หอสมุดกลาง

บทที่ 4

การอภิปรายผลการวิจัยและข้อสรุป

เนื่องจากไรโบฟลาวินละลายได้ดีในกรดหรือด่าง แต่ถ้านำไปวิเคราะห์หาปริมาณโดยใช้โพลาโรกราฟิคเทคนิคแล้ว เมื่อทำในกรดจะเกิด adsorption prewave [31] ดังนั้นเพื่อให้ง่ายขึ้นจึงเลือกใช้ pH ที่สูงกว่า 6 แต่มีข้อที่ต้องระวังคือ ไรโบฟลาวินจะสลายตัวอย่างรวดเร็วในด่างถ้าถูกแสง ได้ทำการทดลองหา $E_{\frac{1}{2}}$ ของสารละลายในด่าง pH ต่าง ๆ กัน พบว่าถ้า pH สูงขึ้น $E_{\frac{1}{2}}$ จะเลื่อนไปในทางลบเพิ่มขึ้น ทำนองเดียวกับผลการทดลองของ Muller [31,43] แต่ $E_{\frac{1}{2}}$ จากการทดลองครั้งนี้เป็นเพียงค่าเปรียบเทียบเพื่อหาความสัมพันธ์เท่านั้น ยังไม่ใช่ค่าที่แท้จริงเพราะไม่ได้เทียบกับ S.C.E. (Saturated Calomel Electrode)

ความเข้มข้นของสารที่ใช้ในทางโพลาโรกราฟีมักนิยมใช้ในขนาด 10^{-4} - 10^{-3} M ซึ่งถือว่าจะให้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นและ diffusion current (i_d) ความเข้มข้นนี้อยู่ระหว่าง 3.76 - 37.6 มก. % ไวตามินบี 2 ที่เลือกใช้คือ 4 - 10 มก. % เพราะค่อนข้างต่ำ แต่ให้ wave ที่ดี และใช้ได้

เมื่อเตรียมสารละลายจากไรโบฟลาวินจำนวนเท่ากันใน buffer pH ต่าง ๆ กัน พบว่าสารละลายใน pH 8 9 10 มีลักษณะแบบเดียวกันและขุ่นเล็กน้อย ส่วนสารละลาย pH 11 12 ใสสีเหลืองทอง ไม่เรืองแสง การละลายของไรโบฟลาวินใน buffer pH 12 ง่ายและรวดเร็วมาก แต่ถ้า pH 8 ต้องใช้เวลาในการเขย่านาน และไม่ทราบว่าไรโบฟลาวินจะละลายหมดหรือไม่ เช่น กรณีของยาเม็ดและยาน้ำจะทำให้ผิดพลาดได้

จากตารางที่ 2 จะเห็นว่าสารละลายของไรโบฟลาวินใน pH 8 ที่อยู่ในด่างนาน 30 นาที จะให้ค่ากระแสต่ำกว่าที่อยู่ในด่างนาน 3 ชม. แสดงว่าเมื่อทิ้งไว้นาน ๆ ในที่มืด ไวตามินบี 2 ละลายได้มากขึ้น แต่ถ้าทิ้งไว้นาน 3 ชม. ในที่สว่าง ไวตามินบี 2 ในด่างจะสลายตัวไปบ้าง ทำให้ i_d ลดลง ส่วนใน pH 12

มีความเป็นด่างสูงพอทำให้บี 2 ละลายได้หมดภายใน 30 นาที ดังนั้น ถึงแม้จะทิ้งไว้นาน 3 ชม. ก็ไม่มีการละลายต่อไปอีก แต่อาจมีการสลายตัวของบี 2 บ้าง ถ้าทิ้งไว้นานเกินควร หรือเพราะมีความผิดพลาดจากการวัด เนื่องจาก i_d ลดลงเพียงเล็กน้อย ส่วนที่ทิ้งไว้ในที่สว่างก็จะสลายตัวเช่นกัน

A.M. Saleh แนะนำให้ใช้ sodium salicylate ป้องกันการสลายตัวเนื่องจากแสง [4] เมื่อทดลองกับสารละลาย pH 12 ปรากฏว่าไม่ให้ผลดีเท่าที่ควร จึงไม่ใช้ stabilizer แต่ป้องกันแสงตลอดเวลา และบันทึกโพลาโรแกรมในทันทีที่เตรียมสารละลายเสร็จ สำหรับสารละลายมาตรฐานก็ทำเช่นเดียวกัน เพื่อแก้ไขข้อผิดพลาดที่จะเกิดมีขึ้น

การทดลองกับยาเม็ดและยาฉีดไวตามินบี 2 ได้ผลดี โดยให้โพลาโรแกรมที่ดี เทียบกับการใช้ Spectrophotometry แล้วปรากฏว่าค่าโดยเฉลี่ยของ 2 วิธีนี้แตกต่างกัน 0.27 % โดยที่วิธี Spectrophotometry ให้ผลสูงกว่าโพลาโรกราฟี ซึ่งอธิบายได้ว่าเนื่องจากมีเศษหัก ๆ ของยาเม็ดแขวนตัวอยู่ในสารละลายด้วย ทำให้ความเข้มข้นของบี 2 ใน cell เปลี่ยนไป (แต่ทั้งสองค่าก็อยู่ในมาตรฐานของเภสัชตำรับ) ค่าทาง Spectrophotometry ที่ค่อนข้างสูงอาจเป็นได้อีกกรณี คือการใช้ Sintered Glass Filter No. 3 แต่สารละลายที่ได้ก็ยังไม่ใสทีเดียว ผลที่ได้ก็จะผิดพลาดไปบ้าง

เมื่อทดลองกับยาเม็ดและยาฉีดบีคอมเพล็กซ์ ก็สามารถทำได้โดยวิธีเดียวกัน เทียบกับ Spectrophotometry พบว่าค่าเฉลี่ยจะแตกต่างกันอยู่ 0.20 % โดยที่ Spectrophotometry ต่ำกว่าโพลาโรกราฟี เนื่องจาก Spectrophotometry ใช้กรองผ่านกระดาษกรอง No. 1 แต่สารละลายมาตรฐานไม่ได้กรอง กระดาษอาจดูดซึมบี 2 ไปบางส่วน ทำให้ % ที่ได้ลดต่ำลงกว่าที่เป็นจริง

มีปัญหาอยู่บ้างในกรณีที่เกิดฟองขณะผ่านไนโตรเจน จนไม่สามารถทำงานได้ จึงใช้ antifoaming agent ช่วย และแก้ไขโดยหยดลงในสารละลายมาตรฐานด้วยเท่า ๆ กัน

สำหรับยาน้ำบีคอมเพล็กซ์ ได้ทดลองทั้งยาน้ำเชื่อม และชนิดหยด ปรากฏว่าไม่ให้โพลาโรแกรม พบว่าแต่ละสูตรมักจะใช้ liquid glucose เป็นตัวทำละลาย หรือบางสูตรก็ใส่พวก citric acid หรือ preservative เช่น EDTA ซึ่งสารเหล่านี้จะรบกวนการวิเคราะห์

ยาเม็ดพวกมัลติไวตามิน จะประกอบด้วยไวตามินที่ละลายในน้ำมันด้วย พวกนี้จะไปเคลือบผิวหน้าของ electrode ทำให้เป็นอุปสรรคในการ deposite ของไวตามินบี 2 เมื่อสกัดออกไปด้วย chloroform แล้วนำไปเข้าเครื่องโพลาโรกราฟ ก็จะให้โพลาโรแกรม นอกจากนี้ยังมียาเม็ดมัลติไวตามินอีกพวกที่มีเกลือแร่ผสมด้วย จะไม่ให้โพลาโรแกรม เนื่องจากสารพวกนี้จะรบกวนการวิเคราะห์ [17] มีอยู่ตัวอย่างหนึ่งที่ให้โพลาโรแกรม แต่มีค่า i_d ต่ำมาก สันนิษฐานว่ามีเกลือแร่จำนวนน้อย จึงมีบางส่วนของไรโบฟลาวินให้กระแสได้บ้าง สำหรับยาน้ำมัลติไวตามิน ก็ไม่ให้โพลาโรแกรม เพราะมีทั้งไวตามินที่ละลายในน้ำมัน ตัวทำละลาย และ preservative ที่รบกวนการวิเคราะห์

การใช้โพลาโรกราฟิค เทคนิควิเคราะห์หาปริมาณของไรโบฟลาวินในสารละลายที่เป็นด่าง สามารถทำได้ง่าย ๆ ตามการทดลองนี้ โดยเพียงแต่ละลายตัวอย่างใน buffer เท่านั้นก็จะให้โพลาโรแกรมได้ และผลการทดลองก็สามารถเชื่อถือได้ด้วย pH 12 ที่เลือกใช้ จะให้ความสดวกในการละลายตัวอย่างโดยเร็วและแน่นอน แต่จะมีข้อยุ่งยากอยู่บ้าง คือต้องป้องกันแสง ถ้าจะให้ดียิ่งขึ้น ควรใช้ stabilizer ที่มีความสามารถจริง ๆ สำหรับวิธีนี้ก็นับว่าสามารถหาปริมาณไรโบฟลาวินได้แม่นยำพอสมควรทีเดียว และที่สำคัญ คือ จะทำได้รวดเร็วและง่ายมาก