โครงการ

การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ การวิเคราะห์พาราเบนในเครื่องสำอางโดยการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งร่วมกับเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี
Determination of parabens in cosmetics by solid phase microextraction combined with high performance liquid chromatography

ชื่อนิสิต นางสาวฐิติมา วงษ์จำปี **เลขประจำตัว** 5833026023

ภาควิชา เคมี

ปีการศึกษา 2561

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานทางวิชาการที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานทางวิชาการที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of senior projects in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the senior project authors' files submitted through the faculty.

การวิเคราะห์พาราเบนในเครื่องสำอางโดยการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งร่วมกับเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี

Determination of parabens in cosmetics by solid phase microextraction combined with high performance liquid chromatography

โดย

นางสาวฐิติมา วงษ์จำปี

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2561

โครงการ การวิเคราะห์พาราเบนในเครื่องสำอางโดยการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งร่วมกับเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี

โดย นางสาวฐิติมา วงษ์จำปี

ได้รับการอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.เฟื่องฟ้า อุ่นอบ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พุทธรักษา วรานุศุภากุล)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พร้อมพงศ์ เพียรพินิจธรรม)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

..... หัวหน้าภาควิชาเคมี
(รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิชัย พาราสุข)
วันที่ 14 เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2562

ชื่อโครงการ การวิเคราะห์พาราเบนในเครื่องสำอางโดยการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งร่วมกับเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี
ชื่อนิสิตในโครงการ นางสาวฐิติมา วงษ์จำปี เลขประจำตัว 5833026023
ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พุทธรักษา วรานุศุภากุล
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2561

บทคัดย่อ

พาราเบนเป็นกลุ่มสารที่นิยมใช้เป็นสารกันเสียในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เพื่อช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราและแบคทีเรีย อย่างไรก็ตามการใช้สารกลุ่มนี้ในปริมาณมากจะส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผู้บริโภค ดังนั้นงานวิจัยนี้ได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์พาราเบน 4 ชนิด ได้แก่ เมทิลพาราเบน เอทิลพาราเบน โพรพิลพาราเบน และบิวทิลพาราเบนในเครื่องสำอาง โดยการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็ง และนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี ซึ่งพบว่าการสกัดด้วยการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบโดยตรงให้ประสิทธิภาพการสกัดสูงกว่าการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบเฮดสเปซ จึงทำการศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่ส่งผลต่อการสกัดด้วยระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบโดยตรง ได้ภาวะของการสกัด ดังนี้ อุณหภูมิการสกัด 50 องศาเซลเซียส เวลาในการสกัด 30 นาที ใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายในการคายซับเป็นเวลา 30 นาที นอกจากนี้ มีการเตรียมตัวอย่างโลชั่นบำรุงผิวก่อนการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบโดยตรง โดยการเจือจางด้วยเมทานอล คนแบบวอร์เท็กซ์และปั่นเหวี่ยง วิธีที่พัฒนาได้มีประสิทธิภาพการสกัดที่ดี โดยมีค่าร้อยละการคืนกลับของการวิเคราะห์ร้อยละ 68 ถึงร้อยละ 115

คำสำคัญ : การสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบโดยตรง, สารกันเสีย, ไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี

Project Title Determination of parabens in cosmetics by solid phase microextraction combined with high performance liquid chromatography
Student Name Miss Thitima Wongjampee Student ID 5833026023
Advisor Name Assistant Professor Puttaruksa Varanusupakul, Ph.D.
Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic Year 2018

Abstract

Parabens are widely used as preservatives in cosmetic products in order to prevent the growth of mold and bacteria. However, excessive usage can affect consumer's health. Therefore, this work developed a method for determining 4 parabens which are methyl paraben, ethyl paraben, propyl paraben and butyl paraben in a commercial cosmetic product by using solid phase microextraction (SPME) combined with high performance liquid chromatography (HPLC). As a result, direct immersion solid phase microextraction (DI-SPME) exhibited higher extraction of parabens compared with headspace solid phase microextraction (HS-SPME). Therefore, the condition in DI-SPME was optimized to improve the extraction efficiency. The optimal condition was extraction temperature of 50 $^{\circ}$C, extraction time of 30 minutes, methanol as desorption solvent, desorption time of 30 minutes. Moreover, body lotion sample was pretreated by diluting with methanol, then vortexed and centrifuged before extracted by DI-SPME. The developed method showed good extraction efficiency with the recovery range of 68–115%.

Keywords : direct immersion solid phase microextraction, preservative, high performance liquid chromatography

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ด้วยความช่วยเหลือของผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พุทธรักษา วรานุศุภากุล อาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัยนี้ ซึ่งท่านได้ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่าง ๆ ตลอดจนปรับปรุงแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความเอาใจใส่เป็นอย่างดี อันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการทำวิจัย อีกทั้งยังช่วยแก้ปัญหาที่เกิดขึ้นระหว่างการดำเนินงานอีกด้วย ผู้วิจัยตระหนักถึงความตั้งใจจริงและความทุ่มเทของอาจารย์ และขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.เฟื่องฟ้า อุ่นอบ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พร้อมพงศ์ เพียรพินิจธรรม ที่ให้ความอนุเคราะห์เป็นกรรมการตรวจเล่มงานวิจัยในครั้งนี้

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้เงินทุนสำหรับสนับสนุนบางส่วนในการทำวิจัย ขอขอบคุณรุ่นพี่ในห้องปฏิบัติการ PV lab 1205 สำหรับข้อแนะนำและความช่วยเหลือดูแล และคอยให้คำแนะนำตลอดมา

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และครอบครัว ซึ่งเปิดโอกาสให้ได้รับการศึกษาเล่าเรียนตลอดจนคอยช่วยเหลือและให้กำลังใจผู้วิจัยเสมอมา รวมทั้งเพื่อน ๆ ที่คอยให้ความช่วยเหลือ สนับสนุน และให้กำลังใจมาโดยตลอด

ฐิติมา วงษ์จำปี

ผู้วิจัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ค

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ง

กิตติกรรมประกาศ จ

สารบัญตาราง ซ

สารบัญรูป ฌ

สัญลักษณ์และคำย่อ ญ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจ 1

1.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 2

1.3 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง 4

1.3.1 สารกันเสียในเครื่องสำอาง (preservative) 4

1.3.2 เทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี (HPLC) 4

1.3.3 การสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็ง (SPME) 5

1.3.3.1 รูปแบบของการสกัด 6

1.3.3.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัด 7

บทที่ 2 การทดลอง 10

2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ 10

2.2 สารเคมี 10

2.3 วิธีการทดลอง 11

2.3.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน 11

2.3.1.1 สารละลายมาตรฐานผสมพาราเบนเข้มข้น 11

2.3.1.2 สารละลายมาตรฐานผสมพาราเบนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ 11

2.3.1.3 สารละลายมาตรฐานผสมพาราเบนสำหรับการสกัดด้วย SPME 11

2.3.2 การวิเคราะห์พาราเบนด้วยเทคนิค HPLC 12

2.3.3 การสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็ง (SPME) 12

2.3.3.1 การสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบโดยตรง (DI-SPME) 13

2.3.3.2 การสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบเฮดสเปซ (HS-SPME) 13

2.3.4 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบโดยตรง 14

2.3.4.1 อุณหภูมิในการสกัด 14

2.3.4.2 เวลาในการสกัด 14
2.3.4.3 ชนิดของตัวทำละลายในการคายซับ 14
2.3.4.4 เวลาในการคายซับ 14
2.3.5 การเตรียมสารตัวอย่างก่อนการสกัดด้วยเทคนิค DI-SPME 14
บทที่ 3 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง 15
3.1 การวิเคราะห์พาราเบนด้วยเทคนิค HPLC 15
3.2 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการสกัดพาราเบนด้วยเทคนิค DI-SPME และ HS-SPME 16
3.3 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบโดยตรง 17
3.3.1 อุณหภูมิในการสกัด 17
3.3.2 เวลาในการสกัด 18
3.3.3 ชนิดของตัวทำละลายในการคายซับ 19
3.3.4 เวลาในการคายซับ 21
3.3.5 การวิเคราะห์พาราเบนด้วยเทคนิค DI-SPME 21
3.4 การเตรียมตัวอย่างเครื่องสำอางก่อนการสกัดด้วยเทคนิค DI-SPME 23
บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง 25
เอกสารอ้างอิง 26
ภาคผนวก 29
ประวัติผู้วิจัย 35

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1.1 ตัวอย่างงานวิจัยที่วิเคราะห์สารกลุ่มพาราเบนในเครื่องสำอางและสิ่งแวดล้อม	3
ตารางที่ 1.2 สมบัติทางกายภาพและทางเคมีของสารกลุ่มพาราเบน	4
ตารางที่ 1.3 ข้อดีและข้อเสียของวิธีการกวนสารละลายวิธีต่าง ๆ	8
ตารางที่ 1.4 ช่วง pH ที่เหมาะสมสำหรับเส้นใย SPME แต่ละชนิด	9
ตารางที่ 2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานผสมพาราเบนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	11
ตารางที่ 2.2 ภาวะสำหรับการวิเคราะห์พาราเบน 4 ชนิด	12
ตารางที่ 3.1 ภาวะของการสกัดพาราเบนด้วยเทคนิค DI-SPME	22
ตารางที่ 3.2 ช่วงความเป็นเส้นตรง และสมการของกราฟมาตรฐาน	22
ตารางที่ 3.3 เปรียบเทียบ %recovery ของวิธีการเตรียมตัวอย่างเครื่องสำอาง	23
ตารางที่ ก.1 พื้นที่ใต้พีคของการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบโดยตรง (DI-SPME) ที่อุณหภูมิในการสกัดแตกต่างกัน	29
ตารางที่ ก.2 พื้นที่ใต้พีคของการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบโดยตรง (DI-SPME) ที่เวลาของการสกัดแตกต่างกัน	30
ตารางที่ ก.3 พื้นที่ใต้พีคของการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบโดยตรง (DI-SPME) โดยใช้ตัวทำละลายในการคายซับแตกต่างกัน	31
ตารางที่ ก.4 พื้นที่ใต้พีคของการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบโดยตรง (DI-SPME) ที่เวลาการคายซับแตกต่างกัน	32
ตารางที่ ก.5 พื้นที่ใต้พีคของการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบโดยตรง (DI-SPME) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน	33
ตารางที่ ก.6 น้ำหนักสารตัวอย่างก่อนทำการสกัดการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบโดยตรง (DI-SPME)	34
ตารางที่ ก.7 พื้นที่ใต้พีคของการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบโดยตรง (DI-SPME) ในสารละลายตัวอย่าง โดยทำการเตรียมตัวอย่างแตกต่างกัน	34

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 1.1 อุปกรณ์สำหรับเทคนิค SPME 5
รูปที่ 1.2 การสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็ง 6
รูปที่ 1.3 ความสัมพันธ์ของเวลาในการสกัดเพื่อวิเคราะห์การดูดซับบนเส้นใย 7
รูปที่ 2.1 SPME holder แบบ manual sampling 12
รูปที่ 2.2 การตั้งอุปกรณ์สำหรับสกัดพาราเบนด้วยเทคนิค DI-SPME 13
รูปที่ 2.3 การตั้งอุปกรณ์สำหรับสกัดพาราเบนด้วยเทคนิค HS-SPME 13
รูปที่ 3.1 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมพาราเบน 50 มิลลิกรัมต่อลิตร 15
รูปที่ 3.2 โครมาโทแกรมของการสกัดพาราเบน 16
รูปที่ 3.3 ผลของอุณหภูมิต่อประสิทธิภาพการสกัดพาราเบนด้วยเทคนิค DI-SPME 17
รูปที่ 3.4 ผลของเวลาในการสกัดต่อประสิทธิภาพการสกัดพาราเบนด้วยเทคนิค DI-SPME 18
รูปที่ 3.5 ผลของชนิดตัวทำละลายในการคายซับต่อประสิทธิภาพการสกัดพาราเบนด้วยเทคนิค DI-SPME 19
รูปที่ 3.6 โครมาโทแกรมของการคายซับพาราเบนด้วยสารละลายชนิดต่าง ๆ 20
รูปที่ 3.7 ผลของเวลาในการคายซับต่อประสิทธิภาพการสกัดพาราเบนด้วยเทคนิค DI-SPME 21
รูปที่ 3.8 กราฟมาตรฐานของสารละลายพาราเบนที่สกัดด้วยเทคนิค DI-SPME 22
รูปที่ 3.9 ผลของการเตรียมสารละลายตัวอย่างต่อประสิทธิภาพการสกัดพาราเบน 24

สัญลักษณ์และคำย่อ

ชื่อเต็ม	คำย่อ
Benzyl paraben	BzP
Butyl paraben	BP
Ethyl paraben	EP
Capillary electrophoresis	CE
Capillary zone electrophoresis	CZE
Direct immersion solid phase microextraction	DI-SPME
Divinylbenzene/carboxen on polydimethylsiloxane	DVB/CAR/PDMS
Gas chromatography	GC
Headspace solid phase microextraction	HS-SPME
High performance liquid chromatography	HPLC
Iso-butyl paraben	iBP
Iso-propyl paraben	iPP
Ion mobility spectrometry	IMS
Methyl paraben	MP
N-propyl paraben	nPP
Propyl paraben	PP
Solid phase extraction	SPE
Solid phase microextraction	SPME
Ultrasonic assisted extraction	UAE

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจ

สารกลุ่มพาราเบน (parabens) มีหมู่เอสเตอร์ของไฮดรอกซีเบนโซอิก (ester of hydroxy-benzoic) ที่มีสมบัติช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา ยีสต์ และแบคทีเรีย พาราเบนจึงนิยมนำมาใช้เป็นสารกันเสียในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น ครีมอาบน้ำ แชมพู ครีมกันแดด เป็นต้น[1] จากงานวิจัยที่ผ่านมา สารกลุ่มนี้มีส่วนเพิ่มอัตราเสี่ยงการเป็นมะเร็งของผู้หญิง โดยเฉพาะมะเร็งเต้านม เนื่องจากร่างกายสามารถดูดซึมพาราเบนเข้าสู่กระแสเลือดได้อย่างรวดเร็ว และเมื่อสารกลุ่มนี้เข้าสู่ร่างกายจะทำงานเหมือนฮอร์โมนเอสโตรเจนที่ร่างกายผลิต ทำให้ระบบสืบพันธุ์ทำงานผิดปกติ[2] ปัจจุบันมีผลิตภัณฑ์หลายชนิดเลือกใช้สารกันเสียชนิดอื่นที่ปลอดภัยกว่ามาแทน เพื่อหลีกเลี่ยงการใช้พาราเบน[3] โดยในประเทศไทยมีกฎหมายในการควบคุมการใช้สารพาราเบนตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข พ.ศ. 2560 กำหนดให้ใช้สารกลุ่มพาราเบนได้ไม่เกิน 0.4% (คำนวณในรูปกรด เมื่อใช้พาราเบนชนิดเดียว) และ 0.8% (คำนวณในรูปกรด เมื่อใช้พาราเบนหลายชนิด)[4] ดังนั้นจึงมีความจำเป็นในการตรวจวัดปริมาณพาราเบนในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เพื่อควบคุมไม่ให้เกินค่าตามที่กฎหมายกำหนด ซึ่งเทคนิคในการตรวจวัดสารกลุ่มพาราเบนมีหลายเทคนิค เช่น แก๊สโครมาโทกราฟี (gas chromatography, GC), ไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี (high performance liquid chromatography, HPLC), และแคพิลลารีอิเล็กโทรโฟรีซีส (capillary electrophoresis, CE) เป็นต้น โดยเทคนิค HPLC เป็นที่นิยมเนื่องจากสามารถตรวจวัดพาราเบนในตัวอย่างต่าง ๆ ได้หลายชนิด[5,6] ซึ่งการเตรียมสารละลายตัวอย่างก่อนวิเคราะห์ HPLC เป็นขั้นตอนที่สำคัญ เนื่องจากสิ่งปนเปื้อนในสารตัวอย่างสามารถทำให้คอลัมน์และระบบอุดตันได้ จึงต้องมีการเตรียมสารละลายตัวอย่างที่เหมาะสมและปราศจากสิ่งปนเปื้อน โดยเทคนิคที่นิยม คือ การสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็ง (solid phase microextraction, SPME) เนื่องจากเป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว ลดขั้นตอนการเตรียมสารละลายตัวอย่าง ลดการสูญเสียสารละลายตัวอย่าง และกำจัดสิ่งปนเปื้อนต่าง ๆ ออกจากสารละลายตัวอย่างได้[7,8]

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจพัฒนาวิธีการสกัดพาราเบนด้วยเทคนิค SPME โดยทำการศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัด ได้แก่ อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการสกัด ตัวทำละลายและเวลาที่ใช้ในการคายซับ เพื่อทำการวิเคราะห์พาราเบนที่สกัดได้ด้วยเทคนิค HPLC โดยในการศึกษานี้ทำการวิเคราะห์พาราเบนทั้งหมด 4 ชนิด ได้แก่ เมทิลพาราเบน (methyl paraben) เอทิลพาราเบน (ethyl paraben) โพรพิลพาราเบน (propyl paraben) และบิวทิลพาราเบน (butyl paraben) รวมถึงการเตรียมตัวอย่างเครื่องสำอางก่อนทำการสกัดหาปริมาณพาราเบนในตัวอย่างด้วยเทคนิค SPME

1.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

มีงานวิจัยที่ศึกษาการวิเคราะห์สารกลุ่มพาราเบนทั้งในตัวอย่างเครื่องสำอาง เช่น แชมพู ครีมบำรุงผิว เป็นต้น และตัวอย่างสิ่งแวดล้อม โดยมีการเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิคที่หลากหลาย เช่น ultrasonic assisted extraction (UAE), solid phase microextraction (SPME) เป็นต้น แล้วทำการวิเคราะห์ปริมาณด้วยเทคนิคทางโครมาโทกราฟี เช่น HPLC, GC-MS เป็นต้น ตารางที่ 1.1 สรุปรายละเอียดของงานวิจัยที่น่าสนใจ โดยเปรียบเทียบเทคนิคการเตรียมตัวอย่าง เทคนิคการวิเคราะห์ ความถูกต้องของวิธี และขีดจำกัดการตรวจวัดของวิธีของงานวิจัยแต่ละงาน

ปี ค.ศ. 2000 Labat และคณะ[9] ทำการสกัดพาราเบน 4 ชนิด โดยใช้เทคนิค ultrasonic assisted extraction (UAE) และเปรียบเทียบเทคนิคในการตรวจวัดด้วยเทคนิค HPLC กับ CZE (capillary zone electrophoresis) พบว่าค่า LOD และ LOQ ของเทคนิค CZE สูงกว่าเทคนิค HPLC และค่าร้อยละการคืนกลับของเทคนิค HPLC อยู่ในช่วงร้อยละ 98 ถึง 105 ส่วนเทคนิค CZE อยู่ในช่วงร้อยละ 92 ถึง 125 ซึ่งสามารถใช้ทั้ง 2 เทคนิคในการตรวจวัดพาราเบนในเครื่องสำอาง แต่มีเพียงเทคนิค HPLC ที่สามารถแยกไอโซเมอร์ของบิวทิลพาราเบนออกจากกันได้

ปี ค.ศ. 2005 Lokhnauth และ Snow[10] ทำการสกัดพาราเบน 4 ชนิด ในผลิตภัณฑ์บำรุงผิว โดยการสกัดด้วยเทคนิค SPME และตรวจวัดด้วยเทคนิคสเปกโทรเมตรีของไอออนที่เคลื่อนที่ (ion mobility spectrometry, IMS) พบว่า เมื่อทำกราฟมาตรฐานแบบ internal standard สามารถใช้เทคนิคนี้วิเคราะห์หาปริมาณพาราเบนได้ใกล้เคียงกับเทคนิค HPLC โดยเทคนิคนี้สามารถลดขั้นตอนและเวลาในการเตรียมสารตัวอย่าง

ปี ค.ศ. 2006 Canosa และคณะ[11] ทำการสกัดพาราเบน 5 ชนิด ในน้ำตัวอย่าง ด้วยเทคนิค SPME และเติมสารอนุพันธ์ N-methyl-N-(tert-butyldimethylsilyl) trifluoroacetamide เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพเส้นใย และทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS/MS พบว่าสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดด้วยเทคนิค SPME และมีค่าร้อยละการคืนกลับอยู่ในช่วงร้อยละ 87 ถึง 114

ปี ค.ศ. 2008 Tsai และ Lee[12] ทำการสกัดพาราเบน 6 ชนิด ในครีมตัวอย่าง ด้วยเทคนิค SPME และทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS พบว่าค่าร้อยละการคืนกลับอยู่ในช่วงร้อยละ 83 ถึง 98 ซึ่งสามารถใช้เทคนิคนี้ในการวิเคราะห์ปริมาณพาราเบนในเครื่องสำอางได้

ปี ค.ศ. 2009 Núnez และคณะ[13] ทำการสกัดพาราเบน 5 ชนิด ในตัวอย่างของแข็งจากสิ่งแวดล้อมด้วยวิธี UAE ร่วมกับวิธี SPE โดยใช้พอลิเมอร์ที่มีรอยพิมพ์ประทับโมเลกุล (molecularly imprinted polymer, MIP) เป็นตัวดูดซับ และทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC-UV พบว่าค่าร้อยละการคืนกลับอยู่ในช่วงร้อยละ 80 ถึง 90

ปี ค.ศ. 2012 Imamovic และคณะ[14] ทำการตรวจหาพาราเบนทั้ง 3 ชนิด ในครีมกันแดด โดยเตรียมตัวอย่างด้วยวิธียูวีฟิลเตอร์ (UV filters) และทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC พบว่าสามารถใช้เทคนิคนี้ในการวิเคราะห์ปริมาณพาราเบนในเครื่องสำอางและตัวอย่างที่นำมาตรวจวัดมีพาราเบนอยู่ในปริมาณที่กฎหมายกำหนด

ตารางที่ 1.1 ตัวอย่างงานวิจัยที่วิเคราะห์สารกลุ่มพาราเบนในเครื่องสำอางและสิ่งแวดล้อม

เรื่อง	พาราเบนที่วิเคราะห์[a]	ชนิดตัวอย่าง	การเตรียมตัวอย่าง[b]	การวิเคราะห์	%recovery	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)	ปี ค.ศ.	อ้างอิง
1	MP, EP, PP, BP	แชมพู โฟมล้างหน้า	UAE	HPLC	98-105 %	20-50	-	2000	Labat และ คณะ[9]
	MP, EP, PP, BP	แชมพู โฟมล้างหน้า	UAE	CZE	92-125 %	160-210	-	2000	Labat และ คณะ[9]
2	MP, EP, PP, BP	ผลิตภัณฑ์บำรุงผิว	SPME	IMS	-	5-10	15-30	2005	Lokhnauth และ Snow[10]
3	MP, EP, PP, BP, BzP	น้ำตัวอย่าง	SPME	GC-MS/MS	87-114 %	0.29	0.001-0.025	2006	Canosa และ คณะ[11]
4	MP, EP, PP, iPP, BP, iBP	โลชั่น และครีม บำรุงผิว	SPME	GC-MS	83-98 %	0.4-8.5	-	2008	Tsai และ Lee[12]
5	MP, EP, iPP, nPP, BP, BzP	ของแข็งจาก สิ่งแวดล้อม	UAE ร่วมกับ SPE	HPLC-UV	80-90 %	0.16-0.27 (ng/g)	0.53-0.89 (ng/g)	2009	Núnez และ คณะ[13]
6	MP, EP, PP	ครีมกันแดด	UV-filters	HPLC	-	9-35	31-203	2012	Imamovic และคณะ[14]

[a]ตัวย่อแทนสารประกอบพาราเบน: MP = methyl paraben, EP = ethyl paraben, PP = propyl paraben, BP = butyl paraben, BzP = benzyl paraben, iPP = iso-propyl paraben, nPP = *N*-propyl paraben, iBP = iso-butyl paraben

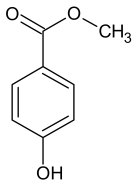
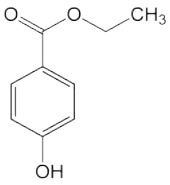
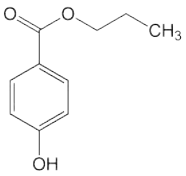
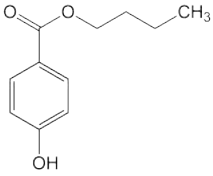
[b]เทคนิคการเตรียมตัวอย่าง: UAE = Ultrasonic assisted extraction, SPME = Solid phase microextraction, SPE = Solid phase extraction

1.3 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

1.3.1 สารกันเสียในเครื่องสำอาง (preservative)

สารกันเสียในเครื่องสำอาง เป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ แบคทีเรีย เชื้อรา และเชื้อยีสต์ เพื่อป้องกันไม่ให้เครื่องสำอางเสียง่าย โดยสารกันเสียที่นิยมนำมาใช้สำหรับเครื่องสำอาง คือ สารกลุ่มพาราเบน (parabens) ได้แก่ เมทิลพาราเบน เอทิลพาราเบน โพรพิลพาราเบน และบิวทิลพาราเบน สมบัติทางกายภาพและทางเคมีของสารกลุ่มพาราเบนแสดงดังตารางที่ 1.2

ตารางที่ 1.2 สมบัติทางกายภาพและทางเคมีของสารกลุ่มพาราเบน[15-20]

ชื่อสารเคมี	เมทิลพาราเบน	เอทิลพาราเบน	โพรพิลพาราเบน	บิวทิลพาราเบน
	methyl paraben	ethyl paraben	propyl paraben	butyl paraben
สูตรโครงสร้าง				
สูตรโมเลกุล	$C_8H_8O_3$	$C_9H_{10}O_3$	$C_{10}H_{11}O_3$	$C_{11}H_{12}O_3$
ลักษณะทางกายภาพ	ผงผลึก สีขาว ไม่มีกลิ่น	ผงผลึก สีขาว ไม่มีกลิ่น	ผงผลึก สีขาว ไม่มีกลิ่น	เม็ดของแข็ง สีขาว ไม่มีกลิ่น
จุดเดือด (°C)	280	297-298	294	309
จุดหลอมเหลว (°C)	125-128	116-118	95-99	67-71
มวลโมเลกุล (g/mol)	152.15	166.18	180.20	194.23
pKa	8.31	8.31	8.23	8.22
ความหนาแน่น (g/mL)	1.38	1.2	1.06	1.1
การละลายน้ำ	น้อย	น้อย	น้อย	น้อย
การละลายในตัวทำละลายอินทรีย์	ละลายได้ดีใน เมทานอล อะซิโตน	ละลายได้ดีใน เมทานอล อะซิโตน	ละลายได้ดีใน เมทานอล อะซิโตน	ละลายได้ดีใน เมทานอล อะซิโตน

1.3.2 เทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี (HPLC)

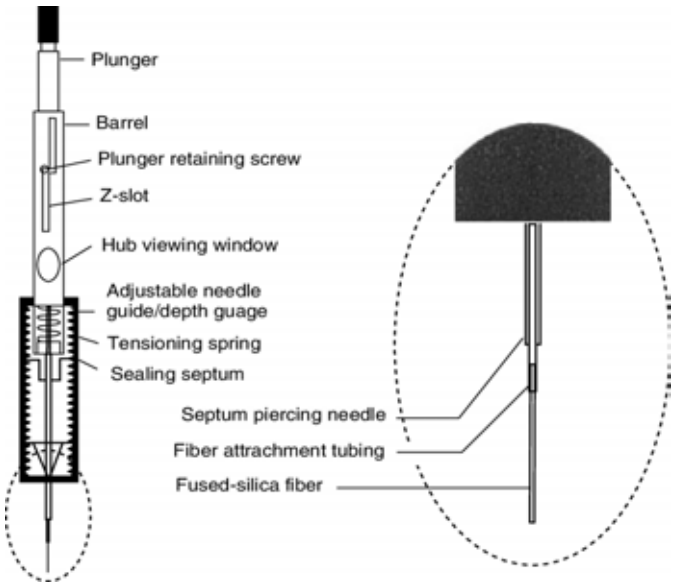
เทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี เป็นเครื่องมือที่ใช้สำหรับวิเคราะห์กลุ่มของสารประกอบอินทรีย์ที่ไม่ระเหย (non-volatile organic compounds) หรือกลุ่มสารประกอบอินทรีย์ที่สามารถระเหยได้ปานกลาง (semi-volatile organic compounds) เป็นเทคนิคที่ใช้แยกองค์ประกอบของสารผสม โดยอาศัยความแตกต่างของอัตราการเคลื่อนที่ของแต่ละองค์ประกอบของสารผสมบนวัฏภาคนิ่ง (stationary phase) ภายใต้การพาของวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) เมื่อสารที่ต้องการวิเคราะห์ผ่านเข้าสู่เครื่อง

HPLC สารดังกล่าวจะถูกพาเข้าสู่คอลัมน์ที่บรรจุด้วยวัฏภาคนิ่งโดยตัวทำละลายอินทรีย์ผสม ซึ่งคือวัฏภาคเคลื่อนที่ เพื่อให้เกิดการแยกสาร (separation) โดยอาศัยอันตรกิริยา (interaction) ระหว่างของแข็งที่อยู่ภายในคอลัมน์และความสามารถในการละลายของสารผสม โดยการใช้วัฏภาคนิ่งที่มีสภาพขั้วสูงกว่าวัฏภาคเคลื่อนที่ เพื่อแยกสารที่มีสภาพขั้วสูงออกจากกัน เรียกว่า “โครมาโทกราฟีแบบปกติ” หรือ “normal phase chromatography”และในทางกลับกัน หากใช้วัฏภาคนิ่งที่มีสภาพขั้วต่ำกว่าวัฏภาคเคลื่อนที่ เพื่อแยกสารที่มีสภาพขั้วต่ำออกจากกัน เรียกว่า “โครมาโทกราฟีแบบผันกลับ” หรือ “reversed phase chromatography” โดยสารที่ถูกแยกออกมาได้นี้จะถูกตรวจวัดสัญญาณด้วยตัวตรวจวัดสัญญาณ (detector) และสัญญาณที่บันทึกได้จากตัวตรวจวัดจะมีลักษณะเป็นพีค เรียกว่า โครมาโทแกรม (chromatogram)[21,22]

ทั้งนี้ตัวอย่างที่จะนำมาวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง HPLC จะต้องพิจารณาถึงความสามารถในการละลายของสารที่ต้องการวิเคราะห์กับตัวทำละลายอินทรีย์ผสมที่ใช้ก่อน เพื่อป้องกันการไม่ละลายเข้าด้วยกัน หรือการตกตะกอนของตัวทำละลายผสม และไม่ให้เกิดการอุดตันในระบบ รวมถึงพิจารณาค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของตัวทำละลายอินทรีย์ด้วย[23]

1.3.3 การสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็ง (SPME)

การสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็ง เป็นเทคนิคในการเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์สารในระดับปริมาณน้อย (trace analysis) ซึ่งมีกระบวนการสำคัญ คือ การสกัด (extraction) การเพิ่มความเข้มข้น (preconcentration) และการกำจัดสิ่งรบกวนออกจากตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์ (clean up)[24] โดยอุปกรณ์สำหรับเทคนิค SPME แสดงดังรูปที่ 1.1 ซึ่งประกอบด้วยด้ามจับที่มีลูกสูบอยู่ด้านบน (plunger) เมื่อกดด้ามของ SPME ลงมาตามแนวตัวซี (Z-plot) สามารถล็อกลูกสูบที่กดลงมาด้วยสกรู (plunger retaining screw) และทำให้เส้นใย SPME (fused-silica fiber) โผล่ออกมาจากปลายเข็ม (septum piercing needle) ซึ่งสามารถปรับความยาวของเข็มโดยการปรับตัวปรับระยะ (adjustable depth gauge)

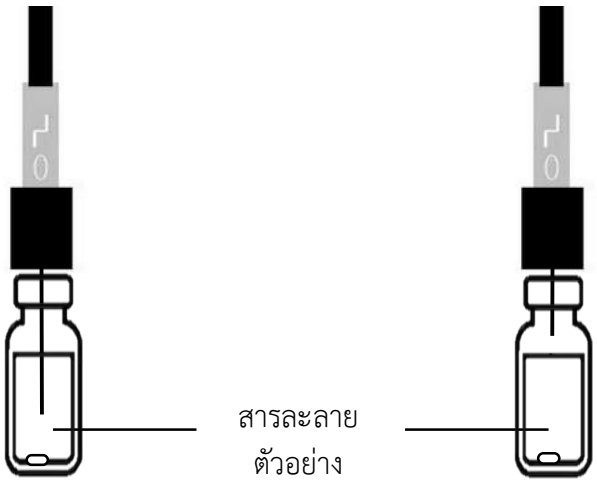


รูปที่ 1.1 อุปกรณ์สำหรับเทคนิค SPME

การเลือกประเภทของ SPME ให้เหมาะสมกับการใช้งานจะต้องพิจารณาสมบัติทางกายภาพกับสมบัติทางเคมีของสารที่สนใจวิเคราะห์ (analytes) และองค์ประกอบของเมทริกซ์ (matrix) โดยลักษณะการใช้งานแบ่งเป็น 2 ประเภท คือ การสกัดแบบโดยตรง (direct immersion) และการสกัดแบบเฮดสเปซ (headspace)

1.3.3.1 รูปแบบของการสกัด

รูปแบบของการสกัดด้วยเทคนิค SPME มี 2 รูปแบบคือ การสกัดแบบโดยตรง และการสกัดแบบเฮดสเปซ ดังแสดงในรูปที่ 1.2



รูปที่ 1.2 การสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็ง (ก) แบบโดยตรง และ (ข) แบบเฮดสเปซ

(ก) การสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบโดยตรง (direct immersion solid phase microextraction, DI-SPME)

การสกัดแบบโดยตรงเป็นการให้ SPME ไฟเบอร์ สกัดสารโดยตรงจากสารละลายตัวอย่าง (รูปที่ 1.2 (ก)) โดยอาศัยการแพร่ของสารที่สนใจวิเคราะห์ จากตัวอย่างที่มีความเข้มข้นสูงสู่วัฏภาคของแข็งที่มีความเข้มข้นต่ำ จนการแพร่เข้าสู่สภาวะสมดุล เหมาะสำหรับสารที่ระเหยกลายเป็นไอได้ต่ำจนถึงปานกลาง และสารที่มีขั้วปานกลางถึงสูง โดยส่วนใหญ่เทคนิค DI-SPME จะมีประสิทธิภาพการสกัดสูงกว่าเทคนิค HS-SPME

(ข) การสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบเฮดสเปซ (headspace solid phase microextraction, HS-SPME)

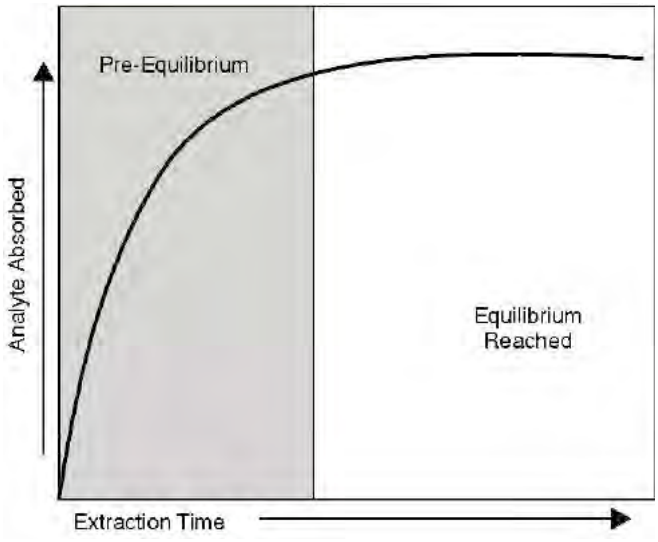
การสกัดแบบเฮดสเปซเป็นการให้ SPME ไฟเบอร์ สกัดสารที่บริเวณเฮดสเปซ โดยสารที่ต้องการวิเคราะห์จะเป็นสารที่ระเหยกลายเป็นไอได้ง่าย (volatile compound) โดยหลักการสกัดคือสารที่สนใจวิเคราะห์จากสารตัวอย่างจะระเหยและแพร่ไปยังบริเวณเฮดสเปซ หลังจากนั้นสารที่สนใจวิเคราะห์จะแพร่ไป

ยังวัฏภาคของแข็ง โดยการแพร่ของสารจะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งเข้าสู่สภาวะสมดุล โดยเทคนิค HS-SPME มีความสะอาดมากกว่าเทคนิค DI-SPME เนื่องจากเส้นใยไม่ได้สัมผัสกับเมทริกซ์ในสารตัวอย่างโดยตรง และจะดูดซับสารที่กลายเป็นไอในบริเวณเฮดสเปซเท่านั้น นอกจากนี้เทคนิค HS-SPME ยังเหมาะสำหรับตัวอย่างที่เป็นแข็งและเมทริกซ์ที่สกปรกมาก[25]

1.3.3.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็ง

(ก) เวลาในการสกัด

เวลาในการสกัดเป็นปัจจัยที่สำคัญมากสำหรับเทคนิค SPME โดยเวลาในการสกัดที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของการวิเคราะห์ กล่าวคือ หากต้องการการวิเคราะห์ที่รวดเร็วให้เลือกเวลาในการสกัดที่สั้นที่สุดและอยู่ในช่วงก่อนถึงจุดสมดุล (pre-equilibrium) ดังแสดงในรูปที่ 1.3 ในกรณีนี้ต้องควบคุมเวลาในการสกัดให้เท่ากันในแต่ละตัวอย่าง แต่ถ้าต้องการความไวของการวิเคราะห์ (sensitivity) ควรเลือกเวลาในการสกัดที่เข้าสู่สภาวะสมดุลและสารที่สนใจวิเคราะห์แพร่เข้าสู่เส้นใยจนคงที่แล้ว นอกจากนี้ยังสามารถปรับสมดุลให้มีประสิทธิภาพในการสกัดสูงขึ้นโดยการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ionic strength และ pH



รูปที่ 1.3 ความสัมพันธ์ของเวลาในการสกัดเพื่อวิเคราะห์การดูดซับบนเส้นใย

(ข) อุณหภูมิในการสกัด

การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด จะช่วยเร่งจลนศาสตร์การสกัด (extraction kinetics) และเพิ่มอัตราการแพร่ (diffusion rate) ซึ่งจะส่งผลเพิ่มการถ่ายเทมวลของสารที่ต้องการสกัดไปสู่ตัวทำละลาย ทำให้อัตราเร็วในการสกัดเพิ่มขึ้น ในทางตรงกันข้ามเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น สารอื่นที่ไม่ต้องการจะถูกสกัดออกมาด้วย ส่งผลให้ความจำเพาะในการสกัดลดลง นอกจากนี้อุณหภูมิที่สูงขึ้นจะลดค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัวและลดการสกัดสารที่สนใจวิเคราะห์ที่จุดสมดุล

(ค) การเจือจางสารละลายตัวอย่าง

การเจือจางสารละลายตัวอย่างสามารถช่วยในการแยกสารที่ต้องการวิเคราะห์ออกจากเมทริกซ์ เพิ่มการสกัดและความไวของวิธี (sensitivity) ลดการปนเปื้อนของสารเคลือบเส้นใย และยืดอายุการใช้งานของเส้นใยเมื่อทำการสกัดด้วยการแช่โดยตรง นอกจากนี้ยังช่วยหลีกเลี่ยงความอิ่มตัวของสารดูดซับที่เคลือบอยู่บนผิวของเส้นใย โดยเฉพาะตัวอย่างที่มีเมทริกซ์ที่ซับซ้อน อย่างไรก็ตามต้องหลีกเลี่ยงการเจือจางที่มากเกินไป เนื่องจากทำให้ขีดจำกัดในการตรวจวัด (limit of detection) มีค่าเพิ่มขึ้นหรือทำให้ความไวของการวิเคราะห์ลดน้อยลง

(ง) การกวนสารละลาย

การกวนหรือการคนสารละลายตัวอย่าง จะช่วยเพิ่มการถ่ายโอนมวลระหว่างสารตัวอย่างกับสารที่เคลือบบนเส้นใย ซึ่งทำให้เวลาในการสกัดสั้นลง และเพิ่มความไวในช่วงก่อนถึงจุดสมดุลให้มากขึ้น วิธีการกวนสารละลายแต่ละวิธีมีข้อดีและข้อเสียแตกต่างกัน ดังตารางที่ 1.3

ตารางที่ 1.3 ข้อดีและข้อเสียของวิธีการกวนสารละลายวิธีต่าง ๆ

วิธีการกวนสารละลาย	ข้อดี	ข้อเสีย
Magnetic stirring	อุปกรณ์ไม่ซับซ้อน	1) ทำให้ขวดบรรจุสารเกิดความร้อน 2) ต้องใส่แท่งแม่เหล็กคนสารลงในตัวอย่าง
Needle vibration	วิเคราะห์สารในปริมาณน้อยได้ (ระดับ ppb)	1) ทำให้เกิดความเครียดบนเข็ม 2) ใช้ได้กับปริมาณตัวอย่างที่ค่อนข้างเล็กเท่านั้น
Vortex stirring	วิเคราะห์สารในปริมาณน้อยได้ (ระดับ ppb)	-

(จ) ค่า pH ของสารละลาย

ความไว (sensitivity) ของการสกัดด้วยเทคนิค SPME ขึ้นอยู่กับความเข้ากันของสภาพขั้วของเส้นใย SPME และสารที่สนใจวิเคราะห์ ดังนั้นการปรับค่า pH สามารถปรับปรุงความไวของวิธีการสกัดสำหรับสารประกอบที่เป็นกรดหรือเบสได้ เมื่อทำการสกัดสารที่เป็นกรด ให้เลือก pH ที่น้อยกว่า pKa (ลบสองหน่วยหรือน้อยกว่า) และเมื่อทำการสกัดสารที่เป็นเบส ให้เลือก pH ที่มากกว่า pKa (บวกสองหน่วยหรือมากกว่า) ซึ่งการทำการสกัดแบบ HS-SPME สามารถปรับค่า pH ได้ในทุกช่วง โดยไม่ทำลายเส้นใย แต่หากทำการสกัดแบบ DI-SPME ต้องระมัดระวังการปรับค่า pH ในระดับที่ต่ำและสูงเกินไป ซึ่งอาจทำลายเส้นใยได้ โดยช่วง pH ที่เหมาะสมสำหรับเส้นใย SPME แต่ละชนิด แสดงดังตารางที่ 1.4

ตารางที่ 1.4 ช่วง pH ที่เหมาะสมสำหรับเส้นใย SPME แต่ละชนิด[26]

เส้นใย SPME	ความหนา	pH
PDMS	100 μm	2-10
PDMS	30 μm	2-11
PDMS	7 μm	2-11
PDMS/DVB	65 μm	2-11
Polyacrylate	85 μm	2-11
Carboxen/PDMS	all	2-11
PEG	60 μm	2-9
DVB/CAR/PDMS	50/30 μm	2-11

1.4 วัตถุประสงค์และขอบเขตการวิจัย

1. ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการการสกัดพาราเบน ด้วยเทคนิค SPME
2. วิเคราะห์หาปริมาณพาราเบนในตัวอย่างเครื่องสำอางด้วยเทคนิค SPME และทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้วิธีการตรวจวัดพาราเบนในตัวอย่างเครื่องสำอางโดยเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิค SPME และทำการตรวจวัดด้วยเทคนิค HPLC

บทที่ 2
การทดลอง

2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่อง HPLC ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1260 Infinity II ตรวจวัดด้วย UV-visible detector
2. เครื่องชั่งสาร
3 เครื่องให้ความร้อน (hot plate stirrer)
4. เครื่องปั่นเหวี่ยง
5. ไมโครปิเปต
6. ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร
7. เทอร์โมมิเตอร์
8. ขวดสีชาสำหรับสกัดขนาด 30 มิลลิลิตร
9. SPME fiber ชนิด divinylbenzene/carboxen on polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS) เคลือบหนา 50/30 ไมโครเมตร
10. SPME holder
11. filter nylon membrane 0.45 ไมโครเมตรขนาด 47 มิลลิเมตร
12. syringe filter กรองสารที่สกัด
13. magnetic stirrer bar
14. ไมโครทิป

2.2 สารเคมี

1. เมทิลพาราเบน (methyl paraben, Alfa Aesar, United States)
2. เอทิลพาราเบน (ethyl paraben, Alfa Aesar, United States)
3. โพรพิลพาราเบน (propyl paraben, Alfa Aesar, United States)
4. บิวทิลพาราเบน (butyl paraben, Alfa Aesar, United States)
5. เมทานอล (methanol HPLC grade, RCL labscan, Thailand)
6. เอทานอล (ethanol, Merck, Germany)
7. อะซิโตไนไตรล์ (acetonitrile HPLC grade, RCL labscan, Thailand)
8. อะซิโตน (acetone, Merck, Germany)
9. น้ำบริสุทธิ์ Milli-Q

2.3 วิธีการทดลอง

2.3.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

2.3.1.1 สารละลายมาตรฐานผสมพาราเบนเข้มข้น

เตรียมสารละลายมาตรฐานผสมพาราเบนเข้มข้น (stock solution) ที่ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยชั่งเมทิลพาราเบน เอทิลพาราเบน โพรพิลพาราเบน และบิวทิลพาราเบน อย่างละ 0.05 กรัม ละลายด้วยเมทานอลในขวดกำหนดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร

2.3.1.2 สารละลายมาตรฐานผสมพาราเบนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

เตรียมสารละลายมาตรฐานผสมพาราเบนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ดังตารางที่ 2.1 สำหรับสร้างกราฟมาตรฐานที่ความเข้มข้น 20, 40, 60, 80 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

สารละลายมาตรฐาน	ความเข้มข้นของสารละลายพาราเบน (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ปริมาตร stock solution (มิลลิลิตร)	ปริมาตรรวม (มิลลิลิตร)
1	20	0.20	10.00
2	40	0.40	10.00
3	60	0.60	10.00
4	80	0.80	10.00
5	100	1.00	10.00

2.3.1.3 สารละลายมาตรฐานผสมพาราเบนสำหรับการสกัดด้วย SPME

เตรียมสารละลายมาตรฐานผสมพาราเบนเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดด้วยเทคนิค SPME โดยปิเปตสารละลายมาตรฐานผสมพาราเบนเข้มข้น (stock solution) 2.50 มิลลิลิตร ลงในขวดกำหนดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร ด้วยเมทานอล

2.3.2 การวิเคราะห์พาราเบนด้วยเทคนิค HPLC

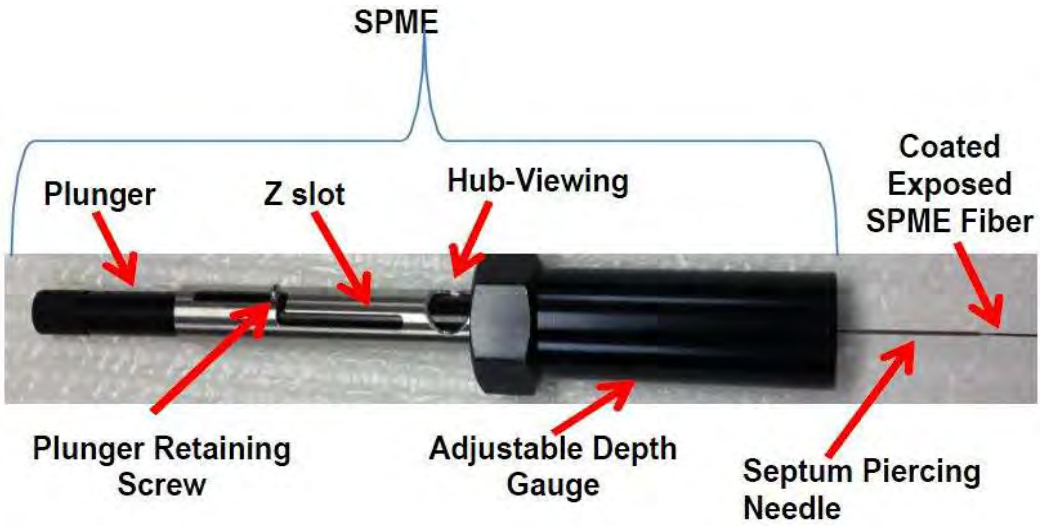
ภาวะสำหรับการวิเคราะห์พาราเบน 4 ชนิด ได้แก่ เมทิลพาราเบน เอทิลพาราเบน โพรพิลพาราเบน และบิวทิลพาราเบน ด้วยเทคนิค HPLC แสดง ดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ภาวะสำหรับการวิเคราะห์พาราเบน 4 ชนิด ด้วยเทคนิค HPLC

Column	C18 Zorbax Eclipese XDB (4.6 มิลลิเมตร x 250 มิลลิเมตร i.d.), particle size 5 ไมโครเมตร
Column temperature	30 องศาเซลเซียส
Mobile phase	น้ำ:เมทานอล (35:65), Isocratic mode
Flow rate	1.0 มิลลิลิตรต่อนาที
Injection volume	10 ไมโครลิตร
เวลาในการวิเคราะห์สาร	7 นาที
Detector	UV-visible ที่ความยาวคลื่น 256 นาโนเมตร

2.3.3 การสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็ง (SPME)

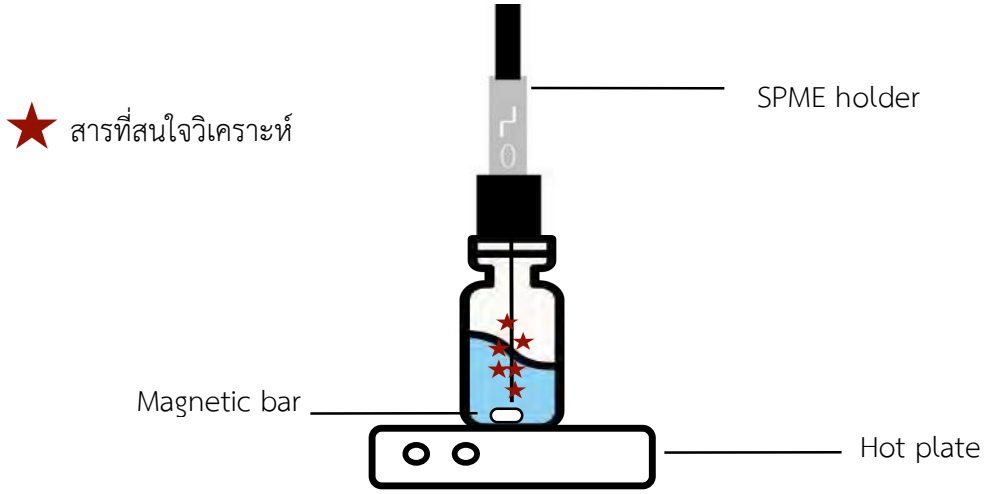
การสกัดด้วยเทคนิค SPME ในงานวิจัยนี้ใช้ SPME holder แบบ manual sampling (Supelco, USA) ดังรูปที่ 2.1 และ SPME fiber ชนิด divinylbenzene/carboxen on polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS) เคลือบหนา 50/30 ไมโครเมตร



รูปที่ 2.1 SPME holder แบบ manual sampling[27]

2.3.3.1 การสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบโดยตรง (DI-SPME)

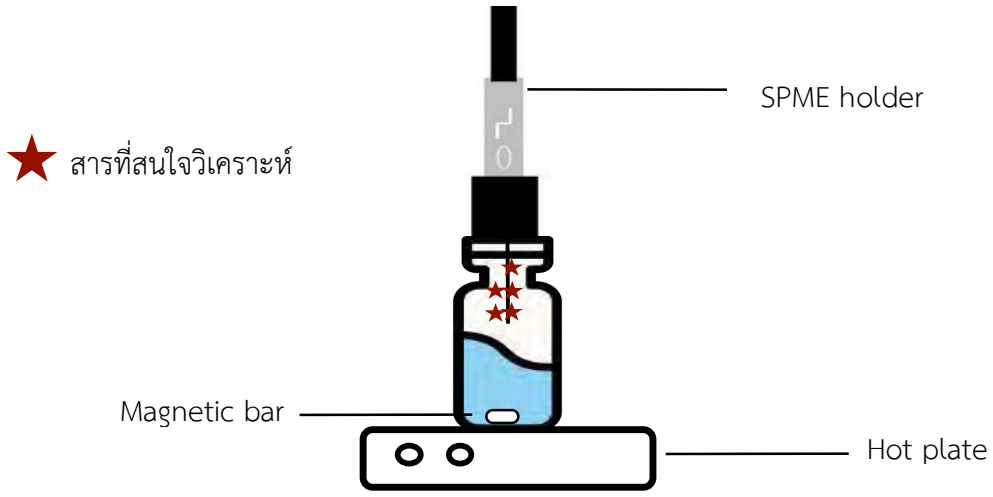
ปิเปตสารละลายพาราเบนปริมาตร 15 มิลลิลิตร ลงในขวดสีชา และใส่ magnetic stirrer bar ลงไป จัดตั้งอุปกรณ์ ดังรูปที่ 2.2 ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และสกัดสารด้วย SPME fiber เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นทำการคายซับสารออกจาก SPME fiber โดยแช่ SPME fiber ในเมทานอล ปริมาตร 200 ไมโครลิตร เป็นเวลา 30 นาที นำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC



รูปที่ 2.2 การตั้งอุปกรณ์สำหรับสกัดพาราเบนด้วยเทคนิค DI-SPME

2.3.3.2 การสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบเฮดสเปซ (HS-SPME)

ปิเปตสารละลายพาราเบนปริมาตร 15 มิลลิลิตร ลงในขวดสีชา และใส่ magnetic stirrer bar ลงไป โดยจัดตั้งอุปกรณ์ ดังรูป 2.3 ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และสกัดสารด้วย SPME fiber เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นทำการคายซับสารออกจาก SPME fiber โดยแช่ SPME fiber ในเมทานอล ปริมาตร 200 ไมโครลิตร เป็นเวลา 30 นาที และนำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC



รูปที่ 2.3 การตั้งอุปกรณ์สำหรับสกัดพาราเบนด้วยเทคนิค HS-SPME

2.3.4 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบโดยตรง

ในการศึกษาปัจจัยที่มีที่มีผลต่อการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบโดยตรง ใช้สารละลายมาตรฐานพาราเบนความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นสารละลายตัวอย่างสำหรับการสกัด

2.3.4.1 อุณหภูมิในการสกัด

ทำการสกัดสารละลายมาตรฐานพาราเบนปริมาตร 15 มิลลิลิตร ตามวิธีการทดลองข้อ 2.3.3.1 โดยทำการสกัดที่อุณหภูมิต่าง ๆ ได้แก่ อุณหภูมิห้อง, 40, 50 และ 60 องศาเซลเซียส

2.3.4.2 เวลาในการสกัด

ทำการสกัดสารละลายมาตรฐานพาราเบนปริมาตร 15 มิลลิลิตร ตามวิธีการทดลองข้อ 2.3.3.1 โดยทำการสกัดที่เวลาต่าง ๆ ได้แก่ 10, 20, 30, 40 และ 50 นาที

2.3.4.3 ชนิดของตัวทำละลายในการคายซับ

ทำการสกัดสารละลายมาตรฐานพาราเบนเข้มข้นปริมาตร 15 มิลลิลิตร ตามวิธีการทดลองข้อ 2.3.3.1 โดยทำการคายซับด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ ได้แก่ เมทานอล เอทานอล อะซิโตน อะซิโตไนไตรล์ และเมทานอลต่ออะซิโตน (อัตราส่วน 1:1)

2.3.4.4 เวลาในการคายซับ

ทำการสกัดสารละลายมาตรฐานพาราเบนปริมาตร 15 มิลลิลิตร ตามวิธีการทดลองข้อ 2.3.3.1 โดยทำการคายซับที่เวลาต่าง ๆ ได้แก่ 10, 20, 30, 40 และ 50 นาที

2.3.5 การเตรียมสารตัวอย่างก่อนการสกัดด้วยเทคนิค DI-SPME

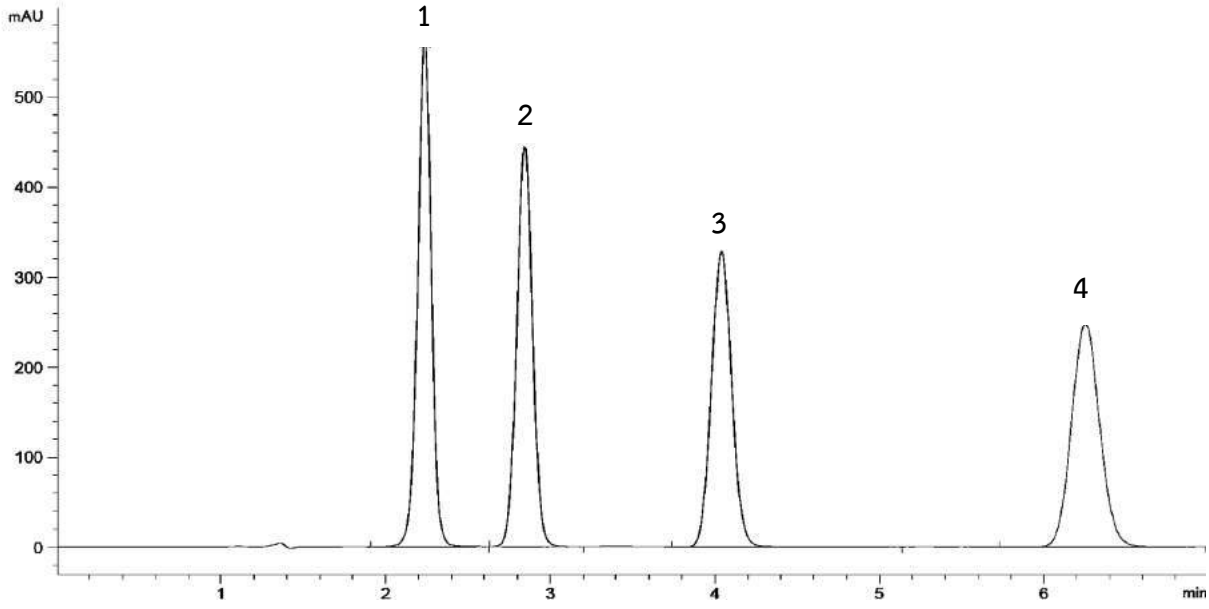
นำสารตัวอย่างเครื่องสำอางมาเตรียมตัวอย่างเบื้องต้นโดยการเจือจาง ปั่นเหวี่ยงและให้ความร้อน โดยในงานวิจัยนี้ใช้ผลิตภัณฑ์ประเภทครีมบำรุงผิวเป็นตัวอย่างของการวิเคราะห์ โดยเปรียบเทียบการเตรียมตัวอย่างที่แตกต่างกัน 2 วิธี ดังนี้

<u>วิธีที่ 1</u> ชั่งสารตัวอย่าง 0.5 กรัม ละลายด้วยเมทานอล 10 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง จากนั้นเขย่าด้วยเครื่องวอร์เท็กซ์เป็นเวลา 5 นาที และปั่นเหวี่ยงเป็นเวลา 10 นาที โดยใช้ความเร็ว 4,000 รอบ/นาที นำสารละลายส่วนใสมาทำการสกัดสารด้วยเทคนิค DI-SPME ตามวิธีการทดลองข้อ 2.3.3.1

<u>วิธีที่ 2</u> ชั่งสารตัวอย่าง 0.5 กรัม ละลายด้วยเมทานอล 10 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง จากนั้นเขย่าด้วยเครื่องวอร์เท็กซ์เป็นเวลา 5 นาที และปั่นเหวี่ยงเป็นเวลา 10 นาที โดยใช้ความเร็ว 4,000 รอบ/นาที นำสารละลายส่วนใสไปแช่ในอ่างน้ำร้อน อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที นำสารละลายมาทำการสกัดสารด้วยเทคนิค DI-SPME ตามวิธีการทดลองข้อ 2.3.3.1

บทที่ 3
ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

3.1 การวิเคราะห์พาราเบน ด้วยเทคนิค HPLC

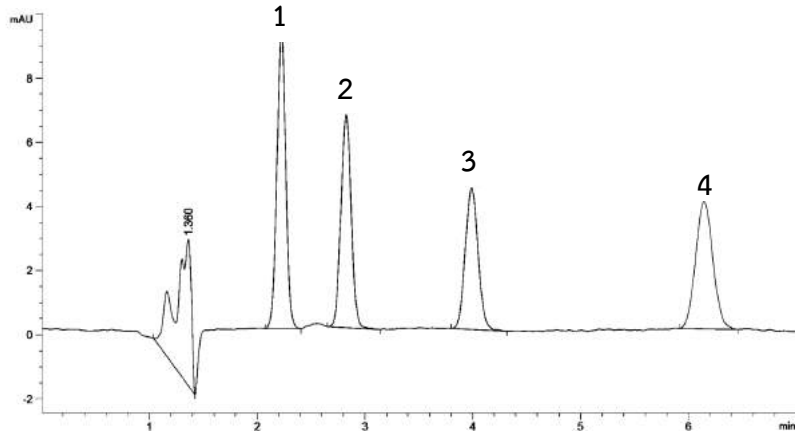


รูปที่ 3.1 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมพาราเบน 50 มิลลิกรัมต่อลิตร (พีคในโครมาโทแกรม : (1) เมทิลพาราเบน, (2) เอทิลพาราเบน, (3) โพรพิลพาราเบน, (4) บิวทิลพาราเบน)

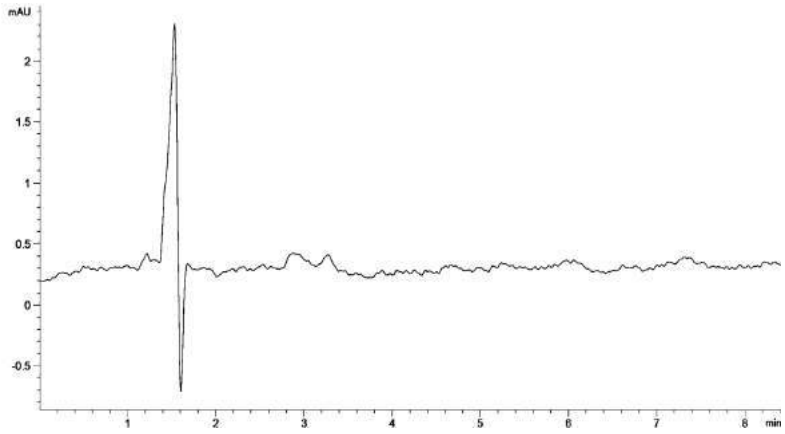
จากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานผสมพาราเบน ที่ประกอบด้วย เมทิลพาราเบน เอทิลพาราเบน โพรพิลพาราเบน และบิวทิลพาราเบน ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยเทคนิค HPLC-UV โดยใช้ภาวะการวิเคราะห์ดังตารางที่ 2.2 ได้โครมาโทแกรมดังรูปที่ 3.1 โดยใช้เวลาในการวิเคราะห์ 7 นาที ลำดับพีคของสารที่แยกออกมาคือ เมทิลพาราเบน เอทิลพาราเบน โพรพิลพาราเบน และบิวทิลพาราเบน ที่เวลา 2.24, 2.84, 4.04 และ 6.25 นาที ตามลำดับ เนื่องจากเทคนิค HPLC ที่ใช้ในการวิเคราะห์เป็นแบบผันกลับ (reversed phase chromatography) ทำให้สารที่มีขั้วสูงแยกออกมาก่อน โดยลำดับความมีขั้วของสารเรียงจากมากไปน้อยได้ ดังนี้ เมทิลพาราเบน เอทิลพาราเบน โพรพิลพาราเบน และบิวทิลพาราเบน

3.2 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการสกัดพาราเบนด้วยเทคนิค DI-SPME และ HS-SPME

(ก) DI-SPME



(ข) HS-SPME

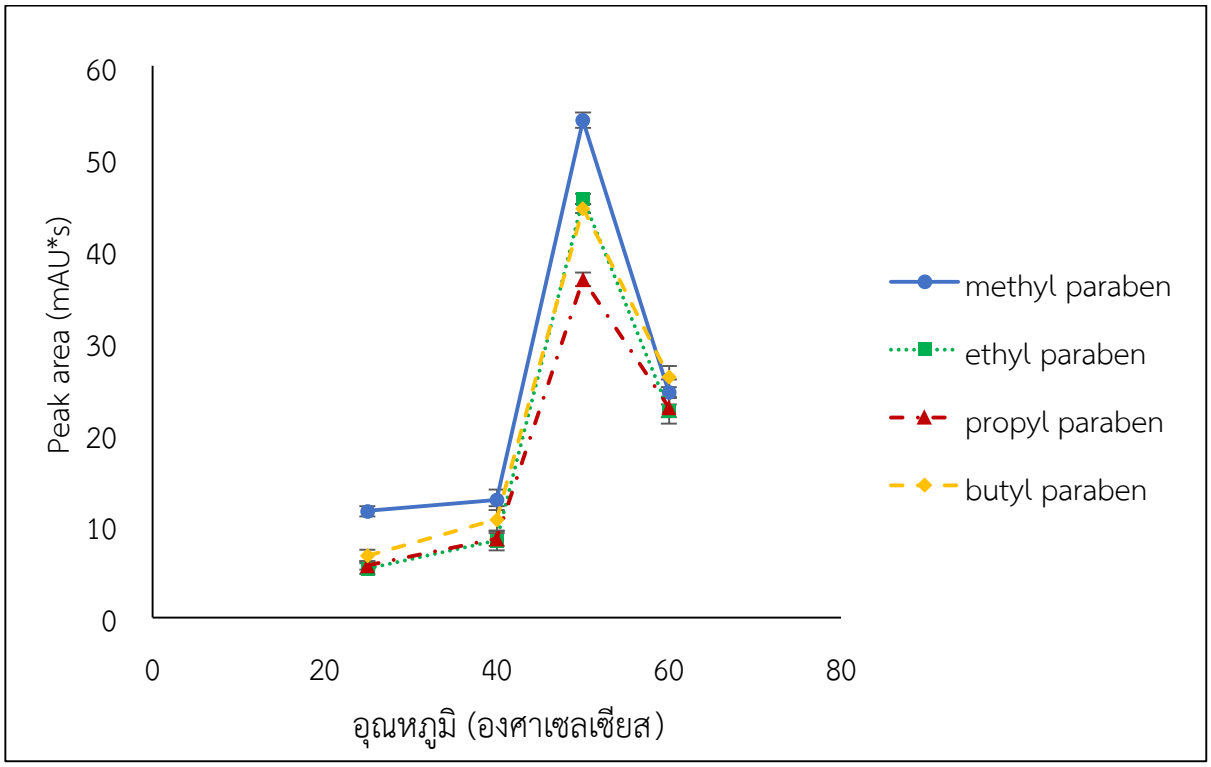


รูปที่ 3.2 โครมาโทแกรมของการสกัดพาราเบนด้วย (ก วิธี (DI-SPME และ (ข วิธี (HS-SPME
(พีคในโครมาโทแกรม : (1) เมทิลพาราเบน, (2) เอทิลพาราเบน, (3) โพรพิลพาราเบน, (4) บิวทิลพาราเบน)

รูปที่ 3.2 เป็นโครมาโทแกรมจากการสกัดสารละลายมาตรฐานผสมพาราเบน ด้วยเทคนิค DI-SPME กับเทคนิค HS-SPME โดยใช้ภาวะในการสกัดตามวิธีการทดลองข้อ 2.3.3.1 และ 2.3.3.2 พบว่าการสกัดด้วยเทคนิค DI-SPME ปรากฏพีคของพาราเบนทั้ง 4 ชนิด ในขณะที่การสกัดด้วยเทคนิค HS-SPME ไม่ปรากฏสัญญาณของพาราเบนทั้ง 4 ชนิด ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารที่สนใจเป็นสารประกอบที่มีขั้วและระเหยกลายเป็นไอได้ยาก (non-volatile compound) โดยจุดเดือดของพาราเบนทั้ง 4 ชนิดมีค่ามากกว่า 280 องศาเซลเซียส ทำให้ไม่สามารถระเหยขึ้นไปบริเวณเฮดสเปซและดูดซับบนเส้นใยของ SPME ได้ จึงไม่พบพีคของพาราเบนทั้ง 4 ชนิดจากการสกัดด้วยเทคนิค HS-SPME ดังนั้นการสกัดด้วยเทคนิค DI-SPME มีประสิทธิภาพในการสกัดมากกว่าเทคนิค HS-SPME ผู้วิจัยจึงทำการศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัดด้วยเทคนิค DI-SPME ต่อไป

3.3 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบโดยตรง

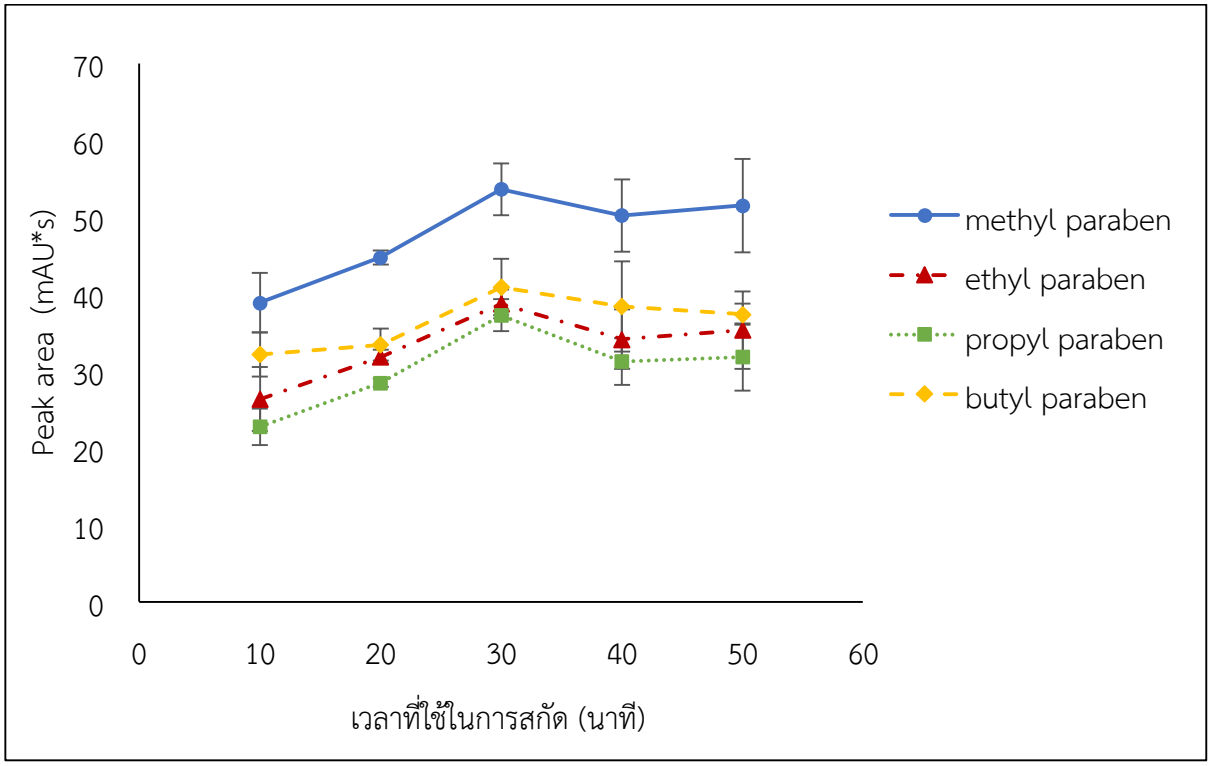
3.3.1 อุณหภูมิในการสกัด



รูปที่ 3.3 ผลของอุณหภูมิต่อประสิทธิภาพการสกัดพาราเบนด้วยเทคนิค DI-SPME

อุณหภูมิของสารละลายระหว่างการสกัดมีผลต่อการดูดซับของสารในสารละลายบนเส้นใยของ SPME จากรูปที่ 3.3 พบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิของการสกัดจาก 25 องศาเซลเซียส เป็น 40 และ 50 องศาเซลเซียส ประสิทธิภาพในการสกัดพาราเบนทั้ง 4 ชนิด เพิ่มขึ้นตามลำดับ เนื่องจากการเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดจะเพิ่มอัตราการแพร่ของสารในสารละลาย ทำให้เกิดการถ่ายมวล (mass transfer) จากสารละลายที่มีความเข้มข้นสูงไปยังเส้นใย SPME ซึ่งเป็นการเร่งการเกิดสมดุลของสารที่วิเคราะห์กับเส้นใยทำให้พาราเบนดูดซับบนเส้นใยได้มากขึ้น แต่เมื่อเพิ่มอุณภูมิในการสกัดจาก 50 เป็น 60 องศาเซลเซียสพบว่าประสิทธิภาพการสกัดลดลง เนื่องจากที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส มีค่าใกล้เคียงกับจุดเดือดของตัวทำละลายคือเมทานอล (จุดเดือดเมทานอล คือ 64.7 องศาเซลเซียส)[28] ทำให้สารละลายตัวอย่างในขวดเริ่มเดือดและเกิดฟองอากาศเกาะที่เส้นใย ซึ่งรบกวนการดูดซับของเส้นใย SPME ทำให้ประสิทธิภาพในการสกัดลดลง ดังนั้น จึงเลือกอุณหภูมิในการสกัดพาราเบนทั้ง 4 ชนิด ที่ 50 องศาเซลเซียส

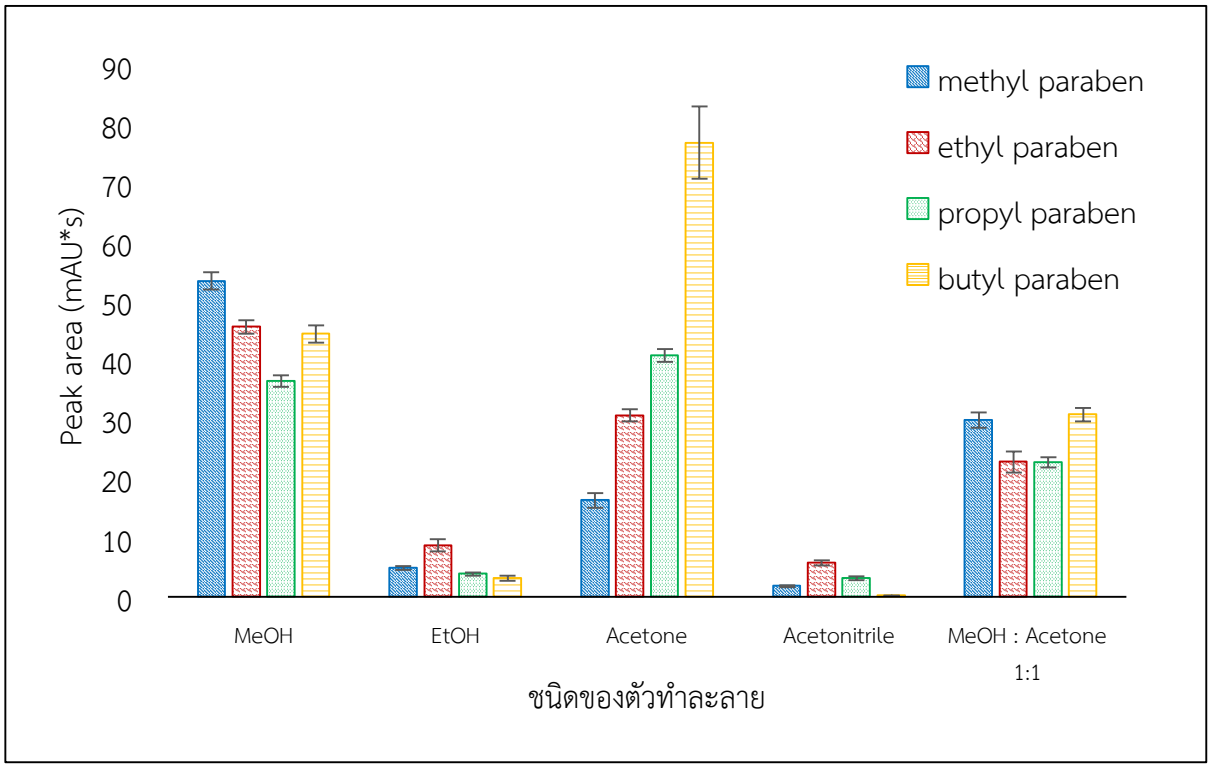
3.3.2 เวลาในการสกัด



รูปที่ 3.4 ผลของเวลาในการสกัดต่อประสิทธิภาพการสกัดพาราเบนด้วยเทคนิค DI-SPME

เนื่องจากเวลาในการสกัดจะเพิ่มการดูดซับสารบนเส้นใย SPME ทำให้ประสิทธิภาพในการสกัดเพิ่มขึ้น จากรูปที่ 3.4 ทำศึกษาระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดที่ 10, 20, 30, 40 และ 50 นาที พบว่า เมื่อเพิ่มเวลาในการสกัดจนถึง 30 นาที ประสิทธิภาพในการสกัดเพิ่มขึ้นตามลำดับ แต่ไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อเพิ่มเวลาในการสกัดมากกว่า 30 นาที ทั้งนี้การแพร่ของสารระหว่างสารละลายกับเส้นใยเข้าสู่ภาวะสมดุล ทำให้การเพิ่มระยะเวลาในการสกัดมากกว่า 30 นาที สารที่ดูดซับบนเส้นใยมีปริมาณไม่แตกต่างจากเดิม ดังนั้นจึงเลือกที่ระยะเวลาในการสกัดที่ให้ประสิทธิภาพการสกัดดีที่สุดแต่ใช้เวลาน้อยที่สุดคือ 30 นาที

3.3.3 ชนิดของตัวทำละลายในการคายซับ

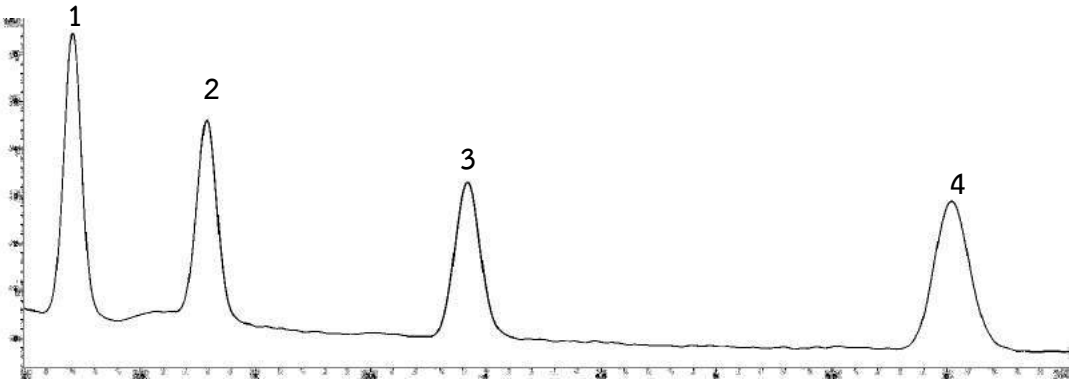


รูปที่ 3.5 ผลของชนิดตัวทำละลายในการคายซับต่อประสิทธิภาพการสกัดพาราเบนด้วยเทคนิค DI-SPME

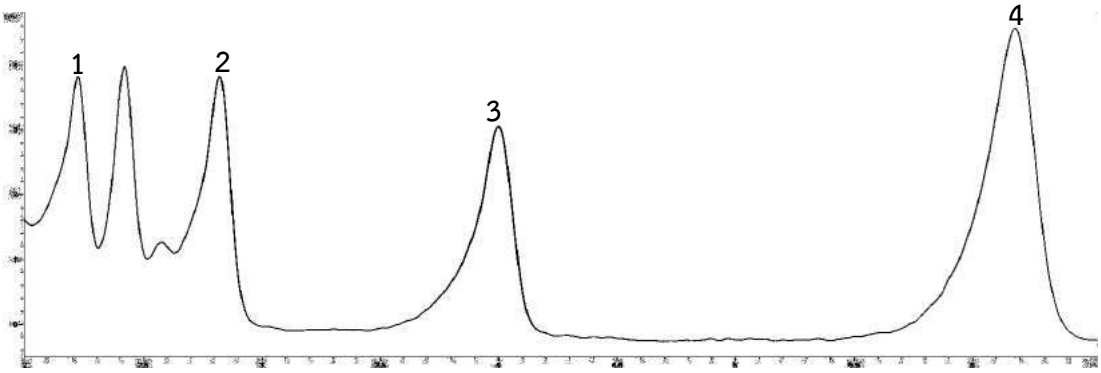
เนื่องจากทำการวิเคราะห์ปริมาณพาราเบนด้วยเทคนิค HPLC จึงต้องทำการคายซับสารจากเส้นใย SPME ด้วยตัวทำละลายก่อนนำไปวิเคราะห์ โดยทำการศึกษาตัวทำละลายในการคายซับ 4 ชนิด ได้แก่ เมทานอล เอทานอล อะซิโตนและอะซิโตไนไตรล์ ได้ผลดังรูปที่ 3.5 พบว่าการคายซับด้วยเมทานอลให้สัญญาณการตรวจวัดพาราเบนขนาดเล็ก ได้แก่ เมทิลพาราเบน และเอทิลพาราเบนได้ดี ในขณะที่อะซิโตนจะให้ประสิทธิภาพในการคายซับพาราเบนที่มีหมู่อัลคิลที่ยาวขึ้น ได้แก่ โพรพิลพาราเบนและบิวทิลพาราเบนได้ดีกว่า เนื่องจากพาราเบนสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้ว ตามหลัก like dissolves like ทำให้เมทานอลและอะซิโตนสามารถชะพาราเบนให้คายซับ (desorption) ออกจากเส้นใยได้ ส่วนเอทานอลและอะซิโตไนไตรล์เป็นตัวทำละลายที่มีขั้วน้อย จึงมีความสามารถในการคายซับพาราเบนต่ำ ทำให้ประสิทธิภาพในการสกัดพาราเบนน้อยกว่า

จากที่เมทานอลสามารถคายซับพาราเบนที่มีหมู่อัลคิลขนาดเล็กได้ดีและมีประสิทธิภาพลดลงเมื่อสายของอัลคิลยาวขึ้น ขณะที่อะซิโตนคายซับพาราเบนได้ดีขึ้นเมื่อสายของอัลคิลยาวขึ้น ดังนั้น ผู้วิจัยได้ศึกษาการคายซับด้วยสารละลายผสมของเมทานอลกับอะซิโตนในอัตราส่วน 1:1 เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัด แต่พบว่าประสิทธิภาพของการสกัดพาราเบนไม่ได้เพิ่มขึ้น โดยพบว่า พีคของอะซิโตนรบกวนการวิเคราะห์เมทิลพาราเบนและเอทิลพาราเบน ดังโครมาโทแกรมที่แสดงในรูปที่ 3.6 ดังนั้นจึงเลือกเมทานอลเป็นตัวทำละลายในการที่ให้ประสิทธิภาพในการสกัดที่ดีที่สุด

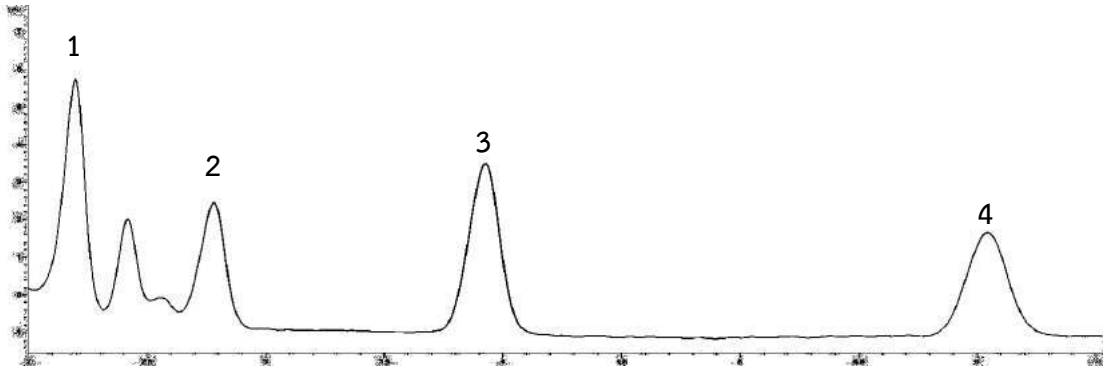
(ก) MeOH



(ข) Acetone

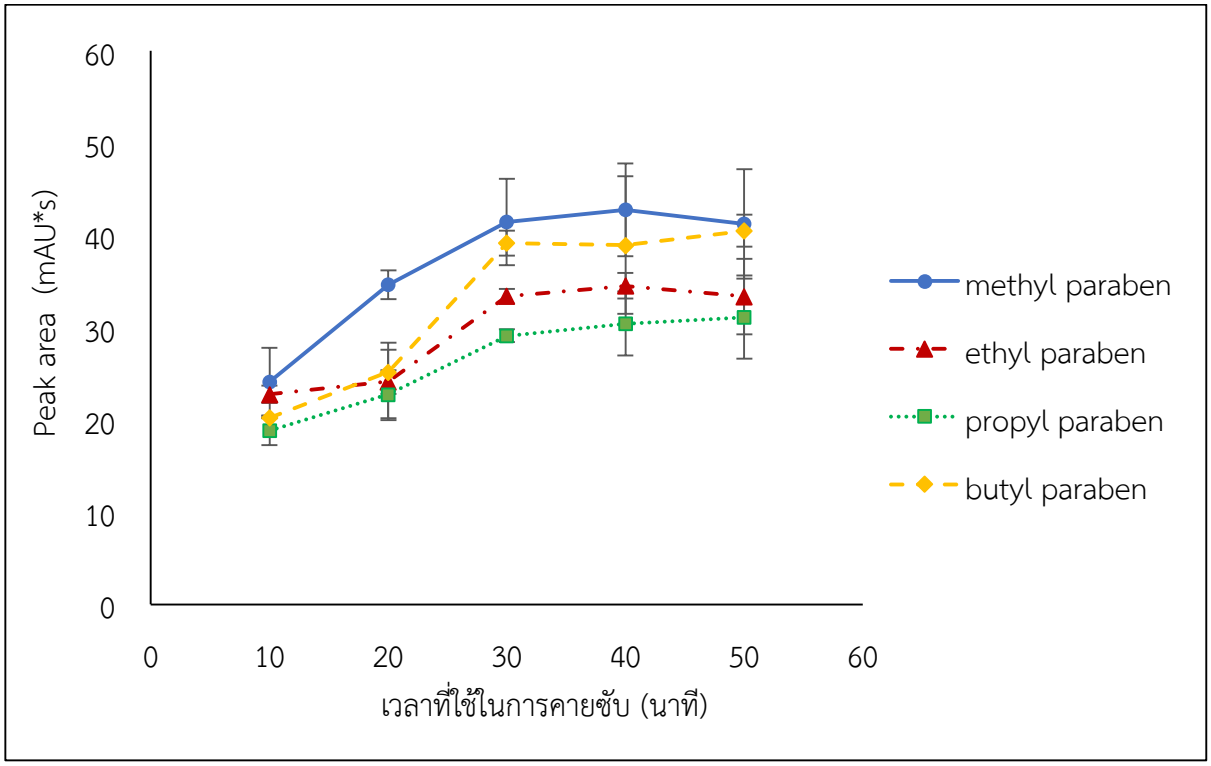


(ค) MeOH:Acetone (1:1)



รูปที่ 3.6 โครมาโทแกรมของการคายซับพาราเบนด้วย (ก) เมทานอล
(ข) อะซิโตน และ (ค) เมทานอลต่ออะซิโตน ในอัตราส่วน 1:1
(พีคในโครมาโทแกรม : (1) เมทิลพาราเบน, (2) เอทิลพาราเบน, (3) โพรพิลพาราเบน, (4) บิวทิลพาราเบน)

3.3.4 เวลาในการคายซับ



รูปที่ 3.7 ผลของเวลาในการคายซับต่อประสิทธิภาพการสกัดพาราเบนด้วยเทคนิค DI-SPME

จากรูปที่ 3.7 ศึกษาระยะเวลาที่ใช้ในการคายซับที่ 10, 20, 30, 40 และ 50 นาที พบว่า เมื่อเพิ่มเวลาของการคายซับ (desorption) ประสิทธิภาพในการวิเคราะห์พาราเบนเพิ่มขึ้นและมีค่าคงที่ ไม่ค่อยเปลี่ยนแปลงเมื่อเวลาของการคายซับมากกว่า 30 นาที เนื่องจากการคายซับน่าจะเข้าสู่ภาวะสมดุลแล้ว จึงเลือกระยะเวลาในการคายซับที่ 30 นาที ซึ่งสามารถคายพาราเบนที่ดูดซับไว้บนเส้นใย SPME ไปยังตัวทำละลายได้ดีที่สุดและใช้เวลาน้อยที่สุด

3.3.5 การวิเคราะห์พาราเบนด้วยเทคนิค DI-SPME

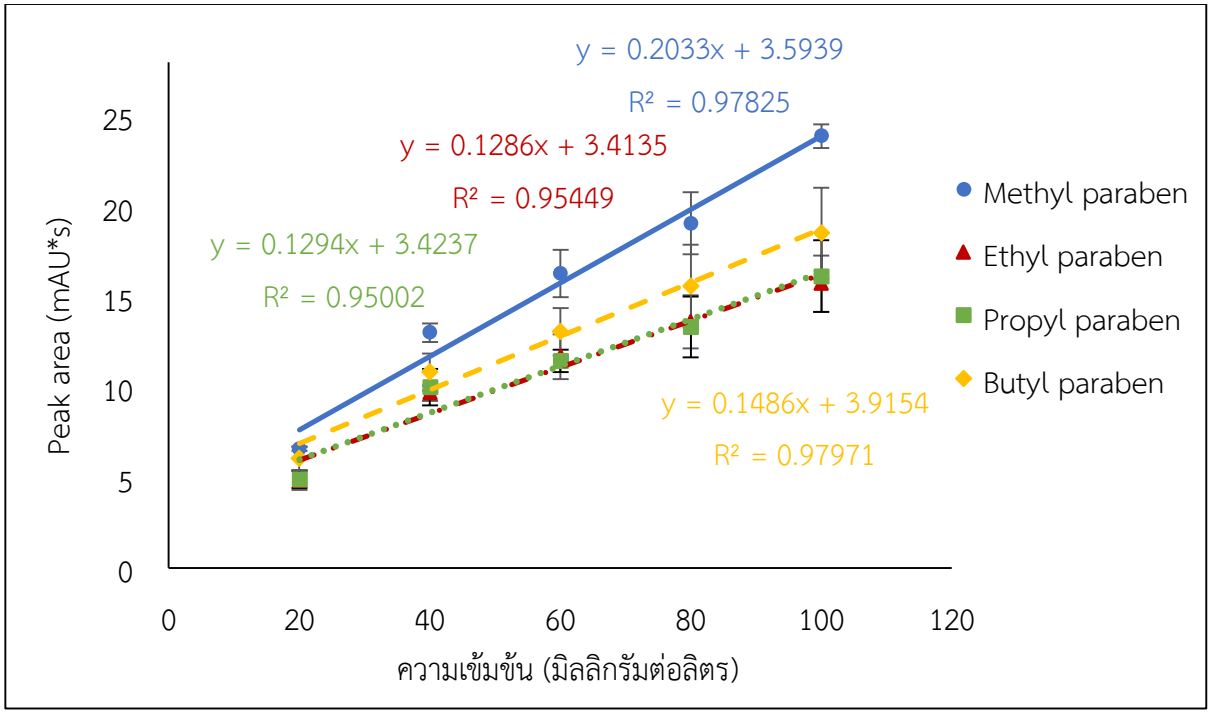
จากการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดด้วยเทคนิค DI-SPME ตามหัวข้อ 3.3.1–3.3.4 ได้ภาวะของการสกัดพาราเบนด้วยเทคนิค DI-SPME ดังตารางที่ 3.1 และเมื่อทำการสกัดสารละลายมาตรฐานผสมของพาราเบนในช่วงความเข้มข้น 20-100 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้กราฟมาตรฐานดังรูปที่ 3.8 โดยมีสมการของกราฟมาตรฐานดังตารางที่ 3.2 ซึ่งมีความเป็นเส้นตรงที่ดี มีค่า R^2 อยู่ในช่วง 0.9500–0.9797

ตารางที่ 3.1 ภาวะของการสกัดพาราเบนด้วยเทคนิค DI-SPME

ปริมาตรสารละลาย	10 มิลลิลิตร
ชนิดของเส้นใย SPME	50/30 µm divinylbenzene/carboxen on polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS)
อุณหภูมิในการสกัด	50 องศาเซลเซียส
เวลาที่ใช้ในการสกัด	30 นาที
ตัวทำละลายในการคายซับ	เมทานอล
ปริมาตรตัวทำละลายในการ	200 ไมโครลิตร
เวลาในการคายซับ	30 นาที

ตารางที่ 3.2 ช่วงความเป็นเส้นตรง และสมการของกราฟมาตรฐาน

สาร	ช่วงความเข้มข้น	สมการกราฟมาตรฐาน	R^2
เมทิลพาราเบน	20–100 มิลลิกรัมต่อลิตร	y = 0.2033x + 3.5939	0.9782
เอทิลพาราเบน	20–100 มิลลิกรัมต่อลิตร	y = 0.1286x + 3.4135	0.9545
โพรพิลพาราเบน	20–100 มิลลิกรัมต่อลิตร	y = 0.1294x + 3.4237	0.9500
บิวทิลพาราเบน	20–100 มิลลิกรัมต่อลิตร	y = 0.1486x + 3.9154	0.9797



รูปที่ 3.8 กราฟมาตรฐานของสารละลายพาราเบนที่สกัดด้วยเทคนิค DI-SPME

3.4 การเตรียมตัวอย่างเครื่องสำอางก่อนการสกัดด้วยเทคนิค DI-SPME

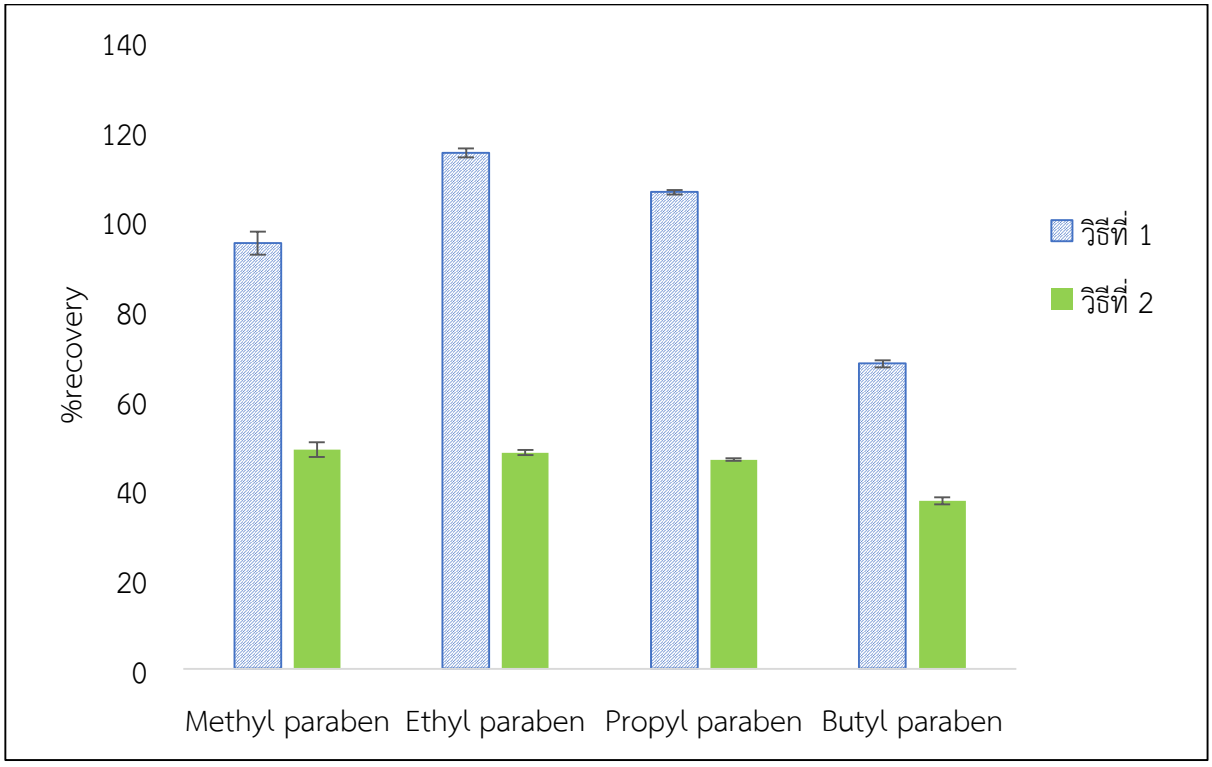
ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่ใช้ในการวิจัยนี้เลือกผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวเป็นตัวแทนของเครื่องสำอางที่มีการใช้สารกันเสียกลุ่มพาราเบนในผลิตภัณฑ์ โดยผลิตภัณฑ์ตัวอย่างมีลักษณะเป็นเนื้อครีมข้นหนืด สีขาว หากทำการสกัดด้วยการแช่โดยตรง อาจทำให้เนื้อครีมติดกับเส้นใย SPME จนเกิดความสกปรก ซึ่งทำให้เกิดการรบกวนการวิเคราะห์จากเมทริกซ์ตัวอื่นที่อยู่ในผลิตภัณฑ์ตัวอย่างและลดอายุการใช้งานของเส้นใย จึงมีความจำเป็นต้องเตรียมตัวอย่างก่อนการสกัด ซึ่งในการทดลองนี้เตรียมตัวอย่างแตกต่างกัน 2 วิธี ดังนี้

วิธีที่ 1 เตรียมสารละลายตัวอย่างโดยละลายด้วยเมทานอล คนแบบวอร์เท็กซ์และปั่นเหวี่ยง

วิธีที่ 2 เตรียมสารละลายตัวอย่างโดยละลายด้วยเมทานอล คนแบบวอร์เท็กซ์ ปั่นเหวี่ยง และแช่ในอ่างน้ำร้อน ได้ผลดังตารางที่ 3.3 และการเปรียบเทียบร้อยละการคืนกลับของการสกัด (%recovery) ดังรูปที่ 3.9

ตารางที่ 3.3 เปรียบเทียบ %recovery ของวิธีการเตรียมตัวอย่างเครื่องสำอาง

สาร	วิธีที่	ความเข้มข้นที่วัดได้ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)		ความเข้มข้นที่เติม (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	%recovery
		ก่อน spiked	หลัง spiked		
เมทิลพาราเบน	1	898	1463	594	95
	2	533	825	593	49
เอทิลพาราเบน	1	0	684	594	115
	2	0	286	593	48
โพรพิลพาราเบน	1	0	632	594	106
	2	0	277	593	47
บิวทิลพาราเบน	1	0	404	594	68
	2	0	223	593	38



รูปที่ 3.9 ผลของการเตรียมสารละลายตัวอย่างต่อประสิทธิภาพการสกัดพาราเบน

จากการทดลองสกัดหาปริมาณพาราเบน โดยทำการเตรียมสารละลายครีมตัวอย่างแตกต่างกัน พบว่าการเตรียมตัวอย่างทั้ง 2 วิธี สามารถตรวจพบเมทิลพาราเบนในครีมตัวอย่างได้ แต่การเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีที่ 1 มีประสิทธิภาพในการสกัดพาราเบนสูงกว่าวิธีที่ 2 โดยการเตรียมสารละลายตัวอย่างด้วยวิธีที่ 1 มีค่าร้อยละการคืนกลับ (%recovery) ของพาราเบนทั้ง 4 ชนิด สูงกว่าวิธีที่ 2 เนื่องจากการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีที่ 2 จะให้ความร้อนสารละลายตัวอย่าง ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ซึ่งครีมตัวอย่างละลายเป็นเนื้อเดียวกัน จึงเกิดการรบกวนจากเมทริกซ์ตัวอื่นที่ละลายออกมาด้วย ทำให้ประสิทธิภาพในการสกัดลดลง โดยการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีที่ 1 สามารถคำนวณร้อยละการคืนกลับของเมทิลพาราเบน เอทิลพาราเบน โพรพิลพาราเบน และบิวทิลพาราเบน ได้เท่ากับ 96, 115, 106 และ 68 ตามลำดับ ซึ่งค่าร้อยละการคืนกลับของการสกัดด้วย DI-SPME อยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ (เกณฑ์ยอมรับตามมาตรฐาน AOAC ที่ช่วงความเข้มข้น 10-100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมเท่ากับ 80-115)[29] ยกเว้นบิวทิลพาราเบน ซึ่งอาจเกิดจากบิวทิลพาราเบนมีขั้วต่ำ ทำให้ละลายอยู่ในครีมตัวอย่างที่มีส่วนประกอบเป็นไขมันซึ่งมีขั้วต่ำมากกว่าดูดซับบนเส้นใย

บทที่ 4
สรุปผลการทดลอง

จากการพัฒนาวิธีในการวิเคราะห์พาราเบนทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ เมทิลพาราเบน เอทิลพาราเบน โพรพิลพาราเบน และบิวทิลพาราเบนในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางประเภทครีมบำรุงผิว โดยทำการสกัดด้วยเทคนิค SPME และวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการสกัดด้วยวิธี DI-SPME และวิธี HS-SPME โดยใช้สารละลายมาตรฐานผสมพาราเบนความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 15 มิลลิลิตร ทำการสกัดที่ภาวะเดียวกัน คือ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และทำการคายซับด้วยเมทานอล เป็นเวลา 30 นาที พบว่าวิธี DI-SPME ให้ประสิทธิภาพการสกัดพาราเบนสูงกว่าการสกัดด้วยวิธี HS-SPME เนื่องจากพาราเบนเป็นสารที่ระเหยกลายเป็นไอได้ยาก จึงทำการศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัดพาราเบนด้วยวิธี DI-SPME ได้แก่ อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด เวลาที่ใช้ในการสกัด เวลาที่ใช้ในการคายซับ ชนิดของตัวทำละลายในการคายซับ และวิธีการเตรียมสารละลายตัวอย่าง พบว่าประสิทธิภาพการสกัดพาราเบนสูงที่สุด เมื่อทำการสกัดพาราเบนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เนื่องจากเป็นอุณหภูมิที่ทำให้เกิดสมดุลการแพร่ระหว่างสารละลายและเส้นใยที่ใช้ดูดซับดีที่สุด ส่วนเวลาที่ใช้ในการสกัดและการคายซับที่เหมาะสมคือ 30 นาที เนื่องจากเป็นเวลาน้อยที่สุดที่สารเริ่มเข้าสู่สมดุล เมื่อใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายในการซับ จะให้ประสิทธิภาพในการสกัดสูงที่สุด เนื่องจากสามารถคายซับพาราเบนให้หลุดออกจากเส้นใยได้มากที่สุด เมื่อนำภาวะที่เหมาะสมทั้งหมดไปสกัดพาราเบนในสารละลายครีมตัวอย่างที่มีเมทิลพาราเบนเป็นส่วนประกอบ พบว่าวิธีการเตรียมสารละลายตัวอย่าง โดยละลายด้วยเมทานอลแล้วนำไปวอร์เท็กซ์และปั่นเหวี่ยง จะให้ประสิทธิภาพในการสกัดเมทิลพาราเบนดีที่สุด เมื่อเติมสารละลายมาตรฐานผสมพาราเบนลงไป ทำให้คำนวณร้อยละคืนกลับของเมทิลพาราเบน เอทิลพาราเบน โพรพิลพาราเบน และบิวทิลพาราเบน ได้ร้อยละ 96, 115, 106 และ 68 ตามลำดับ แสดงว่าสามารถใช้วิธีนี้ในการตรวจวัดพาราเบนในครีมตัวอย่างได้

เอกสารอ้างอิง

1. Vo, T. T.; Yoo, Y. M.; Choi, K. C.; Jeung, E. B., Potential estrogenic effect(s) of parabens at the prepubertal stage of a postnatal female rat model. *Reproductive Toxicology* **2010**, *29* (3), 306-16.
2. Darbre, P.D.; Aljarrah, A.; Miller, W.R.; Coldham, N.G.; Sauer, M.J.; Pope, G.S. Concentrations of parabens in human breast tumours. *Journal of Applied Toxicology* **2004**, *24*, 5-13.
3. Demirkurt, M.; Olcer, Y.A.; Demir, M.M.; Eroglu, A.E. Electrospun polystyrene fibers knitted around imprinted acrylate microspheres as sorbent for paraben derivatives. *Analytica Chimica Acta* **2018**, *1014*, 1-9.
4. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่องกำหนดวัตถุกันเสียที่อาจใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอาง พ.ศ. 2560 ประกาศ ณ วันที่ 26 กุมภาพันธ์ 2560. คัดจากราชกิจจานุเบกษา เล่ม 134 ตอนพิเศษ 167 ง วันที่ 22 มิถุนายน 2560.
5. Chunying, P.; Ligung, C.; Yu W. A review of the extraction and chromatographic determination methods for the analysis of parabens. *Journal of Chromatography B* **2014**, *966*, 139-148.
6. Fang, H.; Xiaoying, D.; Xinyu, J.; Jingang, Y. Determination of parabens in beverage samples by dispersive liquid–liquid microextraction based on solidification of floating organic droplet. *Journal of Chromatographic Science* **2018**, *1014*, 1-9
7. Junk, G.A.; Richard, J.J. Organics in water for solid phase extraction on a small scale. *Analytical Chemistry* **1988**, *60*, 451–454.
8. Cabaleiro, N.; de la Calle, I.; Bendicho, C.; Lavilla, I. An overview of sample preparation for the determination of parabens in cosmetics. *Trends in Analytical Chemistry* **2014**, *57*, 34-46.
9. Labat, L.; Kummer, E.; Dallet, P.; Dubost J.P. Comparison of high-performance liquid chromatography and capillary zone electrophoresis for the determination of parabens in a cosmetic product. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **2000**, *23*, 763–769.
10. Lokhnauth, J.K.; Snow, N.H. Determination of Parabens in Pharmaceutical Formulations by Solid-Phase Microextraction-Ion Mobility Spectrometry. *Analytical Chemistry* **2005**, *77*, 5938-5946

11. Canosa, P.; Rodriguez, I.; Rubi, E.; Bollain, M. H.; Cela, R. Optimisation of a solid-phase microextraction method for the determination of parabens in water samples at the low ng per litre level. *Journal of Chromatography A* **2006**, *1124* (1-2), 3-10.
12. Tsai, T.F.; Lee, M.R. Determination of antioxidants and preservatives in cosmetics by SPME combined with GC-MS. *Chromatographia* **2008**, *67* (5-6), 425-431.
13. Nunez, L.; Turiel, E.; Martin-Esteban, A.; Tadeo, J. L. Molecularly imprinted polymer for the extraction of parabens from environmental solid samples prior to their determination by high performance liquid chromatography-ultraviolet detection. *Talanta* **2010**, *80* (5), 1782-1788.
14. Imamovic, B.; Sober, M.; Becic, E. HPLC Determination of Some frequently used Parabens in Sunscreens. *International Journal of Pharmacy Teaching & Practices* **2012**, *3* (1), 219-224.
15. Soni, M.G.; Carabin, I.G.; Burdock, G.A. Safety assessment of esters of p-hydroxybenzoic acid (parabens). *Food and Chemical Toxicology* **2005**, *43* (7), 985-1015.
16. ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร. สารเคมีในชีวิตประจำวัน. http://oldweb.pharm.su.ac.th/chemistry-in-life/d003.htm (accessed February 2, 2019)
17. U.S. National Library of Medicine. Methyl paraben. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Methyl_4-hydroxybenzoate (accessed February 9, 2019)
18. U.S. National Library of Medicine. Ethyl paraben. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ethylparaben (accessed February 9, 2019)
19. Royal Society of Chemistry. Propyl paraben. http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.6907.html. (accessed February 9, 2019)
20. Royal Society of Chemistry. Butyl paraben. http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.6916.html. (accessed February 9, 2019)
21. รองศาสตราจารย์ชูชาติ อารีจิตรานุสรณ์. โครมาโทกราฟีเหลวความดันสูง. https://home.kku.ac.th/chuare/12/HPLC.pdf (accessed February 11, 2019)
22. ศูนย์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา. เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง. http://science.skru.ac.th/ShowToolCame.php?id_skru=skru1234567890 (accessed February 11, 2019)
23. ภาควิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. High Performance Liquid Chromatography. http://www.env.eng.chula.ac.th/?q=content/high-performance-liquid-chromatography-hplc (accessed February 15, 2019)

24. สุภาพร แสงศรีจันทร์. การเตรียมสารตัวอย่าง โดยวิธี solid phase microextraction (SPME). https://erp.mju.ac.th/acticleDetail.aspx?qid=867 (accessed February 17, 2019)
25. ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. เทคนิคการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งปริมาณน้อย (solid phase microextraction, SPME). http://u8.psu.ac.th/blog/sci-discus/17227 (accessed February 15, 2019)
26. Sigmaaldrich. Solid Phase Microextraction. https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/docs/Sigma-Aldrich/General_Information/1/spme-gc-brochure.pdf (accessed April 17, 2019)
27. Soso, S.B.; Koziel, J.A; Johnson, A. Lee, Y.J.; Fairbanks, W.S. Analytical Methods for Chemical and Sensory Characterization of Scent-Markings in Large Wild Mammals: A Review. *Sensors* **2014**, *14*, 4428-4465.
28. Alfa Aesar. Methanol 99%. https://www.alfa.com/en/catalog/L13255/. (accessed April 27, 2019)
29. AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplementsand Botanicals. Accuracy. https://www.aoac.org/aoac_prod_imis/AOAC_Docs/StandardsDevelopment/SLV_Guidelines_Dietary_Supplements.pdf. (accessed April 27, 2019)

ภาคผนวก

ตารางที่ ก.1 พื้นที่ใต้พีคของการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบโดยตรง (DI-SPME) ที่อุณหภูมิในการสกัดแตกต่างกัน

สาร	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	พื้นที่ใต้พีค (mAU*s)			ค่าเฉลี่ย	SD	%RSD
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3			
เมทิล พาราเบน	25	11.690	12.079	10.966	11.578	±0.565	4.88
	40	12.649	14.010	11.805	12.821	±1.112	8.677
	50	53.359	53.891	54.998	54.083	±0.836	1.55
	60	24.520	25.906	23.198	24.541	±1.354	5.517
เอทิล พาราเบน	25	5.303	4.750	5.908	5.320	±0.579	10.9
	40	8.449	9.404	7.330	8.394	±1.038	12.36
	50	45.619	46.099	44.995	45.571	±0.554	1.22
	60	22.395	24.085	21.198	22.559	±1.450	6.430
โพรพิล พาราเบน	25	5.711	6.094	5.185	5.663	±0.456	8.06
	40	8.510	9.545	7.890	8.648	±0.836	9.67
	50	36.701	36.101	37.590	36.797	±0.750	2.04
	60	22.729	23.987	21.910	22.875	±1.046	4.573
บิวทิล พาราเบน	25	6.789	7.389	6.101	6.760	±0.645	9.54
	40	10.603	12.189	9.238	10.677	±1.477	13.83
	50	44.511	45.010	43.999	44.506	±0.506	1.14
	60	26.523	24.979	27.180	26.227	±1.130	4.310

หมายเหตุ

ภาวะการสกัด DI-SPME : ปริมาตรสารละลายพาราเบน 15 มิลลิลิตร ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร SPME fiber ชนิด 50/30 μm DVB/CAR/PDMS เวลาในการสกัด 30 นาที ตัวทำละลายในการคายซับคือเมทานอล ปริมาตร 200 ไมโครลิตร เวลาที่ใช้คายซับ 30 นาที

ตารางที่ ก.2 พื้นที่ใต้พีคของการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบโดยตรง (DI-SPME) ที่เวลาของการสกัดแตกต่างกัน

สาร	เวลาในการสกัด (นาที)	พื้นที่ใต้พีค (mAU*s)			ค่าเฉลี่ย	SD	%RSD
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3			
เมทิล พาราเบน	10	40.973	34.459	41.350	38.927	±3.874	9.952
	20	44.096	44.541	45.865	44.834	±0.920	2.053
	30	51.417	57.585	52.101	53.701	±3.381	6.296
	40	44.981	51.804	54.003	50.263	±4.704	9.359
	50	44.544	54.447	55.661	51.551	±6.098	11.829
เอทิล พาราเบน	10	30.775	22.467	25.891	26.377	±4.175	15.83
	20	30.939	31.908	32.755	31.868	±0.908	2.85
	30	40.820	38.405	37.068	38.764	±1.902	4.906
	40	29.716	36.197	36.593	34.169	±3.861	11.30
	50	29.522	38.645	37.909	35.358	±5.068	14.33
โพรพิล พาราเบน	10	25.043	20.319	22.970	22.777	±2.368	10.40
	20	28.042	28.416	29.083	28.513	±0.527	1.85
	30	38.196	37.404	34.289	36.630	±2.065	5.638
	40	28.347	34.401	31.076	31.275	±3.032	9.693
	50	26.866	33.872	34.870	31.869	±4.362	13.69
บิวทิล พาราเบน	10	35.177	29.409	32.009	32.198	±2.889	8.973
	20	31.256	35.327	33.807	33.463	±2.057	6.147
	30	45.163	38.609	39.090	40.954	±3.653	8.921
	40	32.847	44.510	39.981	39.112	±5.880	15.03
	50	36.224	38.986	37.077	37.429	±1.414	3.779

หมายเหตุ

ภาวะการสกัด DI-SPME : ปริมาตรสารละลายพาราเบน 15 มิลลิลิตร ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร SPME fiber ชนิด 50/30 μm DVB/CAR/PDMS อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ตัวทำละลายในการคายซับคือเมทานอล ปริมาตร 200 ไมโครลิตร เวลาที่ใช้คายซับ 30 นาที

ตารางที่ ก.3 พื้นที่ใต้พีคของการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบโดยตรง (DI-SPME) โดยใช้ตัวทำละลายในการคายซับแตกต่างกัน

สาร	ชนิดของตัวทำละลาย	พื้นที่ใต้พีค (mAU*s)			ค่าเฉลี่ย	SD	%RSD
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3			
เมทิลพาราเบน	MeOH	53.340	54.989	52.096	53.475	±1.451	2.714
	EtOH	4.520	5.008	5.197	4.908	±0.349	7.12
	Acetone	16.329	17.592	15.059	16.327	±1.267	7.758
	Acetonitrile	1.809	2.008	1.719	1.845	±0.148	8.01
	MeOH : Acetone (1:1)	29.905	31.229	28.567	29.900	±1.331	4.451
เอทิลพาราเบน	MeOH	45.618	46.856	44.573	45.683	±1.143	2.502
	EtOH	8.781	9.694	7.690	8.722	±1.003	11.50
	Acetone	30.424	31.865	29.866	30.718	±1.031	3.358
	Acetonitrile	5.701	6.181	5.330	5.737	±0.426	7.43
	MeOH : Acetone (1:1)	22.836	24.651	21.065	22.850	±1.793	7.847
โพรพิลพาราเบน	MeOH	36.721	37.446	35.490	36.552	±0.988	2.70
	EtOH	3.920	4.106	3.574	3.867	±0.270	6.98
	Acetone	40.611	42.089	39.895	40.865	±1.119	2.737
	Acetonitrile	3.002	3.522	2.956	3.160	±0.314	9.95
	MeOH : Acetone (1:1)	22.931	23.605	21.864	22.800	±0.878	3.85
บิวทิลพาราเบน	MeOH	36.721	37.446	35.490	36.552	±0.988	2.70
	EtOH	3.097	3.656	2.767	3.173	±0.449	14.2
	Acetone	76.718	65.473	75.338	72.510	±6.133	8.458
	Acetonitrile	0.154	0.253	0.215	0.207	±0.050	24
	MeOH : Acetone (1:1)	30.823	32.016	29.684	30.841	±1.166	3.780

หมายเหตุ

ภาวะการสกัด DI-SPME : ปริมาตรสารละลายพาราเบน 15 มิลลิลิตร ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร SPME fiber ชนิด 50/30 μm DVB/CAR/PDMS อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลาที่ใช้สกัด 30 นาที ปริมาตรตัวทำละลาย 200 ไมโครลิตร เวลาที่ใช้คายซับ 30 นาที

ตารางที่ ก.4 พื้นที่ใต้พีคของการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบโดยตรง (DI-SPME) ที่เวลาการคายซับแตกต่างกัน

สาร	เวลาในการคายซับ (นาที)	พื้นที่ใต้พีค (mAU*s)			ค่าเฉลี่ย	SD	%RSD
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3			
เมทิลพาราเบน	10	20.153	27.403	24.876	24.144	±3.680	15.24
	20	33.203	36.311	34.543	34.686	±1.559	4.495
	30	36.280	45.431	42.705	41.472	±4.698	11.33
	40	42.254	48.090	38.067	42.804	±5.034	11.76
	50	34.962	42.130	46.690	41.261	±5.912	14.33
เอทิลพาราเบน	10	23.828	22.469	22.087	22.795	±0.915	4.01
	20	19.781	28.119	24.680	24.193	±4.190	17.32
	30	32.541	33.769	33.986	33.432	±0.780	2.33
	40	33.445	36.140	34.079	34.555	±1.409	4.079
	50	29.090	37.290	33.795	33.392	±4.115	12.32
โพรพิลพาราเบน	10	25.043	20.319	22.970	22.777	±2.368	10.40
	20	28.042	28.416	29.083	28.513	±0.527	1.85
	30	38.196	37.404	34.289	36.630	±2.065	5.638
	40	28.347	34.401	31.076	31.275	±3.032	9.693
	50	26.866	33.872	34.870	31.869	±4.362	13.69
บิวทิลพาราเบน	10	20.196	20.250	20.303	20.250	±0.053	0.263
	20	22.848	27.608	25.207	25.221	±2.380	9.436
	30	40.693	38.720	38.159	39.190	±1.331	3.396
	40	30.647	41.238	44.987	38.958	±7.437	19.090
	50	38.958	42.380	40.187	40.508	±1.733	4.279

หมายเหตุ

ภาวะการสกัด DI-SPME : ปริมาตรสารละลายพาราเบน 15 มิลลิลิตร ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร SPME fiber ชนิด 50/30 μm DVB/CAR/PDMS อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลาที่ใช้สกัด 30 นาที ตัวทำละลายในการคายซับคือเมทานอล ปริมาตร 200 ไมโครลิตร

ตารางที่ ก.5 พื้นที่ใต้พีคของการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบโดยตรง (DI-SPME) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน

สาร	ความเข้มข้น (ppm)	พื้นที่ใต้พีค (mAU*s)			ค่าเฉลี่ย	SD	%RSD
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3			
เมทิล พาราเบน	20	6.487	6.597	6.754	6.613	±0.134	2.03
	40	12.806	13.617	12.683	13.035	±0.507	3.89
	60	16.833	17.295	14.805	16.311	±1.325	8.120
	80	21.060	18.195	18.003	19.086	±1.712	8.971
	100	24.647	23.375	23.734	23.919	±0.656	2.74
เอทิล พาราเบน	20	5.330	4.275	4.985	4.863	±0.538	11.1
	40	9.270	9.665	10.139	9.691	±0.435	4.49
	60	11.005	10.975	13.137	11.706	±1.240	10.59
	80	14.085	11.975	14.810	13.623	±1.473	10.81
	100	17.518	15.183	14.561	15.754	±1.559	9.896
โพรพิล พาราเบน	20	5.360	4.400	4.956	4.905	±0.482	9.83
	40	8.887	10.349	10.817	10.018	±1.007	10.05
	60	12.074	11.513	10.839	11.475	±0.618	5.39
	80	15.302	12.576	12.221	13.366	±1.686	12.61
	100	18.469	15.074	14.966	16.170	±1.992	12.32
บิวทิล พาราเบน	20	6.633	5.374	6.172	6.060	±0.637	10.5
	40	9.943	11.962	10.651	10.852	±1.024	9.440
	60	13.479	14.160	11.626	13.088	±1.311	10.02
	80	18.251	14.434	14.166	15.617	±2.285	14.63
	100	21.443	17.348	16.816	18.536	±2.532	13.66

หมายเหตุ

ภาวะการสกัด DI-SPME : ปริมาตรสารละลายพาราเบน 10 มิลลิลิตร SPME fiber ชนิด 50/30 μm DVB/CAR/PDMS อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลาที่ใช้สกัด 30 นาที ตัวทำละลายในการคายซับคือ เมทานอล ปริมาตร 200 ไมโครลิตร เวลาที่ใช้คายซับ 30 นาที

ตารางที่ ก.6 น้ำหนักสารตัวอย่างก่อนทำการสกัดการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบโดยตรง (DI-SPME)

วิธีที่	น้ำหนักสารตัวอย่าง ก่อน spiked (กรัม)				น้ำหนักสารตัวอย่าง หลัง spiked (กรัม)			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
1	0.5003	0.5041	0.5021	0.5022	0.5020	0.5063	0.5075	0.5053
2	0.5061	0.5101	0.5026	0.5063	0.5095	0.5048	0.5029	0.5057

ตารางที่ ก.7 พื้นที่ใต้พีคของการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบโดยตรง (DI-SPME) ในสารละลายครีมตัวอย่าง โดยทำการเตรียมตัวอย่างแตกต่างกัน

ก่อน spiked							
วิธีที่	สาร	พื้นที่ใต้พีค (mAU*s)			ค่าเฉลี่ย	SD	%RSD
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3			
1	เมทิล พาราเบน	11.956	12.665	13.637	12.753	±0.844	6.62
2		9.554	8.948	8.728	9.077	±0.428	4.72
หลัง spiked (สารละลายมาตรฐานผสมพาราเบน ความเข้มข้น 30 ppm)							
วิธีที่	สาร	พื้นที่ใต้พีค (mAU*s)			ค่าเฉลี่ย	SD	%RSD
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3			
1	เมทิล พาราเบน	21.427	16.330	18.043	18.600	±2.594	13.94
	เอทิล พาราเบน	9.043	7.008	7.519	7.856	±1.059	13.48
	โพรพิล พาราเบน	7.149	7.445	8.065	7.553	±0.467	6.18
	บิวทิล พาราเบน	6.809	7.804	6.244	6.953	±0.790	11.4
2	เมทิล พาราเบน	11.653	13.873	10.657	12.061	±1.646	13.65
	เอทิล พาราเบน	5.149	4.775	5.907	5.277	±0.577	10.9
	โพรพิล พาราเบน	4.967	5.540	5.201	5.236	±0.288	5.50
	บิวทิล พาราเบน	6.535	5.187	5.046	5.589	±0.822	14.7

หมายเหตุ

ภาวะการสกัด DI-SPME : ปริมาณครีมตัวอย่าง 0.5 กรัม ละลายในเมทานอล 10 มิลลิลิตร SPME fiber ชนิด 50/30 μm DVB/CAR/PDMS อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลาที่ใช้สกัด 30 นาที ตัวทำละลายในการคายซับคือเมทานอล ปริมาตร 200 ไมโครลิตร เวลาที่ใช้คายซับ 30 นาที

ประวัติผู้วิจัย

นางสาวฐิติมา วงษ์จำปี เกิดเมื่อวันที่ 8 เดือนมกราคม พ.ศ. 2540 ที่จังหวัดจันทบุรี สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนศรียานุสรณ์ จังหวัดจันทบุรี เมื่อปีการศึกษา 2557 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2558 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ บ้านเลขที่ 42 ตำบลวังแซ้ม อำเภอมะขาม จังหวัดจันทบุรี รหัสไปรษณีย์ 22150 อีเมล thitima.forwork@gmail.com