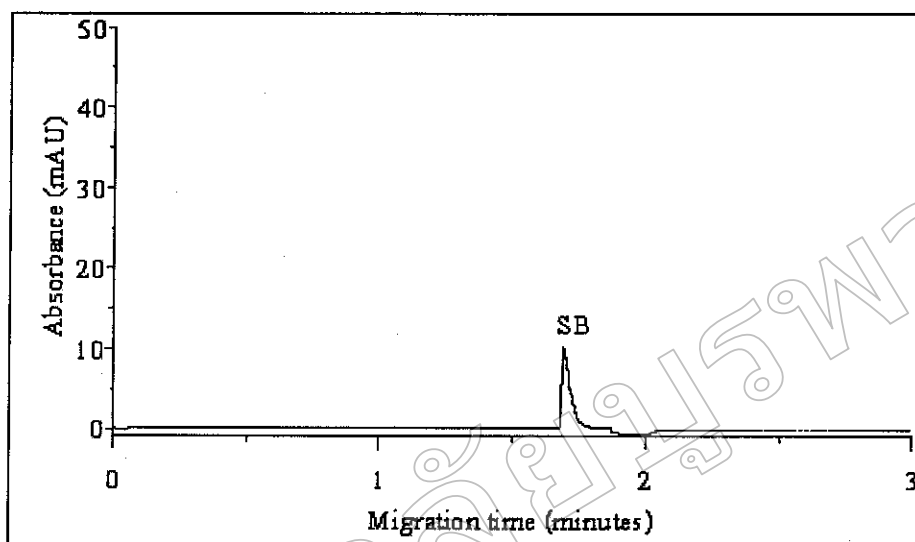
ตัวอย่าง	สาร	ร้อยละการกลับคืน $\pm$ SD		
		3.0 ppm	5.0 ppm	10.0 ppm
เนื้อหมู	คลอเนบูเทอรอล	98.8 $\pm$ 4.1	84.5 $\pm$ 3.0	78.8 $\pm$ 3.2
	ซาลบูตามอล	109.3 $\pm$ 6.0	106.0 $\pm$ 3.6	99.5 $\pm$ 3.7

4. ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มเบต้าอะโกนิสต์ในตัวอย่างโดยใช้กราฟมาตรฐาน

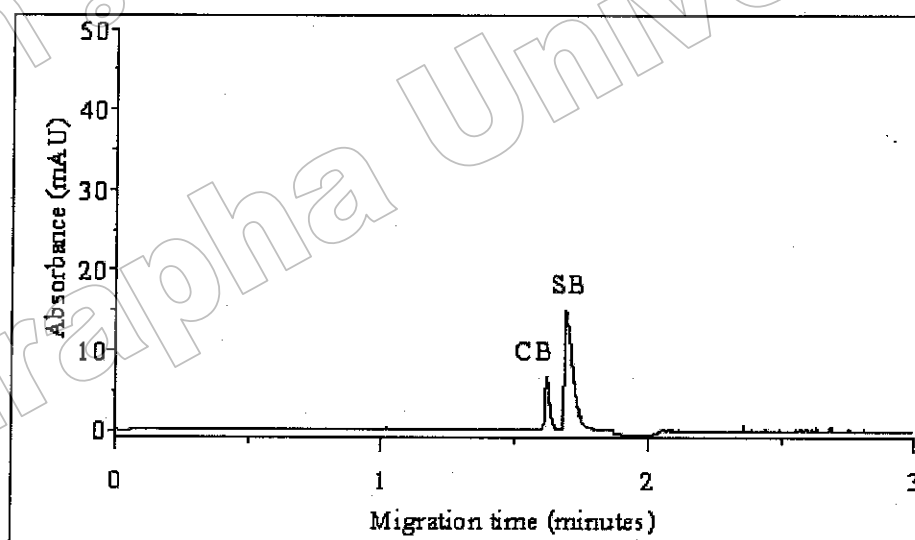
ตารางที่ 20 ปริมาณสารกลุ่มเบต้าอะโกนิสต์ในตัวอย่าง (n=5)

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น	
	Clenbuterol	Salbutamol
ยาพ่นจมูก (1000 μ g/ml) *	n.d.	991.5 $\pm$ 4.7 μ g/ml
เนื้อหมู-1 **	n.d.	n.d.
เนื้อหมู-2 **	0.2 $\pm$ 0.0 μ g/g	0.3 $\pm$ 0.0 μ g/g

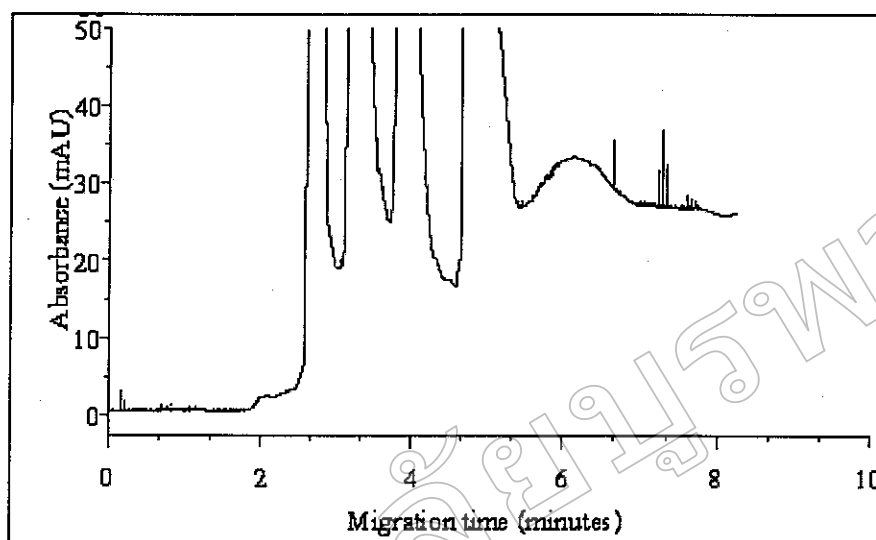
n.d. = Not detected.



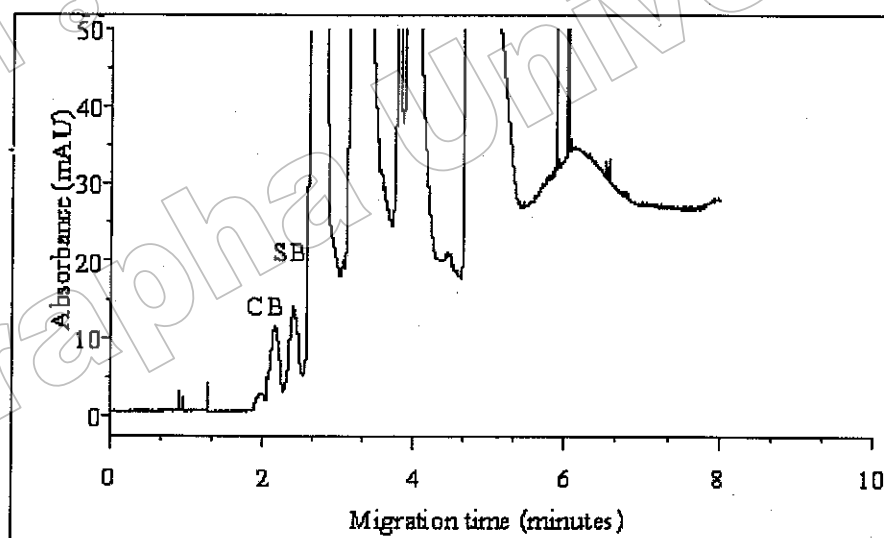
ภาพที่ 49 อิเล็กโทรฟีโรแกรมของตัวอย่างยาฟันจุมูก



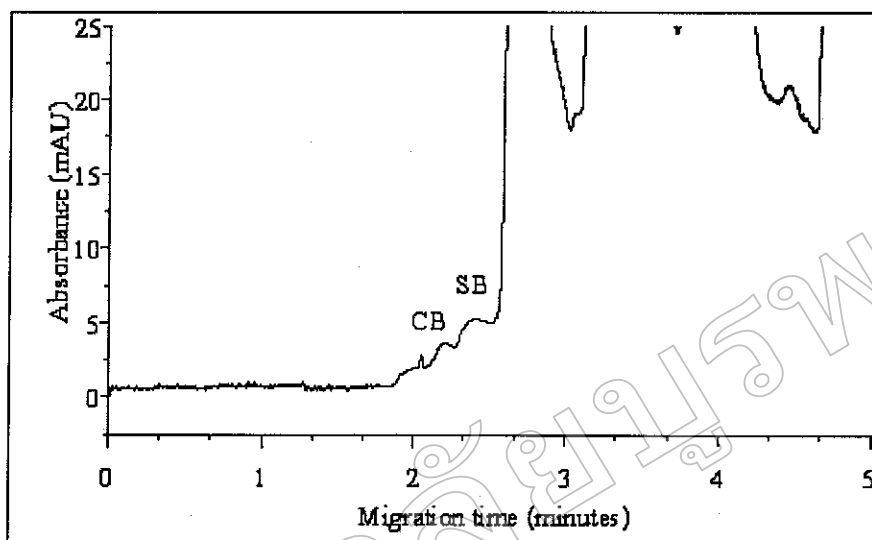
ภาพที่ 50 อิเล็กโทรฟีโรแกรมของตัวอย่างยาฟันจุมูกเติมสารละลายมาตรฐานผสม
เกล็ดงูเห่าและชาลบูทามอล ความเข้มข้น 20 ppm ปริมาตร 250 ไมโครลิตร



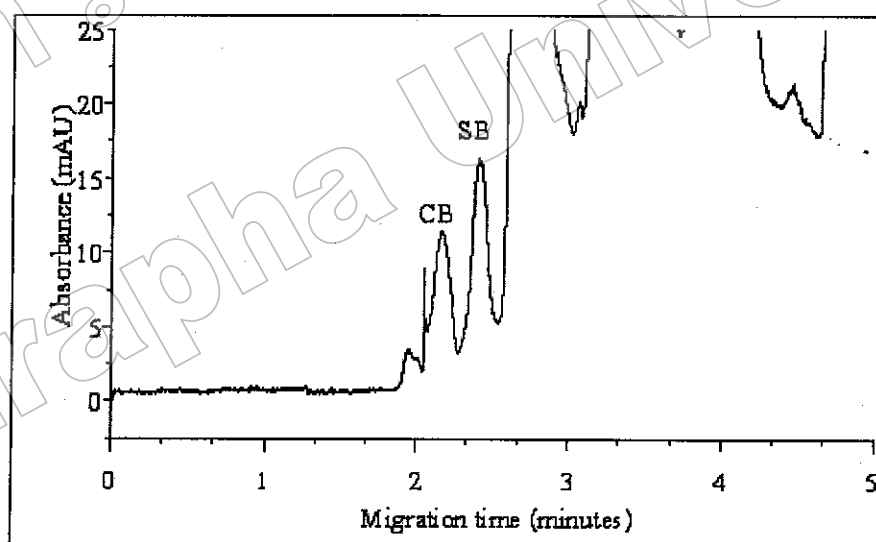
ภาพที่ 51 อิเล็กโทรโฟโแกรมของตัวอย่างหมู-1



ภาพที่ 52 อิเล็กโทรโฟโแกรมของตัวอย่างหมู-1 เติมสารละลายมาตรฐานผสมเกลนบูเทอรอลและ
ซาลบูตามอล ความเข้มข้น 20 ppm ปริมาตร 250 ไมโครลิตร



ภาพที่ 53 อิเล็กโทรฟีโรแกรมของตัวอย่างหมู-2



ภาพที่ 54 อิเล็กโทรฟีโรแกรมของตัวอย่างหมู-2 เติมนสารละลายมาตรฐานผสมเกลนบูเทอรอลและ
ชาลนูทามอล ความเข้มข้น 20 ppm ปริมาตร 250 ไมโครลิตร