บทที่ 4

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

4.1 การวิเคราะห์หาปริมาณพาราเซตามอลในยาแก้ปวด

การวิเคราะห์หาปริมาณพาราเซตามอลในยาแก้ปวด 5 ชนิด ได้แก่ Decolgen Tablets, Paracetamol Tablets B.P.1973, Paracetamol Tablets B.P.C.1968, Beramol Syrup และ Paracetamol Elixer โดยใช้ 2 เทคนิคเปรียบเทียบกันได้ผลสรุปดังต่อไปนี้

4.1.1 VIS spectroscopy (colorimetry)

ในการวิเคราะห์หาปริมาณพาราเซตามอลในยาแก้ปวดโดยอาศัยหลักการไฮโดรไลส์พาราเซตามอลทำให้เกิดกรดอะซิโตไฮดรอกซามิก ซึ่งจะจับกับเฟอร์ริกคลอไรด์ทำให้เกิดสารประกอบสีม่วงแดงของเฟอร์ริก อะซิโตไฮดรอกซาเมทที่ดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 510-515 nm พบว่าสิ่งที่มีอิทธิพลต่อการเกิดสารประกอบดังนี้คือ

ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์และระยะเวลาในการต้มสารละลาย , ความเข้มข้นของไฮดรอกซิลามิน ไฮโดรคลอไรด์ , ความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริก และตัวทำละลายที่ใช้ (ผลดังรูป 2.2, 2.3, ตาราง 2.1 และตาราง 2.2)

ความแม่นยำของเทคนิคนี้มีค่าไม่ค่อยดีนัก กล่าวคือ มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ± 9.22 % การหาความถูกต้องในรูปของ % recovery โดยทำ standard addition พบว่ายาแต่ละชนิดจะมีค่าต่างกัน นั่นคือ ยา decolgen จะมี %recovery ต่ำสุด คือ 84.33 ยา Paracetamol Elixer มีค่าสูงสุดคือ 108.17 ในขณะที่ยา

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Paracetamol B.P.1973 มี % recovery 100 ซึ่งความแตกต่างนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากส่วนประกอบที่มีอยู่ในยา จากการทดลองพบว่า phenylpropanolamine. HCl มีผลรบกวนต่อการวิเคราะห์ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงของสารที่ศึกษาลดลง

การหาปริมาณของพาราเซตามอลในยาแก้ปวดโดยทำแบบ standard addition พบว่ามี % label amount ของพาราเซตามอลต่างกัน กล่าวคือ ยา Decolgen, Paracetamol B.P. และ Paracetamol B.P.C. ปริมาณพาราเซตามอลที่วิเคราะห์ได้จะใกล้เคียงกับปริมาณที่ระบุไว้ (ตาราง 2.21) แต่ยา Beramol Syrup และ Paracetamol Elixer ปริมาณที่วิเคราะห์ได้จะมากกว่าปริมาณที่ระบุไว้มาก คือมี % label amount 166.67 และ 187.50 ตามลำดับ ซึ่งเมื่อนำค่านี้ไปพิจารณาเทียบกับค่า % recovery ของยาตัวอย่างทั้งสองพบว่ามีค่าสอดคล้องกันคือ การวิเคราะห์หาปริมาณพาราเซตามอลในยาทั้ง 2 ชนิดโดยเทคนิคนี้จะได้ค่ามากกว่าที่มีอยู่จริง

4.1.2 <u>Spectrofluorometry</u>

การวิเคราะห์หาปริมาณพาราเซตามอลในยาแก้ปวดโดยเทคนิคนี้ ใช้ $KMnO_4$ ออกซิไดส์พาราเซตามอล หลังจากกำจัด Oxidising agent ที่มากเกินพอด้วยกรดแอสคอร์บิกจะได้สารเรืองแสงโดยฉายแสงที่มีความยาวคลื่นเท่ากับ 330 nm และจะคายแสงออกมาที่ความยาวคลื่น 430 nm พบว่าเทคนิคนี้มีความแม่นยำดีพอสมควร กล่าวคือ มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ±0.03 และมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ± 4.26 % และเมื่อศึกษาความถูกต้องของการวิเคราะห์ก็พบว่ามีความถูกต้องสูง คือ มี % recovery อยู่ในช่วง 101.04-102 การหาปริมาณพาราเซตามอลโดยเทคนิคนี้พบว่า phenylpropanolamine. HCl และ chlorpheniramine maleate มีผลรบกวนต่อการวิเคราะห์ เพื่อหลีกเลี่ยงผลนี้จึงหาปริมาณพาราเซตามอลในยาแก้ปวดโดยทำ standard addition ซึ่งพบว่ามี % label amount ของพาราเซตา-

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

มอลแตกต่างกันมาก กล่าวคือ เมื่อวิเคราะห์หาปริมาณพาราเซตามอลในยา Decolgen, Beramol Syrup และ Paracetamol Elixer โดยใช้เทคนิคนี้พบว่าได้ใกล้เคียงกับที่ระบุไว้ในขณะที่ยา Paracetamol B.P. และ Paracetamol B.P.C. ได้ปริมาณพาราเซตามอลมากกว่าที่ระบุไว้มาก (ดูตาราง 2.21)

เมื่อเปรียบเทียบการวิเคราะห์หาปริมาณพาราเซตามอลในยาแก้ปวดโดยเทคนิคทั้ง 2 ในด้านความแม่นยำ โดยพิจารณาค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทำได้โดยการทดสอบนัยสำคัญทางสถิติ คือ ใช้ F test เพื่อเป็นการทดสอบว่าเทคนิคทั้ง 2 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญหรือไม่ (F คืออัตราส่วนของ varian ของทั้ง 2 วิธี) จากการคำนวณค่า F โดยนำค่ากำลังสองของ standard deviation (varian) ของวิธี spectrofluorometry เปรียบเทียบกับวิธี colorimetry จะได้ค่า F เท่ากับ 0.0002 ค่า F จากตารางที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % มีค่าเท่ากับ 3.18 ซึ่งค่าที่คำนวณได้จะมีค่าน้อยกว่า แสดงว่าความแตกต่างในความแม่นยำของทั้ง 2 วิธีไม่มีนัยสำคัญ

เมื่อพิจารณาความถูกต้องของเทคนิคทั้ง 2 โดยดูจากค่า % recovery ซึ่งวิธี colorimetry ได้จากการทำ standard addition แต่ spectrofluorometry ได้จากการวิเคราะห์หาปริมาณพาราเซตามอลในสารละลายยาผสมซึ่งประกอบด้วยยามาตรฐานที่ยาตัวอย่างแต่ละชนิดระบุไว้ พบว่าวิธี spectrofluorometry มีความถูกต้องสูงกว่าวิธี colorimetry

เมื่อพิจารณาผลการวิเคราะห์หาปริมาณพาราเซตามอลในยาแก้ปวดพบว่าในยา Decolgen ปริมาณพาราเซตามอลที่วิเคราะห์ได้โดยเทคนิคทั้ง 2 มีค่าใกล้เคียงกัน และได้ค่าใกล้เคียงกับที่ระบุไว้ แต่ในยา Beramol Syrup, Paracetamol Elixer, Paracetamol B.P. และ Paracetamol B.P.C. ให้ผลการวิเคราะห์โดย 2 เทคนิคมีค่าตรงข้ามกัน (ดังกล่าวมาแล้วข้างต้น) สาเหตุ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ที่เป็นเช่นนี้อาจจะเนื่องมาจากส่วนประกอบในยา (ซึ่งไม่ทราบว่าคืออะไร) อาจจะมีผลรบกวนต่อการวิเคราะห์ในแต่ละเทคนิคต่างกัน

4.1.3 ข้อเสนอแนะ

การวิเคราะห์หาปริมาณพาราเซตามอลในยาแก้ปวด โดยวิธี colorimetry เพื่อจะให้ได้ผลการวิเคราะห์ถูกต้องควรจะควบคุมภาวะการทดลองเช่น อุณหภูมิและระยะเวลาในการต้มสารละลายให้คงที่ในการทดลองแต่ละครั้ง นอกจากนี้ ถ้าใช้เฟอร์ริก คลอไรด์ แอนไฮดรัส แทนเฟอร์ริก คลอไรด์ อาจจะให้ผลการทดลองที่ถูกต้องและแม่นยำดีกว่านี้

การวิเคราะห์หาปริมาณพาราเซตามอลในยาแก้ปวด โดยวิธี spectrofluorometry สารละลายที่ใช้ คือ $KMnO_4$ และกรดแอสคอร์บิก ไม่ควรจะให้โดนแสงเพราะจะสลายตัวได้ ซึ่งจะทำให้ผลการวิเคราะห์คลาดเคลื่อน ในการศึกษา fluorescence intensity ของสารยาตัวอย่างแต่ละชนิดควรจะทำสารละลายมาตรฐานควบคู่ไปด้วย และจะต้องให้ PM-tube high voltage มีค่าคงที่เสมอคือ มีค่า 700 volts มิฉะนั้นค่า fluorescence intensity ที่วัดได้จะคลาดเคลื่อน

4.2 การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนาเซตินในยาแก้ปวด

การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนาเซตินในยาแก้ปวด 5 ชนิดได้แก่ ซาลาไพริน, ตราไก่, ประสะบอแรด, หัวสิงห์และไวกูล โดยใช้ 2 เทคนิคเปรียบเทียบกันได้ผลสรุปดังต่อไปนี้

4.2.1 Colorimetry

การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนาเซตินโดยเทคนิคนี้อาศัยหลักการวัดการดูดกลืนแสงของสารประกอบ 4-ethoxy (3-methoxy-4-hydroxy benzylidene)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

aniline ที่ความยาวคลื่น 394 nm วิธีนี้มีความแม่นยำพอใช้ได้ กล่าวคือ มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ±5.94 % ความถูกต้องของเทคนิคนี้หาได้โดยทำแบบ single standard addition พบว่าในยาแต่ละชนิดจะมี % recovery ต่างกัน แต่โดยเฉลี่ยแล้วอาจสรุปได้ว่ามี % recovery อยู่ในเกณฑ์ดี (ผลดังตาราง 3.7-3.11) เมื่อวิเคราะห์หาปริมาณฟีนาเซตินในยาแก้ปวด 5 ชนิดโดยเทคนิคนี้พบว่าปริมาณที่วิเคราะห์ได้จะแตกต่างกับปริมาณที่ยาแต่ละชนิดระบุไว้ กล่าวคือ ในยาซาลาไพริน, ยาตราไก่ และยาไวกุลจะได้ปริมาณฟีนาเซตินน้อยกว่าที่ระบุไว้ คือ มี % label amount เพียง 77.88, 79.80 และ 86.99 ตามลำดับ ส่วนยาประสะบอแรดจะได้ปริมาณใกล้เคียงกับที่ระบุไว้คือ มี % label amount 94.35 แต่ในยาประสะบอแรดมีค่านี้ถึง 127.28 แสดงว่าปริมาณฟีนาเซตินที่วิเคราะห์ได้จะมีค่ามากกว่าที่ระบุไว้ในยามาก (ผลดังตาราง 3.19) เหตุที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากในยาแต่ละชนิดมีองค์ประกอบและส่วนปรุงแต่งที่แตกต่างกัน ผลการศึกษา interference พบว่าแคฟฟีอีนมีผลรบกวนการวิเคราะห์เพราะทำให้ค่าการดูดกลืนแสงลดลง

4.2.2 <u>การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนาเซตินโดยวิธีแยกสกัดร่วมกับ spectrophotometry</u>

การแยกฟีนาเซตินออกจากยาผสมที่มีแอสไพรินและแคฟฟีอีนและนำไปวิเคราะห์หาปริมาณโดยวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 252 nm พบว่าสิ่งที่มีผลต่อการแยกสกัดฟีนาเซตินออกจากยาผสมคือ ขนาดของคอลัมน์ที่ใช้ (ผลดังตาราง 3.12) ความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟุริกและโซเดียมไบคาร์บอเนต (ตาราง 3.13-3.14) และปริมาณของ mobile phase (ตาราง 3.15) การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนาเซตินโดยเทคนิคนี้มีความแม่นยำไม่สู้ดีนักคือ มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์±10.74% ทั้งนี้อาจเนื่องจากข้อผิดพลาดอันเกิดจากขั้นตอนของการวิเคราะห์ ความถูกต้องของการวิเคราะห์ของเทคนิคนี้ ซึ่งหาในรูปของ % recovery โดยใช้สารละลายยาผสมของ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารมาตรฐานที่เป็นองค์ประกอบในยาที่ระบุไว้ จำนวน 4 ตัวอย่าง พบว่า % recovery เฉลี่ย 109.84 ปริมาณฟีนาเซตินที่วิเคราะห์ได้มีค่าแตกต่างกับปริมาณที่ยาแต่ละชนิดระบุไว้ กล่าวคือ ในยาประสะบอแรดจะมีปริมาณฟีนาเซตินสูงกว่าที่ระบุไว้มาก คือ มี % label amount ถึง 174.56 อาจจะเนื่องมาจากในการสกัดมียาตัวอื่นปนมาด้วยนอกเหนือจากฟีนาเซตินซึ่งมีการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นใกล้เคียงกับฟีนาเซติน จึงทำให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงขึ้น ปริมาณฟีนาเซตินที่วิเคราะห์ได้จึงมากกว่าที่เป็นจริง สำหรับยาตราไก่จะได้ค่าน้อยกว่าที่ระบุไว้ ยาไวกูลและซาลาไพรินมีปริมาณฟีนาเซตินที่วิเคราะห์ได้ใกล้เคียงกับที่ระบุไว้ (ตาราง 3.19)

จากการเปรียบเทียบการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนาเซตินโดยเทคนิคทั้ง 2 ในด้านความแม่นยำ โดยพิจารณาค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทำได้โดยการทดสอบนัยสำคัญทางสถิติ คือ ใช้ F test จากการคำนวณค่า F โดยนำค่ากำลังสองของ standard deviation (varian) ของวิธี colorimetry เปรียบเทียบกับวิธีการแยกสกัดร่วมกับ spectrophotometry จะได้ค่า F เท่ากับ 3.75 ค่า F จากตาราง มีค่าเท่ากับ 6.00 ซึ่งค่าที่คำนวณได้น้อยกว่า จึงสรุปได้ว่าความแตกต่างในความแม่นยำของทั้ง 2 วิธี ไม่มีนัยสำคัญ

เมื่อพิจารณาปริมาณฟีนาเซตินที่วิเคราะห์ได้โดยเทคนิคทั้ง 2 ก็พบว่าได้ค่าแตกต่างกัน โดยที่วิธี colorimetry จะวิเคราะห์ได้น้อยกว่า ซึ่งอาจจะเป็นเพราะวิธีแยกสกัดได้แยกฟีนาเซตินออกจากองค์ประกอบอื่น ๆ ที่มีอยู่ในยา จึงทำให้ได้ปริมาณฟีนาเซตินมากกว่าวิธี colorimetry อย่างไรก็ตามวิธีนี้ก็เป็นวิธีทำได้สะดวกและง่ายซึ่งต่างกับวิธีแยกสกัดซึ่งต้องเสียเวลานานในการแยกฟีนาเซตินออกจากยาตัวอย่าง

4.2.3 <u>ข้อเสนอแนะ</u>

การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนาเซตินโดยวิธี colorimetry ขณะที่ไฮโดร-

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ไลส์ฟีนาเซตินด้วยกรดไฮโดรคลอริก โดยการต้มภายใต้การ reflux ควรจะควบคุมอุณหภูมิของน้ำเดือดให้คงที่ในการทดลองแต่ละครั้ง เพื่อจะให้ได้ผลการทดลองที่แม่นยำ และสารละลายที่ได้จากการไฮโดรไลส์ควรจะเก็บไว้ในขวดสีชา เพื่อป้องกันการสลายตัวซึ่งอาจจะเกิดขึ้นเมื่อถูกแสง

การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนาเซตินโดยวิธีแยกสกัดและนำฟีนาเซตินที่ได้ไปหาปริมาณโดยวิธี spectrophotometry ในการ pack column โดยใช้ celite acid-washed ขณะที่ pack ควรผ่านคลอโรฟอร์มลงไปด้วย เพราะจะช่วยทำให้ celite เรียงตัวกันได้เรียบและแน่นสม่ำเสมอกัน เมื่อ pack เรียบร้อยแล้วก็ผ่านคลอโรฟอร์มลงไปอีก เมื่อคลอโรฟอร์มไหลออกจากคอลัมน์หมดแล้วจึงผ่านอีเทอร์ลงไปอย่างช้า ๆ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved