บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.1.1 เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV-Vis Spectrophotometer, G10S, Thermo Scientific, China)

3.1.2 เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography, Water, USA)

3.1.3 เครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนสุญญากาศ (Vacuum Rotary Evaporator, Buchi, China)

3.1.4 เครื่องวัดความเป็นกรด-เบส (pH mater, Hanna Hi 9321, China)

3.1.5 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Sartorious, CPA3245, England)

3.1.6 ไมโครปิเปต (Micropipette, Rainin Instrument, LLC, METTLER TOLEDO Company, USA)

3.1.7 หัวกรองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.2 ไมโครเมตร (Filter membrane)

3.1.8 ขวดฉีดสารตัวอย่างแบบอัตโนมัติ (Vial)

3.1.9 ขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask)

3.1.10 หลอดทดลอง (Test tube)

3.3.11 ช้อนตักสาร (Spatula)

3.1.12 บีกเกอร์ (Beaker)

3.1.13 แท่งแก้วคนสาร (Stirring rod)

3.1.14 กระดาษกรองเบอร์ 5 (Whatman No.5)

3.1.15 ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)

3.1.16 อลูมิเนียมฟอยล์ (Aluminum foil)

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

3.2 สารเคมี

3.2.1 ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Disodium hydrogen phosohate, Na_2HPO_4, Analytical Reagent Grade, La Jota, Spain)

3.2.2 โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Sodium dihydrogen phosphate, $NaH_2PO_4{\cdot}H_2O$, Analytical Reagent Grade, Ajax Finechem, Australia)

3.2.3 เอนไซม์แซนทีนออกซิเดส (Xanthine Oxidase, 5 kU Sigma-Aldrich, USA)

3.2.4 แซนทีน (Xanthine, $C_5H_4N_4O_2$, Sigma-Aldrich, China)

3.4.5 อัลโลพิวรินอล (Allopurinol, $C_5H_4N_4O$, Laboratory Reagent Grade, USA)

3.2.6 เอทานอล (Ethanol, C_2H_5OH, Analytical Reagent Grade, Merck, Germany)

3.2.7 กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid, HCl, Analytical Reagent Grade, Ajax Finechem, Australia)

3.2.8 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide, NaOH, Analytical Reagent Grade, Ajax Finechem, Australia)

3.2.9 เควอซิติน (Quercetin, $C_{15}H_{10}O_7$, Sigma-Aldrich, Analytical Reagent Grade, China)

3.2.10 เฟอร์ริกคลอไรด์ (Ferric chloride, $FeCl_3$, Laboratory Reagent Grade, Ajax Finechem, Australia)

3.2.11 อลูมิเนียมคลอไรด์ (Aluminium chloride, $AlCl_3$, Analytical Reagent Grade, Ajax Finechem, Australia)

3.2.12 กรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid, H_2SO_4, Chemikit, Commercial Grade, Thailand)

3.2.13 ไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane, CH_2Cl_2, Chemikit, Commercial Grade, Thailand)

3.2.14 แอมโมเนีย (Ammonia, NH_3, Chemikit, Commercial Grade, Thailand)

3.2.15 ไดเอทิลอีเทอร์ (Diethyl ether, $(C_2H_5)_2O$, Panreac Quimica SAU, Commercial Grade, EU)

3.2.16 ลวดแมกนีเซียม (Magnesium Wire, Mg, Chemikit, Commercial Grade, Thailand)

3.2.17 กรดอะซิติก (Acetic Acid, CH_3COOH, Chemikit, Commercial Grade, Thailand)

3.2.18 อะซิโตไนไตรล์ (Acetonitrile, CH_3CN, Burdick & Jackson, HPLC Grade, USA)

3.2.19 น้ำปราศจากไอออน (Deionized Water, H_2O, Burdick & Jackson, HPLC Grade, USA)

3.2.20 ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (Dimethyl sulfoxide, $(CH_3)_2SO$, Fisher Scientific, Analytical Grade, UK)

3.3 การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการทดลอง

3.3.1 การเตรียมสารละลายโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.05 โมลาร์ (pH 7.5)

ชั่ง Na_2HPO_4 หนัก 2.3636 กรัม และ $NaH_2PO_4.H_2O$ หนัก 1.1521 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรประมาณ 500 มิลลิลิตร แล้วปรับ pH ให้ได้ 7.5

3.3.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานแซนทีนความเข้มข้น 0.15 มิลลิโมลาร์

เตรียมสารละลายแซนทีนเข้มข้น 15 มิลลิโมลาร์ โดยชั่งแซนทีน หนัก 0.0570 กรัม ละลายด้วย NaOH เข้มข้น 1 โมลาร์ เล็กน้อย แล้วเทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 25.00 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.05 โมลาร์ (pH 7.5) ให้ได้ปริมาตร 25.00 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางสารละลายแซนทีนให้ได้ความเข้มข้น 0.15 มิลลิโมลาร์ โดยปิเปตต์สารละลายแซนทีนเข้มข้น 15 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 50.00 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.05 โมลาร์ (pH 7.5) ให้ได้ปริมาตร 50.00 มิลลิลิตร

3.3.3 การเตรียมสารละลายมาตรฐานอัลโลพิวรินอลความเข้มข้น 0.68 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ชั่งอัลโลพิวรินอลหนัก 0.0340 กรัม ละลายด้วย NaOH เข้มข้น 1 โมลาร์ เล็กน้อย ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 50.00 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.05 โมลาร์ (pH 7.5) ให้ได้ปริมาตร 50.00 มิลลิลิตร

3.3.4 การเตรียมสารละลายเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสความเข้มข้น 0.1 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

เตรียมสารละลายเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสความเข้มข้น 1 ยูนิตต่อมิลลิลิตร โดยทำการละลายเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.05 โมลาร์ (pH 7.5) ที่เย็นปริมาตร 5 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0.1 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เย็น

3.3.5 การเตรียมสารละลายมาตรฐานเควอซิติน

ชั่งเควอซิตินหนัก 0.025 กรัม ละลายด้วยเอทานอลเข้มข้นเล็กน้อย แล้วถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25.00 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยเอทานอลร้อยละ 50 โดยปริมาตร จะได้สารละลายเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นเจือจางให้ได้สารละลายความเข้มข้นที่ต้องการด้วยเอทานอลร้อยละ 50 โดยปริมาตร

3.3.6 การเตรียมสารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 2 โดยปริมาตร

ชั่งอลูมิเนียมคลอไรด์หนัก 0.2 กรัม ละลายด้วยน้ำเล็กน้อย จากนั้นถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 10.00 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรครบ 10.00 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

3.3.7 การเตรียมสารละลายเฟอริกคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 1 โดยปริมาตร

ชั่งเฟอริกคลอไรด์หนัก 0.1 กรัม ละลายด้วยน้ำเล็กน้อย จากนั้นถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 10.00 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรครบ 10 มิลลิลิตร

3.3.8 การเตรียมน้ำยาดราเจนดอร์ฟ

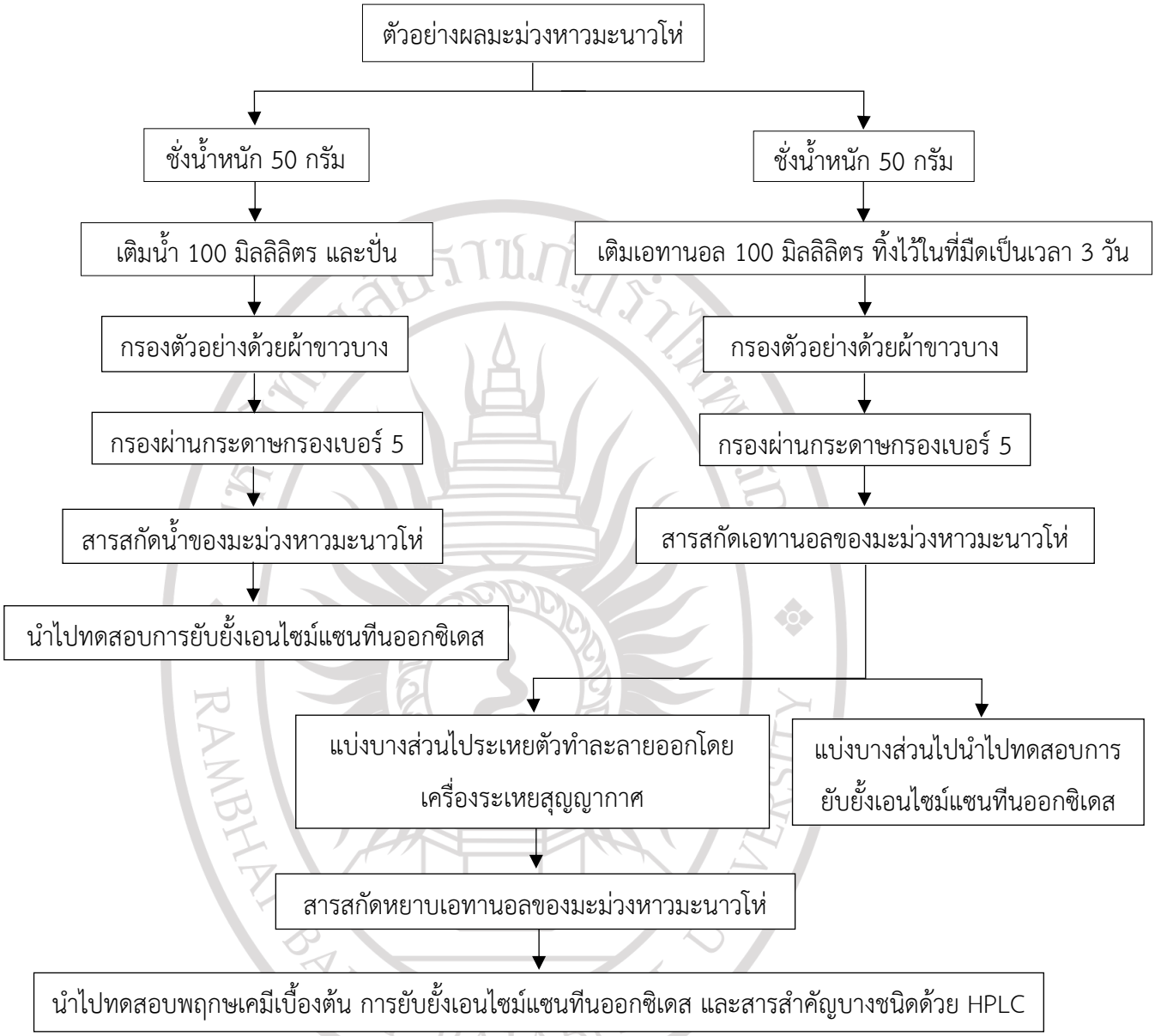
ละลายสารต่อไปนี้ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ได้แก่ บิสมัตซับไนเตรต 8 กรัม กรดไนตริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร และโพแทสเซียมไอโอไดด์ 27.2 กรัม

3.4 การเก็บตัวอย่าง

สุ่มเก็บตัวอย่างผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ จากต้นที่มีอายุมากกว่า 10 ปี จากพื้นที่ใน ต.ท่าช้าง อ.เมือง จ.จันทบุรี ช่วงเดือนตุลาคม ถึงเดือนธันวาคม โดยเก็บผลของมะม่วงหาวมะนาวโห่แยกเป็นสองลักษณะคือ ผลห่ามที่มีสีชมพูถึงแดง และผลสุกที่มีสีม่วงเข้มถึงดำ มาทำการสกัดและทดสอบการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส

3.5 การเตรียมตัวอย่างสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่

นำผลมะม่วงหาวมะนาวโห่มาล้างให้สะอาด ผึ่งลม หั่น แยกเมล็ดออก และสับเป็นชิ้นเล็ก ๆ ในการสกัดด้วยน้ำทำโดยการชั่งผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่สับแล้วให้ได้น้ำหนัก 50 กรัม แล้วนำมาปั่นกับน้ำ 100 มิลลิลิตร จากนั้นกรองแยกส่วนกากกับสารละลายออกจากกันด้วยผ้าขาวบาง และกรองซ้ำด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 ส่วนการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล ทำโดยชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 50 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วทำการสกัดด้วยวิธีการหมักแช่ โดยเติมเอทานอลลงไป 100 มิลลิลิตร แล้วปิดขวดรูปชมพูให้สนิท ตั้งทิ้งไว้นาน 3 วัน ในที่มืด จากนั้นกรองแยกส่วนกากกับสารละลายของมะม่วงหาวมะนาวโห่ออกจากกันด้วยผ้าขาวบาง และกรองซ้ำด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 โดยแบ่งบางส่วนนำไปทดสอบการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส และที่เหลือนำไประเหยตัวทำละลายออกโดยเครื่องระเหยสุญญากาศเพื่อให้ได้สารสกัดหยาบ แสดงขั้นตอนดังภาพที่ 3.1



ภาพที่ 3.1 ขั้นตอนการสกัดตัวอย่างมะม่วงหาวมะนาวโห่

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

3.6 การตรวจสอบพฤกษเคมีเบื้องต้น

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการตรวจสอบพฤษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบมะม่วงหาวมะนาวโห่ผลห่ามและผลสุก 8 ชนิด คือ สารประกอบฟีนอลิก แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ แอนทราควิโนน เทอร์พีนอยด์ ซาโปนิน คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ และอิริดอยด์ไกลโคไซด์ วิธีการตรวจสอบดังนี้ (สุนิษา สุวรรณเจริญ และคณะ, 2560 : หน้า 521-530)

3.6.1 การตรวจสอบฟีนอลิก

ชั่งสารสกัดหยาบ 0.04 กรัม เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร นำไปอุ่น แล้วเติมสารละลายเฟอริกคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 1 โดยปริมาตร 2-3 หยด ลงไปในของเหลว หากปรากฏสีเขียวปนดำ เขียวปน น้ำตาล ดำปนน้ำตาล ม่วง หรือน้ำเงินปนดำ แสดงว่าพบสารประกอบฟีนอลิก

3.6.2 การตรวจสอบแอลคาลอยด์

ชั่งสารสกัด 0.02 กรัม ละลายด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น ร้อยละ 2 โดยปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปอุ่นประมาณ 2-3 นาที แล้วนำไปหยดน้ำยาดราเจนดอร์ฟ (Dragendorff's reagent) หากปรากฏตะกอนสีส้มแดงแสดงว่าพบแอลคาลอยด์

3.6.3 การตรวจสอบฟลาโวนอยด์

ชั่งสารสกัด 0.02 กรัม สกัดสีของสารสกัดออกด้วยไดเอทิลอีเทอร์ครั้งละ 5 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้ง ละลายสารสกัดส่วนที่เหลือด้วยสารละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 โดยปริมาตร 3 มิลลิลิตร ใส่ลวดแมกนีเซียมชิ้นเล็ก ๆ ลงไป 2-3 ชิ้น นำไปต้ม และหยดกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น หากได้สารละลายสีเหลือง ส้ม หรือแดง แสดงว่าพบฟลาโวนอยด์

3.6.4 การตรวจสอบแอนทราควิโนน

ชั่งสารสกัด 0.02 กรัม เติมสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปอุ่น 5 นาที แล้วปล่อยให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เติมสารละลายแอมโมเนียเข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาตร 2-3 หยด หากเกิดสีชมพูถึงแดงในชั้นด่างแสดงว่าพบแอนทราควิโนน

3.6.5 การตรวจสอบเทอร์พีนอยด์

ชั่งสารสกัด 0.02 กรัม สกัดสีของสารสกัดออกด้วยไดเอทิลอีเทอร์ครั้งละ 5 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้ง เติมไดคลอโรมีเทน 2 มิลลิลิตร เขย่า และค่อย ๆ เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น หากเกิดสีน้ำตาลแดงระหว่างรอยต่อของสารละลายแสดงว่าพบเทอร์พีนอยด์

3.6.6 การตรวจสอบซาโปนิน

ชั่งสารสกัด 0.02 กรัม เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร นำไปต้มให้เดือด แล้วนำมาเติมน้ำกลั่น 2-3 มิลลิลิตร เขย่าอย่างแรง หากมีฟองเกิดขึ้นนาน 30 นาที แสดงว่าพบซาโปนิน

3.6.7 การตรวจสอบคาร์ดิแอกไกลโคไซด์

แบ่งการทดสอบออกเป็น 2 ส่วน ตามโครงสร้างพื้นฐานของคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ คือ ส่วนสเตียรอยด์ และส่วนน้ำตาลดีออกซี การทดสอบทำได้ดังนี้ ชั่งสารสกัด 0.02 กรัม สกัดสีออกด้วยไดเอทิลอีเทอร์ ครั้งละ 5 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้ง ละลายสารสกัดด้วย 80% เอทานอล ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ทดสอบส่วนสเตียรอยด์ด้วยการทดสอบลีเบอร์แมน (Liebermann test) โดยการเติมกรดแกเชียลอะซิติก 3 หยด และกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 3 หยด ถ้าปรากฏสีน้ำเงิน หรือน้ำเงินเขียว แสดงว่าพบสเตียรอยด์ และทดสอบส่วนน้ำตาลดีออกซีด้วยการทดสอบเคลเลอร์-คิเลียนิ (Keller-Kiliani test) ซึ่งประกอบด้วยกรดอะซิติก 1 มิลลิลิตร และสารละลายเฟอริกคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาตรประมาณ 1-2 หยด ผสมให้เข้ากันเอียงหลอดทดลอง ค่อย ๆ หยดกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1 มิลลิลิตร ลงไปตามผนังด้านในของหลอดทดลองให้เกิดการแยกชั้น หากปรากฏวงแหวนสีน้ำตาลแดงบริเวณรอยต่อระหว่างสารสกัดกับกรดซัลฟิวริก แสดงว่าพบน้ำตาลดีออกซี

3.6.8 การตรวจสอบอิริดอยด์ไกลโคไซด์

ชั่งสารสกัด 0.02 กรัม เติมกรดแอซีติก 5 มิลลิลิตร เติมสารละลาย คอปเปอร์ (II) ซัลเฟตร้อยละ 2 โดยปริมาตร 1 มิลลิลิตร และเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตร ถ้าสารละลายกลายเป็นสีน้ำเงิน หรือสีน้ำตาล แสดงว่าพบอิริดอยด์ไกลโคไซด์

3.7 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสในสารสกัดจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ ทำโดยใช้สารละลายมาตรฐานอัลโลพิวรินอลเป็นตัวควบคุมเชิงบวก ขั้นตอนการทดสอบทำโดยผสมสารละลายมาตรฐานอัลโลพิวรินอลหรือสารสกัดตัวอย่าง 100 ไมโครลิตร (ละลายด้วยไดเมทิลซัลฟอกไซด์) 0.15 มิลลิโมลาร์ แซนทีน 300 ไมโครลิตร สารละลายโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.05 M (pH 7.5) 550 ไมโครลิตร และ 0.1 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ของเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส 50 ไมโครลิตร นำสารละลายที่ผสมแล้วไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาว

คลื่น 295 นาโนเมตร บันทึกผลที่เวลาเริ่มต้นปฏิกิริยา และที่เวลาผ่านไป 5 นาที (Owen & Johns, 1999 : pp 149-160) รายละเอียดการผสมสาร แสดงดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 รายละเอียดการผสมสารละลายสำหรับทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส

รายการ	**ตัวควบคุม (ไมโครลิตร)**	**ตัวอย่าง (ไมโครลิตร)**
สารละลายตัวอย่าง	-	100
ตัวทำละลายที่ใช้ในการละลายตัวอย่าง	100	-
สารละลายโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH เท่ากับ 7.5) เข้มข้น 0.05 โมลาร์	550	550
สารละลายแซนทีนเข้มข้น 0.15 มิลลิโมลาร์	300	300
สารละลายเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส 0.1 ยูนิต	50	50

ค่าการดูดกลืนแสงที่ได้นำไปทำการคำนวณหาค่าร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส (%Inhibition) มีสูตรการคำนวณดังสมการที่ (1)

$$\%\text{Inhibition} = \frac{(\Delta A_{control} - \Delta A_{sample})}{\Delta A_{control}} \times 100 \quad (1)$$

โดยที่ $\triangle A_{control}$ = ผลต่างของการดูดกลืนแสงของตัวควบคุมที่เวลาเริ่มต้นถึงเวลาที่ 5 นาที

$\triangle A_{sample}$ = ผลต่างของการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่เวลาเริ่มต้นถึงเวลาที่ 5 นาที

จากนั้นนำค่า %Inhibition ที่ได้ ไปหาค่า IC_{50} (ค่าความเข้มข้นที่ยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสได้ร้อยละ 50) โดยทำการพล็อตกราฟระหว่าง %Inhibition และความเข้มข้นของตัวอย่าง (มิลลิกรัมต่อลิตร) เมื่อได้สมการเส้นตรง (y = mx + c) แล้วแทนค่า y เท่ากับ 50 เพื่อแก้สมการหาค่า x ซึ่งคือค่าความเข้มข้นที่ยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสได้ร้อยละ 50

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

3.8 การวิเคราะห์หาเควอซิตินในผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ในเชิงคุณภาพด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการวิเคราะห์หาสารเควอซิตินในผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ ซึ่งเควอซิตินคือสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่พบได้ในพืชหลายชนิด และมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสได้ดี (Selloum, L. et al. 2011 : pp 49-56) ในการวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) ได้ทำการเตรียมสารสกัดหยาบของผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ในระยะผลห่าม และผลสุกที่ความเข้มข้น 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยละลายในเมทานอล นำสกัดผ่าน Solid phase extraction C8 (SPE C8) แล้วทำการกรองด้วยหัวกรองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.2 ไมโครเมตร ลงในขวดฉีดสารตัวอย่างแบบอัตโนมัติ (Vial) ก่อนนำไปฉีดเข้าเครื่อง HPLC ภายใต้สภาวะการทดลอง ดังตารางที่ 3.2 (Sanghavi, Bhosale & Malode, 2014 : pp 594-597)

ตารางที่ 3.2 สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาสารเควอซิติน

ตัวแปร	สภาวะที่เหมาะสม
เฟสเคลื่อนที่ ระบบไอโซเครติก	A = เมทานอล B = กรดฟอสฟอริก ร้อยละ 0.1 โดยปริมาตร A ร้อยละ 65, B ร้อยละ 35; เวลาในการวิเคราะห์ 30 นาที
คอลัมน์	C18 ขนาด 250 มิลลิเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 4.6 มิลลิเมตร
ส่วนตรวจวัด	Photodiode Array Detector ความยาวคลื่น 370 นาโนเมตร

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี