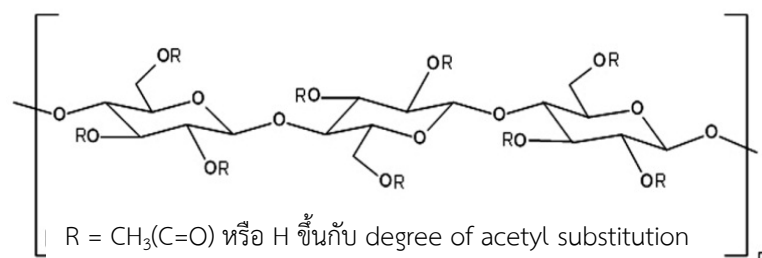


ผลการวิจัยและอภิปรายผล

การเตรียมแผ่นเส้นใย cellulose acetate ชนิด non-aligned และประยุกต์ใช้สำหรับตรวจหาสารสเตียรอยด์ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและยาแผนโบราณ

1. การเลือกชนิดของพอลิเมอร์

จากการศึกษาทบทวนงานวิจัยก่อนหน้า และจากข้อมูลคุณสมบัติของพอลิเมอร์ งานวิจัยนี้ได้เลือกใช้ cellulose acetate (รูปที่ 11) เป็นพอลิเมอร์สำหรับเตรียมเป็นแผ่นเส้นใย เนื่องจากเป็นอนุพันธ์ของ cellulose ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่ได้จากธรรมชาติ ปลอดภัย หาซื้อง่าย ย่อยสลายได้ในธรรมชาติ และมีความเป็นขั้ว (polarity) ในระดับที่จะให้แผ่น TLC ชนิด reverse phase โดยเหตุผลที่ผู้วิจัยสนใจการเตรียมแผ่น TLC สำหรับแยกสารโดยอาศัยหลักการ reverse phase เนื่องจากในปัจจุบันแผ่น TLC ชนิด reverse phase เช่น silica-RP8, silica-RP18 มีราคาแพงกว่าแผ่น silica ปกติที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากต้องผ่านกระบวนการผลิตที่ยุ่งยากกว่าในการเคลือบผิวอนุภาค silica ให้มีขั้วลดลงด้วยพันธะทางเคมี นอกจากนี้ข้อดีอีกประการหนึ่งของแผ่น TLC ชนิด reverse phase คือสามารถใช้ได้กับ mobile phase ที่ค่อนข้างมีขั้ว เช่น mobile phase ซึ่งประกอบด้วยน้ำ และ alcohol จึงเป็นทางเลือกที่ปลอดภัยต่อผู้ปฏิบัติงานและสิ่งแวดล้อมมากกว่าระบบ normal phase ที่มักใช้ mobile phase ซึ่งประกอบด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น hexane, dichloromethane เป็นต้น



รูปที่ 11 โครงสร้างทางเคมีของ cellulose acetate

เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบกับงานวิจัยที่มีมาก่อน พบว่า แม้จะมีรายงานการเตรียมแผ่นเส้นใยนาโนจาก cellulose acetate โดยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิง แต่เป็นการเตรียมเพื่อนำไปใช้สำหรับวัตถุประสงค์อื่นๆ เช่น ใช้เป็น scaffold ในงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อ หรือเป็นระบบนำส่งสารออกฤทธิ์ [9-13] ยังไม่พบการนำเส้นใยนาโนจาก cellulose acetate ไปใช้ในงานโครมาโทกราฟีแผ่นบาง ส่วนการเตรียมแผ่นเส้นใยนาโนเพื่อนำไปใช้เป็นแผ่น TLC โดยคณะผู้วิจัยกลุ่มอื่นนั้น ใช้พอลิเมอร์ชนิดอื่นๆ ได้แก่ glassy carbon [2], polyacrylonitrile [3-5] และ polyvinyl alcohol [6] ซึ่งพบว่า การเตรียมแผ่นเส้นใยจาก glassy carbon และ polyvinyl alcohol เพื่อให้ใช้งานได้นั้น จะต้องผ่านขั้นตอน pyrolysis หรือ chemical crosslinking หลังจากอิเล็กโตรสปินนิงเพื่อให้เส้นใยมีความทนทานมากขึ้น จึงทำให้การผลิตมีความซับซ้อน ส่วน polyacrylonitrile เป็นพอลิเมอร์สังเคราะห์ที่มีราคาแพงกว่า cellulose acetate จากเหตุผลดังกล่าว การเตรียมแผ่นเส้นใยจาก cellulose acetate ซึ่งเป็นวัสดุซึ่งมีราคาถูก โดยกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิงที่ทำได้ง่าย ไม่ซับซ้อน เพื่อให้ได้แผ่น TLC ที่

พร้อมใช้งานได้ทันทีโดยไม่ต้องมีขั้นตอนใดเพิ่มเติมเพื่อปรับปรุงคุณสมบัติของเส้นใย จึงน่ามีความสนใจ และเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาไปสู่การผลิตในระดับที่สูงขึ้นต่อไป

2. ผลของพารามิเตอร์ต่างๆ ต่อสมบัติของเส้นใยและกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิงที่เหมาะสม

หลังจากเตรียมสารละลาย 17% (w/v) cellulose acetate โดยใช้ตัวทำละลายซึ่งประกอบด้วย acetone กับ *N, N*-dimethylacetamide ในอัตราส่วนต่างๆ 2:1, 1:1 และ 1:2 แล้วได้นำสารละลายพอลิเมอร์ไปวิเคราะห์หา surface tension, shear viscosity และ conductivity ก่อนนำไปทำอิเล็กโตรสปินนิง ซึ่งได้ผลการศึกษาดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สมบัติทางกายภาพของสารละลาย cellulose acetate ที่เตรียมโดยใช้ตัวทำละลายซึ่งประกอบด้วย acetone กับ *N, N*-dimethylacetamide (DMAc) ในอัตราส่วนต่างๆ (n=3)

Ratio of acetone–DMAc	Surface tension (mN m ⁻¹)	Shear Viscosity (mPa.s)	Electrical conductivity (μS cm ⁻¹)
2:1	34.69 ± 0.09	1147.81 ± 2.87	6.1 ± 0.01
1:1	35.60 ± 0.12	1321.07 ± 0.01	6.4 ± 0.01
1:2	37.08 ± 0.17	1428.45 ± 0.94	6.6 ± 0.01

แสดงให้เห็นว่า surface tension, shear viscosity และ conductivity มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อสัดส่วนของ *N, N*-dimethylacetamide เพิ่มขึ้น เนื่องจาก *N, N*-dimethylacetamide มีค่า surface tension, shear viscosity และ dielectric constant สูงกว่า acetone (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 สมบัติทางกายภาพของ acetone และ *N, N*-dimethylacetamide (DMAc)

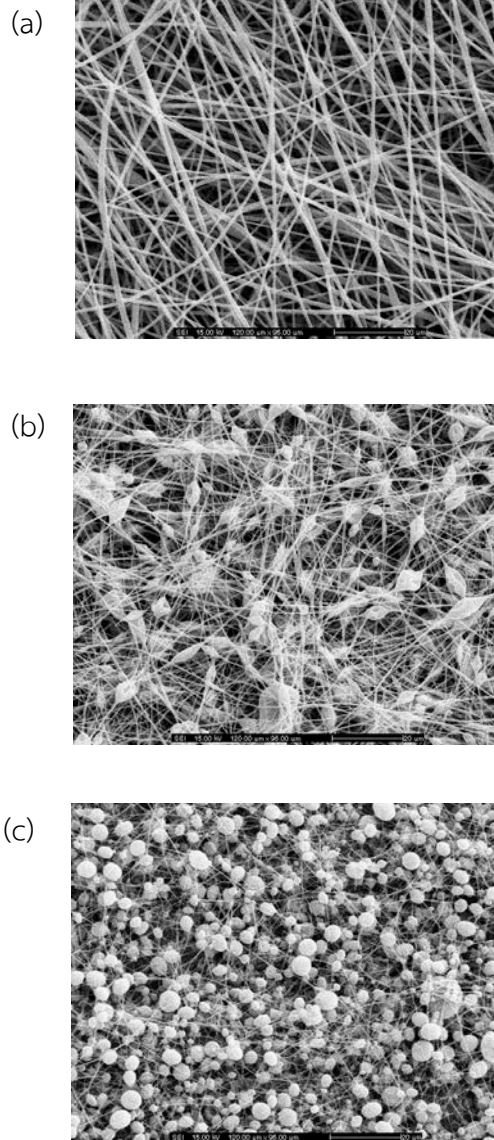
Solvent	Density (g cm ⁻³)	Boiling point (°C)	Dipole moment (Debye)	Dielectric constant	Surface tension (mN m ⁻¹)	Shear viscosity (mPa.s)
Acetone	0.786	56.3	2.70	20.7	31.6	0.304
DMAc	0.937	166.0	3.72	37.8	38.4	1.020

ส่วนการศึกษาผลของพารามิเตอร์ต่างๆ ต่อลักษณะเส้นใยที่ได้ ได้ผลดังนี้

2.1 ผลของตัวทำละลาย

เมื่อใช้ตัวทำละลายซึ่งประกอบด้วย acetone กับ *N, N*-dimethylacetamide ในอัตราส่วนที่ต่างกัน โดยใช้ค่าสนามไฟฟ้าคงที่คือ 17.5 kV/15 cm พบว่า เส้นใยที่ได้มีลักษณะแตกต่างกัน กล่าวคือ เมื่อใช้ acetone-*N, N*-dimethylacetamide อัตราส่วน 2:1 ได้เส้นใยที่เป็นเส้นและปราศจากปัด (bead-free) แต่เมื่อเพิ่มอัตราส่วนของ *N, N*-dimethylacetamide เป็น 1:1 และ 1:2 จะปรากฏเม็ดปัดภายในเส้นใยคล้ายกระสวยและลูกปัด ตามลำดับ (รูปที่ 12) คาดว่าเกิดจากการที่ *N, N*-

N-dimethylacetamide มีความหนืดและจุดเดือดสูงกว่า acetone ทำให้การยืดตัวของเส้นใยและการระเหยของตัวทำละลายออกจากสารละลายพอลิเมอร์ขณะที่พุ่งออกจากปลายเข็ม เกิดขึ้นได้ยากกว่าการใช้ตัวทำละลายที่มี acetone ในอัตราส่วนสูง ส่งผลให้เกิดเม็ดปิดภายในเส้นใย



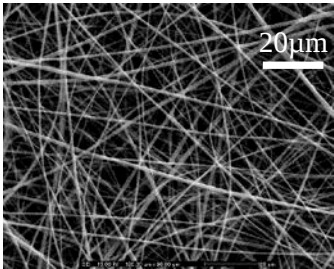
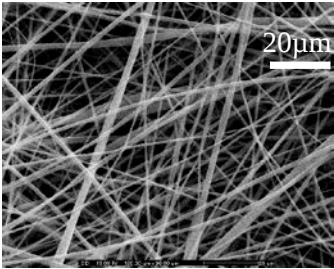
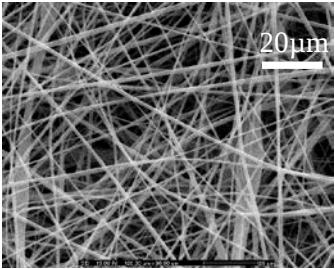
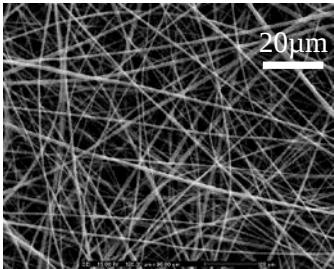
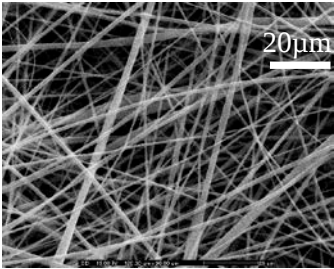
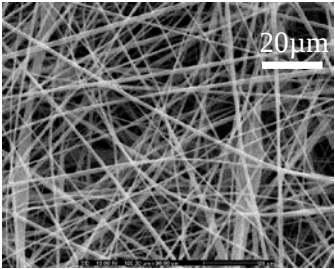
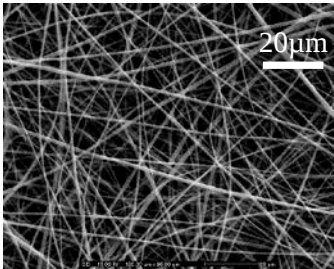
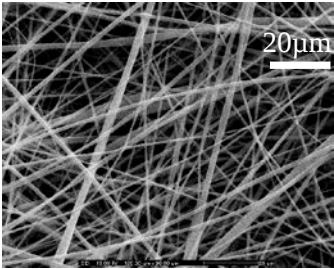
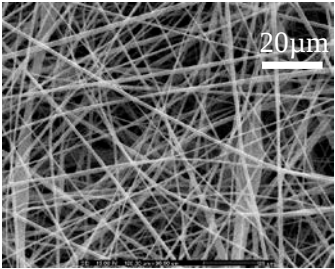
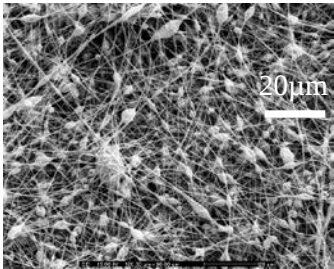
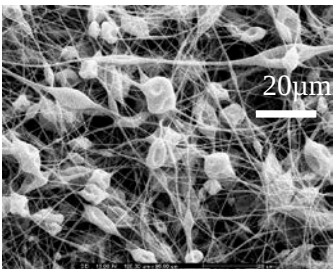
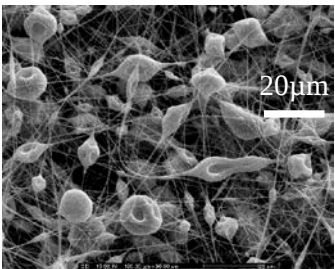
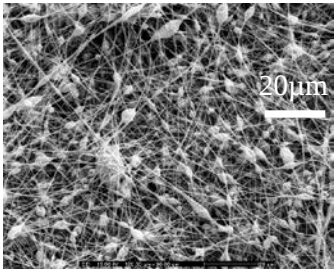
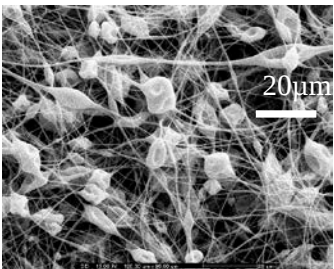
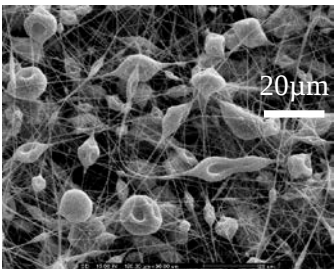
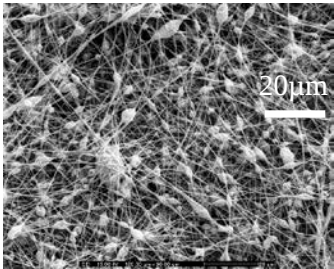
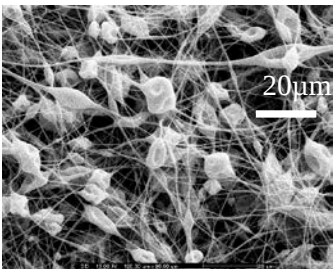
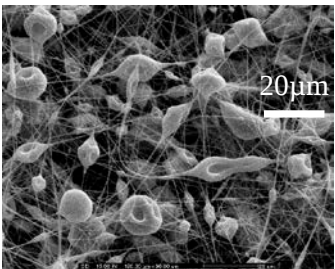
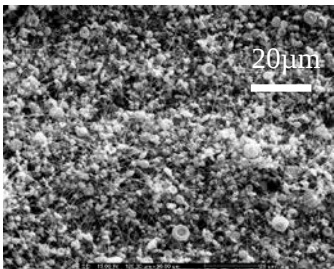
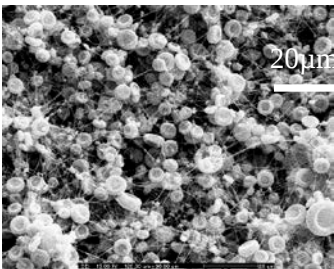
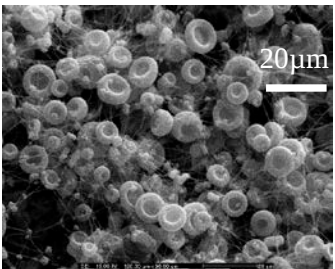
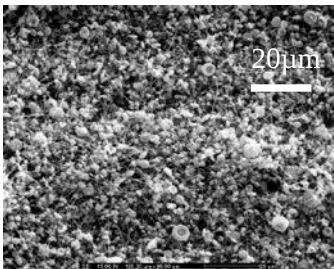
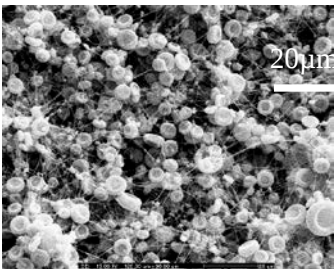
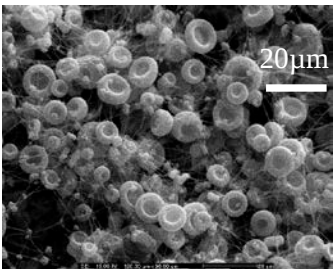
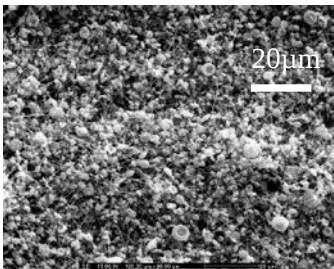
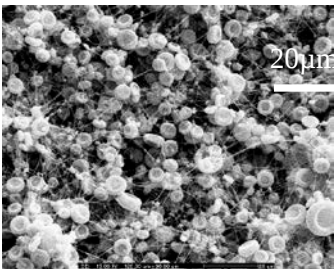
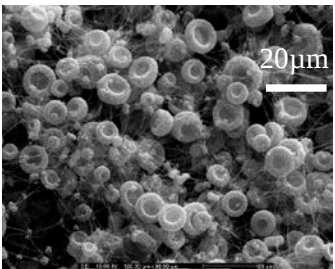
รูปที่ 12 ภาพถ่าย SEM ของเส้นใยที่เตรียมจากสารละลาย 17% (w/v) cellulose acetate ในตัวทำละลายซึ่งประกอบด้วย acetone-*N*, *N*-dimethylacetamide ในอัตราส่วน 2:1 (a), 1:1 (b) และ 1:2 (c) โดยปริมาตร

2.2 ผลของอัตราเร็วในการพ่นสารละลาย

พบว่าอัตราเร็วในการพ่นสารละลายออกจากเข็ม (feed rate) มีผลต่อลักษณะเส้นใยที่ได้ ดังตารางที่ 3 ขนาดของเส้นใยและปิตที่เกิดขึ้นในเส้นใยแสดงไว้ในตารางที่ 4 ซึ่งพบว่า สำหรับเส้นใยปราศจากปิตซึ่งเตรียมโดยใช้ acetone และ *N*, *N*-dimethylacetamide ในอัตราส่วน 2:1 เป็นตัวทำ

ละลาย การเพิ่มอัตราเร็วในการปั่นสารละลายทำให้พอลิเมอร์ถูกส่งออกมาเข้าสู่กระบวนการอิเล็กโตรสปินนิ่งมากขึ้น ส่งผลทำให้เส้นใยที่ได้มีขนาดใหญ่ขึ้นตามไปด้วย

ตารางที่ 3 ภาพถ่าย SEM ของเส้นใยที่เตรียมโดยใช้อัตราเร็วในการปั่นสารละลายออกจากเข็มและตัวทำละลายที่มีอัตราส่วนต่างๆ

Ratios of acetone-DMAc solvent	อัตราเร็วในการปั่นสารละลาย (mL/h)		
	0.2	0.6	1.0
2:1			
			
			
1:1			
			
			
1:2			
			
			

หมายเหตุ ใช้ 17% (w/v) cellulose acetate ค่าสนามไฟฟ้าคือ 17.5 kV/15 cm และระยะเวลาในการสปิน 6 ชั่วโมง

ตารางที่ 4 ขนาดของเส้นใยและปัดที่เกิดขึ้นในเส้นใยที่เตรียมโดยใช้อัตราเร็วในการพ่นสารละลายออกจากเข็มและตัวทำละลายที่มีอัตราส่วนต่างๆ (n=100)

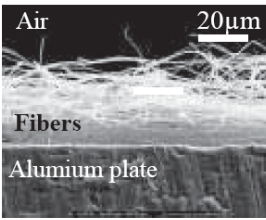
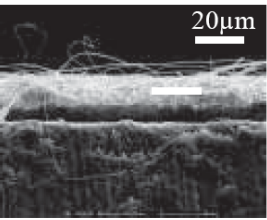
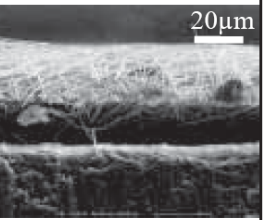
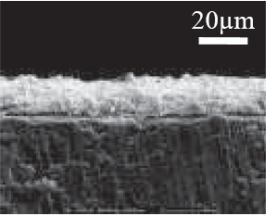
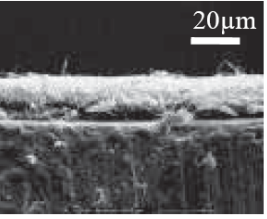
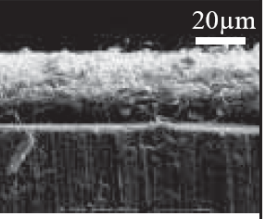
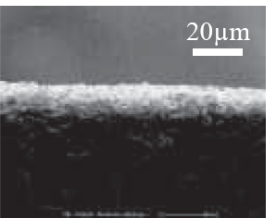
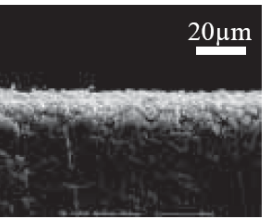
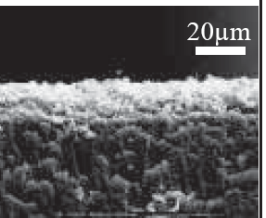
Ratios of acetone-DMAc solvent(v/v)	spinning rate (ml h ⁻¹)	Fiber diameters (μm)	Bead diameters (μm)
2:1	0.2	0.40 ± 0.15	-
	0.4	0.56 ± 0.22	-
	0.6	0.59 ± 0.24	-
	0.8	0.65 ± 0.31	-
	1.0	0.66 ± 0.41	-
1:1	0.2	0.17 ± 0.05	1.11 ± 0.42
	0.4	0.17 ± 0.04	1.60 ± 0.81
	0.6	0.17 ± 0.04	2.35 ± 1.08
	0.8	0.17 ± 0.06	2.39 ± 1.36
	1.0	0.17 ± 0.05	3.40 ± 1.74
1:2	0.2	0.13 ± 0.03	0.98 ± 0.43
	0.4	0.12 ± 0.03	1.41 ± 0.87
	0.6	0.11 ± 0.02	1.77 ± 1.08
	0.8	0.11 ± 0.03	2.64 ± 1.14
	1.0	0.12 ± 0.02	3.73 ± 1.67

หมายเหตุ ใช้ 17% (w/v) cellulose acetate ค่าสนามไฟฟ้าคือ 17.5 kV/15 cm และระยะเวลาในการสปิน 6 ชั่วโมง

2.3 ผลของระยะเวลาในการสปิน

พบว่าระยะเวลาในการสปิน (spin time) ไม่ค่อยส่งผลต่อรูปร่างของเส้นใย แต่ทำให้ได้ชั้นเส้นใยที่มีความหนาและยึดเกาะกับแผ่นอะลูมิเนียมได้แตกต่างกัน (ตารางที่ 5) เช่น เมื่อใช้ acetone-*N, N*-dimethylacetamide ในอัตราส่วน 2:1 และใช้เวลาสปิน 2 ชั่วโมง ได้ชั้นเส้นใยที่ฟู ฟุ้ง ไม่แน่น เมื่อเพิ่มเวลาเป็น 4 ชั่วโมง ได้ชั้นเส้นใยที่หนาขึ้น ไม่ฟู และเกาะติดแผ่นได้ดี และในที่สุดเมื่อเพิ่มเวลาเป็น 6 ชั่วโมง ได้ชั้นเส้นใยที่หนาขึ้น แต่เส้นใยบางส่วนเริ่มหลุดลอกออกจากแผ่นรองง่ายขึ้น

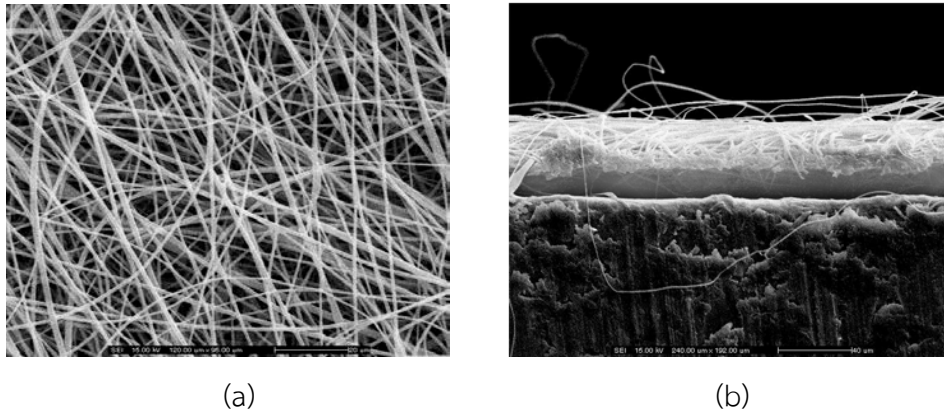
ตารางที่ 5 ภาพถ่าย SEM ด้านข้าง (side view) แสดงลักษณะและความหนาของชั้นเส้นใยที่ได้จากการเตรียมโดยใช้ระยะเวลาในการสปินและตัวทำละลายที่มีอัตราส่วนต่างๆ (n=100)

Ratios of acetone-DMAc solvent	Spinning time (hour)		
	2	4	6
2:1	 Thickness 18.84 ± 0.53	 Thickness 21.39 ± 0.61	 Thickness 46.13 ± 0.84
1:1	 Thickness 10.79 ± 0.56	 Thickness 15.58 ± 0.67	 Thickness 23.23 ± 0.76
1:2	 Thickness 8.03 ± 0.75	 Thickness 9.35 ± 0.73	 Thickness 14.93 ± 0.88

หมายเหตุ ใช้ 17% (w/v) cellulose acetate ค่าสนามไฟฟ้าคือ 17.5 kV/15 cm และอัตราเร็วในการพ่นสารละลายออกจากเข็ม 0.6 mL/h, หน่วยของความหนาคือไมครอน

2.4 สภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมแผ่นเส้นใยชนิด non-aligned

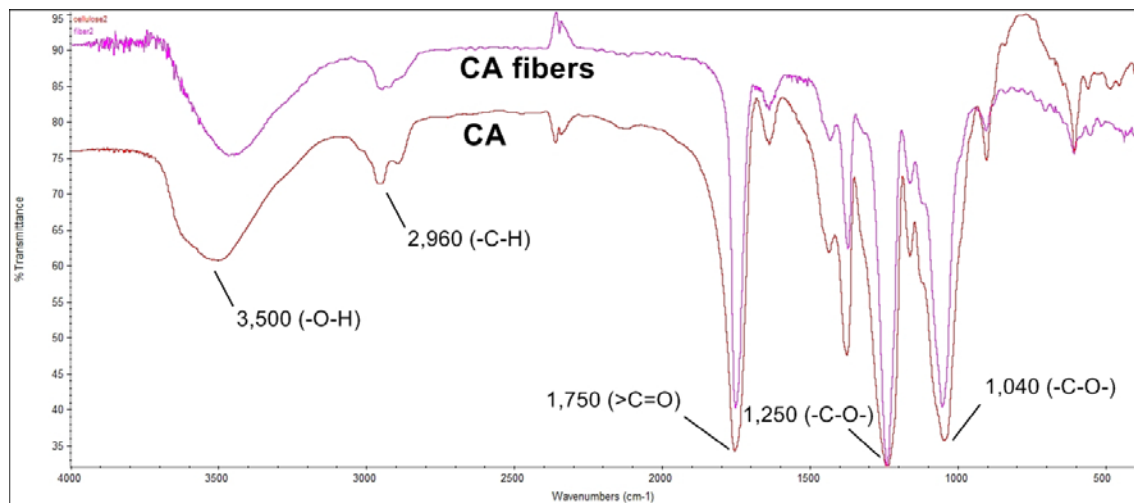
เนื่องจากเส้นใยที่ได้จาก 17% (w/v) cellulose acetate ใน acetone-*N*, *N*-dimethylacetamide (2:1) โดยใช้อัตราเร็วในการพ่นสารละลายออกจากเข็ม 0.6 mL/h และระยะเวลาในการสปิน 4 ชั่วโมง มีลักษณะที่ดีคือ ได้เส้นใยสม่ำเสมอที่ไม่มีปัด และให้ชั้นเส้นใยที่มีความหนาพอเหมาะ ไม่ฟู และไม่หลุดจากแผ่นอะลูมิเนียม (รูปที่ 13) จึงได้เลือกเส้นใยชนิดนี้ไปศึกษาและใช้แยกสารด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแผ่นบางต่อไป



รูปที่ 13 ภาพถ่าย SEM ด้าน top view (a) และ side view (b) ของแผ่นเส้นใย cellulose acetate ชนิด non-aligned ที่ถูกคัดเลือกเพื่อนำไปศึกษาต่อ

3. การศึกษาหมู่ฟังก์ชันของเส้นใย

ผลการศึกษาด้วย infrared spectrometry พบว่า สเปกตรัมของสารบริสุทธิ์ cellulose acetate และเส้นใยนาโน cellulose acetate (รูปที่ 14) มีลักษณะไม่แตกต่างกัน กล่าวคือ ปรากฏ band ที่ $3,500\text{ cm}^{-1}$ (-OH), $2,960\text{ cm}^{-1}$ (-C-H), $1,750\text{ cm}^{-1}$ (>C=O) และ $1,250$ and $1,040\text{ cm}^{-1}$ (-C-O-) แสดงว่ากระบวนการอิเล็กโตรสปินนิงไม่ได้ทำให้คุณสมบัติทางเคมีหรือหมู่ฟังก์ชันของ cellulose acetate เปลี่ยนแปลงไป



รูปที่ 14 FTIR spectra ของของสารบริสุทธิ์ cellulose acetate (CA) และเส้นใยนาโน cellulose acetate (CA fibers)

4. สมบัติการละลายของแผ่นเส้นใยในตัวทำละลายชนิดต่างๆ

การละลายหรือความทนทานของเส้นใย cellulose acetate ในตัวทำละลายชนิดต่างๆ เป็นข้อมูลที่สำคัญสำหรับเลือก mobile phase ที่เหมาะสมในการทำ TLC เพื่อมิให้เส้นใยเกิดการละลายในขณะทำการแยกสาร ผลการศึกษาพบว่า การละลายของแผ่นเส้นใยในตัวทำละลายชนิดต่างๆ เป็นดังตารางที่ 6 ซึ่งเห็นได้ว่า เส้นใยไม่ละลายใน alcohols ส่วนใหญ่ ซึ่งใช้กับระบบ reverse phase TLC

และไม่ละลายใน non-polar solvents หลายชนิด แต่ละลายได้ใน polar aprotic solvents บางชนิด ดังนั้นจึงควรหลีกเลี่ยงการใช้ solvent ในกลุ่มนี้เป็น mobile phase

ตารางที่ 6 การละลายของแผ่นเส้นใย cellulose acetate ในตัวทำละลายต่างๆ

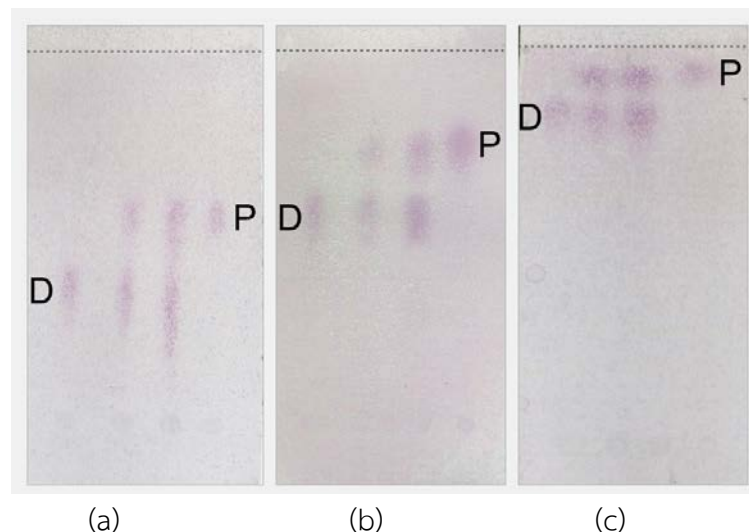
Solvent	Dissolution of cellulose acetate fiber mats
Non-polar Solvents	
Hexane	Insoluble
Diethyl ether	Insoluble
Toluene	Insoluble
Benzene	Insoluble
Ethyl acetate	Soluble
Chloroform	Insoluble
Polar aprotic Solvents	
Tetrahydrofuran (THF)	Soluble
Dichloromethane (DCM)	Soluble
Acetone	Soluble
1,4-Dioxane	Insoluble
Pyridine	Soluble
Dimethyl sulfoxide (DMSO)	Soluble
Dimethylformamide (DMF)	soluble
Polar protic Solvents	
Acetic acid	Soluble
n-Butanol	Insoluble
Isopropanol	Insoluble
n-Propanol	Insoluble
Ethanol	Insoluble
Methanol	Insoluble
Formic acid	Insoluble
Water	Insoluble

5. การแยกสารสเตียรอยด์ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแผ่นบางบนแผ่นเส้นใยนาโนชนิด non-aligned

ได้ทดลองประเมินความสามารถของแผ่นเส้นใย cellulose acetate ชนิด non-aligned ในการแยกสารสเตียรอยด์ 2 ชนิดที่มีโครงสร้างทางเคมีใกล้เคียงกัน ได้แก่ dexamethasone และ prednisolone เนื่องจากทั้งคู่เป็นสารที่มักจะนำไปลักลอบเจือปนในผลิตภัณฑ์ยาแผนโบราณและอาหารเสริม ดังนั้นผลการศึกษาที่ได้ นอกจากจะใช้พิสูจน์ความสามารถของแผ่นเส้นใยนาโน

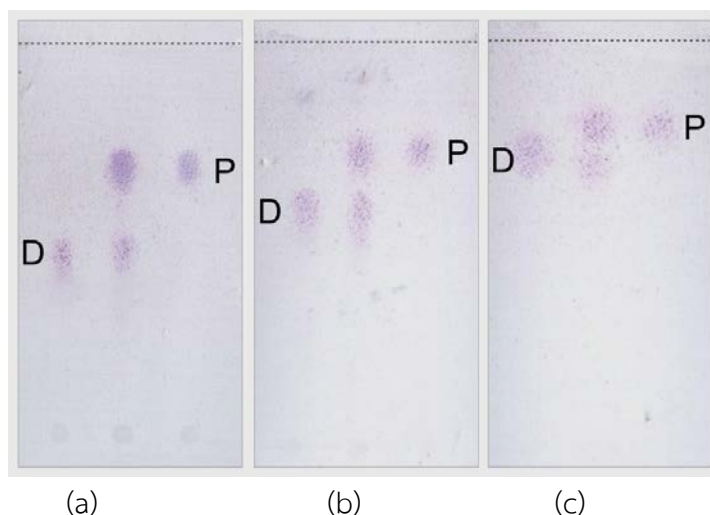
cellulose acetate ในการเป็น stationary phase สำหรับโครมาโทกราฟีแผ่นบางแล้ว ยังจะเป็นประโยชน์ในการนำไปพัฒนาวิธีตรวจหาสารดังกล่าวในงานคุ้มครองผู้บริโภคได้ต่อไป การศึกษาในครั้งนี้ได้เลือกใช้ mobile phase ซึ่งประกอบด้วยน้ำและ methanol หรือ ethanol เนื่องจากเป็นตัวทำละลายที่ไม่ละลายเส้นใย cellulose acetate มีความเป็นพิษน้อยและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมมากกว่าตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดที่มีขั้วต่ำบางชนิด เช่น chloroform, dichloromethane เหมาะสมกับการนำไปใช้ในงานตรวจวิเคราะห์ทั้งในและนอกห้องปฏิบัติการ

ผลการศึกษาแสดงดังรูปที่ 15 และ 16 และตารางที่ 7 ซึ่งพบว่า สำหรับ mobile phase ที่ประกอบด้วย methanol-น้ำ (รูปที่ 15) อัตราส่วน 60:40 โดยปริมาตร มีความเหมาะสมมากที่สุดสำหรับใช้แยกสาร เนื่องจาก methanol ในอัตราส่วนที่ต่ำลง (50:50) ทำให้ได้จุดของสารปรากฏเป็นหาง (tailing) และอัตราส่วน methanol ที่เพิ่มขึ้น (70:30) ให้การแยก (resolution) ที่ไม่น้อยลงและมีจุดของ prednisolone ติดขอบ front ด้านบน โดยที่ทุกอัตราส่วนของ methanol-น้ำ ใช้เวลาในวิเคราะห์ประมาณ 30-50 นาที ทั้งนี้ ค่า plate number ซึ่งแสดงประสิทธิภาพในการแยกสารของระบบที่ใช้ mobile phase ที่เหมาะสมอันประกอบด้วย methanol-น้ำ อัตราส่วน 60:40 คำนวณจากจุดของ dexamethasone และ prednisolone มีค่าเท่ากับ 490 และ 985 ตามลำดับ



รูปที่ 15 การแยกสารสเตียรอยด์บนแผ่นเส้นใย cellulose acetate ชนิด non-aligned โดยใช้ mobile phase ซึ่งประกอบด้วย methanol-น้ำ ในอัตราส่วน 50:50 (a), 60:40 (b) และ 70:30 (c) D หมายถึง dexamethasone และ P หมายถึง prednisolone

สำหรับ mobile phase ซึ่งประกอบด้วย ethanol-น้ำ พบว่า สามารถแยกสารสเตียรอยด์ทั้งสองชนิดออกจากกันได้อย่างมีประสิทธิภาพ ที่อัตราส่วนของ ethanol-น้ำ 40:60 และ 50:50 โดยปริมาตร โดยใช้เวลาในการแยกสารประมาณ 30 และ 60 นาที ตามลำดับ จะเห็นว่าอัตราส่วนของ alcohol ใน mobile phase ที่แยกสารได้ในระบบ ethanol-น้ำ ต่ำกว่าระบบ methanol-น้ำ เนื่องจาก ethanol มี elution strength สูงกว่า methanol ในการพาสารในกลุ่มสเตียรอยด์ที่มีขั้วต่ำเคลื่อนที่ไปบนแผ่น สำหรับค่า plate number ของระบบที่ใช้ ethanol-น้ำ อัตราส่วน 40:60 เป็น mobile phase คำนวณจากจุดของ dexamethasone และ prednisolone มีค่าเท่ากับ 697 และ 873 ตามลำดับ



รูปที่ 16 การแยกสารสเตียรอยด์บนแผ่นเส้นใย cellulose acetate ชนิด non-aligned โดยใช้ mobile phase ซึ่งประกอบด้วย ethanol-น้ำ ในอัตราส่วน 40:60 (a), 50:50 (b) และ 60:40 (c) D หมายถึง dexamethasone และ P หมายถึง prednisolone

ตารางที่ 7 เวลาที่ใช้ในการแยกสาร ค่า hR_f และค่า resolution (R_s) ของการแยก dexamethasone (D) และ prednisolone (P) โดยใช้ mobile phase ต่างๆ (n=5)

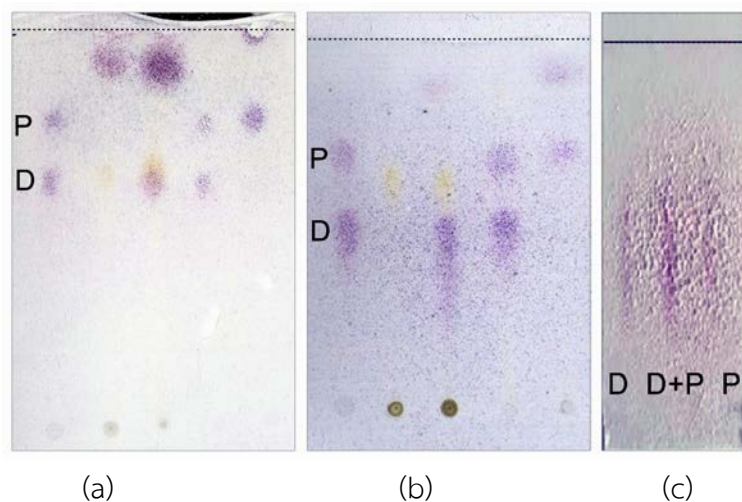
Mobile phase (% v/v)	Developing time [*] (min)	hR _f		R _s
		D ^{**}	P ^{**}	
Methanol: water				
50:50	28 <u>±</u> 7	39.39	59.85	1.47
60:40	45 <u>±</u> 8	59.09	74.24	1.44
70:30	47 <u>±</u> 5	84.09	93.94	1.20
Ethanol:water				
40:60	33 <u>±</u> 4	47.01	67.91	2.32
50:50	60 <u>±</u> 8	55.22	72.39	1.35
60:40	89 <u>±</u> 5	69.40	78.36	1.00

* คัดจากระยะเวลาที่ mobile phase เคลื่อนที่ไปได้เป็นระยะทาง 7 เซนติเมตรจากจุดเริ่มต้น

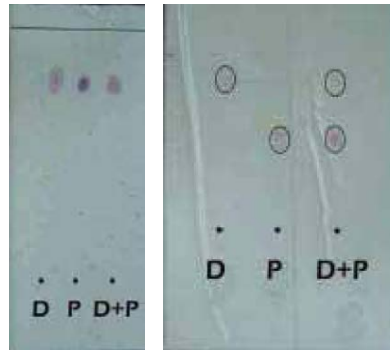
เมื่อนำแผ่นเส้นใยนาโน cellulose acetate ที่ผลิตด้วยเทคนิคอิเล็กโตรสปินนิงไปใช้วิเคราะห์ตัวอย่างยาแผนโบราณและอาหารเสริม พบว่า แผ่นเส้นใยนี้สามารถแยก dexamethasone และ prednisolone ออกจากกันและออกจากสารอื่นๆ ในตัวอย่างได้ โดยใช้ methanol-น้ำ (60:40 โดยปริมาตร) หรือ ethanol-น้ำ (40:60 โดยปริมาตร) เป็น mobile phase ตัวอย่างของลักษณะการแยกสารบนแผ่นเส้นใยนาโน cellulose acetate จากตัวอย่างจริงแสดงไว้ดังรูปที่ 17(a) และ 17(b) ในทางกลับกันแผ่น TLC ซึ่งเตรียมโดยการเคลือบ slurry ของผง cellulose acetate ไม่สามารถแยก

สารสเตียรอยด์ทั้งสองออกจากกันได้ ดังรูปที่ 17(c) ผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า การเตรียม stationary phase จาก cellulose acetate ในลักษณะเส้นใยที่มีขนาดเล็กมากในระดับนาโนช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการแยกสารให้ประสบความสำเร็จ

เมื่อทดลองแยกสารสเตียรอยด์บนแผ่น commercial silica gel ซึ่งเป็น stationary phase ชนิดที่มีขี้ว โดยใช้ mobile phase ซึ่งประกอบด้วย methanol-น้ำ (60:40 โดยปริมาตร) พบว่า ไม่สามารถแยกสารได้ เนื่องจาก mobile phase ดังกล่าวมีความขี้วไม่เหมาะสมกับแผ่น silica (รูปที่ 18(a)) และเมื่อเปลี่ยนไปใช้ dichloromethane/methanol (90:10 โดยปริมาตร) เป็น mobile phase แทน พบว่าสามารถแยกสารได้ แต่มีการสลับลำดับการเคลื่อนที่ (migration order) ของสารบนแผ่นเมื่อเปรียบเทียบกับแผ่น cellulose acetate (รูปที่ 18(b)) แสดงให้เห็นถึงสมบัติการเป็น reverse phase ของแผ่นเส้นใย cellulose acetate



รูปที่ 17 ตัวอย่างของผลการแยกสารสเตียรอยด์ที่เจือปนในตัวอย่างบนแผ่นเส้นใย cellulose acetate ชนิด non-aligned โดยใช้ mobile phase เป็น methanol-น้ำ (60:40) (a) และ ethanol-น้ำ (40:60) (b) เปรียบเทียบกับ แผ่นที่เตรียมโดยเกลี่ยผง cellulose acetate (c) Lane ที่ 1 ถึง 5 (จากซ้ายไปขวา) ของรูป a และ b แสดงจุดของสารละลายมาตรฐานผสม dexamethasone และ prednisolone ตัวอย่างที่ไม่มีสเตียรอยด์ ตัวอย่างที่เจือปนด้วย dexamethasone ตัวอย่างที่เจือปนด้วยสารสเตียรอยด์ทั้ง 2 ชนิด และตัวอย่างที่เจือปนด้วย prednisolone ตามลำดับ D หมายถึง dexamethasone และ P หมายถึง prednisolone

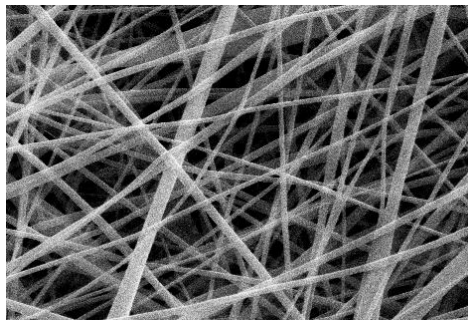


(a)

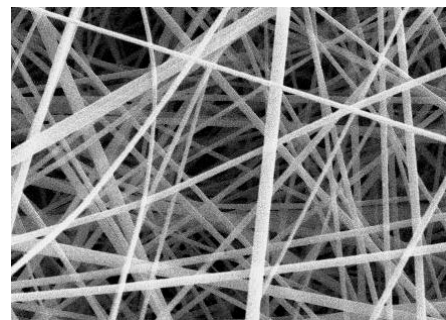
(b)

รูปที่ 18 การแยกสารสเตียรอยด์บนแผ่น commercial silica gel โดยใช้ mobile phase ซึ่งประกอบด้วย methanol-น้ำ (60:40) (a) และ dichloromethane-methanol (90:10) (b) D หมายถึง dexamethasone และ P หมายถึง prednisolone

นอกจากนี้ยังได้ตรวจหาระดับปริมาณต่ำสุดของ prednisolone และ dexamethasone ที่สามารถแยกและตรวจวัดได้ เพื่อศึกษาความไว (sensitivity) ของวิธี TLC บนแผ่นเส้นใยนาโน cellulose acetate ชนิด non-aligned ที่พัฒนาขึ้น พบว่า สามารถตรวจวัดสารสเตียรอยด์ทั้งสองชนิดได้ที่ระดับต่ำสุด $0.1 \mu\text{g}$ และแผ่นเส้นใยนาโน cellulose acetate ที่เตรียมขึ้นคงมีลักษณะที่สังเกตได้ด้วยตาเปล่า ได้แก่ สี การยึดติดของชั้นเส้นใยกับ backing ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ได้แก่ รูปร่างและขนาดของเส้นใย (รูปที่ 19) และความสามารถในการแยกสารคงเดิมหลังจากเก็บแผ่นไว้ใน desiccator เป็นเวลา 6 เดือน



(a)



(b)

รูปที่ 19 ภาพถ่าย SEM แสดงลักษณะเส้นใยเมื่อเตรียมเสร็จใหม่ (a) และหลังจากเก็บไว้นาน 6 เดือนใน desiccator (b)

การเตรียมแผ่นเส้นใย cellulose acetate ชนิด aligned และประยุกต์ใช้สำหรับตรวจหา hydroquinone และ retinoic acid ในเครื่องสำอาง

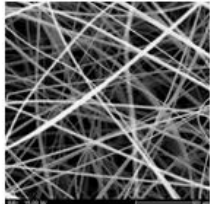
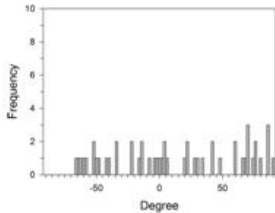
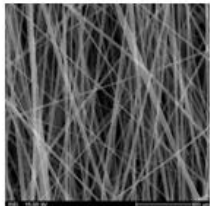
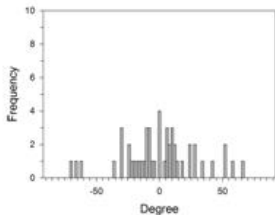
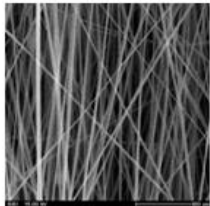
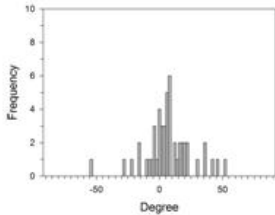
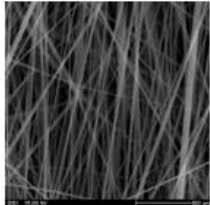
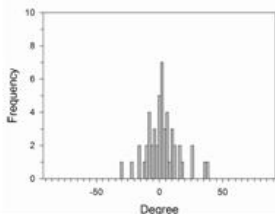
แม้ว่าการเตรียมแผ่นเส้นใย cellulose acetate ในลักษณะ non-aligned (มีการเรียงตัวของเส้นใยแบบสุ่มในทุกทิศทาง) จะสามารถแยกสาร prednisolone และ dexamethasone ออกจากกันได้ รวมทั้งสามารถนำไปใช้ตรวจสอบการเจือปนของสารดังกล่าวในยาแผนโบราณและอาหารเสริมได้จริง แต่พบว่ายังใช้เวลาในการแยก (run time) ค่อนข้างนาน ผู้วิจัยจึงได้ปรับปรุงแผ่นเส้นใยโดยการเตรียมเส้นใยในลักษณะ aligned เนื่องจากมีรายงานว่า เส้นใยในลักษณะนี้ส่งเสริมให้ mobile phase เคลื่อนที่ไปบนแผ่นได้เร็วขึ้น ทำให้ระยะเวลาที่ใช้ในการ run TLC ลดลง [4]

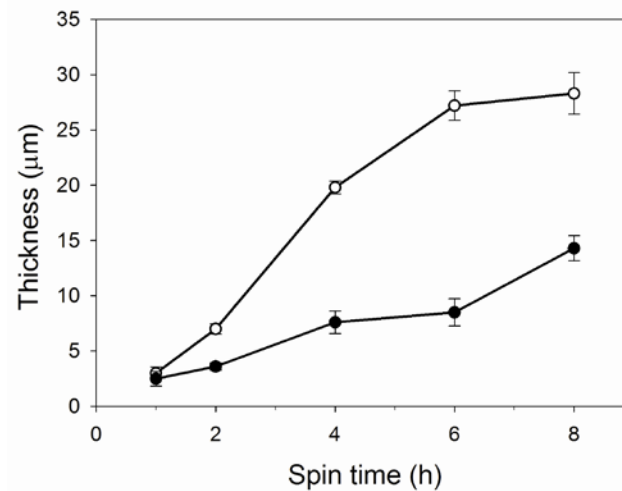
1. ผลของความเร็วในการหมุนของ drum collector และระยะเวลาในการสปินต่อเส้นใยชนิด aligned

พบว่า เมื่อเพิ่มความเร็วในการหมุนของ drum collector ที่ใช้รองรับเส้นใย เส้นใยที่ได้มีการเรียงตัวเป็นระเบียบในทิศทางเดียวกันมากขึ้น สังเกตได้จากภาพถ่าย SEM และฮิสโตแกรมที่มีการกระจายตัวที่แคบลงของเส้นใยที่ทำมุมเบี่ยงเบนไปจากเส้นอ้างอิง (ตารางที่ 8) นอกจากนี้เส้นใยที่เกิดขึ้นยังมีขนาดเล็กลงด้วย ทั้งนี้ alignment ที่เป็นระเบียบมากขึ้นและขนาดของเส้นใยที่ลดลงนี้เกิดขึ้นจนถึงที่ระดับความเร็วในการหมุนของ drum เท่ากับ 6,000 rpm เมื่อเพิ่มความเร็วในการหมุนขึ้นไปอีกเป็น 7,500 rpm ก็ไม่ส่งผลให้เกิดความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญไปจากเส้นใยที่สปินโดยใช้ความเร็วของ drum 6,000 rpm

นอกจากศึกษาการใช้ความเร็วในการหมุนของ drum collector ที่แตกต่างกันแล้ว ยังได้ทดลอง vary ระยะเวลาในการสปินด้วย ซึ่งพบว่า การใช้ระยะเวลาในการสปินที่เพิ่มขึ้นทำให้ได้แผ่นเส้นใยหนาขึ้น และมีประเด็นที่น่าสนใจคือ แผ่นชนิด aligned (ใช้ drum speed = 6,000 rpm) มีความหนาน้อยกว่าแผ่นชนิด non-aligned (ใช้ drum speed = 350 rpm) เมื่อสปินด้วยอัตราเร็วในการพ่นสารละลายพอลิเมอร์ออกจากเข็มและระยะเวลาในการสปินเท่ากัน (รูปที่ 20) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเรียงตัวซ้อนทับกันอย่างเป็นระเบียบชิดกันอย่างหนาแน่นของเส้นใยชนิด aligned มากกว่าเส้นใยชนิด non-aligned

ตารางที่ 8 ลักษณะของเส้นใยที่ได้จากการใช้ drum collector ซึ่งหมุนด้วยความเร็วที่แตกต่างกัน (n=50)

Speed of collector (rpm)	Characteristics of nanofibers		
	SEM	Alignment	Diameter (nm)
350			729 ± 62
4500			652 ± 71
6000			499 ± 38
7500			495 ± 69



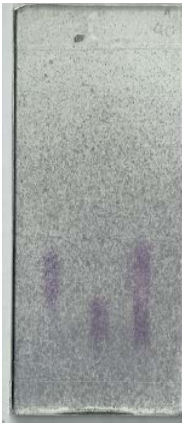
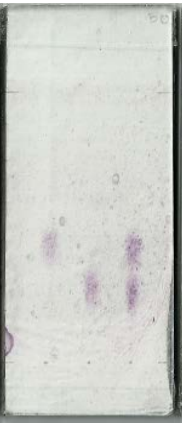
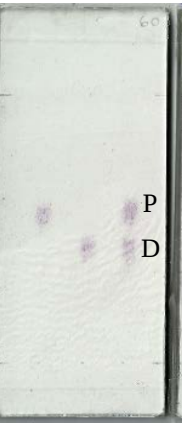
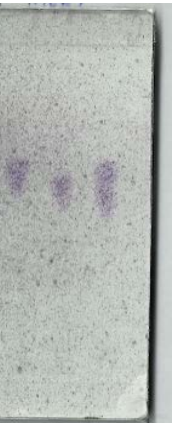
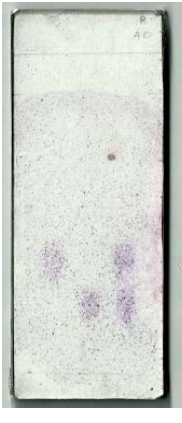
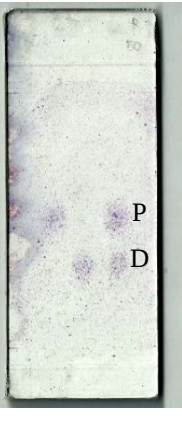
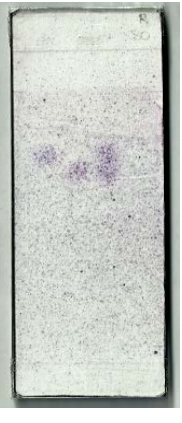
รูปที่ 20 ผลของระยะเวลาในการสปินต่อความหนาของแผ่นเส้นใยชนิด aligned (●) และ non-aligned (○) ซึ่งเตรียมโดยการสปินด้วย drum speed 6,000 และ 350 rpm ตามลำดับ (n = 10)

2. ประสิทธิภาพของแผ่นเส้นใยนาโนชนิด aligned ในการแยกสารด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแผ่นบาง

2.1 การทดสอบเบื้องต้นโดยการแยกสารสเตียรอยด์

เพื่อพิสูจน์ความสามารถในการแยกสาร และระยะเวลาที่คาดว่าจะลดลงเมื่อใช้แผ่นเส้นใยชนิด aligned จึงได้นำแผ่นไปทดลองเบื้องต้นโดยการแยกสารผสม prednisolone และ dexamethasone เปรียบเทียบกับแผ่น non-aligned โดยแผ่นเส้นใยชนิด aligned เตรียมโดยการสปินด้วย drum speed 6,000 เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ส่วนแผ่นเส้นใยชนิด non-aligned เตรียมโดยการสปินด้วย drum speed 350 rpm เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ใช้ mobile phase ซึ่งประกอบด้วย methanol กับน้ำ อัตราส่วน 40:60 – 80:20 โดยให้ mobile phase เคลื่อนที่ไปได้ระยะทาง 5 cm ผลการศึกษาพบว่า แผ่นทั้งสองชนิดสามารถแยกสารสเตียรอยด์ออกจากกันได้ โดยใช้ methanol กับน้ำ ในอัตราส่วน 60:40 เป็น mobile phase แต่แผ่นเส้นใยชนิด aligned ใช้เวลาในการแยกสารน้อยกว่าอย่างชัดเจน (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 ลักษณะการแยกของ prednisolone (P) และ dexamethasone (D) และเวลาที่ใช้ (n=5) บนแผ่นเส้นใยชนิด aligned เปรียบเทียบกับชนิด non-aligned

% methanol	40	50	60	70	80
Aligned fibers					
เวลาที่ใช้ (min)	14	9	10	11	20
Non-aligned fibers					
เวลาที่ใช้ (min)	24	22	27	32	34

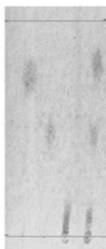
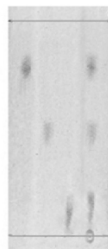
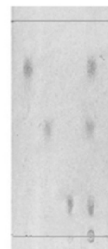
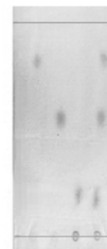
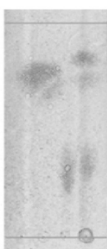
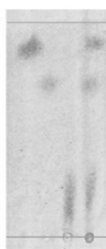
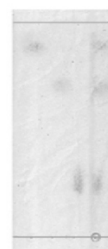
หมายเหตุ จุดบนซึ่งมี Rf มากกว่าคือ prednisolone และจุดที่มีตำแหน่งต่ำกว่าคือ dexamethasone

2.2 ผลของความหนาของชั้นเส้นใยต่อการแยก hydroquinone, retinoic acid และวิตามินซี

จากผลการทดลองเบื้องต้นของการแยกสารสเตียรอยด์ ชี้ให้เห็นว่า แผ่นเส้นใยชนิด aligned สามารถแยกสารได้รวดเร็วกว่าแผ่นเส้นใยชนิด non-aligned ผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาต่อไป โดยเลือก โจทย์ในการวิเคราะห์ใหม่ เป็นการแยกสารผสม 3 ชนิด ได้แก่ สารห้ามใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอาง 2 ชนิด คือ hydroquinone และ retinoic acid และวิตามินซีซึ่งเป็นส่วนผสมปกติในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เพื่อแสดงให้เห็นถึงการประยุกต์ใช้ที่หลากหลายของแผ่นเส้นใยนาโนที่ได้จาก กระบวนการอิเล็กโตรสปินนิง โดยในขั้นแรกได้ศึกษาผลของความหนาของชั้นเส้นใยซึ่งแปรผันตามระยะเวลาที่ใช้ในการสปินต่อประสิทธิภาพและเวลาที่ใช้ในการแยกสาร ผลการศึกษาพบว่า สำหรับ แผ่นเส้นใยชนิด aligned การแยกสาร 3 ชนิดออกจากกันได้ดี ไม่ปรากฏหาง และไม่มีสารใดคงติดอยู่ที่ ตำแหน่ง spot เริ่มต้นเกิดขึ้นกับแผ่นซึ่งสปินเป็นเวลาตั้งแต่ 6 ชั่วโมงขึ้นไป ในขณะที่แผ่นเส้นใยชนิด non-aligned เกิดขึ้นกับแผ่นที่สปินเป็นเวลาตั้งแต่ 4 ชั่วโมงขึ้นไป (ตารางที่ 10) และโดยทั่วไปแผ่น

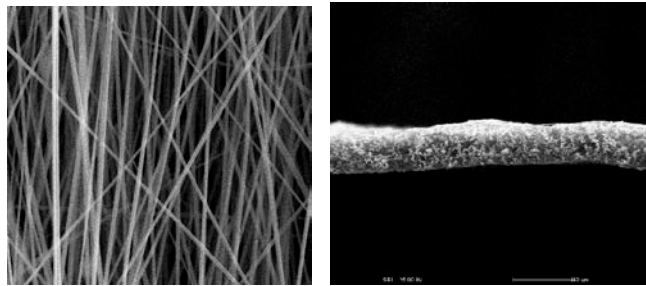
เส้นใยชนิด aligned ใช้เวลาในการแยกสารน้อยกว่าแผ่นเส้นใยชนิด non-aligned ประมาณ 2 – 3 เท่า คาดว่าเกิดจากการที่เส้นใยเรียงตัวในแนวตั้งอย่างเป็นระเบียบบนแผ่นเส้นใยชนิด aligned จึงทำหน้าที่เป็น vertical channeling ส่งเสริมให้ mobile phase และสารเคลื่อนที่ขึ้นไปบนแผ่นได้รวดเร็วขึ้น

ตารางที่ 10 ลักษณะการแยก hydroquinone, retinoic acid และวิตามินซี และเวลาที่ใช้นบนแผ่นเส้นใยชนิด aligned และ non-aligned (n=5)

Type of nanofibers	Spin time (h)					
	1	2	4	6	8	
Aligned						VC
						HQ
						RA
Run time (min)	34 ± 3	15 ± 2	13 ± 3	13 ± 2	16 ± 2	
Non-aligned						VC
						HQ
						RA
Run time (min)	47 ± 3	40 ± 4	38 ± 3	37 ± 3	35 ± 2	

หมายเหตุ ใช้ methanol/water/acetic acid ในอัตราส่วน 65:35:2.5 โดยปริมาตร เป็น mobile phase; ระยะทางที่ mobile phase เคลื่อนที่เท่ากับ 5 cm, จุดของสารจากล่างขึ้นบน คือ retinoic acid (RA), hydroquinone (HQ) และ วิตามินซี (VC) ตามลำดับ

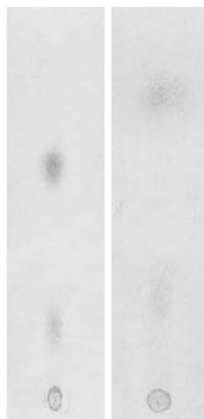
จากผลการทดลองดังกล่าว ผู้วิจัยจึงได้เลือกแผ่นเส้นใยชนิด aligned ซึ่งสปีนเป็นเวลา 6 ชั่วโมง (รูปที่ 21) แผ่นเส้นใยชนิด non-aligned ที่สปีนเป็นเวลา 4 ชั่วโมง (รูปที่ 13) เป็นตัวแทนของแผ่นเส้นใยที่เหมาะสมแต่ละชนิดเพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป



รูปที่ 21 ภาพถ่าย SEM ด้าน top view (a) และ side view (b) ของแผ่นเส้นใย cellulose acetate ชนิด aligned ที่ถูกคัดเลือกเพื่อนำไปศึกษาต่อ

2.3 การเปรียบเทียบการแยกสารบนแผ่นเส้นใยชนิด aligned กับ non-aligned

นอกจากแผ่นเส้นใยชนิด aligned จะใช้เวลาในการแยกสารที่รวดเร็วกว่าแผ่นชนิด non-aligned แล้ว ยังพบว่าจุดของสารที่ปรากฏบนแผ่นชนิด aligned มีลักษณะแคบและมีแพร่กระจาย (disperse) น้อย เมื่อเปรียบเทียบกับจุดบนแผ่นชนิด non-aligned ส่งผลทำให้สามารถสังเกตเห็นจุดที่เข้มและชัดเจนมากกว่าด้วยสายตา (รูปที่ 22) เมื่อทดลองวัดพื้นที่ของจุดโดยใช้โปรแกรม Photoshop ก็พบว่า จุดของสารบนแผ่นชนิด aligned กินพื้นที่น้อยกว่าจุดบนแผ่นชนิด non-aligned จริง (ตารางที่ 11) ทั้งนี้คาดว่าเกิดจากการที่แผ่นเส้นใยชนิด aligned มีเส้นใยเรียงตัวในแนวตั้งอย่างเป็นระเบียบ ทำหน้าที่เป็น vertical channeling ช่วยส่งเสริมให้สารเคลื่อนที่ขึ้นไปบนแผ่นในแนวตรงโดยมีการแพร่กระจายในแนวขวาง (transverse หรือ across-channel diffusion) น้อย แตกต่างจากเส้นใยบนแผ่นชนิด non-aligned ซึ่งมีการวางตัวอย่าง random ในทุกทิศทาง จึงส่งเสริมหรือเป็นช่องทางให้สารแพร่กระจายไปในทิศต่างๆ ได้ง่ายขณะที่เคลื่อนที่ไปบนแผ่น



รูปที่ 22 ลักษณะจุดของสารที่ปรากฏบนแผ่นชนิด aligned (ซ้าย) และบนแผ่นชนิด non-aligned (ขวา) เมื่อใช้สาร spot ในปริมาณที่เท่ากัน จุดของสารจากล่างขึ้นบน คือ retinoic acid และ hydroquinone ตามลำดับ

ตารางที่ 11 พื้นที่ของจุดของสารที่ปรากฏบนแผ่นชนิด aligned และชนิด non-aligned เมื่อใช้สาร spot ในปริมาณที่เท่ากัน (n = 4)

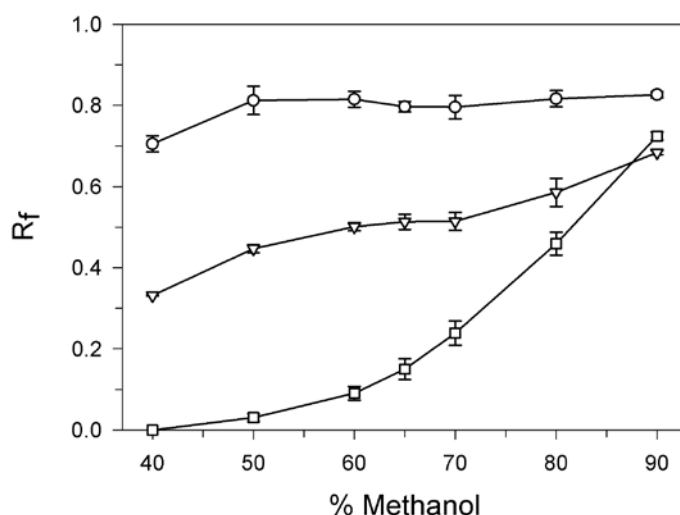
	Hydroquinone (pixel)	Retinoic acid (pixel)
Aligned	1260 ± 130	1015 ± 140
Non-aligned	2515 ± 300	1770 ± 330

3. การพัฒนาวิธีวิเคราะห์เพื่อตรวจหา hydroquinone และ retinoic acid ในเครื่องสำอาง

ในขั้นตอนนี้เป็นการนำแผ่นเส้นใยชนิด aligned ไปใช้เป็น stationary phase สำหรับพัฒนาวิธีวิเคราะห์เพื่อตรวจหา hydroquinone และ retinoic acid ในเครื่องสำอางด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแผ่นบาง ซึ่งประกอบด้วยการปรับปรุง mobile phase ให้เหมาะสม และการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีในด้านความไว (sensitivity) และความจำเพาะเจาะจง ก่อนนำไปใช้ตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างจริง

3.1 Mobile phase ที่เหมาะสม

เมื่อทดลอง vary อัตราส่วน methanol ต่อน้ำ โดยมี acetic acid 2.5% คงที่ ใน mobile phase พบว่าสามารถแยก hydroquinone, retinoic acid และวิตามินซี ออกจากกันได้ดี ไม่ปรากฏหาง และไม่มีสารใดคงติดอยู่ที่ตำแหน่ง spot เริ่มต้น เมื่อใช้ methanol:น้ำ:acetic acid อัตราส่วน 60:40:2.5 ถึง 70:30:2.5 ดังรูปที่ 23 ดังนั้น จึงเลือกใช้ methanol:น้ำ:acetic acid อัตราส่วน 65:35:2.5 เป็น mobile phase ที่เหมาะสมสำหรับการแยกสาร ค่า plate number ของการแยกสารโดยใช้แผ่นเส้นใยชนิด aligned และ non-aligned และใช้ mobile phase ประกอบด้วย methanol:น้ำ:acetic acid อัตราส่วน 65:35:2.5 คำนวณจากจุดของ retinoic acid และ hydroquinone แสดงไว้ดังตารางที่ 12

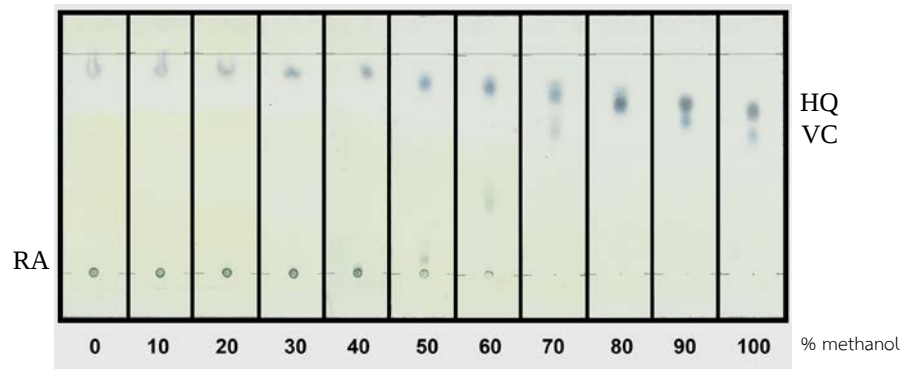


รูปที่ 23 การแยกของสารแสดงด้วยค่า R_f บนแผ่นเส้นใยชนิด aligned เมื่อใช้ mobile phase ที่มีอัตราส่วน methano ต่อน้ำต่างๆ; □ = retinoic acid, ▽ =hydroquinone และ ○ = วิตามินซี (n=5)

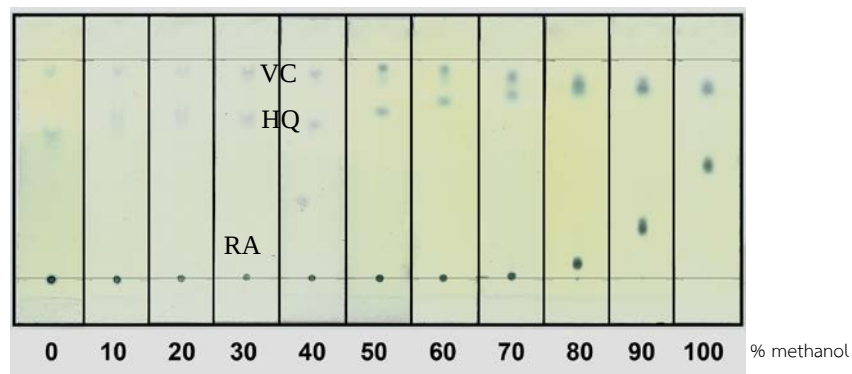
ตารางที่ 12 ค่า plate number ของการแยกสารโดยใช้แผ่นเส้นใยชนิด aligned และ non-aligned และใช้ mobile phase ประกอบด้วย methanol:น้ำ:acetic acid อัตราส่วน 65:35:2.5 (n = 5)

Stationary phase	Plate number	
	HQ	RA
Aligned CA	887	107
Non-aligned CA	466	84

นอกจากนี้เพื่อเป็นการเปรียบเทียบ ยังได้ทดลองแยกสารผสม hydroquinone, retinoic acid และวิตามินซี บนแผ่น commercial TLC ชนิดอื่น ซึ่งนิยมใช้กันในปัจจุบัน ได้แก่ แผ่น silica gel 60 F254 และ silica gel 60 RP-18 F254 ซึ่งเป็นชนิด reverse phase (ไม่สามารถใช้แผ่น commercial cellulose acetate ได้เนื่องจากไม่มีผล) โดยใช้ mobile phase ซึ่งประกอบด้วย methanol น้ำ และ acetic acid โดยมีอัตราส่วน methanol ต่อน้ำ อัตราส่วนต่างๆ และมี acetic acid 2.5% คงที่ ผลการทดลองพบว่า ทั้งแผ่น silica gel 60 และ silica gel 60 RP-18 (รูปที่ 24) ไม่สามารถแยกสาร 3 ชนิดนี้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เช่น ในขณะที่สามารถแยก hydroquinone ออกจากวิตามินซีได้ แต่ retinoic acid คงติดอยู่ที่จุดเริ่มต้น แต่เมื่อปรับ % methanol ให้เพิ่มขึ้นเพื่อให้ retinoic acid เคลื่อนที่ได้ ก็ส่งผลทำให้ไม่สามารถแยก hydroquinone ออกจากวิตามินซีได้ ผลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า cellulose acetate มีความเหมาะสม เมื่อใช้ร่วมกับ mobile phase ชนิดนี้สำหรับการแยกสารทั้ง 3 ชนิด



(a)



(b)

รูปที่ 24 การแยกสารผสม hydroquinone (HQ), retinoic acid (RA) และวิตามินซี (VC) บนแผ่น commercial TLC ชนิด silica gel (a) และ silica gel RP-18 (b) โดยใช้ mobile phase ประกอบด้วย methanol น้ำ และ acetic acid โดยมีอัตราส่วน methanol ต่อน้ำต่างๆ และมี acetic acid 2.5% คงที่

3.2 ความไวของวิธีวิเคราะห์

การศึกษาความไว (sensitivity) ของวิธีวิเคราะห์ โดยการหาปริมาณต่ำสุดของ hydroquinone และ retinoic acid ที่สามารถเห็นได้ด้วยตาเปล่าบนแผ่นเส้นใยชนิด aligned ได้ค่า limit of detection เท่ากับ 0.01 และ 0.025 μg ตามลำดับ (ตารางที่ 13) ที่น่าสนใจคือ สามารถตรวจหาจุดของสารดังกล่าวบนแผ่นเส้นใยชนิด aligned ได้ที่ระดับต่ำกว่าบนแผ่นเส้นใยชนิด non-aligned 2 เท่า เนื่องจากจุดที่ปรากฏบนชนิด aligned มีความเข้มและชัดเจนมากกว่าจุดบนแผ่นชนิด non-aligned ดังที่ได้กล่าวมาแล้วในตอนต้น นอกจากนี้ปริมาณต่ำสุดของสารทั้งสองชนิดที่สามารถเห็นได้บนแผ่นเส้นใยชนิด aligned ยังต่ำกว่าบนแผ่น silica gel ตามวิธีของ ASEAN ถึง 5 เท่า จึงถือได้ว่าเป็นการรายงานครั้งแรกว่า การเตรียม stationary phase ในลักษณะเส้นใยแบบ aligned ช่วยเพิ่มความไวของการตรวจหาจุดบนแผ่น TLC ได้

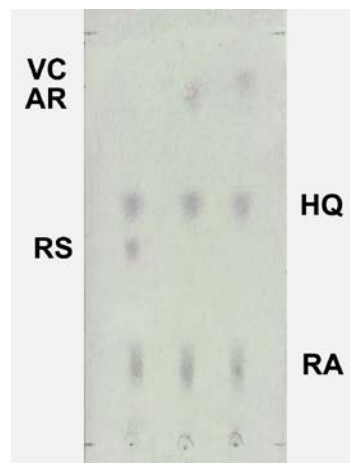
ตารางที่ 13 ปริมาณต่ำสุดของ hydroquinone และ retinoic acid ที่สามารถเห็นได้บนแผ่น TLC ชนิดต่างๆ

Stationary phase	Mobile phase	LOD (μg)	
		HQ	RA
Aligned CA	65:35:2.5 methanol:water:acetic acid	0.01	0.025
Non-aligned CA	65:35:2.5 methanol:water:acetic acid	0.02	0.05
Silica	60:40 n-hexane:acetone	0.05	0.125

หมายเหตุ ใช้ 5% (w/v) phosphomolybdic acid ใน ethanol เป็น visualization reagent

3.2 ความจำเพาะของวิธีวิเคราะห์

ทดลองแยกสารอื่นๆ ที่มักพบในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางค์และอาจรบกวนการวิเคราะห์ เนื่องจากสามารถเกิดสีกับ phosphomolybdic acid ซึ่งใช้เป็น visualization reagent ได้ ได้แก่ arbutin (AR), resorcinol (RS) และวิตามินซี (VC) พบว่าสารเหล่านี้แยกออกจาก hydroquinone และ retinoic acid ได้ โดยมี Rf คนละตำแหน่งกับ hydroquinone และ retinoic acid ดังรูปที่ 25 ส่วนสารอื่นๆ ได้แก่ วิตามินอี และ sodium metabisulfite ซึ่งอาจพบได้ในครีมเครื่องสำอาง เช่นเดียวกัน ไม่เกิดสีกับ phosphomolybdic acid จึงไม่รบกวนการวิเคราะห์



รูปที่ 25 ผลการทดสอบความจำเพาะของวิธีวิเคราะห์