

บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปราย

4.1 ผลการสังเคราะห์พอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลเพื่อนำไปใช้วิเคราะห์หาปริมาณของกรดแกลลิกและกรดแอสลาจิก

4.1.1 ผลการสังเคราะห์พอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลชนิดไม่มีต้นแบบด้วยปฏิกิริยา Photo-polymerization method

จากการนำสารผสมในหัวข้อ 3.1.1 มาสังเคราะห์พอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลชนิดไม่มีต้นแบบ และนำพอลิเมอร์ที่สังเคราะห์ที่ได้ นำมาบรรจุใน glass syringe และนำไปส่องภายใต้แสงยูวีที่มีความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร ประมาณ 10 นาที จะได้พอลิเมอร์ที่เกิดปฏิกิริยาที่สมบูรณ์แล้ว นำมาล้างด้วยตัวทำละลาย 95%เอทานอลเพื่อกำจัดสารที่ไม่เกิดปฏิกิริยาออก การสังเคราะห์พอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลมีสัดส่วนของมอนอเมอร์ (monomer) ตัวทำละลาย (porogen) สารเชื่อมโยง (cross linker) และตัวเร่งปฏิกิริยา (initiator) ได้ศึกษาตามสูตรการผสมต่างๆ ดังนี้

สูตรที่ 1 คือ อัตราส่วนระหว่างมอนอเมอร์ MAA และ EMA ในอัตราส่วนเท่ากับ 15:465 ไมโครลิตร ผสมลงไปเป็นส่วนผสมเพื่อให้เกิดเป็นพอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุล พบว่าพอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลสามารถเกิดเป็นของแข็งได้ดี และล้างด้วยตัวทำละลาย 95%เอทานอล ตัวทำละลายไหลผ่านออกมาได้ดีที่สุดทำให้สามารถล้างส่วนผสมอื่นๆ ที่ไม่เกิดปฏิกิริยาออกมาได้เมื่อเทียบกับสัดส่วนอื่นๆ สูตรที่ 2 อัตราส่วนของมอนอเมอร์ MAA ปริมาตรเท่ากับ 240 ไมโครลิตร ผสมลงไปในส่วนผสมเพื่อให้เกิดเป็นพอลิเมอร์ พบว่าพอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลที่ได้ไม่สามารถล้างกำจัดสารที่ไม่เกิดปฏิกิริยาออกด้วยตัวทำละลาย 95%เอทานอล เพราะพอลิเมอร์ที่เกิดขึ้นแข็งตัวมากเกินไป จึงไม่เหมาะสมที่จะนำมาศึกษา สูตรที่ 3 อัตราส่วนของมอนอเมอร์ EMA ปริมาตรเท่ากับ 480 ไมโครลิตร ผสมลงไปในส่วนผสมเพื่อให้เกิดเป็นพอลิเมอร์ พบว่าพอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลไม่สามารถล้างด้วยตัวทำละลาย 95%เอทานอล ได้เพราะพอลิเมอร์ที่เกิดขึ้นมีความอ่อนตัวเกินไปเมื่อล้างด้วยตัวทำละลาย 95%เอทานอล มีพอลิเมอร์ที่ไม่เกิดปฏิกิริยาไม่สมบูรณ์หลุดออกมาด้วย สูตรที่ 4 อัตราส่วนของมอนอเมอร์ EMA ปริมาตรเท่ากับ 960 ไมโครลิตร ผสมลงไปในส่วนผสมเพื่อให้

เกิดเป็นพอลิเมอร์ พบว่าพอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลไม่สามารถล้างด้วยตัวทำละลาย 95%เอทานอลได้ เพราะพอลิเมอร์ที่เกิดขึ้นมีความอ่อนตัวเกินไปเมื่อล้างด้วยตัวทำละลาย 95%เอทานอล มีพอลิเมอร์ที่ไม่เกิดปฏิกิริยาไม่สมบูรณ์หลุดออกมาด้วย สูตรที่ 5 อัตราส่วนของมอนอเมอร์ MAA ปริมาตรเท่ากับ 960 ไมโครลิตร ผสมลงไปในส่วนผสมเพื่อให้เกิดเป็นพอลิเมอร์ พบว่าพอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลที่สังเคราะห์ได้ไม่สามารถล้างด้วยตัวทำละลาย 95%เอทานอล ได้ เพราะพอลิเมอร์ที่เกิดขึ้นแข็งตัวเร็วเกินไป และให้ผลการทดลองเหมือนกับสูตรที่ 6 ที่ใช้มอนอเมอร์ MAA ปริมาตรเท่ากับ 200 ไมโครลิตร สูตรที่ 7 อัตราส่วนระหว่างมอนอเมอร์ MAA และ EMA ในอัตราส่วนเท่ากับ 120:360 ไมโครลิตร ผสมลงไปในส่วนผสมเพื่อให้เกิดเป็นพอลิเมอร์ พบว่าพอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลที่สังเคราะห์ได้ไม่สามารถล้างด้วยตัวทำละลาย 95%เอทานอล ได้ เพราะพอลิเมอร์ที่เกิดขึ้นแข็งตัวมากเกินไป ซึ่งมีลักษณะเหมือนกับผลการทดลองของสูตรที่ 8, 9 และ 10 สูตรที่ 11 อัตราส่วนระหว่างมอนอเมอร์ MAA และ EMA อัตราส่วนผสมเท่ากับ 7:233 ไมโครลิตร ผสมลงไปในส่วนผสมเพื่อให้เกิดเป็นพอลิเมอร์ พบว่าพอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุล สามารถล้างด้วยตัวทำละลาย 95%เอทานอล ได้ แต่ก็ยังมีพอลิเมอร์ที่ไม่เกิดหลุดออกมาในขณะที่ล้างด้วยตัวทำละลาย 95%เอทานอล

จะเห็นว่าอัตราส่วนของผสมที่ดีที่สุดที่นำมาใช้สังเคราะห์พอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลด้วยปฏิกิริยา Photo-polymerization คือ สูตรที่ 1 ซึ่งพบว่าพอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลสามารถล้างด้วยตัวทำละลาย 95%เอทานอล ผ่านออกมาได้ดีที่สุดทำให้สามารถล้างส่วนผสมอื่นๆ ที่ไม่เกิดปฏิกิริยาออกมาได้เมื่อเทียบกับสัดส่วนอื่นๆ และจะทำให้มีค่าประสิทธิภาพการดูดซับที่สูงด้วย

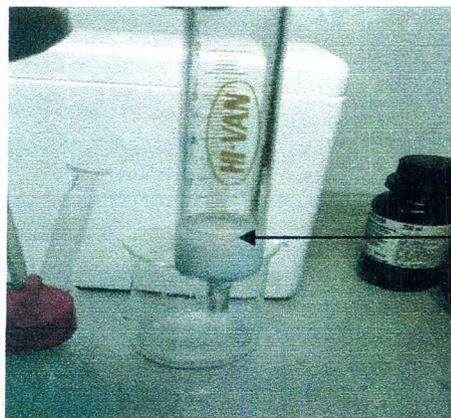
4.1.2 ผลการสังเคราะห์พอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลมีโมเลกุลของกรดแกลลิกและกรดแอลลาจิกด้วยปฏิกิริยา Photo-polymerization method

จากการนำสารผสมในหัวข้อ 3.1.1 มาทำการสังเคราะห์พอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลที่มีส่วนผสมของโมเลกุลกรดแกลลิกและกรดแอลลาจิก เมื่อเกิดปฏิกิริยาจากการสังเคราะห์สมบูรณ์แล้ว นำสารผสมที่ได้ไปบรรจุใน glass syringe และนำไปส่องภายใต้แสงยูวีที่มีความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร ประมาณ 10 นาที เมื่อได้พอลิเมอร์ที่ทำปฏิกิริยาที่สมบูรณ์แล้ว นำพอลิเมอร์มาล้างด้วยตัวทำละลาย 95%เอทานอล เพื่อกำจัดสิ่งที่ไม่เกิดปฏิกิริยาออก

สูตรที่ 1 คือ อัตราส่วนของมอนอเมอร์ระหว่าง MAA และ EMA ปริมาตรเท่ากับ 465 : 15 ไมโครลิตร ผสมลงไปในส่วนผสมอื่นๆ เพื่อให้เกิดเป็นพอลิเมอร์ พบว่าเมื่อเกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์แล้วพอลิเมอร์ที่เกิดขึ้นไม่สามารถล้างด้วยตัวทำละลาย 95%เอทานอลได้ เพราะพอลิเมอร์ที่เกิดขึ้นจับตัวกันแข็งตัวเกินไป สูตรที่ 2 อัตราส่วนของมอนอเมอร์ MAA ปริมาตรเท่ากับ 240 ไมโครลิตร ผสมลงไปในส่วนผสมเพื่อให้เกิดเป็นพอลิเมอร์ พบว่าพอลิเมอร์ที่เกิดขึ้นไม่สามารถล้างด้วยตัวทำละลาย 95%เอทานอล ได้ เพราะพอลิเมอร์ที่เกิดขึ้นแข็งตัวเกินไป เช่นเดียวกับสูตรที่ 4-7

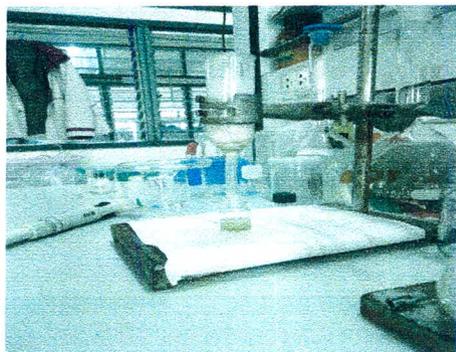
สูตรที่ 3 คือ อัตราส่วนมอนอเมอร์ผสมระหว่าง MAA และ EMA ปริมาตรเท่ากับ 15: 465 ไมโครลิตร ผสมลงไปในส่วนผสมเพื่อให้เกิดเป็นพอลิเมอร์ พบว่าพอลิเมอร์ที่เกิดขึ้นสามารถล้างด้วยตัวทำละลาย 95%เอทานอล ผ่านออกมาได้ดีที่สุดทำให้สามารถล้างส่วนผสมอื่นๆ ที่ไม่เกิดปฏิกิริยาออกมาได้เมื่อเทียบกับสัดส่วนอื่นๆ

จะเห็นว่าอัตราส่วนที่ดีที่สุดที่นำมาใช้เตรียมพอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลที่มีโมเลกุลของกรดแกลลิกและกรดแอลลาจิก เกิดเป็นพอลิเมอร์ที่มีค่าประสิทธิภาพการดูดซับที่สูงที่สุด คือ สูตรที่ 3 และพอลิเมอร์สามารถล้างด้วยตัวทำละลาย 95%เอทานอล ผ่านออกมาได้ดีที่สุดทำให้สามารถล้างส่วนผสมอื่นๆ ที่ไม่เกิดปฏิกิริยาออกมาได้เมื่อเทียบกับสัดส่วนอื่นๆ



พอลิเมอร์ลอกแบบ
โมเลกุลชนิดไม่มี
ต้นแบบ

รูป 4.1 การสังเคราะห์พอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลชนิดไม่มีต้นแบบที่บรรจุใน glass syringe เพื่อใช้เปรียบเทียบผลของประสิทธิภาพการดูดซับ



รูป 4.2 การเตรียมพอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลชนิดผงที่บรรจุใน glass column เพื่อใช้สำหรับสกัดกรดแกสติกและกรดแอลลาจิก



รูป 4.3 ขั้นตอนของการล้างพอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลชนิดผงที่บรรจุใน glass column เพื่อใช้สำหรับสกัดกรดแกสติกและกรดแอลลาจิก

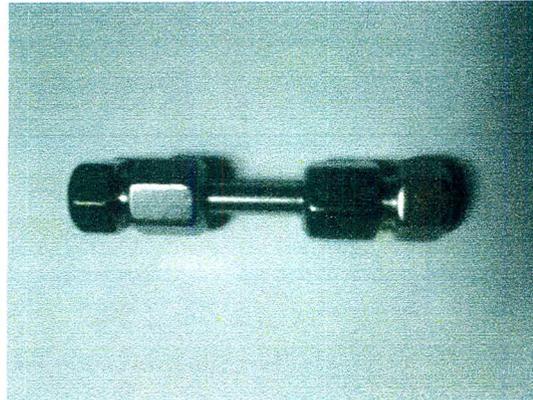




รูป 4.4 ตัวอย่างสารสกัดที่ไม่ได้ไหลผ่าน SPE-MIP (non-MIP)

4.1.3 ผลการเตรียมพอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลด้วยปฏิกิริยา Thermal-polymerization method

การเตรียมพอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลที่มีโมเลกุลของกรดแกลลิกและกรดแอสลาจิกจากการนำสารผสมในหัวข้อ 3.3.3 มาทำการเตรียมและศึกษาพอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลที่มีอัตราส่วนเหมาะสม แล้วนำมาบรรจุในคอลัมน์ขนาด 46x50 มิลลิเมตร และนำไปอบที่ตู้อบเป็นเวลาประมาณ 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เมื่อได้พอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลที่เกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์แล้ว นำมาล้างด้วย 95%เอทานอล เมื่อใช้สูตรที่ 1 พบว่า เมื่อนำคอลัมน์ไปอบให้เกิดเป็นพอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุล พบว่าไม่เกิดการแข็งตัวจึงไม่สามารถนำมาใช้หาปริมาณกรดแกลลิกและกรดแอสลาจิกได้ สูตรที่ 2 และสูตรที่ 3 พบว่าเมื่อนำคอลัมน์ไปอบให้เกิดเป็นพอลิเมอร์ ไม่เกิดการแข็งตัวเช่นเดิม สูตรที่ 4 พบว่า เมื่อนำคอลัมน์ไปอบให้เกิดเป็นพอลิเมอร์ และเกิดการแข็งตัวที่เหมาะสม พอลิเมอร์สามารถล้างด้วยตัวทำละลายอะซิโตไนโตรล์ผ่านออกมาได้ดีที่สุดทำให้สามารถล้างส่วนผสมอื่นๆ ที่ไม่เกิดปฏิกิริยาออกมาได้เมื่อเทียบกับสัดส่วนอื่นๆ จากนั้นนำไปวัดค่าประสิทธิภาพการดูดซับ จะเห็นว่าอัตราส่วนที่ดีที่สุดที่นำมาใช้เตรียมพอลิเมอร์ด้วยปฏิกิริยา Thermal-polymerization คือสูตรที่ 4 พบว่าพอลิเมอร์สามารถล้างด้วยตัวทำละลายอะซิโตไนโตรล์ ผ่านออกมาได้ดีที่สุดทำให้สามารถล้างส่วนผสมอื่นๆ ที่ไม่เกิดปฏิกิริยาออกมา จึงนำมาใช้หาปริมาณกรดแกลลิกและกรดแอสลาจิกได้



รูป 4.5 การเตรียมพอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลด้วยปฏิกิริยา Thermal-polymerization
ในคอลัมน์ขนาด 4.6 x 50 มิลลิเมตร

4.2 การศึกษาการเตรียมพืชตัวอย่าง

จากการศึกษาได้ทำการเก็บตัวอย่างเมล็ดลำไยและเปลือกลำไย จากแหล่งจังหวัด
เชียงใหม่



เมล็ดลำไย

เปลือกลำไย

รูป 4.6 ตัวอย่างเมล็ดและเปลือกลำไย

4.3 ผลของการสกัดตัวอย่างเมล็ดลำไยและเปลือกลำไยด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม โดยวิธี Soxhlet extraction

จากการสุ่มตัวอย่างลำไยในเขตพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ โดยนำเมล็ดลำไยและเปลือกลำไย
ไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และบดให้เป็นผงละเอียดด้วยเครื่องปั่น

ละเอียด นำไปสกัดด้วย 95%เอทานอล โดยใช้เครื่อง Soxhlet extractor เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เก็บสารสกัดที่ได้ใส่ลงในขวดที่มีฝาปิดสนิท นำสารสกัดที่ได้นำมาคำนวณหาค่า %yield ผลการทดลองดังตาราง 4.2

ตาราง 4.1 ขั้นตอนของการสกัดโดยวิธี Soxhlet extraction สกัดด้วย 95%เอทานอล

ระบบ	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	รอบการสกัด	เวลา (นาที)
Step 1	110	20	120
Step 2	100	10	10
Step 3	100	10	10

ตาราง 4.2 ค่า %yield ของสารที่สกัดได้จากตัวอย่างลำไย

ตัวอย่าง ลำไย	น้ำหนัก (กรัม)	น้ำหนักของสาร สกัดที่ได้ (กรัม)	% yield	ลักษณะของสาร สกัด (สี)
เมล็ด 1	30.04	3.10	10.20	น้ำตาลอ่อน
เมล็ด 2	30.01	4.07	13.56	น้ำตาลอ่อน
เปลือก 1	25.00	1.67	6.70	น้ำตาลเข้ม
เปลือก 2	25.00	2.52	10.11	น้ำตาลเข้ม

4.4 ผลของการสกัดตัวอย่างเมล็ดลำไยและเปลือกลำไยด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม โดยวิธีการสกัดแบบแช่ด้วยตัวทำละลาย

จากการสุ่มตัวอย่างลำไยในเขตพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ โดยนำเมล็ดลำไยและเปลือกลำไยไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และบดให้เป็นผงละเอียดด้วยเครื่องปั่นละเอียด นำไปสกัดด้วย 95%เอทานอล และเอทิลอะซิเตรท โดยการแช่ทิ้งไว้ 3 วัน แล้วนำไปกรอง นำไประเหยตัวทำละลายออกโดยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน เก็บสารสกัดที่ได้ใส่ลงในขวดที่มีฝาปิดสนิท นำสารสกัดที่ได้นำมาคำนวณหาค่า %yield ผลการทดลองดังตาราง

ตาราง 4.3 ค่า %yield ของสารที่สกัดได้จากตัวอย่างลำไย

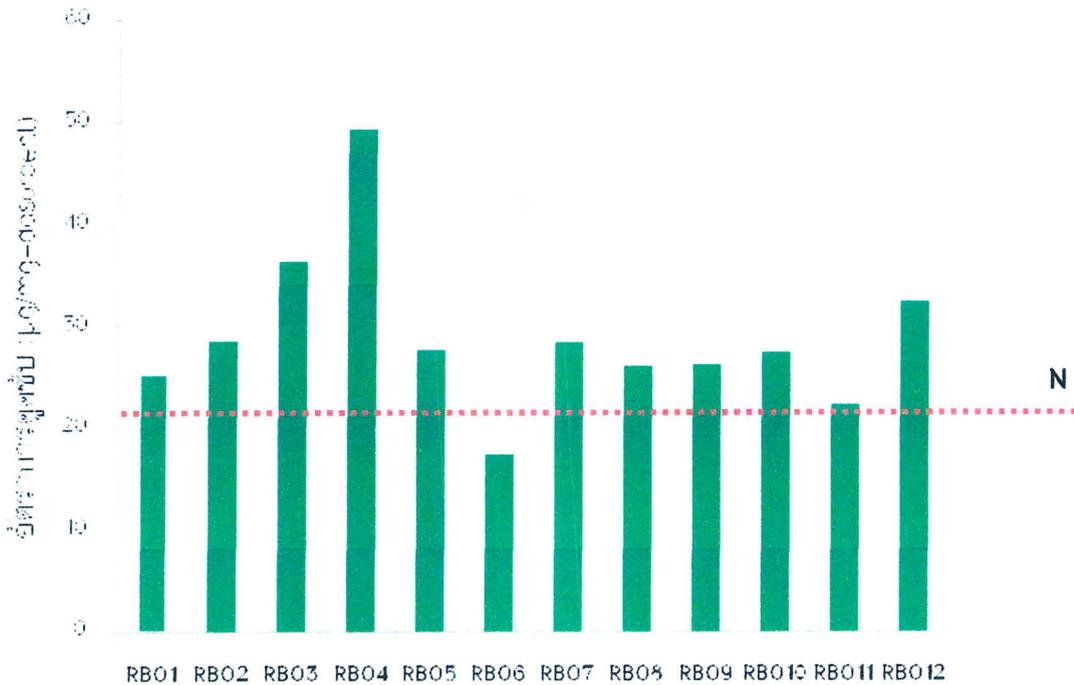
ตัวอย่างลำไย	น้ำหนัก (กรัม)	น้ำหนักของสาร สกัดที่ได้ (กรัม)	%yield	ลักษณะของสาร สกัด (สี)
เมล็ด (95%เอทานอล)	245.20	37.25	15.19	น้ำตาลอ่อน
เปลือก (95%เอทานอล)	159.89	35.04	21.91	น้ำตาลเข้ม
เมล็ด (เอทิลอะซิเตรท)	103.01	33.28	32.30	น้ำตาลอ่อน
เปลือก (เอทิลอะซิเตรท)	70.59	33.30	47.17	น้ำตาลเข้ม

4.5 ผลการศึกษาค่าประสิทธิภาพการดูดซับของพอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุล

ผลการนำพอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลมาใช้เป็นวัสดุดูดซับกรดแก๊สลิแกนด์และกรดแอลลาจิก จากสูตรการเตรียมพอลิเมอร์ทั้งหมด 12 สูตร จากกราฟที่แสดงในรูป 4.7 แสดงความสามารถในการดูดซับกรดแก๊สลิแกนด์และกรดแอลลาจิก ที่สภาวะสมดุลในการดูดซับของพอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลเปรียบเทียบกับพอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลชนิดไม่มีต้นแบบ (NIP) เมื่อใช้อัตราส่วนต่างๆ มาผสมกัน และนำไปส่องด้วยภายใต้แสงยูวีที่มีความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร เมื่อได้พอลิเมอร์ที่เกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์แล้วนำมาล้างด้วยตัวทำละลาย 95 %เอทานอลเพื่อล้างตัวที่ไม่เกิดปฏิกิริยาออก และนำไปทดสอบเพื่อหาอัตราการดูดซับตัวอย่าง ด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 260 และ 316 นาโนเมตร พบว่าสูตร RBO4 เกิดปฏิกิริยาที่สมบูรณ์ และมีอัตราการดูดซับที่ดีที่สุด

ตาราง 4.4 ค่าอัตราการดูดซับของพอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุล

ตัวอย่าง	ค่าการดูดกลืนแสง	การดูดซับ (ไมโครกรัมต่อกรัม-adsorbent)
RBO1	0.161	25.325
RBO2	0.19	28.659
RBO3	0.251	36.425
RBO4	0.388	49.334
RBO5	0.205	27.752
RBO6	0.055	17.412
RBO7	0.182	28.419
RBO8	0.142	26.096
RBO9	0.155	26.235
RBO10	0.171	27.501
RBO11	0.114	22.213
RBO12	0.205	32.432
N	0.152	25.852



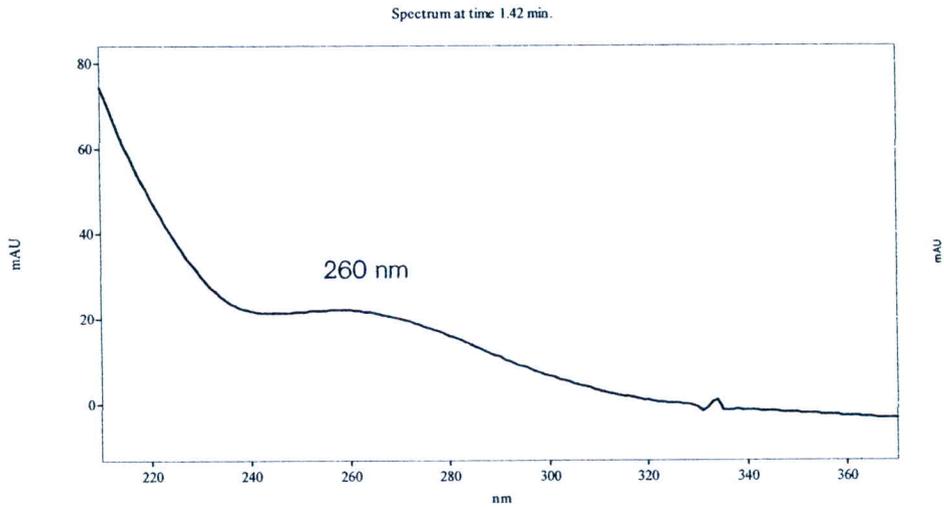
ตัวอย่าง

รูป 4.7 กราฟแสดงความสามารถในการดูดซับกรดแกลลิกและกรดแอสลาจิก ที่สภาวะสมดุล ในการดูดซับของพอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลแต่ละสูตร เปรียบเทียบกับพอลิเมอร์ควบคุม (NIP)

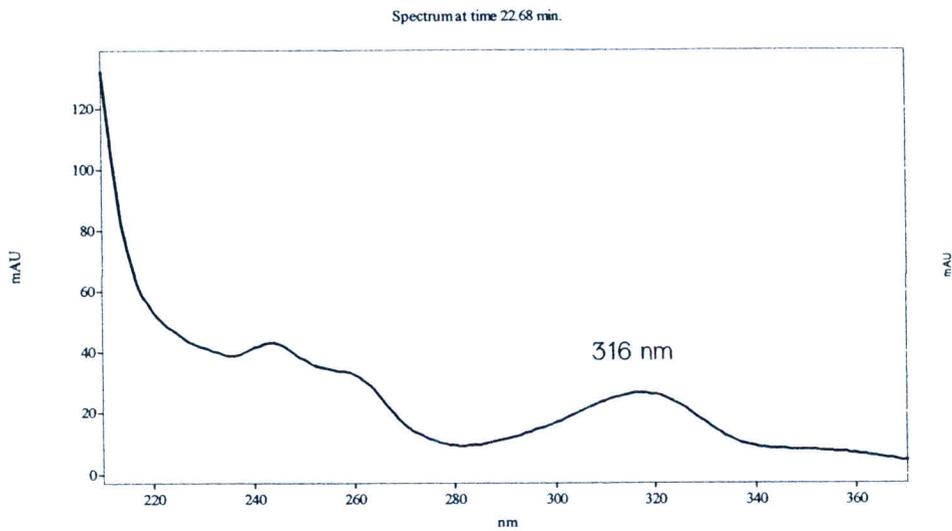
4.6 ผลการแยกและวิเคราะห์ปริมาณของกรดแกลลิกและกรดแอสลาจิกจากสารสกัด ลำไยด้วยเทคนิค HPLC

4.6.1 ผลการหาความยาวคลื่นสูงสุดของการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิคทาง UV-Visible spectrophotometer สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณของกรดแกลลิกและกรดแอสลาจิก

จากการศึกษาค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกและกรดแอสลาจิก โดยการเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกและกรดแอสลาจิกที่ความเข้มข้นเป็น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วนำสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกและกรดแอสลาจิกไปวัดค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer แล้วบันทึกค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่นตั้งแต่ 200-700 นาโนเมตร พบว่าค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกมีค่าเท่ากับ 260 นาโนเมตร และสารละลายมาตรฐานกรดแอสลาจิกมีค่าเท่ากับ 316 นาโนเมตร ตามลำดับ แสดงดังรูป 4.8 และ 4.9



รูป 4.8 ความยาวคลื่นสูงสุดของกรดแกลลิกที่แสดงความยาวคลื่นที่ 260 นาโนเมตร



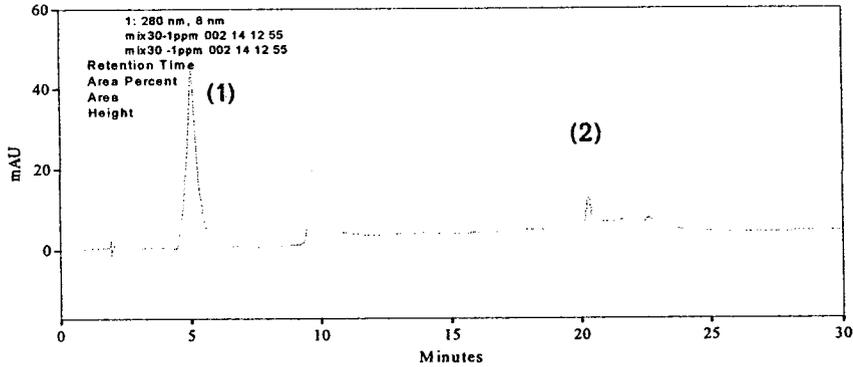
รูป 4.9 ความยาวคลื่นสูงสุดของกรดเอลลาจิกที่แสดงความยาวคลื่นที่ 316 นาโนเมตร

4.6.2 ผลการศึกษาชนิดของเฟสเคลื่อนที่และสัดส่วนที่เหมาะสม

- การศึกษาชนิดของเฟสเคลื่อนที่

ระบบที่ 1 เมื่อนำน้ำกับอะซิโตไนไตรล์ มาใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ในเทคนิค HPLC ด้วยระบบ Isocratic elution สัดส่วนเฟสเคลื่อนที่เป็น 90:10 โดยปริมาตร อัตราการไหลเท่ากับ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที โดยใช้คอลัมน์ชนิด Ultra C18 ขนาด 5 ไมโครเมตร, 150 x 4.6 มิลลิเมตร

ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 260 และ 316 นาโนเมตร ปริมาตรสารละลายที่ฉีดเท่ากับ 20 ไมโครลิตร โดยฉีดสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างกรดแกลลิกและกรดแอลลาจิกที่มีความเข้มข้นของสารละลายผสมเท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้โครมาโทแกรมดังแสดงในรูป 4.10

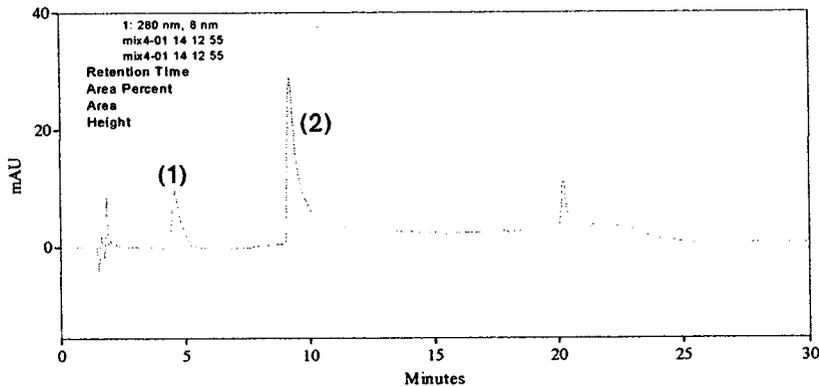


รูป 4.10 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานของกรดแกลลิก (1) และกรดแอลลาจิก (2) เมื่อใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นน้ำกับอะซิโตไนไตรล์ ในระบบ Isocratic elution

ระบบที่ 2 เมื่อนำน้ำกับอะซิโตไนไตรล์ มาใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ในเทคนิค HPLC ด้วยระบบ Gradient elution สัดส่วนเฟสเคลื่อนที่ แสดงดังตาราง 4.5 อัตราการไหลเท่ากับ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที โดยใช้คอลัมน์ชนิด Ultra C18 ขนาด 5 ไมโครเมตร, 150 x 4.6 มิลลิเมตร ตรวจวัด สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกและกรดแอลลาจิกที่ความยาวคลื่น 260 และ 316 นาโนเมตรตามลำดับ ปริมาตรสารละลายที่ฉีดเท่ากับ 20 ไมโครลิตร โดยฉีดสารละลายมาตรฐานผสมระหว่าง กรดแกลลิกและกรดแอลลาจิก ที่มีความเข้มข้นของสารละลายผสมทั้งสองเท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้โครมาโทแกรมดังแสดงในรูป 4.11

ตาราง 4.5 สัดส่วนเฟสเคลื่อนที่น้ำต่ออะซิโตไนไตรล์

เวลา (นาที)	น้ำ Milli Q (%)	อะซิโตไนไตรล์ (%)
0.01	90	10
10.00	60	40
20.00	20	80
22.00	60	40
30.00	60	40



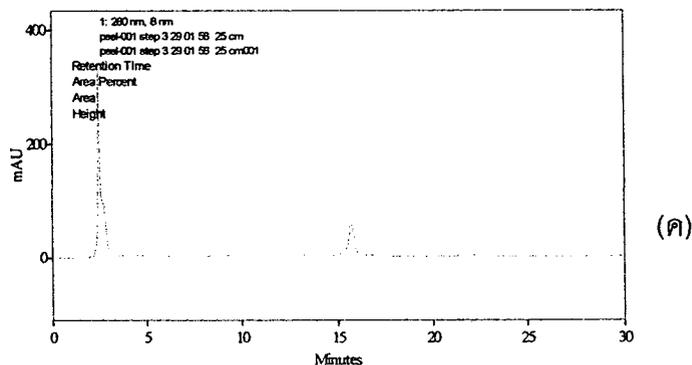
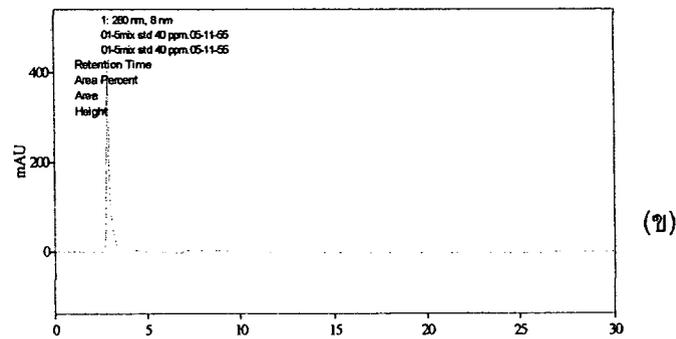
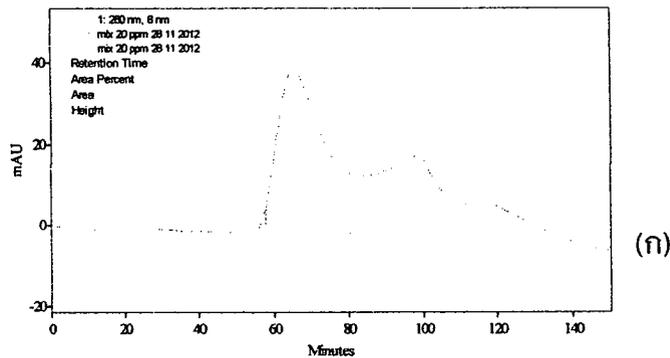
รูป 4.11 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานของกรดแกลลิก (1) และกรดแอลลาจิก (2) เมื่อใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นน้ำกับอะซิโตไนไตรล์ ในระบบ gradient elution

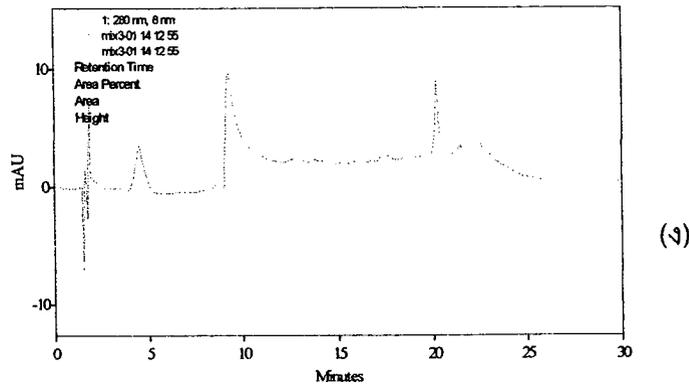
จากโครมาโทแกรมที่แสดงในรูป 4.11 พบว่า เมื่อนำสารละลายมาตรฐานของกรดแกลลิกและกรดแอลลาจิก สามารถแยกกรดแกลลิกและกรดแอลลาจิกออกจากกันได้ดี และใช้เวลาในการแยกที่เหมาะสมคือ 10 นาที ทำให้สามารถเลือกระบบนี้มาใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ได้

- การศึกษาอัตราการไหล (flow rate) ที่เหมาะสม

จากการศึกษาชนิดของเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสม เมื่อนำน้ำกับอะซิโตไนไตรล์ มาใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ โดยปรับเปลี่ยนอัตราการไหลเป็น 0.2, 0.5, 1.0 และ 1.2 มิลลิลิตรต่อนาที โดยใช้คอลัมน์ชนิด Ultra C18 ขนาด 5 ไมโครเมตร, 150 x 4.6 มิลลิเมตร ตรวจวัดสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกและกรดแอลลาจิกที่ความยาวคลื่น 260 และ 316 นาโนเมตร ตามลำดับ

ปริมาตรสารละลายที่ฉีดเท่ากับ 20 ไมโครลิตร โดยฉีดสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างกรดแกลลิกและกรดแอสลาจิกที่มีความเข้มข้นของสารละลายผสมเท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร จากการทดลองพบว่า เมื่อลดอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เป็น 0.2 มิลลิลิตรต่อนาที ปรากฏว่าสารทั้ง 2 ชนิดสามารถแยกออกจากกันได้ แต่สารละลายมาตรฐานกรดแอสลาจิกจะแยกออกมาช้า และฐานพีคกว้าง เมื่อเพิ่มอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เป็น 0.5 พบว่าไม่สามารถแยกสารละลายมาตรฐานกรดแอสลาจิกออกมาได้ เมื่อเพิ่มอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เป็น 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ได้พีคของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกและกรดแอสลาจิกแยกออกจากกันได้ดี เมื่อเพิ่มอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เป็น 1.2 มิลลิลิตรต่อนาที พบว่าสามารถแยกสารละลายมาตรฐาน กรดแกลลิกและกรดแอสลาจิกแยกออกจากกัน แต่แยกสารละลายมาตรฐานกรดแอสลาจิก ออกมาได้ช้า จึงเลือกอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เท่ากับ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ให้ผลการทดลองที่เหมาะสมที่สุด โครมาโทแกรมแสดงในรูป 4.12 (ค)





รูป 4.12 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมของสารละลายกรดแกลลิกและกรดแอลลาจิก เมื่อใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นน้ำกับอะซิโตไนโตรล์ ที่อัตราการไหล 0.2 มิลลิลิตรต่อนาที (ก), 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที (ข), 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที (ค) และ 1.2 มิลลิลิตรต่อนาที (ง)

4.7 ผลการวิเคราะห์โดยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) สำหรับวิเคราะห์ปริมาณกรดแกลลิกและกรดแอลลาจิกในตัวอย่างลำไย

ในการทดลองวิเคราะห์ปริมาณกรดแกลลิกและกรดแอลลาจิกด้วยเทคนิค HPLC จากการศึกษาได้สภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการวิเคราะห์ดังนี้

ชนิดคอลัมน์: Ultra C18 ขนาด 5 ไมโครเมตร, 150 x 4.6 มิลลิเมตร

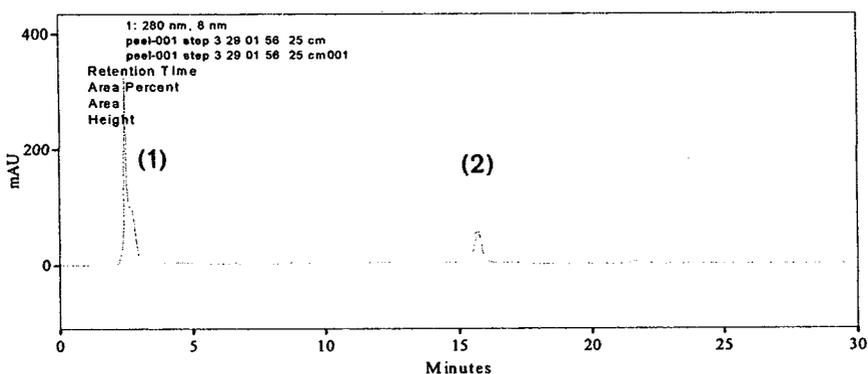
เฟสเคลื่อนที่: ระบบ Gradient elution น้ำ (%) และ อะซิโตไนโตรล์ (%) ดังตารางที่ 4.4

เวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ทั้งหมด : 30 นาที

อัตราการไหล : 1 มิลลิลิตรต่อนาที

ปริมาตรของสารที่ฉีด : 20 ไมโครลิตร

ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น : 260 และ 316 นาโนเมตร



รูปที่ 4.13 แสดงลักษณะโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานของกรดแกลลิก (1) และกรดแอลลาจิก (2) ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

4.8 ผลการศึกษาความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (method validation)

4.8.1 ผลการศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (limit of detection)

จากการศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเพื่อดู sensitivity ของวิธีวิเคราะห์ ปริมาณกรดแกลลิกและกรดแอลลาจิก โดยการคำนวณจากกราฟมาตรฐานที่ทำการฉีดสารละลายมาตรฐานที่เตรียมขึ้นภายในวันเดียวและระหว่างวันของสารละลายมาตรฐาน โดยคำนวณจากสมการ $3S.D/s$ เมื่อ $S.D$ คือค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่คำนวณได้จากพื้นที่ใต้พีค กรดแกลลิกและกรดแอลลาจิก ตามลำดับ ส่วน s คือ ค่าความชันที่ได้จากกราฟที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับพื้นที่ใต้พีคที่วิเคราะห์ได้ พบว่ามีค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ที่ความเข้มข้น 3.53 มิลลิกรัมต่อลิตร ของกรดแกลลิก และ 2.68 มิลลิกรัมต่อลิตร ของกรดแอลลาจิก ตามลำดับ

4.8.2 ผลการศึกษาขีดจำกัดของการวิเคราะห์ปริมาณ (limit of quantitation)

จากการศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ปริมาณเพื่อหาค่าต่ำสุดที่สามารถหาปริมาณได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณกรดแกลลิกและกรดแอลลาจิก โดยการคำนวณจากกราฟมาตรฐาน ที่ทำการฉีดสารละลายมาตรฐานที่เตรียมขึ้นภายในวันเดียวและระหว่างวันของสารละลายมาตรฐาน โดยคำนวณจากสมการ $10S.D/s$ เมื่อ $S.D$ คือค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่คำนวณได้จากพื้นที่ใต้พีคของกรดแกลลิกและกรดแอลลาจิก ตามลำดับ ส่วน s คือ ค่าความ

ชั้นที่ได้จากกราฟที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับพื้นที่ใต้พีคที่วิเคราะห์ได้ พบว่ามีค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ปริมาณได้ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 1.02 มิลลิกรัมต่อลิตร ของกรดแกลลิก และ 2.29 มิลลิกรัมต่อลิตร ของกรดแอลลาจิก ตามลำดับ

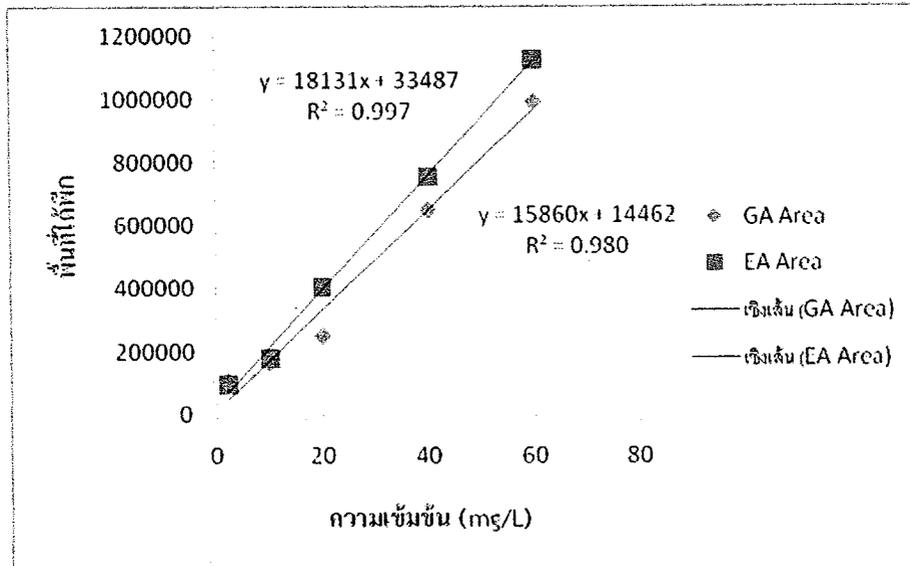
4.8.3 ผลการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง (linearity range)

จากการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง ในช่วงความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานอยู่ในช่วงความเข้มข้นตั้งแต่ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ถึง 60 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วดูความเป็นเส้นตรง ได้ข้อมูลดังตาราง 4.6

ตาราง 4.6 ความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้นของกรดแกลลิกและกรดแอลลาจิก

ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)	พื้นที่ใต้พีคเฉลี่ย	
	กรดแกลลิก	กรดแอลลาจิก
2	107587	95996
10	166244.5	179131
20	250878	405229
40	649412	753575
60	991721	1126849

ได้กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกและกรดแอลลาจิก ดังรูป 4.14



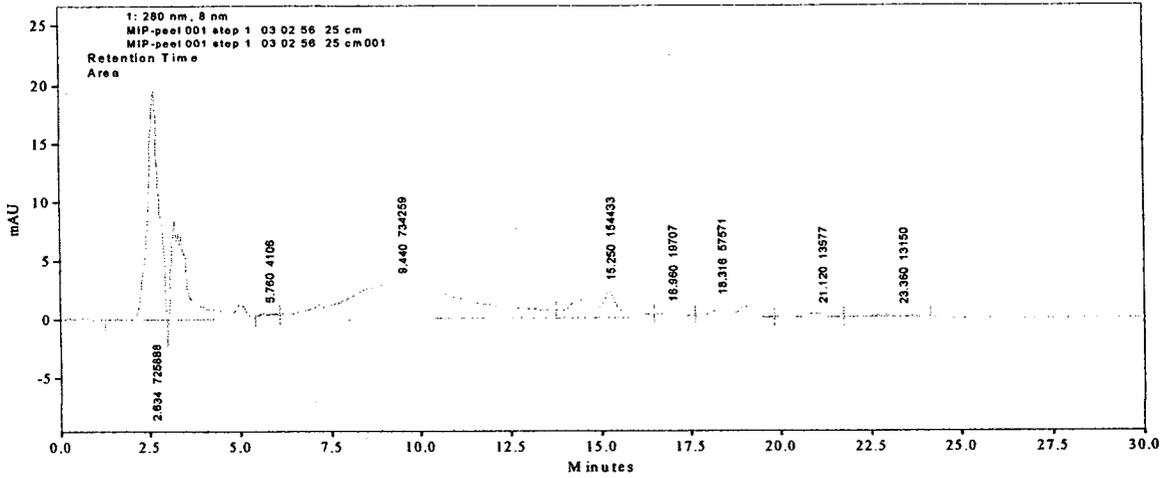
รูป 4.14 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน กรดแกลลิกและกรดแอลลาจิก ในช่วงความเข้มข้น 2-60 มิลลิกรัมต่อลิตร

4.9 ผลการประยุกต์ใช้พอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลเพื่อสกัดและวิเคราะห์ปริมาณกรดแกลลิกและกรดแอลลาจิกจากเมล็ดลำไยและเปลือก

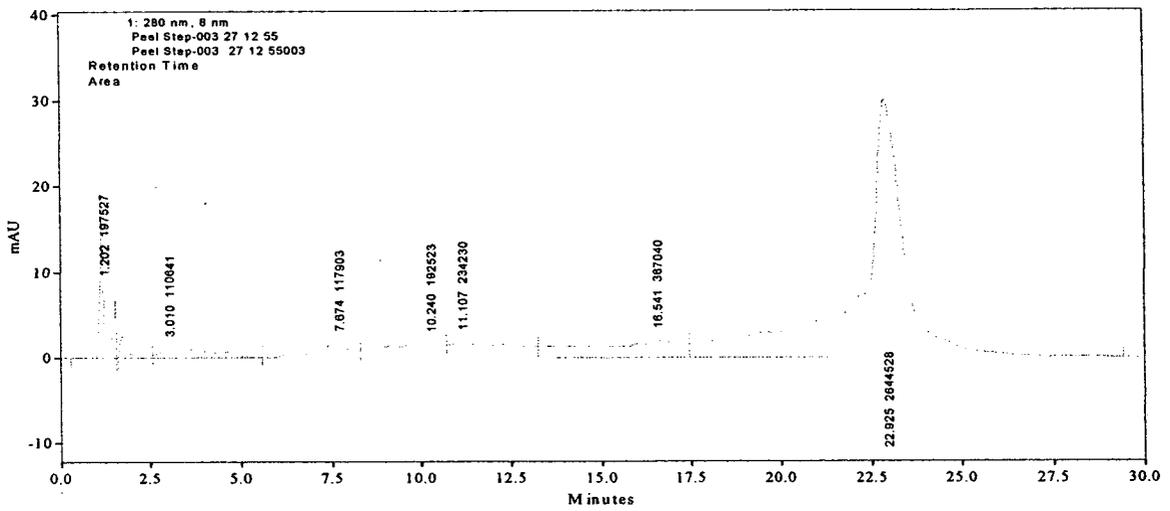
เมื่อนำสารสกัดที่ได้ที่ได้นำมาเตรียมเป็นสารละลาย และเตรียมตัวอย่างผ่าน SPE-MIP และ NIP มีขั้นตอนทั้ง 4 ขั้นตอนแล้วได้ผลการวิเคราะห์หาปริมาณของกรดแกลลิกและกรดแอลลาจิก ในตัวอย่างเมล็ดลำไยและเปลือก โดยใช้เทคนิค HPLC รายละเอียดดังตาราง 4.7

ตาราง 4.7 ค่าการวิเคราะห์หาปริมาณกรดแกลลิกและกรดแอลลาจิกด้วยเทคนิค HPLC ที่พัฒนาขึ้น

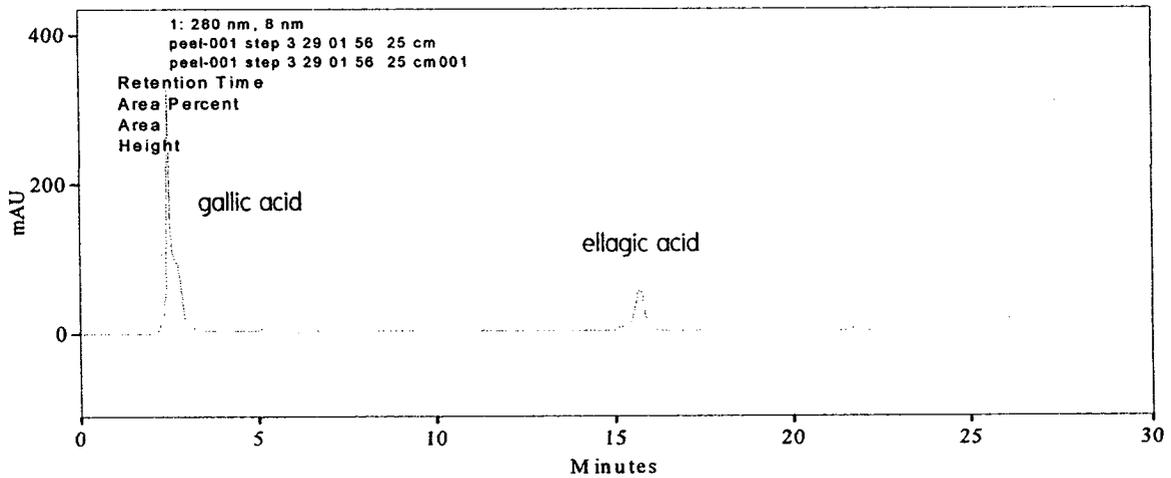
ตัวอย่างลำไย	ปริมาณที่ตรวจพบ	
	กรดแกลลิก (ไมโครกรัมต่อกรัม)	กรดแอลลาจิก (ไมโครกรัมต่อกรัม)
เมล็ด	35.41	9.49
เปลือก	60.37	31.43



รูป 4.15 โครมาโทแกรมของสารละลายตัวอย่างที่ไม่ได้ผ่านขั้นตอนของการสกัด

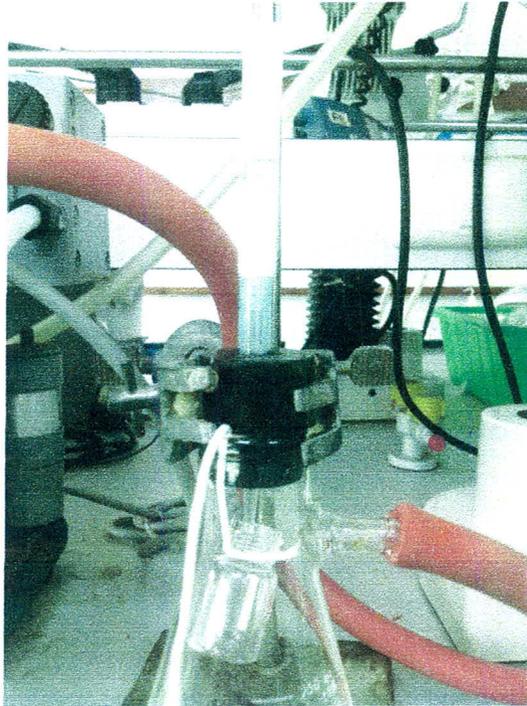


รูป 4.16 โครมาโทแกรมของสารละลายตัวอย่างแบบไหลผ่าน non-MIP



รูป 4.17 โครมาโทแกรมของสารละลายตัวอย่างแบบไหลคผ่าน SPE-MIP (ที่มีโมเลกุลต้นแบบของกรดแกลลิกและกรดเอลลาจิก)

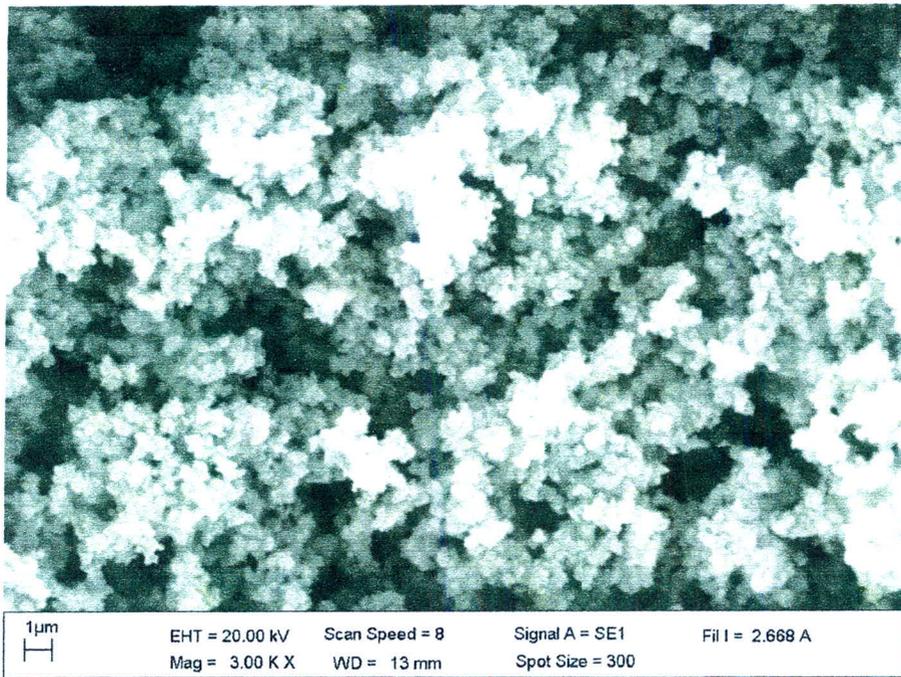
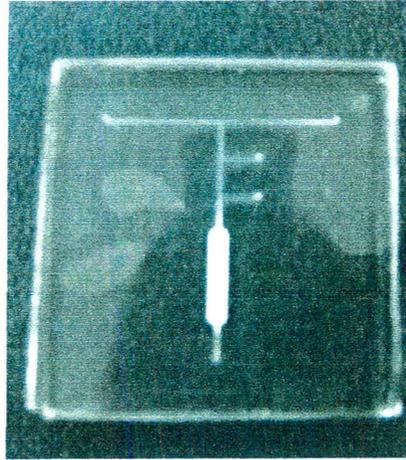
จากรูป 4.15 แสดงโครมาโทแกรมของสารละลายตัวอย่างที่ไม่ได้ผ่านขั้นตอนของการสกัด คือ เตรียมสารละลายจากสารสกัดที่ได้นำมาผ่านกระบวนการเตรียมสารละลายตัวอย่างนำมาฉีดเข้าสู่ระบบ HPLC พบว่า โครมาโทแกรมที่ได้ไม่สามารถแยกและวิเคราะห์สารสนใจทั้งสองได้เลย มีการรบกวนสัญญาณจากสารรบกวนอื่นๆ ส่วนรูป 4.16 แสดงโครมาโทแกรมของสารละลายตัวอย่างแบบไหลคผ่าน non-MIP พบว่าสัญญาณจากสารรบกวนอื่นๆ หายไป แต่ไม่พบโครมาโทแกรมของสารสนใจทั้งสองได้เลย เป็นเพราะปริมาณสารทั้งสองจากตัวอย่างมีปริมาณน้อยไม่เข้มข้นพอ สำหรับรูป 4.17 โครมาโทแกรมของสารละลายตัวอย่างแบบไหลคผ่าน SPE-MIP (ที่มีโมเลกุลต้นแบบของกรดแกลลิกและกรดเอลลาจิก) พบว่ามีสัญญาณของสารสนใจทั้งสองและมีสัญญาณของโครมาโทแกรมที่สูง และไม่พบรบกวนสัญญาณจากสารรบกวนอื่นๆ และการไหลคผ่านพอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุล นอกจากจะเป็นการกำจัดรบกวนสัญญาณจากสารรบกวนอื่นๆ แล้วจะเป็นการเพิ่มความเข้มข้นของสารที่สนใจได้อีกด้วย



รูป 4.18 ขั้นตอนการไหลตัวอย่างลงในคอลัมน์ GA-EGA-MIP

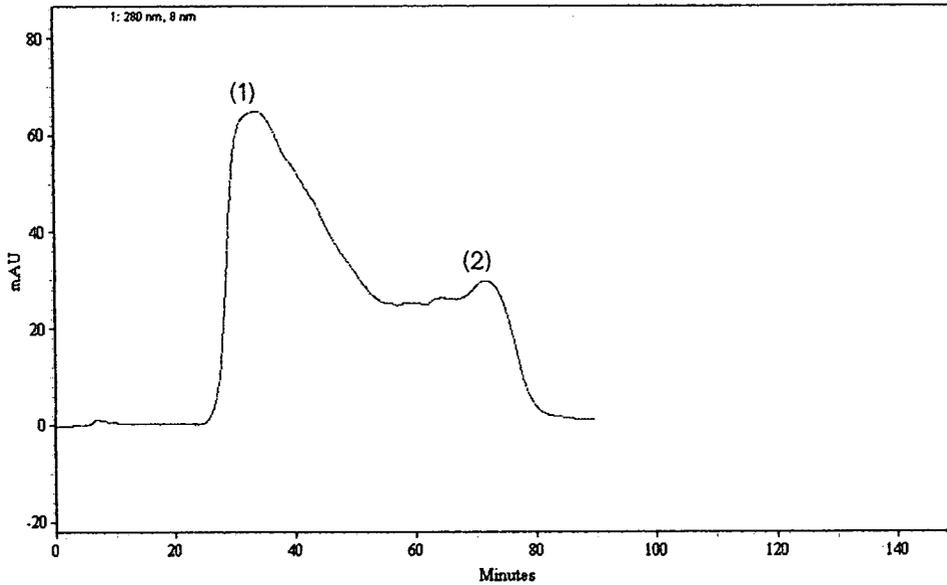
4.10 ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดแกลลิกและกรดแอลลาจิกจากเมล็ดลำไยและเปลือกลำไยด้วยเทคนิค HPLC-lab on chip ด้วยระบบการไหลแบบต่อเนื่อง

การพิจารณาจากการแยกของสารสำคัญที่สนใจที่มีผลต่อสภาพความมีชีวิตของตัวทำละลายของเฟสเคลื่อนที่ โดยปรับอัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายอินทรีย์กับน้ำในเฟสเคลื่อนที่และอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสม ทั้งนี้ได้พิจารณาในเรื่องความดันของระบบและเวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ พบว่า เมื่อเตรียม GA-EGA-MIP เข้าไปในระบบ lab on chip ที่มี channel ขนาดเล็กๆ ด้วยวิธีเตรียมแบบ Photo-polymerization พอลิเมอร์ที่ได้มีลักษณะขาวเมื่อถูกล้างด้วยสารอินทรีย์อะซิโตไนโตรล์ และเมื่อนำมาต่อกับระบบ HPLC และฉีดสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกและกรดแอลลาจิกความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ฉีดเข้าสู่ระบบโดยเลือกเฟสเคลื่อนที่เป็น น้ำต่ออะซิโตไนโตรล์ อัตราส่วน 5:95 (โดยปริมาตร) ถ้าอัตราส่วนของน้ำมากกว่า 5% จะทำให้สารที่สนใจวิเคราะห์ ถูกหน่วงเหนี่ยวอยู่ในคอลัมน์นานและจะแยกได้ไม่ดี อัตราการไหลเท่ากับ 0.01 มิลลิลิตรต่อนาที เพราะเมื่อใช้อัตราการไหลที่สูงกว่า 0.01 มิลลิลิตรต่อนาที จะมี back pressure ที่สูงมาก ซึ่งใช้เวลาสำหรับการวิเคราะห์เท่ากับ 85 นาที



1 μ m	EHT = 20.00 kV	Scan Speed = 8	Signal A = SE1	File I = 2.668 A
	Mag = 3.00 K X	WD = 13 mm	Spot Size = 300	

รูป 4.19 การเตรียม GA-EGA-MIP ในระบบ lab on chip ที่มี channel ขนาดเล็กๆ ด้วยวิธีเตรียมแบบ Photo-polymerization และลักษณะ ของพอลิเมอร์ที่เตรียมได้ที่สองด้วยกล้อง SEM



รูป 4.20 ลักษณะโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานของกรดแกลลิก (1) และกรดเอลลาจิก (2) ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร แยกด้วย GA-EGA-MIP column

จากโครมาโทแกรมจะเห็นได้ว่าเมื่อฉีดตัวอย่างเข้าสู่ระบบ HPLC ร่วมกับระบบ lab on chip พบว่า เมื่อใช้อัตราการไหลเท่ากับ 0.01 มิลลิลิตรต่อนาที เพราะเมื่อใช้อัตราการไหลที่สูงกว่า 0.01 มิลลิลิตรต่อนาที จะมี Back pressure ที่สูงมาก และใช้เวลาสำหรับการวิเคราะห์เท่ากับ 85 นาที จะทำการเก็บตัวอย่างที่ถูกชะออกมาจากคอลัมน์ รูป 419 ตั้งแต่เวลา 20-80 นาที แล้วนำสารละลายที่เก็บใส่ขวด vial และนำไปฉีดเข้าสู่ระบบ HPLC ด้วยระบบที่พัฒนาขึ้น จะทำให้ได้ผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้อง และลดการรบกวนจากโครมาโมแกรมของสารอื่นๆ ที่ถูกสกัดออกมาด้วย

4.11 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดลำไย

นำตัวอย่างลำไยจำนวน 3 สายพันธุ์ได้แก่ พันธุ์สีชมพู, พันธุ์แก้ว และพันธุ์อีตอ มาแยกเอาเปลือกและเมล็ดไปอบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมงจนแห้งแล้วนำมาบดให้ละเอียดนำไปสกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ ส่วนเนื้อสดนำไปสกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ แล้วนำไประเหยให้แห้งจะได้ %yield ของสารสกัดดัง ตาราง 4.8 และ ตาราง 4.9

ตาราง 4.8 ผล %yield ของสารสกัด

พันธุ์ลำไย	ส่วนที่นำมาวิเคราะห์	น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)	น้ำหนักสารสกัด (กรัม)		%Yield	
			Chloroform	Ethyl acetate	Chloroform	Ethyl acetate
สีชมพู	เนื้อสด	73.5	0.03	0.0325	0.04	0.04
	เปลือกแห้ง	25.5	0.15	0.0392	0.57	0.15
	เมล็ดแห้ง	10.0	0.16	0.0426	1.62	0.42
แก้ว	เนื้อสด	192.0	0.09	0.11	0.05	0.06
	เปลือกแห้ง	54.0	0.18	0.08	0.33	0.15
	เมล็ดแห้ง	39.0	0.59	0.13	1.53	0.32
อีตอ	เนื้อสด	642.8	0.12	0.25	0.019	0.04
	เปลือกแห้ง	134.0	0.73	0.25	0.55	0.19
	เมล็ดแห้ง	123.0	1.95	0.23	1.59	0.18

ตาราง 4.9 ผล %yield ของสารสกัด

พันธุ์ลำไย	ส่วนที่นำมา วิเคราะห์	น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)	น้ำหนักสารสกัด (กรัม)		%Yield	
			เอทานอล	เมทานอล	เอทานอล	เมทานอล
สีชมพู	เนื้อสด	73.5	1.28	1.03	1.74	1.41
	เปลือกแห้ง	25.5	0.17	0.09	0.66	0.35
	เมล็ดแห้ง	10.0	0.04	0.05	0.42	0.49
แก้ว	เนื้อสด	192.0	3.50	1.95	1.82	1.02
	เปลือกแห้ง	54.0	0.87	1.21	1.61	2.23
	เมล็ดแห้ง	39.0	0.22	0.45	0.57	1.16
อีตอ	เนื้อสด	642.8	16.59	14.58	2.58	2.26
	เปลือกแห้ง	134.0	1.15	0.56	0.85	0.42
	เมล็ดแห้ง	123.0	0.63	0.43	0.51	0.35

จากหลักการดังกล่าว ถ้าในปฏิกิริยามีสารต้านอนุมูลอิสระมาก ก็จะทำให้ปฏิกิริยาการเปลี่ยนสีจากสีม่วงกลายเป็นสีเหลือง ในทางตรงกันข้ามถ้าในปฏิกิริยามีสารต้านอนุมูลอิสระน้อยจะทำให้ขบวนการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา ลดลงตามลำดับ ได้ผลการทดลองดังนี้

ซัง DPPH จำนวน 6.5 มิลลิกรัม ละลายด้วยเอทานอล จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตรด้วยเอทานอล จะได้ความเข้มข้นของสารละลาย DPPH เท่ากับ 165 ไมโครโมลาร์ ซังตัวอย่างสารสกัดลำไยให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน ตามตาราง 4.10 แล้วทำการเจือจางที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้

ตาราง 4.10 น้ำหนักของสารสกัดที่นำมาศึกษา

พันธุ์ลำไย	ส่วนที่นำมาวิเคราะห์	น้ำหนักสารสกัด (มิลลิกรัม)			
		คลอโรฟอร์ม	เอทิลอะซิเตรท	เมทานอล	เอทานอล
สีชมพู	เนื้อสด	14.60	40.00	60.00	60.00
	เปลือกแห้ง	19.60	40.00	1.65	10.04
	เมล็ดแห้ง	100.50	42.00	2.46	2.46
แก้ว	เนื้อสด	22.20	40.00	60.00	60.00
	เปลือกแห้ง	13.20	20.00	22.78	9.94
	เมล็ดแห้ง	101.50	41.60	1.98	2.11
อี๊ดอ	เนื้อสด	18.20	40.00	80.00	80.00
	เปลือกแห้ง	12.80	20.00	1.98	2.28
	เมล็ดแห้ง	116.50	38.80	2.08	1.65

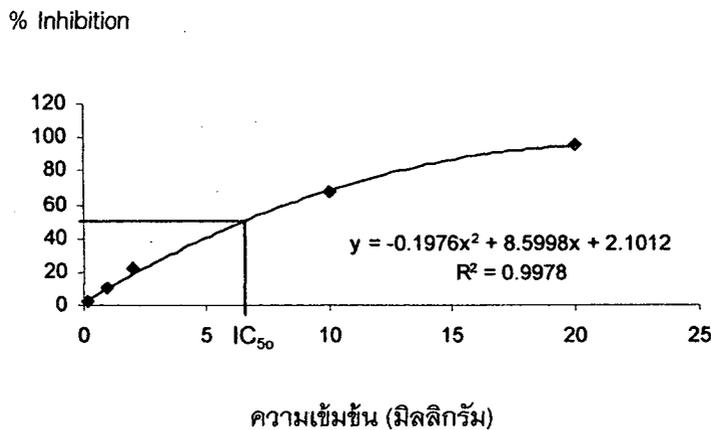
ตาราง 4.11 ค่า Inhibition concentration (IC₅₀) ของตัวอย่างสารสกัดจากลำไยที่นำมาศึกษา

ตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์	Inhibition concentration (IC ₅₀), (มิลลิกรัม)				
	คลอโรฟอร์ม	เอทิลอะซิเตรท	เมทานอล	เอทานอล	
เปลือกลำไย พันธุ์ฮีดอ	6.28	11.63	1.90	1.20	
	พันธุ์ชมพู	4.73	22.90	1.20	2.15
	พันธุ์แก้ว	4.79	11.47	5.16	1.46
เมล็ดลำไย พันธุ์ฮีดอ	92.60	39.70	0.69	0.33	
	พันธุ์ชมพู	110.60	24.27	0.43	0.59
	พันธุ์แก้ว	37.40	23.30	0.40	0.48
เนื้อลำไย พันธุ์ฮีดอ	5.77	28.30	63.18	62.58	
	พันธุ์ชมพู	6.58	15.00	50.13	49.23
	พันธุ์แก้ว	12.40	21.90	48.13	50.67
Kaempferal standard	0.012	0.012	0.012	0.012	
Quercetin standard	0.011	0.011	0.011	0.011	

ตัวอย่างการคำนวณเพื่อหาค่า IC₅₀ (มิลลิกรัม)

ตัวอย่างเนื้อลำไยพันธุ์สีชมพู สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม

ความเข้มข้น (มิลลิกรัม)	% Inhibition
0.2	1.76
1.0	10.25
2.0	21.56
10.0	67.37
20.0	95.28



จากการวิจัยการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากลำไยทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ พันธุ์อีตอ พันธุ์ชมพู และพันธุ์แก้ว ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากเปลือกลำไยทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ พันธุ์อีตอ พันธุ์ชมพู และพันธุ์แก้ว เมื่อนำมาสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ทั้ง 4 ชนิด พบว่า เมื่อนำสารสกัดไปทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay และรายงานผลด้วยค่า IC₅₀ (มิลลิกรัม) พบว่าในส่วนของสารสกัดเอทานอลจากเปลือกลำไยทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ พันธุ์อีตอ พันธุ์ชมพู และพันธุ์แก้ว มีค่า IC₅₀ ต่ำสุดแสดงว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด ในส่วนของสารสกัดเอทานอลจากเมล็ดลำไยทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ พันธุ์อีตอ พันธุ์ชมพู และพันธุ์แก้ว มีค่า IC₅₀ ต่ำสุดแสดงว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด ส่วนฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากเนื้อลำไยทั้ง 3

สายพันธุ์ พบว่าในส่วนของการสกัด คลอโรฟอร์มจากเนื้อลำไยทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ พันธุ์อีตอ พันธุ์ชมพู และพันธุ์แก้ว มีค่า IC_{50} ต่ำสุดแสดงว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด