

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การเปรียบเทียบการสกัดสารอาร์บูตินจากส่วนต่างๆของเม่า

4.1.1 ผลการสกัดหยาบ

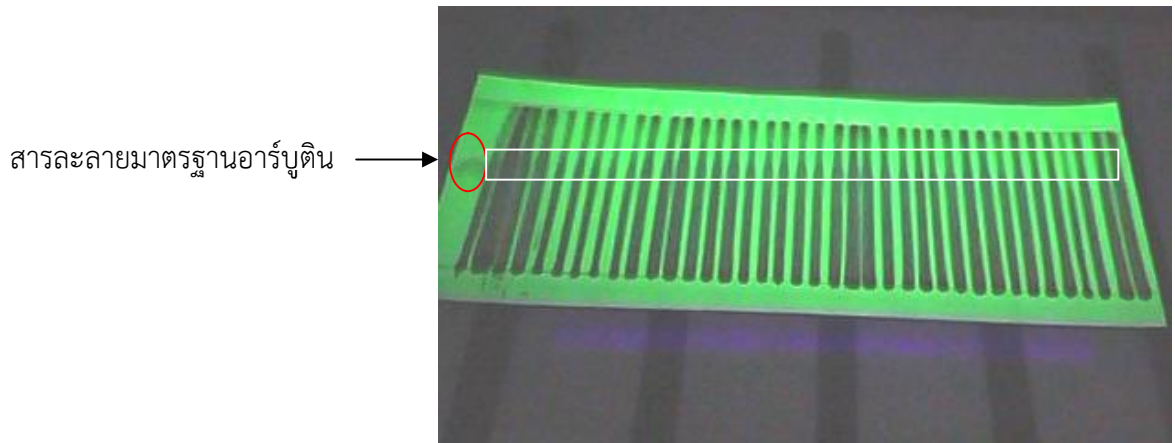
ผลการนำสารตัวอย่างทั้ง 5 ชนิดมาแช่ในเมทานอล 1500 มิลลิลิตร และนำมาระเหยเมทานอลออกและชั่งน้ำหนักสารตัวอย่างที่แน่นอน ได้ผลดังตาราง

ตาราง 4.1 แสดงผลของน้ำหนักสารตัวอย่างจากการสกัดหยาบ

สารตัวอย่าง	น้ำหนักวัตถุดิบ (กรัม)	น้ำหนักสารสกัดหยาบ(กรัม)
ผลเม่าเขียว	500	4.56
ผลเม่าแดง	5500	8.93
ผลเม่าดำ	7500	11.02
ใบเม่าอ่อน	1500	31.08
ใบเม่าแก่	1500	39.88

ในขั้นตอนการสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของเม่าทั้ง 5 ส่วนคือ ใบเม่าอ่อน ใบเม่าแก่ ผลเม่าเขียว ผลเม่าแดง และผลเม่าดำ การสกัดสารอาร์บูตินจากสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของเม่าด้วยการใช้แผ่นทินเลเยอร์หรือแผ่น TLC และมีเฟสเคลื่อนที่คือ อะซิโตนไทรล์ โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานอาร์บูตินในจุดแรกเพื่อเปรียบเทียบการเคลื่อนที่ของสารตัวอย่าง จะได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.1 ซึ่งถ่ายจากภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต

4.1.2 ผลการวิเคราะห์สารสกัดจากวิธีทินเลเยอร์โครมาโทกราฟีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)



รูปที่ 4.1 แสดงโครมาโทแกรมของใบเม่าแก่จากเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี

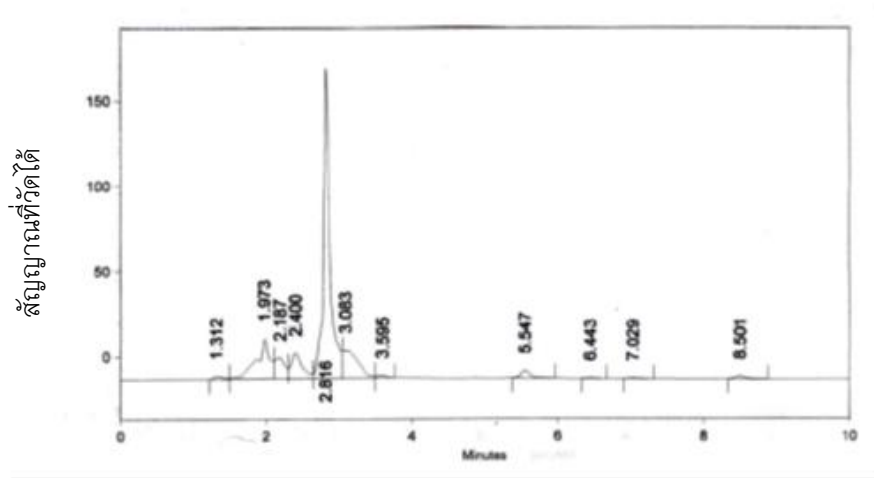
จากรูปที่ 4.1 แสดงให้เห็นวงกลมจุดแรกคือ สารละลายมาตรฐานอาร์บูติน และแถบสีขาวคือที่คาดว่าจะมีสารอาร์บูตินอยู่ โดยการจุดซิลิกาเฉพาะสารในแถบสีขาวตรงที่มีค่า R_f ตรงกันกับสารละลายมาตรฐานอาร์บูติน จากนั้นละลายในเมทานอล และทำการแยกเอชิลิกา และตัวทำละลายออก เพื่อนำสารที่สกัดได้จากการเคลื่อนที่ของสารที่ตรงกับอาร์บูติน (ค่า R_f) เพื่อนำไปทำการแยกสารอาร์บูตินและวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC ต่อไประยะทางที่สารเคลื่อนที่ 3.83 เซนติเมตร และค่า R_f มีค่าเท่ากับ 0.64 ผลการใช้ตัวทำละลายอะซิโตนไตรลส์สกัดสารอาร์บูตินในส่วนต่างๆของเม่าด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟีแสดงดังตารางที่ 4.1 ซึ่งจะแสดงค่า R_f ที่แตกต่างกันเล็กน้อยในสารตัวอย่างทั้ง 5 ชนิด

ตารางที่ 4.2 แสดงค่า R_f ของสารสกัดหยาดตัวอย่างเม่าบนแผ่น TLC โดยใช้เฟสเคลื่อนที่คืออะซิโตนไทรล์

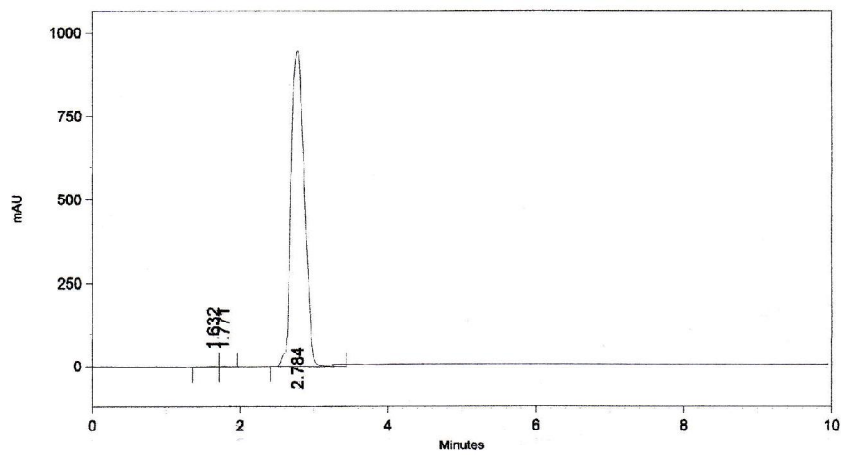
ชนิดของตัวอย่าง	ระยะทางที่สารเคลื่อนที่ (cm)	ระยะทางที่เฟสเคลื่อนที่ เคลื่อนที่ (cm)	ค่า R_f
1. ผลเม่าเขียว	3.88	6.00	0.65
2. ผลเม่าแดง	4.25	6.00	0.71
3. ผลเม่าดำ	4.40	6.00	0.73
4. ใบเม่าอ่อน	4.30	6.00	0.72
5. ใบเม่าแก่	3.83	6.00	0.64

สารสกัดอาร์บูตินด้วยแผ่น TLC จากสารตัวอย่างเม่าจะถูกนำไปพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ที่อัตราส่วนของตัวทำละลายอะซิโตนไทรล์ต่อน้ำที่ 80 : 20 ร้อยละโดยปริมาตร มีผลการวิเคราะห์ที่ได้ดังรูปที่ 4.2 ซึ่งเป็นโครมาโทแกรมของใบเม่าแก่ และเปรียบเทียบกับรูปที่ 4.3 แสดงโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานอาร์บูตินซึ่งมีรีเทนชันไทม์ที่ 2.784 นาที จากรูปที่ 4.2 พบพีกที่เด่นชัดที่รีเทนชันไทม์คือ 2.816 นาที จึงคาดว่านี่จะเป็นสารประกอบอาร์บูติน จึงได้ทำการเติมสารละลายมาตรฐานอาร์บูตินที่ความเข้มข้น 100 ppm ลงไปในสารตัวอย่าง (spike) เพื่อทำการยืนยันพีกที่ชัดเจนได้ผลดังรูปที่ 4.4 นั่นคือพบว่าที่รีเทนชันไทม์ 2.816 นาที มีความสูงของพีกเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับรูปที่ 4.2 แสดงว่ามีสารอาร์บูตินในสารตัวอย่างใบเม่าแก่

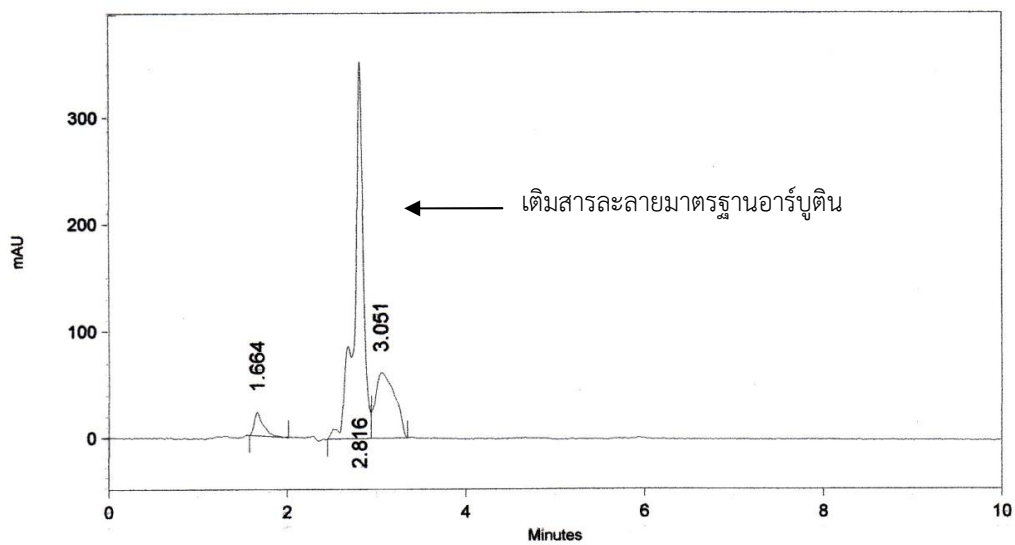
ผลการทดสอบเชิงคุณภาพด้วยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงในสารสกัดอาร์บูตินจากส่วนต่างๆของเม่าแสดงในรูปที่ 4.5 – 4.8



รูปที่ 4.2 แสดงโครมาโทแกรมของสารสกัดจากใบเม่าแก่ด้วยวิธี TLC

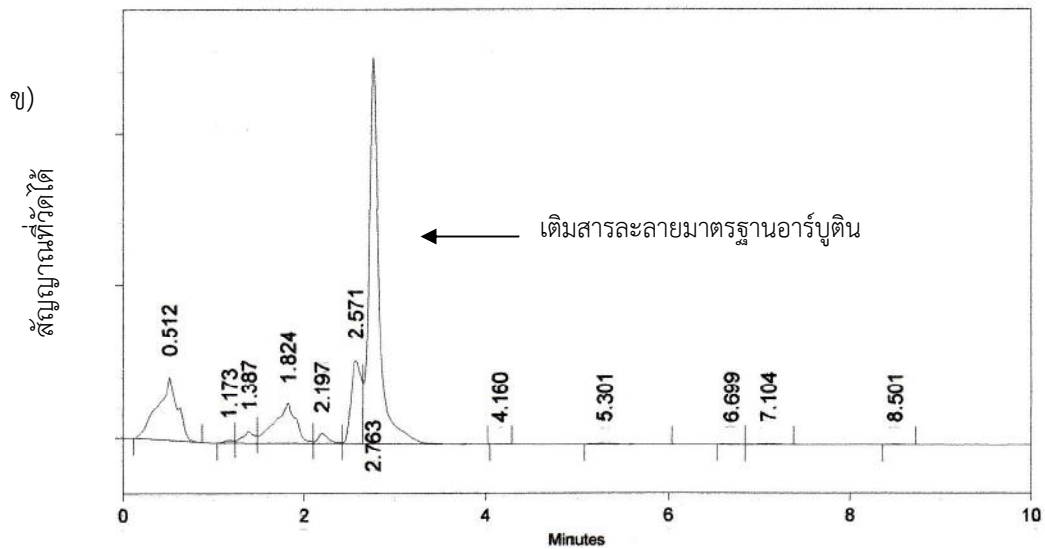
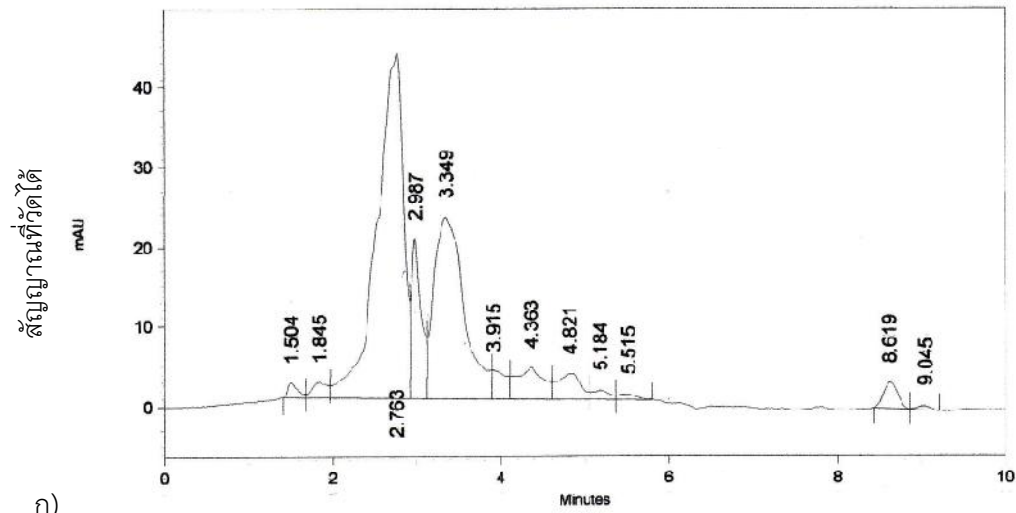


รูปที่ 4.3 แสดงโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานอาร์บูตินที่คาร์เทินชันไทม์ 2.784 นาที



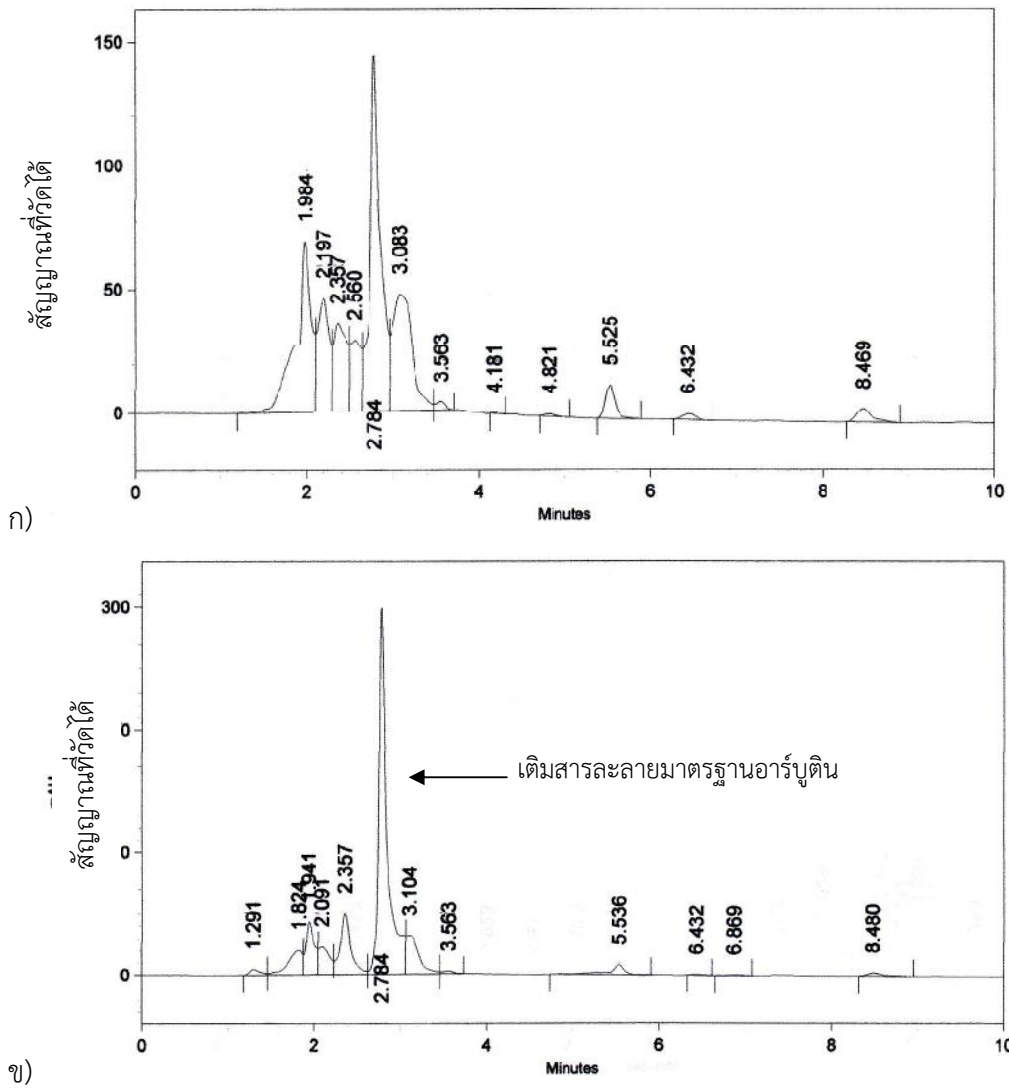
รูปที่ 4.4 แสดงโครมาโทแกรมของสารตัวอย่างสกัดด้วย TLC จากใบมะกอกหลังจากการเติมสารละลายมาตรฐานอาร์บูติน 100 ppm (Spike)

นอกจากนี้ สารสกัดจากส่วนต่างๆของมะกอกได้แสดงโครมาโทแกรมดังในรูปที่ 4.5 – 4.8



รูปที่ 4.5 แสดงโครมาโทแกรมการสกัดด้วยวิธี TLC ของ ก) สารสกัดจากใบเม่าอ่อน ข) สารสกัดจากใบเม่าอ่อนที่เติม 100 ppm สารละลายมาตรฐานอาร์บูติน

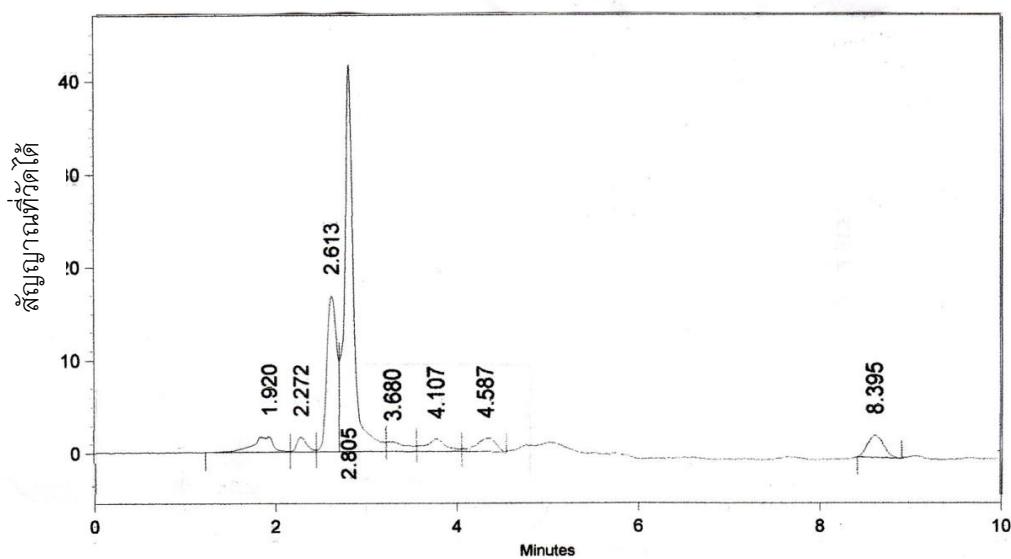
จากรูปที่ 4.5 เปรียบเทียบในรูป ก) และ ข) ที่รีเทนชันไทม์ 2.763 นาที มีขนาดของความสูงของพีคเพิ่มขึ้นในรูป 4.5 (ข) เพราะเติมสารมาตรฐานลงไปเพื่อทำการพิสูจน์ว่ามีปริมาณอาร์บูตินในใบเม่าอ่อน



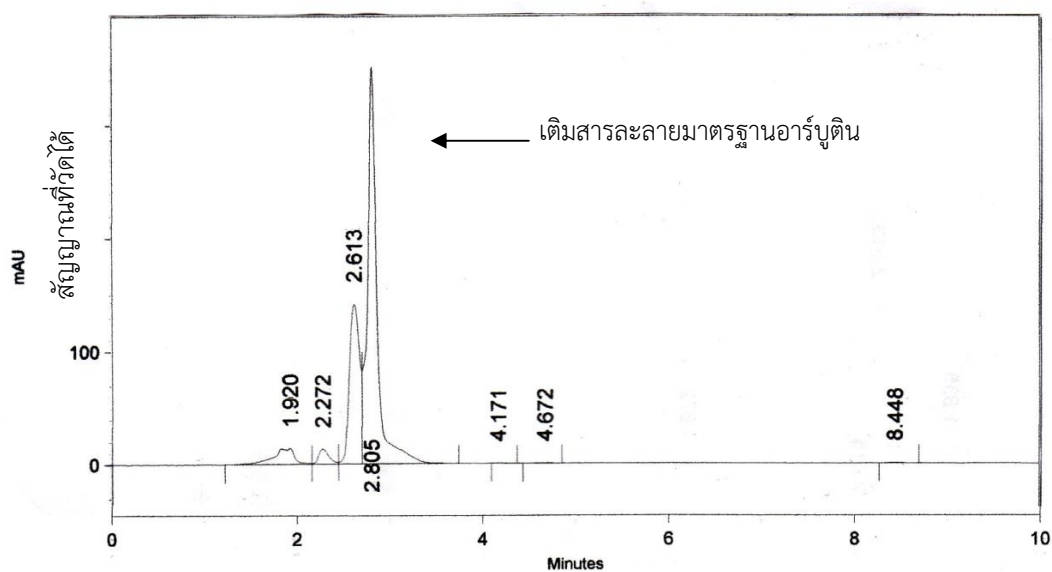
รูปที่ 4.6 แสดงโครมาโทแกรมการสกัดด้วยวิธี TLC ของ ก) สารสกัดจากผลมะเขือเทศ ข) สารสกัดจากผลมะเขือเทศที่เติม 100 ppm สารละลายมาตรฐานอาร์บูติน

จากรูปที่ 4.6 เปรียบเทียบในรูป ก) และ ข) ที่รีเทนชันไทม์ 2.784 นาที มีขนาดของความสูงของพีคเพิ่มขึ้นในรูป 4.6 (ข) เพราะเติมสารมาตรฐานลงไปเพื่อทำการพิสูจน์ว่ามีปริมาณอาร์บูตินในผลมะเขือเทศ

ก)



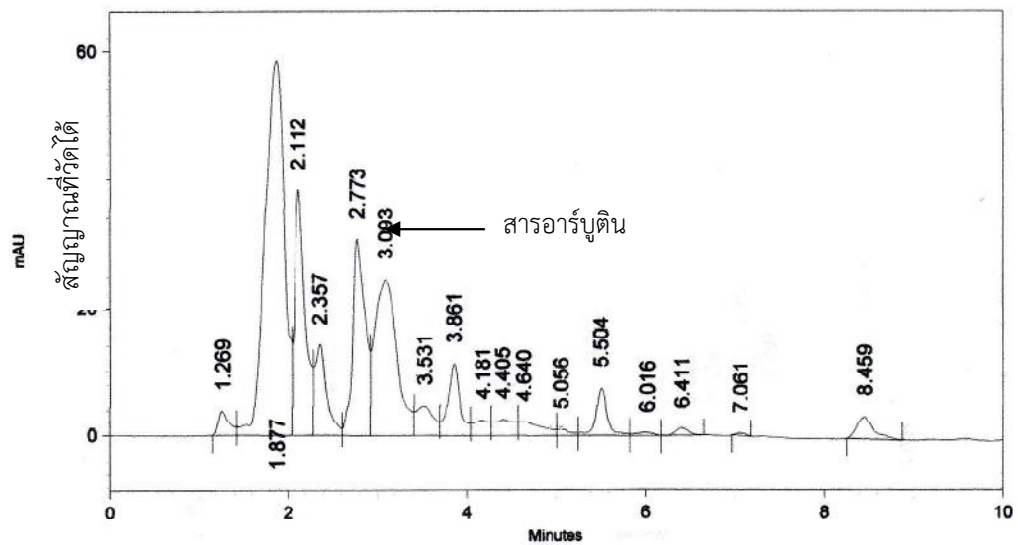
ข)



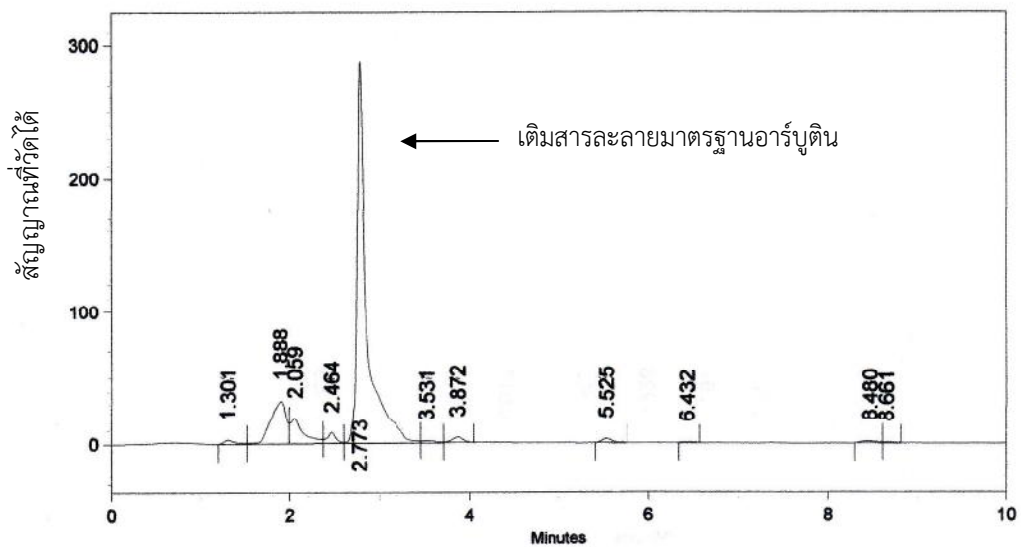
รูปที่ 4.7 แสดงโครมาโทแกรมการสกัดด้วยวิธี TLC ของ ก) สารสกัดจากผลเม่าแดง ข) สารสกัดจากผลเม่าแดงที่เติม 100 ppm สารละลายมาตรฐานอาร์บูติน

จากรูปที่ 4.7 เปรียบเทียบในรูป ก) และ ข) ที่รีเทนชันไทม์ 2.805 นาที มีขนาดของความสูงของพีคเพิ่มขึ้นในรูป 4.7 (ข) เพราะเติมสารมาตรฐานลงไปเพื่อทำการพิสูจน์ว่ามีปริมาณอาร์บูตินในผลเม่าแดง

ก)



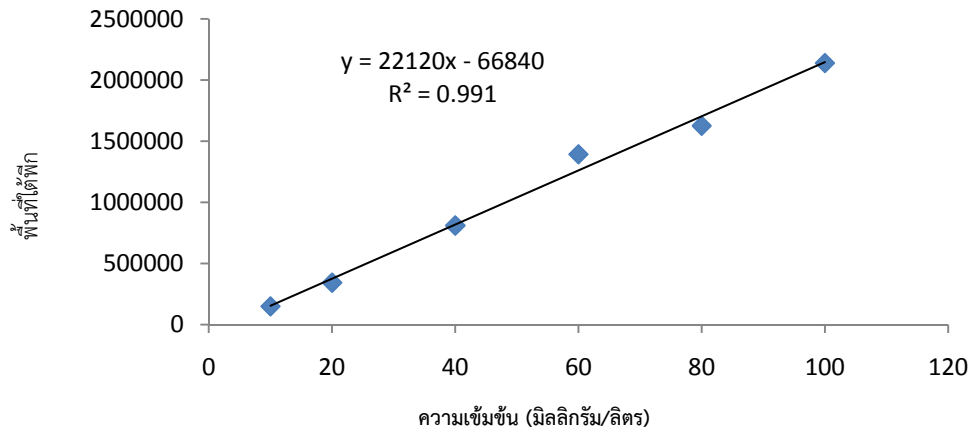
ข)



รูปที่ 4.8 แสดงโครมาโทแกรมการสกัดด้วยวิธี TLC ของ ก) สารสกัดจากผลเมื่อดำ ข) สารสกัดจากผลเมื่อดำที่เติม 100 ppm สารละลายมาตรฐานอาร์บูติน

จากรูปที่ 4.8 เปรียบเทียบในรูป ก) และ ข) ที่รีเทนชันไทม์ 2.773 นาที มีขนาดของความสูงของพีกเพิ่มขึ้นในรูป 4.8 (ข) เพราะเติมสารมาตรฐานลงไปเพื่อทำการพิสูจน์ว่ามีปริมาณอาร์บูตินในผลเมื่อดำ

จากการสกัดสารอาร์บูตินในเม่าส่วนต่างๆด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟีและการวิเคราะห์เชิงคุณภาพด้วยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงแล้วนั้น พบว่ามีสารประกอบอาร์บูตินในส่วนต่างๆของพืชเม่า จึงได้ทำการวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วยการสร้างกราฟมาตรฐานดังในรูปที่ 4.9 และคำนวณจากพื้นที่ใต้พีคของสารตัวอย่างเมื่อดังตารางที่ 4.2



รูปที่ 4.9 กราฟมาตรฐานของสารประกอบอาร์บูตินที่ความเข้มข้นต่างๆและพื้นที่ใต้พีคด้วยวิธีสกัด TLC

ตารางที่ 4.3 แสดงปริมาณของพื้นที่ใต้พีคของสารตัวอย่างเม่าจากการสกัดด้วย TLC

ชนิดของตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ย ($\bar{x}$)	SD	%RSD
ผลเม่าเขียว	1,351,532	124741.30	9.229
ผลเม่าแดง	259,126	25308.39	9.767
ผลเม่าดำ	314,403	21410.42	6.809
ใบเม่าอ่อน	324,741	30828.14	9.493
ใบเม่าแก่	546,914	40080.35	7.328

จากตารางที่ 4.2 นำค่าพื้นที่ใต้พีคเฉลี่ยของสารตัวอย่างแต่ละชนิดไปแทนค่า y ในสมการเส้นตรง $y = 22120x - 66840$ ในรูปที่ 4.9 จะคำนวณผลได้ดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.4 แสดงปริมาณของสารอาร์บูตินในสารสกัดจากส่วนต่างๆของพืชมาด้วยวิธีการสกัดด้วยวิธีทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี

ชนิดของ ตัวอย่าง	ปริมาณสารอาร์บูตินในสารตัวอย่างที่สกัดได้ ต่อปริมาณวัตถุดิบเริ่มต้น (มิลลิกรัม/100กรัม)
ผลเม่าเขียว	1.2
ผลเม่าแดง	0.013
ผลเม่าดำ	0.05
ใบเม่าอ่อน	9.9
ใบเม่าแก่	10.6

จากตารางที่ 4.3 คือผลการสกัดสารอาร์บูตินได้ปริมาณอยู่ในช่วง 0.004 – 0.319 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักของวัตถุดิบเริ่มต้น 100 กรัม และพบว่าในส่วนต่างๆของเม่ามีความเป็นไปได้ที่จะพบสารอาร์บูติน ดังผลการทดลองในตาราง 4.3 ดังนั้นจึงทำการสกัดสารอาร์บูตินจากใบเม่าแก่เพื่อทำการวิเคราะห์สารอาร์บูตินเพื่อพิสูจน์วิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ และทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

4.2 ผลการวิเคราะห์สารอาร์บูตินจากใบเม่าแก่

4.2.1 ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

จากผลการทดลองเปรียบเทียบสารสกัดอาร์บูตินในเม่า พบว่าใบเม่าแก่มีปริมาณสารอาร์บูตินมากที่สุดในปริมาณ 10.6 มิลลิกรัมต่อปริมาณวัตถุดิบเริ่มต้น 100 กรัม ดังนั้นจึงทำการสกัดสารอาร์บูตินจากใบเม่าแก่เพื่อทดสอบฤทธิ์เอนไซม์ไทโรซิเนส พบว่าได้ผลดังนี้

จากการวัดค่าดูดกลืนแสงของโดพาโครม ซึ่งเป็นตัวกลางในกลไกการเกิดเมลานิน โดยมีแอล-โดพา (L-Dopa) เป็นสารตั้งต้นในการทดสอบปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น จะเปลี่ยนสี ของสารละลายจากไม่มีสีเป็นสีส้มอมน้ำตาล ซึ่งวัดได้จากค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตรได้ค่าการดูดกลืนแสงและคำนวณหาค่าร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสดังสมการ

$$\text{ค่าการดูดกลืนแสง} = (A_2 - A_0) \quad (3.1)$$

$$\text{ร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส} = \frac{(A - B) - (C - D)}{(A - B)} \times 100 \quad (3.2)$$

เมื่อ A_0 คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตรก่อนการบ่ม

A_2 คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตรหลังการบ่ม 2 นาที

A คือ ผลต่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร
ก่อนการบ่มและหลังการบ่ม 2 นาที ของ Control ($A_2 - A_0$)

B คือ ผลต่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร
ก่อนการบ่มและหลังการบ่ม 2 นาที ของ Blank of control ($A_2 - A_0$)

C คือ ผลต่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร
ก่อนการบ่มและหลังการบ่ม 2 นาที ของ Test of sample ($A_2 - A_0$)

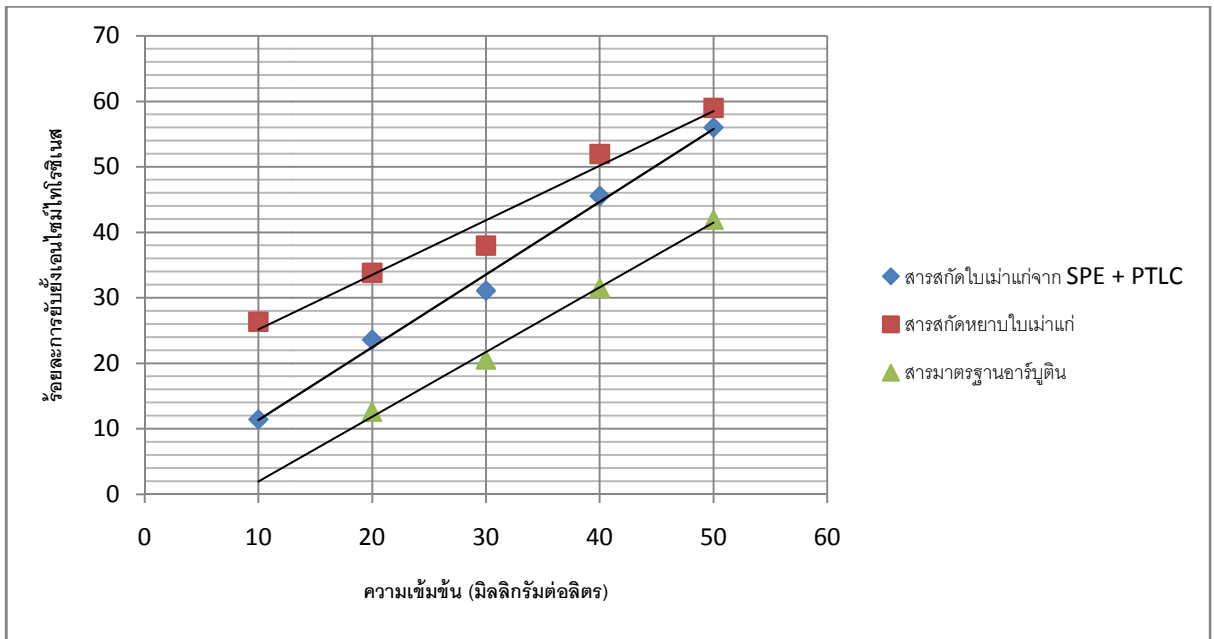
D คือ ผลต่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร
ก่อนการบ่มและหลังการบ่ม 2 นาที ของ Blank of sample ($A_2 - A_0$)

ตารางที่ 4.5 ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดหยาบใบเม้าแก่

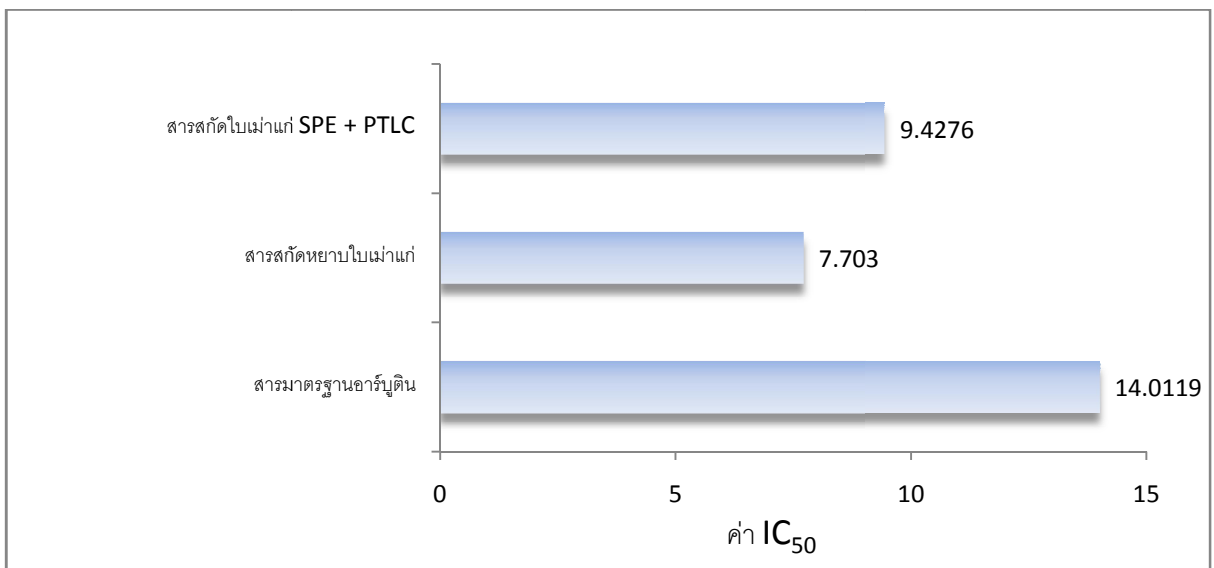
ความเข้มข้นของ สารสกัดหยาบ ใบเม้าแก่ (มิลลิกรัม/ลิตร)	ความเข้มข้น สุดท้ายของสาร สกัดหยาบ ใบเม้าแก่ (มิลลิกรัม/ลิตร)	Log ความเข้มข้น สุดท้ายของ สารสกัดหยาบ ใบเม้าแก่	A - B	C - D	ร้อยละ การยับยั้งเอนไซม์ ไทโรซิเนส
10	2	0.3010	0.0166	0.0156	6.3936
20	4	0.6021	0.0571	0.0377	33.9755
30	6	0.7882	0.0387	0.0240	37.9845
40	8	0.9031	0.0659	0.0317	51.8968
50	10	1.0000	0.0488	0.0200	58.8811

หมายเหตุ: ค่า ($A_2 - A_0$) แสดงในภาคผนวก ก และการคำนวณ แสดงในภาคผนวก ก

เมื่อคำนวณหาค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงแล้วนำมาพล็อตกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารสกัดหยาบใบเม้าแก่ในการทดสอบกับร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส เพื่อหาความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ร้อยละ 50 (IC_{50})



รูปที่ 4.10 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น(มิลลิกรัมต่อลิตร)กับร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดหยาบใบเม้าแก่ สารสกัดใบเม้าแก่จากเทคนิคเฟสของแข็งและพรีพาราทีฟทีนเลเยอร์โครมาโทกราฟี(SPE + PTLC) และสารมาตรฐานอาร์บูติน



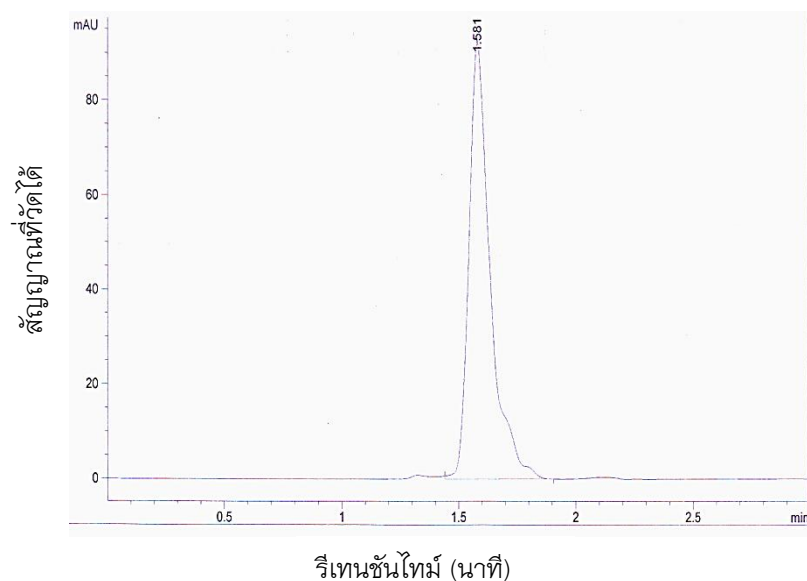
รูปที่ 4.11 แสดงค่าเปรียบเทียบค่า IC₅₀ ของการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในสารสกัดหยาบใบเม้าแก่ สารสกัดจากเทคนิคเฟสของแข็งและพรีพาราทีฟทีนเลเยอร์โครมาโทกราฟี(SPE + PTLC) และสารมาตรฐานอาร์บูติน

จากผลการทดลองเปรียบเทียบผลฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของใบเม่าแก่กับสารมาตรฐานอาร์บูติน พบว่าสารสกัดหยาบใบเม่าแก่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ และเมื่อเพิ่มปริมาณสารสกัดหยาบมากขึ้นประสิทธิภาพในการยับยั้งก็มากขึ้นค่า IC_{50} คือค่าการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่ร้อยละ 50 และจากรูปที่ 4.11 เป็นการเปรียบเทียบค่า IC_{50} ระหว่างสารอาร์บูตินมาตรฐานและสารสกัดหยาบใบเม่าแก่ พบว่าค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบใบเม่าแก่มีค่าน้อยกว่าสารอาร์บูตินมาตรฐาน แสดงว่าความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสกัดหยาบในใบเม่าแก่ดีกว่าสารอาร์บูติน

4.2.2 ผลการพิสูจน์เอกลักษณ์สารอาร์บูตินในใบเม่าแก่

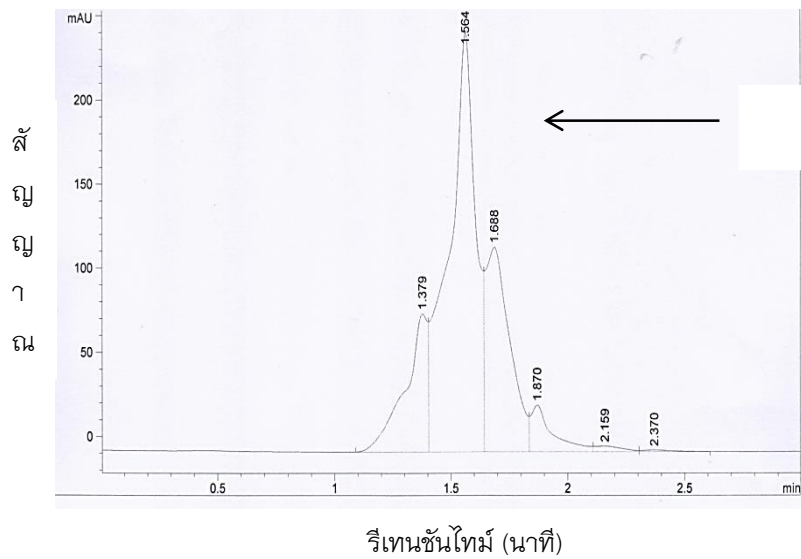
4.2.2.1 การวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

การวิเคราะห์เชิงคุณภาพด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง พบว่า สารอาร์บูตินมีค่ารีเทนชันไทม์ที่ 1.581 นาที ดังโครมาโทแกรมในภาพที่ 4.27



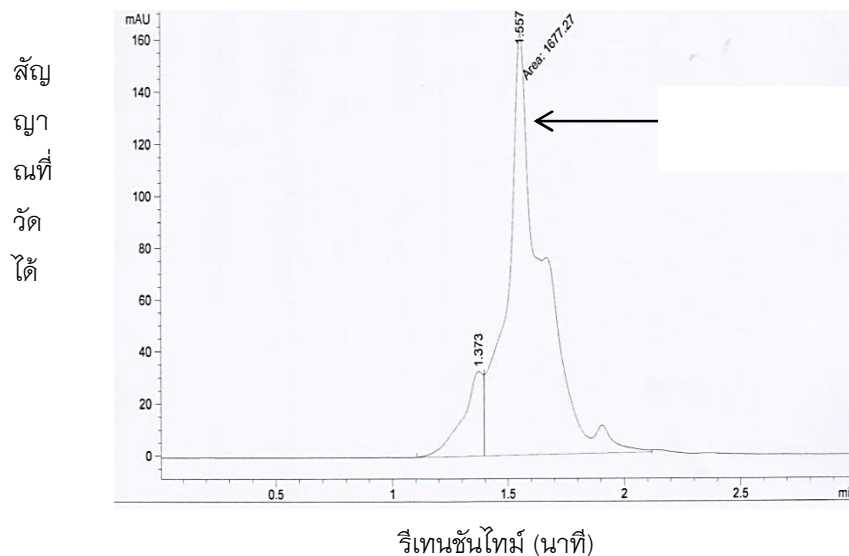
รูปที่ 4.12 แสดงโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานอาร์บูติน

จากสารสกัดของใบเม่าแก่แล้วนำมาหาวิเคราะห์หาปริมาณด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง เมื่อเทียบกับโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานอาร์บูตินกับสารตัวอย่าง พบว่ามีพิกสารอาร์บูตินในสารตัวอย่างขึ้นที่รีเทนชันไทม์ 1.564 นาที อยู่ในช่วงของรีเทนชันไทม์ของสารมาตรฐานดังภาพที่ 4.13



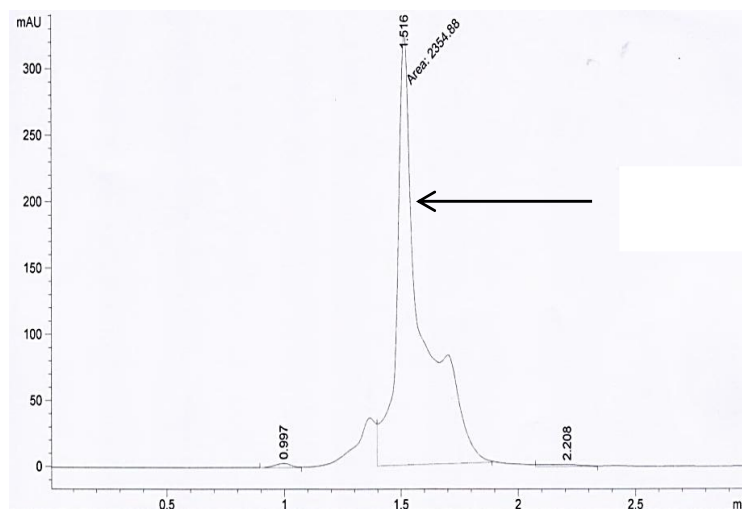
รูปที่ 4.13 แสดงโครมาโทแกรมสารสกัดใบเม้าแก่

จากภาพที่ 4.13 พบว่ามีพีคของสารอาร์บูตินเนื่องจากรีเทนชันไทม์ตัวอย่างอยู่ในช่วงรีเทนชันไทม์ของสารมาตรฐานและพิสูจน์ด้วยการเติมสารมาตรฐานอาร์บูตินความเข้มข้น 100 300 500 700 และ 1000 มิลลิกรัม/ลิตร ลงในสารตัวอย่างแสดงดังภาพที่ 4.14-4.18



รูปที่ 4.14 แสดงโครมาโทแกรมโดยการเติมด้วยสารอาร์บูตินความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร ลงไปในสารละลายตัวอย่างใบเม้าแก่

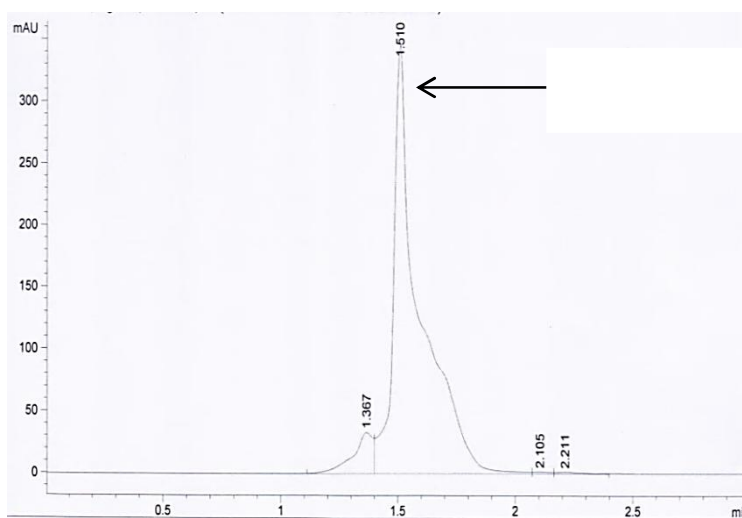
สัญญาณที่วัดได้



รีเทนชันไทม์ (นาที)

รูปที่ 4.15 แสดงโครมาโทแกรมโดยการเติมด้วยสารอาร์บูตินความเข้มข้น 300 มิลลิกรัม/ลิตร ลงไปในสารละลายตัวอย่างใบเม้าแก่

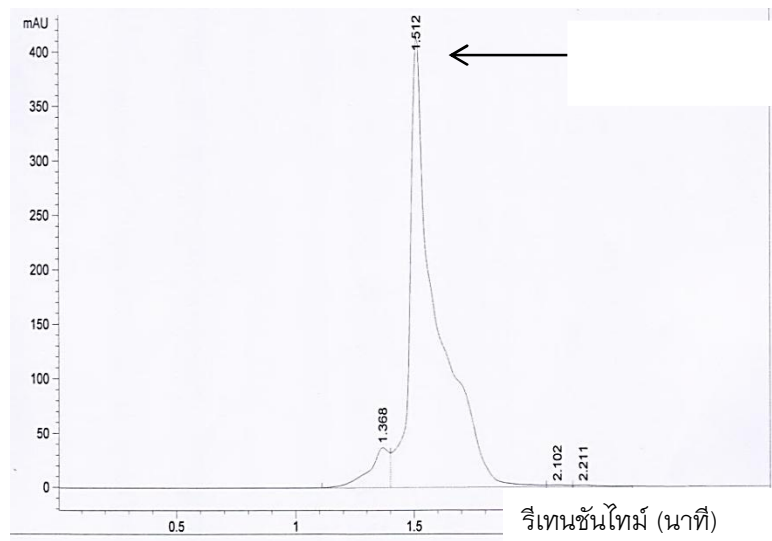
สัญญาณที่วัดได้



รีเทนชันไทม์ (นาที)

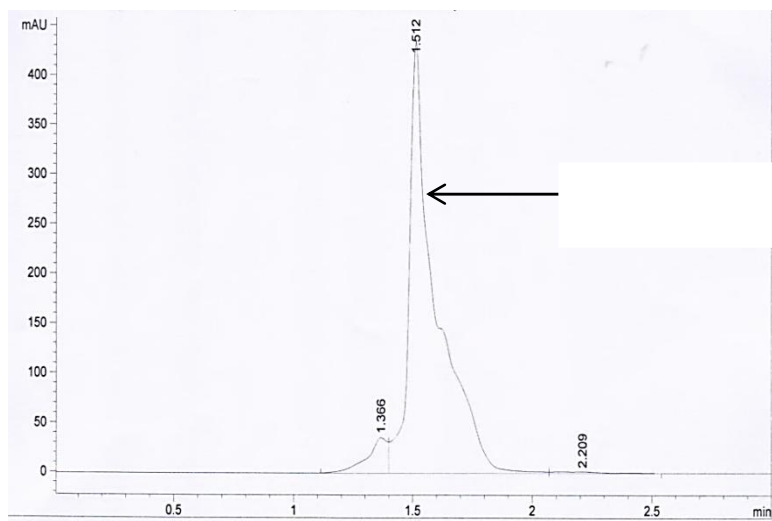
รูปที่ 4.16 แสดงโครมาโทแกรมโดยการเติมด้วยสารอาร์บูตินความเข้มข้น 500 มิลลิกรัม/ลิตร ลงไปในสารละลายตัวอย่างใบเม้าแก่

สัญญาณ
ที่ได้



รูปที่ 4.17 แสดงโครมาโทแกรมโดยการเติมด้วยสารอาร์บูตินความเข้มข้น 700 มิลลิกรัม/ลิตร ลงไปในสารละลายตัวอย่างใบเม้าแก่

สัญญาณ
ที่ได้



รีเทนชันไทม์ (นาที)

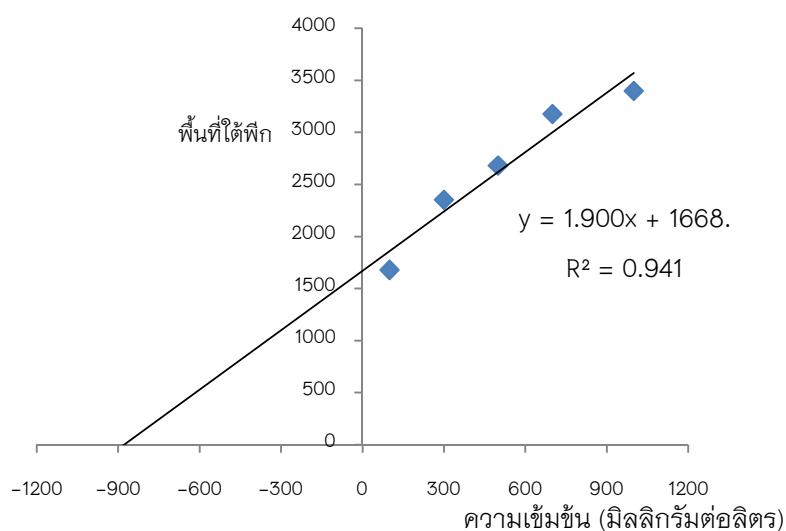
รูปที่ 4.18 แสดงโครมาโทแกรมโดยการเติมด้วยสารอาร์บูตินความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัม/ลิตรลงไปในสารละลายตัวอย่างใบเม้าแก่

จากรูปที่ 4.12 – 4.18 เป็นการยืนยันผลการทดลองว่าในสารตัวอย่างใบเม่าแก่ มีสารอาร์บูตินอยู่จริงและได้ทำการวิเคราะห์เชิงปริมาณโดยวิธี Standard addition ได้ผลแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4.6 แสดงค่าความเข้มข้นกับค่าเฉลี่ยพื้นที่ใต้พีคของสารสกัดใบเม่าแก่

ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/ลิตร)	พื้นที่ใต้พีค	SD	%RSD
100	1677.81714	18.0377	1.0751
300	2351.08219	25.9017	1.1017
500	2681.03288	6.7205	0.2506
700	3176.87793	18.987	0.5977
1000	3398.16821	18.5215	0.5450

จากตารางที่ 4.5 แสดงพื้นที่ใต้พีคของสารตัวอย่างใบเม่าแก่ ได้นำข้อมูลมาพล็อตกราฟเส้นตรง เพื่อทำการวิเคราะห์เชิงปริมาณโดยวิธี Standard addition ได้ผลแสดงในภาพที่ 4.19

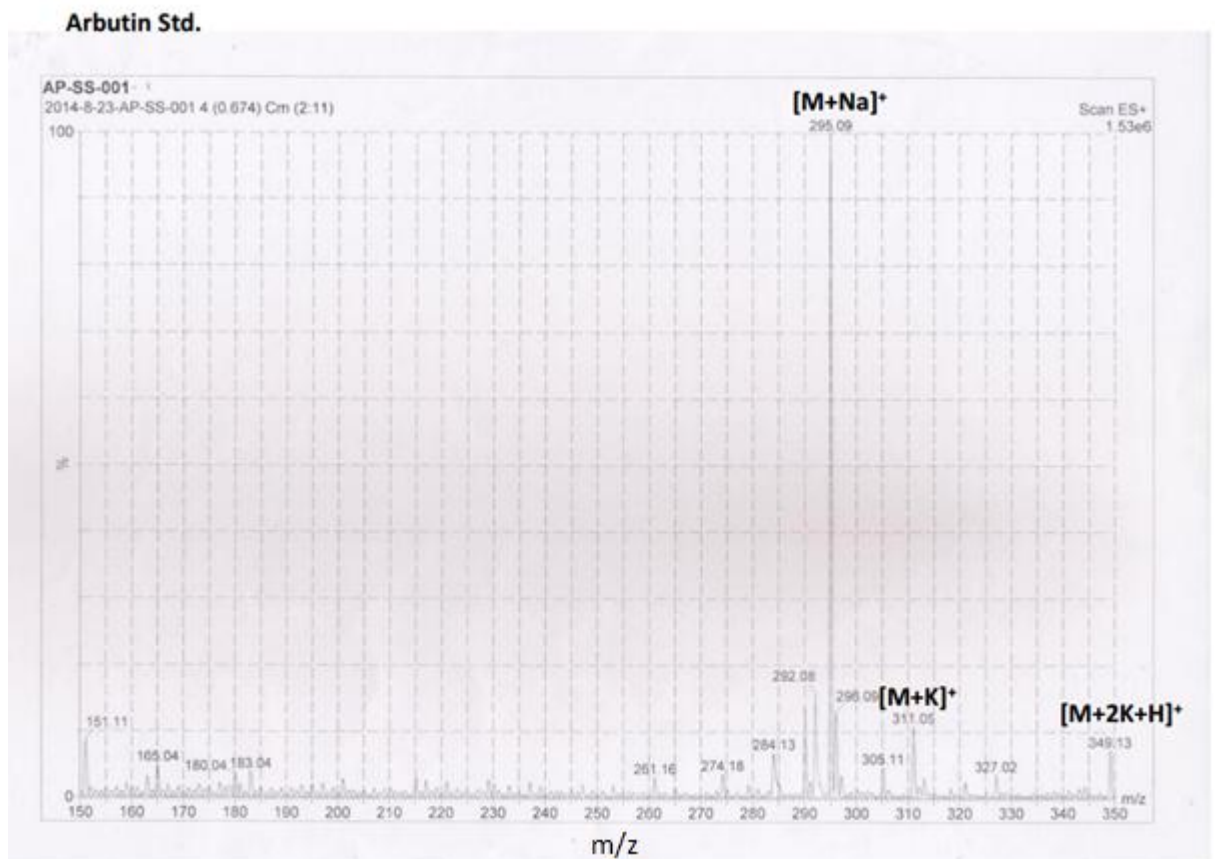


รูปที่ 4.19 แสดงกราฟเส้นตรงของใบเม่าแก่ที่ได้จากวิธีพีรพาเรทิฟทินเลเยอร์โครมาโทกราฟีที่ใช้คำนวณหาปริมาณสารอาร์บูตินโดยวิธี Standard addition

จากรูปที่ 4.19 สามารถคำนวณปริมาณของสารอาร์บูตินในใบเม่าแก่ได้ 1.020 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักวัตถุดิบ 100 กรัมด้วยการคำนวณในภาคผนวก ข

4.2.2.2 ผลการพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยแมสสเปกโตรเมทรี

ผลการวิเคราะห์สารที่สกัดจากใบเม่าแก่ด้วยวิธีเฟสของแข็งและพรีพาราทีฟทีนเลเยอร์โครมาโทกราฟีดังแสดงในรูปที่ 4.20 – 4.21

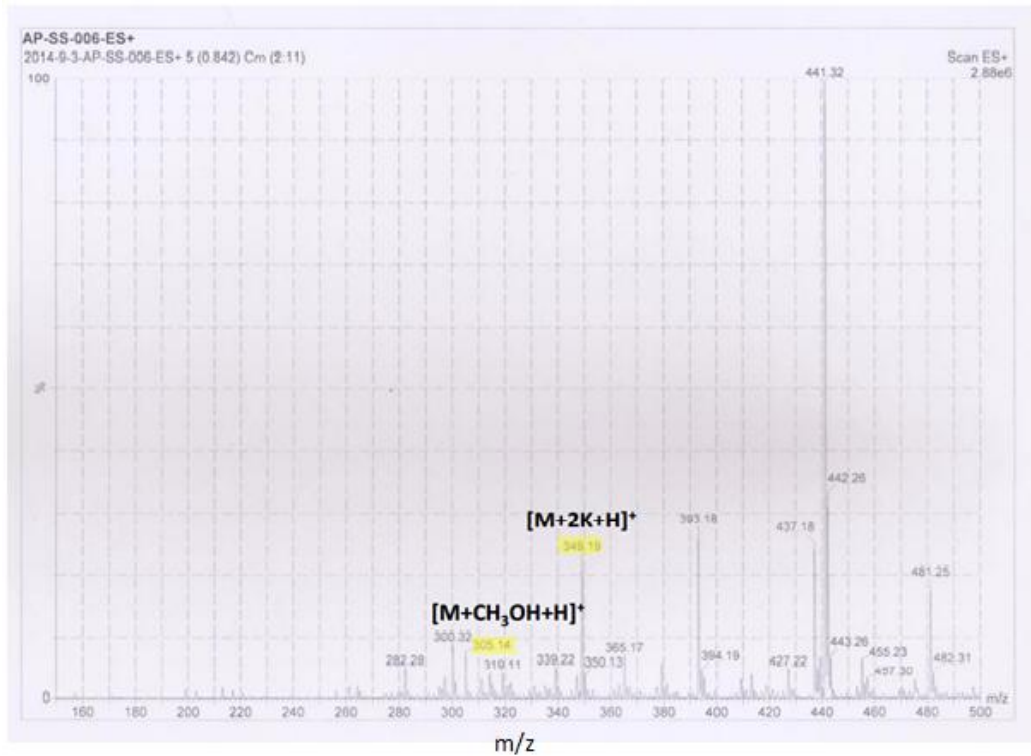


รูปที่ 4.20 แสดงแมสสเปกตรัมของสารมาตรฐานอาร์บูติน

จากรูปที่ 4.20 คือแมสสเปกตรัมของสารมาตรฐานอาร์บูตินซึ่งมีเลขมวลคือ 272.25 ผลจากการวิเคราะห์ข้อมูล พบว่า

1. ปรากฏพีคที่ $m/z = 295.09$ ซึ่งคาดว่าเกิดจากอะตอมของโลหะโซเดียม (Na) เข้าไปเกาะที่โมเลกุลของอาร์บูตินจึงทำให้เลขมวลบวก 23
2. ปรากฏพีคที่ $m/z = 311.05$ ซึ่งคาดว่าเกิดจากอะตอมของโลหะโพแทสเซียม (K) เข้าไปเกาะที่โมเลกุลของอาร์บูติน จึงทำให้เลขมวลบวก

3. ปรากฏพีคที่ $m/z = 349.13$ ซึ่งคาดว่าจะมีความเป็นไปได้ว่ามีอะตอมของโพแทสเซียม 2 อะตอม และไฮโดรเจน 1 อะตอม



รูปที่ 4.21 แสดงแมสสเปกตรัมของสารสกัดจากใบเม่าแก่

จากรูปที่ 4.21 แสดงแมสสเปกตรัมของสารสกัดของใบเม่าแก่ พบว่าการสกัดสารจากใบเม่าแก่ไม่บริสุทธิ์เพียงพอ แต่ก็พบสังเกตพีคที่สำคัญซึ่งมีความคล้ายกับพีคของสารมาตรฐานอาร์บูติน และมีความเป็นไปได้ว่าสารสกัดจากใบเม่าแก่มีสารอาร์บูตินอยู่ และมีรายละเอียดดังนี้

1. ปรากฏพีคที่ $m/z = 305.14$ ซึ่งคาดว่าจะเกิดจากโมเลกุลของเมทานอลและอะตอมไฮโดรเจน ทำให้ค่า m/z บวกเพิ่มอีก 33
2. ปรากฏพีคที่ $m/z = 349.13$ ซึ่งคาดว่าจะเกิดจากอะตอมของโพแทสเซียม 2 อะตอมและไฮโดรเจน 1 อะตอม

จากผลการพิสูจน์เอกลักษณ์สารอาร์บูตินในใบเม่าแก่ด้วยการวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวและแมสสเปกโตรสโคปี พบว่าในสารสกัดใบเม่าแก่มีสารอาร์บูตินอยู่ แต่เนื่องจากสารสกัดไม่บริสุทธิ์เพียงพอ จึงทำให้เห็นเลขมวล m/z ที่มากกว่าเลขของสารอาร์บูติน