

วิธีวิเคราะห์ปริมาณฟลูออไรด์รวมทั้งหมดในยาสีฟัน โดยวิธี GC-FID

กมลลักษณ์ อินทร์ศรี และสุดิศา หมีทอง

สำนักเครื่องสำอางและวัตถุอันตราย กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ วิธีวิเคราะห์ปริมาณฟลูออไรด์รวมทั้งหมดในยาสีฟัน โดยวิธี GC-FID ภายใต้สภาวะคอลัมน์ชนิด capillary HP-1 ขนาด 15 เมตร $\times$ 0.53 มิลลิเมตร $\times$ 1.5 ไมโครเมตร carrier gas เป็นแก๊สฮีเลียมโดยใช้แก๊สไฮโดรเจนและอากาศเป็น make-up gas โปรแกรมของอัตราการไหลของแก๊สเริ่มต้นที่ 3 มิลลิตรต่อนาที และปรับเป็น 45 มิลลิตรต่อนาที เครื่องตรวจวัดชนิด Flame ionization (FID) ปริมาตรที่ฉีด 3 ไมโครลิตร อุณหภูมิของคอลัมน์เริ่มต้นที่ 80 องศาเซลเซียส และเพิ่มจนถึง 280 องศาเซลเซียส คงที่นาน 2.5 นาที อุณหภูมิของ injector และเครื่องตรวจวัดเท่ากับ 280 และ 300 องศาเซลเซียส ตามลำดับ จากการทดสอบความถูกต้องของวิธี โดยใช้ตัวอย่างยาสีฟันที่มีสารโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟตและยาสีฟันที่มีสารโซเดียมฟลูออไรด์โดย hydrolyse สารโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟตด้วย hydrochloric acid ได้ฟลูออไรด์และทำให้ฟลูออไรด์เกิดปฏิกิริยากับสาร triethylchlorosilane (TECS) ภายใต้สภาวะกรดเกิดเป็นอนุพันธ์ คือ สาร triethylfluorosilane (TEFS) โดยใช้ cyclohexane เป็น internal standard สกัดด้วย xylene แล้วฉีดเข้าเครื่อง GC พบว่าค่า retention time ของ internal standard และ TEFS เท่ากับ 2.6 และ 4.3 นาที ตามลำดับ มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของฟลูออไรด์กับ peak area ratio ตลอดช่วงความเข้มข้น 0.05 ถึง 0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร โดยมีค่า r เท่ากับ 0.9993 และค่า r แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารที่เติมกับปริมาณที่ตรวจพบเท่ากับ 0.9868 และ 0.9898 ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟลูออไรด์รวมทั้งหมดในตัวอย่างทั้ง 2 ชนิด วิเคราะห์ภายในวันเดียวกันได้ค่า %RSD เท่ากับ 0.56 และ 0.68 ตามลำดับ พบว่าไม่มีความแตกต่างของผลวิเคราะห์ซ้ำระหว่างวัน 5 วัน โดยมีค่า p -value เท่ากับ 0.93 และ 0.36 ตามลำดับ ซึ่งแสดงถึงความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ ผลวิเคราะห์ spiked sample ได้ค่า recovery อยู่ในช่วงร้อยละ 80.2 – 118.5 และ 81.4 – 106.9 ตามลำดับ ขีดจำกัดของการตรวจพบ (LOD) และขีดจำกัดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (LOQ) เท่ากับ 30 และ 330 ส่วนในล้านส่วนตามลำดับ ค่าความไม่แน่นอนขยายสัมพัทธ์เท่ากับร้อยละ 6.0 ซึ่งผลการทดสอบความถูกต้องของวิธีอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ สามารถนำไปใช้วิเคราะห์ปริมาณฟลูออไรด์รวมทั้งหมดในยาสีฟันได้



บทนำ

ฟลูออไรด์เป็นองค์ประกอบที่สำคัญในยาสีฟันทำหน้าที่เคลือบฟันให้แข็งแรงขึ้นทนต่อการกร่อนทำให้ป้องกันฟันผุได้ นอกจากนี้ฟลูออไรด์ยังมีผลต่อแบคทีเรียโดยจะลดการสร้างกรดของแบคทีเรีย ลดการเกาะติดของจุลินทรีย์บนผิวฟันด้วย อย่างไรก็ตาม การที่ร่างกายได้รับปริมาณฟลูออไรด์ที่มากเกินไปจะทำให้เกิดฟันตกกระ (fluorosis) ในกรณีที่รุนแรงฟันจะเกิดเป็นรอยสีน้ำตาล ผิวฟันจะขรุขระเป็นจุดและทำความสะอาดได้ยาก อาจมีการปวดข้อมือข้อเท้า ถ้าเป็นมากลูกกลามไปยังกระดูกสันหลังจนไม่สามารถเคลื่อนไหวได้ ความเข้มข้นของฟลูออไรด์ที่แนะนำให้ใช้ในการป้องกันฟันผุคือ 1,000–1,500 ส่วนในล้านส่วนโดยน้ำหนัก ในต่างประเทศ เช่น ประเทศอังกฤษ ประเทศแคนาดา แนะนำให้ใช้ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ปริมาณน้อยกว่า 600 ส่วนในล้านส่วนในยาสีฟันสำหรับเด็กอายุน้อยกว่า 6 ปี^(1, 2) ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขกำหนดปริมาณสูงสุดของฟลูออไรด์ในผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปไม่เกินร้อยละ 0.11 โดยน้ำหนัก⁽³⁾ สารประกอบของฟลูออไรด์ที่นิยมใช้ในยาสีฟัน เช่น โซเดียมฟลูออไรด์ (sodium fluoride), โซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟต (sodium monofluorophosphate), สแตนนัสฟลูออไรด์ (stannous fluoride) และเอมีนฟลูออไรด์ (amine fluoride) เป็นต้น ในยาสีฟันประกอบด้วยสารขัดฟัน (abrasives) ช่วยขัดคราบอาหารและคราบหินปูนที่เกาะอยู่บนฟัน สารขัดฟันที่นิยมใช้ เช่น แคลเซียมฟอสเฟต, แคลเซียมโมโนไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรต (Calcium monohydrogenphosphate dihydrate), แคลเซียมคาร์บอเนต (Calcium carbonate), ซิลิกอนไดออกไซด์ (Silicon dioxide) เป็นต้น นอกจากนี้มีสารช่วยลดปัญหาการเสียวฟัน เช่น โพแทสเซียมไนเตรด (Potassium nitrate), สแตนนัสฟลูออไรด์ (stannous fluoride), โพแทสเซียมออกซาเลต (Potassium oxalate), สตรอนเตียม คลอไรด์ (Strontium chloride) เป็นต้น ซึ่งปัจจุบันมีการแนะนำสารตัวใหม่สำหรับการลดภาวะเนื้อฟันไวเกิน โดยกลไกการอุดตันท่อเนื้อฟัน ได้แก่ สตรอนเตียม อะซิเตต (Strontium acetate), แคลเซียมคาร์บอเนต (Calcium carbonate) และอะจินีน (arginine) ซึ่งเป็นกรดอะมิโนชนิดหนึ่ง^(4, 5) วิธีวิเคราะห์ปริมาณฟลูออไรด์ในยาสีฟันมีหลายเทคนิค เช่น วิธี fluoride ion selective electrode (ISE) โดยละลายยาสีฟันในน้ำและเติมกรดเปอร์คลอริก เพื่อทำให้โมโนฟลูออโรฟอสเฟตไอออน (monofluorophosphate ion) แตกตัวเป็นฟลูออไรด์ไอออน (fluoride ion) และวัดปริมาณฟลูออไรด์ไอออนด้วยเครื่อง Ion analyser โดยใช้หลักการของ potentiometry และใช้สารละลายบัฟเฟอร์ชนิด total ionic strength adjustment buffer (TISAB IV) ที่มีค่า pH 8.5 เพื่อช่วยควบคุมการรบกวนที่เกิดจาก ion อื่นๆ เช่น hydroxide ion เป็นต้น⁽⁶⁾ การวิเคราะห์ปริมาณฟลูออไรด์ไอออนและโมโนฟลูออโรฟอสเฟตไอออนในยาสีฟัน โดยวิธี ion chromatography ภายใต้สภาวะคอลัมน์ชนิด Ion Pac AS 18 analytical, 4 × 280 mm ใช้ potassium hydroxide เป็น eluent และเครื่องตรวจวัดชนิด suppresser conductivity วิธี ion chromatography สามารถวิเคราะห์ปริมาณฟลูออไรด์และโมโนฟลูออโรฟอสเฟตได้ในการวิเคราะห์คราวเดียวกัน⁽⁷⁾ วิธี capillary electrophoresis สามารถวัดปริมาณฟลูออไรด์และโมโนฟลูออโรฟอสเฟตได้ในการวิเคราะห์คราวเดียวกัน โดยใช้คอลัมน์ชนิด capillary ความยาว 52 cm เส้นผ่านศูนย์กลาง 75 ไมโครเมตร electrolyte ประกอบด้วย 10 mM sodium chromate และ 0.1 mM cetyltrimethyl ammonium bromide มีค่า pH 9.7 ค่า voltage -15 kv และเครื่องตรวจวัดชนิดยูวีความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร (indirect detection)⁽⁸⁾ วิธี gas chromatography (GC) เตรียมตัวอย่างโดยวิธี head space solid-phase micro extraction (HS-SPME) โดยเตรียมอนุพันธ์ของฟลูออไรด์ด้วยสาร triethylchlorosilane (TECS) และตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC ภายใต้สภาวะ capillary column ชนิด HP-1 ขนาด 40 เมตร × 0.53 มิลลิเมตร (I.D.), เคลือบหนา 5 ไมโครเมตร ใช้ splitless mode อุณหภูมิของ injector 200 องศาเซลเซียส อัตราการไหลของแก๊สฮีเลียม 1.3 มิลลิเมตรต่อนาที เครื่องตรวจวัดชนิด flame ionization detector (FID) อุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียส และกำหนดโปรแกรมอุณหภูมิของ oven ที่ช่วงเวลาต่างๆ วิธีนี้สามารถวิเคราะห์ปริมาณฟลูออไรด์ในยาสีฟันที่มีสารประกอบฟลูออไรด์ต่างๆ เช่น เอมีนฟลูออไรด์ และโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟตได้ด้วย⁽⁹⁾ นอกจากนี้

มีวิธีมาตรฐานของประชาคมยุโรปในการวิเคราะห์ปริมาณฟลูออไรด์ในยาสีฟัน โดยเตรียมอนุพันธ์ของฟลูออไรด์ด้วยสาร triethylchlorosilane (TECS) ในสภาวะกรดและสกัดอนุพันธ์ของฟลูออไรด์ด้วยไซลีน (xylene) แล้ววิเคราะห์ปริมาณฟลูออไรด์ด้วย GC-FID ภายใต้สภาวะคอลัมน์ stainless steel ความยาว 1.8 เมตร $\times$ 3 มิลลิเมตร (I.D.) support ด้วย Gaschrom Q 10 ถึง 100 mesh ใช้ silicone oil DC 200 เป็น stationary phase เก็บคอลัมน์ค้างคืนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส อัตราการไหลของแก๊สไนโตรเจน 35 มิลลิตรต่อนาที เครื่องตรวจวัดชนิด FID อุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของคอลัมน์และ injector เท่ากับ 70 และ 150 องศาเซลเซียสตามลำดับ คณะวิจัยจึงได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟลูออไรด์รวมทั้งหมดในยาสีฟัน โดยดัดแปลงจากวิธีมาตรฐานของประชาคมยุโรป โดยวิธี GC-FID ซึ่งได้ดัดแปลงสภาวะของ GC เพื่อให้ได้วิธีวิเคราะห์ที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณฟลูออไรด์รวมทั้งหมดในยาสีฟันได้ ในการศึกษาครั้งนี้คณะวิจัยได้ใช้ตัวอย่างยาสีฟันที่มีสารประกอบของฟลูออไรด์ทั้งชนิดโซเดียมฟลูออไรด์และโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟตในการทดสอบความถูกต้องของวิธีและประเมินค่าความไม่แน่นอนของวิธีวิเคราะห์ด้วย เพื่อให้ได้วิธีวิเคราะห์ที่ดีมีประสิทธิภาพ สำหรับใช้เป็นวิธีวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการในการให้บริการและเฝ้าระวังคุณภาพผลิตภัณฑ์ทางกฎหมาย

วัสดุและวิธีการ

สารมาตรฐานและสารเคมี

สารมาตรฐาน : สารละลาย fluoride 0.1 M พร้อมใบรับรอง ผลิตภัณฑ์ของ Thermo Fisher Scientific, cyclohexane ความบริสุทธิ์ไม่น้อยกว่าร้อยละ 99.99 ผลิตภัณฑ์ของ Fisher Scientific

สารเคมี : hydrochloric acid (AR grade) ผลิตภัณฑ์ของ Merck, xylene (AR grade) ผลิตภัณฑ์ของ Merck, triethylchlorosilane (TECS) ผลิตภัณฑ์ของ Sigma – Aldrich, น้ำกลั่นหรือน้ำปราศจากไอออน (deionized water)

เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (GC) ผลิตภัณฑ์ของ Agilent รุ่น 6890 N ประกอบด้วยเครื่องฉีดสารอัตโนมัติ รุ่น 7683B Series และเครื่องตรวจวัดชนิด Flame Ionization Detector (FID), Capillary column HP-1 (100% dimethyl siloxane), 15 เมตร $\times$ 0.53 มิลลิเมตร $\times$ 1.5 ไมโครเมตร, เครื่องชั่งความละเอียด 0.1 มิลลิกรัม ผลิตภัณฑ์ของ METTLER TOLEDO, เครื่องเขย่าผสมสาร (shaker) ควบคุมการเขย่าได้ในช่วง 10–300 stroke ต่อนาที ผลิตภัณฑ์ของ IKA รุ่น HS 500, เครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็ว 3,000–6,000 รอบต่อนาที ผลิตภัณฑ์ของ Hettich รุ่น EBA 12, vortex mixer ผลิตภัณฑ์ของ Scientific Industries, volumetric flask พลาสติกขนาด 50 มิลลิลิตร, vial ขนาด 2 มิลลิลิตร และ dropper พลาสติก

สภาวะของเครื่อง GC

Column	: Capillary column HP-1 ขนาด 15 เมตร $\times$ 0.53 มิลลิเมตร $\times$ 1.5 ไมโครเมตร
อุณหภูมิของ column	: เริ่มต้นที่ 80 องศาเซลเซียส นาน 4 นาที อัตราเพิ่มอุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึงอุณหภูมิ 280 องศาเซลเซียส คงไว้ที่นาน 2.5 นาที
อุณหภูมิของ injector	: 280 องศาเซลเซียส
อุณหภูมิของ detector	: 300 องศาเซลเซียส
Carrier gas	: แก๊สฮีเลียม ใช้แก๊สไฮโดรเจนและอากาศเป็น make-up gas

Flow rate : เริ่มต้นที่ 3 มิลลิลิตรต่อนาที นาน 4 นาที อัตราเพิ่ม 100 มิลลิลิตรต่อนาที จนถึง 45 มิลลิลิตรต่อนาที คงไว้นาน 2.5 นาที

Injection volume : 3 ไมโครลิตร

การเตรียมสารละลาย Internal standard solution

ปิเปต cyclohexane 1.0 มิลลิลิตร และ xylene 5.0 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

การเตรียมสารละลายผสมของ triethylchlorosilane internal standard solution

ปิเปต triethylchlorosilane (TECS) 0.6 มิลลิลิตร และสารละลาย internal standard solution 0.12 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย xylene เขย่าให้เข้ากัน (เตรียมใหม่ทุกครั้ง)

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน stock standard solution

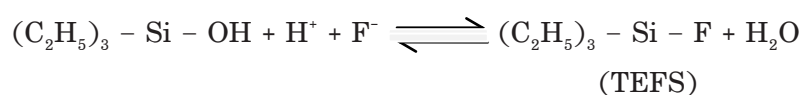
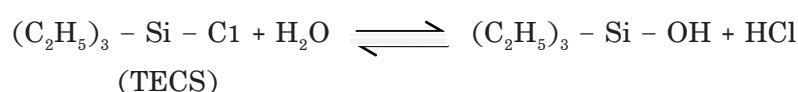
ปิเปตสารละลายมาตรฐาน fluoride 0.1 M (1.9 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) จำนวน 0.7 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask พลาสติกขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ให้ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน fluoride 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตัวอย่าง

ทดสอบความถูกต้องของวิธี โดยใช้ยาสีฟันที่มีส่วนผสมของโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟต 0.76 %w/w และยาสีฟันที่มีส่วนผสมของโซเดียมฟลูออไรด์ 0.22 %w/w คำนวณเป็นฟลูออไรด์ไอออน 1,000 ไมโครกรัมต่อกรัม ทั้ง 2 ตัวอย่าง และยาสีฟันที่ไม่มีฟลูออไรด์เพื่อศึกษาขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection, LOD) และขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ)

หลักการ

สารโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟตจะถูก hydrolyse ด้วย hydrochloric acid ได้ฟลูออไรด์และฟลูออไรด์จะถูกเปลี่ยนเป็นสาร triethylfluorosilane (TEFS) ที่ระเหยได้ โดยเกิดปฏิกิริยากับสาร triethylchlorosilane (TECS) ในสภาวะกรด และใช้ cyclohexane เป็น internal standard สกัดด้วย xylene (เป็น liquid – liquid extration) แล้วนำชั้น xylene ไปวิเคราะห์ด้วย GC ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น ดังนี้



การวิเคราะห์ปริมาณฟลูออไรด์ในตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่างประมาณ 0.15 กรัม ลงในหลอด centrifuge พลาสติกขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 5.0 มิลลิลิตร เขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกัน โดยใช้ vortex mixer เติม xylene 1.0 มิลลิลิตร เติม hydrochloric acid 5.0 มิลลิลิตร และเติมสารละลายผสมของ triethylchlorosilane/internal standard solution 0.5 มิลลิลิตร ปิดฝาหลอดแล้วนำไปเขย่าด้วย shaker ควบคุมการเขย่าที่ 150 strokes ต่อนาทีนาน 45 นาที นำไป centrifuge ที่ความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ดูดชั้น xylene ด้วย dropper ใส่ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร ปิดฝาแล้วนำไปฉีดเข้าเครื่อง GC

การทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์⁽¹¹⁾

การทดสอบความจำเพาะ (Specificity/Selectivity)

ฉีดสารสกัดอนุพันธ์ TEFS ที่เตรียมจากสารละลายมาตรฐานที่มีปริมาณฟลูออไรด์ 0.050 มิลลิกรัม และเตรียมจากสารละลายตัวอย่างยาสีฟันชนิดครีมที่มีโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟตและยาสีฟันที่มีโซเดียมฟลูออไรด์เข้าเครื่อง GC ภายใต้สภาวะที่กำหนดเพื่อตรวจสอบการแยกพีคของฟลูออไรด์จากการรบกวนของสารอื่นในตัวอย่าง โดยค่า retention time ของอนุพันธ์ TEFS จะแตกต่างจากสารอื่นและพีคแยกกันอย่างชัดเจน

การทดสอบความเป็นเส้นตรงและช่วงของการวิเคราะห์ (Linearity and Range)

การทดสอบความเป็นเส้นตรงของระบบ (System linearity)

เปิดสารละลาย stock standard solution จำนวน 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 มิลลิลิตร ใส่ในหลอด centrifuge พลาสติกขนาด 50 มิลลิลิตร จำนวน 5 หลอด ตามลำดับ ได้สารละลายมาตรฐาน 0.05, 0.1, 0.15, 0.2 และ 0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ เติมน้ำกลั่น 5.0 มิลลิลิตร เติม xylene 1.0 มิลลิลิตร เติม hydrochloric acid 5.0 มิลลิลิตร และเติมสารละลายผสมของ triethylchlorosilane/internal standard solution 0.5 มิลลิลิตร ปิดฝาหลอดเขย่าให้เข้ากันโดยใช้ vortex mixer แล้วนำไปเขย่าด้วย shaker ควบคุมการเขย่าที่ 150 strokes ต่อนาทีนาน 45 นาที ดูดชั้น xylene ด้วย dropper ใส่ขวด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร ปิดฝาแล้วนำไปฉีดเข้าเครื่อง GC

สร้างกราฟมาตรฐาน (calibration curve) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานฟลูออไรด์กับ peak area ratio ของสารมาตรฐานและ internal standard คำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) ซึ่งควรมีค่าใกล้เคียง 1

$$\text{Peak area ratio} = \frac{\text{peak area ของ triethylfluorosilane}}{\text{peak area ของ cyclohexane}}$$

การทดสอบความเป็นเส้นตรงของวิธี (Method linearity)

นำข้อมูลจากการทดสอบร้อยละการคืนกลับของวิธี (Percent recovery) มาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของฟลูออไรด์ที่เติมในตัวอย่าง spiked sample ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 50, 100 และ 150 ของความเข้มข้นที่มีในยาสีฟันกับความเข้มข้นที่ตรวจพบ ค่าสัมประสิทธิ์สัมพันธ์ (r) ควรใกล้เคียง 1

การทดสอบความเที่ยง (precision)

การทดสอบความเที่ยงของการวิเคราะห์ทั้งการวิเคราะห์ซ้ำในวันเดียวกัน และการวิเคราะห์ซ้ำระหว่างวัน

repeatability

ฉีดสารสกัดอนุพันธ์ TEFS ที่เตรียมจากสารมาตรฐานที่มีปริมาณฟลูออไรด์ 0.05 มิลลิกรัม และเตรียมจากสารละลายตัวอย่างยาสีฟันที่มีโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟตและยาสีฟันที่มีโซเดียมฟลูออไรด์ซ้ำ 5 ครั้ง เพื่อศึกษา

ความซ้ำได้ของระบบโครมาโตกราฟี คำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ของ peak area ratio ซึ่งไม่ควรเกินร้อยละ 3

การวิเคราะห์ซ้ำในวันเดียวกัน การวิเคราะห์ปริมาณฟลูออไรด์รวมทั้งหมดในตัวอย่างยาเสพติดที่มีโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟตและยาเสพติดที่มีโซเดียมฟลูออไรด์ โดยวิเคราะห์ซ้ำตัวอย่างละ 5 ครั้ง คำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ของปริมาณฟลูออไรด์ที่ตรวจพบ %RSD ไม่ควรเกินร้อยละ 3

Intermediate precision : between - days

การวิเคราะห์ซ้ำระหว่างวัน วิเคราะห์ปริมาณฟลูออไรด์รวมทั้งหมดในยาเสพติดที่มีโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟตและยาเสพติดที่มีโซเดียมฟลูออไรด์ โดยวิเคราะห์ซ้ำเป็นเวลา 5 วัน ประเมินความแตกต่างของผลวิเคราะห์ทั้ง 5 วัน ด้วยสถิติ ANOVA ค่า p-value ต้องมากกว่า 0.05

การทดสอบร้อยละของการคืนกลับ (percent recovery)

วิเคราะห์ปริมาณฟลูออไรด์รวมทั้งหมดในสารละลาย spiked sample ดังนี้ ซึ่งตัวอย่างยาเสพติดที่มีโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟตและยาเสพติดที่มีโซเดียมฟลูออไรด์ ประมาณ 0.05 กรัม แยกใส่ลงในหลอด centrifuge พลาสติก ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมสารละลายมาตรฐาน stock standard solution 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ลงในตัวอย่างที่ 3 ระดับความเข้มข้นคือ เติมปริมาตร 0.8, 1.6 และ 2.4 มิลลิลิตรตามลำดับ นำมาสกัดและวิเคราะห์ตามวิธีการวิเคราะห์ที่พัฒนา คำนวณค่าร้อยละของการคืนกลับควรอยู่ในช่วงร้อยละ 90-110

การทดสอบขีดจำกัดของการตรวจพบ (limit of detection, LOD)

คำนวณค่าประมาณของ LOD จากการสร้างกราฟมาตรฐาน ดังนี้

$$\text{LOD (mg/mL), estimated} = 3 \times \text{standard error/slope}$$

$$\text{LOD (}\mu\text{g/g), estimated} = \frac{\text{LOD (mg/mL)} \times 1 \text{ mL} \times 100\%}{1000 \times \text{น้ำหนักตัวอย่าง (g)}}$$

เตรียมสารละลายมาตรฐานฟลูออไรด์และสารละลายตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐานฟลูออไรด์ลงในตัวอย่างที่ไม่มีฟลูออไรด์ให้มีความเข้มข้นใกล้เคียงกับค่าประมาณของ LOD ดำเนินการเช่นเดียวกันและนำสารสกัดด้วย xylene มาฉีดเข้าเครื่อง GC สัญญาณจากเครื่องตรวจวัดจะต้องสังเกตเห็นได้ คำนวณความเข้มข้นของฟลูออไรด์ในตัวอย่างเป็นไมโครกรัมต่อกรัม

การทดสอบขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (limit of quantitation, LOQ)

คำนวณค่าประมาณของ LOQ จากการสร้างกราฟมาตรฐาน ดังนี้

$$\text{LOQ (mg/mL), estimated} = 10 \times \text{standard error/slope}$$

$$\text{LOQ (}\mu\text{g/g), estimated} = \frac{\text{LOQ (mg/mL)} \times 1 \text{ mL} \times 100\%}{1000 \times \text{น้ำหนักตัวอย่าง (g)}}$$

เตรียมสารละลายตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐานฟลูออไรด์ลงในยาเสพติดที่ไม่มีฟลูออไรด์ให้มีความเข้มข้นใกล้เคียงกับค่าประมาณของ LOQ แล้วตรวจวิเคราะห์ปริมาณฟลูออไรด์ในตัวอย่าง โดยวิเคราะห์ซ้ำ 5 ครั้ง คำนวณค่า %RSD ต้องไม่เกินร้อยละ 3 และค่าร้อยละของการคืนกลับอยู่ในช่วงร้อยละ 90-110 คำนวณความเข้มข้นของฟลูออไรด์ในตัวอย่างเป็นไมโครกรัมต่อกรัม

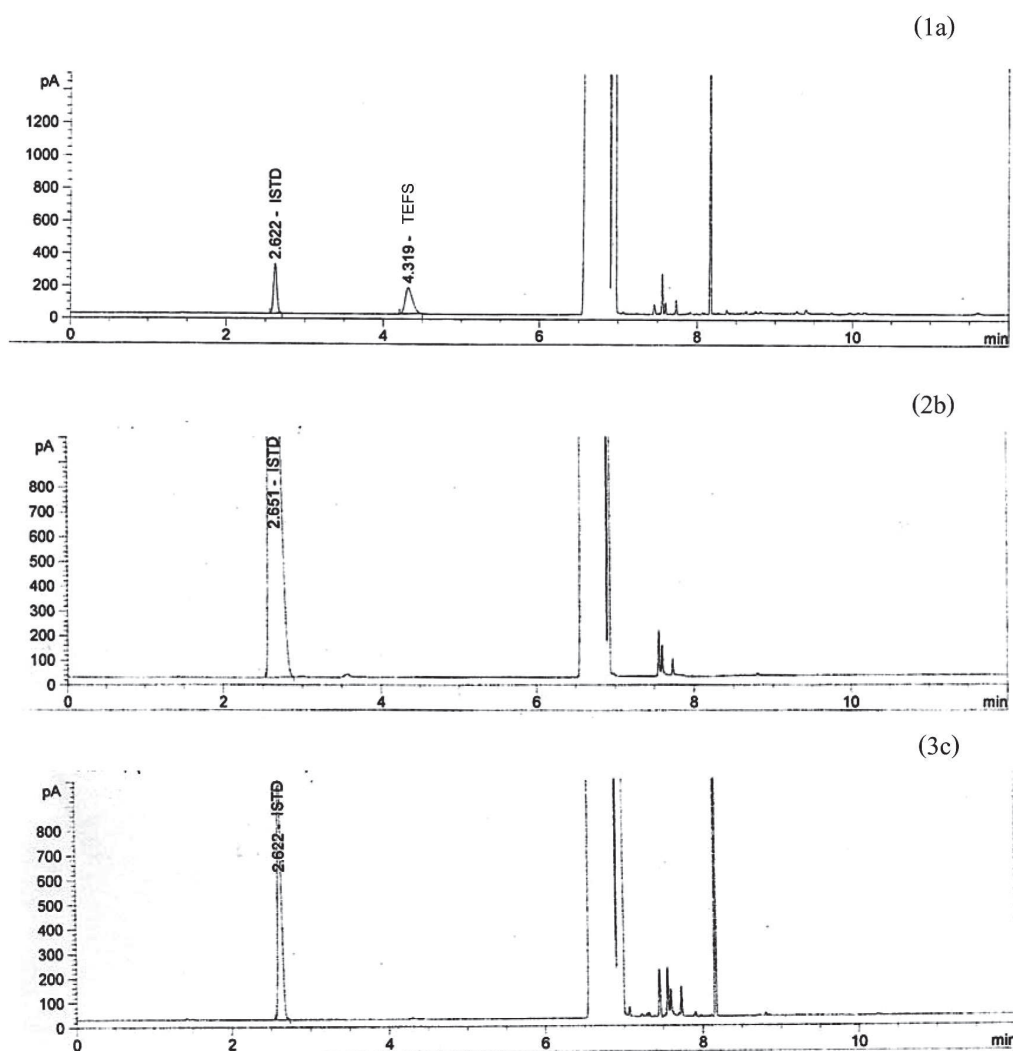
ค่าความไม่แน่นอนของการวัด⁽¹²⁾

แหล่งที่มาของค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์ปริมาณฟลูออไรด์ในยาสีฟัน โดยวิธี GC เช่น ความไม่แน่นอนจากความบริสุทธิ์ของสารมาตรฐาน การสอบเทียบเครื่องชั่ง อุปกรณ์ที่ใช้เตรียม สารละลายมาตรฐาน ความเข้มข้นของฟลูออไรด์ในสารละลายตัวอย่างที่อ่านได้จากเครื่อง GC การวิเคราะห์ซ้ำ (precision) ร้อยละของการคืนกลับ (percent recovery) ของการทดสอบความถูกต้องของวิธี นำมาคำนวณค่าความไม่แน่นอนรวม (combined uncertainty, uc) แล้วคำนวณค่าความไม่แน่นอนขยาย (expanded uncertainty, U) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้ค่า coverage factor (k) เท่ากับ 2

ผล

การทดสอบความจำเพาะเจาะจง

จากการฉีดสารสกัดอนุพันธ์ TEFS ที่เตรียมจากสารมาตรฐานฟลูออไรด์ (1a) และเตรียมจากสารละลายตัวอย่าง ยาสีฟันชนิดครีมที่มีโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟต (2b) และยาสีฟันที่มีโซเดียมฟลูออไรด์ (3c) พบว่าภายใต้สภาวะเครื่อง GC สามารถแยกสาร TEFS ออกจากสารอื่นในตัวอย่างได้โดยค่า retention time ของ internal standard และสาร TEFS ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของฟลูออไรด์เท่ากับ 2.6 และ 4.3 นาที ตามลำดับ (ภาพที่ 1)

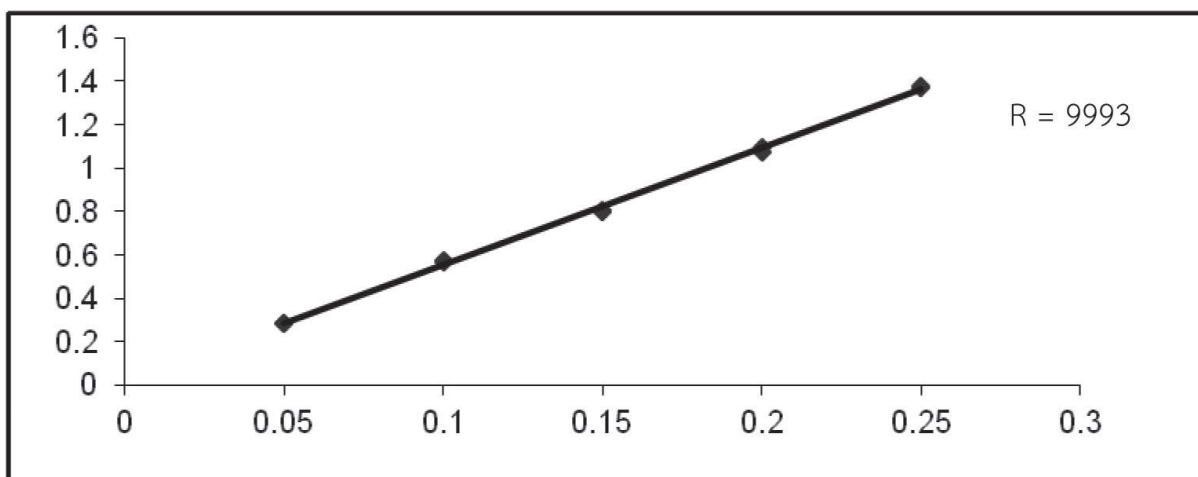


ภาพที่ 1 โครมาโทกราฟของสาร triethylfluorosilane (TEFS) และ internal standard solution ในสารละลายมาตรฐานฟลูออไรด์ (1a) สารละลายตัวอย่างที่มีสารโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟต (2b) และสารโซเดียมฟลูออไรด์ (3c)

การทดสอบความเป็นเส้นตรงและช่วงของการวิเคราะห์

ความเป็นเส้นตรงของระบบ

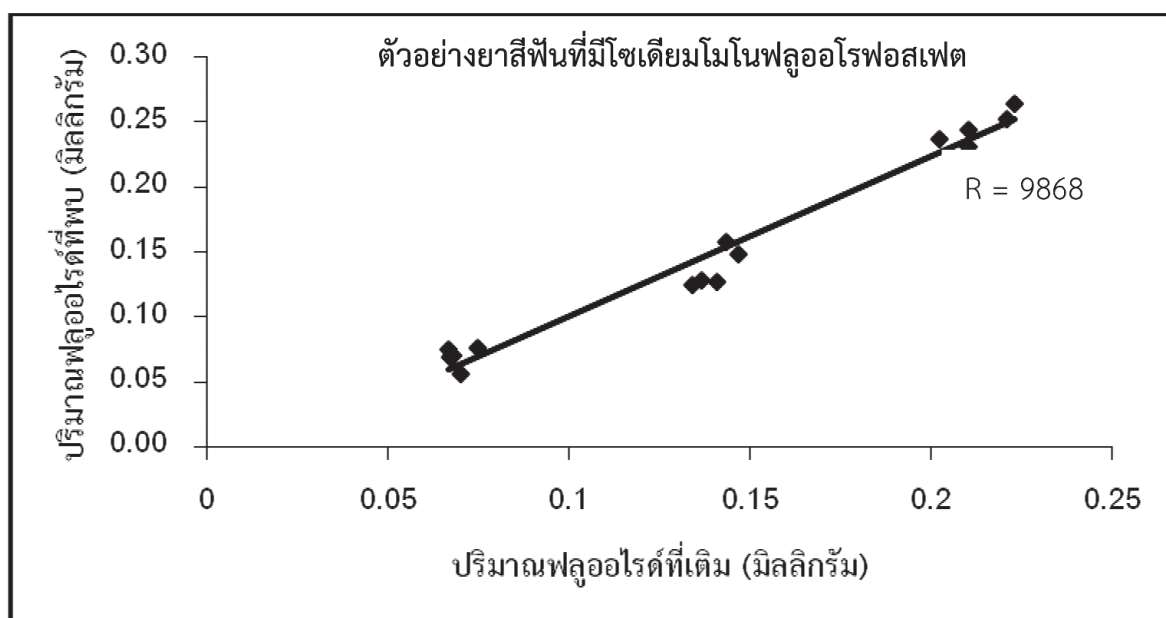
จากกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานและ peak area ratio พบว่าในช่วงความเข้มข้น 0.05 – 0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงกับ peak area ratio โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.9993 (ภาพที่ 2)

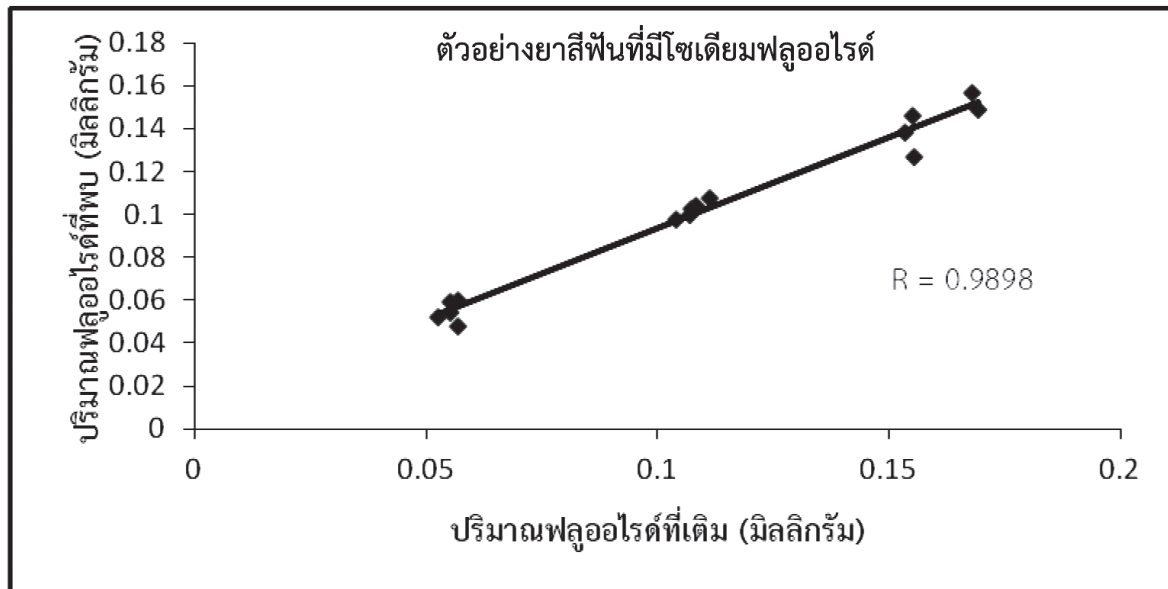


ภาพที่ 2 ความสัมพันธ์ความเป็นเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานฟลูออไรด์ และ peak area ratio

ความเป็นเส้นตรงของวิธี

แสดงด้วยความสัมพันธ์ของปริมาณที่เติมฟลูออไรด์ในยาสีฟันที่มีโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟต และยาสีฟันที่มีโซเดียมฟลูออไรด์กับปริมาณฟลูออไรด์ที่ตรวจพบ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.9868 และ 0.9898 ตามลำดับ (ภาพที่ 3)





ภาพที่ 3 ความสัมพันธ์ความเป็นเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานฟลูออไรด์ เมื่อเติมลงในตัวอย่างยาสีฟัน และปริมาณฟลูออไรด์ที่ตรวจพบ

การทดสอบความเที่ยง

จากการฉีดสารสกัดอนุพันธ์ TEFS ที่เตรียมจากสารละลายมาตรฐานและสารละลายตัวอย่างยาสีฟันที่มีโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟตและยาสีฟันที่มีโซเดียมฟลูออไรด์ซ้ำ 2 ครั้ง พบว่ามีความสามารถทำซ้ำได้ของระบบโครมาโทกราฟี โดยมีค่า %RPD ของ peak area ratio เท่ากับร้อยละ 1.18, 0.01 และ 1.36 ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ร้อยละของความแตกต่างสัมพันธ์ของ peak area ratio จากการฉีดซ้ำ 2 ครั้ง

ฉีดครั้งที่	peak area ratio		
	สารละลายมาตรฐาน	ละลายตัวอย่างที่มีโซเดียม โมโนฟลูออโรฟอสเฟต	ละลายตัวอย่างที่มี โซเดียมฟลูออไรด์
1	0.7574	0.8680	0.6889
2	0.7664	0.8621	0.6796
เฉลี่ย	0.7619	0.8621	0.6842
%RPD	1.18	0.01	1.36

จากการวิเคราะห์ปริมาณฟลูออไรด์ในตัวอย่างยาสีฟันที่มีสารโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟตและยาสีฟันที่มีสารโซเดียมฟลูออไรด์ ซ้ำ 5 ครั้งในวันเดียวกัน ได้ค่า %RSD เท่ากับ 0.56 และ 0.68 ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

และพบว่าไม่มีความแตกต่างของผลวิเคราะห์จากการวิเคราะห์ซ้ำ 5 วัน โดยมีค่า p-value เท่ากับ 0.93 และ 0.36 ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบความเที่ยงในการวิเคราะห์ซ้ำในวันเดียวของวิธีวิเคราะห์ฟลูออไรด์ในยาสีฟัน

วิเคราะห์ซ้ำที่	ปริมาณฟลูออไรด์ (ไมโครกรัมต่อกรัม)	
	ยาสีฟันที่มีโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟต	ยาสีฟันที่มีโซเดียมฟลูออไรด์
1	1082	985
2	1089	988
3	1083	999
4	1093	998
5	1096	999
เฉลี่ย	1089	994
SD	6.11	6.76
%RSD	0.56	0.68

ตารางที่ 3 ความเที่ยงในการวิเคราะห์ซ้ำระหว่างวันของวิธีวิเคราะห์ฟลูออไรด์ในยาสีฟัน

วันที่	ปริมาณฟลูออไรด์ (ไมโครกรัมต่อกรัม)									
	ยาสีฟันที่มีโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟต					ยาสีฟันที่มีโซเดียมฟลูออไรด์				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ครั้งที่ 5	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ครั้งที่ 5
1	1082	1089	1083	1093	1096	985	998	994	991	999
2	1099	1086	1094	1085	1095	988	999	997	989	995
3	1093	1080	1096	1088	1098	999	992	985	993	994
4	1086	1094	1083	1096	1097	998	997	988	996	992
5	1089	1092	1095	1087	1090	999	993	983	997	988
p-value	0.93	0.36								

การทดสอบร้อยละของการคืนกลับ

จากการวิเคราะห์ตัวอย่าง spiked sample พบว่าร้อยละของการคืนกลับของฟลูออไรด์ที่เติมในตัวอย่างยาสีฟันชนิดครีมีที่มีสารโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟตและยาสีฟันที่มีสารโซเดียมฟลูออไรด์ อยู่ในช่วงร้อยละ 80.2 - 118.5 และ 81.4 - 106.9 ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ร้อยละของการคืนกลับของวิธีวิเคราะห์ฟลูออไรด์ในยาสีฟัน

ความเข้มข้นที่เติม สารมาตรฐาน (มิลลิกรัม)	ยาสีฟันที่มีโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟต		ยาสีฟันที่มีโซเดียมฟลูออไรด์	
	ความเข้มข้นที่ ตรวจพบ (มิลลิกรัม)	% recovery	ความเข้มข้นที่ ตรวจพบ (มิลลิกรัม)	% recovery
0.04	0.1764	80.2-112.3	0.1521	83.8-106.9
0.08	0.2445	90.3-110.4	0.1998	92.9-96.4
0.12	0.3530	110.1-118.5	0.2409	81.4-94.1

ขีดจำกัดของการตรวจพบและขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ

จากการใช้สมการ regression คำนวณค่า estimated IDL ได้เท่ากับ 0.008 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเมื่อฉีด spiked sample พบว่า IDL เท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อคำนวณเป็นความเข้มข้นในตัวอย่างได้ค่า LOD เท่ากับ 30 ไมโครกรัมต่อกรัม

จากการใช้สมการ regression คำนวณค่า estimated LOQ ได้เท่ากับ 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อคำนวณเป็นความเข้มข้นในตัวอย่างเท่ากับ 330 ไมโครกรัมต่อกรัม โดยมีค่าร้อยละของการคืนกลับเท่ากับ 90 และ %RSD เท่ากับ 3 ซึ่งอยู่ในช่วงยอมรับได้คือความเข้มข้น 330 ไมโครกรัมต่อกรัม ค่าร้อยละของการคืนกลับควรอยู่ในช่วง 80–120 และ % RSD ต้องไม่เกิน 3

ค่าความไม่แน่นอนของการวัด

การประเมินค่าความไม่แน่นอนของวิธีวิเคราะห์ปริมาณฟลูออไรด์รวมทั้งหมดในยาสีฟัน โดยวิธี GC ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และค่า k เท่ากับ 2 พบว่าค่าความไม่แน่นอนขยายสัมพัทธ์ (relative expanded uncertainty) เท่ากับ 0.06 (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 แหล่งที่มาและการคำนวณค่าความไม่แน่นอนในการวิเคราะห์ปริมาณฟลูออไรด์ในยาสีฟัน โดยวิธี GC-FID

แหล่งของความไม่แน่นอน	Value	Unit	Standard uncertainty	Relative standard uncertainty
ความบริสุทธิ์ของสารละลายมาตรฐาน	1903.8	ug/mL	5.48483	0.002881
น้ำหนักตัวอย่าง	0.1505	g	0.00007	0.00048
ความเข้มข้นของฟลูออไรด์ในสารละลายตัวอย่าง	0.1432	mg/mL	0.00169	0.01183
ความเที่ยง	100	%	0.2190	0.00219
Recovery	104.85	%	1.0540	0.01005
ความไม่แน่นอนรวม				0.03
k				2
ความไม่แน่นอนขยาย				0.06

วิจารณ์

วิธีวิเคราะห์ปริมาณฟลูออไรด์รวมทั้งหมดในยาสีฟัน โดยวิธี GC-FID ที่พัฒนาขึ้นนี้ดัดแปลงจากวิธีวิเคราะห์มาตรฐานของประชาคมยุโรปเพื่อแก้ไขปัญหา กรณียาสีฟันที่มีสารขัดฟันหรือส่วนประกอบอื่นเมื่อทำปฏิกิริยากับโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟตหรือโซเดียมฟลูออไรด์แล้วเกิดเป็นสารประกอบที่ไม่ละลายน้ำ ทำให้การวิเคราะห์โดยวิธี ion selective electrode และวัดปริมาณฟลูออไรด์ด้วย potentiometer จะได้ปริมาณน้อยกว่าปริมาณที่มีจริง วิธีที่พัฒนาขึ้นนี้สารโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟตจะถูก hydrolysed ด้วย hydrochloric acid ได้ฟลูออไรด์ซึ่งจะเกิดปฏิกิริยากับ triethylchlorosilane ได้อนุพันธ์ triethylfluorosilane และใช้ cyclohexane เป็น internal

standard ซึ่งถูกสกัดด้วย xylene แล้วฉีดเข้าเครื่อง GC ภายใต้สภาวะที่พัฒนาขึ้น ทั้งนี้สภาวะของ GC ที่ดัดแปลงจากวิธีมาตรฐานประชาคมยุโรป ได้แก่ ชนิดของคอลัมน์จาก packed column เป็น capillary column แก๊สตัวพาและอัตราการไหลดัดแปลงจากแก๊สไนโตรเจน 35 มิลลิลิตรต่อนาทีเป็นแก๊สฮีเลียม และใช้แก๊สไฮโดรเจนและอากาศเป็น make-up gas โดยปรับอัตราการไหลจาก 3 มิลลิลิตรต่อนาที เป็น 45 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิของคอลัมน์จาก 70 องศาเซลเซียส เป็นโปรแกรมอุณหภูมิเริ่มต้นที่ 80 องศาเซลเซียส และเพิ่มเป็น 280 องศาเซลเซียส, อุณหภูมิของ injector จาก 150 องศาเซลเซียส เป็น 280 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิของเครื่องตรวจวัดดัดแปลงจาก 250 องศาเซลเซียส เป็น 300 องศาเซลเซียส ทั้งนี้ปริมาตรที่ฉีดเท่ากันคือ 3 ไมโครลิตร ซึ่งสามารถแยกสาร triethylfluorosilane ได้โดยค่า retention time ของ internal standard และ triethylfluorosilane เท่ากับ 2.6 และ 4.3 นาที ตามลำดับ จากการทดสอบความถูกต้องของวิธีเรื่อง repeatability จากการวิเคราะห์ตัวอย่างยาสีฟันที่มีสารโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟต 0.76 %w/w และยาสีฟันที่มีสารโซเดียมฟลูออไรด์ 0.22 %w/w คิดเป็นฟลูออไรด์ 1,000 ส่วนในล้านส่วน โดยน้ำหนักพบว่าค่า %RSD เท่ากับร้อยละ 0.56 และ 0.68 ตามลำดับ ซึ่งตามวิธีมาตรฐานของประชาคมยุโรปให้ค่าความแตกต่างสัมพัทธ์ (%RSD) จากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ เท่ากับร้อยละ 8 นอกจากนี้ค่าร้อยละของการคืนกลับในการวิเคราะห์ spiked sample ในตัวอย่างที่มีโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟตและตัวอย่างที่มีโซเดียมฟลูออไรด์ เท่ากับร้อยละ 80.2 – 118.5 และ 81.4 – 106.9 ตามลำดับ ซึ่งไม่เกินเกณฑ์ยอมรับ⁽¹¹⁾ คือความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัม เกณฑ์ยอมรับของ %RSD และ %recovery คือต้องไม่เกินร้อยละ 3 และร้อยละ 80–120 ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นนี้มีคุณสมบัติของการทดสอบความถูกต้องของวิธีอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ มีความสะดวก รวดเร็ว สามารถแยกพีคได้ภายใน 10 นาที เหมาะสมสำหรับการใช้ในการตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

สรุป

วิธีวิเคราะห์ปริมาณฟลูออไรด์รวมทั้งหมดในยาสีฟัน โดยใช้เครื่อง GC ภายใต้สภาวะที่กำหนดจากการทดสอบความถูกต้องของวิธีพบว่ามีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกับค่า peak area ratio ตลอดช่วงความเข้มข้น 0.05–0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร การวิเคราะห์ซ้ำในวันเดียวกันให้ค่า %RSD น้อยกว่า 1 และไม่มี ความแตกต่างของผลวิเคราะห์ในการวิเคราะห์ซ้ำ 5 วัน พบว่าระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่เครื่องมือสามารถตรวจวัดเชิงคุณภาพ (IDL) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจพบได้ในตัวอย่างเท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 30 ไมโครกรัมต่อกรัม ตามลำดับ ซึ่งสามารถวิเคราะห์ปริมาณของฟลูออไรด์ได้ตั้งแต่ 330 ไมโครกรัมต่อกรัม มีค่าความไม่แน่นอนขยายสัมพัทธ์ (Relative expanded uncertainty) น้อยกว่า 0.1 วิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นมีความเหมาะสมสำหรับใช้ในห้องปฏิบัติการเพื่อให้บริการตรวจวิเคราะห์และการเฝ้าระวังคุณภาพผลิตภัณฑ์ยาสีฟันที่มีส่วนประกอบของโซเดียมโมโนฟลูออโรฟอสเฟต และโซเดียมฟลูออไรด์ได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คุณนภาพร อนันตสินกุล ที่ให้คำแนะนำ ข้อเสนอแนะการศึกษาวิจัยจนบรรลุผลสำเร็จในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. ผลการันัน นิตสิริ. สรรพคุณยาสีฟัน. ว.การส่งเสริมคุณภาพและอนามัยสิ่งแวดล้อม 2546; 26(3): 22–34.
2. McCaffery K. Fluoride and dermatitis. J Am Dent Assoc 2003; 134(9): 1166.
3. พระราชบัญญัติเครื่องสำอาง พ.ศ. 2535 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง กำหนดชื่อและปริมาณของวัตถุที่อาจใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเครื่องสำอาง. ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 125 ตอนพิเศษ 162 ง (ลงวันที่ 9 ตุลาคม 2551).

4. นราวัลย์ เชี่ยววิทย์. ฟลูออไรด์. งานทันตกรรม โรงพยาบาลศิริราช. [ออนไลน์]. 2553; [สืบค้น 27 พ.ค. 2558]; [2 หน้า]. เข้าถึงได้จาก : URL: <http://www.si.mahidol.ac.th/sidoctor/e-pl/articledetail.asp?id=91>.
5. ฟลูออไรด์ในยาสีฟัน. [ออนไลน์]. 2554; [สืบค้น 27 พ.ค. 2558]; [2 หน้า] เข้าถึงได้จาก : URL: <http://blog.eduzones.com/fluorine/81408>.
6. Perez_Olmos R, Soto JC, Zarate N, Diez I. Simultaneous determination of potassium and total fluoride in toothpastes using a SIA system with two potentiometric detectors. J Pharm Biomed Anal [online]. 2008; [cited 2015 May 22]; 47(1): [7 screens]. Available from: URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0731708507006966>.
7. Dionex. Determination of anions in toothpaste by ion chromatography. Application note 156. [online]. 2003; [cited 2015 May 22]; [6 screens]. Available from: URL: http://www.dionex.com/en-us/webdocs/6522-AN156_LPN1548.pdf.
8. Wang P, Li SFY, Lee HK. Simultaneous determination of monofluorophosphate and fluoride in toothpaste by capillary electrophoreses. J Chromatogr A 1997; 765(2): 353-9.
9. Wejnerowska G, Karczmarek A, Gaca J. Determination of fluoride in toothpaste using headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-flame ionization detection. J Chromatogr A 2007; 1150(1-2): 173-7.
10. Third Commission Directive 83/514/EEC. Determination of total fluorine in dental creams. In: The rules governing cosmetic products in the European union Vol.2 methods of analysis cosmetic products. European commission; 1999. p. 95-98.
11. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดียว. นนทบุรี : กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข; 2549.
12. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. แนวปฏิบัติการประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัดทางเคมี. นนทบุรี : กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข; 2550.

Determination of Total Fluoride in Toothpaste by GC-FID

Kamonluck Intharatsamee and Suthida Meethong

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

ABSTRACT Determination of total fluoride in toothpaste was developed by using GC-FID technique under the condition i.e. HP-1 capillary column of 15 m × 0.53 mm × 1.5 μm. Carrier gas consist of helium together with hydrogen and air as make-up gas. Flowrate program starts from 3 ml/min and increase to 45 ml/min. Using flame ionization detector and inject volume is 3 μl. Temperature program of column is started at 80 °C and increase to 280 °C. The injector and detector temperature are 280 °C and 300 °C, respectively. Sodium monofluorophosphate is acid hydrolysed to be fluoride. Fluoride is converted to triethylfluorosilane (TEFS) by direct reaction with triethylchlorosilane (TECS) in acid solution and simultaneously extracted with xylene containing cyclohexane as an internal standard, then inject to GC. The method validation result show the retention time of internal standard and TEFS of 2.6 and 4.3 minutes, respectively. The linear relationship between concentration of fluoride and peak area ratio over the concentration range of 0.05 – 0.25 mg/ml with correlation coefficient (r) of 0.9993. The r of relationship between added concentration of fluoride and found concentration is 0.9868 and 0.9898 respectively, Repretability was tested by replicate analysis of fluoride in toothpastes containing sodium monofluorophosphate and sodium fluoride show %RSD of 0.56 and 0.68, respectively. There is no different of analytical results between five days which p-value is 0.93 and 0.36 respectively, show the precision of the method. Analysis of spiked sample showed percent recovery of 80.2 – 118.5% and 81.4 – 106.9%, respectively. Limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ) were 30 and 330 μg/g, respectively. Relative expanded uncertainty was 6.0 %.The developed method with acceptable validation results could be routinely used to analyse total fluoride in toothpaste.

Key words: Total fluoride in toothpaste, GC-FID