

การใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน
เพื่อวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรควิโนนแบบหยดเดียว

SCREEN-PRINTED GRAPHENE ELECTRODE FOR SINGLE DROP
ANALYSIS OF HYDROQUINONE

วรรณนิดา ดือขุนทด
WANNIDA DUEKHUNTOD

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเคมี
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2560
KMITL-2017-SC-M-012-024

การใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน
เพื่อวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรควิโนนแบบหยดเดียว

SCREEN-PRINTED GRAPHENE ELECTRODE FOR SINGLE DROP
ANALYSIS OF HYDROQUINONE



วรรณิดา ดือขุนทด
WANNIDA DUEKHUNTOD

เลขหมู่..... 147954
เลขทะเบียน.....
ใบเดือนปี 16 ต.ค. 2560



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเคมี
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2560
KMITL-2017-SC-M-012-024

SCREEN-PRINTED GRAPHENE ELECTRODE FOR SINGLE DROP
ANALYSIS OF HYDROQUINONE

WANNIDA DUEKHUNTOD

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT FOR THE
DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN CHEMISTRY
DEPARTMENT OF CHEMISTRY
FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2017
KMITL-2017-SC-M-012-024

COPYRIGHT 2017

FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ “การใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีนเพื่อวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรควิโนนแบบหยดเดียว”
 “SCREEN-PRINTED GRAPHENE ELECTRODE FOR SINGLE DROP ANALYSIS OF HYDROQUINONE”

ชื่อนักศึกษา นางสาววรรณนิศา ดือขุนทด

รหัสประจำตัว 57605030

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สาขาวิชาเคมี)

ภาควิชา เคมี

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เสาวภาคย์ อีราทรง

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ลายมือชื่อ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เอกรัฐ เดชศรี ประธานกรรมการ	
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณัฐวุฒิ เชิงชัน อาจารย์บัณฑิตประจำ (ในสาขาวิชาที่เกี่ยวข้อง) ดร.รัฐรัตน์ แมนทิม ผู้ทรงคุณวุฒิจากภายนอกสถาบันฯ	 ศาสตราจารย์ ดร.ณัฐวุฒิ เชิงชัน ศาสตราจารย์ ดร.รัฐรัตน์ แมนทิม
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เสาวภาคย์ อีราทรง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	

วัน/ เดือน/ ปี ที่สอบ จันทร์ที่ 3 กรกฎาคม พ.ศ.2560 เวลา 09.00-12.00 น.
 สถานที่สอบ ณ ห้องประชุมภาควิชาเคมี ชั้น 5 อาคารจุฬารามณ์วลัยลักษณ์ 1

คณะวิทยาศาสตร์รับรองแล้ว

 (รองศาสตราจารย์ ดร.คชนัน ธาระบริพัฒน์)
 คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

วันที่ 19 เดือน 4 ปี พ.ศ. 60

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีนเพื่อวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรควิโนนแบบหยดเดียว
นักศึกษา	นางสาววรรณนิดา ดือขุนทด
รหัสประจำตัว	57605030
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เคมี
พ.ศ.	2560
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เสาวภาคย์ อีราทรง

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน (SPGE) ขนาดเล็ก เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนนด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี ร่วมกับการวิเคราะห์แบบหยดเดียว (single drop analysis) โดยใช้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร พีเอช 7 เป็นสารละลายอิเล็กโทรไลต์ ในการวิเคราะห์ทำการหยดไฮโดรควิโนนปริมาตร 60 ไมโครลิตร ลงบนขั้วไฟฟ้า จากนั้นทำการสแกนศักย์ไฟฟ้าในช่วง -0.8 ถึง 0.6 โวลต์ ด้วยอัตราการสแกน 100 มิลลิโวลต์ต่อวินาที จากผลการทดลองพบว่า ค่ากระแสไฟฟ้าแคโทดิกของปฏิกิริยารีดักชันแปรผันตามความเข้มข้นไฮโดรควิโนน โดยให้ความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.23 ถึง 5.0 มิลลิโมลต่อลิตร ซึ่ดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD) เท่ากับ 0.07 มิลลิโมลต่อลิตร และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของการวัด (RSD) มีค่าต่ำกว่า 0.63 % เมื่อนำวิธีที่พัฒนาขึ้นนี้ไปตรวจวัดปริมาณไฮโดรควิโนนในตัวอย่างครีมไวเทนนิ่งให้ค่าร้อยละการคืนกลับ (recovery) อยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ (87-114%) และเมื่อนำผลการวิเคราะห์ของวิธี SPGE ที่พัฒนาขึ้น เปรียบเทียบกับผลที่ได้จากวิธีไซคลิกโวลแทมเมตรีโดยใช้ขั้วไฟฟ้าเป็นไส้ดินสอด และเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง โดยใช้สถิติ ANOVA test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบว่า ทั้งสามวิธีให้ผลที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($F_{stat} = 0.49$, $F_{critical} = 3.28$) ขั้วไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้นมีลักษณะเด่นคือ มีความน่าเชื่อถือ พกพาได้ และใช้ปริมาณสารตัวอย่างในการวิเคราะห์น้อย

คำสำคัญ: ไฮโดรควิโนน, ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน, ไซคลิกโวลแทมเมตรี, ครีมไวเทนนิ่ง

Thesis Title	Screen-printed graphene electrode for single drop analysis of hydroquinone
Student	Miss Wannida Duekhuntod
Student ID	57605030
Degree	Master of Science
Program	Chemistry
Year	2017
Thesis Advisor	Asst. Prof. Dr. Saowapak Teerasong

ABSTRACT

A single drop analysis of hydroquinone using screen-printed graphene electrode (SPGE) was developed. The electrochemical detection was based on cyclic voltammetry (CV). A 0.1 M phosphate buffer at pH 7 was employed as a supporting electrolyte. For analysis, 60 μL volume of hydroquinone was dropped onto the electrode. The potentials were applied from -0.8 to 0.6 V with a scan rate of 100mVs^{-1} . Under the optimized condition, a reduction peak current response for hydroquinone was linear in the range of 0.23 to 5.0 mM. The detection limit of 0.07 mM of hydroquinone was obtained. The relative standard deviation (RSD) of measurement was less than 0.63 %. The developed method was applied to determine hydroquinone in whitening creams. The obtained results were validated with the results from CV using pencil electrode and the high performance liquid chromatography (HPLC). Using the ANOVA test at 95% confidence level, there was no significant difference between three sets of results ($F_{\text{stat}} = 0.49$, $F_{\text{critical}} = 3.28$). The analytical recoveries were acceptable (87 – 114%). The developed sensor has superior in terms of reliable, portable and low sample consumption.

Keywords: Hydroquinone, Screen-printed graphene electrode (SPGE), Cyclic voltammetry (CV), Whitening cream

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ด้วยได้รับความกรุณาจาก อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เสาวภาคย์ ธีราทรง อาจารย์ประจำภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้คำแนะนำและคำปรึกษาในทุกๆ ขั้นตอนของการทำวิทยานิพนธ์นี้อย่างใกล้ชิด ซึ่งผู้เขียนต้องขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ จากภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ได้แก่ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เอกรัฐ เดชศรี และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ณัฐวุฒิ เชิงชั้น ที่ให้คำแนะนำเกี่ยวกับการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ รวมถึงชี้แนะแนวทางในการจัดทำรูปเล่มวิทยานิพนธ์ให้ถูกต้องและเรียบร้อย

ขอขอบพระคุณ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์จากภายนอก คือ ดร. จูติรัตน์ แม้นทิม ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่ให้คำแนะนำเกี่ยวกับการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ รวมถึงชี้แนะแนวทางในการจัดทำรูปเล่มวิทยานิพนธ์ให้ถูกต้องและเรียบร้อย

ขอขอบพระคุณ ดร. จันทรเพ็ญ คุรุวรรณ ศูนย์เทคโนโลยีอิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์แห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย สำหรับความอนุเคราะห์ใช้ไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีนที่ใช้ในงานวิจัยนี้

ขอขอบคุณหน่วยวิจัยเคมีวิเคราะห์เชิงประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง สำหรับอุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัยนี้

ขอขอบคุณเพื่อนร่วมหน่วยวิจัยเคมีวิเคราะห์เชิงประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่คอยช่วยเหลือซึ่งกันและกันเสมอมา

สุดท้ายนี้ ขอขอบคุณบิดา มารดา และครอบครัว ที่สนับสนุนและให้กำลังใจผู้เขียน ด้วยดีเสมอมา

นางสาววรรณนิดา ดือขุนทด

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ซ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ขั้นตอนการศึกษา	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 เมลานิน	4
2.1.1 กลไกการสร้างเม็ดสีเมลานิน	4
2.2 สารไวเทนนิง	5
2.2.1 สารไวเทนนิงที่ออกฤทธิ์ในขั้นก่อนการสร้างเม็ดสีเมลานิน	5
2.2.2 สารไวเทนนิงที่ออกฤทธิ์ในขั้นระหว่างการสร้างเม็ดสีเมลานิน	6
2.2.3 สารไวเทนนิงที่ออกฤทธิ์ในขั้นหลังจากการสร้างเม็ดสีเมลานิน	8
2.3 ไฮโดรควิโนน	9
2.4 หลักการทางเคมีไฟฟ้าโดยทั่วไป	12
2.4.1 การถ่ายเทมวลสาร	13
2.4.2 กระบวนการที่ผิวหน้าขั้ว	14
2.4.3 สารละลายอิเล็กโทรไลต์ช่วย	16
2.4.4 ขั้วไฟฟ้า	16
2.5 โวลแทมเมตรี	17
2.5.1 เซลล์โวลแทมเมตรี	17
2.5.2 เทคนิคการวิเคราะห์ในกลุ่มโวลแทมเมตรี	17
2.5.3 เครื่องโพเทนชิโอสแตท	23
2.6 ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน	23
2.6.1 กราฟีน	23
2.6.2 ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน	24

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.7 วิธีการวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรควิโนน	25
2.7.1 เทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี (Spectrophotometry).....	25
2.7.2 เทคนิคฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence).....	25
2.7.3 เทคนิค Gas chromatography (GC).....	26
2.7.4 เทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC).....	26
2.7.5 เทคนิค Capillary Electrophoresis (CE).....	27
2.7.6 เทคนิคทางเคมีไฟฟ้า (electrochemical technique).....	28
2.8 งานวิจัยนี้	32
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	33
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์	33
3.1.1 สารเคมี	33
3.1.2 เครื่องมือและอุปกรณ์.....	34
3.2 การเตรียมสารละลาย	34
3.2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนน.....	34
3.2.2 การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์ ความเข้มข้น 1.0 โมลต่อลิตร พีเอช 7.0.....	35
3.2.3 การเตรียมสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร	36
3.2.4 การเตรียมสารละลายมาตรฐานเหล็ก $K_3(Fe(CN)_6)$ เข้มข้น 3 มิลลิโมลต่อลิตร ในโพแทสเซียมคลอไรด์	36
3.2.5 การเตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 1 โมลต่อลิตร	36
3.2.6 การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 โมลต่อลิตร.....	36
3.2.7 การเตรียมตัวอย่างเครื่องสำอาง.....	36
3.3 การเตรียมขั้วไฟฟ้าแบบพิมพ์สกรีน	37
3.3.1 การเตรียมหมึกกราฟีนนำไฟฟ้า.....	37
3.3.2 การสร้างขั้วไฟฟ้าแบบพิมพ์สกรีน.....	37
3.4 วิธีดำเนินการทดลอง	38
3.4.1 ศึกษาความเป็นไปได้ของการใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน	38
3.4.2 การศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์.....	39
3.4.2.1 ศึกษาค่าพีเอชของสารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์.....	39
3.4.2.2 ศึกษาความเข้มข้นของสารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์	39
3.4.2.3 ศึกษาอัตราการสแกน	40
3.4.3 ประเมินคุณลักษณะของวิธีวิเคราะห์	40
3.4.3.1 ช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity range)	40
3.4.3.2 ความแม่นยำ (Accuracy)	41
3.4.3.3 ความเที่ยง (Precision)	42

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.4.3.4	ขีดจำกัดต่ำสุดการตรวจวัด (Limit of detection, LOD)	42
3.4.3.5	ขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ (Limit of quantitation, LOQ)	42
3.4.4	ศึกษาความเสถียรภาพ (stability) ของข้อไฟฟ้ากราฟิบบนแบบพิมพ์สกรีน	42
3.4.5	ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีที่พัฒนาขึ้นกับวิธีการวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรควิโนนด้วยเทคนิคไซคลิกโวลเทมเมตรีโดยใช้ข้อไฟฟ้าแบบใส่ดินสอดและเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)	43
บทที่ 4	ผลการวิจัยและอภิปรายผล	45
4.1	ผลการศึกษาคุณลักษณะทางกายภาพของข้อไฟฟ้าด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope ; SEM)	45
4.2	ผลการศึกษาความเป็นไปได้ของการใช้ข้อไฟฟ้ากราฟิบบนแบบพิมพ์สกรีน	46
4.3	ผลการศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์	46
4.3.1	ผลของค่าพีเอชของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ต่อการวิเคราะห์ไฮโดรควิโนน	48
4.3.2	ผลของความเข้มข้นของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ต่อการวิเคราะห์ไฮโดรควิโนน	49
4.3.3	ผลการศึกษาปฏิกิริยาบริเวณหน้าข้อไฟฟ้า	52
4.3.4	ผลของอัตราการสแกนต่อการวิเคราะห์ไฮโดรควิโนน	53
4.4	ผลการประเมินคุณลักษณะของวิธีวิเคราะห์	54
4.4.1	ช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity range)	54
4.4.2	ความแม่นยำ (Accuracy)	56
4.4.3	ความเที่ยง (Precision)	58
4.4.4	ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (Limit of detection, LOD)	59
4.4.5	ขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ (Limit of quantitation, LOQ)	59
4.5	ศึกษาเสถียรภาพ (Stability) ของข้อไฟฟ้ากราฟิบบนแบบพิมพ์สกรีน	60
4.6	ผลการวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรควิโนนในตัวอย่างเครื่องสำอาง	61
บทที่ 5	สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	63
5.1	สรุปผลการวิจัย	63
5.2	ข้อเสนอแนะ	63
เอกสารอ้างอิง		64
ประวัติผู้เขียน		68

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 3.1 แสดงการเตรียมสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนน ความเข้มข้นต่างๆ.....	35
ตารางที่ 3.2 แสดงสถานะของเครื่องโพเทนชิโอสแตท.....	39
ตารางที่ 4.1 สรุปการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ไฮโดรควิโนน.....	54
ตารางที่ 4.2 ผลการคำนวณหาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรควิโนนในตัวอย่างเครื่องสำอาง.....	56
ตารางที่ 4.3 แสดงค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของค่ากระแสแคโทดิกของสารละลายแบลงค์และสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนนความเข้มข้น 1 mM.....	58
ตารางที่ 4.4 สรุปคุณลักษณะเด่นของวิธีวิเคราะห์ในการวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรควิโนนด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีนและอาศัยการวิเคราะห์แบบหยดเดียว (single drop analysis)	60
ตารางที่ 4.5 ผลการวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรควิโนนในตัวอย่างเครื่องสำอางระหว่างเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน (SPGE) และใช้ขั้วไฟฟ้าแบบไส้ดินสอด (PGE) และเทคนิค HPLC	61

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 2.1 กระบวนการสร้างเมลานินภายใน Epidermal melanosomes.....	5
รูปที่ 2.2 โครงสร้างทางเคมีของไฮโดรควิโนน.....	9
รูปที่ 2.3 กลไกการยับยั้งกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานินโดยไฮโดรควิโนน.....	10
รูปที่ 2.4 ผิวหน้าผู้ป่วยที่รักษาฝ้าด้วยยาที่มีไฮโดรควิโนน (ก) มีเม็ดสีเมลานินสีน้ำตาลเพิ่มมากขึ้น และ (ข) มีฝ้าเส้นเลือดบนผิวแก้ม.....	11
รูปที่ 2.5 (ก) ฝ้าถาวรสีน้ำตาลเข้ม มีลักษณะเป็นตุ่มนูน (caviar – like) และ (ข) ลักษณะสีผิวของผู้ป่วยโรคต่างชาวก่ที่เกิดจากการใช้ไฮโดรควิโนนเป็นระยะเวลาานาน.....	11
รูปที่ 2.6 แสดงการเคลื่อนที่ของไอออนแบบไมเกรชัน.....	13
รูปที่ 2.7 แสดงการนำพามวลสารจากชั้นสารละลายไปยังผิวหน้าขั้วไฟฟ้าด้วยการแพร่.....	14
รูปที่ 2.8 แสดงการนำพามวลสารจากชั้นสารละลายไปยังผิวหน้าขั้วไฟฟ้าด้วยการพา.....	14
รูปที่ 2.9 รูปแบบแสดงกระบวนการที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้า.....	15
รูปที่ 2.10 แสดงกระบวนการดูดซับหรือกระบวนการอัดประจุที่รอยต่อเมื่อให้ศักย์ไฟฟ้าเป็นค่าลบกับขั้วไฟฟ้า.....	15
รูปที่ 2.11 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างศักย์ไฟฟ้ากับเวลาแบบเทคนิคโพลารोगราฟี.....	18
รูปที่ 2.12 โพลารोगรามของเทคนิคโพลารोगราฟี.....	18
รูปที่ 2.13 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างกระแสกับเวลา เมื่อมีการหยุดปรอท.....	18
รูปที่ 2.14 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างกระแสกับศักย์ไฟฟ้า โดยการทำแทสท์โพลารोगราฟี.....	18
รูปที่ 2.15 (ก) กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างศักย์ไฟฟ้ากับเวลา และ (ข) กราฟที่ได้จากการวิเคราะห์โดยเทคนิคแอมเพอโรเมทรี.....	19
รูปที่ 2.16 (ก) กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างศักย์ไฟฟ้ากับเวลา และ (ข) กราฟแสดงโวลแทมโมแกรมของพัลส์โวลแทมเมทรีแบบพัลส์ปกติ.....	19
รูปที่ 2.17 (ก) กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างศักย์ไฟฟ้ากับเวลา และ (ข) กราฟแสดงโวลแทมโมแกรมของพัลส์โวลแทมเมทรีแบบดิฟเฟอร์เรนเชียล.....	20
รูปที่ 2.18 (ก) กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างศักย์ไฟฟ้ากับเวลา และ (ข) กราฟแสดงโวลแทมโมแกรมของพัลส์โวลแทมเมทรีแบบสแควร์เวฟ.....	20
รูปที่ 2.19 (ก) กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างศักย์ไฟฟ้ากับเวลา และ (ข) กราฟแสดงโวลแทมโมแกรมที่ได้ของเทคนิคสทริปปิงโวลแทมเมทรี.....	21
รูปที่ 2.20 รูปแบบของศักย์ไฟฟ้าที่ให้ในไซคลิกโวลแทมเมทรี.....	21
รูปที่ 2.21 ไซคลิกโวลแทมโมแกรม.....	22
รูปที่ 2.22 เครื่องโพเทนชิโอสแตท.....	23
รูปที่ 2.23 แสดงแลตทิซย่อยของกราฟีนซึ่งแทนได้ด้วยแลตทิซแบบสามเหลี่ยมสองรูป โดยแต่ละอะตอมในแลตทิซย่อย (A) จะเชื่อมต่อกับอะตอมข้างเคียง (B) 3 อะตอม.....	24
รูปที่ 2.24 แสดงครึ่งปฏิกิริยารีดักชันของไฮโดรควิโนน.....	32

สารบัญรูป (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 3.1 (ก) ชุดอุปกรณ์ในการสร้างกราฟอินสัระจากแท่งคาร์บอน และ (ข) หมึกนำไฟฟ้ากราฟีนเพลส.....	37
รูปที่ 3.2 แสดงลักษณะของขั้วไฟฟ้าแบบพิมพ์สกรีน.....	38
รูปที่ 3.3 Side view จากการถ่ายภาพด้วยเครื่อง contact angle ลักษณะของ หยดสารละลายไฮโดรควิโนนที่บริเวณหน้าขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน.....	40
รูปที่ 3.3 ชุดอุปกรณ์การทดลองการวิเคราะห์ไฮโดรควิโนนโดยใช้ขั้วไฟฟ้าทั้งสามเป็นดินสอด ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี.....	43
รูปที่ 4.1 ภาพถ่ายจาก SEM ของ (A) ขั้วไฟฟ้าพิมพ์คาร์บอน และ (B) ขั้วไฟฟ้าพิมพ์กราฟีน.....	45
รูปที่ 4.2 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของการตรวจวัดสารละลายมาตรฐาน $K_3(Fe(CN)_6)$ เข้มข้น 3 มิลลิโมลต่อลิตร ในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร อัตราการสแกน 100 มิลลิโวลต์ต่อวินาที โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน.....	46
รูปที่ 4.3 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนนความเข้มข้น 1 มิลลิโมลต่อลิตร ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร พีเอช 7 อัตราการสแกน 100 มิลลิโวลต์ต่อวินาที โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน.....	47
รูปที่ 4.4 แสดงครึ่งปฏิกิริยารีดักชันของไฮโดรควิโนน.....	47
รูปที่ 4.5 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนน ความเข้มข้น (จาก a ถึง e) : 0, 0.05, 0.1, 0.5, และ 1 มิลลิโมลต่อลิตร ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ที่พีเอช (ก) 5.8 (ข) 7.0 และ (ค) 10.0 อัตราการสแกน 100 มิลลิโวลต์ต่อวินาที โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน.....	48
รูปที่ 4.6 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างของกระแสแคโทดิกที่มีไฮโดรควิโนน และไม่มีไฮโดรควิโนน (ΔI_c) กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนน ความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.5 และ 1 มิลลิโมลต่อลิตร ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ที่พีเอช 5.8, 7.0, และ 10.0 อัตราการสแกน 100 มิลลิโวลต์ต่อวินาที โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน.....	49
รูปที่ 4.7 แสดงไซคลิกโวลแทมโมแกรมของการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนน ความเข้มข้น (จาก a ถึง e) : 0, 0.05, 0.1, 0.5, และ 1 มิลลิโมลต่อลิตร ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7.0 ความเข้มข้น (ก) 0.01, (ข) 0.1, และ (ค) 0.5 โมลต่อลิตร อัตราการสแกน 100 มิลลิโวลต์ต่อวินาที โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน.....	50
รูปที่ 4.8 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างของกระแสแคโทดิกที่มีไฮโดรควิโนน และไม่มีไฮโดรควิโนน (ΔI_c) กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนน ความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.5 และ 1 มิลลิโมลต่อลิตร ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ที่พีเอช 7.0 อัตราการสแกน 100 มิลลิโวลต์ต่อวินาที โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน.....	51

สารบัญรูป (ต่อ)

	หน้า	
รูปที่ 4.9	ไซคลิกโวลแทจโมแกรมของสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนน ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลต่อลิตร ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร พีเอช 7.0 ที่อัตราการสแกน (จาก a ถึง g) : 10, 20, 50, 100, 125, 150, และ 200 มิลลิโวลต์ต่อวินาที โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน.....	52
รูปที่ 4.10	ความสัมพันธ์ระหว่างกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนน ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลต่อลิตร กับ (ก) scan rate และ (ข) scan rate ^{1/2}	52
รูปที่ 4.11	กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างของกระแสที่มีไฮโดรควิโนนและไม่มีไฮโดรควิโนน (ΔI_c) กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนนในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร พีเอช 7.0 ที่อัตราการสแกน (ก) 50, (ข) 100, (ค) 150, และ (ง) 200 มิลลิโวลต์ต่อวินาที ตามลำดับ โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน.....	53
รูปที่ 4.12	รูปแสดงไซคลิกโวลแทจโมแกรมของสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนน ความเข้มข้น (จาก a ถึง i) : 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4, และ 5 มิลลิโมลต่อลิตร ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร พีเอช 7.0 ที่อัตราการสแกน 100 มิลลิโวลต์ต่อวินาที โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน และใช้การวิเคราะห์แบบหดยศเดียว.....	55
รูปที่ 4.13	กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างของกระแสแคโทดิกกับความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนน ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลต่อลิตร พีเอช 7.0 อัตราการสแกน 100 มิลลิโวลต์ต่อวินาที โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน.....	55
รูปที่ 4.14	กราฟแสดงค่ากระแสไฟฟ้าที่ได้จากการใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีนเดิม ในการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนนความเข้มข้น 1.0 มิลลิโมลต่อลิตร (ก) ขวดที่ 1 (ข) ขวดที่ 2 และ (ค) ขวดที่ 3 ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลต่อลิตร พีเอช 7.0 อัตราการสแกน 100 มิลลิโวลต์ต่อวินาที.....	60

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

ปัจจุบันผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางประเภทที่ทำให้ผิวขาวนั้นได้รับความนิยมอย่างมากในกลุ่มผู้บริโภคในแถบเอเชียรวมถึงประเทศไทย ทำให้มีการผลิตผลิตภัณฑ์เหล่านี้ออกมาจำหน่ายอยู่เป็นจำนวนมากทั้งในห้างสรรพสินค้า ร้านค้า และท้องตลาด เพื่อตอบสนองความต้องการของผู้บริโภค โดยเฉพาะอย่างยิ่งครีมที่ทำให้ผิวหน้าขาวใส ซึ่งแต่ละผลิตภัณฑ์ก็มีส่วนผสมของสารไวเทนนิ่ง (whitening agent) ที่แตกต่างกันไป เช่น วิตามินอี วิตามินซี กรดเอเอชเอ เป็นต้น ซึ่งสารไวเทนนิ่งเหล่านี้มีราคาแพง เห็นผลช้า ทำให้มีผู้ผลิตจำนวนมากไม่ยอมที่ต้องการให้ผลิตภัณฑ์ของตนเป็นที่ต้องการของผู้บริโภคที่มีความต้องการให้ผิวหน้าขาวใสอย่างรวดเร็ว จึงได้มีการเติมสารเคมีอันตรายบางตัวลงไปเพื่อช่วยให้เห็นผลลัพธ์ได้ชัดเจนและรวดเร็วมากยิ่งขึ้น ซึ่งหนึ่งในนั้นก็คือสารไฮโดรควิโนน

ไฮโดรควิโนน เป็นสารเคมีที่นิยมนำมาเตรียมครีมที่ทำให้หน้าขาว เนื่องจากเห็นผลได้เร็ว ไฮโดรควิโนนออกฤทธิ์โดยการยับยั้งกระบวนการสร้างเม็ดสีของผิวหนังที่เรียกว่า เมลานิน และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส (tyrosinase) ซึ่งทำให้การผลิตเม็ดสีน้อยลง และส่วนของไฮโดรควิโนนที่ถูกย่อยสลายก็จะไปยังยับยั้งการทำงานของเซลล์สร้างเม็ดสีได้อีกจึงส่งผลทำให้ผิวขาวขึ้นและได้ผลเร็ว อย่างไรก็ตามไฮโดรควิโนนมีผลข้างเคียงทำให้เกิดการระคายเคืองผิว ผิวมีความไวต่อแสงมากขึ้น เกิดจุดด่างขาวที่ผิวหน้า หรือผิวหน้าดำ ทำให้เกิดโรคผิวหนังขึ้น หากใช้ติดต่อกันเป็นเวลานานจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อภายในผิวหนังทำให้เกิดเป็นฝ้าถาวร ซึ่งอาจเกิดจากการที่ผิวหนังมีการปรับตัวให้สร้างเม็ดสีมากขึ้น รวมทั้งเพิ่มโอกาสเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งผิวหนังอีกด้วย[1,2]

สำหรับประเทศไทย ไฮโดรควิโนนถูกกำหนดเป็นสารต้องห้ามในเครื่องสำอางตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่องกำหนดวัตถุที่ห้ามใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเครื่องสำอาง (ฉบับที่ 2) ประกาศ ณ วันที่ 30 ธันวาคม พ.ศ. 2554 โดยอนุญาตให้ใช้ไฮโดรควิโนนได้เฉพาะในผลิตภัณฑ์ชุดทำเล็บเทียม ในอัตราส่วนสูงสุดในผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปไม่เกิน 0.02% เท่านั้น [3] และสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) กำหนดให้ผสมสารไฮโดรควิโนนในการรักษาฝ้าได้ไม่เกินร้อยละ 2

อย่างไรก็ตามยังคงมีการตรวจพบการปนเปื้อนของไฮโดรควิโนนในเครื่องสำอาง [4] ดังนั้นจึงมีงานวิจัยต่างๆ ถูกพัฒนาขึ้นสำหรับการตรวจวัดปริมาณไฮโดรควิโนน สำหรับเทคนิคที่นำมาใช้ในการตรวจวัดไฮโดรควิโนนมีหลากหลายเทคนิค เช่น เทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรี [5,6] เทคนิคฟลูออเรสเซนซ์ [7,8] เทคนิคโครมาโทกราฟี [9-12] และเทคนิคแคปิลลารีอิเล็กโทรโฟรีซิส [13,14] เป็นต้น ซึ่งมีข้อดีคือให้ความไวและความจำเพาะเจาะจงในการวิเคราะห์ที่ดี อย่างไรก็ตามเทคนิคเหล่านี้ใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน และการใช้เครื่องมือที่ยุ่งยากต้องอาศัยความชำนาญในการใช้เครื่องมือ เครื่องมือวิเคราะห์ราคาแพงและมีขนาดใหญ่ ทำให้ยากต่อการเคลื่อนย้ายสำหรับการวิเคราะห์ภาคสนาม

จากข้อดีของเทคนิคทางเคมีไฟฟ้าที่มีความไวในการวิเคราะห์และความจำเพาะเจาะจงสูง ขั้วไฟฟ้าสามารถพัฒนาให้มีขนาดเล็ก สะดวกต่อการนำไปวิเคราะห์นอกห้องปฏิบัติการได้ ดังนั้นจึงมีงานวิจัยที่ปรับปรุงพื้นผิวของขั้วไฟฟ้าเพื่อใช้ในการตรวจวัดไฮโดรควิโนน [15-28] อย่างไรก็ตามการปรับปรุงผิวขั้วด้วยวัสดุตัวนำไฟฟ้าต่างๆ ช่วยให้ความไวในการวิเคราะห์ดีขึ้น แต่การเตรียมขั้วมี

ขั้นตอนที่ยุ่งยากซับซ้อน และเมื่อใช้ซ้ำเป็นเวลานานๆ ผลการวิเคราะห์ซ้ำ (reproducible) อาจให้ค่าที่แตกต่างกัน เนื่องจากมีการหลุดร่อนของวัสดุที่นำมาปรับปรุงผิวหน้าซ้ำ จึงต้องมีการนำซ้ำมาทำการปรับปรุงผิวใหม่อยู่เสมอ ดังนั้นการปรับปรุงผิวซ้ำ จึงมีความจำเป็นสำหรับงานวิเคราะห์ที่มีไฮโดรควิโนนในปริมาณต่ำ เช่น ตัวอย่างน้ำตามธรรมชาติ น้ำประปา และน้ำทิ้ง เป็นต้น สำหรับผลิตภัณฑ์ไวเทนนิ่งมีส่วนผสมของไฮโดรควิโนนในปริมาณที่ค่อนข้างสูง เพื่อประสิทธิภาพในการทำให้ผิวขาวอย่างเด่นชัดในระยะเวลาอันรวดเร็ว ดังนั้นเทคนิคที่ใช้ในการตรวจวัดอาจไม่จำเป็นต้องมีความไวในการวิเคราะห์สูง แต่ควรมีความจำเพาะเจาะจงที่ดี เนื่องจากในผลิตภัณฑ์ไวเทนนิ่งมีองค์ประกอบที่หลากหลายซึ่งอาจรบกวนการวิเคราะห์ได้

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีความสนใจในการตรวจหาสารต้องห้ามไฮโดรควิโนนเพราะเป็นสารที่มีอันตรายและพบได้อย่างแพร่หลายในครีมที่ทำให้หน้าขาวใส โดยพัฒนาซ้ำไฟฟ้ากราฟิบบนฟิล์มสกรีน ซึ่งมีขั้นตอนการเตรียมที่ง่าย ไม่ซับซ้อน ทำการวิเคราะห์โดยการหดยาสลายไฮโดรควิโนนในระดับไมโครลิตรลงบนผิวหน้าซ้ำไฟฟ้า และตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี เนื่องจากกราฟิบบนฟิล์มสกรีนนำไฟฟ้าที่ดี จึงทำให้ซ้ำไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้นมีความไวในการวิเคราะห์เพียงพอสำหรับการตรวจวัดไฮโดรควิโนนในผลิตภัณฑ์ไวเทนนิ่ง นอกจากนี้ซ้ำที่พัฒนาขึ้นมีขนาดเล็ก จึงสามารถพัฒนาต่อยอดเพื่อไปใช้ในงานวิเคราะห์ภาคสนามได้ และยังใช้สารในการวิเคราะห์ในปริมาณที่น้อยอีกด้วย

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาการใช้ซ้ำไฟฟ้ากราฟิบบนฟิล์มสกรีน ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี และอาศัยการวิเคราะห์แบบหดยาเดียว สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนน

1.2.2 เพื่อนำวิธีที่พัฒนาไปประยุกต์ใช้หาปริมาณไฮโดรควิโนนในตัวอย่างเครื่องสำอาง

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1.3.1 ศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้ซ้ำไฟฟ้ากราฟิบบนฟิล์มสกรีน เพื่อใช้ในการตรวจวัดปริมาณไฮโดรควิโนนด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี โดยอาศัยการวิเคราะห์แบบหดยาเดียว

1.3.2 ศึกษาขั้นตอนการเตรียมซ้ำไฟฟ้ากราฟิบบนฟิล์มสกรีนเพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนน

1.3.3 ศึกษาสภาวะการทดลองที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนนด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี

1.3.4 ศึกษาขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนนในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

1.3.5 นำวิธีที่พัฒนาขึ้นไปประยุกต์ใช้หาปริมาณไฮโดรควิโนนในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

1.3.6 เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ของวิธีที่พัฒนาขึ้นกับเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography : HPLC) และเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี โดยใช้ซ้ำไฟฟ้าเป็นไส้ดินสอด

1.4 ขั้นตอนของการศึกษา

1.4.1 ศึกษาข้อมูลและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนน

1.4.2 ศึกษาการใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบวิพิมพ์สกรีน เพื่อใช้ในการตรวจวัดปริมาณไฮโดรควิโนน ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยอาศัยการวิเคราะห์แบบหยดเดียว (single drop analysis)

1.4.3 ศึกษาขั้นตอนการเตรียมขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบวิพิมพ์สกรีนเพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนน

1.4.4 ศึกษาสภาวะการทดลองที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ไฮโดรควิโนน ได้แก่ พีเอชของสารละลายบัฟเฟอร์ ความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์ และอัตราการสแกน เป็นต้น

1.4.5 ศึกษาคุณลักษณะของวิธีที่พัฒนาขึ้น ได้แก่ ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัดไฮโดรควิโนน ขีดจำกัดต่ำสุดสำหรับการตรวจวัดและขีดจำกัดต่ำสุดสำหรับการวิเคราะห์เชิงปริมาณของไฮโดรควิโนน ความแม่นยำและความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์

1.4.6 นำวิธีที่พัฒนาขึ้นไปประยุกต์ใช้หาปริมาณไฮโดรควิโนนในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

1.4.7 เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ของวิธีที่พัฒนาขึ้นกับเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography : HPLC) และเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเป็นไส้ดินสอด

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ได้วิธีการตรวจวัดหาปริมาณไฮโดรควิโนน โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบวิพิมพ์สกรีน ซึ่งเป็นขั้วไฟฟ้าที่มีขนาดเล็ก และใช้สารตัวอย่างในการวิเคราะห์ที่น้อย

1.5.2 สามารถนำวิธีที่พัฒนาขึ้นไปวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนนในตัวอย่างเครื่องสำอาง

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

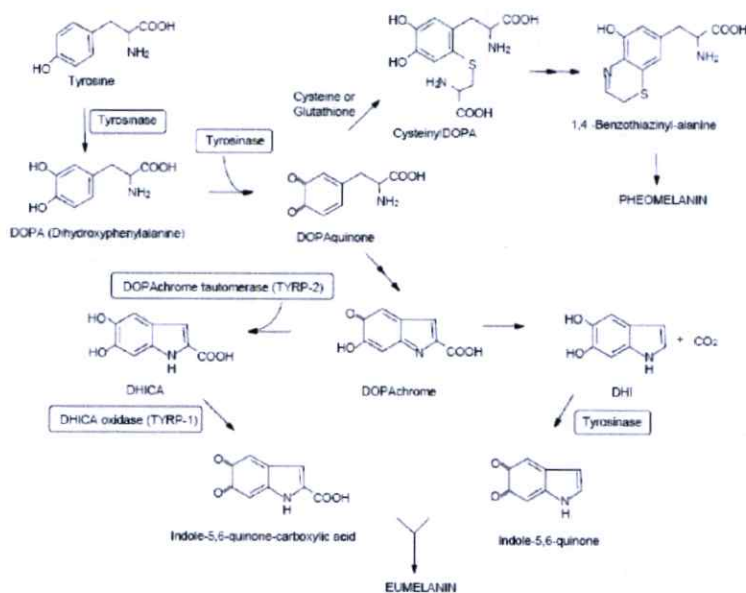
2.1 เมลานิน (Melanin) [29,30]

เมลานินหรือเม็ดสีที่สร้างจากเซลล์ผิวหนังที่เรียกว่า เมลาโนไซต์ (Melanocyte) ซึ่งเป็นเซลล์ที่เจริญมาจากเซลล์ระบบประสาทโดยแทรกตัวอยู่ในชั้นหนังกำพร้าส่วนล่างสุด เซลล์เมลาโนไซต์หนึ่งเซลล์จะแตกแขนงเป็นร่างแหเล็กๆ ยื่นไปสัมผัสเซลล์ผิวหนังประมาณ 35 เซลล์ ซึ่งมีอยู่ในผิวหนังของมนุษย์และสัตว์ เม็ดสีเป็นตัวที่บ่งบอกสีผิว สีขนและสีผม ซึ่งเม็ดสีของเมลานินนี้ขึ้นอยู่กับพันธุกรรมของแต่ละบุคคลด้วย ซึ่งในคนที่ผิวคล้ำหรือดำ จะมีเม็ดสีหรือเมลานินมากกว่าคนที่ผิวขาวเมลานินสามารถแบ่งออกเป็น 3 ชนิด

1. ยูเมลานิน (Eumelanin) เม็ดสีเมลานินชนิดนี้เป็นเม็ดสีน้ำตาลถึงดำซึ่งคนเอเชียและคนที่มีผิวคล้ำจะมีเม็ดสีนี้มากกว่าคนที่ผิวขาว
2. พีโอเมลานิน (Pheomelanin) เป็นเม็ดสีสีแดงหรือที่เรียกว่าออกซีฮีโมโกลบิน (Oxy-hemoglobin) หรือสีเหลือง ที่เรียกว่าแคโรทีน (Carotene) ซึ่งในคนผิวขาวจะมีเม็ดสีนี้มากกว่าคนผิวคล้ำ
3. แบบผสม (mixed melanin) คือมีเม็ดสีเมลานินทั้งสองแบบข้างต้นที่ผสมผสานกัน

2.1.1 กลไกการสร้างเม็ดสีเมลานิน

กลไกการสร้างเม็ดสีเมลานิน หรือ melanogenesis เกิดขึ้นภายในเมลาโนโซมของชั้นผิวหนัง (Epidermal melanosomes) โดยเกิดขึ้นเมื่อมีเอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สำคัญที่สุดในกระบวนการสร้างเมลานิน เนื่องจากเป็นสารกำหนดอัตรา (Rate limiting agent) ในการสร้างเมลานิน เอนไซม์ไทโรซิเนสจะทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยา hydroxylation ของกรดอะมิโนแอลไทโรซีน (L-tyrosine) เกิดเป็น DOPA หลังจากนั้น DOPA จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกลายเป็น DOPAquinone ในกรณีที่มีกรดอะมิโน cysteine หรือ glutathione ในกระบวนการจะทำปฏิกิริยากับ DOPAquinone เกิดเป็นอนุพันธ์ benzothiazine ของเมลานินชนิดพีโอเมลานิน ในขณะที่ถ้า cysteine มีปริมาณน้อย DOPAquinone จะเกิดการปดวงอะโรมาติกเกิดเป็น DOPACHrome แทน หลังจากนั้น DOPACHrome tautomerase (TYRP - 2) จะเร่งปฏิกิริยา tautomerization ของ DOPACHrome ทำให้เกิดเป็น 5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid (DHICA) ซึ่งหลังจากนั้นสารนี้จะถูกออกซิไดซ์ไปเป็นหน่วยย่อยของ DHICA-melanin และ DHICA จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันไปเป็นเมลานินชนิดยูเมลานิน โดยการเร่งปฏิกิริยาของ DHICA oxidase (TYRP - 1) ในทางกลับกันหากไม่มี TYRP - 2 หมู่คาร์บอกซิลของ DOPACHrome จะสลายไปเกิดเป็น 5,6-dihydroxyindole (DHI) ซึ่งทั้ง DHICA และ DHI ล้วนเป็นส่วนประกอบหน่วยย่อยของยูเมลานิน กระบวนการดังที่กล่าวมาแสดงดังรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 กระบวนการสร้างเมลานินภายใน Epidermal melanosomes [30]

2.2 สารไวเทนนิ่ง (Whitening Agents) [31-34]

สารไวเทนนิ่ง (Whitening agents) คือสารป้องกันกระบวนการสร้างเมลานิน แบ่งออกเป็น 3 ชนิด ดังนี้

2.2.1 สารไวเทนนิ่งที่ออกฤทธิ์ในขั้นก่อนการสร้างเม็ดสีเมลานิน

คือการป้องกันกระบวนการสร้างเมลานิน ได้แก่ สารป้องกันแสงแดด หรือครีมกันแดด แสงยูวี เป็นปัจจัยสำคัญที่ช่วยเร่งกระบวนการผลิตเม็ดสีเมลานิน ดังนั้นการป้องกันแสงแดดเข้าสู่เซลล์เมลานินไซตส์ก็สามารถทำให้ผิวขาวขึ้นได้ ซึ่งสารป้องกันแสงแดดแบ่งออกเป็น 3 ชนิด ดังนี้

2.2.1.1 Chemical sunscreen เป็นครีมกันแดดที่มีส่วนผสมของสารเคมีที่ทำหน้าที่ปกป้องแสงแดด โดยการดูดซับพลังงานของแสงแดดไว้ก่อนที่แสงแดดจะผ่านลงไปที่ผิวหนัง ซึ่งสารเคมีเหล่านี้สามารถดูดซับแสงแดดไว้ได้ชั่วขณะหนึ่งเท่านั้น ทำให้จำเป็นต้องทาครีมกันแดดบ่อยๆ หรือใช้ครีมกันแดดที่มี SPF สูงๆ ซึ่งมีส่วนผสมของสารเคมีปริมาณมาก อาจทำให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนังได้ สารในกลุ่มนี้มีอยู่หลายชนิด สามารถจำแนกตามสารออกฤทธิ์ได้ดังนี้

- สารออกฤทธิ์กลุ่มสารเคมีที่ป้องกัน UVA ได้แก่ oxybenzone, sulisobenzene, dioxybenzone, avobenzene และ merxoryl sx

- สารออกฤทธิ์กลุ่มสารเคมีที่ป้องกัน UVB ได้แก่ aminobenzoic acid (PABA), homosalate, cinoxate, octyl methoxycinnamate, octyl salicylate, padimate o, phenylbenzimidazole sulfonic acid, trolamine salicylate และ methyl anthralinate

2.2.1.2 Physical sunscreen เป็นครีมกันแดดที่มีส่วนผสมของสารเคมีที่สามารถสะท้อนรังสี UVA และ UVB ออกไปจากผิวหนังได้ เช่น titanium dioxide (TiO_2), zinc oxide (ZnO) เป็นต้น สารในกลุ่มนี้สามารถป้องกันได้ทั้ง UVA, UVB, visible light และ infrared light ซึ่งสารในกลุ่มนี้จะมีผลระคายเคืองต่อผิวหนังน้อยกว่าสารในกลุ่มแรก แต่มีข้อด้อยคือ ครีมกันแดดประเภทนี้ไม่สามารถให้ SPF ที่สูงๆ ได้ และเมื่อทาบนผิวหนังแล้ว หน้าจะดูขาวมาก เนื่องจากสารจะเคลือบบนผิวหนังชั้นบนเพื่อรอแสงกระทบจึงมีการดูดซับรังสียูวีน้อย

2.2.1.3 แบบผสม Chemical-physical sunscreen เป็นการเสริมข้อดี ลดข้อด้อยในแต่ละส่วน นั่นคือ ลดการระคายเคืองต่อผิวหนัง จากสารประเภทสารเคมี และลดความขาวเมื่อทาครีม และเสริมประสิทธิภาพในการป้องกันแสงแดดร่วมกัน

2.2.2 สารไวเทนนิงที่ออกฤทธิ์ในขั้นระหว่างการสร้างเม็ดสีเมลานิน

จากที่กล่าวมาข้างต้นจะพบว่าเอนไซม์ไทโรซิเนสเป็นเอนไซม์ที่สำคัญที่สุดในกระบวนการสร้างเมลานิน ดังนั้นถ้าสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ก็จะสามารถลดหรือขัดขวางการสร้างเมลานินให้น้อยลงได้เช่นกัน สารไวเทนนิงที่ออกฤทธิ์ในขั้นนี้จึงมีเป้าหมายสำคัญคือการลดการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส ซึ่งสามารถจำแนกตามกลไกการทำงานได้ดังนี้

2.2.2.1 กลุ่มที่ออกฤทธิ์รบกวนการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสหรือเมลานินโซมในกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานิน ได้แก่

- ไฮโดรควิโนน (Hydroquinone ; HQ) เป็นสารเคมีที่ช่วยยับยั้งการสร้างเม็ดสีเมลานินได้ สารประกอบ HQ มีฤทธิ์รุนแรงในการป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระที่จะไปกระตุ้นเอนไซม์ไทโรซิเนสให้ไปเร่งการผลิตเม็ดสีเมลานิน ปกติแล้วจะใช้ในความเข้มข้น 2% ในเครื่องสำอางทั่วไป หรือถ้าความเข้มข้นมากกว่านั้นก็ต้องใช้ภายใต้คำสั่งของแพทย์ อย่างไรก็ตาม HQ มีผลข้างเคียงทำให้เกิดการระคายเคืองผิว ผิวมีความไวต่อแสงมากขึ้น เกิดจุดด่างขาวที่หน้า หากใช้ติดต่อกันเป็นเวลานานจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อภายในผิวหนังทำให้เกิดเป็นฝ้าถาวร และอาจเป็นสารก่อมะเร็งในผิวหนังได้ทำให้หลายประเทศ รวมทั้งประเทศไทยไม่อนุญาตให้มีการใช้ HQ ในเครื่องสำอาง

- วิตามินซี (Vitamin C) มีหลายรูปแบบมากไม่ว่าจะเป็น magnesium ascorbyl phosphate, L-ascorbic acid, ascorbyl glucosamine หรือ ascorbic acid เป็นสารที่เสถียรมากและมีประสิทธิภาพในการต่อต้านอนุมูลอิสระสำหรับผิวและเนื่องจากความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระที่จะไปกระตุ้นเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ จึงมีความเป็นไปได้ที่วิตามินซีจะช่วยชะลอการสร้างเม็ดสีเมลานิน

- กรดโคจิก (Kojic acid) เป็นผลพลอยได้จากกระบวนการหมักเหล่าสาเกของญี่ปุ่น ออกฤทธิ์โดยเป็น chelating agent เข้าจับกับ copper ซึ่งเป็นโคเอนไซม์ของเอนไซม์ไทโรซิเนส ในกระบวนการสร้างเม็ดสี เมื่อโคเอนไซม์ลดน้อยลงเอนไซม์ไทโรซิเนสจึงทำงานได้ยากขึ้น แต่กรดโคจิกไม่เสถียร เมื่อนำไปเป็นส่วนผสมในเครื่องสำอางโดยเมื่อกระทบกับแสงแดดมันจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และเสื่อมประสิทธิภาพลงดังนั้นผู้ผลิตเครื่องสำอางจึงได้เปลี่ยนมาใช้โคจิกไดพาลมิเตท (Kojic dipalmitate) ซึ่งเสถียรกว่าแทน อย่างไรก็ตามมีการวิจัยที่ทำการทดลองกับสัตว์ทดลองโดยการให้กรดโคจิกจำนวนมากเป็นเวลา 26 สัปดาห์ พบว่ามีความผิดปกติกับตับ (เนื้องอก) สำหรับในมนุษย์การใช้ในปริมาณสูงเกินไปจะทำให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนังได้

- อาบูติน (Arbutin) เป็นสารสกัดจากพืชที่เป็นแหล่งธรรมชาติของ HQ อีกที่หนึ่งที่เรียกว่า hydroquinone-beta-D-glucoside โดยจะแบ่งเป็น alpha-arbutin, beta-arbutin และ deoxy-arbutin ซึ่งมีฤทธิ์ในการสกัดการสร้างเม็ดสีเมลานิน อาบูตินมีความปลอดภัยมากกว่า HQ และรูปที่เป็นอัลฟาอาบูตินจะเสถียรกว่าเบต้าอาบูตินและเป็นที่ยอมรับกว่าในการนำมาทำตัวยาทำให้ผิวใสกระจ่างขึ้น ในคลินิกผิวหนังมักนำมาใช้รักษาฝ้าแทนยา HQ แม้ให้ผลการรักษาช้ากว่าแต่ก็มีผลข้างเคียงน้อย

- สารสกัดทางธรรมชาติ เช่น green tea extract, compositae (สารสกัดจาก matricaria) สารสกัดจากปอสา (Paper mulberry) สารสกัดจากแอปเปิ้ล (Applephenon extracts), ellagic acid, polyglutanmate, tanaka extracts สารสกัดจากเปลือกมะหาด (Mahad) สารสกัดจากบอระเพ็ด สารสกัดจากสาเก สารสกัดจากเปลือกสนมารีโทม (Pynocare) สารสกัดชะเอม (Licorice extract) เป็นสารที่สกัดจากแป้งสาลี ชะเอม ปัจจุบันนิยมนำมาผสมในเครื่องสำอาง เช่น แป้งรองพื้น ครีมบำรุงผิวหน้า ผิวกาย ลิปสติก ผลิตภัณฑ์ล้างหน้า มีความคงตัวมากกว่าสารตัวอื่นๆ ในกลุ่มนี้

- ยารับประทานรักษาฝ้า ได้แก่ tranxemic acid ซึ่งเป็นยากลุ่มต้านการสลายตัวของลิมเลือด ใช้รักษาและป้องกันภาวะเลือดออกระหว่างผ่าตัดและหลังผ่าตัด ซึ่งปัจจุบันมีการศึกษาฤทธิ์ของ tranexamic acid ในการรักษาฝ้า โดยกลไกการออกฤทธิ์ของยาสามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ใช้สร้างเม็ดสีเมลานิน จึงทำให้ฝ้าจางลงได้

2.2.2.2 กลุ่มยับยั้งการพัฒนา (Maturation) ของเอนไซม์ไทโรซิเนส

- กลูตาไธโอน (Glutathione) เป็นสารไตรเปปไทด์ (Tripeptides คือ การโยงเข้าด้วยกันของโพลีเมอร์ขนาดสั้นๆ ด้วยพันธะเคมีแบบเปปไทด์) ของกรดอะมิโน 3 ตัว คือ ซิสเทอีน (Cysteine) กรดกลูตามิก (Glutamic acid) และไกลซีน (Glycine) โดยกลูตาไธโอนจะทำหน้าที่เร่งการเปลี่ยน DOPAquinone ให้เป็นฟีโอเมลานิน ซึ่งมีสีเหลือง-แดงแทนที่จะเหลืองปล่อยให้ผ่านกระบวนการอื่นจนกลายเป็นเป็นยูเมลานิน ซึ่งมีสีน้ำตาล-ดำ ดังนั้นจึงสามารถช่วยให้ผิวไม่คล้ำได้

2.2.2.3 กลุ่มที่ออกฤทธิ์เพิ่มการสลายตัวของเอนไซม์ไทโรซิเนส

- Alpha linoleic acid เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ช่วยลดการอักเสบ เสริมสร้างความแข็งแรงของ Skin Barrier และยังมีคุณสมบัติในการเร่งการเสื่อมสลายของเอนไซม์ไทโรซิเนส จึงส่งผลให้การผลิตเม็ดสีโดยรวมลดลง

- Alpha-tocopheryl ferulate (วิตามิน E) ทำหน้าที่เหมือนฟองน้ำที่ดูดซับสารอนุมูลอิสระก่อนที่จะไปกระตุ้นเอนไซม์ไทโรซิเนสจึงทำให้การสร้างเมลานินลดลง

2.2.2.4 กลุ่มยับยั้งการสร้างเอนไซม์ไทโรซิเนส

- ไฮโดรควิโนน (Hydroquinone) นอกจากจะป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระที่จะไปกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสแล้ว ยังกระตุ้นการสร้าง reactive oxygen species (ROS) ขึ้นมาเพื่อทำลายเยื่อหุ้มและโปรตีนของเอนไซม์ไทโรซิเนส และลดการสร้าง DNA และ RNA ของเซลล์เมลานโนไซต์ได้อีกด้วย

- กรดแลกติก (Lactic acid) มีความสามารถในการยับยั้งกระบวนการสร้างเอนไซม์ไทโรซิเนส นอกจากนี้ยังมี peeling effect กระตุ้นการผลิตเซลล์ผิว ทำให้เมลานโนไซต์มีโอกาสที่จะส่งผ่านเมลานินมายังผิวชั้นบนได้น้อยลง จุดต่างคำจึงค่อยๆ จางลง

- รกแกะ (Placenta extracts) ออกฤทธิ์ที่ช่วงต้นของกระบวนการสร้างเมลานิน คือ จะเข้ายับยั้งการสร้างเอนไซม์ไทโรซิเนสทำให้กระบวนการเปลี่ยนสารต้นแบบไทโรซินไปเป็น DOPA ไม่สามารถเกิดขึ้นได้ และยังมีส่วนช่วยกระตุ้นกลไกการผลิตเซลล์ผิวและการสร้างเซลล์ผิวใหม่

- กรดอาซเลอิก (Azelaic acid) เป็นสารที่สกัดจากธัญพืช เช่น ข้าวสาลี ข้าวบาเลย์ เป็นต้น ในเครื่องสำอางมีการใส่กรดนี้ที่มีความเข้มข้นประมาณ 20% โดยทั่วไปจะใช้ในการรักษาสิว แต่งานวิจัยพบว่าสามารถมีผลต่อการรักษาผิวที่มีสีผิดปกติได้ด้วยและการศึกษาอื่นๆ แสดงอีกว่ากรดอาซเลอิกสามารถขัดขวางการสร้างเม็ดสีเมลานินได้เพราะไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส

แต่โดยปกติแล้วจะพบว่ากรดนี้มีประสิทธิภาพดีในการลดการผลิตเม็ดสีที่มากเกินไปในเซลล์ผิวหนัง เมลาโนไซต์ แต่จะไม่ค่อยมีผลในการลดการผลิตเม็ดสีบนผิวหนังที่ปกติ เช่น กระที่เกิดไปตามอายุที่มากขึ้น ในอเมริกามีการใช้กรดอาซเลอิกความเข้มข้น 20% ในการรักษาผิวและพบว่าความเข้มข้นขนาด 20% นี้ก็จะให้ผลดีพอๆ กันหรือดีกว่า HQ ที่ความเข้มข้น 2% ซึ่งจากเหตุผลเรื่องความปลอดภัยของ HQ จึงทำให้กรดอาซเลอิกมีความน่าสนใจกว่าในการนำมาใช้

- อาบูติน (Arbutin) ช่วยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสนอกจากนี้ยังช่วยยับยั้งการส่งผ่านเม็ดสีที่สมบูรณ์จากระบบการสร้างเม็ดสีไม่ให้ถูกส่งผ่านขึ้นไปยังชั้นผิว Epidermis

2.2.2.5 กลุ่มที่ออกฤทธิ์รบกวนการทำงานของเอนไซม์ D.tautomeras และ D.polymerase

- Kogic acid นอกจากที่กรดโคจิกจะรบกวนการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสแล้วยังรบกวนการทำงานของเอนไซม์ D.tautomeras และ D.polymerase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ใช้ในกระบวนการ Polymerization ของ DHI และ DHICA (รูปที่ 2.1) ในกระบวนการต่างๆของการสร้างเม็ดสี

2.2.3 สารไวเทนนิงที่ออกฤทธิ์ในชั้นหลังจากการสร้างเม็ดสีเมลานิน

- กรดเอเอชเอ (Alpha hydroxy acid ; AHA) กรดเอเอชเอเป็นกรดที่ได้จากธรรมชาติ เรียกว่า กรดผลไม้ซึ่งมีมากมายหลายชนิดออกฤทธิ์โดยการลอกเอาเซลล์ผิวที่อยู่ด้านบนสุดซึ่งตายแล้วออกโดยที่เซลล์ผิวด้านบนสุดนี้เป็นบริเวณที่มีการกระจุกตัวของเม็ดสีเมลานินมากที่สุด

- สารฟอกสี (Depigmenting agents) สำหรับผู้ที่มีอาการทางผิวหนังผิดปกติตั้งแต่กำเนิด (Vitiligo) คือ เม็ดสีบางบริเวณของผิวจะมีสีขาว โดยบริเวณใกล้เคียงกันกลับเป็นสีดำคล้ำกว่าผู้ที่มีความผิดปกติแบบนี้ อาจจะต้องการทำให้ผิวมีสีสม่ำเสมอมากขึ้นโดยใช้สารประกอบอินทรีย์บางอย่าง เช่น โมโนเบนโซน (Monobenzone) เพื่อลดสีผิวที่เข้มส่วนที่เหลือลง อย่างไรก็ตามโมโนเบนโซนทำให้เกิดการทำลายเซลล์ผิวหนังเมลานโนไซต์ และทำลายเม็ดสีอย่างถาวร อีกวิธีหนึ่งที่สามารถช่วยลดเม็ดสีลงได้ คือ เมควินอล (Mequinol) แต่ใช้เวลานานกว่าอย่างไรก็ตามสารเคมีพวกนี้ไม่เหมาะที่จะทำให้สีผิวขาวขึ้นยกเว้นแต่ผู้ที่มีความผิดปกติด้านผิวมาแต่กำเนิด เนื่องจากมีภาวะคายเคืองสูง

- สารปรอท (Mercury) เป็นสารชนิดแรกที่นำมาใช้ในเครื่องสำอางที่ทำให้ผิวขาว โดยปรอทที่เติมลงไปเครื่องสำอางเพื่อเป็นสารออกฤทธิ์ทำให้ผิวขาวขึ้นจะอยู่ในรูปปรอทคลอไรด์ หรือปรอทแอมโมเนีย โดยรวมตัวกับโปรตีนซึ่งเป็นส่วนประกอบของเอนไซม์หรือจับกับไอออนของทองแดงที่มีอยู่ในเอนไซม์ ทำให้สามารถลดการสร้างเมลานินได้ แต่อย่างไรก็ตามการใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของปรอทติดต่อกันเป็นเวลานานจะทำให้มีการสะสมปรอทในผิวหนัง และดูดซึมเข้าสู่กระแสโลหิต ทำให้ตับและไตพิการเป็นโรคโลหิตจาง เป็นต้น ปัจจุบันปรอทจึงถูกกำหนดเป็นสารห้ามใช้ในเครื่องสำอาง

2.3 ไฮโดรควิโนน (Hydroquinone ; HQ) [35 - 39]

ไฮโดรควิโนนมีชื่อเรียกทางเคมีว่า benzene-1,4-diol หรือ 1,4-dihydroxybenzene เป็นสารประกอบอินทรีย์อะโรมาติกประเภทฟีนอล หรือเรียกว่า สารประกอบไฮดรอกซีฟีนอลิก (Hydroxyphenolic compound) มีสูตรเคมีว่า $C_6H_4(OH)_2$ ลักษณะโครงสร้างทางเคมีมีหมู่ไฮดรอกซิล (Hydroxyl group) สองหมู่เชื่อมต่อกับวงเบนซีน ลักษณะการเชื่อมต่อเป็นแบบ para ซึ่งแสดงดังรูปที่ 2.2 สถานะของไฮโดรควิโนนที่อุณหภูมิห้องและความดันบรรยากาศเป็นของแข็งสีขาวเนื้อละเอียด ไม่มีกลิ่น สามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกลายเป็นพาราเบนโซควิโนน (*p*-benzoquinone) หรือที่เรียกว่า *p*-quinone ได้

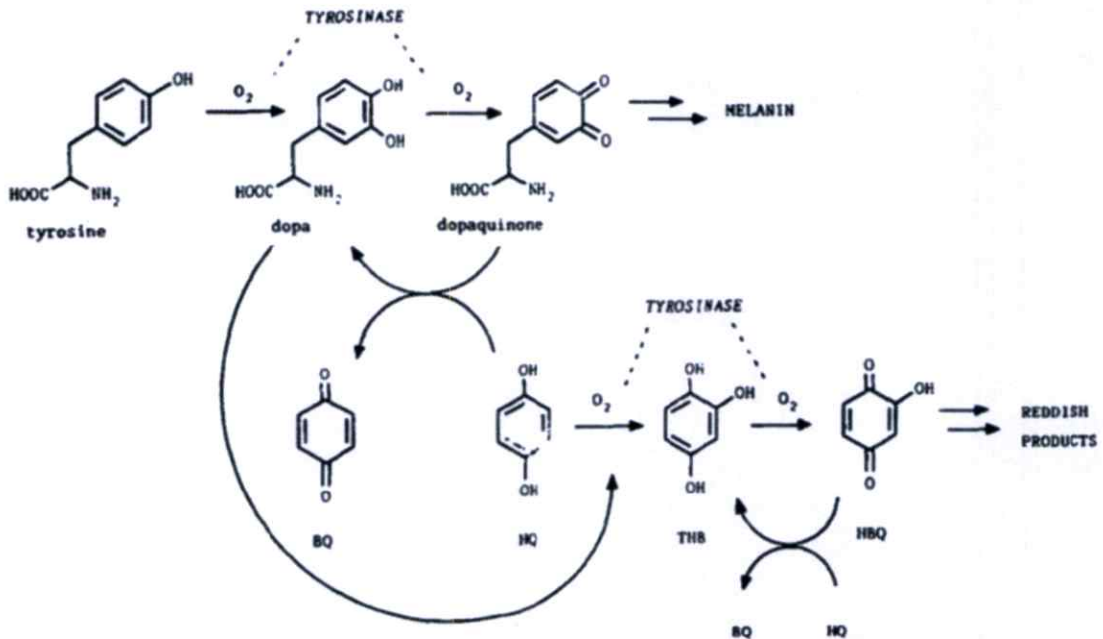


รูปที่ 2.2 โครงสร้างทางเคมีของไฮโดรควิโนน

ไฮโดรควิโนน เป็นสารเคมีซึ่งเป็นที่นิยมในการเตรียมครีมที่ทำให้หน้าขาว ซึ่งทำให้หน้าขาวเร็ว ขาวไว เนื่องจากไฮโดรควิโนนออกฤทธิ์โดยยับยั้งกระบวนการสร้างเม็ดสีของผิวหนัง หรือที่เรียกกันว่าเมลานิน (Melanin) จึงมีผลทำให้ผิวขาวขึ้นได้ การใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของไฮโดรควิโนนนั้นควรใช้กับผู้มีปัญหาฝ้า หรือรอยต่างด่างจากสิวที่รุนแรงและจะต้องมีเปอร์เซ็นต์ของตัวยาที่แน่นอน ระบุอยู่ นอกจากนี้ไฮโดรควิโนนเป็นสารที่ทำให้ปฏิกิริยากับแสงแดด ซึ่งหากทายาที่มีส่วนผสมของไฮโดรควิโนนแล้วไม่ทาครีมกันแดด ฝ้าจะดำกว่าเดิมได้

จากที่กล่าวมาในข้างต้น (หัวข้อ 2.1.1) ในกระบวนการการสร้างเม็ดสีเมลานิน เอนไซม์ไทโรซิเนสทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยา hydroxylation ของกรดอะมิโนแอลไทโรซีนเกิดเป็น DOPA หลังจากนั้น DOPA เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกลายเป็น DOPAquinone และสุดท้ายจะกลายเป็นเม็ดสีเมลานินที่แสดงสีผิวของคนเรา แต่เมื่อมี HQ ในกระบวนการ HQ จะทำให้เกิดปฏิกิริยา 2 ปฏิกิริยาที่ทำให้เอนไซม์ไทโรซิเนสไม่สามารถเปลี่ยนสารตั้งต้นไทโรซีนไปเป็นเมลานินได้ ปฏิกิริยาแรกคือ HQ เกิดปฏิกิริยารีดอกซ์กับ DOPAquinone ทำให้ DOPAquinone เกิดปฏิกิริยาย้อนกลับเป็น DOPA ดั้งเดิม ส่วน HQ เปลี่ยนเป็น benzoquinone (BQ) ซึ่งมีความเสถียรกว่า ทำให้เอนไซม์ไทโรซิเนสไม่สามารถเปลี่ยน DOPAquinone เป็นเมลานินได้ ส่งผลทำให้ผิวมีสีที่อ่อนลง และปฏิกิริยาที่สองเป็นปฏิกิริยาสำคัญที่ทำให้เกิดผลข้างเคียงเมื่อใช้ HQ ในระยะยาว นั่นคือเมื่อมี HQ ในกระบวนการ DOPA จะกลายเป็นสารเร่งปฏิกิริยา hydroxylation ของ HQ เกิดเป็น 1,2,4 - trihydroxybenzene (THB) โดยมีเอนไซม์ไทโรซิเนสเป็นคะตะลิสต์ร่วมในปฏิกิริยา หลังจากนั้นเอนไซม์ไทโรซิเนสจะเร่งปฏิกิริยา dehydrogenation ของ THB เกิดเป็น hydroxybenzoquinone (HBQ) ซึ่งสามารถเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์กับ HQ เปลี่ยน HQ เป็น BQ และ HBQ เกิดปฏิกิริยาย้อนกลับเป็น THB นอกจากนี้ HBQ ยังสามารถเกิดปฏิกิริยา dimerisation กับสารฟีนอลิก และควิโนนอยด์อื่นๆ เกิดเป็นเม็ดสีสีแดงน้ำตาล

(reddish – brown pigment) ซึ่งนั่นกลายเป็นผลข้างเคียงของการใช้ HQ ติดต่อกันเป็นเวลานาน ปฏิกริยาดังกล่าวแสดงในรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 กลไกการยับยั้งกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานินโดยไฮโดรควิโนน [36]

นอกจากนี้ HQ ยังกระตุ้นการสร้าง reactive oxygen species (ROS) ขึ้นมาเพื่อทำลายเยื่อหุ้มและโปรตีนของเอนไซม์ไทโรซิเนส ลดการสร้าง DNA และ RNA ของเซลล์เมลานোসิต ทำให้ HQ เป็นสารไวเทนนิงที่มีประสิทธิภาพสูงสุด แต่อย่างไรก็ตาม HQ ให้ผลข้างเคียงที่อันตรายมากเช่นกัน ซึ่งการใช้ HQ มีผลเสียทั้งแบบฉับพลัน และเรื้อรัง ดังนี้

1. ทำให้เกิดการระคายเคือง แพ้ และเป็นสิว การใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของ HQ จะต้องมีการใช้ครีมกันแดดที่เน้นอ่อนระบอบอยู่ และอยู่ภายใต้การควบคุมของแพทย์

2. เกิดภาวะ rebound ก็คือการที่เกิดฝ้าดำขึ้นกว่าเดิมซึ่งเกิดจากการหยุดใช้ยาที่มี HQ อย่างกะทันหัน เนื่องจากผิวหนังเร่งผลิตเซลล์เม็ดสีมาทดแทนจึงทำให้ผิวคล้ำลงกว่าเดิม และเมื่อเอนไซม์ไทโรซิเนสถูกยับยั้งโดย HQ จะทำให้สารตั้งต้นไทโรซินคั่งอยู่ในเมลานোসิตซึ่งอยู่ใต้ชั้นเยื่อผิวหนัง เมื่อหยุดใช้ HQ กะทันหันจะทำให้ไม่มีตัวยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสประกอบกับไทโรซินที่คั่งอยู่จะทำให้ไทโรซินถูกเปลี่ยนเป็นเมลานินอย่างรวดเร็วและมากมายทำให้ผิวกลับมาดำและคล้ำกว่าเดิม ดังแสดงในรูปที่ 2.4 ก นอกจากนี้ HQ ยังมีข้อเสียคือ ไม่คงสภาพถูกออกซิไดส์ได้ง่ายเมื่อถูกแสงแดดและอากาศ โดยเปลี่ยนจากสีขาวเป็นสีน้ำตาล

3. เกิดฝ้าเส้นเลือด (Telangiectatic melasma) หรืออาจเรียกว่าหลอดเลือดโป่งพอง หรือหยุดนิ่ง เป็นสภาวะที่เส้นเลือดฝอยขยายตัวแบบถาวร ทำให้เกิดเป็นแผลแดงใต้ผิวหนัง ลักษณะของ telangiectasias ที่สามารถสังเกตเห็นบนผิวหนังคือ เป็นเส้นเลือดที่ไม่มีชีพจร มีสีแดงโป่ง หรือมีลักษณะเป็นตาข่ายเส้นเลือด แสดงดังรูปที่ 2.4 ข

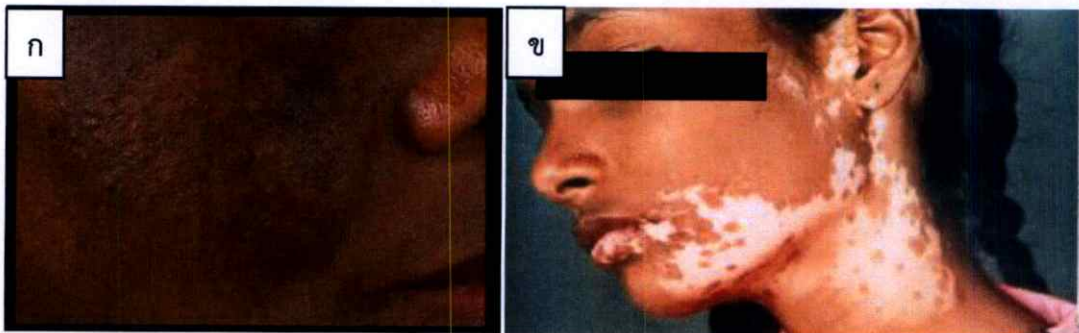


รูปที่ 2.4 ผิวหน้าผู้ป่วยที่รักษาฝ้าด้วยยาที่มีไฮโดรควิโนน (ก) มีเม็ดสีเมลานินสีน้ำตาลเพิ่มมากขึ้น และ (ข) มีฝ้าเส้นเลือดบนผิวแก่้ม [37]

4. หากใช้เครื่องสำอางหรือยาที่มี HQ อย่างต่อเนื่องและใช้เป็นระยะเวลาเวลานานจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อภายในผิวหนัง เกิดเป็นโรคผิวหนัง ได้แก่

- chronosis หรือ defiguring effect คือ ฝ้าถาวรสีน้ำตาลเงินอมดำ ลักษณะเป็นตุ่มนูน อยู่บริเวณโหนกแก้ม และสันจมูก ซึ่งเป็นบริเวณที่ทา HQ บ่อยๆ ซึ่ง HQ ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ homogentisic oxidase ซึ่งทำหน้าที่ออกซิไดซ์ homogentisic acid ในการเมตาบอลิท์ (Metabolite) ของไทโรซินทำให้เกิดการสะสม homogentisic acid ในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน และเกิดพอร์เมอริไรซ์เป็นเม็ดสีส้มแดงในผิวชั้น dermis และในบางรายเกิดการสะสมจนกลายเป็นตุ่มนูน สีน้ำตาลเข้มคล้ายกับไข่ปลาการ์เวียร์ (caviar – like) ดังแสดงในรูปที่ 2.5 ก

- leukoderma หรือโรคต่างขาว เป็นโรคผิวหนังชนิดหนึ่งซึ่งมีลักษณะของการสูญเสียความสามารถในการสร้างเม็ดสีเมลานิน เนื่องจากเมลานโอไซต์ตาย หรือไม่สามารถทำงานได้ตามปกติ ดังที่ได้กล่าวมาข้างต้น HQ กระตุ้นการสร้าง ROS ขึ้นมาเพื่อทำลายเยื่อหุ้มและโปรตีนของเอนไซม์ไทโรซิเนส ทำให้ไทโรซินค้างอยู่ในเมลานโอไซต์นอกจากนี้ HQ ยังลดการสร้าง DNA และ RNA ของเซลล์เมลานโอไซต์ ทำให้เมลานโอไซต์ถูกทำลายอย่างถาวร ดังนั้นการใช้ HQ อย่างต่อเนื่องและใช้เป็นระยะเวลาเวลานานจึงทำให้เกิดโรคต่างขาวได้ ลักษณะสีผิวของผู้ป่วยโรคต่างขาวที่เกิดจากการใช้HQ แสดงดังรูปที่ 2.5 ข



รูปที่ 2.5 (ก) ฝ้าถาวรสีน้ำตาลเข้ม มีลักษณะเป็นตุ่มนูน (caviar – like) และ (ข) ลักษณะสีผิวของผู้ป่วยโรคต่างขาวที่เกิดจากการใช้ไฮโดรควิโนนเป็นระยะเวลา

(<http://www.biohopethai.com/อันตรายจากสารไฮโดรควิโนน>)

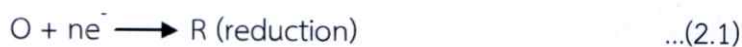
5. เพิ่มโอกาสเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งผิวหนังเมื่อใช้เครื่องสำอางหรือยาที่มี HQ อย่างต่อเนื่อง และใช้เป็นระยะเวลานาน เนื่องจากมีการศึกษาและทดลองในหนูทดลองพบว่า HQ มีความเป็นพิษ โดยมีค่า LD50 orally in rats มากกว่า 320 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวหนู 1 กิโลกรัม [39] และยังพบว่า HQ มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์และก่อมะเร็งในหนูทดลองอีกด้วย

2.4 หลักการพื้นฐานทางเคมีไฟฟ้า [40,41]

เคมีไฟฟ้าเป็นความสัมพันธ์ระหว่างไฟฟ้ากับการเปลี่ยนแปลงทางเคมี เซลล์เคมีไฟฟ้าจะต้องประกอบด้วยสามองค์ประกอบหลักที่สำคัญ ได้แก่ ขั้วไฟฟ้าอย่างน้อย 2 ขั้ว คือขั้วไฟฟ้าทำงาน (working electrode, WE) และขั้วไฟฟ้าอ้างอิง (Reference electrode, RE) ซึ่งปริมาณทางไฟฟ้ามีการส่งผ่านจากปฏิกิริยาเคมีที่ขั้วไฟฟ้าทำงานเทียบกับขั้วไฟฟ้าอ้างอิง (Reference electrode, RE) ส่วนที่สองคือ อุปกรณ์ทางเคมีไฟฟ้า ทำหน้าที่ตรวจรับหรือให้สัญญาณปริมาณทางเคมีไฟฟ้า (potentiostat) และส่วนที่สาม คือ สารละลายอิเล็กโทรไลต์ (Electrolyte) ละลายอยู่เพื่อการนำไฟฟ้าในสารละลาย

โดยทั่วไปขั้วเคมีไฟฟ้าเป็นอุปกรณ์ที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้นที่ขั้วไฟฟ้าด้วยสมบัติดังต่อไปนี้

1. ปฏิกิริยารีดอกซ์ (Redox reaction) คือ ปฏิกิริยาที่มีการถ่ายโอนอิเล็กตรอนด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือรีดักชัน ตัวอย่างเช่น สมการต่อไปนี้



โดย O เป็นสารออกซิไดซ์ (Oxidize) เกิดปฏิกิริยารีดักชัน (Reduction) และ R เป็นสารรีดิวซ์ (Reduce) เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation)

2. ปฏิกิริยา Heterogenous คือ ปฏิกิริยาเกิดขึ้นระหว่างผิวหน้าขั้วไฟฟ้ากับสารละลายด้วยกระบวนการถ่ายเทมวลอิเล็กตรอน ดังสมการต่อไปนี้



3. กระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาดังกล่าว หรือกระแสไฟฟ้าเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาดังกล่าว จะมีการส่งผ่านสู่เซลล์เคมีไฟฟ้า

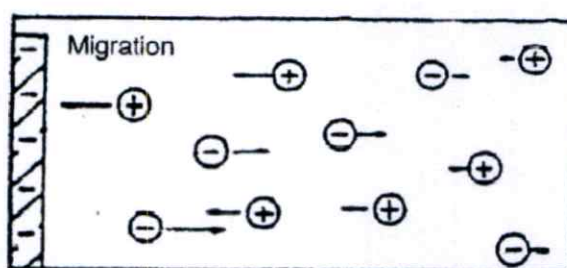
4. ปริมาณกระแสไฟฟ้าจะถูกควบคุมด้วยกระบวนการถ่ายเทมวล ซึ่งมีด้วยกัน 3 ลักษณะ คือ ไมเกรชัน (Migration) การแพร่ (Diffusion) และการพา (Convection) รวมถึงจลนศาสตร์ของปฏิกิริยาการถ่ายเทอิเล็กตรอน

2.4.1 การถ่ายเทมวลในสารละลาย (Mass transfer)

มวลในสารละลายซึ่งอาจจะเป็นไอออนหรือโมเลกุลถูกพาไปยังผิวหน้าขั้วไฟฟ้าได้ด้วยกัน คือ ไมเกรชัน(Migration) การแพร่ (Diffusion) และการพา (Convection) กระบวนการถ่ายเทมวลทั้ง 3 กลไกนี้เกิดขึ้นกับขั้วไฟฟ้าบวก (Anode) และขั้วไฟฟ้าลบ (Cathode)

2.4.1.1 ไมเกรชัน (Migration)

ไมเกรชัน (Migration) เป็นการเคลื่อนที่ของไอออนหรือสปีชีส์ต่างๆ ที่มีประจุเข้าหาขั้วไฟฟ้า (Electrode) ตามแรงดึงดูดทางไฟฟ้าสถิตหรือภายใต้สนามไฟฟ้าที่เกิดขึ้นจากศักย์ไฟฟ้าภายนอกที่ให้กับขั้วไฟฟ้า คือ พวกที่มีประจุบวกเคลื่อนที่ไปยังขั้วไฟฟ้าลบ (Cathode) และพวกที่มีประจุไฟฟ้าลบเคลื่อนที่ไปยังขั้วไฟฟ้าบวก (Anode) ดังแสดงในรูปที่ 2.6

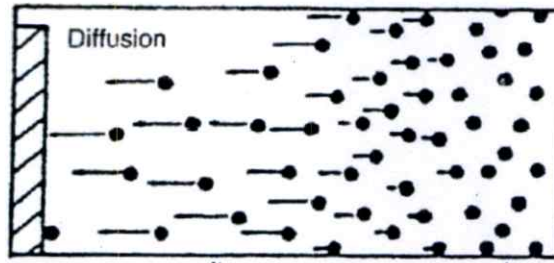


รูปที่ 2.6 แสดงการเคลื่อนที่ของไอออนแบบไมเกรชัน [40]

กระแสที่เกิดขึ้นเรียกว่า กระแสไมเกรชัน (Migration current) ซึ่งเป็นกระแสที่ไม่มี ความสำคัญในการวิเคราะห์เคมีเชิงไฟฟ้า (Analysis of electrochemistry) บางวิธีวิเคราะห์ต้องมีการกำจัดการเคลื่อนที่แบบนี้ของสารที่ต้องการวิเคราะห์โดยเติมสารละลายอิเล็กโทรไลต์ช่วย (Supporting electrolyte) ซึ่งเป็นสารละลายอิเล็กโทรไลต์แก่และเฉื่อยต่อการเกิดปฏิกิริยาโดยต้องเติมในปริมาณที่เข้มข้นมากกว่าสารละลายตัวอย่าง 50 ถึง 100 เท่า

2.4.1.2 การแพร่ (Diffusion)

การแพร่ (Diffusion) คือ เป็นการเคลื่อนที่ของไอออนหรือสปีชีส์ต่างๆ ที่มีประจุเข้าหาขั้วไฟฟ้าที่เกิดขึ้นเองได้ เนื่องจากความแตกต่างของความเข้มข้นโดยเคลื่อนที่จากบริเวณที่ สารละลายมีความเข้มข้นสูงไปยังบริเวณที่สารละลายมีความเข้มข้นต่ำกว่าเพื่อลดความแตกต่างของ ความเข้มข้นดังแสดงในรูปที่ 2.7 เป็นการเคลื่อนที่ของไอออนสารละลายไปยังขั้วไฟฟ้า ทำให้เกิด กระแสที่เรียกว่า กระแสแพร่ จัดเป็นกระแสฟาราดีก (Faradaic current) กระแสการแพร่นี้ขึ้นกับ อัตราการเคลื่อนที่ของไอออนและอัตราการเกิดปฏิกิริยาที่ขั้วไฟฟ้า จัดเป็นกระแสที่มีความสำคัญใน การวิเคราะห์เคมีไฟฟ้า



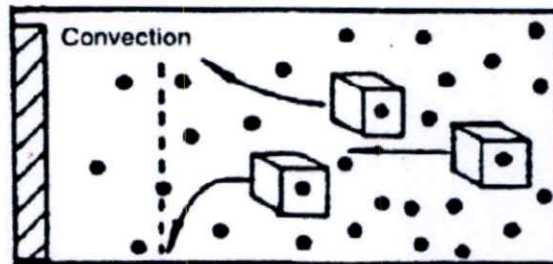
รูปที่ 2.7 แสดงการนำพามวลสารจากชั้นสารละลายไปยังผิวหน้าขั้วไฟฟ้าด้วยการแพร่ [40]

ปัจจัยที่มีผลต่อการแพร่ ได้แก่

1. ความเข้มข้นของสารละลาย คือ สารละลายที่เข้มข้นสูงจะแพร่ได้มาก
2. อุณหภูมิ คือ การเพิ่มอุณหภูมิทำให้การแพร่เป็นไปได้เร็วขึ้น
3. ความดัน คือ การเพิ่มความดันช่วยให้โมเลกุลหรือไอออนของสารเคลื่อนที่ได้ดีขึ้น
4. สิ่งเจือปนอื่นๆ คือ ที่ปนอยู่ในสารจะเป็นอุปสรรคขัดขวางทำให้การแพร่เกิดช้าลง
5. การดูดติดของสารอื่น คือ ถ้าโมเลกุลหรือไอออนของสารที่แพร่ถูกดูดติดองค์ประกอบของสารต่างๆ จะทำให้ความสามารถในการแพร่ลดลง

2.4.1.3 การพา (Convection)

การพา (Convection) เป็นการเคลื่อนที่เนื่องจากแรงทางกายภาพทำให้เกิดการไหลเวียนของสารละลาย เช่น การคน หรือการกวนสารละลาย การหมุน หรือการสั่นของขั้วไฟฟ้า หรือเนื่องจากความแตกต่างของความหนาแน่นของสาร ทำให้เกิดการเคลื่อนที่แบบการพา เรียกว่า การพาโดยธรรมชาติ (Natural convection) ดังแสดงในรูปที่ 2.8



รูปที่ 2.8 แสดงการนำพามวลสารจากชั้นสารละลายไปยังผิวหน้าขั้วไฟฟ้าด้วยการพา [40]

กระแสที่เกิดขึ้นเรียกว่า กระแสการพาหรือกระแสคอนเวกชัน (Convection current) ซึ่งเป็นกระแสที่ไม่ค่อยมีความสำคัญเท่าใดนักในการวิเคราะห์เคมีเชิงไฟฟ้า บางวิธีวิเคราะห์อาจต้องมีการกำจัดเคลื่อนที่แบบนี้โดยการหยุดคนหรือกวนสารละลายขณะการวัด

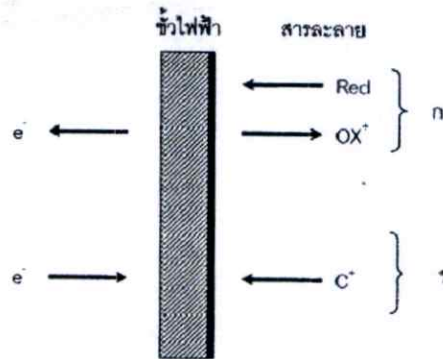
2.4.2 กระบวนการที่ผิวหน้าขั้ว

กระบวนการที่เกิดขึ้นที่ขั้วไฟฟ้าแบ่งเป็นประเภทใหญ่ๆ ได้ 2 ประเภทดังนี้

1. ในกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับการถ่ายโอนอิเล็กตรอนระหว่างขั้วไฟฟ้ากับสารละลายที่ต้องการวิเคราะห์โดยผ่านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ขั้วไฟฟ้าหนึ่ง และปฏิกิริยารีดักชันที่อีกขั้วไฟฟ้าหนึ่ง กระบวนการนี้เรียกว่า กระบวนการฟาราเดอิก (Faradaic current process) และกระแสที่เกิดขึ้น

เรียกว่า กระแสฟาราเดอิก (Faradaic current, I_{far}) ซึ่งเป็นไปตามกฎของฟาราเดย์ที่กล่าวว่า “ปริมาณของประจุ (อิเล็กตรอน) ที่เกี่ยวข้องในปฏิกิริยาเคมีไฟฟ้าเป็นสัดส่วนตรงกับกระแส”

เมื่อวัดกระแสฟาราเดอิกที่เกิดขึ้นจากสารที่ต้องการวิเคราะห์ซึ่งถูกรีดิวซ์ (Reduced) ดังแสดงในรูปที่ 2.9 ก. หรือถูกออกซิไดซ์ (Oxidized) ที่ขั้วไฟฟ้าทำให้ทราบจำนวนอิเล็กตรอนที่เกี่ยวข้องในปฏิกิริยาและสามารถนำไปหาปริมาณสารที่ต้องการวิเคราะห์ได้ตามหลักปริมาณสารสัมพันธ์ ดังนั้นกระแสฟาราเดอิก จึงจัดเป็นสัญญาณการวิเคราะห์ชนิดหนึ่งในเทคนิคการวิเคราะห์เชิงไฟฟ้า

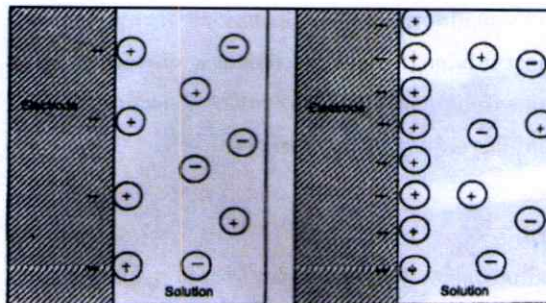


รูปที่ 2.9 รูปแบบแสดงกระบวนการที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้า

ก. กระบวนการฟาราเดอิก $\text{Red} \leftrightarrow \text{OX}^+ + e^-$

ข. กระบวนการอัดประจุ (นอนฟาราเดอิก)

2. กระบวนการที่เกี่ยวข้องกับการดูดซับ (Adsorption) ของไอออนที่มีประจุตรงข้ามกับขั้วไฟฟ้าที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้าแต่ไม่ข้ามรอยต่อระหว่างขั้วไฟฟ้ากับสารละลาย และไม่มีปฏิกิริยาการถ่ายโอนอิเล็กตรอนเกิดขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 2.9 ข. กระบวนการนี้ทำให้บริเวณรอยต่อเปรียบเสมือนตัวเก็บประจุ (Electric capacitor) ดังแสดงในรูปที่ 2.10 จึงเรียกกระบวนการอัดประจุ (Charging process) หรือ กระบวนการนอนฟาราเดอิก (Nonfaradaic process) เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นในช่วงระยะเวลาสั้นๆ



รูปที่ 2.10 แสดงกระบวนการดูดซับหรือกระบวนการอัดประจุที่รอยต่อเมื่อให้ศักย์ไฟฟ้าเป็นค่าลบกับขั้วไฟฟ้า

องค์ประกอบของสารละลายที่ไม่ใช่องค์ประกอบที่ต้องการวิเคราะห์มักเกิดกระบวนการอัดประจุ (Charging process) ดังนั้นกระแสที่เกิดขึ้นจึงเป็นสัญญาณรบกวนของการวิเคราะห์ด้วยเทคนิควิเคราะห์เชิงไฟฟ้าเคมี ดังนั้นต้องนำกระแสที่วัดได้ (I) มาหักลบด้วยกระแสอนุพาราเดอิก (I_{chg}) จึงจะได้กระแสที่เกิดจากปฏิกิริยาการถ่ายโอนอิเล็กตรอนของสารที่ต้องการวิเคราะห์ หรือกระแสพาราเดอิก (I_{far}) ดังสมการต่อไปนี้

$$I_{\text{far}} = I - I_{\text{chg}} \quad \dots(2.6)$$

2.4.3 สารละลายอิเล็กโทรไลต์ช่วย (Supporting electrolyte)

สารละลายในเซลล์ไฟฟ้าเคมี นอกจากจะมีสารละลายตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์แล้วยังต้องมีสารละลายอิเล็กโทรไลต์ช่วย โดยใช้ปริมาณมากกว่าสารละลายตัวอย่าง 50 หรือ 100 เท่า เพื่อที่จะให้เกิดกระบวนการแพร่ของไอออนตรงผิวหน้าขั้วไฟฟ้ามากที่สุด และให้เกิดกระบวนการไมเกรชันของไอออนตรงผิวหน้าขั้วไฟฟ้าน้อยที่สุดหรือแทบจะไม่เกิดขึ้นเลย นั่นคืออัตราส่วนของกระแสไมเกรชัน (I_m) ต่อกระแสของการแพร่ (I_d) มีค่าน้อยมากๆ สารละลายอิเล็กโทรไลต์ช่วยควรเตรียมจากสารที่มีความบริสุทธิ์สูงและไม่ถูกออกซิไดส์ หรือถูกรีดิวซ์ได้ง่าย ความเข้มข้นของสารละลายที่อยู่ในช่วง 0.1 ถึง 1.0 โมลาร์ หน้าที่ของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ช่วย มีดังนี้คือ ช่วยลดความต้านทานของสารละลาย ช่วยนำไฟฟ้าในกรณีสารตัวอย่างนำไฟฟ้าได้น้อย ช่วยขจัดโลหะไอออนแทรกซ้อนที่ปนมาในสารละลาย ช่วยป้องกันการเกิดไมเกรชันช่วยทำหน้าที่เป็นสารละลายบัฟเฟอร์ (ช่วยปรับหรือรักษาความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของสารละลายให้คงที่)

2.4.4 ขั้วไฟฟ้า (electrode)

2.4.4.1 ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง (Reference electrode: RE)

เป็นขั้วไฟฟ้าที่ใช้เทียบศักย์ไฟฟ้าที่ให้กับขั้วไฟฟ้าใช้งาน ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงนี้จะมีค่าศักย์ที่แน่นอนไม่แปรเปลี่ยนหรือขึ้นกับการเปลี่ยนแปลงของกระแสไฟฟ้าในวงจร ไม่ขึ้นกับส่วนประกอบของสารตัวอย่าง ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงที่ดีต้องมีส่วนประกอบคงตัว ไม่เปลี่ยนแปลงง่ายเมื่อเก็บไว้ และไม่มีแปรเปลี่ยนตามอุณหภูมิด้วย ปกติแล้วค่าศักย์ของวงจรที่อ่านได้จากอุปกรณ์วัดสัญญาณไฟฟ้าเป็นค่าที่เกิดจากผลต่างของศักย์จากขั้วไฟฟ้าทั้งสองของวงจร อาจเรียกว่าศักย์ของวงจรที่วัดได้นี้ว่า ค่าศักย์สัมพัทธ์ (Relative potentials) ถ้าขั้วไฟฟ้าตัวหนึ่งของวงจรเป็นขั้วไฟฟ้าอ้างอิงที่รู้ค่าแน่นอน ย่อมทำให้สามารถหาค่าศักย์ของอีกขั้วไฟฟ้าที่ต่อในวงจรซึ่งเป็นขั้วไฟฟ้าใช้งาน

2.4.4.2 ขั้วไฟฟ้าช่วย (Counter electrode: CE)

จะมีคุณลักษณะที่เฉพาะ คือ ทำหน้าที่เป็นตัวนำไฟฟ้าที่ดี เป็นขั้วที่รับพลังงานไฟฟ้าจากขั้วไฟฟ้าทำงานที่ได้จากการเกิดปฏิกิริยาเคมีของสารตัวอย่างที่ขั้วไฟฟ้าจุ่มอยู่ แล้วส่งต่อพลังงานที่รับได้เข้าสู่เครื่องวัดคุม โดยศักย์ไฟฟ้าช่วยนี้ไม่มีส่วนเกี่ยวข้องหรือไม่มีการเปลี่ยนแปลงใดๆ เกิดขึ้นในขณะเกิดปฏิกิริยาของสารตัวอย่างระหว่างการวิเคราะห์ ขั้วไฟฟ้าช่วยมักมีพื้นที่ผิวมากๆ เพื่อให้การนำไฟฟ้าเป็นไปได้ดี วัสดุที่ใช้ทำขั้วไฟฟ้าชนิดนี้ ได้แก่ ลวดแพลทินัมหรือแผ่นแพลทินัม กลาสซีคาร์บอน และกราไฟต์

2.4.4.3 ขั้วไฟฟ้าใช้งาน (Working electrode: WE)

ขั้วไฟฟ้าใช้งาน ในกลุ่มการวิเคราะห์โวลแทมเมตรี ขั้วไฟฟ้าใช้งานจะแตกต่างจากการวิเคราะห์อื่น คือขนาดของขั้วไฟฟ้าต้องเล็ก เพื่อให้พื้นที่ผิวของขั้วไฟฟ้าในการสัมผัสกับสาร

ตัวอย่างมีน้อย เกิดสภาวะของโพลาริเซชันตลอดการวิเคราะห์ โดยส่วนใหญ่จะนิยมที่ทำมาจากแพลทินัม (Pt) หรือคาร์บอน (C) หรือปรอท (Hg) เป็นต้น ซึ่งขั้วไฟฟ้าใช้งานที่ดีควรจะให้ค่าสัญญาณต่อสัญญาณรบกวนที่สูง รวมทั้งมีการตอบสนองที่คงที่ เชื่อถือได้ตลอดอายุการใช้งาน และสิ่งที่จะต้องพิจารณาในการเลือกวัสดุที่ใช้ทำขั้วไฟฟ้าใช้งาน คือ ลักษณะของปฏิกิริยรีดอกซ์ของสารตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์และกระแสพื้นในช่วงศักย์ไฟฟ้าที่ใช้งาน โดยปัจจัยย่อยอื่นๆ ที่นำมาพิจารณาด้วย เช่น ช่วงของศักย์ไฟฟ้าที่ใช้งานได้ ค่าการนำไฟฟ้า ราคา ความยากง่ายในการหา และความเป็นพิษ เป็นต้น

2.5 โวลแทมเมตรี [42,43]

โวลแทมเมตรี (Voltammetry) เป็นวิธีการวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้าชนิดอนโพเทนชิโอเมตริก (non-potentiometric electroanalysis) หมายถึง กลุ่มของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้าที่อาศัยความสัมพันธ์ของกระแสกับศักย์ไฟฟ้า (current-voltage) โดยการเปลี่ยนแปลงศักย์ไฟฟ้าที่ให้แกขั้วทำงาน (working electrode) ขนาดเล็กที่มีพื้นที่ผิวเป็นตารางมิลลิเมตร และปราศจากการคนสารละลาย จะมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกระแสขึ้นเนื่องจากเกิดโพลาริเซชัน (Polarization) ที่ขั้วทำงานขนาดเล็กนั้น กระแสที่เกิดขึ้นนี้แปรผันโดยตรงกับความเข้มข้น จึงทำให้สามารถนำวิธีนี้มาประยุกต์ใช้ในการหาปริมาณได้

2.5.1 เซลล์โวลแทมเมตรี (Cell voltammetry)

เซลล์โวลแทมเมตรี (Cell voltammetry) เป็นเทคนิคที่มักใช้เรียกเซลล์เคมีไฟฟ้าในกลุ่มการวิเคราะห์โวลแทมเมตรี ประกอบด้วยขั้วไฟฟ้า และสารละลายอิเล็กโทรไลต์ โดยแตกต่างไปจากการทำโพเทนชิโอเมตรี (Potentiometry) คือตรงส่วนของขั้วไฟฟ้าที่ใช้ในการทำโวลแทมเมตรี มักประกอบด้วยขั้วไฟฟ้าอ้างอิง (Reference electrode, RE) ขั้วไฟฟ้าใช้งาน (Working electrode, WE) และขั้วไฟฟ้าช่วยหรือขั้วไฟฟาร่วม (Auxiliary electrode, AE) ที่จุ่มอยู่ในสารละลายที่มีสารตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ และสารอิเล็กโทรไลต์ที่ไม่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยา ซึ่งมักเรียกเป็นสารอิเล็กโทรไลต์ช่วยหรือเกลือหนุน (supporting electrolyte) สารอิเล็กโทรไลต์ช่วยมักใช้ในปริมาณที่มากเกินไป ซึ่งเซลล์ไฟฟ้าเคมีประกอบด้วยสารละลายอิเล็กโทรไลต์และขั้วไฟฟ้า

2.5.2 เทคนิคการวิเคราะห์ในกลุ่มโวลแทมเมตรี

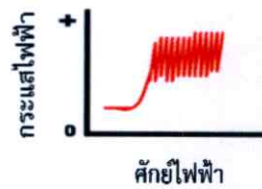
1. โพลาริกราฟี (Polarography)

โพลาริกราฟี (Polarography) เป็นเทคนิคของกลุ่มโวลแทมเมตรี (เป็นเทคนิคแรกของการวิเคราะห์โดยโวลแทมเมตรี) ที่มีการใช้ขั้วไฟฟ้าแบบหยดปรอทเป็นขั้วไฟฟ้าใช้งาน เทคนิคนี้เป็นที่นิยมอย่างแพร่หลายและเป็นวิธีที่ง่ายที่สุด สำหรับการวิเคราะห์โพลาริกราฟีนี้ศักย์ที่ให้กับขั้วไฟฟ้าจะเป็นแบบ linear-scan นั่นคือ ให้ศักย์กับวงจรในอัตราเร็วที่คงที่หรืออาจกล่าวได้ว่าเป็นการเพิ่มศักย์อย่างเป็นเส้นตรงตามเวลา



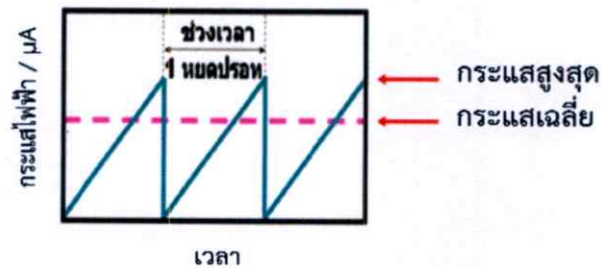
รูปที่ 2.11 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างศักย์ไฟฟ้ากับเวลาแบบเทคนิคโพลารोगราฟิ

สำหรับศักย์ที่ให้กับวงจร จะต้องเลือกให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสมโดยใช้ voltametric analyzer เป็นตัวควบคุม รวมถึงวัดกระแสที่เกิดขึ้นด้วย โพลารोगรามของวิธีโพลารोगราฟิ แสดงได้ดังรูปที่ 2.12



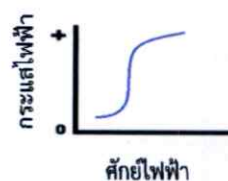
รูปที่ 2.12 โพลารोगรามของเทคนิคโพลารोगราฟิ

สาเหตุที่โพลารोगรามที่ได้เป็นแบบฟันเลื่อย ก็เนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงของกระแสระหว่างการหยุดปรอทเกิดการแกว่งกวัดของกระแสขึ้น โดยกระแสเริ่มเกิดเมื่อมีการปล่อยปรอทจากปลายหลอดรูเล็กและกระแสขึ้นสูงสุด เมื่อปรอทถูกปล่อยออกมาเต็มหยุดพร้อมที่จะหยุดลงในสารละลาย ดังรูปที่ 2.13



รูปที่ 2.13 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างกระแสกับเวลา เมื่อมีการหยุดปรอท

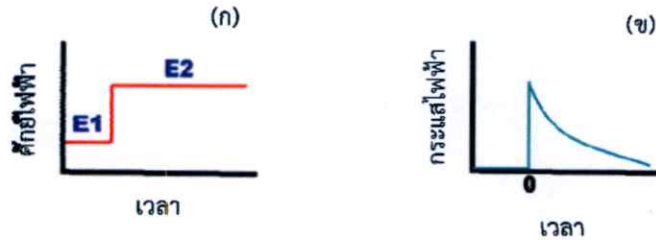
อย่างไรก็ตาม เพื่อแก้ปัญหาดังกล่าว จึงมีการพัฒนาวิธีโพลารोगราฟิแบบใหม่ที่เรียกว่า การทำแทสท์โพลารोगราฟิ โดยการควบคุมบันทึกกระแสก่อนที่จะหยุดออกมาจากปลายหลอดรูเล็กในแต่ละหยุด ทำให้โพลารोगรามที่ได้ไม่เกิดสภาพของฟันเลื่อย ดังรูปที่ 2.14



รูปที่ 2.14 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างกระแสกับศักย์ไฟฟ้า โดยการทำแทสท์โพลารोगราฟิ

2. แอมเพอโรเมทรี (Amperometry)

เทคนิคแอมเพอโรเมทรี เป็นเทคนิคการวิเคราะห์โดยให้ศักย์คงที่แก่ขั้วไฟฟ้าใช้งาน โดยค่าศักย์ที่ให้แก่วงจรนั้นต้องมีค่าที่เพียงพอที่จะทำให้สารตัวอย่างสามารถเกิดปฏิกิริยาที่ผิวหน้าของขั้วไฟฟ้าได้สำหรับค่าศักย์ที่ให้แก่วงจร แสดงได้ดังรูป 2.15 (ก) และกราฟที่ได้จากการวิเคราะห์โดยเทคนิคแอมเพอโรเมทรี แสดงได้ดังรูป 2.15 (ข)



รูปที่ 2.15 (ก) กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างศักย์ไฟฟ้ากับเวลา และ (ข) กราฟที่ได้จากการวิเคราะห์โดยเทคนิคแอมเพอโรเมทรี

จากรูป จะเห็นว่าเมื่อเวลาผ่านไปกระแสจะลดลง ทั้งนี้เนื่องจากความเข้มข้นของสารตั้งต้นลดลง หรืออาจไม่มีสารตั้งต้นเหลืออยู่เลยก็เป็นได้ความสัมพันธ์ของค่ากระแสที่ลดลงต่อเวลาที่เพิ่มขึ้น แสดงความสัมพันธ์ทางคณิตศาสตร์ได้ดังสมการ

$$i(t) = kt^{-1/2} \quad \dots(2.7)$$

เมื่อ i = กระแส

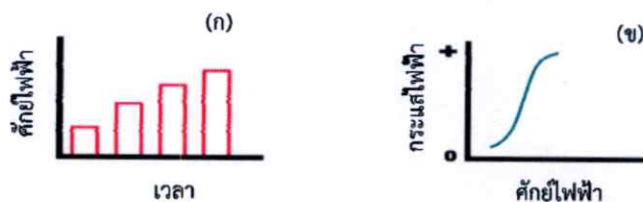
t = เวลา

k = ค่าคงที่

3. พัลส์โวลแทมเมทรี (Pulse Voltammetry)

3.1 พัลส์ปกติ (Normal pulse)

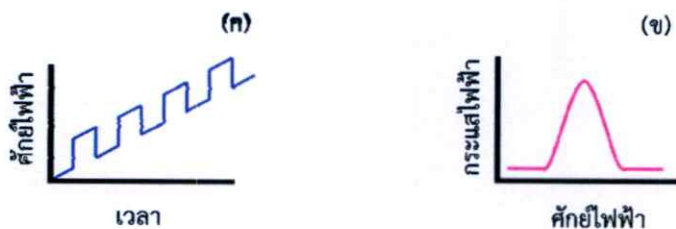
เป็นการให้ศักย์กับวงจรวัดไฟฟ้าในช่วงเวลาสั้น ๆ ต่อทุกหยดของปรอท โดยศักย์ที่ให้นี้มีขนาดเพิ่มขึ้นอย่างสม่ำเสมอกับเวลา สำหรับการวัดกระแสต้องวัดในช่วงเวลาที่หยดปรอทใกล้จะหยดออกจากปลายแก้ว ซึ่งกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างศักย์ไฟฟ้ากับเวลาของพัลส์โวลแทมเมทรีแบบพัลส์ปกติ แสดงดังรูปที่ 2.16 (ก) และพัลส์โวลแทมโมแกรมที่ได้จะคล้ายกับโพลารแกรมจากวิธีแอสท์ ดังรูปที่ 2.16 (ข)



รูปที่ 2.16 (ก) กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างศักย์ไฟฟ้ากับเวลา และ (ข) กราฟแสดงโวลแทมโมแกรมของพัลส์โวลแทมเมทรีแบบพัลส์ปกติ

3.2 ดิฟเฟอเรนเชียลพัลส์ (differential-pulse voltammetry)

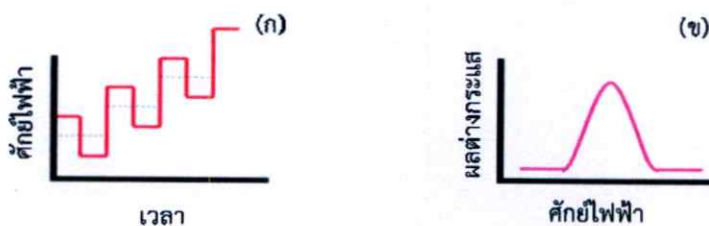
เทคนิคดิฟเฟอเรนเชียลพัลส์โวลแทมเมทรี เป็นเทคนิคที่มีประโยชน์อย่างมากในการตรวจวัดสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ที่มีปริมาณน้อย ๆ สำหรับสัญญาณกระตุ้นในลักษณะของดิฟเฟอเรนเชียลพัลส์ เป็นการเพิ่มศักย์ที่คงที่ในลักษณะของพัลส์ให้กับขั้วไฟฟ้าที่รับศักย์ปกติในรูปลิเนียร์-สแกนอยู่แล้ว แสดงดังรูปที่ 2.17 (ก) และพัลส์โวลแทมโมแกรมที่ได้จะมีลักษณะเป็นพีคแสดงดังรูปที่ 2.17 (ข)



รูปที่ 2.17 (ก) กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างศักย์ไฟฟ้ากับเวลา และ (ข) กราฟแสดงโวลแทมโมแกรมของพัลส์โวลแทมเมทรีแบบดิฟเฟอเรนเชียล

3.3 สแควร์เวฟ (Square wave)

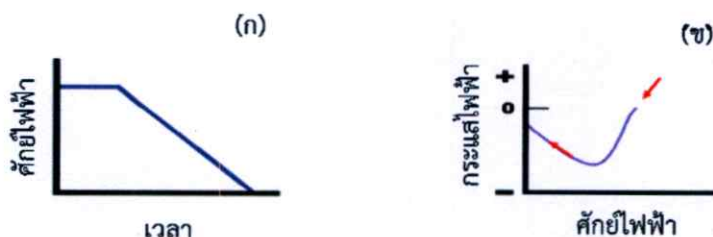
สแควร์เวฟโวลแทมเมทรี จะให้สัญญาณกระตุ้น (ศักย์ที่ต่างจากพัลส์ทั้งสองแบบที่กล่าวมาคือให้สัญญาณกระตุ้นกับวงจรไฟฟ้าเป็นช่วง ๆ สำหรับวิธีนี้จะให้หยุดปรอทแค่หนึ่งหยุด เป็นขั้วไฟฟ้าใช้งาน และเวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์เป็นช่วงเวลาสั้น ๆ รูปแบบสัญญาณกระตุ้นแบบพัลส์สแควร์เวฟแสดงได้ดังรูปที่ 2.18 (ก) และโวลแทมโมแกรมที่ได้ แสดงได้ดังรูปที่ 2.18 (ข)



รูปที่ 2.18 (ก) กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างศักย์ไฟฟ้ากับเวลา และ (ข) กราฟแสดงโวลแทมโมแกรมของพัลส์โวลแทมเมทรีแบบสแควร์เวฟ

4. สทริปปิงโวลแทมเมทรี (Stripping Voltammetry)

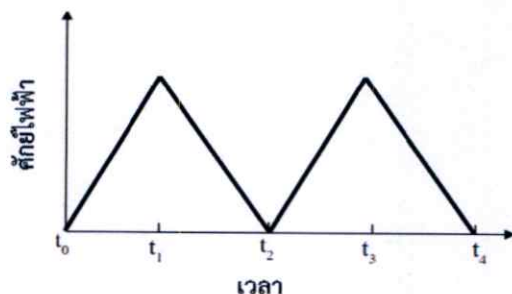
สทริปปิงโวลแทมเมทรี เป็นเทคนิคที่มีความสามารถในการวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้าสูงมาก นั่นคือสามารถวิเคราะห์สารตัวอย่างโลหะปริมาณน้อย ๆ ได้โดยเทคนิคนี้จะเพิ่มขั้นตอนที่ทำให้สารตัวอย่างมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ก่อนที่จะทำการวิเคราะห์โดยวิธีโวลแทมเมทรีต่อไปรูปแบบสัญญาณกระตุ้นแบบสทริปปิง แสดงได้ดังรูปที่ 2.19 (ก) และโวลแทมโมแกรมที่ได้ แสดงได้ดังรูปที่ 2.19 (ข)



รูปที่ 2.19 (ก) กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างศักย์ไฟฟ้ากับเวลา และ (ข) กราฟแสดงโวลแทมโมแกรมที่ได้ของเทคนิคสรีบึงโวลแทมเมทรี

5. ไชคลิกโวลแทมเมทรี (Cyclic Voltammetry)

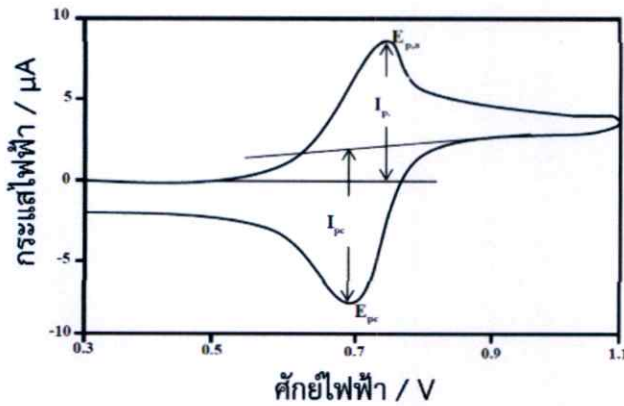
ไชคลิกโวลแทมเมทรี (Cyclic Voltammetry) เป็นเทคนิคที่ได้รับความนิยมอย่างมากเพื่อใช้ในการศึกษาการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีไฟฟ้าของสารบริเวณผิวหน้าขั้วไฟฟ้าทำงานตลอดจนใช้ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการให้ศักย์ไฟฟ้าแก่ขั้วไฟฟ้าทำงาน (Working electrode, WE) การให้ศักย์ไฟฟ้าเป็นไซเคิลที่มีลักษณะเป็นสามเหลี่ยมไปยังขั้วไฟฟ้าที่จุ่มอยู่ในสารละลายที่อยู่นิ่งแล้ว วัดกระแสที่เกิดขึ้น ศักย์ที่ขั้วไฟฟ้าใช้งานจะถูกควบคุมเมื่อเทียบกับขั้วไฟฟ้าอ้างอิงได้แก่ ขั้วไฟฟ้าคาโลเมลล์อิ่มตัว (saturated calomel electrode : SCE) หรือขั้วไฟฟ้าซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์ (silver/silver chloride) เมื่อพลอตกราฟระหว่างแกนตั้งเป็นศักย์ไฟฟ้า และแกนนอนเป็นเวลา เมื่อมีการให้ศักย์ไฟฟ้าเข้าไปในเซลล์ เมื่อเวลาผ่านไปศักย์ที่ให้จะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เรียกศักย์ไฟฟ้านี้ว่า การสแกนไปข้างหน้า (forward scan) เมื่อสแกนไปถึงจุดหนึ่งที่กำหนดไว้ แล้วศักย์ไฟฟ้าก็จะเริ่มลดลงด้วยอัตราการสแกนเท่าเดิมเรียกว่า การสแกนย้อนกลับ (reverse scan) จนกระทั่งศักย์ไฟฟ้ามีค่าเท่ากับศักย์ไฟฟ้าเริ่มต้นจะได้เป็นหนึ่งไซเคิลดังภาพ ไซเคิลที่สองก็จะเริ่มเหมือนกับศักย์ไฟฟ้าที่หนึ่งทุกประการ



รูปที่ 2.20 รูปแบบของศักย์ไฟฟ้าที่ใช้ในไชคลิกโวลแทมเมทรี

ไชคลิกโวลแทมโมแกรมที่วัดได้จากกระแสที่ขั้วไฟฟ้าใช้งานในระหว่างการสแกนศักย์ เมื่อนำมาพลอตกราฟระหว่างกระแส (แกนตั้ง) กับศักย์ไฟฟ้า (แกนนอน) จะได้ดังรูปที่ 2.21 เมื่อพิจารณาพิกัดด้านบนจากจุดยอดของพีคลากเส้นมาตัดแกนศักย์จะได้ตำแหน่งศักย์ของพิกทางด้านพิกแอโนดิก (anodic peak potential) หรือ E_{pa} ซึ่งมีค่าเป็นบวก ในทำนองเดียวกันพิกด้านล่างเป็นกระแสแคโทดิก หรือ E_{pc} (cathodic peak potential) ส่วนความสูงของพิกทางด้านบนคือกระแสของพิก

แอโนดิก (anodic peak current), i_{pa} และความสูงของพีคด้านล่างเป็นกระแสของพีคแคโทดิก (cathodic peak current), i_{pc} ซึ่งกระแสของพีคจะแปรผันตามความเข้มข้นของสาร และตำแหน่ง ศักย์ของพีคเป็นค่าเฉพาะของสารแต่ละตัวเหมือนกับเทคนิคอื่นๆ



รูปที่ 2.21 ไซคลิกโวลแทมโมแกรม

พารามิเตอร์ที่สำคัญในไซคลิกโวลแทมโมแกรมคือ ค่าศักย์ไฟฟ้าสูงสุด (E_{pc} , E_{pa}) และกระแสสูงสุด (i_{pc} , i_{pa}) ของสัญญาณแบบแคโทดิกและแอโนดิก หากปฏิกิริยาที่สารออกซิเดนต์รับอิเล็กตรอน หรือเกิดปฏิกิริยารีดักชัน มีอัตราเร็วเท่ากับสารรีดิวซ์ให้อิเล็กตรอน หรือเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจะเรียกปฏิกิริยาแบบนี้ว่า เป็นปฏิกิริยาเคมีไฟฟ้าแบบย้อนกลับได้ (electrochemically reversible) พบว่าระยะห่างระหว่างพีค (peak separation) จะมีค่าเท่ากับ ΔE_p ดังสมการ

$$\Delta E_p = [E_{pa} - E_{pc}] = 2.303 \frac{RT}{nF} \quad \dots(2.8)$$

ในปฏิกิริยาแบบสามารถย้อนกลับได้ ถ้าทำการศึกษาที่ 25 °C ด้วยจำนวนอิเล็กตรอนเท่ากับ n พบว่า E_p จะมีค่าเท่ากับ $0.0592/nV$ หรือประมาณ 60 mV ต่อหนึ่งอิเล็กตรอน สำหรับในกรณีที่ปฏิกิริยาที่ไม่สามารถย้อนกลับได้ (irreversibility) ซึ่งมีอัตราการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนที่ค่อนข้างช้าจะพบว่ามีค่า $\Delta E_p > 0.0592/n V$ หรือโดยประมาณเท่ากับ 70 mV ต่อหนึ่งหน่วยอิเล็กตรอน

2.5.3 เครื่องโพเทนชิโอสแตท [44]



รูปที่ 2.22 เครื่องโพเทนชิโอสแตท

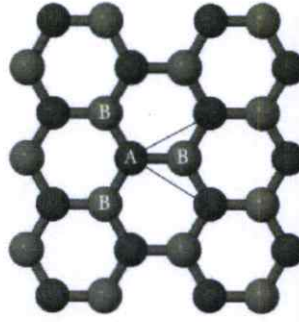
หลักการทำงานของเครื่องโพเทนชิโอสแตท ประยุกต์มาจากสมการของเนินส์ โดยวัดค่าแรงขับเคลื่อนไฟฟ้า (Electromotive force, emf) หรือ ค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าของเซลล์ไฟฟ้าเคมีโดยต่อเข้ากับแหล่งจ่ายศักย์ไฟฟ้า ก็คือ เครื่อง Potentiostat โดยขั้วไฟฟ้าที่ใช้มี 3 ส่วนดังนี้

- 1) Reference electrode (ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง)
- 2) Counter electrode (ขั้วไฟฟ้าช่วย)
- 3) Working electrode (ขั้วไฟฟ้าใช้งาน)

2.6 ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน (Screen printed graphene electrode, SPGE)

2.6.1 กราฟีน (graphene) [45]

กราฟีน เป็นรูปแบบหนึ่งของผลึกคาร์บอนโดยที่อะตอมของคาร์บอนจะเรียงตัวในรูปแบบหกเหลี่ยมเรียงผืนผ้าไป คาร์บอนมีการจัดเรียงอิเล็กตรอนในอะตอมเป็น $C = 1s^2 2s^2 2p^6$ ซึ่งประกอบไปด้วยออร์บิทัล $2s$, $2p_x$, $2p_y$ และ $2p_z$ โดยออร์บิทัลเหล่านี้สามารถผสมกันไปได้ก่อให้เกิดโครงสร้างผลสมแบบต่างๆ ซึ่งในกรณีของกราฟีนจะเกิดการผสมกันระหว่างออร์บิทัล S และ p_x, p_y เกิดเป็นออร์บิทัลลูกผสมชนิด sp^2 ซึ่งจะเกิดเป็นพันธะ σ 3 พันธะและเหลือออร์บิทัล p_z ซึ่งจะเกิดเป็นพันธะ π 1 พันธะ เมื่อพิจารณารูปที่ 2.23 จะเห็นได้ว่าพันธะ σ จะเกิดขึ้นระหว่างอะตอมคาร์บอน A และ B ส่วนพันธะ π จะเกิดขึ้นตามแนวแกน z โดยพุ่งออกจากระนาบของกระดาษพันธะ π ของแต่ละอะตอมของคาร์บอนสามารถเกิดการไฮบริไดเซชัน (hybridization) เกิดเป็นแถบของ π และ π^* ซึ่งส่งผลให้กราฟีนมีสมบัติทางไฟฟ้าที่พิเศษ กราฟีนมีแลตทิซเป็นแบบหกเหลี่ยม (hexagonal lattice) ซึ่งสามารถแทนได้ด้วยแลตทิซแบบสามเหลี่ยมสองภาพดังแสดงในรูปที่ 2.23 แต่ละอะตอมในแลตทิซย่อย (A) จะเชื่อมต่อกับอะตอมข้างเคียง (B) 3 อะตอม



รูปที่ 2.23 แสดงแลตทิซย่อยของกราฟีนซึ่งแทนได้ด้วยแลตทิซแบบสามเหลี่ยมสองรูปโดยแต่ละอะตอมในแลตทิซย่อย (A) จะเชื่อมต่อกับอะตอมข้างเคียง (B) 3 อะตอม

2.6.2 ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน

ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีนพัฒนาขึ้นมาเพื่อใช้ในการตรวจวิเคราะห์สาร โดยมีลักษณะคล้ายกับขั้วไฟฟ้าที่ใช้ทั่วไปคือ ประกอบด้วยขั้วไฟฟ้าสามขั้ว ได้แก่ ขั้วไฟฟ้าทำงาน ขั้วไฟฟ้าช่วย ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง ซึ่งใช้ซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์ (Ag/AgCl) เป็นขั้วอ้างอิง ใช้เทคนิคการพิมพ์สกรีนลงบนวัสดุรองรับที่มีลักษณะเป็นแผ่นผิวเรียบ เช่น กระดาษ เซรามิกส์ หรือแผ่นพอลิเมอร์ เป็นต้น ซึ่งเทคนิคการพิมพ์สกรีนทำให้สามารถผลิตขั้วไฟฟ้าได้ที่ละมากๆ พร้อมๆ กันได้

ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีนสามารถนำมาทำการปรับปรุงขั้วไฟฟ้าเพื่อให้คุณสมบัติได้อย่างหลากหลาย เพื่อให้สามารถนำไปใช้ตรวจวัดสารต่างๆ ตามที่ต้องการได้ โดยปัจจุบันนี้ได้มีการศึกษาการใช้งานขั้วไฟฟ้ากราฟีนพิมพ์สกรีนเพื่อใช้งานทางด้านต่างๆ กันอย่างแพร่หลาย โดยการใช้การปรับปรุงแต่งขั้วไฟฟ้าใช้งานด้วยวิธีต่างๆ เช่น การผสมสารที่ต้องปรับปรุงลงไปให้พิมพ์สกรีนโดยตรงหรือการใช้พอลิเมอร์ตรงสารที่ต้องการเคลือบไว้บนผิวหน้าขั้วไฟฟ้า เป็นต้น ซึ่งโดยทั่วไปขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนจะถูกออกแบบมาให้มีขนาดเล็กและเพื่อให้ใช้แบบได้ครั้งเดียวแล้วทิ้งหรือใช้กับเครื่องมือแบบพกพาได้โดยการเสียบแล้วใช้งานได้ทันที

ข้อดีของขั้วไฟฟ้าแบบพิมพ์สกรีน

1. ช่วยลดการปนเปื้อนจากการรบกวนของสารตัวอย่างที่วัดก่อนหน้านี้นี้ เนื่องจากเป็นขั้วที่สามารถใช้แล้วทิ้งได้
2. ราคาถูก เนื่องจากส่วนประกอบที่ใช้ทำขั้ว มีราคาไม่แพงมาก เช่น แผ่นฟิวซี และหมึกที่ใช้สกรีนขั้วก็ใช้ในปริมาณที่น้อยด้วย
3. ใช้งานง่ายและให้ผลการวิเคราะห์ที่รวดเร็ว
4. มีการทำงานได้เต็มประสิทธิภาพ เนื่องจากขั้วไฟฟ้าจะทำงานสัมผัสกับสารโดยตรงซึ่งไม่มีฉนวนมาบัง

จากการที่ขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนสามารถปรับปรุงได้หลากหลายเช่นเดียวกับขั้วไฟฟ้าที่ใช้งานทั่วไปและรวมกับข้อดีของขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนดังกล่าวมาแล้ว การนำขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนไปประยุกต์แล้วเพิ่มประสิทธิภาพในการใช้งานแล้วนั้น สามารถทำได้ตรวจวัดได้หลากหลายด้าน เช่น ด้านสิ่งแวดล้อม ด้านการแพทย์และด้านอุตสาหกรรม เป็นต้น ทำให้ขั้วไฟฟ้าพิมพ์สกรีนมีความน่าสนใจ

2.7 วิธีที่ใช้วิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนน

2.7.1 เทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี (Spectrophotometry)

Elzanfaly และคณะ [5] พัฒนาริธีที่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณกรดเรติโนอิกและ HQ ได้ในคราวเดียวกัน การสร้างกราฟมาตรฐานทำโดยการบันทึกสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายผสมกรดเรติโนอิกและ HQ ในอัตราส่วนความเข้มข้นต่างๆ กราฟมาตรฐานของการตรวจวัดกรดเรติโนอิก พล็อตระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 339 nm และความเข้มข้นของกรดเรติโนอิก ซึ่งให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัดกรดเรติโนอิกในช่วงความเข้มข้น $1 - 10 \mu\text{g mL}^{-1}$ ส่วนกราฟมาตรฐานของการตรวจวัด HQ พล็อตระหว่างผลต่างของค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 289.2 nm และ 257.8 nm กับความเข้มข้นของ HQ หรือผลต่างของผลต่างของค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 225.8 nm และ 289.2 nm กับความเข้มข้นของ HQ ซึ่งให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด HQ ในช่วงความเข้มข้น $3 - 30 \mu\text{g mL}^{-1}$ และค่า LOD เท่ากับ $0.24 \mu\text{g mL}^{-1}$

Sirajuddin และคณะ [6] พัฒนาริธีวิเคราะห์หาปริมาณ HQ โดยอาศัยปฏิกิริยาออกซิเดชันของ HQ ไปเป็น BQ ด้วย KMnO_4 ซึ่ง BQ ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่นแสง 245.5 nm วิธีที่พัฒนาขึ้นให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด HQ ในช่วงความเข้มข้น $0.07 - 2.0 \mu\text{g mL}^{-1}$ และค่า LOD เท่ากับ $0.021 \mu\text{g mL}^{-1}$ วิธีที่พัฒนาขึ้นนี้นำไปประยุกต์ใช้ตรวจวัด HQ ในตัวอย่างของเสียจาก photographic solution

การวิเคราะห์หาปริมาณ HQ ด้วยเทคนิค spectrophotometry มีข้อดีคือ ง่าย ใช้เครื่องมือราคาไม่แพง แต่ก็มีข้อเสียคือ การตรวจวัด HQ โดยตรงนั้นมี selectivity และ sensitivity ต่ำ เนื่องจาก HQ ดูดกลืนแสงในช่วง UV และมีอนุพันธ์หลายตัวที่สามารถดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่นเดียวกัน จำเป็นต้องอาศัยการทำปฏิกิริยาต่างๆ เพื่อเพิ่ม selectivity และ sensitivity

2.7.2 เทคนิคฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence)

Ni และคณะ [7] พัฒนาริธีสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนนร่วมกับทำไบโอเซนเซอร์ที่เป็น carbon dots พบว่า การวาวแสงของ carbon dots จะลดลง เมื่อปริมาณของไฮโดรควิโนนเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นไปตามกลไกของการดับ (Quenching) ภายใต้สภาวะการทดลองที่เหมาะสมให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด HQ ในช่วง $0.1 - 50 \mu\text{M}$ และค่า LOD ต่ำกว่า $0.1 \mu\text{g mL}^{-1}$ วิธีที่พัฒนาขึ้นนี้นำไปประยุกต์ใช้ตรวจวัด HQ ในตัวอย่างน้ำ

Huang และคณะ [8] พัฒนาริธีที่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณได้ทั้ง HQ และ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) โดยอาศัยการทำงานร่วมกันของเอนไซม์ horse radish peroxidase (HRP) และ conjugate fluorescence polymers PPESO₃ ซึ่งเป็นสารฟลูออเรสเซนซ์ที่ละลายน้ำได้ ในสภาวะของ HRP และ H_2O_2 ซึ่ง HQ สามารถถูกออกซิไดซ์ไปเป็น 1,4-benzoquinone (BQ) โดย BQ สามารถทำให้เกิดการ quenching photoluminescence (PL) ของ PPESO₃ ได้ ทำให้การเรืองแสงของ PPESO₃ ลดลง เทคนิคนี้ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด HQ และ H_2O_2 ในช่วงความเข้มข้น $1 \mu\text{M} - 2 \text{ mM}$ และ $6 \mu\text{M} - 2 \text{ mM}$ และค่า LOD เท่ากับ $0.5 \mu\text{M}$ และ $1 \mu\text{M}$ ตามลำดับ วิธีที่พัฒนาขึ้นนี้นำไปประยุกต์ใช้ตรวจวัด HQ ในตัวอย่างน้ำในทะเลสาบ น้ำฝน น้ำประปาและน้ำเสียจากโรงงาน

การวิเคราะห์ HQ ด้วยเทคนิค Fluorescence นั้นมีข้อดีคือ มี sensitivity สูง ทำให้ได้ค่า LOD ต่ำ แต่สารที่ใช้ในเทคนิค Fluorescence ค่อนข้างมีราคาแพง

2.7.3 เทคนิค Gas chromatography (GC)

Judefeind และคณะ [9] ได้พัฒนาวิธี gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS) สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณกรดซาลิไซลิกและ HQ ในตัวอย่างผิวหนังของมนุษย์ และเครื่องสำอางชนิดอิมัลชัน โดยการใช้ Deuterium labeled SA-d₆ และ HQ-d₆ เป็นสาร internal standard การเตรียมตัวอย่างทำได้โดยการสกัดด้วยเมทานอล ทำให้แห้งภายใต้สภาวะแก๊สไนโตรเจน และทำให้เป็นสารอนุพันธ์ด้วย N,O-bis (trimethylsilyl) trifluoroacetamide + 1% trimethylchlorosilane เทคนิคนี้ให้ค่า LOQ เท่ากับ 50 และ 10 ng mL⁻¹ สำหรับกรดซาลิไซลิกและ HQ ตามลำดับ ค่า RSD น้อยกว่า 5% และให้ค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ (% recovery) เท่ากับ 93.1 – 103.3 % สำหรับกรดซาลิไซลิก และ 97.3 – 100.8 % สำหรับ HQ

Lourenco และคณะ [10] ได้พัฒนาวิธี GC–MS สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอล, HQ และ catechol ในตัวอย่างปัสสาวะ ซึ่งสามารถวิเคราะห์ได้ในคราวเดียวกัน วิธีที่พัฒนาขึ้นอาศัยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยกรดของสารประกอบ conjugated phenolic compound และหลังจากนั้นทำการสกัดสารตัวอย่างด้วยเทคนิค solid-phase microextraction (SPME) โดยจุ่ม polar polyacrylate coated fiber ลงในตัวอย่าง 20 นาที พร้อมกับการปั่นกวน หลังจากนั้นไฟเบอร์ที่มีสารตัวอย่างจะถูกนำไปจุ่มในไอของรีเอเจนต์ hexamethyldisilazane เพื่อทำให้เกิดเป็นสารอนุพันธ์ หลังจากนั้นจึงนำสารอนุพันธ์ที่เกิดขึ้นบนไฟเบอร์ไปฉีดเข้าระบบ GC-MS วิธีที่พัฒนาขึ้นให้ช่วงความเป็นเส้นตรงของฟีนอล, HQ และ catechol อยู่ในช่วง 0.5 – 100 µg mL⁻¹, 0.4 – 100 µg mL⁻¹ และ 0.1 – 100 µg mL⁻¹ ตามลำดับ และค่า LOD เท่ากับ 0.3, 0.15 และ 0.02 µg mL⁻¹ สำหรับฟีนอล, HQ และ catechol ตามลำดับ

เทคนิค GC ให้ sensitivity และ selectivity ในการวิเคราะห์สูง เนื่องจากมีการแยกก่อนที่จะทำการตรวจวัด แต่เทคนิคนี้ใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน มีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างที่ยุ่งยาก ซับซ้อน ทำให้ไม่สะดวกในการวิเคราะห์สารตัวอย่างที่มีจำนวนมาก เครื่องมือที่ใช้มีราคาแพง และยากต่อการวิเคราะห์ในภาคสนามเนื่องจากเครื่องมือมีขนาดใหญ่

2.7.4 เทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Garca และคณะ [11] พัฒนาวิธี HPLC และวิธี ultraviolet derivative spectrophotometric สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ HQ สำหรับ HPLC ดำเนินการโดยใช้ระบบแบบ reversed phase ซึ่งมีคอลัมน์ RP – 18 เป็นเฟสคงที่และใช้เมทานอลและน้ำ (20:80 v/v) เป็นเฟสเคลื่อนที่ ตรวจวัดด้วยเครื่อง UV–vis detector ที่ความยาวคลื่นแสง 289 nm ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด HQ ในช่วงความเข้มข้น 6.0–30.0 µg mL⁻¹ พร้อมกับค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.08 และ 0.26 µg mL⁻¹ ตามลำดับ สำหรับวิธี ultraviolet derivative spectrophotometric อาศัยสเปกตรัมพื้นฐานของ HQ ไปสร้างกราฟอนุพันธ์ที่ 1 คือกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง $\Delta A / \Delta \lambda$ และความยาวคลื่นแสง โดยให้พีคหัวกลับที่ 302 nm เมื่อนำความสูงของพีคที่ได้ไปสร้างกราฟความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของ HQ ทำให้ได้ช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 10.0–26.0 µg mL⁻¹ พร้อมกับค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.14 และ 0.46 µg mL⁻¹ ตามลำดับ ทั้งสองวิธีที่พัฒนาขึ้นนำไปประยุกต์ใช้ตรวจวัด HQ ในตัวอย่างเครื่องสำอางชนิดเจลและครีม เมื่อเปรียบเทียบผลวิเคราะห์ที่ได้จากสองวิธีด้วย t – test และ F – test พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Gao และ Legido-Quigley [12] พัฒนาระบบ HPLC เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณ HQ, ฟีนอล และสารกันบูดอีก 6 ชนิด ในตัวอย่างเครื่องสำอางชนิดครีม สารที่ต้องการวิเคราะห์ทุกตัวถูกสกัดออกจากตัวอย่างครีมด้วย 60% เมทานอล สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ที่ใช้เฟสคงที่เป็นคอลัมน์ C 18 (100 mm x 2.1 mm) และใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นเมทานอล และ 0.05 M ammonium formate ในน้ำ (pH = 3.0) สำหรับการทำให้ gradient elution ซึ่งสามารถแยกสารที่ต้องการวิเคราะห์ออกจากกันได้ภายใน 10 นาที เทคนิคนี้ให้ sensitivity สูง โดยให้ช่วงความเป็นเส้นตรงสำหรับการตรวจวัดเท่ากับ 1.0 – 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ สำหรับฟีนอล, 0.1–150 $\mu\text{g mL}^{-1}$ สำหรับ sorbic acid, 2.0 –200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ สำหรับ benzoic acid, 0.5 – 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ สำหรับ HQ, methyl paraben, ethyl paraben, propyl paraben และ butyl paraben ให้ค่า LOD อยู่ในช่วง 0.05 – 1.0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ โดยให้ค่า RSD สำหรับการวิเคราะห์ซ้ำ 6 ครั้ง น้อยกว่า 5 % และ recovery อยู่ในช่วง 86.5 –116.3 %

อย่างไรก็ตาม HPLC มีข้อจำกัดคล้ายกับเทคนิค GC คือ เทคนิคนี้ใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน มีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างที่ยุ่งยากซับซ้อน ทำให้ไม่สะดวกในการวิเคราะห์สารตัวอย่างเป็นจำนวนมาก เครื่องมือที่ใช้มีราคาแพง และยากต่อการวิเคราะห์ในภาคสนามเนื่องจากเครื่องมือมีขนาดใหญ่

2.7.5 เทคนิค Capillary Electrophoresis (CE)

Desiderio และคณะ [13] ได้พัฒนาเทคนิค Capillary electrochromatography (CEC) สำหรับวิเคราะห์ปริมาณของ HQ และอนุพันธ์ ได้แก่ methyl-, dimethyl-, benzyl-, phenyl-, propyl-HQ derivatives โดยการบรรจุ octadecylsilica (ODS) ใน fused-silica capillary เพื่อใช้เป็นเฟสคงที่ในเทคนิค CE และใช้ 20 mM Ammonium acetate pH 6 – acetonitrile (30 : 70 % v/v) เป็นเฟสเคลื่อนที่ ใช้ศักย์ไฟฟ้า 25 kV และความดัน 5 bar ในการแยกและตรวจวัดด้วยเครื่อง UV-visible diode array detector ที่ความยาวคลื่นแสง 205 nm ซึ่งสภาวะดังกล่าวสามารถแยก HQ และอนุพันธ์ ได้ภายในเวลา 6 นาที ซึ่งให้ช่วงความเป็นเส้นในช่วงความเข้มข้น 5–90 $\mu\text{g mL}^{-1}$ พร้อมกับค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 1.37 และ 3.35 $\mu\text{g mL}^{-1}$ วิธีที่พัฒนาขึ้นถูกนำไปประยุกต์ในการวิเคราะห์หา HQ และอนุพันธ์ในตัวอย่างเครื่องสำอาง

Lin และคณะ [14] ได้พัฒนาเทคนิคที่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณ arbutin (AR), kojic acid (KA) และ HQ ได้ในคราวเดียวกัน โดยใช้การแยกด้วยเทคนิค micellar electrokinetic capillary electrophoresis (MEKC) โดยใช้ sodium dodecyl sulfate (SDS) เป็นตัวก่อไมเซลล์ สภาวะที่เหมาะสม ใช้ SDS ที่ความเข้มข้น 100 mM และใช้บัฟเฟอร์ความเข้มข้น 20 mM ที่ pH 6.5 เป็น running buffer ใช้ศักย์ไฟฟ้า 20 kV ในการแยก ซึ่งให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 20–200, 20–100 และ 8–80 $\mu\text{g mL}^{-1}$ และ LOD เท่ากับ 5.4, 7.1 และ 2.2 $\mu\text{g mL}^{-1}$ สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ AR, KA และ HQ ตามลำดับวิธีที่พัฒนาขึ้นถูกนำไปประยุกต์ในการวิเคราะห์หา AR, KA และ HQ ในตัวอย่างเครื่องสำอาง

เทคนิค CE สามารถแยก HQ ในตัวอย่างได้อย่างมีประสิทธิภาพ ให้ค่า LOD ต่ำ เนื่องจากมีการแยกสารก่อนแล้วจึงตรวจวัด ทำให้ไม่มีการรบกวนจากเมทริกซ์ในตัวอย่าง และสามารถพัฒนาให้เป็นเครื่องวิเคราะห์นอกห้องปฏิบัติการได้ แต่ก็ยังเป็นเทคนิคที่มีราคาแพง และจำเป็นต้องใช้บุคลากรที่มีความชำนาญและเชี่ยวชาญสูง

2.7.6 เทคนิคทางเคมีไฟฟ้า (electrochemical technique)

2.7.6.1 งานวิจัยที่ใช้ขั้วไฟฟ้าแบบพิมพ์สกรีน

Upan และคณะ [15] พัฒนาวิธีสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนนร่วมกับระบบ Flow injection amperometry (FI-Amp) โดยปรับปรุงขั้วไฟฟ้าคาร์บอนแบบพิมพ์สกรีน (SPCE) ด้วยคาร์บอนนาโนทิวบ์ จะอาศัยการตรวจวัดอิเล็กตรอนที่คาร์บอนนาโนทิวบ์ถ่ายโอนให้ ควิโนน และใช้คอลัมน์ที่มีเอนไซม์แลคเคสตรึงอยู่บนซิลิกาเจล คอลัมน์เอนไซม์แลคเคสจะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไฮโดรควิโนน โดยจะรีดิวซ์ไฮโดรควิโนนไปเป็นควิโนน ซึ่งจะถูกรวบรวมด้วยระบบแอมเพอโรเมตริกต่อไป ซึ่งให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้นระหว่าง 1-50 μM และ LOD เท่ากับ 0.1 μM วิธีที่พัฒนาขึ้นสามารถนำไปประยุกต์ใช้สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ HQ ในตัวอย่างน้ำประปาได้

Buleandra และคณะ [16] พัฒนาวิธีที่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณ HQ และ catechol ได้ในคราวเดียวกัน โดยปรับปรุงขั้วไฟฟ้าคาร์บอนแบบพิมพ์สกรีน (SPCE) ด้วย Prussian blue ขั้วที่พัฒนาขึ้นนำไปประยุกต์ใช้ในเทคนิค differential pulse voltammetry เพื่อตรวจวัด HQ และ catechol ซึ่งสามารถให้พีค oxidation potential ของ HQ และ catechol แยกออกจากกันถึง 0.11 V และใช้เทคนิค amperometry ในการตรวจวัดตัวอย่างน้ำประปา ซึ่งให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัดของ HQ และ catechol อยู่ในช่วงความเข้มข้น 4 – 90 μM และ 1 – 90 μM และให้ค่า LOD เท่ากับ 0.1 μM และ 0.4 μM ตามลำดับ

2.7.6.2 งานวิจัยที่ใช้ขั้วไฟฟ้าแบบต่างๆ

Vieira และ Fatibello-Filho [17] ได้พัฒนาวิธีสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ HQ โดยการปรับปรุงขั้ว paraffin/graphite ด้วยเนื้อเยื่อของมันหวาน (sweet potato tissue) ซึ่งเป็นแหล่งของเอนไซม์ peroxidase เมื่อมี H_2O_2 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเอนไซม์นี้สามารถออกซิไดซ์ HQ ไปเป็น *p*-quinone หลังจากนั้น *p*-quinone จะเกิดปฏิกิริยารีดักชันด้วยไฟฟ้า (electrochemical reduction) กลับไปเป็น HQ ได้ที่ศักย์ไฟฟ้า -0.22 V การประยุกต์ใช้ขั้วที่พัฒนาขึ้นกับเทคนิค amperometry ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด HQ ในช่วงความเข้มข้น 75 μM – 1.6 mM และให้ค่า LOD เท่ากับ 8.1 μM วิธีที่พัฒนาขึ้นนำไปประยุกต์ใช้วิเคราะห์หาปริมาณ HQ ในตัวอย่างเครื่องสำอางชนิดครีม ซึ่งวิธีนี้มีข้อดีที่ช่วยลดอุบัติเหตุทางธรรมชาติ และราคาถูกในการเตรียมขั้วไฟฟ้า

Zhao และคณะ [18] พัฒนาวิธีที่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณ HQ และ catechol ได้ในคราวเดียวกันโดยการปรับปรุง poly-amidosulfonic acid และ multi-wall carbon nanotubes composite (PASA/MWNTs) บนขั้ว GCE ด้วยเทคนิค electropolymerization ซึ่งเริ่มต้นด้วยการหยดสารแขวนลอยของ MWNTs ที่เตรียมใน N,N-dimethylformamide บนผิวขั้วและระเหยตัวทำละลายภายใต้สภาวะแสงอินฟราเรดหลังจากนั้นกระตุ้น MWNTs/GCE ด้วย cyclic sweepings จาก -1.2 ถึง +1.2 V จำนวน 20 รอบ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์และสร้าง PASA/MWNTs/GCE โดยการทำให้ cyclic sweepings จาก -1.5 ถึง +2.5 V จำนวน 10 รอบ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่มี 5.0 mM amidosulfonic acid ขั้วที่พัฒนาขึ้นนำไปประยุกต์ใช้ในเทคนิค differential pulse voltammetry เพื่อตรวจวัด HQ และ catechol ซึ่งสามารถให้พีค reduction potential ของ HQ และ catechol แยกออกจากกันถึง 103 mV เทคนิคนี้ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด HQ ในสภาวะที่มี catechol ความเข้มข้น 0.1 mM ในช่วงความเข้มข้น

6 μM – 0.4 mM และให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด catechol ในสถานะที่มี HQ ความเข้มข้น 0.1 mM ในช่วงความเข้มข้น 6 μM – 0.7 mM วิธีที่พัฒนาขึ้นสามารถนำไปประยุกต์ใช้สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ HQ และ catechol ในตัวอย่างน้ำประปาได้ในคราวเดียวกัน

Wang และคณะ [19] ได้พัฒนาวิธีสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ HQ โดยการเตรียมวัสดุคาร์บอนผสมระหว่าง graphene nanosheets และ carbon nanospheres โดยอาศัยการเกิด electrolysis ของ graphite rod ในสารละลายกรดไนตริก ภายใต้สภาวะกระแสไฟฟ้าคงที่ และนำวัสดุคาร์บอนผสมที่ได้ไปปรับปรุงบนพื้นผิวของขั้ว GCE ขั้วไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้นนำไปประยุกต์ใช้ในเทคนิค differential pulse voltammetry เพื่อตรวจวัด HQ ในตัวอย่างดิน ซึ่งให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด HQ ในช่วงความเข้มข้น 0.1 – 100 และ 100 – 600 μM

Sun และคณะ [20] ได้พัฒนาวิธีที่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณ HQ และ catechol ได้ในคราวเดียวกันโดยการปรับปรุง poly(crystal violet) functionalized graphene oxide (CV-GO) ลงบนพื้นผิวของขั้ว carbon ionic liquid electrode (CILE) ด้วยวิธี potentiostatic method นั่นคือการจุ่มขั้ว CILE ลงในสารละลาย CV-GO ที่สังเคราะห์ขึ้น และให้ศักย์ไฟฟ้าคงที่ที่ -1.2 V เป็นเวลา 300 วินาที เมื่อศึกษาด้วยเทคนิค cyclic voltammetry พบว่า ขั้วที่ได้สามารถให้ศักย์ oxidation potential ของ HQ และ catechol แยกออกจากกันถึง 112 mV ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 2.0 ขั้วที่พัฒนาขึ้นสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวัด HQ และ catechol ในตัวอย่างน้ำเทียมได้ในคราวเดียวกัน ซึ่งให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด HQ และ catechol ในช่วงความเข้มข้น 0.12 – 600 และ 0.36 – 600 μM พร้อมด้วยค่า LOD เท่ากับ 0.033 และ 0.097 μM ตามลำดับ

Guo และคณะ [21] ได้พัฒนาวิธีที่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณ HQ และ catechol ได้ในคราวเดียวกันโดยการปรับปรุงพื้นผิวขั้ว GCE ด้วย pyridinic nitrogen doped graphene (pyridine-NG) ซึ่งเป็น electrocatalyst ที่ดีมากสำหรับการสร้างขั้วไฟฟ้า เพื่อตรวจวัด HQ และ catechol เมื่อศึกษาด้วยเทคนิค cyclic voltammetry พบว่าขั้ว pyridine-NG/GCE ที่พัฒนาขึ้นทั้ง HQ และ catechol สามารถเกิดปฏิกิริยาได้ทั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชัน โดยให้ศักย์ oxidation potential ของ HQ และ catechol แยกออกจากกันถึง 103 mV เมื่อนำขั้วที่พัฒนาขึ้นไปประยุกต์ใช้ในเทคนิค differential pulse voltammetry เพื่อตรวจวัด HQ และ catechol ในคราวเดียวกันในตัวอย่างน้ำประปา พบว่าให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด HQ ในสถานะที่มี catechol ความเข้มข้น 100 μM อยู่ในช่วงความเข้มข้น 5 – 200 μM และให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด catechol ในสถานะที่มี HQ ความเข้มข้น 100 μM อยู่ในช่วงความเข้มข้น 5 – 200 μM และค่า LOD เท่ากับ 0.38 และ 1 μM สำหรับการตรวจวัด HQ และ catechol ตามลำดับ

Zhang และคณะ [22] พัฒนาวิธีที่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณ HQ และ catechol ได้ในคราวเดียวกันโดยการปรับปรุงพื้นผิวขั้ว GCE ด้วย graphene และ titanium dioxide nanoparticles nanocomposite (GR-TiO₂) การนำ GR-TiO₂/GCE ไปประยุกต์ใช้สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ HQ และ catechol ในคราวเดียวกัน สามารถศึกษาได้ด้วยเทคนิค cyclic voltammetry พบว่าศักย์ oxidation และ reduction potentials ของ catechol และ HQ เกิดขึ้นที่ประมาณ 0.372/0.018 V และ 0.313/-0.103 V ตามลำดับ และเมื่อนำไปประยุกต์ใช้กับเทคนิค differential pulse voltammetry พบว่าให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัด catechol และ HQ ในช่วงความเข้มข้น 0.5–100 μM พร้อมกับค่า LOD ในการตรวจวัด catechol และ HQ เท่ากับ

0.087 μM และ 0.082 μM ตามลำดับ วิธีที่พัฒนาขึ้นประสบความสำเร็จในการนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวัด HQ และ catechol ได้ในคราวเดียวกัน ทั้งในตัวอย่างน้ำประปาและน้ำตัวอย่างจากทะเลสาบ

Si และคณะ [23] พัฒนารววิธีที่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณ HQ และ catechol ได้ในคราวเดียวกันโดยการปรับปรุงขั้วไฟฟ้าด้วยการทำ electro-polymerization ของ 3,4-ethylenedioxythiophene ลงบน nitrogen-doped graphene ที่เคลือบบนพื้นผิวของขั้ว GCE เมื่อศึกษาปฏิกิริยาทางเคมีไฟฟ้าของ HQ และ catechol บนขั้วที่พัฒนาขึ้น ด้วยเทคนิค cyclic voltammetry พบว่า ปฏิกิริยารีดอกซ์ของ HQ และ catechol สามารถเกิดแยกกันได้อย่างดี ขั้วที่พัฒนาขึ้นถูกนำไปประยุกต์ใช้กับเทคนิค differential pulse voltammetry เพื่อการวิเคราะห์หาปริมาณ HQ และ catechol ได้ในคราวเดียวกัน ซึ่งให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัดทั้ง HQ และ catechol ในช่วงความเข้มข้น 1–10 μM และค่า LOD สำหรับการตรวจวัด HQ และ catechol เท่ากับ 0.18 และ 0.26 μM ตามลำดับ

Vilian และคณะ [24] พัฒนารววิธีที่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณ HQ และ Catechol ได้ในคราวเดียวกัน โดยปรับปรุงขั้ว GCE ด้วย Pt/ZrO₂-RGO เริ่มต้นโดยการสังเคราะห์กราฟีนออกไซด์ผสมกับ N,N-dimethylformamide (DMF) ทำการ sonicated เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จะได้เป็นสารละลายสีดำ หลังจากนั้นหยดสารละลายลงบน GCE และเตรียม Pt/ZrO₂-RGO/GCE ด้วยกระบวนการ electrodeposition ลงบนพื้นผิวของ GCE และทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง Pt/ZrO₂-RGO/GCE ที่พัฒนาขึ้นถูกนำไปประยุกต์ใช้กับเทคนิค cyclic voltammetry และ differential pulse voltammetry หาปริมาณของ HQ และ catechol ได้ในคราวเดียวกัน ซึ่งให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัดของ HQ และ catechol ในช่วงความเข้มข้น 1-1000 μM และ 1-400 μM ตามลำดับ และค่า LOD เท่ากับ 0.4 μM และ 0.4 μM ตามลำดับ สำหรับผลการพัฒนาขั้วไฟฟ้า GCE ที่ปรับปรุงด้วย Pt/ZrO₂-RGO นั้นถือว่าประสบความสำเร็จในการหาปริมาณของ HQ และ catechol ในตัวอย่างน้ำเสีย

Soltani และคณะ [25] พัฒนารววิธีสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ HQ โดยปรับปรุงขั้วไฟฟ้าคาร์บอนเพสต์โดยใช้อนุภาคนาโนของนิกเกิลออกไซด์ (NiO/NPs) และ 1-butyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate (BMITFB) เป็นตัวปรับปรุงผิวขั้วเพื่อใช้วิเคราะห์ไฮโดรควิโนนในน้ำประปาและน้ำเสียด้วยเทคนิคสแควเวฟโวลแทมเมตรี เมื่อเปรียบเทียบกับขั้วไฟฟ้าคาร์บอนเพสต์ที่ไม่มีการปรับปรุงพื้นผิว พบว่าขั้วที่พัฒนาขึ้นให้ค่ากระแสไฟฟ้าแอนอดิกของปฏิกิริยาออกซิเดชันของไฮโดรควิโนนเพิ่มขึ้น 2.5 เท่า ซึ่งให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัดของ HQ อยู่ในช่วง 0.1 – 500 μM และมีค่า LOD เท่ากับ 0.05 μM

Zhang และคณะ [26] พัฒนารววิธีที่สามารถวิเคราะห์ HQ และ catechol ได้ในคราวเดียวกัน โดยปรับปรุงขั้วไฟฟ้ากราฟีนด้วยโบรอน (BG) โดยใช้วิธีการนำตัวเร่งปฏิกิริยาที่มีประสิทธิภาพสูงเคลือบลงบนผิวของขั้วไฟฟ้าที่ต้องการใช้งาน คุณสมบัติของขั้วไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้น จะขึ้นอยู่กับอะตอมของโบรอนที่อยู่บนโครงสร้างของกราฟีน ซึ่งมีอยู่ถึงร้อยละ 1.4 นำขั้วไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้นนี้ไปหาปริมาณของ HQ และ catechol โดยใช้เทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี เมื่อเปรียบเทียบกับขั้วไฟฟ้ากราฟีนที่ไม่ได้ปรับปรุง (PG) กับขั้วไฟฟ้ากราฟีนที่ปรับปรุงด้วยโบรอน (BG) พบว่า ขั้วที่พัฒนาขึ้นมีคุณสมบัติทาง electrocatalytic activity ที่ดีกว่า เป็นผลมาจากโบรอนที่นำมาปรับปรุงมีโครงสร้างที่เฉพาะ และคุณสมบัติทางไฟฟ้าที่เป็นเอกลักษณ์ ส่งผลต่อการเกิดปฏิกิริยา

ระหว่างขั้วไฟฟ้ากับ HQ และ catechol เมื่อทำการทดลองภายใต้สภาวะที่เหมาะสมให้ช่วงความเป็นเส้นตรงของ HQ และ catechol จะอยู่ในช่วง 5-100 μM และ 1-75 μM ตามลำดับ และ LOD เท่ากับ 0.3 และ 0.2 μM ตามลำดับ ขั้วไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถตรวจวัด HQ และ catechol ในตัวอย่างน้ำเสียได้ในปริมาณที่ต่ำ ส่งผลให้วิธีนี้เป็นวิธีที่มีความจำเพาะเจาะจงและมีความไวในการวิเคราะห์สูง

Unnikrishnan และคณะ [27] พัฒนาริธีที่สามารถวิเคราะห์ HQ และ catechol ได้ในคราวเดียวกัน โดยปรับปรุงขั้วไฟฟ้าด้วยการทำ electrodeposition ชั้นแรก electrodeposited ของ Pt ลงบน GCE และชั้นที่สอง electrodeposited ของ MnO_2 ลงบน Pt/GCE จะได้เป็น Pt- MnO_2 film GCE เมื่อศึกษาปฏิกิริยาทางเคมีไฟฟ้าของ HQ และ catechol บนขั้วที่พัฒนาขึ้น ด้วยเทคนิค cyclic voltammetry พบว่า ปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของ HQ และ catechol สามารถเกิดการแยกกันได้เป็นอย่างดีที่ 0.12 V ขั้วที่พัฒนาขึ้นถูกนำไปประยุกต์ใช้กับเทคนิค differential pulse voltammetry เพื่อการวิเคราะห์หาปริมาณ HQ และ catechol ได้ในคราวเดียวกันในตัวอย่างน้ำประปา ซึ่งให้ช่วงความเป็นเส้นตรงของ HQ และ catechol อยู่ในช่วงความเข้มข้น 3 μM – 0.481 mM และ 15 μM – 0.447 mM ตามลำดับ

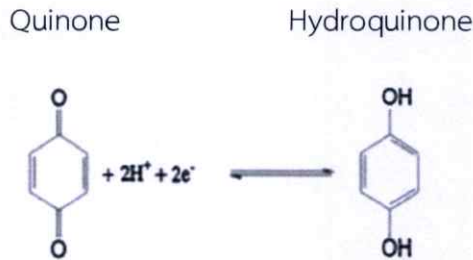
ต้องเคียน และคณะ [28] พัฒนาริธีสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ HQ โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเป็นไส้ดินสอดั้งสาม คือขั้วไฟฟ้าอ้างอิง ขั้วไฟฟ้าช่วย และขั้วไฟฟ้าทำงาน ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี พบว่า ในการตรวจวัด HQ ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ 2 ช่วง คือ ช่วง 0.2 ถึง 50 mM และ 60 ถึง 140 mM และค่า LOD เท่ากับ 0.02 mM ซึ่งวิธีที่พัฒนาขึ้นสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวัด HQ ในตัวอย่างเครื่องสำอาง

ข้อดีของการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า คือ มี sensitivity และ selectivity สูง เมื่อมีการปรับปรุงขั้วไฟฟ้า ขั้วไฟฟ้าสามารถพัฒนาให้มีขนาดเล็กทำให้สะดวกต่อการนำไปวิเคราะห์นอกห้องปฏิบัติการ แต่ขั้วไฟฟ้านี้อาจมีความเสถียรของสัญญาณต่ำ เนื่องจากการปรับปรุงขั้วไฟฟ้าด้วยวัสดุตัวนำไฟฟ้าต่างๆ เมื่อใช้ขั้วไฟฟ้าเป็นเวลานานๆ อาจทำให้เกิดการหลุดร่อนของวัสดุที่นำมาปรับปรุงผิวหน้าขั้ว จึงต้องมีการนำขั้วมาทำการปรับปรุงผิวใหม่อยู่เสมอ และการเตรียมขั้วไฟฟ้ามีขั้นตอนที่ยุ่งยากและซับซ้อน

2.8 งานวิจัยนี้

จากข้อดีของเทคนิคทางเคมีไฟฟ้าที่มีความไวในการวิเคราะห์และความจำเพาะเจาะจงสูง ขั้วไฟฟ้าสามารถพัฒนาให้มีขนาดเล็ก สะดวกต่อการนำไปวิเคราะห์นอกห้องปฏิบัติการได้ แม้ว่าการปรับปรุงขั้วไฟฟ้าด้วยวัสดุตัวนำไฟฟ้าต่างๆ จะช่วยให้ความไวในการวิเคราะห์ดีขึ้น แต่การเตรียมขั้วมีขั้นตอนที่ยุ่งยากซับซ้อน และเมื่อใช้ขั้วเป็นเวลานานๆ อาจทำให้ผลการวิเคราะห์ซ้ำมีค่าที่แตกต่างกัน เนื่องจากมีการหลุดร่อนของวัสดุที่นำมาปรับปรุงผิวหน้าขั้ว จึงต้องมีการนำขั้วมาทำการปรับปรุงผิวใหม่อยู่เสมอ ดังนั้นการปรับปรุงผิวขั้ว จึงมีความจำเป็นสำหรับงานวิเคราะห์สารตัวอย่างที่มีไฮโดรควิโนนในปริมาณต่ำ เช่น ตัวอย่างน้ำตามธรรมชาติ น้ำประปา และน้ำทิ้ง เป็นต้น ดังงานวิจัยข้างต้น (หัวข้อ 2.7.6)

สำหรับผลิตภัณฑ์ไวเทนนิงมีส่วนผสมของไฮโดรควิโนนในปริมาณที่ค่อนข้างสูง เพื่อประสิทธิภาพในการทำให้ผิวขาวอย่างเด่นชัดในระยะเวลาอันรวดเร็ว ดังนั้นเทคนิคที่ใช้ในการตรวจวัด อาจไม่จำเป็นต้องมีความไวในการวิเคราะห์สูง แต่ควรมีความจำเพาะเจาะจงที่ดี เนื่องจากในผลิตภัณฑ์ไวเทนนิงมีองค์ประกอบที่หลากหลายซึ่งอาจรบกวนการวิเคราะห์ได้ ดังนั้นในงานวิจัยนี้ทำการพัฒนาขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน โดยไม่มีการปรับปรุงผิวขั้วเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ HQ ในตัวอย่างเครื่องสำอางโดยใช้การวิเคราะห์แบบหดยศเดียวด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี ซึ่งอาศัยการเกิดปฏิกิริยารีดักชันของไฮโดรควิโนน ดังปฏิกิริยารูปที่ 2.24



รูปที่ 2.24 แสดงปฏิกิริยารีดักชันของไฮโดรควิโนน

เมื่อไฮโดรควิโนนเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้า ซึ่งปฏิกิริยาเกี่ยวข้องกับการถ่ายโอน 2 อิเล็กตรอน และจะให้กระแสไฟฟ้าแอนอดิกและแคโทดิกที่ศักย์ไฟฟ้าที่จำเพาะ โดยกระแสที่ได้จะแปรตามความเข้มข้นของไฮโดรควิโนน ดังนั้นวิธีที่พัฒนาขึ้นจึงสามารถประยุกต์ใช้ในเชิงปริมาณวิเคราะห์ได้

บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

3.1.1 สารเคมี

ชื่อสารเคมี	สูตรเคมี	ความบริสุทธิ์ (%)	ยี่ห้อและประเทศผู้ผลิต
ไฮโดรควิโนน (Hydroquinone)	$C_6H_6O_2$	99.5	Acros organics, Belgium
โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต โมนไฮเดรต (Sodium dihydrogen phosphate monohydrate)	$NaH_2PO_4 \cdot H_2O$	98.0	QRec, New Zealand
ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (di-Sodium hydrogen phosphate 7-hydrate)	$Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$	98.0-102.0	Panreace, Spain
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide)	NaOH	98.0	Rankem, India
กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid)	HCl	37.0	Fisher, Finland
โพแทสเซียมเฮกซะไซยาโน เฟอร์เรต (Potassium hexacyanoferrate (III))	$K_3(Fe(CN)_6)$	≥ 99.0	Sigma-Aldrich, USA
โพแทสเซียมคลอไรด์ (Potassium chloride)	KCl	≥ 99.0	Sigma-Aldrich, USA
เมทานอล (Methanol)	CH_3OH	99.9	Lab-scan, Ireland

3.1.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. ขวดวัดปริมาตร
2. ปีกเกอร์
3. ปิเปต และ ไมโครปิเปต
4. หลอดหยด
5. หลอดทดลอง
6. กระบอกตวง
7. ขวดรูปชมพู่
8. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Analytical balance) บริษัท Sartorius, Germany
9. pH meter รุ่น 827 pH lab บริษัท Metrohm, USA
10. เครื่องปั่นเหวี่ยง รุ่น Spectrafuge 6C บริษัท Labnet International, USA
11. เครื่องกรองเฟสเคลื่อนที่ บริษัท SR International, USA
12. เครื่องอัลตราโซนิก บริษัท Mettler electronics corp, USA
13. เครื่องโพเทนชิโอสแตท กัลวานอสแตท (Potentiostat Galvanostat) รุ่น PGSTAT 128N บริษัท Metrohm AutoLAB, Netherland
 - 13.1 Dummycell บริษัท Metrohm AutoLAB, Netherland
 - 13.2 Platinum electrode บริษัท Metrohm AutoLAB, Netherland
 - 13.3 Ag/AgCl electrode บริษัท Metrohm AutoLAB, Netherland
14. เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)
 - 14.1 Pump : Water 510 HPLC pump – Millipore corporation, USA.
 - 14.2 Column : HiQ Sil C18HS column (125 mm×4 mm i.d., 5µm particle size, 100Å pore size) – KYA Technologies corporation, Japan.
 - 14.3 Detector : Water 486 Tunable absorbance detector, Millipore corporation, USA.

3.2 การเตรียมสารละลาย

สารละลายทุกตัวเตรียมจากน้ำกลั่นปราศจากไอออนที่ได้จากเครื่องผลิตน้ำบริสุทธิ์ (RO+Mixedbed, Treat Chemical, Thailand) และสารเคมีทุกตัวเป็นเกรดสำหรับงานวิเคราะห์เคมี (Analytical Reagent Grade)

3.2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนน

1. สารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนน ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลต่อลิตร โดยชั่งไฮโดรควิโนน 1.1011 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนจนถึงขีดบอกปริมาตร

2. สารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนนที่ความเข้มข้นต่างๆ

เตรียมโดยปิเปตจากสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนน ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลต่อลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร โดยปริมาตรที่ปิเปต และความเข้มข้นไฮโดรควิโนนที่เตรียมได้เป็นดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 แสดงการเตรียมสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนน ความเข้มข้นต่างๆ

ปริมาตรไฮโดรควิโนนที่ปิเปต (ไมโครลิตร)	ปริมาตรสุดท้ายในขวดวัด ปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร (มิลลิลิตร)	ความเข้มข้นของไฮโดรควิโนน ที่เตรียมได้ (มิลลิโมลต่อลิตร)
-	0	0
20	0.02	0.2
50	0.05	0.5
100	0.1	1
200	0.2	2
400	0.4	4
600	0.6	6
800	0.8	8
1000	1.0	10

หมายเหตุ สำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรีจะต้องนำสารมาตรฐานไฮโดรควิโนนที่เตรียมได้ข้างต้นมาผสมกับบัฟเฟอร์ด้วยอัตราส่วน 1 : 1 โดยปริมาตร ดังนั้นความเข้มข้นสุดท้ายของสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนนจะได้เป็น 0, 0.1, 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4, และ 5 มิลลิโมลต่อลิตร ตามลำดับ

3.2.2 การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร พีเอช 7.0 [46]

1. สารละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต เข้มข้น 1 มิลลิโมลต่อลิตร

ชั่งไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตเฮกซะไฮเดรต 26.8060 กรัม มาละลายและปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน

2. สารละลายไดไฮโดรเจนฟอสเฟตโมโนไฮเดรต เข้มข้น 1 มิลลิโมลต่อลิตร

ชั่งไดไฮโดรเจนฟอสเฟตโมโนไฮเดรต 13.7990 กรัม มาละลายและปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน

ผสมสารละลายทั้ง 2 ชนิดข้างต้น (ตามหัวข้อ 1 และ 2) ปริมาตร 5.7 และ 4.2 มิลลิลิตร ตามลำดับ ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน และปรับพีเอชให้ได้ 7.0 ด้วยสารละลายไฮโดรคลอริก หรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

3.2.3 การเตรียมสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลต่อลิตร

ชั่งโพแทสเซียมคลอไรด์ 0.7450 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100.00 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน

3.2.4 การเตรียมสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมเฮกซะไซยาโนเฟอร์เรต ความเข้มข้น 3 มิลลิโมลต่อลิตร ในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์

ชั่งโพแทสเซียมเฮกซะไซยาโนเฟอร์เรต 0.0987 กรัม ละลายด้วยสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลต่อลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100.00 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ จนถึงขีดบอกปริมาตร

3.2.5 การเตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 1 โมลต่อลิตร

ตวงกรดไฮโดรคลอริก 8.3 มิลลิลิตร ใส่ลงในบีกเกอร์ที่มีน้ำกลั่นปราศจากไอออน และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนจนครบ 100 มิลลิลิตร

3.2.6 การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 โมลต่อลิตร

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 กรัม มาละลายและปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน

3.2.7 การเตรียมตัวอย่างเครื่องสำอาง

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการสุ่มตัวอย่างเครื่องสำอาง (ครีมทาหน้า) จากท้องตลาดมาทั้งหมด 10 ตัวอย่าง (ตัวอย่าง A-J) โดยมีวิธีการเตรียมตัวอย่างดังขั้นตอนต่อไปนี้

1. ชั่งตัวอย่างครีมมาประมาณ 3.0000 กรัม ชั่งด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง และจัดบันทึกน้ำหนักที่แน่นอน

2. ละลายในน้ำกลั่นปราศจากไอออน 25 มิลลิลิตร

3. นำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ด้วยเครื่องปั่นกวนพร้อมให้ความร้อน เป็นเวลา 20 นาที

4. เทสารละลายตัวอย่างที่ได้ใส่หลอด centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตร และนำไปปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็ว 5000 รอบ/นาที เป็นเวลา 60 นาที

5. กรองสารละลายตัวอย่างด้วยชุดกรอง HPLC โดยกรองผ่านในลอนเมมเบรนขนาดรูพรุน 0.45 ไมโครเมตร

6. นำสารละลายตัวอย่างที่ผ่านการกรองมา 10 มิลลิลิตรใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 50.00 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน

นำสารละลายตัวอย่างนี้ไปวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนนด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟท์แบบพิมพ์สกรีน และขั้วไฟฟ้าที่เป็นไส้ดินสอด และวิธี HPLC

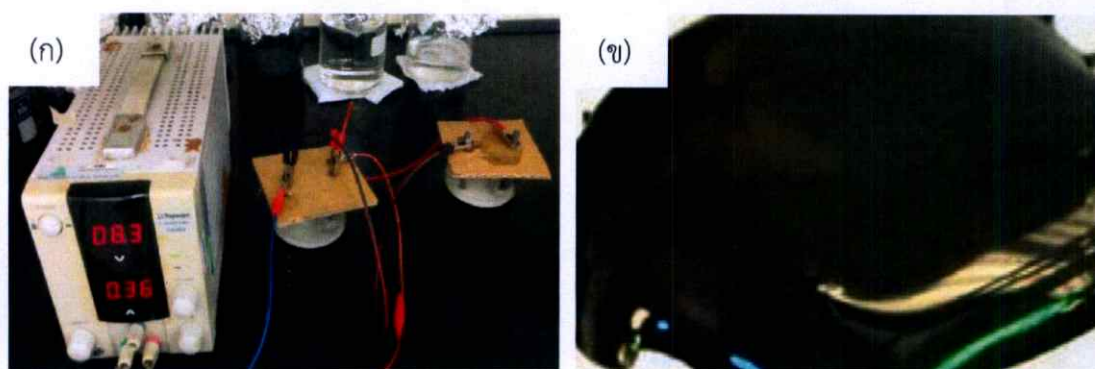
หมายเหตุ 1. สำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรีทั้งขั้วไฟฟ้ากราไฟท์แบบพิมพ์สกรีน และขั้วไฟฟ้าที่เป็นไส้ดินสอด ก่อนทำการวิเคราะห์จะต้องนำสารละลายตัวอย่างมาผสมกับบัฟเฟอร์ด้วยอัตราส่วน 1 : 1

2. อาจทำการเจือจางสารละลายตัวอย่างเพิ่มเติมตามความเหมาะสม เพื่อให้ความเข้มข้นของไฮโดรควิโนนอยู่ในช่วงการวิเคราะห์ของกราฟมาตรฐาน

3.3 การเตรียมขั้วไฟฟ้าแบบพิมพ์สกรีน

3.3.1 การเตรียมหมึกกราฟีนนำไฟฟ้า

การเตรียมหมึกกราฟีนนำไฟฟ้า สามารถทำได้โดยการใช้แท่งคาร์บอนจำนวนสองแท่งจุ่มลงในสารละลาย poly(3,4-ethylenedioxythiophene)poly(styrene-sulfonate) (PSS) ซึ่งเป็นสารละลายที่เป็นตัวนำไฟฟ้า และทำการจ่ายกระแสไฟฟ้าคงที่เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ดังรูปที่ 3.1 (ก) ซึ่งจะทำให้เกิดสารประกอบกราฟีนอิสระ (free graphene) อยู่ในรูปแบบคล้ายฝุ่นผงในสารละลาย PSS เมื่อนำมาผสมกับคาร์บอนเฟลสจะได้หมึกนำไฟฟ้ากราฟีนเฟลสดังรูปที่ 3.1 (ข)



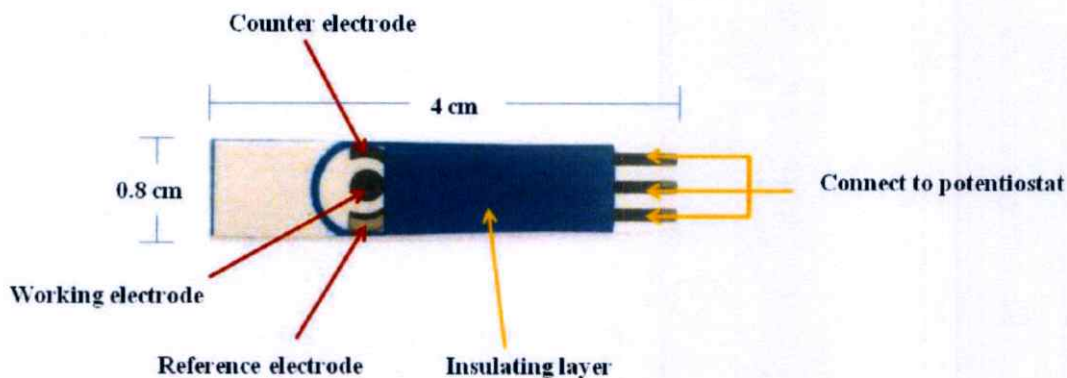
รูปที่ 3.1 (ก) ชุดอุปกรณ์ในการสร้างกราฟีนอิสระจากแท่งคาร์บอน และ (ข) หมึกนำไฟฟ้ากราฟีนเฟลส

3.3.2 การสร้างขั้วไฟฟ้าแบบพิมพ์สกรีน

ขั้วไฟฟ้ากราฟีนที่สร้างขึ้นมีขนาด 0.8×4.0 เซนติเมตร โดยแบบลายสกรีนประกอบด้วยกันทั้งหมด 4 ชั้น เรียงลำดับจากชั้นล่างสุด คือ

- 1) ชั้นของแถบการนำไฟฟ้า (Conducting track)
- 2) ชั้นของขั้วไฟฟ้าใช้งาน และขั้วไฟฟ้าช่วย (โดยหมึกที่ใช้เตรียมตามหัวข้อ 3.3.1)
- 3) ชั้นของขั้วไฟฟ้าอ้างอิง (Ag/AgCl)
- 4) ชั้นของฉนวนไฟฟ้า (Insulator layer)

แบบลายสกรีนที่ใช้ศึกษาในงานวิจัยครั้งนี้แสดงดังรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.2 แสดงลักษณะของขั้วไฟฟ้าแบบพิมพ์สกรีน

หมายเหตุ ขั้วไฟฟ้าที่ใช้ในงานวิจัยนี้ได้รับความอนุเคราะห์จาก ดร. จันทรเพ็ญ ครัววรรณ ศูนย์เทคโนโลยีอิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์แห่งชาติ

3.4 วิธีดำเนินการทดลอง

3.4.1 ศึกษาความเป็นไปได้ของการใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน

การศึกษาความเป็นไปได้ของการใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน โดยใช้สารมาตรฐานโพแทสเซียมเฮกซะไซยาโนเฟอร์เรต ที่ความเข้มข้น 3 มิลลิโมลต่อลิตร ในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร ทำการตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี และบันทึกไซคลิกโวลแทมโมแกรมที่ได้ โดยควบคุมสภาวะของเครื่องโพเทนชิโอสแตตดังต่อไปนี้

ศักย์ไฟฟ้าเริ่มต้น (start potential ; (V))	- 0.800
ศักย์ไฟฟ้าสูงสุด (upper vertex potential ; (V))	+ 0.800
ศักย์ไฟฟ้าต่ำสุด (lower vertex potential ; (V))	- 0.800
ศักย์ไฟฟ้าสุดท้าย (stop potential ; (V))	- 0.800
จำนวนรอบของการสแกน (number of stop crossing ; (รอบ))	2
จังหวะศักย์ไฟฟ้า (step potential ; (V))	0.0200
อัตราการสแกน (scan rate ; (V/s))	0.1000

3.4.2 การศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์

3.4.2.1 ศึกษาค่าพีเอชของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์

ทำการศึกษาอิทธิพลของค่าพีเอชของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์ โดยเลือกศึกษาที่พีเอช 5.8, 7.0, และ 10.0 ตามลำดับ

1. ปิเปตสารละลายไฮโดรควิโนนความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 1.0 และ 2.0 มิลลิโมลต่อลิตร ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร พีเอช 5.8 ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร

2. ทำการตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟท์แบบพิมพ์สกรีน และบันทึกไซคลิกโวลแทมโมแกรม โดยควบคุมสภาวะของเครื่องโพเทนชิโอสแตทดังตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 แสดงสภาวะของเครื่องโพเทนชิโอสแตท

ศักย์ไฟฟ้าเริ่มต้น (start potential ; (V))	- 0.800
ศักย์ไฟฟ้าสูงสุด (upper vertex potential ; (V))	+ 0.600
ศักย์ไฟฟ้าต่ำสุด (lower vertex potential ; (V))	- 0.800
ศักย์ไฟฟ้าสุดท้าย (stop potential ; (V))	- 0.800
จำนวนรอบของการสแกน (number of stop crossing ; (รอบ))	2
จังหวะศักย์ไฟฟ้า (step potential ; (V))	0.0200
อัตราการสแกน (scan rate ; (V/s))	0.1000

3. เปลี่ยนค่าพีเอชของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เป็นพีเอช 7.0 และ 10.0 ตามลำดับ โดยให้ทำในทำนองเดียวกับพีเอช 5.8

3.4.2.2 ศึกษาความเข้มข้นของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์

ทำการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ซึ่งส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์ โดยเลือกศึกษาที่ความเข้มข้น 0.01, 0.1, และ 0.5 โมลต่อลิตร ตามลำดับ โดยกำหนดค่าพีเอชของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เป็นพีเอช 7.0

1. ปิเปตสารละลายไฮโดรควิโนน ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 1.0, และ 2.0 มิลลิโมลต่อลิตร ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.01 โมลต่อลิตร ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร

2. ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟท์แบบพิมพ์สกรีน และใช้สภาวะควบคุมเครื่องโพเทนชิโอสแตทดังตารางที่ 3.2

3. สำหรับสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 และ 0.5 โมลต่อลิตร ให้ทำในทำนองเดียวกับสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.01 โมลต่อลิตร

3.4.2.3 ศึกษาอัตราการสแกน

1. ปิเปตสารละลายไฮโดรควิโนนความเข้มข้น 0.02, 1.0, และ 2.0 มิลลิโมลต่อลิตร ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร พีเอช 7.0 ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร
2. ตรวจสอบด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน และใช้สภาวะควบคุมเครื่องโพเทนชิโอสแตตดังตารางที่ 3.2 โดยใช้อัตราการสแกนเท่ากับ 10 มิลลิโวลต์ต่อวินาที
3. เปลี่ยนอัตราการสแกนเป็น 20, 50, 100, 125, 150, และ 200 มิลลิโวลต์ต่อวินาที โดยทำในทำนองเดียวกับอัตราการสแกน 10 มิลลิโวลต์ต่อวินาที

3.4.3 ประเมินคุณลักษณะเด่นของวิธีวิเคราะห์

ในงานวิจัยนี้ ทำการตรวจวัดไฮโดรควิโนนแบบหยดเดียว (single drop analysis) ทำได้โดยการหยดสารละลายไฮโดรควิโนนปริมาตร 60 ไมโครลิตร ลงบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน ดังรูปที่ 3.3 และศึกษาคุณลักษณะของวิธีวิเคราะห์ดังต่อไปนี้



รูปที่ 3.3 Side view จากการถ่ายภาพด้วยเครื่อง contact angle ลักษณะของหยดสารละลายไฮโดรควิโนนที่บริเวณหน้าขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน

3.4.3.1 ช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity range)

1. ปิเปตสารละลายไฮโดรควิโนน ความเข้มข้น 0.2 - 10 มิลลิโมลต่อลิตร ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร พีเอช 7.0 ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร
2. ตรวจสอบด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี โดยหยดสารละลายในข้อ 1 ปริมาตร 60 ไมโครลิตร ลงบนขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบวิธีพิมพ์สกรีน และใช้สภาวะควบคุมเครื่องมือดังตารางที่ 3.2
3. นำข้อมูลที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐาน ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไฮโดรควิโนนกับผลต่างของค่ากระแส (ΔI) ที่วัดได้เมื่อมีและไม่มีไฮโดรควิโนน ตามสูตรดังนี้

$$\Delta I = I_{\text{Hydroquinone}} - I_{\text{blank}}$$

เมื่อ $I_{\text{Hydroquinone}}$ คือ ค่ากระแสที่ได้จากสารละลายไฮโดรควิโนน

I_{blank} คือ ค่ากระแสที่ได้จากสารละลายที่ไม่มีไฮโดรควิโนน (สารละลายแบลนด์)

3.4.3.2 ความแม่นยำ (Accuracy)

ในการหาความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ ทำได้โดยการเติมสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนน ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลต่อลิตร ลงไปในสารละลายตัวอย่าง จากนั้นคำนวณหาความเข้มข้นของตัวอย่างที่มีการเติมสารละลายมาตรฐาน และคำนวณหาร้อยละของการคืนกลับ โดยมีขั้นตอนการทดลองดังนี้

- การเตรียมตัวอย่าง

1. ปิเปตสารละลายตัวอย่าง A มา 1.00 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร พีเอช 7.0 ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร หลังจากนั้นหยดสารละลายปริมาตร 60 ไมโครลิตร ลงบนบริเวณผิวหน้าขั้วไฟฟ้า

2. ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน และใช้สภาวะควบคุมเครื่องมือดังตารางที่ 3.2

3. ทำการทดลองซ้ำตั้งแต่ข้อ 1 - 2 แต่เปลี่ยนสารละลายตัวอย่างเป็น B - J

- การเตรียมตัวอย่างที่มีการเติมสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนน

1. ปิเปตสารละลายตัวอย่าง A มา 10.00 มิลลิลิตร หลังจากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนนความเข้มข้น 100 มิลลิโมลต่อลิตร มา 1.00 มิลลิลิตร (จะได้ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 1 มิลลิโมลต่อลิตร) ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 50.00 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรจนถึงขีดบอกริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน

2. นำสารละลายในข้อ 1. มา 1.00 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร พีเอช 7.0 ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร หลังจากนั้นหยดสารละลายปริมาตร 60 ไมโครลิตร ลงบนบริเวณผิวหน้าขั้วไฟฟ้า

3. ตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน และใช้สภาวะควบคุมเครื่องมือดังตารางที่ 3.2

4. ทำการทดลองซ้ำตั้งแต่ข้อ 1 - 4 แต่เปลี่ยนสารละลายตัวอย่างเป็น B - J

5. หา % recovery จากสูตร

$$\% \text{ Recovery} = \frac{[\text{Spiked sample}] - [\text{Sample}]}{[\text{Standard}]} \times 100$$

เมื่อ [Spiked sample] คือ ความเข้มข้นของไฮโดรควิโนนในสารตัวอย่างที่มีการเติมสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนนลงไป

[Sample] คือ ความเข้มข้นของไฮโดรควิโนนในสารตัวอย่าง

[Standard] คือ ความเข้มข้นไฮโดรควิโนนของสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนนที่เติมลงไปในการทดลอง

3.4.3.3 ความเที่ยง (Precision)

ใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบวิธีพิมพ์สกรีนสำหรับการวัดสารละลายแบลงค์และสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนนความเข้มข้น 1 mM จำนวน 5 ครั้ง โดยวัดค่ากระแสไฟฟ้าที่ได้ในแต่ละครั้ง และนำค่ากระแสไฟฟ้าที่ได้ไปคำนวณหาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Relative Standard Deviation; RSD) ที่ได้จากการทำซ้ำ หาได้จากสูตร

$$\% \text{ RSD} = \frac{\text{SD}}{\bar{X}} \times 100$$

SD คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

\bar{X} คือ ค่าเฉลี่ยของกระแสที่วัดได้

3.4.3.4 ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (Limit of Detection, LOD)

หาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด ทำได้โดยการวิเคราะห์สารละลายแบลงค์ จำนวน 5 ครั้ง และนำค่ากระแสที่วัดได้คำนวณหาค่าขีดจำกัดในการตรวจพบ ได้จากสูตร

$$\text{LOD} = \frac{3\text{SD of Blank}}{\text{Slope}}$$

SD คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

Slope คือ ความชันของกราฟมาตรฐาน

3.4.3.5 ขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ (Limit of quantitation, LOQ)

การหาขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์เชิงปริมาณของวิธี ทำได้โดยการวิเคราะห์สารละลายแบลงค์ จำนวน 5 ครั้ง นำค่ากระแสที่วัดได้คำนวณหาค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ตามสูตรดังนี้

$$\text{LOQ} = \frac{10\text{SD of Blank}}{\text{Slope}}$$

SD คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

Slope คือ ความชันของกราฟมาตรฐาน

3.4.4 ศึกษาความเสถียรภาพ (stability) ของขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน

ศึกษาเสถียรภาพของขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน โดยทำการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนนความเข้มข้น 1 มิลลิโมลต่อลิตร ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลต่อลิตร พีเอช 7.0 ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน และใช้สภาวะควบคุมเครื่องโพเทนชิโอสแตทดังตารางที่ 3.2 โดยทำการทดลอง 17 วัน

3.4.5 ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีที่พัฒนาขึ้นกับวิธีการวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรควิโนน ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลเทมเมทรีโดยใช้ขั้วไฟฟ้าแบบไส้ดินสอด และเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลว สมรรถนะสูง (HPLC)

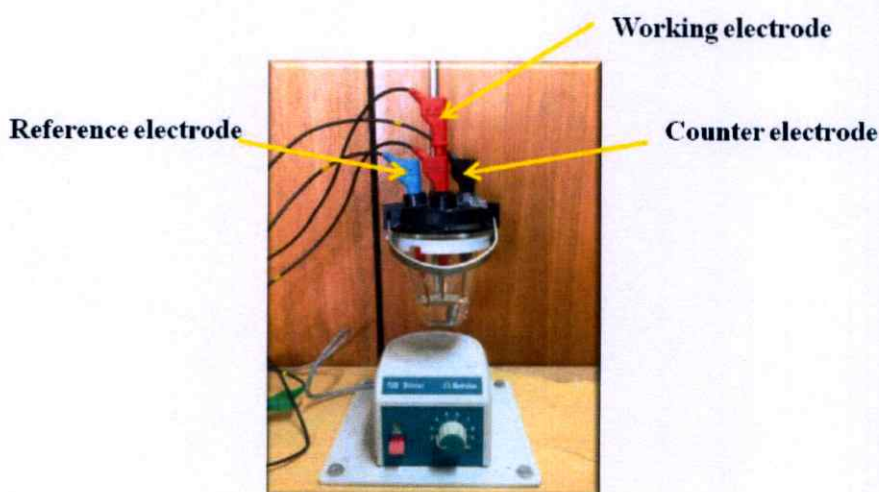
ในงานวิจัยนี้ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนนโดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์ สกรีนโดยอาศัยการหยดสารละลายลงบนขั้วไฟฟ้า ซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีที่พัฒนาขึ้นมาใหม่ ดังนั้นจึงต้องทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบเพื่อเป็นการยืนยันความถูกต้อง แม่นยำและการยอมรับได้ของวิธีที่พัฒนาขึ้นมาใหม่ โดยนำตัวอย่างครีมที่ถูกวิเคราะห์ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลเทมเมทรีโดยใช้ขั้วไฟฟ้า กราฟีนแบบพิมพ์สกรีนที่พัฒนาขึ้น มาทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลเทมเมทรีโดยใช้ขั้วไฟฟ้า แบบไส้ดินสอด [28] และเทคนิค HPLC [11] และเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ด้วย ANOVA test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยมีวิธีการดังนี้

3.4.5.1 เทคนิคไซคลิกโวลเทมเมทรีโดยใช้ขั้วไฟฟ้าทั้งสามเป็นไส้ดินสอด มีวิธีการดังนี้

1. สภาวะควบคุมของเครื่องมือ

ศักย์ไฟฟ้าเริ่มต้น (start potential ; (V))	- 0.800
ศักย์ไฟฟ้าสูงสุด (upper vertex potential ; (V))	+ 0.800
ศักย์ไฟฟ้าต่ำสุด (lower vertex potential ; (V))	-0.800
ศักย์ไฟฟ้าสุดท้าย (stop potential ; (V))	- 0.800
จำนวนรอบของการสแกน (number of stop crossing ; (รอบ))	2
จังหวะศักย์ไฟฟ้า (step potential ; (V))	0.0200
อัตราการสแกน (scan rate ; (V/s))	0.1000

ชุดอุปกรณ์การทดลองแสดงดังรูปที่ 3.3



รูปที่ 3.3 ชุดอุปกรณ์การทดลองการวิเคราะห์ไฮโดรควิโนนโดยใช้ขั้วไฟฟ้าทั้งสามเป็นดินสอด ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลเทมเมทรี

2. ทำการสร้างกราฟมาตรฐานไฮโดรควิโนนในช่วงความเข้มข้น 0.1 – 15 มิลลิโมลต่อลิตร จากนั้นทำการวิเคราะห์ไฮโดรควิโนนในตัวอย่างเครื่องสำอาง โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานไฮโดรควิโนนที่ได้

3.4.5.2 เทคนิค HPLC มีวิธีการดังนี้

1. สภาวะการทดลอง

คอลัมน์	HiQ Sil C18 HS Column (4.6x150 mm; 100 Å pore size; 5 µm particle size)
เฟสเคลื่อนที่	น้ำผสมเมทานอลในอัตราส่วน 80:20 v/v
อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่	1 มิลลิลิตรต่อนาที
ปริมาตรที่ฉีดเข้าระบบ	10 ไมโครลิตร
ความยาวคลื่นที่ตรวจวัด	289 นาโนเมตร
ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน	55, 110, 165, 220 และ 275 ไมโครโมลต่อลิตร

2. ทำการสร้างกราฟมาตรฐานไฮโดรควิโนนในช่วงความเข้มข้น 55 – 275 ไมโครโมลต่อลิตร จากนั้นทำการวิเคราะห์ไฮโดรควิโนนในตัวอย่างเครื่องสำอาง โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานไฮโดรควิโนนที่ได้

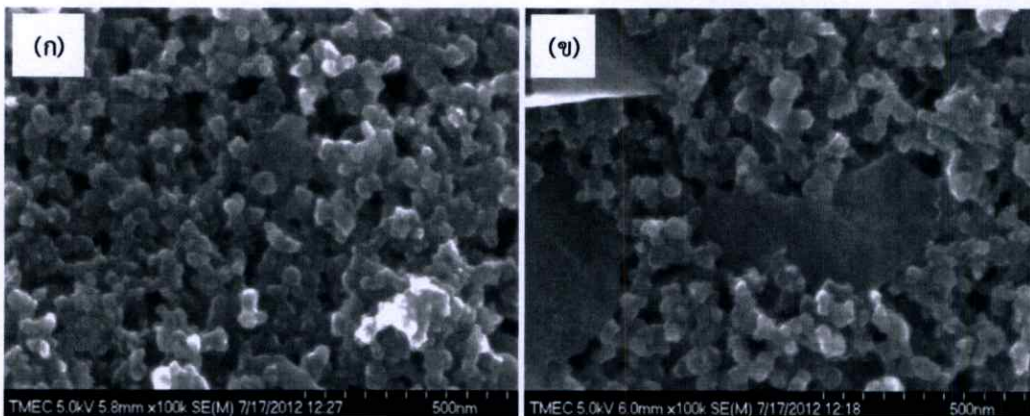
บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรควิโนนด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี (CV) โดยใช้ขั้วไฟฟ้าแบบพิมพ์สกรีน โดยอาศัยการวิเคราะห์แบบหยดเดียว (single drop analysis) ในบทนี้จะกล่าวถึงผลการวิจัยและอภิปรายผล การศึกษาคุณลักษณะทางกายภาพของขั้วไฟฟ้า การหาสถานะการทดลองที่เหมาะสม การประเมินคุณลักษณะต่างๆ ของวิธี และการนำวิธีที่พัฒนาขึ้นไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนนในตัวอย่างเครื่องสำอาง รวมถึงการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีที่พัฒนาขึ้นด้วย

4.1 ผลการศึกษาคุณลักษณะทางกายภาพของขั้วไฟฟ้าด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope ; SEM)

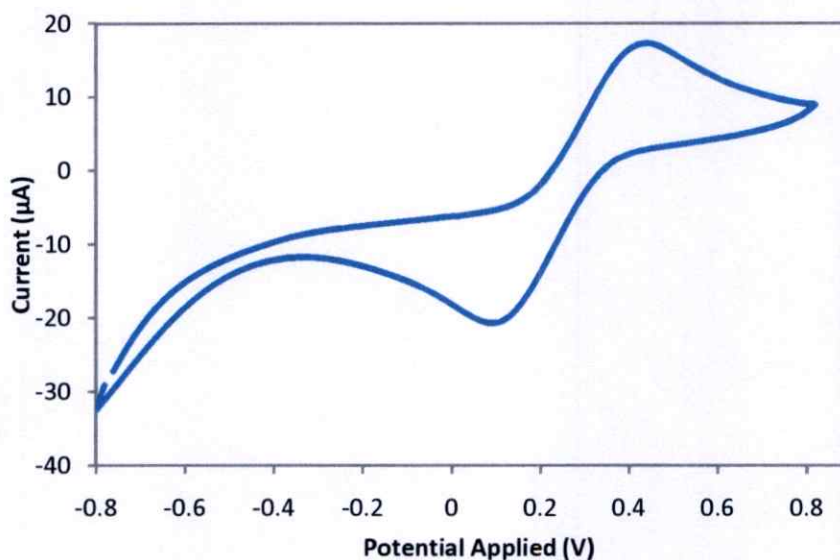
ผลการศึกษาสัณฐานและรายละเอียดของลักษณะพื้นผิวของตัวอย่างหมึกกราฟีนที่เตรียมขึ้นในหัวข้อ 3.3.1 ในรูปแบบสามมิติด้วยเทคนิค SEM แสดงดังรูปที่ 4.1 ซึ่งรูปที่ 4.1 ก และ ข เป็นการเปรียบเทียบระหว่างหมึกคาร์บอนที่ไม่มีกราฟีนและมีกราฟีน ตามลำดับ พบว่าที่รูป 4.1 (ก) จะมีการกระจายตัวของคาร์บอนอยู่บริเวณขั้วไฟฟ้า ส่วนรูปที่ 4.1 (ข) จะเห็นได้ว่าจะมีการกระจายของกราฟีนซึ่งมีลักษณะเป็นแผ่นบางๆ (nanosheets) ผสมอยู่กับคาร์บอนที่บริเวณขั้วไฟฟ้า ซึ่งทำให้สมบัติการนำไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้าดีขึ้น เนื่องจากกราฟีนมีคุณสมบัติการนำไฟฟ้าที่ดี และช่วยทำให้การส่งผ่านของอิเล็กตรอนได้ดีบนบริเวณผิวหน้าขั้วไฟฟ้า [47]



รูปที่ 4.1 ภาพถ่ายจาก SEM ของ (ก) ขั้วไฟฟ้าพิมพ์คาร์บอน และ (ข) ขั้วไฟฟ้าพิมพ์กราฟีน

4.2 ผลการศึกษาความเป็นไปได้ของการใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน

การศึกษาความเป็นไปได้ของการใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน โดยนำไปตรวจวัดสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมเฮกซะไซยาโนเฟอร์เรต ($K_3(Fe(CN)_6)$) ความเข้มข้น 3.0 มิลลิโมลต่อลิตร ในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรีสแกนศักย์ไฟฟ้าในช่วง -0.8 ถึง 0.8 V ด้วยอัตราการสแกน 100 มิลลิโวลต์ต่อวินาที แสดงไซคลิกโวลแทมโมแกรม ดังรูปที่ 4.2



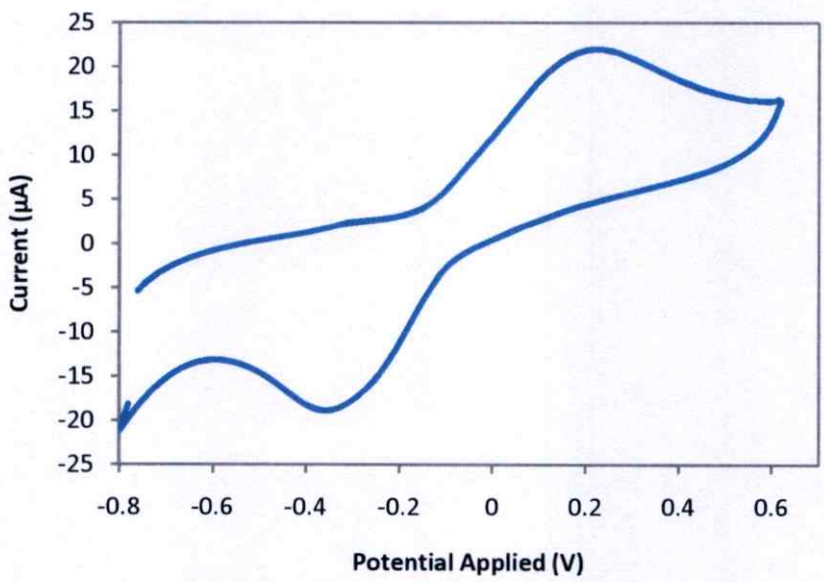
รูปที่ 4.2 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของการตรวจวัดสารละลายมาตรฐาน $K_3(Fe(CN)_6)$ เข้มข้น 3.0 มิลลิโมลต่อลิตร ในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร อัตราการสแกน 100 มิลลิโวลต์ต่อวินาที โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน

จากไซคลิกโวลแทมโมแกรม เป็นการศึกษาความเป็นไปได้ของขั้วไฟฟ้าซึ่งแสดงให้เห็นถึงตำแหน่งที่เกิดปฏิกิริยารีดักชันและออกซิเดชันของสารละลายมาตรฐาน $K_3(Fe(CN)_6)$ บริเวณตำแหน่งของศักย์ไฟฟ้า 0.10 และ 0.43 V ตามลำดับ ซึ่งเป็นตำแหน่งของการเกิดปฏิกิริยารีดักชันและออกซิเดชันของ Fe(III) และ Fe(II) ตามลำดับ [48] ดังนั้น ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีนที่สร้างขึ้นมีสมบัติของการเป็นขั้วไฟฟ้าได้

4.3 ผลการศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์

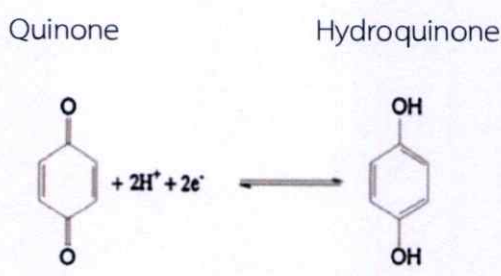
การศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนน โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี ในการศึกษาการเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการทดลองจะพิจารณาจากความไวในการวิเคราะห์ และค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) รวมทั้งความเที่ยงในการวิเคราะห์

ในเบื้องต้น ได้นำข้อมูลไฟฟ้ากราฟิบบนแบบพิมพ์สกรีนมาใช้ในการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนนที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิโมลต่อลิตร ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร พีเอช 7.0 ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี สแกนศักย์ไฟฟ้าในช่วง -0.8 ถึง +0.6 V ด้วยอัตราการสแกน 100 มิลลิโวลต์ต่อวินาที ผลที่ได้แสดงไซคลิกโวลแทมโมแกรมของการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนน ดังรูปที่ 4.3



รูปที่ 4.3 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนน ความเข้มข้น 1.0 มิลลิโมลต่อลิตร ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร พีเอช 7.0 อัตราการสแกน 100 มิลลิโวลต์ต่อวินาที โดยใช้ข้อมูลไฟฟ้ากราฟิบบนแบบพิมพ์สกรีน

จากไซคลิกโวลแทมโมแกรม พบว่า ไฮโดรควิโนนสามารถเกิดปฏิกิริยารีดักชันที่ศักย์ไฟฟ้า -0.36 V และปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ศักย์ไฟฟ้า 0.22 V ซึ่งปฏิกิริยาทั้งสองเกี่ยวข้องกับการถ่ายโอน 2 อิเล็กตรอน [26] ดังปฏิกิริยานี้

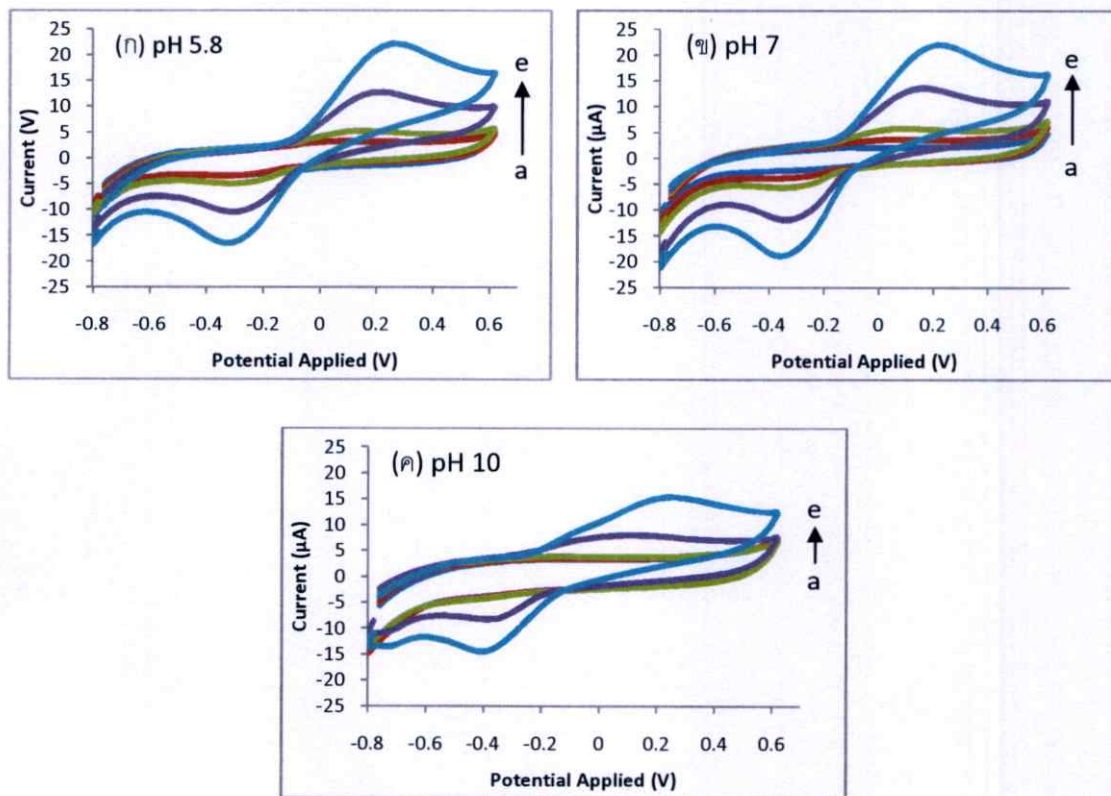


รูปที่ 4.4 แสดงครึ่งปฏิกิริยารีดักชันของไฮโดรควิโนน [26]

เมื่อไฮโดรควิโนนเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ จะเกิดสัญญาณแอนอดิกและแคโทดิกที่ศักย์ไฟฟ้าที่แน่นอน ซึ่งแปรผันตามความเข้มข้นของไฮโดรควิโนน

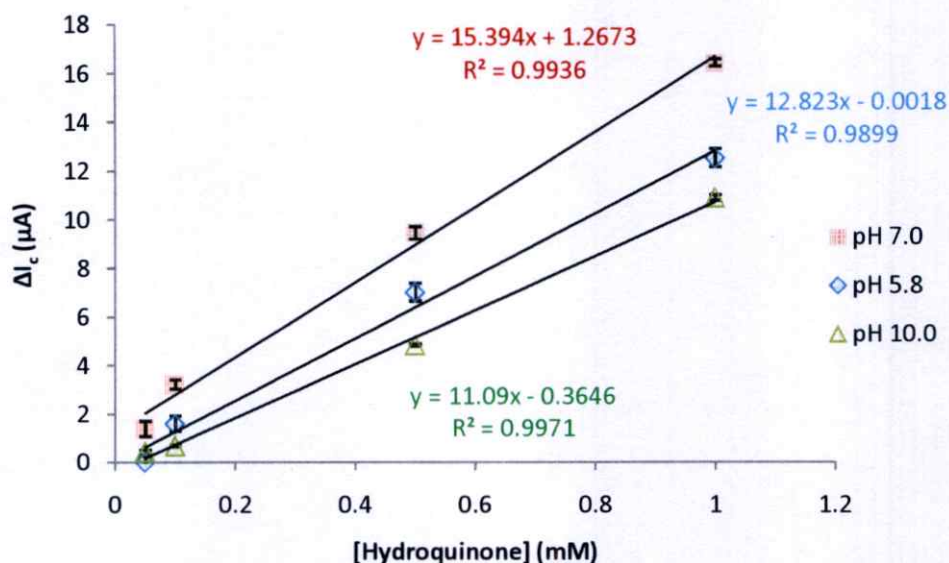
4.3.1 ผลของค่าพีเอชของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ต่อการวิเคราะห์ไฮโดรควิโนน

จากผลการศึกษาค่าพีเอชของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์สำหรับการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนนที่ความเข้มข้น 0, 0.05, 0.1, 0.5 และ 1.0 มิลลิโมลต่อลิตร ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 5.8, 7.0 และ 10.0 โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟท์แบบพิมพ์สกรีน ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี สแกนศักย์ไฟฟ้าในช่วง -0.8 ถึง +0.6 V ด้วยอัตราการสแกน 100 มิลลิโวลต์ต่อวินาที ผลที่ได้แสดงไซคลิกโวลแทมโมแกรมของการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนน ดังรูปที่ 4.5



รูปที่ 4.5 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนน ความเข้มข้น (จาก a ถึง e) : 0, 0.05, 0.1, 0.5, และ 1.0 มิลลิโมลต่อลิตร ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ที่พีเอช (ก) 5.8 (ข) 7.0 และ (ค) 10.0 อัตราการสแกน 100 มิลลิโวลต์ต่อวินาที โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟท์แบบพิมพ์สกรีน

จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมรูปที่ 4.5 เมื่อนำความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างของกระแสแคโทดิกที่มีไฮโดรควิโนนและไม่มีไฮโดรควิโนน (ΔI_c) กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนนมาพลอตกราฟมาตรฐานจะได้ดังรูปที่ 4.6

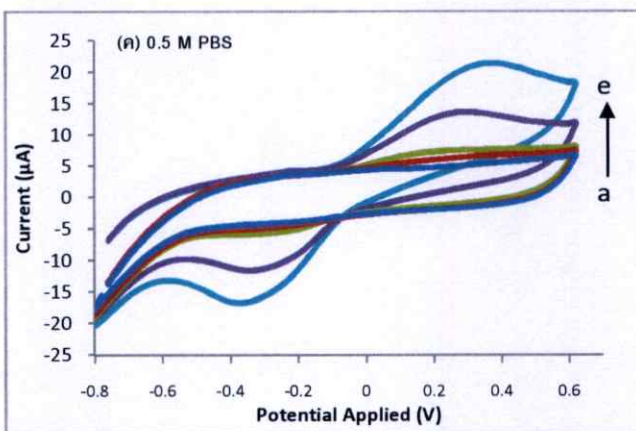
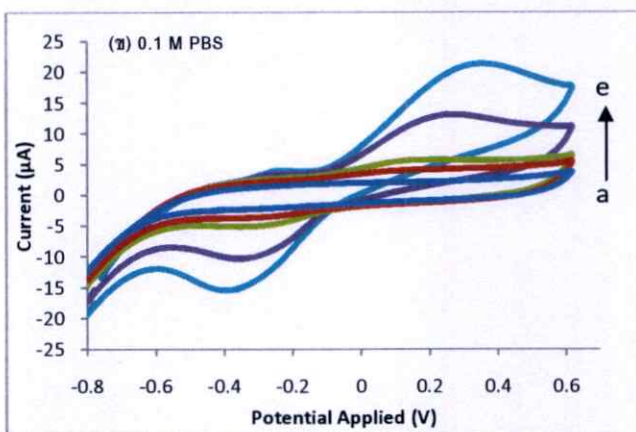
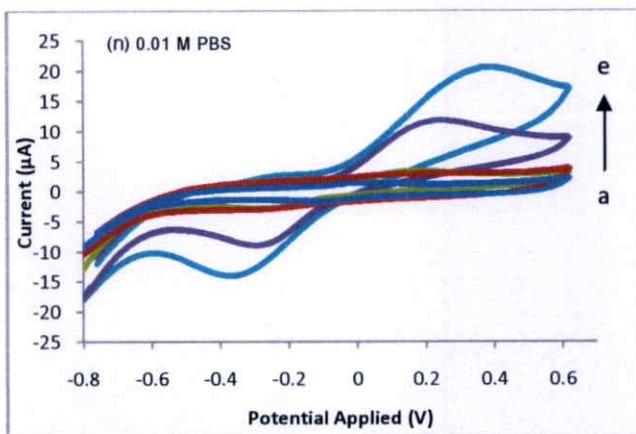


รูปที่ 4.6 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างของกระแสแคโทดิกที่มีไฮโดรควิโนนและไม่มีไฮโดรควิโนน (ΔI_c) กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนน ความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.5 และ 1.0 มิลลิโมลต่อลิตร ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่พีเอช 5.8, 7.0, และ 10.0 อัตราการสแกน 100 มิลลิโวลต์ต่อวินาที โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน

เมื่อพิจารณากราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างของกระแสแคโทดิกที่มีไฮโดรควิโนนและไม่มีไฮโดรควิโนน (ΔI_c) กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนนในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่พีเอช 5.8, 7.0, และ 10.0 พบว่า ผลต่างของกระแสแคโทดิกเพิ่มขึ้นเมื่อค่าพีเอชเพิ่มขึ้นจาก 5.8 เป็น 7.0 และลดลงเมื่อเพิ่มค่าพีเอชจาก 7.0 เป็น 10.0 ซึ่งผลต่างของกระแสแคโทดิกสูงสุดอยู่ที่ค่าพีเอช 7.0 เนื่องจากที่พีเอช 5.8 จะมีโปรตอนอยู่ในสารละลายจำนวนมาก ทำให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันบริเวณหน้าขั้วไฟฟ้าเกิดขึ้นได้ยาก เนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไฮโดรควิโนน (รูปที่ 4.4) ขึ้นอยู่กับจำนวนโปรตอนในระบบ (proton dependent) [24] ส่งผลให้ความไวในการวิเคราะห์ลดลง และที่ค่าพีเอช 10.0 ไฮโดรควิโนนมีการสูญเสียโปรตอน (deprotonate) บริเวณหมู่ไฮดรอกซิล ทำให้มีสภาพประจุเป็นลบจึงทำให้เกิดแรงผลักทางไฟฟ้าสถิต (electrostatic repulsion) ระหว่างไฮโดรควิโนนกับขั้วไฟฟ้า ส่งผลทำให้ค่ากระแสแคโทดิกลดลง [26] ดังนั้นจึงเลือกสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ค่าพีเอช 7.0 เป็นสารละลายอิเล็กโทรไลต์ สำหรับการตรวจวัดหาปริมาณไฮโดรควิโนนโดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน ทั้งนี้เนื่องจากให้ค่าความชันของกราฟมาตรฐานที่ดีที่สุด และค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) ที่ดีด้วย

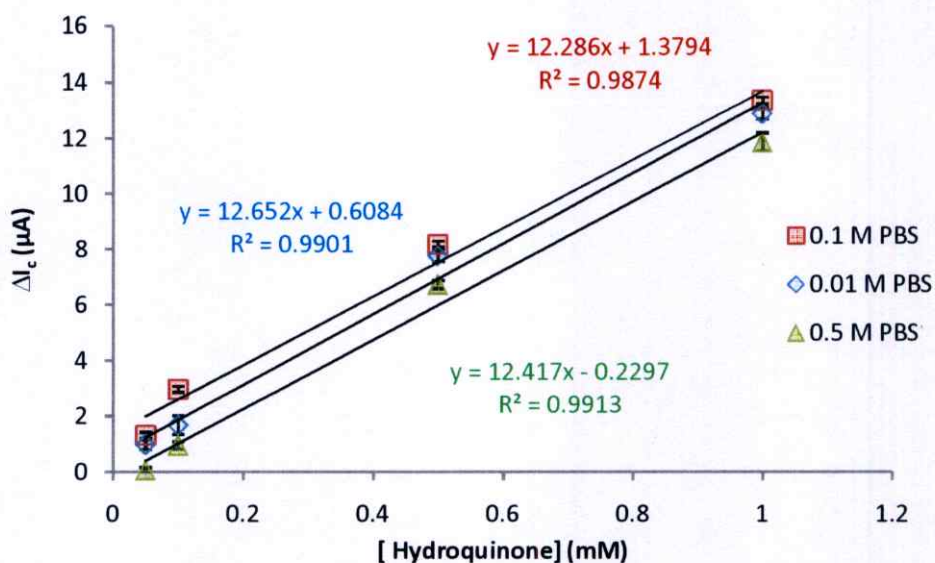
4.3.2 ผลของความเข้มข้นของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ต่อการวิเคราะห์ไฮโดรควิโนน

จากผลการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่เหมาะสมในการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนนที่ความเข้มข้น 0, 0.05, 0.1, 0.5, และ 1.0 มิลลิโมลต่อลิตร โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน ความเข้มข้นของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.01, 0.1, และ 0.5 โมลต่อลิตร ที่พีเอช 7.0 ผลที่ได้แสดงโวลแทมโมแกรมดังรูปที่ 4.7



รูปที่ 4.7 แสดงไซคลิกโวลแทมโมแกรมของการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนน ความเข้มข้น (จาก a ถึง e) : 0, 0.05, 0.1, 0.5, และ 1.0 มิลลิโมลต่อลิตร ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7.0 ความเข้มข้น (ก) 0.01 (ข) 0.1 และ (ค) 0.5 โมลต่อลิตร อัตราการสแกน 100 มิลลิโวลต์ต่อวินาที โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน

จากไซคลิกโวลแทมโมแกรม เมื่อนำความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างของกระแสแคโทดิกที่มีไฮโดรควิโนนและไม่มีไฮโดรควิโนน (ΔI_c) กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนนมาพลอตกราฟมาตรฐานจะได้ดังรูปที่ 4.8

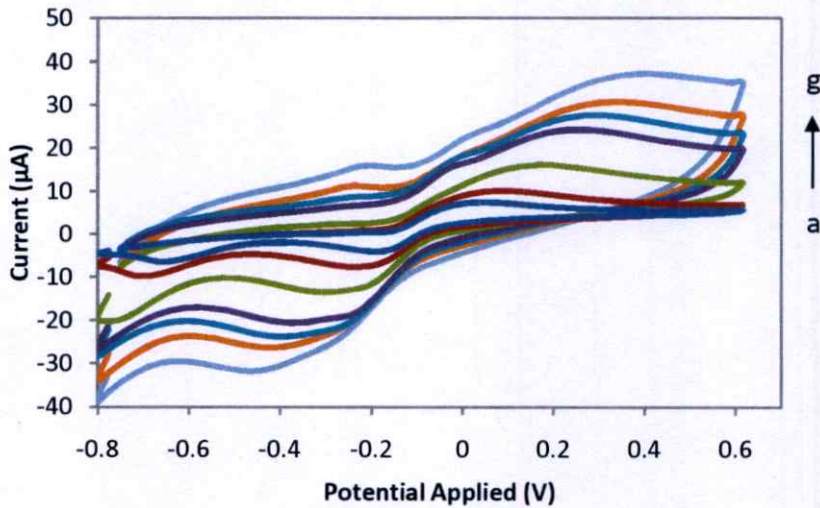


รูปที่ 4.8 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างของกระแสแคโทดิกที่มีไฮโดรควิโนนและไม่มีไฮโดรควิโนน (ΔI_c) กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนน ความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.5 และ 1.0 มิลลิโมลต่อลิตร ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่พีเอช 7.0 อัตราการสแกน 100 มิลลิโวลต์ต่อวินาที โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน

เมื่อพิจารณากราฟมาตรฐานที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างของกระแสแคโทดิกที่มีไฮโดรควิโนนและไม่มีไฮโดรควิโนน (ΔI_c) กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนนในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้นต่างๆ พบว่า เมื่อใช้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.01, 0.1, และ 0.5 โมลต่อลิตร เป็นสารละลายอิเล็กโทรไลต์ ให้ผลการทดลองที่ไม่แตกต่างกัน เนื่องจากอิเล็กโทรไลต์ช่วยที่มีความเข้มข้นมากกว่าความเข้มข้นของไอออนที่ต้องการวิเคราะห์มากจะช่วยลดความต้านทานของเซลล์ และยังช่วยลดการเกิดกระแสไมเกรชันได้ เพราะอิเล็กโทรไลต์ช่วยทำให้แรงที่เกิดจากการดึงดูดและผลักกันระหว่างขั้วไฟฟ้ากับไอออนในสารละลายลดลง โดยไอออนของอิเล็กโทรไลต์ช่วยจะถูกดึงเข้าหาขั้วไฟฟ้าแทน แต่ไอออนนั้นจะไม่เกิดปฏิกิริยาที่ขั้วไฟฟ้าเพราะศักย์ไฟฟ้าที่ขั้วยังไม่สูงพอ [42] ทำให้กระแสที่ตรวจวัดได้นั้นเป็นกระแสที่เกิดจากการแพร่เพียงอย่างเดียว ในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร เป็นสารละลายอิเล็กโทรไลต์ สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนนในตัวอย่างเครื่องสำอาง

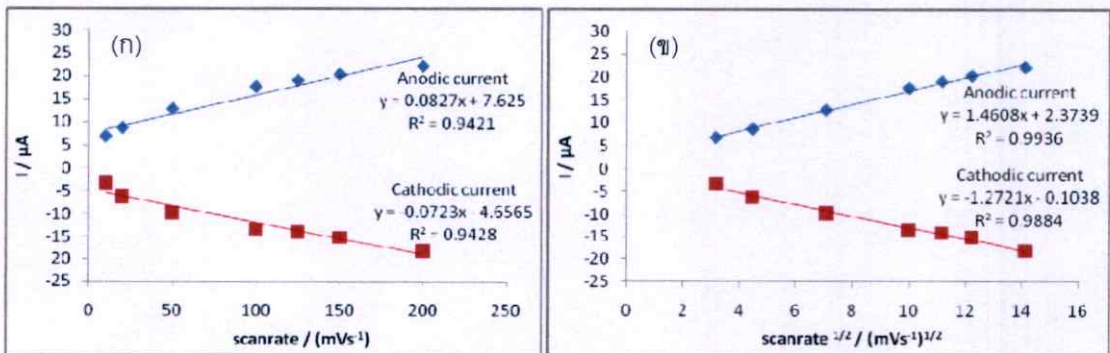
4.3.3 ผลการศึกษาปฏิกิริยาบริเวณหน้าขั้วไฟฟ้า

การศึกษาอัตราการสแกนเพื่อตรวจสอบปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นบริเวณผิวหน้าขั้วไฟฟ้า สำหรับการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนนที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิโมลต่อลิตร โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน ในความเข้มข้นของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 โมลต่อลิตร พีเอช 7.0 สนามศักย์ไฟฟ้าในช่วง -0.8 ถึง +0.6 V ด้วยอัตราการสแกน 10, 20, 50, 100, 125, 150, และ 200 มิลลิโวลต์ต่อวินาที แสดงในไซคลิกโวลแทมโมแกรมดังรูปที่ 4.9



รูปที่ 4.9 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนน ความเข้มข้น 1.0 มิลลิโมลต่อลิตร ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร พีเอช 7.0 ที่อัตราการสแกน (จาก a ถึง g) : 10, 20, 50, 100, 125, 150, และ 200 มิลลิโวลต์ต่อวินาที โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน

จากไซคลิกโวลแทมโมแกรมรูปที่ 4.9 พบว่า กระแสแอนอดิกและแคโทดิกแปรผันตามอัตราการสแกน กล่าวคือเมื่อเพิ่มอัตราการสแกนค่ากระแสแอนอดิกและกระแสแคโทดิกก็จะเพิ่มขึ้นตามอัตราการสแกน และเมื่อพลอตค่ากระแสไฟฟ้ากับค่าอัตราการสแกน (รูปที่ 4.10(ก)) และค่ากระแสไฟฟ้ากับรากที่สองของอัตราการสแกน (รูปที่ 4.10(ข))

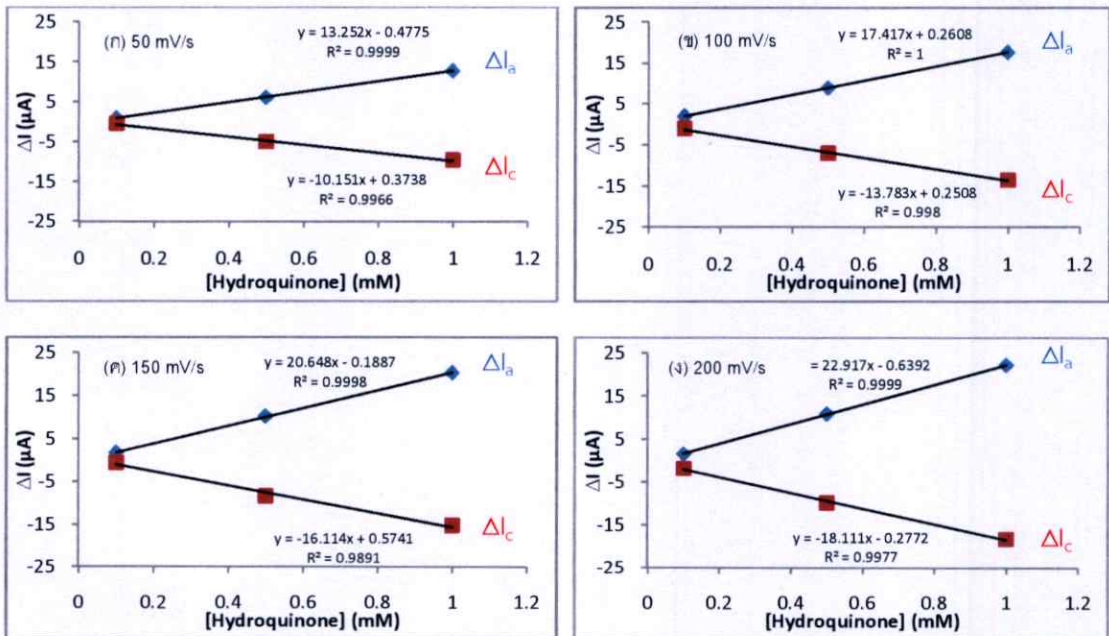


รูปที่ 4.10 ความสัมพันธ์ระหว่างกระแสปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนน ความเข้มข้น 1.0 มิลลิโมลต่อลิตร กับ (ก) scan rate และ (ข) scan rate ^{1/2}

จากรูปที่ 4.10 เมื่อพลอตกราฟกระแสไฟฟ้าของสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนนกับรากที่สองของอัตราการสแกนมีความเป็นเส้นตรงที่ดีกว่า โดยค่า R^2 ของกระแสปฏิกริยาออกซิเดชันและรีดักชันเท่ากับ 9936 และ 0.9884 ตามลำดับ ในขณะที่การพลอตกราฟระหว่างกระแสไฟฟ้าของสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนนกับอัตราการสแกนจะได้ค่า R^2 ของกระแสปฏิกริยาออกซิเดชันและรีดักชันน้อยกว่า คือ 0.9421 และ 0.9428 ตามลำดับ จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่า กระบวนการที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้า (Electrode process) จะควบคุมด้วยกระบวนการแพร่ (Diffusion controlled process) หมายความว่า กระบวนการเกิดปฏิกริยาออกซิเดชันและรีดักชันของไฮโดรควิโนนที่บริเวณผิวหน้าขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีนเกิดขึ้นเร็วจนทำให้เกิดเกรเดียนต์ของความเข้มข้นไฮโดรควิโนนขึ้น ไฮโดรควิโนนในสารละลายจะเคลื่อนที่จากชั้นสารละลายบัลค์ (Bulk solution) ซึ่งมีความเข้มข้นมากกว่าบริเวณใกล้ผิวหน้าขั้วไฟฟ้า โดยการแพร่จะเคลื่อนที่เข้าสู่บริเวณผิวหน้าขั้วไฟฟ้า ดังนั้น การเกิดปฏิกริยาที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้ากระแสที่เกิดขึ้นจะมากหรือน้อยจึงขึ้นอยู่กับอัตราการแพร่ของไฮโดรควิโนนเข้าสู่บริเวณผิวหน้าขั้วไฟฟ้า [42]

4.3.4 ผลของอัตราการสแกนต่อการวิเคราะห์ไฮโดรควิโนน

จากการศึกษาอัตราการสแกนที่เหมาะสมสำหรับตรวจวัดสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนน ความเข้มข้น 0.1, 0.5, และ 1.0 มิลลิโมลต่อลิตรในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร ที่พีเอช 7.0 โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน สแกนศักย์ไฟฟ้าในช่วง -0.8 ถึง +0.6 ที่อัตราการสแกน 50, 100, 150, และ 200 มิลลิโวลต์ต่อวินาที เมื่อนำความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างของกระแสแอนอดิกและแคโทดิกที่มีไฮโดรควิโนนและไม่มีไฮโดรควิโนน (ΔI) กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนนมาสร้างกราฟมาตรฐานดังรูปที่ 4.11



รูปที่ 4.11 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างของกระแสที่มีไฮโดรควิโนนและไม่มีไฮโดรควิโนน (ΔI) กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนนในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร พีเอช 7.0 ที่อัตราการสแกน (ก) 50 (ข) 100 (ค) 150 และ (ง) 200 มิลลิโวลต์ต่อวินาที ตามลำดับ โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน

เมื่อพิจารณารูปที่ 4.11 พบว่า ที่อัตราการสแกนสูงขึ้นให้ค่าความเป็นเส้นตรงและความชันของกราฟมาตรฐานที่ดี แต่อย่างไรก็ตามตำแหน่งศักย์ไฟฟ้าของการเกิดกระแสแคโทดิกและแอโนดิกจะเลื่อน (shift) ไปทางศักย์ไฟฟ้าที่สูงขึ้น (รูปที่ 4.9) นั้นหมายถึง จะต้องใช้พลังงานศักย์ไฟฟ้าเพิ่มมากขึ้น เพื่อที่จะให้เกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ของไฮโดรควิโนนบนหน้าขั้วไฟฟ้า ดังนั้น ในการทดลองนี้จึงเลือกอัตราการสแกนที่ 100 มิลลิโวลต์ต่อวินาที เป็นอัตราการสแกนที่เหมาะสม

และเมื่อพิจารณาค่าความต่างศักย์ไฟฟ้า (ΔE_p) ของสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนนความเข้มข้น 1 มิลลิโมลต่อลิตร ที่อัตราการสแกน 100 มิลลิโวลต์ต่อวินาที (ตำแหน่งศักย์ไฟฟ้าของปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันจะเกิดประมาณ 0.225 และ - 0.361 V ตามลำดับ) พบว่า มีค่า ΔE_p เท่ากับ 0.586 ซึ่งจากสมการ Nernst ค่าความต่างของตำแหน่งศักย์ไฟฟ้า ($\Delta E_p = E_{p,a} - E_{p,c}$) จะอยู่ประมาณ 0.059 V ที่อุณหภูมิ 25 °C โดยค่า $\Delta E_p < 0.059/n$ V แสดงว่าการเกิดปฏิกิริยาที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้าเป็นแบบผันกลับได้ (Reversible) และ $\Delta E_p > 0.059/n$ V แสดงว่าปฏิกิริยาเป็นแบบผันกลับได้ไม่สมบูรณ์ (Quasireversible) ซึ่งสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนนมีค่า $\Delta E_p > 0.059/n$ V แสดงว่าการเกิดปฏิกิริยาที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้ากราฟิบบนแบบพิมพ์สกรีนเป็นปฏิกิริยาผันกลับได้ไม่สมบูรณ์

จากที่ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการตรวจวัดไฮโดรควิโนนด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรีโดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟิบบนแบบพิมพ์สกรีน สามารถสรุปได้ดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 สรุปการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ไฮโดรควิโนน

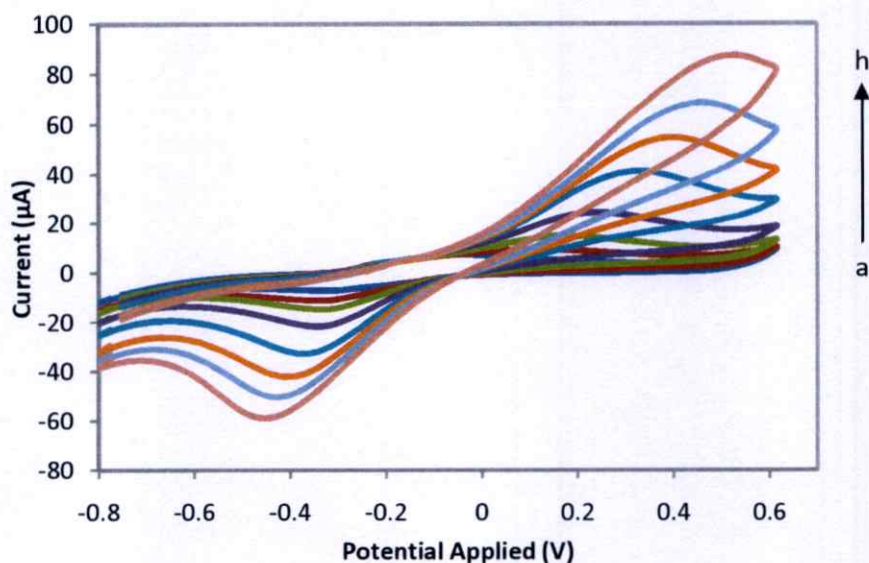
ปัจจัยที่ศึกษา	ช่วงที่ศึกษา	ค่าที่เลือก
ค่าพีเอชของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์	5.8 – 10.0	7.0
ความเข้มข้นของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (โมลต่อลิตร)	0.01 – 0.5	0.1
อัตราการสแกน (มิลลิโวลต์ต่อวินาที)	20 – 200	100

โดยมีตำแหน่งของการเกิดแอโนดิกพิกและแคโทดิกพิกที่ศักย์ไฟฟ้า 0.2 ถึง 0.3 V และ -0.3 ถึง -0.4 V ตามลำดับ

4.4 ประเมินคุณลักษณะเด่นของวิธีวิเคราะห์

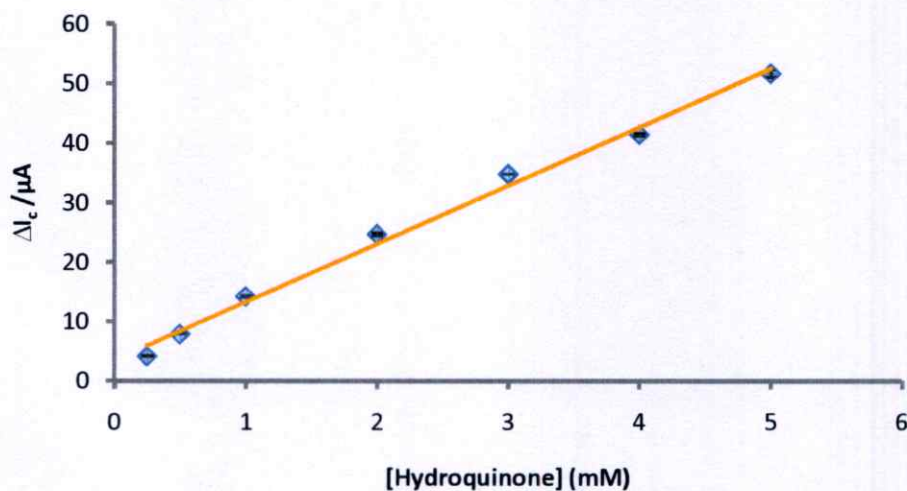
4.4.1 ช่วงความเป็นเส้นตรง

จากการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนนความเข้มข้น 0 ถึง 5.0 มิลลิโมลต่อลิตร ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร ที่พีเอช 7.0 ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรีโดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟิบบนแบบพิมพ์สกรีน ทำการวิเคราะห์แบบหยดเดียว (single drop analysis) โดยการหยดสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนนปริมาตร 60 ไมโครลิตร ลงบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าจะได้ไซคลิกโวลแทมโมแกรม ดังรูปที่ 4.12 พบว่า กระแสแคโทดิกและแอโนดิกแปรผันตามความเข้มข้นของไฮโดรควิโนน



รูปที่ 4.12 รูปแสดงไซคลิกโวลแทมโมแกรมของสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนน ความเข้มข้น (จาก a ถึง h) : 0, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, และ 5.0 มิลลิโมลต่อลิตร ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร พีเอช 7.0 ที่อัตราการสแกน 100 มิลลิโวลต์ต่อวินาที โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน และใช้การวิเคราะห์แบบหดยืดเดียว

เมื่อนำผลต่างของกระแสแคโทดิกที่มีไฮโดรควิโนนและไม่มีไฮโดรควิโนน (ΔI_c) กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนนมาพลอตกราฟมาตรฐาน พบว่า กราฟมาตรฐานของกระแสแคโทดิกให้ค่าความชันของกราฟมาตรฐานและความเป็นเส้นตรงดีกว่าการพลอตกราฟด้วยกระแสแอโนดิก ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกพลอตกราฟมาตรฐานโดยอาศัยความสัมพันธ์ของกระแสแคโทดิกกับความเข้มข้นของไฮโดรควิโนน ดังรูปที่ 4.13



รูปที่ 4.13 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างของกระแสแคโทดิกกับความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนน ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลต่อลิตร พีเอช 7.0 อัตราการสแกน 100 มิลลิโวลต์ต่อวินาที โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน

จากกราฟมาตรฐาน (รูปที่ 4.13) จะได้ช่วงความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัด คือ ช่วงความเข้มข้น 0.23 ถึง 5.0 มิลลิโมลต่อลิตร โดยมีสมการเส้นตรง คือ

$$\Delta I_c (\mu A) = 9.786 \pm 1.013 [\text{ความเข้มข้นของไฮโดรควิโนน, (mM)}] + 3.511 \pm 0.360$$

มีค่า $R^2 = 0.993$

4.4.2 ความแม่นยำ (accuracy) ของวิธีวิเคราะห์

การศึกษาความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์สามารถทำได้โดยเติมสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนน ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลต่อลิตร ลงในสารละลายตัวอย่างเครื่องสำอางทั้ง 10 ชนิด ซึ่งมีฟอสเฟส บัฟเฟอร์เป็นสารละลายอิเล็กโทรไลต์ ทำการสแกนศักย์ไฟฟ้าในช่วง -0.8 ถึง +0.6 V อัตราการสแกน 100 มิลลิโวลต์ต่อวินาที ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน และวิเคราะห์แบบหดยืดเดียว จากนั้นคำนวณหาความเข้มข้นของตัวอย่างที่มีการเติมสารละลายมาตรฐาน และคำนวณหาร้อยละของการคืนกลับซึ่งแสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ผลการคำนวณหาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรควิโนนในตัวอย่างเครื่องสำอาง

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นของไฮโดรควิโนน		ร้อยละคืนกลับ (% recovery)
	ปริมาณที่เติม (added) mM	ปริมาณที่พบ (found) mM	
A	-	n.d.	-
	1.00	1.06	106
B	-	n.d.	-
	1.00	1.14	114
C	-	n.d.	-
	1.00	1.08	108
D	-	n.d.	-
	1.00	1.09	109
E	-	n.d.	-
	1.00	1.09	109
F	-	n.d.	-
	1.00	1.04	104

ตารางที่ 4.2 ผลการคำนวณหาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรควิโนนในตัวอย่างเครื่องสำอาง (ต่อ)

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นของไฮโดรควิโนน		ร้อยละคืนกลับ (% recovery)
	ปริมาณที่เติม (added) mM	ปริมาณที่พบ (found) mM	
G	-	n.d.	-
	1.00	1.05	105
H	-	n.d.	-
	1.00	0.95	95
I	-	2.43	-
	1.00	3.30	87
J	-	1.68	-
	1.00	2.58	90

n.d. = ตรวจไม่พบ (not detectable)

ยกตัวอย่างการคำนวณค่า % recovery จากตารางเมื่อนำผลการวิเคราะห์ตัวอย่าง J แทนค่าในสมการ การหาค่า % recovery ได้ผลดังนี้

$$\% \text{ recovery} = \frac{[\text{ไฮโดรควิโนนในตัวอย่าง+ที่เติมลงไป}] - [\text{ไฮโดรควิโนนในตัวอย่าง}]}{[\text{ไฮโดรควิโนนของสารมาตรฐานที่เติมลงไปในตัวอย่างเป็นตัวอย่าง}]} \times 100$$

$$\% \text{ recovery} = \frac{2.58 - 1.68}{1} \times 100$$

$$\% \text{ recovery} = 90$$

การคำนวณค่า % recovery ในตัวอย่างอื่นๆ ก็ทำได้ในทำนองเดียวกัน

จากตารางที่ 4.2 จะเห็นได้ว่าการวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรควิโนนในตัวอย่างเครื่องสำอางมีร้อยละคืนกลับอยู่ในช่วงร้อยละ 87 - 114 นั่นคือ วิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นนี้ ไม่ถูกรบกวนจากองค์ประกอบภายในตัวอย่างเครื่องสำอาง จึงถือได้ว่าวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นนี้มีความแม่นยำที่ดี

4.4.3 ความเที่ยงของวิธี

การศึกษาความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์สามารถพิจารณาได้จากส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation ; RSD) ซึ่งได้จากการวัดค่ากระแสแคโทดิกของสารละลายแบลงค์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร พีเอช 7.0 ที่ศักย์ไฟฟ้าตั้งแต่ -0.8 ถึง +0.6 ด้วยอัตราการสแกน 100 มิลลิโวลต์ต่อวินาที จำนวน 5 ครั้ง ซึ่งได้ผลแสดงดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 แสดงค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของค่ากระแสแคโทดิกของสารละลายแบลงค์ และสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนนความเข้มข้น 1 mM

ครั้งที่	กระแสแคโทดิก (μA) ของสารละลายแบลงค์	กระแสแคโทดิก(μA)ของสารละลาย 1 mM HQ
1	8.74	16.75
2	8.47	16.55
3	8.31	16.82
4	8.18	16.86
5	8.03	16.75
ค่าเฉลี่ย	8.356	16.746
SD	0.2323	0.1067

จากตาราง เมื่อนำสัญญาณแคโทดิกของสารละลายแบลงค์แทนค่าในสมการเพื่อคำนวณค่า %RSD ได้ผลดังนี้

$$\% \text{RSD} = \frac{\text{SD}}{\bar{x}} \times 100$$

$$\% \text{RSD} = \frac{0.2323}{8.356} \times 100$$

$$\% \text{RSD} = 2.78$$

ในทำนองเดียวกันเมื่อนำสัญญาณแคโทดิกของสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนน ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลต่อลิตร แทนค่าลงในสมการหาค่า % RSD เท่ากับ 0.63

จากตารางที่ 4.3 พบว่า ค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของสารละลายแบลงค์ มีค่าเท่ากับ 2.78 และค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนน 1 มิลลิโมลต่อลิตร มีค่าเท่ากับ 0.63 ซึ่งน้อยกว่าร้อยละ 5 ดังนั้นจึงถือได้ว่าวิธีนี้มีความเที่ยงที่ดี

4.4.4 ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (Limit of Detection, LOD)

ผลการศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด โดยทำการตรวจวัดสัญญาณแคโทดิกสารละลายแบลนค์ จำนวน 5 ครั้ง แสดงผลตามตารางที่ 4.3 จะสามารถหาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด ได้เมื่อแทนค่า SD ของการวิเคราะห์สารละลายแบลนค์จากตารางที่ 4.3 และค่า slope ในรูปที่ 4.13 ลงในสมการ

$$\text{LOD} = \frac{3\text{SD of Blank}}{\text{Slope}}$$

$$\text{LOD} = \frac{(3)(0.2323)}{10.232}$$

$$\text{LOD} = 0.07 \text{ mM}$$

ดังนั้น ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดไฮโดรควิโนนด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟนแบบพิมพ์สกรีน และอาศัยการวิเคราะห์แบบหยดเดียว (single drop analysis) เท่ากับ 0.07 มิลลิโมลต่อลิตร

4.4.5 ขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ)

ผลการศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ โดยทำการตรวจวัดสารละลายแบลนค์ จำนวน 5 ครั้ง แสดงผลตามตารางที่ 4.3 จะสามารถหาขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ ได้จากการคำนวณตามสมการ

$$\text{LOQ} = \frac{10\text{SD of Blank}}{\text{Slope}}$$

$$\text{LOQ} = \frac{(10)(0.2323)}{10.232}$$

$$\text{LOQ} = 0.23 \text{ mM}$$

ดังนั้น ขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณไฮโดรควิโนนด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟนแบบพิมพ์สกรีน และอาศัยการวิเคราะห์แบบหยดเดียว (single drop analysis) เท่ากับ 0.23 มิลลิโมลต่อลิตร

จากที่ได้ศึกษาคุณลักษณะเด่นของวิธีวิเคราะห์ดังกล่าวมาแล้วข้างต้น สามารถสรุปผลการศึกษาดังตารางที่ 4.4

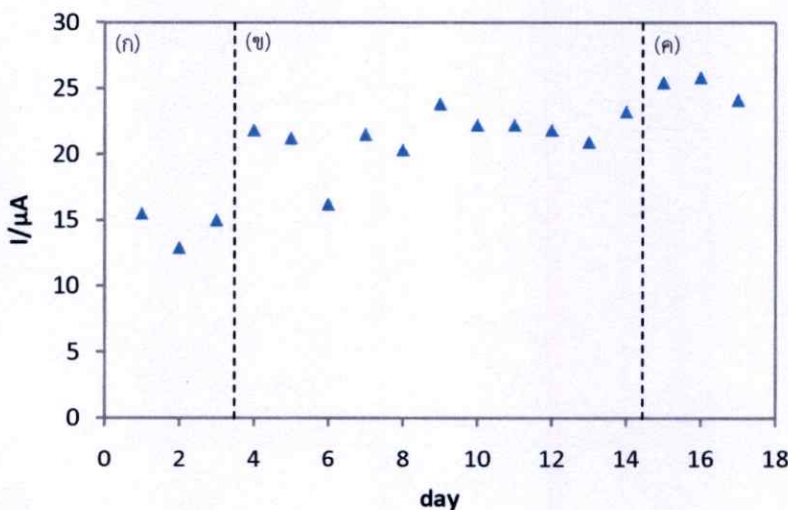
ตารางที่ 4.4 สรุปคุณลักษณะเด่นของวิธีวิเคราะห์ในการวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรควิโนนด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน และอาศัยการวิเคราะห์แบบหยดเดียว (single drop analysis)

คุณลักษณะเด่น	ค่าที่ได้
ช่วงความเป็นเส้นตรง (มิลลิโมลต่อลิตร)	0.23 – 5.0
สมการเชิงเส้นตรง	$\Delta I (\mu A) = 9.786 \pm 1.013 [HQ] (mM) + 3.511 \pm 0.360$
สัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2)	0.993
% recovery	87 – 114
% RSD (n = 5)	0.63
LOD (มิลลิโมลต่อลิตร)	0.07
LOQ (มิลลิโมลต่อลิตร)	0.23

[HQ] = ความเข้มข้นของไฮโดรควิโนน

4.5 ศึกษาเสถียรภาพ (stability) ของขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน

การศึกษาเสถียรภาพของขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีนโดยตรวจวัดสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนนความเข้มข้น 1.0 มิลลิโมลต่อลิตร ทำการทดลอง 17 วัน ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.15 จากการทดลอง พบว่า สามารถใช้ซ้ำได้อย่างน้อย 17 วัน โดยให้ผลการวิเคราะห์ใกล้เคียงกัน อย่างไรก็ตามเนื่องจากการเตรียมสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนนในแต่ละครั้งที่ตรวจวัดไม่ได้มาจากขวดสารละลายมาตรฐานเดียวกันจึงทำให้กระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นเปลี่ยนแปลงไปเล็กน้อย



รูปที่ 4.14 กราฟแสดงค่ากระแสไฟฟ้าที่ได้จากการใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีนเดิมในการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนนความเข้มข้น 1.0 มิลลิโมลต่อลิตร (ก) ขวดที่ 1 (ข) ขวดที่ 2 และ (ค) ขวดที่ 3 ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลต่อลิตร พีเอช 7.0 อัตราการสแกน 100 มิลลิโวลต์ต่อวินาที

4.6 ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีที่พัฒนาขึ้นกับวิธีการวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรควิโนนด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรีโดยใช้ขั้วไฟฟ้าแบบไส้ดินสอด และเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)

งานวิจัยนี้ได้ทำการตรวจวัดปริมาณไฮโดรควิโนนในตัวอย่างเครื่องสำอางทั้งหมด 10 ตัวอย่าง โดยตัวอย่าง A ถึง F เป็นตัวอย่างที่มีขายในท้องตลาดทั่วไป ส่วนตัวอย่าง G ถึง I เป็นเครื่องสำอางที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาประกาศห้ามใช้ เนื่องจากมีการตรวจพบว่ามีไฮโดรควิโนนเป็นส่วนประกอบ และตัวอย่าง F ส่งซื้อทางอินเทอร์เน็ตซึ่งเป็นเครื่องสำอางที่ผลิตในประเทศสหรัฐอเมริกา โดยฉลากได้ระบุว่า มีไฮโดรควิโนนเป็นส่วนประกอบ หลังจากเตรียมตัวอย่างในหัวข้อ 3.2.7 ได้นำตัวอย่าง A ถึง J ไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีนที่พัฒนาขึ้น และขั้วไฟฟ้าแบบไส้ดินสอด [28] ได้โดยตรง สำหรับวิธี HPLC [11] ตัวอย่าง A ถึง H สามารถวิเคราะห์ได้โดยตรง ในขณะที่ตัวอย่าง I และ J ต้องทำการเจือจางลง 12 เท่า ก่อนนำไปทำการวิเคราะห์ เพื่อให้ความเข้มข้นของไฮโดรควิโนนในตัวอย่างอยู่ในช่วงกราฟมาตรฐาน ผลการวิเคราะห์ที่ได้จากทั้งสามวิธีแสดงดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ผลการวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรควิโนนในตัวอย่างเครื่องสำอางระหว่างเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรีโดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน (SPGE) และใช้ขั้วไฟฟ้าแบบไส้ดินสอด (PGE) และเทคนิค HPLC

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นของไฮโดรควิโนนที่เติม (added) (mM)	ปริมาณไฮโดรควิโนนที่พบ (found) (mM)		
		CV (SPGE)	CV (PGE)	HPLC
A	-	n.d.	n.d.	n.d.
	1.00	1.06±0.05	1.43±0.01	1.06±0.09
B	-	n.d.	n.d.	n.d.
	1.00	1.14±0.04	1.29±0.00	1.17±0.30
C	-	n.d.	n.d.	n.d.
	1.00	1.08±0.02	1.27±0.00	1.37±0.07
D	-	n.d.	n.d.	n.d.
	1.00	1.09±0.01	1.23±0.00	1.35±0.09
E	-	n.d.	n.d.	n.d.
	1.00	1.09±0.01	1.31±0.00	0.97±0.05
F	-	n.d.	n.d.	n.d.
	1.00	1.04±0.01	1.14±0.00	1.00±0.02

ตารางที่ 4.5 ผลการวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรควิโนนในตัวอย่างเครื่องสำอางระหว่างเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน (SPGE) และใช้ขั้วไฟฟ้าแบบไส้ดินสอ (PGE) และเทคนิค HPLC (ต่อ)

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นของไฮโดรควิโนนที่เติม (added) (mM)	ปริมาณไฮโดรควิโนนที่พบ (found) (mM)		
		CV (SPGE)	CV (PGE)	HPLC
G	-	n.d.	n.d.	n.d.
	1.00	1.05±0.04	0.95±0.00	1.14±0.20
H	-	n.d.	n.d.	n.d.
	1.00	0.95±0.02	0.93±0.00	0.68±0.30
I	-	2.43±0.01	2.46±0.01	1.33±0.01
	1.00	3.30±0.02	3.99±0.02	3.46±0.10
J	-	1.68±0.05	2.07±0.00	1.57±0.08
	1.00	2.58±0.01	3.24±0.02	2.21±0.30

n.d. = ตรวจไม่พบ (not detectable)

SPGE = ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน (Screen Printed Graphene Electrode)

PGE = ขั้วไฟฟ้าแบบไส้ดินสอ (Pencil Graphite Electrode)

จากผลการวิเคราะห์ในตัวอย่าง A ถึง H ไม่พบการปนเปื้อนของไฮโดรควิโนน ในขณะที่ตัวอย่าง I และ J พบการปนเปื้อนของไฮโดรควิโนนค่อนข้างสูง เมื่อคำนวณย้อนกลับพบว่า ตัวอย่าง I และ J มีปริมาณไฮโดรควิโนนอยู่ 22 มิลลิกรัมต่อตัวอย่าง 1 กรัมและ 16 มิลลิกรัมต่อตัวอย่าง 1 กรัมตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ที่ได้จากเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน และขั้วไฟฟ้าทั้งสามเป็นไส้ดินสอ กับวิธี HPLC ด้วยวิธีการทางสถิติด้วย ANOVA test พบว่า ผลการวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรควิโนนในตัวอย่างที่ได้จากทั้ง 3 วิธี ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($F_{stat} = 0.49$, $F_{critical} = 3.28$) จึงสามารถสรุปได้ว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นนี้มีความน่าเชื่อถือ และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรควิโนนในตัวอย่างเครื่องสำอางได้

นอกจากนี้ ขั้วไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้นยังมีขนาดเล็ก สามารถพกพาได้ นำไปพัฒนาต่อยอดเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ภาคสนาม และยังใช้สารตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ในปริมาณน้อย ซึ่งเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม

บทที่ 5

สรุปผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบวิธีพิมพ์สกรีนเพื่อวิเคราะห์ไฮโดรควิโนนในครีมไวเทนนิ่ง โดยอาศัยการวิเคราะห์แบบหยดเดียวด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี และทำการติดตามการเปลี่ยนแปลงกระแสไฟฟ้าแคโทดิกของปฏิกิริยารีดักชันของไฮโดรควิโนน ซึ่งแปรผันตามความเข้มข้นของไฮโดรควิโนน โดยให้ช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.23 ถึง 5 มิลลิโมลต่อลิตร และมีสมการเชิงเส้นตรง คือ $\Delta I (\mu A) = 9.786 \pm 1.013$ [ความเข้มข้นของไฮโดรควิโนน, (mM)] $+ 3.511 \pm 0.360$ และมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.993 ขั้วไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้นทำได้ง่าย โดยไม่ต้องมีขั้นตอนการปรับปรุงผิวหน้าขั้วไฟฟ้า และได้ความไวในการวิเคราะห์ที่เพียงพอต่อการตรวจวัดไฮโดรควิโนนที่ปนเปื้อนในเครื่องสำอาง โดยมีขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD) เท่ากับ 0.07 มิลลิโมลต่อลิตร ขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ (LOQ) เท่ากับ 0.23 มิลลิโมลต่อลิตร ขั้วไฟฟ้ามีขนาดเล็ก สามารถพัฒนาต่อยอดเพื่อนำไปวิเคราะห์ภาคสนามได้ นอกจากนี้ ในงานวิจัยได้อาศัยการวิเคราะห์แบบหยดเดียวจึงลดการใช้ปริมาณสารตัวอย่าง โดยใช้สารตัวอย่างในการวิเคราะห์เพียง 60 ไมโครลิตร และเมื่อเปรียบเทียบผลลัพธ์วิเคราะห์ที่ได้กับวิธี HPLC และวิธี CV โดยใช้ขั้วไฟฟ้าเป็นสัปดาห์ ด้วยวิธีการทางสถิติ ANOVA Test พบว่า ผลการวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรควิโนนในตัวอย่างที่ได้จากทั้ง 3 วิธี ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($F_{stat} = 0.49$, $F_{critical} = 3.28$) จึงสามารถสรุปได้ว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นมีความน่าเชื่อถือ และประสบความสำเร็จในการนำไปประยุกต์ใช้หาไฮโดรควิโนนในตัวอย่างครีมไวเทนนิ่ง

5.2 ข้อเสนอแนะ

สำหรับงานวิจัยที่จะต่อยอดจากงานวิจัยนี้ ควรมีการปรับปรุงผิวหน้าขั้วไฟฟ้า ซึ่งอาจส่งผลทำให้มีความไวในการวิเคราะห์ที่สูงขึ้น เพื่อสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับสารตัวอย่างที่มีไฮโดรควิโนนในปริมาณที่ต่ำ เช่น ตัวอย่างน้ำตามธรรมชาติ น้ำเสีย และน้ำประปา เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

- [1] เกรรัตน์ จันทราพิศย์. 2010. “อันตรายของครีมหน้าขาวที่ผสมไฮโดรควิโนน”. [online] เข้าถึงได้จาก : <http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/knowledge/files/0014.pdf>.
- [2] Mariko, M. 2016. Risk assessment of skin lightening cosmetics containing hydroquinone. **Regulatory toxicology and pharmacology** 81 : 128-135.
- [3] กระทรวงสาธารณสุข. 2555. กำหนดชื่อและปริมาณของวัตถุที่อาจใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเครื่องสำอาง (ฉบับที่ 2). กรุงเทพฯ : กระทรวงสาธารณสุข.
- [4] กองพัฒนาศักยภาพผู้บริโภค สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. 2555. ออย. เตือน อย่าซื้ออย่าใช้ เครื่องสำอางอันตราย 34 รายการ เสี่ยง! หน้าพัง. กรุงเทพฯ : กระทรวงสาธารณสุข.
- [5] Elzanfaly, E.S., Saad, A.S. and Abd-Elaleem A.B. 2012. Simultaneous determination of retinoic acid and hydroquinone in skin ointment using spectrophotometric technique (ratio difference method). **Saudi pharmaceutical journal** 20 : 249-253
- [6] Sirajuddin, Bhangar, M.I., Niaz, A, Shah, A, and Rauf, A. 2007. Ultra-trace determination of hydroquinone in waste photographic solutions by UV-vis spectrophotometry. **Talanta**. 72 : 546-553.
- [7] Ni, P., Dai, H., Li, Z., Sun, Y., Hu, J., Jiang, S., Wang, Y. and Li, Z. 2015. Carbon dots based fluorescent sensor for sensitive determination of hydroquinone. **Talanta**. 144 : 258-262.
- [8] Huang, H., Xu, M., Gao, Y., Wang, G. and Su, X. 2011. Water-soluble fluorescent conjugated polymer-enzyme hybrid system for the determination of both hydroquinone and hydrogen peroxide. **Talanta**, 86, 164-169.
- [9] Judefeind, A., Rensburg, P.J., Langelaar, S., and Plessis, J.D. 2007. Stable isotope dilution analysis of salicylic acid and hydroquinone in human skin samples by gas chromatography with mass spectrometric detection. **Journal of chromatography B**. 852 : 300-307
- [10] Lourenco, E.L.B., Ferreira, A., Pinto, E., Yonamine, M. and Farsky, S.H.P. 2006. On-fiber derivatization of SPME extracts of phenol, hydroquinone and catechol with GC-MS detection. **Chromatographia**, 63, 175-179.
- [11] Garcia, P.L., Santoro, M.I., Kedor-Hackman, E.R.M., and Singh, A.K. 2005. Development and validation of a HPLC and a UV derivative spectrophotometric methods for determination of hydroquinone in gel and cream preparations. **Journal of pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 39, 764-768.

- [12] Gao, W. and Legido-Quigley, C. 2011. Fast and sensitive high performance liquid chromatography analysis of cosmetic cream for hydroquinone, phenol and six preservatives. **Journal of Chromatography A**, 1218, 4307-4311
- [13] Desiderio, C., Ossicini, L. and Fanali, S. 2000. Analysis of hydroquinone and some of its ethers by using capillary electrochromatography. **Journal of Chromatography A**, 887, 489-496.
- [14] Lin, Y., Yang, Y. and Wu, S. 2007. Experimental design and capillary electrophoresis for simultaneous analysis of arbutin, kojic acid and hydroquinone in cosmetics. **Journal of pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 44, 279-282.
- [15] Upan, J., Reanpang, P., Chailapakul, O. and Jakmunee, J. 2016. Flow injection amperometric sensor with a carbon nanotube modified screen printed electrode for determination of hydroquinone. **Talanta**, 146, 766-771.
- [16] Buleandra, M., Rabinca A.A., Mihailciuc, C., Balan, A., Nichita, C., Stamatina, I., and Ciucu, A.A. 2014. Screen-printed Prussian blue modified electrode for simultaneous detection of hydroquinone and catechol. **Sensors and actuators B**. 203 : 824-832.
- [17] Vieira, I.C. and Fatibello-Filho, O. 2000. Biosensor based on paraffin : graphite modified with sweet potato tissue for the determination of hydroquinone in cosmetic cream in organic phase. **Talanta**.52: 681-689.
- [18] Zhao, D., Zhang, X., Feng, L. and Wang, S. 2009. Simultaneous determination of hydroquinone and catechol at PASA/MWNTs composite film modified glassy **Colloids and surfaces B : biointerfaces**. 74 : 317-321.
- [19] Wang, J., Yin, H., Meng, X., Zhu, J., and Ai S. 2011. Preparation of the mixture of graphene nanosheets and carbon nanospheres with high adsorptivity by electrolyzing graphite rod and its application in hydroquinone detection. **Journal of electroanalytical chemistry**. 662 : 317-321.
- [20] Sun, W., Wang, Y., Lu, Y., Hu, A. Shi, F. and Sun Z. 2013. High sensitive simultaneously electrochemical detection of hydroquinone and catechol with a poly(crystal violet) functionalized graphene modified carbon ionic liquid electrode. **Sensors and actuators B**. 188 : 564-570.
- [21] Gao, H., Peng, S., Xu, J., Zhao, Y. and Kang, X. 2014. Highly stable pyridinic nitrogen doped graphene modified electrode in simultaneous determination of hydroquinone and catechol. **Sensors and actuators B**. 193 : 623-629.
- [22] Zhang, Y., Xiao, S., Xie, J., Yang, Z., Pang, P., and Gao, Y. 2014. Simultaneous electrochemical determination of catechol and hydroquinone based on graphene-TiO₂ nanocomposite modified glassy carbon electrode. **Sensors and actuators B**. 204 : 102-108.

- [23] Si, W., Lei, W., Han, Z., Hao, Q., Zhang, Y., and Xia, M. 2014. Selective sensing of catechol and hydroquinone based on poly(3,4-ethylenedioxythiophene) / nitrogen-doped graphene composites. **Sensors and actuators B**. 199 : 154-160.
- [24] Vilian, A.T.E., Chen, S., Huang, L., Ali, M. and Al-Hemaid, F. 2014. Simultaneous determination of catechol and hydroquinone using a Pt/ZrO₂-RGO/GCE composite modified glassy carbon electrode. **Electrochimica acta**. 125 : 503-509.
- [25] Soltani, H., Pardakhty, A. and Ahmadzadeh, S. 2016. Determination of hydroquinone in food and pharmaceutical samples using a voltammetric based sensor employing Nio nanoparticle and ionic liquids. **Journal of Molecular Liquids**, 219, 63-67.
- [26] Zhang, Y., Sun, R., Luo, B. and Wang, L. 2015. Boron-doped graphene as high performance electrocatalyst for the simultaneously electrochemical determination of hydroquinone and catechol. **Electrochimica Acta**, 156, 228-234.
- [27] Unnikrishnan, B., Ru P. and Chen, S., 2012. Electrochemically synthesized Pt-MnO₂ composite particles for simultaneous determination of catechol and hydroquinone. **Sensors and actuators B**. 169 : 235-242.
- [28] ลดาวัลย์ ต้องเคียน ลลิตต์ภัทร หมัดลิ่ง และวรวรรณ ธนชัยภักดิ์พัฒนกุล. 2558. “การใช้ดินสอดแกรไฟต์เป็นอิเล็กโทรดในการตรวจวัดไฮโดรควิโนนในเครื่องสำอางโดยอาศัยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี”. ปรินญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต(เคมีอุตสาหกรรม) ภาควิชาเคมี, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- [29] วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี. 2556. “สารเมลานิน”. [online] เข้าถึงได้จาก : <https://th.wikipedia.org/wiki/เมลานิน>
- [30] Ebanks, J., Wickett, R., and Boissy, R. 2009. Mechanisms regulating skin pigmentation : The rise and fall of complexion coloration. **International journal of molecular science**.
- [31] whitening agent. [online] เข้าถึงได้จาก : <http://www.student.chula.ac.th/56370586/whitening.html>.
- [32] นพ. ประวีตร วิชาลบุตร. 2551. “ยาและเวชสำอางรักษาฝ้าชนิดใหม่”. [online] เข้าถึงได้จาก : <http://oknation.nationtv.tv/blog/print.php?id=615123>
- [33] Stratford, M., Ramsden, C., and Riley, P. 2012. The influence of hydroquinone on tyrosinase kinetics. **Bioorganic & medicinal chemistry** 20 : 4364-4370.
- [34] Solano, F., Briganti, S., Picardo, M., and Ghanem, G. 2006. Hypopigmenting agents an updated review on biological, chemical and clinical aspects. **Pigment cell Res**. 19 : 550-571.

- [35] “ไฮโดรควิโนนคืออะไร”. [online] เข้าถึงได้จาก : <http://cdiphailand.com/th/innovation-thai/article-thai/202-hydroquinone.html>.
- [36] Palumbo, A., d’Ischia, M., Misuraca, G., and Proto, G. 1991. Mechanism of inhibition of melanogenesis by hydroquinone. *Biochimica et biophysica acta*. 1073 : 85-90.
- [37] “อันตรายจากสารไฮโดรควิโนน”. [online] เข้าถึงได้จาก : <http://www.biohopethai.com>
- [38] “สารอันตรายไฮโดรควิโนน”. [online] เข้าถึงได้จาก : <http://www.muslim4health.or.th/2014/index.php?op=muslimhealth-detail&id=60#.Wjv5xtkltiu>
- [39] Topping, D., Bernard, L., Donodhue, O., and English, C. 2007. Hydroquinone acute and subchronic toxicity studies with emphasis on neurobehavioral and nephrotoxic effects. *Food and chemical toxicology* 45 : 70-78.
- [40] กนกวรรณ โสธรวิไล. 2556. “การเตรียมและการประยุกต์นาโนคอมโพสิตชนิดซิงค์ออกไซด์ร่วมกับพอลิเอนิลีนบนขั้วไฟฟ้าทินออกไซด์เจือฟลูออรีนสำหรับการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์”. ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต(เคมีอุตสาหกรรม) ภาควิชาเคมี, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- [41] อัญชญา ปรีชาวรรณ. 2547. “การตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าของโรโบฟลาวิน-5’-ฟอสเฟต (FMN) โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนเปรียบเทียบกับขั้วไฟฟ้ากราไฟต์”. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วท.ม. เคมี). สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- [42] ห้องอ่านตำรา. 2016. บทที่ 4 โวลแทมเมตรี (ตอนที่1). [Online]. เข้าถึงได้จาก : <http://e-book.ram.edu/e-book/c/CM333/cm333-4-1.pdf>.
- [43] โวลแทมเมตรี. [online] เข้าถึงได้จาก : http://www.il.mahidol.ac.th/e-media/electrochemistry/web/Eanal/anal_votammety.htm.
- [44] พรวิภา วงศ์ปัญญา. 2555. “การทดสอบการกัดกร่อนด้วยเครื่องโพเทนชิโอสแตท.” วิทยานิพนธ์ วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมโลหการ, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- [45] วิศณุสรณ์ ชาติอารยะวดี. 2557. แกรฟีน ตอนที่ 2 : สมบัติและการนำไปประยุกต์ใช้. วารสารนเรศวรพะเยา ปีที่ 7 ฉบับที่ 1.
- [46] Sambrook, J., Russell D.W. 2001. Molecular cloning: A laboratory manual. **Cold Spring Harbor Laboratory Press** : New York : pp A1.5.
- [47] Karuwan, C., Sriprachubwong, C., Wisitsoraat, A., Phokharatkul, D., Sritongkham, P., Tuantranont, A. 2012. Inkjet-printed graphene-poly (3,4-ethylenedioxythiophene) :poly(styrene-sulfonate) modified on screen printed carbon electrode for electrochemical sensing of salbutamol. *Sensors and actuators B*. 161 : 549-555.
- [48] Cottica, S., Nozaki, J., Nakatani, H., Oliveira, C., Souza, N., Visentainer. J. 2009. Voltammetric determination of pyridoxine (Vitamin B₆) in drugs using a glassy carbon electrode modified with chromium (III) hexacyanoferrate (II). *J. Braz. Chem. Soc.*, Vol. 20, No.3 : 496-501.

การใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีนเพื่อวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรควิโนน แบบหยดเดียว

Screen-printed Graphene Electrode for Single Drop Analysis of Hydroquinone

วรรณนิดา ตือขุนทด¹ จันทร์เพ็ญ คุรุวรรณ² และ เสาวภาคย์ ธีราทรง^{1*}

Wannida Duekhuntod Chanpen Karuwan and Saowapak Teerasong

¹ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร

²ศูนย์เทคโนโลยีอิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์แห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ
อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย ปทุมธานี

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน (SPGE) ขนาดเล็ก เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนนด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี ร่วมกับการวิเคราะห์แบบหยดเดียว (single drop analysis) โดยใช้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร พีเอช 7 เป็นสารละลายอิเล็กโทรไลต์ ในการวิเคราะห์ ทำการหยดไฮโดรควิโนนปริมาตร 60 ไมโครลิตร ลงบนขั้วไฟฟ้า จากนั้นทำการสแกนศักย์ไฟฟ้าในช่วง -0.8 ถึง 0.6 โวลต์ ด้วยอัตราการสแกน 100 มิลลิโวลต์ต่อวินาที จากผลการทดลองพบว่า ค่ากระแสไฟฟ้าแคโทดิกของปฏิกิริยารีดักชันแปรผันตามความเข้มข้นไฮโดรควิโนน โดยให้ความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.1 ถึง 5.0 มิลลิโมลต่อลิตร ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD) เท่ากับ 0.07 มิลลิโมลต่อลิตร และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของการวัด (RSD) มีค่าต่ำกว่า 2.78 % เมื่อนำวิธีที่พัฒนาขึ้นนี้ไปตรวจวัดปริมาณไฮโดรควิโนนในตัวอย่างครีมไวเทนนิ่งให้คาร์บอนการคืนกลับ (recovery) อยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ (87-114%) และเมื่อนำผลการวิเคราะห์ของวิธี SPGE ที่พัฒนาขึ้น เปรียบเทียบกับผลที่ได้จากเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง โดยใช้สถิติ paired *t*-test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบว่า ทั้งสองเทคนิคให้ผลที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ขั้วไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้นมีลักษณะเด่นคือ มีความน่าเชื่อถือ พกพาได้ และใช้ปริมาณสารตัวอย่างในการวิเคราะห์น้อย

คำสำคัญ : ไฮโดรควิโนน, ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน, ไซคลิกโวลแทมเมทรี, ครีมไวเทนนิ่ง

Abstract

A single drop analysis of hydroquinone using screen-printed graphene electrode (SPGE) was developed. The electrochemical detection was based on cyclic voltammetry. A 0.1 M phosphate buffer at pH 7 was employed as a supporting electrolyte. For analysis, 60 μL volume of hydroquinone was dropped onto the electrode. The potentials were applied from -0.8 to 0.6 V with a scan rate of 100 mV s^{-1} . Under the optimized condition, a reduction peak current response for hydroquinone was linear in the range of 0.1 to 5.0 mM. The detection limit of 0.07 mM of hydroquinone was obtained. The relative standard deviation (RSD) of measurement was less than 2.78 %. The developed method was applied to determine hydroquinone in whitening creams. The obtained results were validated with the results from the high performance liquid chromatography (HPLC). Using the paired *t*-test at 95% confidence level, there was no significant difference between two sets of results. The analytical recoveries were acceptable (87 – 114%). The developed sensor has superior in terms of reliable, portable and low sample consumption.

Keywords: Hydroquinone, Screen-printed graphene electrode (SPGE), Cyclic voltammetry, Whitening cream

1. บทนำ

ปัจจุบันผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่ทำให้ผิวขาวนั้นกำลังได้รับความนิยมอย่างมากในกลุ่มผู้บริโภคแถบเอเชียรวมถึงประเทศไทย ทำให้มีการผลิตผลิตภัณฑ์เหล่านี้ออกวางจำหน่ายเป็นจำนวนมาก ทั้งในห้างสรรพสินค้า ร้านค้า และท้องตลาด เพื่อตอบสนองความต้องการของผู้บริโภค ในผลิตภัณฑ์ที่ทำให้ผิวหน้าขาวใส จะมีส่วนผสมของสารไวเทนนิ่ง (whitening agent) ที่แตกต่างกันไป เช่น วิตามินอี วิตามินซี และกรดเอเอชเอ เป็นต้น ไฮโดรควิโนนเป็นสารไวเทนนิ่งชนิดหนึ่งที่ยิมนนำมาเตรียมครีมที่ทำให้หน้าขาว เนื่องจากเห็นผลได้เร็ว ไฮโดรควิโนนออกฤทธิ์ยับยั้งกระบวนการสร้างเม็ดสีของผิวหนัง โดยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส (tyrosinase) จึงทำให้การผลิตเม็ดสีน้อยลง อย่างไรก็ตามไฮโดรควิโนนมีผลข้างเคียงทำให้เกิดการระคายเคืองผิว ผิวมีความไวต่อแสงมากขึ้น เกิดจุดด่างขาวบนผิวหนัง หรือผิวหนังดำขึ้น หากใช้ติดต่อกันเป็นเวลานานจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อภายในผิวหนังทำให้เกิดเป็นฝ้าถาวร ซึ่งอาจเกิดจากการที่ผิวหนังมีการปรับตัวให้สร้างเม็ดสีมากขึ้นภายหลังการเลิกใช้ รวมทั้งเพิ่มโอกาสเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งผิวหนังอีกด้วย [1]

กลุ่มประเทศสหภาพยุโรปมีประกาศห้ามใช้ไฮโดรควิโนนเป็นส่วนผสมในเครื่องสำอาง ในขณะที่ประเทศสหรัฐอเมริกาอนุญาตให้ไฮโดรควิโนนเป็นส่วนผสมในเครื่องสำอางได้ไม่เกิน 2% และในผลิตภัณฑ์รักษาฝ้าไม่เกิน 4% ประเทศญี่ปุ่นไม่มีการห้ามใช้ไฮโดรควิโนน ดังนั้นบางผลิตภัณฑ์ไวเทนนิ่งบางชนิดอาจพบไฮโดรควิโนนเป็นส่วนประกอบอยู่ถึง 10% [2] สำหรับประเทศไทย ไฮโดรควิโนนถูกกำหนดเป็นสาร

ต้องห้ามในเครื่องสำอางตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่องกำหนดวัตถุที่ห้ามใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเครื่องสำอาง (ฉบับที่ 2) ประกาศ ณ วันที่ 30 ธันวาคม พ.ศ. 2554 [3] แต่สามารถใช้เป็นส่วนผสมในยารักษาฝ้าภายใต้การดูแลของแพทย์ได้ โดยให้ความเข้มข้นไฮโดรควิโนนไม่เกิน 2 % อย่างไรก็ตาม จากการสุ่มสำรวจครีมที่ขายตามท้องตลาดโดยองค์การอาหารและยา ยังคงพบว่ามีกรปนเปื้อนของไฮโดรควิโนนในเครื่องสำอางบางยี่ห้อ [4] ทั้งนี้เนื่องจากผู้ผลิตบางรายต้องการลดต้นทุนในการผลิต โดยการเติมวัตถุที่ห้ามใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น พรอท และไฮโดรควิโนน แทนการใส่สารไวเทนนิ่งประเภทวิตามินอี วิตามินซี และกรดเอเอชเอ เนื่องจากสารดังกล่าวมีราคาแพงและเห็นผลช้ากว่า ดังนั้นจึงมีการพัฒนาเทคนิคต่างๆ เพื่อใช้ตรวจวัดปริมาณไฮโดรควิโนน เช่น เทคนิคยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตเมทรี [5, 6] เทคนิคฟลูออเรสเซนซ์ [7, 8] เทคนิคโครมาโทกราฟี [9-11] และเทคนิคแคปิลลารีอิเล็กโทรโฟรีซิส [12, 13] เป็นต้น ซึ่งเทคนิคเหล่านี้มีข้อดีคือให้ความไวและความจำเพาะเจาะจงในการวิเคราะห์ที่ดี อย่างไรก็ตามเทคนิคดังกล่าวใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน มีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างและการใช้เครื่องมือที่ยุ่ยาก ต้องอาศัยความชำนาญในการใช้เครื่องมือ เครื่องมือวิเคราะห์ราคาแพงและมีขนาดใหญ่ ทำให้ยากต่อการเคลื่อนย้ายสำหรับภาควิเคราะห์ภาคสนาม

จากข้อดีของเทคนิคทางเคมีไฟฟ้าที่มีความไวในการวิเคราะห์และความจำเพาะเจาะจงสูง ขั้วไฟฟ้าสามารถพัฒนาให้มีขนาดเล็ก สะดวกต่อการนำไปวิเคราะห์นอกห้องปฏิบัติการได้ ดังนั้นจึงมีงานวิจัยที่พัฒนาขั้วไฟฟ้าแบบต่างๆ เพื่อใช้ในการตรวจวัดไฮโดรควิโนน ยกตัวอย่างเช่น Vilian และคณะ [14] พัฒนาขั้วไฟฟ้าโดยการปรับปรุงผิวขั้วกลาสคาร์บอน (GCE) ด้วย Pt/ZrO₂-RGO และนำขั้วที่ได้ไปประยุกต์ใช้วิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนนและแคทีคอลในคราวเดียวกันในตัวอย่างน้ำทิ้ง ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรีและดิฟเฟอเรนเชียลพัลส์โวลแทมเมทรี พบว่าให้ค่าขีดจำกัดต่ำสุดการตรวจวัดไฮโดรควิโนนและแคทีคอล เท่ากับ 0.4 ไมโครโมลต่อลิตร Upan และคณะ [15] พัฒนาระบบการไหลร่วมกับการใช้ขั้วไฟฟ้าคาร์บอนแบบพิมพลอสที่ปรับปรุงผิวด้วยคาร์บอนนาโนทิวบ์เพื่อหาปริมาณไฮโดรควิโนน ในระบบตรวจวัดประกอบด้วยคอลัมน์ที่บรรจุแอนิเมคเคลสตรึงบนซิลิกาเจล แอนิเมคเคลส เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไฮโดรควิโนน โดยจะรีดิวซ์ไฮโดรควิโนนไปเป็นควิโนน และถูกตรวจวัดด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมทรีด้วยขั้วไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้น จากผลการทดลองพบว่า วิธีวิเคราะห์มีค่าขีดจำกัดต่ำสุดการตรวจวัดเท่ากับ 0.1 ไมโครโมลต่อลิตร งานวิจัยนี้ได้ถูกนำไปประยุกต์ใช้หาไฮโดรควิโนนในน้ำตามธรรมชาติ Soltani และคณะ [16] พัฒนาขั้วไฟฟ้าคาร์บอนเพสต์โดยใช้ออกไซด์ของนิกเกิลออกไซด์ (NiO) และ 1-butyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate เป็นตัวปรับปรุงผิวขั้ว เพื่อใช้วิเคราะห์ไฮโดรควิโนนในน้ำประปาและน้ำทิ้งด้วยเทคนิคสแควเวฟโวลแทมเมทรี เมื่อเปรียบเทียบกับขั้วที่พัฒนาขึ้นกับขั้วไฟฟ้าคาร์บอนเพสต์ที่ไม่มีการปรับปรุงพื้นผิว พบว่าขั้วที่พัฒนาขึ้นให้ค่ากระแสไฟฟ้าแอมโตนิกของปฏิกิริยาออกซิเดชันของไฮโดรควิโนนเพิ่มขึ้น 2.5 เท่า และมีค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเท่ากับ 0.05 ไมโครโมลต่อลิตร Zhang และคณะ [17] พัฒนาขั้วไฟฟ้ากราฟีนที่ปรับปรุงผิวขั้วด้วยโบรอน สำหรับการวิเคราะห์ไฮโดรควิโนนและแคทีคอล โดยโบรอนมีสมบัติเป็นตัวเร่งปฏิกิริยารีดอกซ์ของสารทั้งสองบนขั้วไฟฟ้า วิธีวิเคราะห์นี้สามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์หาไฮโดรควิโนนในน้ำทิ้ง โดยมีค่าขีดจำกัดต่ำสุดการตรวจวัดไฮโดรควิโนนเท่ากับ 0.3 ไมโครโมลต่อลิตร

ถึงแม้ว่าการปรับปรุงผิวขั้วด้วยวัสดุตัวนำไฟฟ้าต่างๆ ช่วยให้ความไวในการวิเคราะห์ดีขึ้น แต่การเตรียมขั้วมีขั้นตอนที่ยากซับซ้อน และเมื่อใช้ขั้วเป็นเวลานานๆ ผลการวิเคราะห์ซ้ำ (reproducible) อาจให้ค่าที่แตกต่างกัน เนื่องจากการหลุดร่อนของวัสดุที่นำมาปรับปรุงผิวหน้าขั้ว จึงต้องมีการนำขั้วมาทำการปรับปรุงผิวใหม่อยู่เสมอ ดังนั้นการปรับปรุงผิวขั้ว จึงมีความจำเป็นสำหรับงานวิเคราะห์ที่มีไฮโดรควิโนนในปริมาณต่ำ เช่น ตัวอย่างน้ำตามธรรมชาติ น้ำประปา และน้ำทิ้ง เป็นต้น สำหรับผลิตภัณฑ์ไวเทนนิงที่มุ่งเพิ่มประสิทธิภาพในการทำให้ผิวขาวอย่างเด่นชัดในระยะเวลานับวินาที จะมีส่วนผสมของไฮโดรควิโนนในปริมาณที่ค่อนข้างสูง (ความเข้มข้นอยู่ในช่วง 2-4 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก) ดังนั้นเทคนิคที่ใช้ในการตรวจวัดอาจไม่จำเป็นต้องมีความไวในการวิเคราะห์สูง แต่ควรมีความจำเพาะเจาะจงที่ดี เนื่องจากในผลิตภัณฑ์ไวเทนนิงมีองค์ประกอบที่หลากหลายซึ่งอาจรบกวนการวิเคราะห์ได้

ในงานวิจัยนี้ได้พัฒนาขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน ซึ่งมีขั้นตอนการเตรียมที่ง่าย ไม่ซับซ้อน ทำการวิเคราะห์โดยการหยดสารละลายไฮโดรควิโนนในระดับไมโครลิตรลงบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้าเพียงหนึ่งหยด และตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี เนื่องจากกราฟีนมีสมบัติการนำไฟฟ้าที่ดี จึงทำให้ขั้วไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้นมีความไวในการวิเคราะห์เพียงพอสำหรับการตรวจวัดไฮโดรควิโนนในผลิตภัณฑ์ไวเทนนิง นอกจากนี้ขั้วที่พัฒนาขึ้นมีขนาดเล็ก จึงสามารถพัฒนาต่อยอดเพื่อไปใช้ในงานวิเคราะห์ภาคสนามได้

2. วิธีการทดลอง

2.1 สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัยนี้ทั้งหมดเป็นเกรดสำหรับงานวิเคราะห์เคมี (analytical reagent grade) และสารละลายทุกตัวเตรียมจากน้ำกลั่นปราศจากไอออนที่ได้จากเครื่องผลิตน้ำบริสุทธิ์ (Zeneer Up900, Korea)

สารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนน ($C_6H_6O_2$) ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลต่อลิตร เตรียมได้จากการชั่งไฮโดรควิโนน (Acros, USA) 1.1011 กรัม มาละลายพร้อมปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร สารละลายมาตรฐานนี้ใช้สำหรับการเตรียมสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนนที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อไป

สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร เตรียมได้โดยการเตรียมสารละลายโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตเฮปตะไฮเดรต ($Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$) เข้มข้น 1 มิลลิโมลต่อลิตร โดยการชั่งโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตเฮปตะไฮเดรต (Panreace, Spain) 26.81 กรัม มาละลายและปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน และสารละลายโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตโมโนไฮเดรต ($NaH_2PO_4 \cdot H_2O$) เข้มข้น 1 มิลลิโมลต่อลิตร โดยชั่งโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตโมโนไฮเดรต (QRec, New Zealand) 13.80 กรัม มาละลายและปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน หลังจากนั้นผสมสารละลายทั้ง 2 ชนิด ปริมาตร 5.7 และ 4.2 มิลลิลิตร ตามลำดับ ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน และปรับพีเอชให้ได้ 7.0 ด้วยสารละลายไฮโดรคลอริกหรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ โดยใช้พีเอชมิเตอร์ (Metrohm 827 pH Lab, USA) เพื่อใช้เป็นสารละลายบัฟเฟอร์สำหรับงานวิเคราะห์ต่อไป

สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมเฮกซะไซยาโนเฟอร์รต์ ($K_3Fe(CN)_6$) ความเข้มข้น 3.0 มิลลิโมลต่อลิตร ในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ เตรียมได้โดยชั่งโพแทสเซียมเฮกซะไซยาโนเฟอร์รต์ (Sigma-Aldrich, USA) 0.0987 กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วยสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ (Sigma-Aldrich, USA) ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลต่อลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100.00 มิลลิลิตร

2.2 เครื่องมือ

ในการวิเคราะห์ใช้เครื่องโพเทนชิโอสแตท กัลวานอสแตท (Potentiostat Galvanostat) รุ่น PGSTAT 128N บริษัท Metrohm AutoLAB และใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนเป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน (working electrode) และขั้วไฟฟ้าช่วย (counter electrode) โดยมีขั้วไฟฟ้าซิลเวอร์-ซิลเวอร์คลอไรด์ (Ag/AgCl) เป็นขั้วไฟฟ้าอ้างอิง (reference electrode) และใช้เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography; HPLC) รุ่น water 486 บริษัท Millipore coporation, USA สำหรับตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีที่พัฒนา

การศึกษาคุณลักษณะทางกายภาพของขั้วไฟฟ้าใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope; SEM) (JEOL JSM-541, Japan)

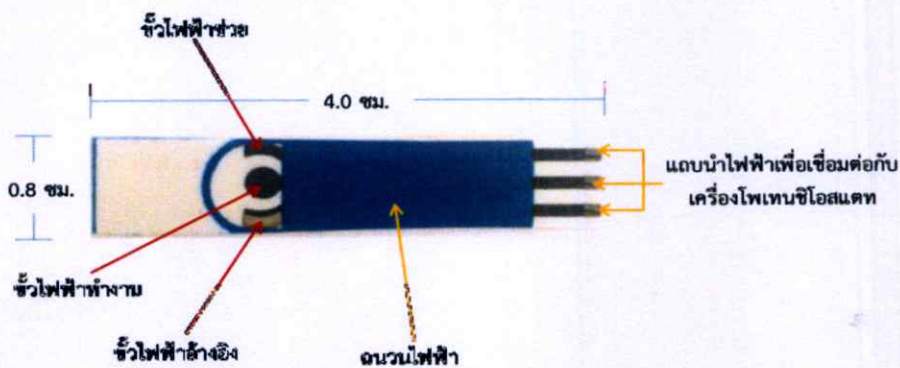
2.3 การเตรียมขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน

เตรียมส่วนผสมของหมึกกราฟีนนำไฟฟ้า ทำได้โดยการใช้แท่งคาร์บอนจำนวนสองแท่งจุ่มลงในสารละลาย poly(3,4-ethylenedioxythiophene)-poly(styrenesulfonate) (PSS) ซึ่งเป็นสารละลายที่นำไฟฟ้าได้ (รูปที่ 1(ก)) ทำการจ่ายกระแสไฟฟ้าคงที่เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ซึ่งจะทำให้เกิดสารประกอบกราฟีนอิสระ (free graphene) มีลักษณะเป็นผงกระจายอยู่ในสารละลาย PSS เมื่อนำมาผสมกับคาร์บอนเพสต์จะได้หมึกนำไฟฟ้ากราฟีนเพสต์ (รูปที่ 1(ข))



รูปที่ 1. (ก) ชุดอุปกรณ์ในการสร้างกราฟีนอิสระจากแท่งคาร์บอน และ (ข) หมึกนำไฟฟ้ากราฟีนเพสต์

หลังจากนั้นทำการสร้างขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีนที่มีขนาดชิ้นงาน 0.8×4.0 เซนติเมตร โดยแบบลายสกรีนประกอบด้วยกันทั้งหมด 4 ชั้น เรียงลำดับจากชั้นล่างสุด คือ ชั้นของแถบการนำไฟฟ้า (Conducting track), ชั้นที่สองเป็นการสร้างขั้วไฟฟ้าทำงานและขั้วไฟฟ้าช่วยซึ่งทำจากหมึกกราฟีนเพสต์ ชั้นที่สามเป็นชั้นของซิลเวอร์-ซิลเวอร์คัลโรดเพื่อใช้เป็นขั้วไฟฟ้าอ้างอิง และชั้นบนสุดเป็นชั้นของฉนวนไฟฟ้า แบบลายสกรีนขั้วไฟฟ้าที่สร้างขึ้นแสดงดังรูปที่ 2



รูปที่ 2. แสดงลักษณะของขั้วไฟฟ้าแบบพิมพ์สกรีน (มุมมองจากด้านบน)

2.4 การเตรียมตัวอย่าง

ในงานวิจัยนี้ ได้สุ่มซื้อตัวอย่างครีมไวเทนนิ่งจากท้องตลาดและในอินเทอร์เน็ตมาทั้งหมด 10 ตัวอย่าง ทำการเตรียมตัวอย่างครีมดังนี้ ซึ่งตัวอย่างครีม 3 กรัม ด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง จากนั้นละลายในน้ำกลั่นปราศจากไอออน 25 มิลลิลิตร นำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสพร้อมปั่นกวนเป็นเวลา 20 นาที นำไปปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็ว 5000 รอบ/นาที เป็นเวลา 60 นาที กรองสารละลายตัวอย่างผ่านไนลอนเมมเบรนขนาดรูพรุน 0.45 ไมโครเมตร (Xiboshi, China) นำสารละลายตัวอย่างที่ผ่านการกรองมา 10.00 มิลลิลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน

2.5 การวิเคราะห์ไฮโดรควิโนน

นำสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนนที่ความเข้มข้นต่างๆ มาผสมกับฟอสเฟตบัฟเฟอร์ด้วยอัตราส่วน 1:1 มิลลิลิตร หลังจากนั้นทำการวิเคราะห์แบบหยดเดียว (single drop analysis) โดยการปิเปตสารละลายไฮโดรควิโนน 60 ไมโครลิตร ลงบนหน้าขั้วไฟฟ้า ทำการตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี โดยควบคุมสถานะของเครื่องโพเทนชิโอสแตท ดังนี้

ศักย์ไฟฟ้าเริ่มต้น (start potential; (V))	- 0.800
ศักย์ไฟฟ้าสูงสุด (upper vertex potential; (V))	+ 0.600
ศักย์ไฟฟ้าต่ำสุด (lower vertex potential; (V))	- 0.800
ศักย์ไฟฟ้าสุดท้าย (stop potential; (V))	- 0.800

จำนวนรอบของการสแกน (number of stop crossing; (รอบ))	3
การเพิ่ม/ลดศักย์ไฟฟ้า (step potential; (V))	0.0200
อัตราการสแกน (scan rate; (V/s))	0.1000

2.6 ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีที่พัฒนาขึ้นกับเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)

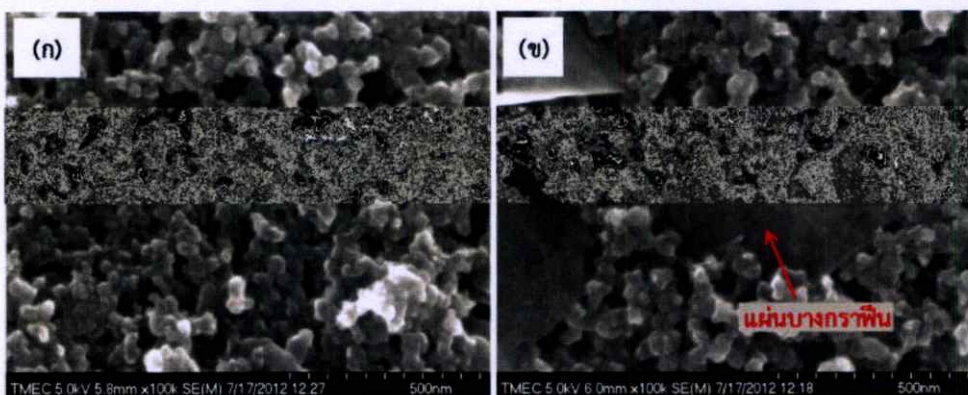
ทำการวิเคราะห์ไฮโดรควิโนนด้วยเทคนิค HPLC [11] โดยการสร้างกราฟมาตรฐานไฮโดรควิโนน ในช่วงความเข้มข้น 55 – 275 ไมโครโมลต่อลิตร จากนั้นวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนนในตัวอย่างครีม ด้วยการเทียบกับกราฟมาตรฐานที่ได้ อาศัยสภาวะการทดลองดังนี้

คอลัมน์	HiQ Sil C18 HS Column (4.6×150 mm; 100 Å pore size; 5 µm particle size)
เฟสเคลื่อนที่	น้ำผสมเมทานอลในอัตราส่วน 80:20 โดยปริมาตร
อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่	1 มิลลิลิตรต่อนาที
ปริมาตรที่ฉีดเข้าระบบ	10 ไมโครลิตร
ความยาวคลื่นที่ตรวจวัด	289 นาโนเมตร
ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน	55, 110, 165, 220 และ 275 ไมโครโมลต่อลิตร

3. ผลการทดลองและวิจารณ์

3.1 ผลการศึกษาคุณลักษณะทางกายภาพของขั้วไฟฟ้าด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope; SEM)

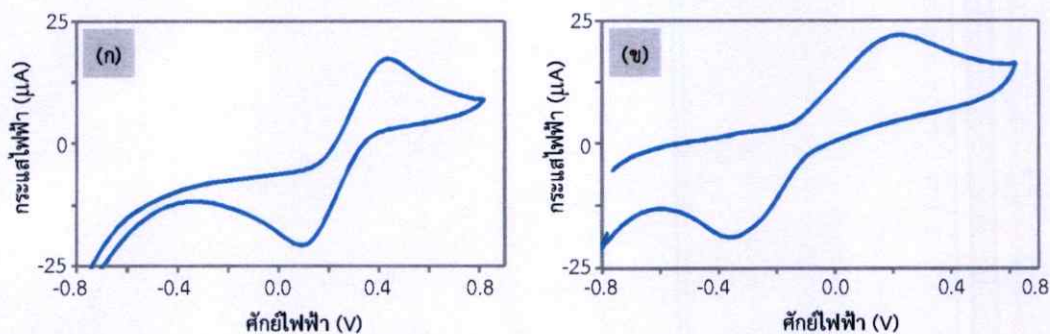
ผลการศึกษาพื้นฐานและลักษณะพื้นผิวของหมึกกราฟีนที่เตรียมขึ้นในหัวข้อ 2.3 ในรูปแบบสามมิติด้วยเทคนิค SEM แสดงดังรูปที่ 3 ซึ่งเป็นการเปรียบเทียบระหว่างหมึกคาร์บอนเพสต์ที่ไม่มีกราฟีนและหมึกกราฟีน พบว่าที่รูป 3(ก) จะมีการกระจายตัวของคาร์บอนอยู่บริเวณขั้วไฟฟ้า ส่วนรูปที่ 3(ข) จะเห็นได้ว่า จะมีการกระจายของกราฟีนซึ่งมีลักษณะเป็นแผ่นบาง (nanosheets) แทรกอยู่กับคาร์บอนที่บริเวณขั้วไฟฟ้า ซึ่งทำให้สมบัติการนำไฟฟ้าของขั้วไฟฟ้าดีขึ้น



รูปที่ 3. ภาพถ่ายจาก SEM ของ (ก) ขั้วไฟฟ้าพิมพ์คาร์บอน และ (ข) ขั้วไฟฟ้าพิมพ์กราฟีน

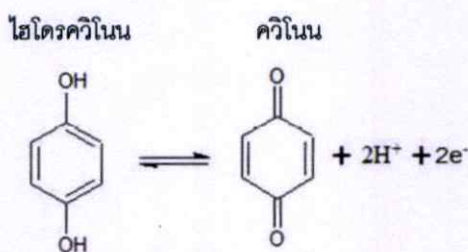
3.2 ผลการศึกษาความเป็นไปได้ของการใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน

นำสารละลายมาตรฐาน $K_3(Fe(CN)_6)$ ความเข้มข้น 3 มิลลิโมลต่อลิตร ในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร มาทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน พบการเกิดสัญญาณพีคที่ตำแหน่งศักย์ไฟฟ้า 0.10 และ 0.43 V (รูปที่ 4(ก)) ซึ่งเป็นตำแหน่งของการเกิดปฏิกิริยารีดักชันและออกซิเดชันของ Fe(III) และ Fe(II) ตามลำดับ [18] แสดงให้เห็นว่าขั้วไฟฟ้ากราฟีนที่สร้างขึ้นมีสมบัติของการเป็นขั้วไฟฟ้าได้



รูปที่ 4. ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของ (ก) สารละลายมาตรฐาน $K_3(Fe(CN)_6)$ ความเข้มข้น 3 มิลลิโมลต่อลิตร และ (ข) สารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนน ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลต่อลิตร โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน ให้อัตราการสแกน 100 มิลลิโวลต์ต่อวินาที

จากนั้นนำขั้วไฟฟ้ากราฟีนมาใช้ในการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนน ความเข้มข้น 1.0 มิลลิโมลต่อลิตร ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร พีเอช 7.0 ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี พบว่า ไฮโดรควิโนนสามารถเกิดปฏิกิริยารีดักชันที่ศักย์ไฟฟ้า -0.36 V และปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ศักย์ไฟฟ้า 0.22 V ซึ่งปฏิกิริยาทั้งสองเกี่ยวข้องกับการถ่ายโอน 2 อิเล็กตรอน [17] ดังรูปที่ 5



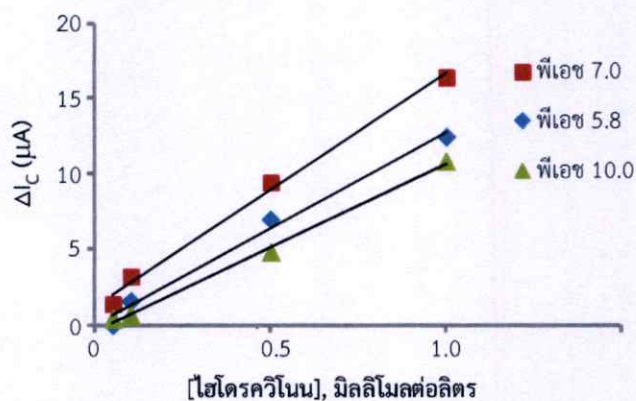
รูปที่ 5. ปฏิกิริยารีดอกซ์ของไฮโดรควิโนนบนขั้วไฟฟ้า

3.3 ผลการศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์

ในการศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนน โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน จะพิจารณาจากความไวในการวิเคราะห์ และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) รวมทั้งความเที่ยงในการวิเคราะห์

3.3.1 ผลของพีเอชของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์

ศึกษาผลของพีเอชที่มีต่อความไวในการวิเคราะห์ โดยการปรับเปลี่ยนพีเอชของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เป็น 5.8, 7.0 และ 10.0 ทำการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนนที่ความเข้มข้นต่างๆ จากนั้นนำค่าผลต่างของกระแสไฟฟ้าแคโทดิกของปฏิกิริยารีดอกซ์ที่มีและไม่มีไฮโดรควิโนน (ΔI_c) มาพล็อตเทียบกับความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรควิโนน (รูปที่ 6) พบว่าสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่พีเอช 7 ให้ความไวในการวิเคราะห์ที่ดีที่สุด ในขณะที่พีเอช 5.8 จะมีโปรตอนอยู่ในสารละลายจำนวนมาก ทำให้ปฏิกิริยารีดอกซ์บริเวณหน้าขั้วไฟฟ้าเกิดขึ้นได้ยาก เนื่องจากปฏิกิริยารีดอกซ์ของไฮโดรควิโนน (รูปที่ 5) ขึ้นอยู่กับจำนวนโปรตอนในระบบ (proton dependent) [14] ส่งผลให้ความไวในการวิเคราะห์ลดลง ในทางตรงกันข้ามที่พีเอช 10.0 ไฮโดรควิโนนมีการสูญเสียโปรตอน (deprotonate) เกิดสภาพประจุเป็นลบ ทำให้เกิดแรงผลักรังไฟฟ้าสถิต (electrostatic repulsion) ระหว่างไฮโดรควิโนนกับขั้วไฟฟ้า ส่งผลทำให้ค่ากระแสแคโทดิกและความไวในการวิเคราะห์ลดลง [17] ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่พีเอช 7.0 เป็นสภาวะที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป



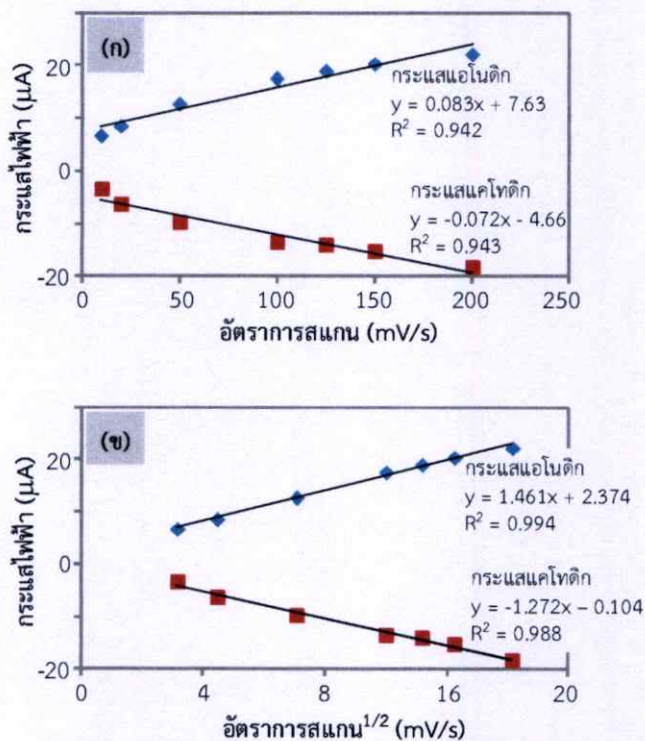
รูปที่ 6. กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างของกระแสแคโทดิกที่มีไฮโดรควิโนนและไม่มีไฮโดรควิโนน (ΔI_c) กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนน (0.05, 0.1, 0.5 และ 1.0 มิลลิโมลต่อลิตร) ในสารละลาย ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ความเข้มข้น 0.1 M พีเอช 5.8, 7.0, และ 10.0 อัตราการสแกน 100 มิลลิโวลต์ต่อวินาที โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน

3.3.2 ผลของความเข้มข้นของสารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์

ศึกษาผลของความเข้มข้นของสารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์ที่เหมาะสมในการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนน โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟท์แบบพิมพ์สกรีน ทำโดยการเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์พีเอช 7.0 ที่ความเข้มข้น 0.01, 0.1 และ 0.5 โมลต่อลิตร พบว่าสารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์ในช่วงความเข้มข้นที่ศึกษา ส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์ไม่แตกต่างกัน ในงานวิจัยนี้เลือกใช้สารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร พีเอช 7.0 เป็นสารละลายอิเล็กโทรไลต์สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนน

3.3.3 ผลการศึกษาปฏิกิริยาบริเวณหน้าขั้วไฟฟ้า

ศึกษาอัตราการสแกนเพื่อตรวจสอบปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นบริเวณผิวหน้าขั้วไฟฟ้า ทำโดยใช้อัตราการสแกนศักย์ไฟฟ้าที่แตกต่างกันได้แก่ 10, 20, 50, 100, 125, 150, และ 200 มิลลิโวลต์ต่อวินาที สำหรับการวิเคราะห์ไฮโดรควิโนนความเข้มข้น 1 มิลลิโมลต่อลิตร จากผลการทดลองพบว่า ทั้งกระแสแอนอดิกและแคโทดิกแปรผันตามอัตราการสแกน กล่าวคือเมื่อเพิ่มอัตราการสแกนค่ากระแสแอนอดิกและกระแสแคโทดิกก็จะสูงขึ้นตามอัตราการสแกน เมื่อพลอตค่ากระแสไฟฟ้ากับอัตราการสแกน และค่ากระแสไฟฟ้ากับรากที่สองของอัตราการสแกน ได้ผลแสดงดังรูปที่ 7(ก) และ (ข) ตามลำดับ



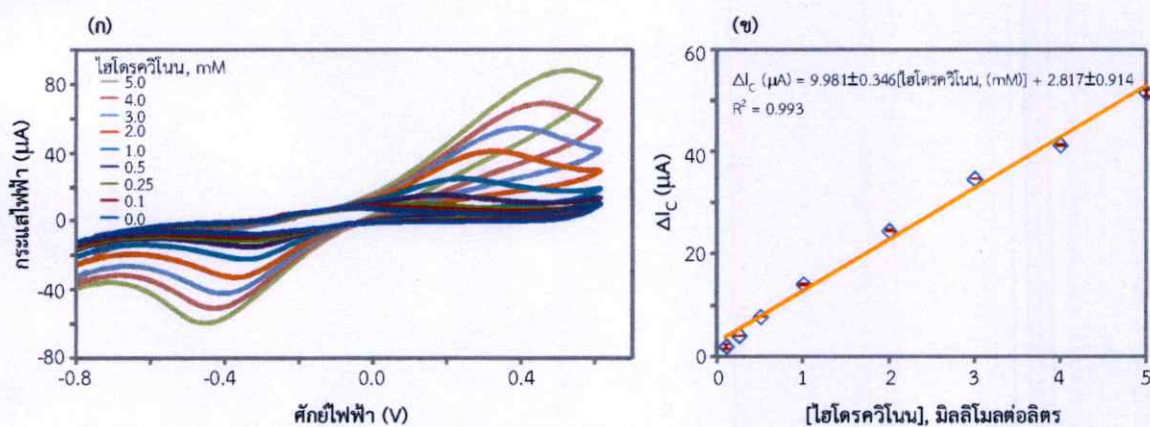
รูปที่ 7. ความสัมพันธ์ระหว่างกระแสแอนอดิกและกระแสแคโทดิกของสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนน ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลต่อลิตร กับ (ก) อัตราการสแกน และ (ข) รากที่สองของอัตราการสแกน

จากรูปที่ 7 พบว่า กราฟความสัมพันธ์ระหว่างกระแสไฟฟ้ากับรากที่สองของอัตราการสแกน มีความเป็นเส้นตรง (R^2) ที่ดี โดยมีค่า R^2 ของกระแสแอนโอดิกและแคโทดิกเท่ากับ 0.994 และ 0.988 ตามลำดับ ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่า กระบวนการที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้าถูกควบคุมด้วยกระบวนการแพร่ (diffusion controlled process) หมายความว่า กระบวนการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของ ไฮโดรควิโนนที่บริเวณผิวหน้าขั้วไฟฟ้า กราฟอินแบบพิมพ์สกรีนเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว จนทำให้เกิดความแตกต่างของความเข้มข้น (concentration gradient) ระหว่างไฮโดรควิโนนในสารละลายบัลค์ (bulk solution) กับบริเวณใกล้ผิวหน้าขั้วไฟฟ้า ส่งผลให้เกิดการแพร่ของไฮโดรควิโนนจากสารละลายบัลค์ เคลื่อนที่เข้าสู่บริเวณผิวหน้าขั้วไฟฟ้า ดังนั้น กระแสที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาที่ผิวหน้าขั้วไฟฟ้าจะมากหรือน้อย จึงขึ้นอยู่กับอัตราการแพร่ของไฮโดรควิโนนเข้าสู่บริเวณผิวหน้าขั้วไฟฟ้า และในงานวิจัยนี้ได้เลือกอัตราการสแกนที่ 100 mV/s เป็นอัตราการสแกนที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ไฮโดรควิโนนต่อไป

3.4 ประเมินคุณลักษณะเด่นของวิธีวิเคราะห์

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการวิเคราะห์แบบหยดเดียว (single drop analysis) โดยการหยดสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนนปริมาตร 60 ไมโครลิตรลงบนผิวหน้าขั้วไฟฟ้า ซึ่งเป็นปริมาตรน้อยที่สุด ที่ทำให้ขนาดหยดของสารละลายครอบคลุมผิวหน้าขั้วไฟฟ้ากราฟอินแบบพิมพ์สกรีน

ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ทำการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนนความเข้มข้น 0.1 ถึง 5.0 มิลลิโมลต่อลิตร ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร ที่พีเอช 7.0 ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี พบว่า ทั้งกระแสแคโทดิกและแอนโอดิกแปรผันตามความเข้มข้นของไฮโดรควิโนน (รูปที่ 8(ก))



รูปที่ 8. (ก) โวลแทมโมแกรมของการวิเคราะห์ไฮโดรควิโนน ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 มิลลิโมลต่อลิตร โดยใช้ 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.0 เป็นสารละลายอิเล็กโทรไลต์ อัตราการสแกน 100 mV/s และ (ข) กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างของกระแสแคโทดิก (ΔI_c) กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนน

เมื่อนำผลต่างของกระแสไฟฟ้าที่มีไฮโดรควิโนนและไม่มีไฮโดรควิโนน (ΔI) กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนน มาพล็อตกราฟมาตรฐานพบว่า กราฟความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างของกระแสแคโทดิก (ΔI_C) กับความเข้มข้นไฮโดรควิโนน (รูปที่ 8(ข)) ให้ความเป็นเส้นตรงและความไวในการวิเคราะห์ที่ดีกว่าการพล็อตโดยใช้กระแสแอโนดิก ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้การติดตามกระแสแคโทดิกในการวิเคราะห์ไฮโดรควิโนน โดยมีสมการเส้นตรงคือ

$$\Delta I_C (\mu A) = 9.981 \pm 0.346 [\text{ไฮโดรควิโนน (mM)}] + 2.817 \pm 0.914, R^2 = 0.993$$

ค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (LOQ) คำนวณได้จาก 3 และ 10 เท่า ของค่า SD of blank/slope ตามลำดับ โดย SD of blank คือค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการวิเคราะห์สารละลายแบลนด์ และ slope คือค่าความชันของกราฟมาตรฐานในการทดลองทำการตรวจวัดสัญญาณแคโทดิกของสารละลายแบลนด์ จำนวน 5 ซ้ำ พบว่า LOD และ LOQ มีค่าเท่ากับ 0.07 และ 0.23 มิลลิโมลต่อลิตร ตามลำดับ

ความเที่ยง (precision) ของวิธีวิเคราะห์ พิจารณาได้จากส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (RSD) ทำได้โดยการวัดค่ากระแสแคโทดิกของสารละลายแบลนด์ จำนวน 5 ซ้ำ พบว่าค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์มีค่าเท่ากับ 2.78 ถือได้ว่าวิธีนี้มีความเที่ยงของการวิเคราะห์ที่ดี นอกจากนี้ขั้วไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้นมีเสถียรภาพ (stability) ที่ดี สามารถใช้ซ้ำได้อย่างน้อย 17 ครั้ง โดยให้ผลการวิเคราะห์ใกล้เคียงกัน

3.5 ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีที่พัฒนาขึ้นกับเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)

งานวิจัยนี้ได้ทำการตรวจวัดปริมาณไฮโดรควิโนนในตัวอย่างครีมไวเทนนิ่งทั้งหมด 10 ตัวอย่าง โดยตัวอย่าง A ถึง F เป็นตัวอย่างที่มีขายตามท้องตลาดทั่วไป ส่วนตัวอย่าง G ถึง I เป็นครีมไวเทนนิ่งยี่ห้อเดียวกัน แต่แบ่งเป็นสูตรสำหรับกลางวัน กันแดด และกลางคืน ตามลำดับ โดยครีมไวเทนนิ่งยี่ห้อนี้เคยถูกสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาประกาศห้ามใช้ เนื่องจากมีการตรวจพบว่ามีไฮโดรควิโนนเป็นส่วนประกอบ และตัวอย่าง F สั่งซื้อทางอินเทอร์เน็ต ซึ่งเป็นเครื่องสำอางที่ผลิตในประเทศสหรัฐอเมริกา โดยฉลากได้ระบุว่าไม่มีไฮโดรควิโนนเป็นส่วนประกอบ

หลังจากการเตรียมตัวอย่างในหัวข้อ 2.4 สามารถนำตัวอย่าง A ถึง H ไปวิเคราะห์แบบหยาบด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราไฟท์แบบพิมพ์สกรีน (SPGE) ที่พัฒนาขึ้นได้โดยตรง ในขณะที่ตัวอย่าง I และ J ต้องทำการเจือจางก่อน 12 เท่า ก่อนนำไปทำการวิเคราะห์ เพื่อให้ความเข้มข้นของไฮโดรควิโนนในตัวอย่างอยู่ในช่วงกราฟมาตรฐาน จากผลการวิเคราะห์พบว่า ในตัวอย่าง A ถึง H ไม่พบการปนเปื้อนของไฮโดรควิโนน ในขณะที่ตัวอย่าง I และ J พบการปนเปื้อนของไฮโดรควิโนน โดยตัวอย่าง I และ J มีปริมาณไฮโดรควิโนนอยู่ 22 มิลลิกรัม และ 16 มิลลิกรัมต่อ 1 กรัมครีมตัวอย่าง ตามลำดับ

ความแม่นยำ (accuracy) ของวิธีวิเคราะห์ พิจารณาจากค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ (recovery) ทำได้โดยการเติมสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนน ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลต่อลิตร ลงในสารละลายตัวอย่างครีมไวเทนนิ่ง และทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค SPGE จากนั้นคำนวณหาความเข้มข้นของไฮโดรควิโนนในตัวอย่างที่มีการเติมสารละลายมาตรฐานลงไป และคำนวณหาร้อยละของการคืนกลับ

ผลแสดงในตารางที่ 1 พบว่า ค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับมาอยู่ในช่วง 87 – 114 % ซึ่งถือได้ว่าวิธีที่พัฒนาขึ้น มีความแม่นยำในระดับที่ยอมรับได้ ผลการวิเคราะห์ไม่ถูกรบกวนจากองค์ประกอบอื่น ๆ ภายในตัวอย่างครีมไวเทนนิ่ง

ทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี SPGE ที่พัฒนาขึ้นกับเทคนิค HPLC [11] ผลการวิเคราะห์ที่ได้จากทั้งสองวิธีแสดงดังตารางที่ 1 เมื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ทั้งสองด้วยวิธีทางสถิติ paired *t*-test พบว่า ผลการวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรควิโนนในตัวอย่างที่ได้จากทั้ง 2 วิธี ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($t_{stat} = 0.92$, $t_{critical} = 2.20$) จึงสามารถสรุปได้ว่าวิธี SPGE ที่พัฒนาขึ้นนี้มีความน่าเชื่อถือ และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรควิโนนในตัวอย่างครีมไวเทนนิ่งได้

ตารางที่ 1. ผลการวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรควิโนนในตัวอย่างครีมไวเทนนิ่งด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้ากราฟีนแบบพิมพ์สกรีน (SPGE) และเทคนิค HPLC

สารตัวอย่าง	ความเข้มข้นของสารมาตรฐานไฮโดรควิโนนที่เติมลงไป (มิลลิโมลต่อลิตร)	ปริมาณไฮโดรควิโนนที่ตรวจพบ (มิลลิโมลต่อลิตร)		ร้อยละคืนกลับของวิธี SPGE
		SPGE	HPLC	
A	-	n.d.	n.d.	-
	1.00	1.06 ± 0.05	1.06 ± 0.09	106
B	-	n.d.	n.d.	-
	1.00	1.14 ± 0.04	1.17 ± 0.30	114
C	-	n.d.	n.d.	-
	1.00	1.08 ± 0.02	1.37 ± 0.07	108
D	-	n.d.	n.d.	-
	1.00	1.09 ± 0.01	1.35 ± 0.09	109
E	-	n.d.	n.d.	-
	1.00	1.09 ± 0.01	0.97 ± 0.05	109
F	-	n.d.	n.d.	-
	1.00	1.04 ± 0.01	1.00 ± 0.02	104
G	-	n.d.	n.d.	-
	1.00	1.05 ± 0.04	1.14 ± 0.20	105
H	-	n.d.	n.d.	-
	1.00	0.95 ± 0.02	0.68 ± 0.30	95
I	-	2.43 ± 0.01	1.33 ± 1.00	-
	1.00	3.30 ± 0.02	3.46 ± 0.10	87
J	-	1.68 ± 0.05	1.57 ± 0.08	-
	1.00	2.58 ± 0.01	2.21 ± 0.30	90

n.d. = ตรวจไม่พบ (not detectable)

4. สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาขี้ไฟฟ้ากราฟีนแบบวิธีพิมพ์สกรีนเพื่อวิเคราะห์ไฮโดรควิโนนในครีมไวเทนนิ่ง โดยอาศัยการวิเคราะห์แบบหยาบด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี และทำการติดตามการเปลี่ยนแปลงกระแสไฟฟ้าแคโทดิกของปฏิกิริยารีดักชันของไฮโดรควิโนน ซึ่งแปรผันตามความเข้มข้นของไฮโดรควิโนน ขี้ไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้นทำได้ง่าย โดยไม่ต้องมีขั้นตอนการปรับปรุงผิวหน้าขี้ไฟฟ้า และได้ความไวในการวิเคราะห์ที่เพียงพอต่อการตรวจวัดไฮโดรควิโนนที่ปนเปื้อนในเครื่องสำอาง ขี้ไฟฟ้ามีขนาดเล็ก สามารถพัฒนาต่อยอดเพื่อนำไปวิเคราะห์ภาคสนามได้ นอกจากนี้ ในงานวิจัยได้อาศัยการวิเคราะห์แบบหยาบเพียงอย่างเดียว จึงช่วยลดการใช้ปริมาณสารตัวอย่าง วิธีที่พัฒนาขึ้นมีความน่าเชื่อถือ และประสบความสำเร็จในการนำไปประยุกต์ใช้หาไฮโดรควิโนนในตัวอย่างครีมไวเทนนิ่ง

เอกสารอ้างอิง (References)

- [1] เอกรัตน์ จันทราทิตย์. 2553. บทความเผยแพร่ความรู้สู่ประชาชน อันตรายของครีมหน้าขาวที่ผสมไฮโดรควิโนน. แหล่งข้อมูล: <http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/14/> อันตรายของครีมหน้าขาวที่ผสมไฮโดรควิโนน. ค้นเมื่อวันที่ 7 พฤศจิกายน 2559.
- [2] Matsumoto, M., Todo, H., Akiyama, T., Hirata-Koizumi, M., Sugibayashi, K., Ikarashi, Y., Ono, Y., Hirose, A. and Yokoyama, K. 2016. Risk assessment of skin lightening cosmetics containing hydroquinone. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 81, 128-135.
- [3] กระทรวงสาธารณสุข. 2552. กำหนดวัตถุที่ห้ามใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเครื่องสำอาง (ฉบับที่2). แหล่งข้อมูล : http://e-cosmetic.fda.moph.go.th/data_center/ifm_mod/nw. ค้นเมื่อวันที่ 7 พฤศจิกายน 2559.
- [4] กองพัฒนาศักยภาพผู้บริโภค สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. 2555. ออ. เตือนอย่าซื้ออย่าใช้เครื่องสำอางอันตราย 34 รายการ เสี่ยง! หน้าพัง แหล่งข้อมูล: <http://cpho.moph.go.th/wp/?p=7074>. ค้นเมื่อวันที่ 7 พฤศจิกายน 2559.
- [5] Elzanfaly, E., Saad, A. and Abd-Elaleem, A. 2012. Simultaneous determination of retinoic acid and hydroquinone in skin ointment using spectrophotometric technique (ratio difference method). *Saudi Pharmaceutical Journal*, 20, 249-253.
- [6] Sirajuddin, M., Bhangar, I., Niaz, A., Shah, A. and Rauf, A. 2006. Ultra-trace determination of hydroquinone in waste photographic solutions by UV-vis spectrophotometry, *Talanta*, 72, 546-553.
- [7] Huang, H., Xu, M., Gao, Y., Wang, G. and Su, X. 2011. Water-soluble fluorescent conjugated polymer-enzyme hybrid system for the determination of both hydroquinone and hydrogen peroxide. *Talanta*, 86, 164-169.

- [8] Ni, P., Dai, H., Li, Z., Sun, Y., Hu, J., Jiang, S., Wang, Y. and Li, Z. 2015. Carbon dots based fluorescent sensor for sensitive determination of hydroquinone. *Talanta*, 144, 258-162.
- [9] Lourenco, E.L.B., Ferreira, A., Pinto, E., Yonamine, M. and Farsky, S.H.P. 2006. On-fiber derivatization of SPME extracts of phenol, hydroquinone and catechol with GC-MS detection. *Chromatographia*, 63, 175-179.
- [10] Gao, W. and Legido-Quigley, C. 2011. Fast and sensitive high performance liquid chromatography analysis of cosmetic cream for hydroquinone, phenol and six preservatives. *Journal of Chromatography A*, 1218, 4307-4311.
- [11] Garcia, P.L., Santoro, M.I.R.M., Kedor-Hackman, E.R.M. and Singh, A.K. 2005. Development and validation of a HPLC and a UV derivative spectrophotometric methods for determination of hydroquinone in gel and cream preparations. *Journal of pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 39, 764-768.
- [12] Lin, Y., Yang, Y. and Wu, S. 2007. Experimental design and capillary electrophoresis for simultaneous analysis of arbutin, kojic acid and hydroquinone in cosmetics. *Journal of pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 44, 279-282.
- [13] Desiderio, C., Ossicini, L. and Fanali, S. 2000. Analysis of hydroquinone and some of its ethers by using capillary electrochromatography. *Journal of Chromatography A*, 887, 489-496.
- [14] Vilian, A.T.E., Chen, S., Huang L., Ali, M.A. and Al-Hemaid F.M.A. 2014. Simultaneous determination of catechol and hydroquinone using a Pt/ZrO₂-RGO/GCE composite modified glassy carbon electrode. *Electrochimica Acta*, 125, 503-509.
- [15] Upan, J., Reanpang, P., Chailapakul, O. and Jakmunee, J. 2016. Flow injection amperometric sensor with a carbon nanotube modified screen printed electrode for determination of hydroquinone. *Talanta*, 146, 766-771.
- [16] Soltani, H., Pardakhty, A. and Ahmadzadeh, S. 2016. Determination of hydroquinone in food and pharmaceutical samples using a voltammetric based sensor employing NiO nanoparticle and ionic liquids. *Journal of Molecular Liquids*, 219, 63-67.
- [17] Zhang, Y., Sun, R., Luo, B. and Wang, L. 2015. Boron-doped graphene as high performance electrocatalyst for the simultaneously electrochemical determination of hydroquinone and catechol. *Electrochimica Acta*, 156, 228-234.
- [18] Cottica, S.M., Nozaki, J., Nakatani, H.S., Oliveira, C.C., de Souza, N.E. and Visentainer, J.V. 2009. Voltammetric determination of pyridoxine (vitamin B6) in drugs using a glassy carbon electrode modified with chromium(III) hexacyanoferate(II). *Journal of Brazilian Chemical Society*, 20, 496-501.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาววรรณนิดา ดือขุนทด
วัน เดือน ปีเกิด	25 กันยายน พ.ศ. 2534
ที่อยู่	บ้านเลขที่ 467 ม.1 ต.หัวทะเล อ.เมือง จ.นครราชสีมา 30000 โทร 087-868-708-2
ประวัติการศึกษา	2556 วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา
ประสบการณ์การทำงาน	พ.ศ.2558– 2559 ผู้ช่วยสอน ปฏิบัติการเคมีวิเคราะห์ ปฏิบัติการเคมีวิเคราะห์ 1 ปฏิบัติการการประยุกต์ใช้เครื่องมือวิเคราะห์
ผลงานวิจัย	พ.ศ.2559 นำเสนอผลงานวิจัย (Poster) ในงานประชุมวิชาการ asiannalysis XIII ในหัวข้อ Screen – printed graphene electrode for single drop analysis of hydroquinone
พ.ศ.2560	นำเสนอผลงานวิจัย (Poster) ในงานประชุมวิชาการ paccon 2017 ในหัวข้อ Single drop analysis of hydroquinone using screen – printed graphene electrode