

การพัฒนาและการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ในผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์เพื่อสุxonามัยสำหรับมือโดยเทคนิค Headspace-Gas Chromatography-Flame Ionization Detector

ศุภัชญา ลำขาว ศิริพร ทองประกายแสง และ ละเวง นิลมณี

สำนักเครื่องสำอางและวัตถุอันตราย กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนพหลโยธิน 11000

บทคัดย่อ ตามประกาศของกระทรวงสาธารณสุข อนุญาตให้เครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์เพื่อสุxonามัยสำหรับมือที่มีส่วนผสมของเอทิลแอลกอฮอล์ หรือไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ หรือเอ็นโพรพิลแอลกอฮอล์ เพียงสารเดียวหรือผสมรวมกันอยู่ตั้งแต่หรือมากกว่าร้อยละ 70 โดยปริมาตร สามารถผลิต นำเข้า หรือขายได้ และไม่อนุญาตให้ใช้เมทิลแอลกอฮอล์เป็นส่วนผสม สำนักเครื่องสำอางและวัตถุอันตราย กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จึงพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ 4 ชนิด ตามกฎหมายกำหนด โดยเทคนิค HS-GC-FID ผลการศึกษาได้สภาวะการสกัดแอลกอฮอล์โดยเครื่อง Headspace ที่อุณหภูมิ 70°C เวลา 5 นาที และสภาวะการวิเคราะห์โดยเครื่อง Gas Chromatography คอลัมน์ชนิด DB-5 อุณหภูมิ 45°C อัตราการไหล 0.5 ml/min ระยะเวลา 8 นาที ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ พบว่าสามารถแยกสารได้ 5 ชนิด รวมเทอร์ท-บิวทิลแอลกอฮอล์ ซึ่งเป็น Internal Standard โดย Resolution > 2 วิธีมีความเป็นเส้นตรง $r > 0.995$ และช่วงของการวิเคราะห์ในช่วง 0.50-8.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ค่าร้อยละของการคืนกลับอยู่ในช่วง 95-110 ความเที่ยงจากการทำซ้ำในวันเดียวกัน ระหว่างวัน และระหว่างนักวิเคราะห์มีค่าที่ยอมรับได้ ($\% \text{RSD} < 3$) ขีดจำกัดของการตรวจพบเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพ ร้อยละ 0.01 และร้อยละ 0.001 โดยปริมาตร ตามลำดับ สรุปว่าวิธีที่พัฒนามีความเหมาะสมสำหรับใช้ในงานวิเคราะห์หาปริมาณแอลกอฮอล์ครอบคลุมตามที่กฎหมายกำหนด ข้อดีของวิธีนี้ คือ วิธีเตรียมตัวอย่างง่าย สะดวก และสามารถวิเคราะห์แอลกอฮอล์ได้พร้อมกันภายในเวลา 8 นาที

คำสำคัญ: แอลกอฮอล์เพื่อสุxonามัยสำหรับมือ, เอทิลแอลกอฮอล์, ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์, เอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์, เฮกซะเพน-โครมาโตกราฟีแก๊ส ชนิดตัวตรวจวัดเฟลมไอออไนเซชัน

Corresponding author E-mail: suphatchaya.l@dmsc.mail.go.th

Received: 25 December 2024

Revised: 18 July 2025

Accepted: 13 August 2025

บทนำ

จากสถานการณ์การแพร่ระบาดของโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (COVID-19) ซึ่งเป็นปัญหาทั้งในประเทศและต่างประเทศ การแพร่ระบาดที่รวดเร็วและต่อเนื่องส่งผลกระทบต่อสุขภาพของประชาชนและระบบสาธารณสุขอย่างรุนแรง การรักษาความสะอาดมือจึงกลายเป็นสิ่งสำคัญอย่างยิ่งในการลดการแพร่กระจายของเชื้อไวรัส เนื่องจากมือเป็นสื่อกลางสำคัญที่ทำให้เกิดการติดเชื้อ⁽¹⁾ ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือที่มีแอลกอฮอล์เป็นส่วนประกอบ ในรูปแบบสารละลายและเจลโดยไม่ใช้น้ำ เป็นวิธีหนึ่งที่มีความนิยมมากสำหรับการป้องกันตนเองของประชาชน โดยผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมีการจำหน่ายในท้องตลาดอย่างแพร่หลาย ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือเหล่านี้มีส่วนผสมเป็นแอลกอฮอล์ชนิดเอทิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol) หรือเอทานอล (ethanol) ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ (isopropyl alcohol) หรือไอโซโพรพานอล (isopropanol) และเอน-โพรพิลแอลกอฮอล์ (n-propyl alcohol) หรือเอน-โพรพานอล (n-propanol) ซึ่งเป็นที่นิยมแต่ยังมีการลักลอบนำเมทิลแอลกอฮอล์ (methyl alcohol) หรือ methanol มาเป็นส่วนผสม⁽²⁾ โดยกลไกในการทำงานของแอลกอฮอล์ในการยับยั้งเชื้อไวรัส รวมทั้งไวรัสก่อโรค COVID-19 จะไปทำลายโครงสร้างที่เป็นโปรตีนของไวรัสทำให้โปรตีนเสียสภาพไม่สามารถคงรูปร่างเดิมไว้ได้ เมื่อโปรตีนมีโครงสร้างไม่เหมือนเดิมจึงทำให้ไวรัสไม่สามารถเข้าไปยึดเกาะกับเซลล์ของสิ่งมีชีวิตอื่นและไม่สามารถเข้าไปทำลายเซลล์ของสิ่งมีชีวิตอื่นได้ นอกจากนี้แอลกอฮอล์ยังสามารถละลายไขมันที่เป็นโครงสร้างหลักของไวรัสทำให้อนุภาคของไวรัสสลายตัวไม่สามารถแพร่กระจายพันธุ์ได้⁽³⁻⁶⁾

ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์เหล่านี้ควรมีความเข้มข้นอยู่ในช่วงร้อยละ 70-95 โดยปริมาตร ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ที่ต่ำกว่าร้อยละ 70 อาจไม่สามารถทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียและไวรัสได้ ขณะที่ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ที่สูงกว่าร้อยละ 95 มักจะเหือดแห้งและไม่มีน้ำเพียงพอในการทำให้โปรตีนและไขมันในโครงสร้างของไวรัสเกิดการเสียสภาพได้^(2,4) ตามประกาศกระทรวง

สาธารณสุข เล่ม 137 ตอนพิเศษ 54ง พ.ศ. 2563 กำหนดลักษณะของเครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์เพื่อสุxonามัยสำหรับมือที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือขาย พ.ศ. 2563 โดยให้เครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์เพื่อสุxonามัยสำหรับมือ โดยความเข้มข้นของเอทิลแอลกอฮอล์หรือเอทานอล ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์หรือไอโซโพรพานอล เอน-โพรพิลแอลกอฮอล์หรือเอน-โพรพานอล เพียงสารเดียวหรือผสมรวมกันความเข้มข้นต้องไม่ต่ำกว่าร้อยละ 70 โดยปริมาตร สามารถผลิต นำเข้า หรือขายได้และไม่อนุญาตให้ใช้เมทิลแอลกอฮอล์⁽⁷⁾

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ จึงมีวัตถุประสงค์ในการพัฒนาและทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ในผลิตภัณฑ์ที่มีแอลกอฮอล์ทั้ง 4 ชนิดหรือชนิดใดชนิดหนึ่งเป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์เพื่อสุxonามัยสำหรับมือ โดยสามารถเตรียมตัวอย่างได้อย่างรวดเร็วใช้ปริมาณสารเคมีน้อยไม่ยุ่งยาก สามารถวิเคราะห์แอลกอฮอล์ทั้ง 4 ชนิดในเวลาพร้อมกัน ทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ Interday และ Intraday และความไม่แน่นอนของวิธีวิเคราะห์^(8,9) โดยใช้เทคนิค Headspace (HS) Gas Chromatography (GC) ตัวตรวจวัดชนิด Flame Ionization Detector (FID) ซึ่งเป็นเทคนิควิเคราะห์ตัวอย่างและแยกสารผสมที่สามารถระเหยได้หรือกลายเป็นไอ

วัสดุและวิธีการ

สารเคมีและสารมาตรฐาน

สารมาตรฐาน: สารมาตรฐานเมทิลแอลกอฮอล์ (methyl alcohol) (LGC Dr. Ehrenstorfer, Germany) ความบริสุทธิ์ร้อยละ 99.77, เอทิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol) (LGC Dr. Ehrenstorfer, Germany) ความบริสุทธิ์ร้อยละ 99.72, ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ (isopropyl alcohol) (LGC Dr. Ehrenstorfer, Germany) ความบริสุทธิ์ร้อยละ 99.46, เอน-โพรพิลแอลกอฮอล์ (n-propyl alcohol) (LGC Dr. Ehrenstorfer, Germany) ความบริสุทธิ์

ร้อยละ 99.73 และเทอร์ท-บิวทิลแอลกอฮอล์ (tert-butyl alcohol) (Sigma-Aldrich, USA) ที่มีความบริสุทธิ์มากกว่า 99%

ตัวอย่างผลิตภัณฑ์

เตรียมผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือที่มีแอลกอฮอล์เป็นส่วนประกอบรูปแบบเจลที่เตรียมขึ้นเองโดยปราศจากแอลกอฮอล์ทั้ง 4 ชนิด ดังนี้ เติม 0.7% w/w carbopol (Lubrizol, USA) ปริมาณ 20 กรัม ลงในน้ำกลั่นอุ่น 1,137 มิลลิลิตร คนให้ละลายรวมเป็นเนื้อเดียวกันและตั้งทิ้งไว้ให้ carbopol พองตัว เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นค่อยๆ เติม 0.3% w/w trietanolamine (Lubrizol, USA) ปริมาณ 10 กรัม คนจนกระทั่งเจลก่อตัวและเป็นเนื้อเดียวกันจะได้ตัวอย่างเจล ปริมาณ 3,000 กรัม แบ่งบรรจุใส่ขวดเพื่อใช้เป็น Matrix blank สำหรับการทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือที่มีแอลกอฮอล์เป็นส่วนประกอบรูปแบบเจล จำนวน 40 ตัวอย่าง ดังนี้ มีเมทิลแอลกอฮอล์อย่างเดียว จำนวน 1 ตัวอย่าง เอทิลแอลกอฮอล์อย่างเดียว จำนวน 18 ตัวอย่าง เอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์อย่างเดียว จำนวน 10 ตัวอย่าง เอทิลแอลกอฮอล์ผสมไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ จำนวน 5 ตัวอย่าง และไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ผสมเอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ จำนวน 6 ตัวอย่าง ที่มีจำหน่ายในตลาดนัดและห้างสรรพสินค้าในจังหวัดนนทบุรีและกรุงเทพมหานคร เพื่อใช้ในการทดสอบความใช้ได้ของวิธีในการทดสอบผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์ทำความสะอาดมือรูปแบบเจล

เครื่องมือและอุปกรณ์

Positive Displacement Pipette ขนาด 500 ไมโครลิตร (Brand GMBH, Germany), Piston pipette ขนาด 500 ไมโครลิตร (Transferpette S, Brand GMBH, Germany), ขวด Headspace ขนาด 20 มิลลิลิตร (Agilent Technology, USA), Vortex Mixer (G-560E, Scientific Inc, USA), เครื่องเฮดสเปซ (Headspace) (G1888, Agilent

Technology, USA), เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (Gas chromatography) (7890A, Agilent Technology, USA) และเครื่องตรวจวัดชนิด Flame Ionization Detector (FID) ที่มีคอลัมน์ชนิด DB-5 ขนาด 30 เมตร × 0.250 มิลลิเมตร × 0.250 ไมโครเมตร (Agilent Technology, USA)

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Internal Standard

ปิเปตสารละลายเทอร์ท-บิวทิลแอลกอฮอล์ (tert-butyl alcohol) ปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงใน Volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน เก็บไว้ในขวดสีชาจะได้ความเข้มข้น 1% เทอร์ท-บิวทิลแอลกอฮอล์

การเตรียมสารละลายมาตรฐานแอลกอฮอล์

เตรียมสารละลายมาตรฐานของแอลกอฮอล์แต่ละชนิด ได้แก่ สารละลายมาตรฐานเมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ และเอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ ใช้ปิเปตดูดแอลกอฮอล์แต่ละชนิด ปริมาตร 5, 10, 20, 40 และ 80 ไมโครลิตร ลงในขวดวัดปริมาตร ขนาด 10 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนถึงปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าเบาๆ เพื่อให้สารละลายเข้ากันเป็นเนื้อเดียว ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของสารละลาย คือ 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 และ 8.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ใส่ลงในขวด Headspace ที่เตรียมไว้ เติมสารละลาย 1% เทอร์ท-บิวทิลแอลกอฮอล์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เพื่อให้เป็นสารมาตรฐาน Internal Standard จากนั้นปิดขวดด้วยฝาอะลูมิเนียมให้สนิท พร้อมสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Headspace-Gas Chromatography-Flame Ionization Detection (HS-GC-FID)

การเตรียมตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือที่มีแอลกอฮอล์เป็นส่วนประกอบ

ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือที่มีแอลกอฮอล์เป็นส่วนประกอบรูปแบบเจล จำนวนทั้งหมด 40 ตัวอย่าง ประกอบด้วย เมทิลแอลกอฮอล์ จำนวน

1 ตัวอย่าง เอทิลแอลกอฮอล์ จำนวน 18 ตัวอย่าง
เอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ จำนวน 10 ตัวอย่าง
เอทิลแอลกอฮอล์ผสมไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์
จำนวน 5 ตัวอย่าง ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ผสม
เอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ จำนวน 6 ตัวอย่าง ซึ่งจาก
ตลาดนัดและห้างสรรพสินค้าต่างๆ ในจังหวัดนนทบุรี
และกรุงเทพมหานคร มีขั้นตอนการเตรียมดังนี้ ปิเปต
แต่ละตัวอย่างละ 500 ไมโครลิตร ลงในขวดวัดปริมาตร
ขนาด 10 มิลลิลิตร ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น
เขย่าให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นปิเปตสารละลาย
ตัวอย่างที่ได้ 500 ไมโครลิตร ลงในขวด Headspace
ขนาด 20 มิลลิลิตร เติมสารละลาย 1% เทอร์ท-
บิวทิลแอลกอฮอล์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ปิดผนึกด้วย
ฝาอะลูมิเนียม เขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกัน สำหรับวิเคราะห์
ด้วยเครื่อง HS-GC-FID การตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ
แอลกอฮอล์ทั้ง 4 ชนิด ด้วยเครื่อง HS-GC-FID ใช้

สภาวะของเครื่อง ดังแสดงในตารางที่ 1 โดยมีปริมาตร
การฉีด 1 ไมโครลิตร

การตรวจสอบความเหมาะสมของระบบ (System suitability)

ฉีดสารละลายมาตรฐานแอลกอฮอล์แต่ละชนิด
ทั้ง 4 ชนิด ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้น
เติมสารละลายเทอร์ท-บิวทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น
1% ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ซึ่งทำหน้าที่เป็น Internal
Standard ใส่ลงในขวด Headspace ที่เตรียมไว้
จากนั้นปิดขวดด้วยฝาอะลูมิเนียมให้สนิท พร้อมสำหรับ
การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HS-GC-FID ทำการฉีด
สารละลายมาตรฐานแต่ละชนิด จำนวน 5 ซ้ำ คำนวณ %
Relative Standard Deviation (% RSD) ของ Peak
area และ Retention time (RT) โดยเกณฑ์การยอมรับ
คือ % RSD ของ Peak area ≤ 3 และ % RT ≥ 2 ^(10,11)

ตารางที่ 1 แสดงสภาวะพารามิเตอร์ของเครื่อง HS-GC-FID

ยี่ห้อ คอลัมน์ที่ใช้	Gas Chromatography	Headspace	
	Agilent รุ่น 7890 DB5, 30m × 0.25mm × 0.25µm	Agilent รุ่น G1888	
		Oven temperature	70°C
Column temperature	45°C	Loop temperature	80°C
Injector temperature	150°C	Transferline temperature	90°C
Detector temperature	250°C	Vial Equilibration	5.0 min
Carrier gas/flow rate	He/1.5 mL/min	Pressurization time	0.20 min
Split ratio	50:1	Loop Fill time	0.20 min
Hydrogen Flow	40 mL/min	Loop Equilibration	0.05
Air flow	400 mL/min	Inject time	0.30 min
Make up gas/flow rate	N ₂ /45 mL/min	Incubator time	5 min
		GC cycle time	9 min

การทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation)

การตรวจสอบความจำเพาะเจาะจง (Specificity)

ฉีดสารละลายมาตรฐานเมทิลแอลกอฮอล์
เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ เอ็น-โพรพิล
แอลกอฮอล์ ที่มีความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ

สารละลาย 1% เทอร์ท-บิวทิลแอลกอฮอล์ เป็น Internal
Standard และสารละลายตัวอย่างเข้าเครื่อง GC ภายใต้
สภาวะที่กำหนด ดังแสดงในตารางที่ 1 เพื่อตรวจสอบการ
แยกของเมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิล-
แอลกอฮอล์ และเอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ จากการรบกวน
ของสารอื่นในตัวอย่าง โดยต้องมีค่า Retention time
(RT) แยกจากกันชัดเจนและค่า Resolution ≥ 2 ^(10,11)

การทดสอบความเป็นเส้นตรง (Linearity)

เตรียมสารละลายมาตรฐานของแอลกอฮอล์แต่ละชนิด ได้แก่ สารละลายมาตรฐานเมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ และ เอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ โดยใช้ปิเปตดูดแอลกอฮอล์แต่ละชนิด ปริมาตร 5, 10, 20, 40 และ 80 ไมโครลิตร ลงในขวดปรับปริมาตร ขนาด 10 มิลลิตร เติมน้ำกลั่นจนถึง ปริมาตร 10 มิลลิตร ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของสารละลาย คือ 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 และ 8.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร ตามลำดับ จากนั้นดูดสารละลายมาตรฐานที่ได้จากการเตรียม ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ใส่ลงในขวด Headspace ที่เตรียมไว้ เติมสารละลาย 1% เทอร์ท-บิวทิลแอลกอฮอล์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เพื่อให้เป็นสารมาตรฐาน Internal Standard จากนั้นปิดขวดด้วยฝาอะลูมิเนียมให้สนิท เขย่าให้รวมเป็นเนื้อเดียวกัน พร้อมสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Headspace-Gas Chromatography-Flame Ionization Detection (HS-GC-FID) เพื่อสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน (แกน x) กับพื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐาน (แกน y) คำนวณหาสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของเพียร์สัน (Pearson Correlation Coefficient, R) โดยค่าความสัมพันธ์ที่ยอมรับได้ต้องไม่น้อยกว่า 0.995^(10,11)

การทดสอบความแม่นยำ (Accuracy)

วิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ในตัวอย่างที่เตรียมขึ้นเอง (Matrix blank) ที่เติมสารละลายมาตรฐาน

เมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ และเอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ ที่ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ ร้อยละ 50, 100 และ 150 โดยปริมาตร ความเข้มข้นสุดท้าย ร้อยละ 1.0, 2.0 และ 3.0 โดยปริมาตร ตามลำดับ จากนั้นปิเปตสารมาตรฐานของแอลกอฮอล์แต่ละชนิดที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร ปิเปตปริมาตร ดังแสดงในตารางที่ 2 เติมน้ำกลั่นอย่างเจลอ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ในขวดปรับปริมาตร 25 มิลลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 25 มิลลิตร ด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้สารมาตรฐานทั้ง 4 ชนิด ที่เติมน้ำกลั่นในตัวอย่างเจลอเป็นเนื้อเดียวกัน ดูดสารละลายตัวอย่างที่ได้จากการเตรียม 500 ไมโครลิตร ใส่ลงในขวด Headspace เติมสารละลาย 1% เทอร์ท-บิวทิลแอลกอฮอล์เป็น Internal Standard ปริมาตร 500 ไมโครลิตร จากนั้นปิดขวดด้วยฝาอะลูมิเนียมให้สนิท เขย่าให้รวมเป็นเนื้อเดียวกัน พร้อมสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Headspace-Gas Chromatography-Flame Ionization Detection (HS-GC-FID) ทำการวิเคราะห์ระดับความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ คำนวณปริมาณเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานจาก Calibration curve แล้วคำนวณค่าเฉลี่ย % Recovery และ % RSD โดยประเมินผลการทดสอบความถูกต้องของวิธีตามเกณฑ์กำหนดดังนี้ ความแม่นยำ (Accuracy) กำหนดเกณฑ์ยอมรับค่าร้อยละของการกลับคืน (% Recovery) 95–110% และ % RSD ≤ 3% ค่าความเที่ยง (Precision) ได้จากคำนวณค่า % RSD โดยเกณฑ์ยอมรับ % RSD ≤ 3%^(10,11)

ตารางที่ 2 แสดงปริมาตรของแอลกอฮอล์ทั้ง 4 ชนิดที่เติมน้ำกลั่นในสารตัวอย่างเจลอ

ชนิดของแอลกอฮอล์	250 มก.	500 มก.	750 มก.
เมทิลแอลกอฮอล์	250 ไมโครลิตร	500 ไมโครลิตร	750 ไมโครลิตร
เอทิลแอลกอฮอล์	250 ไมโครลิตร	500 ไมโครลิตร	750 ไมโครลิตร
ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์	250 ไมโครลิตร	500 ไมโครลิตร	750 ไมโครลิตร
เอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์	250 ไมโครลิตร	500 ไมโครลิตร	750 ไมโครลิตร

การทดสอบความความเที่ยง (Precision)

การวิเคราะห์ซ้ำในวันเดียวกัน (Repeatability)

ใช้ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือที่มีแอลกอฮอล์เป็นส่วนประกอบรูปแบบเจลที่เตรียมขึ้นเอง (Matrix blank) เติมสารละลายมาตรฐานแอลกอฮอล์ทั้ง 4 ชนิด คือ เมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิล-แอลกอฮอล์ และเอิน-โพรพิลแอลกอฮอล์ ให้มีความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายเทอร์ท-บิวทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 1% ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เป็น Internal Standard ใส่ลงในขวด Headspace ที่เตรียมไว้ จากนั้นปิดขวดด้วยฝาอะลูมิเนียมให้สนิท พร้อมสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HS-GC-FID วิเคราะห์ตัวอย่างละ 7 ซ้ำในวันเดียว แล้วคำนวณหาปริมาณแอลกอฮอล์ในตัวอย่างเป็นร้อยละโดยปริมาตร คำนวณค่า % RSD โดยเกณฑ์ยอมรับ % RSD $\leq 3\%$ ^(10,11)

การวิเคราะห์ซ้ำระหว่างวัน (Intermediate Precision, Between-Day)

ใช้ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือที่มีแอลกอฮอล์เป็นส่วนประกอบรูปแบบเจลที่เตรียมขึ้นเอง (Matrix blank) เติมสารละลายมาตรฐานแอลกอฮอล์ทั้ง 4 ชนิด คือ เมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิล-แอลกอฮอล์ และเอิน-โพรพิลแอลกอฮอล์ ให้มีความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายเทอร์ท-บิวทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 1% ในปริมาตร 500 ไมโครลิตร เป็น Internal Standard ใส่ลงในขวด Headspace ที่เตรียมไว้ จากนั้นปิดขวดด้วยฝาอะลูมิเนียมให้สนิท พร้อมสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HS-GC-FID ตัวอย่างจะวิเคราะห์เป็นเวลา 5 วัน วันละ 7 ซ้ำ แล้วคำนวณหาปริมาณแอลกอฮอล์ในตัวอย่างเป็นร้อยละโดยปริมาตร คำนวณค่า % RSD โดยเกณฑ์ยอมรับ % RSD $\leq 3\%$ ^(10,11)

การวิเคราะห์ซ้ำโดยเปลี่ยนนักวิเคราะห์ (Intermediate Precision, Between-Analysts)

ใช้ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือที่มีแอลกอฮอล์เป็นส่วนประกอบรูปแบบเจลที่เตรียมขึ้นเอง (Matrix

blank) เติมสารละลายมาตรฐานแอลกอฮอล์ทั้ง 4 ชนิด คือ เมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิล-แอลกอฮอล์ และเอิน-โพรพิลแอลกอฮอล์ ให้มีความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายเทอร์ท-บิวทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 1% ในปริมาตร 500 ไมโครลิตร เป็น Internal Standard ใส่ลงในขวด Headspace ที่เตรียมไว้ จากนั้นปิดขวดด้วยฝาอะลูมิเนียมให้สนิท พร้อมสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HS-GC-FID วิเคราะห์โดยนักวิเคราะห์ 2 คน คนละ 7 ซ้ำ แล้วคำนวณหาปริมาณแอลกอฮอล์ในตัวอย่างเป็นร้อยละโดยปริมาตร คำนวณค่า % RSD โดยเกณฑ์ยอมรับ % RSD $\leq 3\%$ ^(10,11)

การวิเคราะห์ขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of Detection, LOD)

ทดสอบโดยเติมสารละลายมาตรฐานแอลกอฮอล์ทั้ง 4 ชนิด ที่ความเข้มข้นต่ำๆ ที่ 0.005 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ลงในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เพื่อสุขอนามัยสำหรับมือที่เตรียมขึ้นเอง (Matrix blank) และเติมสารละลาย 1% เทอร์ท-บิวทิลแอลกอฮอล์ เป็น Internal Standard ทำการวิเคราะห์ 7 ซ้ำ จากนั้นยืนยันค่า LOD โดยทำการวิเคราะห์ 7 ซ้ำ ผลที่ได้ต้องไม่พบ False negative และต้องให้สัญญาณค่า Signal-to-Noise Ratio มากกว่าหรือเท่ากับ 3 คำนวณเป็นร้อยละโดยปริมาตรของตัวอย่าง^(10,11)

การวิเคราะห์ขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ)

ทดสอบโดยเติมสารละลายมาตรฐานแอลกอฮอล์ทั้ง 4 ชนิด ที่มีความเข้มข้นใกล้เคียงค่าต่ำสุดของกราฟมาตรฐาน ลงในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เพื่อสุขอนามัยสำหรับมือที่เตรียมขึ้นเอง (Matrix blank) และเติมสารละลาย 1% เทอร์ท-บิวทิลแอลกอฮอล์ เป็น Internal Standard จากนั้นทำการวิเคราะห์ 7 ซ้ำ แล้วคำนวณเป็นค่าร้อยละโดยปริมาตรของ % Recovery และ % RSD โดยเกณฑ์ยอมรับค่าร้อยละของ % Recovery ต้องอยู่ในช่วง 95–110% และค่า % RSD $\leq 3\%$ ^(10,11)

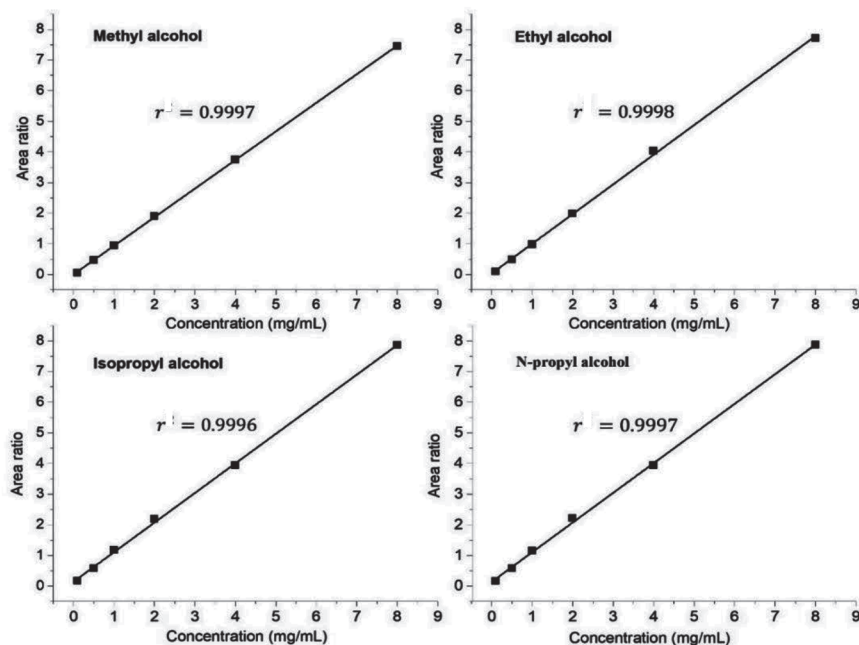
การประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์ (Measurement Uncertainty, MU)

การประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัด คำนึงถึง แหล่งของความไม่แน่นอนจากทุกแหล่ง ได้แก่ ปริมาตร กราฟมาตรฐาน ความเที่ยง และความแม่นยำ แล้วคำนวณ รวมค่าความไม่แน่นอนทั้งหมด จากนั้นหาค่าความ ไม่แน่นอนขยายที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($k=2$) เพื่อ ประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์ตามวิธีที่ได้ ทดสอบ ปริมาณสารที่พบหน่วยเป็นร้อยละโดยปริมาตร (%v/v) และคำนวณความเข้มข้นของสารที่ตรวจพบ จากกราฟมาตรฐาน โดยใช้สมการเส้นตรง⁽⁸⁾

ผล

การทดสอบความเป็นเส้นตรง (Linearity)

ผลการทดสอบความเป็นเส้นตรงของสารมาตรฐาน เมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิล- แอลกอฮอล์ และเอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ ที่ช่วงความเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 และ 8.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ระหว่าง ความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติมกับพื้นที่ใต้พีค จากการวิเคราะห์ด้วย GC มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง โดยคำนวณหาความเข้มข้นของสารมาตรฐานเฉลี่ยที่ตรวจ วิเคราะห์ได้ พบว่าค่าประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) เท่ากับ 0.9997, 0.9996, 0.9995 และ 0.9995 ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 1

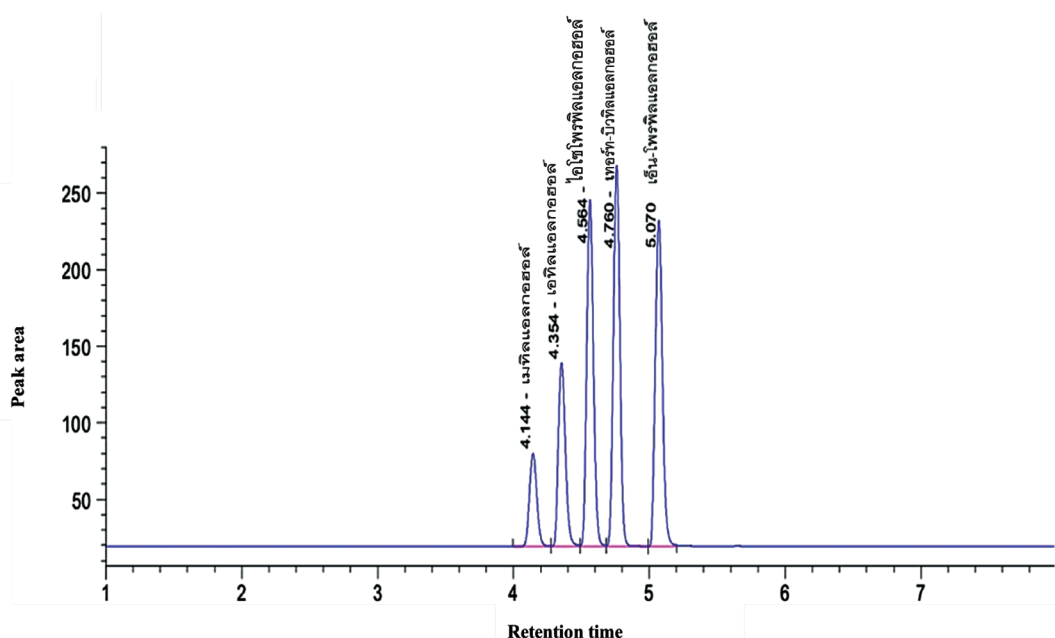


ภาพที่ 1 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและพื้นที่ใต้พีคจากการวิเคราะห์ด้วย GC มีความเป็นเส้นตรงและแสดงช่วงของการวิเคราะห์ (Linearity and working range) ของเมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ และเอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์

การทดสอบความจำเพาะเจาะจง (Specificity)

ผลการตรวจสอบความจำเพาะของวิธี (Specificity) เมื่อนำสารละลายมาตรฐานเมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ และ เอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ ภายใต้สภาวะเครื่อง HS-GC-FID พบว่าสามารถแยกสารได้ทั้งหมด 5 สาร คือ เมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิล-

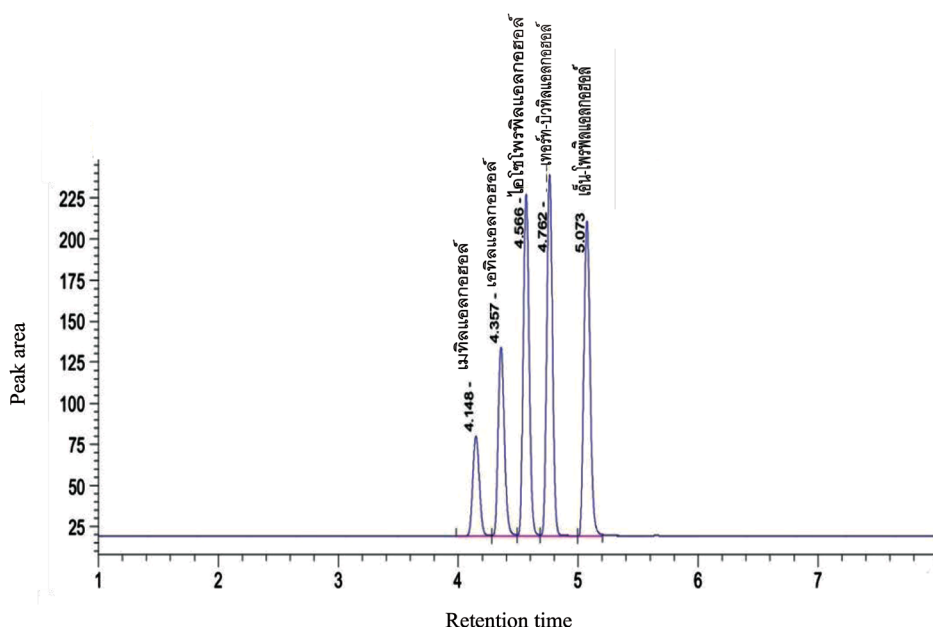
แอลกอฮอล์ เทอร์ท-บิวทิลแอลกอฮอล์ (Internal Standard) และเอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ ที่ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ออกจากกันได้ โดยมีค่า Retention time (RT) ประมาณ 4.1, 4.4, 4.6, 4.8 และ 5.1 นาที โดยประมาณ ตามลำดับ ดังแสดงใน ภาพที่ 2 โดยมี Resolution time เท่ากับ 1.2, 1.2, 1.1, 1.2 และ 1.4 ตามลำดับ



ภาพที่ 2 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐานเมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ เอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ และเทอร์ท-บิวทิลแอลกอฮอล์ ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

จากการวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์เพื่อสุขอนามัยสำหรับมือที่มีแอลกอฮอล์ในรูปแบบเจล พบว่าเกิดการแยกพีคได้ทั้งหมด 5 พีค โดยมีค่า Retention time (RT) ของเมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ เทอร์ท-บิวทิลแอลกอฮอล์ และ

เอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ ใกล้เคียงกับค่า Retention time ของกราฟมาตรฐาน ดังในแสดงภาพที่ 3 โดยมีค่า Resolution time ในตัวอย่างเท่ากับ 1.2, 1.2, 1.1, 1.2 และ 1.4 ตามลำดับ ซึ่งพบว่าใกล้เคียงกับสารมาตรฐานแอลกอฮอล์ เท่ากับ 1.2, 1.2, 1.1, 1.2 และ 1.4 ตามลำดับ



ภาพที่ 3 โครมาโตแกรมของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือที่มีแอลกอฮอล์เป็นส่วนประกอบรูปแบบเจล ที่มีเมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ เทอร์ท-บิวทิลแอลกอฮอล์ และเอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ ผสมกัน

การทดสอบความแม่นยำ (Accuracy) และความเที่ยง (Precision)

การทดสอบความแม่นยำและความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณของเมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ และ เอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ ที่ระดับความเข้มข้น ร้อยละ 1.0, 2.0 และ 3.0 โดยปริมาตรวิเคราะห์ 7 ซ้ำ ($n = 7$) พบว่า % Recovery เฉลี่ยทั้ง 3 ระดับ เมทิลแอลกอฮอล์

อยู่ในช่วงร้อยละ 99-100 เอทิลแอลกอฮอล์ อยู่ในช่วงร้อยละ 98-100 ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ อยู่ในช่วงร้อยละ 98-100 และเอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ อยู่ในช่วงร้อยละ 99-100 และความเที่ยงที่ประเมินค่า % RSD ของเมทิลแอลกอฮอล์ อยู่ในช่วง 0.78-1.03 เอทิลแอลกอฮอล์ อยู่ในช่วง 1.00-1.08 ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ อยู่ในช่วง 0.97-1.21 และเอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ อยู่ในช่วง 0.78-0.99 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ความแม่นยำและความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ปริมาณของเมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ และเอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์

ชนิดแอลกอฮอล์	Spiked level (ร้อยละ)	% Recovery of Mean of $\pm$ SD	% RSD (เกณฑ์ยอมรับ ≤ 3)
Methyl alcohol	1.0	100.14 $\pm$ 0.01	0.78
	2.0	99.74 $\pm$ 0.27	0.98
	3.0	100.75 $\pm$ 0.11	1.03
Ethyl alcohol	1.0	98.57 $\pm$ 0.08	1.00
	2.0	99.67 $\pm$ 0.30	1.08
	3.0	100.45 $\pm$ 0.22	1.01
Isopropyl alcohol	1.0	98.77 $\pm$ 0.70	1.02
	2.0	99.93 $\pm$ 0.31	1.21
	3.0	100.69 $\pm$ 0.37	0.97
n-propyl alcohol	1.0	99.02 $\pm$ 0.25	0.78
	2.0	99.68 $\pm$ 0.31	0.99
	3.0	100.81 $\pm$ 0.40	0.78

การวิเคราะห์ขีดจำกัดของการตรวจพบ (LOD) และขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (LOQ)

ผลการทดสอบขีดจำกัดของการตรวจพบ LOD ได้เท่ากับร้อยละ 0.001 โดยปริมาตร โดยให้สัญญาณพีคมีค่าสูงกว่า 3 เท่าของ Signal to Noise ส่วนค่าขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ LOQ เท่ากับร้อยละ 0.01 โดยปริมาตรในทุกชนิดสาร ผลการพิสูจน์ค่า LOQ ในผลิตภัณฑ์เพื่อสุขอนามัยสำหรับมือที่มีแอลกอฮอล์รูปแบบเจล

โดยการเติมสารมาตรฐานแอลกอฮอล์ทั้ง 4 ชนิด คือ เมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ และเอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ โดยวิเคราะห์ 7 ซ้ำ ($n = 7$) ได้ค่า % Recovery ในช่วงร้อยละ 100.56-102.14, 98.56-96.75, 97.78-99.77 และ 100.45-101.02 ตามลำดับ และ % RSD ในช่วง 0.91, 1.22, 1.83, 1.82 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบ % Recovery และ % RSD ของค่า LOQ

ชนิดแอลกอฮอล์ที่เติม	% Recovery	% RSD
Methyl alcohol	100.56-102.14	0.91
Ethyl alcohol	98.56-96.75	1.22
Isopropyl alcohol	97.78-99.77	1.83
n-propyl alcohol	100.45-101.02	1.82

การทดสอบความเที่ยงโดยการวิเคราะห์ซ้ำในวันเดียวกัน (Repeatability) ผลการวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมีรูปแบบเจลที่มีแอลกอฮอล์ 4 ชนิด ผสมกัน คือ เมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ และเอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ วิเคราะห์ตัวอย่าง 5 ซ้ำในวันเดียว พบว่ามีค่า % RSD เท่ากับ 0.47, 0.69, 0.67 และ 0.66 ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ผลการสอบความเที่ยงโดยการวิเคราะห์ซ้ำในวันเดียวกัน ในการวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมีรูปแบบเจล

ชนิดแอลกอฮอล์ที่เติม	ครั้งที่	ปริมาณ (ร้อยละโดยปริมาตร) (*n = 5)			
		ค่าเฉลี่ย	% RSD	ค่าเฉลี่ยในวันเดียวกัน	% RSD
Methyl alcohol	1	67.7900	0.46	67.7765	0.47
	2	67.7373	0.53		
	3	67.6346	0.45		
	4	67.8904	0.41		
	5	67.8304	0.51		
Ethyl alcohol	1	78.8453	0.69	78.8811	0.69
	2	78.9025	0.45		
	3	78.9784	0.87		
	4	78.7382	0.87		
	5	78.9413	0.56		
Isopropyl alcohol	1	73.7309	0.68	73.5753	0.67
	2	73.6578	0.87		
	3	73.5760	0.93		
	4	73.4564	0.34		
	5	73.4554	0.54		
n-propyl alcohol	1	68.9874	0.52	68.9212	0.66
	2	68.8865	0.57		
	3	68.9769	0.49		
	4	68.8903	0.78		
	5	68.8648	0.92		

หมายเหตุ: * จำนวนครั้งของการวิเคราะห์

**การทดสอบความเที่ยงโดยการวิเคราะห์ซ้ำระหว่างวัน
(Intermediate Precision, Between-Day)**

ผลการวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ในผลิตภัณฑ์
ทำความสะอาดมือรูปแบบเจลที่มีแอลกอฮอล์ 4 ชนิด
ผสมกัน คือ เมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์

ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ และเอิน-โพรพิลแอลกอฮอล์
ในตัวอย่างวิเคราะห์ เป็นเวลา 5 วัน วันละ 7 ซ้ำ พบว่า
มีค่า % RSD เท่ากับ 0.32, 0.29, 0.15 และ 0.44
ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ผลการสอบความเที่ยงโดยการวิเคราะห์ซ้ำระหว่างวัน ในการวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ในผลิตภัณฑ์
ทำความสะอาดมือรูปแบบเจล

ชนิดแอลกอฮอล์ที่เติม	วันที่	ปริมาณ (ร้อยละโดยปริมาตร) (*n = 7)			
		ค่าเฉลี่ย	% RSD	ค่าเฉลี่ยระหว่างวัน	% RSD
Methyl alcohol	1	67.9879	0.56	67.4563	0.32
	2	67.7873	0.43		
	3	67.2346	0.65		
	4	67.5674	0.44		
	5	67.8984	0.41		
Ethyl alcohol	1	79.4563	0.89	79.0984	0.29
	2	79.3245	0.56		
	3	79.8764	0.78		
	4	79.6342	0.23		
	5	79.4536	0.12		
Isopropyl alcohol	1	73.7874	0.48	73.5644	0.15
	2	73.3432	0.72		
	3	73.4531	0.80		
	4	73.5667	0.62		
	5	73.7677	0.13		
n-propyl alcohol	1	69.6574	0.64	69.2332	0.44
	2	69.4565	0.80		
	3	69.3422	0.78		
	4	69.4333	0.32		
	5	69.5405	0.45		

หมายเหตุ: * จำนวนครั้งของการวิเคราะห์

**การทดสอบความเที่ยงโดยการวิเคราะห์ซ้ำโดยเปลี่ยน
นักวิเคราะห์ (Intermediate Precision,
Between-Analysts)**

ผลการวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ในผลิตภัณฑ์
ทำความสะอาดมือรูปแบบเจลที่มีแอลกอฮอล์ 4 ชนิด

ผสมกัน คือ เมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์
ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ และเอิน-โพรพิลแอลกอฮอล์
ในตัวอย่างวิเคราะห์ โดยนักวิเคราะห์ 2 คน คนละ 7 ซ้ำ
พบว่ามีค่า % RSD เท่ากับ 1.12, 0.27, 0.42 และ 0.26
ดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ผลการทดสอบความเที่ยงของการวิเคราะห์โดยต่างนักวิเคราะห์ ในการวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์
ในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือรูปแบบเจล

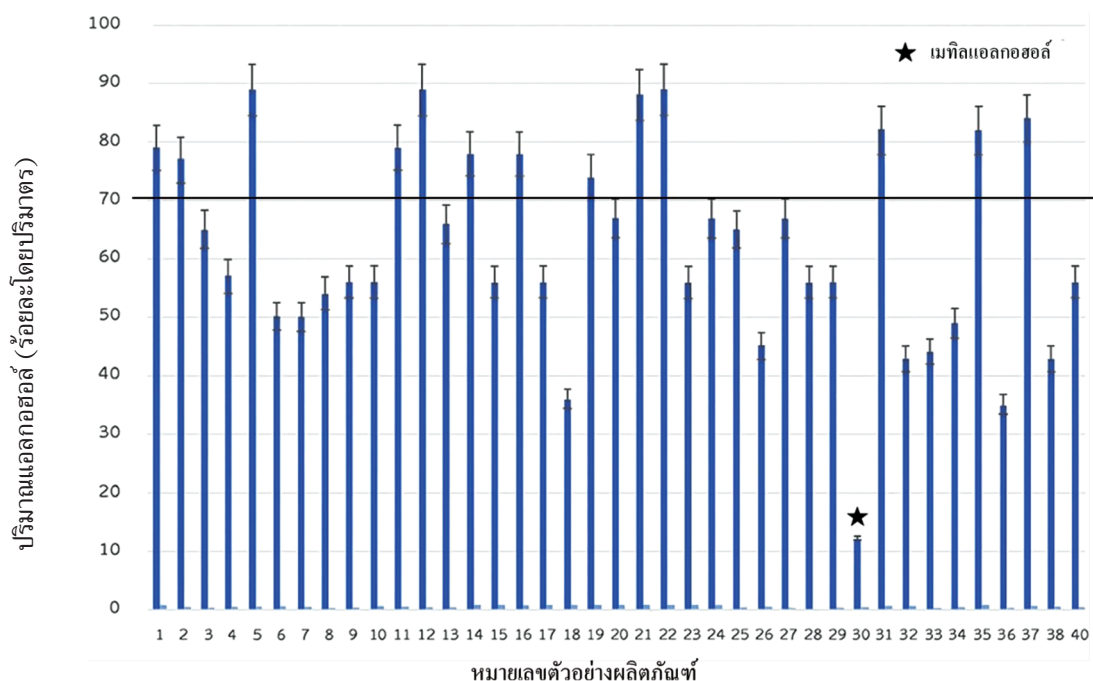
ชนิดแอลกอฮอล์ที่เติม	นักวิเคราะห์	ปริมาณ (ร้อยละโดยปริมาตร)		
		ค่าเฉลี่ย (n = 7)	ค่าเฉลี่ยนักวิเคราะห์ (n = 2)	% RSD
Methyl alcohol	1	68.8776	68.33865	1.12
	2	67.7997		
Ethyl alcohol	1	80.1879	80.0324	0.27
	2	79.8769		
Isopropyl alcohol	1	74.5365	74.3136	0.42
	2	74.0907		
n-propyl alcohol	1	70.5098	70.3826	0.26
	2	70.2554		

หมายเหตุ: * จำนวนครั้งของการวิเคราะห์

การทดสอบผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์ทำความสะอาดมือ รูปแบบเจลที่มีจำหน่าย

ผลการวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ในผลิตภัณฑ์
ทำความสะอาดมือรูปแบบเจลที่มีแอลกอฮอล์ 4 ชนิด
คือ เมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิล-
แอลกอฮอล์ และเอิน-โพรพิลแอลกอฮอล์ ในผลิตภัณฑ์
ทำความสะอาดมือรูปแบบเจล จำนวน 40 ตัวอย่าง พบว่า

ผลทดสอบของผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์ทำความสะอาด
มือที่ผ่านมาตรฐาน ซึ่งมีปริมาณของแอลกอฮอล์ชนิดที่
กฎหมายกำหนดตั้งแต่ 70 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป จำนวน 13
ตัวอย่าง (ประมาณร้อยละ 33) และไม่ผ่านมาตรฐาน
26 ตัวอย่าง (ประมาณร้อยละ 67) นอกจากนี้ยังพบ
1 ตัวอย่าง ที่มีส่วนผสมของเมทิลแอลกอฮอล์ ดังแสดง
ในภาพที่ 4

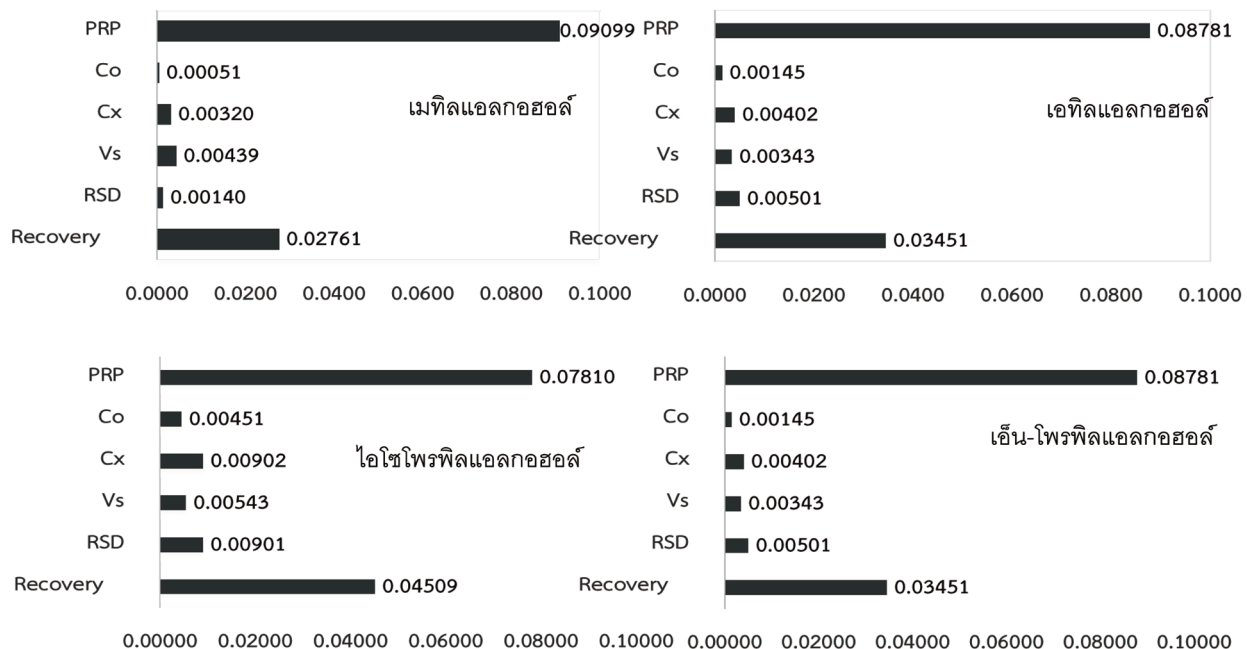


ภาพที่ 4 แสดงตัวอย่างผลการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์ทำความสะอาดมือแบบเจล จำนวน 40 ตัวอย่าง
ด้วยวิธี HS-GC-FID ซึ่งพบผลิตภัณฑ์ที่มีแอลกอฮอล์ชนิดที่ใช้ได้ตั้งแต่ 70 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป และต่ำกว่า
70 เปอร์เซ็นต์ รวมทั้งพบหนึ่งตัวอย่างที่มีเมทิลแอลกอฮอล์

การประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์

การประเมินค่าความไม่แน่นอนของการตรวจวิเคราะห์แสดงให้เห็นถึงสายโซ่การสอบกลับได้ของการวัด โดยพิจารณาแหล่งความไม่แน่นอนที่จะมีผลกระทบต่อการตรวจวิเคราะห์ ได้แก่ ความไม่แน่นอนจากความบริสุทธิ์ของสารมาตรฐาน การสอบเทียบเครื่องมือ ความเข้มข้นของตัวอย่างที่อ่านได้จากกราฟมาตรฐาน ความเที่ยงของวิธีเมื่อทำซ้ำ และ

ค่าร้อยละการคืนกลับของการทดสอบความถูกต้องของวิธี นำมาคำนวณค่าความไม่แน่นอนรวม (Combined Uncertainty, UC) และค่าความไม่แน่นอนขยาย (Expanded Uncertainty, U) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้ค่า Coverage Factor (k) เท่ากับ 2 เท่ากับ ร้อยละ 0.48, 0.34, 0.14 และ 0.32 โดยปริมาตร ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 5



ภาพที่ 5 สัดส่วนขององค์ประกอบแห่งความไม่แน่นอนที่สำคัญที่มีผลต่อการวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ในผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์เพื่อสุขอนามัยสำหรับมือโดยเทคนิค HS-GC-FID

หมายเหตุ: Recovery = ค่าร้อยละการคืนกลับของการทดสอบความถูกต้องของวิธี

RSD = ความเที่ยงของวิธีเมื่อทำซ้ำ

Vs = ปริมาตรของตัวอย่าง

Cx = ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน

Co = ความเข้มข้นของตัวอย่างที่อ่านได้จากกราฟมาตรฐาน

PRP = ความเข้มข้นของตัวอย่างที่รายงาน

วิจารณ์

การทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ 4 ชนิด คือ เมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ เอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ พร้อมกันในผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์เพื่อสุขอนามัยสำหรับมือ โดยเทคนิค Headspace-Gas Chromatography-Flame Ionization Detector (HS-GC-FID) ได้พัฒนามาจากวิธีการวิเคราะห์โดย

เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (Gas Chromatography) จาก ILIADe143:2019⁽¹¹⁾ ซึ่งเป็นวิธีที่ยุงยาก ซับซ้อน วิเคราะห์สารกลุ่มแอลกอฮอล์ได้ 3 ชนิด และใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน วิธีวิเคราะห์ที่ได้พัฒนาขึ้นนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้วิธีวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ 4 ชนิด ตามกฎหมายกำหนดพร้อมกันโดยใช้เทคนิค HS-GC-FID ผลการศึกษาได้สภาวะการสกัดสำหรับ Headspace ที่อุณหภูมิ 70°C เวลา 5 นาที ใช้คอลัมน์

ชนิด DB-5 อุณหภูมิ 45°C อัตราการไหล 0.5 ml/min และใช้ Flame Ionization Detector (FID) เป็นตัวตรวจวัด ซึ่งภายใต้สภาวะเหล่านี้พบว่าสามารถแยกพีคของแอลกอฮอล์ได้ 5 ชนิด รวมทั้งเทอร์ท-บิวทิลแอลกอฮอล์ ซึ่งเป็น Internal Standard ออกจากกันได้อย่างชัดเจนในเวลาเดียวกัน ทำให้รวดเร็วและประหยัดเวลา ใช้ปริมาณสารตัวอย่างน้อย และไม่ยุ่งยากในการเตรียม วิธีที่ได้พัฒนาขึ้นนี้ได้ใช้เทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟี ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีความไวและความจำเพาะสูง สามารถตรวจสอบสารที่มีปริมาณน้อยได้อย่างแม่นยำ

จากการทดสอบความถูกต้องของวิธี (Method Validation) ยืนยันได้ว่าวิธีที่ได้มีความถูกต้องเหมาะสมสามารถนำไปใช้ตรวจวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือที่มีแอลกอฮอล์เป็นส่วนประกอบให้เป็นไปตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เพื่อเป็นการคุ้มครองผู้บริโภคให้ใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มาตรฐานและมีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตามการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ 4 ชนิด พร้อมกันในผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์ เพื่อสุขอนามัยสำหรับมือนี้ยังมีข้อจำกัดของวิธีการ คือ ในการเตรียมสารละลายแอลกอฮอล์ทั้ง 4 ชนิดนี้ มีความหนืดสูงทำให้ต้องใช้ Positive Displacement Pipette (สำหรับสารที่มีความหนืดสูง) และแอลกอฮอล์ทั้ง 4 ชนิด ต้องเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำกว่า 25 องศาเซลเซียส เพื่อป้องกันการระเหยของแอลกอฮอล์จากการประเมินข้อจำกัดของวิธีวิเคราะห์แอลกอฮอล์ 4 ชนิดดังกล่าว ในผลิตภัณฑ์เพื่อสุขอนามัยสำหรับมือโดยใช้เทคนิค HS-GC-FID ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพสูงในการตรวจวัดไอระเหยของสารพร้อมกันหลายชนิด ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าแม้เทคนิคนี้ จะมีความไวและความจำเพาะดี แต่ยังมีข้อจำกัดที่ควรพิจารณา เช่น ความยากในการเตรียมสารมาตรฐานอย่างแม่นยำ ความเสี่ยงจากการระเหยของแอลกอฮอล์ และผลกระทบจากองค์ประกอบในสูตรผลิตภัณฑ์ (Matrix Effect) ดังนั้นข้อเสนอแนะเพื่อการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ในลำดับต่อไป ได้แก่ การควบคุมอุณหภูมิและการใช้เครื่องมือที่เหมาะสมในการเปิดแอลกอฮอล์ การศึกษา

ความคงตัวของแอลกอฮอล์ในระยะยาว และการประเมินผลของ Matrix Effect อย่างเป็นระบบ รวมถึงการเปรียบเทียบผลวิเคราะห์กับวิธีมาตรฐานสากล เช่น วิธี Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) และ Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) เพื่อยืนยันความถูกต้องและความน่าเชื่อถือของวิธีที่พัฒนา ได้แก่ Chun HJ และคณะ รายงานว่า GC-FID สามารถวิเคราะห์เอทานอลในตัวอย่างเครื่องดื่มได้อย่างแม่นยำโดยใช้ Internal Standard ที่เหมาะสม⁽¹²⁾ ในขณะที่ Nisbar ND และคณะ ได้ใช้เทคนิคเดียวกันในการตรวจสอบแอลกอฮอล์ในเจลล้างมือเชิงพาณิชย์ พร้อมเสนอแนวทางควบคุมการระเหยเพื่อเพิ่มความแม่นยำของผลวิเคราะห์⁽¹³⁾ สำหรับแนวทางของ WHO ได้ระบุให้ใช้เทคนิค Gas Chromatography-Flame Ionization Detector (GC-FID) หรือ GC-MS เป็นแนวทางมาตรฐานสำหรับการควบคุมคุณภาพแอลกอฮอล์ในผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อโรค⁽⁴⁾ ทั้งนี้การปรับปรุงกระบวนการวิเคราะห์ การควบคุมสภาวะในการเตรียมตัวอย่าง และการประยุกต์ใช้ข้อเสนอแนะจากการศึกษานี้จะสามารถยกระดับความแม่นยำและความน่าเชื่อถือของวิธีวิเคราะห์ HS-GC-FID ได้ในระยะยาว^(2,12,13)

จากผลการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือที่มีแอลกอฮอล์รูปแบบเจลที่ผ่านมาตรฐาน ซึ่งมีความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ตั้งแต่ 70 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป ผ่านมาตรฐาน จำนวน 13 ตัวอย่าง (ประมาณร้อยละ 33) และไม่ผ่านมาตรฐาน จำนวน 26 ตัวอย่าง (ประมาณร้อยละ 67) นอกจากนี้ยังพบ จำนวน 1 ตัวอย่าง ที่มีส่วนผสมของเมทานอลหรือเมทิลแอลกอฮอล์ ซึ่งเป็นแอลกอฮอล์ชนิดห้ามใช้ในการผลิตเครื่องสำอาง แสดงว่าผลิตภัณฑ์ดังกล่าวที่มีการวางจำหน่ายในท้องตลาดให้แก่ผู้บริโภคมีคุณภาพและปริมาณของแอลกอฮอล์ไม่เป็นไปตามที่กฎหมายกำหนด จนอาจไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ไวรัส รวมทั้งเชื้อไวรัสก่อโรค COVID-19 ดังนั้นจำเป็นต้องมีการเฝ้าระวังต่อไปเพื่อติดตามคุณภาพของผลิตภัณฑ์หลังจำหน่ายให้เป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ และเพื่อคุ้มครองผู้บริโภคให้เกิดประโยชน์สูงสุดต่อสุขภาพและอนามัยของประชาชน

สรุป

การพัฒนาและทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ปริมาณของแอลกอฮอล์ทั้ง 4 ชนิด คือ เมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ และเอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ ในผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์เพื่อสุขอนามัย สำหรับมือโดยเทคนิค HS-GC-FID ได้สภาวะการสกัดสำหรับ Headspace ที่อุณหภูมิ 70°C เวลา 5 นาที ใช้คอลัมน์ชนิด DB-5 อุณหภูมิ 45°C อัตราการไหล 0.5 mL/min พบว่าสามารถแยกพีคได้ทั้งหมด 5 พีค คือ เมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ เอ็น-โพรพิลแอลกอฮอล์ และเทอร์ท-บิวทิลแอลกอฮอล์ ออกจากกันได้ มีค่า LOD และ LOQ ของทุกสาร เท่ากับร้อยละ 0.001 และ 0.01 โดยปริมาตร และสามารถวิเคราะห์แอลกอฮอล์ได้พร้อมกันภายในเวลา 8 นาที จากข้อมูลขั้นตอนแสดงให้เห็นว่า วิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น มีคุณลักษณะเฉพาะแสดงสมรรถนะที่ผ่านเกณฑ์การยอมรับและเหมาะสม มีความถูกต้องแม่นยำ มีความไวและความจำเพาะต่อสารที่ต้องการทดสอบ ให้ผลทุกพารามิเตอร์ผ่านเกณฑ์ยอมรับของสากล เหมาะกับการใช้งาน สามารถนำวิธีนี้ไปใช้ในการตรวจวิเคราะห์ เพื่อเป็นการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดมือที่มีแอลกอฮอล์เป็นส่วนประกอบ เพื่อสุขอนามัยตามกฎหมาย และเพื่อคุ้มครองผู้บริโภค

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่สำนักเครื่องและวัตถุดิบตรายกรมหาวิทยาลัยการแพทย์ ที่ให้คำแนะนำ ข้อเสนอแนะ ตลอดจนสนับสนุนการศึกษาวิจัยจนบรรลุผลสำเร็จในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. ข้อมูลสำหรับการป้องกันตนเองจากไวรัสโคโรนาสายพันธุ์ใหม่ 2019. [ออนไลน์]. 2563; [สืบค้น 14 มี.ค. 2567]; [2 หน้า]. เข้าถึงได้จาก: URL: <https://ddc.moph.go.th/viralpneumonia/file/introduction/introduction01.pdf>.
- World Health Organization. สถานการณ์โรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ในประเทศไทย. [ออนไลน์]. 2567; [สืบค้น 15 มี.ค. 2567]; [4 หน้า]. เข้าถึงได้จาก: URL: <https://www.who.int/thailand/news/detail/07-02-2024-update-on-covid-19-in-thailand--7-february-2024-THA>.
- ไทยพีบีเอส. เตือน! หลีกเลี่ยง “เมทิลแอลกอฮอล์” เป็นส่วนผสมเจลล้างมือมีพิษ. [ออนไลน์]. 2563; [สืบค้น 23 มี.ค. 2567]. เข้าถึงได้จาก: URL: <https://www.thaipbs.or.th/news/content/290143>.
- World Health Organization. Novel coronavirus (2019-nCoV): situation report-1. [online]. 2020; [cited 2020 Oct 5]. Available from: URL: <https://iris.who.int/handle/10665/330760>.
- กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. โรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (COVID-19). [ออนไลน์]. 2563; [สืบค้น 19 มี.ค. 2567]. เข้าถึงได้จาก: URL: <https://ddc.moph.go.th/viralpneumonia>.
- Sithersingh MJ, Snow NH. Chapter 9 – Headspace gas chromatography. In: Poole CF, editor. Handbooks in separation science gas chromatography. 2nd ed. Elsevier; 2021. p. 251-265.
- พระราชบัญญัติเครื่องสำอาง พ.ศ. 2558 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง กำหนดลักษณะของเครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์เพื่อสุขอนามัยสำหรับมือ ที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือขาย พ.ศ. 2563. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 137 ตอนพิเศษ 54 ง (วันที่ 9 มีนาคม 2563). หน้า 6.
- สุวรรณ จารุณข และคณะ. แนวปฏิบัติการประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัดทางเคมี. นนทบุรี: กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข; 2550.
- EURACHEM/CITAC. Quantifying uncertainty in analytical measurement. 2nd ed. [online]. 2000; [cited 2020 Jun 15]; [126 screens]. Available from: URL: <https://www.eurachem.org/imager/stories/Guides/pdf/QUAM2000-1.pdf>.
- EURACHEM. The fitness for purpose of analytical method: a laboratory guide to method validation and related topics. 2nd ed. [online]. 2014; [cited 2000 Jun 15]; [70 screens].

- Available from: URL: https://www.eurachem.org/imager/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed_EN.pdf.
11. Customer Laboratories European Network. ILIADe 143:2019 CLEN Method. Determination of ethanol in alcoholic products by GC-FID version 14, October 2019. [online]. 2019; [cited 2020 Jun 15]; [7 screens]. Available from: URL: <https://www.scribd.com/document/447884817/iliade-143-ethanol-gc-fid>.
 12. Chun HJ, Poklis JL, Poklis A, Wolf CE. Development and validation of a method for alcohol analysis in brain tissue by headspace gas chromatography with flame ionization detector. J Anal Toxicol 2016; 40(8): 653-8.
 13. Nisbar ND, Jamal Khair SK, Bujang NB, Mohd Yusop AY. Determination of ethanol, isopropyl alcohol and methanol in alcohol-based hand sanitiser to ensure product quality, safety and efficacy. Sci Rep 2023; 13(1): 9478. (10 pages).
-

Method Development and Validation for Determination of Alcohol Contents in Hand Sanitizer Products by Headspace-Gas Chromatography- Flame Ionization Detector

Suphatchaya Lamkhao, Siriporn Thongprakaisang, and Laweng Nilmanee

*Bureau of Cosmetics and Hazardous Substances, Department of Medical Sciences, Nonthaburi
11000, Thailand*

ABSTRACT The Ministry of Public Health, Thailand, has issued a notification stating that alcohol-containing cosmetics for hand hygiene with a concentration $\geq 70\%$ by volume of ethyl alcohol, isopropyl alcohol, or n-propyl alcohol, alone or combined, are allowed to be produced, imported, or sold, and methyl alcohol should not be used as an ingredient. The Bureau of Cosmetics and Hazardous Substances, Department of Medical Sciences, Thailand, developed a quantitative method for the determination of the four alcohols. The optimum extraction conditions for headspace were obtained at 70°C for 5 min. Gas Chromatograph conditions were performed using a DB-5 column with a temperature of 45°C and a flow rate of 0.5 mL/min . Method validation showed resolution > 2 of five alcohols, including tert-butyl alcohol as the internal standard. The linearity of the working range was from 0.50 to 8.00 mg/mL , with the Coefficient of Determination, $R > 0.995$. The accuracy was shown as % Recovery in the range of $95\text{--}110$. The repeatability and intermediate precision were in an acceptable range ($\% \text{RSD} < 3$). The Limit of detection and quantitation were 0.01 and 0.001% by volume, respectively. In summary, this method was appropriate to use in routine analysis. The advantages of this method were simple, convenient, fast, and capable of analyzing the content of all four alcohol components within 8 minutes.

Keywords: Alcohol-containing hand hygiene, Ethyl alcohol, Isopropyl alcohol, n-propyl alcohol, Headspace-Gas Chromatography-Flame Ionization Detector