การตรวจวัดปริมาณพาราเบนโดยใช้ระบบไซมัลทีเนียสอินเจคชันเอฟเฟคทีฟมิกซิงโฟลว์อะนาลิซิสร่วมกับการตรวจวัดการเรืองแสงทางเคมี

Determination of Paraben Using Simultaneous Injection Effective Mixing Flow Analysis (SIEMA) With Chemiluminescence Detection

ประภัสสร จิตเที่ยง[1,2,3]
กาญจนา อุไรสินธว์[2,3]
kanchana.ura@mahidol.ac.th
นวลละออ รัตนวิมานวงศ์[2,4]
nuanlaorr@g.swu.ac.th
Shoji Motomizu[5]
[1]นักศึกษาระดับปริญญาโท สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
nokpj_10@hotmail.com
[2]ห้องปฏิบัติการนวัตกรรม-วิจัยการไหลเพื่อวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (FIRST Labs)
[3]ศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมทางเคมีและภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
กรุงเทพฯ 10400
[4]ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร กรุงเทพฯ 10110
[5]Okayama University Incubator, 109, 1-1-1 Tsushimanaka, Okayama, 700-8530, Japan

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาระบบการไหลอัตโนมัติไซมัลทีเนียสอินเจคชันเอฟเฟคทีฟมิกซิงโฟลว์อะนาลิซิส (Simultaneous Injection Effective Mixing Flow Analysis; SIEMA) ร่วมกับการตรวจวัดการเรืองแสงทางเคมี (Chemiluminescence) เพื่อหาปริมาณเมทิลพาราเบน การตรวจวัดจะอาศัยปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารซีเรียม(IV) และโรดามีน 6 จี โดยที่เมทิลพาราเบนถูกไฮโดรไลซ์ภายใต้สภาวะกรดกลายเป็นกรดพาราไฮดรอกซีเบนโซอิก จากนั้นกรดพาราไฮดรอกซีเบนโซอิกรีดิวซ์ซีเรียม(IV) กลายเป็นซีเรียม(III) ในสถานะกระตุ้นและจะถ่ายโอนพลังงานไปยังสารโรดามีน 6 จี ให้กลายเป็นสารในสถานะกระตุ้นของโรดามีน 6 จี และจะเกิดการปลดปล่อยพลังงานส่วนเกินในรูปของการเรืองแสง ซึ่งถูกตรวจวัดโดยโฟโต้มัลติพายเออร์ทิวล์ (photomultiplier tube) สำหรับการทำงานของระบบ SIEMA จะอาศัยการดูดพร้อมกันของสารละลายมาตรฐานเมทิลพาราเบน สารละลายซีเรียม(IV) และสารละลายโรดามีน 6 จี ไปยังท่อพักของสารแต่ละชนิด หลังจากนั้นจึงผลักสารละลายทั้งหมดพร้อมกันเข้าสู่ตำแหน่งของตัวตรวจวัดของโฟวล์เซล (flow cell detection) ที่ติดอยู่บนโฟโต้มัลติพายเออร์ทิวล์ เพื่อวัดการเรืองแสงจากปฏิกิริยาเคมี งานวิจัยนี้ได้ศึกษาอิทธิพลของตัวแปรทางกายภาพ เมื่อใช้สภาวะที่เหมาะสมของตัวแปรต่างๆ พบว่าวิธีการวิเคราะห์นี้ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงที่ดี อยู่ในช่วงความเข้มข้น 0.13 ถึง 0.39 มิลลิโมลาร์ (สัมประสิทธิ์ความเป็นเส้นตรง = 0.992) ระบบมีความเร็วในการวิเคราะห์ถึง 51 ตัวอย่างต่อชั่วโมง ซึ่งเมื่อนำวิธีนี้ไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์เมทิลพาราเบนในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง พบว่ามีค่าร้อยละการได้กลับคืนอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้

คำสำคัญ: ระบบไซมัลทีเนียสอินเจคชันเอฟเฟคทีฟมิกซิงโฟลว์อะนาลิซิส, การตรวจวัดการเรืองแสงทางเคมี, พาราเบน

Abstract

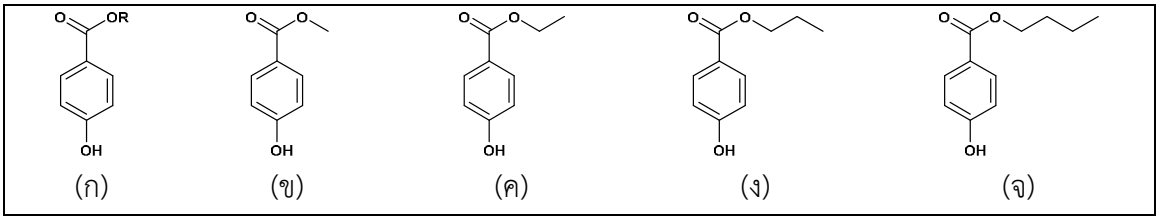
In this work, the simultaneous injection effective mixing flow analysis (SIEMA) system coupled with chemiluminescence (CL) detection for determination of methylparaben was developed. The chemiluminescence reaction was based on oxidation reaction of cerium(IV) and rhodamine 6G. Methylparaben was hydrolyzed to produce *p*-Hydroxybenzoic acid in acidic medium. Then *p*-Hydroxybenzoic acid reduced cerium(IV) to form the excited-state cerium(III) (Ce(III)*). The energy transfers from Ce(III)* to rhodamine-6G to produce the excited-state of rhodamine-6G (Rho-6G*) and the excessive energy was released in the form of emitted light which was measured by photomultiplier tube. The operation of SIEMA system was based on simultaneous aspiration of standard methylparaben cerium(IV) and rhodamine 6G solutions into their individual holding coils and then all solutions were simultaneously dispensed to flow cell attached on a photomultiplier tube as a detector. The physical parameters were studied. At the optimum condition, this analytical method provided good linearity in the range of 0.13 - 0.39 mM (r^2 = 0.992) with sample throughput of 51 sample/h. The SIEMA-CL system was applied for analysis of methylparaben in cosmetic products and it shows acceptable recovery.

Keywords: Simultaneous injection effective mixing flow analysis (SIEMA), Chemiluminescence, Paraben

บทนำ

ปัจจุบัน สารกันเสียเป็นที่นิยมนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหาร ยา รวมทั้งผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางทั้งในประเทศและต่างประเทศ สารกันเสียเหล่านี้นำมาใช้เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราและแบคทีเรีย ถึงแม้ว่าสารกันเสียสามารถรักษาคุณภาพและยืดอายุของสินค้า แต่การใช้ในปริมาณที่มากเกินไปสามารถส่งผลกระทบต่อร่างกายผู้บริโภค

พาราเบน เป็นสารกันเสียชนิดหนึ่งที่ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร ยา และโดยเฉพาะอย่างยิ่งผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น แชมพู โลชั่น ผลิตภัณฑ์บำรุงเส้นผม สารระงับกลิ่นกาย ครีมโกนหนวด และเครื่องสำอางอื่นๆ กลุ่มสารพาราเบนที่นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์เหล่านี้ ประกอบด้วย เมทิลพาราเบน เอทิลพาราเบน โพรพิลพาราเบน และบิวทิลพาราเบน (ภาพที่ 1) ทั้งนี้ หากร่างกายเกิดการสะสมปริมาณพาราเบนมากเกินไป จะก่อให้เกิดอันตรายต่อระบบสืบพันธ์ในเพศชาย และเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งเต้านมในเพศหญิง ซึ่งสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข และกฎระเบียบของสหภาพยุโรป (EU regulation) ได้กำหนดปริมาณสูงสุดของพาราเบนที่อนุญาตให้ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง คือ ร้อยละ 0.4 โดยมวลของพาราเบนชนิดเดียว และ ร้อยละ 0.8 โดยมวลของพาราเบนสองชนิดขึ้นไป (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2561; European Commission, 2549) ซึ่งในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง จะมีสารกันเสียประเภทเมทิลพาราเบนเป็นส่วนมาก เนื่องจากมีประสิทธิภาพในการละลายน้ำได้ดีกว่า เอทิลพาราเบน โพรพิลพาราเบน และบิวทิลพาราเบน ตามลำดับ โดยสภาพการละลายน้ำมีความสัมพันธ์ตามความยาวของหมู่แอลคิล เนื่องจากแบคทีเรียและเชื้อรามักจะเจริญเติบโตได้ดีในสภาวะที่มีองค์ประกอบของน้ำ ดังนั้นเมทิลพาราเบนจึงมีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียได้ดีที่สุด (Garner, N. *et al*., 2014)



ภาพที่ 1: (ก) โครงสร้างทั่วไปของพาราเบน (ข) เมทิลพาราเบน (ค) เอทิลพาราเบน (ง) โพรพิลพาราเบน (จ) บิวทิลพาราเบน

ปัจจุบัน พบว่ามีหลายเทคนิคที่สามารถนำมาใช้ในการตรวจวัดปริมาณพาราเบน เช่น แก๊สโครมาโทกราฟฟี (Gas Chromatography) (Djatmika, R. *et al*., 2016) แคปิลลารีอิเล็กโทรโฟรีซิส (Capillary Electrophoresis) (Uysal, U. D. *et al*., 2008) รวมทั้งโครมาโทกราฟฟีเหลวสมรรถนะสูง (High Perfomance Liquid Chromatography) ใช้ร่วมกับการตรวจวัดแสงยูวีและวิสิเบิล (Aoyama, A. *et al*., 2014; Yang, J. *et al*., 2014) อย่างไรก็ตาม การตรวจวัดด้วยเทคนิคนี้ให้ความไวในการตรวจวัดต่ำ (low sensitivity) นอกจากนั้น หากตัวอย่างมีสารรบกวนเป็นจำนวนมาก ก็จำเป็นต้องใช้เทคนิคการเตรียมตัวอย่าง ซึ่งต้องใช้สารตัวทำละลายในปริมาณสูง รวมทั้งใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน ดังนั้น เทคนิคที่มีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์จึงมีความสำคัญในการวิเคราะห์สารระดับปริมาณน้อยในตัวอย่าง ซึ่งปัจจุบัน การตรวจวัดการเรืองแสงทางเคมี (Chemiluminescence) ยังคงได้รับความสนใจ เนื่องจาก มีความไวสูง สัญญาณรบกวนต่ำ ช่วงการตรวจวัดกว้าง และนอกจากนั้น หากตัวอย่างมีสารรบกวนที่มีสี หรือสารประกอบอินทรีย์อื่นๆ ก็ไม่สามารถรบกวนสัญญาณการวัดด้วยการเรืองแสงได้ เนื่องจากการเปล่งของแสง ขึ้นอยู่กับปฏิกิริยาจำเพาะกับสารนั้นๆ

การตรวจวัดพาราเบนสามารถกระทำได้โดยใช้การตรวจวัดการเรืองแสงทางเคมี อาศัยปฏิกิริยาระหว่างซีเรียม(IV) กับ โรดามีน 6 จี โดยที่เมทิลพาราเบนถูกไฮโดรไลซ์กลายเป็นกรดพาราไฮดรอกซีเบนโซอิกภายใต้สภาวะที่เป็นกรด (สมการที่ 1) จากนั้นกรดพาราไฮดรอกซีเบนโซอิกรีดิวซ์ซีเรียม(IV) กลายเป็นซีเรียม(III) ในสถานะกระตุ้น (สมการที่ 2) และจะเกิดการถ่ายโอนพลังงานไปยังสารโรดามีน 6 จี ให้กลายเป็นสถานะกระตุ้นของโรดามีน 6 จี (สมการที่ 3) แล้วจึงเกิดการปลดปล่อยพลังงานงานส่วนเกินในรูปของการเปล่งแสง (สมการที่ 4) พร้อมกับการให้สัญญาน นอกจากนั้นปฏิกิริยานี้สามารถใช้ในการตรวจวัดกลุ่มของสารประกอบฟีนอล เช่น ฟีนอล โพลีฟีนอล กรดฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ (Cui, H. *et al*., 2006)

$$\text{Paraben} + H_2SO_4 \longrightarrow \text{PHBA} + \text{alcohol} \quad (1)$$

$$Ce(IV) + PHBA \xrightarrow{\text{fast}} Ce(III)^{*} + PHBA_{ox} \quad (2)$$

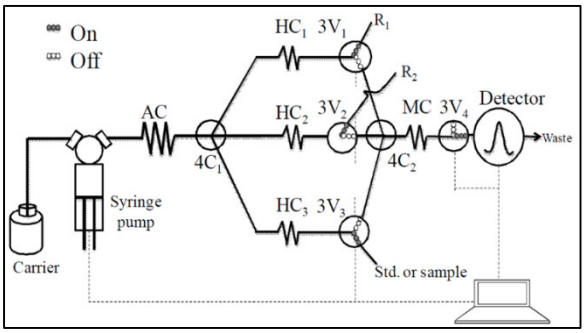
$$Ce(III)^{*} + \text{Rho 6G} \xrightarrow{H_2SO_4} Ce(III) + \text{Rho 6G}^{*} \quad (3)$$

$$\text{Rho 6G}^{*} \longrightarrow \text{Rho 6G} + h\boldsymbol{\nu}\ \text{(emission light)} \quad (4)$$

PHBA : *p*-hydroxybenzoic acid

ระบบไซมัลทีเนียสอินเจคชันเอฟเฟคทีฟมิกซิงโฟลว์อะนาลิซิส (SIEMA) ถูกพัฒนาขึ้นในปี ค.ศ. 2010 โดย Prof. Tadao Sakai, Prof. Shoji Motomizu and Prof. Nario Teshima (Teshima, N. *et al*., 2010) ซึ่งการทำงานอาศัยการควบคุมของโปรแกรมคอมพิวเตอร์ ระบบ SIEMA ประกอบด้วย ไซรินจ์ปั๊มแบบสองทิศทาง (bidirectional syringe pump) ท่อเชื่อมแบบสี่ทาง 2 ชิ้น (four-way cross connector; 4C)

รวมทั้ง โซลินอยล์วาล์วแบบสามทางจำนวน 4 ตัว (three-way valve; 3V) โดยโซลินอยล์วาล์วจำนวน 3 ตัว จะเชื่อมกับท่อพัก (holding coil; HC) ของแต่ละวาล์ว ดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 : รูปแบบทั่วไปของระบบ SIEMA (Teshima, N. *et al*., 2010)

โดยทั่วไป การตรวจวัดการเรืองแสงทางเคมี ควบคู่กับการใช้การวิเคราะห์แบบไหล (flow injection analysis) ต้องอาศัยความเร็วและประสิทธิภาพในการผสมกันของสารละลายรีเอเจนต์ทั้งหมดตรงจุดผสมบริเวณหน้าตัวตรวจวัดโฟวล์เซล ซึ่งระบบ SIEMA เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการผสมของสารละลายที่ดีมาก (Ratanawimarnwong, N. *et al*., 2014) เพราะสามารถผลักสารละลายทั้งหมดพร้อมกันในเวลาอันสั้น ดังนั้น งานวิจัยนี้ จึงได้พัฒนาระบบ SIEMA ร่วมกับการตรวจวัดการเรืองแสงทางเคมี เพื่อหาปริมาณเมทิลพาราเบนในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อพัฒนาระบบ SIEMA สำหรับการตรวจวัดเมทิลพาราเบนโดยใช้การตรวจวัดการเรืองแสงทางเคมี
2. เพื่อประยุกต์ใช้ระบบ SIEMA ควบคู่กับการตรวจวัดการเรืองแสงทางเคมีในการวิเคราะห์หาปริมาณเมทิลพาราเบนในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

1. สารเคมีและสารละลาย

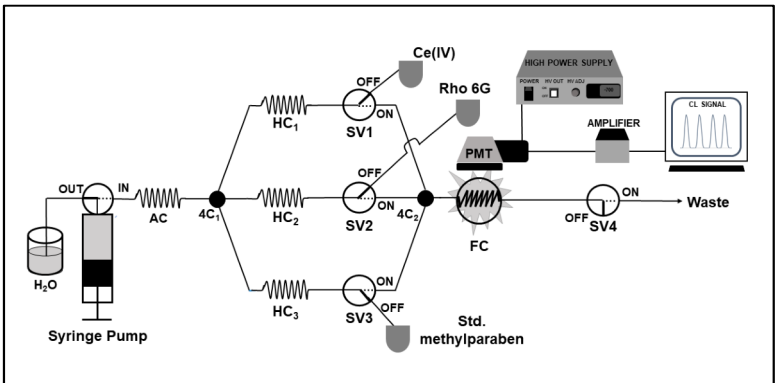
สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็นชนิด analytical grade และสารละลายทุกชนิดเตรียมในน้ำปราศจากไอออน สารละลายมาตรฐานเมทิลพาราเบน 0.66 มิลลิโมลาร์ ถูกเตรียมโดยชั่งสารเมทิลพาราเบน (Sigma, Spain) อย่างละเอียด จำนวน 0.01 กรัม ละลายและปรับปริมาตรเป็น 100.00 มิลลิลิตร ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 5 มิลลิโมลาร์ หลังจากนั้นเจือจางให้ได้สารละลายความเข้มข้น 0.13 0.20 0.26 0.33 และ 0.39 มิลลิโมลาร์ด้วยน้ำปราศจากไอออน เพื่อใช้สร้างกราฟมาตรฐาน สารละลายโรดามีน 6 จี 1 มิลลิโมลาร์ เตรียมโดยชั่งสารโรดามัน 6 จี 0.0479 กรัม (Sigma, Spain) ละลายน้ำแล้วปรับปริมาตรเป็น 100.00 มิลลิลิตร และ สารละลายซีเรียม(IV) 30 มิลลิโมลาร์ เตรียมโดยชั่งสารแอมโมเนียมซีเรียม(IV) ซัลเฟตไดไฮเดรต (Merck, Germany) 1.898 กรัม ละลายในสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 3 โมลาร์พร้อมปรับปริมาตรเป็น 100.00 มิลลิลิตร

2. การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางแต่ละชนิดเตรียมโดย ชั่งตัวอย่าง 1 กรัม จากนั้นละลายด้วยเมทานอล 5 มิลลิลิตร ตามด้วยเขย่าสารละลายด้วยเครื่องเขย่า (vortex mixer) 5 นาที และใช้ sonicator bath 15 นาที จากนั้นนำเข้าสู่เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) 30 นาที ที่ความเร็ว 3000 rpm ทำการกรองสารละลายด้วยไซรินจ์ฟิลเตอร์ชนิดไนลอนเมมเบรน ขนาด 0.45 ไมครอน และเจือจางสารละลายด้วยน้ำให้อยู่ในช่วงของความเข้มข้นที่ศึกษาก่อนที่จะนำไปวิเคราะห์ด้วยระบบ SIEMA-CL

3. การพัฒนาระบบ SIEMA โดยใช้การตรวจวัดการเรืองแสงทางเคมี

ระบบ SIEMA ประกอบด้วย ไซรินจ์ปั๊มแบบสองทิศทาง (Syringe pump) (5000 ไมโครลิตร, Hamilton, USA) ท่อช่วย (Auxiliary coil; AC) ท่อพักจำนวน 3 ชิ้น (HC_1, HC_2 และ HC_3) ท่อเชื่อมแบบสี่ทาง 2 ชิ้น ($4C_1$ และ $4C_2$) โซลินอยล์วาล์วแบบสามทางจำนวน 4 ตัว (SV_1, SV_2, SV_3 และ SV_4) (TAKASAGO ELECTRIC, INC) โดยโซลินอยล์วาล์วจำนวน 3 ตัว (SV_1 - SV_3) จะเชื่อมกับท่อพัก (HC) ของแต่ละวาล์ว ซึ่งในระบบนี้จะใช้ท่อ PTFE ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.75 มม. ยกเว้นท่อช่วย (AC) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 มม. ทิศทางของปั๊มและวาล์วถูกควบคุมโดยซอฟต์แวร์ SIA MPV5 และ SIA MPV3 ตามลำดับ สำหรับโฟลว์เซลล์ (FC) ที่ใช้สำหรับตรวจวัดจะมีขนาดพอดีกับหน้าต่างของตัวตรวจวัดหลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ (Photomultiplier tube; PMT) (Oriel 7020 Photomultiplier, USA) ซึ่งทำหน้าที่ตรวจวัดแสง ดังภาพที่ 3 การทำงานของระบบ (ตารางที่ 1) ถูกควบคุมโดยไซรินจ์ปั๊ม โดยการดูด (Aspiration) พร้อมกันของสารละลายซีเรียม (IV) สารละลายโรดามีน 6 จี และสารละลายมาตรฐานเมทิลพาราเบน เข้าสู่ท่อพักของสารละลายแต่ละชนิด หลังจากนั้นเป็นการผลัก (Dispensing) สารละลายทั้งหมดพร้อมกันไปยังตำแหน่งตัวตรวจวัดโฟวล์เซล (FC, ยาว x กว้าง 12 x 9 ซม และ เส้นผ่านศูนย์กลาง 54.5 มม) ดังแสดงในภาพที่ 3



ภาพที่ 3 : แผนภาพระบบ SIEMA กับการใช้การตรวจวัดการเรืองแสงทางเคมีเพื่อหาปริมาณพาราเบน

ตารางที่ 1 : ลำดับขั้นตอนการทำงานของระบบ SIEMA เพื่อตรวจวัดปริมาณเมทิลพาราเบน

ขั้นตอน	ตำแหน่งของไซรินจ์วาล์ว	SV_1	SV_2	SV_3	SV_4	อัตราการไหล (ไมโครลิตร/วินาที)	ปริมาตร (ไมโครลิตร)	ขั้นตอนการทำงาน
1	OUT	OFF	OFF	OFF	OFF	300	4100	ดูดน้ำเข้าสู่ไซรินจ์
2	IN	OFF	OFF	OFF	OFF	50	900	ดูดรีเอเจนต์และสารละลายมาตรฐานเข้าสู่ท่อพัก HC_1, HC_2 และ HC_3 ตามลำดับ
3	IN	ON	ON	ON	ON	450	5000	ผลักสารละลายทั้งหมดเข้าสู่ดีเทคเตอร์

ผลการวิจัยและการอภิปราย

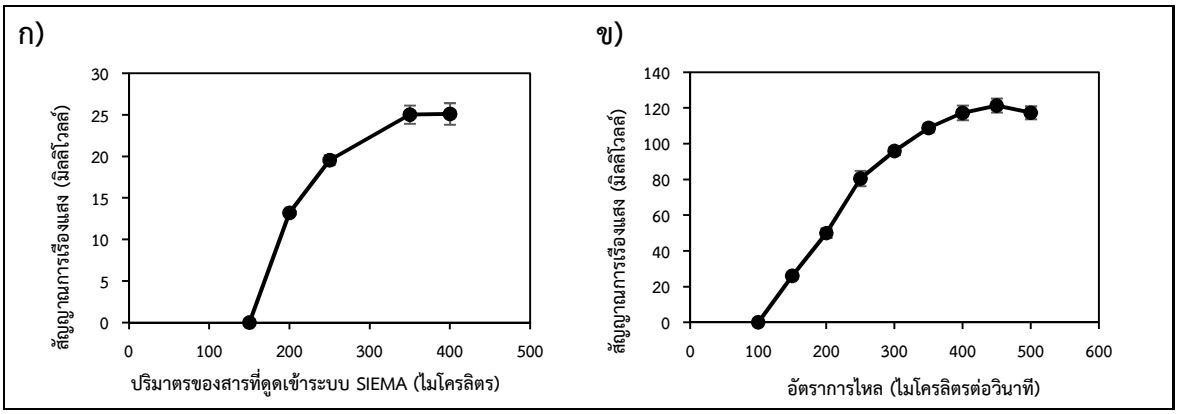
1. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของระบบ SIEMA ร่วมกับการใช้การตรวจวัดการเรืองแสงทางเคมี

1.1 อิทธิพลของปริมาตรของสารที่ดูดเข้าระบบ SIEMA (Aspirated solution volume)

เนื่องจากการทำงานของระบบ SIEMA อาศัยการดูดพร้อมกันของสารละลายเข้าสู่ท่อพักของสารแต่ละชนิด ภายใต้การทำงานของไซรินจ์ปั๊มตัวเดียว ซึ่งท่อพักจะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายในเท่ากัน ดังนั้นปริมาตรของสารละลายมาตรฐานเมทิลพาราเบน ซีเรียม(IV) และโรดามีน 6 จี ที่ดูดเข้าสู่ระบบจะเป็นการควบคุมแบบใช้ปริมาตรเท่ากันทั้งหมด ในการทดลองนี้ได้ศึกษาปริมาตรของสารในช่วง 150 ถึง 400 ไมโครลิตร พบว่าสัญญาณการเรืองแสงมีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อเพิ่มปริมาตรของสารจาก 150 ไมโครลิตร จนถึง 350 ไมโครลิตรและสัญญาณการเรืองแสงค่อนข้างคงที่เมื่อเพิ่มปริมาตรเป็น 400 ไมโครลิตร ดังนั้นปริมาตรของสารที่ 350 ไมโครลิตรจึงมีความเหมาะสม เนื่องจากให้ความไวในการวิเคราะห์สูง ดังภาพที่ 4 ก)

1.2 อิทธิพลของอัตราการไหลของการปล่อยสารละลาย (Dispensing flow rate)

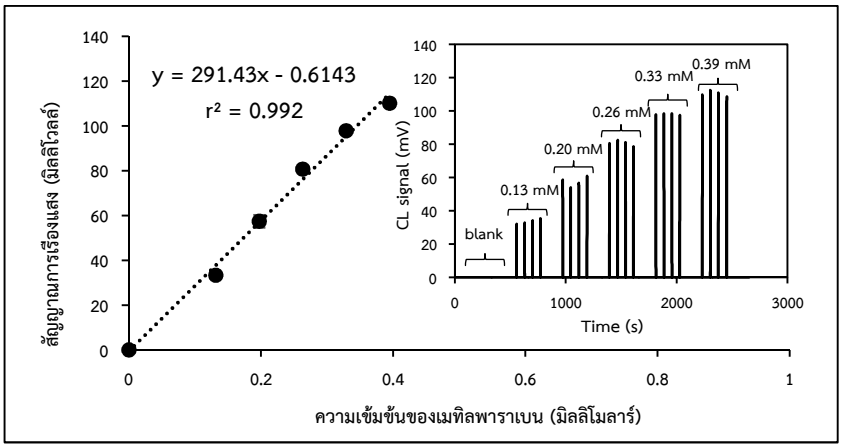
อัตราการไหลสำหรับการปล่อยโซนของสารละลายที่ถูกพักไว้ในท่อพักเข้าสู่โฟลว์เซลเป็นตัวแปรสำคัญต่อความเข้มของสัญญาณการเรืองแสง เนื่องจากอัตราการไหลที่เหมาะสมจะส่งผลต่อประสิทธิภาพการผสม ณ จุดผสมบริเวณ $4C_2$ และจะส่งผลต่อตำแหน่งของสารผลิตภัณฑ์บนโฟลว์เซลซึ่งให้ค่าการเรืองแสงมากที่สุด จากผลการทดลองพบว่า สัญญาณการเรืองแสงเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มอัตราการไหล จนถึง 450 ไมโครลิตรต่อวินาที หลังจากนั้นสัญญาณมีแนวโน้มลดลง ซึ่งเกิดจากอัตราการไหลที่ต่ำกว่า 450 ไมโครลิตรต่อวินาที ตำแหน่งของท่อนผลิตภัณฑ์และการเปล่งแสงเกิดก่อนที่ท่อนของสารจะไหลเข้าสู่โฟลว์เซล ซึ่งเป็นบริเวณที่มี PMT เป็นตัวตรวจวัดแสง สำหรับอัตราการไหลที่สูงกว่า 450 ไมโครลิตรต่อวินาที ท่อนของสารเรืองแสงอาจจะเกิดบริเวณตำแหน่งส่วนท้ายของโฟลว์เซล สัญญานที่ได้จึงลดลง ดังนั้น งานวิจัยนี้เลือกที่อัตราการไหล 450 ไมโครลิตรต่อวินาที สำหรับการวิเคราะห์เมทิลพาราเบน ดังภาพที่ 4 ข)



ภาพที่ 4 : อิทธิพลของตัวแปรทางกายภาพที่มีผลต่อการวิเคราะห์เมทิลพาราเบน 0.66 มิลลิโมลาร์ ก) อิทธิพลของปริมาตรของสารที่ดูดเข้าระบบ SIEMA ข) อิทธิพลของอัตราการไหลของการปล่อยสารละลาย

2. กราฟมาตรฐาน (Calibration curve)

ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของวิธีวิเคราะห์เมทิลพาราเบนด้วยระบบ SIEMA ควบคู่กับการตรวจวัดการเรืองแสงทางเคมีตั้งแต่ช่วงความเข้มข้น 0.13 ถึง 0.66 มิลลิโมลาร์ จากการทดลองพบว่าระบบที่พัฒนาขึ้นพบความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.13 ถึง 0.39 มิลลิโมลาร์ ซึ่งให้สมการเส้นตรง y = 291.43x - 0.6143 โดย ค่า y และ x คือ สัญญาณการเรืองแสง (มิลลิโวลล์) และ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเมทิลพาราเบน (มิลลิโมลาร์) ตามลำดับ ดังภาพที่ 5 ระบบที่พัฒนาขึ้นให้ค่าขีดจำกัดการตรวจหา (LOD, 3σ of blank) และขีดจำกัดการวัดเชิงปริมาณ (LOQ, 10σ of blank) เท่ากับ 0.04 และ 0.11 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ ระบบนี้สามารถทำการวิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็ว โดยสามารถทำการวิเคราะห์ได้ 51 ตัวอย่างต่อชั่วโมง



ภาพที่ 5 : กราฟมาตรฐานของเมทิลพาราเบนโดยการใช้ระบบ SIEMA ควบคู่กับการตรวจวัดการเรืองแสงทางเคมี

3. การวิเคราะห์เมทิลพาราเบนในตัวอย่าง

ปริมาณเมทิลพาราเบนที่วิเคราะห์ได้ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง แสดงดังตารางที่ 2 ซึ่งค่าร้อยละการได้กลับคืน (% Recovery) อยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ คือ 83.9 – 99.9% ดังนั้นวิธีการวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นในงานวิจัยนี้สามารถประยุกต์ใช้วิเคราะห์สารเมทิลพาราเบนในตัวอย่างได้

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณเมทิลพาราเบน (MP) ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง โดยใช้ระบบ SIEMA ร่วมกับการตรวจวัดการเรืองแสงทางเคมี

ตัวอย่าง	Present (mM)	Added (mM)	Found (mM)	% Recovery
Facial gel1	0.159 ± 0.048	0.200	0.341 ± 0.050	90.9
Facial gel2	0.170 ± 0.046	0.200	0.338 ± 0.048	83.9
Hydrating lotion	0.169 ± 0.050	0.200	0.369 ± 0.047	99.9

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

สำหรับการพัฒนาระบบ SIEMA ร่วมกับการตรวจวัดการเรืองแสงทางเคมี (SIEMA-CL) เพื่อใช้วิเคราะห์เมทิลพาราเบน ได้สภาวะที่เหมาะสม คือ ปริมาตรตัวอย่างที่ 350 ไมโครลิตร อัตราการไหลของการปล่อยสารละลาย 450 ไมโครลิตรต่อวินาที ซึ่งได้พิจารณาจากความไวในการวิเคราะห์ นอกจากนั้น ระบบนี้ยังให้ช่วงความเป็นเส้นตรงสำหรับการวิเคราะห์เมทิลพาราเบนตั้งแต่ 0.13 ถึง 0.39 มิลลิโมลาร์ (r^2 = 0.992) เมื่อนำระบบ SIEMA-CL ไปประยุกต์ใช้สำหรับการวิเคราะห์เมทิลพาราเบนในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง พบว่าตัวอย่างแต่ละชนิดมีปริมาณเมทิลพาราเบนแตกต่างกัน โดยไม่มีการรบกวนจากสารอื่นๆ (matrix compounds) ต่อระบบ ข้อดีของเทคนิคการวิเคราะห์ในงานวิจัยนี้ คือ ระบบ SIEMA ใช้เวลาในการวิเคราะห์ได้รวดเร็ว (51 ตัวอย่างต่อชั่วโมง) เนื่องจากเป็นระบบที่ดูดและปล่อยสารละลายทั้งหมดในระบบพร้อมกัน รวมทั้งใช้ปริมาณของรีเอเจนต์น้อยในระดับไมโครลิตร

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณทุนสนับสนุนการวิจัย โครงการ พสวท. และศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมทางเคมี (PERCH-CIC) กระทรวงอุดมการณ์ วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม ภาควิชาเคมีและศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมทางเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล รวมทั้งขอขอบคุณภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดลที่เอื้อเฟื้อสถานที่ รวมทั้งอุปกรณ์และสารเคมีในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. (2558). ประกาศกระทรวงสาธารณะสุข เรื่อง กำหนดวัตถุกันเสียที่อาจใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเครื่องสำอาง. สืบค้นเมื่อ ตุลาคม 12, 2562, จาก http://www.fda.moph.go.th/sites/Cosmetic/SitePages/Interesting_Laws.aspx.

Aoyama, A.; Doi, T.; Tagami, T.; Kajimura, K. (2014). Simultaneous Determination of 11 Preservatives in Cosmetics by High-Performance Liquid Chromatography. **Journal of Chromatographic Science.** 2014 (9), 1010-1015.

Cui, H.; Zhang, Q.; Myint, A.; Ge, X.; Liu, L. (2006). Chemiluminescence of cerium(IV)–rhodamine 6G–phenolic compound system. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry.** 2006 (2), 238-245.

Djatmika, R.; Hsieh, C.-C.; Chen, J.-M.; Ding, W.-H. (2016). Determination of paraben preservatives in seafood using matrix solid-phase dispersion and on-line acetylation gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography B.** 2016 (1036-1037), 93-99.

European Commission. Scientific Committee on Consumer Products. (2549). สืบค้นเมื่อ ตุลาคม 12, 2562, จาก http://ec.europa.eu/health/ph_risk/ committees/04_ sccp/docs/sccp_o_074.pdf.

Garner, N.; Siol, A.; Eilks, I. (2014). Parabens as preservatives in personal care products. **Chemistry inActio.** (38-43).

Ratanawimarnwong, N.; Sakai, T., Nacapricha, D. and Motomizu S (2014). Simultaneous Injection Effective Mixing Flow Analysis (SIEMA): Its Development and Application. **Journal of flow injection analysis.** 2014, 15-17.

Teshima, N.; Noguchi, D.; Joichi, Y.; Lenghor, N.; Ohno, N.; Sakai, T.; Motomizu, S. (2010). Simultaneous Injection-Effective Mixing Analysis of Palladium. **Japan Society for Analytical Chemistry**. 2010 (26), 43-4.

Uysal, U. D.; Güray, T. (2008). Determination of parabens in pharmaceutical and cosmetic products by capillary electrophoresis. **Journal of Analytical Chemistry.** 2008 (10), 982-986.

Yang, J.; Li, Y.; Gong, W.; Wang, C.; Liu, B.; Sun, C. (2014). Simultaneous Determination of Six Parabens in Foods by Matrix Liquid-Phase Dispersion Extraction Combined with High-Performance Liquid Chromatography. **Food Analytical Methods.** 2014 (8), 1693-1702.