# บทที่ 5
# สรุปผลการทดลอง

การวิเคราะห์สารทั้งสามชนิดที่มีคุณลักษณทางเคมีที่แตกต่างกัน คือสารละลายมาตรฐานผสมวิตามินซี อาร์บูตินและกรดโคจิก พร้อมกันโดยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถณะสูง(HPLC) มีวัตถุประสงค์เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการแยกสารผสมของวิตามินซี อาร์บูตินและกรดโคจิก โดยใช้คอลัมน์ ; Inertsil® ODS-3; 4.6x 250 mm ,5 µm ดีเทคเตอร์ (Detector) ; Diode Array Detector ที่ความยาวคลื่น 220 นาโนเมตร ใช้เวลาในการวิเคราะห์ 8 นาที เฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสมที่สุดได้แก่ อะซิโตไนไตรล์ต่อน้ำ อัตราส่วน 40 : 60 ร้อยละโดยปริมาตร

ค่ารีเทนชันไทม์ ของสารละลายมาตรฐานวิตามินซี มีค่าประมาณ 2.3 นาที ค่ารีเทนชันไทม์ ของสารละลายมาตรฐานอาร์บูติน มีค่าประมาณ 2.8 นาที และค่ารีเทนชันไทม์ ของสารละลายมาตรฐานกรดโคจิก มีค่าประมาณ 3.1 นาที ตามลำดับ และค่า $k'$ ของสารละลายมาตรฐานผสมทั้งสามชนิดมีค่าต่ำกว่า 10 ซึ่งค่า $k'$ จะขึ้นอยู่กับค่ารีเทนชันไทม์ ถ้าค่ารีเทนชันไทม์ มากค่า $k'$ ก็จะมากค่า $k'$ ที่ดีควรอยู่ในช่วง 1-10 เนื่องจากสารมาตรฐานดังกล่าวเกิดอัตรกิริยากับคอลัมน์ได้ช้าหรือเร็วเกินไปจึงถูกเฟสเคลื่อนที่พาสารออกมาในเวลาที่ดีพอสมควรที่สภาวะเฟสเคลื่อนที่อะซิโตไนไตรล์ต่อน้ำ 40:60 ร้อยละโดยปริมาตร และค่าเรโซลูชัน ($R_s$) ที่สภาวะอะซิโตไนไตรล์ต่อน้ำ 40:60 ร้อยละโดยปริมาตร พบว่าค่าเรโซลูชัน ($R_s$) มีค่าที่สูงที่สุด ที่ค่าเรโซลูชัน ($R_s$)ระหว่างวิตามินซีกับอาร์บูติน มีค่า 1.920 และค่าเรโซลูชัน ($R_s$) ระหว่างอาร์บูตินกับกรดโคจิก มีค่า 0.137 ซึ่งค่า $\alpha$ ระหว่างวิตามินซีกับอาร์บูติน มีค่า 1.275 และค่า $\alpha$ ระหว่างอาร์บูตินกับกรดโคจิกมีค่า 1.148 และค่า N ของสารละลายมาตรฐานวิตามินซีอาร์บูตินและกรดโคจิก มีค่า 1356.293, 4427.529, 23.281 ตามลำดับ

จากผลการวิจัยหาสภาวะที่เหมาะสมของสารละลายมาตรฐานผสมวิตามินซี อาร์บูตินและกรดโคจิกพร้อมกันโดยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรณะสูงอภิปรายผลได้ดังนี้

1. ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการแยกสารมาตรฐานวิตามินซี อาร์บูตินและกรดโคจิกในการวิเคราะห์พบว่า สารมาตรฐานวิตามินซี อาร์บูตินและกรดโคจิกเห็นพีกที่แยกออกจากกันชัดเจนเมื่อใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นอะซิโตไนไตรล์ต่อน้ำ(อัตราส่วน 40:60 ร้อยละโดย

ปริมาตร) ซึ่งถ้าสภาพความมีขั้วของเฟสเคลื่อนที่ลดลงจะทำให้สารมาตรฐานกรดโคจิกออกมาช้าหรืออยู่ในคอลัมน์นานมากขึ้น แต่ถ้าเราเพิ่มสภาพความมีขั้วขึ้นก็จะทำให้สารมาตรฐานกรดโคจิกออกมาเร็วขึ้นเพราะฉะนั้นในการเลือกใช้เฟสเคลื่อนที่ก็ควรจะเลือกสภาพที่มีขั้วเพิ่มประสิทธิภาพในการแยกสารผสมทั้ง 3 ชนิดนี้ออกจากกัน

2. การเลือกใช้ความยาวคลื่นที่ 220 นาโนเมตร จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ พบว่า สารทั้งสามชนิดมีการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นระหว่าง 220-280 นาโนเมตร เมื่อนำสารทั้งสามชนิดไปวิเคราะห์ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) ที่ความยาวคลื่น 220 นาโนเมตร ปรากฏว่าพีกของสารทั้งสามชนิดแยกออกมาได้ชัดเจน และเมื่อนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานอาร์บูตินด้วยเครื่อง ยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ เพื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายละมาตรฐานดังกล่าวมีค่าเท่ากับ 279 นาโนเมตร ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 2.426 สารมาตรฐานวิตามินซีดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 220 นาโนเมตร ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.729 และสารมาตรฐานกรดโคจิกดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 272 นาโนเมตร ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.989

3. ค่าความสามารถในการแยกพีกหรือค่ารีโซลูชัน ($R_s$) ของสารมาตรฐานวิตามินซีกับสารมาตรฐานอาร์บูตินออกจากกันมีค่าเท่ากับ 1.313 และพีกของสารมาตรฐานอาร์บูตินกับสารมาตรฐานกรดโคจิกมีค่าเท่ากับ 0.632 จะทำให้พีกทั้ง 3 พีกมีความสามารถในการแยกออกจากกันได้ดีพีกไม่เกิดการเหลื่อมล้ำกัน

4. การทดสอบวิธีวิเคราะห์กับการวิเคราะห์สารตัวอย่างที่มีสารอื่นปะปนอยู่ โดยการทดลองได้ทำการวิเคราะห์สารสกัดหยาบเกสรอินทผลัม ผลการทดลองตรวจไม่พบสารทั้ง 3 ชนิดในสารตัวอย่างสกัดหยาบนี้ แต่ก็ได้ทดสอบเพิ่มเติมด้วยการเติมสารมาตรฐานลงในสารตัวอย่างเพื่อทำการวิเคราะห์ พบว่าสามารถแยกสารทั้ง 3 ชนิดได้ตามวิธีที่ได้พัฒนา แม้ว่าเวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์จะแตกต่างออกไป ทำให้รีเทนชันไทม์เปลี่ยนแปลงเล็กน้อยแต่ลำดับการชะยังคงเหมือนเดิม ผลการทดลองที่เกิดขึ้นนี้อาจเนื่องมาจากไม่ได้ใช้คอลัมน์เดียวกันกับการทดลองในขั้นพัฒนาวิธีการ แต่คอลัมน์ที่ใช้ยังคงเป็นคอลัมน์ที่มีคุณสมบัติเดียวกันทุกประการ คือ Inertsil® ODS-3; 4.6x 250 mm ,5 µm ดังนั้นวิธีการนี้ยังสามารถใช้ได้จริงกับสารตัวอย่าง ซึ่งเป็นเพียงสารตัวอย่างสกัดหยาบ วิธีการการวิเคราะห์นี้จึงมีประโยชน์ในการใช้วิเคราะห์สารออกฤทธิ์ต่อต้านเอนไซม์ไทโรซิเนสทั้ง 3 ชนิดจากสารสกัดหยาบ