

บทที่ 5

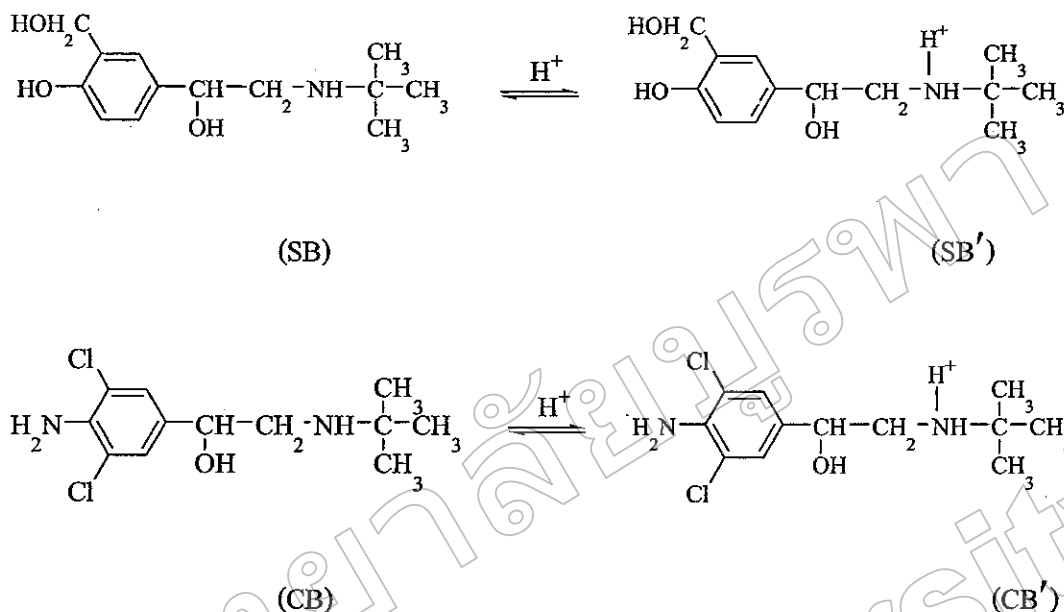
สรุปและอภิปรายผล

1. การวิเคราะห์ปริมาณแคลนบูเทรอลและซัลบูตามอล

จากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานผสมได้แก่ ซัลบูตามอลและแคลนบูเทรอล โดยเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี สภาพของการทดลอง คอลัมน์ชนิด C_{18} ความยาว 125 มิลลิเมตร ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 4 มิลลิเมตร ขนาดอนุภาคที่ใช้บรรจุ 5 ไมโครเมตร อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิของคอลัมน์ 25 องศาเซลเซียส ตรวจวัดสัญญาณที่ความยาวคลื่น 206 นาโนเมตร

1.1 การศึกษาเปอร์เซ็นต์ของเมทานอลในสารละลายฟอสเฟต ที่มีผลต่อการวิเคราะห์สารผสมซัลบูตามอลและแคลนบูเทรอล ได้ผลการทดลองดังภาพที่ 4-1 และ 4-2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ของเมทานอลในสารละลายเฟสเคลื่อนที่กับค่าสภาพไวของการวิเคราะห์สารซัลบูตามอลและแคลนบูเทรอลตามลำดับ พบว่า ค่ารีเทนชันไทม์ของสารแคลนบูเทรอลลดลงเมื่อความเข้มข้นของเมทานอลเพิ่มขึ้น เนื่องจากกลไกการแยกขึ้นอยู่กับความแตกต่างของความไม่มีขั้วของสาร ซึ่งเฟสอยู่กับที่เป็นชนิด Octadecyl ดังนั้นสารที่ไม่มีขั้วจะถูกหน่วงเหนี่ยวได้ดีบนคอลัมน์และจะถูกชะออกมาช้ากว่าซึ่งจะมีค่ารีเทนชันไทม์ที่มากกว่า เมื่อลดสภาพขั้วของเฟสเคลื่อนที่ โดยการเพิ่มความเข้มข้นของเมทานอล ค่ารีเทนชันไทม์ของสารจึงลดลง เมื่อสารเคลื่อนที่เร็วขึ้นสภาพไวของการวิเคราะห์จะมากขึ้นด้วย จึงเลือกความเข้มข้นเมทานอลที่ 25%

1.2 การศึกษาพีเอชของสารละลายฟอสเฟต ที่มีผลต่อการวิเคราะห์สารผสมแคลนบูเทรอลและซัลบูตามอล ได้ผลการทดลองดังภาพที่ 4-3 และภาพที่ 4-5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างพีเอชของสารละลายฟอสเฟตในสารละลายเฟสเคลื่อนที่ต่อสภาพไวของสารซัลบูตามอลและแคลนบูเทรอล พบว่า ค่าสภาพไวของการวิเคราะห์สารทั้ง 2 ลดลงเมื่อพีเอชของสารละลายฟอสเฟตเพิ่มขึ้น เนื่องจากว่าสารละลายฟอสเฟตมีค่าการแตกตัวเท่ากับ 2.1 7.2 และ 12.3 ที่พีเอช 2.0 และ 3.0 จะแตกตัวให้ไฮโดรเจนไอออน ซึ่งจะเกิดการโปรโตเนตกับสารซัลบูตามอลและแคลนบูเทรอล ดังภาพที่ 5-1 ทำให้ซัลบูตามอลและแคลนบูเทรอลที่อยู่ในสภาพแคทไอออนมีขั้วมากขึ้น



ภาพที่ 5-1 แสดงโครงสร้างของซัลบูตามอลและคลินบูเทรอล (SB' = ซัลบูตามอลแคทไอออน และ CB' = คลินบูเทรอลแคทไอออน)

ดังนั้นสารจะถูกชะออกมาเร็วขึ้นทำให้สภาพไวของสารเพิ่มขึ้น ที่พีเอช 2.0 และ 3.0 จะให้สภาพไวของสารไม่ต่างกันมาก ดังภาพที่ 4-5 เนื่องจากคอลัมน์สามารถใช้ได้ในช่วงพีเอช 2-8 จึงเลือกที่พีเอช 3.0 เพื่อเป็นการเพิ่มอายุการใช้งานของคอลัมน์

1.3 การศึกษาความเข้มข้นของสารละลายฟอสเฟตที่มีผลต่อการวิเคราะห์สารผสมซัลบูตามอลและคลินบูเทรอล ได้ผลการทดลองดังภาพที่ 4-4 และภาพที่ 4-6 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายฟอสเฟตในสารละลายเฟสเคลื่อนที่ต่อสภาพไวของสารซัลบูตามอลและคลินบูเทรอล พบว่า เมื่อทำการเปรียบเทียบระหว่างเฟสเคลื่อนที่ที่มีสารละลายฟอสเฟตและไม่มีสารละลายฟอสเฟต เฟสเคลื่อนที่ที่มีสารละลายฟอสเฟตจะให้ค่ารีเทนชันไทม์ที่น้อยกว่า สารจะเคลื่อนที่เร็วขึ้น เนื่องจาก ผลของกลุ่มซิลานอลที่อยู่บนเฟสอยู่กับที่จะยึดติดกับสารซัลบูตามอลและคลินบูเทรอลที่อยู่ในสภาพแคทไอออนดังภาพที่ 5-1 ซึ่งผลของกลุ่มซิลานอลนี้จะลดลงโดยการใช้สารละลายบัฟเฟอร์ที่ความเข้มข้นที่เพียงพอซึ่งแคทไอออนจากสารละลายบัฟเฟอร์ (Na⁺) จะทำการยึดติดแทนสารที่อยู่ในสภาพแคทไอออนแทนทำให้สารเคลื่อนที่ออกมาเร็วขึ้น (Snyder, Kirkland, & Glajch, 1997, p. 312) เมื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นแล้วสภาพไวของสารจะเปลี่ยนแปลงไม่มากนัก ดังนั้นจึงเลือกสารละลายฟอสเฟตที่ความเข้มข้น 5.0 มิลลิโมลาร์

1.4 การตรวจสอบความถูกต้องของการวิเคราะห์สารซัลบูตามอลและ

แคลนบูเทรอล ภายใต้สภาวะการทดลอง คือ คอลัมน์ชนิด C_{18} ความยาว 125 มิลลิเมตร ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 4 มิลลิเมตร ขนาดอนุภาคที่ใช้บรรจุ 5 ไมโครเมตร เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วยตัวทำละลาย ก คือเมทานอล และตัวทำละลาย ข คือ 5.0 มิลลิโมลาร์ สารละลายฟอสเฟตพีเอช 3.0 ระบบการชะแบบเกรเดียน โดยเวลาตั้งแต่ 0-5.30 นาที ใช้เปอร์เซ็นต์ของตัวทำละลาย ก 9% และหลังจากเวลา 5.30 นาที ใช้เปอร์เซ็นต์ตัวทำละลาย ก 25% อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิของคอลัมน์ 25 องศาเซลเซียส ตรวจวัดสัญญาณที่ความยาวคลื่น เวลา 0-7.00 นาที 206 นาโนเมตร เวลา 7.01-9.00 นาที 400 นาโนเมตร หลังจากเวลา 9.00 นาที 206 นาโนเมตร พบว่า ขีดจำกัดของการวิเคราะห์ความเข้มข้น 20.0 ไมโครกรัมต่อลิตร ขีดจำกัดของการวิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้น 40.0 ไมโครกรัมต่อลิตร ช่วงความเป็นเส้นตรงให้ค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์ของสารทั้งสองให้ค่าเท่ากับ 0.9998 ผลการศึกษาความเที่ยงของการวิเคราะห์ พบว่า ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของพื้นที่พิกอยู่ในช่วง 0.96-2.94 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของค่ารีเทนชันไทม์อยู่ในช่วง 0.11-3.08 และความแม่นยำของการวิเคราะห์ให้ค่าร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 88.2-98.5%

1.5 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างเนื้อสุกร พบว่าเมื่อทำการเตรียมตัวอย่างตามวิธีของลอเรนซ์และเมานด์ (จากภาพที่ 4-11) ระดับของเมทริกซ์อยู่ในระดับที่มาก ซึ่งไม่สามารถทำการวิเคราะห์ปริมาณสารได้ ซึ่งเมื่อเติมเมทิลลีนคลอไรด์ลงไปในส่วนตอนที่ 1 แล้วระดับเมทริกซ์จะลดลง เนื่องจากว่าเมทิลลีนคลอไรด์สามารถละลายไขมันในเนื้อสุกรได้

1.6 การหาสภาวะที่เหมาะสมของเฟสเคลื่อนที่ของสารซัลบูตามอล โดยทำการศึกษาผลของเมทานอลต่อสารละลายฟอสเฟตได้ผลดังภาพที่ 4-13 และศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนเมทานอลกับค่าการแยกระหว่างพีกเมทริกซ์กับพีกสารซัลบูตามอลดังภาพที่ 4-15 พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเมทานอลค่าการแยกระหว่างเมทริกซ์กับสารซัลบูตามอลจะมากขึ้น เนื่องจากว่า สารจะเคลื่อนที่เร็วขึ้น เมื่อค่าของเฟสเคลื่อนที่น้อยลงโดยการเพิ่มความเข้มข้นของเมทานอล จึงเลือกใช้อัตราส่วนของเมทานอลต่อสารละลายฟอสเฟตความเข้มข้น 5.0 มิลลิโมลาร์ พีเอช 3.0 อัตราส่วน 12: 88 (v/v)

1.7 การหาสภาวะที่เหมาะสมของเฟสเคลื่อนที่ของสารแคลนบูเทรอล โดยทำการศึกษาผลของการชะแบบเกรเดียนเมทานอลต่อสารละลายฟอสเฟตที่เวลา 5.30 นาที ได้ผลดังภาพที่ 4-14 และความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนเมทานอลกับค่าการแยกระหว่างพีกเมทริกซ์กับพีกสารแคลนบูเทรอล ดังภาพที่ 4-16 พบว่าเมื่อลดความเข้มข้นของเมทานอลค่าการแยกระหว่างเมทริกซ์กับสารแคลนบูเทรอลจะมากขึ้น เนื่องจากว่า สารเคลื่อนที่ช้าลงเมื่อค่าของเฟสเคลื่อนที่มากขึ้น

โดยการลดความเข้มข้นของเมทานอล จึงเลือกที่อัตราส่วนของเมทานอลต่อสารละลายฟอสเฟตความเข้มข้น 5.0 มิลลิโมลาร์ ฟิเอช 3.0 อัตราส่วน 17.5: 82.5 (v/v)

1.8 การหาปริมาณซัลบูตามอลและเคลนบูเทรอลในตัวอย่างเนื้อสุกร โดยทำการวิเคราะห์ในตัวอย่างเนื้อสุกร 2 ตัวอย่าง ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม คือ คอลัมน์ชนิด C_{18} ความยาว 125 มิลลิเมตร ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 4 มิลลิเมตร ขนาดอนุภาคที่ใช้บรรจุ 5 ไมโครเมตร เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วยตัวทำละลาย ก คือเมทานอล และตัวทำละลาย ข คือ 5.0 มิลลิโมลาร์ สารละลายฟอสเฟตฟิเอช 3.0 ระบบการชะแบบเกรเดียน โดยเวลาตั้งแต่ 0-5.30 นาที ใช้เปอร์เซ็นต์ของตัวทำละลาย ก 12% และหลังจากเวลา 5.30 นาที ใช้เปอร์เซ็นต์ตัวทำละลาย ก 17.5% อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิของคอลัมน์ 25 องศาเซลเซียส ตรวจวัดสัญญาณที่ความยาวคลื่น เวลา 0-7.00 นาที 206 นาโนเมตร เวลา 7.01-9.00 นาที 400 นาโนเมตร หลังจากเวลา 9.00 นาที 206 นาโนเมตร แสดงผลดังตารางที่ 4-7 พบว่า เนื้อสุกร 1 ไม่พบสารซัลบูตามอลและเคลนบูเทรอล ในตัวอย่างเนื้อสุกร 2 พบสาร ซัลบูตามอลเท่ากับ 17.7 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แต่ไม่พบสารเคลนบูเทรอล

1.9 จากผลการทดลองทั้งหมดนี้ สามารถแยกสารซัลบูตามอลและเคลนบูเทรอลได้ในเวลาเดียวกันและได้ค่าร้อยละการกลับคืนมากกว่า 86% ภายใต้สภาวะเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสม ซึ่งได้จากการทดลองคือ เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วยตัวทำละลาย ก คือเมทานอล และตัวทำละลาย ข คือ 5.0 มิลลิโมลาร์ สารละลายฟอสเฟตฟิเอช 3.0 ระบบการชะแบบเกรเดียน โดยเวลาตั้งแต่ 0-5.30 นาที ใช้เปอร์เซ็นต์ของตัวทำละลาย ก 12% และหลังจากเวลา 5.30 นาที ใช้เปอร์เซ็นต์ตัวทำละลาย ก 17.5% เมื่อเทียบกับการทดลองของลอเรนซ์และเมนาร์ด ซึ่งทำการหาปริมาณของซัลบูตามอลได้ค่าร้อยละการกลับคืนเพียง 57% เห็นได้ว่า สภาวะการทดลองที่ศึกษานี้ ได้ค่าร้อยละการกลับคืนมากกว่าและเป็นค่าที่ยอมรับได้ตามผลการตรวจสอบความแม่นยำของวิธีการวิเคราะห์ของฮูเบอร์ (Huber, 1998) เมื่อทำการวิเคราะห์สารปริมาณไม่เกิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าร้อยละการกลับคืนต้องอยู่ในช่วง 80-110%

2. การวิเคราะห์สารไโรโบฟลาวิน ฟลาวินโมโนนิวคลีโอไทด์ และฟลาวินอะดีนีนนิวคลีโอไทด์

จากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานผสมได้แก่ ไโรโบฟลาวิน ฟลาวินโมโนนิวคลีโอไทด์ และฟลาวินอะดีนีนนิวคลีโอไทด์ โดยเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี สภาวะของการทดลอง คอลัมน์ชนิด C_{18} ความยาว 125 มิลลิเมตร ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 4 มิลลิเมตร ขนาดอนุภาคที่ใช้บรรจุ 5 ไมโครเมตร อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิของคอลัมน์ 25 องศาเซลเซียส ตรวจวัดสัญญาณที่ความยาวคลื่น 267 นาโนเมตร

2.1 ผลการศึกษาเปอร์เซ็นต์ของเมทานอลในสารละลายเฟสเคลื่อนที่ ที่มีผลต่อการวิเคราะห์สารผสมไโรโบฟลาวินและอนุพันธ์ได้ผลการทดลองดังภาพที่ 4-19 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ของเมทานอลในสารละลายเฟสเคลื่อนที่ต่อค่าการแยกของพิกสารฟลาวินอะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์และพิกสารฟลาวินโมโนนิวคลีโอไทด์ โดยทำการศึกษาอัตราส่วนเมทานอลต่อสารละลายฟอสเฟตเข้มข้น 15.0 มิลลิโมลาร์ พีเอช 6.0 ทำการศึกษาในช่วง 16%-19% โดยค่าการแยกที่ 17% เมทานอล มีค่าการแยกเท่ากับ 1.54 และที่เปอร์เซ็นต์อื่นๆ ให้ค่าการแยกน้อยกว่า 1.5 และเมื่อพิจารณาจากค่ารีเทนชันไทม์ของสารไโรโบฟลาวินและอนุพันธ์จากภาพที่ 4-20 พบว่าค่ารีเทนชันไทม์ของสารลดลง เมื่อเปอร์เซ็นต์ของเมทานอลเพิ่มขึ้น เนื่องจากกลไกการแยก ขึ้นอยู่กับความแตกต่างของความไม่มีขั้วของสาร ซึ่งเฟสอยู่กับที่เป็นชนิด Octadecyl ดังนั้นสารที่ไม่มีขั้วจะถูกหน่วงเหนี่ยวได้ดีบนคอลัมน์ และจะถูกชะออกมาช้ากว่าซึ่งจะมีค่ารีเทนชันไทม์ที่มากกว่า และเมื่อลดสภาพขั้วของเฟสเคลื่อนที่โดยเพิ่มความเข้มข้นของเมทานอล ทำให้ค่ารีเทนชันไทม์ของสารกลุ่มไโรโบฟลาวินและอนุพันธ์ลดลง และเมื่อพิจารณาความมีขั้วของสารกลุ่มไโรโบฟลาวินและอนุพันธ์แล้วพบว่า ความมีขั้วของสารจะเพิ่มขึ้นจากสารไโรโบฟลาวิน สารฟลาวินโมโนนิวคลีโอไทด์ และฟลาวินอะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ ตามลำดับ ดังนั้นเมื่อพิจารณาจากค่าการแยกและค่ารีเทนชันไทม์ของสารไโรโบฟลาวินและอนุพันธ์ จึงเลือกเปอร์เซ็นต์ของเมทานอลที่ 17%.

2.2 การศึกษาพีเอชของสารละลายฟอสเฟต ที่มีผลต่อการวิเคราะห์สารผสมไโรโบฟลาวินและอนุพันธ์ ได้ผลการทดลองดังภาพที่ 4-21 พบว่า เมื่อค่าพีเอชของสารละลายฟอสเฟตลดลง ค่ารีเทนชันไทม์ของฟลาวินอะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์และฟลาวินโมโนนิวคลีโอไทด์ลดลง ส่วนสารไโรโบฟลาวินจะไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก เนื่องมาจากผลของเคาน์เตอร์แอนไอออน (Counter Anion) ที่ทำให้สารทั้ง 2 ซึ่งเป็นเบสเกิดการโปรโตเนตลดลง เพราะว่าโมเลกุลของน้ำในขั้นแรกที่อยู่รอบสารทั้ง 2 จะเกิดการแตกออกทำให้สารทั้ง 2 มีความมีขั้วต่ำลงและจะยึดติดกับเฟสอยู่กับที่มากขึ้น ดังนั้นค่ารีเทนชันไทม์ของสารทั้ง 2 จึงเพิ่มขึ้น (Lobrutto, Jone, Kazakevich, & McNair, 2001) ที่พีเอช 2 จะได้รับผลของเคาน์เตอร์แอนไอออนมากกว่าที่พีเอช 4 และ 6 เพราะว่าในการปรับค่าพีเอชสำหรับสารละลายฟอสเฟตที่พีเอช 2.0 จะใช้ปริมาณกรดฟอสฟอริกในการปรับพีเอชมากกว่าที่พีเอชอื่น ดังนั้นจึงเป็นการเพิ่มความเข้มข้น ดังนั้นเมื่อพิจารณาจากค่ารีเทนชันไทม์แล้วที่พีเอช 6.0 จะให้ค่ารีเทนชันไทม์ที่น้อยที่สุด จึงเลือกที่พีเอช 6.0

2.3 การศึกษาความเข้มข้นของสารละลายฟอสเฟตที่มีผลต่อการวิเคราะห์สารผสมไโรโบฟลาวินและอนุพันธ์ ได้ผลการทดลองดังภาพที่ 4-5 พบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารละลายฟอสเฟตเพิ่มขึ้นค่ารีเทนชันไทม์ของไโรโบฟลาวินไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก แต่ค่ารีเทนชันไทม์ของสารฟลาวินโมโนนิวคลีโอไทด์และฟลาวินอะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์จะลดลงเมื่อความเข้มข้นของ

สารละลายฟอสเฟตเพิ่มขึ้น เนื่องจากผลของเคาน์เตอร์แอนไอออนที่มาจากสารละลายฟอสเฟตเพิ่มขึ้น ผลจะคล้ายกับค่าพีเอชในข้อ 1.2 เมื่อความเข้มข้นของเคาน์เตอร์แอนไอออนเพิ่มขึ้นทำให้สารทั้ง 2 ซึ่งเป็นเบสเกิดการโปรโตเนตลดลง โมเลกุลของน้ำในชั้นแรกที่ล้อมรอบสารทั้ง 2 จะเกิดการแตกออกทำให้สารทั้ง 2 มีความมีขั้วต่ำลงและจะยึดติดกับเฟสอยู่กับที่มากขึ้น ดังนั้นค่ารีเทนชันไทม์ของสารทั้ง 2 จึงเพิ่มขึ้น (LoBrutto et al., 2001) และเมื่อพิจารณาจากรูปทรงของพีกแล้วพบว่าที่สารละลายฟอสเฟตเข้มข้น 15 มิลลิโมลาร์จะให้รูปทรงของพีกที่แหลมคมและฐานของพีกจะแคบกว่าที่ความเข้มข้นอื่น จึงเลือกความเข้มข้นของสารละลายฟอสเฟตที่ 15.0 มิลลิโมลาร์

2.4 การศึกษาการชะแบบเกรเดียน โดยผลของการชะแบบเกรเดียน ตัวทำละลาย ก คือ เมทานอล และตัวทำละลาย ข คือ 15.0 มิลลิโมลาร์ สารละลายฟอสเฟตพีเอช 6.0 เวลาตั้งแต่ 0-5.00 นาที ใช้เปอร์เซ็นต์ตัวทำละลาย ก 17% และหลังจากเวลา 5.00 นาที ใช้เปอร์เซ็นต์ ตัวทำละลาย ก 25% ได้ผลการทดลองดังภาพที่ 4-8 ซึ่งที่ 5.00 นาที เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเมทานอล จาก 17% เป็น 25% ทำให้สภาพความมีขั้วของเฟสเคลื่อนที่น้อยลง จะทำให้เวลาในการชะของสารไรโบฟลาวินน้อยลง

2.5 การศึกษาการตรวจสอบความถูกต้องของการวิเคราะห์สารกลุ่มไรโบฟลาวินและอนุพันธ์ สภาพที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลอง คือ คอลัมน์ชนิด C_{18} ความยาว 125 มิลลิเมตร ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 4 มิลลิเมตร ขนาดอนุภาคที่ใช้บรรจุ 5 ไมโครเมตร เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วยตัวทำละลาย ก คือเมทานอล และตัวทำละลาย ข คือ 15.0 มิลลิโมลาร์ สารละลายฟอสเฟตพีเอช 6.0 ระบบการชะแบบเกรเดียน เวลาตั้งแต่ 0-5.00 นาที ใช้เปอร์เซ็นต์ตัวทำละลาย ก 17% และหลังจากเวลา 5.00 นาที ใช้เปอร์เซ็นต์ตัวทำละลาย ก 25% อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิของคอลัมน์ 25 องศาเซลเซียส ตรวจวัดสัญญาณที่ความยาวคลื่น เวลา 0-6.00 นาที 267 นาโนเมตร เวลา 6.01-8.00 นาที 400 นาโนเมตร หลังจากเวลา 8.00 นาที 267 นาโนเมตร พบว่าขีดจำกัดของการวิเคราะห์อยู่ในช่วงความเข้มข้น 25-50 ไมโครกรัมต่อลิตร ขีดจำกัดของการวิเคราะห์ปริมาณอยู่ในช่วงความเข้มข้น 50-100 ไมโครกรัมต่อลิตร ช่วงความเป็นเส้นตรงให้ค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์ของสารทุกตัวมากกว่า 0.9995 ผลการศึกษาความเที่ยง พบว่า ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์พื้นที่พีกอยู่ในช่วง 0.75-4.78 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของค่ารีเทนชันไทม์อยู่ในช่วง 0.01-0.42 และความแม่นยำของการวิเคราะห์ให้ค่าร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 87.8-104.8%

2.6 การหาปริมาณสารกลุ่มไรโบฟลาวินและอนุพันธ์ในตัวอย่างเบียร์ทั้ง 3 ยี่ห้อ พบปริมาณ FAD อยู่ในช่วง 1.99-4.84 มิลลิกรัมต่อลิตร FMN 0.34-0.37 มิลลิกรัมต่อลิตร และ RF อยู่ในช่วง 0.41-0.56 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.7 จากผลการทดลองทั้งหมดนี้ สามารถวิเคราะห์ปริมาณสารไรโบฟลาวิน ฟลาวิน อะดินีนไดนิวคลีโอไทด์ และฟลาวินโมโนนิวคลีโอไทด์ได้ในตัวอย่างเบียร์ได้ด้วยการเตรียมตัวอย่าง ด้วยวิธีที่ไม่ยุ่งยากและซับซ้อน ทำการตรวจวัดด้วยยูวีดีเทกเตอร์ ซึ่งแตกต่างจากการทดลองของ แอนด्रेस-แลคเควา (Andres-Lacceva, Mattivi, & Tonon, 1998) ทำการตรวจวัดด้วยฟลูออเรสเซนซ์