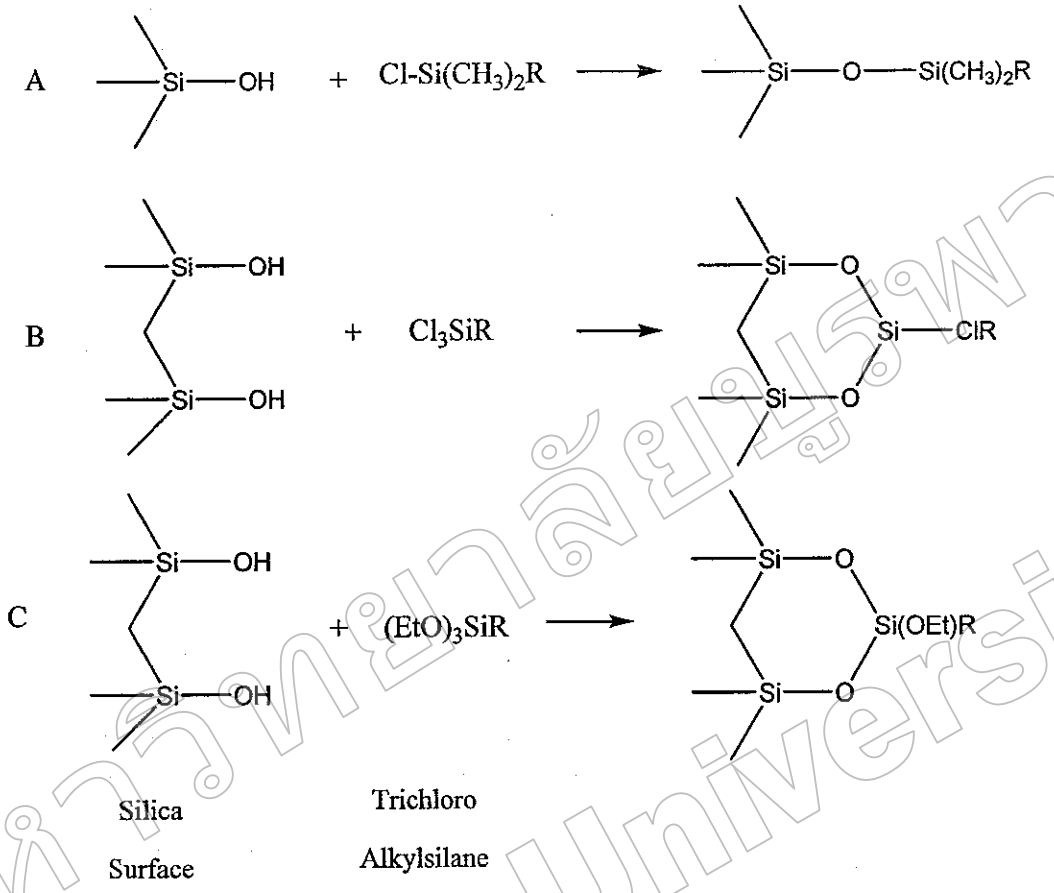
บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ทฤษฎีหลักการพื้นฐานของเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี (High-Performance Liquid Chromatography, HPLC)

เป็นเทคนิคการแยกสารที่พัฒนามาจาก ลิควิดโครมาโทกราฟี เป็นที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวาง แต่ลิควิดโครมาโทกราฟีใช้เวลาในการแยกสารผสมค่อนข้างมาก ปัจจุบันจึงพัฒนาลิควิดโครมาโทกราฟีมาเป็นไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี ซึ่งมีข้อดีคือ สามารถแยกสารผสมได้ในเวลาที่รวดเร็ว ค่าการแยกและสภาพไวดี สะดวกและง่ายต่อการทำปริมาณวิเคราะห์ แยกสารได้มากมายหลายชนิด เช่น กรดอะมิโน โปรตีน ไฮโดรคาร์บอน สารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ เป็นต้น

กลไกการแยกสารของเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟีเหมือนกับเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟี ที่แตกต่างกันก็คือ เครื่องมือและเทคนิคทางปฏิบัติเท่านั้น กล่าวคือ การแยกสารละลายผสม แยกโดยบรรจุอนุภาคของแข็งขนาดเล็กๆ ที่มีรูพรุนในหลอดเล็กๆ เรียกว่า คอลัมน์ สารละลายตัวอย่างจะถูกฉีดเข้าไปในส่วนบนของคอลัมน์ เฟสเคลื่อนที่จะทำหน้าที่พาสารผ่านไปยังคอลัมน์ สารประกอบแต่ละตัวจะถูกดูดซับและถูกทำให้หลุดออกไปจากการดูดซับบนอนุภาคที่บรรจุอยู่ในคอลัมน์ สารประกอบจะเคลื่อนที่ไปตามคอลัมน์ช้าลง อัตราเร็วของการเคลื่อนที่จะขึ้นอยู่กับสัมพรรคภาพ (Affinity) ของสารกับอนุภาคที่บรรจุอยู่ในคอลัมน์ สารประกอบจะมีการกระจายอยู่ระหว่างเฟสอยู่กับที่และเฟสเคลื่อนที่เมื่อผ่านไปตามคอลัมน์ความแตกต่างของอัตราการเคลื่อนที่ของสารจะมีผลทำให้เกิดการแยกสารประกอบในคอลัมน์และจะเคลื่อนที่ไปตามความยาวคอลัมน์ทั้งหมดของคอลัมน์ โดยมีเฟสเคลื่อนที่เป็นตัวพาไป

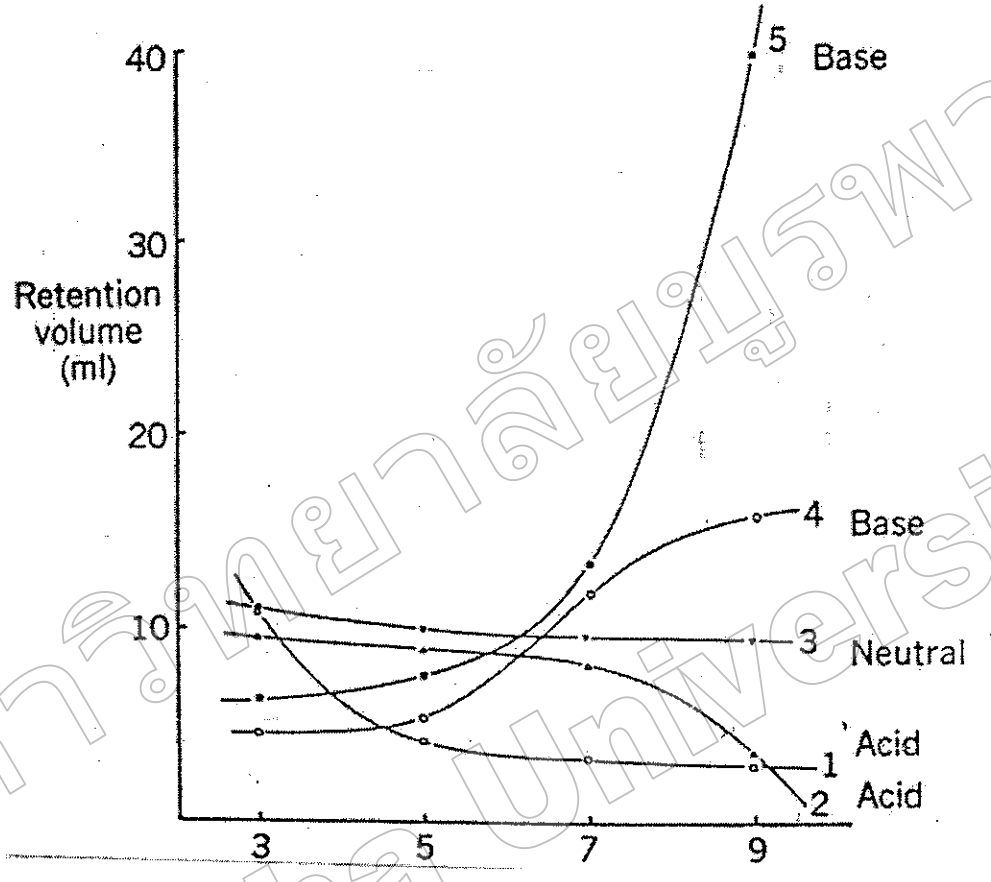
เทคนิค Reversed Phase Chromatography เป็นเทคนิคหนึ่งของเทคนิค Bonded Phase Chromatography โดยเฟสอยู่กับที่มีหมู่ฟังก์ชันไม่มีขั้ว ซึ่งมีสภาพขั้วน้อยกว่าเฟสเคลื่อนที่ เตรียมโดยการเกิดพันธะโควาเลนต์ระหว่างพื้นผิวของซิลิกากับสารออกาโนไซเลน ซึ่งมีทั้งที่เป็น Monofunctional และ Trifunctional Reagent แต่โดยส่วนมากจะใช้สารพวก Trifunctional Reagent ที่เกิดการโพลีเมอร์ไลซ์เซชันกันซึ่งจะเสถียรภาพมากในช่วงพีเอชต่ำๆ แสดงดังภาพที่ 2-1 โดยที่ R เป็นสารประกอบพวก Hydrocarbon ที่นิยมใช้ได้แก่ Octadecyl (C_{18}) และ Octyl (C_8) (Synder, Kirkland, & Glajch, 1997, pp. 189-190)



ภาพที่ 2-1 การเกิดพันธะเคมีของ (A) การเกิดปฏิกิริยาของพื้นผิวของซิลานอลกับสารประกอบคลอโรไดเมทิลไซเลน (Chlorodimethylsilene), (B) การเกิดปฏิกิริยาของพื้นผิวของซิลานอลกับสารประกอบพวกไตรฟังชันนัลก์ไซเลน (Trifunctional silane), (C) การเกิดปฏิกิริยาของพื้นผิวซิลานอลกับสารประกอบพวกไตรฟังชันนัลก์อัลคอกซีไซเลน (Trifunctional Alkoxysilane) (Synder, Kirkland, & Glajch, 1997, p. 190)

เฟสเคลื่อนที่ ที่ใช้ในระบบ Reversed Phase Chromatography เป็นตัวทำละลายที่มีขั้ว เช่น น้ำ บัฟเฟอร์ เมทานอล อะซีโตไนไตรล์ เตตระไฮโดรฟูแรน ส่วนผสมของน้ำหรือบัฟเฟอร์กับตัวทำละลายอินทรีย์เหล่านี้ ความแรงของเฟสเคลื่อนที่จะเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มปริมาณของตัวทำละลายอินทรีย์ กลไกการแยกขึ้นอยู่กับความแตกต่างของความไม่ชอบน้ำ (Hydrophobicity) หรือความไม่มีขั้วของสาร เนื่องจากเฟสอยู่กับที่เป็นไฮโดรคาร์บอน เช่น Octadecyl หรือ Octyl ดังนั้นสารที่ไม่มีขั้วจะถูกชะออกมาช้ากว่าสารที่มีขั้ว ความเร็วของการชะจะเพิ่มขึ้นเมื่อลดสภาพขั้วของเฟสเคลื่อนที่ โดยการเพิ่มสัดส่วนของตัวทำละลายอินทรีย์หรือเปลี่ยนตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีความแรงเพิ่มขึ้น

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



รูปที่ 2-2 ผลของพีเอชของสารละลายเฟสเคลื่อนที่ในระบบ Reversed Phase ในตัวอย่างกรด, เบส และกลาง คอลัมน์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ μBondapak C_{18} ความยาว 30 เซนติเมตร ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.4 เซนติเมตร เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วย สารละลายฟอสเฟตเข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์ ในเมทานอล 40% สาร 1 คือ กรดซาลิไซลิก (Salicylic Acid), สาร 2 คือ ฟีโนบาบิโทน (Phenobarbitone), สาร 3 คือ ฟีนาซีติน (Phenacetin), สาร 4 คือ นิโคติน (Nicotine) และสาร 5 คือ เมทิลแอมเฟตามิน (Methylamphetamine) (Synder, Kirkland, & Glajch, 1997, pp. 294 - 295)

กลไกการเคลื่อนที่ของสารพวกกรด, เบส และสารที่เป็นกลาง การเคลื่อนที่ของสารจะเร็วขึ้น เมื่อกรด (HA) และเบส (B) อยู่ภายใต้สภาวะการแตกตัวทำให้สารมีความเป็นขั้วมากขึ้น สารจึงเคลื่อนที่ออกมาเร็วขึ้น

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

$$HA \longleftrightarrow A^- + H^+ \qquad (2\text{-}1)$$

$$B + H^+ \longleftrightarrow BH^+ \qquad (2\text{-}2)$$

Hydrophobic Hydrophilic

กรดจะให้โปรตอน (อยู่ภายใต้สภาวะการแตกตัว) เมื่อพีเอชเพิ่มขึ้น (สมการ 2-1) เบสจะรับโปรตอน (อยู่ภายใต้สภาวะการแตกตัว) เมื่อพีเอชลดลง (สมการ 2-2) เมื่อพีเอชเพิ่มสารที่เป็นกรดจะเคลื่อนที่เร็วขึ้นและสารที่เป็นเบสจะเคลื่อนที่ช้าลง ซึ่งการเคลื่อนที่ของสารสามารถอธิบายได้จากรูปที่ 2-2 ซึ่งพีเอชของเฟสเคลื่อนที่ศึกษาอยู่ในช่วง 3-9 สารตัวที่ 1 และ 2 เป็นกรด สารตัวที่ 4 และ 5 เป็นเบส สารตัวที่ 3 เป็นกลาง ซึ่งไม่มีผลต่อค่าพีเอชของเฟสเคลื่อนที่ที่เปลี่ยนแปลง

ประสิทธิภาพของคอลัมน์พิจารณาได้จากสมการ 2-3

$$H = \left(\frac{L}{N}\right) \qquad (2\text{-}3)$$

H = Height Equivalent of a Theoretical Plate

L = ความยาวของคอลัมน์

N = จำนวนเพลท (Number of Theoretical Plates)

โดยที่จำนวนเพลท (N) หาได้จากสมการ 2-4

$$N = \left(16\frac{t_R}{W_b}\right) \qquad (2\text{-}4)$$

t_R = Retention Time ของสาร

W_b = ความกว้างของพีก

คอลัมน์จะมีประสิทธิภาพสูง เมื่อค่า H ต่ำ และค่า H จะต่ำ เมื่อใช้สารบรรจุที่มีอนุภาคขนาดเล็ก อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ต่ำ เฟสเคลื่อนที่มีความหนืดน้อย ใช้อุณหภูมิสูง และปริมาณสารตัวอย่างน้อย

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในการศึกษาเกี่ยวกับการแยกและการหาปริมาณสารเคลนบูเทรอล ซัลบูทามอล ไรโบฟลาวิน ฟลาวินอะดีนินไดนิวคลีโอไทด์ และฟลาวินโมโนนิวคลีโอไทด์ในเบียร์ ในตัวอย่าง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ต่างๆ เช่น เนื้อสัตว์ เลือด อาหาร เครื่องดื่ม หรือผลิตภัณฑ์ทางด้านเภสัชกรรม ได้มีการศึกษามาบ้างแล้วดังนี้

การศึกษาในส่วนของสารเคลนบูเทรอลและซัลบูทามอล

จันคนา (Jankana, 2544) ได้วิเคราะห์หาปริมาณสารซัลบูทามอลที่ตกค้างในเนื้อสุกรด้วยเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี ในการเตรียมสารตัวอย่างย่อยเนื้อสุกรด้วยกรดเมตาฟอสฟอริก (Metaphosphoric Acid) ความเข้มข้น 20% (v/v) และสกัดด้วยตัวทำละลายผสมของเอทิลอะซีเตตและบิวทานอลในอัตราส่วน 7: 3 (v/v) คอลัมน์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ Econosphere C_{18} ขนาดยาว 250 มิลลิเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 4.6 มิลลิเมตร ขนาดของอนุภาคที่ใช้บรรจุ 5 ไมครอน เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วยอะซีเตตบัฟเฟอร์พีเอช 3.7 และอะซีโตรไนไตรล์ ตรวจวัดด้วยเครื่องฟลูออเรสเซนต์ เวลาที่ใช้ในการชะสารประมาณ 8 นาที การทดสอบความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์ให้ค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์มากกว่า 0.9993 ทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ให้ค่าร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 85.79-94.42% และความเที่ยงของการวิเคราะห์ให้ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 0.68-5.27%

ฮัทชิง, พอล และมอแกน (Hutchings, Paul, & Morgan, 1983) ศึกษาการหาซัลบูทามอลในตัวอย่างเลือดด้วยเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี การเตรียมสารตัวอย่างเติมฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7.2 ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ในตัวอย่างเลือดปริมาตร 1 มิลลิลิตร สกัดด้วยสารละลายไดทูเอทิลเฮกซิลฟอสเฟต (Di (2-ethylhexyl Phosphate), DEPH) เข้มข้น 0.1 โมลาร์ในสารละลายคลอโรฟอร์ม 6 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเซนตริฟิวซ์ที่ความเร็ว 1,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำชั้นคลอโรฟอร์มเติม 0.5 โมลาร์ของกรดไฮโดรคลอริก 500 ไมโครลิตร เซนตริฟิวซ์ที่ความเร็ว 1,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที คอลัมน์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ ODS ขนาดยาว 2.5 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 4.6 มิลลิเมตร เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วยอะซีโตไนไตรล์เข้มข้น 8% (v/v) ละลายในน้ำกลั่นและเติมกรดฟอสฟอริก 0.15% (v/v) อัตราการไหล 1.7 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดด้วยเครื่องฟลูออเรสเซนต์ ผลการทดสอบความแม่นของการวิเคราะห์ที่ความเข้มข้น 100 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน 2.5% ความเข้มข้น 5 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน 3.2% เมื่อทดสอบระหว่างวันที่ความเข้มข้น 40 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ค่าสัมประสิทธิ์ ความแปรปรวน 11% ขีดความสามารถในการตรวจวัดให้ค่าเท่ากับ 1.0 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ค่าร้อยละของการกลับคืน 84%

ไดเคท, โดอา และซิมอน (Diquet, Doare, & Simon, 1984) ศึกษาการหาเคลนบูเทรอลในตัวอย่างเลือดของหนูด้วยวิธีไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี การเตรียมสารตัวอย่างเติมโยหิเมบีน (Yohimabine) เป็น Internal Standard เข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 80

ไมโครลิตร โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และคลอโรฟอร์ม 6 มิลลิลิตร ในสารตัวอย่าง 500 ไมโครลิตร เขย่านาน 20 นาที นำสารละลายไปเซนตริฟิวซ์ที่ความเร็ว 900 กรัมต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ -2 องศาเซลเซียส นำสารละลายในชั้นล่างไปเข้าเครื่องระเหยสูญญากาศชนิดหมุน นำสารละลายที่ได้ละลายในเฟสเคลื่อนที่ปริมาตร 100 ไมโครลิตร คอลัมน์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ C_{18} ขนาดยาว 15 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 3.9 มิลลิเมตร ขนาดของอนุภาคที่ใช้บรรจุ 5 ไมโครเมตร เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วยแอมโมเนียมฟอสเฟตเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ และเมทานอลในอัตราส่วน 10: 90 (v/v) ปรับพีเอชเท่ากับ 5 ด้วยกรดออโทฟอสฟอริก อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดด้วยเครื่องแอมพีโรเมทริค ผลการทดสอบความเป็นเส้นตรงให้ค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์เท่ากับ 0.9969 การทดสอบความแม่นของวิธีวิเคราะห์ในรูปของ Reproducibility ของความเข้มข้นเลือดให้ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนอยู่ในช่วง 3.57-8.24% ความถูกต้องของการวิเคราะห์ให้ค่าเฉลี่ยร้อยละของการกลับคืนให้ค่าเท่ากับ 45.45 ขีดจำกัดในการตรวจวัดให้ค่า 1 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร

แทน และโซลดิน (Tan & Soldin, 1984) ศึกษาการหาซัลบูทามอลในตัวอย่างเลือด เตรียมสารตัวอย่าง ละลายตัวอย่างปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่นปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใช้ฟีโนทีรอลโบรไมด์ (Fenoterol Bromide) เป็น Internal Standard เข้มข้น 100 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 15 ไมโครลิตร นำสารละลายที่ได้แยกด้วย Sep-Pak Cartridge และสกัดด้วยเทคนิค Ion-pair Extraction นำสารละลายที่ได้ปริมาตร 150 ไมโครลิตร วิเคราะห์ด้วยเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี คอลัมน์ที่ใช้วิเคราะห์ ODS ขนาดยาว 7.5 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 4.6 มิลลิเมตร เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วยเมทานอลและสารละลายผสมของโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 6.8 ความเข้มข้น 70 มิลลิโมลาร์ คลอไรด์ไอออน 1 มิลลิโมลาร์และกรดโซเดียมวันเฮพเทนซัลโฟนิค (Sodium 1-heptane Sulphonic Acid) เข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ อัตราส่วน 25: 75 (v/v) อัตราการไหล 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดด้วยเครื่องแอมพีโรเมทริค ผลการทดสอบความถูกต้องของการวิเคราะห์ให้ค่าเฉลี่ยของค่าร้อยละการกลับคืนเท่ากับ 79% การทดสอบความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์ให้ค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์ 0.9946 ทดสอบความแม่นของการวิเคราะห์ของค่าร้อยละการกลับคืนให้ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนอยู่ในช่วง 6.2-7.1% เมื่อทดสอบภายในวันเดียวกัน และ 7.2-8.3% เมื่อทดสอบระหว่างวัน ขีดความสามารถในการตรวจวัดให้ค่าเท่ากับ 400 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร

มิลเลอร์ และกีนเบท (Miller & Greenblatt, 1986) ศึกษาการหาซัลบูทามอลในตัวอย่างเลือดด้วยเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี การเตรียมสารตัวอย่างเติมไดทูเอทิลเฮกซิลฟอสเฟตเป็น Internal Standard ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 4 มิลลิลิตร เซนตริฟิวซ์ที่

ความเร็ว 600 กรัมต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นนำชั้นสารละลายอินทรีย์เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 150 ไมโครลิตร คอลัมน์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ C_{18} ความยาว 15 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 4.6 มิลลิเมตร ขนาดของอนุภาคที่ใช้บรรจุภายในคอลัมน์ 5 ไมโครเมตร เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วยน้ำและอะซีโตไนไตรล์ อัตราส่วน 92: 8 (v/v) ปรับพีเอช 2.5 ด้วยกรดฟอสฟอริก อัตราการไหล 1.6 มิลลิลิตรต่อนาที ผลการศึกษาการให้ค่าร้อยละการกลับคืนสูงสุดเมื่อใช้ไดทูเอทิลเฮกซิลฟอสเฟตเข้มข้น 0.1 โมลาร์ การทดสอบความเป็นเส้นตรง ของการวิเคราะห์ให้ค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์มากกว่า 0.99 ทดสอบความแม่นของการวิเคราะห์ให้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 4.4 – 8.0% ขีดจำกัดในการตรวจวัดให้ค่าเท่ากับ 1 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร

ดูเรชิ และอีลิคสัน (Qureshi & Eriksson, 1988) ศึกษาการหาเคลนบูเทรอลและมาบิวทีรอล (Mabuterol) ในตัวอย่างเลือดของม้า การเตรียมสารตัวอย่าง ใช้สารตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.25 โมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และเมทิลเคลนบูเทรอล (Methylclenbuterol) เป็น Internal Standard เข้มข้น 50 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร นำสารละลายที่ได้ 5 มิลลิลิตรสกัดด้วยไดเอทิลอีเทอร์ทูบิวทามอล (Diethyl Ether-2-Butamol) อัตราส่วน 9: 1 หลังจากนั้นเซนตริฟิวซ์ที่ความเร็ว 1500 กรัมต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำชั้นสารละลายอินทรีย์ปริมาตร 4 มิลลิลิตร เข้าเครื่องระเหยสูญญากาศชนิดหมุน สารละลายที่ได้ละลายในเฟสเคลื่อนที่ปริมาตร 100 ไมโครลิตร วิเคราะห์ด้วยเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี คอลัมน์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ C_{18} ขนาดยาว 125 มิลลิเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 4 มิลลิเมตร ขนาดของอนุภาคที่ใช้บรรจุภายในคอลัมน์ 7 ไมโครเมตร เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 4.0 และอะซีโตรไนไตรล์อัตราส่วน 77: 23 (v/v) เติมโซเดียมวันเฮพเทนซัลโฟเนต ตรวจวัดด้วยเครื่องดูลอมเมตริค ผลการทดสอบความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์ให้ค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์มากกว่า 0.994 ขีดจำกัดในการตรวจวัดสำหรับสารเคลนบิวเทรอลมีค่า 0.5 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และ 2 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับมาบิวทีรอล ความถูกต้องของการวิเคราะห์แสดงในรูปร้อยละการกลับคืนให้ค่าเท่ากับ 98% สำหรับสารเคลนบิวเทรอล และ 95% สำหรับสารมาบิวทีรอล

เอม, เลสโก และเลสลี (Emm, Lesko, & Leslie, 1988) ศึกษาการหาเซรุ่ม การเตรียมสารตัวอย่างใช้เทคนิค Solid-phase Extraction ชนิด C_{18} ใช้เบมเทนซัลเฟต (Bametane Sulphate) เป็น Internal Standard เติมลงในสารตัวอย่าง หลังจากนั้นวิเคราะห์ด้วยเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี วิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ C_{18} ขนาดยาว 30 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 3.9 มิลลิเมตร ขนาดของอนุภาคที่ใช้บรรจุภายในคอลัมน์ 10 ไมโครเมตร เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วย

เมทานอลเข้มข้น 8% ละลายในแอมโมเนียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์ ตรวจวัดด้วยเครื่องคูลอมเมทริค ผลการทดสอบความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์ให้ค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์มากกว่า 0.99 ทดสอบความแม่นให้ค่าร้อยละการกลับคืนให้ค่ามากกว่า 84% ทดสอบความเที่ยงของการวิเคราะห์ให้ค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนภายในวันเดียวกันให้ค่า 15-16% ที่ความเข้มข้น 1-2 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และมากกว่าเท่ากับ 10% ที่ความเข้มข้น 5-40 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อทดสอบระหว่างวัน

มาร์คคิ และ แทมมิลิโต (Mälkki & Tammilehto, 1990) ศึกษาอัตราการสลายตัวของซัลบูทามอล ปัจจัยที่ทำการศึกษาได้แก่ ค่าพีเอช อุณหภูมิและความเข้มข้นของยา โดยใช้เทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี คอลัมน์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ LiChrosorb RP-18 ขนาดยาว 250 มิลลิเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 4 มิลลิเมตร ขนาดของอนุภาคที่ใช้บรรจุ 10 ไมโครเมตร ปริมาตรของสารตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์ 20 ไมโครลิตร ตรวจวัดด้วยเครื่องยูวีที่ความยาวคลื่น 265 นาโนเมตร เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วยอะซีโตไนไตรล์และโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ความเข้มข้น 0.02 โมลาร์ ในอัตราส่วน 3 : 97 (v/v) เติมไตรเอทิลลามีน 750 ไมโครลิตร ปรับพีเอชเท่ากับ 3 ด้วยกรดฟอสฟอริก อัตราการไหล 1.8 มิลลิลิตรต่อนาที ใช้ออซิพรีนาลีนซัลเฟต (Orciprenaline Sulphate) เป็น Internal Standard อัตราการเกิดปฏิกิริยาจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิและความเข้มข้นของยาเพิ่มขึ้น ที่พีเอช 3 ซัลบูทามอลจะสลายตัวน้อยที่สุด ทดสอบความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์ให้ค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์เท่ากับ 1.00 ความเที่ยงของการวิเคราะห์ให้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 0.63 – 1.33 % (n=6) ความถูกต้องของการวิเคราะห์แสดง ในรูปร้อยละการกลับคืนให้ค่าเท่ากับ 101.4%

ลีเสน, ไดรเสน, จาคอบ, เชค และลอส (Leyssens, Driessen, Jacobs, Czech, & Raus, 1991) ศึกษาการหาสารเบต้าอะโกนิสต์ 7 ชนิด ในตัวอย่างตับของวัว การเตรียมสารตัวอย่างย่อยสารตัวอย่างด้วยเอนไซม์ และสกัดด้วยเตริดบิวทานอล-เอทิลอะซีเตตอัตราส่วน (3: 7) หลังจากนั้นนำไปเข้าเครื่องระเหยสูญญากาศชนิดหมุน สารที่ได้นำไปสกัดด้วยเทคนิค Solid-phase Extraction ชะล้างด้วยไดคลอโรมีเทน - ไอโซโพรพานอล อัตราส่วน 8: 2 และละลายในแอมโมเนีย 2 % สารละลายที่ได้นำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี คอลัมน์ที่ใช้ในการวิเคราะห์เป็นแบบฟิวซ์ซิลิกาขนาดยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.32 มิลลิเมตร ความดัน 83 กิโลพาสคา อุณหภูมิที่ใช้ในการฉีด 280 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของคอลัมน์ตั้งโปรแกรมที่ 15 นาที อุณหภูมิเพิ่มจาก 80 เป็น 230 องศาเซลเซียส และที่ 30 นาที เพิ่มจาก 230 เป็น 320 องศาเซลเซียส ปริมาตรสารตัวอย่างที่ใช้ในการฉีด 1 ไมโครลิตร ขีดจำกัดของการวิเคราะห์ให้ค่าเท่ากับ 0.5

ไมโครกรัมต่อลิตร ทดสอบความถูกต้องของการวิเคราะห์ให้ค่าร้อยละการกลับคืนสำหรับเคลนบูเทรอลในตัวอย่างตับให้ค่า 56 %

บอทเทอบอม, ฟีนแทร และเอิร์ธซีก-เอิร์น (Botterblom, Feenstra, & Erdtsieck-Ernst, 1993) ทำการศึกษาหาสารโพรพาโนลอล (Propranolol) ลาเบตาลอล (Labetalol) และเคลนบูเทรอล ในตัวอย่างสมองของหนูด้วยเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี คอลัมน์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ C_{18} ขนาดยาว 250 มิลลิเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 4.6 มิลลิเมตร ขนาดของอนุภาคที่ใช้บรรจุ 5 ไมโครเมตร อุณหภูมิของคอลัมน์ 40 องศาเซลเซียส เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วยอะซีโตไนไตรล์, โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตและไตรเอทิลลามีนในอัตราส่วน 35: 65: 0.1 (v/v) ปรับพีเอชเท่ากับ 3 ด้วยกรดออโธฟอสฟอริก ตรวจวัดด้วยเครื่องตรวจวัดยูวีที่ความยาวคลื่น 230 นาโนเมตร ในกระบวนการสกัดที่พีเอชสูง ๆ สำหรับสารเคลนบูเทรอลไม่มีปัญหา ทดสอบความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานสำหรับสารทุกตัวมีค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์มากกว่า 0.9991 ความถูกต้องของการวิเคราะห์แสดงอยู่ในรูปร้อยละมีค่าอยู่ระหว่าง 92-101% ขีดจำกัดการตรวจวัดสำหรับสารทุกตัวให้ค่าเท่ากับ 33 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ยกเว้นโพรพาโนลอลให้ค่าต่ำสุดที่สามารถรายงานได้ 22 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร

เชวโวลีว และทูลลีส (Chevolleau & Tulliez, 1995) ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการแยกสารเบต้าอะโกนิสต์ 10 ชนิด โดยใช้เทคนิคแคปิลารีโซนอีเลคโทโฟรีซิส โดยทำการศึกษาชนิดของบัฟเฟอร์ที่ความเข้มข้นและค่าพีเอชต่าง ๆ เปรียบเทียบผลของคอลัมน์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ระหว่างแคปิลารีชนิดที่ไม่ผ่านการเคลือบขนาดยาว 68.5 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 50 ไมโครเมตร และคอลัมน์แคปิลารี C_{18} ขนาดเท่ากัน อุณหภูมิของแคปิลารี 25 องศาเซลเซียส ศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ในการแยก 30 กิโลโวลต์ ตัวอย่างฉีดเข้าโดยใช้ความดัน 50 มิลลิบาร์ เป็นเวลา 6 วินาที ตรวจวัดด้วยเครื่องยูวีที่ความยาวคลื่น 200 นาโนเมตร โดยสภาวะที่เหมาะสมใช้ทริส(ไฮดรอกซีเมทิล)อะมิโนมีเทนความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ ที่พีเอช 8.3 เวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์สำหรับแคปิลารีชนิดที่ไม่ผ่านการเคลือบใช้เวลาประมาณ 4 นาที และคอลัมน์แคปิลารี C_{18} ใช้เวลาประมาณ 7 นาที

มาร์คคิ, เพอรา, คาโคเนน และแทมมิลิโต (Mälkki, Purra, Kähkönen, & Tammilehto, 1990) ศึกษาการสลายตัวของซัลบูทามอลซัลเฟต พบว่าในซิเตรตบัฟเฟอร์ ซัลบูทามอลจะสลายตัวเร็วมากกว่าในอะซีเตตและฟอสเฟตบัฟเฟอร์ และเมื่อความเข้มข้นของซิเตรตบัฟเฟอร์มากขึ้นซัลบูทามอลจะสลายตัวเร็วขึ้น ศึกษาค่าพีเอชในซิเตรตบัฟเฟอร์ในช่วง 2-6 ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส พบว่าซัลบูทามอลจะสลายตัวน้อยที่สุดที่พีเอช 3 โดยทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่องไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี คอลัมน์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ C_{18} ขนาดยาว 125 มิลลิเมตร เส้นผ่าน

ศูนย์กลางภายใน 4 มิลลิเมตร ขนาดของอนุภาคที่ใช้บรรจุภายในคอลัมน์ 5 ไมโครเมตร เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วยอะซีโตไนไตรล์ โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ และไตรเอทิลลามีน ความเข้มข้น 5.74 มิลลิโมลาร์ ปรับพีเอชเท่ากับ 3 ด้วยกรดฟอสฟอริก ชะล้างด้วยระบบเกรเดียน เมื่อเวลาผ่านไป 6 นาที อะซีโตไนไตรล์เพิ่มความเข้มข้นจาก 4 – 8 % อัตราการไหล 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที พบว่าในบัฟเฟอร์ทุกชนิดที่พีเอช 5 ซัลบูทามอลจะสลายตัวเป็นกรด 4-hydroxy-3-hydroxymethylbenzoic ซึ่งปริมาณจะมากขึ้นเมื่อละลายในซิเตรตบัฟเฟอร์มากกว่าบัฟเฟอร์ชนิดอื่น ผลการศึกษาสารแอนตี้ออกซิแดน พบว่ามีผลน้อยมากต่อการสลายตัวของซัลบูทามอล

กิโกสอส และคณะ (Gigosos et al., 1996) ศึกษาการหาปริมาณเคลนบูเทรอลตกค้างในตัวอย่างเรตินา (Retina) การเตรียมสารตัวอย่างด้วยเทคนิค Solid-phase Extraction ด้วย Sep-Pak C_{18} นำสารที่แยกได้มาวิเคราะห์ด้วยเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี คอลัมน์ที่ใช้วิเคราะห์ C_8 ขนาดยาว 250 มิลลิเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 4.6 มิลลิเมตร ขนาดของอนุภาคที่บรรจุในคอลัมน์มีขนาด 5 ไมโครเมตร เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วย อะซีโตไนไตรล์และฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.02 โมลาร์ ปรับพีเอชให้ได้ค่า 2.8 ด้วยกรดฟอสฟอริก ตรวจวัดด้วยเครื่องยูวีที่ความยาวคลื่น 211 นาโนเมตร การทดสอบความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์ให้ค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์มากกว่า 0.997 ขีดจำกัดของการตรวจวัดให้ค่าเท่ากับ 0.5 นาโนกรัม ขีดจำกัดของการวิเคราะห์ปริมาณให้ค่าเท่ากับ 2.5 นาโนกรัม

เลวเรน และเมนาด (Lawrence & Ménard, 1997) ศึกษาการหาเคลนบูเทรอลในตัวอย่างตับและเนื้อของวัว การเตรียมสารตัวอย่าง สกัดสารตัวอย่างด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ ปรับพีเอชให้เท่ากับ 6 วิเคราะห์ด้วยเทคนิค Solid-phase Extraction และเทคนิค Immunoaffinity Chromatography หลังจากนั้นวิเคราะห์ด้วยเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี คอลัมน์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ C_{18} ความยาว 15 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 3.9 มิลลิเมตร เฟสเคลื่อนใช้ระบบเกรเดียนโดยเมื่อเวลาผ่านไป 5 นาที ความเข้มข้นของเมทานอลเพิ่มขึ้น 30 – 70% ละลายในกรดอะซีติกแอมโมเนียมบัฟเฟอร์พีเอช 4.6 อัตราการไหล 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ปริมาตรที่ใช้ในการฉีดสารตัวอย่าง 150 ไมโครลิตร ตรวจวัดด้วยเครื่องยูวีที่ความยาวคลื่น 245 นาโนเมตร ผลการทดสอบขีดจำกัดของการตรวจวัดให้ค่าเท่ากับ 0.3 นาโนกรัมต่อกรัม ทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ให้ค่าร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 57 – 74% จากการทำการทดลองซ้ำ 6 ครั้ง

โลเปซ-เออรอซ, วินาส, เซอแดน และเฮอนันเดซ-คอโดบา (López-Erroz, Viñas, Cerdán, & Hernndez-Córdoba, 2000) ทำการวิเคราะห์หาสารเคลนบูเทรอลในตัวอย่างยา โดยใช้

เทคนิคโฟว์อินเจคชั่น (Flow-injection) สารเคลนบูเทรอลทำการ Derivatization กับสารออโท พทาลาดีไฮด์ (O-phthaladehyde) และสาร 2-เมอแคพโตเอทานอล (2-mercaptoethanol) ทำการตรวจวัดด้วยเครื่องฟลูออเรสเซ้นต์ ความยาวคลื่นกระตุ้น 336 นาโนเมตร ความยาวคลื่นตรวจวัด 455 นาโนเมตร ขีดจำกัดการตรวจวัด 0.06 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เชา, หู, ยู และแฟง (Zhou, Hu, Yu, & Fang, 2001) ศึกษาการหาอะดรีนาลีน, ซัลบูทามอลและซัลมีทีรอลในเซรุ่ม วิเคราะห์ด้วยเทคนิคแคปิลารีโซนอีเล็กโทรโฟรีซีส ตรวจวัดด้วยเครื่องแอมพีโรเมทริก คอลัมน์ที่ใช้ในการวิเคราะห์แคปิลารีชนิดฟิวซิลิกาที่เคลือบด้วยพลีเอไมด์ ความยาวทั้งหมด 70 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 25 ไมโครเมตร ศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ในการแยก 12 กิโลโวลต์ บัฟเฟอร์ฟอสเฟตเข้มข้น 0.06 โมลต่อลิตร ทดสอบความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์สำหรับสารซัลบูทามอลให้ค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์เท่ากับ 0.998 ผลการทดสอบขีดจำกัดของการตรวจวัดสำหรับสารซัลบูทามอลให้ค่า 2.0×10^{-8} โมลต่อลิตร ทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ให้ค่าร้อยละการกลับคืนสำหรับซัลบูทามอลอยู่ในช่วง 93.1-95.5% จากการทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง

พอซีนีแอค, ซีมุดซกี และนีดซีลสกา (Posyniak, Zmudzki, & Niedzielska, 2003) ทำการศึกษาหาปริมาณสารเคลนบูเทรอลที่ตกค้างในปัสสาวะและตับของวัว โดยใช้เทคนิค Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) เปรียบเทียบกับเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟี คอลัมน์ชนิด RP-8 ขนาดยาว 250 มิลลิเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 4 มิลลิเมตร เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วยกรดออโทฟอสฟอริกเข้มข้น 0.025 มิลลิโมลาร์และอะซีโตไนไตรล์ อัตราส่วน 70: 30 (v/v) อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ทำการตรวจวัดด้วยเครื่องยูวีที่ความยาวคลื่น 240 นาโนเมตร ร้อยละการกลับคืนให้ค่ามากกว่า 80% และสรุปได้ว่าทั้ง 2 เทคนิคสามารถวิเคราะห์สารเคลนบูเทรอลได้

แซง, กาน และเซา (Zhang, Gan, & Zhao, 2003) ศึกษาการหาเคลนบูเทรอลในตัวอย่างตับของหมู ตัวแปรที่ทำการศึกษาได้แก่ ค่าพีเอชของเฟสเคลื่อนที่และสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารตัวอย่าง สกัดด้วยไดเอทิลอีเทอร์และโซเดียมไฮดรอกไซด์ สารละลายที่ได้นำไปเข้าเครื่องระเหยสูญญากาศชนิดหมุนและนำไปละลายในเฟสเคลื่อนที่ หลังจากนั้นนำสารละลายที่ได้ปริมาตร 20 ไมโครลิตร นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี คอลัมน์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ C_{18} ความยาว 150 มิลลิเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 4 มิลลิเมตร ขนาดของอนุภาคที่ใช้บรรจุภายในคอลัมน์ 5 ไมโครเมตร เฟสเคลื่อนที่ ชนิด A ประกอบด้วยกรดฟอสฟอริกความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ และไตรเอทิลลามีนความเข้มข้น 30 มิลลิโมลาร์ ชนิด B ประกอบด้วย อะซีโตไนไตรล์และเมทานอล อัตราส่วน 45: 30 (v/v) ผสมเฟสเคลื่อนที่ชนิด

A และ B อัตราส่วน 80: 20 (v/v) อัตราการไหล 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดด้วยเครื่องโวลแทมเมตริกที่ความต่างศักย์ 450, 600, 650 และ 680 มิลลิโวลต์ เวลาที่ใช้ในการชะสารประมาณ 8.1 นาที ผลการศึกษาค่าพีเอชของเฟสเคลื่อนที่ให้ค่าการแยกที่สมบูรณ์ที่พีเอช 4.0 ค่าพีเอชของกระบวนการสกัดให้ประสิทธิภาพมากที่สุดที่ 11.16 ผลการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ให้ค่าร้อยละการกลับคืน 77% และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ 6.2 % ผลการทดสอบขีดจำกัดของการตรวจวัดให้ค่าเท่ากับ 1.2 นาโนกรัมต่อกรัม

อุยแยง, ดวน, แบเยน และเดแลนกี (Ouyang, Duan, Baeyens, & Delanghe, 2005) ทำการศึกษาเภสัชจลศาสตร์ (Phamacokinetics) ของซัลบูทามอลในตัวอย่างเลือดของคนไข้ โดยใช้เทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี (Ion Chromatography) ตรวจวัดด้วยเครื่องคอนดักติวิตี้เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วยกรดไนตริกเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ 6% (v/v) ละลายในอะซีโตรไนไตรล์ ใช้เอทีโนลอล (Atenolol) เป็น Internal Standard ขีดจำกัดของการตรวจวัด 1 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ร้อยละการกลับคืนมากกว่า 92%

การศึกษาในส่วนของสารไรโบฟลาวิน ฟลาวินอะดีนินไดนิวคลีโอไทด์ และฟลาวินโมโนนิวคลีโอไทด์

โลเปซ-อะยานา และมาเยอซอน (Lopez-Anaya & Mayersohn, 1987) ศึกษาการหา RF, FAD และ FMN ในตัวอย่างเลือดและน้ำปัสสาวะ การเตรียมสารตัวอย่างเลือดนำมาตกตะกอนด้วยอะซีโตไนไตรล์ ตัวอย่างน้ำปัสสาวะนำมาเจือจางเท่านั้น วิเคราะห์ด้วยเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี คอลัมน์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ PRP-1 ขนาดความยาว 25 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 4.6 มิลลิเมตร ขนาดของอนุภาคที่ใช้บรรจุ 10 ไมโครเมตร อุณหภูมิคอลัมน์ 22 องศาเซลเซียส เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วย อะซีโตไนไตรล์-น้ำ-กรดไตรฟลูออโรอะซีติคความเข้มข้น 10% (v/v) - กรดฟอสฟอริกอัตราส่วน 14: 84: 1.5: 0.09 ปรับพีเอชให้ได้ค่า 1.8 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 10% (v/v) อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดด้วยเครื่องฟลูออเรสเซนต์ การแยกเสร็จสมบูรณ์โดยใช้เวลา 9 นาที ขีดจำกัดในการตรวจวัดของสาร RF, FAD และ FMN เท่ากับ 1, 5 และ 2 นาโนกรัมต่อไมโครกรัม ทำการทดสอบความแม่นของวิธีวิเคราะห์ในรูป Reproducibility ของขบวนการสกัดเลือด ทดสอบระหว่างวันให้ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนของ RF ให้ค่าน้อยกว่า 8% (n=18) FMN และ FAD มีค่าอยู่ในช่วง 10-20%

บิลิค และซีเบอร์ (Bilic & Sieber, 1990) ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสาร RF, FAD และ FMN ในตัวอย่างชีสและนมผง ใช้สารซอโบฟลาวิน (Sorboflavin) เป็น Internal Standard ทำการสังเคราะห์ด้วยวิธีการรีฟลักซ์ใช้เวลาประมาณ 10 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการขจัดสิ่งรบกวนจากกระบวนการสกัดตัวอย่างด้วยเทคนิค Solid-phase Extraction ชนิด C_{18} ทำการวิเคราะห์ด้วย

เทคนิครีเวอร์สเฟสโครมาโทกราฟี ขนาดของคอลัมน์ยาว 7.5 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 4.6 มิลลิเมตร เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วย อะซีโตไนไตร์เข้มข้น 14% (v/v) ละลายในโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ พีเอช 2.9 ตรวจวัดด้วยเครื่องฟลูออเรสเซ้นต์ ความยาวคลื่นกระตุ้น 450 นาโนเมตร และความยาวคลื่นตรวจวัด 530 นาโนเมตร ร้อยละการกลับคืน FAD เท่ากับ 92-104%, FMN เท่ากับ 100-105% และ RF เท่ากับ 98-101%

บรานา และดีวอชาค (Barna & Dworschák, 1994) ศึกษาการหาปริมาณไทเอมีน (Thaiamine) และไรโบฟลาวิน ในตัวอย่างเนื้อและตับของหมู การเตรียมตัวอย่างโดยทำตัวอย่างให้เป็นเนื้อเดียวกัน เติมกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ย่อยด้วยเอนไซน์ต่าง ๆ หลังจากนั้นปรับพีเอชให้ได้ค่า 6.5 สารละลายที่ได้ปรับปริมาตรให้ได้ 50 มิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์ด้วยคอลัมน์ Nucleosil C_{18} ขนาดความยาว 150 มิลลิเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 4.6 มิลลิเมตร ขนาดของอนุภาคที่ใช้บรรจุ 3 ไมโครเมตร สารละลายที่ได้นำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วยโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตเข้มข้น 0.01 โมลาร์-อะซีโตไนไตรล์ พีเอชเท่ากับ 3 อัตราส่วนสำหรับวิเคราะห์เนื้อหมู 84: 16 (v/v) เติมเฮพเทนซัลโฟเนตความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ และอัตราส่วนสำหรับวิเคราะห์ตัวอย่างตับ 85: 15 (v/v) ปริมาตรที่ใช้ในการวิเคราะห์ 50 ไมโครลิตร อุณหภูมิของคอลัมน์ 45 องศาเซลเซียส ตรวจวัดด้วยเครื่องยูวีที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร ขีดจำกัดของการตรวจวัดของไทเอมีนให้ค่า 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และไรโบฟลาวิน 0.03 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทดสอบความถูกต้องของการวิเคราะห์ แสดงในรูปร้อยละของการกลับคืนให้ค่าอยู่ในช่วง 83-89% ยกเว้นไรโบฟลาวินในตัวอย่างเนื้อหมูให้ค่าเท่ากับ 71% ความเที่ยงของการวิเคราะห์ให้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 5-12%

อัลบาคา-เหอทาโด, วีเซียนา-โนกุส, ไอคุ๊สโด-พูลิโด และมารีน-ฟอนซ์ (Albalá-Hurtado, Veciana-Nogués, Izquierdo-Pulido, & Mariné-Font, 1997) ศึกษาการหาปริมาณวิตามินละลายในน้ำ 8 ชนิด ในตัวอย่างนมชนิดน้ำและผงสำหรับเด็กทารก โดยใช้เทคนิคไอออนแพรโครมาโทกราฟี (Ion-pair Chromatography) คอลัมน์ชนิด C_{18} เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วยเมทานอลเข้มข้น 15% ละลายในกรดออคเทนซัลโฟนิค (Octanesulfonic Acid) เข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ปรับพีเอชเท่ากับ 3.6 ด้วยไตรเอทิลลามีน อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ขีดจำกัดการวิเคราะห์ปริมาณวัดสำหรับสาร ไรโบฟลาวินอยู่ในช่วง 1.0-5.0 ร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 79-98% ของตัวอย่างทั้ง 2 ชนิด

อาททาร์, คาน และอามาด (Akhtar, Khan, & Ahmad, 1997) ศึกษาการแยกสารไรโบฟลาวิน, กรดโฟลิก (Folic Acid) และผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการสลายตัวของกรดโฟลิก โดยใช้

เทคนิคไอออนแพร-รีเวอร์สเฟส-ไฮเพอร์ฟอร์แมนลิควิดโครมาโทกราฟี คอลัมน์ชนิด C_{18} ขนาดยาว 330 มิลลิเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 3.9 มิลลิเมตร เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วยโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตเข้มข้น 0.017 โมลาร์ เตตระบิวทิลแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (Terabuthyl Ammonium Hydroxide) เข้มข้น 20% และเมทานอล อัตราส่วน 870: 15: 250 (v/v) ตรวจวัดด้วยเครื่องยูวีที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร เวลาที่ใช้ในการชะ 30 นาที

แอนเดรส-แลคคิวา, แมททิวี และโทนัน (Andres-Lacceva, Mattivi, & Tonon, 1998) ทำการศึกษาหาปริมาณสาร RF, FAD และ FMN ในตัวอย่างไวน์และเบียร์ ซึ่งตัวอย่างนำมาเจือจางด้วยน้ำ 4 เท่า ทำการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี คอลัมน์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ชนิด C_{18} ขนาดความยาว 200 มิลลิเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 2.1 มิลลิเมตร ขนาดอนุภาคที่ใช้บรรจุ 5 ไมโครเมตร เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วยโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 3 และอะซีโตไนไตรล์ การชะใช้ระบบเกรเดียนอัตราส่วนเริ่มต้น 95: 5 (v/v) เวลา 8 นาทีอัตราส่วน 75: 25 (v/v) และเวลา 12 นาทีอัตราส่วน 95: 5 (v/v) อัตราการไหล 0.6 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดด้วยเครื่องฟลูออเรสเซ้นต์ ความยาวคลื่นกระตุ้น 265 นาโนเมตร ความยาวคลื่นตรวจวัด 525 นาโนเมตร ขีดจำกัดของการตรวจวัดของสาร RF, FAD และ FMN เท่ากับ 1.97, 0.85 และ 0.49 ไมโครกรัมต่อลิตร ขีดจำกัดการวิเคราะห์ปริมาณเท่ากับ 6.57, 2.80 และ 1.72 ไมโครกรัมต่อลิตรตามลำดับ ทำการศึกษาความคงทนของสารละลายมาตรฐานทั้ง 3 ชนิด เป็นเวลา 21 วัน พบว่า FAD จะกลายเป็น RF ส่วน FMN จะมีความคงทนตลอดระยะเวลาการทดลอง

กลิสซินสกา และโคซิโอโลวา (Gliszczynska & Koziolowa, 1998) ได้ทำการศึกษาแยกอนุพันธ์ฟลาวินในตัวอย่างยีสต์ทำขนมปังโดยทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟีและเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี (Thin-Layer Chromatography, TLC) เทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟีประกอบด้วยคอลัมน์ชนิด C_{18} ความยาว 30 เซนติเมตร ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 4.6 มิลลิเมตร ทำการศึกษาเฟสเคลื่อนที่ 3 ระบบ ระบบ A ประกอบด้วยเมทานอล-แอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟตเข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 7 ใช้ระบบเกรเดียน ที่เวลา 0 นาทีอัตราส่วน 30: 70 (v/v) ภายในเวลา 20 นาที อัตราส่วน 80: 20 (v/v) อัตราการไหล 0.6 มิลลิลิตรต่อนาที ระบบ B ประกอบด้วย เมทานอล-แอมโมเนียมอะซีเตตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 6 ระบบการชะแบบเกรเดียน เวลา 0-1 นาที อัตราส่วน 30: 70 (v/v) ภายใน 10 นาที เปลี่ยนไปเป็นอัตราส่วน 70: 30 (v/v) อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ระบบ C ประกอบด้วย เมทานอล-น้ำ ระบบการชะแบบเกรเดียน เวลา 0-1 นาที อัตราส่วน 30: 70 (v/v) หลังจากนั้นภายในเวลา 4 นาทีเปลี่ยนไปเป็นอัตราส่วน 80: 20 (v/v) และไอโซเครติคที่

อัตราส่วน 80: 20 (v/v) ถึง 10 นาที ตรวจวัดด้วยเครื่องฟลูออเรสเซนต์ ความยาวคลื่นกระตุ้น 450 นาโนเมตร ความยาวคลื่นตรวจวัด 530 นาโนเมตร พบว่าระบบ A ไม่สามารถแยกสาร 10-ไฮดรอกซีเอทิลฟลาวิน (10-Hydroxyethylflavin, 10-HEF) และ 7 อัลฟา-ไฮดรอกซีไรโบฟลาวิน (7α-HRF) และระบบ C ไม่สามารถใช้แยกสาร RF, FAD และ FMN ออกจากกันได้ ระบบ B สามารถแยกสารได้ทั้ง RF, FAD และ FMN ใช้เวลาในการชะทั้งหมดประมาณ 13 นาที ค่าร้อยละการกลับคืนมีค่ามากกว่า 92%

แอนเดรส-แลคคีวา, แมททิวี และโทนัน (Andres-Lacceva, Mattivi, and Tonon, 1998) ทำการศึกษาหาปริมาณสาร RF, FMN และ FAD ในตัวอย่างไวน์และเบียร์ชนิดต่าง ๆ โดยใช้เทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี คอลัมน์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ชนิด C_{18} ขนาดความยาว 20 เซนติเมตร ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 2.1 มิลลิเมตร ขนาดอนุภาคที่ใช้บรรจุภายใน 5 ไมโครเมตร เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วย โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ พีเอช 3: อะซีโตไนไตรล์ ระบบการชะใช้ระบบลิเนียเกรเดียน เวลา 0 นาทีอัตราส่วน 95: 5 (v/v) เวลา 8 นาทีอัตราส่วน 75: 25 (v/v) เวลา 12 นาทีอัตราส่วน 95: 5 (v/v) อัตราการไหล 0.6 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดด้วยเครื่องฟลูออเรสเซนต์ ความยาวคลื่นกระตุ้น 265 นาโนเมตร ความยาวคลื่นตรวจวัด 525 นาโนเมตร ขีดจำกัดของการตรวจวัดสำหรับสาร RF, FAD และ FMN เท่ากับ 0.49, 1.97 และ 0.85 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ขีดจำกัดของการวิเคราะห์เท่ากับ 1.72, 6.57 และ 2.80 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์มีค่ามากกว่า 0.99

อิวาโนวิค, โพโพวิค, ลาดูโลวิค และเมเดนิคา (Ivanovic, Popovic, Radulovic, & Medenica, 1999) ทำการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินที่ละลายในน้ำบางชนิดในตัวอย่างยา ใช้ฟีนอลเป็น Internal Standard โดยใช้เทคนิครีเวอร์สเฟสไอออนแพรโครมาโทกราฟี ขนาดของคอลัมน์ยาว 250 มิลลิเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 4.6 มิลลิเมตร ขนาดของอนุภาคที่ใช้บรรจุ 5 ไมโครเมตร เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วยกรดเฮกเซนซัลโฟนิกโซเดียมซอล (Hexanesulphonic Acid Sodium Salt) และไตรเอทิลลาไมน์ต่อเมทานอล อัตราส่วน 85: 15 (v/v) ปรับพีเอชเท่ากับ 2.8 ด้วยกรดออโทฟอสฟอริก อัตราการไหล 2 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดด้วยเครื่องยูวีที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร ร้อยละการกลับคืนให้ค่ามากกว่า 94%

กลิสซินสกา-สวิงโล และโคซิโอโลวา (Gliszczynska-Swiglo & Koziolowa, 2000) ทำการศึกษาหาปริมาณไรโบฟลาวินและอนุพันธ์ 9 ชนิดในตัวอย่าง ไข่, นม, โยเกิร์ต และตับ โดยใช้เทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี โดยศึกษาคอลัมน์และระบบการชะ 3 แบบ แบบ A คอลัมน์ชนิด Alphabond C_{18} ขนาดยาว 300 มิลลิเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 4.6

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

มิลลิเมตร ขนาดของอนุภาคที่ใช้บรรจุภายใน 10 ไมโครเมตร ระบบการชะแบบเกรเดียน เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วย เมทานอลและแอมโมเนียมอะซีเตตเข้มข้น 0.05 มิลลิโมลาร์ พีเอช 6.0 พบว่า ระบบนี้ไม่สามารถแยกสาร FAD และสาร 7 อัลฟา-ไฮดรอกซีไรโบฟลาวินได้ แบบ B คอลัมน์ชนิดเดียวกับระบบ A ระบบการชะแบบเกรเดียน เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วยเมทานอล - น้ำ พบว่าระบบนี้ไม่สามารถแยกสาร FAD และ FMN ได้ ระบบ C คอลัมน์ชนิด Symmetry C_{18} ขนาดยาว 150 มิลลิเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 3.9 มิลลิเมตร ระบบการชะแบบเกรเดียน เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วยเมทานอล-แอมโมเนียมอะซีเตตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 6.0 พบว่า ระบบนี้สามารถแยกสารฟลาวินที่วิเคราะห์ในตัวอย่างได้ทั้งหมด ตรวจวัดด้วยเครื่องฟลูออเรสเซนต์ ความยาวคลื่นกระตุ้น 450 นาโนเมตร ความยาวคลื่นตรวจวัด 530 นาโนเมตร เวลาที่ใช้ในการชะสำหรับสาร FAD, FMN และ RF คือ 5.27, 7.05 และ 10.74 ร้อยละการกลับคืนสำหรับสารทั้ง 3 มีค่ามากกว่า 95%

คาโป-ชิชิ, กุยแอนท์, ฟีลเลท, นามัว และวิเดลเทท (Capo-chichi, Guéant, Feillet, Namour, & Vidailhet, 2000) ศึกษาการหาไรโบฟลาวินและอนุพันธ์ของไรโบฟลาวิน ในตัวอย่างเลือด โดยใช้กาแลคโตฟลาวิน (Galactoflavin) เป็น Internal Standard ด้วยเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี คอลัมน์ชนิด C_{18} ขนาดความยาว 250 มิลลิเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 4 มิลลิเมตร อนุภาคที่ใช้บรรจุภายใน 5 ไมโครเมตร เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วย โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนซัลเฟตเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ แมกนีเซียมอะซีเตตเข้มข้น 15 มิลลิโมลาร์ พีเอช 5 และ อะซีโตไนไตรล์ อัตราส่วน 85: 15 (v/v) อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดด้วยเครื่องฟลูออเรสเซ้นต์ ความยาวคลื่นกระตุ้น 445 นาโนเมตร ความยาวคลื่นตรวจวัด 530 นาโนเมตร การสกัดตัวอย่างได้ค่าร้อยละของการกลับคืนมากกว่า 95% ปริมาณของ FAD, FMN และ RF ในตัวอย่างเลือดของเด็กวัยทารกอยู่ในช่วง 53.5-108.2, 9.0-25.1, และ 12.7-53.4 นาโนโมลาร์ และในวัยผู้ใหญ่อยู่ในช่วง 36.5-157.2, 7.1-24.6 และ 8.2-57.8 นาโนโมลาร์ ตามลำดับ

โมเรโน และซาลวาโด (Moreno & Salvado, 2000) ศึกษาการหาปริมาณวิตามินที่ละลายในน้ำ 5 ชนิด และวิตามินที่ไม่ละลายในน้ำ 3 ชนิด ในตัวอย่างเม็ดยาวิตามินรวมด้วยเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี โดยมีการเตรียมสารตัวอย่างโดยแยกวิตามินที่ละลายในน้ำและวิตามินที่ละลายในไขมันออกจากกันด้วยเทคนิค Solid-phase Extraction ด้วย C_{18} AR Cartridges คอลัมน์มีขนาดความยาว 150 มิลลิเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 3.9 มิลลิเมตร ขนาดของอนุภาคที่ใช้บรรจุในคอลัมน์ 4 ไมโครเมตร เฟสเคลื่อนที่แบบเกรเดียนของสารผสมระหว่างแอมโมเนียม อะซิเตตเข้มข้น 0.05 โมลาร์และเอทานอล อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที

ปริมาณที่ทำการวิเคราะห์ 40 ไมโครลิตร ตรวจวัดด้วยยูวีที่ความยาวคลื่น 270 นาโนเมตร ยกเว้นวิตามินบีสิบสอง ทำการตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 362 นาโนเมตร ตัวอย่างวิตามินละลายในไขมันวิเคราะห์แยกโดยเปลี่ยนชนิดของเฟสเคลื่อนที่เป็นสารผสมระหว่างเมทานอลและอะซีโตไนไตรล์ในอัตราส่วน 95: 5 (v/v) อัตราการไหล 2 มิลลิลิตรต่อนาที ปริมาณสารตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์ 20 ไมโครลิตร ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 285 นาโนเมตร การทดสอบความแม่นของวิธีวิเคราะห์ในรูป Reproducibility ของวิตามินทุกชนิดให้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 1.64-6.23% ค่าร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 96-116% ยกเว้นวิตามินดี (Choleacalciferol) ให้ค่าร้อยละการกลับคืนเท่ากับ 78% ความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์สำหรับวิตามินทุกชนิดให้ค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์มากกว่า 0.9996

คาทาลดี, นาดิเลโอ, เบเนเดทโท และบูโฟ (Cataldi, Nardiello, Benedetto, & Bufo, 2002) ศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณของสาร RF, FMN และ FAD ในตัวอย่างไวน์ด้วยเทคนิคแคปิลารีอิเล็กโทรโฟรีซิสและทำการตรวจวัดด้วยเครื่องเลเซอร์อินดิวซ์ฟลูออเรสเซนต์ (Laser-induced Fluorescence Detector) แคปิลารีชนิดฟิวซิลิกาที่ไม่ผ่านการเคลือบ ความยาวทั้งหมด 92 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 75 ไมโครเมตร อุณหภูมิของแคปิลารี 15 องศาเซลเซียส ศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ในการแยก 30 กิโลโวลท์ ตัวอย่างฉีดเข้าโดยใช้ความดัน 54 มิลลิบาร์ เป็นเวลา 10 วินาที บัฟเฟอร์ประกอบด้วยฟอสเฟตเข้มข้น 30 มิลลิโมลาร์ ค่าพีเอชของบัฟเฟอร์ 9.8 ทดสอบความเป็นเส้นตรงและช่วงของการวิเคราะห์ให้ค่าสัมประสิทธิ์มากกว่า 0.9996 ความเที่ยงของการวิเคราะห์ให้ค่าสัมประสิทธิ์เบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าไมเกรชั่นไทม์ (n = 20) อยู่ในช่วง 1.9-2.6% ขีดจำกัดของการตรวจวัดเท่ากับ 0.5, 4 และ 6 สำหรับสาร RF, FMN และ FAD ตามลำดับ

วินาส, โลเปซ-เออรอซ, บัลซัลโอเบร และเฮอนันเดซ-คอรโดบา (Viñas, López-Erroz, Balsalobre, & Hernández-Córdoba, 2003) ทำการศึกษาปริมาณกลุ่มของวิตามินบี 9 ชนิดในตัวอย่างอาหารสำหรับเด็ก โดยใช้เทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟี คอลัมน์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ชนิด RP-Amide C_{16} ขนาดอนุภาคที่ใช้บรรจุ 5 ไมโครเมตร เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ พีเอช 6 และอะซีโตไนไตรล์ ระบบการชะใช้ระบบไอโซเครติกและเกรเดียน เวลา 0-13 นาที อัตราส่วน 100: 0 (v/v) หลังจากนั้นใช้ระบบลิเนียเกรเดียนอัตราส่วน 94: 6 (v/v) ภายในเวลา 1 นาที และใช้อัตราส่วนนี้เป็นเวลา 6 นาที หลังจากนั้นใช้ระบบลิเนียเกรเดียนอัตราส่วน 88: 12 (v/v) ภายในเวลา 1 นาที ใช้อัตราส่วนนี้เป็นเวลา 10 นาที อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที สำหรับสารไรโบฟลาวิน ขีดจำกัดการตรวจวัดเท่ากับ 0.003 ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตร ขีดจำกัดการวิเคราะห์ปริมาณ 0.01 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ร้อยละการกลับคืนเท่ากับ 99%

มันเฟอเรอ-พอน, คาเพลลา-พีโร, กิล-เอกุสตี และอีสตีฟ-โรมีโร (Monferrer-Porn, Capella-Peiró, Gil-Agustí, & Esteve-Romero, 2003) ทำการศึกษาปริมาณวิตามินบี, บี1, บี2, และ บี6 ในตัวอย่างยา โดยใช้เทคนิคไมเซลลาร์-รีเวอร์ส-เฟสโครมาโทกราฟี (Micellar-reversed-phase Chromatography) คอลัมน์ชนิด C_{18} ขนาดความยาว 120 มิลลิเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 4.6 มิลลิเมตร ขนาดของอนุภาคที่ใช้บรรจุ 5 ไมโครเมตร เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วย โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (Sodium Dodecyl Sulphate, SDS) เข้มข้น 0.1 โมลาร์ และเพนทานอล เข้มข้น 4% (v/v) พีเอช 3 อัตราการไหลที่เวลา 0-6 นาที 1 มิลลิลิตรต่อนาที และ 2 มิลลิลิตรต่อนาที จนกระทั่งสิ้นสุดการวิเคราะห์ ตรวจวัดด้วยเครื่องตรวจวัดยูวีที่ความยาวคลื่น เวลา 0-3.5 นาที 270 นาโนเมตร เวลา 3.5-8 นาที 290 นาโนเมตร เวลา 8-10.5 นาที 325 นาโนเมตร เวลา 10.5 นาทีจนกระทั่งสิ้นสุดการวิเคราะห์ 270 นาโนเมตร อุณหภูมิคอลัมน์ 45 องศาเซลเซียส เวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ต่ำกว่า 12 นาที

คาทาลดี, นาดิเอโล, คาราร่า, ซิลีลโล และเบเนเดทโท (Cataldi, Nardiello, Carrala, Ciriello, & Benedetto, 2003) ได้ทำการศึกษาการแยกสาร RF, FAD และ FMN ในตัวอย่างอาหารต่าง ๆ โดยเทคนิคแคปิลลารีอีเลคโทโฟเรซีส ระบบประกอบด้วยแคปิลารีฟิวส์ซิลิกาขนาดความยาวถึงเครื่องตรวจวัด 84 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 75 ไมโครเมตร นำเข้าสู่ระบบโดยใช้ความดัน 54 มิลลิบาร์ ภายในเวลา 10 วินาที อุณหภูมิของแคปิลารี 15 องศาเซลเซียส ใช้ศักย์ไฟฟ้า 30 กิโลโวลต์ บัฟเฟอร์ประกอบด้วยสารละลายฟอสเฟตเข้มข้น 30 มิลลิโมลาร์ พีเอช 9.8 ตรวจวัดด้วยเครื่องเลเซอร์อินดิวซ์ฟลูออเรสเซนต์ ความยาวคลื่นกระตุ้น 442 นาโนเมตร ความยาวคลื่นตรวจวัด 515 นาโนเมตร ร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 97-104.5%

โฮลเลอ, บอรดแฮก, โนเบล, ฮอฟแมน และสไปเซอ (Höller, Brodhag, Knöbel, Hofman, & Spitzer, 2003) ทำการศึกษาหาปริมาณวิตามินที่ละลายในน้ำ 7 ชนิด ในตัวอย่างยา โดยใช้ระบบเบนช์ทอปโรโบติก (Bench-top Robotic System) กับระบบรีเวอร์สเฟสไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟีตรวจวัดด้วยเครื่องยูวี คอลัมน์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ชนิด C_{18} ขนาดความยาว 250 มิลลิเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 4.6 มิลลิเมตร เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์และเมทานอล อัตราส่วน 4: 1 (v/v) ปรับพีเอชเท่ากับ 2.8 อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 95-103.9%