

การวิเคราะห์ปริมาณกรดซาลิไซลิกในตัวอย่างยาด้วยเทคนิคแอสควอร์-เวฟโวลแทมเมตรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้าไส้ดินสออย่างง่าย

Square-wave Voltammetric Determination of Salicylic Acid Content in Pharmaceutical Products using a Simple Pencil Lead Electrode

จุฑามาศ บุญตั้งแต่่ง^{1,2} จินตนา ดิษฐกุลชัยมงคล¹ และศศิธร มั่นเจริญ^{1,2*}

¹ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี 20131

²ศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมทางเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี 20131

*E-mail: muncharoen@buu.ac.th

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณกรดซาลิไซลิกด้วยเทคนิคแอสควอร์-เวฟโวลแทมเมตรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้าไส้ดินสอที่พัฒนาขึ้นในห้องปฏิบัติการเป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน (ไส้ดินสอที่ใช้เป็นชนิด HB ขนาด 0.7 มิลลิเมตร) จากการทดลองพบว่า ช่วงความเป็นเส้นตรงในการวิเคราะห์กรดซาลิไซลิกมีค่าอยู่ระหว่าง 2.0 ถึง 20.0 มิลลิโมลาร์ ด้วยขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (LOD) เท่ากับ 1.3 มิลลิโมลาร์ นอกจากนี้ได้ศึกษาความเที่ยงในการวิเคราะห์ด้วยขั้วไฟฟ้าไส้ดินสอที่พัฒนาขึ้น โดยศึกษาความเที่ยงในการวิเคราะห์วันเดียวกัน (Intraday) และต่างวันกัน (Interday) พบว่ามีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) เท่ากับ 3.4 (n=7) และ 7.6 (n=5) ตามลำดับ และเมื่อนำขั้วไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้นนี้ไปวิเคราะห์ปริมาณกรดซาลิไซลิกในตัวอย่างยาโดยเปรียบเทียบกับวิธี 'Trinder test' ซึ่งจัดเป็นวิธีมาตรฐานที่เป็นที่ยอมรับ พบว่า ผลที่ได้เป็นที่น่าสนใจและไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95

คำสำคัญ : ขั้วไฟฟ้าไส้ดินสอ กรดซาลิไซลิก เทคนิคแอสควอร์-เวฟโวลแทมเมตรี ตัวอย่างยา

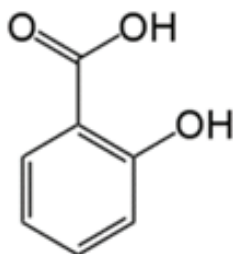
Abstract

This research reported the determination of salicylic acid analyzing by the square-wave voltammetric method on a simple pencil-lead electrode. The pencil-lead electrode (Pentel Super Hi-Polymer 0.7 mm Medium Line HB Lead) was fabricated as a working electrode in the laboratory. The method was linear over the salicylic acid concentration range 2.0-20.0 mM, with a detection limit of 1.3 mM. In addition, precise study of analysis using the pencil-lead electrode was also investigated. It was observed that the percentages of relative standard deviation (%RSD) for intra-day and inter-day were 3.4% (n=7) and 7.6% (n=5) respectively. Furthermore, the proposed system was applied for salicylic acid analysis in pharmaceutical samples. The results provided good agreement compared to the 'Trinder test' as a standard method.

Keywords: Pencil lead electrode: Salicylic acid: Square-wave voltammetry: Pharmaceutical products

1. บทนำ

กรดซาลิไซลิก (Salicylic acid) หรือมีชื่อเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า 2-Hydroxybenzoic acid โครงสร้างเคมีของกรดซาลิไซลิก แสดงดังรูปที่ 1 [1]



รูปที่ 1 โครงสร้างเคมีของกรดซาลิไซลิก [1]

กรดซาลิไซลิกนี้เป็นสารเคมีที่ได้จากการสกัดเปลือกของต้นหลิว ซึ่งมีสรรพคุณในการช่วยบรรเทาอาการเจ็บปวด ลดไข้และผลัดเซลล์ผิว นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้อีกด้วย ดังนั้นกรดซาลิไซลิกจึงถูกนำมาใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ต่างๆ มากมาย เช่น เครื่องสำอาง อาหารและยา เป็นต้น อย่างไรก็ตามพบว่าหากผู้ที่มีปริมาณของกรดซาลิไซลิกในเลือดสูงจะส่งผลให้มีอาการคลื่นไส้ อาเจียน หูอื้อ มีไข้ ชัก ไตวาย และอาจทำให้เสียชีวิตได้ [2] โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศไทยตามประกาศของกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 151 (พ.ศ. 2537) [3] เรื่องกำหนดวัตถุที่ห้ามใช้ในอาหารพบว่า มีการประกาศห้ามเติมกรดซาลิไซลิกลงในอาหารโดยเด็ดขาด ซึ่งหากมีการฝ่าฝืนจะถูกลงโทษตามกฎหมาย และด้วยเหตุนี้เองจึงทำให้นักวิทยาศาสตร์ได้พยายามพัฒนาเทคนิคที่มีประสิทธิภาพในการตรวจวิเคราะห์กรดซาลิไซลิก เช่น เทคนิคโครมาโทกราฟีต่างๆ ทั้งเทคนิค sequential injection chromatography (SIC) ที่ใช้คอลัมน์โมโนลิธ-C18 [4] เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง [5], [6] และเทคนิคแคปิลลารีอิเล็กโทรโฟรีซิส [7] นอกจากนี้เทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรีเป็นอีกเทคนิคหนึ่งที่นิยมนำมาวิเคราะห์กรดซาลิไซลิก เช่น Ruiz-Medina และคณะ [8] ได้เสนอการสกัดด้วยเฟสของแข็งควบคู่กับเทคนิควิเคราะห์ที่อาศัยการไหลและตรวจวัดด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์, Kokot และ Burda [9] และ El-Yazbi และคณะ [10] ได้พัฒนาการวิเคราะห์ด้วยสัณฐานด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรีสำหรับ การวิเคราะห์แอสไพริน กรดซาลิไซลิกและพาราเซตามอล สำหรับ Parham และ Rahbar [11]

ได้เสนอเทคนิคการสกัดด้วยเฟสของแข็งที่เป็นอนุภาคแม่เหล็กนาโนสำหรับการวิเคราะห์กรดซาลิไซลิกในเซรัมและตรวจวัดด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี ถึงแม้ว่าเทคนิคที่กล่าวข้างต้นจะเป็นเทคนิคที่มีสภาพไวในการวิเคราะห์สูงก็ตาม แต่ก็ยังมีข้อจำกัดหลายประการ เช่น ราคาที่แพงและขนาดของเครื่องมือที่ค่อนข้างใหญ่ รวมทั้งต้องใช้ความเชี่ยวชาญในการทำการทดลองเป็นต้น และเนื่องจากข้อจำกัดเหล่านี้จึงทำให้เทคนิคทางเคมีไฟฟ้ากลายเป็นอีกหนึ่งเทคนิคที่ได้รับความนิยมในการวิเคราะห์กรดซาลิไซลิก ทั้งนี้เพราะเครื่องมือมีราคาไม่แพง อีกทั้งมีขนาดเล็กซึ่งหากนำไปพัฒนาต่อยอดสามารถทำเป็นเครื่องมือวิเคราะห์ภาคสนามได้ (Portable device) และสำหรับสภาพไวในการวิเคราะห์นั้น การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้าสามารถพัฒนาได้ด้วยการพัฒนาและปรับปรุงขั้วไฟฟ้าทำงานให้มีความเหมาะสม

จากรายงานวิจัยที่ใช้เทคนิคทางเคมีไฟฟ้าในการวิเคราะห์กรดซาลิไซลิกส่วนมากจะเป็นการพัฒนาขั้วไฟฟ้าต่างๆ ให้มีความจำเพาะและสภาพไวในการวิเคราะห์ที่สูง ดังตัวอย่างเช่น Torriero และคณะ [12] ได้เสนอการวิเคราะห์กรดซาลิไซลิกในรูปของแอสทิลซาลิไซลิกในตัวอย่างยาเม็ดด้วยขั้วไฟฟ้ากัลวานอสตัท โดยใช้นิโคตินิกเฟอร์เร็นเซิลพัลล์โวลแทมเมทรี Gualandi และคณะ [13] ได้พัฒนาขั้วไฟฟ้าแพลทินัมที่เคลือบด้วยฟิล์มของ Co/Al hydrotalcite-like compound ซึ่งโคบอลต์ที่เคลือบบนผิวของขั้วไฟฟ้าแพลทินัมจะทำหน้าที่เป็นเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดซาลิไซลิก โดยทำการตรวจวัดด้วยเทคนิคดิฟเฟอร์เรนเชียลพัลล์โวลแทมเมทรีและโครโนแอมเพอร์โรเมทรี, Zhang และคณะ [14] ได้เสนอการพัฒนาการวิเคราะห์กรดซาลิไซลิกด้วยเซนเซอร์ที่ทำจากขั้วไฟฟ้าทองคำบอโรนโดยใช้เทคนิคโวลแทมเมทรี เป็นต้น ซึ่งจะเห็นได้ว่าการพัฒนาขั้วไฟฟ้าทำงานสำหรับเทคนิคทางเคมีไฟฟ้านั้นส่งผลให้การตรวจวิเคราะห์มีประสิทธิภาพมากขึ้น อย่างไรก็ตามพบว่าขั้วไฟฟ้าทำงานที่งานวิจัยต่างๆ พัฒนาขึ้นนั้น ส่วนใหญ่จะมีความเสถียรในการวิเคราะห์ต่ำและมีราคาที่แพง ดังนั้นแนวโน้มสำหรับงานวิจัยในปัจจุบันจึงพยายามที่จะพัฒนาขั้วไฟฟ้าทำงานให้มีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์สูง และมีราคาที่ถูกลง เช่น ขั้วไฟฟ้าที่ใช้กระดาษเป็นวัสดุช่วย (supporting material) [15] ขั้วไฟฟ้าจากเมล็ดกาแฟ [16] และขั้วไฟฟ้าไส้ดินสอ [17-21] เป็นต้น ด้วยเหตุนี้คณะผู้วิจัยจึงต้องการนำขั้วไฟฟ้าทำงานที่ทำจากไส้ดินสอ ที่เรียกว่า 'ขั้วไฟฟ้าไส้ดินสอ' (Pencil lead electrode) มาประยุกต์ใช้สำหรับวิเคราะห์กรดซาลิ-

โซลิก ทั้งนี้เพราะได้ดินสอด่จัดเป็นวัสดุที่หาซื้อง่าย ราคาถูก และเมื่อนำมาสร้างเป็นขั้วไฟฟ้าสามารถทำได้ง่ายไม่ซับซ้อน อีกทั้งยังมีความเสถียรและเหมาะสมที่จะนำมาประยุกต์ใช้หาปริมาณกรดซาลิไซลิกในตัวอย่างจริงและสามารถนำไปพัฒนาต่อเพื่อใช้ในงานวิเคราะห์ที่เป็นงานประจำ (Routine work) ได้อีกด้วย

2. วัสดุอุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

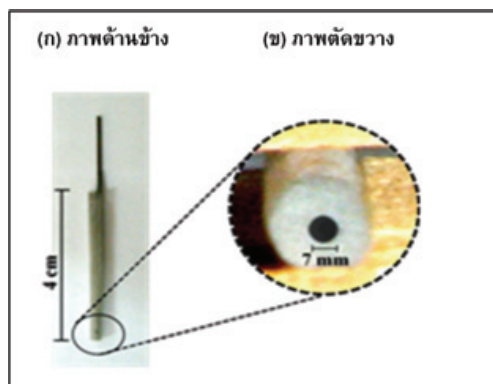
2.1 สารเคมีและอุปกรณ์

กรดซาลิไซลิก (Renkem; India) และเอทานอลบริสุทธิ์ (Carlo Erba, Italy) ใช้เพื่อละลายกรดซาลิไซลิก สารละลายแอมโมเนีย (QRec; New Zealand) และแอมโมเนียมคลอไรด์ (Rankem; India) ใช้สำหรับการเตรียมสารละลายอิเล็กโทรไลต์ (pH ~8) [22] และสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัยนี้ทั้งหมดเป็นเกรดวิเคราะห์ (AR-grade) นอกจากนี้น้ำกลั่นที่ใช้สำหรับการเตรียมสารละลายทั้งหมดผ่านการกลั่นด้วย Milli-Q Plus System (Millipore)

เครื่องมือและอุปกรณ์ที่นำมาใช้ในการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าที่ใช้ในงานวิจัยนี้คือเครื่องโพเทนชิโอสเตท รุ่น PGSTAT20 (Metrohm, Switzerland) วิเคราะห์ด้วยระบบ 3 ขั้วไฟฟ้า คือขั้วไฟฟ้าทำงาน (Working electrode: WE) ชนิดไส้ดินสอด (HB; 0.7 มิลลิเมตร), ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์ (Ag/AgCl) และขั้วไฟฟ้าช่วย (Auxiliary electrode) ชนิดกลาสซีคาร์บอน (Metrohm, Switzerland)

2.2 การเตรียมขั้วไฟฟ้าไส้ดินสอด

ซังฟอลิเอสเทอร์เรซิน (DONORAC company) และ 10% Cobalt octoate หนัก 100 กรัม และ 0.1 กรัม ตามลำดับ จากนั้นเติม Methyl ethyl ketone peroxide (MEKPO) หนัก 1.0 กรัมลงในเรซินจนให้เข้ากัน จากนั้นนำเรซินที่ได้เทลงในเบ้าพิมพ์ที่บรรจุไส้ดินสอดชนิด HB (Pentel, Japan) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.7 มิลลิเมตร อยู่ตรงกลางโดยเหลือปลายด้านหนึ่งไว้สำหรับต่อกับสายไฟ ส่วนปลายอีกด้านหนึ่งคือผิวหน้าของขั้วไฟฟ้าไส้ดินสอด [23] แสดงดังรูปที่ 2 และก่อนที่จะนำขั้วไฟฟ้าไส้ดินสอดนี้ไปใช้งาน จะต้องนำไปขัดด้วยผ้ากัมมะหยี่และผงขัดอะลูมินา ขนาด 0.45 ไมครอน ของบริษัทเมโทรห์ม (Metrohm, Switzerland) แล้วนำมาล้างด้วยน้ำกลั่นหลายๆ ครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษทิชชูเนื้อนุ่ม



รูปที่ 2 ขั้วไฟฟ้าไส้ดินสอดที่พัฒนาขึ้น (ก) ภาพด้านข้าง และ (ข) ภาพตัดขวาง

2.3 การเตรียมตัวอย่าง

ตัวอย่างที่ใช้ในงานวิจัยนี้แบ่งเป็น 2 ประเภทด้วยกันได้แก่ ประเภทที่ 1 คือ ตัวอย่างยารักษาโรคผิวหนัง และรักษาโรคตาปลาหรือหูด (ตัวอย่างที่ 1 และ 2) และประเภทที่ 2 คือ ตัวอย่างยางสังเคราะห์ หรือ synthetic samples (ตัวอย่างที่ 3 และ 4) นำสารละลายตัวอย่างมาเจือจางให้มีความเข้มข้นที่เหมาะสมด้วยสารละลายเอทานอล 70 %v/v เช่น ตัวอย่างที่ 1 และ 2 นำสารละลายตัวอย่าง 1.40 และ 2.90 มิลลิลิตร ตามลำดับ ใส่ลงในขวดวัดปริมาตร ขนาด 50.00 มิลลิลิตร (ตัวอย่างละขวด) จากนั้นปรับปริมาตรด้วยสารละลายเอทานอล 70 %v/v สำหรับตัวอย่างที่ 3 และ 4 เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดซาลิไซลิกเข้มข้น 0.85 และ 0.05 โมลาร์ จากนั้นทำการเจือจางเฉพาะตัวอย่างที่ 3 โดยปิเปตสารละลายตัวอย่างมา 1.40 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 50.00 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยสารละลายเอทานอล 70 %v/v สารละลายตัวอย่างทุกชนิดจะต้องเก็บในภาชนะปิด เพื่อป้องกันการระเหยของสารละลายเอทานอล

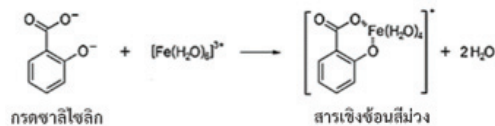
2.4 ความเป็นไปได้ในการวิเคราะห์กรดซาลิไซลิก ด้วยขั้วไฟฟ้าไส้ดินสอดที่พัฒนาขึ้น

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดซาลิไซลิกเข้มข้น 4.0 มิลลิโมลาร์ โดยการเจือจางสารละลายมาตรฐานกรดซาลิไซลิกเข้มข้น 50.0 มิลลิโมลาร์ในเอทานอล 70% v/v ด้วยน้ำกลั่น แล้วนำมาตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรีโดยสแกนศักย์ไฟฟ้าในช่วง (-0.8) ถึง 1.4 โวลต์ ที่อัตราการสแกน 20 มิลลิโวลต์ต่อวินาที สำหรับการศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้ขั้วไฟฟ้าไส้ดินสอดที่พัฒนาขึ้น (ชนิด

HB ขนาด 0.7 มิลลิเมตร) ในการวิเคราะห์ปริมาณกรดซาลิไซลิก ทำการทดลองโดยใช้เทคนิคสแควร์-เวฟโวลแทมเมทรี วิเคราะห์กรดซาลิไซลิกที่ความเข้มข้น 2.0 – 6.0 มิลลิโมลาร์ ที่สภาวะสแกนศักย์ไฟฟ้าระหว่าง (-0.8) ถึง 1.4 โวลต์ สเต็ปโพเทนเชียล 50 มิลลิโวลต์ แอมพลิจูด 20 มิลลิโวลต์

2.5 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

ปีเปตสารละลายตัวอย่างจากข้อ 2.3 จำนวน 2.00 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25.00 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยสารละลายเอทานอล 70 %v/v จากนั้นนำสารละลายตัวอย่างเจือจางนี้ปริมาตร 25.00 มิลลิลิตร มาวิเคราะห์ปริมาณของกรดซาลิไซลิกด้วยวิธี standard addition โดยใช้ขั้วไฟฟ้าสไตน์สอที่พัฒนาขึ้น และตรวจวัดด้วยเทคนิคสแควร์-เวฟโวลแทมเมทรี แล้วนำผลการศึกษาที่ได้เปรียบเทียบกับค่าที่ระบุไว้บนฉลากของตัวอย่าง และวิธีมาตรฐาน 'Trinder test' โดยวิธีมาตรฐานนี้ได้อาศัยการเกิดสารเชิงซ้อนสีม่วงจากปฏิกิริยาระหว่างกรดซาลิไซลิกและเหล็ก (III) (ดังรูปที่ 3) และตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 525 นาโนเมตร



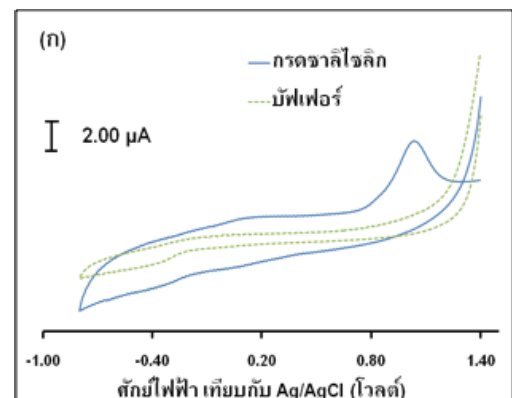
รูปที่ 3 ปฏิกิริยาเคมีการเกิดสารเชิงซ้อนสีม่วงจากปฏิกิริยาระหว่างกรดซาลิไซลิกและเหล็ก (III) [24]

3. ผลการวิจัย

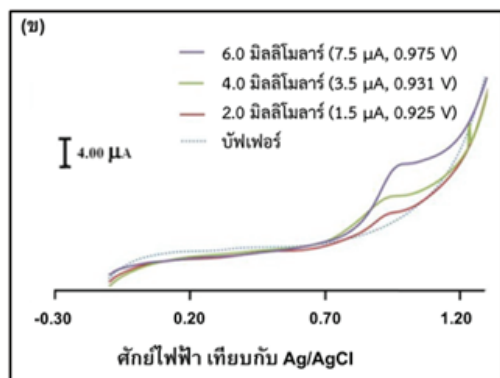
3.1 การศึกษาความเป็นไปได้ในการวิเคราะห์กรดซาลิไซลิกด้วยขั้วไฟฟ้าสไตน์สอที่พัฒนาขึ้น

การศึกษาความเป็นไปได้ในการวิเคราะห์กรดซาลิไซลิกด้วยขั้วไฟฟ้าสไตน์สอโดยพิจารณาจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชันของกรดซาลิไซลิกโดยการตรวจวัดด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี จากรูปที่ 4 (ก) แสดงไซคลิกโวลแทมโมแกรมที่ได้จากการสแกนสารละลายกรดซาลิไซลิกเข้มข้น 4.0 มิลลิโมลาร์ พบว่า กรดซาลิไซลิกจะเกิดปฏิกิริยาที่ไม่สามารถผันกลับได้ (Irreversible reaction) โดยจะเกิดเฉพาะปฏิกิริยาออกซิเดชันเพียงอย่างเดียว ซึ่งสอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Torriero และคณะ [12] และ

Zhang และคณะ [14] และจากผลการศึกษาพบว่ากรดซาลิไซลิกสามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ที่ศักย์ไฟฟ้าประมาณ 0.9 โวลต์ โดยใช้ขั้วไฟฟ้าสไตน์สอที่พัฒนาขึ้นและมีค่าใกล้เคียงกับกับรายงานวิจัยของ Torriero และคณะ [12] ที่มีค่าศักย์ไฟฟ้าออกซิเดชันของกรดซาลิไซลิกที่ประมาณ 1.1 โวลต์ เมื่อใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนเป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน นอกจากนี้ยังได้ศึกษาความเป็นไปได้สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณของกรดซาลิไซลิกความเข้มข้นต่าง ๆ กันด้วยเทคนิคสแควร์-เวฟโวลแทมเมทรี (สภาวะที่ใช้ตามข้อ 2.4) จากผลการทดลองพบว่า การตอบสนองแปรผันโดยตรงกับความเข้มข้นของกรดซาลิไซลิก ดังแสดงในรูปที่ 4 (ข) ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ว่าขั้วไฟฟ้าสไตน์สอที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถนำมาใช้สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกรดซาลิไซลิกได้ และเมื่อพิจารณาจากค่าศักย์ไฟฟ้าของกรดซาลิไซลิกความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า ที่ความเข้มข้นของกรดซาลิไซลิกที่เพิ่มขึ้นค่าศักย์ไฟฟ้าออกซิเดชันมีค่าเพิ่มขึ้น (ดังรูป 4 (ข)) ทั้งนี้เนื่องจากมาจากความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นจะทำให้เกิดเป็นฟิล์มพอลิเมอร์เคลือบที่ผิวของขั้วไฟฟ้า [14] ซึ่งลักษณะพื้นผิวของขั้วไฟฟ้าที่เปลี่ยนแปลงจะส่งผลให้ค่าศักย์ไฟฟ้ามีการเปลี่ยนแปลงเปลี่ยนแปลงด้วยเช่นกัน [25] อย่างไรก็ตามกลไกการเกิดปฏิกิริยาของกรดซาลิไซลิกที่ขั้วไฟฟ้าชนิดนี้ยังไม่มีการศึกษาที่แน่นอนแต่อย่างใด



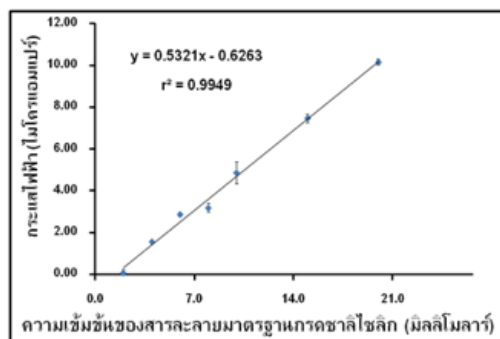
รูปที่ 4 (ก) ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของสารละลายกรดซาลิไซลิก เข้มข้น 4.0 มิลลิโมลาร์ (เส้นทึบ) และสารละลายบัพเฟอร์ (เส้นประ) โดยสแกนศักย์ไฟฟ้าในช่วง (-0.8) ถึง 1.4 โวลต์ ที่อัตราการสแกน 20 มิลลิโวลต์ต่อวินาที และ



(ข) ตัวอย่างสแควร์-เวฟโวลแทมโมแกรม ความเข้มข้นกรดซาลิไซลิก 2.0-6.0 มิลลิโมลาร์

3.2 การศึกษาคุณลักษณะในการวิเคราะห์

(ก) ความเป็นเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์จากการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณของกรดซาลิไซลิกโดยใช้เทคนิคสแควร์-เวฟโวลแทมเมทรี ที่สภาวะสแกนศักย์ไฟฟ้าระหว่าง (-0.8) ถึง 1.4 โวลต์ สเต็ปโพเทนเชียล 50 มิลลิโวลต์ แอมพลิจูด 20 มิลลิโวลต์ พบว่าในช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ระหว่าง 2.0 – 20.0 มิลลิโมลาร์ (สมการเส้นตรงคือ $y = 0.5321x - 0.6263$) ด้วยค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) เท่ากับ 0.9949 ดังแสดงในรูปที่ 5



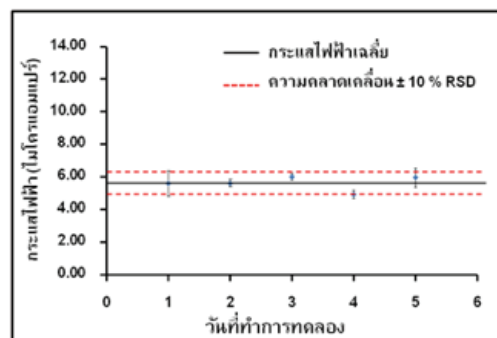
รูปที่ 5 ตัวอย่างกราฟมาตรฐานของกรดซาลิไซลิก

(ข) ขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ปริมาณ (LOQ)

ค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด และค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ปริมาณของระบบที่พัฒนาขึ้น โดยคำนวณตาม Miller และ Miller [26] พบว่ามีค่าเท่ากับ 1.3 มิลลิโมลาร์ (σ_{SD}) และ 1.6 มิลลิโมลาร์ (σ_{SD}) ตามลำดับ

(ค) การศึกษาความเที่ยงในการวิเคราะห์ของชีวไฟฟ้าไสดีนสอ

สำหรับความเที่ยงการวิเคราะห์ด้วยชีวไฟฟ้าไสดีนสอเดิม จะทำการวัดโดยการตรวจวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานกรดซาลิไซลิก เข้มข้น 8.0 มิลลิโมลาร์ ซ้ำจำนวน 7 ครั้ง ($n = 7$) เพื่อศึกษาความเที่ยงในการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน (Intraday analysis) พบว่ามีความคลาดเคลื่อนที่ร้อยละ 3.4 และเมื่อเปรียบเทียบการวิเคราะห์กรดซาลิไซลิกความเข้มข้นเดิม (เข้มข้น 8.0 มิลลิโมลาร์) เป็นจำนวนทั้งสิ้น 5 วัน ($n=5$) พบว่าการกระจายไฟฟ้าเฉลี่ยที่ตรวจวิเคราะห์ได้ มีค่าเท่ากับ 5.61 ± 0.40 ไมโครแอมแปร์ ซึ่งค่าการกระจายไฟฟ้าที่ตรวจวิเคราะห์ได้มีความคลาดเคลื่อนที่ร้อยละ 7.6 สำหรับการศึกษาความเที่ยงในการวิเคราะห์ต่างวัน (Interday analysis) (ดังรูปที่ 6) แสดงให้เห็นว่าชีวไฟฟ้าไสดีนสอที่พัฒนาขึ้นนี้มีความเสถียรเพียงพอในการนำมาประยุกต์ใช้สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกรดซาลิไซลิกในตัวอย่างได้



รูปที่ 6 กราฟที่พลอตระหว่างกระแสไฟฟ้าที่ได้จากการตรวจวัดกรดซาลิไซลิกเข้มข้น 8.0 มิลลิโมลาร์ ด้วยชีวไฟฟ้าไสดีนสอที่พัฒนาขึ้นเพื่อศึกษาความเที่ยงในการวิเคราะห์

3.3 การวิเคราะห์ปริมาณกรดซาลิไซลิกในตัวอย่างยา

การวิเคราะห์ตัวอย่างยาโดยใช้ระบบที่พัฒนาขึ้นนี้ใช้ตัวอย่างยาสำหรับรักษาโรคผิวหนัง โรคตาปลาหรือโรคหูด รวมทั้งตัวอย่างยาสังเคราะห์ ซึ่งจากการทดลองได้ศึกษาปริมาณกรดซาลิไซลิกที่วิเคราะห์ได้จากวิธีที่พัฒนาขึ้นเปรียบเทียบกับค่าที่ระบุอยู่บนฉลากของตัวอย่าง (ค่าจริง) และวิธีมาตรฐาน 'Trinder test' โดยผลการวิเคราะห์ปริมาณที่ได้เปรียบเทียบกับค่าจริง พบว่า ค่าร้อยละความคลาดเคลื่อนเฉลี่ย (% relative error) มีค่าเท่ากับ 3.7

(น้อยกว่าร้อยละ 15) และเมื่อนำผลการวิเคราะห์ปริมาณที่ได้มาเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน 'Trinder test' พบว่าผลการทดลองที่ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อทดสอบด้วย student paired t-test ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 ผลการเปรียบเทียบความเข้มข้นของกรดซาลิไซลิกที่

พบในตัวอย่างแสดงดังตารางที่ 1 นอกจากนี้ได้ศึกษาค่าร้อยละการได้กลับคืนจากตัวอย่างทั้ง 2 ประเภท คือ ตัวอย่างยารักษาโรคผิวหนัง (ตัวอย่างที่ 2) และตัวอย่างสังเคราะห์ (ตัวอย่างที่ 3) พบว่าค่าร้อยละการได้กลับคืนมีค่าเท่ากับ 88.4 และ 107.1 ตามลำดับ

ตารางที่ 1 ความเข้มข้นของกรดซาลิไซลิกที่พบในตัวอย่างยาโดยเปรียบเทียบระหว่างวิธีที่พัฒนาขึ้นและวิธีมาตรฐาน 'Trinder test'

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นกรดซาลิไซลิกที่วัดได้ (ร้อยละ)		
	วิธีที่พัฒนาขึ้น	ค่าที่ระบุอยู่ที่ฉลาก	'Trinder test'
1	24.72 ± 6.09	25.0	29.5 ± 0.06
2	10.22 ± 0.06	11.8	14.6 ± 0.00
3	11.74 ± 0.00	11.8	13.9 ± 0.01
4	0.69 ± 0.00	0.7	0.83 ± 0.00

4. สรุปและเสนอแนะ

งานวิจัยนี้เป็นการพัฒนาเทคนิควิเคราะห์จากการประยุกต์ใช้ชีวไฟฟ้าไลตินสอที่พัฒนาขึ้นในห้องปฏิบัติการเพื่อเป็นชีวไฟฟ้าทำงาน ซึ่งชีวไฟฟ้าไลตินสอที่พัฒนาขึ้นนี้สร้างมาจากการนำวัสดุธรรมชาติห่อหุ้มไลตินสอ ขนาด 0.7 มิลลิเมตร (ชนิด HB) จากผลการศึกษาเบื้องต้น พบว่าสัญญาณที่ได้จากชีวไฟฟ้าไลตินสอมีลักษณะรูปร่างและสภาพไวในการวิเคราะห์ที่ดี ทั้งยังมีความคงทนแข็งแรงในการใช้งานและมีราคาที่ถูกอีกด้วย นอกจากนี้เมื่อนำไปใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณกรดซาลิไซลิกโดยใช้เทคนิคสแควร์เวฟโวลแทมเมตรี พบว่า ช่วงความเป็นเส้นตรงในการวิเคราะห์กรดซาลิไซลิกมีค่าอยู่ระหว่าง 2.0 ถึง 20.0 มิลลิโมลาร์ มีค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (LOD) เท่ากับ 1.3 มิลลิโมลาร์ นอกจากนี้ได้ศึกษาความเที่ยงในการวิเคราะห์ด้วยชีวไฟฟ้าไลตินสอที่พัฒนาขึ้นพบว่ามีความเที่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์มีค่าน้อย (%RSD) เท่ากับร้อยละ 3.4 และ 7.6 สำหรับการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกันและการวิเคราะห์ต่างวัน (ตามลำดับ) ซึ่งจัดเป็นชีวไฟฟ้าที่มีความเหมาะสมในการนำไปใช้ในการวิเคราะห์กรดซาลิไซลิกและเมื่อนำชีวไฟฟ้านี้ไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์กรดซาลิไซลิกในตัวอย่างยาเปรียบเทียบกับค่าที่ระบุอยู่ที่ฉลากของตัวอย่าง และวิธีมาตรฐาน 'Trinder test' พบว่า ผลที่ได้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นจึงแสดงให้เห็นว่าชีวไฟฟ้าไลตินสอที่พัฒนาขึ้นในห้องปฏิบัติการนี้เป็นชีวไฟฟ้า

ที่มีราคาถูกและมีศักยภาพในการวิเคราะห์ปริมาณกรดซาลิไซลิกในตัวอย่างจริงได้ด้วย

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากทุนอุดหนุนการวิจัยประเภทเงินรายได้ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ประจำปีงบประมาณ 2555 และ ทุนสนับสนุนโครงการวิจัยสำหรับนิสิตระดับปริญญาตรี ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ประจำปีงบประมาณ 2554

6. บรรณานุกรม

- [1] Hayat, S., Ali, B. and Ahmad, A. 2007. "Salicylic Acid: Biosynthesis, Metabolism and Physiological Role in Plants". In **Salicylic Acid: A Plant Hormone**, edited by Hayat, S. and Ahmad, A. Netherland: Springer
- [2] สำนักควบคุมเครื่องสำอางและวัตถุอันตราย สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. (2540). **ข้อสารเคมี: กรดซาลิไซลิก**. <http://ipcs.fda.moph.go.th/csnetnew/icscPDF/0563.pdf>. 24 มีนาคม.

- [3] ประกาศราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศทั่วไป เล่มที่ 111 ตอนพิเศษ 9ง. 2537. กำหนดวัตถุที่ห้ามใช้ในอาหาร. กระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 151. <http://law.longdo.com/law/686/sub4582224> มีนาคม.
- [4] Chocholouř, P., et al. 2007. "A novel application of Onyx™ monolithic column for simultaneous determination of salicylic acid and triamcinolone acetonide by sequential injection chromatography". **Talanta**. 72: 854-858.
- [5] Jen, J. F., Tsai, Y. Y. and Yang, T. C. 2001. "Microdialysis of salicylic acid from viscous emulsion samples prior to high performance liquid chromatographic determination". **Journal of chromatography A**. 912: 39-43.
- [6] Kees, F., Jehnich, D. and Grobecker, H. 1996. "Simultaneous determination of acetylsalicylic acid and salicylic acid in human plasma by high-performance liquid chromatography". **Journal of Chromatography B**. 677: 172-177.
- [7] Shapiro, A. D. and Gutsche, A. T. 2003. "Capillary electrophoresis-based profiling and quantitation of total salicylic acid and related phenolics for analysis of early signaling in Arabidopsis disease resistance. **Analytical Biochemistry**. 320: 223-233.
- [8] Ruiz-Medina, A., et al. 2001. "Flow-through UV spectrophotometric sensor for determination of (acetyl)salicylic acid in pharmaceutical preparations". **International Journal of Pharmaceutics**. 216: 95-104.
- [9] Kokot, Z. and Burda, K. 1998. "Simultaneous determination of salicylic acid and acetylsalicylic acid in aspirin delayed-release tablet formulations by second-derivative UV spectrophotometry". **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**. 18: 871-875.
- [10] El-Yazbi, F. A., Hammud, H. H. and Assi, S. A. 2007. "Derivative-ratio spectrophotometric method for determination of ternary mixture of aspirin, paracetamol and salicylic acid". **Spectrochimica Acta Part A**. 68: 275-278.
- [11] Parham, H. and Rahbar, N. 2009. "Solid phase extraction-spectrophotometric determination of salicylic acid using magnetic iron oxide nanoparticles as extractor". **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**. 50: 58-63.
- [12] Torriero, A. A. J., et al. 2004. "Voltammetric determination of Salicylic acid in pharmaceutical formulations of acetylsalicylic acid". **Talanta**. 62: 247-254.
- [13] Gualandi, I., et al. 2010. "Electrocatalytic oxidation of Salicylic acid by a cobalt hydroxalate-like compound modified Pt electrode". **Biosensors and Bioelectronics**. 26: 3200-3206.
- [14] Zhang, W-D., Xu, B., Hong, Y-X., Yu, Y-X., Ye, J-S., & Zhang, J-Q. 2010. "Electrochemical oxidation of salicylic acid at well-aligned multiwalled carbon nanotube electrode and its detection". **Journal of solid state electrochemistry**. 14: 1713-1718.
- [15] Määttänen, A., Vanamo, U., Ihalainen, P., Pulkkinen, P., Tenhu, H., Bobackab, J., & Peltonen, J. 2013. "A low-cost paper-based inkjet-printed platform for electrochemical analyses". **Sensors and Actuators B**. 177: 153-162.
- [16] Valente Nabais, J.M., Teixeira, J. G. & Almeida, I. 2011. "Development of easy made low cost bindless monolithic electrodes from biomass with controlled properties to be used as electrochemical capacitors". **Bioresource Technology**. 102: 2781-2787.
- [17] Santhiago, M. & Kubota, L.T. 2013. A new approach for paper-based analytical devices with electrochemical detection based on graphite pencil electrodes". **Sensors and Actuators B**. 177: 224-230.
- [18] Bond, A.M., Mahon, P.J., Schiewe, J. & Vicente-Beckett, V. 1997. "An inexpensive and renewable pencil electrode for use in field-based stripping voltammetry". **Analytica Chimica Acta**. 345: 67-74.

- [19] Wang, J. & Kawde, A.-N. 2001. "Pencil-based renewable biosensor for label-free electrochemical detection of DNA hybridization". **Analytica Chimica Acta**. 431: 219–224.
- [20] Masawat, P., Liawruangrath, S., Vaneesorn, Y. & Liawruangrath, B. 2002. "Design and fabrication of a low-cost flow-through cell for the determination of acetaminophen in pharmaceutical formulations by flow injection cyclic voltammetry". **Talanta**. 58: 1221-1234.
- [21] Hsieh, B.-C., Cheng, T.-J., Shih, S.-H. & Chen, R.L.C. 2011. "Pencil lead microelectrode and the application on cell dielectrophoresis". **Electrochimica Acta**. 56: 9916– 9920.
- [22] Wang, Z., Ai, F., Xu, Q., Yang, Q., Yu, J.-H., Huang, W.-H. & Zhao, Y.-D. (2010). "Electrocatalytic activity of salicylic acid on the platinum nanoparticles modified electrode by electrochemical deposition". **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. 76: 370–374.
- [23] Dittkulchaimongkol, J. and Muncharoen, S. 2012. "Design and fabrication of a simple electrode for undergrads to study the quantitative electrochemical analysis". In Proceeding of **Pure and applied chemistry international conference 2012 (PACCON 2012)** 13-18 January 2012. Chiangmai, Thailand.
- [24] Mitchell-Koch, T. J., Reid, R. K. and Meyerhoff, E. M. 2008. "Salicylate Detection by Complexation with Iron (III) and Optical Absorbance Spectroscopy". **Journal of Chemical Education**. 85(12) : 1658-1659.
- [25] Baldo, M.A., Daniele, S., & Mazzocchin, G.A. 1995. "Cyclic voltammetry at mercury micro-electrodes effects of mercury thickness and scan rate". **Electrochimica Acta**. 41: 811-818.
- [26] Miller N. J. and Miller C. J. 2000. **Statistics and chemometrics for analytical chemistry**. 4th edition, Great Britain: Ashford Color Press.