

การวิเคราะห์ปริมาณของแอลกอฮอล์ในหน่วยร้อยละโดยปริมาตร ในเจลแอลกอฮอล์ชนิดหนืด

Analysis of Alcohol Content in Viscous Alcohol Gel Expressed as Percent by Volume

วัชรระ แก้วสุวรรณ* ทรงพล หอมอุทัย และ ศักดิ์ชัยบดี ปิ่นศรีทอง*

Watchara Kaewsuwan, Songpol Homutai and Sakchai Bordee Pinsritong*

Received: 22 January 2022, Revised: 21 June 2022, Accepted: 27 June 2022

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อศึกษาวิธีวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ในหน่วยร้อยละโดยปริมาตรของเมทานอล ไอโซโพรพานอล และเอทานอลในเจลแอลกอฮอล์ชนิดหนืดที่ไม่สามารถเปิดให้ได้ปริมาตรที่แน่นอน โดยการศึกษาจะใช้วิธีวัดค่าความหนาแน่นที่แท้จริงของเจลแอลกอฮอล์ เพื่อเปลี่ยนจากน้ำหนักเป็นปริมาตรเจล จากนั้นตรวจวัดปริมาณแอลกอฮอล์ด้วยเครื่องเสดสเปซ ร่วมกับเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี ตัวตรวจวัดชนิดเฟลม ไอออไนเซชัน ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมจากการทดสอบใช้เวลาการตรวจวัดเพียง 15 นาทีสำหรับทั้ง 3 สารประกอบ ผลการวิเคราะห์ที่ได้จะถูกคำนวณเป็นร้อยละโดยปริมาตรของแอลกอฮอล์แต่ละชนิดในเจลแอลกอฮอล์ด้วยสมการที่สร้างขึ้น วิธีการมีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง ในช่วงที่ศึกษาครอบคลุมตามเกณฑ์ที่กำหนดของกระทรวงสาธารณสุขที่กำหนดเมทานอลในตัวอย่างไม่เกินร้อยละ 5 โดยปริมาตร และเอทานอลควรมีในตัวอย่างมากกว่าร้อยละ 70 โดยปริมาตร คือเมทานอลมีช่วงการวิเคราะห์ร้อยละ 0.04 - 7.06 โดยปริมาตรและเอทานอลช่วงการวิเคราะห์ร้อยละ 0.48 - 96.62 โดยปริมาตร ส่วนไอโซโพรพานอลจะศึกษาช่วงการวัดที่ปริมาณน้อยเช่นเดียวกับเมทานอล เนื่องจากมักพบในตัวอย่างจริงในช่วงปริมาณน้อย ค่าร้อยละการได้กลับคืนเฉลี่ยอยู่ในช่วง 95.05 ± 3.89 ถึง 97.71 ± 5.18 สำหรับ เมทานอล ไอโซโพรพานอล และ 99.58 ± 2.57 ถึง 100.02 ± 2.19 สำหรับเอทานอล ค่าความเที่ยงของการวัดเท่ากับ 3.49 - 5.36% สำหรับเมทานอล ไอโซโพรพานอล และ 0.95 - 1.84% สำหรับเอทานอล

คำสำคัญ: เจลแอลกอฮอล์, ความหนาแน่นที่แท้จริง, เสดสเปซ, แก๊สโครมาโทกราฟี

สำนักเครื่องมือวิทยาศาสตร์และการทดสอบ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90110

Office of Scientific Instrument and Testing, Prince of Songkla University, Hat Yai Campus, Songkhla 90110, Thailand.

* ผู้นิพนธ์ประสานงาน ไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (Corresponding author, e-mail): Sakchai.bordee.s@psu.ac.th

ABSTRACT

This work to study method for analyzing alcohol content expressed as percentage by volume of alcohol, namely methanol, isopropanol and ethanol in a viscous alcohol gel that cannot be pipetted to exact volume. In this study, the true density of alcohol gel was measured to change from weight to gel volume. The researchers then measured the alcohol content with a headspace-gas chromatography flame ionization detector. Under the optimum conditions, the test took only 15 min for all three compounds. The results were calculated as a percentage by volume of each alcohol in the alcohol gel using the generated equation. There was a linear relationship between concentration and response. The range studied according to the criteria regulated by the Ministry of Public Health, methanol content does not exceed 5% by volume, while ethanol content should be more than 70% by volume. The analysis range of methanol and ethanol percentage by volume were 0.04 - 7.06 and 0.48 - 96.62 respectively, whereas isopropanol studied the small measurement range as same as methanol. This was because they are often found small quantities in real samples. The percentage recovery ranged from 95.05 ± 3.89 to 97.71 ± 5.18 for both methanol and isopropanol and 99.58 ± 2.57 to 100.02 ± 2.19 for ethanol. The precision of method was 3.19 - 5.36% for both methanol and isopropanol and 0.95 - 1.84% for ethanol.

Key words: alcohol gel, true density, headspace, gas chromatograph

บทนำ

ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขประเทศไทย ปี 2563 เรื่อง ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือที่มีแอลกอฮอล์เป็นส่วนประกอบเพื่อสุขอนามัย กำหนดไว้ว่า “ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือที่มีแอลกอฮอล์เป็นส่วนประกอบเพื่อสุขอนามัย” หมายความว่า ผลิตภัณฑ์ที่ประกอบด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ และหรือ ไอโซโพรพานอล ตั้งแต่หรือมากกว่าร้อยละ 70 โดยปริมาตร (volume by volume, %v/v) (Ministry of Public Health, 2020) เนื่องจากชนิดและปริมาณของแอลกอฮอล์ มีผลต่อการยับยั้งเชื้อโรค ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีวิธีการวัดเชิงคุณภาพและทดสอบปริมาณร้อยละโดยปริมาตรที่เหมาะสมเพื่อให้ทราบปริมาณแอลกอฮอล์สำหรับใช้ทำความสะอาดมือเพื่อป้องกันเชื้อโรคต่างๆ โดยเฉพาะเชื้อโรคโควิด 19 ที่กำลังมีการระบาดอยู่ในปัจจุบัน (Fallica *et al.*, 2021)

ซึ่งผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือที่มีแอลกอฮอล์เป็นส่วนประกอบมีผลิตภัณฑ์หลายรูปแบบ เช่น เจลของเหลว และสเปรย์ เป็นต้น ซึ่งในการวัดปริมาณตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ที่ระบุปริมาณแอลกอฮอล์ส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์เป็นหน่วยร้อยละโดยปริมาตร กรณีตัวอย่างที่เป็นเจล ตัวอย่างจะมีลักษณะข้นและเหนียว การสุ่มเลือกตัวอย่างเจลที่มีลักษณะเหนียวให้ได้ปริมาตรที่ต้องการก่อนชั่งทำได้ยาก ซึ่งหากสุ่มเลือกไม่ถูกวิธีจะทำให้ปริมาตรที่ได้อาจมีความคลาดเคลื่อนไม่ถูกต้องตามความเป็นจริง ในงานวิจัยนี้จึงได้สนใจศึกษาหาวิธีการวัดปริมาณร้อยละโดยปริมาตรของแอลกอฮอล์ส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์เจลแอลกอฮอล์ชนิดเหนียว โดยเลือกการชั่งน้ำหนักตัวอย่างเจล และศึกษาหาความหนาแน่นที่แท้จริงของเจลแอลกอฮอล์ที่ใช้ในประเทศไทย และยังไม่

รายงานวิจัยใดรายงานค่าไว้เพื่อนำค่าความหนาแน่นที่แท้จริงมาเปลี่ยนน้ำหนักตัวอย่างที่ชั่งได้เป็นปริมาตรที่ถูกต้องเพื่อให้การรายงานผลสอดคล้องตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข โดยแอลกอฮอล์ส่วนประกอบที่จะศึกษาหาปริมาณคือ ไอโซโพรพานอล และเอทานอล เพื่อตรวจสอบปริมาณว่ามีมากกว่าร้อยละ 70 โดยปริมาตรหรือไม่ พร้อมกับวัดปริมาณสารที่แสดงความเป็นพิษหาปริมาณมากคือ เมทานอลที่เป็นสารเปลี่ยนแปลงสภาพ (denaturant) จากไอโซโพรพานอล และเอทานอล โดยตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขประเทศไทย ปี 2561 กำหนดไว้ว่ามีเมทานอลในเครื่องสำอางพร้อมใช้ได้สูงสุดไม่เกินร้อยละ 5 โดยปริมาตรของเอทานอลและไอโซโพรพานอล และกรณีเป็นเครื่องสำอางที่ใช้บริเวณรอบดวงตาไม่เกินร้อยละ 1 โดยปริมาตร (Ministry of Public Health, 2018) เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค

สำหรับเครื่องมือในการทดสอบปริมาณแอลกอฮอล์ทั้งเมทานอล ไอโซโพรพานอล และเอทานอลในผลิตภัณฑ์เจลแอลกอฮอล์ คือเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี ร่วมกับตัวตรวจวัดชนิดเฟลมไอออไนเซชัน (GC-FID) เนื่องจากมีความจำเพาะและให้สัญญาณการตอบสนองที่ดีกับสารอินทรีย์ระเหยง่ายกลุ่มแอลกอฮอล์ (Tiscione *et al.*, 2011) แต่เนื่องจากการตรวจวิเคราะห์จำเป็นต้องมีการเตรียมตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์เพื่อลดสารรบกวน หรือเพื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารที่สนใจอยู่ในช่วงที่สามารถตรวจวัดได้ โดยเทคนิคการเตรียมตัวอย่างหาปริมาณแอลกอฮอล์ในเจลแอลกอฮอล์ มีทั้งการเจือจางตัวอย่างแล้วทดสอบโดยตรงสู่เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (Thitisaksakul *et al.*, 2021; Vivon and Nakniyom, 2021) ซึ่งเป็นวิธีการที่ง่ายและรวดเร็ว อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์บางชนิดจะมีส่วนผสมอื่น ๆ อยู่ด้วย เช่น สารแต่งสี สารเพิ่มความหนืด สารก่อก่อ

เป็นต้น สารเหล่านี้อาจปนเปื้อนเข้าสู่เครื่องมือวิเคราะห์ได้ (FDA, U.S. Food and Drug Administration, 2020; Jing *et al.*, 2020) อาจส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพ ได้ทั้งทางบวกและทางลบ คือ ได้ค่ามากหรือน้อยกว่าความเป็นจริง และสารเคมีส่วนผสมหลายชนิด มักมีจุดเดือดค่อนข้างสูงทำให้ตกค้างบริเวณหัวฉีด (Dhandapani and abaji, 2020) เป็นผลให้โหนดอร์และคอลัมน์ของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีเสื่อมสภาพการใช้งาน (Chun *et al.*, 2016) จากปัญหาดังกล่าวเทคนิคที่น่าสนใจในการเตรียมตัวอย่างและการสกัดสารอินทรีย์ระเหยง่าย โดยสารปนเปื้อนที่มีจุดเดือดสูงไม่ปนเปื้อนเข้าสู่เครื่องมือวิเคราะห์คือ เทคนิคเฮดสเปซ (Headspace, HS) ซึ่งเป็นเทคนิคที่เหมาะสมสำหรับการสกัดเพื่อวิเคราะห์สารระเหยง่าย อย่างเช่น แอลกอฮอล์ (Tiscione *et al.*, 2011; SHIMADZU, 2020) หลักการจะเป็นการให้ความร้อนแก่สารตัวอย่างในภาชนะปิดจนสารที่สนใจวิเคราะห์กระจายตัวเข้าสู่สถานะสมดุลระหว่างเฟสสองเฟสคือ เฟสของตัวอย่างและเฟสของบริเวณเฮดสเปซ โดยสารแอลกอฮอล์ส่วนประกอบจะอยู่ในลักษณะของแก๊สในเฟสเฮดสเปซและของเหลวในเฟสของเจลแอลกอฮอล์ จากนั้นนำสารที่อยู่ในเฟสของเฮดสเปซไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี ทำให้ไม่มีผลของสารรบกวนจากสารแต่งสี สารเพิ่มความหนืดของเจลเข้าสู่ระบบวิเคราะห์ (Snow and Slack, 2002; Ji *et al.*, 2006) วิธีการเตรียมตัวอย่างแบบเฮดสเปซร่วมกับการวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีจึงถูกเลือกใช้ในการศึกษาวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ทั้ง 3 ชนิดในตัวอย่างเจลแอลกอฮอล์

ดังนั้นโดยสรุปในงานวิจัยนี้จะศึกษาหาวิธีวิเคราะห์ปริมาณของแอลกอฮอล์ในหน่วยร้อยละโดยปริมาตรในเจลแอลกอฮอล์ชนิดตัวอย่างที่มีลักษณะหนืด โดยการชั่งน้ำหนักตัวอย่างแล้ว

เปลี่ยนเป็นปริมาตรด้วยค่าความหนาแน่นที่แท้จริง แล้วตรวจวัดความเข้มข้นด้วยเทคนิคเฮดสเปซ ร่วมกับการวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ พร้อมกับการสร้างสมการคำนวณผลให้เหมาะกับการวิเคราะห์เชิงปริมาณของสารประกอบอินทรีย์ใน ตัวอย่างเจลแอลกอฮอล์

วิธีดำเนินการวิจัย

1. ตัวอย่างเจลแอลกอฮอล์

ตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์ทั้งหมดเป็น ตัวอย่างเจลแอลกอฮอล์ชนิดชนิดที่มีการส่งทดสอบ ณ สำนักเครื่องมือวิทยาศาสตร์และการทดสอบ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ โดยภาครัฐและเอกชน ช่วงปี 2563 - 2564 จำนวน 23 ตัวอย่าง

2. สารเคมีที่ใช้

สารมาตรฐาน เมทานอล ไอโซโพรพานอล และเอทานอลซื้อจาก Merck KGaA (Darmstadt, Germany) น้ำปราศจากไอออน (DI) ผลิตจากเครื่อง ทำน้ำบริสุทธิ์ Milli-Q (Merck KGaA, Darmstadt, Germany)

3. เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟร่วมกับตัวตรวจวัดชนิดเฟลมไอออไนเซชัน ยี่ห้อ Hewlett Packard รุ่น 6850 โดยสภาวะการทดสอบ คอลัมน์ที่ใช้ในการแยกสารคือ HP-Immowax ความยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.32 มิลลิเมตร ความหนาของฟิล์ม 0.25 ไมโครเมตร อุณหภูมิห้องของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟแบบคงที่ 50 °C เป็นเวลา 9 นาที ตัวตรวจวัดชนิดเฟลมไอออไนเซชันอุณหภูมิ 160 °C อัตราไหลแก๊สไฮโดรเจน แอร์ชีโร และไนโตรเจน เท่ากับ 30, 300, 25 mL/min ตามลำดับ อุณหภูมิหัวฉีด 150 °C สัดส่วนสารเข้าคอลัมน์ 1 ต่อ 50 ใช้แก๊สฮีเลียมเป็นแก๊สพาอัตราไหล 1 mL/min เครื่องเฮดสเปซยี่ห้อ Hewlett Packard รุ่น HP 7694 สภาวะที่ใช้แสดงดังตารางที่ 1 เครื่องวัดความหนาแน่นที่แท้จริง (True density analyzer) ยี่ห้อ Micromeritics รุ่น AccuPyc II 1340 เครื่องชั่ง 5 ตำแหน่งยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น AT261

ตารางที่ 1 สภาวะในการทดสอบของเครื่องเฮดสเปซ

สภาวะ	ค่าที่ตั้ง	สภาวะ	ค่าที่ตั้ง
Equilibrium temperature	80 °C	Loop fill time	0.5 นาที
Equilibrium time	15 นาที	Loop eq. time	0.05 นาที
Loop temperature	95 °C	Pressurization time	0.1 นาที
Transfer line temperature	150 °C	Injection time	1.0 นาที
Vial shaking	on	Vial pressure	15.2 psi
Loop size:	0.25 mL	Carrier pressure	4.5 psi

4. การศึกษาหาเวลาที่เหมาะสมของเทคนิคเฮดสเปซ

เวลาในการสกัดเป็นเวลาที่เหมาะสมที่ให้สารที่วิเคราะห์เกิดการเคลื่อนที่จนเข้าสู่สมดุล (Equilibrium time) ระหว่างเฟสของตัวอย่างและเฟส

ของเฮดสเปซ โดยในการศึกษาจะเตรียมสารมาตรฐานผสมความเข้มข้น 0.6 mL/L สำหรับเมทานอล ไอโซโพรพานอล และ 39.2 mL/L สำหรับเอทานอลปริมาตร 100 mL แบ่งสารมาตรฐานใส่ขวด

เฮกสเปชวอดละ 2 mL จำนวน 5 ขวดต่อเวลาที่ศึกษา โดยช่วงเวลาที่ศึกษาคือ 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 นาที หลังจากได้สภาวะที่เหมาะสมของเวลาในการสกัดแล้ว จะศึกษาประสิทธิภาพของวิธีก่อนการนำไปประยุกต์ใช้กับตัวอย่างจริง

5. การศึกษาประสิทธิภาพของวิธี (Analytical performances)

การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีจะศึกษาตาม แนวปฏิบัติมาตรฐานของ AOAC ปี 2016 (AOAC, 2016) สำหรับการทดสอบเชิงปริมาณกรณีสารที่สนใจเป็นองค์ประกอบหลักในตัวอย่างที่ตรวจวัด โดยมีรายการที่ศึกษาดังนี้

5.1 ความเป็นเส้นตรงของช่วงการวิเคราะห์ (Applicable range)

ศึกษาโดยการเตรียมสารมาตรฐาน ช่วงความเข้มข้นของเครื่องมือคือ 0.02 - 4.00 mL/L ของเมทานอล ไอโซโพรพานอลและ 0.27 - 54.00 mL/L ของเอทานอลในตัวทำละลายน้ำ DI ซึ่งจะสอดคล้องตามปริมาณแอลกอฮอล์ส่วนประกอบที่มักพบในตัวอย่างเจลแอลกอฮอล์และสอดคล้องตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขเรื่องปริมาณแอลกอฮอล์ส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือ หลังจากนั้นนำสารมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 2 mL ใส่ในขวดเฮกสเปชจำนวน 3 ขวดต่อความเข้มข้น ไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HS-GC-FID ผลของสัญญาณที่ได้จากเครื่องนำมาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารแต่ละชนิดและสัญญาณการตอบสนองที่ได้ แล้วพิจารณาช่วงความเป็นเส้นตรง โดยค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) มีค่ามากกว่า 0.995 (Van *et al.*, 2002)

5.2 ขีดจำกัดการตรวจวัด (Limit of detection: LOD) และขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantification, LOQ)

ขีดจำกัดการตรวจวัดคือความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ ทำได้โดยการเพิ่มสารมาตรฐานในตัวทำละลายน้ำ DI แล้วทำการวัด 10 ซ้ำและให้อัตราส่วนของสัญญาณต่อสัญญาณรบกวนมากกว่าหรือเท่ากับสาม (Signal to noise ratio, $S/N \geq 3$) และขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณ คือระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณสารให้มีความถูกต้องและแม่นยำอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ทำโดยการเพิ่มสารมาตรฐานในตัวทำละลายน้ำ DI แล้วทำการวัด 10 ซ้ำ และให้อัตราส่วนของสัญญาณต่อสัญญาณรบกวนมากกว่าหรือเท่ากับสิบ ($S/N \geq 10$) (Shrivastava, 2011; Jullakan *et al.*, 2020)

5.3 ความแม่นยำ (Accuracy)

ศึกษาในรูปแบบร้อยละการได้กลับคืน (% Recovery) คำนวณจากความเข้มข้นของค่าที่วัดได้ของสารมาตรฐานที่เติมลงไปรวมกับความเข้มข้นที่มีอยู่เดิม (Spike sample) หักลบความเข้มข้นที่มีอยู่เดิม (Unspike) แล้วหารด้วยความเข้มข้นที่เติมลงไป คำนวณเป็นค่าร้อยละการได้กลับคืนจากการเติมสารมาตรฐานลงในตัวอย่าง

โดยปกติการศึกษาร้อยละการได้กลับคืนในตัวอย่างของเหลว ของแข็งหรือของเหลวหนืด ตัวอย่าง unspike และ spike sample ต้องชั่งน้ำหนักให้ใกล้เคียงกันเพื่อให้สามารถเปรียบเทียบค่ากันได้ง่าย และจำเป็นอย่างมากสำหรับสารที่สนใจที่มีอยู่ในตัวอย่างในสัดส่วนปริมาณมาก ซึ่งในทางปฏิบัติจริงค่อนข้างทำได้ยากในการชั่งตัวอย่างเจลแอลกอฮอล์เพื่อการ spike ให้มีน้ำหนักเท่ากับตัวอย่าง unspike ที่ชั่งไว้เริ่มแรก เพราะลักษณะตัวอย่างที่มีลักษณะหนืดทำให้ควบคุมน้ำหนักยาก ต้องใช้เวลานาน ซึ่งเวลานานขึ้นอาจทำให้แอลกอฮอล์ส่วนประกอบ

ระเหยออกไปจากเจลทำให้ค่าที่ได้ไม่สอดคล้องกับความเป็นจริงคือมีค่าลดลง ดังนั้นในงานวิจัยนี้จะเลือกใช้ค่าน้ำหนักจริงช่วงน้ำหนัก 95 - 105 mg ที่ซึ่งได้ของเจลแอลกอฮอล์ สำหรับทั้ง unspike และ spike sample โดย spike sample จะเติมสารมาตรฐานตามช่วงความเป็นเส้นตรงที่ 3 ระดับความเข้มข้นคือระดับ 1 เข้มข้น 0.3 mL/L ระดับ 2 เข้มข้น 0.9 และระดับ 3 เข้มข้น 1.5 mL/L สำหรับเมทานอล ไอโซโพรพานอล และระดับ 1 เข้มข้น 15.0 mL/L ระดับ 2 เข้มข้น 21.0 และระดับ 3 เข้มข้น 27.0 mL/L สำหรับเอทานอลลงในตัวอย่างเจลแอลกอฮอล์ที่ชั่งน้ำหนักไว้ ปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายน้ำ DI ให้ได้ปริมาตร 5 mL แต่ละระดับความเข้มข้นของ spike sample จะนำมาคำนวณร้อยละการได้กลับคืนโดยใช้สมการที่ออกแบบขึ้นเองสำหรับสมการที่ 1 และ

$$C_{su} = \frac{(W_{sp} - W_u) \times C_U}{W_u}$$

$$\% \text{ Recovery} = \left(\frac{C_F - (C_U + C_{su})}{C_A} \right) \times 100$$

สมการที่ 1

สมการที่ 2

เมื่อ C_{su} คือ ความเข้มข้นส่วนต่างจากการชั่งน้ำหนักระหว่าง spike sample และ unspike หน่วย mL/L
 W_{sp} คือ น้ำหนักของตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐานลงไป (spike sample) หน่วย mg
 W_u คือ น้ำหนักของตัวอย่างที่ไม่มีการเติมสารมาตรฐาน (unspike) หน่วย mg
 C_F คือ ความเข้มข้นที่ตรวจวัดได้ของสารที่เติมรวมกับที่มีอยู่เดิม (spike sample) หน่วย mL/L
 C_U คือ ความเข้มข้นของสารในตัวอย่างที่ไม่มีการเติมสารมาตรฐาน (unspike) หน่วย mL/L
 C_A คือ ความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติมลงไปในการตรวจวัด หน่วย mL/L

5.4 ความเที่ยง (Precision)

ศึกษาในรูปแบบร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) จากการวิเคราะห์ความเข้มข้นที่ตรวจพบจากเครื่อง HS-GC-FID ของแอลกอฮอล์ส่วนประกอบในตัวอย่างเจลแอลกอฮอล์ที่เติมสารมาตรฐาน 3 ระดับความเข้มข้น (ช่วงความเข้มข้นเดียวกับการศึกษาร้อยละการได้กลับคืน) ความเข้มข้นละ 2 ซ้ำ และทำซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง แล้วรายงานความสามารถในการทดสอบซ้ำในรูปแบบ

สมการที่ 2 ที่ได้ดัดแปลงจากสมการคำนวณค่าร้อยละการได้กลับคืนตาม AOAC (1998) โดยค่าร้อยละการได้กลับคืนของการสกัดสารที่ยอมรับได้อ้างอิงจาก AOAC (2016) คืออยู่ในช่วง 90-107% สำหรับช่วงความเข้มข้นของเมทานอล ไอโซโพรพานอลของระดับความเข้มข้นที่ 1 ของ spike sample (ความเข้มข้นของสัญญาณตรวจวัด 0.01%) และอยู่ในช่วง 95-105% สำหรับช่วงความเข้มข้นของเมทานอล ไอโซโพรพานอลของระดับความเข้มข้นที่ 2 - 3 ของ spike sample (ความเข้มข้นของสัญญาณตรวจวัด 0.1%) และอยู่ในช่วง 97 - 103% สำหรับช่วงความเข้มข้นของเอทานอล ที่ระดับความเข้มข้นที่ 1 - 3 ของ spike sample (ความเข้มข้นของสัญญาณตรวจวัด 1.0%) (AOAC, 2016)

%RSD โดยค่าความเที่ยงที่ยอมรับได้ควรน้อยกว่า 6% ของระดับความเข้มข้นที่ 1 และน้อยกว่า 8% ของระดับความเข้มข้นที่ 2 - 3 สำหรับช่วงความเข้มข้นของเมทานอล ไอโซโพรพานอล และน้อยกว่า 4% สำหรับช่วงความเข้มข้นของเอทานอล (AOAC, 2016)

6. ขั้นตอนการหาความหนาแน่นของตัวอย่างเจลแอลกอฮอล์

วิเคราะห์ค่าความหนาแน่นของตัวอย่างเจลแอลกอฮอล์ด้วยเครื่อง True density analyzer โดยตัวเครื่องใช้หลักการการแทนที่พื้นที่ว่างในถ้วยใส่ตัวอย่างด้วยแก๊สฮีเลียม เพื่อนำมาคำนวณหาค่าความหนาแน่นของตัวอย่าง กระบวนการวิเคราะห์เริ่มจากการชั่งถ้วยใส่ตัวอย่างขนาดปริมาตร 3.5 มิลลิลิตรบนเครื่องชั่ง 5 ตำแหน่ง ใส่ตัวอย่างเจลแอลกอฮอล์ประมาณ 2 ใน 3 ของถ้วยใส่ตัวอย่าง บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน หลังจากนั้นนำถ้วยใส่ตัวอย่างใส่ลงในเครื่อง True density analyzer ทำการทดสอบ 10 รอบ จากนั้นบันทึกค่าความหนาแน่นเฉลี่ยที่ได้จากการทดสอบในหน่วย g/mL

7. ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างเจลแอลกอฮอล์

การชั่งตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์จะทำการชั่งตัวอย่างลงในขวดเสตสเปซที่ใช้วิเคราะห์โดยตรง ซึ่งเป็นขวดปากกว้าง ง่ายในการเติมตัวอย่างที่เป็น

ลักษณะเหลวหนืด และลดการถ่ายโอนภาชนะวิเคราะห์ช่วยลดการระเหยของแอลกอฮอล์ โดยน้ำหนักที่ชั่งช่วงน้ำหนัก 95 - 105 mg จากนั้นบันทึกน้ำหนักที่แน่นอน เติมตัวทำละลายน้ำ DI เพื่อปรับปริมาตรให้ได้ 2 mL โดยปริมาณของตัวทำละลายน้ำ DI ที่ใช้ในการปรับปริมาตรจะคำนวณจากสมการที่ 3 จากนั้นเขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องผสมสาร (Vortex mixer) ประมาณ 0.5 นาทีแล้วนำสารละลายตัวอย่างเจลแอลกอฮอล์ในขวดเสตสเปซไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HS-GC-FID

เมื่อได้ผลการวิเคราะห์จากเครื่อง HS-GC-FID เทียบหาความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ส่วนประกอบแต่ละชนิด ซึ่งคือ เมทานอล ไอโซโพรพานอล และเอทานอล จากสมการเส้นตรงของช่วงการวิเคราะห์ของเครื่องมือ จากนั้นนำความเข้มข้นที่ได้มาคำนวณเป็นความเข้มข้นร้อยละโดยปริมาตรของแอลกอฮอล์ในเจลแอลกอฮอล์ด้วยสมการที่ 4

$$V_{\text{solvent}} = 2 - \frac{W_s}{d_{\text{gel}}} \quad \text{สมการที่ 3}$$

เมื่อ V_{solvent} = ปริมาตรสารละลาย DI ที่ใช้ปรับปริมาตร หน่วย mL
 W_s = น้ำหนักตัวอย่างที่ชั่งได้ หน่วย g
 d_{gel} = ความหนาแน่นของเจลแอลกอฮอล์ หน่วย g/mL

$$\%v/v = \left(\frac{C_{\text{Alc}} \times V_{\text{sol}} \times d_{\text{gel}}}{W_s} \right) \times 100 \quad \text{สมการที่ 4}$$

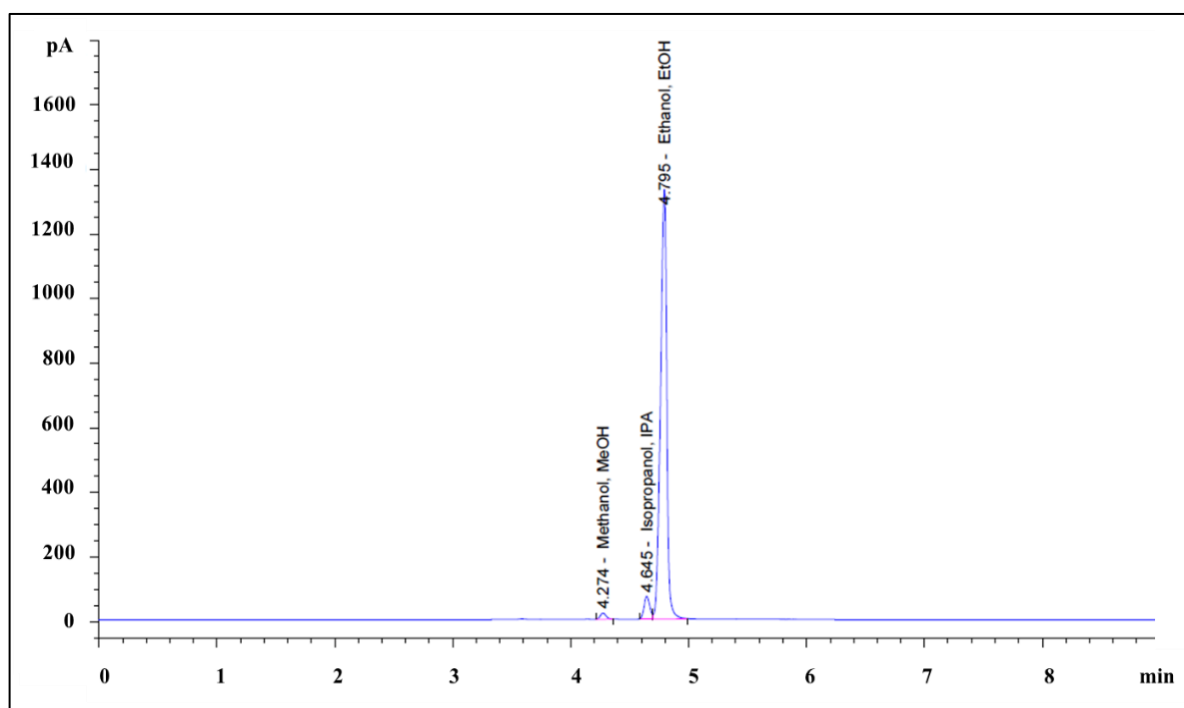
เมื่อ $\%v/v$ = ร้อยละ โดยปริมาตรของแอลกอฮอล์แต่ละชนิด
 C_{Alc} = ความเข้มข้นแอลกอฮอล์ที่วิเคราะห์ได้ หน่วย mL/L
 V_{sol} = ปริมาตรสารละลายรวมในขวดเสตสเปซ หน่วย L
 d_{gel} = ความหนาแน่นของเจลแอลกอฮอล์ หน่วย g/mL
 W_s = น้ำหนักตัวอย่างที่ชั่งได้ หน่วย g

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

1. ผลการทดสอบความจำเพาะของแอลกอฮอล์

ผลการวิเคราะห์ร้อยละโดยปริมาตรของแอลกอฮอล์ในเจล เมื่อใช้สภาวะการวิเคราะห์ของเครื่อง HS-GC-FID แสดงโครมาโทแกรมของตัวอย่างดังภาพที่ 1 ซึ่งโครมาโทแกรมที่ได้ให้พิกของสัญญาณแยกออกจากกันได้ชัดเจน มีค่าเวลาในการคงอยู่ (Retention time) ของเมทานอล ไอโซโพรพานอล และเอทานอล เท่ากับ 4.274, 4.645 และ 4.795 นาทีตามลำดับและค่าการแยก

(Resolution) มีค่ามากกว่า 1.5 ทุกสารประกอบ ซึ่งแสดงถึงการแยกของพิกของสัญญาณได้ชัดเจนการซ้อนทับกันของพิกน้อยกว่า 0.15% ค่าความสมมาตร (Symmetry) ของสัญญาณของพิก ซึ่งเป็นค่าแสดงความสมมาตรของพิกอยู่ในช่วง 0.84 - 1.49 สำหรับจำนวนชั้นการแยกของสาร (Plate) แสดงประสิทธิภาพของคอลัมน์อยู่ในช่วงที่เหมาะสมสำหรับการแยกสารด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีจำนวน Plate ที่ได้อยู่ในช่วง 37,912 - 42,022 plate (Harris, 2010; Constantinos, 2018)



ภาพที่ 1 โครมาโทแกรมของเมทานอล ไอโซโพรพานอล และเอทานอลในตัวอย่างเจลแอลกอฮอล์

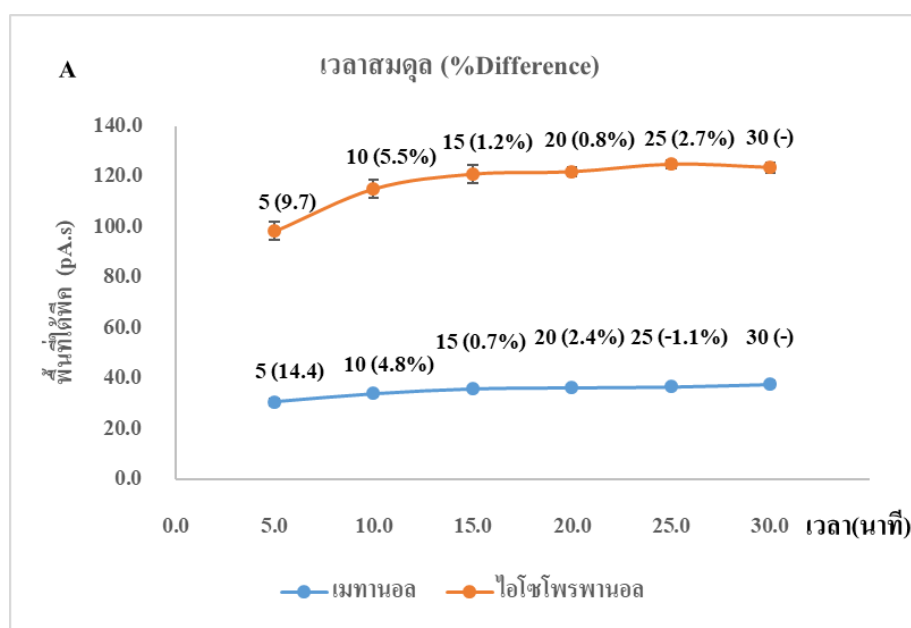
2. เวลาที่เหมาะสมของเทคนิคเสตสเปซ

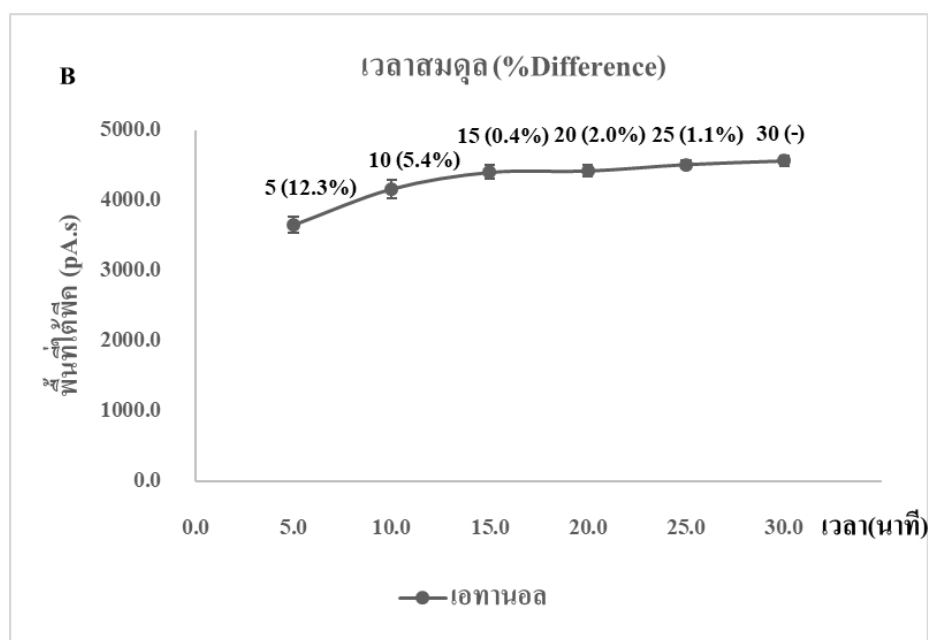
จากการศึกษาเวลาที่เหมาะสมของเทคนิคเสตสเปซโดยเลือกความเข้มข้นที่ศึกษาและตรวจวัดโดยเครื่อง HS-GC-FID จำลองการวิเคราะห์ให้สอดคล้องกับกรณีการวิเคราะห์ตัวอย่างจริง สำหรับปริมาณความเข้มข้นหลังคำนวณเป็นร้อยละโดยปริมาตรของแอลกอฮอล์ในเจลแอลกอฮอล์ด้วยสมการที่ 4 จะได้ความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยปริมาตร

(%v/v) ที่ความเข้มข้นตรวจพบ 0.6 mL/L สำหรับเมทานอล ไอโซโพรพานอล และร้อยละ 70 โดยปริมาตร (%v/v) ที่ความเข้มข้นตรวจพบ 39.2 mL/L สำหรับเอทานอล (C_{Alc}) เมื่อปริมาตรสารละลายในขวดเสตสเปซ 0.002 L (V_{sol}) (กำหนดความหนาแน่น 0.8946 g/mL (d_{gel}) และน้ำหนักตัวอย่าง 0.10000 g (W_s))

เนื่องจากเวลาในการวิเคราะห์ของเทคนิค HS-GC-FID มาจากสองส่วนคือ เวลาสมดุลของการสกัดสารด้วยเทคนิคเฮดสเปซ และเวลาการวิเคราะห์ของเครื่อง GC-FID ซึ่งเวลาการวิเคราะห์ห้ต่อตัวอย่างมีผลต่อเวลาการวิเคราะห์รวม ส่งผลต่อค่าใช้จ่ายการวิเคราะห์ที่เพิ่มขึ้นหากเวลาการวิเคราะห์ต่อตัวอย่างนานขึ้น ซึ่งผลที่ได้จากการศึกษาแสดงดังภาพที่ 2 เวลาสมดุลที่เหมาะสมของการสกัดด้วยเทคนิคเฮดสเปซหาได้จากร้อยละความต่าง (%Difference) ซึ่งคำนวณจาก $100 - ((\text{พื้นที่พีคของเวลาศึกษาตั้งต้น} / \text{พื้นที่พีคของเวลาศึกษาถัดไป}) \times 100)$ ซึ่งจะเห็นว่าเมื่อเวลาการสกัดที่นานขึ้น ร้อยละความต่างของแอลกอฮอล์ทั้ง 3 สารประกอบจะลดลงด้วย (ดังข้อมูลในวงเล็บของแต่ละเวลาสกัดดังภาพที่ 2) จนถึงสมดุลที่เวลา 15 นาทีร้อยละความต่างกับเวลาสกัดถัดไปของแอลกอฮอล์ทั้ง 3 สารประกอบจะมีค่าประมาณร้อยละ 1 ซึ่งมีความแตกต่างกันน้อย แต่เวลาการสกัดที่นานเกินไป (20, 25 และ 30 นาที) จะส่งผลต่อเวลาในการวิเคราะห์ และหากเลือกเวลาการสกัดที่น้อยกว่า 15 นาที (เวลา 5 และ 10 นาที) นอกจากผล

ร้อยละความต่างที่มีค่ามากกว่าแล้ว เมื่อตัวอย่างสกัดแล้วเสร็จด้วยเครื่อง HS จะต้องวิเคราะห์ห้ต่อด้วย GC-FID ที่ใช้เวลาวิเคราะห์ 9 นาที เวลาทำงานของแกนกลหีบสลับขวดเฮดสเปซ 1 นาที และเวลาหลังทดสอบ (Post run) ของเครื่อง GC-FID เพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากการทดสอบครั้งก่อนหน้า (Carry over) 2 นาที สรุปการสกัดด้วย HS ที่เวลา 5 หรือ 10 นาทีก็จะมีเวลาในการวิเคราะห์ร่วมกับเครื่อง GC-FID ไม่น้อยกว่า 13 นาที ดังนั้นเวลาที่ศึกษา 15 นาทีจึงถูกเลือกเป็นเวลาสมดุลที่เหมาะสมของเครื่อง HS ซึ่งสอดคล้องตามเวลาในการวิเคราะห์ของเครื่อง GC-FID ที่ใช้เวลาในการวิเคราะห์แยกพีคได้ภายใน 5 นาทีสำหรับเวลาการตรวจวัดของเครื่อง GC-FID ทั้งหมด 9 นาที ซึ่งในกระบวนการวิเคราะห์แบบอัตโนมัติการสกัดด้วยเครื่อง HS และการวิเคราะห์สารด้วยเครื่อง GC-FID จะดำเนินการควบคู่กันตั้งแต่การฉีดสารครั้งที่สองเป็นต้นไป ทำให้เวลาการวิเคราะห์จริงคือประมาณ 15 นาทีต่อการวิเคราะห์เช่นกัน





ภาพที่ 2 ผลของเวลาสมมูลในการสกัด (A) เมทานอล ไอโซโพรพานอล และ (B) เอทานอล (n = 5)

3. การศึกษาประสิทธิภาพของวิธี (Analytical performances)

3.1 ช่วงความเป็นเส้นตรง

จากผลการเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานและพื้นที่ผิวที่ได้ออกแต่ละความเข้มข้น แสดงข้อมูลดังตารางที่ 2 พบว่าในช่วงความเข้มข้น 0.02, 0.04, 0.20, 1.00, 2.00 และ 4.00 mL/L ของเมทานอล ไอโซโพรพานอล และ 0.27, 0.54, 2.70, 13.50, 27.00 และ 54.00 mL/L ของเอทานอลมีความสัมพันธ์เชิงเส้นที่ดี โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) มากกว่า 0.9990 และเมื่อใช้สมการที่ 4 ในการคำนวณช่วงความเป็นเส้นตรงของวิธีจะครอบคลุมตามเกณฑ์ที่กำหนดของกระทรวงสาธารณสุขที่กำหนดเมทานอลในตัวอย่างไม่เกินร้อยละ 5 โดยปริมาตร และเอทานอลควรมีในตัวอย่างมากกว่าร้อยละ 70 โดยปริมาตร คือเมทานอลมีช่วงการวิเคราะห์ร้อยละ 0.04 - 7.06 โดยปริมาตร และเอทานอลช่วงการวิเคราะห์ร้อยละ 0.48 - 96.62 โดยปริมาตร ส่วนไอโซโพรพานอลจะศึกษาช่วงการวัดที่ปริมาณน้อยเช่นเดียวกับเมทานอล เนื่องจากมัก

พบในตัวอย่างจริงในช่วงปริมาณน้อย แสดงให้เห็นว่าวิธีการที่พัฒนาขึ้นสามารถบอกร้อยละโดยปริมาตรในช่วงที่ครอบคลุมการใช้งาน คือช่วงความเข้มข้นต่ำ สำหรับเมทานอลที่เป็นสารต้องห้ามที่ไม่ควรมีเกินร้อยละ 5 โดยปริมาตรและไอโซโพรพานอลที่เป็นแอลกอฮอล์ปนเปื้อนในเอทานอลจากขั้นตอนการผลิต และวิธีการมีช่วงการวิเคราะห์ที่กว้างเมื่อเทียบกับรายงานวิจัยที่มีรายงานก่อนหน้านี้คือช่วงร้อยละ 50 - 100 โดยปริมาตร (Thitisaksakul *et al.*, 2021) สำหรับเอทานอลที่เป็นสารที่ต้องการให้มีปริมาณมากกว่าร้อยละ 70 โดยปริมาตร เพื่อการยับยั้งหรือฆ่าเชื้อโรค

3.2 ขีดจำกัดการตรวจวัด และขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณ

จากการศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดที่ให้สัญญาณของสารต่อสัญญาณรบกวน $S/N \geq 3$ และ $S/N \geq 10$ เพื่อหา LOD และ LOQ ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 2 โดย LOD, LOQ ที่เครื่องมือวัดได้ของเมทานอล และเอทานอล มีค่าเท่ากับ 0.01 และ 0.02 mL/L ตามลำดับ และเมื่อนำมาคำนวณ LOD, LOQ

ของวิธีด้วยสมการที่ 4 จะได้เท่ากับร้อยละ 0.02 และ 0.04 โดยปริมาตร ตามลำดับ ส่วนของไอโซโพรพานอล แสดง LOD, LOQ ที่เครื่องมือวัดได้คือ 0.005 และ 0.01 mL/L และคำนวณขีดจำกัดของวิธีด้วยข้อกำหนดเดียวกันแสดง LOD, LOQ ของวิธีร้อยละ 0.01 และ 0.02 โดยปริมาตร ตามลำดับ ซึ่งมีค่าเพียงพอสำหรับการตรวจวัดสารที่สนใจที่เป็นองค์ประกอบหลักในตัวอย่าง โดยขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณที่ต่ำของเมทานอล และเอทานอล เมื่อเทียบกับรายงานวิจัยที่มีการรายงานก่อนหน้านี้ที่มีขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณอยู่ในช่วงร้อยละ 1.81 - 1.76 โดยปริมาตร (Vivon and Nakniyom, 2021) ทำให้วิธีที่นำเสนอมีความสามารถในการวิเคราะห์สารปนเปื้อนปริมาณน้อยได้ดี

3.3 ร้อยละการได้กลับคืนและความเที่ยงของวิธี

จากการวิเคราะห์ตัวอย่าง unspike และ spike sample แสดงผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นที่ตรวจวัดได้ (C_{AIC}) ของ เมทานอล ไอโซโพรพานอล และเอทานอลด้วยเครื่อง HS-GC-FID และได้แสดงการคำนวณเป็นหน่วยร้อยละโดยปริมาตร (%v/v) ด้วยสมการคำนวณที่ 4 พร้อมค่าความเที่ยง (Precision) แสดงข้อมูลที่ได้ ดังตารางที่ 3 ค่าความเที่ยงของการวิเคราะห์แอลกอฮอล์ทั้ง 3 ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 3.81 - 5.30 และ 3.19 - 5.36% สอดคล้องตามเกณฑ์ที่ยอมรับได้ของ AOAC (2016) (น้อยกว่า 6 หรือ 8% ตามแต่ระดับความเข้มข้นตรวจวัด) สำหรับเมทานอล ไอโซโพรพานอลตามลำดับ และ 0.95 - 1.84% สอดคล้องตามเกณฑ์ คือน้อยกว่า 4% สำหรับเอทานอล

ตารางที่ 2 แสดงช่วงความเป็นเส้นตรง ขีดจำกัดการตรวจวัด และขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณของ เมทานอล ไอโซโพรพานอล และเอทานอล

พารามิเตอร์	เมทานอล	ไอโซโพรพานอล	เอทานอล
ช่วงความเป็นเส้นตรงของเครื่องมือ (mL/L)	0.02 - 4.00	0.02 - 4.00	0.27 - 54.00
ช่วงความเป็นเส้นตรงของวิธี (%v/v)	0.04 - 7.16	0.04 - 7.16	0.48 - 96.62
กราฟมาตรฐาน (Calibration curve)	$y = 54.49x + 1.26$	$y = 182.57x + 9.86$	$y = 113.68x + 58.06$
สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2)	0.9998	0.9990	0.9995
LOD ของเครื่องมือ (mL/L)	0.01	0.005	0.01
LOD ของวิธี (%v/v)	0.02	0.01	0.02
LOQ ของเครื่องมือ (mL/L)	0.02	0.01	0.02
LOQ ของวิธี (%v/v)	0.04	0.02	0.04

หมายเหตุ น้ำหนักตัวอย่าง $W_s = 0.10000$ g ความหนาแน่น $d_{gel} = 0.8946$ g/mL ปริมาตรสารละลาย $V_{sol} = 0.002$ L

ตารางที่ 3 ความเข้มข้นที่วัดได้ของแอลกอฮอล์ส่วนประกอบในเจลแอลกอฮอล์

W_s (g)	เมทานอล			ไอโซโพรพานอล			เอทานอล		
	Spike (mL/L)	C_{Alc} (mL/L)	%v/v	Spike (mL/L)	C_{Alc} (mL/L)	%v/v	Spike (mL/L)	C_{Alc} (mL/L)	%v/v
0.10422± 0.00066	-	-	-	-	-	-	-	16.17 ± 0.26	28.00 ± 0.43
0.10429± 0.00059	0.3	0.29 ± 0.02	0.51 ± 0.03	0.3	0.29 ± 0.02	0.49 ± 0.02	15.0	31.15 ± 0.30	53.90 ± 0.51
0.09707± 0.00150	0.9	0.86 ± 0.04	1.59 ± 0.06	0.9	0.85 ± 0.03	1.58 ± 0.07	21.0	35.98 ± 0.59	66.88 ± 1.15
0.10119± 0.00128	1.5	1.44 ± 0.05	2.57 ± 0.11	1.5	1.44 ± 0.07	2.57 ± 0.13	27.0	42.75 ± 0.79	76.24 ± 0.48
Precision (%RSD)		3.81 - 5.30			3.19 - 5.36			0.95 - 1.84	

หมายเหตุ ความหนาแน่น $d_{gel} = 0.9022$ g/mL ปริมาตรสารละลาย $V_{sol} = 0.002$ L

และเมื่อนำผลของความเข้มข้นแอลกอฮอล์ส่วนประกอบที่ตรวจวัดได้จากเครื่อง HS-GC-FID แต่ละระดับความเข้มข้นที่เดิมสารมาตรฐานลงไปทำการคำนวณผลร้อยละการได้กลับคืนด้วยสมการที่ 1 - 2 ที่สร้างขึ้น พบว่าร้อยละการได้กลับคืนของเมทานอล ไอโซโพรพานอล และเอทานอล ในเจลแอลกอฮอล์แสดงดังตารางที่ 4 ซึ่งค่าร้อยละการได้กลับคืนเฉลี่ยสำหรับเมทานอล ไอโซโพรพานอลที่ระดับความเข้มข้นที่ 1 อยู่ในช่วง 95.27±5.11 ถึง

97.71±5.18 สอดคล้องตามเกณฑ์ที่ยอมรับตาม AOAC (2016) คือช่วง 90-107% ระดับความเข้มข้นที่ 2 - 3 อยู่ในช่วง 95.05±3.89 ถึง 96.12±4.69 สอดคล้องตามเกณฑ์ที่ยอมรับตาม AOAC (2016) คือช่วง 95-105% และสำหรับเอทานอลค่าร้อยละการได้กลับคืนเฉลี่ยในช่วง 99.58±2.57 ถึง 100.02±2.19 สอดคล้องตามเกณฑ์ที่ยอมรับตาม AOAC (2016) คือช่วง 97-103%

ตารางที่ 4 ร้อยละการได้กลับคืนและความเที่ยงของการวิเคราะห์ เมทานอล ไอโซโพรพานอล เอทานอล

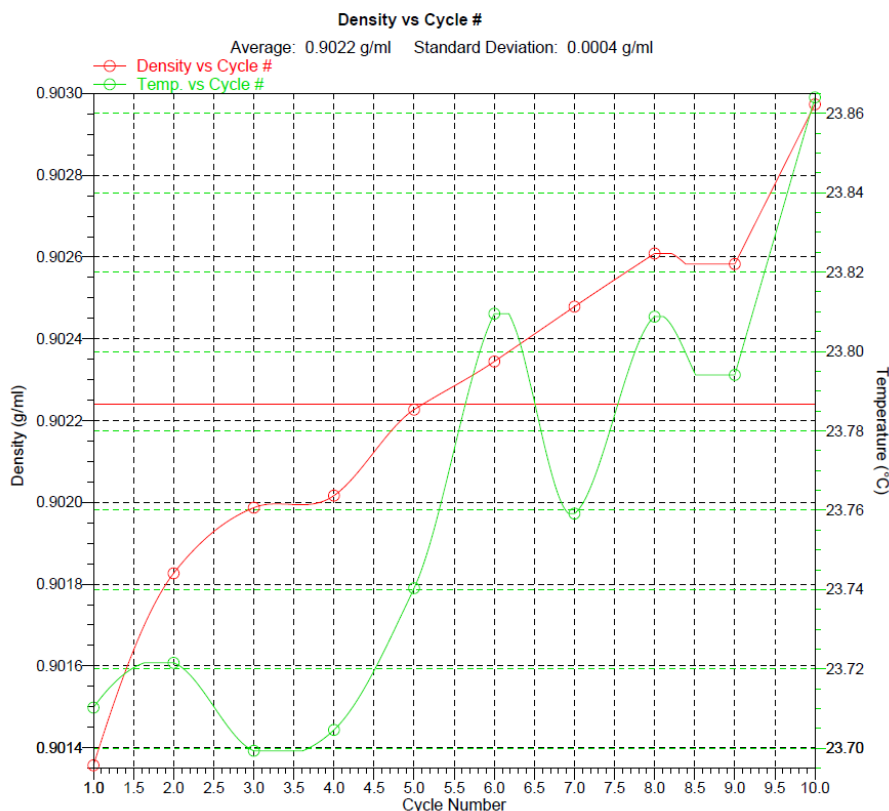
Spike	เมทานอล		ไอโซโพรพานอล		เอทานอล	
	%Recovery	($\bar{x}$ ±SD)	%Recovery	($\bar{x}$ ±SD)	%Recovery	($\bar{x}$ ±SD)
ระดับ 1	93.67 - 103.55	97.71±5.18	91.42 - 101.07	95.27±5.11	98.01 - 101.73	99.78±1.87
ระดับ 2	91.11 - 98.89	95.05±3.89	92.22 - 97.91	95.23±3.04	98.06 - 102.56	99.58±2.57
ระดับ 3	92.00 - 99.23	95.95±3.66	91.33 - 100.70	96.12±4.69	97.82 - 102.13	100.02±2.19

หมายเหตุ $\bar{x}$ = ค่าเฉลี่ย, SD = ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

4. ผลการวิเคราะห์ค่าความหนาแน่นของตัวอย่างเจลแอลกอฮอล์

จากการวิเคราะห์ค่าความหนาแน่นของตัวอย่างเจลแอลกอฮอล์ที่มีการส่งทดสอบ ณ สำนักเครื่องมือวิทยาศาสตร์และการทดสอบ แสดงตัวอย่าง

การวิเคราะห์หาความหนาแน่นที่แท้จริงจากการทดสอบ 10 รอบ ดังภาพที่ 3 ซึ่งแสดงค่าความหนาแน่นเฉลี่ยที่แท้จริงเท่ากับ 0.9022 g/mL ที่อุณหภูมิเฉลี่ย 23.76 °C ใช้เวลาในการทดสอบ 24 นาทีต่อตัวอย่าง



ภาพที่ 3 แสดงตัวอย่างการวัดค่าความหนาแน่นที่แท้จริงของตัวอย่างเจลแอลกอฮอล์ด้วยเครื่อง True density analyzer

5. ผลการการศึกษาตัวอย่างเจลแอลกอฮอล์

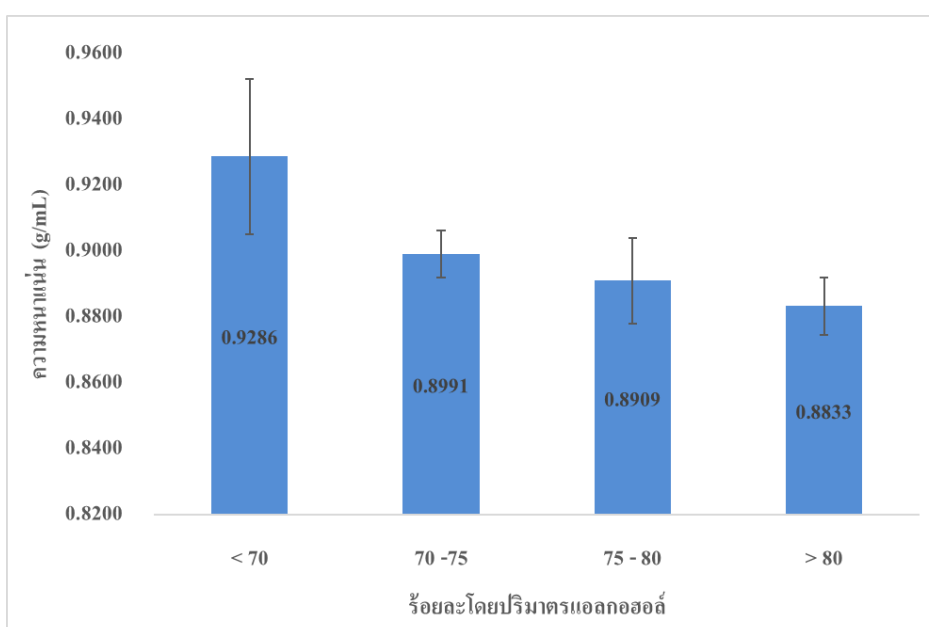
ผลการวิเคราะห์ร้อยละโดยปริมาตรของเมทานอล ไอโซโพรพานอล และเอทานอลในเจลแอลกอฮอล์ โดยใช้สมการที่ 4 ในการคำนวณเพื่อเป็นการสร้างความมั่นใจในการใช้ผลิตภัณฑ์ของผู้บริโภคว่ามีปริมาณแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพานอล และเอทานอลมากพอที่สามารถฆ่าเชื้อโรคได้จริง และยังมีปริมาณเมทานอลไม่เกินเกณฑ์ที่กำหนดที่ทำให้เกิดอันตรายจากความเป็นพิษ นอกจากนี้ข้อมูลยังเป็นประโยชน์กับผู้ผลิตที่ต้องการควบคุมคุณภาพ

ของผลิตภัณฑ์ จากผลการทดสอบทั้งหมด 23 ตัวอย่าง มี 20 ตัวอย่าง ที่มีปริมาณร้อยละโดยปริมาตรรวมของไอโซโพรพานอลและเอทานอลในเจลแอลกอฮอล์เกิน 70 และมี 3 ตัวอย่าง ที่ไม่ผ่านตามเกณฑ์ประกาศของกระทรวงสาธารณสุข โดยทุกตัวอย่างที่ตรวจวัดมีปริมาณเมทานอลไม่เกินเกณฑ์ที่กำหนดคือไม่เกินร้อยละ 5 โดยปริมาตร

จากการทดสอบค่าความหนาแน่นที่แท้จริงจำนวน 23 ตัวอย่าง จัดเรียงข้อมูลตามร้อยละโดยปริมาตรของแอลกอฮอล์ที่ทดสอบได้ จากนั้นแบ่ง

ข้อมูลเป็น 4 ช่วงตามร้อยละโดยปริมาตรของ แอลกอฮอล์ที่ตรวจวัดได้ แสดงข้อมูลดังภาพที่ 4 จาก ข้อมูลแสดงผลค่าความหนาแน่นของตัวอย่างเทียบกับ ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ทราบปริมาณจากการ ทดสอบด้วยเครื่อง HS-GC-FID ทำให้ทราบ ความสัมพันธ์ระหว่างความหนาแน่นต่อปริมาณ แอลกอฮอล์ในตัวอย่างเจลคือค่าความหนาแน่นที่วัด ได้มากขึ้นจะแปรผกผันกับปริมาณแอลกอฮอล์ที่ น้อยลง ซึ่งหากคิดเฉพาะค่าความหนาแน่นของ ตัวอย่างเจลแอลกอฮอล์ที่มีร้อยละโดยปริมาตรของ

แอลกอฮอล์ผ่านตามเกณฑ์กระทรวงสาธารณสุขคือ มากกว่าร้อยละ 70 โดยปริมาตร (ข้อมูลลำดับที่ 2 - 4 ของภาพที่ 4) จะมีค่าความหนาแน่นเฉลี่ยเท่ากับ $0.8946 \pm 0.0107 \text{ g/mL}$ ซึ่งค่าเฉลี่ยที่ได้นี้ นักวิจัย นักศึกษา หรือผู้ที่สนใจที่ต้องการตรวจวัดร้อยละ โดย ปริมาตรของแอลกอฮอล์ด้วยเครื่อง HS-GC-FID หรือเทคนิค direct GC-FID แต่ไม่มีเครื่องวัดความ หนาแน่นที่แท้จริงประจำห้องปฏิบัติการ สามารถใช้ ข้อมูลจากการศึกษานี้ ประยุกต์ใช้เพื่อเปลี่ยนน้ำหนัก เจลแอลกอฮอล์ที่ชั่งได้เป็นปริมาตร ได้ในเบื้องต้น



ภาพที่ 4 ช่วงร้อยละโดยปริมาตรของแอลกอฮอล์ต่อความหนาแน่นเฉลี่ยของเจลแอลกอฮอล์

สรุป

วิธีวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณของแอลกอฮอล์ ในหน่วยร้อยละโดยปริมาตรในเจลแอลกอฮอล์ โดย วิธี HS-GC-FID ที่พัฒนาขึ้นเพื่อแก้ไขปัญหากรณี ตัวอย่างเจลที่มีลักษณะหนืดไม่สามารถเปิดตัวอย่าง ด้วยปริมาตรที่แน่นอนได้ เปลี่ยนเป็นการชั่งน้ำหนัก ตัวอย่างตามที่ใช้อย่างแท้จริง แล้วทำการเปลี่ยนเป็นปริมาตร ด้วยความหนาแน่นที่แท้จริง จากนั้นทำการปรับ ปริมาตรเพื่อการสกัดในขวดเขย่าสเปกก่อนนำไป

วิเคราะห์ด้วยเครื่อง HS-GC-FID ภายใต้อุปกรณ์ ที่เหมาะสม ทั้งนี้สภาวะของ GC ให้ประสิทธิภาพการ แยกที่ดี สารแยกออกจากกันได้ชัดเจนไม่มีการ ซ้อนทับของพีค การเตรียมตัวอย่างทำได้ง่ายเพียงชั่ง ตัวอย่างเจลในภาชนะที่ต้องการทดสอบโดยตรงไม่ ต้องถ่ายโอนภาชนะหลายรอบ และสามารถคำนวณ ผลปริมาณแอลกอฮอล์ที่ตรวจพบจากเครื่อง GC-FID เปลี่ยนเป็นร้อยละโดยปริมาตรของแอลกอฮอล์ในเจล แอลกอฮอล์ได้ง่ายโดยใช้สูตรการคำนวณที่สร้างขึ้น วิธีการที่พัฒนาแสดงชัดเจนจำกัดการตรวจวัดที่ต่ำ และ

ช่วงการวิเคราะห์ที่กว้างเพียงพอต่อการใช้งาน ความแม่นยำและความเที่ยงของการวิเคราะห์ที่อยู่ในเกณฑ์ยอมรับ วิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นนี้มีความสะดวก ไม่ต้องเตรียมตัวอย่างให้ยุ่งยาก ใช้เวลาในการสกัดและวิเคราะห์เพียง 15 นาที ซึ่งเหมาะสมสำหรับการใช้ในการตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ทำให้ทราบว่ามีปริมาณแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพานอล และเอทานอลมากพอที่สามารถฆ่าเชื้อโรคได้จริงและไม่มีปริมาณเมทานอลมากเกินไปเกินเกณฑ์ที่กำหนดที่ทำให้เกิดอันตรายจากความเป็นพิษ เพื่อเป็นประโยชน์กับผู้ผลิตที่ต้องการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ เป็นทางเลือกให้กับผู้ที่สนใจวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีลักษณะขุ่นหนืด มีสารเคมีองค์ประกอบของผลิตภัณฑ์หลากหลาย

เอกสารอ้างอิง

- AOAC. 1998. **Peer-Verified Methods Program Manualon Policies and Procedures.** Association of Official Analytical Chemists.
- AOAC. 2016. **Guidelines for Standard Method Performance Requirements.** Association of Official Analytical Chemists.
- Chun, H.J., Poklis, J.L., Poklis, A. and Wolf, C.E. 2016. Development and Validation of a Method for Alcohol Analysis in Brain Tissue by Headspace Gas Chromatography with Flame Ionization Detector. **Journal of Analytical Toxicology** 40(8): 653-658.
- Constantinos, E. 2018. **Chromatographic Separations.** Available Source: http://195.134.76.37/applets/AppletChrom/AppL_Chrom2.html, January 5, 2022.
- Dhandapani, R. and abaji, R.E. 2020. **Fast Analysis of Alcohol-Based Sanitizers by GC-FID using Zebron™ ZB-WAXPLUS™ GC**

ชนิด ไม่เหมาะในการฉีดสารเข้าเครื่องมือโดยตรงได้นำวิธีการไปประยุกต์ใช้เพื่อการวิเคราะห์งานในลักษณะเดียวกันต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี ผู้วิจัยต้องขอขอบคุณ สำนักเครื่องมือวิทยาศาสตร์และการทดสอบ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่สนับสนุนบุคลากรสร้างผลงานจากการแก้ปัญหาหน้างานผู้งานวิจัย ทีมผู้วิจัยต้องขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้

Columns. Applications. Available Source :<https://phenomenex.blob.core.windows.net/documents/fc5a2c40-f03b-4a3d-ba12-357f318fab50.pdf>, January 7, 2022.

Fallica, F., Leonardi, C., Toscano, V., Santonocito, D., Leonardi, P. and Puglia, C. 2021. Assessment of Alcohol-Based Hand Sanitizers for Long-Term Use, Formulated with Addition of Natural Ingredients in Comparison to WHO Formulation 1. **Pharmaceutics** 13(4): 571.

FDA, U.S. Food and Drug Administration. 2020. **Direct Injection Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS) Method for the Detection of Listed Impurities in Hand Sanitizers.** U.S. Food and Drug Administration. Available Source: <https://www.fda.gov/media/141501/download>, February 16, 2022.

- Harris, D.C. 2010. Gas chromatography, pp. 565-594. In Fiorillo, J., ed. **Quantitative Chemical Analysis**. Freeman and Company, New York.
- Ji, J., Deng, C., Shen, W. and Zhang, X. 2006. Field analysis of benzene, toluene, ethylbenzene and xylene in water by portable gas chromatography-microflame ionization detector combined with headspace solid-phase microextraction. **Talanta** 69(4): 894-899.
- Jing, J.L.J., Pei, Yi, T., Bose, R.J.C., McCarthy, J.R., Tharmalingam, N. and Madheswaran, T. 2020. Hand Sanitizers: A Review on Formulation Aspects, Adverse Effects, and Regulations. **International Journal of Environmental Research and Public Health** 17(9): 1-17.
- Jullakan, S., Bunkoed, O. and Pinsrithong, S. 2020. Solvent-assisted dispersive liquid-solid phase extraction of organophosphorus pesticides using a polypyrrole thin film-coated porous composite magnetic sorbent prior to their determination with GC-MS/MS. **Microchimica Acta** 187(677): 1-10.
- Ministry of Public Health. 2018. **Determine the names, quantities and conditions of substances that may be used as ingredients in the manufacture of cosmetics**. Thai government gazette. Available Source: <https://www.fda.moph.go.th>, January 5, 2022. (in Thai)
- Ministry of Public Health. 2020. **Defines the characteristics of alcohol-based cosmetics for hand hygiene that are prohibited to be produced, imported or sold**. Thai government gazette. Available Source: <https://www.fda.moph.go.th>, January 5, 2022. (in Thai)
- SHIMADZU. 2020. **Determination of Alcohol Content in Hand Sanitizers by Headspace GC-FID**. Application News. Available Source: https://www.shimadzu.com/an/sites/shimadzu.com/an/files/pim/pim_document_file/applications/application_note/13627/ad0235.pdf, January 7, 2022.
- Shrivastava, A. 2011. Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. **Chronicles of Young Scientists** 2(1): 21-25.
- Snow, N.H. and Slack, G.C. 2002. Head-space analysis in modern gas chromatography. **Trends in Analytical Chemistry** 21(9-10): 608-617.
- Thitisaksakul, N., Paengma, S., Parasindecha, I., Muenhong, P., Jarungsirawat, R., Daodee, S. and Tessiri, T. 2021. Analysis of Alcohol Content in Alcohol-based Hand Sanitizer Product from Khon Kaen Province. **Isan journal of phamacertical sciences** 17(3): 59-73. (in Thai)
- Tiscione, N.B., Alford, I., Yeatman, D.T. and Shan, X. 2011. Ethanol analysis by headspace gas chromatography with simultaneous flame-ionization and mass spectrometry detection. **Journal of Analytical Toxicology** 35(7): 501-511.
- Van Looc, J., Elskens, M., Croux, C. and Beernaert, H. 2002. Linearity of calibration curves: use and misuse of the correlation coefficient.

Accreditation and Quality Assurance

7(7): 281-285.

Vivon, M. and Nakniyom, W. 2021. Method Validation of Alcohol Contents in Alcohol-based Hand Sanitizer Products Using Gas-chromatography. **Bulletin of the Department of Medical Sciences** 62(3): 268-280. (in Thai)