



สรุปผลการทดลอง

ได้พัฒนาอะพิลลารีอเล็กโทรโฟรีซิส (capillary electrophoresis, CE) แบบอะพิลลารีโซนอเล็กโทรโฟรีซิส (capillary zone electrophoresis, CZE) และไมเซลลารีอเล็กโทรโครมาโทกราฟี (Micellar Electrokinetic Chromatography, MEKC) สำหรับแยกและวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สนใจในตัวอย่างกวาวเครือขาว เช่น คาอิดซิน พิววาริน กวาวคูริน คาอิดเซอิน และจีนิสเตอิน โดยได้ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเคลื่อนที่และการแยกของสารที่สนใจในส่วนสกัดหัวกวาวเครือขาว สำหรับ CZE ศึกษาจากความเข้มข้นของบอเรตบัฟเฟอร์ ชนิดและปริมาณของอะซิโตน ไทโรลหรือเมทานอลที่ใช้เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ ความต่างศักย์ของการแยกสาร สำหรับ MEKC ได้จากการศึกษาความเข้มข้น SDS ความเข้มข้นของบอเรต ชนิดและปริมาณของตัวทำละลายอินทรีย์ (อะซิโตน ไทโรลหรือเมทานอล)

พบว่าภาวะที่เหมาะสมคือ CZE โดยใช้บัฟเฟอร์ที่ประกอบด้วย 60 mM $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ และ 15% v/v เมทานอล ศักย์ไฟฟ้าที่ใช้แยกสาร 25 kV พบการแยกสารที่สมบูรณ์ที่ฐานพิกของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สนใจทั้งหมดภายในเวลา 30 นาที

ได้ทำการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สนใจแต่ละชนิดในตัวอย่างกวาวเครือขาวด้วย CZE พบว่ามีความเที่ยงและความแม่นยำในระดับที่ยอมรับได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์ recovery อยู่ในช่วง 99.7 ถึง 106.6 และมี RSD < 5% อีกทั้งวิธีการวิเคราะห์นั้นมีความเที่ยงของรีเทนชันไทม์และพื้นที่ ($A_{\text{corr. สารมาตรฐาน}} / A_{\text{corr. PP}}$) ในระดับที่ยอมรับได้ โดยมี RSD < 5% ทั้งการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกันและการวิเคราะห์ต่างวันกัน

นำ CZE ที่พัฒนาขึ้นประยุกต์ใช้สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณของคาอิดซิน พิววาริน กวาวคูริน คาอิดเซอิน และจีนิสเตอินในตัวอย่างส่วนสกัดหัวกวาวเครือขาวจากแหล่งเพาะปลูกต่างกันหรือลักษณะทางพฤกษศาสตร์ต่างกันทั้งหมด 8 ตัวอย่าง โดยมีโพรพิลพาราเบนเป็น internal standard พบว่าสามารถตรวจวัดพบสารทั้ง 5 ชนิด โดยตัวอย่าง P1 มีปริมาณสารที่สนใจแต่ละชนิดมากที่สุด ยกเว้น G ที่มีปริมาณมากที่สุดในตัวอย่าง P5 ในขณะที่ตัวอย่าง P6 มีปริมาณสาร DZ, D และ K น้อยที่สุด โดยปริมาณวิเคราะห์ของ K ด้วย HPLC มีค่ามากกว่า SQL แต่ปริมาณวิเคราะห์ด้วย CZE พบว่า K มีปริมาณสารระหว่าง SDL และ SQL ซึ่งเป็นปกติทั่วไปที่ HPLC มีค่า SDL และ SQL ที่ดีกว่า CE เนื่องจาก HPLC ฉีดสารในระดับ μl ในขณะที่ CE ฉีดสารในระดับ nl อีกทั้ง HPLC มี cell path length ของ detection cell กว้างกว่า CE อย่างไรก็ตามใน CE สามารถทำปริมาณวิเคราะห์สารที่มีปริมาณต่ำกว่า SQL ได้โดยอาจเพิ่มปริมาณผงกวาวที่ซังมาให้มากขึ้น หรือเพิ่มความเข้มข้นสารให้มากขึ้น เป็นต้น ส่วนสาร P และ G มีปริมาณน้อยที่สุดในตัวอย่าง P2 และ P5

ตามลำดับ อีกทั้งพบว่าในตัวอย่างหัวกวาวเครือขาวแต่ละตัวอย่างมีปริมาณ P มากกว่าสารที่สนใจชนิดอื่น เมื่อเปรียบเทียบปริมาณวิเคราะห์ที่หาได้ด้วย CZE และ HPLC ด้วยวิธี paired t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตาม HPLC มีข้อเสียคือต้องเสียเวลาในขั้นตอนของการไล่สารประกอบอื่นๆ ออกจากคอลัมน์หลังจากที่ทำการตรวจวัดสารตัวอย่างแล้วประมาณ 25 ถึง 30 นาที อีกทั้งปริมาณของเฟสเคลื่อนที่ที่ใช้มีปริมาณมาก ทำให้สิ้นเปลือง

ดังนั้น CZE จึงน่าจะเป็นอีกทางเลือกสำหรับวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญในส่วนสกัดหัวกวาวเครือขาว ซึ่งใช้เวลาในการวิเคราะห์ที่ไม่ยาวนานนักและการเตรียมตัวอย่างทำได้ง่าย