สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การวิเคราะห์หาปริมาณไตรโคลซานในผลิตภัณฑ์ดูแลสุขภาพโดยใช้เทคนิค HPLC

T107771

นางสาวนิสสรณ์ ปวรินทร์พงษ์
นางสาวอาภาวรรณ พฤกษ์วัฒนาชัย

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....107771
วัน,เดือน,ปี.....10 พ.ค. 2553

b.....12210225.....
i.....

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาเคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์
ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปี การศึกษา 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Determination of Triclosan in Personal Health Care Product by Liquid Chromatography (HPLC)

Nitsorn Pavarinpong

Apawan Pluckwattanachai

A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of The Requirement for the Degree of

Bachelor of Science

Industrial Chemistry – Analytical Instrumentation

Department of Chemistry

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Academic Year 2005

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษ เรื่อง การวิเคราะห์หาปริมาณไตรโคลซานในผลิตภัณฑ์ดูแลสุขภาพโดยใช้เทคนิค HPLC

นักศึกษา นางสาวนิสสรณ์ ปวรินทร์พงษ์ 45050692

นางสาวอาภาวรรณ พฤกษ์วัฒนาชัย 45050720

ภาควิชา เคมี คณะวิทยาศาสตร์

สาขาวิชา เคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์

ปีการศึกษา 2548

อาจารย์ที่ปรึกษา รศ.อรุณี คงศักดิ์ไพศาล

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ		ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ	ดร.วินุลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ	.....
กรรมการ	อ.พรทิพย์ ศัพทอนันต์	.....
กรรมการ	รศ.อรุณี คงศักดิ์ไพศาล	.....

.....

(ผศ.ดร.ประยงค์ ดวงดี)

หัวหน้าภาควิชาเคมี

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title	Determination of triclosan in personal health care product by liquid chromatography (HPLC)
Name	Ms. Nitsorn Pavarinpong 45050692 Ms. Apawan Pluckwattanachai 45050720
Department	Chemistry
Program	Industrial Chemistry – Analytical Instrumentation
Academic Year	2005
Special Project Advisor	Assoc. Prof. Arunee Kongsakphaisal

ABSTRACT

An isocratic reversed-phase liquid chromatographic (HPLC) method is proposed for the practical and reliable determination of triclosan, an antimicrobic agent incorporated into a variety of personal heath care products. Chromatographic separations were performed on a C-18 column using acetonitrile : water : acetic acid 70 : 30 : 0.5 (v/v) as mobile phase and UV detection at 280 nm. The detection limit (LOD), obtained from the linear regression equation (y = 19061x - 0.0036) was 0.890 ± 0.0097 mg/L. The method was successfully applied to the determination of triclosan in commercially available health care products (toothpaste, facial foam, deodorant stick and laundry detergent). The amounts of the analyses are 0.087-0.1997 % w/w and the % recovery are 92.669-106.167. All the products displayed triclosan concentrations in compliance with the EEC directive (≤0.3%).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษ เรื่อง การวิเคราะห์หาปริมาณไตรโคลซานในผลิตภัณฑ์ดูแลสุขภาพ โดยใช้เทคนิค HPLC

นักศึกษา นางสาวนิสสรณ์ ปวรินทร์พงษ์ 45050692
นางสาวอาภาวรรณ พฤกษ์วัฒนาชัย 45050720

ภาควิชา เคมี คณะวิทยาศาสตร์
สาขาวิชา เคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์
ปีการศึกษา 2548
อาจารย์ที่ปรึกษา รศ. อรุณี คงศักดิ์ไพศาล

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณไตรโคลซานในผลิตภัณฑ์ดูแลสุขภาพ โดยเทคนิคลิควิด โครมาโทกราฟฟี สมรรถนะสูง (HPLC) ในการหาปริมาณไตรโคลซาน ซึ่งเป็นสารยับยั้งแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์การดูแลสุขภาพ จะใช้คอลัมน์ C-18 เป็นเฟสอยู่กับที่ สารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร เป็นเฟสเคลื่อนที่ และตรวจวัดด้วยเครื่องยูวี ดีเทคเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ปริมาณต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ของไตรโคลซาน เท่ากับ 0.890 ± 0.0097 mg/L วิธีนี้ประสบความสำเร็จในการประยุกต์เพื่อหาไตรโคลซานซึ่งผสมอยู่ในผลิตภัณฑ์ดูแลสุขภาพ คือ ยาสีฟัน ครีมล้างหน้า โรลออน และผลิตภัณฑ์ซักผ้า โดยมีค่าในช่วง 0.087-0.1997 % w/w และค่าเปอร์เซ็นต์การคืนกลับของการวิเคราะห์มีค่าในช่วง 92.669-106.167 ปริมาณความเข้มข้นของไตรโคลซานที่วิเคราะห์ได้ในส่วนผสมน้อยกว่า 0.3 % ซึ่งตรงตามข้อกำหนดของสหภาพยุโรป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานฉบับนี้สามารถสำเร็จลุล่วงได้อย่างดี เนื่องจากด้วยคำแนะนำ คำปรึกษาและแนวทางการแก้ไขปัญหาที่ดีจาก รศ.อรุณี คงศักดิ์ไพศาล ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาและควบคุมโครงงาน กลุ่มผู้วิจัยซาบซึ้งในความกรุณาและความอนุเคราะห์ จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณ ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ และ อ.พรทิพย์ ศัพทอนันต์ กรรมการการสอบโครงงาน ที่กรุณาสละเวลาอันมีค่าในการเป็นกรรมการพิจารณาโครงงาน พร้อมกับให้ข้อคิดเห็นและข้อเสนอแนะ ตลอดจนในการช่วยตรวจรายละเอียดต่างๆในโครงงานฉบับนี้ให้เป็นไปอย่างถูกต้องและสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเคมี ตึกวิทยาศาสตร์ ที่ช่วยแนะนำเทคนิคการใช้เครื่องมือในการวิเคราะห์ และที่ให้ความอนุเคราะห์สารเคมี เครื่องมือและสถานที่สำหรับการการทำการวิเคราะห์

สุดท้ายขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ คุณปู่ คุณย่า คุณตา ที่เคารพรักยิ่ง ที่เป็นกำลังใจและให้ความสนับสนุนกลุ่มผู้วิจัยมาโดยตลอด

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากโครงงาน ฉบับนี้ กลุ่มผู้วิจัยขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

นิสสรณ์ ปวรินทร์พงษ์

อาภาวรรณ พฤกษ์วัฒนาชัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

บทที่ 1 บทนำ **หน้า**

1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงงานพิเศษ....1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ....2
1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ....2
1.4 ขั้นตอนการวิจัยและดำเนินงาน....2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ....3

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ไตรโคลซาน (Triclosan)....4
2.2 กลไกการทำงานของไตรโคลซาน....6
2.3 ลักษณะทางกายภาพของไตรโคลซาน....6
2.4 เทคนิค High Performance Liquid (HPLC)....9
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง....21

บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 สารเคมี....23
3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ....23
3.3 การดำเนินการทดลอง....24
3.3.1 การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการทดลอง....24
3.3.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณไตรโคลซาน ด้วยเทคนิค HPLC....24
3.3.3 ศึกษาความเข้มข้นของการทำกราฟมาตรฐาน....25
3.3.4 การวิเคราะห์ปริมาณไตรโคลซานในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ดูแลสุขภาพ....25

บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 ศึกษาการแยกของไตรโคลซานโดยระบบ HPLC....27
4.1.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณไตรโคลซาน....27
4.2 การสร้างกราฟมาตรฐานของไตรโคลซาน....29
4.3 การวิเคราะห์ปริมาณไตรโคลซานในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ดูแลสุขภาพ....31
4.3.1 External Standard Method....31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

4.3.2 การทดสอบเพื่อยืนยันตำแหน่งที่เกิดพีก (การทำ spiking) และการหา % recovery.....32

4.3.3 Internal Standard Method.....33

4.3.4 Standard Addition Method.....34

4.3.5 ค่าขีดจำกัดการตรวจวัด(LOD).....35

4.3.6 การเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์หาปริมาณไตรโคลซาน ในผลิตภัณฑ์ดูแลสุขาภาพ.....35

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย.....38

5.2 ข้อเสนอแนะ.....39

เอกสารอ้างอิง.....40

ภาคผนวก ก.

ก1 วิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์ Triclosan USP.....42

ก1.1 การวิเคราะห์หาความบริสุทธิ์ของไตรโคลซาน.....42

ก1.2 การวิเคราะห์หาสารเจือปนในไตรโคลซาน.....43

ก2 วิธีการเตรียมสารมาตรฐานไตรโคลซานที่ความเข้มข้น 1 10 50 100 และ 1000 mg/L.....43

ภาคผนวก ข. ตัวอย่างโครมาโทแกรมที่ได้จากการทดลอง.....44

ภาคผนวก ค. กราฟมาตรฐานของไตรโคลซานที่ได้จากการทดลอง.....54

ภาคผนวก ง. ผลการวิเคราะห์ไตรโคลซาน.....63

ง1 สารตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์.....63

ง2 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณไตรโคลซานในสารตัวอย่างชนิดต้วย External Standard Method Internal Standard Method และ Standard addition method.....63

ภาคผนวก จ. ค่าขีดจำกัดการตรวจวัดของไตรโคลซาน

จ1 การคำนวณหาค่าขีดจำกัดของการตรวจวัด (LOD).....69

ภาคผนวก ฉ. การเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์หาปริมาณไตรโคลซาน.....71

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 แสดงการประยุกต์ใช้และประโยชน์ของสารไตรโคลซานในผลิตภัณฑ์ดูแลสุขภาพ.....7

2.2 แสดงคุณสมบัติของตัวตรวจหาชนิดต่างๆ.....14

2.3 แสดงปัญหาและสาเหตุที่พบได้บ่อยในเครื่องโครมาโทกราฟีเหลวความดันสูง.....20

4.1 แสดงค่าเวลารีเทนชันในการแยกชะสารไตรโคลซานของเฟสเคลื่อนที่ในอัตราส่วนต่างๆ.....28

4.2 แสดงค่าเวลารีเทนชัน (retention time) ของสารไตรโคลซาน ที่ได้จากการใช้อัตราการไหลเฟสเคลื่อนที่ต่าง ๆ กัน.....29

4.3 แสดงผลจากการสร้างกราฟมาตรฐานที่ชุดการทดลองต่าง ๆ ค่าพิสัยเชิงเส้นและสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของไตรโคลซาน.....29

4.4 แสดงผลการวิเคราะห์หาปริมาณไตรโคลซานในสารตัวอย่างชนิดต่าง ๆ.....31

4.5 ปริมาณของไตรโคลซานจากการ spike และ % recovery.....32

4.6 ปริมาณของไตรโคลซานในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Internal Standard.....33

4.7 ปริมาณของไตรโคลซานในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Standard addition.....34

4.8 แสดงผลของค่าขีดจำกัดการตรวจวัด(LOD).....35

4.9 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณไตรโคลซานในผลิตภัณฑ์ตัวอย่างทั้ง 3 วิธี.....36

4.10 แสดงผลการวิเคราะห์ ANOVA Test.....37

ง1 ปริมาณไตรโคลซานในสารตัวอย่างที่วิเคราะห์ด้วย External Standard Method.....64

ง2 ปริมาณไตรโคลซานในสารตัวอย่างที่การทดสอบเพื่อยืนยันตำแหน่งที่เกิดพีก (spiking).....65

ง3 ปริมาณไตรโคลซานในสารตัวอย่างที่วิเคราะห์ด้วย Internal Standard Methodชุดที่ 1 66

ง4 ปริมาณไตรโคลซานในสารตัวอย่างที่วิเคราะห์ด้วย Internal Standard Methodชุดที่ 2 67

ง5 ปริมาณไตรโคลซานในสารตัวอย่างที่วิเคราะห์ด้วย Standard Addition Method.....68

จ1 แสดงผลของค่าขีดจำกัดการตรวจวัด(LOD).....70

ฉ1 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณไตรโคลซานในผลิตภัณฑ์ตัวอย่างทั้ง 3 วิธี.....71

ฉ2 แสดงผลการวิเคราะห์ ANOVA Test.....72

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ

รูปที่ **หน้า**

1.1 โครงสร้างไตรโคลซาน....4

1.2 โครงสร้างสารในกลุ่ม polychloro phenoxy phenol....5

2.1 แสดงการเกิด interaction ระหว่างโมเลกุลสาร M1 และ M2 กับ Mobile phase และ Stationary phase ใน column....10

2.2 องค์ประกอบของเครื่อง HPLC....11

2.3 ตัวฉีดชนิดโรตารี่....12

2.4 คอลัมน์....13

2.5 Fixed-wavelength UV detector....15

2.6 Variable UV detector....15

2.7 Photodiode array detector....16

4.1 โครมาโทแกรมของสารละลายตัวอย่างยาสีฟัน เฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก ที่อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร....27

4.2 กราฟมาตรฐานของไตรโคลซานที่ชุดการทดลองที่ 3....30

4.3 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานไตรโคลซานที่ช่วงความเข้มข้น 1-100 mg/L....30

ข1 โครมาโทแกรมของสารละลายตัวอย่างไตรโคลซาน เฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก ที่อัตราส่วน 50:50:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร....44

ข2 โครมาโทแกรมของสารละลายตัวอย่างไตรโคลซาน เฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายแอซิโทไน ไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก ที่อัตราส่วน 60:40:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร....44

ข3 โครมาโทแกรมของสารละลายตัวอย่างไตรโคลซาน เฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายแอซิโทไน ไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก ที่อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร....45

ข4 โครมาโทแกรมของไตรโคลซานที่อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เป็น 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที....45

ข5 โครมาโทแกรมของไตรโคลซานที่อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เป็น 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที....46

ข6 โครมาโทแกรมของไตรโคลซานที่อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เป็น 1.2 มิลลิลิตรต่อนาที....46

ข7 โครมาโทแกรม ของไตรโคลซานในตัวอย่างยาสีฟัน....47

ข8 โครมาโทแกรม ของไตรโคลซานในตัวอย่างครีมล้างหน้า....47

ข9 โครมาโทแกรมของไตรโคลซานในตัวอย่างโรลออน....48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ(ต่อ)

ข10 โครมาโทแกรมของไตรโคลซานในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ซักผ้า.....48
ข11 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานไตรโคลซานและสารอินเทอร์นอล
ที่สารมาตรฐานไตรโคลซานที่ความเข้มข้น 1 mg/L.....49
ข12 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานไตรโคลซานและสารอินเทอร์นอล
ที่สารมาตรฐานไตรโคลซานที่ความเข้มข้น 10 mg/L.....49
ข13 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานไตรโคลซานและสารอินเทอร์นอล
ที่สารมาตรฐานไตรโคลซานที่ความเข้มข้น 50 mg/L.....50
ข14 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานไตรโคลซานและสารอินเทอร์นอล
ที่สารมาตรฐานไตรโคลซานที่ความเข้มข้น 100 mg/L.....50
ข15 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานไตรโคลซานและสารอินเทอร์นอล
ที่สารมาตรฐานไตรโคลซานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ 51
ข16 โครมาโทแกรมของสารอินเทอร์นอลและสารไตรโคลซานในตัวอย่างยาสีฟัน.....51
ข17 โครมาโทแกรมของสารอินเทอร์นอลและสารไตรโคลซานในตัวอย่างครีมล้างหน้า.....52
ข18 โครมาโทแกรมของสารอินเทอร์นอลและสารไตรโคลซานในตัวอย่างโรลออน.....52
ข19 โครมาโทแกรมของสารอินเทอร์นอลและสารไตรโคลซานในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ซักผ้า.....53
ข20 โครมาโทแกรมสารละลายแอนโทรนที่ความเข้มข้น 0.3 mg/mL.....53
ค1 กราฟมาตรฐานของไตรโคลซานที่ชุดการทดลองที่ 1 ช่วงความเข้มข้น 1-100 mg/L.....54
ค2 กราฟมาตรฐานของไตรโคลซานที่ชุดการทดลองที่ 2 ช่วงความเข้มข้น 1-100 mg/L.....55
ค3 กราฟมาตรฐานของไตรโคลซานที่ชุดการทดลองที่ 3 ช่วงความเข้มข้น 1-100 mg/L.....56
ค4 กราฟมาตรฐานของไตรโคลซานที่ชุดการทดลองที่ 4 ช่วงความเข้มข้น 1-100 mg/L.....57
ค5 กราฟมาตรฐาน Standard Addition ของไตรโคลซานในสารตัวอย่างยาสีฟัน.....58
ค6 กราฟมาตรฐาน Standard Addition ของไตรโคลซานในสารตัวอย่างครีมล้างหน้า.....59
ค7 กราฟมาตรฐาน Standard Addition ของไตรโคลซานในสารตัวอย่างโรลออน.....60
ค8 กราฟมาตรฐาน Standard Addition ของไตรโคลซานในสารตัวอย่างผลิตภัณฑ์ซักผ้า.....61
ค9 กราฟมาตรฐาน Internal Standard Method (1) ของไตรโคลซานในสารตัวอย่าง.....62
ค10 กราฟมาตรฐาน Internal Standard Method (2) ของไตรโคลซานในสารตัวอย่าง.....62
จ1. กราฟมาตรฐานไตรโคลซานแสดงการคำนวณค่าขีดจำกัดของการตรวจวัด.....69

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงงานพิเศษ

ไตรโคลซาน (Triclosan) เป็นสารปฏิชีวนะที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรียและจุลินทรีย์ โดยมีชื่อทางการค้าว่า Irgasan หรือ Irgacare ซึ่งผลของสารต่อการยับยั้งแบคทีเรียนั้นจะส่งผลต่อแบคทีเรียหลายระดับทั้ง gram-negative และ gram-positive ด้วยเหตุนี้ไตรโคลซานจึงเป็นที่นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์ดูแลสุขภาพ เช่น ยาสีฟัน สารระงับกลิ่นกาย สบู่ สารซักล้าง และเครื่องสำอาง รวมทั้งไตรโคลซานยังใช้เติมในพลาสติก พอลิเมอร์ และเส้นใยเพื่อเพิ่มคุณสมบัติป้องกันแบคทีเรียในวัสดุ

ไตรโคลซานเป็นสารสังเคราะห์ชนิดไม่มีขั้ว ไม่ละลายในน้ำและสารละลายที่มีความเป็นด่าง แต่จะละลายได้ดีในสารละลายอินทรีย์ นับได้ว่าไตรโคลซานเป็นสารที่เสถียรและสามารถทนความร้อนได้สูงถึง 200°C ในระยะเวลา 2 ชั่วโมง จากคุณสมบัตินี้ส่งผลให้ไตรโคลซานสามารถผสมลงในวัสดุพลาสติกหลายชนิดภายใต้ ชื่อทางการค้าว่า Microban® ไตรโคลซานได้การรับรองจาก The United State Food And Drug Administration [1]

จากการที่มีข่าวตีพิมพ์ในหนังสือพิมพ์ว่าสารไตรโคลซานในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางสามารถทำปฏิกิริยากับคลอรีนในน้ำประปาเกิดเป็นคลอโรฟอร์ม ซึ่งอาจก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้ ดังนั้นกลุ่มควบคุมเครื่องสำอางได้สืบค้นข้อมูลที่เกี่ยวข้องและสรุปสาระสำคัญดังนี้

1. มีการเผยแพร่ผลการศึกษาวิจัยของ Peter Vikesland [2] จาก Virginia Polytechnic Institute and State University ใน Environmental Science & Technology Online News ระบุว่าสารไตรโคลซานซึ่งเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ล้างจาน สามารถทำปฏิกิริยากับคลอรีนในน้ำประปา เกิดเป็นคลอโรฟอร์ม ซึ่งอาจถูกดูดซึมผ่านผิวหนังหรือสูดดม เข้าสู่ร่างกายอาจก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้

นอกจากนั้นยังพบด้วยว่าปฏิกิริยาระหว่าง Triclosan และ free chloride ก่อให้เกิด chlorinated triclosan intermediates เช่น 2,4-dichlorophenol เมื่อสารนี้กระทบกับแสงแดด สามารถก่อให้เกิด Dioxins ซึ่งเป็นสารพิษ

2. เนื่องจากการศึกษาวิจัยดังกล่าวเป็นการทดลองในห้องปฏิบัติการ ปฏิกิริยาที่ก่อให้เกิดเป็นคลอโรฟอร์มนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น ความเข้มข้นของไตรโคลซานในผลิตภัณฑ์ ความเข้มข้นของคลอรีนในน้ำ ความเป็นกรด-ด่าง รวมทั้งอุณหภูมิของน้ำด้วย

3. จากข้อมูลของกลุ่มควบคุมเครื่องสำอางพบว่า เครื่องสำอางที่ขายในประเทศไทย มีสารไตรโคลซานเป็นส่วนผสมที่ความเข้มข้นประมาณ 0.1-0.4% ซึ่งใกล้เคียงกับข้อกำหนดของสหภาพยุโรป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(European Economic Community (EEC)) กับ Department of Health ของ สหราชอาณาจักรที่ ประมาณ 0.3%

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1.2.1 เพื่อพัฒนาการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC ให้เหมาะสมสำหรับการหาปริมาณไตรโคลซาน

1.2.2 สามารถประยุกต์วิธีการทดลองในการควบคุมเชิงปริมาณขององค์ประกอบที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์ดูแลสุขภาพ

1.2.3 เพื่อตรวจสอบหาปริมาณไตรโคลซานว่าอยู่ในมาตรฐานที่ได้รับการรับรองหรือไม่

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

1.3.1 ศึกษาคุณสมบัติและวิธีการวิเคราะห์ไตรโคลซาน

1.3.2 ศึกษาข้อมูลผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์

1.3.3 ตรวจสอบวิธีหาปริมาณไตรโคลซานโดยใช้เทคนิค HPLC

1.3.4 วิเคราะห์หาปริมาณไตรโคลซานในผลิตภัณฑ์ดูแลสุขภาพ

1.4 ขั้นตอนการวิจัยและการดำเนินงาน

1.4.1 สืบค้นข้อมูลที่เกี่ยวข้อง

1.4.2 ออกแบบการทดลอง จัดหาอุปกรณ์และสารเคมี

1.4.3 ดำเนินการทดลอง โดยแบ่งการทดลองออกเป็นขั้นตอนดังนี้

1.4.3.1 การเตรียมสารละลายต่างๆ ที่ใช้ในการทดลอง

1.4.3.2 ศึกษาคุณสมบัติและความเหมาะสมของสารไตรโคลซานที่ใช้ในการวิเคราะห์

1.4.3.3 ศึกษาเฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ในการวิเคราะห์

1.4.3.4 ศึกษา Detector (UV Detector)

1.4.3.5 ศึกษาอัตราการไหล

1.4.3.6 ศึกษาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณไตรโคลซานในผลิตภัณฑ์ดูแลสุขภาพที่เหมาะสม

1.4.3.7 ศึกษาสภาวะที่เหมาะในการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิค HPLC

1.4.3.8 การทำกราฟมาตรฐานและตรวจสอบการใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์(Mathod Validation)

1.4.3.9 การวิเคราะห์หาปริมาณไตรโคลซานในตัวอย่างผลิตภัณฑ์

1.4.3.10 นำผลการวิเคราะห์มาปรับปรุงเพื่อให้ได้สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณไตรโคลซานในผลิตภัณฑ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

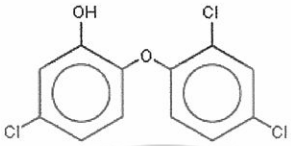
1.5.1 ใช้เป็นแหล่งข้อมูลในการศึกษาสารไตรโคลซานผลิตภัณฑ์อื่นๆ เพื่อนำไปใช้ประโยชน์และเป็นแนวทางในการศึกษาต่อไป

1.5.2 เพื่อให้เกิดความตระหนักถึงผลกระทบของสารไตรโคลซานที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์ดูแลสุขภาพที่มีอยู่ในท้องตลาดทั่วไป รวมถึงใช้เป็นแนวทางในการเลือกใช้ผลิตภัณฑ์ดูแลสุขภาพทีมีส่วนผสมของไตรโคลซานเพื่อความปลอดภัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ไตรโคลซาน (Triclosan)



รูปที่ 1.1 โครงสร้างไตรโคลซาน

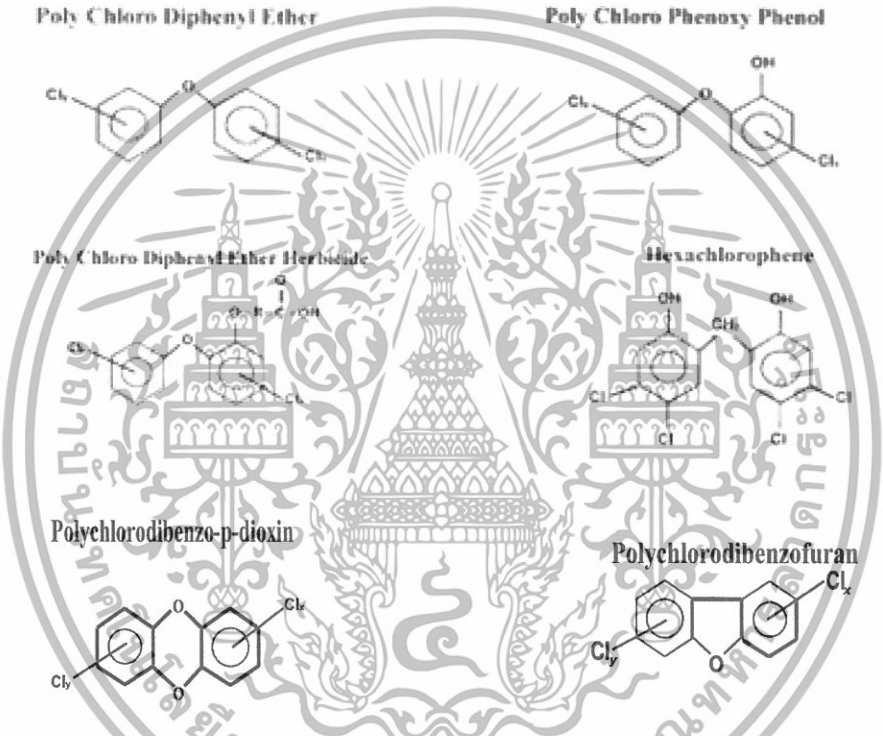
ไตรโคลซานเป็นสารปฏิชีวนะที่ยับยั้งแบคทีเรียและจุลินทรีย์ มีการใช้มามากกว่า 30 ปีโดยอยู่ในรูปแบบของผลิตภัณฑ์ดูแลสุขภาพ และในปัจจุบันเริ่มเป็นที่นิยมใช้โรงพยาบาล ในสหรัฐอเมริกาใช้ไตรโคลซานเป็นส่วนผสมของสารระงับกลิ่น และสบู่ระงับกลิ่นกายตั้งแต่ปี 1960 และ ในปี 1972 ได้เริ่มใช้ในอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์ดูแลสุขภาพที่ใช้ขัดผิว ในยุโรปจะเริ่มใช้ไตรโคลซานในยาสีฟันเมื่อปี 1985 จากนั้นเริ่มใช้ไตรโคลซานเป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์อีกหลายชนิด มีรายงานกล่าวไว้ว่าระหว่างปี 1992 ถึง ปี 1999 ได้สำรวจพบผลิตภัณฑ์ในกลุ่มยับยั้งเชื้อแบคทีเรียมากกว่า 700 ชนิด ที่มีไตรโคลซานเป็นส่วนผสมและออกจำหน่ายแก่ผู้บริโภค [3]

คุณสมบัติของไตรโคลซานนั้นเป็นสารสังเคราะห์ชนิดไม่มีขั้ว มีฤทธิ์ต่อต้านแบคทีเรียได้ดี ส่งผลต่อต้านเชื้อราและไวรัสบางชนิด ไตรโคลซานละลายน้ำและสารละลายด่างไม่ดี แต่สามารถละลายได้ในสารละลายอินทรีย์ นับได้ว่าไตรโคซานเป็นสารเคมีที่มีความเสถียร และสามารถทนความร้อนได้สูงถึง 200 °C ในระยะ เวลา 2 ชั่วโมง

ไตรโคลซานเป็นสารประกอบอนุพันธ์ในกลุ่ม diphenyl ether (bis-phenyl) รู้จักในชื่อ 5-Chloro-2-(2,4-dichlorophenoxy) phenol หรือ 2,4,4′-trichloro-2′-hydroxydiphenel ether โดยไตรโคลซานจะมีโครงสร้าง และจำนวนของสารประกอบคล้ายคลึงกับ bis-phenyl polychlorinated และ bis-phenyl chlorophenol ซึ่งหลักการสังเคราะห์ทางเคมีของ polychloro diphenyl ethers และ phenoxy phenols เมื่อเกิดการก่อรูปจะให้ผลผลิตทางอ้อมที่ไม่ต้องการออกมา โดยสารนี้จะเป็นปัญหาให้เกิดอันตรายได้ โดยเริ่มแรกในปีก่อน ค.ศ. 1970 จนถึงกลางปี ค.ศ. 1980 ได้มีการค้นพบยากำจัดวัชพืชในกลุ่ม phenoxy อย่างเช่น 2,4-D and 2,4,5-T สารประกอบหลักของสารจากส้ม สารทำลายแบคทีเรีย Hexachlorophene กลุ่ม chlorophenols สารในการดูแลไม้ polychloro phenoxy phenols และ polychloro diphenyl ethers และยากำจัดวัชพืชชนิด diphenyl ether ที่ประกอบด้วย polychlorinated dioxins และ polychlorinated furans ซึ่งมีโครงสร้างสัมพันธ์กับไตรโคซาน ด้วยเหตุนี้เมื่อสังเคราะห์ไตรโคลซาน ซึ่งโดยโครงสร้าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทางเคมีเป็น polychloro phenoxy phenol จึงมีโอกาสที่จะพบ polychlorodibenzo-p-dioxins (dioxins) และ polychloro-dibenzofurans (dibenzofurans) ในปริมาณเล็กน้อย โดยการที่จะพบหรือไม่นั้นขึ้นอยู่กับชนิดและความบริสุทธิ์ของสารเริ่มต้นในการสังเคราะห์ไตรโคลซาน อีกทั้งสภาวะในการสังเคราะห์ เช่น อุณหภูมิ ความดัน ถ้าเกิดพบ polychlorodibenzo-p-dioxins (dioxins) polychloro-dibenzofurans (dibenzofurans) แสดงว่าอัตราความเข้มข้นของสารบริสุทธิ์เริ่มต้นสามารถเปลี่ยนแปลงได้จากชุดหนึ่งต่อชุดหนึ่ง (batch to batch) ของการสังเคราะห์ ซึ่งระดับความอันตรายที่กล่าวมาในข้างต้นจะเพิ่มขึ้นเนื่องจากความเป็นพิษของ dioxins และ dibenzofurans



รูปที่ 1.2 โครงสร้างสารในกลุ่ม polychloro phenoxy phenol

ความเป็นพิษของ dioxins และ dibenzofurans ขึ้นอยู่กับตำแหน่งและจำนวนของอะตอมคลอไรด์ที่ต่อกับวงอะโรมาติก โดยทั่วไปแล้วความเป็นพิษจะเพิ่มขึ้นเมื่อมีการแทนที่ของคลอไรด์เพิ่มขึ้น dioxins และ dibenzofurans มีอะตอมคลอไรด์ที่ตำแหน่ง 2 3 และ 7 ซึ่งมีความเป็นพิษมาก ส่วน Tetrachlorodibenzo-p-dioxin และ tetrachlorodibenzo-furan จะมีอะตอมคลอไรด์ที่ตำแหน่ง 2 3 7 และ 8 เมื่อพิจารณาแล้วจะเห็นว่ามีความเป็นพิษมากกว่า dioxins และ dibenzofurans กับ 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin ซึ่งเป็นสารพิษที่เป็นที่รู้จัก

ผลของระดับการเกิด dioxins และ dibenzofurans ที่เป็นผลผลิตทางอ้อมในระดับต่ำนั้น จะมีข้อกำหนดมาตรฐานอยู่ใน USP ซึ่งมีรายละเอียดของการวิเคราะห์และทดสอบไตรโคลซาน นอกจากนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยังบอกถึงการเตรียมสารมาตรฐานและขั้นตอนการวิเคราะห์สารบริสุทธิ์ ลักษณะทางกายภาพของไตโคลซาน รวมถึงบอกถึงข้อจำกัดและวิธีวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ทางอ้อมที่อาจเกิดขึ้น [4]

2.2 กลไกการทำงานของไตรโคลซาน

ในปี 1998 ได้มีการอธิบายถึงการทำงานของไตรโคลซานต่อโครงสร้างผิวและส่วนอื่น โดยผนังเซลล์ส่วนที่ไม่สมบูรณ์ และที่สมบูรณ์ของ *Escherichia coli* *Staphylococcus aureus* และ *Pseudomonas aeruginosa* จะเกิดการดูดซับไตรโคลซานโดยการแพร่เข้าไป โดยอัตราการดูดซับขึ้นอยู่กับปริมาณของไขมันในเซลล์ ซึ่ง *P. aeruginosa* จะมีปริมาณไขมันอยู่มากที่สุดจึงอธิบายได้ว่าจะมีระดับการแพร่ของไตรโคลซานอยู่สูงที่สุด ในการศึกษาเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงของ *E. coli* จะเกิดไดวาเลนซ์ของไอออนบวกขึ้นในส่วนของกรดไขมันที่เปลี่ยนแปลงไป และเกิดการดูดซับไตรโคลซาน จึงเป็นเหตุผลที่ว่ากรดไขมันที่เปลี่ยนแปลงจะสร้างแนวการซึมผ่านของสารที่สามารถเปลี่ยนแปลงได้ตามการเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นของปริมาณไดวาเลนซ์ของไอออนบวก

กลไกการทำงานของไตรโคลซานจะกำหนดขอบเขตของแบคทีเรียในส่วน bacterial fatty acid biosynthetic pathway ซึ่งมี NAD–dependent enoyl–[acyl carrier protein] reductase (FabI) หรือ homolog Inha ใน *M. smegmatis* และ *M. tuberculosis* โดยจะเกิดการรวมตัวเป็นโครงสร้างของสารประกอบที่มีโครงสร้าง 3 แขนที่เสถียร คือ FabI-NAD+-triclosan ซึ่งเกิดจากอัตรกิริยาระหว่างกลุ่มของกรดอะมิโนในส่วนเอนไซม์ที่ถูกกระตุ้น [3]

2.3 ลักษณะทางกายภาพของไตรโคลซาน

สูตรโมเลกุล	:	$C_{12}H_7Cl_3O_2$
มวลโมเลกุล	:	289.6
ลักษณะ	:	ผง
สี	:	ขาว
จุดหลอมเหลว	:	57+/-1 °C
ความดันไอที่ 20°C	:	4×10^{-6} mmHg
pKa	:	7.9
ความเป็นพิษ	:	เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนัง ดวงตา และระบบการหายใจ

ความสามารถในการละลายใน 1M NaOH : สารละลายใส ไม่มีสี

- European Economic Community (EEC) อนุญาตให้มีปริมาณไตรโคลซานในส่วนผสมเข้มข้นไม่เกิน 0.3% (w/w) [5]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 แสดงการประยุกต์ใช้และประโยชน์ของสารไตรโคลซานในผลิตภัณฑ์ดูแลสุขภาพ [6]

การประยุกต์ใช้	จุดเด่นของผลิตภัณฑ์	ประโยชน์
ยาสีฟัน น้ำยาบ้วนปาก ผลิตภัณฑ์ดูแลช่องปาก	- ต่อต้านแบคทีเรียได้ยาวนาน - ช่วยกำจัดหินปูนและสิ่ง สกปรก - ป้องกันการอักเสบ - ลดกลิ่นปาก	- Anti-gingivitis (ลดคราบหินปูน) - Anti-cavities (ยับยั้งแบคทีเรีย) - Anti-plaque (ลดการจับตัวของแบคทีเรียเป็นคราบ)
สบู่ก้อน	- ลดกลิ่นที่เกิดจากแบคทีเรีย - มีประสิทธิภาพยาวนาน - ป้องกันแบคทีเรียที่มือ - ระงับกลิ่นจากแบคทีเรียที่ติดสีแกรมบวกและแกรมลบ	- ระงับกลิ่น - ยับยั้งแบคทีเรียได้หลายชนิด - ประสิทธิภาพการทำงานยาวนาน - ดูแลสุขภาพความสะอาด
สบู่เหลว น้ำยาล้างจาน	- ลดกลิ่นที่เกิดจากแบคทีเรีย - มีประสิทธิภาพยาวนาน - ป้องกันแบคทีเรียที่มือ - ระงับกลิ่นและการติดเชื้อจากแบคทีเรียที่ติดสีแกรมบวกและแกรมลบ - ง่ายต่อการใช้	- ระงับกลิ่น - ยับยั้งแบคทีเรียได้หลายชนิด - ประสิทธิภาพการทำงานยาวนาน - ดูแลสุขภาพความสะอาด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การประยุกต์ใช้	จุดเด่นของผลิตภัณฑ์	ประโยชน์
ยาแต้มสิว โฟมล้างหน้า	- ลดการเกิดสิวที่เกิดจากแบคทีเรีย - มีประสิทธิภาพยาวนาน - ยับยั้งการติดเชื้อ - ง่ายต่อการใช้	- ระงับกลิ่น - ยับยั้งแบคทีเรียได้หลายชนิด - ประสิทธิภาพการทำงานยาวนาน - ดูแลสุขภาพความสะอาด - ทำความสะอาดผิว
ผลิตภัณฑ์ระงับกลิ่น	- ลดกลิ่นที่เกิดจากแบคทีเรีย - มีประสิทธิภาพยาวนาน - ป้องกันแบคทีเรียที่มือ - ระงับกลิ่นและการติดเชื้อจากแบคทีเรียที่ติดสีแกรมบวกและแกรมลบ - ง่ายต่อการใช้	- ระงับกลิ่น - ยับยั้งแบคทีเรียได้หลายชนิด - ประสิทธิภาพการทำงานยาวนาน
ครีมอาบน้ำ	- ลดกลิ่นที่เกิดจากแบคทีเรีย - มีประสิทธิภาพยาวนาน - ป้องกันแบคทีเรียที่มือ - ระงับกลิ่นจากแบคทีเรียที่ติดสีแกรมบวกและแกรมลบ - ง่ายต่อการใช้	- ระงับกลิ่น - ยับยั้งแบคทีเรียได้หลายชนิด - ประสิทธิภาพการทำงานยาวนาน - ดูแลสุขภาพความสะอาด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การประยุกต์ใช้	จุดเด่นของผลิตภัณฑ์	ประโยชน์
สเปรย์ระงับกลิ่นเท้า	- ยับยั้งเชื้อโรคตามง่ามเท้า - มีประสิทธิภาพยาวนาน - ระงับกลิ่นที่เกิดจากแบคทีเรีย - ง่ายต่อการใช้ในรูปของเหลวและการพ่น	- ยับยั้งเชื้อรา - ระงับกลิ่น - ยับยั้งแบคทีเรียได้หลายชนิด - ประสิทธิภาพการทำงานยาวนาน
น้ำยาล้างมือ	- กำจัดแบคทีเรีย - เหมาะสมกับแบคทีเรีย - ผสมกับสารลดแรงตึงผิวในรูปของเหลว - ใช้สำหรับฆ่าเชื้อในโรงพยาบาล	- ยับยั้งแบคทีเรียและลดจำนวนแบคทีเรีย

2.4 เทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

เทคนิคที่ใช้แยกสารออกจากกัน โดยอาศัยความแตกต่างในด้านสมบัติที่ต่างกันของสารที่ต้องการแยก เช่น สมบัติในการละลาย ขนาดโมเลกุล ประจุบนโมเลกุล หมู่สำคัญทางเคมี หรือความจำเพาะตัวทางชีวภาพของสาร หรือ กล่าวคือ เป็นเทคนิคที่มีเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ที่เป็นของเหลวจะถูกปั๊มผ่านคอลัมน์แยกสาร ที่เป็นท่อบรรจุด้วยอนุภาคของแข็งซึ่งทำหน้าที่เป็นเฟสอยู่กับที่ (Stationary phase) เมื่อตัวอย่างซึ่งเป็นองค์ประกอบหลายชนิดละลายอยู่ในรูปของเหลว ถูกนำเข้าสู่ระบบปกติโดยการฉีดด้วยปริมาตรจำกัดที่จุดฉีด (Injector) ก่อนเข้าสู่คอลัมน์ และแพร่กระจายเข้าสู่ระบบการไหล โดยที่เฟสเคลื่อนที่จะชะสารตัวอย่างในขณะที่ไหลผ่านคอลัมน์ ทำให้เกิดการแยกองค์ประกอบแต่ละชนิดออกจากกันอันเนื่องมาจากความแตกต่างของแรงที่เกิดเนื่องด้วย interaction ขององค์ประกอบกับเฟสเคลื่อนที่และเฟสอยู่กับที่ แต่ละองค์ประกอบจะใช้เวลาตั้งแต่เริ่มฉีดจนกระทั่งออกจากปลายคอลัมน์ซึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นเวลาส่วนใหญ่ของการเดินทางเป็นช่วงเวลาที่เป็นสมบัติเฉพาะตัวของแต่ละสาร แต่อย่างไรก็ดีต้องระมัดระวังว่าภายใต้สภาวะแวดล้อมของการแยกนั้น สารบางชนิดที่มีคุณสมบัติใกล้เคียงกันอาจจะใช้เวลาแยกใกล้เคียงกัน จนเกิดการทับซ้อนกันได้ กฎโดยทั่วไปที่เกี่ยวข้องกับการแยก คือ องค์ประกอบใดที่สามารถเกิด interaction หรือสามารถกระจายตัวในชั้นของเฟสอยู่กับที่ได้ดีกว่าก็จะใช้เวลาอยู่ในคอลัมน์ได้นานกว่าและในทางตรงกันข้ามสารใดที่มี interaction หรือสามารถกระจายอยู่ในชั้นของเฟสเคลื่อนที่ได้ดีกว่าก็จะถูกชะออกจากคอลัมน์ได้เร็วกว่าหรือใช้เวลาในคอลัมน์น้อย [7]

<u>ส่วนประกอบที่ใช้ในการแยก</u> [8]

1. เฟสไม่เคลื่อนหรือเฟสอยู่กับที่ (Stationary phase)

อาจเป็นของแข็งหรือของเหลวที่ยึดแน่นบน Supporting media (ตัวค้ำจุน) เช่น น้ำ บัฟเฟอร์ กรดแก่ ด่างแก่ แอลกอฮอล์ หรือไนโตรมีเทน ฯลฯ

2. เฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase)

เป็นของเหลวผสม ซึ่งจะทำหน้าที่ชะแยกสารออกจากส่วนไม่เคลื่อนที่ หรือจากจุดเริ่มต้นไปตามทิศทางการเคลื่อนที่ของ Mobile phase นั้น

รูปที่ 2.1 แสดงการเกิด interaction ระหว่างโมเลกุลสาร M1 และ M2 กับ Mobile phase และ Stationary phase ใน column

โดยปกติจะใช้เฟสอยู่กับที่ที่มีสภาพขั้วสูงเพื่อแยกสารที่มีสภาพขั้วสูงออกจากกัน และใช้เฟสเคลื่อนที่สภาพขั้วต่ำกว่ามาไล่สารต่างๆออกจากคอลัมน์ โดยสารที่มีสภาพขั้วสูงกว่าจะออกมาทีหลัง เรียกวิธีการนี้ว่า “โครมาโทกราฟีแบบปกติ” หรือ “normal phase chromatography” แต่ในบางกรณีจะใช้เฟสอยู่กับที่ที่มีสภาพขั้วต่ำ ตัวอย่างเช่น สารอินทรีย์ประเภท n-alkyl ซึ่งมีคาร์บอน 8 หรือ 18 ต้องการ

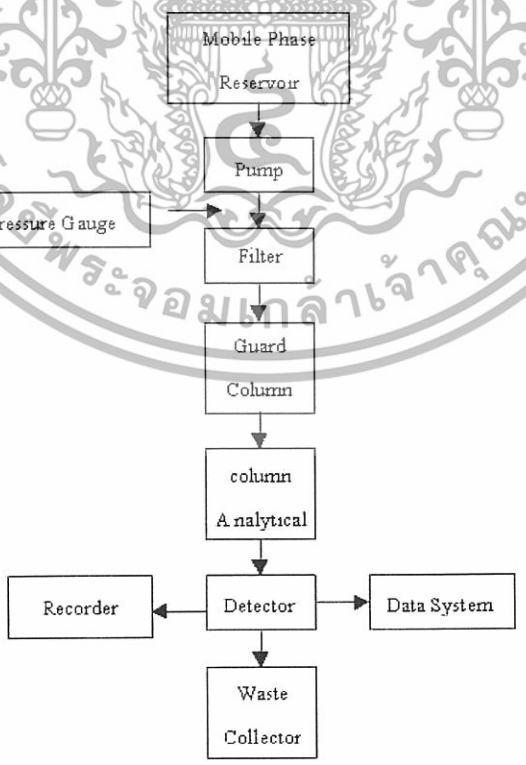
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ออกมาจากคอลัมน์ โดยสารที่มีสภาพขั้วต่ำกว่าจะออกมาช้ากว่า ซึ่งเรียกว่า “โครมาโทกราฟีแบบผันกลับ” หรือ “reversed phase chromatography”

นอกจากนี้ โครมาโทกราฟีทั้งสองชนิดยังอาจใช้วิธีการเติมสารที่มีประจุตรงข้ามลงในเฟสเคลื่อนที่ ตัวอย่างเช่น เติม tetramethyl ammonium chloride, tetrabutyl ammonium chloride ลงในเฟสเคลื่อนที่เมื่อสารตัวอย่างมีประจุบวก หรือเติม perchloric acid, sodium alkyl sulfonate หรือ methanesulfunic acid ลงในเฟสเคลื่อนที่เมื่อสารตัวอย่างมีประจุลบ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการแยกสาร เรียกวิธีการนี้ว่า “ion-pair chromatography” สำหรับกลไกที่ทำให้สามารถแยกสารได้ขึ้นเกิดจากการที่ ไอออนที่มีประจุต่างกันรวมกันกลายเป็นสารที่ไม่มีประจุ หรือประจุลดลงแล้วเคลื่อนตัวเข้าสู่เฟสอยู่กับที่ หรือเฟสเคลื่อนที่ที่มีสภาพขั้วต่ำ ทำให้สารตัวอย่างเคลื่อนที่ได้ช้าลง

2.4.1 องค์ประกอบของเครื่อง HPLC

เครื่องโครมาโทกราฟีเหลวความดันสูงดังรูป บางครั้งเรียกว่า High Performance Liquid Chromatography (HPLC) เพราะเป็นเครื่องมือที่สามารถแยกสารและวิเคราะห์สารได้อย่างมีประสิทธิภาพเป็นจำนวนมาก ถึงแม้ว่ารูปร่างของเครื่องมือจะแตกต่างกันไปตามผู้ผลิตแต่มีองค์ประกอบหลักที่สำคัญเหมือนกัน



รูปที่ 2.2 องค์ประกอบของเครื่อง HPLC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.1.1 ปั๊ม (pump) มีหน้าที่สูบของเหลวซึ่งเป็นเฟสเคลื่อนที่ให้ไหลเข้าไปในคอลัมน์ด้วยอัตราเร็ว 0.5-10 ml/min และรักษาให้คงที่ในช่วงอัตราเร็วช่วงใดช่วงหนึ่งโดยมีความผิดพลาดไม่เกินร้อยละ 2 ของปริมาตรที่สูบ สำหรับความดันสูงที่อัดเข้าไปในคอลัมน์จะมีค่าตั้งแต่ 1,000-6,000 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เครื่องสูบที่นิยมใช้มีอยู่ 3 ชนิด คือ

1. ชนิดไซริงก์ (syringe type) นิยมใช้กับคอลัมน์ขนาดเล็ก เพราะมีขีดจำกัดในการดูดของเหลวที่มีปริมาตรมาก ๆ ควบคุมปริมาตรการสูบด้วยการควบคุมการเคลื่อนที่ของลูกสูบไซริงก์โดยหมุนของสกรูก้านลูกสูบซึ่งควบคุมด้วยจำนวนรอบของการหมุนของมอเตอร์

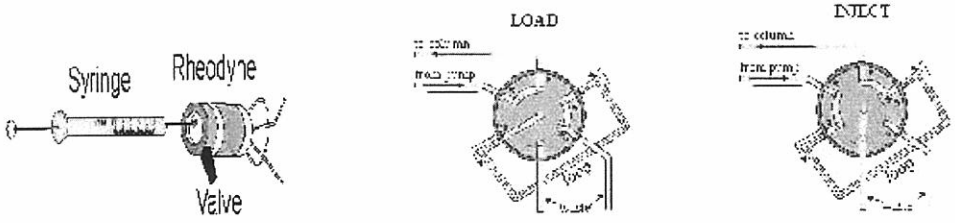
2. ชนิดแทนที่ของเหลว (reciprocating piston type) ควบคุมปริมาตรโดยการควบคุมระยะชักของลูกสูบ หรือควบคุมความเร็วของมอเตอร์ที่หมุนก้านลูกสูบ ซึ่งทำให้เครื่องสูบชนิดนี้สามารถดูดของเหลวในปริมาณมากได้ โดยการทำงานในระยะชักลูกสูบจะดูดของเหลวจากตัวเก็บสารละลายเข้ามาในกระบอกสูบ และปล่อยสารละลายเข้าไปในคอลัมน์ในระยะอัดของลูกสูบ และทำงานเป็นวงรอบต่อเนื่องกันไปจนกว่าจะปิดเครื่องสูบ

3. ชนิดความดันคงที่ (constant pressure pump) ควบคุมการไหลของของเหลวเข้าสู่คอลัมน์โดยการใช้ความดันของแก๊สเฉื่อยที่คงที่ดันให้ของเหลวไหลไปในคอลัมน์อย่างต่อเนื่องตลอดเวลา

2.4.1.2 ตัวฉีด (injector) เป็นอุปกรณ์ที่ใช้ควบคุมปริมาตรของสารตัวอย่างที่ไหลเข้าสู่คอลัมน์ซึ่งส่วนใหญ่จะอยู่ในช่วง 0.5-10 ไมโครลิตร สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ

1. ชนิดไซริงก์ เป็นชนิดที่ใช้ไซริงก์ขนาดเล็กดูดสารตัวอย่างตามปริมาตรที่ต้องการฉีด ผ่านเยื่อกั้น (septum) ซึ่งมักเป็นยางซิลิโคนด้านบนคอลัมน์ ตัวฉีดชนิดนี้อาจมีการรั่วบริเวณรูที่ฉีดเพราะคอลัมน์มีความดันสูง

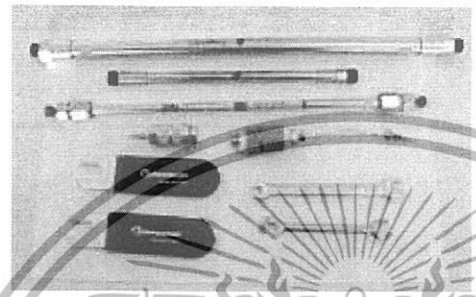
2. ชนิดโรตารี่ (rotary type) เป็นชนิดที่ใช้ลิ้นควบคุมการฉีดสารตัวอย่างเข้าคอลัมน์โดยในขั้นตอนแรกจะใช้ไซริงก์ฉีดสารตัวอย่างเข้าไปในท่อพักสารตัวอย่าง(sample loop) ซึ่งมีปริมาตรคงที่ (fixed loop injector) หลังจากนั้นจึงหมุนลิ้นให้สารละลายซึ่งเป็นเฟสเคลื่อนที่ไล่ของเหลวทั้งหมดลงสู่คอลัมน์ นอกจากนี้ยังสามารถดูดสารตัวอย่างเข้าไปในปริมาตรที่ต้องการฉีดเข้าไปในท่อพักสารตัวอย่างซึ่งมีสารละลายอยู่ก่อนแล้วบางส่วน เมื่อหมุนลิ้นไปที่ตำแหน่งฉีด สารละลายจะพาสารตัวอย่างทั้งหมดเข้าไปในคอลัมน์



รูปที่ 2.3 ตัวฉีดชนิดโรตารี่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.1.3 คอลัมน์ (column) อาจทำจากแก้ว พลาสติก หรือเหล็กกล้าไร้สนิม มีความยาวการใช้งานตั้งแต่ 10-150 เซนติเมตร กรณีที่มีความยาวมากเกินอาจขดคอลัมน์เป็นวง แต่มักพบว่าประสิทธิภาพในการแยกสารลดลง มีเส้นผ่าศูนย์กลางตั้งแต่น้อยกว่า 1 มิลลิเมตร จนถึงหลายมิลลิเมตร สามารถทนแรงดันได้สูงถึง 6,000 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ขึ้นอยู่กับชนิดของวัสดุที่ใช้ทำคอลัมน์และขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของคอลัมน์



รูปที่ 2.4 คอลัมน์

เฟสอยู่กับที่ (stationary phase) สารที่นำมาทำเป็นเฟสอยู่กับที่มักมีขนาดที่คงที่สม่ำเสมอ อยู่ในช่วง 5-10 μm แต่เนื่องจากเฟสอยู่กับที่แต่ละชนิดมีพื้นที่ผิว ขนาดรูและสภาพมีขั้วต่างกันจึงจำเป็นต้องเลือกให้เหมาะสมกับสารตัวอย่างแต่ละประเภท เฟสอยู่กับที่ที่นิยมใช้ได้แก่ silica gel, alumina และcelite (diatomaceous earth) แต่อาจพบเฟสอยู่กับที่อีกชนิดหนึ่งคือ pellicular partical ซึ่งมีลักษณะเป็นเม็ดแก้วขนาดประมาณ 40 μm เคลือบด้วย alumina หรือ ซิลิกาให้มีความหนาประมาณ 1-3μm หรือเฟสอยู่กับที่และเฟสเคลื่อนที่ได้เร็วแต่มีความจุของเฟสอยู่กับที่ต่ำ

2.4.1.4 ตัวตรวจวัด (detector) มีหน้าที่วัดปริมาณของสารเพื่อส่งให้เครื่องบันทึกค่าและแสดงกราฟของสารชนิดต่างๆ ตัวตรวจวัดมีหลายชนิดขึ้นอยู่กับประเภทของสารที่ต้องตรวจวัด ตัวอย่างเช่น

- ตัวไวแสง (photo detector) ใช้สำหรับการวัดสารที่มีสีหรือความขุ่น
- ตัววัดแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence detector) ใช้สำหรับวัดปริมาณสารที่สามารถเปล่งแสงฟลูออเรสเซนซ์ได้
- ตัววัดดัชนีหักเห (refractive index detector) ใช้สำหรับวัดสารละลายที่ใส และมีตัวถูกละลายอยู่
- ตัววัดกัมมันตภาพรังสี (radioactivity detector) ใช้สำหรับวัดสารกัมมันตรังสี

ตัวตรวจวัดแต่ละชนิดมีความไวและข้อจำกัดในการใช้งานแตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 แสดงคุณสมบัติของตัวตรวจหาชนิดต่างๆ

ชนิด	ความไว (g/ml)	ผลของอุณหภูมิ	ผลของอัตราการไหล	หมายเหตุ
UV absorption	5×10^{-5}	น้อย	ไม่มีผล	นิยมใช้วัดในช่วง 254-280 nm
IR absorption	10^{-6}	น้อย	ไม่มีผล	-
Fluorometry	10^{-10}	น้อย	ไม่มีผล	-
Refractive index	5×10^{-7}	-	ไม่มีผล	วัดความแตกต่างดรรชนีหักเหของสารตัวอย่างและเฟสเคลื่อนที่
Conductivity	10^{-8}	$\pm1^{\circ}C$	มีผล	-
Flame ionization	10^{-8}	ไม่มีผล	มีผล	สารตัวอย่างถูกเผาให้เป็นไอออนและถูกจับโดยแอโนดเพลท
Mass Spectrometry	10^{-10}	ไม่มีผล	ไม่มีผล	วิเคราะห์สารได้ถึง 0.2-1.0 ng

ตัวตรวจหาที่นิยมใช้มากที่สุดในปัจจุบันเป็น การวัดการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นแสงอัลตราไวโอเลต เนื่องจากสารส่วนใหญ่ประกอบไปด้วยหมู่ซึ่งสามารถดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น ดังกล่าวได้ดี เนื่องจากการทดลองในที่นี้ใช้ UV-detector เป็นหลักซึ่งจะกล่าวรายละเอียดเพิ่มเติมดังนี้

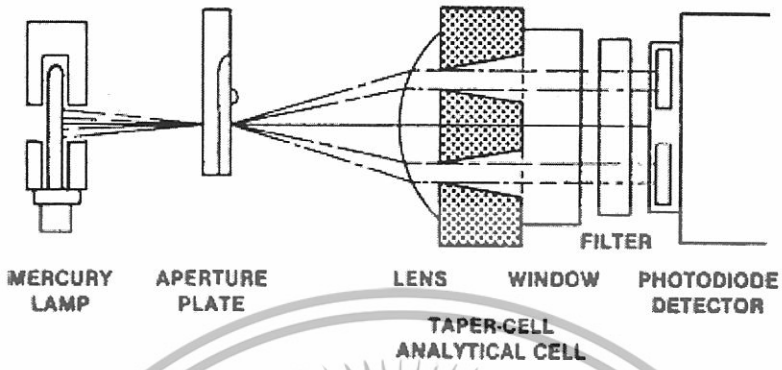
หลักการทำงานของเครื่องตรวจวัดชนิดนี้อาศัยการดูดกลืนแสงยูวีของสารตัวอย่าง ในปัจจุบัน ยูวี-วิสิเบิล ดีเทคเตอร์ที่นิยมใช้ใน HPLC แบ่งออกได้เป็น 3 ชนิด คือ [9]

1) Fixed-wavelength UV detector
2) Variable UV detector
3) Photodiode array detector

1. Fixed-wavelength UV detector ดีเทคเตอร์ชนิดนี้ ประกอบด้วยแหล่งกำเนิดแสงที่ใช้เป็นหลอดที่ทำด้วยปรอทความดันต่ำ ซึ่งจะให้แสงที่ความยาวคลื่น 254 nm โดยแสงผ่าน aperture plate ตรงไปยังเลนส์ที่ทำด้วยควอทซ์ซึ่งจะทำให้แสงผ่านเข้าไปในเซลล์อ้างอิงและเซลล์ของสารตัวอย่าง ต่อจากนั้นแสงจะผ่านกระจกควอทซ์และแผ่นกรองซึ่งจะแยกความยาวคลื่นที่เราสนใจก่อนที่แสงนั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

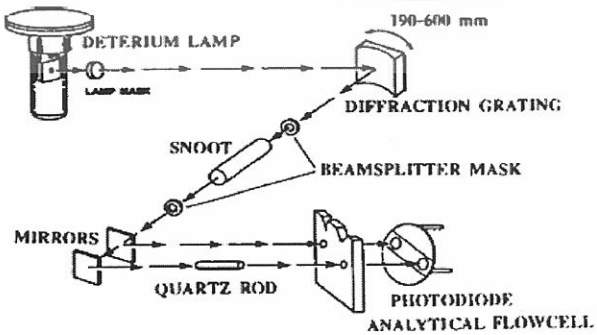
จะถึงโฟโตไดโอด โฟโตไดโอดจะทำการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของแสงทั้งเซลล์อ้างอิงและเซลล์ของสารตัวอย่างเป็นสัญญาณไฟฟ้าซึ่งจะถูกผ่านเข้าไปในส่วนของการขยายสัญญาณ



รูปที่ 2.5 Fixed-wavelength UV detector

ข้อจำกัดของดีเทคเตอร์ประเภทนี้จะได้แก่ ไม่สามารถจะตรวจวัดสารประกอบที่ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่ำกว่า 254 nm เพราะมีสารประกอบสำคัญหลายชนิดใช้ความยาวคลื่นในช่วง 195-225 nm นอกจาก mercury lamp แล้วอาจใช้แหล่งกำเนิดแสงอย่างอื่น อาทิเช่น Zn lamp(206 nm) Cd lamp (214 nm) เป็นต้น สำหรับ D_2 lamp จะเปล่งแสงออกมาอย่างต่อเนื่องในช่วงยูวี (200-400 nm) และบางช่วงของวิสิเบิล เมื่อต้องการความยาวคลื่นใดๆก็จะใช้โมโนโครโมเตอร์แยกแสงให้ได้ความยาวคลื่นที่ต้องการ

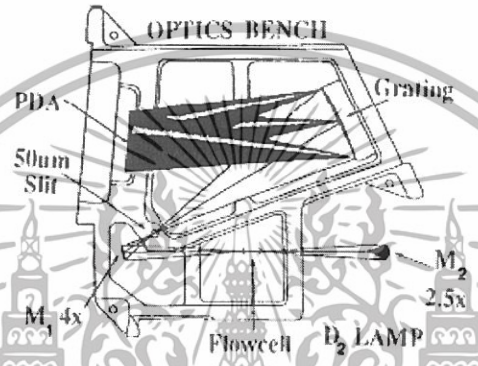
2. Variable UV detector ดีเทคเตอร์ชนิดนี้จะแตกต่างจากดีเทคเตอร์ประเภทแรกคือใช้แหล่งกำเนิดแสงเป็น D_2 lamp และใช้โมโนโครโมเตอร์แยกแสงและเลือกความยาวคลื่นตามที่ต้องการได้ จึงสามารถตรวจวัดสารตัวอย่างได้ทั่วไปเพราะสามารถเลือกความยาวคลื่นที่สารตัวอย่างดูดกลืนแสงได้ดีที่สุด



รูปที่ 2.6 Variable UV detector

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. Photodiode array detector (PDA) ดีเทคเตอร์ชนิดนี้จัดว่าเป็น solid state detector ซึ่งประกอบด้วยโฟโตไดโอดจำนวนมาก สามารถวัดแสงได้หลายๆความยาวคลื่นในขณะเดียวกัน มีลักษณะดังรูประบบทางเดินของแสงจะแตกต่างจาก ยูวี-วิสิเบิล ดีเทคเตอร์ ทั่วๆไปคือระบบทางเดินของแสงจะเป็นแบบ reverse optics จากรูปแสงจากแหล่งกำเนิดหรือหลอดยูวีจะผ่านไปยัง flow-through cell ก่อนที่จะไปยังโมโนโครโมเตอร์หรือเกรตติง เมื่อแสงตกกระทบบนเกรตติงจะกระจายออกไปเป็นความยาวคลื่นต่างๆแล้วไปตกกระทบกับแผงของโฟโตไดโอดดังรูป



รูปที่ 2.7 Photodiode array detector

PDA (996) เป็นดีเทคเตอร์ที่จะช่วยให้ข้อมูลทางโครมาโทรกราฟีมีความเด่นชัดและผลลัพธ์เป็นที่น่าเชื่อถือมากขึ้น เนื่องจาก มีการใช้เทคโนโลยี Taper Beam และระบบการเก็บข้อมูลในคอมพิวเตอร์ซึ่งมี Milennium 2010 เป็น software ควบคุมการทำงานและการเก็บข้อมูลรวมทั้งการประมวลผลในรูปแบบ 3D graphics spectral contrast peak purity เป็นต้น จากการใช้เทคโนโลยีของ taper beam ช่วยขจัด refractive index effect ซึ่งจะเป็นการเพิ่ม sensitivity ในส่วนของ spectral contrast เราสามารถเก็บข้อมูลมาเปรียบเทียบโดยใช้สเปกตรัมมาเปรียบเทียบกันซึ่งทำให้ทำ compound confirmation ได้

2.4.1.5 เครื่องบันทึกผล ใช้สำหรับแสดงตำแหน่งของสารที่ออกมาจากคอลัมน์เพื่อประโยชน์ในการจำแนกชนิดของสารหรือคำนวณหาปริมาณสาร ซึ่งสามารถได้จากความสูงของยอดพีก (peak high) หรือพื้นที่ใต้พีก (peak area) โดยกราฟที่มีลักษณะสมมาตรควรคำนวณค่าจากความสูง แต่ถ้ากราฟเบ้ควรคำนวณจากพื้นที่ใต้พีก กราฟที่บันทึกได้สามารถนำไปสู่การคำนวณค่าพารามิเตอร์ที่แสดงประสิทธิภาพของเครื่องมือ คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

1. ประสิทธิภาพของคอลัมน์ (column efficiency) หมายถึง ความสามารถในการแยกแถบสารที่แคบ ซึ่งดูได้จากค่าความกว้างของแถบของสารตัวอย่างที่ห่างออกไปจากจุดกึ่งกลางของแถบสารตัวอย่าง (number of theoretical plate , N) โดยคำนวณจากสูตร

$$N = 5.54 \left[\frac{t_r}{W_{1/2}} \right]^2$$

โดย t_r = retention time

(เวลาตั้งแต่ฉีดสารตัวอย่างจนถึงเวลายอดกราฟสูงสุดปรากฏ)

$W_{1/2}$ = ความกว้างของกราฟที่ครึ่งหนึ่งของความสูงในหน่วย mm

2. Capacity factor (K) เป็นตัวชี้ตำแหน่งของสาร โดยการเปรียบเทียบเวลาหน่วงของสารตัวอย่างที่ถูกหน่วงในคอลัมน์เปรียบเทียบกับสารที่ไม่ถูกหน่วงในคอลัมน์ คำนวณจากสูตร

$$K = \frac{(t_r - t_o)}{t_o}$$

t_r = retention time ของสารที่ถูกหน่วง

t_o = retention time ของสารที่ไม่ถูกหน่วง

2.4.1.6 ระบบไมโครโพรเซสเซอร์ มีหน้าที่ควบคุมการทำงานของเครื่องมือ เพื่อให้เครื่องมือใช้งานได้สะดวก ลดอันตรายและทำให้ประสิทธิภาพในการตรวจวิเคราะห์สูงขึ้น

2.4.1.7 ชุดควบคุมอุณหภูมิของคอลัมน์ ถึงแม้ว่าการวิเคราะห์สารส่วนใหญ่สามารถกระทำได้ที่อุณหภูมิห้อง แต่เครื่อง HPLC บางแบบจะมีชุดควบคุมอุณหภูมิของคอลัมน์ให้คงที่เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการแยกหรือวิเคราะห์สารต่างๆ

2.4.2 ระบบเฟสเคลื่อนที่

สารละลายที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่มีความจำเพาะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของสารที่ต้องการแยก แต่ควรมีคุณสมบัติพื้นฐานที่เหมือนกันคือ มีความบริสุทธิ์สูงปราศจากสิ่งเจือปน และไม่ทำปฏิกิริยากับเฟสอยู่กับที่ คอลัมน์ ตัวฉีด ตัวตรวจวัด และสารที่ต้องการแยกจนทำให้สารต้องการแยกเสื่อมสภาพไป นอกจากนี้ยังต้องคำนึงถึงความหนืดและความปลอดภัยของสารละลายด้วย การใช้สารละลายไล่สารต่างๆออกจากคอลัมน์อาจพบได้ใน 2 ลักษณะ คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

107771

2.4.2.1 Isocratic elution เป็นการใช้สารละลายเพียง 1 ชนิดไล่สารต่างๆ ออกจากคอลัมน์

2.4.2.2 Gradient elution เป็นการใช้สารละลายมากกว่า 1 ชนิด หรือใช้สารละลายชนิดเดียวแต่มีความเข้มข้นต่างๆ กันไล่สารต่างๆ ออกจากคอลัมน์ ซึ่งพบว่ามักมีประสิทธิภาพในการแยกสารต่างๆ ออกจากกันได้ดีกว่า

2.4.3 เทคนิคการวิเคราะห์ปริมาณ

สารละลายมาตรฐาน ใช้สำหรับเป็นตัวเปรียบเทียบหาปริมาณในสารตัวอย่าง สารละลายมาตรฐานอาจใช้งานใน 2 ลักษณะ คือ

2.4.3.1 สารมาตรฐานภายนอก (external standard) นิยมใช้สารบริสุทธิ์ชนิดเดียวกับสารที่ต้องการวิเคราะห์ที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน ซึ่งเมื่อฉีดเข้าไปในคอลัมน์จะทำให้สามารถหาปริมาณของสารตัวอย่างได้จากการอ่านค่าจากกราฟมาตรฐาน หรือใช้วิธีคำนวณเปรียบเทียบหาปริมาณของสารจากความสูงของกราฟ หรือพื้นที่ใต้กราฟเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน ซึ่งอาจจะอ่านค่าได้คลาดเคลื่อนไปจากความจริง ถ้าสภาพของคอลัมน์ หรือเครื่องมือในขณะทำกราฟมาตรฐานและการวิเคราะห์สารตัวอย่างแตกต่างกันมาก

2.4.3.2 สารมาตรฐานภายใน (internal standard) เป็นสารที่มีโครงสร้างทางเคมีคล้ายสารที่ต้องการตรวจวิเคราะห์ ใช้เติมลงในสารมาตรฐานภายนอกและสารตัวอย่างในปริมาณที่คงที่ ก่อนทำการวิเคราะห์ ซึ่งเมื่อฉีดเข้าไปในคอลัมน์ จะปรากฏเป็นกราฟอ้างอิงในตำแหน่งที่คงที่ในเครื่องบันทึกผล ดังนั้นจึงมีประโยชน์ในการตรวจสอบหาความผิดปกติของเครื่องมือ โดยการดูการเปลี่ยนแปลงตำแหน่ง หรือเวลาหน่วง (retention time) ของสารมาตรฐานภายใน นอกจากนี้ยังสามารถคำนวณหาปริมาณของสารตัวอย่างได้โดยการสร้างกราฟมาตรฐาน โดยให้แกน Y เป็นสัดส่วนระหว่างความสูงของกราฟของสารมาตรฐานภายนอกและความสูงของกราฟของสารมาตรฐานภายใน ส่วนแกน X เป็นค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐาน แล้วจึงนำค่าอัตราส่วนระหว่างความสูงของกราฟของสารตัวอย่างและความสูงของสารมาตรฐานภายในมาอ่านค่าความเข้มข้นจากกราฟดังกล่าว วิธีนี้มีข้อดีตรงที่ สามารถคำนวณหาปริมาณของสารตัวอย่างได้อย่างถูกต้อง ถึงแม้ว่าเครื่องมือจะมีความผิดปกติในการวิเคราะห์บ้าง เพราะเป็นการหาค่าที่เทียบสัดส่วนกับสารมาตรฐานภายใน

2.4.4 วิธีใช้

เครื่องโครมาโทกราฟีเหลวความดันสูงยี่ห้อต่างๆ มีวิธีการใช้งานคล้ายกัน ตั้งแต่การเตรียมคอลัมน์ การใส่สารตัวอย่าง การไล่สารตัวอย่าง การใส่สารมาตรฐาน การคำนวณและการบันทึกผล ซึ่งผู้ใช้ควรศึกษาคู่มือการใช้งานให้ละเอียดก่อนลงมือใช้งาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อควรปฏิบัติในการใช้งาน

สิ่งที่ควรระมัดระวังอย่างยิ่งในการเครื่องโครมาโทกราฟีเหลวความดันสูง คือ การดูแลรักษาคอลัมน์ให้มีอายุการใช้งานนานที่สุด และมีประสิทธิภาพสูงในการแยกสาร การใช้งานที่ผิดหรือขาดการดูแลจะทำให้คอลัมน์ซึ่งมีราคาค่อนข้างแพงเสียหายแบบถาวร

1. กรองสารตัวอย่างก่อนฉีดเข้าสู่คอลัมน์เพื่อป้องกันคอลัมน์อุดตัน
2. ระวังการเกิดฟองอากาศในเข็มที่ใช้ดูดตัวอย่างและสารมาตรฐาน
3. ล้างเข็มฉีดสารตัวอย่างและสารมาตรฐานทุกครั้งทั้งก่อนและหลังการใช้งาน
4. ใช้เฉพาะสารเคมีเกรด HPLC เท่านั้นสำหรับเป็นเฟสเคลื่อนที่
5. น้ำกลั่นควรมีความบริสุทธิ์สูงโดยการกลั่น 2-3 ครั้ง รวมทั้งภาชนะต่างๆที่ใช้ในการวิเคราะห์ต้องล้างให้สะอาดจริงๆ
6. สารละลายที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ควรมีการกรองสิ่งสกปรกออกก่อนใช้งาน
7. สารละลายที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ควรทำการกำจัดแก๊สออกก่อนใช้งาน โดยใช้อ่างอัลตราโซนิก หรือ เครื่องดูดสุญญากาศ
8. ตรวจสอบค่าพีเอชของเฟสเคลื่อนที่ให้อยู่ในช่วงพีเอช 2-7 เพื่อป้องกันซิลิกาในคอลัมน์ถูกทำลาย
9. ล้างทำความสะอาดคอลัมน์ทุกๆ ครั้งหลังจากใช้งานเสร็จ
10. ก่อนเก็บคอลัมน์ในระยะยาว ควรล้างทำความสะอาด บรรจุคอลัมน์ด้วยสารละลายที่ผู้ผลิตกำหนด
11. ล้างตัวฉีดทุกครั้งหลังใช้งานเสร็จ
12. ก่อนเลิกใช้งานควรปิดเครื่องมือตามลำดับก่อนหลังดังนี้ ปิดตัวบันทึก ปิดตัวตรวจวัด ปิดตัวฉีด ปิดเครื่องสูบ
13. ในกรณีที่เปลี่ยนขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายในของคอลัมน์ ต้องปรับอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ เพื่อให้ความเร็วของเฟสเคลื่อนที่และเวลาหน่วงมีค่าเดิม

2.4.5 ปัญหาและสาเหตุ

ปัญหาที่พบได้บ่อยในเครื่องโครมาโทกราฟีเหลวความดันสูง มักจะแสดงออกมาในรูปแบบของการแยกสารที่ต้องการไม่ได้ หรือแยกไม่ดี ซึ่งมักเกิดจากสาเหตุต่างๆ ดังตารางและในบางครั้งเกิดจากสาเหตุร่วมกันหลายๆ สาเหตุ ซึ่งต้องพยายามตรวจสอบ แก้ไข ทีละสาเหตุจนกว่าเครื่องมือจะกลับสู่สภาพปกติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.3 แสดงปัญหาและสาเหตุที่พบได้บ่อยในเครื่องโครมาโทกราฟีเหลวความดันสูง

ปัญหา	สาเหตุ
พีกกว้าง	- ใส่สารตัวอย่างมากเกิน ควรแก้ไขโดยเจือจางสารตัวอย่าง - ฉีดสารตัวอย่างมากเกินไป ควรลดปริมาณสารตัวอย่างลง - ประสิทธิภาพของคอลัมน์ไม่ดี - มีเวลาหน่วง(retention time)นานเกิน - เฟสเคลื่อนที่หนืดเกินไป
พีกมีหาง(tailing)	- ซิลิกาในคอลัมน์ถูกทำลายที่อุณหภูมิสูงกว่า 50°C ควรลดอุณหภูมิของคอลัมน์ลง - ซิลิกาในคอลัมน์ถูกทำลายเมื่อพีเอชสูงเกิน ควรลดพีเอชของคอลัมน์ลง
สารตัวอย่างออกมาจากคอลัมน์น้อย (poor recovery)	- เฟสนิ่งหรือส่วนอุปกรณ์ดูดซับสารตัวอย่างไว้มาก
Spike peak	- มีฟองอากาศในเฟสเคลื่อนที่ - มีฟองอากาศในคอลัมน์ควรปิดฝาคอลัมน์ทุกครั้งที่เก็บ
Ghost peak	- มีสารอื่นเจือปนลงไปในคอลัมน์
รั่วบริเวณตัวสูบ ตัวฉีด หรือตัวตรวจวัด	- เปลี่ยนแหวนยางบริเวณข้อต่อและขันให้แน่น
ความไวลดลง (poor sensitivity)	- ใส่สารตัวอย่างน้อย - สายฉีดสารตัวอย่างอุดตัน - เฟสอยู่กับที่หรือส่วนอุปกรณ์อื่นๆ ดูดซับสารตัวอย่างไว้มาก
ค่าretention time น้อยเกินไป	- อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เร็วเกิน - อุณหภูมิของคอลัมน์ไม่คงที่ - ใส่สารตัวอย่างมากเกินไป
ค่า retention time มากเกินไป	- อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ช้าเกิน - สารตัวอย่างจับกับเฟสอยู่กับที่แน่นมาก
Base line ไม่คงที่	- มีฟองอากาศในตัวตรวจวัด - เครื่องสูบมีอัตราการสูบของเหลวไม่คงที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัญหา	สาเหตุ
ความดันของคอลัมน์สูงเกินไป	- คอลัมน์อุดตัน - จุลินทรีย์เติบโตในคอลัมน์ - เฟสเคลื่อนที่ตกตะกอน
ความดันของคอลัมน์ต่ำเกินไป	- ใช้เฟสเคลื่อนที่ไม่ถูกต้อง - อัตราการไหลออกของเฟสเคลื่อนที่ เคลื่อนที่เร็วเกินไป

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

A. Piccoli, J. Fiori, V. Andrisano, M. Orioli [10] ศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณไตรโคลซานในผลิตภัณฑ์ดูแลสุขภาพ โดยวิธี Isocratic reversed-phase liquid chromatographic (HPLC) เป็นวิธีที่ใช้ในการหาปริมาณไตรโคลซาน ซึ่งเป็นสารยับยั้งแบคทีเรีย(antimicrobic agent) ในผลิตภัณฑ์การดูแลสุขภาพหลายชนิด การแยกโดยเทคนิคโครมาโทกราฟี จะใช้ C-18 Column . Acetonitrile-TEA phosphate (70 mM:pH 3.5) 55:45 (v/v) เป็นเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) UV detection (230และ 280 nm.) เป็นดีเทคเตอร์ การพิสูจน์พีกไตรโคลซานจะถูกยืนยันโดยวิธี HPLC-MS ซึ่งใช้วิธีนี้ประสบความสำเร็จในการประยุกต์เพื่อหาไตรโคลซานซึ่งผสมอยู่ในพวกผลิตภัณฑ์ดูแลสุขภาพ (ผลิตภัณฑ์ระงับกลิ่นกาย ยาสีฟัน น้ำยาบ้วนปาก และน้ำยาล้างมือ) ปริมาณความเข้มข้นของไตรโคลซานที่เป็นส่วนผสมจะขึ้นอยู่กับทาง EEC directive ($\leq$0.3 %)

A. Safavi, N. Maleki and H. R. Shahbaazi [11] ศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณไตรโคซานโดยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้าที่ขั้วไฟฟ้าปรอท โดยการวิเคราะห์สารไตรโคซานในปริมาณน้อยนั้นได้พัฒนาเทคนิคโวลแทมเมทริก วิธีดิฟเฟอเรเชียลพัลส์โวแทมเมทรีมาใช้ในการวิเคราะห์ โดยจะแสดงผลเป็นพีกของกระแสที่มีการดูดซับและการคายการดูดซับของไตรโคซาน ซึ่งที่ระดับการดูดซับนั้นจะให้ค่ากระแสลดลง ดังนั้นการวิเคราะห์จึงขึ้นอยู่กับค่าการดูดซับของไตรโคซานบนขั้วไฟฟ้าปรอทหยดแขวนตัวและการคายการดูดซับจะเกิดพีกกระแสเป็นลบแสดงให้เห็นว่าผลของระบบนี้จะไม่เกิดพีกที่กระแสเป็นบวกบนขั้วปรอทหยด ภายใต้สภาวะการทดลองนี้ตำแหน่งพีกของไตรโคซานจะอยู่ระหว่าง–1190 และ –990 mV (เทียบกับขั้ว Ag/AgCl) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับค่า pH อัตราการสแกน ค่าระยะเวลาการสะสม และผลกระทบจากสารอินทรีย์อื่นๆ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงค่าอัตราการสแกนในช่วง 80 ถึง 500 mVs^{-1} จะส่งผลต่อการเพิ่มความสูงของพีก นอกจากนี้พีกของกระแสจะสัมพันธ์กับระดับความเข้มข้นของไตรโคซานที่ความเข้มข้นมากกว่า 2.5-60 $\mu g\ L^{-1}$ ภายใต้สภาวะการทดลองที่ pH 7 ค่าศักย์ไฟฟ้าสะสมที่ –450 mV และค่าระยะเวลาการสะสม 90 s ค่าขีดจำกัดของการตรวจวัด (detection limit, DL) เท่ากับ 1.9 $\mu g\ L^{-1}$ และค่าสัมประสิทธิความแปรผัน (% RSD) จะต่ำกว่า 3 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยการทดลองประยุกต์ใช้เทคนิคนี้ในการวิเคราะห์หาไตรโคซานในตัวอย่างยาสีฟัน (ประกอบด้วยไตรโคซาน 0.3 %) และตัวอย่างน้ำเสีย

วีระชัย ไกรวันธุ์ พัชรินทร์ วีระอาชากุล ชลธิชา อมรฉัตร เทอดพงษ์ ตรีรัตน์ และเพชรรัตน์ ไกรวพันธุ์ [12] ศึกษาประสิทธิภาพการต้านแบคทีเรียของครีมอาบน้ำที่มีส่วนผสมไตรโคลซาน เป็นการศึกษาทางคลินิก เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของครีมอาบน้ำที่มีส่วนผสมไตรโคลซานร้อยละ 0.18 ต่อจุลินทรีย์ที่ผิวหนังโดยวิธีการล้างมือ ทำการศึกษาในอาสาสมัครจำนวน 30 คน ซึ่งงดใช้สารต่าง ๆ ที่มีฤทธิ์ทำลายเชื้อเป็นเวลา 7 วัน หาปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่จุดเริ่มต้นแล้วแบ่งอาสาสมัครเป็น 2 กลุ่ม ๆ ละ 5 คน โดยอาสาสมัครแต่ละกลุ่มมีค่าเฉลี่ยปริมาณแบคทีเรียที่จุดเริ่มต้นเท่ากัน โดยวิธีสุ่มและดับเบิลไบลน์อาสาสมัครแต่ละกลุ่มได้รับครีมอาบน้ำไตรโคลซานหรือครีมอาบน้ำหลอกไปใช้ที่บ้านและต้องมาล้างมือต่อหน้าผู้ควบคุมวันละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 3 วัน ตามวิธีที่กำหนด ผลการศึกษาพบว่าอาสาสมัครกลุ่มที่ล้างมือด้วยครีมอาบน้ำไตรโคลซานมีปริมาณเชื้อแบคทีเรียน้อยกว่ากลุ่มที่ล้างมือด้วยครีมอาบน้ำหลอกร้อยละ 83.47 76.61 และ 0.12 และ 24 ชั่วโมงหลังการหยุดใช้ครีมอาบน้ำตามลำดับ ($p < 0.001$) เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนแบคทีเรียที่จุดเริ่มต้นของแต่ละกลุ่ม อาสาสมัครกลุ่มนี้ล้างมือด้วยครีมอาบน้ำไตรโคลซานมีปริมาณแบคทีเรียลดลง ร้อยละ 83.04 78.61 และ 69.83 ที่เวลา 0 12 และ 24 ชั่วโมงหลังการหยุดใช้ครีมอาบน้ำตามลำดับ ($p < 0.001$) แต่อาสาสมัครกลุ่มที่ล้างมือด้วยครีมอาบน้ำหลอกไม่พบความแตกต่างของปริมาณแบคทีเรีย ($p < 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สารเคมี

1. ไตรโคลซาน (Triclosan ≥97.0%, 2,4,4′-trichloro-2′-hydroxydiphenel ether) HPLC grade ของบริษัท Fluka
2. แอนโทรน (Anthrone ≥93%) HPLC grade ของบริษัท Fluka
3. แอซิโทไนไทรล์ (C_2H_3N) HPLC grade ของบริษัท Carlo Erba
4. กรดแอซิติก (Glacial CH_3COOH) AR grade ของบริษัท Carlo Erba
5. แอซิโตน (Acetone) AR grade ของบริษัท Carlo Erba
6. เมทานอล (CH_3OH) HPLC grade ของบริษัท BHD Laboratory
7. น้ำปราศจากไอออนจากเครื่อง Milli-Q Gradient ชนิดไส้กรอง Millipak-40 ขนาด 20 μm
8. สารตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์
   8.1 ยาสีฟัน HERBAL COOL
   8.2 ครีมล้างหน้า บิโอเร เฟเชียล โฟม แอคเน่ แคร์
   8.3 เอเวอร์เซ็นส์ ไวท์ & มอยซ์ โรลออน
   8.4 ผลิตภัณฑ์ซักผ้าเอสเซ้นซ์

3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่อง High Performance Liquid Chromatography ปั๊มรุ่น Waters 515
2. คอลัมน์ ODS-C_{18} ขนาด 4.6 x150 mm ขนาดอนุภาค 5.0 μm
3. UV detector รุ่น Waters 486 TUNABLE ABSORBANCE DETECTOR ของบริษัท Waters
4. Syring ขนาด 60 μL
5. เครื่องกรองแบบสูญญากาศพร้อมขวดกรองแบบสูญญากาศ 1000 mL
6. กระดาษกรอง เบอร์ 2 ขนาด 70 mm ของบริษัท Toyo Roshi Kaisha, Ltd.
7. ชุดกรองสารตัวอย่าง filter membrane NYLON ขนาด 0.45 μm
8. เครื่องชั่งน้ำหนักละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง Precisa 205 A
9. เครื่องวัดพีเอช (pH meter) Metromh รุ่น 713 pH meter
10. Ultrasonic bath

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 การดำเนินการทดลอง

3.3.1 การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการทดลอง

3.3.1.1 การเตรียมสารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก เพื่อใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ในเทคนิค HPLC

กรองแอซิโทไนไทรล์ น้ำปราศจากไอออน และกรดแอซิติกด้วยเครื่องกรองสุญญากาศแล้วนำไปเตรียมสารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก ที่อัตราส่วน 50:50:0.5 60:40:0.5 และ 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร

สารละลายที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่นำไปไล่ฟองอากาศด้วยเครื่อง Ultrasonic ก่อนนำไปใช้ทุกครั้ง

3.3.1.2 การเตรียมสารละลายสต็อกของสารละลาย 1 mg/mL ไตรโคลซาน

ชั่งน้ำหนักไตรโคลซานมา 0.1 กรัม ละลายด้วยเฟสเคลื่อนที่ (70:30:0.5 แอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก) แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยเฟสเคลื่อนที่ เก็บไว้ในภาชนะทึบแสงในตู้เย็น

3.3.1.3 การเตรียมสารละลาย 0.3 mg/mL แอนโทรน (Anthrone)

ชั่งน้ำหนักแอนโทรน มา 0.03 กรัม ละลายด้วยเฟสเคลื่อนที่ (70:30:0.5 แอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก) แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยเฟสเคลื่อนที่ เก็บไว้ในภาชนะทึบแสง

3.3.1.4 การเตรียมสารละลายตัวอย่างของผลิตภัณฑ์ดูแลสุขภาพ

ชั่งสารตัวอย่างยาสีฟัน 0.45 กรัม ตัวอย่างครีมล้างหน้า 0.45 กรัม ตัวอย่างโรลออน 0.40 กรัม และผลิตภัณฑ์ซักผ้า 1.50 กรัม นำแต่ละสารตัวอย่างมาละลายด้วยเฟสเคลื่อนที่ปริมาณเล็กน้อย แล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 2 ก่อนจากนั้นนำมากรองผ่าน filter membrane NYLON ขนาด 0.45 µm เทใส่ขวดวัดปริมาตรแล้วปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร ด้วยเฟสเคลื่อนที่ ก่อนทำการวิเคราะห์ให้นำไปไล่ฟองอากาศด้วยเครื่อง Ultrasonic

3.3.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณไตรโคลซานด้วยเทคนิค HPLC

การวิเคราะห์หาปริมาณไตรโคลซานโดยเครื่อง HPLC รุ่น Waters 515 ใช้คอลัมน์ ODS-C_{18} ขนาดของคอลัมน์ 4.6 x 150 mm ขนาดอนุภาค 5.0 µm ตรวจวัดด้วยเครื่องยูวี ดีเทคเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.2.1 ทดสอบหาอัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่

ทดสอบหาอัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่ คือ นำสารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก ที่อัตราส่วน 50:50:0.5 60:40:0.5 และ 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร วิเคราะห์สารละลายตัวอย่างไตรโคลซาน ด้วยคอลัมน์ ODS-C_{18} โดยใช้อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

3.3.2.2 ทดสอบอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่

นำสารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก ในอัตราส่วนที่ได้จากการทดสอบจากข้อ3.3.2.1 มาทดสอบหาอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสม โดยวิเคราะห์สารมาตรฐานไตรโคลซาน ความเข้มข้น 1000 mg/L ทดสอบอัตราการไหลที่ 0.8 1.0 และ 1.2 มิลลิลิตรต่อนาที ใช้ปริมาตรฉีดวิเคราะห์เท่ากับ 20 ไมโครลิตร ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

3.3.3 ศึกษาความเข้มข้นของการทำกราฟมาตรฐาน

เตรียมสารละลายมาตรฐานไตรโคลซานที่ความเข้มข้น 1 10 50 และ 100 mg/L (ขั้นตอนการเตรียมสารมาตรฐานแสดงไว้ในภาคผนวก ก) ทำการตรวจวัดที่สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาข้อ 3.3.2 และสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่พีกและความเข้มข้นของไตรโคลซาน ดูช่วงความเป็นเส้นตรง (linearity) ของกราฟ หาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ และขีดจำกัดการตรวจวัดของไตรโคลซาน

3.3.4 การวิเคราะห์ปริมาณไตรโคลซานในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ดูแลสุขภาพ

3.3.4.1 การทำ External Standard Method

นำสารตัวอย่างที่เตรียมได้มาตรวจวัดด้วยเทคนิค HPLC ที่สภาวะที่ได้จากการศึกษาข้อ 3.3.2 วิเคราะห์ผลที่ได้และเทียบหาปริมาณของไตรโคลซานของสารตัวอย่างจากกราฟมาตรฐานที่ได้จากการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง (linearity) ของกราฟ และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ในข้อ 3.3.3

3.3.4.2 การทดสอบเพื่อยืนยันตำแหน่งที่เกิดปฏิกิริยา (การทำ spiking) และการหาเปอร์เซ็นต์คืนกลับ (% recovery)

เตรียมสารตัวอย่างของผลิตภัณฑ์ มาวิเคราะห์สองชุดการทดลองโดยนำสารตัวอย่างมา 5 มิลลิลิตรในแต่ละชุดการทดลอง โดยชุดการทดลองแรกเตรียมสารละลายตัวอย่างโดยเติมสารมาตรฐานที่ความเข้มข้นเป็นหนึ่งเท่าของความเข้มข้นสารตัวอย่างที่ไม่ได้เติมสารมาตรฐาน และชุดการทดลองที่สองเตรียมสารละลายตัวอย่างผสมกับสารมาตรฐานไตรโคลซานที่ทราบความเข้มข้นที่ความเข้มข้นเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สองเท่าของความเข้มข้นสารตัวอย่างที่ไม่ได้เติมสารมาตรฐาน ปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตรด้วยเฟสเคลื่อนที่ ฉีดวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC ที่สภาวะที่ได้จากการศึกษาข้อ 3.3.2 วิเคราะห์ผลที่ได้หาปริมาณของไตรโคลซาน แล้วหาค่าเปอร์เซ็นต์คืนกลับ (% recovery)

3.3.4.3 การทำ Internal Standard Method

นำสารมาตรฐานไตรโคลซานที่ความเข้มข้น 1 10 50 และ 100 mg/L และสารตัวอย่างที่เตรียมได้จากวิธีในข้อ 3.3.1.4 เติมสารละลาย 0.3 mg/mL แอนโทรน 1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร ด้วยเฟสเคลื่อนที่ และตรวจวัดด้วยเทคนิค HPLC ด้วยตัวตรวจวัดยูวี ที่สภาวะที่ได้จากการศึกษาข้อ 3.3.2 วิเคราะห์ผลที่ได้หาปริมาณของไตรโคลซานในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ดูแลสุขภาพ

3.3.4.4 การทำ Standard addition method

เตรียมสารตัวอย่างโดยชั่งสารตัวอย่างยาสีฟัน 0.45 กรัม ตัวอย่างครีมล้างหน้า 0.45 กรัม ตัวอย่างโรลออน 0.40 กรัมและผลิตภัณฑ์ซักผ้า 1.50 กรัมนำแต่สารตัวอย่างมาละลายด้วยเฟสเคลื่อนที่ปริมาณเล็กน้อย แล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 2 ก่อนจากนั้นนำมากรองผ่าน filter membrane NYLON ขนาด 0.45 µm เทใส่ขวดวัดปริมาตรแล้วปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตรด้วยเฟสเคลื่อนที่ จากนั้นนำสารตัวอย่างนั้นมาเติมสารมาตรฐานที่มีปริมาณต่าง ๆ กันลงไป โดยใส่สารตัวอย่างที่ความเข้มข้นละ 5 มิลลิลิตร ที่ตัวอย่างยาสีฟันเติมสารมาตรฐาน 0 30 และ 60 mg/L ตัวอย่างครีมล้างหน้าเติมสารมาตรฐาน 0 40 และ 80 mg/L ตัวอย่างโรลออนเติมสารมาตรฐาน 20 และ 40 mg/L และตัวอย่างผลิตภัณฑ์ซักผ้าเติมสารมาตรฐาน 0 50 และ 100 mg/L แล้วปรับปริมาตรด้วยเฟสเคลื่อนที่เป็น 10 มิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์ที่สภาวะที่ได้จากการศึกษาข้อ 3.3.2 วัดพื้นที่พีกและเขียนกราฟระหว่างพื้นที่พีกที่ได้กับปริมาณของสารมาตรฐานที่เติมในปริมาณต่างๆ หาปริมาณของไตรโคลซานในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ดูแลสุขภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผล

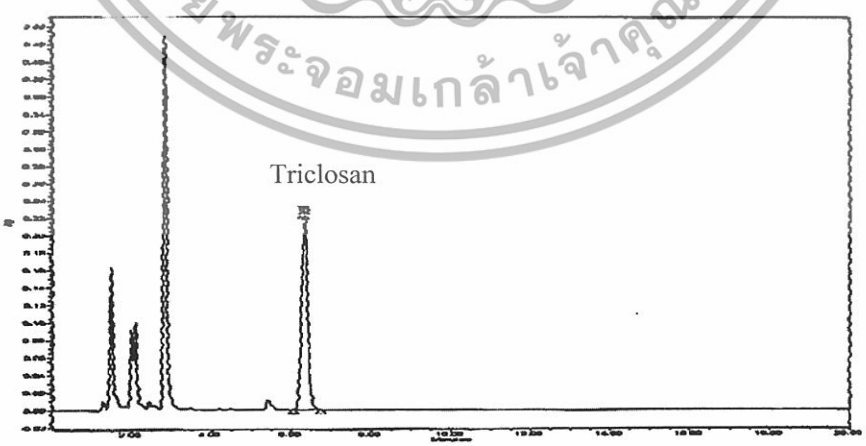
4.1 ศึกษาการแยกของไตรโคลซานโดยระบบ HPLC

4.1.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณไตรโคลซาน

4.1.1.1 ศึกษาอัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่

การทดสอบใช้สารละลายตัวอย่างไตรโคลซาน วิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC รุ่น Waters 515 ใช้คอลัมน์ ODS-C_{18} ขนาดของคอลัมน์ 4.6 x 150 mm ขนาดอนุภาค 5.0 µm ตรวจวัดด้วยเครื่องยูวี ดีเทคเตอร์ โดยให้อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เป็น 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที และปริมาตรในการฉีดวิเคราะห์คือ 20 ไมโครลิตร เฟสเคลื่อนที่ที่ใช้คือสารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก ที่อัตราส่วน 50:50:0.5 60:40:0.5 และ 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

จากการทดสอบพบว่า เมื่อใช้เฟสเคลื่อนที่สารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก ที่อัตราส่วน 50:50:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร แยกสารละลายตัวอย่างไตรโคลซาน จะให้ผลการแยกที่เวลารีเทนชัน 29.013 นาที แต่ใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน ในอัตราส่วน 60:40:0.5 และ 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร ให้ผลการแยกที่เวลารีเทนชันที่ 10.579 นาที และ6.356 นาทีตามลำดับ สามารถแยกสารไตรโคลซานออกจากสารตัวอย่างได้ดี แต่ที่อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร จะใช้เวลาในการวิเคราะห์สั้นกว่าที่อัตราส่วน 60:40:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร และยังให้ผลการวิเคราะห์ที่ดี โครมาโทแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์แสดงดังรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 โครมาโทแกรมของสารละลายตัวอย่างยาสีฟัน เฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก ที่อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร และอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าเฟสเคลื่อนที่สำหรับใช้ในการวิเคราะห์สารตัวอย่างไตรโคลซานที่เหมาะสมที่สุด คือ สารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก ที่อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร ซึ่งสามารถแยกสารประกอบไตรโคลซานจากสารตัวอย่างได้เนื่องจากมีความแรงของตัวทำละลายสำหรับการแยกชะที่เหมาะสม และใช้เวลาในการวิเคราะห์สั้นที่สุด เวลารีเทนชันในการแยกชะของเฟสเคลื่อนที่สรุปได้ดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงค่าเวลารีเทนชัน (retention time)ในการแยกชะสารไตรโคลซาน ของเฟสเคลื่อนที่ในอัตราส่วนต่าง ๆ

อัตราส่วนของ แอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก (ปริมาตรโดยปริมาตร)	อัตราการไหล (มิลลิลิตรต่อนาที)	เวลารีเทนชัน (นาที)
50:50:0.5	1.0	29.013
60:40:0.5	1.0	10.579
70:30:0.5	1.0	6.356

4.1.1.2 อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่

ทดสอบหาอัตราการไหลที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณไตรโคลซาน ใช้เฟสเคลื่อนที่ที่ได้จากการศึกษาข้างต้นนั่นคือ สารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร ผลที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4.2

จากผลการทดสอบที่ได้พบว่าเมื่อใช้อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 0.8 1.0 และ 1.2 มิลลิลิตรต่อนาที เวลารีเทนชันที่ได้จะมีค่า 7.779 6.238 และ4.877 นาทีตามลำดับ โดยอัตราการไหลที่เหมาะสมที่สุดในการวิเคราะห์ไตรโคลซานนั้น คือ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ซึ่งเป็นอัตราการไหลที่สามารถแยกสารไตรโคลซานในตัวอย่างได้ดี และให้ค่าเวลารีเทนชันที่พอเหมาะในการวิเคราะห์หาปริมาณไตรโคลซานในสารละลายมาตรฐานไตรโคลซานและสารตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 แสดงค่าเวลารีเทนชัน (retention time) ของสารไตรโคลซาน ที่ได้จากการใช้อัตราการไหลเฟสเคลื่อนที่ต่าง ๆ กัน และเฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร

สารมาตรฐานไตรโคลซาน (mg/L)	เวลารีเทนชัน (นาที)		
	ที่อัตราการไหล 0.8 มิลลิลิตร/นาที	ที่อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตร/นาที	ที่อัตราการไหล 1.2 มิลลิลิตร/นาที
1000	7.779	6.238	4.877

4.2 การสร้างกราฟมาตรฐานของไตรโคลซาน

สร้างกราฟมาตรฐานของไตรโคลซาน โดยทำการทดสอบในช่วงความเข้มข้น 1-100 mg/L ในเฟสเคลื่อนที่สารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร ที่อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที โดยใช้เทคนิค HPLC ตรวจวัดด้วยเครื่องยูวี ดีเทคเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

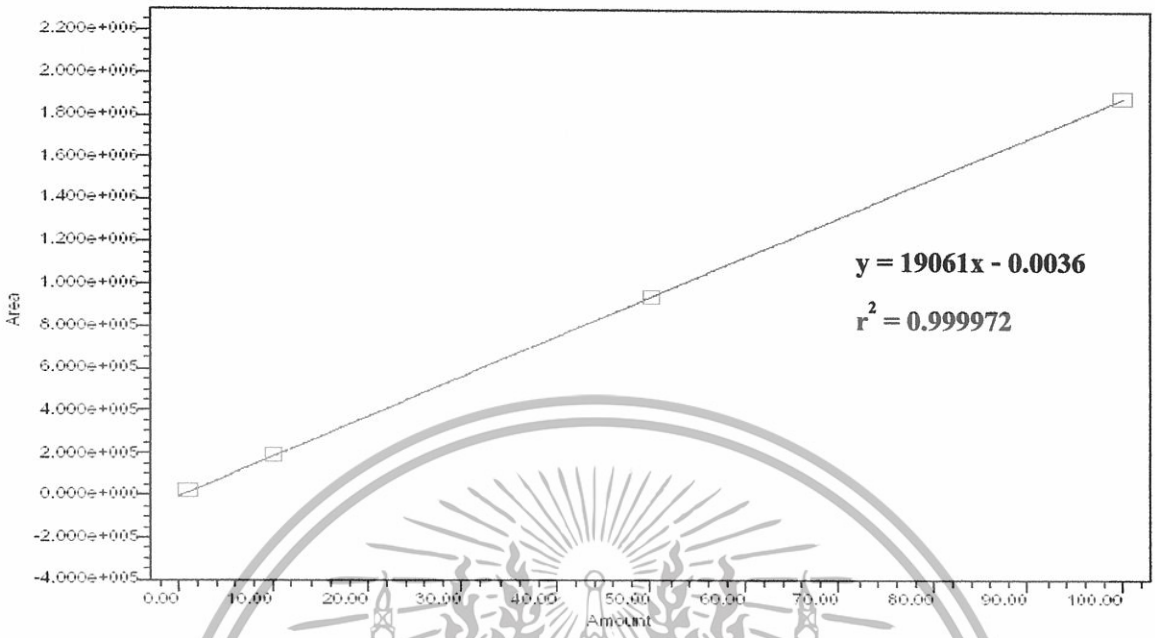
การทดสอบจะทำการเตรียมชุดการทดลองของสารมาตรฐานที่ช่วงความเข้มข้น 1-100 mg/L หลายชุดการทดลองแล้วนำไปวิเคราะห์ ผลที่ได้จะนำไปสร้างกราฟมาตรฐานที่ได้แสดงในภาคผนวก ค รูปที่ ค1-ค4

โดยผลจากการสร้างกราฟมาตรฐานทำให้ทราบถึงพิสัยเชิงเส้น สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของไตรโคลซาน ดังตารางที่ 4.3

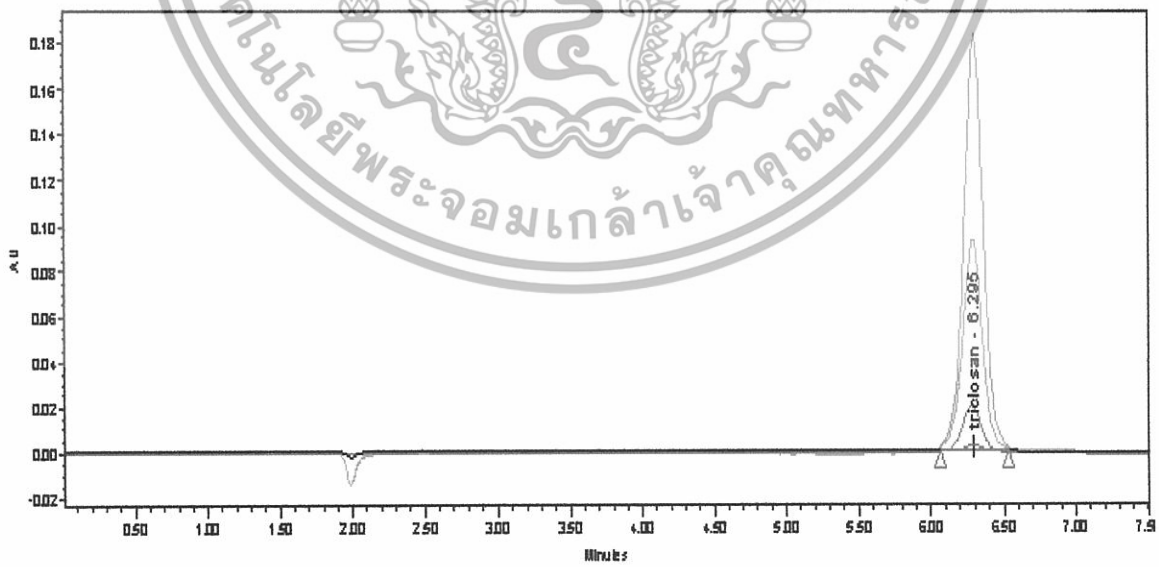
ตารางที่ 4.3 แสดงผลจากการสร้างกราฟมาตรฐานที่ชุดการทดลองต่าง ๆ ค่าพิสัยเชิงเส้น และสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของไตรโคลซาน

ชุดการทดลองที่	พิสัยเชิงเส้น (mg/L)	สมการเชิงเส้น	สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2)
1	1-100	y = 17836x - 0.2255	0.999795
2	1-100	y = 18038x - 0.0012	0.999545
3	1-100	y = 19061x - 0.0036	0.999972
4	1-100	y = 18907x - 0.0077	0.999971

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 กราฟมาตรฐานของไตรโคลซานที่ชุดการทดลองที่ 3 ช่วงความเข้มข้น 1-100 mg/L ในเฟสเคลื่อนที่สารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร



รูปที่ 4.3 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานไตรโคลซานที่ช่วงความเข้มข้น 1-100 mg/L ในเฟสเคลื่อนที่สารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดสอบที่ได้พบว่าเมื่อทำการทดลองสร้างกราฟมาตรฐานที่ชุดการทดลองต่างๆ จะให้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของไตรโคลซานที่แตกต่างกัน ดังนั้นกราฟมาตรฐานที่เหมาะสมที่สุดในการวิเคราะห์หาปริมาณไตรโคลซานจะเป็นกราฟมาตรฐานค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์มีค่าใกล้เคียง 1 คือ กราฟมาตรฐาน $y = 19061x - 0.0036$ และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) เท่ากับ 0.999972

4.3 การวิเคราะห์ปริมาณไตรโคลซานในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ดูแลสุขภาพ

4.3.1 External Standard Method

นำสารตัวอย่างที่เตรียมได้มาตรวจวัดด้วยเทคนิค HPLC ด้วยตัวตรวจวัดยูวี ดีเทคเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร ในเฟสเคลื่อนที่สารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที

เมื่อวิเคราะห์ผลที่ได้และเทียบหาปริมาณของไตรโคลซานในสารตัวอย่างจากกราฟมาตรฐานที่มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) เท่ากับ 0.999972 จะให้ผลแสดงในตารางที่ 4.4

โดยทำการวิเคราะห์ปริมาณไตรโคลซานในสารตัวอย่าง 4 ตัวอย่าง คือ ยาสีฟัน ครีมล้างหน้า โรลออน และ ผลิตภัณฑ์ซักผ้า ทำการวิเคราะห์สารตัวอย่างตัวอย่างละ 5 ครั้ง (n = 5)

ตารางที่ 4.4 แสดงผลการวิเคราะห์หาปริมาณไตรโคลซานในสารตัวอย่างชนิดต่าง ๆ

ตัวอย่าง	ปริมาณไตรโคลซาน (mg/L)	ปริมาณไตรโคลซาน (% w/w)	% RSD (%)
ยาสีฟัน	27.211	0.151 ± 0.084	0.310
ครีมล้างหน้า	35.816	0.198 ± 0.398	1.112
โรลออน	15.249	0.094 ± 0.268	1.756
ผลิตภัณฑ์ซักผ้า	55.705	0.092 ± 0.176	0.317

จากตารางที่ 4.4 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณไตรโคลซานที่ได้สามารถคำนวณหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรผัน และค่า % w/w ได้อยู่ในช่วงที่ยอมรับ แสดงว่าผลการวิเคราะห์นี้มีความเที่ยงที่ยอมรับได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2 การทดสอบเพื่อยืนยันตำแหน่งที่เกิดปฏิกิริยา (การทำ spiking) และการหาเปอร์เซ็นต์คืนกลับ (% recovery)

สำหรับการบ่งชี้ตำแหน่งของพีกแต่ละพีกที่เกิดขึ้น ใช้วิธี spiking ในการทดสอบเตรียมสารตัวอย่างสองชุดการทดลอง โดยชุดการทดลองแรกเตรียมสารละลายตัวอย่างโดยเติมสารมาตรฐานที่ความเข้มข้นเป็นหนึ่งเท่าของความเข้มข้นสารตัวอย่างที่ไม่ได้เติมสารมาตรฐาน และชุดการทดลองที่สองเตรียมสารละลายตัวอย่างผสมกับสารมาตรฐานไตรโคลซานที่ทราบความเข้มข้นที่ความเข้มข้นเป็นสองเท่าของความเข้มข้นสารตัวอย่างที่ไม่ได้เติมสารมาตรฐาน ฉีดวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC ด้วยตัวตรวจวัดยูวี ดีเทคเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร ในเฟสเคลื่อนที่สารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที โดยทำการวิเคราะห์สารตัวอย่างละ 3 ครั้ง(n=3) วิเคราะห์ผลที่ได้หาปริมาณของไตรโคลซาน แล้วหาค่าเปอร์เซ็นต์คืนกลับของสารตัวอย่าง แสดงดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ปริมาณของไตรโคลซานจากการ spike และ % recovery

ตัวอย่าง	ปริมาณ spike(mg/L)	ปริมาณไตรโคลซาน (mg/L) ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	% recovery
ยาสีฟัน	30	49.23	49.283	49.271	
	60	77.311	77.382	77.373	
ผลต่าง	30	28.081	28.099	28.102	93.647 ±0.0379
ครีมล้างหน้า	40	61.254	61.143	60.417	
	80	97.272	97.644	99.101	
ผลต่าง	40	36.018	36.501	38.684	92.669 ±3.551
โรลออน	20	34.006	33.88	35.196	
	40	54.996	54.474	57.047	
ผลต่าง	20	20.99	20.594	21.851	105.725 ±3.213
ผลิตภัณฑ์ซักผ้า	50	99.447	99.304	99.678	
	100	152.167	153.345	152.168	
ผลต่าง	50	52.72	54.041	52.49	106.167 ±1.674

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 4.5 ทำให้สามารถคำนวณ % recovery ได้อยู่ในช่วง 92.669 – 106.167 แสดงให้เห็นว่าการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิคนี้มีความแม่นยำที่ยอมรับได้ ค่า % recovery นี้อาจเป็นผลมาจากสารตัวอย่างมี matrix ที่รบกวนการวิเคราะห์และจากขั้นตอนการเตรียมสารตัวอย่างจึงทำให้มีค่าบางค่าเกินช่วงที่ยอมรับได้เล็กน้อย

4.3.3 Internal Standard Method

นำสารมาตรฐานไตรโคลซานที่ความเข้มข้นต่างๆ และสารตัวอย่างเติมสารละลาย 0.3 mg/mL แอนโทรน 1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร ด้วยเฟสเคลื่อนที่ และตรวจวัดด้วยเทคนิค HPLC ด้วยตัวตรวจวัดยูวี ดีเทคเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร ในเฟสเคลื่อนที่สารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที วิเคราะห์ผลที่ได้หาปริมาณของไตรโคลซานในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ดูแลสุขภาพ

โดยทำการวิเคราะห์ปริมาณไตรโคลซานในสารตัวอย่าง 4 ตัวอย่าง คือ ยาสีฟัน ครีมล้างหน้า โรลออน และ ผลิตภัณฑ์ซักผ้า ผลแสดงในตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 ปริมาณของไตรโคลซานในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Internal Standard

ตัวอย่าง	ปริมาณไตรโคลซาน (mg)	ปริมาณไตรโคลซาน (% w/w)	% RSD
ยาสีฟัน	0.6563	0.145 ± 0.053	36.243
ครีมล้างหน้า	0.8730	0.193 ± 0.023	11.705
โรลออน	0.3203	0.079 ± 0.001	1.554
ผลิตภัณฑ์ซักผ้า	1.5128	0.100 ± 0.011	10.900

จากตารางที่ 4.6 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณไตรโคลซานที่ได้สามารถคำนวณหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานและค่า % w/w ได้อยู่ในช่วงที่ยอมรับ แสดงว่าผลการวิเคราะห์นี้มีความเที่ยงที่ยอมรับได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.4 Standard addition method

เตรียมสารตัวอย่าง แล้วนำสารตัวอย่างไปตรวจวัดด้วยเทคนิค HPLC ตัวตรวจวัดยูวี ดีเทคเตอร์ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร ในเฟสเคลื่อนที่สารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที วัดพื้นที่พีกและเขียนกราฟระหว่างพื้นที่พีกที่ได้กับปริมาณของสารมาตรฐานที่เติมในปริมาณต่างๆ หาปริมาณของไตรโคลซานในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ดูแลสุขภาพ

โดยทำการวิเคราะห์ปริมาณไตรโคลซานในสารตัวอย่าง 4 ตัวอย่าง คือ ยาสีฟัน ครีมล้างหน้า โรลออน และ ผลิตภัณฑ์ซักผ้า ผลแสดงในตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 ปริมาณของไตรโคลซานในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Standard addition

สารตัวอย่าง	ปริมาณสารมาตรฐานที่เติม (mg/L)	น้ำหนักสารตัวอย่าง (g)	%w/w ไตรโคลซาน			%w/w ไตรโคลซาน
			ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
ยาสีฟัน	0 30 60	0.4535	0.14104	0.141454	0.142774	0.142 ± 0.001
ครีมล้างหน้า	0 40 80	0.4517	0.213072	0.202908	0.208087	0.208 ± 0.005
โรลออน	0 20 40	0.4039	0.080776	0.089389	0.09168	0.0872 ± 0.006
ผลิตภัณฑ์ซักผ้า	0 50 100	1.551	0.073003	0.071975	0.071095	0.072 ± 0.001

จากตารางที่ 4.7 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณไตรโคลซานที่ได้สามารถคำนวณหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานและค่า %w/w ได้อยู่ในช่วงที่ยอมรับ แสดงว่าผลการวิเคราะห์นี้มีความเที่ยงที่ยอมรับได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.5 ค่าขีดจำกัดการตรวจวัด (LOD)

สร้างกราฟมาตรฐานของไตรโคลซาน โดยทำการทดสอบในช่วงความเข้มข้น 1-100 mg/L ในเฟสเคลื่อนที่สารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร ที่อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที โดยใช้เทคนิค HPLC ตรวจวัดด้วยเครื่องยูวี ดีเทคเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

จากกราฟมาตรฐานของไตรโคลซานคำนวณหาค่าขีดจำกัดการตรวจวัดตามขั้นตอนในภาคผนวก จ. ผลที่ได้แสดงดังตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 แสดงผลของค่าขีดจำกัดการตรวจวัด (LOD)

กราฟมาตรฐาน	LOD. (mg/L)	ค่าเฉลี่ย LOD. (mg/L)
$y = 19061x - 0.0036$ $r^2 = 0.999972$	0.883	0.890 ± 0.009703
$y = 18907x - 0.0077$ $r^2 = 0.999971$	0.897	

จากตารางที่ 4.8 ค่าขีดจำกัดการตรวจวัดของการวิเคราะห์นี้มีค่าเท่ากับ 0.890 ± 0.009703 mg/L

4.3.6 การเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์หาปริมาณไตรโคลซานในผลิตภัณฑ์ดูแลสุขภาพ

การวิเคราะห์หาปริมาณไตรโคลซานในผลิตภัณฑ์ยาสีฟัน ครีมล้างหน้า โรลออน และผลิตภัณฑ์ซักผ้า โดยตรวจวัดด้วยเทคนิค HPLC ตัวตรวจวัดยูวี ดีเทคเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร ในเฟสเคลื่อนที่สารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที วิเคราะห์ผลที่ได้และคำนวณหาปริมาณของไตรโคลซานในสารตัวอย่างแต่ละชนิด โดยทำการวิเคราะห์ 3 วิธีแสดงผลดังตารางที่ 4.9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณไตรโคลซานในผลิตภัณฑ์ตัวอย่างทั้ง 3 วิธี

ตัวอย่าง	ปริมาณไตรโคลซาน (% w/w)			
	External Standard Method	Internal Standard Method	Standard Addition Method	ค่าเฉลี่ยปริมาณไตรโคลซาน
ยาสีฟัน	0.151 ± 0.084	0.145 ± 0.05	0.142 ± 0.001	0.146
ครีมล้างหน้า	0.198 ± 0.398	0.193 ± 0.02	0.208 ± 0.005	0.1997
โรลออน	0.094 ± 0.268	0.079 ± 0.001	0.087 ± 0.006	0.087
ผลิตภัณฑ์ซักผ้า	0.092 ± 0.176	0.100 ± 0.011	0.072 ± 0.001	0.088

นำผลการวิเคราะห์หาปริมาณไตรโคลซานของผลิตภัณฑ์ไปทดสอบโดยใช้วิธี ANOVA เพื่อหาความแตกต่างระหว่างวิธีการวิเคราะห์ แสดงผลดัง ตารางที่ 4.10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 แสดงผลการวิเคราะห์ ANOVA Test

Source Of Variation	Sum Or Squares	Degrees Of Freedom	Mean Square	F ที่คำนวณได้
Between-sample	0.162	3	0.054	-1.182
Between-method	0.135	2	0.068	-0.985
Residual	-0.137	6	-0.023	
Total	0.16	11		

r = 3 c = 4 N = 12 ผลรวม X_{ij}^2 = 0.228 ผลรวม T_i^2 = 0.812

ผลรวม T_j^2 = 0.688 T= 1.561 $F_{3,6}$(ตาราง)= 4.76 $F_{2,6}$(ตาราง)= 5.143

จากผลการคำนวณ F-test F ที่คำนวณได้มีค่าน้อยกว่า F จากตาราง แสดงว่าแต่ละวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณไตรโคลซานไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ P = 0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณไตรโคลซาน โดยเปรียบเทียบอัตราส่วนผสมของเฟสเคลื่อนที่ สารละลายอะซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดอะซิติก ในอัตราส่วนต่างๆ ดังนี้ 40:60:0.5 50:50:0.5 60:40:0.5 และ 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร โดยให้อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เป็น 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดด้วยตัวตรวจวัดยูวี ดีเทคเตอร์ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร พบว่าการใช้อัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่ 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร มีความแรงของตัวทำละลายสำหรับการแยกที่เหมาะสมที่สุด โดยใช้เวลารีเทนชัน 6.356 นาที

การเปรียบเทียบผลการแยกของพีกเมื่อใช้อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เป็น 0.8 1.0 และ 1.2 มิลลิลิตรต่อนาที พบว่าการใช้อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เป็น 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ทำให้สารไตรโคลซาน มีเวลาอยู่ในคอลัมน์นานเพียงพอที่จะทำให้การแยกเกิดขึ้นได้อย่างสมบูรณ์และให้ค่าเวลารีเทนชัน (t_R = 6.238) เหมาะสมในการวิเคราะห์ หาปริมาณไตรโคลซานในสารละลายมาตรฐานไตรโคลซานและสารตัวอย่าง

การสร้างกราฟมาตรฐานของไตรโคลซานในช่วงความเข้มข้น 1-100 mg/L ให้กราฟมาตรฐานที่มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์มีค่าใกล้เคียง 1 มากที่สุดในการทำการวิเคราะห์ได้ กราฟมาตรฐานมีสมการเชิงเส้น y = 19061x - 0.0036 และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) ของกราฟมาตรฐาน เท่ากับ 0.999972 พบว่าปริมาณไตรโคลซานต่ำที่สุดที่สามารถตรวจวัดได้ (LOD) เท่ากับ 0.890 ± 0.0097 mg/L

การวิเคราะห์ปริมาณไตรโคลซานในสารตัวอย่าง คือ ยาสีฟัน ครีมล้างหน้า โรลออน และผลิตภัณฑ์ซักผ้า โดยวิธี External Standard Method ทำการวิเคราะห์สารตัวอย่างซ้ำตัวอย่างละ 5 ครั้ง (n = 5) ตรวจวัดด้วยเทคนิค HPLC ในเฟสเคลื่อนที่สารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ปริมาณร้อยละโดยน้ำหนักของไตรโคลซานในยาสีฟัน ครีมล้างหน้า โรลออน และผลิตภัณฑ์ซักผ้ามีค่าเท่ากับ 0.151 ± 0.084 0.198 ± 0.398 0.094 ± 0.268 และ0.092 ± 0.176 %w/w ตามลำดับ และ ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรผัน (% RSD) มีค่าเท่ากับ 0.310 1.112 1.756 และ0.317 % ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์นี้มีความเที่ยงเป็นที่ยอมรับได้ การทดสอบเพื่อยืนยันตำแหน่งที่เกิดปฏิกิริยา (การทำ spiking) และการหาเปอร์เซ็นต์คืนกลับ (% recovery) โดยทำการเตรียมสารตัวอย่างสองชุดการทดลอง โดยชุดการทดลองแรกเตรียมสารละลายตัวอย่างผสมกับสารมาตรฐานไตรโคลซานให้มีความเข้มข้นเป็น 1 เท่าของสารตัวอย่างและชุดการทดลองที่สองเตรียมสารละลายตัวอย่างผสมกับสารมาตรฐานไตรโคล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซานให้มีความเข้มข้นเป็น 2 เท่าของสารตัวอย่าง ผลที่ได้จากการวิเคราะห์สามารถคำนวณ % recovery ได้อยู่ในช่วง 92.669 – 106.167 แสดงให้เห็นว่าการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิคนี้มีความแม่นยำที่ยอมรับได้

ผลการวิเคราะห์ปริมาณไตรโคลซานในสารตัวอย่าง คือ ยาสีฟัน ครีมล้างหน้า โรลออน และผลิตภัณฑ์ซักผ้า โดยวิธี Internal Standard Method เติมสารละลาย 0.3 mg/mL แอนโทรน 1 มิลลิลิตร ลงในสารมาตรฐานไตรโคลซานที่ความเข้มข้น 1-100 mg/L และสารตัวอย่าง แล้วปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตรด้วยเฟสเคลื่อนที่ ทำการตรวจวัดด้วยเทคนิค HPLC ผลการวิเคราะห์ปริมาณร้อยละโดยน้ำหนักของไตรโคลซานในสารตัวอย่างเป็นดังนี้ 0.145 ± 0.053 0.193 ± 0.023 0.079 ± 0.001 และ0.100 ± 0.011 % w/w ตามลำดับ

ผลการวิเคราะห์โดยวิธี Standard addition method ทำการวิเคราะห์ปริมาณไตรโคลซานในสารตัวอย่าง คือ ยาสีฟัน ครีมล้างหน้า โรลออน และ ผลิตภัณฑ์ซักผ้าเตรียมสารตัวอย่างแล้วนำสารตัวอย่างไปตรวจวัดด้วยเทคนิค HPLC วิเคราะห์ผลที่ได้และเขียนกราฟระหว่างพื้นที่พีกที่ได้กับปริมาณของสารมาตรฐานที่เติม หาปริมาณของไตรโคลซานในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ดูแลสุขภาพ ผลการวิเคราะห์หาปริมาณไตรโคลซานที่ได้สามารถคำนวณหาค่า % w/w ในแต่ละสารตัวอย่างได้ 0.141756 ± 0.001 0.208022 ± 0.005 0.087282 ± 0.006 และ0.072024 ± 0.001 ตามลำดับ ซึ่งอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ตามข้อกำหนด แสดงว่าผลการวิเคราะห์นี้ยอมรับได้

จากการทำการวิเคราะห์หาปริมาณไตรโคลซานทั้ง 3 วิธีผลที่ได้นำไปทดสอบโดยวิธี ANOVA Test โดยการคำนวณ F-test ซึ่งผล F ที่คำนวณได้มีค่าน้อยกว่า F จากตาราง แสดงว่าแต่ละวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณไตรโคลซานไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ P = 0.05 (ภาคผนวก จ)

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรทำการศึกษาสภาวะในการวิเคราะห์ก่อนเพื่อช่วยประหยัดเวลา เมื่อทำการวิเคราะห์ตัวอย่างผลิตภัณฑ์อื่น ๆ

5.2.2 ควรตรวจสอบประสิทธิภาพของคอลัมน์ก่อนการวิเคราะห์ให้อยู่ในค่าที่เหมาะสมเพื่อให้ผลการวิเคราะห์มีประสิทธิภาพ

5.2.3 ควรทำการศึกษาคุณลักษณะและคุณสมบัติ ทางการเก็บรักษา การทำลายของสารที่ใช้ในการวิเคราะห์เพื่อการใช้และเก็บรักษาที่ถูกต้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

[1] Aviva Glaser. **The Ubiquitous Triclosan, A common antibacterial agent exposed.** [Online]. Available: http://www.beyondpesticides.org/pesticides/factsheets/Triclosan%20cited.pdf.

[2] Vikesland . **Environmental Science & Technology's science news section.** [Online]. Available: http://pubs.acs.org/subscribe/journals/esthag-w/2005/apr/science/kb_chlorine.html

[3] Herbert P. Schweizer. **Triclosan : a widely used biocide and its link to antibiotics**. FEMS Microbiology Letters, 202(2001) 1-7, 26 June 2001

[4] Quantex Laboratories, Inc. [Online]. Available: http://www.quantexlabs.com/Triclosan.htm. 1998-2005.

[5] ข้อมูลไตรโคลซานและข้อกำหนด. [Online]. Available: http://www.uchem.com.cn /Triclosan-coa.htm

[6] Ciba Specialty Chemicals. [online]. Available: http://www.cibasc.com/index/ind-index.htm. 2000-2006

[7] แม้น อมรสิทธิ์ และอมร เพชรสม. **หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ.** กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์ชวนพิมพ์. 2535.

[8] HPLC : HIGH PERFORMANCE LIQUID CHOMATOGRAPHY. [Online]. Available: http://www.kmitl.ac.th/sisc/HPLC/Theory.htm

[9] อนุวัตร สุวรรณคุณวนิช (ฝ่ายห้องปฏิบัติการ). **เทคโนโลยีใหม่ PDA Spectral Contrast**

[10] A. Piccoli, J. Fiori, V. Andrisano, M. Orioli. "Determination of triclosan in personal health care products by liquid chromatography (HPLC)". II Farmaco Volume 57. 4 February 2002. Page 369-372

[11] A. Safavi, N. Maleki and H. R. Shahbaazi. **"Electrochemical determination of triclosan at a mercury electrode".** Analytica Chimica Acta. Volume 57. 4 February 2002. Pages 369-372

[12] วีระชัย ไกรวันธุ์ พัชรินทร์ วีระอาชากุล ชลธิชา อมรฉัตร เทอดพงษ์ ตรีรัตน์ และเพชรรัตน์ ไกรวพันธุ์. **การศึกษาประสิทธิภาพการต้านแบคทีเรียของครีมอาบน้ำที่มีส่วนผสมไตรโคลซาน.** [Online]. Available: http://www.pubnet.moph.go.th/techjrn/readabstract.php?abstractid=253 &filename e1=hto/vol5no4/original13.pdf

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

[13] Authority of the United States Phamacopeial Convention. Inc. **United States Phamacopeial**. meeting at Washington, D.C.. USP 26 NF21 Asian Edition. United States Phamacopeial Convention. Inc : United States. 2003

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

ก1. วิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์ Triclosan USP [13]

ไตรโคลซาน ประกอบด้วย $C_{12}H_7Cl_3O_2$ ไม่น้อยกว่า 97.0 % และไม่มากกว่า 103.0 % เมื่อคิดจากสารที่ไม่มีน้ำเจือปน

ก1.1 การวิเคราะห์หาความบริสุทธิ์ของไตรโคลซาน

1.1.1 การเตรียมสารมาตรฐาน

- ละลาย USP Triclosan RS ในปริมาณที่เหมาะสมในไดคลอโรมีเทน และปรับปริมาตรตามสมควรให้ได้ความเข้มข้นของสารละลายประมาณ 4.0 mg /ml

การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์

- ชั่งน้ำหนักไตรโคลซาน 40 มิลลิกรัม ใส่ขวดวัดปริมาตร 10 มิลลิลิตร ละลายด้วยไดคลอโรมีเทนให้ได้ปริมาตร

1.1.2 สภาวะการวิเคราะห์โครมาโทกราฟิก

เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

Detector : Flame-ionization detector

Column : 0.53-mm x 15-m Capillary Column กับ G3

Carrier gas : helium 6 psi

Injector temperature : 34 ° C และเพิ่มเป็น 200 ° C อย่างรวดเร็วหลังจากการฉีดสาร

Column temperature : 34 ° C

Detector temperature : 260 ° C

ฉีดสารมาตรฐานและบันทึกผลที่ได้ โดยควรมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการฉีดซ้ำไม่เกิน 2.0 %

1.1.3 ขั้นตอนการวิเคราะห์

- ฉีดสารมาตรฐานและสารละลายสำหรับการวิเคราะห์เข้าสู่เครื่องโครมาโทแกรม
- เพิ่มอุณหภูมิคอลัมน์จาก 20 ° C / min ถึง 140 ° C จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิเป็น 4 ° C / min ถึง 240 °C รักษาไว้ที่อุณหภูมินี้นานกว่า 5 นาที
- บันทึกโครมาโทแกรมที่ได้ และตรวจวัดพีกที่มีขนาดใหญ่ที่สุด
- คำนวณหาปริมาณ $C_{12}H_7Cl_3O_2$ ของไตรโคลซาน จากสูตร

$$\text{ปริมาณ } C_{12}H_7Cl_3O_2 \text{ ของไตรโคลซาน} = 10 \times C \times \frac{r_u}{r_s}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อ C คือ ความเข้มข้นในหน่วย mg /ml ของ USP Triclosan RSในสารละลายมาตรฐาน

r_u, r_s คือ การแปรผลจากพีกของสารละลายสำหรับการวิเคราะห์ และสารละลายมาตรฐานตามลำดับ

ก1.2 การวิเคราะห์หาสารเจือปนในไตรโคลซาน

1.2.1 Chromatographic system - แบบเดียวกับวิธีวิเคราะห์ไตรโคลซาน

1.2.2 สารละลายทดสอบ - สารละลายที่เตรียมจากการเตรียมสารสำหรับการวิเคราะห์

1.2.3 ขั้นตอนการวิเคราะห์

ฉีดสารละลายทดสอบประมาณ 0.5 ไมโครลิตรเข้าสู่เครื่องโครมาโทกราฟ โดยเพิ่มอุณหภูมิคอลัมน์จาก 20 ° C / min ถึง 140 ° C จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิเป็น 4 ° C / min ถึง 240 °C รักษาไว้ที่อุณหภูมินี้นานกว่า 5 นาที บันทึกโครมาโทแกรมที่ได้ และตรวจวัดพีกที่เกิดขึ้น คำนวณหาค่า % ของสารเจือปนในไตรโคซาน จากสูตร

$$\% \text{ ของสารเจือปนในไตรโคซาน} = 100 \times \frac{r_i}{r_s}$$

เมื่อ r_i คือ ผลของพีกที่ได้จากแต่ละสารเจือปน

r_s คือ ผลของพีกทั้งหมด

(ไม่ควรมีสารเจือปนมากกว่า 0.1 % ของแต่ละชนิดและไม่ควรมากกว่า 0.5 % ของปริมาณทั้งหมด)

ก2. วิธีการเตรียมสารมาตรฐานไตรโคลซานที่ความเข้มข้น 1 10 50 100 และ 1000 mg/l

2.1 ชั่งน้ำหนักไตรโคลซานมา 0.1 กรัม

2.2 ละลายด้วยเฟสเคลื่อนที่แล้วปรับปริมาตรในขวดวัดปริมาตร 100 ml จะได้สารมาตรฐานไตรโคลซานที่ความเข้มข้น 1000 mg/l (สารละลายสต็อก 1 mg/ml ไตรโคลซาน)

2.3 เตรียมสารละลายมาตรฐานไตรโคลซานที่ความเข้มข้น 1 10 50 และ 100 mg/l

2.4 ปิเปตสารละลายสต็อก 1 mg/ml ไตรโคลซานมา 2.5 ml ใส่ในขวดวัดปริมาตร 25 ml แล้วปรับปริมาตร จะได้สารละลายมาตรฐานไตรโคลซานที่ความเข้มข้นที่ 100 mg/l

2.5 ปิเปตสารละลายสต็อก 1 mg/ml ไตรโคลซานมา 1.25 ml ใส่ในขวดวัดปริมาตร 25 ml แล้วปรับปริมาตรจะได้สารละลายมาตรฐานไตรโคลซานที่ความเข้มข้น 50 mg/l

2.6 เตรียมสารสารละลายมาตรฐานไตรโคลซานที่ความเข้มข้น 10 mg/l ดังขั้นตอนในข้อ 2.4 แต่ใช้สารละลายมาตรฐานไตรโคลซานที่ความเข้มข้น 100 mg/l

2.7 เตรียมสารสารละลายมาตรฐานไตรโคลซานที่ความเข้มข้น 1 mg/l ดังขั้นตอนข้างต้นแต่ใช้สารละลายมาตรฐานไตรโคลซานที่ความเข้มข้น 10 mg/l

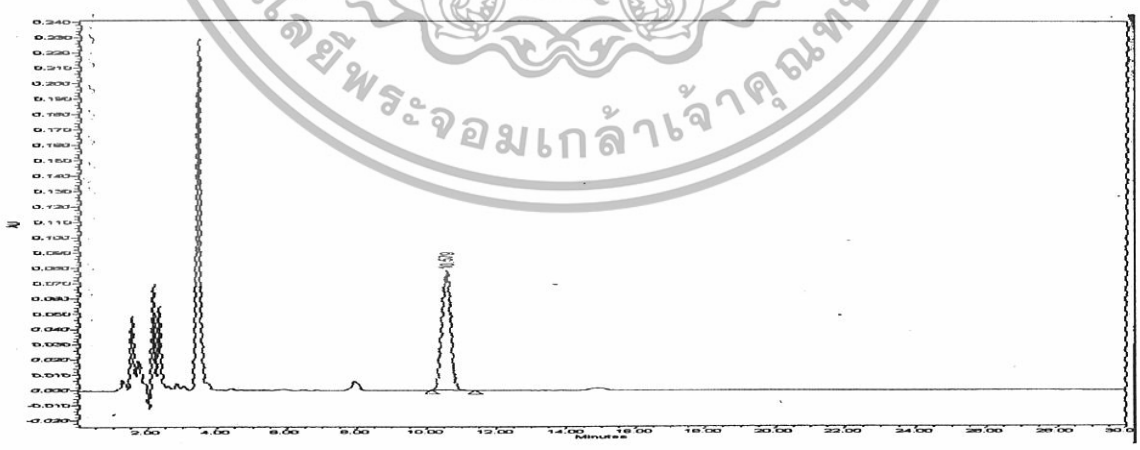
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.

ตัวอย่างโครมาโทแกรมที่ได้จากการทดลอง

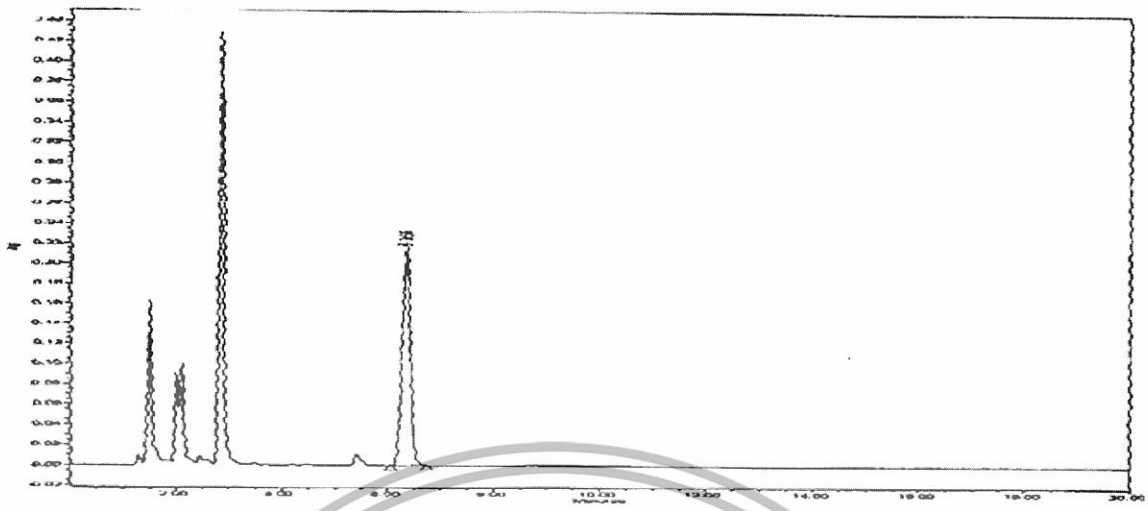
โครมาโทแกรมของไตรโคลซานจากการทดสอบหาอัตราส่วนของสารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก ที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์ แสดงดังรูปที่ ข1-ข3

รูปที่ ข1 โครมาโทแกรมของสารละลายตัวอย่างไตรโคลซาน เฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก ที่อัตราส่วน 50:50:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร และอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร



รูปที่ ข2 โครมาโทแกรมของสารละลายตัวอย่างไตรโคลซาน เฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก ที่อัตราส่วน 60:40:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร และอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

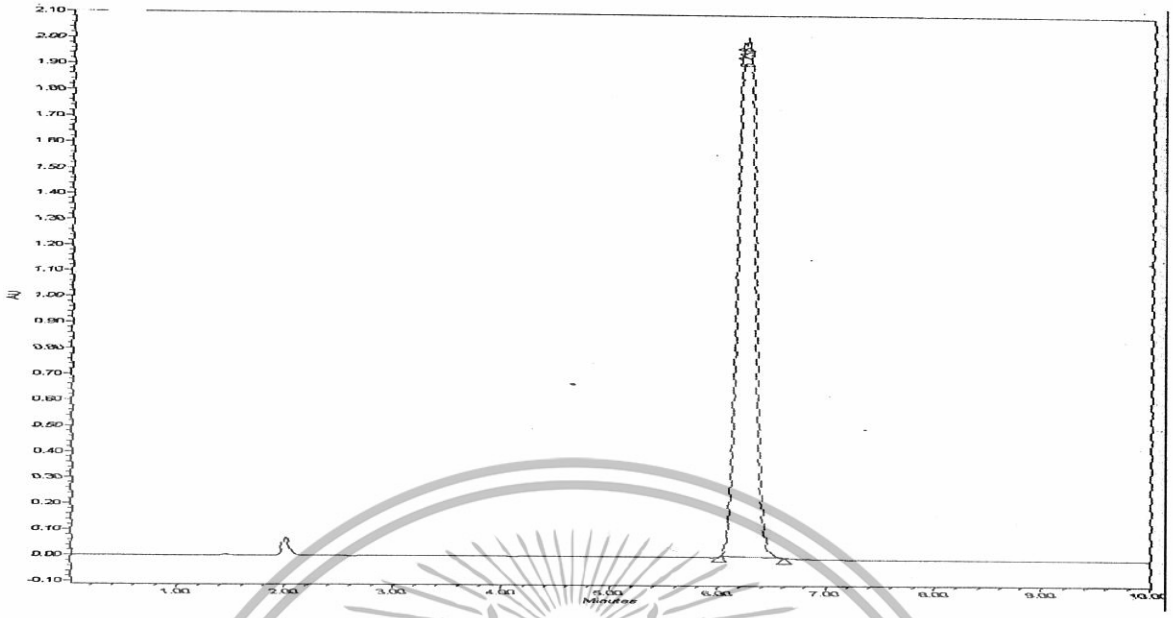


รูปที่ ข3 โครมาโทแกรมของสารละลายตัวอย่างไตรโคลซาน เฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก ที่อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร และอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

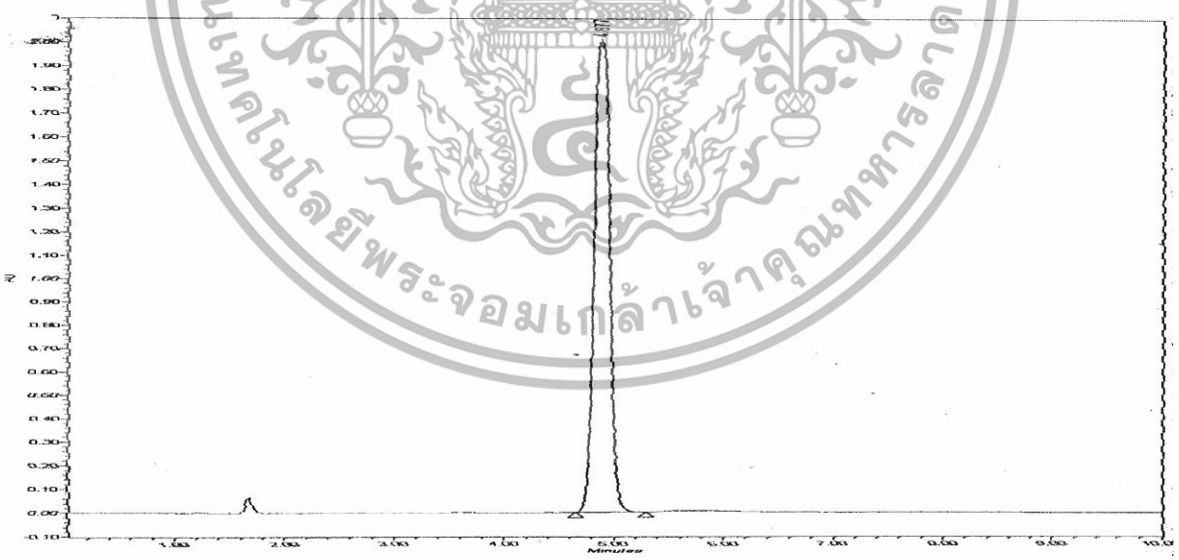
โครมาโทแกรมของไตรโคลซานจากการทดสอบหาอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ เมื่อใช้สารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร เป็นเฟสเคลื่อนที่ ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร แสดงดังรูปที่ ข4-ข6

รูปที่ ข4 โครมาโทแกรมของไตรโคลซานที่อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เป็น 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที เมื่อใช้สารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร เป็นเฟสเคลื่อนที่ ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



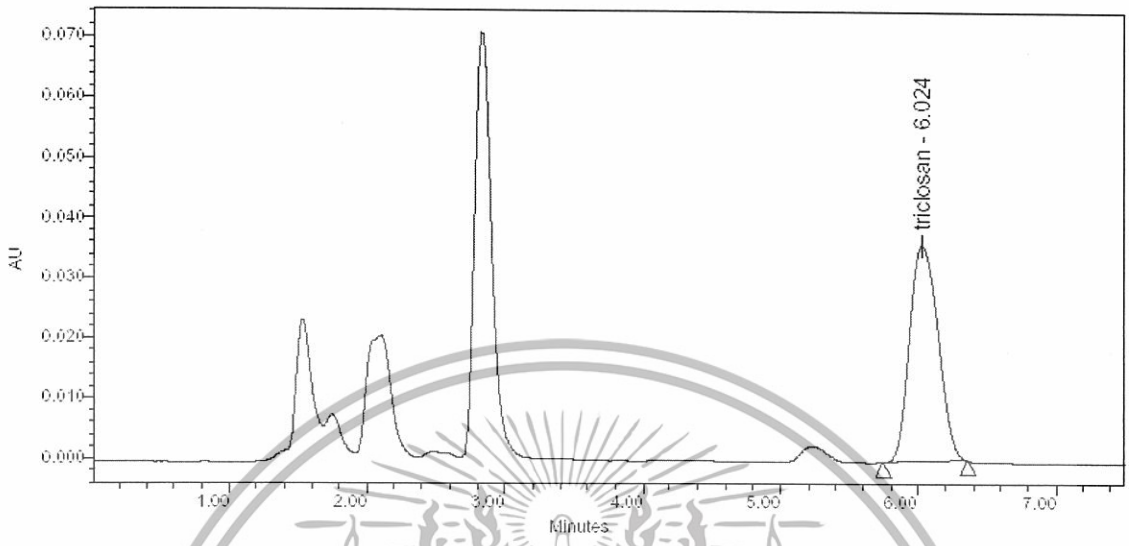
รูปที่ ข5 โครมาโทแกรมของไตรโคลซานที่อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เป็น 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที เมื่อใช้สารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร เป็นเฟสเคลื่อนที่ ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร



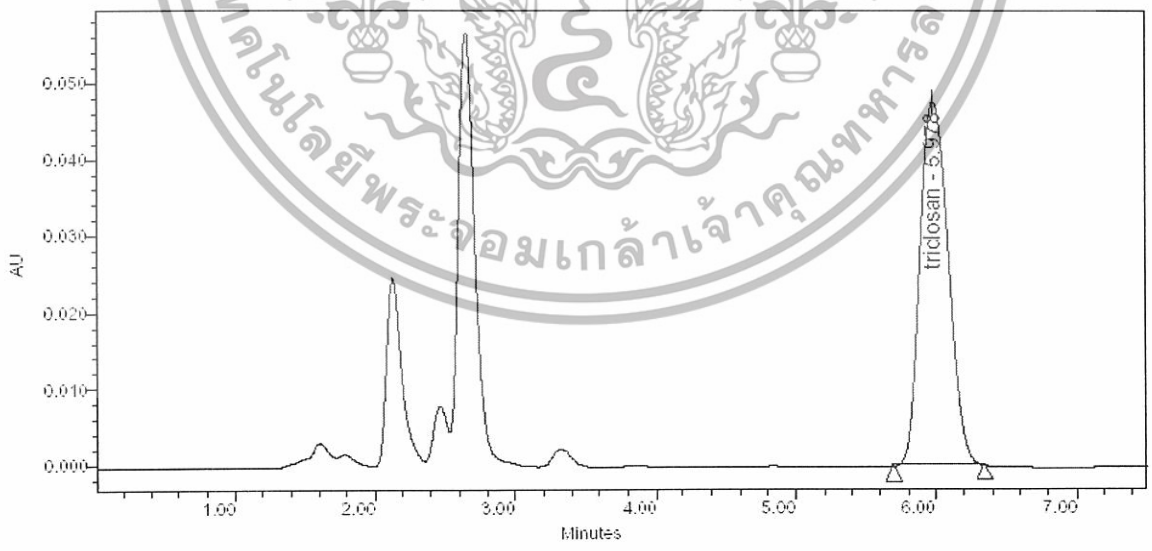
รูปที่ ข6 โครมาโทแกรมของไตรโคลซานที่อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เป็น 1.2 มิลลิลิตรต่อนาที เมื่อใช้สารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร เป็นเฟสเคลื่อนที่ ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครมาโทแกรม ของไตรโคลซานในสารตัวอย่างยาสีฟัน แสดงดังรูปที่ ข7-ข10

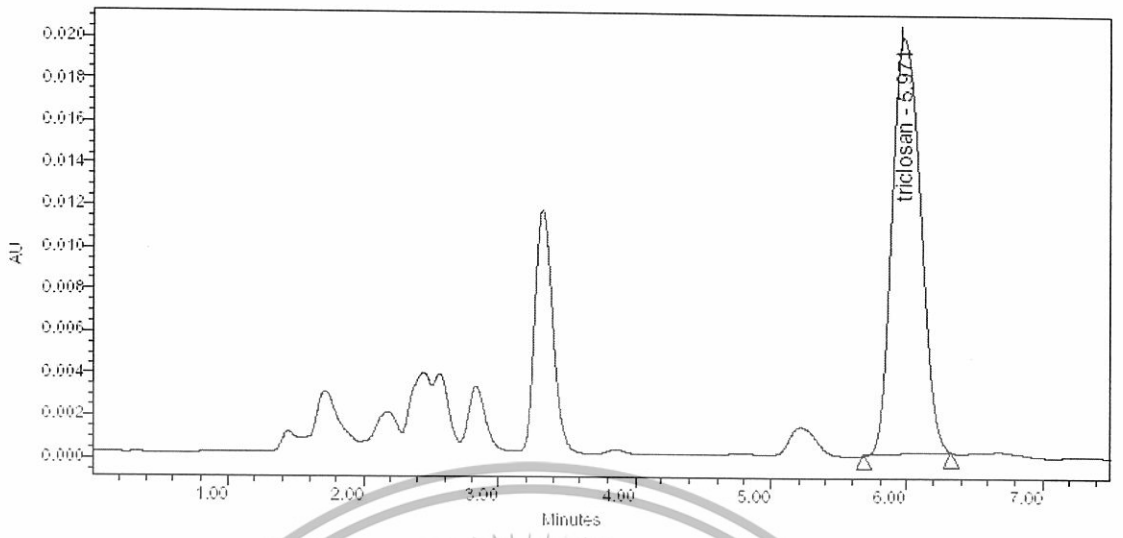


รูปที่ ข7 โครมาโทแกรม ของไตรโคลซานในตัวอย่างยาสีฟัน เมื่อใช้สารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร เป็นเฟสเคลื่อนที่ อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

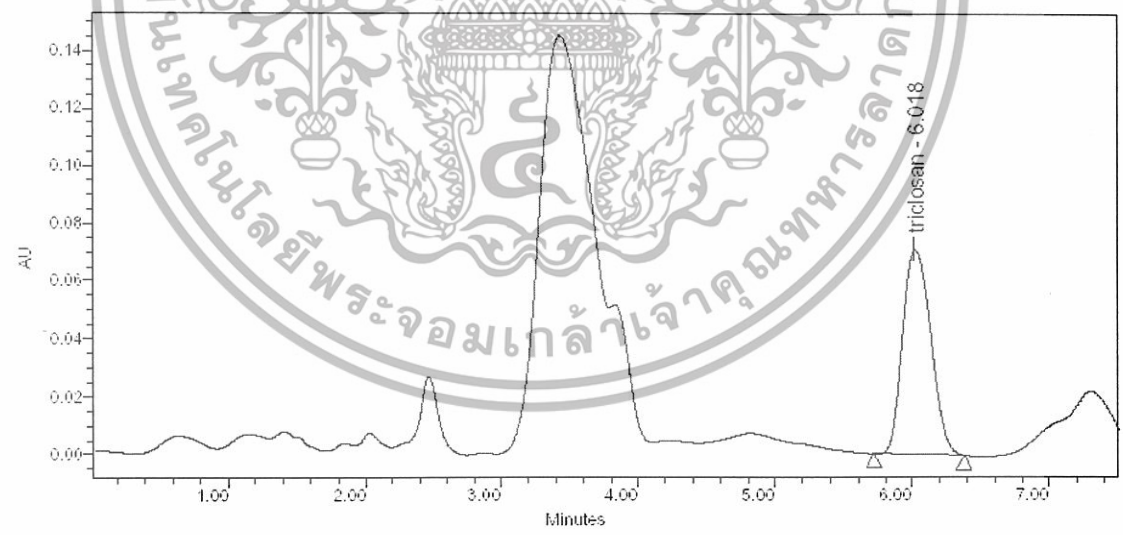


รูปที่ ข8 โครมาโทแกรม ของไตรโคลซานในตัวอย่างครีมล้างหน้า เมื่อใช้สารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร เป็นเฟสเคลื่อนที่ อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



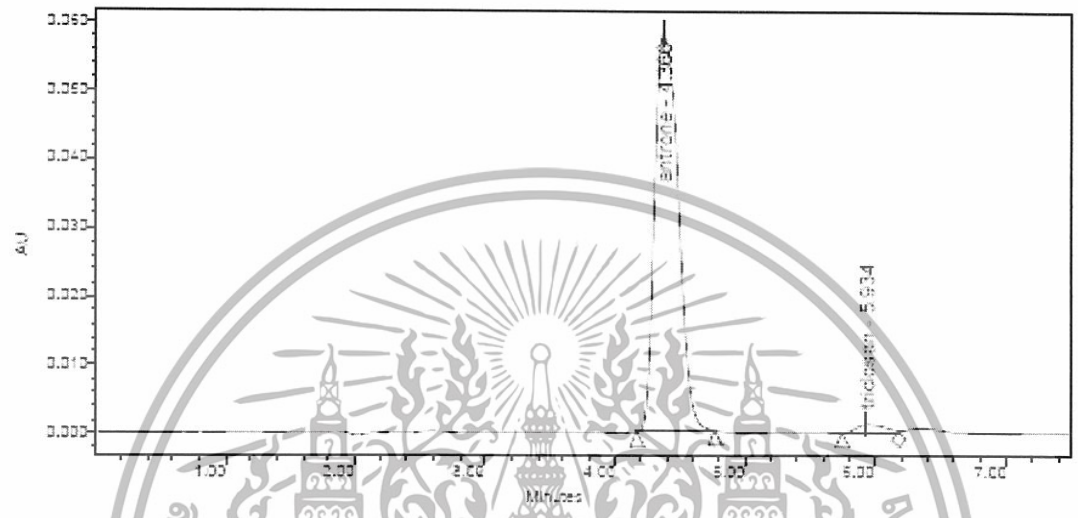
รูปที่ ข9 โครมาโทแกรมของไตรโคลซานในตัวอย่างโรลออน เมื่อใช้สารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร เป็นเฟสเคลื่อนที่ อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร



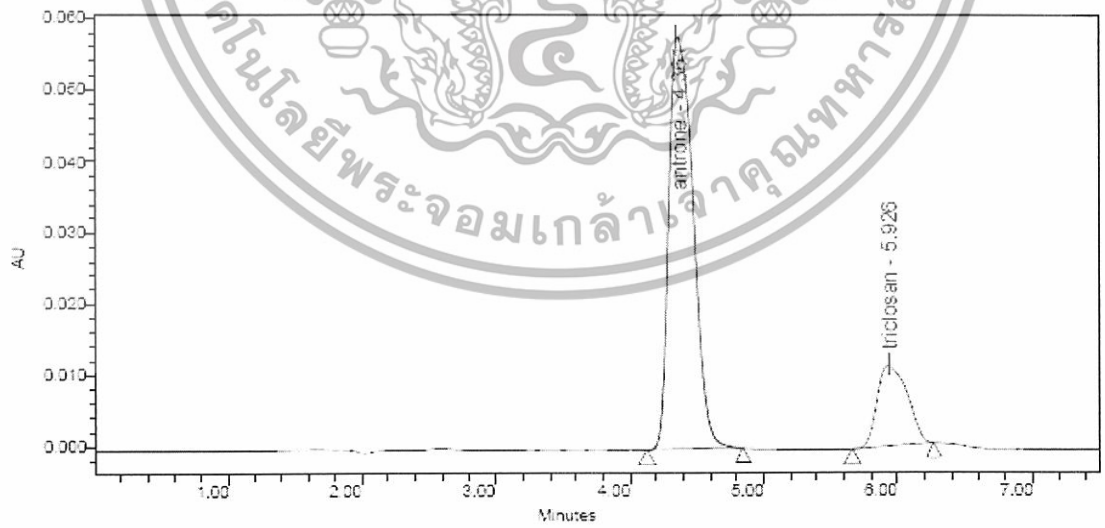
รูปที่ ข10 โครมาโทแกรมของไตรโคลซานในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ซักผ้า เมื่อใช้สารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร เป็นเฟสเคลื่อนที่ อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานและสารอินเทอร์นอล(Internal Standard) ตรวจวัดด้วยเทคนิค HPLC ด้วยตัวตรวจวัดยูวี ดีเทคเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร ในเฟสเคลื่อนที่สารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที แสดงรูปที่ ข11-ข19

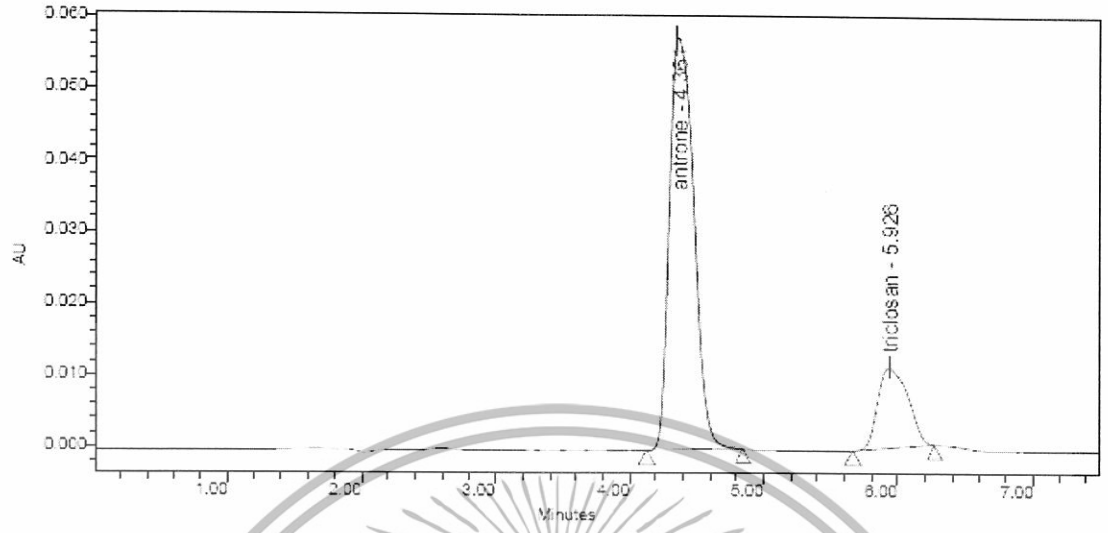


รูปที่ ข11 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานไตรโคลซานและสารอินเทอร์นอลที่สารมาตรฐานไตรโคลซานที่ความเข้มข้น 1 mg/L

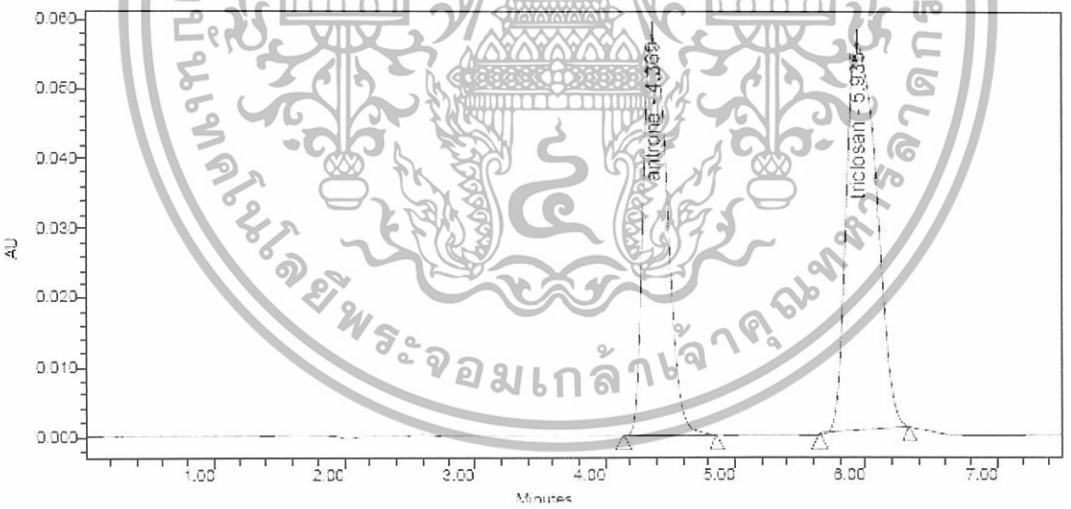


รูปที่ ข12 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานไตรโคลซานและสารอินเทอร์นอลที่สารมาตรฐานไตรโคลซานที่ความเข้มข้น 10 mg/L

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

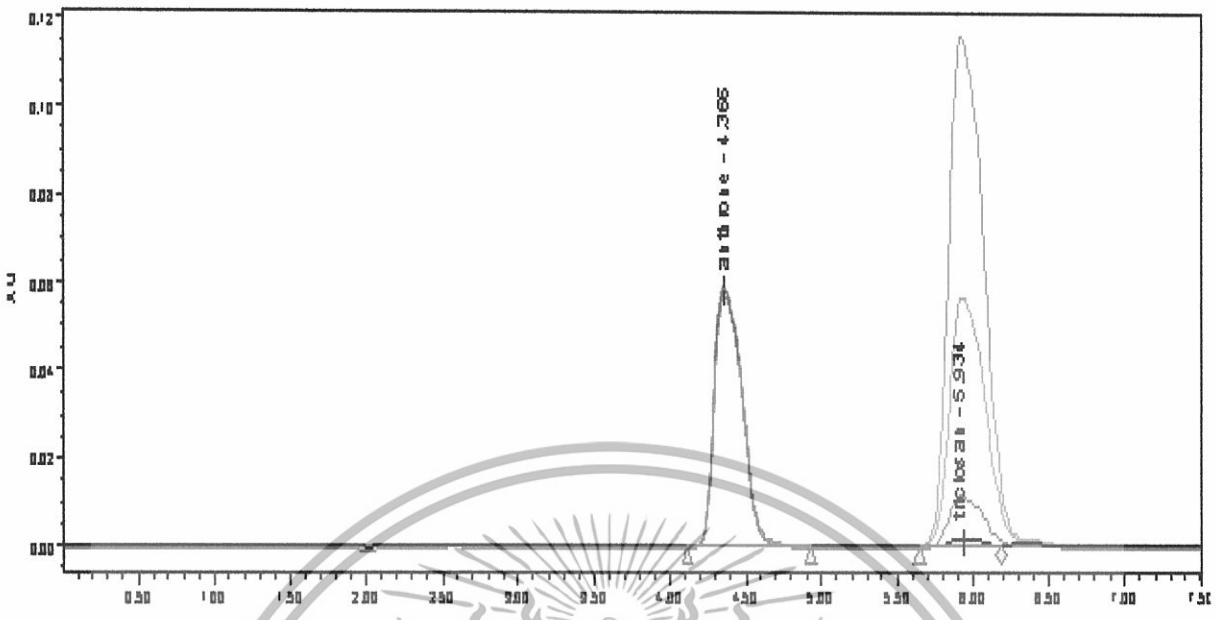


รูปที่ ข13 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานไตรโคลซานและสารอินเทอร์นอลที่สารมาตรฐานไตรโคลซานที่ความเข้มข้น 50 mg/L

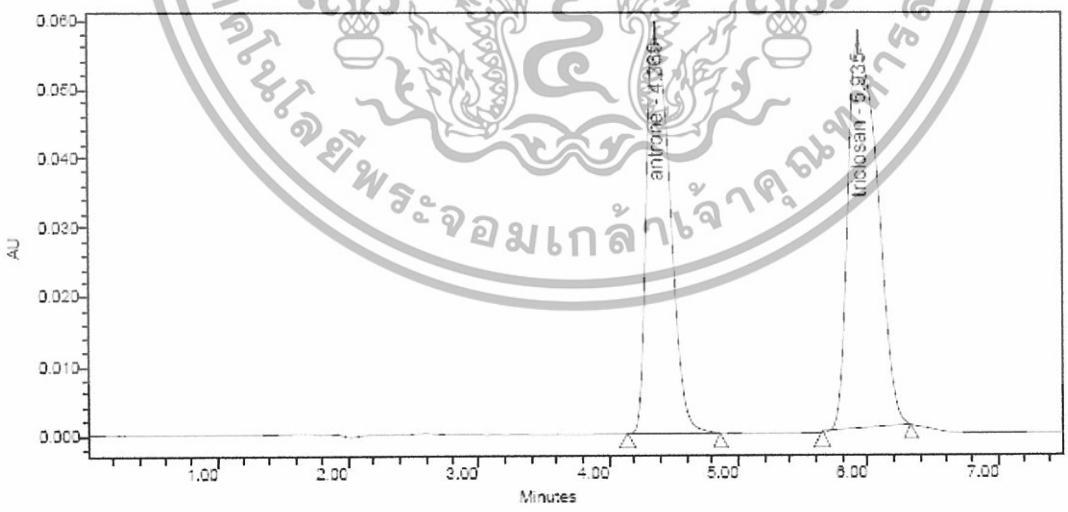


รูปที่ ข14 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานไตรโคลซานและสารอินเทอร์นอลที่สารมาตรฐานไตรโคลซานที่ความเข้มข้น 100 mg/L

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

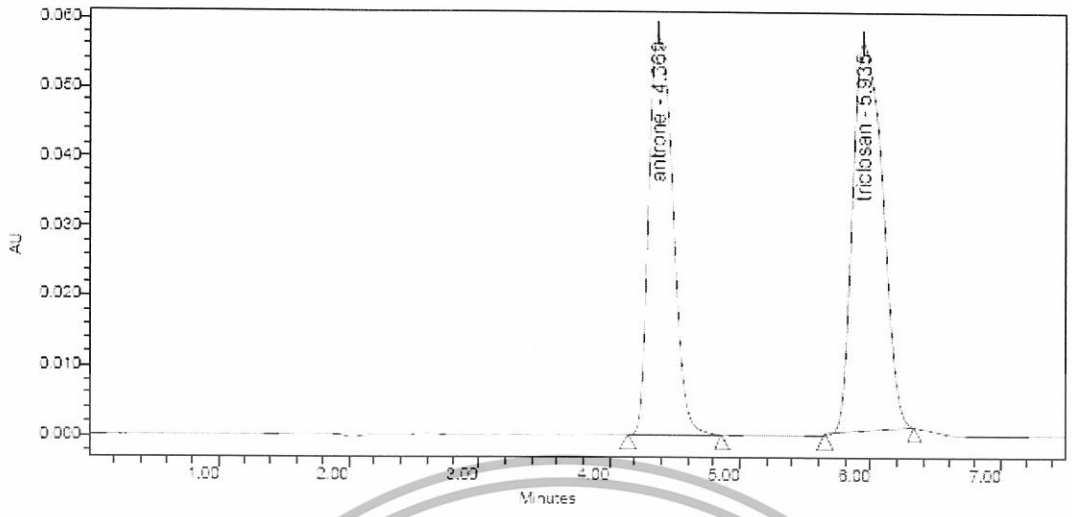


รูปที่ ข15 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานไตรโคลซานและสารอินเทอร์นอลที่สารมาตรฐานไตรโคลซานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

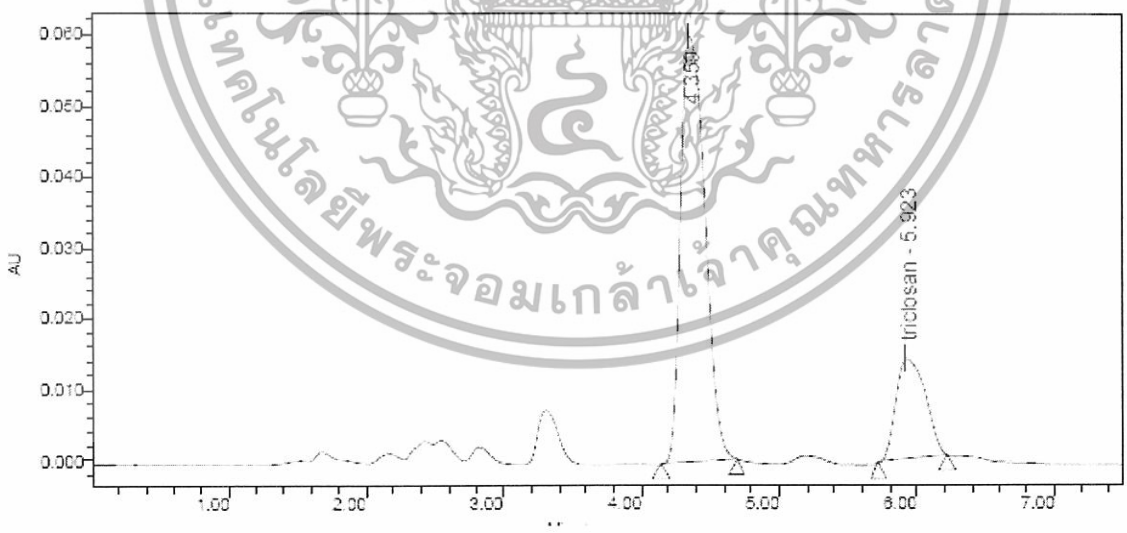


รูปที่ ข16 โครมาโทแกรมของสารอินเทอร์นอลและสารไตรโคลซานในตัวอย่างยาสีฟัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

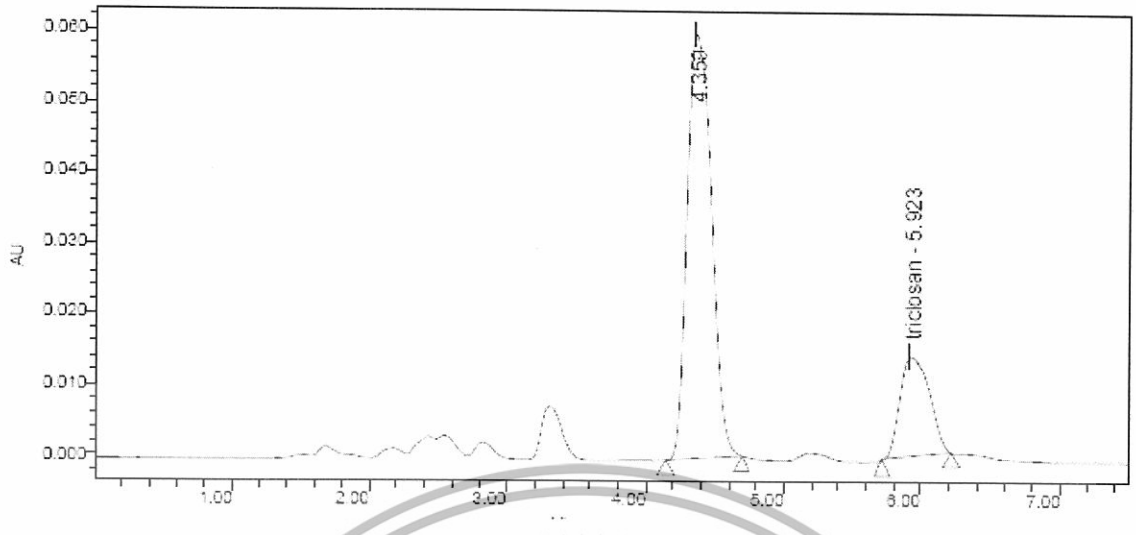


รูปที่ ข17 โครมาโทแกรมของสารอินเทอร์นอลและสารไตรโคลซานในตัวอย่างครีมล้างหน้า

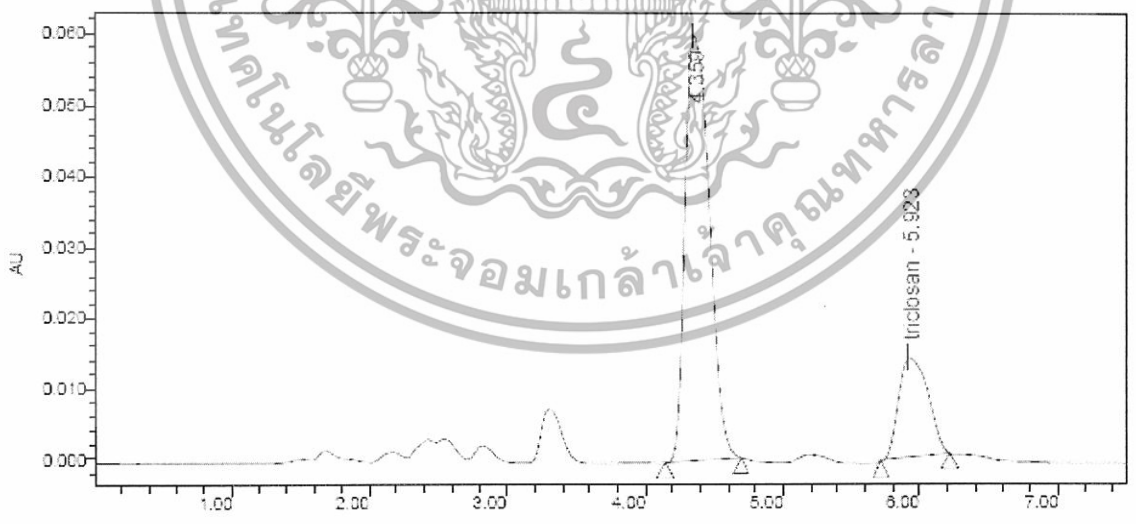


รูปที่ ข18 โครมาโทแกรมของสารอินเทอร์นอลและสารไตรโคลซานในตัวอย่างโรลออน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข19 โครมาโทแกรมของสารอินเทอร์นอลและสารไตรโคลซานในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ซักผ้า



รูปที่ ข20 โครมาโทแกรมสารละลายแอนโทรนที่ความเข้มข้น 0.3 mg/mL

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค.

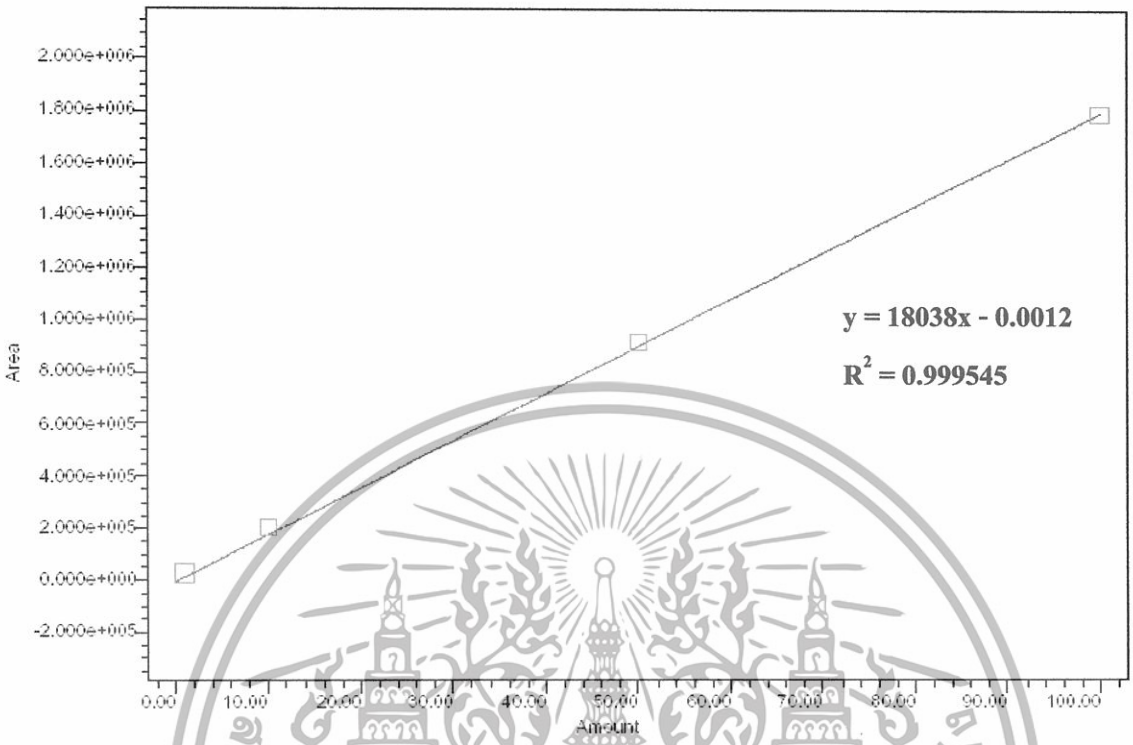
กราฟมาตรฐานของไตรโคลซานที่ได้จากการทดลอง

กราฟมาตรฐานของไตรโคลซาน ทำการทดสอบในช่วงความเข้มข้น 1-100 mg/L ในสารละลายเฟสเคลื่อนที่สารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที โดยใช้เทคนิค HPLC ตรวจวัดด้วยเครื่องยูวี ดีเทคเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตรแสดงดังรูปที่ ค1-ค4

	Name	Level	X Value	Response	Calc. Value	% Deviation
1	triclosan		1.000000	21852.000000	1.225191	22.519
2	triclosan		10.000000	195667.500000	10.970622	9.706
3	triclosan		50.000000	898776.500000	50.392309	0.785
4	triclosan		100.000000	1778289.000000	99.704531	-0.295

รูปที่ ค1 กราฟมาตรฐานของไตรโคลซานที่ชุดการทดลองที่ 1 ช่วงความเข้มข้น 1-100 mg/L ในเฟสเคลื่อนที่สารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

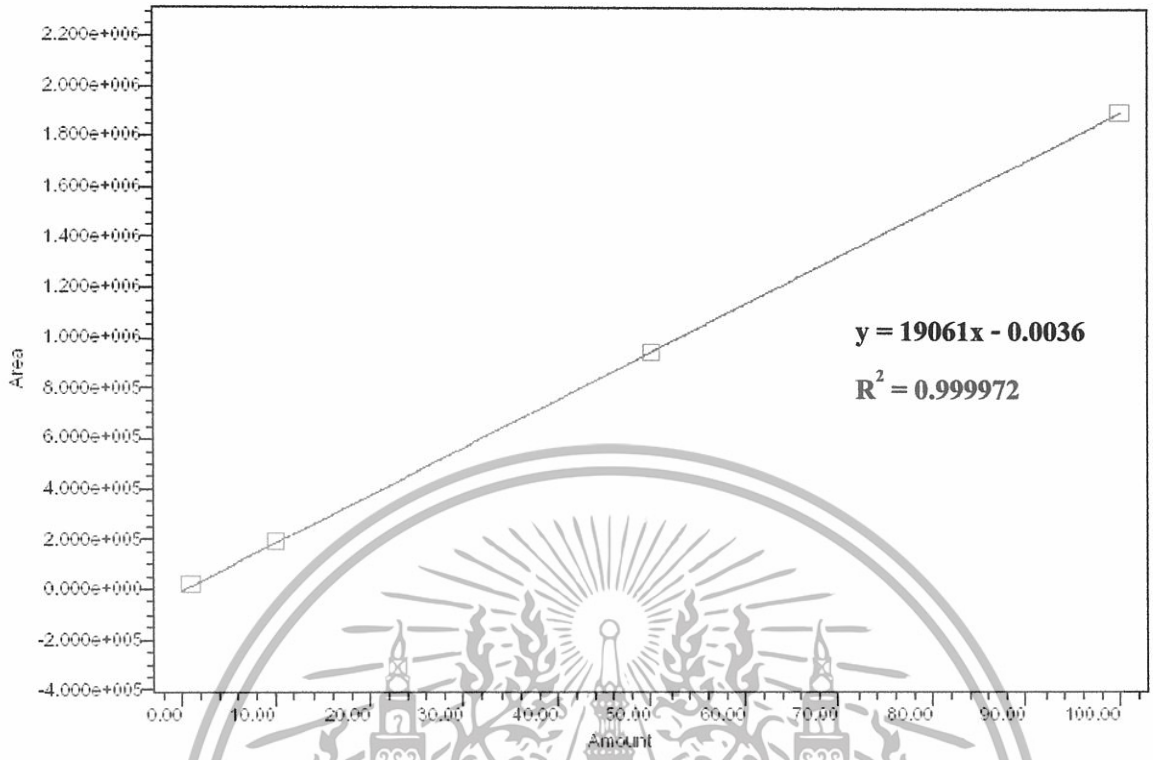
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



	Name	Level	X Value	Response	Calc. Value	% Deviation
1	triclosan		1.000000	26904.500000	1.491556	49.156
2	triclosan		10.000000	205947.500000	11.417507	14.175
3	triclosan		50.000000	911573.388562	50.536643	1.073
4	triclosan		100.000000	1796301.495285	99.585012	-0.415

รูปที่ ค2 กราฟมาตรฐานของไตรโคลซานที่ชุดการทดลองที่ 2 ช่วงความเข้มข้น 1-100 mg/L ในเฟสเคลื่อนที่สารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

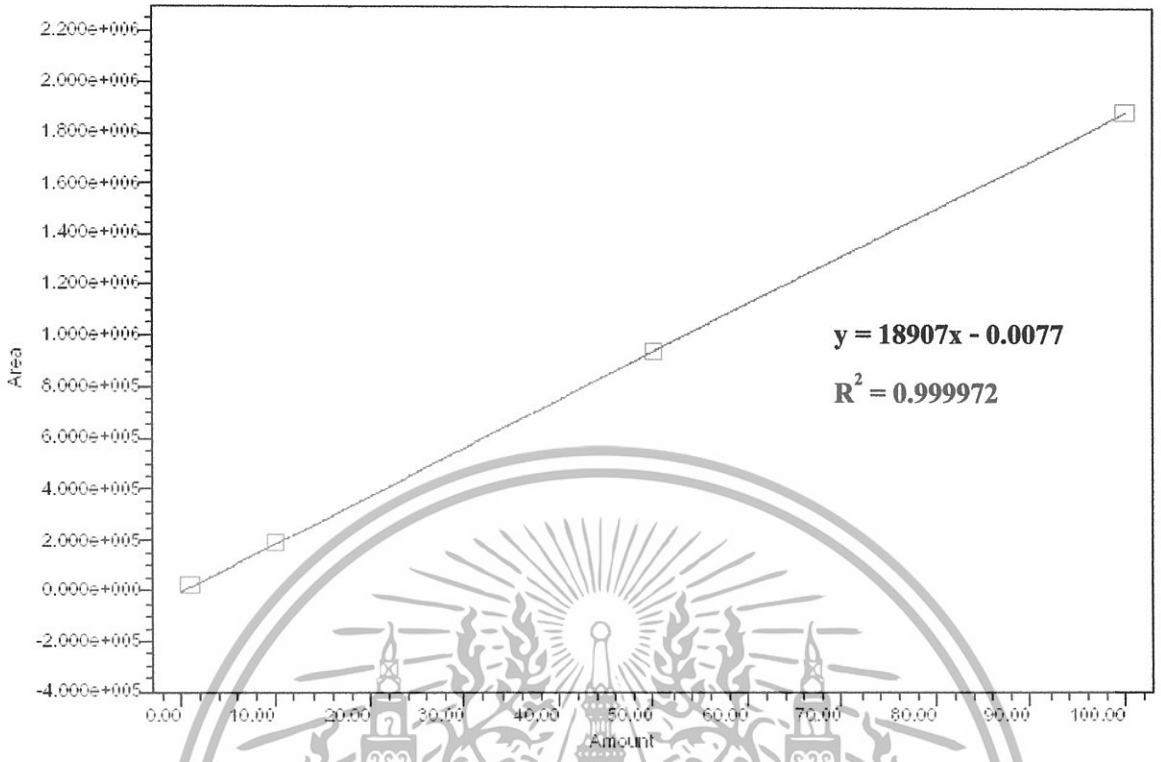
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



	Name	Level	X Value	Response	Calc. Value	% Deviation
1	triclosan		1.000000	21489.500000	1.127407	12.741
2	triclosan		10.000000	186567.000000	9.787894	-2.121
3	triclosan		50.000000	947499.000000	49.708788	-0.582
4	triclosan		100.000000	1909255.000000	100.165543	0.166

รูปที่ ค3 กราฟมาตรฐานของไตรโคลซานที่ชุดการทดลองที่ 3 ช่วงความเข้มข้น 1-100 mg/L ในเฟสเคลื่อนที่สารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

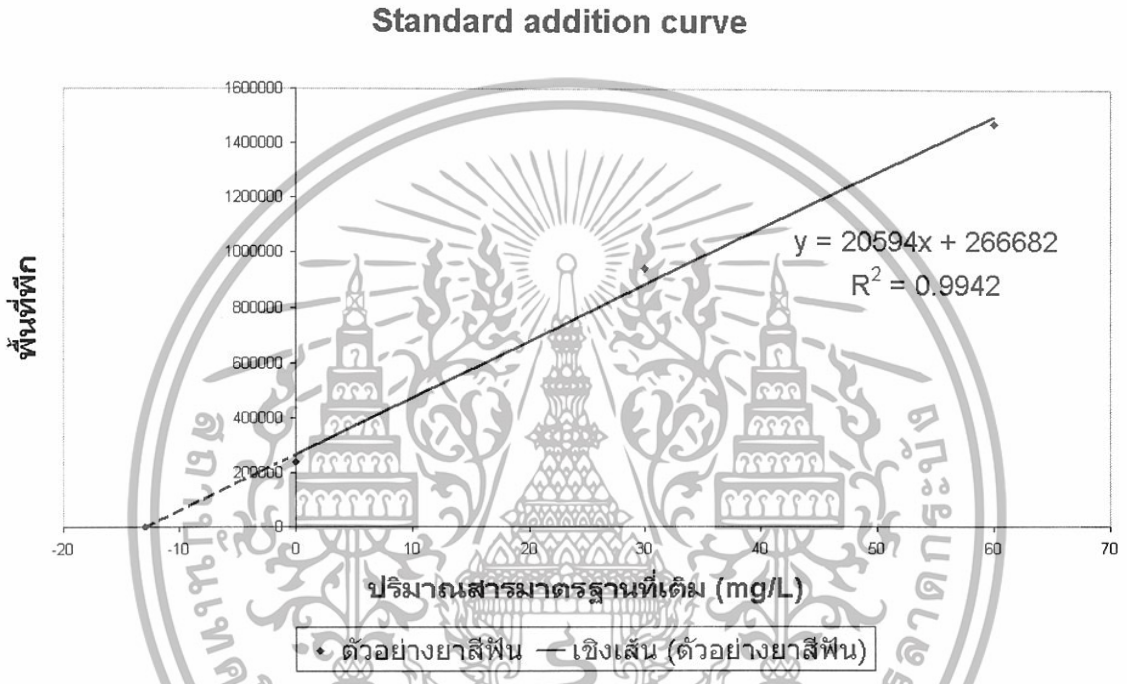


	Name	Level	X Value	Response	Calc. Value	% Deviation
1	triclosan		1.000000	21489.500000	1.136604	13.660
2	triclosan		10.000000	185499.000000	9.811249	-1.888
3	triclosan		50.000000	939508.000000	49.691625	-0.617
4	triclosan		100.000000	1893923.000000	100.171697	0.172

รูปที่ ค4 กราฟมาตรฐานของไตรโคลซานที่ชุดการทดลองที่ 4 ช่วงความเข้มข้น 1-100 mg/L ในเฟสเคลื่อนที่สารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

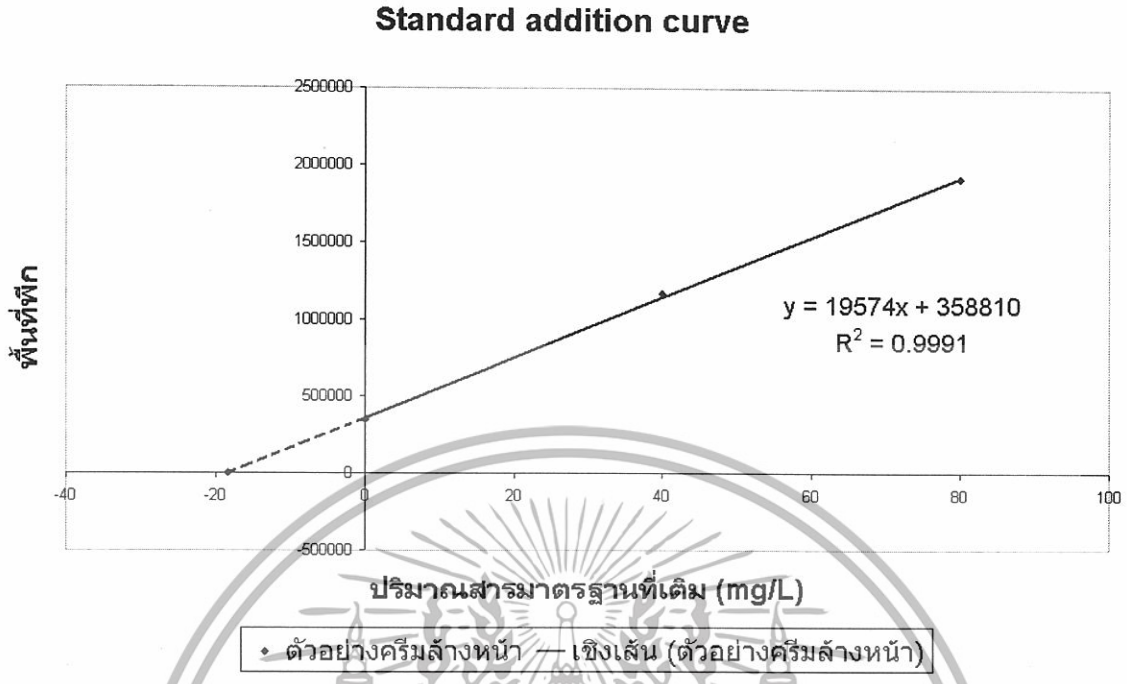
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กราฟมาตรฐานของไตรโคลซาน ที่ได้จาก Standard Addition Method ในสารละลายเฟสเคลื่อนที่ สารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที โดยใช้เทคนิค HPLC ตรวจวัดด้วยเครื่องยูวี ดีเทคเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตรแสดงดังรูปที่ ค5-ค8



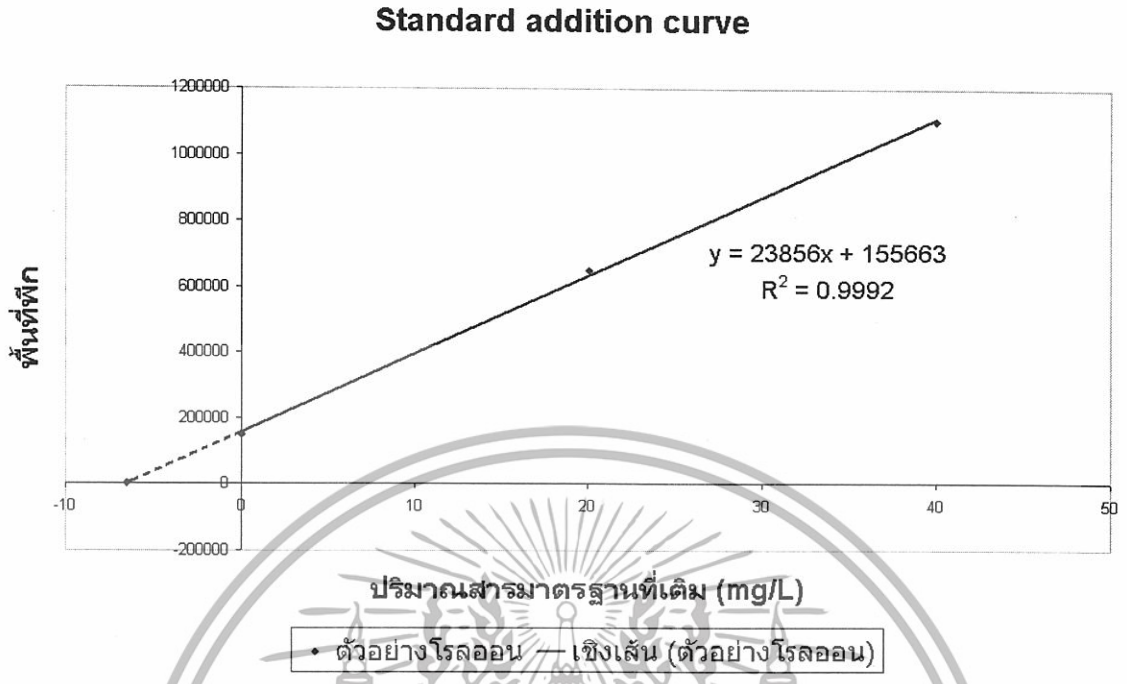
รูปที่ ค5 กราฟมาตรฐาน Standard Addition ของไตรโคลซานในสารตัวอย่างยาสีฟันโดยใช้สารละลายเฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดด้วยเทคนิค HPLC ยูวี ดีเทคเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



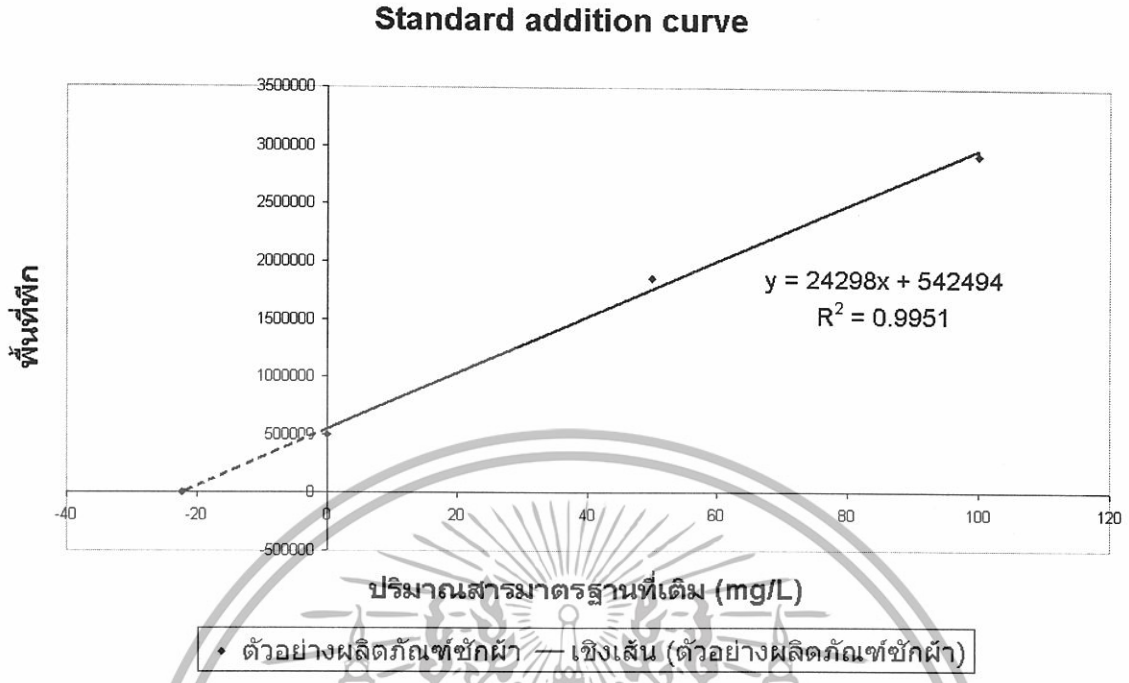
รูปที่ ค6 กราฟมาตรฐาน Standard Addition ของไตรโคลซานในสารตัวอย่างครีมล้างหน้า โดยใช้สารละลายเฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดด้วยเทคนิค HPLC ยูวี ดีเทคเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ด7 กราฟมาตรฐาน Standard Addition ของไตรโคลซานในสารตัวอย่างโรลออน โดยใช้สารละลายเฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายเอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดด้วยเทคนิค HPLC ยูวี ดีเทคเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

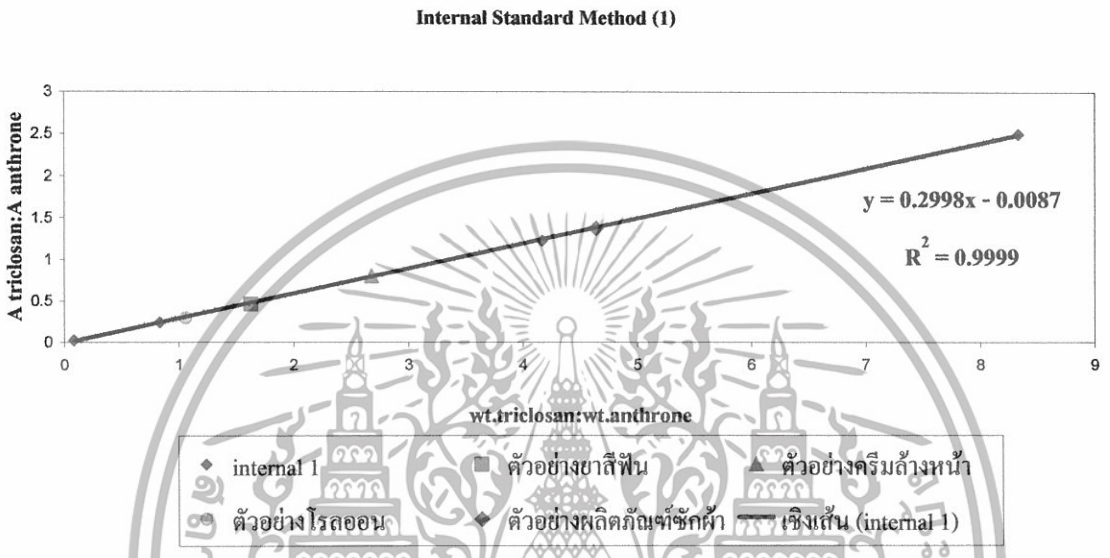
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



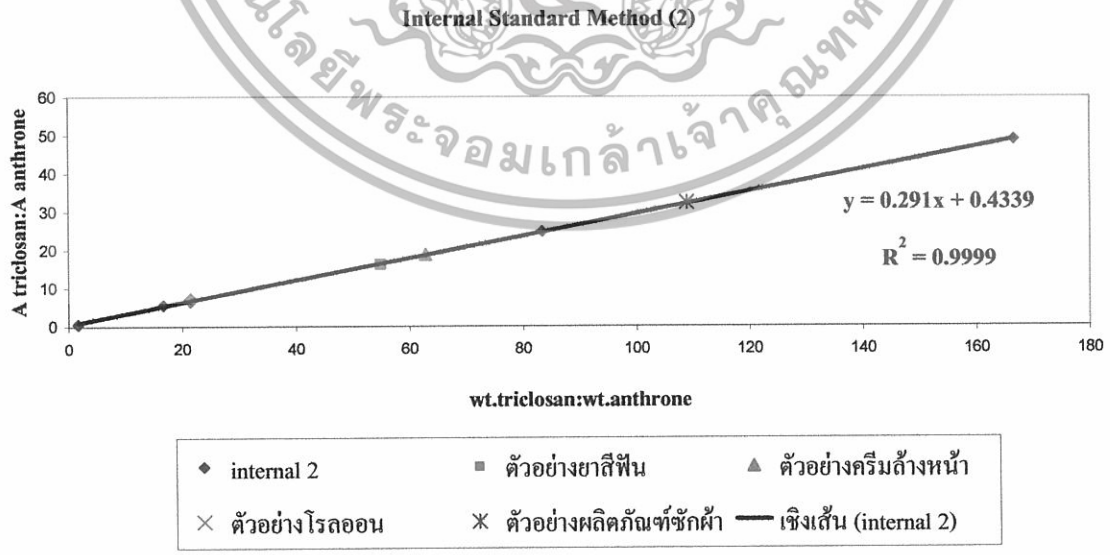
รูปที่ ค8 กราฟมาตรฐาน Standard Addition ของไตรโคลซานในสารตัวอย่างผลิตภัณฑ์ซักผ้า โดยใช้สารละลายเฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดด้วยเทคนิค HPLC ยูวี ดีเทคเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กราฟมาตรฐานของไตรโคลซาน ที่ได้จากการทำ Internal Standard Method ในสารตัวอย่างในสารละลายเฟสเคลื่อนที่สารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที โดยใช้เทคนิค HPLC ตรวจวัดด้วยเครื่องยูวี ดีเทคเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตรแสดงดังรูปที่ ค9-ค10



รูปที่ ค9 กราฟมาตรฐาน Internal Standard Method (1) ของไตรโคลซานในสารตัวอย่าง



รูปที่ ค10 กราฟมาตรฐาน Internal Standard Method (2) ของไตรโคลซานในสารตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง.

ผลการวิเคราะห์ไตรโคลซาน

ง1. สารตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์

1.1 ยาสีฟัน ยี่ห้อ Herbal Cool

ผลิตโดย บริษัทอังกฤษตรางู (แอล.พี.) จำกัด 272 ถนนเทพารักษ์ สมุทรปราการ

ส่วนประกอบ: ใบฝรั่ง ใบบัวบก ข่อย ชะเอมเทศ กานพลู และไตรโคลซาน 0.3% w/w

1.2 ครีมล้างหน้า ยี่ห้อ บีโอเร เฟเชียล โฟม แอคเน่ แคร์

ผลิตโดย บริษัท คาโอ เวียดนาม จำกัด ภายใต้การควบคุมของบริษัทคาโอ คอร์เปอเรชั่น ประเทศญี่ปุ่น นำเข้าโดย บริษัทคาโอ อินดัสเตรียล (ประเทศไทย) จำกัด 38 หมู่ 8 สำโรงใต้ จ. สมุทรปราการ

ส่วนประกอบ: Triclosan Asunaro Extract Rose Water Extract Dipotassium Glycyrrhizate

1.3 โรลออน ยี่ห้อ เอเวอร์เซ็นส์ ไวท์แอนด์มอยซ์

ผลิตโดย บริษัท ไบโอ แมนู แฟคเจอริ่ง จำกัด 61 ถ.ร่มเกล้า มีนบุรี กทม. 10510

ส่วนประกอบ: Aluminium Chlorohydrate Kojic Acid Licorice Sodium PCA Triclosan Fragrance

1.4 ผลิตภัณฑ์น้ำยาซักผ้า ยี่ห้อ เอสเซ้นซ์

ผลิตโดย บริษัท ไลอ้อน (ประเทศไทยจำกัด)

ส่วนประกอบ: Sodiumlauryethersulfate 14.0 % w/w Sodiumlauryl Sulfate 6.0%w/w Triclosan 0.05%w/w

ง2. ผลการวิเคราะห์หาปริมาณไตรโคลซานในสารตัวอย่างชนิดต่าง ๆ ด้วย External Standard Method Internal Standard Method และ Standard addition method

นำสารตัวอย่างมาตรวจวัดด้วยเทคนิค HPLC ด้วยตัวตรวจวัดยูวี ดีเทคเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร ในเฟสเคลื่อนที่สารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณไตรโคลซานในสารตัวอย่าง ดังตารางที่ ง1-ง4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง1 ปริมาณไตรโคลซานในสารตัวอย่างที่วิเคราะห์ด้วย External Standard Method

สารตัวอย่าง	ปริมาณไตรโคลซาน (mg/L) ครั้งที่					ค่าเฉลี่ยปริมาณไตรโคลซาน (mg/L)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)	% RSD	น้ำหนักสารตัวอย่าง (g)	% w/w ไตรโคลซาน
	1	2	3	4	5					
ยาสีฟัน	27.095	27.207	27.177	27.256	27.32	27.211	0.08446	0.310389	0.4518	0.15057
ครีมล้างหน้า	35.284	36.01	35.564	35.914	36.307	35.8158	35.8158	1.112322	0.4517	0.198228
โรลออน	15.454	15.405	15.446	14.855	15.086	15.2492	0.26785	1.756487	0.4039	0.094387
ผลิตภัณฑ์ซักผ้า	55.871	55.539	55.746	55.502	55.868	55.7052	55.7052	0.316798	1.5135	0.092014

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น เว้นแต่ได้รับอนุญาตจากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ก่อน

ตารางที่ ง2 ปริมาณไตรโคลซานในสารตัวอย่างที่การทดสอบเพื่อยืนยันตำแหน่งที่เกิดปฏิกิริยา (spiking)

ตัวอย่าง	ปริมาณ spike(mg/L)	ปริมาณไตรโคลซาน (mg/L)			% recovery			% recovery
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
ยาสีฟัน	30	49.23	49.283	49.271				
	60	77.311	77.382	77.373	93.60333	93.66333	93.67333	93.64667 ± 0.037859
ผลต่าง	30	28.081	28.099	28.102				
ครีมล้างหน้า	40	61.254	61.143	60.417	90.045	91.2525	96.71	92.66917±3.551164
	80	97.272	97.644	99.101				
ผลต่าง	40	36.018	36.501	38.684				
โรลออน	20	34.006	33.88	35.196	104.95	102.97	109.255	105.725±3.213374
	40	54.996	54.474	57.047				
ผลต่าง	20	20.99	20.594	21.851				
ผลิตภัณฑ์ซักผ้า	50	99.447	99.304	99.678	105.44	108.082	104.98	106.1673±1.674025
	100	152.167	153.345	152.168				
ผลต่าง	50	52.72	54.041	52.49				

ตารางที่ ง3 ปริมาณไตรโคลซานในสารตัวอย่างที่วิเคราะห์ด้วย Internal Standard Method ชุดที่ 1

ความเข้มข้นสารมาตรฐานไตรโคลซาน (mg/L)	พื้นที่พีกแอนโทรน	พื้นที่พีกไตรโคลซาน	พื้นที่พีกไตรโคลซาน: พื้นที่พีกแอนโทรน	น้ำหนักไตรโคลซาน (mg)	น้ำหนักแอนโทรน (mg)	น้ำหนัก.ไตรโคลซาล: น้ำหนักแอนโทรน
1	735335	19337	0.026297	0.025	0.3	0.083333
10	732982	175694	0.239698	0.25	0.3	0.833333
50	732149	895271	1.222799	1.25	0.3	4.166667
100	733197	1831555	2.498039	2.5	0.3	8.333333

สารตัวอย่าง	พื้นที่พีกแอนโทรน	พื้นที่พีกไตรโคลซาน	พื้นที่พีกไตรโคลซาน: พื้นที่พีกแอนโทรน	ค่าที่ได้จากกราฟ (ค่า X)	น้ำหนักไตรโคลซาน (g)	น้ำหนักตัวอย่าง (g)	% w/w ไตรโคลซาน
ยาสีฟัน	730159	336508	0.460869	1.63	0.000489	0.4523	0.108114
ครีมล้างหน้า	734993	588709	0.800972	2.68	0.000804	0.4547	0.17682
โรลออน	734826	213456	0.290485	1.06	0.000318	0.405	0.078519
ผลิตภัณฑ์ซักผ้า	734498	1006257	1.369993	4.64	0.001392	1.5015	0.092707

ตารางที่ ง4 ปริมาณไตรโคลซานในสารตัวอย่างที่วิเคราะห์ด้วย Internal Standard Method ชุดที่ 2

ความเข้มข้นสารมาตรฐานไตรโคลซาน (mg/L)	พื้นที่พีกแอนโทรน	พื้นที่พีกไตรโคลซาน	พื้นที่พีกไตรโคลซาน: พื้นที่พีกแอนโทรน	น้ำหนักไตรโคลซาน (mg)	น้ำหนักแอนโทรน (mg)	น้ำหนัก.ไตรโคลซาล: น้ำหนักแอนโทรน
1	34189	21644	0.633069	0.025	0.015	1.666667
10	34749	191218	5.502835	0.25	0.015	16.66667
50	35087	872220	24.85878	1.25	0.015	83.33333
100	35805	1748448	48.83251	2.5	0.015	166.6667

สารตัวอย่าง	พื้นที่พีกแอนโทรน	พื้นที่พีกไตรโคลซาน	พื้นที่พีกไตรโคลซาน: พื้นที่พีกแอนโทรน	ค่าที่ได้จากกราฟ (ค่า X)	น้ำหนักไตรโคลซาน (g)	น้ำหนักตัวอย่าง (g)	% w/w ไตรโคลซาน
ยาสีฟัน	33575	546634	16.28098	54.9	0.000824	0.4508	0.182675
ครีมล้างหน้า	31352	590627	18.83857	62.8	0.000942	0.4513	0.20873
โรลออน	31795	217322	6.8351	21.5	0.000323	0.4018	0.080264
ผลิตภัณฑ์ซักผ้า	30727	994403	32.36252	108.4	0.001626	1.5029	0.108191

ตารางที่ ง5 ปริมาณไตรโคลซานในสารตัวอย่างที่วิเคราะห์ด้วย Standard addition method

สารตัวอย่าง	ปริมาณสารมาตรฐานที่เติม (mg/L)	พื้นที่พีก			ปริมาณไตรโคลซานที่ได้จากกราฟ (mg/L)			น้ำหนักสารตัวอย่าง (g)	%w/w ไตรโคลซาน			%w/w ไตรโคลซาน	%RSD
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3		
ยาสีฟัน	0	236433	236479	239355	12.79229	12.82987	12.9496	0.4535	0.14104	0.141454	0.142774	0.141756 ±0.000906	0.63896
	30	938378	939392	939151									
	60	1474801	1473623	1474976									
ครีมล้างหน้า	0	336853	345403	341600	19.24889	18.33074	18.79857	0.4517	0.213072	0.202908	0.208087	0.208022 ±0.005082	2.442966
	40	1174489	1168592	1150140									
	80	1849493	1911361	1863098									
โรลออน	0	147775	146756	147852	6.525067	7.220871	7.405871	0.4039	0.080776	0.089389	0.09168	0.087282 ±0.005749	6.587128
	20	648561	648312	644824									
	40	1102026	1050995	1038982									
ผลิตภัณฑ์ซักผ้า	0	494153	493092	487574	22.64556	22.32657	22.05379	1.551	0.073003	0.071975	0.071095	0.072024 ±0.000955	1.325688
	50	1849611	1856202	1856161									
	100	2900468	2922920	2924958									

ภาคผนวก จ.

ค่าขีดจำกัดการตรวจวัดของไตรโคลซาน

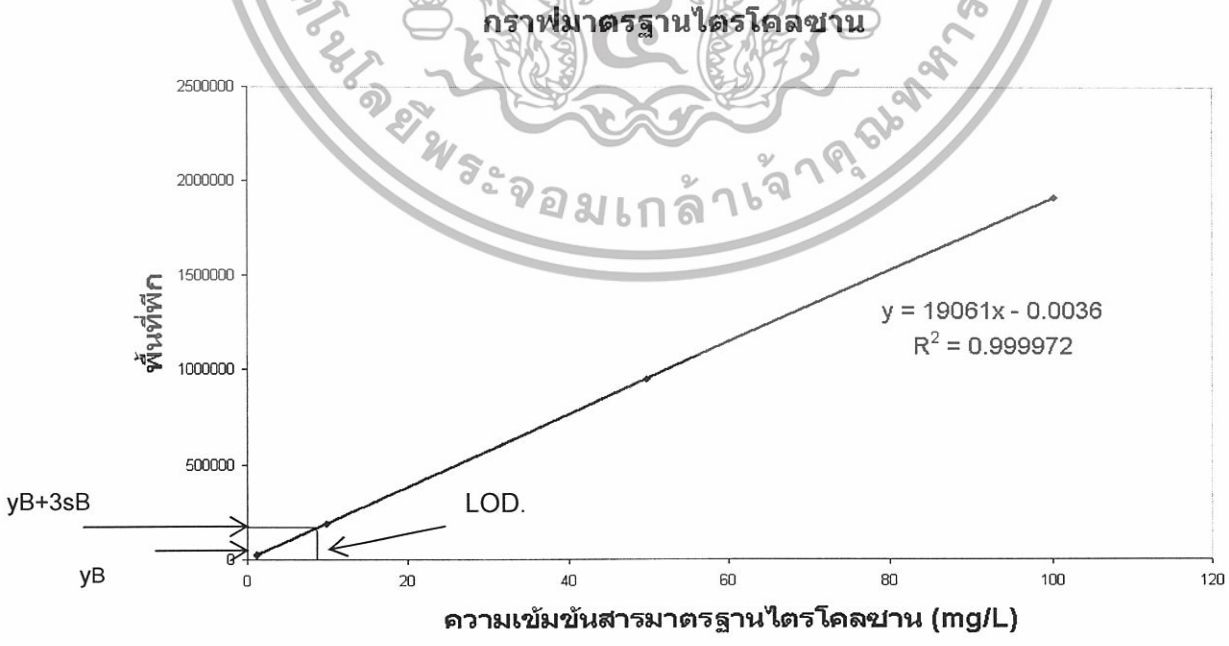
1. การคำนวณหาค่าขีดจำกัดของการตรวจวัด (LOD)

1.1 สร้างกราฟมาตรฐานของไตรโคลซาน โดยทำการทดสอบในช่วงความเข้มข้น 1-100 mg/L ในเฟสเคลื่อนที่สารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร ที่อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที โดยใช้เทคนิค HPLC ตรวจวัดด้วยเครื่องยูวี ดีเทคเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

1.2 จากกราฟมาตรฐานจะได้สมการเชิงเส้นและค่าสัมประสิทธิสหสัมพันธ์ นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณหาค่า Sy/x จากสมการ

$$Sy/x = \left\{ \frac{\sum_i (yi - y')^2}{n-2} \right\}^{1/2}$$

1.3 ประมาณค่าขีดจำกัดการตรวจวัดของไตรโคลซานจากสมการเชิงเส้นของกราฟมาตรฐานโดยคำนวณค่า yB+3sB และค่าขีดจำกัดการตรวจวัดของไตรโคลซาน ผลที่ได้แสดงดังตารางจ 1



รูปที่ จ1. กราฟมาตรฐานไตรโคลซานแสดงการคำนวณค่าขีดจำกัดของการตรวจวัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง จ1 แสดงผลของค่าขีดจำกัดการตรวจวัด (LOD)

กราฟมาตรฐาน	x	yi	ýi	|yi-ýi|	|yi-ýi|²
	1	19061	21489.5	-2428.5	5897629.74
y = 19061x -0.0036	10	190610	186567	4042.996	16345819.9
r^2 = 0.999972	50	953050	947499	5550.996	30813561
	100	1906100	1909255	-3155	9954047.72
	1	18906.99	21489.5	-2582.51	6669346.02
y = 18907x - 0.0077	10	189070	185499	3570.992	12751986
r^2 = 0.999971	50	945350	939508	5841.992	34128874
	100	1890700	1893923	-3223.01	10387778.6

กราฟมาตรฐาน	sum |yi-ýi|²	Sy/x	yB+3sB	LOD. (mg/L)	avg.LOD. (mg/L)
y = 19061x - 0.0036 r^2 = 0.999972	63011058.4	5612.979	16838.94	0.883	0.890±0.009703
y = 18907x - 0.0077 r^2 = 0.999971	63937984.7	5654.113	16962.33	0.897	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฉ.

การเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์หาปริมาณไตรโคลซาน

การวิเคราะห์หาปริมาณไตรโคลซานในผลิตภัณฑ์ยาสีฟัน ครีมล้างหน้า โรลออน และผลิตภัณฑ์ซักผ้า โดยตรวจวัดด้วยเทคนิค HPLC ตัวตรวจวัดยูวี ดีเทคเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร ในเฟสเคลื่อนที่สารละลายแอซิโทไนไทรล์:น้ำ:กรดแอซิติก อัตราส่วน 70:30:0.5 ปริมาตรโดยปริมาตร อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที วิเคราะห์ผลที่ได้และคำนวณหาปริมาณของไตรโคลซานในสารตัวอย่างแต่ละชนิด โดยทำการวิเคราะห์ 3 วิธี แสดงผลดังตาราง ฉ 1

ตารางฉ 1 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณไตรโคลซานในผลิตภัณฑ์ตัวอย่างทั้ง 3 วิธี

ตัวอย่าง	ปริมาณไตรโคลซาน (% w/w)			
	External Standard Method	Internal Standard Method	Standard Addition Method	ค่าเฉลี่ยปริมาณไตรโคลซาน
ยาสีฟัน	0.151 ± 0.08446	0.145 ± 0.052723	0.142 ± 0.000906	0.146± 0.001
ครีมล้างหน้า	0.198 ± 0.39839	0.193 ± 0.022564	0.208 ± 0.005082	0.1997± 0.005
โรลออน	0.094 ± 0.26785	0.079 ± 0.001234	0.087 ± 0.005749	0.087± 0.006
ผลิตภัณฑ์ซักผ้า	0.092 ± 0.17647	0.100 ± 0.010949	0.072 ± 0.000955	0.088± 0.001

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางฉ 2 ANOVA

Method	ยาสีฟัน	ครีมล้างหน้า	โรลออน	ผลิตภัณฑ์ซักผ้า	T_i	T_i^2	ผลรวม T_i^2
External Standard	0.151	0.198	0.094	0.092	0.535	0.286	
Internal Standard	0.145	0.193	0.079	0.1	0.517	0.267	0.812
Standard Addition	0.142	0.208	0.087	0.072	0.509	0.259	
T_j	0.438	0.599	0.26	0.264	T=1.561		
T_j^2	0.192	0.359	0.068	0.069			
ผลรวม Tj2	0.688						

Source Of Variation	Sum Or Squares	Degrees Of Freedom	Mean Square	F ที่คำนวณได้
Between-sample	0.162	3	0.054	-1.182
Between-method	0.135	2	0.068	-0.985
Residual	-0.137	6	-0.023	
Total	0.16	11		

r = 3 c = 4 N = 12 ผลรวม X_{ij}^2 = 0.228 ผลรวม T_i^2 = 0.812

ผลรวม T_j^2 = 0.688 T= 1.561 $F_{3,6}$(ตาราง)= 4.76 $F_{2,6}$(ตาราง)= 5.143

จากผลการคำนวณ F-test F ที่คำนวณได้มีค่าน้อยกว่า F จากตาราง แสดงว่าแต่ละวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณไตรโคลซานไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ P = 0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้