

การตรวจวิเคราะห์สารกลุ่มทาเลท (Phthalates) ในผลิตภัณฑ์สุขภาพโดยวิธี UPLC/DAD

ศิริพร ทองประกายแสง

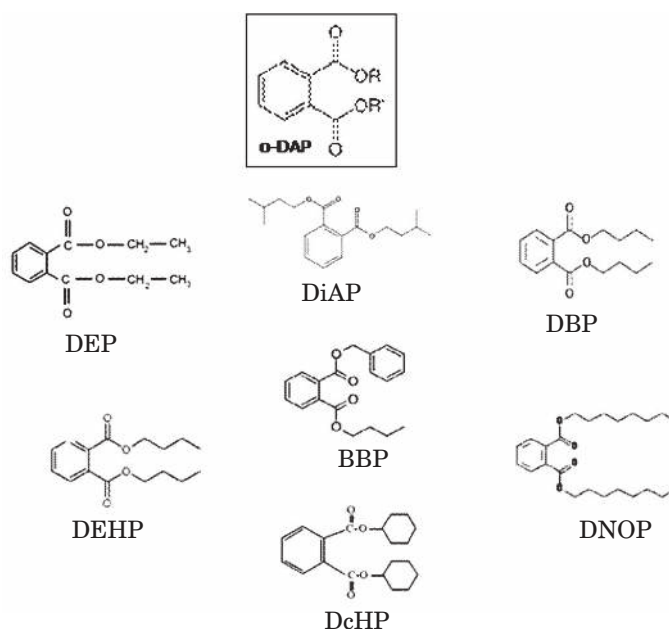
สำนักเครื่องสำอางและวัตถุอันตราย กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ ทาเลท (phthalates) เป็นกลุ่มสารเคมีที่สำคัญในทางอุตสาหกรรมใช้เป็นพลาสติกไซเซอรในการผลิตพลาสติกมีจำนวนมากกว่า 30 ชนิดในท้องตลาด ช่วยเพิ่มคุณสมบัติของพลาสติกให้มีความยืดหยุ่น นุ่มและเหนียว ในผลิตภัณฑ์สุขภาพหลายชนิด พบว่าสารทาเลทบางชนิดเป็นพิษต่อระบบสืบพันธุ์และก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ในสัตว์ทดลอง ปัจจุบันกระทรวงสาธารณสุขได้ประกาศห้ามใช้สารทาเลท 5 ชนิด ในการผลิตเครื่องสำอาง ได้แก่ DBP, DEHP, DMEP, PIPP และ BBP และที่ผ่านมายังไม่มีวิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์สารทาเลทในผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในชีวิตประจำวัน และข้อมูลการสำรวจในเครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในบ้านเรือนชนิดต่างๆ ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์นี้ขึ้นและดำเนินการทดสอบความใช้ได้ตาม Eurachem guide ผลการศึกษาได้วิธีที่เหมาะสมในการตรวจวิเคราะห์สารทาเลท 7 ชนิดพร้อมกัน ด้วยเครื่อง UPLC ตัวตรวจวัดชนิด photodiode array ใช้คอลัมน์ Kinetex[®] C 18 (1.7 μ m, 2.1 $\times$ 50 mm) ใช้สภาวะการแยกสารแบบ Gradient program ระหว่าง acetonitrile และ deionized water ด้วย flow rate เท่ากับ 0.45 ml/min ใช้เวลาในการแยกสารทั้งหมด 8 นาที อุณหภูมิคอลัมน์ 35°C และความยาวคลื่น 225 nm ผลการทดสอบความใช้ได้ของวิธีพบว่าวิธีมีความจำเพาะเจาะจงสำหรับสารทาเลท 7 ชนิด โดยให้ค่า Resolution > 2, %RSD ของ retention time ในวันเดียวกันเท่ากับ 0.01 - 0.12 และระหว่างวัน 0.29 - 1.71 ค่า LOD อยู่ในช่วง 0.0002 - 0.007 %w/w และ LOQ อยู่ในช่วง 0.001 - 0.022 %w/w ความสัมพันธ์เชิงเส้นของความเข้มข้นในช่วง 0.05 - 30 μ g/ml และค่าสัญญาณ ได้ค่า $r > 0.995$ วิธีนี้ให้ความถูกต้องที่ดีแสดงด้วยค่า %recovery อยู่ในช่วง 90 - 108% ความเที่ยงของวิธีให้ %RSD < 3 ดังนั้นวิธีนี้จึงเหมาะสมสำหรับนำไปใช้ในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารทาเลท 7 ชนิดพร้อมกัน ในผลิตภัณฑ์สุขภาพเพื่อการคุ้มครองผู้บริโภคต่อไป

บทนำ

ทาเลท (phthalates) จัดเป็นพลาสติกไซเซอร์ (plasticizers) ที่ช่วยเพิ่มคุณสมบัติของพลาสติกให้มีความยืดหยุ่น นุ่มและเหนียว และเป็นสารเคมีที่สำคัญในทางอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น การผลิตของเล่นเด็ก อุปกรณ์ทางการแพทย์ วัสดุห่อหุ้มและบรรจุอาหาร นอกจากนี้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในบ้านเรือนทาเลทถูกนำมาใช้เป็นส่วนผสมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการดูดซับโมเลกุลของน้ำหอมและสีให้ติดแน่นทนนานอีกด้วย จึงทำให้สารทาเลทเป็นสารเคมีหนึ่งที่มนุษย์สัมผัสในชีวิตประจำวันมาก

ทาเลทเป็นเอสเทอร์ของ 1, 2-benzenedicarboxylic acid สารกลุ่มทาเลทมีจำนวนมากกว่า 30 ชนิดแตกต่างกันไปตามหมู่แทนที่ alkyl หรือ aryl (R และ R') โดยกลุ่มที่มีการใช้มากคือ กลุ่ม ortho-dialkylphthalates (o-DAP)⁽¹⁾ ซึ่งโครงสร้างทางเคมี (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 โครงสร้างหลักของสารกลุ่ม ortho-dialkylphthalates (o-DAP) และโครงสร้างทางเคมีของสารทาเลท 7 ชนิดที่ศึกษา

สำหรับความเป็นพิษพบว่าสารทาเลทบางชนิด โดยเฉพาะกลุ่มที่มีมวลโมเลกุลสูง เช่น bis-isononyl phthalate (DINP) และ bis-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) เป็นอันตรายต่อการเจริญเติบโตของทารกหรือระบบสืบพันธุ์ ดังนั้นเด็กจึงเป็นกลุ่มเสี่ยงต่อการได้รับสัมผัสสารทาเลท⁽²⁾ ปัจจุบันหน่วยงานของสหรัฐอเมริกาที่ศึกษาวิจัยด้านมะเร็งคือ The International Agency for Research on Cancer (IARC) จัดให้อยู่ในกลุ่ม 3 (Inadequate in humans and inadequate or limited in animals) คือ สารที่พบว่ายังไม่มีข้อมูลงานวิจัยเพียงพอที่จะสามารถสนับสนุนความเป็นไปได้ที่จะทำให้เกิดมะเร็งในมนุษย์และมีข้อมูลที่จำกัดในการก่อมะเร็งในสัตว์⁽³⁾ อย่างไรก็ตามกลุ่มสหภาพยุโรป (EU) ได้มีการควบคุมการใช้สารทาเลท 6 ชนิด⁽⁴⁾ คือ Dibutyl phthalate (DBP), Benzyl butyl phthalate (BBP), bis-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP), bis-octyl phthalate (DOP), bis-isononyl phthalate (DINP) และ bis-isodecyl phthalates (DIDP) ในวัสดุสำหรับใช้กับเด็กอายุช่วง 1 – 3 ขวบ สำหรับในประเทศไทยสารทาเลทบางชนิดถูกกำหนดเป็นสารห้ามใช้ในการผลิตเครื่องสำอาง ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่องกำหนดวัตถุที่ห้ามใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเครื่องสำอางในราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 125 ตอนพิเศษ 80 ง ลงวันที่ 12 พฤษภาคม 2551 ซึ่งสารดังกล่าว ได้แก่ Dibutyl phthalate (ลำดับที่ 670), bis-(2-ethylhexyl)

phthalate (ลำดับที่ 672), bis-(2-methoxyethyl) phthalate (ลำดับที่ 673), branched and linear n-pentyl-isopentyl phthalate (ลำดับที่ 1145) และ Benzyl butyl phthalate (ลำดับที่ 1146)

ปัจจุบันการตรวจวิเคราะห์สารทาเลทสามารถใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีในการแยกสารแต่ละชนิดและใช้หน่วยตรวจวัดชนิดต่างๆ เช่น GC/MS นิยมใช้ในงานวิเคราะห์ตัวอย่างของเล่นเด็ก ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด ตัวอย่างอาหารและสิ่งแวดล้อมรวมทั้งในงานวิเคราะห์ทางด้านเครื่องสำอางอีกด้วย ซึ่งวิธีทดสอบดังกล่าวมีวิธีการเตรียมตัวอย่างที่ยุ่งยากและมักพบปัญหาการปนเปื้อนของสารทาเลทใน blank chromatogram อีกด้วย⁽⁴⁻⁸⁾ ส่วนวิธีทดสอบตัวอย่างเครื่องสำอางของ Riyan Su et al., 2010⁽⁹⁾ ซึ่งใช้วิธี High Performance Liquid Chromatograph, HPLC โดยการเตรียมตัวอย่างด้วยพอลิเมอร์ชนิดพิเศษเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดสารทาเลท 4 ชนิดคือ dimethyl phthalate (DMP), di-n-butyl phthalate (DBP), dicyclohexyl phthalate (DcHP) และ di-n-octyl phthalate (DnOP)

ในประเทศไทยยังขาดข้อมูลการวิเคราะห์การปนเปื้อนของสารทาเลทห้ามใช้หรือปริมาณของสารทาเลทซึ่งผสมในผลิตภัณฑ์สุขภาพที่ใช้ในชีวิตประจำวัน ดังนั้นสำนักเครื่องสำอางและวัตถุอันตรายจึงได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์สารทาเลท โดยวิธี Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC) ตัวตรวจวัดชนิด photodiode array (DAD) เพื่อนำมาใช้ในการตรวจวิเคราะห์สารกลุ่มทาเลททั้งที่ห้ามใช้และที่นิยมใช้ในท้องตลาดจำนวน 7 ชนิด ในผลิตภัณฑ์สุขภาพประเภทเครื่องสำอางชนิด ครีม โลชั่น มาร์กหน้า และผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในบ้านเรือนชนิด เจลปรับอากาศ น้ำยาซักผ้า และน้ำยาปรับผ้านุ่ม โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้วิธีที่เหมาะสมในการนำไปใช้ในการสำรวจผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในท้องตลาด

วัสดุและวิธีการ

สารเคมีและสารมาตรฐาน

สารมาตรฐาน : Di-methoxyethyl phthalate (DEMP), Diethyl phthalate (DEP), Di-n-propyl phthalate (DnPP), Butylbenzyl phthalate (BBP), Di-n-butyl phthalate (DBP), Di-isoamyl phthalate (DiAP), Dicyclohexyl phthalate (DcHP), Di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) และ Di-octyl ผลิตภัณฑ์ของ Dr Ehrenstorfer ประเทศเยอรมนี ความบริสุทธิ์มากกว่า 99% พร้อมใบรับรอง สารเคมี : acetonitrile methanol และ 2-propanol (HPLC grade) ผลิตภัณฑ์ของ Scharlau ประเทศสเปน

เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวประสิทธิภาพสูง (UPLC) ผลิตภัณฑ์ของ Water รุ่น Acquity ประกอบด้วย เครื่องตรวจวัดชนิด photodiode array และชุดประมวลผลโปรแกรม Empower 2.0, เครื่องชั่งความละเอียด 0.1 มิลลิกรัม, อ่างน้ำความถี่สูง (ultrasonic bath), ชุดกรองตัวอย่างก่อนเข้าเครื่อง พร้อมแผ่นกรองชนิด Polyvinylidene-fluoride (PVDF) ขนาด 0.20 ไมโครเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 13 และ 25 มิลลิเมตร และเครื่องผสมสาร (vortex mixer)

ตัวอย่าง

ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ครีม โลชั่น โฟมล้างหน้า เจลปรับอากาศ น้ำยาซักผ้า และน้ำยาปรับผ้านุ่ม สุ่มเก็บจากห้างสรรพสินค้า ร้านค้าปลีก ร้านค้าส่ง และร้านค้าสะดวกซื้อ ในเขตจังหวัดกรุงเทพมหานคร และจังหวัดนนทบุรี

การเตรียมตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่างประมาณ 0.1 – 0.5 กรัม ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารและแมทริกซ์ของตัวอย่าง เติม acetonitrile ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าให้ตัวอย่างละลายหมดด้วยเครื่องผสมสาร ตัวอย่างที่ละลายยากให้นำไปเขย่าด้วยอ่างน้ำความถี่สูงประมาณ 5 – 10 นาที แล้วปรับปริมาตรด้วย acetonitrile: deionized water (1:1)

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

สารละลายมาตรฐานทาเลทผสม ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียมโดยชั่งสารมาตรฐานแต่ละชนิด น้ำหนัก 0.01 กรัม ในขวดวัดปริมาตรสี่ขาขนาด 10 มิลลิลิตร ละลายและปรับปริมาตรด้วย acetonitrile

สารละลายมาตรฐานทาเลทผสมความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียมโดยปิเปตสารละลายเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรสี่ขาขนาด 10 มิลลิลิตร ละลายและปรับปริมาตรด้วยสารละลาย acetonitrile: deionized water (1:1)

สารละลายมาตรฐานทาเลทผสม ความเข้มข้น 3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียมโดยปิเปตสารละลาย 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 30 ไมโครลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรสี่ขาขนาด 10 มิลลิลิตร ละลายและปรับปริมาตรด้วยสารละลาย acetonitrile: deionized water (1:1)

การหาสภาวะที่เหมาะสมในการแยกสารทาเลท 7 ชนิดพร้อมกัน

เตรียมสารละลายมาตรฐานผสมสารทาเลท 7 ชนิด ได้แก่ DEP, DnPP, BBP, DBP, DiAP, DcHP และ DEHP ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร วิเคราะห์ด้วยเครื่อง UPLC โดยใช้คอลัมน์ชนิด Reverse phase C18 และหาสภาวะที่เหมาะสมของพารามิเตอร์ที่มีผลต่อการแยกของสารทาเลท 7 ชนิด ได้แก่ อัตราส่วนผสมของตัวทำละลายระหว่าง acetonitrile และ deionized water ในช่วงเวลาที่เหมาะสม อุณหภูมิของคอลัมน์ และตำแหน่งความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดในตัวทำละลายที่ใช้ในการศึกษา

การทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation)

ศึกษาโดยอ้างอิงวิธีของ EURACHEM Guideline⁽¹⁰⁾ โดยเลือกหัวข้อที่เหมาะสมกับการใช้งาน Quantitative test for impurity ประกอบด้วยพารามิเตอร์ที่ต้องศึกษาดังนี้

1. การทดสอบความจำเพาะเจาะจง (Selectivity)

เตรียมสารละลายมาตรฐานผสมสารทาเลท 7 ชนิด ความเข้มข้น 3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร วิเคราะห์ด้วยเครื่อง UPLC ภายในวันเดียวกัน จำนวนซ้ำ 10 ครั้ง และวิเคราะห์ซ้ำระหว่างวันเป็นเวลา 10 วัน นำผลข้อมูล retention time ที่ได้ของพีคสารมาตรฐานแต่ละชนิดมาคำนวณร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Percent Relative Standard Deviation, %RSD)

2. การทดสอบหาปริมาณต่ำสุดในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ (Limit of qualification , LOD และ Limit of quantification, LOQ)

การประมาณค่า LOD และ LOQ ดำเนินการตามวิธีของ EURACHEM⁽¹⁰⁾ โดยเลือกตัวอย่างที่ตรวจไม่พบหรือไม่มี peak รบกวนของสารที่ต้องการวิเคราะห์มาใช้เป็น sample blank วิเคราะห์ซ้ำจำนวน 10 ครั้ง โดยชั่งตัวอย่างน้ำหนัก 0.2 ± 0.02 กรัม ละลายด้วย acetonitrile ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วย

diluent ให้ได้ 25 มิลลิลิตร กรองสารละลายตัวอย่างด้วย 0.20 ไมครอน PVDF membrane filter โดยแต่ละตัวอย่างฉีดซ้ำ 3 ครั้ง นำค่า response สูงสุดของแต่ละโครมาโทแกรมมาคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (So) และนำมาประมาณค่า LOD และ LOQ ตามวิธีการของ Eurachem⁽¹⁰⁾

3. การทดสอบความเป็นเส้นตรง (Linearity)

เตรียมสารละลายมาตรฐานผสมสารทาเลทที่มีความเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 10.0, 20.0 และ 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UPLC วิเคราะห์ซ้ำความเข้มข้นละ 5 ครั้ง และนำข้อมูลมาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและพื้นที่ใต้พีคคำนวณค่า coefficient of determination (r^2) และค่าต่างๆ ของสมการเชิงเส้นของสารแต่ละชนิด

4. การทดสอบความแม่นยำ (Accuracy)

เตรียม spiked sample ของแต่ละแมทริกซ์ให้มีความเข้มข้นแตกต่างกัน 3 ระดับ โดยการชั่งตัวอย่างแต่ละชนิด ให้มีน้ำหนัก 0.2 ± 0.05 กรัม ในขวดวัดปริมาตรสีชาขนาด 25 มิลลิลิตร เติมสารมาตรฐานทาเลทแต่ละชนิด ปริมาณ 25, 50 และ 100 ไมโครกรัม ละลายด้วย acetonitrile ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ผสมด้วย vortex mixer ให้เข้ากันละลายตัวอย่างให้หมดโดยนำไป sonicate ปรับปริมาตรด้วยสารละลาย acetonitrile: deionized water (1:1) กรองสารละลายด้วยตัวกรองชนิด PVDF ขนาด 0.2 ไมครอน ก่อนนำไปฉีดเข้าเครื่อง UPLC อ่านค่าความเข้มข้นเทียบกับกราฟมาตรฐานที่สร้างด้วยสารละลายมาตรฐานช่วงความเข้มข้น 0.5 – 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำซ้ำแบบเดียวกันจำนวน 10 ครั้ง คำนวณร้อยละการได้กลับคืน (%Recovery) ตามวิธีของ Eurachem⁽¹⁰⁾

5. การทดสอบความเที่ยงตรง (Precision)

5.1 ความสามารถในการทำซ้ำได้ (Repeatability)

เตรียม spiked sample ให้มีความเข้มข้นของสารทาเลท ความเข้มข้น 3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวน 10 ขวด และทำการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน และนำค่า peak area ของสารแต่ละชนิดมาคำนวณ %RSD

5.2 ความสามารถในการทวนซ้ำได้ (Intermediate precision)

เตรียม spiked sample ให้มีความเข้มข้นของสารทาเลท ความเข้มข้น 3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำซ้ำเป็นเวลา 10 วัน และนำค่า peak area ของสารแต่ละชนิดมาคำนวณ %RSD

การประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์ (Measurement Uncertainty)

การประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัดคำนึงถึงแหล่งของความไม่แน่นอนทุกแหล่ง⁽¹¹⁾ เมื่อรวมค่าความไม่แน่นอนทั้งหมด แล้วคำนวณค่าความไม่แน่นอนขยายที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และใช้ค่า Coverage factor, $k=2$

ผล

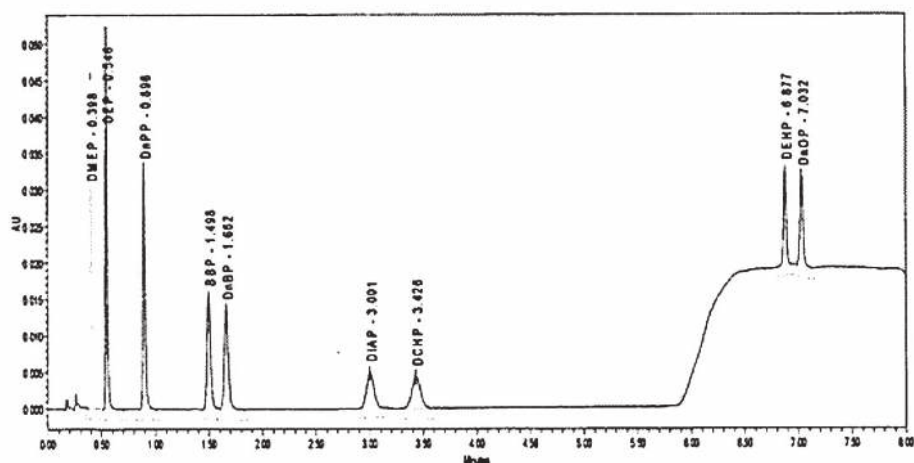
1. สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์

คอลัมน์ที่ใช้ชนิด Kinetex C18, 2.6×50 มิลลิเมตร, 1.7 ไมโครเมตร อุณหภูมิคอลัมน์ขณะทำงาน 35°C ช่วงความยาวคลื่นสำหรับ diode array mode คือ 200 – 400 นาโนเมตร และความยาวคลื่นสูงสุด (λ_{max}) เท่ากับ 225 นาโนเมตร มีโปรแกรมของตัวทำละลายเคลื่อนที่ (mobile phase) ผสมแบบ gradient (ตารางที่ 1) และ

ระยะเวลาในการวิเคราะห์ (run time) 10 นาที โดยใช้ปริมาตรในการฉีดครั้งละ 2 ไมโครลิตร ผลการแยกสารละลายมาตรฐานผสมสารทาเลท 9 ชนิด ให้โครมาโทแกรม (ตารางที่ 1 และภาพที่ 2) จากภาพจะเห็นว่าสามารถแยกสารทาเลทได้จำนวน 9 ชนิด ซึ่งครอบคลุมสารทาเลทห้ามใช้ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข แต่เมื่อทดสอบกับผลิตภัณฑ์จริง พบว่ามีปัญหาเมทริกซ์รบกวนพีคของสาร DMEP และ DnOP ซึ่งเป็นพีคแรกและพีคสุดท้ายของโครมาโทแกรม ทำให้ไม่สามารถวิเคราะห์สารทั้งสองตัวพร้อมกับสารทาเลทตัวอื่นๆ ได้ ดังนั้นในการดำเนินการทดสอบความใช้ได้ของวิธี จึงเลือกสารทาเลท 7 ชนิด ที่สามารถวิเคราะห์ได้พร้อมกันในผลิตภัณฑ์ 6 ชนิด ที่ศึกษาดังที่ได้กล่าวมาแล้ว

ตารางที่ 1 Gradient Program ของคอลัมน์โดยตัวทำละลายที่ใช้ 2 ชนิดผสมกัน คือ DI water (A) และ Acetonitrile (B) ที่เวลาต่างๆ กัน 6 ช่วงเวลา ตามอัตราการเปลี่ยนแปลงของอัตราส่วนผสมเป็นไปตามลักษณะของ Curve ด้วยอัตราเร็วคงที่ในการเคลื่อนที่ของตัวทำละลาย 0.450 มิลลิลิตรต่อนาที ตลอดช่วงการทำงาน

	Time (min)	Flow (mL/min)	%A	%B	Curve
1	Initial	0.450	40	60	–
2	6.50	0.450	10	90	11
3	7.50	0.450	10	90	11
4	8.00	0.450	0	100	5
5	8.50	0.450	40	60	5



ภาพที่ 2 โครมาโทแกรมของสารละลายผสมสารทาเลท ความเข้มข้น 3 µg/ml ใน Acetonitrile ตามลำดับจากซ้ายไปขวาดังนี้ DEMP, DEP, DnPP, BBP, DnBP หรือ DBP, DiAP, DcHP, DEHP และ DnOP

2. ผลการทดสอบความใช้ได้ของวิธี

2.1 Selectivity: Mixed Standard Concentration 3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

สภาวะที่ใช้สามารถแยกสารทาเลท 7 ชนิด ออกจากกันได้ชัดเจนโดยให้ค่า Resolution > 2 และให้ค่า %RSD ของ retention time ของสารทั้ง 7 ชนิด จากการวิเคราะห์ซ้ำในวันเดียวกัน อยู่ในช่วง 0.04 – 0.14 และระหว่างวัน อยู่ในช่วง 0.39 – 1.54 รายละเอียด (ตารางที่ 2) และให้ Peak characteristic (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 แสดงลักษณะสำคัญของ Chromatogram โดยระบุ Peak Characteristic เป็นค่าเฉลี่ย (n=10) จากการฉีดสารละลายมาตรฐานผสมสารทาเลท 7 ชนิด ที่ความเข้มข้น 3 µg/ml

	Name	RT	Area	K Prime	Theoretical Plate (5σ)	Tailing	Resolution
1	Diethyl phthalate, DEP	0.5438	32494	2.88	4715	1.10	5.82
2	Di-n-propyl phthalate, DnPP	0.8931	29689	5.38	6720	1.13	10.64
3	Butylbenzyl phthalate, BBP	1.4939	20879	9.67	7660	1.12	11.84
4	Di-n-butyl phthalate, DnBP	1.6578	20790	10.84	7033	1.12	2.43
5	Di-isoamyl phthalate, DiAP	2.9974	11537	20.41	5883	1.18	13.13
6	Dicyclohexyl phthalate, DcHP	3.4301	13156	23.50	2836	0.94	3.07
7	Di (2-ethylhexyl) phthalate, DEHP	6.8728	15287	48.09	218410	0.93	35.11

2.2 LOD และ LOQ

ผลการทดสอบปริมาณต่ำสุดในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ ได้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน S_0 ของผลิตภัณฑ์ทั้ง 6 ชนิด ซึ่งพบว่า โลชั่นให้ response ของ matrix ที่รบกวนการวิเคราะห์มากที่สุด รองลงมา คือ โฟมล้างหน้า น้ำยาปรับผ้านุ่ม ครีม น้ำยาซักผ้าและเจลปรับอากาศ ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์ sample blank ของแต่ละผลิตภัณฑ์ 6 ชนิด ได้แก่ น้ำยาปรับผ้านุ่ม (Softener) น้ำยาซักผ้า (Washing Liquid) เจลปรับอากาศ (Air Freshener) โฟมล้างหน้า (Facial Foam) ครีม (Cream) และโลชั่น (Lotion) จำนวน 10 ครั้ง แต่ละครั้งฉีด 3 ซ้ำ

Product		Peak area										mean	SD (S_0)	S_0'
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
Softener	inj1	10709	10585	10695	8242	8525	9968	10025	9233	8995	8545	9562	928	656
	Inj2	10793	10643	10748	8284	8632	10123	9731	8922	9053	8717			
	Inj3	10867	10631	10662	8362	8407	10264	9568	8932	9075	8927			
Washing Liquid	inj1	5381	5375	5257	5702	6074	5110	4975	8272	6841	7304	5995	1205	852
	Inj2	5250	5279	5251	5455	5385	5163	4731	9471	6419	8499			
	Inj3	5198	5944	4939	5326	5145	6461	5160	7900	5778	6806			
Air Freshener	inj1	1818	1782	1416	1771	1537	1627	3045	1469	1996	1470	1818	538	381
	Inj2	1616	1333	1472	1507	2316	1538	3680	2413	1862	1329			
	Inj3	1330	1491	1679	1799	1646	1828	2366	2497	1581	1318			
cream	inj1	9996	9385	9686	9385	9796	9093	8715	8562	8719	8265	9098	462	326
	Inj2	9653	9087	9354	9351	9921	8849	8621	8675	9196	8629			
	Inj3	9610	9347	9070	9227	9301	8867	8767	8582	8619	8597			
Lotion	inj1	37371	33976	39170	37684	39134	39701	40117	35108	40975	38475	38872	2125	1503
	Inj2	36201	39484	38096	37852	40465	39926	40685	36177	40275	43224			
	Inj3	38800	38285	35031	39568	42799	40477	38833	40917	38881	38461			
Facial Foam	inj1	15057	14739	19168	15119	15572	16050	16149	16642	15976	16520	16326	1266	895
	Inj2	14610	17260	19244	15564	15678	15930	16051	16391	15928	16021			
	Inj3	14751	18848	19163	15661	16702	16702	16068	16394	15831	16000			

และเมื่อพิจารณาขีดความสามารถของวิธีวิเคราะห์เชิงคุณภาพ (LOD) และเชิงปริมาณ (LOQ) พบว่าวิธีนี้ให้ค่า LOD อยู่ในช่วง 0.017 – 0.577 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร หรือ 0.0002 – 0.007 %w/w และ LOQ อยู่ในช่วง 0.058 – 1.812 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรหรือ 0.001 – 0.022 %w/w ผลิตภัณฑ์ที่สามารถวิเคราะห์ได้ที่มีความเข้มข้นต่ำสุดคือ เจลปรับอากาศ รองลงมาคือ ครีม น้ำยาซักผ้า น้ำยาปรับผ้านุ่ม โฟมล้างหน้า และโลชั่น ตามลำดับ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ผลการศึกษา LOD และ LOQ ของวิธีโดยใช้ blank sample ของแต่ละแมทริกซ์ทั้ง 6 ชนิด ได้แก่ น้ำยาปรับผ้านุ่ม (Softener) น้ำยาซักผ้า (Washing Liquid) เจลปรับอากาศ (Air Freshener) โฟมล้างหน้า (Facial Foam) ครีม (Cream) และ โลชั่น (Lotion) โดยวิเคราะห์ซ้ำ 10 ครั้ง และแต่ละซ้ำฉีด 3 ครั้ง คำนวณค่าความเข้มข้นในรูปไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ($\mu\text{g}/\text{ml}$) และร้อยละโดยน้ำหนัก (%w/w)

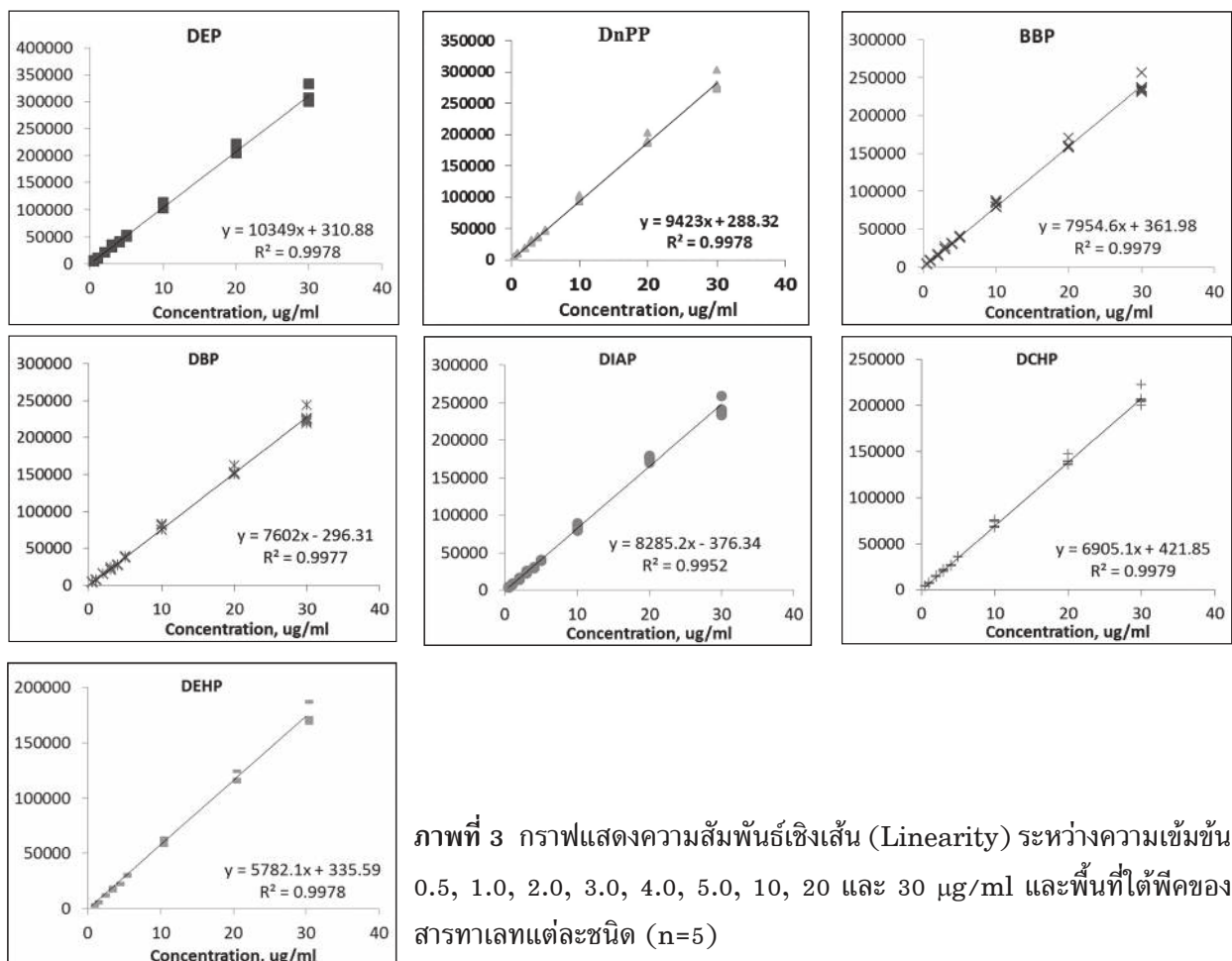
		DEP	DnPP	BBP	DBP	DiAP	DcHP	DEHP
Softener								
- LOD	$\mu\text{g}/\text{ml}$	0.159	0.148	0.162	0.017	0.178	0.038	0.313
	%w/w	0.002	0.002	0.002	0.0002	0.002	0.0004	0.004
- LOQ	$\mu\text{g}/\text{ml}$	0.531	0.493	0.539	0.058	0.592	0.128	1.043
	%w/w	0.006	0.006	0.0063	0.001	0.007	0.001	0.012
Washing Liquid								
- LOD	$\mu\text{g}/\text{ml}$	0.203	0.197	0.219	0.084	0.237	0.107	0.392
	%w/w	0.002	0.002	0.003	0.001	0.003	0.001	0.005
- LOQ	$\mu\text{g}/\text{ml}$	0.325	0.677	0.655	0.731	0.278	0.789	0.357
	%w/w	0.004	0.008	0.008	0.009	0.003	0.009	0.004
Air Freshener								
- LOD	$\mu\text{g}/\text{ml}$	0.058	0.035	0.029	0.090	0.090	0.041	0.080
	%w/w	0.001	0.0004	0.0003	0.001	0.0005	0.001	0.002
- LOQ	$\mu\text{g}/\text{ml}$	0.451	0.194	0.117	0.096	0.452	0.137	0.401
	%w/w	0.005	0.002	0.001	0.001	0.005	0.002	0.005
Cream								
- LOD	$\mu\text{g}/\text{ml}$	0.079	0.078	0.088	0.045	0.095	0.054	0.151
	%w/w	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.002
- LOQ	$\mu\text{g}/\text{ml}$	0.172	0.093	0.067	0.436	0.108	0.392	0.395
	%w/w	0.002	0.001	0.001	0.005	0.001	0.005	0.005
Lotion								
- LOD	$\mu\text{g}/\text{ml}$	0.315	0.341	0.398	0.402	0.413	0.424	0.577
	%w/w	0.004	0.004	0.005	0.005	0.005	0.005	0.007
- LOQ	$\mu\text{g}/\text{ml}$	0.958	0.969	1.101	0.703	1.168	0.798	1.812
	%w/w	0.011	0.012	0.013	0.008	0.014	0.010	0.022
Facial Foam								
- LOD	$\mu\text{g}/\text{ml}$	0.230	0.246	0.286	0.273	0.298	0.290	0.423
	%w/w	0.003	0.003	0.003	0.003	0.004	0.004	0.005
- LOQ	$\mu\text{g}/\text{ml}$	0.674	0.652	0.727	0.273	0.785	0.352	1.299
	%w/w	0.008	0.008	0.009	0.003	0.009	0.004	0.016

2.3 Linearity

ผลการทดสอบค่า r^2 ของสารทาเลทแต่ละชนิด พบว่าให้ค่ามากกว่า 0.995 ในช่วงความเข้มข้น 0.5 – 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร (ตารางที่ 6 และภาพที่ 3) จากค่า slope ของกราฟจะเห็นว่า DEP มีความไวในการตรวจวิเคราะห์ที่สูงที่สุดแสดงค่าสูงที่สุด รองลงมาคือ DnPP, DiAP, BBP, DBP, DcHP และ DEHP ตามลำดับ

ตารางที่ 6 ผลการศึกษา Linearity ของวิธี แสดงค่าสัมประสิทธิ์ (r^2) ค่า slope และค่า intercept ของสมการเชิงเส้น ระหว่างความเข้มข้น 9 ระดับ (0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 10.0, 20.0 และ 30.0 $\mu\text{g/ml}$) และพื้นที่ที่ได้ฟีดของสารทาเลททั้ง 7 ชนิด

	Name	r^2	slope	intercept
1	DEP	0.9978	10349	310.88
2	DnPP	0.9979	9423	288.32
3	BBP	0.9978	7955	361.98
4	DBP	0.9977	7602	296.31
5	DiAP	0.9952	8285	-376.34
6	DcHP	0.9979	6905	421.85
7	DEHP	0.9978	5782	335.59



ภาพที่ 3 กราฟแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้น (Linearity) ระหว่างความเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 10, 20 และ 30 $\mu\text{g/ml}$ และพื้นที่ที่ได้ฟีดของสารทาเลทแต่ละชนิด ($n=5$)

2.4 Accuracy

จากการศึกษา %Recovery ของสารทาเลท 7 ชนิด ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ 6 ชนิด โดยการ spiked สารมาตรฐานผสมของทาเลท ที่ความเข้มข้น 3 ระดับ พบว่า %Recovery ของสารทาเลทที่ได้อยู่ในช่วง 90 - 110% ทั้งนี้ได้แสดงตัวอย่างผลของค่า %Recovery ที่ได้จากการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์โลชั่น (ตารางที่ 7) และเมื่อนำข้อมูลของทุกผลิตภัณฑ์มาวิเคราะห์พบว่า ให้ค่า %Recovery สูงสุดคือ 108.12 และค่าต่ำสุดคือ 90.06 ค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 96 - 98% แสดงการกระจายตัวของข้อมูลโดยมีค่า %RSD อยู่ในช่วง 2.24 - 4.17% (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 7 ผลการศึกษา accuracy ของวิธีสำหรับผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางชนิดโลชั่น โดยการ spiked สารทาเลทที่ความเข้มข้น 3 ระดับ จำนวนซ้ำ 10 ครั้ง และคำนวณค่า %recovery

สาร/ปริมาณ ที่ spiked	%Recovery, ครั้งที่									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
DEP										
100 µg/g	94.79	93.37	98.82	100.74	95.64	101.39	96.92	98.20	97.80	98.50
200 µg/g	101.80	96.56	98.71	95.85	97.88	102.11	98.01	93.19	98.69	97.47
400 µg/g	99.00	100.55	99.87	103.77	98.66	97.69	98.71	99.32	101.70	101.93
DnPP										
100 µg/g	100.42	92.41	99.81	96.44	101.29	99.53	102.91	99.04	98.88	104.88
200 µg/g	99.87	99.13	102.34	99.48	100.43	97.75	98.32	100.82	100.80	101.79
400 µg/g	97.56	99.26	97.07	97.68	95.29	94.97	96.40	97.83	97.79	95.87
BBP										
100 µg/g	93.01	92.03	101.05	102.66	99.41	99.94	97.51	99.01	92.90	100.84
200 µg/g	103.08	103.12	101.74	102.50	99.63	101.83	99.13	100.99	103.48	100.06
400 µg/g	101.20	99.89	99.42	100.27	98.10	97.57	99.00	100.67	100.24	99.17
DBP										
100 µg/g	97.07	94.47	101.50	98.69	95.45	102.59	99.36	102.75	102.75	102.75
200 µg/g	101.85	104.33	99.60	100.34	98.02	98.23	98.93	97.95	102.28	97.49
400 µg/g	99.08	98.78	97.33	98.40	96.77	94.80	97.17	97.82	97.39	96.10
DiAP										
100 µg/g	97.34	99.12	100.04	98.10	100.46	102.92	94.89	95.38	99.44	95.10
200 µg/g	101.70	105.63	99.48	100.21	94.54	101.52	102.09	93.23	99.74	103.40
400 µg/g	98.73	97.21	98.43	101.39	94.75	94.23	98.53	100.64	98.53	97.74
DcHP										
100 µg/g	92.40	100.81	93.35	100.00	94.36	99.44	91.69	99.61	95.11	99.70
200 µg/g	106.75	107.16	95.20	99.52	99.27	102.78	104.97	105.16	104.78	96.77
400 µg/g	96.10	99.86	102.08	99.11	99.19	96.35	98.01	101.46	97.80	98.24
DEHP										
100 µg/g	92.05	95.58	94.89	102.74	100.28	100.80	100.30	100.82	100.86	98.37
200 µg/g	94.79	92.36	94.13	95.08	93.81	93.96	93.55	94.65	91.09	93.11
400 µg/g	92.15	91.82	92.59	93.29	91.78	90.27	90.54	93.26	92.74	91.59
DnOP										
100 µg/g	91.36	94.70	94.76	90.28	93.30	95.62	97.13	94.81	95.96	99.55
200 µg/g	92.30	90.36	98.20	96.62	93.54	97.92	93.95	97.84	91.58	92.14
400 µg/g	91.50	94.51	90.13	90.25	92.58	94.81	92.50	95.68	91.32	93.14

ตารางที่ 8 สรุปผลการศึกษา Accuracy ของวิธีโดยการแสดงค่าสูงสุด ต่ำสุด ค่าเฉลี่ย และ %RSD ของ %recovery ของสารทาเลท 7 ชนิด ที่ความเข้มข้น 3 ระดับ ในผลิตภัณฑ์ชนิดต่างๆ

Products	%Recovery			
	Min.	Max.	Mean	%RSD
Softener	91.12	108.12	96.71	2.24
Washing Liquid	90.49	102.24	96.52	2.53
Air Freshener	90.40	104.93	96.50	2.99
Cream	91.02	104.10	96.86	3.39
Lotion	90.13	107.16	97.86	3.70
Facial Foam	90.06	107.23	97.40	4.17

2.5 Precision

2.5.1 Repeatability (Within Day)

ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างซ้ำ 10 ครั้ง ภายในวันเดียวกัน ของผลิตภัณฑ์แต่ละชนิดและนำข้อมูล ผล %w/w ที่วิเคราะห์ได้ มาหาค่า %RSD พบค่าต่ำสุดคือ 0.87 และค่าสูงสุดคือ 2.54 (ตารางที่ 9)

2.5.2 Intermediate precision (Between Day)

ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างซ้ำ 10 ครั้ง จำนวน 10 วัน ของผลิตภัณฑ์แต่ละชนิด และนำข้อมูล ผล %w/w ที่วิเคราะห์ได้ มาหาค่า %RSD พบค่าต่ำสุดคือ 1.92 และค่าสูงสุดคือ 2.97 (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 ผลการศึกษา Precision (Within Day และ Between day) แสดงผลโดยค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน สัมพัทธ์ (%RSD) ของข้อมูล %w/w จากการวิเคราะห์ตัวอย่างที่ spike สารละลายมาตรฐานผสมสารทาเลท 7 ชนิดซ้ำ 10 ครั้ง (n=10)

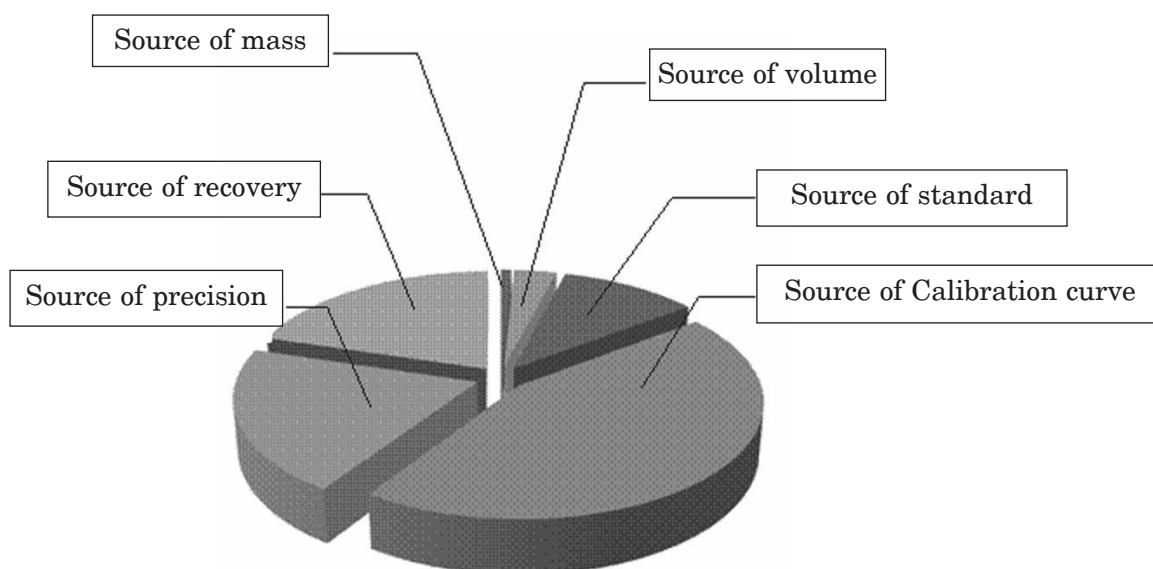
Products	Within Day							Between Day						
	% RSD							% RSD						
	DEP	DnPP	BBP	DBP	DiAP	DcHP	DEHP	DEP	DnPP	BBP	DBP	DiAP	DcHP	DEHP
Softener	1.96	1.25	0.92	0.97	1.16	0.91	0.87	2.04	2.35	2.78	2.12	2.32	2.13	2.31
Washing Liquid	2.31	1.58	1.76	1.87	1.21	1.87	2.12	2.56	2.67	2.21	2.31	2.11	2.86	2.97
Air Freshener	2.09	2.31	2.54	2.19	2.22	2.31	2.31	2.89	2.93	2.86	2.01	1.99	2.31	2.64
Cream	2.11	1.33	1.18	1.43	2.43	2.47	1.63	2.75	2.81	2.54	2.78	2.74	2.92	2.31
Lotion	1.99	2.28	2.40	2.35	2.11	2.17	2.40	2.83	2.26	2.17	2.54	2.25	2.70	2.74
Facial Foam	1.18	1.64	1.21	1.24	1.32	1.87	1.72	1.98	2.82	2.42	2.40	2.41	2.76	1.92

3. ผลการประเมินค่าความไม่แน่นอนของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนา

พิจารณาแหล่งความไม่แน่นอนที่สามารถสอบกลับได้ตามพารามิเตอร์ต่อไปนี้ ความไม่แน่นอนจากการเตรียม ตัวอย่าง หรือสารละลายมาตรฐาน แหล่งของความไม่แน่นอนมาจากเครื่องชั่ง ขวดวัดปริมาตร ไมโครปิเปต และความบริสุทธิ์ของสารมาตรฐาน ที่สามารถสอบกลับได้ผ่านการสอบเทียบและใบรับรอง ความไม่แน่นอนจากการได้มาของ ค่าความเข้มข้นที่อ่านได้จากเครื่อง ผ่านสมการที่ 1⁽¹¹⁾ ดังนี้

แหล่งของความไม่แน่นอนยังรวมถึงทักษะของนักวิเคราะห์ ซึ่งแสดงออกในค่าของความเบี่ยงเบน ในการวิเคราะห์ซ้ำ และความถูกต้องในการวิเคราะห์ (%Recovery) การประเมินค่าต่างๆ เหล่านี้แสดงให้เห็นว่า

องค์ประกอบหลักที่สำคัญส่งผลให้เกิดความไม่แน่นอนสูงที่สุดคือ ค่าความเข้มข้นที่อ่านได้จาก Calibration Curve ของเครื่องมือวิเคราะห์รองลงมาคือความไม่แน่นอนจากความเที่ยง และความแม่นยำในการวิเคราะห์ (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 สัดส่วนองค์ประกอบของแหล่งความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์

วิจารณ์

การวิเคราะห์สารทาเลทในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในบ้านเรือนในปัจจุบันยังไม่มีวิธีมาตรฐาน วิธีที่พัฒนาขึ้นนี้ใช้เทคนิค UPLC ซึ่งเป็นเครื่องมือที่มีในห้องปฏิบัติการและทดสอบความใช้ได้ของวิธีตามมาตรฐานสากล สารทาเลทสามารถวิเคราะห์ได้โดยเทคนิค HPLC หรือ UPLC และใช้ตัวตรวจวัดชนิด UV หรือ DAD จากผลงานของ Wu T. et al. 2008 ได้เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการวิเคราะห์สารทาเลทด้วยเครื่อง HPLC ทั่วไปและ UPLC พบว่าเครื่อง UPLC ให้ประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ที่สูงกว่า โดยเฉพาะสามารถลดเวลาปริมาณสารและตัวทำละลายได้มากกว่า 50%⁽¹²⁾ จากการศึกษาขึ้นพบว่าวิธี UPLC ใช้เวลาในการวิเคราะห์สารทาเลททั้ง 7 ชนิด ภายในเวลา 8 นาที และใช้ flow rate เพียงแค่ 0.45 มิลลิลิตรต่อนาที สามารถประหยัดเวลาและปริมาณตัวทำละลายได้ เมื่อเทียบกับวิธีเดิมที่ใช้ HPLC ซึ่งใช้เวลามากกว่า 20 นาที และ flow rate 1 มิลลิลิตรต่อนาที

วิธีนี้สามารถใช้ได้ทั้งการตรวจเอกลักษณ์สารทาเลทห้ามใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขจำนวน 3 ชนิดคือ DBP BBP และ DEHP โดยมีขีดความสามารถต่ำสุดในการตรวจวิเคราะห์เชิงคุณภาพสำหรับผลิตภัณฑ์ที่ศึกษาอยู่ในช่วง 0.0002 – 0.005 %w/w, 0.0003 – 0.005 %w/w และ 0.002 – 0.007 %w/w ตามลำดับ และสำหรับสารทาเลทชนิดที่เหลือเป็นชนิดที่ถูกนำมาใช้และพบมากในผลิตภัณฑ์สุขภาพ⁽¹³⁾ สามารถใช้วิธีนี้เพื่อตรวจหาปริมาณโดยมีขีดความสามารถต่ำสุดในการวิเคราะห์สำหรับสาร DEP, DnPP, DiAP และ DcHP เท่ากับ 0.002 – 0.011 %w/w, 0.001 – 0.012 %w/w, 0.001 – 0.014 %w/w และ 0.001 – 0.010 %w/w ตามลำดับ ซึ่งขีดจำกัดนี้เพียงพอที่จะวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ในท้องตลาดจากข้อมูลการสำรวจในสหภาพยุโรป และสหรัฐอเมริกา ส่วนใหญ่พบที่ระดับ > 10 ppm⁽¹³⁻¹⁴⁾ ขึ้นไป

โดยทั่วไปในกระบวนการผลิตสารทาเลทเป็นสารที่เติมแต่งในผลิตภัณฑ์ โมเลกุลของทาเลทจึงไม่ได้สร้างพันธะที่แข็งแรงกับเมทริกซ์ ทำให้ไม่พบปัญหาในการสกัดตัวอย่างการเตรียมตัวอย่างสำหรับวิธีนี้ จึงอาศัยการละลาย

ที่ไม่มีความยุ่งยากและให้ความถูกต้องโดยให้ค่า %Recovery ที่อยู่ในช่วง 90.06 – 108.12 และ %RSD <5 ซึ่งเทียบเท่ากับวิธีของ Jidong Lia et al., 2008 ที่ให้ค่า %Recovery เท่ากับ 85 – 107 ด้วย %RSD <6 โดยวิธีนี้ไม่ต้องผ่านขั้นตอนการสกัดตัวอย่างด้วย SPE ที่ยุ่งยาก และไม่มีค่าใช้จ่ายที่เพิ่มขึ้นจากวัสดุที่ต้องใช้ในขั้นเตรียมตัวอย่าง นอกจากนี้ยังให้ความเที่ยงของวิธีที่ดีด้วยค่า %RSD <3 ทั้ง within run และ between run

อย่างไรก็ตาม ผลิตภัณฑ์ที่จำหน่ายในท้องตลาดมีความหลากหลายทั้งยี่ห้อ และสูตรตำรับที่มีแมทริกซ์ที่แตกต่างกัน สารเคมีจำนวนมากที่ผสมอยู่สามารถรบกวนการวิเคราะห์โดยมีค่า retention time ตรงกับสารทาเลท อาจส่งผลกระทบต่อข้อจำกัดในการวิเคราะห์ การใช้ตัวตรวจวัดชนิด photodiode array มีข้อได้เปรียบกว่า UV ธรรมดา โดยสามารถแยกแยะสารที่รบกวนเหล่านี้จากสารทาเลทได้จากลักษณะเฉพาะของสเปกตรัม ดังนั้นจึงควรมีการพัฒนาวิธีด้วยเทคนิคที่แตกต่างเพื่อใช้ในการยืนยันความถูกต้องที่สูงขึ้น เช่น LC-MS/MS เป็นต้น

สรุป

วิธีนี้สามารถใช้ตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารทาเลทพร้อมกัน 7 ชนิด ได้แก่ DEP DnPP DBP BBP DiAP DcHP และ DEHP โดยใช้เครื่อง UPLC ที่มีหน่วยตรวจวัดชนิด photodiode array สามารถใช้ในการวิเคราะห์เพื่อสำรวจการปนเปื้อนของสารทาเลทห้ามใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางชนิดครีม โลชั่น และโฟมล้างหน้า นอกจากนี้ยังสามารถใช้หาปริมาณสารทาเลทชนิดอื่นที่มีการผสมเพื่อเพิ่มคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ให้เป็นไปตามที่ผู้ผลิตต้องการ เช่น นุ่มชื้น หรือหอมติดทนนานขึ้น เป็นต้น ซึ่งถูกนำมาใช้มากขึ้นในผลิตภัณฑ์สุขภาพในปัจจุบัน เช่น น้ำยาซักผ้า น้ำยาปรับผ้านุ่มและเจลปรับอากาศ โดยมีความสามารถของวิธีที่เหมาะสมเพียงพอสำหรับใช้เพื่อตรวจสอบสถานการณ์ของผลิตภัณฑ์ในท้องตลาดเพื่อการคุ้มครองผู้บริโภคต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Babich MA. Overview of dialkyl ortho-phthalates. Bethesda, MD: United States Consumer Product Safety Commission. 2010.
2. Kamrin MA. Phthalate risks, phthalate regulation, and public health: a review. J Toxicology Environ Health-Part B 2009; 12:157–74.
3. International Agency for Research on Cancer. Some industrial chemicals. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans77, Lyon, France: IARC; 2000.
4. Dong CH, Liu YF, Yang WF, Sun XL, Wang GQ. Simultaneous determination of phthalate plasticizers in PVC packaging materials using homogeneous-ultrasonic extraction-GC-MS assisted with continuous wavelet transform. Anal. Methods. 2013; 5: 4513–7.
5. Wenzl T. Methods for the determination of phthalates in food. Outcome of a survey conducted among European food control laboratories [online]. 2009. [cited 2015 Feb 9]; [5 screens]. Available from: <http://www.bezpecnostpotravin.cz/UserFiles/File/Publikace/ftalaty.pdf>
6. Peters RJB. Chemical additives in consumer products. TNO-report R&I-A R 2005/066. The Netherlands: TNO Environment and Geosciences. 2005.
7. Gimeno P, Maggio AF, Bousquet C, Quoirez A, Civade C, Bonnet PA. Analytical method for the identification and assay of 12 phthalates in cosmetic products: application of the ISO 12787 international standard “Cosmetics-Analytical methods-Validation criteria for analytical results using chromatographic techniques”. J Chromatogr A2012; 1253: 144–53.

8. Cacho JI, Campillo N, Viñas P, Hernández-Córdoba M. Direct sample introduction gas chromatography and mass spectrometry for the determination of phthalate esters in cleaning products. *J Chromatogr A*, 2015; 1380, 156–61.
 9. Su R, Zhao X, Li Z, Jia Q, Liu P, Jia J. Poly (methacrylic acid-co-ethylene glycol dimethacrylate) monolith microextraction coupled with high performance liquid chromatography for the determination of phthalate esters in cosmetics. *Anal Chim Acta*, 2010; 676(1–2): 103–8.
 10. Eurachem. Eurachem Guide: The fitness for purpose of analytical methods–A laboratory guide to method validation and related topics, 2nd ed [online]. 2014. [cited 2015 Jan 20]; [70 screens]. Available from: URL:https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed_EN.pdf.
 11. Eurachem. EURACHEM/CITAC Guide CG 4. Quantifying uncertainty in analytical measurement, 3rd ed [online]. 2012. [cited 2016 Feb 10]; Available from: URL:https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/QUAM2012_P1.pdf
 12. Wu T, Wang C, Wang X, Xiao H, Ma Q, Zhang Q. Comparison of UPLC and HPLC for analysis of 12 phthalates. *Chromatographia*, 2008; 68, 803–6.
 13. Koo HJ, Lee BM. Estimated exposure to phthalates in cosmetics and risk assessment. *J Toxicol Environ Health A* 2004; 67(23–24): 1901–14.
 14. Hubinger JC. A survey of phthalate esters in consumer cosmetic products. *J Cosmet Sci*. 2010; 61(6):457–65.
-

Simultaneously Quantitative of Phthalates in Health Care Products by UPLC/DAD

Siriporn Thongprakaisang

Bureau of Cosmetics and Hazardous Substances, Department of Medical Sciences, Tiwanon Road, Nonthaburi 11000, Thailand.

ABSTRACT Phthalates are a class of industrial chemicals comprising about 30 commercial products which mostly used as plasticizer to enhance the flexible and soften of plastic. Presently, phthalates are used in variety of health care products both cosmetic and household products, thus they are widespread to human exposure. Toxicities of phthalates are concerned due to their mutagenicity *in vitro* and induce reproductive and developmental health effects in animals. Now, Thailand's the Ministry of Public Health is banning five of phthalates i.e. DBP, DMEP, DEHP, PIPP and BBP. However, we still lack of the situation data of phthalates presented in health care products. This study is for the development of simultaneously determination of seven phthalates by UPLC/DAD technique and validation the method following EURACHEM Guideline. The study Kinetex[®] C-18 column (1.7 μ m, 2.1 $\times$ 50 mm) was used. The separation was gradient programmed of the ratio of acetonitrile and deionized water with flow rate 0.45 ml/min, column temperature 35°C, λ_{max} = 225 nm and running time of 8 min. The validation results showed a good selectivity of seven phthalates with resolution > 2, %RSD (n =10) of within and between run were 0.01 – 0.12% and 0.29 – 1.71%. LOD and LOQ were in the range of 0.0002 – 0.007 %w/w and LOQ 0.001 – 0.022 %w/w. Linearity of the method was in the range of 0.05 – 30 μ g/ml with correlation coefficient, $r \geq 0.995$. Accuracy was presented as %recovery within 90 – 108. The precision was presented as % RSD of peak area which was less than < 3% (n=10). The results showed that this method was valid appropriately for determination of seven phthalates in health care products subjecting for consumer protection.

Key words: phthalates, UPLC, cosmetic product, household product