

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การวิเคราะห์หาปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซาลิไซลิกในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง
โดยใช้วิธีโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง



T107773



นายอาทร โพนทอง
นายประเสริฐ บวรพนมศักดิ์

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาคอมพิวเตอร์วิทยาศาสตร์บัณฑิต
ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2548

สพ.
อ 6197
อุทผช

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 107773
วัน, เดือน, ปี 10 พ.ค. 2553

b. 12210A20
i.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**Determination of Benzoic Acid and Salicylic Acid in Cosmetic Products
By High Performance Liquid Chromatography**

Mr. Aton Pountong

Mr. Prasert Bavornpanomsak

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

Department of Chemistry

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Academic Year 2005

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงการพิเศษเรื่อง การวิเคราะห์หาปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซาลิไซลิกในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางโดยใช้วิธีโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง
นักศึกษา นายอาทร โพนทอง
นายประเสริฐ บวรพนมศักดิ์
ภาควิชา เคมี
สาขาวิชา เคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์
ปีการศึกษา 2548
อาจารย์ที่ปรึกษา ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
 อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

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



(ผศ.ดร. ประยงค์ ควางดี)

หัวหน้าภาควิชา

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงการพิเศษ	การวิเคราะห์หาปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซาลิไซลิกในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางโดยใช้วิธีโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง
นักศึกษา	นายอาทร โพนทอง นายประเสริฐ บวรพนมศักดิ์
ภาควิชา	เคมี คณะวิทยาศาสตร์
สาขาวิชา	เคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์
ปีการศึกษา	2548
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร. วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ

บทคัดย่อ

โดยในการศึกษาครั้งนี้ คณะผู้วิจัยต้องศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสม โดยพิจารณาถึงปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการวิเคราะห์หาปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซาลิไซลิก พบว่าสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซาลิไซลิกในตัวอย่างเครื่องสำอางจะใช้อัตราการใช้ไอโซคราฟเฟิลของเฟสเคลื่อนที่เท่ากับ 1.1 มิลลิลิตร/นาที่ และ อัตราส่วนระหว่างเมทานอล:น้ำ เท่ากับ 40:60 โดยปริมาตร และทำการตรวจวัดผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางยี่ห้อ PAN cosmetic L'OREAL Cleasil ESKINOL Johnson วิเศษนิยม สุภาภรณ์ TAMARIND SPA ยายเกิดและนางพญาหน้าขาว จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ไม่ต้องการเตรียมสารที่ยุ่งยาก และมีความไวต่อการตรวจวัด ซึ่งค่าการตอบสนองเป็นเส้นตรง (Linearity) ของกราฟมาตรฐานกรดเบนโซอิกและกรดซาลิไซลิก ในช่วงความเข้มข้น 1-10 ppm โดยมีความสัมพันธ์ของความสัมพันธ์เท่ากับ 0.9962

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title Determination of Benzoic Acid and Salicylic Acid in Cosmetic Products By High Performance Liquid Chromatography

Name Mr. Aton Pountong
Mr. Prasert Bavornpanomsak

Department Chemistry

Program Industrial Chemistry Analytical Instrumentation

Academic Year 2005

Special Project Advisor Dr. Wiboon Praditweangkum

ABSTRACT

Benzoic acid (BA) and Salicylic acid (SA) was a chemical substance that is present in cosmetic products. However benzoic acid and salicylic acid has disadvantage too. Therefore, this project was aimed to study the determination of benzoic acid and salicylic acid in cosmetics by using High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The HPLC system consisting of a HPLC Pump ODS-C18 column with UV detection at 235 nm, methanol:water (40:60 v/v) and mobile phase flow rate of 1.1 mL/min. The calibration curve of Benzoic acid and Salicylic acid was prepared and resulted linearity range about 1-10 ppm and regression coefficient (R^2) of 0.9962. The ten commercial cosmetic samples were determined.

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษนี้สามารถลุล่วงไปด้วยดีในครั้งนี้ เนื่องจากการได้รับการดูแล เอาใจใส่ ช่วยเหลือ แนะนำ การอำนวยความสะดวก และสิ่งที่เป็นประโยชน์ของคณาจารย์และผู้ที่เกี่ยวข้อง แก่ผู้จัดทำ และคณะกรรมการ ที่กรุณาติดตาม ตรวจสอบดูแลเอาใจใส่เป็นอย่างดีจนโครงการพิเศษนี้สามารถสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ตลอดจนการตรวจทาน และแก้ไขโครงการพิเศษฉบับนี้

ขอขอบพระคุณ ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ อาจารย์คณะกรรมการตรวจสอบโครงการพิเศษที่ให้ความกรุณาแก้ไขโครงการพิเศษให้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น และเจ้าหน้าที่ภาควิชาเคมีทุกท่านที่คอยช่วยเหลือให้การทำให้โครงการพิเศษนี้ดำเนินไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณ คุณปราณี บุญวัฒน์ ที่ช่วยดูแลเรื่องการเบิกสารเคมีให้การทำงานสำเร็จ ลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องธุรการ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาเคมี รวมทั้งแม่บ้านที่ได้ให้คอยให้ความช่วยเหลือ และอำนวยความสะดวกในทุกๆด้าน

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดาญาติ พี่น้อง และเพื่อนๆ รวมถึงรุ่นพี่ รุ่นน้อง ทุกๆคนที่ให้คำปรึกษาที่ดี และให้กำลังใจตลอดมาในทุกๆด้านจนโครงการพิเศษนี้สำเร็จในที่สุด นอกจากนี้บุคคลที่มีส่วนช่วยที่มิได้กล่าวไว้ ณ ที่นี้ขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

นายอาทร โพนทอง
นายประเสริฐ บวรพนมศักดิ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
สารบัญ	จ
สารบัญ(ต่อ)	ค
สารบัญตาราง	ง
สารบัญรูป	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาของโครงการพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์	1
1.3 ขอบเขตการวิจัย	1
1.4 ขั้นตอนการวิจัยและการดำเนินงาน	1
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ	3
2.1 กรดเบนโซอิก (Benzoic acid: BA)	3
2.2 กรดซาลิไซลิก (Salicylic Acid: SA)	6
2.3 ทฤษฎีและหลักการของ HPLC	10
2.4 ทฤษฎีและหลักการของ Solid phase extraction	13
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	19
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย	20
3.1 สารเคมี	20
3.2 อุปกรณ์	21
3.3 เครื่องมือ	21
3.4 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดเบนโซอิกเข้มข้น 100 mg/L	21
3.5 การเตรีนมสารละลายมาตรฐานกรดซาลิไซลิกเข้มข้น 100 mg/L	22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
3.6 การเตรียมสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างกรดเบนโซอิก และกรดซาลิไซลิก 10 mg/L	22
3.7 การเตรียมเฟสเคลื่อนที่	22
3.8 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ หาปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซาลิไซลิกโดยวิธีโครมาโทกราฟี ของเหลวแบบสมรรถนะสูง	22
3.9 การสร้างกราฟมาตรฐาน	23
3.10 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซาลิไซลิก ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์	23
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล	24
4.1 การศึกษาหาสัดส่วนของเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสม	24
4.2 การศึกษาหาอัตราการไหลที่เหมาะสมของเฟสเคลื่อนที่	27
4.3 การสร้างกราฟมาตรฐาน	30
4.4 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซาลิไซลิกในผลิตภัณฑ์ เครื่องสำอางตามท้องตลาด	32
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	37
เอกสารอ้างอิง	39
ภาคผนวก	40
ภาคผนวก ก การศึกษาหาสัดส่วนของเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสม	41
ภาคผนวก ข การศึกษาหาอัตราการไหลที่เหมาะสมของเฟสเคลื่อนที่	42
ภาคผนวก ค การสร้างกราฟมาตรฐาน	43
ภาคผนวก ง การวิเคราะห์หาปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซาลิไซลิกในผลิตภัณฑ์ เครื่องสำอางตามท้องตลาด	44
ภาคผนวก จ วิธีการวิเคราะห์ การคำนวณผลการวิเคราะห์ตัวอย่างและการพิมพ์รายงาน ของเครื่อง HPLC	45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1	4
2.2	5
2.3	7
2.4	8
2.5	16
3.1	20
4.1	25
4.2	28
4.3	30
4.4ก.	32
4.4ข.	33
4.4ค.	34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	สูตร โครงสร้างของกรดเบนโซอิก (BA)	3
2.2	แสดงถึงลักษณะทางกายภาพของกรดเบนโซอิก	6
2.3	สูตร โครงสร้างของ กรดซาลิไซลิก (SA)	6
2.4	แสดงถึงลักษณะทางกายภาพของกรดซาลิไซลิก	9
2.5	เครื่อง HPLC	11
2.6	ส่วนประกอบต่างๆของเครื่อง HPLC	11
2.7	ภาชนะบรรจุเฟสเคลื่อนที่	11
2.8	คอลัมน์(Column)	12
2.9	เครื่องตรวจวัด(Detector) ประเภท UV	12
4.1ก.	กราฟแสดงการเปรียบเทียบค่า resolution กับ สัดส่วนของเฟสเคลื่อนที่ระหว่างเมทานอล:น้ำ	26
4.1ข.	กราฟแสดงการเปรียบเทียบค่า H (ค่าประสิทธิภาพของคอลัมน์) กับ สัดส่วนของเฟสเคลื่อนที่ระหว่างเมทานอล: น้ำ	26
4.2ก.	กราฟแสดงการเปรียบเทียบค่า resolution กับอัตราการใช้ของเฟสเคลื่อนที่ที่ค่าต่างๆ	29
4.2ข.	กราฟแสดงการเปรียบเทียบค่า H (ค่าประสิทธิภาพของคอลัมน์) กับอัตราการใช้ของเฟสเคลื่อนที่ที่ค่าต่างๆ	29
4.3ก.	แสดงกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดซาลิไซลิก	31
4.3ข.	แสดงกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดเบนโซอิก	32
4.4ก.	แสดงกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดซาลิไซลิก	33
4.4ข.	แสดงกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดเบนโซอิก	33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาของโครงการพิเศษ

ในปัจจุบันเครื่องสำอางเข้ามามีบทบาทสำคัญในชีวิตประจำวันของผู้คนมากมาย เครื่องสำอางช่วยบำรุงสุขภาพผิวพรรณของผู้ใช้ให้สดใส ลบริ้วรอยลดบร่รอยต่างๆ ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางได้มีการนำกรดเบนโซอิก(Benzoic acid: BA) และกรดซาลิไซลิก (Salicylic acid: SA) มาใช้เป็นสารกันเสียในเครื่องสำอางซึ่งสารกันเสียนี้จะทำหน้าที่ต่อต้านจุลินทรีย์ในเครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์ต่างๆ การใช้กรดเบนโซอิกและกรดซาลิไซลิก เป็นสารกันเสียเพื่อป้องกันการเสื่อมอายุของเครื่องสำอางซึ่งอาจทำอันตรายต่อผู้บริโภคได้ เช่น เกิดอาการแพ้หรือ อาการอักเสบที่ผิวหนัง ดังนั้นการควบคุมปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซาลิไซลิก ในเครื่องสำอางจึงมีความสำคัญต่อการประกันสุขภาพและความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

ในโครงการพิเศษนี้จะทำการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซาลิไซลิกในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

1.2 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซาลิไซลิกในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางโดยใช้วิธีโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

1.3 ขอบเขตการวิจัย

1. ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซาลิไซลิกโดยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง
2. ศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซาลิไซลิกในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง
3. นำสภาวะที่เหมาะสมที่พัฒนาได้ไปประยุกต์ใช้

1.4 ขั้นตอนการวิจัยและการดำเนินงาน

1. สืบค้น ศึกษาข้อมูลและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง
2. วางแผนการทดลองโดยจัดหาอุปกรณ์ สารเคมี สารตัวอย่าง และเครื่องมือที่ใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ดำเนินการทดลอง โดยศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซาลิไซลิก โดยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง และนำวิธีที่พัฒนาได้ไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณกรดเบนโซอิก และกรดซาลิไซลิกในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง
4. ประมวลผลการทดลอง สรุป และวิจารณ์ผลการทดลอง

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซาลิไซลิกในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง โดยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง
2. ทำให้ทราบถึงปริมาณของกรดเบนโซอิกและกรดซาลิไซลิกที่มีในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบางชนิด ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภคได้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

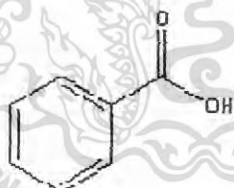
บทที่ 2

ทฤษฎีและหลักการ

2.1 กรดเบนโซอิก (Benzoic acid :BA) [1]

กรดเบนโซอิกและเกลือเบนโซเอทได้ถูกนำมาใช้เป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์มาเป็นเวลาช้านานแล้ว โดยโซเดียมเบนโซเอทมีความเสถียร ไม่มีสี เม็ดสีขาว หรือเป็นผงผลึกละลายได้ดีในน้ำและเอทานอลเหตุนี้จึงนิยมใช้โซเดียมเบนโซเอทในอาหารหลายชนิดเช่นเครื่องดื่มคาร์บอนเนต ของคอง ซอสถั่วเหลืองแยมและเยลลี่ เป็นต้น

กรดเบนโซอิกและเกลือเบนโซเอทมีประวัติการใช้เพื่อการถนอมอาหาร มาเป็นเวลายาวนาน โดยพบว่ามีความปลอดภัยซึ่ง U.S.FDA ได้อนุญาตให้ใช้เป็นสารถนอมอาหาร ส่วนเบนโซเอทได้รับการรับรองจาก GAS ว่าเป็นสารถนอมอาหารที่ใช้ได้สูงสุด 0.1% แต่ในปัจจุบันให้ใช้ได้มากถึง 0.15 - 0.25% ส่วนความเป็นพิษ FAO/WHO ได้เสนอว่าโซเดียมเบนโซเอทมีความเป็นพิษในคน และสัตว์น้อยมาก พบว่าถ้าฉีดเข้าใต้ผิวหนัง 6 mg/Kg body weight จะมีพิษ แต่ถ้ากินโซเดียมเบนโซเอท 5-10 g. เป็นเวลาหลายวัน ไม่พบความเป็นพิษ ทั้งนี้เพราะนม detoxication mechanism กล่าวคือ เบนโซเอทจะเกาะเกี่ยวกับไกลซีนในตับเกิดเป็น hippuric acid แล้วสกัดออกมา โดยกรดเบนโซอิกมีสูตรโครงสร้างดังแสดงในรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 สูตร โครงสร้างของกรดเบนโซอิก[1]

ชื่อทางเคมี : Benzenecarboxylic acid

สูตรทางเคมี : $C_7H_6O_2/C_6H_5COOH$

มวลโมเลกุล : 122.4

กรดเบนโซอิกมีสมบัติทางกายภาพและข้อมูลสำคัญดังแสดงในตารางที่ 2.1และ 2.2 ตามลำดับ ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 แสดงถึงสมบัติทางกายภาพของกรดเบนโซอิก [2]

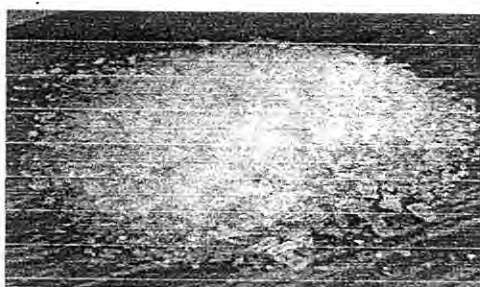
สมบัติทางกายภาพ	จุดหลอมเหลว	122 °C
	จุดเดือด	249 °C
	ความหนาแน่นสัมพัทธ์ (น้ำ = 1)	1.3
	ความหนาแน่นไอสัมพัทธ์ (อากาศ = 1)	4.2
	ความหนืด (mPa.sec) ที่ 20 °C	< 1
	ความสามารถในการละลายน้ำ ที่ 20 °C (กรัม/100 มล.)	0.1-1
	ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่ 20 °C	2.5-3.5
	อุณหภูมิที่ติดไฟได้เอง	570 °C

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 แสดงถึงข้อมูลสำคัญของกรดเบนโซอิก [2]

ข้อมูลสำคัญ	สถานะทางกายภาพ	มีลักษณะเป็นผงผลึกของแข็งสีขาวและมีกลิ่นฉุน คั่งแสดงในรูปที่ 2
	อันตรายทางกายภาพ	เมื่อผสมกับอากาศ ถ้าอยู่ในรูปผงหรือเป็นเม็ดอาจเกิดการระเบิดได้
	อันตรายทางเคมี	ละลายในน้ำเป็นกรดอ่อน ทำปฏิกิริยากับสารออกซิไดซ์
	สัมผัสทางหายใจ	การหายใจเข้าไปจะก่อให้เกิดการระคายเคือง และเผาไหม้เยื่อจมูก
	สัมผัสทางผิวหนัง	การสัมผัสผิวหนังจะก่อให้เกิดการระคายเคือง
ข้อมูลสำคัญ	สัมผัสถูกตา	การสัมผัสถูกตาจะก่อให้เกิดการระคายเคือง
	การกินหรือกลืนเข้าไป	การกลืนหรือกินเข้าไปจะก่อให้เกิดการระคายเคืองทางเดินอาหาร คลื่นไส้ อาเจียน
	ค่าจำกัดที่ยอมให้สัมผัสได้จากการทำงาน	TLV ไม่ได้กำหนดค่าไว้
	ผลของการได้รับสัมผัสสารในระยะสั้น	สารนี้ทำให้ตา ผิวหนังและทางเดินหายใจเกิดการระคายเคือง
	ผลของการได้รับสัมผัสสารในระยะยาวหรือได้รับสัมผัสสารซ้ำๆ	การได้รับสารในระยะยาวหรือได้รับสัมผัสซ้ำๆอาจทำให้ผิวหนังไวต่อการกระตุ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

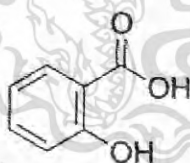


รูปที่ 2.2 แสดงถึงลักษณะทางกายภาพของกรดเบนโซอิก[3]

2.2 กรดซาลิไซลิก (Salicylic acid :SA) [4]

ปี ค.ศ.1827 Leroux ค้นพบสารสำคัญ คือ ซาลิซิน โดยสกัดได้จาก Willow bark เป็นสารในกลุ่ม bitter glycoside ต่อมาในปี ค.ศ.1838 Piria ก็สามารถเตรียมกรดซาลิไซลิกได้จาก ซาลิซิน

ปี ค.ศ.1844 Cahoues สามารถเตรียมกรดซาลิไซลิกได้จาก Oil of gaulthuria (oil of wintergreen) ซึ่งจะมีลักษณะเป็นผงสีเหลืองอ่อน หรือมีสีชมพูปนอยู่ด้วย มีกลิ่นหอมของมินท์ ถึงแม้ว่าจะสามารถสกัดกรดซาลิไซลิกได้จากพืชก็ตาม แต่กรดซาลิไซลิกที่ใช้ในปัจจุบันส่วนใหญ่จะ ได้มาจากการสังเคราะห์ โดยในปี ค.ศ.1860 Kolbe และ Lauterman ประสบความสำเร็จ ในการสังเคราะห์ กรดซาลิไซลิกจากฟีนอลจนกลายเป็นการผลิตในระดับอุตสาหกรรม ซึ่งจะมีลักษณะเป็นผลึกสีขาว หรือใสไม่มีสี หรือเป็นผงสีขาว และหาก ได้จากการสังเคราะห์จะ ไม่มีกลิ่น โดยกรดซาลิไซลิกมีสูตร โครงสร้างแสดงดังรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 สูตร โครงสร้างของกรดซาลิไซลิก (SA) [5]

ชื่อทางเคมี : 2-Hydroxybenzoic acid

สูตรทางเคมี : $C_7H_6O_3$

มวลโมเลกุล : 138

กรดซาลิไซลิกมีสมบัติทางกายภาพและข้อมูลสำคัญดังแสดงในตารางที่ 2.3 และ 2.44 ตามลำดับ ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.3 แสดงถึงสมบัติทางกายภาพของกรดซาลิไซลิก [6]

สมบัติทางกายภาพ	จุดหลอมเหลว	159 °C
	ความหนาแน่นสัมพัทธ์(น้ำ = 1)	1.4
	ความสามารถในการละลายน้ำ g/100 ml ที่ 20 °C	1.8
	ความดันไอ Pa ที่ 130 °C	114
	อุณหภูมิที่ติดไฟได้เอง	54 °C

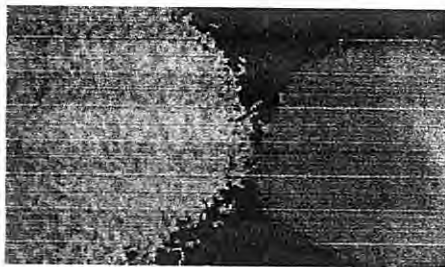


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.4 แสดงถึงข้อมูลสำคัญของกรดเบนโซอิก [6]

ข้อมูลสำคัญ	สถานะทางกายภาพ	ลักษณะเป็นผลึกไม่มีสี หรือ เป็นผลึกรูปเข็ม ดังแสดงในรูปที่ 4
	ความอันตรายทางกายภาพ	การระเบิดเป็นฝุ่นอาจเกิดขึ้นถ้า สารเป็นผงหรือเป็นแกรนูลผสม กับอากาศ
ข้อมูลสำคัญ	ความอันตรายทางเคมี	สารสลายตัวเมื่อได้รับความร้อน ทำให้เกิด ไอของphenol สารเป็น กรดแก่ปานกลางทำปฏิกิริยา อย่างรุนแรงกับด่างแก่และเกิด การออกซิไดซ์อย่างรุนแรง
	ค่าจำกัดที่ยอมให้สัมผัสได้จาก การทำงาน	ไม่ได้กำหนดค่า TLV ไว้
	วิถีทางของการ ได้รับสัมผัส	สามารถดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้ โดยการหายใจ เข้าทางผิวหนัง และ โดยการกิน
	ความเสี่ยงจากการหายใจ	ที่อุณหภูมิ 20 °C เกิดการระเหย ได้น้อยมาก อย่างไรก็ตามความ เข้มข้นของสารในอากาศอาจ เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจนเกิดการ ฟูงกระจายของฝุ่นผง
	ผลของการ ได้รับสัมผัสสารใน ระยะสั้น	สารนี้จะทำให้ตา ผิวหนัง และ ทางเดินหายใจเกิดการระคาย เคือง Salicylate ion อาจมีผลต่อ ระบบประสาทส่วนกลาง
	ผลของการ ได้รับสัมผัสสารใน ระยะยาวหรือ ได้รับสัมผัสสาร ซ้ำๆ	การ ได้รับสัมผัสสารซ้ำๆหรือ เป็นเวลานานๆอาจทำให้เกิดโรค ผิวหนังอักเสบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.4 แสดงถึงลักษณะทางกายภาพของกรดซาลิไซลิก[7]

การใช้กรดซาลิไซลิกในทางการแพทย์

ในทางการแพทย์ใช้กรดซาลิไซลิกเป็นยาที่ใช้ทาภายนอกและ ใช้เฉพาะที่ในการรักษาโรคผิวหนัง ที่มีลักษณะหนาแข็งกระด้าง เนื่องจากกรดซาลิไซลิกมีคุณสมบัติเป็น keratolytic agent กล่าวคือ จะทำให้ผิวหนังชั้นนอกหลุดลอกออกไปได้เร็วขึ้น โดยกรดซาลิไซลิกจะไปละลาย intercellular cement ของผิวหรือแผ่นสะเก็ดของผิวหนังที่เคยเกาะติดกันในชั้น Stratum corneum ให้ละลายแล้ว หลุดลอกออกได้ง่ายขึ้น ยาที่ใช้ทาภายนอกที่มีส่วนผสมของกรดซาลิไซลิกอยู่ด้วย และเป็นที่รู้จักกันดีคือ Whitfield's ointment ซึ่งประกอบด้วยกรดเบนโซอิกและกรดซาลิไซลิกในอัตราส่วน 2:1 โดยทั่วไปใช้ กรดเบนโซอิก 12% และ กรดซาลิไซลิก 6% ใช้รักษาเชื้อราที่ผิวหนัง รวมทั้งใช้ Salicylic acid colloidion ซึ่งประกอบด้วย กรดซาลิไซลิก 10-20% ในการรักษาหูดและตาปลา หรือใช้ กรดซาลิไซลิก 2-4% ผสมกับผง Talcum เป็นผงโรยเท้าใช้รักษาอาการเหงื่อออกมากผิดปกติที่เท้า

การใช้กรดซาลิไซลิกในเครื่องสำอาง

ในวงการเครื่องสำอาง ได้มีการใช้ กรดซาลิไซลิกมานานแล้ว และใช้ในหลายวัตถุประสงค์ เช่น ใช้เป็นวัตถุดิบเสีย เป็นวัตถุระงับเชื้อ และใช้ในผลิตภัณฑ์ทาผิวที่ทำให้ผิวนุ่ม เครื่องสำอางที่ใช้กับเส้นผม เครื่องสำอางที่ใช้ทาผิว ทาผิวน้ำ

ปริมาณที่ใช้ในเครื่องสำอาง

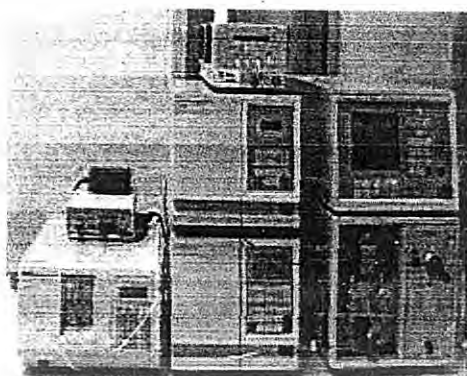
ในยุโรปอนุญาตให้ใช้ กรดซาลิไซลิกและเกลือของสารนี้เป็นวัตถุกันเสียในเครื่องสำอางได้ในปริมาณไม่เกิน 0.5% และห้ามใช้ในผลิตภัณฑ์ที่ใช้กับเด็กอายุต่ำกว่า 3 ปี ยกเว้นในแชมพู

เครื่องสำอางที่ใช้ทาผิวหน้าและทาผิวกายที่ผลิตในประเทศไทยมีการใช้กรดซาลิไซลิกเป็นส่วนผสม มีจำหน่ายมานานแล้ว ตัวอย่าง เช่น ใช้เป็นวัตถุระงับเชื้อในผลิตภัณฑ์ หรือใช้ในผลิตภัณฑ์ที่ใช้ทาผิว ทาผิวหน้า และใช้ทาผิวกาย โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์ที่ใช้ทาผิวบริเวณที่เส็งกระด้าง เช่น ข้อศอกหรือส้นเท้า สำหรับเครื่องสำอางทาผิวหน้าและผิวกายให้ผิวอ่อนนุ่ม สตรีวอร์ยที่ผลิตในต่างประเทศก็มีการใช้กรดซาลิไซลิกเป็นสารสำคัญเช่นเดียวกัน จากปัญหาผิวเหี่ยวย่น และผู้บริโภคร้องการผลิตภัณฑ์ที่ช่วยลดรอยเหี่ยวย่นเพื่อให้แลดูอ่อนกว่าวัย เป็นผลให้วงการเครื่องสำอางมีการวิจัยและพัฒนาตลอดเวลา จากเครื่องสำอางประเภทที่ทำให้ผิวนุ่มชุ่มชื้นเพียงอย่างเดียว มีการพัฒนาสูตรตำรับเพื่อให้มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น รวมทั้งมีผลต่อผิวเหี่ยวย่น ต้องการให้ผิวแลดูกระชับปลั่งปลั่ง และอ่อนนุ่มชวนมองและชวนสัมผัส

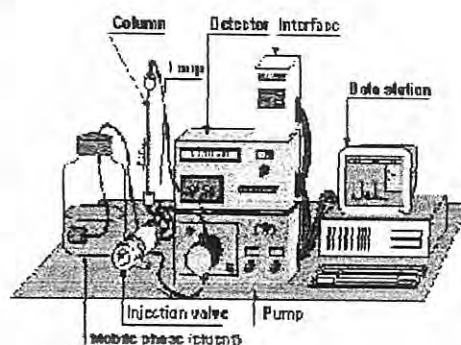
2.3 ทฤษฎีและหลักการของ HPLC [8]

เทคนิค HPLC นี้ เฟสเคลื่อนที่ที่เป็นของเหลวจะถูกบีบผ่านคอลัมน์แยกสาร ที่เป็นท่อบรรจุด้วยอนุภาคของแข็งซึ่งทำหน้าที่เป็นเฟสคงที่เมื่อตัวอย่างซึ่งเป็นองค์ประกอบหลายชนิดละลายอยู่ในรูปของเหลว ถ้านำเข้าสู่ระบบปกติโดยการฉีดด้วยปริมาณจำกัดที่จุดฉีด (injector) ก่อนเข้าสู่คอลัมน์ และแพร่กระจายเข้าสู่ระบบการไหล หน้าที่ของเฟสเคลื่อนที่คือ ล้างตัวอย่างในขณะไหลผ่านคอลัมน์ ทำให้เกิดการแยกองค์ประกอบแต่ละชนิดออกจากกัน อันเนื่องมาจากความแตกต่างของแรงที่เกิดเนื่องด้วย interaction เป็นองค์ประกอบกับเฟสคงที่และเฟสเคลื่อนที่ แต่ละองค์ประกอบจะใช้เวลาตั้งแต่เริ่มฉีดจนกระทั่งออกจากปลายคอลัมน์ ซึ่งเป็นเวลาส่วนใหญ่ของการเดินทาง เป็นช่วงเวลาที่เป็คุณสมบัติเฉพาะตัว (characteristic time) ของแต่ละสาร แต่อย่างไรก็ดีต้องระมัดระวังว่าภายใต้สภาวะแวดล้อมของการแยกนั้น สารบางชนิดที่มีคุณสมบัติใกล้เคียงกัน อาจจะใช้เวลาแยกใกล้เคียงกันจนเกิดการทับซ้อนกันได้ กฎโดยทั่วไปที่เกี่ยวข้องกับการแยก คือ องค์ประกอบใดที่สามารถเกิด interaction หรือสามารถกระจายตัวอยู่ในชั้นของเฟสคงที่ ได้ดีกว่าก็จะใช้เวลาอยู่ในคอลัมน์ได้นานกว่าและในทางตรงกันข้าม สารใดที่มี Interaction หรือสามารถกระจายตัวอยู่ในชั้นของเฟสเคลื่อนที่ ได้ดีกว่าก็จะถูกชะ (elute) ออกจากคอลัมน์ได้เร็วกว่า หรือใช้เวลาในคอลัมน์น้อยนั่นเอง โดยรูปเครื่องมือและส่วนประกอบต่างๆของเครื่อง HPLC ได้แสดงไว้ในรูปที่ 2.5 และ 2.6 ตามลำดับดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.5 เครื่อง HPLC [9]



รูปที่ 2.6 ส่วนประกอบต่างๆของเครื่อง HPLC [9]

ส่วนประกอบของเครื่อง HPLC ที่สำคัญมีดังนี้ [8]

1. ภาชนะที่บรรจุเฟสเคลื่อนที่(Mobile Phase Reservoir) เป็นขวดสำหรับใส่ตัวทำละลายที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ ดังแสดงในรูปที่ 2.7



รูปที่ 2.7 ภาชนะบรรจุเฟสเคลื่อนที่ [9]

2. ระบบปั๊ม(Pump System)ใน HPLC มีความต้านทานการไหลของเฟสเคลื่อนที่ที่จะไหลผ่านคอลัมน์ซึ่งมีอนุภาคขนาดเล็กบรรจุอยู่ ความต้านทานการไหลที่ว่านี้จะมากเมื่อใช้อนุภาคเล็กๆและคอลัมน์มีขนาดเล็กอีกด้วย จึงจำเป็นที่จะต้องใช้ความดันสูงดันเฟสเคลื่อนที่ให้ไหลไป

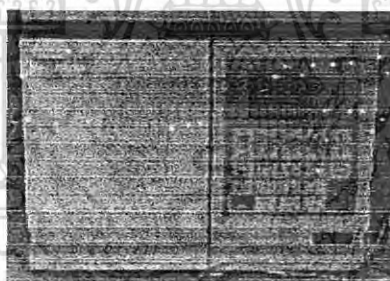
3. คอลัมน์(Column) เป็นส่วนประกอบที่ถือว่าเป็นหัวใจของระบบ คอลัมน์ HPLC โดยทั่วไปมีความยาว 25-30 ซม. ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 4-5 มม. และบรรจุด้วยสารบรรจุขนาดอนุภาค 10 ไมโครเมตร ดังแสดงในรูปที่ 2.8 ในปัจจุบันมีแนวโน้มว่าจะใช้คอลัมน์ที่มีความยาวและขนาดอนุภาคน้อยลงทั้งนี้เนื่องจากความสามารถผลิตสารบรรจุที่มีขนาดเล็กลงมา (3-5 ไมโครเมตร)และใช้เทคนิคการบรรจุสารที่มีประสิทธิภาพสูงขึ้นมาั่นเองทำให้มีประสิทธิภาพ ในการแยกต่อหน่วยความยาวคอลัมน์ดีขึ้น(ความหนาของ Plate, HETP ลดลง และจำนวน Plate, N มีค่าสูงขึ้น)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.8 คอลัมน์ (Column) [9]

4. เครื่องตรวจวัด(Detector) เครื่องตรวจวัดที่ได้นำมาใช้มากที่สุดใน HPLC ได้แก่ Ultraviolet Absorbance(UV) และ Refractive Index(RI)เครื่องตรวจวัดชนิด UV มีประโยชน์สำหรับการวิเคราะห์สารอินทรีย์เป็นส่วนใหญ่ เครื่องตรวจวัดชนิดนี้มีทั้งความยาวคลื่นเดียว (มักจะใช้ที่ 254 nm Mercury arc lamp) และแบบที่เปลี่ยนความยาวคลื่นได้(variable wavelength) ในช่วง 190-600 nm การดูดกลืนแสงนี้เป็นคุณสมบัติของโมเลกุล ดังนั้นแต่ละสารประกอบจึงมีการดูดกลืนแสงที่จำเพาะของตัวเอง เครื่องตรวจวัดชนิด UV จัดเป็นชนิดที่มีความไวสูง สามารถตรวจวัดสารมากประเภทในปริมาณต่ำถึงระดับนาโนกรัม โดยรูปเครื่องตรวจวัด(Detector) ชนิด UV ได้แสดงไว้ในรูปที่ 2.9



รูปที่ 2.9 เครื่องตรวจวัด (Detector) ประเภท UV [9]

5. ส่วนประมวลผลข้อมูล(Data System) ส่วนที่แปลงสัญญาณ analog เป็น digital
6. ส่วนที่ทิ้งของเสีย(Waste)

2.4 ทฤษฎีและหลักการของ Solid phase extraction [10]

การเตรียมตัวอย่างก่อนฉีดเข้าระบบ High Pressure Liquid Chromatography (HPLC) และ Gas Chromatography (GC) เป็นขั้นตอนที่สำคัญมาก เนื่องจากสิ่งสกปรกในตัวอย่างไม่สามารถทำให้คอลัมน์

(ที่มีราคาแพง) และระบบดูดซับได้ ถ้าคอลัมน์ ของระบบ GC อุดตัน เราสามารถล้างด้วย solvent แล้วทำให้ประสิทธิภาพของคอลัมน์นั้นกลับคืนได้ ส่วนคอลัมน์ของระบบ HPLC นั้นทำได้ยากกว่าเพราะฉะนั้นวิธีที่ดีที่สุดคือ การป้องกันไม่ให้สิ่งสกปรกเข้าไปสะสมในระบบ หรือ คอลัมน์ ได้ โดยมีการเตรียมตัวอย่างที่ดีและถูกต้องนั่นเอง การเตรียมตัวอย่างเป็นขั้นตอนที่ต้องใช้เวลาพอสมควรประมาณได้เป็น 60-80 % ของเวลาทั้งหมดที่นักเคมีใช้ไปกับการวิเคราะห์ นอกเหนือจากเวลาที่ต้องเสียไปแล้ว เรายังสูญเสียตัวทำละลายไปอีกด้วย จากการประเมินทั่วไปพบว่าเทคนิคในการเตรียมตัวอย่างที่ใช้กันมากที่สุดคือ Liquid-Liquid Extraction (LLE) LLE มีข้อเสียตรงที่อาจเกิด อิมัลชันกรณีใช้กับตัวอย่างที่เป็นเนื้อเยื่อ การที่ต้องใช้เครื่องแก้วมากมายทำให้เป็นการเพิ่มสิ่งสกปรกต่าง ๆ ที่จะมารบกวนการวิเคราะห์ให้มากขึ้น ผลที่ได้ก็อาจไม่ถูกต้องตัวทำละลาย ที่ใช้มีราคาแพงและใช้ในปริมาณมาก ดังนั้นเราควรลดปริมาณการใช้ลงและควรคำนึงถึงการทิ้งตัวทำละลาย เหล่านั้นหลังการใช้งานว่ามีผลต่อสิ่งแวดล้อมอย่างไรด้วย Solid Phase Extraction (SPE) เป็นเทคนิคการเตรียมตัวอย่างที่สามารถนำมาใช้แทน LLE ได้โดยไม่ต้องสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายมาก วิธีของ SPE มีหลักการคล้ายกับ LLE ตรงที่ใช้หลักการ partition เหมือนกัน แต่ทว่า partition ไม่ได้เกิดระหว่างของเหลวกับของเหลวเหมือนกับของ LLE แต่จะเกิดระหว่างของแข็ง (คือ absorbent ที่อยู่ในแท่ง SPE) กับของเหลวหรือตัวทำละลาย

ข้อดีของ SPE มีอยู่มาก แต่ที่สามารถสรุปให้เห็นเด่นชัด มีดังนี้ คือ

1. ลดปริมาณตัวทำละลาย ที่จำเป็นต้องใช้ลง
2. ประหยัดเวลา
3. ลดขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างให้น้อยลงหรือเหลือขั้นตอนเดียว
4. สามารถใช้กับระบบการเตรียมตัวอย่างแบบอัตโนมัติได้
5. เลือกใช้ได้กับ ตัวทำละลายหลายชนิด

ดังนั้นจะเห็นว่า SPE เป็นเทคนิคที่ปัจจุบันนิยมใช้กันมากที่สุดในการเตรียมตัวอย่าง การใช้ SPE ไม่เพียงแต่ทำความสะดวกตัวอย่างชัดเจนที่รบกวนการวิเคราะห์ออกเท่านั้น แต่ยังเป็นการช่วยยืดอายุการใช้งานของ คอลัมน์ ด้วย

ขั้นตอนการใช้ SPE มีขั้นตอนง่าย ๆ 4 ขั้นตอน ตามลำดับดังนี้คือ

1. Condition เป็นการเตรียม sorbent หรือ packing ที่บรรจุอยู่ในแท่ง SPE ให้พร้อมรองรับตัวอย่าง
2. Load เป็นการใส่ตัวอย่างลงไป ๖3648 เพื่อให้จับกับ sorbent
3. Rinse เป็นการขจัดเอาสารที่จับกับ sorbent ใต้น้อยหรือจับอยู่ที่ส่วนผิวของ sorbent ออก
4. Elution เป็นการดึงเอาสารที่เราสนใจที่เกาะกับ sorbent ออก เพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป

วิธีเลือก SPE

ที่จริงแล้วการเลือก SPE ไม่ยากอย่างที่คิด หลักการเลือก Sorbent นั้นให้ดูว่าสารที่เราสนใจเป็นพวกที่ละลายน้ำหรือไม่ละลายน้ำ (Hydrophilic หรือ Hydrophobic) ให้เลือก sorbent ที่มีความมีขั้วตรงกับสารที่เราจะแยก ตัวอย่างเช่นถ้ามีสารที่ละลายได้ดีในน้ำเป็นพวกที่มีประจุคือสามารถแตกตัวที่ค่า pH หนึ่ง ตัวอย่างนี้จะใช้ sorbent เป็น ion exchanger โดยใช้ anion สำหรับสารที่มีประจุลบ และ cation สำหรับสารที่มีประจุบวก

การเลือกตัวทำละลาย

การเลือกตัวทำละลายจะมีผลต่อการเตรียมตัวอย่างในแง่ที่ว่า จะได้ออกมาสะอาดแค่ไหน และได้ค่า Recovery เป็นอย่างไร ถ้าเราเลือกตัวทำละลาย ได้เหมาะสมสำหรับ rinse หรือ elute ตัวอย่าง ตัวอย่างก็จะสะอาด และได้ค่า recovery ดี การเลือกสามารถทำได้ง่ายด้วยกายทดลองใช้ตัวทำละลายที่มี strength ต่าง ๆ กันเหมือนกับหลักการเลือกตัวทำละลายและคอลัมน์ในระบบ HPLC เราจะ load สารที่เราสนใจลงไปใน sorbent สารที่เราสนใจควรมีความเข้มข้นพอเหมาะ ต่อไป เราจะเลือกใช้ solvent เป็นชุด ๆ ที่ทราบปริมาตร แล้วค่อย ๆ เพิ่ม strength ขึ้นเรื่อย ๆ แล้วเก็บแต่ละส่วนมาตรวจสอบว่าสารที่เราสนใจถูก elute ออกมาเท่าใด

อัตราการไหล

การที่จะปรับสภาพของ sorbent ให้เรียบร้อยก่อน load ตัวอย่าง การ load ตัวอย่างและขบวนการ elute จะต้องทำที่อัตราการไหลของ solvent ที่เหมาะสม เพื่อไม่ให้เกิดปัญหาจากตัวอย่างไม่ถูกกักหรือ retain อย่างสมบูรณ์ หรือไม่ถึง equilibrium โดยทั่วไปแล้ว เราสามารถปรับสภาพ cartridge ได้โดยใช้อัตราการไหลสูงถึง 25 มิลลิลิตร / นาที ส่วนการ load ตัวอย่างและการ elute นั้นจะดีที่สุดเมื่อเราใช้อัตราการไหลไม่เกิน 10 มิลลิลิตร / นาที แต่ก็เป็นไปได้ที่ค่า recovery อาจจะยอมรับได้เมื่อเรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใช้อัตราการไหลสูงถึง 20 มิลลิลิตร / นาที (ซึ่งควรตรวจสอบโดยใช้ สารมาตรฐานเสียก่อน)กรณีใช้ sorbent ซึ่งเป็นพวก Ion exchange จะแนะนำให้ใช้อัตราการไหลต่ำกว่า เช่น 1-2 มิลลิลิตร / นาที SepPak บางชนิด เช่น Sep-Pak light จะมีเส้นผ่าศูนย์กลางเล็กกว่าแบบอื่น ก็ให้ลดอัตราการไหลลง 3 เท่า ดังแสดงในตารางที่ 2.5

ตารางที่ 2.5 แสดงการเลือกใช้ Sep-Pak Cartridges [10]

Sorbent หรือ Packing Material	คุณสมบัติที่ผิว	การวิเคราะห์ที่ใช้
C ₁₈	Hydrophobic bonded silica	แยกสาร Hydrophobic ออกจากสารละลาย aqueous - ยา และ metabolite ของยา ในเลือด น้ำเหลือง และ ปัสสาวะ - สารอินทรีย์ปริมาณน้อยในตัวอย่างน้ำ น้ำเสีย - กรดอินทรีย์ ในพวกเครื่องดื่มและไวน์ - Peptide ในตัวอย่างเลือด น้ำเหลือง และ ของเหลวใน ร่างกาย
C ₈	Hydrophobic non-polar bonded	แยกสาร Hydrophobic ออกจากสารละลาย aqueous - ใช้เมื่อต้องการให้สาร retain น้อยลงกว่าแบบ C ₁₈ - ยา และ metabolite ของยาในเลือด น้ำเหลือง และ ปัสสาวะ - Peptide ในตัวอย่างเลือด น้ำเหลือง และ ของเหลว ในร่างกาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.5(ต่อ)

Sorbent หรือ Packing Material	คุณสมบัติที่ผิว	การวิเคราะห์ที่ใช้
Silica	Hydrophilic Polar (Neutral)	- แยกสารละลายที่มี polarity ต่ำ ถึงปานกลาง ออกจาก สารละลาย non-aqueous - วิตามิน A D E K - ยาน้ำมัน - ไขมันชนิดต่าง ๆ - สารสกัดจากธรรมชาติ pigment จากพืช - สารอินทรีย์สังเคราะห์
Florisol	Hydrophilic Polar (Slightly basic)	- แยกสารละลายที่มี polarity ต่ำถึงปานกลางออก จาก สารละลาย non-aqueous - วิตามิน AOAC และ EPA - ตัวอย่างที่มีไขมันสูง - ยาน้ำมัน ยาน้ำมันพืช ในอาหารและอาหาร สัตว์ - สาร Polychlorinated biphenyls ใน Transformer oil

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.5(ต่อ)

Sorbent หรือ Packing Material	คุณสมบัติที่ผิว	การวิเคราะห์ที่ใช้
Alumina A	Hydrophilic Polar (Acidic)	<ul style="list-style-type: none"> - แยกสาร Hydrophilic ออกจากสารละลาย non-aqueous - มีสมบัติเป็น Cation exchanger เล็กน้อย - แยกน้ำตาล คาเฟอีน ในเครื่องคั้นประเภทโคลลา - วิตามินในอาหารและอาหารสัตว์ - ยาปฏิชีวนะ - สารผสมในอาหาร และอาหารสัตว์
Alumina N	Hydrophilic Polar (Neutral)	<ul style="list-style-type: none"> - แยกสาร Hydrophilic ออกจากสารละลาย non-aqueous - ยาม่วงพืช - บีโตรีเนียมและน้ำมัน - สารผสมในอาหาร - สารอินทรีย์สังเคราะห์
Alumina B	Hydrophilic Polar (Basic)	<ul style="list-style-type: none"> - แยกสาร Hydrophilic ออกจากสารละลาย non-aqueous - มีสมบัติเป็น Cation exchange เล็กน้อย - ยาม่วงแมลง ยาม่วงพืช น้ำเสีย - พวก Steroid ต่าง ๆ

107773

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.5(ต่อ)

Sorbent หรือ Packing Material	คุณสมบัติที่ผิว	การวิเคราะห์ที่ใช้
Aminopropyl NH ₂	Hydrophilic moderately polar (Slightly basic)	- ใช้เป็น weak anion exchanger - ยาและ metabolite ของยา - อุตสาหกรรมปิโตรเลียม และ lube oil - Saccharides - สารพวก Phenol และ pigment พวก Phenolic
Cyanopropyl CN	Hydrophobic moderately non-polar (Neutral)	- วิเคราะห์สารที่ละลายใน aqueous หรือ organic - ยาและ metabolite ของยา จากน้ำในส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย - metabolite จากเชื้อราและผลิตภัณฑ์จากการหมัก - ยาน้ำแมลง - Peptide ที่มีโครงสร้างเป็นสาร Hydrophobic
Diol	Hydrophobic moderately non-polar neutral phase	- วิเคราะห์สารที่ละลายใน aqueous หรือ organic - ธาตุที่มีปริมาณน้อยในน้ำ - ยาปฏิชีวนะ ในเครื่องสำอาง - แยก Peptide และ โปรตีนต่าง ๆ
Accell plus CM	Hydrophilic Polar (acidic) Cation exchange	- แยกพวก Ion ที่มีประจุบวก ในสารละลาย aqueous หรือ non-aqueous - สกัด โปรตีน เอนไซม์ และ Immunoglobulin ต่าง ๆ ที่มีสถานะเป็นต่างอ่อน - สารอินทรีย์สังเคราะห์ - แยก Peptide ขนาดต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Enzo Sottofattori และคณะ [11] ได้ทำการศึกษาการวัดปริมาณสาร magnesium ascorbyl phosphat (I) imidazolidinylurea (II) ของผสมของ methyl-(III) ethyl-(IV) propyl-(V) butyl-(VI) parabens ที่ละลายอยู่ในสารละลาย phenoxyethanol และสารถ่ายสาร ascorbyl palmitate(VII) ในเวลาเดียวกันด้วยเทคนิค high-performance liquid chromatographic โดยใช้ cyano-propyl คอลัมน์และสารละลายเมทานอลเกรดเดียนต์ ที่ความยาวคลื่น 220 และ 240 nm กราฟมาตรฐานสามารถหาความเป็นเส้นตรงได้ที่มีความเข้มข้น 0.05-5 mg/ml (ในสารประกอบตัวที่ I II และ VII) และที่ความเข้มข้น 0.9-160 mg/ml (ในสารประกอบตัวที่ III- VI) ซึ่งสามารถวิเคราะห์ค่า linear regression ของข้อมูลที่แสดงถึงประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์ได้ในรูปของค่าความเที่ยงและความแม่นยำ ส่วนของขั้นตอนการสกัดนั้นได้ถูกพัฒนาและถูก validate มาเพื่อที่จะใช้ในการทำโครมาโทกราฟีของครีมเครื่องสำอางที่ใช้ในเชิงพาณิชย์ซึ่งค่าความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์นี้สามารถคำนวณออกมาเป็นค่า relative standard deviation (หรือ ค่า RSD) ของค่า % recovery (จะอยู่ในช่วง 1.57-2.21%) ซึ่งเป็นค่าที่ดีมากของสารประกอบทั้งหมด

Santo Scalia และคณะ [12] ได้พัฒนาขั้นตอนกระบวนการวิเคราะห์สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกรดไกลโคลิกในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางโดยเทคนิค reversed-phase ion-pair high-performance liquid chromatography ซึ่งจะนำสารตัวอย่างมาละลายในสารละลาย เตตระไฮโดรฟูราน-น้ำ

(อัตราส่วน 90:10 , v/v) โดยจะทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีการสกัดแบบ ซิลิคาเฟส ซึ่งจะใช้ silica-based strong anion-exchange cartridge และวิเคราะห์โดยตรงด้วยคอลัมน์ Ultrasphere ODS แล้วตรวจวัดด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 210 nm ซึ่งจะใช้สารละลายบัฟเฟอร์ เมทานอล-ฟอสเฟส(อัตราส่วน 2:98 , v/v) ที่บรรจุด้วย เตตระบิวทิลแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ เป็นเฟสเคลื่อนที่ ค่า recovery ของกรดไกลโคลิกจะอยู่ระหว่าง 92.4 และ 96.2% และค่าความเที่ยงของวิธีนี้จะมากกว่า 5.4 % R.S.D. ขั้นตอนกระบวนการวิเคราะห์นี้มีความรวดเร็ว ง่าย มีความเฉพาะเจาะจงและมีความเหมาะสมกับการวิเคราะห์เป็นประจำสำหรับผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่ใช้ในเชิงพาณิชย์

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 สารเคมี

1. กรดเบนโซอิก(Benzoic acid: BA)(เกรดวิเคราะห์)
2. กรดซาลิไซลิก (Salicylic acid: SA) (เกรดวิเคราะห์)
3. เมทานอล(HPLC Grade)
4. D.I. water

ตารางที่ 3.1 แสดงสารตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์

ตัวอย่างที่	ชื่อ
1	เจลล้างหน้ายี่ห้อ PAN cosmetic ประเภท Cleanser Baby Facial Gel
2	เจลล้างหน้ายี่ห้อ L'OREAL ประเภท DERMO-EXPERTISE
3	เจลล้างหน้ายี่ห้อ Clearasil ประเภท OVERNIGHT PIMPLE DEFENCE GEL
4	โลชั่นทำความสะอาดผิวหน้ายี่ห้อ ESKINOL ประเภท LEMON
5	ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดผิวหน้ายี่ห้อ Clearasil ประเภท PORE CLEANSING TONER
6	สบู่เหลวยี่ห้อ Johnson `s baby bedtime bath
7	ยาตีฟ้นสมุนไพรดำรับ โบราณยี่ห้อ วิเศษนิยม
8	สมุนไพรขัดผิวยี่ห้อ สุภาภรณ์
9	สบู่เกลือสำหรับขัดผิวยี่ห้อ TAMARIND SPA
10	ยาตีฟ้นสมุนไพรตรา ยายเกิด
11	สมุนไพรสูตรขัดผิวยี่ห้อ นางพญาหน้าขาว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 อุปกรณ์

1. บีกเกอร์ ขนาด 50 mL 2 ใบ
2. บีกเกอร์ ขนาด 250 mL 2 ใบ
3. บีกเกอร์ ขนาด 1000 mL 1 ใบ
4. ขวดวัดปริมาตร ขนาด 1000 mL 1 ขวด
5. ขวดวัดปริมาตร ขนาด 50 mL 14 ขวด
6. ขวดวัดปริมาตร ขนาด 10 mL 10 ขวด
7. ปิเปต ขนาด 5 mL 4 อัน
8. หลอดหยดสาร 2 หลอด
9. ช้อนตักสาร 2 อัน
10. กระชอนพริก 2 อัน
11. ตะกร้า 2 ใบ
12. จุกยาง 1 อัน

3.3 เครื่องมือ

1. เครื่อง HPLC รุ่น water 486 บริษัท Shimazu Detector Ultraviolet Absorbance (UV)

3.4 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดเบนโซอิก เข้มข้น 100 ppm

1. ชั่งกรดเบนโซอิกหนัก 0.050 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 50 mL
2. ละลายด้วยเมทานอลแล้วถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 50 mL ปรับปริมาตรด้วยเมทานอลแล้วเขย่าให้เข้ากันจะได้สารละลายมาตรฐานสต็อกกรดเบนโซอิกที่ความเข้มข้น 1000 ppm
3. ปิเปตสารละลายมาตรฐานสต็อกกรดเบนโซอิกเข้มข้น 1000 ppm มา 5 mL ถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 mL ปรับปริมาตรด้วยสารละลายเมทานอล จะได้สารละลายมาตรฐานสต็อกกรดเบนโซอิก ที่ความเข้มข้น 100 ppm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดซาลิไซลิก เข้มข้น 100 ppm

1. ชั่งกรดซาลิไซลิกหนัก 0.050 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 50 mL
2. ละลายด้วยเมทานอลแล้วถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 50 mL ปรับปริมาตรด้วยเมทานอลแล้วเขย่าให้เข้ากันจะได้สารละลายมาตรฐานสต็อกกรดซาลิไซลิกที่ความเข้มข้น 1000 ppm
3. ปิเปตสารละลายมาตรฐานสต็อกกรดซาลิไซลิกเข้มข้น 1000 ppm มา 5 mL ถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 mL ปรับปริมาตรด้วยสารละลายเมทานอลจะได้สารละลายมาตรฐานสต็อกกรดซาลิไซลิกที่ความเข้มข้น 100 ppm

3.6 การเตรียมสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างกรดเบนโซอิกและกรดซาลิไซลิก 10 ppm

1. ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดเบนโซอิกเข้มข้น 100 ppm มา 5 mL และ ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดซาลิไซลิกเข้มข้น 100 ppm มา 5 mL ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 mL
2. ปรับปริมาตรด้วยเมทานอล และเขย่าให้เข้ากัน

3.7 การเตรียมเฟสเคลื่อนที่

1. นำสารละลายเมทานอล (HPLC grade) มากรองด้วย membrane ประเภทกรอง organic solvent และนำน้ำ D.I. มากรองด้วย membrane ประเภทกรอง aqueous
2. นำสารละลายเมทานอลและน้ำ D.I. ที่กรองแล้วผสมลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 mL ด้วยสัดส่วนที่ต้องการ
3. นำไป degas ด้วยเครื่อง ultrasonic ก่อนใช้งาน

3.8 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซาลิไซลิกโดยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

3.8.1 การศึกษาสัดส่วนของเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสม

1. เตรียมเฟสเคลื่อนที่ตามหัวข้อ 3.7 โดยให้มีสัดส่วนของเมทานอล:น้ำ เป็น 50:50 ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ใช้อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ที่เป็น 0.7 mL/min
2. ฉีดสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างกรดเบนโซอิกและกรดซาลิไซลิก 10 ppm จำนวน 10 μ L บันทึกโครมาโทแกรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ปรับสัดส่วนของเฟสเคลื่อนที่ให้มีสัดส่วนของเมทานอล:น้ำ เป็น 100:0, 20: 80, 40:60, 60:40 และ 80:20
4. ทำการทดลองโดยฉีดสารมาตรฐานผสมระหว่างกรดเบนโซอิกและกรดซาลิไซลิก 10 ppm จำนวน 10 μ L
5. เปรียบเทียบโครมาโทแกรมที่ได้จากการใช้เฟสเคลื่อนที่ที่มีสัดส่วนต่างๆกัน

3.8.2 การศึกษาอัตราการไหลที่เหมาะสม

1. ปรับเฟสเคลื่อนที่ตามสัดส่วนที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองตามหัวข้อ 3.8.1
2. ฉีดสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างกรดเบนโซอิกและกรดซาลิไซลิก 10 ppm จำนวน 10 μ L
3. ทดลองปรับอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เป็น 0.6, 0.8, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2 mL/min
4. เปรียบเทียบโครมาโทแกรมที่ได้ เพื่อเลือกใช้อัตราการไหลที่ทำให้เกิดการแยกได้ดีที่สุด

3.9 การสร้างกราฟมาตรฐาน

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างกรดเบนโซอิกและกรดซาลิไซลิกให้มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0.1-10 ppm
2. ฉีดสารละลายมาตรฐานผสมในข้อ 1 เข้าสู่ระบบ HPLC ที่ได้เลือกใช้สภาวะที่เหมาะสม
3. สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารกับพื้นที่ใต้พีค

3.10 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซาลิไซลิกในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

ชั่งสารตัวอย่างมาประมาณ 0.25 กรัม ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 mL แล้วละลายด้วยสารละลายเมทานอล (HPLC grade) และถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 mL จากนั้นปรับปริมาตรด้วยสารละลายเมทานอล (HPLC grade) นำสารตัวอย่างที่เตรียมได้มากรองด้วยหัวกรอง Nylon ขนาด 0.45 μ m และนำสารตัวอย่างที่เตรียมได้ทั้งหมดมา degas ประมาณ 15 นาที หลังจากนั้นนำสารที่เตรียมได้มา 10 μ L ฉีดเข้าเครื่อง HPLC (สภาวะของเครื่อง HPLC คือ เมทานอล:น้ำ สัดส่วน 40:60 และ flow rate 1.1 mL/min)

บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผล

ได้ทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซาลิไซลิกในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง โดยใช้วิธีโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ซึ่งได้ผลการทดลองดังนี้

4.1 การศึกษาหาสัดส่วนของเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสม

จากการทดลองได้ทำการเปรียบเทียบหาสัดส่วนที่เหมาะสมของเฟสเคลื่อนที่ระหว่าง เมทานอล:น้ำ ที่สัดส่วนต่างๆกัน สำหรับนำมาใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซาลิไซลิกในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ได้ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.1 รูปที่ 4.1ก. และรูปที่ 4.2ข.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 แสดงผลการทดลองและการคำนวณในศึกษาหาสัดส่วนของเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสมระหว่าง เมทานอล:น้ำ ที่สัดส่วนต่างๆกัน

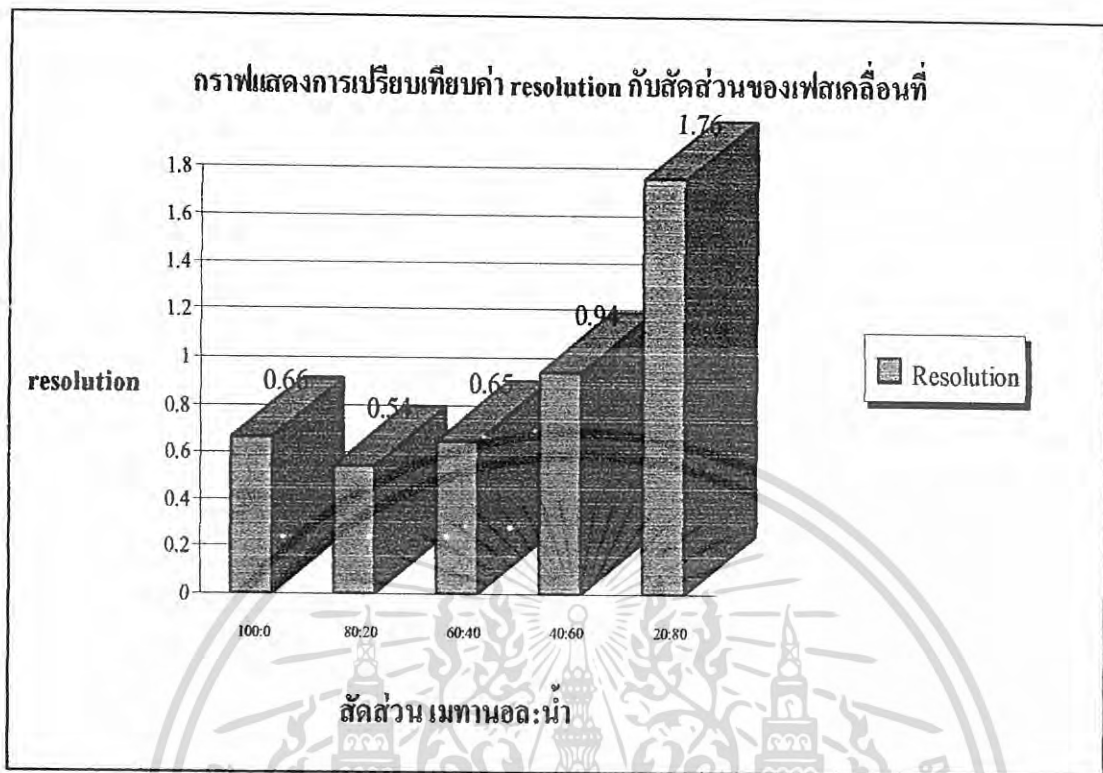
สัดส่วนของเฟสเคลื่อนที่ เมทานอล:น้ำ		100:0	80:20	60:40	40:60	20:80
Retention time (min)	SA	1.797	1.725	1.784	2.003	3.406
	BA	2.149	1.949	1.984	2.468	5.269
	SA(SA+BA)	1.795	1.714	1.780	1.991	3.420
	BA(SA+BA)	2.191	1.942	2.058	2.482	5.441
Area	SA	325539	363640	368747	364669	228087
	BA	358248	349287	345206	393867	365502
	SA(SA+BA)	274670	275379	284999	326086	359849
	BA(SA+BA)	310927	310916	312586	336358	336657
Height	SA	24720	38852	39589	27068	8526
	BA	28870	33255	33560	36871	13098
	SA(SA+BA)	22815	32759	33730	26539	9694
	BA(SA+BA)	28965	32112	29973	31231	10569
$N=16(t/w)^2$	SA	143.52	263.58	318.27	178.31	128.898
	BA	174.89	269.37	311.01	609.10	367.11
	SA(SA+BA)	143.20	293.78	316.84	209.67	154.66
	BA(SA+BA)	213.35	297.98	334.65	394.26	328.94
ประสิทธิภาพ ของคอลัมน์) $H=L/N$ (ค่า)	SA	0.104	0.057	0.047	0.084	0.116
	BA	0.086	0.056	0.048	0.025	0.041
	SA(SA+BA)	0.105	0.051	0.047	0.072	0.097
	BA(SA+BA)	0.070	0.050	0.045	0.038	0.046
Resolution		0.66	0.54	0.65	0.94	1.76

หมายเหตุ SA = กรดซาลิไซลิก BA = กรดเบนโซอิก

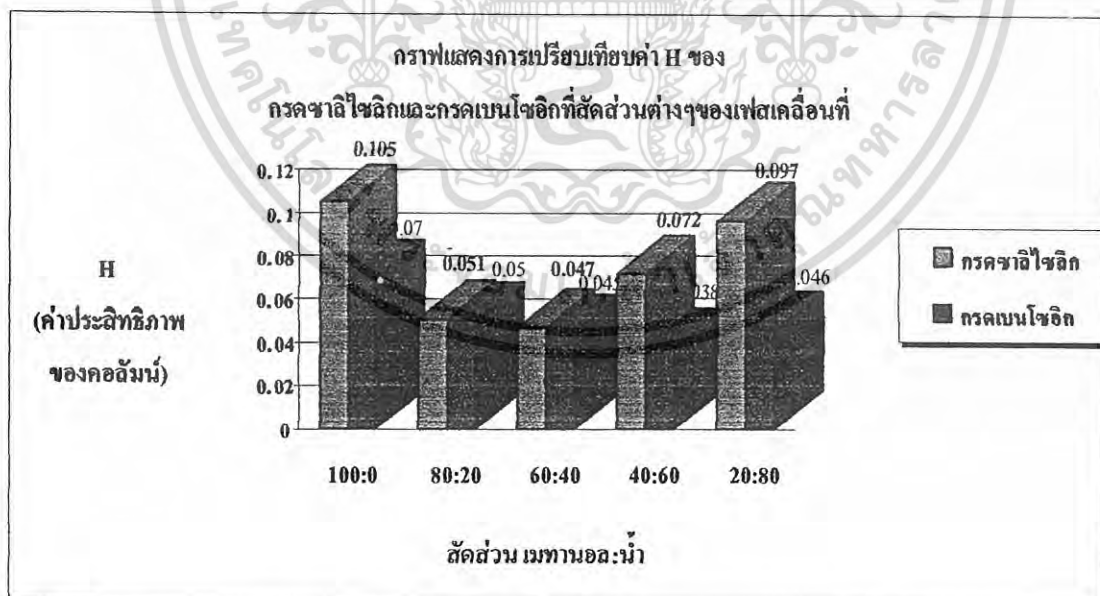
SA(SA+BA) = กรดซาลิไซลิกในสารละลายผสมระหว่างกรดซาลิไซลิกกับกรดเบนโซอิก

BA(SA+BA) = กรดเบนโซอิกในสารละลายผสมระหว่างกรดซาลิไซลิกกับกรดเบนโซอิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1ก. กราฟแสดงการเปรียบเทียบค่า resolution กับ สัดส่วนของเฟสเคลื่อนที่ระหว่าง เมทานอล:น้ำ



รูปที่ 4.1ข. กราฟแสดงการเปรียบเทียบค่า H (ค่าประสิทธิภาพของคอลัมน์) กับ สัดส่วนของเฟสเคลื่อนที่ระหว่างเมทานอล: น้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองการหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการทดลอง โดยการผันแปรค่าสัดส่วนของเฟสเคลื่อนที่ของ เมทานอล : น้ำ ที่ 5 สัดส่วน ดังนี้ 100 : 0, 80 : 20, 60 : 40, 40 : 60 และ 20 : 80 โดยใช้ อัตราการไหลที่ 0.7 mL/min ซึ่งจากการทดลองทำให้รู้ค่า retention time และ area ของกรดเบนโซอิก และกรดซาลิไซลิกและสารละลายผสมระหว่างกรดเบนโซอิกกับกรด ซาลิไซลิก ซึ่งเมื่อพิจารณาจาก ปัจจัยที่ 1 คือ ค่า resolution แล้วจะเห็นว่ามีส่วนที่เหมาะสมอยู่ 2 สัดส่วน คือ 40 : 60 และ 20 : 80 ซึ่งที่สัดส่วน 20 : 80 นั้นจะมีค่า resolution มากที่สุดเท่ากับ 1.76 แต่เมื่อดูจากรูปร่างของพีคแล้วจะ พบว่าพีคของกรดซาลิไซลิกจะเกิดอนุพันธ์ขึ้นแต่ที่สัดส่วน 40 : 60 นั้นถึงจะมีค่า resolution ที่น้อยกว่า เท่ากับ 0.94 แต่จะพบการเกิดอนุพันธ์ของ กรดซาลิไซลิกขึ้นน้อยมาก ฉะนั้นในการพิจารณาจากปัจจัย ค่า resolution นั้นสัดส่วนที่เหมาะสมต่อการทดลอง คือ 40 : 60 และเมื่อพิจารณาจากปัจจัยที่ 2 คือ ค่า H (ค่าประสิทธิภาพของคอลัมน์) จะเห็นว่าที่สัดส่วน 40 : 60 นั้นค่า H ของกรดเบนโซอิกจะมีค่าน้อย ที่สุดเท่ากับ 0.038 แต่ค่า H ของกรดซาลิไซลิกอาจจะมีค่าที่ไม่ดี เท่ากับ 0.072 แต่ก็ไม่ใช่ว่า H ที่มาก ที่สุด

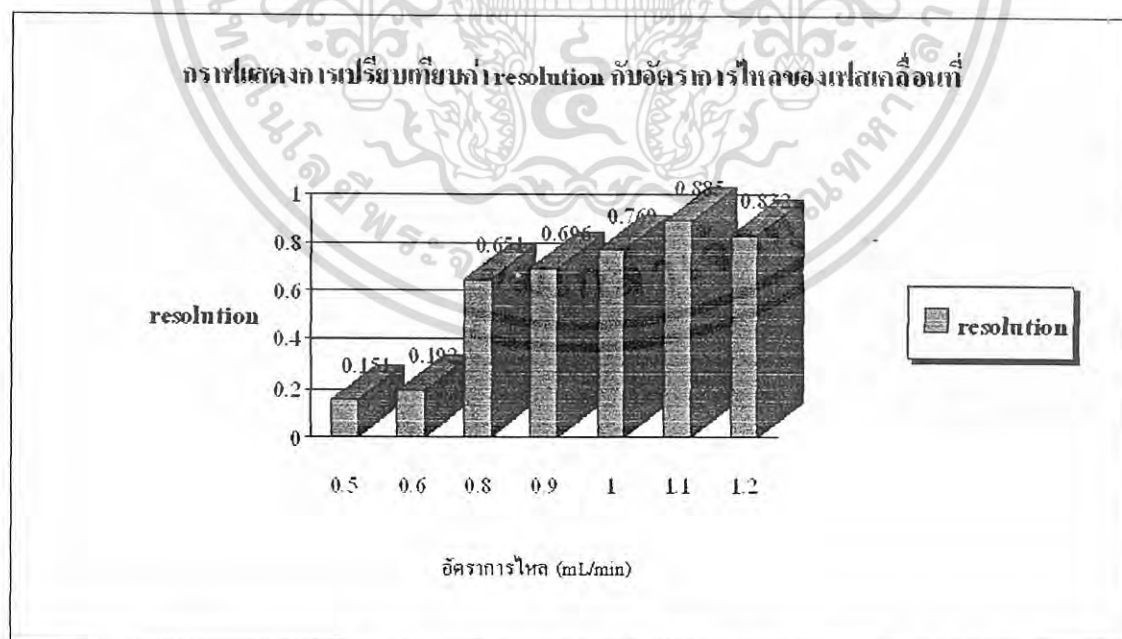
ดังนั้นเมื่อพิจารณาจากปัจจัยทั้ง 2 ส่วนคือ ค่า resolution และ ค่า H แล้วจึงสรุปได้ว่าที่สัดส่วน 40 : 60 ของ เมทานอล:น้ำ นั้น มีความเหมาะสมที่จะนำไปใช้เป็นสภาวะของการทดลองต่อไป

4.2 การศึกษาหาอัตราการไหลที่เหมาะสมของเฟสเคลื่อนที่

จากการทดลองได้ทำการศึกษาหาอัตราการไหลที่เหมาะสมของเฟสเคลื่อนที่ โดยการเปรียบเทียบหาอัตราการไหลที่ค่าต่างๆ โดยใช้ เมทานอล:น้ำ ที่สัดส่วน 40 : 60 เป็นเฟสเคลื่อนที่ และได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.2 รูปที่ 4.2ก. และรูปที่ 4.2ข.

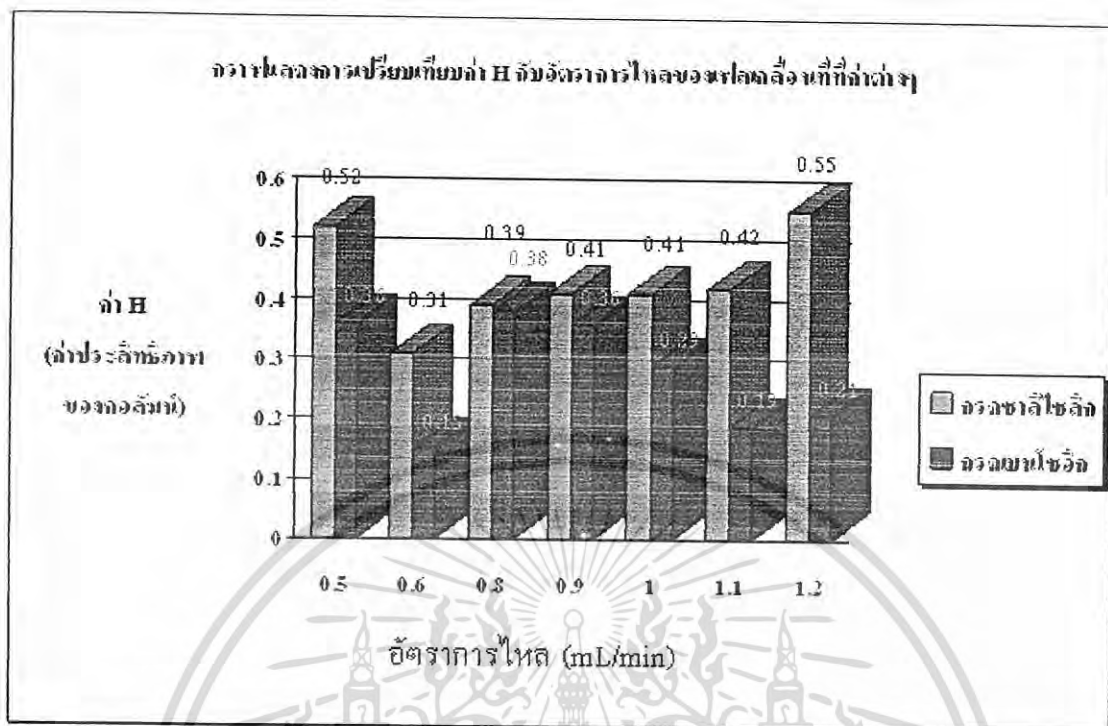
ตารางที่ 4.2 แสดงผลการทดลองและผลการคำนวณในการศึกษาอัตราการไหลที่เหมาะสมของเฟสเคลื่อนที่ที่ค่าต่างๆ

อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ (ml/min)		0.5	0.6	0.8	0.9	1.0	1.1	1.2
Retention time (min)	SA(SA+BA)	3.268	2.850	1.942	1.743	1.580	1.490	1.370
	BA(SA+BA)	3.622	3.128	2.968	2.735	2.522	2.422	2.244
Area	SA(SA+BA)	425919	369340	308714	269959	241713	227303	202801
	BA(SA+BA)	466967	406238	326038	296157	242960	229229	202643
Height	SA(SA+BA)	19521	22320	22823	21080	19718	19058	17774
	BA(SA+BA)	21791	26531	15110	14657	15059	16305	16751
$N=16(t/w)^2$	SA(SA+BA)	28.47	47.74	38.62	36.76	36.23	35.66	27.24
	BA(SA+BA)	41.46	100.19	39.04	41.41	51.92	77.57	73.08
$H=L/N$	SA(SA+BA)	0.52	0.31	0.39	0.41	0.41	0.42	0.55
	BA(SA+BA)	0.36	0.15	0.38	0.36	0.29	0.19	0.21
Resolution		0.151	0.192	0.651	0.696	0.769	0.885	0.832



รูปที่ 4.2ก. กราฟแสดงการเปรียบเทียบค่า resolution กับอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ที่ค่าต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2ข. กราฟแสดงการเปรียบเทียบค่า H (ค่าประสิทธิภาพของคอลัมน์) กับอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ที่ค่าต่างๆ

จากการทดลองได้ทำการศึกษาหาอัตราการไหลที่เหมาะสมของเฟสเคลื่อนที่ โดยการเปรียบเทียบหาอัตราการไหลที่ค่าต่างๆดังนี้ 0.6, 0.8, 0.9, 1.0, 1.1 และ 1.2 mL/min โดยใช้ เมทานอล:น้ำ ที่ สัดส่วน 40 : 60 เป็นเฟสเคลื่อนที่ซึ่งจากการทดลองทำให้รู้ค่า retention time และ area ของสารละลายผสมระหว่างกรดเบนโซอิกและกรดซาลิไซลิก โดยเมื่อนำมาคำนวณหาค่า resolution และ ค่า H แล้ว จึงพิจารณาค่า resolution เป็นปัจจัยที่ 1 ซึ่งพบว่าค่า resolution ที่ดีที่สุดอยู่ที่อัตราการไหลที่ 1.1 mL/min เท่ากับ 0.885 รองลงมาคือ อัตราการไหลที่ 1.2 mL/min เท่ากับ 0.832 จากนั้นจึงมาพิจารณาปัจจัยที่ 2 คือ ค่า H (ประสิทธิภาพของคอลัมน์) ของอัตราการไหลที่ 1.1 mL/min และ 1.2 mL/min ซึ่งพบว่าค่า H ของอัตราการไหลที่ 1.1 mL/min ของสารละลายผสมระหว่างกรดเบนโซอิกและกรดซาลิไซลิกจะมีค่าน้อยกว่าค่า H ที่ 1.2 mL/min

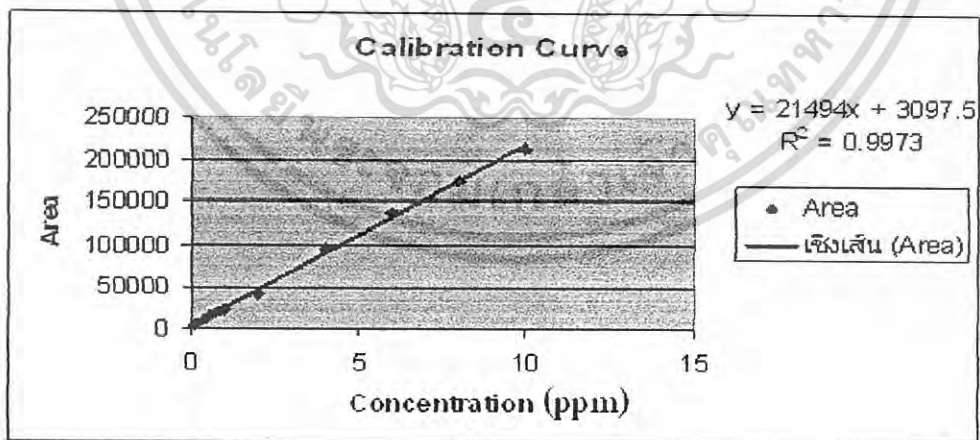
ดังนั้นเมื่อพิจารณาจากปัจจัยทั้ง 2 ส่วนคือ ค่า resolution และ ค่า H แล้วจึงสรุปได้ว่าที่อัตราการไหล 1.1 mL/min นั้น มีความเหมาะสมที่จะนำไปใช้เป็นสภาวะของการทดลองต่อไป

4.3 การสร้างกราฟมาตรฐาน

จากการทดลองเมื่อนำสถานะที่ได้จากการศึกษาคือ ใช้เฟสเคลื่อนที่ เมทานอล:น้ำ ที่สัดส่วน 40:60 และอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ที่ 1.1 mL/min มาทำการทดลองเพื่อสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดซาลิไซลิกและกรดเบนโซอิก ซึ่งได้ผลการทดลองแสดงดัง ตารางที่ 4.3 และได้กราฟมาตรฐานแสดงดังรูปที่ 4.3ก. และรูปที่ 4.3ข.

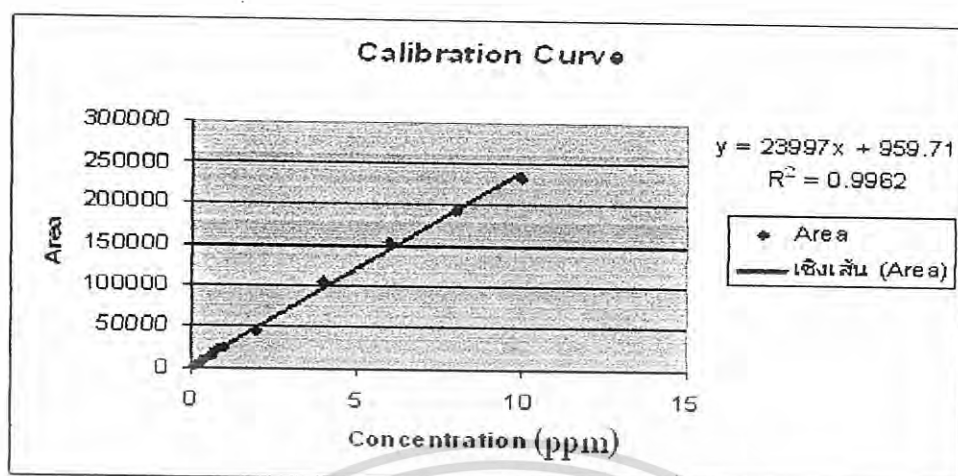
ตารางที่ 4.3 แสดงผลการทดลองในการศึกษาการสร้างกราฟมาตรฐาน

ความเข้มข้นของสาร มาตรฐาน (ppm)		0.1	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	2.0	4.0	6.0	8.0	10.0
Retention time(min)	SA(SA+BA)	1.186	1.178	1.183	1.205	1.215	1.212	1.268	1.284	1.291	1.311	1.336
	BA(SA+BA)	1.857	1.764	1.792	1.839	1.872	1.871	1.933	1.920	1.934	1.516	2.017
Area	SA(SA+BA)	3950	6698	10887	16038	21071	23746	41060	95812	138941	174933	212399
	BA(SA+BA)	2286	3915	8367	14969	21426	23659	44068	106319	153812	193317	232715
Height	SA(SA+BA)	750	1266	1980	2829	3579	3964	6662	12478	16505	18906	21088
	BA(SA+BA)	210	375	751	1301	1843	2095	4661	8880	12851	14966	17414



รูปที่ 4.3ก. แสดงกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดซาลิไซลิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3ข. แสดงกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดเบนโซอิก

จากการทดลองเมื่อนำสภาวะที่ได้จากการศึกษาคือ ใช้เฟสเคลื่อนที่ เมทานอล:น้ำ ที่สัดส่วน 40:60 และอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ที่ 1.1 mL/min มาทำการทดลองเพื่อสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดซาลิไซลิกและกรดเบนโซอิกโดยใช้ความเข้มข้นของสารมาตรฐานอยู่ในช่วง 0.1-10 ppm ซึ่งผลการทดลองที่ได้สามารถนำไปสร้างกราฟมาตรฐานแล้วคำนวณหาสมการเส้นตรงและค่า R^2 ซึ่งสามารถนำมาใช้ในการยืนยันค่าความเป็นเส้นตรงของการทดลองได้ โดยได้สมการเส้นตรงของกรดซาลิไซลิกคือ $y = 21494x + 3097.5$ และค่า R^2 เท่ากับ 0.9973 และยังได้สมการเส้นตรงของกรดเบนโซอิกคือ $y = 23997x + 959.71$ และค่า R^2 เท่ากับ 0.9962

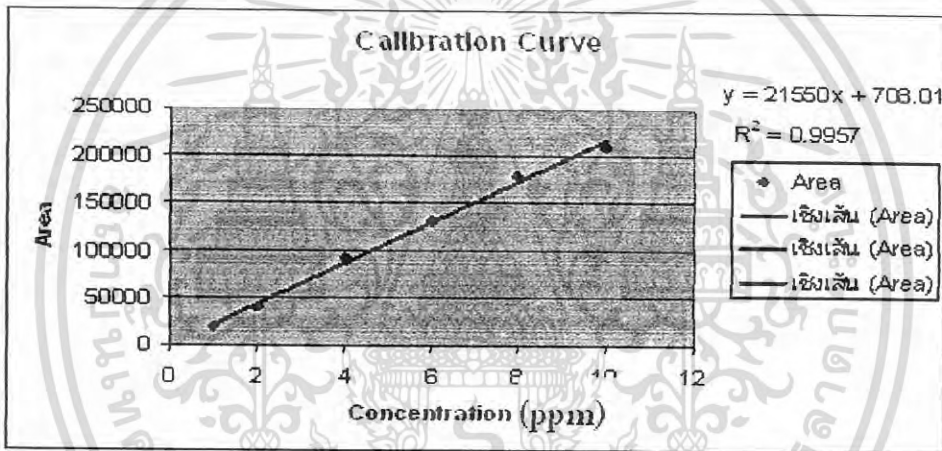
ดังนั้นเมื่อดูจากค่า R^2 ที่ได้จากกราฟมาตรฐานของทั้ง 2 สารละลายแล้วจึงสรุปได้ว่าสภาวะที่นำมาใช้ในการทดลองนั้นมีความเหมาะสมและให้ค่าความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน อยู่ในเกณฑ์ที่ดีและเหมาะสมต่อการทดลองด้วย

4.4 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซาลิไซลิกในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางตามท้องตลาด

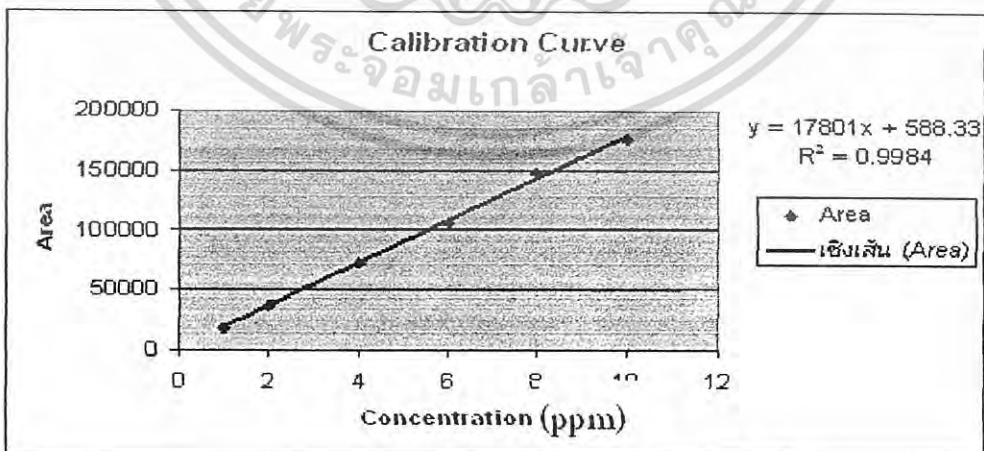
จากการทดลองการวิเคราะห์หาปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซาลิไซลิก ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางตามท้องตลาดทั้งหมด 11 ชนิด ซึ่งจะแบ่งเป็น 2 กลุ่มคือกลุ่มที่หาซื้อได้จากห้างสรรพสินค้าและกลุ่มที่หาซื้อได้จากตลาดนัด โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมต่อการทดลองคือ ใช้เฟสเคลื่อนที่ เมทานอล:น้ำ ที่สัดส่วน 40:60 และอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ที่ 1.1 mL/min โดยทำการสร้างมาตรฐานในช่วงความเข้มข้น 1-10 ppm เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซาลิไซลิก ซึ่งได้ผลการทดลองดังแสดงดังตารางที่ 4.4ก, 4.4ข, 4.4ค, รูปที่ 4.4ก, และรูปที่ 4.4ข.

ตารางที่ 4.4ก. แสดงผลการทดลองในการศึกษาการสร้างกราฟมาตรฐาน

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน (ppm)		1.0	2.0	4.0	6.0	8.0	10.0
Retention time (min)	SA(SA+BA)	1.465	1.503	1.503	1.498	1.526	1.523
	BA(SA+BA)	2.154	2.206	2.208	2.196	2.234	2.216
Area	SA(SA+BA)	20226	40004	92197	131483	178641	209740
	BA(SA+BA)	18021	36699	71222	105733	147660	176031
Height	SA(SA+BA)	3651	6234	10853	15174	20039	22229
	BA(SA+BA)	1909	3813	7352	10670	14051	16006



รูปที่ 4.4ก. แสดงกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดซาลิไซลิก



รูปที่ 4.4ข. แสดงกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดเบนโซอิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4ข. แสดงผลการทดลองในการศึกษาวิเคราะห์ปริมาณของสารตัวอย่าง

Solution	น้ำหนัก ของ สาร ตัวอย่าง	Area		Retention time (min)		ความเข้มข้นที่พบ (ppm)	
		Salicylic acid	Benzoic acid	Salicylic acid	Benzoic acid	Salicylic acid	Benzoic acid
Sample 1	0.2533	17202	-	1.512	-	0.798	-
Sample 2	0.2505	36656	-	1.500	-	1.668	-
Sample 3	0.2520	15321	-	1.535	-	0.678	-
Sample 4	0.2086	48487	-	1.507	-	2.217	-
Sample 5	0.2508	12002	-	1.350	-	0.524	-
Sample 6	0.2505	10699	-	1.366	-	0.464	-
Sample 7	0.2533	107428	52095	1.280	1.608	4.952	2.893
Sample 8	0.2507	19699	43808	1.541	1.832	0.8813	2.428
Sample 9	0.2506	88511	-	1.547	-	4.074	-
Sample 10	0.2510	52504	18399	1.528	1.761	2.404	1.001
Sample 11	0.2505	18886	46390	1.527	1.747	0.844	2.573

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4ก. แสดงผลการคำนวณความเข้มข้น (%w/w) ของกรดซาลิไซลิกและกรดเบนโซอิก

NO.	Name	ความเข้มข้น (%w/w)	
		Salicylic acid	Benzoic acid
1	เจลล้างหน้าที่หือ PAN cosmetic ประเภท Cleanser Baby Facial Gel	0.015	-
2	เจลล้างหน้าที่หือ L'OREAL ประเภท DERMO-EXPERTISE	0.033	-
3	เจลล้างหน้าที่หือ Clearasil ประเภท OVERNIGHT PIMPLE DEFENCE GEL	0.013	-
4	โลชั่นทำความสะอาดผิวหน้าที่หือ ESKINOL ประเภท LEMON	0.053	-
5	ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดผิวหน้าที่หือ Clearasil ประเภท PORE CLEANSING TONER	0.010	-
6	สบู่เหลวที่หือ Johnson ' s baby bedtime bath	0.009	-
7	ยาสีฟันสมุนไพรดำรับ โบราณที่หือ วิเศษนิยม	0.09	0.057
8	สมุนไพรขัดผิวที่หือ สุภาภรณ์	0.017	0.048
9	สบู่เกลือสำหรับขัดผิวที่หือ TAMARIND SPA	0.081	-
10	ยาสีฟันสมุนไพรตรา ยายเกิด	0.047	0.019
11	สมุนไพรสูตรขัดผิวที่หือ นางพญาหน้าขาว	0.016	0.051

จากการทดลองการวิเคราะห์หาปริมาณกรดซาลิไซลิกและกรดเบนโซอิก ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางตามท้องตลาดทั้งหมด 11 ชนิด โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมต่อการทดลองคือใช้เฟสเคลื่อนที่เมทานอล:น้ำ ที่สัดส่วน 40:60 และอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ที่ 1.1 mL/min และทำการสร้างมาตรฐานในช่วงความเข้มข้น 1-10 ppm ซึ่งพบว่าในเครื่องสำอางที่หาซื้อได้จากตลาดนั้นส่วนใหญ่จะมีสารกันเสียทั้งประเภทกรดซาลิไซลิกและกรดเบนโซอิกเป็นส่วนประกอบอยู่ในเครื่องสำอางซึ่งพบความเข้มข้นของกรดซาลิไซลิก อยู่ในช่วงประมาณ 0.016-0.09 %w/w และพบความเข้มข้นของกรดเบนโซอิก อยู่ในช่วงประมาณ 0.019-0.057 %w/w แต่ในเครื่องสำอางที่หาซื้อได้จากห้างสรรพสินค้าส่วนใหญ่จะมีสารกันเสียประเภทกรดซาลิไซลิกเป็นส่วนประกอบอยู่ในเครื่องสำอางเพียงอย่างเดียว ซึ่งพบความเข้มข้นของกรดซาลิไซลิกอยู่ในช่วงประมาณ 0.009-0.053 %w/w ดังนั้นเมื่อดูจากผลการทดลองที่ได้สรุปได้ว่าในเครื่องสำอางที่หาซื้อได้จากห้างสรรพสินค้า นั้นจะมีสารกันเสียประเภทกรดซาลิไซลิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพียงอย่างเดียวและมีช่วงของปริมาณที่พบน้อยกว่า ในเครื่องสำอางที่หาซื้อได้ตามตลาดนัดอีกทั้ง เครื่องสำอางที่หาซื้อได้ตามตลาดนัดนั้นยังมีสารกันเสียประเภทกรดเบนโซอิกซึ่งจะมีคุณภาพด้อยกว่า และมีราคาถูกลงกว่ากรดซาลิไซลิกเป็นส่วนประกอบอยู่ ในเครื่องสำอางซึ่งอาจจะทำให้เกิดผลเสียต่อผู้บริโภคได้ เช่นเกิดอาการแพ้เครื่องสำอางหรือเกิดการระคายเคืองขึ้นได้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการทดลองเป็นการศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซาลิไซลิกในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางตามท้องตลาดโดย ใช้วิธีโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง

จากการทดลองการหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์หาปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซาลิไซลิกในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ตามท้องตลาด โดยเริ่มจากการหาสัดส่วนของเฟสเคลื่อนที่ของ เมทานอล:น้ำ ที่ 5 สัดส่วน ดังนี้ 100 : 0, 80 : 20, 60 : 40, 40 : 60 และ 20:80 โดยใช้อัตราการไหลที่ 0.7 mL/min และเมื่อพิจารณาจากปัจจัยทั้ง 2 ส่วนคือค่า resolution และค่า H แล้วจึงสรุปได้ว่าที่สัดส่วน 40:60 ของ เมทานอล:น้ำ ซึ่งมีค่า resolution เท่ากับ 0.94 และค่า H ของกรดเบนโซอิกและกรดซาลิไซลิก เท่ากับ 0.038 และ 0.072 ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าที่มีความเหมาะสมมากที่สุดต่อการนำไปใช้ เป็นสภาวะของการทดลองต่อไป จากนั้นทำการศึกษาหาอัตราการไหลที่เหมาะสมของเฟสเคลื่อนที่ โดยการเปรียบเทียบหาอัตราการไหลที่ค่าต่างๆดังนี้ 0.6 , 0.8 ,0.9 , 1.0 , 1.1 และ 1.2 mL/min โดยใช้เมทานอล:น้ำ ที่สัดส่วน 40 : 60 แล้วพิจารณาจากปัจจัยทั้ง 2 ส่วนคือค่า resolution และค่า H แล้วจึงสรุปได้ว่าที่ อัตราการไหล 1.1 mL/min มีค่า resolution ที่ดีที่สุดเท่ากับ 0.885 และค่า H ของกรดเบนโซอิกและกรดซาลิไซลิก เท่ากับ 0.19 และ 0.42 ตามลำดับซึ่งเป็นค่าที่มีความเหมาะสมต่อการนำไปใช้ เป็นสภาวะของการทดลองต่อไป ฉะนั้นจึงได้สภาวะที่เหมาะสมต่อการทดลองมากที่สุดคือ สัดส่วนของเฟสเคลื่อนที่ 40:60 ของ เมทานอล:น้ำ และอัตราการไหลที่ 1.1 mL/min

เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมแล้วจึงนำไปสร้างกราฟมาตรฐาน โดยได้สมการเส้นตรงของกรดซาลิไซลิกคือ $y = 21494x + 3097.5$ และค่า R^2 เท่ากับ 0.9973 และยังได้สมการเส้นตรงของกรดเบนโซอิกคือ $y = 23997x + 959.71$ และค่า R^2 เท่ากับ 0.9962 ดังนั้นเมื่อดูจากค่า R^2 ที่ได้จากกราฟมาตรฐานแล้วสรุปได้ว่าสภาวะที่นำมาใช้ในการทดลองนั้นมีความเหมาะสม และให้ค่าความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานอยู่ในเกณฑ์ที่ดีและเหมาะสมต่อการทดลองด้วย จากนั้นจึงทำการทดลองการวิเคราะห์หาปริมาณกรดซาลิไซลิกและกรดเบนโซอิกในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางตามท้องตลาดทั้งหมด 11 ชนิด โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมต่อการทดลองพบว่าในเครื่องสำอางที่หาซื้อได้จากตลาดนั้นส่วนใหญ่จะมีสารกันเสียทั้งประเภทกรดซาลิไซลิกและกรดเบนโซอิกเป็นส่วนประกอบทั้ง 2 ชนิด อยู่ในเครื่องสำอางซึ่งพบความเข้มข้นของกรดซาลิไซลิกอยู่ในช่วงประมาณ 0.016-0.09 %w/w และพบความเข้มข้นของกรดเบนโซอิกอยู่ในช่วงประมาณ 0.019-0.057%w/w แต่ในเครื่องสำอางที่หาซื้อได้จากห้างสรรพสินค้าส่วนใหญ่จะมีสารกันเสียประเภทกรดซาลิไซลิกเป็นส่วนประกอบอยู่ในเครื่องสำอางเพียงอย่างเดียว ซึ่งพบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกอยู่ในช่วงประมาณ 0.009-0.053 %w/w

ดังนั้นสรุปได้ว่าในเครื่องสำอางที่หาซื้อได้จากห้างสรรพสินค้านั้นจะมีสารกันเสียประเภทกรดซัลฟิวริกเพียงอย่างเดียว และมีช่วงของปริมาณที่พบน้อยกว่าในเครื่องสำอางที่หาซื้อได้ตามตลาดนัด อีกทั้งเครื่องสำอางที่หาซื้อได้ตามตลาดนัดนั้น ยังมีสารกันเสียประเภทกรดเบนโซอิกซึ่งจะมีคุณภาพดีกว่าและมีราคาถูกกว่ากรดซัลฟิวริกเป็นส่วนประกอบอยู่ในเครื่องสำอางซึ่งอาจจะทำให้เกิดผลเสียต่อผู้บริโภคได้ เช่น เกิดอาการแพ้เครื่องสำอางหรือเกิดการระคายเคืองขึ้นได้

ข้อเสนอแนะ

ควรจะมีการทดลองหาค่าความเที่ยงตรงและความแม่นยำ ของการทดลองด้วยซึ่งในการทดลองนี้ไม่ได้ทำเนื่องจากมีข้อจำกัด ของผู้ใช้เครื่องมือต้องแบ่งกันใช้และในช่วงสุดท้ายของการทดลองพยายามที่จะทำการทดลองแล้วแต่ไม่ว่าจะล้างคอลัมน์ของเครื่องนานเท่าใดก็ไม่สามารถทำให้ baseline นิ่งได้เป็นผลให้พีคที่ออกมาเป็นพีคที่มีลักษณะ board ทั้งหมดจึงไม่สามารถทำการหาค่าความเที่ยงตรงและความแม่นยำต่อไปได้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



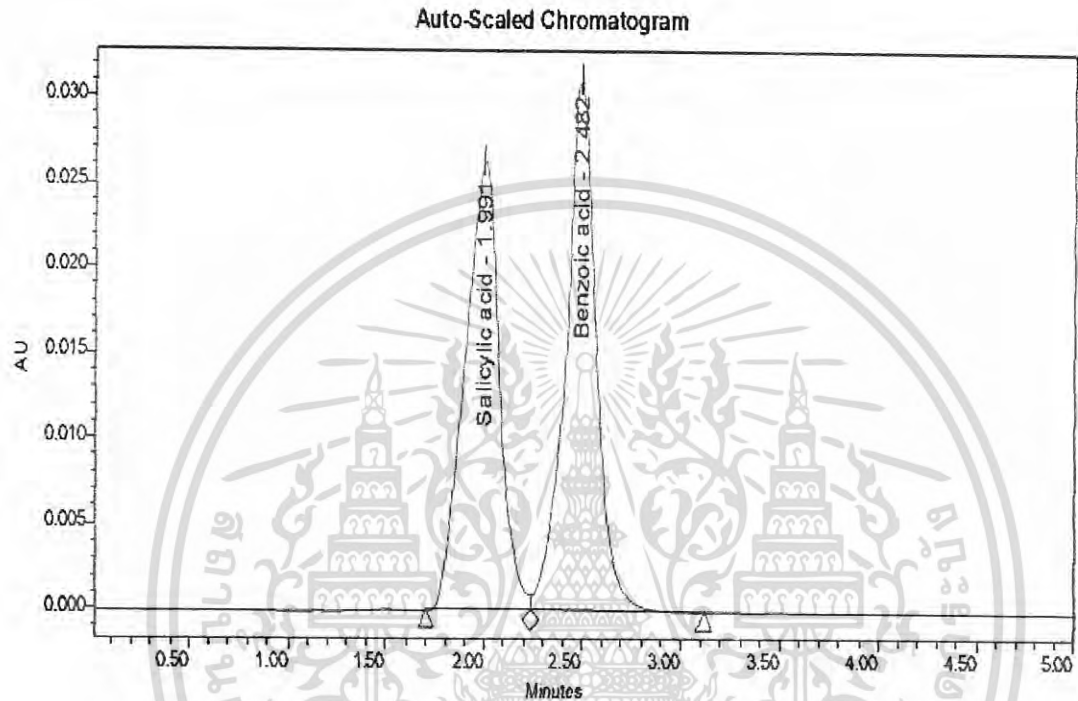
ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพผนวก ก.

การศึกษาหาสัดส่วนของเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสม

สัดส่วนของเฟสเคลื่อนที่ระหว่างเมทานอล:น้ำ(40:60 v/v)

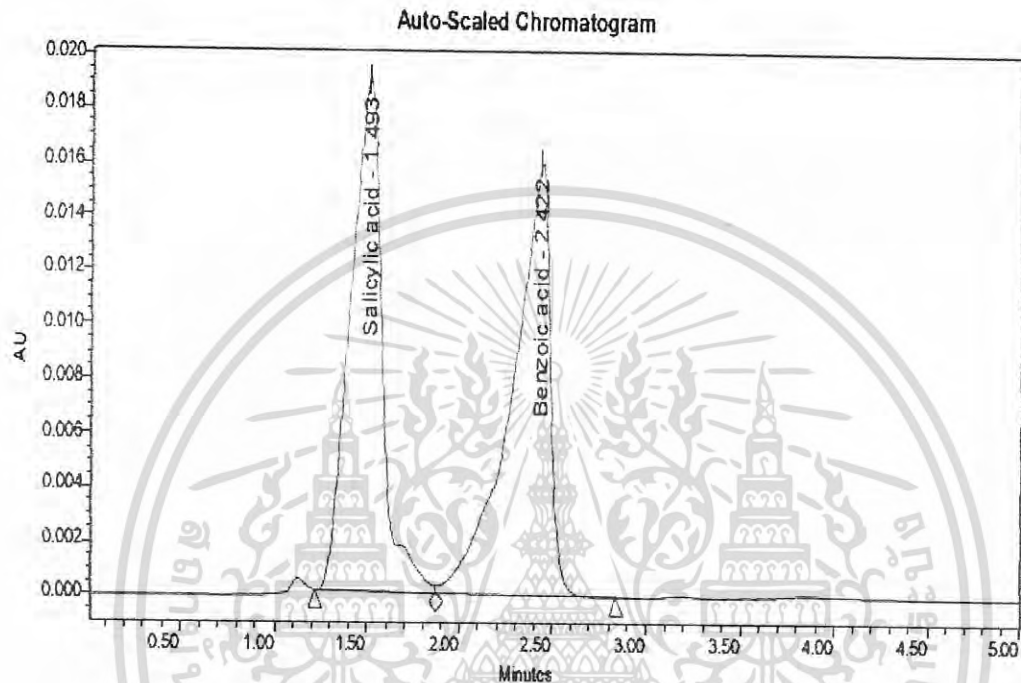


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.

การศึกษาหาอัตราการไหลที่เหมาะสมของเฟสเคลื่อนที่

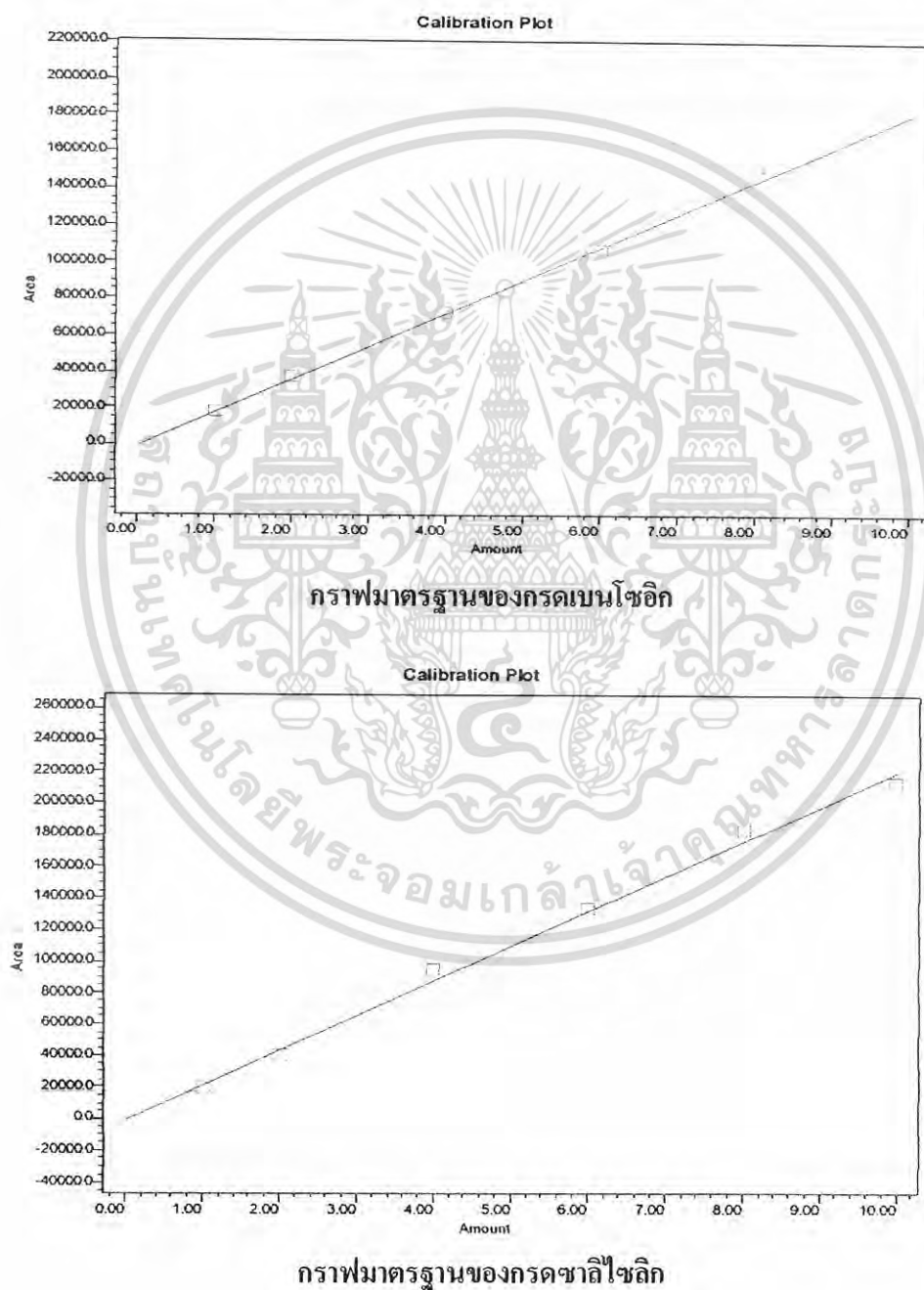
อัตราการไหลที่ 1.1ml/min โดยใช้ เมทานอล:น้ำ ที่สัดส่วน 40 : 60 เป็นเฟสเคลื่อนที่



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.
การสร้างกราฟมาตรฐาน

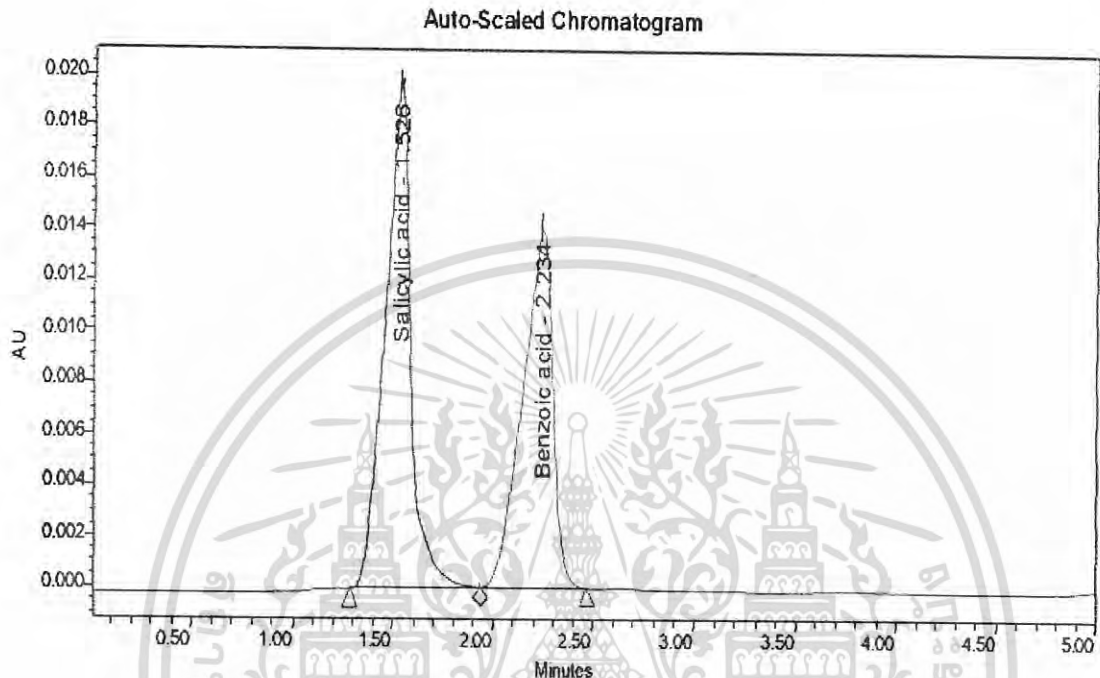
ใช้เฟสเคลื่อนที่ เมทานอล:น้ำ ที่สัดส่วน 40:60 และอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ที่ 1.1 ml/min มาทำการทดลองเพื่อสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดซาลิไซลิกและกรดเบนโซอิก



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง.

การวิเคราะห์หาปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซาลิไซลิกในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางตามท้องตลาด



พีคที่ได้จากการวิเคราะห์สารตัวอย่างตามท้องตลาด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ.

วิธีการวิเคราะห์ การคำนวณผลการวิเคราะห์ตัวอย่าง
และการพิมพ์รายงานของเครื่อง HPLC

1. คลิกไอคอน M จะปรากฏหน้า Millennium 32 login
หน้า Millennium login ประกอบด้วย 6 ไอคอนหลัก คือ
 - * **Configure System** สำหรับการจ้ระบบการสำรองข้อมูลการแบ่งระดับผู้ใช้งาน เป็นต้น
 - * **Browse Project** คือ การเปิด project
 - * **Run Samples** สำหรับการเข้าสู่น้ำตั้งฉีด (Quick Set)
 - * **Process Data** สำหรับการเข้าสู่ process ผล
 - * **Review Data** สำหรับเรียกข้อมูลดิบและผลที่วิเคราะห์ได้
 - * **Prints Data** สำหรับสั่งพิมพ์รายงาน
 อาจจะใช้ในส่วนของ 3 ไอคอนแรกแล้วเรียกจากหน้าต่างที่เปิดมาแล้วก็ได้
2. คลิก mouse ขวาที่ **Configure System**
3. เลือก Acquisition กด OK จะปรากฏหน้า System/Administrator-configuration Manager
4. ดับเบิลคลิก Acquisition Servers จะปรากฏ S5h4t8
5. ดับเบิลคลิก S5h4t8 จะปรากฏหน้า 486 (สำหรับ HPLC) , GPC (สำหรับ GPC)
6. คลิกขวาที่ 486 เลือก Bring online เพื่อเปิด โปรแกรม 486
*(Connecting to Acquisition Servers 'S5h4t8')
7. จะปรากฏข้อความ **System 486 is already online**
8. คลิก OK ปิดหน้าจอ
9. เลือก **Project Suwan** ที่หน้า Millennium32
10. ดับเบิลคลิก ที่ **Run Sample** เลือก system ที่ configure คือ 486
11. กด OK
12. การสั่งฉีดแบบ Sample Set ที่หน้า Run Sample เลือก Sample tab จะปรากฏตารางและกรอกรายละเอียด ดังนี้

Sample name	ใส่ชื่อสารที่ฉีด
Function	เป็น Inject Standard หรือ Inject Sample
Run time	ใส่เวลาเป็นนาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

13. ที่ Instrument Method เลือก LC
14. คลิกไอคอน Amount จะปรากฏตารางเพื่อกรอกความเข้มข้นของสารมาตรฐาน
Sample Type : STANDARD ONLY (External Standard) หรือ
: STANDARD AND UNKNOWN (Internal Standard)
กรอกชื่อพีคและความเข้มข้นของแต่ละ vial พร้อมทั้งหน่วยความเข้มข้น จากนั้นกด OK
15. คลิกไอคอน RUN (รูปไฟสีเขียว)
16. จะปรากฏหน้า Run Sample Set ให้กรอกชื่อ Set ที่ตั้งคิดนี้ แล้วกด RUN
17. เมื่อ Run สำเร็จแล้วให้ปิดหน้า Run Sample
18. หน้า Millennium login คลิก mouse ขวาที่ **Browse Project** เลือก Project
19. เลือก Channel tab, เลือก Standard จากความเข้มข้นต่ำสุดไปหาความเข้มข้นสูงสุด
20. คลิก mouse ขวาเลือก Review หรือคลิกไอคอน Review จะปรากฏหน้า Review
21. คลิกไอคอน Processing Method Wizard
22. จะปรากฏหน้า Processing Method Wizard เลือก Create a New Processing Method
23. กด OK
24. เลือก LC (สำหรับ HPLC) กด OK
25. พารามิเตอร์แรก ตั้งค่า Peak Width (ความกว้างของพีค) โดยการ Zoom บริเวณฐาน Peak ที่เล็กที่สุด คลิก Next
26. พารามิเตอร์ที่สอง ตั้งค่า Theshold (slope ของ baseline) โดยการ Zoom บริเวณ baseline ควรจะ Zoom บริเวณที่มี noise ที่ต้องการกำจัดออกแล้วคลิก Next
27. จะปรากฏหน้า Integration Region ให้กำหนดช่วงเวลาในการ integrate โดยการ Zoom ในรูปหรือถ้าไม่ต้องการให้คลิก Next ข้ามไป
28. ตั้งค่า minimum area และ minimum height โดยการคลิกที่พีคที่เล็กที่สุดแล้ว mark ที่ minimum area, minimum height หรือป้อนค่าให้มากกว่าตัวที่ไม่ต้องการ กด Test เมื่อได้ค่าที่ต้องการแล้ว คลิก Next
29. เลือกการคำนวณโดยใช้ Area หรือ Height เลือก Amount และเลือกชนิดของ curve, Linear thru Zero คลิก Next
30. ใส่ชื่อ peak โดยจะต้องตรงกับตาราง Amount ข้างต้น คลิก Next
31. จะปรากฏหน้า Defaults Amount ให้คลิก Next เข้าไป
32. จะปรากฏหน้า Internal standards เลือก External Standard Calibration

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

33. ตั้งชื่อ Processing Method คลิก Finish
34. ที่หน้า Review Window คลิกไอคอน integrate, calibrate, next channel ทำซ้ำจนครบ
35. คลิกไอคอน calibration curve จะปรากฏหน้าต่าง Calibration Window (Curve ที่ดีควรมีค่า R2 ใกล้เคียง 1 ที่สุด 0.99???)
36. เลือก File-Save Calibration

เมื่อ Save แล้ว millennium จะบันทึก calibration curve ใน Processing method และจะ Save ผลการคำนวณของ Standard ที่นำมาสร้าง curve ไว้ใน Results

การคำนวณผลการวิเคราะห์ตัวอย่าง

1. ที่หน้า Project เลือก Channel tab
2. เลือก Unknown ที่จะวิเคราะห์แล้วคลิกไอคอน Review หรือคลิก mouse ขวาเลือก Review
3. จะปรากฏหน้าต่าง Review คลิก File – Open แล้วเลือกชื่อ Method ที่สร้าง curve ไว้
4. คลิกไอคอน Integrate จากนั้นคลิกไอคอน Quantitate
5. คลิก File – Save เลือก Result

millennium จะ Save ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างนี้อยู่ใน Project หน้า Results tab

การพิมพ์รายงาน

1. ที่หน้า Project เลือก Result tab จากนั้นเลือก Chromatogram ที่ต้องการพิมพ์รายงาน
2. คลิกไอคอน Preview จะแสดงหน้าต่าง Open Report Method ให้เลือก report suwan ที่มีอยู่
3. กด OK
4. คลิกไอคอน Print
5. เมื่อพิมพ์งานเสร็จแล้วให้ปิดโปรแกรมที่หน้าจอ
6. คลิก log out
7. shut down
8. shut down โปรแกรม window

เอกสารอ้างอิง

- [1] กลุ่มของสารต่อต้านจุลินทรีย์ (Antimicrobial). (มปป). ค้นเมื่อวันที่ 15 ตุลาคม 2548, จาก <http://www.techno.msu.ac.th/fn/center/fad/antibio.htm>
- [2] INTERNATIONAL CHEMICAL SAFETY CARDS. (มปป). ค้นเมื่อวันที่ 15 ตุลาคม 2548, จาก <http://ilo.ilobkk.or.th/osh/detail.asp?icsc=0103>
- [3] Benzoic acid. (มปป). ค้นเมื่อวันที่ 16 ตุลาคม 2548, จาก <http://images.google.co.th/images?q=benzoic+acid&svnum=10&hl=th&lr=&start=20&sa=N/water.en.alibaba.com/product/50073294/5033552...>
- [4] ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง BHA คืออะไร. (มปป). ค้นเมื่อวันที่ 15 ตุลาคม 2548, จาก www.fda.moph.go.th/fda_fraud_watch/product/bha.shtml
- [5] Salicylic acid. (มปป). ค้นเมื่อวันที่ 16 ตุลาคม 2548, จาก <http://images.google.com/images?sourceid=navclient&ie=UTF-8&rls=RNWE,RNWE:2005-09,RNWE:en&q=salicylic%20acid&SA=N&tab=wi>
- [6] INTERNATIONAL CHEMICAL SAFETY CARDS. (มปป). ค้นเมื่อวันที่ 15 ตุลาคม 2548, จาก <http://ilo.ilobkk.or.th/osh/detail.asp?icsc=0563>
- [7] Salicylic acid. (มปป). ค้นเมื่อวันที่ 16 ตุลาคม 2548, จาก <http://www.chinajqc.com>
- [8] แม้น อมรสิทธิ์ และ อมร เพชรสม. 2535. หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ Principle and Techniques of instrumental analysis โรงพิมพ์ชวนพิมพ์ กรุงเทพฯ
- [9] รุ่นของเครื่อง HPLC. (มปป). ค้นเมื่อวันที่ 15 ตุลาคม 2548, จาก <http://www.kmitl.ac.th/sisc/HPLC/Model.htm>
- [10] การเตรียมตัวอย่างโดยใช้เทคนิค Solid phase extraction. (มปป). ค้นเมื่อวันที่ 18 ตุลาคม 2548, จาก <http://www.sithiporn.co.th/newweb/newsletter/31-3-2005-1112256707.pdf>
- [11] Enzo Sottofattori, Maria Anzaldi, Alessandro Balbi and Giuseppe Tonello. 1998. Simultaneous HPLC determination of multiple components in a commercial cosmetic cream. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 1-2(18), 213– 217.
- [12] Santo Scalia, Rossella Callegari, Silvia Villani. 1998. Determination of glycolic acid in Cosmetic products by solid-phase extraction and reversed-phase ion-pair high-performance Liquid Chromatography. **Journal of Chromatography A**, 2(795), 219–225.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้