การวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนนในเครื่องสำอาง โดยวิธีสเปกโทรโฟโตเมทรี

DETERMINATION OF HYDROQUINONE IN COSMETICS BY SPECTROPHOTOMETRIC METHOD

นายวุฒิพงษ์ พรมวัฒน์

นางสาวอนัญญา บุญธนอง

นางสาวอาภาพร ขันทะมาศ

โครงงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมีอุตสาหกรรม

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2556

การวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนนในเครื่องสำอาง
โดยวิธีสเปกโทรโฟโตเมทรี

DETERMINATION OF HYDROQUINONE IN COSMETICS
BY SPECTROPHOTOMETRIC METHOD

นายวุฒิพงษ์ พรมวัฒน์

นางสาวอณัญญา บุญสนอง

นางสาวอาภาพร จันทะมาศ

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาเคมีอุตสาหกรรม

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2556

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

DETERMINATION OF HYDROQUINONE IN COSMETICS BY SPECTROPHOTOMETRIC METHOD

MR. WUTTIPONG PROMWAT
MISS ANANYA BUNSANONG
MISS APAPORN CHANTAMAT

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE
IN INDUSTRIAL CHEMISTRY
FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2013

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนนในเครื่องสำอาง โดยวิธีสเปกโทรโฟโตเมทรี Determination of hydroquinone in cosmetics by spectrophotometric method	
ชื่อนักศึกษา	นายวุฒิพงษ์ พรมวัฒน์	53050350
	นางสาวอณัญญา บุญสนอง	53050388
	นางสาวอาภาพร จันทะมาศ	53050398
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต	
สาขาวิชา	เคมีอุตสาหกรรม	
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร. เสาวภาคย์ ธีราทรง	

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม ประจำปีการศึกษา 2556

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ	
ดร.ณัฐวุฒิ เชิงชั้น	
ดร.เสาวภาคย์ ธีราทรง	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนนในเครื่องสำอางโดยวิธีสเปกโทรโฟโตเมทรี Determination of hydroquinone in cosmetics by spectrophotometric method	
ชื่อนักศึกษา	นายวุฒิพงษ์ พรมวัฒน์	53050350
	นางสาวอญัญญา บุญสนอง	53050388
	นางสาวอาภาพร จันทะมาศ	53050398
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต	
สาขาวิชา	เคมีอุตสาหกรรม	
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร. เสาวภาคย์ ธีราทรง	

บทคัดย่อ

โครงงานพิเศษนี้มีจุดประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนนในเครื่องสำอางโดยอาศัยเทคนิค ยูวี-วิซิเบิล สเปกโทโฟโตเมทรี ซึ่งไฮโดรควิโนนจะเป็นตัวรีดิวซ์เพื่อเปลี่ยนเหล็ก (III) ให้เป็นเหล็ก (II) โดยเหล็ก (II) จะทำปฏิกิริยากับ ออโทฟีแนนโทรลีนให้สารประกอบเชิงซ้อนสีส้มแดงและให้การดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 508 นาโนเมตร โครงงานพิเศษนี้ได้ทำการศึกษาพารามิเตอร์ที่มีอิทธิพลต่อปฏิกิริยาได้แก่ ความเข้มข้นของเหล็ก (III), ความเข้มข้นของออโทฟีแนนโทรลีน,พีเอชและเวลาในการเกิดปฏิกิริยา ซึ่งภายใต้สภาวะที่ดีที่สุดจะได้ความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนนในช่วง 1–20 μM โดยได้สมการเส้นตรงคือ Absorbance = $(0.033\pm8.68\times10^{-5})$[hydroquinone(μM)]+$(0.285\pm9.7\times10^{-4})$ และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) เท่ากับ 1 ขีดต่ำสุดสำหรับการตรวจวัด (LOD) และการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (LOQ) คือ 0.7 และ 1.4 μM ตามลำดับ วิธีนี้ให้ค่าความเที่ยง (precision) ของการวิเคราะห์ดี (1.15 %RSD) และวิธีที่พัฒนาขึ้นสามารถนำไปประยุกต์หาประมาณไฮโดรควิโนนในเครื่องสำอางได้สำเร็จ ซึ่งได้ค่าวิเคราะห์คืนกลับ (%recovery) อยู่ในช่วง 98.13-105.63%

คำสำคัญ ไฮโดรควิโนน, เหล็ก (III), เหล็ก (II),ออโทฟีแนนโทรลีน, เครื่องสำอาง, ยูวี-วิซิเบิล สเปกโทโฟโตเมทรี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Determination of hydroquinone in cosmetics by UV-vis spectrophotometry
Names	Mr.Wuttipong Promwat Miss Ananya Bunsanong Miss Apaporn Chantamat
Degree	Bachelor of Science
Major	Industrial Chemistry
Academic Year	2013
Advisor	Dr.SaowapakTeerasong

ABSTRACT

This project was aimed to develop a method for determination of hydroquinone in cosmetics by UV-vis spectrophotometry. Hydroquinone is a reducing agent for conversion of Fe(III) to Fe(II). The Fe(II) reacts with o-phenanthroline, giving a scarlet complex of $[Fe(phen)_3]^{2+}$. The complex has a maximum absorption at 508 nm. Influence parameters suchs concentration of Fe(III) and o-phenantholine, pH and reaction time were studied. Under optimal condition, a linear calibration was obtained from 1 to 20 μM hydroquinone. The equation was Absorbance = $(0.033\pm8.68\times10^{-5})$ [hydroquinone (μM)]+$(0.285\pm9.7\times10^{-4})$ with R^2 = 1. The detection limit (LOD) and limit of quantitation (LOQ) were 0.7 and 1.4 μM, respectively. The method provided good precision of analysis (1.15% RSD). The developed method was successfully applied to determination of hydroquinone in cosmetics. The recovery was in range of 98.13-105.63%.

Keywords :hydroquinone; Fe(III); o-phenanthroline; cosmetics; UV-vis spectrophotometry.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความช่วยเหลือจากบุคคลหลายฝ่ายผู้จัดทำได้รับความอนุเคราะห์จึงใคร่ขอขอบพระคุณทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือขอขอบพระคุณ ดร.เสาวภาคย์ ธีราทรง ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษที่ให้คำปรึกษาและคำแนะนำตลอดจนให้ความช่วยเหลือในการจัดทำโครงงานพิเศษนี้มาตลอด ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ และ ดร.ณัฐวุฒิ เชิงชั้นที่เป็นคณะกรรมการตรวจสอบให้คำปรึกษาแนะนำตลอดจนช่วยเหลือในการดำเนินโครงงานพิเศษนี้ ขอขอบคุณ นางสาวฐิตาพร สอนสะอาด ซึ่งเป็นผู้ที่ให้คำแนะนำปรึกษา และช่วยเหลือในการดำเนินโครงงานพิเศษนี้ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ และเจ้าหน้าที่ฝ่ายธุรการ ภาควิชาเคมีทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกทุกๆด้านอย่างเต็มที่ขอขอบพระคุณบิดา มารดา และบุคคลในครอบครัวที่คอยให้กำลังใจมาตลอด รวมถึงเพื่อนทุกคนที่คอยให้คำปรึกษาให้กำลังใจและช่วยเหลือมาตลอด

นอกเหนือจากนี้แล้วยังมีบุคคลอื่นอีกหลายท่านที่มิได้กล่าวถึงที่ได้ให้ความอนุเคราะห์มาโดยตลอดในการทำโครงงานพิเศษฉบับนี้ ทางคณะผู้จัดทำจึงใคร่ขอบคุณมา ณ ที่นี้ด้วย

คณะผู้จัดทำ

นายวุฒิพงษ์ พรมวัฒน์

นางสาวอณัญญา บุญสนอง

นางสาวอาภาพร จันทะมาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	VII
สารบัญรูป	VIII
บทที่ 1 บทนำ	**1**
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	3
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	**4**
2.1 ไวท์เทนนิ่ง	4
2.2.1 สารป้องกันแสงแดด	4
2.1.2 กลุ่มรบกวนการทำงานของเอนไซม์ Tyrosinase หรือ Melanosome	4
2.2.3 กลุ่มยับยั้งการพัฒนา (Maturation) ของเอนไซม์ Tyrosinases	5
2.2.4 กลุ่มที่ออกฤทธิ์เพิ่มการสลายตัวของเอนไซม์ Tyrosinases	5
2.2.5 กลุ่มที่ออกฤทธิ์การทำงานของเอนไซม์ D.tautomeras , D.polymerase	5
2.2.6 กลุ่มยับยั้งการสร้างเอนไซม์ Tyrosinases	6
2.2 ไฮโดรควิโนน (hydroquinone;HQ)	6
2.3 วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนน	10
2.3.1 เทคนิค liquid chromatography	10
2.3.2 เทคนิค gas chromatography	11
2.3.3 เทคนิค Capillary electrochromatography	12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

2.3.4 เทคนิค electrochemical 13

2.3.5 เทคนิค thin layer chromatography 16

2.3.6 เทคนิค spectrophotometry 17

2.4 หลักการในการวิจัยโครงงานพิเศษ 18

บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 19

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์ 19

3.1.1 สารเคมี 19

3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ 19

3.2 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย 20

3.2.1 การเตรียมสารเคมี 20

3.2.1.1 สารมาตรฐานไฮโดรควิโนน เข้มข้น 0.01 M 20

3.2.1.2 กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) เข้มข้น 0.1 M 20

3.2.1.3 สารละลาย o-phenanthroline เข้มข้น 0.1 M 20

3.2.1.4 สารละลาย $[Fe_2(SO_4)_3].H_2O$ เข้มข้น 0.05 M 20

3.2.1.5 อะซิเตทบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.2 M พีเอช 3.6 (acetate buffer pH = 3.6) 21

3.2.2 การเตรียมตัวอย่าง 21

3.2.3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนน 21

3.2.3.1 ศึกษาความเข้มข้นของ H_2SO_4 21

3.2.3.2 ศึกษาความเข้มข้นของ $[Fe_2(SO_4)_3].H_2O$ 21

3.2.3.3 ศึกษาความเข้มข้นของ o-phenanthroline 22

3.2.3.4 เวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา 22

3.2.4 ขั้นตอนการสร้างกราฟมาตรฐาน และการทดลองสารตัวอย่าง 23

3.2.4.1 การสร้างกราฟมาตรฐาน 23

3.2.4.2 การวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนนในสารตัวอย่าง 23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

3.2.5 การรบกวนของเหล็ก (III) ที่มีผลต่อปฏิกิริยาที่ใช้ในการตรวจวัด 23

3.2.6 ขีดจำกัดต่ำสุดสำหรับการตรวจวัดและการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (LOD และ LOQ) 24

3.2.7 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) 24

3.2.8 ค่าวิเคราะห์คืนกลับ (%Recovery) 24

บทที่4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล **25**

4.1 ศึกษาค่าการดูดกลืนแสงที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัด 26

4.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสม 27

4.2.1 ความเข้มข้นของกรดและ pH ที่เหมาะสม 27

4.2.2 ความเข้มข้นของ $[Fe_2(SO_4)_3].H_2O$ 28

4.2.3 ความเข้มข้นของo-phenanthroline 29

4.2.4 ระยะเวลาในการทำการเกิดปฏิกิริยา 30

4.3 การทำกราฟมาตรฐาน (Calibration curve) 31

4.4 การศึกษาการรบกวนของ Fe^{3+} 32

4.5 การวิเคราะห์ไฮโดรควิโนนในเครื่องสำอาง 33

บทที่ 5 สรุปผลวิจัย **34**

สรุปผลวิจัย 34

เอกสารอ้างอิง **36**

ภาคผนวก ก **41**

ภาคผนวก ข **42**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์ไฮโดรควิโนนในเครื่องสำอาง 33

ตารางที่ 2 แสดงค่าที่เหมาะสมของพารามิเตอร์ต่างๆ 34

ภาคผนวก ก

ตาราง ก แสดงข้อมูลการวัดค่าการดูดกลืนแสงของแบลงค์ทั้ง 8 ครั้ง **41**

ตาราง ข แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง A B C D และ E **41**

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ

รูปที่	หน้า
2.1 โครงสร้างของไฮโดรควิโนน	6
2.2 ลักษณะของไฮโดรควิโนน ณ สภาวะอุณหภูมิห้อง	6
2.3 กลไกของการยับยั้งเมลานินโดยไฮโดรควิโนน	7
2.4 ลักษณะของการเกิดRebound	8
2.5 ผลของการเกิด Leukoderma	9
4.1 สเปกตรัมของสารผลิตภัณฑ์ $[Fe(phen)_3]^{2+}$	26
4.2 ผลของ pH ต่อปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน $[Fe(phen)_3]^{2+}$	27
4.3 ผลของความเข้มข้นต่างๆของ $[Fe_2(SO_4)_3].H_2O$ ต่อปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน	28
4.4 ผลความเข้มข้นของ o-phenanthroline ต่อปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน $[Fe(phen)_3]^{2+}$	29
4.5 ผลของระยะเวลาต่อการเกิดปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน	30
4.6 ผลของความเข้มข้นต่างๆของไฮโดรควิโนนต่อการเกิดปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน	31
4.7 สเปกตรัมของสารประกอบเชิงซ้อน Fe^{3+} ความเข้มข้น 0.05 M	32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของโครงงานพิเศษ

เนื่องจากในปัจจุบันผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่ทำให้ผิวขาวนั้นได้รับความนิยมอย่างมากในกลุ่มผู้บริโภคในเอเชีย รวมถึงประเทศไทย บริษัทเครื่องสำอางจึงได้ทำการคิดค้นผลิตภัณฑ์เพื่อตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคโดยเฉพาะอย่างยิ่ง ครีมที่ทำให้ผิวหน้าขาวใสจึงทำให้ในปัจจุบันจึงมีผลิตภัณฑ์เหล่านี้วางจำหน่ายอยู่มากมายในท้องตลาดซึ่งแต่ละผลิตภัณฑ์ก็มีสารที่เป็นส่วนประกอบของสารที่สำคัญที่ทำให้ผิวขาวแตกต่างกันไป ซึ่งไฮโดรควิโนนก็เป็นสารเคมีซึ่งเป็นที่นิยมในการนำมาเตรียมครีมที่ทำให้หน้าขาวในอดีต เนื่องจากเห็นผลได้เร็วไฮโดรควิโนนออกฤทธิ์โดยการการยับยั้งกระบวนการสร้างเม็ดสีของผิวหนัง หรือที่เรียกว่า เมลานินจึงมีผลทำให้ผิวขาวขึ้นได้ อย่างไรก็ตามการใช้ไฮโดรควิโนนนี้ควรใช้ในระยะเวลาที่จำกัด ไม่ควรใช้นานเกินไป และไม่ควรหยุดใช้ยาทันทีเนื่องจากอาจจะทำให้ผิวคล้ำลงกว่าเดิมได้จากการที่ผิวหนังเร่งผลิตเซลล์เม็ดสีมาทดแทน นอกจากนี้ไฮโดรควิโนนเป็นสารที่ทำปฏิกิริยากับแสงแดด ซึ่งหากทายาที่มีส่วนผสมของไฮโดรควิโนนแล้วไม่ทาครีมกันแดด ฝ้าจะดำกว่าเดิมได้การใช้ครีมที่มีส่วนผสมของไฮโดรควิโนนในปริมาณสูงซึ่งอาจก่อให้เกิดผลข้างเคียงจากการใช้ได้ เริ่มจาก อาการระคายเคืองต่อผิว เกิดจุดด่างขาวที่หน้า ผิวหน้าดำ เป็นฝ้าถาวร รักษาไม่หาย ทำให้เกิดโรคผิวหนังขึ้น เกิดตุ่มนูนสีดำบริเวณโหนกแก้มและสันจมูก ซึ่งเป็นบริเวณที่ทายาบ่อยๆหากใช้ติดต่อกันเป็นเวลานานมากกว่า 6 เดือน จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อภายในผิวหนังทำให้เกิดเป็นฝ้าถาวรสีน้ำเงินอมดำได้ซึ่งอาจเกิดจากการที่ผิวหนังมีการปรับตัวให้สร้างเม็ดสีมากขึ้นรวมทั้งเพิ่มโอกาสเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งผิวหนังด้วยโดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้าใช้ติดต่อกันเป็นเวลานาน [1]

ในบางประเทศไม่อนุมัติให้มีการใช้ไฮโดรควิโนนในเครื่องสำอาง [2] เช่น ฝรั่งเศส เนื่องจากอาจเป็นสารก่อมะเร็งได้ จากการศึกษาและทดลองในหนูพบว่าสารไฮโดรควิโนนมีความเป็นพิษ โดยมีค่า LC_{50}[1] orally in rats เท่ากับ 320 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวหนู 1 กิโลกรัม และยังพบว่าสามารถมีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์และก่อมะเร็งในหนูทดลอง

---

[1] LC_{50} (Lethal Concentration fifty) ค่าความเข้มข้นของสารเคมีในอากาศซึ่งคาดว่าจะทำให้สัตว์ทดลองที่สูดดมในระยะเวลาที่ระบุไว้ตายไปเป็นจำนวนครึ่งหนึ่ง (50%) ของจำนวนเริ่มต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แต่บางประเทศอนุมัติให้วางจำหน่ายได้เฉพาะรูปแบบ 2% cream ในบางผลิตภัณฑ์สามารถใช้เป็นสารออกฤทธิ์ในสูตรตำรับยาชนิดครีม ที่ระดับความเข้มข้น 2-4% สำหรับในประเทศไทยสารไฮโดรควิโนนเป็นสารที่เคยอนุญาตให้ใช้ในครีมแก้ฝ้า แต่ภายหลังพบว่าไฮโดรควิโนนทำให้เกิดการระคายเคือง และจุดด่างขาวที่หน้าผิวหน้าดำ เป็นฝ้าถาวรรักษาไม่หาย ดังนั้นสารไฮโดรควิโนนจึงถูกกำหนดเป็นสารห้ามในเครื่องสำอางตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่องกำหนดวัตถุที่ห้ามใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเครื่องสำอาง (ฉบับที่ 2) ประกาศ ณ วันที่ 16 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2552 [3] โดยอนุญาตให้ใช้ไฮโดรควิโนนได้เฉพาะในผลิตภัณฑ์สำหรับย้อมผมในอัตราส่วนสูงสุดในผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปไม่เกิน 0.3% และในผลิตภัณฑ์ชุดทำเล็บเทียม 0.02% เท่านั้น ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ณ วันที่ 29 สิงหาคม พ.ศ. 2551 [4] สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ถึงอย่างไรก็ยังพบการปนเปื้อนวัตถุที่ห้ามเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางอยู่ โดยพบว่าผู้ผลิตบางยี่ห้อมีการผสมสารที่เป็นสารที่ทำให้ขาวที่ผิดกฎหมายเพื่อลดต้นทุนในการผลิตเช่น ครีมสูตรหน้าขาวใส ก็ใส่จะปรอท ไฮโดรควิโนน น้ำยาขัดห้องน้ำ น้ำกลั่น สารกันเสีย แทนการใส่สารประเภทวิตามินซี วิตามินอี อาร์บูติน เอเอชเอ เนื่องจากสารพวกนี้มีราคาแพง [5] โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ถ้าผู้บริโภคนำเอาครีมเหล่านั้นไปใช้โดยไม่อยู่ในการดูแลของแพทย์ผิวหนังโดยอาจจะทำให้เกิดอาการแสบคันมีผื่นขึ้นเต็มหน้า จุดด่างขาวที่หน้า และถ้าใช้ในปริมาณที่มากและในระยะเวลานานๆแล้วจะทำให้ผิวหน้าดำ เป็นฝ้าถาวรรักษาไม่หายและยิ่งไปกว่านั้นอาจจะยิ่งส่งผลที่ร้ายแรงถึงชีวิตได้ดังนั้นเมื่อวันที่ 21 กันยายน 2555 สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาได้เพิ่มเติมรายชื่อเครื่องสำอางมีสารอันตรายอีก 40 ยี่ห้อ แนะนำผู้บริโภคอย่าซื้อมาใช้ พร้อมเตือนผู้ขายอย่านำเครื่องสำอางที่ สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาประกาศผลวิเคราะห์ว่ามีสารอันตรายทั้งหมดมาขาย ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นครีมประเภทรักษาฝ้าและสารทำให้ผิวขาวมิฉะนั้นจะต้องได้รับโทษเหมือนผู้ผลิตและผู้นำเข้า [6, 7] อย่างไรก็ตาม ยังพบว่ามีการปนเปื้อนไฮโดรควิโนนในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางในปริมาณที่เกินกำหนดตามตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขซึ่งจะส่งผลต่อผู้บริโภคที่ใช้ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวโดยตรง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นองไฮโดรควิโนนที่มีความน่าเชื่อถือใช้ง่ายและวิเคราะห์ได้รวดเร็ว ซึ่งผู้วิจัยได้ทำการใช้เทคนิค UV–vis spectrophotometry ในการตรวจวัดหาปริมาณไฮโดรควิโนนในเครื่องสำอาง

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานวิจัย

1.2.1 พัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนน โดยอาศัยเทคนิค UV–vis spectrophotometry ในการตรวจวัด

1.2.2 นำวิธีที่พัฒนาขึ้นไปใช้หาปริมาณไฮโดรควิโนนในเครื่องสำอาง

1.3 ขอบเขตของโครงงานวิจัย

1.3.1 ศึกษาปฏิกิริยาเพื่อใช้วิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนนและตรวจวัดด้วย UV–vis spectrophotometry

1.3.2 ศึกษาสภาวะการทดลองที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนนด้วยเทคนิค UV–vis spectrophotometry

1.3.3 ศึกษากระบวนการเตรียมสารตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนนในเครื่องสำอาง

1.3.4 นำวิธีที่ได้พัฒนาขึ้นไปประยุกต์ใช้หาปริมาณไฮโดรควิโนนในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ประเภทไวท์เทนนิ่งในท้องตลาด

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้วิธีวิเคราะห์สำหรับหาปริมาณไฮโดรควิโนนที่มีความน่าเชื่อถือ (Reliability) และสามารถนำไปประยุกต์หาปริมาณไฮโดรควิโนนในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ไวท์เทนนิ่ง

ไวท์เทนนิ่งคือ สารประเภทที่ทำให้ผิวขาว (Whitening Agents) ด้วยกระบวนการหลักของการลดการผลิตเม็ดสีใต้ชั้นผิว ซึ่งอาจจะปรากฏอยู่ในหลายรูปแบบ เช่น เป็นยารักษา, เป็นเครื่องสำอางควบคุม และเป็นเครื่องสำอางที่สามารถหาซื้อได้ทั่วไป [8, 9] สารที่ทำให้ผิวขาวนั้นมีหลายรูปแบบ สามารถจำแนกตามกลไกการทำงานได้ดังนี้

2.1.1 สารป้องกันแสงแดด เพื่อลดการทำลาย หรือสร้างเม็ดสีมากขึ้น ได้แก่ ครีมกันแดดสารกันแดด แบ่งออกเป็น 3 ชนิด

-Physical Sunscreen (สารกันแดดสะท้อนแสง) เป็นสารที่ช่วยเพิ่มคุณสมบัติสะท้อนแสง ส่วนมากไม่ทำปฏิกิริยาการแพ้กับผิวหนัง เช่น Titanium Dioxide (TiO_2), Zinc Oxide (ZnO) เป็นต้น สารในกลุ่มนี้สามารถป้องกันได้ทั้ง UVA, UVB, Visible Light และ Infrared Light

-Chemical Sunscreen (สารกันแดดดูดแสง) เป็นสารที่สามารถดูดซับพลังงานของแสงแดดไว้ก่อนที่แสงแดดจะผ่านลงไปที่ผิวหนัง สารในกลุ่มนี้มีหลายชนิด ซึ่งสามารถดูดซับพลังงานในช่วงที่ต่างกันและอาจทำให้เกิดการแพ้ยาได้

-แบบผสม Chemical-Physical Sunscreen เป็นการเสริมข้อดี ลดข้อด้อยในแต่ละส่วน นั่นคือ ลดการระคายเคืองต่อผิวหนัง จากสารประเภทสารเคมี และ ลดความขาวเมื่อทาครีม และเสริมประสิทธิภาพ ในการป้องกันแสงแดดร่วมกัน [10]

2.1.2 กลุ่มรบกวนการทำงานของเอนไซม์ Tyrosinase หรือ Melanosome ในขบวนการสร้างเม็ดสีผิวแบ่งย่อยๆ ได้เป็น

-Hydroquinone (HQ) เดิมใช้ผสมในครีมรักษาฝ้า เพื่อลดและลบรอยดำจากฝ้า มีส่วนผสมตั้งแต่ 2-5% แต่ถ้าใช้ติดต่อกันนานๆจะมีผลข้างเคียงได้ และทำให้ฝ้ากลับมาเป็นใหม่ได้จากผลของยาเอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

-Vitamin C อาจในรูปของสารละลาย (สำหรับใช้ในการทำไอออนโต) หรือในรูปของครีมทาผิว หรือ การรับประทานวิตามินซีเม็ด ซึ่งกรณีการรักษาฝ้า แพทย์อาจแนะนำให้รับประทานวิตามิน C ควบคู่ไปด้วย ประมาณ 100-200 มก.ต่อวัน

-Kojic Acid ใช้เป็นส่วนผสม ของผลิตภัณฑ์ล้างหน้า ครีมรักษาฝ้า ครีมทาหน้าขาว

-Arbutin ส่วนประกอบคล้ายกับไฮโดรควิโนน แต่ไม่เป็นอันตรายต่อเซลล์เมลาโนไซต์ ในคลินิกผิวหนังมักนำมาใช้รักษาฝ้า แทนยาไฮโดรควิโนน แม้ให้ผลการรักษาช้ากว่า แต่ก็มีผลข้างเคียงน้อย

-Licorice เป็นผลิตภัณฑ์ที่สกัดจากแป้งสาลี ชะเอม ปัจจุบันนิยมนำมาผสมในเครื่องสำอาง เช่นแป้งรองพื้น ครีมบำรุงผิวหน้า ผิวกาย ลิปติค ผลิตภัณฑ์ล้างหน้า มีความคงตัวมากกว่าสารตัวอื่นๆ ในกลุ่มนี้

-สารสกัดทางธรรมชาติ อาทิ Green Tea Extract, Compositae (สารสกัดจาก matricaria), สารสกัดจากปอสา (paper mulberry), สารสกัดจากแอปเปิ้ล (Applephenon extracts), Ellagic acid,polyglutanmate, tanaka extracts, สารสกัดจากเปลือกมะหาด (Mahad), สารสกัดจากบอระเพ็ด, สารสกัดจากสาเก, สารสกัดจาก สมุนไพรอื่นๆ, สารสกัดจากเปลือกสนมาริไทม์ (Pynocare)

-ยารับประทานรักษาฝ้า Tranxemic acid

2.2.3 กลุ่มยับยั้งการพัฒนา (Maturation) ของเอนไซม์ Tyrosinases

ได้แก่สารพวก Glutathione or Cysteine, Calcium D pantethine Ssulphate ได้แก่สารพวก Alpha linoleic acid

2.2.4 กลุ่มที่ออกฤทธิ์เพิ่มการสลายตัวของเอนไซม์ Tyrosinases

ได้แก่สารพวก Alpha linoleic acid

2.2.5 กลุ่มที่ออกฤทธิ์การทำงานของเอนไซม์ D.tautomeras , D.polymerase

ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนสารต้นแบบของเม็ดสี Pheomelanin ได้แก่สารกลุ่ม Albutin, Alpha-tocophernyl ferulate (วิตามิน E), Kogic acid, Licorice extracts

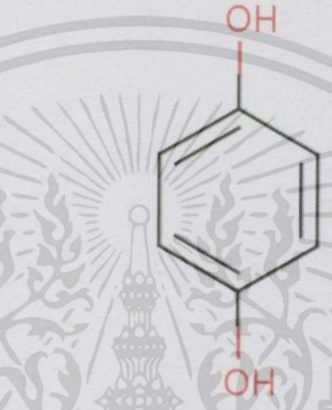
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.6 กลุ่มยับยั้งการสร้างเอนไซม์ Tyrosinases

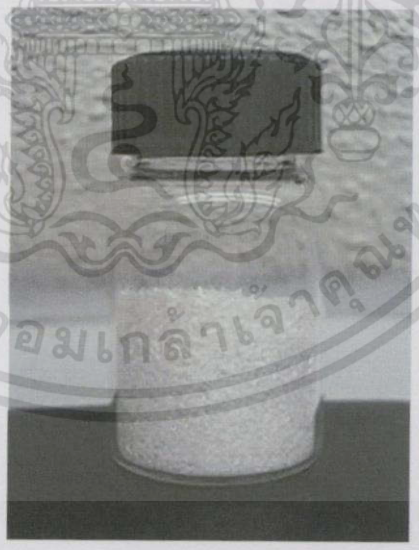
ได้แก่สารพวก Lactic acid, รกแกะ (Placenta Extracts), Azelaic acid, Lactate [11, 12]

2.2 ไฮโดรควิโนน (hydroquinone; HQ)

ไฮโดรควิโนนเป็นสารฟีนอลชนิดหนึ่ง เรียกชื่อทางเคมีว่า benzene-1,4-diol หรือ (1,4-dihydroxybenzene) เป็นอนินทรียสารที่มีสูตรเคมี $C_6H_4(OH)_2$ ลักษณะโครงสร้างทางเคมีเป็น hydroxyl groups สองกลุ่มเชื่อมต่อกับ benzene ring ลักษณะการเชื่อมต่อเป็นแบบ para



รูปที่ 2.1 โครงสร้างของไฮโดรควิโนน [13]

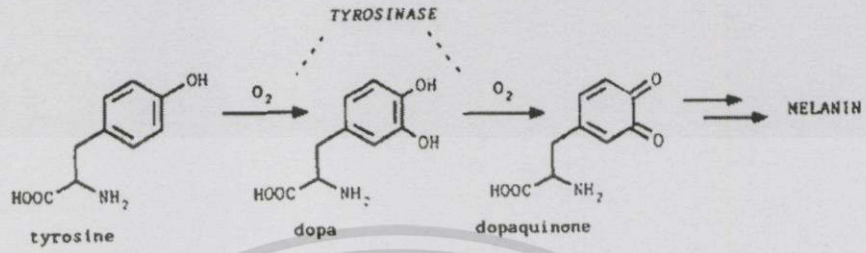


รูปที่ 2.2 ลักษณะของไฮโดรควิโนน ณ สภาวะอุณหภูมิห้อง [14]

สถานะของไฮโดรควิโนนที่อุณหภูมิห้องและความดันบรรยากาศไฮโดรควิโนนจัดเป็นของแข็งสีขาวเนื้อละเอียด ไฮโดรควิโนนทำปฏิกิริยา Oxidation เกิดเป็นสารพาราเบนโซควิโนน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(parabenzoquinone) หรือที่เรียกว่า p-quinone ไฮโดรควิโนนถูกนำมาใช้เป็นสารช่วยลดปริมาณของเม็ดสีในชั้นผิวหนัง [2] ไฮโดรควิโนนจัดอยู่ในกลุ่มที่มีกลไกในการรบกวนการทำงานของเอมไซม์ Tyrosinase / เอนไซม์ Melanogenesis



รูปที่ 2.3 กลไกของการยับยั้งเมลานินโดยไฮโดรควิโนน [15]

ไฮโดรควิโนนเรียกได้ว่าเป็นสารที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการเป็นไวท์เทนนิ่งเลยก็ว่าได้ เนื่องจากการทำงานของมันนั้นกว้างมาก ตั้งแต่กระตุ้นการสร้าง ROS ขึ้นมาเพื่อทำลายเยื่อหุ้มและโปรตีนของเอนไซม์ Tyrosinase ลดการสร้าง DNA และ RNA ของเซลล์เมลาโนไซต์ แต่สิ่งเหล่านี้เองที่เป็นจุดด้อยของไฮโดรควินโนน เพราะถือว่ามันเป็นพิษกับเซลล์เมลาโนไซต์มาก (Melanocyte Cytotoxicity) และมีโอกาสที่จะทำให้เซลล์ที่ผลิตเม็ดสีเสียหายไปอย่างถาวรซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคด่างขาวได้ นอกจากนี้ไฮโดรควิโนนยังก่อให้เกิดการระคายเคืองได้หากใช้อย่างไม่ระวัง ใครที่จะใช้ไฮโดรควิโนนก็ควรทำตามคำแนะนำของแพทย์อย่างเคร่งครัด และหลีกเลี่ยงปัจจัยที่จะก่อการระคายเคืองของผิวไฮโดรควิโนนเป็นสารเคมีที่ช่วยยับยั้งการสร้างเม็ดสีเมลานินได้กลไกการออกฤทธิ์ของ ไฮโดรควิโนนก็คือ ยับยั้งไทโรซิเนสเอ็นไซม์ (Tyrosinase enzyme) ซึ่ง Tyrosinase enzyme จะเป็นตัวเปลี่ยนไทโรซีน (Tyrosine) ซึ่งเป็นกรดอะมิโนตัวหนึ่ง ให้เป็นเมลานิน (Melanin) ซึ่งก็คือสีดำที่เป็นตัวการของฝ้านั่นเอง สารประกอบไฮโดรควิโนนมีฤทธิ์รุนแรงในการป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระที่จะไปกระตุ้นเอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase) ให้ไปเร่งการผลิตเม็ดสีเมลานิน ปกติแล้วจะใช้ในความเข้มข้น 2% ในเครื่องสำอางทั่วไป หรือถ้าเข้มข้นกว่านั้นก็จะต้องใช้ภายใต้คำสั่งของแพทย์ บางทีมีการผสมกับเตรติโนอินในระดับ 0.5-1% ด้วย การวิจัยพบว่าไฮโดรควิโนนและเตรติโนอินสามารถป้องกันฝ้าที่เกิดจากแสงแดดหรือจากฮอร์โมนได้ด้วย ไฮโดรควิโนนสามารถทำให้ผิวมีสีอ่อนลงได้ แต่จะไม่ได้ฟอกให้ขาว อย่างไรก็ตามในหลายประเทศไม่ยอมให้มีการใช้ ไฮโดรควิโนนในเครื่องสำอาง เนื่องจากความกลัวว่าจะมีผลต่อการเกิดมะเร็ง และการใช้ในความเข้มข้นที่สูงอาจจะทำให้เกิดการระคาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เคืองได้ [16, 17] ไฮโดรควิโนนเป็นสารที่ถูกนำมาใช้ในการฟอกสีมานานหลายสิบปีแล้วก่อนหน้าที่จะถึงยุคของไฮโดรควิโนนก็มียาฟอกสีที่ใช้รักษาฝ้าหลายตัวซึ่งก่อให้เกิดอันตรายมาก เช่น สารปรอทสารเหล่านี้สามารถฟอกสีผิวจากดำให้ขาวได้อย่างรวดเร็วมากแต่ก็อันตรายมาก ทำให้เกิดบริเวณผิวที่ทาปราศจากเซลสร้างสี (Leukoderma) ผิวจะมีลักษณะขาวเหมือนโดนน้ำร้อนลวก สารเหล่านี้จึงถูกยกเลิกไปในที่สุด หลังจากนั้นก็มีสารฟอกสีตัวอื่นหลายตัวที่พัฒนาตามมา แต่ไม่สามารถเอาชนะไฮโดรควิโนนได้เพราะสารเหล่านั้นฟอกสีได้ไม่เร็วเท่าไฮโดรควิโนนซึ่งแพทย์เองยังยอมรับว่าไฮโดรควิโนนเป็นสารฟอกสีที่ดีตัวหนึ่งสามารถลดการสร้างสีของเซลสร้างสีได้อย่างรวดเร็วมาก โดยเฉพาะถ้านำมาผสมกันกลุ่ม พวกวิตามิน A (Vitamin A) และสเตอรอยด์ (Steroid) แต่การใช้ไฮโดรควิโนนเป็นการได้ที่ไม่คุ้มเสีย ผลเสียของ ไฮโดรควิโนนมีมากและน่ากลัวไม่น้อย โดยเฉพาะเมื่อนำมาผสมกับ Vitamin A และ Steroid ที่เป็นสูตรที่นิยมในตำรับยารักษาฝ้าผลเสียที่ตามมาก่อให้เกิดปัญหาดังนี้

1. เกิดสิวหลายคนที่ทายารักษาฝ้าจะเกิดสิว

2. เกิด Rebound ก็คือการที่ฝ้าดำขึ้นกว่าเดิม ถ้ามีการหยุดทายาอย่างกะทันหัน นั่นเพราะเมื่อทำการยับยั้ง tyrosinase enzyme โดยทายาที่มีไฮโดรควิโนนมันจะทำให้สารตั้งต้นก็คือ tyrosine คั่ง ซึ่งทันทีที่หยุดทากะทันหัน จะด้วยสาเหตุใดก็ตาม ซึ่งถ้าไม่มีตัวยับยั้ง tyrosinase enzyme ประกอบกับ tyrosine ที่คั่ง มันก็ถูกเปลี่ยนเป็น Melanin อย่างรวดเร็วและมากมาย ผลก็คือ ฝ้าดำขึ้นกว่าเดิม เพราะฉะนั้นหากมีแพทย์ที่ใช้ยาตัวนี้มักจะเน้นเสมอว่าห้ามลืมทายา ห้ามหยุดยาเอง ถ้าจะหยุดแพทย์จะค่อยๆปรับความเข้มข้นของยาให้ลดลง แต่ถึงอย่างไรแม้ว่าจะค่อยๆ หยุดยาก็ตาม ฝ้าก็จะกลับมาดำเหมือนเดิม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.4 ลักษณะของการเกิด Rebound [18]

3. เกิดฝ้าเส้นเลือด (Telangiectatic Melasma) ซึ่งเกิดได้ทั้งตัวไฮโดรควิโนนเองและสารที่อยู่ในตำรับยารักษาฝ้ายอดนิยม เช่น Vitamin A และ Steroid นอกจากนี้ steroid เมื่อใช้ยาในระยะที่นาน ก็จะเกิดผิวหนังฝ่อด้วย (skin atrophy) อาการฝ้าเส้นเลือดก็คือหน้าแดง เส้นเลือดบนผิวหนังขยายตัว ยิ่งโดนความร้อนหน้ายิ่งแดด

4. เกิด Leukoderma คือเซลสร้างสีบริเวณที่ทายาเกิดการตาย เชื่อกันว่าเป็นเพราะเมื่อไปยับยั้ง tyrosinase enzyme จึงทำให้ tyrosine คั่งในเซลสร้างสี สาร tyrosine ปริมาณมากจะทำให้เซลสร้างสีตายในที่สุด อาการคือ ผิวขาวเหมือนโดนร้อนลวก [14]

รูปที่ 2.5 ผลของการเกิด Leukoderma [19]

แพทย์จึงเตือนผู้ใช้ผลิตภัณฑ์ที่อาจมีสารไฮโดรควิโนนเป็นส่วนประกอบอยู่หากยังใช้ผลิตภัณฑ์นั้นๆ อยู่ต้องได้รับตามคำแนะนำของแพทย์ที่ดูแลเท่านั้น เพราะการใช้ไฮโดควิโนนได้อย่างปลอดภัยนั้นใช้ได้แค่ไม่กี่เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฝ้าเกิดจากเซลสร้างสีในบริเวณนั้นเกิดการกลายสภาพ (Differentiate) ไปเป็นเซลสร้างสี ที่มีการสร้างสีได้มากกว่าปกติแบบต่อเนื่อง (persist extra melanogenesis) ซึ่งเป็นผลมาจากการมีรหัส (code) การถอดรหัส (decode) แล้วเกิดผล (response) ตามมานั่นเอง [18]

2.3 วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนน

2.3.1 เทคนิค liquid chromatography

Wenhui Gao และ Crustina Legido–Quigley [20] ได้พัฒนาเทคนิค high performance liquid chromatography (HPLC) สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนนโดยใช้การแยกวิธี reverse phase liquid chromatography ซึ่งได้ปรับอัตราส่วนของ mobile phase ที่มีการแยกที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด คือ เมทานอล 60% และ น้ำ 10% โดยปริมาตรต่อปริมาตร ส่วน stationary phase เป็น C18 column และ mobile phase มีส่วนประกอบของเมทานอลและแอมโมเนียมในน้ำ 0.05 M ซึ่งได้ช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0.05–200 μg/mL และมีค่าสัมประสิทธิสหสัมพันธ์ 0.9997 ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD) อยู่ที่ช่วงความเข้มข้น 0.05–1.0 μg/mL ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (RSD) น้อยกว่า 5% ค่าวิเคราะห์คืนกลับ (recovery) อยู่ในช่วงระหว่าง 86.5%–116.3%

W. Tongchai และ B. Liawruangrath [21] ได้ใช้เทคนิค micellar liquid chromatographic (MLC) ซึ่งเป็นวิธีวิเคราะห์แบบต่อเนื่องในการหาปริมาณไฮโดรควิโนน การวิเคราะห์ทั้งหมดจะทำที่อุณหภูมิห้องที่มีอุณหภูมิคงที่ จะใช้สารผสมของอะโซโตรไนไตร 1% ปริมาตรต่อปริมาตรและ Br 35 (pH = 6.0) ความเข้มข้น 0.006 M เป็น mobile phase ตั้งอัตราการไหลที่ 1.0 ml/min ส่วน stationary phase เป็น C-18 column สารที่ออกมาจาก analytical column จะถูกตรวจวัดด้วย UV detection ที่ความยาวคลื่น 280 nm ซึ่งได้สมการเส้นตรง $y = 0.091x + 0.050$ ($R^2 = 0.9930$) ค่า LOD ที่ตรวจวัดได้คือ 0.37 μg/ml ค่า recovery อยู่ในช่วง 95.9–99.0 % วิธีนี้มีความเลือกจำเพาะ (selective), sensitive, ความเร็ว, ความเที่ยง และ ความแม่นมากกว่า HPLC วิธี MLC เหมาะสมหรับงานวิเคราะห์ประจำวันที่เกี่ยวข้องกับเภสัชกรรมและผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

Izabela RYCHLINSKA และ Slawomira NOWAK [22] ได้ใช้เทคนิค RP-high performance liquid chromatography (RP-HPLC) ที่พัฒนามาจาก HPLC ในการหาปริมาณไฮโดรควิโนน โดยใช้ stationary phase เป็น RP-18 column และใช้ mobile phase เป็น water–methanol และบันทึกข้อมูลที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

289 nm วิธีนี้จะมี sensitivity ที่ดี (LOD = 0.49 μg/mL) ซึ่งมีค่าสัมประสิทธิสหสัมพันธ์ คือ 0.9993 มีค่า %RSD ของ intra–day น้อยกว่า 2.53% และของ inter–day น้อยกว่า 3.23%

B. Desmedt และคณะ [23] ได้ทำการพัฒนาวิธี ultra high pressure liquid chromatography (UHPLC) ซึ่งจะใช้ RP18 column และใช้ mobile phase เป็น ammonium borate buffer (pH = 10) ความเข้มข้น 25 mM และอะซิโตรไนไตร วิธีนี้ไม่ใช่เพียงแต่ตรวจหา whitening agent ที่ผิดกฎหมาย (hydroquinone, tretinoin และสารจำพวกสเตียรอยด์) ในเครื่องสำอางเพียงอย่างเดียว แต่สามารถหาสาร whitening agent ที่ถูกกฎหมาย (kojic acid, arbutin, nicotinamide และ salicylic acid) ได้ค่าสัมประสิทธิสหสัมพันธ์ คือ 0.995 ค่า LOD อยู่ในช่วงความเข้มข้น 21.21–299.35 ng/ml ค่า recovery อยู่ในช่วง 90%–101%

Wenhui Gao และคณะ [24] ได้พัฒนาวิธี HPLC ในการวิเคราะห์ไฮโดรควิโนน, ฟีนอลและสารกันบูดทั้ง 6 ทั้งชนิดในเครื่องสำอางและครีม UV จะเป็นตัวปรับ gradient ให้เหมาะสมเพื่อให้ได้ LOD ที่ต่ำที่สุดและทำควบคู่ไปกับวิธี validate การเพิ่มโครมาโทแกรมแล้วทำให้เป็นเส้นตรงแล้วปรากฏออกมาในแบบ principal component analysis (PCA) ข้อมูลทั้งหมดจะถูกแยกอย่างมีประสิทธิภาพแล้วแสดงค่าสัมประสิทธิสหสัมพันธ์อยู่ที่ 0.9997, LOD อยู่ในช่วงความเข้มข้น 15-200 ng/ml, ค่า recover อยู่ระหว่าง 83-117% และ %RSD น้อยกว่า 3.6% วิธีนี้จะให้ความแม่นยำที่สูงมากเหมาะสำหรับการควบคุณภาพของผลิตภัณฑ์และควบคุมการใส่สารพิษของเครื่องสำอาง

เทคนิค LC มีข้อดีคือ มี sensitivity, selectivity และ LOD ดีมาก แต่เทคนิคนี้จะใช้เวลาในการวิเคราะห์ที่นานมาก และมีการใช้เครื่องมือที่ยุ่งยาก จะต้องอาศัยความชำนาญในการใช้เครื่องมือ เครื่องมือวิเคราะห์มีราคาแพง และเครื่องมือมีขนาดใหญ่ยากต่อการเลื่อนย้ายสำหรับการวิเคราะห์ภาคสนาม

2.3.2 เทคนิคgas chromatography

Alberto Chisvert [26] และคณะได้พัฒนาเทคนิค gas chromatography–mass spectrometric (GC–MS) ในการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนนโดยจะใช้ MS โหมด full-scan เพื่อระบุตำแหน่งของไฮโดรควิโนนซึ่งไฮโดรควิโนนมีการระเหยที่ต่ำมากจึงต้องทำ derivertize ก่อนที่จะฉีดเข้าไปยังระบบ chromatographic โดยใช้ N,O-bis-(trimetrysilyl)trifluoroacetamide (BSTFA)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการทำ derivertize วิธีนี้มีค่า LOD ที่ดี และมีความแม่น (accuracy) และความเที่ยง (precision) สูงมากวิธีนี้สามารถประยุกต์ใช้ในโรงงานอุตสาหกรรมในการควบคุมผลิตภัณฑ์ให้มีมาตรฐาน

Anja Judefeind และคณะ [27] ได้พัฒนาเทคนิค gas chromatography–mass spectrometric (GC–MS) การตรวจวัดหาปริมาณไฮโดรควิโนนให้มี sensitive และมีความแม่นมากขึ้น โดยจะใช้ Deuterium labeled SA-d6 และ HQ-d6 เป็น internal standard ซึ่งตัวอย่างด้วยเมทานอลแล้วถูกทาให้แห้งด้วยไนโตรเจนและหลังจากนั้นทำการ derivertized สารตัวอย่างโดยใช้ N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide (BSTFA)+1% trimethylchlorosilane (TMCS) หลังจากนั้นทำการวิเคราะห์หาปริมาณของไฮโดรควิโนนโดยใช้โหมด SIM ซึ่งให้ค่า LOD อยู่ในช่วงความเข้มข้น 10 ng/ml ให้ค่า %RSD น้อยกว่า 5% มี accuracyและ precision อยู่ในช่วงความเข้มข้น 10–400 ng/mL และมีค่า recovery 97.3%-100.8%

เทคนิค GC จะมีข้อดีที่คล้ายกับ LC นั่นคือ จะให้ sensitivity, selectivity, accuracy และ precision ที่สูงมาก และให้ค่า LOD ที่สูงมาก แต่เทคนิคนี้ตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์จะต้องมีจุดเดือดไม่สูงมากนัก แต่ไฮโดรควิโนนมีจุดเดือดถึง 287 °C ซึ่งเป็นสารตัวอย่างที่มีจุดเดือดสูงทำให้การจะวิเคราะห์ด้วยเทคนิคนี้จึงไม่สามารถวิเคราะห์ นอกจากนี้เครื่องมือมีความยุ่งยากในการใช้งาน ต้องอาศัยความชำนาญในการใช้เครื่อง เครื่องมือวิเคราะห์มีราคาแพง และเคลื่อนย้ายลำบาก

2.3.3 เทคนิค Capillary electrochromatography

Claudia Desiderio, Luigia Ossicini และSalvatore Fanali [28] ได้ใช้เทคนิค Capillaryelectrochromatography (CEC) เพื่อพัฒนาการวิเคราะห์ไฮโดรควิโนนและอีเธอร์บางชนิดในเครื่องสำอางโดยใช้octadecylsilica (ODS) เป็นstationary phase แล้วถูกแพ็คอยู่ใน fused-silica capillary และใช้ 20 mM Ammonium acetate pH 6–acetonitrile (50–70%) เป็น mobile phase อะซิโตรไนไตรจะเป็นตัวที่มีพลังในการแยกสูงซึ่งก็จะเหมือนกับเป็นตัวที่เพิ่มประสิทธิภาพในการแยก baseline ในการแยกของตัวที่ถูกวิเคราะห์ก็จะมีทั้งเปอร์เซ็นต์ต่ำสุดและสูงสุดของอะซิโตรไนไตรและให้เวลาในการวิเคราะห์ที่สั้น ในตัว mobile phase จึงมีอะซิโตรไนไตรอยู่ 70% ซึ่งจะถูกใช้ในการสกัด skin-toning cream ซึ่งมีไฮโดรควิโนนอยู่ ข้อมูลจากเทคนิคนี้พบว่า retention times, peak areas and peak areas ratio (A_{sample} /$A_{internal\ standard}$) ซึ่งถือว่าดี ช่วงความเป็นเส้นตรงจะอยู่ในช่วง 5–90 µg/ml สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์อยู่ระหว่าง 0.9975 และ 0.9991 มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเร็วในการวิเคราะห์ที่เร็วกว่า HPLC สามารถเชื่อมต่อเข้ากับ MS เพื่อทำให้การวิเคราะห์มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น

ข้อดีของเทคนิค CEC คือ สามารถวิเคราะห์ได้รวดเร็วกว่า HPLC สามารถต่อเข้ากับ detector ตัวอื่นได้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ได้ นอกจากนี้ยังใช้สารตัวอย่างน้อยมาก แต่เทคนิคนี้จะใช้อัตราการไหลของของเหลวเร็วมากไม่ได้ ขนาดของคอลัมน์ขนาดเล็กมากจะเกิดการอุดตันของคอลัมน์ได้ไงและส่งผลต่อการวิเคราะห์ทำให้ผลการวิเคราะห์ผิดจากความเป็นจริง เครื่องมือวิเคราะห์มีราคาแพงและต้องอาศัยความชำนาญในการใช้เครื่องมือ

2.3.4 เทคนิค electrochemistry

Iñes Rosane W.Z. de Oliveira และคณะ [29] ได้ใช้ biomimetic sensor ในการพัฒนาเทคนิค electrochemical ซึ่งวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนนในเครื่องสำอางโดย square wave voltammetry ซึ่งจะสังเคราะห์ dinuclear copper (II) complex($[Cu_2(HL)(OAc)](ClO_4)_2$)]) ซึ่งมีลิแกนด์เป็น N,N',N''-[tris-(2-pyridylmethyl)]-N-(2-hydroxy-3,5-ditert-butylbenzyl)-1,3-propanediamine-2-ol (H_2L) ให้เป็นbiomimetic sensorไฮโดรควิโนนจะถูกออกซิไดซ์ไปเป็นควิโนนแล้ว Ag/AgCl จะให้กระแสไฟฟ้า -0.2 V เพื่อให้เกิดปฏิกิริยารีดักชันกลับไปเป็นไฮโดรควิโนนแล้วประเมินประสิทธิภาพของสารประกอบเชิงซ้อน Cu(II) ซึ่งจะตอบสนองภายใต้สภาวะที่ตอบสนองดีที่สุดคือ 0.1 M phosphate buffer solution (pH 7.5), 10:15:75% (w/w/w)ของสารประกอบเชิงซ้อน Cu(II) ได้ช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วง 6.0×10^{-5}-2.5×10^{-3} M ค่าสัมประสิทธิสหสัมพันธ์ 0.9995 ค่า LOD และ LOQ อยู่ที่ความเข้มข้น 3.0×10^{-7} M และ 1.0×10^{-6} M ตามลำดับ ค่า recovery จะอยู่ในช่วง 94.2%-103.5% ค่า %RSD น้อยกว่า 1%

Guiyun Xu, Beibei Li และ Xiliang Luo [30] ได้ใช้ electrocatalytic property of carbon nanotube (CNT) สำหรับการตรวจหาปริมาณไฮโดรควิโนนโดย CNT จะถูกเจือด้วย poly(3,4-ethylenedioxythiophene) (PEDOT) ซึ่งโพลิเมอร์ตัวนี้จะทำให้ไฮโดรควิโนนเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ในการเพิ่มปฏิกิริยาออกซิเดชันของไฮโดรควิโนนบน PEDOT/CNT สามารถปรับเปลี่ยน carbon paste electrode ให้น้อยกว่า bare electrode และประจุถูกเปลี่ยนไปตามอัตราการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไฮโดรควิโนนซึ่งจะเพิ่มขึ้นจาก 0.45 ไปยัง 1.84 s^{-1} หลังจากนั้นก็ทำการปรับเปลี่ยนสภาวะที่เหมาะสมสำหรับ PEDOT/CNT ซึ่งได้ช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วงความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้มข้น 1.1–125 μM ค่า LOD เท่ากับ 0.3 μM เซนเซอร์ตัวนี้มีราคาไม่แพงมากนักและใช้ง่าย สำหรับการตรวจหาปริมาณไฮโดรควิโนนแต่เซนเซอร์ตัวนี้ถ้ามีสิ่งรบกวนทั่วไปจะให้การวิเคราะห์หาปริมาณได้ค่อนข้างลำบาก ต้องกำจัดตัวรบกวนออกก่อน แต่อย่างไรก็ตามเซนเซอร์นี้ก็สามารถใช้กับเครื่องสำอางจริงได้ผลที่น่าพอใจ

Hongyan Wu, Jinchao Hu, Heng Li และ Huaixiang Li [31] ได้พัฒนาเทคนิค electrochemical จากการนำฟิล์มของ copper hexacyanoferrate (CuHCF) ไปวางที่ silicon electrode ที่เคลือบด้วย platinum แผ่นฟิล์ม CuHCF จะเป็น electrochemical วางบนฟอสฟอรัสที่ถูกเจือด้วยซิลิคอน (n^+-Si) กับชั้น epitaxial(n-n^+-Si) หนา 9 μm แล้วเคลือบด้วย platinum หนา 40 nm (Pt/n-n^+-Si) แล้วใช้ Scanning electron microscope (SEM), X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) and cyclic voltammetry (CV) ในการหาลักษณะจำเพาะของสาร, ส่วนประกอบและพฤติกรรม photoelectrochemical ของฟิล์ม CuHC Felectrode cell คือ CuHCF/Pt/n-n^+-Si Electrode จะถูกใช้เป็นเซนเซอร์ในการหาปริมาณไฮโดรควิโนนโดยอาศัยการวัด photocurrent เซนเซอร์ตัวนี้จะมีการตอบสนองต่อ photocurrent ที่ดี ซึ่งจะได้ช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 1.0×10^{-5} - 2.0×10^{-4} M ค่า LOD อยู่ในช่วงความเข้มข้น 2.2×10^{-6} M วิธีนี้จะสะดวกต่อการตรวจวัดไฮโดรควิโนนโดยไม่ต้องมีขั้วอ้างอิง

Binesh Unnikrishnan, Pu-Liang Ru และ Shen-Ming Chen [32] ได้ใช้ electrodeposited Pt–MnO_2particles on glassy carbon electrode ในการหาปริมาณไฮโดรควิโนนและ catechol ซึ่งเป็นการวิเคราะห์แบบต่อเนื่อง การ Scanning electron microscopy (SEM) และ energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDX) จะให้ข้อมูลอนุภาค Pt และ Mn_2 ซึ่งอยู่บนGCE การศึกษา Electrochemical impedance spectroscopy (EIS) แสดงให้เห็นว่าอนุภาคนาโน Pt ที่อยู่บนฟิล์ม Pt-MnO_2 จะช่วยให้อิเล็กตรอนเคลื่อนที่ได้สะดวกจาก MnO_2 ไปยัง GCE ดังนั้นจึงลด electron transfer resistance (R_{ct}) ของฟิล์ม การประยุกต์ใช้ของฟิล์ม Pt-MnO_2 เพื่อ electrocatalysis ของไฮโดรควิโนนและ catechol จะถูกการศึกษาโดย cyclic voltammetry (CV) และ differential pulse voltammetry (DPV) วิธี voltammetric สามารถระบุพีคของสารผสมซึ่งจะเทียบเท่ากับความเข้มข้นของไฮโดรควิโนนและ catecol ใน pH 7 ด้วยการแยกที่มีศักย์ไฟฟ้า 0.12 V ในส่วนของการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนนและ catechol แบบต่อเนื่องจะใช้วิธี DPV ช่วงความเป็นเส้นตรงของ catecol อยู่ในช่วงความเข้มข้น 15 μM-0.447 mM

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และของไฮโดรควิโนนอยู่ในช่วงความเข้มข้น 481 mM sensitivity ของ catecol 0.256 $\mu A\ \mu M^{-1}\ cm^{-2}$ และของไฮโดรควิโนน 0.385 $\mu A \mu M^{-1} cm^{-2}$

M.U. Anu Prathap, Biswarup Satpatiและ Rajendra Srivastava [33] ได้พัฒนาวิธี polyaniline/MnO_2 nanofibers ของเทคนิค electrochemical ในการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนน, catecol และ resorcinol ซึ่งใช้ตรวจสอบวิธี voltammetricpolyaniline/MnO_2 nanofibers จะถูกสังเคราะห์จาก aqueous dispersed solution of polyaniline (PANI) nanofibers และ $KMnO_4$ ซึ่งสามารถตรวจสอบลักษณะวัสดุได้โดย X-ray diffraction, nitrogen sorption, scanning electron microscopy, transmission electron microscopy,thermogravimetric analysis และ FT-IR ในการวิเคราะห์ PANI/MnO_2 electrode จะให้ sensitivity ที่สูงวิธีนี้เหมาะกับงานวิเคราะห์ประจำวันทั่วๆไป

Longzhen Zheng และคณะ [34] ได้ใช้วิธี polydopamine (PDA)-reduced graphene oxide (RGO) nanocomposite เพื่อพัฒนาเทคนิค electrochemical ในการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนนและ catecol แบบต่อเนื่อง polydopamine (PDA)-reduced graphene oxide (RGO) nanocomposite ถูกเตรียมโดยวิธี one-step procedure และถูกบ่งบอกลักษณะโดยวิธี Fourier transform infrared spectra (FTIR), electrochemical impedance spectra (EIS) และ atomic force microscopy (AFM) สามารถยืนยันลักษณะของสารได้อย่างสมบูรณ์ในการรีดักชันของ graphene oxide ไปเป็น RGO ใน PDA-RGO nanocomposite ช่วงความเป็นเส้นตรงของไฮโดรควิโนนจะอยู่ที่ช่วงความเข้มข้น 1.0×10^{-6} - 2.3×10^{-4} M และ catacol อยู่ในช่วงความเข้มข้น 1.0×10^{-2} - 2.5×10^{-4} M

Qiaohui Guo และคณะ [35] ได้ใช้เทคนิค electrochemical ในการหาปริมาณ dihydroxybenzene isomers (catechol และไฮโดรควิโนน) แบบต่อเนื่อง และใช้การตรวจสอบจาก cyclic voltammetry (CV) และ differential pulse voltammetry (DPV) ที่ electrospun carbon nanofiber-modified carbon paste electrode (ECF-CPE) ในสารละลาย 0.1 M PBS (pH 7.0) ECF เตรียมได้จาก electrospinning ในกระบวนการ thermal treatment และปรับเปลี่ยนพื้นผิว CPE ให้ไม่มีการเกิดออกซิเดชันและการเปลี่ยนแปลงใด ๆ แล้วนำมารวมกับ CPE electrode กลายเป็น ECF–CPE ซึ่งมี higher electrocatalytic activity และนำไปสู่การออกซิเดชันของ dihydroxybenzene isomers แล้วให้พีคที่เพิ่มขึ้นและลด potential difference ระหว่างพีคที่เกิดออกซิเดชันและพีคที่เกิดจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รีดักชัน CV และ DPV แสดงข้อมูลการตรวจสอบของ dihydroxybenzene isomers ด้วยการแยก peak-to-peak ประมาณ 110 mV ซึ่งได้ช่วงความเป็นเส้นตรงของ catecol ในช่วงความเข้มข้น 1-200 μM วิธีนี้จะแสดงให้เห็นถึงความสำเร็จในการวิเคราะห์แบบต่อเนื่องในการหาปริมาณไฮโดรควิโนน และ catecol และมีค่า recovery ที่น่าเชื่อถือ

Xia Cao และคณะ [36] ได้ใช้วิธี Ultrathin crystalline CdSe nanosheets ซึ่งเป็นการพัฒนาเทคนิค electrochemical ในการวิเคราะห์หาปริมาณ catecol และไฮโดรควิโนนแบบต่อเนื่อง ชั้นผลึกเดี่ยว CdSe จะถูกปรับเปลี่ยนเป็น electrode และแสดงให้เห็นถึง strong electrocatalytic activity ซึ่งจะนำไปสู่การเกิดออกซิเดชันของสารผสมของ catecol และไฮโดรควิโนน การวิเคราะห์ถูกเพิ่มประสิทธิภาพในหารวิเคราะห์โดยการสร้าง CdSe nanosheets และถูกใช้ในงานเภสัชกรรม, เทคโนโลยีชีวภาพและเคมีสิ่งแวดล้อม

Iolanda da Cruz Vieira, Orlando Fatibello-Filho และ Lúcio Angnes [37] ได้พัฒนาเทคนิค electrochemical ในการหาปริมาณไฮโดรควิโนน carbon paste จะถูกปรับเปลี่ยนด้วยการสกัดของบวบและ palladium เอนไซม์นี้จะมี hydrogen peroxide catalyses ซึ่งจะเกิดการออกซิเดชันของไฮโดรควิโนนไปเป็น p-quinone และเกิดปฏิกิริยารีดักชันย้อนกลับไปเป็นไฮโดรควิโนนที่ศักย์ไฟฟ้า -0.18 V ค่า recovery ของไฮโดรควิโนนอยู่ระหว่างช่วง 98.8%–103.8% มีช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น $6.2x10^{-5}$-$8.9x10^{-3}$ M สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์อยู่ที่ 0.9995 ค่า LOD อยู่ในช่วงความเข้มข้น $8.3x10^{-6}$ M ค่า %RSD น้อยกว่า 1.4% วิธีนี้จะถูกใช้พัฒนาเป็น biosensors ต่อๆไป

เทคนิค electrochemical มี sensitivity, selectivity ที่สูง มีการวิเคราะห์ที่รวดเร็ว เคลื่อนย้ายได้สะดวกเหมาะสำหรับการวิเคราะห์ภาคสนาม แต่เทคนิคนี้มีการเตรียมอิเล็คโทรดที่ยุ่งยาก และอิเล็คโทรดค่อนข้างที่จะไวต่อสิ่งรบกวนจึงอาจทำให้ข้อมูลผิดพลาดได้

2.3.5 เทคนิค thin layer chromatography

Saleh I. Alqasoumiและคณะ [38] ได้ใช้วิธีdensitometric high-performance thin-layer chromatographic (HPTLC) ในการพัฒนาเทคนิค thin layer chromatography ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนนซึ่งจะทำบน aluminum foilbacked $silicagel_{60}$ F_{254} plates เป็น stationary phase กับ chloroform–methanol 85:15 (%v/v) ซึ่งเป็น mobile phase ค่า LOD และ LOQ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะอยู่ในช่วง 38.50 ng และ115.50 ng ตามลำดับ มีความเที่ยงและความแม่นที่สูง วิธีนี้สามารถทำได้ทั้งปริมาณวิเคราะห์และคุณภาพวิเคราะห์เพราะวิธีนี้สามารถแยกไฮโดรควิโนนออกจากผลิตภัณฑ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

เทคนิค thin layer chromatography สามารถเคลื่อนย้ายได้สะดวกจึงเหมาะแก่การวิเคราะห์นอกห้องปฏิบัติการ เครื่องมือและอุปกรณ์มีราคาที่ไม่แพงมากนัก และวิธีนี้ก็สามารถวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนนได้อย่างรวดเร็ว แต่เทคนิคนี้ถ้าตัวรบกวนมีโครงสร้างที่ใกล้กับตัวที่เราจะวิเคราะห์ก็อาจจะทำให้ลดประสิทธิภาพในการแยกได้

2.3.6 เทคนิค spectrophotometry

Pedro López García และคณะ [39] ได้ทำการใช้เทคนิค spectrophotometryในการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนนในครีม ซึ่งในงานวิจัยของคณะนี้จะทำการหาความยาวคลื่นที่เหมาะสมที่สุดและอนุพันธ์ต่าง ๆ แล้ว ข้อมูลที่ได้จากการทดลองของคณะนี้ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 10.0-26.0 µg/mL การวิเคราะห์หาปริมาณจะใช้วิธี zero-crossing (Z-C) และ zero-peak (Z-P) ซึ่งวิธีนี้ใช้ง่าย มีราคาถูกและให้ข้อมูลที่น่าเชื่อถือในการควบคุมคุณภาพของครีมที่บรรจุไฮโดรควิโนนลงไป

S. Uddin และคณะได้ใช้วิธี UV-Visible spectrophotometry [40] ในการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนนในเครื่องสำอาง จะใช้ ammonium meta-vanadate เป็น oxidizing catalyst ซึ่งจะเปลี่ยนไฮโดรควิโนนให้เป็น p-benzoquinone และมีออกซิเจน จากข้อมูลของการดูดกลืนแสง UV สูงสุดของ p-benzoquinone จะมากกว่าไฮโดรควิโนน สัญญาณที่ได้จะนำมาใช้หาปริมาณไฮโดรควิโนนในระดับที่ตรวจพบได้ ผลกระทบของการที่ทำให้พารามิเตอร์นั้นเปลี่ยนแปลงได้แก่ ปริมาณ oxidizing agent, เวลาที่เสถียร, อุณหภูมิ, กรด, เบสและตัวรบกวน ในสภาวะที่เหมาะสมที่สุดจะได้ช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วง 0.025–2.00 µg/mL ที่ความยาวคลื่น 245.5 nm ค่า LOD อยู่ที่ความเข้มข้น 7 ng/mL และค่าสัมประสิทธิสหสัมพันธ์ 0.9998 ค่า %RSD น้อยกว่า 1.5% วิธีนี้ถูกนำมาพัฒนาและประยุกต์ใช้กับครีมที่ถูกเจือจางมาแล้วสำหรับการหาไฮโดรควิโนนในระดับที่น้อย

Terer Erick Kipngetich, Magut Hillary และ Mule Shadrack [41] ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนนโดยใช้เทคนิค spectrophotometryในครีมโดยใช้เครื่องDR500 UV spectrophotometer ใช้ความยาวคลื่น 302 nm มีค่าสัมประสิทธิสหสัมพันธ์อยู่ที่ 0.985

Sirajuddin, M. Iqbal Bhanger, Abdul Niaz, Afzal Shah และ Abdul Rauf [42] ได้ใช้วิธี UV–vis spectrophotometryในการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนนโดยใช้ $KMnO_4$ เป็น oxidizing agent ในการเปลี่ยนไฮโดรควิโนนให้เป็น p-benzoquinone พารามิเตอร์ต่าง ๆ เช่น ความยาวคลื่น, เวลาที่เสถียร, อุณหภูมิ, ค่า pH, ผลกระทบของสารละลายและตัวรบกวน ในสภาวะที่เหมาะสมที่สุดช่วงความเป็นเส้นตรงจะอยู่ในช่วงความเข้มข้น 0.07–20 µg/mL และ 0.05–0.005 µg/mL ที่ความ

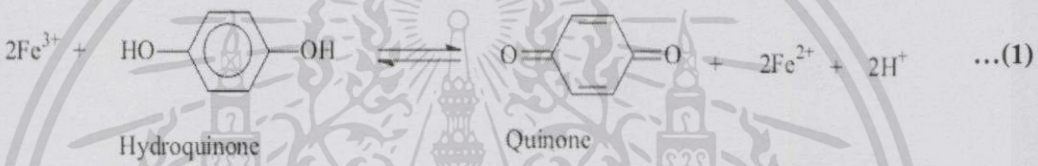
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยาวคลื่น 245.5 นาโนเมตร และ 262 นาโนเมตร ตามลำดับ ค่าสัมประสิทธิสหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9978 และ 0.9843 และค่า LOD อยู่ในช่วงความเข้มข้น 0.021 µg/mL และ 0.0016 µg/mL ตามลำดับ ค่า %RSD 1.7% และ 2.4%

เทคนิค spectrophotometry สามารถวิเคราะห์ไฮโดรควิโนนได้อย่ารวดเร็ว เครื่องมือใช้ง่ายไม่ยุ่งยากซับซ้อนและราคาไม่แพง มี sensivity ที่ดี แต่เทคนิคนี้จะมี selectivity ที่ต่ำ ถ้าตัวรบกวนอยู่ในตัวอย่างจะทำให้ข้อมูลบิดเบือนไปจากความจริงมาก

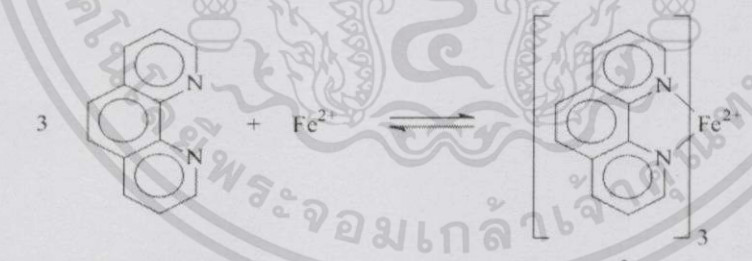
2.4 หลักการในการวิจัยโครงงานพิเศษ

ในการวิจัยนี้ผู้วิจัยได้ทำการวิเคราะห์หาไฮโดรควิโนน โดยอาศัยการทำปฏิกิริยาระหว่างไฮโดรควิโนนและ Fe^{3+} [43] ดังปฏิกิริยาที่ (1)



...(1)

จากนั้นนำ Fe^{3+} ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาข้างต้นมาทำปฏิกิริยากับ o-phenanthroline เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีส้มแดงที่มีค่าดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) ที่ 508 นาโนเมตร ดังปฏิกิริยาที่ (2)



o-phenanthroline $[Fe(phen)_3]^{2+}$

...(2)

(λ_{max} = 508 nm)

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จะติดตามสารประกอบเชิงซ้อนของ $[Fe(phen)_3]^{2+}$ ซึ่งจะแปรผันตามปริมาณของไฮโดรควิโนน จากนั้นนำไปทำการตรวจวัดโดยใช้เทคนิค UV-vis spectrophotometry เพื่อนำไปใช้ในการวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

3.1.1 สารเคมี

3.1.1.1 เฟอร์ริกซัลเฟตมอนอไฮเดรต (ferric sulfate monohydrate) $[Fe_2(SO_4)_3].H_2O$ เกรดคุณภาพวิเคราะห์ ของบริษัท Fluka

3.1.1.2 กรดซัลฟิวริก (sulfuric acid) $[H_2SO_4].H_2O$ เกรดคุณภาพวิเคราะห์ ของบริษัท Fluka

3.1.1.3 ไฮโดรควิโนน (hydroquinone) $[C_6H_4(OH)_2]$ เกรดคุณภาพวิเคราะห์ ของบริษัท S.M. Chemical Supplies Co.,Ltd. ประเทศไทย

3.1.1.4 1-10 ฟีแนนโทรลีนโมโนไฮเดรต (o-phenanthroline) $[C_{12}H_8NO_2.H_2O]$ เกรดคุณภาพวิเคราะห์ ของบริษัท A.C.S. Xenon limited Partnership ประเทศไทย

3.1.1.5 อะซิเตทบัฟเฟอร์ (acetate buffer)

3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.1.2.1 บีกเกอร์ (ขนาด 400 , 150 , 100 , 50 มิลลิลิตร)

3.1.2.2 ปิเปต (ขนาด 10 , 5 มิลลิลิตร)

3.1.2.3 ไมโครปิเปต (ขนาด 20, 100, 1000 ไมโครลิตร)

3.1.2.4 ขวดวัดปริมาตร (ขนาด 250 , 100, 50, 25, 10 มิลลิลิตร)

3.1.2.5 กระบอกตวง (ขนาด 100, 10 มิลลิลิตร)

3.1.2.6 หลอดหยด

3.1.2.7 แท่งแก้วคนสาร

3.1.2.8 จุกยาง

3.1.2.9 ช้อนตักสาร

3.1.2.10 กระบอกน้ำกลั่น

3.1.2.11 เครื่องชั่งน้ำหนักความละเอียด 4 ตำแหน่ง

3.1.2.12 เครื่อง UV-visible spectrophotometer (UV-1800-Shimadzu)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.2.13 เครื่อง centrifuge

3.1.2.14 เครื่องให้ความร้อน

3.1.2.15 กระดาษกรองWhatman no.42

3.2 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

3.2.1 การเตรียมสารเคมี

3.2.1.1 สารมาตรฐานไฮโดรควิโนน เข้มข้น 0.01 M

ชั่งไฮโดรควิโนน 0.055x g แล้วนำมาละลายด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 50 มิลลิลิตร ในขวดวัดปริมาตร

3.2.1.2 กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) เข้มข้น 0.1 M

นำกรด H_2SO_4 (Cone. 96 % w/v) มาประมาณ 1.4 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

***สารละลายที่ได้นี้ใช้เป็นตัวทำละลายสำหรับเตรียมสารละลายมาตรฐาน 0.1 M o-phenanthroline และสารละลายมาตรฐาน 0.05 M $[Fe_2(SO_4)_3].H_2O$

3.2.1.3 สารละลาย o-phenanthroline เข้มข้น 0.1 M

ชั่ง o-phenanthroline monohydrate มา 1.98xx g แล้วนำไปละลายด้วย 0.1 M H_2SO_4 ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วย 0.1 M H_2SO_4ในขวดวัดปริมาตร

3.2.1.4 สารละลาย $[Fe_2(SO_4)_3].H_2O$ เข้มข้น 0.05 M

ชั่ง $[Fe_2(SO_4)_3].H_2O$ มา 1.93xx g นำไปละลายด้วย 0.1 M H_2SO_4 ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วย 0.1 M H_2SO_4 ในขวดวัดปริมาตร

3.2.1.5 อะซิเตทบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.2 M พีเอช 3.6 (acetate buffer pH = 3.6) [43]

1. ชั่งโซเดียมอะซิเตต ($C_2H_3ONa.3H_2O$) มา 2.72 g แล้วนำไปละลายด้วยน้ำกลั่น

2. นำสารละลายที่เตรียมได้จากข้อ 1 ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

3. เทกรดอะซิติกมา 2.9 มิลลิลิตร แล้วนำมาใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ปิเปตสารละลายข้อ 2 มา 9.25 มิลลิลิตร และปิเปตสารละลายข้อ 3 มา 115.75 มิลลิลิตร แล้วนำมาใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

3.2.2 การเตรียมตัวอย่าง [44]

1. ชั่งครีมตัวอย่างมา 1.xxxx g แล้วมาละลายด้วยน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร หลังจากนั้นคนด้วยแท่งแก้วคนสาร แล้วใส่ 0.1 M H_2SO_4 5 มิลลิลิตร คนจนสารละลาย

2. นำสารละลายมาอุ่นที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

3. นำสารละที่อุ่นเสร็จแล้วมาใส่ในหลอด centrifuge แล้วนำทำการปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge โดยใช้ความเร็วในการหมุน 5000 รอบ/นาที นาน 20 นาที

4. นำสารละลายที่ปั่นเหวี่ยงเสร็จมากรองแบบลดความดันด้วยกระดาษกรอง Whatmanno.42

5.นำสารละลายที่กรองเสร็จมาใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วย 0.05 M H_2SO_4

3.2.3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนน

3.2.3.1 ศึกษาความเข้มข้นของ H_2SO_4

1. ปิเปตสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนนเข้มข้น 0.1 M มา 0 µl, 25µl, 250 µl, 1250 µl , 2500 µl และ 5000 µl ตามลำดับใส่ในขวดวัดปริมาตร ขนาด 25 มิลลิลิตร

2.ปิเปตสารละลาย 0.05 M $[Fe_2(SO_4)_3].H_2O$ ใน 0.1 M H_2SO_4 และ 0.1 M o-phenanthroline ใน 0.1 M H_2SO_4 มาอย่างละ 2 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตรในข้อ 1 แล้วทำการปรับปริมาตรด้วย 0.1 M H_2SO_4 จนถึงขีดบอกปริมาตร

3. เขย่าให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ 3 นาที

4. วัดค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นและบันทึกผล

5. ทำการทดลองซ้ำข้อ 1-4 โดยเปลี่ยนความเข้มข้นของ H_2SO_4 เป็น 0.01 M และ 0.05 M

3.2.3.2 ศึกษาความเข้มข้นของ $[Fe_2(SO_4)_3].H_2O$

1. ปิเปตสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนนเข้มข้น 0.1 M มา 0 µl, 25µl, 250 µl, 1250 µl, 2500 µl และ 5000 µl ตามลำดับใส่ในขวดวัดปริมาตร ขนาด 25 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ปิเปตสารละลาย 0.05 M $[Fe_2(SO_4)_3].H_2O$ ใน 0.1 M H_2SO_4และ0.1 M o-phenanthroline ใน 0.1 M H_2SO_4 มาอย่างละ 2 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตรในข้อ 1 แล้วทำการปรับปริมาตรด้วย 0.1 M H_2SO_4 จนถึงขีดบอกปริมาตร

3. เขย่าให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ 3 นาที

4. วัดค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นและบันทึกผล

5. ทำการทดลองซ้ำข้อ 1-4 โดยเปลี่ยนความเข้มข้นของ $[Fe_2(SO_4)_3].H_2O$ เป็น 0.02 M, 0.1 M, 0.2 M และ 0.5 M

3.2.3.3 ศึกษาความเข้มข้นของ o-phenanthroline

1. ปิเปตสารละลายมาตรฐานไฮโดรควิโนนเข้มข้น 0.1 M มา 0 µl , 25µl, 250 µl, 1250 µl, 2500 µl และ 5000 µl ตามลำดับใส่ในขวดวัดปริมาตร ขนาด 25 มิลลิลิตร

2. ปิเปตสารละลาย 0.05 M $[Fe_2(SO_4)_3].H_2O$ ใน 0.1 M H_2SO_4และ0.1 M o-phenanthroline ใน 0.1 M H_2SO_4มาอย่างละ 2 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตรในข้อ 1 แล้วทำการปรับปริมาตรด้วย 0.1 M H_2SO_4 จนถึงขีดบอกปริมาตร

3. เขย่าให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ 3 นาที

4. วัดค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นและบันทึกผล

5. ทำการทดลองซ้ำข้อ 1-4 โดยเปลี่ยนความเข้มข้นของ o-phenanthroline เป็น 0.25 M, 0.2 M, 0.05 M และ 0.01 M

3.2.3.4 เวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา

1. ปิเปตสารมาตรฐานไฮโดรควิโนนเข้มข้น0.1 M มา 0 µl , 25µl ,250 µl , 1250 µl , 2500 µl และ 5000 µl ตามลำดับใส่ในขวดวัดปริมาตร ขนาด 25 มิลลิลิตร

2. ปิเปตสารละลาย 0.05 M $[Fe_2(SO_4)_3].H_2O$ 2 มิลลิลิตร แล้วใช้นาฬิกาจับเวลา

3. ปิเปตสารละลาย 0.1 M o-phenanthroline 2 มิลลิลิตร แล้วทำการปรับปริมาตรด้วย acetate buffer pH 3.6 จนถึงขีดบอกปริมาตร

4. เขย่าให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ 3 นาที

5. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นเทียบกับเวลาและบันทึกผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.4 ขั้นตอนการสร้างกราฟมาตรฐาน และการทดลองสารตัวอย่าง

3.2.4.1 การสร้างกราฟมาตรฐาน

1. ปิเปตสารมาตรฐานไฮโดรควิโนนเข้มข้น0.1 M มา 0 µl, 250µl, 1250 µl, 2500 µl, 3750 µl และ 5000 µl ตามลำดับใส่ในขวดวัดปริมาตร ขนาด 25 มิลลิลิตร

2. ปิเปตสารละลาย 0.05 M $[Fe_2(SO_4)_3].H_2O$ และ สารละลาย 0.1 M o-phenanthroline มาอย่างละ 2 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรในข้อ 1 แล้วทำการปรับปริมาตรด้วย acetate buffer pH 3.6 จนถึงขีดบอกปริมาตร

3. เขย่าให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ 3 นาที

4. วัดค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นและบันทึกผล

3.2.4.2 การวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรควิโนนในสารตัวอย่าง

1. ปิเปตตัวอย่างมา 2500 µl ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร

2. ปิเปตสารละลาย 0.05 M $[Fe_2(SO_4)_3].H_2O$ และ สารละลาย 0.1 M o-phenanthroline มาอย่างละ 2 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรในข้อ 1 แล้วทำการปรับปริมาตรด้วย acetate buffer pH 3.6 จนถึงขีดบอกปริมาตร

3. เขย่าให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ 3 นาที

4. วัดค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นและบันทึกผล

5. คำนวณหาความเข้มข้นของไฮโดรควิโนน โดนการเทียบกับกราฟมาตรฐาน

3.2.5 การรบกวนของเหล็ก (III) ที่มีผลต่อปฏิกิริยาที่ใช้ในการตรวจวัด

1.ชั่ง $(NH_4)_2SO_4FeSO_4.6H_2O$ มา 0.0196 g แล้วนำไปละลายด้วย 0.1 M H_2SO_4 ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 25 มิลลิลิตร ด้วย 0.1 M H_2SO_4 ในขวดวัดปริมาตร

2. ชั่ง $[Fe_2(SO_4)_3].H_2O$ มา 0.02xx g นำไปละลายด้วย 0.1 M H_2SO_4 ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 25 มิลลิลิตร ด้วย 0.1 M H_2SO_4 ในขวดวัดปริมาตร

3. เขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ 3 นาที

4. นำสารละลายจากข้อ 1 และ 2 ไปสแกนสเปคตรัมในช่วงความยาวคลื่น 200–800 นาโนเมตร และบันทึกผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.6 ขีดจำกัดต่ำสุดสำหรับการตรวจวัดและการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (LOD และ LOQ)

เนื่องจากสารละลายแบลงค์ให้สัญญาณในการวิเคราะห์ได้ใช้สูตรในการคำนวณหาค่า LOD และ LOQ คือ blank+3SD และ blank+10SD ตามลำดับ

1. ปิเปตสารละลาย 0.05 M $[Fe_2(SO_4)_3].H_2O$ และ สารละลาย 0.1 M o-phenanthroline มาอย่างละ 2 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตร 25 มิลลิลิตร

2. ปรับปริมาตรด้วย acetate buffer จนถึงขีดบอกปริมาตร

3. วัดค่าการดูดกลืนแสงจำนวน 8 ครั้ง และคำนวณหาค่า LOD และ LOQ จากสูตรข้างต้น

3.2.7 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD)

จากการทดลองนี้ได้เลือกใช้สูตรในการคำนวณหาค่า %RSD คือ

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

1. ทำตามวิธีของข้อ 3.2.5

2. คำนวณหาค่า %RSD จากสูตรข้างต้น

3.2.8 ค่าวิเคราะห์คืนกลับ (%Recovery)

จากการทดลองนี้ได้เลือกสูตรในการคำนวณหาค่า %Recovery คือ

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

1. ปิเปตไฮโดรควิโนน 0.1 M และตัวอย่างมาอย่างละ 2500 µl ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร สารละลายขวดนี้เรียกว่า สารตัวอย่างที่มีการเติมสารมาตรฐาน (Spike Sample)

2. ปิเปตสารละลาย $[Fe_2(SO_4)_3].H_2O$ 0.05 M และ สารละลาย o-phenanthroline 0.1 M มาอย่างละ 2 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรในข้อ 1 แล้วทำการปรับปริมาตรด้วย acetate buffer pH 3.6 จนถึงขีดบอกปริมาตร

3. เขย่าให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ 3 นาที

4. วัดค่าการดูดกลืนแสงและบันทึกผล

5. วัดแบลงค์โดยใช้ acetate buffer pH 3.6 เป็นแบลงค์

6. คำนวณหาความเข้มข้นของ Spike Sample

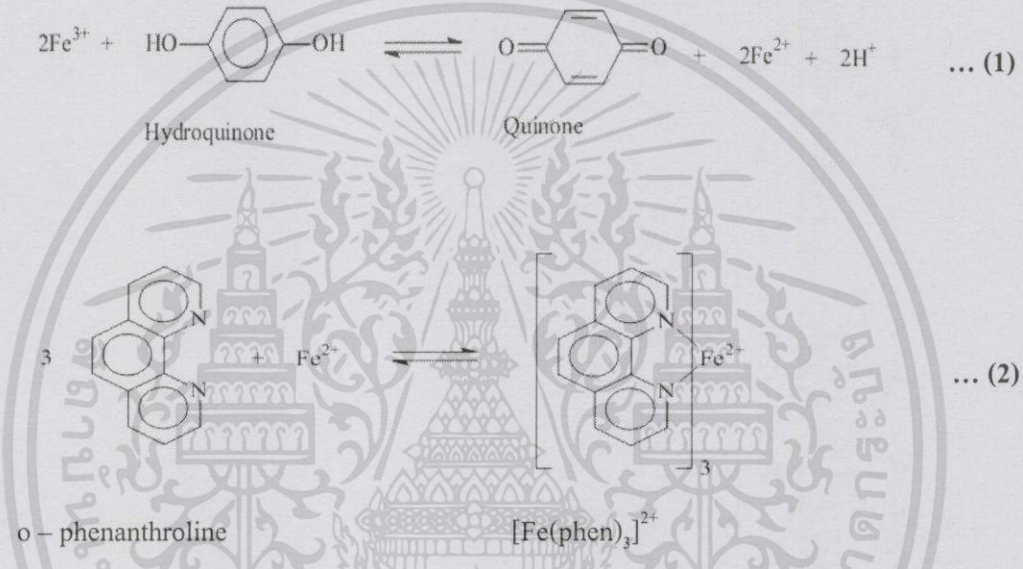
7. คำนวณหาค่า %Recovery จากสูตรข้างต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

โครงงานพิเศษนี้ได้พัฒนาวิธีการวิเคราะห์หาไฮโดรควิโนนในเครื่องสำอางด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี โดยอาศัยปฏิกิริยาดังต่อไปนี้



... (1)

... (2)

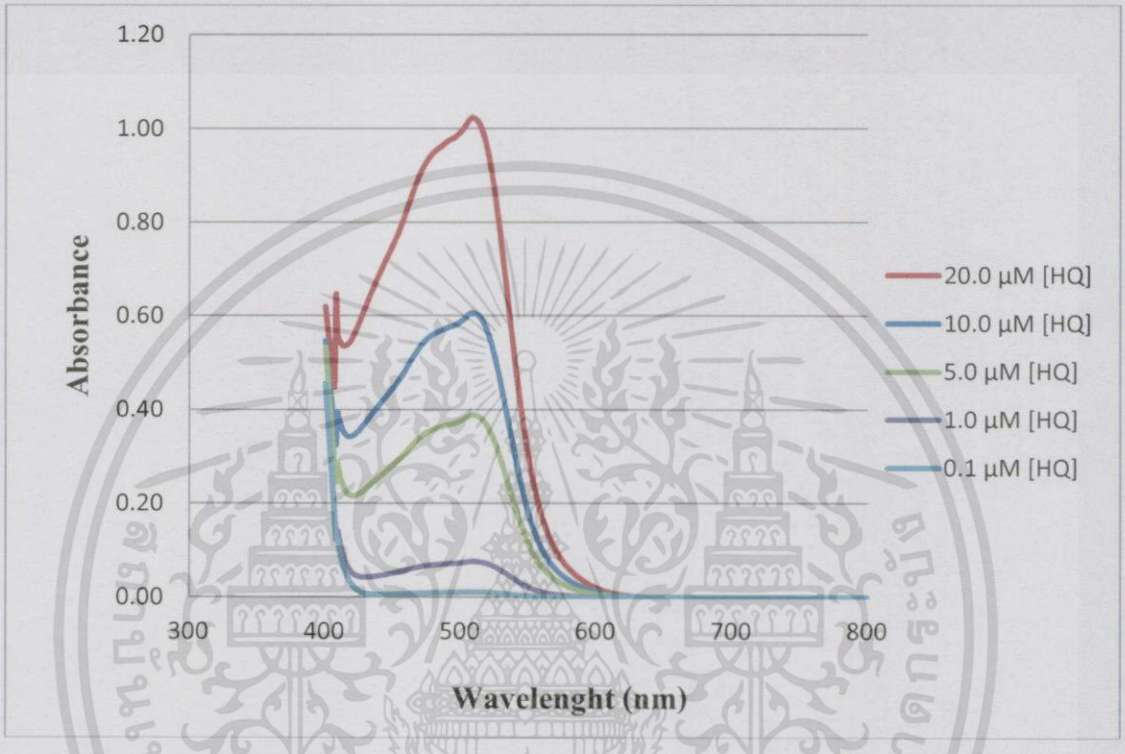
(λ_{max} = 508 nm)

นั่นคือ Fe^{3+} จะถูกรีดิวซ์ด้วยไฮโดรควิโนนกลายเป็น Fe^{2+} จากนั้น Fe^{2+} ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาที่ (1) ไปทำปฏิกิริยากับ o-phenanthroline เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีส้มแดงดังปฏิกิริยาที่ (2) ดังนั้น $[Fe(phen)_3]^{2+}$ ที่ได้นั้นจะแปรตามปริมาณของไฮโดรควิโนน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1 ศึกษาค่าการดูดกลืนแสงที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัด

การหาค่าความยาวคลื่นที่เหมาะสมทำได้โดยการเติมสารมาตรฐานไฮโดรควิโนนที่ความเข้มข้นต่างๆลงในรีเอเจนต์ผสม Fe^{2+}-o-phenanthroline จากนั้นทำการสแกนสเปกตรัมตั้งแต่ 400-800 นาโนเมตร ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 สเปกตรัมของสารผลิตภัณฑ์ $[Fe(phen)_3]^{2+}$, สภาวะที่ทำการทดลองคือ 0.05 M $Fe_2(SO_4)$ in 0.05 M H_2SO_4, 0.1M o-phenanthroline in 0.05 M H_2SO_4 ,ความเข้มข้นของไฮโดรควิโนนได้แก่ 0.1, 1.0, 5.0, 10.0 และ 20.0 µM

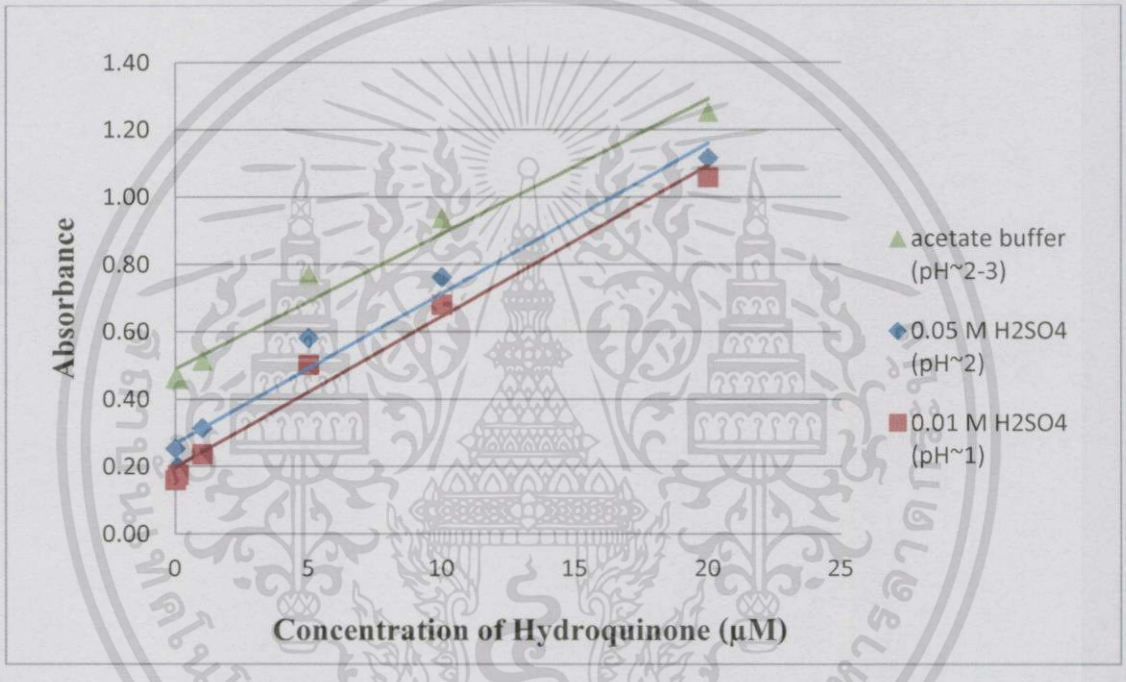
จากผลการทดลองพบว่า ผลิตภัณฑ์ $[Fe(phen)_3]^{2+}$ ที่เกิดขึ้นมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 508 นาโนเมตร และผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นมีแนวโน้มแปรตามความเข้มข้นของไฮโดรควิโนน ดังนั้นในการวิจัยนี้จึงเลือกใช้ความยาวคลื่นที่ 508 นาโนเมตรสำหรับการตรวจวัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสม

4.2.1 ความเข้มข้นของกรดและ pH ที่เหมาะสม

ในการศึกษาหาความเข้มข้นของกรดและ pH ที่เหมาะสมจากการเกิดปฏิกิริยาเชิงซ้อนของ $[Fe(Phen)_3]^{2+}$ เนื่องจากการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง Fe^{2+} กับ o-phenanthroline เกิดได้ดีที่ pH ประมาณ 3-4 [45] โดยเปรียบเทียบความเข้มข้นกรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) ที่ความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 0.01 M, 0.05 M (pH~2) และ 0.1 M (pH~1)



รูปที่ 4.2 ผลของ pH ต่อปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน $[Fe(phen)_3]^{2+}$

จากการทดลองใช้ความเข้มข้นกรดซัลฟิวริกแตกต่างกันได้แก่ 0.01 M, 0.05 M และ 0.1 M เป็นตัวทำละลาย พบว่า o-phenanthroline ไม่ละลายในกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.01 M ในขณะที่กรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.05 M และ 0.1 M สามารถทำละลาย o-phenanthroline ได้ดี จึงได้ใช้กรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.05 M, 0.1 M เป็นตัวทำละลายและปรับปริมาตร จากนั้นนำสารละลาย o-phenanthroline ที่ได้ไปทำการทดลองและได้ค่าการดูดกลืนแสงดังรูปที่ 4.2 อย่างไรก็ตามค่า pH ที่ได้มีค่าอยู่ในช่วง 1-2 ซึ่งยังไม่ใช่สภาวะในการเกิดปฏิกิริยาที่ดีที่สุดในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน $[Fe(Phen)_3]^{2+}$ จึงได้นำอะซิเตทบัฟเฟอร์ pH 3.6 ความเข้มข้น 0.2 M มาเป็นตัวปรับ

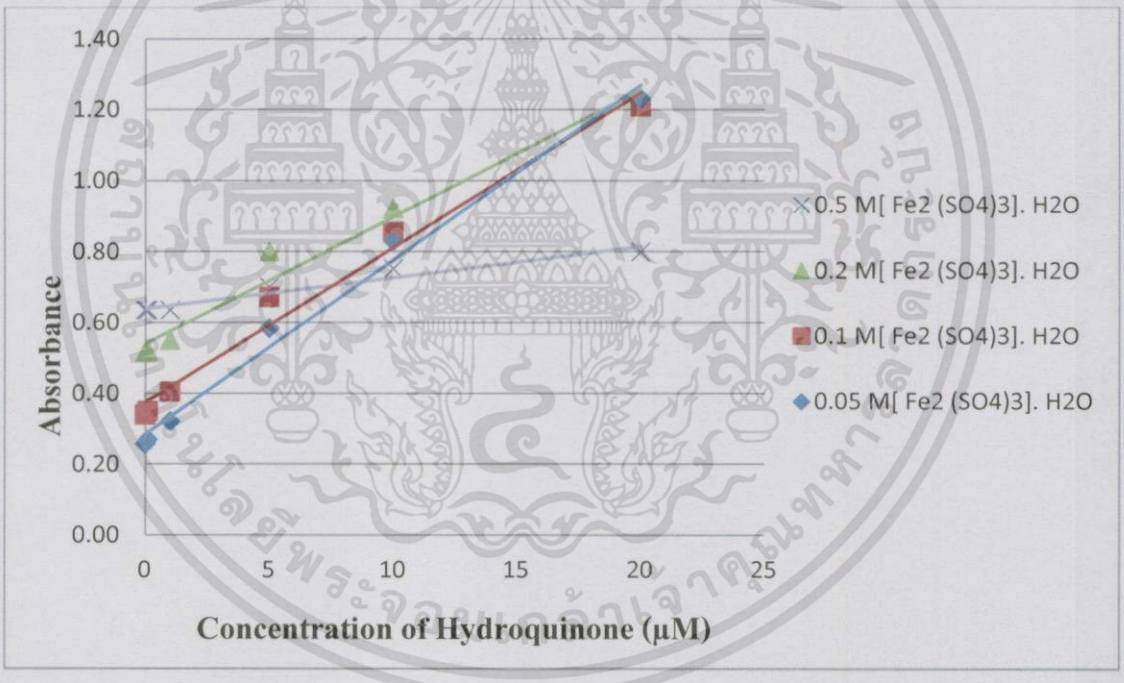
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาตรเพื่อช่วยในการควบคุมค่า pH ให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสม ทำให้ได้ค่า pH ประมาณ 2-3 และให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ดีกว่าการใช้กรดซัลฟิวริกทั้ง 2 ความเข้มข้นดังแสดงในรูปที่ 4.2

ดังนั้นสภาวะที่เลือกใช้ในการทดลองคือ กรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.1 M เป็นตัวทำละลาย o-phenanthroline และอะซิเตทบัฟเฟอร์ pH 3.6 เป็นตัวปรับปริมาตร

4.2.2 ความเข้มข้นของ $[Fe_2(SO_4)_3].H_2O$

การศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ $[Fe_2(SO_4)_3].H_2O$ เนื่องจาก Fe^{3+} ที่ต้องใช้ในการทำปฏิกิริยากับไฮโดรควิโนนในสารละลายจะต้องมีปริมาณที่มากเกินพอ เพื่อได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีส้มแดงที่ให้ค่าดูดกลืนแสงที่ได้แปรผันตรงตามปริมาณของไฮโดรควิโนน ดังปฏิกิริยาที่ 1 หน้าที่ 24



รูปที่ 4.3 ผลของความเข้มข้นต่างๆของ $[Fe_2(SO_4)_3].H_2O$ ต่อปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน

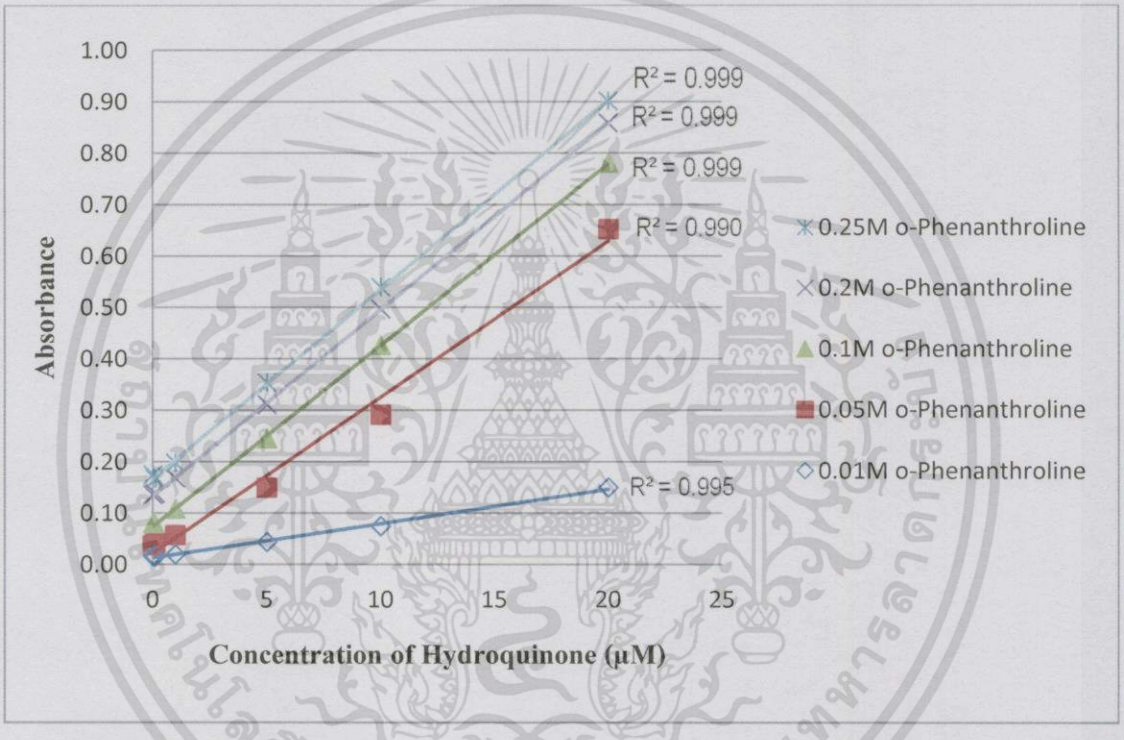
จากผลการทดลองดังรูปที่ 4.3 จะเห็นได้ว่า $[Fe_2(SO_4)_3].H_2O$ ความเข้มข้นของ 0.05 M มีค่าความไว (Sensitivity) ในการวิเคราะห์ที่ดีที่สุด ส่วนที่ความเข้มข้น 0.1 M, 0.2 M และ 0.5 M มีความเข้มข้นของ Fe^{3+} ที่สูงขึ้นจึงทำให้ค่าความไวในการวิเคราะห์ที่แย่ลงและทำให้ค่าดูดกลืนแสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของแบลงค์สูงขึ้นดังนั้นความเข้มข้นที่เลือกใช้ในการทดลอง คือ $[Fe_2 (SO_4)_3].H_2O$ ความเข้มข้นของ 0.05 M

4.2.3 ความเข้มข้นของo-phenanthroline

ในการศึกษาหาความเข้มข้นของ o-phenanthroline เพื่อทำให้ Fe^{2+} ที่เกิดขึ้นจับกับ o-phenanthroline โดยจะต้องมีปริมาณที่มากเกินพอทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อน $[Fe(phen)_3]^{2+}$ ดังนั้นในการทดลองนี้จึงได้เปรียบเทียบ o-phenanthroline ความเข้มข้นต่าง ๆ ดังรูป 4.4



รูปที่ 4.4 ผลความเข้มข้นของ o-phenanthroline ต่อปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน $[Fe(phen)_3]^{2+}$

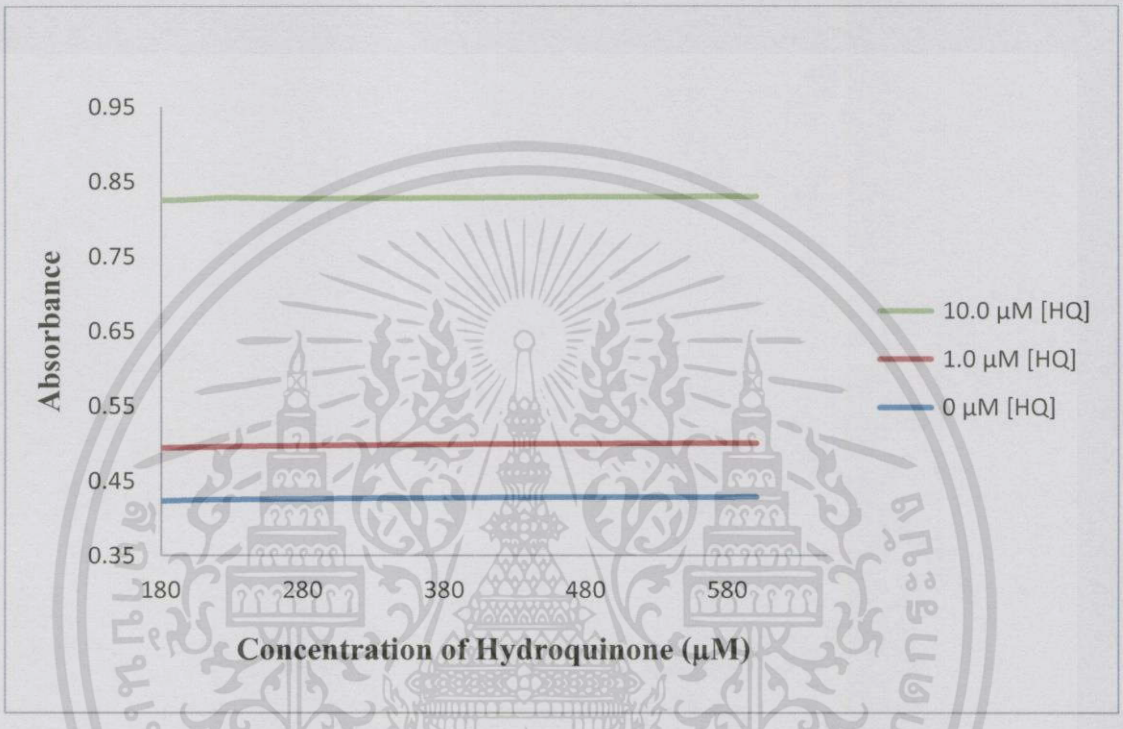
จากผลการทดลองดังรูปที่ 4.4 พบว่าเมื่อความเข้มข้นของ o-phenanthroline เพิ่มขึ้นทำให้ความไวในการวิเคราะห์ดีขึ้น (R^2= 0.999) โดยที่ความเข้มข้น 0.25 M, 0.1 M และ 0.2 M มีค่าความชันที่ใกล้เคียงกันมาก แต่เนื่องจาก o-phenanthroline มีราคาแพง จึงได้เลือกใช้ความเข้มข้น 0.1 M อย่างไรก็ตามยังคงให้ค่าการวิเคราะห์ที่ดีและความเป็นเส้นตรงที่ดี

ดังนั้นความเข้มข้นของ o-phenanthroline ที่เลือกใช้คือ 0.1 M

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.4 ระยะเวลาในการทำการเกิดปฏิกิริยา

การทำปฏิกิริยาระหว่างไฮโดรควิโนน, Fe^{3+} และ o-phenanthroline นั้น จะต้องทราบเวลาในการทำปฏิกิริยาของสารเพื่อให้ปฏิกิริยานั้นเกิดสมดุล ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาเวลาในการเกิดปฏิกิริยาดังรูป 4.5



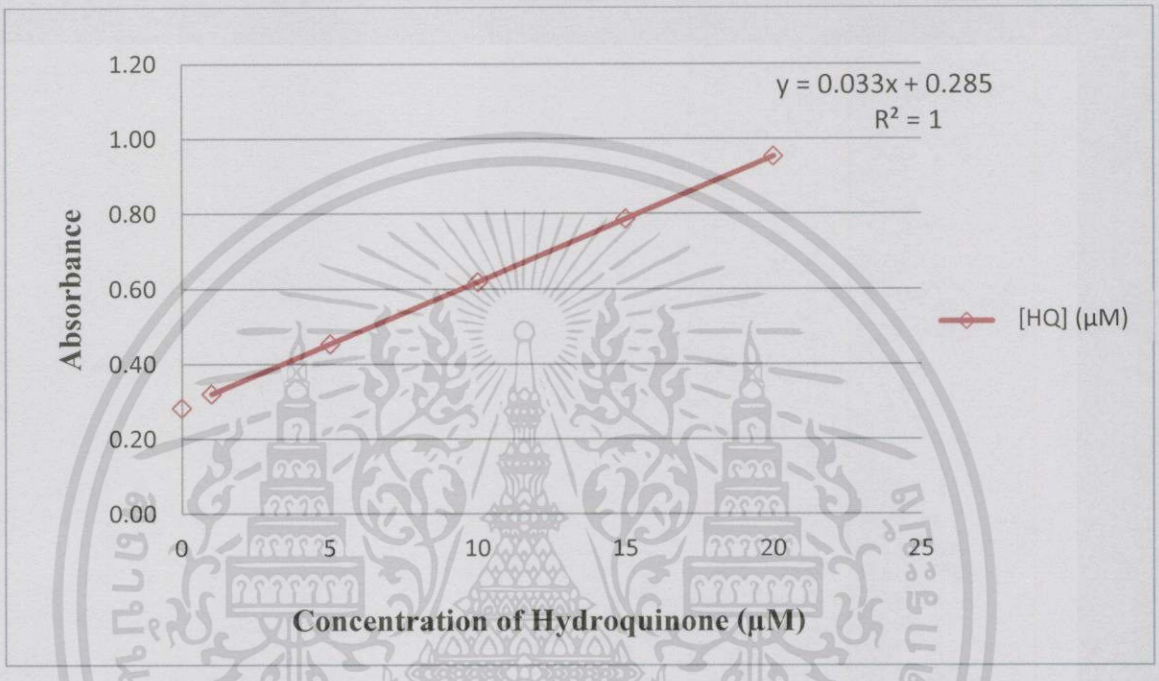
รูปที่ 4.5 ผลของระยะเวลาต่อการเกิดปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน

จากผลการทดลองแสดงในรูป 4.5 ได้ศึกษาเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาในช่วงตั้งแต่ 3-10 นาที จากรูปพบว่าหลังจากนาทีที่ 3 เป็นต้นไป ค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นมีค่าคงที่ซึ่งแสดงถึงปฏิกิริยาเข้าสู่สมดุลเรียบร้อยแล้ว ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงทำการตรวจวัด ณ ที่เวลา 3 นาทีและเนื่องจากถ้าระยะเวลาน้อยกว่า 3 นาที จะส่งผลต่อความไม่สะดวกในขั้นตอนการเตรียมสารอีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การทำกราฟมาตรฐาน (Calibration curve)

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการทดลองภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ได้กราฟมาตรฐานมีความเป็นเส้นตรงที่ดี (R^2= 1) ในช่วงความเข้มข้น 1-20 µM ดังรูป 4.6 และมีสมการถดถอยเชิงเส้น (Linear Regression) เท่ากับ Absorbance = $(0.033\pm8.68x10^{-5})$[hydroquinone(µM)]+$(0.285\pm9.7x10^{-4})$



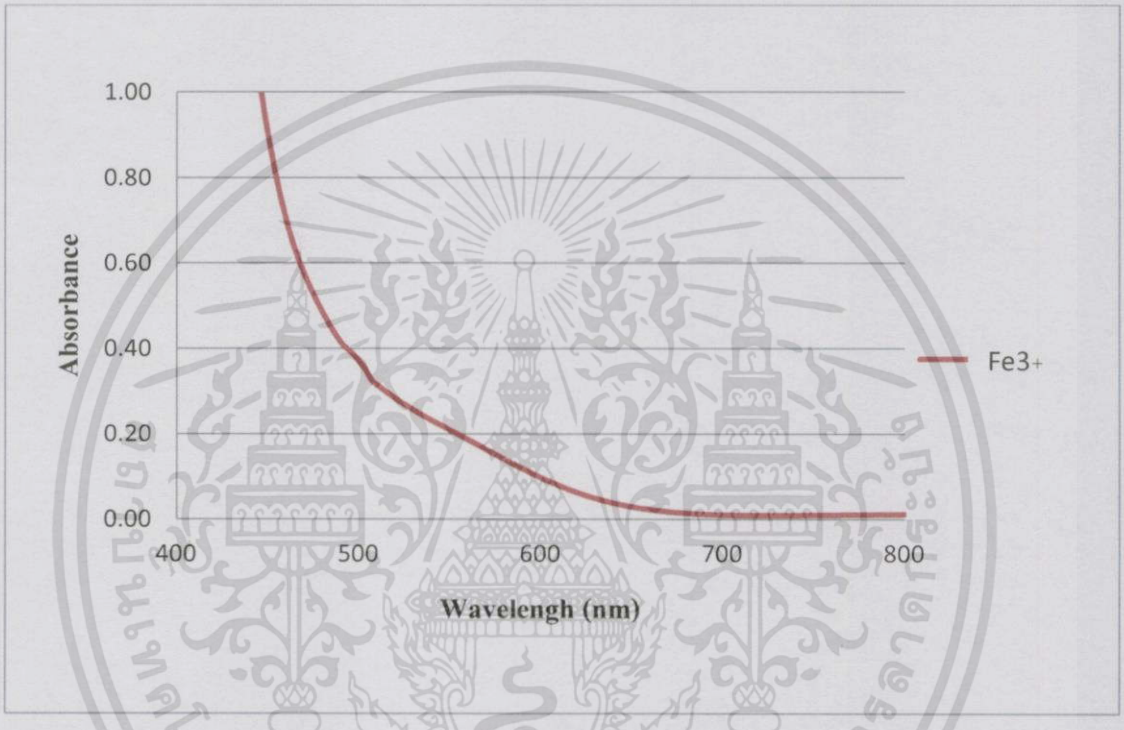
รูปที่ 4.6 ผลของความเข้มข้นต่างๆของไฮโดรควิโนนต่อการเกิดปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน

เมื่อคำนวณหาค่าขีดต่ำสุดในการตรวจวัด (LOD) ของการวิเคราะห์พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.7 µM, ค่าขีดต่ำสุดในการวิเคราะห์ (LOQ) ของการวิเคราะห์มีค่าเท่ากับ 1.4 µM, ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) มีค่าเท่ากับ 1.15 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 การศึกษาการรบกวนของ Fe^{3+}

จากปฏิกิริยาดังสมการ (1) และ (2) ในการทดลองจำเป็นจะต้องมีปริมาณ Fe^{3+} ที่มากพอเพื่อทำปฏิกิริยากับไฮโดรควิโนนจนหมด จึงทำให้มีปริมาณของ Fe^{3+} ที่ทำปฏิกิริยากับไฮโดรควิโนนไม่หมด ทำให้เกิดการรบกวนในการวิเคราะห์ ดังนั้นการศึกษาการรบกวนของ Fe^{3+} ที่มีผลต่อปฏิกิริยาที่ใช้ในการตรวจวัด แสดงดังรูปที่ 4.7



รูปที่ 4.7 สเปกตรัมของสารประกอบเชิงซ้อน Fe^{3+} ความเข้มข้น 0.05 M

ผลจากการวิจัยนี้ดังรูปที่ 4.7 ทำให้ทราบว่าเมื่อทำการเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสง โดยการสแกนสเปกตรัมทั้ง Fe^{3+} (0.05 M $Fe_2(SO_4)$) ณ ที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 508 นาโนเมตร ดังนั้นการศึกษาการรบกวนของ Fe^{3+} จึงสรุปได้ว่า Fe^{3+} มีผลรบกวนต่อการวิเคราะห์ ซึ่งให้ผลการทดลองที่สอดคล้องกับการศึกษาความเข้มข้นของ [$Fe_2(SO_4)_3$].H_2O โดยที่ความเข้มของ Fe^{3+} ที่สูงขึ้นเรื่อย ๆ ก็จะส่งผลให้เกิดการรบกวนดังแสดงในรูปที่ 4.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 การวิเคราะห์ไฮโดรควิโนนในเครื่องสำอาง

ในงานวิจัยนี้ ได้ทำการทดลองโดยการสุ่มตัวอย่าง 5 ชนิด โดยที่ตัวอย่าง A และ B เป็นเครื่องสำอางที่หาซื้อจากห้างสรรพสินค้า และตัวอย่างที่เหลือสามารถหาซื้อได้จากตลาดนัดทั่วไป ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์ไฮโดรควิโนนในเครื่องสำอาง

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นของ HQ (μM)		ร้อยละคืนกลับ
	ปริมาณที่เติม (added)	ปริมาณที่พบ (found)	(% recovery)
A	-	1.23	-
	10.0	11.12	98.94
B	-	n.d.	-
	10.0	10.56	105.63
C	-	n.d.	-
	10.0	9.81	98.13
D	-	0.93	-
	10.0	11.19	102.62
E	-	n.d.	-
	10.0	10.39	103.94

n.d. = not detectable

ผลการศึกษาตัวอย่างที่ A, B, C, D และ E พบว่าตัวอย่างที่ B, C และ E ตรวจไม่พบไฮโดรควิโนน แต่ในตัวอย่างที่ A และ D ค่าความเข้มข้นที่วัดได้เท่ากับ 1.23 μM และ 0.93 μM ตามลำดับ ซึ่งมีค่าที่สูงกว่า LOD แต่ต่ำกว่าค่า LOQ อย่างไรก็แล้วแต่ จำเป็นต้องใช้เทคนิคอื่นเพื่อยืนยันการวิเคราะห์ความถูกต้องอีกครั้งหนึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลวิจัย

สรุปผลวิจัย

โครงงานนี้เป็นการหาปฏิกิริยาและหาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดปริมาณไฮโดรควิโนนโดยอาศัยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี จากปฏิกิริยาระหว่างไฮโดรควิโนนและ Fe^{3+} จากนั้นนำซึ่ง Fe^{2+} เป็นผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาข้างต้นมาทำปฏิกิริยากับ o-phenanthroline เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีส้มแดงที่มีค่าดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) ที่ 508 นาโนเมตร ดังนั้นในงานวิจัยนี้จะติดตามสารประกอบเชิงซ้อนของ $[Fe(phen)_3]^{2+}$ ซึ่งจะแปรผันตามปริมาณของไฮโดรควิโนน จากนั้นนำไปทำการตรวจวัดโดยใช้เทคนิค UV-vis spectrophotometry เพื่อนำไปใช้ในการวิเคราะห์เพื่อให้มีประสิทธิภาพในวิเคราะห์ดีที่สุดจึงต้องมีการควบคุมพารามิเตอร์ต่างๆให้เหมาะสม ซึ่งผลการศึกษาได้สรุปสภาวะการทดลองที่เหมาะสมไว้ในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงค่าที่เหมาะสมของพารามิเตอร์ต่างๆ

พารามิเตอร์	ค่าที่ได้จากการวิเคราะห์
ค่า pH ของการเกิดปฏิกิริยา	พีเอช 3.6 (acetate buffer)
o-phenanthroline	0.1 M
$[Fe_2(SO_4)_3].H_2O$	0.05 M
ระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยา	3 นาที

จากการทดลองพบว่า ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายไฮโดรควิโนนที่ 508 นาโนเมตร จะเพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของไฮโดรควิโนน โดยพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของไฮโดรควิโนนกับความเข้มข้นของไฮโดรควิโนน ได้สมการเส้นตรง คือ $Absorbance = (0.033 \pm 8.68 \times 10^{-5})[hydroquinone(\mu M)] + (0.285 \pm 9.7 \times 10^{-4})$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมทำให้ได้คุณลักษณะเด่นของวิธีการตรวจวัดไฮโดรควิโนนดังนี้ ค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเท่ากับ 0.72 μM ขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เท่ากับ 5.54 μM สำหรับความเที่ยงของวิธีประเมินจากค่า RSD ซึ่งมีค่าเท่ากับ 1.44% และเมื่อเทียบกับตัวอย่างที่ A, B, C, D และ E พบว่าตัวอย่างที่ B, C และ E ตรวจไม่พบไฮโดรควิโนน แต่ในตัวอย่างที่ A และ D ค่าความเข้มข้นที่วัดได้เท่ากับ 1.23 μM และ 0.93 μM ตามลำดับซึ่งมีค่าที่สูงกว่าค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD) แต่ต่ำกว่าค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (LOQ) อย่างไรก็แล้วแต่จำเป็นต้องใช้เทคนิคอื่นเพื่อตรวจสอบความถูกต้องอีกครั้งหนึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

[1]www.pharmacy.mahidol.ac.th/thai/knowledgeinfo.php?id=14

[2]www.klangphuket.org/index.php?option=com_content&view=article&id=459%3A2013-08-07-08-27-54&catid=76%3A2013-06-06-04-17-04&Itemid=138

[3]ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง กำหนดวัตถุที่ห้ามใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเครื่องสำอาง (ฉบับที่ 2) ประกาศ ณ วันที่ 16 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2552

[4]ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่องกำหนดชื่อและปริมาณของวัตถุที่อาจใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเครื่องสำอาง ประกาศ ณ วันที่ 29 สิงหาคม พ.ศ. 2552

[5]www.http://healthinfo.in.th

[6]www.thaigov.go.th/th/useful-information/item/29014-.html

[7]กองพัฒนาศักยภาพผู้บริโภค สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยากระทรวงสาธารณสุข ข่าวเพื่อสื่อมวลชน ประกาศ ณ วันที่ 21 กันยายน 2555

[8]www.http://women.kapook.com/view4871.html

[9]www.n3k.in.th

[10]www.webnotes.fda.moph.go.th

[11]www.guspa.net/Whitening-agents.html

[12]www.iweddingskincare.com

[13]www.silhouette.ca/blog/hydroquinone-and-rebound-hyperpigmentation

[14]www.en.wikipedia.org/wiki/Hydroquinone

[15]Anna Palumbo, Marco d'Ischia, Giovanna Misuraca and Giuseppe Prota. **"Mechanism of inhibition of melanogenesis by hydroquinone"** Biochemical &BiophysicaActa, 1073 (1991) [85-90]

[16]www.weloveshopping.com/shop/show_article.php

[17]www.womanandkid.com

[18]www.weloveshopping.com/shop/showproduct.php

[19]www.dnaturespa.com/hidro1.html

[20]WenhuiGao, Cristina Legido-Quigley. **"Fast and sensitive high performance liquid chromatography analysis of cosmeticcreams for hydroquinone, phenol and six preservatives"** Journal of Chromatography A 1218 (2011) 4307–4311

[21]W. Tongchai, B. Liawruangrath**"Micellar liquid chromatographic determination of arbutin and fydroquinone in medicinal plant extracts and commercial cosmetics**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

products". International Jounal of cosmetic Science 35 (2013) 257-263

[22]Izabela RYCHLIŃSKA, Sławomira NOWAK. **"Quantitative Determination of Arbutin and Hydroquinone in Different Plant Materials by HPLC".**Not Bot HortiAgrobo 4 (2012): 109-113

[23]B.Desmedt, V.Rogiers, P.Courselle, J.O.De Beer, K.DePaepe, E.Deconink. **"Development and validation of a fast chromatographic method for screening and quantification of legal and illegal skin whitening agents".** Journal of Phamaceutical and Biomedical Analysis 83 (2013) 82 -88

[24]WenhuiGao, Nicola Gray, James Heaton, Norman W. Smith, YingminJia, Cristina Legido-Quigley. **"UV gradient combined with principal component analysis: Highly sensitive and specific high performance liquid chromatography analysis of cosmetic creams".** Journal of Chromatography A, 1228 (2012) 324– 328

[25]Alberto Chisvert, JuditSisternes, ÀngelBalaguer, Amparo Salvador.**"A gas chromatography–mass spectrometric method to determine skin-whiteningagents in cosmetic products".**Talanta 81 (2010) 530–536

[26]AnjaJudefeind, Peet Jansen van Rensburg, Stephan Langelaar, Jeanetta du Plessis.**"Stable isotope dilution analysis of salicylic acid and hydroquinonein human skin samples by gas chromatographywith mass spectrometric detection".**Journal of Chromatography B, 852 (2007) 300–307

[27]Claudia Desiderio, LuigiaOssicini, Salvatore Fanali.**"Analysis of hydroquinone and some of its ethers by using capillaryElectrochromatography".** Journal of Chromatography A, 887 (2000) 489–496

[28]Inˆesrosane W.Z. de Oliveira, Renata El-Hage M. de Barros Os´orio,AdemirNeves, Iolanda Cruz Vieira. **"Biomimetic sensor based on a novel copper complex for thedetermination of hydroquinone in cosmetics".** Sensors and Actuators B 122 (2007) 89–94

[29]GuiyunXu, Beibei Li, XiliangLuo. **"Carbon nanotube doped poly (3,4-ethylenedioxythiophene) for theelectrocatalytic oxidation and detection of hydroquinone". Sensors and Actuators B 176 (2013) 69– 74**

[30]Hongyan Wu, Jinchao Hu, Heng Li, Huaixiang Li.**"A novel photo-electrochemical sensor for determination of hydroquinone basedon copper hexacyanoferrate and platinum films modified n-silicon electrode".** Sensors and Actuators B 182 (2013) 802– 808

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[31]BineshUnnikrishnan, Pu-Liang Ru, Shen-Ming Chen.**"Electrochemically synthesized Pt–MnO2 composite particles for simultaneousdetermination of catechol and hydroquinone".**Sensors and Actuators B 169 (2012) 235– 242

[32]M.U. AnuPrathap, BiswarupSatpati, RajendraSrivastava.**"Facile preparation of polyaniline/MnO2 nanofibers and itselectrochemical application in the simultaneous determinationof catechol, hydroquinone, and resorcinol"**Sensors and Actuators B 186 (2013) 67– 77

[33]LongzhenZheng, LeyanXiong, Yindi Li, JingpengXu, Xiaowei Kang, ZhijunZou, Shaoming Yang, Jian Xia.**"Facile preparation of polydopamine-reduced graphene oxide nanocomposite and its electrochemical application in simultaneous determination of hydroquinone and catechol"**Sensors and Actuators B 177 (2013) 344–349

[34]QiaohuiGuo, Jianshe Huang, Puqing Chen, Yang Liu, HaoqingHou, Tianyan You.**"Simultaneous determination of catechol and hydroquinone using electrospuncarbon nanofibers modified electrode".**Sensors and Actuators B 163 (2012) 179– 185

[35]Xia Caoa, XiaolanCai, QuanchenFeng, ShuJia ,Ning Wang.**"Ultrathin CdSenanosheets: Synthesis and application in simultaneousdetermination of catechol and hydroquinone".**AnalyticaChimicaActa 752 (2012) 101– 105

[36] Iolanda da Cruz Vieira, Orlando Fatibello-Filho,LúcioAngnes.**"Zucchini crude extract-palladium-modified carbon paste electrode for thedetermination of hydroquinone in photographic developers"**AnalyticaChimicaActa 398 (1999) 145–151

[37]Saleh I. Alqasoumi, PrawezAlam*, Adnan J. Al-Rehaily, FaiyazShakeel, and MagedS. Abdel-Kader.**"Stability-Indicating Densitometric HPTLC Methodfor Qualitative and Quantitative Analysis of Hydroquinonein Commercial Whitening Creams".** Journal of Planar Chromatography 24 (2011) 1

[38]Pedro LópezGarcía, Maria Inês Rocha Miritello Santoro, Anil Kumar Singh, Erika Rosa Maria, Kedor-Hackmann.**"Determination of optimum wavelength and derivative order inspectrophotometry for quantitation of hydroquinone in creams".**RevistaBrasileira de CiênciasFarmacêuticas Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciencesvol. 43, n. 3, jul./set., 2007

[39]S. Uddin, A. Rauf, T. G. Kazi, H. I. Afridi and G. Lutfulla**h. "Highly sensitive spectrometric method for determination ofhydroquinone in skin lightening creams: application in cosmetics".** International Journal of Cosmetic Science, 2011, 33, 132–137

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[40]Terer Erick Kipngetich, MagutHillary ,Mule Shadrack.**"UV-vis analysis and determination of hydroquinone in body lotions and creams sold in retail outlets in BARATON, KENYA"**. BaratonInterdisplinary Research Journal (2013) 3(1), 23-28

[41]Sirajuddin, M. IqbalBhanger, Abdul Niaz, Afzal Shah, Abdul Rauf."**Ultra-trace level determination of hydroquinone in waste photographicsolutions by UV–vis spectrophotometry".**Talanta 72 (2007) 546–553

[42]R.C. Atkins, J. Chem.Ed.**"Determination of the Iron Content in a Multivitamin Tablet by Spectroscopy"**. (1975) 52, 550.

[43]มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, ภาคผนวก ข การเตรียมสารเคมี, Acetate buffer (Colowick, 1955)

[44]R.C. Atkins, J. Chem.Ed. **"Determination of the Iron Content in a Multivitamin Tablet by Spectroscopy"** (1975) 52, 550.

[45]รศ.อรุณี คงศักดิ์ไพศาล.**"ปฏิบัติการเคมีวิเคราะห์ 1".**พิมพ์ครั้งที่ 2.หน้า 173

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวกก

ตาราง ก แสดงข้อมูลการวัดค่าการดูดกลืนแสงของแบลงค์ทั้ง 8 ครั้ง

Blank	Abs.
1	0.298
2	0.298
3	0.3
4	0.3
5	0.301
6	0.302
7	0.293
8	0.293
Means	0.298125
SD	0.003441

ตาราง ข แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง A B C D และ E

Sample	Abs. (nm)		Means	SD
	first	second		
A	0.325	0.326	0.3255	0.000707
Spike sample A	0.652	0.652	0.652	0
B	0.298	0.3	0.299	0.001414
Spike sample B	0.627	0.627	0.627	0
C	0.276	0.278	0.277	0.001414
Spike sample C	0.602	0.604	0.603	0.001414
D	0.295	0.296	0.2955	0.000707
Spike sample D	0.51	0.512	0.511	0.001414
E	0.302	0.303	0.3025	0.000707
Spike sample E	0.637	0.639	0.638	0.001414

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การคำนวณหาค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD)

ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายแบลงค์จำนวน 8 ครั้ง ได้ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.298125 Abs.

จากกราฟมาตรฐานในหน้าที่ 30 จะได้สมการเส้นตรงคือ $y = 0.033x + 0.285$

หาค่า LOD ได้จากสูตร

จะได้ LOD = Mean of blank + 3SD of blank

= 0.298125 + 3 (0.003441)

= 0.308447

แทนค่าลงในสมการเส้นตรงข้างต้น เพื่อคิดเป็นความเข้มข้น จะได้

$0.308447 = 0.033x + 0.285$

= 0.7205 μM

ดังนั้น ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดคือ 0.72 μM

การคำนวณหาค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (LOQ)

หาค่า LOD ได้จากสูตร

จะได้ LOD = Mean of blank + 10SD of blank

= 0.298125 + 10 (0.003441)

= 0.0332533

แทนค่าลงในสมการเส้นตรงข้างต้น เพื่อคิดเป็นความเข้มข้นได้ดังนี้จะได้

$0.0332533 = 0.033x + 0.285$

= 1.4404 μM

ดังนั้น ขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ 1.44 μM

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การคำนวณหาค่าการวิเคราห์คืนกลับ (%Recover)

$$\text{สูตร} = \frac{\text{[Spiked Sample]-[Sample]}}{\text{[standard]}} \times 100$$

$$= \frac{\text{[11.12121]-[1.227273]}}{\text{[10]}} \times 100$$

$$= 98.94\%$$

หมายเหตุ สารตัวอย่าง B C D E คำนวณเช่นเดียวกับ สารตัวอย่าง A

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้